

サボテン科植物由来のトリテルペノイドサポニン成分の研究

The Triterpenoid Saponins from Cacti

平成 29 年度入学 藤原 恒司 (Fujihara, Koji)

指導教員 高取 薫

サボテン科植物はアメリカ大陸原産で、乾燥地域や降雨量の少ない地域に広く自生する植物である。サボテン科植物が含有する成分としてはアルカロイド、フェニルプロパノイド、テルペノイドが知られている。¹⁾ 特に、トリテルペンサポゲニン成分については、1950年代に Djerassi らにより数多くの報告がなされた。²⁾

当研究室では新規薬用資源植物開発の一環として、サボテン科植物よりさらなるトリテルペンサポゲニン成分の探索を行い、新規 17 種を含む計 37 種の新規トリテルペン成分を報告してきた。³⁾ さらに、トリテルペンサポニン成分の探索を行い、これまでに 3 属 5 種のサボテンから新規 28 種を含む計 29 種のサポニン成分を単離し、その生物活性を報告してきた。⁴⁾ 演者は今回、これまでに着手されてこなかったサボテンである雷神閣 (*Polaskia chichipe*)、朝霧閣 (*Stenocereus pruinosus*)、およびさらなる新規サポニン成分が期待される入鹿 (*Stenocereus eruca*) に着目し、成分探索および単離化合物の新たな生物活性を検討した。

1. サポニン成分の探索

雷神閣，入鹿，朝霧閣の凍結乾燥粉末を CHCl_3 ， MeOH で順次抽出して得られた MeOH エキスについて各種クロマトグラフィーによる分離，精製を行い，雷神閣より oleanane-type のトリテルペン骨格を有するサポニン 14 種 (1-14)，入鹿より oleanane-type のサポニン 2 種 (15-16) および lupane-type のサポニン 3 種 (17-19)，朝霧閣より oleanane-type のサポニン 10 種 (20-29) を単離した．これら 29 種のサポニンの構造は MS および各種 NMR データから，23 種 (2-8, 10-20, 24, 26-29) を新規化合物であると決定し，6 種 (1, 9, 21-23, 25) を既知化合物と同定した (Fig. 1).⁵⁻⁷⁾

