

[別紙2]

審査の結果の要旨

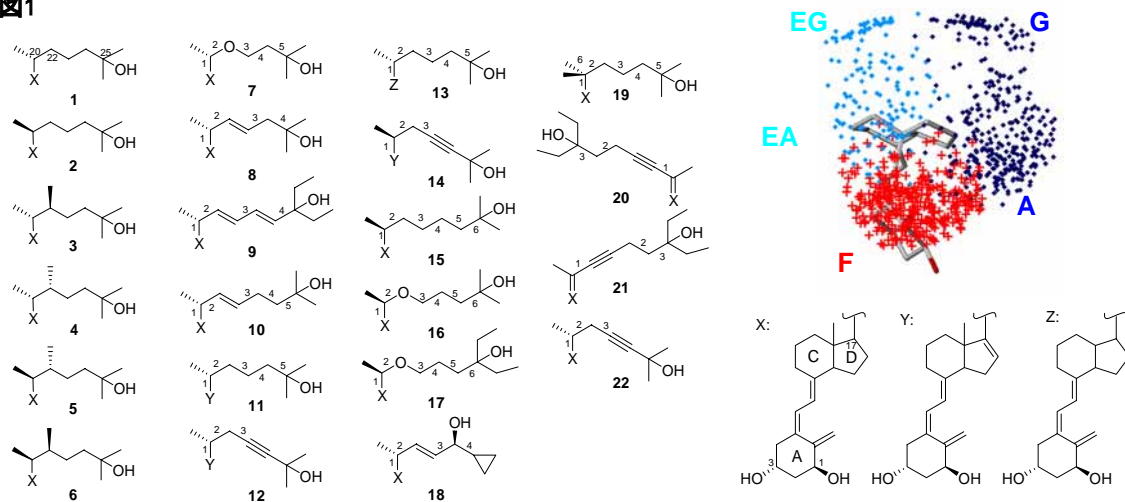
氏名 増野 弘 幸

増野弘幸は「ビタミン D の構造活性相関とビタミン D 受容体リガンド結合領域の立体構造モデル」と題し以下の研究を行った。

1. ビタミンの側鎖コンフォメーションと活性の関係

活性型ビタミンDである 1,25(OH)₂D₃ (1)は多様な生理作用を持つホルモンであり、医薬品への応用を目指して多くのアナログの開発が行われている。ビタミンD誘導体の構造と活性の関係について系統立てた研究はなかったが、山本らは 1 およびその 20-エピ体(2)、22-アルキル化ビタミンD誘導体 3~4 のコンフォメーション解析を行い、ビタミンDアナログの 25 位水酸基の占有領域がA, G, EA, EGの 4 つに分けられ、ビタミンD受容体(VDR)への親和性はEA, A, G, EGの順であることを明らかにし、これをビタミンDアナログの活性側鎖空間領域概念(ASRC)として提唱した。

図1



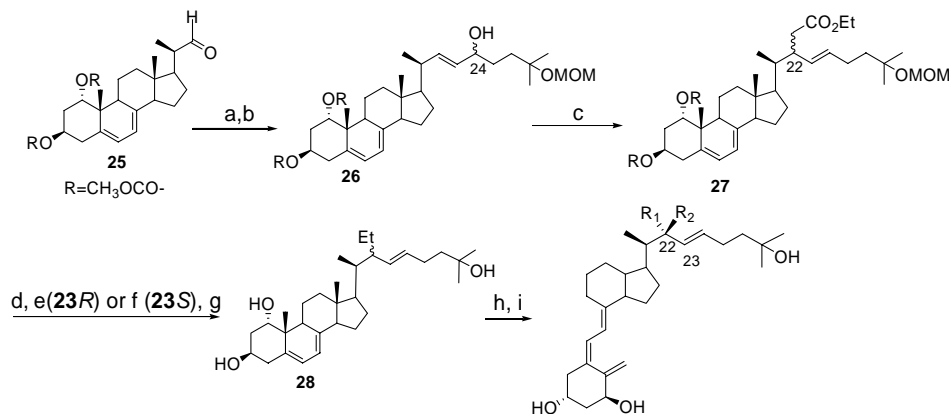
ASRCを既知のビタミンDアナログに適用しようと、それらから 16 種(7~22)を選択し、同様の解析を行った。方法は、(1)それぞれの化合物の側鎖の最安定コンフォメーションを求め、(2)それを初期構造とし側鎖の自由回転可能な結合を 30 度ずつ回転させ、存在可能なすべてのコンフォマーを発生させた。(3)それぞれのコンフォマーについて 25 位水酸基の位置を空間的にプロットしたドットマップを作成した。図 1 右上に 22-oxa-1,25(OH)₂D₃ (7)の場合について赤いドットで示す。その結果、新たな活性領域として、作用分離アナログとして知られる化合物が共通して占有するF領域が存在すること、ASRCが多くの化合物に適用できること、ASRCはVDR親和性だけではなく、転写活性、分化誘導活性、カルシウム活性に適用できることを明らかにした。

