

氏名（本籍地） さとう いっぺい 佐藤 一平
学位の種類 博士（生命科学）
学位記番号 生第16号
学位授与年月日 平成22年 1月 6日
学位授与の要件 学位規程第4条第2項該当

論文題目 新規 CCR3 阻害薬の合成研究
博士論文審査委員 (主査) 教授 佐々木 誠
教授 有本 博一
教授 村本 光二

論文内容の要旨

喘息といった種々のアレルギー性の炎症性疾患の特徴の一つとして、好酸球の炎症部位への浸潤が挙げられ、この好酸球が病態の悪化や慢性化に関与していると考えられている。特に、喘息は活性化された好酸球から放出される傷害性タンパク質、ケミカルメディエータ、炎症性メディエータによって引き起こされる気道上皮の組織傷害により、気道閉塞と気道過敏性の増強を繰り返すと考えられている。

CCケモカインの一つであるエオタキシンは、種々のケモカインレセプターの中で、好酸球に発現しているCCR3をそのレセプターとしており、強い好酸球遊走活性を有することが知られている。そのため、CCR3の種々アレルギー疾患への関与について多くの研究がなされている。炎症組織への好酸球の浸潤を抑制するCCR3の選択的阻害薬は、特に好酸球が深く関与するアレルギー性の炎症性疾患の治療薬と成り得ると考えられる (Figure 1)。

以上の背景から、本研究では好酸球が深く関与するアレルギー性の炎症性疾患、特に喘息をターゲットとした治療薬の創製を目的に、低分子CCR3阻害薬の合成研究に着手した。

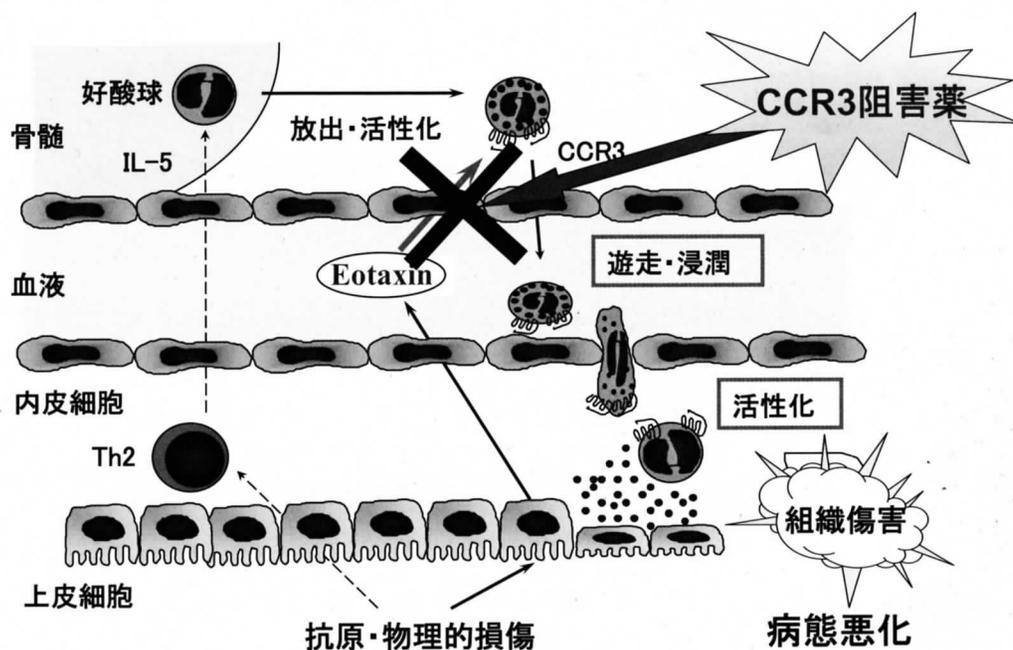


Figure 1

筆者は、合成研究を始めるに当たり、自社化合物ライブラリー内でハイスループットスクリーニングを行なった。その結果、中程度の CCR3 阻害活性 ($IC_{50}=1.3\mu M$) を有する 6-フルオロナフチル基を特徴とする化合物 **6** (YZ-126037) を見出した (Figure 2)。この化

