



Title	誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)新規阻害剤の開発研究
Author(s)	上田, 茂生
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46538
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	上 田 茂 生
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 2 0 5 7 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 3 月 29 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	誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) 新規阻害剤の開発研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 田 中 徹 明 (副査) 教 授 北 泰 行 教 授 今 西 武 教 授 小 林 資 正

論 文 内 容 の 要 旨

Nitric Oxide Synthase (NOS) は生体内で恒常的に発現している構成型 NOS (constitutive NOS : cNOS) と炎症時に発現する誘導型 NOS (inducible NOS : iNOS) とに大別される。cNOS はさらに血管内皮型 NOS (endothelial NOS : eNOS) および神経型 NOS (neuronal NOS : nNOS) に分類され、eNOS により生成した NO は主に血圧の調整に、また nNOS により生成した NO は神経伝達物質としての役割を主に有する。従って、これら 2 種類の NOS を抑制することは生体機能維持にとって好ましくないと考えられる。一方、iNOS により産生された NO は細菌等に対して、生態防御作用を示すが、一旦、過剰に産生されると正常な細胞にまで毒性を示し、様々な病態を引き起こす因子であることがこれまでの研究により分かってきた。近年、iNOS 阻害剤は、ONO-1714 が Phase II で、GW274150 が Phase I でそれぞれ臨床研究されているが未だ一つも上市されておらず、著者が研究に携わる段階で、ONO-1714 が最も先行していたことから、この化合物のもつ活性もしくは選択性を上回る化合物を見出すことができれば、新しいタイプの iNOS 阻害剤としてより有用な薬剤を提供できるのではないかと考えた。

このような背景の下、著者は、リード化合物の探索を行った結果、2-イミノオキサゾリジン (I) ($IC_{50}=7.4 \mu M$) および 4,5-ジメチル-2-アミノチアゾール (II) ($IC_{50}=2.8 \mu M$) を見出すことに成功した。一方、I、II および ONO-1714 はアミジン部分をその骨格内に有しており、特に、ONO-1714 は、アミジン部分を除いては脂溶性に富んだ構造上の特徴を有している。従って、I または II の母核に対し脂溶性基を導入することにより、以下に示す目標を達成することができるのではないかと考えた。すなわち、第一の目標として、iNOS 阻害活性においては、ONO-1714 と同等の強さ ($iNOS IC_{50}=10^{-9}$ モルオーダー) を有する化合物を見出すこととした。ここで、著者の合成した化合物は nNOS の iNOS に対する選択性と eNOS の iNOS に対する選択性がほぼパラレルであることが実験結果より明らかになったため、iNOS に対する選択性に関しては nNOS について ($nNOS$ 阻害活性/ $iNOS$ 阻害活性 = 以下「選択性」と略す) のみ報告することとする。一方、ONO-1714 の選択性を評価するために nNOS に対する阻害活性を調べた結果、 10^{-8} モルオーダーと強く、十分な iNOS 選択的化合物であるとは言えなかった (選択性 = 5 倍)。そこで、iNOS に対する選択性をさらに上回るプロファイルを有する化合物、すなわち、ONO-1714 が有する選択性が 5 倍と低いことから、その更に 10 倍を乗じた 50 倍以上を有する化合物を見出すことを第二の目標とした。更に、ONO-1714 は 4 ケ所の不斉中心を有することから、将来の製造を考慮し、出来る限り不斉中心の数を少なくした化合物の選定を第三の目標とした。また、脂溶性基の大きさやその立体化学と iNOS、nNOS 阻害活性ならびに選択性との構造活性相関を行うことができるのではないかと考えた。このような方針の下、著者は、新しいタイプのより有用な iNOS 阻害剤の創製を

目指し、上記三つの目標を達成すべく先ず初めにオキサゾリジンを、続いてチアゾールをリード骨格として選択し、脂溶性基を導入した誘導体合成とそれらの iNOS、nNOS 阻害活性ならびに選択性に関する構造活性相関の研究に着手した。

先ず、**I** の誘導体から探索合成を行った結果、4 位プロピル基、5 位メチル基を有する (**±**)-**2d** および 4、5 位にエチル基を有する (**±**)-**3c** が iNOS に対して強い阻害活性または高い選択性を示すことがわかった。次に、もうひとつのリード化合物である **II** の誘導体合成を行った。その結果、iNOS に対する選択性の向上はみられたものの、iNOS に対する阻害活性の向上は **I** の誘導体と比較し僅かだった。従って、iNOS に対して強い阻害活性を示すのに必要な母核の条件として、飽和環であることが必要であると判断した。

