



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（薬学）
報告番号	乙 第1852号
学位記番号	論 第 193 号
氏 名	石地 雄二
授与年月日	平成 27 年 1 月 26 日
学位論文の題名	神経伝達物質調節薬の創薬化学に関する研究
論文審査担当者	主査： 中川 秀彦 副査： 樋口 恒彦, 中村 精一, 今泉 祐治

氏名	いしち ゆうじ 石地 雄二
学位の種類	博士（薬学）
学位の番号	薬論博第 193 号
学位授与の日付	平成 27 年 1 月 26 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	神経伝達物質調節薬の創薬化学に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 中川 秀彦 (副査) 教授 樋口 恒彦 ・ 教授 中村 精一 ・ 教授 今泉 祐治

論文内容の要旨

「神経伝達物質調節薬の創薬化学に関する研究」

石地 雄二

神経伝達物質は、シナプス末端から放出され、他の神経や筋肉などの効果器（受容体）にシグナル伝達する役割を持つ。神経伝達物質は、大きく (1) アミノ酸類、(2) モノアミン類、(3) 神経ペプチド類および (4) その他に分類される。これらは、いずれも生体の恒常性維持に不可欠な物質であるが、神経伝達物質のバランスが崩れると生体にとって不都合な反応を惹起し、やがて疾患に至るため、神経伝達物質を調節することは疾患の治療につながる鍵となる。その調節する手段として、(A) シグナルそのもの、あるいはその擬似物質（アゴニスト）、(B) シグナルと拮抗するが本来の作用を示さないもの（アンタゴニスト）、(C) シグナル物質の代謝を調節するもの（酵素阻害、再取り込み阻害）などが知られ、これまで幾多の有用化合物が見いだされている。このことから、神経伝達物質の調節が創薬ターゲットとして重要な位置を占めることは明らかである。本論文では、筆者が武田薬品工業株式会社において、下記の神経伝達物質調節薬の創薬化学を展開し、それによって得た新知見について論ずる。

- (1) アセチルコリンエステラーゼ阻害薬（排尿障害治療薬）
- (2) セロトニン・ノルアドレナリン・ドーパミン（トリプル）再取り込み阻害薬（抗うつ薬）
- (3) タキキニンNK1受容体拮抗薬（頻尿・尿失禁治療薬）

1. 新規アセチルコリンエステラーゼ阻害薬TAK-802および関連化合物の構造活性相関と律動性膀胱収縮増強作用

アセチルコリン（ACh）は、副交感神経や体性運動神経等における神経伝達物質であり、アセチルコリンのシグナル増強によって膀胱平滑筋の収縮力賦活が期待できる。しかし、既に上市されているカルバメート系アセチルコリンエステラーゼ（AChE）阻害薬は、その化学構造に起因してニコチン受容体に対する直接的なアゴニスト作用を示し、尿道抵抗上昇を通じた高圧排尿のリスクがあることが示唆されている。我々は、このようなニコチン受容体アゴニスト作用に基づくリスクの低い新規な排尿障害治療薬として、非カルバメート系AChE阻害薬の探索を行った。アルツハイマー病治療薬として

