

メルク Novabiochem® News

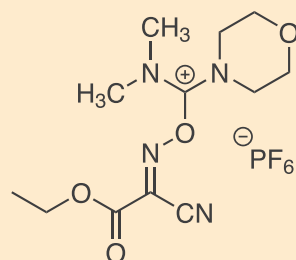
No.6

圧倒的なコストパフォーマンス！ メルクの縮合剤 / 縮合反応用添加剤 COMU / Oxyma Pure

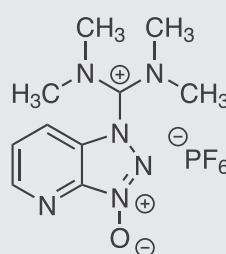
HATU/HOAt と同等の性能で、コストは約 7 割 / 9 割ダウン！

縮合剤 COMU (カルボジイミドとの併用が不要)

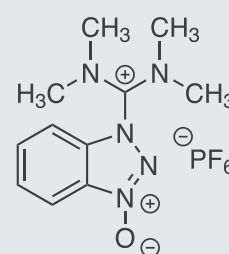
縮合剤	エピ化防止	立体障害克服	希望販売価格 (円 / 25 g)	分子量	溶解後の安定性	最大濃度 (mol / L in DMF)
COMU	◎	◎	20,000	428.1	◎	1.44
HATU	◎	◎	62,000	380.3	△	0.43
HBTU	△～○	△～○	11,900	379.3	○	0.46



COMU



HATU

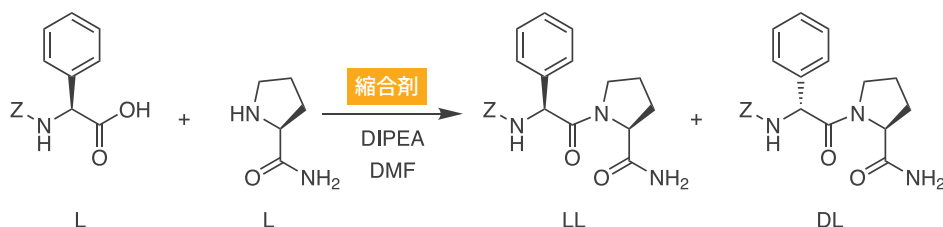


HBTU

文献例 ¹⁾

エピ化防止効果

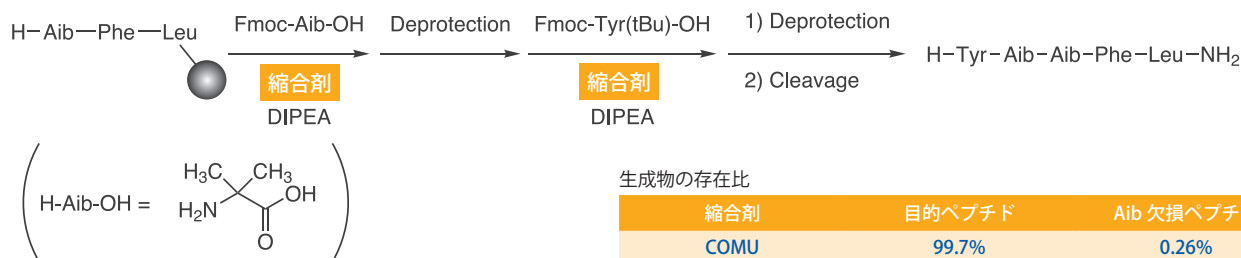
Z 保護体ながらエピ化しやすいフェニルグリシンの誘導体と、反応が進行しにくい 2 級アミンを持つプロリンのアミド体との反応において、COMU は優れた収率およびエピ化防止効果を示しています。



