

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K19156

研究課題名(和文)触媒反応を駆使した生物活性シード創出への挑戦

研究課題名(英文)Seed compounds exploratory empowered by catalysis

研究代表者

五月女 宜裕 (SOHTOME, Yoshihiro)

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・専任研究員

研究者番号：50431888

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、独自の合成化学・生命化学を有機的に結びつけ新規生物活性分子シードを創出することを目指した。具体的には、触媒反応を駆使して高い酸化段階、連続不斉点、四級炭素等のsp<sup>3</sup>炭素に富んだ複雑分子を簡便に合成する手法を開発した。生成物に加え、原料、中間体、配位子等を含め約700の独自化合物について、ランダムスクリーニングで生物活性分子としての潜在性を検証した。また一部の化合物については独自のタンパク質メチル化評価系を用いてメチル化阻害も検討した。見出したシードについてはIC<sub>50</sub>値の算出、毒性試験、構造活性相関研究を行なった。一連の研究を通じて、数種の新規生物活性シードを創出することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体分子の機能をより選択的に制御する低分子化合物の創出は、世界有数の少子高齢化社会に突入する我が国において、持続的に取り組むべき課題である。しかしながら、物質化学的興味に触発され、アカデミアで合成された人工分子の多くは、製薬会社が追求するドラックライクネス(リピンスキー則等)の指標から外れている場合が多い。そのため、これらの合成分子は、シード化合物としての可能性は十分に検討されてこなかった。一方、本研究では、独自の化合物ライブラリーの構築、生物活性評価、構造展開研究を有機的に連動させることで、ユニークな生物活性シードを創出できることが示された。

研究成果の概要(英文)：The primary aim of this project is to identify new classes of biologically active molecules on the basis of the originally developed catalysis. We have developed catalytic strategies to efficiently construct the complex molecules having the sp<sup>3</sup>-rich scaffold, especially focusing on higher oxidation states, contiguous stereocenters, and quaternary carbons. Among the 700 compounds (including products, starting materials, intermediates, and ligands), we identified the several new compounds, which exhibit unique biological activities with less toxicity. For new seed compounds, we examined the concentration effect to obtain the IC<sub>50</sub> value, toxicity test, and structure-activity relationship studies.

研究分野：有機合成化学

キーワード：分子触媒 含窒素化合物 複素環化合物 連続不斉炭素 四級炭素 生物活性 抗感染症剤 シード化合物

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

有機合成化学およびケミカルバイオロジー研究は、日本で長足の進歩を遂げ、化学と生物学の根幹を支える学問体系の1つである。しかしながら、申請者が第一の主戦場としてきた有機合成化学分野では、第三者により見出された天然物や医薬品の合成プロセスを効率化することに主眼が向けられることが多い。「独自の触媒・反応」を駆使して、「独自の生命制御分子」の創出に切り込んだ研究例は未だに少ない。また物質化学的な興味(触媒・反応開発、構造解析、計算化学)に触発され、我々が合成する人工分子の多くは、製薬会社が追求する一般的なドラックライクネス(リピンスキー則等)の指標から外れる場合が多い。これらの理由から、反応条件の最適化、基質一般性の検証、機構解析等に多大な労力をかけるにもかかわらず、アカデミアで合成される化合物の多くは論文発表後には冷凍庫に埋もれることが多く、また保存スペースの確保が問題となる場合には廃棄されてしまうことも多い。

これらの現状を打破し、アカデミア主導で生体分子の機能を選択的に制御する低分子化合物の創出を加速させるためには、有機合成化学およびケミカルバイオロジーの両分野に真に精通したリーダーによる境界領域への挑戦が必要不可欠である。

## 2. 研究の目的

本研究課題では、(1) 独自の化合物ライブラリーの構築、(2) 生物活性評価、(3) 構造展開研究に取り組み、これらを相互に連動させうる研究体制を構築することを第一の目的とした。さらには、これらの分野融合型-有機化学を起点として、機能が十分に検証されていない新規化合物の生物活性分子としての可能性を広く検証することを目指した。

