

## 別紙2

## 審査の結果の要旨

氏名 中尾 朗

中尾朗は、「非アデノシン骨格を有する新規ホモシステイン合成酵素阻害剤の発見と X 線複合体解析研究」というタイトルで、動脈硬化や脳梗塞のリスクファクターとして考えられている高ホモシステイン状態を改善する薬物リードの創製をおこなった。

ホモシステインは含硫アミノ酸の1つであるメチオニンの代謝産物の1つであり、その前駆体 S-アデノシル-L-ホモシステインの加水分解によって、アデノシンとともに合成される (図1)。

1969年に McCully が、ホモシステインが動脈硬化、心筋梗塞といった血管性病態の原因になりうることを報告して以降、様々な検証研究が行われ、今日では高ホモシステイン

状態は心筋梗塞や脳梗塞の独立したリスクファクターであると考えられている。マウスを用いた実験では、高ホモシステイン状態にさせたマウスを脳梗塞にすると梗塞体積の増加や神経症状の悪化が見られることが報告されている。近年では、アルツハイマー病、うつ病、統合失調症といった精神神経疾患への関与も示唆されている。

中尾は、ホモシステイン合成酵素である S-アデノシル-L-ホモシステイン加水分解酵素 (AdoHcyase : 図1) を阻害し、高ホモシステイン状態を正常化させることにより脳梗塞等の冠動脈疾患の予防、治療が期待できるのではないかと考えた。研究開始当初から今日に至るまで AdoHcyase 阻害剤として知られているものはアデノシン骨格変換体のみであり、その多くが不可逆阻害剤であった。不可逆阻害剤による毒性、アデノシン誘導体の非酵素選択性といった課題を解決するため、非アデノシン骨格を有する新規リード化合物の探索を開始した。

ハイスループットスクリーニング (HTS) を実施した結果、1系統の化合物群を HTS ヒット化合物として見出した (図2)。得られた HTS ヒット化合物はアミド構造を有しており、そのうち3化合物 (化合物 **8a-c**) は脂溶性アミド部位 (図2の R) に N-メチル基を有する3級アミド構造を有していた。一方で2級アミド構造を有する **8f** は非常に活性が低かった。2級アミドが一般的にトランス構造をとるのに対して3級アミドがシス構造をとりやすいという首藤らの研究を参考に、シス構造のアミドが活性体であると仮説を立てて **8f** のアミド窒素原子をメチル化したところ、200倍近くの阻害活性の向上が見られた (化合物 **17e**)。しかしながら **17e** は、溶液中でアミドのシス-トランス構造の混合物であるとともに単結合の回転障壁に起因する複数の立体配座体の混合物で

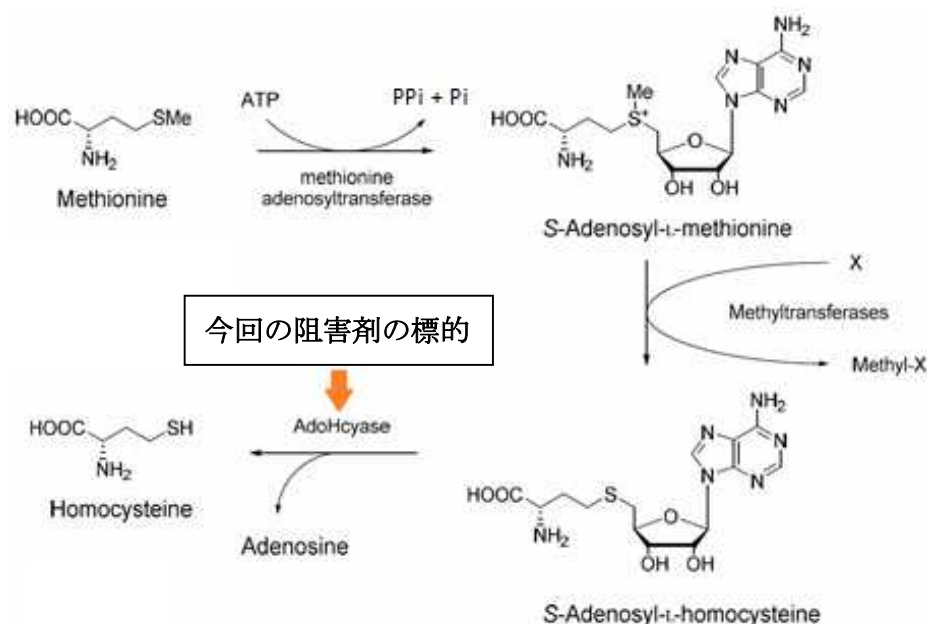


図1. ホモシステイン生合成経路と今回の阻害剤開発の標的

もあったため、さらに構造変換を行って単一の立体異性体で存在する化合物 **17n** としたところさらなる活性の向上が見られた。最終的に上側のアミド部分 ( $R'$ ) の構造最適化を行って、きわめて強力な AdoHcyase 阻害活性を示す化合物 **22a**, **22b** を見出した。ワインウィーバー・パークプロットにより、これらの阻害剤の阻害様式は拮抗阻害であることが明らかとなった。

