

## 論 文 内 容 の 要 旨

氏 名	中 村 真 也
学位の種類	博 士 (薬学)
学位記番号	薬 第 1 0 5 号
学位授与の日付	平 成 2 4 年 1 2 月 1 5 日
学位授与の要件	学位規程第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	サラシノールをシード化合物とする新規 $\alpha$ -グル コシダーゼ阻害化合物の論理的ドラッグデザイン と構造活性相関研究

論文審査委員 (主 査)	教授	仲 西	功
(副主査)	教授	村 岡	修
(副 査)	教授	鈴 木	茂 生

中村真也氏の博士学位論文は、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を有するサラシノールをもとに新規化合物をデザインし、より高活性なサラシノール誘導体を見出すことを目的としている。本論文においては、薬物の標的となるタンパク質との複合体構造を元に化合物デザインを行う、Structure-based drug design (SBDD) と呼ばれる手法を用いて、サラシノールをシード化合物とする  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤の論理的デザインと構造活性相関研究が 4 章にわたって論述されている。

糖尿病は生活習慣病の一つであり、合併症として網膜症、腎症、神経障害などの多くの重篤な障害を併発する。そのため糖尿病の治療は重要であり、血糖値を低下させることが治療の指針となる。経口で摂取されたデンプンや糖質は小腸刷子縁膜に存在する  $\alpha$ -グルコシダーゼによって単糖類へと最終的に消化され、体内に吸収されることで血糖値を上昇させる。 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害薬は、アミラーゼにより分解されたオリゴ糖の単糖類への分解を触媒する  $\alpha$ -グルコシダーゼを阻害することで、糖の吸収を抑え、血糖値の上昇をおさえる働きを持つ。 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害薬は比較的穏和作用を持つと言われているが、現在臨床で使用されているボグリボースやアカルボースなどで、いずれも肝毒性などの副作用が報告されていることから、より安全性の高い新規な  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害薬が期待される。一方で、アーユルヴェーダと呼ばれるインド伝統医学において糖尿病の治療のために用いられるサラシア属植物から、その有効成分としてサラシノールやコタラノールが単離され、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を持つことが明らかになっている。

本論文の第 1 章では、サラシノールと  $\alpha$ -グルコシダーゼの触媒ドメインの一つである NtMGAM (マルターゼグルコアミラーゼの N 末端側触媒ドメイン) との結合様式について検討している。予測された結合様式は、既存のサラシノール類縁体の構造活性相関を説明可能であり、静電相互作用と van der Waals 相互作用とのバランスによって阻害活性の差が説明できることを示した。この結合様式は、後に報告された複合体構造の実験値とも良く一致していた。また、この結果から、サラシノールの硫酸基を疎水性基に置き換えた化合物でより高活性が期待できることを提言した。

第 2 章では、サラシノールの結合様式にもとづいてデザインされた化合物の構造活性相関について議論を行っている。第 1 章の知見をもとにデザインした疎水性基を有する化合物のうち、ベンジル基を有する化合物はサラシノールの 10 倍の阻害活性を示した。そこで、この化合物のフェニル基にメチル基、クロロ基、トリフルオロメチル基およびニトロ基のいずれかの置換基を、オルト位、メタ位あるいはパラ位にそれぞれ導入した化合物について活性を予測したところ活性向上が期待できた。これらの化合物の合成と阻害活性評価の

## 論文審査結果の要旨

結果、オルト-ニトロベンジル基を導入した化合物は、サラシノールの 40 倍の阻害活性を示し、これは現時点で最も強い  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を持つ化合物である。しかし一連の化合物の構造活性相関については、正しく予測できない部分があり、これは  $\alpha$ -グルコシダーゼの別の触媒ドメインの影響が大きいためと考え、第 3 章以降にてその考察を行った。

第 3 章では、サラシノール類縁体と複数の  $\alpha$ -グルコシダーゼを対象とした横断的な構造活性相関解析について議論している。ヒト  $\alpha$ -グルコシダーゼにはマルターゼ・グルコアミラーゼ (MGAM) およびスクラーゼ・イソマルターゼ (SI) の 2 種が存在しており、これらはそれぞれの N 末端側に触媒活性ドメインを有している。これら計 4 つの触媒活性ドメイン (NtMGAM, NtSI, CtMGAM および CtSI) はすべて、糖尿病治療に重要なマルトースの加水分解作用を有しているため、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤はこれら全てに結合し、糖の分解を阻害する必要がある。CtMGAM および CtSI については立体構造が報告されていなかったため、ホモロジーモデリング手法により NtMGAM の構造から予測を行い、サラシノール類縁体の結合様式とともに比較を行っている。サラシノール類縁体の結合様式に関して、チオ糖部は 4 つのドメインで全て同じ相互作用様式であったが、疎水性の置換基は各ドメインのポケットの形状に応じて向きが変化しており、結合様式に統一した法則性は見いだせなかった。この結合位置の不定性は、化合物の構造のみからのデザインの難しさを示すものであり、標的タンパク質の構造に基づくデザインの重要性を示している。またサラシノール類縁体の  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性の構造活性相関については、4 つのドメイン全てとの結合親和性を考慮することにより、マルターゼ阻害活性を説明することができ、NtSI のみが関与するイソマルターゼ阻害活性についても説明することが可能であった。

