

氏 名 (生年月日) ふか や まさし
深 谷 匡 (1989 年 6 月 12 日)

学 位 の 種 類 博 士 (薬 学)

学 位 記 番 号 博 薬 第 182 号

学位授与の日付 2019 年 3 月 16 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当

学 位 論 文 題 目 *Allium* 属植物ネギ, アサツキを素材とした環状含硫黄化合物の探索研究

論 文 審 査 委 員 (主査) 教 授 松 田 久 司

(副査) 教 授 古 田 巧

(副査) 教 授 渡 辺 徹 志

論文内容の要旨

序章

これまでの人類の歴史の中で, 数多くの医薬品が開発されてきた. Newman らの報告によると, 1981 年から 2014 年の 34 年間に販売された医薬品のうち, 約 66% が開発過程で天然物が関与している医薬品であるため, 天然物由来化合物は医薬品開発に大きく貢献していると考えられる. また, 天然物由来化合物は, アコニチンやビンクリスチンのように, 我々が考え付かない珍しい骨格を形成するだけでなく, 多様な化学構造を有することが大きな特徴の一つとして挙げることができる. *Allium* 属植物は, 世界中に広く存在し, 古代エジプトの頃から治療を目的として使用したとの記述がある. *Allium* 属植物は種の数も非常に多く, タマネギ (*A. cepa*), ニンニク (*A. sativum*), ネギ (*A. fistulosum*) などを代表とする約 800 種の植物が存在している. 含有成分としては, システイン誘導体, フラボノイド, ステロイド型サポニンおよびピラジン誘導体が知られている. 種によって, システイン誘導体 *S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxide (alliin, methiin, propiin など) の割合や含有量に大きな違いが見られる. また, 植物細胞が外的要因よりダメージを受けた際に *S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxide が, alliinase と呼ばれる酵素によって thiosulfinate 類が生成される (Fig. 1). 代表的な thiosulfinate の一つが, 1944 年に報告された allicin である. この allicin には, 抗菌, 降圧, 抗炎症, 抗酸化および抗がん作用といった様々な生物活性が報告されている. しかしながら, thiosulfinate 類は sulfenic acid と反応し, 他の thiosulfinate を産生する. すなわち, thiosulfinate は不安定であることから, 多段階の酵素反応や化学変換反応を介して新しい骨格の thiosulfinate 誘導体が得られると推察し, *Allium* 属植物ネギ (*A. fistulosum*) およびアサツキ (*A. schoenoprasum* var. *foliosum*) の含硫黄化合物の単離を試みた.

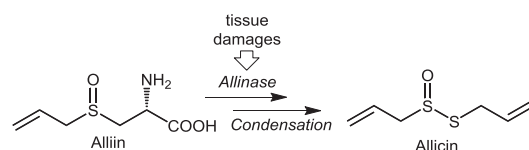


Fig. 1 Biosynthesis of allicin in *Allium* species.

第一章: 京都府産九条ねぎ (*A. fistulosum* 'Kujou') を素材とした含硫黄成分の探索

ネギ (*A. fistulosum*) はヒガンバナ科の植物であり, 中国西部や中央アジアを原産とし, 広く食用として栽培されている. その葉鞘部は, 葱白という名の生薬として風邪や下痢などの諸症状に民間療法的に用いられてきた. ネギの含有成分としては, 含硫黄化合物, 多糖類, ステロイド型サポニンが報告されており, 多糖類には免疫賦活作用が報告されている. しかしながら, 含硫黄化合物の単離およ

び生物活性に関する報告は十分ではない。今回、ネギ由来の *thiosulfinate* から誘導される安定な化合物の単離を目的とし、抽出時間、抽出溶媒、植物原料の加工を検討した。例として、京都府産九条ねぎ (*A. fistulosum* ‘Kujou’, 10.6 kg) を水、メタノール、エタノール、アセトン、含水アセトンとともに裁断後、室温条件下において、1, 12, 24, 48, 72 時間抽出し、各抽出エキスを作成した。得られた抽出エキスを酢酸エチルおよび水を用いて液液分配を行った後に酢酸エチル分画において HPLC を用いてパターン分析を行った。その結果、アセトンを用いて抽出したものが、相対的に抽出効率がよく、経時的に成分の変化が認められた。検討の結果より、京都府産九条ねぎ葉鞘部をミキサーで裁断しアセトンを用いて、室温条件下で抽出し、アセトン抽出エキスを得たのちに酢酸エチルおよび水を用いて液液分配を行った。

その後、各種オープンカラムクロマトグラフィーおよび高速液体クロマトグラフィー (HPLC) に付し、構造中に多環構造を有する非常に珍しい含硫黄化合物 kujounin A₁₋₃ (**1-3**) および B₁₋₃ (**4-6**)、また、単環状の含硫黄化合物 *allium* sulfoxide A₁₋₃ (**7-9**) と名付けた計 9 種類の新規化合物を得た (Fig. 2)。得られた化合物の構造は ¹H NMR, ¹³C NMR および 2D NMR, IR スペクトル, MS スペクトルの詳細な解析により、その相対立体配置を決定した。加えて、kujounin A₁ (**1**) および *allium* sulfoxide A₁ (**7**) に関しては、単結晶を得ることに成功したことから、X 線単結晶構造解析によりその絶対立体配置を決定した。**1** は tetrahydro-2*H*-difuro[3,2-*b*:2',3'-*c*]furan-5(5*aH*)-one 骨格を母核に有し、*Allium* 属植物特有の硫黄原子を含む構造であることが明らかになった。加えて、その生合成経路の考察を行った。すなわち、isoalliin が allinase によって 1-propenyl-1-propene-thiosulfinate へと変換され、1-propene sulfenic acid を経て、九条ねぎ由来の単糖類誘導体または、アスコルビン酸と結合し、多段階の環化反応、ジスルフィド結合の形成によって生成するものであると考察した。

第二章: 福島県産アサツキ (*A. schoenoprasum* var. *foliosum*) を素材とした含硫黄成分の探索

Allium 属植物は種によって、*S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxide の含有率及び含有量に大きな違いが報告されていることから、日本で栽培されている他の *Allium* 属植物アサツキ (*A. schoenoprasum* var. *foliosum*) においても含有成分の検討を行った。アサツキは、ヒガンバナ科の植物で中国や日本を原産とする球根性多年草である。古くから葉や鱗茎を野菜として食されてきた。アサツキの含有成分に関しては、これまでに報告はない。しかしながら、類縁種であるセイヨウアサツキ (*A. schoenoprasum*) には、含硫黄化合物やステロイド型サポニン、フラボノイド類が報告されている。今回、福島県産アサツキ (*A. schoenoprasum* var. *foliosum*, 19.0 kg) 全草を、ミキサーを用いて裁断後にアセトンを用いて、室温条件下で抽出した。そのアセトン抽出エキスを酢酸エチルおよび水を用いて液液分配を行った。その後、各種オープンカラムクロマトグラフィーおよび

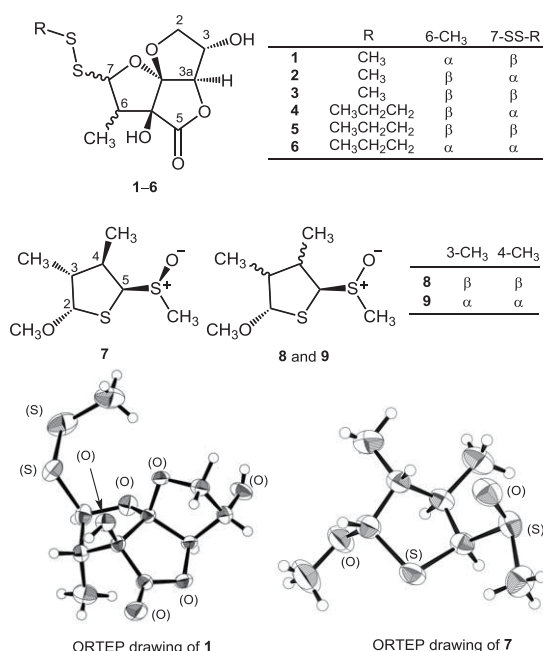


Fig. 2 Chemical structures of new sulfur containing-compounds from *A. fistulosum* ‘Kujou’ and ORTEP drawing of **1** and **7**.

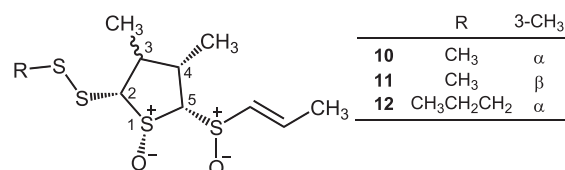


Fig. 3 Chemical structures of new sulfur containing-compounds from *A. schoenoprasum* var. *foliosum*.

