生物活性リード分子の創製を指向したオリゴバレント対称性分子の探索合成

須本 國弘

Synthetic Studies on Developments for Bioactive New Leads
of Oligovalent Symmetrical Molecules

Kunihiro Sumoto

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University; 8-19-1 Nanakuma, Jonan-ku, Fukuoka 814-0180, Japan.

(Received September 19, 2019)

Interactions between carbohydrate-containing glycoproteins, proteoglycans, and glycolipids on the cell surface are important biological stages for the processes of bacterial or viral infection and tumor metastasis. Moreover, supramolecular interaction by macromolecules with two-fold (C_2) or three-fold (C_3) geometry is one of the common interactions in many important biological responses. To develop new multivalent symmetrical bioactive compounds or leads, we designed and synthesized several new molecules with these geometries and evaluated their bioactivities in an attempt to find new types of bioactive leads that may interfere with the sugar recognition process. We evaluated bioactivities including antibacterial, antiviral, and anticancer activities of targeted molecules *in vitro* using biological assay systems. Among the synthesized target derivatives examined, some bivalent symmetrical derivatives showed high levels of bioactivities. In this review, the author describes the results of synthesis of oligovalent symmetrical target compounds and some interesting guiding results of evaluation of their biological activities and structure-activity relationships.

Key words—oligovalent symmetrical molecule; hydantoin; triazane; phenylboronic acid; biological activity; sugar recognition

はじめに

細菌やウイルスによる感染あるいはがんの転移などにおいて、細胞膜上に表出する糖鎖を有する糖タンパクやプロテオグリカンあるいは糖脂質などの機能は生物学的反応段階において極めて重要な役割を演じる。さらに、これらの相互作用において生体マクロ分子の C_2 (two-fold) あるいは C_3 (three-fold) 構造での相互作用は生体における重要なプロセスでしばしば認められる相互作用の形態である。^{1–8)}

合成化学における触媒活性あるいは生物活性分子を探索する医薬品化学領域の研究においても、オリゴバレントな活性発現部分を有する対称性分子は近年多くの注目を集めている。現在では分析化学の領域などの研究へも広がりを見せる興味ある分子構造の1つである。

生物活性化合物探索研究領域では末梢や中枢神経関連薬のみならず抗菌薬や抗腫瘍活性薬物などの治療薬における幅広い分野で2価あるいは3価などのオリゴバレント関連分子の有用性が報告されている。例えば、感染症治療薬分野あるいは抗がん活性薬物などの研究^{6–9)}において多くの新しいタイプの2価 C_2 対称性化合物の報告がみられる。また2価あるいは3価などのオリゴバレント分子はシングルドラッグ型の分子に比較して分子量は大きい、受容体に対する親和性や活性の増強が期待される。オリゴバレント分子を標的とする場合中分子領域化合物となる可能性も大きく、非ペプチド系中分子型化合物としての側面からも興味がある。したがって生物活性分子の探索研究に際して近年 C_2 あるいは C_3 などの対称性を有するオリゴバレント分子の有用性が注目されるのは自然の流れであると推察される。^{6–9)}

近年、翻訳後修飾などにより生じる糖鎖の機能は、生体反応をコントロールする核酸やタンパク質に続く第三の生命鎖として生体で重要な機能を担う

福岡大学薬学部医薬品化学 (〒814-0180 福岡市城南区七隈8丁目19-1)

e-mail: kunihiro@fukuoka-u.ac.jp

本総説は、2018年度退職にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

ことが明らかにされつつある。生体においてホモオリゴマーで形成される多くのレセプター（受容体）や生体系の機能性マクロ分子の構造的形態として、 C_2 あるいは C_3 などの対称性構造は頻繁に認められている。¹⁰⁾ また、マクロ分子の対称性を含めて、これらのマクロ分子とオリゴバレント分子の相互作用の有用性（有効性）に対する理論的考察や解釈に関する情報も蓄積されつつある。^{6,10-12)}

このような背景を基にして、抗菌活性、抗ウイルス（herpes simplex virus type 1; HSV-1）活性あるいは腫瘍細胞増殖阻害活性などの生物活性を指標として新しいオリゴバレント生物活性分子の探索、ことに糖（鎖）に親和性を有する生物活性分子（リード化合物）の探索を行い、最近までに興味あるオリゴバレントな C_2 あるいは C_3 対称性分子構造を有するいくつかの新しい生物活性分子を見い出している（Fig. 1）。関連研究は糖（鎖）認識能を有する分子という表現に着目すればレクチン様の糖（鎖）親和性を示す生物活性合成物質の探索研究とも言える。また本稿で述べている対象とする分子はオリゴバレント構造分子であり、相互作用部位では多価効果¹⁾が期待できる分子でもあり興味深い。本稿では生物活性分子探索の一環として、これまで行ってきた糖認識能を有する新規対称性活性分子の探索研究の一部を簡単に紹介したい。

1. ヒダントイン類¹³⁻¹⁹⁾

抗菌活性化合物探索の一環として、Scheme 1 に示したマロン酸エステル誘導体（**1**）を原料とする経路を用いて興味ある新規アミノ酸関連分子（ β -アミノアラニン類：**2**）を合成した。これらの β -アミノアラニン類を用いて methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) など各種の耐性菌に有効なリネゾリドのバイオアイソスター的關係にあると考えられる分子への構造変換を試みた。オキサゾリジノン系化合物 **A** や 5-アミノメチル置換ヒダントイン系化合物 **B** 関連誘導体（Fig. 2）の合成を行い化合物の抗菌活性について検討した（オキサゾリジノン類 **A** 及びヒダントイン類 **B** の合成：Scheme 1 経路参照）。

シングドラッグ型及びビバレント型オキサゾリジノン系誘導体 **A** では多くの化合物に特記すべき抗菌活性はほとんど認められなかったが、バイオアイソスター的關係にある新規ヒダントイン系誘導体

Fig. 1. Structural Models of Bivalent and Trivalent Molecules

ⓕ means a pharmacophore group.

