

科学研究費助成事業（学術研究助成基金成金）研究成果報告書

平成25年6月14日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659058

研究課題名（和文） カテナン・ロタキサン構造の導入による生理活性分子の活性制御新手法

研究課題名（英文） New Strategy for Controlling Activity of Bioactive Compounds by Introduction of Catenane or Rotaxane Structure

研究代表者

樋口 恒彦 (HIGUCHI TSUNEHIKO)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：50173159

研究成果の概要（和文）：本研究は、従来ほとんど有効な利用がなされてこなかったカテナン構造、ロタキサン構造を、生理活性化合物に導入し、必要な場所で光や還元などにより除去することによって、生物活性など有用な活性の抑制された状態から、活性な状態に変換することによって、新しい概念・戦略に関するものである。主にカテナン構造を有する分子についての検討を進めた。活性を制御するために、固形ガン組織中で見られる高還元的環境で環構造が切断されると考えられる大環状ジスルフィドを採用した。異なった2つの環状分子からなるカテナンを合成する報告例は、従来ほとんどない。大環状生理活性化合物のモデルとして、まず、 ω -ヒドロキシ長鎖脂肪酸のラクトン体を用い、大環状ジスルフィドとのカテナン形成を検討した。上記ラクトン体は、紫外光吸収性などがなく検出が困難だったため、次に環内に蛍光団を組み込んだ大環状化合物を用いた。さらに、ジチオール分子にも、クラウンエーテルと高い親和性を持つと考えられるカチオン性の部位を組み込んだものを用いることとし合成を進め、改良型のジチオール分子の合成に成功した。効率的カテナン合成についても直前まで研究は進展している。これらの検討は、本手法の基礎研究として役立つことが期待される。

研究成果の概要（英文）：This research project aims development of new methodology for controlling the activity of bioactive compound by introducing catenane or rotaxane structure that is removable under a certain condition. We have mainly deal with catenane structure. We examined construction of catenane between a macrocyclic model compound and macrocyclic disulfide of which S-S bond is cleavable under reductive condition. We have succeeded in the improvement of macrocyclic disulfide structure for efficient catenane synthesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：創薬化学

科研費の分科・細目：医薬分子設計

キーワード：抗ガン活性、プロドラッグ、トポロジー

1. 研究開始当初の背景

大環状化合物は、天然物としてこれまでに非常に多くのもが見出されてきており、顕著な抗ガン活性、抗菌活性、イオンチャネル阻害活性、免疫抑制活性など多様な機能を有するものが多数存在する。その中には医薬品と

して実用に供されているものも少なくない。これらを医薬品として投与した場合には、一旦全身に分配され、必要な部位では薬効を示すことになるが、必要のない部位では副作用・毒性という負の作用の発現が問題となる。活性に必要な官能基を修飾しマスクするブ

ロドラッグ化の手法はあるが、どの位置の修飾が適切か検討を要し、また、対象分子の構造により、それぞれ個別に検討しなければならず、煩雑である。

2. 研究の目的

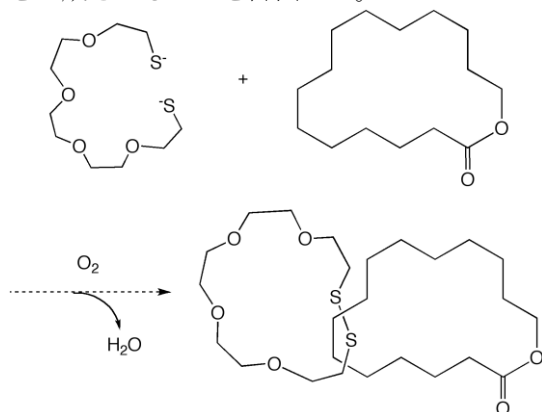
本研究は、従来ほとんど有効な利用がなされてこなかったカテナン構造、ロタキサン構造を、生理活性化合物に導入し、必要な場所で光や還元などにより除去することによって、生物活性など有用な活性の抑制された状態から、活性な状態に変換することに利用する、新しい概念・戦略に関するものである。固形ガン内部のように低酸素・高還元状態において開環する環を抗ガン活性化合物に導入することにより、ガン組織でのみ細胞毒性を発現する分子や、組織透過性の高い近赤外光・可視光によって開環するものの導入により、光を照射したところのみで活性発現する分子などを開発する。それと共に本手法の一般性について検証していく。

