

学位論文題名

ヒスタミンH₃ 及びH₄ 受容体選択的アンタゴニストの創製
研究

学位論文内容の要旨

ヒスタミンは血管透過性や線分泌の亢進など多くの生理機能に関与する重要な化学伝達物質であり、その受容体としてH₁からH₄受容体まで4種のサブタイプが存在する。H₁アンタゴニストは抗アレルギー薬、H₂アンタゴニストは潰瘍治療薬として古くから臨床応用されている。一方、H₃及びH₄受容体を標的とした薬は、H₃アンタゴニストが中枢疾患治療薬、H₄アンタゴニストが免疫系疾患治療薬として期待されているものの未だ臨床薬は存在しない。その要因として、H₃およびH₄受容体間のアミノ酸配列の相同性が非常に高く、選択性発現が難しいことが挙げられる。

一方筆者の所属する研究室では、シクロプロパンの構造特性に基づきヒスタミンの配座を三次元多様に制限したヒスタミン配座制限誘導体を設計・合成し、ヒスタミンのイミダゾールとアミノ基を *up-trans* シクロプロパン骨格で制御した化合物が強力なアンタゴニストであることを見いだしている。しかし、この化合物にはH₃及びH₄受容体間の選択性がない。そこで筆者はこの化合物をリード化合物として受容体間の選択性の改善を目標とした①リガンドベースの構造活性相関研究、②ビシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を用いた配座制御法の開発、③H₃及びH₄受容体ホモロジーモデルの構築と構造活性相関の解析を行った。

①リガンドベースの構造活性相関研究

既知のH₄選択的リガンドの構造活性相関を理解するため、リード化合物の *up-trans* シクロプロパン骨格を保持したまま、既知のH₄選択的アンタゴニストの構造を導入した化合物を設計・合成し薬理活性評価を行なった (Kobayashi, T. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 1076)。しかしながら何れも目標とした受容体間の高い選択性は発現しなかった。そのためリガンドベースの構造活性相関のみでは異なるケモタイプのリガンドの構造活性相関を理解し狙った選択性を発現させることは簡単ではないと考え、リガンドのみではなく受容体の三次元構造を解析し理解した上での分子設計、即ち *Structure-Based Drug Design (SBDD)* を行なうことを計画した。また、本研究を行なう際に、インドールやキノリンなどの二環性複素環の2位に光学活性なシクロプロパンが直接結合した化合物の合成法が必要となりその合成法を開発した (Kobayashi, T. *et al.*, *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, *9*, 1219)。

②ビシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を用いた配座制御法の開発

H₃及びH₄受容体はG蛋白質共役型受容体 (G-Protein Coupled Receptor, GPCR) であるが、GPCRにおけるSBDDは、誘導適合に基づくリガンド認識に加え、X線結晶構造情報自体が少なく難しい。実際に筆者の標的蛋白質であるH₃及びH₄受容体の三次元構造は得られていない。そこで、構造既知の標的蛋白質の三次元構造を鋳型に、標的蛋白質の三次元構造を組み上げるホモロジーモデリングを用いることとした。構築したホモロジーモデルをSBDDに用いる際には、そのモデルの精度が重要となるが、筆者は化合物自身の取りうる配座が少ない配座制御誘導体のドッキングスタディはドッキングポーズの

判別が容易となり精度が向上すると考えた。

当研究室では、先のリード化合物のシクロプロパン隣接位にエチル基を導入し、シクロプロパン歪みによりシクロプロパン隣接位の配座を制御した化合物を用いて H₃ 及び H₄ 受容体における化合物の受容体結合時の配座、即ち活性配座の探索をおこなっている。しかし、シクロプロパン歪みを用いた配座制御法には、シクロプロパン歪み発現のために導入するアルキル基が立体障害となり活性が低下する可能性が一般的に存在する。そこで、この立体障害を回避しつつシクロプロパン歪みの場合と同様に制御する、シクロプロパン歪みと対となる配座制御法として、筆者はビスクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を用いた配座制御法を考案した。この骨格により配座を制御したヒスタミン配座制限誘導体 4 種を設計、ビスクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を有する汎用性ユニットの合成法を確立後、各種官能基変換により合成を達成した。結合親和性評価の結果、全ての化合物で H₄ 受容体における親和性が低下し、H₃ 選択性を示した。特にシクロプロパンが **down**、シクロプロパンと側鎖アミノアルキル側鎖の配向が *syn* の化合物が H₃ 受容体に強力な親和性と高い選択性を有することが分かった (H₃ K_i = 5.6 nM, H₄ K_i = 602 nM, H₄ / H₃ = 108)。

③ヒスタミン H₃ 及び H₄ 受容体ホモロジーモデルの構築と構造活性相関の解析

2011 年に報告された H₁ 受容体の X 線結晶構造を鋳型にホモロジーモデリングにより H₄ 受容体モデルを構築した。得られたモデルに対し、既知の H₄ 受容体選択的アンタゴニスト JNJ7777120 のドッキングと分子動力学シミュレーションを行い H₄ 受容体モデルの最適化と選択性発現機構について検討した。その結果、H₄ 受容体モデルとの結合において、7 番目の膜貫通領域のグルタミン (Gln^{7.42}) との水素結合が特徴的な相互作用として確認された。H₃ 受容体においてこの位置に相当する残基は水素結合できないロイシン (Leu^{7.42}) であるため、この位置の残基の違いが JNJ7777120 の高 H₄ 選択性の要因と考えられた。

