

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 16 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08015

研究課題名(和文) マルチテンプレート手法のポリファーマコロジー医薬への応用展開

研究課題名(英文) Application of the multi-template approach for the development of polypharmacological agents

研究代表者

谷内出 友美 (Yachide, Tomomi)

東京大学・分子細胞生物学研究所・講師

研究者番号：20401284

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：医薬品開発の新戦略としてポリファーマコロジー医薬(多重標的性を有する医薬)が期待されつつある。本研究課題では、当研究代表者らがこれまで提案している一創薬手法であるマルチ創薬テンプレート手法を用い、ポリファーマコロジー活性化合物を創製した。また創製化合物が下流シグナルに及ぼす影響を検討することで、真に医薬リードたり得る化合物へ展開した。これら一連の研究により、マルチ創薬テンプレート手法のポリファーマコロジーへの応用展開という、新たな活性化合物創製手法の創出に先鞭を付けることができただけでなく、がん治療を指向した戦略的基礎創薬化学研究に明確な方向性と学術基盤を付与することができたと考えている。

研究成果の概要(英文)：Polypharmacology has been receiving increasing attention as a novel strategy in drug development. In contrast to the conventional one-drug/one-target philosophy, polypharmacology aims to develop drugs with multiple related targets in order to obtain more robust effects on diseases involving dysfunction of complex biological networks, such as cancers. Based on the idea that polypharmacological agents with multiple targets would have a more robust action, we applied multi-template approach, which we have proposed to develop compounds with diverse biological activities, for the development of polypharmacological agents, and evaluated their biological actions. These results suggest that polypharmacology may be an effective strategy for the treatment of cancers.

研究分野：創薬化学

キーワード：エピジェネティクス 構造展開 構造活性相関 ポリファーマコロジー プロモドメイン 多重薬理 H
DAC 医薬品探索

1. 研究開始当初の背景

単一の疾患特異的な標的遺伝子や標的タンパク質に留まらず、疾患原因となる複数の因子群を同時に標的とするという『ポリファーマコロジー』という戦略が期待されつつある。従来の医薬品開発の基盤となっている1化合物単標的という概念と異なり、生体内機能のロバスト性に注目することで、化合物の作用を多面的に捉えた考え方である。現在直面している単標的薬開発の限界や上市にこぎ着ける新薬が少ない状況に於いて、ポリファーマコロジーへの展開研究は新薬開発の突破口になることが期待され、がんや炎症性疾患、難治性疾患、メタボリックシンドロームといった疾患の治療薬開発、副作用軽減に貢献する可能性が示唆される。しかし、既に総説もいくつか発表されているが、当該所望化合物の設計・創製法は確立していない。

一方、当研究代表者らは数年来、ハイクオリティーなケミカルライブラリーの創製手法としてマルチ創薬テンプレート手法を提案してきた。本手法は、ヒトでは5~7万種存在するとされるタンパク質も化学的性質(アミノ酸配列)などを無視した3次元的な空間的形狀(フォールド構造)は1000種ほどに限られるとされていることに基盤をおいたものである。これに基づき、あるフォールド構造に注目すれば、適当なテンプレート構造1つで、その構造展開により多種多様のタンパク質に対して選択性のある化合物が得られることになる。これまで当研究代表者は、サリドマイドをマルチテンプレートの候補として選択し、話題性が先行している感のあるサリドマイドの薬効に関して、これを構造展開によってその有用性を選択的に抽出すべく研究を遂行してきた(医薬化学的な構造展開研究)。具体的には、新規フタルイミド型エストロゲン受容体(ER)リガンド・シクロオキシゲナーゼ(COX)阻害剤・チューブリン重合阻害剤の創製、新規ホモフタルイミド型一酸化窒素合成酵素(NOS)阻害剤の創製、新規フタルイミド型細胞分化誘導剤の創製ならびに分化細胞の細胞生物学的解析、血管新生阻害剤・腫瘍壊死因子(TNF)- α 産生調節剤の創製、サリドマイド誘導 α -グルコシダーゼ阻害剤のLiver X receptor(LXR)アンタゴニストへの展開、サリドマイド誘導キナゾリンジノン型ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ(PSA)阻害剤の創製を始めとする成果を上げてきた。研究前半の成果は、サリドマイドの有用な薬理作用に焦点を当てた一連の分子論的な研究であり、す

