

氏名(本籍) あり 在 はら 原 しげ 重 のぶ 信

学位の種類 薬 学 博 士

学位記番号 薬 博 第 2 8 号

学位授与年月日 昭 和 4 5 年 7 月 7 日

学位授与の要件 学位規則第5条第1項該当

研究科専門課程 東北大学大学院薬学研究科
(博士課程)薬学専攻

学位論文題目 シダ植物の昆虫脱皮活性物質に関する研究

(主 査)

論文審査委員 教授 竹 本 常 松 教授 南 原 利 夫

教授 岡 野 定 輔

論文内容要旨

著者は植物中の昆虫脱皮活性物質に関する研究の一環としてシダ植物における活性物質の分布状況の調査ならびにその活性本体の解明に従事した。

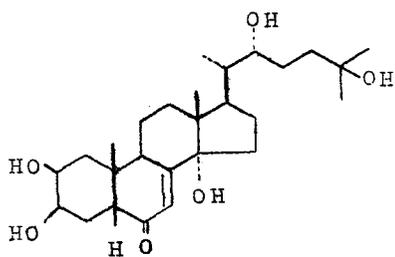
まず、24属、39種のシダ植物のエタノールエキスについて種々のヘエの遊離腹部を用いて生理活性を調べた。その結果、15属、22種に活性が認められた。すなわち、シシガシラ *Blechnum niponicum*、イヌワラビ *Athyrium niponicum*、キヨタキンダ *A. squarigerum*、ハリガネワラビ *Lastrea japonica*、ナラインダ *Rumohra miqueliana*、ミサキカグマ *Dryopteris chinensis* などに顕著な活性が認められた。また、ゼンマイ *Osmunda japonica*、オウレンシダ *Dennstaedtia Wilfordii*、ワラビ *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*、イノモトソウ *Pteris multifida*、タチシノブ *Onychium japonicum*、キジノオンダ *Plagiogyria japonica*、ジュウモンジシダ *Polystichum tripterum*、イノデ *P. polyblepharum*、クマワラビ *Dryopteris lacera*、ヤマイトチシダ *D. Bissetiana*、ヒメシダ *Lastrea Thelypteris*、ヤマイトワラビ *Athyrium Vidalii*、マメヅタ *Lemmaphyllum microphyllum*、ヒトツバ *Pyrosia Lingua*、ノキシノブ *Pleopeltis Thunbergiana* にも活性が認められた。

なお、シダ植物のほか14種のキノコ類、7種の海藻類、69種の高等植物、および52種の生薬について検討した。すなわち、キノコ類および海藻類では明らかな活性を示したものはなく、高等植物では69種のうち21種に活性が認められ、それらの中でもトガリバマキ *Podocarpus nakaii*、イノコズチ属植物 *Achyranthes* spp. の活性は顕著で、キアラボク *Taxus cuspidata* var. *nana*、ナギ *Podocarpus nagi*、カヤ *Torreya nucifera*、アケビ *Akebia quinata*、ハリビユ *Amaranthus spinosus*、ヒユ *A. magnostachyus*、アオビユ *A. viridis* にも活性が認められた。

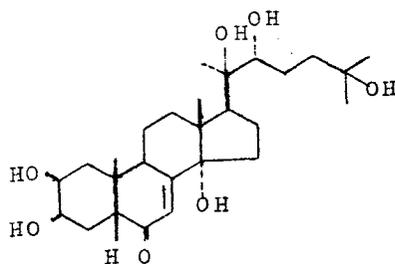
生薬類では52種のうちで22種に活性が認められ、それらの中でも牛膝類の他に一位葉 *Taxi Folium*、桑葉 *Mori Folium* が明らかな生理活性を示した。

上述の結果に基づき顕著な生理活性を示したコウヤワラビ *Onoclea sensibilis* ならびに一応の活性が認められたワラビ *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* の入手が比較的容易であったので、それらの成分検索を行なった。

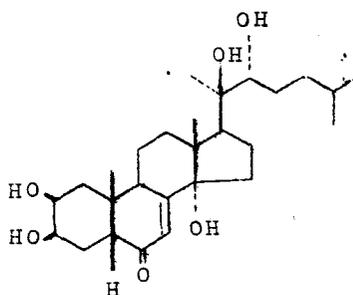
コウヤワラビからは ecdysone, mp 237-239°, ecdysterone, mp 240-242°, および ponasterone A, 266-268° を単離証明した。ほかに Pterosterone と名づけた新昆虫脱皮活性物質を単離証明した。



