

ペプチドの特定部位を狙って変換する

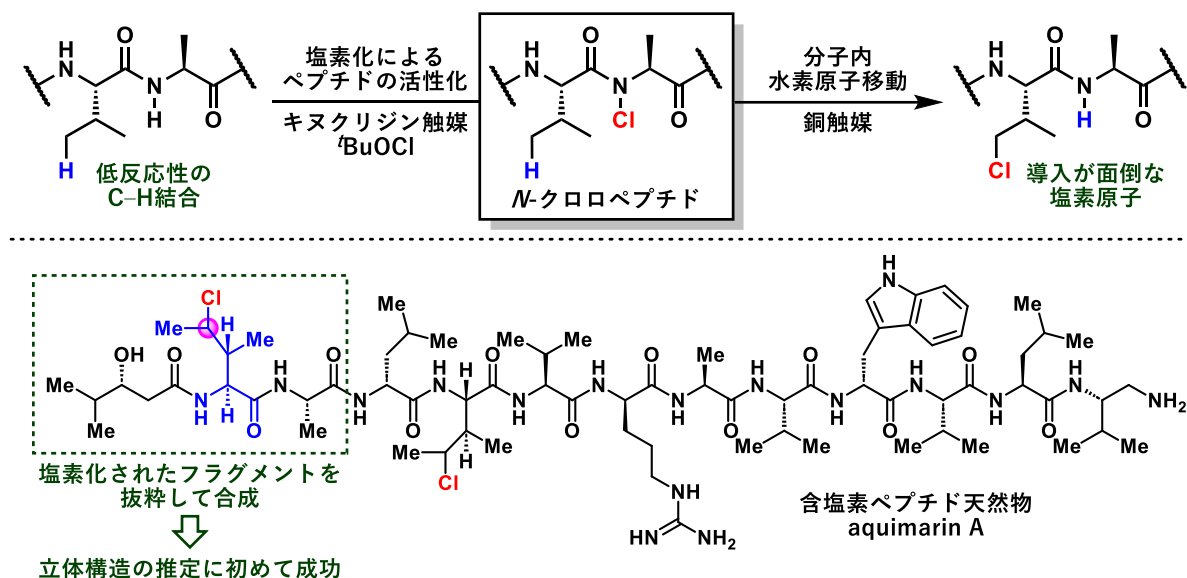
—*N*-クロロアミドを経由するペプチドの位置選択的 C-H 塩素化—

概要

京都大学大学院薬学研究科 南條毅 助教、松元彩香 同修士課程学生（当時）、大下拓真 同修士課程学生（当時）、竹本佳司 同教授らの研究グループは、ペプチド側鎖内の狙った C-H 結合を選択的に変換し、中分子医薬品^{*1}の合成に有用な非天然型ペプチドを迅速に供給する新しい手法を開発しました。

異常アミノ酸^{*2}や大環状骨格といった特殊構造を含有する非天然型中分子ペプチドは、従来の天然型ペプチドが抱える欠点を克服した新たな医薬品候補分子として近年大きな注目を集めています。しかし、それら非天然型ペプチドの調製には多くの場合、天然型の市販原料を用いた煩雑な合成が必要であり、その効率性の改善が急務でした。本研究ではペプチドを塩素化して活性化した後に、分子内で水素原子移動（HAT）反応を起こすことで、高効率でペプチド側鎖の狙った C-H 結合のみを良好に塩素化することに成功しました。これにより、ペプチド医薬品候補化合物の誘導体供給を強力に促進することが期待されます。

本成果は 2023 年 8 月 18 日に米国の国際学術誌「*Journal of the American Chemical Society*」にオンライン掲載されました。



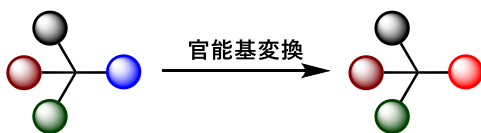
1. 背景

数個から十数個のアミノ酸で構成される「中分子ペプチド」は、従来の低分子医薬品と抗体医薬に次ぐ第三の医薬品候補として近年注目を集めています。元々ペプチドは我々の体内でも作られ、ホルモン作用や神経伝達作用等の様々な機能を発揮していますが、医薬品として投与する場合にはその安定性が問題となっていました。一方、異常アミノ酸や大環状骨格といった特殊構造を導入することで、従来の天然型ペプチドで問題となっていた低い生体内安定性や細胞膜透過性も改善されることが近年明らかとなり、低分子医薬品ではタフターゲット^{*3}とされていたタンパク質も標的として狙える新しい薬剤分子として大いに期待されています。化学合成はそれら薬剤候補分子の供給法として最も基本的なアプローチですが、特殊構造が導入された非天然型ペプチドを調製するには、天然型の市販原料を用いた煩雑な多段階合成が必要となることが多く、その効率性の改善が急務でした。

