

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24390023

研究課題名(和文) シクロプロパンの構造特性と三次元的多様性を鍵とする分子設計に基づく創薬研究

研究課題名(英文) Medicinal chemical study by the three-dimensional structural diversity-oriented strategy based on the characteristic steric and stereoelectronic features of cyclopropane

研究代表者

周東 智 (SHUTO, Satoshi)

北海道大学・大学院薬学研究院・教授

研究者番号：70241346

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：シクロプロパンは、分子の物理化学的性質にほとんど影響することなしに、強固に官能基の配座を制御できることに加えて、その特有の立体及び立体電子効果であるシクロプロパン歪み及び二等分配座効果を側鎖の配座制限に活用できる。このようなシクロプロパンの構造特性を活用する三次元的多様性を鍵とする独自の分子設計を基盤として、標的分子に対して選択的かつ強力に作用する薬理活性化合物を論理的かつ効率的に創出した。具体的には、創薬リードとなりうる高活性なGABAトランスポーターBGT-1阻害剤、プロテアソーム阻害剤、 α -セクレターゼ(BASE)阻害剤の創出に成功した。

研究成果の概要(英文)：Cyclopropane is very effective for conformational restriction of compounds due to the characteristic steric and stereoelectronic features, which are cis/trans-restriction, cyclopropyl strain, and bisected conformational preference. We devised the three-dimensional structural diversity-oriented conformational restriction strategy based on the characteristic features of cyclopropane, by which a variety of conformationally restricted analogs of conformationally flexible biologically active prototype compounds were designed and synthesized. Thus, we successfully identified highly potent compounds, which are a GABA transporter subtype BGT-1 inhibitor, proteasome inhibitors, and α -secretase (BASE) inhibitors.

研究分野：創薬化学

キーワード：シクロプロパン 配座制御 三次元的多様性 分子設計 BGT-1 阻害剤 プロテアソーム阻害剤 BASE 阻害剤

1. 研究開始当初の背景

Gタンパク質共役型受容体 (GPCR)、チャネル、トランスポーター等は重要な創薬標的分子であるが、膜蛋白質であるが故にその三次元構造の解析は容易ではない。従って、標的蛋白質の三次元構造情報が入手できない場合にも有効な、有機化学を基盤とする合理的な創薬戦略が必要との考えから、私達は、従来よりシクロプロパンの構造特性を活用する三次元的多様性を鍵とする分子設計法に基づく創薬化学研究に取り組んでいる。

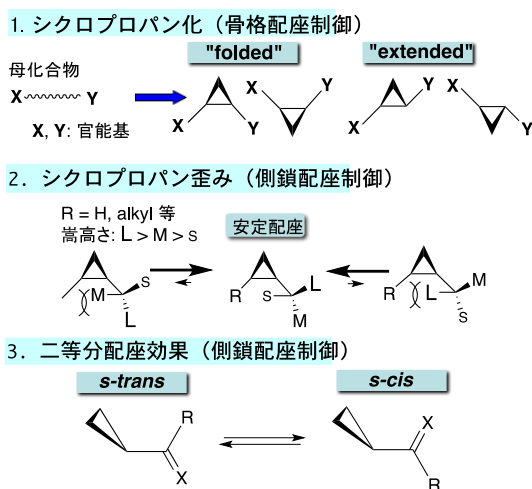


図1. シクロプロパンの構造特性に基づく配座制御

立体的自由度の大きい薬理活性化合物をその配座制限型誘導体へ変換することで、標的分子に対する親和性および選択性の増強が可能である。立体的自由度がない最小の炭素環であるシクロプロパンは、分子の物理化学的性質にほとんど影響することなしに、“folded (cis)”型あるいは“extended (trans)”型に強固に官能基の配座を制御できる (図 1-1)。さらに、シクロプロパン特有の立体及び立体電子効果であるシクロプロパン歪み及び二等分配座効果 (図 1-2,3) を配座制限に活用できる。三次元的多様性を鍵とする方法論では、“シクロプロパンの配座制限に有効な特性を活用してリガンドの官能基を三次元的に多様な配置に制御することによって、標的分子の構造が未知であっても、標的分子結合配座 (bioactive conformation) に合致、あるいは近似する配座制限誘導体を見出せる”との作業仮説の下、三次元的多様性を備えた一連の配座制限誘導体を設計・合成し薬理活性を評価する。

