

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19384

研究課題名(和文)「活性配座の増幅と記憶」を鍵概念とする迅速かつ簡便な活性配座の探索法の開発

研究課題名(英文) Development of a quick and simple search method for active conformations with amplification and memory of active conformations as the key concept

研究代表者

市川 聡 (Ichikawa, Satoshi)

北海道大学・薬学研究院・教授

研究者番号：60333621

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：まず、ベンゼン環のオルト位に置換基を有するインドメタシン誘導体を合成し、各種タンパク質と37℃下24時間混合した結果、カタラーゼを用いた場合に若干の不斉増幅が見られた。次に医薬品に広く見られる構造であるベンズアミド構造がC-C結合とC-N結合の2つの軸不斉を有していることに着目し、結合回転についての性質を調査した。その結果、ベンゼン環のオルト位の置換基の種類は、両方の軸の回転速度を若干変化させるものの、幅広い置換基において、アトロプ異性体の特徴であるゆっくりと相互変換する性質を示すことを見出した。さらに本性質をWDR5阻害剤やHDAC阻害剤といった酵素阻害剤に適用した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は従来の活性配座探索法の問題点を一挙に解決する極めて独創的な研究である。本法で用いる化合物の合成は極めて簡単で各種ジアステレオマーの合成をする必要がないこと、活性配座探索プロセスが迅速かつ簡便であること、既存のX線結晶構造解析法が利用できない標的分子に対しても化合物の活性配座を推測できること等の特徴を持ち、既存の手法と比較して圧倒的な優位性を有する。本研究の達成により得られる活性配座は疾患の種類によらず、新薬創製を多方面で支援できるという大きな意義を有する。本研究で対象とする化合物の化学構造は、創薬リード化合物の新しいコア構造としての可能性も秘めており新薬リードの創製に大きく貢献できる。

研究成果の概要(英文)：First, an indomethacin derivative having a substituent at the ortho positions of the benzene ring was synthesized and mixed with various proteins at 37 ° C. for 24 hours. As a result, a slight asymmetric amplification was observed when catalase was used. Next, we focused on the fact that the benzamide structure, which is a structure widely found in drugs, has two axial asymmetry of C-C bond and C-N bond, and investigated the properties of bond rotation. As a result, it was found that the type of substituent at the ortho position of the benzene ring shows the slow interconversion property characteristic of the atropisomer at a wide range of substituents, although the rotational speeds of both axes are slightly changed. Furthermore, this property was applied to enzyme inhibitors such as WDR5 inhibitors and HDAC inhibitors.

研究分野：創薬化学

キーワード：活性配座 アトロプ異性 軸不斉

### 1. 研究開始当初の背景

医薬品は疾患の原因となる生体内分子(標的分子)に結合することで、その標的分子の作用を変化させることで薬効を示す。したがって、薬効の強さや副作用は標的分子との相互作用の強さに依存する。標的分子との相互作用を強めるために、化合物が標的分子と結合した際の配座(活性配座)が重要である。化合物はいくつかの配座を取りうるため、最安定配座と活性配座が一致するとは限らない。両者が一致しない場合、活性配座が最安定配座となるような修飾を行うことで活性の大幅な向上が期待できる。しかし、活性配座を解明するためには標的分子との複合体構造を得る必要があり、この段階が活性配座を利用する際のボトルネックとなっていた。

### 2. 研究の目的

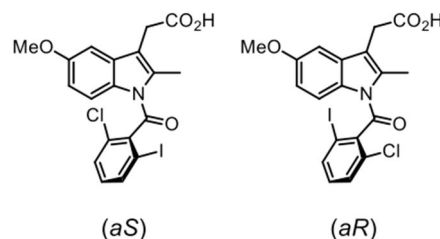
医薬品開発に重要な**活性配座を X 線共結晶構造を用いることなく簡便に解明する**方法の開発を目指す。この目的の達成のために、**アトロプ異性**に着目した。アトロプ異性体は、化合物の単結合周りの回転が抑制されることで、配座異性体が安定に分離できるようになった異性体である。この配座異性体が安定であることと、異性体間の相互変換が室温下ゆっくりと進行する性質を利用し、活性配座を異性体間の平衡の差として検出する『**活性配座の増幅と記憶**』という概念の実証を目指す。すなわち、アトロプ異性体の平衡混合物を標的分子と共存させることで、標的分子と高い親和性を有する(活性配座に近い)異性体が標的分子との結合により平衡から除かれ、ルシャトリエの原理にしたがって平衡が移動する結果、より親和性の高い分子の増幅が観測できると考えられる。

