

学位論文題名

新規キノリノンオキシムスルホン酸系利尿薬  
の発見とその薬理学的研究

学位論文内容の要旨

利尿薬は、各種疾患にともなう浮腫や高血圧の治療薬として欠く事のできない重要な治療薬の一つであり、すでに多くの薬剤が臨床応用されているが、低カリウム血症や糖、脂質、尿酸代謝障害などの副作用などの問題から、さらに優れた薬剤が求められている。キノリノン系化合物である6-chloro-2,3-dihydro-1-(1-oxopropyl)-4(1H)-quinolinone 4-oxime (M12285)は、ラットに経口投与すると用量依存的で"high ceiling"な利尿作用を示す新規利尿物質である事が既に報告されていた。M12285はこれまでの利尿薬とはまったく構造の異なる化合物であるため、その作用機序には興味もたれたが、これをウサギやイヌに投与すると作用はほとんど認められず、薬物の活性には明らかな種差が認められた。

本研究ではまず、このM12285のラットにおける作用発現機序を各種投与経路を用いて検討した。このものを腎動脈内投与しても利尿作用は認められなかったことから、M12285そのものは活性本体ではなく、何らかの代謝的活性化が起こるものと考えられた。そこで、代謝部位の推定を試みた。M12285は静脈内投与によっても活性は認められ、利尿作用のピークは投与後15分から30分であった。一方、門脈内投与では、投与後15分以内にピークを認める速やかな利尿作用が発現し、しかも最小有効用量は静脈内投与のそれよりも低かった。この事より、M12285の代謝活性化は主に肝臓で起こるものと推定された。

肝臓における活性代謝物を検索するために、M12285溶液を用いてラット肝灌流を行った。その結果、いくつかの代謝物が得られ、そのうちの1つに

のみ腎動脈内投与により活性が認められた。この代謝物を精製し、機器分析により構造解析を行った結果、オキシム側鎖に硫酸基のついた硫酸抱合体であると推定された。そこで、M12285 硫酸抱合体のK塩 (M17000) を実際に合成し機器分析データを照合した結果、活性代謝物と一致した。また、M17000はラットのみならずイヌにおいても腎動脈内投与により用量依存的な利尿作用を発現した。以上の結果より、M12285は、ラット肝臓において硫酸抱合され活性体となる事が明らかとなった。

M17000は、イヌ腎動脈内投与によって作用を認めたが、代表的なループ利尿薬であるフロセミドと比較するとその作用強度は弱かった。そこで、このM17000をリード化合物として各種誘導体を合成し、イヌを用いて利尿作用強度を評価した結果、M17000に限らずキノリノンオキシムスルホン酸系化合物には広く利尿活性が認められ、この化合物群が利尿薬の新しいグループである事を見いだした。その中にはフロセミドよりも作用強度の強いものも多く存在した。そのうちの一つである7-chloro-2,3-dihydro-1-(2-methylbenzoyl)-4(1H) quinolinone 4-oxime-0-sulfonic acid potassium salt (M17055) について、詳細な薬理学的研究を行った。

M17055は、ラット、マウス、イヌにおいていずれも用量依存的な利尿および塩類利尿作用を示し、その最大作用レベルはフロセミドとほぼ同等、また、作用強度をナトリウム利尿作用で比較すると、フロセミドの20倍から40倍程度強かった。M17055により尿中 $\text{Na}^+$ および $\text{Cl}^-$ は尿量と並行して増加したが、 $\text{Ca}^{++}$ 排泄はやや異なり、ラットではフロセミドに比べ排泄量が少なく、マウスでは低用量域において排泄低下が認められた。ループ利尿薬は、 $\text{Na}^+$ 排泄増加と平行して $\text{Ca}^{++}$ 排泄も増加する事が知られているが、遠位部尿細管に作用するサイアザイド利尿薬やアミロライドではこの並行関係が認められない事が知られている。このことから、M17055はループの作用に加え、遠位部尿細管に何らかの作用を持つ事が示唆された。また、M17055投与時の尿中 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 比は広い用量範囲でフロセミドより高い傾向を認

