

夾竹桃の生理活性物質に関する研究

趙

明*

Studies on Biologically Active Components of Nerium oleander

by Ming ZHAO

第一章：トリテルペン類化合物の単離，構造決定， 生理活性と構造相関

夾竹桃の葉の酢酸エチル抽出部より，8種類のトリテルペン1～8，1種類のステロイド9を単離した。この内，4種類のトリテルペン1，2，3，4は新規化合物であった。それらの構造は，高分解マスペクトル，核磁気共鳴スペクトル (^1H - ^1H COSY, DEPT, HMBC, HMQC)，赤外吸収スペクトル，紫外可視吸収スペクトルなどのスペクトル的手段により解析した。

化合物の生理活性について，癌の症状と密接に関係している1) 抗炎症剤，2) 抗癌剤，3) 耐性癌の克服剤として有効な化合物を求める事を目的としたスクリーニングを行った。1) については，ICAM-1 (内皮細胞接着分子) の生産抑制を作用機作とする活性試験，2) については有効な化学療法 of 早急の開発が求められている，肺癌と肝臓癌に着目し，VA-13 (悪性肺腫瘍細胞) とこの親細胞である WI-38 (ヒト肺正常繊維芽細胞)，Hep G2 (ヒト肝臓癌細胞) に対する成長阻害活性試験，3) については，耐性化した癌の細胞膜に過剰に出現し，抗癌剤を細胞の外に移送し，癌耐性化の原因となる，P-糖蛋白質の作用阻害活性を作用機作とする活性試験をおこなった。1) ICAM-1生産抑制活性試験では化合物6は中程度の活性 ($\text{IC}_{50} = 21.6 \mu\text{M}$) を示し，この濃度では血管内皮細胞モデル A549細胞の生存には影響を及ぼしていなかった。MTT法により評価したこの化合物の A549細胞に対する細胞毒性活性

($\text{IC}_{50} = 55.8 \mu\text{M}$) は ICAM-1 生産抑制活性の IC_{50} と比較して2.6倍の濃度となっていた。2) 化合物の WI-38, VA-13, HepG2 に対する細胞毒性では，WI-38に対して1, 6, 7, 8が中程度の活性 ($\text{IC}_{50} = 11.8, 1.8, 7.2, 14.5 \mu\text{M}$) 示し，正常細胞に対して毒性がある事が分かった。また VA-13に対しては化合物1 ($\text{IC}_{50} = 11.7 \mu\text{M}$) が中程度の活性を示した。HepG2に対しては化合物1, 3 ($\text{IC}_{50} = 10.3, 21.1 \mu\text{M}$) が中程度の活性を示した。3) 耐性癌の克服活性に関しては，化合物1, 3が弱い活性を示した。

第二章：カルデノライド類化合物の単離，構造決定， 生理活性と構造相関

夾竹桃の葉のブタノール抽出部より，22種類のカルデノライド1～22，1種類のプレグナン配糖体23，1種類のイノシトル24を単離した。この内，2種類のカルデノライド20, 22は新規化合物であった。それらの構造は，高分解マスペクトル，核磁気共鳴スペクトル (^1H - ^1H COSY, DEPT, HMBC, HMQC)，赤外吸収スペクトル，紫外可視吸収スペクトルなどのスペクトル的手段により解析した。1) ICAM-1 生産抑制活性試験では化合物5, 6, 7, 8, 9は IC_{50} 値 $1 \mu\text{M}$ 以下の非常に強い活性を示し，化合物1, 2, 3, 4は IC_{50} 値 $10 \mu\text{M}$ 以下の強い活性を示した。2) 化合物の WI-38, VA-13, HepG2 に対する細胞毒性では，WI-38に対して化合物4, 5, 6, 7, 8, 9は IC_{50} 値 $1 \mu\text{M}$ 以下の非常に強い活性を示し，正常細胞に対して毒性が強い事が分かった。また VA-13に対して化合物9は IC_{50} 値 $1 \mu\text{M}$ 以下の

*新潟大学大学院自然科学研究科

[新潟大学博士 (工学) 平成19年3月22日授与]

非常に強い活性を示した。HepG2に対しては化合物 5, 6, 7, 9 が IC_{50} 値 $1 \mu M$ 以下の非常に強い活性を示した。化合物 13, 17, 18 は正常細胞 WI-38 に対して 2~4 倍程度活性が低い望ましい化合物である。3) 耐性癌の克服活性に関しては、化合物 1, 4, 10, 11, 13, 16, 19, 21~24 が活性を示した。

第三章：カルデノライド類化合物の化学修飾と活性の構造相関

現在は研究室で単離した量が多い化合物から化学修飾により活性の強い化合物への変換を志向した合成を行った。まず、Odoroside A を加水分解し、3 位に水酸基の付いたアグリコン(1)を得た。さらに、Collins 試薬を用いて 1 を酸化して、3 位がケトンになった化合物を得た。次に、PTAB を用いてブロム化を行い、4 位にブロムを導入した。最後、LiBr, Li_2CO_3 を用いて、脱 HBr 化を行い、目的物 α, β - 不飽和ケトンを得た。1) ICAM-1 生産抑制活性試験では、3 位、14 位に水酸基を持つ化合物 1 は強い活性を示しました。3 位ケトン、24 位に水酸基を持つ化合物 2, 3, 4 は中程度の活性を示しました。2) 化合物の WI-38, VA-13, HepG2 に対する細胞毒

性では、VA-13 に対して化合物 1 は強い活性を示し、ジブロム化合物 6 は中程度の活性を示した。この二つ化合物は正常細胞 WI-38 に対して 3~6 倍程度活性が低い望ましい化合物である。3) 性癌の克服活性に関しては、ブロム化合物 3, 5, 6, 7 は活性を示した。 α, β -不飽和ケトンを持つ化合物 4 は弱い活性を示した。

Odoroside B は糖の部分について、その 2, 4 位により高い官能基へ変換後、生理活性を増加させることを期待して、主に化学反応により構造修飾を行った。糖の 2, 4 位にそれぞれアセチル化、シンナモイル化及びメタンスルホニル化して、化合物 1~9 を得た。1) ICAM-1 生産抑制活性試験では、化合物 1, 4, 7 は強い活性を示しました。4 位アキシャル水酸基を置換した化合物は 2 位水酸基を置換したものと 2, 4 位両方置換した化合物より、10 倍以上強い活性を示しました。

謝辞: 本研究の遂行ならびに学位論文の執筆に当り、主指導教官である安東政義教授にご指導、ご鞭撻を賜りました。ここに記して深謝申し上げます。