

—総説—

## スルホニウム化合物の物理化学的性質に基づいた 抗アレルギー薬の開発

多田幸雄

**要約：**I型アレルギー反応は、肥満細胞に結合しているIgEに抗原が結合することで、細胞内顆粒に貯蔵されている各種ケミカルメディエーターが放出されることにより惹起される。既存の抗アレルギー薬は、メディエーター遊離抑制薬および、ヒスタミンH1拮抗薬、トロンボキサン阻害薬、ロイコトリエン拮抗薬であった。そこで、I型アレルギー反応の原因であるIgEの作用を特異的に阻害できればアレルギー疾患の根本的な治療に繋がると考え、従来のメカニズムとは異なる新しい抗アレルギー薬の開発を目指した。メチル基転移反応がアレルギー反応に関わっているのではないかという考えに基づき、生体内メチル基供与体であるS-adenosylmethionineはsulfonium化合物であることと、S-methylmethionine (methylmethionine sulfonium chloride)がモルモットの抗体産生を増強することから、これをシード化合物とした。次いで、sulfonium化合物の種々の物理化学的性質と抗アレルギー作用および急性毒性との構造活性相関解析による、論理的な分子設計を実施した。その結果、抗アレルギー薬：Suplatast Tosilateとして認可されたsulfonium化合物**54b**を創製することができた。

**索引用語：** IgE、抗アレルギー薬、sulfonium化合物、Suplatast Tosilate

## Development of Anti-allergic Drugs Using the Physicochemical Properties of a Sulfonium Compound

Yukio TADA

**Abstract:** Type I allergic reactions are caused by various chemical mediators released from mast cell by combining antigens and IgE antibodies. The existing anti-allergic drugs are mediator suppressants, histamine H1 antagonists, thromboxane inhibitors, and leukotriene antagonists. However, drugs that specifically inhibit IgE activity are expected to be efficacious for the treatment of type I allergic diseases. We sought to develop a new anti-allergy drug that functions outside the conventional mechanism. Methylmethionine sulfonium chloride (S-methylmethionine) was selected as a seed compound, because it reinforces guinea pig antibody production and may affect allergic reactions. We analyzed the structure-activity relationship between physical chemical properties and sulfonium compound-induced anti-allergic action or toxicity for rational molecular drug design. Based on these efforts, we identified sulfonium compound 54b, which was launched as Suplatast Tosilate.

**Key phrases:** IgE, anti-allergic drug, sulfonium compound, Suplatast Tosilate

### 1. 緒言

アレルギーとは免疫反応が特定の抗原に対して過剰に亢進していることをいう。即時型アレルギーとも呼ばれるI型アレルギー反応はIgEが関与するアレルギーである。IgEは、抗原を認識した抗原提示細胞である樹状細胞によりナイーブT細胞が活性化されたTh2細胞が産生するIL-4、IL-5、IL-13のサイトカインによる刺激で、B細胞が活性化されIgEが産生される。そして、肥満細胞のIgE受

容体に結合したIgEと外来抗原との間に生じた抗原抗体反応により、肥満細胞からヒスタミン、ロイコトリエン、血小板活性因子(PAF)、プロスタグランジン、トロンボキサン等のケミカルメディエーターが放出されることにより、血管透過性の亢進や平滑筋収縮等のアレルギー反応が惹起される(Chart 1)。その代表的な疾患としては、気管支喘息、アレルギー性鼻炎(花粉症を含む)、蕁麻疹、アトピー性皮膚炎等がある。

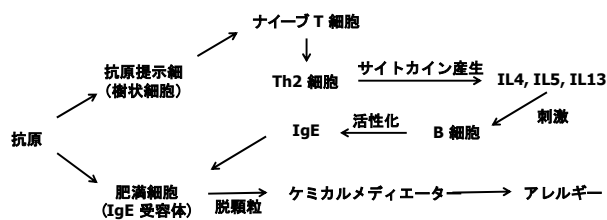


Chart 1. I型アレルギー反応の過程

I型アレルギー反応は抗原とIgEにより惹起されるので、このIgEの作用を特異的に阻害し、生体防御機能の担い手であるIgMおよびIgGの作用は抑制しない薬が開発できれば、アレルギー疾患の根本的な治療に繋がると考え、これまでとはメカニズムの異なる新しい抗アレルギー薬の開発を目的として研究を開始した。

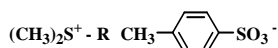
## 2. 第1リード化合物3の創製





研究を開始するに当たって、メチル基転移反応がアレルギー反応において重要ではないかという考えに基づいてその具体的な化合物を検討した。当時、メチル基転移反応はアレルギー反応における肥満細胞の膜の流動化や好塩基球の細胞膜におけるメチル化反応に関連していることが報告されていた<sup>1)-3)</sup>。一方、生体内のメチル基転移反応における唯一のメチル基供与体であるS-adenosylmethionineはsulfonium化合物であり、methylmethionine sulfonium chloride (S-methylmethionine)は、モルモットにおいて抗体産生を増強させることが報告されていた<sup>4)-5)</sup>。そこで、S-methylmethionineをシード化合物とし、リード化合物探索を実施した。

はじめに、Table 1に示したdimethylsulfonium tosylate誘導体(1-13)を合成し、免疫活性作用を有するsulfonium化合物を見出すために、IgM、IgG抗体産生に及ぼす作用を検討した。方法としては、ヒツジ赤血球で免疫されたマウスにsulfonium化合物を腹腔内投与し、IgMおよびIgG hemolytic plaque forming cell (HPFC) 産生<sup>6)</sup>への影響を調べた。物性としては置換基Rの疎水性を考慮した。

一般に化合物の疎水性の指標としてはn-オクタノール/水系における分配係数(P)の対数値logPが用いられる。また、置換基の疎水性の指標としては、置換基導入による実測logPの増減分を表す疎水性置換基定数πが用いられる。しかし、水溶性の極めて高いsulfonium化合物の分配係数の実測は困難であったため、CLOGP(ver. 2.0.0)<sup>7)</sup>によるlogPの計算によるπ<sub>calcd</sub>値を用いた。

Table 1. マウスにおけるLD<sub>50</sub>(ip)およびHPFC産生増強作用



compd	R	π <sub>calcd</sub> <sup>a</sup>	LD <sub>50</sub> (ip)(mmol/kg) <sup>b</sup>	HPFC (T/C) <sup>c</sup>		
				dose(mg/kg)	/spleen	/10 <sup>6</sup> cell
1	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH(NH <sub>2</sub> )COOH	-3.33	>14.86	500	1.42	1.42
2	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NHCOCH <sub>3</sub>	-1.26	4.46	160	1.23	1.27
3	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	-0.77	3.7	120	2.1	1.96
4	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	-0.57	1.1	120	1.21	1.23
5	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	-0.29	4.13	120	1.15	1.35
6	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OC(=O)CH <sub>3</sub>	0.17	2.96	100	1.38	1.38
7	CH <sub>2</sub> --- 	0.26	1.35	100	1.07	1.22
8a	CH <sub>3</sub>	0.56	0.72	-	-	-
9	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SCH <sub>3</sub>	0.66	0.62	20	1.19	1.31
10a	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> --- 	0.79	1.32	100	1.07	1.01
11	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1.55	1.2	40	1.09	1.14
12		2.63	0.78	30	1.18	0.93
13		3.26	0.43	20	1.06	0.84

<sup>a</sup> π<sub>calcd</sub> was calculated by CLOGP (ver. 2.0.0). <sup>b</sup> The value of LD<sub>50</sub> was determined in male ddY mice (n=5) by the up-down method at intraperitoneal administration. <sup>c</sup> HPFC (T/C): HPFC formation of treatment / HPFC formation of control at intraperitoneal administration.

