

トピックス

アスコルビル化された天然物の新たな発見

Novel discoveries of ascorbylated natural products

ビタミンCとして知られるアスコルビン酸(AsA, 図1)は、コラーゲン合成に関与する酵素であるプロリンヒドロキシラーゼの補因子として作用し、ヒトの壊血病を防ぐことでよく知られている¹⁾。またAsAは、抗酸化物質として、フリーラジカル種(例えば、トコフェロールラジカル)に電子を供与し、生物膜内でのラジカル連鎖反応を中断する²⁾。しかし、ヒトはAsAを合成するための酵素を欠損しており、体内でAsAを合成できないため、AsAを植物などから摂取する必要がある³⁾。植物などにはAsAが含まれていることが知られているが、その中で稀に、植物中のAsAと二次代謝産物が共有結合したユニークな構造の天然物が発見されている。広く知られている例として、アブラナ科の植物に含まれるascorbigen(図1)がある⁴⁾。アブラナ科に存在するグルコブラシシンはミロシナーゼによって分解され、チオシアネート基が除かれた3-メチレン-3H-インドリウム中間体となる。この中間体にAsAが求核攻撃することでascorbigenが生成されると考えられている。また、ascorbigenはヒト肝がん由来細胞株(HepG2)とラットにおいて、解毒酵素であるNADPH-キノンオキシドレダクターゼのmRNA及び酵素活性を中程度に増加させることが報告されている⁵⁾。このように、天然物にAsAが付加したAsA付加体には、AsA単独ではみられない生物活性を示す可能性がある。本稿では、発見されたAsA付加体とその報告されている生物活性について紹介する。ここではAsA付加

体について、AsAが求核剤として付加体形成する場合、AsAの酸化型であるデヒドロアスコルビン酸が求電子剤として付加体形成する場合、それ以外の場合に分類して紹介する。図2に紹介するAsA付加体の構造を示す。

1. AsAが求核剤として働き、生成されるAsA付加体

AsAが天然物に求核剤として働き、形成されたamarusine A(化合物I)、pimentelamine A-C(化合物II-IV)について紹介する⁶⁾⁷⁾。2014年に報告された化合物Iは、中国南部に分布する竹の一種である*Pleioblastus amarus*から単離された⁶⁾。竹の中に豊富に存在するフェニルプロパノイドが誘導体化されたフェニルグリシドールエーテルにAsAが求核剤として働き、生成されたと考えられている。また、化合物Iは1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジラジカルアッセイ($EC_{50}=20.6\text{ }\mu\text{g/ml}$)で、食品の酸化防止剤として用いられているジブチルヒドロキシルトルエン($EC_{50}=40.3\text{ }\mu\text{g/ml}$)よりも高い抗酸化作用を有していることが示されている。さらに近年、化合物Iはリポ多糖で処理されたマウスミクログリアBV-2細胞における抗炎症作用の評価が行われ、炎症メディエーターであるインターロイキン-1 β 、プロスタグランジンE2及びインターロイキン-6の産生に対する阻害作用(阻害率50.9, 62.9, 16.9%)を示し、ケルセチン(阻害率22.1, 19.8, 2.3%)よりも高い阻害率を示すことが報告されている⁸⁾。2017年に報告された化合物II-IVは、オーストラリア東部に分布している*Flindersia pimenteliana*の葉から単離された⁷⁾。これらは、同様に単離された2-プレニル-N,N-ジメチルトリプタミンにAsAが求核剤として働き、生成されたと考えられている。また、化合物IVは*in vitro*でマラリア治療薬であるクロロキンの感受性株*Plasmodium falciparum*(3D7)と抵抗性株(Dd2)の両方に対して抗マラリア作用($IC_{50}=3.6, 2.7\text{ }\mu\text{M}$)を示した。

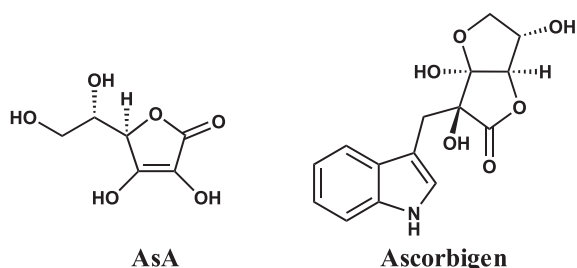
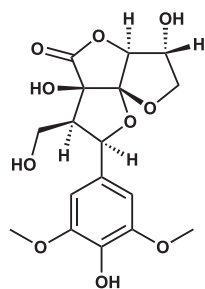
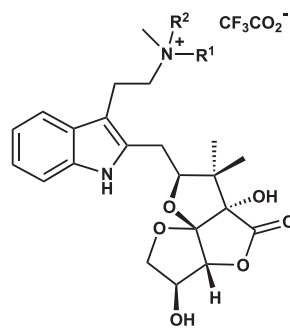
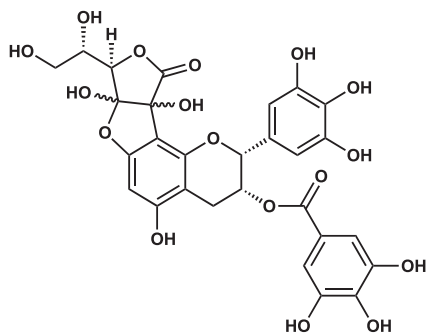


