

戦略的国際共同研究プログラム(SICORP)

日本ーアメリカ共同研究

終了報告書 概要

1. 研究課題名：「新型コロナウイルス感染症治療薬合成のためのキーステップとなる反応の開発とそのメカニズム探求」
2. 研究期間：令和3年5月～令和5年3月
3. 主な参加研究者名：  
日本側チーム

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	庭山 聡美	教授	室蘭工業大学 大学院工学研究科	研究全体の統括
主たる共同研究者	平賀良和	教授	広島工業大学 生命学部食品生命科学科	共同研究者として一部の反応の研究
主たる共同研究者	Tatiana Barsukova	博士研究員	室蘭工業大学 大学院工学研究科	一部の反応の研究
研究参加者	高橋侑希	大学院生	室蘭工業大学 大学院工学研究科	一部の反応の研究
研究参加者	Mithun Kumar Debnath	博士研究員	室蘭工業大学 大学院工学研究科	一部の反応の研究
研究期間中の全参加研究者数			5名	

相手側チーム

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	Kendall Houk	Professor	University of California, Los Angeles	反応メカニズムの計算による研究
主たる共同研究者	Guochao Xu	Visiting Researcher, Associate Professor	University of California, Los Angeles, Jiangnan University	反応メカニズムの計算による研究
研究期間中の全参加研究者数			2名	

4. 国際共同研究の概要

新型コロナウイルス感染症は、変異株も含め全世界に広まったままだに収束していないが、既存の新型コロナ感染症治療薬は副作用が懸念されるため、薬効が高く、副作用の低い新しい治療薬を見出すことが急務である。そのためには多種類の類縁体を安価に大量に実用的な条件で合成し、スクリーニングする事が重要となる。新薬を安価で大量に合成するためには、環境に優しい条件で実用的に合成を可能にする反応が是非とも望ましい。そこで本研究では新型コロナウイルス感染症治療薬の合成のためのキーステップとなる、環境に優しい反応のメカニズム解明を目標とした研究を行なった。このキーステップとなる反応は、水を主溶媒とする対称化合物の非対称化反応であるが、そのような反応として、酵素による対称ジエステルの不斉モノ加水分解反応と、我々が以前報告した、酵素を用いない対称ジエステルの選択的モノ加水分解反応のメカニズムの探求を行った。我々は主として実験によるアプローチを、米国の共同研究者 Houk 教授は理論計算によるアプローチで探求した。さらにこのメカニズムにより得た知見を利用して、新型コロナウイルス感染症治療薬合成に有用と思われる、水を主溶媒とする他の非対称化反応の開発や、化合物の既知中間体をより高い光学活性で得るための酵素を見出す研究や、新型コロナウイルス感染症治療に

有効と期待される化合物の合成に取り組んだ。

## 5. 国際共同研究の成果

### 5-1 国際共同研究の学術成果および実施内容

より薬効が高く副作用の低い治療薬の開発のためには、構造の少しずつ異なった化合物を安価で環境に優しい実用的な条件で多種類合成し、スクリーニングすることが有効である。本研究では環境に優しく実用的な反応として、安価に大量に得られる対称化合物を、水を主とする溶媒中で非対称化する反応のメカニズム探求を中心に行った。特に本研究では米国チームとの共同研究により、対称ジエステルを豚肝臓エステラーゼにより不斉モノ加水分解する反応のメカニズムを計算化学の手法を用いて探求した。その結果、選択性を支配する要因として特定のアミノ酸残基と一方のエステル基との立体障害などが見出された。また日本側の研究チームでは対称ジエステルを酵素を用いず水を主とする溶媒中でモノ加水分解する反応のメカニズムを探求し、選択性の鍵となる反応中間体の検出を試みた。また理論計算により、対称ジエステルに存在する二つの等価なエステル基のうち二つ目のエステル基の加水分解反応に要するエネルギーの方が一つ目のエステル基の加水分解反応に要するエネルギーより高いことや、二つ目のエステル基の加水分解反応の遷移状態が不安定なことも突き止めた。さらには選択性のメカニズムに基づいて、水を主溶媒とする、他の対称化合物の非対称化反応も開発した。また対称ジエステルのモノ加水分解反応を利用し、新型コロナウイルス感染症治療薬として、現存の治療薬には存在しない骨格を持つ化合物群の合成にも取り組んだ。

