

平成13年度

エイズ医薬品等開発研究

重点研究報告書

第1分野

抗エイズウイルス薬、エイズ付随症状
に対する治療薬の開発に関する研究

HIV侵入動的超分子機構を標的とする耐性克服型化学療法剤の開発

所属：京都大学大学院薬学研究科 教授

研究者：藤井信孝

分担研究者

- (1) 京都大学大学院薬学研究科：竹本佳司 教授、大高 章 助教授、玉村啓和 講師
- (2) 聖マリアンナ医科大学医学部：中島秀喜 教授（平成13年5月鹿児島大学歯学部より移動）
- (3) 武田薬品工業株式会社：西村 紀 医薬開拓本部長（平成13年7月22日まで）
黒川 勉 戦略研究室 室長（平成13年7月23日より）

要旨

X4-virus が利用する CXCR4 拮抗剤、T140、および de novo 合成した gp41 標的型膜融合阻害剤、SC34、の独自の2種類の基盤分子を探索子として、HIV 侵入/融合段階の解析を行い、新規なエイズ治療薬の開発研究へ展開した。

1. 研究目的

HIV の宿主細胞への吸着・細胞融合には gp120、gp41、CD4、ケモカイン受容体等種々の蛋白質間の動的超分子機構が関与しており、特に、最近の HIV 第二受容体としてのケモカイン受容体の発見および gp41 の膜融合機構に関する構造生物学的な解析は、逆転写酵素阻害剤(RTI)、HIV プロテアーゼ阻害剤(PI)に続く新しい薬物標的を明確に提示した(J.P. Moore & M. Stevenson, Nature Reviews, 2000, 1, 41-49)。ケモカイン受容体を標的とする各種薬物の in vitro の抗 HIV 活性が相次いで報告されているにも拘わらず、臨床上有効な薬物は未だ見いだされていない。同受容体拮抗剤のエイズ化学療法剤としての応用には、主要な CCR5-および CXCR4 ケモカイン受容体の機能的損傷の生理的許容度に関する詳細な検討が必要不可欠であり、拮抗剤により影響される生体内プロテオームネットワークの変調に対する解析と感染動物

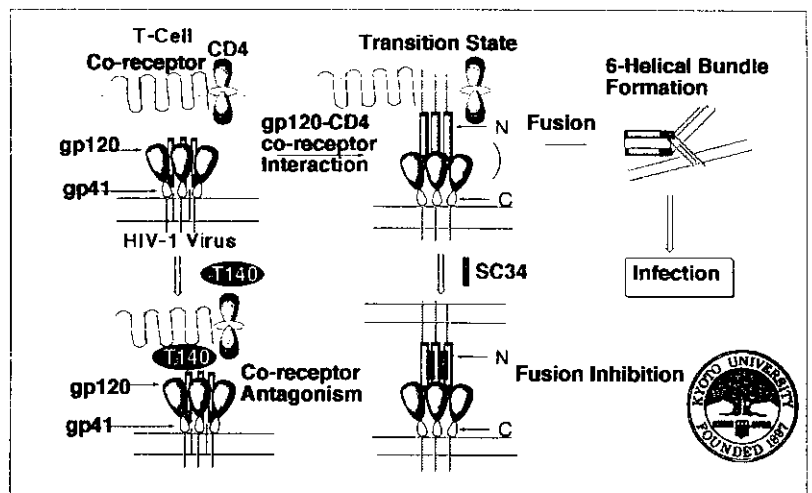


Fig. 1. Supramolecular Dynamic Mechanism of HIV -Cell Fusion

モデル系での高次評価を平行して行う必要がある。一方 gp41 を標的とする T20 は Trimeris 社、Roche 社により RTI, PI-多剤耐性型 HIV 株を標的として Phase III 臨床試験を通過したが、T20 自身の耐性臨床株の出現が問題となっている。本研究事業は、このような問題点を克服して、申請者らが世界に先駆けて発見した強力かつ特異的な HIV 第二受容体 (CXCR4) 拮抗剤 T140 および HIV 感染初期過程に関わる動的分子機構を基盤にした gp41-標的膜融合阻害剤 (SC34) を基盤分子として、多剤耐性克服型エイズ化学療法剤の開発を目的にしている (Fig. 1)。一方、独自の非ペプチド化技術を活用して非ペプチド性多剤耐性克服型 HIV プロテアーゼ阻害剤の開発研究も平行して実施する。

2. 研究方法

本研究の実施に当たっては、本研究組織に属する研究者の他、東京医科歯科大学医学部、山本直樹教授、熊本大学医学部、満屋裕明教授、Univ. of Louisville、Prof. S. C. Peiper、Dr. John Trent、京大薬学研究科、黒田義弘助教授、京大ウイルス研究所、松岡雅雄教授、児玉栄一博士、阪大薬学研究科、小林祐次教授にも研究協力をお願いし、密接な共同研究を実施することにより研究の効率化を計った。上記の研究目標を確実に達成するために、本年度は、特に、以下の6点を重点項目とした研究を行った。