B では一群の化合物にグラム陽性（*S. aureus*）あるいはグラム陰性（*Escherichia coli*）菌に対する比較的高い抗菌活性が確認できた。¹⁷⁾ ヒダントイン系の活性基本構造 **B** に着目、さらに各種のリンカーを有するビバレント構造の Twin-drug 型対称性分子への構造変換、得られたヒダントイン誘導体類の生物活性について検討を加えた。

抗菌活性の増強を期待して合成した種々のリンカーを介するビバレント対称性ヒダントイン誘導体のいくつかを一般構造式（**B-1**～**B-3**）で示した（Fig. 3）。**B-1** 及び **B-2** 構造への変換についてはシングドラッグ型 5-アミノメチル置換ヒダントイン系化合物 **B** の脱アミノ化により容易に得られる 5-メチレンヒダントイン（**C**）へのアミン類の付加反応を利用する方法にて目的化合物を合成できた（Fig. 3）。**B-3** 系の化合物については Scheme 2 に示した方法で容易に合成できた（合成方法の詳細について文献^{13,14,16)}を参照されたい）。多くのビバレント構造ヒダントイン誘導体（**B-1** や **B-2**）が特記すべき抗菌活性を示さず分子中のリンカーの結合様式は活性発現に重要な役割を担っていることを確認できた。リンカーの構造と結合様式が極めて特徴的であるが、化合物 **B-3** においては高い抗菌活性が認められ活性発現に有効なリンカーとなることが判明した。

関連誘導体中ビバレント誘導体 **3a** は最も高い抗菌活性（*S. aureus* 及び *E. coli* に対する MIC は、それぞれ 0.024 及び 0.095 mM）を示した。ヒダントイン誘導体 **3a**¹⁷⁾ の糖認識能についていくつかの糖類関連物質を用いて検討した結果、化合物 **3a** は細胞接着やがんの転移に重要な役割を果たすと考えられているヘパラン硫酸やデルマタンなどの硫酸化多糖類（sulfated glycosaminoglycans）^{15,16)} に対する特異的親和性を確認できた。ビバレント化合物 **3a**

Scheme 1. Synthesis of β -Aminoalanines and Their Transformation to Single-drug Type Hydantoin Derivatives

Fig. 2. General Structures of 4-Aminomethyloxazolizin-2-ones (A), 5-Aminomethylhydantoins (B) and 5-Methylenehydantoins (C)

Fig. 3. General Structures of a Few Targeted Bivalent Symmetrical Hydantoin Derivatives (B-1, B-2 and B-3)

の硫酸化多糖類を用いた等温滴定型熱量測定 (isothermal titration calorimetry; ITC) については、後述する糖認識の項 (Fig. 8) を参照されたい。

その後、化合物 **3a** を始めとするいくつかの **B-3** タイプ結合様式の構造を有する対称性 Twin-drug 型 (bivalent) ヒダントイン関連誘導体 (Fig. 4) を用いて、2 種類のヒト由来腫瘍細胞 (U251 や KB3-1 細胞) を用いた。MTT アッセイ法による腫瘍細胞増殖抑制効果について活性評価を試みた。活性評価の結果、いくつかのビバレントヒダントイン誘導体について cisplatin の活性に匹敵する興味ある細胞増殖抑制効果 (抗がん活性) を見い出すことができた (Table 1).¹⁹⁾

上記で述べたビバレントヒダントイン系化合物を構成する分子中の 2 つの 5-置換ヒダントイン環は 5

位に不斉中心を有する構造であることからこれらの対称性 Twin-drug 型ヒダントイン関連誘導体には理論的には 3 種の立体異性体 [すなわち、不斉中心が同じ絶対配置 (*R,R* 及び *S,S*) を有する 2 種類 C_2 -対称性化合物と不斉中心の絶対配置の異なる C_s -対称性の *meso*-体] が存在する。3 種の異性体の存在は HPLC で確認⁷⁾ できたが異性体の単離とそ

Scheme 2. Transformation to Bivalent Symmetrical Hydantoin Derivatives

Fig. 4. Structures of Twin-drug Type Symmetrical 5-Substituted Hydantoin Derivatives

Table 1. Anticancer Activities (IC_{50}) of Target Bivalent Hydantoin Derivatives (**3** and **4**) against Human Brain Glioma Cells (U251 cells) and Human Carcinoma Cells (KB3-1 cells)

Compound	IC_{50} (μM) ^a	
	U251	KB3-1
3a	1.63	9.85
3b	0.46	5.21
4a	4.49	26.08
4b	1.99	10.41
4c	1.05	9.42
4d	7.00	7.12
Cisplatin	3.06	6.90

^a IC_{50} : concentration that produces 50% inhibition of proliferation after 5 d of incubation. Reproduced with permission from *Biol. Pharm. Bull.* Vol. 42 No. 11 Pages 1953–1956. Copyright 2019 The Pharmaceutical Society of Japan.

