

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：34416

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18903

研究課題名(和文) ムスカリン受容体部分作動薬の探索研究

研究課題名(英文) Discovery of muscarinic acetylcholine receptor partial agonists

研究代表者

住吉 孝明 (Sumiyoshi, Takaaki)

関西大学・化学生命工学部・准教授

研究者番号：50738911

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ムスカリン受容体は副交感神経を活性化する神経伝達物質アセチルコリンの受容体である。ムスカリン受容体にはM1-M5の5つのサブタイプがあり、M1受容体の活性化が認知機能を向上させる効果がある。本研究は、作動性と拮抗性を併せ持ち、適度にM1受容体を活性化する部分作動薬を創製し、副作用を低減した新たな精神神経疾患治療薬になりうる化合物を見出すことを目的とする。

M1受容体およびM4受容体の両方を作動する化合物の構造を種々変換した結果、ムスカリンM1受容体選択的部分作動性を示す化合物を見出した。これらの化合物はアルツハイマー病等の精神神経疾患の改善薬への応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Muscarinic acetylcholine receptors (M1-M5) are potent drug targets for the treatment of various central nerve system diseases. Among the subtypes, activation of M1 receptor leads to improvement of cognitive impairment. Although many medicinal chemists have challenged to discover selective M1 agonists, most of the compounds did not show enough high subtype-selectivity to dissociate the side effects.

In this study, we synthesized benzimidazolone derivatives and identified subtype selective M1 receptor partial agonists based on the structure-activity relationship information. The identified compounds are potent for the treatment central nerve system diseases.

研究分野：創薬化学

キーワード：ムスカリン受容体作動薬 部分作動薬 創薬化学 光学活性体 構造活性相関

### 1. 研究開始当初の背景

ムスカリン受容体は副交感神経を活性化する神経伝達物質アセチルコリン(以下 ACh)の受容体である。ムスカリン受容体には M<sub>1</sub>-M<sub>5</sub> の5つのサブタイプがあり、M<sub>1</sub>、M<sub>4</sub>、M<sub>5</sub> 受容体は中枢に、M<sub>2</sub> 受容体は心臓、M<sub>3</sub> 受容体は消化管に多く発現する。中でも、M<sub>1</sub> 受容体の活性化が認知機能を向上させる機能を有することから、種々の M<sub>1</sub> 受容体作動薬の創製研究が行われた。しかしながら、各サブタイプ間の相同性が高いために、多くのムスカリン受容体作動薬はサブタイプ非選択的に受容体を活性化し、徐脈(M<sub>2</sub> 受容体活性化)や嘔吐・下痢(M<sub>3</sub> 受容体活性化)などの副作用がある。近年、サブタイプ間での相同性が比較的低いアロステリック部位に結合する化合物の研究がなされ、M<sub>1</sub> 受容体に比較的选择的な作動薬の報告が増えている。しかしながら、GlaxoSmithKline 社が創製した M<sub>1</sub> 受容体作動薬 GSK1034702 が Phase 1 で発汗作用が報告されるなど、副作用の低減は十分ではなかった。現在、薬効と副作用発現を十分に乖離したムスカリン M<sub>1</sub> 受容体作動薬の創製が望まれている。

これまでに、代表者は末梢性副作用に関連する M<sub>2</sub> 受容体と M<sub>3</sub> 受容体を活性化する作用がない M<sub>1</sub>/M<sub>4</sub> 受容体選択的作動薬を見出してきた。M<sub>1</sub> 受容体と同様に、M<sub>4</sub> 受容体作動性にも作用機序に由来する副作用であるカタレプシーリスクがあったが、M<sub>4</sub> 受容体作動の最大反応量を低減した「部分作動薬」とすることによって、薬効を保持しつつ副作用を低減することができることを見出し、報告した[1]。本知見を M<sub>1</sub> 受容体作動薬に応用して M<sub>1</sub> 受容体の「部分作動薬」を創製することができれば、発汗作用などのサブタイプ選択性向上では解決できなかった副作用を低減した新たな認知症治療薬になりうると考え、本研究を計画した。

