

学位論文題名

三次元多様性を備えた配座制御型分子設計による
ヒスタミンH₃及びH₄受容体リガンドの創製研究

学位論文内容の要旨

立体自由度の大きな生理活性物質を配座制限することは、薬理活性の改善に有効な手段である。環構造で最小のシクロプロパンを分子内へと導入すると、立体的自由度がないというシクロプロパンの構造特性によって、活性発現に必要な特定の官能基をエクステンド型、もしくはフォールド型の一定の三次元配置へと制限できる。即ち、対掌体も含めて一つの鎖状分子を4通りの異なる立体化学の配座制限誘導体へと変換できる。このためシクロプロパンは生理活性物質の配座制限に有効に利用されてきた。しかし、シクロプロパン誘導体の4つの立体異性体を系統立てて合成することは容易ではなかった。そこで当研究室では、シクロプロパンを創薬化学研究に効果的に活用するべく、シス及びトランス形光学活性シクロプロピルアルデヒドを汎用性創薬用シクロプロパンユニットとして開発した。

ところで、生理活性物質であるヒスタミンの受容体サブタイプ H₃ 及び H₄ 受容体に選択的リガンドはそれぞれ、アルツハイマー病など様々な中枢性疾患治療薬、及び抗炎症薬として期待されているものの、未だ医薬として応用された例はない。これは H₃/H₄ 受容体間の選択性の発現が容易ではないからである。その要因として、これら両受容体が膜タンパク質である G タンパク質共役型受容体 (GPCR) のために三次元構造が解析できないことに加えて、両サブタイプのリガンド認識を担う膜貫通領域におけるアミノ酸配列の相同性が非常に高いことが挙げられる。事実、H₄ 受容体が 2000 年に見出されて以降、それまで H₃ 受容体特異的だと考えられていたリガンドが H₄ 受容体にも作用する事が明らかとなった。当研究室では、先の創薬用シクロプロパンユニットを鍵中間体としてヒスタミン配座制限誘導体を設計・合成し、初のヒスタミン H₃ 受容体選択的アゴニストを見出した。

以上の知見を踏まえ筆者は、三次元多様性を備えた配座制御型分子設計に基づくヒスタミン H₃ 及び H₄ 受容体特異的アンタゴニストの創製を計画し、論理的な分子設計に基づいた初めてのナノモラーレベルの親和性を示す H₄ 受容体アンタゴニストを見出した。さらに、両受容体との結合に必要な官能基の三次元配置、すなわち活性配座を考察・解析した。

当研究室で先に開発された、ヒスタミン構造にシクロプロパンを導入した配座制限誘導体が H₃ 受容体に高い選択性を示したことから、H₃ 及び H₄ 受容体に対するヒスタミンの活性配座は異なり、配座制限によって各サブタイプを差別認識できる可能性があると考えた。つまり、ヒスタミンのイミダゾールとアミノ基との三次元配置を系統的かつ多様に制限すれば、H₃ 受容体のみならず H₄ 受容体に選択的リガンドも同時に見出せるのではないかと推論した。さらに、H₃ 受容体選択的アゴニストを基本骨格として、末端アミノ基に脂溶性基を導入することにした。これは、導入した脂溶性基が受容体と新たな疎水性相互作用することで、受容体との親和性の増強、及び、受容体の構造変化が妨げられることによるアゴニスト活性の消失と、それに伴うアンタゴニスト活性の発現を期待したものである。即ち、選択的アゴニストから選択的アンタゴニ

ストへと機能変換できるのではないかと考えた。そこで、イミダゾールとアミノ基との三次元配置をエクステンド型及びフォールド型に制限し、さらにメチレン鎖炭素数を変えることで距離を調節して、幅広い三次元的多様性を持たせた一連の配座制限誘導体計 16 種類を設計した。脂溶性基としては 4-クロロベンジル基又はシクロヘキシルメチル基を選択した。

本研究の遂行のためには、前述した創薬用シクロプロパンユニットの大量供給が不可欠である。しかし先に開発された合成方法には、再現性に問題があった。そこで、大量合成に耐える実用的かつ効率的なシクロプロパンユニット改良合成法を新たに開発した。

改良合成法によって得られたシクロプロパンユニットを鍵中間体とすることで、系統立てて標的化合物が合成できると考え、目的の配座制限誘導体の立体化学に対応するシクロプロパンユニットから、合計 16 種のヒスタミン配座制限誘導体を得た。

合成した各化合物について、ヒスタミン各サブタイプに対する親和性および機能活性を評価した。その結果、全ての化合物がアゴニスト活性を全く示さなかった一方で、H₃ および H₄ 受容体においてアンタゴニスト活性を発現した。すなわち、H₃ および H₄ 受容体に対するアンタゴニストへと機能変換することに成功し、アゴニスト結合部位近傍に疎水性相互作用が可能な部位が存在していることを明らかにした。さらに、論理的分子設計に基づく初めての nM レベルの親和性を有する強力な H₄ 受容体アンタゴニストが見出され、16 分の 1 という極めて高い確率で望みの活性を有したリガンドを開発することに成功した。

H₃ 受容体アゴニストを H₃ および H₄ 受容体アンタゴニストへと機能変換することに成功したが、先の見出されたアンタゴニストは、非常に強力な親和性を示すものの H₃/H₄ 受容体間での選択性が低いことが欠点であった。そこでこの化合物構造をリードとし、高い親和性を保持しつつ、H₃ もしくは H₄ 受容体に高い選択性を有したリガンドの創製を新たに計画した。すなわち、シクロプロパン隣接炭素上にエチル基を導入した一連の配座制限誘導体を新たに設計した。アルキル基をシクロプロパン隣接炭素上に導入すると、シクロプロパン上のシス位の置換基同士による 1,3-アリル歪み様の強い立体反発 (シクロプロパン歪み) が生じる。その結果、活性発現に重要なシクロプロパン上の官能基がエチル基を導入したシクロプロパン隣接位の立体化学に依存して異なる三次元配置へとより厳密に制御され、H₃ 及び H₄ 受容体への選択性が向上することを期待した。また、シクロプロパン上の置換基がどのような三次元配置で各受容体サブタイプに結合しているのか、すなわち H₃ および H₄ 受容体における活性配座に関する知見も得られると推測した。

