

令和 6 年 5 月 21 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02070

研究課題名（和文）遷移状態－基質ハイブリッドアナログ型酵素阻害剤の創製

研究課題名（英文）Synthetic chemistry for the development of oligosaccharide-type sialidase inhibitors

研究代表者

平井 剛 (Hirai, Go)

九州大学・薬学研究院・教授

研究者番号：50359551

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、糖鎖の末端に見られるシアル酸を切断するシアリダーゼに着目し、シアリダーゼの酵素活性を抑制できる阻害剤の開発に挑んだ。私達が見出した「遷移状態」+「基質」のハイブリッドアナログという新しい分子設計コンセプトによって、既存の阻害剤が効果的でないシアリダーゼに対する阻害剤を開発することを目的とした。本研究期間で、新規阻害剤の大元となる化合物の合成化学的基盤を確立し、種々の誘導体合成を実現した。さらに、これまでに効果的な阻害剤が存在しなかった酵素Aに対する阻害剤も見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

シアリダーゼは、インフルエンザ治療薬の標的酵素として長年研究対象となっており、いくつかの阻害剤が臨床応用されている。今後の変異インフルエンザの出現を考慮すると、これまでとは異なる化学構造を有する阻害剤開発は急務である。本研究では、これら重要なシアリダーゼに加え、ある疾患に関与する酵素Aに対する阻害剤開発を実現しており、社会的意義は高い。さらに独自の分子設計概念を起点とし、さらに高度な有機化学を駆使した化合物合成も実現しており、学術的にも重要な研究である。

研究成果の概要（英文）：This study focused on sialidase, an enzyme that cleaves sialic acids from the non-reducing ends of glycans, aiming to develop inhibitors that can suppress sialidase activity. We introduced a novel molecular design concept combining a 'transition state' and 'substrate' analog to create inhibitors for sialidases where existing inhibitors are ineffective. During this research period, we established a synthetic methodology for new inhibitors and successfully synthesized various derivatives. Additionally, we identified an inhibitor effective against enzyme A, which previously lacked effective inhibitors.