縮合剤	収率	DL
COMU	88%	0.1%
HATU	78%	3.1%
HBTU	80%	8.2%

立体障害克服効果

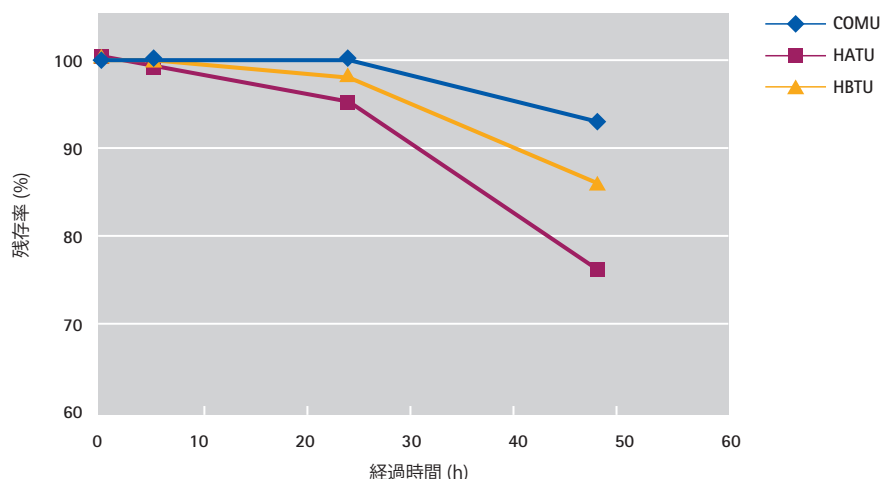
立体障害の高いアミノ酸 Aib を用い、反応が緩慢な固相合成での実験において、最も高い比率で目的ペプチドが得られた縮合剤は COMU でした。

実験操作例 (液相合成) ¹¹⁾

DMF (2mL) に保護アミノ酸 (0.25mmol), アミノ基を含む化合物 (0.25mmol), Base (0.50mmol, 保護アミノ酸が塩酸塩であれば 0.75mmol) に溶解させ、0℃に冷却します。COMU (0.25mmol) を加え、0℃で 1 時間、室温でさらに 2～3 時間かくはんします。酢酸エチル (25mL) 及び 1N 塩酸 (5mL × 2) で抽出し、油層を 1N 炭酸水素ナトリウム (5mL × 2)、飽和食塩水 (5mL × 2) で洗浄します。酢酸エチル層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を留去します。粗生成物を直接 HPLC, NMR で分析します。

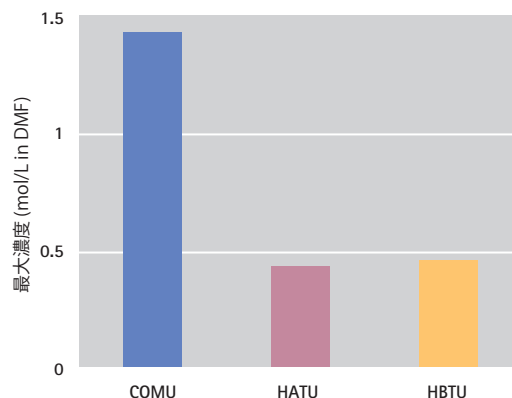
溶解後の安定性

DMF 中、オープンバイアルの条件において、COMU は 24 時間経過後も分解を認めませんでした。自動合成機、分子内環化、フラグメント縮合などのアプリケーションにおいて、COMU はさらに有用になります。



