

審査の結果の要旨

氏名 奥田 健介

フラーレンは、近年その存在が証明された新規炭素同素体であり、その特異な構造から種々の新機能が期待され、化学的、物理的特徴が明らかにされつつある。そして、その応用が電子機器分野などを中心に積極的に進められている。生理活性に関しても興味を持たれているが他の分野に比較して遅れていた。これはフラーレン類に限られた溶媒にしか溶解しないことが第一の原因であった。このような背景の中、本研究は様々な水溶性フラーレン誘導体を合成し、新規医薬品への展開を目指したものである。

フラーレンの特徴として、(A)活性酸素を光増感作用により生成すること、(B)高い脂溶性を有すること、(C)酸化還元反応を受けやすく、ラジカルとの反応性が高いこと、が挙げられる。(A)、(B)に基づく生理活性はすでに先行研究例が存在していたが、(C)に関連した生理活性の研究は行われていなかった。酸化還元を受けやすい化合物群には、活性酸素生成・消去を行うものがあり、医薬品等にも応用されている。本研究は、酸化還元を受けやすい点に着目し、活性酸素消去活性と電子伝達系への効果を検討し、新規骨格を有する医薬品のリード化合物の創製を目指している。

水溶性 C₆₀ 誘導体による活性酸素毒性の軽減

フラーレン自身は高い疎水性のため、生理活性の検討を行うことは困難である。そこで水溶性官能基として C₆₀ 1分子当たりカルボキシル基を4個導入した化合物 **1** を合成し、スーパーオキシド消去活性を見出した。ついで実際に *E. coli* を用いた系で検討したところ、活性酸素増産剤による *E. coli* の増殖阻害を化合物 **1** は抑制した。

活性酸素増産剤は、生体内で酸素分子への電子伝達を触媒することにより、スーパーオキシドを増産する。化合物 **1** による活性酸素毒性の抑制は、実際に増産されるスーパーオキシドの消去以外に、活性酸素増産剤の *E. coli* への取込み阻害、増産剤の還元抑制あるいは還元型増産剤の消去の可能性も考えられる。しかし、シアン耐性呼吸の検討から、活性酸素増産剤取り込みやスーパーオキシド産生を化合物 **1** が阻害し

て、活性酸素毒性の抑制を行っているのではないことを示した。さらに、化合物 1 により有意に大腸菌内のカタラーゼの誘導が増強されたことを明らかにし、活性酸素増産剤存在下、化合物 1 は、スーパーオキシドを消去し代わりに過酸化水素を増産していることを示した。産生される過剰の過酸化水素は、誘導されたカタラーゼにより除去されるために増殖阻害が抑制されると考察している。

一方、活性酸素消去作用を有する化合物の中にはプロオキシダントとして働き、逆に酸素毒性を発現するものも見られる。例えばアスコルビン酸は銅存在下、DNA やタンパクに酸化傷を与えるが、この銅/アスコルビン酸系は酸素を活性酸素に変換している。同系において化合物 1 の効果を検討したが、ほとんど活性酸素を生成せず、化合物 1 は安全性の高い活性酸素消去剤であることが示された。

活性酸素は様々な疾病の原因と考えられており、活性酸素消去活性を有する化合物には疾病の予防、治療効果が期待できる。

水溶性 C₆₀ 誘導体によるスーパーオキシドの消去活性の構造活性相関

さらに高いスーパーオキシド消去活性を持つ C₆₀ 誘導体を求めて、SOD の構造を基に正電荷をもつ置換基を導入した。種々の C₆₀ 誘導体を合成し、スーパーオキシドの消去活性の検討を行った。化合物 1 - 3 は負電荷を、化合物 4 - 7 は正電荷を有し、化合物 8 は両性化合物である。その結果、当初予期した通り正電荷を有する誘導体のスーパーオキシドの消去活性は化合物 7 を除いて高かった。

強いスーパーオキシド消去作用が認められた化合物 5 および消去活性のない 7 を *E. coli* を用いた系で検討したが、化合物それ自身による増殖阻害が見られた。その一方、この増殖抑制作用は化合物 1 では非常に弱いものであった。増殖抑制機構を検討し、次章に述べる呼吸鎖電子伝達系阻害活性を見いだした。

呼吸鎖阻害活性

E. coli による酸素吸収に与える影響を検討し、化合物 1、5、7 に増殖阻害の程度と相関した阻害効果を見いだした。大腸菌内膜を調製して酸素吸収に与える影響を検討したところ、化合物 1、5、7 とともに濃度依存的な酸素吸収阻害がみられた。以上の結果より、化合物 5、7 による *E. coli* の増殖阻害は、呼吸鎖の電子伝達系の阻害によるものであると考えられる。化合物 1 は菌体内への取り込みが不十分なため増殖阻害

を示さないと考えられ、これは C_{60} に導入する置換基により標的部位をコントロールできることも示唆しており重要な知見である。

呼吸鎖阻害活性を持つ化合物には抗菌活性や、がん細胞増殖抑制効果が期待される。抗菌活性を検討した所、化合物 7 には臨床現場で問題になっている MRSA に対し、バンコマイシンに匹敵する抗菌活性を示した。抗菌剤に対し新たな耐性菌が出現し問題となっている。フラレン類は従来にない骨格を有していることから耐性菌が出現しにくい可能性が考えられ興味深い。また、各種がん細胞に対する効果を検討したところ、作用機構が既存の抗癌剤とは類似しておらずユニークであることが感受性のパターンにより示唆された。

以上、フラレン骨格の化学的特徴に基づく生理活性を明らかにしているが、これらは置換基により制御できること、さらに置換基の特性により細胞内分布も変化することを示している。現在、様々な疾病にたいし、従来と異なった新規骨格を持つ医薬品の開発が望まれている。本研究はフラレンを新規医薬品として開発する上での重要な基礎データを提供したものであり、博士（薬学）の学位論文として十分であると認定した。