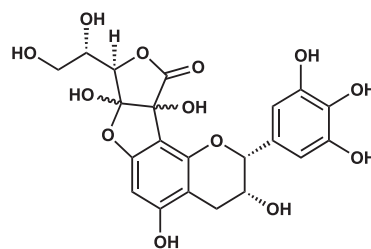
図1 AsAとascorbigenの構造



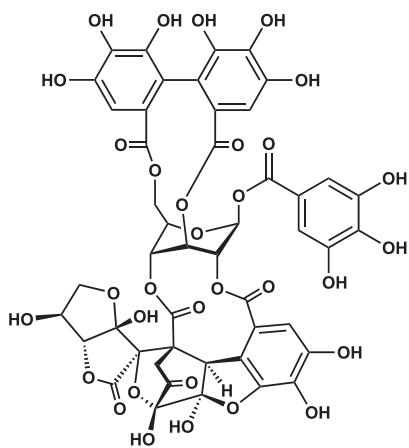
Amarusine A (I)

Pimentelamine A (II) $R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{H}$ Pimentelamine B (III) $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{H}$ Pimentelamine C (IV) $R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{O}^-$ 

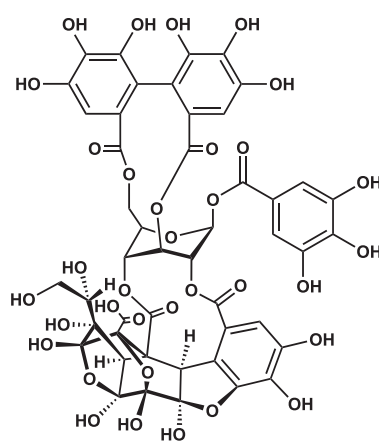
8-C-Ascorbyl(-)-epigallocatechin 3-O-gallate (V)



8-C-Ascorbyl(-)-epigallocatechin (VI)



Elaeocarpusin (VII)



Jolkinin (VIII)

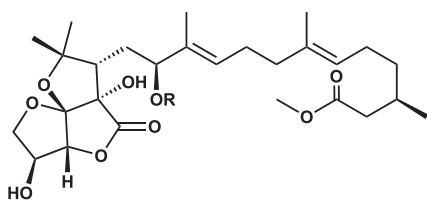
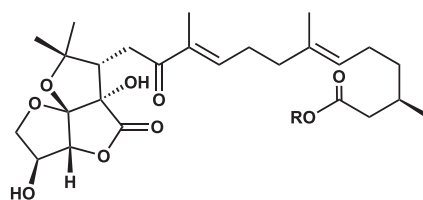
Honkonoid A (IX) $R = \text{Ac}$ Honkonoid B (X) $R = \text{H}$ Honkonoid C (XI) $R = \text{CH}_3$ Honkonoid D (XII) $R = \text{H}$

図2 AsA 付加体の構造

2. デヒドロアスコルビン酸が求電子剤として働き、生成される AsA 付加体

AsA の酸化型であるデヒドロアスコルビン酸が求電子剤として、天然物由来の化合物と付加体を形成した 8-C-ascorbyl-(-)-epigallocatechin 3-O-gallate (化合物 V), 8-C-ascorbyl-(-)-epigallocatechin (化合物 VI), elaeocarpusin (化合物 VII) について紹介する⁹⁾¹⁰⁾。まず、1989 年に報告された化合物 V は、ウーロン茶の原料である *Camellia sinensis* から単離された⁹⁾。これはウーロン茶に含まれる没食子酸エピガロカテキンにデヒドロアスコルビン酸が求電子剤として働き、生成されたと考えられている。また、化合物 V は、組み換えヒトマトリックス膜型 1 メタロプロテイナーゼ、組み換えヒトマトリックスメタロプロテイナーゼ 2 及び組み換えヒトマトリックスメタロプロテイナーゼ 7 に対して阻害作用 ($IC_{50}=0.036, 25, 0.46 \mu M$) を有することが示されている¹¹⁾。これらの阻害作用は、血管新生の抑制や腫瘍の転移及び増殖を抑制する。化合物 VI は、化合物 V をタンナーゼにより加水分解処理することで得られた化合物である⁹⁾。近年、化合物 VI は α -グルコシダーゼに対する阻害作用及びインスリンシグナル伝達を負に制御するチロシン脱リン酸化酵素の発現を抑制する作用を示すことが明らかとなり、2 型糖尿病の治療薬候補として注目されている¹²⁾。次に、1986 年に報告された化合物 VII は、加水分解性タンニン的一种で、常緑樹である *Elaeocarpus sylvestris* var. *ellipticus* から単離された¹⁰⁾。化合物 VII は、エラジタンニンに含まれるヘキサヒドロキシジフェノイル基が求核剤としてデヒドロアスコルビン酸を攻撃し、生成されたと考えられている。また、化合物 VII は PRMI-7951 メラノーマ細胞に対して細胞毒性を示すこと¹³⁾やプロリルエンドペプチダーゼ (PEP) に対する阻害作用 ($IC_{50}=0.44 \mu M$) を示すことが明らかにされた¹⁴⁾。化合物 VII は、プロリンを含む神経ペプチドの不活化に関与する PEP 阻害作用を有することから、アルツハイマー病患者のアミロイドプラークの形成抑制にも関与している可能性があることが示唆された¹⁴⁾。