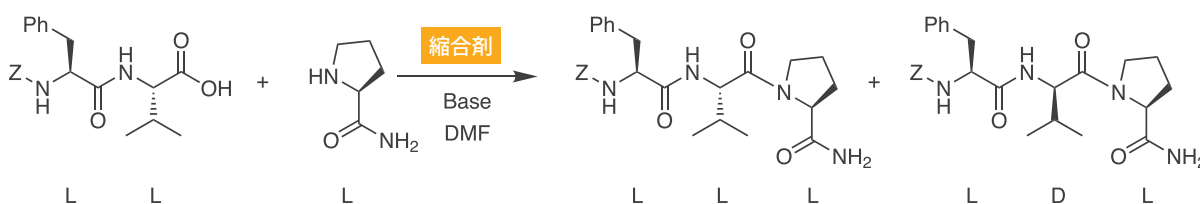
最大濃度

COMU の濃度は HATU の約 3 倍まで高めることができます (前頁の表参照)。高濃度化による反応の促進が可能になります。



エピ化防止効果の追求

Z, Boc, Fmoc 保護アミノ酸においては、 α 位のアミノ基はカルバメート保護されているため、エピ化は通常大きな問題になりません。一方、分子内環化やフラグメント縮合においては、 α 位のアミノ基は見かけ上アミド保護され、エピ化が深刻な問題になります。このような場合、Base の検討を行うことが有効です。DIPEA および TMP (2,4,6-Tetramethylpyridine = Collidine) について、縮合剤に対し 1 equiv および 2 equiv で実験されることをお勧めします^{1,2)}。なお、ルーチン的なペプチド合成における Fmoc-Cys(Trt)-OH のカップリングにおいても、HBTU 等の縮合剤を使用する場合は、後者の Base を用いることをメルクでは強く推奨しています³⁾。



収率

縮合剤	DIPEA		TMP	
	1 equiv	2 equiv	1 equiv	2 equiv
COMU	N/A	91.3%	90.3%	89.8%
HATU	83.2%	85.8%	76.1%	78.0%
HBTU	78.6%	89.7%	N/A	81.2%

N/A : No data Available

LDL 体の生成率

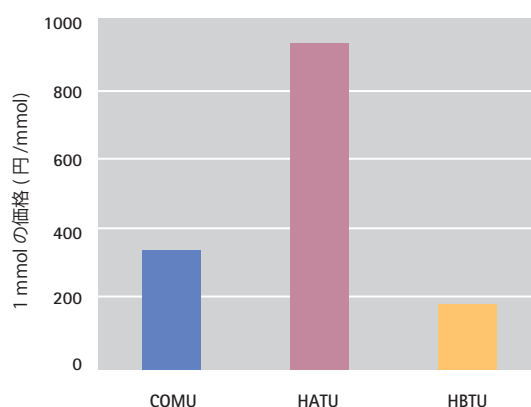
縮合剤	DIPEA		TMP	
	1 equiv	2 equiv	1 equiv	2 equiv
COMU	N/A	19.3%	3.5%	7.0%
HATU	11.0%	13.9%	4.9%	5.3%
HBTU	16.3%	27.7%	N/A	14.2%

価格

COMU のモルあたりの価格は HATU の約 3 分の 1 です。

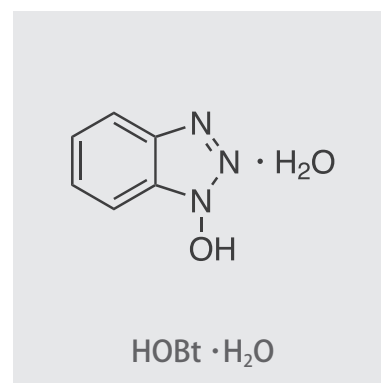
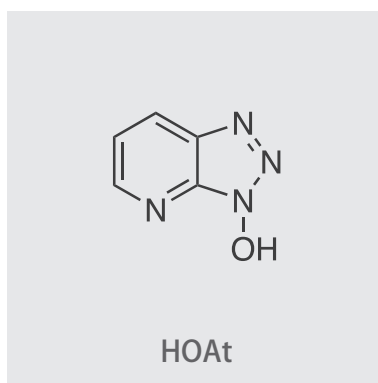
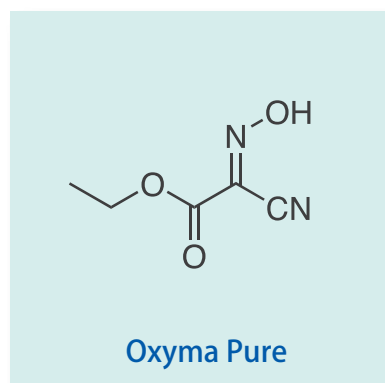
メルクでは COMU の有用性を高く評価し、発売開始から思い切った価格設定を行っています。

