

生理活性天然有機化合物に関する研究

傅 立 偉*

Studies on the Biologically Active Natural Products

by Liwei FU

夾竹桃 (*Nerium indicum* Mill) はキョウチクトウ科 (Apocynaceae) に属する植物である。植物形態は常緑低木、高さ 2~5 m である。葉は革質、普通は 3 枚ずつ輪生で、下部は対生し、葉の柄が短く、葉が狭くて、先がとがった形になっている。葉の表面は濃緑色であるが裏面はやや色が薄く、羽状の平行脈がある、その原産地はアフガニスタン、ヒマラヤ、インドと言われている、中国の大部分地域に栽培されており、日本では庭木として各地で栽培されている。

この薬用植物は葉に強心成分が含まれ、主に Oleandrin やトリテルペン、サポニン (そのゲニンは ursolic acid 及び oleanolic acid である)、Rutin, Dambonitol などが含まれ、樹皮に Odoroside 及び Digitoxigenin や Uzarigenin の配糖体などが含まれる。味が苦く、辛く、薬性が強くなく、有毒、強心、利尿、去痰、マウスのエールリッヒ腹水腫に対し軽微な抑制作用を示す。毒性はおおむねジギタリスに似ており、主として胃腸素乱と不整脈の反応があるという報告もなされており大変興味深いものである。今回、夾竹桃に含まれる生理活性成分の単離、構造決定及び既知化合物の薬理作用の再検討を含め、単離、精製技術の効率化に伴い、器械分析法及び分析条件の検討を目的として研究を行なった。

1. 植物夾竹桃は 2000 年 11 月 10 日に新潟大学構内から採伐した、採伐してから、3 ヶ月を経て夾竹桃は自然風乾をした状態で、枝と葉を分け、9.91 kg の葉が取れた。この乾燥した葉は本研究の材料と

して使用した。

風乾した葉 (9.91kg) を室温で 2 回 MeOH (105.0L) 中に浸漬して浸出液をろ過した後、溶媒を減圧留去し黒緑色濃縮液 10L が得られた。このものをヘキサン (25.0L)、酢酸エチル (40.0L)、n-ブタノール (40.0L) と順次抽出を行ないメタノールエキスに含まれる成分化合物を極性の違いにより各抽出部分に分けた。その結果、ヘキサン抽出部の黒緑色油状物 120.24g、酢酸エチル抽出部の黄色粉末状物 518.98g、ブタノール抽出部の黄色固形物 527.98g が得られた。これら各抽出部のうち収量も多く、生理活性天然物を含んでいることが期待される酢酸エチル抽出部について含有成分の単離、精製を行なった。

2. 夾竹桃 (*Nerium indicum* Mill.) の葉の酢酸エチル抽出物を単離して、8 種類の ursanes 型トリテルペン: 3 β , 20-dihydroxyurs-21-en-28-oic acid (1), 3 β -hydroxy-12-ursen-28-oic acid (2), 3 β , 27-dihydroxy-12-ursen-28-oic acid (3), 3 β , 13-dihydroxyurs-11-en-28-oic acid (4), 3 β -hydroxy urs-12-en-28-aldehyde (5), 28-norurs-12-en-3 β -ol (6), Urs-12-en-3 β -ol (7), Urs-12-ene-3 β , 28-diol (8), 3 種類の Oleananes 型トリテルペン: 3 β -hydroxy-12-oleanen-28-oic acid (9), 3 β 27-dihydroxy-12-oleanen-28-oic acid (10), 3 β , 12 α -dihydroxyoleanan-28, 13 β -olide (11), 2 種類の Lupane 型トリテルペン: 3 β -hydroxy-20(29)-lupene-28-oic acid (12), 20(29)-Lupene-3 β , 28-diol (13), 2 種類の dammarane 型の

*新潟大学大学院自然科学研究科

(新潟大学博士 (工学) 平成 16 年 3 月 24 日授与)

