

氏名	たかはら さとゆき 高原 理行
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	富生命博甲第 102 号
学位授与年月日	平成 30 年 3 月 23 日
専攻名	先端ナノ・バイオ科学専攻
学位授与の要件	富山大学学位規則第 3 条第 3 項該当
学位論文題目	中枢神経系に作用する有機小分子化合物の合成と評価 —Suvorexant の新規簡便合成および、新規セリンラセ マーゼ阻害薬の創製— (Synthesis and evaluations of organic small molecules acting on central nervous system -Practical synthesis of Suvorexant, and studies on novel serine racemase inhibitors-)
論文審査委員	
(主査)	教授 阿部 仁
(副査)	教授 豊岡 尚樹
(副査)	教授 森 寿
(副査)	教授 井川 善也
指導教員	教授 豊岡 尚樹

学位論文内容要旨

(ふりがな) たかはら さとゆき

氏 名 高原 理行

男

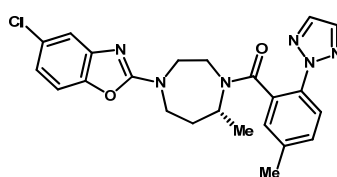
平成 29 年現在、日本は、総人口に占める 65 歳以上の割合が 27.7%にもものぼる高齢社会である。高齢化を迎えている現代社会では、痴呆、記憶障害などの原因となる神経変性疾患に対する治療薬を開発する事が、社会保健の観点や高齢者の生活の質を保持する観点から、医学的、社会的に解決すべき重要な課題である。

本研究では、中枢神経系に作用することが期待される有機小分子化合物のデザインおよび合成とそれらの薬理活性評価を目的としている。

—Suvorexant—

ターゲットタンパク質であるオレキシンは、視床下部外側野およびその周辺領域に特異的に発現している神経ペプチドである。その機能は多岐にわたるが、個体の生存に必要な機能である。¹ さらに最近、オレキシンがエネルギーの補給だけでなく代謝にも関与しており、エネルギー代謝を促進することにより肥満や糖尿病の防止に寄与していることが明らかになってきた。

現在、新しい不眠治療薬としてオレキシン受容体拮抗薬の開発が複数の製薬企業によって行われている。² 睡眠障害はインスリン抵抗性の増悪因子でもあり、オレキシン系の抑制による睡眠の改善は代謝疾患の改善にも役立つ可能性がある。³ そこで我々は既知のオレキシン受容体拮抗薬である Suvorexant (Figure 1)を用い、インスリン抵抗性の改善がみられるか検討を行いたいと考えた。



Suvorexant

Figure 1: Suvorexant の構造

Suvorexant は入手が困難であり、さらにメルク社独自の合成法しか報告例がない。(Figure 2)現在、鍵中間体である core unit である 7 員環の合成法は 4 例しか報告されていない。光学分割では収率が低く、触媒や酵素は高価なものやメルク社独自のものしかない。そこで我々は、より簡便で大量合成が容易な改良合成法の確立を目指した。

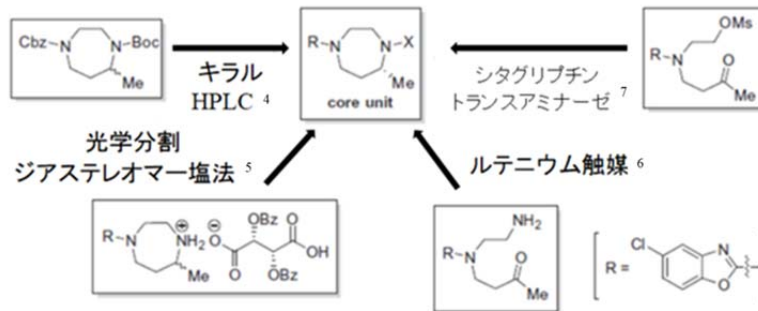
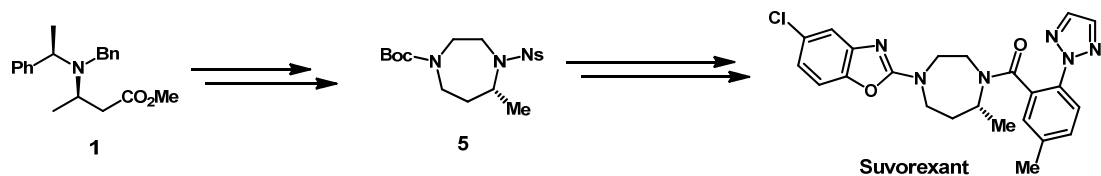


