

# 液相合成による収束型マルチオリゴペプチド合成

服部 倫 弘\*

## Convergent Multi-oligopeptide Synthesis by LPPS

Tomohiro HATTORI\*

Our group focused on liquid-phase peptide synthesis, and has established a general method that reduces the number of steps and waste compared to conventional methods, offering superior operability with the support of this project. In particular, the method of peptide bond formation using N-,C-termini unprotected amino acids led to a significant reduction in total reaction steps and was reported as a practical synthetic approach. Furthermore, we also achieved ligation reaction — a condensation reaction between peptide chains — by adding silane reagents enabling the efficient construction of any biologically active sequence. Due to the formation of robust intermediates, no epimerization was observed. Additionally, we established a chemoselective functionalization for cyclic dipeptides and reported it as a novel convergent synthetic methodology.

### 1. 無保護アミノ酸を使用したペプチド合成反応の開発

ペプチド合成においてアミノ酸の保護基は所望の交差縮合を選択的に実施するためには「欠かせないツール」として定着している一方で、縮合の度に繰り返される保護脱保護工程は総収率、純度の低下に加え、過剰な廃棄物産出の要因となる。そのため、無保護のアミノ酸によるペプチド合成手法の開発は極めて重要な歴史的課題であった。我々はこれまでに TMS-IM を使用することで N 末端保護されたアミノ酸へのシリルエステル化が効率よく進行し、タンタル触媒存在下アミノ酸エステルとのペプチド結合形成反応が円滑に進行することを報告していた<sup>1)</sup>。そこで、今回無保護のアミノ酸に対して同様に TMS-IM を添加することで有機溶媒に可溶な中間体が形成され、タンタル触媒的にペプチド結合が形成できるものと想定し、検証した。この反応システムは効果的に機能し、対応するジペプチド体をいずれも高純度高収率で合成することに成功した。この手法の基質適用範囲は極めて広く、かさ高い置換基や活性官能基を持つ天然アミノ酸から  $\beta$ -,  $\gamma$ -アミノ酸のような長鎖アミノ酸を使用しても効率よくアミノ酸エステルとペプチド結合が形成された(図 1; 左)。これらアミノ酸種に依存することなく進行するペプチド伸長は、側鎖にカルボキシル基を有する Glu や Asp に対するマルチペプチド伸長への展開も可能であり、無保護アミノ酸を使用した分岐ペプチド合成として初めて報告した(図 1; 右)<sup>2)</sup>。また TMS-IM 以外のシリル化試薬についても調査したところ、電子求引性アルコキシ基が置換した  $\text{HSi}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_2$  や安価で入手容易な  $\text{HSi}(\text{OMe})_3$  などでも同等以上の効果を確認する事ができた。そのため、これらの手法を使用してオリゴペプチド合成を実践し、いずれも従来法と比較して大幅な工程数省略した生物活性ペプチド配列構築に成功した<sup>3), 4)</sup>。

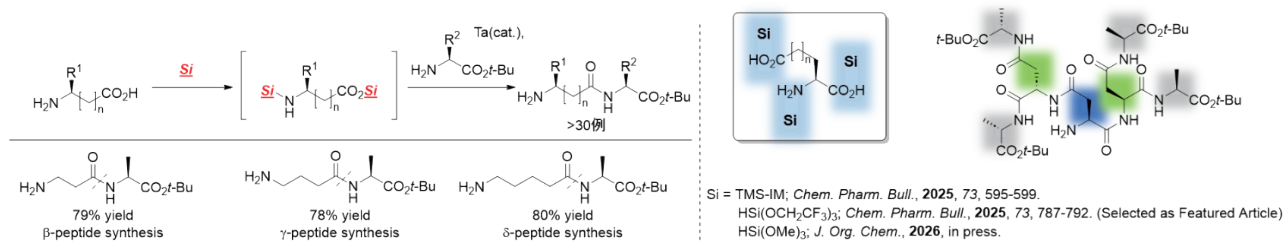


図 1 無保護アミノ酸への伸長反応。

### 2. 収束型オリゴペプチド合成法の開発

生物活性ペプチドはその多くがテトラペプチド以上のオリゴペプチドであり、実用的合成法としては固相合成が主流である。しかし、固相合成は樹脂からの切り離しをするまで分析が困難であるため、過不足無く反応を実施するために過剰の試薬を使用する、また多量の溶媒で洗浄するという過程が不可欠であった。一方で、液相合成ではこれらの課題

2026年2月4日 受理

\* 豊田理研スカラー

中部大学先端研究センター

を克服するポテンシャルを有しているが、特定の配列もしくは一定以上の長さのペプチドは有機溶媒に対する溶解性が著しく低下し、短鎖ペプチド合成手法を長鎖に適用することは困難である。そのため、ペプチド鎖同士を縮合するライゲーション技術が注目されているが、C末端もしくはN末端にシステインなどの活性官能基を配置する必要があり、その適用範囲は限定的であった。我々は「1. 無保護アミノ酸を使用したペプチド合成反応の開発」で得られた成果を軸に検証した結果、 $\text{HSi}[\text{OCH}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2]_3$ はN末端が保護されたペプチドと攪拌すると、C末端のアミノ酸と五員環の中間体を形成していることを観測し、ペプチドエステルとの反応が無触媒で円滑に進行することが明らかとなった(図2)<sup>5)</sup>。この反応の鍵中間体はC末端活性化および立体的な固定化の二つの役割を果たしているため、従来ライゲーションに懸念されているオキサゾロン中間体を經由して進行するエピメリ化は一切進行しない。基質の適用範囲は広く、アミノ酸種に依存することなく進行するため、多様な生物活性ペプチドの配列の調製に成功した(図2; 右)。

