

PKC θ を標的とした新規免疫抑制剤の合成研究

國川, 茂輝

<https://hdl.handle.net/2324/2236341>

出版情報 : Kyushu University, 2018, 博士 (創薬科学), 論文博士
バージョン :
権利関係 :

1. 書式

PKC θ を標的とした新規免疫抑制剤の合成研究

國川 茂輝

【序論】

臓器移植とは機能不全に陥った臓器を第三者から提供された臓器を入れ替える治療法である。世界中で行われている一方、その際に起こる免疫拒絶反応が問題となっており、移植臓器の生着率を向上させるには拒絶反応を抑えることが重要である。現在、拒絶反応を抑えることを目的として、カルシニューリン阻害剤(CNI)であるシクロスポリン・タクロリムスやイノシンーリン酸デヒドロゲナーゼであるミコフェノール酸モフェチル(MMF)が臨床において用いられている。これらの薬剤の誕生により、生着率は飛躍的に向上した一方、薬剤の標的が免疫系以外の広範に及び、CNI には腎機能障害、MMF には消化管障害といった副作用が報告されている。そのため、より副作用が低減された新たな作用機序を持つ免疫抑制剤の開発が望まれている。

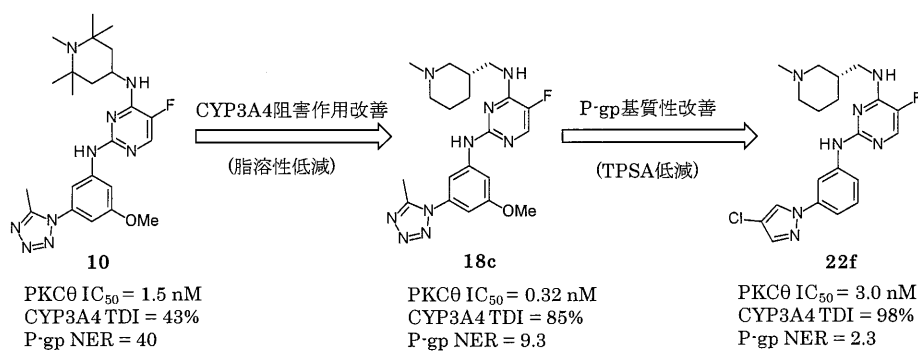
セリン/スレオニンキナーゼは細胞内の多彩なシグナル伝達に関与している。その一つである Protein kinase C (PKC)は、細胞の増殖や分化に密接に関わっており、現在 11 種のアイソザイムが知られている。アイソザイムの一つである PKC θ は、カルシウムイオン非依存型のプロテインキナーゼであり、カルシニューリンとは異なる伝達経路を経て、免疫反応において中心的な役割を果たすインターロイキン-2 (IL-2)を産生する。他のアイソザイムと比較して発現部位が T リンパ球や骨格筋に限局しており、副作用の少ない免疫抑制剤のターゲットとして期待されている。またノバルティス社によって見出された PKC θ 阻害剤 sotrastaurin の臨床報告からも、PKC θ 阻害剤は免疫抑制剤として有望であると考えられる。現在の移植時の拒絶反応に対する標準療法はタクロリムスなどの CNI を主剤として用い、作用機序が異なる薬剤を補助剤として用いる併用療法が主要である。CNI は CYP3A4 によって代謝されるため、補助剤には CYP3A4 阻害の懸念の少ないことが求められる。以上の背景を基に、筆者らは臓器移植時の拒絶反応抑制を目的とする PKC θ を標的とした新規免疫抑制剤の合成研究を行った。

【方法】

強力な PKC θ 阻害作用を有すると報告されている他社化合物 **10** より合成展開を行った。化合物 **10** は強力な PKC θ 阻害作用を有する一方、CYP3A4 阻害作用及び P-gp (P-glycoprotein, P 糖タンパク) 基質性も有していた。現在の臓器移植の標準療法は CYP3A4 で代謝されるタクロリムスやシクロスポリンを主剤とし、補助剤として作用機序の異なる免疫抑制剤を用いる併用療法が主流であるため、新規免疫抑制剤には CYP3A4 阻害の懸念が少ないことが求められる。また、P-gp は小腸などに発現する薬物排出トランスポーターの一つであり、P-gp 基質性を有する化合物は排出されやすく薬物動態プロファイルが不良であることが知られている。そこで CYP3A4 阻害作用及び P-gp 基質性の改善を目的として合成展開を行った。他社報告化合物から合成展開を行うと共に、自社ライブラリ由来化合物 **29** からの合成展開も行った。化合物 **29** は PKC θ 阻害活性が $IC_{50} = 24 \text{ nM}$ と報告されている PKC θ 阻害剤と比較して中程度であることが課題であり、活性向上を図るため PKC θ とのドッキング解析を行い、得られた知見を基に合成展開を行うこととした。合成展開により強力な PKC θ 阻害作用を有する化合物を創出するだけでなく、補助剤としての開発も可能にするために CYP3A4 阻害作用の懸念が少ない化合物の創出を目標とした。創出した化合物について、他のアイソザイムやキナーゼに対する選択性及び、薬物動態プロファイルを測定するとともに、動物モデルでの薬効評価を行うこととした。

