

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03350

研究課題名(和文) 小員環および中員環のひずみを活用した生物機能性分子の設計と評価

研究課題名(英文) Design, Synthesis and Evaluation of Biologically Active Molecules Based on Ring Strain

研究代表者

高須 清誠 (Takasu, Kiyosei)

京都大学・薬学研究科・教授

研究者番号：10302168

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：環ひずみによる特徴ある反応性やコンホメーションを示す分子は、創薬や材料科学分野で新たなケミカルスペースを拓く分子骨格になりうることを明確にした。特に、好中球が産生する次亜塩素酸を刺激として分子変換する小員環化合物を開発し、生体内刺激を観測するプローブ開発の基盤を構築した。また、強力な抗癌活性を示すアルカロイドをペイロードとするADC(抗体-薬物複合体)を合成し、in vitroで有意な活性を示すことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

環ひずみをもつ分子は、特徴あるコンホメーションや化学反応性を提示しうる創薬プラットフォーム分子、有機材料プラットフォーム分子になることを、より一層明確にすることができた。特に、小員環の縮環シクロブテンは微量反応性化合物のtrans-シクロアルケンとの平衡混合物であることを利用し、生体直交型クリック反応剤として働くことを見出すとともに、ADCなどの新創薬モダリティの創製に利用できることを明確にした。

研究成果の概要(英文)：We made clear that strained molecules showing characteristic reactivity and conformations due to ring distortion can be molecular skeletons that open up new chemical spaces in the fields of drug discovery and materials science. In particular, we developed small ring compounds that undergo molecular transformation stimulated by hypochlorous acid produced by neutrophils, and established the basis for the development of probes to observe in vivo stimuli. In addition, we synthesized ADCs (antibody-drug conjugates) with alkaloids as payloads that exhibit potent anticancer activity and demonstrated significant activity in vitro.

研究分野：有機化学

キーワード：ひずみ分子 精密有機合成 小員環 中員環 ADC 刺激応答

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

小員環やひずんだ多重結合をもつ中員環などの環状ひずみ化合物は、そのひずみに由来する独特な反応性を示すことから、有機合成において特徴的な合成シントンとして利用される。また、結合角や二面角などの構造パラメータも特徴的であり、独特なコンホメーションを提供する。しかし、これらひずみ化合物は一般的に合成しにくく、特に多置換・多官能性化合物の合成的供給には大きな課題が残っているため、応用研究は極めて限定的であった。そのような中、申請者は1990年代後半からいち早く小員環（特に四員環）などのひずみ分子の化学に着目し研究を展開してきた。科学研究費等の支援で新規合成法や変換反応の開発ならびに天然物合成への応用を多角的に行ってきた。たとえば、多置換シクロブタンを大量合成可能な触媒的[2+2]環化付加の開発、小員環を含む生理活性天然物の合成、環ひずみを利用した新規分子変換法の開拓、分子ひずみを駆動力とした刺激応答性化合物の創製に顕著な実績を残し、国内外で高い評価を受けてきた。

近年の創薬化学領域の問題として、新薬開発の需要は高い反面、低分子薬の開発成功率が低下していることがある。その要因の中で、 sp^2 原子からなる平面分子を基盤とする創薬に偏っていたことは分子設計上の大きな課題のひとつであった。天然物のような新規性が高く三次元性の高い分子骨格や創薬未利用骨格を含む構造多様性(ケミカルスペース)に富んだ創薬資源ライブラリーの充実が、創薬における低分子復権の今後の課題となっている。これまで供給の問題などであまり利用されてこなかった基本構造のうち、構造多様な合成展開が可能な分子群の利用に期待が高まっている(Johnstone, C. *Drug Discov. Today* **2012**, *17*, 11)。申請者は、新しいケミカルスペース候補としてひずみ化合物を提案すべきと考えた。

2. 研究の目的

環ひずみによる特徴ある反応性やコンホメーションを示す分子は、創薬や材料科学分野で新たなケミカルスペースを拓く分子骨格になりうるかを明確にすることを大きな目的とした。いまだ四員環炭化水素などひずみ化合物の化学的理解や応用研究は不十分であり、本研究により小員環の有用性や実用性をさらに開拓・拡張・深化すべきである。そのために、以下の3つの「問い」を解決することを本申請の目的とした。

刺激応答性機能分子を設計する際に、反応性小員環を化学トリガーとして利用できるか。

環ひずみの解消を駆動力とした小員環の反応(開環・転縮小・環拡大)について、「反応条件→刺激応答」、「化学反応→生体高分子との反応」と視点を変え、刺激(環境)に応答して生体高分子と選択的に化学反応して機能発現できる化合物の *de novo* 創製を目的とした。

