

令和元年6月10日現在

機関番号：37111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15486

研究課題名(和文)糖鎖標的対称性ボロン酸誘導体

研究課題名(英文) Sugar chain targeting symmetrical boronic acid derivatives

研究代表者

古舘 信 (Furutachi, Makoto)

福岡大学・薬学部・助教

研究者番号：30759931

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：合成した化合物の生物活性測定を行い、抗菌活性、抗ウイルス活性、細胞毒性を評価し、いくつかの化合物に生物活性が認められた。

また、細胞毒性を示した化合物については、ヒト脳腫瘍細胞、ヒト頭頸部癌細胞に対する抗腫瘍活性評価を行い、ヒト脳腫瘍細胞に対してはコントロールとして用いたシスプラチンよりも低い生物活性を示した一方、ヒト頭頸部癌細胞に対してはシスプラチンよりも高い生物活性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、多剤耐性菌や多剤耐性ウイルスの出現により需要の高まる、新たな抗菌薬および抗ウイルス薬の創製へと繋がる可能性のある化合物を創出した。また、社会的要請の大きい、新たな抗悪性腫瘍薬の創製へと繋がる可能性のある化合物を探索し、既存の抗悪性腫瘍薬シスプラチンよりも抗腫瘍活性の強い化合物を創出した。

研究成果の概要(英文)：Biological activity of synthesized compounds was evaluated and some compounds showed antibacterial, antiviral, and cytotoxic activities. The anticancer activity of compounds that showed cytotoxic activity was evaluated using human brain cancer cells and human head and neck cancer cells. All of the synthesized compounds showed lower anticancer activity toward human brain cancer cells than that of the positive control drug cisplatin, but one synthesized compound showed higher anticancer activity toward human head and neck cancer cells than that of cisplatin.

研究分野：創薬化学

キーワード：創薬 生物活性 糖鎖 C2対称 ボロン酸

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体内における受容体等の機能性分子には C_2 あるいは C_3 等の対称構造が散見される。研究代表者の所属する研究室ではこれまでに生物活性化合物の探索研究を行うに際し、リンカーで架橋されたファーマコフォアを有するツインドラッグ型 C_2 対称性分子を基盤とした新規化合物のデザインおよび合成を行い、その抗菌および抗ウイルス活性評価の探索研究を行っている。一方、研究代表者の所属する研究室では、糖鎖の機能に関連した生物活性化合物の探索研究を行っている。これまでにヒダントインをファーマコフォアとする分子設計・合成を行い、ヘパラン硫酸に対する親和性などを確認している。

2. 研究の目的

このような背景の下、研究代表者はホウ素原子からなるボロン酸誘導体に着目した。ボロン酸誘導体は 1,2-ジオール構造と可逆的に共有結合を形成することが知られている為、ボロン酸誘導体が糖鎖中に含まれる 1,2-ジオール構造と可逆的に共有結合を形成することで、抗菌および抗ウイルス活性が期待出来ると考えた。そこで、研究代表者はツインドラッグ型 C_2 対称性ボロン酸誘導体を設計・合成することで、抗菌あるいは抗ウイルス活性などの有用な生物活性が期待出来ると考えた。

この作業仮説の下、研究代表者は既にツインドラッグ型 C_2 対称性ボロン酸ピナコールエステルの合成および得られた化合物の抗菌および抗ウイルス活性評価の結果を報告している。その中で、2つのアミド基で架橋されたメチレン鎖(メチレン数 6)をリンカーとし、ボロン酸ピナコールエステルを有する化合物が抗菌および抗ウイルス活性(抗 HSV-1)活性を示すことを報告している。

研究代表者は萌芽しつつある本プロジェクトについて、創薬化学上さらに有用な候補化合物を探索するべく構造活性相関研究および反応機構解析研究を立案する。現在得られている活性は中程度であるが、より高活性な化合物の探索研究を行うべく、1年目には主に構造活性相関研究を行う。最適候補化合物の基本骨格および物性などが判明する2年目には、反応点を解明するため、NMR や熱測定などの物理化学的手法を利用して活性化合物の糖鎖との相互作用の解析を行う。また同時に更なる誘導体化を行い、より詳細な構造活性相関研究を行う。現在得られている抗 HSV-1 活性が $EC_{50} = 38.6 \mu M$ であり、アシクロビルが $EC_{50} = 1.1 \mu M$ であることから、 $1 \mu M$ を最終目標値に設定して研究を行う。初期検討の段階では一桁台の抗 HSV-1 活性を目標にし、現在の活性の 10 倍程度を示す化合物を探索し、最終的に $1 \mu M$ を目指す。誘導体合成を行う際には、保護-脱保護のような煩雑な工程を避け、出来るだけ短工程で合成出来るものに絞り合成を行い、生物活性を検討する。また、最終化合物を精製する際には多量の溶媒を要するシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行わず、可能な限り晶析(再結晶)のみによる精製を行う。初期の段階では精製および解析の点から、エナンチオマーおよびジアステレオマーを生じる不斉点を導入せずに検討を行う。

