

論文の内容の要旨

論文題目「血管内皮細胞増殖因子受容体2キナーゼ阻害薬の合成研究」

学位申請者 大黒 裕哉

キーワード：血管新生 VEGFR2 Type2キナーゼ阻害薬

ピロロ[3,2-*d*]ピリミジン [1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン

腫瘍は、自身の増殖に必要な酸素、栄養の供給、あるいは他臓器への転移のため、血管を自身のところへ引き込む現象、すなわち血管新生が必須である。従って、血管新生を阻害することにより、腫瘍への酸素および栄養の供給を遮断し、腫瘍の増殖を抑制できると考えられる。本研究では、血管新生の中心的な役割を担う血管内皮細胞増殖因子受容体(VEGFR)2をターゲットとする低分子VEGFR2キナーゼ阻害薬の開発を行った。

低分子キナーゼ阻害薬を開発するに当たっては、安全面と薬効面で克服すべき課題がある。通常、低分子キナーゼ阻害薬は、キナーゼ間で類似度が非常に高いATP結合ポケットに結合するため、目的のキナーゼと副作用に関わるキナーゼとの選択性確保が非常に困難である。また、ATP拮抗型キナーゼ阻害薬は、ATP濃度が非常に高い細胞内で十分な阻害活性がでないことがしばしば問題となる。そこで、これらの課題を克服するアプローチとして、キナーゼ阻害薬の結合様式に着目した。キナーゼのコンフォメーション変化により形成されたバックポケットと呼ばれる部位に結合するtype2キナーゼ阻害薬は、キナーゼ間での相同性がATP結合ポケットより低いバックポケットを占有することからキナーゼ選択性の確保が期待でき、また解離速度が遅い化合物の存在も報告されていることから、安全面・薬効面の両方で好ましいと考えられる。Type2キナーゼ阻害薬は、いくつかのキナーゼにおいて既に報告されており、それらは共通のファーマコフォアを有する。すなわち、(1)ATP結合ポケットのヒンジ領域と呼ばれる部位と相互作用するヒンジバインダー(A)、(2)キナーゼ間で保存されているGlu側鎖およびAsp主鎖と相互作用する水素結合ドナー/アクセプター(Y)、(3)脂溶性ポケットを占有する脂溶性基(R)、の3つである。従って、VEGFR2キナーゼ阻害薬も同様のファーマコフォアが必要と仮説を立て、VEGFR2キナーゼ指向的なA, Y, Rを探索した。

本デザインに基づき、まずヒンジバインダー(A)としてHER2キナーゼ阻害薬で用いられたピロロ[3,2-*d*]ピリミジンを導入し、Y, Rを探索した。その結果、フェニルウレイ

ド基を有する20dが強力なVEGFR2阻害活性を示すことを見出した。化合物20dとVEGFR2の複合体X線結晶構造解析結果から、20dがtype2 VEGFR2キナーゼ阻害薬であることを明らかにした。また、20dが既知type1 VEGFR2キナーゼ阻害薬と比較してキナーゼ選択性が高いことを見出し、type2 VEGFR2キナーゼ阻害薬が安全面で優れることを示した。

続いて、ヒンジバインダーの変換を試み、非ピリジン/ピリミジン系のイミダゾ[1,2-*b*]ピリダジンを見出した。6位に導入したフェノキシ基上の置換基を探索することにより、強力なVEGFR2阻害活性を示すアミド誘導体30bを創出した。そして、化合物30bと20dのキナーゼ阻害プロファイルが異なるデータを取得し、ヒンジバインダーを変換することによりプロファイルの異なる化合物を創出できる可能性を示した。一方、30bはヒト血管内皮細胞HUVECの増殖阻害活性が不十分であった。ハイスループットスクリーニングにより見出された2-アシルアミノイミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン誘導体33とVEGFR2の複合体結晶構造解析結果から、2位アミノ基がCys919と水素結合することが判明した。そこで、30bの2位にアシルアミノ基を導入した35を合成したところ、飛躍的にHUVEC増殖阻害活性が向上した。最適化の結果、強力な*in vitro*活性に加え、良好な経口吸収性を示す54aを見出すことに成功した。さらに、新規ヒンジバインダーを見出す目的で、イミダゾ[1,2-*b*]ピリダジンの変換を試みた。X線結晶構造解析結果と電子密度計算結果を利用し、イミダゾ[1,2-*b*]ピリダジンと同等以上の結合能を有する新規5,6縮合環をデザイン、合成した。溶解度向上を指向した変換を併せて行うことにより、*in vitro*活性と物性に優れた[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン65dを見出すことに成功した。また、65dが結合速度、解離速度ともに極めて遅いことを示し、type2 VEGFR2キナーゼ阻害薬が薬効面においても優れた特長を有することを明らかとした。

一方、type2 VEGFR2キナーゼ阻害薬のデザイン仮説を発展させ、これまでtype2キナーゼ阻害薬が見出されていないFGFR1キナーゼに対する阻害活性を付与した、新規type2 VEGFR2/FGFR1デュアルキナーゼ阻害薬を創出する方法論を提案した。ピロロ[3,2-*d*]ピリミジン誘導体20aが有する3つの鍵相互作用部位(A、Y、R)に加え、さらに相互作用部位を導入することによりFGFR1の不活性コンフォメーションを安定化できると考え、ピロロ[3,2-*d*]ピリミジン部位および末端ベンゼン環を修飾した。その結果、末端ベンゼン環にピペラジン構造を導入した941が強力なFGFR1を示すことを見出した。さらに、結合モデルを構築し、FGFR1の不活性コンフォメーション安定化に重要な相互作用を予測した。本手法は、FGFR1キナーゼ以外のキナーゼを標的とする阻害薬の創出にも適用可能と考えられる。

本論文で確立したtype2キナーゼ阻害薬のデザイン手法は、今後のキナーゼ阻害薬研究を大きく前進させるものであり、また、本論文で見出された化合物を用いた薬物治療は、新たながん治療オプションになり得ると期待される。