



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | ソヤサポゲノールBをリード化合物とする肝炎治療薬の創製研究                                                                                                                   |
| Author(s)    | 佐々木, 和恵                                                                                                                                         |
| Citation     | 大阪大学, 2006, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/46542">https://hdl.handle.net/11094/46542</a>                                                             |
| rights       |                                                                                                                                                 |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 <sup>さ</sup>佐 <sup>き</sup>々 <sup>き</sup>木 <sup>かず</sup>和 <sup>え</sup>恵

博士の専攻分野の名称 博 士 (薬 学)

学 位 記 番 号 第 20544 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 18 年 3 月 24 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 ソヤサポゲノール B をリード化合物とする肝炎治療薬の創製研究

論 文 審 査 委 員 (主査)  
教 授 小 林 資 正

(副査)  
教 授 田 中 徹 明 教 授 今 西 武 教 授 村 上 啓 寿

### 論 文 内 容 の 要 旨

日本における肝炎のうち 90%を占めるウイルス肝炎には A 型、B 型および C 型肝炎がある。C 型肝炎は持続的な肝細胞壊死、炎症および再生を繰り返しながら慢性肝炎へ移行し、慢性肝炎が持続するとやがて肝硬変へと移行し、さらに肝がんを発症することが知られている。C 型肝炎は患者数も多いため大きな問題となっている。

C 型肝炎の治療法には C 型肝炎ウイルス (HCV) の除去を目的とした原因療法および肝細胞壊死の抑制効果と炎症改善を目的とした対症療法がある。しかし、原因療法であるインターフェロンとリバビリンの併用療法での有効率は約 40%で強い副作用を伴うこと、対症療法であるグリチルリチン製剤は注射剤であるため長期投与による患者負担が大きいこと、経口剤であるウルソデオキシコール酸は効果が十分ではないこと、などの問題点が挙げられる。

このような背景の中、著者らは肝炎発症のメカニズムが HCV の直接的な肝細胞への障害ではなく、感染を受けた宿主の細胞性免疫を介していることに注目し、免疫調節作用を有する新規作用機序で経口投与可能な肝炎治療薬の創製を目的として研究を開始した。免疫調節作用を評価する肝炎モデルとしては Tiegs らにより報告された、マウス concanavalin A (Con A) 誘発肝炎モデルを用いた。

はじめにリード化合物の探索を行った。現在、対症療法として臨床で用いられている薬剤が天然物であることに着目し、著者らも天然物からリード化合物を探索することにした。入手可能な天然物のランダムスクリーニングを行った結果、大豆に含まれるサポニンのアグリコンであるソヤサポゲノール A および B が皮下投与でのマウス Con A 誘発肝炎モデルで有効性を示し、さらにソヤサポゲノール B は皮下投与でのマウス四塩化炭素誘発肝障害モデルにおいて有効性を示した。これらの結果からソヤサポゲノール B をリード化合物として選択し、誘導体合成を行いそれらの有効性を評価した。

誘導体の合成では水酸基が活性発現に寄与しているのではないかと考え、A 環の 3 位および 24 位水酸基の変換を行った。合成した化合物の皮下投与によるマウス Con A 誘発肝炎モデルでの有効性を評価した。その結果、リード化合物であるソヤサポゲノール B の活性を上回る誘導体は得られず、A 環の 3 位および 24 位の水酸基の存在が活性発現に重要であることが明らかになった。

つぎに、活性への影響を検証するために C 環の 12 位、13 位への水酸基の導入を試みたが目的とした化合物は得られなかった。

さらに E 環の 22 位水酸基の活性への影響の検証および活性向上を目指して誘導体の合成を行い、有効性を評価した。その結果、22-デオキシ体に強い活性が認められたことから E 環の 22 位水酸基は、A 環の水酸基が果たす役割と

は異なると推測され、活性発現に必ずしも必要とは限らないことが明らかになった。また、嵩高い官能基を導入した化合物にも活性が認められたことから、E 環の 22 位置換基の立体的な自由度の許容範囲はかなり広いものと考えられた。そこで、E 環周辺での活性発現に関する情報を得るために、22 位エピ体とその誘導体および 22 位水酸基を化学変換した化合物を合成し、有効性を評価した。その結果、22 位エピ体の誘導体の活性は保持されたが、E 環の 22 位から増炭した化合物は活性が消失することが明らかになった。

ソヤサポゲノール B をリード化合物として誘導体合成を行い、マウス Con A 誘発肝炎モデルでの有効性評価を行った結果、A 環の水酸基が活性発現に重要であることが明らかになった。一方、E 環の水酸基を変換すると活性は大きく変化した。そこで、E 環部の構造が活性発現にどのように寄与しているのかを検証した。

