

## 審査の結果の要旨

氏名 岩田 依子

医薬品の開発において、酵素の三次元構造に基づく阻害剤の相互作用解析と設計、そして関連する方法の構築の研究は重要である。本論文では、アルドース還元酵素, MAP kinase p38 とゼラチナーゼについて、三次元構造データに基づく阻害剤の設計と方法の開発の研究をまとめたものである。

アルドース還元酵素 (AR) の阻害剤は糖尿病合併症の治療薬となり得ると考えられる。研究では、まず、AR の三次元構造に基づいて阻害剤の設計と合成を行った。構造データを利用する際には、His, Asn と Gln の側鎖の flip の有無と His 側鎖の水素付加型の評価が必要なことから、簡便で効果的な評価プログラムを開発した。AR の三次元構造におけるリガンド結合部位を標的として試薬の三次元構造データベース検索を行なって 718 種の化合物を選び出し、そのなかから 36 種の化合物に絞り込んで AR 阻害活性を調べた。阻害活性が高いものが 10 種得られ、そのうち  $IC_{50}$  が  $10 \mu\text{M}$  以下のものが 3 個であった。最高の活性を示した化合物 1 (図 1) は、興味深いことにインドメタシンであった。これをリード化合物として構造の最適化を行ない、 $IC_{50}$  が  $0.21 \mu\text{M}$  と強力な化合物 2 を得ている。

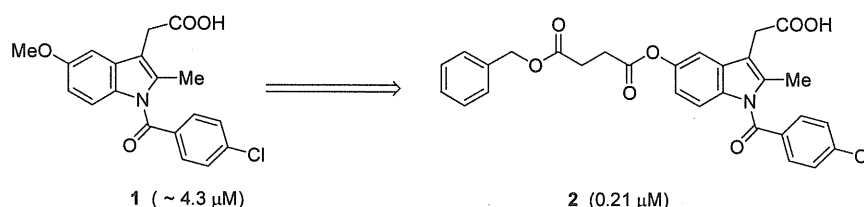


図 1. 化合物 1 からの構造変換 (阻害活性値)

リガンド結合部位にフィットすると考えられる構造を自動構築する *LEGEND* プログラムを利用した *de novo* 設計法により AR 阻害剤を 200 種設計し、相互作用エネルギーの評価を経て代表的な化合物を 30 個選択した。そのうち、図 2 に示すように設計化合物 3 と 4 と、設計構造 5 によく似た化合物 6 と 7 を合成した。合成化合物すべてに  $IC_{50}$  が  $17\sim 91 \mu\text{M}$  の AR 阻害活性が確認された。これは、標的構造に基づく *de novo* 設計が、非ペプチド性の新規 AR 阻害剤のリード化合物を与えることを示す初の例である。

IL- $1\beta$  や TNF- $\alpha$  の炎症性サイトカインの産生を抑制する MAP kinase p38 の阻害剤について、研究では、その三次元構造に基づいた各阻害剤との相互作用解析を行っている。こうして得られた一連のピリジルピロール化合物の MAP kinase p38 阻害活性は  $IC_{50}$  が  $0.007\sim 0.054 \mu\text{M}$  であり、中心骨格がイミダゾール環と異なるものの、類似の全体構造を有する既知化合物 (SB203580) に比べても強力であった。これは、本研究の相互作用解析が阻

害剤の構造修飾に有用であることを示すものである。

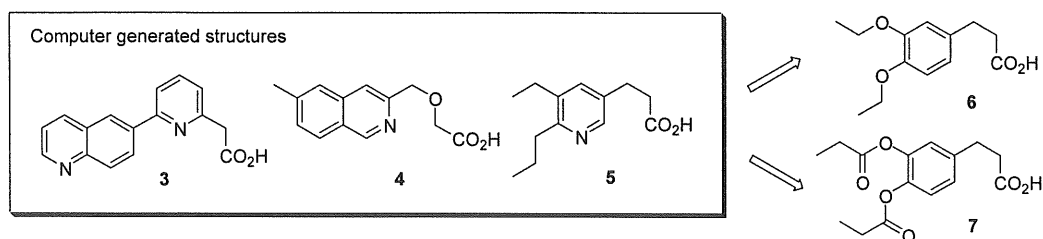


図 2. 設計化合物 3 - 5 と合成化合物 6 と 7

ゼラチナーゼは、IV型コラーゲンから構成される血管の基底膜を破壊することにより癌転移を引き起こすことが知られており、その阻害剤は癌転移阻害剤になり得ると考えられる。ゼラチナーゼのX線結晶構造解析は未だ行われていないため、その活性ドメインと約56%のホモロジーを有するコラーゲナーゼの三次元構造を研究では採用した。コラーゲナーゼの座標データが未公開であったため、 $C_{\alpha}$ 原子をプロットしたステレオ図から  $C_{\alpha}$ 座標を算出するプログラムを開発し、コラーゲナーゼの構造を再構築した。ホモロジーモデリング法によりまずゼラチナーゼ構造 A を、後に公開されたコラーゲナーゼの構造から同様にゼラチナーゼ構造 B を構築した。双方の構造に基づくドッキングで見出したアミド型阻害剤が、コラーゲナーゼ複合体の結晶構造における他のアミド型阻害剤と同様の結合様式をとること、ヘキサヒドロピリダジン型阻害剤はゼラチナーゼの主要なアミノ酸残基と水素結合を形成すること、疎水性相互作用はアミド型と同様になることを提示している。スルホンアミド型阻害剤は、最近報告された他の類似のスルホンアミド型阻害剤の複合体モデルにおける結合様式と基本的に同一であることも指摘している。このように、本論文は、アミド型、ヘキサヒドロピリダジン型、スルホンアミド型の阻害剤の結合様式を比較し、阻害剤開発に向けた構造活性相関解析への有用な知見を提供している。

本論文の研究では、X線結晶構造解析による酵素の三次元構造に基づいて、三次元構造データベース検索と *de novo* 設計法を適用することにより、新規な AR 阻害剤が得られることを示した。MAP kinase p38 では、酵素と阻害剤の相互作用を三次元構造に基づいて解析し、阻害剤の構造修飾の有用性を示した。ゼラチナーゼでは、ホモロジーモデリングによって三次元構造を構築し、阻害剤の相互作用解析と結合様式比較による構造活性相関解析を展開した。これら研究の過程では、酵素の三次元構造に基づく阻害剤の相互作用解析と分子モデリング設計に有用なプログラムを開発した。よって、本論文は、蛋白質の構造生物学、計算化学と創薬科学の面から薬学の進歩に貢献するものであり、博士（薬学）の学位の授与に値するものと認められる。