## 3. 研究の方法

これまで取り組んできた物質化学研究(触媒・反応開発、構造解析、計算化学)にモジュール化、生物活性という指標を加え、医薬化学と真に融合した研究を推進することを主眼として、以下に示す3つの研究項目について、重点的な検討を行なった。

### (1) 独自の化合物ライブラリーの構築

含窒素化合物は承認薬の84%を占めるが(Njardarson, J. T. *et al. J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 10257)、連続不斉点、四置換炭素を内包した含窒素化合物は、その合成の難しさがボトルネックとなり十分な活性評価がなされていない。我々が所有する独自の化合物の生物活性としての可能性を検証し、また構造活性相関について効率的に情報を得ることを目的に、以下の化合物について、純度の確認、サンプル標量を行なった。

- a. 論文に報告済みの生成物
- b. 原料、それらの中間体、配位子等
- c. 反応開発研究により供給される新規触媒生成物
- d. ケミカルメチローム解析のプロープ合成等において得られる高極性多官能基化合物

### (2) 生物活性評価

上述の化合物群の構造は独自性が高いが、製薬企業等がハイスループットスクリーニングで評価する化合物と比較するとその数は圧倒的に少ない。これらの独自の化合物群の中から、生物活性シードを見出すことを目指し、以下の2つの評価法により、まず1点濃度での生物活性評価を行なった。新たに見出した生物活性シード化合物については $IC_{50}$ 値を算出した。また数種の細胞株を用い増殖抑制活性も検証し細胞毒性に関する知見も得た。

- 生物活性評価 1. 理研が所有する NPDepo への寄託を通じた in house でのスクリーニング
- 生物活性評価 2. 独自のメチル化検出プロープ (ProSeAM) を用いて、プロテオーム解析

### (3) 構造展開

ファーマコフォアの同定、更なる活性値の向上を目指し構造展開を行なった。また、ここでも数種の細胞株を用い増殖抑制活性も検証することで、標的に対しより選択的に作用する化合物を探索した。

## 4. 研究成果

### (1) 独自の化合物ライブラリーの構築

本研究で生物活性の評価を行なった代表的な触媒反応生成物の構造を図 1 に示す。本研究では、上述の研究計画・方法に基づき、既に論文に報告している触媒生成物、原料、それらの中間体、配位子等について純度の再測定・サンプル瓶への標量を行なった (*Nat. Commun.* **2017**, *8*, 14875; *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 8661; *Heterocycles*, **2017**, *95*, 1030; *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 14903.)。既知化合物のライブラリー化、生物活性評価と並行して、新規触媒反応の開発にも取り組み、数種の新反応・新規化合物の創出にも成功した (*J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *141*, 9094; *ACS Catal.* **2020**, *10*, 12770; *Chem. Pharm. Bull.* **2020**, *68*, 895; *Asian J. Org. Chem.* **2019**, *95*, 1017.)。これにより立体構造や電子構造に着眼した独自の基質展開・多官能基化を行うことで化合物群が構築するケミカルスペースを拡張することができた。更に、得られた新規化合物については、各種スペクトル解析、DFT 計算により、その固体及び溶液中での三次元構造についての知見も得ることができた。

