The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	CRACチャネル阻害薬の合成と構造活性相関に関する研究
Author(s)	米徳, 康博
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/57955
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

【24】

氏　　名	米（よね）　徳（とく）　康（やす）　博（ひろ）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学　位　記　番　号	第　２３４４８　号
学位授与年月日	平成21年12月22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	CRACチャネル阻害薬の合成と構造活性相関に関する研究
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　田中　徹明 （副査） 教　授　松田　敏夫　　教　授　小林　資正　　教　授　小比賀　聡

論　文　内　容　の　要　旨

CRAC チャネルは炎症細胞の活性化に特異的に深く関与していると考えられており、本チャネル阻害により過剰免疫反応が関与する喘息や慢性間接リウマチ等を初めとした様々な炎症性疾患を効果的に治療する可能性が期待出来る。既存のCRACチャネル阻害薬においてはVOCチャネルとの選択性に乏しい現状を踏まえ、著者らはハイスループットスクリーニングにより見出した4'-クロロ-5-(1-メチル-3-トリフルオロメチル-1*H*-ピラゾール-5-イル)-2-チオフェンカルボキサニリド(1)をリード化合物として、選択的なCRACチャネル阻害薬の創製研究を行った。

本化合物における4-クロロフェニル部の変換において、フェニル基上4位置換基の定量的構造活性相関（QSAR）解析を行い、σ_{para}値とCRACチャネル阻害活性との間に関連式を導くに至った。また、フェニル基上2位への置換基導入がVOCチャネル阻害活性の減弱を招き、強力なCRAC チャネル阻害活性（IC_{50}=0.050 μM）と極めて高い選択性（対VOCチャネル阻害活性比:>200倍）を有する2'-クロロ-5-(1-メチル-3-トリフルオロメチル-1*H*-ピラゾール-5-イル）-2-チオフェンカルボキサニリド(2)を見出した。更にフェニル基から他のヘテロ環及び脂肪環等の変換を行い、導入した置換基のclogP値と阻害活性との間にある程度の相関があることを見出し、置換基の脂溶性がCRACチャネル阻害活性発現に有利に働くという知見を得た。

一方で1のピラゾール環及び中央部チオフェン環とアミド結合部の置換基効果について調べた結果、ピラゾール環の1位アルキル基及び3位トリフルオロメチル基は活性発現に必須であること、ピラゾール環とチオフェン環との二面角がCRACチャネル阻害活性に影響を与えること、更にアミド部分もCRACチャネル阻害活性の発現に必要であること等の知見を得た。また、これら活性発現必須部位を保持した4-クロロ-4'-(1-メチル-3-トリフルオロメチル-1*H*-ピラゾール-5-イル)ベンズアニリド(3)が強力なCRACチャネル阻害活性（IC_{50}=0.085 μM）と良好な選択性（対VOCチャネル阻害活性比：31倍）を有することを見出した。

化合物1の構造変換により得られた強力かつ選択的なCRACチャネル阻害活性を示した一連の化合物群は、in vitroにおいてinterleukin-2 （IL-2）産生阻害作用を有し、更にin vivoでもマウス肝障害モデルに対する効果を示したことから、CRACチャネル阻害活性を有する化合物によってT細胞の活性化が抑制されることが、in vitro及びin vivoの両面から証明された。

活性向上が認められた2及び3について単結晶X線構造解析を行った結果、分子全体のコンフォメーションや活性発現に必須と考えられるトリフルオロメチル基とN-Hプロトンとの距離がCRACチャネル阻害活性に重要な役割を果たすことが確認された。以上の知見を踏まえ1におけるピラゾール部の部分構造の探索を行い、新たに設計した1-フェニル-3,5-ビス（トリフルオロメチル）ピラゾール誘導体、及び1の類似既知化合物スクリーニングにより見出された4-メチル-4'-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)-1*H*-ピラゾール-1-イル]-1,2,3-チアジアゾール-5-カルボキサニリド(4)が10^{-7} Mオーダーの良好なCRACチャネル阻害活性を示すことを見出した。特に4はin vitro及びin vivo機能性評価において3よりも強力な抑制作用を有し、新規部分構造としてデザインした3,5-ビス（トリフルオロメチル）ピラゾール誘導体が、CRACチャネルからの細胞内シグナル伝達をより効果的に抑制できる可能性が示唆された。