目的の配座制限誘導体は、先と同様に対応するシクロプロパンユニットを利用することで系統立てて合成できた。

合成した各化合物のヒスタミン H₃ 及び H₄ 受容体に対する親和性を評価した。その結果、いくつかの化合物がエチル基のない親化合物と同程度の親和性を示したものの、H₃ 及び H₄ 受容体の選択性は改善されなかった。エチル基を導入した化合物について、NMR 及びコンピューターによる安定配座の解析を行ってシクロプロパン歪みによって制限されているシクロプロパン上の置換基の三次元配置を確認した。さらにホモロジーモデリングによる H₃ および H₄ 受容体の三次元構造モデルを構築し、合成した化合物とのドッキングスタディを行った。これらの結果と親和性の強度から、H₃ および H₄ 受容体との結合におけるシクロプロパン上の置換基の好適な三次元配置、すなわち両受容体における活性配座に関する有用な知見を得ることに成功した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 周 東 智
副 査 教 授 小 林 淳 一
副 査 准教授 有 澤 光 弘
副 査 講 師 久保田 高 明

学 位 論 文 題 名

三次元多様性を備えた配座制御型分子設計による ヒスタミンH₃及びH₄受容体リガンドの創製研究

立体自由度の大きな生理活性物質を配座制限することは、薬理活性の改善に有効な手段である。最小環構造シクロプロパンを分子内へと導入すると、立体的自由度がないというシクロプロパンの構造特性によって、活性発現に必要な特定の官能基をエクステンド型、もしくはフォールド型の一定の三次元配置へと制限できる。即ち、対掌体も含めて一つの鎖状分子を四通りの異なる立体化学の配座制限誘導体へと変換できる。一方、神経伝達物質であるヒスタミンの受容体サブタイプであるH₃及びH₄受容体を選択的なリガンドはそれぞれ、アルツハイマー病など様々な中枢性疾患治療薬、あるいは抗炎症薬等として利用が期待されているものの、未だ医薬として応用された例はない。このような状況を鑑み、渡邊瑞貴は上述のシクロプロパンの特性を活用したH₃及びH₄受容体アンタゴニスト創製研究を展開し、以下に述べるような顕著な成果をあげた。

1. 創薬用シクロプロパンユニットの大量合成法の確立

シクロプロパンは生理活性物質の配座制限に有用であるが、四つの立体異性体を系統的に合成することは従来容易ではなかった。創薬有機化学研究室では、シクロプロパンを創薬化学研究に効果的に活用するべく、シス及びトランス形光学活性シクロプロピルアルデヒドを汎用性創薬用ユニットとして先に開発した。しかし、先の合成方法には、特に大量合成における再現性に問題があった。これを踏まえ、大量合成に適する実用的かつ効率的なシクロ

プロパンユニット改良合成法を新たに開発した。

2. ヒスタミン H₃ および H₄ 受容体アンタゴニストの創出

薬物標的分子の構造が不明な場合、その標的に特異的に結合する低分子を効率的に見出すには三次元的多様性に基づく分子設計が有効と考えられる。そこで、上記シクロプロパンユニットを活用する H₃ および H₄ 受容体アンタゴニストの開発に取り組んだ。特に既知のアゴニストの構造の適当な部位に脂溶性基を導入することでアンタゴニストへの変換が可能と推論し、三次元的多様性を備えた合計 16 種のヒスタミン配座制限誘導体を本ユニットから設計・合成した。薬理活性評価の結果、H₃ および H₄ 受容体に対する極めて強力なアンタゴニストを創製することに成功した。この結果は、アゴニストをアンタゴニストへと論理的に変換し、さらに 1 / 16 という高確率で目的とする薬理活性を備えた化合物を獲得することに成功したことを意味する。即ち、シクロプロパンの特性を活用する三次元的多様性に基づく分子設計が創薬化学研究において有効であることを明確に示すものである。

3. シクロプロパン歪みに基づく配座制限誘導体の設計・合成と活性配座解析

アルキル基をシクロプロパン隣接炭素上に導入すると、シクロプロパン上のシス位の置換基同士による強い立体反発 (シクロプロパン歪み) が生じる。その結果、活性発現に重要なシクロプロパン上の官能基がシクロプロパン隣接位の立体化学に依存して異なる三次元配置へとより厳密に制御される。この性質を利用して上記アンタゴニスト構造中で活性発現に重要な側鎖部の配座を厳密に制限した誘導体を設計・合成し、薬理活性を評価した。さらに、ホモロジーモデリングによる H₃ および H₄ 受容体の三次元構造モデルを構築し、合成した化合物とのドッキングスタディを行った。その結果、H₃ および H₄ 受容体との結合時における活性配座を解析することに成功した。

以上のように、渡辺瑞貴はシクロプロパンの特性を活用する創薬化学研究に取り組み、H₃ および H₄ 受容体アンタゴニストを論理的に創製し、その活性配座を解析した。さらに、この研究を通して三次元的多様性を備えた配座制限を鍵とする分子設計法の有用性を明らかにした。これらの成果は創薬化学上の意義は高く、またその発展に大いに寄与するものであり、薬学博士の学位を授与するに十分に値するものと判断した。