の生物活性評価については現在検討中である。

2. トリアジン類^{20–30)}

現在までにトリポード型分子の分子認識に関与している種の陰イオンや陽イオンあるいは生体分子などのいくつかの分子認識能が報告⁷⁾されている。生体における糖（鎖）関連分子の機能に干渉する（糖認識能を有する）生物活性化合物の探索研究の一環

Scheme 3. Synthetic Pathway of Target 2,4,6-Trisubstituted Symmetrical TAZ Derivatives

として、トリポード受容体型分子の糖認識能を期待して1,3,5-トリアジン（1,3,5-triazine; TAZ）のTAZ環の特異な対称構造に着目した。TAZ環を基盤とする各種の2,4,6-3置換対称性TAZ類の合成を行い、得られた化合物は抗ウイルス活性などを指標として化合物の探索を展開した。

本研究では、研究の性質上、任意の置換基（特にアルコキシルやアミノ基など）を効率よく合成する方法を確立することも重要な研究課題の一部であった。研究室で安価に入手可能な2,4,6-トリクロロTAZ（TCTAZ: **5**）を出発原料として、目的とする3置換TAZ誘導体合成に必要な中間体（例えば、Scheme 3に示した化合物**8**あるいは**10**などのようなモノあるいはジクロロTAZ誘導体中間体）の効率的な生成・単離を行い、最終工程におけるマイクロウエーブの併用により、 C_3 タイプのみならず C_s タイプなどの標的2,4,6-3置換TAZ誘導体分子の合成を収率よく達成する合成方法を確立できた（経路概略をScheme 3に示した。合成方法の詳細については文献^{18–25)}参照）。

Scheme 3に示した経路を利用して多数の C_3 タイプあるいは C_s タイプの3置換TAZ誘導体を合成、抗HSV-1活性について評価を加えた。その結果、Fig. 5に示した C_3 -対称性を有する2種の興味ある高活性化合物（**D**及び**E**）を見出した。合成した対称性3置換TAZ誘導体の各々の活性評価

Fig. 5. Antiviral Active Tripodal Receptor Type TAZ Derivatives (**D** and **E**)

結果についてはこれまでの報告²⁰⁻²⁹⁾を参照して頂きたい。Figure 5 に示した C_3 タイプ TAZ 誘導体 (**D** 及び **E**)^{23,25)} は極めて簡単な構造の TAZ 誘導体であるが、高い抗ウイルス活性を示し (anti-HSV-1 活性がそれぞれ $EC_{50} = 1.87$ 及び $0.98 \mu M$)、また Vero 細胞に対する細胞毒性 (それぞれ $IC_{50} = 479.8$ 及び $292.2 \mu M$) は低く選択係数 ($SI = EC_{50}/IC_{50}$) の面 (**D** 及び **E** の SI はそれぞれ約 256 及び 298) から良好な結果が得られたことから、抗ウイルス活性化化合物探索におけるリード化合物として期待できる分子であると推察できた。

化合物 **D** と **E** の構造的特徴として、置換基の疎水性や立体的嵩高さの差異も考慮する必要があるが、TAZ 環 2,4,6 位に直結する 3 つヘテロ原子が化合物 **D** の場合エーテル結合酸素原子-O- (水素結合受容体: H-bond acceptor) であり、**E** の場合窒素原子-NH- (水素結合供与体: H-bond donor) となっている点は大きな特徴であると言える。これらにつ

いてより詳細な知見を得るため、合成した TAZ 誘導体 **D** 及び **E** の糖誘導体に対する糖認識能について ITC による検討を加えた。その結果、化合物 **D** 及び **E** いずれも糖認識能を有するユニークな C_3 対称性 TAZ 誘導体であることを確認した。また、2 つの化合物の ITC 実験結果は糖に対する親和性に関する熱力学的パラメーターが極めて異なる分子であり選択性を有することも明らかにすることができた。すなわちこの 2 つの小分子 (**D** 及び **E**) では糖認識相互作用 (複合体形成) における水素結合や疎水性相互作用の重要な役割が大きく異なっていることが示唆された (糖認識能の項 4-2. 参照)。²⁶⁾

これらの 2 種の活性分子をリードとして、さらに別種の対称構造分子「ジアミノアルカン類 (**14**) や tris-アミノエチルアミン (TAEA) など」²⁴⁾ を新たな対称性基盤リンカーとして分子中に組み込み C_2 あるいは C_3 タイプのオリゴバレントハイブリッド型誘導体の合成を試みた (合成例については、Scheme 4 や Scheme 5 参照)。^{29,30)} 合成標的とする分子の多くは、Lipinski による経験則「Rule of five」における分子量 (MW) が 500 を大きく超えいわゆる中分子の範疇に属する興味あるオリゴバレント分子と言える。近年、中分子に属するペプチド類や天然由来薬物の開発が注目されているが、今回標的とした誘導体の中分子としての特徴は非ペプチド型の対称性中分子^{31,32)} であり、対称性を有する中分子のため、NMR スペクトルなどの解析が通常の非対称中分子と比べて極めて容易になるのも関連分子の特徴であると考えている。研究に係わった学部学生の知識でも NMR スペクトル帰属や構造確認の理解な

Scheme 4. Synthesis of C_3 - and C_2 -Symmetrical Multivalent Hybrid-type TAZ Derivatives (**13** and **15**) Starting with Compound **12** and TAEA or Diaminoalkanes (**14**)

Scheme 5. Synthesis of Target Multivalent TAZ Derivatives

(i) Stepwise synthesis of C₃-symmetrical multivalent hybrid-type TAZ derivatives (**18** and **20**) starting from a monoisopropoxy-substituted TAZ derivative (**16**). (ii) Synthesis of a C₃-symmetrical hybrid-type TAZ derivative **22** from a dimethoxy-substituted TAZ derivative **21** and TAEA. (iii) Two-step synthesis of a C₃-symmetrical hybrid-type TAZ derivative **25** from TCTAZ (**5**).

