

# 論文内容要旨

沖縄県産モクビャッコウ *Crossostephium chinense*、  
ビシンジュズネノキ *Damnacanthus indicus* var. *intermedius*  
および中国産フサスギナ *Equisetum sylvaticum*  
を中心とした新規機能性化合物探索

主指導教員：松浪勝義 教授

(医系科学研究科 生薬学)

副指導教員：相澤秀紀 教授

(医系科学研究科 神経生物学)

副指導教員：山野幸子 准教授

(医系科学研究科 薬学部附属薬用植物園)

王 志超

(医系科学研究科 総合健康科学専攻)

## 序論

天然物化学は自然界から医薬品の種を探す専門領域であり、漢方薬や民間療法に対する科学的なメカニズム解明につながる研究領域でもある。天然資源から有用成分を探索し、その化学構造を明らかにすることは、医薬品のリード化合物の発見という実用的な面はもちろんのこと、植物や微生物などの2次代謝系を理解する基礎科学的な観点からも重要である。

本研究では、沖縄県産の植物モクビャッコウ (*Crossostephium chinense*) とビシンジュズネノキ (*Damnacanthus indicus* var. *intermedius*) および中国産植物フサスギナ (*Equisetum sylvaticum*) を対象に新規低分子化合物の発見を目指した成分研究を行った。希少かつ未開拓な植物資源から有用な機能性分子を探索し、その有用性を検討する事が薬学の発展に寄与できると考えている。

### 1. 沖縄県産モクビャッコウ *Crossostephium chinense* 地上部 EtOAc 層の成分研究

モクビャッコウ (*Crossostephium chinense*) は中国、日本など熱帯・亜熱帯地域を中心に、幅広く分布している低木である。モクビャッコウの抽出物は殺虫剤として利用されているが、その活性成分はまだ解明されていない。本研究では、モクビャッコウから新規の抗リーシュマニア原虫 (*Leishmania major*) 化合物の単離を目標とした。モクビャッコウの地上部を MeOH で抽出し、*n*-Hexane、EtOAc、1-BuOH と H<sub>2</sub>O を用いて順次分配をした。得られた4つのフラクションの抗 *L. major* 活性を評価した結果、EtOAc 層において最も強い阻害活性が見られたため、EtOAc 層の成分研究から着手した。EtOAc 層をさらに Diaion HP20 と Silica gel カラムで荒分けし、抗 *L. major* 活性を指標に、ODS や HPLC により分離精製を行った。その結果、新規化合物3種 (1-3) と既知化合物18種 (4-21) を得た。新規化合物1および2はMS、NMR、CDなどのスペクトルデータからその構造を解析し、新規の sesquiterpene 化合物であると決定し、crossoseamine A、B に命名した。単離化合物の抗 *L. major* 原虫活性を評価した結果、化合物1, 2, 6, 7 および 8 において比較的強い活性が見られ、crossoseamine 類と flavonoid 化合物がモクビャッコウの活性に寄与していることが明らかになった。また、A549 がん細胞、および正常細胞として Vero 細胞を用いた細胞毒性試験を行った。その結果、新規化合物1と2において顕著な細胞毒性が見られた。

### 2. 沖縄県産モクビャッコウ *Crossostephium chinense* 地上部 1-BuOH 層の成分研究

EtOAc 層から得られた新規 sesquiterpene 化合物は強い細胞毒性を有しているが、構造自体が非常に希少な  $\psi$ -santonin 系化合物であるため、類似骨格を持つ新規化合物の探索は大変有意義であると考えられる。そのため、本研究ではモクビャッコウの1-BuOH層をターゲットとし、 $\psi$ -santonin 系化合物に注目した網羅的な成分研究を行った。

