九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

脳梗塞急性期治療薬を指向したNa＋チャネル阻害薬の創製

関，真紀

https://doi.org/10.15017/1470647

出版情報：九州大学，2014，博士（薬学），論文博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

脳梗塞急性期治療薬を指向した Na^+チャネル阻害薬の創製

関　真紀

【序論】

1. 脳梗塞は本邦において死亡要因の第三位，寝たきりになる主な原因の第一位，要介護となった原因疾患の第一位であり, 要介護費･医療費増加の一因となっている. しかしながら,「脳卒中ガイドライン 2009」においてグレード A（行うよう強く勧められる）に位置付けられた脳梗塞急性期の治療法は，血栓溶解療法（静脈内投与）のグルトパ®（t-PA），抗血小板療法の経口アスピリンのみである．脳梗塞治療薬として唯一承認を受けている t-PA は，脳梗塞発症後 4.5 時間までの患者に適用が限られており，虚血再灌流時の脳出血が問題視されているなど，その適応範囲には限界がある．
2. 脳保護薬は血栓溶解剤と並ぶ脳梗塞治療薬として期待されており，これまでに Ca^{2+}チャネル阻害薬や NMDA（*N*-methyl-D-aspartate）型受容体拮抗薬などの，多くの脳保護薬の臨床試験が実施されてきた．しかしながらこれらの薬剤は，動物実験では効果が認められていたが臨床試験では効果が認められず，有効性の高い新薬の開発が切望されている．
3. 非臨床試験と臨床試験の結果の乖離の一因として，ヒトとげっ歯類の脳の神経解剖学および生化学的相違が挙げられている．Ca^{2+}チャネルや NMDA 受容体などのグルタミン酸受容体は，げっ歯類の脳の主要素である灰白質に多く存在するが，ヒトの脳に多い白質には存在しない．一方で，Na^+チャネルは白質のランビエ絞輪部に高密度に存在し，虚血時は Na^+チャネルの開口により神経細胞死や細胞傷害性浮腫が進行する．したがって，白質傷害が主体と考えられるヒトの脳梗塞において，Na^+チャネル阻害薬は有効な脳梗塞急性期治療薬になり得ると考えられる．
4. 脳梗塞治療薬としての Na^+チャネル阻害薬の創製においては，サイト特異性と組織選択性に留意する必要がある．Na^+チャネルには 9 つの結合サイトが知られている．このうち持続的な膜の脱分極に関与する site 2 を特異的に遮断することが，安全性が高く，かつ神経細胞傷害を強く抑制する脳梗塞治療薬の創製につながると考えられる．また心疾患が原因の「心原性脳塞栓症」が脳梗塞の 3 割程度を占めること，脳梗塞患者は高齢者が多く，心臓に既往歴を持つケースも想定されることから，特に心臓に対する安全性の確保は重要である．また（1）臨床試験を実施した Na^+チャネル阻害薬の中には，薬物性 QT 延長症候群を理由に試験を中断している薬剤があること，（2）脳に多く局在する Na^+チャネル（$Na_V1.2$）との相同性は高くないものの，心筋にも Na^+チャネル（$Na_V1.5$）が存在する，という 2 つの背景から，特に心臓に対する安全性に留意した創薬研究を実施することとした．

【実験】

1. Site 2 を遮断する Na^+チャネル阻害薬の取得を目的とした HTS (high-throughput screening) により得られたアクティブ化合物 **1** から，Na^+チャネル阻害活性と，臨床において問題となると考えられる以下 2 つの作用との乖離を目的とした創薬研究を実施した．
    1. 薬剤性パーキンソニズムの発現が疑われるドパミン D_2受容体に対する選択性の獲得
    2. 薬物性 QT 延長症候群の要因である hERG（human ether-a-go-go-related gene）チャネルに対する選択性の獲得
2. ドパミン D_2受容体親和性の低減を図るために, アクティブ化合物 **1** の 3-アミノ-1-(5-インダニルオキシ)-2-プロパノール部位を Na^+ チャネル阻害薬のファーマコフォアとみなして，化合物 **1** のアミン部位を変

換した化合物を合成し，評価した．また log*D* 値（pH 7.4 におけるオクタノール/水系の分配係数）と脳移行性との相関が報告されていることから，Clog*D* 値（log*D* 計算値）を脳移行性の指標とした化合物設計を行い，合成と評価を実施した．