2. ASRC に基づく新規活性アナログの設計と合成

ASRC に基づき新規ビタミン D アナログの設計合成を行った。側鎖コンフォメーション制御に有効な 22-アルキル基をもち、EA 領域を占有する 23、および EG 領域を占有する 24 を設計した。25 から誘導された 26 を基質とし、Claisen 転位を行い、22 位に置換基を導入した。22 位をエチル

基に変換し、脱保護を行った後、光反応、熱異性化により目的物へと導いた。

図2



23 (22R) R₁=Et, R₂=H
24 (22S) R₁=H, R₂=Et

(a) LDA, CH₃CO(CH₂)₂C(CH₃)₂OMOM, THF, -78 °C; (b) NaBH₄, CeCl₃ · 7H₂O, MeOH, Pyridine or Zn(BH₄)₂, Et₂O (22, 54%); (c) CH₃C(OEt)₃, EtCOOH, toluene, reflux (23, 74%); (d) DIBAL, CH₂Cl₂, -20 °C; (e) TsCl, Pyridine, 0 °C or I₂, PPh₃, Imidazole, THF; (f) LAH, THF, reflux or NaBH₄, DMSO; (g) TsOH, 95% EtOH, reflux (24R, 43%; 24S 14%); (h) hv (i) r.t, 2 weeks (19, 54%; 20, 26%).

表1

Compounds	領域	VDR 親和性	転写活性	分化誘導活性	血清カルシウム溶出
1,25(OH) ₂ D ₃ (1)	A + G	100	100	100	100
23 (22R)	EA	14	2500	9800	140
24 (22S)	EG	0.2	33	77	38

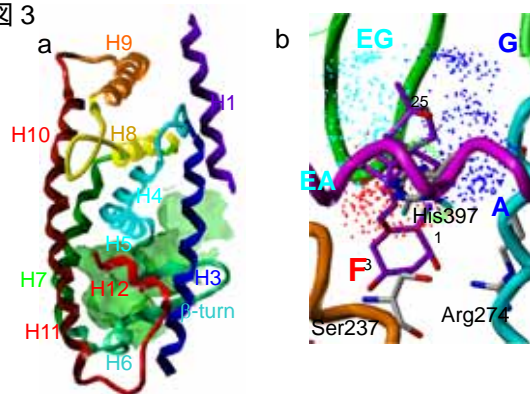
活性を測定した結果(表 1) ,

ASRC から予測される結果と一致した。これは ASRC が活性アナログの設計にも有効であることを示している。またビタミン D アナログ

22 位アルキル化の方法として Claisen 転位が使用できることを明らかにした。

3. ビタミン D 受容体(VDR)のホモロジーモデルの作成とドッキングモデル

図 3



続いてビタミン D 受容体(VDR)のリガンド認識メカニズムを明らかにしようとした。VDR の立体構造は明らかでなかったため、同じ核内受容体(NR)であるレチノイン酸受容体(RAR)リガンド結合領域(LBD)の構造を鋳型としてホモロジーモデリングの手法により構築した。鋳型は既知 NR-LBD の構造を詳細に比較検討し選択した。モデルは立体構造パラメータにより妥当性を評価した。続いてリガンドのドッキングモデルを構築した。

既知 NR-LBD 結晶構造を比較し、リガンドと水素結合を形成する残基の候補を選択した。それらをアラニンに置換した変異受容体のリガンド親和性、転写活性を測定し、水素結合残基を特定した。その結果図 3b に示すドッキングモデルを構築した。このモデルはほぼ同時に報告された VDR-LBD の結晶構造により明らかにされた 1 位および 25 位水酸基の水素結合残基を正確に予測することに成功している。これは構築したモデルの精度の高さを示している。

以上の業績は、薬学分野における医薬品化学の進歩に有意に貢献するものであり、博士(薬学)の授与に値するものと考えられる。