研究分野：生物有機化学

キーワード：シアル酸 シアリダーゼ 阻害剤 分子設計 触媒的合成

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

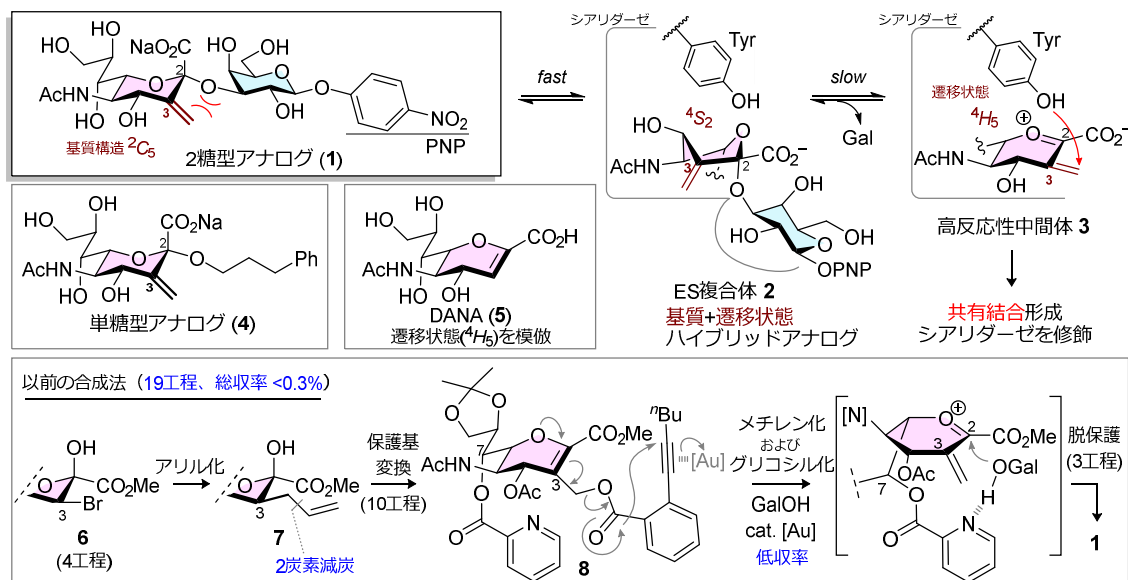
1. 研究開始当初の背景

シアロ糖鎖は、非還元末端にシアル酸を持つ糖タンパク質、糖脂質、多糖の総称であり、生体内で多様な機能を発揮する。一方シアリダーゼは、シアロ糖鎖からシアル酸を切断することでシアロ糖鎖の機能をオフにする役割を担うと考えられる。哺乳類のシアリダーゼは4種 (NEU1 ~ NEU4) 同定されており、局在や基質選択性、一部の機能が明らかにされてきた (宮城ら、Top Curr. Chem. 2015)。中でもNEU3は、ガンの悪性化との関連が示唆され、創薬ターゲットとしても注目されている。しかし、これらシアリダーゼに対する阻害剤は限られており、シアリダーゼ機能や疾病との関係性の理解の障害となっている。また医薬品類似化合物ライブラリーからの探索でも、新規阻害剤候補は見出されていない。

ウィルスやバクテリアのシアリダーゼ阻害剤は精力的に開発されており、リレンザ、タミフルなどのインフルエンザ薬が代表例である。これらは1971年に報告されたDANA (5) の誘導体・改変体であり、シアリダーゼによるシアル酸分解反応の遷移状態 (TS) を模倣する、いわゆる“TSアナログ”として捉えられている。しかしどういふわけか、DANA誘導体のヒトシアリダーゼに対する効果は、ウィルスシアリダーゼへの効果と比べると、総じて低く、新たな阻害剤候補化合物の開発が必要であった。

私達は近年、シアル酸3位にエキソメチレン基を導入した2糖型アナログ1を開発した。1がシアリダーゼの基質として加水分解されると、高反応性中間体3が生じる。近傍のTyr残基などの求核性アミノ酸がエキソメチレン基と反応すると、共有結合を形成してシアリダーゼが修飾される。本アナログを設計した目的は、基質特異性を反映したシアリダーゼによる分解を、酵素を特定しながら追跡できる分子の開発であり、シアリダーゼの基質であるシアロ糖鎖構造に小さな仕掛けを施したわけである。実際、期待通りの共有結合形成が観察され、設計どおりのプローブ分子の開発に成功した。

通常、基質型の阻害剤はシアリダーゼとの特異性は高くても、親和性はそれほど高くないため、阻害活性は低いことが知られている。しかし予期せぬことに、1のシアリダーゼ阻害活性を調べたところ、NEU2 (hNEU の一種) を既知阻害剤5よりも強力に阻害することを見出した。一方で、エキソメチレン基を有する単糖型アナログ4は阻害活性を示さなかった。諸々の知見を総合すると、2糖型アナログ1が“基質アナログ”と“TSアナログ”のハイブリッドした性質を有するユニークな阻害剤であると仮説を立てた。



2. 研究の目的

このことから、1を基盤とした構造展開によって、これまでとは異なる選択性をもつ新規シアリダーゼ阻害剤を創製できると期待された。また本研究は、知財の関係で記載できないが、ある種の感染症に關与する酵素Aの阻害剤を創製できると考え、提案している。この目的のためにも1の研究は重要課題である。

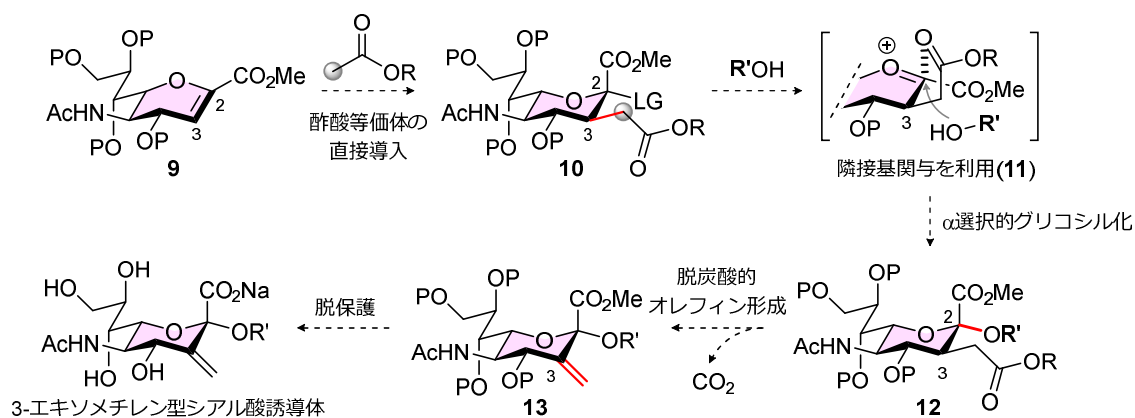
しかし、1の第一世代合成は非常に煩雑であった (最長直線工程に19工程、総収率は0.3%以下)。まずシアロ糖鎖合成のシアリドナー8の合成に、既知化合物6のアリル化による3位増炭と2炭素減炭を含む10工程を要した。さらに、シアロ糖鎖の合成段階である2級アルコールとのグリコシル化反応が、極めて低収率にとどまり、さらに再現性に乏しい結果であった。これ

