

## 審査の結果の要旨

氏名 西山 郵子

ステロイド骨格を有する生体内物質は、ステロイドホルモンや膜構成成分、胆汁酸などとして、発生、恒常性、免疫、代謝など非常に多岐に渡る生理活性を示すことが知られている。ステロイド骨格を有する生体内物質およびその類縁体を医薬として応用する場合、強力な薬理作用が期待される反面、多岐に渡る生理活性が副作用として発現することが危惧され、副作用と所望の薬理作用との分離が課題となる。ステロイド系薬剤において、副作用の分離が困難である一因として、ステロイド骨格を有する生理活性物質は、生体内で代謝されてもなお別の生理活性が発現することや、ステロイド骨格には、合成的に置換基の導入位置が制限される位置も存在するため構造展開に制限があること、などが挙げられる。このことから、西山の所属する研究室では、ステロイド骨格を代替する新規骨格を創出できれば、効率的なリード化合物の創出、また選択性の優れた副作用の少ないステロイド様作用を示す化合物の創出が可能と考えている。これまでに、ステロイド系内因性物質をリガンドとして認識する核内受容体肝臓X受容体 (Liver X receptor; LXR) に対して、フェナンスリジノン骨格を有する化合物がアンタゴニストとして作用することを見出している (図 1)。フェナンスリジノン骨格は剛直であることから、活性増強や選択性発現に有利である可能性、加えてフェナンスリジノンは周囲の多くの位置に置換基を容易に導入することが可能である。このことから西山は、フェナンスリジノン骨格がステロイド代替骨格として機能するとの仮説を立て、研究に着手した。

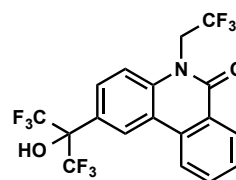


図 1. フェナンスリジノン骨格を有する LXR アンタゴニスト

第 2 章においては、フェナンスリジノン骨格をテンプレートとして化学修飾を施すことにより作成したフェナンスリジノンライブラリーの生物活性プロファイルについて記述されている。

ステロイド骨格を認識する標的タンパク質として、LXR, アンドロゲン受容体 (Androgen receptor; AR), 糖質コルチコイド受容体 (Glucocorticoid receptor; GR), プロゲステロン受容体 (Progesterone receptor; PR), レチノイド関連オーファン受容体 (Retinoid-related orphan receptor; ROR), レチノイド X 受容体 (Retinoid X receptor; RXR), および  $\alpha$ -グルコシダーゼを選択した。これらの活性評価結果は活性の強弱によるヒートマップで表し、フェナンスリジノン類縁体が評価したすべての標的タンパク質に対して活性を示すことを明らかにした (図 2)。

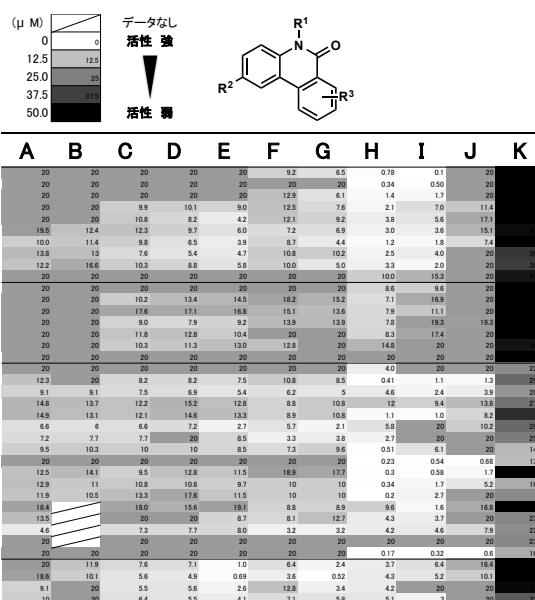


図 2. フェナンスリジノン類縁体の活性プロファイル。

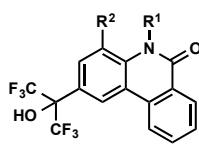
(A)RXR $\alpha$ , (B)RXR $\beta$ , (C)ROR $\alpha$ , (D)ROR $\beta$ , (E)ROR $\gamma$ , (F)LXR $\alpha$ , (G)LXR $\beta$ , (H)PR, (I)AR, (J)GR $\alpha$ , (K) $\alpha$ -glucosidase を示す。

第3章から第5章までは、ヒートマップをより詳細に解析し、リード化合物を選定することで構造展開、そして各標的分子に強い活性および選択性を有する化合物の創出を試みている。

第3章においては、ステロイドホルモン受容体アンタゴニストの創出を目指した。ステロイドホルモン受容体は、ステロイド骨格を有する化合物を認識する相同性の高いリガンド結合領域を有しているため、選択的リガンドを見出すことが困難であることが知られている。PR アンタゴニストであるミフェプリストン (RU486) は、ステロイド骨格を有する強い活性を持つ化合物であるが、AR や GR にも作用するため、副作用が懸念されている。