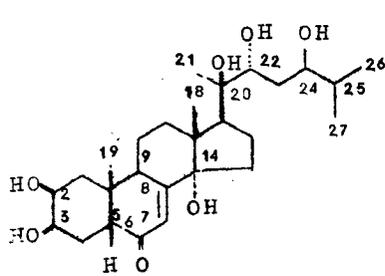
ecdysone



ecdysterone

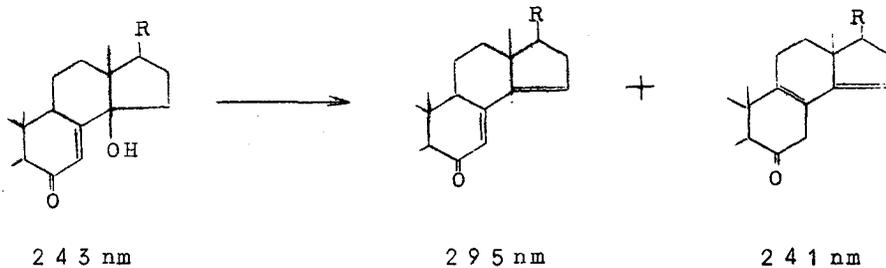


ponasterone A



pterosterone

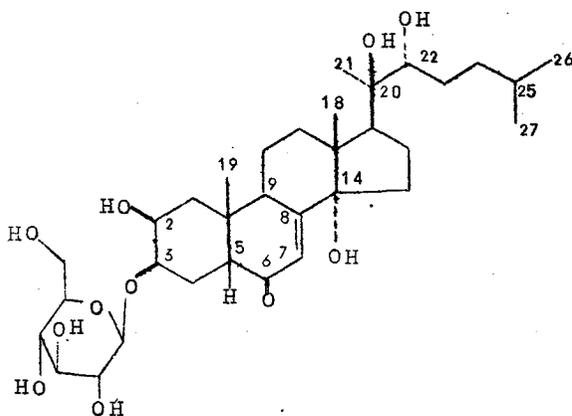
Pterosteroneは $C_{27}H_{44}O_7 \cdot H_2O$ (M^+ , m/e 480), mp 229–230°, $[\alpha]_D + 7.4^\circ$ でその物理化学的所見は既知の脱皮ホルモン, 例えばecdysteroneに類似している。すなわち, 多数の水酸基の存在はIRスペクトルで 3500 cm^{-1} に強い吸収として認められることおよびアセチル化するとtetraacetateが得られたことから示唆される。7-en-6-one構造はpterosteroneのIRスペクトルで 1643 cm^{-1} の強い吸収, UVスペクトルで 243 nm の吸収極大 ($\log \epsilon$, 4.04) およびNMRスペクトルで 6.18 ppm に水素1個分のシグナルがそれぞれ認められたことから支持される。さらに, pterosteroneの塩酸処理によって 295 nm および 241 nm にUV極大を持つ生成物を与え, これはC-14位に水酸基が存在し, これが脱水して $\Delta^{7,14}$ -dien-6-oneとなり, さらに二重結合が移動して $\Delta^{8,14}$ -dien-6-one となったことを示している。



PterosteroneのMSスペクトルはecdysteroneのそれに似ており, 分子イオンピークが m/e 480に認められ, さらに順次水が脱離して生じたイオンが m/e 462, 444, 426, 408に認められる。また, C-20:C-22間で開裂して生じたステロイド核のフラグメントによるピークが m/e 363, 345, 327に, 側鎖に由来するそれらが m/e 117, 99 および81に認められる。従つて側鎖はC-20, C-22以外にもう一つの水酸基を有する。pterosterone tetraacetateのNMRスペクトルでC-22水素のシグナルが四重線として現われていることからC-23が水素2個もつことがわかる。pterosteroneおよびそのtetraacetateのNMRスペクトルからイソプロピル基の存在が明らかとなった。以上の部分構造をつなぎあわせると側鎖の構造が帰納される。このことはさらにpterosteroneを過ヨウ素酸酸化すると速やかに2モルの試薬を消費して核部分 (14α -hydroxy-2,3-seco- 5β -pregn-7-ene-6,20-dione-2,3-dial) と側鎖部分にわかれ, 後者は2,4-dinitrophenylhydrazoneとするとtrans-isohexenalの誘導体を与えたことによつて確認された。これは酸化開裂によつて生じた4-methyl-3-hydroxy-pentanalが

