

# 学位論文内容要旨

氏 名 榎原 良

題目「ピラゾールをヘム配位性テンプレートとしたアルドステロン合成酵素阻害薬の創製と多置換ピラゾールの効率的合成法の開発」

## <背景・目的>

アルドステロンは、主に副腎でコレステロールから産生される鉱質コルチコイドであり、最近の研究では高血圧の増悪因子であるだけでなく、心・血管組織に対して種々の傷害性作用を示すリスクホルモンとして認識されている (Figure 1)。アルドステロン合成酵素 (CYP11B2) は、11-デオキシコルチコステロンからアルドステロンに至る一連の反応を触媒する酵素として知られ、CYP11B2 阻害薬はアルドステロンが関与する各種疾患の有効な治療薬として期待されている。しかしながら、生体に必須なコルチゾール産生に関わる 11 $\beta$ -水酸化酵素 (CYP11B1) との相同性が非常に高いことが課題となり、現在においても CYP11B2 阻害薬は上市に至っていない。これまで報告された CYP11B2 阻害薬はいずれも活性中心であるヘム鉄に配位するテンプレートを持するが、ヘム配位性テンプレートはイミダゾールあるいはピリジンに固定され、CYP11B2 選択性向上のため行われてきた合成展開は限定的であった。そこで我々は、CYP11B2 選択性の拡大を目指し、新たなヘム配位性テンプレートとしてピラゾールを用いた CYP11B2 阻害薬の研究を行った<sup>1)</sup> (Figure 2)。

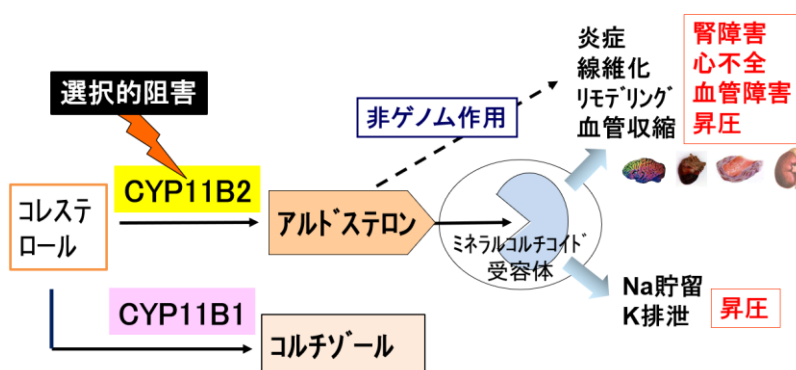


Figure 1. CYP11B2 阻害薬のコンセプト

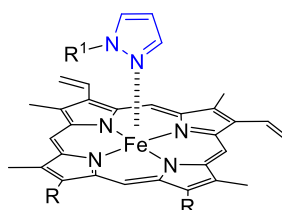


Figure 2. ピラゾールがヘム鉄に配位する模式図

また、ピラゾールはヘム配位性テンプレートとして以外に、活性および ADMET プロファイルを調節するスキヤホールドとして多くの医薬品の構造に含まれており、種々の置換基を有するピラゾール誘導体の合成法が研究されている。構造活性相関研究においては、共通の中間体から多様なピラゾール誘導体を効率的に合成する手法は特に有用であり、クロスカップリング反応は広く用いられている。特に、配位子を変えるだけで位置選択的な置換基導入が可能なクロスカップリング (Site-Selective Cross-Coupling) 反応は非常に魅力的であり、これまでに di-ハロピリダジンやイミダゾール、イソキサゾールで報告されているが、ピラゾールにおいては報告がない。そこで多置換ピラゾールの効率的な合成法の開発を目指し、4-bromopyrazol-5-yl triflates に対する配位子依存的な位置選択的-鈴木クロスカップリング反応の検討を行った<sup>2)</sup> (Figure 3)。

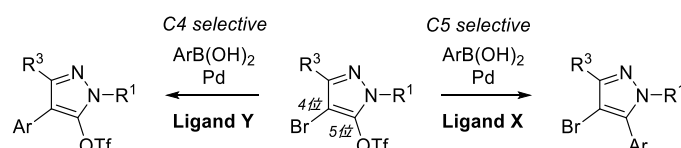


Figure 3. 配位子依存的な位置選択的-鈴木クロスカップリング反応の概要

## <本論>

### 1. ピラゾールをヘム配位性テンプレートとしたアルドステロン合成酵素阻害薬の創製

初めて臨床入りした CYP11B2 阻害薬である LCI699 をはじめ多くの CYP11B2 阻害薬に共通するベンゾニトリル構造に、新規ヘム配位性のテンプレートとしてピラゾールを置換し、ピラゾール 1 位および 5 位の最適化を行った (Figure 4)。その結果、1 位、5 位ともにアルキル基を導入することで CYP11B2 特異的に阻害活性が向上した (化合物 **2**)。さらに、ピラゾール 1 位と 5 位を縮環するとともに、ベンゼン環の置換基を最適化することで、高い CYP11B2 選択性を維持したまま大幅に阻害活性が向上した (化合物 **3**)。一方で、ピラゾールをイミダゾールに置換した化合物 **4** では、CYP11B2 選択性が大きく低下し、ピラゾールが CYP11B2 選択性向上のための優れたヘム配位性テンプレートであることが示唆された。

