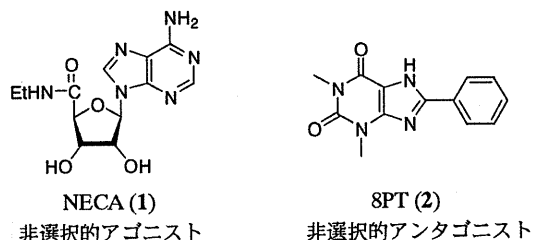
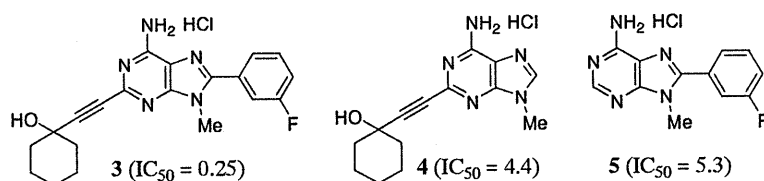


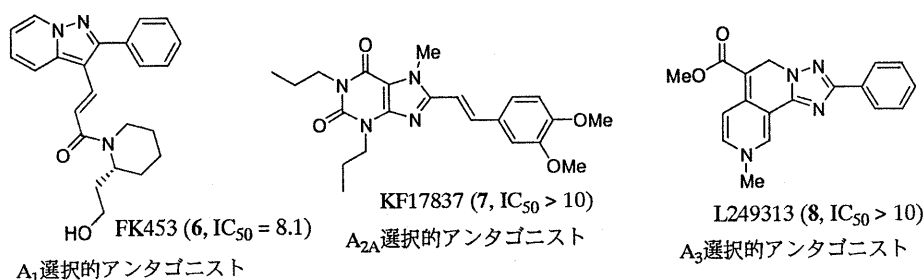
コース産生を促進し、非選択的なアンタゴニストである 8-PT (2) がそれを抑制するという結果を得た。以上の背景から、アデノシン A₂ 拮抗作用に基づき肝臓からの糖放出を抑制する薬剤が開発できれば糖尿病治療に貢献できるものと考え、新規な A₂ アンタゴニストの創出を目指し探索研究に着手した。



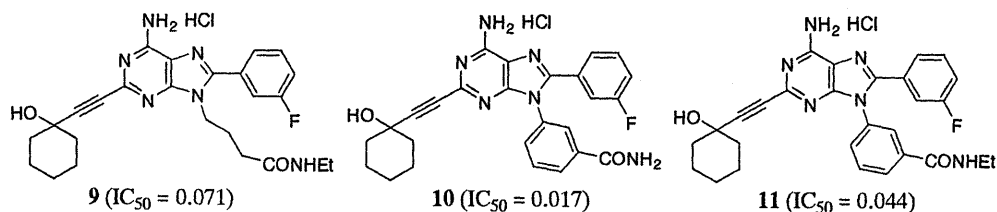
新規な A₂ アンタゴニストの創出を目指すにあたり、(1) 9-メチルアデニンが、弱いアデノシンアンタゴニストである、(2) A₂ アゴニストの探索において、アデニン環 2 位にアルキニル側鎖を導入することで、活性だけでなく A₂ 選択性も向上する、(3) 予備検討の過程で薬効が確認された 8-PT が、プリン環 8 位にフェニル基を有しているといった報告および知見に着目し、2-アルキニル-8-アリアル-9-メチルアデニン骨格をデザインした。そして、本骨格のアデニン環 2 位アルキニル側鎖および 8 位芳香族側鎖の合成展開を行った。化合物評価系として、ラット初代培養肝細胞における NECA 刺激グルコース放出に対する化合物の抑制作用を測定する系を用いた。活性は、0.1 μM の NECA のグルコース産生能を 50% 阻害するのに必要な化合物濃度 (IC₅₀, μM) を指標にした。一連の合成化合物の構造活性相関から、特に、アデニン環 8 位に芳香環、2 位にアルキニル側鎖を導入することで、活性が大きく上昇するという知見を得た。