Figure 2: Synthesis example of Merck

～合成～

β -アミノエステル **1**⁸ を出発原料として用いた。この合成の鍵中間体である環化体 **5** は、光延環化反応により首尾よく合成した。その後、目的化合物である Suvorexant を計 10 工程、31%の総収率で合成を達成し、簡便合成法の確立に成功した。(原著論文¹)



Scheme 1: Suvorexant の合成概略

睡眠期に Suvorexant を投与することで日内リズムが改善され、インスリン抵抗性の改善が見られた。⁹

—セリンラセマーゼ阻害薬—

セリンラセマーゼ(SRR)は L-セリンを D-セリンへとラセミ化する酵素である。¹⁰ ¹¹D-セリンは内在性の NMDA 受容体コアゴニストとして機能し、NMDA 受容体の活性制御に関わっている。NMDA 受容体の過剰活性化などの興奮毒性が、神経細胞死による神経変性疾患の進展に関わる共通機構と考えられている。現在、アルツハイマー病に対して日本の臨床現場で使われている薬物は、計 4 種類あるが、副作用の問題や症状抑制を求め治療薬ではない。よって新規作用機序における治療薬の開発が必要である。

これまでにいくつかの化合物が SRR 阻害剤として報告されている。¹²⁻¹⁹ しかし、特異性が低く、毒性もあることが知られており、SRR に対する新規阻害剤の創出が望まれる。

ターゲットタンパクである wild-type SRR は発現量が低く、単離精製が困難であった。近年 SRR を構成するアミノ酸残基の 2 番目と 6 番目のシステイン (C) をアスパラギン酸 (D) に置換し (C2DC6D)、さらに C 末端に His-tag を有するリコンビナント mutant-type SRR とマロン酸の共結晶構造が報告された。²⁰ そこで我々は、この情

報をもとに *n silico* スクリーニングを行い、4種類のヒット化合物を得た。(Figure 3)

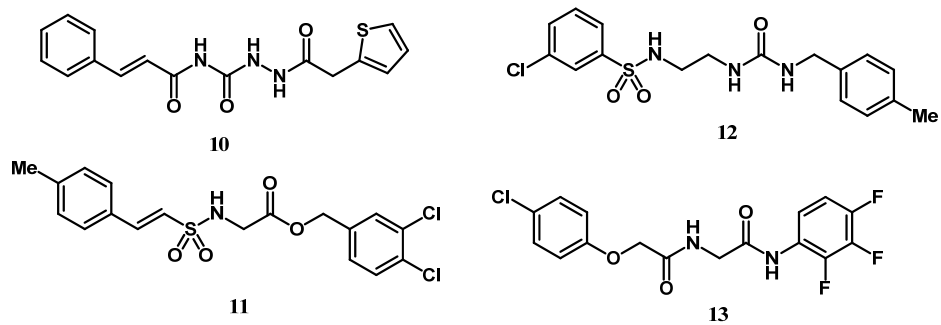
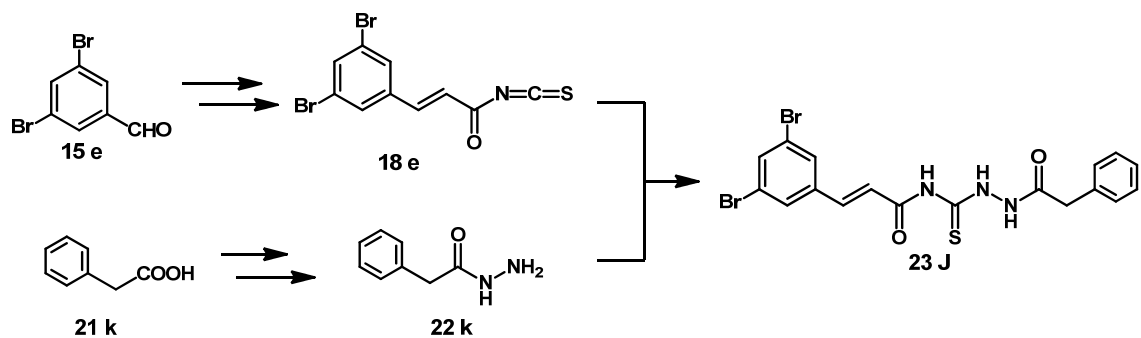


