



## 生理活性アルカロイド及びその配糖体の生物有機

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 古井, 博康 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/2301">http://hdl.handle.net/20.500.12099/2301</a>

氏 名 (本國籍)	古 井 博 康 (愛知県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博乙第 56 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 13 年 9 月 13 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 題 目	生理活性アルカロイド及びその配糖体の生物有機 化学的研究
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教授 木曾 真 副査 岐阜大学 助教授 石田 秀治 副査 信州大学 教授 茅原 紘 副査 静岡大学 教授 衛藤 英男

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

植物にはアルカロイドと呼ばれる一群の成分が含まれている。植物中におけるアルカロイドの役割はまだまだ不明な点が多いが、一般的に顯著な薬理活性をもち、他の動植物に対して強い毒性を発揮することがあるため、植物自身が自らの安全を守るために防御物質あるいは忌避物質として含有されていると考えられている。特に、中枢神経系や自律神経系に作用する化合物が多く、その他に抗腫瘍活性、抗菌活性、強心活性等、数多くの生理活性を有する。そのため、人類は古くからアルカロイドを天然の薬 (あるいは毒) として利用し、現在でも麻酔薬、鎮痛薬、抗生素等、医薬品として重要な役割を有している。そこで本研究では、アルカロイドの生理活性に着目し、有機化学的に新規アルカロイド成分を合成するとともにその生理活性とアルカロイドの構造との相関関係について研究することとした。

本論文の第一章では、桑の根に存在するアルカロイド : 1-デオキシノジリマイシン誘導体を用いて、炎症反応や免疫反応、癌の転移において重要な役割を果たしているセレクチンファミリーが認識するオリゴ糖類縁体を合成し、細胞間の接着機構と糖鎖構造との相関について研究することとした。

まず、セレクチンファミリーのリガンドの一つである sialyl Lewis x (sLe<sup>x</sup>) 類縁体 (5 種) の合成を行った。糖鎖の構築は、1-デオキシノジリマイシン (DNJ) を出発物質に、還元末端側より順次、縮合を行っていくことで目的化合物へと導いた。また、アルキルアルデヒドを用いてイミノ基と Schiff Base を経由した N-butyl 体および N-decyl 体の合成方法を確立した。さらに保護基の種類により一部の DNJ はコンフォメーションが <sup>1</sup>C<sub>4</sub> form を形成することを X 線回折による結晶構造解析より明らかにした。

次に sialyl Lewis a (sLe<sup>a</sup>) タイプの類縁体 (5 種) の合成を行った。糖鎖の構築は、縮合順

序を考慮することで、sLe<sup>x</sup> 合成時に調製した化合物をそのまま利用し、目的化合物へと導いた。また同様な構築方法にて、硫酸化 Lewis x (sulfo Le<sup>x</sup>) 及び硫酸化 Lewis a (sulfo Le<sup>a</sup>) タイプの類縁体（6種）も合成した。

そして、合成した DNJ 含有 sLe<sup>x</sup> 類縁体または sLe<sup>a</sup> 類縁体を用いて、セレクチンとの接着阻害活性、及び p-セレクチンが関与している可能性があるラット心筋虚血再灌流障害に対する効果を調査した。その結果、N-アルキル-DNJ を含む sLe<sup>x</sup> 類縁体、sLe<sup>a</sup> 類縁体はセレクチンに対する接着阻害活性を有することが明らかとなり、細胞接着機構の分子レベルでの解明や、抗炎症剤や抗癌剤の研究開発に非常に有用であることが確認された。また、N-アルキル-DNJ を含む sLe<sup>x</sup> 類縁体は、P-セレクチンに対して阻害活性を有しており、心筋虚血再灌流障害の抑制にも有効であることが示唆された。

本論文の第二章では、トマトに存在するアルカロイド：トマチンについて、トマトにおける分布状態を把握するとともに、トマチンおよび新規に合成したトマチン類縁体の抗植物病原菌活性を調査し、その生理活性と構造との相関関係について研究することを目的とした。

まずトマトにおけるトマチンの分布状態を調査する目的で、吸光度を用いた簡易的な定量方法の確立を検討し、あらゆるステージでもトマチン含量測定が可能な吸光度法の確立を行った。確立した吸光度法を用いて、栽培種トマト中のトマチン含量を調査し、果実中の分布及び、登熟過程における変化、植物全体におけるトマチンの分布状態を明らかにした。また、品種間では、栽培種に比べ、病気に対する抵抗性の強い野生種にトマチンが多く含まれることを確認した。

次にトマチン含量の高いトマトの葉からのトマチン抽出方法を確立し、多量のトマトの葉を処理することで、研究材料としてのトマチンの抽出を行った。そして、トマチンの生理作用における糖鎖の必要性を調査する目的で、トマチジン、トマチジン-Ga1 類縁体、トマチン-OAc 類縁体、トマチンの4化合物を調製した。

