

## 学位論文題名

## 脳梗塞治療剤の合成および構造活性相関に関する研究

## 学位論文内容の要旨

脳虚血に対して脳保護作用を有する脳梗塞治療剤の創出を目的として、1) 抗アノキシア作用（細胞を無酸素（アノキシア）状態から保護する作用）、および2) N-methyl-D-aspartate (NMDA) レセプター拮抗作用の2つの作用に着目し、新規化合物の合成および構造活性相関に関する研究を行った。それぞれの作用について選択した高次評価化合物については、脳虚血モデルにおける脳保護作用を評価し、脳梗塞治療剤としての可能性を調べた。

(1) 抗アノキシア作用を有する新規ピリミジン、アゾール誘導体の合成と構造活性相関

抗アノキシア作用に関しては、ピリミジン誘導体6-methyl-5-(4-methylpiperazin-1-ylcarbonyl)-4-(3-nitrophenyl)-2-phenylpyrimidine(1)<sup>1)</sup>をリード化合物として、アリルピリミジン母核部分の変換を行い、さらに作用の優れた化合物を探索した。抗アノキシア作用は、無酸素状態（100%窒素気流下）におけるマウスの生存時間延長作用により評価した。その結果、i)アリルピリミジン母核部分は、ベンゾイルピリミジン<sup>2)</sup>、およびアリルチアゾールに変換し得ること<sup>3)</sup>、ii)チアゾール誘導体においては、2位のフェニル基が作用発現に必須ではないこと<sup>3)</sup>、および塩基性部分の置換位置は5位よりも2位の方が優れていることを明らかにし、リード化合物1より10倍強い抗アノキシア作用（3.2mg/kg, ipから用量依存的に生存時間延長）を示すチアゾール誘導体N-[2-(4-morpholinyl)ethyl]-4-(3-trifluoromethylphenyl)-2-thiazolecarboxamide(2)を見出した<sup>4)</sup>。また、化合物1および2の分子静電ポテンシャルの比較により、これらの化合物の抗アノキシア作用発現には、塩基性部分の窒素原子の静電ポテンシャルと母核部分の位置が重要である知見を得た。

(2) N-Methyl-D-aspartate (NMDA) レセプター拮抗作用を有する新規テトラヒドロイソキノリン、テトラヒドロチエノピリジン誘導体の合成と構造活性相関

代表的なNMDAレセプター拮抗剤MK801の構造変換を行い、副作用であるフェンサイクリジン(PCP)様常同行動誘発作用（人における幻覚、妄想などの惹起作用）を分離した安全域の広い新規NMDA拮抗作用を見出す目的で、MK801の構成構造の1-methyl-1-phenylisoindolineおよび1-methyl-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline(3)を合成した。これらのうち化合物3がNMDA拮抗作用を示すことを見出し、3をリード化合物としてリングサイズおよび芳香環の変換を行った。

化合物3は、3,4-dihydro-1-phenylisoquinolineの2位をベンジル化し、1位をメチル化した後、接触還元によりベンジル基を除去し、合成した。ラセミ体3は酒石酸誘導体を用いて光学分割し、光学活性体を得た。また、チエノピリジン誘導体については、ナイトロンを中間体とするルートにより合成した。NMDA拮抗作用は、ラット脳膜画分への<sup>[3]H]MK801に対する結合阻害作用およびマウスにおけるNMDA誘発痙攣抑制作用により評価した。その結果、i) リングサイズはテトラヒドロイソキノリ</sup>

ン環が最適であること、ii)3のC1位メチルおよびフェニル基は作用発現に必須であること、iii)芳香環への置換基の導入はレセプターとの親和性を低下させること、iv)いずれのベンゼン環もチオフェン環に等価変換できること、を明らかにした<sup>5,6)</sup>。光学活性体の中で最も優れた作用を示した(+)-3の[<sup>3</sup>H]MK801結合阻害作用( $K_i=35.4\text{ nM}$ )およびNMDA誘発痙攣抑制作用( $ED_{50}=8.7\text{ mg/kg, ip}$ )は、それぞれMK801の約1/10、1/6であったが、副作用であるPCP様常同行動を誘発する最小発現用量がMK801に比べ30倍高く、NMDA拮抗作用とPCP様常同行動誘発作用を分離し得る可能性が得られた。さらに(+)-3は、MK801には見られない低酸素状態(98%窒素-2%酸素気流下)における生存時間延長作用(最小有効用量:3.2mg/kg, ip)を合わせ持つことを見出した<sup>5)</sup>。また(+)-3のイソキノリン環C1位の絶対配置がSであることに基づき(+)-3とMK801の3次元安定構造を比較することにより、作用発現に必要なC1位のメチルおよびフェニル基とイソキノリン環の相対的な位置がレセプターに対する親和性に影響を与えることが示唆された。