次に、NOS 酸化ドメインのポルフィリン環に存在するヘム鉄は、アミノ酸残基のチオール基により酸化触媒能の安定化を受けている。従って、**I** および **II** より類推されるチアゾリジン骨格 **III** は新たなリード化合物として可能性があるかと著者は判断した。そこで、**III** の誘導体合成を行った結果、4 位プロピル基、5 位メチル基を有する (**±**)-**5d** は iNOS に対して 0.0085 μM の強い阻害活性を示すこと、また、4、5 位にエチル基を有する (**±**)-**6c** は高い選択性を示すことを見出した。更に、両化合物の光学活性体をすべて評価した結果、4 位が *R* 配置である光学活性体は、高い選択性を示す傾向があることを見出した。さらに検討した結果、4 位メチル基 5 位エチル基を有する (**4*R*,5*R***)-**6a** が 0.0066 μM の iNOS に対する強い阻害活性を示すこと、また、58 倍の高い選択性を示すことを見出した。この結果、4、5 位がともに *R* 配置であることが重要であると判明した。

次に、酸素、硫黄と同族元素であるセレンを含む化合物は、人体にとって、微量必須元素であることが知られている。一方、セレンが医薬品として研究されている例もある。そこで、著者はセレン原子に着目し、セレナゾリジン骨格 **IV** にも、これまで得られた知見を適応可能かどうか新規合成法も併せて検討することとした。そこで、系内でアジリジンが生成する反応条件に着目し、セレノシアン酸カリウムを反応させることで、新規な 2-iminoselenazolidine 誘導体の合成方法を確立するとともに (**4*R*,5*R***)-**6a** のセレンアナログ体 (**8**: ES-2133) を得ることに成功した。ES-2133 は (**4*R*,5*R***)-**6a** と同様の強い iNOS 阻害活性を有し、かつ、(**4*R*,5*R***)-**6a** を上回る 85 倍のこれまでに合成したアゾリジン系化合物の中で最も高い選択性を示すことから、我々の目標とするプロファイルを満たす化合物であると判断した。また、リボポリサッカライド誘発 *in vivo* 動物モデルを用いて ES-2133 を評価した結果、ID₅₀ 値が 0.30 mg/kg と低く、*in vitro* の結果を十分反映し、更に、バイオアベイラビリティが 73% と非常に優れていることが明らかとなった。

以上、著者は新規誘導型一酸化窒素合成酵素阻害剤であるアゾリジン誘導体の探索合成の過程で新規セレナゾリジン誘導体の合成方法を見出し、更に、ONO-1714 と同等の阻害活性を有し、かつ、高い選択性を有する有望化合物 ES-2133 を見出した。近年開発されつつある医薬品は、その構造が複雑化する中、著者の見出した化合物は構造的に簡単で、かつ、セレンをその構造に含むことを特徴とする新しいタイプの iNOS 阻害剤と考えられる。現在、ES-2133 を高次動物モデルにより評価中である。

論文審査の結果の要旨

Nitric Oxide Synthase (NOS) は生体内で恒常的に発現している構成型 NOS (constitutive NOS : cNOS) と炎症時に発現する誘導型 NOS (inducible NOS : iNOS) とに大別される。iNOS により産生される NO は細菌等に対して、生態防御作用を示すが、一旦、過剰に産生されると正常な細胞にまで毒性を示し、様々な病態を引き起こす因子であることがこれまでの研究により分かってきている。

このような背景の下、申請者は、iNOS に対する強力な阻害活性および iNOS に対する高い選択性を有する化合物を見出すことができれば、新しいタイプの iNOS 阻害剤としてより有用な薬剤を提供できるのではないかと考え、リード化合物の探索を行った。その結果、2-イミノオキサゾリジンおよび 4,5-ジメチル-2-アミノチアゾールを見出すことに成功した。

リード化合物と先行化合物が有する構造をそれぞれ比較検討し、構造活性相関を行った結果、リード化合物の側鎖

に脂溶性基を導入することにより iNOS 阻害活性ならびに選択性が向上することを見出した。更に、リード化合物より類推されるチアゾリジン骨格について誘導体の検討を行った結果、4 位 *R* 配置のメチル基、5 位 *R* 配置のエチル基を導入することで優れた阻害活性を有する化合物を見出した。

本結果を酸素、硫黄と同族元素であるセレン原子に反映させることで、チアゾリジン誘導体と同様の強い iNOS 阻害活性、かつ、より高い選択性を有するセレナゾリジン誘導体 (ES-2133) を得ることに成功した。また、本化合物をリボポリサッカライド誘発モデルで評価した結果、優れた阻害活性を有していることが明らかとなり、申請者は最終有望化合物を見出すことに成功した。

以上の成果は、博士（薬学）学位論文としてふさわしい内容であると認める。