化合物 **6** をリード化合物として合成展開を図ることとした。

第一章において、化合物 **6** の CCR3 阻害活性の向上を目的に合成研究を行なった。研究当時、多くの低分子 CCR3 阻害薬が報告されており、それらに共通するファーマコフォアについて解析した結果、分子中央に塩基性を有する窒素原子が存在すること、及び分子の両末端に芳香環を有することが重要であることが考えられた。そこで、このファーマコフォアを基に合成方針を立案し、合成研究を行なった。その結果、構造活性相関として、

- (1) CCR3 阻害活性には 6-フルオロナフチル基が重要である
- (2) ピペリジン部と末端フェニル基をつなぐリンカーはその種類に影響されず、2 原子分で構成されていることが重要である
- (3) フェニル基において、2 位への嵩高い脂溶性の置換基導入が活性向上に重要であることを見出した。さらに、ピペリジン環部分の立体配座に着目し、ピペリジン環部分を立体配座のより固定されたノルトロパン環へと変換することで、CCR3 阻害活性が向上することを見出し、良好な CCR3 阻害活性 ($IC_{50} = 0.020 \mu M$) を有する化合物 **34** を見出した (Figure 2)。

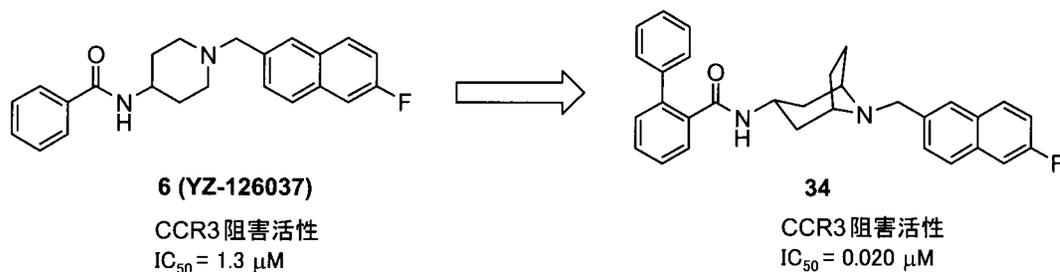


Figure 2

第二章においては、化合物 **34** の問題点であった、代謝酵素チトクローム P450 (CYP) の代表的アイソザイムである CYP2D6 に対する強い阻害活性の改善を目的に、化合物の脂溶性を低下させるという方法により合成展開した。脂溶性の指標として $ClogD_{7.4}$ を用い、それを低下させるように化合物を設計した。第一章で得られた知見として、末端フェニル基周辺の置換基として脂溶性の嵩高いものが望ましいと考えられたため、極性置換基を分子に導入するという手法ではなく、ビフェニル基のそれぞれのベンゼン環を他の複素環、あるいは脂肪族の環状構造へと変換することで、分子全体の脂溶性を低下させるという戦略を採用した。

結果として、以下の知見を得ることができ、さらに、CYP2D6 阻害活性が改善し、良好

なCCR3阻害活性を有する化合物**62**を見出すことに成功した (Figure 3)。

- (1) ビフェニル基の末端側ベンゼン環を脂肪族の環状構造に変換することで、 $\text{Clog}D_{7.4}$ を低減でき、CYP2D6 阻害活性の改善を達成できた。その際、脂肪族の環状構造と中央側ベンゼン環の間にカルボニル基が存在することで CCR3 阻害活性が保持された。
- (2) 中央側ベンゼン環をピリジン環にすることで、さらなる $\text{Clog}D_{7.4}$ の低下の結果として、CCR3 阻害活性を保持したまま、さらなる CYP2D6 阻害活性の低減を達成できた。
- (3) $\text{Clog}D_{7.4}$ と CYP2D6 阻害活性の間には非常に良い相関が見られ、 $\text{Clog}D_{7.4}$ の低下と共に、CYP2D6 阻害活性の低減が認められた。