抗体-抗体複合体(ADC)の合成に、ひずみ分子をクリック反応剤としてどう利用するか。

高ひずみ二重結合の *bioorthogonal* なクリック反応特性に着目して、申請者が見出した「小員環 *trans* 中員環アルケンを与える電子環状反応」を基盤にどのように利用展開するかを抗原-薬物複合体(ADC)創製を通して探究することを目的とする。

小員環や中員環などのひずみ分子は、医薬品や材料の新たな構造素子になりうるか。

生物活性化合物の環状および鎖状構造を類似の小員環や中員環に置換することで、機能の向上や差別化がどのようにできるかを探り、ひずみ分子が持つ固有のコンホメーションの有意性・有用性を明確にすることで新たなケミカルスペースをもつ医薬スキヤフォールドになりうることを実証することとした。また、ひずみ分子の実用的な合成供給法の基盤形成のため、ひずみ分子

の新たな合成法の開発を検討することにした。

3. 研究の方法

刺激応答性分子の創製

我々がすでに合成法を報告している芳香族縮環ピシクロ[4.2.0]オクタノールは、酸性や塩基性の刺激を与えるとひずみエネルギーの解消を駆動力として種々の分子変換が進行するが、ここでは酸化剤でどのような反応が進行し、生成物の性質にどのような変化がみられるか検討することとした。具体的には、酸化剤として超原子価ヨウ素反応剤および次亜塩素酸を用いて検討を行った。次亜塩素酸は好中球内でミエロペルオキシダーゼが過酸化水素と塩化物イオンから作られ、貪食作用・殺菌作用に関わるとされている。将来的には生体内刺激を観測するプローブへの展開が期待できる。

クリック反応剤の開発とADC（抗体—薬物複合体）の合成

我々はすでにシクロブタンの分子ひずみ解消を鍵反応としたcryptopleurine類の全合成に成功している。本天然物は強力な抗癌活性（上皮腺癌：EC₅₀ = 1.0 pM）を示すが、毒性と動態が問題となり医薬開発が中断されている。服部との共同研究で作製したADC（抗体 - 薬物複合体）は、毒性の低下と活性向上が確認できている。適切な長さのリンカーでシクロブテン（click前駆体）をつないだcryptopleurine誘導体と、テトラジン部位を有するHER2抗体を、外部刺激（反応剤、光など）を与えADCを作成する。

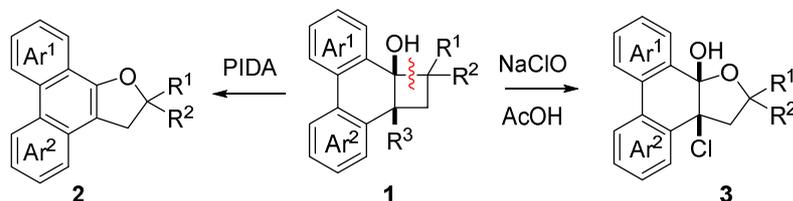
ひずみ分子の合成法開拓とひずみ構造を含む生物活性化合物の創製

官能基化シクロブテンの新規合成法としてイノラートと不飽和カルボニル化合物の(2+2)環化付加反応の検討を行う。特に、マイクロリアクターを用いるフロー合成法への展開を図る。あわせて、本合成法を利用して抗腫瘍活性を示すジテルペンであるprovidencinの合成を検討する。

4. 研究の成果

刺激応答性分子の創製

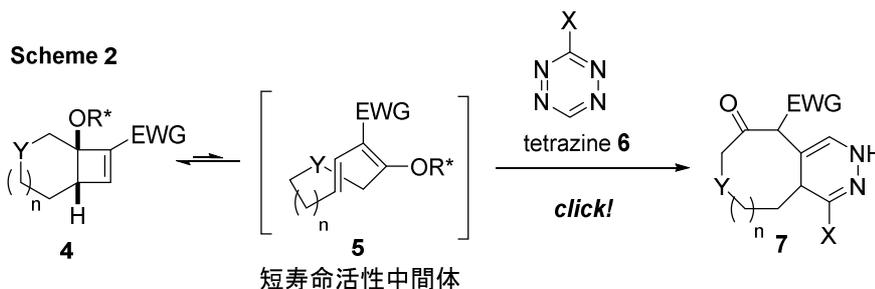
酸化剤として（ジアセトキシヨード）ベンゼン（PIDA）を用いたところ、**1**は速やかに反応が進行しフラン環をもつ多環芳香族炭化水素**2**を与えた（Scheme 1）。この際、 π 共役が拡張することで、生成物の紫外可視吸収スペクトルは基質に比べ長波長シフトすることが明らかとなった。一方、酸化剤として次亜塩素酸を用いたところ、**1**は塩素化体**3**に良好な収率で変換されることが分かった。**3**は化合物**2**が脱芳香族的クロロ化（酸化）されて得られることも明らかになった（Takasu, K. *et al. J. Org. Chem.* **2021**, *86*, 12615）。この分子変換を利用すると、酸化刺激を与えることにより光学的にOFF/ONの信号変換する物質の創製が期待できる。



