

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2008

課題番号：18590108

研究課題名（和文） γ -ヒドロキシラクタムをファーマコフォアとして有する生物活性物質の合成と機能解明研究課題名（英文）Studies of synthesis and molecular function of biologically-active compounds bearing γ -hydroxylactam structure as one of pharmacophore

研究代表者

内呂 拓実 (HIROMI UCHIRO)

東京理科大学・薬学部・准教授

研究者番号：00307711

研究成果の概要：近年、 γ -ヒドロキシラクタムをファーマコフォアとして有する天然有機化合物が数多く見出されており、その興味ある生物活性から注目を集めている。そこで申請者は、これら生物活性物質の合成と分子機能の解明を目的として研究を行った結果、 γ -ヒドロキシラクタム構造の新規収束型合成法の確立に成功するとともに、幾つかの生物活性物質の全合成を達成することができた。また、新規酵素阻害剤の設計を目的とした *in silico* 評価系を確立することができた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,500,000	0	1,500,000
2007年度	900,000	270,000	1,170,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,500,000	600,000	4,100,000

研究分野：医歯薬学

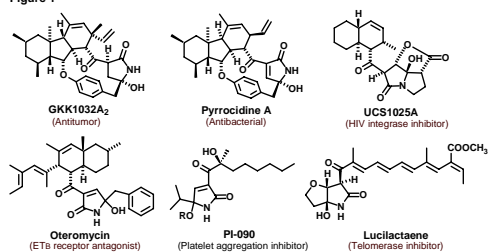
科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：生物活性物質

1. 研究開始当初の背景

(1) γ -ヒドロキシラクタムをファーマコフォアとして有する天然有機化合物が数多く見出されており、その興味ある生物活性から注目を集めていた (Figure 1)。

Figure 1



(2) これらの生物活性物質の作用機序については、何らかの生体内酵素の阻害に基づくことが強く示唆されていたものの、その詳細については全く明らかにされていなかった。また、これらの天然有機化合物の間では、わずかな構造の違いにより生物活性のスペクトルが大きく変化することが知られていたが、 γ -ヒドロキシラクタム類を系統的に合成する方法論が確立されておらず、その構造と活性の関係を明らかにすることは困難な状況にあった。

- (3) 申請者は、天然由来の γ -ヒドロキシラクタム類の1つであるEpolactaeneの合成研究において、 γ -ヒドロキシラクタム構造には溶液中で開閉環の平衡関係が存在することを見出していた。
- (4) そこで申請者は、 γ -ヒドロキシラクタムが溶液中で開環することによって生じた求電子性の高い部分構造が、生体内酵素中の求核性アミノ酸残基と反応することにより、安定なヘミケタール型付加体が形成され、その結果として酵素活性が阻害されるものと予想した。
- (5) このことから、申請者は γ -ヒドロキシラクタム構造が新しい酵素阻害剤のテンプレートとして機能することを期待し、本研究に着手した。

2. 研究の目的

- (1) γ -ヒドロキシラクタム構造の新規効率的合成法の開発
- (2) γ -ヒドロキシラクタム構造を有する天然由来生物活性物質の全合成
- (3) 上記の研究によって確立された合成法を利用した構造活性相関に基づく、 γ -ヒドロキシラクタム構造の分子機能の解明
- (4) 特定の酵素をターゲットとした *in silico* 評価系の確立とこれを利用した新規酵素阻害剤の設計および合成

3. 研究の方法

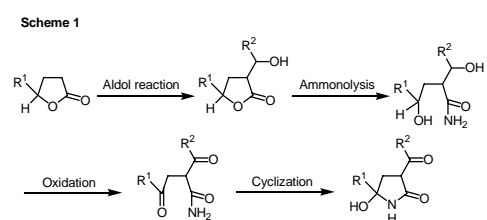
- (1) 入手容易な γ -ラクトン類を出発原料として用いることにより、短工程で目的とする γ -ヒドロキシラクタム構造に導くことのできる合成法について検討した。
- (2) γ -ヒドロキシラクタム構造を有する天然由来生物活性物質は、生体内での認識部位として機能していることが予想される炭化水素部位と、酵素阻害などの分子機能を発現していると予想される γ -ヒドロキシラクタム部位の2つの部分構造から構成されている。そこで、これら2つの部位を別途合成した後、アルドール反応を利用して連結する収束型の合成経路による全合成を立案・検討した。
- (3) 天然物の化学構造にとらわれない γ -ヒドロキシラクタム類の化合物ライブラリーを作成し、それらの生物活性スペクトルについて詳細に検討することにした。また、ビオチン化された誘導体を合

