

## ニガキ科植物中の生物活性クアシノイドに関する研究

田村 貞明

広島大学大学院生物圏科学研究科

Studies on Bioactive Quassinoids Isolated  
from Simaroubaceae Plants

Sadaaki Tamura

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,  
Higashi-Hiroshima 739-8521, Japan*

## 要 旨

## 第 1 章 序 論

ニガキ科植物 Simaroubaceae は、主に熱帯から温帯にかけての広い地域に分布しており、約 28 属 150 種が知られている。ニガキ科植物は世界各地で伝承医薬として用いられてきた。例えば、アフリカでは木部のエキスが腫瘍、マラリア、赤痢、ハンセン氏病などの治療に使用され、中国では果実のエキスが抗がん剤として使用されている。また日本ではニガキの木部を胃炎などの治療に用いてきたほか、煎じ汁を農作物の害虫や家畜の皮膚寄生虫の駆除に使用してきた。このようにさまざまな生物活性を示すニガキ科植物に含まれる活性物質の構造研究が Polonsky、Kupchan、および Lee らによって活発に行われ、苦味成分であるクアシノイド (Quassinoid) が単離された。クアシノイドはトリテルペンであるが、高度に酸化されているため炭素数は 20 となっている。エチオピア産ニガキ科植物 *Brucea antidysenterica* より単離されたクアシノイド Bruceantin は代表的な化合物であり、アメリカの国立がん研究所において、抗がん剤として Phase の段階まで臨床試験が実施された。以来、クアシノイドがさまざまな生物活性を有することが明らかとなり注目されている。

日本に自生するニガキ科植物は *Picrasma ailanthoides* (和名ニガキ) と *Ailanthus altissima* (和名シンジュ) の 2 種があり、ニガキおよび日本産シンジュについては当研究室および東京大学の Takahashi らのグループなどにより成分検索が行われているが、台湾産シンジュについては研究が行われていない。そこで今回、台湾産シンジュのエキスを材料として用い、新規化合物の探索および日本産シンジュとの成分比較を目的として成分検索を行った。また同時に単離した既知化合物については、活性の向上ならびに構造活性相関の検討を目的として誘導体を数種合成し、生物活性試験を行った。生物活性については、主に発がんプロモーション抑制活性 (発がん予防効果) を指標としたが、抗マラリア活性、抗 HIV 活性、一酸化窒素ドナーに対する阻害活性についても活性試験を実施し効果を検討した。

## 第2章 生物活性物質の探索

1985年に採取された台湾産 *Ailanthus altissima* の地上部 330kg のメタノールエキス 24kg の一部 (2.6 kg) を順にヘキサン、クロロホルム、ブタノールおよびメタノール - 水可溶画分に分配し、ヘキサンエキス 760g、クロロホルムエキス 514g、ブタノールエキス 216g、メタノール - 水エキス 624g を得た。それぞれの粗抽出画分についてのバイオアッセイの結果などをもとにクロロホルムエキス (CHCl<sub>3</sub> Ext.) についてさらに成分検索を行った。まず、CHCl<sub>3</sub> Ext. をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに附し、順に酢酸エチル - ジエチルエーテルの混合溶媒、クロロホルム - メタノール - 水の混合溶媒、最後にメタノールで溶出した。これらを HPLC 分析したところ、酢酸エチル - ジエチルエーテルの混合溶媒で溶出したフラクションの後半部分に既知クアシノイドとよく似た極性を示すピークが多く見られた。それらのフラクションを分取薄層クロマトグラフィー、Sephadex LH-20 を担体としたカラムクロマトグラフィーおよび ODS カラムを用いた中圧液体クロマトグラフィーによりさらに分画し、最終的に分取 HPLC および再結晶法によって精製した。その結果クアシノイドとして 4 種の新規化合物 Ailantinol E、F、G、H とともに、Shinjulactone C、Amarolide-11-acetate、Shinjulactone A、Shinjulactone H、Shinjulactone L、Chaparrin など数種の既知化合物および数種のアルカロイド化合物を単離した。既知クアシノイドおよびアルカロイド化合物については <sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C 核磁気共鳴スペクトル (NMR)、マススペクトル等によって構造を同定した。新化合物について、Ailantinol E は無色無定形固体として約 9mg 得られ、<sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C-NMR スペクトルによって Shinjulactone C に類似した骨格を有することが示唆されたため、二次元 NMR などにより構造を詳細に検討したところ、Shinjulactone C の 20 位の水酸基がメトキシル基となった化合物であると決定した。Ailantinol F、G はそれぞれ約 10mg ずつ得られ、Ailantinol F については <sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C-NMR スペクトルによって *Picrasma ailanthoides* より単離された Picrasin B と類似した炭素骨格であることが示唆されたため二次元 NMR などにより構造を詳細に検討したところ、Picrasin B の 12 位のメトキシル基が水酸基となった化合物であると決定した。Ailantinol G は質量分析により分子量 480、分子式 C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>O<sub>10</sub> と判明し、<sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C-NMR スペクトルによって 15 位に側鎖を有するタイプの化合物であり、Shinjulactone B に見られるように炭素骨格の A 環が B 環と離れたクアシノイドであることが示唆された。さらに二次元 NMR などにより詳しく構造を検討したが A 環と B 環、および側鎖構造の絶対配置が確認できなかった。再結晶を繰り返すことにより無色針状の良好な結晶が得られたので、最終的に X 線結晶構造解析により構造を決定した。

