

## トリテルペノイド *N*-配糖体の合成および腫瘍細胞傷害活性 Synthesis of Triterpenoid *N*-Glycosides and Their Cytotoxicities against Human Cancer Cell Line

○樋川舞子<sup>1</sup>, 浮谷基彦<sup>2</sup>, 木屋 岬<sup>3</sup>, 仁科淳良<sup>2</sup>, 深津 誠<sup>4</sup>\*Maiko Hikawa<sup>1</sup>, Motohiko Ukiya<sup>2</sup>, Atsuyoshi Nishina<sup>2</sup>, Makoto Fukatsu<sup>2</sup>

Abstract: In this study, ten lanostane-type triterpenoid derivatives (**2-11**) and eight ursane-type triterpenoid derivatives (**12-20**) including six *N*-glycosides (**8-11,19** and **20**) were synthesized. In addition, the cytotoxic activities of the compounds against human cancer cell lines were evaluated. On the basis of these data, structure activity relationship between chemical properties of sugar moiety and cytotoxic activity against human cancer cell lines were discussed.

### 1. 目的

天然有機化合物（天然物）は構造の多様性が高く、また、多様な生物活性を示すものが多いことから、創薬分野において天然物およびその誘導体は有用とされている<sup>1</sup>。

生物活性の強い天然物によく見られる構造単位の一つに配糖体構造がある。配糖体とは、糖と非糖部（アグリコン）が結合している分子であるが、先行研究では、ラノスタン型トリテルペノイドの Lanosterol を用いた *N*-配糖体を合成し、腫瘍細胞に対する傷害活性を明らかにした<sup>2</sup>。ラノスタン骨格を持つトリテルペノイドは、Ganoderic acid DM のように細胞傷害活性を示す報告が多数あり、その活用が期待されている<sup>3</sup>。先行研究で合成した配糖体の中では、アミノ糖を結合した配糖体(**21**)が顕著な活性を示したが構造活性相関の解明が未解決であった。本研究ではより多くの、アミノ糖を結合したラノスタン型トリテルペノイド *N*-配糖体を合成し、それらの腫瘍細胞に対する傷害活性を評価することを計画した。また、骨格による傷害活性の違いを検討するために、ウルサン型トリテルペノイド *N*-配糖体の合成にも着手した。

### 2. 方法

#### 2.1 ラノスタン型トリテルペノイド *N*-配糖体の合成

Lanosterol (**1**)を Pyridine 中, Acetic anhydride によりアセチル化物 (**2**)とした。化合物 **2** を Chloroform 中, 3-Chloroperoxybenzoic acid, Sodium hydrogen carbonate を加えて反応し、エポキシド (**3**)を得た。化合物 **3** を 1,2-Dimethoxyethane 中, Perchloric acid によりエポキシド開裂物 (**4**)とした。化合物 **4** を Tetrahydrofuran/水中, Sodium periodate を加えて反応しアルデヒド (**5**)を得た。化合物 **5** を Pyridine/Methanol 中, Methoxyamine hydrochloride を加えて反応しオキシム (**6**)を得た。化合物 **6** を 1,4-Dioxane/Ethanol 中, Borane-*tert*-butylamine

complex, 3M Hydrochloric acid を加えて反応しアグリコンであるアミン (**7**)を得た。

#### 2.1.1 2-Azido-2-deoxy-D-glucose 配糖体(**8**)の合成

化合物 **7** を *N,N*-Dimethylformamide/acetic acid 中, 2-Azido-2-deoxy-D-glucose と反応し 24-Methoxyamino-25,26,27- trinorlanost-8-en-3 $\beta$ -yl acetate 24-*N*-2-azido-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranoside (**8**) を得た。

#### 2.1.2 *N*-Acetyl-D-mannosamine 配糖体(**9**)の合成

*N*-Acetyl-D-mannosamine を用いて 2.1.1 と同じ要領で 28h 反応し, 24-Methoxyamino-25,26,27- trinorlanost-8-en-3 $\beta$ -yl acetate 24-*N*-2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-mannopyranoside(**9**)を得た。

#### 2.1.3 *N*-Benzoyl-D-glucosamine 配糖体(**10**)の合成

*N*-Benzoyl-D-glucosamine を用いて 2.1.1 と同様に反応し 24-Methoxyamino-25,26,27- trinorlanost-8-en-3 $\beta$ -yl acetate 24-*N*-2-benzamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranoside(**10**) を得た。

#### 2.1.4 *N*-Trifluoroacetyl-D-glucosamine 配糖体(**11**)の合成

*N*-Trifluoroacetyl-D-glucosamine を用いて 2.1.1 と同様に反応した。

#### 2.2 ウルサン型トリテルペノイド *N*-配糖体の合成

$\alpha$ -Amyrin(**12**)を  $K_2Cr_2O_7$  で酸化しケトン(**13**)とし、さらに Hydroxylamine によりオキシム(**14**)とした。化合物 **14** は *p*-toluenesulfonyl chloride 存在下で反応して seco 型トリテルペノイド(**15**)とした。化合物 **15** は DIBAL を用いて還元後、加水分解してアルデヒド(**16**)を得た。化合物 **16** を Pyridine/Methanol 中, Methoxyamine hydrochloride と反応しオキシム (**17**)を得た。さらに 1,4-Dioxane/Ethanol 中, Borane-*tert*-butylamine complex, 3M Hydrochloric acid で反応してアグリコンであるアミン (**18**)を得た。

#### 2.2.1 D-glucose 配糖体(**19**)の合成

1 : 日大理工・院 (前)・応化 2 : 日大理工・教員・応化 3 : 日大理工・学部・応化 4 : 日大短大・教員・化学

化合物 **18** を *N,N*-Dimethylformamide/acetic acid 中, *D*-Glucose を加えて 40°C で 28h 反応させた.

