

経口インスリン分泌促進剤を指向した GPR40 アゴニスト DS-1558 の創製

第一三共株式会社 研究開発本部 疼痛神経ラボラトリー

高野 理恵子

1, 背景・目的

全世界的に糖尿病患者数は増加傾向にあり、世界規模で対策を施す必要がある。全患者数の約 90% を占める 2 型糖尿病は、インスリン作用不足が特徴である。その治療には、K-ATP チャンネル閉鎖作用によりインスリン分泌を促進させるスルホニルウレア剤が広く用いられているが、強力な血糖低下作用がある一方、血糖値に関係なくインスリン分泌を促進するため低血糖を惹起しやすい。さらに、長期使用は膵 β 細胞の疲弊をもたらす。

スルホニルウレア剤の問題点を克服し、適切な血糖コントロールが可能な新規抗糖尿病薬の研究開発がなされており、GPR40 アゴニストも注目される創薬ターゲットの一つである。アゴニスト刺激により、グルコース濃度依存的にインスリン分泌を促進するため低血糖を起こしにくく、さらに DPP-4 阻害剤等作用機序の異なるインスリン分泌促進剤に比べ、強い薬効を発揮できることも利点である。実際に、代表的 GPR40 アゴニストである TAK-875 の臨床第二相試験において、低血糖発生率を上昇させることなく HbA1c を有意に低下させる事が確認されている。

膜タンパク質の一種である GPR40 は、膵 β 細胞に高発現する G タンパク質共役受容体(GPCR)であり、α-リノレン酸、DHA などの中・長鎖脂肪酸を内因性のリガンドとして持つ。合成リガンドとしては、TAK-875、AMG-837 等の脂肪酸を模倣したフェニルプロピオン酸構造を有するアゴニストが多く報告されている(図 1)。我々は既知特許化合物 **1** を起点として、低血糖惹起リスクが低く、強い薬効を発揮できる薬剤の開発を目指し、本研究に着手した。

