

## 論文の内容の要旨

論文題目：コレステリルエステル転送蛋白阻害剤 JTT-705 の創薬研究

氏名 前田 公也

### 緒言

近年、食生活やライフスタイルの変化に伴って動脈硬化性疾患が増加しており、これを防止することが現代医療における重要な目標の一つとなっている。動脈硬化性疾患に対する既存薬物の中で最も広範に使用されているスタチン系薬剤は、血中低比重リポ蛋白 (LDL) コレステロールを効果的に低下させる薬剤であるが、その効果は完全に満足しうるとはいえない。従って、血中 LDL コレステロール低下とは異なった視点に立脚した抗動脈硬化薬の開発が切望されている。このような観点から、血中高比重リポ蛋白 (HDL) コレステロールの増加作用を有し、これにより動脈硬化性疾患の予防・治療を達成する、新たな抗動脈硬化薬の探索が精力的に行われており、その標的の一つとしてコレステリルエステル転送蛋白 (CETP) が注目されている。

CETP は HDL 中のコレステリルエステルを超低比重リポ蛋白 (VLDL) や LDL に転送する蛋白であり、CETP が血中で作用すると血中 HDL コレステロールは減少し、VLDL、LDL コレステロールは増加する。この変化は動脈硬化を促進すると考えられるため、CETP は動脈硬化促進的な蛋白であると考えられる。しかし、コレステロールを末梢組織から肝臓に戻すコレステロール逆転送経路の一部にも CETP が関与すること等から CETP は抗動脈硬化的であるとする考えもあり、CETP に対する評価は定まっていなかった。

このような背景を踏まえた上で、筆者は、CETP が動脈硬化促進的か否かを明らかにするため、また CETP 阻害に基づく新しい抗動脈硬化薬開発の可能性を明

らかにするために、CETP 阻害剤の創薬研究を計画した。

in vitroでのヒト全血漿 CETP 阻害試験における、ビス(2-アセチルアミノフェニル)ジスルフィドをリード化合物とした構造活性相関研究

CETP は血漿中に存在することから、生体から得た全血漿をそのまま用いて行う試験系(全血漿 CETP 阻害試験系)において阻害活性を示す化合物であることが *in vivo*で有効性を得るための条件と考えられた。しかし、これまで全血漿 CETP 阻害試験系で十分な阻害活性を示す化合物は報告されていなかった。

筆者はこの試験系を用いたランダムスクリーニングによるリード探索を実施した結果、低活性ながらヒト全血漿中で有効なビス(2-アセチルアミノフェニル)ジスルフィド(1)を見出し(図 1)、これをリード化合物とした CETP 阻害剤の創薬研究を実施した。

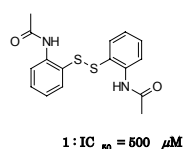


図 1. リード化合物 (1) の構造

本研究では、1 を系統的に部分構造変換し、CETP 阻害作用発現に必要な部位や阻害活性向上に影響する部位を特定した(図 2)。すなわち、アシルアミノ基の先に付くアルキル基は CETP との特異的な相互作用を形成する上で極めて重要で、その脂溶性及び立体的な形が CETP 阻害活性の強さに大きく影響すること、ベンゼン環上で隣り合って存在するジスルフィドとアシルアミノ基の構造が、蛋白との特異的相互作用を得るために非常に重要であること、ジスルフィドはチオール又はその等価体であるチオエステルに置き換えられ、二量体構造は必要でないことを明らかとした。

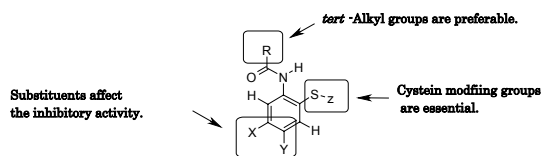


図 2. 化合物の構造活性相関

又、母核ベンゼン環への置換基導入について検討を行い、導入位置や導入置換基の種類が CETP 阻害活性に与える影響を確認した。その結果、ベンゼン環 3 位及び 6 位への置換基導入は許容されないこと、ベンゼン環 4 位、5 位への置換基導入は許容され CETP 阻害活性の強さに影響することを明らかにした。これらの知見を基にして構造最適化を実施して、リード化合物に比べ 100 倍以上 CETP 阻害活性の強い 2、3 及び 4 を創製した(図 3)。

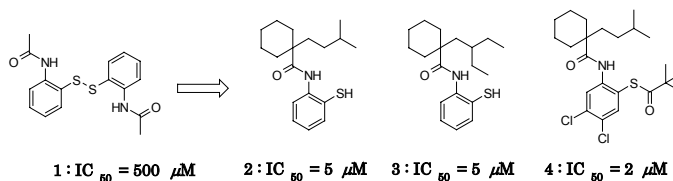








図 3. *in vitro* での最適構造

### ex vivoでの CETP 阻害効果に基づいた構造最適化研究：JTT-705 の創製

本研究では、ヒト CETP 遺伝子導入マウスとウサギの二種類の動物を用いて *ex vivo*での CETP 阻害効果に基づいた構造最適化研究を実施し、医薬品候補化合物を選定した。