### 5-2 国際共同研究による相乗効果

米国の共同研究者は計算化学の世界的な大家であるため、メカニズムに関して有用な知見が得られた他に、その研究室で **visiting researcher** として本研究に参加した中国の若手酵素化学者との共同研究もできた。そのため、実験室で作成した酵素を用いて不斉モノ加水分解を試したり、研究代表者が主催した国際会議に若手の講演者として招待するなどの学術交流も活発に行えた。この様なことが引き金となり、米国、中国、日本の3チームで更なる国際共同研究へと発展した。

### 5-3 国際共同研究成果の波及効果と今後の展望

また本研究活動には博士研究員の他に学部学生と大学院学生が参加し、結果は国際論文出版、国内外学会発表という成果となった。したがって本研究を通して問題解決能力を持つ国際的な若手人材を育成することに貢献した。また本研究では、環境に最も優しくかつ安価な溶媒である水を主な溶媒として、安価で大量入手が容易な対称化合物を出発物質とした有機反応のメカニズム探求とその応用・発展研究を行っているため、この研究活動は環境保護にも貢献した。本研究成果をもとに米国、中国、日本の同一メンバーによる国際共同研究をさらに継続する予定であり、更なる成果が期待される。

Strategic International Collaborative Research Program (SICORP)  
Japan–United States Joint Research Program  
Executive Summary of Final Report

1. Project title : 「Development of the key reaction and the mechanistic studies towards discovery of new anti-COVID-19 drugs」
2. Research period : May 2021 ~ March 2023
3. Main participants :  
Japan-side

	Name	Title	Affiliation	Role in the research project
PI	NIWAYAMA Satomi	Professor	Muroran Institute of Technology	Supervision of the project
Collaborator	HIRAGA, Yoshikazu	Professor	Hiroshima Institute of Technology	Mechanistic studies
Collaborator	BARSUKOVA, Tatiana	Postdoctoral fellow	Muroran Institute of Technology	Synthetic studies
Collaborator	TAKAHASHI Yuuki	Graduate Student	Muroran Institute of Technology	Theoretical studies
Collaborator	DEBNATH, Mithun Kumar	Postdoctoral fellow	Muroran Institute of Technology	Synthetic studies
Collaborator				
Total number of participants throughout the research period:				5

## Partner-side

	Name	Title	Affiliation	Role in the research project
PI	Kendall Houk	Professor	University of California, Los Angeles	Theoretical studies
Co-PI				
Co-PI				
Collaborator	Guochao Xu	Visiting Researcher, Associate Professor	University of California, Los Angeles, Jiangnan University	Theoretical studies
Collaborator				
Collaborator				
Total number of participants throughout the research period:				2

## 4. Summary of the international joint research

The development of new drugs against COVID-19 has been of paramount importance. Currently available drugs have some side effects. Synthesizing libraries of various derivatives for screening their anti-COVID activities is anticipated to be effective. In this research, we studied the key reactions that enable efficient production of libraries of drug candidates under environmentally benign and practical conditions.

Water is among the most environmentally friendly and least expensive solvents. Desymmetrization reactions of symmetric compounds are among the most cost-effective reactions because the starting symmetric compounds are typically easy to obtain on a large scale from inexpensive sources. Therefore, we studied these water-mediated

desymmetrization reactions from both the synthetic and mechanistic points of view focusing on enzymatic asymmetric monohydrolysis of prochiral symmetric diesters and the selective monohydrolysis reaction of symmetric diesters that the PI reported previously.

The mechanistic studies of enzymatic asymmetric monohydrolysis reactions were carried out in collaboration with Professor Kendall N. Houk, who is a computational organic chemist in the US. Experimental and theoretical studies of the mechanistic studies of the non-enzymatic selective monohydrolysis of symmetric diesters, the development of new water-mediated desymmetrization reactions, and synthetic studies of potential anti-COVID 19 compounds were carried out by the PI's research group.

