

新規緑内障治療薬タフルプロストの開発

Development of a Novel Anti-glaucoma Agent, Tafluprost

松村靖*・森信明**

Yasushi Matsumura, Nobuaki Mori

緑内障は最も一般的で重篤な眼の病気のひとつである。眼圧の上昇などにより視神経が障害されて視野欠損が起こり、治療をせずに放置すると失明に至ることもある。我々はこれまで含フッ素プロスタグランジン (PG) の研究を行ってきたが、最近、新規緑内障治療薬として15-デオキシ-15,15-ジフルオロ-PGF_{2α}誘導体タフルプロストを創出した。PG骨格に2個のフッ素原子を導入する分子設計により、化学的・代謝的な安定化だけでなく、受容体への親和性の向上など様々な優れた効果がもたらされた。タフルプロストの合成において鍵となったのは、エノンのジフルオロ化反応と立体選択的なWittig反応の開発であった。

タフルプロストは緑内障治療薬として優れた薬理学的特性を示した。本薬剤は低濃度で房水流出を促進し、強力で安定した眼圧下降作用を示した。臨床試験では日本人に多い正常眼圧緑内障に対しても優れた眼圧下降作用を発揮することが確認された。タフルプロストは日本、欧州、米国など世界各国で新しい緑内障治療薬として承認され、販売されている。

本稿ではタフルプロストの開発について、ユニークなフッ素の特徴を生かしたドラッグデザインと合成の研究を中心に簡単に紹介する。

Glaucoma is one of the most common, but serious eye disease that can damage the optic nerve associated with high intraocular pressure (IOP), and result in vision loss and blindness if left untreated. Our research group has studied fluorinated prostaglandins (PGs) over the decades, and recently discovered a 15-deoxy-15,15-difluoro-PGF_{2α} derivative, tafluprost as a novel anti-glaucoma agent. Drug design by introducing two fluorine atoms into the PG skeleton brings various beneficial effects on chemical and metabolic stabilities and also receptor binding of the drug. A key to synthesizing the molecule is to develop an efficient geminal difluorination reaction of the enone and stereoselective Wittig reaction.

Tafluprost showed an excellent pharmacological profile as an anti-glaucoma agent. It increased uveoscleral outflow of the aqueous humor at very low concentration, and showed a potent and stable IOP-lowering effect. In clinical studies, it also has been confirmed to have a potent IOP-lowering effect in normal tension glaucoma, a disease seen in a high ratio of the Japanese glaucoma patients. Tafluprost has been recently approved and marketed as a new anti-glaucoma agent in Japan, Europe, USA, and the rest of the world.

We herein describe our studies briefly on the drug design utilizing unique effects of fluorine and synthesis in the development of tafluprost.

*化学品カンパニー技術統括本部開発部

**化学品カンパニー事業統括本部ライフサイエンス事業部

1. はじめに

フッ素原子は、水素に次いで小さい原子半径、大きな結合エネルギー、高い電気陰性度など、他の元素にはないユニークな性質を有する。1960年代まではフッ素を含む医薬品はわずかにステロイド、核酸や中枢神経薬の一部などに留まっていた。近年では創薬化学やフッ素化学の研究の進展に伴って含フッ素医薬品の数は増大しており、新しく開発される合成医薬品の約20%に達すると言われている。⁽¹⁾ 化合物中のフッ素はあらゆる物理化学的性質、吸収・分布・代謝・排泄、さらには酵素や受容体などのタンパク質との相互作用に影響を与える。⁽²⁾ 例えば、炭素-フッ素の強い結合が薬物代謝の阻害に効果があることや脂溶性を増加して膜透過性を高めること、さらにフッ素の電子吸引効果が近傍のアミノ基の塩基性を弱めて生体への薬物吸収を改善する効果があることなどが知られている。しかし、薬物が受容体に結合するときのフッ素と受容体タンパク質との直接的な相互作用や、薬物が作用するときの活性型コンフォメーションにおけるフッ素の立体電子的効果についてはよくわかっていない。

旭硝子では1980年頃よりアミノ酸、ペプチド、核酸やプロスタグランジン (PG) などの生理活性物質にフッ素を導入した誘導体を合成し、フッ素が生理活性や物性に及ぼす効果について研究を行ってきた。⁽³⁾ 特に、含フッ素PG誘導体の合成研究を精力的に行い、合成法や構造活性相関のデータ、ノウハウを蓄積してきた。

