The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Bis 〔2－（E－2－Alkenoylamino） ethyl〕 Disulfides関連化合物の抗炎症作用に関する研究
Author(s)	中島，博志
Citation	大阪大学，1989，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36402
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【5】

氏名・(本籍)	中島博志（なかじま ひろし）
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 8635 号
学位授与の日付	平成元年3月24日
学位授与の要件	薬学研究科応用薬学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	Bis〔2－(E－2－Alkenoylamino) ethyl〕Disulfides 関連化合物の抗炎症作用に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 三村 務 (副査) 教授 近藤 雅臣　教授 岩田平太郎　教授 三浦 喜温

論文内容の要旨

炎症反応は，生体にとって有害な刺激に対する組織レベルでの防衛反応であり，この反応をむやみに抑えることは好ましくない。しかし苦痛や機能障害を伴う場合，この反応はかえって生体に害をもたらす。そこで過剰な炎症反応を抑制するのに抗炎症薬が用いられている。

三村らは，すでに放線菌産生物質中の抗炎症活性成分[1] 並びに胃液分泌抑制活性成分[2]の検索を行ない，いずれも有効成分が脂肪酸類であることを明らかにしている。またこの研究とは別に，ヒト血清IgGの鎖間disulfide 結合を還元アルキル化したところ，そのすべてのsubfragment に抗炎症活性が発現し，その必要条件は鎖間 disulfideの還元・開裂とそのcysteine 残基のアルキル化であることを明らかにしている。[3]

著者は，以上の知見に基づき，比較的簡単な構造の抗炎症活性を示す化合物をデザインする目的で，cysteine に関連した含硫アミノ酸，アミンについてスクリーニングし，cystamine に強い抗炎症活性を見出した。そこでcystamineを原料として新しい誘導体を得る目的で，2－trans 不飽和脂肪酸と酸アミド結合させたdisulfide系化合物を合成した。さらにこれらの化合物のdisulfide結合を還元アルキル化したsulfide系化合物も合成し，両シリーズの抗炎症活性をスクリーニングし,disulfide系の中ですぐれた活性を示すものを見出した。そこでこの化合物の抗炎症活性を各種炎症モデルで検討し，さらに作用機作についても検討した。

Cystamine誘導体の合成は，脂肪酸をthionylchlorideでクロル化し，酸クロリド体を得た。次にcystamineとtriethylamineを酢酸エチルに溶解し，酸クロリド体を加えて反応させ，(1)Bis〔2－(E－2－alkenoylamino) ethyl〕disulfide (Cn:1 S－S) を得た。ついで(1)をmethanol

:H_2O（9：1）中に溶解し，tri−n−butyl−phosphineで還元後，iodoacetamide でアルキル化して(2)2−（E−2−alkenoylamino）ethyl carbamoylmethyl sulfide（$C_{n:1}$ S−C）を得た。

このようにして合成した$C_{n:1}$ S−S，S−Cの抗炎症活性をラットカラゲニン足蹠浮腫法（i. p.）でスクリーニングし，S−SとS−Cのいずれも8と13を中心に二峰性の活性があることを認めた。そこで次に$C_{8:1}$ S−S，S−C並びに$C_{13:1}$ S−S，S−C を経口投与し，ラットカラゲニン足蹠浮腫抑制活性並びにその用量依存性を検討した。各々25mg/kgの用量で，$C_{8:1}$の化合物は，$C_{8:1}$ S−C，$C_{8:1}$ S−S，$C_{8:1}$の順に強い浮腫抑制活性を示し，$C_{13:1}$の化合物も$C_{13:1}$ S−C，$C_{13:1}$ S−S，$C_{13:1}$の順に強い浮腫抑制活性を示した。$C_{8:1}$ S−S，S−Cは，共に用量依存性を示し10mg/kg以上の 用量で有意に抑制したが$C_{13:1}$ S−S，S−C はいずれも用量依存性がなかった。そこで以下の研究は，$C_{8:1}$ S−S，S−Cを用いた。

