

論文の内容の要旨

論文題目 リガンドータンパク複合体構造情報に基づく
アシルスルホンアミド系 PPAR γ 作動薬の分子設計と合成

氏 名 力丸 健太郎

【背景】近年、タンパク結晶化および X 線解析技術の進歩により、標的タンパクとこれに作用する化合物との共結晶構造情報に基づく分子設計 (Structure-Based Drug Design: SBDD) が可能となった¹。しかし、特定の部分構造の設計には、いまだに試行錯誤あるいは化学者個人の知識・経験に頼ることが多い。科学的根拠に基づく設計を行うため、長年にわたる分子設計に関する知見を集約し、生物学的等価性という概念が案出され、創薬化学において広範に適用されている²。従って、新たな生物学的等価体の同定、および既存の生物学的等価体の適用範囲の拡大は、創薬化学にとって有用な知見となる。

これらの状況を踏まえ、我々は X 線共結晶解析を駆使したリガンドータンパク複合体構造情報に基づく創薬、および新規生物学的等価体の創出を念頭に、新規ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor: PPAR) γ リガンドの探索研究を実施した。PPAR γ は核内受容体スーパーファミリーに属する転写制御因子の一種で、主に脂肪組織に発現し、エネルギー恒常性維持と脂肪量調節に関与する遺伝子発現を調節する³。

チアゾリジジオン (Thiazolidinedione: TZD) 誘導体である塩酸ピオグリタゾン (Actos[®]) とマレイン酸ロシグリタゾン (Avandia[®]) が 2 型糖尿病治療薬として承認され、これら TZD 誘導体が PPAR γ 活性化によりインスリン抵抗性改善作用を惹起することが判明している。上記薬剤に続く第 2 世代のインスリン抵抗性改善薬として多数の PPAR γ アゴニストが報告されているが、その多くはカルボン酸誘導体、またはヘテロ環状の生物学的等価体である TZD やテトラゾール誘導体であり、非環状等価体の報告例は非常に少ない⁴。そこで、既存 PPAR γ アゴニストとは異なる構

造およびプロファイルを有するリガンドを複数創製するべく、非 TZD・非カルボン酸構造を有する新規リガンドの創製研究を行った。

【ベンジルピラゾールアシルスルホンアミド誘導体のデザイン・合成】PPAR γ リガンドバインディングドメイン (Ligand-Binding Domain: LBD) は Y 字型の結合サイトを形成することが知られており⁵、当社では Y 字型モチーフを有するベンジルピラゾールフェニル酢酸誘導体 **1** を見出していた (Figure 1)⁶。我々は **1** の合成中間体であるベンジルピラゾールプロピオン酸 **2** が弱いながらも活性を示すことに注目し、ロシグリタゾンの共結晶構造⁷ に対する **1,2** のドッキングモデルを作成した。特徴的な官能基である TZD や **1** のカルボン酸は PPAR γ -LBD の Tyr473 などのアミノ酸残基と水素結合を形成していた。一方、**2** のカルボン酸はロシグリタゾンの TZD が結合するポケット (以下、TZD ポケットと記載) を十分に占有しておらず、Tyr473 との相互作用も認められなかった。この結果を元に、TZD ポケットの効果的な占有を狙って **2** のカルボン酸の生物学的等価体への変換を試みた。非環状カルボン酸等価体として、TZD の開環アナログとみなせるアシルスルホンアミドをデザインし、合成したところ、強力な活性を有する **3c** を見出すことに成功した。

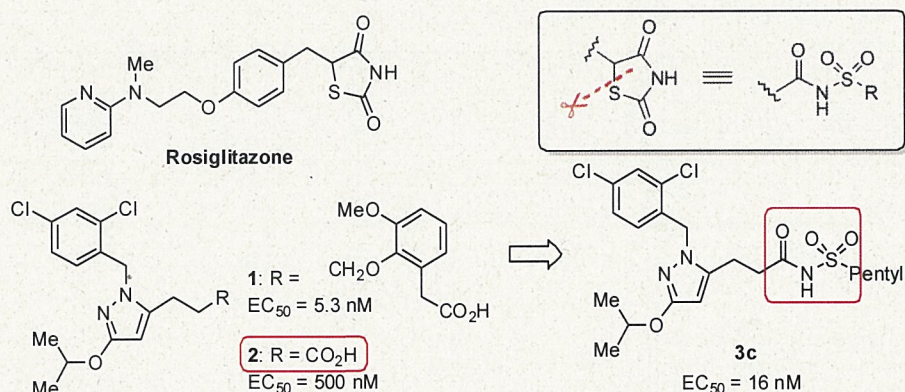


Figure 1. Design of an acylsulfonamide group as a ring-opened bioisostere of thiazolidinedione.

