



革新的反応技術の創出 3

電子移動制御による連続脱水縮合反応

医薬原料としてのペプチド大量合成の未来を拓く

千葉一裕 Kazuhiro CHIBA

多段階反応からなる化学品製造では、各段階で用いる試薬・溶媒・エネルギー、そして発生する廃棄物を極限まで減らすことがサステナブル社会を支える根幹技術として重視される。このような背景の中、電気化学的 TAG-LPPS により、縮合剤フリー/リサイクル型の実装、有害有機溶媒不使用のグリーン溶媒二相系、ワンポット連続処理による自動化・省エネルギーを同時に満たす次世代ペプチド合成プラットフォームへの道を拓いた。環境負荷を大幅に低減しつつ化学産業の生産性を飛躍させる鍵技術としての発展に期待する。

脱水縮合反応の重要性と課題

多段階の化学反応を要する化学物質生産において、反応ごとの分離精製に関する工数のほか、試薬や溶媒、廃棄物の総量を極限まで削減することは、持続可能な社会構築の基盤となる重要な技術として位置づけられる。その中でもペプチド合成に必須となるアミド結合形成は最も重要性の高いものの1つであり、すでに上市されている糖尿病・肥満治療薬として知られるセマグルチドなど、分子量数百～数千程度の中分子ペプチドの大規模生産への必要性が高まっている。

現在、アミド結合形成を数十回繰り返す化学反応生産プロセスでは、アミド結合1つ当たり1分子以上の縮合剤を消費し、同時にその分解物が発生している。さらに分離精製等に供する大量の溶媒を含めると、10～50 残基のアミノ酸からなるペプチドを1g 製造する工程において、3～15 kg (3,000～15,000 倍) の廃棄物を出しているのが現状と言われている。また、反応ごとの試薬の投入や分離、精製などにかかる工数も大きい。これらの合成には、汎用性の高い固相ペプチド合成法 (SPPS) の改良を含め、より優れた方法の開発

が求められている。その一方で縮合剤の安全性の確保、工程長大化への新たな対応の必要性など多くの課題が残されている¹⁾。

ペプチド合成に求められる革新

筆者らは20年以上前から新たな概念に基づくペプチド連続合成法の研究に取り組んできた^{2,3)}。この方法は、極性の異なる2種類以上の有機溶媒からなる混合溶液系の中で、嵩高い疎水基を導入したベンジルアルコール誘導体 (疎水性 TAG) 上にアミノ酸を逐次結合させるものであり、液相ペプチド合成法 (LPPS) の1つとして位置づけられる。この反応系の特徴は、ペプチド鎖の伸長に必要となるアミノ酸誘導体や縮合剤は極性が高いものが多い一方で、疎水性 TAG に結合したペプチド合成中間体は分子全体としては比較的極性が低いことに加え、末端に嵩高い疎水基を有するため両親媒性を示し、逆ミセルなどを形成しやすい (図1)。

これにより、アミノ酸残基の配列によっては物性的に取り扱いが困難になる合成中間体が発生した場合で

ちば・かずひろ

東京農工大学 学長

〔経歴〕1983年東京農工大学大学院農芸化学専攻修了。90年より同大学助手、助教授等を経て、2004年より教授。この間1999～2000年に米国 Washington Univ. in St. Louis に留学。20年より現職。2022年 Manuel M. Baizer 賞。農学博士。〔専門〕生物有機化学、有機電子移動化学。〔趣味〕ガーデニング、読書。

