

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月18日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21390028

研究課題名（和文） 三次元的多様性を特徴とする汎用性βターンミメティックの創製

研究課題名（英文） Useful β-turn mimetics having three-dimensional diversity

研究代表者

周東 智 (SHUTO SATOSHI)

北海道大学・大学院薬学研究院・教授

研究者番号：70241346

研究成果の概要（和文）：創薬上有用でその開発が望まれている汎用性に優れるβターンミメティックを三次元的多様性を鍵とする分子設計法に基づき考案し、その効率的かつ立体選択的合成法を開発した。βターンミメティックを基本構造としてメラノコルチン受容体リガンドを設計・合成し、その薬理活性を評価した結果、顕著な同受容体阻害活性を有する非ペプチドリガンドの創製に至った。以上の結果は本βターンミメティックの創薬上の有用性を示す。

研究成果の概要（英文）：The stereochemical diversity-oriented b-turn mimetics were designed and efficient and stereoselective synthetic method of them have been developed. Applying the mimetics to the development of melanocortin receptor ligands, we discovered a highly potent non-peptidic lead. Thus, the stereochemical diversity-oriented b-turn mimetics were shown to be useful in developing a non-peptidic lead, especially in cases where the binding conformation of the ligand and the structural data of the receptors are lacking or are poorly documented.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,300,000	1,890,000	8,190,000
2010年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2011年度	2,500,000	750,000	3,250,000
年度			
年度			
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬科学

キーワード：βターン、ペプチドミメティック、シクロプロパン、MC4、Grb2

## 1. 研究開始当初の背景

G蛋白質共役型受容体に代表される膜蛋白質が標的である場合等、創薬標的として想定した蛋白質の三次元構造の解析が困難な場合が多々ある。従って、標的蛋白質の三次元構造情報が入手できない場合にも有効な有機化学を基盤とする合理的な創薬戦略が必要との考えから、申請者は三次元的多様性を鍵とする分子設計法に基づく創薬化学研究に取り組んでいる。

立体的自由度の大きい薬理活性化合物をその配座制限型誘導体へ変換することで、薬理活性の増強や選択性の改善が可能である。シクロプロパンは元の構造上にメチレン一つを付与して形成される最小の環構造であり、分子の物理化学的性質をほとんど変化させることがなく、かつ標的と相互作用する際に立体障害となりにくいという配座制限に用いる基本ユニットとしての利点を有する。さらに立体的自由度がなく、“folded (cis)”

型あるいは“extended (trans)”型に強固に官能基の配座を制御できる。三次元的多様性を鍵とするアプローチでは、このシクロプロパンの配座制限上の特性を活用してリガンドの官能基を三次元的に多様な配置に制御することで、標的分子の構造が未知であっても、標的分子との結合配座に合致するあるいはそれに近似した配座制限誘導体を見出せるものと考え、三次元的多様性を備えた一連の配座制限誘導体を系統的に設計・合成・評価する。実際この分子設計法に基づき、申請者は初のヒスタミン H<sub>3</sub> 受容体特異的アゴニスト (*J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1980) や最強の H<sub>4</sub> 受容体アンタゴニスト (*J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5787) 等の創出に成功している。

βターン構造 (3. 研究の方法、図1) を模倣する非ペプチド低分子ミメティック (3. 研究の方法、図2) は様々な病因蛋白質の機能を制御する医薬となる可能性が高く、その開発が強く望まれていた。

## 2. 研究の目的

本課題の対象であるβターンは連続する4残基のアミノ酸が形成するペプチド湾曲構造である。多数の生理活性ペプチドでは、図2に模式図を示すように、そのβターン部が分子表面の突出部となり標的蛋白質 (受容体) のくぼんだ認識ポケットに対して凹凸型で結合する。申請者は上述の三次元的多様性を鍵とする概念に基づき、様々な病因蛋白質の機能を制御する医薬となる可能性が高い基本構造を示すシクロプロパン型βターンミメティック (3. 研究の方法、図3) の開発を計画した。