### 2. 研究の目的

本研究では、作動性と拮抗性を併せ持ち、適度に M<sub>1</sub> 受容体を活性化する部分作動薬を創製し、サブタイプ選択性向上では解決できなかった発汗作用等の副作用を低減した新たな認知症等の精神神経治療薬になりうる化合物を見出すことを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) M<sub>1</sub> 受容体作動薬の設計

本研究では、M<sub>1</sub> 受容体に選択的な作用を有する M<sub>1</sub> 受容体部分作動薬として化合物 1-3 を設計した(図1)。

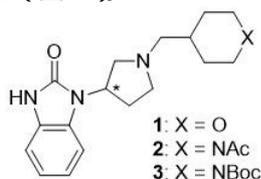


図1 合成した化合物の構造

これらの化合物のデザインコンセプトを図2に示す。M<sub>2</sub> 受容体と M<sub>3</sub> 受容体の作動性をもたないベンズイミダゾロン化合物 4 をリード化合物として設計を行った。まず、M<sub>4</sub> 受容体作動性発現の鍵となる *N*-carbethoxy piperidine 構造を別の環構造に置き換えると M<sub>1</sub> 作動性以外の作動性が低下する知見を化合物 4 に応用すると非常に高い M<sub>1</sub> 受容体選択的作動性を付与できると考えた。また、化合物 4 のピロリジンリンカーの絶対配置によって M<sub>1</sub> 受容体作動性が部分的になった知見を組み合わせるにより、部分作動薬へと展開することとした。

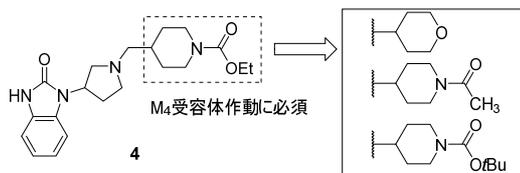


図2 デザインコンセプト

#### (2) ムスカリン受容体作動性の評価方法

ムスカリン受容体作動性は既知の評価系を用いて評価した[1]。作動性は、10 μM の ACh の反応を最大(100%)として数値で示した。

#### (3) 細胞膜透過性の評価方法

膜透過性は人口膜透過性試験(PAMPA)法で評価した[1]。

### 4. 研究成果

#### (1) デザインコンセプトの検証

化合物のデザインコンセプトが妥当か検証するために、まず化合物 1 のラセミ体を合成した。

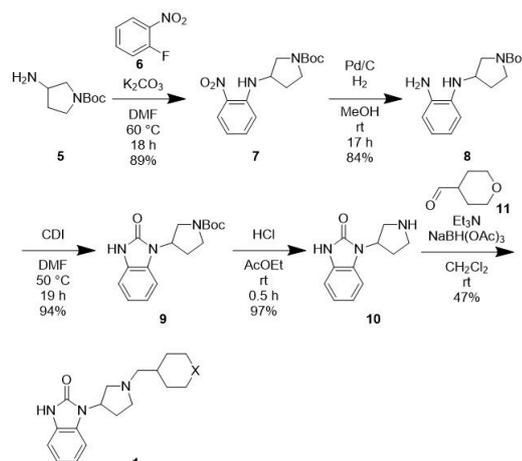
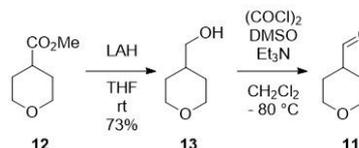


図3 化合物 1 の合成

アルデヒド 11 は図4に従って合成した。



#### 図4 アルデヒド 11 の合成

ラセミ体の化合物 1 のムスカリン受容体作動性および細胞膜透過性を評価した結果を表 1 にまとめた。

表 1

評価項目	1 (racemic)	
M <sub>1</sub> 受容体作動性	30 μM (%)	45
M <sub>2</sub> 受容体作動性	30 μM (%)	2
M <sub>3</sub> 受容体作動性	30 μM (%)	6
M <sub>4</sub> 受容体作動性	30 μM (%)	4
M <sub>5</sub> 受容体作動性	30 μM (%)	2
PAMPA pH 5.0 (10 <sup>-6</sup> cm/s)		0.7
PAMPA pH 7.4 (10 <sup>-6</sup> cm/s)		33.7