Figure 3: mutant-type SRR に対するヒット化合物の構造

さらに、ヒット化合物の構造を基に合成展開し、それぞれ 20-30 種類程の誘導体を合成した。合成した誘導体を *in vitro* での酵素阻害活性評価を行い、優れた誘導体を見出した。さらに *in vivo* 評価を行うことで、SRR 阻害剤となりうる化合物の探索を行った。その結果、我々は SRR に対する新規阻害剤の開発に成功し、その化合物が持つ構造的特徴について明らかにした。(Scheme 2, Figure 4, 5) (原著論文²)



Scheme 2: SRR 阻害活性が強かった化合物 23J の合成経路

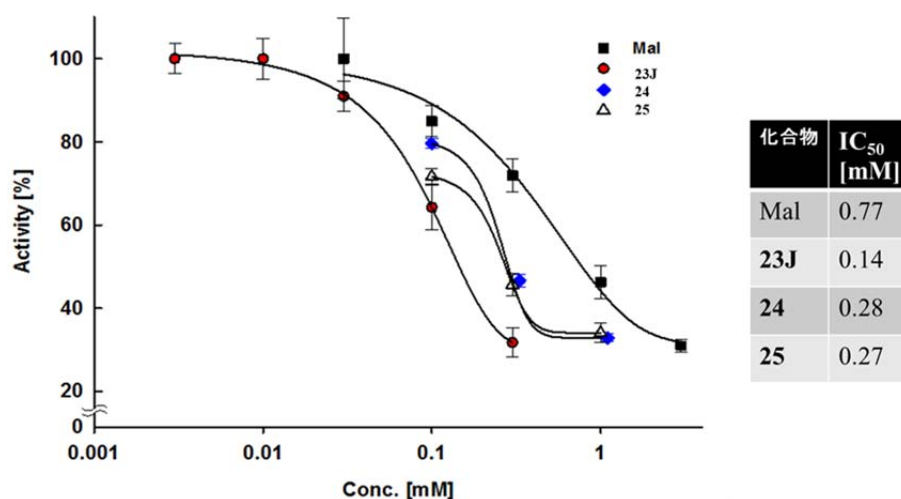


Figure 4: 高阻害活性が認められたそれぞれのヒット化合物誘導体の濃度依存曲線

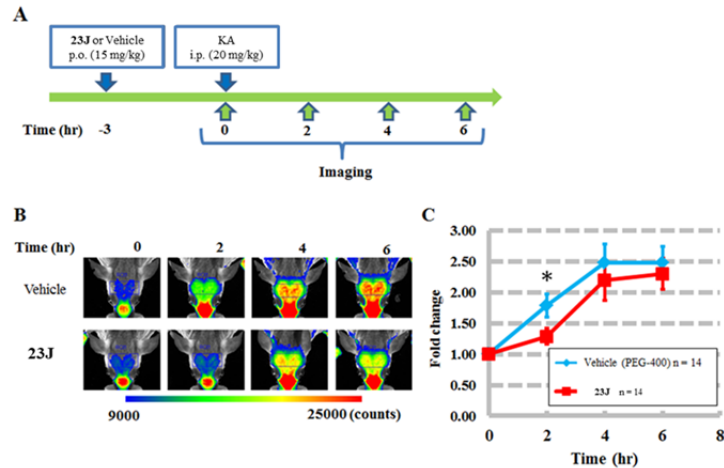


Figure 5: (A) *in vivo* 評価の protocol (B) マウスの発光イメージング例 (C) Vehicle と化合物 **23J** の発光シグナル比

また最近、本学薬学部の水口教授が wild-type SRR の単離精製を達成し wild-type SRR の結晶構造が明らかになった。