

論文の内容の要旨

氏名：町田 翔太

博士の専攻分野の名称：博士（薬学）

論文題名：環状 polyol を基盤とした gallotannin 誘導体の合成と抗酸化活性及び α -glucosidase 阻害活性評価

序章

Gallotannin は polyol に gallic acid (没食子酸) が縮合した天然物の総称であり、代表的な化合物として pentagalloyl glucose (PGG) や tannic acid などがある。なかでも ellagitannin 類は糖に結合した 2 分子の gallic acid が酸化的にカップリングした hexahydroxydiphenoyl (HHDP) 基と呼ばれる特徴的な macrolactone 構造を有しており、代表的な化合物に tellimagrandin I がある (Figure 1)。Gallotannin や ellagitannin には、polyol コア構造の違いや polyol コア上の gallic acid の数、結合位置の違いなどによって非常に多くの類縁体が存在しており、多様な生物活性を有することが知られている。また、コアの polyol は多くの場合 D-glucose であるが、*Acer* 属植物からはコアの polyol としてユニークな anhydroalditol を有する gallotannin が単離されている。例えば、*Acer ginnala* から単離された acertannin は、1,5-anhydro-D-glucitol (1,5-AG) をコアにもつ gallotannin として初めて報告された化合物であり、高血糖抑制作用や ceramidase 阻害作用などの生物活性を有している。1,5-Anhydroglucitol (1,5-AG) は植物界を中心に広く分布する環状 polyol の一種であるが、興味深いことに我々の血液中にも存在しており、糖尿病の重症度を知るバイオマーカーとして用いられている。糖の hemiacetal 性ヒドロキシ基を欠いている点が、1,5-AG を含む anhydroalditol 類の構造上の特徴であり、anomer 異性体が存在しないことから化学的に安定である。すなわち anhydroalditol 類は、糖に特有の豊富な不斉を有する安定な環状エーテル型 polyol と見なすことができる。

本研究では、この多彩な立体構造をもつ環状 polyol に着目し、網羅的的化学合成により非天然型 gallotannin 誘導体を含む化合物ライブラリーの構築をおこなうとともに、抗酸化活性及び α -glucosidase 阻害活性に焦点を当て、合成化合物の構造と活性の相関について検討を行なった。

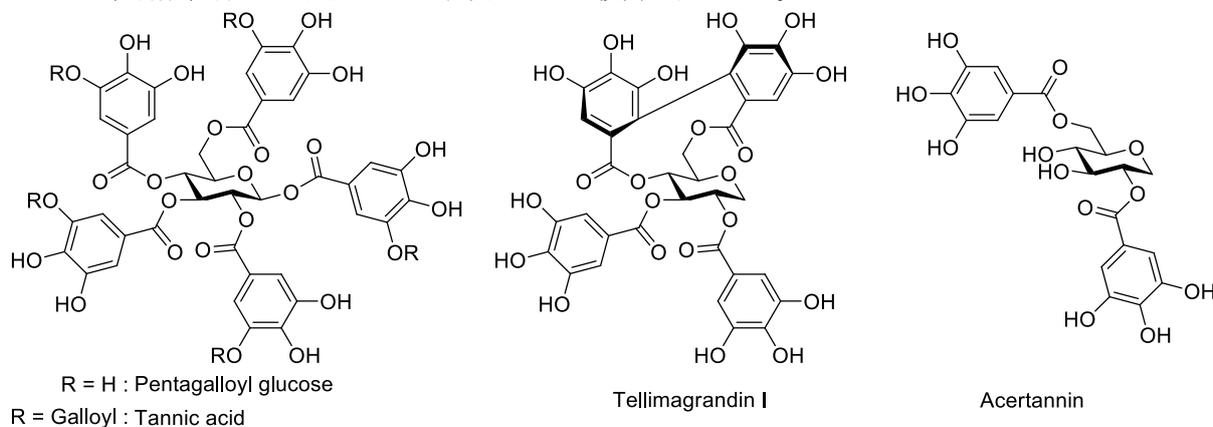


Figure 1 代表的な gallotannin の構造

第1章 環状 polyol 類の合成

当研究室ではこれまで、出発物質である alditol 類のヒドロキシ基を trimethylsilyl (TMS) 基で保護した後、活性化試薬として trimethylsilyl iodide (TMS-I) を用いて反応系中で glycosyl iodide へと活性化し、還元・脱保護することで対応する六員環構造を有する 1,5-anhydroalditol 類が得られる簡便合成法を見出した。この方法を用いて、alditol (D-glucose、D-mannose、D-galactose、D-xylose、L-rhamnose、L-fucose) を出発物質に、対応する 1,5-anhydroalditol を 10g スケールで合成した。さらに得られた 1,5-anhydroalditol を官能基変換することで、2-deoxyamino-1,5-AG や 6-deoxyamino-1,5-AG といった amino 基を含む環状 polyol (aminocyclitol) へ、それぞれ 22%、78% の収率で変換可能であることを見出した。続いて、五員環構造を有する 1,4-anhydroalditol や二糖類、さらに D-glucuronic acid への適用を試みた。その結果、1,4-anhydroalditol の合成では D-arabinose を原料として用いて検討を行い、かさ高い silyl 基を用いて 1 級 hydroxy 基を選択的に保護し分子構造を五員環 (furanose) 型に固定する工程を加えることで、目的物が得られることを明らかにした。一方、二糖である D-maltose および D-glucuronic acid を出発物質として用いた場合、安定性の問題から保護