## 5. Outcomes of the international joint research

### 5-1 Scientific outputs and implemented activities of the joint research

Screening various derivatives synthesized under environmentally benign and practical conditions is effective for the development of new drugs that exhibit higher efficacies and lower side-effects. This research was therefore primarily aimed at mechanistic studies of desymmetrization reactions of inexpensively obtained symmetric compounds in mainly aqueous media as such reactions. In collaboration with Professor Houk in the US, we conducted theoretical studies for the mechanisms of asymmetric monohydrolysis of a symmetric diester with pig liver esterase, and found that the factors controlling the selectivities derive from steric interference between the specific amino acid residues and one of the two identical ester groups. The PI with the Japan team studied the mechanism of the non-enzymatic selective monohydrolysis reactions of symmetric diesters in mainly aqueous media and tried to detect potential reaction intermediates that govern the selectivities. We also conducted theoretical studies of the said reaction and found that the energy barrier for the hydrolysis of the second ester group is higher than that of the first ester group. We also found that the transition state for the second monohydrolysis is very unstable. We further developed other kinds of water-mediated desymmetrization reactions based on the mechanism. In addition, by applying the selective nonhydrolysis of symmetric diesters, we tried synthesizing a library of compounds with a new skeleton which may serve as new drugs for the treatment of COVID-19.

### 5-2 Synergistic effects of the joint research

The collaborator in the US is an authority on theoretical organic chemistry, and thus we were able to obtain useful information about the mechanisms of the monohydrolysis reactions described above. Furthermore, a young enzymologist visiting in Professor Houk's laboratory from China, Professor Guochao Xu, participated in our research, and we were able to screen the enzymes he prepared for the asymmetric selective monohydrolysis of symmetric diesters in addition to obtaining the mechanistic insight by the theoretical studies. The PI also invited Professor Xu to deliver a lecture at an international symposium.

### 5-3 Scientific, industrial or societal impacts/effects of the outputs

Some undergraduate and graduate students in addition to postdoctoral fellows participated in this research, leading to international publications and domestic and international conference presentations. This research thus provided opportunities to foster young international scientists problem-solving abilities. This research also studies environmentally benign and practical reactions and therefore contributed to the protection of the environment. We will continue the international collaborations among the same members and therefore additional outcomes are anticipated.

## 国際共同研究における主要な研究成果リスト

### 1. 論文発表等

\*原著論文 (相手側研究チームとの共著論文)

該当なし

\*原著論文 (相手側研究チームを含まない日本側研究チームの論文) : 発表件数 : 計 2 件

・査読有り : 発表件数 : 計 2 件

1. Hiraga, Y.; Chaki, S.; Uyama, Y.; Hoshide, R.; Karaki, T.; Nagata, D.; Yoshimoto, K.; Niwayama, S.  $^{13}\text{C}$  NMR Spectroscopic Studies of Intra- and Intermolecular Interactions of Amino Acid Derivatives and Peptide Derivatives in Solutions. *Organics* **2022**, *3*, 38-58. DOI: doi.org/10.3390/org3010003 (Feature Paper, Invited contribution, cover image に選出された)

2. Barsukova, T.; Sato, T.; Takumi, H.; Niwayama, S. Efficient and Practical Synthesis of Monoalkyl Oxalates under Green Conditions. *RSC Adv.* **2022**, *12*, 25669-25674. (2022 RSC Advances Popular Advances Collection に選出された) DOI: 10.1039/D2RA04419F

・査読無し

該当なし

\*その他の著作物 (相手側研究チームとの共著総説、書籍など)

該当なし

\*その他の著作物 (相手側研究チームを含まない日本側研究チームの総説、書籍など)

該当なし

### 2. 学会発表

\*口頭発表 (相手側研究チームとの連名発表)

該当なし

\*口頭発表 (相手側研究チームを含まない日本側研究チームの発表)

発表件数 : 計 6 件 (うち招待講演 : 5 件)

庭山聡美 “シアル酸転移酵素の阻害作用を有する化合物の合成研究”

2022 年 2 月 27 日、KNIT 共同研究交流発表会

Niwayama, S. “Highly Efficient Selective Monohydrolysis of Symmetric Diesters”

August 2022, Rationally Modified Smart Peptides and Proteins for Fundamental Studies and Practical Applications: Hokkaido-Germany-Okinawa Trilateral Symposium, Sapporo, Japan

Niwayama, S. “Practical Selective Monohydrolysis of Symmetric Diesters and Applications.”

