

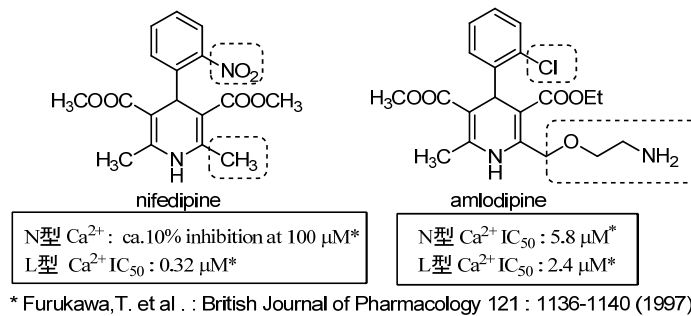
## 審査の結果の要旨

氏名 鈴木 裕一

脳血管障害は我が国で第3位の死亡順位を占め、年間約13万人の死亡者数のうち60%が脳梗塞によるものである。脳梗塞のメカニズムの有力な仮説の1つに「グルタミン酸-カルシウム仮説」がある。脳血流量の低下により脳組織のATPが枯渇し、細胞膜イオンポンプ機能が破綻し脱分極が起こり、その結果、電位依存性カルシウムチャネル (VDCC)が活性化され細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度が上昇して、神経細胞死が誘導されるというものである。VDCCの複数あるサブタイプの中で脳神経特異的なP/Q及びN型VDCCのペプチド系阻害剤が神経細胞保護効果を示す知見をもとに、鈴木はP/Q型やN型の低分子VDCC阻害剤の創出が新規脳梗塞治療薬の開発に繋がると考え、本研究に着手した。

P/Q型、N型のペプチド系VDCC阻害剤は、代謝安定性、注射剤としての水溶性、脳内移行性等が大きな課題であった。一方、それらの欠点を持たない低分子阻害剤の成功例は知られていなかったが、鈴木は以下の戦略によってその創出に向けて検討を行った。

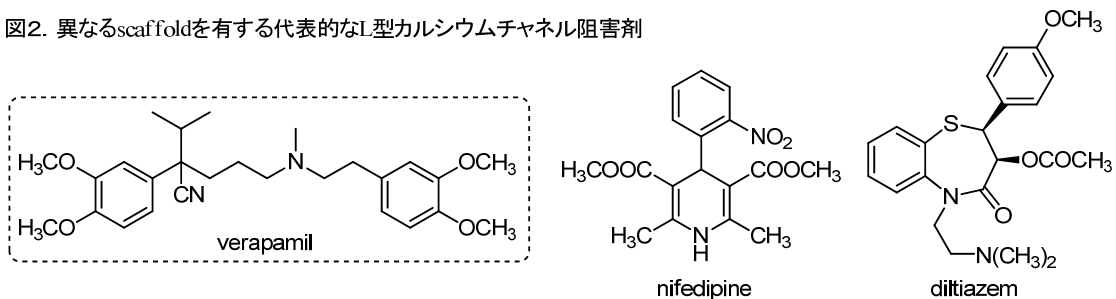
図1. ジヒドロピリジン型L型カルシウムチャネル阻害剤の側鎖変換による選択性への影響



アムロジピンはL型に加えN型の阻害作用を併せ持つことが知られており(図1)、鈴木は、ニフェジピン(L型)からアムロジピン(N型)のように、既存のL型阻害剤の側鎖変換によりL型から(P/Q型、N型等の)脳神経型へ阻害作用を変換できると作業仮説を立て検討を開始した。

