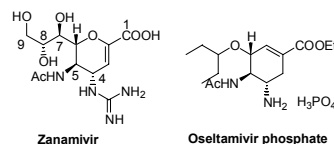


審査の結果の要旨

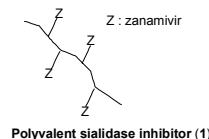
氏名 益田 剛

インフルエンザウイルス表面に存在するシアリダーゼは、感染細胞（ヒトにおいては上気道粘膜）のシアル酸（Neu5Ac）を切断する酵素であり、複製されたウイルス粒子の出芽と以後の感染に重要な役割を果たしている。本酵素の阻害剤であるザナミビル（Biota/GSK、吸入投与）及びリン酸オセルタミビル（Gilead/Roche、経口投与）は、抗インフルエンザ治療薬として既に世界的に上市されている。これらは安全性が高く、耐性ウイルスが出現しにくい、優れた治療剤であるが、問題点として、発症後 48 時間以内の投薬が必要であること、また、体内半減期が短いため予防投与は頻回服用しつづければ効果がないことが挙げられる。そこで本研究は上記の問題点を克服すべく、ザナミビルをリード化合物とした新規な抗インフルエンザ薬（吸入剤及び経口剤）の創製を行った。



1. 吸入剤の創製—7 位修飾ザナミビル及びポリマー型シアリダーゼ阻害剤の合成と生物活性

吸入剤については、ザナミビルに比べより少ない投与回数での治療及び予防効果が期待できる薬剤の合成を目標とし、シアリダーゼ阻害剤が適切な密度でポリマー支持体に共有結合したポリマー型シアリダーゼ阻害剤 **1** をデザインした。



益田剛は、4 位修飾 *N*-アセチルマンノサミン **2** を基質とするシアル酸アルドラーゼを用いる酵素法により 7 位修飾シアル酸 **3** を得る合成法を検討した。その結果 R¹=F, N₃, OMe, OEt の **2** を基質として酵素反応により収率良く対応する 7 位修飾シアル酸を得た。あとは常法に従い各種 7 位修飾ザナミビル **4** に導いた (Scheme 1)。得られた **4** のウイルス増殖阻害活性を評価した結果、**4a-4d** がザナミビルと比べてより高い阻害活性を有していることが判明した (Table 1)。次により長鎖のアルキルエーテル体の活性に興味を抱き、基質 **5** を用いた場合にのみ 7 位水酸基のアルキル化が進行することを見出した。対応する 7 位長鎖アルキルエーテル誘導体 **6** を合成することに成功し、引き続き **4** に導いた (Scheme 2)。

アルキルエーテル体 **4c-4f** はいずれもザナミビルと同等以上の酵素阻害活性を有し、さらに、ウイルス増殖阻害活性はザナミビルに比べて 2 倍から 10 倍向上した (Table 1)。上記 7 位修飾ザナミビルの構

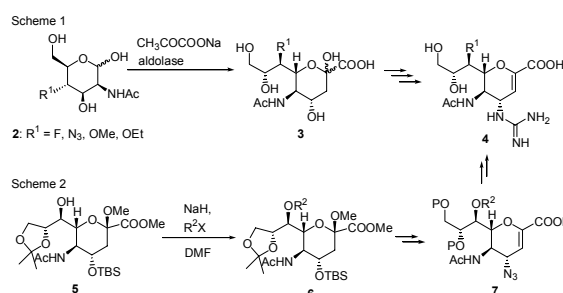


Table 1. Sialidase inhibitory and virus growth inhibitory activities of **4** (IC₅₀ (ng/mL))

R ¹	Sialidase inhibitory assay		Virus growth inhibitory assay
	A/PR/8/34	A/Yamagata/32/89	
Zanamivir	OH	1.8	7.0
4a	F	2.2	3.0
4b	N ₃	1.3	0.7
4c	OCH ₃	2.6	1.1
4d	OCH ₂ CH ₃	1.3	1.0
4e	O(CH ₂) ₁₁ CH ₃	8.8	3.6
4f	OCH ₂ CH ₂ NHAc	2.6	1.4