【ベンジルピラゾール系アシルスルホンアミドの最適化研究】リード化合物 **3c** は代謝速度が速く、げっ歯類 2 型糖尿病モデル動物にて薬効が確認できなかったため、代謝安定性改善を目標に最適化を行った。ベンジルピラゾールの各部位の置換基変換では代謝安定性の改善を達成することはできなかったが、エチレンスペーサーをビニレン基にして分子のフレキシビリティを下げることで代謝安定性の大幅な改善に成功し、**30b** を見出した (Figure 2)。**30b** は PPAR サブタイプ選択性が良好であり、代謝安定性の改善に伴って強力な *in vivo* 抗糖尿病作用が確認された。

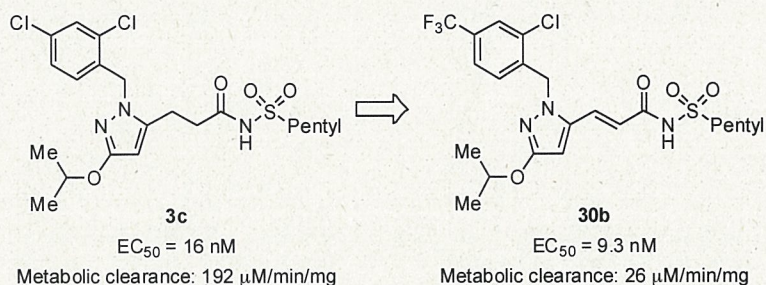


Figure 2. Incorporation of a double bond into the ethylene spacer and discovery of **30b**.

代表化合物の共結晶解析の結果、アシルスルホンアミド基は Tyr473 とは直接相互作用しないものの、TZD ポケットの他の残基との相互作用が認められ、TZD ポケットの効果的な占有が確認できた。また、ペンチル基は PPAR γ -LBD の Phe363 がフリップすることによって新たに生じた脂溶性ポケットを占有することが判明した。さらに、本誘導体のサブタイプ選択性は、アシルスルホンアミドのカルボニル基が相互作用する PPAR γ の Tyr327 が、PPAR α,δ では Phe に置換していることが寄与している可能性が示唆された。

【スキファールド・ホッピングによるピリジロキシベンゼン系アシルスルホンアミド誘導体の同定と最適化研究】ベンジルピラゾール系誘導体は比較的高い脂溶性が原因のためか、細胞傷害性が認められた。そこで、スキファールド・ホッピングを行った。具体的には、社内で見出されていた PPAR γ リガンドの脂溶性テンプレートを種々適用した結果、ベンジルピラゾールの代替テンプレートとして、ピリジロキシベンゼン **35** を見出すことができた (Figure 3)。ドッキングモデルの解析により、中央ベンゼン環 4 位への置換基導入が効果的であることが示唆されたため、4 位置換体のデザイン・合成を行ったところ、活性が大きく向上した **41a** を見出すことができた。

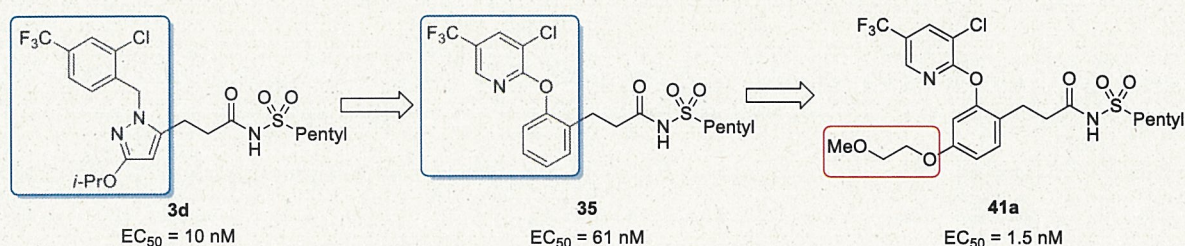


Figure 3. Exploration of the alternative template and discovery of pyridyloxybenzene **35** and **41a**.

ピリジロキシベンゼン誘導体 **35** においても、ベンジルピラゾール系と同様に代謝安定性が問題であったため、その改善を目的として変換を行った。その結果、リンカーの変換によって、活性と代謝安定性の両面に優れたビニレン体 **41c** を見出すことに成功した (Figure 4)。また、アシルスルホンアミドの生物学的等価体の検討で、スルホニルカルバマート **62b** やアシルスルファמיד **41o** がアシルスルホンアミドの代替基として機能することを明らかにした。見出した **41c** はサブタイプ選択性に優れ、良好な動態と薬効を示すと共に、ベンジルピラゾール系で問題となった細胞傷害性も認められなかった。

