

## 論文の内容の要旨

論文題目 新規な 5, 5-ジアリールペンタジエナミド構造を有する TRPV1 拮抗薬の創製

氏 名 佐久 磨

我々の体は、約 43°C 以上または約 15°C 以下の温度に接すると、温度の感覚に加えて痛みを感じることを日常生活において経験している。一方、発熱は生体防御機能の一環であるが、体温をコントロールするためのメカニズムは長い間不明であった。

表皮に近い感覚神経終末において発現が確認されているイオンチャネル型受容体が、温度や他の物理刺激を受容することが判明すると、一部の一次求心性線維上に熱刺激によって開口するイオンチャネルの存在が明らかとなった。そして、1997 年にカプサイシン受容体 TRPV1 (Transient Receptor Potential Vanilloid 1) の遺伝子がクローニングされ、このチャネルは熱刺激によって活性化されることが証明されたことで、生体内における温度受容体の分子実体が初めて明らかとなった。TRPV1 は、TRP イオンチャネルスーパーファミリーの TRPV サブファミリーに属する。カルシウムチャネルは、電位作動性チャネル、リガンド作動性チャネルおよび受容体活性化チャネルに分類されるが、TRP は受容体活性化カルシウムチャネルの分子実体と考えられており、さまざまな刺激に応答して活性化されることが明らかになっている。

トウガラシの主成分カプサイシンは辛味とともに痛みをひき起こし、侵害性刺激受容体をもつ感覚神経を特異的に脱分極させて細胞内カルシウム濃度の増大を引き起こすことが報告されている。TRPV1 は、カプサイシンの他に生体において痛みを惹起する酸(プロトン)、熱(43°C 以上)によっても活性化される複数の有効刺激をもつ痛み受容体として機能している。43°C という熱活性化温度閾値は、ヒトや動物に痛みを引き起こす温度閾値とほぼ一致しており、TRPV1 が、組織を実質的に傷つける可能性のある刺激(侵害刺激)や熱刺激受容に関与することを示唆している。

炎症時には、その部位の pH が下がり、痛みを制御したり創傷の治癒を促進する炎症関連メディエーターと呼ばれる種々の物質が放出されたりすることが知られている。炎症関連メディエーターとして知られる ATP やブラジキニンは、それぞれの Gq タンパク質共役型受容体 (P2Y<sub>2</sub> 受容体と B<sub>2</sub> 受容体) に作用してプロテインキナーゼ C によって TRPV1 をリン酸化して、その活性化温度閾値を体温以下に低下させることが知られている。これらの炎症関連メディエーターの産生が亢進したり神経細胞外が酸性化したりする環境では、体温が TRPV1 の活性化刺激となり、痛覚過敏やアロディニア (異痛症) の原因となる。また、TRPV1 欠損マウスはほとんどの行動薬理試験において正常反応を示すが、カラゲニン誘発の炎症性発熱疼痛は完全に消失する。

一方、TRPV1 の作動薬で当該受容体を刺激すると痛覚神経は脱感作され、痛み刺激の伝達が抑制されることで、痛みを感じにくくなることが知られている。この作用機序を利用して帯状疱疹後に発生する疼痛や糖尿病性神経障害による痛みの改善に TRPV1 アゴニストを用いたカプサイシンクリームが臨床で使用されているが、一日数回の塗布が必要なことに加え、塗布直後の灼熱痛が副作用として問題となっている。TRPV1 拮抗薬は、これらの問題を解決できる可能性が高く、また炎症性疼痛から神経因性疼痛まで様々な痛みを改善できる鎮痛薬として期待できる。

以上の知見から、TRPV1 は炎症性疼痛、神経因性疼痛などにおいて重要な役割を担っていると考えられ、新規な疼痛治療薬の開発を目指して、TRPV1 拮抗薬の探索研究を開始した。

筆者の所属する協和発酵キリン株式会社所有の社内化合物ライブラリーからランダムスクリーニングによって TRPV1 拮抗薬の探索を行ったところ、カルシウム流入に対して亢進作用を示す作動薬 1 および 2 が見出された (Figure 1)。作動活性 (EC<sub>50</sub>) は化合物 2 の方が強力であるものの、分子構造から、ジエナミド構造に由来する化学的不安定性、代謝的不安定性が懸念され、低分子創薬の歴史に鑑みても経口薬として有用な化合物に誘導することは極めて難しいと思われた。

薬物代謝における酸化反応の代表的な酵素である P450 は、基質特異性が比較的広く、反応は、求電子的攻撃を受けやすい部位に起こりやすい。すなわち、N, O, S などの不対電子を有するヘテロ原子や  $\pi$  電子を有する二重結合などは一般に反応性が高く、水素引抜き反応による水酸化やエポキシ化を受ける。しかしながら、薬物代謝型の P450 は、基質の官能基を識別しているのではなく、基質結合部位に対する総合的な結合性を認識していると考えられており、薬物の脂溶性と代謝安定性との相関に関しては多くの報告がある。

