The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	2H-クロメン骨格を有する新規非ペプチド性エンドセリン-A（ETA）選択的受容体拮抗剤S-1255の合成ならびにその化学構造と薬理活性の相関に関する研究
Author(s)	松村，謙一
Citation	大阪大学，2004，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46005
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

【3】

氏　　名	松（まつ）　村（むら）　謙（けん）　一（いち）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学　位　記　番　号	第　１８９６７　号
学位授与年月日	平成 16 年 7 月 6 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	**2*H*-クロメン骨格を有する新規非ペプチド性エンドセリン-A（ET_A）選択的受容体拮抗剤S-1255の合成ならびにその化学構造と薬理活性の相関に関する研究**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　高木　達也 （副査） 教　授　小林　祐次　　教　授　田中　徹明　　教　授　前田　正知

論　文　内　容　の　要　旨

エンドセリン（ET）は、1988 年に豚大動脈血管内皮細胞培養液中から単離された強力な血管収縮作用を有する内因性ペプチドで、ET-1、ET-2 および ET-3 のイソペプチドが存在する。ET は、細胞膜上の 7 回膜貫通 GTP 結合蛋白共役型受容体スーパーファミリーに属する ET 受容体を介してその作用を発現する。ET 受容体には ET_A と ET_B のサブタイプが存在し、両 ET 受容体とも全身の広範囲な組織で発現している。ET は当初その強力な血管収縮作用に注目が集まったが、その後の研究が進むにつれ、血管収縮作用以外にも多彩な生理作用に関与していることが明らかとなった。

本態性高血圧症、肺高血圧症、急性心筋梗塞、拡張性心筋症、虚血性脳障害、慢性腎不全、アテローム性動脈硬化症などの様々な病態において、血中 ET 濃度の異常な上昇が報告されており、ET のこれら循環器系疾患への関与が示唆されている。これら疾患には２つの受容体サブタイプのうち ET_A 受容体が深く関わっていることが明らかとなっており、非ペプチド性 ET_A 選択的受容体拮抗剤が上記循環器系疾患の治療薬になりうると期待されていることから、著者はその探索研究に着手した。

研究を開始するにあたり、詳細な文献調査を行ったところ、既存の AII 受容体拮抗剤と ET_A 受容体拮抗剤の間に興味深い関係を見出した。すなわち SmithKline-Beecham 社および Merck 社の ET_A 受容体拮抗剤が、AII 受容体拮抗剤やその部分構造の修飾によって得られたという事実である。この点に注目し、自社で以前開発した AII 受容体拮抗剤とその関連誘導体のスクリーニングを行ったところ、4-フェニル-2*H*-クロメン-3-カルボン酸に弱い ET_A 受容体拮抗作用（IC_{50}＝67 μM）を見出した。これをリード化合物とし、系統的な構造修飾を行なうことにより、強い ET_A 受容体拮抗作用（IC_{50}＝1.9 nM, ET-1 によるラット大腿動脈の収縮を pA2＝8.8 で阻害）と優れた経口吸収性（バイオアバイラビティー＝55%）を有する 2*H*-クロメン系 ET_A 受容体選択的拮抗剤 S-1255 を見出すことに成功した。また構造修飾の過程で、2*H*-クロメン誘導体の化学構造と薬理活性との関係を明らかにし①２位には 3,4-メチレンジオキシフェニル基が必須であること②３位には酸性官能基、特にカルボキシル基が好ましいこと③６位にはイソプロポキシル基が必須あること④４位には脂溶性置換基の導入が重要であること、その際置換基の長さと受容体親和性の間には二次の相関が存在し最適長は 6～9Å であること、を示した。S-1255 は in vivo 試験である DOCA 食塩高血圧ラットへの経口投与試験においても優れた薬効を示すことが判明し、前臨床試験へと進められた。

次に S-1255 の立体構造解析を、X 線結晶構造解析、NMR スペクトル、CD スペクトルおよび計算化学を用いて解

析し、ET_A受容体との相互作用に関する考察を行った。その結果S-1255の基本骨格である2-フェニル-2*H*-クロメン部分は、結晶状態、溶液中で共にL字型コンフォメーションをとり、*ab initio*分子軌道計算からこれが安定コンフォメーションであることが分かった。さらにET_A受容体結合試験の結果から、L字型コンフォメーションが活性の発現に重要であることが示唆された。受容体との結合様式が詳細に検討されているET_A受容体拮抗剤BMS-182874との重ね合わせ実験を行い、L字型コンフォメーション内部の疎水性領域がET_A受容体のTyr129とアロマティック相互作用を介して強固にスタッキングしている可能性を示した。

