

## 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4月23日現在

機関番号：35413  
 研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2009～2011  
 課題番号：21590117  
 研究課題名（和文） ハイリスク患者の複合感染予防のためのパラインフルエンザウイルス治療薬の開発研究  
 研究課題名（英文）  
 Sialic acid derivative synthesis and inhibitory activities against human parainfluenza virus type 1  
 研究代表者  
 池田 潔（IKEDA KIYOSHI）  
 広島国際大学・薬学部・教授  
 研究者番号：40168125

## 研究成果の概要（和文）：

申請者は MCR 反応をシアル酸誘導体の合成に適用し、*N*-スルフォニルアミジノ体、さらにシアル酸の新規イソシアニド体との Ugi 反応で  $\alpha$ -アシルアミノアミド体の合成に成功した。*N*-スルフォニルアミジノ誘導体は有意な hPIV 阻害活性を示したが、2,3-ジデヒドロシアル酸よりも弱かった。4 位の置換基として疎水性で立体的に嵩高いものは、シアリダーゼとシアル酸誘導体との親和性を減じることが明らかとなった。

## 研究成果の概要（英文）：

Novel sialidase inhibitors having *N*-sulfonylamidino and  $\alpha$ -acylaminoamido groups at the C-4 position of Neu5Ac2en against hPIV-1 were synthesized using multicomponent coupling reactions, and their inhibitory activities against hPIV-1 sialidase were studied. Among synthesized compounds, *N*-sulfonylamidino compounds showed efficient inhibitory activities against hPIV-1 sialidase. However, the degree of inhibition was weaker than that of Neu5Ac2en due to large hydrophobic groups of enzyme.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学・生物活性物質

キーワード：シアル酸、パラインフルエンザ、シアリダーゼ阻害剤

## 1. 研究開始当初の背景

病原性ウイルスの一つであるヒトパラインフルエンザウイルス(hPIV)はかぜ症候群の原因ウイルス

の一つで、生後6ヶ月から歳ぐらいまでの乳幼児の初期感染において気管支炎や肺炎などの重篤な症状を引き起こすことが知られている。現在、

hPIV の感染機構や病原性を規定する要因は解明されておらず、hPIV 感染症を効果的に予防するワクチンや治療薬も皆無である。このような現状を踏まえて、ウイルスの変異を克服し宿主細胞への侵入と細胞からの遊離（発芽）の前者または両者を阻止できる画期的な次世代（第3世代）の抗ウイルス薬の開発が切望されている。

## 2. 研究の目的

申請者はこれまでのシアル酸研究の実績をもとに効率よく新規シアル酸誘導体の合成を行い、臨床応用可能なパラインフルエンザ治療薬の開発を計画している。申請者が開発しリード化合物としているシアリダーゼ阻害剤は現在世界で最も活性が高く、実用的な hPIV-1 型治療薬への最短距離に位置すると考えられる。本研究はシアル酸誘導体を用いた化学的アプローチによるウイルス受容体の解明により、これを模擬した分子をデザイン、構築するものでありオーファン薬の開発として学術的に極めて意義高く、社会的、経済的効果を期待できるものである。

## 3. 研究の方法

申請者は多様な生物活性を期待して阻害作用発現に重要な部位であるシアル酸の4位に様々な置換基を導入した化合物を合成する。

(1) シアル酸の4位水酸基への各種 alkyl 基の導入、さらに不飽和化合物との Michael 反応による各週誘導体の合成と生物活性を検討する。次に4位水酸基に propargyl 基をもつシアル酸の鍵中間体に Click Chemistry を適用し、alkyl あるいは aryl azide を反応させることにより生物活性が期待される *N*-スルホニルアミジノ体および1,4-トリアゾール誘導体を合成する。

