The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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	https://hdl.handle.net/11094/42943
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏　　名　福山真一（ふくやましんいち）

博士の専攻分野の名称　博　士（薬　学）

学位記番号　第　15575　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-morpholinosydronimine（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の作用により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 griseosporeus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い出し、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α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α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α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α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α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時間と広い範囲に渉り、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。