

# 藤森科学技術振興財団 研究実施概要報告書

(西暦) 2024年 4月17日

公益財団法人藤森科学技術振興財団  
理事長 藤森 明彦 殿

藤森科学技術振興財団の助成金による研究が終了しましたので、下記のとおり報告をいたします。

所属機関 中部大学

職 名 特定教授

氏 名 山本 尚



## 【提出書類】

(1) 研究実施概要報告書(本紙)

添付書類(A4版3枚以内): 研究状況を示す写真等の資料

(2) 収支報告書

添付書類: 助成金を充当した経費の領収書

領収書を添付しない場合: 支払一覧表と支払部門担当者確認署名

(1) テーマ

※スペースが足りない場合は、枠を追加いただいて構いません。

破壊的イノベーションのペプチド合成

(2) 本研究の期間

(西暦) 2023年4月 ~ 2024年3月

(3) 本研究の目的

我が国の30年問題を解決するには、いくつかの難問を解く必要がある。最も大切な鍵は、正しいイノベーションを始めることである。残念ながら近年の有機反応開発に関する発明は持続的イノベーションが多い。本当のイノベーションは従来の市場を破壊し、新しい市場を作ることであり、私はこれを破壊的イノベーションと呼んでいる。そして、この破壊的イノベーションに成功すれば、世界の市場を牽引し、新たな景色がみえてくるであろう。

戦後、経済的に大きなダメージを負い先進化学に注力する人員を確保することが難しかった日本では持続的イノベーションを実行することは不可能であった。以降、少しずつ破壊的イノベーションが盛んになり、日本の飛躍的な進歩を手助けした。しかし、残念ながら今日の科学は破壊的イノベーションの実現に、極めて消極的であるように私は感じている。持続的イノベーションだけでは、決して飛躍的な発展がなく、米国では持続的イノベーションだけでは、企業の生命は30年が限度だとも言われており、現状は非常に不安定な状況であると言って良いように思われる。

破壊的イノベーションを実現するためには、研究の目的をしっかりと調査し、その問題に対する飛躍的な改善が可能かを考える必要があり、最低でも数年間を要して作り上げなければならない。しかし、現状のケースでは思いつきで始める研究が多く、これらは科学者の一時の好奇心を満たすのみであり、実用化を考慮すると結果として役に立たないことが多いのではないだろうか。

1964年に固相合成が開発されて以降半世紀の間、ペプチド合成の分野では破壊的イノベーションがほとんど発表されなかった。ペプチドはそれぞれ特徴的な活性官能基を有するアミノ酸の配列分子であり、その配列や導入するアミノ酸の個数に依存して所望の機能を発揮する。これら独特の利点が注目され近年では機能性材料として大きく期待されている。特に医薬品の分野では中分子医薬品として活躍しており、数年の間で承認医薬品数は急増し、世界市場占有率も大きく向上している(*Nat. Rev. Drug Discov.* 2021, 20, 309-325.)。このように非常に重要な創薬材料にもかかわらず、化学合成開発初期の手法から根本的な改良はされてこなかった。我々はこのペプチド合成に着目し、2年ほど調査に費やし、ペプチドをより安価で効率的に合成できる手法の開発に可能性を感じたため研究をスタートした。

本研究の目標は、ペプチドを純度良く、短段階、低価格で、大量に合成できる合成手法を考案し、人類に貢献することである。持続的イノベーションを続け、改良を積み重ねてきた現代のペプチド合成は所望の長鎖ペプチドを速やかに合成することのできる魅力的な手法である。しかし、数年後、数十年後を見据えたときに破壊的イノベーションによるペプチド化学合成を確立することは非常に重要である。本申請研究により遂行できた成果は破壊的イノベーションによるペプチド化学合成の第一歩になったと確信している。この発明を足掛かりとして更なる改良を加えることで、ペプチド医薬品を安価に提供できる未来を築く、さらには我が国の創薬における著しい貿易収支の入超を改善することが可能となるであろう。

