

## 学位論文題名

シクロプロパン環の構造特性を利用した  
配座制御法による分子設計

～新規 NMDA 受容体特異的拮抗剤の創製～

## 学位論文内容の要旨

グルタミン酸受容体は哺乳類の中枢神経において興奮性シナプス伝達を担う。NMDA 受容体はグルタミン酸受容体のサブタイプの一つであり、記憶や学習の分子基盤として注目されている。一方、てんかん発作や脳虚血後の神経細胞死は本受容体の過剰な刺激によって誘発され、種々の神経細胞障害に起因する病態との関連が示されている。それ故、選択的 NMDA 受容体拮抗剤は神経変性疾患治療薬として、また脳高次機能解明に有効なツールとしての可能性が期待されている。

5-HT 及び NA 再吸収阻害に基づく抗うつ薬であるラセミ体の(±)-ミルナシプランは、*in vitro* 及び *in vivo* で弱いながらも NMDA 受容体拮抗作用を有する。(±)-ミルナシプランはシクロプロパン誘導体であり、従来の代表的な NMDA 受容体拮抗剤とは構造的に異なり、薬理的にも異なる興味深い特徴を有している。本化合物をリードとして誘導体を合成することで、より有用な新規 NMDA 受容体拮抗剤の創製が可能であると考えた。

薬理活性の増強や受容体選択性の向上のための一手段として、リード化合物の立体配座を固定した配座制限誘導体を合成する方法が利用されている<sup>12)</sup>。薬物が有効に薬理作用を発現するためには薬物と受容体が強く、高選択的に結合することが必要であり、活性に重要な官能基を一定の空間配置に固定するこの手法は、受容体との結合に最適な薬物の立体配座を探索するためにも有効である。

そこで著者は NMDA 受容体拮抗活性の増強と 5-HT 及び NA 再吸収阻害作用の除去を目的として、シクロプロパン環上の隣接する置換基間に生じる強い立体反発を利用した新規な配座制御法を考案し、(±)-ミルナシプランの配座制限誘導体の分子設計を行った。即ち、(±)-ミルナシプランの活性に重要な 3 つの官能基 (フェニル基、*N,N*-ジエチルカルバモイル基、アミノメチル基) の立体配座を制御した配座制限誘導体として、アミノ基の隣接位にアルキル基としてメチル基、エチル基を導入した *type I, II, III, IV* の立体構造を有する計 8 種類の光学活性体を設計した。

配座制限誘導体の合成を行うにあたって、まずキラルなミルナシプランの効率的な合成法を確立した。*R*-エピクロロヒドリンとフェニルアセトニトリルの分子間置換反応により、鍵中間体となるシクロプロパンラク톤を高い光学純度で得ることができ、ラク톤体の開環、アジド化、接触水素還元

を経て高収率で簡便に(+)-ミルナシプランを合成することができた。*S*-エピクロロヒドリンを出発原料として同様に(-)-ミルナシプランも合成できた。さらに、これまで未知であったミルナシプランの両対掌体の絶対構造を決定した。(+)体が(-)体よりも強いNMDA受容体親和性、及び5-HT再吸収阻害作用を示したことから、(+)-ミルナシプランが両活性に寄与していることと、抗うつ作用発現に主に寄与するミルナシプランの絶対構造を明らかにした。

(+)-ミルナシプランの合成中間体であるアルコール体を Swern 酸化して得られたシクロプロピルカルバルデヒドに対する Grignard 反応で、1'*S*-アルコール体が高選択的に生成した。このアルコール体の絶対配置は <sup>1</sup>H-NMR による結合定数と改良 Mosher 法を用いることにより決定した。1'*S*-アルコール体からアジド化、還元を経て *type I* の配座制限誘導体を合成し、その1'位のジアステレオマーである *type III* の配座制限誘導体は1'*R*-アルコール体から同様な方法で合成した。1'*R*-アルコール体は1'*S*-アルコール体を PDC 酸化して得られたシクロプロピルケトンに対する DAIBAL-H 還元により高選択的に生成した。*type II* 及び *type IV* の配座制限誘導体は(*S*)-エピクロロヒドリンから同様に合成し、*type I* ~ *IV* の配座制限誘導体を効率的且つ簡便に得る方法を構築した。上述のシクロプロピルカルバルデヒドに対する Grignard 反応やシクロプロピルケトンの還元反応において認められた高い面選択性は、シクロプロパンと隣接位のカルボニル基の共役効果が最大になる二等分配座類似の遷移状態を経て反応が進行するために得られたと推測している。