ど比較的容易であった。

Scheme 4 や Scheme 5 に従って合成したアルコキシ基やアミノ基で置換された TAZ 環を有するハイブリッド型 TAZ 誘導体 (例えば, 化合物 **18**, **20**, **22**, **23**, **25** など) の抗 HSV-1 活性評価の結果, マルチバレント C₃ タイプハイブリッド型 TAZ の多くには抗 HSV-1 活性はほとんど認められなかった。しかしながら, 鎖状メチレンをリンカーとした C₂ 対称性ハイブリッド型 TAZ 誘導体 **15a-3** (Fig. 6) は細胞毒性が少ない (IC₅₀ > 200 μM) にもかかわらず比較的高い抗 HSV-1 活性 (EC₅₀ = 19.1 μM) を発現し, 本系統のハイブリッド型中分子 TAZ 誘導体のシードとして期待が持てる化合物であった。²⁹⁾

本系列のハイブリッド型 C₂ 対称性 TAZ 誘導体はリンカー部分の更なる変換が必要であると判断, その後リンカーを改変したいくつかの関連誘導体の合成を試みより高い抗 HSV-1 活性 (EC₅₀ = 7.6 μM, IC₅₀ > 200 μM) 化合物 **15a-4** を見出すに至っている (Fig. 6).³⁰⁾ 非ペプチド型抗ウイルス活性中分子としての構造変換やオリゴバレント型中分子

としての糖認識能の評価確認については今後の課題であると考えている。

3. ボロン酸類³³⁻⁴³⁾

種々の天然由来の C₂ 対称性生物活性分子の各種感染症治療薬や抗がん活性分子創製を期待して, 近年多くの研究が報告されている。³³⁾

ボロン酸誘導体の一般的な化学的性質としては糖あるいは糖鎖に含有される 1,2-ジオール構造と特異的に反応して環状のボロン酸エステル類を形成することはよく知られている (**F** ⇌ **G**; Scheme 6)。また生成する環状ボロン酸エステル類は対応するボロン酸と含水系で化学的平行状態にあることもよく知られている。

近年, ボロン酸誘導体類は有機合成における触媒などとしての利用のみならず, 糖類分析化学における生体中の糖類の検出 (血糖値測定などの糖センサー) への利用などの研究例³⁴⁾ もみられる。このような糖類に対する高い親和性の分析化学への応用あるいは生物活性化合物の探索研究は近年に至って始まった新しい領域と言える。³⁵⁾ ホウ素原子を含有するボロン酸誘導体類はいわゆるボロノレクチン

Compound	n	Structure	EC ₅₀ (μM) ^a	IC ₅₀ (μM) ^a
15a-2	2		95.6	>200
15a-3	3		19.1	>200
15a-4	4		7.6	>200
15a-5	5		>100	>200
15b-2	2		36.8	>200
15b-3	3		54.4	>200
15b-4	4		38.5	>200
aciclovir			1.1	> 444

^a Data were taken from references 29 and 30.

Fig. 6. Anti-HSV-1 Active Hybrid-type Oligovalent C₂-Symmetrical TAZ derivatives (15)

Scheme 6. Reactions of Boronic Acid Derivatives with 1,2-Diol Functionalities

(boronolactins)と呼ばれる範疇に属する化合物で、糖鎖に干渉する機能が期待できる極めて興味ある分子種であり、新しい作用機序を有する新規生物活性リード化合物の創製も期待される。

o-, *m*-, *p*-アミノ置換フェニルボロン酸誘導体 (例えば、化合物 **26**: Table 2) を出発原料として、種々のタイプの鎖状リンカーを有するビバレントな C₂ 対称性あるいはトリバレント C₃ 対称性ボロン酸誘導体 (3-置換ベンゼンやシクロヘキサン誘導体を標的分子のテンプレートとして利用) の合成を試み、得られた化合物の新規な生物活性発現分子種としての可能性を検討すべく研究に着手した。

合成した C₂ 対称性フェニルボロン酸エステル誘

導体のいくつかを Table 2 に示した。Table 2 に記載したビバレント C₂ 対称性ボロン酸誘導体の多くは抗菌活性や抗ウイルス活性あるいは Vero 細胞に対する細胞毒性など幅広く生物活性を発現する分子種であることを確認した。また、本系列化合物の抗菌、抗ウイルスを含めた生物活性においてリンカー部のメチレン鎖の長さが活性の発現に重要な因子であることを確認できた。Table 2 に記載した以外にも多くの C₂ あるいは C₃ 対称性ボロン酸関連誘導体合成を試み生物活性評価を行った。関連誘導体の合成及び得られた化合物の抗菌活性や抗ウイルス活性などについては文献として記載した報告³⁶⁻⁴³⁾を参照して頂きたい。

抗がん活性発現にオリゴバレント構造 (例えば C₃ 対称性など) の有効性が報告²¹⁾されていることから、数種の C₂ あるいは C₃ 対称性ボロン酸誘導体の抗腫瘍活性について、ヒト由来腫瘍細胞 (U251 及び KB3-1) に対する細胞増殖阻害効果について MTT アッセイ法を用いて活性評価⁴³⁾を試みた。検討したオリゴバレントフェニルボロン酸誘導体の構造式及び評価結果を Fig. 7 と Table 3 に示した。

