

論文の内容の要旨

論文題目 新規CRF₁受容体拮抗剤のデザインとリード化合物創出

氏名 武田 邦 稔

—序章—

私は、うつ病に代表されるストレス疾患に対する薬物治療の新たな可能性として、コルチコトロピン放出因子 (CRF, corticotropin-releasing-factor) 受容体拮抗剤に着目した。CRF₁受容体拮抗剤としては、既に数多くの化合物が報告されている。代表的な化合物を図1に示すが、R121919, CP-154526, DMP696, CP-316311 の非臨床試験結果は、CRF₁受容体拮抗剤の不安やうつ症状に対する有効性を示すデータあった。一方で、ヒトでの臨床試験結果は不明瞭な点も多い。R121919 (1) はフェーズII臨床試験において抗不安作用および抗うつ作用が確認されてい

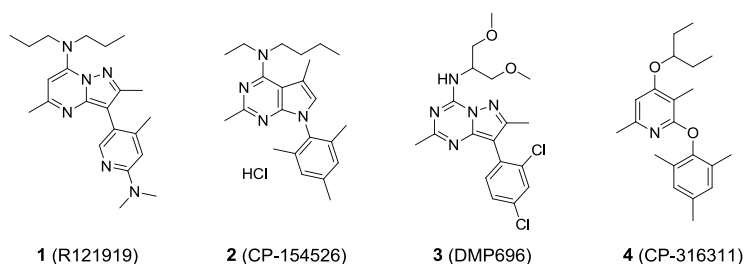


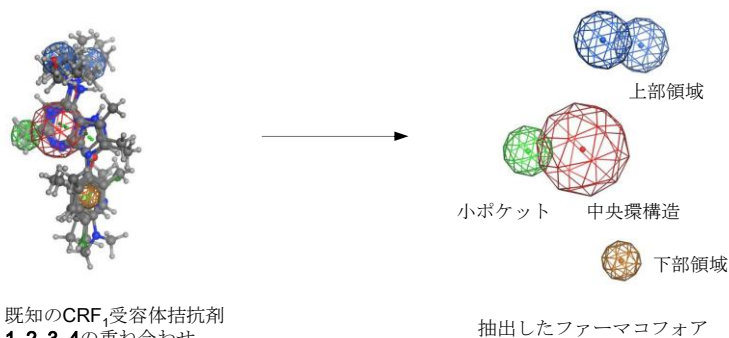
図1 代表的なCRF₁受容体拮抗剤

るのに対し、CP-316311 (4) は抗うつ作用が確認されていない。(R121919は肝毒性により臨床試験を中止している)。これらの結果は、ヒトにおけるCRF、CRF₁受容体、ならびにCRF₁受容体拮抗剤の更なる作用解明が必要であることを示唆している。そして、それらの作用解明のためには、構造的多様性に富むCRF₁受容体拮抗剤が必要と考えられる。しかし、図1に示す構造から明らかなように、これまで数多くの研究機関から報告されているCRF₁受容体拮抗剤は共通する狭い構造的特徴に制限され、新規CRF₁受容体拮抗剤の開発研究は閉塞感に苛まれている。そこで、私は構造的多様性に富む新たなCRF₁受容体拮抗剤を創出することを目的とし、本研究に着手した。

—第一章— ファーマコフォア解析と分子設計 1 (6-6 縮環リンカータイプの創出)

