

## 論文の内容の要旨

論文題目 CRF<sub>1</sub>受容体選択的拮抗に基づく新規抗うつ剤・抗不安剤の開発研究

氏名 高橋 良典

### 【序章】

うつ病や不安障害に代表されるストレス性疾患の治療においては、多くの三環形抗うつ薬や選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI)、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬およびベンゾジアゼピン系抗不安剤が処方されているが、その有効率は決して満足のいくものではなく、薬効発現までに4~6週間を要するうえ再発率が高く、吐き気や性機能障害などの副作用を起すことも知られている。これらのストレス性疾患におけるアンメットメディカルニーズを充足するため、新規な作用メカニズムに基づく画期的な新薬が切望されている。

コルチコトロピン放出因子 (CRF) は41個のアミノ酸残基からなる神経ペプチドであり、ストレスに応答して視床下部から生成・分泌されるキーマediatorとして知られている。中枢組織においては、大脳皮質・小脳等の脳内に広く分布しており、HPA系 (視床下部-下垂体-副腎皮質系) では、下垂体からのACTH (副腎皮質刺激ホルモン) 分泌を促進する。CRF受容体には、クラスBのGタンパク質共役受容体に属するCRF<sub>1</sub>受容体とCRF<sub>2</sub>受容体の2つのサブタイプが知られている。前臨床および臨床データから、CRFおよびCRF<sub>1</sub>受容体とストレス性疾患の関連性が示唆され、多くの研究グループが、うつ様および不安様動物モデルにおけるCRF<sub>1</sub>受容体拮抗剤の有効性を報告している。

しかしながら、臨床におけるCRF<sub>1</sub>受容体拮抗剤の有用性は十分に証明されているとは言えず、化合物1が早期第2相試験でうつ・不安症状に対して有効であることが報告されコンセプトの妥当性が示唆された一方で、化合物4は臨床試験で効果を得るに至らなかった (図1)。私は、これらの結果は、これら化合物自体の性質に起因するものであり、CRF<sub>1</sub>受容体拮抗剤の新規治療概念を否定するものではないと考えた。CRF<sub>1</sub>受容体拮抗剤の薬剤としての有用性を証明するためには、

多様な構造を持つ化合物により継続的に臨床試験を行うことが重要であり、臨床で唯一有効性が報告された **1** と同等以上の薬理活性を有する新規な CRF<sub>1</sub> 受容体拮抗剤の創出を目指し本研究に着手した。

