

201029042A

厚生労働科学研究費補助金

エイズ対策研究事業

**HIV侵入の動的超分子機構を標的とする  
ケミカルバイオロジー創薬研究**

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者 鳴海 哲夫

平成23年（2011）年 4月

別添1

厚生労働科学研究費補助金

エイズ対策研究事業

**HIV侵入の動的超分子機構を標的とする  
ケミカルバイオロジー創薬研究**

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者 鳴海 哲夫

平成23年（2011）年 4月

目 次

I. 総括研究報告

HIV侵入の動的超分子機構を標的とする ケミカルバイオロジー創薬研究 鳴海 哲夫	----- 1
------------------------------------------------	---------

II. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 18
--------------------	----------

III. 研究成果の刊行物・別刷	----- 20
------------------	----------

## 厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

## 総括研究報告書

## HIV 侵入の動的超分子機構を標的とするケミカルバイオロジー創薬研究

研究者代表者 鳴海 哲夫 東京医科歯科大学生体材料工学研究所 助教

研究要旨 多剤併用療法や AIDS ワクチン研究が抱える課題の解決には、HIV の侵入から出芽に至る生命現象をこれまでとは異なる角度から改めて解析し、既存の情報を再構築する必要がある。本研究課題では、HIV の細胞侵入過程である動的超分子機構を標的として、これまでほとんど行われてこなかった有機合成化学に基づいたケミカルバイオロジー研究を行うことで、HIV の細胞侵入時の HIV 外被タンパク質と宿主側タンパク質との相互作用様式に関して、有機化学的手法による解析を行い、その知見に基づいた新規 HIV 侵入阻害剤の創製研究を行った。まず、宿主側から HIV 側タンパク質への機能解析として、HIV の細胞侵入における第一受容体 CD4 を模倣した CD4 ミミックを化学修飾することで、様々な機能を付与した化合物群を合成した。これら化合物群に対し、抗 HIV 活性、細胞毒性および gp120 の構造変化誘起能について評価を行ったところ、ピペリジン環上の窒素原子が gp120 構造誘起能および細胞毒性に深く関与していることが示唆された。また、窒素原子を修飾し 3 級アミンへと誘導する、あるいは窒素原子近傍に嵩高い置換基を導入することで細胞毒性が大幅に低下することを明らかにした。これら構造活性相関研究の過程において、リード化合物 (NBD-556) の二つの gem-ジメチル基を二つのシクロヘキシル基に置換することで、NBD-556 と同等の構造変化誘起能を有し、低毒性かつより強力な抗 HIV 活性を有する誘導体 (HAR-171) の創出に成功した。これらの成果は、今後の HIV 侵入過程を標的とした創薬研究の進展に資するものである。なお、見出した研究成果を基に更なる構造活性相関研究が進行中である。

## A. 研究目的

現在 HIV 感染症の化学療法では、多剤併用療法が有効な治療法として確立されているが、長期投与による毒性の軽減や耐性ウイルス抑制の観点から、新規治療薬の開発が求められている。また、感染予防や根本的治療を目指した HIV ワクチン研究においては、その方向性を抜本的に見直さなければならない状況にある。これら問題の解決には HIV の侵入から出芽に至る生命現象をこれまでとは異なる角度から改めて解析し、既存の情報を再構築する必要があると考えられる。一方、工学分野では化学を出発点に生命現象を解析するケミカルバイオロジー研究が盛んに

行われ、様々なタンパク質において新たな情報が見出されている。このような背景のもと、HIV 関連タンパク質に対してケミカルバイオロジー研究を行い、HIV の関わる生命現象を有機化学的に解析し、個体間ではなく原子・分子レベルの相互作用として理解することは、極めて重要と考えられる。

そこで本研究課題では、HIV 側および宿主側タンパク質の機能を模倣した有機分子 (低分子 CD4 模倣体 (CD4 ミミック) および gp120 の V3 loop ミミック) を創製し、それらを用いて HIV 外被タンパク質と細胞表面タンパク質の相互作用様式を両方向から解析し、その知見に基づいた合理的分子設計に



より新規 HIV 侵入阻害剤の開発を目指す(図 1)。

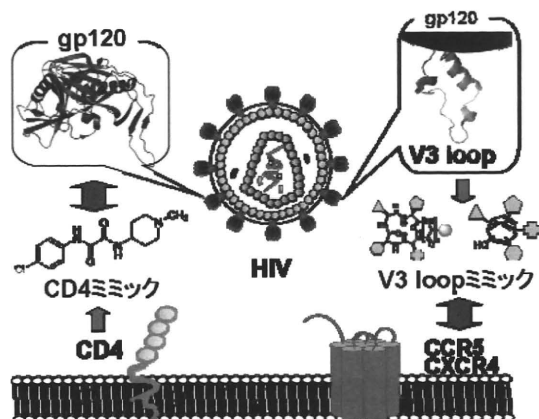


図1 HIV侵入の動的超分子機構を標的とするケミカルバイオロジー創薬研究

具体的には、有機合成化学の特長を活かして様々な新規機能性分子を合成・修飾し、それらを用いてウイルス側タンパク質(gp120)および宿主側タンパク質(CCR5/CXCR4)への機能解析を両方向から行う。これにより、HIVの細胞侵入時の HIV 外被タンパク質と細胞表面タンパク質の相互作用様式に関して従来法では達成困難な分子レベルでの知見が得られると考えられる。さらに、これらの知見をリガンド設計にフィードバックすることで、これらタンパク質の機能を制御可能な新規リガンドの創製が期待できる。また、コレプターと相互作用する gp120 の V3 loop ミミックは、CCR5/CXCR4 の新規拮抗剤としての応用も期待できる。また、本研究課題で得られる HIV 外被タンパク質と細胞表面タンパク質の相互作用様式に関する詳細な情報は、現在 HIV ワクチン研究が直面している「有効なエピトープの枯渇」という問題に対して、重要なヒントを与えるものと考えられる。また、見出した新規リガンドに対し、有機化学的手法によって医薬品プロフィールを向上させることで、新規 HIV 侵入阻害剤の開発が期待できる。このように本

研究課題で得られる研究成果は、新規治療薬の開発から HIV 感染予防や治療へ向けた創薬研究への展開が十分に期待され、多剤併用療法が抱える課題(薬剤耐性ウイルスの出現や長期投与による副作用、高額な医療費)の克服が期待できる。

## B. 研究方法

平成 22 年度は HIV の細胞侵入の第一段階である gp120 と CD4 の相互作用様式の解析を目的として、gp120 の構造変化を誘起する CD4 ミミック誘導体の設計・合成を行った。申請者らが独自に見出した低分子 CD4 ミミック(図 2)を三つのフラグメント(芳香環部位、オキサミド部位、ピペリジン部位)に分割し、それぞれ化学修飾した CD4 ミミック誘導体を合成し、それら化合物の生物活性(gp120 に与える構造変化、細胞毒性および抗 HIV 活性)を評価した。

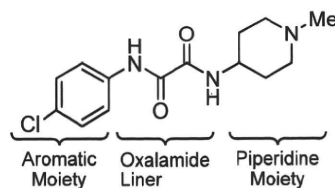


図2 CD4 ミミックの構造

## CD4 ミミック誘導体の生理活性試験

細胞毒性および抗 HIV 活性については WST-8 アッセイによる評価を行った。96 well round-bottom micro culture plate にて、各 CD4 ミミック誘導体存在下または非存在下で、細胞毒性試験では無感染の PM1/CCR5 細胞  $3 \times 10^3$  cells を、抗 HIV-1 活性試験では 200 TCID<sub>50</sub> のウイルスを感染させた PM1/CCR5 細胞または TZM-bl 細胞  $3 \times 10^3$  cells を 37 °C 下で 5 日間培養した。それぞれの well から 100 mL の培養液を取り除き、WST-8 (2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium monosodium salt) 溶液 10 mL を加え、37 °C で 3 時間インキュベートした。マイクロプレートリーダーに