ら要因が、1を基盤とする創薬研究の大きな障害であった。本研究の目的は、創薬展開を志向した1の短段階合成法の開発を目的とした。シアリダーゼだけでなく、上記酵素Aの阻害剤開発も狙っており、それに都合のいい形で合成法の改良を考えることとした。これに関しても、知財の関係で詳細は省略する。

3. 研究の方法

これまでの合成法の欠点を克服するには、鍵となる2級アルコールとのグリコシル化反応の効率改善である。これまでは、選択的グリコシル化のために配向基を利用し、さらにエキソメチレン基もグリコシル化段階で同時に構築する経路を採用していた。当初、この手法が最も効率的と考えていたが、この経路では選択的グリコシル化の効率改善は難しいと判断した。

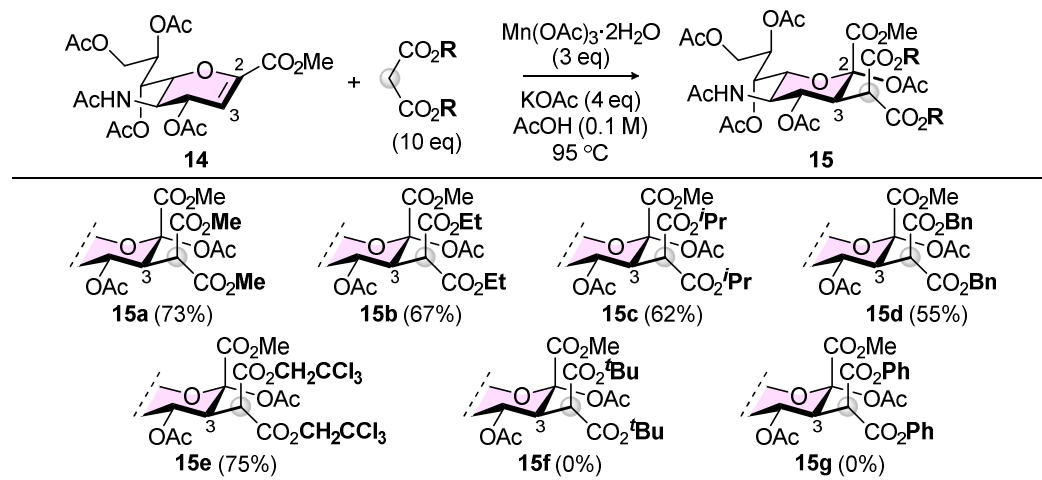
本研究では、選択的グリコシル化とエキソメチレン基構築を別々に実施する手法を考えた。そこで図に示すように、3位にエステル置換基を導入した新たなグリコシルドナー10の合成を考えた。合成効率の観点から、酢酸等価体を9の3位炭素へ直接導入して10を合成することができれば、非常に短段階でドナー合成が実現できる。導入した3位置換基が11のように隣接基関与することで、選択的グリコシル化を達成できると考えた。エキソメチレン基構築は、3位エステル置換基の脱炭酸反応によって達成できれば、さらに効率的な合成ルートになると考えた。本戦略は3位エステル置換基がグリコシル化の立体制御に関与し、さらにエキソメチレン基の足掛かりとなる。したがって、以前のように配向基の導入が不必要であり、本質的にシアリ酸保護基の変換は必要なくなるので、1の短段階合成が可能となると期待した。