ヒト CETP 遺伝子導入マウスに経口単回投与を行い、その CETP 阻害効果を検討した結果(表 1)、CETP 阻害作用を発現するチオール、ジスルフィド及びチオエステル型の三つの化合物群の内、ジスルフィド型化合物の阻害効果は他の型に比べると明らかに弱く、経口吸収性に問題があると考えられた。チオール型化合物は 10 mg/kg の用量で経口投与した場合においても CETP 阻害効果を示したが、化学的安定性に問題があることが判明した。一方、チオエステル型化合物は、良好な阻害効果を示し、安定性にも問題がなかった。これらの結果から、医薬品として開発しうる化合物としては、チオエステル型化合物がふさわしいと考えられた。





structure							
	<b>2</b>			<b>JTT-705</b>			
CETP inhibition in CETP transgenic mice (%) <sup>a</sup>	100 mg/kg	57	25	47	NT <sup>b</sup>	NT <sup>b</sup>	NT <sup>b</sup>
	30 mg/kg	45	NT <sup>b</sup>	42	44	44	44

<sup>a</sup>The percent inhibition was calculated from the CETP-mediated cholesterylester transfer in the plasma of CETP transgenic mice administered the test compounds at oral doses of 30, and 100 mg/kg relative to the transfer in the vehicle control. Blood samples were collected before and 6 hrs after the administration.

<sup>b</sup>NT: not tested.

表 1. ヒト CETP 遺伝子導入マウスでの各化合物の CETP 阻害効果

次に、ヒト CETP 遺伝子導入マウスに対して良好な CETP 阻害効果を示したチオエステル型化合物についてウサギに経口単回投与を行って有効性を検討した結果(表 2)、2-メチルプロパンチオ酸 S-2-(1-(2-エチルブチル)シクロヘキサノールカルボニルアミノ)フェニルエステル (JTT-705) に顕著な CETP 阻害活性を認めた。すなわち、30 mg/kg の単回投与によって 95% の CETP 阻害を達成し、10 mg/kg の単回投与でも CETP を 35% 阻害した。又、筆者らのグループは、JTT-705 が CETP の 13 番目のシステインとジスルフィド結合を形成することで阻害作用を発現している可能性が高いことを明らかにした。

structure					
	<b>JTT-705</b>				
CETP inhibition in JW rabbits (%) <sup>a</sup>	30 mg/kg	95	39	40	32
	10 mg/kg	35	NT <sup>b</sup>	NT <sup>b</sup>	NT <sup>b</sup>

<sup>a</sup>The percent inhibition was calculated from the CETP-mediated cholesterylester transfer in the plasma of JW rabbits administered the test compounds at oral doses of 10, and 30 mg/kg relative to the transfer in the vehicle control. Blood samples were collected before and 6 hrs after the administration.


表 2. ウサギでの各化合物の CETP 阻害効果

### JTT-705 の in vivo 血中 HDL コレステロール増加作用

本研究では、JTT-705 による *in vivo* 血中 HDL コレステロール増加作用につ

いて、ウサギを用いた経口投与連投試験で検討した。ウサギに 30 mg/kg 及び 100 mg/kg の用量で 1 日 1 回 3 日間経口投与を行い、最終投与から 8 時間後の血中 HDL コレステロール量を測定した。その結果、100 mg/kg では 54%、30 mg/kg においても 27% の血中 HDL コレステロール増加が確認された(表 3)。

この結果は、低分子 CETP 阻害剤の経口投与によって血中 HDL コレステロールが顕著に増加した初めての例であった。又、筆者らのグループは、動脈硬化発症モデルであるコレステロール負荷ウサギを用いた連投試験により、JTT-705 の抗動脈硬化作用を証明した。

structure	HDL elevation in JW rabbits (%) <sup>a</sup>	
	30 mg/kg	100 mg/kg
 JTT-705	27	54

<sup>a</sup>The percent elevation was calculated from the plasma HDL levels in JW rabbits administered the test compounds at oral doses of 30 and 100 mg/kg once a day for 3 days relative to the levels in the vehicle control. Blood samples were collected before and 8 hrs after the final administration.

表 3. JTT-705のウサギにおけるHDLコレステロール増加作用

## 結論

以上、本研究において筆者は次に掲げる研究成果を得た。

- 1) ビス(2-アセチルアミノフェニル)ジスルフィド(1)をリード化合物として、*in vitro*でのヒト全血漿 CETP 阻害試験における構造活性相関研究を行い、CETP 阻害作用発現に必要な部位や阻害活性向上に影響する部位を特定するとともに、特定された各部位の構造最適化を実施して、リード化合物に比べ 100 倍以上 CETP 阻害活性の強い化合物 2、3 及び 4 を創製した。
- 2) *ex vivo*での CETP 阻害効果に基づいた構造最適化研究を実施し、2-メチルプロパンチオ酸 S-2-(1-(2-エチルブチル)シクロヘキサンカルボニルアミノ)フェニルエステル(JTT-705)を創製した。JTT-705 は、ヒト CETP 遺伝子導入マウスとウサギの二種類の動物に対して CETP 阻害効果を示した。
- 3) JTT-705 を用いたウサギ経口投与連投試験を実施し、CETP 阻害剤の投与により *in vivo*で血中 HDL コレステロールが顕著に増加することを初めて明らかにした。