

2022年ノーベル賞を読み解く 化学賞 Part 1

クリックケミストリー

—分野を超え、新たな機能を創造し続けるケミストリー—

馬場良泰¹・北山 隆²

¹徳島大学研究支援・産官学連携センター・²近畿大学農学部生物機能科学科

今年のノーベル化学賞は、「クリックケミストリーと生体直交化学の開発 (for the development of click chemistry and bioorthogonal chemistry)」への貢献により Carolyn Bertozzi 博士, Morten Meldal 博士, K. Barry Sharpless 博士の3人に授与されることになった。なかでも Sharpless 博士は、2001年に野依良治博士, William S. Knowles 博士とともにノーベル化学賞を「触媒的不斉合成反応の開発」で受賞されており、史上5人目となる2度目のノーベル賞受賞(化学賞では2人目)の快挙となった。本稿では、おもに Sharpless 博士と Meldal 博士の功績にスポットを当て、その類まれなるコンセプトがどのように打ちだされたのか、また多大な恩恵を受けた一分野として、創薬分野におけるクリックケミストリーの貢献を紹介する。

クリックケミストリーの概念と目的

「クリックケミストリー」とは、2001年にアメリカ・スクリプス研究所の Sharpless 博士らの研究グループが提唱した概念であり、シートベルトのバックルを“click”して(日本語でわかりやすいなら「カチッと」)つなぎ合わせるように、非常に高い選択性(特異性)と効率性(アトムエコノミー)に加えて、簡便な操作でさまざまなビルディングブロックを連結できる合成反応の総称である(図1)。

Sharpless 博士らと Meldal 博士らが進めたクリックケミストリーと、Bertozzi 博士が開拓した生体直交化学がどのように興り、進展したのか、重要な出来事を図2にまとめた。

Sharpless 博士らが最初に発表した論文¹⁾ではクリックケミストリーを次の(a)～(g)のように定義している。

ばば・よしやす ● 徳島大学研究支援・産官学連携センター長、1994年九州大学大学院薬学研究科博士後期課程修了、<研究テーマ>産学連携、創薬化学、<趣味>山歩きと飲み歩き

きたやま・たかし ● 近畿大学農学部生物機能科学科教授、1990年京都大学大学院理学研究科修士課程修了、1998年博士(理学)(京都大学)、<研究テーマ>天然物の潜在的な反応性を利用した新規化合物や合成法の開発、<趣味>テニス、囲碁(最近はもっぱら観戦)

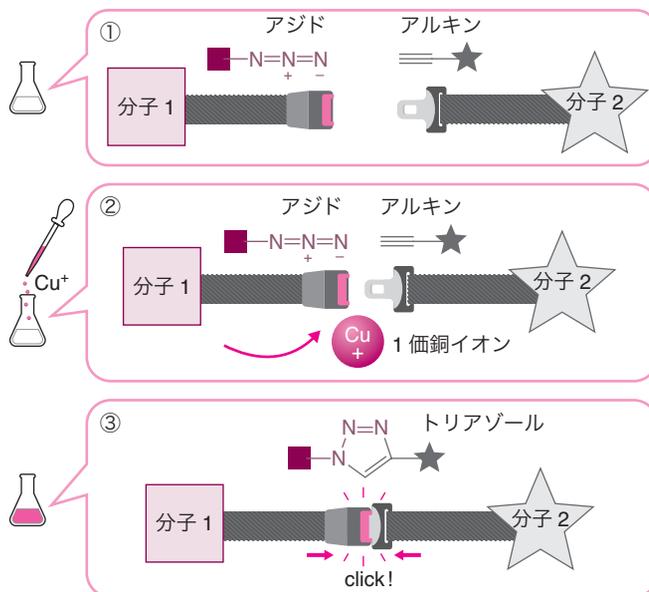


図1 クリックケミストリーの概念

①アジドとアルキンをもつ異なる分子が反応系中に存在する状態。②1価の銅イオン(Cu⁺)を添加すると、アジドとアルキンが反応する。③シートベルトを「カチッと」止めるようにアジドとアルキンがトリアゾールを生成して二つの分子ががつながる。ノーベル財団のイラストを参考に編集部で作成。