成し、これをバイオプローブとして活用することにより、 γ -ヒドロキシラクタム類の生体内における標的分子を明らかにすることを目的として検討を行った。

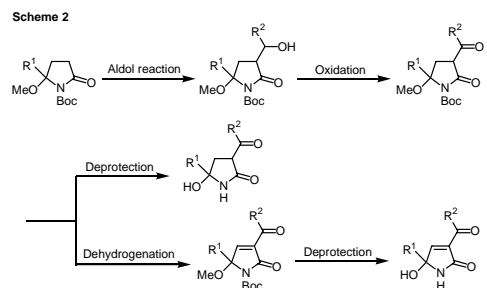
- (4) がんや糖尿病などの重要疾患に関わる酵素をターゲットとして、 γ -ヒドロキシラクタム類の結合部位と結合親和性の大きさを予測しうる *in silico* 評価系を確立すべく検討を行った。また、この評価系を利用した *in silico* スクリーニングを展開することにより、天然物の化学構造にとらわれない新規酵素阻害剤を設計することについても検討した。

4. 研究成果

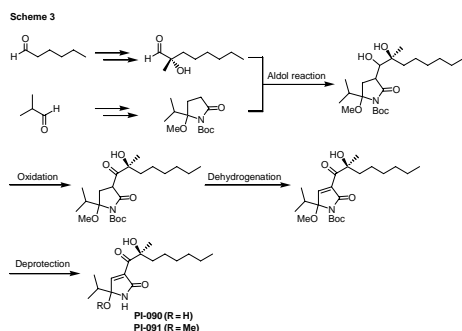
- (1) γ -ラクトン類のアンモノリシス、生じた水酸基の酸化、得られたケトアミドの再閉環の3つの工程により、目的とする γ -ヒドロキシラクタム類を効率よく得ることのできる合成法を確立した。この方法に先立ち、 γ -ラクトン類の α 位とアルデヒド類とのアルドール反応を行うことにより、 α 位に様々なアシル基をもつ γ -ヒドロキシラクタム類が得られることも明らかとなり、ここに第1世代の合成法を確立することができた (Scheme 1)。



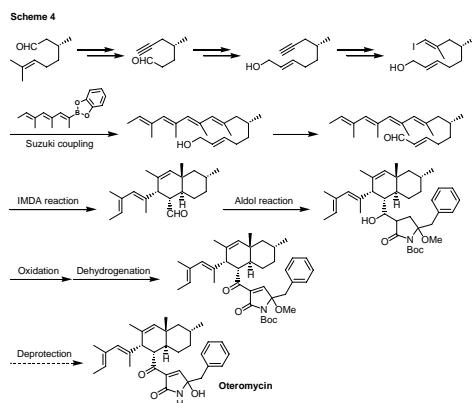
さらに、アルドール反応の前駆体として、 γ -ヒドロキシラクタムのアセタール型保護体である γ -メトキシラクタムを用いることにより、より収束型の経路で γ -ヒドロキシラクタム類を合成する第2世代の合成法の確立にも成功した。また、 α -アシル- γ -メトキシラクタムに酸性条件下で脱水素剤として DDQ を作用させることにより、1段階の反応で α - β 位間を不飽和化する新たな方法の開発にも成功した (Scheme 2)。



- (2) γ -ヒドロキシラクタム構造を有する天然由来生物活性物質として、まず血小板凝集抑制物質である PI-090, 091 の全合成について検討した。ヘキサナールを出発原料として用い、Sharpless 不斉エポキシ化を経由する方法により光学活性な三級水酸基をもつアルデヒドを得た後、これに先に確立した方法を適用することにより、 γ -メトキシラクタム部位を導入した。生じた水酸基を酸化した後、 α - β 位間の不飽和化および脱保護を経て、PI-090, 091 の全合成を達成することができた (Scheme 3)。