4. 研究成果

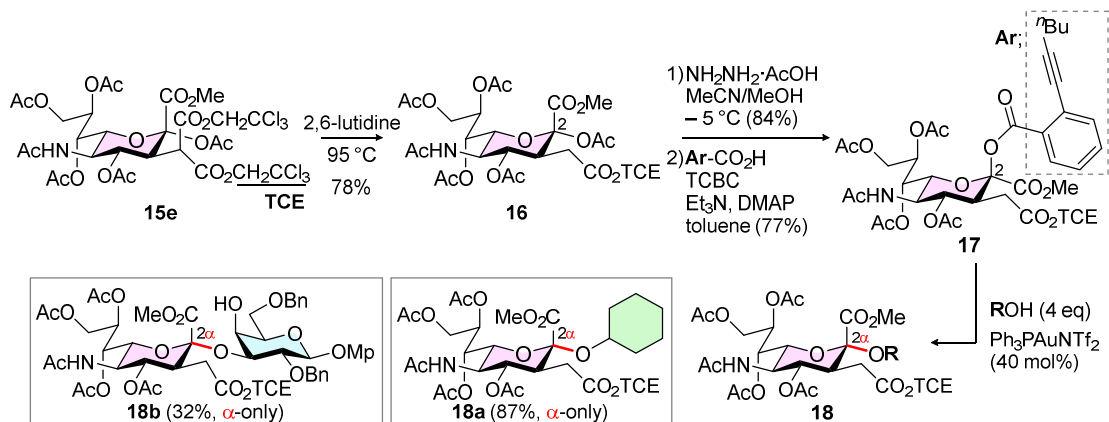
1) シアリ酸3位の酢酸等価体の直接導入検討

シアリ酸誘導体9のエノール様反応性に着目し、求電子的ラジカル種による3位選択的修飾を検討した。14を酢酸中、酢酸マンガンおよび酢酸カリウム存在下、マロン酸ジメチルと加熱処理したところ、期待通り酸化ラジカルカップリングが進行し、3-エカトリアル体15aを優先して与えた。また、様々なマロン酸エステルを用いることができるが、マロン酸ジ-t-ブチルやマロン酸ジフェニルを用いた場合は、反応がほとんど進行しなかった。



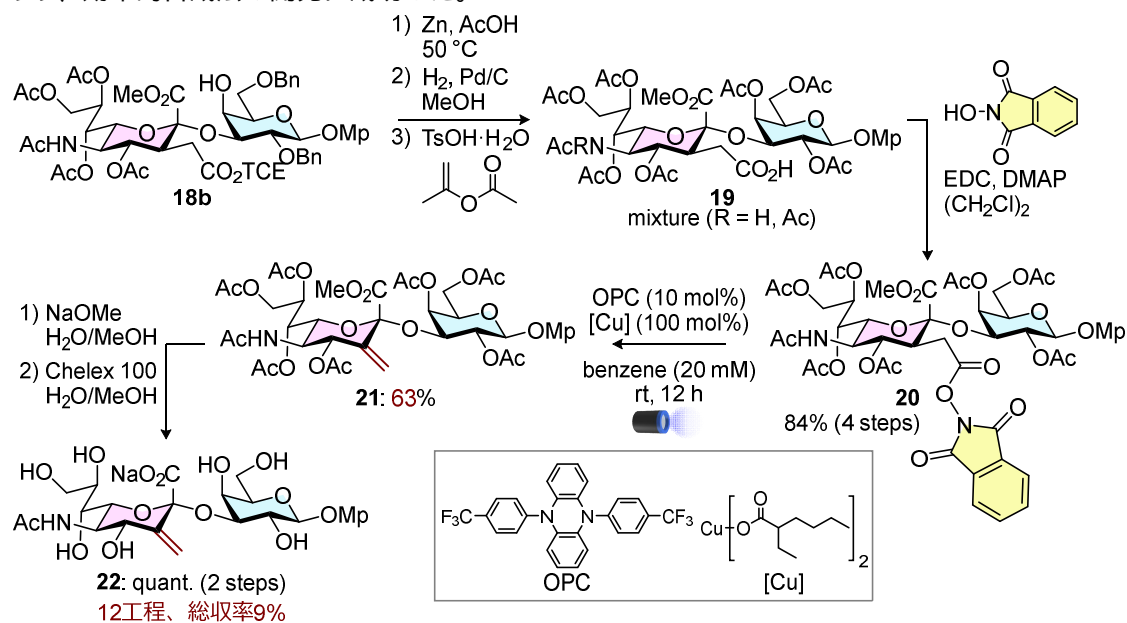
2) ドナー合成、および 選択的グリコシル化

グリコシルドナー17への変換は、オルソゴナルに除去可能なトリクロロエチル(TCE)エステル体15eを出発物とし、短工程で実現できた。17と各種アクセプターとのグリコシル化を検討したところ、2級アルコールとの反応も円滑に進行し、18aや18bを α 選択的に合成できた。以上により、シアル酸保護基を変換せずとも14からわずか5工程で3位修飾型シアロシドを合成することに成功した。