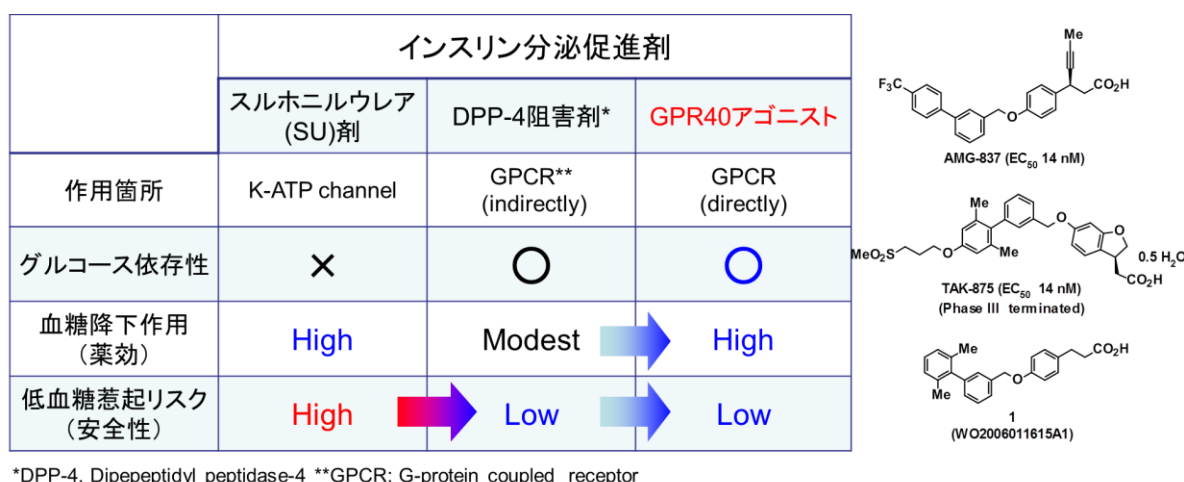


図 1. GPR40 アゴニストの利点と代表的化合物

2, 結果・考察

2-1, リード化合物獲得

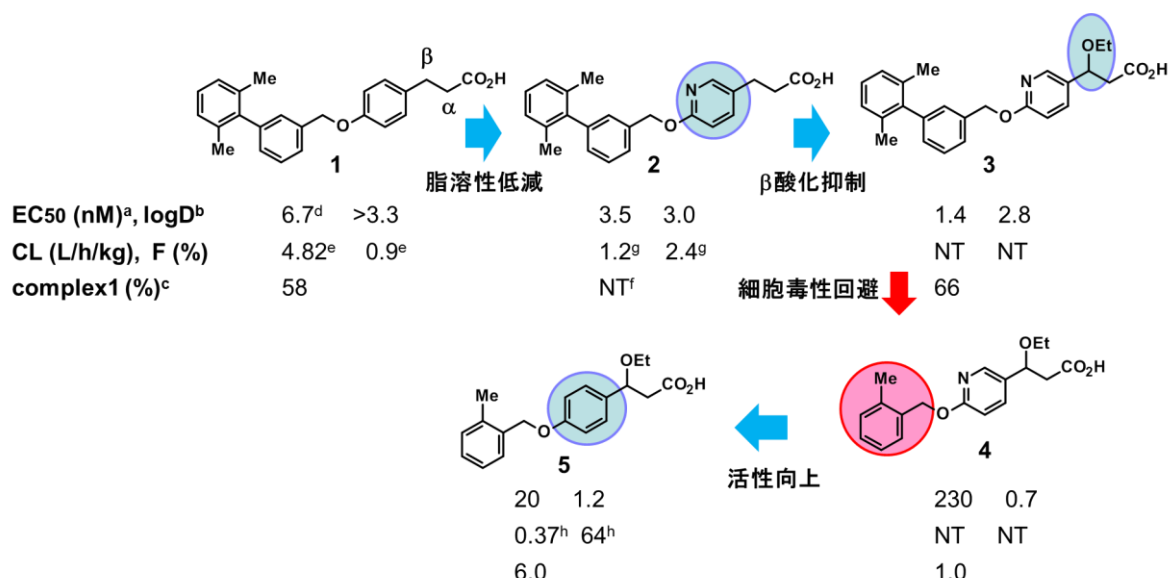
化合物 **1** は、強い GPR40 アゴニスト活性を有する一方、クリアランス(CL)が高いため血中持続性が悪く、細胞障害性が強いという問題点があった(図 2)。

当初、高クリアランスの原因は高脂溶性(logD > 3.3)にあると予想し、中央環を複素環へ変換した。ピリジンの導入(**2**)は、活性を維持しながら脂溶性を低減した。しかし、薬物動態の改善は経口剤としてはまだ不十分であった。

次に、化合物 **1** の血漿中代謝物の解析から、カルボン酸 β 位が酸化を受ける事が予想されたため、カルボン酸 β 位に置換基を導入し代謝の抑制を試みた。アセチレン基や環化構造の導入では活性が 10 倍以上減弱するのに対し、エトキシ基では活性の維持と脂溶性の低減を両立することができ、カルボン酸 β 位での代謝を抑制した(**3**)。

もう一つの問題点である化合物 **1** の細胞障害性は、ミトコンドリア呼吸鎖 complex 1 阻害を指標として評価を進めた。当初、脂溶性の低減は細胞障害性回避にも有効と期待していたが、脂溶性が低減した化合物 **3** においても高いミトコンドリア阻害活性を示した。そこで、共通するビアリール構造が complex 1 のファーマコフォアであると仮説をたて、ビアリール構造を除去した。その結果、予想どおりに細胞障害性は大幅に軽減した(**4**)。しかし、同時に GPR40 アゴニスト活性も著しく減弱した。過度な脂溶性低下が原因と考えられたため、中央環をベンゼン環に変換したところ、complex 1 阻害に影響を与えず GPR40 アゴニスト活性を回復した(**5**)。

このように、化合物 **1** に対して、カルボン酸 β 位へのエトキシ基の導入、ビアリール構造の回避を行うことにより、薬物動態の改善と細胞障害性の軽減を図り、権利化可能な骨格であるリード化合物 **5** を獲得した。



^a A calcium flux assay in hGPR40-transfected CHO cells. Assay results are the average of triplicates. Standard deviation was ± 20%.

^b LogD values were determined at pH 7.4. ^c % inhibition of the mitochondrial respiratory chain complex 1 at 100 μM of compound.

