

## 緒言

自己免疫疾患は、外来の異物から生体防御を担う免疫系が正常に機能しなくなり、自己の細胞を非自己と認識した免疫細胞が自己組織を攻撃してしまう病気である。関節リウマチや乾癬の患者数はいずれも日本で50万人以上と多いにも関わらず医薬品の効果が限定的であることから、新しいメカニズムの治療薬開発が期待されている。

第3のヘルパーT細胞であるTh17細胞は、炎症性サイトカインであるIL-17を産生し、そのIL-17抗体が関節リウマチや乾癬等を対象とした臨床試験において有効性を示したことから、様々な自己免疫疾患においてTh17細胞が中心的な役割を果たしていることがわかってきた。核内受容体ROR $\gamma$  (retinoic acid receptor-related orphan receptor gamma) は、このTh17細胞の分化・活性化機構に深く関与していることが示唆されており、ROR $\gamma$ アンタゴニストが新しいメカニズムの治療薬となり得ることが期待される。

申請者はROR $\gamma$ アンタゴニスト創製に向け、過度な分子量や疎水性を回避し、同時にオフターゲットに対する選択性を向上させる目的で、LE (Ligand Efficiency) 値およびFsp<sup>3</sup> (Fraction of sp<sup>3</sup> carbon atoms) 値を指標に合成展開を行った。

## 1. リード化合物の創製

HTSにより見出された化合物1からの合成展開を実施した。化合物1の課題は、*in vitro* 活性の向上、ならびに代謝安定性とCYP阻害の改善であった。化学構造の観点からは、毒性発現が懸念されるトリアゾール環隣位の硫黄原子ならびに1-ナフチル基の代替構造の探索が課題であった。まず、化学構造については、LE値とFsp<sup>3</sup>値を低下させることなくそれぞれ炭素原子ならびに2,4-ジメチルフェニル基への変換に成功しリスク構造を回避することができた。さらに、2-インダニル基を2-シクロヘキシルエチル基に変換した化合物2は、ヒット化合物1と比較してLE値が向上し、同時にFsp<sup>3</sup>値の大幅な向上も認められており代謝安定性とCYP阻害が改善傾向を示したことから、リード化合物に相応しいと考えた。そこで、本化合物からの構造最適化を行うことにした。

## 2. 複合体X線結晶構造解析の結果考察

リード化合物を創製する過程で得られた化合物4の複合体X線結晶構造を取得した。1-ナフチル基に隣接するアミド結合とトリアゾール環の1位窒素原子において標的タンパク質ROR $\gamma$ との水素結合が観察された。また、化合物のトリアゾール環とアミド結合の間のエチレン鎖部位がポケット入口付近に位置していることもわかった。これらはリード化合物創製の際に得られたSARを支持する結果であったため、複合体X線結晶構造解析より得られる知見は、以降の最適化検討に活用できると考えた。

化合物4は、分子全体でU字形の活性コンフォメーション

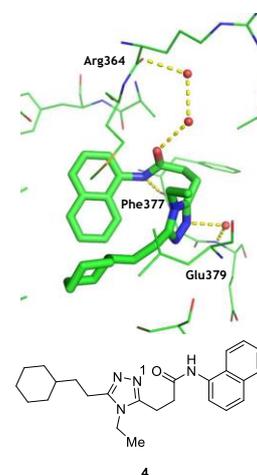


図1. 化合物4の複合体X線結晶構造解析

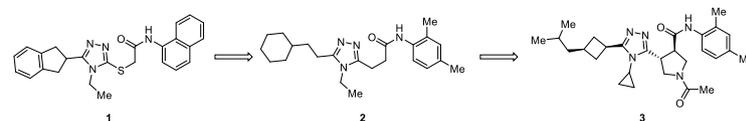
をとっていることが新たに明らかになった。さらに、2-シクロヘキシルエチル基のシクロヘキサン環は、トリアゾール環から離れた場所に位置していることもわかった。そこで、リード化合物の最適化は、配座固定を基本戦略とすることとした。リード化合物 **2** は、フレキシビリティの高さ故にオフターゲット (CYP 等) との選択性を乏しくしている可能性もあると考え、活性コンフォメーションの安定化と想定代謝部位の修飾効果を狙い、トリアゾール環隣接位への環構造導入を検討することにした。

### 3. リード化合物の最適化

リード化合物 **2** のエチル基と 2-シクロヘキシル基のエチレン鎖部分に、それぞれシクロプロピル基、シクロブタン環を導入すると、LE 値ならびに代謝安定性の向上が認められた。そして、分子全体のコンフォメーションを U 字形に固定するために、トリアゾール環とアミド結合の間のエチレン

表1. 化合物 1~3 のプロファイル

鎖の部分にピロリジン環を導入した。その結果、*in vitro* 活性の向上が認められ、EC<sub>50</sub>: 10<sup>-8</sup> M オーダーを示した。さらに、代謝安定性と CYP 阻害作用が改善し



compd	ROR $\gamma$ -LUC		Fsp <sup>3</sup>	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (M) IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
	human			10 min	60 min	
	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	LE				
1	1.7	0.25	0.24	18	0	4
2	0.90	0.30	0.61	36	0	12
3	0.034	0.29	0.64	86	61	> 50

良好なプロファイルを示す化合物 **3** を得ることができた。化合物 **3** は、マウス CD3 チャレンジモデル (経口投与) において、IL-17 産生抑制効果を示した。

### 結論

本研究では、新しいメカニズムの自己免疫疾患の治療薬を見出すべく ROR $\gamma$  アンタゴニストの探索を行い、*in vivo* 試験で薬理効果が認められた新規化合物を見出すことに成功した。本研究成果は、自己免疫疾患治療薬の新しい選択肢につながるものと期待される。また、探索研究の過程で「薬らしさ」を表現する LE 値と Fsp<sup>3</sup> 値を指標に用いることで、HTS ヒット化合物から *in vivo* 試験で有効な化合物を効率良く導き出す方法を示すこともできた。本方法は、これからの創薬研究のモデルケースとなるものと期待する。

### 本研究の誌上発表

- Hirata, K.; Kotoku, M.; Seki, N.; Maeba, T.; Maeda, K.; Hirashima, S.; Sakai, T.; Obika, S.; Hori, A.; Hase, Y.; Yamaguchi, T.; Katsuda, Y.; Hata, T.; Miyagawa, N.; Arita, K.; Nomura, Y.; Asahina, K.; Aratsu, Y.; Kamada, M.; Adachi, T.; Noguchi, M.; Doi, S.; Crowe, P.; Bradley, E.; Steensma, R.; Tao, H.; Fenn, M.; Babine, R.; Li, X.; Thacher, S.; Hashimoto, H.; Shiozaki, M. SAR Exploration Guided by LE and Fsp<sup>3</sup>: Discovery of a Selective and Orally Efficacious ROR $\gamma$  Inhibitor. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, **2016**, 7, 23-27.
- 平田和之; 古徳将之; 平島新太郎; 野口正人; 塩崎 真. 新規 ROR $\gamma$  アンタゴニストの創製. *MEDCHEM NEWS*, **2017**, 27, 160-167.