

論文の内容の要旨

論文題目： ステロイド代替構造となるジフェニルペンタン骨格を用いた
生理活性物質の創製

氏名： 細田 信之介

【序論】

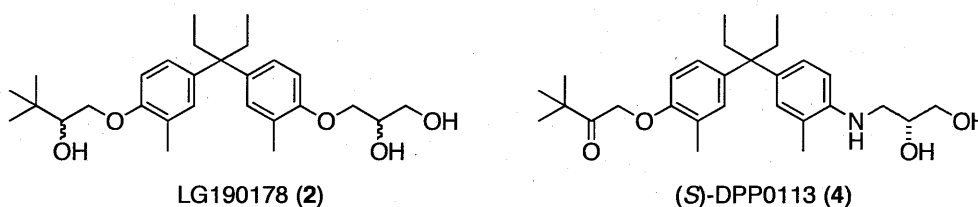
ヒト体内には数万種ものタンパク質が存在しているが、そのドメインの形状(フォールド)は多くとも 1,000 種類程度に分類されると予測されている。すなわち複数のタンパク質ドメインが同一のフォールドを持つことになり、このようなドメインに適合するリガンド骨格は、複数のタンパク質に対するリガンドテンプレートになりうると考えられる。このようなリガンド共通構造を我々はマルチテンプレートと呼んでいる。創薬におけるリード化合物探索やケミカルバイオロジーにおけるライブラリ構築において、マルチテンプレートを基に構造展開を行うことで効率的なリードおよびリード化合物の創出が可能になると考えられる。

ステロイド骨格は天然のマルチテンプレートであると言える。ヒト体内において様々なステロイド化合物が、ホルモンをはじめとした各種生理活性物質として機能している。例えばステロイドホルモンは、対応する核内受容体を介してヒトの発生・生殖を制御している。またセコステロイド骨格を有する活性型ビタミンD₃も、ビタミンD受容体 (VDR) を介して細胞の分化誘導や骨代謝調節などの機能を発現しており、現在では内因性ホルモンの一種と見なされている。さらにコレステロールは多くのステロイド前駆体として重要である。コレステロール代謝物であるオキシステロールや胆汁酸は、それぞれ核内受容体である LXR, FXR のリガンドであり、脂質代謝を制御していると考えられている。さらに二次胆汁酸であるリトコール酸が VDR の内因性アゴニストであり、胆汁酸調節に関与していることが示唆されている。

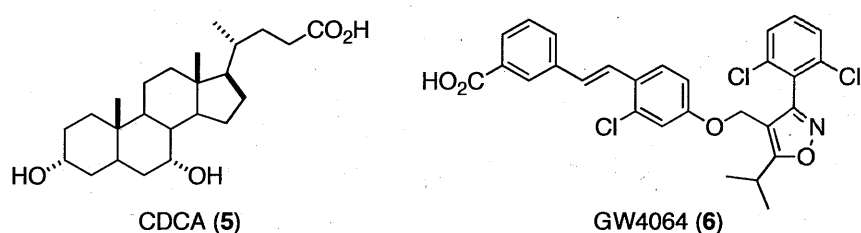
天然物・合成誘導体を問わず多くのステロイド誘導体が医薬品として用いられているが、ステロイド骨格では置換基導入の位置に限られるため、誘導体展開には限界がある。またターゲット以外の核内受容体への選択性が一般に低いこと、体内で代謝を受けやすいなどの問題点を有している。ターゲットタンパク質に合わせてデザインされた非ステロイド型誘導体もこれまでに多く創製されているが、ステロイド骨格以外の共通骨格はこれまでに存在していなかった。そこで私は本研究において、ステロイド代替骨格の探索とマルチテンプレートとしての実証を行った。

【核内受容体リガンド共通構造としてのジフェニルペンタン骨格】

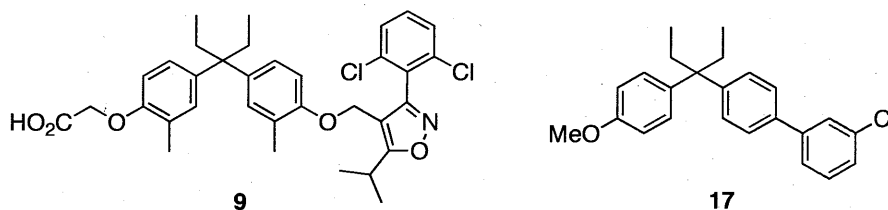
私は修士課程に於いて VDR リガンドとして知られていた 3,3-ジフェニルペンタン (DPP) 誘導体 **2** の構造展開を行い、VDR ではなくアンドロゲン受容体 (AR) 選択的に結合する **4** を見出した。VDR, AR のいずれもステロイドをリガンドとして認識することから、DPP 骨格がステロイドに代わる核内受容体リガンドテンプレートになりうると考え、他の核内受容体に対して DPP 骨格によるリガンド創製を試みた。



