

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 補助事業名：創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業）
2. 補助事業課題名：天然有機化合物を基盤とした創薬支援型有機化合物創製
3. 研究開発代表者：東京薬科大学 教授 伊藤久央
4. 研究開発の成果

天然有機化合物がもつ多様な骨格は、種々の生体内標的分子を各々認識し、様々な生物活性を発現する。とりわけ新規骨格をもつ化合物は、従来阻害剤等が開発されていない新しい分子標的を認識し、新薬に繋がる選択的な薬理活性を発現する魅力を秘めている。本グループは、種々の天然物の合成・創薬研究の専門家集団であることを基盤に、有機化合物合成法の高度化と化合物供給による支援に尽力し、本事業を通して他研究機関との連携により「大学発創薬」への貢献を目指している。

以下、平成 27 年度の成果を報告する。

支援

①立体選択的炭素環構築技術を基にした支援

立体選択的炭素環状化合物の構築を基にし、天然物の全合成研究において高度化研究を推進し、その際に立体選択的に得られる炭素環状化合物や、他の多様な化合物を、東京薬科大学として合計125種、東京大学化合物ライブラリーへ提供した。

②酵素Aを阻害する化合物の最適化支援

広島大学医学部と東京大学創薬機構との共同研究である酵素Aを阻害する化合物の最適化支援を推進し、平成 27 年度に37種の化合物を創薬機構と広島大学に提供した。これらの化合物について、ヒット化合物より高活性な化合物の創製に成功している。

③アミノ酸やペプチド合成技術を基にした支援

α -および β -アミノ酸構造を有するネガマイシン誘導体および合成中間体（6種）、独自開発した異常アミノ酸誘導体（25種）を東京大学化合物ライブラリーへ提供した。一方、抗チューブリン誘導体においては東京医科歯科大学に誘導体を1種、遺伝子読み飛ばし作用を有するネガマイシン研究では、長崎大学へ誘導体を5種、横紋筋融解症治療に向けたラクトフェリン由来ペプチド誘導体の開発では、慶應義塾大学に合成ペプチド誘導体を4種提供した。

④ビアリアルおよびキサントン合成技術を用いた支援

独自に開発した軸不斉ビフェニルの不斉合成法およびキサントン骨格構築法を活用し、関連化合物のサンプルを東京大学化合物ライブラリーへ提供した。特に、ビフェニルとシクロオクタジエンとが環を形成したジベンゾシクロオクタジエン骨格を含むゴミン様化合物、および、プレニル基で修飾されたキサントン類を網羅的に提供した。

⑤アルカロイド及びポリケチド系試料供給による支援

国立精神・神経センター神経研究所からの支援要請により7種の新規アルカロイドを合成し提供した。また抗腫瘍活性を有するノルネオリグナンカツナレジンを含む11種の化合物を東京大学化合物ライブラリーに提供した。

⑥複素環を含むドラッグライクな化合物の試料供給による支援

平成26年度までに開発した4-ヒドロキシクマリンに対する直接的官能基化反応2種を用い、医薬品として利用しやすい物理化学的性質（分子量500以下またClog P値が5以下）を満たす化合物を設計後、計11化合物を合成し、最終的に3化合物を東京大学化合物ライブラリーに提供した。

⑦芳香環、複素環を有する化合物合成技術による支援

平成26年度に、新規蛍光プローブ3,4-DNADCFを用いて筑波大学と共同し、ショウジョウバエ、コナガ、ハマダラカ由来のGSTnoboに対する阻害剤スクリーニングを実施し、複数のヒット化合物を得た。平成27年度は、数種類のヒット化合物の再合成とともに誘導体の合成を行い、ともに阻害活性が見られることを確認した。また、ヒット化合物の再成品およびその誘導体を筑波大を通して企業へ提供し、ショウジョウバエでの摂食実験を実施している。

高度化

⑧複雑な構造を有する天然有機化合物の効率的合成法の開発

複雑な構造を有する aberrarone の合成研究について、立体選択的 1,4-付加反応と分子内アルドール反応を駆使して四つの環構造を有する全炭素骨格の構築に成功した (Tetrahedron 誌に掲載)。また、複雑な炭素骨格を有するヨナロライドの全合成に向け、鍵反応となる Dieckmann 反応のためのジエン部位の合成を検討し、ジエンの 1 工程前駆体までの合成に成功している。