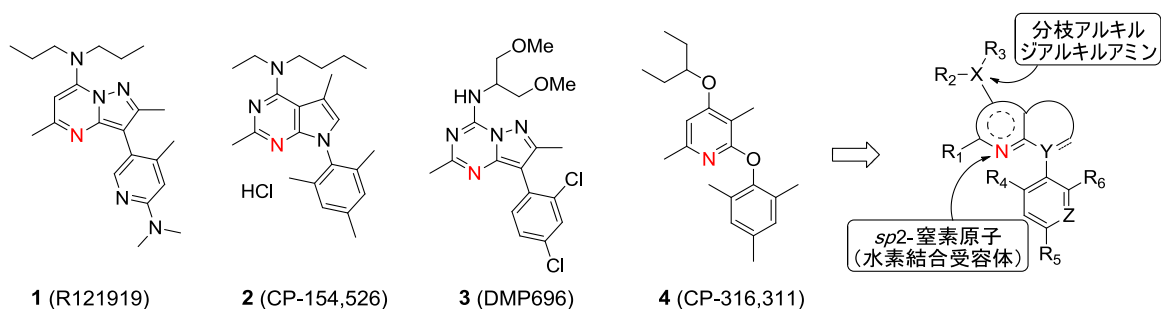


図 1. 既知 CRF<sub>1</sub> 受容体拮抗剤およびその構造的共通点

### 【第 1 章】

既知の CRF<sub>1</sub> 受容体拮抗剤の多くは、構造的共通点を有している。すなわち、(1) 水素結合受容体として重要と考えられる *sp*<sup>2</sup>-窒素原子を含む芳香環を母核とし、(2) *sp*<sup>2</sup> 窒素原子近傍に小さい置換基 (**R**<sub>1</sub>) と (3) 母核の上部に分枝アルキルあるいはジアルキルアミン (**X****R**<sub>1</sub>**R**<sub>2</sub>)、さらに (4) 下部にオルト・パラ位置換の多置換芳香環を有する。私は、以上の構造要件を満たす母核として、これまでに報告例が少ない 5,6-縮合環系母核(5 員環に *sp*<sup>2</sup>-窒素原子とジアルキルアミノ基を有する構造)に属するピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン骨格に着目し、新規 CRF<sub>1</sub> 受容体拮抗剤の探索を行った。

化合物の *in vitro* 活性として、ヒト CRF<sub>1</sub> 受容体を高発現させた HEK293 細胞を調製し、[<sup>125</sup>I]CRF を用いた CRF 結合阻害活性および CRF による細胞内 cAMP 産生に対する抑制効果を評価した。

最初に、既知の CRF<sub>1</sub> 受容体拮抗剤の部分構造として頻繁に見られる側鎖をピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン母核の 3 位と 7 位に導入したところ、7 位三置換フェニル誘導体 **5d** (図 2) を始めとする幾つかの化合物が CRF<sub>1</sub> 受容体に対する強い結合阻害活性が示したことから、ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン骨格の母核としての有効性が証明された。一方、**5d** の課題は、ヒト肝ミクロゾーム中での代謝不安定性であり、その原因が化合物の高脂溶性にあると考え、まず脂溶性低下による代謝安定化を志向した構造最適化を行った。

まず、3 位ジアルキルアミン部位の変換を試みた。テトラヒドロフランニルメチル基への変換では代謝安定性の改善は見られなかったが (**5j**)、6 員環エーテルを有する 4-テトラヒドロピランニルメチル基の導入により代謝安定性が大きく改善することを見出した (**5l**)。これらの化合物では、代謝経路として脱 N-アルキル化および環状エーテル内酸素原子の隣接炭素の酸化が想定されるが、酸

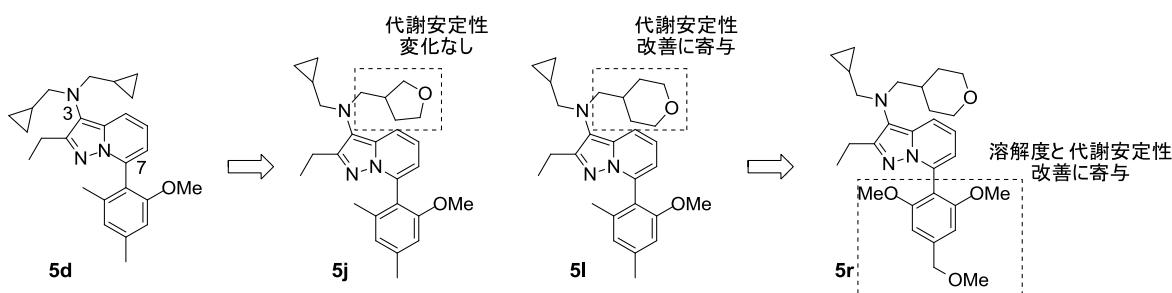


図 2. ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン誘導体の合成展開

素原子の位置の違いがエーテル環上の代謝の減弱に寄与し、**5l**における改善に好影響を及ぼしたと推測している。続いて、**5l**における溶解性の改善を目指し7位ベンゼン環上の置換基変換を行った結果、パラ位にメトキシメチル基が導入された**5r**で、強力な結合活性を維持しつつ溶解性に加えて代謝安定性が改善された。**5r**の塩系検討の結果、パラトシル酸塩 (**E2508**) が臨床開発品として選択された。