操作中に脱水してできたものと考えられる。pterosteroneの核部分の立体構造はpterosteroneを部分アセチル化して得たpterosterone 2,24-diacetateを過ヨウ素酸化すると既知の 2β -acetoxy- 3β , 14α -dihydroxy- 5β -pregn-7-ene-6,20-dioneが得られたことよって確認できた。従って、Pterosteroneの構造はI式で表わされる。

ワラビからはponasterone A, mp257-259°およびpterosterone, mp231.5-232.5°を単離証明した。ほかにponasteroside Aと名づけた新昆虫脱皮活性物質を単離した。



II

Ponasteroside A

Ponasteroside Aは $C_{33}H_{54}O_{11}$ (M^+ , 626), mp 278-279°, $[\alpha]_D +28.5^\circ$ でその物理化学的所見は既知の脱皮ホルモン, 例えばponasterone Aに類似している。すなわち, 多数の水酸基の存在はIRスペクトルで 3450 cm^{-1} に強い吸収が認められたことおよびアセチル化するとhexaacetateが得られることから示唆される。7-en-6-one構造はponasteroside AのIRスペクトルで 1650 cm^{-1} の強い吸収, UVスペクトルで245 nmの吸収極大($\log \epsilon$, 4.14)およびNMRスペクトルで6.17 ppmに水素1個分のシグナルがそれぞれ認められたことから示唆される。さらに, ponasteroside Aの塩酸処理によつて298 nmおよび244 nmにUV吸収極大を持つ生成物を与え, これはC-14位に水酸基が存在し, これが脱水して $\Delta^{7,14}$ -dien-6-oneとなり, さらに二重結合が移動して $\Delta^{8,14}$ -dien-6-oneとなつたことを示している。

Ponasteroside AのNMRスペクトルでは5個のメチルシグナルが認められ, その線位

置と分裂様式は ponasterone A のそれと一致するが、ただ ponasteroside A の C-19 メチルシグナルだけは ponasterone A のそれに比べて 0.15ppm 高磁場に移動している。ponasteroside A の分子式は ponasterone A のそれよりも $C_6H_{10}O_5$ だけ多く、この値から ponasteroside A が ponasterone A にヘキソースが結合したものではないかと推定された。このことは IR スペクトルで水酸基による吸収が ponasterone A のそれよりも強く、また NMR スペクトルで ponasterone A と比較すると多くのカルビニル水素が認められたことによつて支持された。そこで ponasteroside A を酵素加水分解すると ponasterone A と glucose が得られた。従つて ponasteroside A は ponasterone A の配糖体であることが確定された。

つきに、glucose の結合位置および様式であるが、上述のように ponasteroside A の C-19 メチルシグナルが ponasterone A のそれに比して移動していることから glucose は ponasteroside A の A 環に結合しているものと考えられる。この点を明らかにするため ponasteroside A をアセチル化して得られた hexaacetate の NMR スペクトルを ponasterone A triacetate と stigmastanyl β -D-glucoside tetraacetate のそれらと比較した。A 環の 2 個のカルビニル水素のシグナルは約 4.15 と約 4.8ppm に現われ、それらの線位置から前者は配糖体結合に関与している酸素のつく炭素上の水素、後者はアセチル化された水酸基のつく炭素上の水素に帰属される。また、それらの半値巾から前者はエクソリアル水素、後者はアキシアル水素と考えられる。一方、A 環がイヌ型をとつていることは ponasteroside A と ponasterone A の ORD 曲線が類似していること、ponasteroside A と ponasterone A の NMR スペクトルにおいて C-5 水素のシグナルが一致すること、および ponasteroside A hexaacetate の NMR スペクトルで約 4.8ppm のカルビニル水素と C-9 水素間に NOE が観察されたことなどから明らかとなった。従つて glucose は ponasterone A の C-3 位の酸素に結合していることが結論された。ponasteroside A の C-1' 水素のシグナルは $J = 7\text{ Hz}$ の二重線として現われ、従つて glucose は β 型で結合している。また、ponasteroside A の $[M]_D$ は $+179^\circ$ で ponasterone A の $[M]_D$ は $+271^\circ$ と考えあわせて glucose は D 系である。以上から ponasteroside A は ponasterone A 3 β -D-glucoside (II) と結論される。