一方、標的分子の三次元構造が解析されている場合においても、リガンド結合時と非結合時、あるいは、結合しているリガンドが異なる場合には誘導適合による標的分子の構造変化が生じる (総説: Andrew M. Davis, Simon J. Teague, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 736-749; Simon J. Teague, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, *2*, 527)。従って、既知の標的分子構造に基づき、新規リガンドの結合を計算化学的に予測することは必ずしも容易ではない。こ

のようなケースにおいても、三次元的多様性に基づく創薬方法論は有効と考えられる。

2. 研究の目的

本課題では、シクロプロパンの構造特性と三次元的多様性を鍵とする独自の分子設計を基盤として、標的分子に対して選択的かつ強力に作用する薬理活性化化合物を論理的かつ効率的に創出する方法論を確立し、さらに、本方法論に基づき創薬リード (GABA トランスポーター阻害剤、プロテアソーム阻害剤、 β -セクレターゼ、NF α 阻害剤、オキシトシン受容体リガンド) を創出することを目的とした。

3. 研究の方法

GABA トランスポーターとして 4 種のサブタイプ (GAT1, GAT 2, GAT 3, BGT1) が知られており、その選択的阻害剤は抑制性中枢薬となることが期待されている。4つのサブタイプ中で、機能が不明で選択的阻害剤が皆無であったサブタイプ BGT1 (最近の総説: Madsen, K. et al., *Pharmacol. Ther.* **2010**, *125*, 394) に着目し、その選択的阻害剤創出を計画した。GABA の配座をシクロプロパンによって三次元多様に制限し (8 種の立体・位置異性体)、所望の BGT1 選択的阻害活性を有する **1** ($IC_{50} = 5.5 \mu M$) を見出した。さらに、シクロプロパン歪みによる側鎖部活性配座解析を経て、初の強力かつ高選択的 GAT1 阻害剤 **3** ($IC_{50} = 0.59 \mu M$) の創製に成功した (図 2 A)。**3** はラットにおいて脳内投与で強力な痙攣抑制活性を示した。現在、**3** を用いた GAT1 の機能解析と医薬利用探索を展開している。

プロテアソームは制癌薬の標的分子として注目されている。*trans*-シクロプロパン骨格を持つペプチド系阻害剤ベラクトシン A ($IC_{50} = 1440 \text{ nM}$) をプロトタイプとして、三次元多様型配座制限体 (6 種の立体・位置異性体) を設計・合成した。その結果、ベラクトシン A を凌駕する非天然型の *cis*-シクロプロパン誘導体が **4** を見出した。さらに、プロテアソームとの複合体 X-線解析と分子モデリングを用いて、極めて強力な阻害剤 **5** ($IC_{50} = 5.7 \text{ nM}$) を創出した (図 2 B)。現在、担がんモデル動物で高次評価中である。

アミロイドの生成に関与する β -セクレターゼ (BASE) の阻害剤はアルツハイマー病の新規治療薬としての開発が期待されている。配座的自由度が大きい既知の阻害剤 **6** は、その BASE との複合体の X 線結晶解析によって、folded 型が活性配座であることが明らかにされている。そこで、活性配座様に三次元構造を制御した *cis*-シクロプロパン誘導体 **7** を設計・合成した。その結果、**7** は顕著な BASE 阻害活性を示すことがわかった (図 2 C)。さらに **7** と BASE との複合体の X 線結晶解析の結果、**7** が **6**

と異なる活性配座を有することが明らかになった。この事実は、剛直な7のシクロプロパン骨格がBASEの誘導適合を誘起することを示唆するものであり、シクロプロパンを分子設計に活用する上で、大変重要な知見である。