今まで HATU を使用していたアプリケーションはもちろん、コスト的に他の縮合剤で妥協していたアプリケーションでも是非ご使用ください。



縮合反応用添加剤 Oxyma Pure (カルボジイミドとの併用が必要)

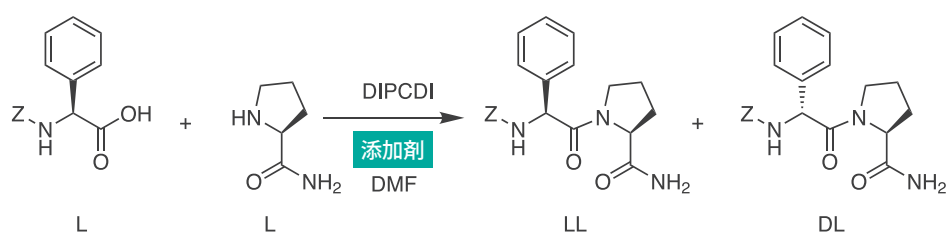
添加剤	エピ化防止	立体障害克服	希望販売価格 (円 / 25 g)	分子量	欧州からの 輸入可否 (爆発物規制上)	pKa
Oxyma Pure	◎	◎	5,000	142.11	可能	4.60
HOAt	◎	◎	(弊社取扱なし)	136.11	不可	3.28
HOBt ・H ₂ O	△～○	△～○	(弊社取扱なし)	153.14	不可	4.60



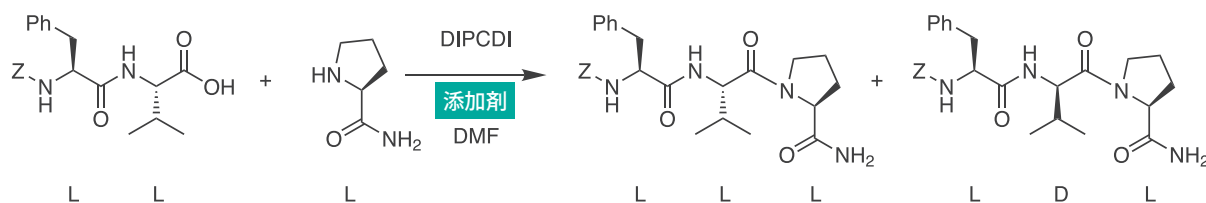
文献例 ⁴⁾

エピ化防止効果

COMU の場合と同じ基質を用いた実験で、Oxyma Pure は HOAt に匹敵するエピ化防止効果を持つことが示されています。



添加剤	収率	DL
Oxyma Pure	88%	1.1%
HOAt	81%	3.3%
HOBt	82%	9.3%

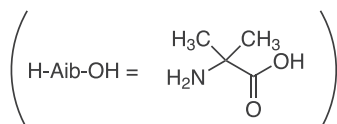
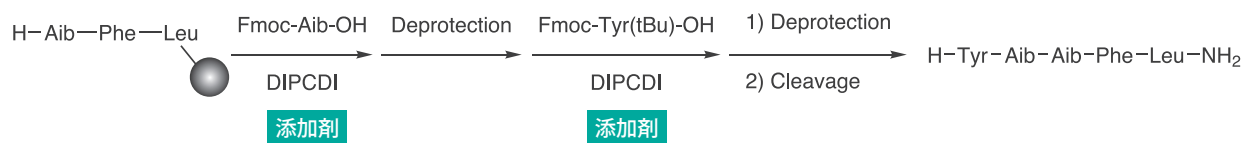


添加剤	収率	LDL
Oxyma Pure	89.8%	3.8%
HOAt	86.1%	2.1%
HOBt	78.8%	8.9%

(DIPCDI : ジイソプロピルカルボジイミド)

立体障害克服効果

COMU の場合と同じ基質を用いた実験で、目的ペプチドの生成比が最も高かった添加剤は Oxyma Pure でした。



生成物の存在比

添加剤	目的ペプチド	Aib 欠損ペプチド	Tyr 欠損ペプチド
Oxyma Pure	69.0%	31%	—
HOAt	55.0%	45.0%	—
HOBt	18.9%	80.6%	0.5%