【結果】

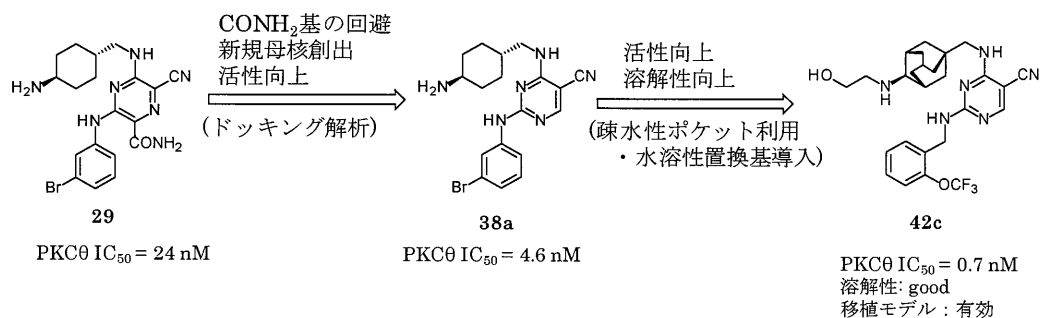
化合物 **10** より脂溶性を指標とした合成展開を行い、CYP3A4 阻害作用が改善された化合物 **18c** を見出し、続いて TPSA を指標とした合成展開を行うことで P-gp 基質性が改善された **22f** を見出すことに成功した。また、塩基性を指標とする合成展開も行ったが、PKC θ 阻害活性発現には塩基性が重要であることが判明した。



Scheme 1. 化合物 **10** よりの合成展開のまとめ

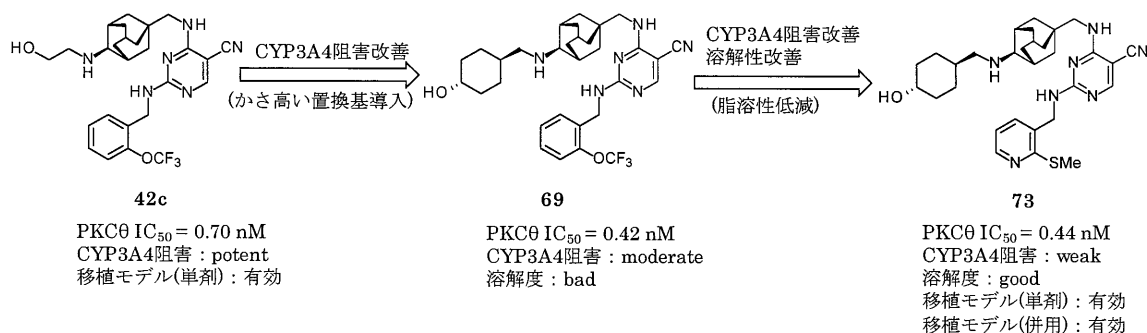
一方、自社ライブラリ由来化合物 **29** と PKC θ のドッキング解析から得られた知見を基に、母核をピリミジン環へと変換した化合物 **38a** において阻害活性の増強が見られた。さらなる活性向上を狙い、化合物 **38a** と PKC θ とのドッキング解析を行い、疎水ポケットを利用したことによる活性向上及び活性に影響が少ない溶媒領域に位置する部分への水溶性置換基導入により、強力な PKC θ 阻害活性を有するだけでなく、溶解性も良好な化合物 **42c** を見出した。Sotrastaurin が PKC θ 非選択的阻害剤である一方、**42c** は PKC θ 以外のアイソザイムに対して

も高い選択性を示し、動物モデルでの移植試験において生着延長作用を示した。以上の結果から PKC θ 選択的阻害剤が免疫抑制剤として有望であることを明らかにした初めての報告であるといえる。



