The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	海綿由来の環状過酸化物をシーズとする抗マラリア活性リード化合物の創製とその作用機序
Author(s)	河西, 基之
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44816
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

【8】

氏　　名	河西基之（かわにしもとゆき）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学位記番号	第　18634　号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学位論文名	**海綿由来の環状過酸化物をシーズとする抗マラリア活性リード化合物の創製とその作用機序**
論文審査委員	（主査） 教　授　小林　資正 （副査） 教　授　田中　徹明　　教　授　北　泰行　　教　授　今西　武

論文内容の要旨

マラリアとは、ハマダラ蚊によって媒介されるマラリア原虫（*Plasmodium* sp.）がヒトに感染しておこす疾患の名称であり、特に熱帯熱マラリア原虫（*P. falciparum*）による症状は致死的になることが多く、世界中で約3億人が感染し、年間約200万人が死亡する人類最大の寄生原虫感染症である。特効薬として臨床応用されているクロロキンに対して耐性を示す原虫が広範囲に伝播し、ワクチンの開発が困難を極めていることから新規化学療法剤の開発が人類にとって緊急を要する課題である。

このような背景のもと、著者は先に *Plakortis* 属海綿から単離・構造決定された2種の環状過酸化物 peroxyplakoric acid 類のメチルエステルが *in vitro* で強い抗マラリア活性（$IC_{50}=0.15\mu M$ および $IC_{50}=0.12\mu M$）を示すことを見出した。そこで、これら海綿由来の環状過酸化物の基本骨格である 6-methoxy-1,2-dioxane 部分に着目し、天然物をシーズとする抗マラリア活性物質の創製研究に着手した。

まず最初に、これまで困難とされていた 6-methoxy-1,2-dioxane 構造の構築法について種々検討し、ケト-α,β-不飽和エステルのパーオキシヘミアセタール化と続く分子内 Michael 付加による実用的な構築法を確立し、6-メチル体を合成した。さらに、薬物の生体膜透過性の指標とされる疎水性パラメーター（clogP）をもとに、6位アルキル側鎖の炭素数が異なる2種のアナログを設計し、それぞれをγ-butyrolactone から合成した。得られたアナログのうち、6-ペンチル体の *in vitro* 抗マラリア活性は天然物と同程度の強い活性値を示すとともに宿主細胞のモデルとして用いたヒト由来の咽頭ガン細胞との選択毒性比が天然物より優れた値を示した。また、1,2-dioxane 部分の官能基の相対および絶対立体配置は、抗マラリア活性にほとんど影響しないことも明らかにした。

一般にマラリア原虫に対する選択毒性比が 100 倍以上であれば有望な化合物とされており、大量合成が可能な 6-ペンチル体が天然物よりも高い選択毒性比（360倍）を示したことから、6-ペンチル体についてマウスの系（against *P. berghei*）での *in vivo* 抗マラリア活性を検討したところ、30 mg/kg の投与量（*i.p.*）でもほとんど活性が認められなかった。この原因として血中での代謝が考えられ、6-ペンチル体をマウス血清で処理したところ、メチルエステル部分が加水分解され、活性の弱いカルボン酸（$IC_{50}=>1.2\mu M$）を高収率で与えたことから、メチルエステル部分を血清中で安定な官能基に変換する必要があることが示唆された。

まず、6-ペンチル体を酵素加水分解した後、ペンタフルオロフェニルエステル体を経て5種のアミド体を得た。6-

ペンチル体が速やかに代謝されるのに対してアミド体は300分後でもほとんど代謝されないことが判明し、いずれのアミド体も *in vitro* 抗マラリア活性を保持していたことかち、*in vivo* での活性試験を検討した結果、動物モデルにおいてもマラリア原虫増殖抑制効果が認められ、特にエチルおよびプロピルアミド体は有意な延命効果が観測された。

次に環状過酸化物の作用部位と考えられているマラリア原虫に特有の酸性オルガネラ（食胞：pH 5.2）への移行を促進させることを目的としたN含有アミドを合成した。さらに *in vitro* での活性評価で比較的良好な抗マラリア活性を示したアナログについて *in vivo* 試験を検討したところ、イミダゾール体が最も延命率が高く、マウスへの毒性も飛躍的に改善された。さらに、より強い抗マラリア活性とクロロキン耐性に対する克服を指向して、クロロキンとのハイブリッド体についても設計・合成した。

