

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス政策研究事業)
分担研究報告書

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究

分担研究者 大塚 英昭 安田女子大薬学部 教授

健康食品と称して販売される無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と
監視に関する研究

研究要旨

沖縄に産するカキノキ科植物であるリュウキュウガキ(*Diospyros maritima*)は沖縄本島から先島諸島にわたって自生しており、その果実は毒とされている。時として、「柿」という名称から、誤食の可能性もあり、実際危険を及ぼすであろう成分の検討をおこなっている。さらに本植物は魚毒作用を持つことが知られており、本活性を示す成分の検索も行う予定である。

研究協力者名

広島大学 教授 松浪勝義

安田女子大学 准教授 稲垣昌宣、助教 川上 晋

A. 研究目的

多くの地域にカキノキ科植物は自生、また栽培され、その果実を生食する。渋柿であっても渋をぬいて食用に供している。沖縄にはカキノキ科植物は本邦にも産するカキを初めとして、数種類が知られている。リュウキュウコクタン (*Diospyros egyptica*) の果実は貧弱で、食用としてもちいられることはなく、その材の多くは琉球楽器である三線(さんしん)の棹として用いられている。近縁植物のリュウキュウガキ (*D. maritima*) は沖縄本島から先島諸島にわたって自生しており、芳醇な果実を結ぶことが知られ、一般に毒といわれているが、一

見喫食が可能であると見間違えられる可能性がある。この実にはナフトキノンである **plumbagin** (図2)



図1

が含まれ毒性を示す物質であるとされている。この点に鑑み、リュウキュウガキの成分の検索を行った。

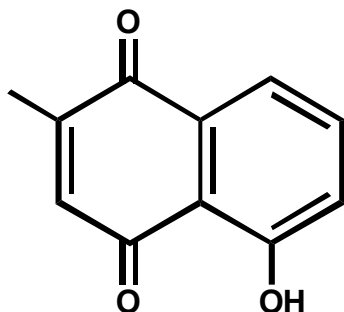


図 2

ちなみに近年の報告では、ナフトキノンの配糖体が近縁種 (*D. mollis*) [1]から報告されている。

B. 研究方法

先島諸島八重山郡竹富町で採集したリュウキュウガキ (*D. maritima*) の葉 (7.80 kg) を MeOH で抽出し、濃縮残渣を水に懸濁して、EtOAc で分配して EtOAc 可溶画分と水可溶画分をえた。水画分はさらに 1-BuOH と分配して 1-BuOH 画分を 215 g 得た (Chart 1)。

