

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：薬物代謝を考慮したヒット化合物の最適化と、多様な生理活性化合物の提供
3. 研究開発代表者：慶應義塾大学薬学部 教授 増野 匡彦
4. 研究開発の成果

[支援]

1) 代謝安定性や代謝活性化を考慮したヒット化合物最適化

Keap1-Nrf2 阻害剤プログラムや他の支援プログラムにおいて、代謝安定性や代謝活性化を考慮したヒット化合物の最適化を実施する計画であったが、以下の 3 つの外部依頼に対し支援を行った。

- ① Keap1-Nrf2 相互作用阻害剤の開発
- ② パーキンソン病治療薬を目指したオキシカム誘導体の提供
- ③ 慢性骨髄増殖性腫瘍の原因遺伝子として同定されているチロシンキナーゼ JAK2 の点変異体 (V617F) が関連したがん細胞に対し強いアポトーシス効果を有するフラレン誘導体の提供

①のプログラムでは、ツール化合物 A の欠点である代謝安定性を向上させる目的で化合物 A が持つヒドロキシルアミン部位を変換した化合物を合成した。化合物 B は Keap1-Nrf2 よりも Keap1-リン酸化 p62 への特異性が高く肝がんにおける抗がん剤耐性克服につながる事が明らかとなり、当初目的とは別に、こちらの最適化も進めた。また、論文投稿において査読者からの指摘で必要となったビオチン化された化合物 B を短期間のうちに合成し、タイムリーな共同研究体制を構築した。②のプログラムについては、合成した化合物の肝ミクロソームにおける代謝安定性評価を行い誘導化の方向性を決める指標とした。さらに、代表的なオキシカム系医薬品であるスドキシカムには代謝活性化を介した肝毒性が報告されていることから、合成した化合物の中には代謝活性化も評価したものもある。スルホンアミドがない化合物でも活性を有することを初めて明らかにし、これらは新規化合物であることから特許取得に向けた評価を開始している。③の外部依頼に対し、提供した化合物のうち代表的なものについて代謝物検索を行った。以上のように、代謝安定性や代謝活性化を考慮した化合物最適化を積極的に進めた。

2) 代謝物合成支援

1) で合成された化合物の代謝様式を検討するために代謝物候補の合成を行う計画であったが、先述の①のプログラムにおいて行った。ツール化合物 B の代謝物解析から O-脱アルキル体と思われる代謝物が予想されたので、標品を化学合成し、代謝物であることを確認した。①のプログラムの化合物は O-アルキル構造を有するので、他の誘導体でも本代謝様式は進行すると推測される。また、③のプログラムにおいて P450 化学モデル系を用いて予想代謝物（エポキシ体）を合成した。

3) フラレン誘導体や抗酸化活性を有する多様な化合物の提供

新規に合成した抗酸化活性を有する 15 化合物を、東京大学創薬機構の化合物ライブラリーに提供した。一方、フラレン誘導体については平成 27 年度までに合計 50 化合物の提供を行っており、すでにライブラリーが充実していることから、今後は大きく構造が異なる誘導体のみ受け入れ可能という要請が創薬機構からあった。そのため今年度は提供を見送った。

4) 多様な糖類の提供

カイメン由来の糖脂質でガラクトフラノースを含んだ非還元末端三糖等を合成し提供した。マンソン住血吸虫から見出された新規糖で Fuc α 1-3GalNAc β 1-4 (Fuc α 1-3)GlcNAc 構造を有する四糖誘導体を提供した。

5) 酸化的代謝を考慮したステロイド・テルペノイド誘導体の提供

酸化的代謝を考慮したステロイド環構築一段階手前の環化前駆体を化合物ライブラリーへ提供したが、ニトリル基を含む構造であったため東京大学創薬機構の判断で受け入れ見送りとなった。