Table 2. C_2 -Symmetrical Bivalent Phenylboronic Acid Pinacol Esters and Their Biological Activities

<i>n</i>	Yield (%)	MIC [μM ($\mu\text{g/mL}$)]		EC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	Anti-HSV-1 activity	Cytotoxic activity	
28a	4	82	$\geq 233.4 (\geq 128)$	$\geq 233.4 (\geq 128)$	> 100	> 200
28b	5	62	227.6 (128)	227.6 (128)	62.7	> 200
28c	6	98	111.1 (64)	$\geq 222.1 (\geq 128)$	38.6	> 200
28d	7	67	27.1 (16)	216.8 (128)	8.0	25.2
28e	8	85	$\geq 211.8 (\geq 128)$	$\geq 211.8 (\geq 128)$	41.1	> 200

Cited and modified from Furutachi M., *et al.*, *Heterocycles*, **94** (9), 1748–1758 (2017). Fig. 7. Molecular Structures of Targeted C_2 - and C_3 -Symmetrical Oligovalent Phenylboronic Acid Derivatives

Table 3 中のビバレント C_2 対称性フェニルボロン酸誘導体では遊離ボロン酸 **31d** が最も高い増殖阻害活性を示した。特に KB3-1 株に対する活性は対照薬とした cisplatin より高い増殖抑制活性が認められたことは特記すべき結果であると考えている。評価結果から本系列化合物の活性発現に際してリンカー部分構造の重要性が示唆されたことから、リンカー鎖部分構造の調節によりさらに高活性の腫瘍細胞増殖抑制化合物への展開が期待できる。化合物 **31d** は抗ウイルス (anti-HSV-1) ($\text{EC}_{50} > 100 \mu\text{M}$) 活性や細胞毒性 (Vero 細胞) ($\text{IC}_{50} > 200 \mu\text{M}$) も

少なく U251 や KB3-1 細胞に対する選択性も高いことから、ビバレントフェニルボロン酸誘導体のリード化合物として期待できる分子種と考えている。⁴³⁾ これに対して、現在 1 例のみ (Table 3) であるが、 C_3 タイプのトリバレントフェニルボロン酸ピナコールエステル誘導体 **32** は KB3-1 にのみ活性が高く ($\text{IC}_{50} = 26.3 \mu\text{M}$)、今後 KB3-1 細胞に対する選択的増殖抑制活性を有する分子への構造変換展開が期待できると考えている。糖 (グルコース) センサーへの応用研究³⁴⁾においてもビバレント分子の糖選択性や感度の向上が報告されていることから

Table 3. Anticancer Activities (IC_{50}) of Target Molecules against Human Brain Glioma Cells (U251 cells) and Human Carcinoma Cells (KB3-1 cells), Cytotoxicities (IC_{50}) against Vero Cells and Anti-HSV-1 Activities (EC_{50})

Compound	IC_{50} (μM) ^a			EC_{50} (μM)
	Vero cells	U251	KB3-1	Anti-HSV-1
28d	25.2	>100	>100	8.0
29	28.8	44.4	>100	>100
30	14.8	>100	>100	4.0
31a	76.2	>100	>100	>100
31b	>200	>100	33.9	>100
31c	5.43	39.6	32.5	>100
31d	>200	19.0	3.78	>100
32	>200	>100	26.3	65.2
Cisplatin	—	3.06	6.90	—

^a IC_{50} : concentration that produces 50% inhibition of proliferation after 5 d of incubation. Reproduced with permission from *Biol. Pharm. Bull.* Vol. 42 No. 5 Pages 833–836. Copyright 2019 The Pharmaceutical Society of Japan.

更なる研究の発展を期待している。

4. 活性化合物の糖認識能

4-1. ヒダントイン類 関連誘導体中高い抗菌活性を示したヒダントイン誘導体 **3a** の糖認識能についての熱力学的知見を得ることを目的として、いくつかの糖関連化合物を用いて ITC 実験を用いて検討を加えた。^{15,16)} その結果、ビバレントヒダントイン誘導体 **3a** は細胞の接着やがんの転移に重要な役割を果たすと考えられているヘパラン硫酸やデルマトランなどの硫酸化多糖類 (sulfated glycosaminoglycans)⁴⁴⁾ に対して親和性 (複合体形成能) を有することを確認でき、このような硫酸化多糖類との相互作用が抗菌活性や抗腫瘍活性 (細胞増殖阻害活性) の機序の一部として関与していることが示唆された (Fig. 8)。(熱力学的パラメータについては Fig. 8 脚注参照。使用した硫酸化多糖類の種類により親和性に差が認められた)。

4-2. TAZ 誘導体 合成したトリアジン誘導体 **D** 及び **E** の糖認識能についても ITC 実験²⁶⁾ を行い、いずれも糖認識能 (複合体形成能) を有する小分子であることを確認した。2つの化合物の ITC 実験結果は検討した糖誘導体に対する親和性に関する熱力学的パラメーターが極めて異なる分子であることも明らかにすることができた (Fig. 9)。

ITC の結果から、イソプロポキシ基を有する **C₃** タイプ化合物 **D** の糖類との相互作用はエントロピー項 ($-T\Delta S$) の寄与が大きく疎水性相互作用

(a)

(b)

Fig. 8. (a) Isothermal Titration of a Twin-drug Type Compound **3a** with Heparin Sulfate (Hep), and (b) Calculated Fitting Curves for Bivalent Hydantoin Derivative **3a** Binding to Heparan Sulfates [Hepgm and Hep] and Dermatan Sulfate [Der]