合成した誘導体の X 線結晶構造解析では、E 環を化学変換した多くの化合物で E 環の立体配座がいす形であったが、22β-水酸基を有する化合物ではツイスト形であった。また、エネルギー計算 (MOPAC97) を行ったところ、E 環部いす形・ツイスト形のエネルギー差 ( $\Delta_{\text{chair-twist}}$ ) はほとんどないため、いす形、ツイスト形の両方の立体配座をとることが可能であると考えた。

つぎに E 環 21,22-デヒドロ体と 22-デオキシ体の構造と活性を比較すると、22-デオキシ体はエネルギー計算ではいす形、ツイスト形の両方の配座をとりうるのに対し、21,22-デヒドロ体はいす形に近い配座だけをとる。一方、活性は 22-デオキシ体が 21,22-デヒドロ体に比べ非常に優れた有効性を示していることから、E 環はツイスト形の立体配座をとることで活性を発現していると考えた。

最後に、開発化合物の選定を行った。皮下投与での有効性評価で活性が強かった化合物について、混餌経口投与におけるマウス Con A 誘発肝炎モデルでの有効性評価を行った。いずれの投与方法においても高い有効性を示したソヤサポゲノール B の 22β-メチルエーテル体および 22α-メチルエーテル体について、混餌経口投与におけるマウス四塩化炭素誘発肝障害モデルを用いて肝細胞壊死防御作用を評価した。その結果、22β-メチルエーテル体がマウス Con A 誘発肝炎モデルおよびマウス四塩化炭素誘発肝障害モデルの両モデルにおいて優れた活性を示したことから、この化合物を開発化合物 ME3738 として選定した。

ME3738 の第 I 相臨床試験、前期第 II 相臨床試験が実施され、臨床での有効性を確認でき、また安全性に関しては臨床上問題のないことが明らかになっている。

以上、肝炎治療薬の創製を目的に研究を行った結果、マウス Con A 誘発肝炎モデルをスクリーニングの系として用い、ソヤサポゲノール B を活性物質として見いだした。構造・活性相関を解析した結果、ソヤサポゲノール B の A 環の 3 位および 24 位水酸基がマウス Con A 誘発肝炎モデルにおいて活性発現に必須であることを明らかにした。E 環の 22 位置換基変換では、22 位から炭素鎖を伸長すると活性は消失するが、デオキシ体、アシル体、エーテル体とそれらのエピ体それぞれが高活性を示し、活性発現の許容範囲が広いことを明らかにした。また、E 環の立体配座について検討し、活性発現にはツイスト形配座をとっていると推定した。

ソヤサポゲノール B をリード化合物として合成展開し、得られた ME3738 は C 型慢性肝炎治療薬として現在臨床試験実施中である。

## 論文審査の結果の要旨

C 型肝炎は慢性化するとやがて肝硬変、さらには肝がんへと進行することが知られており、日本では C 型肝炎の患者数が多いことから大きな問題となっている。C 型肝炎の治療法には肝炎ウイルスの除去を目的とした原因療法と肝細胞壊死の抑制と炎症の改善を目的とした対症療法があるが、原因療法の有効率が低く副作用も強いこと、また対症療法であるグリチルソチン製剤は注射剤であるため長期投与による患者負担が大きいことから、より有効な薬剤の開発が求められている。

申請者は C 型肝炎発症のメカニズムが肝炎ウイルスの直接的な肝細胞への障害ではなく、感染を受けた宿主の細胞性免疫を介していることに注目して、マウス concanavalin A (Con A) 誘発肝炎モデルを用いる in vivo アッセイ系を用いて免疫調節作用を作用機序とする経口投与可能な新しい肝炎治療薬の創製研究を行った。

入手可能な天然物のランダムスクリーニングを行った結果、ダイズサポニンのアグリコンであるソヤサポゲノール A および B が皮下投与でのマウス Con A 誘発肝炎モデルで有効性を示すことを見出した。そこで、ソヤサポゲノール B をリード化合物として選択し、種々の誘導体合成を行い、構造と活性の相関を詳細に解析した。NMR 解析、X 線結晶解析、エネルギー計算による構造解析と活性評価の結果との相関から、1) ソヤサポゲノール B の A 環の 3 位および 24 位水酸基が活性発現に必須であること、2) E 環の 22 位から炭素鎖を伸長すると活性は消失するが、デオキシ体、アシル体、エーテル体とそれらのエピ体それぞれが高活性を示し、活性発現の許容範囲が広いこと、3) 活性発現には E 環の立体配座がツイスト形配座をとっていることが重要であること、等を明らかにした。そして、ソヤサポゲノール B をリード化合物として創製した開発化合物は、現在 C 型慢性肝炎治療薬としての臨床試験が実施されている。

以上の成果は、博士（薬学）の学位論文として十分価値のあるものと認められる。