

審査の結果の要旨

氏名 水野 美麗

天然抗酸化物質は、高い抗酸化作用のみならず、多様な生理活性を有することが知られている。例えばレスベラトロールは、抗酸化作用だけでなく抗がん作用や抗糖尿病作用などが報告されている。多くの天然抗酸化物質の、様々な疾患への予防や治療に関わる薬理作用が明らかになってきているが、いずれも治療効果を示すに十分な活性を示さず、医薬品としての実用化は難しい。フラボノイド系抗酸化物質の生物活性増強を目指した構造修飾体は数多く報告されている。しかし、そのほとんどがアルキル基などの置換基導入による吸収効率の向上や生体分子への親和性の増強を目指したものであり、受容体との相互作用に着目した構造修飾に関する報告は少ない。フラボノイド骨格を有する天然抗酸化物質は、分子内に自由回転できる C-C 単結合を有しているため、受容体や標的分子と結合する際には誘導適合を起こすことが考えられる。したがってフラボノイド系抗酸化物質の分子内の環を固定化することで安定性を増加させることができれば、エントロピーの損失が少なくなり、誘導適合による活性よりも標的部位との親和性が向上して活性の増強が期待される。このことから水野は、代表的なフラボノイド系抗酸化物質であるカテキンの立体構造を固定化できれば生物活性を増強することができるとの仮説をたて、研究に着手した。

第2章においては、カテキン(Cat:**1**)の立体構造固定化反応と、立体構造を固定化したカテキン誘導体(PCat:**2**)とエピカテキン誘導体(PEC:**3**)の生物活性について記述されている。まず、**1**の立体構造固定化反応を検討し、Oxa-Pictet-Spengler 反応を利用することで B 環と C 環のヒドロキシ基の間にケトンを導入して環を固定化させることに成功した。本反応を利用して分子全体が高い平面性を有している **2**、および AC 環に対して B 環が大きく折れ曲がっている **3** を良好な収率で合成できた。

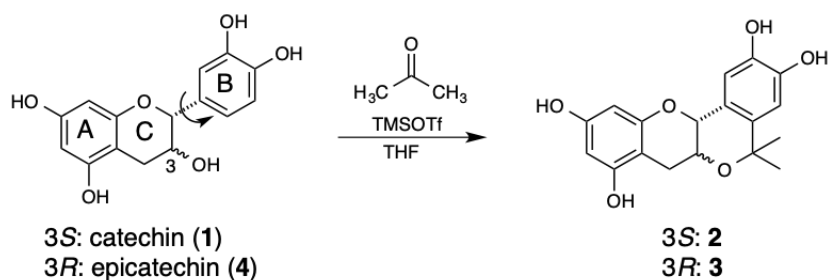


図1 カテキン類の平面固定化反応

これらの化合物の各種活性を評価した結果、どちらの化合物も強力な抗酸化作用と α -グルコシダーゼ阻害作用を示した。抗酸化活性の増強については、環固定化の際に導入されたアルキル側鎖による電子供与効果によるものと考えた。 α -グルコシダーゼに対しては、立体構造を固定化した **2** と **3** の芳香環と水酸基が酵素の活性中心に適切に位置することで親和性が増強し、強力な阻害活性を示したと推察した。

第3章と第4章では **2** および **3** を利用して他の天然抗酸化物質の環固定化体を合成し、生物活性増強への立体構造固定化の有用性を検討している。

第3章においては、マリアアザミの種子の成分で肝細胞保護作用やアルツハイマー病の原因タンパク質であるアミロイドβ (Aβ) の凝集阻害作用を示すシリビニン(5)の立体構造固定化について検討を行った。5はフラボン構造のC-C単結合が自由回転することで立体が大きく変化するが、平面性の高い立体構造をとるときにAβ凝集阻害作用を示すことが報告されている。そこで5のフラボン構造を立体が固定化された2および3に置換して、分子全体の平面性を高めた化合物SibC(6)、および分子全体が大きく折れ曲がっている化合物SibEC(7)をそれぞれ合成した。

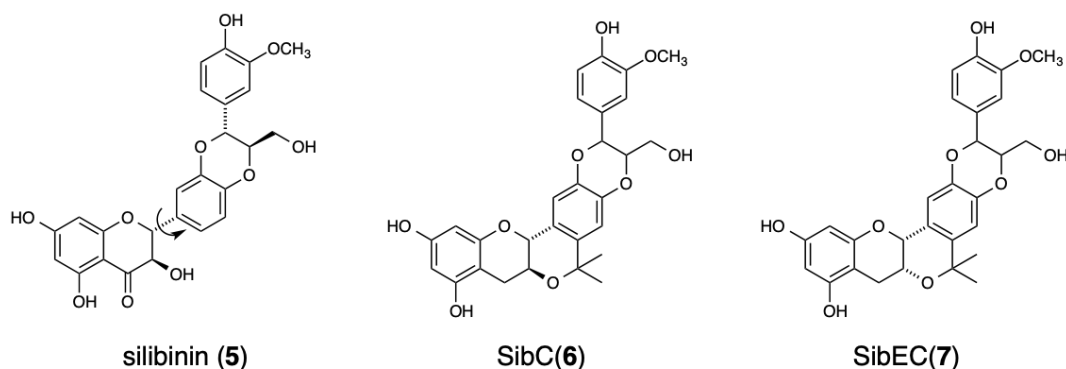


図2 シリビニン(5)と立体構造を固定化した誘導体(6, 7)

