



Title	心血管系の副作用を軽減した選択的 β_3 アドレナリン受容体アゴニストの創製研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	和田, 康弘
Citation	北海道大学. 博士(薬科学) 甲第13182号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/69424
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Yasuhiro_Wada_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(薬科学) 氏名 和田 康弘

学位論文題名

心血管系の副作用を軽減した選択的 β_3 アドレナリン受容体アゴニストの創製研究

過活動膀胱は、急な尿意をもよおし、我慢できないほどの尿意切迫感、さらに頻尿や切迫性尿失禁(尿漏れ)などの諸症状が認められる疾患である。40歳以上の約12%がこの過活動膀胱の症状を有していると考えられており、患者にとって高いストレスであるため、生活の質を大きく下げることが問題となっている。現在、過活動膀胱治療の第一選択薬である抗コリン薬は、排尿回数、尿意切迫感を改善させるものの、口渇、便秘、視力障害、尿閉などの副作用が報告されている。それら副作用は抗コリン薬の作用メカニズムに関連があるため、新規作用機序の治療薬が注目されている。近年、新規作用機序の治療薬として、 β_3 アドレナリン受容体(AR)アゴニスト作用を有するミラベグロンが承認された。ミラベグロンは抗コリン薬と比較して口渇等の副作用が少ない特徴を有するものの、血圧上昇や心拍数上昇など心血管系に対する副作用を引き起こすことが知られている。その原因の一つにARのサブタイプで心臓などに発現している β_1 -ARに対するアゴニスト作用が考えられる。筆者は β_3 -ARに対する高い選択性を持つアゴニストが心血管系の副作用を軽減した過活動膀胱治療薬になると考え、その創製を計画した。

ミラベグロン並びに文献に記載されている化合物の構造から β_3 -ARアゴニスト活性を示すにはアリアルエタノールアミン骨格を有することが重要であると考えた。ゆえに、 β_3 -ARアゴニスト活性を有する新規なヒット化合物の取得を目的として、アリアルエタノールアミンに2環性ヘテロ環をエーテルリンカーで結合したライブラリーの β_3 -ARアゴニスト活性評価を実施した。その結果、3-メチルインダゾール構造を有する化合物**5**をヒット化合物として見出した(β_3 -AR EC_{50} = 21 nM)。

アドレナリン受容体は α_1 -AR、 α_2 -AR、 β -ARの3つのサブファミリーに分類されており、 β -ARには、さらに β_1 、 β_2 、 β_3 の3つのサブタイプが知られている。ヒット化合物**5**は β_1 -ARと β_2 -ARに対する選択性が良好(β_1/β_3 、 $\beta_2/\beta_3 > 476$ -fold)だったが、 α_1 -ARのサブタイプの1つである α_{1A} -ARとの選択性が低かった(α_{1A} -AR EC_{50} = 219 nM, α_{1A}/β_3 = 10-fold)。 α_{1A} -ARは心血管系組織など全身に広く発現しており、そのアゴニストは末梢の血管収縮を介して血圧を上昇させることが知られている。ヒット化合物**5**はラットの血圧上昇を引き起こし、その血圧上昇は α_{1A} -ARアンタゴニストを事前投与することにより、完全に抑制された。ゆえに、化合物**5**の血圧上昇は α_{1A} -ARアゴニスト活性に由来することが示唆された。そこで、筆者は α_{1A} -ARアゴニスト活性を減弱させた β_3 -ARに高選択的な化合物創出を目指し、ヒット化合物**5**の構造をベースに最適化研究を実施した。

化合物**5**の代謝物プロファイル解析などの情報から論理的に化合物を設計し、化合物**5**のインダゾール3位を変換した。その結果、 α_{1A} -ARとの選択性を大幅に改善し、 β_3 -ARに対する高い選択性を持つ3-イソプロピルインダゾール構造を有する化合物**11**を見出した(β_3 -AR EC_{50} = 13 nM, $\alpha_{1A}/\beta_3 > 769$ -fold)。化合物**11**は β_1 -ARと β_2 -ARに対してアゴニスト活性を示さない(β_1 -AR $EC_{50} > 10000$ nM; β_2 -AR $EC_{50} > 10000$ nM) β_3 -AR高選択的アゴニストであることが判明した。この結果に基づき、ラットを用いて**11**の心血管系に与える影響を評価し、ミラベグロンもしくはヒット化合物**5**と比較した。化合物**11**は心拍数、平均血圧を上昇させなかった。同様の評価にて、ミラベグロンは心拍数の上昇、平均血圧の大きな低下を引き起こした。一方、ヒット化合物**5**は大きく