緑内障の新薬開発を目指して、1995年に旭硝子と参天製薬との共同研究が開始された。タフルプロストは本共同研究により創製された新しいPG関連薬である。強力な眼圧下降作用を得るために、眼圧下降作用に関与するFP受容体に高い親和性を持つ誘導体を探索し、PG骨格の15位に2つのフッ素を導入したタフルプロストを見出した。このタフルプロストを有効成分とする点眼剤は高眼圧を伴う緑内障だけでなく、正常眼圧緑内障を対象にした臨床試験においても、優れた眼圧下降効果と安全性が確認された。本薬剤は、2008年に欧州および日本で最初に承認され、参天製薬よりそれぞれ「TAFLOTAN®」、「タプロス点眼液0.0015%」として発売された。その後、韓国や東南アジアでも発売されている。また、米国Merck社等に西欧、北米、南米、アフリカなどにおける製造販売権が導出された。西欧諸国や中南米などでは「SAFLUTAN®」として、米国では「ZIOPTAN®」として販売されている。

本稿では、主鎖にジフルオロメチレン (-CF₂-) 骨格を持つPG誘導体の合成研究についてフッ素の効果に焦点を絞ったドラッグデザインとフッ素導入法を中心に概説し、緑内障治療薬タフルプロストの開発に至る経緯を交えて紹介したい。⁽⁴⁾

2. PGの生合成経路と受容体

PGとトロンボキサン (TX) は、生体内でアラキドン酸からシクロオキシゲナーゼやPG合成酵素によってつくられる酸化的な代謝生成物であり、プロスタノイドと総称される (Fig.1)。各種のプロスタノイドは、全身のあらゆる臓器で産生されて、つくられた組織の近くの細胞で多彩な生理作用を発揮する。われわれの体の中で絶妙のバランスを保ちながら、循環器、消化器、骨、生殖器、免疫応答、発熱、炎症、痛み、睡眠、情動制御、記憶学習、脂質代謝などに関わる多様な生理機能を調節し、恒常性を維持するために働いている。このようにPGの作用が大きく異なるのは、必要に応じて臓器や組織で産生されてから作用を発現するまですべて局所で完結するため、その局所ごとに役割が全く異なるためと考えられる。

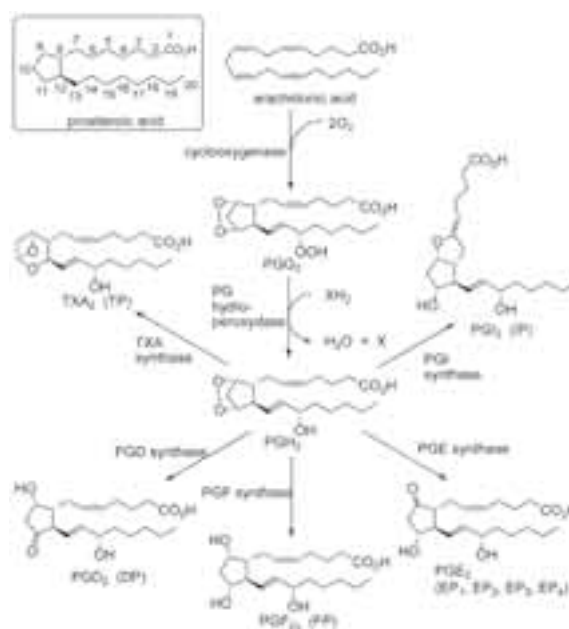


Fig.1 Biosynthesis of prostanoids and prostanoid receptors.

プロスタノイド受容体については、1990年代になって8種類の受容体 (DP, EP₁-EP₄, FP, IP, TP) がすべてクローニングされ、構造や細胞内情報伝達系、生体内分布などが解明された。⁽⁵⁾ また、受容体の遺伝子欠損マウスを用いて病態の解析が進められ、これまで知られていなかったプロスタノイドの生理的な役割も次々と明らかになってきた。⁽⁶⁾ しかし、生体におけるプロスタノイドの複雑な機能には、依然として不明な点が数多く残されており、未開拓の研究領域が広がっている。各受容体に対する特異的なアゴニストやアンタゴニストを開発して薬理的に解明を進めることは、治療満足度の低い疾患に対する新しい画期的な治療薬の誕生に繋がるものと期待されている。

3. PGとフッ素

PGの化学合成が達成されて以来、PGの化学的、代謝的な不安定さを改善し、多様な薬理作用を分離することを目指して、誘導体の開発研究が活発に行われてきた。フッ素を用いたアプローチもそのひとつであり、1980年代初めに我々が研究を始めた頃には、すでに含フッ素PGに関する先駆的な研究が始まっていた (Fig.2)。(7)

例えば、16,16-ジフルオロPGE₂について、酵素によりアリールアルコールの15位水酸基が15-oxo体へと不活性化される代謝経路が、隣接するフッ素によってほぼ完全に阻害されたと報告された。(8) これはフッ素の強い電子求引効果により、アルコールからケトンへの酸化反応が抑制されたためと説明できる。

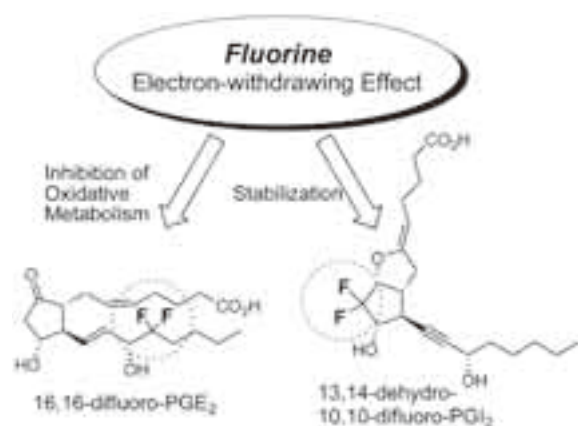


Fig.2 Fluorinated prostaglandin derivatives reported before 1980.

また、天然のPGI₂は、そのビニルエーテル構造が速やかに加水分解を受けて不活性な6-oxo-PGF_{1α}に変換される (半減期 約10分) が、10,10-ジフルオロPGI₂誘導体では、pH7.4における半減期が24時間まで延長したと報告された。(9) 一見すると、フッ素の位置はビニルエーテルから離れているが、フッ素の置換基効果によりC-C結合を介してビニルエーテルの酸素の電子密度が低下していると考え、加水分解が抑制されたことは理解しやすい。

4. 7,7-ジフルオロPGI₂誘導体の合成

前述したように、天然PGI₂は、ビニルエーテル構造が容易に加水分解を受けることが、化学的な不安定性の要因である。ビニルエーテルの二重結合の電子密度を下げ、プロトンの付加を起りにくくして加水分解を防ぐためには、反応点に隣接した7位に電子求引性のフッ素原子を導入するのが、最も効果的であると考えられる。我々は7位にフッ素を1個導入した誘導体を数多く合成し、安定性や活性を検討した。しかし、水溶液中の半減期は約3時間まで延長し、薬理活性も向上したものの、開発候補化合物として期待したほどの効果は得られなかった。(10)

そこで、7位に導入するフッ素原子を2個に増やすことにより、さらに安定化することを試みた。しかしながら、このようなジフルオロビニルエーテル構造を効率的に合成する方法は、全く知られていなかった。試行錯誤の末に、Coreyラクトンを出発原料としてω鎖を導入した後、ジフルオロ化、Wittig反応を鍵工程として合成するルートを計画し、検討を開始した (Fig.3)。

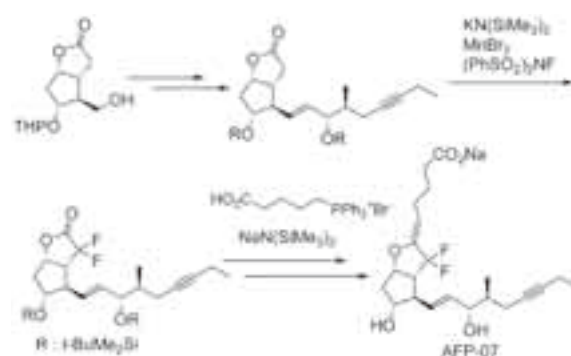


Fig.3 Stereoselective synthesis of AFP-07.

ラクトンを一段階でジフルオロ化するために、カルボニル化合物のフッ素化反応を種々検討した結果、(PhSO₂)₂NF-MnBr₂-KN(SiMe₃)₂系により一段階でジフルオロ化できることを見出した。(11) ジフルオロラクトンはフッ素の電子求引効果により、通常のラクトンに比べて求核反応に対するカルボニル基の反応性が増加している。このため、Wittig反応はスムーズに進行して立体選択的にジフルオロビニルエーテルを与え、目的とするジフルオロPGI₂誘導体 (AFP-07) が得られた。(12)

PG受容体結合試験の結果、AFP-07はPGI₂に特異的な受容体 (IP受容体) に強力に結合し、PGE₂受容体の4種のサブタイプであるEP₁-EP₄受容体に対する親和性は弱かった。(13) これまでに報告されているPGI₂誘導体の中で、最も強力で選択性の高いIP受容体アゴニストであった。AFP-07の半減期は90日以上となり、天然PGI₂に比べて1万倍以上安定化された。また*in vitro* および*in vivo*で非常に強力な抗血小板作用を示した。

このように、PG骨格の部分構造をCF₂ユニットへと変換する分子設計は、化学的・代謝的な安定性の向上や、薬理活性の増強に極めて有効な手段となり得ることが示された。

5. ジフルオロPGF_{2α}誘導体の合成～新規緑内障治療薬タフルプロストの開発

緑内障は、眼圧の上昇など何らかの原因によって視神経が障害されて視野欠損が進行する病気である。適切な治療を受けずに放置すると、最悪の場合、失明に至ることもある。近年の疫学調査では、40歳以上の緑内障の有病率は5.0%であり、緑内障の中でも眼圧が

21mmHg以下の正常域である正常眼圧緑内障が大部分であることが明らかになった。⁽¹⁴⁾ 緑内障の患者数は約330万人と推定され、しかも大多数の患者は症状の進行に気づかないまま治療を受けずにいることも判明した。日本では緑内障は失明原因の第一位となっており、早期発見と早期治療が重要な課題となっている。

緑内障治療の基本方針は、眼圧を十分に下降させて長期にわたりコントロールすることである。まず点眼薬による治療が選択される。正常眼圧緑内障では眼圧だけではなく、視神経周囲の眼血流の低下などの影響も考えられる。しかし、正常眼圧緑内障の患者においても、さらに眼圧を下げれば視野欠損の進行が抑えられることが証明されているため、同様の方針で治療される。薬剤としては交感神経β遮断薬、PG誘導体、炭酸脱水酵素阻害薬などが用いられ、最近ではPG系薬剤が第一選択薬になっている。

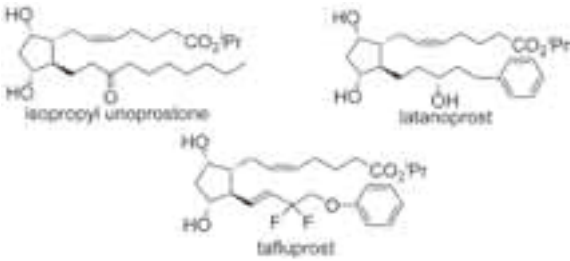


Fig.4 Anti-glaucoma prostaglandin derivatives.

天然型のPGF_{2α}誘導体は分娩誘発剤として早くから使用されていたが、1980年代にBitoらが、PGF_{2α}の投与は眼内の房水の流出を促進し、眼圧を下げることを見出してから、PGF_{2α}の受容体（FP受容体）アゴニストの緑内障に対する治療効果が注目されるようになった。⁽¹⁵⁾ 代謝型のPG誘導体であるisopropyl unoprostone⁽¹⁶⁾ やω鎖に芳香環を導入したlatanoprost⁽¹⁷⁾ などが開発された（Fig.4）。これらPG誘導体は、優れた眼圧下降作用を有し、全身性の副作用がないことから広く使用されるようになっていく。主な副作用として虹彩色素沈着、結膜充血など眼局所のものが報告されている。

しかし、これらのPG系薬剤を用いても十分な眼圧下降効果が得られないノンレスポnderが存在するため、強力に安定した眼圧下降作用を有し、副作用の少ない次世代のPG薬の開発が望まれていた。そこで我々は参天製薬と共同で新しい緑内障治療薬の探索研究を開始した。

ドラッグデザインを考える上で、PG骨格のアリールアルコール部位である15位に注目した（Fig.5）。15位の水酸基を取り去ると生理活性が消失するため、従来のPGの構造修飾ではこの水酸基はPGF_{2α}の活性発現に必須と考えられていた。⁽¹⁸⁾ また、生体内ではこの水酸基が酵素により速やかに代謝され、生理活性が失われることはよく知られていた。

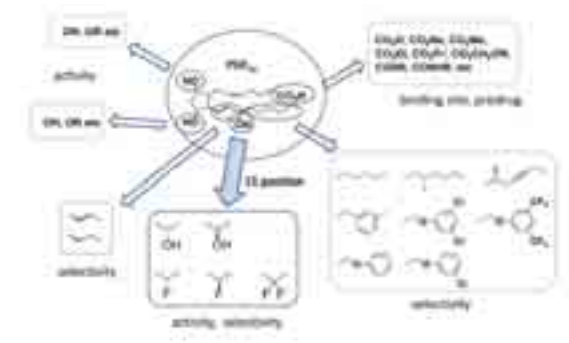


Fig.5 Drug design and synthetic derivatives.

しかし、もしこの水酸基の代わりにフッ素を導入した誘導体を合成できればどうであろうか。C-F結合の高い結合エネルギーを考慮すれば、化学的な安定性は向上すると推測できる。また、そもそもフッ素は水酸基と異なり、酵素により酸化される恐れがないため、代謝的にも安定であろう。さらに、C-F結合とC-O結合の距離の類似性や、フッ素のもたらす優れた極性効果および疎水効果などを考慮すれば、細胞膜表面にある受容体の疎水性ポケットへの親和性が向上する可能性は高いと推察した。

そこで、15位のフッ素置換体を合成し、まずFP受容体への親和性をネコ虹彩括約筋に対する収縮作用を指標にしてスクリーニングを行った。15位にフッ素を導入した誘導体は、*in vitro*で強い親和性を示した。フッ素の立体化学に関して、天然型水酸基と同じ向きの誘導体の活性は高く、逆の立体化学を有する誘導体の活性は著しく低いことがわかった。さらに興味深いことに、2個のフッ素原子を導入した誘導体は、一層高い活性を示した（Table 1）。⁽¹⁹⁾ ω鎖やエステル部分などの構造最適化を集中的に行い、タフルプロスト（tafluprost）を創出した。

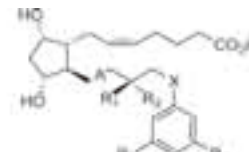
 (<i>in vitro</i>)							
Compounds	A	X	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	EC ₅₀ (nM)
latanoprost	single bond	CH ₃	H	OH	H	H	13.6
acid form	single bond	O	H	F	H	H	6.6
AFP-159	double bond	O	H	F	Cl	Cl	37.9
AFP-120	single bond	O	F	F	H	Cl	9.4
AFP-154	double bond	O	F	F	H	Cl	1.9
AFP-157	single bond	O	F	F	H	H	2.4
AFP-162	double bond	O	F	F	H	H	0.6
AFP-172	single bond	O	F	F	H	H	

Table 1 Constriction effects of PG derivatives on cat iris sphincters.

タフルプロストの合成ルートの開発では、文献的にほとんど合成法が知られていなかったアリルジフルオリド構造をいかに構築するかが鍵となった。合成ルートを図6に示す。⁽²⁰⁾ まず原料となるCoreyラクトンからHorner-Wadsworth-Emmons反応により α 、 β -不飽和ケトンを合成した。この基質についてgem-ジフルオリド化を広範に検討した結果、モルホリノサルファトリフルオリドを用いることにより、良好な収率でgem-ジフルオリドが得られることを見出した。次に、水酸基を脱保護し、カルボニル基を還元して得られたラクトールのWittig反応について詳細に検討した。NaN(SiMe₃)₂を塩基として用いて溶媒や温度などの反応条件を精密に制御することにより、99:1以上というWittig反応として非常に高いZ選択性で α 鎖を導入できることがわかった。最後にカルボン酸をイソプロピルエステル化して、タフルプロストを得ることができた。

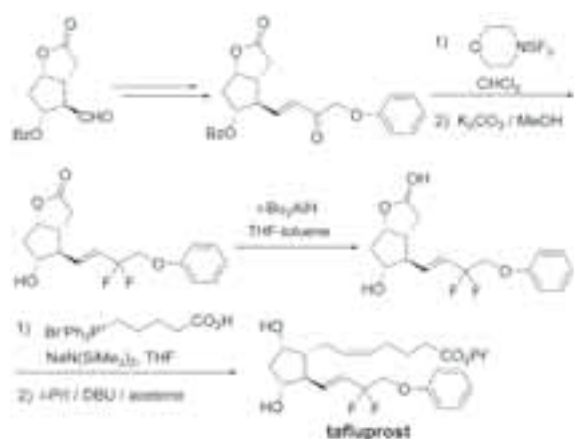


Fig.6 Synthesis of tafluprost.

6. タフルプロストの特徴

タフルプロストはプロドラッグであり、角膜中のエステラーゼでイソプロピルエステルが加水分解されて生成したカルボン酸がFP受容体に結合して作用を発揮する。タフルプロストの活性本体であるカルボン酸は、latanoprostのカルボン酸の約12倍、unoprostoneの約1700倍の強力なヒトFP受容体親和性を示した (Table 2)。⁽²¹⁾ 他のPG受容体に対する親和性は弱く、選択性の高いFP受容体アゴニストである。サルに点眼で投与した試験では、タフルプロストはlatanoprostの約1/10の低濃度においても強力な眼圧下降作用を発揮した (Fig.7)。⁽²¹⁾ 点眼24時間後まで眼圧下降作用が持続することも明らかとなった。

compound	structure (acid form)	K _i (nM)	relative binding affinity (tafluprost = 1)
tafluprost		0.40	1
latanoprost		4.7	12
unoprostone		680	1700

Table 2 Binding affinity for the human prostanoid FP receptor.

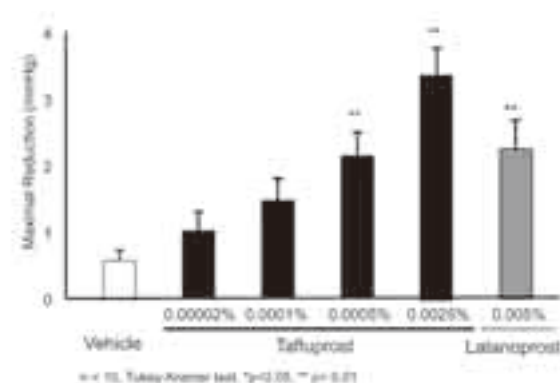


Fig.7 Ocular hypotensive effects of tafluprost and latanoprost in ocular normotensive monkeys.

もし、天然型の ω 鎖であれば、15位の水酸基はPG-15-デヒドロゲナーゼにより速やかに酸化されて不活性なケトンを生じる。しかし、タフルプロストは15位に水酸基を持たないのでこの酵素による代謝は受けず、 α 鎖の β -酸化により段階的に徐々に代謝されていくため、薬効が持続するものと考えられる (Fig.8)。⁽²²⁾ 実際にサルを用いた眼内の代謝物の解析において、活性本体のタフルプロストカルボン酸が房水、虹彩、毛様体、水晶体や網膜などにも分布していることが確認された。

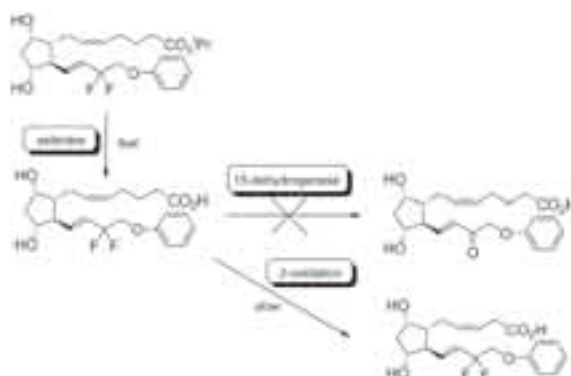


Fig.8 Metabolic pathway of tafluprost.

受容体結合におけるタフルプロストのフッ素の役割に関して、計算化学的手法を用いてホモロジーモデリ

ングで得られたFP受容体-タフルプロストカルボン酸複合体構造の構造最適化が検討された。構造最適化した複合体構造についての原子間距離のデータから、2個のフッ素原子は、それぞれ結合部位周囲のアミノ酸残基と静電的な相互作用を有することが示唆された(Fig.9)。(23) 2個のフッ素原子のうち、天然型水酸基と同じ向きの立体化学を有するフッ素が主導的な役割を果たし、逆の立体化学のフッ素が補助的に働くこと、さらにこれら両方の作用が加味されることにより、受容体と強い相互作用を示すのではないかと推測している。

タフルプロストを有効成分とする点眼剤は、0.0015%という低濃度でぶどう膜・強膜流出経路からの房水流出を促進し、強力かつ安定した眼圧下降作用を発揮する。原発開放隅角緑内障や高眼圧症といった眼圧の高い患者に対して有効性を示すだけでなく、(24) 日本人に多い正常眼圧緑内障を対象にした臨床試験においても、優れた眼圧下降効果および安全性が確認された。(25) また、網膜や視神経乳頭の付近の血流増加作用を併せ持つことも示されており、緑内障による視神経障害の進行に対する抑制効果も期待されている。さらに、従来のPG薬と異なり原薬の化学的な安定性も高いため、本製剤は室温での保存が可能となった。患者の立場から見ると格段に利便性が向上したと考えられる。

本薬剤は、これまでに世界60カ国以上で販売されている。今後、さらに多くの国で広く緑内障治療薬として用いられ、医療に貢献することが期待されている。

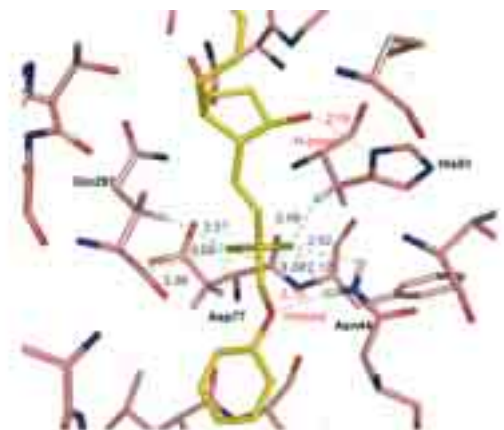


Fig.9 Interatomic distances (Å) between the ω -chain and surrounding amino acid residues.

7. おわりに

タフルプロストの開発を例に挙げて、PGへのフッ素導入の効果について簡単に述べてきた。立体的に与える影響を最小限にして電子的な環境を大きく変えられるというフッ素のユニークな特徴を生かせば、さらにこの分野の研究が発展して新たな治療薬の開発へと繋がるものと期待している。

