



Title	一酸化窒素(NO)放出速度の異なる自発的NO発生剤の薬物設計に関する分光学的研究
Author(s)	福山, 真一
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42943">https://hdl.handle.net/11094/42943</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	ふく やま しん いち 福 山 真 一
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 5 7 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成12年 3 月 24 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	一酸化窒素 (NO) 放出速度の異なる自発的NO発生剤の薬物設計に関する分光学的研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 大 森 秀 信
	(副査) 教 授 今 西 武 教 授 田 中 徹 明 教 授 北 泰 行

### 論 文 内 容 の 要 旨

一酸化窒素 (NO) は、免疫系、神経系、循環器系などの多様な生体システム系において、様々な生理作用を発現させることが明らかにされている。生体内における生理作用に対する NO の役割を解明するためにも、NO を間接的に生体に投与でき、生理的条件下でNOを供給できるNO放出剤が注目されている。現在 NO を発生する薬物としては、ニトロエステル基をもつ有機硝酸エステル剤 [isosorbide dinitrate (ISDN)]、分子内に NO の部分構造を含む sodium nitroprusside (SNP)、3-morpholinohydronitrate (SIN-1) などが臨床的に応用され、実験薬としても広く用いられている。しかし、有機硝酸化合物は生体内で酵素やチオール作用により NO を遊離させ、また、SNP は、NO と共にシアノイオンを放出し毒性を発現させる。さらに、SIN-1 は、superoxide anion ( $O_2^-$ ) と NO を同時に放出し、peroxynitrite ( $ONOO^-$ ) を発生させることが報告されており、理想的な NO 放出剤とは言い難い。このような状況下で、生理的条件下で NO の発生量をコントロールできるような自発的NO放出剤が要求されており、これらはNO関連疾患の治療薬としても期待されている。

FK409 は、当社研究所で見い出された微生物 *Streptomyces griseosporus* の醗酵産物を酸処理することにより誘導された化合物である。この薬物は、優れた血管平滑筋の弛緩作用や血小板の凝集抑制作用を示すが、その生理作用は、ISDN や glyceryl trinitrate (GTN) などの有機硝酸化合物の薬理作用と類似している。喜多らは、FK409 による血圧降下作用や心筋保護作用が、ラット plasma 中の cGMP 量の上昇によることを見出し、リン酸塩緩衝液中で FK409 が自発的に、すなわち溶液にするだけで NO を遊離できることを実証した。これらの事実から、FK409 の生物活性は、内皮由来性弛緩因子 (EFRF) と考えられている NO に依るものと推定されている。FK409 は、分子内にニトロ基とオキシム基を有しているが、NOの部分構造を有しておらず、他のNO放出剤とは全く異なる構造を有する。したがって、FK409は、従来のNOの発生剤とは異なるタイプのNO産生速度を任意に制御できる自発的 NO 放出剤とし応用できる可能性を秘めている。

そこで、本研究では、FK409が既存の NO 放出剤とは全く異なる反応経路で、NO を放出することを明らかにすると共に、FK409の水溶液中における分解及び NO 放出プロファイルから、NO 放出の律速過程の決定を試みた。そして、その知見に基づき NO 放出速度を任意にコントロールできるFK409 誘導体の薬物設計を主眼に置き検討を進めた。

まず、FK409と既存の NO 放出剤である SIN-1 及び SNP の NO 産生能と生物活性を相互に比較検討した。その

結果、FK409は、リン酸緩衝液中で自発的に nitrite を産生し、その速度はラット plasma 中及び cysteine (Cys) の共存下で増大した。この結果は、FK409が SIN-1 及び SNP とは異なる反応経路で NO を放出することを強く示唆した。さらに、ラットに対する生物活性の強度は、それぞれのNO放出剤から生成される nitrite 量と相互に関連することが判明した。

次に、FK409の NO 産生に Cys が関与することが示唆されたため、SH 基を有する化合物の共存下における FK409 の分解及び NO 産生プロファイルを詳細に検討した。その結果、FK409の NO 産生は、自発的 NO 放出に加えて、有機硝酸エステル類と同様に、Cys や glutathione (GSH) のようなSH基を有する化合物の共存下で促進されることが判明した。

FK409を、種々の NO 放出速度をもつ自発的な NO 放出剤として薬物設計するためには、その分解と NO 産生の引き金となる反応の律速過程を決定することが必要である。そこで、FK409の分解と NO 放出について、種々の分光学的手法により速度論的に解析したところ、生理的 pH 条件下における FK409の分解と自発的 NO 放出は、pH の上昇と共に加速される一般塩基触媒反応により進行し、NO 産生の律速過程は、ニトロ基の  $\alpha$  位の脱プロトン化であることが示された。さらに、SH 基を有する化合物の、FK409の分解及び NO 放出に対する促進効果は、thiolate anion が塩基触媒として作用し、ニトロ基の  $\alpha$  位の脱プロトン化を促進するためであると考えられた。

FK409の自発的 NO 放出の律速過程が、ニトロ基の  $\alpha$  位の脱プロトン化であることが示されたので、ニトロ基の  $\alpha$  位炭素の電子密度が変化するように、FK409の置換基を修飾すれば、自発的 NO 放出速度の異なる FK409誘導体が薬物設計できると考えられた。そこで、種々の FK409誘導体を用いて、水溶液中における分解速度に対する置換基効果を検討し、FK409誘導体のニトロ基の  $\alpha$  位炭素の電子密度がNO放出速度を決定する重要な因子であることを実証した。その結果、FK409誘導体の pH8.0、30℃における分解の半減期は2.6分から48時間と広い範囲に涉り、NO 放出速度を任意にコントロールできるように、FK409誘導体を薬物設計することが可能であることが示された。

結論として、本研究は、置換基の選択により任意の NO 放出速度をもつ FK409誘導体が薬物設計できることを示し、本誘導体が NO 研究の実験薬あるいは NO 関連疾患の治療薬として有用となりうることを示した。

## 論文審査の結果の要旨

近年、一酸化窒素 (NO) の生理作用が注目されるに伴い、その生体内機作解明のために必要な、生理的条件下で NO 発生量をコントロールし得る自発的 NO 放出剤の開発が求められている。

本研究は、微生物の発酵産物より誘導された FK409 [(±)-(E)-4-ethyl-2-[(E)-hydroxyimino]-5-nitro-3-hexenamide] が、既存のものの有する欠点を克服した、新規で有用なNO放出剤となり得る可能性に着目し行われたものであり、以下の点を明らかにしている。

(1) FK409 の生理作用は、その自発的分解により生じるNOによるものである。(2) 生理的条件下における FK409 の分解および NO 放出の律速段階はニトロ基の付け根の炭素上にある水素原子の脱離過程であり、この反応は一般塩基触媒を受ける。(3) (2)の結果に基づき、FK409の構造を変化させることにより、NO 放出の半減期が2.6分から48時間に渉る NO 放出剤を得ると共に、それらの構造と反応性の関係を定量的に解析することにより、さらに広範囲の半減期を有する NO 放出剤の設計が可能であることを示した。これらの成果は博士(薬学)の学位論文として充分価値あるものと認められる。