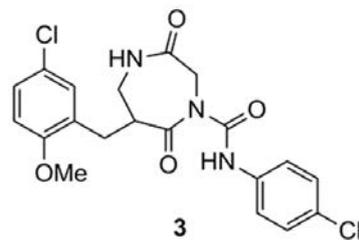


| | | | | | | | | | | |
|---|----------|---|-----|-------|-------------------------------------|-------|------------------------------------|----|------------------------|----------|
| 報告番号 | 甲 (乙) 第 | 号 | 氏 名 | 田中 太作 | | | | | | |
| 主 論 文 題 名 : アトピー性皮膚炎治療薬を志向した、キマーゼを阻害する化合物の分子設計と合成に関する研究 | | | | | | | | | | |
| (内容の要旨) | | | | | | | | | | |
| <p>本研究は、著者がアスピオファーマ株式会社で行った「アトピー性皮膚炎治療に有効なキマーゼ阻害剤の創製」に関わる分子設計・合成を内容とする。論文は序章、第1章～第7章で構成されている。序章では、まず研究の背景として、生体内におけるキマーゼの意義、酵素の触媒サイト構造と阻害剤の設計コンセプト(P₁ site、prime site 等)に関わる、基礎事項について述べた。</p> | | | | | | | | | | |
| <p>次いで、その阻害がアトピー性皮膚炎治療に寄与する可能性、循環系等へ懸念される悪影響に対する予測、類似する加水分解酵素と比較して、その立体構造の差異等について言及した。さらに、本研究開始以前の探索研究、具体的には基質に類似するペプチド系およびそれらのミミック、ライブラリーからクリーニングによって見いだされてきた阻害剤について紹介した。その中からシーズとして選んだ候補化合物 1 の <i>in vivo</i> 活性の向上を目指し、分子設計・合成の指針を示した。このシーズは、著者が所属したサントリー生物医学研究所から見出されていた化合物である。血中半減期が非常に短いという大きな欠点を有していた。</p> | | | | | | | | | | |
| <p>第1章および第2章では、まず、1 に含まれ、非常に求核攻撃を受けやすいと推定したスルホニルイミド構造をメチレン基の挿入により解消してスルホンアミド 2 とした。この際、キマーゼの S₁ hole との親和性および原料入手の容易さを考慮し、P₁ site を独立させたジアゼパン骨格としてい</p> | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| | | <p style="text-align: center;">1</p> | | | | | | | | |
| | | <table border="1"> <tr> <td>ヒトキマーゼ に対するIC₅₀ (μM)</td> <td>0.13</td> </tr> <tr> <td>マウス血中半減期 T_{1/2} (min)</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>有意な抑制を示す 投与量(mg/kg)</td> <td>50 (腹腔内)</td> </tr> </table> | | | ヒトキマーゼ に対するIC ₅₀ (μM) | 0.13 | マウス血中半減期 T _{1/2} (min) | 7 | 有意な抑制を示す 投与量(mg/kg) | 50 (腹腔内) |
| ヒトキマーゼ に対するIC ₅₀ (μM) | 0.13 | | | | | | | | | |
| マウス血中半減期 T _{1/2} (min) | 7 | | | | | | | | | |
| 有意な抑制を示す 投与量(mg/kg) | 50 (腹腔内) | | | | | | | | | |
| | | <p style="text-align: center;">2</p> | | | | | | | | |
| | | <table border="1"> <tr> <td>ヒトキマーゼ に対するIC₅₀ (μM)</td> <td>0.034</td> </tr> <tr> <td>マウス血中半減期 T_{1/2} (min)</td> <td>18</td> </tr> </table> | | | ヒトキマーゼ に対するIC ₅₀ (μM) | 0.034 | マウス血中半減期 T _{1/2} (min) | 18 | | |
| ヒトキマーゼ に対するIC ₅₀ (μM) | 0.034 | | | | | | | | | |
| マウス血中半減期 T _{1/2} (min) | 18 | | | | | | | | | |
| | | <p style="text-align: center;">Ser¹⁹⁵</p> | | | | | | | | |

る。置換ベンズアルデヒドを含む三成分からさまざまな化合物を合成した。高い活性を示したものの、安定性はまだ不十分であった。共同研究者により酵素に対する持続的・非可逆的阻害が観察され、X線構造解析で共有結合した複合体が確認された。そこで、電子求引性の強いスルホニル基をカルバモイル基に置き換えたところ、安定性が大幅に向上した化合物 **3** を得た。しかし、活性は大幅に低下してしまった。

第3章および第4章では、活性回復を目指し、酵素の S_2 site との相互作用を念頭に、一炭素挿入して $prime$ site をベンジル型とし、さらに S_1' site と効果的に相互作用しうるアルキル基、 S_2' site と効果的に相互作用しうる極性官能基を $prime$ site 芳香環に導入した。これらの検討を通じ、活性が回復した阻害剤 **4a** および **4b** を見出した。

