

審査の結果の要旨

氏名 佐藤 歩

佐藤歩は、「自己免疫疾患治療薬を指向した新規 ROR γ t 逆作動薬の合成研究」のタイトルで研究を展開した。以下に、その詳細を述べる。

自己免疫疾患は免疫系が自分自身の細胞を攻撃し、ダメージを与える炎症性の疾患である。従来の薬物療法の中心は非ステロイド性抗炎症薬やステロイド、免疫調整薬や免疫抑制薬であり、近年では TNF- α 阻害薬や、IL-6 阻害薬などの抗体医薬が治療に用いられ、炎症性サイトカインの抑制が自己免疫疾患の治療に有効であることが示されている。しかしながら、低分子薬の副作用や抗体医薬の高額な薬剤費や通院が患者にとって負担であり、副作用が低減された経口投与可能な低分子治療薬が切望されている。

これらの状況を踏まえ佐藤は、炎症性サイトカインである IL-17A/F および IL-23 等の制御に関わる RAR-related orphan receptor gamma t (ROR γ t) に着目した。ROR γ t は T 細胞に発現している核内オーファン受容体であり、ROR γ t ノックアウトマウスは潰瘍性大腸炎や実験的自己免疫性脳脊髄炎等の自己免疫疾患モデルに抵抗性であることが示されている。佐藤は ROR γ t 逆作動薬が創成できれば、炎症性自己免疫疾患に対する治療薬の新たな選択肢になるものと考え研究に着手した。

ハイスループットスクリーニングより見出したカルバゾール誘導体 **1** は結合活性が 7.5 nM、レポーター活性も 92 nM と強かったが、ラット経口吸収性が低かった (Figure 1)。佐藤は低い経口吸収性の原因が高い脂溶性によるものと考えた。そこで、分子をカルバゾール環、リンカー部、シアノフェニル基と 3つの部分構造に分解し、各々の構造活性相関情報を統合しながら分子の脂溶性を低減させ、最適な化合物を見出す戦略を立案した。

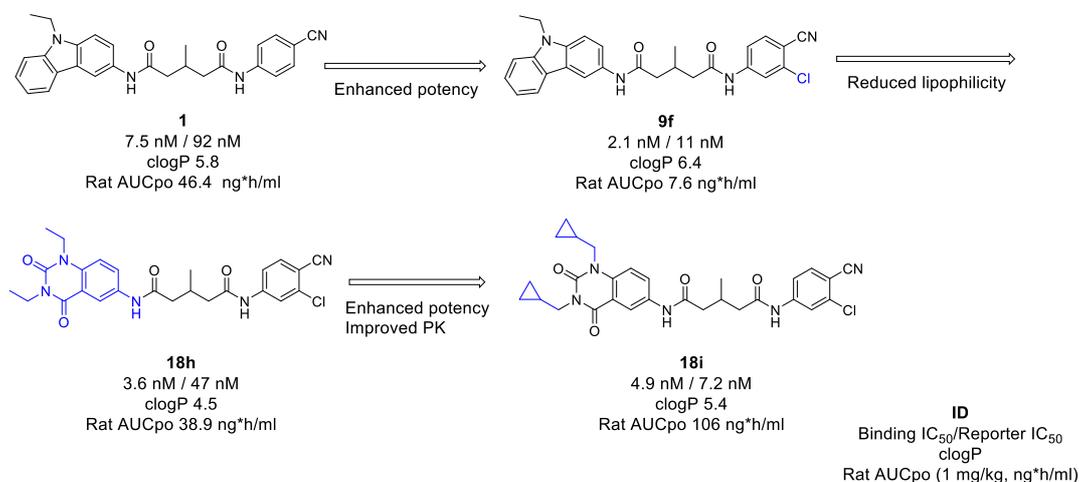


Figure 1. Carbazole hit compound **1** to quinazolinone **18i**.

