

氏名 (生年月日) リュウ コウ  
劉 江 (1986年2月26日)

学位の種類 博士(薬学)

学位記番号 博第146号

学位授与の日付 2013年9月30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 Bioactive constituents from the flowers of *Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii* and *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus*

論文審査委員 (主査) 教授 松田 久司

(副査) 教授 上西 潤一

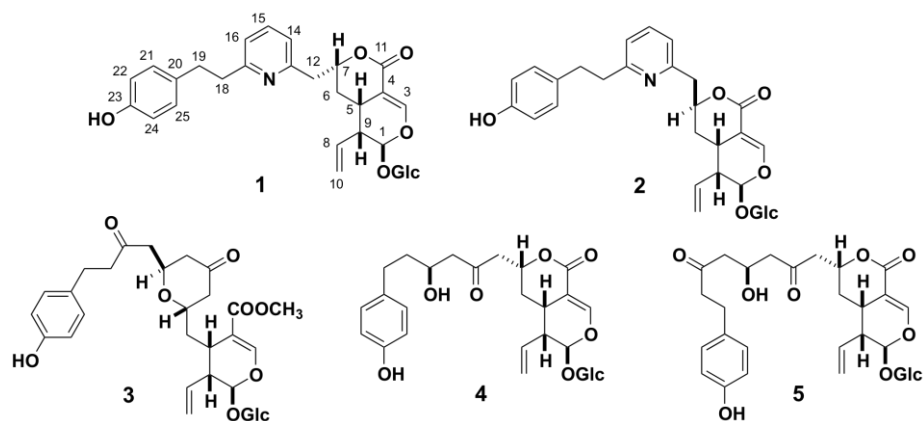
(副査) 教授 赤路 健一

## 論文内容の要旨

Flowers have been used as not only ornamental purposes but also medicines and foods. However, the chemical constituents and pharmacological properties of medicinal flowers have not yet been clarified. As a part of the characterization studies on the bioactive constituents of medicinal flowers, I focused on the bioactive constituents from the flowers of *Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii* and *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus*.

### 1. Hydrangeamines A and B, Novel Polyketide-Type Pseudoalkaloid-Coupled Secoiridoid Glycosides from the Flowers of *H. macrophylla* var. *thunbergii*