調製した4化合物を用いて、トマトの主要病原菌である、青枯病原菌、萎凋病原菌、半身萎凋病原菌、および疫病原菌に対する抗菌活性を評価した。その結果、細菌である青枯病原菌に対しては抗菌性が認められなかつたが、糸状菌である萎凋病原菌、半身萎凋病原菌、疫病原菌に対しては抗菌性が認められ、抗菌活性を示す濃度は、トマト植物中に含まれるトマチン量と相関があった。また、萎凋病原菌に対する抗菌活性は、トマチンの糖鎖部分が重要であるが、半身萎凋病原菌、疫病原菌に対してはアグリコン部分が重要であるというように、相手によって構造を変化させて対応している可能性も推測された。

このようにトマチンの分布状態が植物全体ではなく、器官、ステージ、品種の差によって含量に差があわられるとともに、トマトの病原菌に対して抗菌活性を有することから、トマチンがトマトの生体防御物質として耐病性に関与していることが示唆された。また、生体防御機構への関与の仕方も、直接的に抗菌性物質として働く場合と他の物質と相互関係を結びながら、二次的に生体防御機構に関与する場合との2通りの役割を有していることが推測された。

以上、本論文では、桑の根のアルカロイド：1-デオキシノジリマイシン誘導体とトマトのアルカロイド：トマチンの生理活性に着目し、新規アルカロイド成分を合成するとともにその生理活性とアルカロイドの構造との相関関係について生物有機化学的に追究した。

## 審査結果の要旨

平成13年7月31日、岐阜大学において口頭による公開論文発表の後、本論文を審査した。

植物にはアルカロイドと呼ばれる一群の成分が含まれている。植物中におけるアルカロイドの役割はまだ不明な点が多いが、一般的に顯著な薬理活性をもち、他の動植物に対して強い毒性を発揮することがあるため、植物自身が自らの安全を守るために防御物質あるいは忌避物質として含有されていると考えられている。本研究では、アルカロイドの生理活性に着目し、有機化学的に新規アルカロイド成分を合成するとともにその生理活性とアルカロイドの構造との相関関係について研究を行った。

第一章では、桑の根に存在するアルカロイド：1-デオキシノジリマイシン誘導体を用いて、炎症反応や免疫反応、癌の転移において重要な役割を果たしているセレクチンファミリーが認識するオリゴ糖類縁体を合成し、細胞間の接着機構と糖鎖構造との相関について述べた。

まず、セレクチンファミリーのリガンドの一つである sialyl Lewis x ( $sLe^x$ ) 類縁体（5種）の合成を行った。糖鎖の構築は、1-デオキシノジリマイシン (DNJ) を出発物質に、還元末端側より順次、縮合を行っていくことで目的化合物へと導いた。また、アルキルアルデヒドを用いてイミノ基と Schiff Base を経由した N-butyl 体および N-decyl 体の合成方法を確立した。さらに保護基の種類により一部の DNJ はコンフォメーションが  ${}^1C_4$  form を形成することを X 線回折による結晶構造解析より明らかにした。

次に sialyl Lewis a ( $sLe^a$ ) タイプの類縁体（5種）の合成を行った。糖鎖の構築は、縮合順序を考慮することで、 $sLe^x$  合成時に調製した化合物をそのまま利用し、目的化合物へと導いた。また同様な構築方法にて、硫酸化 Lewis x (sulfo Le $x$ ) 及び硫酸化 Lewis a (sulfo Le $a$ ) タイプの類縁体（6種）も合成した。

そして、合成した DNJ 含有  $sLe^x$  類縁体または  $sLe^a$  類縁体を用いて、セレクチンとの接着阻害活性、及び p-セレクチンが関与している可能性があるラット心筋虚血再灌流障害に対する効果を調査した。その結果、N-アルキル-DNJ を含む  $sLe^x$  類縁体、 $sLe^a$  類縁体はセレクチンに対する接着阻害活性を有することが明らかとなり、細胞接着機構の分子レベルでの解明や、抗炎症剤や抗癌剤の研究開発に非常に有用であることが確認された。また、N-アルキル-DNJ を含む  $sLe^x$  類縁体は、P-セレクチンに対して阻害活性を有しており、心筋虚血再灌流障害の抑制にも有効であることが示唆された。

第二章では、トマトに存在するアルカロイド：トマチンについて、トマトにおける分布状態を把握するとともに、トマチンおよび新規に合成したトマチン類縁体の抗植物病原菌活性を調査し、その生理活性と構造との相関関係について研究を行った。