#### (4) 本研究の概要

従来のペプチド合成は固相合成法、液相合成法のいずれにおいても、一律して N 末端保護アミノ酸の C 末端カルボキシル基を活性化して C 末端保護アミノ酸と縮合する方法が適用されている。近年のペプチド合成の反応開発研究はその大部分がこのカルボキシル基活性化試薬の効率化に焦点が当てられている。そのおかげで現在ではアミノ酸へのペプチド合成でほとんど光学純度を落とすことなく進行する活性化試薬まで開発されている。一方で、カルボキシル基の活性化はペプチドを対象に実施すると時として分子内オキサゾロン形成に伴うエピメリ化が歴史的な問題として挙げられる。そこで、我々は現在の活性化試薬を超える活性化試薬の探索よりも根本的に新しい分野でのペプチド合成の効率化について優先することにした。ペプチド結合はアミド基の合成化学と言って良い。そこで、我々は活性エステルからアミド基を構築するよりも安定なアミド基から新たなアミド結合を合成することで活性エステル中間体を避けエピメリ化を防ぐペプチド結合が形成されるのではないかと考えた。しかし、アミド基から新たなアミド結合を合成する前例はほとんど報告例がなく、手付かずの分野となっていた。多くの検証を繰り返した結果、我々はジケトピペラジンを活用する手法にたどり着いた。ジケトピペラジンはジペプチド環化体の六員環化合物であり、あらゆる有機溶媒への溶解性を示さない安定な化合物である。そのため、ペプチド合成過程で形成されたジケトピペラジンは伸長反応をはじめとするあらゆる有機反応を受け付けず、廃棄する以外に用途のない化合物であった。我々はこの特徴的な構造に着目し、検証を重ねた結果、ジケトピペラジンの対面に位置するアミド基の片方に Boc 基のようなカルバート系保護基を付すと、活性アミドとなり求核性アミノ酸エステルと共存下攪拌すると開環に伴うペプチド伸長反応が進行し、対応するトリペプチドが得られることを見出した。これはペプチド鎖にペプチドを導入可能な夢のペプチド合成法と言える。これらモノ Boc ジケトピペラジンは PMB 保護を経由した 5 工程で調製可能であり、あらゆる組み合わせのジケトピペラジン誘導体合成およびそれぞれに対する伸長反応が効率よく進行することを確認した。

さらにペプチド伸長反応を繰り返すと、ある一定の長さ以降でペプチドの有機溶媒に対する溶解性が急激に低下する。これは液相ペプチド合成法を開発するうえで致命的となる。そこで我々はこの溶解性問題に挑戦した。多くの実験データを踏まえ、極性の問題と有機溶媒に対する溶解性の問題を共に解決可能なスーパーシリル TAG の開発に着手した。スーパーシリル基とは Si-Si 結合を有する官能基であり、二つのシリル基による溶解性の大幅な改善と共有結合による安定性が期待できる。このスーパーシリル基を有する化合物を種々調製し、検討した結果、スーパーシリル基に長鎖アルキルを装着した TAG をペプチド C 末端に結合することで 10 ペプチドでも取り扱い容易な油状状態を保ち、あらゆる有機溶媒に完全に溶解した。この開発により長鎖ペプチド合成において有機溶媒溶解性を考慮することなく検証可能となり、新たな液相合成の可能性を見出した。

固相合成で長鎖ペプチド調製する際、N 末端もしくは C 末端に不溶性樹脂を接続しているため、伸長反応はアミノ酸の結合と脱保護反応をセットの一つずつ直線的に結合する必要がある。しかし、この場合、樹脂からの切り離しをすることなく化合物の純度を確認することが困難であるため、長鎖ペプチド合成を実施する際にはアミノ酸の種類に応じた条件のチューニングが不可能であった。また伸長反応と脱保護反応を繰り返すことで多くの工程数を重ねることとなり、そのたびに使用する大量の溶媒や廃棄物は甚大である。そこで、一つのペプチド鎖同士の結合を両末端で実施できれば一挙に長鎖ペプチドが合成可能となり効率が大幅に向上する。我々はすでにケイ素分子で二つのアミノ酸を架橋したシラサイクリック化合物の合成法を確立しており、この縮合環に対して TBAF などのフッ素系試薬を添加することで開環に伴う連続両末端伸長が可能となることを見出した。この手法により所望の長さのペプチドをより短工程で確実に合成することが可能となった。