- (1) HIV-第二受容体拮抗剤の医薬品としての適合化研究、高次評価 (藤井、大高、玉村 分担)
- (2) HIV 感染初期過程に関わる動的分子機構を基盤にした gp41-標的膜融合阻害剤 (SC34) の創出 (藤井、大高、玉村 分担)
- (3) 有機金属試薬の特性を活用したペプチド性抗 HIV 剤の高活性非ペプチド化研究 (藤井、大高、玉村 分担)
- (4) アスパルチルプロテアーゼ阻害剤の効率的多品目同時合成法の開発 (藤井、大高、玉村 分担)
- (5) 多剤耐性型 HIV プロテアーゼ阻害剤の合成と非ペプチド化 (竹本 分担)
- (6) 合成品の抗 HIV 活性の高次評価及び作用機序研究 (中島 分担)

3. 研究成果

3-1. HIV-第二受容体拮抗剤の医薬品としての適合化研究、高次評価

3-1-1. T140-CXCR4 ドッキング研究：

S.C. Peiper 博士ら (U. of Louisville) との共同研究により、機能性 CXCR4 を発現した酵母及び CHO 細胞を用いて T140 と CXCR4 の相互作用部位をマッピングし、他のリガンドの相互作用部位と比較した。その結果、T140 は CXCR4 細胞外第二ループおよび第三ループ上に想定される 2 個の Arg を含む 7 個のアミノ酸残基と重要な相互作用をすることを明らかにした。とりわけ細胞外第二ループ上では、他のリガンド (HIV-1, SDF-1, AMD3100) とは異なる位置を認識していることが明らかとなった。この事実

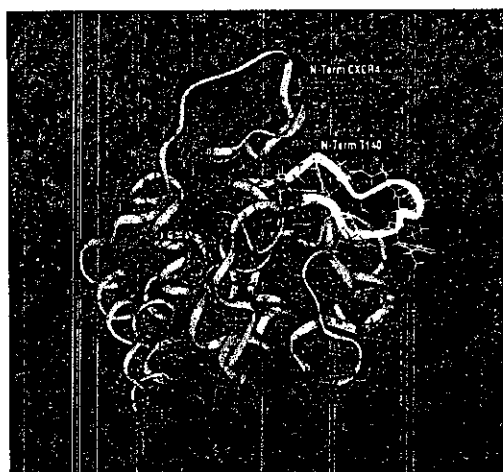


Fig. 2. Docking Study of T140 & CXCR4

は T140(T134)に対する in vitro での耐性誘導の困難さと関連して興味深い。細胞生物学的手法により得られた CXCR4 側の相五作用部位の情報と、NMR によりすでに明らかにしている T140 の溶液中の立体構造をもとに、ロドプシンの構造をもとに推定した CXCR4 の立体構造とのドッキング研究を実施した。その結果、T140 は β -turn 部分と反対側の活性発現に必須な Pharmacophore が集積している N-末端および C-末端部分で CXCR4 の細胞外第二ループおよび第三ループと強固に結合していると推定される (Fig. 2)。

3-1-2. 機能性 CXCR4-CAM(Constitutively Active Mutant)を用いた T140 の作用機序の研究 :

上述の Peiper らの CXCR-Ala-Scan 解析により、CXCR4 (119Asn-Ser) mutant が構成的な部分活性を有することが明らかにされている。他の研究室から報告されている CXCR4-アンタゴニストと比較したところ、AMD3100, ALX 40-SC 等の既知の薬物は部分的アゴニスト/アンタゴニストとして作用するが、T140 は CXCR4-CAM の構成的部分活性を濃度依存的に抑制することからインバーサアゴニストとして機能していることが明確になった。

3-1-3. T140 誘導体の in vivo での評価、安定性の向上 :

前年度までに見い出している血清に対する安定性に優れた高活性 CXCR4 拮抗剤(TN14003,TC14012)の大量合成法を確立し、感染小動物モデル (Hu-SCID マウス, 猫) での高次評価を実施したが、これらの化合物には有意な in vivo での活性を見い出せなかった。そこで、TC14012 に対してマウス肝臓 homogenate に対する安定性評価試験を行ったところ、高活性発現に必要な N 末端部 3 アミノ酸が除去されることが判明した。さらに、N-末端アシル化により、この分解を抑制できることを明らかにした。次いで一連の N-末端アシル化誘導体を合成し、構造活性相関研究を通じて抗 HIV 活性、生体内安定性ともに大幅に向上した 4F-Bz-TN14003 を見出した。最近になって、本物質は Hu-SCID mouse-PBMC HIV 感染モデルで有意な in vivo 抗 HIV 活性を示すことが判明した。

3-1-4. T140 の低分子化

T140 の立体構造および活性 Pharmacophore に関する情報をもとに一連の低分子誘導体を分子設計・合成し、抗 HIV 活性を評価した。T140 に匹敵する高活性物質の発見には至っていないが、環状 decapeptide (TD1404)、環状 pentapeptide (R-Penta) および鎖上 tripeptide(RRnNal)等に sub- μ M オーダーの活性を有する低分子新規リード化合物を見いだした。