また、エステル部分をアミド基に変換することで *in vitro* での活性が減弱する傾向が認められたことから、アミド以外のカルボニル置換基について構造活性相関を検討した。エステル部分の周辺に立体障害を付加したアナログと、加水分解を考慮しなくてもよいケトン体をこれまでのアナログと同様の手法で合成し、活性評価を行ったところ、*t*-ブチルエステル体が *in vitro* でメチルエステル体と同等の抗マラリア活性とより優れた選択毒性比（583倍）を示した。

一方、6位アルキル側鎖部分は抗マラリア活性の発現に重要である炭素ラジカルの発生源と推察されたことから、ラジカルの安定化を目的とした5種のアナログをこれまでと同様に合成して *in vitro* での抗マラリア活性を検討したところ、6-シトロネリル体が6-ペンチル体よりも優れた活性（$IC_{50}=0.033\,\mu M$）を示すことを見いだした。

一方、マラリア原虫のどのライフステージで6-ペンチル体が作用するのかを観察したところ、ring 期から trophozoite 期へは進行せず、凝集塊が観察されたことから、6-ペンチル体は主として ring 期で作用していることが判明した。

さらに、artemisinin は原虫の食胞内でヘモグロビンの分解副産物であるヘムと反応して炭素ラジカルを発生し、標的分子をアルキル化すると提唱されていることから、ヘムとの反応のモデル実験として、$FeSO_4$ で6-ペンチル体を処理した。その結果、ペンチルラジカルが生成したことを示す分解産物が得られ、炭素ラジカルが活性発現に関与すると推察された。

そこで、6-ペンチル体の6位アルキル側鎖の末端にアビジンと親和性のあるビオチンを導入したアナログを設計・合成した。ビオチン体は依然強い抗マラリア活性を有していたことから、マラリア原虫の標的分子の探索を検討した。

論文審査の結果の要旨

ハマダラ蚊によって媒介されるマラリアは、人類最大の寄生原虫感染症であるにもかかわらず、欧米や日本においてはほとんどこれまで感染者がなかったことから、熱帯地域の風土病ということで、それほど重要視されてこなかった。しかしながら、特効薬クロロキンに対して耐性原虫が広範囲に伝播しつつあるのに対して、地球温暖化や交通網の発達による熱帯地域との交流が増大していることから、新規抗マラリア剤の開発が人類にとって緊急を要する課題となってきている。

著者は先に海綿から単離・構造決定された環状過酸化物 peroxyplakoric acid 類が *in vitro* で強い抗マラリア活性を示すことを見出した。そこで、この環状過酸化物の基本骨格 6-methoxy-1,2-dioxane 部分が重要と考えられることに着目し、この基本骨格を有する合成抗マラリア活性物質の創製研究に着手した。

著者は、6-methoxy-1,2-dioxane 構造の構築法について種々検討し、ケト α,β-不飽和エステルのパーオキシヘミアセタール化と続く分子内 Michael 付加による実用的な構築法を確立し、6位アルキル側鎖の炭素数が異なるアナログ類を設計・合成した。合成したアナログのうち、6-ペンチル体が強い *in vitro* 抗マラリア活性とヒト細胞との選択性を示した。また、1,2-dioxane 部分の官能基の相対および絶対立体配置は、抗マラリア活性に影響しないことも明らかにした。

6-ペンチル体はマウスの系での *in vivo* 試験では活性を示さず、血中でメチルエステル部分が加水分解されて失活することが判明した。そこで、メチルエステル部分をアミド結合に変換した種々のアナログ類を合成した。アミド類

は血清中で安定で、動物モデルにおいても抗マラリア効果が認められ、イミダゾール体が最も延命率が高く、マウスへの毒性も飛躍的に改善することが判明した。

さらに、過酸化物構造を有する抗マラリア剤は、原虫の食胞内でヘモグロビンの分解副産物であるヘムと反応して炭素ラジカルを発生し、標的分子をアルキル化すると提唱されていることから、6-ペンチル体の6位アルキル側鎖の末端にアビジンと親和性のあるビオチンを導入したアナログを設計・合成した。そして、マラリア原虫の標的分子の探索を検討した。

以上の成果は、博士（薬学）の学位論文として十分価値のあるものと認められる。