

ふたむら あや

氏 名 二村 彩
学位の種類 博士（生命科学）
学位記番号 生第 35号
学位授与年月日 令和4年9月7日
学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当

論文題目 オレキシン受容体拮抗物質の創製
博士論文審査委員 (主査) 教授 石川 稔
教授 佐々木 誠
教授 有本 博一

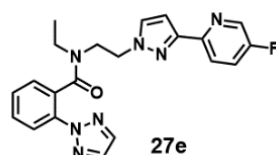
論文内容の要旨

不眠症は睡眠障害の中で最も一般的な疾患であり、日本では成人の約 5 人に 1 人が症状を抱えているとされている。従来、治療薬としてはベンゾジアゼピン系の GABA_A 受容体作動薬が使われてきたが、筋弛緩作用や依存性などの副作用に問題がある。20 世紀末に柳沢らが、睡眠と覚醒の切り替えを制御する脳内神経伝達物質「オレキシン」を発見した¹。この発見を契機に、オレキシンによる覚醒作用を抑えることで睡眠を促す新しい不眠症治療薬の研究が活発化した。内因性覚醒系であるオレキシンの作用を抑えるため、オレキシン受容体拮抗物質は、より「自然な」睡眠（生理的睡眠）を惹起することが期待できる。また、脳全体に存在する GABA_A 受容体をターゲットとした鎮静型睡眠薬とは作用点異なることから、筋弛緩作用や依存性などの副作用を回避可能であることも示唆される。このような背景のもと、2008 年に新規オレキシン受容体拮抗物質の創製研究を開始した。当時、承認薬は存在しなかったが、その後 2014 年にはメルク社からオレキシン受容体拮抗薬「ベルソムラ®」(suvorexant)²が発売され、2019 年に「デエビゴ®」(lemborexant)³が承認されている。オレキシン受容体拮抗物質の研究を実施するにあたり、単に OX₁R と OX₂R の拮抗活性が高い化合物 (DORA: dual orexin receptor antagonist) を見出すだけでなく、短半減期の動態プロファイルを付与し、眠気の持ち越し効果がなく薬理効果の高い不眠症治療薬の創出を目指した。

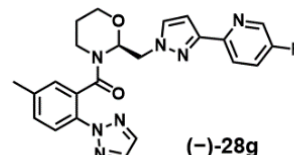
強力な薬効と短半減期の PK プロファイルを有する経口投与可能な DORA を創出するため、(*V_d* の低減を目的として) 脂溶性⁴を低減しながら高いオレキシン受容体拮抗活性を有する化合物を探索した。第 1 章では、既知である DORA の構造情報に基づき LBDD (ligand-based drug design) の手法を用いた。LBDD とは、様々なリガンドから活性発現に重要な官能基特性を抽出しファーマコフォア情報を引き出す手法である。Cox らによって提唱された U 字型活性コンフォメーション⁵に注目し、分子シミュレーションにより基本となるファーマコフォアモデルを構築した。拮抗物質に重要な官能基特性に基づき、既存の DORA に共通する環状構造は活性に必須でないと仮定し、脂溶性低減を目的に鎖状アミド骨格をデザインした。鎖状アミド pyrazoylethylbenzamide 構造を基本骨格として構造変換することにより、数十 nM の阻害活性 (IC₅₀) と低脂溶性 (ClogP: 3.38) を有する **27e** を得た。化合物 **27e** は薬理試験 (ラット脳波試験) において、3 mg/kg の腹腔内投与 (*ip*) から睡眠誘発効果を示した。また、薬効用量の 10 倍高い用量 (30 mg/kg, *ip*) において運動協調性に異常が認められなかったことから、**27e** は運動障害を誘発することなく睡眠促進作用を示す化合物であることが期待された。ラットおよびイヌの PK 試験から 1.2–1.4 時間程度のヒト予測半減期が算出され、持ち越し効果リスクの低い