mutant-type SRR の阻害薬として我々が既に報告している化合物 **49**¹⁶ を基に wild-type SRR 阻害活性を検討したところ、mutant-type SRR に対して $IC_{50} = 0.52 \text{ mM}$ であったが、wild-type SRR に対して $IC_{50} = 1.603 \text{ mM}$ と阻害活性に差が生じることが認められた。そこで我々は wild-type SRR の構造を基に mutant-type SRR と同様に、再度 *in silico* スクリーニングを行った。その結果、2つの化合物 (Figure 6) が wild-type SRR に対して阻害活性を有することが判明した。

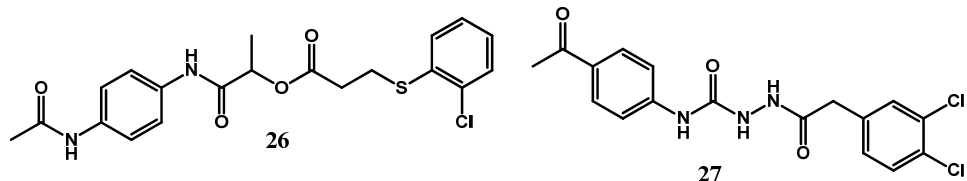
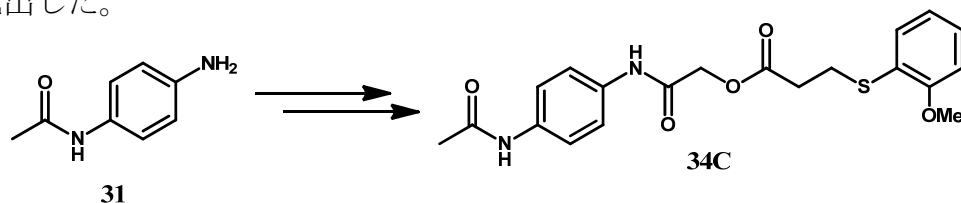


Figure 6: wild-type SRR に対するヒット化合物の構造

より阻害作用が強力な化合物 **26** について、有機合成化学を用いた構造変換を行うことにより、さらに強力な wild-type SRR 阻害活性を有するリード化合物の創出を行った。(Scheme 3) 合成した誘導体を *in vitro* での酵素阻害活性評価を行い、優れた誘導体を見出した。



Scheme 3: wild-type SRR 阻害が認められた化合物の合成概要

また強い阻害活性を示した化合物 **34C** についてすでに我々のグループが報告している SRR 阻害薬 **49**¹⁶ と比較して濃度依存性の評価も行った。(Figure 7)

