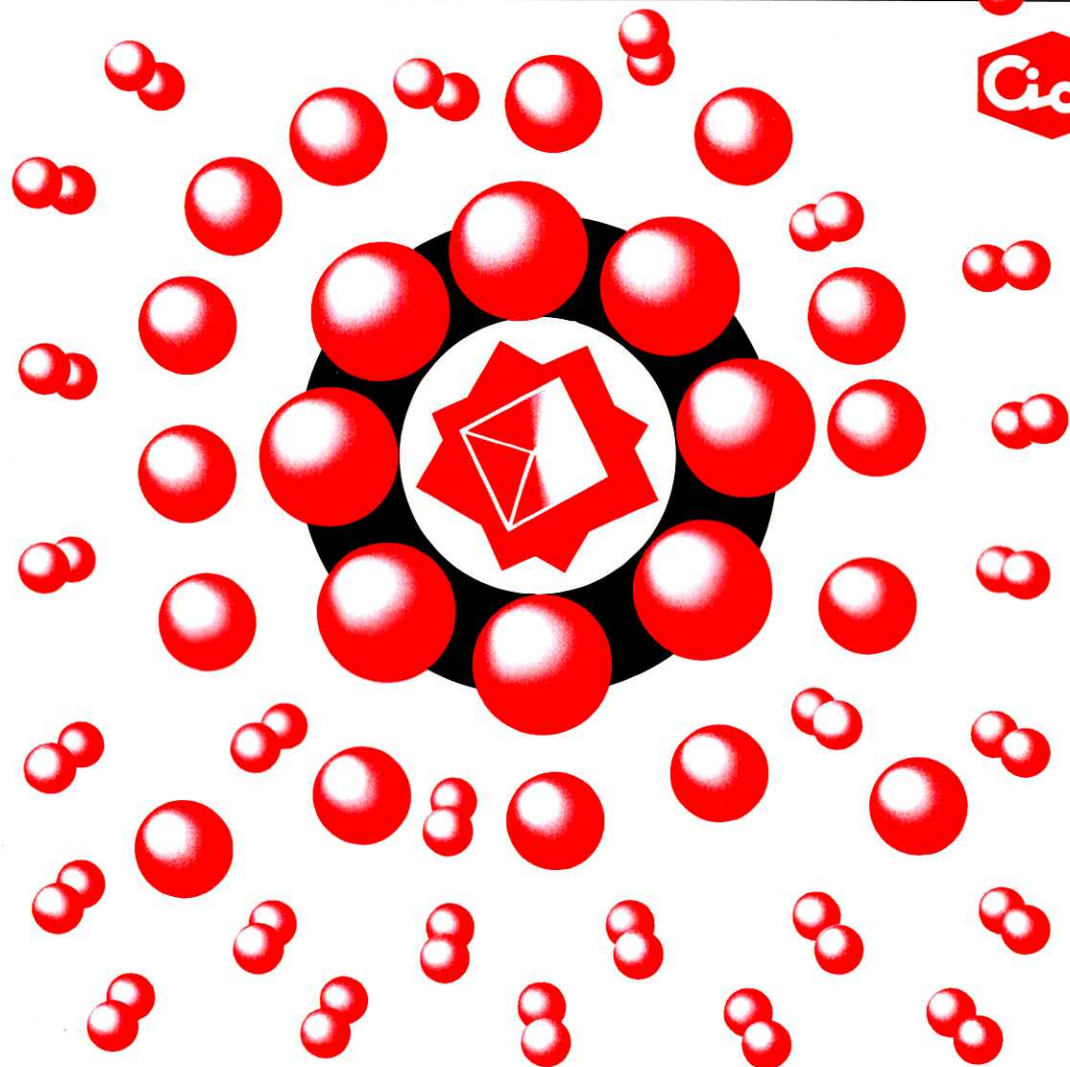


THE

ISSN 0285-2446
KANTO CHEMICAL CO., INC.

1997 No.1 (通巻163号)

CHEMICAL TIMES



目次

新年のご挨拶	野澤 俊太郎	1
臨床化学並びに臨床化学検査への接近	佐々木 禎一	3
17. 生体試料中の無機質および電解質の臨床検査 - Na ⁺ および Cl ⁻ -		
キノコ類の薬効・食効とその利用(10)	水野 卓	9
生物活性化合物の構造修飾- 1	渋谷 晴	16
ペプチドのバイオイソスター(その1)		

編集後記		24
------	--	----



新年のご挨拶

代表取締役社長 野澤俊太郎

1997年の新春を迎え、皆様方にはよいお正月を過ごされたことと存じ上げます。

緩やかな回復とは小さな回復と後退の集合体であるといわれるように、国内の景気は、ここ数年間、正に明るさがみえると本格回復への期待が強まりその後また後退懸念が台頭するという繰り返しでした。今年は、昨年からの円安ドル高により景気の先行きにも不透明感が増してきており、日本経済は相変わらず厳しい情勢にあります。しかしながら、経済政策による支えがなければマイナス成長は必至という状況からは徐々に抜け出しつつあり、新たな収益分野を求めて基礎固めを図ることが肝要と考えております。

弊社では、今年は年間販売額 500 億円突破を目指し、全社一丸となって販売目標の達成に努めているところであります。設備投資及び総人員は従来の抑制からやや増加へと切り替え、情報化の面では社内メールに加えてEメールの活用、イントラネットによる MSDS の発行、インターネットホームページの開設などを進め動き出しております。次世代に向けては、付加価値のある分野への参入を果たすため組織的に技術・開発本部の強化を図っており、品質システムの面では、昨年中に全工場・全製品を対象とした ISO 9000 シリーズによる認証取得の大半を終了して今後の有効な展開が期待できるところであります。海外事業に関しましては、昨年 3 月に操業を開始した米国オレゴン州ポートランド工場が順調に立ち上がりつつあり、又、台湾の工場も予定以上に稼動しており、半導体産業の驕りが懸念されるものの国内国外を問わず弊社の製品は 21 世紀に向けて大きく発展する余地があると確信いたしております。

昨年 9 月 22 日、このケミカルタイムスのために 21 年間の長期に亘り玉稿を賜りました日本薬史学会 薬学博士 根本曾代子先生が 92 才の天寿をまっとうされました。本誌への多大なご貢献に深謝いたし、ご冥福をお祈り申し上げます。

皆様方におかれましては、この 1 年が光輝に満ちたご発展の年でありますよう祈念し、新年のご挨拶といたします。

臨床化学並びに臨床化学検査への接近

17. 生体試料中の無機質および電解質の臨床検査 —Na⁺およびCl⁻—

札幌医科大学附属病院 検査部 非常勤講師 佐々木 禎

I. はじめに

前回までに、日常頻用されている臨床化学検査項目として、各種含窒素化合物（非蛋白性窒素、尿素窒素、尿酸, creatine, creatinine, polyamine 類, bilirubin), 蛋白（総蛋白, albumin, globulin, 血清膠質反応, および特殊微量蛋白), glucose 並びにその他の糖類, 多糖類 (inulin, glycogen, mucopolysaccharide 類), および糖尿病診断に用いられる生化学検査（血糖, 尿糖, 糖化蛋白や糖化 hemoglobin, fructosamine, 1,5-anhydroglucitol, 3-oxy-glucosone), さらに各種脂質（総脂質, cholesterol, triglyceride, リン脂質, 遊離脂肪酸, リポ蛋白, HDL-cholesterol) を取り上げ, それ等の生理的意義, 測定法について解説を加えてきた。その際特にこの分野で普及の著しい酵素的測定法を重点的に紹介してきた。

今回からは、生体試料中の無機質および電解質について、生理的並びに診断的意義と測定法について言及することにした。

II. 生体を構成する元素と生体内電解質

1. 生体を構成する元素：

われわれの生体を構成している元素としては、60余種ほどが確認されている。それ等の中の代表的なものを、その占める比率(%)と共に表1に示した。水の構成元素であるHとO、また有機化合物を構成するC, N, P, Sや、体液中にイオンとして溶解しているNa, K, Cl, Ca, Mgが量的に豊富な成分である。またFeもかなりの量含まれているが、その大半(55%)がhemoglobin(Hb)に、10%がmyoglobinに結合し、残りは大部分鉄貯蔵蛋白であるferritinとして存在している重要な元素である。

これ等の他にCu, Mn, I, Co, Zn等の微生金属元素があり、蛋白と結合して存在したり、またそれ等の多くが酵素の活性中心となっている。

表1. 生体を構成している元素の比率(%)

No.	元 素	%	No.	元 素	%
1	酸素 O	65	11	マグネシウム Mg	0.05
2	炭素 C	18	12	鉄 Fe	0.004
3	水素 H	10	13	銅 Cu	0.00015
4	窒素 N	3	14	マンガン Mn	0.00013
5	カルシウム Ca	2	15	ヨウ素 I	0.00004
6	リン P	1.1	16	コバルト Co	微量
7	カリウム K	0.35	17	亜鉛 Zn	"
8	硫黄 S	0.25	18	ケイ素 Si	"
9	ナトリウム Na	0.15			
10	塩素 Cl	0.15			

2. 臨床検査の分野で測定される無機物および電解質：

従来臨床化学の分野で無機質として分析されてきたのは、体液中のイオンである電解質(Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cl⁻, HCO₃⁻, HPO₄²⁻等)であるが、最近分析技術の大幅な向上により、さらに微量な成分が調べられるようになり、それ等の生理的意味もかなり解明されつつある。同時に公害による環境汚染物質の微量金属(Zn, Hg, Pb, Al, Cr, 等)も測定されるようになり、生体試料についても分析されている。

イオンとして溶液状態にある電解質の濃度は、電解質は陽イオンと陰イオンがほぼ等しく存在しているので、当量として表わされるのが普通である。例えばNa⁺, K⁺, Cl⁻, HCO₃⁻の濃度はmEq/lで表現される。またCa²⁺はmEq/lとmg/dlとの両方が用いられているが、これはPの濃度との関連で評価することが多いからである。

3. 生体内のイオンの種類と水分代謝：

生体内の電解質は骨の固形成分であるCa, P, Mgを除いて、大部分がイオンの状態で存在し、体液の浸透圧やpHを一定に保つための重要な因子となっており、体内での水分の移動、摂取、排泄の主役となっている。

生体内に存在する水分、すなわち体液は70%ほどで、それは細胞内液(40%)と細胞外液(20%)とに大別され、後者は15%の組織間液と5%の血漿とから成っている。

細胞内液の体重に占める割合は、年齢による差はあまりなく、一方細胞外液は年齢が若くなるに従って増加し、小児では体重の約25%、新生児では体重の約40%を占める。

これ等体液中の電解質濃度には明白な差があり、これ等を図1および表2に示した様に、陽イオンではNa⁺が細胞外液に多く、逆にK⁺は細胞内液に多く、2価陽イオンではCa²⁺とMg²⁺が細胞内液に、細胞外液では逆の様相を示し、Mg²⁺は細胞内液に著るしく多い。

陰イオンの構成成分はCl⁻, HCO₃⁻, HPO₄²⁻(或いはH₂PO₄⁻)であり、他に有機酸も存在している。蛋白も体液中では陰イオンとして負に荷電している。特徴としては細胞内液ではHPO₄²⁻が多く、細胞外液ではCl⁻が多い。しかし細胞内液ではHPO₄²⁻の大部分は蛋白と結合していると考えられている。

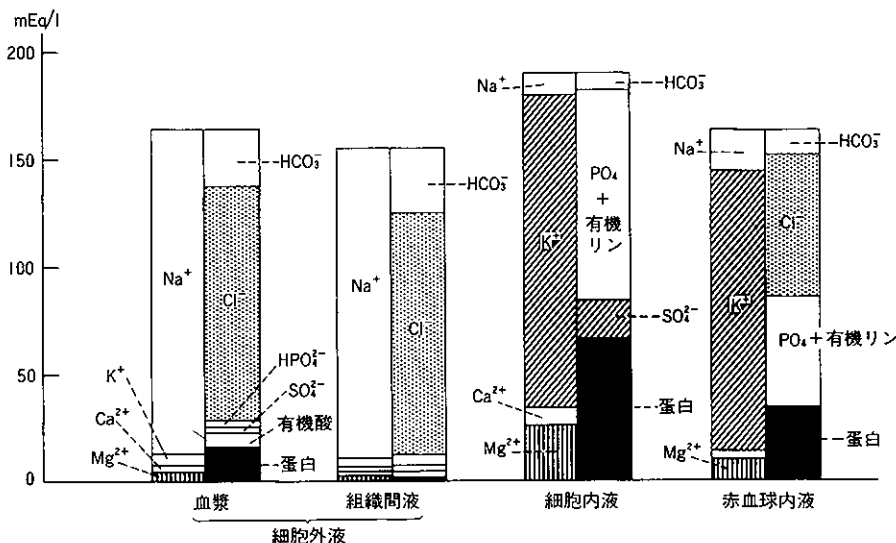
血漿と血球内の電解質についても、細胞外液と細胞内

液の特徴を示している。すなわち血球内の水分はK⁺, PO₄⁻ + 有機リン、蛋白が多く、Na⁺が少なく、また血漿ではNa⁺, Cl⁻が多い(図1参照)。

表2. ヒト血漿中無機イオン (mg当量/dl)

cation (mg当量)		anion (mg当量)	
Na ⁺	13.7	Cl ⁻	10.3
K ⁺	0.43	HCO ₃ ⁻	2.7
Ca ²⁺	1.0	HPO ₄ ²⁻	0.2
Mg ²⁺	0.23	SO ₄ ²⁻	0.1
計	15.36	小計	13.3
		他に有機アニオン (血漿蛋白, 乳酸塩, 等)	2.1
		総計	15.4