まずリンカー部の検討を行い、3-メチルペンタン-1,5-ジアミド構造が最適であることを確認した。右端のシアノフェニル基部位では、シアノ基オルト位にクロロ基を導入した **9f** でクロロ基が周辺の脂溶性相互作用を獲得することにより活性向上することを見出した。化合物 **9f** は溶解度に課題があったため、高い脂溶性を有するカルバゾール環の脂溶性を低減させながら活性発現に必須な相互作用を保つ分子設計を行い、溶解度が改善された **18h** へと導いた。化合物 **18h** のキナゾリジンジオン環上置換基を最適化して活性が向上した **18i** は、ラット EAE モデルにおいて 100 mg/kg で薬効を示した。また、ROR γ t タンパクと **18h** の X 線共結晶構造解析の結果、活性コンフォメーションが既存の逆作動薬と異なる U 字構造であるという知見を得た (Figure 2)。

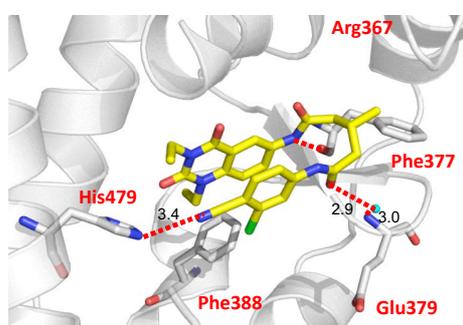


Figure 2. Structure of inverse agonist **18h** complex with the C-terminal truncated ROR γ t protein.

化合物 **18i** は薬効試験に用いるマウスでの薬物動態が課題であった。そこで佐藤は回転可能結合数の低減により経口吸収性が改善すると予想し、化合物の U 字型コンフォメーションを固定化が期待できる複数の環状リンカーを設計した。検討した中でシスのシクロペンタン誘導体 **21** およびピペリジン誘導体 **50** が強い活性を示した (Figure 3)。各々の骨格について代謝部位ブロックおよび脂溶性低減の戦略を用い、薬物動態改善の検討を行ったところ、シクロペンタン誘導体 **21** をテトラヒドロフラン環へと変換した化合物 **29** では薬物動態が改善されなかったが、ピペリジン誘導体 **50** を変換したモルホリン誘導体 **51** において大幅な AUC (Area under the curve) の向上を達成した。さらにエーテル結合をアミド結合へと変換した化合物 **52** でレポーター活性が向上することが判明し、モルホリンアミド誘導体が優れた薬物動態を示すターンミメティクス分子であることを見出した。

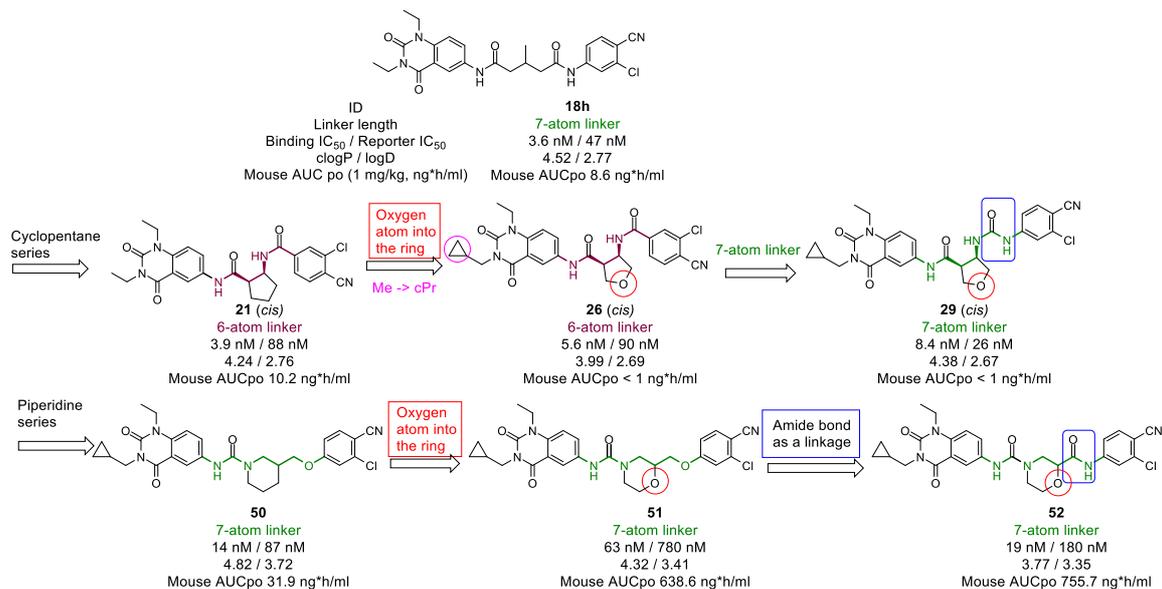


Figure 3. Schematic diagram of scaffold hopping.