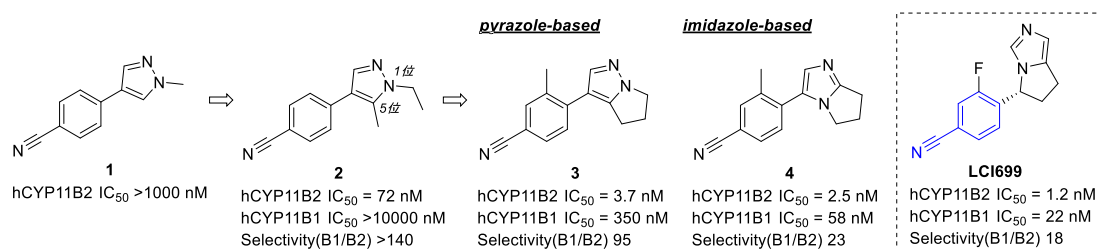


Figure 4. ピラゾール誘導体／イミダゾール誘導体の SAR データ

SAR を考察するため、hCYP11B2 と既報阻害剤 FAD286 の複合体共結晶構造 (PDB ID: 4FDH) を用いて、CYP11B2 と化合物 **3** のドッキングスタディを行った (Figure 5)。その結果、ベンゼン環上のメチル基は、ピラゾールとベンゼン環との *twisted form* を安定化するとともに、Phe231 および Thr318 側鎖と疎水性相互作用することで、CYP11B2 阻害活性向上に寄与したと考えられた。

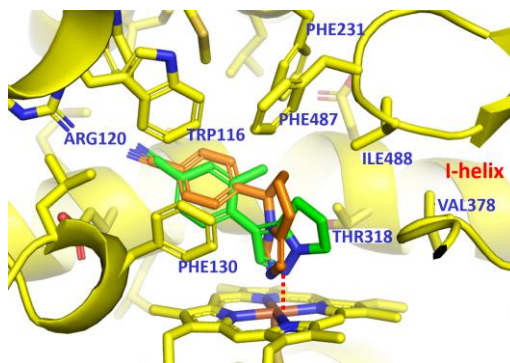


Figure 5. hCYP11B2 と FAD286 との複合体共結晶への化合物 **3** のドッキング結果

\* 化合物 **3** (緑色), FAD286 (オレンジ色)

化合物 **3** は強力な CYP11B2 阻害活性を有するものの、経口投与する上で代謝安定性が不十分であったため、親水性置換基の導入を検討した。ドッキングスタディ結果 (Figure 5) より縮環構造部 C-5 位の置換基許容性が高いことが示唆されたため、種々置換基の導入を検討したところ、ヒドロキシ基を導入した化合物 **5** において阻害活性および選択性を維持したまま代謝安定性が大幅に改善された (Figure 6)。さらにヒドロキシ基を足掛かりにフルオロピリミジンを導入することで、選択性が拡大した化合物 **6** を見出すことに成功した。化合物 **6** はカンクイザルへ 1 mg/kg 経口投与することで、投与後 24 時間まで血漿中アルドステロン低下作用を示した (Figure 7)。

