

氏 名 (本籍)	山 田 重 行 (愛知県)
学 位 の 種 類	博士 (薬学)
学 位 記 番 号	乙 第 84 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 9 年 9 月 10 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 3 条第 3 項該当者
学 位 論 文 の 題 名	(+)-Eburnamenine-14-carboxylic acid 2-nitroxyethyl ester の神経薬理学的研究
論 文 審 査 委 員	主 査 教 授 南 原 利 夫 副 査 教 授 瀬 山 義 幸 副 査 助 教 授 鈴 木 勉 副 査 助 教 授 鎌 田 勝 雄

論 文 内 容 の 要 旨

意識障害をきたす主な疾患は脳循環障害、多量の睡眠剤及びアルコールの服用、一酸化炭素中毒、糖尿病性昏睡、尿素症昏睡及び肝性昏睡等の代謝性障害に起因するものと脳出血、脳炎、脳梗塞、脳腫瘍及び脳外傷等に起因する器質性脳疾患の 2 つに大きく分類されている。中でも、頭部外傷及び脳血管障害を伴う意識障害は患者の予後に及ぼす影響が大きく、治療の対象として重要な疾患であり、その患者数は年々増加している。

意識障害発生の急性期は原因（原疾患）に対する治療が優先される。急性期に救命処置をほどこされ、生命の危機を脱すると意識障害は軽減してくる。脳損傷が意識中枢に関係なければ意識は清明となり、社会復帰が可能となるが、意識障害が完全に回復せず、失禁、意欲低下、周囲への無関心、発語が少ないなどの症状を残して、遷延した時（遷延性意識障害）は社会復帰が困難な場合が多い。このような症状に対して、従来の脳代謝賦活剤及び脳循環改善剤が用いられているが、必ずしも十分な効果は期待できない。

Vinpocetine は *Vinca minor* L. (キョウチクトウ科、ヒメツルニチニチ草) から抽出されたアルカロイド (Vincamine) の誘導体である。Vinpocetine は選択的脳血流量増加作用^{20, 21, 22)}、glucose の脳内取り込みの促進、脳内アミンの代謝回転の促進、脳虚血時の脳内 lactate 増加抑制作用及び adenosine triphosphate (ATP) 含量増加作用²³⁾などの脳代謝改善作用ならびに脳虚血保護作用²³⁾を有し、臨床的には脳梗塞後遺症、脳出血後遺症及び脳動脈硬化症に伴う症状の改善に

対して有用性が認められている。

そこで、Vincamine の薬理作用に注目し、apovincaminic acid の新規誘導体の合成研究を行った結果、脳循環改善作用が vinpocetine より優れている VA-045 [(+)-eburnamenine-14 carboxylic acid (2-nitroxyethyl) ester] を見出した。

VA-045 は vinpocetine と同様、脳循環改善作用及び脳保護作用を有し、さらに頭部外傷後の意識障害モデルにも有効であり、治療効果が期待できる化合物である。そこで本研究では apovincaminic acid の誘導体である VA-045 の薬理学的特徴を明確にすることを目的として、脳循環に対する作用、脳保護作用及び実験的意識障害モデルに対する改善作用を検討し、併せて作用機序の検討も行った。

(1) VA-045 の末梢循環及び脳循環に対する作用

VA-045 は麻酔イヌにおいて 0.03 ~ 0.3 mg/kg の静脈内投与で椎骨動脈血流量を用量依存的に増加させ、その増加の程度は総頸動脈血流量及び大腿動脈血流量の増加程度を上回った。一方、血圧及び心拍数は 0.3 mg/kg で有意に減少した。また、VA-045 は 0.03 ~ 1 mg/kg の静脈内投与で、大脳皮質血流量を用量依存的に増加したが、血圧は低下傾向を示すのみであった。Vinpocetine は 0.03 ~ 0.3 mg/kg で椎骨動脈血流量、総頸動脈血流量、大腿動脈血流量、血圧及び心拍数に影響しなかった。また、vinpocetine は 0.03 ~ 1 mg/kg で大脳皮質血流量を増加させる傾向がみられ、血圧は低下傾向を示した。Nicergoline は 0.01 ~ 0.1 mg/kg で椎骨動脈血流量、総頸動脈血流量、大腿動脈血流量及び心拍数に影響しなかったが、血圧を用量依存的に低下させた。Nicergoline は 0.01 ~ 0.1 mg/kg で大脳皮質血流量には影響せず、血圧を用量依存的に低下させた。