## 第3章 誘導体の合成

今回、単離したクアシノイドの中で Shinjulactone C (以下、SLC) は比較的量が多く、クアシノイドとしては特異な構造を有している。また、以前の研究により SLC はクアシノイドの中でもっとも抗 HIV 活性が高いことが判明している。そこで抗 HIV 活性ならびに発がんプロモーション抑制活性について構造活性相関を検討するため、今回 SLC を原料として、7 種の誘導体を合成した。誘導体合成は酸無水物と SLC の水酸基との間でエステル化を行い、アルキル側鎖の末端にカルボン酸を有する誘導体を合成した。側鎖の構造として直鎖のものと適当な枝分かれ構造を有するものを選択した。これにより、適度な疎水性と水溶性を併せ持つ化合物とした。また、A 環における二重結合の効果を検討するために Isobrucein B および Bruceanol A、B に対して水素添加を行い、それぞれの 2 種の還元体の異性体を合成した。

## 第4章 生物活性試験

### 4-1 発がんプロモーション抑制活性

天然薬用資源による発がん予防を目的として、発がん抑制作用について検討した。台湾産シンジュより単離した3種の新規化合物、および既知クアシノイド Shinjulactone C、Isobrucein B の誘導体とアルカロイド化合物について、Epstein-Barr Virus 初期抗原 (EBV-EA) 活性化抑制効果を指標とする抗発がんプロモーター作用成分の一次スクリーニングを実施した。パーキットリンパ腫由来の Epstein-Barr ウイルスは誘発物質によって EBV-EA を発現する。EBV ゲノムを内蔵する Raji 細胞はその発現が極めて困難とされているが、n-酪酸と TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) を併用するとその発現率は40%にも及ぶ。この発現の抑制物質として今回単離および合成した化合物を用い実験を行った。その結果、新規化合物は中程度の活性を示し、誘導体についてはすべて原料より高い活性を示した。SLC 誘導体の中ではブタン二酸 (コハク酸) エステルがペンタン二酸 (グルタル酸) エステルよりも高い活性を示し、ペンタン二酸エステルのなかでは側鎖の枝分かれ構造がメチル基、ジメチル基、エチルメチル基、テトラメチレン基と嵩高くなるにつれて活性が低下した。Isobrucein B および Bruceanol A、B の還元体についてはいずれも原料とほぼ等しい活性を示し、わずかではあるが活性が向上した。

### 4-2 抗マラリア活性

マラリアは、熱帯病のなかで最大の感染者を有する原虫感染症であり、熱帯地域全体に広く蔓延しているだけでなく、温帯の多くの地域で発生している。近年問題となっている多剤耐性熱帯熱マラリアに対し有効な化合物の候補として、Shinjulactone -A、-B、-C、Ailantanol A、Ailanthone、Dehydroglauucarubinone、Amarolide、Amarolide-11-acetate、Bruceanol -A、-B、-C、Isobrucein B、Bruceantarin、Dehydrobruceantarin および Isobrucein B の加水分解体を選択し、生物活性試験を行った。その結果1次スクリーニングにおいて Isobrucein B、Ailanthone などが既存の抗マラリア薬と同程度かそれ以上の高い活性を示した。

### 4-3 抗 HIV 活性

これまでの研究により、数種のクアシノイドが抗 HIV 活性を有することが判明しており、特に SLC はもっと高い活性を有するので誘導体を合成したが、今回のバイオアッセイでは原料、誘導体ともに活性の向上は見られなかった。

### 4-4 一酸化窒素 (NO) ドナーに対する阻害活性

3種の新化合物 Ailantanol E、F、G について、ヒト正常肝由来細胞を用いて NO ドナー (NOR1) に対する作用試験を行った。いずれも阻害活性を有することが明らかとなった。これによりクアシノイドは NO による発がんを予防する化合物として有望であることが示唆された。

## 第5章 総合考察

台湾産 *Ailanthus altissima* について成分検索を行った結果、3種の新規クアシノイド Ailantanol E、F、G のほか Shinjulactone C 等、数種の既知クアシノイド化合物、および数種のアルカロイド化合物を単離した。台湾産シンジュと日本産シンジュの違いについては TLC 分析などにより粗抽出エキスに含まれる物質に差が認められたが、単離した化合物については比較できるほど数が多くないため今回は検討することはできなかった。生物活性について新規クアシノイドは発がんプロモーション抑制活性ならびに NO ドナーに対する阻害活性試験を行い、いずれに対しても活性を有することが判明した。

また、クアシノイドが活性を発現する際に重要な部分構造を検討するために Shinjulactone C および Isobrucein B を材料として誘導体を合成し生物活性試験を行った。その結果、発がんプロモーション抑制活性に関して、適度な大きさの側鎖を有する化合物が強い活性を有し、水溶性向上のために側鎖の末端にカルボン酸を導入しても問題は生じないことが明らかとなった。アルカロイド化合物についても生物活性試験をおこなったがクアシノイドほど高い活性は示さなかった。クアシノイドは抗マラリア薬および一酸化窒素ドナーに対する阻害剤としても有望であり、今後予想される多剤耐性マラリアや NO による発がんに対する有効な化合物の候補として重要であることが示唆された。