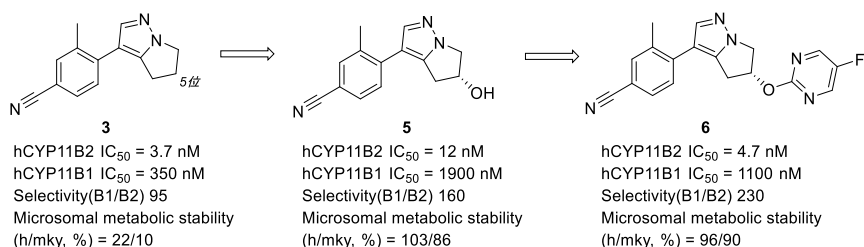


Figure 6. ピラゾール誘導体の SAR データ

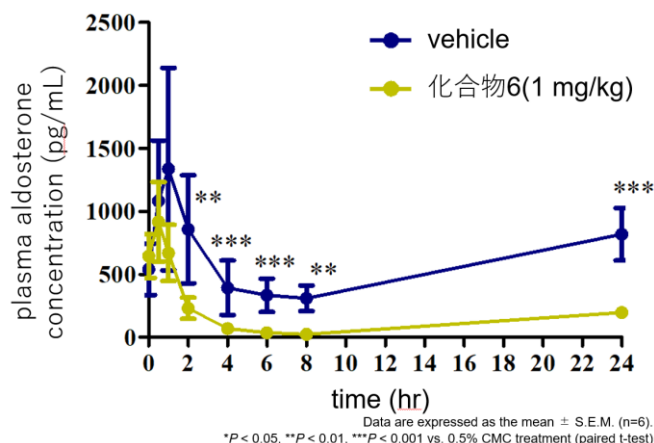
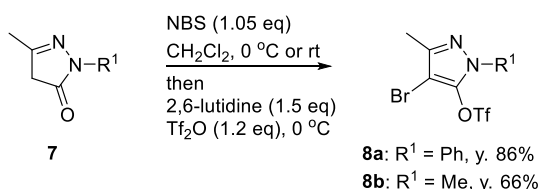


Figure 7. 化合物 6 の血漿中アルドステロン低下作用データ

## 2. 多置換ピラゾールの効率的合成法の開発

$\beta$ -ケトエステルとヒドラジン誘導体から合成できる 5-pyrazolone は、5 位をトリフルオロメタンスルホン化することで鈴木クロスカップリング反応の前駆体に誘導でき、また  $\alpha$  位を容易にブロモ化できることが知られる。そこで、4-bromopyrazole-5-yl triflates を基質に設定し、位置選択的な鈴木クロスカップリング反応の検討を行うこととした。4-Bromopyrazole-5-yl triflates **8** は、5-pyrazolone 誘導体 **7** にジクロロメタン中、当量の *N*-ブロモスクシンイミドを作用させた後、2,6-ルチジンとトリフルオロメタンスルホン酸無水物をワンポットで加えることで合成した (Scheme 1)。



Scheme 1. 4-Bromopyrazole-5-yl triflates の合成

続いて、4-bromopyrazole-5-yl triflates **8a** とフェニルボロン酸との鈴木クロスカップリングにおいて、位置選択性に与える配位子の効果について検討した (Table 1)。単座配位子は置換基による顕著な選択性を示し、 $\text{PPh}_3$  を配位子とした場合には 5 位でのカップリング成績体 **10a** がほぼ単一の生成物として得られた (entry 1)。一方で、 $\text{PCy}_3$  や  $\text{PrBu}_3$ 、Amphos を配位子とした場合は選択性が逆転し、4 位でのカップリング成績体 **9a** が選択的に得られた (entries 2-4)。特に Amphos は高い転化率を示し、4 位選択的なカップリング反応に最適な配位子であることが明らかとなった。また、電子不足な二座配位子である Xantphos や DPPF を用いた場合には、5 位優先的にカップリング反応が進行したが、選択性は  $\text{PPh}_3$

に及ばなかった (entries 5-6)。一方で、電子豊富な二座配位子 DTBPF を用いた場合には、4 位選択的なカップリング反応が進行した (entry 7) が、選択性、収率共に Amphos を配位子とした場合には及ばなかった。さらに  $\text{PPh}_3$  を配位子とする反応条件の最適化により、高い 5 位選択性を維持したまま転化率を改善し、5 位選択的なカップリング反応条件を見出した (entry 8)。

Table 1. 鈴木クロスカップリング反応位置選択性に与える配位子の効果

entry	ligand	conversion (%) <sup>b</sup>	ratio of product <sup>b</sup> 9a : 10a : 11a
1	<b><math>\text{PPh}_3^c</math></b>	70	<1 : 99 : 1
2	$\text{P}(\text{Cy})_3$	70	91 : <1 : 9
3	$\text{PrBu}_3 \text{ HBF}_4$	8	>99 : <1 : <1
4	<b>Amphos</b>	<b>97</b>	<b>&gt;99 : &lt;1 : &lt;1</b>
5	Xantphos	51	1.5 : 96 : 3
6	DPPF	13	29 : 71 : <1
7	DTBPF	81	95 : <1 : 5
8	<b><math>\text{PPh}_3^{c, d}</math></b>	<b>&gt;99</b>	<b>&lt;1 : 99 : 1</b>

<sup>a</sup> 1:2 Pd/ligand ratio for monodentate ligands and 1:1 Pd/ligand ratio for bidentate ligands. <sup>b</sup> Conversion and ratio of product were determined by HPLC analysis. <sup>c</sup>  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  was used instead of  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  and ligand. <sup>d</sup> The reaction was performed using 20 mol%  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  at 100 degrees.

