

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Remogliflozin etabonate の創製研究
作成者（著者）	清水, 和夫
公開者	東邦大学
発行日	2021.03.17
掲載情報	東邦大学大学院薬学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨. 7.
資料種別	学位論文
内容記述	主査: 加藤 恵介 /
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲1011号
学位記番号	甲第133号
学位授与年月日	2021.03.17
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	https://mylibrary.toho-u.ac.jp/webopac/TD28181798

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

1. 緒言

1.1 糖尿病概要と既存治療の課題

糖尿病は、インスリン作用の不足により生じる慢性の高血糖を主徴とする代謝症候群と定義される。糖尿病は成因により、1型、2型、その他の特定の機序、疾患によるもの、妊娠糖尿病に分類され、日本人の糖尿病患者では、95%以上が2型であると言われている。国際糖尿病連合の報告では、2019年の世界の糖尿病罹患率は9.3% (4億6300万人)と推定され、パンデミックに対処するための十分な対策が施されなければ、2030年までに10.2% (5億7800万)、2045年までに10.9% (7億)に上昇する可能性を報告している。本邦においても、糖尿病が強く疑われる者（糖尿病有病者）の人口に対する割合は男性18.7%、女性9.3%と過去10年で増加傾向にある¹⁾。

高血糖状態が長期に及ぶと、網膜、腎、神経を代表とする多くの臓器に機能・形態の異常をきたし、進展すれば視力障害、腎不全、下肢の壊疽などの重大な結果をもたらす可能性がある。また糖尿病は動脈硬化症を促進し、心筋梗塞、脳卒中、下肢の閉塞性動脈硬化症などの原因となり、QOLの低下だけでなく患者の生命をもおびやかす。

食事療法と運動療法で血糖コントロールが十分得られない場合、病態や高血糖状態に合わせて経口血糖降下薬や、注射によるインスリンあるいはGLP-1受容体作動薬が処方される。多様なメカニズムに基づく経口抗糖尿病薬が開発され、市販されているが、低血糖や体重増加などを含む副作用が確認されていることから、安全で長期間投与可能な新しいクラスの抗糖尿病薬の需要が増している。

1.2 SGLT2の機能と創薬標的

Sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) は腎臓の近位尿細管に発現する膜タンパク質であり、糸球体濾過された原尿中に含まれるグルコースの約90%の再吸収を担っている。SGLT2 遺伝子のLoF変異は、家族性腎性尿糖を呈するものの、その他臨床的な異常所見はないことが報告されている²⁾。このことから、SGLT2 阻害薬は、腎臓におけるグルコースの再吸収を阻害して尿中に余分なグルコースを排泄することによる血糖降下作用が期待され、これまでにない安全で新規なメカニズムを有する抗糖尿病薬となる可能性が示唆された。

1.3 SGLT2 阻害薬の開発状況

SGLT 阻害薬の起源であるフロリジンは、1835年にリンゴの樹皮から単離された (図1)。フロリジンは、消化管に存在するβ-グルコシダーゼによりグルコシド結合が速やかに分解されるためバイオアベイラビリティが低く、またSGLT1阻害活性も有している。SGLT1は、消化管においてグルコース及びガラクトースの吸収を担っているため、SGLT1の消化管での阻害により未吸収の糖成分に基づく消化管症状に懸念がある。これらの課題から、フロリジンは現在まで臨床応用されていない。現在7種類のSGLT2阻害剤が抗糖尿病薬として米国、欧州、およびまたは日本で発売され、最近ソタグリフロジンが1型糖尿病薬として承認された。これ

らの SGLT2 阻害薬はすべて C-アリアルグルコシドとその類似体である。O-グルコシド誘導体としては、フロリジン誘導体である T-1095 が田辺製薬（現田辺三菱製薬）により見出され、フロリジンのいくつかの欠点を克服し、経口薬効を有する SGLT2 阻害薬として臨床試験に進んだが、その後開発は中止された。