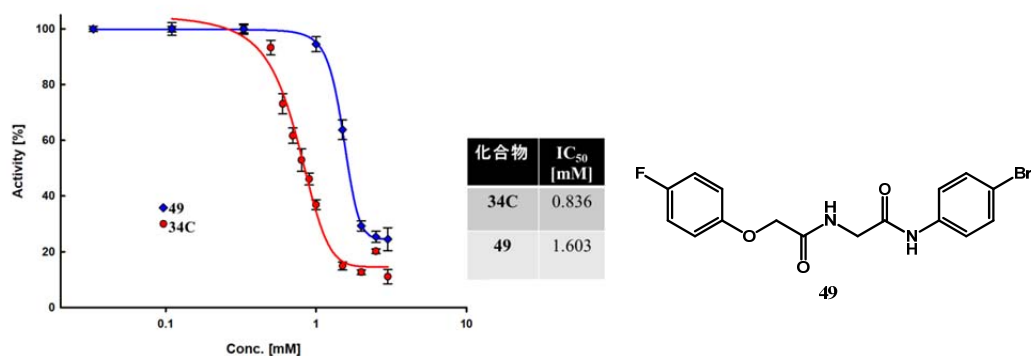


Figure 7: **34C** 及び **49** の濃度依存曲線、化合物 **49** の構造

この結果、新たに合成した **34C** は既に報告した SRR 阻害薬 **49** と比較して約 2 倍強い阻害活性が認められた。

Reference

1. Sakurai, T.; Mieda M. *Trends Pharmacol Sci.* **2011**, *32*, 451.
2. Mieda, M.; Sakurai, T. *CNS Drugs.* **2013**, *27*, 83.
3. Tuneki, H.; Sasaoka, T. *J Pharmacol Sci.* **2013**, *142*, 316.
4. Bogusky, M. J.; Roecker, A. J.; Mercer, S. P.; Bednar, R. A.; Lemaire, W.; Bruno, J. G.; Reiss, D. R.; Harrell, C. M.; Murphy, K. L.; Garson, S. L.; Doran, S. M.; Prueksaritanont, T.; Anderson, W. B.; Tang, C.; Roller, S.; Cabalu, T. D.; Cui, D.; Hartman, G. D.; Young, S. D.; Koblan, K. S.; Winrow, C. J.; Renger, J. J.; Coleman, P. J. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5320.
5. Baxter, C. A.; Cleator, E.; Brands, K. M. J.; Edwards, J. S.; Reamer, R. A.; Sheen, F. J.; Stewart, G. W.; Strotman, N. A.; Wallace, D. J. *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15*, 367.
6. Strotman, A. N.; Baxter, C. A.; Brands, K. M. J.; Cleator, E.; Krska, S. W.; Reamer, R. A.; Wallace, D. J.; Wright, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 8362.
7. Mangion, I. K.; Sherry, B. D.; Yin, J.; Fleitx, F. J. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3458.
8. Davies, S. G.; Ichihara, O. *Tetrahedron Asymmetry*, **1991**, *2*, 183.
9. Tsuneki, H.; Kon, K.; Ito, H.; Yamazaki, M.; Takahara, S.; Toyooka, N.; Ishii, Y.; Sasahara, M.; Wada, T.; Yanagisawa, M.; Sakurai, T.; Sasaoka, T. *Endocrinology.* **2016**, *157*, 4146.
10. Inoue, R.; Hashimoto, K.; Harai, T.; Mori, H. *J Neurosci.* **2008**, *28*, 14486.
11. Wolosker, H.; Sheth, K. N.; Takahashi, M.; Mothet, J. P.; Brady Jr, R. O.; Ferris, C. D.; Snyder, S. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1999**, *96*, 721.
12. Strisovsky, K.; Jiraskova, J.; Mikulova, A.; Rulisek, L.; Konvalinka, J. *Biochemistry.* **2005**, *44*, 13091.
13. Kim, P. M.; Aizawa, H.; Kim, P. S.; Huang, A. S.; Wickramasinghe, S. R.; Kashani, A. H.; Barrow, R. K.; Haganir, R. L.; Ghosh, A.; Snyder, S. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*

2005, 102, 6032.

