

平成22年5月20日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20790097

研究課題名（和文）タンパク質間相互作用を調節する小分子有機化合物の論理的開発研究

研究課題名（英文）Rational Design of Small Molecules Modulating Protein-Protein Interaction

研究代表者

市川 聡（ICHIKAWA SATOSHI）

北海道大学大学院薬学研究院・准教授

研究者番号：60333621

研究成果の概要（和文）：本研究はタンパク質間相互作用を阻害する小分子有機化合物を設計する方法論の確立を目指して、高立体選択的 $\beta$ -Cリボシル化反応の適用範囲拡大と、本反応を用いて新規タンパク質間相互作用阻害剤を開発するものである。申請者はオキソカルベニウムイオンに対する極めて稀な求核剤の outside attack を積極的に活用して、高立体選択的な $\beta$ -Cリボシル化反応を開発した。得られたアリル- $\beta$ -Cリボシドから、オキサビシクロ[n.2.1]系化合物を得ることができた。

研究成果の概要（英文）：This study is to develop a stereoselective C-glycosylation reaction to give C-glycosides, which can be a key intermediate of oxabicyclo[n,2.1]system designed as a scaffold of small molecule protein-protein interaction inhibitors. Reactions of 2,3-O-(3-pentylidene)-D-ribofuranosyl fluoride with various allyltrimethylsilane derivatives exhibited excellent  $\beta$ -selectivity providing a range of  $\beta$ -C-allylribosides ( $\beta/\alpha = >98/2$ ). This strategy will provide a new concept to synthesize  $\beta$ -C-allylribosides, which are biologically relevant molecules such as small molecule protein-protein interaction inhibitors, by controlling the effect of steric hindrance in the transition state.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：タンパク質間相互作用、 $\alpha$ -リボシル化反応、有機合成

### 1. 研究開始当初の背景

「標的となる酵素・タンパク質に相互作用する小分子有機化合物を、いかにして論理的かつ効率的に提供するか」は、ゲノム創薬のボトルネックの一つであり、国内外を問わず創薬化学における最重要課題のひとつである。中でもタンパク質間相互作用を調節する小分子設計は困難である。一般にタンパク質間の相互作用は、その接触面は広くて(1200-2000 Å)比較的平らであり、酵素の活性部位にあたるいわゆるくぼみが少ない。そのうえ酵素とその基質間の接触面積と比較するとタンパク質間の接触面積ははるかに大きいことから、その調節分子を設計するうえでの基質や分子サイズの設定が難しい。タンパク質間相互作用に関する網羅的な統計的分析によると、接触面すべてのアミノ酸残基が均一に結合エネルギーに寄与してはおらず、中心部に密集する疎水性アミノ酸がその大部分が寄与する。この部位は **hot spot** と呼ばれており、タンパク質間相互作用の調節分子を開発する際の標的的部位とされる。物質間の相互作用は、双方の各種官能基の3次元空間配置の合致が重要であり、これらの官能基を土台となる基本構造 (**scaffold**) に固定すればよいが、良質な **scaffold** を選択する事が極めて重要である。

### 2. 研究の目的

申請者は前出の **hot spot** と疎水性相互作用し、かつ3次元的空间配置を規定しうる官能基を簡便に導入しうる **scaffold** 群の構造活性相関を検討することで、良質な **scaffold** を選択し、さらに各種官能基を最適化することで、タンパク質間相互作用を阻害するリード小分子有機化合物群を創出できるのでと考えた。本研究はタンパク質間相互作用を阻害する小分子有機化合物を設計する方法論を確立すべく、**Figure 1** に示す研究概念図のとおり、1. 高立体選択的 $\beta$ - $\alpha$ -リボシル化反応の適用範囲拡大と2. チューブリン重合を標的とした本研究概念の検証を行うものである。

### 3. 研究の方法

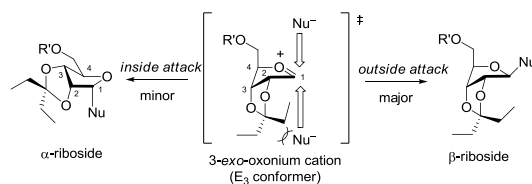
(1) 本申請研究の基盤となる高立体選択的 $\beta$ - $\alpha$ -リボシル化反応についての検討を行う (**Scheme 1**)。予備実験として既に、数種の炭素求核剤を用いてアリル化・向山アルドール型・Friedel-Crafts型の反応が高立体選択的に進行することを実証しており、さらなる適用範囲の拡大を図る。得られた2,5-シス置換テトラヒドロフラン誘導体の2,5位置換基の間の環化反応について検討を行い、オキサビシクロ[n.2.1]系化合物の効率的な合成法を開発する。