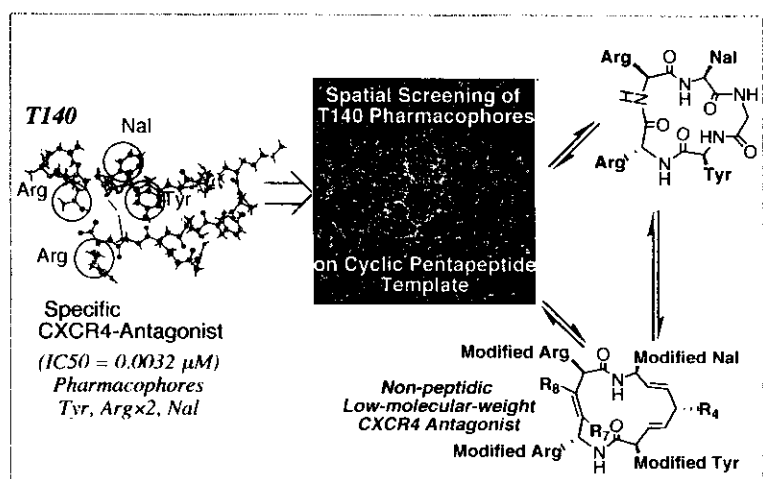


Fig. 3. T140-based Focused Peptide Library & Non-peptidylation

本年度はこれらの低分子リードのうち特に R-Penta に的を絞り、環状 pentapeptide をテンプレートとして T140 の活性発現 Pharmacophore の空間的スクリーニング研究を実施した (Fig.3)。その結果、約 150 種類の化合物の中から T140 に匹敵する CXCR4-antagonist 活性と抗 HIV 活性を有する 2 種類の化合物 (FC92, FC131) を見いだした。これらの化合物に(E)-アルケン型イソスターを導入した 誘導体へ導くことにより、薬物動態プロファイルの微調整が今後の検討課題である。

3-1-5. T140 の部分的非ペプチド化によるターン部分の固定化と溶液中の立体構造の解析：

有機銅試薬を用いる独自の手法を用いて、T140 の 8、9 位に D-Lysψ[(E)-CH=CH]Ala 型 (E)-アルケンジペプチドイソスターを導入した一連の T(E)-140 誘導体を合成し、T140 のβターン部位の微細構造の変化と活性に与える影響に関して精査した。T(E)-140 の 生物活性と conformation を NMR で解析した結果、T(E)-140 は T140 と同等の抗 HIV 活性を有するもののターン部分の構造を異にしており、この部分の微細な構造変化は強力な活性発現には必ずしも重要ではないことが判明した。活性発現に必須な 4 種の Pharmacophore (2-Arg, 3-Nal, 5-Tyr, 14-Arg) は二次構造上ターン部分と反対側に配置していることからβ-sheet を基本構造とする T140 のコンフォメーションと全構造は必ずしも必要では無いと判断される。上述の如く、環状ペプチドに T140 と同様な活性プロファイルを有する化合物が得られたことはこの推測を裏付けるものである。

3-1-6. T140 の抗 HIV 剤送達ベクターとしての応用研究：

T140 の高い水溶性と CXCR4 との強い親和性を活用して AZT 等の抗 HIV 剤の特異的薬物送達ベクターとしての応用を検討した。その結果、succinyl-linker を介して両者の conjugate を作成することにより、優れた抗 HIV 活性を有する多価官能性 抗 HIV 剤が得られることを明らかにした。本 conjugate は生理的 pH で succinimide を形成して AZT と T140 誘導体を放出する。本研究ではこの放出過程も詳細に検討し、AZT の様な一級 alcohol では約 2.4 時間、HIV-プロテアーゼ阻害剤の様な 2 級アルコールでは 1.4 時間～ 3.4 時間の半減期で除放的分解が起ることを確認した。またこの過程で生成する AZT、Succinyl-T140、Succinimidyl-T140 の抗 HIV 活性についても精査した。放出される化合物は、ともに作用機序の異なる抗 HIV 活性 (逆転写酵素阻害、CXCR4 阻害) を有していることから相乗効果による 有効な化学療法への応用が可能となる。次年度以降の課題として、本研究事業で開発を進めている後述の多剤 HIV-プロテアーゼ阻害剤との conjugate の活性プロファイルを検討する。

3-2. gp41-標的膜融合阻害剤 SC34 の de novo 設計と合成：

gp41-C34 を基盤分子とし、構造生物学的研究を駆使した de novo デザインにより gp41 標的型膜融合阻害剤 SC34 が得られた (IC₅₀ = 1.0 nM, T20 耐性株有効性、低細胞毒性、親化合物の 1000 倍の高い水溶性)。また、ヘリックスの双極子モーメントを考慮した誘導体 SC34(EK)は、さらに強い抗 HIV 活性および高い水溶性を示した (IC₅₀ = 0.26 nM)。さらに、これら SC34 誘導体は gp41 由来 N36 ペプチドと強固な 6-helical bundle 構造を形成することを明らかにし、CD 測定により得られた 6-helical bundle 構造の転位

