

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670050

研究課題名(和文) タンパク質間相互作用阻害剤の分子進化型開発研究

研究課題名(英文) Development of Protein-Protein Interaction Inhibitors

研究代表者

市川 聡 (ICHIKAWA, SATOSHI)

北海道大学・薬学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60333621

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質間相互作用を阻害する低分子化合物(PPI)の分子設計は、創薬化学における最重要課題のひとつである。本申請研究は、薬物設計の段階からタンパク質間相互作用の阻害を考慮した化合物群を設計・合成し、分子進化型薬物変換によるPPIの小分子ライブラリーを構築した。合成した化合物のいくつかは、あるタンパク質間相互作用を μM レベルで阻害することがわかり、さらにライブラリーの拡充を行った。

研究成果の概要(英文)：It is a quite important issue to develop a strategy for rational design of protein-protein interaction inhibitors (PPIs). In this study, a small library of PPIs with diverse structures was first designed and synthesized. We have found that several compounds inhibit a protein-protein interaction with a moderate activity. A larger set of library was further synthesized.

研究分野：創薬化学

キーワード：タンパク質タンパク質間相互作用 薬物設計 有機合成

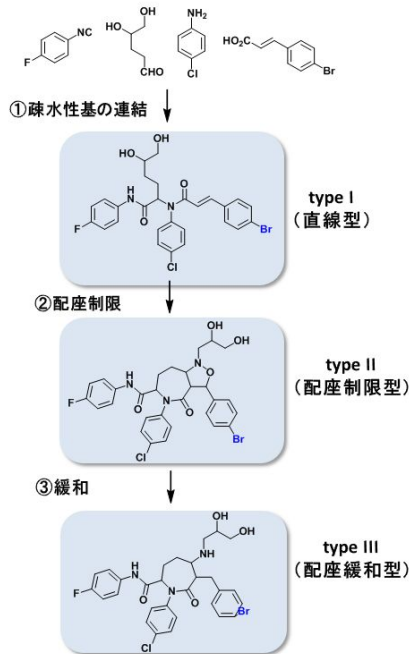
1. 研究開始当初の背景

「標的に相互作用する化合物を、いかに効率的に探索するか」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低分子化合物の分子設計はかなり困難である。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 Å²)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く、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等の理由から、標準的な創薬理論がないのが現状であった。

2. 研究の目的

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ならず、中心部に密集する疎水性アミノ酸のみが寄与する。この部位は hot spot と呼ばれ、タンパク質間相互作用の調節分子を開発する際の標的部位とされる。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、これらを良質な scaffold で固定する事が極めて重要である。申請者は hot spot と疎水性官能基を様々な3次元空間配置に規定しうる scaffold 群を提供する事で、タンパク質間相互作用を阻害するリード低分子有機化合物群を創出できるのではないかと考えた。これを効率的に達成するために、本申請研究では、**分子進化型薬物設計**による阻害剤のリード化合物を創製する(図1)。薬物設計の段階からタンパク質間相互作用の阻害を考慮した化合物群を作成するために、既存

図1. 研究概念図: 独自の分子進化型ライブラリー構築法



の化合物ライブラリーを用いるハイスループットスクリーニング (HTS) に依存するリード創出研究とは一線を画する理論的かつ独創的なアプローチである。

3. 研究の方法

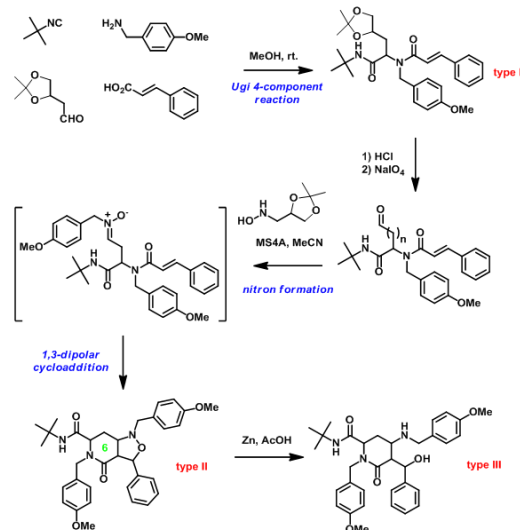
初年度は、各種 type I~III 化合物群の合成法とタンパク質間相互作用阻害活性評価法を確立する。各 type で約 50 個の化合物、総数 150 個化合物の合成を目標とする。合成した化合物に関しては、配座解析・clogP・リガンド効率などの各種パラメータを算出し、データベースを構築する。Bcl-X_L/BAD や HDM2/p53 をモデル標的として、蛍光偏光を用いる阻害活性評価系を構築する。