## 3. 研究の方法

βターン構造を認識することが知られているMC4受容体 (MCR4) に対するリガンドを新規βターンミメティックに基づき設計・合成し、その三次元構造と薬理活性を解析することで、本ミメティックの創薬化学上の有用性を明らかにすることを計画した。

MCRの生体内リガンドは13残基から成るペプチドであるα-MSHで、MCRへの結合にはHis-Phe-Arg-Trpのテトラペプチド部が重要であることが知られているが、その活性配座は不明である。そこで、このテトラペプチドをシクロプロパン型ペプチドミメティックへと変換した。即ち、図3に示すミメティックにおけるR<sup>1</sup>-R<sup>i+3</sup>部にHis-Phe-Arg-Trpの側鎖に相当する官能基を有する8種の立体異性体をそれぞれ立体選択的に合成した。一例として、up-trans/folded型異性体の合成法を図4に示す。

これらのMCRに対する親和性を評価した。その結果、trans-folded構造を有する立体異

性体がMCRのサブタイプの1つであるMC4Rに高い選択性と親和性 (K<sub>i</sub> = 0.34 μM) で結合することが分かった。また、これらのミメティックは、ヒト血清中で極めて安定であることも明らかとなった。

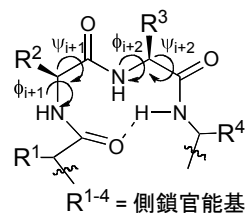


図1. βターンの基本構造



図2. βターンを介するペプチド-標的蛋白質凹凸型結合に基づくβターンミメティック

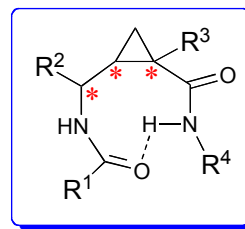


図3. 三次元的多様性を有する新規βターンミメティック

そのMCRに対する親和性を評価した。その結果、trans-folded構造を有する立体異性体がMCRのサブタイプの1つであるMC4Rに高い選択性と親和性 (K<sub>i</sub> = 0.34 μM) で結合することが分かった。また、これらのミメティックは、ヒト血清中で極めて安定であることも明らかとなった。

以上のように、8つという少ない化合物群で生理活性を維持したペプチドミメティックを創出し、活性配座に関する情報を得ることができた。この結果は、シクロプロパンの三次元的な多様な広領域配座制御能が、配座制限誘導体構造の柔軟性と剛直性のバランスに効果的に機能したことを示すと考えられる。さらに、今回の結果から得られた、trans-folded構造がHis-Phe-Arg-Trpの活性配座を模倣しているという情報は、今後のドラッグライクな骨格への展開を可能にするものである。