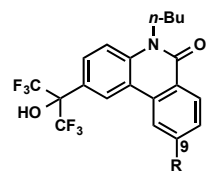
ヒートマップの解析から、ラクタム窒素上の置換基が短くなるほど AR および PR に対するアンタゴニスト活性が強くなること、4位に置換基を導入することで、PR に対する活性が強くなることが示唆された。そこで、化合物 **1** をリードとして、さらなる構造展開により、PR に対して約8倍、GR に対して200倍以上選択的な AR アンタゴニスト **2** および AR、GR に対して200倍以上選択的な PR アンタゴニスト **3** を見出した。これらの化合物は、LXR, ROR, RXR,  $\alpha$ -グルコシダーゼに対しても高い選択性を示した。このことから、遺伝子の相同性の高い核内受容体のグループ間でもフェナンスリジノン骨格を用いて高い選択性を有する化合物の創出が可能であることが示唆された。

表 1. AR および PR のアンタゴニスト活性



compd	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (μM)	
			AR	PR
HF	-	-	0.26	-
RU486	-	-	-	0.000057
<b>1</b>	Me	H	0.50	0.34
<b>2</b>	H	H	0.10	0.78
<b>3</b>	H	Me	>20	0.09
<b>4</b>	H	Et	14	0.21
<b>5</b>	H	Pr	5.4	0.37

表 2. ROR インバーサゴニスト活性



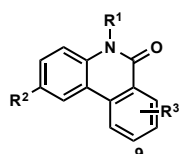
compd	R	IC <sub>50</sub> (μM)		
		ROR $\alpha$	ROR $\beta$	ROR $\gamma$
T1317	H	>20	NA	6.5
<b>6</b>	H	9.8	6.5	3.9
<b>7</b>	OMe	5.3	7.7	1.1
<b>8</b>	Cl	5.6	4.9	0.69
<b>9</b>	CF <sub>3</sub>	5.5	5.6	2.6
<b>10</b>	OH	6.4	5.5	4.1

第4章においては、ROR サブタイプ選択的なリガンドの創出を目指した。ROR には  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  の3つのサブタイプが存在し、近年の研究の進展により、ROR 選択的に阻害することは自己免疫疾患や代謝異常の治療に有望であることがわかってきた。特に、ROR $\gamma$  は肝臓、脂肪組織、筋組織などに多く発現し、炎症や代謝の制御を担っているとされており、さかんに研究されている。代表的な LXR アゴニスト T0901317 (T1317) が ROR インバーサゴニスト活性を示すなどの報告が研究当時であったものの ROR リガンドの報告は少なく、構造活性相関も不明であった。そこで、フェナンスリジノン類縁体の ROR インバーサゴニスト活性を評価し、ヒートマップの解析を行った。その結果、ラクタム窒素上の *n*-ブチル基、2位のヘキサフルオロプロパノール構造および9位の置換基が ROR サブタイプの選択性に寄与している可能性が示唆された。さらなる9位の構造展開の結果、クロル基を導入することで、ROR $\alpha$ , ROR $\beta$  に対して ROR $\gamma$  の活性がそれぞれ約8倍、7倍と選択性の獲得および活性の向上に成功した。

第5章においては、 $\alpha$ -グルコシダーゼ選択的阻害剤の創出を目指した。 $\alpha$ -グルコシダーゼは小腸上皮細胞において、糖の  $\alpha$ -グルコシド結合を加水分解する酵素

として知られている。現在治療などで用いられる  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤は、ほとんどが糖等価体の構造を有するものである。しかしながら、西山の所属する研究室ではこれまでに、糖等価体ではない LXR リガンドに  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を有すること、また  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤として報告されているゲニステインは LXR アンタゴニスト活性を示すことを発見している。これらのことから、LXR リガンドとして見出されたフェナンスリジノン骨格を有する化合物が  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を有する可能性が考えられた。予想通り、フェナンスリジノン骨格を有する化合物に  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性が認められ、ヒートマップの解析から  $\alpha$ -グルコシダーゼの阻害活性には、ラクタム窒素上や2位の置換基の疎水性、嵩高さが重要であること、および9位の置換基には親水性が好まれることが示唆された。そこで、強い阻害活性を示した置換基を組み合わせたところ、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性の向上および LXR との活性分離に成功した。化合物 **14** は、Lineweaver-Burk プロットによる阻害様式の検討では、非競合阻害を示した。

表 3.  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性



cmpd	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	IC <sub>50</sub> (μM)		
				$\alpha$ -glucosidase	LXR $\alpha$	LXR $\beta$
DNJ	-	-	-	130	-	-
<b>2</b>	H	HO(CF <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> C	H	59	9.2	6.5
<b>11</b>	<i>n</i> -Hex	HO(CF <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> C	H	39	11	11
<b>12</b>	<i>n</i> -Bu	<i>n</i> -Hex	H	46	13	>20
<b>13</b>	<i>n</i> -Bu	HO(CF <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> C	9-OH	32	7.1	5.8
<b>14</b>	<i>n</i> -Hex	<i>n</i> -Hex	9-OH	8.5	NA	NA

以上西山は、フェナンスリジノン骨格を用いてステロイド骨格を認識する複数の標的に対する化合物を効率的に創出できたことから、フェナンスリジノン骨格がステロイド骨格の代替構造として機能することを実験的に示した。その中には選択的リガンドや多重薬理作用を示す化合物もあることから、マルチテンプレート法の発展的方法として利用できることが期待される。また見出した化合物をケミカルツールとして、タンパク質の機能解明などに応用できると考えている。本研究結果は医薬化学研究に大きく貢献するものであり、博士（薬科学）の授与に値するものと認められる。