

氏名	てら 寺	さか 坂	ただ 忠	し 嗣
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)			
学位記番号	論 薬 博 第 713 号			
学位授与の日付	平 成 16 年 7 月 23 日			
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当			
学位論文題目	Structure-Based Drug Design による新規非ヌクレオシド体アデノシン デアミナーゼ阻害剤の創出研究			
論文調査委員	(主 査) 教 授 杉 浦 幸 雄	教 授 富 岡 清	教 授 藤 井 信 孝	

論 文 内 容 の 要 旨

アデノシンデアミナーゼ (ADA) はプリンヌクレオシドの分解経路に属する酵素の一つであり、アデノシン (Ado) からイノシンへの非可逆的脱アミノ化を触媒する。体内において ADA は免疫系の維持に重要な役割を果たす一方、慢性関節リウマチや白血病などの多くの疾患で ADA 異常が報告されている。近年、Ado の抗炎症作用が報告されており、活性化リンパ球上の ADA が炎症部位に放出された Ado を分解し、慢性炎症を引き起こすと考えられている。従って、Ado の分解を抑制する ADA 阻害剤は炎症部位特異的に Ado 濃度を変え、かつ副作用の少ない抗炎症剤となる可能性がある。

これまでに多くの ADA 阻害剤が報告されているがそれらは全てヌクレオシド類縁体であるため、経口吸収性や代謝安定性が乏しく、重篤な毒性を示すなど医薬品としての問題があった。そのため、ADA 阻害剤として Pentostatin が唯一臨床に用いられているが、その使用はヘアリーセル白血病の成人患者への静脈内投与に限られている。そこで著者は、毒性を軽減し、かつ経口活性を有する新規 ADA 阻害剤の創出を目指し、本研究を行なった。

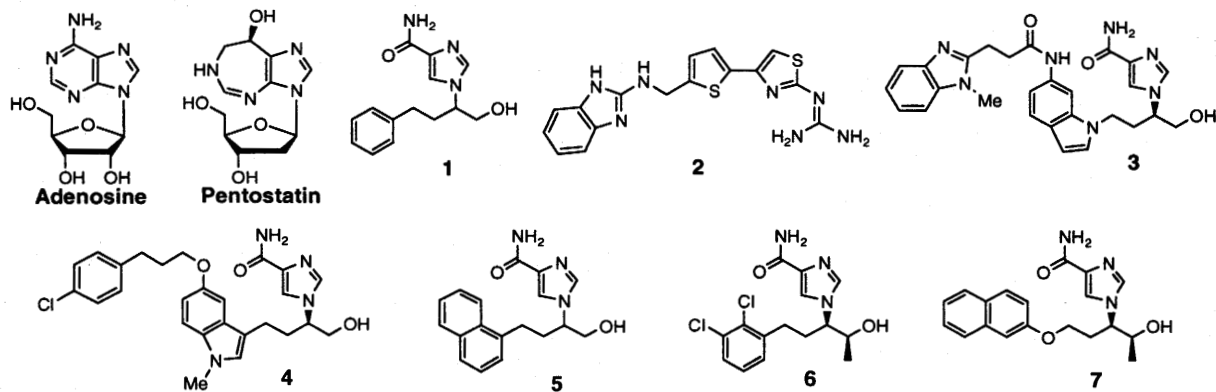
既存の ADA 阻害剤の問題は、ヌクレオシド骨格によるものと考え、非ヌクレオシド骨格を有するリード化合物の探索を行なった。まず、基質タイプ阻害剤と ADA との複合体結晶構造を基にした Structure-Based Drug Design (SBDD) から、 μM オーダーの活性と良好な薬物動態を有する、非ヌクレオシド体リード化合物 1 の創出に成功した。一方、上記探索と平行して行った化合物ライブラリーのランダムスクリーニングから、細胞毒性を示すものの、 μM オーダーの活性を有し、かつ Ado や既存の ADA 阻害剤と全く異なるユニークな構造を持つ非ヌクレオシド体リード化合物 2 を見出した。

化合物 1 と 2、それぞれの ADA との複合体結晶構造解析を実施した結果、いずれも酵素内のコンフォメーション変化を起こし、基質タイプ阻害剤に比べ活性部位の形状を大きく変え、新たな広い疎水性空間が形成されていることを明らかにした。これらは同様な構造変化にもかかわらず、化合物 2 はこの疎水性空間を用いて酵素と結合しているのに対し、化合物 1 は全く用いていなかった。そこで、この構造情報を利用し、より活性な阻害剤の効率的な創出を目指し、二つのリード化合物のハイブリッド化を試みた。化合物 2 の毒性発現部位と考えられるグアニジノ基を化合物 1 に置き換えるハイブリッド化を、計算化学的知見も取り込むことにより、僅か 2 回の SBDD サイクルにより達成し (Intentional Lead Hybridization), nM オーダーの活性を有し、かつ毒性を軽減した化合物 3 の創出に成功した。

更に、化合物 3 を基にした SBDD による最適化研究から、本研究で新たに見出した疎水性空間を用いて酵素と結合する新規 ADA 阻害剤の構造活性相関を明らかにすると共に、活性、及び体内動態を共に改善した化合物 4 を創出した。

一方、化合物 1、2 のハイブリッド化の過程で見出した化合物 5 を基にした SBDD 並びに酸化的代謝を抑えるデザインも行い、化合物 3 と同等まで活性を向上させると共に、良好な溶解性、経口吸収性、並びにバイオアベイラビリティを有する化合物 6、及び 7 を創出した。化合物 6 は炎症、並びに白血病の *in vivo* モデルで有効性を示しており、これは ADA 阻害剤として経口投与で有効性を示した最初の例である。