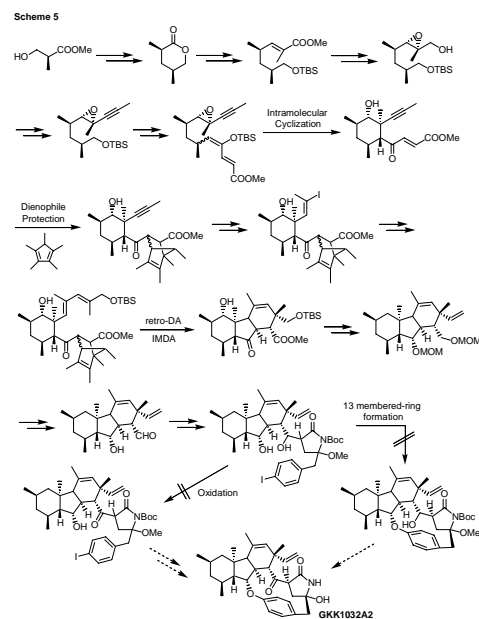


続いて、HIV インテグラーゼ阻害剤である Oteromycin の全合成について検討した。(+) citronellal を出発原料として用い、分子内 Diels-Alder (DA) 反応を経由してデカリン骨格を有するアルデヒドを得た後、先と同様の方法により γ -メトキシラクタム部位の導入、 α - β 位間の不飽和化を行い、全ての炭素骨格と望みの立体化学を備えた前駆体の合成に成功した (Scheme 4)。現在、最終段階である脱保護工程について検討しており、近い将来に全合成が達成できるものと考えている。

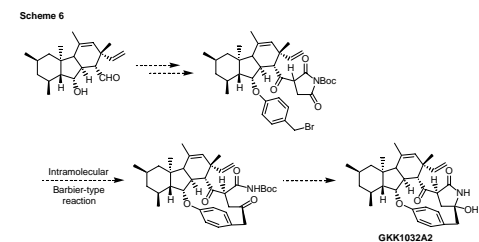


さらに、抗腫瘍性物質である GKK1032A2 の合成についても検討した。(-)-3-ヒドロキシイソ酪酸メチルを出発原料として用い、新たに開発したキラルなエポキシドとシリルエノールエーテルの分子内環

化反応により、C環部位の構築と同時に4級不斉炭素原子を導入した。さらに数工程を経て、retro-DA-IMDA 連続反応を利用したデカヒドロフルオレン骨格の構築にも成功した。これにアルドール反応を適用することにより、 γ -メトキシラクタム部位の導入にも成功したが、水酸基の酸化反応は予期に反して進行しないことが明らかになった。そこで、やむなくこのまま13員環の構築について検討したが、retro-アルドール反応を初めとする幾つかの副反応が進行するため、現在までに環化体を得るに至っていない (Scheme 5)。



現在は、分子内 Barbier 型反応を利用した新しい合成戦略に基づく13員環の構築について検討しており、全合成の完成に向けて研究を継続中である (Scheme 6)。



- (3) γ 位にベンジル基、メチル基、イソプロピル基およびイソブチル基をもつ4種類の γ -メトキシラクタムを合成し、これとベンズアルデヒド、シクロヘキサンカルボアルデヒド、ヘキサナール、trans-シナムアルデヒドの4種類のアルデヒドをカップリングさせた後、さらに数工程を経て、16種類の γ -ヒドロキシラクタムから成る化合物ライブラリーを作成し

た。現在、これらの γ -ヒドロキシラクタム類の生物活性スクリーニングを行っている。これまでに、 γ 位にベンジル基、 α 位にシクロヘキサンカルボニル基をそれぞれもつ化合物において、中程度の抗トリパノソーマ活性が認められている。今後は、ヒトの病態形成に重要な役割を担っている酵素の阻害活性に的を絞って検討していく予定である。

一方、 γ -ヒドロキシラクタム類の生体内でのターゲット分子を明らかにする目的で、先に全合成を達成したPI-090のビオチン化誘導体の合成について検討した。その結果、 α 位のアシル側鎖上の三級水酸基から10炭素のリンカー部位を介してビオチンと結合させた誘導体を合成することができた。現在、この誘導体を用いたアフィニティクロマトグラフィーにより、血小板表面に存在することが予想される標的タンパクの探索を行っている。

