

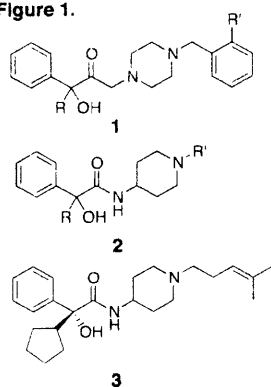
審査の結果の要旨

氏名 三ッ谷 守 弘

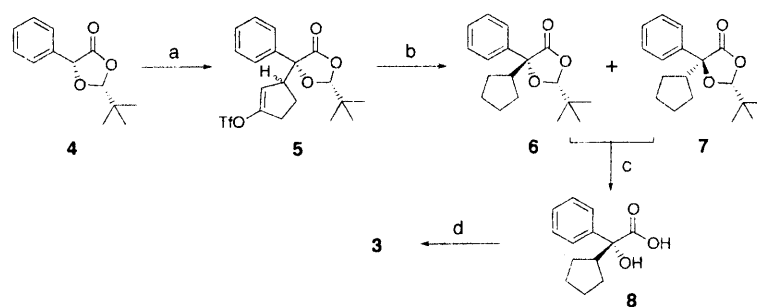
これまでにムスカリンレセプターは、5つのサブタイプ (m1-m5) がクローニングされ、m5の機能は未知であるがm1-m4はそれぞれ対応するM1-M4に薬理的に分類されている。これらサブタイプのうち、M3レセプターは主に気道、膀胱等の末梢平滑筋に存在し、その収縮に関与していることから、M3レセプターアンタゴニストは効果的な気管支拡張薬または頻尿治療薬として有用であると考えられる。またM3レセプターアンタゴニストは、既存の非選択的アンタゴニストの重篤な副作用であるM2レセプター阻害に由来する頻脈及びM1レセプター阻害による健忘を軽減することも期待できる。これらの理由から、サブタイプ選択性を持つM3レセプターアンタゴニストの開発に着手した。

これまでに数多くの構造活性相関に関する研究がなされているが、サブタイプ間のホモロジーが高いために選択的リガンドの開発は非常に困難であるとされている。三ッ谷 守弘の研究開始時においては、ピペラジン誘導体 (1) が摘出組織を用いたアッセイ系において選択性を示すことが Scios Nova 社より報告されているのみであった。しかしながら、化合物 (1) のM3レセプターに対する活性は低く、毒性も見られたことから、化合物 (2) を新たなリード化合物としてデザインした。構造の最適化においては、コンピューターモデリングにより推定される化合物 (2) とM3レセプターとの結合様式を考慮し、特にピペリジンN-置換基の変換を中心に行った。その結果、高いM3レセプター親和性 ($K_i = 4.2 \text{ nM}$) とM2レセプターに対する選択性 (120倍) を示す化合物 (3) を見出すことに成功した (Figure 1)。

Figure 1.



Scheme 1.



Conditions: a) LDA, 2-cyclopenten-1-one, THF, -78°C , then $\text{PhN}(\text{Ti})_2$, b) H_2 , 10% Pd-C, AcONa, MeOH, 60% from 4, c) aq. NaOH, MeOH, 95%, 86% ee, d) CDI, 4-amino-1-(4-methyl-3-pentenyl)piperidine 2HCl salt, $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$, DMF, 72%.

合成は、マンデル酸誘導体 (4) を出発原料として用い、シクロペンテノンとのマイケル付加で生成するエノラートをトリフラート (5) としてトラップした後、還元することにより目的の立体配置を持つ化合物 (6) をジアステレオ選択的に得ることができた。化合物 (6) は容易に化合物 (3) に変換可能であり、化合物 (3) の効率的合成法

