The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	NMDA受容体グリシン部位拮抗剤の合成研究
Author(s)	片山, 精司
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44609
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【14】

氏　　名	片山精司（かたやませいじ）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学位記番号	第　18284　号
学位授与年月日	平成16年1月28日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	**NMDA受容体グリシン部位拮抗剤の合成研究**
論文審査委員	（主査） 教　授　小林　資正 （副査） 教　授　田中　徹明　　教　授　北　泰行　　教　授　今西　武

論文内容の要旨

NMDA（*N*-methyl-D-aspartate）受容体はイオンチャンネル型グルタミン酸受容体に属し、中枢神経系の情報伝達や学習・記憶の基礎的現象であるシナプスの可塑性発現に中心的な役割を果たしている。一方、NMDA 受容体の過剰な活性化が脳卒中などの急性脳疾患における神経細胞死やアルツハイマー病、パーキンソン病等の慢性の神経変性疾患に深く関与していることが示唆されている。NMDA受容体はそのイオンチャンネルがカルシウムイオン(Ca^{2+})に対して特に高い透過性を示すという特徴を有しており、この Ca^{2+}流入が正常時には神経細胞の情報伝達機構としての役割を担うが、病態時には過剰な流入により神経毒性を引き起こすものと考えられている。また、NMDA 受容体にはグルタミン酸、NMDA 等の神経伝達物質認識部位、グリシン結合部位、チャンネルブロッカー結合部位を含む複数のリガンド結合部位が存在することが知られている。特にグリシンは NMDA 受容体を介するグルタミン酸の作用を著しく増強するとともに NMDA 受容体の活性化にとって必須である。

これまでに脳卒中（虚血性脳障害）治療薬や神経保護薬としての利用を期待して NMDA 受容体の各部位に作用しその情報伝達を遮断する拮抗剤が見出されているが、特にグリシン結合部位に拮抗する薬物は他の部位での拮抗剤において認められた副作用を示さない可能性が示唆されている。グリシン結合部位の発見以降、比較的早期に見出された in vitro 活性を示す拮抗剤の多くは血液脳関門の透過性に乏しく、治療薬として用いうる投与形態による動物病態モデルへの投与、いわゆる in vivo 試験での活性は示さなかった。

さらに in vivo 活性を示す NMDA 受容体グリシン部位拮抗剤を見出すべく、世界中の研究グループで非常に多くの努力がなされてきた結果、臨床開発段階まで進みうるだけの in vivo 活性を有する化合物としていくつかの例が知られているが、現在のところ開発に成功したものはない。著者らのグループではこれまでに高活性な NMDA 受容体グリシン部位拮抗剤として SM-18400（1a）に代表される三環性キノキサリンジオン誘導体1や、同じくグリシン部位に拮抗作用を示す三環性アザキヌレン酸誘導体2を見出してきた。

本研究において著者は、1について光学活性体合成ルートの確立を検討した。テトラヒドロキノリン-2-カルボン酸メチルエステルの酵素による速度論的光学分割を試みた結果、リン酸バッファー中、α-キモトリプシンで処理する手法を見出した。本手法により合成したプロトタイプの三環性キノキサリンジオン誘導体 1b の光学活性体では、in vitro 試験において *S* 体が 100 倍近く *R* 体より強い活性を示し、1の5位不斉炭素の絶対配置は *S* であることが高活性の発現に必須であることを明らかにした。次に、最適化された有望な三環性キノキサリンジオン誘導体 1a の大量合成に適用可能な実用的ルートを目指し、テトラヒドロキノリン-2-酢酸メチルエステルの光学分割を検討した結果、固定化酵素 Novozym®435 と含水 THF 中で反応させる手法を見出した。

さらに1と文献既知のグリシン部位拮抗剤 L-689、560 の配座解析と重ね合わせを行い、グリシン部位ファルマコフォアについて考察した。また1とその関連化合物について得られた構造活性相関の結果を用いて CoMFA 解析を行った。これらの計算的手法による知見に基づいて新規な三環性インドール-2-カルボン酸誘導体 3a をデザインし、その妥当性を検証した結果、3a が有望な化合物となることが強く示唆された。