図1. 体液中の電解質濃度の比較



Ⅲ. ナトリウム (Na⁺)

1. Na⁺ および Cl⁻ の生理的並びに診断的意義:

Na⁺ は Cl⁻ と共に血漿中に最も多く含まれるイオンで、いわゆる生体内部環境と呼ばれる血漿の浸透圧, pH の保持に重要な役割を演じている。従ってここでは Na⁺ と Cl⁻ を一緒にして説明する。血漿内の Na⁺, Cl⁻ の濃度は、生体調節によってほぼ一定に保たれており、これ等の成分の変化は直ちに細胞活性に強い影響を与えるので、血清化学成分のうちでも個体間変動(正常範囲)および個体

内変動(生理的変動)の小さい成分に入る。

Na⁺, Cl⁻ は食物中の食塩として摂取され、大部分は尿中に排泄され、一部は糞便や汗等の水分と共に失われる。血漿中の濃度の調節には、腎での水分、塩類の排泄が関与している。そして水分の排泄は、下垂体後葉ホルモンの一つである抗利尿性ホルモン antidiuretic hormone (ADH) によって、浸透圧調節がなされ、一方塩類排泄については副腎皮質から分泌される steroid hormone (特に mineralo-corticoid と呼ばれる aldosterone) が主役

をなしている。aldosterone 過剰の状態では、両イオンの排泄が抑制されて、血漿中濃度が増加する。

前記のホルモンの異常の場合の他に、直接の調節臓器である腎臓の機能障害の場合にも、 Na^+ 、 Cl^- の異常がみられる。一般に重症の腎機能障害では、血漿 Na^+ 、 Cl^- は低下している。その他 Na^+ 、 Cl^- の増減を示す病態としては、次の様な場合がある。血漿中の Na^+ は主に脱水（発熱、下痢、日射病等）で血液が濃縮されると増加するが、その他昏睡患者や糖尿病患者でも増加する。症状としては口渇が強くなり、著るしくなると意識障害をもたらす。一方 Na^+ の低下は栄養不良、嘔吐、水中毒、心不全等でみられ、筋力の低下、錯乱状態、全身痙れん等を来す。

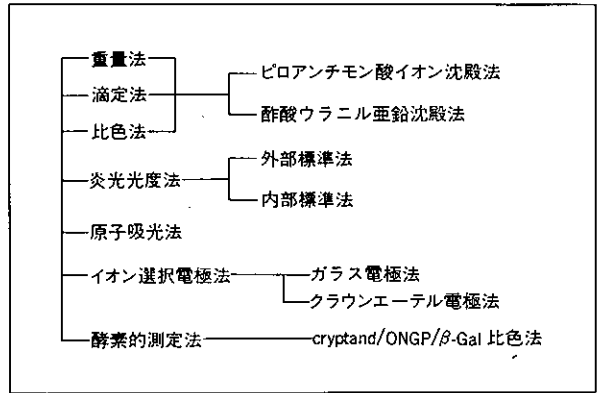
Na^+ 、 Cl^- の異常が認められる場合は、重症な患者状態を表わし、早急な対応、処置が迫られる。従って緊急検査としての対処が多い。

2. Na^+ の測定法：

血漿或いは尿中の Na^+ の測定法の代表的なものを図2に示した。 Na^+ の定量は正確なデータが要求されるが、以前は難しいものであった。

(1)重量法、滴定法および比色法 — Na^+ はピロアンチモン酸イオン $\text{H}_3\text{Sb}_2\text{O}_7$ 、或いは酢酸ウラニウム亜鉛 $\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{Zn}$ と難溶性の塩を生成するので、これ等の沈殿を集めて重量法、滴定法、或いは比色法に導いて測定する。以前これ等の方法に頼っていた時期もあったが、測定精度が低く操作が繁雑で、臨床的要望に応え得るところまで到達しなかった。

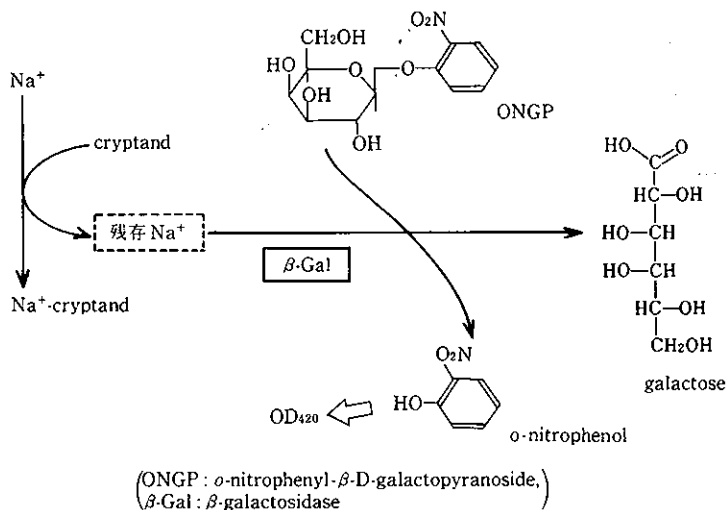
図2. Na^+ の測定法



(2)炎光光度法 — Na^+ の炎光反応で生ずる黄橙色の強い輝線を発生するので、これを分光器或いは干渉フィルターで取り出して測定する。臨床的要求に十分応え得る精度を有している。当初は各濃度の標準液で輝線強度を測定して検量線を作製し、これから試料中濃度を求める外部標準法が中心であったが、現在は一定量の内部標準物質 (Li や Sr) を含む溶液で希釈して測定する内部標準法がほとんどであり、現在多くの測定装置（炎光光度計）に採用されている。

(3)原子吸光法 — 原子吸光法で Na^+ の測定することが可能であるが、高感度であるため高倍率希釈が不可欠で、

図3. cryptand/*o*-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside (ONGP)/β-galactosidase (β-Gal)を用いる Na^+ の酵素的測定法



これに伴う希釈誤差等大きく、臨床検査試料ではほとんど使われていない。

(4)イオン選択電極法— Al_2O_3 , B_2O_5 等少量を添加したガラスで製作したガラス電極を用いる測定方法である。最近ではクラウンエーテル膜の様な選択性の高い有機化合物膜を用いる場合が多い。炎光法や原子吸光法に比べ危険性が少なく、試料液を直接測定できる便利さから、自動化された測定機器が広く用いられる様になった。

(5)酵素的測定法— 最近 Na^+ と結合する cryptand [4, 7, 13, 16, 21-pentaoxa-1, 10-diazobicyclo (8, 8, 5)-triconane] (“Kryptofix 221” の名称で Merck Co. から入手できる) を用いる Na^+ の酵素的測定法が開発されている (cf. M. N. Berry, et al.: Clin. Chem. 34 (11), 2295~2298, 1988)。その反応は図3に示したが、試料中の Na^+ と一定量の cryptand とを結合させ、残存する Na^+ を *o*-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside (ONGP) を基質として、 β -galactosidase (β -Gal, EC 3.2.1.23) を反応させて、生成した *o*-nitrophenol の量を 420 nm で吸光度分析をするという方法である。この酵素反応は Na^+ -依存性である。

IV. クロライド (塩化物) Cl^-

1. Cl^- の生理的並びに診断的意義:

前述の様に血漿中最も多く含まれている陰イオンであり、重炭酸イオン HCO_3^- と共に血漿浸透圧, pH の保持に重要な役割を演じている。

Na^+ の変動と同調しており、その生理的並びに診断的意義や病態については、 Na^+ と一緒にして解説した。

2. Cl^- の測定法:

Cl^- の測定法をまとめて図4に示した。

(1)滴定法— 生体試料液の Cl^- の測定は、以前は図4に示した様に、後述のイオン選択電極法が普及するまでは、各種の滴定法が開発されていたが、臨床検査用として広く用いられたのは、硝酸第二水銀 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 滴定法である Schales & Schales 法であった。試料を水で希釈して、diphenylcarbazone を指示薬として $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ で滴定する。加えられた Hg^{2+} は試料中の Cl^- と非解離性 HgCl_2 を形成するが、 Cl^- が完全に消費されると過剰の Hg^{2+} が指示薬と反応して、紫色の錯塩を生成するのでこの点を終末点とする (図5参照)。他の滴定法に比べ除蛋白を省略した直接法が可能である。

(2)比色法— 比色法は用手法の場合測定精度が低く、あまり用いられていないが、全自動分析系では用いられることがある。

(3)電量滴定法 coulometry— 試料中の Cl^- を、用いた Ag 電極から溶出する Ag^{2+} で滴定し、終末点を電気的に

検出する方法である。幾種かの測定機器が市販されているが、干渉物の影響が少なく測定精度は高く、臨床的ニーズに十分応えることができる方法である。

(4)イオン選択電極法— 共存イオン (Br^- , I^- , CN^- , 等) の干渉がなく、他イオン測定用電極 (Na^+ , K^+ , HCO_3^- , 等) と同時測定ができる。

図4. Cl^- の測定法

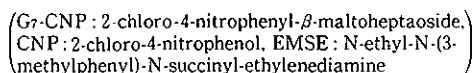
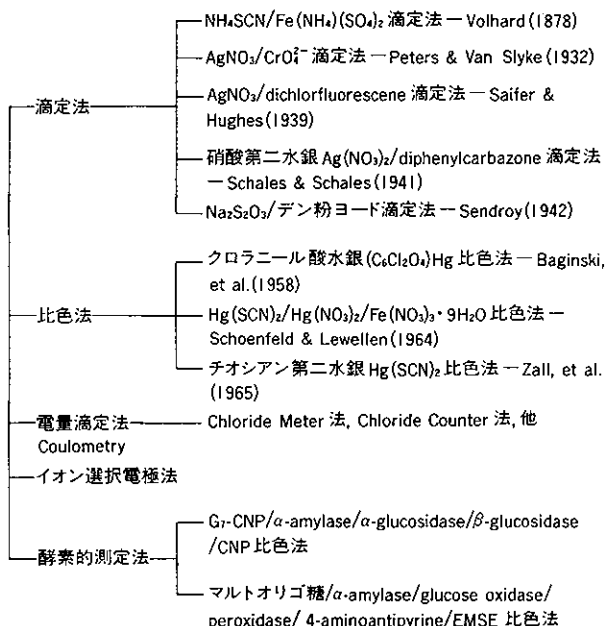
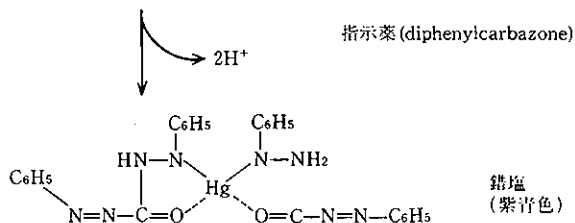
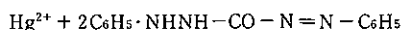