今回標的とする細胞表面に発現する糖鎖は、生物の成長や機能に関わる細胞-細胞、細胞-マトリックス、細胞-生体内分子といった相互作用により、細胞間情報伝達に関与する。また糖鎖化学は、タンパク質、DNA と並び現在世界中で注目されている研究分野であり、21 世紀の重要な研究分野の 1 つである。一方、血液型の違いが赤血球の表面に発現する糖鎖の末端糖の違いによることは今や周知の事実であり、輸血や血液型占いなどに代表されるように我々が生活する上でも身近なトピックと言える。この糖鎖を標的としてこれまでにヒダントインをファーマコフォアとするツインドラッグ型対称性分子の探索研究を行ってきた。この研究では、非共有結合性相互作用による糖鎖認識の戦略をとった。即ち、糖鎖中の 1,2-ジオール構造をヒダントインの持つ水素結合形成能(1つの水素結合あたりの結合エネルギー: 3-5 kcal/mol)を利用して認識するようデザインした。今回、ホウ素の持つホウ素-酸素結合形成能を基盤とする共有結合性相互作用(1つの共有結合あたりの結合エネルギー: 50-150 kcal/mol)に着目し、よりタイトな相互作用を期待して研究に着手した。ボロン酸誘導体については、ツイン化した中に、血糖値を測定する際のグルコースセンサーとして汎用されるものも広く知られている。しかしながら、ボロン酸誘導体をツインドラッグ化し、糖鎖を標的とする医薬品への展開例は報告されていない。

これまでに設計・合成したツインドラッグ型 C_2 対称性ボロン酸ピナコールエステルをシード化合物とし、「対称性」「糖鎖」「ボロン酸」を key word とする構造活性相関研究を立案する。

3. 研究の方法

リンカーのメチレン数 $n = 6$ の化合物が最も高い活性を示し、 $n = 8$ の場合には抗ウイルス活性の若干の減弱が認められる。また、 $n = 4$ の場合に活性が全く発現しないことから、 $n = 5$ および $n = 7$ の化合物を合成し、その抗菌および抗ウイルス活性を評価する。次に、リンカーとファーマコフォアを架橋するアミド構造の変換を試み、水素結合の関与を考察する。具体的にはチオアミドやウレアなどとし、その抗菌および抗ウイルス活性を評価する。この時、リンカーのメチレン数 $n = 6$ の化合物をリード化合物とする為、ウレア体においては $n = 4$ の化合物を合成し、検討する。その際、ウレアの酸素原子を硫黄原子に置換したジイソチオシアナートを出発原料としたチオウレアも併せて合成し活性を評価する。また、ツインドラッグ型 C_2 対称性ボロン酸ピナコールエステルの構造活性相関研究に加え、リンカーの選択により C_3 対称性分子へ

の研究展開を行う。具体的には剛直なベンゼンやフレキシブルなシクロヘキサンをリンカーとする化合物を合成し、その抗菌および抗ウイルス活性評価を行う。最適化された高活性な候補化合物が得られれば、候補化合物の糖類に対する親和性解析を行う。具体的には、標的とする糖類に対する解析として、NMR を用い、溶液中で候補化合物と糖類とのエステル交換反応について検討する。また、候補化合物と糖類が反応する際に発する熱量測定を行い、化合物と糖類との反応性の解析を行う。

4. 研究成果

候補化合物のリンカーのメチレン数 n の検討を行い、 $n=7$ の場合に最も高い生物活性を示すことが分かった。また、リンカーとボロン酸部位を架橋するアミド構造をウレアとしたが、生物活性の向上は認められなかった。次に、 C_2 対称性ボロン酸ピナコールエステルのリンカーをベンゼンやシクロヘキサンとした C_3 対称性ボロン酸ピナコールエステルにおいて、中程度の生物活性が得られた。末端のボロン酸ピナコールエステル部分を遊離のボロン酸とすると、抗菌活性、抗 HSV-1 活性を示さない一方で、細胞毒性を示した。