て吸光度 (450 nm) を測定して、細胞の生存率を算出した。

### gp120 構造変化誘起能の評価

HIV-1 に継続感染させた PM1 細胞  $1 \times 10^5$  cells を、FACS buffer (PBS; 2% BSA, 0.2% azide, pH 7.2) 中において CD4 ミミック誘導体 100  $\mu$ M 存在下または rsCD4 0.5  $\mu$ g/mL 存在下で、4  $^{\circ}$ C 下、15 分間攪拌したのち、CD4i 抗体 4C11 (終濃度 3.4 - 6.7  $\mu$ g/mL) を加えて 4  $^{\circ}$ C 下で 30 分間攪拌した。また、4C11 の代わりに 8D11 を加えた細胞をコントロールとした。遠心後 (4  $^{\circ}$ C, 1200 rpm, 3 分間)、上清を除去し、FACS buffer で細胞を二回洗浄した。そこに fluorescein isothiocyanate (FITC) を結合させたヤギ由来抗ヒト IgG 抗体を加え、4  $^{\circ}$ C 下で 30 分間染色し、FACS buffer で細胞を二回洗浄した。また、固定化溶液 (PBS; 2% paraformaldehyde) を加え、4  $^{\circ}$ C 下で 30 分間固定化したのち、FACS buffer で細胞を二回洗浄した。その後、フローサイトメリー (FACSCalibur, BD) にて測定を 2 回以上行った。

### (倫理面への配慮)

実験動物に対する動物愛護上の配慮に関しては、日本学術会議による動物実験の適切な実施に向けたガイドライン及び厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針を厳密に遵守して、実験計画を綿密に検討した上で必要最小限の実験動物を用いて効率的に実験を実施した。

## C. 研究結果

### 【芳香環部位の構造活性相関研究】

これまでの構造活性相関研究において、芳香環パラ位に塩素原子または臭素原子を有する誘導体において顕著な抗体 HIV 活性を示すことが明らかになっている。これに対し、報告者らはメチル基置換体においても強力な抗体 HIV 活性を示すことを見出した。そこで、

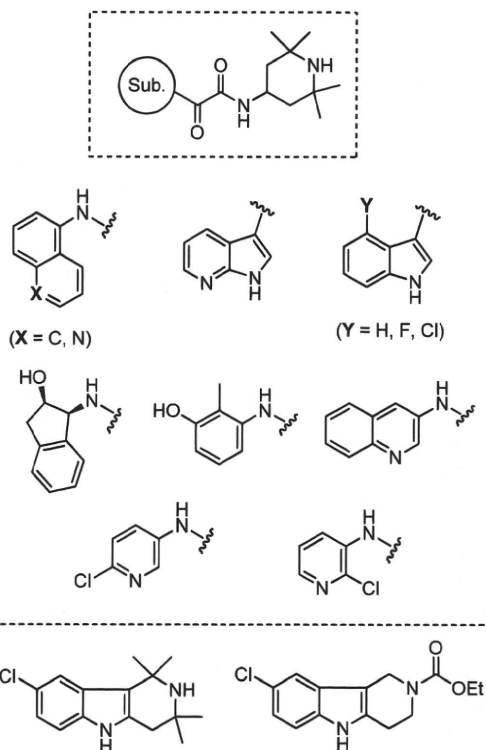


図 3 芳香環部位を置換した誘導体の代表例

更なる活性の向上には芳香環の環拡大または他のヘテロ環に置換することで抗 HIV 活性や gp120 の構造変化誘起能などの生物活性の向上が期待できると考えた。具体的には、アザインドールやアミノインダノール、キノリンなど様々な抗 HIV 活性を有する低分子化合物に含まれる多環性複素環を CD4 ミミックに導入したハイブリッド分子を合成し、生物活性評価したが、ほとんどの誘導体において顕著な生物活性 [ $IC_{50} > 70 \mu$ M; cf.  $IC_{50}$  of NBD-556 0.65  $\mu$ M] を示さなかった(図 3)。

### 【ピペリジン環部位の構造活性相関研究】

HIV 外被タンパク質 gp120 にある Phe43 cavity は宿主細胞表面タンパク質 CD4 の 43 番目のフェニルアラニン側鎖との相互作用部位であり、HIV の細胞侵入においてかかせない cavity である。これまでの研究から、本研究におけるリード化合物 CD4 ミミックは HIV この Phe43 cavity にふたをするように相互作用することが示唆されている。そこで、詳細な構造活性相関研究を行うために、可溶性 CD4 と gp120 の X 線結晶構造 (1RZJ) を基に

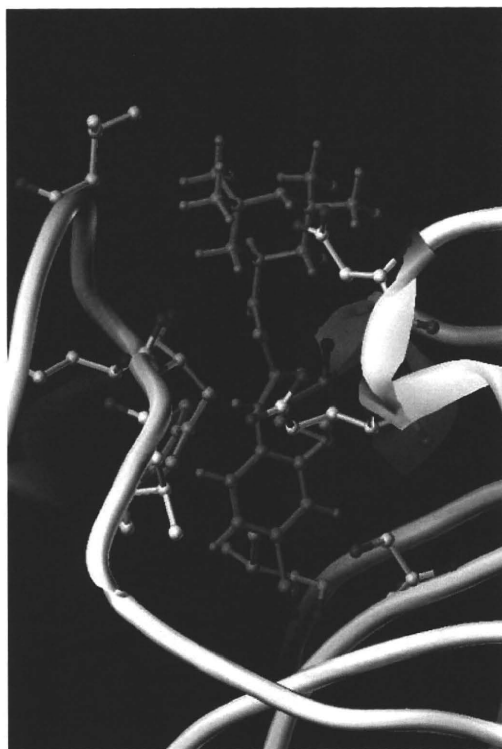
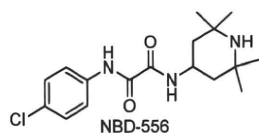


図 4 NBD-556 と gp120 のドッキングモデル

CD4 ミミックと gp120 の分子モデリング (Sybil 7.1) を行った (図 4)。

その結果、ピペリジン環は、Phe43 cavity の入り口付近の複数のアミノ酸と相互作用していることが示唆された。まず、ピペリジン環上の窒素官能基は 368 番目のアスパラギン酸 (Asp368) と静電的相互作用していることが示唆された。可溶性 CD4 と gp120 の X 線結晶構造においても、可溶性 CD4 の 59 番目のアルギニン (Arg59) がこの Asp368 と静電的相互作用していることから、ピペリジン環上の窒素官能基は Arg59 の側鎖と対応しており、この相互作用は生物活性に大きく寄与していることが示唆された。また、ピペリジン環上の gem-ジメチル基は 430 番目のバリン (Val430) と疎水性相互作用していることが示唆され、オキサミド結合のアミドプロトン (N-H) は 426 番目のメチオニン (Met426) のカルボニル酸素原子と水素結合していること

が新たに見えてきた。

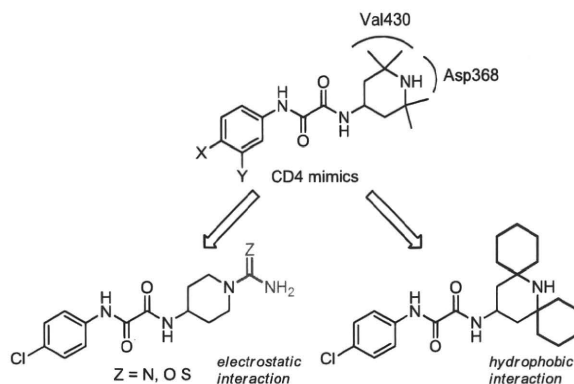
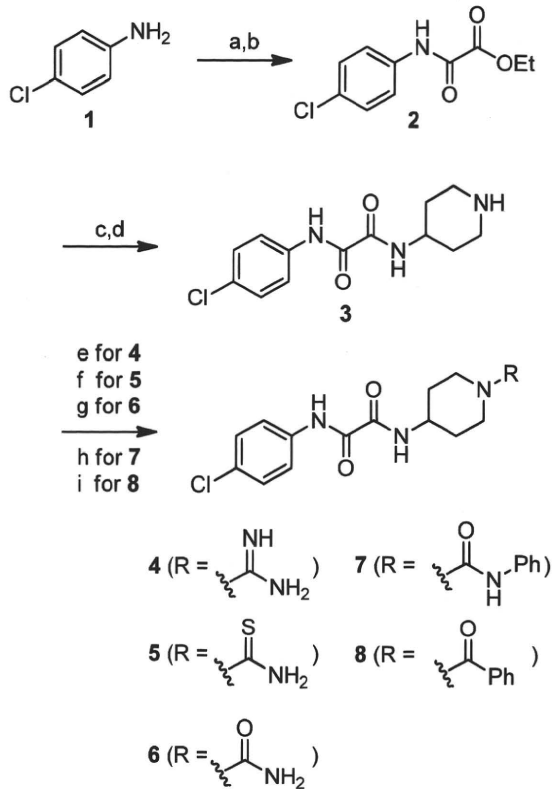


