

氏名(本籍)	瀬 谷 和 彦
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	薬博第 180 号
学位授与年月日	平成元年 3月24日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科専門課程	東北大学大学院薬学研究科 (博士課程)製薬化学専攻

学位論文題目	活性酸素酸化を応用した連翹成分の構造決定と生合成的変換
--------	-----------------------------

論文審査委員	(主 査) 教授 南 原 利 夫	教授 野 副 重 男
		教授 高 野 誠 一

論文内容要旨

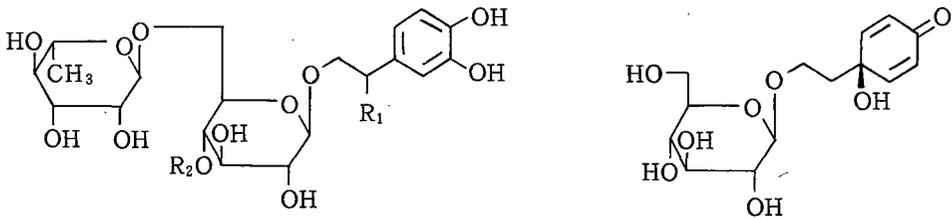
地球に生命が誕生してから約30億年、酸素は生物進化の上で重要な役割を果たしてきた。そして、酸素大気の中で生活する生物にとって活性酸素とのかかわり合いを避けることはできない宿命にある。活性酸素は生理的に重要な代謝に寄与し、殺菌および抗癌作用において重要な役割を果たす一方、無差別的な生体組織の酸化で傷害を与えることもある。しかし、生体内における酸素酸化反応そのものの実態はまだ十分に把握されてはいない。

筆者は漢薬連翹の成分研究を行ってきたが、この過程でそれらの生合成経路に多くの酸素酸化反応が関与していることを知ったので生体内におけるこの反応について何らかの知見が得られることを期待すると同時に薬理活性試験の材料補給もかねて酸素酸化反応を中心に据えた合成による構造決定を行ってきた。

「連翹」はモクセイ科 (Oleaceae) のレンギョウ (*Forsythia suspensa* Vahl) の果実で利尿・排膿・消腫・解毒などの作用があるとされ、荊芥連翹湯・防風通聖散などに配剤される漢方の要薬である。

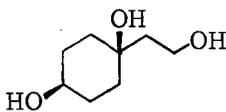
最近、遠藤らは和漢薬の薬理活性成分研究の一環として連翹の抗菌成分を検索し、その活性本体としてforythoside類(1-3)を単離し¹⁾、さらにこれら活性成分の非糖部と代謝的に深い関連があると思われるシクロヘキシルエタノール誘導体, rengyol(4), rengyoxide(5) およびrengyolone(6)の構造を決定し、同時に既知成分としてcornoside(7)も本植物から同定した。

筆者はこれらのC₆-C₂単位の化合物がshikimic acidを起源とするフェニルプロパノイドから誘導されるものと考えた。そこでC₆-C₂型化合物の生合成についてより多くの知見を得るためにさ

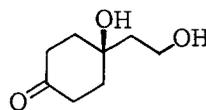


forsythoside A (1) : R₁ = H, R₂ = caffeoyl
 forsythoside C (2) : R₁ = OH, R₂ = caffeoyl
 forsythoside D (3) : R₁ = OH, R₂ = H

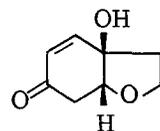
cornoside (7)



rengyol (4)

