

2P161 Cepharanthine, tetrandrine, isotetrandrine 分子の柔軟性とラジカル消去活性

(¹徳島大薬、²北海道大薬、³高知大理、⁴東和大工、⁵徳島大工、⁶化研生薬、⁷東理大薬)

後藤 了,¹ 小暮健太郎,^{1,2} 小松和志,³ 宗像達夫,⁴ 宇都義浩,⁵ 堀 均,⁵ 赤須通範,⁶ 寺田 弘⁷

【背景と目的】 原子数 n 個のcycloalkaneは、その円環構造によってC-C結合の二面角(torsion angle, τ)が互いに従属となり、自由度が $n-4$ となることが知られている。たとえば、cyclopentaneでは自由度が1となり、配置空間は1次元の円周(S^1)を描き、pseudorotation角度と呼ばれる単一パラメータによって全てのコンフォメーションを記述することが可能となる^{1,2)}。またcyclohexaneでは回転楕円体表面の2次元(S^2)に分布する²⁾。我々はこれまでに、MM計算を用いたコンフォメーション探索の結果において環構造の τ に対する主成分分析(PCA)が上記のような解析と同等な結果を与えることを見だし、配置空間の次元は結合回転の自由度に一致することを報告した³⁾。すなわち、cyclohexeneでは1-2結合が二重結合であるため回転の自由度が失われているので、コンフォメーションの配置空間はcyclopentaneと同相の S^1 に縮退する。

本研究はこのようなコンフォメーション配置空間のトポロジー解析の有用性を示すことを目的とする。医薬品、漢方薬成分、近年では健康食品(ハーブティーやサプリメント)として利用されるツツラフジ科植物は膜安定化作用と抗酸化作用を持つ薬効成分を産生する⁴⁾。この抗酸化作用成分(図1, 3)に注目し、作用と複雑な立体構造との関係性について検証を試みた。

【方法】 活性酸素や過酸化脂質に対する抗酸化作用の指標となるラジカル消去活性は酸性および中性条件下120分間の1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)ラジカル消去量(図2)を α -tocopherolに対する相対活性として測定した⁴⁾。400 MHz ¹H-NMR測定はCDCl₃溶媒中に行った。

分子構造の網羅的探索にはAMBER99力場を用いた^{5,6)}。サンプリングしたコンフォメーションはエネルギー差30 kcal/mol以下ないし50 kcal/mol以下のものにつき階層的クラスタ分析を行った。また、環構造の τ を主成分分析(PCA)した結果をグラフ化することで配置空間のトポロジー解析した。

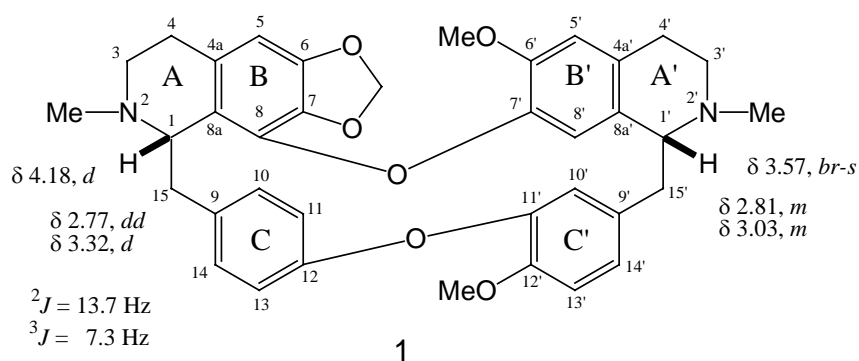


図1 ツツラフジ科植物由来cepharanthine[1]の化学構造式と¹H-NMRスペクトルでの活性中心の構造情報

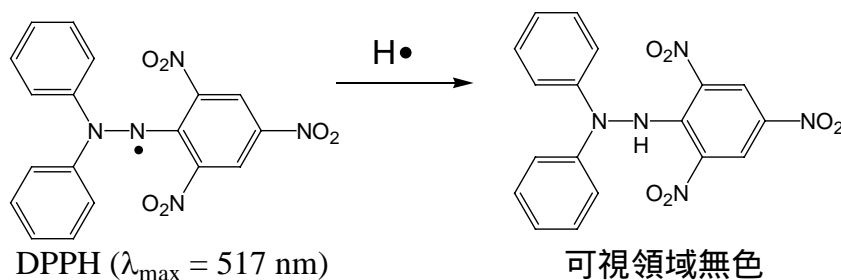


図2 抗酸化剤から水素原子を引抜きしてDPPHラジカルは消去する

【結果】 Bisbenzylisoquinoline (BBIQ) アルカロイド成分による抗炎症作用の機構として、酵素等の影響や膜安定化作用の寄与を検証するため、無生物系であるDPPHラジカル消去活性を測定した⁴⁾。その結果、フェノール性BBIQ類はpH非依存的に活性を示した(グループI)。非フェノール性BBIQ類はいずれも酸性では不活性であったが、さらに中性では活性なグループII ([1],[3]を含む)と酸性でも不活性なグループIII ([2]を含む)があった。次に、グループIIIに特徴的に見られる部分構造を有機合成し、DPPHラジカル消去活性を測定した。予想に反し、活性が失われると期待された合成化合物には活性が見られた。

