

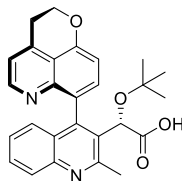
論文の内容の要旨

論文題目 新規 HIV-1 integrase-LEDGF/p75 allosteric inhibitors の探索合成研究

氏名 杉山修一

HIV (human immunodeficiency virus)はレトロウイルスに分類され、主に CD4 陽性 T リンパ球とマクロファージ系の細胞に感染する。感染初期にはウイルス血症になり、発疹、発熱、リンパ節腫脹等の急性症状が現れる。その後免疫反応によってウイルスは減少するが、完全には排除できず免疫系とウイルスの増殖が拮抗し、慢性感染状態へと移行する。HIV は薬の飲み忘れ等のアドヒアランス不良により容易に耐性変異が起こる。一度耐性変異が入ってしまうと今まで使用していた薬の効果が減弱するため、薬の変更を余儀なくされ、治療レジメンの幅が狭くなっていく。使用できる薬がない状態を避けるためにも新規メカニズムの薬は依然求められており、その探索研究が盛んに行われている。そこで私は新規メカニズムである INLAIs (HIV-1 integrase-LEDGF/p75 allosteric inhibitors)に着目し、研究に取り組むことにした。

この INLAIs は非常に多くの研究機関が特許を出願しており、自由に SAR (structure-activity relationship)研究を行うことが難しい。そこで他の特許からの包含を逃れるために独自の骨格の創出および、他の化合物との差別化を狙った新規ファーマコフォアの獲得を本研究の目的とし研究を開始することにした。さらに臨床試験に進んだ化合物である **BI 224436** と比較して、より強力な抗ウイルス活性を示す化合物を見出すことも目的とした (図 1)。



BI 224436

図 1. BI 224436 の構造

1. ベンゼン骨格を有する新規 INLAIs の創出

BI 224436 の構造を見て分かるように、部分構造としてピリジン環と *t*-ブトキシ酢酸ユニットを有している (図 1)。 *t*-ブトキシ酢酸ユニットは報告されている化合物ほぼ全てに共通する構造で必須のファーマコフォアだと考えられる。ここで私は、中心骨格としてピリジン環が多く用いられていることに気づいた。このピリジン環を他の環に変換することによって、他社の特許との抵触を回避し、自由に SAR できるのではないかと考え、INLAIs に共通する構造である *t*-

ブトキシ酢酸ユニットが置換したピリジン **5** を基に新規骨格をデザインした (図 2)。先述したように *t*-ブトキシ酢酸ユニットはおそらく活性発現に必須の構造であると考えられるのでそのまま残し、母核のピリジンを変換することを考えた。その際、ピリジン環では下方向に置換基が伸ばせないことに着目し、その方向に置換基が伸ばすことができるベンゼン骨格を考案した。また窒素原子は環外に出し、アニリンにすることで、置換基修飾が容易になり SAR を行いやすくなると考え、新規ベンゼン骨格 **6** を考案した。他の研究機関の骨格において、母核の 1 位から置換基を伸ばしているものはほとんどなく、新たなファーマコフォアをこの領域で獲得できるチャンスがあると考えた。

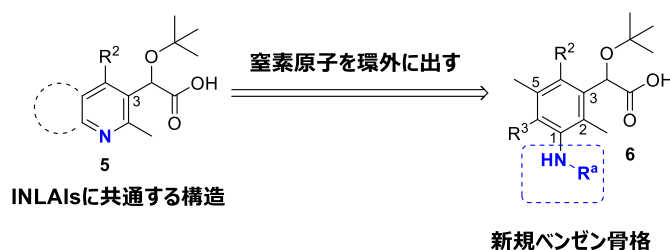


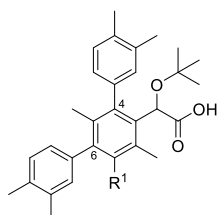
図 2. 新規ベンゼン骨格のデザイン

表 1 に置換基 R^1 の最適化を示した。アニリン **17** が良好な活性 ($EC_{50} = 27$ nM) を示したが、置換基の脂溶性が上がるに従って活性が低下する傾向があった (**20a**, **20b**)。また Ms 体 **22g** がベストの活性 ($EC_{50} = 11$ nM) を示したことから、水素結合アクセプターが重要ではないかと考察した。また活性と細胞毒性の乖離は十分であった (100 倍程度)。

次に置換基 R^1 を Ms 基に固定して、置換基 R^2 の最適化を行った (表 2)。無置換のベンゼン **34a** は $EC_{50} = 34$ nM を示したが、パラ位に Cl 基を導入した **34b** では活性が 3 倍向上した。このことから、パラ位の置換基が活性に重要だということが分かった。また二置換ベンゼン **34c** が活性を維持したことから、2 環性の置換基を導入した。クロマン **34g** は **34c** と同程度の活性を示した。この化合物 **34g** は異性化が早いアトロプアイソマーのため分離ができず、混合物として評価した。そこで、回転を制御するためにオルト位に Me 基を導入した化合物 **34h** を合成した。**34h** は非常に強い活性 ($EC_{50} = 3.9$ nM) を示した。