化合物 1 は M<sub>1</sub> 受容体選択的な作動性を示すとともに、良好な細胞膜透過性を示したことから、M<sub>1</sub> 受容体選択的作動薬創製のデザインコンセプトが妥当であると考えた。

#### (2) キラル化合物の合成

次に、化合物 1-3 の各光学活性体を合成した。図 5 に合成スキームを示す。

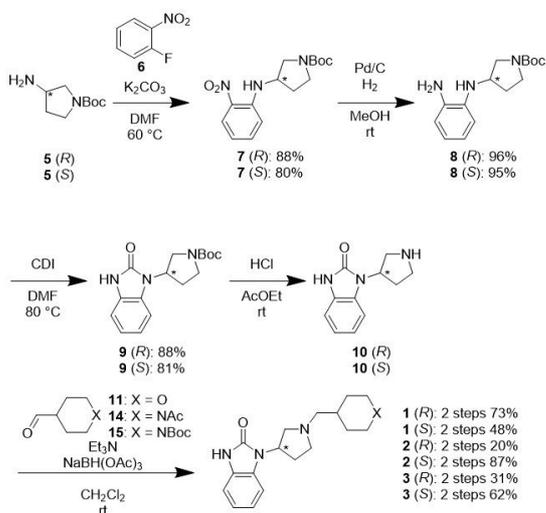


図 5 キラル化合物の合成

キラルなピロリジン化合物 5 を開始物質とし、炭酸カリウム存在下 DMF 中で 2-フルオロオニトロベンゼン 6 に求核置換反応を起こさせて化合物 7 を得た。ニトロ基を還元して 8 に変換した後に、CDI でベンズイミダゾロン環を構築して化合物 9 を得た。Boc 基を脱保護して化合物 10 とした後にアルデヒド 11, 14, 15 と還元的アミノ化反応を行って目的とするキラルな化合物 1-3 をそれぞれ得た。アルデヒド 14 および 15 は図 6 および図 7 に示したスキームに従って合成した。

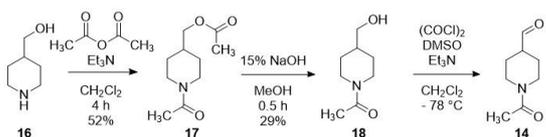


図 6 アルデヒド 14 の合成

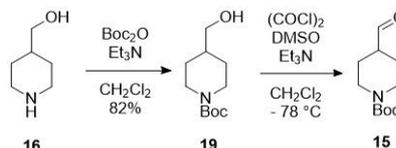


図 7 アルデヒド 15 の合成

#### (3) キラル化合物のムスカリン M<sub>1</sub> 受容体作動性

得られた化合物のムスカリン M<sub>1</sub> 受容体作動性を評価した結果を表 2 にまとめた。1 (R) および 2 (S) は濃度依存的に作動性が増加した (entries 1 and 3)。一方、1 (S)、3 (R) と 3 (R) は作動性を示さなかった (entries 2, 4 and 5)。1 (R) および 2 (S) の M<sub>1</sub> 受容体作動性の作動性は 30~50% 程度であり、ムスカリン受容体の完全作動薬に比べて部分的であることが期待できる。

表 2

entry	化合物	0.03 μM	0.3 μM	3 μM	30 μM
1	1 (R)	2	9	20	29
2	1 (S)	3	3	6	11
3	2 (S)	2	5	20	28
4	3 (R)	2	4	6	10
5	3 (S)	1	1	3	10

また、これらの化合物の M<sub>4</sub> 受容体作動性を評価したところ、いずれの化合物も 30 μM で作動性を示さなかったことから、M<sub>1</sub> 受容体以外のサブタイプに対する選択性は高いと考えられる。