3) レドックス活性エステル体の合成、およびエキソメチレン基構築

18bの3位をエキソメチレンへと変換した。18bを4工程レドックス活性エステル体20に変換後、光反応による脱炭酸的オレフィン形成を検討した。有機光触媒OPCを10 mol%、銅触媒[Cu]を100 mol%用いてKessil PR160L-440を照射することで、脱炭酸反応が進行し、所望のエキソメチレン体21を63%の収率で与えることを見出した。保護基を除去し、3-エキソメチレン型2糖型22の合成を達成した。本手法では2糖型アナログを全12工程・総収率9%で合成可能であり、効率的合成法の開発に成功した。



この合成を基盤として、様々な誘導体を合成し、本来の目的である酵素Aに対する阻害試験を分担者である上村春樹博士が実施した。その結果、酵素Aの強力な阻害剤を見出すに至った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Chiu Po-Chang, Nakamura Yuri, Nishimura Shinichi, Tabuchi Toshitsugu, Yashiroda Yoko, Hirai Go, Matsuyama Akihisa, Yoshida Minoru	4. 巻 12
2. 論文標題 Ferrichrome, a fungal-type siderophore, confers high ammonium tolerance to fission yeast	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-22108-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yoritake Makoto, Hirai Go, Yasutomi Hiroki, Takeda Daiki, Higashibayashi Shuhei, Sugai Takeshi	4. 巻 34
2. 論文標題 Transition-Metal-Free α -Selective C-Glycosylation of β -Glycosyl Boronates via Stereoretentive 1,2-Migration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Synlett	6. 最初と最後の頁 347 ~ 352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/a-1989-2541	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kurahayashi Kazuki, Hanaya Kengo, Sugai Takeshi, Hirai Go, Higashibayashi Shuhei	4. 巻 29
2. 論文標題 Copper Catalyzed Stereoselective Borylation and Palladium Catalyzed Stereospecific Cross Coupling to Give Aryl α -Glycosides	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry- A European Journal	6. 最初と最後の頁 e202203376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.202203376	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Uezono Keiya, Maeda Risa, Yoritake Makoto, Matoba Hiroaki, Hirai Go	4. 巻 52
2. 論文標題 Modification of the C3-Position of 2,3-Dehydro-2-deoxy- α -acetylneuraminic Acid with An Acetic Acid Equivalent	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 71 ~ 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.220507	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ochi Akihiro, Yoritake Makoto, Miyamoto Tomofumi, Usui Kazuteru, Yusaku Gorawit, Putalun Waraporn, Tanaka Hiroyuki, Hirai Go, Morimoto Satoshi, Sakamoto Seiichi	4. 巻 85
2. 論文標題 Harringtonine Ester Derivatives with Enhanced Antiproliferative Activities against HL-60 and HeLa Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 345 ~ 351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.1c00888	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Moriyama Takahiro, Mizukami Daiki, Yoritake Makoto, Usui Kazuteru, Takahashi Daisuke, Ota Eisuke, Sodeoka Mikiko, Ueda Tadashi, Karasawa Satoru, Hirai Go	4. 巻 28
2. 論文標題 Effect of Alkynyl Group on Reactivity in Photoaffinity Labeling with 2 Thienyl Substituted Ketoamide	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry, A European Journal	6. 最初と最後の頁 e202103925
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.202103925	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujii Yui, Yoritake Makoto, Makino Kana, Igawa Kazunobu, Takeda Daiki, Doiuchi Daiki, Tomooka Katsuhiko, Uchida Tatsuya, Hirai Go	4. 巻 27
2. 論文標題 Preparation of Oxysterols by C ₂ H Oxidation of Dibromocholestane with Ru(Bpqa) Catalyst	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 225 ~ 225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules27010225	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagaoka Yosei, Parvatkar Prakash, Hirai Go, Ohkanda Junko	4. 巻 48
2. 論文標題 Design, synthesis, and functional evaluation of triazine-based bivalent agents that simultaneously target the active site and hot spot of phosphatase Cdc25B	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 128265 ~ 128265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2021.128265	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Go Hirai