We used dermatan sulfate (GAG-DS01), heparan sulfate (GAG-HS01) and scallop heparan sulfate (GM01/01) as sulfated glycosaminoglycans. In isothermal titration experiments, the binding reaction with GM01/01 [Hepgm] was exothermic and compound **3a** showed thermodynamic parameters of $K = 4.10 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ and $\Delta H = -9.98 \text{ kJ/mol}$. Thermodynamic parameters for dermatan sulfate (GAG-DS01) [Der: $K = 1.11 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ and $\Delta H = -10.9 \text{ kJ/mol}$] and heparan sulfate (GAG-HS01) [Hep: $K = 2.75 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ and $\Delta H = -9.46 \text{ kJ/mol}$] were obtained.

の寄与が大きいことが示唆されたが、ベンジルアミン基を有する化合物 **E** ではエンタルピー (ΔH) は大きな負の値をとり、エントロピー項 ($-T\Delta S$) の変化は少なく水素結合による相互作用の寄与の大きいことが示唆された。これらの熱測定結果は、報告されている熱力学的背景^{45,46)} を考慮すると、アミノ基で置換された化合物 **E** が抗ウイルス活性化合物探索のリード化合物として期待できることを示唆していると考えている。本化合物の構造変換により新たに見出した高い抗 HSV-1 活性を有するオリゴバレント構造のハイブリッド型 TAZ 誘導体 (例

Fig. 9. Thermodynamic Signatures for the Binding Reactions of Compounds **D** and **E** to Sugars

Each of the binding reactions had a 1 : 1 stoichiometry. MeO- α / β -Gal and MeO- α / β -Man are abbreviations for methyl α / β -D-galactopyranoside and methyl α / β -D-mannopyranoside, respectively. Cited and modified with permission from Mibu N. *et al.*, *J. Therm. Anal. Calorim.*, **135**, 2807–2811 (2019).

例えば **15a-4** など) 関連誘導体の糖認識能についてはこれからの課題と考えている。

4-3. ボロン酸誘導体 糖あるいは第三の生命鎖としての糖鎖構造中に含有される 1,2-ジオール構造と特異的に反応して環状のボロン酸エステル類を形成するボロン酸誘導体の生物活性化合物への応用は近年に始まった比較的新しい領域である。このような糖類 (糖鎖) 親和性を有するボロン酸関連誘導体はいわゆるボロノレクチンと呼ばれる範疇に属する化合物として考えることができ、関連誘導体は糖鎖に干渉する機能が期待できる興味ある分子構造の化合物であり、新しい機序を有する新規な生物活性リード化合物としての応用も期待できる。合成した細胞毒性や腫瘍細胞増殖阻害活性を有する前述した化合物 (ビバレント C_2 対称性遊離ボロン酸 **28d**) は多くの溶媒に対する溶解性が低く、現在まだ ITC 実験結果は得ていないが、NMR の手法により本化合物がある種の糖類に対して親和性を有することについては確認³⁶⁾している。活性分子 (**28d**) の糖 (methyl α -D-glucopyranoside) との反応は 1 : 2 の化学量論比の相互作用として解析できたが、糖認識の詳細については更なる活性分子探索の展開を含めて今後の課題と言える。

5. まとめ

近年、ペプチド関連誘導体のみならず天然物由来

の中分子クラスの範疇 (MW: 500–50000) に属する化合物「middle-size molecules (mid-size molecules)」の生物活性が注目されている。本稿で示したヒダントイン系、トリアジン系あるいはフェニルボロン酸系列の多くのオリゴバレント対称性分子は MW1000 を超えるものも多く新規非ペプチド型の中分子^{31,32)}として把握できるものである。対称性分子という構造特性から、合成標的とする化合物は中分子クラスの化合物であるにもかかわらずスペクトル解析も極めて容易になり学部学生レベルでの解析も容易となることが多かった。糖類 (糖鎖) に干渉する生物活性分子の探索という側面からの合成研究を通して、抗菌あるいは抗ウイルス活性さらには抗腫瘍活性などを示す新しい生物活性中分子を見出すことができた。また活性分子のいくつかについては糖認識能を有する化合物であることを確認でき、糖 (鎖) 関連分野の研究者に幾許かの興味ある情報を提示できたのではないかと勝手に考えている。抗悪性腫瘍活性においては腫瘍細胞に対する選択性なども認められ、今後関連誘導体の更なる展開が期待される。

本稿で紹介した以外にも triarylmethane 類や tris-(aminoalkyl) amine 類を基盤とした化合物も合成標的としたが、これらの結果は今回紹介した文献^{20,21,24)}に引用されているので興味ある方は文献を