3. 1, 2 以外の反応で生成された AsA 付加体

AsA が天然物と環化することで形成された jolkinin (化合物 VIII)¹⁵⁾ と活性酸素種によってフリーラジカルとなった AsA が天然物に捕捉されることで形成された honkonoid A-D (IX-XII)¹⁶⁾ について紹介する。2004 年に報告された化合物 VIII は、トウダイグサ属の植物である *Euphorbia jolkinii* から単離された¹⁵⁾。化合物 VIII は AsA

がゲラニインのデヒドロヘキサヒドロキシジフェノイル基に結合し、アスコルビル部分が加水分解、酸化、分子内アルドール反応、ヘミケタール化を経て生成されたと考えられている。また、化合物 VIII は PEP に対する阻害作用 ($IC_{50}=0.0873 \mu M$) を示すことが明らかにされた¹⁴⁾。2018 年に報告された化合物 IX-XII は、中国南部に分布している *Dysoxylum hongkongense* というアオギリ科の植物から単離された¹⁶⁾。これらは、活性酸素種により酸化された AsA が、植物中に含まれるゲラニルゲラニル二リン酸によって捕捉され、クライゼン転移、アスコルビル部分のケタール形成、ラジカル環化、酵素による脱リン酸化、メチル化などの修飾を経て生成されたと考えられている。また、化合物 IX は活性化 B 細胞の核因子 κB 軽鎖エンハンサーに対して弱い阻害作用 ($IC_{50}=16.3 \mu M$) を示し、化合物 XI, XII はマウスの糖質コルチコイドを活性化する酵素である 11β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 1 型に対して阻害作用それぞれ $IC_{50}=0.86 \mu M$, $IC_{50}=7.74 \mu M$ を示した¹⁶⁾。これにより化合物 XI, XII は、脂肪組織内のコルチゾールの増加を抑制することで、脂肪蓄積の抑制、血糖値やインスリン感受性を改善する可能性があることが示唆された。さらに、化合物 XI は HepG2 細胞でのステロール合成に対する阻害作用 ($IC_{50}=14.8 \mu M$) も示した¹⁶⁾。

これまでに様々な AsA 付加体が天然から発見されてきた。他にも本稿では紹介しきれていない生物作用不明の新規 AsA 付加体に関する報告もある¹⁷⁾⁻¹⁹⁾。また、化合物 VI のように発見は古くとも、その生物作用は近年新しく見出されたことから、将来、これらの AsA 付加体にも新たに生物作用が見出される可能性がある。多くの植物には、高濃度の AsA が含まれており、AsA と二次代謝産物が反応する可能性は高い。今後も多くの AsA 付加体が発見されるものと期待される。

Key words: vitamin C, natural products, biological activity, ascorbylation, covalent

¹Graduate School of Sciences and Technology for Innovation, Tokushima University, 770-8513, Japan

²Graduate School of Technology, Industrial and Social Sciences, Tokushima University, 770-8513, Japan

Yugo Ito¹, Takeru Koga², Akihiro Tai²

¹ 徳島大学大学院創成科学研究科

² 徳島大学大学院社会産業理工学研究部

伊藤 勇悟¹, 古賀 武尊², 田井 章博²

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2025.2.3 受付)

