



Title	新規K <sub>+</sub> チャネル開口薬 (+)-N-(6-Amino-3-pyridyl)-N'-(1S, 2R, 4R)-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)-N''-cyanoguanidine Hydrochloride (AL0671) の薬理学的研究
Author(s)	松野, 純男
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39637">https://hdl.handle.net/11094/39637</a>
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、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>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

氏名	松野 純男
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 12186 号
学位授与年月日	平成 7 年 12 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 K <sup>+</sup> チャネル開口薬 (+) - N - (6 - Amino - 3 - pyridyl) - N' - [(1S, 2R, 4R) - bicyclo [2.2.1] hept - 2 - yl] - N" - cyanoguanidine Hydrochloride (AL0671) の薬理学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 三村 務 (副査) 教授 那須 正夫 教授 溝口 正 教授 東 純一

### 論文内容の要旨

血管平滑筋細胞の興奮は細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇によって引き起こされる。血管収縮物質の刺激により、細胞外からの Ca<sup>2+</sup>流入や細胞内からの Ca<sup>2+</sup>放出によって細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度が高まり、最終的にミオシンがリリン酸化され収縮が起こる。K<sup>+</sup>チャネルはこのような興奮状態の細胞に対し、細胞内から K<sup>+</sup>イオンを放出することで細胞を再び休止状態に戻す役割を担う。近年開発された K<sup>+</sup>チャネル開口薬は血管平滑筋の K<sup>+</sup>チャネルを開口して膜の過分極を引き起こし、細胞を弛緩させることで降圧を示す。さらにこの過分極が細胞外 Ca<sup>2+</sup>流入のみならず、細胞内貯蔵部位からの Ca<sup>2+</sup>放出を抑制し、細胞自体の Ca<sup>2+</sup>感受性も低下させることも示され、K<sup>+</sup>チャネル開口薬は新しい血管拡張剤として注目されている。K<sup>+</sup>チャネルには多くのサブタイプが存在し、組織特異的に機能分担を行っているが、これら K<sup>+</sup>チャネル開口薬による平滑筋弛緩反応は、ATP 感受性 K<sup>+</sup>チャネル (K<sub>ATP</sub>) に作用した結果発現したと考えられている。

著者は cyanoguanidine 骨格を持つ化合物のスクリーニングを行い、(+)-N-(6-amino-3-pyridyl)-N' - [(1S, 2R, 4R) - bicyclo [2.2.1] hept - 2 - yl] - N" - cyanoguanidine hydrochloride (AL0671) に強力な K<sub>ATP</sub> 開口作用と優れた降圧活性を有することを見いだした。

まず、patch clamp 法を用いて、ラット培養血管平滑筋細胞に対する AL0671 の K<sub>ATP</sub> 活性化作用と作用様式を検討した。Whole-cell clamp において観察される外向き K<sup>+</sup>電流に対して灌流液中に AL0671 を添加すると著しい電流の増加が観察された。この作用はピペット内液に ATP を添加した状態では観察されず、K<sub>ATP</sub> を選択的に活性化することで起こると考えられた。用量反応曲線の解析から少なくとも 2 薬物分子がひとつのチャネルに作用することが示唆された。

さらにその活性化機構を明らかにする目的で inside-out patch clamp による単一 K<sub>ATP</sub> の記録を行った。その結果灌流液中への 100 μM AL0671 添加により、K<sub>ATP</sub> の開口時間を延長させる電流記録が観察された。また、チャネルのコンダクタンスに変化は認められず、AL0671 による K<sup>+</sup>電流の増大は開口確率に依存することが示された。ヒストグラム解析において、AL0671 の添加によって遅い開口の時定数が著しく増大し、他方、閉口時間については AL0671 はオリジナルチャート上にのみ観察される長い閉口を特異的に短縮することが示唆された。以上の結果から、AL0671

は閉口状態にある  $K_{ATP}$  に対しては 2 薬物分子がおそらく脂質二重膜側から疎水的に結合して活性化し、一方閉口状態のチャネルに対しては細胞内からの経路を介し、1 分子がチャネル安定化を行うと考えられた。

さて、降圧薬の目的は、高血圧に伴う様々な合併症を防止することにある。著者は特に動脈硬化に焦点をあて、高脂血症に対する本薬剤の作用を検討した。IV 型高脂血症モデル動物である obese Zucker ラットに対し AL0671 を 2 週間連続経口投与したところ中性脂質濃度のみをその投与量に依存して著明に減少させた。各リポ蛋白濃度について調べると、中性脂質を多く含む chylomicron, VLDL の量を著しく低下させた。この作用であるが、正常ラットである SD ラットでは血中脂質に変化を認めず、病態特異的であることが示された。また prazosin との比較から、他の作用機序の降圧薬に比べ優れているものと考えられた。

AL0671 の脂質低下作用であるが、AL0671 の cyanoguanidine 基を urea に変換することで  $K^+$  チャネル開口作用を消失させた化合物 AL0674 では血中脂質濃度に影響を認めなかったことから  $K^+$  チャネル開口作用に基づくと思われた。作用機序についてはその連続投与によって obese Zucker ラットの血中リポ蛋白リバーゼおよび肝性トリグリセリドリバーゼの活性が著明に上昇することが明かとなり、血中でのリポ蛋白の異化を促進しその消失を促すことで中性脂質を低下させると考えられた。

蛋白質の糖化は糖尿病における白内障、動脈硬化などの合併症に深く関与していると考えられる。他方、リポ蛋白の酸化は内皮障害やその後の泡沫化など、動脈硬化の進展に深く関与すると考えられる。AL0671 が糖化阻害剤である aminoguanidine と類似した構造を持っていることから、糖化・酸化に対する作用を検討とした。

AL0671 は用量依存的に糖化による advanced glycation endproducts 生成に伴うウシ血清アルブミンの自家蛍光増大およびリゾチームの分子間架橋の形成を阻害した。AL0671 はまた用量依存的に LDL の陰性荷電増大を抑制し、ApoB-100 の断片化を阻止することが確認され、LDL 酸化を抑制することが示唆された。これらの糖化・酸化阻害作用は  $K_{ATP}$  開口作用とは異なる作用機序に基づくものと考えられた。最終的に AL0671 は LDL 酸化を阻害した結果、マクロファージへの LDL 取り込み、泡沫化を阻害することも示された。作用部位として、糖化と酸化の反応経路に共通する金属イオンによるパーオキサイドラジカルの生成を阻害するものと考えられる。

結論として、新規  $K^+$  チャネル開口薬 AL0671 は降圧作用に加え、優れた血中脂質低下作用および糖化・酸化阻害作用を併せ持つ薬剤であり、特に糖尿病などの合併症を持つ高血圧患者に対し、動脈硬化の進展防止などに有用と考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は  $K^+$  チャネル開口に基づく新規降圧剤の開発を目的にして、cyano-guanidine 骨格を有する化合物をスクリーニングした結果、AL0671 [(+)-N-(6-anino-3-pyridyl)-N'-(1S, 2R, 4R)-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl]-cyanoguanidine hydrochloride] に強い ATP 感受性  $K^+$  チャネル開口作用と優れた降圧作用を見出し、その作用機構ならびに中性脂質低下作用、蛋白質・脂質の酸化、糖化作用を検討し、以下の知見を得ている。

1. AL0671 はラット培養血管平滑筋細胞において、閉口状態の ATP 感受性  $K^+$  チャネルに対して 2 薬物分子が結合して活性化を行い、一方開口状態のチャネルでは 1 薬物分子が作用して開口状態を安定化することで ATP 感受性  $K^+$  チャネル活性化作用を発現する。
2. AL0671 は LPL および H-TGL 酶素活性を上昇させることにより、obese Zucker ラット血中の中性脂質を多く含むリポ蛋白 (chylomicron, VLDL) の濃度を低下させる。
3. AL0671 は、金属イオンによるパーオキサイドラジカルの生成を薬物分子の電子供与性により阻害することで、蛋白の糖化阻害作用およびリポ蛋白の抗酸化作用を発現する。

以上の結果から、新規  $K^+$  チャネル開口薬 AL0671 は降圧作用に加え、優れた血中脂質低下作用および糖化・酸化阻害作用を併せ持つ薬剤であり、特に糖尿病などの合併症を持つ高血圧患者に対し、動脈硬化の進展防止などに有用と考えられた。

えられ、新規医薬品の開発に大きく貢献するものであり、博士論文として価値あるものと認める。