次年度は、合成した化合物群の Bcl-X_L/BAD あるいは HDM2/p53 相互作用阻害活性を評価する。活性を示す化合物(本段階では数十μM レベルを想定)に関しては、各種標的にあわせて最適な化合物 type・環サイズ・立体配置の探索を行う。ハロゲン原子を足掛かりとしたクロスカップリング反応を用いて迅速な構造活性相関を検討する。type I~III 化合物群のバーチャルライブラリーを作製し、*in silico* バーチャルスクリーニングによるヒット化合物の選定についても検討する。

4. 研究成果

まず各種 type I~III 化合物群の合成法とタンパク質間相互作用阻害活性評価法を確立した。すなわち、疎水性官能基を有するアミン、イソニトリル、不飽和カルボン酸とジオール有するアルデヒドを用いた Ugi4 成分反応により、1 段階で type I 化合物を得た。次にジオール部を過ヨウ素酸でアルデヒドへ変換し、生じたアルデヒドに対してジオール部を有するヒドロキシルアミンと反応させることで、ニトロン形成と続く分子内 1,3-双極子付加環化反応を行った。その結果、反応は連続的に進行し、イ

図2: 化合物の合成経路



ソキサゾリジン縮環型ラクタムである type II 化合物を得る事ができた。また、イソキサゾリジン部を還元的に切断することで、type III 型化合物も得る事ができ、一連の化合物の合成法を確立した(図2)。

次に、各部置換基にハロゲンを導入した誘導体を合成すると共に、このハロゲンを足掛かりとしてクロスカップリングにより、アミン、フェノール、アルケン、アルキン、アリール基を導入し、約 80 個の化合物小ライブラリーを合成した。さらにヒストンメチル化酵素とその調節タンパクとの相互作用に対する阻害活性を、表面プラズモン共鳴により測定したところ、数十 μM で阻害する化合物を見出す事が出来た。この結果を受けて、更に化合物ライブラリーの拡充を行った(図3)。またこれらのライブラリーのインシリコスクリーニングプロトコルを確立した(図4)。

図3: PPIライブラリー

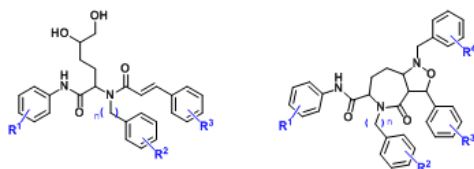
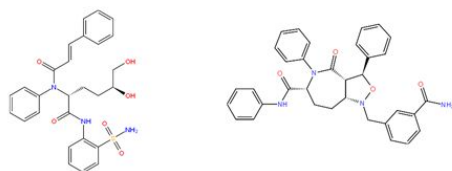
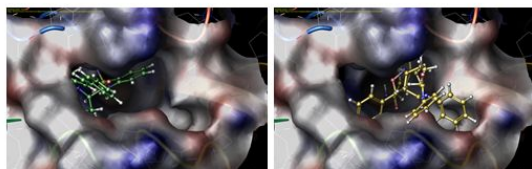


図4: PPIライブラリーのインシリコスクリーニング



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2件)

Yamaguchi, Mayumi; Matsuda, Akira; Ichikawa, Satoshi. Synthesis of Isoxazolidine-containing Uridine Derivatives as Caprazamycin Analogues. *Org. Biomol. Chem.* 2014, 13, 1187-1197. 査読有

Tanino, Tetsuya; Yamaguchi, Mayumi; Matsuda, Akira; Ichikawa, Satoshi. Function-oriented synthesis of liponucleoside natural products. *Eur. J. Org. Chem.* 2014, 1836-1840. 査読有

〔学会発表〕(計4件)

山田 早、松田 彰、市川 聡、ラクタム縮環型イソキサゾリジン誘導体の合成、第44回複素環化学討論会(ポスター発表)、2014年9月11日、札幌、札幌市民ホール

Yamaguchi, Mayumi.; Matsuda, Akira.; Ichikawa, Satoshi, Design and Synthesis of Isoxazolidine-containing Uridine Derivatives as Antibacterial Agents, ACS 248th National Meeting (Poster Presentation), 14th Aug. 2014, San Francisco, USA

山口 繭美、松田 彰、市川 聡、新規抗菌剤開発を指向した isoxazolidinyl uridine 誘導体の設計と合成、第32回メディシナルケミストリーシンポジウム(ポスター発表)、2014年11月27日、神戸、神戸国際会議場

勝山 彬、松田 彰、市川 聡、ジアステレオ選択的な Ugi 三成分反応による 3-ヒドロキシプロリンの合成と plusbacin A3 の全合成への応用、日本薬学会第134年会(口頭発表)、2014年3月28日、熊本、熊本大学

〔図書〕(計0件)

〔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:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://japanese-apricot.pharm.hokudai.ac.jp/gousei-iyaku/index.php>

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 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：