

論文の内容の要旨

氏名：潘 欣

博士の専攻分野の名称：博士（工学）

論文題名：Elucidation of Anti-tumor and Anti-inflammatory Constituents from *Melia azedarach* L.
(センダン由来抗腫瘍および抗炎症成分の探索)

センダン科の植物には生物二次代謝産物としてリモノイドが多く含まれている。リモノイドとはアポチルカランが酸化を受け 4 炭素が消失した変形トリテルペンである。古くから人類は病気の治療のために経験的に有効な植物を民間薬あるいは漢方薬として用いているが、インド伝承医学であるアーユルベーダにおいて、センダンは駆虫剤、利尿剤、収斂剤や健胃薬などとして伝統的に用いられている。漢方では同じセンダン科でセンダン樹の変種であるトウセンダン樹の果実が、駆虫薬や鎮痛剤として用いられてきた。センダンの果実や樹皮は、トウセンダン樹が使用できない時の代替品として使われてきた。一方、センダンをはじめ生薬に含まれている成分の作用機構については解明されていないものが多い。従って、センダン科の植物成分の生物活性と作用機構を明らかにすることは生薬の民間薬あるいは漢方薬としての有用性を明確にする上で重要であり、さらに生薬構成成分から新たな薬品開発の素材としての有用な成分を創出することも可能である。本研究では、特にリモノイド化合物について新たな発がん予防剤、抗腫瘍薬開発および抗炎症薬の基盤となるリード化合物を見出すことを目的として、センダン果実、葉部および樹皮について詳細な成分探索を行い、抗発がんプロモーター活性、抗腫瘍活性および抗炎症活性の評価を行った。

本論文は全 5 章より構成されており、各章の概要を以下に述べる。

第 1 章 緒論

本研究の背景、センダン(*Melia azedarach* L. センダン科)、およびセンダンに含まれるリモノイド成分に関する先行研究について概説し、研究目的を明らかにするとともに、本研究の位置づけを明確にした。

第 2 章 実験

本研究で用いた試薬、装置について述べた。また、センダン果実、葉部および樹皮から得た化合物(53 種)の精製方法および生物活性試験方法について述べた。

第 3 章 化合物の構造解析および同定

本章では、以下に要約したように、センダン果実、葉部および樹皮から単離したリモノイドなどの構造解析および同定について述べた。新規化合物の構造解析は、IR, MS, NMR ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HMQC, HMBC, $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$, NOESY) 法等のスペクトル解析と計算化学的手法により行った。既知化合物の同定は標準品とのクロマトグラムおよびスペクトルデータの比較により行った。

1) リモノイドの構造解析および同定

- i) Trichilin 型リモノイド：センダン果実から単離した 7 種の Trichilin 型リモノイド (1-7) の構造解析を行い、これらのうち 12-Dehydroneoazedarachin D (6) および 12-Dehydro-29-exoneoazedarachin D (7) の 2 種は新規天然化合物であることを述べた。
- ii) Vilasinin 型リモノイド：センダン果実および葉部抽出物から単離し、各スペクトル解析を行った計 3 種の Vilasinin 型リモノイド (8-10) の構造について述べた。
- iii) Havanensin 型リモノイド：センダン果実から単離した 1 種の Havanensin 型リモノイド (11) の構造を述べた。
- iv) Salannin 型リモノイド：センダン果実および葉部抽出物から単離した 23 種のリモノイド (12-34) の構造について述べた。これらのうち 3-Deacetyl-4'-demethylsalannin (14), 1-*O*-Decinamoyl-1-*O*-Z-cinnamoylohchinin (17), 1-*O*-Decinamoyl-1-*O*-benzoylohchinin (19), Ohchininolide (21), 1-*O*-Decinamoyl-1-*O*-benzoylohchininolide (22), 23-Methoxyohchininolide A (23), 23-Methoxyohchininolide B (24), 23-Hydroxyohchininolide (25),

- 1-*O*-Decinnamoyl-1-*O*-benzoyl-23-hydroxyohchinolide (26), 21-Hydroxyisoochinolide (27), 17-Defurano-17-oxoohchinin (28), 3-Deacetyl-28-oxosalannin (29), 1-*O*-Decinnamoyl-1-*O*-benzoyl-28-oxoohchinin (30), 3-*O*-Deacetyl-4'-demethyl-28-oxosalannin (31), 3-Deacetyl-28-oxosalannolactone (32), 3-Deacetyl-28-oxoisosalanninolide (33) および 3-Deacetyl-17-defurano-17, 28-dioxosalannin (34) の 17 種は新規天然化合物であった。
- v) Nimbin 型リモノイド：センダン果実抽出物から単離した 5 種のリモノイド (35-39) は Nimbin 型であり，うち 1 種，1-*Detigloylo*hchinolal (36) は新規化合物であることを明らかにした。
- vi) Nimbolinin 型リモノイド：センダン果実抽出物から単離した 1 種の Nimbolinin 型リモノイド (40) の化学構造を同定した。
- 2) リモノイド以外の化合物の構造解析および同定：センダン果実および樹皮抽出物から 3 種のトリテルペノイド (41-43)，センダン葉部抽出物から 1 種のアポカロテノイド (44) および 1 種のアルカロイド (45)，センダン葉部および樹皮抽出物から 5 種のステロイド (46-50) および 1 種のステロイド配糖体 (51)，センダン樹皮抽出物から 2 種のフラボノイド (52-53) を単離し，化学構造を同定した。

