氏　　名	田中　直樹
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬学
学位記授与番号	博甲第 4217 号
学位授与の日付	平成２２年９月３０日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 （学位規則第５条第１項該当）
学位論文の題目	アゾベンゼンを基本骨格とする新規 MMP 阻害剤の合成と活性評価に関する研究
論文審査委員	教授　佐々木　健二　　教授　川﨑　博己　　教授　竹内　靖雄

学位論文内容の要旨

マトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)はコラーゲン、ゼラチンのような高分子蛋白質の加水分解に関わっている酵素であり、様々な病気に関わっていることが知られている。中でもそのサブタイプの１つである MMP-2、MMP-9、MMP-14 はそれぞれ血管新生、転移、proMMP-2 の活性化等、癌の進行に重要な役割を果たしていることが報告されており、MMP は新たな抗癌剤のターゲットとして注目されている。一方 MMP は亜鉛を含む酵素であるため、MMP 阻害剤の構造を考える場合、分子内に亜鉛とキレートする Zn-binding group (ZBG)を持たせてデザインするのが一般的であり、ZBG としては亜鉛とのキレート能が高いヒドロキサム酸が多く用いられていた。しかしながらヒドロキサム酸を有する MMP 阻害剤はサブタイプ選択性が乏しいために、MMP-1 をも阻害してしまい、これが関節炎等の副作用を引き起こす原因となっている。そのため、ヒドロキサム酸に替わる ZBG を有するサブタイプ選択性の高い MMP 阻害剤が求められている。そのような背景の下、著者はサブタイプ選択性の高い新規 MMP 阻害剤の開発を目的として、ヒドロキサム酸に替わる ZBG を有するアゾヒドロキシピリジンおよびその誘導体を始め、2*H*-ベンゾトリアゾール-2-イルフェノール、あるいはチアゾリジン誘導体を合成し、その MMP 阻害活性を検討した。

その結果、2-ニトロフェニルアゾピリジン誘導体では、Z-異性体よりも E-異性体の方が MMP に対して強い阻害活性を示した。この結果は、本化合物群のピリジン環の窒素原子とアゾ基の窒素原子が MMP 中の亜鉛に対して配位子として作用するという著者の仮説を裏付けるものである。ピリジンの 2 位に塩素を導入すると阻害活性が向上し、ニトロフェニル基の 4 位に塩素を導入した場合においても同様に阻害率の向上が見られた。またこの場合、MMP-1 に対する阻害活性は MMP-2 や MMP-9 に対するものに比べて弱く、サブタイプ選択性が弱いながらも認められた。2-ニトロフェニルアゾフェノール類のシリーズではフェノール部位にレゾルシノール誘導体を導入することにより、(*E*)-5-ヒドロキシ-(2－ニトロフェニルアゾ)ピリジン誘導体と同程度の阻害活性が認められ、アゾ基のパラ位に水酸基を導入することの有効性が示唆された。また、2-ニトロフェニル部位の 4 位にカルボキシル基を導入することにより、特に MMP-2 に対して IC_{50} 値が 39－60 μM 程度の阻害活性を示し、その阻害活性は MMP-1 に対するそれに比べて 1.5－4.3 倍程度の強さが認められた（サブタイプ選択性が認められた）。2*H*-ベンゾトリアゾール類においても、2-ニトロフェニルアゾ系化合物の 4 位に相当する 5 位にカルボキシル基を導入された化合物の IC_{50} 値は 10 μM 以下であり、本位置へのカルボキシル基の導入の有効性が示唆された。

チアゾール誘導体に関しては、4 位にベンジリデン基を導入し、それらの阻害活性を調べたが、MMP-9 に対して IC_{50} 値が 10 μM 程度の阻害活性を持つ化合物があるものの、サブタイプ選択性は認められなかった。また、本シリーズの化合物においては、その構造内の硫黄原子の数が減少するに従って阻害活性は低下し、硫黄原子の存在が阻害活性に関与していることが示唆された。

以上、著者は本研究において、ヒドロキサム酸に替わる従来にない ZBG を有する新規 MMP 阻害剤のシード化合物を見出した。

論文審査結果の要旨

マトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)はコラーゲン、ゼラチンのような高分子蛋白質の加水分解に関わっている酵素であり、様々な病気に関わっていることが知られている。中でもそのサブタイプの１つである MMP-2、MMP-9、MMP-14 はそれぞれ血管新生、転移、proMMP-2 の活性化等、癌の進行に重要な役割を果たしていることが報告されており、MMP は新たな抗癌剤のターゲットとして注目されている。一方 MMP は亜鉛を含む酵素であるため、ターゲティングを目的に、分子内に亜鉛とキレートする Zn-binding group (ZBG)を持たせて MMP 阻害剤の構造をデザインするのが一般的であり、ZBG としては亜鉛とのキレート能が高いヒドロキサム酸が多く用いられていた。しかしながら、ヒドロキサム酸を有する MMP 阻害剤はサブタイプ選択性が乏しいために、MMP-1 をも阻害してしまい、これが関節炎等の副作用を引き起こす原因となっている。そのため、ヒドロキサム酸に替わる ZBG を有するサブタイプ選択性の高い MMP 阻害剤が求められている。そのような背景の下、著者はサブタイプ選択性の高い新規 MMP 阻害剤の開発を目的として、ヒドロキサム酸に替わる ZBG を有するアゾヒドロキシピリジンおよびその誘導体を始め、2*H*-ベンゾトリアゾール-2-イルフェノール、あるいはチアゾリジン誘導体を合成し、その MMP 阻害活性を検討した。

その結果、2-ニトロフェニルアゾフェノール誘導体では、ニトロフェニル基の 4 位に導入したカルボキシル基が ZBG として有効に働くことが判明した。フェノールをレゾルシノールに置き換えた化合物群では、いずれもフェノールよりも高い阻害率を示した。さらに 2*H*-ベンゾトリアゾール-2-イルフェノール誘導体を合成しそれらの阻害活性を調べたところ、フェノールの 2 位にニトロ基やアミノ基を持つことにより阻害活性が向上することが判明した。中でも 2-(2*H*-ベンゾトリアゾール-2-イル)-6-ニトロ-4-*tert*-ブチルフェノールでは、MMP-2 の阻害活性が MMP-1 に対するそれよりも 31 倍、2-(2*H*-ベンゾトリアゾール-2-イル)-6-ニトロ-4-(1、1、3、3-テトラメチルブチル)フェノールでは 28 倍の選択的阻害活性が認められ、MMP-9 に対しても各々、6 倍、3 倍の選択的阻害活性が認められた。ただし、ニトロ基をアミノ基に変換するとこのような選択的阻害活性は認められず、かつ、MMP 阻害活性の向上も顕著ではなく、アミノ基のような電子供与性基を導入することでの効果はわずかであった。以上、著者が見出した新規 2-ニトロフェニルアゾフェノール誘導体は MMP 阻害剤のリード化合物として有望であり、また、著者が得た MMP 阻害活性に関する基礎的知見は、今後の MMP 阻害剤開発研究において有用な情報となり得るものである。従って、本論文は薬学領域における博士論文として評価出来るものと考える。