でその内容は総説として発表してある[野口(谷内出)友美、他1名：がん分子標的治療(2005)]。以上のように、戦略として有望視されながら生体の化合物創製法が確立していないポリファーマコロジーの背景を踏まえ、当研究代表者らが提案してきたマルチ創薬テンプレート手法こそがこれに対応可能であると考へ、本手法をポリファーマコロジー活性化化合物の創製研究に応用展開することとした。

本研究課題では、エピジェネティクス調節因子であり、がんや免疫疾患の新たな標的として注目されているBRDに着目した。BRDは、ヒストンのアセチル化リジンを認識し、遺伝子転写調節およびクロマチンリモデリングなどを制御するエピジェネティクス調節因子であり、ヒトでは、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ(HATs)やクロマチンリモデリング因子などのタンパク質に61のBRDの存在が報告されている。BET(bromodomain and extra-terminal domain)ファミリータンパク質(BRD2, 3, 4, BRDTの4種)は、細胞増殖や細胞周期、アポトーシスを調節する遺伝子の発現を制御する転写因子であることから医薬として注目されており、実際BET選択的阻害剤のいくつかは抗がん剤として臨床試験段階にある。がんや炎症性疾患の生体内機能のロバスト性に注目し、BRD阻害剤をポリファーマコロジー活性化化合物へ展開することは、治療薬としての薬効増強、さらには副作用軽減につながる可能性を示唆しており、この課題の強みであると考えている。

2. 研究の目的

本研究課題では、当研究代表者らがこれまで提案しているハイクオリティーなケミカルライブラリーの創製手法であるマルチ創薬テンプレート手法を応用し、ポリファーマコロジー医薬(多重標的性を有する医薬)を創製することを目的とした。エピジェネティクス調節因子であり、がんや免疫疾患の新たな標的として注目されているプロモドメイン(BRD)に着目し、BRD阻害活性を有するポリファーマコロジー活性化化合物を創製、また、創製した活性化化合物の薬理作用に関わる諸要因の現象的・分子作用レベル的解析、ならびに各現象に関わる情報伝達系の解析を検討することで、真に医薬リードたり得る化合物への展開を目指した。これによりがんや炎症性疾患、難治性疾患等の治療を指向した今後の『戦略的基礎創薬化学研究』に明確な方向性と学術基盤を付与することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究課題の目的を達成するために、マルチ創薬テンプレート手法に基づき、3段階の戦略を計画した。具体的には、下記の通りである。

第一段階：BRD 阻害活性を有する化合物の探索および創製 (アデニン骨格をテンプレートに選択)、

第二段階：ポリファーマコロジー活性化化合物への展開 [標的タンパク質として例えば、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC)、核内受容体など]、

第三段階：薬理作用に関わる諸要因の生化学的解析および情報伝達系の解析 (例えば Myc やカスパーゼやサイトカインなど)

4. 研究成果

当研究代表者らが提案しているマルチ創薬テンプレート手法を用い、ポリファーマコロジー活性化化合物の創製研究を遂行した。具体的には以下の通りである。

最初に、研究計画の第一段階である、BRD4 阻害活性を有する化合物の探索及び創製研究を遂行した。具体的には、サリドマイドを始原化合物に設定した当研究代表者らの化合物ライブラリーから代表的な化合物について活性拡張研究を行い、続いて BRD4 阻害作用を指標とした医薬化学的な構造展開研究・構造活性相関解析を行った。その結果、以下(1)から(3)等の成果を上げた。

- (1) サリドマイド関連化合物の活性拡張研究。
- (2) (1)に基づく新規 BRD4 阻害剤の創製、構造展開及び構造活性相関研究：
 N^6 -benzoyladenine 骨格を有する新規 BRD4 阻害剤の創製に成功した。得られた活性化化合物群は比較的小分子であり、一般的に挑戦的とされている小分子による protein-protein interaction (PPI)の制御を実践できたと考えている。また、研究当時、BRD4 阻害剤のファルマコフォアは限定されており、我々の新規骨格はいくつかのレビューにて紹介されている。
- (3) BRD4 阻害活性化化合物の構造活性相関を取得すべく、更なる構造展開及び構造活性相関研究：各種 N^6 -Benzoyladenine 型および N^6 - (heteroarylcarbonyl)adenine 型 BRD4 阻害剤の創製に成功した。構造展開研究ならびに構造活性相関解析により、構造活性相関についても一定の解答を得た。