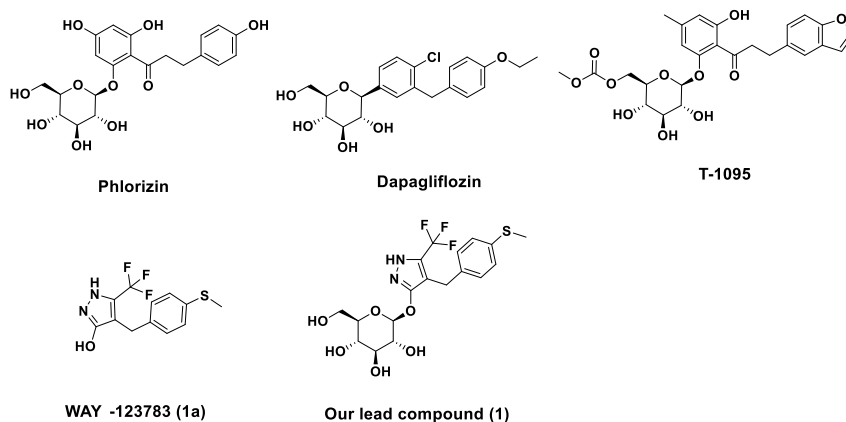


図 1. 代表的な SGLT 阻害剤と WAY-123783 の構造

2. リード化合物の探索

2.1 WAY-123783 のマウスにおける尿糖排泄促進効果のメカニズム考察

Wyeth 社（現ファイザー）によって見出されたピラゾール誘導体 WAY-123783 は、db/db マウスへの経口投与により血糖降下作用を示し、また、正常マウスへの投与により、尿糖排泄を亢進することが報告されている。本化合物が非配糖体の新規骨格の SGLT2 阻害物質であると考へ、WAY-123783 の SGLT 阻害活性を評価したところ、予想に反し、10 μ M まで SGLT2 阻害活性が認められなかった。活性代謝物の関与を想定し、マウスに経口投与後の尿中代謝物を検索したところ、主要な代謝物として、グルクロン酸及びグルコース抱合体が検出された。フロリジンや T-1095 の構造を参考に、 β -D-グルコシド誘導体 (1) を化学合成したところ、HPLC において代謝物と保持時間が一致し、強力な SGLT2 阻害活性も認められたことから、WAY-123783 の活性代謝物は化合物 1 であると判断した。化合物 1 は、糖に結合する芳香環がピラゾール環であり、フロリジンの有するジヒドロカルコン骨格のヒドロキシ基と比較し、グルコシダーゼ耐性が改善する可能性がある。申請者らは、新規な骨格からなる化合物 1 を本研究のリード化合物に設定し、構造の最適化を行う事とした。なお、WAY-123783 のグルコース抱合体活性代謝物に関する検討結果は、我々の検討と同時期に Ohsumi (味の素) らのグループからも報告されている。

2.2 リード化合物と合成展開方針

化合物 1 は比較的強力な SGLT1 阻害活性を示し、また、ラット PK 試験において、低バイオアベイラビリティであることが確認された。ラット消化管 S9 による代謝安定性を確認したところ、速やかにアグリコン部分への変換が認められ、フロリジンと同様にグルコシド結合の安定性に乏しいことが確認された。以上の結果から、SGLT2 に対する選択性の向上と経口吸収性の改善を目標とした最適化研究を開始した。

3. リード化合物の最適化 1

3.1 グルコシド結合の代謝的安定性を志向したアグリコン部の変換

フェニルグルコシドの β -グルコシダーゼによる加水分解は、ベンゼン環への電子求引性置換基の導入により促進されることが報告されている。この情報に基づき、ピラゾール 5 位のトリフルオロメチル基の非電子求引性置換基への変換を検討した。化合物 **1** のトリフルオロメチル基をメチル基 (**2**) に変換したところ、SGLT2 阻害活性が約 3 倍上昇し、SGLT2 選択性も大きく向上した。続いて、ラット消化管 S9 による代謝安定性を評価したところ、代謝クリアランスが 73.2 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ から 3.2 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ に改善したことから、ピラゾール環置換基の電子求引性が β -グルコシダーゼによる加水分解に対する安定性の低下に寄与することが示唆された (図 3)。

3.2 リンカー部の活性コンフォメーションに与える影響

続いて、メチルチオ基を除去した基本構造である化合物 (**3**) を用いて、最適なリンカー長について検討した。メチレン部の伸長 (**4**) は著しく活性を低下させた。フロリジンのコンフォメーション解析により、リンカー部のカルボニル基とフェノール性水酸基は分子内水素結合による擬似環を形成し、末端ベンゼン環を含む側鎖のコンフォメーションは規制されることが示唆された³⁾。擬似 6 員環をベンゼン環でミミックしたインダゾール誘導体 (**5**) を評価したところ、強力な SGLT2 阻害活性が確認され、仮説が検証された。一方、本誘導体においては、SGLT1 阻害活性も向上し、フロリジンと同様 SGLT2 選択性が低下したため、これ以上の検討は中止した (図 2)。