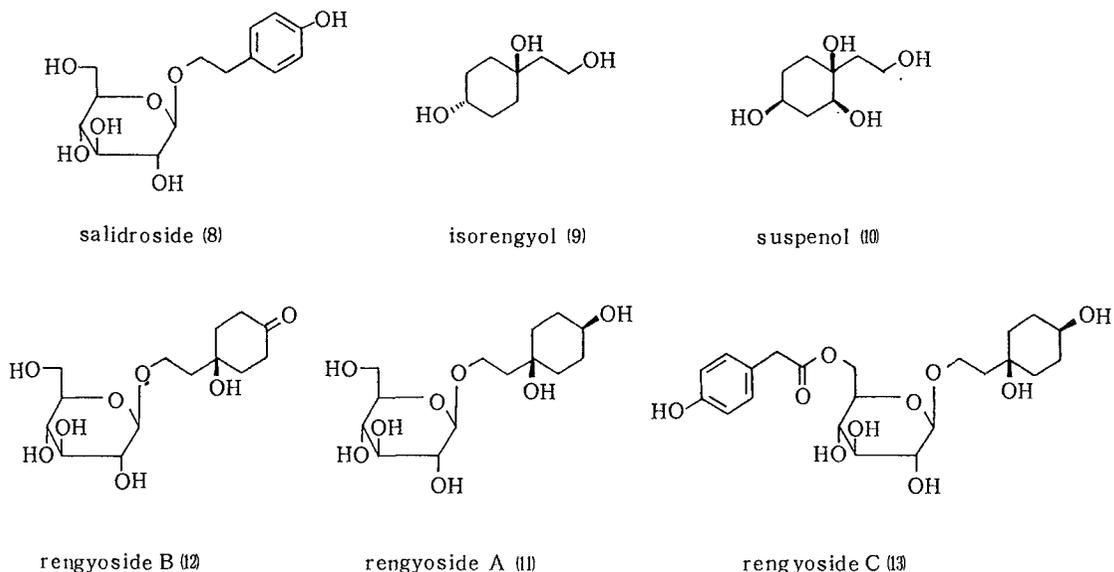


rengyoxide (5)



rengyolone (6)

らに成分の探索を行い、最も重要な先駆体であるsalidroside(8)を同定するとともに新しいシクロヘキシルエタノール誘導体であるisorengyol(9), suspenol(10) およびその配糖体rengyoside A, B, C (11, 12, 13)を単離し、それらの構造を決定した³⁻⁵⁾。これらの化合物はsalidroside(8)を起点とし、酸素酸化反応を経るrengyol(4)への生合成経路上にあることが容易に推定されたのでその仮定に沿った生合成様の化学変換を行った⁶⁾。

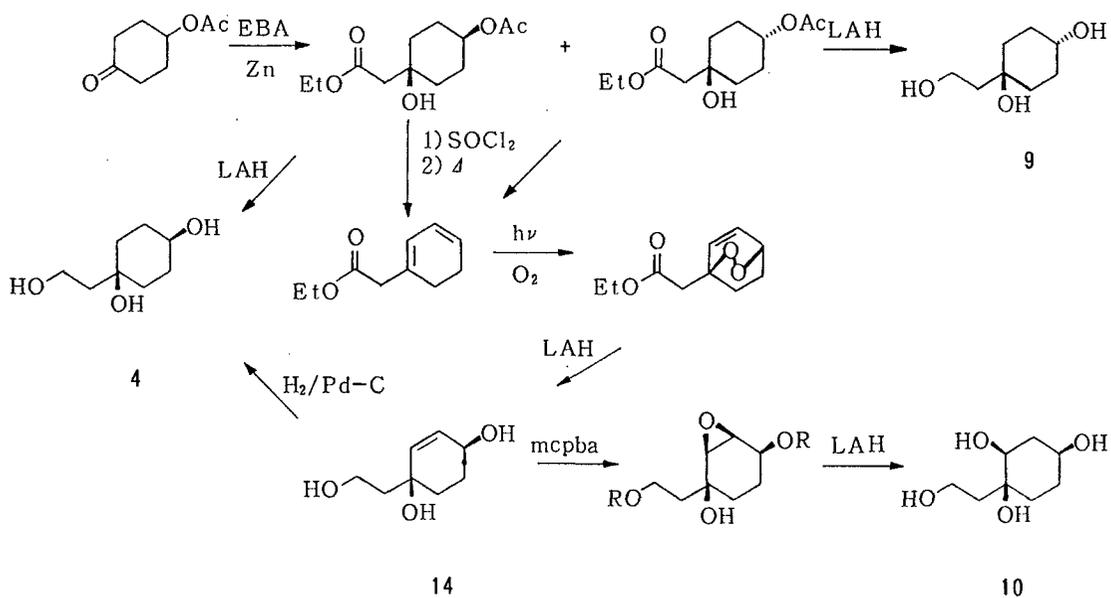


一方, suspenol(10)は光学活性体なのでその絶対構造を明らかにするために, L-tyrosineの光増感酸化反応を利用した(-)-suspenolのエナンチオ選択的合成を行い、その絶対構造を決定した⁷⁾。