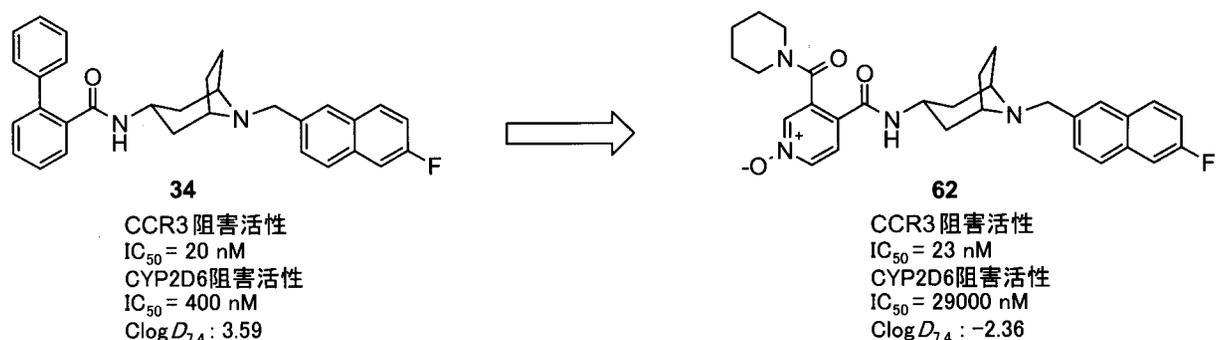


Figure 3

第三章においては、化合物**34**のCCR3阻害活性のさらなる向上、及び化合物**62**の問題点である低い膜透過性を改善することを目的に合成展開を図った。低い膜透過性の原因は高極性のピリジンN-オキシド構造であると考えられた。化合物**62**の周辺化合物において、ピリジンN-オキシド構造はCCR3阻害活性の保持と、CYP2D6阻害活性の低減を両立させる有効な部分構造であったが、低い膜透過性の大きな原因となっていると考えられた。そこで、化合物**62**の周辺化合物において、膜透過性を改善するための構造変換の余地が少ないと判断し、再度化合物**34**の周辺化合物の構造変換を行なうこととした。その際、ノルトロパン環部の変換を行ない、その過程で見出したノルトロパン環に代わる(3R)-ピロリジン誘導体を中心に構造展開し、結果として強力なCCR3阻害活性を有するアクリルアミド誘導体**93a**を得ることに成功した (Figure 4)。この化合物**93a**は、強力なCCR3阻害活性と良好な膜透過性を有していたが、ヒト肝ミクロソームに対する代謝安定性が低いという問題点を有していた。そこで、代謝安定性の改善を視野に入れ、この化合物**93a**について、特に分子末端

ベンゾイル部分の変換を中心に合成展開を図った。得られた構造活性相関及び構造代謝相関について以下にまとめる。

- (1) ベンゾイル部分への置換基導入の結果、*in vitro*でのヒト肝ミクロソームに対する代謝安定性 (CL_{int} : mL/min/kg) に大きな変化が見られ、置換位置として4位 > 3位 > 2位に順に代謝安定性が向上する。
- (2) しかしながら、2-ヒドロキシ体 (**93j**) が最も代謝安定性に優れていた。これは、アミドカルボニル基とフェノール性ヒドロキシ基の分子内水素結合により、アミドカルボニル基と、肝ミクロソーム内のCYPsとの相互作用が弱くなったためと考えられる。
- (3) ベンゾイル部分4位に電子供与基を導入することで、CCR3阻害活性が向上する。結果として、良好なCCR3阻害活性と高い代謝安定性を有する化合物**93j**を見出すことに成功した (Figure 4)。この化合物**93j**は、化合物**34**の問題点であった強いCYP2D6阻害活性、及び化合物**62**の問題点であった低い膜透過性について改善された化合物であった。

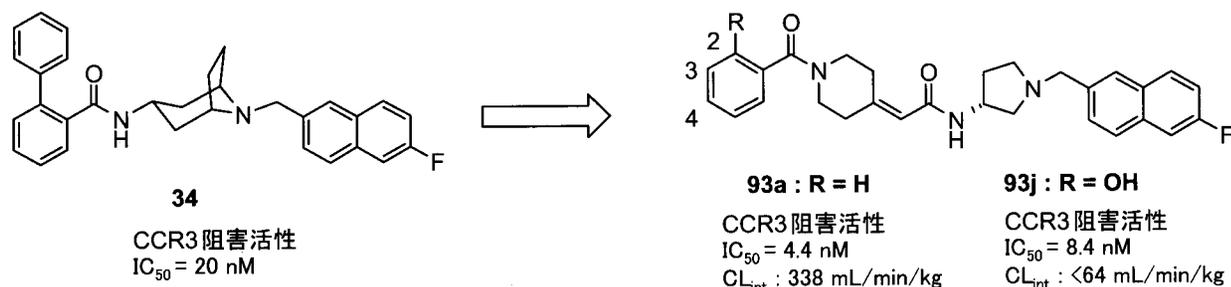


Figure 4

第四章では、得られた化合物 **34** 及び **93j** を用い、CCR3 タンパク質とのドッキングスタディを行い、それぞれの相互作用について詳細に解析した。CCR3 タンパク質の結晶構造は解明されていないため、モデリングを行なう際に、既に結晶構造の明らかにされているウシロドプシンの構造をテンプレートとして用いた。結果を以下に示す (Figure 5)。