基を TMS 基から acetyl (Ac) 基へ変更することで目的物が合成可能であることを見出した。Ac 基は TMS 基と比べ、脱保護ににくいという欠点があるが、従来法と同じく容易に glycosyl halide へ変換することが可能であり、生成した glycosyl halide を還元することで対応する環状 polyol を総収率 42~58%で得ることができた。

第2章 環状 polyol をコアにもつ gallotannin 及びその誘導体の合成

Gallotannin は polyol と galloyl 基で構成され化学構造が比較的類似しているが polyol コアに結合した gallic acid の数や結合位置によって生物活性が異なることが知られている。また、gallotannin の中には前述の acertannin に代表されるように限られた植物のみが産生するものもあり、入手の困難さが構造活性相関の詳細な検討を困難にしている。そこで、非天然型を含めた gallotannin の安定供給および化合物ライブラリーの構築を目的に、gallotannin 類の網羅的合成を試みた。すなわち、D-glucose より大量調製が可能となった 1,5-AG を原料として用いて、hydroxy 基への選択的 benzyl (Bn) 保護を行い任意の位置に gallic acid を縮合させ、最終段階において接触還元によりすべての Bn 基を脱保護することで目的とする 15 種類の天然および非天然の gallotannin 誘導体を得た。また、フェノール性 hydroxy 基の位置と数についても検討を加えるため、gallic acid (3',4',5'-trihydroxybenzoic acid) のみならず 3',4'-dihydroxybenzoic acid や 3',5'-dihydroxybenzoic acid を用いてその誘導体の合成を試みた。さらに、アミド結合をもつ gallotannin 誘導体、HHDP 基をもつ非天然型 ellagitannin 誘導体、1,5-AG 以外の 1,5-anhydroalditol 類をコアにもつ gallotannin 誘導体に加え、環状 polyol として各種 inositol 類を原料として用いることで、計 36 種類の gallotannin 誘導体の合成に成功した (Figure 2)。

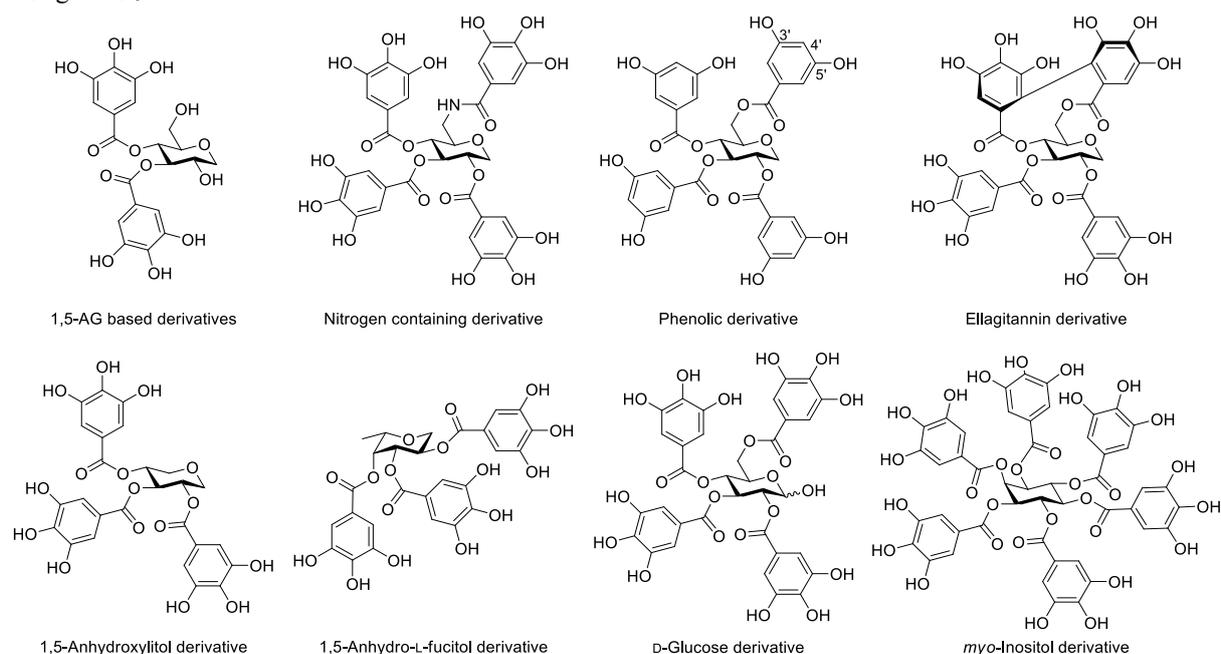


Figure 2 合成 gallotannin 誘導体の例

第3章 環状 polyol をコアにもつ gallotannin 及びその誘導体の抗酸化活性と α -glucosidase 阻害活性評価

食後に現れる著しい高血糖状態は食後高血糖と呼ばれ耐糖能異常状態を示しており、動脈硬化など心血管疾患に繋がる。現在食後高血糖を抑える医療用医薬品として acarbose や miglitol、voglibose などの α -glucosidase 阻害薬が用いられる。Gallotannin 類には、*in vitro* または *in vivo* にて α -glucosidase 阻害作用に由来する高血糖抑制作用があることが報告されており、フェノール性 hydroxy 基を有することから抗酸化活性を有することも知られている。天然型 gallotannin については、抗酸化活性ならびに α -glucosidase 阻害活性に関する報告があるものの、構造に含まれる galloyl ユニットの数や立体的配置を含めた構造活性相関の詳細な検討はこれまで行なわれていない。本研究では網羅的に作成した合成化合物ライブラリーを用いて、gallotannin 類の構造の違いがこれらの活性に与える影響について比較検討を行なった。

その結果、抗酸化活性は polyol コアの立体構造による影響はみられず、galloyl ユニットの数に比例して

抗酸化作用が強くなる傾向が見られ、分子内に galloyl ユニットを 10 個もつ tannic acid が最も強い抗酸化活性 ($EC_{50}=2.84 \mu\text{M}$) を示した。また、興味深いことに galloyl ユニットよりもフェノール性 OH が 1 つ少ない 3',4'-dihydroxybenzoyl ユニットをもつ誘導体が galloyl ユニットをもつ誘導体と同程度の抗酸化活性を示したのに対し、位置異性体である 3',5'-dihydroxybenzoyl ユニットをもつ誘導体においては抗酸化活性が著しく低下した。Yeast 由来の α -glucosidase 阻害活性では、tannic acid やイノシトール誘導体に nmol レベルの強い阻害活性が認められた。また、アミド結合をもつ誘導体や 1,5-AMan 誘導体が 1,5-AG 誘導体の約 2 倍近い阻害活性を示すなど、立体構造や polyol コアの影響が見られた。抗酸化活性とは異なり、tannic acid よりも galloyl ユニットの数が少ない myo-inositol 誘導体が最も強い阻害活性 ($IC_{50}=0.110 \mu\text{M}$) を示した。一方、Rat 由来の α -glucosidase を用いた阻害活性においては、PGG が最も強い活性 ($IC_{50}=0.336 \mu\text{M}$) を示した。一方で、HHDP 基をもつ化合物はもたないものと比較して活性が低下しており、HHDP 基による galloyl ユニットの空間的な配置の固定は、rat 由来の α -glucosidase 阻害活性に影響を与えることが示唆された。また、アミド結合により galloyl ユニットと縮合した誘導体や 1,5-AMan 誘導体については、yeast 由来の α -glucosidase 阻害活性の場合と異なり、1,5-AG 誘導体の半分程度となった。以上の結果より、gallotannin 類における α -glucosidase の阻害活性発現には必ずしも galloyl ユニットの数が重要ではなく、その 3 次元的な配置が活性に影響を与えることが示唆された。

総括

本研究ではまず、glycosyl halide を鍵反応中間体に、グラムスケールで得られる 1,5-anhydroalditol 類を官能基変換することで、aminocyclitol 類を合成できることを見出した。加えて、五員環構造をもつ 1,4-anhydroarabinitol ならびに二糖や D-glucuronic acid 由来の環状 polyol 誘導体が合成可能であることを明らかにした。本研究で確立された合成法は、天然物誘導体の合成だけではなく、医薬品開発における新たなキラルビルディングブロックや有機不斉触媒等への適用が期待されるものである。次に、生物活性天然物として自然界に広く存在する gallotannin に着目し、環状 polyol を基盤とした各種 gallotannin 類の安定的供給法の確立および化合物ライブラリーの構築を目的に、天然型・非天然型を含む 36 種類の gallotannin 誘導体の網羅的合成研究を行なった。合成により得られた化合物の抗酸化活性および α -glucosidase 阻害活性に着目し、構造と活性について比較検討を行なった結果、以下の知見を得た。①抗酸化活性については、galloyl ユニットの数と比例し活性が強くなった。②Yeast 由来の α -glucosidase 阻害活性の検討では、galloyl ユニットの数の増加に伴い強くなる傾向があるものの、polyol コアの違いによっても活性が異なっていた。③Rat 由来の α -glucosidase 阻害活性では、強い活性の発現には必ずしも galloyl 基の数が重要ではなく、立体的な galloyl ユニットの配置が重要である可能性が示唆された。

本研究により得られた成果は、環状 polyol を基盤にした新たな生物活性物質のデザイン・開発研究および gallotannin 類の多様な構造が生物活性に与える影響の解明に寄与できるものと考えられる。