

GR103691及び関連化合物の新規脳梗塞治療薬としての可能性の検討

研究代表者：石毛久美子

共同研究者：齋藤弘明、宮本葵、藤井まき子

【はじめに】 我が国において、脳梗塞や脳出血などの脳血管疾患は、かつて、死亡原因の第1位であったが、急性期の治療法の進歩等により死亡率は減少しつつあり、人口動態2014（厚生労働省）によると、悪性新生物、心疾患、肺炎に次いで第4位であるが、患者数が減少したわけではない。一方、救命後に後遺症の残る患者は非常に多く、脳血管疾患は、要介護状態に陥る原因疾患の第1位を占めており、救命率のさらなる向上もさることながら、いかに後遺症を軽減させるかが重要な課題となっている。しかし、脳血管疾患の後遺症に対する有効な治療薬は非常に少なく、また、副作用等のために使用できない、あるいは、使用しても無効な症例もあり、新たな脳保護薬の開発が望まれている。そこで、現在、脳血管疾患の6割以上を占める脳梗塞の後遺症軽減に着目した新規脳保護薬の開発を最終的な目的とし、マウス海馬神経由来のHT22細胞において、細胞死保護作用を見出したGR103691をもとに我々が新たに合成した化合物Aについて、脳梗塞モデルマウスにおける薬理的検討を行うとともに、薬物動態学的・薬剤学的検討を行った。なお、動物実験は、日本大学動物実験運営内規に基づいて実施した。

【薬理的検討】 イソフルラン麻酔下、ローズベンガル静脈内投与とレーザー照射により中大脳動脈に閉塞を誘導した脳梗塞モデルマウスにおいて、梗塞誘導24時間後の梗塞体積は、1時間後より拡大していたが、72時間後とは差がなかった。自発運動量、立ち上がり回数及びロータロッド潜時は、梗塞誘導1時間後に最も低下し、神経障害スコア（テイルサスペンション試験、抵抗性試験および行動停止時間より算出）は、1時間後に最も上昇した。これらのスコアは、その後、徐々に回復していったが、72時間後でも完全には回復しなかった。梗塞誘導後に、化合物Aの塩酸塩（A-HCl）を投与（直後に10 mg/kgを静脈注射し、90分後に同量を腹腔注射で追加）したところ、24時間後の脳梗塞体積が有意に縮小した。また、梗塞誘導1および24時間後の行動薬

理試験のスコアは、有意な改善または改善傾向を示した。また、A-HClの脳梗塞障害抑制作用は、現在、臨床適用されているエダラボンと同程度か、強い傾向が示された。

【薬物動態学的検討】 マウスのブランク血清を用い、A-HClの血中濃度の測定条件を決定した。決定した測定条件は、以下の通りである。装置：UFLC-UV (Shimadzu)、分離カラム：TSKgel ODS-100V (3 μ m, 4.6 \times 150 mm, TOSOH)、測定波長：278 nm、内部標準物質(IS)：Phenacetin、前処理：メタノールによる除タンパク法、移動相：Acetonitrile:H₂O (60:40, v/v)。その後、A-HCl (10 mg/kg) を静注後のマウス血清において血中濃度の測定ができること、比較的速く消失することが確認されたが、薬物動態学的パラメータの詳細な検討は今後の課題となった。

【薬剤学的検討】 化合物Aの経皮吸収剤としての可能性を検討した。実験では、化合物Aのヘアレスマウス皮膚透過性を *in vitro* で測定し、1時間当たり200 μ g程度 (1日5mg程度) まで投与可能であることが明らかとなった。

【まとめ】 本研究では、GR103691をもとに合成した化合物Aの脳梗塞治療薬としての可能性を探究するために、薬理的、薬物動態学的および薬剤学的観点から検討した。検討結果より、化合物Aは、脳梗塞モデルマウスにおいて、エダラボンに匹敵する脳保護作用を持つことが明らかとなり、新規脳梗塞治療薬となる可能性が示唆された。また、化合物Aの有効血中濃度やクリアランス等を明らかにした上で、吸収を促進するような処方設計を行うことにより、経皮吸収剤として製剤開発できる可能性が示され、新規脳梗塞治療薬の候補物質として有用である可能性が高まった。

【謝辞】 本研究は、平成28年度日本大学薬学部共同研究助成金により、研究代表者並びに共同研究者所属研究室の卒業研究生の協力のもとで行われました。ご支援に対し、感謝申し上げます。

【成果報告】 本研究結果の一部は、第39回日本生物学的精神医学会・第47回日本神経精神薬理学会合同年会 (2017年9月28日 - 30日・札幌) において発表した。