

氏名 (生年月日) ^{よねだ たいち}
米田 太一 (1993年6月25日)

学位の種類 博士(薬学)

学位記番号 博薬第218号

学位授与の日付 2022年3月19日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 ニンニク (*Allium sativum*) から得られるチオアクロレインを利用した抗がん作用を有するチオピランの合成研究

論文審査委員 (主査) 准教授 中村 誠 宏

(副査) 教授 古田 巧

(副査) 教授 山下 正 行

論文内容の要旨

序章

ニンニク (*Allium sativum*) から単離された ajoene (**1**) は、ビニルスルフィド構造をもつ直鎖状の含硫黄化合物である。**1** は、がん幹細胞 (CSC) に対して増殖抑制作用を示すことが報告されるなど、抗腫瘍効果を持つ化合物として期待されたが、化学的に不安定なこともあり臨床では利用されていない。また、**1** には幾何異性体が存在し、抗がん作用等において、(Z)-体 (**1a**) が (E)-体 (**1b**) よりも強いことが報告されている。著者は、この作用の違いが分子内の硫黄原子と酸素原子の非結合性の相互作用 (S-O 相互作用) によりコンフォメーションが固定化されるためであると推測した。上述の背景のもと、著者は、ビニルスルフィド構造をもち、分子配座が固定化されたチオピラン誘導体 **7** が、**1a** と同等の活性を有し化学的に安定な抗がん薬になり得ると仮説を立てた。

一方、ニンニクから得られる **1** 以外の含硫黄化合物として、環状構造を有する 2-vinyl-4H-1,3-dithiin (**2**) および 3-vinyl-4H-1,2-dithiin (**3**) が知られている。**2** および **3** は、ネギ属植物が含有するアミノ酸 (システインスルホキシド) と酵素との反応による allicin (**4**) の生成、続く **4** の分解反応による thioacrolein (チオアクロレイン, **5**) の生成とその自己二量化反応を経て生合成されると推定されている。**2** および **3** は多様な生物活性を示すことが知られているが、**1** と同様に化学的に不安定であり医薬品として用いることが難しい。そこで、著者は、**2** および **3** の生合成前駆体である **5** をビルディングブロックとして利用すれば、化学的に安定であるチオピラン誘導体の構築が可能であると考えた。本研究では、allicin (**4**) から得られる thioacrolein (**5**) を利用し位置選択的なチオピラン合成を行うとともに得られたチオピラン誘導体の抗がん作用および化学的安定性を評価した。

