

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590138

研究課題名(和文) フコシダーゼ、ラムノシダーゼを標的とした新規阻害剤の開発

研究課題名(英文) Synthetic Studies on novel fucosidase and rhamnosidase inhibitors

研究代表者

豊岡 尚樹 (toyooka, naoki)

富山大学・大学院理工学研究部(工学)・教授

研究者番号：10217565

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：フコシダーゼは各種病態との関わりが近年明らかにされつつあり，その阻害剤に注目が集まっている。フコースを擬態したフコシダーゼ阻害剤の合成を行い，極めて強力な新規阻害剤(IC₅₀ 5 nM)の創製に成功した。
また，ポリヒドロキシピロリチジン誘導体の柔軟かつエナンチオダイバージェント合成経路を確立し，中程度の新規フコシダーゼ阻害剤の創製に成功した。

研究成果の概要(英文)：Much attention has been paid to the synthesis of inhibitors of fucosidase because of their potential as therapeutic agents. We succeeded in the synthesis of a fucose-mimetic structure of novel fucosidase inhibitor (IC₅₀ 5 nM).
We also established a flexible and enantiodivergent synthesis of polyhydroxylated pyrrolizines, and one of the synthetic compound showed moderate inhibitory activity against fucosidase.

研究分野：医薬品化学

キーワード：fucosidase rhamnosidase inhibitors

1. 研究開始当初の背景

グリコシダーゼは、生体内で重要な役割を担っており、糖の加水分解を通じた、腸内消化や糖タンパク質の翻訳後プロセッシング、ライソゾームでの複合多糖の異化に関係している。単糖のヘテロ環内酸素原子を窒素原子で置換したイミノシクリトールの総称であるイミノ糖類の中には、グリコシダーゼ阻害活性を介して、抗ウイルス作用、抗癌作用、抗HIV作用、さらに抗肥満作用を発現する化合物も知られている。すでに臨床利用されているものとしては、Miglitol® (糖尿病治療薬) や Miglustat® (ゴーシェ病治療薬) が挙げられる。このように、グリコシダーゼ阻害剤は様々な医薬品候補化合物として高いポテンシャルを有しており、各種グリコシダーゼ阻害剤の開発研究が活発に行われている。

近年、先天代謝異常疾患のライソゾーム蓄積症の新規治療薬として *N*-(*n*-nonyl)-1-deoxynojirimycin (*N*-*N*-DNJ) や 1-Deoxygalactonojirimycin (DGJ) などのイミノ糖が、有効であると報告され、薬理的シャペロン療法が注目されている。現在、ライソゾーム蓄積症に対する有効な治療法としては、酵素補充療法があるが、この治療法は非常に高価であることに加えて、酵素自体が血液脳関門を通過できないため、型ゴーシェ病のような神経症状の伴わない疾患にしか使えないという問題がある。一方で、piperidine 型イミノ糖の Miglustat® は、脳などの中枢へ移行することが報告されていることからゴーシェ病治療薬として極めて有効である。

一方、L糖であるL-フコースやL-ラムノースの糖代謝酵素に関する創薬研究は圧倒的に少ないのが現状である。L-フコースは生体内では糖鎖上 sialyl Lewis X 抗原などに存在し、炎症やがんなど様々な疾病と関連をもつことが知られている。 α -L-フコシダーゼは、糖タンパクや糖脂質上のL-フコースとガラクトースまたは、*N*-アセチルグルコサミンとの α 結合を切断する酵素であるが、この糖代謝酵素の欠損が原因で引き起こされる疾病にフコシドーシスが挙げられる。フコシドーシスとは、遺伝子変異により、 α -L-フコシダーゼが欠損し、本来分解されるL-フコースを含んだ糖タンパクや糖脂質が蓄積することで、中枢神経障害を始めとした重篤な症状を引き起こす難病であるが、現在、効果的治療薬は皆無である。グリコシダーゼ阻害剤がライソゾーム蓄積症治療薬として有効であるという報告例に着目し、 α -L-フコシダーゼ阻害剤は、フコシドーシスに対する薬理的シャペロン療法を担う医薬品となり得る可能性があると考えた。