温度すなわち bundle 構造の安定性と抗 HIV 活性がほぼ相関することを見出した。また、4種類の複合体の結晶化にも成功した。そのうちの2種類の complex についてはいずれも六角柱状の結晶を形成し、SPring 8 にて強力な放射光源で X線回折を行い、6-helical bundle 構造を形成していることを証明した。また、SC34(EK)-N-36 共結晶を 2.7 オングストロームの解像度で結晶構造を明らかにした (Fig. 4)。今後、極めて強固な 6-helical bundle 構造を形成する SC34(EK)-N-36 複合体の結晶構造を参考にして、helix 間のインターフェイスを精密に解析することにより非ペプチド性の低分子膜融合阻害剤の創製を目指す計画である。

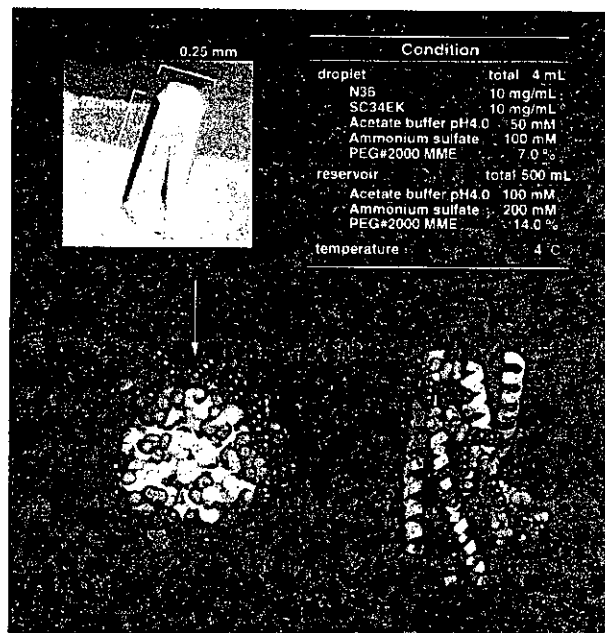


Fig. 4. Crystallization of N36-SC34EK Complex

3-3. T140 の非ペプチド化を目的とした合成基盤技術の整備研究

上記のペプチド性抗 HIV 剤の非ペプチド化研究と関連して、我々は環状ペプチドライブラリーを範とするユニバーサル創薬テンプレートの開発研究を行っている。本ストラテジーのもとに本年度は T140-リード環状ペプチド、FC92 および FC131 を見出し、高活性を維持したまま、大幅な低分子化に成功した。さらに有機金属試薬を活用した 3 置換、4 置換アルケンを有する多置換型(E)-アルケンシペプチドイソスターおよび Xaa-Pro 型アルケンシペプチドイソスターの合成法を確立し、環状ペプチドへの導入効果について詳細に検討した。とりわけ Xaaψ[CH=CMe]Xbb 型の 3 置換アルケンを有する(E)および(Z)型イソスターの反応溶媒依存性の立体選択的合成法を確立し、 $\alpha\text{V}\beta\text{3}$ -インテグリン阻害活性を有する環状 pentapeptide のターン構造部分に導入して立体配座固定創薬テンプレートの有効性を検証した。

3-4. 多剤耐性克服型プロテアーゼ阻害剤の合成研究

昨年度コンビナトリアル合成により見出した2種の HIV プロテアーゼ阻害剤、TY-A5 および TY-B5、が多剤耐性型 HIV 株に対して有効なこと、また、耐性誘導が起こりにくいことが明らかとなった。本年度は P2 部位としてのピステトラヒドロフラン骨格誘導体による非ペプチド化に重点をおいた合成研究を実施した。

- 1) aza-Payne 転位反応と *O,N*-アシル転位反応を共役させることにより、HIV-プロテアーゼ等のアスパルチルプロテアーゼの基質遷移状態模倣型阻害剤の効率的固相コンビナトリアル合成法を開発した。
- 2) イミンに対するアリルインジウム立体選択的アリル化反応により得られた光学活性ホモアリルアミンを鍵中間体とする二環性異項環化合物の独自の効率的合成法を開発した。本法を、HIV-プロテアーゼ阻害剤の P2 部位の非ペプチド化に応用して一連の化合物を合成・評価した。その結果 P2 部位に 2 環

性ヘキサヒドロフロピラン環を有する、強力な HIV プロテアーゼ阻害剤を見い出した。

- 3) さらに上記の反応を窒素含有二環性化合物の立体選択的合成に展開し、新規なグアニジン構造を内蔵する環状創薬テンプレートの合成法を確立した。本テンプレートは HIV プロテアーゼのみならず、Arg 等価体として T140 の非ペプチド化にも応用が可能である。