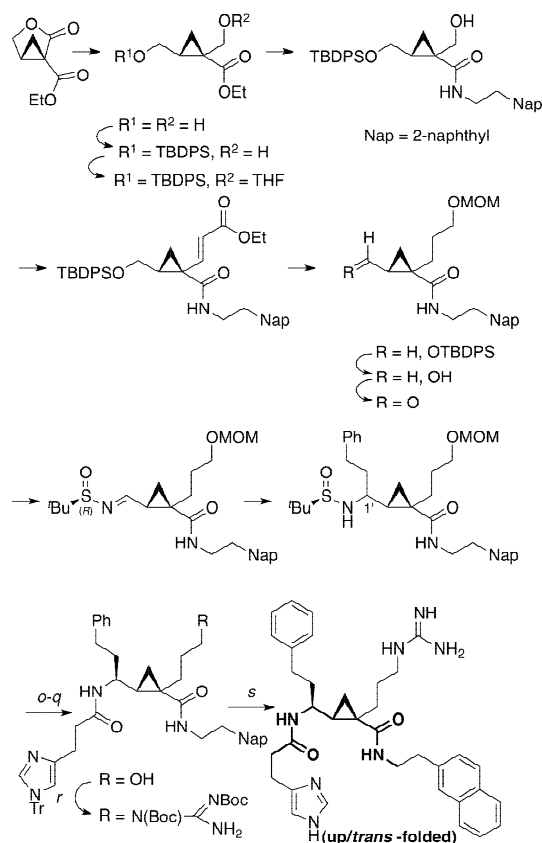


図4. up-trans/folded型異性体の合成法

#### 4. 研究成果

以上のように、8つという少ない化合物群で生理活性を維持したペプチドミメティックを創出し、活性配座に関する情報を得ることができた。この結果は、シクロプロパンの三次元的な多様な広領域配座制御能が、配座制限誘導体構造の柔軟性と剛直性のバランスに効果的に機能したことを示すと考えられる。今回の結果から得られた、*trans*-folded構造がHis-Phe-Arg-Trpの活性配座を模倣しているという情報は、今後のドラッグライクな骨格への展開を可能にするものである。

#### 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6件)

①M. Watanabe, T. Kobayashi, T. Hirokawa, A. Yoshida, Y. Ito, S. Yamada, N. Orimoto, Y. Yamasaki, M. Arisawa, S. Shuto, Cyclopropane-Based Stereochemical

Diversity-Oriented Conformational Restriction Strategy: Histamine Analogs with the 4-Amino-2,3-methano-1-(1H-imidazol-4-yl)butane Structure as Highly Potent Histamine H<sub>3</sub> and/or H<sub>4</sub> Receptor Ligands. *Org. Biomol. Chem.* DOI:10.1039/C10B06496G 査読有, 10, 2012, 736-745.

②M. Watanabe, K. Yamaguchi, W. Tang, K. Yoshida, R. B. Silverman, M. Arisawa, S. Shuto,

Synthesis of a series of 3,4-methanoarginines as side-chain conformationally restricted analogues of arginine.

*Bioorg. Med. Chem.*

URL:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21917467>

査読有, 19, 2011, 5984-5988.

③T. Kobayashi, M. Arisawa, S. Shuto, Alkene isomerization/enamide-ene and diene metathesis for the construction of indoles, quinolines, benzofurans and chromenes with a chiral cyclopropane substituent.

*Org. Biomol. Chem.* DOI:10.1039/C00B00597E 査読有, 9, 2011, 1219-1224.

④M. Watanabe, T. Hirokawa, T. Kobayashi, A. Yoshida, Y. Ito, S. Yamada, N. Orimoto, Y. Yamasaki, M. Arisawa, S. Shuto, Investigation of the Bioactive Conformation of Histamine H<sub>3</sub> Receptor Antagonists by the Cyclopropylic Strain-Based Conformational Restriction Strategy.

*J. Med. Chem.* DOI:10.1021/jm901848b

査読有, 53, 2010, 3585-3593.

⑤T. Kobayashi, M. Watanabe, A. Yoshida, S. Yamada, M. Ito, H. Abe, Y. Ito, M. Arisawa, S. Shuto,

Synthesis and Structural and Pharmacological Properties of cyclopropane-based conformationally restricted analogs of 4-methylhistamine as histamine H<sub>3</sub>/H<sub>4</sub> receptor ligands.

*Bioorg. Med. Chem.*

URL:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20045649>

査読有, 18, 2010, 1076-1082.

⑥K. Yoshida, K. Yamaguchi, A. Mizuno, Y. Unno, A. Asai, T. Sone, H. Yokosawa, A. Matsuda, M. Arisawa, S. Shuto, Three-dimensional structure-activity relationship study of belactosin A and its stereo- and regioisomers: development of potent proteasome inhibitors by the stereochemical diversity-oriented strategy.

*Org. Biomol. Chem.*

URL:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19590782>

査読有, 7, 2009, 1868 - 1877.