2. 研究手法・成果

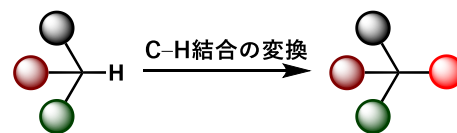
本研究では簡便な非天然型ペプチド供給法を実現すべく、既に手元にある親ペプチド化合物を原料として利用できる炭素-水素 (C-H) 結合変換法の開発を目指しました。C-H 結合の変換反応は官能基変換を中心とした煩雑で多工程を要する従来の合成経路を刷新できるアプローチとしてこの 20 年程で急速に発展し、その中でも分子の水素原子を引き抜く水素原子移動 (HAT) 反応を利用したラジカル機構の分子変換が、複雑な分子にも利用し得る手法として最近精力的に研究されています。しかし、ペプチド側鎖の C-H 結合は分子自体の電子効果や嵩高さといった要因から HAT 反応に対して反応性が低いことが知られており、様々なペプチド残基の C-H 結合の変換に対応できる手法は皆無でした。

従来の官能基変換によるアプローチ



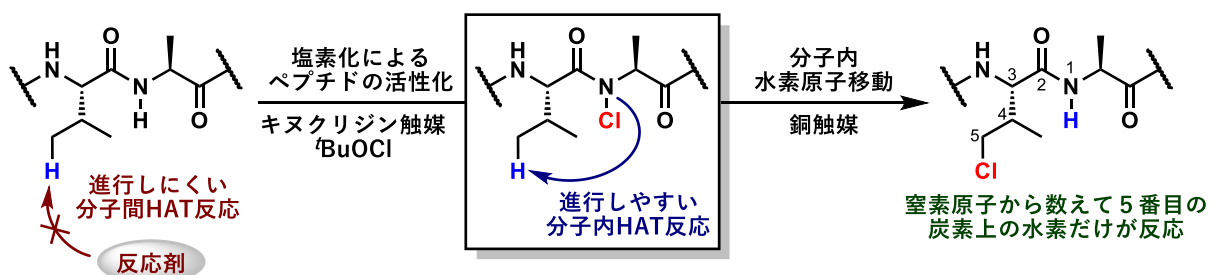
- ✓信頼性が高く、反応の制御も容易
- ✗しばしば合成に多工程を要し、経路が煩雑
- ✗出発原料が複雑になりやすい。

C-H結合の直接的変換による官能基の導入

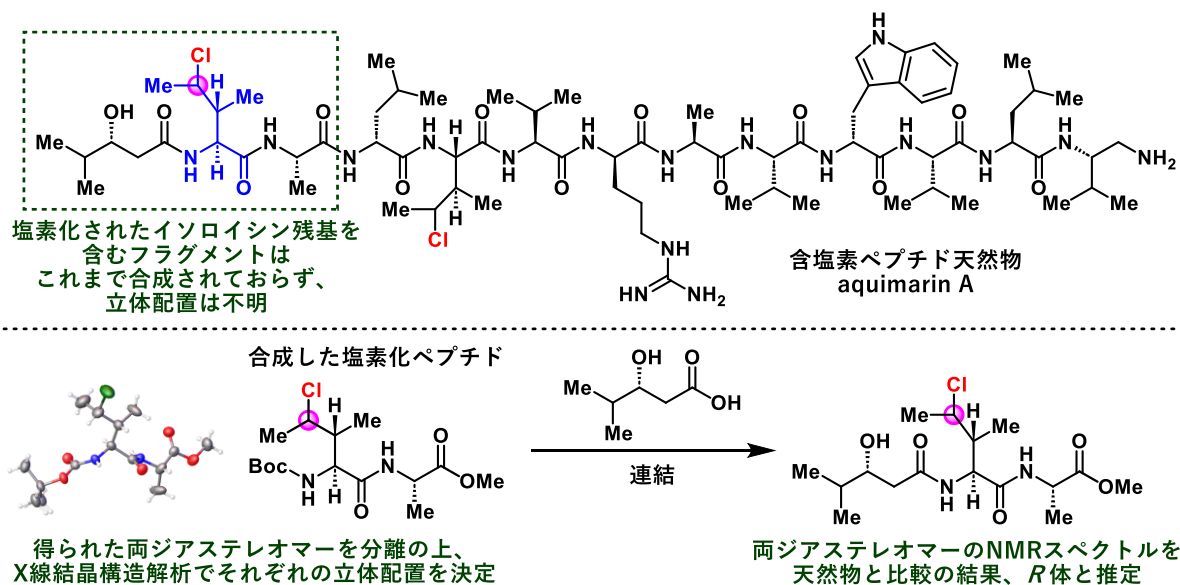


- ✓有機分子に多く含まれるC-H結合を直接変換できる
- ✗C-H結合は強固で切断するには強力な反応試薬が必要
- ✗分子間反応では反応位置の制御 (予測) が難しい