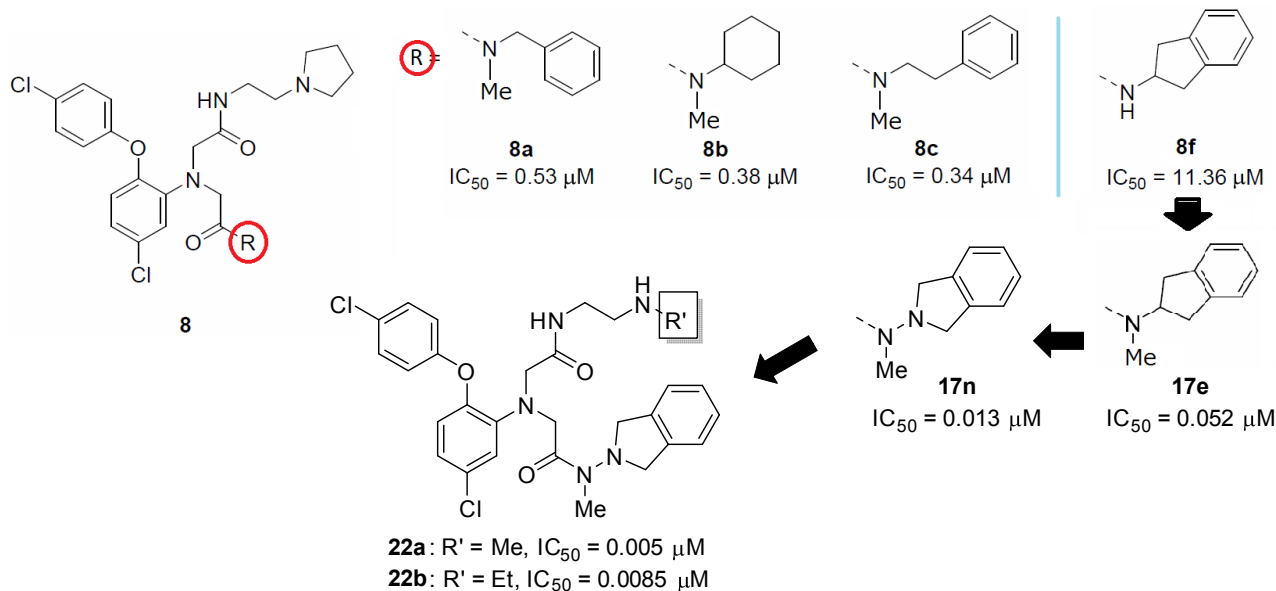


図 2. AdoHcyase 阻害剤の構造最適化

酵素中での阻害剤の活性コンフォメーションを確認するため、X 線共結晶構造解析を行ったところ、4 量体として存在する AdoHcyase の単量体にそれぞれ、化合物 **22a**、および補酵素の  $NAD^+$  が含まれていることが分かった (図 3 A)。化合物 **22a** は触媒ドメインと  $NAD$  結合ドメインの間にサンドイッチ状に挟まれた状態で存在することが確認され、単量体 AdoHcyase は open form に近いドメイン配位をとっていることが分かった。また、脂溶性アミド部位の 3 級アミド部位はカルボニル酸素に対し、 $N$ -メチル基がシス配位していることが判明し、化合物最適化戦略時に立てた『シスアミド仮説』を支持する結果となった。タンパク質への結合状態だけでなく、化合物単体でも分子内水素結合形成によりアミドのシス構造が安定化されていることが明らかとなった (図 3 B)。

以上の業績は、医薬化学における顕著な貢献になりうるものと評価され、博士 (薬科学) の授与に値するものと判断した。

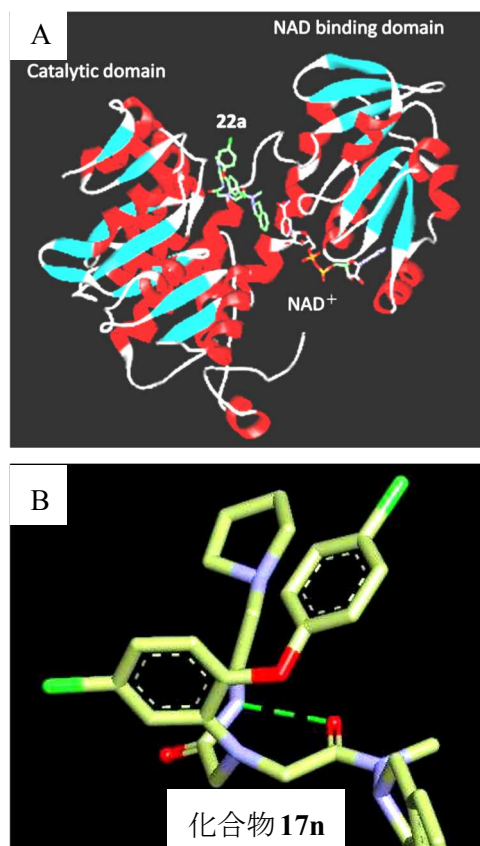


図 3. シスアミド構造を支持する X 線結晶構造解析