- (1) いずれの化合物も、CCR3/エオタキシンシグナル伝達の 2 段階目に相当する部分を阻害していると考えられる。
- (2) 6-フルオロナフチル基はポケット内の適切な大きさの空間に位置している。
- (3) 分子中央部の塩基性窒素原子は、ポケット内のグルタミン酸 (Glu287) と相互作用している。
- (4) **34** のビフェニル部とポケットの疎水性部が疎水性相互作用している。

(5) **93j** のベンゾイル部のカルボニル基およびフェノール性ヒドロキシ基はポケット内のアルギニン (Arg95) と相互作用している。この末端のフェニル基は疎水性相互作用ではなく、カルボニル基を適切な位置に配置するための楔の役割を果たしていると考えられる。

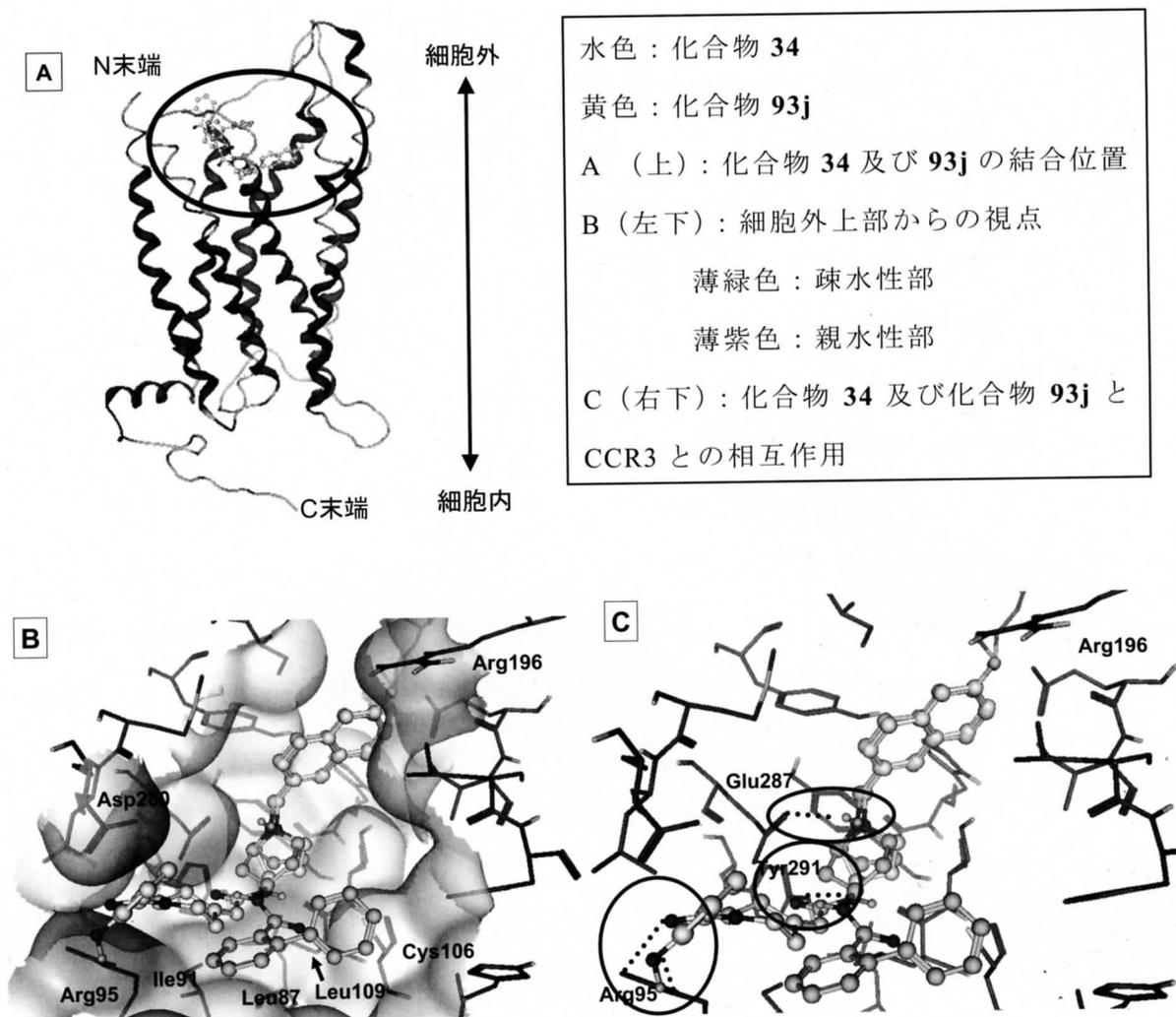


Figure 5

以上、筆者は新規 CCR3 阻害薬の合成研究を行い、良好な CCR3 阻害活性を有する化合物 **93j** を見出すことに成功した。この化合物 **93j** はヒト肝ミクロソームに対する高い代謝安定性、高い膜透過性、マウスにおける良好な体内動態を有しており、かつ強い CYP2D6 阻害活性を示さない誘導体であり、新規な CCR3 阻害薬として非常に有望な化合物である。また、化合物 **93j** は良好な体内動態を示すことが期待され、CCR3 の生体内での機能を解析する上で、非常に重要な解析ツール化合物と成り得ると考えられる。

論文審査結果の要旨

今日、喘息治療薬として吸入ステロイド剤や抗アレルギー薬、 β_2 刺激薬などが広く用いられているが、服薬コンプライアンス、薬剤耐性や副作用の面で未だ多くの課題を残しており、優れた抗炎症作用と高い安全性を兼ね備えた新規治療薬の開発が強く求められている。喘息などのアレルギー性炎症性疾患の特徴の一つとして、好酸球の炎症部位への浸潤が挙げられ、病態の悪化や慢性化に関与していると考えられている。CC ケモカイン受容体 CCR3 は好酸球に強く発現し、好酸球の炎症組織への浸潤に重要な役割を果たしており、その選択的拮抗薬はアレルギー性炎症性疾患の新規治療薬として期待される。本研究では、好酸球が深く関わる喘息に対する治療薬の創製を目的として、新規な低分子 CCR3 阻害薬の合成研究を行った。