(2) 鍵中間体に multicomponent reaction (MCR)法を適用して多彩な置換基をもつアミジン誘導体を合成する。

(3) MCR 法の一つである Ugi 反応をシアル酸の4位アミノ体に適用することにより新規シアル酸誘導体の合成と抗ウイルス活性を検討する。

(4) すでに強い阻害活性が見出されている4-*O*-置

換シアル酸誘導体の活性の向上を目指し、5-*N*-アセチル基をトリフルオロアセチル基に変換した誘導体の合成と生物活性を調べる。

## 4. 研究成果

(1) ヨウ化銅(I) 触媒存在下、4-*O*-(2-プロピニル)シアル酸誘導体、スルホニルアジドおよびアミンを三成分カップリング反応させることにより、*N*-スルホニルアミジノ体 (**1**)を収率良く得ることができた。**1**の中で側鎖の*N*-スルホニルアミジノ基が  $R^1 = \text{Me}$ ,  $\text{NR}^2\text{R}^3 = \text{NHPH}$  の時、最も強い阻害活性 ( $\text{IC}_{50} = 0.8 \text{ mM}$ ) を示した。

(2) 新規な4-イソシアノシアル酸誘導体 **2** を合成し、Ugi反応により多様な置換基を持つ **3** を得た。**3**の中で側鎖が  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = n\text{-Pr}$ ,  $R^3 = \text{Me}$  が最も強い阻害活性 ( $\text{IC}_{50} = 5.1 \text{ mM}$ ) を示した。

(3) 5-*N*-アセチル基をトリフルオロアセチル基に変換した誘導体 **4** を合成した。**4** はアセチル体と同程度の活性を持つことがわかった。

## 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)

- ① Matsunaga, H., Ikeda, K., Iwamoto, K., Suzuki, Y., and Sato, M. A one-pot synthesis of 3-arylglutaric anhydride by reaction of ketene with aroma, Regioselective ester hydrolysis tic aldehyde and ketones, *Tetrahedron Lett.*, 査読有, **50**, 2334-2336 (2009).  
DOI:10.1016/j.tetlet.2009.02.193
- ② Ikeda, K., Katsumata, T., Sugiyama, Y., Miyamoto, K., Tanaka, K., and Sato, M. Regioselective ester hydrolysis of sialic acid derivatives catalyzed by molecularly imprinted polymers, *Heterocycles*, 査読有, **78**, 2943-2949 (2009).  
DOI:10.3987/COM-09-11820
- ③ Minami, A., Shimizu, H., Meguro, Y., Shibata, N., Kanazawa, H., Ikeda, K., and Suzuki, T. Imaging of sialidase activity in rat brain sections by a highly sensitive fluorescent histochemical method,