Scheme 1

クリック反応剤の開発とADC（抗体—薬物複合体）の合成

縮環シクロブテン4の電子環状反応で生じる短寿命中間体5 (*trans*-シクロアルカジエン) がテトラジン6とclick反応を高速で起こすこと、化学的刺激でO-R*結合を開裂させることで室温でも中間体5が生成することを明らかにした (Takasu, K. *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, 58, 11836)。高いひずみを有する5は安定に単離できないが、比較的安定な4を前駆体として用いることが特徴的であることを明確にした (Scheme 2)。また、ペイロードとなるcryptopleurineおよびその誘導体の新たな全合成法を確立 (Yamaoka, Y.; Takasu, K. *et al. Synthesis* **2022**, 54, 2415) するとともに、HER2抗体とのADC複合体を調製した。このものを用い、乳がんをはじめとする各種癌に対する抗腫瘍活性を*in vitro*で評価し、有意に抗腫瘍効果を示すことを明らかにした。



ひずみ分子の合成法開拓とひずみ構造を含む生物活性化合物の創製

イノラートとアクリレートによる(2+2)環化付加によるシクロブテン合成を検討において、既存の方法によって生成させたイノラートを用いた(2+2)環化付加を試みたが目的の環化体は得られなかった。種々検討の結果、 α, α, α -トリプロモメチルケトンに対し *t*BuLi を作用させる新規イノラート生成法を用いた際にアクリレートとの(2+2)環化付加が進行し、シクロブテンを効率的に合成できた。本手法は良好な基質適用範囲を示すこともみだし、バッチ反応による小スケール精密合成を達成した。さらに、マイクロリアクターを用いるフロー法について条件検討をした結果、バッチ法に比べ収率および反応時間を大幅に改善することに成功した。また、本シクロブテン合成法を鍵半島とした providencin の合成を検討中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takasu Kiyosei, Shigenaga Koichi, Shimoda Kazuma, Takikawa Hiroshi, Yamaoka Yousuke	4. 巻 103
2. 論文標題 Synthesis of Lactone-Fused Cyclopropanes by Ring Contractive -Ketol Rearrangement of Ketal-Fused Cyclobutanones	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 HETEROCYCLES	6. 最初と最後の頁 177 ~ 177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3987/COM-20-S(K)6	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 Yamaoka Yousuke, Nakayama Takamori, Kawai Shota, Takasu Kiyosei	4. 巻 22
2. 論文標題 Total Synthesis of (-)-Sigillin A: A Polychlorinated and Polyoxygenated Natural Product	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 7721 ~ 7724
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.0c02930	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 Mogi Yuzo, Inanaga Kazato, Tokuyama Hidetoshi, Ihara Masataka, Yamaoka Yousuke, Yamada Ken-ichi, Takasu Kiyosei	4. 巻 21
2. 論文標題 Rapid Assembly of Protoilludane Skeleton through Tandem Catalysis: Total Synthesis of Paesslerin A and Its Structural Revision	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 3954 ~ 3958
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b01089	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 Ito Tomohiro, Tsutsumi Masaki, Yamada Ken ichi, Takikawa Hiroshi, Yamaoka Yousuke, Takasu Kiyosei	4. 巻 58
2. 論文標題 Synthesis of Functionalized Medium Sized trans Cycloalkenes by 4 Electrocyclic Ring Opening/Alkylation Sequence	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 11836 ~ 11840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201906665	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 Shimoda Kazuma, Yamaoka Yousuke, Yoo Dongeun, Yamada Ken-ichi, Takikawa Hiroshi, Takasu Kiyosei	4. 巻 84
2. 論文標題 Total Syntheses of Allelopathic 4-Oxyprotoilludanes, Melleolides, and Echinocidins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 11014 ~ 11024
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.9b01589	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 Takasu Kiyosei, Tsutsumi Masaki, Ito Tomohiro, Takikawa Hiroshi, Yamaoka Yousuke	4. 巻 101
2. 論文標題 Synthesis of Dibenzoxazonines by Domino [2+2] Cycloaddition?4 Electrocyclic Ring Opening Reaction of Cyclic Imines with Ynamides	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 HETEROCYCLES	6. 最初と最後の頁 423 ~ 423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3987/COM-19-S(F)39	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 Kinouchi Hayate, Sugimoto Kazuma, Yamaoka Yousuke, Takikawa Hiroshi, Takasu Kiyosei	4. 巻 86
2. 論文標題 Oxidative -Cleavage of Fused Cyclobutanols Leading to Hydrofuran-Fused Polycyclic Aromatic Compounds	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 12615 ~ 12622
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.1c01108	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 Yamaoka Yousuke, Takasu Kiyosei, Yamakawa Takuro, Tateishi Kaito	4. 巻 54
2. 論文標題 Total Synthesis of Cryptopleurine and Its Analogues	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Synthesis	6. 最初と最後の頁 2415 ~ 2422
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/a-1730-8628	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17件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 8件）