疎水性の低い置換基として 3-amino-3-carboxypropyl 基 (π<sub>calcd</sub> = -3.33) を有する化合物 **1**<sup>8)</sup> から、疎水性の高い置換基として adamantyl 基 (π<sub>calcd</sub> = 3.26) を持つ化合物 **13** の腹腔内投与によるマウス急性毒性 (LD<sub>50</sub>)<sup>9)</sup> および HPFC 産生増強作用を測定した。HPFC (T/C) は化合物投与と非投与時の HPFC 産生の比を示した (Table 1)。毒性が低い抗アレルギー薬を開発することを目標としたので、HPFC 産生試験の投与量は急性毒性 LD<sub>50</sub>(ip) の 1/10 程度を目安とした。置換基の疎水性が極めて低い化合物 **1** は、非常に低い毒性 (LD<sub>50</sub> > 14.86mmol/kg = 5,000mg/kg) であり、疎水性の高い化合物 **13** は最も強い急性毒性 (LD<sub>50</sub> = 0.43mmol/kg) を示した。また、化合物 **5** が低毒性であったことから、sulfonium 化合物の置換基として carboxyl 基の導入は毒性軽減のひとつの手段となることが示唆された。ここで、例外的に毒性の低い化合物 **1** を除いた残りの 12 化合物において、化合物の急性毒性 (LD<sub>50</sub>) と置換基の疎水性 (π<sub>calcd</sub>) との定量的構造活性相関解析を行い、相関式 (1) を得た。以後、式において、n は化合物数、r は相関係数、s は標準偏差を示し、係数は 95% 信頼限界を満足している。式 (1) は疎水性の高い置換基を導入するに従って、急性毒性が強くなること示しており、急性毒性の観点からはできるだけ疎水性の低い置換基が望ましいことが示唆された。

$$\log(1/\text{LD}_{50}) = 0.201 \pi_{\text{calcd}} - 0.275 \quad (1)$$

(n=12, r=0.774, s=0.229)

一方、例外的に HPFC の産生増強作用が強かった化合物 **3** を除いた 11 化合物 (**1, 2, 4-7, 9, 10a, 11-13**) に関して、脾臓あたり (/spleen) および 10<sup>6</sup> 細胞あたり (/10<sup>6</sup>cells) における HPFC の産生増強作用と化合物の置換基の疎水性 (π<sub>calcd</sub>) との相関を検討した。脾臓あたり (/spleen) と疎水性 (π<sub>calcd</sub>) の間には有意な相関式は得られなかったが、10<sup>6</sup> 細胞あたり (/10<sup>6</sup>cells) に対して式 (2) が得られた。この

上に凸の2次式 (2) より、HPFC 産生増強作用に最適な疎水性置換基定数値 ( $\pi_{\text{calcd}}$ ) は  $-2.75$  と計算される。従って、化合物 **1** ( $\pi_{\text{calcd}} = -3.33$ ) が疎水性の観点からは最も望ましい化合物に近く、このタイプの sulfonium 化合物では、これ以上疎水性の低い化合物を検討する必要ないと判断した。

$$\log(1/10^6 \text{cells}) = -0.006 \pi_{\text{calcd}}^2 - 0.033 \pi_{\text{calcd}} + 0.101 \quad (2)$$

(n = 11, r = 0.900, s = 0.046)

ところで、化合物 **3** のメチルエステル誘導体である化合物 **6** は弱い HPFC 産生増強作用しか示さなかったことから、hydroxyl 基が、HPFC 産生増強作用および毒性軽減の観点からも重要な置換基であると考えられる。化合物 **1, 2, 4-7, 9, 10a, 11-13** と異なって hydroxyl 基を有する化合物 **3** は HPFC 産生増強作用が強く急性毒性も低かったため、化合物 **3** を抗アレルギー薬開発の第1リード化合物に選定した。

### 3. Sulfonium 化合物の対アニオンの決定

Sulfonium 化合物は有機塩の一種であり、無機塩と異なって有機溶媒にも溶解するが、水に極めて溶け易い性質を持っている。この様に親水性の高い sulfonium 化合物が経口投与された際に、消化管から吸収され易い対アニオンを見出すために、水相と有機相の分配に関連する sulfonium 化合物の物理化学的性質を検討した。4級アンモニウム化合物では形成したイオン対が適度の脂溶性を持つことで消化管吸収が促進されることが知られている。そこで、sulfonium 化合物として最も基本的な trimethylsulfonium の *p*-トルエンスルホン酸塩(**8a**)、過塩素酸 (**8b**)、および塩酸塩 (**8c**) 水溶液の電気伝導度を測定し、イオン対会合定数 ( $K$ )<sup>10</sup> を求めた。その値  $K$  の大きさは、塩酸塩 < 過塩素酸塩 < *p*-トルエンスルホン酸塩の順であった (Table 2)。

Table 2. Trimethylsulfonium 化合物 **8a,b,c** の会合定数( $K$ )

compd	$\Lambda_{\infty}$ <sup>a</sup>	$K$ <sup>b</sup>
<b>8a</b>	71.48	0.88
<b>8b</b>	104.71	0.74
<b>8c</b>	108.15	0.51

<sup>a</sup> $\Lambda_{\infty}$ : limiting conductance ( $10^4 \text{ S m}^2 \text{ mol}^{-1}$ ). <sup>b</sup> $K$ : association constant.

消化管吸収に関わる化合物の疎水性の指標として、一般には flask shaking 法による *n*-オクタノール/水系の分配係数 ( $P$ ) が用いられる。しかし sulfonium 化合物の *n*-オクタノールに対する分配は非常に小さく、これを正確に測定することが困難であったので、分配係数に代わる指標として 1,2-dichloroethane の液膜を用いて輸送速度 ( $k$ ) を測定した<sup>11</sup>。化合物としては、比較的疎水性の高い tetrahydrofurylethyl 基を有する化合物の *p*-トルエンスルホ

ン酸塩 (**10a**) と塩酸塩 (**10b**) を用いた。sulfonium 化合物 **10a,b** の 50mM 溶液を第1水相とし、24時間攪拌し、1,2-dichloroethane の液膜を介して第2水相へ sulfonium 化合物が移行する輸送速度 ( $k$ ) を測定した (Table 3)。

Table 3. 化合物 **10a,b** の会合定数( $K$ )と輸送速度( $k$ )

compd	$\Lambda_{\infty}$ <sup>a</sup>	$K$ <sup>b</sup>	$k^c$ ( $\times 10^{-7} \text{ mol/hr}\cdot\text{cm}^2$ )
<b>10a</b>	56.90	1.81	3.03
<b>10b</b>	95.08	0.58	0.003

<sup>a</sup> $\Lambda_{\infty}$ : limiting conductance ( $10^4 \text{ S m}^2 \text{ mol}^{-1}$ ). <sup>b</sup> $K$ : association constant. <sup>c</sup> $k$ : transport rate.