新規な連翹成分の単離とその構造決定

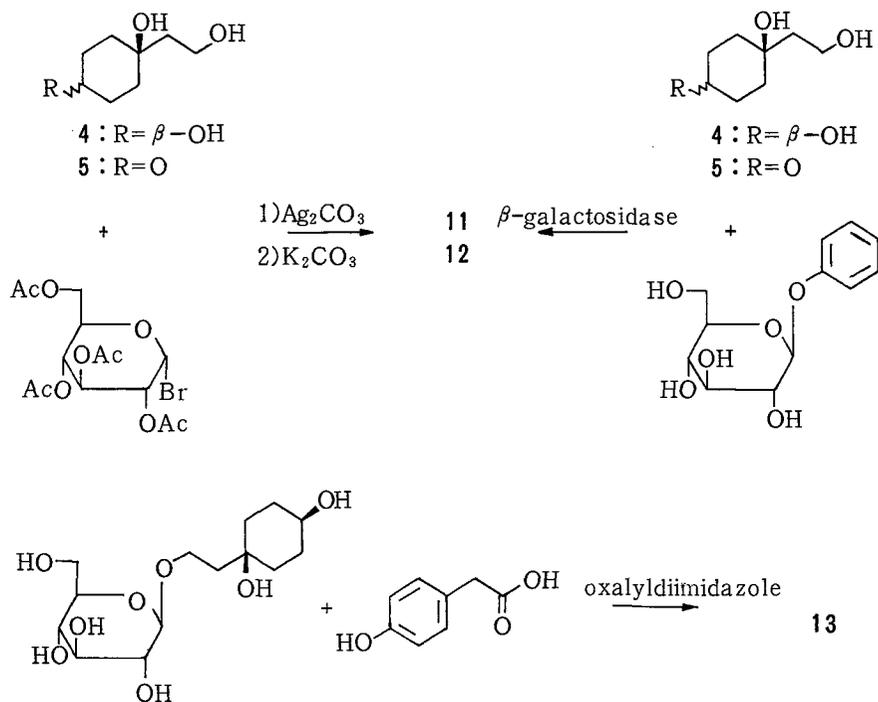
市販の生薬レンギョウのメタノールエキスを水と酢酸エチルで分配し、水層をn-ブタノールで抽出した。得られたn-ブタノール可溶画分をさらに各種クロマトグラフィーに付し、salidroside(8)とともに新物質としてisorengyol(9), suspenol(10)さらに新配糖体としてrengyoside A(11), B(12)およびC(13)を単離した。

これらは主として物理化学的データを基に構造を推定した。微量で得られた9は¹H NMRスペクトルによりrengyol(4)の4位のエピマーと推定されたが配座変動や分子内水素結合の可能性も考えられるためより信頼性の高いデータが必要と考え、Reformatsky反応を利用した両者の



直接的合成を行い、立体関係を明らかにした。さらに1,3-ジエンへの酸素のシス付加を経る4の立体選択的な合成によりrengyol(4)が1,4-シスジオール体であることを確定させた。

また, suspenol(10)をトリアセテートとして得、物理化学的データより4に水酸基が1個ついたものと推定したが、その水酸基の配置を確定させることが容易でなかったのでdl体の直接合成により決定した。