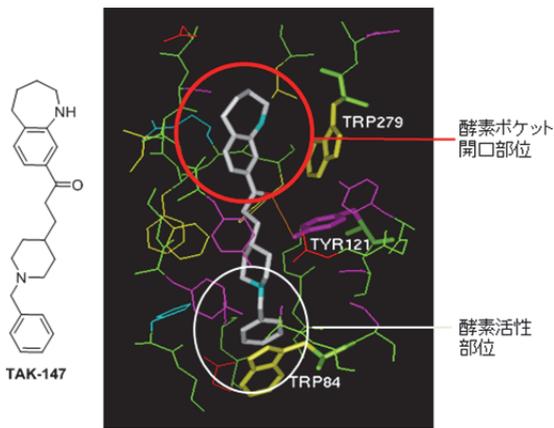


Figure 1 AChEとTAK-147のドッキングモデル

当社で開発された非カルバメート系AChE阻害薬TAK-147のドッキングモデルから、TAK-147の1-ベンズアゼピン部位が酵素ポケットの開口部位に位置していることが示唆された (Figure 1)。この部位は空間的に比較的自由度があり、変換許容性があると予想されたため、活性増強を指向して構造最適化を実施した。その結果、一連のアリール基 (Ar) のうち、立体的に嵩高い3環性化合物4-6 に強いAChE阻害作用が見いだされた (Table 1)。中でも1, 2, 5, 6-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3, 2, 1-*i*]quinolin-4-one骨格を持つ化合物6a-d が優れた阻害活性を示すことが判明し、置換位置はおおむね3位、2位 > 4位の順に有利であった。In vivo における律動性膀胱収縮増強作用の指標であるAUC200 値は、化合物のAChE阻害活性と正の相関が見られ、化合物

6b が最も強い値 (AUC200 = 0.77 · g/kg, iv) を示した。酵素とのドッキングモデルを用い、アリール基の変換による活性向上の合理的理由を考察したところ、化合物6b の1, 2, 5, 6-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3, 2, 1-*i*]quinolin-4-one骨格が新たな $\pi-\pi$ およびvan der Waals相互作用を形成したため、AChE阻害活性発現に有利に作用したことが示唆された (Figure 2)。また、6bのニコチン作用は、カルバメート系AChE阻害薬よりも弱く、新規排尿障害治療薬として優れたプロファイルを持つことが判明した。化合物6bは、当社開発化合物に選定され (TAK-802)、排尿障害治療薬としてPhase-IおよびPhase-II 臨床試験が実施された (Figure 3)。

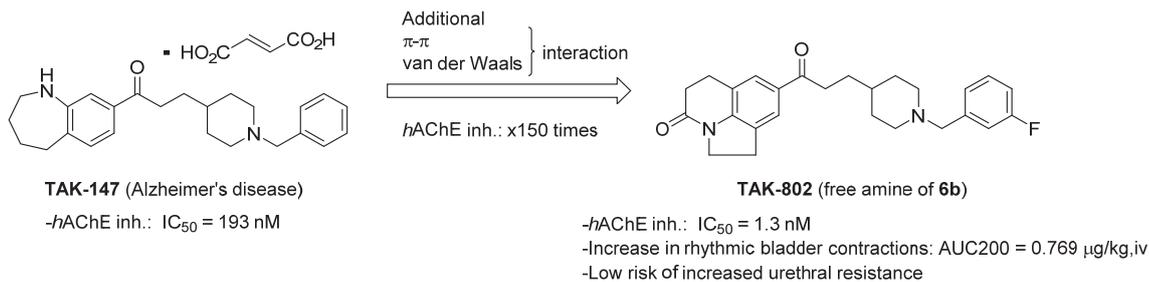


Figure 3 アルツハイマー病治療薬から排尿障害治療薬へ

Table 1. AChE 阻害および AUC200 値におけるAr基の効果

Compd.	Ar	Y	AChE inh. IC ₅₀ (nM)	AUC200 (µg/kg, iv)
1(TAK-147)		H	193	660
2		H	23	195
3		H	25	560
4		H	3.6	5.4
5		H	9.8	87
6a		H	1.3	3.0
6b		3-F	1.3	0.77
6c		2-OH	1.1	1.0
6d		4-OH	0.49	76

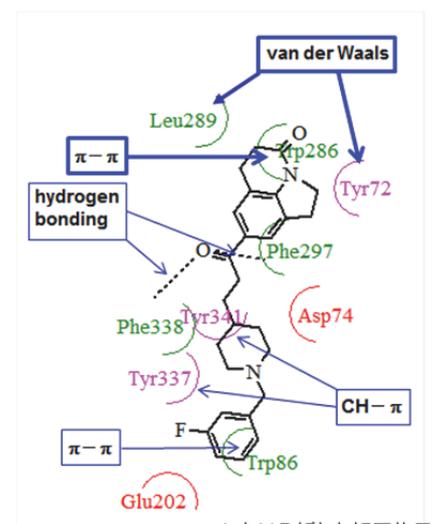
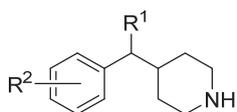