*type II* 及び *type IV* の配座制限誘導体の X 線結晶解析を行った。その結果、推論したとおりの配座が結晶中で安定であることを示していた。さらに溶液中での安定配座や真空中での理論計算によって求めた安定配座とも一致していた。以上のことから考案した配座制御法が妥当であることが明らかになり、本配座制御法の有用性が示された。

8 種類の配座制限誘導体の NMDA 受容体親和性と 5-HT 再吸収阻害作用を調べた結果、*type I* の立体構造を有する配座制限誘導体がミルナシプランと比較して約 20 倍以上強い NMDA 受容体への親和性を示し、エチル誘導体 (PPDC) においては薬理作用の分離も認められた。以上の結果より、*type I* の立体構造を有する配座制限誘導体が NMDA 受容体に対する活性立体配座であることが示唆された。さらに有効な NMDA 受容体特異的拮抗剤を目指して、1'-位に各種炭素置換基 (Pr, *i*Bu, Ph, vinyl, ethynyl, cyano, carboxyl) を有する *type I* の配座制限誘導体を合成した。これらの中で1'-ビニル誘導体と1'-エチニル誘導体は1'-エチル及び1'-メチル誘導体と同等の強い NMDA 受容体への親和性を示したが、5-HT 再吸収阻害作用も維持していた。

PPDC の *in vivo* における有効性を評価した。その結果、PPDC は砂ネズミ虚血モデルでの遅発性神経細胞死抑制効果やマウスパーキンソン病モデルでの運動性抑制に対する改善効果が認められた。従来の MK-801 などの NMDA 受容体アンタゴニストは幻覚、記憶障害、行動異常などの副作用が確認されているが、PPDC では MK-801 と異なり、有効投与量でマウスの行動異常は認められなかった。さらに MK-801 と PPDC 投与ラットにおいて水迷路試験を行った結果、MK-801 は記憶障害が認められたのに対し、PPDC は記憶を保持しており、神経変性疾患治療薬として有用である可能性が示唆された。

電気生理学的な実験や結合阻害実験からは、PPDC の結合部位は NMDA 受容体上のグルタミン酸、

グリシン結合部位やチャネル内部の結合部位とは異なることが示唆され、これまで未開発であった  $Zn^{2+}$  結合部位である可能性が示された。

さらに CHO 細胞に発現させた 4 種類の NMDA 受容体サブユニットに対する PPDC の選択性を調べたところ、 $\epsilon 1$  以外の 3 つのサブユニットに対して選択性を示した。以上の実験結果をまとめると、PPDC は従来のアンタゴニストとは異なる作用機序を示す新規な NMDA 受容体特異的拮抗剤であることが示唆された。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 松 田 彰  
副 査 助 教 授 周 東 智  
副 査 教 授 橋 本 俊 一  
副 査 助 教 授 中 島 誠

学 位 論 文 題 名

## シクロプロパン環の構造特性を利用した 配座制御法による分子設計

～新規 NMDA 受容体特異的拮抗剤の創製～

グルタミン酸受容体は哺乳類の中枢神経において興奮性シナプス伝達を担う。NMDA 受容体はグルタミン酸受容体のサブタイプの一つであり、記憶や学習の分子基盤として注目されている。一方、選択的 NMDA 受容体拮抗剤は神経変性疾患治療薬として、また脳高次機能解明に有効なツールとしての可能性が期待されている。小野静香は、以下に述べるようにシクロプロパン環の構造特性に基づく新規配座制御法を考案し、新しいタイプの NMDA 受容体拮抗剤を開発した。さらにその過程で、シクロプロパン誘導体に関して有機化学的に有用な事実を明らかにした。