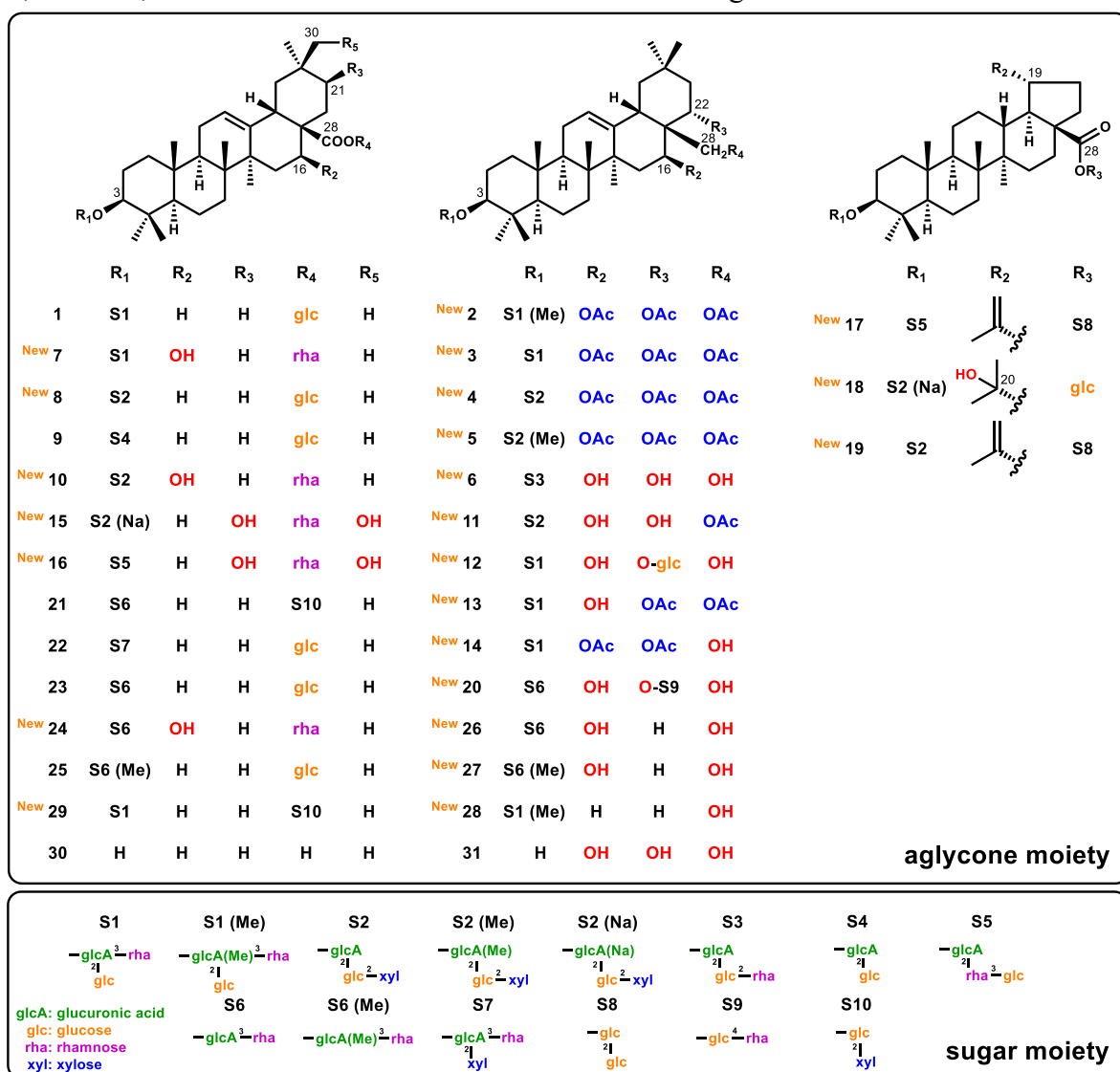


Fig. 1. The structures of saponins from cacti.

2. アルツハイマー型認知症

近年、認知症の半数以上を占めるアルツハイマー型認知症 (AD ; Alzheimer's Disease) の罹患が世界的な社会問題となっている。2017年の世界保健機構の発表によると、現在の発症者数は3秒に1人の割合に及ぶとされている。今後訪れる超高齢化社会においてはADの発症者数・罹患者数がさらに増加することが容易に見込まれるため、その対策としてAD治療薬の開発が求められている。また、サポニン成分がADに対する治療薬の候補となりうることが報告されていることから、⁸⁻¹⁰⁾ 得られたサポニンを用いて抗AD作用の検討を行った。すなわち、現在主流のアミロイドカスケード仮説に従って amyloid- β ($A\beta$) 凝集抑制作用を検討し、さらに神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞を用いて $A\beta$ の毒性から神経細胞を保護する作用の検討を行った。

3. サポニンの $A\beta$ 凝集抑制作用

$A\beta$ 凝集抑制作用は Thioflavin-T 法に従い評価した (Fig. 2)。その結果、雷神閣より得られたサポニン (**2, 8, 9**) にポジティブコントロールとして用いた myricetin と同程度の $A\beta$ 凝集抑制作用が認められた。構造活性相関について検討したところ、chichipegenin (**31**) をアグリコンの基本骨格とするサポニン (**2-6, 11-14, 20**) においては、アグリコンの 16, 22, 28 位の 3 か所にアセチル基を有するサポニン (**2-5**) に強い活性が見られた。一方、アグリコンに 2 つ以下のアセチル基を有するサポニン (**11-14, 20**) においては活性が減弱した。**6** はアセチル基を有さないにも関わらず強い活性が認められたが、**6** は他には見られない糖鎖構造であったことから、糖鎖構造も活性に寄与していると推測した。また、中程度の活性が認めら

れた **1** と活性が認められなかった **23** はどちらも oleanolic acid(**30**) がアグリコンであり，糖鎖においても glucuronic acid の 3 位に rhamnose が結合している構造までは共通していることから，glucuronic acid の 2 位に glucose が結合していることが活性発現に重要であることが示唆された．さらに，**22** は glucuronic acid の 2 位に xylose が結合した糖鎖であり，それ以外は **1** と共通の構造を有するが，活性を示さなかった．このことから，glucuronic acid の 2 位に glucose が結合していることが活性発現に重要であることが示唆された．**8, 9** についても oleanolic acid をアグリコンとして有するサポニンであるが，活性に違いが見られなかったことから，glucose の 2 位に結合した xylose は活性にあまり寄与しないことが示唆された．また，**7** と **10** においても 3 位に結合した糖鎖構造のみが異なっていることから，3 位の糖鎖構造が活性に寄与することが明らかとなった．入鹿から得られたサポニン (**15-19**) については活性が認められなかったが，**17-19** に関しては lupane-type のサポ