従って、主に分子の脂溶性を指標として、誘導体展開による厳密な側鎖の最適化を行えば、化合物 2 のような一見不安定で Drug-like とは言い難い構造からの創薬にも可能性があるのではないかと考えられた。実際に、同様に TRPV1 作動活性を示し、類似したジエナミド構造を有する黒胡椒の主成分であるピペリンは、自然界に安定に存在することが知られている化合物である。また、TRPV1 拮抗作用は中枢神経系を介して発現すると考えられるため、創出される化合物群は適度な中枢移行性を有している必要があるが、ジエナミド構造に由来する分子の高い脂溶性は、この目的にはむしろ好ましいと思われた。そこで周辺化合物をさらに探索したところ、5,5-ジアリール体 (化合物 3) に 100 倍以上の作動活性の増強が認められた。これらの結果から、この化合物をリード化合物に設定し、活性を保持したままアゴニストからアンタゴニ

ストへの変換に挑戦することとした。詳細なメカニズムは不明だが、リガンドやチャネルのわずかな構造の変化は、TRPV1 の活性に非常に大きな影響を与えることが判明しており、様々な骨格を有する誘導体で活性転換に成功した例が報告されている。そこで、化合物 3 に対して、活性の逆転を目的に種々の誘導体を合成した結果、チオモルホリンを 7-ヒドロキシナフチルアミンに変換した化合物 4 やイソキノリンを導入した化合物 5a は、高い親和性を保持したまま、アンタゴニスト活性を示すことが見出された。

これらの結果から、ジエナミド誘導体の構造最適化による良好な動態特性の獲得と TRPV1 拮抗活性の向上を系統的に試みた。本論文では、化合物 5a をリード化合物としたジエナミド 5 位の左右の両芳香環の変換、修飾に関して、そのデザイン、合成および構造活性相関について検討した。

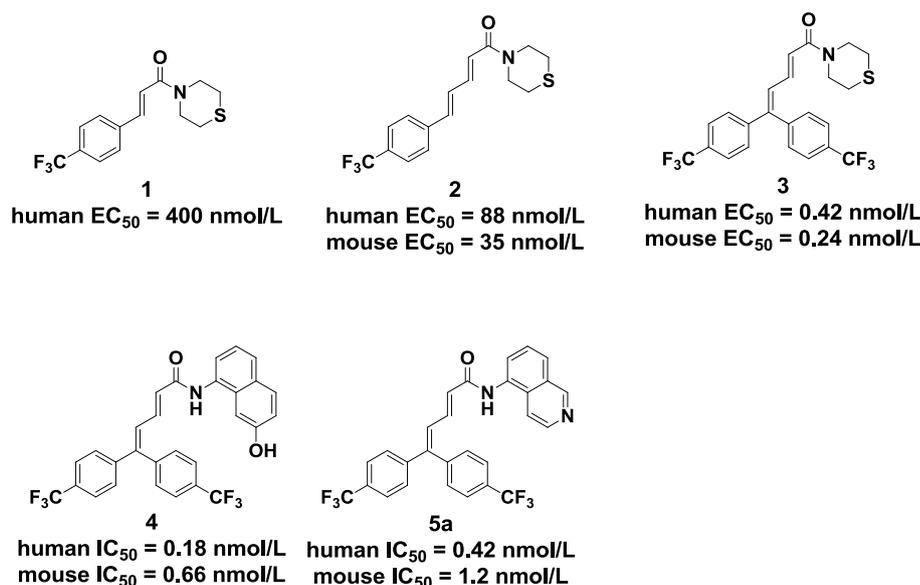


Figure 1. Structure-Activity Relationship of the First Lead Compounds.

第2章では、TRPV1 受容体の創薬ターゲットとしての可能性を検証する目的で、新規な疼痛治療薬の開発を目指した TRPV1 拮抗薬の初期探索研究を述べる。良好な吸収性を有する経口剤の開発を目的に、化合物 5a の高脂溶性の改善を試みたが、5 位に 2 つの対称な芳香環を有するペンタジエナミド誘導体においては、活性保持と脂溶性の低減の両立は達成できなかった。そこで、5 位に異なる置換基を有するペンタジエナミド誘導体の簡便な合成法を見出し、最適化を実施した。物性改善を意識した幅広い置換基の探索の結果、代謝安定性が改善され、フリー体分率の向上、ラットモデルにおける薬効の増強を果たした。なかでも、活性と物性が最適化された 17b, 17f は、良好な動態プロファイルを示し、in vivo で強力な薬効を有することが判明した。

しかしながら、第2章で見出された化合物 17b, 17f は、十分な TRPV1 拮抗活性を示すものの、薬物相互作用の原因となる CYP3A4 不可逆阻害作用や心毒性の原因となる hERG チャネル阻害作用を有することが判明した。また、水溶性、代謝安定性、中枢移行性などにも改善の余地があった。そこで、第3章では、17f を新たなリード化合物に設定し、5 位の芳香環とアミド側鎖の探索を継続した。すでに第2章の初期検討で把握されていた構造活性相関情報を基に、

