論 文 の 内 容 の 要 旨

論文題目　TSPO リガンドの合成と構造活性相関および薬理作用に関する研究

氏　　名　深谷　孝幸

1. 序論

近年、社会情勢の変化に伴うストレスの増大により、うつ病、不安障害に代表される精神疾患の罹患率は増加の一途をたどっている。精神疾患の中でも不安障害はもっとも一般的な疾患のひとつであり、発症頻度が高く、うつ病あるいは統合失調症などの精神疾患と高頻度で併発することが知られている。代表的な抗不安薬としてベンゾジアゼピン系薬剤と、選択的セロトニン再取り込み阻害剤に代表されるセロトニン系薬剤とが挙げられる。ベンゾジアゼピン系薬剤は即効性があり強力な抗不安作用を示す反面、薬物依存形成、過度の鎮静、筋弛緩、健忘などの副作用が問題点となっている。一方選択的セロトニン再取り込み阻害剤は幅広い作用スペクトルを有するが、薬効発現までの期間が長いことが課題としてあげられる。このような背景により、即効性かつ幅広い作用スペクトルを示し副作用の少ない新規な抗不安薬の創製が望まれている。

ベンゾジアゼピン系薬剤は、γ-aminobutyric acid-A ($GABA_A$) 受容体およびクロリドイオンチャネルと複合体を形成する中枢性ベンゾジアゼピン受容体 (CBR) に作用し、GABA の $GABA_A$ 受容体への親和性を高める。本作用によりチャネルの開口頻度を増大させ、過分極状態にすることで抗不安作用を示すとともに望ましくない中枢性副作用も同時に引き起こすことが知られている。

一方で Braestrup らにより diazepam 等のベンゾジアゼピン系薬剤が作用する受容体のひとつとして 18 kDa translocator protein (TSPO) が同定された。TSPO は、中枢神経系ではグリア細胞内のミトコンドリア外膜に高濃度に発現し、ミトコンドリア外膜から内膜へのコレステロールの輸送を制御することで神経ステロイドの生合成を調節することが確認されており、TSPO の生理機能は CBR と異なることが明らかになっている (Figure 1) 。

これまでに神経ステロイドの濃度変化と、不安障害、うつ病との関連を示唆する臨床データや、神経ステロイドの投与により動物モデルにおけて抗うつ作用、抗不安作用を示すことが報告されている。また、神経ステロイドの作用機序として $GABA_A$ 受容体、*N*-methyl-D-aspartic acid (NMDA) 受容体、セロトニン 3 受容体等への作用が明らかとなっている。よって TSPO を活性化する薬剤は、脳内グリア細胞における神経ステロイドの生合成を促進し、神経ステロイドの $GABA_A$ 受容体等への作用にて抗不安作用をはじめとする幅広い薬理作用を示すと考えられた。TSPO リガンドによる薬理作用は、神経ステロイドを介した間接的なものであるため、ベンゾジアゼピン系薬剤でみられる中枢性副作用の回避も期待されている。

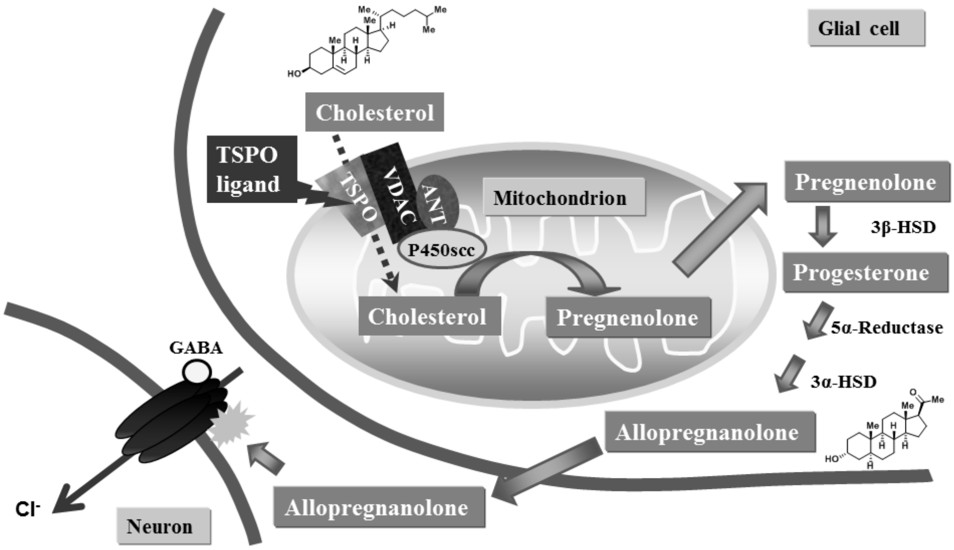


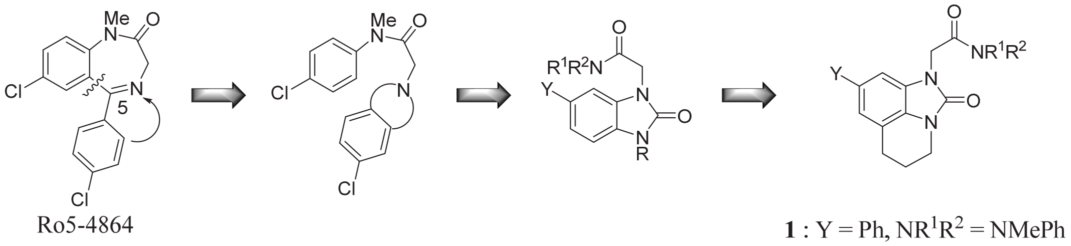
Figure 1. Rule of 18 kDa Translocator Protein in synthesis of neurosteroids

2. 三環性ベンズイミダゾロン誘導体の合成と構造活性相関

本研究をはじめるにあたり、Figure 2 に示すとおり、選択的 TSPO リガンドである Ro5-4864 に着目し、そのジアゼピノン環を開環することで新規な二環性ヘテロ環誘導体をデザインし、TSPO 結合活性を示すベンズイミダゾロン誘導体を見出した。さらにベンズイミダゾロン誘導体周辺の構造活性相関情報より活性向上が期待され、より新規性の高い骨格である三環性ベンズイミダゾロン誘導体への展開を図り、検討を行った。

三環性ベンズイミダゾロン誘導体の検討により、良好な TSPO 結合活性および CBR との選択性を示す化合物 **1** (Ki = 0.94 nM) を見出した。化合物 **1** について薬物動態試験を実施したところ、生物学的利用能 (BA) は、1.2% と非常に低い値であった。この原因として化合物 **1** の

代謝安定性の低さが挙げられた。そこで代謝安定性改善に向けアミド部分、アリール置換基について変換を行ったが、経口吸収性が期待できる化合物を見出すには至らなかった。そこで本誘導体にて得られた結果をもとに代謝安定性と物性パラメータならびに化学構造との相関について考察を行ったところ、代謝安定性と中心骨格に含まれる部分構造や、電子密度との関連性が示唆された。三環性ベンズイミダゾロン誘導体の検討にて得られた代謝安定性と物性パラメータならびに化学構造との相関情報をもとに新たな誘導体への展開を図ることとした。



Ro5-4864

1 : Y = Ph, NR^1R^2 = NMePh

Figure 2. Design of tricyclic benzimidazolone derivatives as novel TSPO ligands

3. ベンズオキサゾロン誘導体の合成と構造活性相関、薬理学的プロファイル

三環性ベンズイミダゾロン誘導体における検討結果より、ベンズイミダゾロン誘導体の N^3-アルキル構造が低い代謝安定性の一因であると考察された。そこで N^3-アルキル構造の変換体であるベンズオキサゾロン誘導体をデザインし有望化合物取得に向け検討を実施した (Figure 3) 。

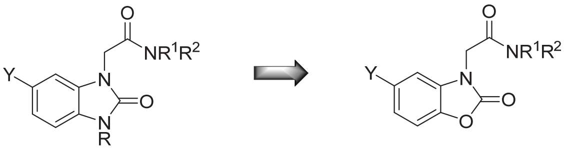
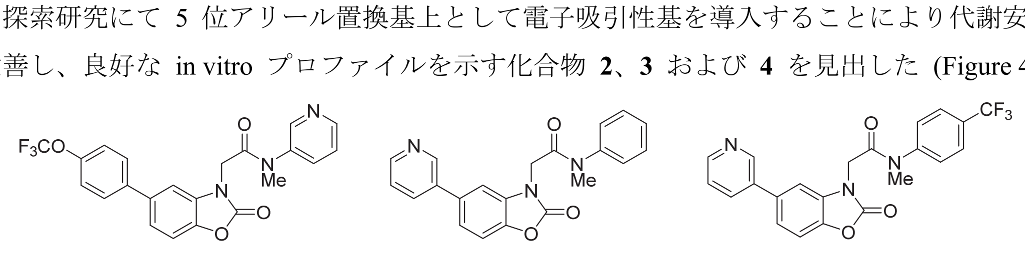