4. 考察

I. T140 を範とする HIV—第二受容体(CXCR4) 拮抗剤の医薬品への適合化研究を推進するに当たり、下記の 3 点の項目を重点的に検討する必要がある。

- (1) T140 と CXCR4 の相互作用様式の解析
- (2) 薬剤耐性誘導の起こりにくい性質を保持した T140 誘導体の医薬品への適合化
- (3) 薬物動態 (ADMET) プロフィールの調整及び cost performance の向上を目的とした非ペプチド化と低分子化

(1) に関しては、構成的に部分活性を有する CXCR4 変異体(119 Asn-Ser)-Constitutive Active Mutant(CAM)を用いた詳細な比較検討により、他の研究室より報告されている CXCR4 阻害剤と異なり、T140 は Inverse Agonist として機能していることを証明した。この結果は項目 (2) の薬剤耐性 HIV 株の誘導の困難さとも関係があると判断される。今後の医薬品としての開発研究においても、あながちに低分子化を目指さず、T140 固有の利点を活かした適合化研究を実施する予定である。また、最近 SDF-CXCR4 情報伝達システムが、慢性骨髄性白血病やリウマチ性関節炎の増悪に関与していること、また、膀胱癌、乳癌、メラノーマの浸潤・転移に主要な役割を果たしていることが報告された。CXCR4 阻害剤の副作用予測とも関連してこれらの病態に対する T140 誘導体の in vitro, in vivo での作用を評価したところ、有意な効果があることが preliminary なデータとして得られた。

(2) に関しては、in vitro の安定性試験 (マウス血清やラット肝ホモジェネート上清に体する試験) の結果を参考にして、アミノ酸 14 残基を有する T140 の母核を保持したまま大幅に安定性を向上した 4F-Bz-T140-amide シリーズを見い出した。本物質は T140 同様、薬剤耐性 HIV 株出現の困難さも予測できることから、有望な CXCR4 阻害剤 (多剤耐性克服型抗 HIV 剤) になり得ると判断される。

(3) に関しては、T140 の Pharmacophore を含有した数種の低分子型リード化合物 (環状デカペプチド、環状ペンタペプチド、鎖状トリペプチド) のうち、本年度は環状ペンタペプチドをテンプレートとする化合物ライブラリーを創製し、空間的スクリーニングにより T140 に匹敵する活性プロフィールを有する FC92, FC131 を見い出した。さらに、環状ペンタペプチドの非ペプチド化に関して、 $\alpha\beta\beta$ -インテグリン拮抗剤を素材にして(E)-アルケン型ジペプチドイソスターの導入効果を詳細に検討し、極めて有用な情報を得た。すなわち、著者らの理論的かつ実践的なペプチドの“高活性非ペプチド化”法が、T140 誘導体の薬物動態の向上において有用な手法になると考えられた。

II. HIV-gp41 標的膜融合阻害剤として、de novo デザインにより新たに創出した SC34(EK)は、同種の T20 (Pentafuside, Trimeris-Roche、Phase III を通過している)に比してより高い抗 HIV 活性と優れた水

溶性を有しているばかりでなく、既に臨床で出現している T20 耐性 HIV 株にも subnanomolar の強力な抗 HIV 活性を示した。すなわち HIV-cell 膜融合阻害剤の開発候補品の一つとして非常に有望であると考えられる。さらに、N36 との共結晶は SPring 8 での X 線構造解析により 2.7 オングストロームの解像度で構造(anti-parallel 6-helical bundle 構造)を得ており、今後、これを基にした両 helix 間のインターフェイスの精密な解析により、より優れた膜融合阻害剤の創製に応用できると判断される。

III. aza-Payne 転位反応と *O,N*-アシル転位反応を共役させることにより開発した基質遷移状態模倣型阻害剤の固相コンビナトリアル合成法は耐性克服型 HIV プロテアーゼ阻害剤の開発研究の効率化に役立つ。イミンに対するアリルインジウム立体選択的アリル化反応による二環性異項環化合物の効率的合成法は HIV プロテアーゼの非ペプチド化のみならず、ユニバーサル創薬テンプレートの構築法の一つとして T140 等のペプチドリード医薬品の非ペプチド化に有用である。