塩酸塩(**10b**) に比べて *p*-トルエンスルホン酸塩(**10a**) はイオン対会合定数( $K$ )で約3倍、輸送速度( $k$ )において約1,000倍の値を示した。また、*p*-トルエンスルホン酸塩(**10a**) と等量の NaCl を加えた時の輸送速度  $k$  は  $2.83 \times 10^{-7} \text{ mol/hr}\cdot\text{cm}^2$  であり化合物 **10a** 単独の場合と比べて殆ど変化しなかった。従って、sulfonium 化合物はトシラートアニオンを対アニオンとすることで、より好ましい消化管吸収が期待できると考えた。以上の結果より、医薬品としては塩酸塩が一般的であるが、本研究を進めるに当たっては sulfonium 化合物の対イオンとして、トシラートアニオン (TsO<sup>-</sup>) を選択した。

### 4. Sulfonium 化合物の物理化学的性質と生物活性との相関解析

Sulfonium 化合物の methyl 基の反応性と抗体産生および急性毒性との相関を解析するために、sulfonium 化合物の H-D 交換反応速度 ( $k_{\text{obsd/HD}}$ ) およびメチル基転移反応速度 ( $k_{\text{obsd/trans}}$ ) を測定した。

Sulfonium 化合物の化学的な特徴の一つに、sulfonio 基に隣接するアルキル基水素原子のアルカリによる水素-重水素 (H-D) 交換反応があり、その H-D 交換速度 ( $k_{\text{obsd/HD}}$ )<sup>11</sup> を NMR 測定により求めた。硫黄原子に不飽和炭素原子が結合している sulfonium 化合物 (**14-20**) の H-D 交換速度は、飽和炭素原子が結合している sulfonium 化合物 (**3-5, 9, 11, 12**) に比べて10倍以上大きかった (Table 4)。しかし、これらの sulfonium 化合物の H-D 交換速度と HPFC 産生増強作用との間には何の相関も見られなかった。









一方、マウス腹腔内投与による急性毒性 (LD<sub>50</sub>) に関して、置換基として hydroxyl 基または carboxyl 基を有する5化合物 (**3, 5, 17, 19, 20**) は、他の化合物に比べて急性毒性が低かった。そこで、これらの5化合物 (**3, 5, 17, 19, 20**) に対しては擬変数  $I = 1.0$  を、その他の8化合物 (**4, 9, 11, 12, 14-16, 18**) には  $I = 0$  を与えて H-D 交換速度と急性毒性との相関を解析すると、式 (3) が得られた。

$$\log(1/\text{LD}_{50}) = 0.252 \log k_{\text{obsd/HD}} - 0.651 I + 0.633 \quad (3)$$

(n = 13, r = 0.924, s = 0.169)

この様に定性的、属性的な変数として擬変数 (I) を用いて解析することにより、hydroxyl 基または carboxyl 基を有する化合物も含めて、H-D 交換反応の速い sulfonium 化合物ほど急性毒性が強くなる傾向にあることが分かった。

Table 4. Sulfonium 化合物の物性と生物活性

No	$k_{\text{obsHD}}^a$	$k_{\text{obsTrans}}^b$	$\Sigma\pi_{\text{calcd}}^c$	LD <sub>50</sub> (ip) <sup>d</sup> (mmol/kg)	HPFC (T/C) <sup>e</sup> dose (mg/kg) / spleen / 10 <sup>6</sup> cell		
3	$(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ TsO <sup>-</sup>	$2.51 \pm 0.30 \times 10^{-4}$	$4.36 \pm 0.21 \times 10^{-4}$	0.43	1305	120	2.1 1.96
4	$(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ TsO <sup>-</sup>	$7.43 \pm 0.71 \times 10^{-4}$	$6.39 \pm 0.85 \times 10^{-4}$	0.83	323.9	120	1.21 1.23
5	$(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ TsO <sup>-</sup>	$5.76 \pm 0.76 \times 10^{-4}$	$3.41 \pm 0.61 \times 10^{-4}$	0.91	1271	30	1.17 1.41
9	$(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ TsO <sup>-</sup>	$3.98 \pm 0.71 \times 10^{-4}$	$1.51 \pm 0.12 \times 10^{-3}$	1.86	190.4	20	1.19 1.31
11	$(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ TsO <sup>-</sup>	$1.32 \pm 0.17 \times 10^{-3}$	$2.54 \pm 0.81 \times 10^{-4}$	2.75	331.7	40	1.09 1.14
12		$2.97 \pm 0.19 \times 10^{-3}$	$5.42 \pm 0.43 \times 10^{-4}$	3.83	248.6	30	1.18 0.93
14		$9.99 \pm 1.3 \times 10^{-3}$	$1.80 \pm 0.27 \times 10^{-1}$	3.08	128.8	2.5	1.22 1.59
15		$6.72 \pm 0.88 \times 10^{-3}$	$1.82 \pm 0.33 \times 10^{-1}$	3.02	126.3	2.5	1.01 1.16
16		$1.23 \pm 0.15 \times 10^{-2}$	$7.57 \pm 1.2 \times 10^{-1}$	2.54	111.7	2.5	1.34 1.61
17		$4.08 \pm 0.54 \times 10^{-2}$	$1.23 \pm 0.22 \times 10^{-1}$	1.18	996.3	25	0.95 1.08
18		$8.28 \pm 1.1 \times 10^{-2}$	$1.92 \pm 0.29 \times 10^{-1}$	2.84	185.1	5	0.93 0.85
19		$6.64 \pm 0.90 \times 10^{-2}$	$1.08 \pm 0.19 \times 10^{-1}$	1.88	346.6	40	1.37 1.12
20		$7.12 \pm 0.99 \times 10^{-2}$	$3.36 \pm 0.57 \times 10^{-2}$	2.19	1153	30	1.45 1.12

<sup>a</sup>  $k_{\text{obsHD}}$ : The rate constant of the H-D exchange reaction. <sup>b</sup>  $k_{\text{obsTrans}}$ : The rate constant of the methyl transfer reaction. <sup>c</sup>  $\Sigma\pi_{\text{calcd}}$ : The summation of  $\pi_{\text{calcd}}$  calculated by CLOGP (ver. 2.0.0). <sup>d</sup> The value of LD<sub>50</sub> (ip) was by the up-down method at intraperitoneal administration. <sup>e</sup> HPFC (T/C): HPFC formation of treatment / HPFC formation of control at intraperitoneal administration.

一方、IgE レセプターのブリッジングにリン脂質のメチル化が関与しているなどアレルギー反応にメチル基転移反応が関わる例が報告されている<sup>1)-4)</sup>。

そこで、エタノール中、4-mercaptopyridine sodium salt に sulfonium 化合物を作用させ、生成する 4-(methylthio)pyridine を測定し、メチル基の転移反応速度 ( $k_{\text{obsd/trans}}$ ) を求めた (Table 4)。

このメチル基転移反応速度も HPFC 産生増強作用との間には相関は見られなかったが、式 (3) と同様に hydroxyl 基または carboxyl 基を有する化合物に擬変数 I=1 用いることにより、急性毒性の間に式 (4) が得られ、メチル基転移反応が速いほど急性毒性が強くなることが分った。

$$\log (1/\text{LD}_{50}) = 0.145 \log k_{\text{obsd/trans}} - 0.645 I + 0.482 \quad (4)$$

(n = 13, r = 0.956, s = 0.130)

H-D 交換反応速度とメチル基転移反応速度はどちらも sulfonio 基の反応性の高さを示しており、出来るだけ毒性の低い化合物を得るためにはこの反応性の低い化合物、即ち置換基が全てアルキル基であることが望ましいという結論を得た。

また、急性毒性に関して、sulfonium 化合物の疎水性として sulfonio 基の 3 つの置換基の疎水定数の和 ( $\Sigma\pi_{\text{calcd}}$ ) を CLOGP (ver. 2.0.0)<sup>7)</sup> を用いて計算した。式 (3)、(4) と同じく、擬変数 I を用いると式 (5) が得られ、式 (1) と同様にこれらの化合物においても、sulfonium 化合物の疎水性が高くなるほど急性毒性は強くなることが分かった。






$$\log (1/\text{LD}_{50}) = 0.112 \Sigma\pi_{\text{calcd}} - 0.523 I + 0.482 \quad (5)$$

(n = 13, r = 0.863, s = 0.224)

### 5. 第 2 リード化合物 23 の創製と構造最適化

抗アレルギー薬開発のスクリーニング法として I 型アレルギー反応のモデルである IgE 抗体で誘発した 48 時間 homologous passive cutaneous anaphylaxis (PCA)<sup>13)</sup> を用いて、第 1 リード化合物の構造展開を行った (Table 5)。