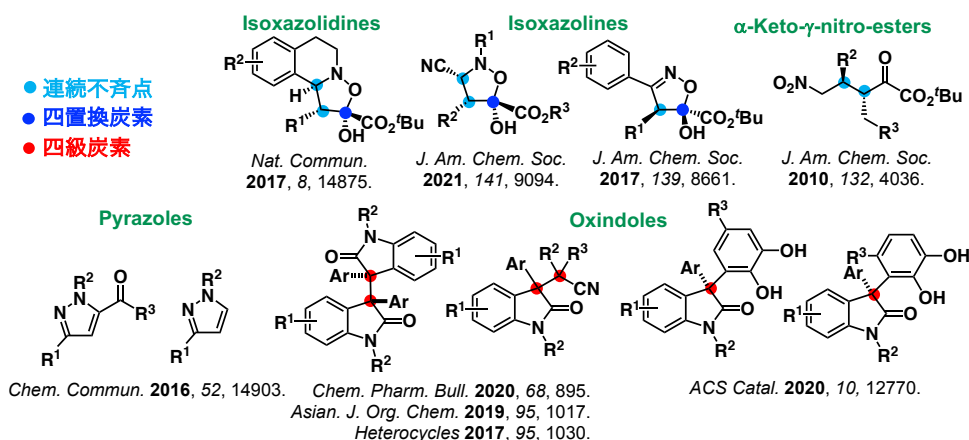


図1. 本研究で生物活性を評価した代表的な触媒反応生成物

### (2) 生物活性評価・(3) 構造展開

#### in house でのランダムスクリーニング

研究期間を通じて、理研が所有する NPDepo へ約 700 種の新規化合物を寄託することができた。ランダムスクリーニングにより、これらの化合物の活性評価を行なった結果、数種の化合物にユニークな生物活性を確認することができた。それらの中から代表的な例として、以下には抗 HBV 活性を有するシード化合物 **I**、抗マalaria活性を有するシード化合物 **II** の研究の進展を記載する。

**シード化合物 I:** 化合物 **I** は、承認薬と遜色ない  $IC_{50}$  値を有することがわかった。また細胞を用いた毒性試験でも毒性は低く有望なシード化合物であることが示された。更にはシード化合物 **I** は、3つのフラグメントに分割し、それぞれのユニットについてより詳細な構造活性相関研究を行った。これにより活性を発現するために重要なファーマコフォアに関してより体系的な知見を蓄積させることができた。

**シード化合物 II:** 研究開始当初、複素環化合物に焦点を当ててきた。一方、化合物のスキヤフォードを鎖状へと展開させた化合物ライブラリーの中から、有望なシード化合物 **II** を創出することに成功した。また、その類縁化合物の結晶構造解析にも成功している。触媒反応を駆使することで詳細な構造活性相関の知見が得られており、特に我々が触媒反応で用いる synthon ユニットが活性発現に重要であることがわかった。

### ProSeAM を用いたプロテオーム解析

ProSeAM はタンパク質メチル化酵素依存的にタンパク質を修飾するプローブである (*Acc. Chem. Res.* **2021**, *54*, 3818–3827)。このタンパク質ラベル化を指標とするケミカルプロテオミクスにおいて、独自に合成・設計したヌクレオシド類の活性を評価した結果、ユニークな阻害活性特性が明らかとなった。更には、分子触媒だけでなく酵素反応の検討にも着手し、これにより内因性生理活性物質ミミックの合成へと研究対象を拡張することもできた。