化合物であることも示唆された。

第 2 章では、第 1 章で見出した鎖状アミド誘導体 **27e** を足掛かりに、**27e** の短半減期プロファイルを維持しながら、より高活性な化合物の創出を指向した。化合物を U 字型の活性コンフォメーションに収束させる上で有利な環状アミン構造に着目し、活性向上を目指した。環状化により脂溶性が高くなることが懸念されたため、環状構造へのヘテロ原子導入による脂溶性の低減を着想した。また、ヘテロ原子を導入した環状構造は代謝的 soft spot になりやすいと計算予測されたため、積極的に代謝的に不安定な構造を取り込むことが適度なクリアランスの維持に効果的であると考えた。5 員環、6 員環に酸素や硫黄原子を導入した様々な環状化合物を合成した。多くの化合物において活性と脂溶性の両立には至らなかったが、1,3-oxazinanone 骨格をもつ (-)-**28g** は、高活性かつ低脂溶性であり、狙い通り適度な肝代謝率も保持した。化合物 (-)-**28g** は **27e** に比べて、OX₁R, OX₂R 阻害活性がそれぞれ 20 倍、30 倍程度向上し、薬効試験 (ラット脳波試験) においても経口投与でより低い用量 (1 mg/kg) から睡眠促進作用を示した。また、ラットおよびイヌ PK 試験からヒト予測半減期は 0.9–2.0 h と算出された。化合物 (-)-**28g** は、開発候補化合物 ORN0829 (開発名: TS-142) として現在、後期第 II 相試験へ進んでいる。健常人を被験者とした PK 試験から、ORN0829 の T_{max} は 2.50 h (平均)、T_{1/2} は 1.32–3.25 h (1–30 mg/kg) であることに加え、良好な経口吸収性が確認された⁶。不眠障害患者を対象とした前期第 II 相臨床試験において、ORN0829 は低用量から入眠効果を発揮するとともに、用量依存的な睡眠維持効果があることも示された。



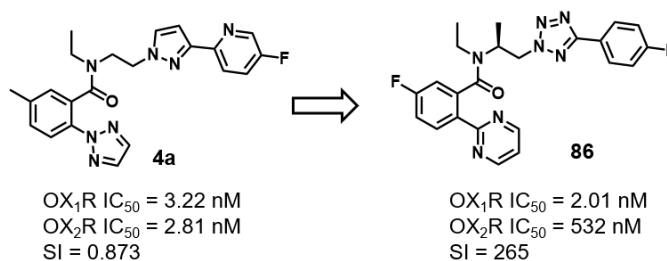
27e
OX₁R IC₅₀ = 17.9 nM
OX₂R IC₅₀ = 28.7 nM
logD_{HPLC} = 2.53
predicted human T_{1/2} = 1.2–1.4 h



(-)-**28g**
OX₁R IC₅₀ = 1.05 nM
OX₂R IC₅₀ = 1.27 nM
logD_{HPLC} = 2.58
predicted human T_{1/2} = 0.9–2.0 h

第 3 章では、OX₁R 選択的オレキシン受容体拮抗物質 (1-SORA: selective orexin 1 receptor antagonist) の創製を試みた。近年の様々な研究から、OX₂R は睡眠調節に重要な役割⁷を持つ一方、OX₁R は薬物依存や情動などの制御⁸に関与することが明らかになりつつある。OX₂R に比して OX₁R はその役割や機能について研究途上にある。そこで本研究では、OX₁R の機能解明研究に供するツール化合物としての 1-SORA を創出するとともに、その創出過程では、DORA から 1-SORA に導く SAR を取得することを考えた。独自性の高い 1-SORA をデザインするにあたり、第 1 章の鎖状 pyrazoylethylbenzamide 誘導体および第 2 章の環状アミド 1,3-oxazinan-3-ylbenzamide 誘導体の両末端側鎖を変換した化合物の OX₁R/OX₂R 阻害活性を整理・分析した。その結果、鎖状アミド誘導体は OX₁R 選択性を示す傾向があることに気が付いた。鎖状ア

ミド pyrazoylethylbenzamide 誘導体の活性向上に際しては、シミュレーションを用いて U 字型コンフォメーションをとりやすい化合物をデザインし、エチレンリンカーへの (S)-メチル基導入を考案した。(S)-メチル基の導入により OX₁R 活性が向上したことから、本骨格を基にして構造展開した結果、ヘテロ環およびアシル部位の変換が OX₁R 選択性を飛躍的に向上させた。すなわち、アシル部位に 5-fluorobenzene をもつ **86** に高い OX₁R 活性と 200 倍以上の選択性 (SI) が認められた。X 線構造解析に基づくドッキングシミュレーションにより、5-tolyl 基の 5-fluorophenyl 基変換による OX₁R 選択性の向上は、OX₁R と OX₂R のサブタイプ間でアミノ酸配列が異なる部位との静電的相互作用の相違に起因するものと考察した。また、(S)-メチル基を導入したことによる OX₁R 選択性の上昇は、OX₁R よりも若干狭いオルソステリック結合部位を有する OX₂R に対して (S)-メチル置換 pyrazoylethylbenzamide 誘導体の結合が不安定化することによるものではないかと考察した。今後、OX₁R に対する活性や選択性がより高い化合物の創出、OX₁R の機能解明、治療薬への応用展開が期待される。



