

氏 名 (本籍) 西 田 英 光

学 位 の 種 類 博 士 (薬 学)

学 位 記 番 号 薬 第 4 7 9 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 6 年 9 月 3 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

学 位 論 文 題 目 血 液 凝 固 活 性 化 第 X 因 子 (FXa) 阻 害 に 基 づ く
新 規 経 口 抗 凝 固 薬 の 創 製 研 究

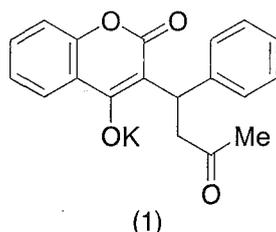
論 文 審 査 委 員 (主 査) 教 授 坂 本 尚 夫

教 授 山 添 康

助 教 授 廣 谷 功

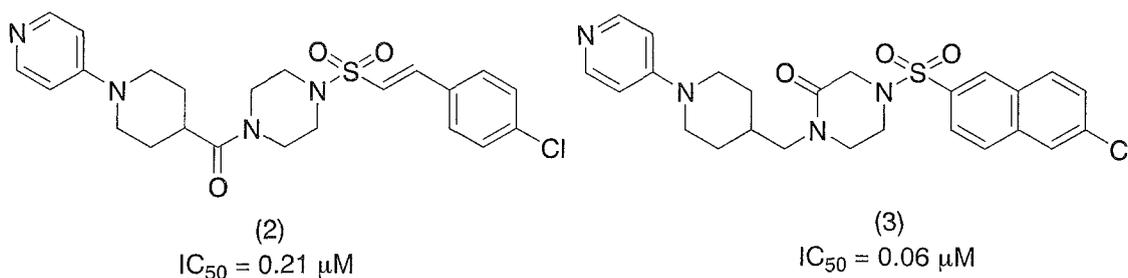
論文内容要旨

臨床の場で用いられている唯一の経口抗凝固薬であるワルファリン (1) は、作用の発現や消失に時間を要すること、同一用量での効果に個人差が大きいことや投与期間中に肝機能障害および重篤な出血をおこす危険性が認められることなどの問題点が指摘されており、臨床医および患者にとって使用し難い薬物である。



したがって、ワルファリン (1) の問題点を解決した新たな経口抗凝固薬を創製することが切望されている。そこで、筆者は血液凝固活性化第 X 因子 (FXa) を阻害することを作用機序とした新規経口抗凝固薬の創製に関する研究を行った。

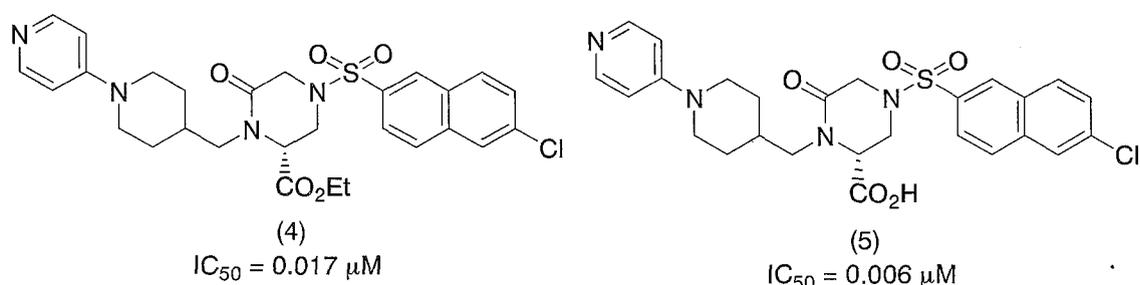
当初、この作用機序に基づく先行開発品として分子内にアミノ基を2箇所有する第一製薬の DX-9065a や山之内製薬の YM-60828 が知られていたが、いずれも低経口吸収性の問題に直面していた。この問題点を解決するためには分子全体の塩基性を減弱することが好ましいと考え、分子内に塩基性部位として4-アミノピリジン構造を1箇所のみ有するゼネカ社の特許記載化合物 (2) に注目した。構造変換することにより、ゼネカ社の特許記載化合物 (2) よりも FXa 阻害活性が約3倍上昇し、トロンビンやトリプシンに対し高い選択性を有するリード化合物 (3) を見出した。



