

学位論文内容要旨

氏名： 森下 巧

【題目】

新規カルボン酸型およびスルホンアミド型プロテインチロシンホスファターゼ 1B 阻害薬の創製研究

【要旨】

1. 研究の背景

全世界で糖尿病患者が増加の一途をたどっており、今後も急激に増加すると予想されている。糖尿病は、インスリン分泌低下ないしインスリン感受性低下によるインスリン作用不足が原因で糖の組織取り込みが低下し、血糖が上昇する疾患であり、1型と2型に分類される。現在、2型糖尿病治療薬として、インスリン分泌促進薬、インスリン非依存性薬およびインスリン抵抗性改善薬が用いられている。近年、インスリン分泌促進薬およびインスリン非依存性薬では、新世代の治療薬が登場し、治療薬選択肢が増加した。一方、インスリン抵抗性改善薬は、1999年にペルオキシソーム増殖因子応答性受容体 γ (PPAR γ) 作動薬であるピオグリタゾンが上市されて以来、新たな薬剤が開発されていない。PPAR γ 作動薬は、脂肪細胞分化促進によりインスリン抵抗性を改善するが、体液貯留、浮腫、肥満などの副作用が課題となっており、新世代インスリン抵抗性改善薬の開発が望まれている。

2. プロテインチロシンホスファターゼ 1B 阻害薬

PPAR γ 活性化を介さない新世代インスリン抵抗性改善薬としてプロテインチロシンホスファターゼ (PTP) 1B 阻害薬が注目されてきた。PTP1B は、肝臓、筋肉、脳などの臓器において、インスリン作用により、リン酸化されたインスリン受容体およびインスリン基質 1 を脱リン酸化することにより、インスリンシグナル伝達を負に調節している。さらに、PTP1B は、脳において、レプチンによりリン酸化されたヤヌスキナーゼ 2 の脱リン酸化を介して、食欲とエネルギー消費の調節に関わるレプチンシグナル伝達を負に調節している。したがっ

て、PTP1B 阻害薬は、インスリン増感作用および抗肥満作用を示すことが期待される。すでに多くの PTP1B 阻害薬が報告されているが、未だ開発に成功したものはない。経口吸収性が低く、十分な薬効が得られなかったか、構造に由来する予想外の副作用が発現したものと推測される。そこで、本研究では、従来の化合物とは異なる構造および作用特性を有し、優れた経口吸収性および薬効を示す新規 PTP1B 阻害薬の創製を目指した。

3. 新規 PTP1B 阻害薬の設計

PTP1B 阻害薬の多くは、構造的にカルボン酸ないしスルホンアミド構造を有している。一方、PPAR γ アゴニストも、多くがカルボン酸ないしスルホンアミド構造を有している。また、カルボン酸型 PPAR γ アゴニストの KY-699 や、スルホンアミド型 PPAR γ アゴニストの INT-131 が、PTP1B 阻害活性を有することが明らかになっている（図 1）。そこで、従来の PTP1B 阻害薬の構造にとらわれない新規化合物を目指し、PTP1B 阻害作用を有する PPAR γ アゴニストの構造を参考に、カルボン酸型およびスルホンアミド型 PTP1B 阻害薬の設計を試みた。

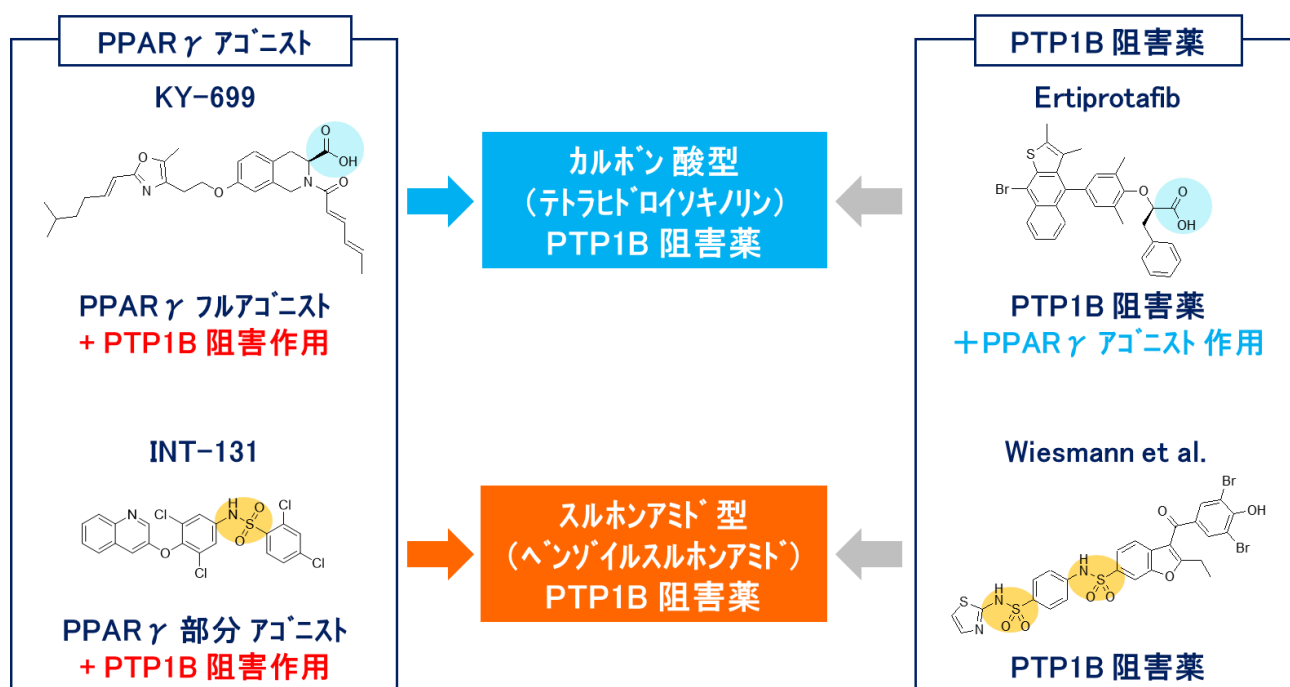


図 1. 化合物設計

4. 新規カルボン酸型 PTP1B 阻害薬

PTP1B 阻害活性を有する PPAR γ アゴニストのテトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸誘導体 KY-699 に着目し、種々置換基変換による PPAR γ アゴニスト作用の消失と PTP1B 活性の増強を目指した (図 2)。