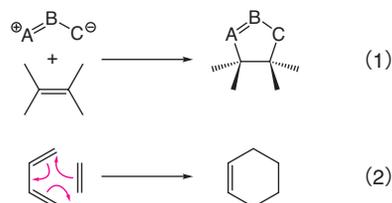
2001	Sharpless	クリックケミストリーの概念を提唱 (ノーベル化学賞受賞「触媒的不斉合成の開発」)
2002	Meldal Sharpless	代表的なクリック反応となる Cu-catalyzed azide alkyne cycloaddition (CuAAC) を報告
	Sharpless	生体分子のなかで行う <i>in situ</i> クリック ケミストリーを報告
2003	Bertozzi	生体直交型化学 (bioorthogonal chemistry) を提唱
2004	Bertozzi	Cu を使わないアジドとシクロオクチンとの歪み 促進型 [3+2] 環化付加反応 (SPAAC) を報告
2007	Bertozzi	ニフツ化シクロオクチン (DIFO) を用いる Cu フリーのクリックケミストリーを開発

図2 クリックケミストリーと生体直交化学の歴史

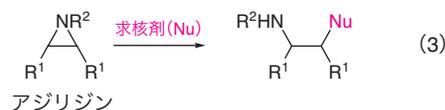
- a) モジュール(規格)型で適用範囲が広い反応
- b) 立体特異的な反応
- c) シンプルな反応条件(理想的には酸素と水に影響されない)
- d) 容易に入手できる出発物質と試薬
- e) 無溶媒か水など無害な溶媒、または容易に除去できる溶媒を使用
- f) 簡単に精製できる(必要に応じて結晶化や蒸留などの非クロマトグラフィー法で精製)
- g) 生成物は生理学的条件下で安定

上記の条件を満たす可能性のあるクリック反応として、通常 20 kcal mol⁻¹ を超える高い熱力学的駆動力が必要であり、熱力学的に有利な発熱反応によって安定な生成物を与えることがポイントとなる。このような条件を満たす反応基質として、多重結合や歪みをもった化合物、分極したヘテロ原子をもつ化合物があげられ、次の反応例が示されている。

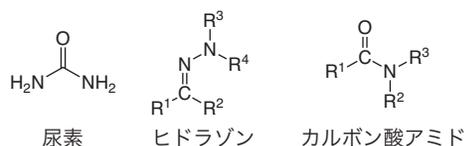
不飽和型の付加環化反応、とくに 1,3-双極子付加環化反応(式 1) だけでなく、Diels-Alder 反応(式 2) とその類似反応も含む。



求核置換化学、とくにエポキシド、アジリジン、アジリジニウムイオン、エプスルホニウムイオンなどの歪んだ複素環式求電子剤の開環反応(式 3)。



尿素、チオ尿素、芳香族複素環、オキシムエーテル、ヒドラゾン、およびアミドの形成反応など「非アルドール型」のカルボニル化学。

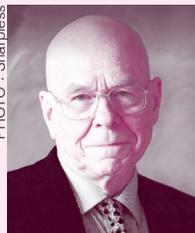


炭素-炭素多重結合への付加反応、とくにエポキシ化(式 4)、ジヒドロキシル化、アジリジン化、およびハロゲン化、スルフェニル付加などの酸化的型だけでなく、Nu-H 反応剤を用いる Michael 付加反応(式 5)も含む。

受賞者略歴 (『化学』編集部調べ、Bertozzi 博士のプロフィールは 20 頁に掲載)

Karl Barry Sharpless (カール・バリー・シャープレス)

PHOTO: Sharpless



スクリプス研究所化学系教授

1941 年アメリカ・フィラデルフィア生まれ。1963 年にダートマス大学の学士号を取得。1968 年スタンフォード大学の E. E. van Tamelen のもとで博士号を取得。1969 年ハーバード大学に博士研究員として K. Bloch 研で研究に従事し、1970 年マサチューセッツ工科大学 (MIT) 助手、1977 年スタンフォード大学教授、1980 年、再び MIT 教授を務め、1990 年より現職。2001 年「触媒的不斉合成反応の開発」により野依良治、W. S. Knowles とともにノーベル化学賞を受賞した。

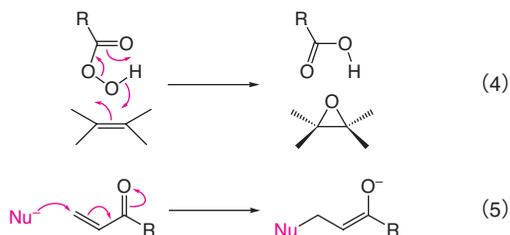
Morten Peter Meldal (モーテン・ピーター・メルダル)