見出された4を基に構造活性相関を精査した。ピラゾール環上置換基について調べたところ、活性発現には5位に置換基の存在が必要であることが示唆され、MOPACによるピラゾール環及びベンゼン環との二面角の計算結果から、5位の置換基によって生じた双環のねじれがCRAC チャネル阻害活性の発現には必須であると考えられた。一方でチアジアゾリル基を3-及び4-ピリジル基へと変換しても良好なCRAC チャネル阻害活性を維持し、加えてVOCチャネル阻害活性との選択性向上が図れることが判ったため、3-ピリジル誘導体に対し更なる置換基導入を行った。その結果ピリジン環5位へのハロゲンの導入が活性及び選択性の向上に寄与することが判り、特に5-フルオロ-4'-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)-1*H*-ピラゾール-1-イル]ニコチンアニリド(5)が強力なCRAC チャネル阻害活性（IC_{50}=0.077 μM）と優れた選択性（対VOC チャネル阻害活性比：>130倍）を示すことを見出した。

強力かつ選択的なCRAC チャネル阻害活性を有する化合物についてin vitro及びin vivo機能性評価を行ったところ、幾つかの3-ピリジル誘導体がマウス遅延型過敏症モデルやラット好酸球浸潤モデルといった複数のin vivo炎症モデルにおいて有効性を示すことが明らかとなった。特に4,6-ジメチル-4'-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)-1*H*-ピラゾール-1-イル]ニコチンアニリド(6)は喘息を反映した本評価系においてED_{50}=1.3 mg/kg poの強力な作用を有し、更には関節炎及び炎症性腸疾患といった複数の動物モデルにおいても有効性を示すことが判り、本化合物が優れた抗喘息薬になり得る可能性を示唆する結果が得られた。

以上、本研究により、世界で初めて強力且つ選択的なCRAC チャネル阻害剤の創製に成功した。優れたin vitro作用を示す2,3及び5等をツールとして今後CRACチャネルの更なる構造解析が行われること、及び優れたin vivo作用を有する6等のCRAC チャネル阻害剤が幅広い効果をもつ抗炎症・免疫抑制薬になること、が期待される。

論文審査の結果の要旨

CRACチャネルは炎症細胞の活性化に密接な関わりがあると考えられ、その阻害により種々の炎症性疾患への高い治療効果が期待できる。しかしながら本チャネルに関して十分な分子構造情報の集積には至っておらず、更には既知のCRACチャネル阻害

剤は主活性及びVOCチャネルとの選択性の両面において満足いく段階にはなかった。

このような背景の下、申請者はスクリーニングにより見出したアリールピラゾール誘導体の各部分構造の最適化を行うことにより、既存化合物が達成し得なかった強力な主活性と高い選択性を有する化合物の創製に成功した。構造最適化の過程においては、QSAR解析、clogP、MOPAC等の計算科学的手法やＸ線結晶構造を用いて構造活性相関を考察し、これまで明確ではなかったCRACチャネル阻害剤の分子像を明らかにすることが出来た。これらの知見は、CRACチャネルと阻害剤との結合様式が今後解明されていくと予想される中で、阻害剤側の構造情報として極めて重要なものと考えられる。

また、得られた化合物が各種炎症モデル動物において優れた治療効果を有することを確認するに至った。喘息や慢性関節リウマチ等の疾患治療において有効性と安全性が備わった薬剤が切望される現状において、CRACチャネル阻害剤が本分野の新規創薬標的となり得ることを示した意義は大きいと考えられる。

以上の成果は、博士（薬学）学位論文としてふさわしい内容であると認める。