第 4 章 生物活性

第 3 章で記載した天然リモノイドおよびその他の化合物について，抗発がんプロモーター活性，抗腫瘍活性および抗炎症活性の評価を行った。

- 1) 抗発がんプロモーター活性：29 種のリモノイド (2-9, 16, 17, 19-35, 37, 40) およびリモノイド以外の化合物 (41, 46-53) の合計 38 種の化合物について，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 1-*O*-Tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) 誘発 EBV-EA 発現抑制試験を行い，38 種の化合物のすべてが，細胞毒性を殆ど示さず，5 種のリモノイド (2, 7, 33, 34, 37)，1 種のステロイド (46)，1 種のステロイド配糖体 (51) および 2 種のフラボノイド (52, 53) が，参照化合物のβ-カロテン (50%抑制濃度 IC₅₀: 397 mol ratio / 32 pmol TPA) と同等以上の活性 (IC₅₀: 299-401 mol ratio/32 pmol TPA) を示したことから，リモノイドうち 2, 7, 33, 34, 37 が有望な発がん予防剤である可能性が示唆された。
- 2) 抗腫瘍活性：53種の化合物 (1-53) について白血病細胞 (HL60)，肺癌細胞 (A549)，十二指腸がん細胞 (AZ521) および乳がん細胞 (SK-BR-3) に対する細胞傷害活性評価を行い，15種のリモノイド (1-3, 7, 9, 11, 14, 18, 23, 26, 31, 36, 38-40) および3種のトリテルペノイド (41-43) が，1種以上の細胞株に対し顕著な活性を示すことを明らかにした (IC₅₀: 0.005–9.9 μM)。細胞傷害活性を示した化合物のうち1はHL60 (IC₅₀: 0.016 μM) およびAZ521 (IC₅₀: 0.035 μM)，2はHL60 (IC₅₀: 0.65 μM)，31はHL60 (IC₅₀: 2.8 μM) およびAZ521 (IC₅₀: 3.2 μM) のアポトーシスを誘導することを確認した。さらにアポトーシス誘導のメカニズム解析を行い，活性発現機構を明らかにした。以上の結果から，リモノイドの中で1, 2, 31がアポトーシス誘導型抗腫瘍薬のリード化合物として有望であることが示唆された。
- 3) 抗炎症活性：13 種の化合物について NO 産生抑制試験および細胞毒性試験を行った。9 種のリモノイド (10, 16, 25, 26, 29, 31, 32, 33, 34)，1 種のトリテルペノイド (42) および 3 種のステロイド (44, 45, 46) が，優れた NO 産生抑制効果を示し (IC₅₀: 4.6-86.0 μM)，細胞毒性は微弱であった (IC₅₀: 93.2 and IC₅₀>100 μM)。顕著な活性を認めた化合物のうち 16 (IC₅₀: 29.7 μM) で刺激した細胞の炎症関連タンパク質，iNOS，COX-2，COX-1 を Western blot 法で測定した。16 は，iNOS および COX-2 の発現を濃度依存的に減少させることを確認した。一方，16 は COX-1 のタンパク質発現を抑制しないことが確認できた。すなわち，16 の炎症抑制機構が明らかになったことから，当該リモノイド (16) が新たな抗炎症剤のリード化合物として有望であることが示唆された。

第 5 章 総括

以上，本論文では，センダンのリモノイド40種を含む53種の化合物の単離，構造解析および同定について述べた。また，単離された化合物について，発がん予防剤，抗炎症薬および抗腫瘍剤のリード化合物開発の観点から，抗発がんプロモーター活性，抗炎症活性および抗腫瘍活性の評価を行い，単離された化合物の幾つかが優れた活性を有することを述べた。本研究により5種のリモノイド Meliarachin (2)，12-Dehydro-29-exo-neoazedarachin D (7)，3-Deacetyl-28-oxoisosalanninolide (33)，3-Deacetyl-17-defurano-17,28-dioxosalannin (34)，および Mesendanin E (37) が発がん予防剤として，

3 種のリモノイド 12-*O*-Acetylarachin B (**1**), Meliarachin C (**2**) および 3-*O*-Deacetyl-4'-demethyl-28-oxosalannin (**31**) がアポトーシス誘導型抗腫瘍薬のリード化合物として, さらに1種のリモノイドOchinin (**16**) は抗炎症薬のリード化合物として有望であることが示唆された.