爆発性

近年強化された爆発物に関する規制により、HOBt・H₂O や HOAt は、欧州からの輸入が不可能になりました。一方、Oxyma Pure の爆発のリスクは低く、問題なく欧州から輸入できます。ARC および DSC データについては、文献⁴⁾を参照ください。

反応最適化

プレアクティベーション時間について、適宜ご検討ください。原報⁴⁾では2分間（DMF）としていますが、メルクでは10分間（DMF/塩化メチレン = 1/1）を推奨しています。なお、本来 DMF は塩化メチレンより長いプレアクティベーション時間を要します。

価格

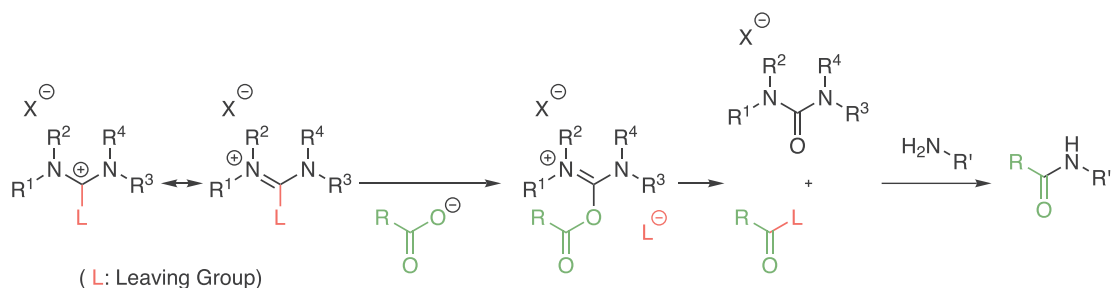
Oxyma Pure の希望販売価格（5,000 円 / 25g）は誤植ではありません。

HOAt の国内メーカーの希望販売価格が 50,000 円 / 25 g 以上であり、Oxyma Pure と HOAt の分子量の差異が小さいことをあわせて考えると、いかに Oxyma Pure のコストパフォーマンスが優れているか、お分かり頂けるかと思います。