本研究の途上において、既存の選択的アデノシンアンタゴニスト (6、7、および 8) を肝細胞評価系において評価したところ、いずれの化合物も、非選択的な 8-PT (2, IC₅₀ = 1.1) に比べ、極めて活性が低いことが明らかとなった。特に、A_{2A} 選択的な 7 に活性がつかまらなかったことから、「肝細胞 *in vitro* の活性に関与しているのは、2つの A₂ サブタイプのうち特に A_{2B} サブタイプである」との仮説を立てた。そこで、化合物探索の方向性を A_{2B} アンタゴニスト活性の上昇に絞ることとした。

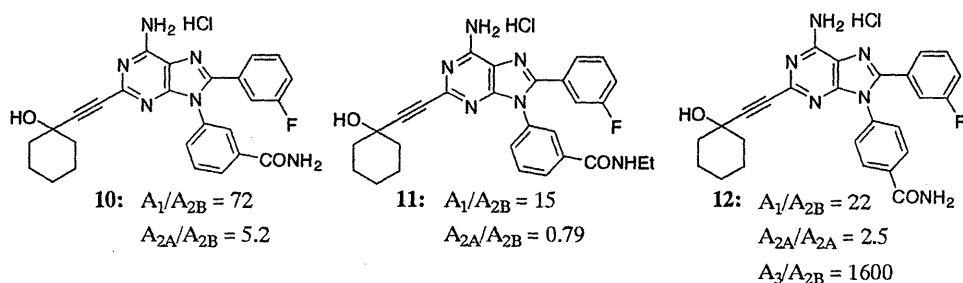


アデニン環9位にアミド側鎖を有する NECA (1) は、既存のアデノシンアゴニストのうちで最強レベルの A_{2B} アゴニスト活性を有している。A_{2B} 拮抗作用を強める目的で、2-アルキニル-8-アリアルアデニン誘導体9位へのアミド側鎖導入を計画し、化合物 9、10、11、および 12などを合成した。一連の化合物の合成法は、アデニン環のあらゆる位置に様々な置換基の導入が可能である点で、応用範囲が広いものと考えられる。アデニン環9位にアミド基を有する側鎖の肝細胞評価系での構造活性相関から、9のようにアデニン環から3炭素分のリンカーを介する位置にアミド基を有することが活性の上昇に重要であった。また、アミド基をベンゼン環で固定した10および11ではさらに活性が向上した。



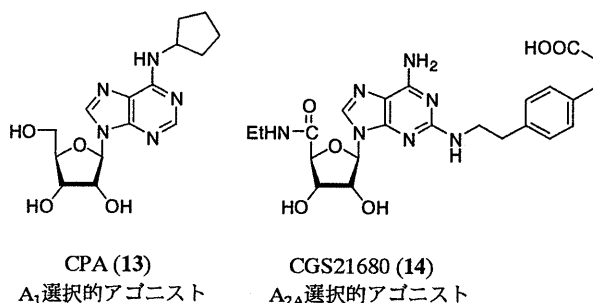
一連の合成展開から得られた化合物が、実際にアデノシン A_{2B} 拮抗作用を有していることを確認する目的で、ヒト A_{2B} レセプター過剰発現細胞における NECA 誘発 cAMP 産生に対する化合物の抑制作用を評価した。合成化合物は cAMP 産生を抑制し、その構造活性相関はラット肝細胞評価系において観察されたものによく一致していた。

さらに、化合物の A_{2B} サブタイプへの選択性を評価する目的で、A₁、A_{2A}、および A₃ の各レセプターサブタイプについて結合実験を行った。9-メチルアデニン誘導体およびアデニン環9位の直鎖アミド誘導体については、A₁ および A_{2A} に対する A_{2B} への選択性は観察されなかった。一方、9位のアミド基をベンゼン環で固定した10、11、および12では、A_{2B} 選択性が改善した。特に、9-*m*-ベンズアミド誘導体 (10) の A₁、A_{2A} に対する A_{2B} への選択性はそれぞれ 72 倍、5.2 倍であり、本化合物は最も高い選択性を有していた。