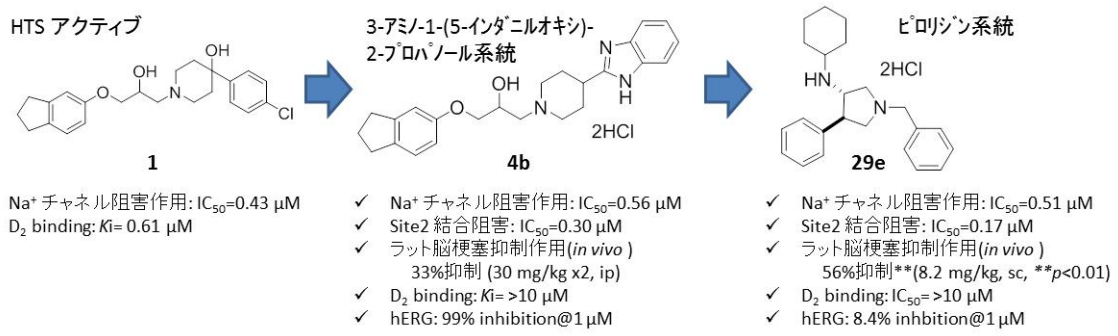
3. 3-アミノ-1-(5-インダニルオキシ)-2-プロパノール系統から新たに見出されたピロリジン系統について，hERG 阻害活性の低減を目的に, hERG K^+チャネルとの疎水性相互作用に着目した化合物設計を実施した．疎水性相互作用を回避し得る置換基として，シクロヘキシル基を有する置換基を選択した．ピロリジン 1，3，および 4 位に，シクロヘキシル基を有する置換基を導入した化合物を合成し，評価を行うことにより，hERG K^+チャネルとの疎水性相互作用に関与している置換位置の同定を実施した．また立体異性体（シス・トランス体，トランス体の両鏡像体）の合成と評価を行い，hERG 阻害作用に対する立体効果の検証を行った．
4. Na^+チャネル阻害活性は，ラット脳シナプトソーム膜を用いた蛍光膜電位測定法（機能的評価）により評価された．またラット一過性血管内閉塞モデルを用いた神経保護作用の評価により，臨床試験を実施していた Na^+ チャネル阻害薬（SUN N8075, crobenetine）の薬理活性との比較検討がなされた．
5. QT 延長の評価は, ホールセルパッチクランプ法を用いた hERG アッセイ試験における hERG 阻害作用を指標として行われた．また hERG 阻害作用との乖離が図られた化合物は，モルモット右心室乳頭筋を用いた活動電位測定試験により，QT 延長を伴う催不整脈作用の評価が実施された．
6. 高い薬理活性を有し，かつ心臓に対して高い安全性を示した化合物は，部分構造としてピラジノイソキノリン骨格を有していたが，効果的な合成法は確立されていなかった．そのため，ピラジノイソキノリン骨格の立体選択的な新規構築法の開発を行った．市販の光学活性なフェニルアラニン誘導体を出発原料とし，1,3-キラル転移を伴う Pictet–Spengler 反応を鍵反応とした構築法を考案し，検討を実施した．また電子供与性，および電子吸引性置換基を有するフェニルアラニン誘導体を用いて，新規骨格構築法の応用可能性を検証した．