(2) この合成法の確立後、チューブリン重合を標的とした研究概念の検証に着手する。その分子設計は、まず種々のオキサビシクロ[n.2.1]系化合物のコンピューター計算による分子モデリングを行い、タキソール、エポチロン、エロイセロビンそれぞれの側鎖を除いたコア構造と類似した構造を選出する。選出された構造を **scaffold** として、置換オキサビシクロ[n.2.1]化合物を合成する

(**Figure 2**)。分子設計においては、チューブリン重合安定化活性を有する天然物の構造生化学研究や研究はこれまで精力的に行われており、チューブリンとの複合体構造や、有用な構造・活性相関情報が入手可能である。これらを分子設計に取り入れることで、構造に基づいた薬物設計を行うことで概念の検証の精度を高める。合成した化合物の既知の方法を用いて、チューブリン重合安定化活性を測定し、構造・活性相関を検討する。

### 4. 研究成果

これまで申請者はオキソカルベニウムイオンに対する極めて稀な求核剤の **outside attack** を積極的に活用して、高立体選択的 $\beta$ - $\alpha$ -リボシル化反応を開発し、天然物合成に利用してきた (**Figure 1**)。タンパク質間相互作用を阻害する小分子有機化合物の合成法を確立すべく、まず高立体選択的 $\beta$ - $\alpha$ -リボシル化反応の開発を行った。アリルトリメチルシランを求核剤、5- $\alpha$ -ベンジル-2,3- $\alpha$ -ペンチリデン-D-リボシルフルオリドを糖供与体とした $\alpha$ -リボシル化反応を検討したところ、用いるルイス酸の種類によらず、 $\beta/\alpha > 98/2$  で高立体選択的にアリル- $\beta$ - $\alpha$ -リボシド体が得られた (**Table 1**)。このことから本反応における立体選択性は、活性中間体であるオキソカルベニウムイオンに対する求核剤の面選択的な攻撃に大きく支配されることが示唆された。さらに求核剤として各種1,2または3置換アリルトリメチルシランを用いた場合でも、良好な収率・立体選択性で対応する $\beta$ - $\alpha$ -リボシドを与えることがわかった (**Table 2**)。本反応は、向山アルドール型反応やシアノ化、Friedel-Crafts型反応にも適用でき、汎用性の高い直接的かつ高立体選択的 $\beta$ - $\alpha$ -リボシル化反応



**Figure 1.** Schematic representation of the  $\beta$ -stereoselectivity of the nucleophilic attack to oxocarbenium ions of 3-pentylidene protected ribofuranoside

を開発することができた (*Org. Lett.*, 2008, 10,

5107-5110)。得られたアリル-β-C-リボシドの5位にアリル基を導入後、閉環メタセシスを行うことで、オキサビシクロ[n.2.1]系化合物を得ることができた。各種官能基変換、脱保護を行うことで、目的とするオキサビシクロ[5.2.1]化合物を合成することが出来た。市販の Bcl-2 と蛍光標識 Bak ペプチドを用いた蛍光偏光による、本化合物の Bcl-2/Bak 複合体形成阻害活性の評価を検討中で

**Table 1.** C-Allylation of 3-pentylidene protected ribosyl fluoride with various substituted allyltrimethylsilanes

entry	nucleophile	products	yield (%) <sup>a</sup>	ratio (β/α) <sup>b</sup>
1			99	98/2
2			72	98/2
3			88	97/3
4			93	>98/2
5 <sup>c</sup>			31	>98/2
6			54	95/5
7			-	-
8			92	90:10
9			91	61:39
10			77	97/3

<sup>a</sup> Combined isolated yields after column chromatography.

<sup>b</sup> Anomeric ratio determined from <sup>1</sup>H NMR integration values of selected protons.

<sup>c</sup> Reaction time was 1 h.

