

## 学位論文題名

## 新規2型糖尿病治療薬の開発を目的としたナトリウム依存性グルコース輸送担体2(SGLT2)選択的阻害剤の創薬研究

## 学位論文内容の要旨

インスリン分泌の低下あるいはインスリン抵抗性の増大により惹起される2型糖尿病の患者数は、近年わが国においても増加の一途であり、既存の薬剤と比較して低血糖リスクの少ない安全かつ効果の優れた糖尿病治療薬の開発が切望されている。ナトリウム依存性グルコース輸送担体（Sodium-glucose cotransporter, SGLT）は、主に糖の吸収に関与しているトランスポーターであり、いくつかのサブタイプが存在する。その中で、SGLT2は腎近位尿細管にのみ発現し、尿からの糖の再吸収を制御しているのに対し、SGLT1は小腸や脳、心臓など尿細管以外にも発現している。このSGLT2の阻害により、一度尿中に排泄された過剰の糖は再吸収されることなく生体外へ排出されることから、選択的なSGLT2阻害剤はインスリンの作用に全く依存しない新規な糖尿病治療薬となりうると期待されている。実際、非選択的SGLT1/2阻害剤として知られている天然配糖体のフロリジンは、げっ歯類に対する連続投与により血糖降下作用が確認されている。またこれまでに、O-アリールグリコシドのセルグリフロジンやC-アリールグリコシドのダパグリフロジンを始めとした多くのSGLT2選択的阻害剤の臨床試験が進められている。今回筆者は、新規2型糖尿病治療薬の開発を目的とし、SGLT2選択的阻害剤の創薬研究に着手した。

## 1. SGLT2阻害作用を有するカルバ糖誘導体の創製

フロリジンやセルグリフロジンに代表されるSGLT2阻害剤は、グリコシド結合をもつため生体内ではグリコシダーゼ類により容易に代謝開裂される。筆者は代謝安定性獲得を目指し、グリコシド結合をエーテル結合へと変換するため糖部分を模倣化したカルバ糖骨格の導入を検討した。アグリコン末端ベンゼン環上の置換基変換を中心としたSAR検討を行った結果、セルグリフロジンと同じアグリコンをもつ新規O-カルバ糖誘導体を創製した。この誘導体はセルグリフロジンと比較して、*in vivo*薬効試験において同等の血糖降下作用とより優れた薬効の持続が確認された。また薬物動態試験の結果と併せて、カルバ糖はグルコースミックとして機能し、*in vivo*試験における薬効の持続は主にグリコシド結合の回避による代謝安定化に起因していることが示唆された。

さらなるSGLT2阻害活性向上と代謝安定性改善を目指し、C-アリールカルバ糖誘導体の合成を検討した。アグリコン部の置換基を中心に種々の誘導体合成を行った結果、新規C-カルバ糖誘導体を創製した。この誘導体は、O-カルバ糖誘導体と比較して約2倍の*in vitro*SGLT2阻害活性の向上とともに、20倍以上のSGLT2選択性の改善が認められた。また、*in vivo*薬効試験およびPK試験の結果から、このC-カルバ糖誘導体は期待通りの代謝安定性を示し、*in vivo*試験における薬効投与量の低減（100mg/kgから30mg/kgへ）および薬効の持続を達成することができた。