続いて、集積した構造活性相関に関する情報を基に、第二段階であるポリファーマコロ

ジー活性化化合物 (多重標的性を有する化合物)への展開 (4)と、それに並行して、ポリファーマコロジー医薬創製のための HDAC 以外の標的探索及びそのリガンド創製研究 (5, 6)を行った。その結果、以下(4)から(6)等の成果を上げた。

- (4) BRD4 阻害剤と同様にアポトーシス等を制御し、類似の遺伝子群を制御するヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤に着目し、マルチ創薬テンプレート手法を用いて、BRD4/HDAC 二重阻害活性化化合物への展開に成功した。多重薬理活性を有するエピジェネティクス制御化合物の報告は少なく、世界に先駆けて発信することができたと考えている。また、構造活性相関解析を行い、一定の解答を得た。
- (5) 一般的なファルマコフォアとして知られるカルボン酸を有さない非カルボン酸型 peroxisome proliferator-activated receptor α/δ dual agonist の創製、およびそれらリガンドに Acetyl-CoA carboxylase 2 (ACC2)阻害活性を付与したポリファーマコロジー活性化化合物の創製、構造展開、構造活性相関研究。
- (6) Niemann-Pick disease type C1 protein を標的とした非ステロイド骨格を有するファーマコロジカルシャペロンの創製、構造展開および構造活性相関研究。

さらに、最終段階である創製化合物に関わる諸要因の生化学的、細胞生物学的な解析、および創製し薬理活性が認められた誘導体の各現象に関わる情報伝達系の解析を遂行することで、高次のポリファーマコロジー活性化化合物としての有用性を実験的に実証した。結果、以下(7)から(10)等の成果を上げた。

- (7) 創製した BRD4 阻害剤の表現型解析：各種がん細胞増殖阻害活性、生理濃度の all-trans retinoic acid (ATRA)による白血病細胞分化誘導を促進する活性、TNF-alpha 産生阻害活性を見出した。
- (8) 創製した BRD4 阻害剤が影響を及ぼす下流シグナルの解析：Myc level 抑制の確認。
- (9) BRD4/HDAC 二重阻害剤の情報伝達系の解析：Myc level 抑制、アポトーシス誘導活性 (開裂 caspase 3 や開裂 PARP の検出)の確認。
- (10) BRD4 阻害剤に感受性低い種々の白血病細胞に対する BRD4/HDAC 二重阻害剤の有用性の検討。