June 2022, 2022 International Symposium for Advanced Materials Research, Online

庭山聡美 “材料と名前のつく研究領域のひろーい世界”

2021 年 9 月 24 日、異分野 meetup2021 研究サロン (オンライン)

Niwayama, S. "Highly Efficient and Practical Selective Monohydrolysis Reactions of Symmetric Diesters and Their Applications" Asia Pacific Society for Materials Research 2021 Annual Meeting, Online, 2021/8/21

Barsukova, T.; Sato, T.; Takumi, H.; Niwayama, S. "Synthetic Studies of Half-esters of Oxalic Acid" 日本化学会北海道支部 2021 年夏季研究発表会、online, 2021/7/17

\* ポスター発表 (相手側研究チームとの連名発表)  
該当なし

\* ポスター発表 (相手側研究チームを含まない日本側研究チームの発表)  
発表件数 : 計 7 件

1. 長田研人、松嶋聖太、高橋侑希、庭山聡美 "Theoretical Studies for Investigation of the Mechanisms of the Practical Selective Monohydrolysis of Symmetric Diesters" 2023 年 3 月 日本化学会年会 (野田)

2. Barsukova, T.; Iwaki, K.; Niwayama, S. "Synthetic Studies of Sialyl Donor Analogues via a Novel Buffer-Mediated Rearrangement for Finding Sialyltransferase Inhibitors." August 2022, American Chemical Society National Meeting, Online and U. S. A.

3. Barsukova, T. ; Sato, T.; Takumi, H.; Niwayama, S. "Practical Synthesis of Monoalkyl Oxalates." March 2022, American Chemical Society National Meeting, Online and U. S. A.

4. Niwayama, S. "Development of Highly Efficient and Practical Selective Monohydrolysis of Symmetric Diesters and the Career Pathways in the US and Japan behind the Research." December 2021, International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2021), Online

5. Barsukova, T.; 岩城 匡佑、庭山聡美 "対称ジエステルの環境に優しい高選択的モノ加水分解反応にともなう新規位置特異的転位反応とその応用" 2021 年 9 月 基礎有機化学討論会 (オンライン)

6. Osada, K.; Matsushima, S.; Takahashi, Y.; Niwayama, S. "Theoretical Studies on the Mechanisms of the Highly Efficient Selective Monohydrolysis Reactions of Symmetric Diesters" August 2021, American Chemical Society National Meeting, Online and U. S. A.

7 長田研人、松嶋聖太、高橋侑希、庭山聡美 "対称ジエステルの高選択的モノ加水分解反応のメカニズムの理論計算による考察" 2021 年 6 月 万有札幌シンポジウム (オンライン)

### 3. 主催したワークショップ・セミナー・シンポジウム等の開催

1. Asia Pacific Society for Materials Research 2022 Annual Meeting  
主催者 : Yingxue Song、オンライン 2022 年 8 月 19 日~22 日 参加者数 60 名程度

2. Asia Pacific Society for Materials Research 2021 Annual Meeting  
主催者 : Yingxue Song、オンライン 2021 年 8 月 20 日~22 日 参加者数 70 名程度

#### 4. 研究交流の実績（主要な実績）

日本、米国、中国の3者間の間で E-mail により常時連絡を取り合った。

Asia Pacific Society for Materials Research 2022 Annual Meeting には中国の Xu 准教授を講演者に招待した。

#### 5. 特許出願

該当なし

#### 6. 受賞・新聞報道等

Materials Research Contribution Award 2021 年 8 月 22 日

#### 7. その他

【市民向けアウトリーチ活動】

・2022 年 10 月 27 日

出前授業 <水を利用した有機合成化学—酵素反応からヒントを得て>  
函館中部高校出前授業にて、高校生に本プログラムの研究を紹介した。