



Title	1-[(2-Hydroxyethoxy) methyl] -6- (phenylthio) thymine (HEPT) 誘導体の合成と抗HIV作用に関する研究
Author(s)	高嶋, 秀昭
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3184391
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	高 嶋 秀 昭
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 8 5 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 13 年 1 月 31 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT) 誘導体の合成と抗 HIV 作用に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 今 西 武
	(副査) 教 授 北 泰 行 教 授 小 林 資 正 教 授 土 井 健 史

論 文 内 容 の 要 旨

ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染により引き起こされる後天性免疫不全症候群 (AIDS) は極めて致死性の高い疾患であり、全世界で多数の感染患者がいる、大きな社会問題である。抗 HIV 剤は AZT が最も古く 1987 年に治療効果が確認されていた。AZT は細胞内で AZT 三リン酸 (AZT-TP) に変換され HIV の逆転写酵素 (RT) を阻害し、抗ウイルス作用を示す。その一方、AZT-TP はヒト DNA ポリメラーゼも阻害し、骨髄抑制などの重篤な副作用を示す。したがって、副作用の少ない、AZT とは交差耐性を示さない、新たな抗 HIV 剤の開発が急務であった。現在でこそ、nucleoside 系 RT 阻害剤 7 剤、非 nucleoside 系 RT 阻害剤 3 剤、プロテアーゼ阻害剤 5 剤が認可されており、AIDS 治療に効果を上げている。しかし、これらの薬剤も副作用等の問題が残されている。最近 AIDS 治療に用いられている多剤併用療法のためにも、他の薬剤との併用効果を示し、副作用の少ない安全な薬剤の開発が、現在においても望まれている。

1989 年、宮坂らは、1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT) が抗 HIV 活性を持つことを報告した。HEPT は AZT と同様の nucleoside 系であったが、AZT とは異なる性質を持ち、また種々の培養細胞に対する毒性は低い。以上より、HEPT は副作用が少なく、AZT とは異なる作用機序を持ち交差耐性を示さない、新規抗 HIV 剤になり得ると考えられた。しかし、HEPT は低活性であったため、構造変換により高活性類縁体を見出すことが望まれていた。

筆者は、新規高活性 HEPT 類縁体を見出す目的で、最初に既知の 6 位置換 uridine nucleoside の合成法を応用し、HEPT の 1 位から 6 位の各置換基を (他の位置の置換基は HEPT のそれに固定し) 変換した種々の HEPT 誘導体を合成し、抗 HIV 活性を測定した。その結果、以下に示すような構造活性相関が得られた。Pyrimidine 環の 1 位置換基に関し、ethoxymethyl 基や 1-(benzyloxy)methyl 基に置換すると活性が上昇した。2-Thio 体は 2-oxy 体より高活性であったが、4-thio 体は強い細胞毒性を示した。5 位置換基に関し、Methyl 基より嵩高い置換基が活性発現に好都合で、ethyl 基あるいは isopropyl 基が適切であった。6 位置換基に関しては、環状構造が必要であり、phenylthio 基、cyclohexylthio 基、および benzyl 基が活性発現に好都合であった。6-phenylthio 基の benzene 環上の置換基では、3 位に methyl 基、ethyl 基、あるいはフッ素原子を導入すると活性が上昇し、特に 3 位と 5 位の両方に methyl 基あるいは塩素原子を導入すると、飛躍的に活性が上昇した。

次に、上記の HEPT 各位置換体の構造活性相関および HEPT と HIV RT 複合体の X 線結晶解析の結果を基に、

活性上昇に寄与する各位の置換変換を複数加え、より強く HIV RT と結合する可能性がある高機能 HEPT 類縁体を設計した。

高機能 HEPT 類縁体の重要な中間体である、acyclo-2-thiouridine 誘導体合成の改良を試み、シリル化された 2-thiouracil base に 2eq の 1, 3-dioxolane および $\text{Me}_3\text{SiCl/KI}$ を反応させると、目的の 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-2-thiouracil が収率良く得られることを見出した。同様に 2eq の alkylchloromethylether および KI を反応させると、1-[(alkyloxy)methyl]-2-thiouracil が収率良く得られることも見出した。

