

氏 名	かん だ やす ひこ 神 田 泰 彦
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論 農 博 第 2364 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Bioorganic Studies toward Development of Endothelin Antagonists (エンドセリン拮抗剤開発のための生物有機化学的研究)

論文調査委員 (主 査)
教 授 上 野 民 夫 教 授 大 東 肇 教 授 坂 田 完 三

論 文 内 容 の 要 旨

エンドセリン (ET) は強力で持続的な血管収縮作用を持つ血管内皮細胞由来のペプチドであり, ET_A , ET_B の 2 種類の受容体サブタイプが存在する。本研究は新規治療薬を目指し, ET_B 受容体に選択的に作用するスルホンアミド型エンドセリン拮抗剤および ET_A 受容体に選択的に作用する拮抗剤 S-0139 開発のための生物有機化学的検討を行ったものであり, その成果は以下のように要約される。

第二章一節ではスルホンアミド型エンドセリン拮抗剤の効率的な構造修飾を行うために, 活性発現に重要と思われる母核イソキサゾール環の 4 位置換基を種々変換する上で鍵中間体となる 4-置換 3-アミノイソキサゾールの効率的な合成法を開発した。ヘテロ原子を含む置換基のオルト位の水素原子が各種アルキルリチウムで有機金属と交換されるオルト配向性リチオ化反応を 5 員環ヘテロ環であるイソキサゾール環に対して適用した。イソキサゾール環の 3 位置換基としてはアミノ基の一般的な保護体である BocNH 基を用いた。原料に対して 2.3 当量のブチルリチウムを用いることで室温で 4 位リチオ化が進行し, それに続く親電子試薬との反応により種々の 4-置換 3-アミノイソキサゾール誘導体を収率よく合成することに成功した。

第二章二節では S-0139 の効率的な合成法開発のため, 鍵合成中間体であるミリセロンの短工程での合成法を検討した。酸化代謝酵素のチトクローム P-450 のモデル反応として [5, 10, 15, 20-tetrakis-(pentafluorophenyl)porphyrin]iron(III) chloride ($Fe(PFPP)Cl$) を触媒とするメタクロロ過安息香酸 (m -CPBA) による酸化反応を行った。目的のトリテルペン骨格の 27 位メチル基の酸化は進行しなかったが, m -CPBA / $Fe(PFPP)Cl$ によるオレアノール酸やラノステロール誘導体の立体選択的アリル位酸化反応が進行した。

第二章三節では体内動態の研究のため, S-0139 のトリテルペン骨格を放射性同位体炭素で標識した化合物の合成法を検討した。このトリテルペン骨格と類似構造を有するステロイドでは 4 位に同位体炭素を導入する方法が確立されているがその方法はオレアノール酸には適用できなかったため, メチルリチウムを炭素同位体源として用いてオレアノール酸の 2 位に同位体炭素を導入する新しい方法を開発した。本ルートはトリテルペン骨格の A 環部分の開裂, 再構築を経る方法で, 中間体の A 環の α -ヒドロキシシクロペンタノン部分のカルボニル基に対するメチルリチウムの付加を鍵反応とする。この反応スキームを用いて ^{14}C 標識のモデル反応として [2- ^{13}C] -オレアノール酸の合成を行なった。本方法は [2- ^{13}C]-ミリセロンの合成にも適用可能であった。

第三章一節では第二章一節で開発した 4-置換 3-アミノイソキサゾールの合成法を利用して, ヨードシノミンをリード化合物とするスルホンアミド型エンドセリン拮抗剤の構造修飾を行った。*in vitro* ET 受容体拮抗作用の評価 (IC_{50}) は, 結合実験によって実施した。 ET_A 受容体に対してはラット胸部大動脈平滑筋由来 A7r5 細胞を, ET_B 受容体に対してはブタ ET_B 受容体遺伝子を導入した COS-7 細胞を用い, それぞれ放射性リガンドに [^{125}I]ET-1 及び [^{125}I]ET-3 を使い結合阻害活性を指標にして行った。 ET_A 選択的拮抗剤であるヨードシノミンのイソキサゾール環上の 3 位と 4 位の置換基を修飾することで活性の向上と受容体選択性の変化が見られた。3 位を *t*-ブチルベンゼンスルホンアミド基とし, 4 位にメタ

メトキシフェニルチオ基を導入することでET_A, ET_B非選択的拮抗作用を発現した。更にイソキサゾール環5位置換基の検討として、5位側鎖の官能基の酸化度とメチレン鎖の長さの異なる誘導体合成を行い、メチレン鎖3つのアルデヒド基を有する化合物に高活性のET_B選択的拮抗作用を見出した。

第三章二節ではスルホンアミド化合物のイソキサゾール環5位のアルデヒド側鎖がET_B選択的拮抗作用発現に最大の寄与をしていることを利用して、母核のイソキサゾール環をピリミジン環に変換した化合物を合成した。この化合物は大幅な活性、受容体選択性の向上を示し、非ペプチド性拮抗剤ではこれまで知られているうちで最高の活性を示した。この化合物は経口吸収性が良く、経口投与によりラットを用いた*in vivo*の実験でET_B受容体拮抗作用を示した。アルデヒド側鎖以外のピリミジン6位側鎖を探索したところ、マロン酸エステル、ジケトンとの縮合物、ヒドラゾン等のアルデヒド誘導体にもET_B受容体に対する強い選択的拮抗作用を見出した。

論文審査の結果の要旨

エンドセリン(ET)は高血圧、心不全、心筋梗塞、脳血管痙攣、腎不全等の心血管系疾患の病態との関連が報告されており、これらの疾患に対する新規治療薬としてET受容体拮抗剤の開発が望まれている。また、医薬品の研究開発においては生理活性の向上を目指した効率的な誘導体合成、薬物動態や安全性研究のための標識化合物および代謝物の合成、生産に向けての大量合成処方確立等の有機化学的な検討が必要とされる。本研究は非ペプチド性のET受容体拮抗剤であるスルホンアミド化合物およびS-0139を題材として、上記の検討課題に取り組んだものである。本論文の評価すべき点は以下の通りである。

1. オルト配向性リチオ化反応を利用した4-置換3-アミノイソキサゾールの新規合成法を開発した。これによりスルホンアミド型ET拮抗剤の効率的な構造修飾が可能となった。
2. S-0139の鍵中間体であるミリセロンの短工程での合成法を検討し、その過程で鉄-ポルフィリン錯体を触媒とするメタクロロ過安息香酸による新規アリル位酸化反応を見出した。この反応系は酸化代謝酵素のチトクロームP-450の人工モデル系であり、生理活性物質の合成や代謝物の構造決定に際して有用な手法となる可能性がある。
3. S-0139の薬物動態の研究のために、そのトリテルペン骨格の2位を安定同位体炭素¹³Cで標識する新規合成法を開発した。本方法は類似構造を有する生理活性テルペン類の標識体合成にも応用可能な有用な合成法である。
4. ヨードシノミンをリード化合物とするスルホンアミド型ET拮抗剤の構造修飾により、高活性のET_B選択的拮抗剤を見出した。本化合物は、活性、特異性、経口吸収性に秀でていることから、生理学的役割の解明が遅れているET_B受容体の機能解析に非常に有用な知見を提供すると考えられる。

以上のように、本論文は非ペプチド性ET拮抗剤の開発研究において様々な工夫・改良を行い、新規治療薬としてのみならず医薬品、生理活性物質の研究一般にも有用な知見を明らかにしたものであり、応用生命科学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成13年1月18日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。