#### (4) 結論

M<sub>1</sub> 受容体および M<sub>4</sub> 受容体を選択的に作動するベンズイミダゾロン化合物 4 の N-carbethoxypiperidine を、tetrahydropyran、N-acetylpiperidine、N-Bocpiperidine にそれぞれ変換した化合物 1-3 を設計し、それぞれの光学異性体を合成した。ムスカリン受容体作動性を評価した結果、これらの化合物は M<sub>1</sub> 受容体選択性が高いこと、作動性が ACh に比べて部分的であること、ピロリジンリンカーの不斉炭素の絶対配置が M<sub>1</sub> 受容体作動性と相関することを見出した。光学異性体は、R 体が S 体比べて M<sub>1</sub> 受容体作動性が強かった。本研究で見出した化合物 1 (R) および 2 (S) は、サブタイプ選択的なムスカリン M<sub>1</sub> 受容体部分作動性を示したことから、アルツハイマー病の認知障害改善薬への応用が期待できる。

#### <引用文献>

[1] Sumiyoshi, T. et al. Discovery of Novel N-Substituted Oxindoles as Selective M<sub>1</sub> and M<sub>4</sub>

Muscarinic Acetylcholine Receptors Partial Agonists. *ACS Med. Chem. Lett.*, **2013**, 4, 244–248.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計3件)

Uesato, S.; Matsuura, Y.; Matsue, S.; Sumiyoshi, T.; Hirata, Y.; Takemoto, S.; Kawaratani, Y.; Yamai, Y.; Ishida, K.; Sasaki, T. Discovery of new low-molecular-weight p53-Mdmx disruptors and their anti-cancer activities. *Bioorg. Med. Chem.*, 査読有、**2016**, 24, 1919-1926. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.03.021>

Urano, Y.; Konishi, Y.; Suwa, A.; Takai, K.; Tojo, K.; Nakako, T.; Sakai, M.; Enomoto, T.; Matsuda, H.; Kitamura, A.; Kiyoshi, A.; Sumiyoshi, T. Discovery of dihydroquinazoline derivatives as potent, selective, and CNS-penetrant M<sub>1</sub> and M<sub>4</sub> muscarinic receptors agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 査読有、**2015**, 25, 5357-5361. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.09.032>

Nishimura, K.; Fukuyama, N.; Yamashita, M.; Sumiyoshi, T.; Yamamoto, Y.; Yamada, K.; Tomioka, K. Cyclic model for the asymmetric conjugate addition of organolithium with enoates. *Synthesis*, 査読有、**2015**, 47, 2256-2264. DOI: 10.1055/s-0034-1380702

〔学会発表〕(計19件)

平中 誠弥、上里 新一、伊藤 昭博、吉田 稔、長岡 康夫、住吉 孝明、HDAC6 選択的阻害活性を有するベンズアミド誘導体の探索研究、日本薬学会第137年会、2017年3月24-27日、仙台国際センター(宮城)

平中 誠弥、上里 新一、長岡 康夫、伊藤 昭博、平田 佳之、吉田 稔、住吉 孝明、脳移行性を有するヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤の探索研究、第66回日本薬学会近畿支部総会、2016年10月15日、大阪薬科大学(大阪)

石田 恭次、山井 悠介、上里 新一、長岡 康夫、住吉 孝明、不斉非対称化反応を用いた光学活性3,3-ジ置換オキシインドールの合成研究、第66回日本薬学会近畿支部総会、2016年10月15日、大阪薬科大学(大阪)

S. Hiranaka, Y. Nagaoka, S. Uesato, A. Ito, M. Yoshida, T. Sumiyoshi Synthesis and biological evaluation of CNS-penetrant

histone deacetylase inhibitor. The 11th International Symposium in Science and Technology at Kansai University 2016, 2016年7月26-28日、関西大学(大阪)

R. Iiji, Y. Nagaoka, T. Sumiyoshi Intramolecular macrocyclic cyclization by photo-affinity reaction. The 11th International Symposium in Science and Technology at Kansai University 2016, 2016年7月26-28日、関西大学(大阪)

M. Shimizu, Y. Yamai, K. Ishida, Y. Nagaoka, T. Sumiyoshi. Asymmetric synthesis of 3,3-disubstituted oxindoles using chiral acids. The 11th International Symposium in Science and Technology at Kansai University 2016, 2016年7月26-28日、関西大学(大阪)