Figure 2 TAK-802における新たな相互作用

2. CAD関連毒性リスクの低い新規トリプル取り込み阻害薬の構造活性相関と抗うつ作用



- MW < ca. 300
- Number of Ar ring = 1
- ClogP < 3.5
- Simple symmetrical structure
- Minimum chiral center
- Substituents to adjust lipophilicity

Figure 4 CAD関連リスクを回避するための作業仮説と化合物デザイン

脳内モノアミン神経伝達物質（セロトニン・ノルアドレナリン・ドーパミン等）は、うつ病の病態に深く関与していることが示唆されている。現在最も多く処方されている選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）は、セロトニントランスポーターを阻害することにより、シナプス間隙のセロトニン濃度を選択的に上昇させ、うつ病を改善させるが、一方で寛解率や難治性うつ病への有効性が不十分であることが示唆されている。我々は、より幅広いモノアミンスペクトルを持つ、セロトニン・ノルアドレナリン・ドーパミン再取り込み阻害（トリプル再取り込み阻害）により、高い有効性が期待できる抗うつ薬を指向して創薬研究を開始した。既存のモノアミン再取り込み阻害薬は、共通の構造（cationic amphiphilic drug (CAD) 構造）に基づくリスク（CYP2D6阻害、hERG阻害およびホスホリピドシス（PLsis））が知られ、臨床上これらのリスク低減が望まれている。そこで既

存薬の構造を解析した結果、分子量が300以下、芳香環数が1個、およびClogP値を3.5以下とすることでCAD関連リスクを回避できるという作業仮説に到達し、コンパクトで比較的対称性の高いベンジル置換ピペリジン誘導体をデザインした（Figure 4）。

まず置換基R¹に種々の極性基を導入し、最適な脂溶性を持つ部分構造を探索した（Table 2）。その結果、メトキシメチル基を有する化合物9に強いモノアミン取り込み阻害活性が認められ、かつCAD関連毒性のリスクが基準値以下であることが判明した。一連の化合物は全般にCAD関連リスクが低く、このことは作業仮説の妥当性を示すものと考えられる。化合物9の光学活性体（S）-9は、バランスの良いモノアミン取り込み阻害作用を示し、マウス尾懸垂試験（TST）において用量依存的に不動率を低下させた（MED: 10mg/kg, po）。また、用量依存的なマウス前脳モノアミントランスポーターへの薬物占有率、および前脳におけるモノアミン濃度上昇作用を示し（Figure 5）、新規抗うつ薬として期待されるプロファイルを持つことが明らかとなった。

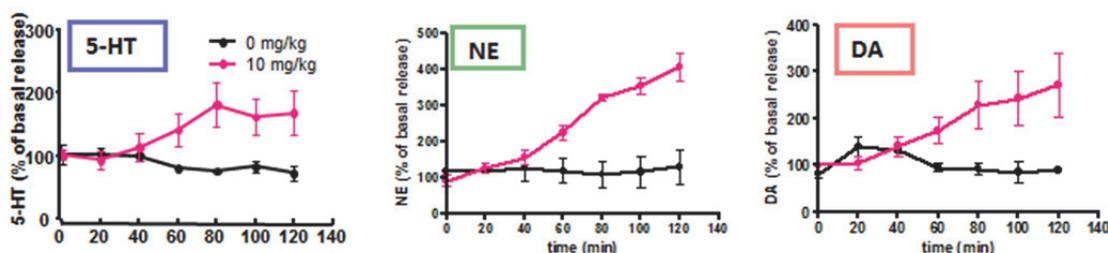


Figure 5. マウス前脳におけるモノアミン濃度上昇作用(化合物(S)-9 10mg/kg,po)

CAD関連リスクの回避はメディシナルケミストリーにおける重要なテーマの一つであり、本論文で述べた分子量と脂溶性に注目した回避方法は、その一手法として今後の研究にも有用であると考えられる。