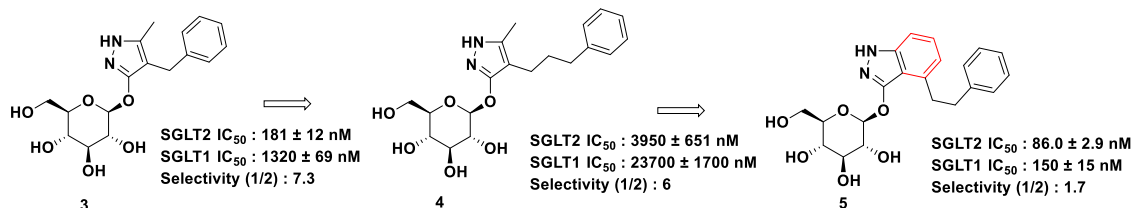


図 2. リンカー部の活性コンフォメーションに与える影響

3.3 末端ベンゼン環の置換基導入位置の検討と置換基展開

末端ベンゼン環へのメチル基導入の置換基効果を 2 位から 4 位まで確認したところ、4 位への導入により、約 15 倍の SGLT2 阻害活性の向上が確認された。続いて、最適な 4 位置換基の探索を実施した結果、イソプロポキシ基の導入された化合物 **6** が、良好な SGLT2 阻害活性と高い選択性を示し、最もバランスの取れた化合物であった。化合物 **6** を更なる評価に進める化合物として選定した (図 3)。

4. リード化合物の最適化 2

4.1 膜透過性向上を志向した新たな展開部位の探索

化合物 **6** のラット PK 試験を実施したところ、ラット消化管 S9 代謝安定性試験において良好な安定性を示したにも関わらず、低バイオアベイラビリティ (0.43%) であることが確認された (図 3)。この原因として、化合物 **6** は、複数の水素結合性ドナーを有することに起因する高い親水性により、細胞膜透過性が低下している可能性が考えられた。この考察から、脂溶

性調整のために、未検討の展開部位であるピラゾール 1 位への置換基の導入を検討した。メチル基を導入した化合物で、SGLT2 阻害活性が 1/10 程度に低下するものの、SGLT2 阻害活性、SGLT2 選択性が保持することを確認した。詳細な合成展開を行った結果、イソプロピル基へと伸長することにより、SGLT2 阻害活性、SGLT2 選択性に優れた化合物 **7** を見出した。化合物 **7** は、期待通り Caco-2 膜透過性 (Papp) が 1.02 から 3.16 に改善し、また、ヒト肝臓マイクロソーム代謝安定性評価において、高い安定性を有することが確認された。ラット PK を評価したところ、バイオアベイラビリティが 3.23% に改善した。

4.2 プロドラッグ化

最後に更なる血中曝露量の改善を目指し、糖部分に対してプロドラッグ化を検討した (図 3)。糖部 6 位ヒドロキシ基をエトキシカルボニル基で保護したプロドラッグ体 **8** は、細胞膜透過性がさらに改善された。また、ラット PK を評価したところ、プロドラッグ体 **8** は、生体内において速やかに活性本体 **7** に変換され、バイオアベイラビリティが 5.79% に改善した。以上の検討結果から、SGLT2 阻害活性と SGLT2 選択性に優れ、経口吸収性の良好な化合物 **8** を開発化合物として選定した。

5. 総括

本研究では、新規骨格の経口投与可能な SGLT2 選択的阻害薬の創製を目指し、WAY-123783 の活性代謝物 **1** をリード化合物として、SAR 研究を行った。最適化された化合物 **8** は、レモグリフロジンエタボネート (RE) として臨床開発が進展し、2019 年、インドにおいて、2 型糖尿病治療薬として上市され、臨床での知見も既に複数の報告がなされている⁴⁾。近年、SGLT2 阻害薬は、糖尿病以外の疾患 (CKD や心臓病) への適応拡大も進んでいる。本研究により開発されたレモグリフロジンエタボネートは、上市された唯一の O-グルコシド型 SGLT2 阻害薬として、今後も様々な可能性が期待される。