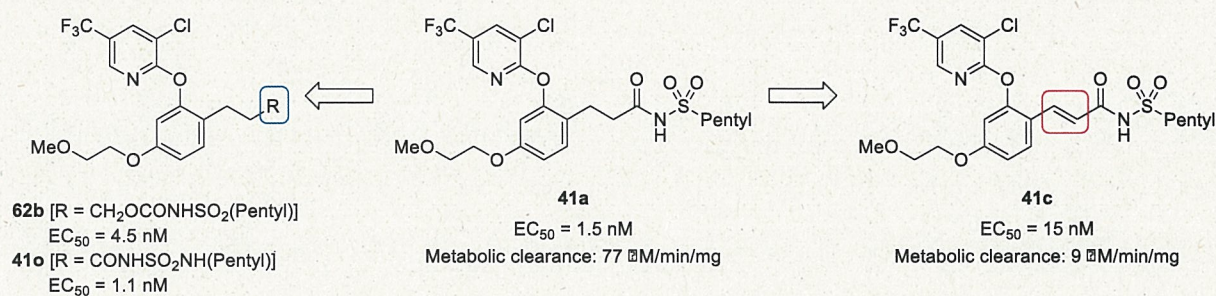
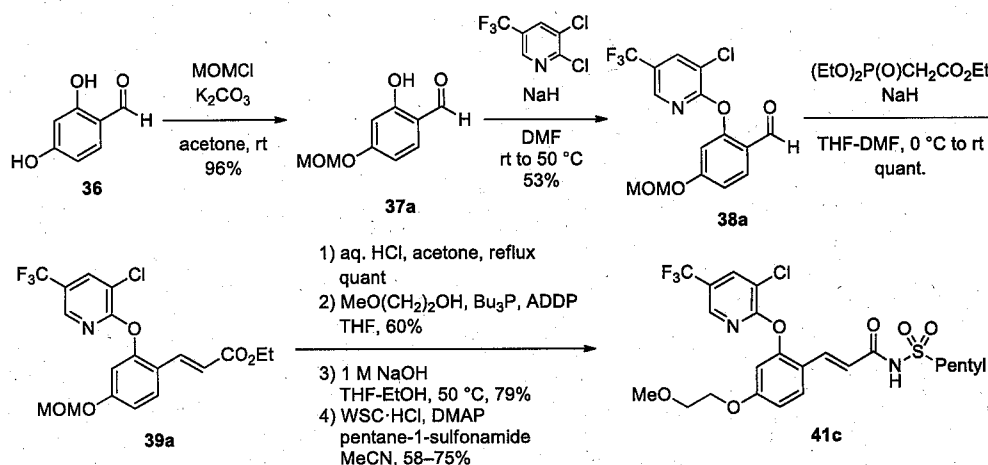


Figure 4. Discovery of propanoate-acylsulfonamide **41c**, sulfonyl carbamate **62b** and acylsulfamide **41o**.

41c の周辺誘導体の合成および共結晶解析の結果、中央ベンゼン環 4 位のアルコキシ基および 2 位ピリジン環上の 3,5 位の脂溶性置換基と、PPAR γ -LBD との相互作用様式が明らかとなり、これらの置換基の重要性が確認された。また、ピリジン環窒素原子による活性向上は、部分構造のエネルギー計算の結果、ビアリールエーテル部位の安定配座の変化によるものであると推察した。すなわち、窒素原子導入により、ジアリールエーテル部位の安定配座が共結晶構造の結合配座とほぼ同じになり、結合に有利となるためであると考えられる。

41c は、市販の **36** に対し 2 つの水酸基に位置選択的に置換基を導入することで **38a** とし、Horner-Wadsworth-Emmons 反応による増炭反応後、エステル基を塩基性加水分解し、最後にスルホンアミドと脱水縮合反応に付すことで合成した (Scheme 1)。



Scheme 1. Synthesis of pyridyloxybenzene acylsulfonamide **41c**.

【総括】既知 PPAR γ リガンドおよび関連化合物に対してドッキングスタディを適用し、カルボン酸・TZD の非環状生物学的等価体アシルスルホンアミドを導入したベンジルピラゾール誘導体をデザインした。その最適化研究により新規 PPAR γ アゴニスト、ベンジルピラゾール系アシルスルホンアミド **30b** などを見出した。また、スキヤフォールド・ホッピングによって、ピリジロキシベンゼン誘導体を見出し、リガンド・タンパク複合体構造情報を活用した最適化によって、良好なプロファイルと強力な薬効を示す PPAR γ アゴニスト **41c** を創製した。さらに、PPAR γ アゴニストの重要な部分構造であるカルボン酸・TZD の生物学的等価体として、アシルスルホンアミドに加え、スルホニルカルバマート、アシルスルファミドが機能することを見出した。見出した新規リガンドと PPAR γ -LBD との共結晶解析により、これらの化合物の転写活性化作用およびサブタイプ選択性に重要な種々のリガンド・タンパク相互作用を明らかにした。

【参考文献】 (1) Williams, S. P. *et al.*, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2005**, *9*, 371. (2) Meanwell, N. A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 2529. (3) Berger, J.; Moller, D. E. *Annu. Rev. Med.* **2002**, *53*, 409. (4) Cho, N. *et al.*, *Curr. Top. Med. Chem.* **2008**, *8*, 1483. (5) (a) Nolte, R. T. *et al.*, *Nature* **1998**, *395*, 137. (b) Uppenberg, J. *et al.*, *J. Biol. Chem.* **1998**, *395*, 31108. (6) Takeda Pharmaceutical Co., Ltd., Maekawa, T. *et al.*, *PCT Int. Appl. WO2006/057448*, **2006**. (7) Gampe, R. T., Jr. *et al.*, *Mol. Cell* **2000**, *5*, 545.