コペンハーゲン大学教授



PHOTO: LarsKrabbe

1954 年デンマーク生まれ。1983 年デンマーク工科大学で博士号を取得後、デンマーク工科大学、コペンハーゲン大学、イギリス・ケンブリッジ大学で博士研究員として勤めたのち、1988 年カールスバーグ研究所有機合成グループのグループリーダーに着任。その後、2004 年カールスバーグ研究所有機合成グループ教授。2011 年にはコペンハーゲン大学ナノサイエンスセンターセンター長、2013 年からは Center for Evolutionary Chemical Biology センター長を務める。



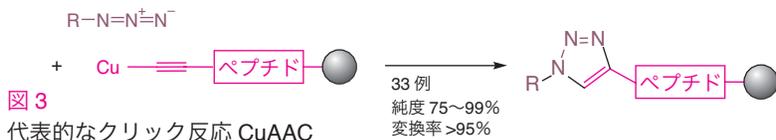
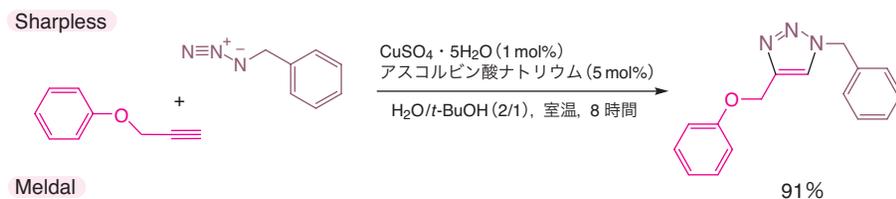
ここにあげられている反応例自体はすでに知られていたものばかりであるが、なぜ Sharpless 博士は新たに「クリックケミストリー」という概念を提示したのであろうか。当時の有機合成化学者は、複雑な天然物や医薬品をいかに高選択的かつエレガントな新規手法で全合成するかを競い合っていた。最初のクリックケミストリーの論文が発表された 2001 年は、奇しくも Sharpless 博士らが力を注いできた「触媒的不斉合成反応の開発」がノーベル化学賞を受賞した年であり、エナンチオ選択的な合成競争が頂点にあった。

一方、自然界に目を向ければ、ポリヌクレオチド、ポリペプチドおよび多糖類は、規格化(モジュール化)された数種類の単位分子(ヌクレオチド、アミノ酸、糖などビルディングブロック)の組合せによる結合で、多様な機能を獲得している。

「合成化学の目的は、新しい(複雑な)化合物を得ることではなく、有用な特性を生み出すこと」——これが Sharpless 博士の主張である。そのため、モジュール化されたビルディングブロックを簡単につなぎ合わせるができる「クリックケミストリー」が、有用な特性をもつ物質の発見を加速する、という考えを示した。複雑性を追求する合成化学から、簡便な合成反応を活用し、新たな機能性分子の創製を目指す宣言ともいえる。

Cu-Catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition (CuAAC) の開発

クリックケミストリーの概念が発表された翌 2002 年、



Sharpless 博士と Meldal 博士らは、Huisgen 型 1,3-付加環化反応 (18 頁の宇梶先生の記事に詳しい) に着目し、それぞれ独自に銅触媒を用いるアジドとアルキンとの環化付加反応 (Cu-catalyzed azide alkyne cycloaddition; CuAAC) を開発した (図 3)^{2,3)}。この反応は、室温下で高収率、高選択的に反応が進行し、クリックケミストリーの代表的な連結反応となった。これにより熟練の有機化学者の特権であった合成反応を誰もが使えるようになり、創薬、ケミカルバイオロジー、材料化学など幅広い分野で活用される発端となった (図 3)。

創薬研究への展開

クリックケミストリーは、まず創薬研究とケミカルバイオロジーの分野で広まった。創薬研究では、あらかじめ準備した多種類の化合物群(化合物ライブラリー)をスクリーニングし、そのなかから基本骨格となるリード化合物を選定して構造活性相関を進める。その際、化学者は構造多様性に富んだ化合物を効率的に合成する必要があるため、基質一般性があり高収率かつ簡便な合成法が望ましい。クリックケミストリーの特長を利用し、多種多様な化合物群を合成・評価し、活性化化合物を迅速に見いだした例を紹介する。

