OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	新規アルドース還元酵素阻害物質WF3681及びWF2421に関する研究
Author(s)	西川, 元章
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38310
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【1】

氏名	西川元章（にしかわもとあき）
博士の専攻分野の名称	博士（薬学）
学位記番号	第10366号
学位授与年月日	平成4年7月6日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	新規アルドース還元酵素阻害物質WF3681及びWF2421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 眞弓 忠範　教授 西原 力

論文内容の要旨

インスリンの歴史的発見以降，糖尿病の臨床像は大きな変貌を遂げた。即ち，ケトアシドーシスに伴う糖尿病昏睡のような重篤急性症による死亡率は激減し，さらに抗生物質の登場によって糖尿病患者の平均寿命は飛躍的に延びた。しかしながら糖尿病患者の寿命の延長と高齢化に伴って，患者の社会生活や生命を脅かす，神経症，網膜症，腎症，白内障に代表される糖尿病性合併症が問題となってきた。今日，糖尿病治療の最大の目的は糖尿病性合併症の発症や進展をいかに阻止するかにある。糖尿病性合併症の予防や進展阻止には厳格な血糖の調節が最善の方法である。しかし，全ての患者で血糖値を厳密に調節することが不可能に近い今の医療環境と，血糖管理が良好であっても罹病期間が長くなると合併症の発症頻度が高くなる現実から合併症の予防法や治療法の確立が切に望まれている。合併症発症の原因には血管障害説，栄養障害説，代謝障害説（ミオイノシトール説，ポリオール説）等があげられている。中でもポリオール説は現在世界的に注目を集めている合併症発症機序のひとつである。グルコースの代謝経路としてヘキソキナーゼによる解糖系とアルドース還元酵素によるポリオール経路が存在する。糖尿病で血中グルコースが上昇するとポリオール経路を律速しているアルドース還元酵素により，細胞内にソルビトールが異常に蓄積する。ソルビトールは細胞膜の透過性が悪いためにソルビトールの細胞内蓄積が一層助長されることとなる。このようにして蓄積したソルビトールによって細胞内の浸透圧が上昇して，細胞内の水分貯留がこう進し細胞の膨潤が生じる。この結果，細胞膜の異常，細胞内物質の変性が生じ，最終的には種々の組織，器官（例えば，神経，毛細血管，水晶体）の機能の異常に到るとされている。以上のような理由からアルドース還元酵素の阻害によりグルコースからソルビトールへの変換を抑えれば，細胞内のソルビトール蓄積が阻害され，ひいては糖尿病性合併症の発症が抑制できるという発想のもとに，現在，糖尿病性合併症に有効な薬物の研究開発が進められている。そこで糖尿病性合併症の中で最も発症率の高い神経症をターゲットとして，アルドース還元酵素阻害物質を微生物産物に求め，カビ或いは，放線菌の醗酵培養液中のアルドース還元酵素阻害物質のスクリーニングを行った。その結果，*Humicola grisea* No.2421と同定されたカビの醗酵濾液よりWF2421を又，*Chaetomella raphigera* No.3681の醗酵濾液よりWF3681を単離した。本論文では，これらの化合物を単離した経過，即ち，抽出・精製，並びに物理化学的性質について述べ，更に，WF3681をプロ

トタイプ化合物として選び，その構造変換を行うことにより，より優れた薬理プロファイルを有するアルドース還元酵素阻害物質FR62765を見いだした経緯について述べる。

カビ *Humicola grisea* No.2421の醗酵濾液150Lより2.4gのWF2421のNa塩が得られた。WF2421（Na塩）は水溶性の白色粉末で，機器分析の結果，分子量427，分子式が$C_{19}H_{19}N_2O_8Na$と決定された。赤外吸収（IR）及び核磁気共鳴（NMR）を主体とした機器分析の結果ビフェニル環を有する新規化合物 α-formamido-5'-(2-formamido-1-hydroxyethyl)-β,2',6-trihydroxy-3-biphenylpropanoic acidと判明した。

カビ *Chaetomella raphigera* No.3681の醗酵濾液120Lより1.6gのWF3681が得られた。WF3681は脂溶性の白色結晶で，機器分析の結果，分子量248，分子式が$C_{13}H_{12}O_5$と決定された。全合成の結果フラノン骨格を有する新規化合物3-(4-hydroxy-5-oxo-3-phenyl-2,5-dihydro-2-furan)propionic acidであることが判明した。

家兎水晶体アルドース還元酵素に対する酵素阻害活性は，WF2421は3.0×10^{-8}M，WF3681は2.5×10^{-7}MのIC_{50}値を示した。酵素学的阻害様式は，両化合物共に不拮抗型の阻害様式を示した。

経口投与での有効性を確認する目的でWF2421及びWF3681についてラットを用いて経口投与による血中濃度を測定した。その結果WF2421は，ほとんど血中濃度の上昇が見られなかったのに対し，WF3681は経口投与で血中へ移行することが判明した。ポリオール説によれば，糖尿病で血中グルコースが上昇するとアルドース還元酵素が活性化され細胞中にソルビトールが蓄積し，それに基づく浸透圧上昇にともない細胞の機能異常がおこると考えられている。そこで経口吸収性を有するWF3681につき，ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットを用い座骨神経中のソルビトール蓄積におよぼす阻害効果について検討を行った。その結果WF3681は32mg／kgの5日間の経口投与でストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットの座骨神経中ソルビトール蓄積を23%阻害したが，非投与群との有意差は認められなかった。そこで，WF3681を化学修飾することにより，*in vivo*のソルビトール蓄積阻害効果を指標として，より有効な化合物を探索した。その結果，誘導体の中で化合物No.21のFR62765が*in vivo*で最も強くストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットの座骨神経中ソルビトール蓄積阻害効果を示した。

MNCVは既に糖尿病性神経症の指標として臨床的に広く汎用されており，また実験動物に於いても末梢神経の機能障害を知る方法として有用であることが知られている。ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットを用いて，FR62765のMNCV改善効果について検討した。その結果，正常ラット群に比較してストレプトゾトシン糖尿病ラット群は，ストレプトゾトシン投与後2週間目，3週間目に有意な低下を示したが，FR62765投与のストレプトゾトシン糖尿病ラット群ではMNCVの低下は認められず，有意な改善効果を示した。また座骨神経中のソルビトール蓄積に於いては，ストレプトゾトシン糖尿病ラット群は，正常ラット群に比較して著明なソルビトール蓄積を示した。しかしFR62765投与のストレプトゾトシン糖尿病ラット群ではソルビトールの蓄積が正常ラット群とほぼ同等であり，FR62765の著明なソルビトール蓄積阻害効果が確認された。以上の結果からFR62765は，糖尿病性神経症の治療薬として末梢神経障害に対して改善効果が期待できると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文は糖尿病合併症の中で最も発症率の高い神経症の治療薬をターゲットとしてアルドース還元酵素阻害物質を微生物生産物に求め，カビあるいは放線菌の培養液からアルドース還元酵素の阻害物質を単離，構造決定さらにその中からプロトタイプ化合物をえらんで構造変換しすぐれた活性物質を見出したものである。

そしてさらにその酵素阻害活性と座骨神経中のソルビートル蓄積阻害との関係を明らかにし，活性物質としてフラノン骨格を有する誘導体がストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットの運動神経伝導速度低下に対し有効であることを証明したもので，医薬品開発に大きく寄与するものであり博士論文として価値あるものと認める。