脳内モノアミン神経伝達物質（セロトニン・ノルアドレナリン・ドーパミン等）は、うつ病の病態に深く関与していることが示唆されている。現在最も多く処方されている選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）は、セロトニントランスポーターを阻害することにより、シナプス間隙のセロトニン濃度を選択的に上昇させ、うつ病を改善させるが、一方で

Table 2. 種々のR¹基を持つピペリジン誘導体のモノアミン再取り込み阻害作用とCAD関連リスク

Compd	R	Reuptake inh. IC ₅₀ (nM)			CYP2D6 inhibition (%)	hERG inhibition (%)	PLsis (score)	TST MED(p.o.) (mg/kg)	ClogP
		5-HT	NE	DA					
7	-Me	12	25	160	27	72	4.6	3	4.6
8	-CH ₂ OH	79	110	2400	-1.5	12	1.8		2.7
9	-CH ₂ OMe	11	14	190	5.7	42	4.0	3	3.5
10	-CH ₂ SMe	9.1	9.3	79	32	73	3.3	30	4.3
11	-CH ₂ SO ₂ Me	340	200	2200	3.9	9	1.5		2.0
12	-CO ₂ Et	9.3	12	97	38	110	3.4		3.7
13	-CONMe ₂	690	120	500	-8.1	14	1.8		2.3
14	-COnPr	37	22	26	20	72	4.3		3.8

3. 2環性アミド誘導体タキキニンNK1受容体拮抗薬におけるアトロプ異性の制御と構造活性相関

タキキニン類は、C末端側に[Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂]で示される共通のアミノ酸配列を持つ一連のペプチド性神経伝達物質である。中でもサブスタンスP（ニューロキニン1；NK1）は痛み的一次伝達物質として知られるが、ストレス反応、不安、神経新生、悪心、記憶の他、呼吸、免疫、血管透過性および腸管収縮の調節等にも関与することが明らかとなっている。

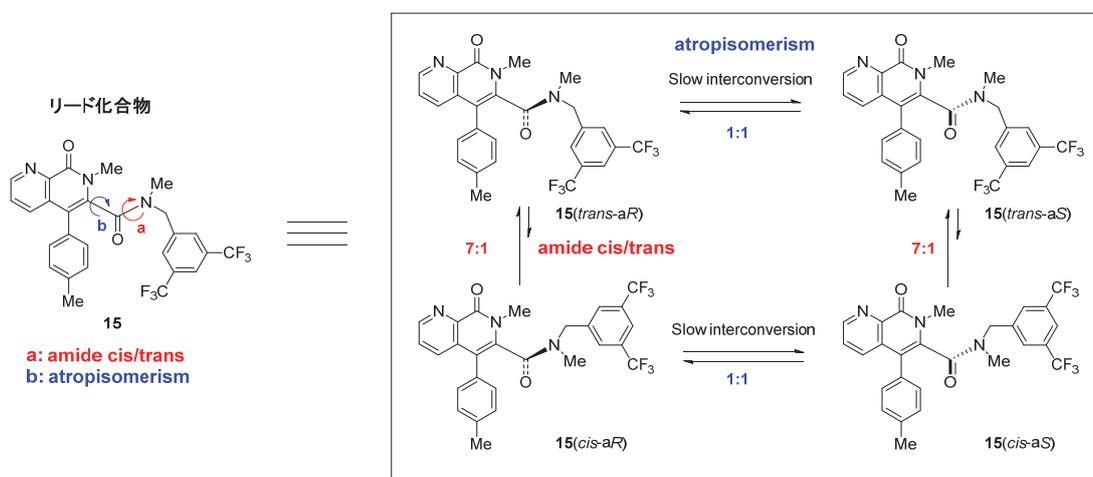


Figure 6. リード化合物15におけるアミドcis/trans異性とアトロプ異性

その拮抗薬（NK1受容体拮抗薬）は、痛み、炎症、自己免疫疾患、嘔吐および偏頭痛などの疾患治療薬として期待され、著者らの研究グループにおいても、経口吸収に優れた新規ピリドピリジン系