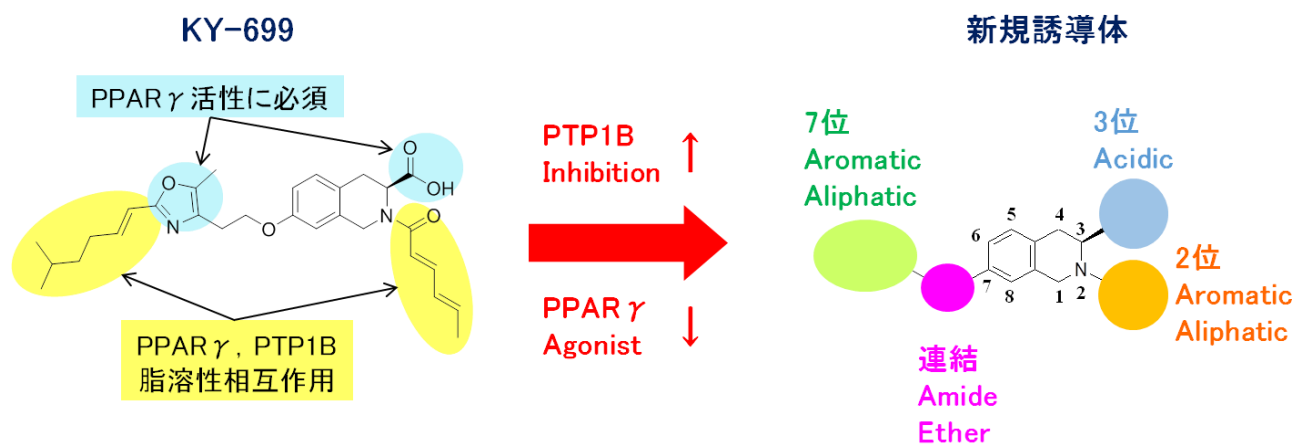
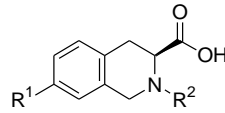
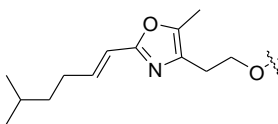
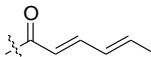
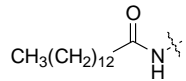
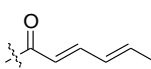
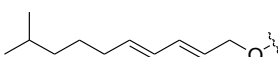
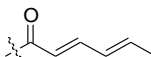
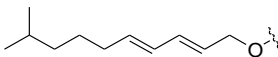
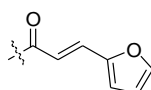
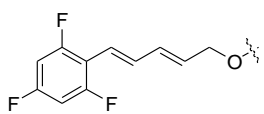
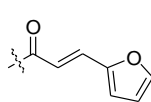


図 2. カルボン酸型 PTP1B 阻害薬の合成展開

合成した化合物の中で、テトラヒドロイソキノリン 7 位にアミド結合を介して長鎖脂肪族側鎖を導入した化合物が PPAR γ アゴニスト作用を有さず、PTP1B 阻害活性を示した (表 1)。その中で、7 位にテトラデカノイルアミノ基を導入した化合物 **10e** が強力な阻害活性 ($IC_{50} = 0.24 \mu M$) を示した。7 位にエーテル結合を介してメチルデカジエニルオキシ基を導入した化合物 **25l** も、化合物 **10e** と同等の PTP1B 阻害活性 ($IC_{50} = 0.23 \mu M$) を示した。化合物 **25l** のヘキサジェノイル基をフリルアクリロイル基に変換した化合物 **26l** は、化合物 **25l** と同等の阻害活性を示した ($IC_{50} = 0.18 \mu M$)。過去のテトラヒドロイソキノリン系 PPAR γ アゴニスト研究において、テトラヒドロイソキノリン 2 位にフリルアクリロイル基を導入した誘導体は、ヘキサジェノイル基を導入した誘導体より経口吸収性が高かったことから、化合物 **26l** の 7 位置換基の変換を試みた。7 位にフッ素原子を有するアリーラルケニルオキシ基を導入した化合物 **26u** が化合物 **26l** とほぼ同等の阻害活性 ($IC_{50} = 0.19 \mu M$) を示した。活性と物性面のバランスを考慮し、化合物 **26u** を選択し、KY-457 と命名して、さらなる検討を行った。

表 1. テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸誘導体の構造式, 分子量, clog D_{7.4} 値, PTP1B 阻害活性および PPAR γ アゴニスト活性

<div></div>							
Compd	R ¹	R ²	Mol.Wt.	clog P	clog D _{7.4}	PTP1B IC ₅₀ (μM) ^{a)}	PPARγ EC ₅₀ (μM) ^{a)}
KY-699			492.61	3.95	0.29	1.18	0.03
10e			496.68	7.62	4.08	0.24	> 10
25l			437.57	5.46	1.80	0.23	> 10
26l			463.57	5.53	1.86	0.18	> 10
26u (KY-457)			509.47	4.89	1.22	0.19	> 10

^{a)} n = 2.