4a および **4b** は2カ所の不斉中心を有し、4種の立体異性体の混合物である。第5章では、不斉合成と化合物の単結晶 X 線結晶構造を組み合わせる、演繹的な新しい方法で全立体異性体の立体化学を決定した。

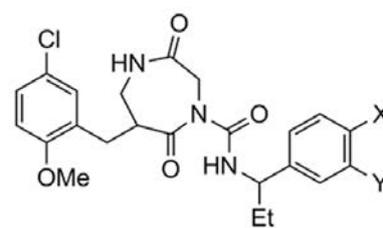


ヒトキマーゼ
に対するIC₅₀ (μM)

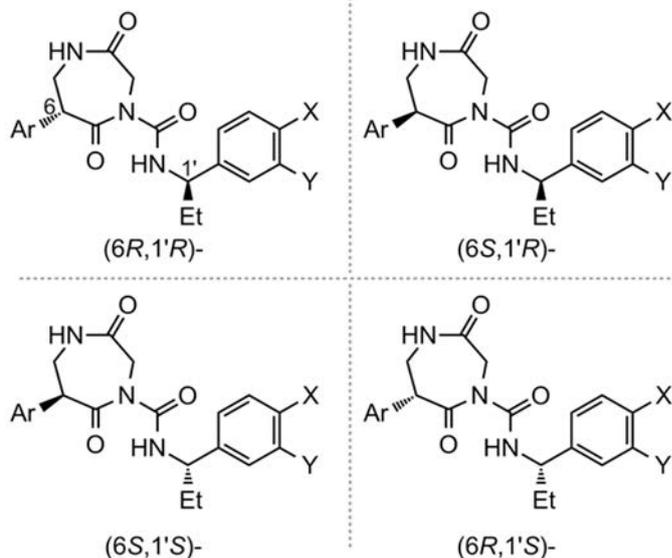
5.4

マウス血中半減期
T_{1/2} (min)

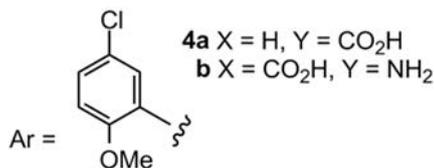
60



4a X = H, Y = CO₂H
b X = CO₂H, Y = NH₂



| 絶対立体配置 | | ヒトキマーゼ に対する IC ₅₀ (μM) | |
|--------|----|---|-----------|
| 6 | 1' | 4a | 4b |
| R | R | 0.24 | 0.30 |
| S | S | >10 | >10 |
| S | R | 3.1 | 0.17 |
| R | S | >10 | >10 |



さらに、立体化学と活性の相関を明らかにした。(6R,1R')-体が **4a**, **b** とともに強い活性を示した。阻害剤の分子設計の段階でキマーゼとドッキングシミュレーションを試みていたが、その時点で、最もドッキングスコアが高かった立体異性体である。**4b** においては(6S,1R')-体の活性がわずかながら(6R,1R')-体のそれを上回った。

第6章では、本研究で合成した化合物を含む、さまざまな阻害剤とキマーゼの共結晶X線構造解析から得られる情報に基づき、阻害剤-キマーゼの相互作用様式を比較した。他社で創製された阻害剤の多くは、S₂ site を含めた non-prime site のみに置換基のほとんどの部分が収容されている。それに対し、本研究で見出した**4**は、prime site との相互作用が強いという対照的な結果であった。キマーゼ阻害剤の分子設計に、これまでにない視点を加えた。

| 化合物 | ヒトキマーゼ に対するIC ₅₀ (μM) | マウス血漿中半減期 T _{1/2} (min) | 有意な抑制を示す 投与量(mg/kg) |
|---------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| 2 | 0.034 | 18 | 2.0 (経口) |
| 3 | 5.4 | > 60 | 10.0 (経口) |
| (6R,1'R)- 4b | 0.3 | 60 | 2.0 (経口) |
| (6S,1'R)- 4b | 0.17 | 54 | 0.4 (経口) |

第7章では、第4章までに得られた化合物の生体内半減期、*in vivo* 皮膚炎モデルにおける活性について言及し、本研究を総括した。

以上、当初候補とした**1**から、ドッキングシミュレーションに基づく、触媒サイト-阻害剤の部分構造の相互作用に関する作業仮説を基盤に、さまざまな化合物を有機合成した。その結果、生体内における安定性を大幅に増した阻害剤**4**にまで改良され、*in vivo* 活性の向上を達成、アトピー性皮膚炎治療への可能性を示した。

公刊論文

- 1) Tanaka, T.; Muto, T.; Maruoka, H.; Imajo, S.; Fukami, H.; Tomimori, Y.; Fukuda, Y.; Nakatsuka, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3431-3434.
- 2) Maruoka, H.; Muto, T.; Tanaka, T.; Imajo, S.; Tomimori, Y.; Fukuda, Y.; Nakatsuka, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3435-3439.
- 3) Tanaka, T.; Sugawara, H.; Maruoka, H.; Imajo, S.; Muto, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21* 4233-4249.