[学会発表] (計10件)

①Shuhei, Kawamura, Yuka, Unno, Motohiro, Tanaka, Takuma, Sasaki, Akira, Asai, Mitsuhiro, Arisawa, and Satoshi, Shuto,

“Structure-Activity Relationship Study of Unnatural *cis*-Isomer of Belactosin A, a Potent Proteasome Inhibitor”

AIMECS 11

8th AFMC International Medicinal Chemistry

Symposium “Frontier of Medicinal Science”

29 November - 2 December 2011,

京王プラザホテル東京 (東京都)

②水野彰、三浦志帆、渡辺瑞貴、小田上剛直、小上裕二、有澤光弘、周東智

「三次元多様型配座制御法に基づくペプチドミメティックの設計-メラノコルチン受容体リガンドの創製-」

第37回反応と合成の進歩シンポジウム、2011年11月、徳島大学 (徳島市)

③Kobayashi, T. , Watanabe, M. , Hirokawa, T. , Yamada, S. , Arisawa, M. , Shuto, S.

“Investigation of the bioactive conformation of Histamine H<sub>3</sub>/H<sub>4</sub> receptor antagonists by the conformational restriction strategy”

8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS11)

2011年11月、京王プラザホテル東京 (東京都)

④Mizuno, A. ; Miura, S. ; Watanabe, M. ; Uchida, S. ; Yamada, S. ; Arisawa, M. ; Shuto, S.

“ Design of Stereochemical Diversity-Oriented Cyclopropane-Based Peptidomimetics: Development of Potent Melanocortin Receptor Ligands”

Otsu Conference 2011, October 2011.

大津プリンスホテル (滋賀県)

⑤Mizuno, A. ; Miura, S. ; Watanabe, M. ; Uchida, S. ; Yamada, S. ; Arisawa, M. ; Shuto, S.

“ Stereochemical Diversity-Oriented Design of Cyclopropane-Based Peptidomimetics: Synthesis of Melanocortin Receptor Ligands”

28th Herbert C. Brown Lectures,

April 2011, Purdue University (USA)

⑥川村周平、海野雄加、田中基裕、  
佐々木琢磨、浅井章良、有澤光弘、周東智  
「制がん性プロテアソーム阻害剤ベラクト  
シン A シス型立体異性体の構造活性相関研  
究」

第 131 年会 日本薬学会、2011/3/28-31、  
グランシップツインメッセ静岡（静岡県）

⑦Kobayashi, T., Arisawa, M., Shuto, S.  
“Enamide-ene methasesis for constructing  
chiral 2-cyclopropylheterocycles: Indole,  
quinoline, benzofuran and chromene.”  
240th American Chemical Society National  
Meeting、2010年8月、  
Boston Convention & Exposition Center  
(USA)

⑧小林嵩明、有澤光弘、周東智  
“光学活性シクロプロパンを有する複素環化  
合物合成法の開発”  
日本薬学会第130年会、2010年3月、  
岡山コンベンションセンター（岡山県）、  
岡山大学（岡山市）

⑨小林嵩明、渡辺瑞貴、広川貴次、吉田徳、  
伊東由彦、山田静雄、有澤光弘、周東智  
“シクロプロパン歪みに基づくヒスタミンH3  
受容体リガンドの設計と活性配座解析”  
第28回メディスナルケミストリーシンポジウ  
ム、2009年11月、東京大学（文京区）

⑩水野彰、梶原浩気、三浦志帆、渡辺瑞貴、  
吉田徳、内田信也、山田静雄、小田上剛直、  
小上裕二、有澤光弘、周東智  
「立体多様性を鍵とするシクロプロパン型  
ペプチドミメティック-メラノコルチン受容  
体リガンドの創製研究-」  
第 7 回次世代を担う有機化学シンポジウム、

2009 年 7 月、大阪大学（吹田市）

〔図書〕（計 1 件）

①周東智、京都廣川書店出版、有機医薬分子  
論、2011、320

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等 該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

周東 智 (SHUTO SATOSHI)  
北海道大学・大学院薬学研究院・教授  
研究者番号：70241346

### (2) 研究分担者

有澤 光弘 (ARISAWA MITSUHIRO)  
北海道大学・大学院薬学研究院・准教授  
研究者番号：40312962

### (3) 連携研究者

なし