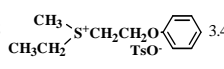
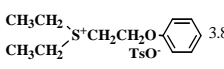
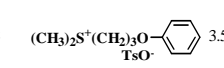
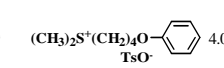
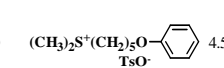
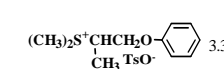
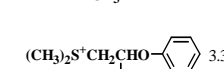
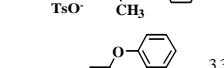
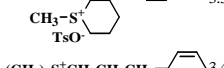
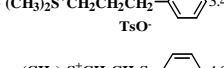
Table 5. 第 1 リード化合物 3 の構造展開

No	$\Sigma\pi_{\text{calcd}}^a$	LD <sub>50</sub> (ip) (mmol/kg) <sup>b</sup>	PCA inhibition (ip) (%) <sup>c</sup>	
3	$(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ TsO <sup>-</sup>	0.43	4.69	5.7
4	$(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ TsO <sup>-</sup>	0.74	1.11	15.1
21		2.21	1.27	19.7
22		2.77	0.79	41.8
23		2.99	0.52	72.7
24		4.01	0.43	30.5
25		4.56	0.31	23.3

<sup>a</sup>  $\Sigma\pi_{\text{calcd}}$ : The summation of  $\pi_{\text{calcd}}$  calculated by CLOGP (ver. 2.0.0). <sup>b</sup> The value of LD<sub>50</sub> was determined in male ddY mice (n=5) by the up-down method at intraperitoneal administration. <sup>c</sup> PCA inhibition (ip) (%): Homologous passive cutaneous anaphylaxis (PCA) at intraperitoneal administration. Dose 20mg/kg in rat.

第 1 リード化合物 3 のラットへの腹腔内投与による PCA 阻害活性は 5.7% と非常に低かったが、hydroxyl 基を methoxy 基に変えた化合物 4 では 15.1% と 3 倍近い阻害活性を示したので、数種の alkyloxy 基および aryloxy 基を検討したところ、phenoxyethyl 基を有する化合物 23 は PCA 阻害活性が 72.7% と、抗アレルギー薬である Tranilast の PCA 阻害活性 45.1% (Table 6) より強い阻害活性を示した。従って、この化合物 23 を第 2 リード化合物とし、構造最適化を図った (Table 6)。

Table 6. 第2リード化合物 **23** の構造最適化 (1)

No	$\Sigma\pi_{\text{calcd}}^a$	LD <sub>50</sub> (ip)(mmol/kg) <sup>b</sup>	PCA (ip) inhibition(%) <sup>c</sup>	
26		3.44	-	29.5
27		3.89	-	18.7
28		3.52	0.53	30
29		4.05	0.25	-3.9
30		4.58	0.19	14.8
31		3.39	0.31	31.5
32		3.39	0.64	36.2
33		3.39	0.13	42
34		3.43	0.24	26.1
35		4.05	0.25	-29.2

<sup>a</sup>  $\Sigma\pi_{\text{calcd}}$ : The summation of  $\pi_{\text{calcd}}$  calculated by CLOGP (ver. 2.0.0) <sup>b</sup> The value of LD<sub>50</sub> was determined in male ddY mice (n=5) by the up-down method at intraperitoneal administration <sup>c</sup> PCA inhibition(%): Homologous passive cutaneous anaphylaxis (PCA) at intraperitoneal administration in rat. Dose (ip) 20mg/kg in rat.

はじめに、化合物 **23** の dimethyl 基を methylethyl 基 (**26**)、diethyl 基 (**27**) に変換すると阻害活性は低下した。次に dimethylsulfonio 基と phenoxy 基との間のエチレン鎖の部分を変換した。最初に化合物 **23** のリンカー部分 (n=2) の長さを変えた化合物 **28** (n= 3)、化合物 **29** (n= 4)、化合物 **30** (n= 5) では阻害活性は低下した。次に、エチレン部分に methyl 基を導入した化合物 **31** と化合物 **32** およびエチレン部分と sulfonio 基を架橋した化合物 **33** も PCA 阻害活性は低下した。

また、化合物 **23** の phenoxy 基の酸素原子の必要性を確かめるために、酸素原子を炭素または硫黄原子に変えた化合物 **34**、および化合物 **35** を合成した。化合物 **34** では阻害活性は低下し、化合物 **35** では全く阻害活性を示さなかったことから、化合物 **23** のエーテル酸素原子は PCA 阻害活性に必要であると考えられた。

ここで、化合物 **23** の sulfide 化合物 **36**、sulfoxide 化合物 **37** および sulfone 化合物 **38** の PCA 阻害活性 (50mg/kg, rat ip 投与) は各々、-5.1%、12.9%、10.3%であったことから、PCA 反応阻害発現には sulfonio 基は重要であるとの結論を得た。

PCA 阻害活性がなかった 2 化合物 (**29**, **35**) を除く 15 化合物 (**3**, **4**, **21-28**, **30-34**) に関して式 (6) が得られた。

PCA 反応の阻害値としては、ロジット変換した値 Logit(PCA):  $\log[\text{PCA inhibition\%} / (100 - \text{PCA inhibition\%})]$  を用いた。

$$\text{Logit (PCA)} = -0.154 (\Sigma\pi_{\text{calcd}})^2 + 0.886\Sigma\pi_{\text{calcd}} - 1.494 \quad (6)$$

(n = 15, r = 0.778, s = 0.246)

化合物 **23** は他の 14 化合物に比べて PCA 阻害活性が特に高いため、式 (6) の相関 (r = 0.778) は良くないが、式としては有意であった。この上に凸の 2 次式 (6) より PCA 阻害活性に対する疎水性の最適な  $\Sigma\pi_{\text{calcd}}$  値は 2.88 と予測され、この値に近い疎水性を持つ化合物 **23**:  $\Sigma\pi_{\text{calcd}} = 2.99$  が最も阻害活性が強く、これを越える化合物は得られなかった。

またこれらの 15 化合物 (**3**, **4**, **21-25**, **28-35**) に関して、これまでと同様に疎水性の増加は急性毒性を強めることが式 (7) により示された。

$$\log (1/\text{LD}_{50}) = 0.254 \Sigma\pi_{\text{calcd}} - 0.456 \quad (7)$$

(n = 15, r = 0.789, s = 0.250)

次に、より阻害活性の強い化合物を得る目的で、第2リード化合物 **23** のベンゼン環に Hammett  $\sigma$  と疎水性置換基定数  $\pi$  を指標に、化合物 **23** のベンゼン環への置換基導入を図った (Table 7)。始めに、chloro 基 ( $\sigma > 0$ ,  $\pi > 0$ ) および methyl 基 ( $\sigma < 0$ ,  $\pi > 0$ ) をベンゼン環のパラ、メタ、オルト位に導入した。これらの化合物 **39a-c**, **40a-c** は、リード化合物 **23** より PCA 阻害活性は低下した。しかし、パラおよびメタ位に methyl 基 ( $\sigma < 0$ ) を有する化合物 **40a,b** は Tranilast より阻害活性は弱いものの、30%以上の阻害活性を示した。

そこで、Hammett  $\sigma$  が負である電子供与性の置換基として hydroxyl 基、methoxy 基、ethoxy 基、tert-butyl 基をパラおよびメタ位に置換した化合物 **41a,b**, **42a,b**, **43a,b**, **44a,b** を合成した。また、パラ位に  $\sigma > 0$ ,  $\pi < 0$  の置換基として carboxyl 基を有する化合物 **45** も合成した。阻害活性の全くなかった化合物 **44a,b** を除き、13 化合物(**39a-c**, **40a-c**, **41a,b**, **42a,b**, **43a,b**, **45**)に関して、Hammett  $\sigma$  と PCA 阻害活性をロジット変換した Logit(PCA)との間に、式 (8) で示した相関が見られ Hammett  $\sigma$  値と負の相関があることが分かった。