FXR も CDCA (**5**) などのステロイド誘導体を内因性リガンドとしているため、DPP 骨格による FXR リガンド創製が可能であると考えた。そこで既知の合成 FXR アゴニストである GW4064 (**6**) のイソキサゾール構造を DPP 骨格に導入した **9** をデザイン・合成し、FXR リガンドとなりうるか検証を行った。



9 は、内因性リガンドである CDCA (**5**, $EC_{50} = 11.7 \mu\text{M}$) を上回る強いアゴニスト活性を示した ($EC_{50} = 3.4 \mu\text{M}$)。さらに **9** は $10 \mu\text{M}$ にて他の核内受容体を転写活性化せず、FXR 選択的アゴニストであることを明らかにした。

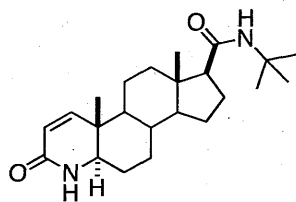


また同様の手法を用いて、同じく核内受容体であるプロゲステロン受容体 (PR) に対する DPP 型アンタゴニスト **17** の創製にも成功した。これら DPP 誘導体は合成も容易であり、高い受容体選択性を示しているものも認められることから、DPP 骨格がステロイド骨格に代わる新たな核内受容体リガンド共通テンプレートとして機能することが示唆された。

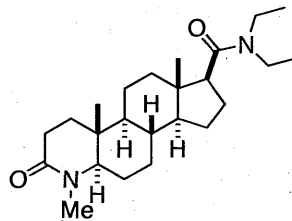
【DPP 骨格による 5 α 還元酵素阻害剤の創製】

DPP 骨格がステロイド代替骨格として機能するならば、核内受容体以外のターゲットタンパク質にも有用なテンプレートになりうることを期待される。そこでステロイド型阻害剤が知られている 5 α 還元酵素 (5 α R) に着目し、DPP 骨格による阻害剤創製を試みた。

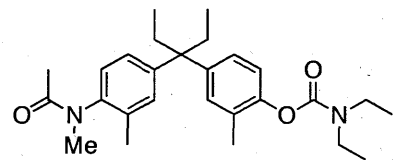
5 α R はステロイド産生酵素の一つであり、特にテストステロンの代謝活性化酵素として重要である。テストステロンの活性本体であるジヒドロテストステロン (DHT) の産生が過剰になると、前立腺肥大症・前立腺癌・男性型脱毛症が増悪することが知られている。フィナステリド (**18**) などの 5 α R 阻害薬は DHT の産生を抑制するため、前立腺肥大症や男性型脱毛症の治療薬として臨床適用されている。



Finasteride (**18**)



4-MA (**20**)

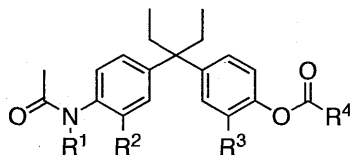


21a

既知のステロイド型 5 α R 阻害剤である 4-MA (**20**) を基に、DPP 骨格を有する **21a** をデザインし、更に構造最適化を行った。阻害活性はヒト前立腺癌細胞 LNCaP 中の 5 α R に対する阻害率で評価した (Table 1)。構造最適化の結果、競合阻害を示す **36k** ($IC_{50} = 0.84 \mu M$) を見出している。これにより、DPP 骨格が核内受容体以外のターゲットに対してもステロイド代替骨格として機能しうることを示された。








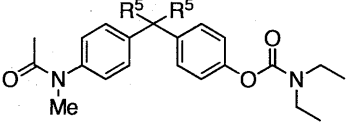
Table 1. 5 α R inhibitory activities of DPP derivatives.

Compound	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	5 α R inhibition at 10 μM (%)	IC ₅₀ (μM)
25a	H	Me	Me	NEt ₂	17	
21a	Me	Me	Me	NEt ₂	22	
21b	Me	H	Me	NEt ₂	56	
21c	Me	Me	H	NEt ₂	25	
21d	Me	H	H	NEt ₂	57	9.2
36b	Me	H	H	N(<i>n</i> -Pr) ₂	77	2.9
36e	Me	H	H	<i>N</i> -piperidyl	68	4.7
36g	Me	H	H	<i>N</i> -morpholyl	15	
36k	Me	H	H	NBn ₂	91	0.84



また、化合物 **21d** をベースとして中央骨格の構造活性相関の検討を行った。その結果、核内受容体 VDR および AR に対するリガンド創製の場合と同様に、ジエチル基(すなわち DPP 骨格)を持つ **21d** 以外では活性が低下した(Table 2)。これより、DPP 骨格がステロイド代替骨格として最も適切であり、ジエチル基がそのコンフォメーション維持に必須であることが示唆された。