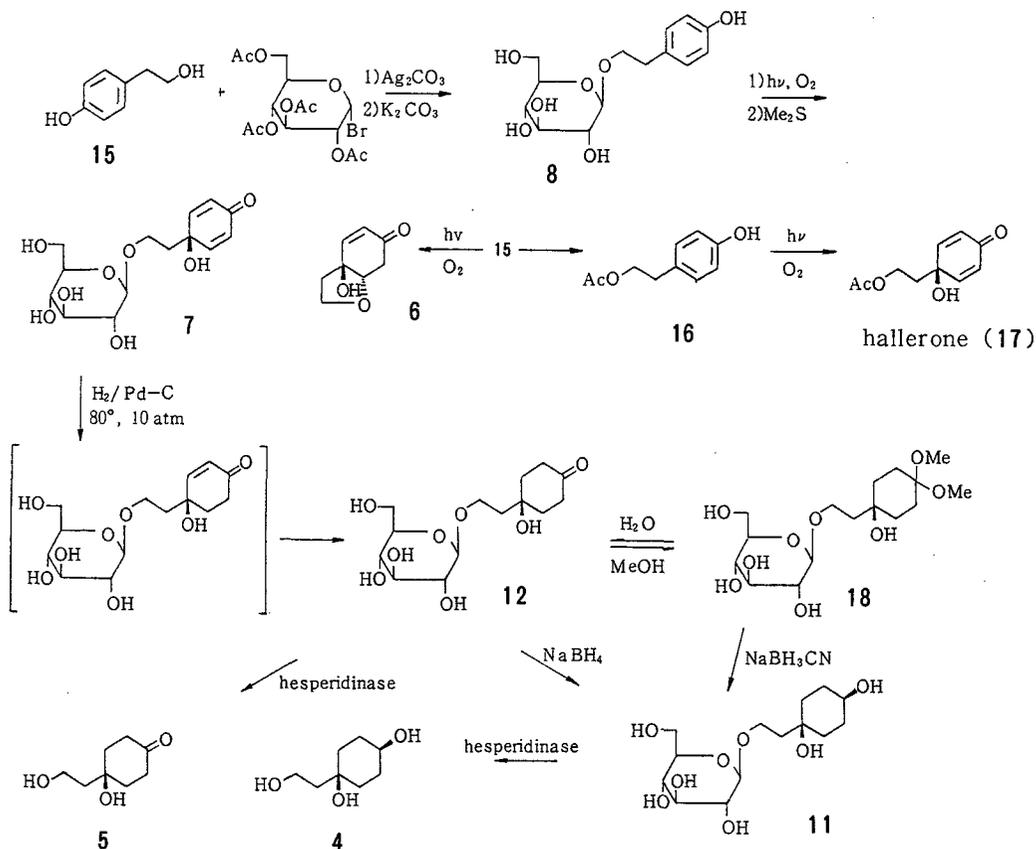
すなわち、2-dehydrorengyol(14) を立体選択的にシスエポキシドとしたのち、LAH還元することにより得られた成績体は10と一致した。

配糖体11, 12はKoenigs-Knorr法や β -galactosidaseを用いた縮合反応, さらに13はoxalyl-diimidazoleを助剤としたアシル化反応により合成し, それらのスペクトルデータの比較により構造を決定した⁵⁾。

連翹成分の生合成様の変換

まず, *p*-hydroxyphenylethanol(15) とacetobromoglucoseをKoenigs-Knorr法により縮合させ, 続くアルカリ加水分解により位置および立体選択的に生合成経路の起点であるsalidroside(8)を得た。

一般にフェノール類は光増感酸化反応により容易にキノール誘導体を与える。そこで8をRose Bengalを助剤として光増感酸化反応に付し, 収率よくcornoside(7)を得た。さらに同様の方法を適用し, 15からは分子内閉環反応を経由してrengyolone(6)を, また15のアセテート(16)から*Helleria lucida*の成分hallerone(17)に導くことができた。



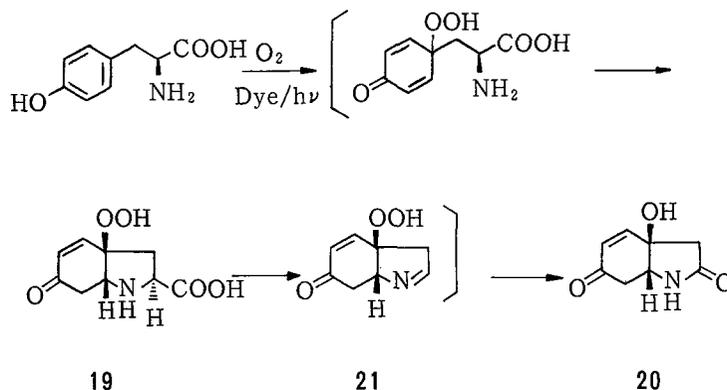
つぎに4の長時間の高圧接触還元を行い、rengyoside B(12)を得たが、メタノール溶液中での反応だったため、約半量がケタール体(18)に変化した。12および18をborohydride還元に付し、rengyoside A(11)を得た。11, 12の酵素加水分解により得られた成績体はそれぞれrengyol(4)およびrengyoxide(5)と一致した。これら一連の反応はシクロヘキシルエタノール誘導体への生合成経路を示唆するものと考えられる。