【結果】

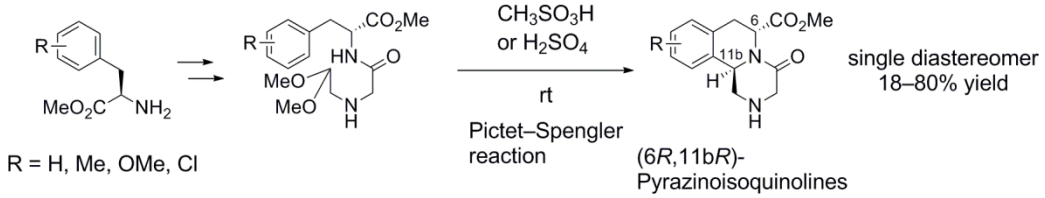
1. 3-アミノ-1-（5-インダニルオキシ）-2-プロパノール系統のアミン部位をビアリールピペリジン・ピペラジン，スピロピペリジン，およびヘテロアリールピペリジンに変換した結果，ドパミン D_2受容体結合親和性が低下した化合物を取得した（*K*i= >10 μM）．ドパミン D_2受容体に対する選択性を有する化合物のうち，Clog*D* 値が低下し（<4），かつラット肝ミクロソームにおいて高い代謝安定性を示した化合物 **4b**（Na^+チャネル阻害作用: IC_{50}=0.56 μM，site 2 に対する結合阻害: IC_{50}=0.30 μM）は，ラット脳梗塞モデル（30mg/kg, ip, 2 回投与）において, コントロール群に対して 33%の脳梗塞体積抑制作用［201.1 ± 50.2 mm^3 (n = 4) vs. 302.3 ± 26.5 mm^3 (n = 6) (mean ± SEM)］を示し，その作用は SUN N8075 と同等［35%の脳梗塞体積抑制作用，166.2 ± 38.1 mm^3 (n = 8) vs. 255.8 ± 31.0 mm^3 (n = 8) (mean ± SEM)］であった．しかしながら，化合物 **4b** は非常に強い hERG 阻害作用（1 μM における阻害率，99%）を有しており，心臓に対する安全性の確保のために更なる検討が必要であることが判明した．
2. ピロリジン誘導体の 1，3，および 4 位にシクロヘキシル基を有する置換基を導入した結果，3 位への置換基導入において，hERG 阻害減弱効果が最も顕著に表れた．特に 3 位にシクロヘキシル基を導入した化合物 **29e** で，hERG 阻害作用が大幅に減弱した．一方，4 位へのシクロヘキシル基導入による hERG 阻害減弱効果は小さく，また 1 位もしくは 4 位にシクロヘキシル基を追加導入しても，hERG 阻害の減弱は見られなかった．化合物 **29e**（トランス体）の立体異性体（シス体，トランス体の両鏡像体）は，いずれも化合物 **29e** とほぼ同等の Na^+チャネル阻害作用を有していたが, hERG 阻害作用に関してはシス体

の方がトランス体 **29e** より強かった（28% vs. 8.4% at 1 μM）．hERG 阻害作用が乖離したトランス体 **29e**（Na^+チャネル阻害作用: IC_{50}=0.51 μM, site 2 に対する結合阻害: IC_{50}=0.17 μM, hERG 阻害: 8.4% at 1 μM）は，ラット脳梗塞モデル（0.8, 2.5, and 8.2 mg/kg, sc）において濃度依存的に脳梗塞体積を減少させ，8.2 mg/kg 投与では 56%の有意な梗塞体積抑制作用を示した（p<0.01, Student's t-test）．また化合物 **29e** は，中大脳動脈閉塞の後投与においても有効性を示すことが分かった．

3. 化合物 **29e** と crobenetine の活動電位測定試験の結果，両化合物とも APD_{90}（心臓が興奮してから最大電位に達し，最大電位値が 90%低下するまでの活動電位持続時間）の延長作用は見られず，QT 延長作用の可能性は低いことが示唆された．しかしながら crobenetine は，30 μM において APD_{90} を 27.1 ± 10.2% 短縮させた．一方化合物 **29e** は，100 μM でも APD_{90} を 9.2 ± 2.7%減少させるにすぎなかった．また心臓に対してさらに高い安全性を有する化合物探索を行った結果，部分構造としてピラジノイソキノリン骨格を有する高活性化合物の取得に至った．



4. Brønsted 酸を用いた Pictet–Spengler 反応を骨格構築の鍵反応とすることにより，D-フェニルアラニン誘導体から簡便かつ高ジアステレオ選択的に，6*R*,11b*R*-トランスの立体化学をもつピラジノイソキノリン骨格を構築した．Brønsted 酸としてメタンスルホン酸および濃硫酸を用いた時に，高収率かつ高ジアステレオ選択性で目的物が得られることが分かった．特に濃硫酸を用いることにより，従来の骨格構築法では合成が困難であった電子吸引性基を有する基質に対しても，本合成法の適用が可能であり，十分な収率，かつ高ジアステレオ選択性でピラジノイソキノリン誘導体が得られることが分かった．