図 5 新規 CD4 ミミックのデザイン

そこでこれらの分子モデリングの結果を基にピペリジン環にそれぞれの相互作用を増強する官能基を導入する誘導体を新たに設計した (図 5)。まず、Asp368 との静電的相互作用の増強を期待して、ピペリジン環上の窒素官能基にグアニド基や、その類縁体であるウレア基やチオウレア基を導入した誘導体を設計した。また、Val430 との疎水性相互作用の増強を期待して、二つのシクロヘキシル基を導入した誘導体を設計した。この他に多数の誘導体を設計し、構造活性相関研究を行うこととした。

静電的相互作用の増強を指向した CD4 ミミック誘導体の合成経路を図 6 に示す。クロロアニリンを出発原料にトリエチルアミン存在下、クロログリオキシル酸エチルを作用させ、アミド化合物 2 番へと誘導した。アミド化合物 2 番に対し、マイクロ波照射下、塩基性条件にて 1-ベンジル-4-アミノピペリジンとのアミノリシス反応、連続する脱ベンジル化反応を行うことで、化合物 3 番へと誘導した。化合物 3 番に対し、グアニド化することでグアニド誘導体 4 番を合成した。また、チオウレア誘導体 5 番、ウレア誘導体 6 番、N-フェニルウレア誘導体 7 番はそれぞれ対応するイソシアネート試薬を作用させることで、合成した。さらに、ベンゾイル誘導体 8 番については、トリエチルアミン存在下、塩化ベンゾ

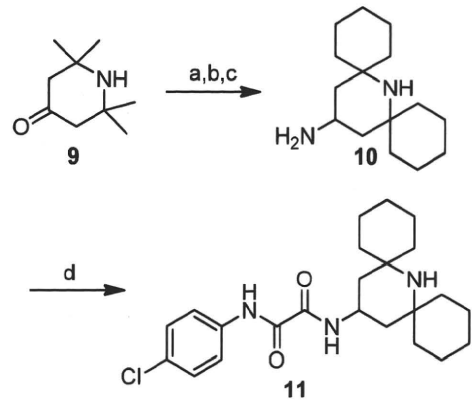


Reagents and conditions: (a) ethyl chloroglyoxylate, Et<sub>3</sub>N, THF, quant.; (b) 1-benzyl-4-aminopiperidine, Et<sub>3</sub>N, EtOH, 150 °C, MW, 78%; (c) 1-chloroethyl chloroformate, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (d) MeOH, reflux, 64% in 2 steps; (e) 1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride, Et<sub>3</sub>N, DMF, 61%; (f) (trimethylsilyl)isothiocyanate, CHCl<sub>3</sub>, 36%; (g) (trimethylsilyl)isocyanate, CHCl<sub>3</sub>, 30%; (h) phenyl isocyanate, CHCl<sub>3</sub>, 32%; (i) benzoyl chloride, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 68%.

図 6 静電的相互作用の増強を指向した CD4 ミミック誘導体の合成経路

イルを作用することで、合成に成功した。

次に疎水性相互作用の増強を指向した CD4 ミミック誘導体の合成経路を図 7 に示す。テトラメチルピペリドンを出発原料として、塩化アンモニウム存在下シクロヘキサノンを加熱条件下攪拌することで、二つのシクロヘキササン環を有するピペリドンへと誘導した。続いて、ベンジルアミンを用いた還元的アミノ化反応により窒素官能基を導入し、加水素分解により脱ベンジル化することで、4 位に一級アミノ基を有するピペリジン誘導体 10 を合成



Reagents and conditions: (a) cyclohexanone, NH<sub>4</sub>Cl, DMSO, 60 °C, 21%; (b) benzylamine, NaBH<sub>4</sub>, MeOH, 93%; (c) 20 mol% Pd/C, H<sub>2</sub>, MeOH, 75%; (d) 2, Et<sub>3</sub>N, EtOH, 150 °C, MW, 17%

図 7 疎水性相互作用の増強を指向した CD4 ミミック誘導体の合成経路

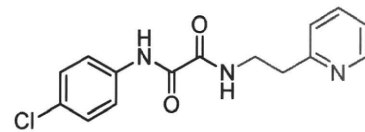
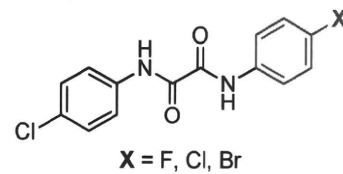


図 8 ピペリジン環を持たない CD4 ミミック誘導体

した。これに対し、マイクロ波照射下、化合物 2 番を作用させることで、目的とする二つのシクロヘキササン環を有する CD4 ミミック誘導体の合成に成功した。

また、ピペリジン環の生物活性に与える影響を精査するために、ピペリジン環の代わりにパラ位にフッ素原子や塩素原子、臭素原子など種々のハロゲン原子で置換した芳香環を有する誘導体も合成した。加えて、オキサミド結合から二つのメチレン基を導入したピリジン誘導体についても併せて合成した(図 8)。

gp120 との静電的相互作用の増強を指向した CD4 ミミック誘導体群の抗 HIV 活性および細胞毒性の結果を表 1 に示す。抗 HIV 活性は TZM-bl 細胞を用いて WST-8 を用いた single-round assay にて評価した。また、細胞毒性は PM1/CCR5 細胞を用いて評価した。

リード化合物の一つである NBD-556 は顕著な抗 HIV 活性を示したのに対し[IC<sub>50</sub> = 0.61 μM]、芳香環パラ位の置換基をメチル基に置換した YYA-021 では大幅な抗 HIV 活性の低下が認められた[IC<sub>50</sub> = 8.4 μM]。また、ピペリジン環上にテトラメチル基を持たない誘導体 HAR-241 では YYA-021 と同程度の抗 HIV 活性を示し [IC<sub>50</sub> = 7.4 μM]、グアニド基を導入したグアニド誘導体 HAR-205 においては YYA-021 に比べわずかながら活性が向上した[IC<sub>50</sub> = 6.1 μM]。グアニド類縁体であるチオウレア誘導体 HAR-245 においてはさらに活性が向上したのに対し[IC<sub>50</sub> = 5.5 μM]、ウレア誘導体 HAR-244 では YYA-021 と同程度の抗 HIV 活性しか示さなかった[IC<sub>50</sub> = 8.3 μM]。さらにウレア窒素原子上にフェニル基を導入した N-フェニルウレア誘導体 HAR-234 では活性の低下が見られ[IC<sub>50</sub> = 11 μM]、ピペリジン環上の窒素原子にベンゾイル基を導入したベンゾイル誘導体 HAR-214 では強力な抗 HIV 活性を示した[IC<sub>50</sub> = 5.1 μM]。またこれら化合物の細胞毒性については、NBD-556 の CC<sub>50</sub> 値が 35 μM なのに対し、N-フェニルウレア誘導体 HAR-234 を除く全ての誘導体において細胞毒性の改善が見られた。また、これら誘導体の中でピペリジン環の窒素原子周辺に酸性度の高いプロトンをもつチオウレア誘導体 HAR-245 や N-フェニルウレア誘導体 HAR-234 では比較的強い細胞毒性を有していることが明らかになった。