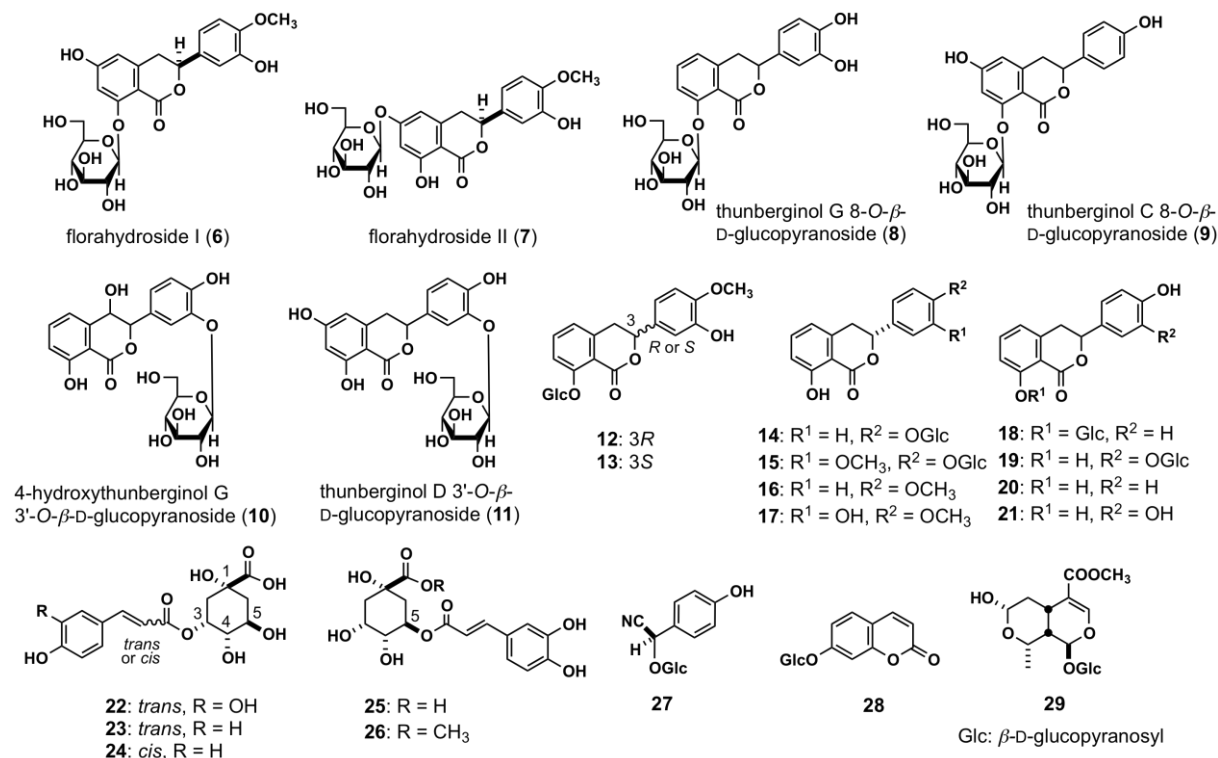
The Saxifragaceae plant, *Hydrangea macrophylla* SERINGE var. *thunbergii* MAKINO, is native to Japan. The processed leaves of this plant (*Hydrangea Dulcis Folium*) are currently used as a natural medicine for an oral refrigerant and as a sweetener for diabetic patients. Moreover, these preparations are listed in the Japanese Pharmacopoeia. Several chemical constituents of the processed leaves and the dried leaves of this plant have been isolated including dihydroisocoumarins and their glycosides, benzylidenephthalides, phthalides and secoiridoid glycosides. However, a full chemical analysis of the flowers from this plant has not yet been performed. I have examined the chemical constituents from the flowers of *H. macrophylla* var. *thunbergii*. Namely, a methanolic extract of the flowers of *H. macrophylla* var. *thunbergii* collected in Nagano province was partitioned between EtOAc-H<sub>2</sub>O to furnish an EtOAc-soluble fraction and an aqueous layer. The aqueous layer was further extracted with 1-butanol (1-BuOH) to give a 1-BuOH and a H<sub>2</sub>O soluble fraction. The 1-BuOH-soluble fraction was subjected to normal-phase and reversed-phase silica gel column chromatography (CC) and repeated HPLC to give hydrangeamines A (**1**) and B (**2**) together with hydrangenoside A (**3**) and hydramacrosides A (**4**) and B (**5**) (Figure 1). The absolute stereostructures of the two hydrangeamines were characterized on the basis of chemical and physicochemical analyses, which included the application of CD for the 4,5-dihydro-[6H]-pyrano chromophore. The side chain (C-12~C-25) of **1** and **2** were deduced to be biosynthesized through intermediates by the shikimate-malonate pathway, followed by the formation of the polyketide amine part. This is the first isolation of the unique polyketide-type pseudoalkaloid-coupled secoiridoid glycosides.



**Figure 1.** Structures of secoiridoid glycosides from the flowers of *H. macrophylla* var. *thunbergii*

## 2. Structures of Dihydroisocoumarin Glycosides from the Flowers of *H. macrophylla* var. *thunbergii*

Six dihydroisocoumarin glycosides, florahydrosides I (6) and II (7), thunberginol G 8-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (8), thunberginol C 8-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (9), 4-hydroxythunberginol G 3'-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (10), and thunberginol D 3'-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (11), were isolated from the flowers of *H. macrophylla* var. *thunbergii* together with 20 known compounds including dihydroisocoumarin derivatives and acylated quinic acid analogs. The chemical structures of the new compounds were elucidated on the basis of chemical and physicochemical evidence.



**Figure 2.** Structures of dihydroisocoumarins, quinic acid analogs, and glucosides from the flowers of *H. macrophylla* var. *thunbergii*