2. SGLT2 選択的阻害作用を有する *O*-スピロケタール *C*-アリールグリコシド誘導体の創製

*C*-アリールカルバ糖誘導体を凌駕する強い阻害活性と高い選択性を示す SGLT2 阻害剤の創製を目指し、さらなる新規骨格の探索を行った。一般に標的タンパク質と化合物とが共存した X 線構造に基づく SBDD (Structure Based Drug Design) は、論理的な分子設計を実施するための有力な手段の一つであるが、human SGLT2 は膜蛋白でありその立体構造は未だ解明されていないため、SBDD を適用することはできない。このため、新規骨格探索のためには新たな方法論に基づく分子設計を実施する必要があった。筆者は、統合計算化学ソフトである MOE (Molecular Operating Environment) による安定構造計算に基づき既存の SGLT2 選択的阻害剤の重ね合わせモデルを作製し、SGLT2 阻害剤の三次元 (3D) ファーマコフォアモデルを構築した。その結果、高い SGLT2 阻害活性を示す阻害剤には、1) 糖部分の存在、2) 2 つの芳香環からなるアグリコン部 (Aromatic group 1 & 2) の存在、そして 3) それらの間の適切な空間的距離 (Dist. 1 & 2) の 3 つの共通したファーマコフォアが重要であることが判明した。次いで、得られたファーマコフォアを基に、社内合成化合物のデータベースを含むいくつかの構造データベースによる検索を行った結果、低分子の結晶構造のデータベースである CSD (Cambridge Structural Database) からユニークなスピロ環構造をもつ *O*-スピロケタール *C*-アリール配糖体骨格が得られた。得られたヒット構造に対し不要な保護基の除去と SGLT2 活性に必須な部分構造の追加を行い新規誘導体をデザインした。デザインされた新規骨格は、新たにスピロ環を導入したことにより糖部分とアグリコン中央ベンゼン環 (Aromatic group 1) の 2 つのファーマコフォアを固定化しエントロピーの損失を抑制することができるため、SGLT2 阻害活性の向上が期待できた。

合成した化合物 *O*-スピロケタール *C*-アリールグリコシドの中で、アグリコン末端芳香環パラ位の置換基にエチル基をもつ誘導体が、*in vitro* において非常に強い SGLT2 阻害活性 ( $IC_{50} = 2.9 \text{ nM}$ ) と極めて高い SGLT2 選択性 (約 2900 倍) および *in vivo* において非常に優れた尿糖排泄作用と血糖降下作用を示した。また、カニクイザルを用いた薬物動態試験において高い経口アベイラビリティ ( $F = 85\%$ ) を示し、医薬品として好ましいプロファイルを有していることが明らかとなったことから、この化合物を臨床開発化合物 (トホグリフロジン) として選定した。

### 3. 臨床開発化合物トホグリフロジンの大量合成法の確立

初期合成ルートにおける臨床化合物の大量合成には、より安価な出発原料の設定と結晶性中間体を経由する合成経路の開拓という二つの課題が存在した。筆者は、出発原料をベンジル基で保護したグルコノラクトンから TMS 基で保護したグルコノラクトンへと変更した。アグリコン部に相当する臭化アリールから調製した有機リチウム反応剤とグルコノラクトンとの反応、続く脱保護とスピロ環化反応により結晶性ペントオール中間体を単離収率 60%で得ることができた。また、糖部分の水酸基を保護すると結晶性が高くなるという知見に基づき、ペントオール中間体の 5 つの水酸基を炭酸エステルで保護し、続く鈴木-宮浦カップリングによって得られるテトラカルボナート中間体を結晶として得ることに成功した (単離収率 86%)。以上のように、筆者は安価な出発原料からシリカゲルカラム精製を一切用いない効率的な新規合成法を確立し、臨床化合物トホグリフロジンの大量供給を可能にした。

現在、トホグリフロジン (tofogliflozin) は第 III 相臨床試験 (フェーズ III) を実施しており、本創薬研究によって得られた成果は新規 2 型糖尿病治療薬として糖尿病患者に対する新たな治療方法の提供とともに QOL の改善が期待されている。

# 学位論文審査の要旨

主査 教授 橋本俊一  
副査 教授 周東智  
副査 准教授 有澤光弘  
副査 准教授 穴田仁洋

## 学位論文題名

### 新規2型糖尿病治療薬の開発を目的としたナトリウム依存性グルコース輸送担体2(SGLT2)選択的阻害剤の創薬研究

#### 博士学位論文審査等の結果について（報告）

インスリン分泌の低下あるいはインスリン抵抗性の増大により惹起される2型糖尿病の患者数は、近年わが国においても増加の一途であり、既存の薬剤と比較して低血糖リスクの少ない安全かつ効果の優れた糖尿病治療薬の開発が切望されている。近年、新たな標的として注目を集めているナトリウム依存性グルコース輸送担体2（Sodium-glucose cotransporter 2, SGLT2）は、主に腎尿細管における糖の吸収に関与しているトランスポーターであり、SGLT2の阻害は尿からの糖の再吸収を抑制し、糖を体外へ排泄させることで血糖降下作用を示すことから、その選択的な阻害剤はインスリンの作用に全く依存しない新規な糖尿病治療薬となりうると期待されている。実際、今日までにダバグリフロジンやカナグリフロジンを始めとした多くのSGLT2選択的阻害剤が創製され、臨床試験が精力的に進められている。今回筆者は、新規な2型糖尿病治療薬を創製する目的で、SGLT2選択的阻害剤の創薬研究に着手した。