次に、gp120 の 430 番目のバリンとの疎水性

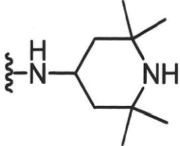
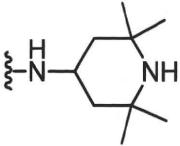
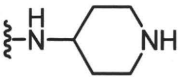
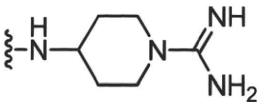
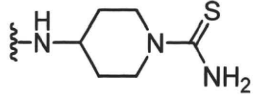
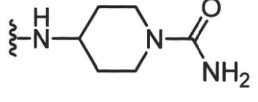
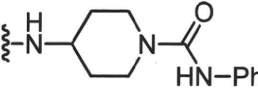
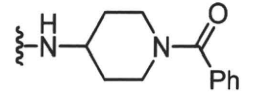
相互作用の増強を指向した CD4 ミミック誘導体の抗 HIV 活性および細胞毒性の結果を表 2 に示す。先ほどと同様に抗 HIV 活性は TZM-bl 細胞を用いて WST-8 を用いた single-round assay にて評価した。また、細胞毒性は PM1/CCR5 細胞を用いて評価した。

ピペリジン環にテトラメチル基を有する NBD-556 は先ほどと表 1 と同様顕著な抗 HIV 活性を示し[IC<sub>50</sub> = 0.61 μM]、細胞毒性も同程度であった[CC<sub>50</sub> = 35 μM]。それに対し、テトラメチル基をさらに嵩高くしたシクロヘキシル基を二つ導入したジシクロヘキシル誘導体 HAR-171 においては、NBD-556 と同程度の顕著な抗 HIV 活性を示し[IC<sub>50</sub> = 0.68 μM]、さらに 4 倍程度低い細胞毒性であることが明らかになった[CC<sub>50</sub> = 120 μM]。一方で、ピペリジン環の代わりにパラ位にフッ素原子や塩素原子、臭素原子など種々のハロゲン原子で置換した芳香環では、予想外にもフッ素原子置換体 HAR-114 が強力な抗 HIV 活性を示し[IC<sub>50</sub> = 3.1 μM]、ほとんど細胞毒性を持たないことが明らかとなった[CC<sub>50</sub> = >500 μM]。一方で、塩素原子置換体 HAR-101 や臭素原子置換体 HAR-105 においては抗 HIV 活性および細胞毒性をほとんど示さなかった。さらに、オキサミド結合から二つのメチレン基を導入したピリジン誘導体 HAR-160 においては、低毒性で[CC<sub>50</sub> = 480 μM]、弱いながらも抗 HIV 活性を示した[IC<sub>50</sub> = 19.8 μM]。

また、顕著な抗 HIV 活性を示したシクロヘキシル基を二つ導入したジシクロヘキシル誘導体 HAR-171 について、PM1/CCR5 細胞による multi-round assay にて評価した(図 9)。リード化合物である NBD-556 は single-round assay では IC<sub>50</sub> = 0.61 μM と非常に強力な抗 HIV 活性を示したのに対し、multi-round assay では IC<sub>50</sub> =



表1 静電的相互作用の増強を指向した CD4 ミミック誘導体群の抗 HIV 活性および細胞毒性<sup>a</sup>

Compd	R	R	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>b</sup>	CC <sub>50</sub> (μM) <sup>c</sup>	SI (CC <sub>50</sub> /IC <sub>50</sub> )
			MNA (R5)		
NBD-556	Cl		0.61	35	57
YYA-021	Me		8.4	260	31
HAR-241 <sup>d</sup>	Cl		7.0	51	7.3
HAR-205 <sup>e</sup>	Cl		6.1	72	12
HAR-245	Cl		5.5	42	7.6
HAR-244	Cl		8.3	310	37
HAR-234	Cl		11	6.2	0.56
HAR-214	Cl		5.1	ND	—

<sup>a</sup> All data with standard deviation are the mean values for at least three independent experiments (ND = not determined)

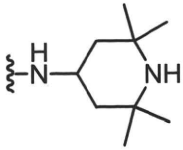
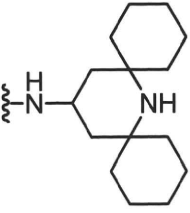
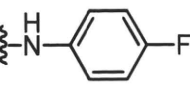
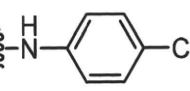
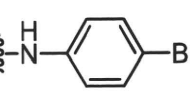
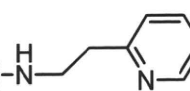
<sup>b</sup> IC<sub>50</sub> values are based on the inhibition of HIV-1-induced cytopathogenicity in TZM-bl cell.

<sup>c</sup> CC<sub>50</sub> values are based on the reduction of the viability of mock-infected PM1/CCR5 cells.

<sup>d</sup> desalted by sat.NaHCO<sub>3</sub> aq.

<sup>e</sup> TFA salt.

表 2 疎水性相互作用の増強を指向した CD4 ミミック誘導体群の抗 HIV 活性および細胞毒性<sup>a</sup>

Compd	R	IC <sub>50</sub> (μM)	CC <sub>50</sub> (μM)	SI (CC <sub>50</sub> /IC <sub>50</sub> )
		MNA (R5)		
NBD-556		0.61	35	57
HAR-171		0.68	120	176
HAR-114		3.1	>500	—
HAR-101		>100	>500	—
HAR-105		>100	>500	—
HAR-160		19.8	480	24

<sup>a</sup> All data with standard deviation are the mean values for at least three independent experiments

<sup>b</sup> IC<sub>50</sub> values are based on the inhibition of HIV-1-induced cytopathogenicity in TZM-bl cell.

<sup>c</sup> CC<sub>50</sub> values are based on the reduction of the viability of mock-infected PM1/CCR5 cells.

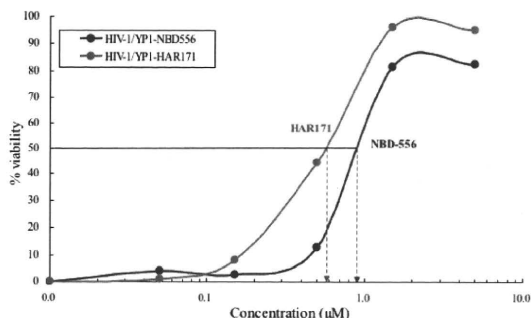
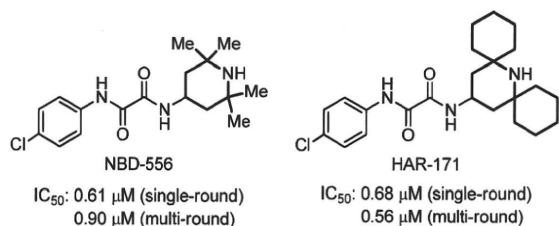


図 9 CD4 ミミック誘導体の構造と CCR5/PM1 細胞による WST-8 assay

0.90  $\mu$ M とわずかに低下することが明らかとなった。一方で、ジシクロヘキシル誘導体 HAR-171 においては single-round assay では  $IC_{50} = 0.68 \mu$ M と顕著な抗 HIV 活性を示したのに対し、multi-round assay では  $IC_{50} = 0.56 \mu$ M とわずかながら活性が向上することが明らかとなった。

次に、抗 HIV 活性を示した CD4 ミミック誘導体について、gp120 の構造変化誘起能に

ついて検討した。gp120 の構造変化により露出される CD4i site を認識する CD4i 抗体 4C11 を用いて、CD4 ミミック誘導体処理をした PM1/ JR-FL 細胞表面における gp120 の構造変化の程度を評価した。4C11 の結合量については、fluorescein isothiocyanate (FITC) を結合させたヤギ由来抗ヒト IgG 抗体にて 4C11 を蛍光標識し、FACS にてその蛍光強度を測定した。結果を図 11 に示す。

報告者らのこれまでの研究から NBD-556 は可溶性 CD4 と同様に構造変化を誘起することを明らかにしている。本系における平均蛍光強度 (mean fluorescence intensity: MFI) は 23.13 であった。また、テトラメチル基を除去したピペリジン誘導体 HAR-241、グアニド基を導入したグアニド誘導体 HAR-205、チオウレア基を導入したチオウレア誘導体 HAR-245 は NBD556 とほぼ同程度の MFI であった[MFI (HAR-241) = 20.54, MFI (HAR-205) = 20.85, MFI (HAR-245) = 20.24]。一方で、ウレア誘導体 HAR-244 やベンゾイル誘導体 HAR-214 ではほとんど変化がなかった。また、顕著な抗 HIV 活性を示し、NBD-556 より低毒性なシクロヘキシル基を二つ導入したジシクロヘキシル誘導体 HAR-171 においては、NBD-556 とほぼ同程度の MFI であったことから[MFI (HAR-171) = 22.17]、HAR-171 は gp120 の構造変化誘起能を維持していることが明らかになった。また、強力な抗 HIV 活性は示すが、