これら一連の研究により、マルチ創薬テン

プレート手法のポリファーマコロジーへの応用展開という、新たな活性化合物創製手法の創出に先鞭を付けることができただけでなく、がん治療を指向した戦略的基礎創薬化学研究に明確な方向性と学術基盤を付与することができたと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① S. Amemiya, T. Yamaguchi, Y. Hashimoto, **T. Noguchi-Yachide**.
Synthesis and evaluation of novel dual BRD4/HDAC inhibitors.
Bioorg. Med. Chem., 25(14), 3677-3684 (2017). (査読有)
DOI: 10.1016/j.bmc.2017.04.043
- ② R. Shioi, S. Okazaki, **T. Noguchi-Yachide**, M. Ishikawa, M. Makishima, Y. Hashimoto, T. Yamaguchi.
Switching subtype-selectivity: fragment replacement strategy affords novel class of peroxisome proliferator-activated receptor α/δ (PPAR α/δ) dual agonists.
Bioorg. Med. Chem. Lett., 27(14), 3131-3134 (2017). (査読有)
DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.05.037
- ③ S. Amemiya, T. Yamaguchi, Y. Hashimoto, **T. Noguchi-Yachide**.
Development of N^6 -(heteroarylcarbonyl) adenines as BRD4 inhibitors. (査読有)
Heterocycles, 94(69), 1107-1114 (2017).
DOI: 10.3987/COM-17-13667
- ④ H. Fukuda, F. Karaki, K. Dodo, **T. Noguchi-Yachide**, M. Ishikawa, Y. Hashimoto, K. Ohgane.
Phenanthridin-6-one derivatives as the first class of non-steroidal pharmacological chaperones for Niemann-Pick disease type C1 protein.
Bioorg. Med. Chem. Lett., 27(12), 2781-2787 (2017). (査読有)
DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.04.062
- ⑤ 谷内出友美, 橋本祐一.
BET プロモドメインを標的としたエピジェネティクス制御
MedChemNews, 27(4), 213-218 (2017). (査読無)
http://medchem.pod.ne.jp/index.php?option=com_content&view=category&id=36&language=ja
- ⑥ S. Okazaki, R. Shioi, **T. Noguchi-Yachide**, M. Ishikawa, M. Makishima, Y. Hashimoto, T. Yamaguchi.
Structure-activity relationship studies of non-carboxylic acid peroxisome proliferator-activated receptor α/δ (PPAR α/δ) dual Agonists.
Bioorg. Med. Chem. 24, 5455-5461 (2016). (査読有)
DOI: 10.1016/j.bmc.2016.08.067
- ⑦ Shogo Okazaki, **Tomomi Noguchi-Yachide**, Taki Sakai, Minoru Ishikawa, Makoto Makishima, Yuichi Hashimoto, Takao Yamaguchi.
Discovery of N-(1-(3-(4-phenoxyphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)ethyl) acetamides as novel acetyl-CoA carboxylase 2 (ACC2) inhibitors with peroxisome proliferator-activated receptor α/δ (PPAR α/δ) dual agonistic activity.
Bioorg. Med. Chem. 24, 5258-5269 (2016). (査読有)
DOI: 10.1016/j.bmc.2016.08.045
- ⑧ S. Amemiya, T. Yamaguchi, T. Sakai, Y. Hashimoto, **T. Noguchi-Yachide**.
Structure-activity relationship study of N6-benzoyladenine-type BRD4 inhibitors and their effects on cell differentiation and TNF- α production.
Chem. Pharm. Bull. 64, 1378-1383 (2016). (査読有)
DOI: 10.1248/cpb.c16-00410
- ⑨ **T. Noguchi-Yachide**.
BET Bromodomain as a Target of Epigenetic Therapy.
Chem. Pharm. Bull., 64(6), 540-547 (2016). (査読有)
DOI: 10.1248/cpb.c16-00225
- ⑩ T. Misawa, M. Yorioka, Y. Demizu, **T. Noguchi-Yachide**, N. Ohoka, M. Kurashima-Kinoshita, H. Motoyoshi, H. Nojiri, A. Kittaka, M. Makishima, M. Naito.

Effects of alkyl side chains and terminal hydrophilicity on vitamin D receptor (VDR) agonistic activity based on the diphenylpentane skeleton.

Bioorg. Med. Chem. Lett., 25 (22), 5362-5366 (2015). (査読有)

DOI: 10.1016/j.bmcl.2015.09.030

- ⑪ J. Yamaguchi, **T. Noguchi-Yachide**, Y. Sakaguchi, C. Shibata, S. Kanuma, A. Yoshizaki, Y. Takizawa, Y. Hashimoto. Synthesis of new hydantoins bearing glutarimide or succinimide moiety and their evaluation for cell differentiation-inducing and anti-angiogenic activities. *Heterocycles*, 91 (4), 764 -781 (2015). (査読有)
DOI: 10.3987/COM-15-13184

- ⑫ **Noguchi-Yachide T**, Sakai T, Hashimoto Y, Yamaguchi T. Discovery and structure-activity relationship studies of N6-benzoyladenine derivatives as novel BRD4 inhibitors. *Bioorg Med Chem.* 23(5), 953-959 (2015). (査読有)
DOI: 10.1016/j.bmc.2015.01.022

[学会発表] (計 17 件)

- ① 南條舜、**谷内出友美**、吉岡広大、榎島誠、石川稔、橋本祐一、大金賢司
ER downregulation の母核横断的な構造活性相関
日本薬学会第 138 年会、2018
- ② 安藤有輝、塩井隆太、吉岡広大、**谷内出友美**、石川稔、橋本祐一、大金賢司
Itraconazole の NPC1 シャペロンとしての構造活性相関研究
日本薬学会第138年会、2018
- ③ **谷内出(野口)友美** (招待講演)
二原子スパーサー連結bis-aryl骨格 (6-X-Y-6) を基盤とした生理活性物質創製研究
第35回メディシナルケミストリーシンポジウム、2017
- ④ 大金賢司、塩井隆太、安藤有輝、**谷内出友美**、石川稔、どど孝介、袖岡幹子、橋本祐一