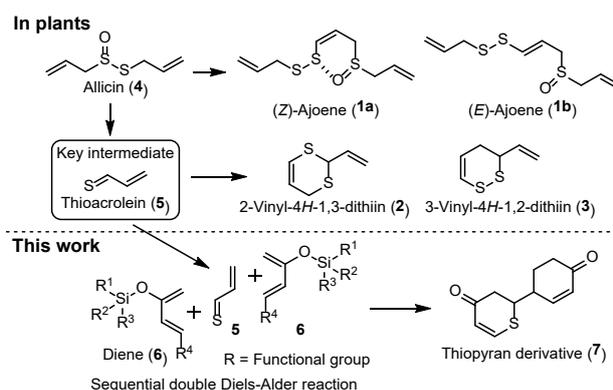


図 1. 研究の概要

第 1 章 チオアクロレイン (5) を利用したチオピランの合成

ニンニク由来の環状含硫黄化合物である **2** および **3** は **5** の自己 Diels-Alder 反応により生成すると考えられている。この生成過程に着想し、適切なジエン **6** と **5** との thio-Diels-Alder 反応を行うことができればチオピランが合成できると考えた。最初にネギ属植物 [ニンニク、タマネギ (*A. cepa*)] 成分の生成過程を考察し、ニンニクを素材として **5** の単離を検討したが、**5** が即座に自己二量化するため単離は困難であった。そこで、**5** の前駆体として **4** の利用を検討した。すなわち、ニンニクをミキシングし酵素反応を誘導させ、**4** を含有する分画を得た。次に、**4** を精製することなく、**4** から **5** を生成させ、ジエンとして種々のシリルエノールエーテルとの反応を系中で行った。その結果、Danishefsky's diene (**6a**) を用いた反応においてチオピラン誘導体 2-(4-oxocyclohex-2-en-1-yl)-2,3-dihydro-4*H*-thiopyran-4-one [**7**, *syn-7* (2*RS*, 1'*RS*) および *anti-7* (2*RS*, 1'*SR*) の混合物] を合成することに成功した。興味深いことに **7** は 2 分子の **6a** が **5** と連続的に反応した化合物であり、位置選択的な Diels-Alder 反応が進行していることが明らかになった。この位置選択性は、密度汎関数理論 (DFT) 計算による反応経路のエネルギープロファイル解析においても支持された。続いて、**7** をより高い収率で得ることを目的に反応条件 (試薬の当量、反応時間・溶媒・温度) の最適化を試みたところ、理論上の **4** の存在比を考慮した収率において **7** が 9.8% で得られた。ニンニク中での **4** から生成する

2 および **3** の収率は 19.6% であることから、良好な収率で **4** から **7** の合成を達成できた。なお、**4** の粗抽出物と **6a** を用いた反応では単環系の含硫黄化合物 **8-10** も得られ、一方、Rawal's diene (**6b**) との反応からは、含硫黄化合物 **11-19** が得られた。

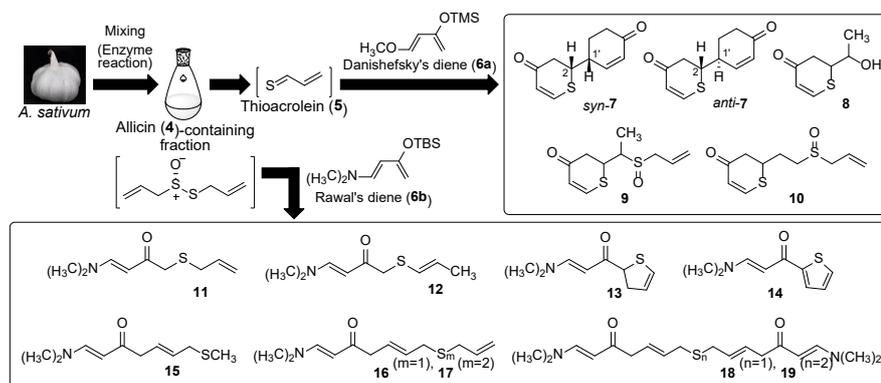


図 2. 得られた化合物一覧

第 2 章 得られたチオピラン 7 の化学的安定性および抗がん作用

得られた **7** の化学的安定性を検討した。すなわち、**7** を DMSO-*d*₆ 中、1 週間 60 °C で加熱し、その残存率を NMR を用いた定量にて評価した。その結果、*syn-7* の残存率は 99% であるのに対し、**1a** の残存率は、同条件下 77% であった。以上から、*syn-7* は **1a** よりも化学的に安定であることが明らかとなった。また、得られた化合物 12 種について CSC に対する増殖抑制作用を評価した結果、*syn-7* に活性が認められた。一方で、*syn-7* のジアステレオマーである *anti-7* には活性が認められなかった。次に、*syn-7* を光学分割し、それぞれの鏡像異性体 [(2*R*, 1'*R*)-**7** (*syn-7a*) および (2*S*, 1'*S*)-**7** (*syn-7b*)] の CSC に対する増殖抑制作用を評価したところ、両化合物とも活性を示すことが明らかとなり [*syn-7a* (IC₅₀: 39 μM)、*syn-7b* (IC₅₀: 30 μM)]、それらの作用は **1a** (IC₅₀: 39 μM) と同等であった。

総括

ニンニク由来の化学的に不安定な thioacrolein (**5**) を鍵化合物とし、**5** と 2 分子のシリルエノールエーテルとの sequential double Diels-Alder 反応を進めることで、チオピラン **7** の位置選択的合成に成功した。得られた *syn-7* はニンニク由来の (*Z*)-ajoene (**1a**) と同等の CSC に対する増殖抑制作用を有し、**1a** より化学的に安定であった。化合物 *syn-7* の合成のように、植物含有化合物の化学的に不安定な

生合成前駆体を利用した半天然型化合物の合成戦略は、抗がん薬開発を含む創薬において有用であると考えられる。

審査の結果の要旨

緒言

ネギ属植物ニンニク (*Allium sativum*) から単離されたビニルスルフィド (ビニルスルファン) 構造をもつ含硫黄化合物 (Z)-アホエン [(Z)-ajoene] は、がん幹細胞 (CSC) に対して増殖抑制作用を示すことが報告されるなど抗腫瘍効果を持つ化合物として期待されたが、化学的に不安定なこともあり臨床では利用されていない。本研究では、(Z)-アホエンよりも化学的に安定な抗がん薬の開発を目的として、(Z)-アホエンと同様にビニルスルフィド構造をもつだけでなく、環状構造を有するチオピランの合成を計画し、得られた化合物の化学的安定性と CSC に対する増殖抑制作用を評価した。

第 1 章 チオアクロレインを利用したチオピランの合成

ニンニク由来のチオアクロレイン (thioacrolein) を鍵化合物とし、チオアクロレインとジエンとの Diels-Alder 反応によるチオピランの合成を立案した。最初に、ネギ属植物成分の生成過程を考察し、ニンニクを素材としてチオアクロレインの単離を検討した。しかし、チオアクロレインが即座に自己二量化するため、その単離を行うことが困難であった。そこで、第二のアプローチとして、アリシン (allicin) の利用を検討した。すなわち、ニンニクをミキシングし酵素反応を誘導させ、主にアリシンを含有する分画を得た。次に、アリシンを精製することなく、アリシンから不安定なチオアクロレインを生成させ、種々のシリルエノールエーテルとの反応を系中で行った。その結果、Danishefsky's diene を用いた反応において、興味深いことに 2 回の Diels-Alder 反応が進行し、チオピラン誘導體 2-(4-oxocyclohex-2-en-1-yl)-2,3-dihydro-4H-thiopyran-4-one (**1**) を合成することに成功した。チオアクロレインと Danishefsky's diene との Diels-Alder 反応の反応経路の詳細は、密度汎関数理論 (DFT) 計算によるエネルギープロファイル解析において明らかとなった。続いて、チオピラン **1** をより高い収率で得ることを目的に反応条件の最適化を試みたところ、理論上のアリシンの存在比を考慮した収率において、**1** [*syn*-**1** (2*RS*, 1'*RS*) および *anti*-**1** (2*RS*, 1'*SR*) の混合物] が 9.8% で得られた。

第 2 章 得られたチオピランの化学的安定性および抗がん作用

目的化合物 **1** の化学的安定性を検討した。すなわち、**1** を DMSO-*d*₆ 中、1 週間 60 °C で加熱し、その残存率を NMR を用いた定量にて評価した。その結果、*syn*-**1** の残存率は 99% であるのに対し、(Z)-アホエンの残存率は、同条件下 77% であった。以上から、*syn*-**1** は (Z)-アホエンよりも化学的に安定であることが明らかとなった。次に、**1** の CSC に対する増殖抑制作用を評価した結果、*syn*-**1** に活性が認められた。一方で、*syn*-**1** のジアステレオマーである *anti*-**1** には活性が認められなかった。また、*syn*-**1** を光学分割し、それぞれの鏡像異性体の CSC に対する増殖抑制作用を評価したところ、両化合物とも活性を示すことが明らかとなり [(2*R*, 1'*R*)-**1** (IC₅₀: 39 μM)、(2*S*, 1'*S*)-**1** (IC₅₀: 30 μM)]、それらの作用は (Z)-アホエン (IC₅₀: 39 μM) と同等であった。

結論

ニンニク由来のチオアクロレインを鍵化合物とし、sequential double Diels-Alder 反応を進めることでチオピランの位置選択的合成に成功した。得られた *syn*-**1** は (Z)-アホエンより化学的に安定であり、

(Z)-アホエンと同等の CSC に対する増殖抑制作用を示した。以上、申請者は植物由来の化学的に不安定な化合物を利用する合成法を提案し、環状含硫黄化合物の合成を達成した。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士（薬学）の学位論文としての価値を有するものと判断する。