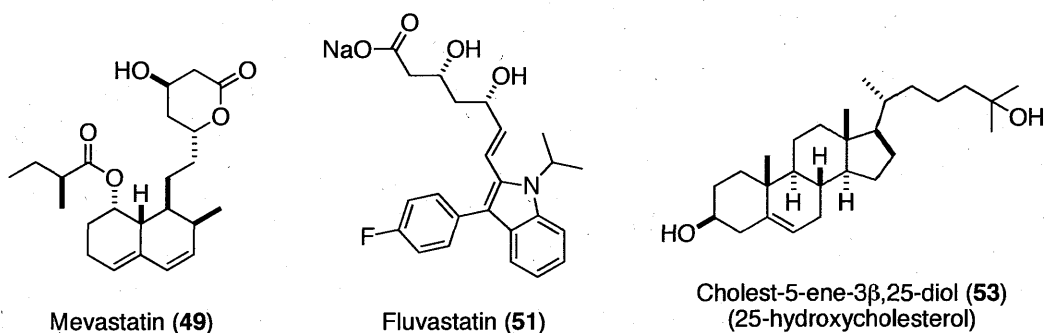
Table 2. SAR of diphenyl-X analogs.

compound							
	30a	21d (DPP)	30b	30c	30d	30e	30f
5 α R inhibition at 10 μ M	16%	56%	27%	16%	5%	46%	25%

【DPP 骨格による HMG-CoA 還元酵素阻害剤の創製】

HMG-CoA 還元酵素 (HMGR) はコレステロール生合成経路における律速酵素である。フルバスタチン (**51**) などのスタチン系と総称される既存の HMGR 阻害薬は、コレステロール生合成を抑制し肝細胞 LDL 受容体の発現量を増加させるため、血中コレステロール量取り込み量が増大してこれを低下させる。

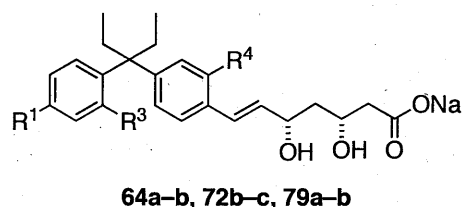
一方で HMGR は血中コレステロール量により負のフィードバックを受けており、25-hydroxycholesterol (**53**) などのコレステロール代謝物は *in vitro* で HMGR に対する阻害作用を示す。よって、DPP 骨格を用いてコレステロール代謝物を模倣することで、新規骨格による HMGR 阻害剤が創製できると考えた。またフルバスタチン (**51**) 等の構造比較から、スタチン類の主要なファーマコフォアは *p*-フルオロフェニル基とメバロン酸類似側鎖と考えられる。そこで Fragment-based drug design (FBDD) および focused library の手法を取り入れ、ステロイド代替骨格となる DPP 骨格へこれらのファーマコフォアを導入することで、新規構造を有する HMGR 阻害剤の創製を試みた。



合成した DPP 型誘導体についてマウス肝ミクロソームを用いた阻害試験を行ったところ (Table 3)、R⁴ 無置換の **64a** は阻害活性を示さなかったが、R⁴ にイソプロピル基を導入した **64b** には阻害活性が認められたことから、R⁴ への疎水性置換基の導入が活性向上に必須であるこ

とが示唆された。フルオロフェニル基の導入位置を検討した結果、R⁴に導入した**79b**が最も高い活性を示した (IC₅₀ = 0.15 μM)。

Table 3. HMGR-inhibitory activity of DPP derivatives.



Compound	R ¹	R ³	R ⁴	IC ₅₀ (μM)
64a	F	H	H	N.A.
64b	F	H	<i>i</i> -Pr	2.2
72b	H	F	<i>i</i> -Pr	7.4
72c	H	H	<i>i</i> -Pr	1.8
79a	H	H	Ph	0.85
79b	H	H	4-F-Ph	0.15
Mevastatin (49)				0.040

以上のように、FBDDの手法を用いDPP骨格に既知のフラグメントを導入することで、新規骨格を有するHMGR阻害剤の創製に成功した。この結果は、DPP骨格がFBDD手法に対しても有効に機能しうる、汎用性の高い骨格であることを意味している。

【総括】

私は本研究において、ステロイド骨格をマルチテンプレートであると捉えた上で、より医薬化学的に扱いやすい代替構造としてDPP骨格を見出した。各種核内受容体に対するリガンドやステロイド代謝酵素阻害剤の創製を行い、DPP骨格がステロイド骨格に代わるマルチテンプレートとして、またFBDDにおけるテンプレートとして機能しうることを実証した。本研究の手法はリード化合物の効率的創出を実現するための新たな創薬手法になりうると考えている。