そこで本研究グループはペプチドを一旦塩素化して活性化する「*N*-クロロペプチド法」を新たなアプローチとして提案しました。従来の HAT 反応では、試薬・触媒由来の反応活性種がペプチドの反応箇所にわざわざ接近・衝突する必要がある分子間反応でしたが、塩素化されたペプチドを起点として分子内で HAT 反応を起こすことで、短時間・高収率でペプチド側鎖の狙った C-H 結合のみを良好に塩素化することに成功しました。なお、以前は活性化段階のペプチドの塩素化自体が容易ではありませんでしたが、本研究グループでは前報でペプチドを塩素化できる高活性な触媒反応条件も発見しており、その知見も活かすことで様々なペプチドに適用できる信頼性の高い分子変換として実現できました。



得られた塩素を含有するペプチドはさらなる特殊構造の導入の足掛かりにもなり、本論文では大環状ペプチドを含む様々な非天然型ペプチドの合成に利用できることを実証しました。さらに本法を応用することで、生物活性天然物 Aquimarin A に含まれる塩素化されたイソロイシンを含む N 末端ペプチドフラグメントの合成にも成功しました。塩素化されたイソロイシンを含むペプチドはいくつか天然から単離されていますが、合成が煩雑なため、そのフラグメントは誰も合成しておらず、塩素化された部位の立体構造すら決まっていませんでした。今回合成した塩素化ペプチドフラグメントの X 線結晶構造解析も駆使して立体構造の推定にも成功し、天然物もしくはその部分構造を実際に化学合成する重要性も改めて示されたと考えています。



3. 波及効果、今後の予定

今回開発した手法を用いることで、入手容易な市販原料から側鎖に特殊構造を有するペプチドを迅速に供給できるようになります。また、既に手元にある親ペプチド化合物を原料に非天然型ペプチドへ変換することも容易で、ペプチド創薬研究で必要となる医薬品候補化合物の類縁体合成を強力に促進すると期待しています。今後はより長いペプチド鎖への応用や塩素以外の元素導入といった適用範囲の拡大を図り、実際のペプチド創薬の現場で広く利用してもらえる使い勝手の良い方法論として確立したいと考えています。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は日本学術振興会 科研費 基盤研究 B [22H02743、代表：南條毅]、日本医療研究開発機構 生命科学・創薬研究支援基盤事業 (BINDS) [JP22ama121042、代表：竹本佳司]、武田科学振興財団、アステラス病態代謝研究会、中外創薬科学財団、上原記念生命科学財団の研究助成の支援を受けて実施されました。

<用語解説>

*1 中分子医薬品：分子量の小さい低分子薬と抗体医薬などの高分子薬の中間に位置づけられる医薬品。明確な定義は無いが、分子量 500~2000 程度の分子を指すことが多い。現状ペプチドや糖、核酸がその主役で、従来の低分子薬や抗体医薬の利点を併せ持つ次世代の医薬品として精力的に開発研究が進められている。

*2 異常アミノ酸：タンパク質を構成する 20 種類以外のアミノ酸。異常アミノ酸もしくはそれを含有す

るペプチドは顕著な生理活性を示すことが多い。

*3 タフターゲット：医薬品分子の多くは疾患の標的タンパク質に結合することで薬効を発揮するが、その関係は一般に医薬品分子（鍵）が標的タンパク質のポケット（鍵穴）に入り込む「鍵と鍵穴モデル」で説明される。その「鍵穴」を明確に持たないタンパク質に対しては低分子薬の設計が難しいため、そのようなタンパク質のことをタフターゲットと呼ぶ。一方で、中分子薬は低分子薬と比べて、標的タンパク質に対して広い面積を接触面積として確保できるため、ポケットの無いタフターゲットに対してもアプローチできるとされている。

<研究者のコメント>

私たちは反応の足掛かりに乏しい「のっぺらぼう」のようなペプチドを化学修飾するための戦略として、ペプチド結合を塩素化して活性化する新しいアイデアを考案しました。当初はそれをどのように実際使ってもらえそうな手法に仕上げるかということで頭を悩ませていましたが、学生さん達の粘り強い検討もあって、既存法でも極めて難しいペプチド内の狙った C-H 結合を綺麗に変換できる手法の実現につながりました（南條毅）。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Synthesis of Chlorinated Oligopeptides via γ - and δ -Selective Hydrogen Atom Transfer Enabled by the *N*-Chloropeptide Strategy

(*N*-クロロペプチド法による γ 位、 δ 位選択的水素原子移動を介する塩素化オリゴペプチドの合成)

著者：南條毅、松元彩香、大下拓真、竹本佳司

掲載誌：Journal of the American Chemical Society DOI : 10.1021/jacs.3c06931