ドラッグリポジショニングによるニューマンピック病C型に対するシャペロンドラッグの探索

第35回メディシナルケミストリーシンポジウム、2017

- ⑤ **谷内出(野口)友美**、雨宮聖花、山口卓男、橋本祐一
BETプロモドメインを標的としたエピジェネティクス制御
第61回日本薬学会関東支部大会、2017
- ⑥ **谷内出友美**、橋本祐一
N⁶-ベンゾイルアデニン骨格を有する新規 BRD4 阻害剤の創製研究
第 20 回日本がん分子標的治療学会学術集会、2016
- ⑦ 山口卓男、岡崎翔吾、境太希、**谷内出友美**、石川稔、橋本祐一
PPAR α / δ デュアル転写誘導活性を有する新規 ACC2 阻害剤の創出
日本ケミカルバイオロジー学会第11回年会、2016
- ⑧ 沼館慧剛、**谷内出友美**、梅田香織、榎島誠、橋本祐一、藤井晋也
アンドロゲン受容体 AF-1 モジュレーター の構造展開
日本ケミカルバイオロジー学会第 11 回年会、2016
- ⑨ 三澤隆史、出水庸介、**谷内出友美**、大岡伸通、木下恵愛、野尻久雄、橋高敦史、榎島誠、内藤幹彦、栗原正明
ビタミン D 受容体 (VDR) の活性を制御するノンセコステロイド型 VDR リガンドの創製
日本ビタミン学会第 68 大会、2016
- ⑩ 雨宮 聖花、境 太希、橋本 祐一、山口卓男、**谷内出 友美**
ベンゾイルアデニン骨格を有する新規 BRD4 阻害剤の創製
日本薬学会第 136 年会、2016
- ⑪ 海東 和麻、**谷内出 友美**、中津 亜紀、森 修一、橋本 祐一、影近 弘之、藤井晋也
核内受容体リガンドを指向した 1,3,5-トリアジン誘導体の設計と構造展開
日本薬学会第 136 年会、2016

- ⑫ 沼館 慧剛, 谷内出 友美, 梅田 香織, 榎島 誠, 橋本 祐一, 藤井 晋也
AF-1 領域による機能制御を指向した新規アンドロゲン受容体モジュレーター
の創製
日本薬学会第 136 年会、2016
- ⑬ **Tomomi Noguchi-Yachide**, Taki Sakai, Yuichi Hashimoto, Takao Yamaguchi
Novel BRD4 inhibitors with a N6-benzoyladenine skeleton
The international chemical congress of pacific basin societies (Pacifichem2015), 2015
- ⑭ 三澤隆史、依岡桃子、出水庸介、谷内出 友美、大岡伸通、木下恵愛、野尻久雄、橘高敦史、榎島誠、内藤幹彦、栗原正明
ノンセコステロイド型ビタミンD受容体リガンドの創製～官能基変換による活性制御～
第33回メディシナルケミストリーシンポジウム、2015
- ⑮ 岡崎 翔吾、境 太希、谷内出 友美、石川 稔、橋本 祐一、山口 卓男
新規PPAR α アゴニストの探索と構造展開、およびhACC2阻害活性評価
第33回メディシナルケミストリーシンポジウム、2015
- ⑯ 沼館慧剛、谷内出友美、梅田香織、榎島誠、橋本祐一、藤井晋也
アンドロゲン受容体 AF-1 モジュレーター
の創製
日本ケミカルバイオロジー学会第 10 回
年会、2015
- ⑰ **Tomomi Noguchi-Yachide**
Development of pharmacological chaperone candidates for Retinitis Pigmentosa and Niemann-Pick type C1 disease.
IWBBIO 2015 (3rd International Work-Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering), 2015

[その他]

ホームページ等

東京大学定量生命科学研究so生体有機化学
研究分野

<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/chem/IMCB-8ken-HP/Index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

谷内出 友美 (YACHIDE, Tomomi)

東京大学・分子細胞生物学研究所・講師

研究者番号：20401284