



Title	非全身曝露型化合物を指向した腸管NaPi阻害薬の創製 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	前本, 道寛
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第15320号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/89876">https://hdl.handle.net/2115/89876</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Michihiro_Maemoto_abstract.pdf, 論文内容の要旨



# 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 前本道寛

## 学位論文題名

### 非全身曝露型化合物を指向した腸管 NaPi 阻害薬の創製

慢性腎臓病 (Chronic kidney disease, CKD) が進行すると骨・ミネラルの代謝異常が起こり、その病態は CKD-mineral and bone disorder と呼ばれている。多くの研究において、CKD 患者における血清リン酸塩濃度の上昇は、心血管疾患および死亡リスクの上昇に繋がることが示唆されている。それゆえ、CKD 患者、特に末期腎不全患者においては、リン制限食事療法や透析により過剰なリン酸塩を低減し、血清リン酸塩濃度を正常に保つことが重要である。これらに加えて、食事から得られる過剰な無機リン酸塩の吸収を妨げる薬剤として、塩酸セベラマーや炭酸ランタンなどの経口リン酸塩吸着剤が末期腎不全患者に使用されている。しかしながら、経口リン酸塩吸着剤は服薬量が多いことや (炭酸ランタン : 0.5–4.5 g/day、塩酸セベラマー : 0.4–9.6 g/day)、CKD 患者は処方されている薬剤数が多い傾向があることから、服薬アドヒアランスの低下を招いている。更に、経口リン酸塩吸着剤による下痢や便秘などの消化管に対する副作用も大きな課題である。

腸管からのリン酸塩の吸収機構は完全には解明されていないものの、ナトリウム依存的な能動輸送およびナトリウム非依存的な細胞間隙を介した受動輸送の二つの独立した経路を介していると広く認識されている。腸管に発現している NaPi2b は食事性無機リン酸塩の吸収に大きく関与していると推察されていることから、腸管の NaPi2b を阻害する治療薬は経口リン酸塩吸着剤よりも低用量で血清リン酸塩濃度の低下が期待できると考えた。一方で、NaPi2b は腸管だけでなく肺や精巣にも発現しており、NaPi2b 遺伝子の変異は肺胞小石症や精巣小石症に関連していると報告されている。それゆえ、腸管吸収により全身に分布する NaPi2b 阻害薬を用いた際には、異所性石灰化のようなオンターゲットの副作用が懸念される。以上より、筆者は、経口リン酸塩吸着剤に比べて低用量かつ副作用の懸念なく使用できる高リン血症治療は、経口投与後に腸管吸収されて血中に分布することなく腸管局所で作用する強力なリン酸塩取り込み阻害活性を示す NaPi2b 阻害薬により実現できるのではないかと考え、創薬研究を実施した。

リード化合物取得に向けて、ヒト NaPi2b 発現 KJMG8 細胞を作製し、<sup>33</sup>P-ラジオ標識リン酸塩の取り込み測定によるスクリーニングを行った。協和キリンの化合物ライブラリーから、化合物 **3** (IC<sub>50</sub>=87 nM) を強力なリン酸塩取り込み阻害活性を示すヒット化合物として取得した。

種々検討の結果、塩基性を示す極性官能基を導入した化合物 **7** (IC<sub>50</sub>=354 nM) は中程度の NaPi2b 阻害活性を示し、ラットへの経口投与におけるバイオアベイラビリティは非常に低く、0.96%と算出された。一方で、化合物 **7** の経口投与後 6 時間の肺移行性は高く、長期投与による肺への蓄積性が懸念された。

一般的に肺移行性と化合物の塩基性が相関すると知られていることから、誘導体の塩基性アミノ基を減らしつつ、NaPi2b 阻害活性と低膜透過性を維持しようと考えた。加えて、更なる低膜透過化を目指した展開も実施した。リピンスキーの法則は、一般的な経口薬のドラッグライクネスを示す指標として腸管からの吸収や膜透過率の予測に広く用いられている。他にも一般則として、10 もしくはそれ以下の回転可能結合数および 140 Å 以下のトポロジカル極性表面積

が、化合物の良好なバイオアベイラビリティと関連すると言われている。低膜透過型の化合物取得を目指し、これらの一般的な経口薬としてのドラッグライクネスから意図的に脱却する化学的特徴を有する化合物をデザインし合成した。加えて、塩基性の指標として pKa 計算値を用いた化合物デザインも実施した。

検討の結果、両性イオン体 **15** は強力なリン酸塩取り込み阻害活性を示し ( $IC_{50} = 64 \text{ nM}$ )、ほとんど膜透過性を示さなかった ( $Pe < 0.025 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$ )。また、経口投与後 7 時間の血漿中濃度及び肺濃度は検出限界以下であった。ラットへの経口投与におけるバイオアベイラビリティは 0.1% であり、ほとんど経口吸収性を示さないと推察され、望みの動態プロファイルを示す化合物の取得に至った。

ラット腸管ループ試験において、NaPi2b が高発現している空腸に両性イオン体 **15** (0.1 mg) を投与したところ、ブーケル群と比較してリン酸塩の吸収作用を 17% 阻害した。本結果は、臨床で使用されている塩酸セベラマーを投与した際のリン酸塩吸収阻害作用 (16%, 5.8 mg; 19%, 7.8 mg) と同程度であった。以上から、低膜透過性を示し、腸管局所で NaPi2b 阻害作用を示す非全身曝露型コンセプトによるリン酸塩吸収阻害作用を *in vivo* で確認できた。一方で、両性イオン体 **15** はアシルヒドラゾン構造を有しており、反応性代謝物による毒性の懸念がある。そこで、リスクの低減に向け、アシルヒドラゾン構造を回避した化合物の取得を目指した。

誘導体展開の結果、アシルヒドラゾン構造の代替構造としてアニリド誘導体を取得した。中でも、両性イオン体 **30** は強力なリン酸塩取り込み阻害活性を示し ( $IC_{50} = 14 \text{ nM}$ )、ほとんど膜透過性を示さなかった ( $Pe < 0.090 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$ )。また、ラットへの経口投与において低バイオアベイラビリティを示しており ( $FaFg = 5.9\%$ )、ほとんど経口吸収性のない化合物であった。

両性イオン体 **30** を用いて、ラットにおけるリン酸塩吸収阻害作用を評価した。臨床で有効性を示す経口リン酸塩吸着剤である炭酸ランタンを陽性対照として使用した。本試験においては、リン酸塩濃度 10 mM を生理的なリン酸塩濃度として、リン酸塩濃度 100 mM を高濃度条件と設定して評価した。10 mM リン酸塩条件下では、ブーケル群と比較して、両性イオン体 **30** は 44% (3 mg/kg, p.o.)、37% (10 mg/kg, p.o.)、55% (30 mg/kg, p.o.) のリン酸塩吸収阻害作用を示した。一方で、100 mM リン酸塩条件下では、ブーケル群と比較して、11% (3 mg/kg, p.o.)、14% (10 mg/kg, p.o.) とリン酸塩吸収阻害作用が低減した。本結果から、リン酸塩濃度 10 mM の生理的条件下では NaPi2b を介した能動輸送が優勢であると考えられる一方で、リン酸塩濃度 100 mM 条件下では受動輸送が優勢であると推察された。

続いて、炭酸ランタンとの比較および、炭酸ランタンと両性イオン体 **30** の併用試験を実施した。10 mM リン酸塩条件下において、ブーケル群と比較して、両性イオン体 **30** (10 mg/kg, p.o.) は、炭酸ランタン (10 mg/kg, p.o.) と同等のリン酸塩吸収阻害作用 (両性イオン体 **30**: 23%, 炭酸ランタン: 20%) を示した。両性イオン体 **30** は、臨床で使用されている経口リン酸塩吸着剤と同等の薬理作用を発揮する可能性が示唆された。両性イオン体 **30** (10 mg/kg, p.o.) と炭酸ランタン (10 mg/kg, p.o.) の併用条件下では、ブーケル群と比較して 51% のリン酸塩吸収阻害作用が確認された。これらの結果から、両性イオン体 **30** と炭酸ランタンとの併用によるリン酸塩吸収阻害作用の上乗せ効果が示唆された。

以上より、低膜透過性で非腸管吸収性を示し、腸管局所で強力なリン酸塩吸収阻害作用を示す両性イオン体 **30** は、新規な高リン血症治療薬としての可能性が示唆された。加えて、併用療法による炭酸ランタンの服薬量低減の可能性および、下痢や便秘などの経口リン酸塩吸着剤に関連する消化管の副作用の低減も期待され、新たな治療薬としての展開が期待される。