NK1受容体拮抗薬15を見いだした（Figure 6）。しかしながら、化合物15は、結合（a, b）の自由回転が阻害された結果、1) アミドのcis/trans異性、2) アトロプ異性が存在し、計4つの異性体混合物として存在することが開発上の問題となった。

これらの問題点を解決するため、アミド結合を環構造に組み込み、さらにアトロプ異性の制御を検討した（Figure 7）。

8員環を有する化合物16は、NK1拮抗作用に有利なコンフォメーションを持つと考えられたが、

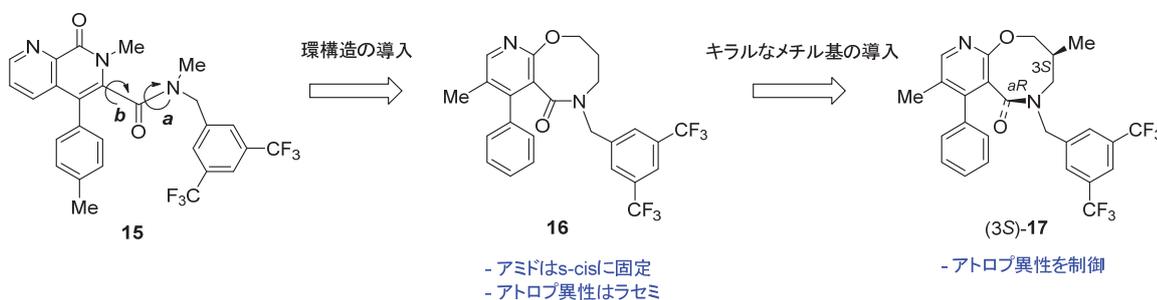


Figure 7. 環構造とキラルなメチル基の導入によるアミドcis/transおよびアトロプ異性の制御

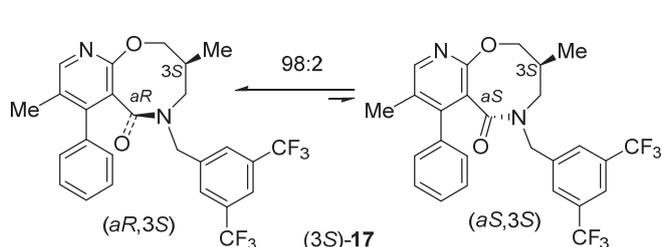
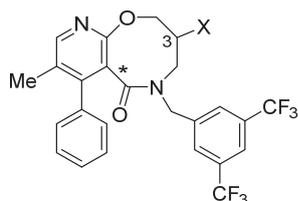


Figure 8. 化合物(3S)-17におけるアトロプ異性の制御

アトロプ異性体の1:1混合物（ラセミ体）として存在することが示唆された。そこで、熱力学的平衡による光学活性体の調製を指向し、8員環上にキラルなメチル基を導入したところ、化合物(3S)-17は溶液中で98:2のジアステレオマー混合物として存在し、アトロプ異性が制御されたことが明らかとなった（Figure 8）。合成化合物のNK1拮抗作用を調べた結果、アトロプ異性の光学活性体間（化合物(3S)-17 vs. (3R)-17）には200倍

の活性差が認められた（Table 3）。このことから、NK1受容体はアトロプ異性を認識し、aR体がユートマー（一对の鏡像体のうち、活性が強い方の光学活性体）であることが判明した。

これらの結果を踏まえ、強力なNK1拮抗作用（IC₅₀=0.47 nM）を有する光学活性体(3S)-17が、頻尿・尿失禁治療薬としての開発候補化合物に選ばれた。本論文で述べたアトロプ異性の制御とその結果得られた光学活性体の生物活性の差異は、生体の分子認識を論ずる上で意義深いものと考えられる。

Table 3. NK1受容体によるアトロプ異性の認識と阻害活性

Compd. no.	X	Axial chirality(*)	$[\alpha]_D$ (in CHCl ₃)	NK ₁ -antagonistic activity IC ₅₀ (nM)
16	H	<i>rac</i>	—	1.6
(3<i>S</i>)-17	(<i>S</i>)-Me	a<i>R</i>	-106.8	0.47
(3<i>R</i>)-17	(<i>R</i>)-Me	a<i>S</i>	+102.5	96
15				0.34