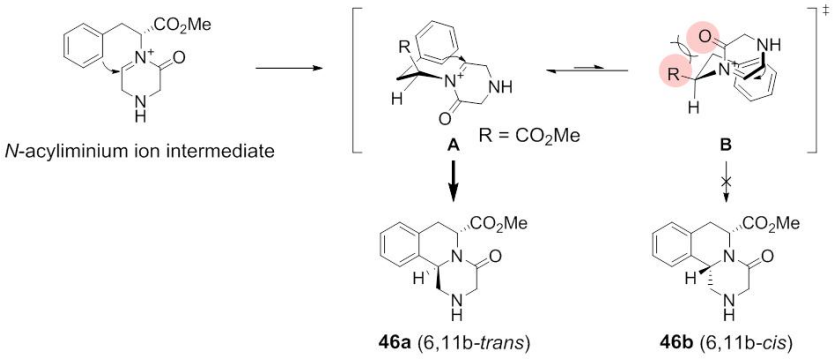


【考察】

1. 3-アミノ-1-（5-インダニルオキシ）-2-プロパノール系統のアミン部位を変換して得られた構造活性相関から，ビアリールピペリジン・ピペラジンの末端芳香環がドパミン D_2 受容体に対する結合を妨げている可能性が示唆された．合成展開の結果得られた化合物 **4b** は，ドパミン D_2 受容体との選択性を有し，かつラット脳梗塞モデルにおいて対照薬と同等の脳梗塞体積抑制作用を示したため，ヒット化合物として有用であると考えられた．しかしながら，その強い hERG 阻害作用から薬物性 QT 延長作用を示す可能性が示唆されたため，hERG 阻害作用との乖離が必要であると考察した．
2. ピロリジン誘導体の 3 位にシクロヘキシル基を有する置換基を導入した場合に，hERG 阻害作用の減弱効果が最も強く見られたことから，ピロリジン 3 位が hERG チャネルとの疎水性相互作用に関与する置

換位置であることが示唆された．また hERG 阻害作用が大きく減弱した化合物 **29e** は，活動電位測定試験において APD_{90} の延長作用を示さず，さらには APD_{90} を短縮させる作用が crobenetine より軽度であった．この結果は，化合物 **29e** は crobenetine と比較して，心臓に対する影響がより軽減された化合物であることを示している．また hERG 阻害作用との乖離を図ることによって，QT 延長作用のリスクが低く，かつ心臓に対する影響がより軽減された Na^+チャネル阻害薬の創製が可能であることが示唆された．

3. 新規骨格構築法により得られる高いジアステレオ選択性は，環化反応の際にとり得る遷移状態の差により説明できると考察した．すなわち（1）*N*-アシルイミニウムイオン中間体が側鎖芳香環への求電子攻撃によりアレニウムイオンを形成する過程において，歪みが高いボート型遷移状態よりも，より安定なイス型遷移状態を取ること，（2）取り得るイス型遷移状態は 2 つ（A or B）考えられるが，遷移状態 B は 6 位カルボメトキシ基とピペラジノン環カルボニル基の間の $A^{(1,3)}$ strain のためエネルギー状態が高く，より安定な遷移状態 A を経て反応が進行し，トランス体が高選択的に得られたと考察した．また本骨格構築法は多様な置換基を有する基質に適応できること，得られたピラジノイソキノリン誘導体から更なる置換基導入や置換基変換が可能であることから，現在注目されているピラジノイソキノリン誘導体の生理活性や薬理活性を解明する上でも，非常に有用な合成法であると考えられる．



4. 以上の検討結果より，site 2 を阻害する Na^+チャネル阻害薬は（1）ラット脳梗塞モデルにおいて強力な神経保護作用を発現したこと，（2）QT 延長に代表される心臓に対する毒性との乖離が可能であったことから，臨床において有効かつ安全な脳梗塞急性期治療薬になり得ると考えられる．

【発表論文】

1. Maki Seki, Osamu Tsuruta, Yukio Aoyama, Aki Soejima, Hiroshi Shimada, and Hikaru Nonaka, Synthesis and Pharmacological Evaluation of 3-Amino-1-(5-indanyloxy)-2-propanol Derivatives as Potent Sodium Channel Blockers for the Treatment of Stroke, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 60(4), 488–498 (2012).
2. Maki Seki, Osamu Tsuruta, Ryo Tatsumi, and Aki Soejima, Synthesis and biological evaluation of pyrrolidine derivatives as novel and potent sodium channel blockers for the treatment of ischemic stroke, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 23(14), 4230–4234 (2013).
3. Maki Seki and Tsuyoshi Ogiku, A diastereoselective construction of pyrazinoisoquinoline skeletons via tandem cyclization of phenylalanine derivatives: a facile synthesis of optically active pyrazinoisoquinolines, *Tetrahedron* 70(25), 3864–3870 (2014).