文 献

- 1) Gropper SS, Smith JL, Groff JL (2009) Advanced nutrition and human metabolism. Wadsworth Cengage Learning, Belmont, CA, Australia
- 2) Constantinescu A, Han D, Packer L (1993) Vitamin E recycling in human erythrocyte membranes. *J Biol Chem* **268**, 10906–10913
- 3) Packer L, Fuchs J (1997) Vitamin C in Health and Disease. Marcel Dekker, Inc., NY, USA
- 4) Buskov S, Hansen LB, Olsen CE, Sørensen JC, Sørensen H, Sørensen S (2000) Determination of ascorbigens in autolysates of various *Brassica* species using supercritical fluid chromatography. *J Agric Food Chem* **48**, 2693–2701
- 5) Wagner AE, Hug H, Gössl R, Riss G, Mussler B, Elste V, Rimbach G, Barella L (2008) The natural compound ascorbigen modulates NADPH-quinone oxidoreductase (NQO1) mRNA and enzyme activity levels in cultured liver cells and in laboratory rats. *Ann Nutr Metab* **53**, 122–128
- 6) Sun J, Zhang P, Wei Q, Xun H, Tang F, Yue Y, Li L, Guo X, Zhang R (2014) Amarusine A, a new dioxaspiro[4.4]nonane derivative with a butyrolactone ring from *Pleuroblastus amarus*. *Tetrahedron Lett* **55**, 4529–4531
- 7) Robertson LP, Duffy S, Wang Y, Wnag D, Avery VM, Carroll AR (2017) Pimentelamines A–C, indole alkaloids isolated from the leaves of the australian tree *Flindersia pimenteliana*. *J Nat Prod* **80**, 3211–3217
- 8) Han R, Yuan T, Yang Z, Zhang Q, Wang WW, Lin LB, Zhu MQ, Gao JM (2021) Ulmoidol, an unusual nortriterpenoid from *Eucommia ulmoides* Oliv. Leaves prevents neuroinflammation by targeting the PU.1 transcriptional signaling pathway. *Bioorg Chem* **116**, 105345
- 9) Hashimoto F, Nonaka G, Nishioka I (1989) Tannins and related compounds. XC. 8-C-ascorbyl (-)-epigallocatechin 3-O-gallate and novel dimeric flavan-3-ols, oolonghomobisflavans A and B, from oolong tea. *Chem Pharm Bull* **37**, 3255–3263
- 10) Tanaka T, Nonaka G, Nishioka I, Miyahara K, Kawasaki T (1986) Tannins and related compounds. Part 37. Isolation and structure elucidation of elaeocarpusin, a novel ellagitannin from *Elaeocarpus sylvestris* var. *Ellipticus*. *J Chem Soc Perkin Trans 1* 369–376
- 11) Oku N, Matsukawa M, Yamakawa S, Asai T, Yahara S, Hashimoto F, Akizawa T (2003) Inhibitory effect of green tea polyphenols on membrane-type 1 matrix metalloproteinase, MT1-MMP. *Biol Pharm Bull* **26**, 1235–1238
- 12) Zhang Y, Chen M, Tao Y, Chu B, Ma Y, Lu K, Sun H (2022) Natural 8-C-ascorbyl(-)-epigallocatechin as antidiabetic agent: α -glucosidase and PTP-1B signaling pathway dual regulators. *Fitoterapia* **162**, 105263
- 13) Kashiwada Y, Nonaka G, Nishioka I, Chang JJ, Lee KH (1992) Antitumor agents, 129. Tannins and related compounds as selective cytotoxic agents. *J Nat Prod* **55**, 1033–1043
- 14) Lee SH, Jun M, Choi JY, Yang EJ, Hur JM, Bae K, Seong YH, Huh TL, Song KS (2007) Plant phenolics as prolyl endopeptidase inhibitors. *Arch Pharm Res* **30**, 827–833
- 15) Lee SH, Tanaka T, Nonaka G, Nishioka I (2004) Structure and biogenesis of jolkinin, a highly oxygenated ellagitannin from *Euphorbia jolkinii*. *J Nat Prod* **67**, 1018–1022
- 16) Zhao JX, Yu YY, Wang SS, Huang SL, Shen Y, Gao XH, Sheng L, Li JY, Leng Y, Li J, Yue JM (2018) Structural elucidation and bioinspired total syntheses of ascorbylated diterpenoid hongkonoids A–D. *J Am Chem Soc* **140**, 2485–2492
- 17) Schwindl S, Kraus B, Heilmann J (2019) Secondary metabolites from the leaves of *Juglans regia* L. *Biochem Syst Ecol* **83**, 130–136
- 18) Xu W, Tan J, Mu Y, Zheng D, Huang X, Li L (2020) New antimicrobial terpenoids and phloroglucinol glucosides from *Syzygium szemaoense*. *Bioorg Chem* **103**, 104242
- 19) Fan Z, Jaisi A, Chen Y, Shen L, Liu Z, Wu S, Liu Y, Zhang W, Xiao Y (2021) Discovery and biosynthesis of ascorbylated *Securinega* alkaloids. *ACS Catal* **11**, 8818–8828