本研究では、オレキシン受容体を標的とした創薬研究を展開し、DORA 創製においては新規性の高いユニークな 1,3-oxazinane 構造へ導くことにより、OX₁R/OX₂R 拮抗活性が高く、短半減期プロファイルを特徴とする (-)-**28g** (ORN0829/TS-142) を創出した。短時間で睡眠作用を示す (-)-**28g** は確かな入眠作用に加え、持ち越し効果の出現しない用量まで投与量を増やすことにより睡眠効果の維持も可能な次世代型睡眠障害治療薬になると考えられ、睡眠障害治療のブレイクスルーになることを期待している。また、本研究で得られた OX₁R および OX₂R 活性に関する SAR は、受容体選択的拮抗物質の分子設計に有用となる新たな知見である。

(参考文献) 1) *Cell* **1998**, 92, 573–585. 2) *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 5320–5332. 3) *J. Med. Chem.* **2015**, 58, 4648–4664. 4)(a) *J. Med. Chem.* **2015**, 58, 5691–5698. (b) *J. Med. Chem.* **2015**, 58, 5691–5698. 5) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 2997–3001. 6) *Sleep* **2020**, 43, Issue Supplement_1, Page A58. 7) *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, 8, 171–181. 8)(a) *Brain Res.* **2010**, 1314, 130–138. (b) *Physiol. Behav.* **2012**, 107, 733–742.

論文審査結果の要旨

二村彩提出の博士論文は、Gタンパク質共役型受容体（GPCR）の一種であるオレキシン受容体の拮抗物質から、活性と安全性を兼ね備えた不眠症治療薬の候補品やオレキシン受容体機能を解析するツール化合物の創製を試みたものである。

オレキシン受容体は神経伝達物質オレキシンが作用すると活性化し、脳を覚醒させる。このシステムが過剰に働くと不眠状態を引き起こすことから、オレキシン受容体拮抗物質は新しい不眠症治療薬として注目されていた。本論文は、既知のオレキシン受容体拮抗物質をもとにしたバーチャルスクリーニングや独自の配座解析、代謝予測によって化合物をデザイン・合成し、薬理・動態・物性・安全性評価を実施した結果をまとめたものである。

第1章では、ligand-based drug designの手法により導かれた鎖状アミド型のファーマコフォア（pyrazoylethylbenzamide 骨格）をもとに、オレキシン受容体の両サブタイプ（OX₁R/OX₂R）に対する拮抗物質として、副作用（眠気持ち越し）の少ない短半減期化合物の取得を目指して合成展開した。脂溶性を低減した化合物は、分布容積が低減することで短半減期になるとの仮説を立てたが、リード化合物（**27e**）を創製して動態試験を実施することにより、この仮説を実証した。第2章では**27e**の短半減期特性を維持しながら、より強活性な化合物を創製するため、化合物の立体配座シミュレーションやSMARTCypによる代謝予測を実施し、環状アミド構造にヘテロ原子を導入した新しいファーマコフォアをデザインした。合成した種々の誘導体のうち1,3-oxazinane誘導体（-）-**28g**は強活性、低脂溶性、適度な代謝率の三拍子が揃った理想的な化合物であり、開発候補化合物ORN0829として選定した。ORN0829の臨床試験が現在実施されている。第3章では詳細な構造活性相関研究により、OX₁Rに選択性を有する拮抗物質を見出した。

本研究は、化合物の論理的設計を特長とし、睡眠促進作用が強く、眠気持ち越しの少ない経口不眠症治療薬の開発候補品創出として結実した。特に、オレキシン受容体親和性・経口吸収性・適度な半減期を兼ね備えるために、創薬化学で利用実績が少ない1,3-oxazinane骨格を独自に設計し、この光学活性体を供給可能な合成法を確立した成果は特筆に値する。また、オレキシン受容体のサブタイプ選択的拮抗物質の創製は、未だ不明な点の多いオレキシン受容体の機能解明への貢献が期待される。これらの研究成果は二村彩が今後自立して研究活動を行うのに必要な高度な研究能力と学識を有することを示している。したがって、本論文を博士（生命科学）の博士論文として合格と認める。