

呉茱萸成分をリードとした糖尿病性合併症治療薬の創薬研究

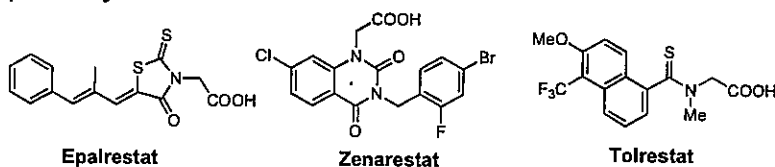
富山大学附属病院
准教授 加藤 敦

はじめに

現在、糖尿病を発症後、患者の多くが神経症、網膜症、腎症といった合併症に悩まされる。その発症・進展メカニズムは、未だ完全には解明されていないが、有力なメカニズムの一つとしてポリオール経路の重要性が示唆されており、ほぼ半世紀におよぶアルドース還元酵素 (Aldose reductase 2: ALR2) 阻害剤の開発研究が展開されてきた (Figure 1)。しかし、本経路を創薬ターゲットとして開発され、臨床利用されている薬剤はEpalrestat (キネダック®)一品目に限られている。

更に、本薬剤は組織への移行性にやや難点があることに加え、薬剤が有色であることから排泄時尿が黄色～赤色になることがあり、衣服などに色が付着し患者が長期服用をきらう傾向にあるなど臨床利用上の課題が残されている。そこで、我々は、これら欠点の克服を目指し、ALR2 阻害に基づく新規骨格を有する糖尿病性合併症治療薬の開発研究に着手した。

1) Carboxylic acid derivatives



2) hydantoin derivatives

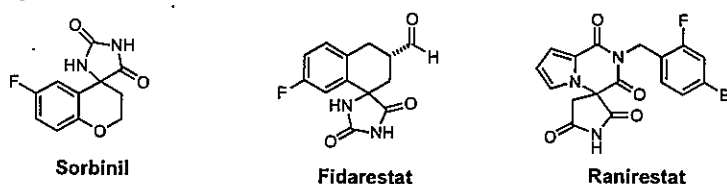


Figure 1 : Structure of known aldose reductase inhibitors (ALRIs)

リード化合物の探索と候補化合物のデザイン

最近我々はミカン科の薬用植物、呉茱萸のアルカロイド画分に弱いながら ALR2 を阻害する作用があることを見出した。活性成分を単離・精製したところ、呉茱萸の主要なアルカロイド成分である evodiamine や rutaecarpine には ALR2 阻害活性は認められず、マイナー成分である rhetsinine が活性本体であることが判明した (Figure 2)。これらアルカロイドの構造を眺めてみると、

evodiamine や rutaecarpine がインドール環を含む閉環系の 5 環性構造であるのに対して、rhetsinine は同じくインドール環を含む開環型の 3 環性構造であることがわかる。しかしながら、rhetsinine

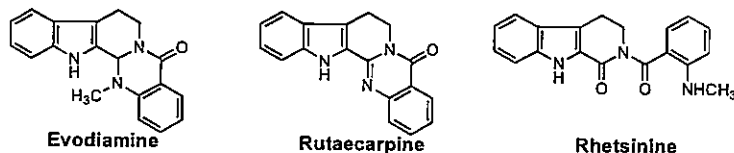


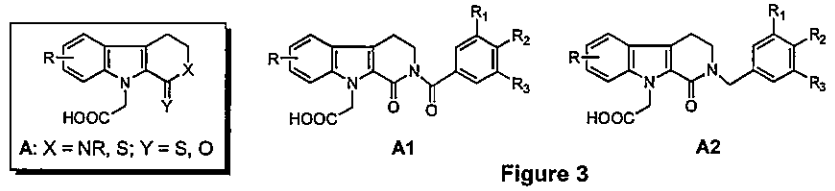
Figure 2 : Structure of alkaloids from *Evodia rutaecarpa*

の ALR2 阻害作用は弱く、更なる構造修飾を行い活性の増強を図る必要があった。これまで開発されてきた ALR2 阻害剤は、構造上の特徴からカルボン酸系とヒダントイン系の 2 つのタイプに

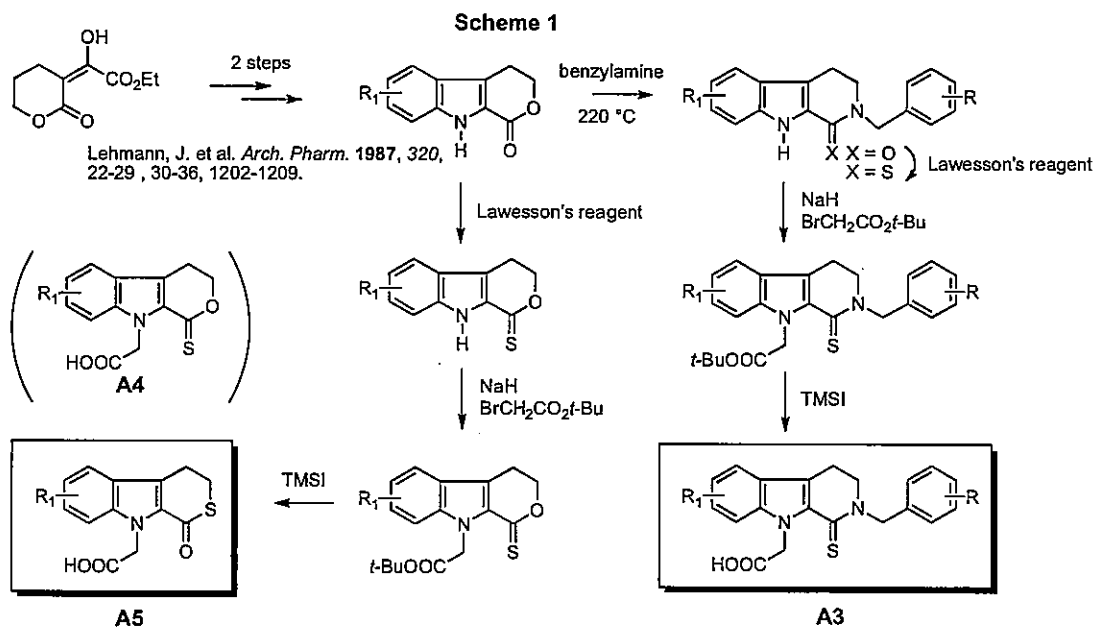
大別され (Figure 1)、唯一臨床利用されている epalrestat は前者に属している。そこで、この ALR2 阻害剤の構造上の特徴であり、かつ活性発現に必須と考えられるエチルカルボン酸ユニットを rhesinine 由来 3 環性構造のインドール窒素上に導入した 3 環系カルボン酸 (A) を新規 ALR2 阻害剤の候補化合物としてデザインした (Figure 3)。

化合物のデザイン展開と活性評価

先のデザイン戦略に基づき早速、化合物合成に着手した (Figure 3)。まずベンゾイルタイプのカルボン酸 (A1) を合成し、それらの ALR2 阻害活性をヒト筋肉由来の酵素を用いて検討したが、高い阻害活性を示すものは見出せなかった (*Heterocycles*, 2009, 79, 1073, $IC_{50} \geq 21.7 \mu M$)。更に、窒素上ベンゾイル基をベンジル基に置き換えた化合物を合成し、阻害活性を検討したが、残念ながらこれらベンジル体も先に合成した A1 とほぼ同等の活性を示すにとどまった ($IC_{50} \geq 48.6 \mu M$)。



次に、臨床利用されている epalrestat には硫黄原子が含まれていることから、先に合成したベンジルタイプの化合物に硫黄原子を導入することを考え、チオラクタムタイプのカルボン酸 (A3) を合成し阻害活性を検討したところ、その活性が飛躍的に改善され、硫黄原子の導入が効果的であることが判った (A3: $IC_{50} \geq 2.2 \mu M$, epalrestat: $0.7 \mu M$)。この結果を踏まえ、チオラクトンタイプのカルボン酸 (A4) を新たにデザインし、その合成を検討したところ、望む A4 ではなく S-ラクトンタイプのカルボン酸 (A5) が得られた。それらの活性を評価したところ、幸運にもさらに活性が上がり、*in vitro* において epalrestat とほぼ同等の活性を示すことが判明した (A5: $IC_{50} \geq 0.8 \mu M$, epalrestat: $0.7 \mu M$, Scheme 1)。また A5 は、硫黄原子を環内に含むため、epalrestat の様な排尿着色の心配もなく、この点においても優位性を確認できた。



ALR2に対する阻害選択性の検討

ALRにはALR1とALR2が知られており、ALR2は先に述べたポリオール経路における律速酵素である。一方、ALR1は主に解毒に関する役割を担っており、特に高血糖病態時に生成するAdvanced glycation end-product (AGE)の前駆体と考えられている3-deoxyglucosoneの還元無毒化に関わっている。このような観点から、求められる理想的なALR阻害薬剤は、ALR2を選択的に阻害し、ALR1に対しては阻害活性を示さない薬剤である。そこで、このALR1とALR2の阻害選択性についても検討を行った。その結果、A5は、ALR阻害選択性(ALR2 vs ALR1)がepalrestatを上回ることも明らかとなり、優位性を確認できた(A5: ALR2:ALR1 = 1:16.2, epalrestat: 1:8.8)。

ex vivoにおける効果の検証

これまでに報告されてきたALR2阻害物質はカルボン酸型とヒダントイン型に大別される。このうち、カルボン酸型は組織移行性が一般的に悪く、生体内で十分な効果を得られない傾向があることが知られており、一方で後者は比較的良好的な組織移行性を期待できる反面、ヒダントイン骨格特有の副作用を引き起こす危険性があるという問題を抱えている。そのため、組織移行性に関しては重要な課題であると考えている。現在、*in vivo*における効果を検証する前段階として、ラットレンズを用いた*ex vivo*実験を行っている。ガラクトース添加により蓄積してくるレンズ内ガラクトール量をGC-MSにて定量したところ、epalrestatを上回る抑制効果を示す化合物も見いだされてきている。今後、更に*in vivo*における有効性についても検証をおこない、富山発、新規糖尿病性合併症治療薬として世へ送り出したいと考えている。

おわりに

本研究は、和漢薬の構成生薬としても汎用される呉茱萸に含まれるrhetsinineに弱いながらALR2を阻害する作用があることを見出したことをきっかけとして研究をスタートさせた。結果的に当初予期していなかった生成物であるS-ラクトンタイプの化合物A5が極めて強力なALR2選択的阻害活性を示すことを明らかにすることができた。このように先人達が用いてきた生薬・和漢薬の中には、まだ我々が知り得ない創薬シーズが数多く眠っていると考えられる。種(Seeds)を産みだし、育てていく創薬研究において、和漢薬・生薬の潜在的な可能性が今後益々注目されることを期待する。

謝辞

上記の研究は富山大学工学部の豊岡尚樹先生、同薬学部の松谷裕二先生、北里大学薬学部の広野修一先生との共同研究によってなされたものであり、ここに記して感謝申し上げます。また本研究における研究費の一部は、科学技術振興機構(JST)のシーズ発掘試験研究Aの研究助成を得て進めたものであり合わせて感謝申し上げます。

略歴

加藤 敦 (かとう あつし)

1998年 富山医科薬科大学附属病院薬剤部 助手

2005年 文部科学省・海外先進教育研究実践支援プログラム採択のため渡英 (英国 IGER)

2006年 富山大学附属病院薬剤部 准教授・副薬剤部長
現在に至る

賞罰

2007年 和漢医薬学会奨励賞

2007年 Tetrahedron: Asymmetry Most Cited Paper 2004-2007 Award (Elsevier)

2009年 Bioorganic & Medicinal Chemistry: Most Cited Paper 2006-2009 Award
(Elsevier)

2009年 Journal of Agricultural and Food Chemistry: Most active reviewers
2008-2009 Award (American Chemical Society)

所属学会

日本薬学会、日本糖質学会、和漢医薬学会、日本病院薬剤師会、日本医療薬学会