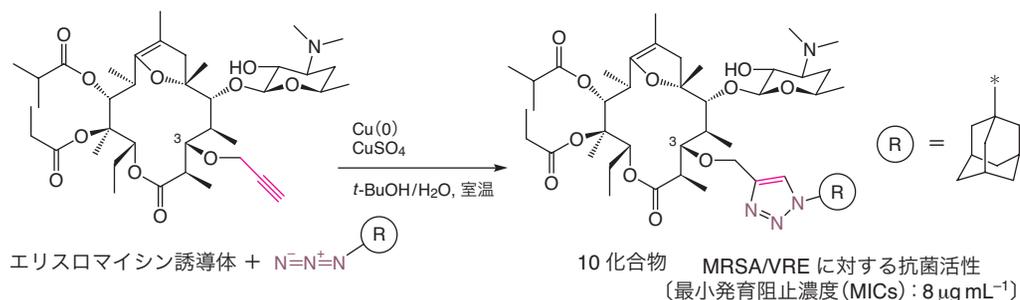
クリックケミストリーの有用性にいち早く着目し、創薬研究に展開したのは、北里大学の 大村博士 (2015 年ノーベル生理学・医学賞)、砂塚博士らのグループで、2002 年には Sharpless 博士と共同で研究を進めていた。エリスロマイシン A をリード化合物として、クリックケミストリーを利用しさまざまな誘導体へと合成展開した結果、薬物耐性をもつ MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌) や VRE (バンコマイシン耐性腸球菌) に対して、強い抗菌活性を示す新規化合物を見いだしている⁴⁾。

エリスロマイシンのような多くの反応性官能基を含む複雑な天然物において、クリックケミストリーを適用することで保護基を用いずとも選択的反応を示し、誘導体化ができたことに注目したい (図 4)。

in situ クリックケミストリーの誕生

Sharpless 博士らは、2002 年に *in situ* クリックケミストリーの最初の論文を発表した⁵⁾。“*in situ*”とは「細胞や酵素など生体内で」という意味で、創薬標的となる生体分子 (タ

図4 クリックケミストリーによるエリスロマイシン誘導体の合成と抗菌活性



ンパク質などが鑄型 (反応容器) となり, そのなかで生体分子に親和性をもつフラグメント分子どうしのクリック反応を進行させ, より強い親和活性をもつ新規化合物を得ようとするものである. 彼らは神経伝達物質の加水分解に関する酵素でアルツハイマー型認知症治療薬にも使われるアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害剤の創製に, *in situ* クリックケミストリーを用いた (図5). まず既存の AChE 阻害剤で活性中心に結合するタクリンとその近傍に結合するプロピジウムに対し, さまざまな長さのメチレンを介しそれぞれに反応基 (アジドとアルキン) を導入したフラグメント分子 [タクリン ($m = 1 \sim 3$) アジドとプロピジウム ($n = 5 \sim 8$) アルキン] を AChE 共存下, 室温で6日間インキュベーションした. この反応混合物を質量分析で解析し, タクリン (2)-プロピジウム (6)-トリアゾールのみが生成していることを見いだした. これはフラグメント分子がそれぞれ図5右図のような AChE がもつ内部が複雑なポケットに結合することでエントロピー的に有利になり, かつ最適な長さのメチレン鎖を介した組合

せのみが結合したと考えられる. この化合物は AChE に対し非常に強い結合親和性 ($K_d = 99 \text{ fM}$; 値が小さいほど AChE のポケットにしっかりとハマって, ほかの物質が入ってくるのを阻害する) を示し, *in situ* クリックケミストリーが実際の生物活性化合物の探索に有効な手法であることを証明した.

ケミカルバイオロジーへの展開

ケミカルバイオロジーにおけるクリックケミストリーの活用は, 今回共同受賞した Bertozzi 博士が「生体直交化学」として大きく開花させた. 別稿 (20, 24 頁) でその詳細が紹介されているので, ここでは新たなクリック反応の紹介に留めておく.

Bertozzi 博士は 2000 年に Staudinger 反応を改良した Staudinger-Bertozzi ライゲーションでアジド糖を発現させた細胞に蛍光試薬を結合させることなどに成功し, 細胞表面にある糖鎖の機能解明をケミカルバイオロジー技術を用いて進めていた⁶⁾. 反応化学種と標的の生体分子は多様な官能