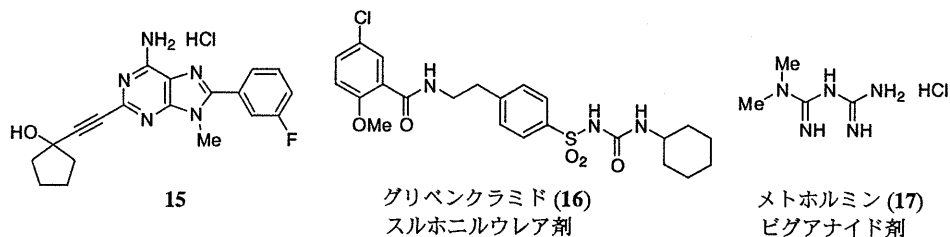


ラット肝細胞におけるアゴニスト誘発糖放出促進作用に関与するレセプターサブタイプを特定するため、各種アゴニストおよびアンタゴニストを用い検討した。まず、非選択的アデノシンアゴニストである NECA (1)、A₁ 選択的アゴニストである CPA (13)、および A_{2A} 選択的アゴニストである CGS21680 (14) の糖放出促進作用の強さの序列は、1 >> 13 > 14 の順であった。ここで得られた序列は、A_{2B} レセプターを介する反応において既に報告されている序列と一致していた。次に、ラット肝細胞におけ

るアゴニスト刺激糖放出に対するアンタゴニストの抑制作用と、ヒト A_{2B} レセプター過剰発現細胞におけるアゴニスト刺激 cAMP 放出に対するアンタゴニストの抑制作用をプロットしたところ、両者の間に正の相関関係が得られた。それに対して、糖放出抑制作用は、 A_1 、 A_{2A} 、および A_3 レセプターに対する親和性のいずれとも相関しなかった。以上の検討結果から、ラット培養肝細胞におけるアデノシンアゴニスト刺激糖放出作用、およびそれに対するアンタゴニストの抑制作用が、 A_{2B} サブタイプを介していると結論した。



アデノシン A_{2B} 拮抗剤の糖尿病治療剤としての有用性を検証する目的で、合成化合物の中で良好な経口吸収性を有する化合物 **15** について、遺伝的インスリン非依存型糖尿病モデル動物である KK- A^y マウスにおける血糖降下作用を調べるとともに、一般的な血糖降下剤と比較した。**15** は、10 および 30 mg/kg の単回経口投与において、用量依存的でかつ有意な血糖降下作用を示した。また、**15** は、スルホニルウレア剤 (**16**)、あるいはピグアナイド剤 (**17**) のより高用量での薬効に比べて強い薬効を示した。一方、最も高い A_{2B} 選択性を示す **10** は経口吸収性が悪く、薬効を確認するに至っていない。 A_{2B} 選択性の高い化合物を用いた薬効の確認が今後の課題である。



以上、本研究から以下の成果を得た。まず、2-アルキニル-8-アリアルアデニン骨格を有する新規なアデノシンアンタゴニストを発見し、本骨格の合成展開からアデノシン A_{2B} 拮抗作用および A_{2B} 選択性を指向した構造活性相関を見出した。また、ラットの肝臓からの糖放出に、4つのアデノシンレセプターサブタイプのうち、特に A_{2B} サブタイプが関与していることを明らかにした。さらに、合成化合物のうちの一つが、遺伝的糖尿病モデル動物において血糖降下作用を有していることを示した。本研究の成果は、アデノシン A_{2B} 拮抗剤の新規糖尿病治療剤としての可能性を示唆する重要な知見になるものと考えられる。