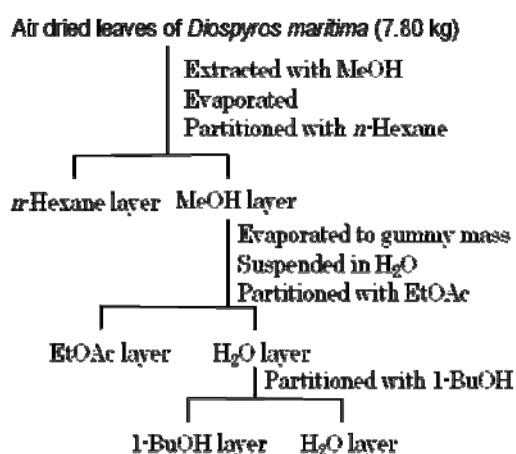


Chart 1

1-BuOH 画分を Diaion HP-20、silica gel カラムクロマトグラフィーで精製して化合

物 1 (50.4 mg)、化合物 2 (344.3 mg)、および化合物 3 (114.3 mg) 得た (Chart 2)。

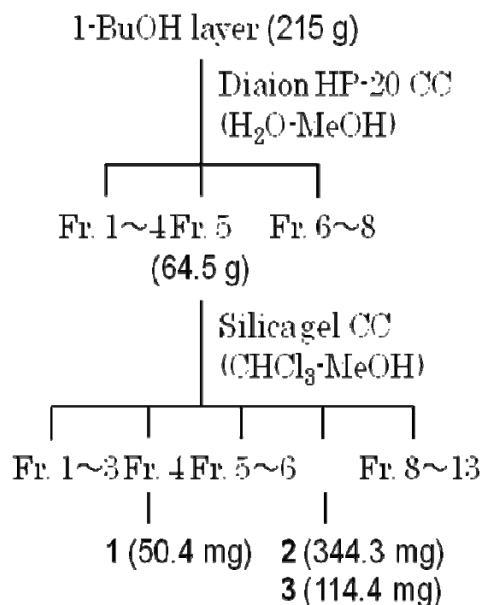


Chart 2

得られた化合物は、核磁気共鳴スペクトルを中心とする、機器分析によってその構造を明らかとした。

C. 研究結果

化合物は比旋光度 ($[\alpha]$) -31.6 を示す無色針状結晶として得られ、その融点は $187-189\text{ }^{\circ}\text{C}$ であった。赤外線吸収スペクトルにおいて水酸基 (3375 cm^{-1}) の吸収と強いカルボニル (1693 cm^{-1}) に由来する吸収が認められ、高分解能質量分析の結果、その分子式は $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_4$ と決定された。 $^1\text{H-NMR}$ において 2 本シングレットメチル基と 2 組の一級水酸基に由来するシグナルが観測された。 $^{13}\text{C-NMR}$ においては高分解能質量分析の結果どおり、20 本のシグナルが観測され、二本のメチル基、十本のメチレン基が存在し、そのうち 2 本には水酸基が結合していた。さらに、三本のメチン

基、三本の四級炭素および酸素官能基を有する3級炭素とカルボニル炭素のシグナルが観測された (Table 1)。

¹³C and ¹H NMR (150 MHz, 600 MHz, C₅D₅N) chemical shifts for **1**

No.	¹³ C	¹ H
1	40.2	1.95 (1H, overlapped) 1.22 (1H, ddd, J = 13.0, 13.0, 5.4 Hz)
2	35.5	2.83 (1H, ddd, J = 14.4, 13.1, 6.6 Hz) 2.44 (1H, ddd, J = 14.4, 2.3, 2.3 Hz)
3	215.0	-
4	54.6	-
5	56.9	1.33 (1H, d, J = 11.3 Hz)
6	21.9	1.57 (2H, m)
7	42.4	1.70 (1H, ddd, J = 12.7, 2.9, 2.9 Hz) 1.45 (1H, overlapped)
8	44.5	-
9	56.1	0.99 (1H, br d, J = 8.3 Hz)
10	38.9	-
11	19.0	1.64 (1H, m) 1.46 (1H, overlapped)
12	26.5	1.89 (1H, m) 1.54 (1H, m)
13	45.9	2.49 (1H, br s)
14	37.5	2.03 (1H, dd, J = 11.2, 4.0 Hz) 1.94 (1H, dd, J = 11.2, 2.0 Hz)
15	53.6	1.85 (1H, d, J = 14.3 Hz) 1.71 (1H, d, J = 14.3 Hz)
16	61.5	-
17	66.4	4.12 (1H, d, J = 10.9 Hz) 4.07 (1H, d, J = 10.9 Hz)
18	21.3	1.44 (3H, s)
19	64.9	4.31 (1H, d, J = 11.1 Hz) 3.81 (1H, d, J = 11.1 Hz)
20	18.0	1.19 (3H, s)

Table 1

以上のことを勘案すると、化合物**1**はカルボニル基、二個の一級水酸基および酸素官能基を有する三級炭素からなるカウラン型ジテルペンであろうと予想された (図3)。