- (4) 先に述べたように、 γ -ヒドロキシラクタム類の酵素阻害作用の機序として、酵素内に含まれる求核性アミノ酸残基との反応を予測している。筑波大学の熊谷らは、インスリン信号経路の負の調節因子として知られているプロテインチロシンホスファターゼ1B (PTP1B)の酵素活性が、1,2-ナフトキノンの添加によって阻害されることを明らかにしており、これが酵素内で最も求核性が高いシステイン残基であるCys121と1,2-ナフトキノンの不可逆的な反応により、酵素の活性中心が遮蔽されるためであることを示している。そこでこのCys121近傍の立体化学的な環境にマッチする γ -ヒドロキシラクタムを分子設計することができれば、PTP1Bの新しい阻害剤を創出することが可能になるものと考えた。そこで、CCG社の創薬支援アプリケーションであるMOEを利用して、Protein Data Bankに登録されているPTP1Bの立体構造ファイルから、 γ -ヒドロキシラクタム類の結合親和性を評価するための*in silico*評価系を作成した。この評価系を利用して、これまでに阻害剤の候補となる3種類の γ -ヒドロキシラクタムを設計した。現在、これらの化合物の合成について検討しており、今後はII型糖尿病の新規治療薬の創出を目指して、阻害活性評価と構造最適化に関する検討を重ねていく予定である。

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0件)

〔学会発表〕(計10件)

富澤 光貴、菅井 健太郎、山中 梓、内呂 拓実、HIVインテグラーゼ阻害物質Oteromycinの全合成研究、日本薬学会第129年会、2009年3月26日、国立京都国際会館(京都)

小早川 優、内呂 拓実、新規収束型合成法による血小板凝集阻害剤PI-090, 091の全合成、日本薬学会第129年会、2009年3月26日、国立京都国際会館(京都)

唐牛 夕輝、加藤 諒、高木 陽平、佐久間 慶和、長谷川 大樹、内呂 拓実、抗腫瘍性物質GKK1032A2の全合成研究、第56回有機合成化学協会関東支部シンポジウム、2008年11月29日、新潟大学(新潟)

富澤 光貴、山中 梓、小早川 優、菅井 健太郎、内呂 拓実、HIVインテグラーゼ阻害剤Oteromycinの全合成研究、第34回反応と合成の進歩シンポジウム、2008年11月5日、京都テルサ(京都)

小早川 優、富澤 光貴、中川 博子、内呂 拓実、 α -アシル- γ -ヒドロキシラクタム構造の新規収束型合成法の開発と生物活性物質合成への応用、第34回反応と合成の進歩シンポジウム、2008年11月5日、京都テルサ(京都)

山中 梓、富澤 光貴、菅井 健太郎、内呂 拓実、抗腫瘍性物質Myceliothermophin Aの合成研究、第52回日本薬学会関東支部大会、2008年10月4日、東京理科大学(野田)

小早川 優、富澤 光貴、中川 博子、内呂 拓実、 α -アシル- γ -ヒドロキシラクタムの新規収束型合成法の開発、第52回日本薬学会関東支部大会、2008年10月4日、東京理科大学(野田)

富澤 光貴、高木 陽平、小早川 優、塩野崎 宣裕、内呂 拓実、HIVインテグラーゼ阻害剤Oteromycinの不斉全合成研究、日本薬学会第128年会、2008年3月26日、パシフィコ横浜(横浜)

高木 陽平、長谷川 大樹、佐久間 慶和、唐牛 夕輝、富澤 光貴、内呂 拓実、GKK1032類の全合成研究、日本薬学会第127年会、2007年3月29日、富山大学(富山)

高木 陽平、長谷川 大樹、佐久間 慶和、内呂 拓実、デカヒドロフルオレン骨格を有する新規抗腫瘍性物質GKK1032 類の全合成研究、第 52 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム、2006 年 12 月 3 日、新潟大学（新潟）

〔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〕

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内呂 拓実（東京理科大学・薬学部・准教授）

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし