

Mini Review

新規キノリノン誘導体 TA-270 の炎症性気道疾患に対する効果

水谷暢明，石原光輝，末武和己，青木康夫，高垣秀次

大日本インキ化学工業株式会社総合研究所 R&D 本部 TA 開発センター

Effect of a novel quinolinone derivative, TA-270, on inflammatory airway diseases

TA-270 is a novel compound that demonstrates 5-lipoxygenase(LO) inhibition and anti-oxidative action against ONOO⁻ etc. TA-270 was designed on the basis of the ascorbic acid and aspirin, and added with sinapinic acid (an active ingredient of SAIBOKUTOU). Here, we investigated the effects of TA-270 on inflammatory airway diseases using experimental guinea pig models.

In a pre-clinical study, TA-270 strongly improved biphasic asthmatic responses and hyperresponsiveness in allergic asthma models, hyperresponsiveness induced by ozone inhalation in non-allergic models and also biphasic nasal blockages in allergic rhinitis models. The inhibitory effect of TA-270 against the hyperresponsiveness in allergic models was remarkably stronger than that of a cysteinyl leukotriene antagonist, suggesting that the anti-oxidative action rather than 5-LO inhibitory effect contributes to the inhibitory effect of TA-270. It is recently reported that a potent oxidant ONOO⁻ generated from nitric oxide and O₂⁻ is involved in the development of respiratory diseases. And our study showed that TA-270 inhibited hyperresponsiveness induced by ONOO⁻ in guinea pigs. These results suggest that the anti-oxidative action of TA-270 is involved in the improvement of airway inflammation.

In conclusion, TA-270 is considered to improve airway inflammation through its mechanism of 5-LO inhibitory and anti-oxidative effect, and is expected clinically to demonstrate improvement in airway inflammation including asthma and chronic obstructive pulmonary disease, and allergic rhinitis.

Rec.2/4/2005, Acc.4/28/2005, pp512-516

Nobuaki Mizutani, Mitsuteru Ishiwara, Kazumi Suetake, Yasuo Aoki and Hidetsugu Takagaki
Dainippon Ink and chemicals, Incorporated Central Research Laboratories

Key words TA-270, quinolinone, ONOO⁻, 5-lipoxygenase, airway disease

はじめに

筆者らは、各種疾患の発症・増悪と生体のレドックスバランスの関連に着目し、医薬品として有用な新規抗酸化剤に関する創薬研究を進めている。新規抗酸化剤のリード化合物として、天然の抗酸化物質であるアスコルビン酸を選択しているが、アスコルビン酸は2,3-エンジオール構造に由来する強力な抗酸化活性を示し、かつ極めて安

全性の高い化合物であり、食品添加物、抗酸化剤およびビタミン剤として広く使用されている。しかしながら、アスコルビン酸を抗酸化性医薬品として考えた時の問題点としては、微量金属イオンと反応して活性酸素を生成し、目的の作用とは逆に酸化剤として働いて脂質過酸化反応を惹き起こし¹⁾、さらには水溶液中でアスコルビン酸による自動酸化が促進され、細胞毒性を発現することが

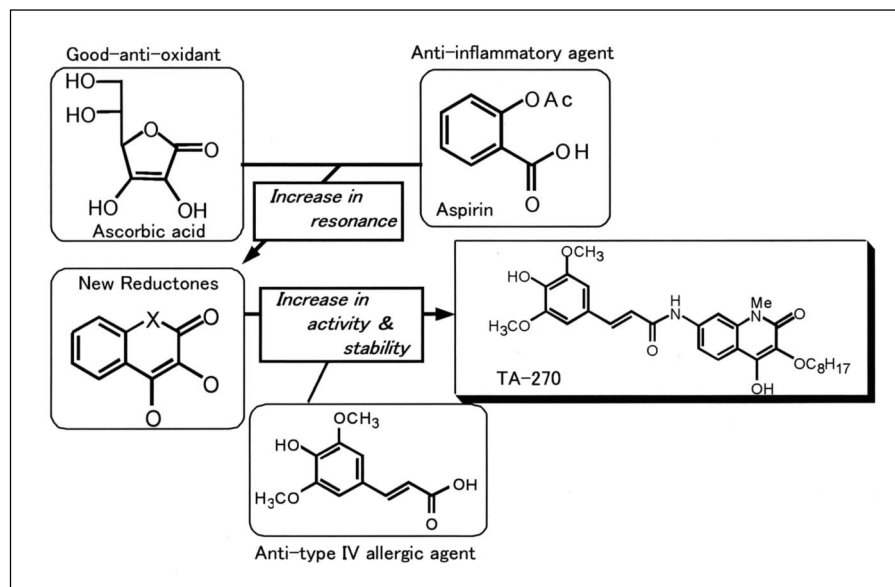


図1 ドラッグデザイン

報告されている²⁾。この点はアスコルビン酸のみが有する問題ではなく、大半の抗酸化性化合物が有する問題と筆者らは考えている。加えて、アスコルビン酸は水溶性が高く、細胞膜の移行が困難であることも挙げられる。

筆者らは、抗酸化剤の上述した問題点を踏まえ、図1に示すようにアスコルビン酸の活性部分であるエンジオール構造を保持し、アスコルビン酸の共鳴構造を延ばして、共鳴安定化を図った新規レダクトン骨格を考案した。さらに、抗アレルギー活性の増強を目的として、レダクトン構造に生薬由来のシナピン酸（柴朴湯の有効成分の一種で、Ⅰ型アレルギー抑制作用を持つ）を導入し、新規キノリノン誘導体 TA-270 を合成した。

ここでは、TA-270 の作用機序を踏まえ、種々呼吸器疾患モデルを用いた薬効評価についての成績ならびに新規抗アレルギー薬としての可能性について述べる。

TA-270の作用機序

1) 抗酸化作用

TA-270 の抗酸化作用を評価する目的でラット脳の遠心上清における過酸化脂質生成抑制作用を TBA (2-thiobarbituric acid) 法により検討した。TA-270 は 1×10^{-6} mol/L より過酸化脂質の生成を抑制し、 1×10^{-5} mol/L ではほぼ完全に抑制した ($IC_{50}=1.4-1.6 \times 10^{-6}$ mol/L, IC_{50} : 50% inhibitory concentration)。この抑制作用は、代表的抗酸化剤の BHA (3-tert-butyl-4-hydroxyanisole) ($IC_{50}=1.4-1.7 \times 10^{-6}$ mol/L) とほぼ同等であり、 α -トコフェロール ($IC_{50}=1.8 \times 10^{-5}$ mol/L) より強力であった。一方、TA-270 のリード化合物であるアスコルビン酸は本測定方法において過酸化脂質の生成を

促進することを確認している。アスコルビン酸は極めて酸化されやすく抗酸化剤として利用されているが、ある環境下ではプロオキシダント作用を有し酸化を促進する。これに対して、TA-270 はこのような作用を示さず、アスコルビン酸とは異なり共鳴安定化が図られていると推察される。

次に、ONOO⁻ に対する TA-270 の消去作用について検討した。ONOO⁻ は活性酸素の一種で、体内では nitric oxide と O₂ の反応によって発生し強力な組織傷害性を持ち、呼吸器疾患発症においても重要な因子である可能性が報告されている^{3,4)}。そこで、ONOO⁻ によるジヒドロローダミン 123 の酸化に対する TA-270 の阻害実験を行った結果、TA-270 は、ONOO⁻ に対して明らかな消去作用を示し、 IC_{50} 値は 7.1×10^{-7} mol/L であった。

2) 5-LO (lipoxygenase) 阻害作用

5-LO は、喘息・鼻炎の発症に大きく関与する Cysteinyl leukotrienes (CysLTs) 合成の鍵となる酵素である。TA-270 は、RBL-1 細胞（ラット好塩基性白血球細胞株）由来の 5-LO 活性に対して $IC_{50} = 1.7 \times 10^{-8}$ mol/L で抑制し、zileuton (5-LO 阻害薬) に比較して IC_{50} 値で約 9.4 倍強い阻害活性が認められた。また、本薬はヒト末梢血好酸球から CysLTs 産生を、 $IC_{50} = 1.3 \times 10^{-7}$ mol/L で抑制した。

これらのことより、TA-270 は抗酸化作用に加えアレルギー発症における重要な酵素である 5-LO 阻害作用を示すことが明らかとなった。

気管支喘息モデルを用いた評価

気管支喘息は、気道炎症と気道過敏性亢進を伴う可逆

表 効力を裏付ける試験成績

試験項目	指標	薬剤	投与経路	投与量(mg/kg)	試験成績
アレルギー性 気管支喘息モデル	二相性の 気道抵抗上昇	TA-270	経口	1, 3, 10, 30, 100	ED ₅₀ : 14.08 mg/kg (IAR), 7.88 mg/kg (LAR)
		Pranlukast	経口	3, 10, 30, 100, 300	ED ₅₀ : 64.33 mg/kg (IAR), 55.00 mg/kg (LAR)
		Zileuton	経口	3, 10, 30, 100, 300	ED ₅₀ : 23.17 mg/kg (IAR), 37.84 mg/kg (LAR)
	気道過敏性	TA-270	経口	20, 50, 100	20 mg/kg以上で有意な抑制
		Pranlukast	経口	20, 50, 100	100 mg/kg以上で有意な抑制
オゾン誘発モデル	気道過敏性	TA-270	経口	30	30 mg/kg以上で有意な抑制
アレルギー性 鼻炎モデル	二相性の 鼻腔抵抗上昇	TA-270	経口	3, 10, 30	3 mg/kg以上でLARを有意な抑制 30 mg/kg以上でIARを有意な抑制
		Pranlukast	経口	30	30 mg/kg以上でLARを有意な抑制
	鼻粘膜血管 透過性の亢進	TA-270	経口	3, 10, 30	10 mg/kg以上で有意な抑制
	くしゃみ回数	TA-270	経口	10, 30, 100	10 mg/kg以上で有意な抑制
ONOO ⁻ 誘発モデル	気道過敏性	TA-270	経口	0.3, 3, 30	30 mg/kgにてほぼ完全に抑制
	鼻閉	TA-270	経口	0.3, 3, 30	3 mg/kg以上で有意な抑制

ED₅₀: 50% effective dose, IAR: Immediate asthmatic response, LAR: Late asthmatic response,
ONOO⁻: peroxynitrite

的気道閉塞を呈する疾患であり、気道平滑筋収縮および肥厚、血管透過性に基づく粘膜の浮腫性変化、粘液分泌の過多などが関与し、さらにその病態発生にはCysLTsなどの種々ケミカルメディエーターなどが複雑にからみあって発症する。従来は、アレルギーと肥満細胞固着IgE抗体との反応によるI型アレルギーが病態の主役であると考えられていた。しかしながら、I型アレルギー性炎症を経由しないIgE非依存性喘息の存在も認められる⁵⁾。

ここでは、アレルギー性および非アレルギー性喘息モデルに対するTA-270の効果について検討したので報告する。

1) アレルギー性喘息モデル

喘息モデルは、モルモットにOvalbumine(OVA)ミストを10分間1日1回、連続8日間吸入させて感作し、最終感作の7日後に再びOVAを吸入させ反応惹起させることで、二相性の気道閉塞(即時性および遅発性の気道閉塞)および気道過敏性が認められる。TA-270は、抗原惹起1時間前に経口投与を行った。その結果、TA-270はモルモット実験的喘息モデルの即時性および遅発性の気道閉塞を抑制し、そのED₅₀は即時性に対して14.08mg/kg、遅発性に対して7.88mg/kgであり、その効力はpranlukast(CysLT受容体拮抗薬)およびzileutonよりも強力であった(表)。

さらに、喘息の最も特徴的な症状である気道過敏性に対する本薬の作用を評価するため、抗原惹起24時間後に、

acetylcholine(ACh)に対する気道反応性を指標に評価した。その結果、TA-270は喘息モルモットのAChに対する気道反応性を20mg/kg以上の用量で有意に低減し、すなわち気道過敏性の亢進を改善した。比較薬としたpranlukastは100mg/kgで有意な気道過敏性の改善を示したが、その効力は本薬20mg/kgとほぼ同程度であり、本薬とCysLTs受容体拮抗薬の効力差は明らかであった。

2) 非アレルギー性気道過敏性モデル

気道過敏性の発症には、IgE依存性喘息によるもの以外に、気道感染、環境汚染などによって誘発されるIgE非依存性喘息の関与も注目されている。ここでは、モルモットに大気汚染物質の1つであるオゾンを曝露することにより気道過敏性を誘発するモデルを用いて、TA-270の効果を検討した。その結果、TA-270のオゾン吸入1時間前の経口投与では、30mg/kgでほぼ完全に気道過敏性を抑制した(表)。

これらのことより、TA-270はアレルギー性ならびに非アレルギー性の気道炎症に効果を示すことが明らかとなった。一方、本検討に用いたオゾン曝露モデルは、chronic obstructive pulmonary disease(COPD)症状に類似した特長を示すことが報告されており⁶⁾、TA-270はアレルギー性喘息のみならず、感染、大気汚染による非アレルギー喘息、さらには喫煙が原因のCOPDに対しても効果を示す可能性が示唆された。

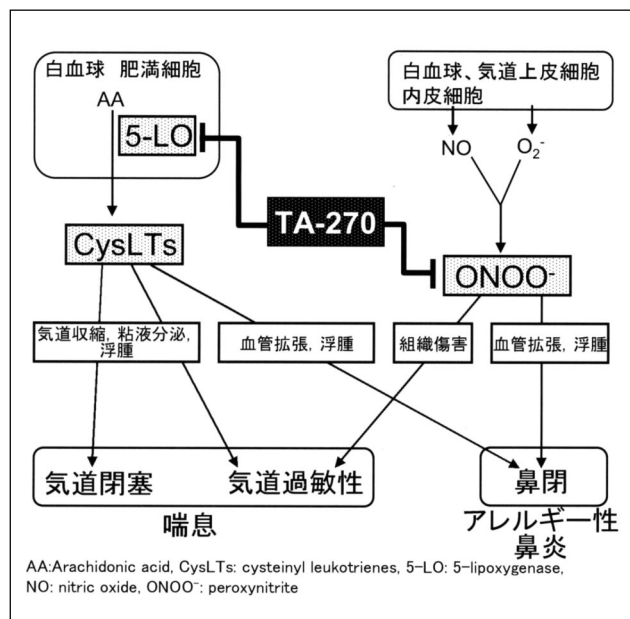


図2 TA-270の気道炎症に対する作用

ONOO⁻誘発気道過敏性モデル

TA-270の気道過敏性改善作用はCysLTs受容体拮抗薬より明らかに強い改善作用を示すことより、過敏性抑制作用は本薬の5-LO阻害作用以外の薬理作用も関与している可能性が考えられる。本薬は、抗酸化性化合物であり、ONOO⁻消去作用および過酸化脂質生成抑制作用を有する。最近、COPDおよび喘息患者においてONOO⁻のマーカーである3-ニトロクロシンが増加していること、これらのマーカーと気道過敏性および呼吸機能(FEV₁)に相関があることなどが報告されている^{3,4)}。そこで、ONOO⁻誘発気道過敏性モデルを作製し⁷⁾、TA-270の効果を検討した。その結果、ONOO⁻を気管内に投与することにより明らかな気道過敏性が認められ、本反応に対してTA-270は30mg/kgでほぼ完全に抑制した。