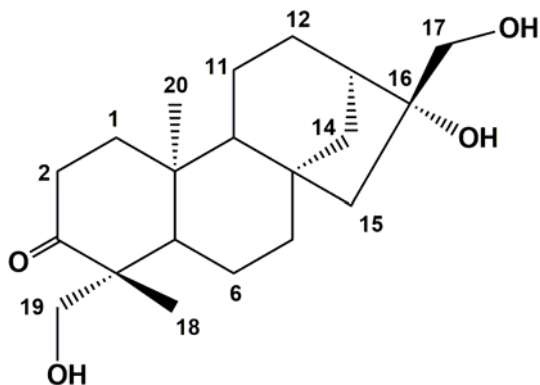
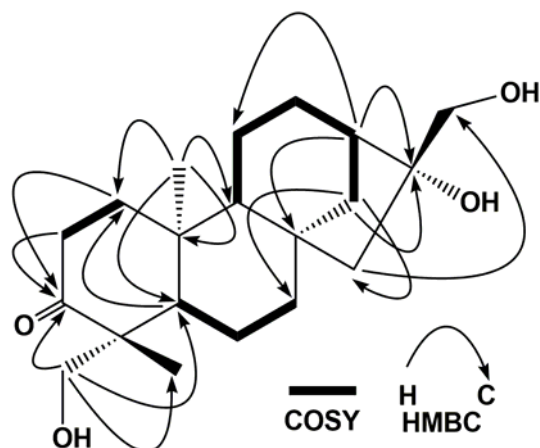
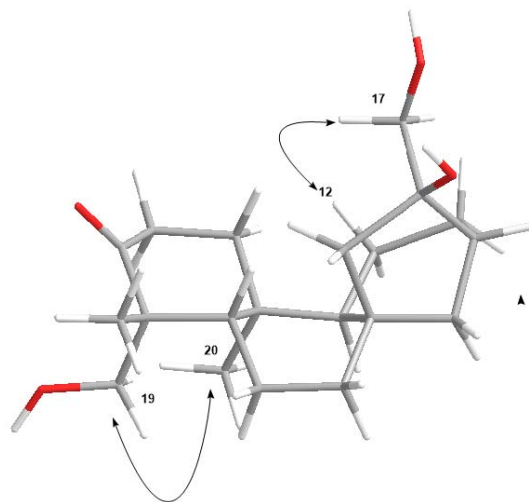


図3

これを確証するために、二次元スペクトルを測定し、解析を行った。すなわち、COSY スペクトルにおいて、1位と2位、6位と7位そして10位から14位に相関



が観測された。ついで、HMBC スペクトルの解析を行い、予想通り図4にみられる相関を確認することができた。また一級水酸基は17位および18位もしくは19位と推察され、残りの水酸基は16位、カルボニル基は3位であった。16位の立体構造および4位のカルビノールキの位置決定のため位相検波 NOESY の測定を行った (図5)。

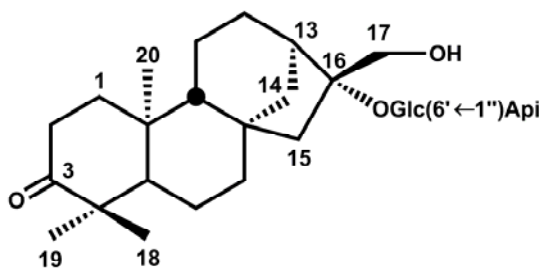


17位のカルビノールのメチレン水素から12位の水素へ相関が観測されたことより、16位の立体を構造式のように決定し、4位にあるカルビノールのメチレン水素より20位のメチルに NOE 相関がみられたことにより19位がカルビノールであると決

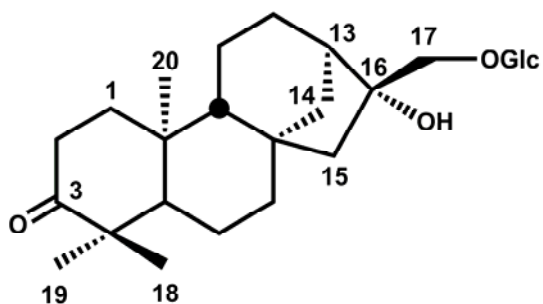
定した。

絶対構造は円偏光二色性スペクトルを測定し、283 nm に負の Cotton 効果 ($\Delta\epsilon$: -0.14) を示すことより、エナンチオ型であると決定した[2]。