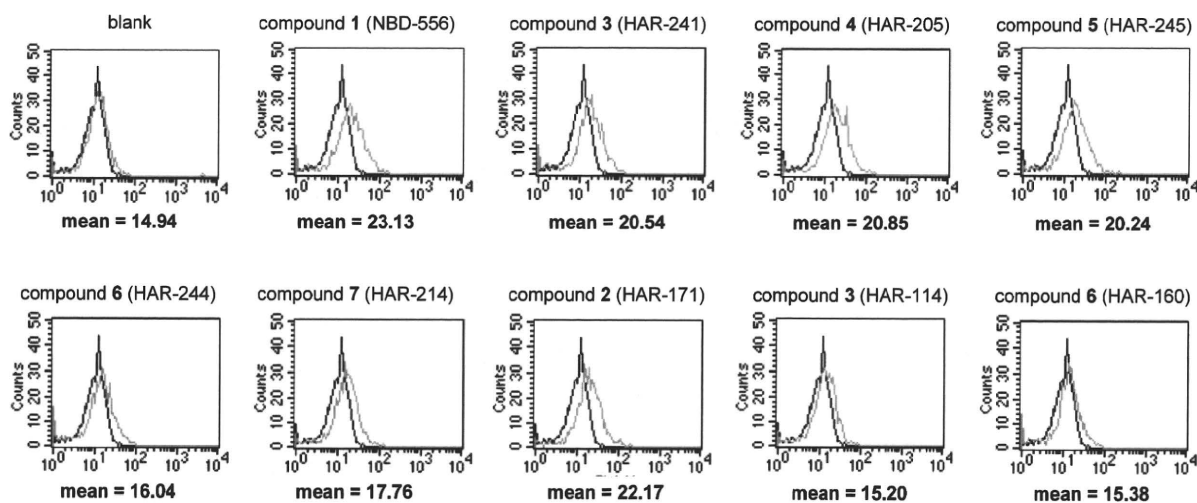


図 11 CD4 ミミックの FACS による解析結果

細胞毒性がほとんどないフッ素原子置換体 HAR-114 と弱いながらも抗 HIV 活性を示したピリジン誘導体 HAR-160 においては、どちらもほとんど変化がなかった。

#### 【オキサミド部位の構造活性相関研究】

別のグループによる分子モデリングからオキサミド結合が gp120 の主鎖と水素結合していることが示唆されており、報告者らの分子モデリングでも同様の結果が得られており、この相互作用を明確にする必要がある。そこで、オキサミド部位が生物活性にどのように寄与するかを探る目的で、それぞれのアミド結合を不飽和結合に置換した誘導体を設計した (図 12)。不飽和結合とアミド結合は構造的相同性が高く、古くから不飽和結合はアミド結合の生物学的等価体として用いられており、生理活性分子の構造的要求を探るうえで信頼性の高い手法である。

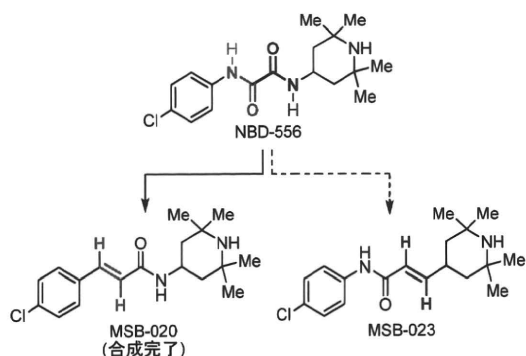
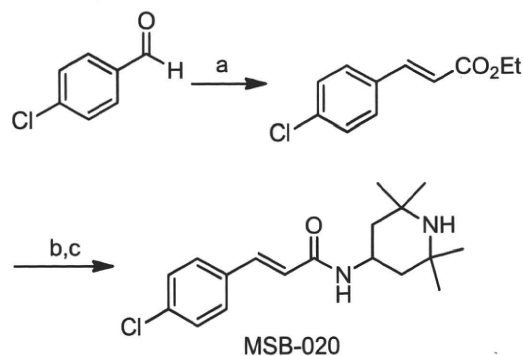


図 12 アミド結合を不飽和結合に置換した誘導体の構造

はじめに、クロロアニリン側のアミド結合を置換した誘導体の合成に着手した。合成経路を図 13 に示す。p-クロロベンズアルデヒドを出発原料に、Horner-Wadsworth-Emmons 反応により不飽和エステルを合成し、続いてエステル基を加水分解することでカルボン酸へと誘導した。最後にカルボン酸と 4-アミノテトラメチルピペリジンを縮合することで、



Reagents and conditions: (a) LiCl, triethylphosphonoacetate, DBU, MeCN, 89%; (b) 1M-LiOH, THF; (c) 4-amino-tetramethylpiperidine, DCC, DMAP, EDC·HCl, DCM, 16% in 2 steps.

図 13 クロロアニリン側のアミド結合を不飽和結合に置換した誘導体の合成経路

目的とするクロロアニリン側のアミド結合を不飽和結合に置換した誘導体 MSB-020 の合成に成功した。現在、ピペリジン環側のアミド結合を不飽和結合に置換した誘導体 (MSB-023) の合成について検討中である。

#### D. 考察

新規 HIV 侵入阻害剤の開発のため、本研究では宿主側タンパク質 CD4 の機能を模倣した有機分子を用いるという革新的、斬新なアイデアに基づいている。有機合成化学の特長を活かして、多様な低分子 CD4 ミミック誘導体を合成した。これら化合物の gp120 に与える構造変化、細胞毒性および抗 HIV 活性など生物活性評価も行った。

芳香環部位の構造活性相関により、多環性複素環を導入した誘導体においては、生物活性が消失または減弱することが明らかとなった。これにより、CD4 ミミックが相互作用する gp120 の Phe 43 cavity は、多環性複素環のように大きな置換基は適していないことが示唆された。近年、LaLonde や Sodroski ら米国グループによって同様のリード化合物とする構造活性相関研究がごく最近報告された (J. M. LaLonde, et al, *Bioorg. Med. Chem.*, 2011, 19, 91.)。彼らの研究結果によれば、パラクロロアニリンのメタ位にフッ素原子を導

入することで、抗 HIV 活性が 2 倍程度上昇すると報告されている。つまり、CD4 ミミックの相互作用部位は多環性複素環ほどの大きな置換基は許容できないが、一原子程度の大きさならば導入が可能であり、これにより更なる活性の向上が期待できる。

また、ピペリジン環部位の構造活性相関により、窒素原子周辺に酸性度の高いプロトンをもつチオウレア誘導体 HAR-245 や N-フェニルウレア誘導体 HAR-234 では、比較的強い細胞毒性を有していることが明らかになった。報告者らの以前の研究において、ピペリジン環上の窒素原子が細胞毒性の大きく寄与していることが示唆されていたが、今回の結果により、窒素原子上の水素原子が細胞毒性に大きく寄与していることが示唆された。一方で、窒素原子の $\alpha$ 位に嵩高い疎水性官能基

性が 4 倍程度低下したことから、シクロヘキサン環による立体障害または疎水性相互作用が細胞毒性低減には有効であることが示唆された。また、ジシクロヘキシル誘導体 HAR-171 においては single-round assay では  $IC_{50} = 0.68 \mu M$  とリード化合物と同程度の抗 HIV 活性を示したのに対し、multi-round assay では  $IC_{50} = 0.56 \mu M$  とわずかながら活性が向上することが明らかとなった。一方で、リード化合物である NBD-556 は single-round assay では  $IC_{50} = 0.61 \mu M$  と非常に強力な抗 HIV 活性を示したのに対し、multi-round assay では  $IC_{50} = 0.90 \mu M$  とわずかに低下することが明らかとなった。このことから、ジシクロヘキシル誘導体 HAR-171 はリード化合物 NBD-556 に比べ安定性が高いことが示唆された。