近年、 α -L-フコシダーゼは、がん細胞が細胞外マトリックスを形成する複合糖質を分解し、組織へ浸潤を開始する際に使用されていること、また細菌細胞壁の強度維持に関与していることが報告されていることから、 α -L-

フコシダーゼ阻害剤はがん細胞の組織浸潤を防ぐ効果や抗菌薬としても期待される。このような背景から、ピペリジン環周辺に α -L-フコシダーゼのフェニルポケットが存在するのではないかという独自の知見に基づき、L-フコースと類似構造を有し、ピペリジン環の窒素原子上、または α 位にアルキル基とベンゼン環を導入した新規フコシダーゼ阻害剤の創製を行った。

2. 研究の目的

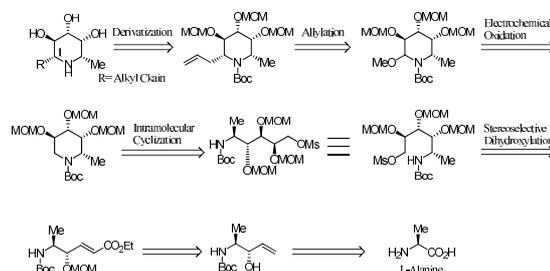
上記背景の下、フコシドーシスに対する薬理的シャペロン療法を担う薬剤あるいはがん細胞の組織浸潤を防ぐ効果や全く新しいタイプの抗菌薬開発を目指し、ラムノシダーゼ阻害剤のデザイン、合成および阻害効果と酵素阻害選択性を明らかにすることを目的として、本研究に着手した。

3. 研究の方法

既存の強力なフコシダーゼ阻害剤であるデオキシフコノジリマイシン (DFJ) がフコースを擬態した構造となっており、このように高い阻害効果が期待されるフコースあるいはラムノースの構造を擬態した新規阻害剤のデザインを行い、化学合成-各種グリコシダーゼに対する阻害活性および酵素阻害選択性の評価-構造活性相関の検討を経て、構造最適化を展開する。また新規阻害剤のデザインとして、糖の構造を擬態させた構造に我々独自の情報を基に長鎖アルキル鎖あるいはベンゼン環を適当な位置への導入を念頭においた。

4. 研究成果

上記研究計画に従い新規阻害剤のデザイン、合成、阻害活性評価と酵素阻害選択性を検討した。目的とするポリヒドロキシピペリジン誘導体の1-C位に様々なアルキル鎖を柔軟に導入するために、アリル体を重要共通中間体として想定し、合成計画を以下のような逆合成解析により立案した。



1-C位に様々なアルキル鎖を導入するため共通の合成中間体として想定したアリル体は対応するピペリジンの電極酸化、続く立体選択的アリル化反応によって得られると考えた。電極酸化の基質となるピペリジンは、 α , β -不飽和エステル立体選択的ジヒドロキシル化、続く環化反応により合成することとし、

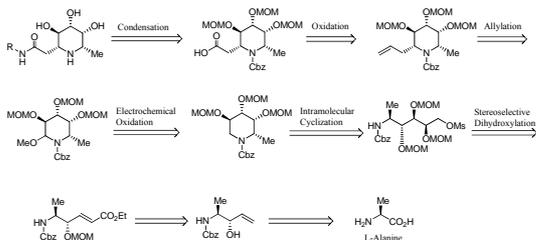
α,β -不飽和エステルは L-アラニンを出発物質とし、文献既知方法である立体選択的ビニル化により得られるアリルアルコールを経由し合成できると考えた。