続いて、フェニルボロン酸およびピラゾール置換基の基質一般性を検討した (Tables 2 & 3)。電子豊富／不足な置換基を有するフェニルボロン酸やヘテロアリアルボロン酸を用いた場合、およびピラゾール 1 位置換基がアルキル基の場合でも高い位置選択性を維持したまま単一のカップリング成績体が得られ、いずれも反応条件も基質一般性が高いことが明らかになった。

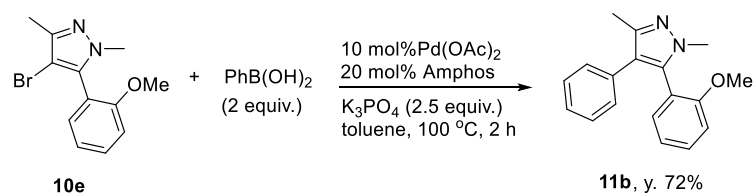
Table 2. 4 位選択的鈴木クロスカップリング反応の基質一般性

entry	<b>8</b>	R <sup>1</sup>	Ar	product <b>9</b>	yield%
1	<b>8a</b>	Ph	4-MePh	<b>9b</b>	67
2	<b>8a</b>	Ph	3-Me <sub>2</sub> NPh	<b>9c</b>	90
3	<b>8a</b>	Ph	2,4-F <sub>2</sub> Ph	<b>9d</b>	52
4	<b>8b</b>	Me	2-MeOPh	<b>9e</b>	92
5	<b>8b</b>	Me	3-Thienyl	<b>9f</b>	87

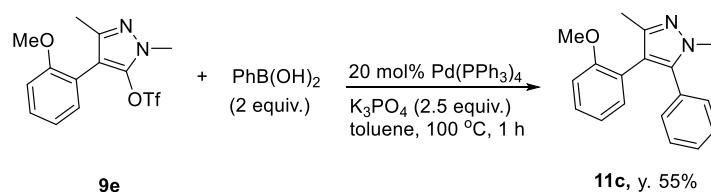
Table 3. 5 位選択的鈴木クロスカップリング反応の基質一般性

entry	<b>8</b>	R <sup>1</sup>	Ar	product <b>10</b>	yield%
1	<b>8a</b>	Ph	4-MePh	<b>10b</b>	85
2	<b>8a</b>	Ph	3-Me <sub>2</sub> NPh	<b>10c</b>	84
3	<b>8a</b>	Ph	2,4-F <sub>2</sub> Ph	<b>10d</b>	80
4	<b>8b</b>	Me	2-MeOPh	<b>10e</b>	90
5	<b>8b</b>	Me	3-Thienyl	<b>10f</b>	82

さらにカップリング成績体 **9** および **10** に対して、2 段階目の鈴木クロスカップリング反応を検討したところ、いずれの基質においても高い収率で 2 つ目のアリール基が導入可能であることが分かった (Schemes 2&3)。



Scheme 2. 4 位への 2 段階目の鈴木クロスカップリング反応



Scheme 3. 5 位への 2 段階目の鈴木クロスカップリング反応

## <結論>

CYP11B2 選択性の拡大を目指し、イミダゾール／ピリジンに続く新たなヘム配位性テンプレートとしてピラゾールを用いた CYP11B2 阻害薬の研究を行った。ピラゾール置換基の最適化を実施し、1 位および 5 位を縮環することで高い CYP11B2 阻害活性と選択性を両立した化合物 **3** を見出した。さらに、ドッキングスタディを活用しながら親水性置換基を導入することで化合物 **3** の代謝安定性を改善した化合物 **6** を見出した。化合物 **6** は、カニクイザルへの 1 mg/kg 経口投与でアルドステロン低下作用を示した。

また、多置換ピラゾールの効率的合成法の開発を目指し、配位子依存的な位置選択的鈴木クロスカップリング反応を検討した。4-bromopyrazole-5-yl triflates を基質とし、配位子に Amphos を用いた場合は 4 位選択的に、PPh<sub>3</sub> を用いた場合には 5 位選択的にカップリング反応が進行することを見出した。ボロン酸およびピラゾール置換基の基質一般性は高く、またカップリング成績体に対する 2 段階目のアリール基の導入も速やかに進行することを明らかにした。

## <参考文献>

- 1) Sakakibara, R.; Sasaki, W.; Onda, Y.; Yamaguchi, M.; Ushiroguchi, H.; Hiraga, Y.; Sato, K.; Nishio, M.; Egi, Y.; Takedomi, K.; Shimizu, H.; Ohbora, T.; Akahoshi, F. Discovery of Novel Pyrazole-Based Selective Aldosterone Synthase (CYP11B2) Inhibitors: A New Template to Coordinate the Heme-Iron Motif of CYP11B2. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 5594–5608.
- 2) Sakakibara, R.; Itoh, K.; Fujii, H. Ligand-Dependent Site-Selective Suzuki Cross-Coupling of 4-Bromopyrazol-5-yl Triflates. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 11474–11481.