昆虫脱皮活性物質の配糖体が植物から発見されたことは全く新しい事実であり、ほかにも phytoecdysone 類の配糖体の存在を示唆するものであるが、現在までのところその例が知られていない。

上述の pterosterone ならびに ponasteroside A はセンチニクバエ *Sarcophaga perigrina* に対して強い脱皮活性を示し、また、いずれもマウスの肝臓での蛋白合成に対して強い効果が観察されたことは生化学的な見地から興味あることである。

審査結果の要旨

14種のキノコ類, 7種の海藻類, 108種の高等植物および52種の生薬類について昆虫脱皮活性を調べた結果, キノコ類および海藻類では明らかに活性を示したものはなかつたが, 高等植物では42種に, また生薬類では22種に活性を認めた。シダ植物では39種のうち下記の21種が活性を示した。

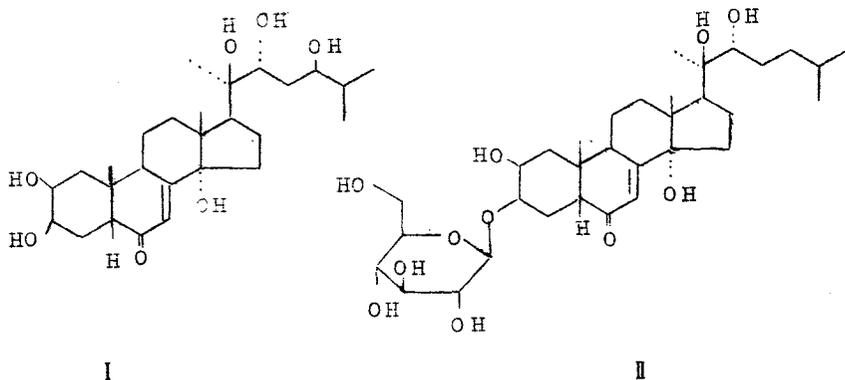
イヌワラビ, イノデ, イノモトソウ, オウレンシダ, キジノオシダ, キヨタキンダ, クマワラビ, シシガシラ, ジュウモンジシダ, ゼンマイ, タチシノブ, ナライシダ, ノキシノブ, ハリガネワラビ, ヒトツバ, ヒメシダ, マメヅタ, ミサキカグマ, ヤマイタチシダ, ヤマイヌワラビ, ワラビ

その後の調査で, 活性の見い出されたシダ植物も加え, そのうちから顕著な活性を示し, しかも必要量入手できたコウヤワラビ *Oncoclea sensibilis* ならびにワラビ *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* について成分検索をおこなつた。まず, コウヤワラビからは mp 137~139° の ecdysone, mp 240~242° の ecdysterone および mp 266~268° の ponasterone A を単離同定したほか, pterosterone と名づけた新活物質を単離した。

Pterosterone は $C_{27}H_{44}O_7 \cdot H_2O$, mp 229~230°, $[\alpha]_D + 7.4^\circ$ の無色針状晶で, 化学的ならびにスペクトル所見等からその化学構造を I 式で表わすのが妥当であるとの結論に達した。

つぎに, ワラビからは mp 257~259° の ponasterone A および mp 231.5~232.5° の pterosterone を単離同定したほか, ponasteroside A と名づけた新昆虫脱皮活性物質を得た。

Ponasteroside A は $C_{33}H_{54}O_{11}$, mp 278~279°, $[\alpha]_D + 28.5^\circ$ の無色針状晶で, 分子式は ponasterone A のそれよりも $C_6H_{10}O_5$ だけ多いこと, 酵素分解により ponasterone A を生成すること等から ponasterone A の配糖体構造が考えられ, 諸種のスペクトルデータからも ponasterone A の 3 β -D-glucoside すなわち II 式が支持された。



以上、本論文は1) シダ植物が高頻度で昆虫脱皮活性を示すことを見出し、2) コウヤワラビから分離した新昆虫脱皮活性物質pterosteroneの化学構造を決定し、3) フラビからはponasteroside Aと名づけた昆虫脱皮活性を有する最初の配糖体を分離し、その化学構造を解明する等興味ある新知見を論述したものである。よつて、学位論文として価値あるものと認める。