### 2.2.2 *N*-Acetyl-*D*-glucosamine 配糖体(**20**)の合成

*N*-Acetyl-*D*-glucosamine 用い 2.2.1 と同じ要領で 48h 反応させた.

各化合物は各種クロマトグラフィーで精製し, 構造の確認は NMR 法により行った.

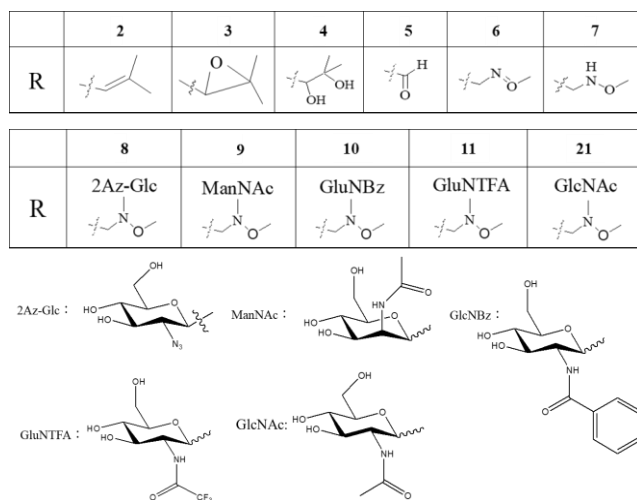
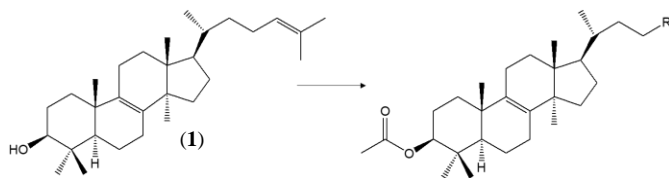
### 2.3 細胞傷害活性試験

構造が確認できた化合物は種々の細胞[A549(肺がん細胞), MNK45(胃がん細胞)など]に対して MTT 法により傷害活性を評価した. 結果は 50% 生存阻害濃度(IC<sub>50</sub>; μM)として算出した.

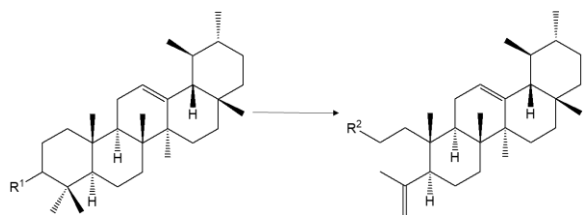
## 3. 結果・考察

### 3.1 *N*-配糖体の合成

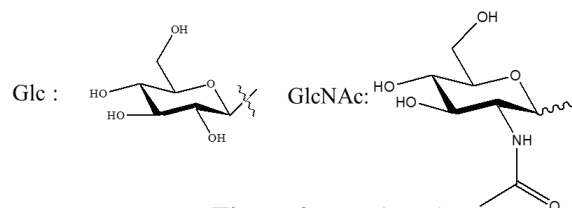
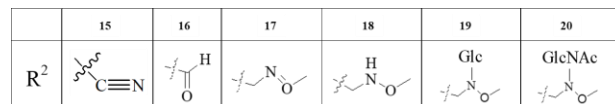
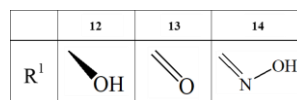
Lanosterol(**1**)を基質として 4 種の *N*-配糖体を含む 10 種のラノスタン型トリテルペノイド誘導体(**2-11**)を, また α-Amyrin(**12**)を基質として 2 種の *N*-配糖体を含む 8 種のウルサン型トリテルペノイド誘導体(**13-20**)を合成した.



**Figure 1.** Chemical structures of compounds **1-11**, **21**



**Figure 2.** Chemical structures of compounds **12-20**



**Figure 2.** (continued)

### 3.2 細胞傷害活性試験

本研究で合成した化合物 **8-10**, **16-18** および先行研究で合成した *N*-アセチル-*D*-グルコサミン配糖体(**21**)の細胞傷害活性を Table 1 に示す. 化合物 **9** は MNK45 に対してわずかに活性を示した. 化合物 **21** と比較すると, アミノ糖 2 位の立体配置が MNK45 に対する傷害活性に影響を及ぼしていると考えられる. また, 化合物 **10** と **21** の結果を比較すると糖部のアセチル基中のメチル基がベンゾイル基に置換されたことで活性を示さなくなった. よってアミノ基周辺の電子密度等が傷害活性に影響することが示唆された.

**Table 1.** Cytotoxic activities of compounds **8-10**, **16-18** and **21**

Compounds	Cytotoxic activity IC <sub>50</sub> (±S.D.) <sup>※</sup> (μM)
	MKN45
<b>8</b>	100<
<b>9</b>	82.21(±10.7)
<b>10</b>	100<
<b>16</b>	100<
<b>17</b>	100<
<b>18</b>	100<
<b>21</b>	2.9(±0.08)
reference compound	
cisplatin	7.4(±0.30)

※S.D.: standard deviation

## 4. 参考文献

- [1] D. J. Newman : “Natural products as leads to potential drugs: An old process or the new hope for drug discovery”, *J. Med. Chem.*, 51, pp2589-2599, 2008.
- [2] 早川哲平 : 日本大学大学院理工学研究科修士論文, 2017.
- [3] J. Liu, *et al.*, : “Target proteins of ganoderic acid DM provides clues to various pharmacological mechanisms”, *Sci. Rep.*, 2, 905; DOI: 10.1038/srep00905, 2012.