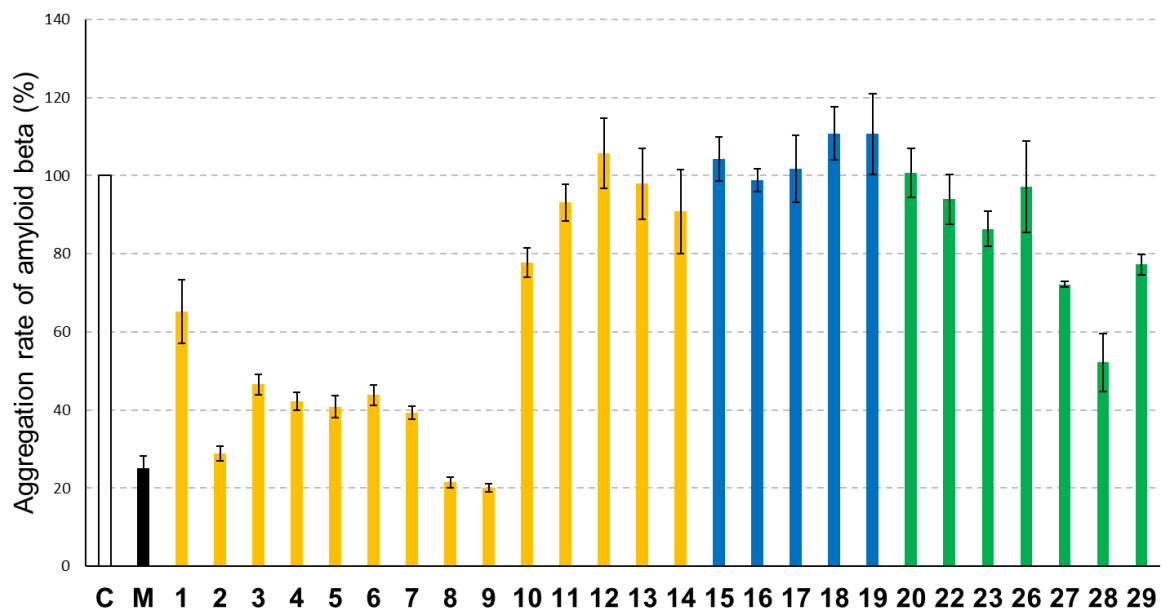


Fig. 2. Inhibitory activity of A β aggregation.

Data are shown as mean \pm SD (n=3). A β conc.: 25 μ M, Sample conc.: 25 μ M.

□: A β +DMSO (C), ■: A β +myricetin (M), ■: A β +saponin (1-29).

Saponins were isolated from *p. chichipe* (■), *S. eruca* (■), *S. pruinosus* (■).

ニンであること、**15** および **16** に関しては *oleanolic acid* の 21 位と 30 位が水酸化されたアグリコンを有するサポニンであることが活性消失の原因と考えられた。

4. サポニンの神経細胞を保護する作用

得られたサポニンのいくつかに A β 凝集抑制作用が認められたので、ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞および WST-8 法を用いて、A β に対するサポニンの神経細胞保護作用を評価した (Fig. 3)。その結果、**1-4** に特に強い神経細胞保護作用が認められた。構造活性相関を検討したところ、**2-4** はアグリコンとして 16 β ,22 α ,28-triacetylchichipegenin を有するサポニンであり、chichipegenin を基本骨格としたアグリコンを有する **6, 11, 12** では活性が認められなかったことから、chichipegenin がトリアセチル化されていることが神経細胞の保護に重要であることが示唆された。さらに、**1, 8, 9, 22, 23** のように *oleanolic acid* をアグリコンとするサポニンにおいても活性に違いが認められることから、アグリコンだけでなく糖鎖の違い