ある。

## 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 8 件)

- ① 平野慎平、市川聡、松田彰、Synthesis of Caprazamycin Analogs and Their Structure-Activity Relationship for Antibacterial Activity. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 569-577. 査読有
- ② 平野慎平、市川聡、松田彰、Structure-Activity Relationship of Truncated Analogs of Caprazamycins as Potential Anti-tuberculosis Agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5123-5133. 査読有
- ③ 中根政弘、市川聡、松田彰、Triazole-Linked Dumbbell Oligodeoxynucleotides with NF-κB Binding Ability as New Decoy Molecules. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 1842-1851. 査読有
- ④ 村中一大、佐野亜希子、市川聡、松田彰、Synthesis of Hsp90 Inhibitor Dimers as Potential Antitumor Agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5862-5870. 査読有
- ⑤ 市川聡、Fine Synthetic Nucleoside Chemistry Based on Nucleoside Natural Products Synthesis. *Chem. Pharm. Bull.* **2008**, *56*, 1059-1078. 査読有
- ⑥ 市川聡、精密有機合成化学に基づいたヌクレオシドと核酸の創薬研究、薬学雑誌、**2008**, *128*, 1403-1430. 査読有
- ⑦ 市川聡、林亮子、平野慎平、松田彰、Highly β-Selective C-Allylation of a Ribofuranoside Controlling Steric Hindrance in the Transition State. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5107-5110. 査読有
- ⑧ 村中一大、市川聡、松田彰、Design and synthesis of 3',5'-ansa-adenosines as potential Hsp90 inhibitors. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 5102-5106. 査読有

[学会発表] (計 14 件)

- ① 伊井謙介、市川聡、松田彰、抗菌天然物 FR-900493 のアミノリボース部単純化アナログの合成研究、2009年3月26日、日本薬学会第129年会、京都
- ② 市川聡、SBDD による新規抗癌剤シードの開発研究、日本薬学会第129年会、2009年3月27日、京都
- ③ 市川聡、Chemistry and structure-activity relationship of antibacterial nucleoside natural products. 18<sup>th</sup> International Round Table on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids、2009年9月12日、京都
- ④ 谷野哲也、市川聡、松田彰、Synthetic Study of Muraymycins using Ugi-four

- Component Reaction, 8<sup>th</sup> International Round Table on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids、2009年9月12日、京都
- ⑤ 村中一大、市川聡、佐野亜希子、松田彰、Synthesis of Hsp90 inhibitor dimmers as potential antitumor agents、The 4<sup>th</sup> International Conference on The Hsp90 Chaperone Machine、2008年10月3日、ドイツ
  - ⑥ 佐古友希、市川聡、佐野亜希子、松田彰、Checkpoint kinase 1 (Chk1) の構造に基づく新規阻害剤の開発研究、メディシナルケミストリーシンポジウム、2009年9月27日、大阪
  - ⑦ 植野秀章、市川聡、松田彰、CuAACを用いた新規ダンベル型 DNA 合成法の開発、2010年3月29日、日本薬学会第130年会、岡山
  - ⑧ 伊井謙介、市川聡、松田彰、薬剤耐性菌に有効なカプラザマイシン類の構造単純化、2010年3月28日、日本薬学会第130年会、岡山
  - ⑨ 谷野哲也、市川聡、松田彰、魚谷幸一、新規抗菌剤開発を指向した *MraY* 阻害天然物ムライマイシン類の合成研究、2010年3月28日、日本薬学会第130年会、岡山
  - ⑩ 市川聡、大多和正樹、手石方康弘、山田耕治、藤室雅弘、横沢英良、松田彰、9-(2-C-Cyano-2-β-D-arabino-pentofuranosyl)guanine, a potential antitumor agent against B-lymphoma infected with Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus、The 6<sup>th</sup> International Symposium on Nucleic Acids Chemistry、2009年9月27日、高山
  - ⑪ 村中一大、市川聡、松田彰、Rational design and synthesis of ansa-adenosines as potential antitumor agents、The 6<sup>th</sup> International Symposium on Nucleic Acids Chemistry、2009年9月27日、高山
  - ⑫ 市川聡、ヌクレオシド系天然物をリードとした新規抗菌剤の創製研究、2009年11月26日、メディシナルケミストリーシンポジウム、東京
  - ⑬ 市川聡、新規抗菌剤の創製を目指したヌクレオシド系抗生物質の合成研究、2009年7月18日、有機合成化学協会東海支部若手研究者のためのセミナー、静岡
  - ⑭ 市川聡、佐古友希、佐野亜希子、松田彰、構造に基づいた薬物設計による新規チェックポイントキナーゼ 1 阻害剤の開発研究、2009年6月26日、がん分子標的治療研究会、徳島

[その他]  
ホームページ等  
<http://www.pharm.hokudai.ac.jp/yakka/index.html>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

市川 聡 (ICHIKAWA SATOSHI)

北海道大学・大学院薬学研究院・准教授

研究者番号：60333621

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし