

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 9 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590136

研究課題名(和文) タンパク質間相互作用を制御する小分子化合物の設計、創製と機能解析

研究課題名(英文) Design, synthesis and functional studies of small molecules that modulate protein-protein interactions

研究代表者

杉田 和幸 (Sugita, Kazuyuki)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：60542090

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質間相互作用を安定化する天然物コチレニンAの全合成研究を実施した。光学活性ペリリルアルコールを出発原料とし、分子内アルドール反応等によりA環を立体選択的に合成した。さらに、C環の導入・変換後、閉環メタセシス反応によりB環8員環の構築に成功した。現在、2つの水酸基の立体選択的導入について検討中。また、糖部分を構成する2つのパーツの合成法をほぼ確立しつつある。これを用いてダブルアセタール化反応を検討する。その後、全合成、誘導体合成、機能解析へと展開する予定である。

研究成果の概要(英文)：Synthetic study of cotylenin A, a natural product which stabilize protein-protein interactions was carried out. A-ring part was synthesized with intramolecular aldol reaction from optically active perillyl alcohol stereoselectively. Furthermore, Construction of 8-membered ring of B-ring part was accomplished by ring closing metathesis reaction via the coupling reaction of A-ring and C-ring and the subsequent functionalizations. Now we are working on stereoselective incorporation of two hydroxyl groups. On the other hand, we are almost finished synthesis of two parts of sugar-moiety. We will assemble these two parts by double acetalization reaction. And we are planning to complete total synthesis of cotylenin A, synthesize derivatives and analyze functions of synthesized compounds.

研究分野：創薬化学研究

キーワード：天然物合成 タンパク質間相互作用 創薬化学研究 8員環形成 コチレニン

## 1. 研究開始当初の背景

(1) タンパク質には単体で機能するものも存在するが、多くのタンパク質は生体高分子や他のタンパク質と相互作用することによって、その機能を果たしている。したがって、このタンパク質間相互作用を制御することができれば、当該タンパク質の機能解明や、疾病の治療薬の開発に役立つことが予想される。タンパク質間相互作用は5-15 アミノ酸残基程度で認識されていると言われており、特異的に相互作用を阻害するためには、抗体医薬程度の大きさが必要で、小分子を用いてタンパク質間相互作用を阻害することは難しいとされてきた。

しかし近年、小分子によってもタンパク質間相互作用を有効かつ選択的に制御することが可能であることが示されはじめた。その制御様式の解析を行い、作用発現に必要な分子構造についての知見を得ることは大きな意味をもつ。

(2) カビの一種 *Cladosporium* sp. 501-7W より単離された Cotylenin A は、14-3-3 タンパク質と PMA との相互作用を安定化することが報告されている (Fig 1., Fig 2.). タンパク質間相互作用の安定化は、阻害作用と対をなす、シグナル制御のもう一つの重要な様式と捉えることができる。

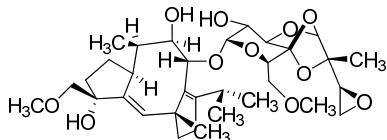


Fig 1. Structure of cotylenin A.

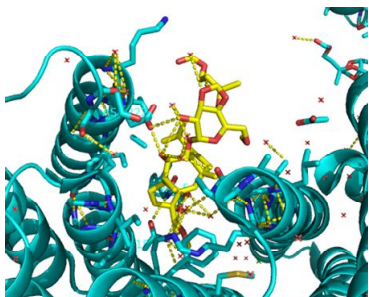


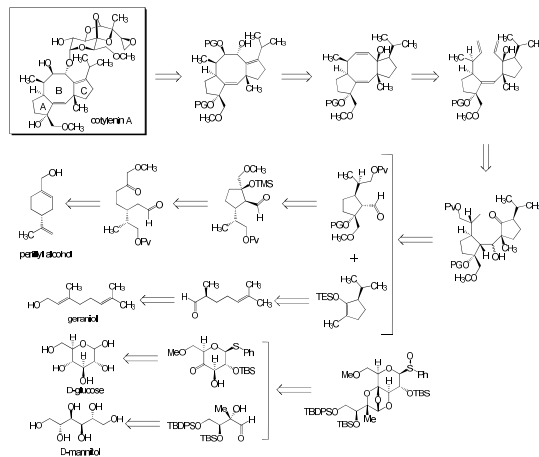
Fig 2. Binding mode of cotylenin A.

## 2. 研究の目的

本研究においては、cotylenin A の合成法の確立と誘導体合成を実施し、タンパク質間相互作用の安定化作用の解析を行うことを目的として、まず cotylenin A の合成を検討した。

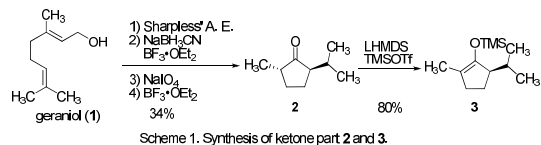
## 3. 研究の方法

以下に示す逆合成解析に基づき、合成経路を考案した。アグリコン部はペリリルアルコールより A 環部を、ゲラニオールから C 環部を合成し、カップリング、閉環メタセシスにより構築することを考案した。シュガー部は、グルコースを原料としてピラン環部を、マンニトールよりエポキシ環部を合成し、ダブルアセタール化により骨格構築することを考えた。



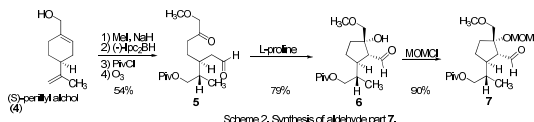
## 4. 研究成果

(1) C 環部の合成：アグリコン部は2つのシクロペンタン環を組み合わせることを計画した (Scheme 1). C 環部 2 は、ゲラニオール(1)を不斉エポキシ化、位置選択的エポキシドの還元的開環、ジオール部分の切断、立体選択的環化反応によって合成し、さらにシリルエノールエーテル 3 へと変換した。

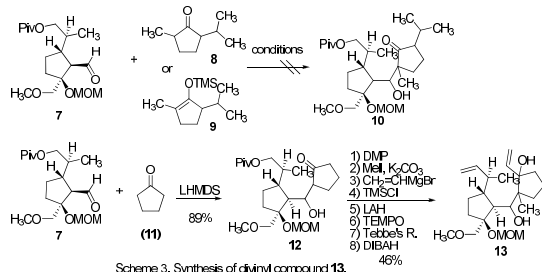


(2) A 環部の合成：まず合成法の確立を目的としアンチポードである、安価な(S)-perillyl alcohol (4)を原料として、アルデヒドパート7の合成を検討した (Scheme 2). 水酸基をメチル化後、(-)-Ipc<sub>2</sub>BH を用いて、立体選択的に水酸基を導入し、ピバロイル基で保護した後、オゾン酸化により6員環を開環してケトアルデヒド 5 へと変換した。プロリンを用いて分子内アルドール反応を行ったところ反応は立体選択的に進行し、5員環アルデヒド 6 を単一の異性体として得ることに成功した。

本反応は、オキシプロピル基側鎖の立体化学により、カルボニル基、メトキシメチル基および水酸基の立体化学が導かれているものと考えている。さらに、保護基を導入してカップリングの基質となる A 環部アルデヒド 7 を得た。

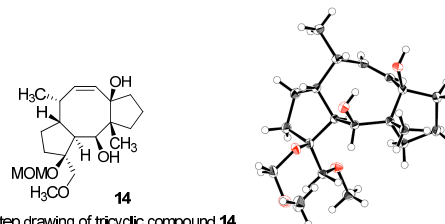
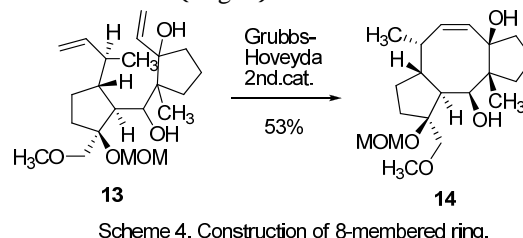


(3) カップリング反応：A 環部 7 がアンチポードであることから、立体化学のミスマッチの可能性を排除するために、ラセミ体の C 環部 8 および 9 を用いて分子間アルドール反応を実施した。種々の反応条件を検討したが、残念ながらアルドール反応成績体 10 は得られなかった (Scheme 3)。そこで、立体障害を低減した基質での合成を計画した (Scheme 3)。はじめに、無置換のシクロペンタノン(11)を用いたところアルドール反応は高収率で進行し、アルドール体 12 が高収率で得られた。水酸基を酸化後メチル基、ビニル基を導入し、TMS 化、脱ピバロイル化、アルコールの酸化、オレフィン化、ケトンの還元を実施し、ジビニル体 13 を合成した。途中のメチル化反応においては選択性が得られず、1 : 1 の混合物となった。NOE による立体化学の決定ができなかったため、立体化学と 8 員環形成反応の確認の目的で、得られたジアステレオマーのうち片方を選んで合成を実施した。誘導体の合成を考えると、できる限り必要なユニットを備えたケトンを用いて合成を行いたいことから、現在、A 環部 7 の立体障害を低減させた基質を用いて、カップリング反応の検討をしている。

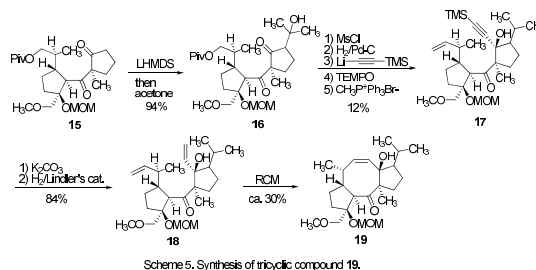


(4) 8 員環形成反応：得られたジビニル体 13 の閉環メタセシスによる 8 員環形成反応を行った。反応条件の検討の結果、第 2 世代 Grubbs-Hoveyda 触媒を用いることによって、

閉環体 14 を得ることができた (Scheme 4)。閉環体 14 の X 線結晶構造解析を実施した結果、橋頭位メチル基の立体化学が目的のものではないものの、8 員環の形成と A 環部の立体化学が目的のものであることを確認することができた (Fig 3)。

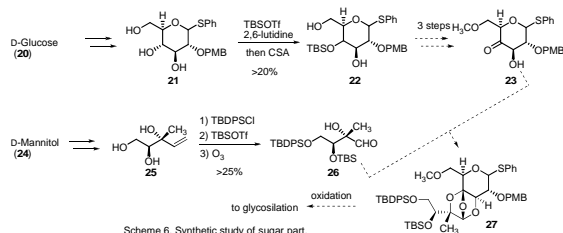


(5) アグリコン部の合成：橋頭位メチル基の立体化学が目的のものではなかったため、目的の立体化学を有する中間体であるメチル体 15 を用いて変換を実施した (Scheme 5)。ジケトン 15 に対しアセトンが付加してアルドール反応成績体 16 を得た後、メシル化、β-脱離、接触還元を経てイソプロピル体を単一化合物として得、ついで TMS アセチレンの導入および脱ピバロイル化、TEMPO 酸化、Wittig 反応を行い、ビニル体 17 を合成した。さらに脱 TMS 化、部分接触還元によりジビニル体 18 を合成し、閉環メタセシス反応を実施した結果、8 員環を形成した 3 環性化合物 19 を得ることに成功した。現在、2 つの水酸基の立体選択的導入、19 の X 線結晶構造解析、収率の向上およびより収率的な合成法の開発を行っている。



(6) シュガー部の合成：シュガー部の合成の報告はなく、また骨格合成の報告も存在しないため、新たな合成の方法論の考案が必要であったが、まず、2 種類の β-ヒドロキシカ