5. まとめ

- 1) NMR により決定した T140 の水溶液中での立体構造を参考にして、ロドプシンのホモロジーモデリングによる CXCR4 の立体構造との docking analysis を行い相互作用を解析した。機能性 CXCR4 を発現した酵母及び CHO 細胞を用いた T140 と CXCR4 の相互作用部位のマッピングの実験と一致するものであり、現在この解析を基に T140 の低分子化研究を行っている。
- 2) CXCR4(119Asn-Ser)-CAM に対して T140 はインバーサブゴニストとして機能することが判明した。
- 3) ラット肝ホモジネートに対する安定性試験を参考にして、Hu-SCID マウスにおいて in vivo 抗 HIV 活性を有する 4F-Bz-TN14003 を見出した。
- 4) 環状ペプチドライブラリーを範とするユニバーサル創薬テンプレートの応用として T140 の低分子化を計り環状 pentapeptide をテンプレートとして T140 に匹敵する CXCR4 阻害剤を見出した。
- 5) type II' β ターン部位を部分的に非ペプチド化した誘導体 T(E)-140-OH を合成し、溶液中の立体構造と活性との相関に関する有益な知見を得た。
- 6) T140 の優れた水溶性と CXCR4 との強い親和性を活用して AZT 等の特異的薬物送達ベクターとしての応用を計り、優れた抗 HIV 活性を有する多価官能性抗 HIV 剤が得られることを明らかにした。
- 7) gp41-C34 を基盤分子とした de novo デザインにより多剤耐性型 HIV 株に有効性が期待できる強力かつ特異的 gp41 標的型 HIV-Cell 膜融合阻害剤 SC34(EK)を見出した。
- 8) Xaa ψ [CH=CMe]Yaa 型の 3 置換アルケン型イソスターの反応溶媒依存性の立体選択的合成法を確立し、環状 pentapeptide を範とする立体配座固定創薬テンプレートの適用を検討した。
- 9) aza-Payne 転位反応と *O,N*-アシル転位反応を共役させることにより、基質遷移状態模倣型酵素阻害剤の効率的多品目同時合成法を開発した。
- 10) イミンに対するアリルインジウム立体選択的アリル化反応を活用して二環性異項環化合物の独自の効率的合成法を開発した。
- 11) 本法を、HIV プロテアーゼ阻害剤の P2 部位の非ペプチド化に応用して、P2 部位に 2 環性ヘキサヒ

ドロフロピラン環を有する強力な HIV プロテアーゼ阻害剤を見出した。

1 2) さらに本反応を応用して新規なグアニジン構造を内蔵する環状創薬テンプレートの合成法を確立した。

6. 研究発表

1. Increase of R5 HIV-1 Infection and CCR5 Expression in T cells Treated with High Concentration of CXCR4 Antagonists and SDF-1.
K. Gotoh, M. Yoshimori, K. Kanbara, H. Tamamura, T. Kanamoto, K. Mochizuki, N. Fujii & H. Nakashima
J. Infect. Chemothera., **7**, 28-36 (2001)
2. Synthesis of (Z)-Fluoroalkene Dipeptide Isosteres Utilizing Organocopper-mediated Reduction of γ,γ -Difluoro- α,β -enoates.
A. Otaka, H. Watanabe, E. Mitsuyama, A. Yukimasa, H. Tamamura & N. Fujii
Tetrahedron Lett., **42**, 285-287 (2001)
3. Conformational Study of a Highly Specific CXCR4 Inhibitor, T140, Disclosing the Close Proximity of Its Intrinsic Pharmacophores Associated with Strong Anti-HIV Activity.
H. Tamamura, M. Sugioka, Y. Odagaki, A. Omagari, Y. Kan, S. Oishi, H. Nakashima, N. Yamamoto, S. C. Peiper, N. Hamanaka, A. Otaka & N. Fujii
Bioorg. Med. Chem. Lett., **11**, 359-362 (2001)
4. Biological and Genetic Characterization of a Human Immunodeficiency Virus Strain Resistant to CXCR4 Antagonist T134.
K. Kanbara, S. Sato, J. Tanuma, H. Tamamura, K. Gotoh, M. Yoshimori, T. Kanamoto, M. Kitano, N. Fujii & H. Nakashima
Aids Res. Human Retroviruses, **17**, 615-622 (2001)
5. Stereoselective Synthesis of Nonracemic 1,3-Amino Alcohols from Chiral 2-vinylaziridines by In(I)-Pd(0)-promoted Metalation.
Y. Takemoto, M. Anzai, R. Yanada, N. Fujii, H. Ohno & T. Ibuka
Tetrahedron Lett., **42**, 1725-1728 (2001)
6. Development of Specific CXCR4 Inhibitors Possessing High Selectivity Indexes as Well as Complete Stability in Serum Based on an Anti-HIV Peptide T140.
H. Tamamura, A. Omagari, K. Hiramatsu, K. Gotoh, T. Kanamoto, Y. Xu, E. Kodama, M. Matsuoka, T. Hattori, N. Fujii, H. Nakashima, A. Otaka & N. Fujii
Bioorg. Med. Chem. Lett., **11**, 1897-1902 (2001)
7. The Earliest Stages of B Cell Development Require a Chemokine Stromal Cell-Derived Factor SDF-1/Pre-B Cell Growth-Stimulating Factor.
T. Egawa, K. Kawabata, H. Kawamoto, K. Amada, R. Okamoto, N. Fujii, T. Kihimoto, Y. Katsura & T.