**E2508 (5r)** は、CRFにより誘発される血漿中 ACTH 上昇に対し対照化合物 **1** に匹敵する抑制作用を示し、*in vivo* における CRF<sub>1</sub> 受容体拮抗作用が確認された。また、化合物の抗うつ様作用評価に広く用いられる強制水泳試験においては、対照化合物として用いたフルオキセチンが効果発現に連続投与を必要としたのに対し、**E2508** は単回経口投与においても無動時間を有意に減少させた (図 3)。この結果から、臨床においても SSRI に比べて早期に効果を発現することが期待される。さらに、化合物の抗不安様作用を評価するマウス明暗箱試験および防御性覆い隠し試験 (Defensive burying test) においても、**1** と同等の薬理作用を示した。

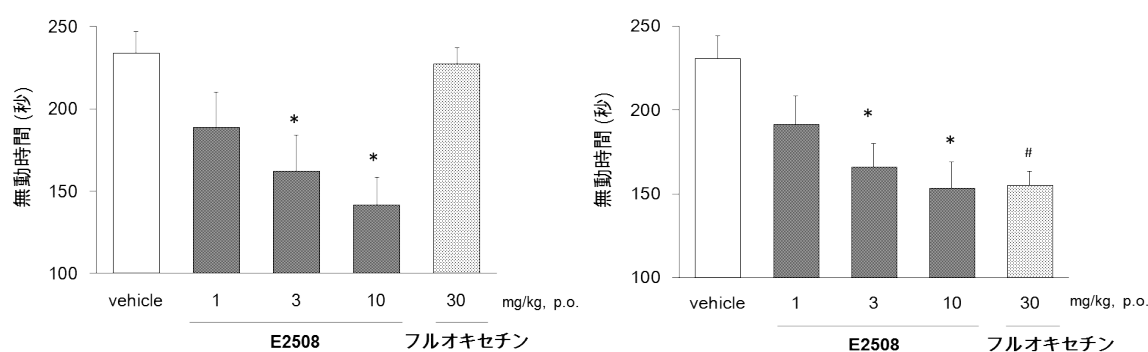


図 3. ラット強制水泳試験による抗うつ様作用 (左:単回、右:連投)

## 【第 2 章】

中心母核を新規性の高いテンプレートに変換するという戦略のもと探索を継続し、さらに新規性が高い 5,5-縮合環系の探索に移行した。その際、活性発現の重要な要因と推定される「母核と下部芳香環部による二面体角」に注目した (図 4)。**5r** のピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン母核の右側ピリジン環を 5 員環 (チアゾール[X=S]、オキサゾール[X=O]、イミダゾール[X=NH, NMe]) に置き換えた化合物の二面体角をそれぞれ計算し、化合物 **1** と比較した結果、ピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール **47** と **1** がほぼ同等の値を示したことから、本誘導体の構造活性相関の探索を開始した。

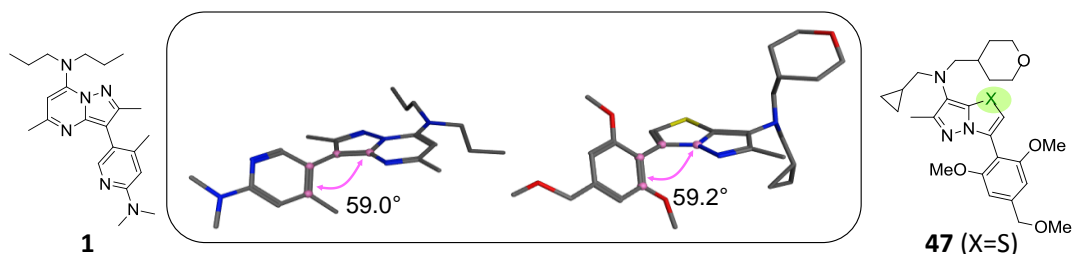


図 4. 対照化合物 **1** およびピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール誘導体 **47** の二面体角

化合物 **47** およびその 6 位メチル基をメトキシ基に変換した **48a** が、いずれも 100nM 以下の結合能を示すことが確認され、このうち **48a** を合成展開の起点として設定した (図 5)。**48a** は代謝安