以上、ベンゼン環に置換基を導入した化合物の PCA 阻害活性は全てリード化合物 **23** より低下したが、化合物 **23** に導入する置換基としては、電子供与性置換基 ( $\sigma < 0$ ) が望ましいことが示唆された。

また、carboxyl 基を有する **45** は例外的に低毒性であったので、これ以外の 15 化合物(**23**, **39a-c**, **40a-c**, **41a,b**, **42a,b**, **43a,b**, **44a,b**) (Table 7) では、急性毒性と Hammett  $\sigma$  との間に式 (9) に示す相関があった。相関係数 (r) は大きく

ないが、Hammett  $\sigma$  と有意な相関があり、電子求引性の大きな基は急性毒性が強くなる傾向が見られた。従って、PCA 阻害活性と同様に、毒性の面からも導入する置換基は電子供与性基 ( $\sigma < 0$ ) が望ましいことが分かった。

一方、置換基の疎水性  $\pi$  と PCA 阻害活性: Logit(PCA) との間には、有意な相関は見られなかった。

$$\text{Logit (PCA)} = -0.997 \sigma - 0.628 \quad (8)$$

(n = 13, r = 0.716, s = 0.263)

$$\log(1/\text{LD}_{50}) = 0.523 \sigma + 0.402 \quad (9)$$

(n = 15, r = 0.733, s = 0.108)

Table 7. 第 2 リード化合物 23 の構造最適化 (2)

No	PCA						
	$\sigma^a$	$\pi^b$	MV ( $\text{\AA}^3$ ) <sup>c</sup>	inhibition (ip) (%) <sup>d</sup>	Ri.a. <sup>e</sup>	LD50 (ip) (mmol/kg) <sup>f</sup>	
23		0	0	182.9	72.7	+++	0.52
39a		0.23	0.71	196.8	14.9	+	0.23
39b		0.37	0.71	196.5	13.3	+	0.24
39c		0.23	0.71	196.1	4.2	+	0.33
40a		-0.17	0.56	199.5	38.5	+	0.59
40b		-0.07	0.56	199.3	34.8	+	0.43
40c		-0.17	0.56	199.4	18.6	+	0.31
41a		-0.37	-0.7	191.5	41.9	+	0.43
41b		0.12	-0.7	191.3	13.7	++	0.32
42a		-0.27	-0	207.6	23.8	+	0.88
42b		0.12	-0	208.6	6.9	+	0.39
43a		-0.24	0.38	225.6	31.3	-	0.59
43b		0.1	0.38	225.8	11.8	-	0.37
44a		-0.2	1.98	249.2	-50.9	-	0.51
44b		-0.1	1.98	249.7	-31.2	-	0.39
45		0.45	-0.3	210.8	13.4	-	3.19
Tranilast				45.1			

<sup>a</sup>  $\sigma$ : Hammett  $\sigma$  of substituent. <sup>b</sup>  $\pi$ : The substituent constant. <sup>c</sup> Volume ( $\text{\AA}^3$ ) was calculated by QUANTA3.2 /CHARMm. <sup>d</sup> PCA inhibition (ip) (%): Homologous passive cutaneous anaphylaxis (PCA) in rat. Dose (ip) 20mg/kg. <sup>e</sup> Ri.a.: i.a.compound ( $1 \times 10^{-6}$ g/ml) / i.a.acetylcholine ( $1 \times 10^{-9}$ ml). The intrinsic activity (i.a.) was obtained of heart contraction test in guinea pig isolated atria. +++: Ri.a.>1.0, ++: 0.5 < Ri.a.<1.0, +: 0 < Ri.a.<0.5, -: Ri.a.=0. <sup>f</sup> The value of LD<sub>50</sub> was determined in male ddY mice (n=5) by the up-down method at intraperitoneal administration.

ここで、リード化合物 23 は acetylcholine 様作用を有する phenoxcholine と構造的類似性 (Chart 2) があることから副作用として、sulfonium 化合物の acetylcholine 様作用が懸念された。

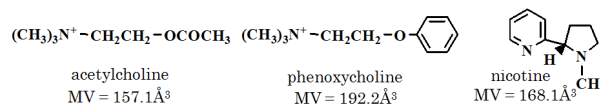


Chart 2. Acetylcholine 様作用を持つ化合物

Acetylcholine 様作用の強さを acetylcholine ( $1 \times 10^{-9}$ g/mL) と化合物 ( $1 \times 10^{-6}$ g/mL) の各濃度における固有活性値 (i.a.) の比 (Ri.a.) を取り、+++; Ri.a. > 1.0, ++; 0.5 < Ri.a. < 1.0, +; 0 < Ri.a. < 0.5, -; Ri.a. = 0 の 4 段階に分けた。その結果、acetylcholine 様作用を示す化合物群 (23, 39a-c, 40a-c, 41a,b, 42a,b) と示さない化合物群 (43a,b, 44a,b, 45) に分けることができた。化合物 23 以外の化合物 39a-c, 40a-c, 41a,b, 42a,b の acetylcholine 様作用は acetylcholine の 1/1,000 以下と決して強いものではなかった。しかし、安全性の観点から acetylcholine 様作用が全くない化合物を得るために、化合物の構造との相関を検討した。

そこで、sulfonium 化合物が acetylcholine 様の作用を示すには、acetylcholine レセプターの活性部位と相互作用する化合物側の大きさに制限があるものと考え、acetylcholine、phenoxcholine、nicotine を比較対照として、sulfonium 化合物のカチオン部分の体積 (MV) を QUANTA 3.2/CHARMm<sup>14)</sup> を用いて計算した (Table7)。Acetylcholine、phenoxcholin、nicotine の MV は各々、157.1 $\text{\AA}^3$ 、192.2 $\text{\AA}^3$ 、168.1 $\text{\AA}^3$  であった。強い acetylcholine 様作用を示した化合物 23 の MV は 182.9 $\text{\AA}^3$  であったが、化合物 43a (MV=225.6 $\text{\AA}^3$ ) 以上の MV を持つ化合物 43b, 44a,b では acetylcholine 様作用を示さなかった。但し、carboxyl 基を有する化合物 45 は、他の化合物とは異なり MV は 210.8 $\text{\AA}^3$  でありながらも acetylcholine 様作用を示さなかった。従って、置換基として carboxyl 基を持たず、acetylcholine 様作用を示さない sulfonium 化合物を得るには、カチオン部分がおおよそ 225 $\text{\AA}^3$  以上の MV を持つ化合物であれば良いことが分かった。

以上、強い PCA 阻害活性とともに acetylcholine 様作用を有する化合物 23 のベンゼン環に種々の置換基を導入することで、Tranilast より弱いながらも比較的強い PCA 阻害活性があり、acetylcholine 様作用がない化合物 43a を得ることができた。しかし、腹腔内投与では最も強い PCA 阻害活性 (投与量: 20mg/kg、阻害 72.7%) を示した第 2 リード化合物 23 であっても、経口投与では極めて弱い阻害活性 (投与量: 50mg/kg、阻害率 7.5%) しか示さなかった (Table 8)。

そこで、経口投与における PCA 阻害活性の向上を目的として、パラ位に ethoxy 基を持つ化合物 43a を参考に、化合物 23 のベンゼン環のパラ位に、acetylcholine 様作用を示さないと予測される大きさの MV を持つ alkyloxy を導入することにした。

Table 8. 第2リード化合物 23 の構造最適化 (3)