K. Takeuchi, K. Ishida, Y. Yamai, Y. Nagaoka, T. Sumiyoshi Efficient synthesis of (±)-coerulescine. The 11th International Symposium in Science and Technology at Kansai University 2016, 2016年7月26-28日、関西大学(大阪)

I. Natsutani, R. Iwata, Y. Yamai, K. Ishida, Y. Nagaoka, T. Sumiyoshi Concise synthesis of spiro-fused oxindole derivatives. The 11th International Symposium in Science and Technology at Kansai University 2016, 2016年7月26-28日、関西大学(大阪)

R. Inoue, S. Takemoto, Y. Nakatsuji, Y. Nagaoka, S. Uesato, S. Oishi, M. Enari, T. Sumiyoshi Synthesis and biological evaluation of benzamide derivatives as anti-cancer prodrugs. The 11th International Symposium in Science and Technology at Kansai University 2016, 2016年7月26-28日、関西大学(大阪)

K. Kawaguchi, S. Uesato, Y. Nagaoka, S. Yamasaki, T. Sumiyoshi Synthesis and biological evaluation of catechin derivatives. The 11th International Symposium in Science and Technology at Kansai University 2016, 2016年7月26-28日、関西大学(大阪)

竹本 涼穂、松浦 佳宏、井上 涼佑、江成 政人、大石 真也、藤井 信孝、長岡 康夫、上里 新一、住吉 孝明、p53 活性化作用を有する2-aminobenzenethiol 誘導体の探索研究、日本薬学会第136年会、2016年3月26-29日、パシフィコ横浜(神奈川)

布袋 彩菜、平田 佳之、上里 新一、長岡 康夫、住吉 孝明、ジケトピペラ

ジン構造を有するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の探索研究、日本薬学会第136年会、2016年3月26-29日、パシフィコ横浜(神奈川県)

石田 恭次、山井 悠介、上里 新一、長岡 康夫、住吉 孝明、不斉非対称化反応を基盤とする 3,3-disubstituted oxindole の合成研究、第65回日本薬学会近畿支部総会、2015年10月17日、大阪大谷大学(大阪)

山井 悠介、石田 恭次、竹内 一喜、清水 雅明、上里 新一、長岡 康夫、住吉 孝明、オキシインドール環化反応の反応機構解明、第65回日本薬学会近畿支部総会、2015年10月17日、大阪大谷大学(大阪)

山井 悠介、石田 恭次、周 琳濤、竹内 一喜、清水 雅明、長岡 康夫、住吉 孝明、カルボニル基活性化を基盤とする置換 oxindole 化合物の簡便合成、第41回反応と合成の進歩シンポジウム、2015年11月26-27日、近畿大学(大阪)

R. Iiji, K. Ishida, Y. Nagaoka, T. Sumiyoshi, Intramolecular macrocyclic cyclization by photo-affinity reaction of benzophenone with alcohol, The 10th International Symposium in Science and Technology 2015, 2015年8月31日~9月1日、Bangkok (Thailand)

R. Inoue, S. Takemoto, S. Oishi, M. Enari, S. Uesato, Y. Nagaoka, T. Sumiyoshi, Synthesis and biological evaluation of benzamide derivatives as p53-Mdmx interaction inhibitors, The 10th International Symposium in Science and Technology 2015, 2015年8月31日~9月1日、Bangkok (Thailand)

S. Hiranaka, A. Hotei, Y. Nagaoka, T. Sumiyoshi, Synthesis and biological evaluation of hybrid compounds of histone deacetylase inhibitor and histamine receptor blocker, The 10th International Symposium in Science and Technology 2015, 2015年8月31日~9月1日、Bangkok (Thailand)

住吉 孝明、化学者からみた次世代創薬の動向と薬物動態研究者への期待、第29回薬物動態ワークショップ、2015年5月14-15日、学術総合センター 一橋講堂(東京)

関西大学・化学生命工学部・准教授  
研究者番号：50738911

(2)研究分担者  
なし

(3)連携研究者  
なし

(4)研究協力者  
中村 有沙 (NAKAMURA, Arisa)  
南原 拓弥 (NAMBARA, Takuya)  
村上 将登 (MURAKAMI, Masato)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

住吉 孝明 (SUMIYOSHI, Takaaki)