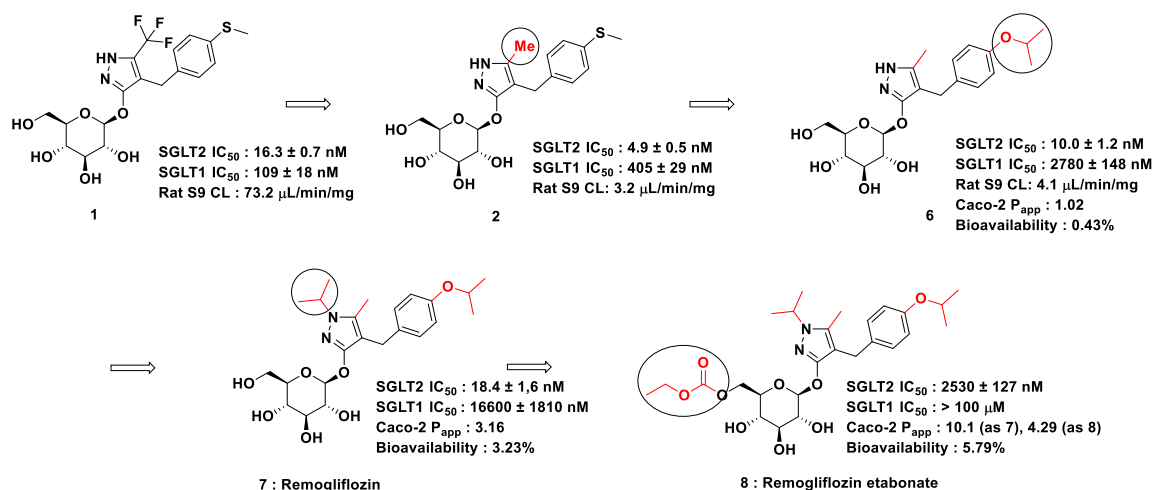


図 3.合成展開のまとめ

参考文献

1. 平成 30 年 国民健康・栄養調査 結果の概要.
2. van den Heuvel LP, et al. Hum Genet. 2002;111(6):544-547.
3. Wielert-Badt S, et al. J Med Chem. 2000;43:1692-1698
4. Mohan V, et al. Drug Des Devel Ther. 2020;14:2487-2501.

学位論文審査報告書

報告書記載： 2021年 2月 17日

学位申請者名	清水 和夫
論文題目	選択的SGLT2阻害薬 Remogliflozin etabonate の創薬研究
審査委員名	主査 加藤恵介 副査 宮内正二 副査 野口修治
<p>学位論文の審査結果の要旨： 本論文は、選択的 SGLT2 阻害作用に基づいた糖尿病治療薬・remogliflozin etabonate の創薬研究に関するものである。序論では、(i) 糖尿病の概要と既存の治療薬の抱えている課題について (ii) SGLT2 の機能とそれが有効な創薬ターゲットに成り得ることについて (iii) SGLT2 阻害薬の開発状況について説明されており、研究の目的・背景・意義・社会への貢献度・新規性等について明確に述べられている。次にリード化合物であるWAY-123783 グルコシドの発見の経緯とその特徴が説明されている。すなわちリード化合物であるWAY-123783 グルコシドは、強い SGLT2 阻害活性を有する反面、有意な SGLT1 阻害活性も示し、さらにバイオアベイラビリティが低く、代謝安定性も欠いていた。そこで清水氏は、SGLT2 に対する選択性、経口吸収性および代謝安定性の改善を目標とした以下の構造最適化研究を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. グルコシド結合の代謝安定性の向上を志向したアグリコン部の変換：ピラゾール5位の電子求引性基が、グリコシル結合の加水分解を促進することから、種々のアルキル基について検討した結果、トリフルオロメチル基をメチル基に変換することで、SGLT2/SGLT1選択性の向上および代謝安定性が向上した。 2. 末端ベンゼン環の置換基の検討：上記化合物のベンゼン環の2位～4位へメチル基を導入したところ、4-メチル体が最も高いSGLT2 阻害活性およびSGLT2/SGLT1選択性を示した。そこでさらに4位に種々のアルキル基およびアルコキシ基を導入したところ、イソプロポキシ体において最も良好な結果を与えた。 3. 膜透過性の向上を志向した脂溶性の調節：脂溶性の向上を目的に、上記化合物のピラゾールの1位および2位の窒素原子にアルキル基を導入したところ、1-イソプロピル体において膜透過性、代謝安定性およびバイオアベイラビリティが向上することを見出した。 4. プロドラッグ化：最後に血中暴露量の改善を目指し、糖部水酸基への保護基の導入を検討したところ、6位の水酸基にエトキシカルボニル基を導入することで経口吸収性が良好な remogliflozin etabonate を見出した。本化合物は、2019年にインドにおいて二型糖尿病治療薬として上市されており、非常に意義のある研究と判断される。以上のように研究計画・方法は適切で、導かれた結果も科学的根拠に基づいており、研究の妥当性が示されている。一連の研究は倫理的配慮のもと遂行されたものであり、また論文は論理的で論旨が一貫して明確に書かれ、体系も整っている。 <p>以上のことから、博士（薬学）の学位を授与するに十分値するものと判断する。</p>	