次に、高活性な C_2 対称性分子と methyl α -D-glucopyranoside を用いた NMR 実験を行った。 C_2 対称性ボロン酸ピナコールエステルにおいてはエステル交換反応の確認はできなかったが、 C_2 対称性ボロン酸においてはケミカルシフトの変化が確認され、糖類との親和性が確認された。続いて C_2 対称性分子と methyl α -D-glucopyranoside が反応する際に発する熱量測定を試みたが、現在までには有意な結果は得られておらず、現在検討中である。

メタ置換対称性ボロン酸の Vero 細胞に対する細胞毒性評価を行い、リンカーのメチレン数 $n=7$ の場合に最も高い毒性を示すことが分かった為、対称性ボロン酸のヒト脳腫瘍細胞、ヒト頭頸部癌細胞に対する抗腫瘍活性評価を行い、リンカーのメチレン数 $n=8$ の場合に最も高い活性を示すことが分かった。また、ヒト脳腫瘍細胞に対してはコントロールとして用いたシスプラチンよりも低い生物活性を示した一方、ヒト頭頸部癌細胞に対してはシスプラチンよりも高い生物活性を示した。現在、更なる構造活性相関研究を行っている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① [Furutachi M.](#), Gondo T., Ikeda R., Yoshikawa N., Yokota T., Takeda Y., Yokomizo K., Zhou J.-R., Kashige N., Miake F., Sumoto K., Anti-proliferative Activities Towards Human Brain Glioma U251 Cells and Human Carcinoma Cells (KB3-1) of Some Twin-Drug Type Bivalent C_2 -Symmetrical Phenylboronic Acid Derivatives, *Biol. Pharm. Bull.*, **42**, 833-836 (2019)., 査読有
DOI: 10.1248/bpb.b18-00859
- ② [Furutachi M.](#), Matsumoto A., Tamenaga T., Sugita A., Kuroiwa M., Yokomizo K., Zhou J.-R., Kashige N., Miake F., Sumoto K., Preparation of Novel Bivalent Linker Mode Phenylboronic Acid Derivatives and Their Biological Evaluation, *Heterocycles*, **96**, 1088-1100 (2018)., 査読有
DOI: 10.3987/COM-18-13899
- ③ [Furutachi M.](#), Fuchigami S., Ako K., Goto S., Gondo T., Takuse M., Yoshida M., Yokomizo K., Zhou J.-R., Matsunaga A., Hiraga N., Kashige N., Miake F., Sumoto K., Novel Trivalent C_3 -Symmetrical Phenylboronic Acid Pinacol Esters and Their Biological Evaluation, *Heterocycles*, **96**, 144-151 (2018)., 査読有
DOI: 10.3987/COM-17-13832
- ④ [Furutachi M.](#), Gondo T., Goto S., Fuchigami S., Ako K., Oowada Y., Yokomizo K., Zhou J.-R., Ishizaki T., Koga T., Kashige N., Miake F., Sumoto K., Novel C_2 -Symmetrical Phenylboronic Acid Pinacol Esters with a Few Types of Linkers and Their Biological Activities, *Heterocycles*, **94**, 1748-1758 (2017)., 査読有
DOI: 10.3987/COM-17-13745

[学会発表] (計 3 件)

- ① [古舘信](#)、牛島由紀子、池廣裕馬、稲田智美、周建融、横溝和美、鹿志毛信広、見明史雄、須本國弘
トリバレント C_3 対称性フェニルボロン酸の合成と生物活性
日本薬学会第 139 年会(千葉)、2019 年
- ② [Makoto Furutachi](#), Kazumi Yokomizo, Jian-Rong Zhou, Nobuhiro Kashige, Fumio Miake, Kunihiro Sumoto

Preparation and Biological Activity of Symmetrical Phenylboronic Acid Derivatives

17th Annual World Preclinical Congress (Boston, United States)、2018 年

- ③ 爲永徹也、古舘信、周建融、松永綾、平賀希、横溝和美、鹿志毛信広、見明史雄、須本國弘
N-アシルアミノ置換フェニルボロン酸誘導体の合成とその生物活性：1 価及び多価フェニル
ボロン酸誘導体類の生物活性の比較
日本薬学会第 138 年会(金沢)、2018 年

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://tyufghjvbn.wixsite.com/tyufghjvbn>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

研究代表者氏名：古舘 信

ローマ字氏名：FURUTACHI, Makoto

所属研究機関名：福岡大学

部局名：薬学部

職名：講師

研究者番号 (8 桁)：30759931

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。