トリテルペン: (20*S*, 24*R*)-epoxydammarane-3 β , 25-diol (**14**), (20*S*, 24*S*)-epoxy dammarane-3 β , 25-diol (**15**), 1種類のテトラテルペン: (3*R*, 3'*R*, 6'*R*) β , ϵ -csrotene-3, 3'-diol (**19**)を得た。化合物**2**と**9**の混合物をメチル化したメチル化混合物から2種類 ursanes 型のメチル化トリテルペン: Methyl 3 β -hydroxy-12-ursen-28-oic oate (**16**), Methyl 3 β , 27-dihydroxy-12-ursen-28-oic oate (**18**), 1種類の Oleanane 型のメチル化トリテルペン: Methyl 3 β -hydroxy-12-oleanen-28-oic oate (**17**) が得られた。

化合物**1**は新規化合物であった。**1**の構造は高分解 MS スペクトル, $^1\text{H-NMR}$ (H-HCOSY), $^{13}\text{C-NMR}$ (DEPT, HMQC, HMBC), 融点, 旋光度, IR スペクトルを詳細に検討し構造を決定した。

化合物 (**2**, **3**, **4**, **5**, **6**, **7**, **8**, **9**, **10**, **11**, **12**, **13**, **14**, **15**, **16**, **17**, **19**) は既知物であることが分かった。既知の化合物はいずれも $^1\text{H-NMR}$ (H-HCOSY), $^{13}\text{C-NMR}$ (DEPT, HMQC, HMBC), 融点, 旋光度, IR スペクトルを用いて同定した。

3. 生理活性試験については分離された化合物 **2**, **3**, **4**, **8**, **9**, **12**, **13**, **16**, **17** の細胞接着分子 ICAM-1 誘導阻害活性試験を行なった。生体内の炎症反応が起こった時に細胞因子が生産され, TNF, IL-1 などにより細胞接着分子 ICAM-1 が誘導され, その働きで血管内から白血球が患部に浸潤し, 炎症反応を悪化させることが知られている。従って炎症反応を押さえるためには ICAM-1 の生産を抑制する必要がある。今回の結果はカルボキシル基を有する化合物 **2**, **3**, **4**, **9**, **12**, **16**, **17** に弱いながら ICAM-1 誘導阻害活性がみられるが, カルボキシル基を水酸

基に還元した化合物 **8** 及び **13** ではその活性が見られなくなった。また MTT 法により求めたこれらの化合物の血管内皮細胞モデル培養細胞 A549 の生存率を求めたところ細胞毒性はほとんどないことが分かった。

さらに3種類の人培養細胞を用いた細胞毒性活性試験 (WI-38, VI-13, HepG2) を行なった。WI-38 は人肺細胞より誘導された繊維芽細胞, VI-13 は WI-38 を SV-40 ウイルスに感染させることにより誘導した悪性腫瘍肺細胞モデル, そして HepG2 は人肝臓癌細胞モデルである。

その結果, WI-38 に対しては化合物 **12**, **13**, **14**, **2**, **15**, **1**, **6**, **3**, **8**, **7**, **4**, **9** の順で中程度から弱い活性を示した。その中で Lupeol 型の骨格を持つ化合物 **12**, **13** 及び Dammarane 型の骨格を持つ化合物 **14**, **15** は比較的活性が強く現われた。VA-13 に対しては化合物 **12**, **14**, **13**, **4**, **10**, **8**, **3**, **2**, **16**, **6**, **9**, **17**, **15** の順で中程度から弱い活性を示した。その中で Lupeol 型の骨格を持つ化合物 **12**, **13** 及び Dammarane 型の骨格を持つ化合物 **14**, Ursane 型の骨格を持つ化合物 **4** の活性が比較的強かった。HepG2 に対する制癌活性は化合物 **13**, **12**, **6**, **17**, **4**, **3**, **16**, **10**, **14**, **15**, **2**, **9**, **1**, **7** の順で中程度から弱い活性が現われた。この場合は Lupeol 型の骨格を持つ化合物 **12**, **13** の活性が比較的強く見られた。

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。