5 位芳香環へ脂溶性低減が期待できる官能基の導入や、水溶性向上が期待できるアミノ基の導入を行った。その結果、アミノ基の導入に対しては、水溶性の改善が見られたが、CYP 不可逆阻害作用の回避は困難だった。一方、アルコキシ基を導入すると、物性、動態の改善が見られ、中枢移行性が向上したことから、薬効の増強が認められた。さらに、嵩高いアルコキシ基へと展開することで、TRPV1 拮抗活性が向上することが分かり、拮抗活性と動態のバランスに優れた誘導体が見出された。一方、アミド部位のイソキノリル基を 3-ヒドロキシ-2-オキソ-1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-5-キノリル基へ変換すると、hERG 阻害作用は大幅に減弱することを見出した。

これら各パートの検討結果を組み合わせた誘導体の中から、ラット *in vivo* 評価で強薬効を示す誘導体を抽出し、ヒト臨床推定用量との相関が高いサルカセット PK 試験結果と hIC50 値で誘導体間の優劣を判定した。これらの結果を総合的に判断し、化合物 47b が選択された。さらに、47b の各エナンチオマーを合成したところ、拮抗活性、動態ともに *R* 体に優位性があることを明らかにした。

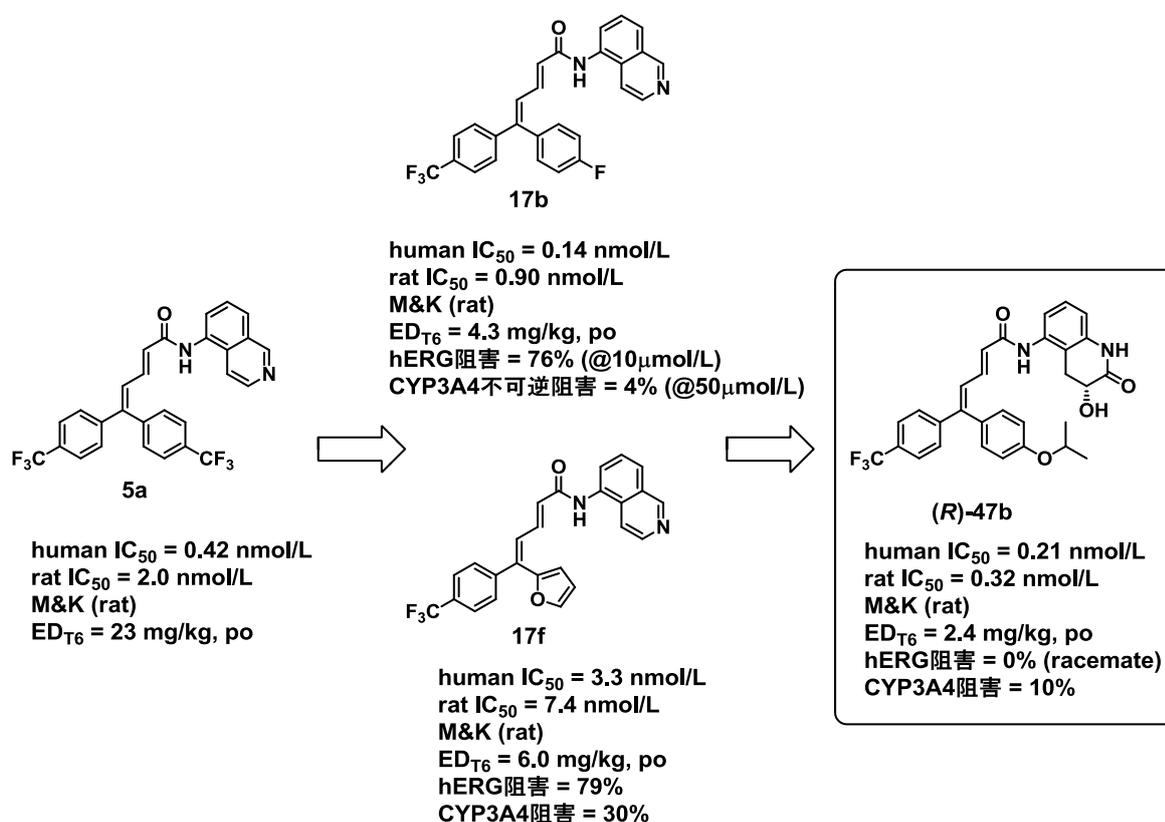


Figure 2. Structural Modification of Novel 5,5-Diarylpentadienamides Derivatives.

これらの研究を通じて、低分子創薬の候補化合物としては従来ほとんど顧みられることはなかったジエン構造を分子内に有する化合物群に対して有益な知見を得ることができた。ジエナミド構造の有する適度な脂溶性とカップリング反応による構造変換の容易性に注目して、構造活性相関の綿密な検討を行った結果、従来までに合成された TRPV1 拮抗薬の中でも最強の拮抗活性を有し、優れた体内動態特性の付与と心毒性、遺伝毒性作用の回避を達成した有望な新規 TRPV1 拮抗薬の開発候補品の創製に成功した。