化合物 2 及び化合物 3 も化合物 1 と類似の構造を有しており、 $^1\text{H-NMR}$ で 3 本のシングレットメチルが観測され、それらを 18 位、19 位、20 位にアサインした。核磁気共鳴スペクトルの詳細な検討から、その他の部分は化合物 1 と同様の構造を有しており、化合物 2 では 16 位の水酸基に Glc(6)Api が化合物 3 では 17 位の水酸基にグルコースが結合していることが明らかとなった。その後文献検索の結果、化合物 3 は既知であり、sugeroside と同定された[3]。

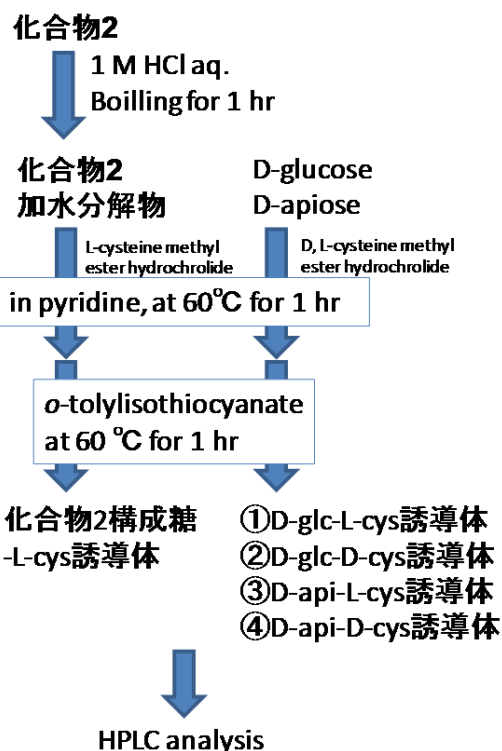


化合物 2



化合物 3

糖の絶対配置の決定は D-, L-システインを用いて誘導体とし、以下の方法を用いて行った。



HPLC 条件

Column: Cosmosil 5C₁₈-AR II 4.6 mm × 250 mm

Detector: Photo Diode Array

Flow rate 0.8ml/min

化合物 2 の加水分解物からは 19.2 min および 32.2 min のピークが検出され、①③と同様の保持時間を示した。よって化合物 2 の構成糖は D-glucose と D-apiose であると結論された。

D. 結論

沖縄県八重山郡竹富町で採集したリュウキュウガキの葉の成分検索を行った。今回の探索研究では 3 種のカウレン誘導体といくつかのフラボンの配糖体を単離したが、ナフトキノン誘導体の単離には至らなかった。今後、ナフトキノン誘導体の単離を目

指すとともに単離した化合物の生物活性にも注目したい。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表等

川上 晋、稲垣昌宣、大塚英昭、松浪勝義、
武田美雄 リュウキュウガキの成分研究
日本生薬学会第62回年会，岐阜（2015.09.）

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他なし

G. 参考文献

- [1] Suwama, T., Watanabe, K., Monthakantirat, O., Luecha, P., Noguchi, H., Watanabe, K., Umehara, K.: Naphthalene glycosides in the Thai medicinal plant *Diospyros mollis*. *J. Nat. Med.*, **72**, 220–229 (2018).
- [2] Rüedi, P., Wollenweber, E., Marx, D., Scheele, C., Kaurane-type diterpenes from fern frond exudates. *Z. Naturforsch.*, **44c**, 901–904 (1989).
- [3] Hirono, S., Chou, W.-H., Kasai, R., Tanaka, O., Tada, T., Sweet and bitter diterpene-glucosides from *Rubus suaviusmus*. *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 1743–1744 (1990).