3. 研究の方法

入手可能な大環状化合物を用い、その共存下に鎖状化合物の環化を行うことで、まずカテナン構造の効率的な導入の手法を、実験により得ていく。その際に金属イオンのキレート効果等を利用して効率化に努める。次に対象化合物に対して環状構造を形成する一部に還元により開裂する構造、及び光により開裂する構造を導入してカテナン構造を形成する。得られたカテナンを実際に還元や光照射によって環開裂し、元の大環状化合物が還元できることを確かめる。また、一部がくびれた形の非環状化合物を対象化合物とし、その共存下に上記と同様の環化反応を行って、ロタキサンを得、また還元反応も検討する。両者において、生体への応用も検討する。

4. 研究成果

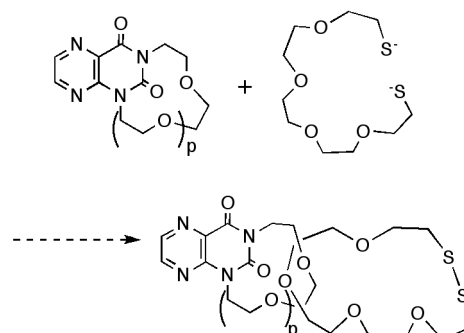
大環状構造を有する生理活性化合物は、大環状ラクトンや環状ペプチド等、多数存在するため、大環状化合物に対して、着脱可能な環を導入してカテナン構造を形成する検討を加えた。当初は、メチレン鎖だけからなる16員環ラクトンの共存下、ジチオールを酸素酸化して環状ジスルフィドを形成させ、カテナンを生成させることを計画した。



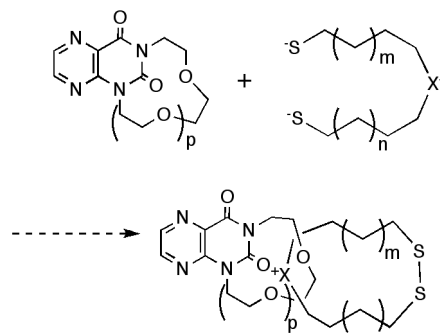
環状ジスルフィドは、還元的環境でジチオールに切断され、カテナン構造を解除できるスイッチ機能として組み込んだ(上図)。数度の反応を検討したが、UV吸収がない構造であったため、生成物の検出が困難であった。また、ただ工夫なくカテナン構造を形成させるのは収率的にも困難であるということも考えられた。

そこで次に、大環状化合物には、検出を容易にする蛍光団を組み込んだクラウンエーテル分子を採用し(以前にその合成法を報告している: *Bioorg. Med. Chem.* 15, 7108-7115 (2007))。

さらに、ジチオール分子にも、クラウンエーテルと高い親和性を持つと考えられるカチオン性の部位を組み込んだものを用いることを



計画した(下図)。これにより大幅な収率の向上が期待できる。前者については合成がすでに完了したが、後者のジチオールの合成は、困難が伴ったため、合成の完成にまでは至っていない。しかし合成のめどは立ったため、



カテナン合成に向けて取り組んでいる状況である。カチオン性部位を環状ジスルフィドに組み込むことにより、大環状生理活性物質である、環状ペプチドやマクロライド等の環内カルボニルや水酸基等との親和性により、一般的に効率よくカテナン構造を構築すると考えている。本手法の完成により大環状生理活性物質を、化学変換することなくカテナン構造を取らせることで、一旦活性をマスクし、必要な時に必要な部位でカテナン構造を解除し、独創的で優れたケージド化合物・プロドラッグとすることが期待される。

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 4 件)