2. 発表標題 3-Exomethylene sialic acid disaccharides as substrate-type sialidase inhibitors
3. 学会等名 Sialoglyco2022（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平井剛
2. 発表標題 擬複合糖質研究の開拓
3. 学会等名 第19回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平井剛
2. 発表標題 糖鎖に仕掛けを施す有機合成化学
3. 学会等名 第35回ケムステVシンポ「有機合成が拓く最先端糖化学」（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊ヶ崎孝洋、石川絵里、秋山央子、木室佑亮、寄立麻琴、山崎晶、平井剛
2. 発表標題 2-エキソメチレン型複合型擬糖質の立体選択的合成と生物活性
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第16回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Risa Maeda, Keiya Uezono, Ryo Fukazawa, Hiroaki Matoba, Makoto Yoritate, Mikiko Sodeoka, Go Hirai
2. 発表標題 Sialylgalactose analogue with exomethylene group acts as a substrate but inhibits sialidase activity
3. 学会等名 Sialoglyco 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Keiya Uezono, Risa Maeda, Hiroaki Matoba, Makoto Yoritate, Go Hirai
2. 発表標題 Efficient synthetic method for C3-modified sialoglycans and their inhibitory activity for sialidases
3. 学会等名 Sialoglyco 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田梨紗、上園慶也、的場博亮、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 3 位修飾型 DANA 誘導体の合成とシアリダーゼ阻害活性評価
3. 学会等名 第39回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田 梨紗、上園 慶也、的場 博亮、寄立 麻琴、平井 剛
2. 発表標題 3 位にエキソメチレン基をもつシアロ糖鎖のシアリダーゼ阻害メカニズム
3. 学会等名 日本化学会 第103春季年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 上園 慶也、前田 梨紗、的場 博亮、寄立 麻琴、平井 剛
2. 発表標題 3位修飾型シアル酸誘導体の効率的合成法開発およびシアリダーゼ阻害活性
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 古城真夏、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 2-エキソメチレン型 -グルコシドの立体選択的合成法の開発
3. 学会等名 創業懇話会2021 in 京都
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古城真夏、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 2-エキソメチレン型 -グルコシドの立体選択的合成法の開発
3. 学会等名 第58回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊ヶ崎孝洋、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 立体選択的な2' -エキソメチレン型グルコシドの合成法開発
3. 学会等名 第58回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山口昂太、木室佑亮、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 糖ヌクレオチドを模倣した糖転移酵素に対するABPの開発
3. 学会等名 第33回若手研究者のためのセミナー
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Go Hirai, Ryo Fukazawa, Keiya Uezono, Kenta Mizui, Makoto Yoritate, Mikiko Sodeoka
2. 発表標題 Substrate-type Sialidase Inhibitors Involving Unique Mechanism-based Inhibition Machinery
3. 学会等名 Pacifichem 2021: Recent advances in carbohydrate chemistry and chemical glycobiology (#111) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古城真夏、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 2位にジフルオロメチレン基を有するグルコース誘導体の合成研究
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Go Hirai
2. 発表標題 Efficient Synthetic Strategy for C-linked β -Galactosylceramide Analogues
3. 学会等名 7th International Symposium on Middle Molecular Strategy (ISMMS-7)/ 16th Meeting of the International Endotoxin and Innate Immunity Society (IEIIS-16) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平井剛
2. 発表標題 代謝耐性型複合糖質のポテンシャル：アジュバントへの展開は可能か？
3. 学会等名 第15回次世代アジュバント研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊ヶ崎孝洋、木室佑亮、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 2-エキソメチレン型グルコシドの立体選択的合成と活性評価
3. 学会等名 日本薬学会第142回年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 David C. Baker (編集)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 ELSEVIER	5. 総ページ数 182
3. 書名 Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, Volume 82	

1. 著者名 Kazuya Kabayama (編集), Jin-ichi Inokuchi (編集)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Springer Nature Singapore Pte Ltd.	5. 総ページ数 312
3. 書名 Glycolipids, Methods in Molecular Biology (MIMB, volume 2613)	

〔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	上村 春樹 (Uemura Haruki) (60184975)	長崎大学・熱帯医学研究所・客員准教授 (17301)	

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