^d in house data. ^e rat cassette, 0.1 mg/kg *i.v.*, 1 mg/kg *p.o.*. ^f NT=Not tested. ^g rat, 10 mg/kg *i.v.*, 10 mg/kg *p.o.*.

^h rat, 2 mg/kg *i.v.*, 3 mg/kg *p.o.*.

図 2 化合物 **1** のプロファイルとリード化合物 **5** の創製

2-2, GPR40 アゴニスト活性の向上

強力な薬効発現のために、さらなる *in vitro* 活性向上を目指して、リード化合物 **5** からの誘導体展開を継続した。まず、カルボン酸部分の構造を変換した(図 3 A)。カルボン酸等価体や酸性度を高めた化合物を合成したが、活性は大きく低下した。これらの結果から、カルボン酸近傍での空間的、電子的な許容範囲は狭いと見え、酸性基部分は無置換カルボン酸が最適と判断した。

次に、ベンジルエーテル部分の変換を行った(図 3 B)。ベンゼン環の複素環への置換、電子供与性基・吸引性基の導入では良好な結果は得られず、特に高極性置換基では大きく活性が減弱した。一方、ハロゲン原子を有する置換基では活性が向上した。特に、3,4-ジクロロ置換体(**6**)は高活性を示した。リンカーは、エーテル結合が好ましく、長さは2元素が最適であった。また、中央環は無置換ベンゼンが最適であった(図 3 C)。

カルボン酸β位の不斉点(図 3 D)について、化合物 **6** をキラル HPLC を用いて各光学異性体に分離した。その結果、*S* 体は *R* 体と比較して 100 倍程高活性であった(**7**, **8**)。カルボン酸位を *S* 体に固定することで、化合物 **7** や **9** のような、化合物 **1** を凌ぐ活性を有する化合物を獲得することができた。

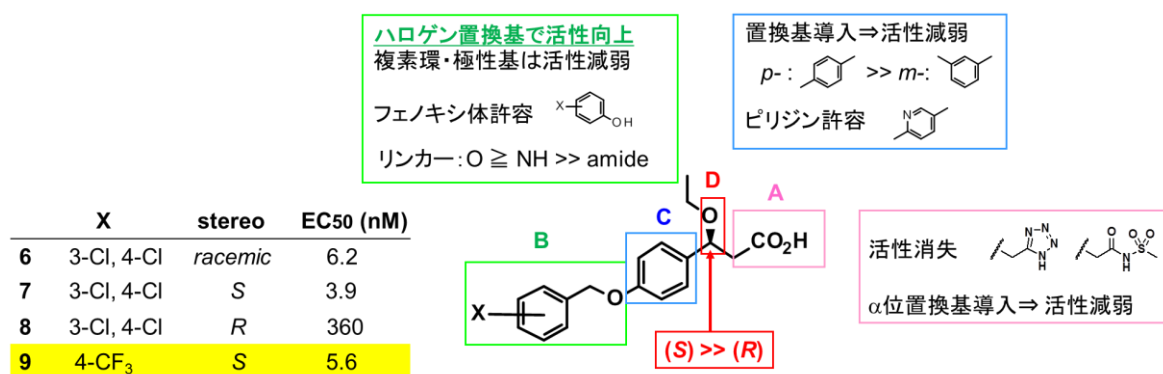


図 3 構造活性相関

2-3, PPAR γ に対する選択性向上

化合物 **7** および **9** について、同じく脂肪酸をリガンドとする受容体 PPAR α , γ , δ に対する親和性を調べたところ、PPAR γ に対するアゴニスト活性が認められた。PPAR γ はアゴニスト作用によりインスリン抵抗性改善等の好ましい効果がある一方、心血管障害、浮腫などの重篤な副作用を併発する可能性がある。糖尿病患者は、心血管イベントを起こす素地があること、腎臓機能の低下も起こっていることなどから、これらの副作用は忌避すべきと考えられる。そこで、次は PPAR γ アゴニスト作用回避を課題として構造変換を継続した。

代表的な PPAR γ アゴニスト Rosiglitazone、Farglitazar のように、PPAR γ アゴニストも酸性基部分と鎖状構造から構成される。各化合物と hPPAR γ の複合体の X 線結晶構造の報告より、リガンドは湾曲して Y 字型のポケットに結合していた(図 4)。