KY-457 の PTP1B 阻害活性は, 他の PTP である T 細胞プロテインチロシンホスファターゼ (TCPTP), 白血球共通抗原 (CD45) および白血球共通抗原関連受容体型タンパク質チロシンホスファターゼ (LAR) に対して, それぞれ約 3 倍, 約 34 倍および 50 倍以上の選択性を示し, Lineweaver-Burk プロットにより混合型阻害作用であることが明らかになった. また, *in silico* 解析により, KY-457 は, PTP1B のオルソステリック部位と良好に相互作用するとともに, アロステリック部位の Phe280 周辺に結合することが示された (図 3).

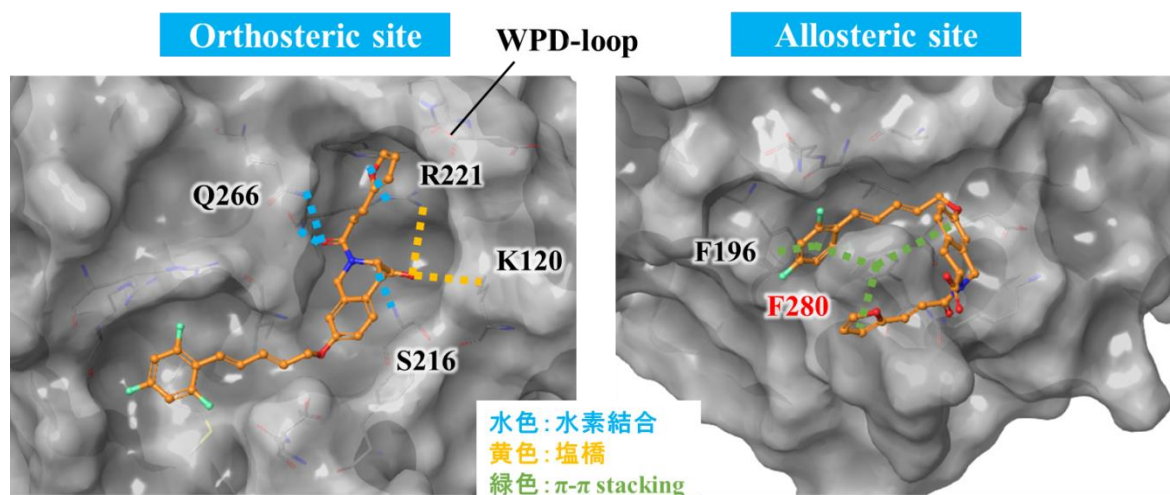


図 3. KY-457 の PTP1B オルソステリック部位およびアロステリック部位への結合様式

KY-457 は、雄性 SD ラットにおいて、10 mg/kg 経口投与で、良好な経口吸収性を示した ($C_{max} = 2.4 \mu\text{g/mL}$)。また、KY-457 は 2 型糖尿病マウス (雄性 *db/db* マウス) において、30 mg/kg 4 週間反復経口投与で、血漿中グルコース濃度を低下させた。さらに、糖負荷試験において、血漿中グルコース濃度の上昇を用量依存的に抑制し、インスリン抵抗性改善作用により抗糖尿病作用を示すことが明らかになった。一方、KY-457 は PPAR γ アゴニスト作用を示さず、PPAR γ アゴニスト特有の体重増加やヘマトクリット値低下作用を示さなかった。

以上、新規 PTP1B 阻害薬として、カルボン酸型の 2-アシル-3-カルボキシテトラヒドロイソキノリン誘導体を合成し、その中で、KY-457 が良好な混合型 PTP1B 阻害作用を示すことが明らかとなった (図 4)。また、KY-457 は、優れた経口吸収性および糖尿病モデルマウスにおける抗糖尿病作用、インスリン抵抗性改善作用を示し、体重増加や血液希釈などの副作用を示さなかった。

