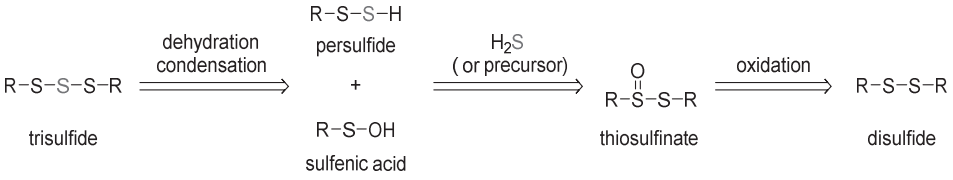
氏　　名	朝　長　昌一郎
国籍・本籍	愛知県
学位の種別	博士（薬学）
学位の番号	乙218
学位授与の日付	令和8年2月20日
学位授与の要件	名城大学学位規程第3条第4項該当
学位論文題目	低分子医薬領域での新規化学合成トリスルフィドの開発を指向した実用的製法及び特性評価に関する研究
論文審査委員	主　査　北　垣　伸　治
	副　査　原　　脩
	副　査　坂　井　健　男
	副　査　吉　田　圭　佑

論文内容の要旨

近年、グルタチオントリスルフィド (GSSSG)やシステイントリスルフィド (Cys-SSS-Cys)及びそれらに由来するパースルフィド (RSSH)等の超硫黄が生体内に豊富に存在し、エネルギー代謝やシグナル伝達等の幅広い生命現象を支えていることが明らかとなった。超硫黄の低分子医薬としての創薬の可能性に関する研究が急速に進み、パースルフィドの強力な抗酸化活性やトリスルフィドの抗炎症、抗がん活性等の生物活性が明らかとなりつつあるが、トリスルフィドの入手性が低く、その化学的または物理的特性及び生理活性の理解は不十分である。そこで、新規化学合成トリスルフィドの低分子医薬領域での実用化を目指し、効率的、さらには、工業的にトリスルフィドを供給できる実用的製法の開発研究とその特性評価に焦点を充て、有機化学、創薬化学、プロセス化学、超分子化学、分析化学及び製剤学等の複合的な観点から、研究に取り組んだ。

第1章では、超硫黄研究分野の現状と重要性、既知のトリスルフィド製法等を調査した。数千L スケールの大量供給法の構築を指向する場合、既知の製法は、基質の入手性及び反応時の脱離基等による廃棄物の生成の観点で課題があった。そこで、入手性が高いジスルフィドを基質とし、かつ、反応時の副生物として、パースルフィドとスルフェン酸の脱水縮合反応における水以外の副生物が生じないトリスルフィド合成法の開発計画とその逆合成解析について述べた (Scheme 1)。



Scheme 1. ジスルフィドからのトリスルフィド合成における逆合成解析

第 2 章では、超硫黄の代表である GSSSG の製法を開発した (Figure 1)。容易に入手可能な酸化型グルタチオン (GSSG)の酸化によりチオスルフィネート (GS(=O)SG)へ誘導後、H_2S 前駆体である Na_2S との One-pot 反応により、20 g スケールにて、GSSSG•$2H_2O$ を高収率 (2 工程収率 74%)で取得することに成功した。本製法は、入手性が高く、安価な基質、試薬のみで迅速に GSSSG へ誘導でき、副生物も少なく、既知製法での収率を約 40 ポイント向上できた。本製法を工業化する上での安全性評価として、酸化、トリスルフィド化の反応熱量を測定した結果、危険性は低く、二次的な分解・暴走に至る危険性も低いと判断できた。この結果は、トリスルフィド化の熱挙動を把握し、工業化の実現可能性を示した初の事例となった。また、反応時に $Na_2{}^{34}S$ を用いた生成物の LC-MS/MS 解析により、^{34}S が高選択的 (> 99% enrichment)にトリスルフィドの中央に挿入されることを示した。この高品質な $GS^{34}SSG$ は、既存の医薬品である還元型グルタチオン (GSH) や GSSG にはないサルフェン硫黄に由来する薬効と薬物動態の解析にも貢献できるものと期待している。

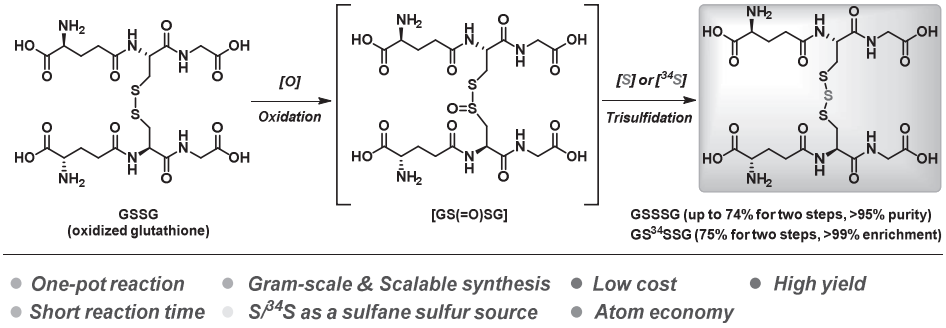


Figure 1. GSSSG の効率的合成法の開発研究

第 3 章では、環状トリスルフィド構造を有するリポ酸トリスルフィド (LATS、Figure 2) を最初の化学合成トリスルフィドの開発対象とした。LATS の製法は特許文献にてわずかに報告されているのみであり、安定性等の特性は不明であった。そこで、GSSSG の製法を、環状ジスルフィドであり、入手性の高い市販の α-リポ酸に適用し、グラムスケールにて 99%を超える高純度の LATS 製法を確立した。さらに、LATS を水中で β-シクロデキストリン (CD)または修飾形のヒドロキシプロピル (HP)-β-CD、メチル (Me)-β-CD、マルトシル (Mal)-β-CD と撹拌、溶解し、凍結乾燥することで各種 β-CD 包接体を創製できたことを示差走査熱量計 (DSC)等で実証した。LATS は想定通り水溶性が低く、更に、40 °C での熱安定性が低いことが判明したが、各種 β-CD により LATS を包接するこ

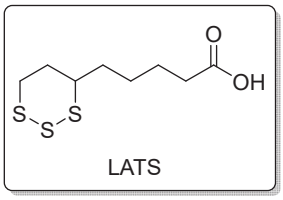


Figure 2. LATS

とで、水溶性と熱安定性の両方が著しく向上した (Table 1)。本研究成果は、化学合成トリスルフィドを CD で包接でき、かつ、CD 包接により、その水溶性と熱安定性を向上できた初の知見である。この進歩により、脂溶性トリスルフィドの経口投与時のバイオアベイラビリティの向上や安定なトリスルフィド製剤としての新たな選択肢を提供できる。

Table 1. LATS と各種 *β*-CD 包接体の開発研究

試料	収率 (%)	LATS 含量 (%)	DSC	水溶性 (g/L, 20 °C)	熱安定性 [a] (%, 40 °C, 6 か月)
LATS	39	99.4	peak (68 °C)	0.13	77.6
LATS-*β*-CD	84	8.6	no peak	0.77	99.1
LATS-HP-*β*-CD	94	7.1	no peak	43	99.2
LATS-Me-*β*-CD	95	7.7	no peak	49	98.8
LATS-Mal-*β*-CD	88	7.5	no peak	45	99.4

[a]LATS の残存率

第 4 章では、トリスルフィド自体が熱安定性、水溶性を持つ化合物を探索するため、パンテテインを含有する新規化学合成トリスルフィドの実用化を課題とした。まず、GSSSG の製法を容易に入手可能なパンテチン (Ptt-SS-Ptt)に適用し、10 g スケールにて高収率 (2 工程収率 70%)かつ高純度 (≧99%)のパンテテイントリスルフィド (Ptt-SSS-Ptt)の合成に成功した。驚くべきことに、Ptt-SSS-Ptt は 40 °C で 2 週間安定、かつ、水溶性も高く (≧236 g/L)、熱安定性と水溶性を兼ね備えたトリスルフィドを初めて見出せた。Ptt-SSS-Ptt は吸湿性及び潮解性を有し、固体状態の維持が困難であり、瞬時に粘調な水飴状となった。潮解モデルである 80%濃度の水溶液では、40 °C にて、トリスルフィドの加水分解により、Ptt-SS-Ptt とテトラスルフィド (Ptt-SSSS-Ptt)が副生し、トリスルフィドの吸湿と潮解が加水分解リスクを高めることを明らかにした。一方、Ptt-SSS-Ptt の物性面での制約は、シリカゲルまたはラクトースとの流動性の良い組成物とすることで解決でき、吸湿の抑制と粉末状態の維持が可能となり、40 °C での熱安定性を担保することに成功した (Figure 3)。

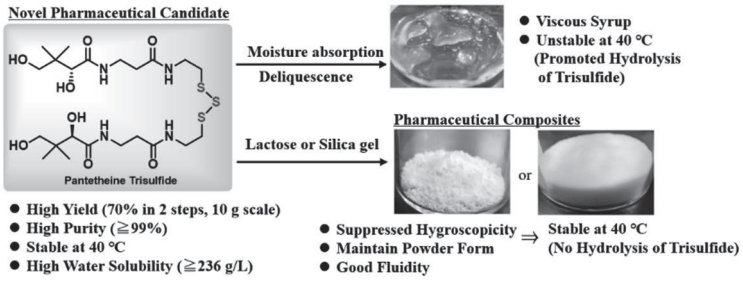


Figure 3. Ptt-SSS-Ptt 及び医薬組成物の開発研究

次に、Ptt-SSS-Ptt の化学構造を基軸とし、水酸基を修飾した誘導体やシステイン (Cys)またはグルタチオン (GSH)構造を有する新規非対称形トリスルフィドを設計、合成した (Figure 4)。Ptt-SSS-Ptt のプロドラッグを指向したジアセチル体及びアセトニド体は固体であり、粘調な水飴状である Ptt-SSS-Ptt の物性を改良でき、高い水溶性を有する Ptt-SSS-Ptt に、適度な脂溶性 (LogP 5 以下)を付与できた。また、パンテテインパースルフィド (Ptt-SSH)、システインパースルフィド (Cys-SSH)またはグルタチオンパースルフィド (GSSH)の各種パースルフィド前駆体として期待できる Ptt-SSS-Cys 及び Ptt-SSS-G も同様に、

固体として単離でき、特に、Ptt-SSS-Cys は、吸湿性及び潮解性がなく、Ptt-SSS-Ptt の物性面での課題を解決した。さらに、これらの非対称形トリスルフィドは、高い水溶性 (≧300 g/L)を示したことから、GSSSG 及び Cys-SSS-Cys の難水溶性 (1 g/L 以下)の物性課題も解決できた。製法面では、Ptt-SS-Ptt 及びシスチン (Cys-SS-Cys)または GSSG に由来する 2 種のチオスルフィネートの混合物に対し、H_2S 前駆体と反応させることで Ptt-SSS-Cys または Ptt-SSS-G を合成可能であった。本反応は、容易に入手可能な 2 種の対称形ジスルフィドから非対称形トリスルフィドを安価な試薬のみで簡便に合成できるユニークかつ初めての事例となり、特に、創薬研究において、目的とする非対称形トリスルフィドを簡便かつ迅速に合成する際に有用となることが期待できる。

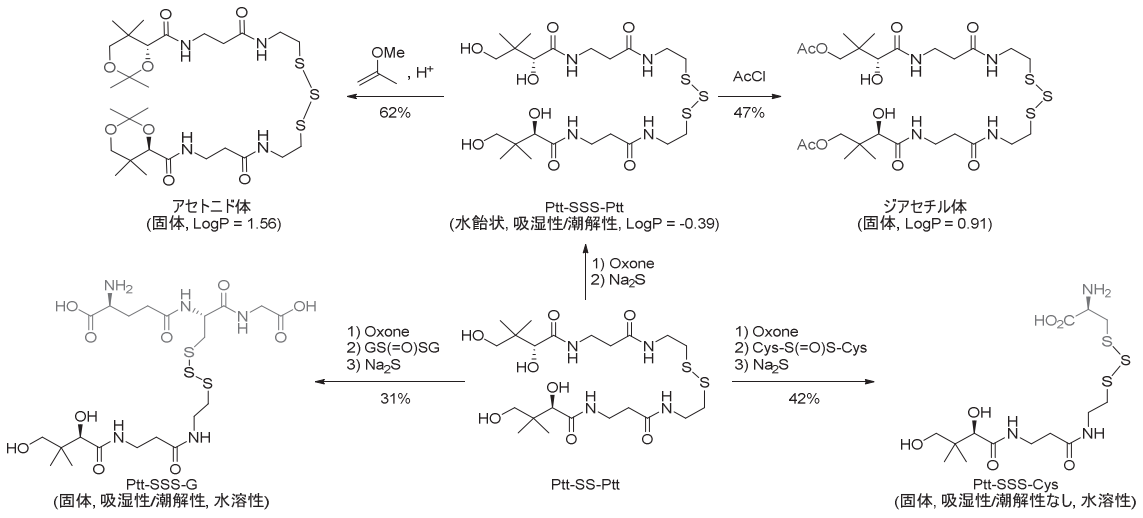


Figure 4. パンテテイン含有トリスルフィドの開発研究

以上より、効率的かつ工業化に適した GSSSG の製法構築を機に、様々な新規化学合成トリスルフィドの創出とその特性の解明に貢献した。明らかとなった各種トリスルフィドの特性面における課題に対し、LATS、Ptt-SSS-Ptt、Ptt 含有トリスルフィドの順で物性改良や安定性の向上について研究し、LATS においては、様々な β-CD 包接体を、Ptt-SSS-Ptt においてはその医薬組成物を作製した。国内外の大学または企業にこれらのトリスルフィドを供給することで、トリスルフィドの薬効解明にも貢献することが可能となった。

今後も、トリスルフィド合成反応の応用研究等、効率的な製法開発を基軸とし、様々な新規トリスルフィドを合成、供給し、その特性評価や薬効解明を促進することで、超硫黄関連領域における初の新薬創出に貢献したい。