め、フロセミドに比べ相対的に $K^+$ 保持的な特徴を持つと考えられた。

M17055の降圧利尿薬としての有効性を評価するために、高血圧自然発症ラット（SHR）を用いて血圧ならびに心血管肥大に対する作用を検討した。14週齢の雄性SHRにM17055を1.25、2.5、5 mg/kg/day 24日間連続経口投与した結果、用量依存的な穏やかな降圧作用ならびに左心室肥大抑制作用が認められた。M17055の左心室肥大抑制作用は同程度の降圧作用を示すカプトプリルの作用に比べても有意に強いものだった。また、M17055 5 mg/kg/day投与により、抵抗性血管の肥厚の指標となる腸管膜動脈の中膜面積／管腔面積比は有意に低下した。降圧利尿薬として広く用いられているサイアザイド利尿薬は臨床において左心室肥大抑制が認められず、このことが虚血性心疾患の発症率を改善しえない原因の一つと考えられている。したがって、M17055はサイアザイド利尿薬よりも優れた特徴を持つ降圧利尿薬となりうることが期待される。

M17055の利尿作用機序をさらに詳細に検討するために、まず、水利尿条件下の麻酔犬における自由水クリアランスに及ぼす効果をフロセミドとの併用実験により検討した。その結果、M17055の自由水クリアランス抑制作用はサイアザイドと同様、フロセミドの作用に対して付加的である事が明らかとなり、M17055は遠位部尿細管において何らかの作用を持つことが強く示唆された。

次に、現在利尿薬の作用機序を調べる上で最も直接的な方法である、単離尿細管灌流法を用いた検討を行った。材料としてはウサギを用い、ループ利尿薬の作用部位である皮質部太い上行脚（CAL）および遠位部の3つのセグメントすなわち、遠位部曲尿細管（DCT）、接合尿細管（CNT）、皮質部集合管（CCD）を用いた。まず、CALにおいてM17055は正の経上皮電位（ $V_t$ ）を管腔側からのみ濃度依存的に抑制し、管腔側から血管側への $Cl^-$ の輸送も抑制した。このことより、M17055は既存のループ利尿薬同様、CALの管腔側に存在する $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $2Cl^-$ 共輸送を管腔側から直接抑

制する事が証明された。また、遠位部尿細管の3つのセグメントにおいて、M17055はいずれも負のVtを抑制するとともに、CCDにおいて、管腔側から血管側へのNa<sup>+</sup>の輸送を抑制した。これらの結果より、M17055の遠位部尿細管における作用機序は、管腔側のNa<sup>+</sup>コンダクタンスの抑制である可能性が強く示唆された。これにより、M17055は遠位部尿細管においてNa<sup>+</sup>の再吸収を抑制し、結果としてK<sup>+</sup>の分泌を抑制するものと考えられた。このように、M17055はループ作用および遠位部尿細管への作用を合わせ持つこれまでにない新しいタイプの強力利尿薬である事が明らかとなった。

まとめると、本研究ではまず、新規キノリノン系利尿薬M12285の活性本体がその硫酸抱合体である事を解明し、誘導体合成により新たにキノリノンオキシムスルホン酸系利尿薬群を見いだした。その中の一つM17055の薬理作用を解析し、その利尿作用の特徴ならびに降圧利尿薬としての有効性について明らかにした。さらにM17055の利尿作用機序を検討し、これがループのみならず遠位部尿細管にも作用を持つ全く新しいタイプの強力利尿薬である事を明らかにした。

## 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 野 村 靖 幸  
副 査 教 授 長 澤 滋 治  
副 査 助 教 授 徳 光 幸 子  
副 査 助 教 授 高 橋 和 彦

### 学 位 論 文 題 名

申請者 新川智昭は、キノリノンオキシム系化合物の利尿作用に関し研究を進めてきたが、今回「新規キノリノンオキシムスルホン酸系利尿薬の発見とその薬理学的研究」という題目の学位論文を提出してきた。

浮腫の改善や高血圧の治療に広く用いられている利尿薬は長期服用により、低カリウム血症、高尿酸血症、脂質および糖代謝障害を惹起することが問題となっており、このような副作用のない利尿薬の開発が望まれている。本論文は、既存の利尿薬とはまったく異なった化学構造を有するキノリノンオキシムスルホン酸化合物に強力な利尿作用を見い出し、その化合物群の中からM17055 (7-chloro-2,3-dihydro-1-(2-methylbenzoyl)-4(1H)-quinolinone 4-oxime-0-sulfonic acid) を選択し、その利尿作用に関し行った薬理学的研究であり、以下の新知見を得ている。

まず、これまでラットに経口投与したとき利尿作用を示すキノリノンオキシム系化合物M12285が、ウサギやイヌではその作用が弱いという事実に着目し、M12285のラットにおける利尿作用の活性本体を追究した結果、M12285が肝臓で代謝されて生じる4位硫酸抱合体である

ことを明らかにした。さらにこの活性構造を基礎に各種誘導体を合成し、それらの利尿作用を検討することにより、新規のキノリノンオキシムスルホン酸系利尿薬群を見出した。

次にこの利尿薬群の中から選択したM17055のマウス、ラットおよびイヌにおける利尿作用を、代表的なループ利尿薬のフロセミドのそれと比較検討したところ、1)その最大作用レベルはヒドロクロロチアジドより高く、フロセミドとほぼ同様の"high ceiling"な利尿作用を示すこと、2)フロセミドの20-40倍の作用強度を有すること、ならびに3)フロセミドと同程度の $\text{Na}^+$ 排泄の認められる用量で $\text{K}^+$ および $\text{Ca}^{2+}$ 排泄が少ないことなどを明らかにした。この事実から、M17055は強力なナトリウム利尿作用を示す一方、低カリウム血症を引き起こしにくいこと、さらにその利尿作用にはループ利尿薬としての作用の他に、遠位尿細管におけるアミロイド類似作用が関わることを示唆した。

M17055は自然発症高血圧ラット(SHR)においても緩徐な降圧作用を示したが、さらにSHRに認められる左心室肥大を著明に抑制し、また、大動脈や腸間膜動脈の肥厚に対しても改善効果を有することを示した。このことより、高血圧に伴い二次的に発症する心肥大とその症状(心機能低下や冠動脈予備能の減少、不整脈の誘発)、さらに血管の肥厚により生ずる症状(末梢臓器障害や高血圧の維持)に対しても奏効するM17055が、高血圧治療薬として有用であることを示唆した。

さらに、M17055の利尿作用機序を、イヌを使ったin vivoでのクリアランス実験により検討したところ、水利

尿条件下、1)M17055はフロセミドより $\text{Na}^+$ 排泄増加作用は強力であるが、 $\text{K}^+$ 排泄増加作用は逆に弱いこと、2)フロセミドにより最大抑制された自由水クリアランスに対し、M17055はヒドロクロチアジドと同様に付加的に抑制することを示した。また *in vitro*でのウサギ単離尿細管灌流実験においては、1)腎臓皮質部ヘンレのループ太い上行脚で、M17055は管腔側から作用し管腔側プラスの経上皮電位( $V_t$ )を抑制するとともに、管腔側から血管側への $\text{Cl}^-$ フラックスを抑制すること、2)遠位部尿細管でもM17055は管腔側から作用し管腔側マイナスの $V_t$ を抑制するとともに、皮質部集合管で管腔側への $\text{Na}^+$ フラックスを抑制することを示した。これらの事実からM17055はフロセミドと同様ループに作用し、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $2\text{Cl}^-$ -共輸送を抑制すること、さらに遠位部尿細管にも作用しアミロイド感受性 $\text{Na}^+$ コンダクタンスを抑制することを示唆した。これらの知見は、M17055がフロセミドよりも強力な $\text{Na}^+$ 排泄増加作用による利尿作用を有するとともに、フロセミドとは異なって $\text{K}^+$ 保持作用という特長を有するユニークな利尿薬であることを示している。

以上のように、本論文は既存の利尿薬とは異なった構造を有する新規キノリノンオキシムスルホン酸系利尿薬群を発見し、その強力な利尿作用の特長、ならびにその新しい作用機序を薬理的に明らかにすることにより、この利尿薬群が、高血圧治療薬、浮腫改善薬として臨床的にも有用である可能性を示唆したものであり、博士(薬学)の学位を受けるに十分値すると認めた。