モクビャッコウの1-BuOH層を Diaion HP20、Silica、ODS および HPLC を用いて分離精製を行い、新規の  $\psi$ -santonin 系化合物8種 (22-29) を単離した。単離化合物の構造は MS、NMR、CD、ECD などの分析方法を用いて決定した。化合物22-23はそれぞれ senecioic acid と tiglic acid 側鎖を有する新規の  $\psi$ -santonin 系類縁体であり、crossoseamines 化合物の L-proline 部分を持っていないことから、crossostenin A-B と命名した。化合物24-26は不飽和度の減少や methoxy 基の存在から、それぞれ acetic acid、tiglic acid と angelic acid を持つラクトン環が開環した  $\psi$ -santonin 系類縁体であり、L-proline が結合していないことから、同様に crossostenins と命名した。化合物27は化合物2とほぼ一致する NMR データが観測され、<sup>13</sup>C NMR において2本のシグナルが増えたことや分子式を考慮した結果、化合物2に acetic acid 側鎖が結合したものと決定し、crossoseamine C と名付けた。化合物28-29は化合物1-2と類似する NMR データが観測されたが、4位と5位の carbon の化学シフトや6位 proton の coupling constant においてかなりの違いが観測された。このことから、化合物28-29はそれぞれ化合物1-2の6位のエピマーに同定し、crossoseamine D-E を命名した。その後、単離化合物を用いて、*L. major*、A549 と Vero 細胞への阻害活性を行った結果、crossostenin A、B

(22, 23) の強い抗 *L. major* 活性が観測された。また、Vero 細胞への毒性と比較した結果、crossostenin A (22) および B (23) の *L. major* に対する比較的高い選択阻害活性が見られ、シード化合物としての可能性が示唆された。

### 3. ビシンジュズネノキ *Damnacanthus indicus* var. *intermedius* の成分研究

ビシンジュズネノキはアカネ科 (Rubiaceae) アリドオン属 (*Damnacanthus*) の常緑性低木であり、日本の南西諸島に分布している固有種である。その成分研究がほとんど行われていないことから、本研究ではビシンジュズネノキの 1-BuOH 層をターゲットとした新規化合物探索を行った。その結果、新規の iridoid glucoside 化合物 8 種および既知化合物 10 種を単離し、構造を明らかにした。そのうち、化合物 38-41 は既知化合物 daphylloside に類似した化合物で酪酸やプロピオン酸の結合が特徴である。化合物 42-44 においてはイリドイド骨格の 4,6 位にラクトン環が形成されている。化合物 45 は化合物 43 の構造上、3,4 位の 2 重結合が消失した化合物である。

### 4. 中国産フサスギナ *Equisetum sylvaticum* の成分研究

フサスギナはトクサ科 (Equisetaceae) トクサ属 (*Equisetum*) の植物で、主に北半球の湿気のある沼地、森林や草地などに分布している。フサスギナは古くから民間薬として使用されており、中国の東北地方では、生薬の‘林間荊’と呼ばれており、血流の改善や血栓の治療に用いられている。本研究ではフサスギナの 1-BuOH 層に対して成分研究を行い、新規配糖体 4 種を含む計 39 種の化合物を単離し、化学構造を明らかにした。そのうち、化合物 56 と 57 はメガスティグマン配糖体であり、4 位のカルボニル基が特徴的である。化合物 58 は  $\alpha$ -apocarotenoid 骨格を持つ化合物で、CD スペクトルにより 6*R*、NOESY 相関から 9*Z* と決定した。化合物 59 はフェノール性化合物のグルコシドであり、グルコースの 1', 2'位と結合することで特徴的な 2 環構造を有していた。また、H-11 と H-2'位の NOESY 相関から 11*S* の立体配置が示唆された。

### 5. 結論

本研究により 23 種の新規化合物を単離し、その化学構造をスペクトルデータおよび化学的方法により決定した。単離化合物の生物活性評価を行った結果、モクビャッコウより得られた化合物 22 と 23 は非常に強い抗 *L. major* 活性と比較的高い選択性を持っており、シード化合物としての利用が期待できる。