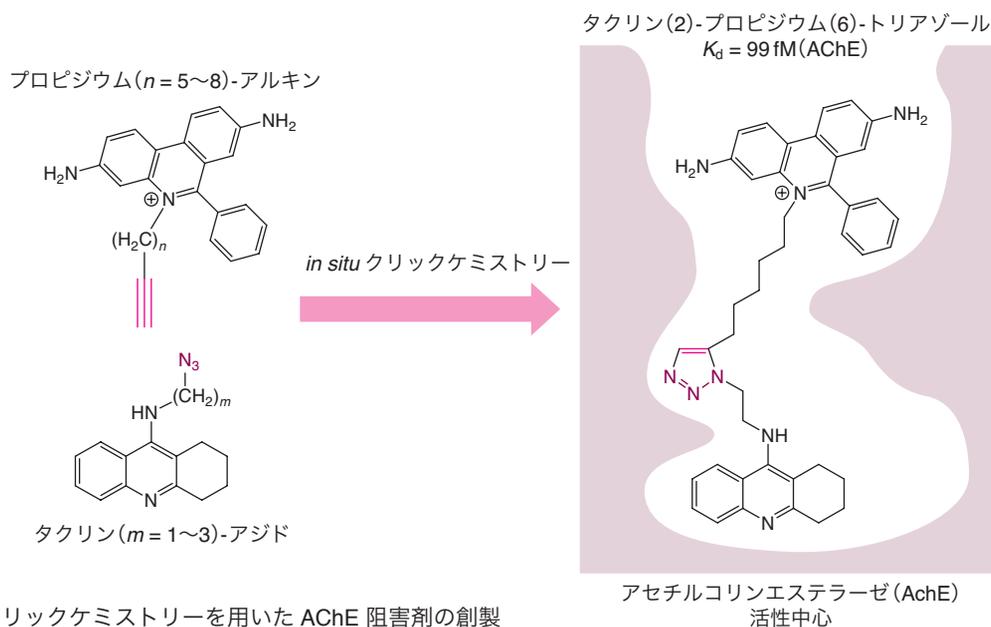


図5 *In situ* クリックケミストリーを用いた AChE 阻害剤の創製

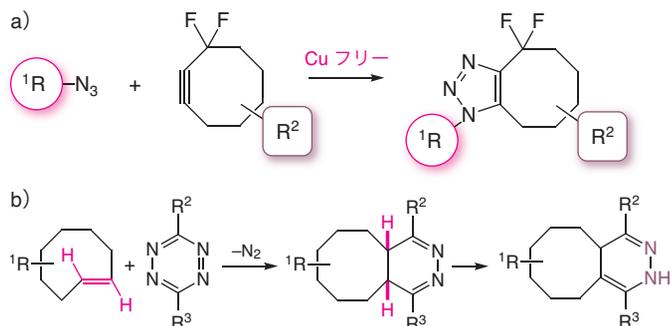


図6 ケミカルバイオロジーで発展したクリック反応

a) DIFOを用いるCuフリーのクリック反応, b) テトラジンライゲーション.

基を含む生理的条件下(官能基の海のなか)で、迅速かつ互いに高選択的に反応することが要求される⁷⁾。クリックケミストリーの代表的反応であるCuAACでは、用いるCu(I)触媒に細胞毒性があるため、*in vivo*への適用が困難であった。2004年にBertozzi博士は、無触媒でも生理的条件下で反応が進行する高歪みシクロオクチンとアジドとの1,3-双極子環状付加反応(strain-promoted azide-alkyne cycloaddition; SPAAC)を開発し、細胞表面にアジ化誘導体糖タンパク質を発現したヒトJurkat細胞に対し、生理的条件下でビオチン化シクロオクチンを結合することに成功した⁸⁾。さらに、電子不足型高歪みアルキン(二フッ化シクロオクチン:DIFO)を用いることでより反応の効率性を上げ、Cuフリーのクリックケミストリーとして、多くの生体直交型反応に汎用されるようになった⁹⁾(図6a)。その後、Devaraj, Foxらによりテトラジンライゲーション(図6b)が開発され、多くの研究者により新たなクリック反応が報告されている(図7)¹⁰⁾。

課題と今後の展望

クリックケミストリーとその応用としての生体直交型反応

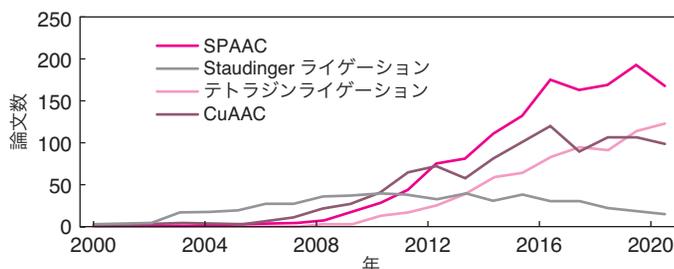


図7 クリックケミストリーと生体直交型反応に関する論文数(2000~2020年)
文献10から引用し、編集部で改変して掲載。

は、誕生から20年を経て、創薬、生体イメージング、タンパク質修飾、DNAマッピングそして機能性材料など幅広い分野で活用され、まさに合成化学と機能性科学をつなぐ役割を担っている。

