

氏 名	寺 田 弘 てら だ ひろし
学 位 の 種 類	薬 学 博 士
学 位 記 番 号	薬 博 第 54 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	薬 学 研 究 科 薬 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	医薬品とタンパク質との結合およびその膜透過への影響 に関する研究
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 垣 正 幸 教 授 宇 野 豊 三 教 授 岡 田 寿 太 郎

論 文 内 容 の 要 旨

医薬品とタンパク質との相互作用は医薬品の薬理作用等を考える際にも極めて重要な問題であるが、その機構については不明な点が多い。更に生体内に存在するタンパク質は医薬品の膜透過性に対しても当然大きな影響を与えることが考えられるが、この点に関しても現在までのところ殆んど研究されていない。

本論文においてはタンパク質に対する医薬品の結合量、結合機構およびタンパク質の構造との関連性などについて研究するとともに医薬品の膜透過性におよぼすタンパク質の影響ならびにその機構についての研究をおこなった。

1. スルファミン類と血清アルブミンとの結合について

現在よく用いられている Sulfathiazole, Sulfadimethoxine など 6 種のスルファミンをえらび、各種 pH におけるウシ血清アルブミンとの結合を透析平衡法をもちいて研究した。その結果、これらスルファミンは Langmuir 型の結合式に従って結合し、血清アルブミン 1 mole に対する飽和結合量は全ての場合同一の値を示すが、結合の強さを示す定数 k はある pH において極大値を示すことが認められた。これはスルファミンおよびタンパク質の荷電状態がともに pH によって変化するためと考えられる。イオン型のスルファミンのみが血清アルブミンと結合すると考えて、結合の強さを示す定数 k' の値を求めると、血清アルブミンの負の荷電量の増加に伴い k' は全てのスルファミンにおいて減少した。このことよりスルファミンと血清アルブミンとの結合には、静電的な結合が支配的であることが明らかにされた。更にスルファミンの血清アルブミンに対する標準親和力を求めた結果、全てのスルファミンについてほぼ 6 k cal/mole の値を得た。

2. 水晶体皮質タンパク質の結合性

水晶体皮質タンパク質中主要なタンパク質である α -crystallin, β -crystallin とメチルオレンジとの結合を pH 4.7~pH 8.9 の範囲において透析平衡法をもちいて研究した結果、メチルオレンジはいずれのタンパク質とも Langmuir 型の結合式に従って結合することが認められ、タンパク質 1 g に対する飽和結

含量は pH 変化にも拘らず各タンパク質に関して一定であった。しかし結合の強さを示す定数 k は、ともに pH 増加にともない急激に減少した。これはタンパク質の荷電状態の変化にもとづくものと考えられるのでこの点を明らかにする目的で両タンパク質の pH 滴定および分光滴定をおこなった。その結果両タンパク質の等イオン点は α -crystallin では 5.03, β -crystallin では 5.82 であること、 α -crystallin は pH 3.70 付近, β -crystallin では pH 3.40 付近で構造上の変化を生じること、変性に際して α -crystallin は直ちに構造変化が生じるが β -crystallin は徐々に生じることなどが明らかにされた。次にメタクロマジーを利用してメチルオレンジの結合量を測定し透析平衡法と極めてよく一致する結果を得た。これによればメチルオレンジの両タンパク質に対する結合機構はともに同一であり、メチルオレンジのスルホン基が関与していること、また各々のタンパク質の構造変化を生じる pH 値付近において結合量は極大値をとることが認められた。

3. フェノキサゾン化合物とタンパク質との結合

フェノキサゾン化合物である 1-hydroxy-5-oxo-5H-pyrido [3,2-a] phenoxazine-3-carboxylic acid と α -crystallin, β -crystallin およびウシ血清アルブミンとの結合を透析平衡法をもちいて pH 4.5~pH 8.0 の範囲にわたり研究した結果、この化合物はタンパク質に対しても Langmuir 型の結合式に従って結合し、飽和結合量ならびに結合の強さに関する定数 k はいずれも pH によってほとんど変化しないことを見い出した。したがってフェノキサゾン化合物中のカルボキシル基は主要な役割を果していないことが明らかにされた。更にメタクロマジー、可逆的酸化還元態度などについても研究し、この物質のタンパク質に対する結合は、スルファミンやメチオレンジとは全く異り、医薬品およびタンパク質の荷電状態は結合にあまり大きな影響を与えないことを明らかにした。

4. タンパク質存在下における医薬品の膜透過

医薬品の膜透過定数 P に与える各種タンパク質の影響をセロファン膜を用いて研究した。タンパク結合量と透過性との関係を検討した結果 P におよぼすタンパク質の影響はタンパク結合の大なるものほど大きいことが認められた。更に透析平衡の結果を導入して医薬品の実質的な膜透過定数 P_f を求める式を導き、これを用いてウシ血清アルブミンが種々の条件で存在する場合についてメチルオレンジの膜透過性を検討した。この結果 P の値は種々の条件により変化した、 P_f の値は変化せず常に一定でその値はメチルオレンジのみの膜透過定数にほぼ等しいことが見い出された。従って血清アルブミン存在の際のメチルオレンジの膜透過にはタンパク質と結合したものは関与せず、遊離のもののみが関与するのであり、このためにタンパク質の存在によって膜透過の速度が変化するのであることが結論された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、医薬品の薬効、吸収速度などを考察するための基礎として重要な問題である医薬品とタンパク質との結合およびその膜透過への影響に関するものである。

著者はまず医薬として広く用いられている各種スルファミン類とウシ血清アルブミンとの結合について熱力学的考察を行ない、また結合に大きな影響を与えるタンパク質の荷電状態について研究するとともに、ウシ水晶体皮質タンパク質の結合性および白内障進行防止作用があるといわれているフェノキサゾン

系化合物のタンパク質への結合性についても研究した。

つぎにタンパク質の存在によって医薬品の膜透過の速度が影響されることを，実験的に見出し，さらにタンパク質に対する結合を考慮に入れた膜透過の理論を提出し，これが実験結果とよく一致することを示した。

以上の研究は薬品物理化学上価値あるものと認められ，膜透過の研究の発展に寄与するところが大である。したがって本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認定する。