14. Dixon, S. M.; Li, P.; Liu, R.; Wolosker, H.; Lam, K. S.; Kurth, M. J.; Toney, M. D. *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 2388.
15. Vorlova, B.; Nachtigallova, D.; Jiraskova-Vanickova, J.; Ajani, H.; Jansa, P.; Rezac, J.; Fanfrlik, J.; Otyepka, M.; Hobza, P.; Konvalinka, J.; Lepsik, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 89, 189.
16. Mori, H.; Wada, R.; Li, J.; Ishimoto, T.; Mizuguchi, M.; Obita, T.; Gouda, H.; Hirono, S.; Toyooka, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24, 3732.
17. Bruno, S.; Marchesani, F.; Dellafiora, L.; Margiotta, M.; Faggino, S.; Campanini, B.; Mozzarelli, A. *Biochem. J.* **2016**, 473, 3505.
18. Beato, C.; Pecchini, C.; Cocconcelli, C.; Campanini, B.; Marchetti, M.; Pieroni, M.; Mozzarelli, A.; Costantino, G. *J. Enzyme. Inhib. Med. Chem.* **2016**, 31, 645.
19. Dellafiora, L.; Marchetti, M.; Spyralis, F.; Orlandi, V.; Campanini, B.; Cruciani, G.; Cozzini, P.; Mozzarelli, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, 25, 4297.
20. Smith, M. A.; Mack, V.; Ebneith, A.; Moraes, I.; Felicetti, B.; Wood, M.; Schonfeld, D.; Mather, O.; Cesura, A.; Barker, J. *J. Biol. Chem.* **2010**, 285, 12873.

原著論文

- 1) Laboratory and practical synthesis of Suvorexant, a selective dual orexin receptor antagonist.
Minehira, D.; Takahara, S.; Adachi, I.; Toyooka, N.
Tetrahedron Lett. **2014**, 55, 5778-5780.
- 2) A novel serine racemase inhibitor suppresses neuronal over-activation *in vivo*.
Mori, H.; Wada, R.; Takahara, S.; Horino, Y.; Izumi, H.; Ishimoto, T.; Yoshida, T.; Mizuguchi, M.; Obita, T.; Gouda, H.; Hirono, S.; Toyooka, N.
Bioorg. Med. Chem. **2017**, 25, 3736-3745.
- 3) Design, synthesis, and evaluation of novel inhibitors for wild-type human serine racemase.
Takahara, S.; Nakagawa, K.; Uchiyama, T.; Yoshida, T.; Matsumoto, K.; Kawasumi, Y.; Mizuguchi, M.; Obita, T.; Watanabe, Y.; Hayakawa, D.; Gouda, H.; Mori, H.; Toyooka, N.
Bioorg. Med. Chem. Lett. **2018**, 28, 441-445.

【学位論文審査結果の要旨】

申請者、高原氏は中枢神経系に作用する有機小分子のデザイン、合成に関する研究を行った。その結果、メルク社が開発した新規オレキシンアンタゴニストであるスポレキサントの研究室レベルでの簡便かつ効率的な大量合成法を開拓し、本剤を用いた中枢系におけるインスリン抵抗性改善作用における研究推進に大きく寄与した。また、脳内での特異な作用が近年注目されている D-セリンの生成に最も深くかかわるセリンラセマーゼ阻害剤の開発研究を行った。本阻害剤は、NMDA 受容体の異常興奮による脳神経細胞死を効果的に抑制することが期待されており、新規メカニズムによる脳神経変性疾患治療薬開発の新たなターゲットとして世界中で開発競争が繰り広げられている。氏は、阻害剤のデザイン、有機合成さらに合成誘導体を用いた酵素活性評価と *iv vivo* 評価にも携わり、まさに融合研究の最前線で先導的役割を果たした。これらの結果は、査読付き学術論文3篇としてまとめられた。よって、審査委員会は、氏の業績を生命融合科学教育部博士学位論文として十分価値があるものと判断した。