筆者はまず、既存のO-グリコシド型SGLT2阻害剤のグリコシド結合に起因する代謝不安定性を改善する目的で、グルコースミックとしてカルバ糖を導入することを検討した。その結果、メトキシ基をもつO-カルバ糖誘導体は優れたSGLT2選択的阻害活性( $hSGLT2 IC_{50}=42\text{ nM}$ ,  $hSGLT2$ 選択性=220倍)を示し、糖尿病モデル動物においてもO-グリコシド型阻害剤のセルグリフロジンと比較して同等且つより持続的な血糖降下作用を示した。さらに筆者は活性と代謝安定性の面でO-カルバグリコシド型をより改善したC-カルバグリコシド型SGLT2阻害剤( $hSGLT2 IC_{50}=9.9\text{ nM}$ ,  $hSGLT2$ 選択性=>10,000倍)を創製し、その血糖降下作用はセルグリフロジンより有意に優れているを見出した。これらの結果は、カルバ糖骨格を組み込んだ新規な化合物が新たなSGLT2選択的阻害剤として十分に機能することを示していた。

一方で、本来のトランスポーターの基質ではないカルバ糖構造を組み込んだ誘導体のSGLT2阻害活性には限界があり、新たな糖尿病治療薬を創製するためにはより強いSGLT2阻害活性とより高いSGLT2選択性が必要であった。一般に創薬研究において、標的タンパク質と低分子化合物の複合体X線結晶

構造を利用するドラッグデザインの手法は SBDD (Structure Based Drug Design) と呼ばれ、論理的な分子設計を実施する上で非常に有用な手段の一つである。しかし、SGLT のようなトランスポーターや G タンパク質結合受容体 (GPCR) などの膜タンパク質の結晶化は細胞膜からの取り出しや構造の固定化が困難な場合が多く、本標的に対しては SBDD を適用することはできなかった。そこで筆者は、SBDD を適用できない標的に対する一つの分子設計の方法論を提案した。すなわち、既存の SGLT2 阻害剤を用いた重ね合わせモデルに基づき、統合計算科学ソフト (MOE) により三次元ファーマコフォアモデルを作製した。構築したファーマコフォアモデルと構造検索を組み合わせた方法論を開発し、特徴的な *O*-スピロケタール *C*-アリールグリコシド構造を有する新規な SGLT2 阻害剤の分子設計に成功した。多くの *O*-スピロケタール誘導体を合成しそれら誘導体の SAR を考察すると共に、特にエチル基をもつ化合物が極めて高い SGLT2 選択的阻害活性 ( $hSGLT2 IC_{50}=2.9 \text{ nM}$ ,  $hSGLT2 \text{ 選択性}=2900 \text{ 倍}$ ) および優れた *in vivo* における薬効と臨床試験に好ましい薬物動態プロファイル (カニクイザルにおける経口バイオアベイラビリティ=85%) を有することを示した。これらの結果に基づき、このエチル基をもつ *O*-スピロケタール誘導体を臨床開発化合物 (トホグリフロジン) として選定した。

トホグリフロジンの大量合成に対し、初期合成法にはより安価な出発原料への変更と結晶性中間体の獲得という二つの課題が存在した。そこで筆者は、長期薬効試験および長期安全性試験に用いるトホグリフロジンを大量供給するため、新たな効率的合成ルートの開拓を行った。上記課題解決に向けて効率的な合成ルートの構築と詳細な反応条件検討を実施した結果、筆者は安価な出発原料からシリカゲルカラム精製を一切用いない効率的な新規合成法を確立し、大幅な単離収率の改善 ( $6\% \rightarrow 41\%$ ) と共にトホグリフロジンの大量供給に大きく貢献した。

以上、筆者は新規な糖尿病治療薬の開発を目的として、SGLT2 選択的阻害剤の創薬研究を行い、構造未知の標的タンパクに対する分子設計の成功した一例と臨床化合物の効率的な合成法の確立について示した。本研究により創製したトホグリフロジンは現在第 III 相臨床試験中であり、糖尿病患者に対して新たな治療方法を提供すると共に QOL の改善が期待されている。

従って、審査委員会は大竹義仁氏の論文が博士（生命科学）の学位を受けるのに十分値するものと認めた。