そこで、化合物 **9** の鎖状部分のフレキシビリティを低下させれば PPAR γ の Y 字型リガンド結合ポケットに結合しにくくなるという仮説を立て、ベンジル位から環化し

た化合物を合成した。予想通り、DS-1558 をはじめとする環化化合物では、PPAR γ アゴニスト活性が消失した。さらに、環化構造の導入は主活性の向上にも繋がった。このように、環化構造の導入により、PPAR γ アゴニスト活性消失に成功し、強力な *in vitro* GPR40 アゴニスト活性を有する DS-1558 を獲得した。

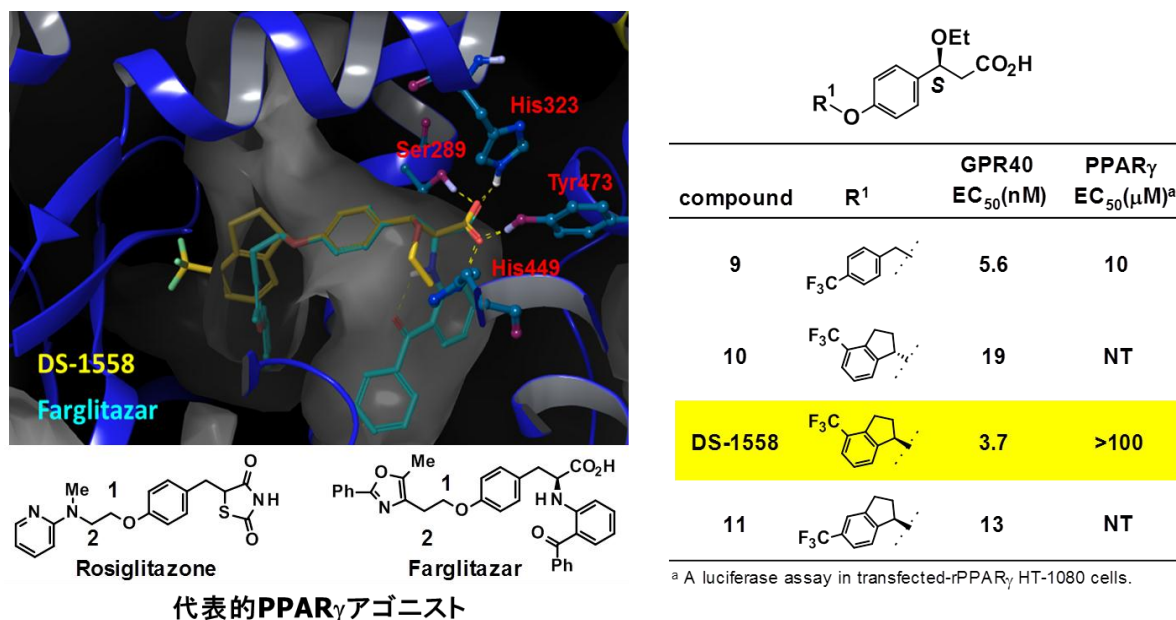


図 4 hPPAR γ と DS-1558 のドッキングスタディ

2-4, hGPR40 と DS-1558 のドッキングスタディによる SAR 検証

TAK-875 と hGPR40 の共結晶の X 線結晶構造の報告を受け、DS-1558 と hGPR40 の induced-fit ドッキングスタディを行った(図 5)。カルボン酸は、Arg183、Arg258、Trp91 と強い水素結合を形成していた。インダン環 1 位の立体配置はタンパク質表面の立体障害を受けにくい R 体が有利であった。さらに、エトキシ基は TAK-875 が利用していない小さい疎水性ポケットを利用していた。これら 2 つの不斉点の立体化学が活性発現に大きく影響することが示唆された。

GPR40 の結合ポケットは疎水性に富むため電子的相互作用できる箇所は少ないにも関わらず、DS-1558 が高親和性を示したのは、DS-1558 が結合ポケットとの形状相補性に優れていたためと考えられる。Ligand efficiency 値からも、有効性を裏づけることができた(DS-1558: 0.41, TAK-875: 0.29)。