平均血圧の上昇を引き起こした。ゆえに、化合物 **11** はミラベグロン並びにヒット化合物 **5** と比較し、心拍数や平均血圧に与える影響は少なく、その要因は β_3 -AR に高選択性にあることが示唆された。

過活動膀胱の治療薬は患者が容易に服用できる経口剤が望ましい。しかし、化合物 **11** はヒトミクロソームに対する代謝が不安定であり、薬物動態のさらなる最適化が必要であった。 β_3 -AR アゴニスト活性、 α_{1A}/β_3 選択性並びに代謝安定性を両立させるために、スルホンアミド基の置換基を変換するターゲット化合物を設計し、合成した。その結果、シクロブタンスルホンアミド基を有する化合物 **56d** は β_3 -AR に対して高いアゴニスト活性と良好な α_{1A}/β_3 選択性 (β_3 -AR $EC_{50} = 18$ nM、 $\alpha_{1A}/\beta_3 > 556$ -fold) を有し、用量依存的にマーモセットの膀胱平滑筋を弛緩させる優れた薬効を示した。さらに、化合物 **56d** は化合物 **11** よりも代謝安定性が向上し、ラットにおいて十分な経口吸収が確認できた。また、臨床薬であるミラベグロンよりも心血管系の副作用が少なかった。以上のように、化合物 **56d** は経口投与可能で心血管系への副作用を軽減した β_3 -AR に高選択的アゴニストであり、用量依存的に膀胱平滑筋の弛緩作用を示したことから、過活動膀胱の治療薬になりえる有望化合物である。

続いて、 β_3 -AR と化合物 **56d** の相互作用解析を Schrödinger 社のソフトウェア (Maestro に含まれる Glide、Desmond など) を用いて実施した。はじめに β_3 -AR のホモロジーモデルを作成し、14種類の化合物と β_3 -AR に対するドッキングスタディーを実施した。その結果、 pEC_{50} とドッキングスコアに高い相関が確認できたことから、 β_3 -AR ホモロジーモデルとリガンドのドッキングポーズが β_3 -AR アゴニスト活性の構造活性相関を合理的に説明できる。さらに、 β_3 -AR と化合物 **56d** の複合体に対して分子動力学シミュレーションを実施した結果、 β_3 -AR と化合物 **56d** は安定に結合していることが示唆された。続いて、得られた化合物 **56d** と β_3 -AR の推定結合様式を基に相互作用解析を実施した。アドレナリン受容体との結合に重要な3つのアミノ酸残基 (Asp117、Ser208、Asn332) と化合物 **56d** のアミノアルコールの間に水素結合が観察された。さらに、化合物 **56d** のインダゾール NH と Cys196 の主鎖の間に水素結合が見られ、インダゾール基の周辺は疎水性残基 (Leu97、Leu329、Trp333) との相互作用が予測された。また、化合物 **56d** のスルホンアミド基の酸素と Asn312 の間に水素結合が想定され、シクロブタン基は疎水性ポケットである Val118、Ile173、Tyr204 を占めていると推定された。 α_{1A} -AR と β_3 -AR では、シクロブタンスルホンアミド基の周辺に存在する複数のアミノ酸残基が異なるために、シクロブタンスルホンアミド基の相互作用は α_{1A} -AR と β_3 -AR の間で大きく異なると推測される。これらの違いが、スルホンアミド基の置換基を嵩高くした場合に、 α_{1A} -AR に対する β_3 -AR 選択性が大きく向上する要因と推測される。 β_3 -AR と化合物 **56d** の相互作用に重要な残基を明らかにした結果は、今後、高選択的 β_3 -AR アゴニストの設計に有用な情報になり得る。

以上、インダゾール骨格を有するヒット化合物 **5** の構造活性相関・最適化の結果、高選択的 β_3 -AR アゴニスト **56d** を見出した。化合物 **56d** は、マーモセット膀胱平滑筋に対する弛緩作用を示し、既存の β_3 -AR アゴニストに見られる心血管系の副作用が軽微であることをラットにおいて確認した。さらに、 β_3 -AR ホモロジーモデルと化合物 **56d** のドッキングスタディー並びに分子動力学シミュレーションを実施し、相互作用を解析した結果、 β_3 -AR 選択性発現に重要なアミノ残基を明らかにした。