E-mail: chiba@cc.tuat.ac.jp

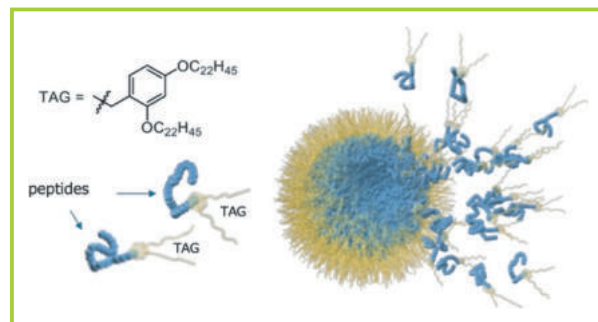


図1 疎水性 TAG を用いたペプチド合成の概念図

も効果的に分散または溶解し、貧溶媒添加による生成物の選択的な沈殿・回収も簡便な操作で実現できる。さらに、二相に分離した反応溶液を用いた場合には、疎水性 TAG に結合したペプチドはシクロヘキサンなどの低極性溶液相に集合体を形成して分散する。一方、アセトニトリルなどを主溶媒とするもう一方の高極性溶液相には伸長反応に用いるアミノ酸誘導体や縮合剤などが溶解し、反応完結後には極性溶液相を新たなアミノ酸等とともに入れ替えるだけで、次の脱水縮合反応を実施することができる。この方法は、操作が簡便であると同時に試薬や溶媒の使用量を大きく削減できること、反応スケールを拡大してもほぼ同一の条件で反応/分離を繰り返すことができるため、既存の溶液反応設備等を活用できるなどのメリットがある。しかし、1回の脱水縮合反応当たりの縮合剤の使用量は少過剰量で済むとはいえ、アミノ酸残基数が大きくなれば総量としての縮合剤の投入量は増大する。このことは、広く脱水縮合反応が抱える課題点でもあり、次世代型のグリーンプロセスを目指す上でも非常に重要であると考え、従前の縮合剤を使わない新たな脱水縮合反応システムの構築は意義ある課題であると認識していた。

電子移動制御によるペプチド合成への挑戦

電気分解（電解）や光照射に伴う電子移動によって開始される化学反応は、有機化合物の分子内および分子間電子移動を精密に制御することによって、一般の化学法では達成困難なものを実現することができる重要な方法であり、電子の移動を精密かつ積極的に制御する新たな生産プロセスとしての期待も飛躍的に広がっている。この電子移動を基軸とした活性化プロセスにより連続脱水縮合反応に適合できれば、アミド結合形成反応を電解あるいは光照射によって誘起される電子移動が主たる原動力となり、従前技術では大きな障害となっていたアトムエコノミーが飛躍的に向上する革新的化学反応システムになり得ると考えた。

今回、CRESTにおいて具体的に取り組んだことは、従前から開発を進めてきた疎水性 TAG を用いた LPPS 法に、電極電子移動に基づくアミド結合形成反応を採用入れた新たなペプチド連続合成法である。この方法

は、基本的には陽極酸化によって活性化したトリアリールホスフィン（特にトリ(4-メトキシフェニル)ホスフィン）を縮合剤として用いることにより、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル（Fmoc）基で保護されたアミノ酸のカルボキシル基を活性化し、TAG 上に結合したペプチドの N 末端のアミノ基と縮合させるものである。ここで重視した点は、アミド結合形成反応の効率だけではなく、反応システム全体としての優位性である。そのためには、電解+縮合/洗浄/脱保護/洗浄という基本プロセスをできる限り一容器内で連続的に実施できることが望ましい。また、将来的な自動化や大容量容器内での製造プロセスへの発展を考えたときには、全工程が溶液プロセスとして実施可能である必要がある。そこで、二相系の下層は支持電解質を含むアセトニトリル相とし、ここに陽陰両電極を隔膜なしで挿入するとともに、Fmoc アミノ酸等を溶解した。そして上層のシクロヘキサン相には疎水性 TAG に結合した N-末端フリーのペプチドがほぼ完全に分配させるよう設計した。このシステムを基本に電解/縮合を行い、それに続く洗浄、脱保護等、新たな Fmoc アミノ酸の投入等、一連の操作を一容器内で実施することに成功した⁴⁾。

このシステムを用い、上市されているいくつかのペプチド医薬原料を従来の縮合剤を使うことなく高純度品として合成し、その有用性を示すことができた。本法の特徴の1つは従来の縮合剤を使用せず、トリフェニルホスフィンの電解で生成した活性種をカップリング試薬として使用することで発生する廃棄物を削減するとともに、副生成物であるトリフェニルホスフィンオキシド ($\text{Ph}_3\text{P}=\text{O}$) の選択的な回収、再利用が可能という点で廃棄物削減の道を拓いた。その一方で、アミノ酸の種類によっては反応効率が低いという課題が存在していた。特に生物活性ペプチドとして重要な役割を果たすことが多いプロリン残基の導入においては収率が低かった。

そこで新たにホスフィンの電子的性質に着目し、最適な誘導体を探索した結果、電子豊富なトリアリールホスフィン（特にトリ(4-メトキシフェニル)ホスフィン）が、従来のトリフェニルホスフィンよりも高い収率を示し、プロリンなど立体障害のあるアミノ酸を含むペプチド合成に非常に有効であることを確認し