その結果、フコースを擬態した新規阻害剤のデザインとして、長鎖アルキル鎖あるいはベンゼン環を含む新規阻害剤 17 種類の合成を行い、アルキル鎖 3 炭素の先にベンゼン環を導入した誘導体が良好なフコシダーゼ阻害活性を示した。さらにベンゼン環上置換基を精査した結果、その

2,4,6 位に Cl を有するトリクロル体が極めて強力なフコシダーゼ阻害活性を示した。(IC₅₀ 5 nM, Ki 1.1 nM) また他のグリコシダーゼとの酵素阻害選択性も良好な結果を示した。(Tetrahedron 2013, 69, 10653) 一方、窒素上にアルキル鎖 3 炭素の先にベンゼン環を導入した誘導体のフコシダーゼ阻害活性は上記 2,4,6-トリクロル体と比較して約 3.5 倍弱く、

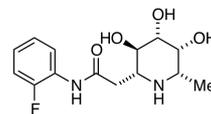
(IC₅₀ 180 nM) これらの結果から 1-C 位側鎖上にアルキル側鎖とベンゼン環がフコシダーゼ阻害発現に必須のファーマコフォアであることが示された。

以上のように、1-C 位側鎖上にアルキル側鎖とベンゼン環がフコシダーゼ阻害発現に必須のファーマコフォアであるとの考えの下、さらに以下に示す逆合成解析により、同様にフコースの構造を擬態したイミノ糖誘導体であり、1-C 位側鎖にベンズアミド構造を有する新規阻害剤のデザインと合成を行い、同様にフコシダーゼ阻害および酵素阻害選択性を検討した。

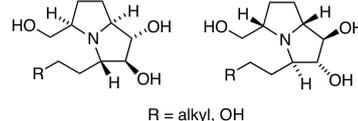


最終段階の保護基の脱保護を想定し、N 保護基として Boc 基ではなく接触水素化で脱保護可能である Cbz 基を用いることとし、アミド部位は、カルボン酸とアミンの縮合で構築できると考えた。カルボン酸は、アリル体から Lemieux-Johnson 酸化でアルデヒドへ導き、Pinnick 酸化で得ることができると考えた。アリル体は、L-アラニンから同様のアリルアルコールおよび α,β -不飽和エステルの立体選択的ジヒドロキシル化、続く環化反応により合成可能と考え、以上の逆合成解析のもと新規アミド型イミノ糖の合成を開始した。その結果、ベンゼン環上置換基としてオルトフルオロ基を有する誘導体が強力なフコシ

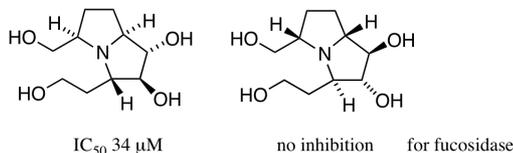
ダーゼ阻害活性を示し、特に Human lysosome 由来のフコシダーゼに強力な阻害活性を示した。(IC₅₀ 7.9 nM for Human lysosome, Bioorg. Med. Chem. 2013, 21, 6565)



一方、フコシダーゼ阻害剤としてほとんど報告例がないポリヒドロキシピロリチジン誘導体の合成にも取り組み、エナンチオダイバージェント合成ルート



の開発にも成功した。その結果、フコシダーゼ阻害活性は中程度 (IC₅₀ 34 μ M) ではあったものの、エナンチオマー間で阻害活性が大きく異なること (IC₅₀ 34 μ M vs no inhibition) が判明し、ピロリチジン骨格上の不斉炭素の立体化学が極めて重要であることが示唆された。(Tetrahedron Lett. 2015, 56, 331)



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 3 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

豊岡 尚樹 (Toyooka Naoki)
富山大学・大学院理工学研究部(工学)・教授

研究者番号：10217565

(2) 研究分担者

加藤 敦 (Kato Atsushi)
富山大学・附属病院・准教授

研究者番号：60303236

(3) 連携研究者

()

研究者番号：