以上、本研究を通じて、(1) 独自の化合物ライブラリーの構築、(2) 生物活性評価、(3) 構造展開研究を有機的に連動させることで、ユニークな生物活性シードを創出できることが示された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Ezawa Tetsuya, Sohtome Yoshihiro, Hashizume Daisuke, Adachi Masaya, Akakabe Mai, Koshino Hiroyuki, Sodeoka Mikiko	4. 巻 143
2. 論文標題 Dynamics in Catalytic Asymmetric Diastereoconvergent (3 + 2) Cycloadditions with Isomerizable Nitrones and $\alpha$ -Keto Ester Enolates	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 9094 ~ 9104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.1c02833	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sohtome Yoshihiro, Shimazu Tadahiro, Shinkai Yoichi, Sodeoka Mikiko	4. 巻 54
2. 論文標題 Propargylic Se-adenosyl-l-selenomethionine: A Chemical Tool for Methylome Analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Accounts of Chemical Research	6. 最初と最後の頁 3818 ~ 3827
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.accounts.1c00395	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Erna Davydova, Tadahiro Shimazu et al,	4. 巻 12
2. 論文標題 The methyltransferase METTL9 mediates pervasive 1-methylhistidine modification in mammalian proteomes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nat. Commun.	6. 最初と最後の頁 891
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-20670-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Yoshihiro Sohtome, Kyohei Kanomata, Mikiko Sodeoka	4. 巻 94
2. 論文標題 Cross-Coupling Reactions of Persistent Tertiary Carbon Radicals,	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bull. Chem. Soc. Jpn.	6. 最初と最後の頁 1066-1079
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20200376	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Masumi Sugawara, Rikako Ohnishi, Tetsuya Ezawa, Mai Akakabe, Miki Sawamura, Daiki Hojo, Daisuke Hashizume, Yoshihiro Sohtome, Mikiko Sodeoka	4. 巻 10
2. 論文標題 Regiodivergent Oxidative Cross-Coupling of Catechols with Persistent tert-Carbon Radicals	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Catalysis	6. 最初と最後の頁 895-898
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscatal.0c03986	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Rikako Ohnishi, Masumi Sugawara, Tetsuya Ezawa, Yoshihiro Sohtome, Mikiko Sodeoka	4. 巻 68
2. 論文標題 Formal Aerobic Oxidative Cross-Coupling of Benzofuranones with Azo Compounds Using Pd- $\mu$ -hydroxo Complex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chem. Pharm. Bull.	6. 最初と最後の頁 895-898
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c20-00359	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 五月女宜裕	4. 巻 74
2. 論文標題 分子空間を操る-超分子化学・触媒化学の融合・進化を目指して	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 化学と工業	6. 最初と最後の頁 83-85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 五月女宜裕	4. 巻 74
2. 論文標題 金属錯体触媒が形成する分子空間の理解と制御	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 化学と工業	6. 最初と最後の頁 86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ohnishi Rikako, Sugawara Masumi, Akakabe Mai, Ezawa Tetsuya, Koshino Hiroyuki, Sohtome Yoshihiro, Sodeoka Mikiko	4. 巻 8
2. 論文標題 Cross Coupling Reaction of Dimer Derived Persistent Tertiary Carbon Centered Radicals with Azo Compounds	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Asian Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 1017-1023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ajoc.201900300	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshihiro Sohtome, Mikiko Sodeoka	4. 巻 31
2. 論文標題 Multiselective Catalytic Asymmetric Reactions Using alpha-Keto Esters as Pronucleophiles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Synlett	6. 最初と最後の頁 523-534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/s-0039-1690722	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshihiro Sohtome, Tadahiro Shimazu, Joaquin Barjau, Shinya Fujishiro, Mai Akakabe, Naoki Terayama, Kosuke Dodo, Akihiro Ito, Minoru Yoshida, Yoichi Shinkai, Mikiko Sodeoka	4. 巻 54
2. 論文標題 Unveiling epidithiodiketopiperazine as a non-histone arginine methyltransferase inhibitor by chemical protein methylome analyses	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chem. Commun.	6. 最初と最後の頁 9202-9205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8CC03907K	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshihiro Sohtome, Mikiko Sodeoka	4. 巻 18
2. 論文標題 Development of Chaetocin and S-Adenosylmethionine Analogues as Tools for Studying Protein Methylation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chem. Rec.	6. 最初と最後の頁 1660-1671