図5. Schales & Schales 滴定法による指示薬の変化



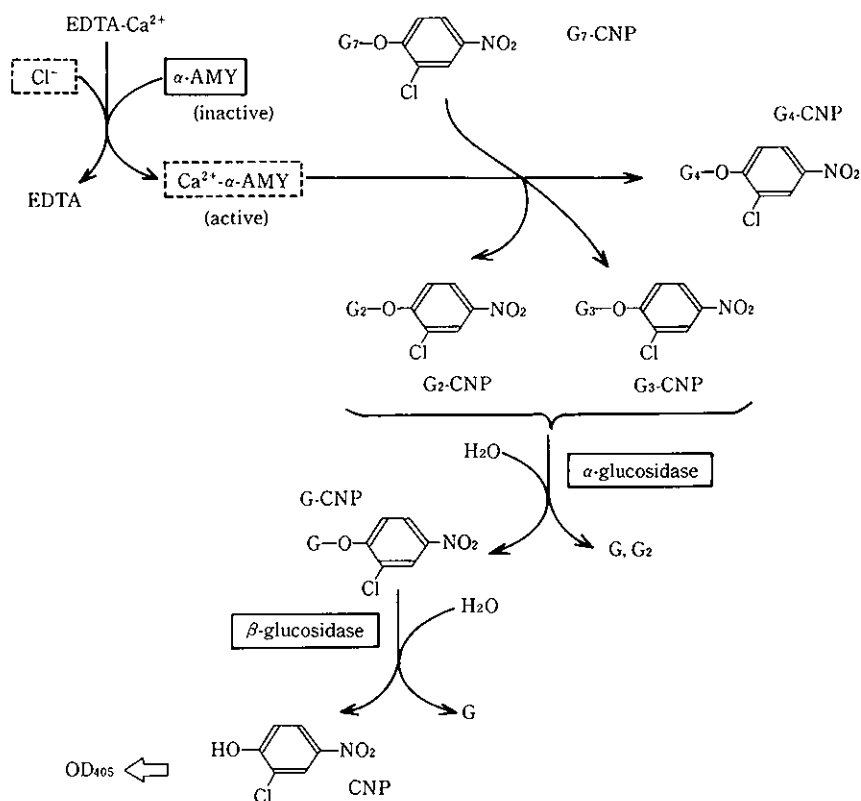
(5)酵素的測定法— 最近 Na^+ の場合と同様に、酵素を用いる Cl^- の測定法が開発された。すなわち図6と図7

に示した様に、 Cl^- 濃度依存性の α -amylase (α -AMY, EC 3. 2. 1. 1) 活性を調べる方法である。

① 2-chloro-4-nitrophenyl- β -maltoheptaoside (G_7 -CNP) / α -AMY / α -glucosidase (α -Glc, EC 3. 2. 1. 20) / β -glucosidase (β -Glc, EC 3. 2. 1. 21) / 2-chloro-4-nitrophenol (CNP) 比色法 (図6参照) — Cl^- 含有試料で α -AMY (inactive) と EDTA-Ca^{2+} との反応で、活性の Ca^{2+} - α -AMY が生成される。これが G_7 -CNP に働き G_4 -CNP を遊離して G_2 -CNP と G_3 -CNP とを生成するので、これに α -Glc および β -Glc を作用させ、最後に生成した CNP の量を 405nm で吸光度測定をして求める。

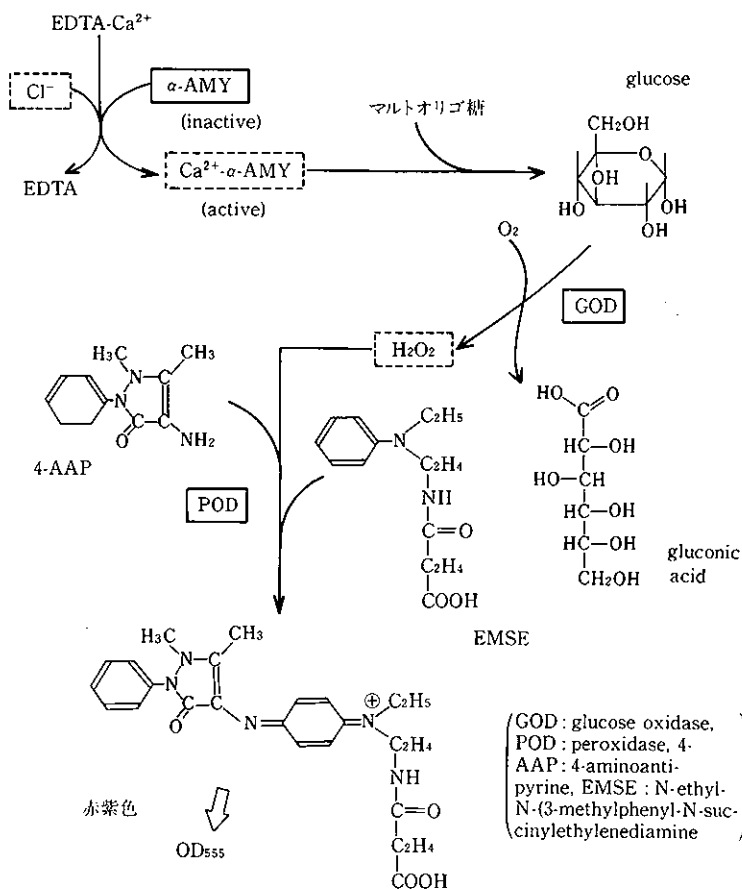
② マルトオリゴ糖/ α -AMY/glucose oxidase (GOD, EC 1. 1. 3. 4)/peroxidase (POD, EC 1. 11. 1. 7)/4-aminoantipyrine (4-AAP)/N-ethyl-N-(3-methylphenyl)-N-succinylethylene-diamine (EMSE) 比色法 — 図7に示した様に、活性化した Ca^{2+} - α -AMY をマルトオリゴ糖に働かせて glucose を生成させる。これに GOD で H_2O_2 へと導き、生成 H_2O_2 量を POD の存在下で 4-AAP と EMSE と酸化的に縮合させ、生じた赤紫色キノイド色素を 555 nm で吸光度分析をして求める。

図6. G_7 -CNP/ α -amylase/ α -glucosidase/ β -glucosidase/2-chloro-4-nitrophenol 比色法による Cl^- の酵素的測定法



(α -AMY : α -amylase, G_7 -CNP : 2-chloro-4-nitrophenyl- β -maltoheptaoside, G_4 -CNP : 2-chloro-4-nitrophenyl- β -maltotetraoside, G_2 -CNP : 2-chloro-4-nitrophenyl- β -maltose, G_3 -CNP : 2-chloro-4-nitrophenyl- β -maltotriose, G : glucose, G_2 : maltose, G -CNP : 2-chloro-4-nitrophenyl- β -glucose, CNP : 2-chloro-4-nitrophenol)

図7. マルトオリゴ糖/ α -amylase/glucose oxidase/4-aminoantipyrine/EMSE 比色法による Cl^- の酵素的測定法



V. まとめ

本報では生体を構成する元素、無機質および電解質、並びに生体内での各種イオンの濃度と水分代謝の関係について概説した。また個々のイオンとして、まず代表的な Na^+ と Cl^- について、生理的並びに診断的意義と、諸測定法をまとめて紹介した。

キノコ類の薬効・食効とその利用(10)*

静岡大学名誉教授 農学博士 水野 卓

X. カバノアナタケ (カバアナタケ, その菌核をチャーガと云う)

学 名 *Fuscoporia obliqua* (Persoon ex Fries.) Aoshima
Sclerotium: Charga, Tchaga

ロシア学名 *Inonotus obliquus* (Persoon) Pilat

ロシア語名 ЧАГА, Трытубк ckowehhbln

サビアナタケ属 (*Fuscoporia* Murr.)

たばこうろこたけ科 (*Hymenochaetaceae*)

きこぶたけ科 (*Mucronoporeaceae*) や

さるのこしかけ科 (*Polyporaceae*) と近縁である。

目 次

- | | |
|------------------------|----------------------|
| 1. まえがき | 5. チャーガ多糖の抗腫瘍活性(酵素法) |
| 2. 菌の培養法, 及び菌糸体の生産 | 6. チャーガ多糖の血糖降下活性 |
| 3. チャーガの化学成分 | 7. チャーガの服用法 |
| 4. チャーガ多糖の分画と得られた多糖分子種 | 8. チャーガの薬効 |

文 献

1. まえがき

ロシアのノーベル賞作家(文学賞, 1970年) ソルジェニツィン(A. I. Solzhenitsyn, 1918~現存, 写真1) の作品「ガン病棟」(1968年)の中にチャーガについての記載がある。



写真1. A. I. Solzhenitsyn (ロシア, 1918~1996 現存, 77才)

ガンを予防し, 自然治癒させるには白樺の癌(瘤)であるチャーガ(Tchaga, Charga, カバノアナタケの菌核)を飲むのが有効であるとの興味ある記述が見られる。

アレクサンドロフ郡の田舎地方には, 癌患者が非常に少ないのは, お茶代を節約するために何世紀もの間, チャーガを煎じて飲む習慣があるからだと言われてい



写真2. 白樺の幹に発生した“チャーガ” (北海道阿寒国定公園にて, 1994年)



写真3. 子実層面(子実体)と胞子

(東京大学北海道演習林, 高橋郁雄博士提供)
子実体の子実体面は最初白色であるが, 成熟するに従い黄色味を帯び, さらに淡褐色から褐色となる。子実層面からピンセットで組織を採り顕微鏡で観察すると, 無色ないし淡褐色の胞子(7~10×6~8ミクロン)が見られる。

写真4. カバノアナタケの菌糸体培養

上から種菌スラントと菌糸体(位相差顕微鏡写真, ×125撮影, 並びに走査型電子顕微鏡写真)

カバノアナタケ(カバアナタケ, *Fuscoporia obliqua*, ロシアでの学名は *Inonotus obliquus*) は, 白樺やダケカンバ(岳樺)などかばのき類の生木に, また, 稀にはカワラハンノキ, ヤマトネリコ, ニレの木などにも寄生している。樹皮を破って黒い固い菌核(チャーガ)を形成(三次成長)する耐寒性(-20℃にも耐える)キノコである。

子実体は傘を全くつくらず, 樹皮下に薄く平たく広がって出来る。わが国では, 北海道のシラカバ林に広く分布し, アイヌ人はこれをタドン(炭団)代わりに暖炉にくべて火種用にしていた。(写真2, 3, 4)

2. 菌の培養法, 及び菌糸体の生産

1) スラント培養

松茸培地(グルコース20g, エビオス粉末5g, 寒天

20g, 水道水1000ml, 1M HCl 1.6ml, pH 5.1~6.0)にて実施する。

2) 培養基³⁾

液体培地(ポテト・グルコース培地): ジャガイモ200gを5~10mmの賽の目に切り, 水約1ℓを加え, 沸騰後, 1時間トロ火で煮沸する。ガーゼで濾過した後, 濾液にグルコース20gを加えて溶かしたものを使用する。

固体培地: プナ木粉と米糠を4:1(w/w)の割合で混ぜ, 水分を58~62%に調整し, ポリプロピレン袋(PP袋)に詰めて, 121℃で60分滅菌する。米糠の代わりに麦フスマを利用しても良い。

玄米培地: 玄米を水に4時間浸漬し, ザルにあげ, 1時間程良く水を切る。簡易蒸し器で5分程度予備蒸しを行い, 表面を糊化(α-化)させる。袋, またはビンなどに詰め,

オートクレーブで121℃, 40分間殺菌する。

小麦培地: 玄米培地と同様に、小麦を使用して調製する。

3) 植 菌

前 培 養: ポテト・グルコース培地にビーズを入れ、オートクレーブ121℃, 20分処理する。冷却後、松茸培地スラントより数片接種する。25℃で1週間静置培養し、毎日1回良く振り、菌糸を分散させる。菌が増殖したらビーズを入れてないポテト・グルコース培地に接種し、5日程培養して種菌とする。

固体培地については、先ず少量を調製し、スラントより1片接種したものを種菌として用いる。以後は、オガ屑を1サジ接種して拡大培養する。

玄米培養: 玄米培地、または小麦培地に液体培地で前培養した種菌を接種する。液体種菌を接種する事により、水分の補給と補助栄養物の添加となる。25℃で20日程培養すると全体に蔓延する。1ヶ月程熟成させる。

オガ屑培養: 固体培地2kgに、前培養オガ屑種菌を1サジ接種する。25℃, 20日程で全体に蔓延する。20~25℃で光を当てながら培養すると、半年程でコブ状の子実体を生じた。³⁾

3. チャーガの化学成分

カバノアナタケの培養菌糸体および天然産のチャーガの化学成分(乾物%)を表1に示した。両者とも糖質が主成分であり、これに次いで菌糸体では蛋白と繊維が、菌核チャーガでは繊維と灰分含量が高くなっている。ミネラルの中でもマンガン含量が高いことが指摘されている。1) 糖質の大部分は不消化性の食物繊維であり、菌核では乾物当たり66%, 菌糸体でも50%にも達する。この他にフラボノイド、トリテルペノイド、アルカロイド、プテリン、アガリチン酸、イノシトールなどの存在も指摘されている。¹⁾

表1. カバノアナタケの菌核と菌糸体の化学成分(乾物%)