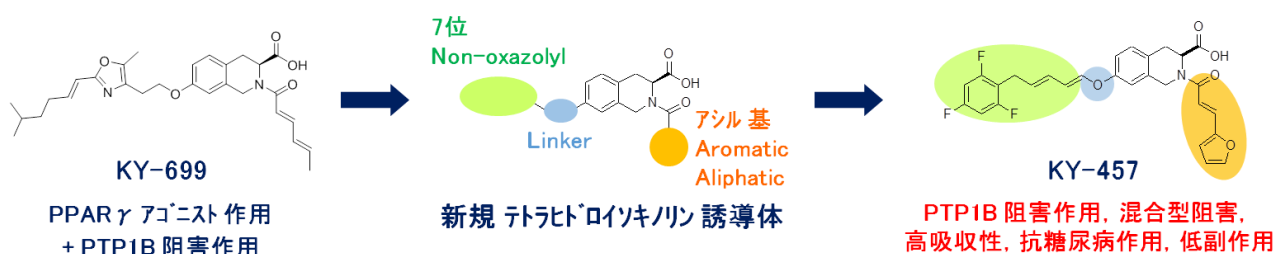


図 4. 新規カルボン酸型 PTP1B 阻害薬

5. 新規スルホンアミド型 PTP1B 阻害薬

PTP1B 阻害活性を有するスルホンアミド型 PPAR γ 部分アゴニスト INT-131 に着目し、構造変換により、PTP1B 阻害活性の増大と PPAR γ アゴニスト作用の消失を目指した。まず、INT-131 よりシンプルな独自構造を有するリード化合物の探索合成を行った。INT-131 のスルホンアミドで連結した 2 個のジクロロベンゼンのうち、中央のベンゼン環を無置換のベンゼンとし、アシルスルホンアミドで連結し、ベンゾイルスルホンアミドとした。さらに、ベンゾイルスルホンアミドパラ位側鎖をキノリンからベンゼンに変換し、オキシム構造で連結した。この化合物 PTP-0325 は、PPAR γ アゴニスト活性を示さず、INT-131 より強力な PTP1B 阻害活性 ($IC_{50} = 2.03 \mu M$) を示した。そこで、PTP-0325 をリード化合物とし、合成展開を行った (図 5)。

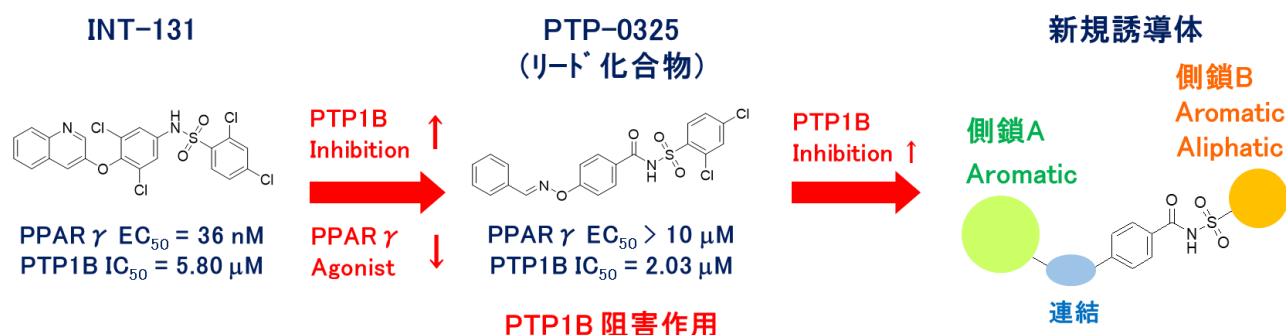
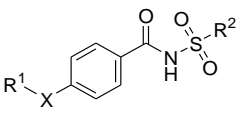