ルポニル化合物のカップリング反応によって、ビスケタール構造を構築することを計画した (Scheme 6)。シュガー部の主要な骨格であるテトラヒドロピラン環ユニットとして、(D)-グルコース(20)を変換して得られるヒドロキシケトン 23 を用いることを計画している。現在、トリオール 21 より得たジオール 22 の選択的メチル化を検討している。また、光学活性ヒドロキシアルデヒド 26 は、(D)-マンニトール(24)より得られるトリオール 25 に2つのシリル基を導入後、オゾン酸化を行うことにより合成を行った。また、現在シュガー部の反応収率の改善を検討している。



(7) 早急にアグリコン部、シュガー部の合成を行い、グリコシル化を経由し、全合成の完了を目指す。本研究はタンパク質間相互作用の解析を目的としており、全合成が終了した後は、確立した合成経路を用いて誘導体合成研究を実施する。そして、タンパク質間相互作用安定化の分子基盤を構築する。

## 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5件)

Design, synthesis and structure–activity relationship studies of novel sirtuin 2 (SIRT2) inhibitors with a benzamide skeleton. Taki Sakai, Yotaro Matsumoto, Minoru Ishikawa, **Kazuyuki Sugita**, Yuichi Hashimoto, Nobuhiko Wakai, Akio Kitao, Era Morishita, Chikashi Toyoshima, Tomoatsu Hayashi, Tetsu Akiyama, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23, 328-339 (2015). 査読有  
DOI : 10.1016/j.bmc.2014.11.027  
Rheinanthrone, a metabolite of sennoside A, triggers macrophage activation to decrease aquaporin-3 expression in the colon, causing the laxative effect of rhubarb extract. Kon Risako; Ikarashi

Nobutomo; Nagoya Chika; Takayama Tomoko; Kusunoki Yoshiki; Ishii Makoto; Ueda Harumi; Ochiai Wataru; Machida Yoshiaki; **Sugita Kazuyuki**; Sugiyama Kiyoshi, *Journal of ethnopharmacology*, 152(1), 190-200 (2014). 査読有

DOI : 10.1016/j.jep.2013.12.055

7-Dehydrocholesterol metabolites produced by sterol 27-hydroxylase (CYP27A1) modulate liver X receptor activity, Endo-Umeda Kaori; Yasuda Kaori; **Sugita Kazuyuki**; Honda Akira; Ohta Miho; Ishikawa Minoru; Hashimoto Yuichi; Sakaki Toshiyuki; Makishima Makoto, *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 140, 7-16 (2014). 査読有

DOI : 10.1016/j.jsbmb.2013.11.010

Structure–activity relationships of bisphenol A analogs at estrogen receptors (ERs): Discovery of an ERA-selective antagonist, Keisuke Maruyama, Masaharu Nakamura, Shusuke Tomoshige, **Kazuyuki Sugita**, Makoto Makishima, Yuichi Hashimoto, Minoru Ishikawa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 23(14), 4031-4036 (2013). 査読有

DOI : 10.1016/j.bmcl.2013.05.067

Discovery of novel tricyclic compounds as squalene synthase inhibitors, Masanori Ichikawa, Masami Ohtsuka, Hitoshi Ohki, Noriyasu Haginoya, Masao Itoh, **Kazuyuki Sugita**, Hiroyuki Usui, Makoto Suzuki, Koji Terayama, Akira Kanda, *Bioorg. Med. Chem.*, 20(9), 3072-3093 (2012). 査読有

DOI : 10.1016/j.bmc.2012.02.054

[学会発表](計2件)

山崎 翔平、山崎 勇貴、原口 桂、**杉田和幸**、Cotylenin A 糖側鎖の合成研究、日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月 26 日、神戸

高山 朋子、山崎 勇貴、山崎 翔平、**杉田和幸**、Cotylenin A の合成研究、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 28 日、熊本

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
<http://polaris.hoshi.ac.jp/kyoshitsu/seizo/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

杉田 和幸 (SUGITA, Kazuyuki)  
星薬科大学・薬学部・教授  
研究者番号：60542090

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：