	菌核(チャーガ)	菌 糸 体
蛋 白 質	2.40	28.51
脂 質	1.37	5.14
灰 分	11.27	3.04
繊 維	19.38	13.52
食 物 繊 維	58.25	40.13
糖 質	65.56	49.79
エルゴステロール	35.3 mg %	777.6 mg %

表2. カバノアナタケ菌核“チャーガ”から得られた多糖類の理化学的性質と抗腫瘍活性

多糖体	多糖 (%)	蛋白 (%)	構成糖のモル比 (GC法により定量)						cdc2 kinase 阻害率 ID ₅₀ (μg/ml)*
			Glc	Man	Gal	Xyl	Ara	Fuc	
FIS-I	34.6	65.4	1.00	0.32	0.58	0.88	0.36	0.30	3.3
FIS-I-1	86.2	13.8	1.00	0.21	0.69	1.32	0.30	0.66	180
FIS-I-2	24.6	75.4	1.00	0.22	0.45	0.18	0.25	0.18	5.0
FIS-I-3	25.4	74.6	1.00	0.14	0.47	0.14	0.35	+	2.4
FIS-I-2-A	21.9	78.1	1.00	0.28	0.50	0.17	0.22	+	5.0
FIS-I-3-A	20.9	79.1	1.00	-	-	0.14	0.46	-	2.5
FIS-II	42.0	58.0	1.00	0.16	0.77	0.47	0.28	0.24	1.9
FIS-II-A	47.2	52.8	1.00	0.21	0.43	+	-	0.15	3.8
FIS-II-B	43.4	56.6	1.00	0.43	1.31	0.27	0.12	+	2.3
FII	98.7	1.3	1.00	+	0.11	+	±	+	120
FII-1	99.3	0.7	1.00	+	+	+	±	±	450
FII-2	98.6	1.4	1.00	+	0.13	+	±	+	150
FIII-1	46.7	53.3	1.00	+	+	+	±	±	4.1
FIII-2	48.8	52.2	1.00	+	+	0.13	+	±	1.7
FIII-1-A	56.9	43.1	1.00	+	-	+	+	±	4.0
FIII-1-B	38.2	62.8	1.00	+	+	+	+	+	2.2
FIII-2-A	72.4	27.6	1.00	±	-	±	±	-	3.5
FIII-2-B	39.5	61.5	1.00	+	+	0.15	±	±	2.0

+ 0.01 ≤ 0.1; ± < 0.01; - nil.

(註) カバノアナタケ菌糸体から単離した多糖体のcdc2 kinase 阻害活性ID₅₀値(μg/ml)はFI, FII, FA-1, FA-2, FA-3, FIIIでは何れも>1000(無効)であった。FIII-1では48, FIII-2では82と低かった。

* ID₅₀値(μg/ml)が小さい程、抗腫瘍活性が大きいことを示す。

4. チャーガ多糖の分画と得られた多糖分子種

チャーガは図1（水溶性多糖類）、図2（水不溶性多糖類）の方法によって、菌糸体からは図3の方法によって、それぞれ多糖類を分画調製した。得られた多糖体の理化学的性質を表2に示した。

チャーガから得られた水溶性多糖はマンノース、ガラクトース、キシロース、アラビノース、フコースなどからなるヘテロ糖鎖を含むグルカンであり、10% ZnCl₂及び

5% NaOH で抽出された水不溶性多糖は何れもホモグルカンであった。水不溶性多糖体FII-1, -2, 及びFIII-1-A, FIII-2-Aの¹H-NMRスペクトル(δ ppm 4.85, 4.73, 4.52 β-anomeric proton)並びに¹³C-NMRスペクトル(δ ppm 104.8 C-1, 89.0, 87.2 C-3, 75.7 C-5, 73.2 C-2, 71.8 C-4, 64.2, 62.2, C-6)から、これらは何れもβ-(1→6)グルコシル分岐鎖を持つβ-(1→3)-D-グルカンを主体としているものと判断した。

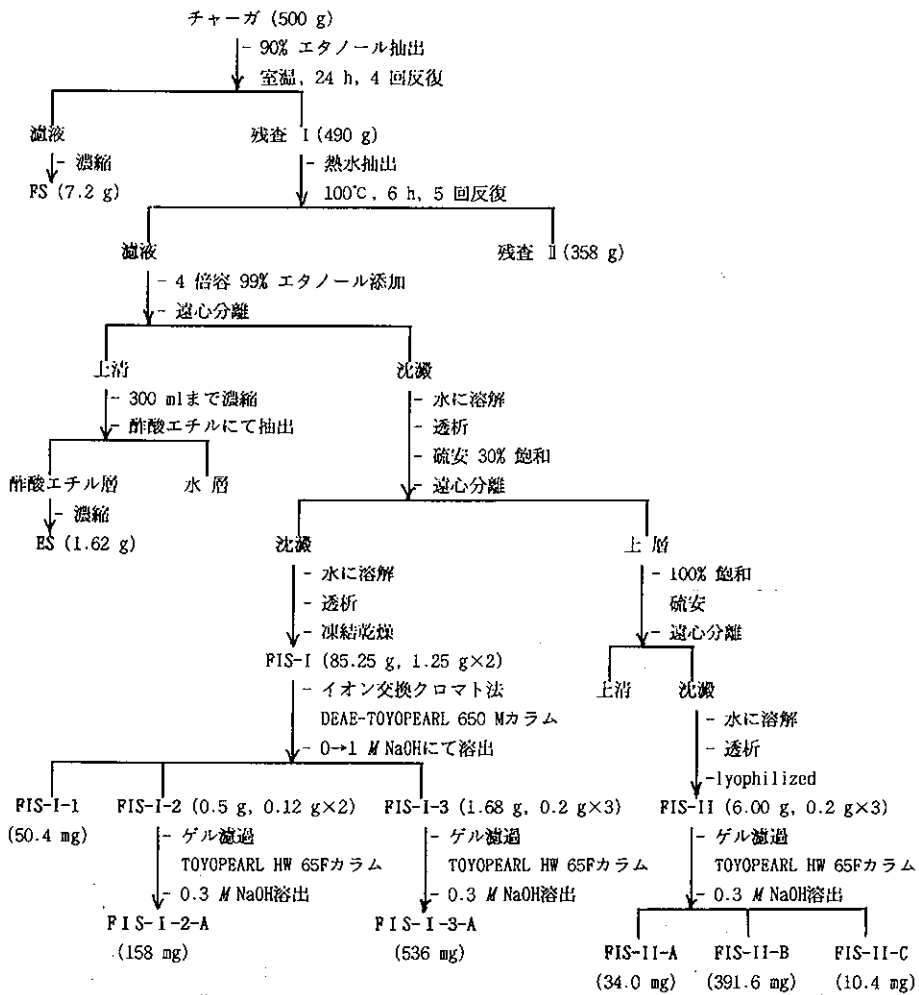


図1. カバノアナタケ菌核“チャーガ”の水溶性多糖類の分画調製法

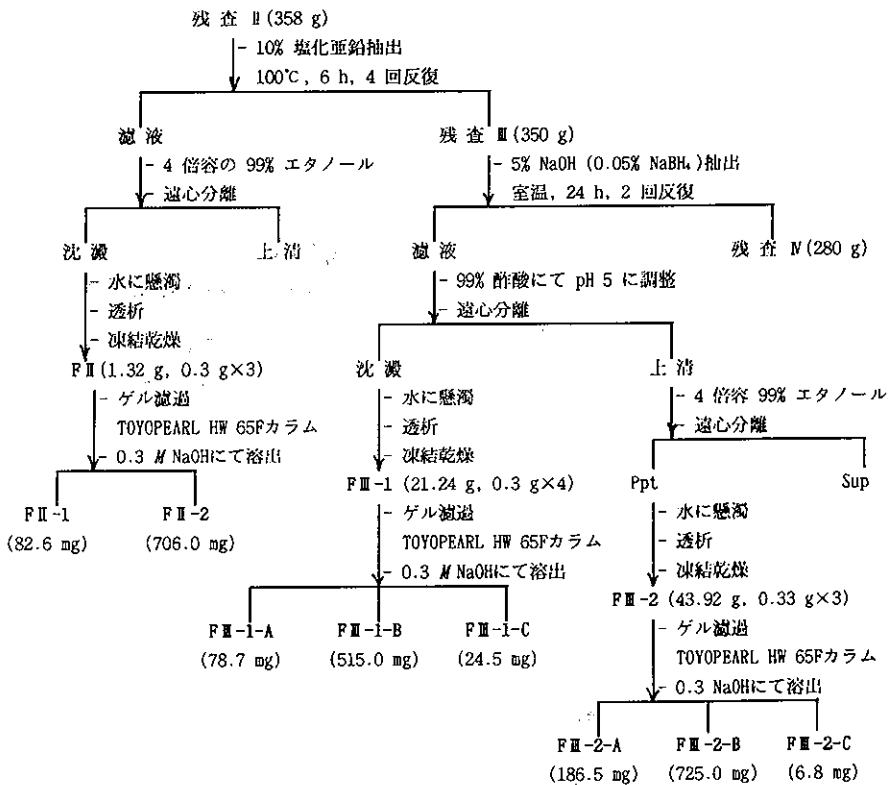


図2. カバノアナタケ菌核“チャーガ”の水不溶性多糖類の分画調製法

表3. カバノアナタケの菌核“チャーガ”及び菌糸体から得られた多糖体の血糖降下作用

試験区 (n=5)	投与量 (mg/kg, ip)	血清中の相対グルコース濃度 (%) ^{a)}				
		0	3	6	24	48 h ^{b)}
コントロール	100	100	95.7±17.5	101.5±20.3	104.2±20.8	104.0±23.6
コントロール	100	100	98.2±4.6	98.6±2.8	100.2±2.4	
チャーガ						
FIS-1	50 ^{c)}	100	104.9±4.3	64.9±3.6**	68.6±3.6**	
FII	50	100	119±20.6	123±21.5	98.1±9.4	
FIII-1	50	100	92.9±2.7	79.7±2.6*	103.0±3.6	
FIII-2	50	100	107.9±20.0	93.3±11.6	98.9±9.7	
菌糸体						
FI	50	100	60.6±9.5*	59.4±8.4*	68.7±7.0*	96.4±10.1
FII	50	100	118.1±6.6	105.8±8.6	118.8±18.8	126.3±8.6

a) 数値は標準偏差±S.E.で表した。各血清中のグルコースレベルを0時を100として表した。
 b) 験体投与後の時間を示した。コントロールとの有意差, *p<0.01, **p<0.001。
 c) 5匹中4匹には目が膨れる副作用が見られた。

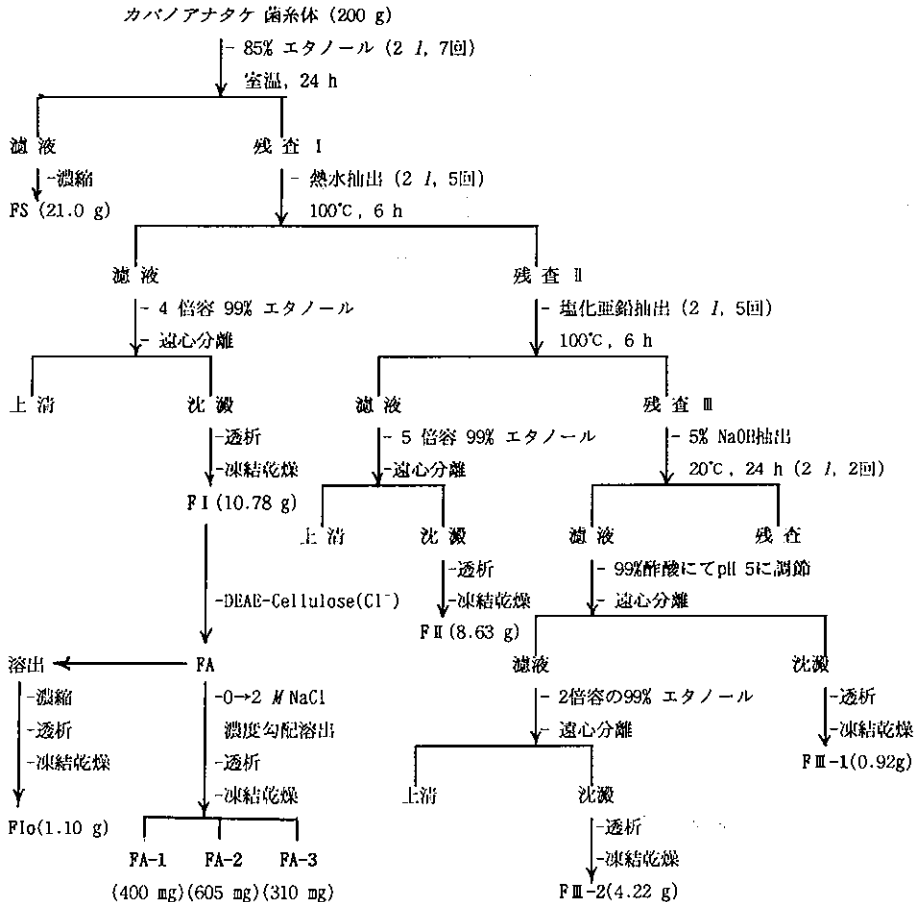


図 3. カバノアナタケ菌糸体から多糖類の分別調製法

5. チャーガ多糖の抗腫瘍活性

得られた多糖体の抗腫瘍活性を酵素法（肝ガンの発現に関与する cdc 2/cyclin B kinase を活性化する cdc 2 Phosphatase の阻害率 ID₅₀ 値, $\mu\text{g}/\text{ml}$ で示す）によって測定し表 2 の結果を得た。数値が小さいほど高活性を示す。

菌核“チャーガ”の水溶性多糖にも水不溶性多糖にも顕著な抗腫瘍活性が認められた。

なお、培養菌糸体から抽出し分画した多糖体には何れも顕著な活性は認められなかった。

6. チャーガ多糖の血糖降下作用^{11,12)}

日本 SLC 社（浜松市）から購入した 5 週令の ddY 系雄性マウスを 21°C 恒温, 60% 恒湿の飼育室でラボ MR ストック（日本農産工業）の飼料を用いて飼育した。多糖試料は生理食塩水に溶解し、対照群は生理食塩水のみを投

与した。経時的に眼窩静脈より採血し、その血清グルコース濃度を glucose oxidase 法に基づきグルコース B テストワコー（和光純薬）で測定した。実験前、実験中も水、餌は自由に摂取させた。試験結果は表 3 に示した。

菌核から得た多糖体 FIS-1 と FIII に、また菌糸体からの FI には、注射によって正常マウスの血糖値を降下させる効果が認められた。特に、菌糸体からの水溶性多糖には、注射後 3 時間で効果が表れ、48 時間後までその効果が持続することは注目値する。

7. チャーガの服用法

1) 煎液として

ロシアでは、ガンの子防や治療のために、チャーガを細かく刻んだ粗片を熱湯抽出（10 g / 1000 ml にて 100°C, 1 ~ 2 時間）するか、或いは 50°C 以下の温湯で 2 日間浸漬処理した煎液を、毎日、コップ 3 杯飲むことを推

奨している。また、一方、茶サジ3杯(3~5g)のチャーガ粗粉を150~500mlの水で温抽出し、その煎液を1日3回、100~200mlを食事30分前に飲用するのが良いとの記載も見られる。¹⁾

チャーガ煎液は黒褐色であり、抗菌性や抗癌作用が認められている。しかし、ヒトに対してはチャーガ乾物1g/日、1~2週間間隔で2~3ヶ月間連用しても何の副作用も認められず、全く無害であることが確かめられている。¹⁾我々がチャーガ粉末を検体としてOECD化学物質毒性試験指針(1981)に準拠して、マウスにおける急性経口毒性試験(限界試験)を行った結果、マウス雌雄ともに単回経口投与(5g/kg)による異常や死亡例は全く認められなかった。²⁾

2) チャーガ酒として

採取したチャーガの表面を水で軽く洗い、半日ほど天日乾燥する。金槌などで粗砕きして、仕込み瓶に60%ほどチャーガを入れる。これに砂糖を適量入れてからホワイトリカー(アルコール25~45度)を容器の80%になるまで注ぐ。密閉して冷暗所に置く。時々攪拌して抽出を促すと良い。1ヶ月後から飲用出来るが、熟成には3ヶ月以上を要する。コーヒー色の薬酒となる。

8. チャーガの薬効

我々の研究によってチャーガの水溶性多糖及び水不溶性多糖には抗腫瘍活性とともに正常マウスの血糖値を低下させる効果が認められ、その本体はβ-グルカン、ヘテログルカン、およびそれらの蛋白複合体であることが明らかになった。

また、菌糸体から調製された多糖には顕著な抗腫瘍性は認められないが、注射によって3~48時間持続する血糖降下作用が認められた。

チャーガを飲用すると改善の見られた適応症として、特に慢性胃癌をはじめ各種の癌、慢性胃炎、胃潰瘍、胃腸の運動異常、症慢性のアトニー(無緊張症)、痛み、吐き気、嘔吐、十二指腸の運動異常などが挙げられている。

また、チャーガには抗ガン作用のほかに、体の免疫力や治癒力を高めるので、肝臓病、消化器系疾患、動脈硬化をはじめ神経痛、リウマチ、美容などの他に鎮痛、強壮など種々の薬効が期待されている。

文 献

- 1) V.I. Kupin (ロシア国立癌研究センター教授) 私信, モスクワ医療大学編: 薬草参考辞典, p.255; シベリアの薬草, p.187~189 (1990).
- 2) OECD 化学物質毒性試験指針(1981), (財)日本食品分析センター(1993).
- 3) 佐藤 誠: きのこ健康読本1, p.104~105(1995), 東洋医学舎, 東京.
- 4) 山崎勝弘, 大竹 徹, 森 治代, 森本素子, 上羽 昇, 西尾真樹, 小松原三郎: 日本生薬学会 第41回 年会講演要旨集 p.177 (1994).
- 5) 水野 卓, 加藤尚美, 戸塚篤史, 竹中一秀, 新海健吉, 清水雅子: 農化, 58, 871~880(1984); 59, 1143~1151(1985).
- 6) T. Mizuno, K. Ohsawa, N. Hagiwara, and R. Kuboyama: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1679~1688(1986).
- 7) T. Mizuno, T. Hagiwara, T. Nakamura, H. Ito, K. Shimura, T. Sumiya, and A. Asakura: *Agric. Biol. Chem.*, 54, 2889~2896; 2897~2905(1990).
- 8) T. Mizuno, M. Ando, R. Sagie, H. Ito, K. Shimura, T. Sumiya and A. Matsuura: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56, 34~41(1992);
- 9) T. Mizuno, T. Wasa, H. Ito, C. Suzuki and N. Ukai: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56, 347~348(1992);
- 10) L. Meijer et al: *Anticancer Research*, 12, 873~880(1992), *J. Biol. Chem.*, 269, 13279~13288(1994), *FEBS Letters*, 353, 207~211(1994), *Developmental Biology*, 5, 165~171(1994), *Eur. J. Biochem.*, 224, 771~1786(1994), *Biol. Cell*, 83, 1~16(1995), *Progress in Cell Cycle Research*, 1, 1~13(1995).
- 11) T. Kiho et al: *Carbohydrate Research*, 251, 81~87(1994), *Yakugaku Zasshi*, 114, 308~315(1994), *Biol. Pharm. Bull.*, 18, 1627~1629(1995).
- 12) H. Hikino and T. Mizuno: *Planta Medica*, 55, 385(1989).
- 13) T. Mizuno, P. Yeohlui, T. Kinoshita, C. Zhuang, H. Ito, and Y. Mayuzumi: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60, 30~33(1996).
- 14) 水野 卓: *THE CHEMICAL TIMES*, 131, 12~21, 133, 50~60(1989); 135, 3~12, 137, 50~57, 139, 6~10, 141, 50~57(1991); 143, 8~13, 145, 59~65(1992); 147, 12~15(1993).
- 15) 本誌説の原著論文は、制癌性多糖類に関する研究(第27報)として水野 卓, 庄郷, 阿部邦昭, 岡本秀史, 木方 正, 鶴飼茂夫, Sophie Leclerc, Laurent Meijer: きのこの科学 3(2), 1-12 (1996)に掲載予定である。

生物活性化合物の構造修飾— 1

ペプチドのバイオイソスター(その1)

東京薬科大学 薬学部 渋谷 皓

1. はじめに

薬理活性を示す大部分の化合物は構造特異的であり、薬物分子が生体の特定の作用部位(受容体)と物理化学的あるいは化学的に相互作用することによってその薬物特有の生理活性が発現する。薬物分子中の特定の活性構造部分と生体側の受容体の活性部分との間にはうまく適合する鍵と鍵穴に例えられるような相補的な関係がある。したがって、薬物活性分子の構造と作用発現との間に何らかの相関性があることが知られている。また、薬物分子の生物活性は分子全体の三次元構造、不斉中心の立体配置、化学的および物理化学的性質などによって影響を受ける。医薬の開発は原型となる手がかり物質(リード化合物)の発見からはじまるが、リード化合物から副作用の少ない望む活性が選択的に発現する新たな優れた化合物へと変換していく最適化の過程を効率よく進めるには化学構造をいかに合理的に修飾するかが大きな鍵となる。多くの化合物を合成してその中からリード化合物として適当な化合物が見つけられるケースは偶然に近く何とも効率がわるい。リード化合物の発見には化学的・物理化学的な面から、あるいは生化学的な面から発見の糸口を見いだすケースのほか、偶然の発見、既存の薬物の構造をヒントに活性が期待できる化合物や天然物の全合成における合成中間体から発見される場合もある。また、生物活性分子どうしのドッキングによる方法などもある。生物活性化合物の構造修飾について述べていく予定であるが、本稿では生物活性化合物の構造修飾のうちバイオイソスター¹⁾の活用について述べたい。

2. バイオイソスター

構造修飾は多くの場合、薬物分子の骨格部分とその分子が生体に作用する機能部分のそれぞれが関与する生物活性発現機構をもとに行なわれる。ただやみくもに骨格部分を変えたり機能部分の構造変換を行なってもよい結果が得られるものではない。よく使われる手法として受容体あるいは酵素と相互作用する部分構造を生物学的に

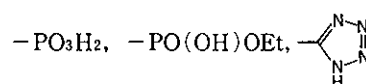
同じ機能を発揮することができる官能基あるいは部分構造に置きかえる手法がある。薬理活性発現に関連する特定の部分構造または官能基の生物活性に関連する物理化学的性質が互いに共通あるいは類似しているものはバイオイソスター(生物学的等価置換基; bioisostere)と呼ばれる。バイオイソスターは化学的な等価性とは異なり中には化学的には互いに全く共通性をもたないものも多い。バイオイソスターを活用する構造修飾によりすぐれた薬を開発した成功例も多く知られている。構造修飾によく利用されるバイオイソスターの若干の例を次に示す¹⁾。

水素原子(-H): -F, -Cl, -OH, -NH₂,
-SH, -Me

メチレン炭素鎖(-CH₂-): -NH-, -O-, -S-
エーテル結合(-O-): -S-, CH₂-, -NH-

カルボニル基(>C=O): >C=C<, >S-O, -SO₂-,
-SO₂N<

カルボキシル基(COOH): -SO₃H, -SO₂N<



水酸基(OH): -NHCOR, -NHSO₂R, -CH₂OH
-CH=CH-: -S-

-CH=CH-と-S-の関係の例にあげるとベンゼンとチオフェンは互いにバイオイソスターでありベンゼン環をチオフェン環に置き換えることによって活性が高まる例が多い。

3. ジペプチドイソスター

プロテアーゼ(タンパク分解酵素)²⁾に対して基質として作用することができるジペプチドと生物学に等価な部分構造はジペプチドイソスターとよばれ、プロテアーゼ阻害剤^{1b)}の構造修飾に取り入れられている。プロテアーゼは動植物、微生物に広く分布している生体触媒でタンパク質のジペプチド結合(-NH-CO-CH(R)-N-)を加水分解する。プロテアーゼは触媒機能を発現する部位(活性中心)の

構造によってセリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、アスパラギン酸プロテアーゼ、金属プロテアーゼに分類される。プロテアーゼは試薬や医療用に用いられている他、洗剤の成分の一つとして利用されるなど工業的にも広く使われているものもあり酵素全般の中でも今日最も興味を持たれている生体触媒の一つである。よく知られている代表的なものに消化に役立つペプシン、トリプシン、キモトリプシンなど、食品の加工に利用されているパパイン、カルボキペプチダーゼなどがある。

プロテアーゼは概して強い基質特異性を示し特定のアミノ酸残基の隣だけを切断する。酵素阻害剤は制癌剤や降圧剤の研究に貢献している。降圧剤の研究に貢献するプロテアーゼ阻害剤の一つにレニン阻害剤がある。レニンは血圧、自律神経の調節系に重要な役割を果たしているアスパラギン酸プロテアーゼの一つである。レニンは340個のアミノ酸からなり、昇圧ペプチドホルモン(アンジオテンシン)を産生することで知られている。レニンは452個のアミノ酸からなるアンジオテンシノーゲンに作用しロイシン-バリン結合を選択的に加水分解することによって10個のアミノ酸からなるアンジオテンシンIを生成する。アンジオテンシンIはほとんど血圧をあげる性質がないがアンジオテンシン変換酵素(ACE)により分解されると血圧を上昇させる原因となるアンジオテンシンIIを生成する。(図1参照)

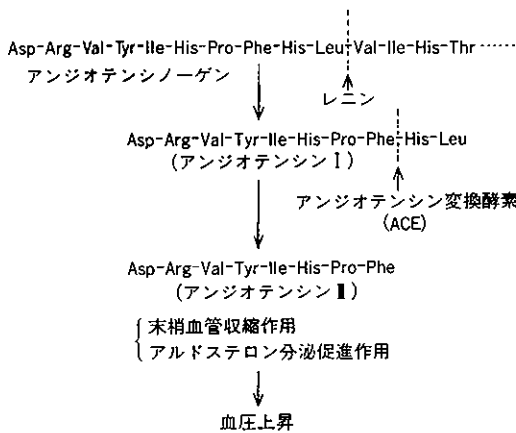
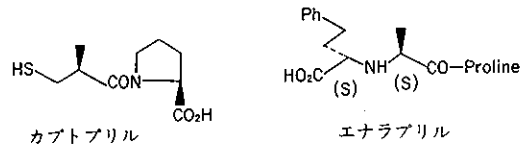


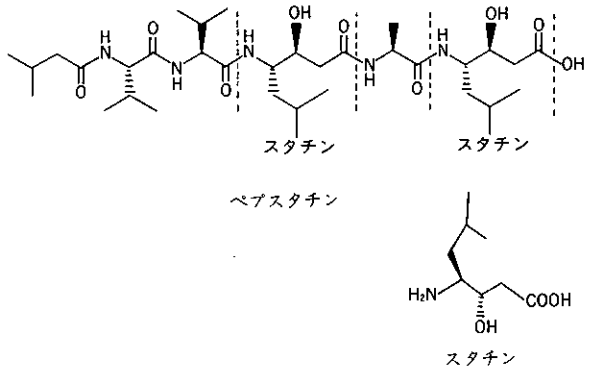
図1. レニン基質からアンジオテンシンIIが生成する過程

レニンやアンジオテンシン変換酵素を阻害する物質は高血圧治療薬として期待できることから新しい高血圧治療薬の開発を目指しアンジオテンシン変換酵素阻害剤が活発に研究され、多くの有効なレニン・アンジオテンシン系降圧剤が開発された。カプトプリル、エナラプリル

は最も代表的な例の一つである。



レニン阻害剤は高血圧の発症を原点において食い止めることができることからレニン阻害剤の開発が活発に行なわれるようになった。事実、レニン基質アナログにはレニン阻害作用があることが明らかにされているが、1970年梅沢浜夫らにより法線菌の培養液中からレニン阻害作用を有するペプスタチンが単離された³⁾。



3.1. ジペプチドイソスターの例

ペプスタチンの分子中に含まれているスタチンの-CH(NH₂)-CH(OH)-CH₂の部分はレニン基質のロイシン-バリン結合が加水分解されるときの変移状態の構造(図2)によく似ておりプロテアーゼの基質となりうることからペプチド結合と生物学的に類似の性質を示すと考えられている。

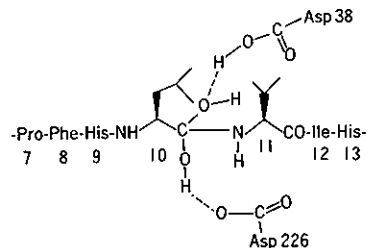
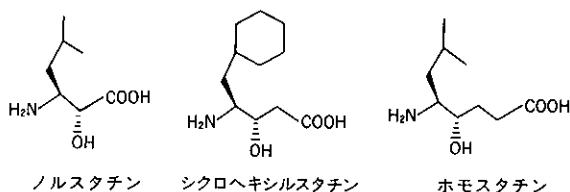


図2. アンジオテンシノーゲンの加水分解遷移状態

スタチンの発見がジペプチドイソスターを利用する端緒となり、降圧剤の開発を目的にスタチンの類縁化合物の合成が活発に行なわれた。ノルスタチンやスタチンのイソブチル基をシクロヘキシルメチル基に変えたシクロヘキシルスタチン、ホモスタチンなどは代表的な例である。



スタチンの類縁体

次に代表的なジペプチドイソスターを示す。I～VIはペプチド結合がプロテアーゼにより加水分解されるときの遷移状態の構造を模倣したもので、VIIはアミド結合のエノール化した構造を模倣したものである。ジペプチドイソスター部分のアルキル基(R¹とR²)の選択はプロテアーゼ阻害活性に影響する大きな要素の一つとなり、加水分解を受けるペプチド鎖状のアルキル基と同じかあるいは類似の性質をもつものがよい。また、ジペプチドイソスターと縮合させるアミノ酸は、いま問題にしている基質の活性部に存在するアミノ酸残基と同じかあるいは類似の性質をもつアミノ酸がよい。しかし、アミノ酸の選択については必ずしも予想できないことが多い。

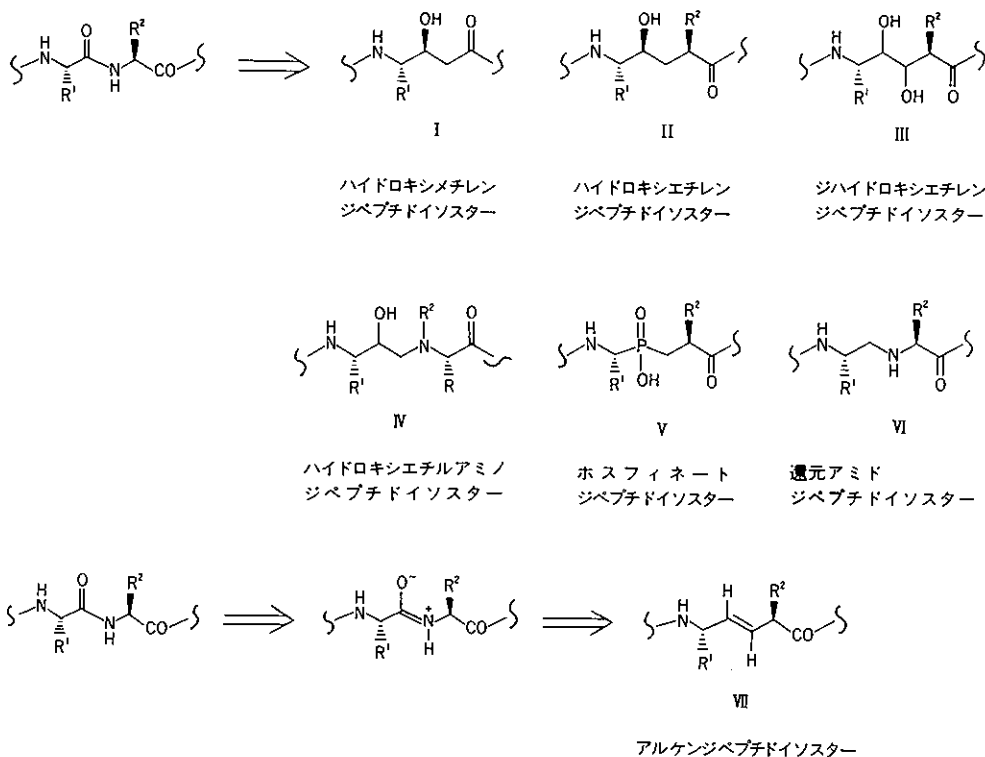


図3. ジペプチドイソスターの例

ジペプチドイソスターの概念は最近特に高血圧治療薬の開発を目的とするレニン阻害剤の合成、エイズ治療薬の開発を目的とするHIVプロテアーゼ阻害剤の合成に取り入れられている。

3.2. ハイドロキシメチレンジペプチドイソスターの合成⁴⁾

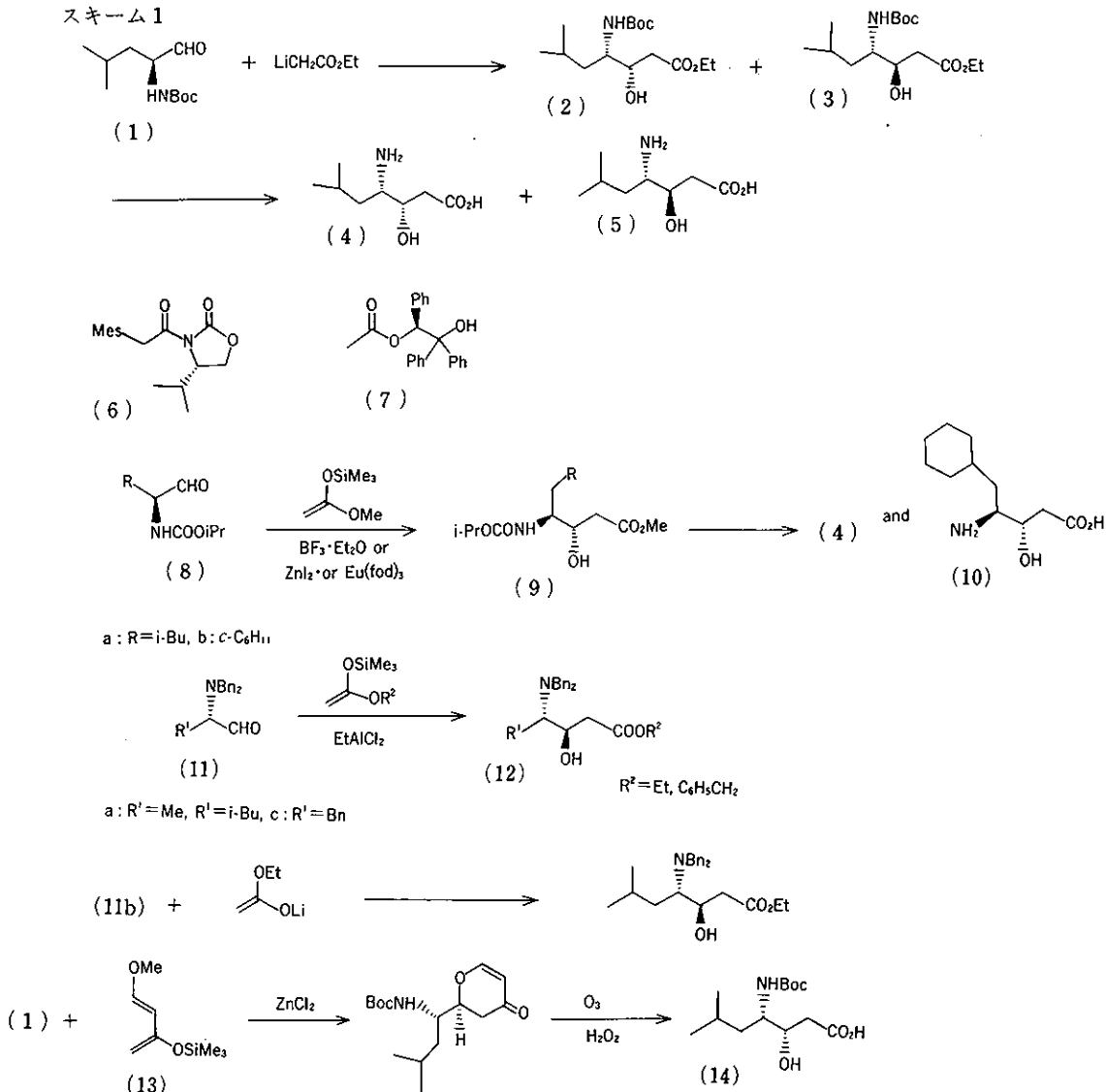
スタチンおよびその誘導体の不斉合成に関してはきわ

めて多くの報告例があるので紙数の都合上代表的な例を紹介するに止めたい⁴⁾。最も簡便な方法は初期にRichらにより⁵⁾報告された方法で、窒素原子をBocあるいはCbzで保護した α -アミノアルデヒド(1)を酢酸リチウムエノラートと縮合する方法⁵⁾であるが立体選択性が乏しく(3*S*, 4*S*)-スタチンエステル(2)が(3*R*, 4*S*)-異性体(3)とともに

に副生する。(2), (3)の混合物をトリフルオロ酢酸で処理すると窒素原子の保護基の除去と同時にエステルは加水分解され、(4), (5)を生成するがこれらを分離することが困難であるので本法はスタチン(4)の合成法として実用的とはいえない。(3*S*, 4*S*)-スタチンを取り込んだペプチドの方が(3*R*, 4*S*)-異性体(5)を取り込んだものよりも強いレニン阻害活性を示すことから(4)を選択的に合成する方法が多く検討された。(1)と不斉補助基を導入した(6)⁶⁾や(7)⁷⁾と縮合させると反応は立体選択的に進行し、縮合成績体から(3*S*, 4*S*)-スタチンが合成された。興味ある方法は(8)をBF₃·Et₂O, ZnI₂, Eu(fod)₃などのルイス酸存在下シ

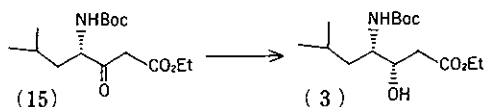
リルエノラートを反応させる方法で⁸⁾, アルデヒドのカルボニルと窒素原子が金属とキレートすることにより反応は*syn*-選択的に進行し(9)が高立体選択的に得られる。Mikami⁹⁾らは窒素原子をベンジル基で保護した(11)をEt₂AlClの存在下シリルエノラートと反応させ(3*R*, 4*S*)-異性体(12)を立体選択的に合成した。Reetz¹⁰⁾らは(11b)をリチウムエノラートと縮合させることによって(12b; R²=Et)を得ている。ヘテロ Diels-Alder 反応を鍵反応として用いる合成例もある。(1)とジエン(13)との Diels-Alder 反応によって生成する付加体をオゾン分解、次いで酸化すると*N*-Bocスタチン(14)が得られる¹¹⁾(スキーム1)。

スキーム 1

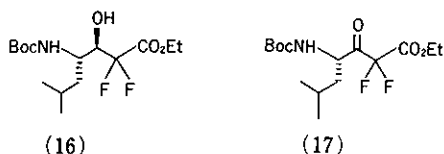


ケトエステル(15)の立体選択的還元による方法も報告されている。(15)を酵母で還元¹²⁾すると(3)が選択的に生成する。(R)-BINAP-Ru(II)による還元¹³⁾においても反応は高立体選択的に進行し(3)が生成する(スキーム2)。これらの方法は複雑な反応条件や操作を必要とせず立体選択性も高いので大量合成に適する合成法である。

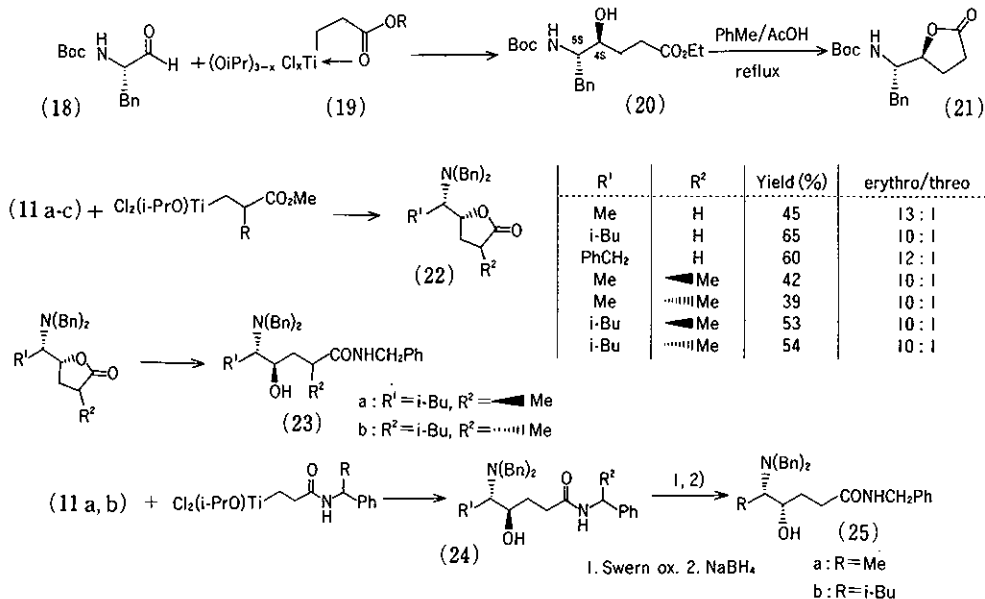
スキーム 2



スタチンのメチレン水素をフッ素原子に変えたジフルオロスタチン誘導体(16)は(1)とZnBrCF₂COOEtとの縮合により合成された。(16)はスタチンよりもレニン阻害活性の増強に効果的であることが明らかにされた¹⁴⁾。ジフルオロスタチン(17)はスタチンよりもレニンに対する選択性と親和性が高いが、これはフッ素原子のI効果により安定な水合物を形成するためと考えられている。



スキーム 3



3.3. ハイドロキシエチレンジペプチドイソスター (ホモスタチン類縁体) の合成

ハイドロキシエチレンジペプチドイソスターは2-(α -アミノアルキル)- γ -ラクトンと合成化学的に等価な化合物であり、この種の γ -ラクトンの立体選択的合成法が検討されてきた。鍵反応として α -アミノアルデヒドの立体選択的なアルキル化反応が使われている例が多い。

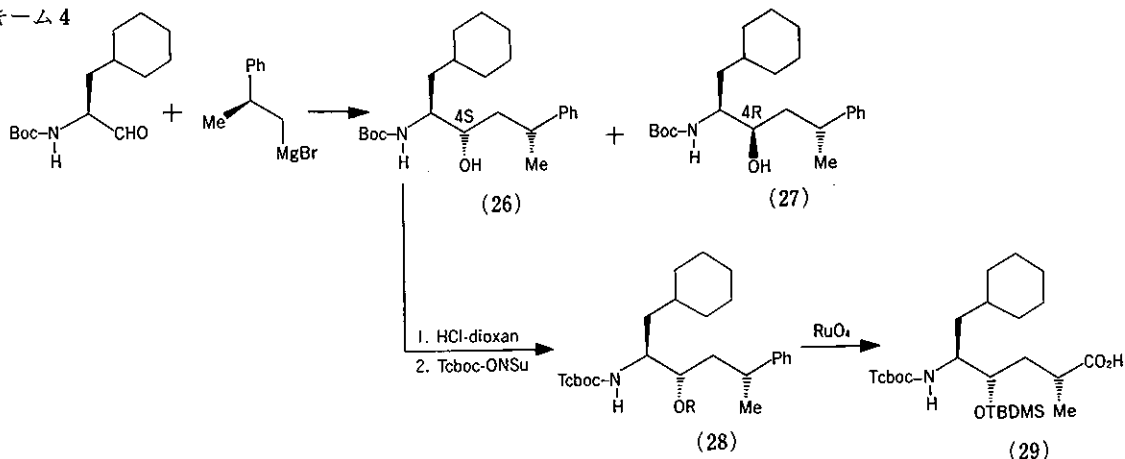
N-Boc- α -アミノアルデヒド(18)をチタニウムホモエノレート(19)と反応させると相当する *threo*- γ -ハイドロキエステル(20)が生成する。(20)を酢酸の存在下トルエン中加熱すると2-(α -アミノアルキル)- γ -ラクトン(21)が生成する¹⁵⁾。チタニウムホモエノレートのクロル原子の数が増すと *threo* 選択性も向上する。N-ビスベンジル- α -アミノアルデヒドとチタニウムホモエノレートとの反応では *erythro* ラクトン(22)が高選択的に生成する¹⁶⁾。このようなラクトンはアミンとの縮合により容易にアミド(23)に誘導される。 α -アミノアルデヒドとチタニウムホモエノレートとの縮合反応により直接アミド(24)を合成することも可能である(スキーム3)。また、*erythro* 体を酸化して得られるケトン体をNaBH₄で還元すると *threo* 体(25)が得られる。

ベンゼン環は酸化するとカルボキシル基に変換されることから α -アミノアルデヒドのフェネチル化が鍵反応として使われる。 α -アミノアルデヒドを α -メチルフェネチルマグネシウムプロミドと反応させると(26)と(27)が6:1の割

合で生成する。(26)のアミノ基を2',2'-トリクロロ-1',1'-ジメチルエトキカルボニル (Tcboc) で、水酸基を *t*-ブチルジメチルシリル基で保護し(28)としたのち RuO₂(反

応系内で RuCl₃ と NaIO₄ とから発生させる)で酸化するとベンゼン環が酸化を受けカルボン酸(29)に変換される¹⁷⁾(スキーム4)。

スキーム4



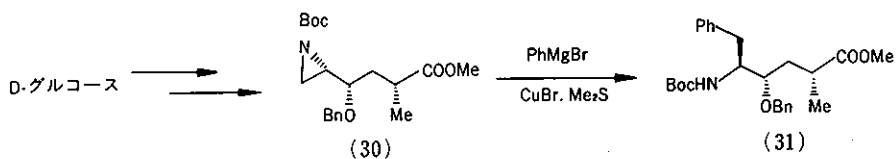
エチレンイミンは CuBr などの銅塩の存在下 Grignard 試薬と反応させると立体化学を保持したまま開環する。この反応を応用して D-グルコースから誘導されるエチレンイミン(30)とフェニルマグネシウムブロミドとの反応により(31)が合成された¹⁸⁾(スキーム5)。

(32)のハロ環化反応によって得られる(33)から(34)を経由してジフルオロフルオロメチレン-α-ヒドロキシエチレンジペ

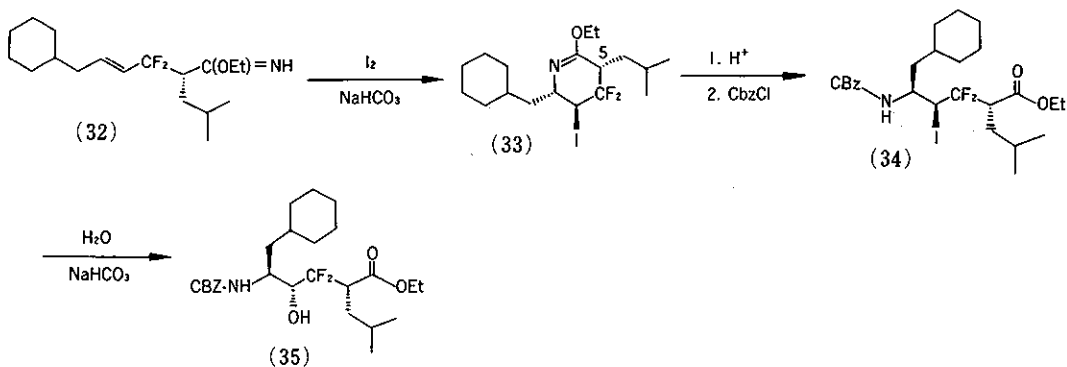
プチドイソスター(35)が立体選択的に合成された¹⁹⁾(スキーム6)。

その他の合成法としてケトエステルの還元-γ-ラク톤のアルキル化²⁰⁾、オレフィンのヒドロボレーション-過酸化水素による酸化²¹⁾、α-ヒドロキシラク톤を経由する方法²²⁾などがある(スキーム7)。

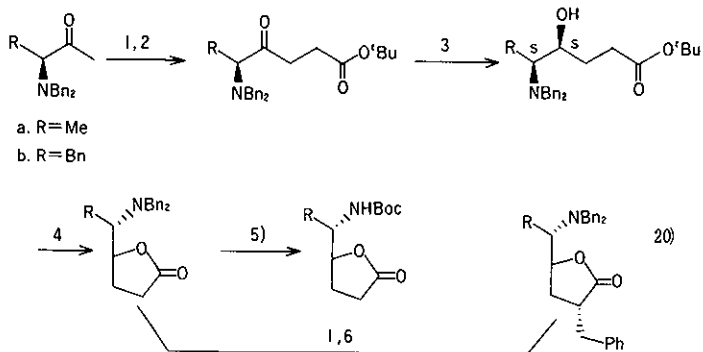
スキーム5



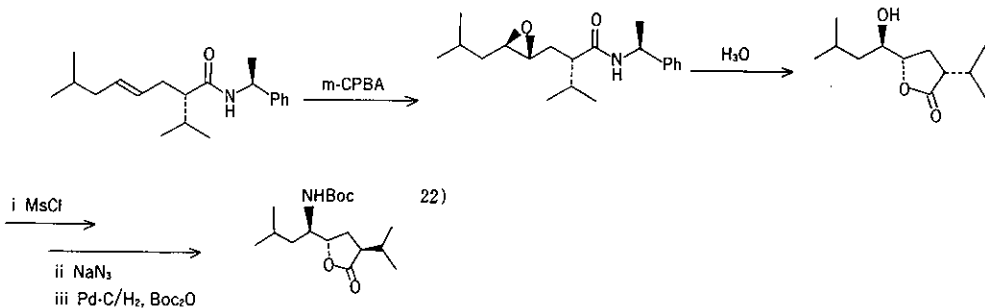
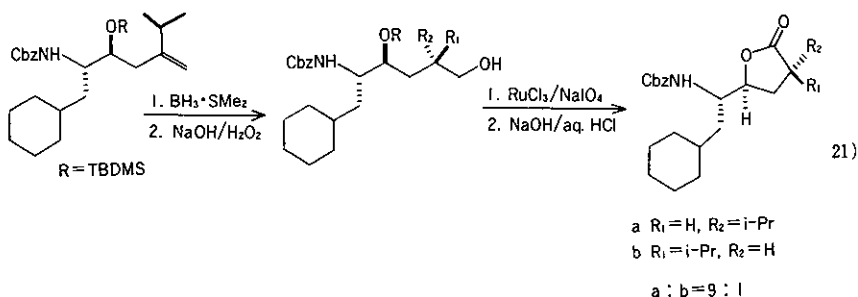
スキーム6



スキーム 7



- 1) NaHMDS, THF, -78°C , 2) $\text{BrCH}_2\text{CO}_2^t\text{Bu}$, -78°C ,
3) NaBH_4 , MeOH, 0°C , 4) Toluene, AcOH, reflux, 5) H_2/Pd
black, abs. EtOH, Boc_2O , 6) PhCH_2Br , -78°C



3.4. *E*-アルケンジペプチドイソスターの合成²³⁾

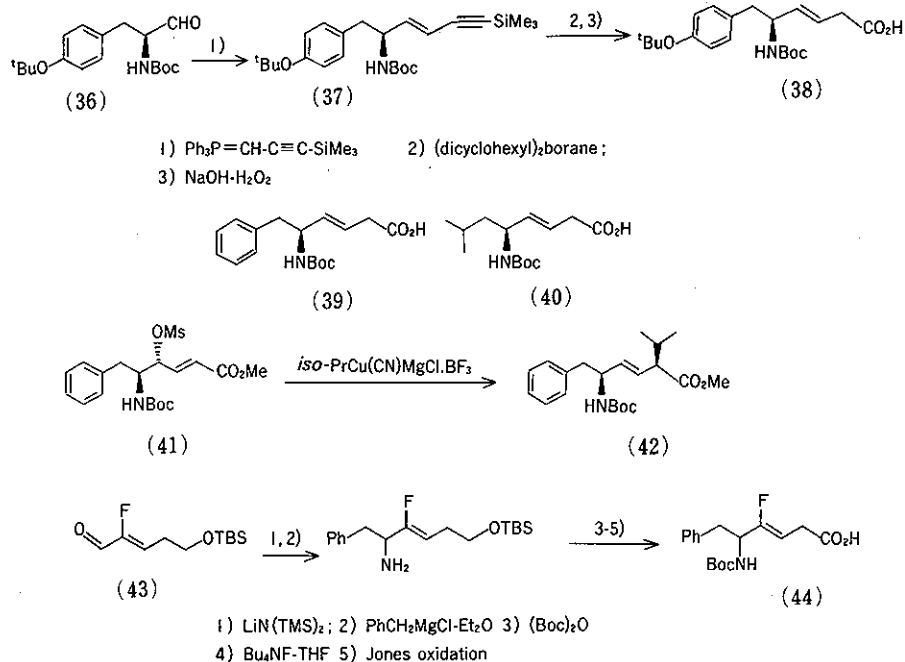
E-オレフィンと*Z*-オレフィンがあるが*E*-型の方がアミド結合と近似しており、*Z*-アルケンジペプチドイソスターを組み込んだペプチドにはほとんど活性がないことが知られている。*E*-オレフィンの選択的合成と α 位アルキル基の立体選択的な導入が問題となる。代表的な例を次に示す。*N*-Boc- α -アミノアルデヒド(29)とシリルアセチレンのイリドとの反応により得られる*E*-オレフィン(37)を水素化還元、次いで過酸化水素で酸化するとカルボン酸(38)が生成する²⁴⁾。同様な方法により(39)²⁵⁾、

(40)²⁶⁾が合成された(スキーム 8)。

γ -メシルオキシ- α , β -不飽和エステル(41)をアルキル銅ルイス酸コプレックスでアルキルするとアルキル基の攻撃は*anti*- $\text{S}_{\text{N}}2'$ 型で立体選択的に起こり、エステルの α 位にアルキル基が立体選択的に導入されたエステル(42)が生成する²⁷⁾。

フッ素原子の大きさや双極子モーメントなどが水酸基のそれと類似していることからフッ素原子が導入された(44)が(43)から次に示す行程で合成された²⁸⁾。

スキーム 8

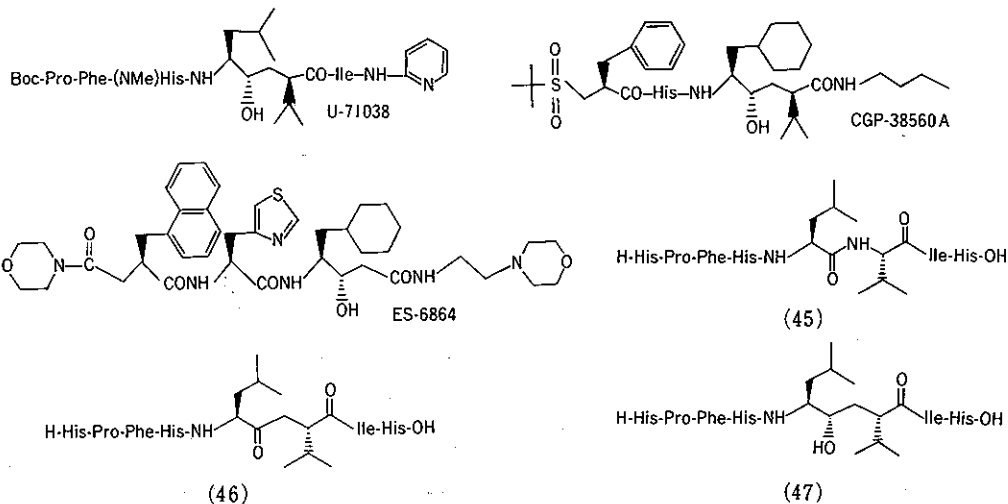


4. レニン阻害剤とジペプチドイソスター

前述のジペプチドイソスターを組み込んでペプチドの誘導体がレニン阻害剤の開発を目的に多くの化合物が合成され中には nM オーダーの濃度でヒトレニンを阻害するものもよく知られている。次にいくつかの例を示す。(46)のレニン阻害活性は(45)の約600倍、(47)は(46)のさらに170倍も増強する²⁹⁾。しかしながらそれは降圧剤として利用しようとするとき経口吸収性が悪く臨床に使用

されるには解決しなければならない多くの問題がある。

なお、このようなジペプチドイソスターを組み込んだペプチド誘導体がレニン阻害剤のほか種々のプロテアーゼ阻害剤、例えば HIV プロテアーゼ阻害剤の開発にも活発に利用されている。中にはエイズ治療薬として高い活性を示す化合物も合成されており臨床に使われる可能性も期待される。



参考文献

- 1) (a) 首藤紘一編集「医薬品の開発 7 巻, 分子設計」, p93-135 広川書店, 1990. (b) 藤田稔夫編「構造活性相関とドラッグデザイン」, 化学増刊107, 化学同人, 1986. (c) 吉岡宏輔, 首藤紘一編集「生物活性物質の分子設計」ソフトサイエンス社, 1986.
- 2) 一島英治編著「プロテアーゼ」学会出版センター, 1988.
- 3) Umezawa, H.; Aoyagi, T.; Morishima, H.; Matsuzaki, M.; Hamada, H.; Takeuchi, T. *J. Antibiot* 1970, 23, 259.
- 4) Fore Review: Yokomatsu, T.; Yuasa, Y. Shibuya, S. *Heterocycles*, 1992, 32, 1051.
- 5) Rich, D. H.; Sun, E. T.; Boparai, A. S. *J. Org. Chem.* 1978, 43, 3624.
- 6) Woo, P. W. K. *Tetrahedron Lett.* 1985, 26, 2973.
- 7) Devant, R. M.; Radunz, H.-E. *Tetrahedron Lett.* 1988, 29, 2307.
- 8) Takemoto, Y.; Matsumoto, T.; Ito, Y.; Terashima, S. *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 3090.
- 9) Mikami, K.; Kaneko, M.; Loh, T.-P.; Terada, M.; Nakai, T. *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 3909.
- 10) Reets, M. T.; Drews, M. W.; Schmitz, A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1987, 26, 1141.
- 11) Danishefsky, S.; Kobayashi, S.; Kerwin, J. F. *J. Org. Chem.* 1982, 47, 1981.
- 12) Raddatz, P.; Radunz, H. E.; Schneider, G.; Schwartz, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1988, 27, 426.
- 13) Nishi, T.; Kitamura, M.; Ohkuma, T.; Noyori, R. *Tetrahedron Lett.* 1988, 29, 6327.
- 14) Thaisrvons, S.; Pals, D. T.; Kati, W. M.; Turner, S. R.; Thomasco, L. M.; Watt, W. *J. Med. Chem.* 1986, 29, 2080.
- 15) Decamp, A. E.; Kawaguchi, A. T.; Volante, R. P.; Shinkai, I. *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 1867.
- 16) Kano, S.; Yokomatsu, T.; Shibuya, S.; *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 233.
- 17) Jones, D. M.; Nilsson, B.; Szelke, M. *J. Org. Chem.* 1993, 58, 2286.
- 18) Chakraborty, T. K.; Hussain, K. A.; Thippeswamy, D. *Tetrahedron*, 1995, 58, 2286.
- 19) Damon, D. B.; Hoover, D. J.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, 112, 6439.
- 20) Lagu, B. R.; Liota, D. C.; *Tetrahedron Lett.* 1994, 35, 547.
- 21) Baker, W. R.; Prattt, *Tetrahedron* 1993, 49, 8739.
- 22) Wuts, P. C. M.; Ritter, A. R.; Pruiitt, L. E. *J. Org. Chem.* 1992, 57, 6696.
- 23) For Review: Ibuka, T. *J. Syn. Org. Chem. Japan*, 1992, 50, 953.
- 24) Hann, M. M.; Sammes, P. G.; Kennewell, P. D.; Taylor, J. *B. J. Chem. Soc. Perkin I*, 1982, 307.
- 25) Fearon, K.; Spaltensterin, A.; Hopkins, P. B.; Gelb, M. H. *J. Med. Chem.*, 1987, 30, 1617.
- 26) Kaltenbronn, Hudspeth, Lunney, E. A.; Michniewicz, B. M.; Nicolaidis, E. D.; Repines, J. T.; Roark, W. H.; Steir, M. A.; Tiney, F. J.; Woo, P. K. W. Essenburg, A. D. *J. Med. Chem.*, 1990, 330, 964.
- 27) (a) Ibuka, T.; Habashita, H.; Funakoshi, S.; Fujii, N.; Oguchi, Y.; Ueyehara, T.; Yamamoto, Y. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* 1990, 29, 801. (b) Ibuka, T.; Habashita, H.; Otaka, A.; Fujii, N.; Oguchi, Y.; Ueyehara, T.; Yamamoto, Y. *J. Org. Chem.* 1991, 56, 4370.
- 28) Allmendinger, T.; Furet, P.; Hungerbuhler, E. *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 7297.
- 29) Gante, J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1994, 33, 1699.

訃報

長年に亘り本誌のためにご執筆くださいました日本薬史学会 名誉会員 薬学博士 根本曾代子先生には平成

8年9月22日逝去されました。享年92才。

ケミカルタイムスへの多大なご貢献に感謝いたし、謹んで哀悼の意を表します。

<編集後記>

松の内が過ぎて、皆様方にはまた通常の仕事のペースに戻られた頃と拝察いたします。

この度、根本曾代子先生ご逝去のお知らせをすることとなり、大変残念に存じます。根本先生には、本誌の1974年(昭和49年)No.4(通巻74号)から1995年No.4(通巻158号)まで21年間の長期に亘り、途中2回ほど休まれた外は「薬学の先駆者」や「くすりの文化交流」など83

編をご寄稿いただきました。

根本先生の本誌へのご厚誼に心からお礼を申し上げ、謹んでご冥福をお祈りいたします。

この新年号から、東京薬科大学薬学部教授 渋谷 皓先生(薬品製造工学教室)が生物活性物質の構造修飾についてご執筆くださることとなりました。有機合成と薬理活性に関して興味ある内容をご期待ください。

皆様方のご健勝とご多幸を祈念いたします。(青井)



関東化学株式会社

〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号
電話 (03) 3279-1751 FAX (03) 3279-5560
編集責任者 青井 克夫 平成9年1月1日発行