しかしながら、冒頭で紹介したSharpless博士がクリックケミストリーで目指している「合成化学の目的は、新しい(複雑な)化合物を得ることではなく、有用な特性を生み出すこと」を達成したとはいえないだろう。数種類のアミノ酸とヌクレオチドが、それぞれ単一の結合でタンパク質や核酸を構成し多様な機能を獲得していることを思うと、自然の叡智には到底及んでいない。将来、新たなクリック反応の開発を含め、クリックケミストリーの活用から生まれた発見が再びノーベル賞に輝くことを期待している。

クリックケミストリーが誕生した当時のSharpless研究室

筆者らが在籍していた2002年当時、Sharpless研究室には世界各国から集まった十数人の研究者がいたが、2001年のノーベル化学賞受賞後でありながら、スクリプス研究所のほかの研究室と比べて小所帯であった。筆者らはクリックケミストリーの応用面を検討しながら、ひそかにアジド-アルキンに匹敵する新たなクリック反応を探していたが、すぐにCu-アジド-アルキンの組合せのすごさに驚愕した。そのころSharpless研究室に不斉合成研究を目的として意気揚々と乗り込んでいたポスドクにも、クリックケミストリーがテーマとして与えられ、「よく理解できない概念なのに、どのように発展させればいいんだろうか?」などと談話室で議論していたのを、傍らで聞いていたことが懐かしい。そういう彼らこそ、クリックケミストリーの発展におおいに貢献していたことを彼らの名誉のために記載しておく。このようにクリックケミストリーの研究が始まった当初は、Sharpless研であってもこのケミストリーの本質を理解することが難しかったのである。

Sharpless教授はノーベル賞受賞後で不在が多かったが、完全な夜型で、夕方オフィスに出勤し朝方帰ったり、そのまま72時間オフィスで仕事しつづけた(食事は大好きなsushiとダイエットコーク)と、当時62歳にして超人的な生活を送っていた。深夜1時からディスカッションが始まることもあり、少々閉口することもあったが、手書きのメモや文献、さらに化合物サンプルが足の踏み場もなく散乱するオフィスで、Sharpless教授は思いついたアイデアを次つぎと



筆者(北山)と Sharpless 教授(2005年再訪時)



筆者(馬場)と Sharpless 教授(2002年留学時)

黄色のノートパッドに書き込みながら「こんな反応が起こったらすごいだろ」と子どものように爛々と目を輝かせながら話しかけてくる。その姿はノーベル賞科学者というより、純粹に化学が好きでたまらない一研究者であり、今回の2度目のノーベル賞受賞も必然に思えてならない。

参考文献

1) H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, 2004 (2001). 2) V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 2596 (2002). 3) C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.*, **67**, 3057 (2002); 総説: M.

Meldal, C. W. Tornøe, *Chem. Rev.*, **108**, 2952 (2008). 4) A. Sugawara, T. Sunazuka, T. Hirose, K. Nagai, Y. Yamaguchi, H. Hanaki, K. B. Sharpless, S. Omura, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**, 6340 (2007). 5) W. G. Lewis, L. G. Green, F. Grynszpan, Z. Radić, P. R. Carlier, P. Taylor, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 1053 (2002); R. Manetsch, A. Krasinski, Z. Radić, J. Raushel, P. Taylor, K. B. Sharpless, H. C. Korb, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 12809 (2004). 6) E. Saxon, C. R. Bertozzi, *Science*, **287**, 2007 (2000). 7) H. C. Hang, C. Yu, D. L. Kato, C. R. Bertozzi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 14846 (2003); E. M. Sletten, C. R. Bertozzi, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **48**, 6974 (2009). 8) N. J. Agard, J. A. Prescher, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 15046 (2004). 9) J. M. Baskin, J. A. Prescher, S. T. Laughlin, C. R. Bertozzi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 16793 (2007). 10) 総説: R. E. Bird, S. A. Lemmel, X. Yu, Q. A. Zhou, *Bioconjugate Chem.*, **32**, 2457 (2021).