Nagasawa

Immunity, **15**, 323-334 (2001)

8. Synthesis and Evaluation of Bifunctional Anti-HIV Agents and Specific CXCR4 Antagonists- AZT Conjugation.
H. Tamamura, A. Omagari, K. Hiramatsu, T. Kanamoto, K. Gotoh, K. Kanbara, N. Yamamoto, H. Nakashima, A. Otaka & N. Fujii
Boiorg. Med. Chem., **9**, 2179-2187 (2001)
9. Stereoselective Synthesis of 2-Alkenylaziridines and 2-Alkenylazetidines by Palladium-Catalyzed Intramolecular Amination of α - and β -Amino Allenes.
H. Ohno, M. Anzai, A. Toda, S. Ohishi, N. Fujii, T. Tanaka, Y. Takemoto & T. Ibuka
J. Org. Chem., **66**, 4904-4914 (2001)
10. New Access to α -Substituted (Z)-Fluoroalkene Dipeptide Isosteres Utilizing Organocopper Reagents under 'Reduction-Oxidative Alkylation (R-OA)' Conditions.
A. Otaka, H. Watanabe, A. Yukimasa, S. Oishi, H. Tamamura & N. Fujii
Tetrahedron Lett., **42**, 5443-5446 (2001)
11. Peptide-lead CXCR4 Antagonists with High Anti-HIV Activity.
N. Fujii & H. Tamamura
Curr. Opin. Invest. Drugs, **2**, 1198-1202 (2001)
12. Stereoselective Synthesis of a Set of Two Functionalized (E)-Alkene Dipeptide Isosteres of L-Amino Acid-L-Glu and L-Amino Acid-D-Glu.
S. Oishi, H. Tamamura, M. Yamashita, A. Otaka & N. Fujii
J. Chem. Soc., Perkin Trans.1, 2445-2451 (2001)
13. Heterodimer Formation between the Antimicrobial Peptides Magainin 2 and PGLa in Lipid Bilayers: A Cross-Linking Study.
T. Hara, Y. Mitani, K. Tanaka, N. Uematsu, A. Takakura, T. Tachi, H. Kodama, M.Kondo, H. Mori, A. Otaka, N. Fujii, & K. Matsuzaki
Biochemistry, **40**, 12395-12399 (2001)
14. A Unique Monoclonal Antibody Recognizing the Third Extracellular Loop of the Human CXCR4 Induces Lymphocyte Agglutination and Enhances Human Immunodeficiency Virus Type-1-Mediated Syncytium Formation and Productive infection.
R. Tanaka, A. Yoshidam E. Baba, T. Murakami, J. Lichtenfeld, T. Omori, T. Kimura, N. Tsurutani, N. Fujii, Zi-X. Wang, S.C. Peiper, N. Yamamoto & Y. Tanaka
J. Virol., **75**, 11534-11543 (2001)
15. A Novel Synthetic Arg-Gly-Asp Containing Peptide cyclo(-RGDf=V) Is the Potent Inhibitor of Angiogenesis.
M. Kawaguchi, R. Hosotani, S. Oishi, N. Fujii, S. Tulachan, M. Koizumi, E. Toyoda, T. Masui, S. Nakajima,

- S. Tsuji, J. Ida, K. Fujimoto, M. Wada, R. Doi and M. Imamura
Biochem. Biophys. Res. Commun., **288**, 711-717 (2001)
16. Stereospecific 1,3-Migration of an Fe(CO)₃ Group on Acyclic Conjugated Polyenes: Application to Remote and Iterative Asymmetric Induction.
Y. Takemoto, K. Ishii, T. Ibuka, Y. Miwa, T. Taga, S. Nakao, T. Tanaka, H. Ohishi, Y. Kai & N. Kanehisa
J. Org. Chem., **66**, 6116-6123 (2001)
17. Aluminum-controlled Reactivity and Diastereoselectivity toward Radical Reactions of Optically Active Aldimines with Metallic Samarium.
R. Yanada, M. Okaniwa, A. Kaieda, T. Ibuka & Y. Takemoto
J. Org. Chem., **66**, 1283-1286 (2001)
18. ASymmetric Total Synthesis of Halicholactone.
Y. Baba, G. Saha, S. Nakao, C. Iwata, T. Tanaka, T. Ibuka, H. Ohishi & Y. Takemoto
J. Org. Chem., **66**, 81-88 (2001)
19. The Role of the Planar Chirality of Chiral Amino Alcohols Bearing Iron Tricarbonyl in Asymmetric Alkylation of Diethylzinc to Aldehydes.
K. Okamoto, T. Kimachi, T. Ibuka & Y. Takemoto
Tetrahedron: Asymmetry, **12**, 463-467 (2001)
20. Actinohivin, a Novel Anti-HIV Protein from an Actinomycete That Inhibits Syncytium Formation: Isolation, Characterization, and Biological Activities.
H. Chiba, J. Inokoshi, M. Okamoto, S. Asanuma, K. Matsuzaki, M. Iwama, K. Mizumoto, H. Tanaka, M. Oheda, K. Fujita, H. Nakashima, M. Shinose, Y. Takahashi & S. Omura
Biochem. Biophys. Res. Commun., **282**, 595-601 (2001)
21. In vitro Biological Activity of Prenylflavanones.
Y. Shirataki, N. Motohashi, S. Tani, H. Sakagami, K. Satoh, H. Nakashima, S. K. Mahapatra, K. Ganguly, S. G. Dastidar & A. N. Chakrabarty
Anticancer Res., **21**, 275-280 (2001)
22. Diverse Biological Activity of Moxa Extract and Smoke.
N. Hitosugi, R. Ohno, I. Hatsukari, S. Mizukami, H. Nagasaka, I. Matsumoto, N. Komatsu, M. Fujimaki, H. Nakashima, K. Satoh & H. Sakagami
In vivo, **15**, 249-254 (2001)
23. Biological Activity of Kiwifruit Peel Extracts.
N. Motohashi, Y. Shirataki, M. Kawase, S. Tani, H. Sakagami, K. Satoh, T. Kurihara, H. Nakashima, K. Wolfard, C. Miskolciand & J. Molnar
Phytotherapy Res., **15**, 337-343 (2001)
24. Biological Activity of Feijoa Peel Extracts.