⑨ 異常アミノ酸やペプチド合成技術を基にした創薬

ジケトピペラジン型抗腫瘍薬創製における高度化では、合成誘導体 KPU-406 が γ -チューブリンに作用することが解り、詳細な機能解析および本分子を標的とした新たな創薬の可能性を示した (Nature Communication 誌に掲載)。抗腫瘍放射線療法における高度化では、高活性誘導体 KPU-300 が、増感剤として有用であることを示した。ナンセンス変異病治療薬創製をめざした高度化では、ネガマイシン関連誘導体 TCP-112 およびそのプロドラッグ体の創製に関して ACS Med Chem Lett 誌に受理された。筋肉増強効果が期待されるマイオスタチン阻害ペプチド創製における高度化では、昨年度見出した阻害ペプチドをリード化合物とし、N 末端トリプトファン残基部の誘導化を実施した結果、約 3 倍強い阻害ペプチドの獲得に成功した (ChemMedChem 誌に掲載)。

⑩ ビアリアルの不斉合成技術の開発と高度化

ビフェニルを母核とする四環性化合物について、第三の環部分の立体ひずみがビフェニル部位の軸不斉に与える影響を明らかにし、8 員環炭素鎖で架橋されたビフェニル誘導体および 9 員環ラクトン構造で架橋されたビフェニル誘導体それぞれを立体選択的に合成する手法を確立した。また、前者の構造を生物活性天然リグナン類の合成法を開発した。

⑪ 複雑な炭素骨格を有するテルペン系天然物の効率的合成法の開発

抗腫瘍活性ノルネオリグナンカツナレジン短工程合成法 (安価な市販試薬から 10 工程) を確立した。また複雑な構造をもつ四環性テルペンラクトンナウプリオライドの立体選択的合成に成功した (Angew. Chem. Int. Ed. 誌に掲載)。

⑫ 水酸基を配向基とした直接的官能基化反応の開発と高度化

4-ヒドロキシクマリンに対する直接的官能基化反応を基盤とし、誘導体を計 11 種合成しその一般性と汎用性を検討した。また、本課題管理協力者は創薬 PF キャリアパスによるハーバード大学留学中、多様性指向型合成を基盤としたエピゲノム創薬研究を実施した。約 6 万個の低分子化合物に対して HTS を行いヒット化合物の合成と続く分子生物学的検討を重ね、核内タンパクに相互作用しヒストン翻訳後修飾を変化させる低分子化合物を見出した。

⑬ GST サブタイプ等酵素特異的基質のデザインと合成

(1) 細胞に適用できる GSTP1 活性検出プローブ

細胞に適用可能な GSTP1 選択的蛍光プローブ diCIDNAT-Me を合成した。酵素反応実験による解析から、生成物は蛍光プローブがグルタチオン化されている構造であることが確認された。また細胞内に蛍光を確認できることから、蛍光プローブが細胞膜を透過することが明らかとなった。すなわち、開発した GSTP1 選択的蛍光プローブ diCIDNAT-Me は、当初のデザインを反映した機能性を有することが明らかとなった。

(2) GSTP1 によるエステル加水分解活性

GSTP1 がフルオレセインジアセテート (FDA) のエステル結合を GSH 依存的に開裂する酵素活性を有することを見出した。特に、13 種類の GST を比較した結果、GSTP1 のみで蛍光強度上昇を起こしたことから、GSTP1 に対する特異性が非常に高い基質であることが確かめられた。また、FDA の構造を元に数種類の類縁化合物を合成し、酵素反応性を評価したところ、短鎖アシルエステルが優れた反応性を示すことが明らかとなった。

(3) GSTP1 阻害剤の誘導体化

GST 活性検出蛍光プローブ 3,4-DNADCF を用い、東大創薬機構の 9600 化合物について GSTP1 阻害剤スクリーニングを行ない、1 μ M 程度の IC₅₀ 値を持つヒット化合物を 2 種類得た。そのうちのひとつについては再合成品において阻害活性を確認した。また、類縁体を合成して阻害能を評価したところ、置換基によって阻害活性が大きく異なることが明らかとなった。さらに脂溶性を高めたエステル体を合成して培養細胞に適用したところ、このものは GSTP1 発現細胞に対して高い細胞毒性を示すことが明らかとなった。