## 3. Aldose Reductase inhibitors from *H. macrophylla* var. *thunbergii*

The inhibitory effects on aldose reductase of the isolated constituents from the flowers of *H. macrophylla* var. *thunbergii* were

examined. Among the constituents, neochlorogenic acid (**22**) inhibited aldose reductase [ $IC_{50} = 5.6 \mu M$ ]. In addition, chlorogenic acid methyl ester (**26**) showed the inhibitory effect [ $IC_{50} = 2.9 \mu M$ ]. On the other hand, dihydroisocoumarin glucosides (**6–15**, **18**, and **19**) and dihydroisocoumarins (**16** and **17**) lacked the inhibitory effects [ $IC_{50} > 100 \mu M$ ]. Hydrangenol (**20**), thunberginol G (**21**), taxiphyllin (**27**), and umbelliferone glucoside (**28**) exhibited moderate inhibitory effects [ $IC_{50} = 48–69 \mu M$ ]. Next, the inhibitory effects on aldose reductase of caffeoylquinic acid analogs were examined for the structure-activity relationship study. The inhibitory effect of D-quinic acid with *trans-p*-caffeoyl group at the 5-position was stronger than those of D-quinic acids with *trans-p*-caffeoyl group at the 3 or 4-positions.

#### 4. Inhibitory Effects on Nitric Oxide Production from the Flowers of *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus*

Seventy compounds including several new megastigmane glycosides, sesquiterpenes, and triterpenes were isolated from the flowers of *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus* (sweet osmanthus; kinmokusei in Japanese). Among them, several triterpenes showed inhibitory effects on nitric oxide production.

## 審査の結果の要旨

花は古くから観賞用のほかに食用や薬用にも供されてきた。例えば、中国伝統医学 (中医学) や漢方医学では、紅花、槐花、菊花、金銀花などの花部由来の生薬が処方中に配剤されている。また、アロマセラピーなどにおいて花の精油が用いられ、花エキスをを用いた“フラワーレメディ”の考え方が提唱されている。しかし、花の機能について薬学的視点からの化合物レベルでの研究はほとんど認められない。申請者は、フラワーレメディの科学的解明を目的として、アマチャ (*Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii*) 花部およびキンモクセイ (*Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus*) 花部の生体機能性成分の探索を行った。

日本固有の生薬であるユキノシタ科植物アマチャ (*Hydrangea macrophylla* SERINGE var. *thunbergii* MAKINO) は日本各地で栽培され、その葉部から調製される「甘茶」は、糖尿病患者の甘味料などとして用いられている。しかし、アマチャ花部を素材とした機能性成分の探索研究は全く行われていなかった。申請者は、長野県産アマチャ (*H. macrophylla* var. *thunbergii*) 花部の含有成分の探索を行い、2種のピリジン環を有する新規セコイリド配糖体 hydrangeamine A および B や6種の新規イソクマリン配糖体を単離・構造決定するとともに青酸配糖体 taxiphyllin やアシル化キナ酸誘導体など計40種の既知化合物を単離した。Hydrangeamine A および B は、ポリケチドとセコイリド配糖体との縮合、続くピリジン環の形成反応によって生合成される珍しいプソイドアルカロイドであると考えられる。また、アマチャ花部から得られた成分を用い、糖尿病の合併症の予防において重要であると考えられるアルドース還元酵素の阻害活性の検討を行った。その結果、アシル化キナ酸類に有意な抑制作用が認められた。特に、neochlorogenic acid ( $IC_{50} = 5.6 \mu M$ ) や chlorogenic acid methyl ester ( $IC_{50} = 2.9 \mu M$ ) が有意なアルドース還元酵素阻害活性を示すことを明らかにした。さらに、種々のアシル化キナ酸の抑制活性について検討を行い、キナ酸の5位に結合したカフェオイル基の存在が活性の発現に重要であることなど幾つかの構造と活性に関する知見を得た。

一方、キンモクセイ (*Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus*) 花部の含有成分の探索を行い、種々の新規メガスチグマン配糖体を単離するとともにトリテルペン、セスキテルペン、フラボノール配糖体など計73種の化合物を単離した。また、得られた成分のうち、アシル化されたウルサン型トリテルペンに RAW264.7 細胞における LPS 刺激による有意な一酸化窒素 (NO) 産生抑制活性が認められた。

本研究は、メディシナルフラワー研究の一環としてアマチャ花部およびキンモクセイ花部からセコイリドイド配糖体、イソクマリン配糖体およびアシル化キナ酸をはじめとする多様な化合物を単離し、各種スペクトルデータの詳細な解析と化学的手法を適応した結果を考え合わせることによって構造決定した。また、これらの成分にアルドース還元酵素阻害作用や NO 産生抑制作用を明らかにしたものであり、フラワーレメディの分野をリードする研究として評価できる。

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。