### (3) 新規抗アノキシア剤2、新規NMDA拮抗剤(+)-3のスナネズミ一過性脳虚血モデルおよびラット中大脳動脈閉塞モデルにおける脳保護作用

高次評価化合物2および(+)-3の脳虚血に対する脳保護作用を調べるために、スナネズミ一過性脳虚血モデルにおいて、虚血負荷による自発運動量の増加に対する抑制作用および海馬遅発性神経細胞壊死に対する抑制作用について評価した。その結果2は、100mg/kg(ip)で自発運動量の抑制作用を示した。また(+)-3は、32mg/kg(ip)から自発運動量の抑制作用および10mg/kg(ip)から遅発性神経細胞壊死に対する抑制作用を用量依存的に示し、いずれの化合物も脳虚血に対して脳保護作用を有することが判った。さらに(+)-3は、脳梗塞モデルであるラット中大脳動脈閉塞モデルにおいて0.1mg/kg(iv)投与から梗塞巣縮小作用を示し、脳保護作用を有する脳梗塞治療剤として有望な化合物であることを明らかにした。

### (4) まとめ

脳保護作用を有する脳梗塞治療剤の創出を目的として、抗アノキシア作用およびNMDA拮抗作用に着目し、新規化合物の合成および構造活性相関に関する研究を行った。その結果、抗アノキシア作用に関しては、リード化合物1の構造最適化により、作用の優れた新規チアゾール誘導体2を見出し、脳虚血モデルにおいて脳保護作用を示すことを明らかにした。NMDA拮抗作用に関しては、MK801の構造変換により、安全域の広い新規テトラヒドロイソキノリン誘導体(+)-3を見出した。(+)-3は、ラット脳梗塞モデルにおいて梗塞巣縮小作用を示し、研究目標としていた脳保護作用を有する脳梗塞治療剤として有望な化合物であることを明らかにした。

### 引用文献

- 1) a) Kuno A., Sugiyama Y., Katsuta K., Kamitani T., Takasugi H., *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 1452 (1992); b) Kuno A., Sugiyama Y., Katsuta K., Sakai H., Takasugi H., *ibid.*, **40**, 2423 (1992).
- 2) Ohkubo M., Kuno A., Sakai H., Sugiyama Y., Takasugi H., *ibid.*, **42**, 1279 (1994).
- 3) Ohkubo M., Kuno A., Sakai H., Takasugi H., *ibid.*, **43**, 947 (1995).
- 4) Ohkubo M., Kuno A., Nakanishi I., Takasugi H., *ibid.*, **43**, 1497 (1995).
- 5) Ohkubo M., Kuno A., Katsuta K., Ueda Y., Shirakawa K., Nakanishi H., Nakanishi I., Kinoshita T., Takasugi H., *ibid.*, **44**, 95 (1996).
- 6) Ohkubo M., Kuno A., Katsuta K., Ueda Y., Shirakawa K., Nakanishi H., Kinoshita T., Takasugi H., *ibid.*, **44**, 778 (1996).

# 学位論文審査の要旨

主査教授 大塚栄子  
副査教授 松田彰  
副査教授 野村靖幸  
副査助教授 井上英夫

## 学位論文題名

### 脳梗塞治療剤の合成および構造活性相関に関する研究

申請者は脳梗塞治療剤の合成および構造活性相関に関する研究を行ってきたが、今回脳虚血に対して脳保護作用を有する脳梗塞治療剤として、1) 抗アノキシア作用（細胞を無酸素（アノキシア）状態から保護する作用）、および2) N-methyl-D-aspartate (NMDA) レセプター拮抗作用の2つの作用を有する新規化合物を合成し構造活性相関に関する新知見を得た。それぞれの作用について選択した高次評価化合物については、脳虚血モデルにおける脳保護作用を評価し、脳梗塞治療剤としての可能性を調べた。