このことより、TA-270の抗CysLT薬との明らかな気道過敏性の抑制効果の差は、ONOO⁻を消去することによる抗酸化作用によるものと推察される。

アレルギー性鼻炎モデル

アレルギー性鼻炎患者は、くしゃみ、鼻汁および鼻閉を主症状とする特徴的な症状を呈する。特に鼻閉は患者にとって最もquality of lifeを低下させる。ここでは、TA-270の効果を、スギ花粉を用いた二相性の鼻閉を示すアレルギー性鼻炎モデルを用いて検討した⁸⁾。その結果、TA-270は即時性および遅発性に認められる鼻閉を強力に抑制した(表)。本薬の効果は、pranlukastと同等もしくはそれ以

上であった。本抑制効果は、喘息の抑制作用と同様に5-LO阻害によるCysLTsの産生を抑制したことによると考えられる。さらに、ONOO⁻はモルモットに点鼻することで鼻閉を発症し、本反応をTA-270が抑制することを確認した。ONOO⁻は血管拡張および血管透過性亢進作用があり⁹⁾、ONOO⁻が鼻閉の発症に大きく関与している可能性が示唆される。これらのことより、TA-270の鼻閉の抑制は、5-LO阻害作用によるCysLTs産生抑制作用に加えONOO⁻消去作用によるものと推察される。

おわりに

TA-270は、実験動物モデルにおいて喘息・COPDなどの気道炎症およびアレルギー性鼻炎の鼻閉などの典型的臨床症状を強力に改善し、その作用機序は図2に示すとおり5-LOを阻害することによるCysLTsの産生阻害ならびにONOO⁻などに対する抗酸化作用によるものであると考えられる。また、TA-270の非臨床毒性試験および健康成人男子において高い安全性が確認されており、今後、気道炎症を有する呼吸器系疾患に対する新規薬剤としての開発が期待される。

文 献

- 1) Miller DM, Aust SD: Studies of ascorbate-dependent, iron-catalyzed lipid peroxidation. Arch Biochem Biophys, 15: 271(1): 113-119, 1989.
- 2) Samuni A, Aronovitch J, Godinger D, Chevion M, Czapski G: On the cytotoxicity of vitamin C and metal ions. A site-specific Fenton mechanism. Eur J Biochem, 1: 137(1-2): 119-124, 1983.
- 3) Saleh D, Ernst P, Lim S, Barnes PJ, Giaid A: Increased formation of the potent oxidant peroxynitrite in the airways of asthmatic patients is associated with induction of nitric oxide synthase: effect of inhaled glucocorticoid. FASEB J, 12(11): 929-937, 1998.
- 4) Ichinose M, Sugiura H, Yamagata S, Koarai A, Shirato K: Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. Am J Respir Crit Care Med, 162(2 Pt 1): 701-706, 2000.
- 5) Folkerts G, De Clerck F, Reijnders I, Span P, Nijkamp FP: Virus-induced airway hyperresponsiveness in the guinea-pig: possible involvement of histamine and inflammatory cells. Br J Pharmacol, 108(4): 1083-1093, 1993.
- 6) Toward TJ, Broadley KJ: Airway function, oedema, cell infiltration and nitric oxide generation in conscious ozone-exposed guinea-pigs: effects of dexamethasone and rolapram.

- B J Pharmacol, 136(5): 735-745, 2002.
- 7) Sadeghi-Hashjin G, Folkerts G, Henricks PA, Verheyen AK, van der Linde HJ, van Ark I, Coene A, Nijkamp FP: Peroxynitrite induces airway hyperresponsiveness in guinea pigs in vitro and in vivo. Am J Respir Crit Care Med, 153(5): 1697-1701, 1996.
- 8) Nabe T, Mizutani N, Shimizu K, Takenaka H, Kohno S: Development of pollen-induced allergic rhinitis with early and late phase nasal blockage in guinea pigs. Inflamm Res, 47(9): 369-374, 1998.
- 9) Liu S, Beckman JS, Ku DD: Peroxynitrite, a product of superoxide and nitric oxide, produces coronary vasorelaxation in dogs. J Pharmacol Exp Ther, 268(3): 1114-1121, 1994.