HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	望ましい薬物動態を有する新規RORγt阻害薬の創製研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	中島, 良太
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第14668号
Issue Date	2021-09-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/83353
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Ryota_Nakajima_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（薬科学）　氏　名　　中島　良太

学 位 論 文 題 名

望ましい薬物動態を有する新規 RORγt 阻害薬の創製研究

レチノイド関連オーファン受容体γ（retinoic acid receptor-related orphan nuclear receptor gamma, RORγ）は核内受容体の一種であり、1996 年に報告された。RORγは胸腺、筋肉、心臓、腎臓、肝臓に発現しているが、特にそのアイソフォームである RORγt は胸腺に特異的に発現しており、Th17 を活性化するマスターレギュレーターとして知られている。Th17 細胞は IL-17 をはじめとして種々の炎症性サイトカインを放出し、好中球や上皮細胞を活性化して病原体から身を守るための感染防御機能を担う一方で、自己組織に対する免疫応答を引き起こす自己免疫疾患の原因にもなる。こうした背景から、これらサイトカインをターゲットとした抗体医薬の開発が先行して進み、抗 IL-17 抗体であるセクキヌマブやイキセキズマブ、抗 IL-17 受容体抗体であるブロダルマブは、乾癬、関節リウマチに対する治療薬として臨床応用されている。しかしながら抗体医薬品は高価であり、かつ侵襲性の高い治療であることから、IL-17 を効率的に抑制する経口の低分子 RORγt 阻害薬は自己免疫疾患における新たな治療選択肢として注目されている。

多くの製薬企業やアカデミアによって RORγt アンタゴニスト研究開発が検討され、中でも VTP-43742 は Phase2a 試験において乾癬患者の病態スコアを改善させる報告もなされた。しかし VTP-43742 は同時に肝毒性も報告されたことから、次世代の化合物開発が望まれている。

報告されている RORγt リガンドは、一般的に低分子医薬品としては分子量が大きく疎水性が高いという特徴がある。これはリガンドが結合する部位（Ligand Binding Domain, LBD）が疎水性の高く大きなポケットを形成しているためと考えられる。以上より RORγt 阻害薬開発においては、ドラッグライクな化合物特性と標的である RORγt タンパク質への高い親和性を両立するのが難しいターゲットとして知られている。

以上の背景に鑑み、自己免疫疾患治療薬としての新規な経口低分子 RORγt アンタゴニストの創出を目標として本研究を開始した。起点となるリガンドとして、2014 年に GlaxoSmithKline 社より報告された化合物 **1a** に着目した。化合物 **1a** は、他の RORγt アンタゴニストと比べて分子量が 453 と比較的小さく、疎水性の計算指標である $cLogD_{7.4}$ も 3.78 と低かった。また、化合物 **1a** は三級アミンを有するベンジルピペラジン構造を特徴としているが、類似構造を有する他の報告は無かった。以上の化学的性質および構造のユニークさの観点で興味深い化合物であると考え、本化合物を研究の起点とすることにした。

化合物 **1a** のプロファイリングを実施したところ、RORγt アンタゴニスト活性は十分であるが、代謝安定性が悪いことから、活性と代謝安定性のバランスが課題であると定めた。また、化合物設計の参考とするために RORγt タンパク質との X 線共結晶構造取得を検討し、化合物 **1a** の誘導体である **1b** で RORγt タンパク質との X 線共結晶構造を解析することに成功した。そこで他のリガンドの X 線共結晶構造データと比較考察したところ、カルボン酸構造を有する日本たばこ社の化合物を融合させることで化合物 **1b** にカルボン酸構造を導入できると考え、検討を開始した。

種々の化合物を設計・合成し in vitro 評価を行った結果、化合物 **1a** に比べ代謝安定性が向上した化合物 **4a** を見出した。化合物 **4a** は無細胞評価系では顕著な RORγt 結合活性を有するものの（IC_{50} = 44 nM）、ルシフェラーゼ発現を指標とする細胞評価系での RORγt アンタゴニスト活性は弱かった（IC_{50} = 120 nM）。細胞評価系で活性が弱い原因が化合物 **4a** の膜透過性プロファイルにあると考え、化合物展開を実施した。その結果、アミド NH 構造のオルト位にクロロ基を導入することで細胞評価での RORγt アンタゴニスト活性が向上した（IC_{50} = 31 nM）化合物 **9a** を取得した。