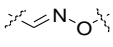
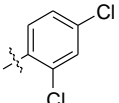
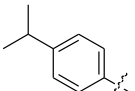
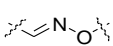
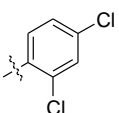
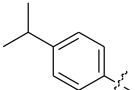
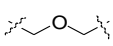
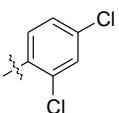
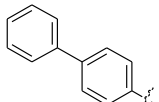
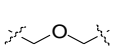
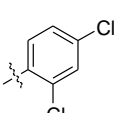
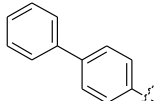
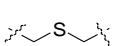
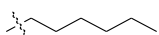


図 5. ベンゾイルスルホンアミド型 PTP1B 阻害薬の合成展開

合成した化合物の中で、PTP-0325 のベンゾイルスルホンアミドパラ位側鎖オキシム連結誘導体において、パラ位側鎖にイソプロピルフェニル基を導入した化合物 **68aA** が弱い PTP1B 阻害作用 ($IC_{50} = 1.49 \mu M$) を示した (表 2)。化合物 **68aA**, **76rA** などのエーテル連結芳香族側鎖導入化合物は、オキシム連結誘導体と同等の活性を示した。また、これらの活性は、パラ位側鎖の脂溶性に依存して増大した。エーテル連結芳香族側鎖導入化合物の中で、分子量の比較的小さいビフェニル側鎖エーテル連結誘導体 **76rA** を選び、スルホンアミド側鎖の置換基変換を試みた。スルホンアミド側鎖として芳香族側鎖および脂肪族側鎖を導入した化合物が、**76rA** と同等以上の活性を示し、その中でヘキシル基を導入し、パラ位ビフェニル側鎖をチオエーテルで連結した **77rI** が強力な活性を示した ($IC_{50} = 0.25 \mu M$)。化合物 **77rI** を選択し、KY-226 と命名し、さらなる検討を行った。

表 2. ベンゾイルスルホンアミド誘導体の構造式, 分子量, clogP 値, clogD_{7.4} 値および PTP1B 阻害活性

<div style="text-align: center;">  </div>							
Compd	R ¹	X	R ²	Mol.Wt. ^{a)}	clog P	clog D _{7.4}	PTP1B IC ₅₀ (μM) ^{b)}
PTP-0325				449.31	3.89	1.90	2.03
68aA				491.39	4.82	2.83	1.49
76aA ^{c)}				514.40	6.03	4.03	1.89
76rA				526.43	6.40	4.40	0.91
77rI (KY-226)				481.67	6.76	4.77	0.25

a) フリー体の分子量. b) n = 2. c) ナトリウム塩.

KY-226 は, PTP1B に対し, 他の PTP である TCPTP に対して約 5 倍, CD45 および LAR に対して 100 倍以上の選択性を示し, Lineweaver-Burk プロットにより非競合型阻害作用であることが示された. *In silico* 解析により, KY-226 は, PTP1B アロステリック部位に結合する一方, オルソステリック部位には結合しなかった (図 6). なお, TCPTP のアロステリック部位では, PTP1B の Phe280 に対応するアミノ酸が Cys278 であるため, 相互作用が減弱することが示された. このため, KY-226 は, 混合型阻害薬 KY-457 よりも PTP1B 選択性が高かったものと考えられる.