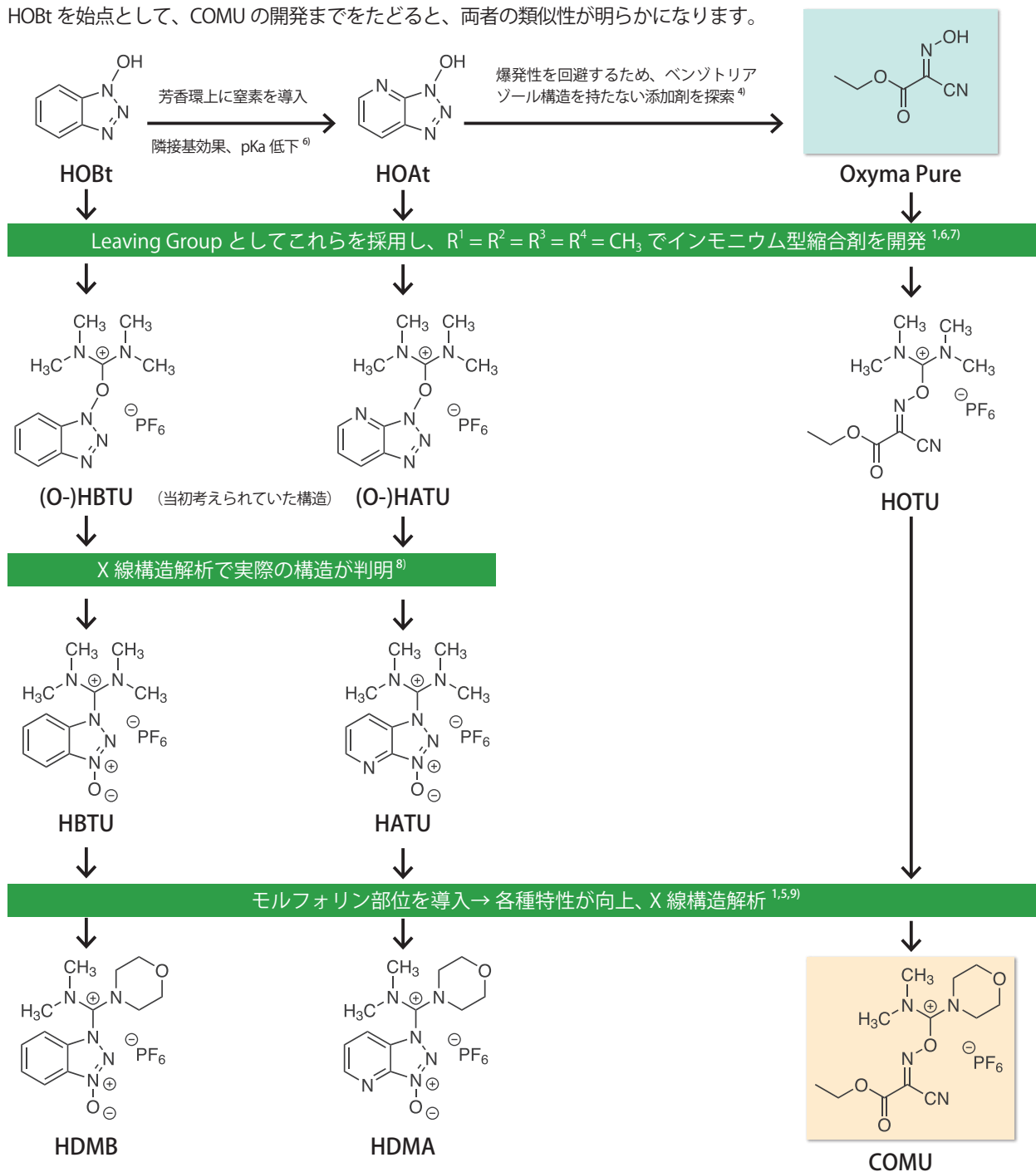
FAQ (よくある質問)

Q1. COMU の構造は、HBTU や HATU とかなり異なるように見えます。これらは化学的に全く異なる縮合剤でしょうか？

A1. いいえ、どの縮合剤も下記一般式に示すインモニウム型の構造をとっており、反応の主要部位は共通です。インモニウム型の縮合剤の反応は、下記の機構に沿って進むと考えられています⁵⁾。

