

氏名	齋藤 一文 字 さい とう いち もん じ
学位の種類	薬学博士
学位記番号	論薬博第100号
学位授与の日付	昭和47年5月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	ビタミンB <sub>1</sub> 誘導体の赤血球内蓄積機構に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 瀬崎 仁 教授 高木博司 教授 富田謙吉

### 論文内容の要旨

近年相継いで開発された易吸収性ビタミン B<sub>1</sub> 誘導体は、B<sub>1</sub> 自身にみられないすぐれた消化管吸収性を有し広く臨床に應用されている。この種の B<sub>1</sub> 誘導体出現当時、誘導体のもつ、赤血球浮遊液中できわめてよく血球にとりこまれるという性質が注目され、これは B<sub>1</sub> 自身に全くみられない性質であることから、いわゆる血球移行性と名付けられて、親油性に基づく生体膜透過性の指標とまで考えられるようになった。しかるにその後多数の B<sub>1</sub> 誘導体が合成され、in vivo では体組織によくとりこまれる反面 in vitro では血球移行性の低い誘導体も出現し、B<sub>1</sub> 誘導体の血球移行性については、矛盾を残したままその機作は解明されていない。

一般に投与された薬剤が吸収、利用されるための膜透過、分布、代謝機作などは、有効な製剤を設計する上に欠くことのできない問題である。著者は、このような薬剤学的見地より、O-Acylthiamine disulfide (Acyl TDS) 類を主な実験材料に使い、血球移行の機作を普遍的に解明することを目的とし本研究を行った。

#### (I) Acyl TDS 類の赤血球膜透過

Allithiamine 発見当時からの常法により、一連の Acyl TDS 類の血球移行性(赤血球浮遊液中に B<sub>1</sub> 誘導体を加えて振とう後、赤血球部を洗浄して B<sub>1</sub> 量を求める)を測定した。その結果、Acyl 基の炭素数4の O-Butyrylthiamine disulfide (BuTDS) までは親油性の増加に伴って血球移行性が増大し、この BuTDS で最高値をとり、Acyl 基の炭素数がそれ以上増加するとむしろ逆に減少することを知った。

つぎに Acyl TDS 類の血球による被還元性がそれぞれの誘導体で異なることを利用して膜透過速度定数を推定した。得られた膜透過速度定数は個々の誘導体の親油性と高い相関性をもつことを知り、Acyl TDS はリポイド説に従う単純拡散により血球膜を透過するものと推論した。

さらに解離型構造をとるために膜透過性が低いと一般に考えられてきた O-Acylthiamine (O-Acyl B<sub>1</sub>) 類についても単純拡散によるすみやかな膜透過性を認め、ある種の Acyl TDS では血球移行性が低く評

価される原因を明らかにした。

また血球膜をほとんど透過しないとされてきた  $B_1$  自身の血球膜透過について、実験方法に改良を加えて詳細に検討し、きわめて徐々にではあるが  $B_1$  が単純拡散により血球膜を透過することも明らかにした。

## (II) 赤血球内代謝による保持

数種の Acyl TDS が非常に高い血球移行性を示す理由を追求して、赤血球が  $B_1$  誘導体を代謝することの関与を明らかにした。

まず O-Acyl  $B_1$  の分別定量法を考案し、この定量法を使用して赤血球の脱 Acyl 化能を検討した。その結果、膜部、内漿ともに Esterase 活性を有することをみいだした。内漿の Esterase を阻害する試薬を加えると Acyl TDS の血球移行量が減少すること、一連の Acyl TDS について血球内蓄積と内漿 Esterase 活性とが強い相関性を示すことなどを認め、Acyl TDS の血球保持は内漿の Esterase によることを明らかにした。

つぎに内漿 Esterase の精製を試み、Acetylcholine esterase に属するもの一種、Aliesterase に属するもの二種 (O-Acyl  $B_1$  を基質とするものならびに Acyl TDS を基質とするもの)、計三種類の Esterase を部分精製することができた。

これらの結果に基づき Acyl TDS 血球移行の機作をつぎのように推定した。血球浮遊液に添加された Acyl TDS は単純拡散により血球膜を透過し、血球内で Glutathione による還元ならびに内漿 Esterase による加水分解の二つの作用を受けて膜透過性のきわめて遅い  $B_1$  となって血球内に蓄積される。いっぽう加水分解を受けなかった O-Acyl  $B_1$  は単純拡散により比較的速く血球膜を透過することもできる。こうした膜透過と代謝による保持との組合せよりなる蓄積機構は他の  $B_1$  誘導体の血球内蓄積についても矛盾なく適用できることを Thiamine alkylidysulfide 類を例にとって示した。

以上、Acyl TDS 類を主としたビタミン  $B_1$  誘導体の赤血球内蓄積について、動力学的手法、 $B_1$  と O-Acyl  $B_1$  との分別定量、Esterase 阻害剤の利用、内漿加水分解酵素の部分精製など種々の角度から検討を加え、受動拡散と血球代謝の組合せによるビタミン  $B_1$  誘導体の血球内蓄積機構を明らかにすることができた。ここに得られた知見は、すぐれたビタミン  $B_1$  誘導体の開発、適正な投与方法の設定に関し、有力な示唆を与え得るものと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

薬物の組織内移行性は、薬効の発現に大きな役割を果たすとともに、一方では組織における蓄積という安全性の点からも重要な意味を持っており、生物薬剤学的にも特に注目されて来ている。

本論文は、thiamine 誘導体として開発されて来た O-Acylthiamine disulfide 類をモデル化合物として赤血球内移行性を検討し、薬物の生体内蓄積機構の一端を明らかにすることを目的としたものである。

著者はまず、物理化学的な見地より、一連の O-Acylthiamine disulfide の赤血球内移行性を検討し、これらの化合物が親油性に基づく単純拡散によりそのままの形で赤血球膜を透過することを明らかにした。次いで血球内に移行したこれら化合物の血球内での代謝の様式について検討を加え、これらの化合物が血球中で glutathione や hemoglobin により還元されて O-Acylthiamine となり、後者のうち内漿のエス

テラーゼにより加水分解されたものは、膜透過性のきわめて低い thiamine となって赤血球内に蓄積されること、また、一部の O-Acylthiamine disulfide は thiamine disulfide をへて同じく thiamine となり蓄積されることなどを明らかにした。

単純拡散により血球膜を透過した薬物が、血球内できわめて透過性の低い物質に代謝されてその部位に蓄積されるという形式は、他の薬物についても認められはじめているが、一連の誘導体についてはじめてそのような機構を明確にし得た点は、生物薬剤学上寄与するところ大と考えられる。

よって、本論文は薬学博士の学位論文としても価値あるものと認める。