リード化合物 (3) と FXa 蛋白との間の相互作用を増すことにより、さらなる FXa 阻害活性の上昇を期待して誘導体を合成した。ピペリジン環とピペラジン環上へ FXa 蛋白と相互作用可能と予測される置換基を導入した結果、リード化合物 (3) よりも FXa 阻害活性が3~10倍上昇するとともに、トロンビンやトリプシンに対する高い選択性を保持した化合物 (4) と化合物 (5) を見出すに至った。

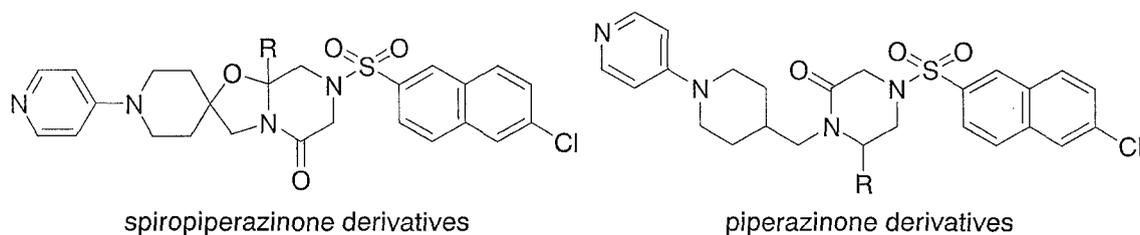
それら化合物の動態試験を行った結果、化合物 (4) はラットにおいて経口吸収作用が確認され、その生物学的利用率は21%と満足な値を示したが、血中でエステラーゼにより加水分解されることがわかり、

その半減期は1.7時間と短く、治療効果を現すには1日3回以上の服薬が必要となることが判明した。一方、化合物(5)は経口投与時の血中への吸収が全く見られなかったこと及び静注投与した際の半減期($T_{1/2}$)も0.2時間と短いことが明らかとなり、これ以上の開発を断念した。



そこで、化合物(4)と化合物(5)の動態プロファイルを改善するために、ピペリジン環とピペラジン環をスピロ結合により固定した新規骨格をデザインし合成した。構築した化合物はピペリジン環とオキサゾロピペラジン環がスピロ結合したユニークな構造であり、これまで合成した化合物の中で最も強いFXa阻害活性を示した。実際に同一の置換基を有するピペラジノン誘導体と比較すると、約2~6倍強いFXa阻害活性を示した。これらの結果は、化合物の骨格が固定されたことにより、FXa蛋白とより強固に結合することができるようになったことを示唆していると考えている。

Comparison of FXa inhibitory activity of spiro skeleton and piperazinone derivatives



R	Spiropiperazinone derivatives		Piperazinone derivatives	
	Compound	IC_{50} (μM)	Compound	IC_{50} (μM)
CH ₂ OH	6	0.005	11	0.012
CH ₂ OMe	7	0.005	12	0.031
CH ₂ NH ₂	8	0.002	13	0.012
COOEt	9	0.005	14	0.030
COOH	10	0.003	15	0.010

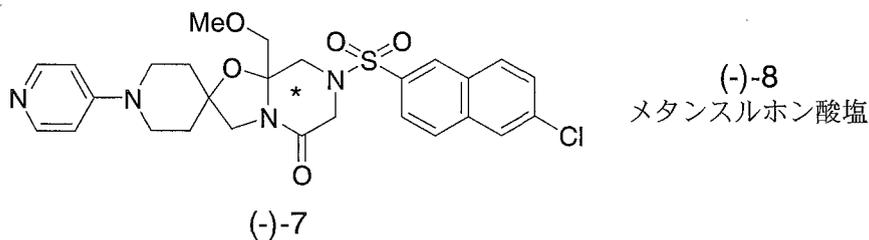
過去の経緯から水溶性置換基を有する化合物は腸管からの吸収に低い傾向が見られ、またエトキシカルボニル基は吸収された後に血中のエステラーゼにより、加水分解されることから、開発候補化合物として

メトキシメチル基を有する化合物 (7) を選定した。ラセミ混合物である化合物 (7) を光学活性カラムにより光学活性体(-)-7と(+)-7を分取し、それぞれのFXa阻害活性を比較した。化合物 (-)-7のFXaに対するIC₅₀値は0.002 μMであり、化合物 (+)-7のIC₅₀値である0.129 μMよりも約60倍強い活性を示した。FXa活性に大きな差異が発現した理由は、骨格が固定され分子全体の自由度が減少したことにより、(-)体では置換基とFXa蛋白との関係が最適になり、一方(+)-体では立体的反発が生じたためと考えられる。

