OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	HCV RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ阻害薬の創薬研究
Author(s)	平島, 新太郎
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49170
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏　　名	平　島　新太郎（ひらしま　しんたろう）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学 位 記 番 号	第　２１６６０　号
学位授与年月日	平成 20 年２月１日
学位授与の要件	学位規則第４条第２項該当
学 位 論 文 名	**HCV RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ阻害薬の創薬研究**
論文審査委員	（主査） 教　授　北　　泰行 （副査） 教　授　今西　　武　　教　授　田中　徹明　　教　授　小林　資正

論 文 内 容 の 要 旨

C 型肝炎ウイルス（HCV）は 1989 年に非 A、非 B 型肝炎の病原体として発見された RNA ウイルスで、塩基配列により主に 1-6 の遺伝子型に分類される。感染者は世界で２億人近くに達し、大多数は１型の HCV に感染している。感染後、85%以上が慢性肝炎になり、やがて肝硬変、肝癌に進行するリスクが非常に高い。しかし、ワクチンや抗ウイルス薬は無く、現在の最も有効な治療法であるインターフェロンとリバビリンの併用は、最も感染者が多い１型に対する治癒率が 50%程度と限られ、他の遺伝子型に対する効果より著しく低い。また、ほとんどの場合に伴う重篤な副作用やインターフェロンが注射剤であることも、患者の安全性や QOL の観点から大きな問題となっている。

HCV は肝細胞に侵入後、一本鎖の RNA ゲノムを複製し増殖する。また、HCV RNA は、宿主遺伝子に組込まれることなく mRNA として働き、ゲノムにコードされている幾つかの非構造タンパクを生成させる。その一つである HCV RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ（HCV ポリメラーゼ）は、自身の RNA を複製させる酵素として HCV の増殖において重要な役割を担っている。一方、ヒトではゲノム（DNA）の複製に RNA 依存性 RNA ポリメラーゼを必要とせず、その存在は知られていない。

以上のことから、１型 HCV に有効で、安全性に優れた経口投与可能な抗 HCV 薬の開発は必須であり、その創薬ターゲットとして HCV ポリメラーゼが適していると考え、その阻害薬の創製を目的として、本研究に着手した。

本研究を開始した当時、HCV ポリメラーゼ阻害薬の報告は皆無であったので、リード化合物を JT ケミカルライブラリーに求めた。ランダムスクリーニングでヒットしたベンゾイミダゾール誘導体(**1**)の初期構造活性相関（SAR）研究により、μM オーダーの IC_{50} 値を有するカルボン酸誘導体(**2**)を見出し、リード化合物とした。**2** の各部位を順次変換することにより、シクロアルキル部としてシクロヘキシル基が、ベンジル部としてビフェニルメチル基が活性の向上に効果があることを見出した。両方の置換基を有するビフェニル誘導体の体系的な化学修飾により最適化を実施し、リード化合物と比べ 100 倍以上向上した酵素阻害活性、それに伴い向上した細胞での阻害活性、及び良好な経口吸収性を有する化合物を幾つも見出し、その中から HCV ポリメラーゼ阻害薬として先駆的と言える臨床候補化合物 JTK-109 を創製することができた（eq. 1、step 1）。

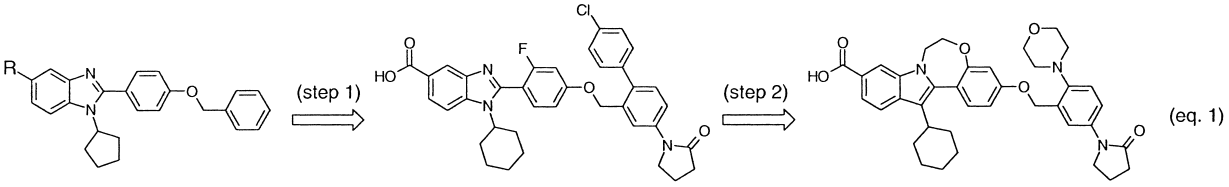
創薬における SAR 及び最適化研究では、種々の誘導体を効率良く迅速に合成することが必要であり、そのための鍵中間体の選定は重要である。そこで、上述の SAR 研究における鍵中間体として 1-シクロヘキシル-2-(4-ヒドロキシフェニル)-*1H*-ベンゾイミダゾール-5-カルボン酸メチルエステルを選択した。しかし、シクロアルキル基とカルボキシル基を併せもつベンゾイミダゾール誘導体の合成は報告されていなかったため、合成法の確立が必要であった。種々検討した結果、フェニレンジアミン誘導体とイミデートをカップリングするルートにおいて、メチル 4-ヒドロキ

