

氏名	たか もり よし もり 高 森 吉 守
学位の種類	博士 (工学)
学位記番号	甲第174号
学位授与年月日	平成17年 3月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Fundamental Studies on D-Glucosamine Hydrochloride and Related Carbohydrates (D-グルコサミン塩酸塩及び関連糖質に関する基礎的研究)
学位論文審査委員	(主査) 重政好弘 (副査) 小西久俊 齋本博之 森本稔

### 学位論文の内容の要旨

アミノ糖である D-グルコサミンは、結合組織や胃腸粘膜の糖タンパクの構成成分として広く分布する。また関節軟骨を構成するグリコサミノグリカンの形成単位となる二糖の繰り返しユニットの前駆体である。D-グルコサミンは生体内において D-グルコースを出発物質としてさまざまな酵素反応を経て合成される。工業的には、N-アセチル-D-グルコサミンからなる多糖であるキチンを酸加水分解することにより調製され、塩酸塩、硫酸塩の二種類の形状で供給される。硫酸塩はイタリアの製薬会社が最初に医療分野の研究用に調製し、占有権を持っている。一方、塩酸塩は公知の物質であり日本を含むその他の多くの地域で使用されている。

変形性関節炎は腕、脚、背骨、尻、かかとなどの関節軟骨が変形して起こる疾病で、炎症を引き起こし、関節軟骨組織の減少につながる。成人人口の半数以上がこの疾病にかかっているとされ、発生率は年齢とともに増加する。軟骨層は関節の骨の末端をカバーしており、衝撃を緩和し、互いの摩擦に対してクッションの役割を担い、関節の曲げや柔軟性に寄与している。この関節軟骨が退化しクッションが失われた結果、骨が互いにすり合わされる。これは関節に更なるダメージを引き起こし、激しい痛みや腫れを伴い、棘状骨を成長させる。関節炎の薬物療法としては、アセトアミノフェンや非ステロイド系抗炎症剤を使用することにより、関節の痛みや炎症を減少させている。しかしながら、これらの薬剤は関節の退化や関節炎により引き起こされた関節の損傷を修復する効果はない。さらに非ステロイド系抗炎症剤は自然治癒を阻害し、強い副作用を示し関節軟骨の損傷を加速することが知られている。

Roden は D-グルコサミン硫酸塩がグリコサミノグリカン基質でありその生合成を促進することを実証した。また、加齢に伴い D-グルコサミンの生合成は衰えてくるが、いくつかの研究では、D-グルコサミンの経口投与により関節炎に対する顕著な治療効果が確認されている。これら

のことより D-グルコサミンが非ステロイド系の抗炎症剤に代わる関節炎の新薬となることが期待されているが、体内動態に関する知見は少ない。そこで本研究では D-グルコサミンの体内動態について検討を行った。

一般に、糖質とアミノ基は容易にシッフ塩基を形成し、更にアマドリ転移など多くの転移反応や脱水反応を経て、最終的には褐変物質を含む様々な分解物を生成する。D-グルコサミンはアミノ基を有するため、固体状態や酸性水溶液中では安定であるが、生理的な pH 領域においては不安定となり、先に述べた反応が D-グルコサミン単独で起こり、揮発性や不揮発性の化合物を含む褐変物質などの分解物を生じる。このような分解反応は D-グルコサミンの製造者や使用者にとって好ましくない。しかしながら、D-グルコサミンの自己分解物の主生成物の一つに、DNA 鎖切断などの活性を持ったフルクトサジン類が報告されており、D-グルコサミンの分解生成物が有用な生理活性を有することが期待される。そこで本研究では、D-グルコサミンの分解生成物の抗酸化性について検討を行った。

D-グルコサミンの分解生成物の一つにフルクトースがある。このフルクトースはさらに分解されてトリオースやテトルオースが生成する。これらの糖質は生理活性物質を合成するための鍵物質となる。しかしながら、一般に水酸基のように同じ反応性をもつ置換基を多く持つ糖質においては、保護反応は容易ではない。そこで保護することなく選択的に反応可能とする方法の開発が期待された。そこで本研究では、トリオースの一つである 1,3-ジヒドロキシアセトンの  $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和アルデヒドまたはケトンとの選択的な反応性について検討を行った。

この論文は次の 3 章からなる。

第一章は、関節症の治癒機構を明らかにするため、経口投与におけるヒト血清中の D-グルコサミン量の薬物動態を、パルス型電気化学検出器を用いたポストカラム HPLC 法により検討した。この研究により経口投与された D-グルコサミン塩酸塩は速やかに吸収されることを見出し、関節軟骨を含む器官へと拡散されることが示唆された。

第二章は、様々な pH の溶液中における D-グルコサミンの自己分解物について検討した。中性領域において、3 つの主生成物が検出された。それらを単離同定した結果、それぞれの化合物はフルクトース、フルクトサジン、デオキシフルクトサジンであることを明らかにした。さらにフルクトサジン、デオキシフルクトサジンには抗酸化活性があることを明らかにした。

第三章は、トリオースである 1,3-ジヒドロキシアセトンの  $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和アルデヒドまたはケトンとの反応性について検討した。その結果、NaOH または KOH 水溶液中ワンポット反応でテトラヒドロフラン誘導体が生じることを明らかにした。さらにこの反応は保護することなく L-(S)-エリスロースと 2-シクロペンテノンから三環状テトラヒドロフランを選択的に合成する反応にも適用可能であった。

## 論文審査の結果の要旨

アミノ糖である D-グルコサミンは、結合組織や胃腸粘膜の糖タンパクの構成成分として広く分布する。また関節軟骨を構成するグリコサミノグリカンの繰り返しユニットとなる二糖の前駆体である。D-グルコサミンは生体内において D-グルコースを出発物質としてさまざまな酵素反応を経て合成される。工業的には、カニ殻、エビ殻等に含まれるキチンを酸加水分解することにより調製され、塩酸塩、硫酸塩の二種類の形状で供給される。D-グルコサミン硫酸塩はイタリアの製薬会社が最初に医療分野に応用し、占有権を持っている。一方、D-グルコサミン塩酸塩は公知の物質であり、日本を含むその他の多くの地域で使用されており、物質としては特許上の制約が無いことから、将来的な発展が期待できる。本学位論文は、関節症の治癒を志向して D-グルコサミンを投与したとき、その血中濃度を簡便に評価する「新規定量方法」を開発し、また、D-グルコサミン分解物の物性検討において、分解物の抗酸化性を見出し、D-グルコサミン塩酸塩及びその関連物質の定量、物性、利用に関する基礎的な研究を進展させたものである。

D-グルコサミン投与と関節症の治癒との関係を検討するため、経口投与におけるヒト血清中の D-グルコサミン量の薬物動態を評価するには、放射性同位体を用いる高感度定量法が知られているが、実験設備の点で実用的ではなかった。今回、パルス型電気化学検出器を用いたポストカラム HPLC 法により、血清中の D-グルコサミンを簡便に感度良く定量できる方法を開発した。この方法を利用して、経口投与された D-グルコサミン塩酸塩は体内に吸収され、関節軟骨を含む器官へと拡散されると考察している。

次に、様々な pH の溶液中における D-グルコサミンの分解挙動について検討している。中性領域においては、分解は速やかに進み、主分解生成物はフルクトース、フルクトサジン、デオキシフルクトサジンの 3 つであることを明らかにした。さらにフルクトサジン、デオキシフルクトサジンにはリノール酸の酸化を抑制する効果があることを見出している。関節症の治癒との関係は未解明であるものの、抗酸化剤として新しい化合物群の提案につながる成果といえる。その他に、D-グルコサミンの分解、代謝産物である三炭糖の新規な付加・環化反応も発見している。

以上、本論文は、バイオマス資源に由来する D-グルコサミン塩酸塩及び関連糖質に関する新しい領域を開拓し、今後の資源循環型社会における天然機能性分子の利用について重要なコンセプトを与えるものとして高く評価できる。よって本論文は、博士（工学）の学位論文に値するものと認められる。