モルホリンアミド誘導体 **52** はレポーター活性が 170 nM であったため、さらなる活性の向上を目指し、Phe388 との脂溶性相互作用獲得を狙ったデザインを行った。結果、キナゾリジンジオン環上へイソプロピル基を導入した化合物 **56b** でレポーター活性が向上した (Figure 4)。化合物 **56b** を光学分割した *R* 体 **57** は薬物動態も良好であったため、化合物 **57** をマウス自己免疫疾患モデルにより評価した。化合物 **57** は、30 mg/kg の経口投与で IL-17A の発現量を 59%抑制した。

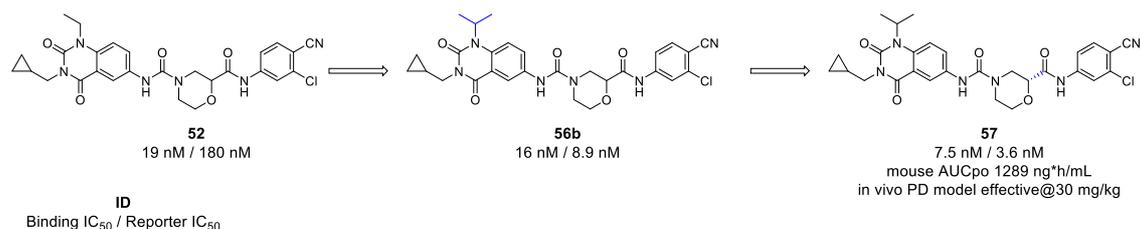


Figure 4. Modification of substituents on the quinazolidinedione ring.

最後に佐藤は X 線構造解析によりモルホリンアミド **57** が直鎖型化合物 **18h** と同様に U 字型ファーマコフォアを活用していることを確認した (Figure 5)。さらに、キナゾリジンジオン環上 *iPr* 基が α 位に分岐したメチル基により、Phe388 との脂溶性相互作用を獲得し活性向上に寄与していることも合わせて確認した。

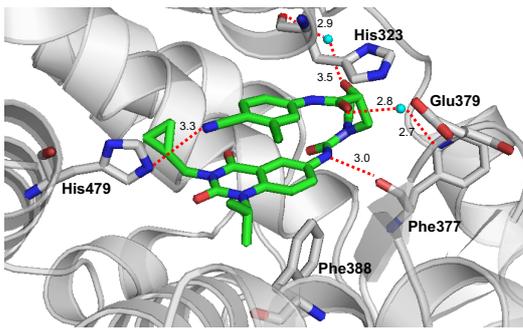


Figure 5. Complex structure of the inverse agonist **57** (green) bound to ROR γ t protein (PDB code:6B32).

以上のように、佐藤歩は、「自己免疫疾患治療薬を指向した新規 ROR γ t 逆作動薬の合成研究」に取り組み、以下の結果を得た。

- 1) 低溶解度の原因と考えられた三環性構造を有するヒット化合物に対し、構造活性相関及び X 線構造解析から逆作動活性発現や活性向上に重要な相互作用を特定し、環の数を削減しながら必須な相互作用を獲得する置換基導入を行った。さらに極性基を適切に配置することにより、活性及び物性に優れた二環性構造に効果的に変換する分子設計法を確立した。
- 2) 安定的に U 字型活性コンフォメーションを保持する化合物として、リンカー部分に環構造を導入することが有効であることを見出した。環構造導入により化合物変換の幅が広がり、直鎖型リンカーでは困難だったヘテロ原子の導入が許容された。ヘテロ原子導入によって代謝部位のブロックおよび脂溶性低減され、*in vivo* クリアランスが向上することで薬物動態の改善を達成した。
- 3) 自己免疫疾患モデルで経口投与により薬効を示す新規 ROR γ t 逆作動薬逆作動薬を創製し、本メカニズムでの新規自己免疫疾患治療薬創出の可能性を示した。

これらの業績は、薬学研究に大きく貢献するものであり、博士（薬科学）の学位を授与するに値するものと認めた。