No	$\pi_{\text{calcd}}^a$	MV ( $\text{\AA}^3$ ) <sup>b</sup>	LD50(ip) <sup>c</sup> PCA inhibition (%) <sup>d</sup>		
			(mmol/kg)	50mg/kg	100mg/kg
23	0	182.9	0.52	7.5	-
46a	-1.78	259.6	0.79	19.8	25.3
46b	-1.78	256.7	0.52	-	20.4
46c	-1.78	257.6	0.64	-	13.4
47	-1.16	275.3	0.66	21.1	-
48	-0.63	291.9	0.84	24.8	-
49	0.88	330.8	0.29	23.7	-
50	0.57	323.8	0.26	23.1	-
Tranilast				19.5	

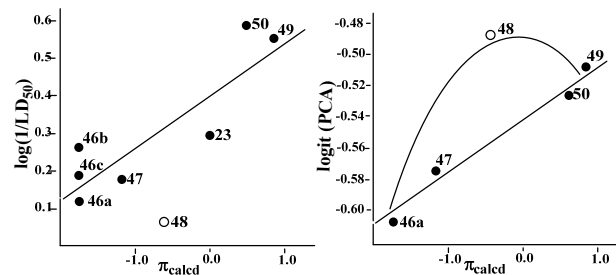
<sup>a</sup>  $\pi_{\text{calcd}}$  was calculated by CLOGP (ver. 2.0.0). <sup>b</sup> MV ( $\text{\AA}^3$ ) was calculated by QUANTA3.2/CHARMm.

<sup>c</sup> The value of LD50 was determined in male ddY mice (n=5) by the up-down method at intraperitoneal administration. <sup>d</sup> PCA inhibition (po) (%): Homologous passive cutaneous oral anaphylaxis (PCA) at administration.

Hydroxyl 基を持つ化 41a (腹腔内投与量: 20mg/kg、阻害活性率 41.9%) が ethoxy 基を有する化合物 43a (腹腔内投与量: 20mg/kg、阻害活性率 31.3%) にも優る PCA 阻害活性を示したことを踏まえて (Table 7)、置換基として glycerylether:  $\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$  基を導入した。その化合物 46a のカチオン部分の体積 ( $\text{VM} = 259.6 \text{\AA}^3$ ) は acetylcholine 様作用を発現しないと予測されるに十分な大きさであり、50mg/kg の経口投与において 19.8% の PCA 阻害活性を示した。この阻害活性値は Tranilast と同程度であった (Table 8)。また、glycerylether 基の望ましいベンゼン環の置換位置を確認するために、メタ置換誘導体 46b、オルト置換誘導体 46c を検討した。経口投与 (100mg/kg) における PCA 阻害活性および急性毒性において、パラ位置換誘導体 46a は、わずかではあるがメタ、オルト置換誘導体より優れていた。

ここで、化合物 46a の疎水性を表す  $\Sigma\pi_{\text{calcd}}$  は、化合物 23 の  $\Sigma\pi_{\text{calcd}}$ : 2.99 (Table 5) と glycerylether 基の  $\pi_{\text{calcd}}$ : -1.78 (Table 8) の和、1.21 と計算できる。この値は、式 (6) より算出される PCA 阻害活性発現の最適値  $\Sigma\pi_{\text{calcd}} = 2.88$  に比べて小さいことから、PCA 阻害活性を強めるには化合物 46a の疎水性を上げる必要があると考えた。そこで、化合物 46a の glycerylether 基 ( $\pi_{\text{calcd}} = -1.78$ ) の 3-hydroxy 基を 3-methoxy 基に変換した化合物 47 ( $\pi = -1.16$ ) を合成したところ、50mg/kg の経口投与において PCA 阻害活性の僅かな向上が見られ、3-ethoxy 基 ( $\pi_{\text{calcd}} = -0.63$ ) に変えた化合物 48 ではそれ以上に阻害活性が向

上した。しかし、さらに疎水性を高めた 3-phenoxy 基 ( $\pi_{\text{calcd}} = 0.88$ ) を有する化合物 49 では、阻害活性は高くなり、急性毒性が強くなった。また、2,3-dihydroxypropoxy 基の 2 つの hydroxyl 基を ethoxy 基とした 2,3-diethoxypropoxy 基 ( $\pi_{\text{calcd}} = 0.57$ ) を有する化合物 50 も、PCA 阻害活性は化合物 49 と同程度で、急性毒性が強くなった。

Figure 1.  $\pi_{\text{calcd}}$  と Logit (PCA) および  $\log(1/\text{LD}_{50})$  の相関図

化合物 48 以外の化合物 23, 46a-c, 47, 49, 50 においては置換基の疎水性が増すに従って急性毒性が直線的に強くなる傾向があるのに対して、化合物 48 は例外的に弱い急性毒性を示した。一方、置換基の疎水性が増すに従って、化合物 46a, 47, 49, 50 では直線的に PCA 阻害活性が向上する傾向があるが、化合物 48 は疎水性の増加分以上に阻害活性が向上していた (Figure 1)。






以上の結果から急性毒性を考慮して、hydroxyl 基をひとつ残した 2-hydroxy-3-ethoxy 基 ( $\pi_{\text{calcd}} = -0.63$ ) を置換基に持つ化合物 48 を、第2リード化合物 23 の最適化化合物とした。

## 6. 第3リード化合物 53k の創製と医薬品候補化合物の決定

第2リード化合物 23 の構造最適化により見出した化合物 48 は、医薬品の候補化合物になり得ると考えた。しかし、この化合物 48 は、強い acetylcholine 作用を有する phenoxycholine と共通なエーテル結合を有するので、phenoxyethyl 基に基づく acetylcholine 様の副作用が完全には払拭されていないのではないかと懸念から、更に安全性の高い化合物を目指して、エーテル結合の変換を検討した。

そこで、メチレン結合 (化合物 34)、およびのチオエーテル結合 (化合物 35) (Table 6) 以外の結合様式を検討し、アミド結合として carbamoyethyl 基を有する化合物 51 および、その N-置換基として、cyclohexyl 基を有する化合物 52、および phenyl 基を有する化合物 53a を合成した。化合物 53a には、第2リード化合物 23 より弱いながらも PCA 阻害活性 (27.1%, 100mg/kg、腹腔内投与) があることを確認した (Table 9)。

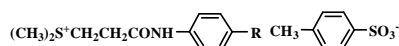
**Table 9.** 第2リード化合物 **23** のエーテル結合からアミド結合への変換

No		PCA (ip) inhibition (%) <sup>a</sup>	
		50mg/kg	100mg/kg
<b>51</b>	$(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 	2.4	13.7
<b>52</b>	$(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}$  	9	17
<b>53a</b>	$(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}$  	-8.3	27.1

<sup>a</sup> PCA inhibition (%): Homologous passive cutaneous anaphylaxis (PCA) at intraperitoneal administration.

次いで、置換基の電子のおよび疎水の性質を指標に種々の置換基を化合物 **53a** のベンゼン環のパラ位に導入した (Table 10)。Trifluoromethyl **53b**、chloro **53d**、および fluoro 誘導体 **53e** では PCA 阻害活性は殆ど向上しなかった。一方、acetyl 誘導体 **53c**、carboxymethyl 誘導体 **53f**、methyl 誘導体 **53g**、methoxy 誘導体 **53h**、および hydroxy 誘導体 **53i** では、化合物 **53a** より強い PCA 阻害活性を示した (投与量: 50mg/kg)。これらの結果から、acetyl 誘導体 **53c** を除いて、trifluoro、chloro、fluoro 基などの電子求引基に比べて carboxymethyl、methyl、methoxy 基のような電子供与基の方が PCA 阻害活性には望ましく、一方、methyl 誘導体 **53g** を除いて chloro、fluoro、trifluoromethyl 基などの疎水性基より、acetyl、carboxymethyl、methoxy、hydroxy 基のような親水性基の方が望ましいという傾向が認められた。

**Table 10.** 化合物 **53a** ベンゼン環パラ位へ置換基導入



No	R	PCA inhibition (%) <sup>a</sup>	
		20mg/kg	50mg/kg
<b>53b</b>	CF <sub>3</sub>	-7.8	-10.3
<b>53c</b>	COCH <sub>3</sub>	9	25.1
<b>53d</b>	Cl	-0.2	0.3
<b>53e</b>	F	4	1.2
<b>53f</b>	CH <sub>2</sub> COOH	14.9	25.5
<b>53g</b>	CH <sub>3</sub>	18.9	22
<b>53h</b>	OCH <sub>3</sub>	-4.4	17.4
<b>53i</b>	OH	21.9	9.7
<b>53j</b>	OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	13.8	29.8
<b>53k</b>	OCH <sub>2</sub> CH(OH)CH <sub>2</sub> OH	38.7	34.9
		1.4 <sup>b</sup>	18.6 <sup>b</sup>

(PCA) at intraperitoneal administration. <sup>b</sup> PCA inhibition (%): Homologous passive cutaneous anaphylaxis (PCA) at oral administration.