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/tcr.201800118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 9件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 五月女宜裕
2. 発表標題 合成化学を起点としたケミカルメチローム解析
3. 学会等名 日本薬学会第141回年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 五月女宜裕
2. 発表標題 動的反応化学：分子触媒と酵素の理解と制御を目指して
3. 学会等名 京都大学化学研究所講演会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 五月女宜裕
2. 発表標題 吸熱的結合形成反応：酸化的分子変換の高度化を目指して
3. 学会等名 日本化学会新領域研究グループ「分子空間化学」2020オンラインシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshihiro Sohtome, Mikiko Sodeoka
2. 発表標題 Catalytic Asymmetric [3+2] Cycloadditions With alpha-Keto Ester Enolates
3. 学会等名 27th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress (ISHC) (国際学会)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 Yoshihiro Sohtome, Rikako Ohnishi, Masumi Sugawara, Mai Akakabe, Tetsuya Ezawa, Hiroyuki Koshino, Mikiko Sodeoka
2. 発表標題 Cross-Coupling of Persistent Tertiary Carbon-Centered Radicals with Azo Compounds
3. 学会等名 4th International Symposium on Precisely Designed Catalysts with Customized Scaffolding (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五月女直裕
2. 発表標題 分野の垣根を超えた有機反応化学を目指して
3. 学会等名 北里大学大学院感染制御科学府、公開セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五月女直裕
2. 発表標題 持続性ラジカル種を用いるクロスカップリングの新展開
3. 学会等名 新領域研究グループ「分子空間化学」シンポジウム2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五月女直裕
2. 発表標題 分子触媒と酵素の理解と制御を目指して
3. 学会等名 柴崎セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tetsuya Ezawa, Yoshihiro Sohtome, Mai Akakabe, Daisuke Hashizume, Hiroyuki Koshino, Mikiko Sodeoka
2. 発表標題 Structural diversification of chiral compounds containing adjacent stereocenters based on the catalytic [3+2] cycloaddition of C-cyanonitrones
3. 学会等名 日本化学会第100回春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshihiro Sohtome, Rikako Ohnishi, Masumi Sugawara, Mai Akakabe, Tetsuya Ezawa, Hiroyuki Koshino, Mikiko Sodeoka
2. 発表標題 Cross-Coupling of Persistent Carbon-Centered Radicals with Azo Compounds
3. 学会等名 日本化学会第100回春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 五月女直裕
2. 発表標題 タンパク質メチル化反応の検出と制御を目指して
3. 学会等名 日本薬学会第140年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大西理華子、菅原真純、赤壁麻衣、五月女直裕、越野広雪、袖岡幹子
2. 発表標題 安定炭素ラジカル種を用いる連続四置換炭素の構築及びスペクトル解析
3. 学会等名 第8回CSJ化学フェスタ2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大西理華子、菅原真純、赤壁麻衣、五月女宜裕、越野広雪、袖岡幹子
2. 発表標題 安定炭素ラジカル種を用いた連続四置換炭素の構築法の開発
3. 学会等名 日本化学会第99回春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 江澤哲也、足立雅弥、赤壁麻依、五月女宜裕、袖岡幹子
2. 発表標題 alpha-ケトエステルエノレートとC-シアノニトロンとの触媒的不斉[3+2]環化付加型反応
3. 学会等名 日本化学会第99回春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五月女宜裕
2. 発表標題 金属中心キラリティー内包型遷移金属錯体を用いる触媒的不斉反応
3. 学会等名 錯体化学若手の会・関東支部前期勉強会2018（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五月女宜裕
2. 発表標題 酸素を用いる酸化的炭素-炭素結合形成反応
3. 学会等名 新領域研究グループ「分子空間化学」シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Yoshihiro Sohtome, Kazuo Nagasawa, Mikiko Sodeoka	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 262
3. 書名 "Design of the chiral environment for catalytic asymmetric acid-base catalysis" in Designed Molecular Space in Material Science and Catalysis	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>位置多様性・脱水素型クロスカップリング  <a href="https://www.chem-station.com/blog/2020/11/coupling.html">https://www.chem-station.com/blog/2020/11/coupling.html</a>          位置多様性・脱水素型クロスカップリングの開発  <a href="https://www.riken.jp/pr/news/2020/20201218_2/index.html?fbclid=IwAR20Ccl_UckP5c0DEkA6cLTak6jTkz7Io">https://www.riken.jp/pr/news/2020/20201218_2/index.html?fbclid=IwAR20Ccl_UckP5c0DEkA6cLTak6jTkz7Io</a>          位置多様性・脱水素型クロスカップリング - ラジカル・酸/塩基反応の協奏により反応位置を操る -  <a href="https://www.riken.jp/press/2020/20201022_1/index.html">https://www.riken.jp/press/2020/20201022_1/index.html</a>          理研プレスリリース  <a href="http://www.riken.jp/pr/press/2018/20180806_2/">http://www.riken.jp/pr/press/2018/20180806_2/</a>          Chem-Station スポットライトリサーチ  <a href="https://www.chem-station.com/blog/2018/09/methylation.html">https://www.chem-station.com/blog/2018/09/methylation.html</a>          Cover Picture in Chem. Rec.  <a href="https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/tcr.201881201">https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/tcr.201881201</a></p>
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------