H. Nakashima

The Progress Report of the 1999 Survey of The Research Project "Social Homeostasis of Small Islands in An Island-zone" Kagoshima University Research Center for Pacific Islands, Occasional Papers, 34; 169-175 (2001)

25. Antimicrobial Activity of Trifluoromethyl Ketones and Their Synergism with Promethazine.
M. Kawase, N. Motohashi, H. Sakagami, T. Kanamoto, H. Nakashima, L. Ferenczy, K. Wolfard, C. Miskolci, & J. Molnar
Antimicrobial Agents, 18, 161-165 (2001)
26. Relationship between Cytotoxic Activity and Radical Intensity of Isoflavones from Sophora Speciesn.
Y. Shirataki, S. Tani, H. Sakagami, H. Nakashima, K. Gotoh & N. Motohashi
Anticancer Res., 21, 2643-2648 (2001)
27. Biological Activity of a Fruit Vegetable, Anastasia Green, a Species of Sweet Pepper.
N. Motohashi, T. Kurihara, H. Wakabayashi, M. Yaji, I. Mucsi, J. Molnar, S. Maruyama, H. Sakagami, H. Nakashima, S. Tani, Y. Shirataki & M. Kawase
In vivo, 15, 437-442 (2001)
28. Chiral Phosphine-free Pd-mediated Asymmetric Allylation of Prochiral Enolate with a Chiral Phase-transfer Catalyst.
M. Nakoji, T. Kanayama, T. Okino & Y. Takemoto
Org. Lett., 3 (21), 3329-3331 (2001)
29. Asymmetric Alkylation of tert-Butyl Glycinate Schiff Base with Chiral Quaternary Ammonium Salt under Micellar Conditions.
T. Okino & Y. Takemoto,
Org. Lett., 3 (10), 1515-1517 (2001)
30. Diastereoselective Barbier-type and Palladium-mediated Allylation of Optically Active Aldimine with Allylindium Reagents.
R. Yanada, A. Kaieda & Y. Takemoto
J. Org. Chem., 66 (22), 7516-7518 (2001)
31. Aluminum-controlled Reactivity and Diastereoselectivity toward Radical Reactions of Optically Active Aldimines with Metallic Samarium.
R. Yanada, M. Okaniwa, A. Kaieda, T. Ibuka & Y. Takemoto
J. Org. Chem., 66 (4), 1283-1286 (2001)
32. Synthesis of Allenes from Allylic Alcohol Derivatives Bearing a Bromine Atom Using a Palladium(0)/Diethylzinc System.
H. Ohno, K. Miyamura, T. Tanaka, S. Oishi, A. Toda, Y. Takemoto, N. Fujii & T. Ibuka
J. Org. Chem., 67, 1359-1367 (2002)

33. Efficient Stereoselective Synthesis of Peptidomimetics Containing Hydroxyethylamine Dipeptide Isosteres Utilizing the Aza-Payne Rearrangement and *O,N*-Acyl Transfer Reactions.
H. Tamamura, T. Hori, A. Otaka & N. Fujii
J. Chem. Soc., Perkin Trans.1, 577-580 (2002)
34. Synthesis and Evaluation of Pseudopeptide Analogs of a Specific CXCR4 Inhibitor, T140: The Insertion of an (*E*)-Alkene Dipeptide Isostere into the β II'-Turn Moiety.
H. Tamamura, K. Hiramatsu, K. Miyamaoto, A. Omagari, S. Oishi, H. Nakashima, N. Yamamoto, K. Kuroda, T. Nakagawa, A. Otaka & N. Fujii
Bioorg. Med. Chem. Lett., **12**, 923-928 (2002)

7. 知的所有権の取得状況

特許出願

発明の名称：抗 HIV 剤

出願番号：特願 2 0 0 1 - 2 9 7 9 6 3 号

発明者：大高 章、藤井信孝、松岡雅雄

出願人：関西ティール・エル・オー

出願日：2 0 0 1 年 9 月 2 7 日

平成13年度

エイズ医薬品等開発研究
重点研究報告書

平成14年9月10日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル（小伝馬町駅前）4F

電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社