そこで 3a の効率的合成法の確立を行った。4-クロロ-2-ニトロトルエンから6位ヨウ素化、改良 Reissert インドール合成法、アリルアルコールとの Heck 反応によるホルミルエチル化、Wittig-Horner-Emmons 反応、C-3 位ヨウ素化により環化前駆体を得、続いて三環性骨格を構築する鍵反応として、分子内ラジカル環化反応、続いて位置選択的加水分解により母骨格中間体を得た。しかしラジカル環化の条件はパイロットスケールの大量合成には不適であったため、分子内 Heck 反応による環化と、生じる α、β-不飽和エステル型環化体の二重結合の還元により同じ母骨格中間体を得る別ルートを見出した。続いて、ラセミの母骨格中間体を光学分割して得た各光学異性体から光学活性な三環性インドール誘導体 3*R*-(+)-3a、3*S*-(−)-3a をそれぞれ合成した。in vitro 試験において、3*S*-(−)-3a の活性は既知のインドール型グリシン部位拮抗剤 MDL29951 の 16 倍強く、1a に匹敵するものであった。さらに、3*S*-(−)-3a はその光学異性体 3*R*-(+)-3a の 30 倍強い活性を示し、3a の3位不斉炭素の絶対配置は1同様に *S* であることが高活性発現に必須であることがわかった。

しかし *in vivo* マウス NMDA 誘発痙攣モデルにおける抗痙攣作用については、3*S*-(−)-3a は有効であるが、1a の十分の一程度と弱いことがわかった。本試験での in vivo 活性の改善を目指し、3b〜g に代表される 3a の C3 位側鎖アニリド部置換基変換体の探索合成を行った。その結果、3*S*-(−)-3a と比べて強い in vivo 活性を示した二つの三環性インドール誘導体 3e と 3f を見出した。これらについて脳卒中の病態により近い高次の in vivo 試験、ラット中大脳動脈永久結染モデルで評価を行った結果、同じ投与量で 3f は 3e よりも約 2.8 倍強い、顕著に有効な脳保護効果を示した。さらに 3f は他のグルタミン酸受容体サブタイプと比較して、NMDA 受容体グリシン部位への高い選択性を示した。また 3f は、前述の有望化合物 1a と比較して、薬物動態面での持続性と水性溶媒中の溶解度という薬剤開発上重要な二つの性質において、より優れた特徴を示した。最有望化合物 3f（SM-31900）は培養神経細胞や他の高次 in vivo 動物モデルにおいて優れた神経保護効果を示すことが明らかになっている。

論文審査の結果の要旨

グルタミン酸受容体の中でも NMDA（*N*-methyl-D-aspartate）受容体は、中枢神経系の情報伝達や学習・記憶の基礎的現象であるシナプスの可塑性発現に中心的な役割を果たしている。一方、NMDA 受容体の過剰な活性化が脳卒中などの急性脳疾患に深く関与していることが示唆されており、これまでに脳卒中（虚血性脳障害）治療薬や神経保護薬としての利用を期待して NMDA 受容体の阻害剤が探索されている。その結果、臨床開発段階まで進んだ化合物はいくつかの例が知られているが、現在のところ開発に成功したものはない。申請者らのグループではこれまでに高活性な NMDA 受容体グリシン部位拮抗剤として、三環性キノキサリンジオン誘導体や三環性アザキヌレン酸誘導体を見出してきた。

申請者は、光学活性な三環性キノキサリンジオン誘導体の合成を検討し、酵素によるラセミ分割を行う方法により大量合成可能な合成法を確立することができた。つぎに、Merck 社のグループにより見出された NMDA 受容体グリシン部位拮抗物質と申請者等の見出した三環性キノキサリンジオン誘導体が構造的に類似することから、Merck 社のグループにより見出された NMDA 受容体グリシン部位拮抗物質の分子モデリング研究や構造活性相関研究と申請者らの化合物について行った分子モデリング研究と構造活性相関研究を、CoMFA 法により比較解析することによりグリシン部位ファルマコフォアを考察するとともに、高活性が期待できるリード化合物として三環性インドール-2-カルボン酸誘導体を設計した。そして、申請者は詳細な合成研究により、光学活性な三環性インドール-2-カルボン酸誘導体を大量合成できる合成法を確立することができた。さらに、三環性インドール-2-カルボン酸誘導体についての詳細な構造活性相関研究を行った結果、培養神経細胞や他の高次 in vivo 動物モデルにおいて優れた神経保護効果を示す最有望化合物を見出すに至っている。

以上の成果は、博士（薬学）の学位論文として十分価値のあるものと認められる。