既存の CRF₁ 受容体拮抗剤は、図 1 に示すとおり、ジアルキルアミンなどが占める上部領域と種々の芳香環が占める下部領域を中央の環がつなぐ構造を有している化合物が多い。また、その上部領域と下部領域の位置、ならびに中央環構造に対する側鎖の導入位置は共通している。このことから、CRF₁ 受容体に対する強い拮抗作用を有する化合物を得るためには、満たすべき厳格な構造要件 (ファーマコフォア) が存在すると推察される。そこで、既存の CRF₁ 受容体拮抗剤の詳細な構造解析を行い、それらに共通するファーマコフォアを抽出することを最初に行った。実際に、4つのファーマコフォアを規定した (図 2)。図 1 に示した化合物はこの4つのファーマコフォアを満たすために、図 3 (左) に示すような共通のコンセプトの基に分子設計されていることが明確に示された。図 2 にて規定した4つのファーマコフォアを空間的に全て占有し、且つ既存構造とは異なる様式でファーマコフォアを占有する化合物を見出すために、種々の分子設計を行った。結果、図 3 (右) に示すような発想に至った。中央

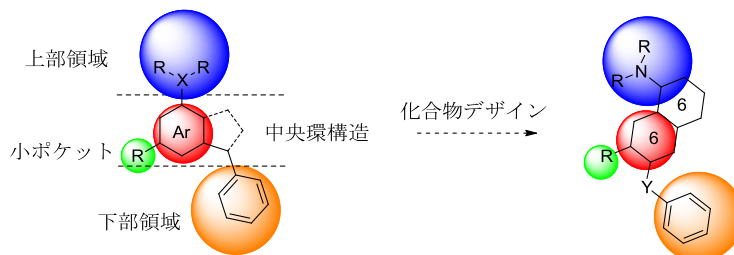
の環構造を6-6縮環系とし、適切な位置から置換基を伸ばせばファーマコフォアを満たすのではないかと考えた。最初に着想したキノキサリン化合物 10a のファーマコフォアに対するドッキングシミュレーション結果 (図 4)、および in vitro CRF 結合阻害活性 (IC₅₀ = 155 nM) は、私の設定したファーマコフォアモデルならびに、それに基づく化合物デザインの妥当性を示唆する結果と考えられた。続いて、化合物 10a の誘導体合成を行い、各置換位置における構造活性相関情報を把握した。その結果、CRF₁ 受容体に対する強力な CRF 結合阻害活性 (IC₅₀ < 100 nM) を示す化合物群を得た。



既知のCRF₁受容体拮抗剤
1, 2, 3, 4の重ね合わせ

抽出したファーマコフォア

図 2 ファーマコフォア解析



既知のCRF₁受容体拮抗剤

図 3 化合物デザイン

の環構造を6-6縮環系とし、適切な位置から置換基を伸ばせばファーマコフォアを満たすのではないかと考えた。最初に着想したキノキサリン化合物 10a のファーマコフォアに対するドッキングシミュレーション結果 (図 4)、および in vitro CRF 結合阻害活性 (IC₅₀ = 155 nM) は、私の設定したファーマコフォアモデルならびに、それに基づく化合物デザインの妥当性を示唆する結果と考えられた。続いて、化合物 10a の誘導体合成を行い、各置換位置における構造活性相関情報を把握した。その結果、CRF₁ 受容体に対する強力な CRF 結合阻害活性 (IC₅₀ < 100 nM) を示す化合物群を得た。

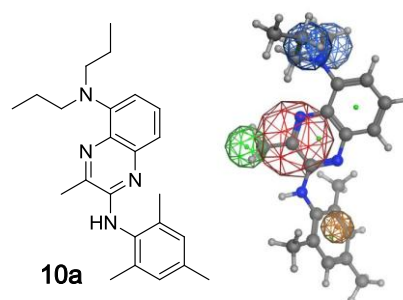
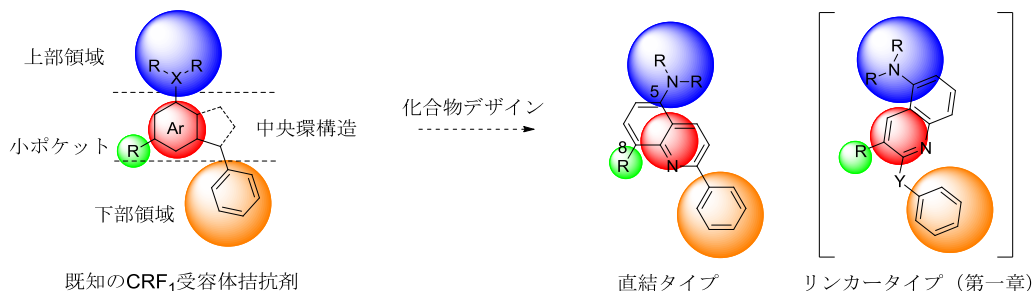