TNF α 阻害剤に関しては、すでに8種のシクロプロパン型配座制限誘導体を合成し、現在評価中である。

オキシトシン受容体リガンドについては、合成の途上である。

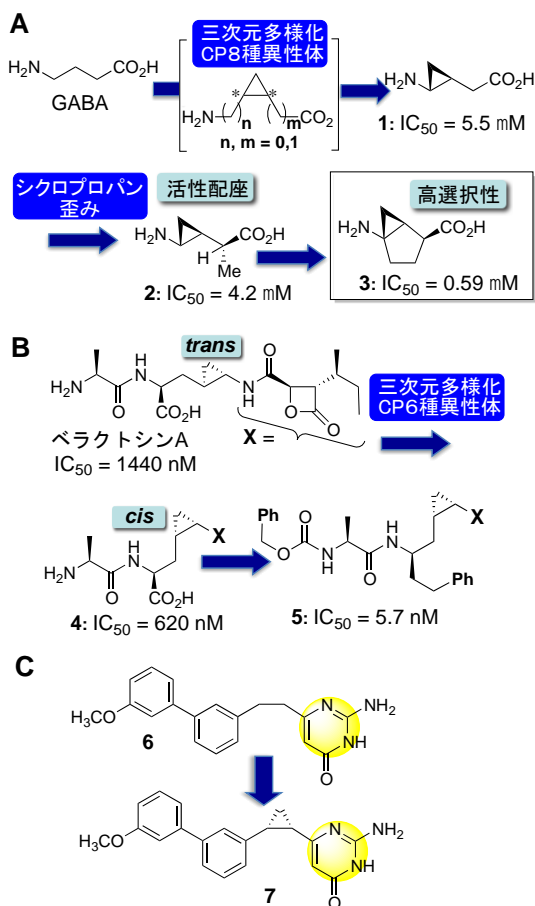


図2. シクロプロパンの構造特性に基づく配座制限誘導体
A, BGT-1阻害剤 B, プロテアソーム阻害剤 C, BASE阻害剤

4. 研究成果

以上述べたように、シクロプロパンの構造特性と三次元的多様性を鍵とする独自の分子設計を基盤として、標的分子に対して選択的かつ強力に作用する薬理活性化合物を創出することに成功した。本法は、論理的かつ効率的な創薬方法論をとって、様々な配座の自由度が高い薬理活性物質の選択性と親和性の向上へ応用可能である。

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12件)

- ① K. Yotsuji, N. Hoshiya, T. Kobayashi, H. Fukuda, H. Abe, M. Arisawa, S. Shuto, Nickel-Catalyzed Suzuki-Miyaura Coupling of a Tertiary Iodocyclopropane with Wide Boronic Acid Substrate Scope: Coupling Reaction Outcome Depends on Radical Species Stability. *Adv. Synth. Cat.* 査読有, 2015, 357, 1022-1028. DOI: 10.1002/adsc.201401000
- ② T. Kobayashi, A. Suemasa, A. Igawa, S. Ide, H. Fukuda, H. Abe, M. Arisawa, M. Minami, S. Shuto, Conformationally Restricted GABA with Bicyclo[3.1.0]hexane Backbone as the First Highly Selective BGT-1 Inhibitor. *ACS Med. Chem. Lett.* 査読有, 2014, 5, 889-893. DOI: 10.1021/ml500134k
- ③ M. Arisawa, T. Sato, N. Hoshiya, M. Al-Amin, Y. Kogami, S. Shuto, Ligand-free Suzuki-Miyaura coupling with sulfur-modified gold-supported palladium in the synthesis of a conformationally restricted cyclopropane compound library with three-dimensional diversity. *ACS Comb. Sci.* 査読有, 2014, 16, 215-220. DOI:10.1021/co4001138
- ④ S. Kawamura, Y. Unno, T. Hirokawa, A. Asai, M. Arisawa, S. Shuto, Rational hopping of a peptidic scaffold into non-peptidic scaffolds: structurally novel potent proteasome inhibitors derived from a natural product, belactosin A. *Chem. Commun.* 査読有, 2014, 50, 2445-2447. DOI:10.1039/C3CC48818G
- ⑤ M. Tanabe, M. Watanabe, N. Hoshiya, A. Mizuno, H. Fukuda, M. Arisawa, S. Shuto, Preparation of chiral bromomethylenecyclopropane and its use in Suzuki-Miyaura coupling: synthesis of the arylmethyl-(Z)-cyclopropane structure core. *J. Org. Chem.* 査読有, 2013, 78, 11714-11720. DOI:10.1021/jo401675z
- ⑥ N. Hoshiya, T. Kobayashi, M. Arisawa, S. Shuto, Palladium-Catalyzed Arylation of Cyclopropanes via Directing Group-Mediated C(sp³)-H Bond Activation To Construct Quaternary Carbon Centers: Synthesis of cis- and trans-1,1,2-Trisubstituted Chiral Cyclopropanes. *Org. Lett.* 査読有, 2013, 15, 6202-6205. DOI:10.1021/ol4030452
- ⑦ S. Kawamura, Y. Unno, M. Tanaka, T.