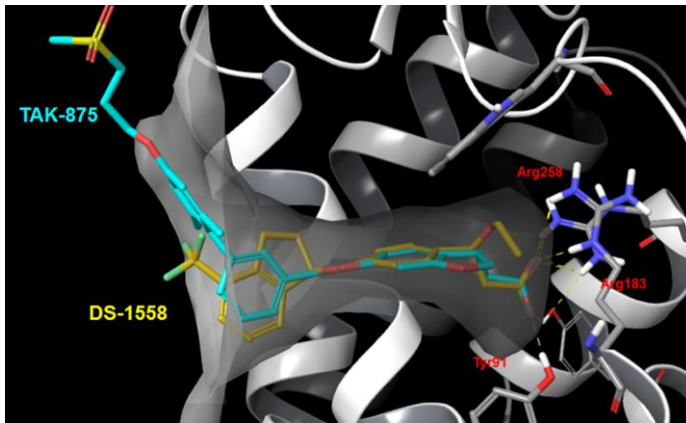


図 5 hGPR40 と DS-1558 のドッキングスタディ

2-5, DS-1558 の薬理評価と薬物動態プロファイル

DS-1558 はラット、イヌ、サルにおける薬物動態も良好であり、経口投与で十分に薬効を発揮できるプロファイルとなった(表 1)。

また、同じく脂肪酸を内因性リガンドとする GPR41, 43, 120 に対しても活性を示さなかった。さらに、他 68 種のレセプター、イオンチャネル、トランスポーターに対しても親和性は極めて低く、100 倍以上の高いレセプター選択性を有していた。

糖尿病モデル ZDF ラットを用いた経口糖負荷試験において、用量依存的な耐糖能改善作用を示した。DPP-4 阻害剤のシタグリプチンと比べ、強力な薬効を発揮できる事を確認した(図 6)。さらに、耐糖能不全イヌを用いた食後高血糖抑制試験において、経口投与 0.1 mg/kg から用量依存的に血糖上昇を抑制し、0.3 mg/kg でシタグリプチンの最大薬効を上回る薬効を示した。この結果から、ヒトでも強い薬効を示すことが予測でき、本化合物にて前臨床試験を進めることとなった。

Species	<i>i.v.</i>				<i>p.o.</i>			
	Dose (mg/kg)	CL (L/h/kg)	Vdss (L/kg)	T1/2 (h)	Dose (mg/kg)	Cmax (µg/mL)	AUC (µg*h/mL)	F (%)
Rat	1	0.020	0.19	6.0	1	3.1	40	80
Dog	0.5	0.042	0.23	4.0	1	1.7	14	66
Monkey	1	0.032	0.62	17	1	2.3	30	100

表 1 DS-1558 の薬物動態

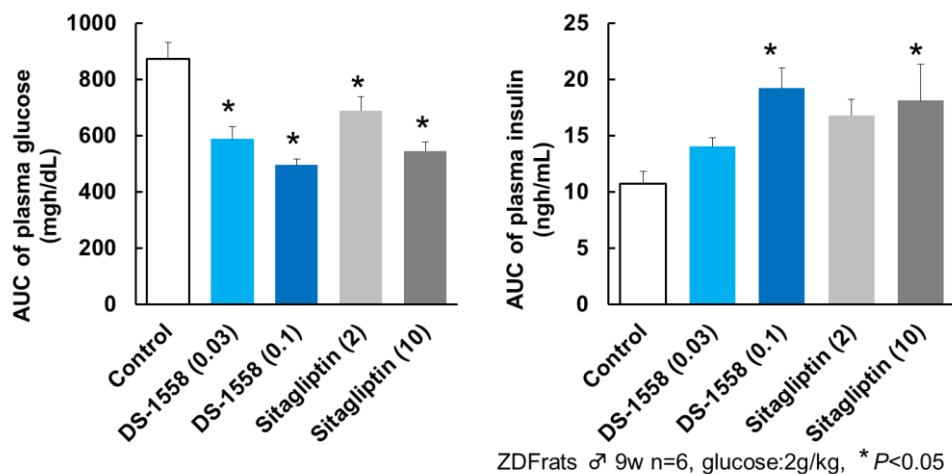


図 6 2型糖尿病ラット経口糖負荷試験

2-6, DS-1558 スケールアップ合成方法

スケールアップ合成では、カラム精製を避けるために、ジアステレオマーやβ脱離体などの副生成物を抑えるような反応を用いた(図 7)。二つの光学活性水酸基は、ルテニウム触媒を用いる不斉水素移動型還元反応により高立体選択的に構築した。アルキル化反応を中性条件下で行うことで、retro aldol 反応を進行させずに **18** を高収率で得た。カルボン酸構築は、エステル基の一級アルコールへの還元、続く TEMPO を用いた再酸化という多段階反応を採用することでβ-脱離反応を回避した。実際にこの合成方法に従い、90 g のインダノン **12** から 80 g の DS-1558 を高収率高純度で得ることに成功している。原薬合成にも応用可能な実効性の高いルートの構築に成功した。

