

氏名	小豆澤 智
学位の種類	博士(薬学)
学位記番号	博甲第1020号
学位授与の日付	平成20年3月22日
学位授与の要件	課程博士(学位規則第4条第1項)
学位授与の題目	抗糖尿病作用を有するテトラヒドロイソキノリン誘導体 (PPAR γ および PPAR γ + α アゴニスト) の合成研究
論文審査委員(主査)	向 智里(自然科学研究科・教授)
論文審査委員(副査)	石橋 弘行(自然科学研究科・教授), 米田 幸雄(自然科学研究科・教授), 松尾 淳一(自然科学研究科・准教授), 内山 正彦(学際科学実験センター・准教授)

Summary

Thiazolidinedione derivatives, anti-diabetic drugs, activate PPAR γ and enhance insulin sensitivity, but cause edema, increase the risk of weight gain and congestive heart failure. Further efforts are necessary to identify a structurally new PPAR γ agonist.

A novel series of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acids were synthesized to find a new PPAR γ agonist. (*S*)-2-Benzyl-7-[2-(5-methyl-2-phenyloxazol-4-yl)ethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid (KY-021) selectively activated human PPAR γ . KY-021 reduced plasma glucose and triglyceride levels in KK-A^y mice, and decreased plasma triglyceride levels and improved oral glucose tolerance in Zucker fatty rats. KY-021 had good oral absorption in mice, rats and beagles. Repeated oral administration of KY-021 (30 mg/kg/day) for 10 weeks showed little toxicity in rats.

Another series of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acids with an aliphatic chain at 2-position were synthesized to find a new PPAR γ + α dual agonist. (*S*)-7-{2-[2-[(1*E*)-2-Cyclopentylvinyl]-5-methyloxazol-4-yl]ethoxy}-2-[(2*E*,4*E*)-hexadienoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid (KY-201) activated human PPAR γ and PPAR α . KY-201 reduced plasma glucose and triglyceride levels in KK-A^y mice and improved oral glucose tolerance in Zucker fatty rats. KY-201 reduced plasma triglyceride and cholesterol levels in beagles. KY-201 had good oral absorption in KK-A^y mice, SD rats, Zucker fatty rats and beagles. Repeated oral administration of KY-201 (30 mg/kg/day) had little toxicity in KK-A^y mice, SD rats and Zucker fatty rats.

In conclusion, KY-021, a selective PPAR γ agonist, and KY-201, a PPAR γ + α dual agonist, have great potential as an efficacious and safe drugs for diabetes. The present study revealed that 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid is a useful scaffold for a PPAR agonist.

【背景】

日本はもとより世界規模で進行する生活の欧米化・都市型化、さらには高度情報化社会におけるストレスの増加から生活習慣病の発症が年々増加してきている。三大生活習慣病である高血圧症、高脂血症および糖尿病は動脈硬化の基礎疾患であり、死亡率上位を占める心疾患および脳血管疾患の危険因子である。これら生活習慣病の中で高血圧症における血圧コントロールについてはほぼ満足できる薬物が開発されており、高脂血症における脂質コントロールについてもスタチン類により画期的な効果が得られるようになった。しかし、糖尿病については種々のインスリン製剤や経口血糖低下剤が用いられているが、いまだ理想的な血糖コントロールは達成できていない。

現在、経口血糖低下剤としてスルホニル尿素(SU)剤、グリニド系、DPP-IV 阻害剤などのインスリン分泌促進薬、グリタゾン系、ピグアナイド系などのインスリン抵抗性改善剤および α -グルコシダーゼ阻害剤などの糖吸収阻害剤が臨床で用いられている。インスリン分泌促進剤はインスリン抵抗性を基盤とする病態では十分な治療効果が期待できない。また、高インスリン血症は動脈硬化の発症に促進的に作用すると考えられ、睥外作用によって血中インスリン濃度を上昇させることなく血糖を低下させる薬剤が必要と考えられる。 α -グルコシダーゼ阻害剤およびピグアナイド系薬剤はインスリン分泌を介することなく血糖低下作用を示すが、作用が緩和で適応が限られている。グリタゾン系薬剤は PPAR γ アゴニスト作用により全身的にインスリン抵抗性を改善し血糖低下作用を示す画期的薬剤として世界中で広く用いられている。しかし、副作用として肝障害、体液貯留作用、浮腫、心不全悪化および体重増加作用などがあり慎重に投与する必要がある。