- Sasaki, A. Yamano, T. Hirokawa, T. Kameda, A. Asai, M. Arisawa, S. Shuto, Investigation of the Noncovalent Binding Mode of Covalent Proteasome Inhibitors around the Transition State by Combined Use of Cyclopropylic Strain-Based Conformational Restriction and Computational Modeling. *J. Med. Chem.* 査読有, 2013, 56, 5829-5842. DOI:10.1021/jm400542h
- ⑧ K. Nakada, M. Yoshikawa, S. Ide, A. Suemasa, S. Kawamura, T. Kobayashi, E. Masuda, Y. Ito, W. Hayakawa, T. Katayama, S. Yamada, M. Arisawa, M. Minami, S. Shuto, Cyclopropane-based conformational restriction of GABA by a stereochemical diversity-oriented strategy: Identification of an efficient lead for potent inhibitors of GABA transports. *Bioorg. Med. Chem.* 査読有, 2013, 21, 4938-4950. DOI:10.1016/j.bmc.2013.06.063
- ⑨ S. Kawamura, Y. Unno, A. List, A. Mizuno, M. Tanaka, T. Sasaki, M. Arisawa, A. Asai, M. Groll, S. Shuto, Potent proteasome inhibitors derived from the unnatural cis-cyclopropane isomer of belactosin A: Synthesis, Biological Activity, and Mode of Action. *J. Med. Chem.* 査読有, 2013, 56, 3689-3700. DOI:10.1021/jm4002296
- ⑩ A. Mizuno, S. Miura, M. Watanabe, Y. Ito, S. Yamada, T. Odagami, Y. Kogami, M. Arisawa, S. Shuto, Three-dimensional structural diversity-oriented peptidomimetics based on the cyclopropylic strain. *Org. Lett.* 査読有, 2013, 15, 1686-1689. DOI:10.1021/ol400469w
- ⑪ S. Yonezawa, T. Yamamoto, H. Yamakawa, C. Muto, M. Hosono, K. Hattori, K. Higashino, T. Yutsudo, H. Iwamoto, Y. Kondo, M. Sakagami, H. Togame, Y. Tanaka, T. Nakano, H. Takemoto, M. Arisawa, S. Shuto, Conformational restriction approach to BACE1 Inhibitor II : Effect of a Cyclopropane Ring To Induce an Alternative Binding Mode. *J. Med. Chem.* 査読有, 2012, 55, 8838-8858. DOI:10.1021/jm3011405
- ⑫ M. Watanabe, T. Kobayashi, T. Hirokawa, A. Yoshida, Y. Ito, S. Yamada, N. Orimoto, Y. Yamasaki, M. Arisawa, S. Shuto, Cyclopropane-based stereochemical diversity-oriented conformational restriction strategy: Histamine H3 and/or H4 receptor ligands with the 2,3-methanobutane backbone. *Org. Biomol. Chem.* 査読有, 2012, 10, 736-745. DOI:10.1039/C1OB06496G
- [学会発表] (計7件)
- ① 周東 智, Development of Potent Ligands by the Three-Dimensional Diversity-Oriented Strategy Based on the Characteristic Stereo-and Stereoelectronic Feature of Cyclopropane, *Frontier in Medicinal Chemistry 2015*, 平成 27 年 3 月 15 日-18 日、フィリップ大学マールブルグ (Marburg, ドイツ)
- ② 星谷 尚亨、四辻 慶佑、小林 嵩明、福田 隼、阿部 洋、有澤 光弘、周東 智、Pd および Ni 触媒によるシクロプロパン第三級炭素上への芳香環導入反応—効率的化学空間探索型創薬ライブラリーの構築を目指して—、第 40 回反応と合成の進歩シンポジウム、平成 26 年 11 月 10 日-11 日、東北大学 (宮城県仙台市)
- ③ 川村 周平、海野 雄加、浅井 章良、有澤 光弘、周東 智、ペプチド性天然物ベラクトシン A をプロトタイプとする高活性非ペプチド性プロテアソーム阻害剤の創製：“Scaffold Hopping” に基づく論理的分子設計と合成、第 39 回反応と合成の進歩シンポジウム、平成 25 年 11 月 5 日-6 日、九州大学医学部 (福岡県福岡市)
- ④ 四辻 慶佑、小林 嵩明、星谷 尚亨、福田 隼、有澤 光弘、周東 智、光学活性第三級ヨードシクロプロパンとニッケル触媒を用いた鈴木-宮浦カップリング反応の開発、第 43 回複素環化学討論会、平成 25 年 10 月 17 日-19 日、長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)
- ⑤ 星谷 尚亨、周東 智、有澤 光弘、Palladium(II)-Catalyzed Regioselective Intermolecular Direct Arylation of tertiary carbon on Cyclopropane、OMCOS 17 (17th IUPAC International Symposium on Organometallic Chemistry Directed Towards Organic Synthesis)、平成 25 年 7 月 29 日-8 月 2 日、Colorado State University (Colorado, USA)
- ⑥ 水野 彰、三浦 志帆、渡辺 瑞貴、亀田 倫史、有澤 光弘、周東 智、三次元多様性を鍵とするペプチドミメティックの創製研究、第 49 回ペプチド討論会、平成 24 年 11 月 7 日-9 日、鹿児島県民交流センター (鹿児島県鹿児島市)
- ⑦ 有澤 光弘、Al-Amin Mohammad、星谷 尚亨、佐藤 隆俊、本間 徹生、為則 雄祐、福田 隼、周東 智、リガンドフリー Pd クロスカップリングの開発と創薬研究への応用、第 38 回反応と合成の進歩