L-Tyrosineの光増感酸化反応を利用した(-)-suspenolのエナンチオ選択的合成

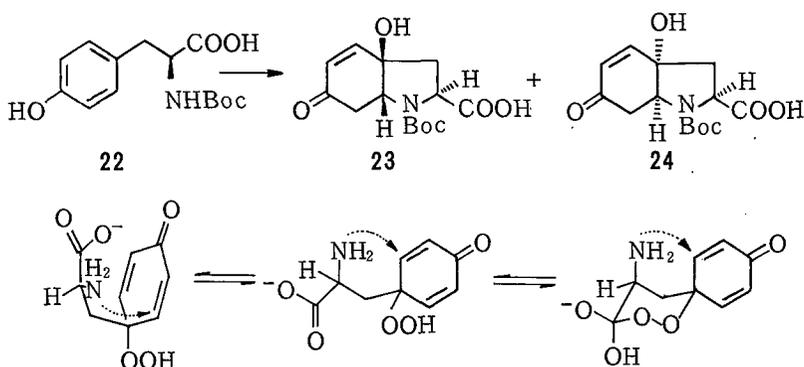
Suspenol(10)は光学活性体であるためそのベンゾイル体の2, 8位の相互作用に基づく弱い正のCotton効果($[\theta]_{235}^{120}$)により(1*S*, 2*S*, 4*S*)体と結論されたがそのことを裏付ける目的で10のエナンチオ選択的合成を行った。

原料としてフェノール構造をもつL-tyrosineを選び、光増感酸化反応により生ずるジエノン体の分子内環化反応によりキラリティーを六員環に反映させることを考えた。

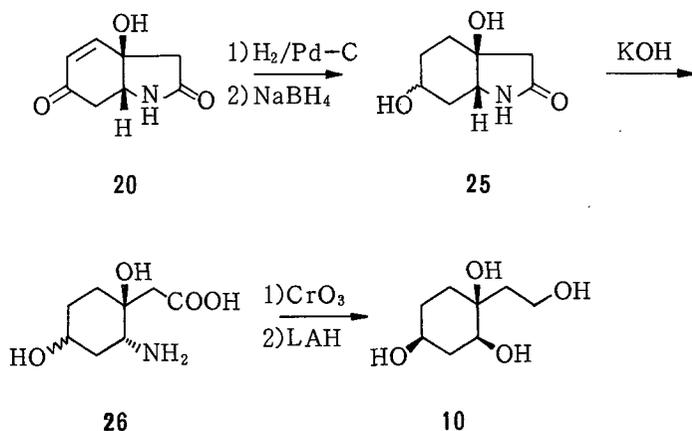
そこでL-tyrosineをRose Bengalを助剤として光増感酸化反応に付したところ、予想通り閉環体(19)も生じたが、さらに2段階の酸化が起こったと考えられるラクタム(20)が主成績体であった。ラクタム(20)の生成はDOPAからメラニンへの生合成反応と類似すると考えられたのでより詳細な検討を行ったところ、ピルビン酸共存下では20の生成が抑制され、ピローリン体(21)を与える一方t-ブチルヒドロペルオキシドの共存下ではより多量の20を生成することが知られた。このことからラクタム(20)の生成は増感剤および活性酸素により競争的に酸化されてラジカルイオンを生じ、ただちに脱炭酸して21となり、これが反応系内に共存する過酸化物によって酸化されて20に至るものと結論した。



20は光学的に純粋なもの ($[\alpha]_D -138^\circ$, $[\theta]_{229} -58800$) として得られたがN-Boc-tyrosine (22) を同条件下で処理すると置換基の立体障害によりアミノ基の酸化が抑制され、環化生成体 23, 24を与える。この結果は20に至るエナンチオ選択性がおそらく図に示すようなカルボン酸とジェノンの間の静電的な相互作用に起因し、22の場合にはかさ高い保護基のため遷移状態でのアキシャル様の配置を不安定化して立体選択性を減少させるものと考えられる。



L-Tyrosineの光増感反応の結果、suspenol(10) の合成に都合のよいC₆-C₂型骨格をもつラクタム (20) を得ることができたので、これを2段階の還元により25とした。ついでこのものをアルカリ加水分解してアミノ酸26を得、さらにLAH還元を付して、光学活性な (-)-suspenol(10) へ導いた。



結 語

筆者は連翹に含まれるrengyol(4) に代表されるC₆-C₂型化合物の生合成経路に関する興味からさらに成分検索を行い、微量ながら新たに2つの新多価アルコール, isorengyol(9), suspenol (10) および3つの新配糖体rengyoside A(11), B(12)およびC(13) を単離し、それらの構造を

明らかにした。さらに構造上関連性の高い化合物について生合成経路の一つの仮説を提案し、それに従って化学変換を行った。

以上の結果は連翹中に共存する様々なC₆-C₂型化合物、例えばforsythoside類の生合成にまで応用できると考えられる。また筆者の研究においてフェノール類の光増感酸素化反応による成績体はほとんどが強い抗菌活性を示すことが知られた。