炎症反応は，大きく第一期の急性期，第二期の亜急性期，第三期の慢性期の三期に分けて考えられており，同時に1つの実験系ですべての炎症段階を検討することはできない。そこで抗炎症作用の検討を行なう際には，各段階に適した炎症モデルを用いている。$C_{8:1}$ S−S，S−C の及ぼす作用について，第一期炎症反応の血管透過性をマウスキシレンear 法で検討した。その結果，$C_{8:1}$ S−Sは，25mg/kgの用量で有意にこの血管透過性亢進を抑制した。一方，$C_{8:1}$ S−C は全く抑制しなかった。また発赤反応を紫外線紅斑法で検討したところ，$C_{8:1}$ S−Sは，紫外線照射2，5時間後のいずれでも抑制したが，$C_{8:1}$ S−C は抑制しなかった。第二期炎症反応は carboxymethyl cellulose pouch 法を用いて検討し，pouchへの白血球遊走に対して$C_{8:1}$ S−S，S−Cのいずれも抑制作用を示した。第三期炎症反応は granuloma pouch 法を用いて検討し，$C_{8:1}$ S−S，S−Cのいずれも25mg/kgの用量で肉芽形成を有意に抑制し，10mg/kgでも抑制傾向が認められた。以上から$C_{8:1}$ S−Sは，第一期から第三期までの炎症モデルに有効で，紫外線紅斑法に有効である点においてステロイド性抗炎症薬と異なっていた。

最近炎症において血小板は重要な役割をはたしている。それは，血小板が顆粒中に血管透過性を亢進させる chemical mediator をもち，炎症部位に集まって，顆粒内容物を放出して血管の反応性に変化を与えるためである。そこで血小板が関与する反応系に及ぼす$C_{8:1}$ S−S の効果について検討を行なった。血小板は刺激物質により活性化され凝集するが，凝集惹起物質により凝集機構が異なる。そこでコラーゲン，ADP，アラキドン酸（AA）を凝集惹起物質として用いて検討した結果，コラーゲン及びAA惹起血小板凝集に対して$C_{8:1}$ S−SのIC_{50}は，それぞれ290μM，135μMで，ADP 惹起血小板凝集に対しては，500μM以上であった。$C_{8:1}$ S−Sは，aspirinと作用が類似していたので，thromboxane B_2（TXB_2）の生成に対して影響があるのではないかと考え検討を行なった。その結果，$C_{8:1}$ S−S は用量依存的にTXB_2生成量を抑制し，そのIC_{50}は56μMであった。さらに$C_{8:1}$ S−Sは cyclooxygenase に対して用量依存的にAAから prostaglandin E_2（PGE_2）への変換を阻害した。このことから$C_{8:1}$ S−Sは cyclooxygenase を阻害し，PG類の生成抑制を介して，抗炎症作用並びに血小板凝集抑制作用を発揮していることが示唆された。

一般に，非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）はcyclooxygenase 阻害によってPGによる痛覚受容器に対する増感作用を除去することにより鎮痛作用を示し，発熱に対しては脳内PGs 合成阻害によ

り解熱作用を示すといわれている。そこでcyclooxygenase阻害活性を示したC8:1 S−S の鎮痛作用を検討し，25mg/kg以上の用量で強い鎮痛作用を認めた。また，C8:1 S−Sの解熱作用についても検討を行ない有意な抑制作用を認めた。以上よりC8:1 S−S は抗炎症作用と共にNSAIDs と同様に鎮痛・解熱作用をもつことがわかり，NSAIDs と構造は異なるが類似した作用をもつことが明らかとなった。

（参考文献）

1）三村務，大西昇，豊田繁，武藤徳男，青沼繁，薬誌，97，1240（1977）.

2）T. Mimura, H. Tsujibo, N. Muto, S. Otsuka and S. Aonuma, Chem. Pharm. Bull., 5, 1077 (1980).

3）T. Mimura, K. Tsujikawa, H. Nakajima, M. Okabe, Y. Kohama, M. Iwai and K. Yokoyama, J. Pharmacobio-Dyn., 9, 47 (1986).

論文の審査結果の要旨

脂肪酸類の中には膜安定化作用に基づく抗炎症活性を示すものがあり，またヒト血清IgG のH鎖，L鎖間のシスチン残基を還元，アルキル化することによりH鎖，L鎖が抗炎症活性を発現することが知られている。

本研究は以上の知見に基づき，簡単なモデル化合物をデザインする目的でcystamineと2−trans不飽和脂肪酸を酸アミド結合させたdisulfide系化合物（Cn:1 S−S）を合成し，さらにそれを還元，アルキル化したsulfide系化合物（Cn:1 S−C）を合成した。合成した両シリーズ化合物の抗炎症活性をスクリーニングした結果，C8:1 S−S，S−C に強いカラゲニン足蹠浮腫抑制活性が認められた。さらに各種炎症モデルに対する作用を検討したところ，C8:1 S−Sは，炎症の第一期〜第三期にわたる各過程を抑制したが，C8:1 S−C は第一期を抑制しなかった。炎症過程に関与する血小板に対してC8:1 S−Sは凝集抑制を示し，その作用機構がcyclooxygenase 阻害によるTXA2 生成抑制であること，それに依存した解熱，鎮痛作用を示すことを明らかにした。

以上から本研究は薬学博士の学位に値する論文と認める。