5-HT 及び NA 再吸収阻害に基づく抗うつ薬である (±)-ミルナシブランは、弱いながらも NMDA 受容体拮抗作用を有する。(±)-ミルナシブランはシクロプロパン誘導体であり、従来の代表的な NMDA 受容体拮抗剤とは構造的に異なり、薬理的にも異なる興味深い特徴を有している。本化合物をリードとして誘導体を合成することで、より有用な新規 NMDA 受容体拮抗剤の創製が可能であると考えた。

そこで NMDA 受容体拮抗活性の増強と 5-HT 及び NA 再吸収阻害作用の除去を目的として、シクロプロパン環上の隣接する置換基間に生じる強い立体反発を利用した新規な配座制御法を考案し、(±)-ミルナシブランの配座制限誘導体の分子設計を行った。即ち、(±)-ミルナシブランの活性に重要な 3 つの官能基（フェニル基、*N,N*-ジエチルカルバモイル基、アミノメチル基）の立体配座を制御した配座制限誘導体として、アミノ基の隣接位にアルキル基としてメチル基、エチル基を導入した *type I, II, III, IV* の立体構造を有する計 8 種類の光学活性体を設計した。さらに、これらの研究途上で、臨床で頻繁に使用されるラセミ体抗うつ薬ミルナシブランの薬理活性が、(1*S*,2*R*)-型エナンチオマーに主に由来することを明らかにした。

配座制限誘導体の合成を行うにあたって、まずキラルなミルナシブランの効率的な合成

法を確立した。*R*-エピクロロヒドリンとフェニルアセトニトリルの分子間反応により、鍵中間体となるシクロプロパンラク톤を高い光学純度で得た。この中間体より、*type I* 及び *II* 型の配座制限誘導体を合成した。一方、*R*-エピクロロヒドリンより同様の方法で *type III* 及び *IV* 型の配座制限誘導体を合成した。

上記研究過程で、 $\alpha$ -シクロプロピルカルボニルへの立体電子効果に基づく高立体選択的求核付加反応を見出した。即ち、 $\alpha$ -シクロプロピルカルボニルへの求核付加反応は、シクロプロパン環の強い $\sigma$ 電子供与性に起因する軌道相互作用が遷移状態を効果的に安定化する *s-cis* あるいは *s-trans* 二等分配座を経て進行し、その立体選択性は、これら遷移状態への立体障害の小さい面からの求核攻撃として一般的に理解・予測できることを明らかにした。

合成した配座制限誘導体の X 線結晶解析の結果、推論したとおりの配座が結晶中で安定であることを示していた。さらに溶液中での安定配座や真空中での理論計算によって求めた安定配座とも一致していた。以上のことから考案した配座制御法が妥当であることが明らかになり、本配座制御法の有用性が示された。

8 種類の配座制限誘導体の NMDA 受容体親和性と 5-HT 再吸収阻害作用を調べた結果、*type I* の立体構造を有する配座制限誘導体がミルナシプランと比較して約 20 倍以上強い NMDA 受容体への親和性を示し、エチル誘導体 (PPDC) においては薬理作用の分離も認められた。以上の結果より、*type I* の立体構造を有する配座制限誘導体が NMDA 受容体に対する活性立体配座であることが示唆された。

PPDC の *in vivo* における有効性評価の結果、PPDC は砂ネズミ虚血モデルでの遅発性神経細胞死抑制効果やマウスパーキンソン病モデルでの運動性抑制に対する改善効果が認められた。従来の MK-801 などの NMDA 受容体アンタゴニストは幻覚、記憶障害、行動異常などの副作用が確認されているが、PPDC では MK-801 と異なり、有効投与量でマウスの行動異常・記憶障害が認めらなかったことから、神経変性疾患治療薬として有用性が示唆された。さらに、電気生理学的な実験や結合阻害実験か、あるいはサブタイプ選択性の検討から、PPDC は従来のアンタゴニストとは異なる作用機序を示す新規な NMDA 受容体特異的拮抗剤であることが示唆された。以上の知見より、PPDC は薬理的ツールあるいは創薬リードとしての利用が大いに期待される有用な化合物であることが明らかになった。

以上の成果は、今後の医薬分子の設計、シクロプロパン環の化学・医薬化学、さらに NMDA 受容体研究あるいはそれをターゲットとする創薬に大いに寄与するもので、薬学博士の学位を授与するに値するものと判断した。