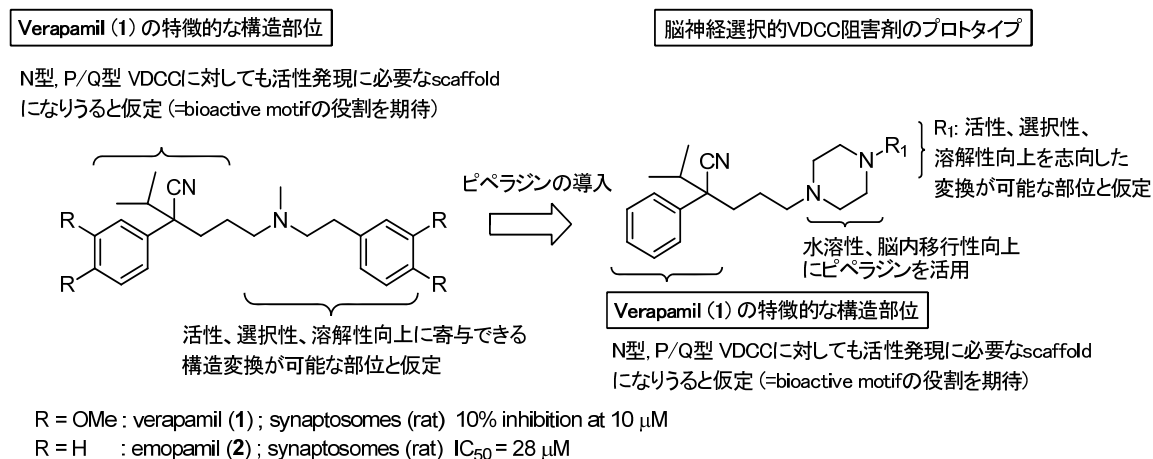
L型阻害剤には異なる3種のscaffoldが存在するが(図2)、①注射剤としての水溶性、②中枢薬に適した分子サイズ、③フォーカストライブラリー (FL) 構築を考慮してベラパミルを選択した。

図2. 異なるscaffoldを有する代表的なL型カルシウムチャネル阻害剤



まず、(1)ベラパミルの2-phenyl-3-methylbutyronitrile部分が脳神経型VDCCに対してもbioactive motifの役割を担えると仮説立て、(2)前記①、②を意図し水溶性や脳内移行性の向上が期待されるピペラジンを予め導入した基本骨格とし、その側鎖  $\text{R}_1$ の変換により活性、選択性、溶解性向上を図り、更に各部位において最適化を図った(図3)。

図3. 脳神経選択的N型、P/Q型Ca<sup>2+</sup>チャンネル阻害剤を志向したフォーカストライブラリーデザイン



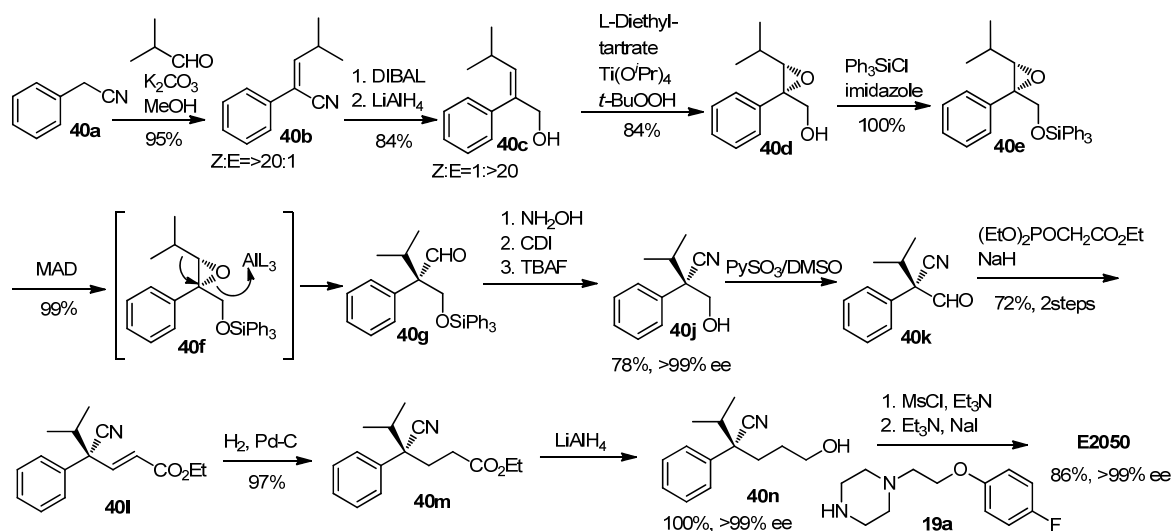
構築した FL の構造活性相関研究の結果、化合物 **4c** が *in vitro* 活性と十分な水溶性を有し、脳内移行性も期待できる化合物として見出された。これを光学分割した E2050 (**34a**)は更なる *in vitro* 活性向上の結果を示した (表 1)。

表1. 化合物**4c** (ラセミ体)、E2050 (**34a**)とそのエナンチオマー (**34b**) の*in vitro*活性

Chemical structure	Compound (chirality)	Synaptosomes IC <sub>50</sub> (μM)
	compound ( <b>4c</b> ) (racemic)	5.9
	E2050 ( <b>34a</b> ) (S)	3.0
	<i>ent</i> -E2050 ( <b>34b</b> ) (R)	9.4