造活性相関より、ポリマー誘導体 **9** を得た (Scheme 3)。これらのポリマー誘導体は、側鎖 (アルキル鎖) の長さ及びザナミビルの配置密度によらず、ザナミビルに比べウイルス増殖阻害活性が約 100 倍向上し、シアリダーゼ阻害剤を高分子化とすることで単分子では望めない高い *in vitro* 活性を示した (Table 2)。

さらにマウス/インフルエンザ感染系で、**9c** 及びザナミビルを感染 2 日後に一回経鼻投与し、感染 20 日間後の延命率で薬効を評価した結果、ザナミビル投与群が全数死亡したのに対して、**9c** 投与群は全数生存、治癒した。

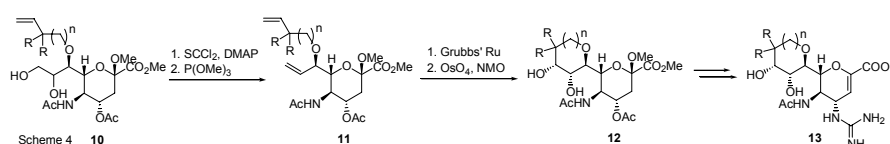
また予防効果を評価するため **9c** を感染 7 日前に経鼻投与した場合も薬効が保持された。

投与 5 日後の **9c** 投与群の肺洗浄液は、シアリダーゼ阻害活性を示したことから、ポリマー誘導体が呼吸器へ貯留していることが示唆され、以上に示した薬効の向上はポリマーの呼吸器への長期貯留に基づくと考えている。

2. 経口剤の創製—環状側鎖を有するザナミビル誘導体の合成と生物活性

リン酸オセルタミビルは経口投与可能であるが、ザナミビルはその極性の高さゆえ消化管で吸収されず、経口投与では薬効がない。簡便に内服できるリン酸オセルタミビルが現在は抗インフルエンザ治療剤市場を優先している。この現状をふまえて益田剛は経口投与可能なシアリダーゼ阻害剤の創製を行い、二環性化合物 **12** をデザインした。

合成はオレフィン末端を有する 7 位アルキルエーテル



シアル酸誘導体 **10** の 8, 9 位の水酸基をオレフィンに還元した **11** を閉環メタセシス後、オスミン酸でジオール化し **12** を得、引き続き各種二環性化合物 **13** に導いた (Scheme 4)。

13b はザナミビルの 2 倍のウイルス増殖阻害活性を有していた (Table 3)。さらにマウス/インフルエンザ感染系で、**13b** 及びリン酸オセルタミビルを感染後一日二回 5 日間経口投与し、評価した結果、リン酸オセルタミビルと同等の薬効を示した。

以上の研究成果は今後の医薬開発に重要な貢献をされると考えられ、博士 (薬学) の業績として十分であると判断した。

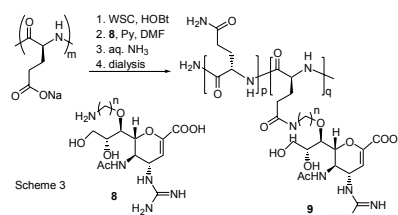


Table 2. Sialidase inhibitory and virus growth inhibitory activities of compounds **9**
IC₅₀ (ng/mL)

Zanamivir	n	p : q ^a	Sialidase inhibitory assay		virus growth inhibitory assay	
			A/PR/8/34	A/Yamagata/32/89	A/PR/8/34	A/Yamagata/32/89
			1.8	7.0		
9a	2	10:1	9.4	0.054		
9b	2	3:1	41.0	0.140		
9c	5	10:1	13.1	0.060		
9d	10	10:1	3.8	0.160		

^aThe ratios were determined by ¹H NMR.

Table 3. Sialidase inhibitory and virus growth inhibitory activities of bicyclic sialidase inhibitors **13**
IC₅₀ (ng/mL)

Zanamivir	n	R	Sialidase inhibitory assay		virus growth inhibitory assay	
			A/PR/8/34	A/Yamagata/32/89	A/PR/8/34	A/Yamagata/32/89
			1.8	7.0		
13a	0	H	2.2	5.7		
13b	1	H	1.7	3.2		
13c	1	F	1.6	3.7		
13d	2	H	2.0	10.3		