化合物 (-)-7は強力なFXa阻害作用により血液凝固抑制作用を示すとともに、他のセリンプロテアーゼに対して高い酵素阻害選択性も示した。また、薬物代謝酵素阻害作用を検討したところ、特異的に阻害する酵素は認められなかったことから、他の薬物との併用に関しても問題ないと考えられた。

そこで化合物 (-)-7のメタンスルホン酸塩 (-)-8を10 mg/kg経口投与し、動態試験を行った。ラットでの最高血中濃度は0.148 μg/mLに達し、生物学的利用率は53%であった。一方、ピペラジノン環を有するプロトタイプの化合物 (4) や化合物 (5) で問題となっていた半減期 (T_{1/2}) に関しては、化合物 (-)-8はラットで約3時間であり、経口剤として開発するのに問題のないプロファイルであった。

実際に *in vivo*での薬理試験をラット血栓症モデルにおいて行ったところ、0.3 mg/kgの静脈内投与あるいは3 mg/kgの経口投与により、抗血栓作用を発現することが確認され、現在臨床現場で用いられている静注剤アルガトロバンや経口剤ワルファリンよりも出血の危険性が少ないことも確認された。なお、ラットを用いた14日間、100 mg/kg/dayの経口投与においても、3例中全てに毒性所見は見られなかった。



以上のことから、化合物 (-)-8は新規作用機序に基づく経口投与可能なワルファリンに代わる新規経口抗凝固薬となる可能性が示唆されたので、開発候補化合物と決定し、今後大量合成経路の確立、効率的な不斉合成法の確立、塩の種類最適化及び化合物の結晶化等の医薬品の開発及び製剤化に向けた検討を行っていく予定である。

審査結果の要旨

臨床で用いられている唯一の経口抗凝固薬であるワルファリンは、作用の発現や消失に時間を要し、同一用量での効果に個人差が大きく、投与期間中に肝機能障害や重篤な出血をおこす危険性が認められるなどの問題点があり、臨床医および患者にとって使用し難い薬物であることが知られている。そこで著者はこの問題点を解決した新たな経口抗凝固薬を創製することを目的に、血液凝固活性化第X因子（FXa）阻害を作用機序とする新規経口抗凝固薬の創製に関する研究を行い、その結果を纏めた論文が本学位論文である。

当初、この作用機序に基づく先行開発品として分子内にアミノ基を2箇所有する化合物が知られていたが、いずれも経口吸収性が低いという問題に直面していた。この問題点を解決するために、著者はリード化合物として塩基性部位となる4-ピペリジニルピリジン有する化合物を見出し、さらに構造最適化により、FXa阻害活性が高く、トロンビンやトリプシンに対し高い選択性を有する化合物（M55113）を見出した。

引き続き、著者はFXa阻害活性の上昇を目的に誘導体合成を行い、ピペリジン環とピペラジン環上へ様々な置換基を導入した結果、化合物M55113よりもFXa阻害活性が3～10倍上昇するとともに、トロンビンやトリプシンに対する高い選択性を保持した化合物M55190と化合物M55551を見出すに至ったが、半減期が短いことあるいは経口投与時の血中への吸収が低いことから、この問題点を解決すべく、さらなる検討を加えた。

すなわち、ピペリジン環とピペラジン環をスピロ結合により固定した新規骨格を設計し、この誘導体の中から、開発候補化合物としてメトキシメチル基を有する化合物を選定した。さらに光学活性な(-)-メトキシメチル体（M55529）が強い活性を示すことを見出した。

化合物M55529は強力なFXa阻害作用により血液凝固抑制作用を示すとともに、他のセリンプロテアーゼに対して高い酵素阻害選択性も示した。生物学的利用率も53%と高く、問題となっていた半減期もラットで約3時間であり、経口薬として開発するのに問題のないことが判明した。

さらに生物学的検討を重ねた結果、著者は化合物M55529のメタンスルホン酸塩（M55532）が新規作用機序に基づく経口投与可能なワルファリンに代わる新規経口抗凝固薬となり得る開発候補化合物であると決定した。

このように、本論文は、リード化合物の選定、新規スピロ骨格のデザイン、生物学的プロファイルに改善などの検討を重ね、血液凝固活性化第X因子（FXa）阻害に基づく新規経口抗凝固薬としての開発候補化合物の発見までの経過を詳細に論述しており、博士（薬学）の学位論文として合格と認められる。