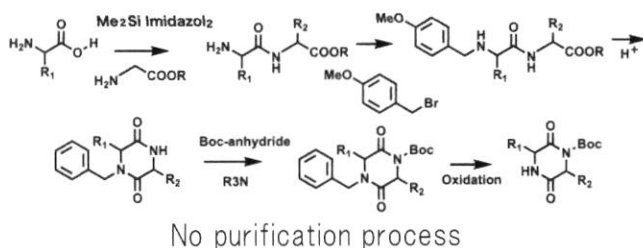
以上の3つの発明を組み合わせたのが我々のペプチド合成である。

(5)本研究の内容及び成果

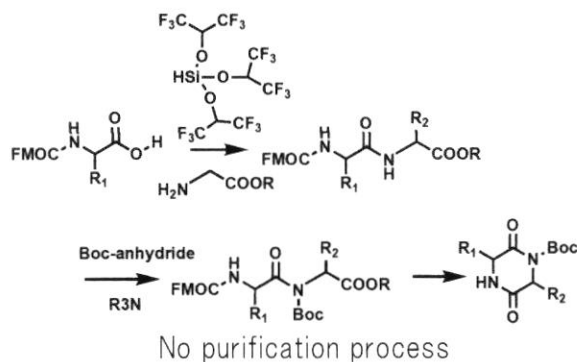
【ジケトピペラジンをを用いるペプチド合成】

対面に位置するアミドのうち一つをカルバメート系保護基で装備したジケトピペラジンを使用するとアミド基からアミド基への変換反応が可能となり、ほぼ定量的収量で対応するペプチドを合成することができる。これはジペプチドを最小単位とする伸長反応であり、長鎖ペプチド合成の工程数を大幅に省略することができる。このジケトピペラジン誘導体の調製法として以下の二つの手法を確立した。いずれも我々の研究で開発した手法の組み合わせであり、独自性が確保されている。