以上、著者は本研究により、高活性かつ経口活性な新規非ヌクレオシド体 ADA 阻害剤の創出に成功した。また、その過程で ADA の新たな活性部位の形状、並びに構造活性相関を明らかにした。本知見は今後の ADA 阻害剤の研究に対して重



要な指針を与えるものである。更に、本研究で用いた Intentional Lead Hybridization の概念は、ADA 阻害剤のみならず、多くの薬物デザインに適応可能であり、今後の効率的な薬物設計に対し新規な一手法を提供するものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

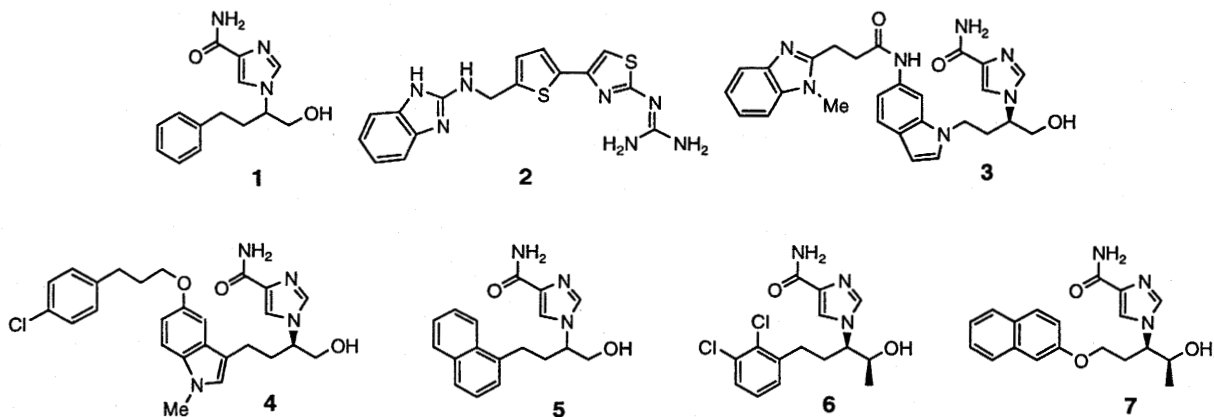
アデノシンデアミナーゼ (ADA) 阻害剤は、現在用いられている抗腫瘍剤としてだけでなく、抗炎症及び免疫抑制剤となる可能性があることが示唆されている。これまでに多くの ADA 阻害剤が報告されているがそれらは全てヌクレオシド類縁体であるため、経口吸収性や代謝安定性が乏しく、また重篤な毒性を示すなど医薬品としての問題があった。本研究では毒性を軽減し、かつ経口活性を有する新規 ADA 阻害剤の創出を目指し、困難とされるヌクレオシド骨格の非ヌクレオシド骨格への変換に着手し、それを達成すると共に以下のような価値ある知見を得た。

既存の ADA 阻害剤の問題は、ヌクレオシド骨格によるものとの仮説を立て、非ヌクレオシド骨格を有するリード化合物の探索を行った。まず、基質型阻害剤と ADA との複合体結晶構造を基にした Structure-Based Drug Design (SBDD) および化合物ライブラリーのランダムスクリーニングを並行して行い、それぞれから、 μM オーダーの活性を有し、かつお互いの構造が全く異なる非ヌクレオシド体リード化合物 1 と 2 を見出した。

次に、化合物 1 と 2、それぞれの ADA との複合体結晶構造解析を行い、いずれも酵素内のコンフォメーション変化を引き起こし、基質型阻害剤に比べ活性部位の形状を大きく変え、新たな広い疎水性空間が形成されていることを明らかにした。また、この構造情報を利用し、独自の仮説に基づいた理論的なリード化合物のハイブリッド化を、僅か 2 回の SBDD サイクルにより達成し (Intentional Lead Hybridization)、 nM オーダーの活性を有し、かつ毒性を軽減した化合物 3 を創出した。

更に、化合物 3 を基にした SBDD による最適化研究から、本研究で新たに見出した疎水性空間を用いて酵素と結合する新規 ADA 阻害剤について、その構造活性相関に加え複合体結晶構造解析データを詳細に示すと共に、活性及び体内動態を共に改善した化合物 4 を創出した。

一方、化合物 1 と 2 とのハイブリッド化の過程で見出した化合物 5 を基にした SBDD 並びに酸化的代謝を抑えるデザイ



ンから、高活性かつ経口活性な非ヌクレオシド体 ADA 阻害剤 6, 7 の創出にも成功した。

化合物 6 は炎症並びに白血病の *in vivo* モデルで有効性を示した。これは、ADA 阻害剤として経口投与で有効性を示した最初の例である。

以上、本研究は高活性かつ経口活性な新規非ヌクレオシド体 ADA 阻害剤の創出に成功し、またその過程で ADA の新たな活性部位の形状並びに構造活性相関を明らかにした。これらの成果は今後の ADA 阻害剤の研究に対して重要な知見を示すと共に、本研究で用いた Intentional Lead Hybridization の概念は ADA 阻害剤のみならず多くの薬物デザインに適用可能であり、今後の効率的な薬物設計に対しても新規な一手法を示したと考えられる。

よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

更に、平成16年6月15日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。