またこれらの化学変換の中で筆者は活性酸素種、特に一重項酸素を用いた光増感酸素化反応を取り入れた。この酸素酸化反応をL-tyrosineに適用しエナンチオ選択的なインドリン骨格の誘導を行い、さらにsuspensolに導くことができた。

一重項酸素の生体内における役割は一重項酸素自体の確実な検出法がなくほとんど検討されていない。最近になって一重項酸素が抗癌剤ブレオマイシンの活性発現において重要な役割を果たすことが明らかになり、さらに光増感反応を用いた癌細胞破壊による治療も行われ、効果をあげている。

本研究で一重項酸素による反応が生体成分の相互変換に密接な関連性をもつことが実証されたことは一重項酸素およびその酵素錯体が生体内で種々の重要な役割を担っていることを強く示唆するものである。最近、一重項酸素の緩和過程での発光現象(1270nm)を利用した検出法が開発されている。今後の研究の進展が待たれるところである。

References

1. K. Endo, K. Takahashi, T. Abe and H. Hikino, *Heterocycles*, 16, 1131 (1981); K. Endo and H. Hikino, *ibid.*, 19, 2033 (1982).
2. K. Endo and H. Hikino, *Can. J. Chem.*, 62, 2011 (1984).
3. K. Endo, K. Seya and H. Hikino, *Tetrahedron*, 43, 2681 (1987).
4. K. Endo, K. Seya and H. Hikino, 第29回天然有機化合物討論会講演要旨集, 札幌市, 1987, p660; *Chem. Abstracts*, 109, 110788q (1988).
5. K. Seya, K. Endo and H. Hikino, *Phytochemistry*, 28, 1495 (1989).
6. K. Endo, K. Seya and H. Hikino, *Tetrahedron*, in press.
7. K. Endo, K. Seya and H. Hikino, *J. Chem., Soc., Chem. Commun.*, 934 (1988).

審査結果の要旨

連翹は、日本薬局方にも収載されている漢方の重要生薬で、排膿、消腫、解毒などの目的で使用される。これまでも薬理学的および化学的な多くの研究対象として取り上げられ、抗菌、利尿、強心などの生物活性や、その作用本体及び共存成分として、構造的に希なC₆-C₂型骨格をもつアルコール、レンギオール類や、フェノール配糖体、フォルシトサイド類が報告されている。

本論文では、天然物化学の観点からこの生薬の成分研究をさらに推進し、6種の新成分を単離した。これらは一つを除きいずれも新規化合物であり、レンギオールに類似したアルコール体とそれらのグルコシドであることを、スペクトルデータの解析、分解反応及び合成結果に基づいて決定した。この成果は、いまだ数例しか知られていない脂環式C₆-C₂型化合物も多岐に亘り、またそれが配糖体の形でも存在することを明らかにし、植物化学的に重要な知見を付け加えたものと考えられる。

さらに、連翹中に確認された成分の構造上の相関性に着目し、それらを一つの生合成経路上に配置し、実際にそれらの化学的変換を行った。それによりフェニルピルビン酸とレンギオールが代謝的に直接関連し得ることを実証した。このことは脂環式C₆-C₂型骨格を持つ化合物が、ポリケタイド起源ではなく、シキミ酸系の物質であるとする考えを強く支持すると共に、従来あまり吟味されていない二次代謝産物の生合成経路を、*in vitro*ではあるが、詳細に検討したものとして評価される。

しかも、この代謝経路に酸素酸化反応が多く関与していることを認め、変換を行うにあたって、活性酸素を用いる実験系を意図的に採用した。また、それより得た実験結果を基に生体成分の酸化反応についても徹底した検討を加えている。活性酸素は生体成分の生合成のみならず、炎症や免疫、老化、発癌、制癌など多くの生体反応に関与しているものの、その詳細はほとんど明らかにされていない。したがって、本研究は先駆的な内容を含むものと高く評価される。

以上、本論文は、漢薬連翹の成分研究に立脚しつつ、有機化学的な思考と技術を駆使して、生体反応の中でも不明の点が多い二次代謝産物の生合成経路、それに関与する酸素酸化反応を詳細に検討し、示唆に富む多くの新知見を得たものであり、十分学位論文に値する内容と考える。