更に E2050 は脳梗塞モデルにおいて脳保護効果を示し、脳梗塞治療薬としての可能性が示唆された。E2050 は L 型阻害剤をプロトタイプとしており心脈管系副作用が懸念されたが、麻酔犬を用いた心行動態試験において殆んど心臓への影響を示さず、脳神経選択的 VDCC 阻害作用と L 型 VDCC 阻害作用間の乖離が *in vivo* において確認された。

以上のように、鈴木は脳梗塞治療薬候補化合物 E2050 の創出に成功したが、更なる開発研究のために大量合成法の開発に着手した (Scheme 1)。まず、不斉合成の検討では、鍵反応として、アリルアルコールの Sharpless 不斉エポキシ化とエポキシシリルエーテルの不斉転位反応を用いた。フェニルアセトニトリル **40a** から合成した不飽和ニトリル **40b** を還元してアリルアルコール **40c** へと導いた。アリルアルコール **40c** の Sharpless 不斉エポキシ化で得たアルコール **40d** の水酸基をトリフェニルシリル基で保護し化合物 **40e** とした。更にルイス酸 MAD (methylaluminum bis(2,6-di-*t*-butyl-4-methylphenoxide)) を用いて不斉転位を行い、光学活性なアルデヒド **40g** を得た。アルデヒド **40g** をニトリルに変換した後、脱シリル化してアルコール **40j** を得た。アルコール **40j** は酸化してアルデヒド **40k** とした後、Horner-Emmons 反応、更に 2 重結合とエチルエステルを順に還元しアルコール **40n** に変換した。アルコール **40n** からメタンスルホニル化、更にピペラジン誘導體 **19a** とのカップリング反応を行い高収率、高光学純度で E2050 を得た。本不斉合成における精製は、蒸留・結晶化・ショートカラムのみで行われ、大量合成の観点からも簡便で実用的な合成法となった。



Scheme 1. E2050の不斉合成

次に鈴木は酵素法による検討を行った。固定化リパーゼを用いた有機溶媒中でのアセテート **41h** の加水分解において、アルコール **43a** の光学純度は95% eeまで向上した(表2)。トランスエステル化反応においても固定化リパーゼは優れた選択性と反応性を示し、スケールアップ条件下においても、高い光学純度と収率を得た(光学純度94.7% ee、回収率32%) (表3)。本反応は反応時間が短縮化され、また、アセテート **44a** の精製も非常に簡便化され、実用的な大量合成法となった。

表2. 有機溶媒中での酵素加水分解

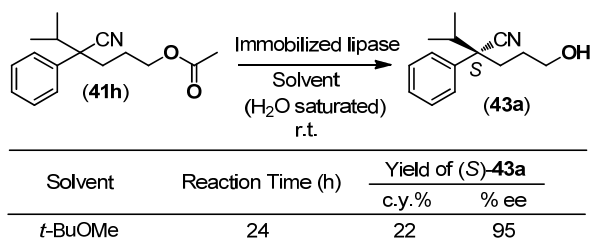
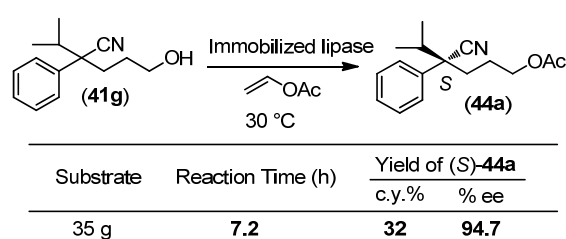


表3. スケールアップ条件下でのトランスエステル化反応



以上、鈴木はまず、L型阻害剤ベラパミルの 2-phenyl-3-methylbutyronitrile 部分を scaffold とした FL 構築から新規脳神経選択的低分子 VDCC 阻害剤 E2050 の創出に成功した。本研究の成果は脳神経選択的低分子 VDCC 阻害剤の脳梗塞治療薬としての可能性を示唆する重要な知見になると考えられる。次に Sharpless 不斉エポキシ化とエポキシシリルエーテルの不斉転位を基軸とした不斉合成法と固定化リパーゼによる光学分割法の2つの E2050 の大量合成法の開発に成功した。本研究から見出された新規四級炭素構築法は、汎用性の高い有用な経路となることが期待され、これらの研究成果は薬学研究への寄与が大きく、博士(薬学)の学位を授与するに値すると認めた。