タフルプロストは旭硝子-参天製薬の密接な共同開発により誕生したものであり、参考文献に挙げた共同研究者をはじめとする関係の皆様方に深謝いたします。

—参考文献—

- (1) a) *Chem. Eng. News*, 90, 10 (2012); b) K. Muller, C. Faeh, F. Diederich, *Science*, 317, 1881 (2007); J. Wang, M. Sánchez-Roselló, J. L. Aceña, C. del Pozo, A. E. Sorochinsky, S. Fustero, V. A. Soloshonok, H. Liu, *Chem. Rev.* 114, 2432 (2014).
- (2) a) 田口武夫, 山崎孝, 松村靖, 森澤義富, “フッ素化学入門 2010 基礎と応用の最前線”, 日本学術振興会・フッ素化学第155委員会編, pp.483-527 (2010) 三共出版, 東京; b) 田口武夫, 松村靖, 森澤義富, “フッ素化学入門”, 日本学術振興会・フッ素化学第155委員会編, pp.395-440 (2004) 三共出版, 東京
- c) J. P. Begue, D. Bonnet-Delpon, “Bioorganic and Medicinal Chemistry of Fluorine”, (2008) Wiley, Hoboken.
- (3) a) A. Yasuda, “Organofluorine Compounds in Medicinal Chemistry and Biomedical Applications” R. Filler, Y. Kobayashi, L. M. Yagupolskii, eds. pp 275-307 (1993), Elsevier, Amsterdam; b) Y. Matsumura, M. Urushihara, “Fluorine-containing Amino Acids: Synthesis and Properties” V. P. Kukhar, V. A. Soloshonok, eds. pp.243-265 (1995), Wiley, Chichester; c) Y. Matsumura, T. Nakano, T. Asai, Y. Morizawa, “Biomedical Frontiers of Fluorine Chemistry” I. Ojima, J. R. McCarthy, J. T. Welch, eds. pp.83-94 (1996), American Chemical Society, Washington, DC.
- (4) a) 松村靖, *ファルマシア*, 50, 39-43 (2014); b) 松村靖, 森信明, 森澤義富, 景山正明, 有合化, 70, 798-808 (2012); b) Y. Matsumura, “Fluorine in Medicinal Chemistry and Chemical Biology”, I. Ojima Ed, pp. 49-66 (2009), Wiley, Chichester.
- (5) T. Hirata, S. Narumiya, *Chem. Rev.* 111, 6209-6230 (2011).
- (6) 牛首文隆, 成宮周, *現代化学*, 増刊38, 15-23 (2001).
- (7) a) Y. Matsumura, “Fluorine and Health”, A. Tressaud, G. Haufe eds. pp.623-659 (2008), Elsevier, Amsterdam; b) 松村靖, 有合化, 63, 40-56 (2005).
- (8) B. J. Magerlein, W. L. Miller, *Prostaglandins*, 9, 527-530 (1975).
- (9) J. Fried, M. Mitra, M. Nagarajan, M. M. Mehrotra, *J. Med. Chem.*, 23, 234-237 (1980).
- (10) Y. Matsumura, T. Asai, T. Shimada, T. Nakayama, M. Urushihara, Y. Morizawa, A. Yasuda, T. Yamamoto, B. Fujitani, K. Hosoki, *Chem. Pharm. Bull.*, 43, 353-355 (1995).
- (11) T. Nakano, M. Makino, Y. Morizawa, Y. Matsumura, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 35, 1019-1021 (1996).
- (12) Y. Matsumura, T. Nakano, N. Mori, Y. Morizawa, *Chimia*, 58, 148-152 (2004).
- (13) C. S. Chan, M. Negishi, T. Nakano, Y. Morizawa, Y. Matsumura, A. Ichikawa, *Prostaglandins*, 53, 83-90 (1997).
- (14) a) A. Iwase, Y. Suzuki, M. Araie, T. Yamamoto, H. Abe, S. Shirato, Y. Kuwayama, H. Mishima, H. Shimizu, G. Tomita, Y. Inoue, Y. Kitazawa, *Ophthalmology*, 111, 1641-1648 (2004); b) T. Yamamoto, A. Iwase, M. Araie, Y. Suzuki, H. Abe, S. Shirato, Y. Kuwayama, H. Mishima, H. Shimizu, G. Tomita, *Ophthalmology*, 112, 1661-1669 (2005).
- (15) C. B. Camras, L. Z. Bito, *Curr. Eye Res.* 1, 205-209 (1981).
- (16) M. Sakurai, M. Araie, T. Oshika, M. Mori, K. Masuda, R. Ueno, M. Takase, *Jpn. J. Ophthalmol.*, 35, 156-165 (1991).
- (17) B. Resul, J. Stjernschantz, K. No, C. Liljebri, G. Selen, M. Astin, M. Karlsson, L. Z. Bito, *J. Med. Chem.*, 36, 243-248 (1993).
- (18) B. Resul, J. Stjernschantz, *Expert Opin. Ther. Pat.*, 3, 781-795 (1993).
- (19) T. Nakajima, T. Matsugi, W. Goto, M. Kageyama, N. Mori, Y.

- Matsumura, H. Hara, *Biol. Pharm. Bull.*, 26, 1691-1695 (2003).
- 20 Y. Matsumura, N. Mori, T. Nakano, H. Sakakura, T. Matsugi, H. Hara, Y. Morizawa, *Tetrahedron Lett.*, 45, 1527-1529 (2004).
- 21 Y. Takagi, T. Nakajima, A. Shimazaki, M. Kageyama, T. Matsugi, Y. Matsumura, B. T. Gabelt, P. L. Kaufman, H. Hara, *Exper. Eye Res.*, 78, 767-776 (2004).
- 22 Y. Fukano, K. Kawazu, T. Akaishi, P. Bezwada, P. Pellinen, *J. Ocul. Pharmacol. Ther.*, 27, 251-259 (2011).
- 23 K. Fujimura, Y. Sasabuchi, *ChemMedChem*, 5, 1254-1257 (2010).
- 24 a) 桑山泰明, 米虫節夫, あたらしい眼科, 25, 1595-1602 (2008)
; b) Y. Kuwayama, A. Nomura, *Adv. Ther.*, 31, 461-471 (2014).
- 25 M. Aihara, *Clin. Ophthalmol.*, 4, 163-170 (2010).