- NeuroImage*. 査読有, **58**, 34-40 (2011).  
DOI:10.1016/j.neuroimage.2011.06.017
- ④ Takaguchi, M., Takahashi, T., Hosokawa, C., Ueyama, H., Fukushima, K., Hayakawa, T., Ttoh, K., Ikeda, K., and Suzuki, T. A Single amino acid mutation at position 170 of human parainfluenza virus type 1 fusion glycoprotein induces obvious syncytium formation and caspase-3-dependent cell death *J. Biochem*, 査読有, **149**, 191-202 (2011).  
DOI:10.1093/jb/mvq139
- ⑤ Nishino, R., Ikeda, K., Hayakawa, T., Takahashi, T., Suzuki, T. and Sato, M. Synthese of 2-deoxy-2,3-didehydro-*N*-acetylneuraminic acid analogues modified by *N*-sulfonylamidino groups at the C-4 position and biological evaluation as inhibitors of human parainfluenza virus type 1, *Bioorg. Med. Chem.*, 査読有, **19**, 2418-2427 (2011). DOI:10.1016/j.bmc.2011.02.010
- ⑥ Ikeda, K., Sialic acid derivative synthesis and inhibitory activities against human parainfluenza virus type 1 *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 査読有, **2011**, 14-32.  
DOI:10.4052/tigg.23.14  
[学会発表] (計 1 3 件)
- ① 池田潔 他, Ferrier反応を利用した効率的3,4-不飽和シアル酸誘導体の合成研究, 日本プロセス化学会2009サマーシンポジウム (東京), 要旨集 p. 180-181, 2009年7月17日.
- ② 高口仁宏 他, 新規シアリダーゼ阻害剤により変異したヒトパラインフルエンザ1型ウイルスの性状解析, 第29回日本糖質学会年会 (高山), 要旨集 p. 169, 2009年9月11日.
- ③ 池田潔 他, Ferrier 反応を利用した新規 3,4-不飽和シアル酸誘導体の合成と hPIV-1 シアリダーゼ阻害活性, 第 28 回メデシナルケミストリーシンポジウム (東京), 要旨集 p. 124-125, 2009 年 11 月 25 日.
- ④ 池田潔 他, ヒトパラインフルエンザウイルス (hPIV) 感染症新規治療薬の理論的分子設計 3, 第 36 回反応と合成の進歩シンポジウム (愛知), 要旨集 p. 300-301, 2009 年 11 月 2 日.
- ⑤ 池田潔 他, シアリダーゼの機能解明を目指したシアル酸誘導体を含む蛍光基質の合成と酵素活性の測定, 第 14 回生体触媒化学シンポジウム (静岡), 要旨集 p. 62-63, 2010 年 9 月 23 日, グランシップ静岡.
- ⑥ 伊東祐仁 他, シアリダーゼの機能解明を目指したシアル酸誘導体を含む蛍光基質の合成研究, 第 28 回メデシナルケミストリーシンポジウム (京都), 要旨集 p. 330-331, 2010 年 11 月 18 日.
- ⑦ Yuji Itoh et al, Ab initio Fragment Molecular Orbital Study on novel anti-parainfluenza drugs, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec 18, 2010 Honolulu, Hawaii.
- ⑧ 高橋忠伸 他, ヒトパラインフルエンザ 1 型ウイルスフュージョン糖タンパク質の 170 番目のアミノ酸変異は多核細胞形成とカスパーゼ 3 依存性アポトーシスを誘導する, 第 75 回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム (静岡), 抄録集 p. 52, 2011 年 5 月 28 日.
- ⑨ Yuji Itoh, et al. First Principle Calculation of Novel Anti-parainfluenza Drugs using FragmentMolecular Orbital Method, The 21th International Glycoconjugate Organization (Vienna), Abstracts p. 343, 25 August, 2011.
- ⑩ Tadanobu Takahashi et al. A single amino acid mutation at position 170 of human parainfluenza virus type 1 fusion glycoprotein induces obvious syncytium formation and caspase-3-dependent cell death., International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011, Sapporo), Final Program p. 117, 13 September, 2011.
- ⑪ 高橋忠伸 他, ヒトパラインフルエンザ 1 型ウイルスフュージョン糖タンパク質の 170 番目のアミノ酸変異による多核細胞形成促進とカスパーゼ 3 依存性アポ

ーシス誘導, 第 84 回日本生化学大会(京都), プ  
ログラム集 p. 215, 2011 年 9 月 24 日.

⑫ Kiyoshi Ikeda, et al. Development of Fluorescent  
Substrates having Sialic Acid Derivatives for  
Analysis of Sialidase Activities, 8<sup>th</sup> AFMC  
Internationa Medicinal Chemistry Symposium  
(AIMECS11, Tokyo), Abstract p.149, December 1,  
2011.

⑬ Yuji Itoh et al. All-Electronic Calculation Study of  
Novel Anti-Parainfluenza Drugs using Fragment  
Molecularr Orbital Method, 8<sup>th</sup> AFMC Internationa  
Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS11,  
Tokyo), Abstract p.56, November 30, 2011.

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称:抗デングウイルス剤

発明者:鈴木隆, 左一八, 池田潔

権利者:静岡県立大学, 学校法人常翔学園

種類:特願 2010-248271

番号:

出願年月日:2010 年 11 月

国内外の別:国内

○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

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

池田 潔 (IKEDA KIYOSHI)

広島国際大学・薬学部・教授

研究者番号: 4 0 1 6 8 1 2 5

### (2) 研究分担者

(0)

研究者番号:

### (3) 連携研究者 (0)

研究者番号: