

氏名 (本籍) 栗 本 歩

学位の種類 博 士 (薬 学)

学位記番号 薬 第 485 号

学位授与年月日 平成 17 年 1 月 19 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 インターフェロン誘導活性を有する 8-ヒドロキシ
アデニン誘導体の合成と構造活性相関に関する研究

論文審査委員 (主 査) 教 授 坂 本 尚 夫

教 授 中 畑 則 道

助教授 廣 谷 功

論文内容要旨

C型慢性肝炎は、一本鎖RNAをゲノムとするフラビウイルス科に属する hepatitis C virus (HCV) の感染によって引き起こされ、HCV感染による肝炎の慢性化率が70～80%と高いことや、インターフェロン (interferon; IFN) 以外の有効な抗ウイルス剤がないことが大きな原因となって、15～20年で肝硬変、20～30年で肝臓へと病態が確実に悪化していくことから、予後の悪い深刻な感染症であるといえる。世界的にみるとHCV感染は拡大を続けており、感染者は1.7億人以上と推定され、今後、肝臓の多発が危惧されている。現在、C型慢性肝炎に対する唯一の根治的治療法としてインターフェロン療法が用いられているが、IFN製剤は高価であるため経済的負担が非常に大きいことや、IFN抗体の出現による治療効果の減弱が認められる等の問題点を有しており、新たな抗HCV剤の開発が急務となっている。以上のことから、外在性IFN投与に換わるIFN療法として、免疫原性のない内在性IFNの生合成を誘導する低分子かつ経口投与が可能なIFN誘導剤の早期開発が望まれるようになり、IFN誘導剤の開発研究が精力的に行われた。結果として、これまでに数多くのIFN誘導物質が報告されたが、現在のところ臨床的に用いられている経口IFN誘導剤は存在しない。

かかる背景から、IFN誘導活性を指標にランダムスクリーニングを実施し、リード化合物として9-ベンジル-8-ヒドロキシアデニン (1) を見出した。

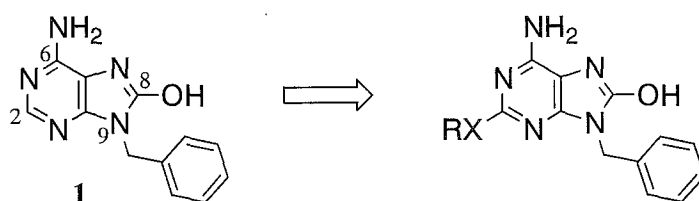


Figure 1

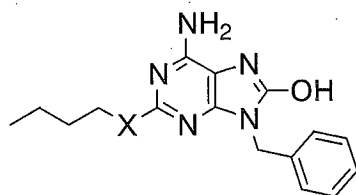
探索初期に行った誘導体合成による構造活性相関に関する知見から、8位の水酸基と6位のアミノ基が活性発現に必須であり、9位の置換基としてはベンジル基が好ましいことが明らかとなった。そこで、構造活性相関に関する知見が全くなく、化学物質としての新規性が高いと考えられる2位に各種置換基を導入した化合物の合成を計画し、2-置換8-ヒドロキシアデニン誘導体の詳細な構造活性相関を明らかにするとともに、高いIFN誘導活性を示し、かつ経口投与可能なIFN誘導剤を創製することを目的として本研究を行った。

2位にアルキルアミノ基、アルキルチオ基、アルコキシ基を有する8-ヒドロキシアデニン誘導体を合成し、そのIFN誘導活性の評価を行ったところ、リード化合物 (1) に比べて活性が著しく向上することを見出した。また、その活性の強さは2位側鎖のアルキル基の鎖長に依存し、3～5炭素程度が最適であることが判明した。特に、化合物4の最小有効濃度は0.001 μ Mであり、2位にアルコキシ基を導入することによってリード化合物 (1) の10,000倍と非常に著しい活性の向上を達成した。

医薬品開発において *in vitro* での薬効の強さのみを指標にして化合物を選択した場合、その薬物動態学

的特性の悪さのために開発が中止になることが続出しており、バイオアベイラビリティの十分に高い医薬品を創製できるかどうかは、医薬品として成功できるかどうかを決定する最も重要な要因の一つである。そこで、高活性を示した化合物のバイオアベイラビリティを検討した。いずれの2-置換8-ヒドロキシアデニン誘導体においてもそのバイオアベイラビリティは非常に低いものであり、経口剤として開発するためには、少なからず問題のある化合物であることが判明した。

Table 1. IFN inducing activities and oral bioavailabilities of 2-substituted adenine derivatives



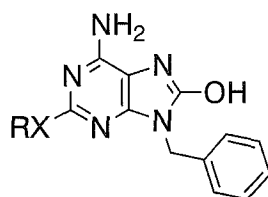
Compd	X	MEC ^a (μM)	MED ^b (mg/kg)	F (%) ^c
2	NH	0.1	0.1	<5 ^d
3	S	0.01	0.3	3
4	O	0.001	0.03	4

^a Minimum Effective Concentration (mice spleen cells) ^c at a dose of 10 mg/kg

^b Minimum Effective Dose (mice, p.o.) ^d at a dose of 1 mg/kg

次に、2位側鎖のアルキル基の末端に各種置換基の導入した8-ヒドロキシアデニン誘導体について検討を行った。2位側鎖の末端にジアルキルアミノ基を有する化合物5、化合物6では、著しくIFN誘導活性が減弱したが、アルコキシ基を有する化合物7、化合物8、化合物9や水酸基を有する化合物10では、無置換の化合物と同等程度のIFN誘導活性を示すことが判明した。これらの2-置換アルキル誘導体のバイオアベイラビリティを検討したところ、良好なバイオアベイラビリティを示し、2位側鎖に置換基を導入することによってバイオアベイラビリティの改善を図ることができることが明らかとなった。以上のように、良好な経口吸収性を有し、かつ *in vitro* と *in vivo* においてIFN誘導活性を示す化合物が見出された。

Table 2. IFN inducing activities and oral bioavailabilities of 2-substituted adenine derivatives containing substituted alkyl in the C(2) side chain



Compd	R	X	MEC ^a (μM)	MED ^b (mg/kg)	F (%) ^c
5	(CH ₂) ₂ NMe ₂	NH	>10	nt	nt
6	(CH ₂) ₂ NMe ₂	S	10	nt	nt
7	(CH ₂) ₂ OMe	NH	0.1	0.1	81 ^d
8	CH ₂ OMe	S	0.01	0.1	25
9	(CH ₂) ₂ OMe	O	0.01	0.03	10
10	(CH ₂) ₂ OH	S	0.1	0.1	33

^a Minimum Effective Concentration (mice spleen cells)

^c at a dose of 10 mg/kg

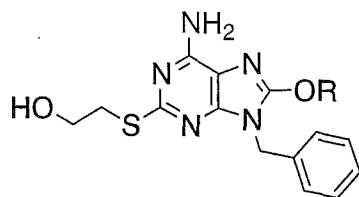
^b Minimum Effective Dose (mice, p.o.)

^d at a dose of 1 mg/kg

さらに、これらの新たに創出された化合物を用いて食事が及ぼす薬物動態への影響を検討したところ、化合物7、化合物8、化合物9では、非絶食条件下で経口投与した場合のバイオアベイラビリティは、絶食条件下で経口投与した場合のバイオアベイラビリティに比較して半減した。しかし、化合物10では、非絶食条件下と絶食条件下において同等の良好なバイオアベイラビリティを示したことから、食事による影響は少ないものと考え、化合物10を開発候補化合物として選択した。

一方、これまでにも IFN 誘導活性を有する低分子化合物の開発が試みられているが、ヒト（サル）において IFN の誘導能が低いことなどが問題となり、その開発には成功していない。そこで、開発候補化合物として選択した化合物10を用いてサルでの IFN 誘導活性の評価を行ったところ、血中での薬物濃度が十分に上がらず、低レベルの IFN を誘導したに過ぎなかった。以上のことから、合成化学的手法により化合物10を修飾しプロドラッグ化することのより、経口投与時の薬物血中濃度を改善し、高い IFN 誘導活性を有する化合物が創製されるのではないかと考え検討を行ったところ、8位に炭酸エステル基を導入しプロドラッグ化を行った化合物11で薬物血中濃度が改善され、サルで高い IFN 誘導活性を示すことを見出した。

