

論文の内容の要旨

氏名：張 杰

博士の専攻分野の名称：博士（工学）

論文題名：Structures and Bioactivities of Triterpene Glycosides from Three Plants (Bitter Gourd, Passion Flower, and Shea)

[三種の植物（ニガウリ、パッションフラワー、シア）由来トリテルペン配糖体の構造と生物活性]

本研究は、主にスクアレンを前駆体として生合成される炭素数 30 のトリテルペンとサポニンを含むトリテルペン配糖体を対象としている。天然のトリテルペン配糖体は動植物、微生物界に広く分布しており、溶血作用、魚毒作用、鎮咳作用、去痰作用のほか、解熱作用、抗炎症作用、抗アレルギー作用など多様な生物活性を示す。例えば、薬用ニンジン¹の Ginsenoside や甘草²の Glycyrrhizin などのトリテルペン配糖体は、これらの生薬の必須な生物活性成分であることが知られている。本研究は、天然に存在するトリテルペン配糖体の構造と生物活性を明らかにすることにより、天然物を基盤とした創薬研究、化粧品研究に寄与することを目的とする。本研究では、植物原料として用いたニガウリ葉部（ウリ科）、パッションフラワー葉部（トケイソウ科）およびシア果実（アカテツ科）のメタノール抽出物に含まれるトリテルペン配糖体等について詳細な成分探索を行った。さらに、単離化合物の生物活性（美白効果、抗酸化活性、抗炎症活性、抗発がんプロモーター活性、抗がん活性）評価を行い、美白剤、抗酸化剤、抗炎症剤、発がん予防剤、抗がん剤の開発に有用と考えられる幾つかの化合物（シード化合物）を見出した。

本論文は全 5 章で構成されており、各章の概要を以下に述べる。

第 1 章 緒論

本研究の背景、トリテルペン配糖体の説明、本研究が対象とした植物資源であるニガウリ (*Momordica charantia*)、パッションフラワー (*Passiflora edulis*) およびシア (*Vitellaria paradoxa*) について概説し、研究目的などを述べ、本研究の位置づけを明確にした。

第 2 章 実験

本研究で用いた植物試料、試薬、装置および主な実験方法について述べた。また、ニガウリ葉部、パッションフラワー葉部、シア果実抽出物の分画方法について述べた。さらに、単離化合物の生物活性評価方法を述べた。

第 3 章 構造解析・同定

ニガウリ葉部、パッションフラワー葉部、シア果実からの単離成分の構造解析および同定について述べた。単離した既知化合物は、標準品とのクロマトグラム (TLC, HPLC 等) の比較や文献値とのスペクトル (¹H NMR, ¹³C NMR, MS 等) の比較により同定し、新規化合物の構造解析は IR, UV, MS, ¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT, および二次元 NMR (HMQC, HMBC, ¹H-¹H COSY, NOESY) などのスペクトル法や化学的方法により行った。

① ニガウリ葉部メタノール抽出物より 25 種の化合物 (1-25) を単離した。これらのうち、下記の 6 種のクルビタン型トリテルペン配糖体・非配糖体 (1, 6-9, 12)、および 2 種の配糖体 (22, 24) は新規化合物であった：(23*E*)-3β,25-Dihydroxy-7β-methoxycucurbita-5,23-dien-19-al (1), (23*S**)-3β-Hydroxy-7β,23-dimethoxycucurbita-5,24-dien-19-al (6), (23*R**)-23-*O*-Methylmomordicine IV (7), (25ξ)-26-Hydroxymomordicoside L (8), 25-Oxo-27-normomordicoside L (9), 25-*O*-Methylkaravilagenin D (12), (4ξ)-α-Terpineol 8-*O*-L-[α-arabinopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside] (22), Myrtenol 10-*O*-[β-D-apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside] (24)。

② パッションフラワー葉部メタノール抽出物より 17 種の化合物 (20, 26-41) を単離した。これらのうち、下記の 1 種のフラボノイド配糖体 (27)、および 2 種のシクロアルタン型トリテルペン配糖体 (32, 33) は新規化合物であった：Chrysin 6-*C*-β-rutinoside (27), (31*R*)-31-*O*-Methylpassiflorine (32), (31*S*)-31-*O*-Methyl-

passiflorine (33).

③ シア果実メタノール抽出物より 32 種の化合物 (42–73) を単離した. これらのうち, 下記の 5 種 (42, 43, 49, 50, 54) のオレアナン型トリテルペン配糖体は新規化合物であった: Paradoxoside A (42), Paradoxoside B (43), Paradoxoside C (49), Paradoxoside D (50), Paradoxoside E (54).

第 4 章 生物活性

3 種の植物抽出物および単離化合物について, 美白効果, 抗酸化活性, 抗炎症活性, 抗発がんプロモーター活性, および抗がん活性の観点から生物活性評価を行った.