Figure 3. Design of tricyclic benzoxazolone derivatives as novel TSPO ligands

三環性ベンズイミダゾロン誘導体における検討より、母骨格の電子密度が代謝安定性に影響を与えている可能性が示唆された。そこで、ベンズイミダゾロン誘導体の置換基変換においては、電子陰性度定数を指標に導入置換基の選別を行った。ベンズオキゾロン誘導体では、5 位アリール置換基変換体における代謝安定性について電子陰性度定数との相関がみられた。本誘導体における探索研究にて 5 位アリール置換基上として電子吸引性基を導入することにより代謝安定性が改善し、良好な in vitro プロファイルを示す化合物 **2**、**3** および **4** を見出した (Figure 4) 。



2	**3**	**4**
TSPO Ki = 4.9 nM	TSPO Ki = 11 nM	TSPO Ki = 8.6 nM
MS 32% remaining	MS 24% remaining	MS 38% remaining

Figure 4. Chemical structures of representative benzoxazolone derivatives

ここで化合物 **3** を用いて、TSPO リガンドの作用機序に関して考察を行った。神経ステロイドの変換酵素 3β-hydroxysteroid dehydrogenase (3β-HSD) の阻害剤である trilostane の前投与により、**3** のラット受動的回避反応試験における薬効が消失した。この結果より、TSPO リガンドによる薬理作用発現への神経ステロイドの関与が示唆された。

化合物 **2·HCl** がラット Vogel 型葛藤試験にて抗不安作用を示したことから、ベンゾジアゼピン系薬剤でみられる副作用に関する検討を実施した。化合物 **2** は、CBR との選択性が十分であったにも関わらず、ベンゾジアゼピン系薬剤の中枢性副作用の一つである協調運動障害がみられた。協調運動障害の原因を探るべく、各種受容体、チャネル、トランスポーター、酵素に関する結合試験を実施した。その結果、中枢性ナトリウムチャネルへの結合 (IC50 = 0.70 μM) が確認され、この作用が協調運動障害発現の一因と推定した。

ベンズオキサゾロン誘導体について、中枢性ナトリウムチャネルへの作用について評価を行ったところ、有望化合物の一つであった化合物 **4** においてナトリウムチャネルへの作用は弱く、TSPO への高い選択的を示すことが明らかとなった。また、化合物 **4·HCl** は、1 mg/kg の低用量で抗不安活性が確認され、ベンゾジアゼピン系薬剤で課題となっている中枢性副作用とも十分な乖離が見られた。化合物 **4** は、TSPO 活性、薬物動態プロファイルについて、ヒトにおいてもラットと大きな種差がないことが in vitro 試験にて確認されており、新規な不安障害をはじめとする精神疾患治療薬としての可能性が示唆された。

4. 結論

本研究にて取り組んだ代謝安定性を主とした化合物の薬物動態プロファイルに関する課題は、TSPO リガンドの探索研究に限らず、創薬研究にて度々直面する課題の一つである。よって、本論文にて示した電気陰性度定数と代謝安定性との関連性については幅広い創薬研究に活用できるものである。

また三環性ベンズイミダゾロン誘導体、ベンズオキサゾロン誘導体にて得られた構造活性相関情報は、今後の TSPO の作用部位の解明、ファーマコファーモデルの構築等 TSPO の研究に役立つと考えられる。

さらに本研究にて見出されたベンズオキサゾロン誘導体 **4** は、TSPO への選択性が高いことから、ベンゾジアゼピン系薬剤の中枢性副作用と乖離のある新規な不安障害をはじめとする精神疾患に対する治療薬としての可能性が示唆された。本化合物の高い脳移行性等を含めた優れた薬物動態プロファイルより、PET リガンドとしての診断や TSPO 機能解明に向けた取り組みへの活用も期待される。