



Title	GABAトランスポーターサブタイプ選択的阻害剤の創出を目的とするGABA配座制限誘導体の設計と合成〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	末政, 亮大
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(臨床薬学)
Dissertation Number	甲第13183号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/69521
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Akihiro_Suemasa_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士 (臨床薬学) 氏 名 末政 亮大

学 位 論 文 題 名

GABA トランスポーターサブタイプ選択的阻害剤の創出を目的とする
GABA 配座制限誘導体の設計と合成

GABA (γ -aminobutylic acid) は抑制性の神経伝達物質で、うつ病、睡眠障害、筋肉の痙攣などの疾患と深く関わっていると考えられており、GABA の神経伝達に関与する GABA 受容体および GABA トランスポーター (GAT) は、精神疾患治療薬の標的とされてきた。実際に GABA 受容体を標的とする薬は古くから利用され、ベンゾジアゼピン誘導体やバルビツール酸誘導体は催眠薬や抗精神病薬として、現在も臨床で汎用されている。一方、GAT を標的とする臨床薬は、抗てんかん薬として承認されている GAT-1 選択的阻害剤チアガビンのみに留まっている。これの要因として、GAT の 4 つのサブタイプ (GAT-1、GAT-2、GAT-3、BGT-1) において、GAT-1 以外の GAT サブタイプに対する選択性の高い阻害剤が開発されていないことも影響し、疾患との関係を含め、これらサブタイプの詳細な生理機能が解明されていないことが挙げられる。したがって、GAT-1 以外のサブタイプ選択的阻害剤は、新規医薬候補としてのみならず生理機能解明のバイオツールとしても有意義である。そこで著者は、GAT の生理機能解明と新規医薬リード化合物の創出を見据えた、サブタイプ選択的 GAT 阻害剤の創製を目指した。

リガンドが標的分子と結合する際、標的との相互作用に関与するリガンドの官能基を三次元的に適切に配置することで、効果的な相互作用が得られる。立体自由度の高いリガンドが複数の標的タンパク質と結合する場合、リガンドが取り得る多様な配座を、合成化学的に制御することは標的タンパク質への選択性や親和性の向上だけでなく、活性配座探索にも有用な方法論である。シクロプロパンは官能基をシス/トランスに強固に制御できる有用な配座制御素子であり、またシクロプロパン歪により隣接シス置換基の配座も制御することが可能である。

GABA は構造的に立体的自由度が大きく、各 GAT サブタイプに対する結合配座が異なると推定される。しかし、GABA 受容体については配座-活性関連研究の報告があるものの、GAT の三次元構造は不明であり、GAT に対する GABA の結合配座に関する知見はない。当研究室では、GABA の主鎖にシクロプロパン環を導入することで、三次元多様に配座を制御した GABA 配座制限誘導体群を合成し、GAT-3 及び BGT-1 に阻害活性を示す化合物を見出した。しかし、両サブタイプ間の選択性は乏しく阻害活性も十分ではなかった。そこでこの化合物をリードとし、さらに厳密に配座を制御することで、活性および選択性の向上を研究課題とした。

1. シクロプロパン歪増強による側鎖カルボン酸部の更なる配座制御

リード化合物のカルボン酸 α 位炭素はシクロプロパン歪によって配座が制御されているものの、ある程度自由回転が可能である。計算化学的な配座解析をおこなったところ、*syn* 型、*anti* 型の 2 つの極めて安定な配座を取り得ることが判明した。そこで、自由度の高いカルボン酸側の側鎖部をさらに厳密に制御することで、活性および選択性の向上が期待できると考えた。すなわち、カルボン酸 α 位炭素にメチル基及びエチル基を導入することでシクロプロパン歪を増強し、その立体化学に依存して配座を *syn* ある