HPLC に付し、単環状の含硫黄化合物 folionin A₁ (10), A₂ (11), B (12) と名付けた 3 種類の新規化合物を得た (Fig. 3). また、同時期に Kubec らによって、平面構造が報告されていたが相対立体配置を含めた報告は初めてである。

総括

本研究では、*Allium* 属植物から珍しい骨格を有する含硫黄化合物の単離を目的として、京都府産九条ねぎ (*A. fistulosum* ‘Kujou’) より新規多環式環状含硫黄化合物 kujounin 類および新規環状硫黄化合物 allium sulfoxide 類を、また、福島県産アサツキ (*A. schoenoprasum* var. *foliosum*) より新規環状含硫黄化合物 folionin 類を単離・構造決定を行った。加えて、含硫黄化合物の生合成経路についても検討を行った。本研究で得られた化合物は、いずれも珍しい骨格を有しており類似化合物の報告は少ないことから、生体機能性に関する更なる発展が期待される。

審査の結果の要旨

Allium 属植物は、世界中で古くから食品としてだけでなく疾病治療を目的とし用いられてきた。その種の数も多く、タマネギ (*A. cepa*)、ニンニク (*A. sativum*)、ネギ (*A. fistulosum*) など現在までに約 800 種が知られている。また、*Allium* 属植物は alliin や isoallin などのシステインスルホキシド誘導体を含み、種によってその割合や含有量に大きな違いが見られる。Alliin 類は植物組織が破壊されると、allinase などの分解酵素により sulfenic acid 類へと変換され、続いて多段階の化学反応や酵素反応を介して thiosulfinate 類へと誘導される。代表的な thiosulfinate の一つである allicin には、抗菌、抗酸化および抗がん作用といった様々な生物活性が報告されており、未だ単離されていない生物活性を有する複雑な thiosulfinate 類も数多く存在すると推測される。申請者は、*Allium* 属植物から薬学的に有用であり稀有な骨格を有する含硫黄化合物の探索を目的として、ネギ (*A. fistulosum*) およびアサツキ (*A. schoenoprasum* var. *foliosum*) に着目し、sulfenic acid 類から酵素反応や化学反応により誘導される含硫黄化合物の単離とその化学構造の解明研究を行った。

1) 京都府産九条ねぎ (*A. fistulosum* ‘Kujou’) を素材とした含硫黄成分の探索

ヒガンバナ科植物ネギ (*A. fistulosum*) の葉鞘部 (葱白) を素材とし、酵素反応や化学反応によって誘導される安定な含硫黄化合物の単離を行った。すなわち、京都府産九条ねぎ (*A. fistulosum* ‘Kujou’) を用い、抽出時間、抽出溶媒、植物原料の加工を検討した結果、アセトンを用いて抽出したものが、相対的に抽出効率が良く経時的に成分の変化が認められた。そこで、九条ねぎ葉鞘部をミキサーで裁断し、アセトンを用いて室温条件下で抽出しアセトン抽出エキスを得た。得られたエキスを各種クロマトグラフィーおよび HPLC 等を用いて分離を行ったところ、構造中に多環構造を有する稀有な含硫黄化合物 kujounin A₁₋₃ および B₁₋₃ と単環状の含硫黄化合物 allium sulfoxide A₁₋₃ と名付けた計 9 種類の新規化合物を得た。これらの化学構造は NMR をはじめとする各種スペクトルデータの詳細な解析や X 線単結晶構造解析等を用いて決定した。Kujounin 類は tetrahydro-2H-difuro[3,2-b:2',3'-c]furan-5(5aH)-one 骨格を母核に有し、*Allium* 属植物特有の硫黄原子を含む構造であることが明らかになった。

2) 福島県産アサツキ (*A. schoenoprasum* var. *foliosum*) を素材とした含硫黄成分の探索

上述のネギ単離化合物との比較を行うため *Allium* 属植物アサツキ (*A. schoenoprasum* var. *foliosum*)

を素材として用い、含硫黄化合物の単離を行った。その結果、単環状の含硫黄化合物 folionin A₁、A₂、B と名付けた 3 種類の新規化合物を得た。これらの化合物は、同時期に平面構造が報告されているが相対立体配置を含めた報告は初めてである。

申請者は *Allium* 属植物を素材として用い、抽出方法等の条件を検討することで稀有な新規環状硫黄化合物を単離し、それらの化合物の立体配置も含めた化学構造を決定するとともに生成経路の考察を行った。本研究は、創薬領域における新たな知見に繋がることが期待されるとともに天然物化学分野をリードする研究として高く評価できる。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士（薬学）の学位論文としての価値を有するものと判断する。