上記の方法を用い合成した acyclo-2-thiouridine 誘導体を中間体に用い、高機能 HEPT 類縁体を合成し、抗 HIV 活性を測定した。その結果、高機能 HEPT 類縁体の多くは、 EC_{50} が nM レベルの強い抗 HIV 活性を示し、AZT と同等あるいはそれ以上の活性を有していた。これらの高活性 HEPT 類縁体の細胞毒性は HEPT と同程度であり、ウイルス選択性が非常に高い安全な薬剤であった。構造活性相関に関し、pyrimidine 環の 1 位、5 位、および 6 位置換基変換は活性上昇に相乗的に作用した。その後の非臨床試験より、高機能 HEPT 類縁体のうち 6-benzyl-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyluracil (MKC-442) が医薬品として開発可能であると判断された。

HEPT 類縁体の抗 HIV 作用機序についてより詳細に検討するため、HEPT 類縁体について *in vitro* HIV RT 阻害濃度を測定し、MKC-442 について RT 阻害形式について検討した。その結果、いずれの HEPT 類縁体も HIV RT を阻害した。阻害形式に関しては、MKC-442 の場合 TTP ($\text{K}_i=0.2\mu\text{M}$) および dGTP ($\text{K}_i=0.01\mu\text{M}$) に対し非拮抗阻害であり、拮抗阻害剤である AZT-TP のそれとは異なっていた。HEPT 類縁体の *in vitro* RT 阻害濃度と細胞系における HIV 増殖抑制濃度には強い正の相関が認められ、HEPT 類縁体は AZT とは異なる形式で HIV RT を阻害し、HIV 増殖を抑制していることが強く示唆された。

最後に、MKC-442 の臨床的有用性を調べるため、AZT 耐性ウイルスに対する抗 HIV 作用、AZT と併用時における相乗効果、およびマウス骨髄前駆細胞に対する *in vitro* 増殖抑制作用について検討した。その結果、MKC-442 は、AZT 耐性株に対して AZT のような活性低下を示さず、非耐性株の場合と同程度の活性を示した。MKC-442 と AZT を併用した場合、いずれの EC 値においても MKC-442 と AZT は相乗効果を示した。また、MKC-442 は $5\mu\text{M}$ 以下の濃度ではマウス骨髄前駆細胞の増殖抑制作用を示さなかった。以上の結果、MKC-442 は臨床的有用性を持つことが示唆され、現在実施中の臨床試験で治療効果が確認されている。

論文審査の結果の要旨

既にヌクレオシド類縁体の一種である HEPT に抗 HIV 活性が認められていたが、その活性は弱いものであった。申請者は本化合物が既存の抗 HIV 薬 AZT に比べて毒性が極めて低く、作用機序が異なることも期待されることから、HEPT をリード化合物とした新規で優れた抗 HIV 薬の開発研究を行った。その概要は以下の通りである。

HEPT のピリミジン環上の各位置での置換基を種々変換した様々な誘導体を合成し、その抗 HIV 活性の評価検討を加えた結果を基にして、より強い抗 HIV 活性が期待される新規な HEPT 誘導体数種を分子設計した。これら化合物は予想通り優れた抗 HIV 活性を示し、しかも、毒性が低いことがわかった。また、当該化合物は HIV RT に対する阻害様式が AZT のそれと異なること、AZT 耐性ウイルスに対しても強い増殖抑制作用を有することを明らかにしている。なお、これらの化合物の 1 つは現在新しい AIDS 治療薬候補品として臨床試験中（第Ⅲ相）である。以上の研究内容は、博士（薬学）に十分に値するものであると判断いたします。