Aβ凝集阻害作用を調べたところ、6は5や7と比べて非常に強力にAβの凝集を阻害した。また、Aβはβシート構造をとることで凝集反応が進行し、アミロイド線維が形成されるが、CDスペクトルより6はβシートの形成を強力に阻害することが示された。さらにTEM測定によりAβからのアミロイド線維の形成が大きく低下していることも示された。他に6は5や7と比べて強力なα-グルコシダーゼ阻害作用を示した。6はMCF7(ヒト乳腺上皮腺がん)およびHCT116(ヒト結腸腺がん)に対して強力ながん細胞増殖阻害作用を示すことも明らかとなった。これらの結果より、5の生物活性の発現には分子全体の平面性が重要であり、平面構造への固定化が各種活性の増強に有効であることが示された。なお、抗酸化活性については、いずれの化合物も抗酸化作用の活性本体となるカテコール構造が保護されているため、顕著な活性は示されず、立体構造を固定化しても影響はなかった。

第3章においては、天然のカテキン重合体の一つで、強力な抗酸化作用や動脈効果抑制作用が報告されているカテキン二量体のプロシアニジンB3(Cat-Cat: 8)について、立体構造固定化体の合成と活性の検討を行った。8は構成単位のカテキンの立体構造に自由度があり、また、カテキン同士の結合軸が自由回転できる。そこで、一方および両方のカテキンを平面に固定化した2に置換して、分子内の立体の自由度を下げたCat-PCat(9)およびPCat-PCat(10)を合成した。

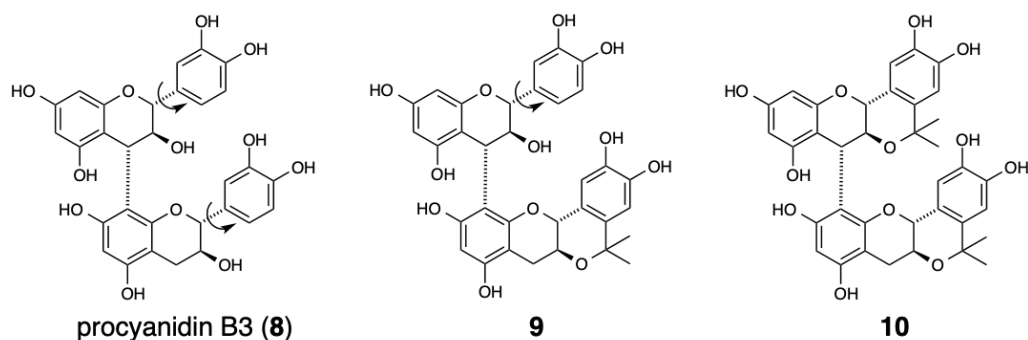


図3 プロシアニジンB3(8)と立体構造を固定化した誘導体(9, 10)

活性酸素種のモデル化合物であるガルビノキシラジカルに対するラジカル消去反応について測度論的解析を行った。その結果、**8** はカテキン単量体 **1** ($26 \text{ M}^1\text{s}^{-1}$) と比べて強力なラジカル消去活性を示すが ($100 \text{ M}^1\text{s}^{-1}$)、立体構造を固定化した **9** は **8** の 1.9 倍 ($189 \text{ M}^1\text{s}^{-1}$)、**10** は 2.9 倍 ($285 \text{ M}^1\text{s}^{-1}$)、さらに強力なラジカル消去活性を示した。また、**9** および **10** は α -グルコシダーゼと A β 凝集に対しても強力な阻害作用を示した。特に **10** はどちらの活性に対しても非常に強い阻害作用を示すことから、立体構造の平面への固定化はカテキン重合体の生物活性増強にも有効な誘導化であることが明らかとなった。強力な A β 凝集阻害作用を示した **10** は、A β の線維化を阻害し、また、A β による神経細胞毒性に対しては強力な保護作用を示した。これらの結果は、プロシアニジン B3 のカテキン構造の立体構造固定化は生物活性増強の有用な構造修飾法であることを意味している。

以上、水野はフラボノイド系抗酸化物質の立体の自由度を化学修飾によって制御することができれば、受容体や標的分子に結合する際のエントロピー損失を最小限に抑えることができると考えてカテキンの立体構造制御反応を見出し、本反応によって合成したカテキン誘導体が抗酸化作用だけでなく他の生物活性の増強にも有効であることを実験的に示した。また、合成した化合物の立体構造と生物活性との相関から、カテキン骨格を有する化合物は構造を平面に固定化することが生物活性の増強に有効であることを明らかにした。立体構造固定化反応はフラボノイド系抗酸化物質以外の化合物の活性発現と活性増強にも応用できると考えられることから、本研究結果は生理活性天然物化学・医薬化学研究の発展に有意に貢献するものであり、博士（薬学）の授与に値するものと認められる。