ジケトピペラジン合成-その1

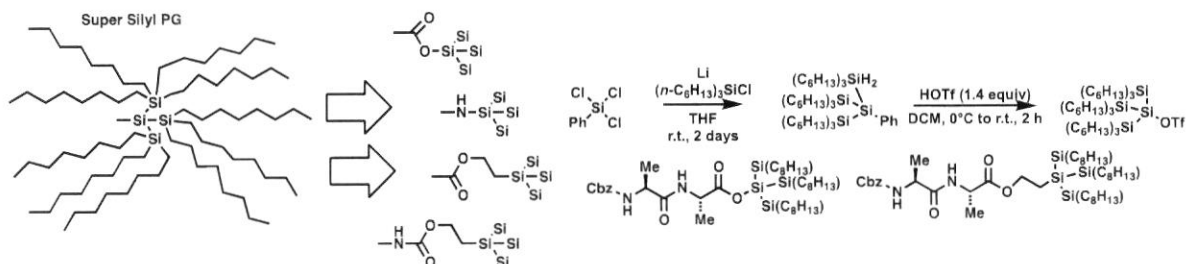


ジケトピペラジン合成-その2



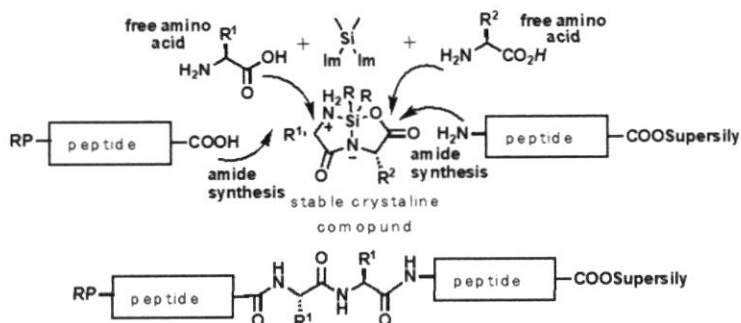
【スーパーシリルの脂溶性】

スーパーシリル基とは Si-Si を含む官能基であり、この特徴的な構造により多くの長鎖アルキル基をペプチド鎖に装着することが可能となる。複数のアルキル基が分子内に存在すると脂溶性の雲を作り、有機溶媒に不溶性を示す長鎖ペプチドでも問題なく有機溶剤に溶解することが可能となった。以下に我々の開発したスーパーシリル TAG の構造およびその調製法を示す。



【カップリング反応】

両末端で実施する伸長反応は、下図のようなシリコンを含むシラサイクリックジペプチドを使用することで開環に伴うペプチド鎖の導入反応が高収率で進行する。この両末端伸長反応はワンポットで実施可能であるため長鎖ペプチド合成の効率を大きく改善するもの言える。



## (6) 本研究の考察

「(4) 本研究の概要」および「(5) 本研究の内容及び成果」で記したように我々の開発した三つの手法は従来の合成手法の土台から変わる全く新しい形式の合成であり、破壊的イノベーションに相当すると考えられる。

もちろん、本格的に本手法が破壊的イノベーションとして現行法と置き換わるためには g-ラボ、k-ラボ、t-ラボでの耐久性を確認できる施設や機器が準備可能で、また効率化を図る自動化合成の設計が可能な多くの異分野の力が必要となる。我々は本研究について、特にジケトピペラジン誘導体を使用するペプチド合成は、この異分野とのコラボレーションが成立する段階まで成し遂げたものと考えている。ジケトピペラジン誘導体合成は複数の合成ルートを開発しており、今後実用化に向けていずれの手法が好ましいかニーズに合わせた提案ができる準備は整えている。

また、現在のところ斬新な活性ペプチドは生物学者などによって多くその構造が公表されているが、製薬会社にとって、その合成は一種の投資であり、トライアンドエラーを繰り返す経済的余裕がない。そのため私は確からしい背景を有する化合物に限定して合成されているように感じている。しかし、最適なペプチドを産出し、世の中に提供するためにはより一般性あるペプチド合成手法を提案する必要がある。そうでなければ、ペプチド医薬品は今以上に世界的に広く発展することは難しいだろう。その点、我々の手法は一般性に長けており、状況はすっかり変わるものと考えている。

従来の有機合成はいわば《How to make》に対する答えであった。これは既にある化合物をより効率よく合成するにはどのような試薬を使い、どのような経路をたどることが最適なのかを模索する作業である。この作業により今日の製薬分野は大きく成長してきたと言っても過言ではない。一方で、今後は《What to make》の答えを有機化学が出すことが望まれてくると考えている。特にペプチド医薬品はアミノ酸の配列や長さによってその生理活性機能は大きく変化する。20 種類の天然アミノ酸、さらに活性官能基を有するあらゆる非天然アミノ酸から成る無限の組み合わせの中から最適なペプチドを見つけ出す。この提案を実現するためには一般性あるペプチド合成手法の確立、自動化されたラボオートメーションの開発、活性測定を含むライブラリー化が必要と考えている。この研究にてこの提案の実現に向けた一歩目を確立することができた。

(7)共同研究者(所属機関名、役職、氏名)

所属機関名:中部大学 ペプチド研究センター  
役職:特任准教授  
氏名:服部 倫弘

(8)本研究の成果の公表先

【学術論文】  
投稿準備中

[注]この報告書を当財団のホームページ等に掲載します。予めご了承ください。