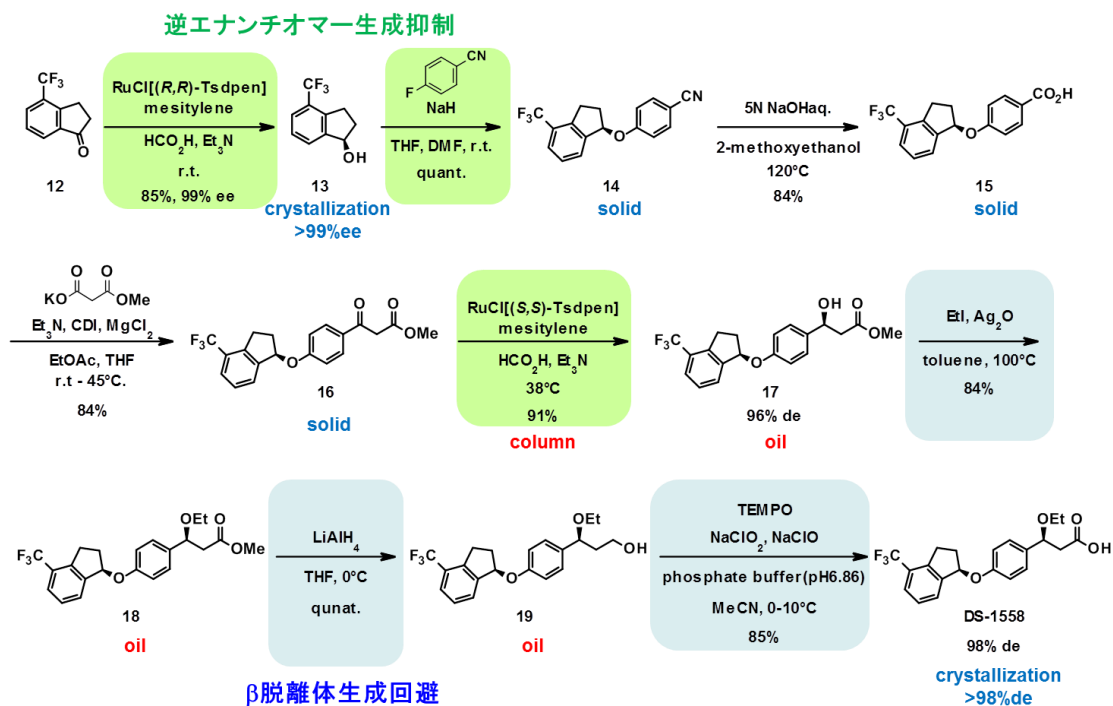


図 7. DS-1558 スケールアップ合成方法

3, 総括

本研究は、強力な薬効と高い安全性を有するインスリン分泌促進剤の開発を目指して行なわれた。

GPR40 アゴニストをターゲットとして選択し、内因性リガンドを模倣した 3-フェニルプロピオン酸を誘導体展開した結果、カルボン酸 β 位へのエトキシ基の導入や、環化構造の導入が、薬物動態の大幅な向上、GPR40 レセプター選択性の向上、*in vitro* 活性の向上に有効であることがわかった。その結果、病態モデル動物を用いた経口投与試験で強力な薬効を示す DS-1558 の創製に成功した。本化合物は、細胞障害性、薬物間相互作用、QT 間隔延長のリスクも軽微であり、サルテレメトリー試験では、有効薬効用量の 1000 倍まで投与し、心血管系における安全性も確認した。以上の結果より、DS-1558 は前臨床試験へと進められた。

本研究で得られた知見は、今後の糖尿病治療に貢献すると期待できる。