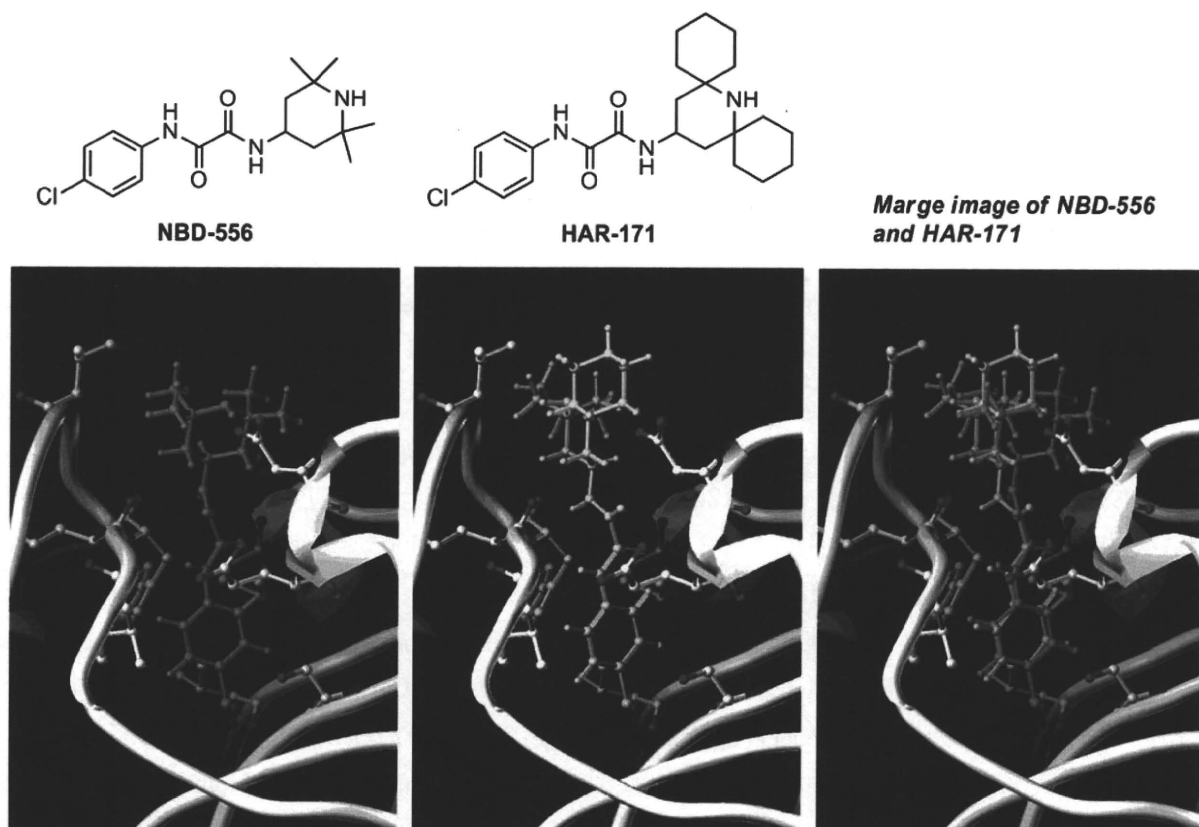


図 14 NBD-556 および HAR-171 と gp120 のドッキングモデル (Sybil 7.1)

であるシクロヘキサン環を二つ導入したジシクロヘキシル誘導体 HAR-171 では、細胞毒

可溶性 CD4 と gp120 の X 線結晶構造 (1RZJ) を基に NBD-556 および HAR-171 と



gp120 の分子モデリング (Sybil 7.1) を行った結果 (図 14)、gp120 と相互作用するピペリジン環の向きが大きく異なることが示唆された。NBD-556 のピペリジン環は gp120 の Asp368 との静電的相互作用が強くなるのに対し、HAR-171 では二つの大きな疎水性官能基であるシクロヘキサン環の影響により、Val430 との相互作用が強くなり、特に Asp368 との水素原子を介した静電的相互作用が減少していることが示唆された。さらに Val430 との相互作用が強くなることで、オキサミド結合が Met426 のカルボニル酸素原子との水素結合が容易になり、活性の向上につながったものと考えられる。また、先に述べた LaLonde や Sodroski ら米国グループによる構造活性相関研究においても同様な結果が得られており、この疎水性相互作用は生物活性に大きく寄与していることが示唆されている。さらに、米国グループにおいてはシクロヘキサン環ではなく、4 員環であるシクロブタン環を一つだけ有する誘導体において強力な抗 HIV 活性が得られたことから、報告者らの誘導体においてもシクロヘキサン環を二つから一つにすることで、生物活性の向上が期待できる。

#### E. 結論

HIV の細胞侵入の第一段階である gp120 と CD4 の相互作用様式の解析を目的として、gp120 の構造変化を誘起する CD4 ミミック誘導体の設計・合成を行い、低毒性かつ顕著な抗 HIV 活性を有する HAR-171 を見出した。これらの結果は今後の HIV 侵入阻害剤の開発研究において、重要な基礎的知見を与えるものと思われる。

#### F. 健康危険情報

該当事項なし

#### G. 研究発表

##### I. 論文発表

- 1) Nomura W, Ohashi N, Okuda Y, Narumi T, Ikura T, Ito N, Tamamura H. Fluorescence-Quenching Screening of Protein Kinase C Ligands with an Environmentally Sensitive Fluorophore. *Bioconjugate Chem* 22: 923-930, 2011.
- 2) Tanaka T, Narumi T, Ozaki T, Sohma A, Ohashi N, Hashimoto C, Itotani K, Nomura W, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura H. Azamacrocyclic-metal Complexes as CXCR4 Antagonists. *ChemMedChem* 6 : 834-839, 2011.
- 3) Nomura W, Narumi T, Ohashi N, Serizawa Y, Lewin NE, Blumberg PM, Furuta T, Tamamura H. Synthetic Caged DAG-lactones for Photochemically-controlled Activation of Protein Kinase C. *ChemBioChem* 12:535-539, 2011.
- 4) Ohashi N, Nomura W, Narumi T, Lewin NE, Itotani K, Blumberg PM, Tamamura H. Fluorescent-responsive Synthetic C1b Domains of Protein Kinase C $\delta$  as Reporters of Specific High Affinity Ligand Binding. *Bioconjugate Chem.*, 22: 82-87, 2011.
- 5) Narumi T, Bode JW,  $\alpha,\alpha$ -Dichloroisoxazolidinones for the synthesis and chemoselective peptide ligation of  $\alpha$ -peptide  $\alpha$ -ketoacids. *Heterocycle* DOI: 10.3987/COM-10-S(E)106, 2011, *in press*.
- 6) Yamada Y, Ochiai C, Yoshimura K, Tanaka T, Ohashi N, Narumi T, Nomura W, Harada S, Matsushita S, Tamamura H. CD4 mimics targeting the mechanism of HIV. *Bioorg Med Chem Lett* 20 : 354-358, 2010.

- 7) Nakahara T, Nomura W, Ohba K, Ohya A, Tanaka T, Hashimoto C, Narumi T, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura H. Remodeling of dynamic structures of HIV-1 envelope proteins leads to synthetic antigen molecules inducing neutralizing antibodies. *Bioconjugate Chem* 21(4): 709-714, 2010.
- 8) Suzuki S, Maddali K, Hashimoto C, Urano E, Ohashi N, Tanaka T, Ozaki T, Arai H, Tsutsumi H, Narumi T, Nomura W, Yamamoto N, Pommier Y, Komano JA, Tamamura H. Peptidic HIV integrase inhibitors derived from HIV gene products: Structure-activity relationship studies. *Bioorg Med Chem* 18: 6771-6775, 2010.
- 9) Narumi T, Ochiai C, Yoshimura K, Harada S, Tanaka T, Nomura W, Arai H, Ozaki T, Ohashi N, Matsushita S, Tamamura H. CD4 mimics targeting the HIV entry mechanism and their hybrid molecules with a CXCR4 antagonist. *Bioorg Med Chem Lett* 20: 5853-5858, 2010.
- 10) Tanaka T, Nomura W, Narumi T, Masuda A, Tamamura H. Bivalent ligands of CXCR4 with rigid linkers for elucidation of dimerization state in cells. *J Am Chem Soc* 132 (45): 15899-15901, 2010.
- 11) Nomura W, Mino T, Narumi T, Ohashi N, Masuda A, Hashimoto C, Tsutsumi H, HTamamura H. Development of Crosslink-Type Tag-Probe Pairs for Fluorescent Imaging of Proteins. *Biopolymers: Peptide Science*, 94: 843-852, 2010.
- 12) Narumi T, Hayashi R, Tomita K, Kobayashi K, Tanahara N, Ohno H, Naito T, Kodama E, Matsuoka M, Oishi S, Fujii N. Synthesis of Biological Evaluation of Selective CXCR4 Antagonists Containing Alkene Dipeptide Isosteres. *Org Biomol Chem* 8: 616-621, 2010.