次に、得られた H₄ 受容体モデルを②で合成した 4 種を含むシクロプロパン型ヒスタミン配座制限誘導体 20 種を用いて最適化し最終的な H₄ 受容体モデルを得た。この H₄ 受容体モデルを鋳型としてホモロジーモデリングによって H₃ 受容体モデルを構築し、H₄ 受容体の場合と同様に最適化することで最終的な H₃ 受容体モデルを得た。

ドッキングスタディの結果、H₃ 選択性を示したビスクロ[3.1.0]ヘキサン骨格による配座制限誘導体では、H₄ 受容体モデルにおいて Gln^{7.42} との立体障害が生じ、H₃ 受容体モデルでは立体障害は生じなかった。このことからこの残基の違いが両受容体間の選択性に関与していると示唆できる。

上に記した筆者の学位論文内用をまとめると以下の様になる。

1. ビシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を用いたシクロプロパン歪みと対になる配座制御法を考案し、その汎用性ユニットとしての合成法を確立した。
2. ビシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を有するヒスタミン配座制限誘導体の設計・合成から、H₃ 受容体高選択的なリガンドを見いだした。
3. ヒスタミン受容体モデルの評価及び最適化を、一連のヒスタミン配座制限誘導体の構造活性相関を用いて行なうことで精度を向上させ、その構造活性相関を説明可能な H₃ 及び H₄ 受容体ホモロジーモデルを構築した。
4. 得られた受容体モデルから両受容体間の選択性を理解する知見を得た。

学位論文審査の要旨

主査	教授	周東	智
副査	教授	佐藤	美洋
副査	准教授	有澤	光弘
副査	客員教授	広川	貴次 (連携分野)

学位論文題名

ヒスタミンH₃ 及びH₄ 受容体選択的アンタゴニストの創製 研究

博士学位論文審査等の結果について (報告)

本論文は、多くの生理機能に関与する重要な化学伝達物質であるヒスタミン受容体における、サブタイプ選択的リガンドの論理的創製に関するものである。

H₃ アンタゴニストが中枢疾患治療薬、H₄ アンタゴニストが免疫系疾患治療薬として期待されているものの、H₃ および H₄ 受容体間のアミノ酸配列の相同性が非常に高く、選択性発現が難しい。ヒスタミンのイミダゾールとアミノ基を *up-trans* シクロプロパン骨格で制御した化合物が強力なアンタゴニストであるが、H₃ 及び H₄ 受容体間の選択性がない。著者はこれをリード化合物として受容体間選択性の改善を目標とした 1.リガンドベースの構造活性相関研究、2.ピシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を用いた配座制御法の開発、3.H₃ 及び H₄ 受容体ホモロジーモデルの構築と構造活性相関の解析を行なった。

1. リガンドベースの構造活性相関研究

リード化合物の *up-trans* シクロプロパン骨格を保持し、既知の H₄ 選択的アンタゴニストの部分構造を導入した化合物を設計・合成し薬理活性評価を行なったが、本方法論では、目標とした受容体間の高い選択性は発現しないことが示唆された。一方、本研究において、インドールやキノリンなどの二環性複素環の2位に光学活性シクロプロパンが直接結合した化合物の合成法が必要となり、その新規合成法を開発した。

2. ピシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を用いた配座制御法の開発

従来のシクロプロパン歪みを用いた配座制御法では、導入するアルキル基が立体障害となり活性が低下する可能性がある。この立体障害を回避し、かつシクロプロパン歪みと同様の制御が可能なピシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を用いた配座制御法を考案し、この骨格により配座制御したヒスタミン誘導体 4 種を設計した。まず、ピシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を有する汎用性ユニットの合成法を確立後、各種官能基変換により合成を達成した。その結果、特にシクロプロパンが *down*、シクロプロパンと側鎖アミノアルキル側鎖の配向が *syn* である化合物が H₃ 受容体高選択性を有することを明らかにした。

3. ヒスタミン H₃ 及び H₄ 受容体ホモロジーモデルの構築と構造活性相関の解析

上述の結果に基づき、リガンドのみではなく受容体の三次元構造の解析・理解を基盤とする子設計、即ち Structure-Based Drug Design (SBDD) を行なうことにした。

H₁ 受容体の X 線結晶構造を鋳型にホモロジーモデリングにより H₄ 受容体モデルを構築した。既知の H₄ 受容体選択的アンタゴニスト JNJ777120 のドッキングと分子動力学シミュレーションを行い、H₄ 受容体モデルの最適化と選択性発現機構を検討した。その結果、H₄ 受容体モデルとの結合において、Gln^{7.42} との水素結合が特徴的な相互作用として確認された。H₃ 受容体においてこの位置は Leu^{7.42} であるため、この位置の残基の違いが JNJ777120 の高 H₄ 選択性発現の要因であることを示した。

次に、得られた H₄ 受容体モデルを先に合成した 4 種を含むシクロプロパン型ヒスタミン配座制限誘導体 20 種を用いて最適化し、最終的な H₄ 受容体モデルを得た。この H₄ 受容体モデルを鋳型としてホモロジーモデリングによって H₃ 受容体モデルを構築し、H₄ 受容体の場

合と同様に最適化することで最終的な H₃ 受容体モデルを得た。リガンド認識において、H₄ 受容体モデルでは Gln^{7.42} に起因する立体障害が生じるが、H₃ 受容体モデルでは生じないことが、両受容体間の選択性に関与していることを示す結果を得た。

以上述べたように、著者は、ヒスタミン受容体リガンドの構造活性相関、さらに、受容体分子モデリングとそのリガンド認識に関する重要な新知見を得た。この成果は、創薬化学において貢献するところ大なるものがある。よって著者は、北海道大学博士（薬科学）の学位を授与される資格があるものと認める。