参照して頂きたい。

謝辞 在職中、研究を推進するあたり多くの方々のご協力とご指導を受けました。心より感謝申し上げます。とくに今回紹介しました標的化合物の探索合成については藤崎文子博士がヒダントイン類、壬生伸子博士がトリアジン類、古舘信博士がボロン酸類の研究を中心になって、研究室学生の卒業研究などに取り入れ学生の指導を担当して頂きました。また、共同研究としての生物活性評価については、本学微生物薬品化学研究室 見明史雄名誉教授並びに鹿志毛信広教授に抗菌活性評価、崇城大学薬学部横溝和美教授及び周 建融博士、上田 勝 熊本大学名誉教授、故 宮田 健 熊本大学名誉教授には抗ウイルス活性評価や細胞毒性、宮崎大学医学部附属病院 池田龍二教授及び鹿児島大学病院 武田泰生教授には抗腫瘍活性評価を頂きました。研究進展とともに活性評価のみならず多大なご指導とご助言を賜りました。心より感謝いたします。糖親和性に関する熱測定実験 (ITC) については、本学薬品物理化学研究室 安藝初美名誉教授及び池田浩人准教授のご協力とご指導ご助言を頂きました。ここに深謝いたします。先生方には研究過程では適切な助言を賜り、また研究成果のとりまとめにあたって多くのご教示を賜りました。あらためまして深く謝意を表します。本学薬学部医薬品化学研究室の同窓生、大学院生として所属された方々など研究室メンバーとは闊達な議論により学問的探究心と好奇心を刺激され、精神的な支えにもなって頂きました。本当にありがとうございました。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) “Essentials of Glycobiology,” 3rd ed., ed. by Varki A., Cummings R. D., Esko J. D., Stanley P., Hart G. W., Aebi M., Darvill A. G., Kinoshita T., Packer N. H., Prestegard J. H., Schnaar P. L., Seeberger P. H., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 2017.
- 2) Reitsma, S., Slaaf D. W., Vink H., van Zandvoort M. A. M. J., oude Egbrink M. G. A., *Pflugers Arch.*, **454**, 345–359 (2007).
- 3) Sansone F., Casnati A., *Chem. Soc. Rev.*, **42**, 4623–4639 (2013).
- 4) Duran A. M., Meiler J., *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, **8**, e201308004 (2013).
- 5) Wermuth C. G. “The Practice of Medicinal Chemistry,” 3rd ed., Academic Press, San Diego, 2008.
- 6) Bérubé G., *Curr. Med. Chem.*, **13**, 131–154 (2006).
- 7) Oshovsky G. V., Reinhoudt D. N., Verboom W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 2366–2393 (2007).
- 8) Gibson S. E., Castaldi M. P., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 4718–4720 (2006).
- 9) Micewicz E. D., Luong H. T., Jung C.-L., Waring A. J., McBride W. H., Ruchala P. N., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **24**, 1452–1457 (2014).
- 10) Wittmann V., *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **17**, 982–989 (2013).
- 11) Sciore A., Su M., Koldewey P., Eschweiler J. D., Diffley K. A., Linhares B. M., Ruotolo B. T., Bardwell J. C. A., Skiniotis G., Marsh E. N. G., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 8681–8686 (2016).
- 12) Cecioni S., Imberty A., Vidal S., *Chem. Rev.*, **115**, 525–561 (2015).
- 13) Furutachi M., Fujisaki F., Tsuru R., Ejima A., Gondo T., Goto S., Ito M., Nakamura M., Aki H., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Heterocycles*, **92**, 1111–1120 (2016).
- 14) Fujisaki F., Furutachi M., Fujiwara R., Okabe M., Aki H., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Heterocycles*, **91**, 1668–1677 (2015).
- 15) Fujisaki F., Fujiwara R., Okabe M., Naito A., Fukami E., Aki H., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Heterocycles*, **89**, 2745–2759 (2014).
- 16) Fujisaki F., Aki H., Naito A., Fukami E., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Chem. Pharm. Bull.*, **62**, 429–438 (2014).
- 17) Fujisaki F., Toyofuku K., Egami M., Ishida S., Nakamoto N., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Chem. Pharm. Bull.*, **61**, 1090–1093 (2013).
- 18) Fujisaki F., Hiromatsu S., Matsumura Y., Fukami A., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *J. Heterocycl. Chem.*, **50**, 417–424 (2013).