Table 4. C_{max} values and IFN inducing activities of compound 10 and prodrug 11 in monkeys after oral administration



Compd	R	Dose (mg/kg)	C _{max} (ng/mL) ^a	IFN (IU/mL) ^b
10	H	100	16.7	8
11	CO ₂ Et	10	30.1	248
11	CO ₂ Et	100	243.6	6705

^a Detected compound **10** after oral administration.

^b Each value represents the peak concentration of IFN.

以上の検討の結果、これまでの低分子IFN誘導剤の欠点を克服し、サルにおいても高いIFN誘導活性を示すC型慢性肝炎治療剤として有望な低分子IFN誘導剤として化合物11が創製された。

審査結果の要旨

C型慢性肝炎は、一本鎖RNAをゲノムとするフラビウイルス科に属する hepatitis C virus (HCV) の感染によって引き起こされ、HCV感染による肝炎の慢性化率が高く、インターフェロン (IFN) 以外の有効な抗ウイルス剤がないため、肝硬変、肝癌へと病態が悪化していく予後の悪い深刻な感染症である。現在、C型慢性肝炎に対する唯一の根治的治療法としてIFN療法が用いられているが、IFN製剤は高価であるため経済的負担が非常に大きいことや、IFN抗体の出現による治療効果の減弱が認められる等の問題点を有しており、新たな抗HCV剤の開発が急務となっている。以上のことから、外在性IFN投与に換わるIFN療法として、免疫原性のない内在性IFNの生合成を誘導する低分子かつ経口投与が可能なIFN誘導剤の早期開発が望まれており、開発研究が精力的に行われたが、現在のところ臨床的に用いられている経口IFN誘導剤は存在しない。

このような背景から、筆者はIFN誘導活性を指標にランダムスクリーニングを実施し、リード化合物として9-ベンジル-8-ヒドロキシアデニン(1)を見出し、8位の水酸基と6位のアミノ基が活性発現に必須であり、9位の置換基としてはベンジル基が好ましいことを明らかにした上で、構造的に新規な2位に各種置換基を導入した化合物の合成を計画し、2-置換8-ヒドロキシアデニン誘導体の構造活性相関を明らかにし、高いIFN誘導活性をもちかつ経口投与可能なIFN誘導剤を創製することを目的として本研究に着手した。

合成した2位にアルキルアミノ基、アルキルチオ基、アルコキシ基を有する8-ヒドロキシアデニン誘導体のIFN誘導活性の評価は、化合物1に比べて活性が著しく向上し、その活性の強さは2位側鎖のアルキル基の鎖長に依存し、3～5炭素程度が最適であることを明らかにした。しかし、合成した2-置換8-ヒドロキシアデニン誘導体もそのバイオアベイラビリティが低く、経口剤として開発するためには、問題があることが明らかになったため、更に構造変換を行い、2位側鎖のアルキル基の末端に各種置換基の導入した8-ヒドロキシアデニン誘導体について検討を行い、2位側鎖の末端にアルコキシ基を有する化合物や水酸基を有する化合物が良好なバイオアベイラビリティを示すことを明らかとし、良好な経口吸収性を有し、かつ *in vitro* と *in vivo* においてIFN誘導活性を示す化合物が見出し、2位にヒドロキシエチルチオ基を有する化合物を開発候補化合物として選択し、最終的に本化合物をプロドラッグ化した化合物がサルで高いIFN誘導活性を示すことを見出し、C型慢性肝炎治療剤として有望な低分子IFN誘導剤として化合物が創製した。

このように、本論文はランダムスクリーニングから研究を開始し、リード化合物の選定、バイオアベイラビリティを指標とした最適構造への変換、プロドラッグ化などの検討を重ね、C型慢性肝炎治療剤として有望な低分子IFN誘導剤の発見までの経過を詳細に論述しており、博士(薬学)の学位論文として合格と認められる。