まずトマトにおけるトマチンの分布状態を調査する目的で、吸光度を用いた簡易的な定量方法の確立を検討し、あらゆるステージでもトマチン含量測定が可能な吸光度法の確立を行った。確立した吸光度法を用いて、栽培種トマト中のトマチン含量を調査し、果実中の分布及び、登熟過程における変化、植物全体におけるトマチンの分布状態を明らかにした。また、品種間では、栽培種に比べ、病気に対する抵抗性の強い野生種にトマチンが多く含まれることを確認した。次にトマチン含量の高いトマトの葉からのトマチン抽出方法を確立し、多量のトマトの葉を処理することで、研究材料としてのトマチンの抽出を行った。そして、トマチンの生理作用における糖鎖の必要性を調査する目的で、トマチジン、トマチジン-Gal

類縁体、トマチン-OAc 類縁体、トマチンの4化合物を調製した。

調製した4化合物を用いて、トマトの主要病原菌である、青枯病原菌、萎凋病原菌、半身萎凋病原菌、および疫病原菌に対する抗菌活性を評価した。その結果、細菌である青枯病原菌に対しては抗菌性が認められなかつたが、糸状菌である萎凋病原菌、半身萎凋病原菌、疫病原菌に対しては抗菌性が認められ、抗菌活性を示す濃度は、トマト植物中に含まれるトマチン量と相関があつた。また、萎凋病原菌に対する抗菌活性は、トマチンの糖鎖部分が重要であるが、半身萎凋病原菌、疫病原菌に対してはアグリコン部分が重要であるというように、相手によって構造を変化させて対応している可能性も推測された。以上のように、トマチンの分布状態が植物全体では一定ではなく、器官、ステージ、品種の差によって含量に差があわられるとともに、トマトの病原菌に対して抗菌活性を有することから、トマチンがトマトの生体防御物質として耐病性に関与していることが示唆された。また、生体防御機構への関与の仕方も、直接的に抗菌性物質として働く場合と他の物質と相互関係を結びながら、二次的に生体防御機構に関与する場合との2通りの役割を有していることが推測された。

このように本論文では、桑の根のアルカロイド：1-デオキシノジリマイシン誘導体とトマトのアルカロイド：トマチンの生理活性に着目し、有機化学的に新規アルカロイド成分を合成するとともにその生理活性とアルカロイドの構造との相関関係について有用な知見を得ることができた。これらの研究によって得られた成果は、今後の糖鎖合成化学、糖鎖生物学及び生物有機化学の発展に大いに寄与するものと期待される。

以上について、審査員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものとして認めた

#### 学位論文の基礎となる学術論文

- 1) Synthesis of 1-deoxynojirimycin-containing glycans related to the Lewis X and sialyl-Lewis X epitopes recognized by LEC-CAMs.  
H. Furui, M. Kiso, and A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.*, 229, c1-4 (1992).
- 2) 吸光度法によるトマチンの定量。  
古井博康、稻熊隆博、石黒幸雄、木曾真, 日本農芸化学会誌, 71(8), 777-782 (1997).
- 3) Tomatine Content in Host and Transgenic Tomatoes Absorptiometric Measurement.  
H. Furui, T. Inakuma, Y. Ishiguro, and M. Kiso, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 62(3), 556-557 (1998).

#### 既発表学術論文

- 1) Synthetic Studies on Sialoglycoconjugates 45:  
*Synthesis of 1-Deoxynojirimycin-containing Oligosaccharides Related to the Cancer-Associated Sialyl-Lewis a Antigen Recognized by LEC-CAMs(SELECTINs).*  
M. Kiso, H. Furui, Keiko Ando, and A. Hasegawa, *J. Carbohydr. Chem.*, 12 (4&5), 673-677 (1993).

- 2) Systematic Synthesis of N-Methyl-1-Deoxynojirimycin-Containing, Lex, Le<sup>a</sup>, Sialyl-Lex and Sialyl-Le<sup>a</sup> Epitopes Recognized by Selectins.  
M. Kiso, H. Furui, K. Ando, H. Ishida, and A. Hasegawa, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2 (11), 1295-1308 (1994).
- 3) Studies on Selectin Binding Inhibitors: Synthesis of Sialyl-Lewis x and Sialyl-Lewis a Epitope Analogs Containing 2-Acetamido Derivative of N-Methyl-1-Deoxynojirimycin.  
M. Kiso, H. Furui, H. Ishida, and A. Hasegawa, *J. Carbohydr. Chem.*, 15 (1), 1-14 (1996).
- 4) Synthesis of Sialyl-and Sulfo-Lex/Le<sup>a</sup> Analogs Containing N-Alkyl-1-Deoxynojirimycin as Potential Selectin Blockers.  
H. Furui, K. Ando-Furui, H. Inagaki, T. Ando, H. Ishida, and M. Kiso, *J. Carbohydr. Chem.*, in press.