以上の結果から、BBIQ アルカロイドに

よる抗炎症作用の主な要因はラジカル消去作用だけで起こりうること、その活性中心は非フェノール性 BBIQ 類において pH 依存的な部分であること、定量的構造活性相関(QSAR)解析で予測される化学反応特性ではなく 3 次元的な環構造の形状によってグループ III のみに生じる構造特性が活性の発現を抑制すること、の以上 3 点が明らかとなった。

そこで今回我々は分子構造を解析し、大環状 BBIQ でグループ II とグループ III を区別する構造特性がいかなるものであるか検討した。第一に NMR スペクトルだけでは構造的要因の特定には至らなかった。第二に結晶構造として tetrandrine [2]、isotetrandrine [3]、oxyacanthine [4]には報告がある(CSD 収載)。我々は[3]と[4]の結晶構造につき X 線結晶構造解析した。[3]は文献と一致した。[4]は 2 論文で同じ配座ながら互いに対掌体が報告されており、我々の結果は先発の文献と一致した。さらに[1]と[2]の結晶作成については現在試行中である。第三に MM 計算によるポピュレーション解析では、それぞれの化合物について AMBER99 力場を用いたコンフォメーション探索計算を行った結果をクラスター分析した。比較的低エネルギー領域に上記結晶構造と一致するコンフォメーションが出現した([1]の探索結果は[4]の結晶構造と比較)。また活性中心である 6 員環構造 A、A'について配置空間のトポロジー解析を行った結果、グループ III に属する[2]の配置空間は制約が生じ、構造変化が束縛されることが見いだされた。以上を総合すると、構造変化の束縛がラジカル消去活性の低下となる可能性が示唆された。

【参考文献】 1) J.E. Kilpatrick; K.S. Pitzer; R. Spitzer; *J. Am. Chem. Soc.* 69 (1947) 2483-2488. 2) F.H. Allen; M.J. Doyle; R. Taylor; *Acta Cryst. B*47 (1991)29-40, 41-49, 50-61, F.H. Allen; M.J. Doyle; O. Johnson; *Acta Cryst. B*47 (1991) 62-67. 3) 後藤; 小松; 宗像; 堀; 寺田; 分子構造総合討論会 2004, 2P053, 広島 2004. 4) K.Kogure; S. Goto; K. Abe; C. Ohiwa; M. Akasu; H. Terada; *Biochim. Biophys. Acta* 1426 (1999)133-142. 5) 後藤; 分子構造総合討論会 2003, 1Pa036, 京都 2003. 6) A. Suga; Y. Talkaishi; S. Goto; T. Munakata; I. Yamauchi; K. Kogure; *Phytochemistry* 64(2003)991-996.

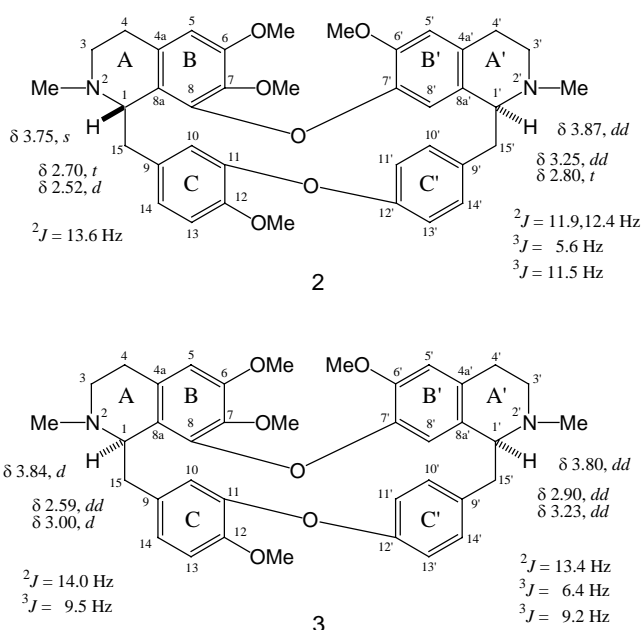


図 3 ツツラフジ科植物由来の tetrandrine [2], isotetrandrine [3]の構造と活性中心の NMR スペクトル