図 4 シミュレーション結果

—第二章— 分子設計 2 (6-6 縮環直結タイプの創出)

第一章で規定した既存の CRF₁ 受容体拮抗剤から抽出したファーマコフォアモデルを用い、より強活性、且つ更なる構造多様性に富む化合物の創出を目指し研究を継続した。その結果、中央の環構造を第一章 (リンカータイプ) と同じ 6-6 縮環系 (キノリン) とし、その置換パターンを変化させることで、リンカータイプとは全く異なる様式で 4 つのファーマコフォアを満たす化



既知のCRF₁受容体拮抗剤

図5 化合物デザイン

合物デザインに至った (図5)。具体的には、リンカータイプのリンカー原子を除き、キノリン環をフリップさせ、C₈位にメチル基を導入した化合物群 (直結タイプ) をデザインした。また、直結タイプにすることで、下部領域を占有する芳香環のコンフォメーションが固定化され、

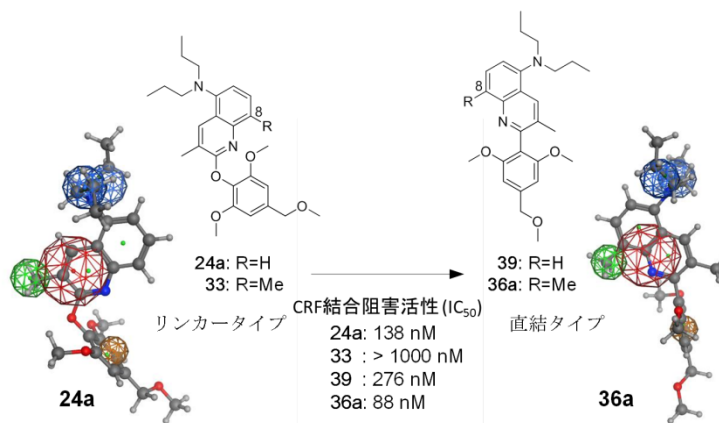


図6 シミュレーション結果

活性向上に繋がることを期待した。化合物 **36a** のファーマコフォアに対するドッキングシミュレーションの結果、および両タイプ (リンカータイプおよび直結タイプ) の C₈位にメチル基を導入した化合物が無置換の化合物と比較して反対の活性変化を示したこと (図6、**24a**, **33** vs **39**, **36a**) は、リンカータイプと直結タイプのファーマコフォアの占有様式の違いを示唆するデータと考えられる。各置換位置における構造活性相関研究、およびそれに伴う誘導体化の結果、CRF 結合阻害活性、cAMP (cyclic adenosine monophosphate) 産生抑制活性 (functional activity) とともに IC₅₀ < 100 nM の高活性を有し、CRF 誘発ラット排便亢進モデルにおいて有効な化合物群を得た。

—第三章— 6-6 縮環直結タイプの溶解性改善へ向けて

第二章で見出した化合物群は中性領域 (pH7.4) における溶解性が低く、経口剤としての資質を考慮すると物性面での改善が大きな課題として残っていた。私は将来的な薬剤としての開発を見据え、この低溶解性の解決に主眼を置き研究を行った。その結果、C₈位における置換基変換においてメトキシ基を導入することで大幅な溶解度改善傾向を掴むことができた。メトキシ基の溶解度に対する効果を検証するために、脂溶性のパラメータ (ClogP) や塩基性のパラメータ