薬効と安全性に優れた新規選択的 PPAR γ アゴニストや PPAR α 作用の付与による作用の増強と副作用低減を期待した PPAR γ + α デュアルアゴニストの開発を目指して多数の化合物が合成されてきたが、未だ開発に成功し臨床に供されたものは無い。そこで、本研究では新たな基本構造を有し薬効と安全性に優れた新規カルボン酸型 PPAR γ アゴニストおよび PPAR γ + α デュアルアゴニストの創製を目指し設計および合成を行った。

【新規カルボン酸型 PPAR γ アゴニストの合成】

Farglitazar などの選択的 PPAR γ アゴニスト作用を有するカルボン酸誘導体は活性基のカルボン酸に加え、2 つの脂溶性側鎖を有しており、PPAR γ タンパクと疎水性相互作用をしていることが知られている。しかしこれらの脂溶性側鎖は構造的な自由度が大きくタンパクとの相互作用が最適化されていないと考えられる。また、これらの化合物は分子量が大きく脂溶性が高いため経

口吸収性に問題がある。そこで、カルボン酸および脂溶性側鎖を固定することで PPAR γ タンパクとの相互作用を強化し、特異性を高めることで副作用の低減が図れるのではないかと考えた。併せて低分子量、低脂溶性とすることで、経口吸収性の改善および非特異的毒性の軽減を目指した。具体的には、チロシン誘導体から閉環してテトラヒドロイソキノリン構造とし、1位と7位に種々の置換基を導入した。その結果 farglitazar より低分子量かつ低脂溶性の (S)-2-benzyl-7-(2-[5-methyl-2-phenyloxazol-4-yl]ethoxy)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid (KY-021) が *in vitro* において farglitazar と同等の強力なヒト PPAR γ アゴニスト活性 (EC₅₀: 11.8nM) を示すことが明らかになった。PPAR γ タンパクのリガンド結合部位と PPAR γ リガンドはヘリックス 12 に存在するチロシン 473 と酸性基との水素結合および 2 つの脂溶性ポケットにおいて疎水性相互作用をしていることが知られている。チロシン構造を有する farglitazar では脂溶性側鎖の回転が可能であるが、KY-021 はチロシン構造からテトラヒドロイソキノリン骨格に変換したことによりカルボン酸および脂溶性側鎖が固定され、PPAR γ タンパクとより特異的かつ効率的な水素結合および疎水性相互作用が可能になったものと考えられる。KY-021 はマウス、ラットおよびビーグルにおいて良好な経口吸収性を示し、KK-A^yマウス 4 日間混餌投与において farglitazar とほぼ同等の血糖および脂質低下作用を、Zucker fatty ラット 7 日間強制投与において farglitazar より優れた耐糖能改善作用を示した。さらに、KY-021 はラットにおける 10 週間反復投与試験において重篤な毒性を示さず、心肥大および白色脂肪増加作用は farglitazar より弱かった。

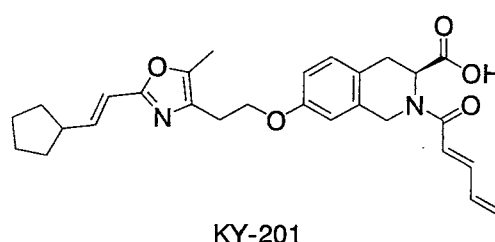
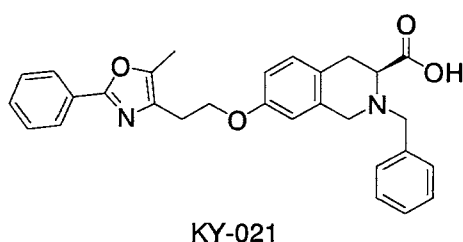
【新規カルボン酸型 PPAR γ + α デュアルアゴニストの合成】

これまで多数のカルボン酸型 PPAR γ + α デュアルアゴニストが合成されてきたが、ガン原性、肝障害、心血管イベント増悪、腎機能低下など種々の問題により開発が中断されてきた。Muraglitazar, imiglitazar など従来の PPAR γ + α デュアルアゴニストは選択的 PPAR γ アゴニスト farglitazar に類似して活性基のカルボン酸に加え、2 方向に脂溶性側鎖を配した構造となっている。また、それらの多くが自由度の高い 3-4 個の芳香環を有しており、分子量が大きく脂溶性が高い。こうした物性および構造特性が上記の毒性や副作用の一因である可能性や PPAR α ないし PPAR γ 活性化作用に起因する副作用発現を増強している可能性は否定できない。そこで、基本構造としてテトラヒドロイソキノリン環を用い、芳香環数の低減および緩和な PPAR α アゴニスト活性の付与を目指し、2 位および 7 位オキサゾール環上に種々の脂肪族側鎖の導入を行うことにより新規 PPAR γ + α デュアルアゴニストの合成を目指した。その結果、オキサゾール環の 2 位にシク