まず、アステラス製薬社内化合物ライブラリーからハイスループットスクリーニングにより見出された化合物 YZ-126037 (IC_{50} 値 1.3 μ M) をリード化合物として、阻害活性の向上を目的に周辺化合物の合成と構造活性相関研究を行った。その結果、6-フルオロナフチル構造が阻害活性に必須であり、配座固定されたノルトロパン環にアミド結合を介してビフェニル骨格をもつ強力な CCR3 阻害化合物 (IC_{50} 値 20 nM) を見出した。次に、この化合物の問題点である薬物代謝酵素 CYP2D6 に対する阻害活性を抑制するために、さらに系統的な構造展開を行った。脂溶性の低減を念頭に置き、 $ClogD_{7.4}$ を指標にした分子設計により、CYP2D6 阻害活性が大幅に低下したピリジン *N*-オキシド構造をもつピペリジンアミド化合物を見出した。続いて、新たな問題となった低い膜透過性の改善とさらなる CCR3 阻害活性の向上を目的に合成展開し、2-ヒドロキシベンゾイル基をもつアクリルアミド誘導体の開発に成功した (CCR3 阻害活性 : IC_{50} 値 8.4 nM ; CYP2D6 阻害活性 : IC_{50} 値 29 μ M)。本化合物は、良好な CCR3 選択性、高い膜透過性と肝代謝安定性、マウスにおける良好な体内動態を示した。また、本研究で新たに見出した CCR3 阻害化合物について CCR3 とのドッキングスタディを行い、相互作用様式に関する詳細な解析を行った。

本研究成果により得られた化合物は、新規 CCR3 阻害薬リード化合物としての可能性だけでなく、CC ケモカイン受容体の機能解析のためのツールとしても有用な化合物であると期待される。

これらの研究成果は創薬化学、生命科学の分野に画期的な貢献をするものであり、著者が自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示している。したがって、佐藤一平提出の論文は、博士 (生命科学) の博士論文として合格と認める。