定性に課題を有していたが、前章での研究からも7位の脱N-アルキル化が主代謝経路と想定し、まず7位側鎖の変換を行った。側鎖への水酸基やフルオロ基の導入およびテトラヒドロピラン環の位置異性体への変換は代謝安定化に至らなかったが、7位側鎖の窒素原子に隣接するメチレン部位の代謝を立体的にブロックすることを志向し、メチレン炭素を介さず直接テトラヒドロピラン環を導入したところ、代謝安定性が大きく改善された(48i)。さらに7位のもう一方のアルキル鎖の変換の結果、その鎖長と活性が相関し、*n*-ブチル基を有する48mが強い活性を示すことがわかった。最後に、下部芳香環の置換基変換を検討し、溶解度を維持しつつ良好な活性(IC<sub>50</sub> < 100nM)を示す48tなどの5化合物が得られた。ラットCRF誘発排便亢進モデルにより、in vivoにおけるCRF<sub>1</sub>受容体拮抗作用を確認および比較した結果、48t(E2009)が開発候補品として選択された。

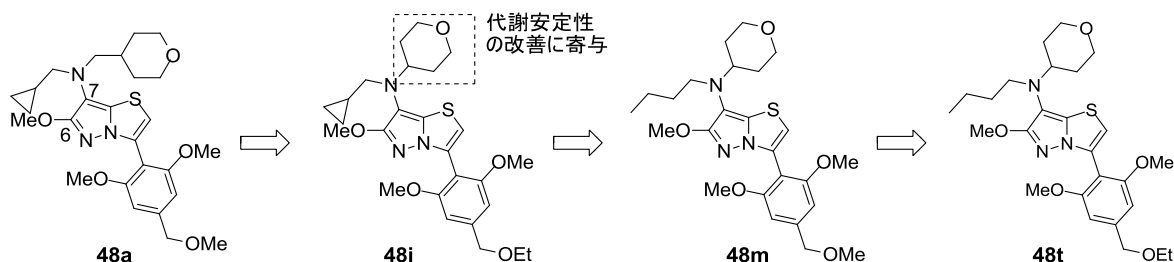


図5. ピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール誘導体の合成展開

48tは、5rと同様にラットCRF誘発ACTH産生抑制試験において有意な抑制作用を示した。また、マウス明暗箱試験において有意に抗不安様作用を示した。本結果は、48tの抗ストレス性疾患治療薬としての有効性を示唆するものである。

研究開始当初、骨格自体の合成法の報告例が極めて少なく、構造最適化に適した合成法の開発が必須であった。種々検討した結果、ピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール骨格を有する中間体52、54、57aの合成ルートの新規開拓に成功し、48tを始めとする誘導体の効率的な合成を可能にした(図6)。

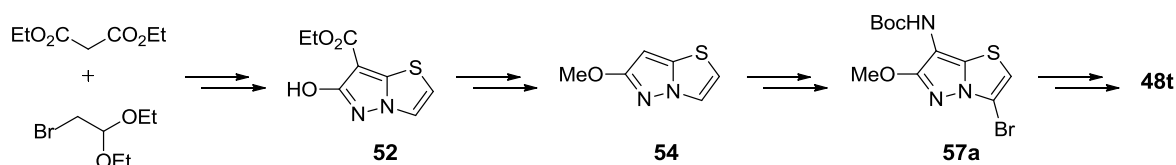


図6. ピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール誘導体の合成法

#### 【終章】

新規CRF<sub>1</sub>受容体拮抗剤の探索において、化合物の代謝安定性と溶解度を重視した最適化を行い、対照化合物1と同等以上のin vitroおよびin vivo薬理作用を示すピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン誘導体5r(E2508)の創出に成功した。そのオリジナルな側鎖を活用して探索研究を継続し、5rをフォロワーする化合物としてピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール誘導体48t(E2009)を見出した。

オリジナル側鎖の強みを活かし、新規母核探索に焦点を置いた創薬戦略は、CRF<sub>1</sub>受容体拮抗剤のみならず他の創薬ターゲットに対しても、汎用性の期待できる創薬方法論を提示するものとともに、ピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール骨格の効率的な合成法は、他の医薬品探索に対しても新規な骨格を提供でき、創薬化学の発展に貢献するものである。