シベンゾイミデートが対応するニトリルからアセチルクロリドとメタノールを用いて簡便に合成できること、そのイミデートをフェニレンジアミン誘導体と反応させると一工程で収率良く鍵中間体が得られ、且つ kg スケールで合成できることを見出した。

開発に際し kg スケールの JTK-109 が必要となったが、SAR 研究時の合成法はリニアーで通算収率も 20%程度とプロセスには適応できず、大量合成に適した合成法の確立が不可欠であった。そこで、鍵中間体と側鎖ビフェニルメチルクロリド体をカップリングするコンバージェントなルートを立案し、プロセス化学の観点から側鎖の合成法を検討した。その結果、2-クロロ-4-ニトロベンズアルデヒドから 6 工程で目的とする側鎖を合成することができ、その側鎖と既に合成法を確立した鍵中間体をカップリングし、通算収率が 48%に向上した大量合成法を確立した。

耐性ウイルスの出現に対しては、より強力で構造の異なった次世代化合物が必要となる。そこで、細胞での阻害活性が更に向上した化合物の創製を目的とし構造変換を行った。JTK-109 は酵素系に比べ細胞系で活性が大きく減弱することから、その原因であるタンパク結合性が高いビフェニル基の変換を検討し、モルホリノフェニル基に変換してタンパク結合性を低下させ、活性差を改善できた。更に、モルホリノフェニル基を活かして母核のベンゾイミダゾール骨格の変換を種々検討した結果、細胞系での阻害活性が JTK-109 に比べ 40 倍以上向上した JTP-70548 を創製することができた。この細胞での阻害活性は現在まで報告されている中で最も強いものの一つであり、良好な経口吸収性を併せ持つことから、次世代開発化合物の足掛りと位置付けた（eq. 1、step 2）。

類縁体と HCV ポリメラーゼの共結晶の X 線構造解析により、類縁体の結合部位がサムドメイン上のアロステリック部位であることを明らかにし、これにより共通構造を有する JTK-109, JTP-70548 の結合部位を推定できた。



Hit compound (**1**): R = $CONH_2$
(47% inhibition at 10μM)

Lead compound (**2**): R = COOH
IC_{50} = 3.2 μM

JTK-109
IC_{50} = 0.017 μM
EC_{50} = 0.32 μM
EC_{50}/IC_{50} = 19
C_{max} = 4.5 μM

JTP-70548
IC_{50} = 0.0072 μM
EC_{50} = 0.0076 μM
EC_{50}/IC_{50} = 1.1
C_{max} = 4.1 μM

論文審査の結果の要旨

C 型肝炎ウイルス（HCV）は 1989 年に非 A、非 B 型肝炎の病原体として発見された RNA ウイルスで、感染者は世界で 2 億人近くに達し、大多数は 1 型の HCV に感染している。感染後、85%以上が慢性肝炎になり、やがて肝硬変、肝癌に進行するリスクが高く、ワクチンや抗ウイルス薬は無い。現在の治療法であるインターフェロンとリバビリンの併用は、最も感染者が多い 1 型に対する治癒率が 50%程度と限られ、重篤な副作用やインターフェロンが注射剤であることも、大きな問題となっている。平島君は、1 型 HCV に有効で、安全性に優れた経口投与可能な抗 HCV 薬の創製を目的として、本研究に着手した。まずランダムスクリーニングでカルボン酸誘導体を見出し、リード化合物とした。リード化合物の構造変換により、リード化合物の 100 倍以上向上した酵素阻害活性、細胞での阻害活性および良好な経口吸収性を有する HCV ポリメラーゼ阻害薬である臨床候補化合物 JTK-109 を創製した。続いて、kg スケールの JTK-109 が必要となり、通算収率が 48%に向上した大量合成法を確立した。さらに、耐性ウイルスの出現に対する次世代化合物の探索のために、JTK-109 の構造変換を行い、細胞系での阻害活性が JTK-109 に比べ 40 倍以上向上し、良好な経口吸収性を持つ JTP-70548 を創製することができた。さらに、類縁体と HCV ポリメラーゼの共結晶の X 線構造解析により、類縁体の結合部位がサムドメイン上のアロステリック部位であることを明らかにし、これにより共通構造を有する JTK-109、JTP-70548 の結合部位を推定できた。

以上の成果は、博士（薬学）の学位論文に値するものと認める。