### 3. 研究の方法

初年度は、アトロプ異性が生じることが知られている既知のインドメタシン誘導体を用いて、アルブミンやカタラーゼ等のモデルタンパク質が共存する系において、異性体間の平衡が変化するかをキラル HPLC を用いて調べる。この検討により、モデルタンパク質を用いた系において、「**活性配座の増幅と記憶**」の概念を実証する。2年目は、1年目で実証した概念を発展させるため、インドメタシン誘導体のもつアミド結合に着目して、結合軸の回転を高度に制御可能な新たな軸不斉素子を開発する。3年目は、この新規素子を種々の酵素阻害剤に対して導入することで、実際に疾患の原因となる標的分子に対する阻害剤の活性配座を解明する。軸不斉素子の開発においては計算化学を基盤としたシミュレーションも積極的に利用する。

### 4. 研究成果

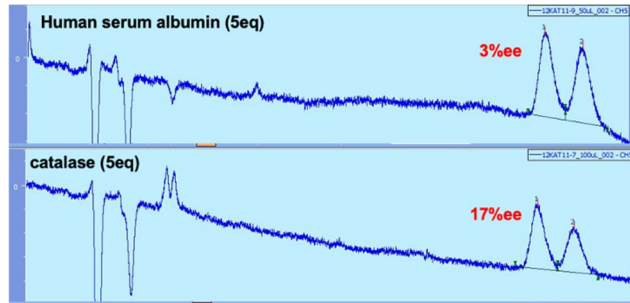
まず、初年度はベンゼン環のオルト位に塩素原子とヨウ素原子を有するインドメタシン誘導体を合成した(Figure 1)。この誘導体はキラル HPLC(CHIRALPAK IC)により 2 つのアトロプ異性体に光学分割が可能であった。これらの平衡混合物に対し、ヒト血清アルブミン、カタラーゼ、牛血清アルブミンを作用させ、37℃下 24 時間反応を行い、同様にキラル HPLC で分析を行った。



2年目にこの反応についての詳細な検討を行い、カタラーゼ処理した際に若干の不斉増幅が見られた(Figure.2)。この結果を踏まえ、3

Figure 1.

年目は、医薬品の構造に簡便に導入可能な軸不斉素子の開発を行った。医薬品に広く見られる構造であるベンズアミド構造がC-C結合とC-N結合の2つを回転しうる結合として有していることに着目し、まずは単純なベンズアミド構造について2つの結合回転について



の性質を調査した。その結果、ベンゼン環のオルト位の置換基の種類は、両方の軸の回転速度を若干変化させるものの、幅広い置換基において、アトロプ異性体の特徴であるゆっくりと相互変換する性質を示すことを見出した。また、ベンズアミドの酸素

Figure 2.

原子を硫黄原子へと置換したチオアミド類についても同様に検討を行い、回転障壁が増大することを見出した。これらの結果は量子化学計算を用いた回転障壁の理論値とも良い一致を示した。次に、Protein Data Bankに登録されているベンズアミドを有する種々の酵素阻害剤について、ドッキング計算と分子動力学シミュレーションを行い、軸不斉素子を導入可能な分子を選択した。この結果選択されたWDR5阻害剤やHDAC阻害剤といった酵素阻害剤に対して見出した新規軸不斉素子を導入した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	薬師寺 文華  (Yakushiji Fumika)  (40548476)	北海道大学・薬学研究院・講師   (10101)	
研究分担者	勝山 彬  (Katsuyama Akira)  (20824709)	北海道大学・薬学研究院・助教   (10101)	

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