#### (1) 抗アノキシア作用を有する新規ピリミジン、アゾール誘導体の合成と構造活性相関

抗アノキシア作用に関しては、ピリミジン誘導体6-methyl-5-(4-methylpiperazin-1-ylcarbonyl)-4-(3-nitrophenyl)-2-phenylpyrimidine(1)をリード化合物として、アリルピリミジン母核部分の変換を行い、さらに作用の優れた化合物を探索した。抗アノキシア作用は、無酸素状態におけるマウスの生存時間延長作用により評価した。その結果、i)アリルピリミジン母核部分は、ベンゾイルピリミジン、およびアリルチアゾールに変換し得ること、ii)チアゾール誘導体においては、2位のフェニル基が作用発現に必須ではないこと、および塩基性部分の置換位置は5位よりも2位の方が優れていることを明らかにし、リード化合物1よりも10倍強い抗アノキシア作用を示すチアゾール誘導体N-[2-(4-morpholinyl)ethyl]-4-(3-trifluoromethylphenyl)-2-

thiazolecarboxamide(2)を見出した。また、化合物1および2の分子静電ポテンシャルの比較により、これらの化合物の抗アノキシア作用発現には、塩基性部分の窒素原子の静電ポテンシャルと母核部分の位置が重要である知見を得た。

(2) *N*-Methyl-D-aspartate(NMDA)レセプター拮抗作用を有する新規テトラヒドロイソキノリン、テトラヒドロチエノピリジン誘導体の合成と構造活性相関

代表的なNMDAレセプター拮抗剤MK801の構造変換を行い、副作用であるフェンサイクリジン(PCP)様常同行動誘発作用(人における幻覚、妄想などの惹起作用)を分離した安全域の広い新規NMDA拮抗作用を見出す目的で、MK801の構成構造の1-methyl-1-phenylisoindolineおよび1-methyl-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydro-isoquinoline(3)を合成した。これらのうち化合物3がNMDA拮抗作用を示すことを見出し、3をリード化合物としてリングサイズおよび芳香環の変換を行った。

化合物3は、3,4-dihydro-1-phenylisoquinolineの2位をベンジル化し、1位をメチル化した後、接触還元によりベンジル基を除去し、合成した。ラセミ体3は酒石酸誘導体を用いて光学分割し、光学活性体を得た。また、チエノピリジン誘導体については、ナイトロンを中間体とするルートにより合成した。NMDA拮抗作用は、ラット脳膜画分への<sup>3</sup>H]MK801に対する結合阻害作用およびマウスにおけるNMDA誘発痙攣抑制作用により評価した。その結果、i) リングサイズはテトラヒドロイソキノリン環が最適であること、ii) 3のC1位メチルおよびフェニル基は作用発現に必須であること、iii) 芳香環への置換基の導入はレセプターとの親和性を低下させること、iv) いずれのベンゼン環もチオフェン環に等価変換できること、を明らかにした。光学活性体の中で最も優れた作用を示した(+)-3の<sup>3</sup>H]MK801結合阻害作用およびNMDA誘発痙攣抑制作用は、それぞれMK801の約1/10、1/6であったが、副作用であるPCP様常同行動を誘発する最小発現用量がMK801に比べ30倍高く、NMDA拮抗作用とPCP様常同行動誘発作用を分離し得る可能性が得られた。さらに(+)-3は、MK801には見られない低酸素状態(98%窒素-2%酸素気流下)における生存時間延長作用

を合わせ持つことを見出した。また(+)-3のイソキノリン環C1位の絶対配置がSであることに基づき(+)-3とMK801の3次元安定構造を比較することにより、作用発現に必要なC1位のメチルおよびフェニル基とイソキノリン環の相対的な位置がレセプターに対する親和性に影響を与えることが示唆された。

(3) 新規抗アノキシア剤2、新規NMDA拮抗剤(+)-3のスナネズミ一過性脳虚血モデル およびラット中大脳動脈閉塞モデルにおける脳保護作用

高次評価化合物2および(+)-3の脳虚血に対する脳保護作用を調べるため、スナネズミ一過性脳虚血モデルにおいて、虚血負荷による自発運動量の増加に対する抑制作用および海馬遅発性神経細胞壊死に対する抑制作用について評価した。その結果2は、100mg/kg(ip)で自発運動量の抑制作用を示した。また(+)-3は、32mg/kg(ip)から自発運動量の抑制作用および10mg/kg(ip)から遅発性神経細胞壊死に対する抑制作用を用量依存的に示し、いずれの化合物も脳虚血に対して脳保護作用を有することが判った。さらに(+)-3は、脳梗塞モデルであるラット中大脳動脈閉塞モデルにおいて0.1mg/kg(iv)投与から梗塞巣縮小作用を示し、脳保護作用を有する脳梗塞治療剤として有望な化合物であることを明らかにした。

以上の研究は博士（薬学）の学位を受けるのに十分値するものと認めた。