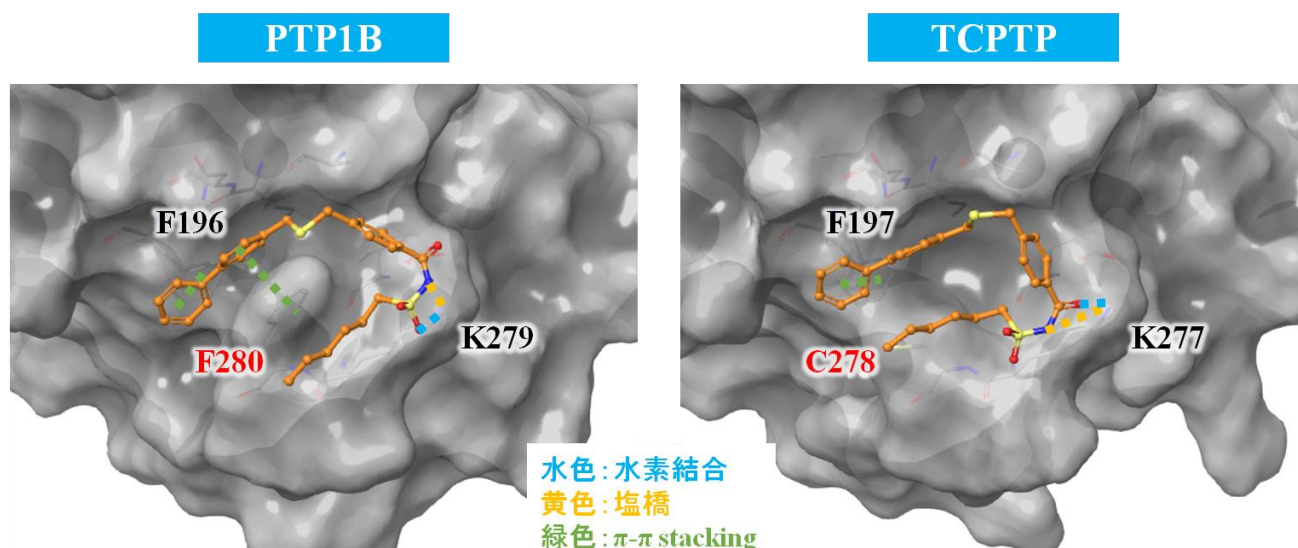


図 6. KY-226 の PTP1B および TCPTP アロステリック部位への結合様式

KY-226 は、雄性 ICR マウス、SD ラットおよびビーグル犬において、良好な経口吸収性を示した（マウス： $C_{max} = 21.9 \mu\text{g/mL}$ at 30 mg/kg, ラット： $C_{max} = 25.8 \mu\text{g/mL}$ at 30 mg/kg, ビーグル犬： $C_{max} = 18.2 \mu\text{g/mL}$ at 10 mg/kg）。また、KY-226 は、2 型糖尿病マウス（雄性 *db/db* マウス）において、30 mg/kg 1 週間反復経口投与で、血中グルコース、トリグリセリドおよびインスリン抵抗指数を低下させ、インスリン抵抗性改善作用により抗糖尿病作用を示すことが明らかになった。また、KY-226 は $\text{PPAR}\gamma$ アゴニスト作用を有さず、 $\text{PPAR}\gamma$ アゴニスト特有の体重増加やヘマトクリット値低下作用は示さなかった。

以上、新規 PTP1B 阻害薬として、ベンゾイルスルホンアミド誘導体を合成し、その中で、KY-226 が良好な非競合型 PTP1B 阻害作用を示すことが明らかとなった（図 7）。さらに、KY-226 は、優れた経口吸収性および糖尿病モデルマウスにおける抗糖尿病作用を示し、体重増加や血液希釈などの副作用を示さなかった。



図 7. 新規スルホンアミド型 PTP1B 阻害薬

6. 結論

本研究において、一連のカルボキシテトラヒドロイソキノリンおよびベンゾイルスルホンアミド誘導体を合成し、PPAR γ アゴニスト活性を示さず選択的 PTP1B 阻害作用を示すことを明らかにした。また、合成化合物の中で 3-カルボキシテトラヒドロイソキノリン誘導体 KY-457 およびベンゾイルスルホンアミド誘導体 KY-226 は、それぞれ強力な混合型および非競合型 PTP1B 阻害活性を示した。また、いずれも良好な経口吸収性および優れた抗糖尿病作用を示した。さらなる研究により、これらの新規インスリン抵抗性改善薬としての可能性が明らかになることが期待される。

以上