## 著書

- 1) 鳴海哲夫, 玉村啓和. ペプチドミメティックによる創薬研究, 生化学 特集号「ペプチド科学と生化学の接点」(日本生化学会 東京), 82(6): 515-523, 2010.
- 2) Tanaka T, Nomura W, Narumi T, Yoshimura K, Matsushita S, Murakami T, Komano J, Yamamoto N, Tamamura H. From Reverse to Forward Chemical Genomics: Development of Anti-HIV Agent. *Peptide Science 2009*, Kouji Okamoto (Eds.), The Japanese peptide Society, Osaka, 105-106, 2010.
- 3) Ohya A, Nakahara T, Nomura W, Ohba K, Tanaka T, Hashimoto C, Narumi T, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura H. Synthesis and Evaluation of Artificial Antigen Peptide Based on the Trimeric Form of HIV Fusion Protein. *Peptide Science 2009*, Kouji Okamoto (Ed.), The Japanese peptide Society, Osaka, 29-32, 2010.
- 4) Nomura W, Serizawa Y, Ohashi N, Okubo Y, Narumi T, Yoshida K, Furuta T, Tamamura H. Caged DAG-Lactones for Study of Cellular Signaling in a Spatial-and Temporal Specific Manner. *Peptide Science 2009*, Kouji Okamoto (Ed.), The Japanese peptide Society, Osaka, 347-348, 2010.
- 5) Ohashi N, Nomura W, Narumi T, Okubo Y, Ikura T, Ito N, Yoshida K, Lewin NE, Blumberg PM, Tamamura H. Fluorescent-Based Orthogonal Sensing Methods for Double Evaluation in PKC Ligands Screening. *Peptide Science 2009*, Kouji Okamoto (Ed.), The Japanese peptide Society, Osaka, 353-354, 2010.

2. 学会発表

- 1) Tanaka T, Nomura W, Narumi T, Tamamura H. Elucidation of a Dimerization State of a Chemokine Receptor CXCR4 via Chemical Biology Approach Utilizing Novel Bivalent Ligands with Rigid Polyproline Linkers. The 13th Akabori Conference Leipzig 2010: Japanese-German Symposium on Peptide Science. Leipzig, Germany, Sep11-15, 2010.
- 2) Hashimoto C, Maddali K, Tanaka T, Narumi T, Nomura W, Yamamoto N, Pommier Y, Komano JA, Tamamura H. Peptidic HIV Integrase Inhibitors Derived from HIV Gene Products. 11th KUMAMOTO AIDS Seminer · GCOE Joint International Symposium. Kumamoto, Japan, Oct 6-8, 2010.
- 3) Ozaki T, Tanaka T, Narumi T, Arai H, Ohashi N, Hashimoto C, Nomura W, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura H. Structure-Activity Relationships of CXCR4 Antagonists Having the Dipicolylamine/Azamacro- Cyclic-Metal Complex Structures. 11th KUMAMOTO AIDS Seminer · GCOE Joint International Symposium. Kumamoto, Japan, Oct 6-8, 2010.
- 4) Arai H, Narumi T, Ochiai C, Yoshimura K, Harada S, Tanaka T, Nomura W, Ozaki T, Ohashi N, Matsushita S, Tamamura H. Development of Small CD4 Mimic Molecules that Induce Conformational Changes in gp120. 11th KUMAMOTO AIDS Seminer · GCOE Joint International Symposium. Kumamoto, Japan, Oct 6-8, 2010.
- 5) Nomura W, Ohashi N, Mori A, Narumi T, Tanaka T, Masuda A, Tsutsumi H, Tamamura H. Novel Tag-probe Pairs for Fluorescent Imaging of Proteins in Living Cells. 5th International Peptide Symposium. Kyoto, Japan, Dec 4-9, 2010.
- 6) Nomura W, Tanaka T, Masuda A, Narumi T, Tamamura H. Development of a Bivalent Ligand for a Chemokine Receptor CXCR4 by Utilizing Polyproline Helix as a Linker. 5th International Peptide Symposium. Kyoto, Japan, Dec 4-9, 2010.
- 7) Narumi T, Bode JW.  $\alpha,\alpha$ -Dichloroisoaxazolidinones for The Synthesis and Chemoselective Peptide Ligation of  $\alpha$ -Peptide  $\alpha$ -Ketoacids. 5th International Peptide Symposium. Kyoto, Japan, Dec 4-9, 2010.
- 8) Hashimoto C, Narumi T, Nomura W, Yamamoto N, Tamamura H. Synthesis and Evaluation of CXCR4-derived Peptides Targeting the Development of AIDS Vaccines. 5th International Peptide Symposium. Kyoto, Japan, Dec 4-9, 2010.
- 9) 野村 渉, 中原 徹, 大矢亜紀, 大庭賢二, 田中智博, 橋本知恵, 鳴海哲夫, 村上 努, 山本直樹, 玉村啓和. 合成抗原ペプチドによる HIV-1 gp41 の三量体構造を認識する抗体の誘導. 日本薬学会第 130 年会. 岡山, 2010 年 3 月 28-30 日.
- 10) 鳴海哲夫, 落合千裕, 山田裕子, 吉村和久, 原田恵嘉, 大橋南美, 野村 渉, 松下修三, 玉村啓和. HIV-1 外被タンパク質 gp120 の構造変化誘起を指向した低分子 CD4 ミミックの構造活性相関研究. 日本薬学会第 130 年会. 岡山, 2010 年 3 月 28-30 日.
- 11) 鳴海哲夫, 清家俊輔, 野村 渉, 玉村啓和. 新規アミド結合等価体クロロアルケン型ジペプチドイソスターの合成研究. 日本薬学会第 130 年会. 岡山, 2010 年 3 月 28-30 日.