- ① Yukinobu Noritake, Naoki Umezawa, Nobuki Kato, Tsunehiko Higuchi, "Manganese Salen Complexes with Acid-Base Catalytic Auxiliary: Functional Mimetics of Catalase", 査読有, *Inorg. Chem.*, 52(7), 2013, 3653-3662 DOI: 10.1021/ic302101c
- ② Yuko Yoshikawa, Naoki Umezawa, Yuki Imamura, Toshio Kanbe, Nobuki Kato, Kenichi Yoshikawa, Tadayuki Imanaka, Tsunehiko Higuchi, "Effective Chiral Discrimination of Tetravalent Polyamines on Single-DNA Compaction", 査読有, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 52(13), 2013, 3712-3716, DOI: 10.1002/anie.201209144
- ③ Yuki Imamura, Naoki Umezawa, Satoko Osawa, Naoaki Shimada, Takuya Higo, Satoshi Yokoshima, Tohru Fukuyama, Takeshi Iwatsubo, Nobuki Kato, Taisuke Tomita, Tsunehiko Higuchi, "Effect of Helical Conformation and Side-Chain Structure on γ -Secretase Inhibition by β -Peptide Foldamers: Insight into Substrate Recognition", 査読有, *J. Med. Chem.*, 56(4), 2013, 1443-1454, DOI: 10.1021/jm301306c
- ④ Naoki Umezawa, Yuka Noro, Kazuhiro Ukai, Nobuki Kato, Tsunehiko Higuchi, "Photocontrol of Peptide Function: Backbone Cyclization Strategy with Photocleavable Amino Acid", 査読有, *Chem. Bio. Chem.*, 12(13), 2011, 1694-1698, DOI: 10.1002/cbic.201100212

[学会発表] (計 12 件)

- ① 樋口恒彦, "アルコラート配位ヘム・セレナート配位ヘムの合成とその酸化触媒機能における軸配位子効果", 日本薬学会第 133 年会, 2013 年 3 月 30 日, 横浜
- ② 今村優希, "環構造を有するキラルポリアミンの合成と DNA 構造に及ぼす影響", 日本薬学会第 133 年会, 2013 年 3 月 28 日, 横浜
- ③ 天野祐一, "環状化を用いたペプチド機能の光制御", 日本薬学会第 133 年会, 2013 年 3 月 28 日, 横浜
- ④ 坂田陽輔, "キノリン系抗マラリア活性化化合物とヘムとの相互作用解析", 日本薬学会第 133 年会, 2013 年 3 月 28 日, 横浜

- ⑤ 樋口恒彦, "ヘム及び関連錯体を用いたケミカルバイオロジー・医薬化学", 第 43 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会, 2012 年 11 月 11 日, 名古屋
- ⑥ Naoki Umezawa, "Cyclic Caged Peptides: Design and Function", 第 6 回武田科学振興財団薬科学シンポジウム, 2012 年 9 月 14 日, 吹田
- ⑦ 樋口恒彦, "反応補助基を分子内に導入したマンガン salen 分子の触媒的活性酸素消去能", 第 6 回バイオ関連化学シンポジウム, 2012 年 9 月 8 日, 札幌
- ⑧ Tsunehiko Higuchi, "Selective Alkane Oxidation Catalyzed by Ruthenium Porphyrins", International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP), 2012 年 7 月 1 日, Jeju, Korea
- ⑨ 樋口恒彦, "Efficient cytochrome P450-mimetic oxidations catalyzed by ruthenium porphyrin", 第 22 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム, 2012 年 6 月 1 日, 金沢
- ⑩ 樋口恒彦, "ヘム親和性分子の高い抗クロロキン耐性マラリア活性", 日本薬学会第 132 年会, 2012 年 3 月 31 日, 札幌
- ⑪ 今村優希, "ガンマセクレターゼ阻害フォルダマーの構造活性相関研究", 日本薬学会第 132 年会, 2012 年 3 月 31 日, 札幌
- ⑫ 梅澤直樹, "ペプチド機能を光制御する方法", 名工大・名市大合同テクノフェア 2011, 2011 年 10 月 20 日, 名古屋

[図書] (計 1 件)

- ① 樋口恒彦, 他, 化学同人, ベーシック薬学教科書シリーズ, 2011, 175-194

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

- ①名称: 抗マラリア活性化化合物及び抗マラリア薬
発明者: 樋口恒彦、梅澤直樹、加藤信樹
権利者: 名古屋市立大学/(株)セラバリューズ
種類: 特許
番号: PCT/JP2011/069392
出願年月日: 2011 年 8 月 29 日
国内外の別: 国外

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/hp/ysk/research/archive.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

樋口 恒彦 (HIGUCHI TSUNEHICO)
名古屋市立大学・大学院薬学研究科・教授
研究者番号：50173159

(2) 研究分担者

梅澤 直樹 (UMEZAWA NAOKI) 名古屋市立大学・大学院薬学研究科・准教授
研究者番号：40347422

加藤 信樹 (KATO NOBUKI) 名古屋市立大学・大学院薬学研究科・助教
研究者番号：50400221

(3) 連携研究者 なし