化合物 **4a**、**9a** の薬物動態プロファイリングを実施したところ、化合物 **4a** は Caco2 評価において排出比が高い（Efflux ratio = 30）という膜透過性プロファイルの課題があり、マウス薬物動態プロファイルも化合物 **1a** に比べ改善は見られなかったが、化合物 **9a** は Caco2 評価において膜透過性プロファイルの改善（Efflux ratio = 2.6）が見られた。しかしマウス薬物動態プロファイルにおける非結合型薬物濃度に基づくクリアランスは、化合物 **9a** も十分ではなかった（CLu = 72 L/hr/kg）。

そこで化合物 **1a** の別部位の構造変換に着手することとした。化合物 **1b** と RORγt タンパク質との X 線共結晶構造を再度検討したところ、化合物 **1b** のフルオロベンゼン環のフッ素原子は RORγt タンパク質の Ser404 と水素結合相互作用を有しており、さらにフルオロベンゼン部位の 4 位 5 位にはわずかなスペースが存在することが明らかとなった。そこで、このフルオロベンゼン部位をトリアゾロピリジン環に変換することで、化合物全体の極性を下げつつ、RORγt タンパク質の LBD の形状に最適な立体構造となり RORγt アンタゴニスト活性を維持した化合物を取得できるのではないかと推論した。

この仮説に基づき化合物設計を行い合成・評価を実施した結果、RORγt アンタゴニスト活性を維持しつつ、疎水性を低減し代謝安定性が少し向上したトリアゾロピリジン誘導体 **27a** を見出した。化合物 **27a** の代謝安定性をさらに向上させるべく、代謝物プロファイリングを実施した結果、易代謝部位としてシクロペンチル環を同定した。そこでこの部分の構造最適化を行った結果、RORγt アンタゴニスト活性を維持しつつさらに代謝安定化した化合物 **29a** を見出した（RORγt アンタゴニスト活性 IC_{50} = 51 nM）。

化合物 **29a** の薬物動態プロファイリングを行ったところ、代謝安定性・タンパク結合率・膜透過性・溶解性いずれも良好なプロファイルを示した。またマウス薬物動態試験において、化合物 **29a** は化合物 **1a** に比べ、バイオアベイラビリティ・血中濃度曲線下面積・クリアランス/非結合型薬物濃度に基づくクリアランス・半減期いずれも大幅に改善しており、高次評価に進む価値のあるプロファイルを示した。

化合物 **29a** の高次評価として、ヒト全血およびモデルマウスによる IL-17 産生抑制作用評価を行った。その結果、ヒト全血評価において、化合物 **29a** は濃度依存的に IL-17 産生を抑制することが示された（IC_{50} = 130 nM）。これは報告されている VTP-43742 のヒト全血評価における IL-17 産生抑制効果（IC_{50} = 207 nM）と同等以上の活性であった。また、IL-18/23 投与により IL-17 産生を誘発したモデルマウスにおいて、化合物 **29a** を 3、10、30、100mg/kg 経口投与したところ、用量依存的な IL-17 産生の有意な抑制作用が確認された。化合物 **29a** は VTP-43742 よりも疎水性が低いと考えられることから（化合物 **29a**：$cLogD_{7.4}$ = 2.67、VTP-43742：$cLogD_{7.4}$ = 3.41）、医薬として薬物動態毒性リスクも低いことが期待される。以上より、化合物 **29a** は新規 RORγt アンタゴニストとして低分子 IL-17 産生抑制薬になりうる可能性を示した。

以上、自己免疫疾患治療薬として IL-17 産生抑制作用を示す低分子 RORγt 阻害薬を創製することを目標とし、本研究を実施した。研究の起点となる公知化合物として、比較的分子量が小さく疎水性が低い化合物 **1a** を選択し、化合物 **1a** の課題を活性と代謝安定性のバランスにあると見定め、RORγt タンパク質との X 線共結晶構造データを活用した化合物設計に基づく構造・活性・薬物動態相関研究を実施した。その結果、RORγt アンタゴニストとしてカルボン酸を導入した化合物 **4** およびトリアゾロピリジン環を導入した化合物 **29a** を創製することに成功した。本研究で得られた化合物や創薬の手法が、今後の医薬品開発研究の推進に貢献できることを期待する。