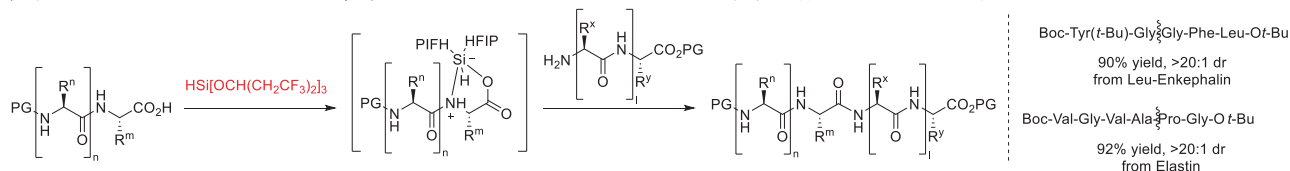


図2 ライゲーション反応.

### 3. DKP への位置選択的官能基化の開発

分子内に複数の活性官能基を有するアミノ酸を基質とするペプチド伸長反応では、副反応を抑制し目的の反応を選択的に実行することは極めて重要である。一方で、避けがたい副産物を有効に活用し、新たなペプチド合成原料に活用することができれば廃棄物の大幅な低減に直結する。ジケトピペラジン(DKP)は二分子のアミノ酸により構成される環化体であり、その堅牢で安定な構造のため有機溶媒に対する溶解性は極めて低く、あらゆる有機反応を受け付けられないため一般的には望まぬ副産物として認知されてきた。これらの課題を解決するために我々のグループではDKPの対面に位置する一方のアミド基にカルバメート系保護基を付すと、開環に伴う求核試薬の導入反応が進行する触媒的手法を確立していた<sup>6)</sup>。また、我々はこれまでにグリシンを含むジケトピペラジンに対してアルミニウム試薬とケイ素化試薬を組み合わせることでグリシンサイドにかさ高い中間体を形成し、位置選択的にグリシンと対面のアミノ酸へのカルバメート保護が進行する手法を併せて確立していた<sup>7)</sup>。そこで、今回更なる一般性獲得を目指し検証を継続した結果、ホスフィン試薬を系内に添加すると酸無水物の反応が優先して進行し、かさ高い求電子種が形成されることが新たに明らかとなった(図3)。すなわち、この活性種はジケトピペラジンの立体障害が少ないサイドとの反応が選択的に進行し、位置選択的なアシル化法として報告した<sup>8)</sup>。ここで形成された mono-Boc-DKPs はマイクロウェーブ照射下、開環に伴う求核性アミノ酸エステルの導入が速やかに進行し、対応するオリゴペプチドが高純度・高収率で得られ、Leu-Enkephalinなどの合成に成功した<sup>9)</sup>。

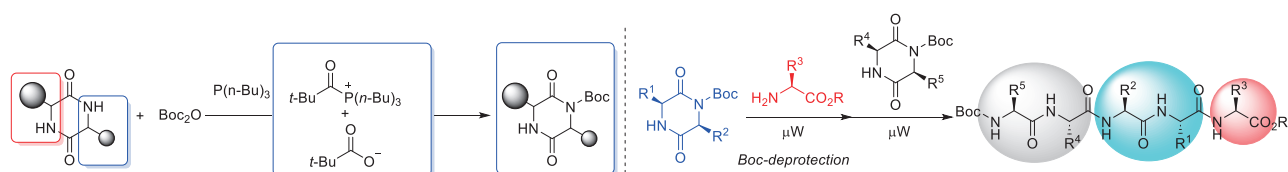


図3  $\text{P}(\text{n-Bu})_3$  を利用した位置選択的官能基化反応.

### REFERENCES

- 1) W. Muramatsu, T. Hattori and H. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **141** (2019) 12288-12295.
- 2) T. Hattori, H. Watanabe, Y. Matsunaga and H. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **73** (2025) 595-599.
- 3) I. Ramakrishna, A. Boateng, T. Hattori and H. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **73** (2025) 787-792.
- 4) A. Boateng, I. Ramakrishna, T. Hattori and H. Yamamoto, *J. Org. Chem.*, 2026, *in press*.
- 5) K. Ishihara, T. Hattori and H. Yamamoto, *J. Org. Chem.*, **90** (2025) 17972-17978.
- 6) W. Muramatsu and H. Yamamoto, *Chem. Sci.*, **13** (2022) 6309-6315.
- 7) I. Ramakrishna, T. Hattori, T. Ishiguro, H. Yamamoto, *Synlett*, **35** (2024) 1113-1120.
- 8) T. Hattori, K. Kon and H. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **73** (2025) 658-662.
- 9) I. Ramakrishna, A. Boateng, T. Hattori, K. Nakagai, M. Kawase and H. Yamamoto, *J. Org. Chem.*, **90** (2025) 4357-4364.