ロペンチルビニル基を、テトラヒドロイソキノリンの2位に2,4-ヘキサジエノイル基を有するKY-201がPPAR γ および α アゴニスト活性(EC₅₀: 43.2nM および 80.8nM)を示すことが明らかになった。PPAR α タンパクのリガンド結合部位のヘリックス12とPPAR α リガンドの酸性基が水素結合をしてPPAR α アゴニスト活性を示すことが知られている。PPAR α タンパクとPPAR γ タンパクのリガンド結合部位はほぼ同じ大きさおよび形状をしている。KY-201の脂溶性側鎖はPPAR γ の場合と同様の疎水性相互作用により、カルボン酸がPPAR α タンパクのリガンド結合部位と水素結合可能な位置に配位するよう支持しているものと考えられる。なお、7位オキサゾール環上に分岐鎖状側鎖を有する化合物は強力なPPAR γ アゴニスト活性を示したがPPAR α アゴニスト活性は示さなかった。一方、KY-201など環状側鎖を有する化合物では環サイズの増大に伴いPPAR γ アゴニスト活性およびPPAR α アゴニスト活性が上昇した。したがって、PPAR α タンパクとPPAR γ タンパクの脂溶性ポケットは微妙に異なり、環状側鎖の導入がデュアルアゴニストの設計に有用であることが明らかになった。KY-201はマウス、ラットおよびビーグルにおいて優れた経口吸収性を示した。また、KY-201はKK-A^yマウスにおいてrosiglitazoneより優れた血糖およびTG低下作用を、Zucker fatty ラットにおいてほぼ同等のインスリン抵抗性改善作用および耐糖能改善作用を示した。これらの作用は主にPPAR γ アゴニスト作用によると思われる。一方、ハムスターにおいてPPAR α 作用によると思われる肝ペルオキシゾーム acyl-CoA oxydase (ACO)活性亢進作用を、ビーグルにおいてコレステロール低下作用を示した。さらに、マウスおよびラットを用いた毒性試験において重篤な毒性を示さなかった。マウスおよびラットの体液貯留、心肥大および卵巣萎縮に関するKY-201の安全域はrosiglitazoneの約10倍に達した。

【結論】

現在、臨床で用いられているpioglitazoneやrosiglitazoneより薬効と安全性に優れた新規PPAR γ アゴニストおよびPPAR γ + α デュアルアゴニストの創製を目的として合成研究を行った。その結果、薬効と安全性に優れた新規PPAR γ アゴニストKY-021とPPAR γ + α デュアルアゴニストKY-201を見いだした。



これらの化合物が臨床に供されれば、血糖低下剤の第一選択薬として、また種々のインスリン分泌促進薬の併用薬として 2 型糖尿病治療の一翼を担いうるものと期待される。また、本研究を通して、テトラヒドロイソキノリン構造が PPAR γ アゴニストおよび PPAR α アゴニスト設計の有用な基本構造であることが明らかになった。これらの情報は、PPAR の機能研究や PPAR アゴニストの合成研究に資するものと考えられる。

学位論文審査結果の要旨

現在、PPAR γ アゴニスト作用を有する糖尿病治療薬として、チアゾリジンジオン誘導体が用いられているが、種々の副作用が問題となっており、新規 PPAR γ アゴニストの創製が求められている。申請者はテトラヒドロイソキノリン骨格を用いた新規カルボン酸誘導体の合成研究を行い、以下の成果を得た。(1) PPAR γ アゴニスト KY-021 を見出し、既存のカルボン酸誘導体より低分子量かつ低脂溶性で、優れたインスリン抵抗性改善作用及び血糖低下作用を示し、安全性も高いことを明らかにした。(2) PPAR γ + α デュアルアゴニスト KY-201 を見出し、既存のチアゾリジンジオン誘導体より強力な血糖低下作用及び同等のインスリン抵抗性改善作用を示し、安全性が著しく高いことを明らかにした。(3) テトラヒドロイソキノリンの 2 位および 7 位に脂溶性側鎖を導入することにより、置換基の自由度が高い従来化合物より PPAR γ アゴニスト活性が上昇すること、並びに 7 位脂溶性側鎖の構造変換により、PPAR γ 及び α アゴニスト活性の選択性調節が可能であることを明らかにした。以上、申請者は薬効および安全性に優れた新規 PPAR γ アゴニスト及び PPAR γ + α デュアルアゴニストを見出した。また、テトラヒドロイソキノリン構造が PPAR アゴニストの設計に有用な基本構造であることを明らかにしたことから、今後さらなる応用が期待される。よって、本論文は博士(薬学)に値するものと判定した。