Scheme 2. 自社ライブラリ由来化合物よりの合成展開-1

化合物 43c は強力な PKC θ 阻害作用を有する一方、CYP3A4 阻害作用も有していることが課題であった。CYP3A4 のヘム鉄が 4 位の末端アミノ基と相互作用するため、CYP3A4 阻害作用が発現すると仮説を立て合成展開を行い、かさ高い置換基を導入した 69 において CYP3A4 の改善傾向が見られた。さらなる CYP3A4 阻害作用改善及び溶解性向上のために、脂溶性を低減した化合物を合成し、CYP3A4 阻害作用が改善され、溶解性も良好な 73 を創出した。本化合物は CYP3A4 阻害作用の懸念が少ないため、タクロリムスとの併用も可能であり、単剤投与だけでなく併用試験においても生着延長作用を示した。本化合物は PKC θ 以外のアイソザイムに対する選択性も 10 倍以上と高く、キナーゼ選択性も良好であった。以上の結果から、主剤だけでなく補助剤としても開発可能な PKC θ 選択的化合物 73 の創出に成功したといえる。



Scheme 3. 自社ライブラリ由来化合物よりの合成展開-2

【考察】

化合物 10 の懸念点である CYP3A4 阻害作用に関して、脂溶性を低下させると改善するという一般的な経験則に則り、合成展開を行うことで、CYP3A4 阻害作用の軽減に成功した。続いて、TPSA を減少させることで P-gp 基質性が改善された 22f を見出すことに成功した。一方、塩基性を低減させた化合物は P-gp 基質性が改善されたものの、PKC θ 阻害作用が大きく減弱してしまい、塩基性の調節による合成展開は不適と結論付けた。続いて、自社ライブラリ由来化合

物 **29** よりの合成展開では PKC θ とのドッキング解析より一般的に膜透過性に懸念のあるカルバモイル基が相互作用を獲得し、活性発現に寄与していることが判明したので同様の相互作用獲得を狙い、母核に窒素原子を導入したピリジン誘導体 **38a** を合成することで IC₅₀ = 4.6 nM と活性の向上に成功した。活性向上の理由及びさらなる活性向上を図るために、再度ドッキング解析を行ったところ、母核に導入した窒素原子が同様の相互作用を獲得しているだけでなく、4位の末端の窒素原子が新たな相互作用を獲得したことが活性向上の原因と考えられる。また2位のベンゼン環上に脂溶性置換基である OCF₃ 基を導入した **43a** が良好な阻害活性を示したのは、脂溶性ポケットを活用したためと考察している。続いて溶解性向上のため、水溶性置換基を導入した **43c** は溶解度が向上しただけでなく、活性も良好であった。活性が保持した理由としては活性発現への影響が少ない溶媒領域にある4位末端アミンへ水溶性置換基を導入したためと考えられる。

43c は CYP3A4 阻害活性を有しており、補助剤としての開発を行うには困難と考え、CYP3A4 阻害作用の改善を目指した。CYP3A4 阻害の要因として、4位の末端アミノ基がヘム鉄と相互作用するためと考え、立体的にかさ高い置換基を導入した結果、**69** が CYP3A4 阻害の改善に成功した。**69** の懸念点としては溶解性が悪いこと及び CYP3A4 阻害作用の改善が不十分であることが挙げられる。そこで両者を同時に解決すべく、2位のベンゼン環をピリジン環に変換することで良好な溶解性及び CYP3A4 阻害の懸念の少ない化合物 **73** を見出した。ピリジン環へと変換したことによる脂溶性低減が CYP3A4 阻害作用改善及び溶解性向上に繋がったと考えられる。化合物 **73** の薬物動態プロファイルは良好であり、他のアイソザイムやキナーゼに対しても高い選択性を有していた。次に、動物モデルでの薬効評価を行ったところ、単剤だけでなく併用試験においても生着延長作用を示すことが明らかになった。また化合物 **73** は PKC θ 選択的阻害作用を示すことから、より副作用が少なく安全域の高い薬剤であることが期待できる。以上のことから、主剤だけでなく補助剤としても有用な PKC θ 選択的阻害剤の創出に成功したと考えている。

【発表論文】

- (1) *Bioorg. Med. Chem.*, **23**, 3269-3277 (2015).
- (2) *Bioorg. Med. Chem.*, **26**, 5499-55009 (2018).
- (3) *Bioorg. Med. Chem.*, **27**, in press (2019).