シンポジウム、平成24年11月5日-6日、
タワーホール船堀（東京都江戸川区）

出願年月日：平成25年4月11日
国内外の別：国外

〔産業財産権〕

○出願状況（計6件）

① 名称：プロレニン受容体リガンド及びアンタゴニスト

発明者：周東智、石田晋、神田敦宏、
桑原智希

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2016-023315

出願年月日：平成28年2月10日

国内外の別：国内

② 名称：環状ペプチドの膜透過性および／
または代謝安定性を改善するシクロプロ
パンアミノ酸ユニット

発明者：松井耕平、周東智

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2015-167408

出願年月日：平成27年8月27日

国内外の別：国内

③ 名称：リン脂質コンジュゲート

発明者：周東智、川村周平、山田静雄、
伊藤由彦

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2015-044079

出願年月日：平成27年3月5日

国内外の別：国内

④ 名称：新規オキシトシン誘導体およびそ
れを含む医薬組成物

発明者：周東智、水野彰、東田陽博

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2014-139048

出願年月日：平成26年7月4日

国内外の別：国内

⑤ 名称：プロテアソーム阻害性化合物

発明者：浅井章良、海野雄加、周東智、
川村周平

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2013-241039

(p2013-080-JP01) PCT/JP2014/080859

出願年月日：平成25年11月21日

国内外の別：国内

⑥ 名称：Cyclopropan kinase inhibitors

発明者：Yuji Kogami, Satoshi Shuto,
Mitsuhiro Arisawa

権利者：同上

種類：特許

番号：U.S. Provosional Paten

Application 61810, 951.

○取得状況（計0件）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

周東 智 (SHUTO, Satoshi)

北海道大学・大学院薬学研究院・教授

研究者番号：70241346

(2) 研究分担者

福田 隼 (FUKUDA, Hayato)

北海道大学・大学院薬学研究院・助教

研究者番号：30434450

(3) 連携研究者

南 雅文 (MINAMI, Masabumi)

北海道大学・大学院薬学研究院・教授

研究者番号：20243040

東田 陽博 (HIGASHIDA, Haruhiro)

金沢大学・子どものこころの発達研究セン
ター・特任教授

研究者番号：30093066

広川 貴次 (HIROKAWA, Takatugu)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・創
薬分子プロファイリング研究センター・分子
シミュレーションチーム チーム長

研究者番号：20357867