そこで、電子供与性基として propoxy 基を有する化合物 **53j** および、第2リード化合物 **23** の構造最適化と同様に、より親水性の高い基として glycerylether 基を有する化合物 **53k** を合成した。これらの化合物 **53j**、**53k** はどちらも強い PCA 阻害活性 (29.8%, 34.9%, 50mg/kg, 腹腔内投与) を示した。また、propoxy 誘導

体 **53j**、3-hydroxypropoxy 誘導体 **53l**、2-hydroxypropoxy 誘導体 **53m** に比べて、化合物 **53k** の急性毒性 (LD<sub>50</sub>、マウス) は低かった (Table 11)。以上の結果から、化合物 **53k** を第3リード化合物とした。

**Table 11.** 置換 propoxy 基を有する sulfonium 化合物の急性毒性

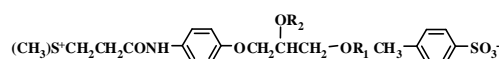
$$(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{R}-\text{CH}_3-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_3^-$$

No	R	LD <sub>50</sub> (ip) (mmol/kg) <sup>a</sup>
<b>53j</b>	OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0.22
<b>53k</b>	OCH <sub>2</sub> CH(OH)CH <sub>2</sub> OH	2.21
<b>53l</b>	OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	0.71
<b>53m</b>	OCH <sub>2</sub> CH(OH)CH <sub>3</sub>	1.09

<sup>a</sup> The value of LD<sub>50</sub> was determined in male ddY mice (n=5) at intraperitoneal administration by the up-down method.

新たな第3リード化合物 **53k** は、腹腔内投与ではかなり強い PCA 阻害作用が見られたものの、経口投与では阻害活性が低下した (Table 10)。これは同じ置換基を持つ化合物 **46a** (Table 9) の場合と同様に、glycerylether 基の疎水性が低いことが原因と考えられた。一方、急性毒性は 2-hydroxypropoxy 誘導体 **53m** の方が 3-hydroxy propoxy 誘導体 **53l** より低かったことから (Table 11)、化合物 **46a** の構造最適化と同じく 2-hydroxyl 基は残し、3-hydroxyl 基に疎水性基を導入することにした。置換基の疎水性の指標としての疎水性置換基定数  $\pi$  の計算値  $\pi_{\text{calcd}}$  は CLOGP (ver. 2.0.0) を用いて求めた (Table 13)。

**Table 12.** 化合物 **53a** のベンゼン環パラ位への置換基導入



No	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	PCA (po) inhibition (%) <sup>a</sup>	
			20mg/kg	50mg/kg
<b>54a</b>	CH <sub>3</sub>	H	17.7	24.8
<b>54b</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	28.9	35.5
<b>54c</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	16.3	13.8
<b>54d</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	H	7.9	4.4
<b>54e</b>	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	H	10.2	-7.4
<b>54f</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	14.4	4.6
<b>55a</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	17.9	10.5
<b>55b</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0.1	5.1

<sup>a</sup> PCA inhibition (%): Homologous passive cutaneous anaphylaxis (PCA) at oral administration.

R<sub>1</sub> に hydroxyl 基より疎水性の高い置換基を導入した 3-methoxy 誘導体 **54a** ( $\pi_{\text{calcd}} = -1.16$ ) および 3-ethoxy 誘導体 **54b** ( $\pi_{\text{calcd}} = -0.63$ ) では PCA 阻害活性は上昇したが、それより疎水性の高い置換基を導入した 3-propoxy 誘導体 **54c** ( $\pi_{\text{calcd}} = -0.01$ ) および 3-butoxy 誘導体 **54d** ( $\pi_{\text{calcd}} = 0.43$ ) では PCA 阻害活性が低下した。更に置換基の疎水性を上げた



2-cyclohexyloxy 誘導体 **54e** ( $\pi_{\text{calcd}} = 0.87$ ) および 2-phenoxy 誘導体 **54f** ( $\pi_{\text{calcd}} = 0.88$ ) では PCA 阻害活性が向上しないことを確認した。また、2,3-dihydroxy 基を 2,3-dimethoxy 基または 2,3-diethoxy 基に換えた化合物 **55a** ( $\pi_{\text{calcd}} = 0.49$ ) および化合物 **55b** ( $\pi_{\text{calcd}} = 0.57$ ) も合成し、その PCA 阻害活性が低いことを確認した (Table 12)。

Table 13. CLOGP を用いて求めた置換基疎水定数  $\pi_{\text{calcd}}$

No	R	$\pi_{\text{calcd}}^a$
<b>53k</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	-1.78
<b>54a</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OCH}_3$	-1.16
<b>54b</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$	-0.63
<b>54c</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$	-0.1
<b>54d</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	0.43
<b>54e</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OC}_6\text{H}_{11}$	0.87
<b>54f</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OC}_6\text{H}_5$	0.88
<b>55a</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{OCH}_3$	0.49
<b>55b</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OC}_2\text{H}_5)\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$	0.57

<sup>a</sup>  $\pi_{\text{calcd}}$  was calculated by CLOGP (ver. 2.0.0).

以上の結果から、PCA 阻害活性に最適な sulfonium 化合物の疎水性の存在が示唆され、一連の化合物の中では最も PCA 阻害活性の強い化合物であった 3-ethoxy-2-hydroxy-propoxy 誘導体 **54b** の疎水性がこれに近いと考えられる (Figure 2)。

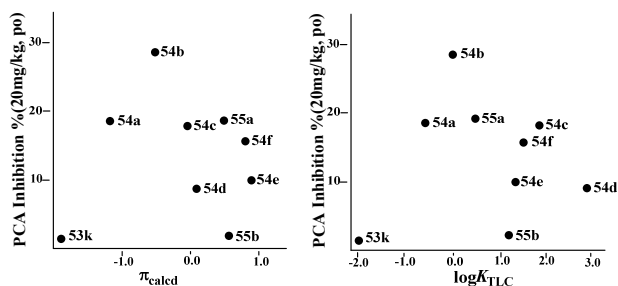
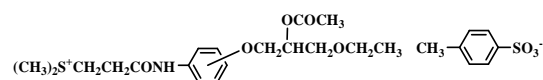


Figure 2. PCA 阻害活性 (20mg/kg, po) と CLOGP による計算値( $\pi_{\text{calcd}}$ )および実測値( $\log K_{\text{TLC}}$ )との相関図

一般に hydroxyl 基はエステルで保護した方が、経口吸収性が良くなる事が知られているので、化合物 **54b** の 3-ethoxy-2-hydroxypropoxy 基を 2-acetoxy-3-ethoxypropoxy 基に変えた化合物 **56a** を合成したが、その PCA 阻害活性は大きくは向上しなかった (Table 14)。

また、2-acetoxy-3-ethoxypropoxy 基のオルト置換誘導体 **56b** およびメタ置換誘導体 **56c** も合成したが、パラ置換誘導体 **56a** より弱い PCA 阻害活性しか示さなかった。

Table 14. 2-acetoxy-3-ethoxy 基を有す sulfonium 化合物の PCA 阻害活性



No	position	PCA (po) inhibition (%) <sup>a</sup>	
		20mg/kg	50mg/kg
<b>56a</b>	para	35.1	30.2
<b>56b</b>	ortho	-2	20
<b>56c</b>	meta	18.2	17.7

<sup>a</sup> PCA inhibition (%): Homologous passive cutaneous anaphylaxis (PCA) administration.

