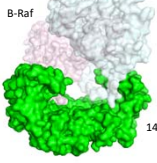


逆電子要請型Diels-Alder反応を用いた 中分子阻害剤の開発

(信州大農) ○伊賀上 祥汰・大神田 淳子

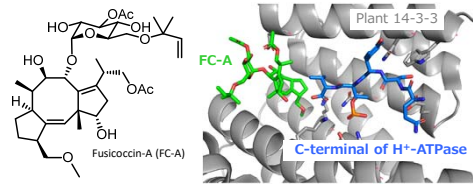


1. 背景



14-3-3タンパク質は真核生物で広く発現しているタンパク質であり、リン酸化信号伝達系を調節する因子として機能する。14-3-3変調剤は新たな薬剤としての可能性を秘めているが、その作用面は広く深く低分子薬の創製が困難である。当研究室では細胞内モジュールアセンブリ法による中分子14-3-3変調剤の開発に成功している。

● FC-A、14-3-3、C末端H⁺-ATPaseとの三者複合体結晶構造

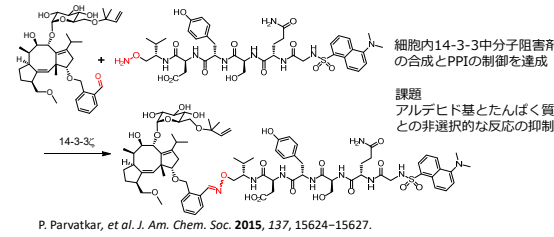


フシコクシン (FC-A)は真菌が生産するジテルペン配糖体であり植物14-3-3とH⁺-ATPaseとのたんぱく質間相互作用 (PPIs)を安定化し、植物を枯死に導く。FC-Aと14-3-3、H⁺-ATPaseのC末端ペプチドとの3者複合体結晶構造解析から、FCは14-3-3の疎水性間隙に結合しリン酸化ペプチドと14-3-3との親和性を10倍ほど向上させることがわかっていく。

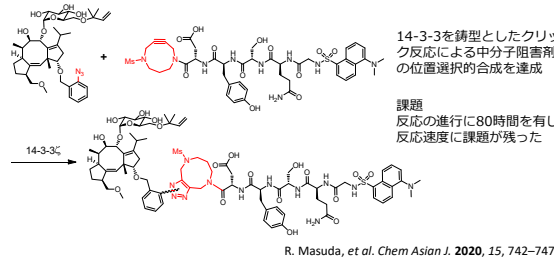
Y. Kondo et al., *Science* 2019, 366, 109-115. PDB: 6UJAN
A. Ballico, et al. *Nature* 1964, 203, 297
M. Wurtele et al. *EMBO J.* 2003, 22, 987-994.

2. 先行研究

● オキシミライゼーションによる中分子PPI阻害剤の開発

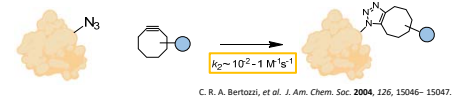


● 歪み促進型クリック反応による中分子PPI阻害剤の開発

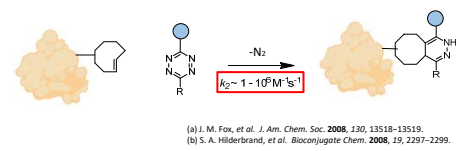


3. 本研究の戦略

Click反応

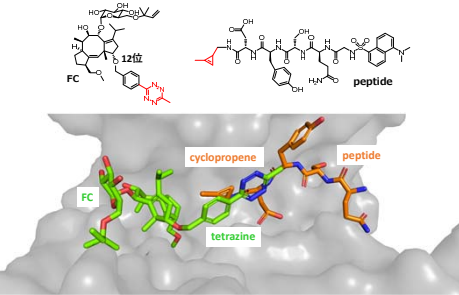


歪み促進逆電子要請型Diels-Alder反応 (IEDDA)

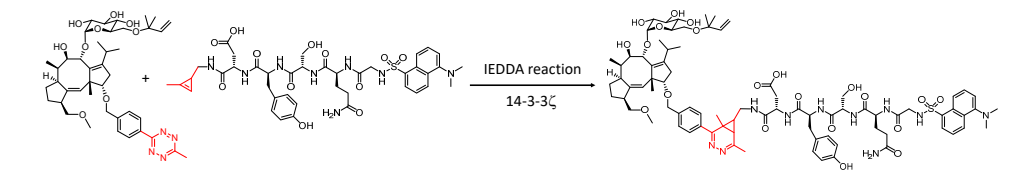


本研究では、歪み促進逆電子要請型Diels-Alder反応 (IEDDA)による問題解決に向けた戦略を立てた。IEDDAはテトラジンと歪みジエノフィルとの環化反応であり、高い選択性、反応の進行が速いという特徴を併せ持つ。クリック反応とIEDDAの反応速度定数に最大10の8乗ほどの差があり、IEDDAが課題解決に向けて有用な反応と期待される。