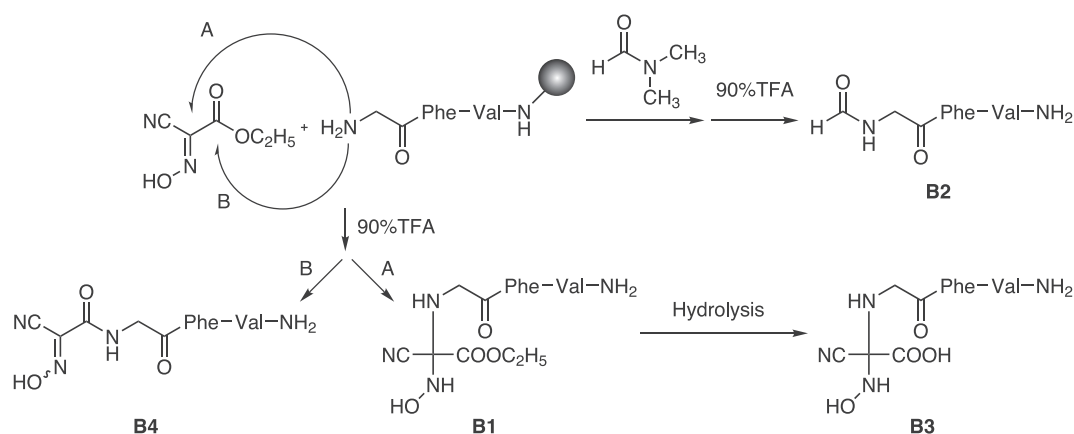


HOBt を始点として、COMU の開発までをたどると、両者の類似性が明らかになります。



Q2. Oxyma Pure の構造はエステルやイミンを含むため、アミノ基との反応が心配です。

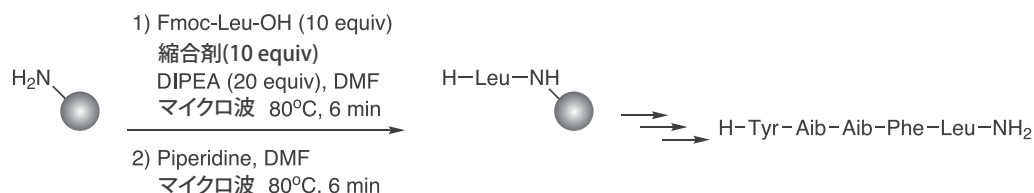
A2. フリーのアミノ基が結合している固相担体、Oxyma Pure (10 equiv)、DMF とを混合した“極端”なモデル実験においても、常温ではエステルやイミンに対するアミノ基の反応は認められませんでした⁴⁾。一方、マイクロ波をかけて 80℃ で反応を行うと、エステルやイミンに対する反応生成物 (B1, B3, B4) が認められました。しかしながら、これらの反応生成物は、DMF とアミノ基との反応生成物 (B2) と比較すると、極めて少なくなっております。



生成物の存在比 (HPLC - PDA)

反応条件	B2	B4	B1	B3	非修飾ペプチド	Unidentified
室温、終夜	2.1%	—	—	—	92.3%	5.4% + (<0.2%)
マイクロ波、80℃、10min	47.9%	4.0%	2.5%	2.4%	43.2%	

上記の結果を見て、Oxyma Pure や COMU について、マイクロ波の使用を躊躇している方へ：実際にマイクロ波を用いたペプタペプチド合成に関する報告例があります¹⁰⁾。COMU は HATU や HBTU より良好な結果が得られています。



注：報文では差異をつけるため、Fmoc-Aib-OH のみ 6 equiv としています。なお、メルクでは固相反応においては保護アミノ酸 (COMU, HATU, HBTU) となるような量論比は避けるように推奨しています。固相上のアミノ基のキャッピングが起こるためです。

生成物の存在比

縮合剤	目的ペプチド	Aib 欠損ペプチド	収率
COMU	92.1%	7.9%	88.5%
HATU	79.5%	20.5%	76.0%
HBTU	23.1%	76.9%	20.5%

Q3. COMU や Oxyma Pure を用いた反応終了後、水洗で除去可能ですか？

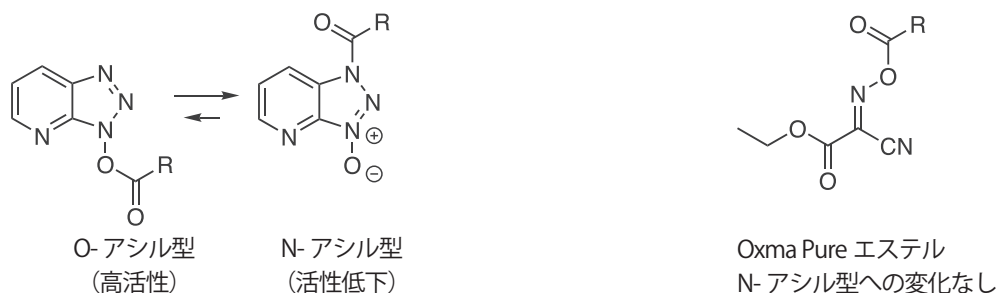
A3. 水洗による副生成物の除去方法について、網羅的な報告例はまだありません。しかしながら、COMU を用いた液相反応で、酢酸エチルを油層として 1N 塩酸、1N 炭酸水素ナトリウム、飽和食塩水の順で洗浄した後、粗ペプチドを直接分析した報告¹¹⁾があります。Oxyma Pure は COMU の反応副生成物でもあるゆえ、Oxyma Pure も同様にこの操作で洗浄除去できるものと考えられます。また、Oxyma Pure の pKa は HOBt と同等であり、炭酸水素ナトリウム溶液による洗浄の可能性と矛盾しません。