- 19) Furutachi M., Ota K., Fujisaki F., Ikeda R., Yoshikawa N., Yokota T., Takeda Y., Yokomizo K., Zhou J.-R., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Biol. Pharm. Bull.*, **42**, 1953–1956 (2019).
- 20) Mibu N., Yokomizo K., Uchida W., Takemura S., Zhou J., Aki H., Miyata T., Sumoto K., *Chem. Pharm. Bull.*, **60**, 408–414 (2012).
- 21) Mibu N., Aki H., Ikeda H., Saito A., Uchida W., Yokomizo K., Zhou J., Miyata T., Sumoto K., *J. Therm. Anal. Calorim.*, **113**, 1015–1018 (2013).
- 22) Mibu N., Yokomizo K., Koga A., Honda M., Mizokami K., Fujii H., Ota N., Yuzuriha A., Ishimaru K., Zhou J., Miyata T., Sumoto K., *Chem. Pharm. Bull.*, **62**, 1032–1040 (2014).
- 23) Mibu N., Yokomizo K., Aki H., Ota N., Fujii H., Yuzuriha A., Saneyoshi S., Tanaka A., Koga A., Zhou J., Miyata T., Sumoto K., *Chem. Pharm. Bull.*, **63**, 935–944 (2015).
- 24) Mibu N., Yokomizo K., Murakami K., Ono Y., Ishimaru M., Otsubo M., Inao H., Ono Y., Zhou J.-R., Sumoto K., *Chem. Pharm. Bull.*, **64**, 1769–1780 (2016).
- 25) Mibu N., Yokomizo K., Sano M., Kawaguchi Y., Morimoto K., Shimomura S., Sato R., Hiraga N., Matsunaga A., Zhou J.-R., Ohata T., Aki H., Sumoto K., *Chem. Pharm. Bull.*, **66**, 830–838 (2018).
- 26) Mibu N., Ohata T., Sano M., Zhou J.-R., Yokomizo K., Aki H., Sumoto K., *J. Therm. Anal. Calorim.*, **135**, 2807–2811 (2019).
- 27) Mibu N., Yokomizo K., Yuzuriha A., Otsubo M., Kawaguchi Y., Sano M., Sakai I., Nakayama K., Zhou J.-R., Sumoto K., *Heterocycles*, **94**, 1653–1677 (2017).
- 28) Schinazi R. F., Peters J., Williams C. C., Chance D., Nahmias A. J., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **22**, 499–507 (1982).
- 29) Mibu N., Yokomizo K., Yamada K., Matsuyama J., Tomonaga S., Sakai I., Sato R., Kawano Y., Matsumoto Y., Fujita Y., Inoue Y., Iida M., Hashiguchi K., Zhou J.-R., Furutachi M., Sumoto K., *Heterocycles*, **98**, 489–508 (2019).
- 30) Mibu N., Furutachi M., Inoue Y., Fujita Y., Matsumoto Y., Kawano Y., Tomonaga S., Matsuyama J., Yamada K., Sato R., Yokomizo K., Zhou J.-R., Shimomura S., Ota K., Sumoto K., *Heterocycles*, **98**, 1580–1588 (2019).
- 31) Belema M., Nguyen V. N., Bachand C., Deon D. H., Goodrich J. T., James C. A., Lavoie R., Lopez O. D., Martel A., Romine J. L., Ruediger E. H., Snyder L. B., St. Laurent D. R., Yang F., Zhu J., Wong H. S., Langley D. R., Adams S. P., Cantor G. H., Chimalakonda A., Fura A., Johnson B. M., Knipe J. O., Parker D. D., Santone K. S., Fridell R. A., Lemm J. A., O’Boyle D. R. II, Colonno R. J., Gao M., Meanwell N. A., Hamann L. G., *J. Med. Chem.*, **57**, 2013–2032 (2014).
- 32) DeGoey D. A., Randolph J. T., Liu D., Pratt J., Hutchins C., Donner P., Krueger A. C., Matulenko M., Patel S., Motter C. E., Nelson L., Keddy R., Tufano M., Caspi D. D., Krishnan P., Mistry N., Koev G., Reisch T. J., Mondal R., Pilot-Matias T., Gao Y., Beno D. W. A., Maring C. J., Molla A., Dumas E., Campbell A., Williams L., Collins C., Wagner R., Kati W. M., *J. Med. Chem.*, **57**, 2047–2057 (2014).
- 33) Bull S. D., Davidson M. G., van den Elsen J. M. H., Fossey J. S., Jenkins A. T. A., Jiang Y.-B., Kubo Y., Marken F., Sakurai K., Zhao J., James T. D., *Acc. Chem. Res.*, **46**, 312–326 (2013).
- 34) Resendez A., Halim M. A., Landhage C. M., Hellström P. M., Singaram B., Webb D.-L., *Clin. Chim. Acta*, **439**, 115–121 (2015).
- 35) “Boronic Acids,” 2nd ed., Vol. 1, ed. by Hall D. G., Wiley-VCH, Weinheim, 2011.
- 36) Furutachi M., Matsumoto A., Tamenaga T., Sugita A., Kuroiwa M., Yokomizo K., Zhou J.-R., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Heterocycles*, **96**, 1088–1100 (2018).
- 37) Furutachi M., Ejima A., Tsuru R., Goto S., Gondo T., Ako K., Fuchigami S., Fujii S., Okumura A., Tozuka A., Yokomizo K., Zhou J.-R., Inao H., Ono Y., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Heterocycles*, **95**, 517–524 (2017).
- 38) Furutachi M., Ejima A., Tsuru R., Goto S., Gondo T., Ako K., Fujii S., Okumura A., Tozuka A., Yokomizo K., Zhou J.-R., Inao H., Ono Y., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Heterocycles*, **92**, 925–935 (2016).
- 39) Furutachi M., Fujisaki F., Tsuru R., Ejima

- A., Gondo T., Goto S., Ito M., Nakamura M., Aki H., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Heterocycles*, **92**, 1111–1120 (2016).
- 40) Furutachi M., Fuchigami S., Gondo T., Goto S., Ako K., Sumoto K., *Org. Prep. Proced. Int.*, **49**, 287–292 (2017).
- 41) Furutachi M., Fuchigami S., Ako K., Goto S., Gondo T., Takuse M., Yoshida M., Yokomizo K., Zhou J.-R., Matsunaga A., Hiraga N., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Heterocycles*, **96**, 144–151 (2018).
- 42) Furutachi M., Gondo T., Goto S., Fuchigami S., Ako K., Oowada Y., Yokomizo K., Zhou J.-R., Ishizaki T., Koga T., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Heterocycles*, **94**, 1748–1758 (2017).
- 43) Furutachi M., Gondo T., Ikeda R., Yoshikawa N., Yokota T., Takeda Y., Yokomizo K., Zhou J.-R., Kashige N., Miake F., Sumoto K., *Biol. Pharm. Bull.*, **42**, 833–836 (2019).
- 44) For example, see the following reference: Vitale D., Katakam S. K., Greve B., Jang B., Oh E.-S., Alaniz L., Götte M., *FEBS J.*, **286**, 2870–2882 (2019).
- 45) Kawasaki Y., Freire E., *Drug Discov. Today*, **16**, 985–990 (2011).
- 46) Tarcsay Á., Keserű G. M., *Drug Discov. Today*, **20**, 86–94 (2015).