いは *anti* に制御した化合物 **IIIS (Me-*anti*)**, **IIIR (Me-*syn*)**, **IVS (Et-*anti*)**, **IVR (Et-*syn*)** を設計・合成した。その結果、リード化合物に比較して親和性は低下したものの、エチル基を導入した **IVS/R** では両ジアステレオマー間に活性の差は見られないのに対し、メチル基を導入した **IIIS/R** において **IIIR (Me-*syn*)** が BGT-1 へ選択性を示した。**IIIR (Me-*syn*)** と同じ *syn* 配座を取る **IVR (Et-*syn*)** の選択性・親和性の消失が、導入した置換基による立体障害に起因すると考えた。そこで、エチル基と同等またはそれ以下の嵩高さを持つ様々な官能基をカルボン酸 α 位に導入した、*syn* 配座シクロプロパン歪誘導体を合成した。しかしながら、望みとする BGT-1 への選択性・親和性は得られなかった。

2. 二環性骨格による側鎖部の制御

シクロプロパン歪は配座制御法として有用だが、導入した置換基に起因する立体障害により標的親和性が低下する場合がある。そこでシクロプロパンを含む二環性骨格、ビスクロ[3.1.0]ヘキサン骨格により配座を制御することで、立体障害を回避しつつ、シクロプロパン歪と同様にシクロプロパン隣接置換基を三次元的空間に配置した化合物 **VIS (syn)**, **VIR (anti)** を設計した。配座計算の結果から導いた、シクロプロパン歪化合物 **IIIR (Me-*syn*)** とビスクロヘキサン化合物 **VIS (syn)** の最安定構造において、活性発現に関与すると思われるカルボン酸とアミンの配座が良く重なることを確認した。薬理活性評価の結果、二環性骨格で制御した *syn* 配座の **VIS (syn)** が BGT-1 に対し高い親和性・選択性を示した。すなわち、強力な阻害活性を有する初の高選択的 BGT-1 阻害剤 BC-GABA (**VIS**) を見出した。先のシクロプロパン歪誘導体の結果と合わせ、BGT-1 に対する GABA の配座が *trans-syn* 配座であることを示唆する有用な知見を得た。また、マウスを用いた *in vivo* 試験により、BC-GABA に抗うつ作用が観察されたことから、BGT-1 がうつ病に関与している可能性が示唆された。

3. トランスポーター選択性向上を志向した二環性骨格 GABA 誘導体の構造活性相関研究

BC-GABA は強力な阻害活性を有する初の BGT-1 高選択的阻害剤である。しかし、GAT に関しては BGT-1 サブタイプ選択的ではあるものの、GABA_A 受容体に対しても高いアゴニスト活性を示した。BC-GABA は抗うつ作用発現に BGT-1 の阻害が関わっていることが推察されるものの、GABA_A 受容体アゴニスト活性が関与している可能性は否定できない。したがって、BGT-1 の詳細な生理機能解明には、GABA_A 受容体への親和性を持たない真の BGT-1 選択的阻害剤が求められる。そこで、著者は受容体への親和性を持たない、トランスポーター選択的な阻害剤の創製を目指すこととした。コンピューターシミュレーションによる解析を活用し、適切な疎水性官能基導入部位の検討を目的として、BC-GABA の 3 位炭素およびアミンにメチル基を導入した二環性骨格 GABA 誘導体を設計・合成した。GAT 阻害活性評価の結果、BC-GABA に比べて BGT-1 に対する阻害活性は僅かに低下したものの、他の 3 つのサブタイプに対しては阻害活性を示さず BGT-1 への選択性が向上した、*N*-モノメチル体 **VII-2** を見出した。これは BC-GABA のアミン近傍に、疎水性官能基を導入可能なスペースが存在することを示唆する有用な知見である。

以上、著者は、GABA の構造を基に三次元多様な配座を 2 段階で制御 (1.シクロプロパンによる基本骨格制御, 2.ビスクロ[3.1.0]ヘキサン骨格による側鎖部制御) することで、強力な阻害活性を有する初の高選択的 BGT-1 阻害剤を見出し、BGT-1 に対する GABA の配座に関する有用な知見を得た。これらの結果は、シクロプロパンの構造特性を活用した分子設計が、構造未知の標的タンパク質に対するリガンドの創出に有用であることを示している。さらに、BGT-1 とうつ病との関連性を示唆する結果は、BGT-1 の生理的役割を解明する手掛かりとなり得る重要な成果である。