6) 細胞毒性試験

支援課題 2)～5)において提供した化合物の毒性試験を肝細胞系である HepG2 を用いて行った。

[高度化]

7) 代謝活性化を回避したドラッグデザインによる低毒性医薬品の創製

代謝活性化の回避を目指した誘導化アプローチ法の確立を目指し、特異体質性毒性が報告されているベンズブロマロンやネビラピンについて代謝活性化を回避したドラッグデザインに基づく改良型医薬品の創製を以下のように達成した。高尿酸血症治療薬ベンズブロマロンに関しては、平成 26 年度に合成した新規ベンズブロマロン誘導体の代謝的活性化の有無、細胞毒性の評価を行った結果、新規誘導体は代謝活性化されにくく、毒性も低かった。抗 HIV 薬 (HIV 逆転写酵素阻害薬) ネビラピンに関して、代謝活性化経路を回避する改良型医薬品を複数デザイン、合成し、代謝活性化能や HIV 逆転写酵素阻害活性を評価した。代謝活性化能は低下したが、HIV 逆転写酵素阻害活性も低下した。

8) 高効率代謝物合成および精製法の開発

金属ポルフィリンを用いた薬物代謝酵素 P450 の化学モデル系を各種用い、各種フラレン誘導体の酸化代謝物候補を一段階で一挙に合成するとともに、それらを LC-MS で分離精製する条件検討を行った。合成した代謝物候補、ならびに LC-MS での分離法をフラレン誘導体の代謝物研究に利用した。

9) 異性体が無いバイファンクショナルなフラレン誘導体合成法の開発

平成 27 年度は新たに多剤併用療法に代わる抗 HIV 薬、すなわち HIV 逆転写酵素阻害活性と HIV プロテアーゼ阻害活性を併せ持つバイファンクショナルなフラレン誘導体の創製を行った。新規にプロテアーゼ活性測定法を構築後、位置異性体の可能性がないように一つの置換基で 2 つの阻害活性を併せ持つドラッグデザインを行い、複数のフラレン誘導体を合成した。多剤併用療法に代わる新たな抗 HIV 薬となる可能性がある。

10) 糖類合成の高度化

定量的に反応が進行する脱保護の条件を探索する当初計画に沿って、今回の目標化合物ではアジド基の変換に接触還元ではなく、リン化合物を用いることで収率の大幅な改善に成功した。

11) 糖縮合時における立体選択性の検討

立体的に嵩高く反応性の悪いセラミドではなく、脂肪酸がなく立体障害の小さいスフィンゴシン誘導体で縮合させ、糖鎖伸張した後、脂肪酸を導入する方法を検討した。本法で純粋な目的物が得られたが、収率改善の検討課題が残った。

12) ステロイド・テルペノイド誘導体合成のための骨格構築法の開発

酸化的代謝で官能基を導入しうるステロイド骨格の立体選択的骨格構築法開発法の確立を目指してプロジェクト内で確立した微生物ライブラリーを活用して前駆体を調製し、ラジカル環化反応を用いてアルドステロン類似体である四環性骨格の一挙構築に成功し当初計画を達成した。また、酸化的代謝を考慮した三環性モデルや環化前駆体も含め、天然に豊富に存在する化合物からは変換できない誘導体を得た。

13) 立体異性体調製に向けた酵素化学複合合成法、ならびに光学分割の新手法開拓

ステロイド前駆体等の純粋な鏡像異性体調製を目指して、微生物酸化還元酵素ライブラリーを整備した結果、酵母の一種である *Williopsis californica* 由来の酵素等が有効であることを見出した。フェノール類やフェニルエステル類の位置選択的に酸素官能基化された化合物を得ることを目的に、フェノールエステル類の位置・立体選択的反応を触媒するリパーゼを探索し、通常の化学反応では得られない選択性を見出した。以上の 2 点で当初計画を達成した。

以上、新たな課題も出現したが、ほぼ当初計画に沿った成果が得られた。