1. 発表者名 山崎大資、瀧川紘、山岡庸介、高須清誠
2. 発表標題 エンイナミドの連続環化反応による多環性キノリンの合成研究
3. 学会等名 第86回日本分析化学会有機微量分析研究懇談会、第110回計測自動制御学会力学量計測部会、第36回合同シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yousuke Yamaoka, Takamori Nakayama, Syota Kawai, Hiroshi Takikawa, Kiyosei Takasu
2. 発表標題 Synthetic Study of Total Synthesis of Sigillin A
3. 学会等名 The 4th International Symposium on Process Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kiyosei Takasu, Kazuma Sugimoto, Shun Fujimura, Ken-ichi Yamada, Hiroshi Takikawa, Yousuke Yamaoka
2. 発表標題 KHMDs-Promoted Enolate-Olefin Metathesis
3. 学会等名 The 4th International Symposium on Process Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kiyosei Takasu
2. 発表標題 New Horizons of Chemistry of 4-Membered Carbocycles
3. 学会等名 2019 Designing Molecules Workshop and Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yousuke Yamaoka, Takamori Nakayama, Shota Kawai, Hiroshi Takikawa, Kiyosei Takasu
2. 発表標題 Synthetic Study of Sigillin A, Polychlorinated Polyketide
3. 学会等名 27th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yousuke Yamaoka, Takuro Yamakawa, Hiroshi Takikawa, Kiyosei Takasu
2. 発表標題 Total Synthesis of Tylophorine and Cryptopleurine
3. 学会等名 27th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yousuke Yamaoka, Hidetaka Imahori, Yukiko Kobori, Motoki Ueda, Hiroshi Takikawa, Kiyosei Takasu
2. 発表標題 (2+2)-Cycloaddition of Lithium Ynolate with α,β -Unsaturated Ester
3. 学会等名 The Second Chem&ChemEn International Workshop on Sustainability-Oriented Organic Synthesis (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kiyosei Takasu
2. 発表標題 Total Syntheses of Cyclobutane-containing Natural Products
3. 学会等名 Seoul National University, invited lecture (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山岡庸介、山川拓朗、瀧川紘、服部明、高須清誠
2. 発表標題 Cryptopleurine誘導体のADC化
3. 学会等名 京都大学メディカルイノベーション卓越大学院プログラム・医学研究サロン
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山岡庸介、山川拓朗、瀧川紘、服部明、高須清誠
2. 発表標題 Cryptopleurine誘導体の全合成とその活性評価
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高須清誠
2. 発表標題 ひずみの付与と解消を利用する分子変換
3. 学会等名 岡山大学大学院自然科学研究科セミナー（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今堀秀隆、山岡庸介、小堀友規子、植田幹、瀧川紘、高須清誠
2. 発表標題 新規リチウムイノラート調製法および α,β -不飽和エステルとの(2+2)環化付加の開発
3. 学会等名 第70回日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高須清誠、紀之内颯、山岡庸介、瀧川紘
2. 発表標題 酸化剤を用いた縮環シクロブタノールの選択的 開裂の研究
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高須清誠
2. 発表標題 ひずみ分子の合成化学、ときどきヘテロ原子
3. 学会等名 2021年度近畿化学協会ヘテロ原子部会第1回懇話会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究 分担者	服部 明 (Hattori Akira) (50300893)	京都大学・薬学研究科・准教授 (14301)	
研究 分担者	山岡 庸介 (Yamaoka Yousuke) (60624723)	京都大学・薬学研究科・助教 (14301)	

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
---------	---------