(pKa) などの計算・測定を行った。しかし、メトキシ基を導入したことによる溶解度の改善は、ClogP の変化、ならびに pKa の変化では説明することができなかった。次に、分子の局所的な変化を検証するために、静電ポテンシャルマップを

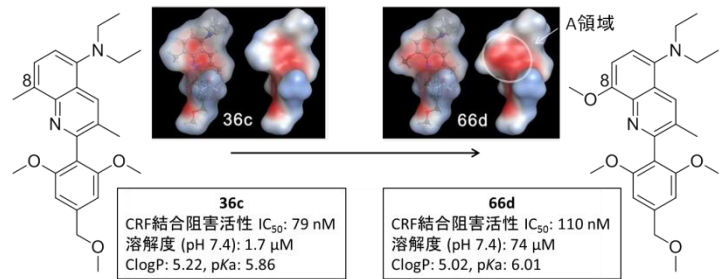


図7 メトキシの効用

計算した。その結果、メトキシ基を導入することにより、非常に電子密度の高い領域（A領域）が出現することが明らかとなった（図7）。そこで私は、この高い電子密度の領域が水分子との高い親和性を有することで溶解性の改善に繋がったと仮説を立てた。C₈位をメトキシ基に固定し、C₈位以外の部位における構造-活性-溶解度相関を把握すべく合成展開を行った。結果、A領域の電子密度を低下させる電子吸引性置換基を導入することで軒並み溶解度が悪化する傾向を掴むことができた。最終的に、活性と溶解性のバランスに優れた化合物 **66d** を見出した。本化合物は第二章で見出した化合物群と比較し、同程度の活性を維持しつつ、溶解度パラメータを劇的に改善した化合物であり、CRF 誘発 ACTH (adrenocorticotrophic hormone) 産生抑制試験および明暗試験にお

いて薬効を確認することができた（図8、9）。また、ラット PK 試験において体内動態についても評価し、化合物 **66d** の中枢移行性を確認した。本化合物はリード化合物としての資質を有していると考えられ、今後更なる最適化研究が期待される。

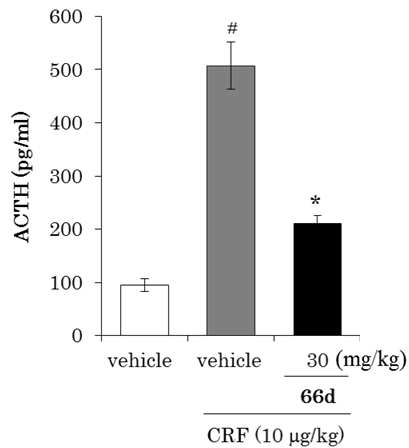


図8 ACTH産生抑制試験

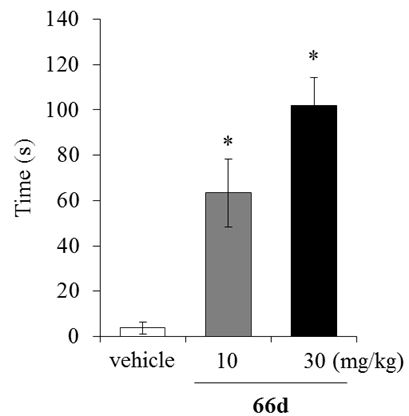


図9 明暗試験

（臨床試験で薬効が確認された R121919 (**1**) は in-house における CRF 誘発 ACTH 産生抑制試験および明暗試験において 30 mg/kg, p.o.にて統計学的優位に薬効が確認された。このことより、化合物 **66d** は R121919 (**1**) と同程度の in vivo 活性を有しているといえる）。

—総括—

化合物 **66d** に代表される新規化合物系統の医薬品候補としての可能性を示すことで、ファーマコフォアモデルに基づく新規化合物デザインの有用性を示すことができた。また、本研究における既存のものとは異なる構造的特徴を有する拮抗剤の発見は、CRF₁受容体拮抗剤開発研究の促進に寄与するものと考えられる。