図 3 に化合物 **34d** と IN-CCD の共結晶構造を示した。他の INLAIs と同様にカルボン酸が IN-CCD の E170, H171 の主鎖と水素結合を形成していることが分かった。更に 1 位から伸長した Ms 基が新たなファーマコフォア Q95 を捉えた。この相互作用は、INLAIs で良く用いられているピリジン骨格では直接狙う事の出来ない相互作用であり、新たな知見である。

表 1. 置換基 R¹ の最適化



Cmpd.	R ¹	MT-4/MTT	MT-4/MTT
		NL432 : EC ₅₀ (nM)	CC ₅₀ (nM)
17		27 ± 4.1	12000 ± 130
20a		31 ± 8.1	8800 ± 280
20b		480 ± 130	4000 ± 190
22g		11 ± 0.5	15000 ± 650
22h		29 ± 6.6	11000 ± 1100
22i		33 ± 10	11000 ± 1200

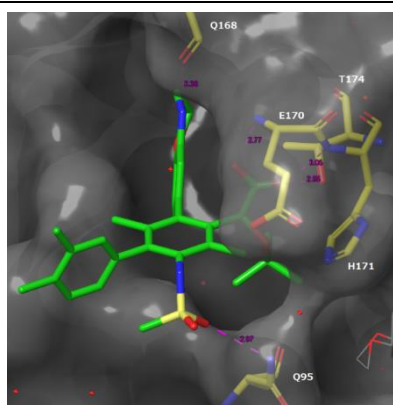
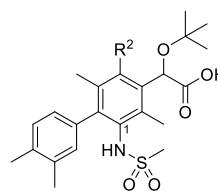


図 3. 化合物 34d と IN-CCD の共結晶構造

表 2. 置換基 R² の最適化



Cmpd.	R ²	MT-4/MTT	MT-4/MTT
		NL432 : EC ₅₀ (nM)	CC ₅₀ (nM)
34a		34 ± 4.0	>50000
34b		11 ± 2.9	26000 ± 610
34c		26 ± 3.7	22000 ± 3000
34d		330 ± 12	42000 ± 12000
34g		22 ± 3.7	28000 ± 2700
34h		3.9 ± 1.2	24000 ± 1000
BI 224436		56 ± 8.1	>50000

2. ピリジン骨格を有する新規 INLAIs の創出

次に得られた知見を基に別の新規骨格をデザインすることにした。そこで、INLAIs に共通するピリジン骨格 5 と私が見出した 1 位の置換基を組み合わせた骨格 36 を着想した (図 4)。こ

ここでピリジンの窒素原子は1位から置換基を伸長させるために左にずらした。この新規骨格 **36** の位置に窒素原子を有するピリジン骨格は未だに報告されていない。



置換基の最適化はベンゼン骨格の時と同様に行い、置換基 R^1 としては分子内水素結合が形成できるウレアが良いことが分かり、その中でもシクロヘキシルウレアが最適な置換基であった。また R^2 は同様に *o*-メチルクromanがベストであり、化合物 **69f** が最も良い活性を示した (表3)。

表3. **BI 224436** と化合物 **34h**, **69f** のプロファイルの比較

compound	BI 224436	34h	69f
$EC_{50}(NL432)$ _nM	56	3.9	N.T.
$EC_{50}(WT)$ _nM	22	N.T.	6.6
$EC_{50}(T174I)$ _nM	>5000	N.T.	270
CC_{50} _nM	>50000	24000	11000
$MS_{h,r}$ _%	98, 100	59, 61	N.T.
CLt _mL/min/kg	1.09	6.99	N.T.
AUC_{ng} _hr/mL	7680	1190	N.T.
$T_{1/2}$ _h	4.2	3.1	N.T.
BA _%	64	36	N.T.

最後に対照化合物である **BI 224436** と化合物 **34h**, **69f** のプロファイルを比較した (表3)。化合物 **69f** は活性面において野生株 WT, NL432 だけでなく、耐性変異株 T174I に対しても **BI 224436** より優れた活性を示した。しかし動態面においては、化合物 **34h** は代謝安定性が悪く、 CLt も悪かった。今後は活性を維持しながら動態面を改善していくことが、今回デザインした化合物に求められる。

本研究結果から、ベンゼン、ピリジン骨格という有望な新規骨格を見出すことができた。また1位から置換基を伸長することで新規ファーマコフォア Q95 を獲得することができた。本研究成果は、新規 INLAIs の探索において有用な知見を提供するものと考えている。