Q4. COMU/ Oxyma Pure は HATU/ HOAt と比較と比較した場合、いつでも同等以上の性能と考えて良いのでしょうか？

A4. 固相合成でフラグメント縮合を行った場合、COMU のエビ化防止効果は HATU より劣っている報告があります¹⁾。

Q5. Oxyma Pure の pKa は、HOBt と同等で HOAt より低い一方、良好な性能を示すのはなぜでしょうか？

A5. HOBt や HOAt 由来の活性エステルは、急速に O- アシル型から N- アシル型へ変化し、反応性が減少します¹²⁾。一方、Oxyma Pure はこのような変化を生じません¹¹⁾。この違いが理由の 1 つとして考えられます。N- アシル型への変化が無いということは、スケールアップに対する反応のロバスト性という観点からも、好ましいと言えます。



Q6. HATU にモルフォリン部位を導入した HDMA は COMU よりパフォーマンスが優れますか？

A6. 固相合成でフラグメント縮合を行った場合や、立体障害の高い配列を数分間だけカップリングさせた場合以外は、HDMA のパフォーマンスは COMU と同等以下です¹⁾。

文献：

- 1). A. El-Faham, R. Subiros-Funosas, R. Prohens, F. Albericio, *Chem. Eur. J.*, **15**, 9404(2009)
- 2). L. A. Carpino, A. El-Faham, *J. Org. Chem.*, **59**, 695(1994)
- 3). Novabiochem カタログ 製品番号 852008 に関する記述を参照
- 4). R. Subiros-Funosas, R. Prohens, R. Barbas, A. El-Faham, F. Albericio, *Chem. Eur. J.*, **15**, 9394(2009)
- 5). A. El-Faham, F. Albericio, *J. Org. Chem.*, **73**, 2731(2008)
- 6). L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 4397(1993)
- 7). (a)V. Dourtoglou, J. C. Ziegler, B. Gross, *Tetrahedron Lett.*, **15**, 1269(1978); (b) V. Dourtoglou, B. Gross, V. Lambropoulou, C. Zioudrou, *Synthesis*, **1984**, 572
- 8). I. Abdelmoty, F. Albericio, L. A. Carpino, B. M. Foxman, S. A. Kates, *Lett. Pept. Sci.*, **1**, 57(1994)
- 9). A. El-Faham, F. Albericio, *Org. Lett.*, **9**, 4475(2007)
- 10). R. Subiros-Funosas, G. A. Acosta, A. El-Faham, F. Albericio, *Tetrahedron Lett.*, **50**, 6200(2009)
- 11). A. El-Faham, F. Albericio, *J. Pept. Sci.*, **16**, 6(2010)
- 12). L. A. Carpino, H. Imazumi, A. El-Faham, F. J. Ferrer, C. Zhang, Y. Lee, B. M. Foxman, P. Henklein, C. Hanay, C. Mugge, H. Wenschuh, J. Klose, M. Beyermann, M. Bienert, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **41**, 442 (2002)

製品情報

製品名	注文番号	包装単位	希望販売価格
COMU	8.51085.0005	5 g	¥5,000
	8.51085.0025	25 g	¥20,000
	8.51085.0100	100 g	¥60,000

製品名	注文番号	包装単位	希望販売価格
Oxyma Pure	8.51086.0025	25 g	¥5,000
	8.51086.0100	100 g	¥15,000

バルク COMU, Oxyma Pure とともに、トンスケールでのバルク供給が可能です。お気軽にお問い合わせください。

メルク Novabiochem® 製品の最新情報はこちらから >> www.merck-chemicals.jp/NBC

メルク株式会社

パフォーマンス・ライフサイエンス化学品事業部
〒153-8927
東京都目黒区下目黒1-8-1 アルコタワー5F

Tel: 0120-189-390 / Fax: 0120-189-350
E-mail: service@merck.co.jp
<http://www.merck-chemicals.jp>