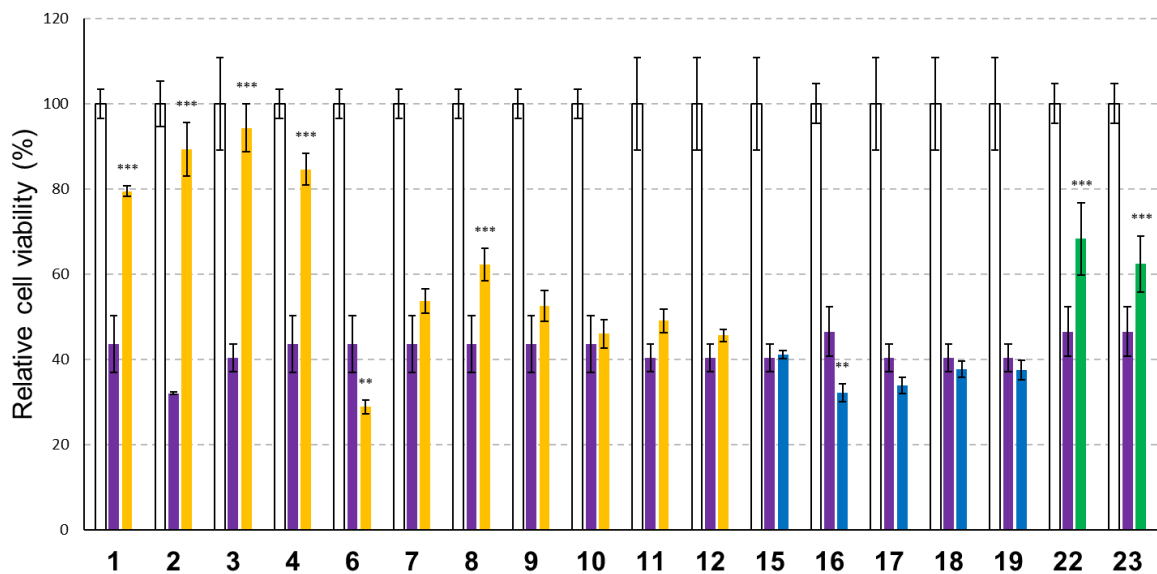


Fig. 3. Protective effect on SH-SY5Y cells against A β -associated toxicities. Data are shown as mean \pm SD (n=3). *** p < 0.01, ** p < 0.1 vs A β alone (■). A β conc.: 10 μ M, Saponin conc.: 100 μ M except **2** (25 μ M). □: Control, ■: A β , ■: A β +saponin. Saponins were isolated from *p. chichipe* (■), *S. eruca* (■), *S. pruinosus* (■).

いによっても活性が変化することが示唆された。また、入鹿より得られたサポニンには活性が認められなかった。

5. 結論

以上、3種のサボテン科植物から新規23種を含む計29種のトリテルペンサポニンを単離、構造決定した。抗AD作用の検討としてA β 凝集抑制作用を評価したところ、**2-9**に中程度以上の活性が認められた。さらに神経細胞保護作用について評価したところ、アグリコンとして16 β , 22 α , 28-triacetylchichipegeninを有するサポニンに主に活性が認められた。また、**6, 7, 9, 22, 23**にはA β 凝集抑制作用と神経細胞保護作用に相関が認められなかった。特に、**22, 23**はA β 凝集抑制作用を示さずに神経細胞保護作用を示した。したがって、今後の課題として、神経細胞保護作用の見られたサポニンがどのようにA β に作用しているのか、どのように神経細胞保護作用を発揮しているのかを精査していく必要がある。

参考文献

- 1) Santos-Díaz M. S., Camarena-Rangel N. G., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **103**, 8657–8667 (2019).
- 2) Djerassi C., Mills J., *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 1236–1243 (1958).
- 3) Kinoshita K., Akiba M., Masaaki S., Yang Y., Koyama K., Takahashi K., Kondo N., Yuasa H., *Pharm. Biol.*, **36**, 50–55 (1998).
- 4) Kakuta K., Baba M., Ito S., Kinoshita K., Koyama K., Takahashi K., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **22**, 4793–4800 (2012).
- 5) Fujihara K., Takahashi K., Koyama K., Kinoshita K., *J. Nat. Med.*, **71**, 606–616 (2017).
- 6) Fujihara K., Koike S., Ogasawara Y., Takahashi K., Koyama K., Kinoshita K., *Bioorg. Med. Chem.*, **25**, 3377–3383 (2017).
- 7) Fujihara K., Shimoyama T., Kawazu R., Sasaki H., Koyama K., Takahashi K., Kinoshita K., *J. Nat. Med.*, in press.
- 8) Yoo K., Park S., *Molecules*, **17**, 3524–3538 (2012).
- 9) Sun A., Xu X., Lin J., Cui X., Xu R., *Phytother. Res.*, **29**, 187–200 (2015).
- 10) Panda S. S., Jhanji N., *Curr. Med. Chem.*, **26**, 1–30 (2019).