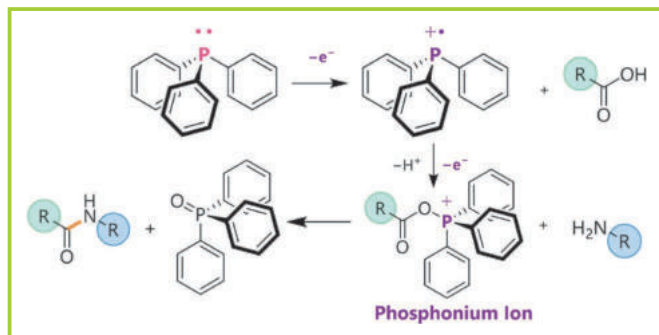


図2 電解プロセスによるペプチド合成反応

た。この改良された条件を用いて、ラパスチネルやブラジキニン等、プロリン残基を有する複雑なペプチドの合成にも成功した⁵⁾。これについて宮本和範教授（慶應義塾大学）、内山真伸教授（東京大学）らの計算化学に基づく解析結果から、このトリアリールホスフィンカチオンラジカルとカルボン酸との間で形成されるホスホニウム型中間体（図2）の安定性が増し、このことが目的とするアミド結合形成に有利に働くものと示唆された。これは電気化学的ペプチド合成の効率を向上させるだけでなく、ホスフィン活性種を利用した反応設計における新たな知見を提供し、より複雑なペプチド医薬品の開発を促進する可能性を示すものである。

ペプチド合成のさらなる進化に向けて

取り扱いの困難さや有害性が指摘される有機溶媒（例：DMF, CH₂Cl₂ など）の使用を極力避け、環境に配慮した条件での反応開発を目指す中、二相溶液系を利用することで簡単な相分離による生成物や不要物、あるいは再利用も目的とする物質の回収が可能となる点で大きなメリットをもたらした。今回の電気化学的手法では、ペプチド結合形成が効率的に進行し、エピメリ化がほとんど発生しないことも確認された。また、従来の保護基を使用した市販のアミノ酸ビルディングブロックがそのまま利用可能である。このアプローチは、化学物質生産における環境負荷を軽減し、より持続可能なペプチド合成を実現する可能性を示している。

またCREST研究チームメンバーによる貢献により、さらに先進的かつ革新的な成果が上げられている。内山教授らは、酸化条件下での触媒的アミド結合形成

（脱水縮合）反応において、Ph₃Pを代替する触媒を探索し、Ph₃Sb=Oが非レドックス環境下にアミド結合形成反応に対して高い触媒活性があることを見いだした。さらに、芳香環上の置換基を工夫したAr₃Sb=Oは良好なペプチド結合形成触媒活性を有することを明らかにした。齊藤亜紀夫教授（東京農工大学）らは、超原子価ヨウ素の適度な酸化力を活用したペプチドカップリング法⁶⁾の開発過程で、ナイトレン前駆体として汎用されているイミノヨウダナがアルデヒドとスルホンアミドとの脱水縮合反応を触媒できることを明らかにしている⁷⁾。これは、超原子価ヨウ素が直接的に脱水縮合に関与するという、新しい可能性を切り拓いたものである。また、岡田洋平教授（東京農工大学）らにより、疎水性TAGを用いたペプチド合成の概念をさらに拡大し、従前の技術では合成中間体の物性の問題から断念せざるを得なかった多様な難合成ペプチド関連物質を、飛躍的に高い効率で製造する技術開発が精力的に進められている。

おわりに

ペプチド関連物質の合成は、高分子量ペプチド・ペプチドミメティクスへの適用拡大、電気化学プロセスのインラインモニタリングとAI最適化、ホスフィン/アンチモン/超原子価ヨウ素など多様な触媒体系の統合などにより、医薬原料のみならず機能性材料・診断薬領域へ応用が期待される。その基本となる脱水縮合反応の革新は、環境負荷を大幅に低減しつつ化学産業の生産性を飛躍させる鍵技術として、注目を集め続けるであろう。

- 1) A. Sharma, A. Kumar, B. G. Torre, F. Albericio, *Chem. Rev.* **2022**, 122, 13516.
- 2) K. Chiba, Y. Kono, S. Kim, K. Nishimoto, Y. Kitano, M. Tada, *Chem. Commun.* **2002**, 16, 1766.
- 3) Y. Okada, H. Suzuki, T. Nakae, S. Fujita, H. Abe, K. Nagano, T. Yamada, N. Ebata, S. Kim, K. Chiba, *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 320.
- 4) S. Nagahara, Y. Okada, Y. Kitano, K. Chiba, *Chem. Sci.* **2021**, 12, 12911.
- 5) S. Shinjo-Nagahara, Y. Okada, G. Hiratsuka, Y. Kitano, K. Chiba, *Chem. Eur. J.* **2024**, 30, e202402552.
- 6) D. Uehara, S. Adachi, A. Tsubouchi, Y. Okada, V. V. Zhdankin, A. Yoshimura, A. Saito, *Chem. Commun.* **2024**, 60, 956.
- 7) S. Sunagawa, Y. Tezuka, A. Tsubouchi, A. Yoshimura, A. Saito, *Org. Chem. Front.* **2024**, 11, 4716.