を確立した (Scheme 1)。

化合物 (3) は、経口投与によって明確な気管支拡張作用を示したが、詳細な体内動態の評価により代謝安定性が低く、経口での作用は活性代謝物によるものであることが懸念された。そこで、レセプター親和性及び選択性ととも、代謝安定性を兼ね備えた化合物を探索する目的で化合物 (3) の代謝部位及び活性代謝物の同定を行った。マイクロソーム中での化合物 (3) の代謝は、ピペリジン側鎖及びシクロペンタンの酸化であることが LC-MS により確認された (Figure 2)。特に主代謝物であるシクロペンタンの酸化体の中で、(1*S*, 3*S*)-配置の水酸基を持つ化合物 (9) は比較的高い親和性 ($K_i = 18$ nM) と経口での気管支拡張作用 ($ED_{50} = 0.33$ mg/kg) を示し、また化合物 (3) の経口投与後の主代謝物の 1 つと一致したことから、化合物 (9) を活性代謝物と同定した。興味深いことに、化合物 (9) は高い代謝安定性を示すとともに、M2 レセプターに対する選択性を維持していたことから、シクロペンタン環の修飾が代謝安定性だけでなく選択性の増加にも有効である可能性が示唆された。

そこで、化合物 (9) と同じ (1*S*, 3*S*)-配置の置換基を持つ種々の誘導体を評価したところ、化合物 (10) に代表されるスルホンアミド基を持つ化合物に 1000 倍を超す非常に高い M2 レセプターに対する選択性が見られ、新規構造を有するアンタゴニストを見出すことに成功した (Table 1)。

Figure 2.

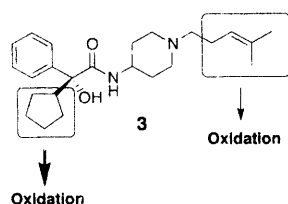


Table 1.

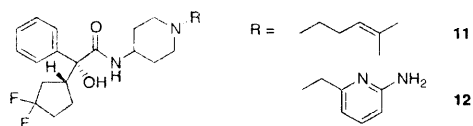
No.	R	Binding affinity ^a (K_i , nM)			Selectivity m2/m3	Metabolic stability ^b %Remaining
		m3	m1	m2		
3	H	4.2	19	490	120	10 (rat) 54 (human)
9	OH	18	88	2300	130	75 (rat), 76 (human)
10	4-NO ₂ -PhSO ₂ NH	2.5	4.6	2800	1100	38 (human)

^a The affinities were determined by inhibition of specific binding of [³H-NMS] using membranes from CHO cells expressing cloned human m1-m3 receptors

^b %Remaining after 30 min incubation in human microsomes (n > 2)

化合物 (3) は、そのシクロペンタン環の酸化が主代謝経路であることから、前述した代謝部位へのスルホンアミド基等の導入と平行して、代謝安定性の改善を目的にフッ素導入による代謝部位の保護を試みた。この過程で得られた化合物 (11) は、期待した高い代謝安定性を示すとともに、M2 レセプターに対する選択性の増加が認められた (Table 2)。さらなる経口活性及び持続性の向上をめざし、マイクロソーム中での代謝安定性及び犬における経口での気管支拡張作用を指標に、化合物 (11) のピペリジン N-置換基の最適化を行った。それら誘導体の中で、アミノピリジルメチル基を持つ化合物 (12) に、化合物 (3) をはるかに凌ぐ高い経口活性及び良好な体内動態が見られた。化合物 (12) は、その後の *in vivo* での選択性及び安全性も含めた前臨床試験が順調に進行し、慢性閉塞性肺疾患及び頻尿、尿失禁を対象疾患とした臨床開発品として選択された。

Table 2.



No.	Binding affinity (K _i , nM)			Selectivity m2/m3	Metabolic stability %(dog, human)	Oral activity ^a shifts (folds)
	m3	m1	m2			
11	6.2	22	2000	330	70, 68	4.2
12	2.8	1.5	530	190	84, 80	>64 (B.A. 70%, t _{1/2} 10 h)
3	4.2	19	490	120	31, 54	5.2 (B.A. 20%, t _{1/2} 2 h)

^a Methacholine provocation test in dogs (4 h after 1mg/kg, p.o.)
 shifts = [methacholine provocative dose after drug administration]/[methacholine
 provocative dose without drug administration]

以上の研究成果は、医薬化学として非常にレベルの高いものであり、博士（薬学）として十分な業績と判断した。