① 美白効果 (B16 マウスメラノーマ細胞を用いたメラニン産生抑制活性): ニガウリ葉部, パッションフラワー葉部およびシア果実のメタノール抽出物, それらの溶媒分画物および 53 種の単離化合物 (18–70) について評価した. ニガウリ葉部のブタノール画分, パッションフラワー葉部のメタノール抽出物, シア果実のブタノール抽出物は 100 $\mu\text{g/ml}$ で細胞毒性を示さず, 顕著なメラニン産生抑制活性を示した. また, 単離化合物 (18–70) のうち, 2 種のイオノール配糖体 (20, 21), 3 種のフラボノイド配糖体 (26, 27, 69), 2 種のトリテルペン配糖体 (48, 52) および 1 種のペンタンジオール配糖体 (62) が検体濃度 10–100 μM で細胞毒性を示さず, 美白化粧品素材として用いられている Arbutin を上回るメラニン産生抑制活性を示した.

② 抗酸化活性 (DPPH ラジカル消去活性): パッションフラワー葉部, シア果実のメタノール抽出物, 溶媒分画物および 46 種の単離化合物 (20, 26–70) について評価した. シア果実メタノール抽出物および溶媒分画物のラジカル 50% 消去濃度 (IC_{50}) は 6.8–24.3 $\mu\text{g/ml}$ であった. 単離化合物のうち, 1 種のフェノール性化合物 (65) および 4 種のフラボノイド化合物 (66–69) に, 参照化合物の α -Tocopherol (IC_{50} 13.0 μM) よりも優れた活性 (IC_{50} 5.8–12.9 μM) が認められた.

③ 抗炎症活性 (マウス耳殻 TPA 誘発炎症阻害活性): シア果実メタノール抽出物, 溶媒分画物および 18 種の単離化合物 (42–46, 49–53, 55, 56, 59, 60, 63, 65, 68 および 69) について評価した. メタノール抽出物および溶媒分画物のうち, 酢酸エチル画分が最も高い抗炎症活性 (炎症抑制率 47%; 検体濃度 1.0 mg/ear) を示した. 単離化合物のうち, 12 種のオレアナン型トリテルペンおよび配糖体 (42–46, 49–53, 55, および 56) は, 参照化合物である合成抗炎症剤 Indomethacin (50%抑制量 ID_{50} 0.91 $\mu\text{mol/ear}$) よりも優れた抗炎症活性 (ID_{50} 0.02–0.38 $\mu\text{mol/ear}$) を示した.

④ 抗発がんプロモーター活性 (EBV-EA 発現抑制活性): シア果実メタノール抽出物, 溶媒分画物および 63 種の単離化合物 (1–17, 20, 26–70) を, 抗発がんプロモーター活性評価の一次スクリーニング試験である EBV-EA 発現抑制試験に供した. シア果実抽出物および溶剤分画物のうち, メタノール抽出物および酢酸エチル画分が 100 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で EBV-EA の発現を 5.3–6.9% に抑制し, 高い活性を示した. 単離化合物のうち, 27 種のトリテルペンおよび配糖体 (1–3, 6–8, 11, 12, 14–17, 30–35, 47–49, 51–56) および 4 種のフラボノイド (26, 66–68) が, 参照化合物の β -Carotene (IC_{50} 397 molar ratio/32 pmol TPA) と同等以上の活性 (IC_{50} 242–395 molar ratio/32 pmol TPA) を示した.

⑤ 抗発がんプロモーター活性 (発がんプロモーション抑制活性): 2 種のククルビタン型トリテルペン (1, 11) のマウス皮膚における抗発がんプロモーター活性を評価した. マウス皮膚に, 発がんイニシエーター (DMBA) のみを塗布したコントロール群のがん発生率が 11 週目で 100%に達したのに対し, トリテルペン配糖体 (1, 11) を併せて塗布した群ではがん発生率がともに 40%であり, これらの化合物が発がんプロモーションを有意に抑制することが示された.

⑥ 抗がん活性 (ヒトがん細胞に対する傷害活性): シア果実メタノール抽出物, 溶媒分画物および 46 種の化合物 (1–17, 42–70) の, 白血病細胞 (HL60), 肺がん細胞 (A549), 十二指腸がん細胞 (AZ521), 乳がん細胞 (SK-BR-3) に対する細胞傷害活性評価を行った. メタノール抽出物および溶媒分画物の中では, ブタノール画分が 4 種のがん細胞に対して 50% 致死濃度 (IC_{50}) 43.2–97.3 $\mu\text{g/ml}$ の細胞傷害活性を示した. 単離化合物では, 8 種のトリテルペンおよび配糖体 (2, 5, 6, 7, 9, 14, 44 および 54) が, いずれかのがん細胞株に対して顕著な活性を示した (IC_{50} 1.7–32.5 μM). さらに, 肺がん細胞 (A549) を用いた実験で, 化合物 44 (IC_{50} 13.5 μM) がアポトーシス誘導作用を示すことを確認した.

第 5 章 総括

本論文では, ニガウリ葉部, パッションフラワー葉部およびシア果実のメタノール抽出物中のトリテルペンおよびトリテルペン配糖体 40 種を含む 73 種の化合物の単離と構造解析について述べた. さらに,

得られた化合物の生物活性を評価し、特に、トリテルペン配糖体および非配糖体の幾つかの化合物が優れた美白効果、抗発がんプロモーター活性、抗炎症活性および抗がん活性を有すること、またフェノール性水酸基を持つフラボノイド類が強い抗酸化活性を有することを述べた。本研究で生物活性を見出した化合物は、天然物を素材とした美白剤、抗酸化剤、抗炎症剤、抗発がん予防剤、抗がん剤の今後の開発研究において、重要な素材（リード化合物）になると判断した。