- 12) 大橋南美, 野村 渉, 鳴海哲夫, 奥田善章, 伊倉貞吉, 伊藤暢聡, 吉田清嗣, NE. Lewin, PM. Blumberg, 玉村啓和. 蛍光を用いた PKC リガンド結合評価法の開発. 日本薬学会第 130 年会. 岡山, 2010 年 3 月 28-30 日.
- 13) 田中智博, 野村 渉, 鳴海哲夫, 玉村啓和. 二価型 CXCR4 リガンドの創製と二量体構造解析への応用. 日本薬学会第 130 年会. 岡山, 2010 年 3 月 28-30 日.
- 14) 橋本知恵, 野村 渉, 田中智博, 中原 徹, 鳴海哲夫, 大庭賢二, 村上 努, 山本 直樹, 玉村啓和. エイズワクチンを指向した宿主受容体 CXCR4 由来抗原分子の創製. 日本薬学会第 130 年会. 岡山, 2010 年 3 月 28-30 日.
- 15) 野村 渉, 大橋南美, 養 友明, 森 あつみ, 鳴海哲夫, 増田朱美, 堤 浩, 玉村啓和. 新規蛍光イメージングツールの創出: クロスリンク型 ZIP タグ-プローブペアの開発. 日本ケミカルバイオロジー学会 第 5 回年会. 横浜, 2010 年 5 月 18-19 日.
- 16) 鳴海哲夫, 清家俊輔, 野村 渉, 玉村啓和. 新規アミド結合等価体の創製研究. クロロアルケン型ジペプチドイソスターの合成研究. 日本ケミカルバイオロジー学会 第 5 回年会. 横浜, 2010 年 5 月 18-19 日.
- 17) 田中智博, 橋本知恵, 小森谷真央, 野村 渉, 鳴海哲夫, 吉村和久, 松下修三, 村上 努, 駒野 淳, 大庭賢二, 山本直樹, 玉村啓和. リバースからフォワードへケミカルゲノミクスを活用した抗 HIV 剤の創製. 日本ケミカルバイオロジー学会 第 5 回年会. 横浜, 2010 年 5 月 18-19 日.
- 18) 田中智博, 野村 渉, 鳴海哲夫, 増田朱美, 玉村啓和. 堅固なリンカーを有する二価結合型 CXCR4 リガンドの開発と応用. 日本ケミカルバイオロジー学会 第 5 回年会. 横浜, 2010 年 5 月 18-19 日.
- 19) 橋本知恵, 野村 渉, 中原 徹, 田中智博, 堤 浩, 長谷山正樹, 大庭賢二, 鳴海哲夫, 村上 努, 山本直樹, 玉村啓和. HIV 侵入の動的超分子機構を基にしたエイズワクチン開発. 日本ケミカルバイオロジー学会 第 5 回年会. 横浜, 2010 年 5 月 18-19 日.
- 20) 小森谷真央, 村上 努, 鈴木慎太郎, 鳴海哲夫, 野村 渉, 山本直樹, 玉村啓和. HIV-1 マトリックスタンパク質を基にした新規抗 HIV ペプチドの創出. 日本ケミカルバイオロジー学会 第 5 回年会. 横浜, 2010 年 5 月 18-19 日.
- 21) 野村 渉, 田中智博, 増田朱美, 鳴海哲夫, 玉村啓和. 2 価結合型リガンドの新規デザインによる CXCR4 の細胞表面における機能解析. 第 4 回バイオ関連化学シンポジウム. 大阪, 2010 年 9 月 24-26 日.
- 22) 野村 渉, 相馬 晃, 中原 徹, 大庭賢二, 田中智博, 橋本知恵, 鳴海哲夫, 山本直樹, 玉村啓和. HIV-gp41 の三量体構造に特異的な中和抗体を誘導する人工抗原ペプチド. 第 54 回日本薬学会関東支部大会. 東京, 2010 年 10 月 2 日.
- 23) 鳴海哲夫, 清家俊輔, 野村 渉, 玉村啓和. 新規アミド結合等価体クロロアルケン型ジペプチドイソスターの合成研究. 第 54 回日本薬学会関東支部大会. 東京, 2010 年 10 月 2 日.
- 24) 鳴海哲夫, 新井啓之, 落合千裕, 尾崎太郎, 吉村和久, 原田恵嘉, 野村 渉, 松下修三, 玉村啓和. HIV 外被タンパク質 gp120 の構造変化誘起を指向した低分子 CD4 ミミックの創製. 第 54 回日本薬学会関東支部大会. 東京, 2010 年 10 月 2 日.
- 25) 橋本知恵, 鳴海哲夫, 野村 渉, 山本直樹, 玉村啓和. HIV-1 侵入機構を基にした宿主細胞タンパク質由来抗原分子の創製. 第 54 回日本薬学会関東支部大会. 東京, 2010 年 10 月 2 日.

- 26) 小森谷真央, 村上 努, 田中智博, 鈴木慎太郎, 鳴海哲夫, 野村 涉, 山本直樹, 玉村啓和. HIV-1 マトリックスタンパク質を基にした新規抗 HIV ペプチドの創出. 第 54 回日本薬学会関東支部大会. 東京, 2010 年 10 月 2 日.
- 27) 尾崎太郎, 田中智博, 鳴海哲夫, 新井啓之, 大橋南美, 橋本知恵, 野村 涉, 村上 努, 玉村啓和. 二核亜鉛錯体型 CXCR4 アンタゴニストの構造活性相関研究. 第 54 回日本薬学会関東支部大会. 東京, 2010 年 10 月 2 日.
- 28) 森 あつみ, 野村 涉, , 大橋南美, 玉村啓和. 細胞内タンパク質の鳴海哲夫挙動解明を志向したタグ・プローブシステムの開発. 第 54 回日本薬学会関東支部大会. 東京, 2010 年 10 月 2 日.
- 29) 野村 涉, 中原 徹, 橋本知恵, 大庭賢二, 相馬 晃, 田中智博, 鳴海哲夫, 山本直樹, 玉村啓和. HIV 侵入の動的超分子機構を模倣した立体構造特異的人工抗原分子の創製. 第 36 回反応と合成の進歩シンポジウム. 愛知, 2010 年 11 月 1-2 日.
- 30) 鳴海哲夫, 清家俊輔, 尾崎太郎, 新井啓之, 野村 涉, 玉村啓和. 有機銅試薬によるクロロアルケン型ジペプチドイソスターの合成研究. 第 36 回反応と合成の進歩シンポジウム. 愛知, 2010 年 11 月 1-2 日.
- 31) 小森谷真央, 村上 努, 鳴海哲夫, 野村 涉, 山本直樹, 玉村啓和. マトリックスタンパク質を基にした新規抗 HIV ペプチド. 第 29 回メディシナルケミストリーシンポジウム. 京都, 2010 年 11 月 17-19 日.
- 32) 鳴海哲夫, 新井啓之, 落合千裕, 吉村和久, 原田恵嘉, 野村 涉, 松下修三, 玉村啓和. HIV-1 外被タンパク質 gp120 の構造変化誘起を指向した低分子 CD4 ミミックの構造活性相関研究. 第 29 回メディシナルケミストリーシンポジウム. 京都, 2010 年 11 月 17-19 日.
- 33) 村上 努, 小森谷真央, 鈴木慎太郎, 橋本知恵, 鳴海哲夫, 野村 涉, 山本直樹, 玉村啓和. 細胞膜透過性 MA 部分ペプチドライブラリーを用いた新規抗 HIV-1 ペプチドの探索と創出. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会. 徳島, 2010 年 11 月 7-9 日.
- 34) 橋本知恵, 田中智博, 浦野恵美子, 尾崎太郎, 新井啓之, 鳴海哲夫, 野村 涉, Maddali K, Pommier Y, 山本直樹, 駒野 淳, 玉村啓和. HIV-1 遺伝子産物由来のインテグラーゼ阻害剤の創出. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会. 東京, 2010 年 11 月 24-26 日.
- 35) 鳴海哲夫, 新井啓之, 落合千裕, 尾崎太郎, 吉村和久, 原田恵嘉, 野村 涉, 松下修三, 玉村 啓和. HIV 外被タンパク質 gp120 の構造変化誘起を指向した低分子 CD4 ミミックの創製. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会. 東京, 2010 年 11 月 24-26 日.
- 36) 橋本知恵, 鳴海哲夫, 野村 涉, 中原 徹, 田中智博, 大庭賢二, 相馬 晃, 長谷山正樹, 村上 努, 山本直樹, 玉村啓和. HIV-1 侵入過程の動的超分子機構を基にした新規エイズワクチンの創製. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会. 東京, 2010 年 11 月 24-26 日.
- 37) 小森谷真央, 村上 努, 鈴木慎太郎, 鳴海哲夫, 野村 涉, 山本直樹, 玉村啓和. HIV-1 マトリックスタンパク質を基にした新規抗 HIV ペプチドの創出. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会. 東京, 2010 年 11 月 24-26 日.
- 38) 尾崎太郎, 田中智博, 宮内浩典, 橋本知恵, 鳴海哲夫, 野村 涉, 山本直樹, 駒野 淳, 玉村啓和. gp120 の CD4 結合サイトを模倣した新規抗原分子の創製. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会. 東京, 2010 年 11 月 24-26 日.
- 39) 鳴海哲夫, 新井啓之, 吉村和久, 原田恵嘉, 野村 涉, 松下修三, 玉村啓和. HIV-1 外被タンパク質 gp120 の構造変化誘起を指向した低分子 CD4 ミミックの創製研究. 日本薬学会第 131 年会(中止). 静岡, 2011



### 別紙 3

年 3 月 28-31 日.

- 40) 鳴海哲夫, 玉村啓和. イミダゾリウム塩の構造最適化を指向した構造活性相関研究. 日本薬学会第 131 年会 (中止). 静岡, 2011 年 3 月 28-31 日.

### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

#### 1. 特許取得

- 1) HIV 立体構造認識抗体誘導ペプチド抗原、及びその合成方法：国際出願番号 PCT/JP2010/003280