(2) VA-045 のウサギ摘出脳底動脈に対する作用

VA-045 10^{-9} ~ 10^{-5} M の添加で、histamine (10^{-6} M) による脳底動脈の収縮を濃度依存的に弛緩させた。また、VA-045 は histamine (10^{-6} M) + 15 mM K^{+} 及び等張性の high K^{+} (30 または 65 mM) による脳底動脈の収縮に対して弛緩作用を示したが、この作用は histamine 収縮に対してよりも高濃度を必要とした。一方、脳底動脈に対する VA-045 の弛緩作用は、5 種類の K^{+} チャンネル遮断薬 (10 mM : tetraethylammonium, 10^{-4} M : 4-aminopyridine, 10^{-6} M : charybdotoxin, 10^{-7} M : apamin 及び 10^{-6} M : glybenclamide) 及び guanylate cyclase の特異的拮抗薬 (10^{-5} M : methylene blue) で影響されなかった。

(3) VA-045 の脳保護作用 (マウスの normobaric hypoxia, histotoxic anoxia 及び complete ischemia)

VA-045 は 0.3 mg/kg 以上の静脈内投与で、いずれの方法においても有意な改

善作用を示した。一方、TRH は normobaric hypoxia 及び complete ischemia で有意な改善作用を示したが、histotoxic anoxia では無効であった。持続時間の検討では、normobaric hypoxia の場合、VA-045 は 120 分前投与で、complete ischemia の場合、VA-045 は 60 分前投与まで有意な改善効果を示した。一方、TRH は両試験法において、10 分前投与では有意な改善効果を示したが、30 分前投与では、無効であった。

(4) VA-045 の意識障害に対する作用

VA-045 0.1 ~ 1 mg/kg の静脈内投与でラットの pentobarbital 誘発睡眠を用量依存的に短縮し、その作用は TRH より強力であった。VA-045 0.03 ~ 0.3 mg/kg の静脈内投与はマウスの頭部衝撃後の正向反射回復時間を短縮させなかったが、自発運動回復時間を用量依存的に短縮した。一方、TRH は正向反射回復時間及び自発運動回復時間を短縮させたが、用量依存性は認められなかった。VA-045 は自発運動回復時間を 120 分前投与でも短縮させたが、TRH は 10 分前投与のみで有効であった。VA-045 0.3 ~ 3 mg/kg の腹腔内投与は脳虚血による神経障害を改善した。一方、TRH 1 ~ 10 mg/kg の腹腔内投与でのみ脳虚血による神経障害を改善した。また、脳虚血による受動的回避反応の step through latency の短縮に対して VA-045 0.3 ~ 3 mg/kg の腹腔内投与は step through latency を延長させたか、TRH 1 ~ 10 mg/kg の腹腔内投与では延長作用は認められなかった。VA-045 0.3 ~ 3 mg/kg の静脈内投与は自発運動量に影響しなかったが、TRH 10 mg/kg の静脈内投与は自発運動の増加を示した。

(5) ラットの頭部衝撃モデルに対する作用

VA-045 0.1 ~ 1 mg/kg の静脈内投与は頭部衝撃による自発運動消失時間及び正向反射消失時間を短縮した。また、この作用は TRH より 3 倍強力であった。VA-045 1 mg/kg の静脈内投与で頭部衝撃による受動的回避学習反応の step through latency の短縮を延長したが、TRH 3 mg/kg の静脈内投与では延長作用は認められなかった。VA-045 0.3 ~ 10 mg/kg の静脈内投与は scopolamine による受動的回避学習反応の step through latency の短縮には影響しなかった。VA-045 0.1 ~ 1.0 mg/kg の静脈内投与は頭部衝撃による体性感覚誘発電位の振幅の減少を改善したが、TRH 3 mg/kg の静脈内投与ではこのような作用は示さなかった。

(6) 老齢ラットの頭部衝撃による神経障害に対する作用

21 ~ 28 箇月齢のラットにおいて VA-045 1 及び 3 mg/kg の腹腔内投与で頭部衝撃による持続的な体重減少及び神経障害を改善したが、TRH 10 mg/kg の腹腔

内投与は無効であった。また、VA-045 は bean balance task の保持時間の減少を有意に改善したが、TRH は無効であった。

(7) ラットの中樞 noradrenaline 作動性神経に対する作用

VA-045 1 mg/kg の静脈内投与で頭部衝撃による神経障害の改善作用は、選択的 noradrenaline 神経毒の DSP4 の前処置で消失した。また、VA-045 1 mg/kg の静脈内投与では前脳皮質及び青斑核の細胞外 noradrenaline 濃度に影響しなかったが、adrenaline α_2 受容体アゴニストである clonidine による前脳皮質及び青斑核の noradrenaline 遊離抑制作用に対しては、拮抗作用を示した。

以上の結果をまとめると、VA-045 は経口投与、静脈内投与及び腹腔内投与で頭部外傷あるいは脳血管障害によって生じる意識障害（神経症状、体性感覚誘発電位の振幅減少及び受動的回避学習能障害）を改善した。また、VA-045 はこれら作用の他に pentobarbital 麻酔拮抗作用、抗アノキシア作用及び脳血管弛緩作用による脳循環改善作用を示した。VA-045 の作用は TRH より強力かつ持続的であった。なお、VA-045 による頭部外傷の意識障害の改善は noradrenaline 神経を DSP4 で破壊することにより消失すること、また、VA-045 は正常なラット noradrenaline 遊離に作用を示さず、noradrenaline α_2 受容体アゴニスト (clonidine) による noradrenaline の遊離抑制のみに拮抗することから、VA-045 は中枢 noradrenaline 作動性神経系を活性化させることにより意識障害を改善することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

Vincamior L. (キョウチクトウ科、ヒメツルニチニチ草) から抽出されたアルカロイド vincamine の誘導体である vinpocetine は、脳代謝改善作用ならびに脳虚血保護作用を有し、臨床的には脳梗塞後遺症、脳出血後遺症及び脳動脈硬化症に伴う症状の改善に対して有用性が認められている。そこで、vincamine の神経薬理作用に注目し、apovicaminic acid の新規誘導体の合成研究を行った結果、脳循環改善作用が vinpocetine より優れている VA-045 [(+)-eburnamenine-14-carboxylic acid 2-nitroxyethyl ester] を見出した。

VA-045 は、vinpocetine と同様、脳循環改善作用及び脳保護作用を有し、さらに頭部外傷後の意識障害モデルにも有効であり、治療効果が期待できる化合物である。本研究では VA-045 の神経薬理学的特徴を明確にすることを目的として、脳循環に対する作用、脳保護作用及び実験的意識障害モデルに対する改善作用を吟味し、併せて作用機序の検討も行った。なお、対照薬には、意識障害改善作用を有するといわれている TRH を用いた。

VA-045 は、経口投与、静脈内投与及び腹腔内投与で頭部外傷あるいは脳血管障害によって生じる意識障害（神経症状、体性感覚誘発電位の振幅減少及び受動的回避学習能障害）を改善した。また、VA-045 はこれら作用の他に pentobarbital 麻酔拮抗作用、抗アノキシア作用及び脳血管弛緩作用による脳循環改善作用を示した。VA-045 の作用は、TRH のそれより強力かつ持続的であった。なお、VA-045 による頭部外傷の意識障害の改善は、noradrenaline 神経を DSP 4 で破壊することにより消失すること、また、VA-045 は正常なラット noradrenaline 遊離に作用を示さず、noradrenaline α_2 受容体アゴニスト (clonidine) による noradrenaline の遊離抑制のみに拮抗することなどから、VA-045 は中枢 noradrenaline 作動性神経系を活性化させることにより意識障害を改善することが示唆された。

以上のごとく、本研究は VA-045 の神経薬理学的特徴を明らかにしたものである。内容に多くの新知見を含むばかりか、記述は正確、かつ表現も適正であり、博士（薬学）論文として十分に価値あるものと認める。