第 4 章では、第 3 章で検討した CtMGAM の立体構造について複合体構造が近年報告されたため、この実験構造を用いた再検討について議論している。CtSI の構造を、NtMGAM より相溶性の高い CtMGAM の構造を鋳型としたホモロジーモデリングにより再び予測し検討を行った。その結果、C 末端側のドメインに特有の長い挿入ループによるポケットの形状変化に起因して、各化合物の結合様式は変化していた。しかし結合親和性の傾向に関しては、第 3 章で得られた結論と同一の結果が得られた。

本学位論文の総括として、現時点で最も強い  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を持つ化合物を創出したこと、また、 $\alpha$ -グルコシダーゼの 4 つの触媒ドメインを元に新規  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤の構造活性相関を検討できる予測モデルを構築できたことを成果としている。これにより、4 つの触媒ドメインに同時に親和性を持ち、現化合物よりもさらに親和性の高い化合物のデザインが可能になったと考えられ、本研究は新規  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害薬誕生のための重要な知見であると結ばれている。

中村真也氏の学位論文は、インド伝統医学アーユルベダで糖尿病治療薬として用いられている、デチンムル科サラシア属植物の活性成分として単離されたサラシノールを起点化合物とした論理的ドラッグデザインについて、 $\alpha$ -グルコシダーゼとサラシノールおよびその類縁体との相互作用に基づき、計算化学的手法を用いて詳細に検討を行った結果を 4 章にわたって述べている。

第 1 章では、サラシノールと  $\alpha$ -グルコシダーゼの触媒ドメインの一つである NtMGAM とのドッキング計算を行い、サラシノールの結合様式を明らかにすることで、より高活性な化合物の計算による予測を可能にしている。また、この予測結合様式については、後に報告された実験構造と比較することにより、その妥当性を検証している。

第 2 章では、前章で得られた知見をもとに創出された高活性化合物から、さらに活性向上を図ることを目的に新規化合物のデザインと活性予測を行い、より高活性な複数の化合物の創製に成功している。このうちオルト-ニトロベンジル基を有する類縁体は、同系統の化合物の中で最も強い活性を有する  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤であり、この成果は高く評価できる。

第 3 章では、第 2 章で算出した化合物活性の予測値と実測値に見られた若干の乖離についてその要因を解明すべく、NtMGAM を含む  $\alpha$ -グルコシダーゼの 4 種の触媒ドメインの横断的な構造活性相関を検討している。本章では、当時タンパク質の立体構造が報告されていなかった CtMGAM および CtSI についてはホモロジーモデリング法を用いて立体構造を構築した。その結果、糖尿病治療に最も重要なマルトース分解活性には 4 種の触媒ドメイン全てが関与していることを示し、各ドメインへの結合親和性を定性的に判断することで第 2 章における問題点の解決に成功している。また、計算結果から得られたサラシノール誘導体の結合様式はドメイン毎に異なっていることも明らかにしており、本研究における SBDD の重要性を示す結果として意義があると考えられる。

第 4 章では、近年になって立体構造が報告された CtMGAM の実験構造を用いて、再度 CtMGAM および CtSI についてサラシノール類縁体の結合様式と結合親和性を検討し、より妥当な予測モデルの構築を試みている。その結果、サラシノール類縁体の構造活性相関は第 3 章で得られた結果と一致していた。また、ターゲットタンパク質の Induced-Fit が化合物の結合親和性に与える影響など、今後の Structure-based Drug Design (SBDD) における問題点を提起した。

本研究を通し、起点化合物のサラシノールに比べ40倍の $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を有する化合物の創出に成功している。これは現時点で、世界で最も強力な $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を有する化合物であり、新規糖尿病治療薬となるポテンシャルを有している。また、 $\alpha$ -グルコシダーゼの4つの触媒ドメイン構造の網羅的な比較は、アミラーゼなどの他の糖分解酵素への阻害活性の選択性の解明にも貢献すると考えられ、医薬化学・構造生物学の両面において価値あるデータである。

以上、本研究は、計算に基づく化合物デザインと合成、生物活性評価が極めて連携良く実行されており、創薬研究のモデルケースとして極めて高く評価でき、その成果をまとめた本論文は博士論文に値するものである、と判定される。

氏名	坪田真帆
学位の種類	博士(薬学)
学位記番号	薬第106号
学位授与の日付	平成24年12月15日
学位授与の要件	学位規程第5条第2項該当
学位論文題目	内臓の痛みと炎症における硫化水素の役割に関する研究

論文審査委員 (主査)	教授	川畑篤史
(副主査)	教授	高田充隆
(副主査)	教授	杉浦麗子