続いてS-1255のFT-IRスペクトルを測定し、そのν_{OH}および$\nu_{C=O}$バンドの波形分割を行なうことで、3位カルボキシル基の立体構造を解析した。その結果S-1255の3位カルボキシル基には①クロメン環に対して平面構造をとる共役型構造②クロメン環に対して捩れた非共役型構造③4位フェニル基と分子内$CO_2H\cdots\pi$水素結合を形成した構造、の3構造が存在していること、ET_A受容体親和性の発現には②の非共役型構造が重要であることを明らかにした。また②の非共役型構造が4位置換基との立体障害によって生じることを示し、4位置換基は受容体との疎水性相互作用に加え3位カルボキシル基を捩れさせることで活性発現に寄与している可能性を示唆した。なお、③の分子内$COOH\cdots\pi$水素結合の存在を実験的に証明したのは今回が始めてである。

S-1255を開発するにあたって工業的製法の確立は不可欠であるが、薬理活性向上を目的とした探索研究時の合成法は、操作性、精製法およびコストの面で工業的製法に適応するには不適当であった。そこで、S-1255のプロセス研究を行った。S-1255は不斉炭素を一箇所持ち、効率的な光学活性体の開発が非常に重要となる。そこで鍵反応として重要中間体である6-イソプロピルオキシ-4-メトキシ-2*H*-クロメン-3-カルボン酸の(+)-ノルエフェドリンまたは(+)-シンコニンによるダイナミックレゾルーションを新たに開発し、効率的に不斉炭素を導入することに成功した。またダイナミックレゾルーションのメカニズムを明らかにし、分割剤として用いた(+)-ノルエフェドリンおよび(+)-シンコニンが、ラセミ化補助剤としても働いていることを示した。新たに設定されたプロセスケミストリールートは構造最適化研究時の合成ルートと比較して工程数、総収率とも大幅に改善され(8工程、41%総収率vs. 10工程、5%総収率)、全工程にわたりカラム精製は不要であった。設定した合成ルートを用いて10 kgスケールでS-1255の原薬製造を実際に行なうことができた。

論文審査の結果の要旨

エンドセリンは強力な血管収縮作用を持つ内因性ペプチドで、その受容体にはET_A、ET_Bの2つのサブタイプが存在し、主としてET_Aを介して薬理作用が発現するものと考えられる。多くの循環器系疾患の病態に関連していることが知られているため、非ペプチド性ET_A受容体拮抗薬の開発が求められてきた。松村君は、アンジオテンシンII(AII)受容体拮抗剤の修飾によってET_A受容体拮抗剤が開発された経緯に着目し、既開発のAII受容体拮抗剤関連化合物およびその部分構造が修飾された化合物のスクリーニングを行い、リード化合物を発見した。更にこのリード化合物の修飾を進め、構造活性相関により、A, B, C, Dの4つの6員環よりなるET_A受容体拮抗剤S-1255に到達した。

続けて松村君はPharmacophoreモデルを立体的に検証するため、S-1255及びその関連化合物のX線結晶構造解析を行い、A, B, C環がL字型構造を採ることを見いだした。この構造が溶液中でも安定であることを確かめるため、NMR、CD測定及び*ab initio* MO計算を行い、同様にL字型構造が安定であることを確認した。また、これを合成的に確認するため、L字型構造を取らないと思われるジヒドロ体を合成し、生理活性を測定したところ、大きく活性が減少することを見いだし、L字型構造がET_A受容体拮抗活性発現に重要な意味を持つことが明らかとなった。

次にFT-IR測定により、3位のカルボキシル基と4位置換基との相互作用に関する考察が行われた。その結果、3位カルボキシル基と4位フェニル基との間のCOOH-π相互作用が確認された。COOH-π相互作用が実験的に確認されたのはこれが初めてである。

松村君は引き続き、S-1255の工業的合成法の開発に着手した。この化合物の工業的合成は、ラセミ体を合成する過程での中間化合物の光学分割が重要と思われたが、松村君は中間化合物の動的分割の条件を見いだし、高収率で安価

に S-1255 を合成する手順を確立、S-1255 の工業的合成に成功した。同時に、動的分割のメカニズムに関しても、一定の知見を得ることができた。

以上の成果は、1種類の ET_A 受容体拮抗剤開発候補品の工業的合成に成功したとどまらず、その構造化学的考察や Pharmacophore の推定を通じ、広く ET_A 受容体拮抗剤の開発に重要な知見をもたらしたものであり、本論文は、博士（薬学）の学位を授与するに相応しいと考える。