以上の結果から、最終的に医薬品候補化合物として化合物 **54b** を選定した。

## 7. 抗アレルギー薬として望ましい sulfonium 化合物の疎水性

抗アレルギー薬として医薬品候補化合物 **54b** を見出す過程においては、sulfonium 化合物の flask shaking 法による分配係数の測定が困難であったことから、化合物の疎水性の指標として疎水性置換基定数  $\pi$  の計算値 ( $\pi_{\text{calcd}}$ ) を用いた。従って、実際の疎水性に基づいた化合物デザインではなかった。そこで、逆相薄層クロマトグラフを用いて sulfonium 化合物の分配係数を実測した。

方法として、Table 15 に示した  $\log P$  値が既知の 10 化合物 ( $\log P$ : -1.07 ~ 4.01) について、固定相にオクチルシリル化シリカゲル逆相薄層クロマトグラフ (Merck HPTLC RP-8 F254S)、移動相に 50% (v/v) エタノール水溶液を用いて、Retention factor ( $R_f$ ) を測定し<sup>16)</sup>、次いで、 $R_M$  値を式  $R_M = \log(1/R_f - 1)$  より求めた。これら 10 化合物の  $\log P$  と  $R_M$  値との間には、式 (10) に示した良好な相関が見られた。

Table 15. 標準とした化合物の  $\log P$  と  $R_M$  値

compd	$\log P^a$	$R_M^b$
Uracil	-1.07	-1.159
Sufanilamide	-0.62	-1.024
Allopurinol	-0.55	-0.902
Caffeine	0.01	-0.555
Sulfamethyazol	0.26	-0.698
Phthalimide	1.15	-0.211
Aspirin	1.19	-0.306
Indole	2.14	0.161
Benzophenone	3.18	0.523
Biphenyl	4.01	0.886

<sup>a</sup>  $\log P$  values were listed in Bio-Loom (ver. 5.0)

<sup>b</sup>  $R_M = \log(1/R_f - 1)$

$$\log P = 2.491 R_M + 1.788 \quad (10)$$

(n = 10, r = 0.995, s = 0.187)

ここで、一般に分配係数 ( $P$ ) は、化合物の非解離型における分配係数として  $\log P$  値で示されるが、onium 化合物の場合は常に解離型で存在しているため、分配係数としてはイオンペア形成分配平衡定数 ( $K$ ) が用いられている<sup>17)</sup>。そこで、sulfonium 化合物の分配係数としては、クロマトグラフより得られた分配係数ということで、 $\log P$  の代わりに  $\log K_{TLC}$  という表示を用いた。

この方法を用いて、Table 13 に示した医薬品候補化合物 **54b** の創製に関わった化合物の  $\log K_{TLC}$  を測定した (Table 16)。

Table 16. 化合物 **54b** 関連化合物の  $\log K_{TLC}$

$(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_3^-$

No	R	$\log K_{\text{calcd}}^a$
<b>53k</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	-1.81
<b>54a</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OCH}_3$	-0.38
<b>54b</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$	0.06
<b>54c</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$	2
<b>54d</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	2.94
<b>54e</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OC}_6\text{H}_{11}$	1.48
<b>54f</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OC}_6\text{H}_5$	1.52
<b>55a</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{OCH}_3$	0.57
<b>55b</b>	$\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OC}_2\text{H}_5)\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$	1.26

<sup>a</sup> $\log K_{TLC}$ :  $\log P$  value was measured by reversed phase thin-layer chromatography.

実測した  $\log K_{TLC}$  と疎水性置換基定数の計算値  $\pi_{\text{calcd}}$  との相対的な疎水性を比較すると、Figure 2 に示した様に、化合物 **53k**, **54a,b** 間では合っていたが、それ以外の化合物 **54c-f**, **55a,b** 間では違っていた。しかし、化合物 **54b** より疎水性が高くなると PCA 阻害活性が低下するという結果は同じであった。化合物 **54b** の  $\log K_{TLC}$  値は 0.06 (分配係数=1.15) であり、第 2 リード化合物の最適化された化合物 **48** の  $\log K_{TLC}$  値は 0.07 (分配係数=1.17) であったことから、経口投与で PCA 阻害活性を示す sulfonium 化合物の望ましい分配係数は約 1.2 であることが分かった。

## 10. 結論

本研究で見出した医薬品候補化合物 **54b** は 1995 年、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎の治療薬 Suplatast Tosilate として上市された。現在もアレルギー性疾患の根治療法に関わる Th2 サイトカイン阻害薬に分類されているものは Splatast Tosilate のみである。

## 11. 謝辞

本研究に関して種々の貴重な御助言を賜りました岐阜薬科大学、永澤秀子教授、堀 幹夫教授、(故)江田昭英教授、片岡 貞教授、および清水 洋教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究全般にわたり御協力頂きました大鵬薬品工業株式会社の各位に厚く御礼申し上げます。

## 12. 引用文献

- Hirata, F., Toyoshima, S., Axelrod, J., Waxdal, M. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **77**, 862-865 (1980).
- Dobozy, A., Hunyadi, J., Simon, N., *Acta. Microbiol. Acad. Sci. Hung.*, **17**, 303-309 (1970).
- Riddik, D.H., and Gallo, R.C., **37**, 282-292 (1971).
- Richard, U.B., Clifford, S., Sato, S., Charles, D.B., *Plant. Physiol.*, **31**, 374-377 (1956).
- Bizyaev, A. I., *Vitam. U—Prir. Svoistva, Primen*; Bukin, V. N. Ed.; Nauka: Moscow, USSR, pp 145-146 (1973).
- Cunningham, A. J., Szenberg, A., *Immunology*, **14**, 599-600 (1968).
- Leo, A. J., *Chemical Reviews*, **93**, 1281-1305 (1993).
- Nippon Kayaku Co., Ltd., Fr. 1,394,705
- Brownlee, K. A., Hodges, J. L., Rosenblatt, M., *J. Am. Stat. Assoc.* **48**, 262-277 (1953).
- Motomizu, S., Toei, K., Iwachido, T., *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **42**, 1006-1010 (1969)
- Behr, J. P., Lehn, J. M., *J. Amer. Chem. Soc.* **95**, 6108-6110 (1973).
- Yano, Y., Okonogi, T., Tagaki, W., *J. Org. Chem.*, **38**, 3912-3915 (1973).
- Tada, T., Okamura, K., *J. Immunol.*, **106**, 1002-1011 (1971).
- Momany, F. A., Rone, R., *J. Comput. Chem.*, **13**, 888-900 (1992).
- Bio-Loom (ver.5.0) (<http://www.biobyte.com/bb/prod/bioloom.html>)
- Kubota, T., Kano, K., Kawata, E., Hashizumi, H., Uno, B., *Ann. Proc. Gifu Coll. Pharm.* **39**, 21-41 (1987).
- Takayama, C., Akamatsu, M., Fujita, T., *Quant. Struct.-Act. Relat.*, **4**, 149-160 (1985).

## 13. 特記事項

本総説は、岐阜薬科大学博士論文 (乙第 359 号) の内容を中心にまとめたものである。