4. まとめ

神経伝達物質調節薬の創薬を指向して、アセチルコリンエステラーゼ阻害薬、トリプル再取り込み阻害薬、NK1 受容体拮抗薬の分子設計と合成を実施した。アセチルコリンエステラーゼ阻害薬の創薬においては、酵素とのドッキングモデルを用いて活性向上に適した部分構造を推定し、最適化を行った。その結果、非常に強力な阻害活性を示す化合物 **6b** (フリーアミン体: **TAK-802**) を見いだした。トリプル再取り込み阻害薬の合成研究では、3つの脳内モノアミンのバランス良い賦活によって、既存抗うつ薬に比べてより高い有効性が期待できる化合物 (*S*)-**9** を創出した。また、CAD 化合物における関連毒性の回避を目的として、分子量と脂溶性に注目した作業仮説を検証し、その有効性を確認した。NK1 受容体拮抗薬の科学的知見では、分子のアトロプ異性を制御する方法を確立し、化合物 (*3S*)-**17** を見いだすに至った。

本研究で得られた知見は、最終的に3つの開発候補化合物の創出に繋がった。本論文の内容には、実際の創薬研究における研究方針および知見が盛り込まれており、今後の指針を与える成果であると考えられる。

【基礎となる報文】

- 1) Novel Acetylcholinesterase Inhibitor as Increasing Agent on Rhythmic Bladder Contractions: SAR of 8-{3-[1-(3-Fluorobenzyl)piperidin-4-yl]propanoyl}-1,2,5,6-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-4-one (TAK-802) and Related Compounds. Ishichi, Y.; Sasaki, M.; Setoh, M.; Tsukamoto, T.; Miwatashi, S.; Nagabukuro, H.; Okanishi, S.; Imai, S.; Saikawa, R.; Doi, T.; Ishihara, Y. *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, *13*(6), 1901-1911.
- 2) Novel Triple Reuptake Inhibitors with Low Risk of CAD Associated Liabilities: Design, Synthesis and Biological Activities of 4-[(1*S*)-1-(3,4-dichlorophenyl)-2-methoxyethyl]piperidine and Related Compounds. Ishichi, Y.; Kimura, E.; Honda, E.; Yoshikawa, M.; Nakahata, T.; Terao, Y.; Suzuki, A.; Kawai, T.; Arakawa, Y.; Ohta, H.; Kanzaki, N.; Nakagawa, H.; Terauchi, J. *Bioorg. Med. Chem.*, **2013**, *21*(15), 4600-4613.
- 3) Amide-based Atropisomers in Tachykinin NK1-receptor Antagonists: Synthesis and Antagonistic Activity of Axially Chiral *N*-benzylcarboxamide Derivatives of 2,3,4,5-tetrahydro-6*H*-pyrido[2,3-*b*][1,5]oxazocin-6-one. Ishichi, Y.; Ikeura, Y.; Natsugari, H. *Tetrahedron*, **2004**, *60*(20), 4481-4490.

論文審査の結果の要旨

石地雄二氏は、3種類の神経伝達物質の調節を行う化合物群を開発し、それぞれ治療薬候補として有望な化合物への到達へと至った。3種の主要な中枢神経伝達物質ドーパミン・セロトニン・アドレナリンを同時に調節する鬱病治療薬開発においては、副作用の構造的要因に関する仮説を提唱し、それに従い副作用の少ない候補化合物へと導いている。また、熱異性体が生じる化合物群においては、僅かな置換基の導入によりその制御が可能であることも示した。これらは、いずれも創薬科学における有用な基礎的知見となると考えられる。

本論文に関して、主査、副査により面接試験で指摘された追加すべき研究成果、図表、文章の補充・改訂等を十分にを行い、さらに最終試験時の指摘も踏まえて改訂した論文は、研究内容が豊富であり、また論文の論旨も明確である。よって十分に学位論文として受理するに値するものと判断した。