5. 14-3-3結晶構造に基づいたモデルによる考察

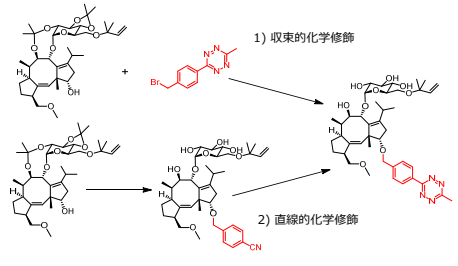


4. 分子設計

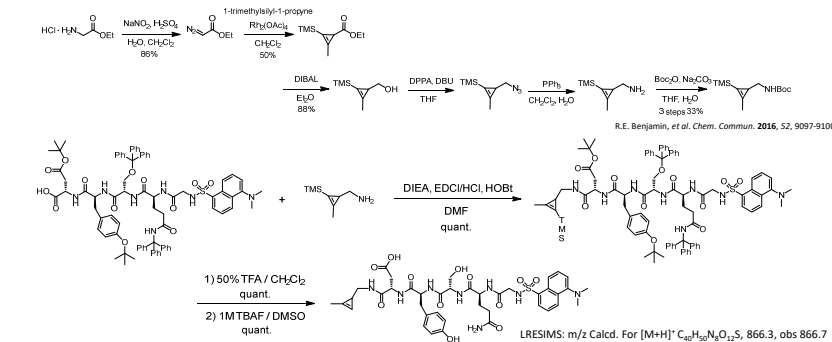


6. フラグメントの合成

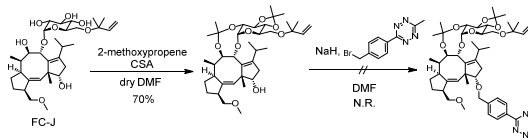
● テトラジン含有FCの合成設計



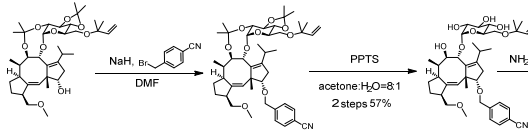
● サイクロプロペン・サイクロプロペン含有ペプチドの合成



● 収束型によるテトラジン含有FCの合成



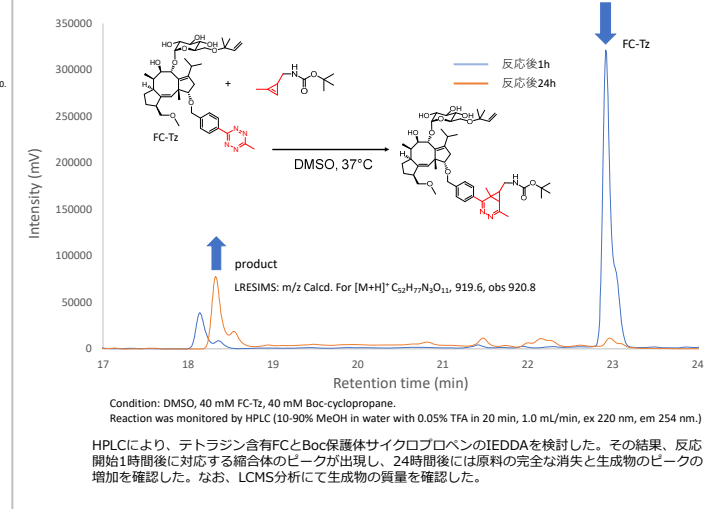
● 直線型によるテトラジン含有FCの合成



p-臭化ベンジル型テトラジンをを用いた12位水酸基のアルキル化による直接導入を検討したが反応は進行しなかった。原因として電子欠乏性のテトラジンの電子効果によるSN2反応の遷移状態の不安定化が考えられた。

HRESIMS: m/z Calcd. For [M+H]⁺ C₂₆H₃₇N₇O₁₁, 764.4360, obs 764.4375

7. IEDDAの評価



◆ 結論

- テトラジン含有FC誘導体とサイクロプロペン含有短鎖ペプチドを設計し合成した。
- HPLCを用いてテトラジン含有FCとBoc保護体サイクロプロペンのIEDDAの評価を行い、室温下で反応が進行し、対応する縮合体の生成を確認した。

◆ 謝辞

本研究は新学術領域研究「反応集積化が導く中分子戦略」の支援の下に行われました。本研究を遂行するにあたり多大なご協力を頂きました本領域メンバーの九州大学の河崎 悠也助教、井川 和宣助教、友岡 克彦教授、北海道大学の鈴木 孝紀教授、大阪大学の真鍋 良幸助教、に深く感謝いたします。