

## 分担研究報告書

グレーズーンの植物体に関する研究

ツツジ科スノキ属ギイマの成分研究

研究分担者 大塚 英昭 安田女子大学薬学部 教授

### 研究要旨

ツツジは本邦で広く植栽されている園芸植物である。またブルーベリーの基原植物アメリカスノキはツツジ科スノキ属であり、その果実は生食またはジャム等に加工されている。しかしながら本科の植物であるハナヒリノキの全草には神経毒となるグラヤノトキシン類（図1）、アセビにはアセボトキン（＝グラヤノトキシンI）などの毒成分が含まれている。観賞用のシャクナゲにも同様の成分が含有されている。ギイマ（ギーマ）は奄美大島、沖縄本島、台湾に分布するツツジ科植物である。葉は互生しギイマの実は秋に黒熟し、甘酸っぱくて美味いとされ果実酒等に用いられる。ギイマ（*Vaccinium wrightii*）はスノキ属であるので一応安全とは思われるが、ツツジ科植物であるので、その成分を検討することとした。2022年度は葉の成分を検討して多くの直鎖状のジテルペンが得られた。本年度はその材部の成分検討を行った。

### 研究協力者

広島大学 教授 松浪勝義

安田女子大学 教授 稲垣昌宣、助教 川上 晋

### A. 研究目的

ギイマ（*Vaccinium wrightii* A. Gray.）はツツジ科スノキ属の植物で奄美大島、沖縄および台湾の亜熱帯地方に分布する低木で、高さ約3mである（図1）[1]。葉は互生し、長さ約2~5cmで楕円形、革質で縁にかすかに鈍い鋸歯がある。総状花序に10

個ほどの花をつけ、花冠は鐘状で紅白色を帯び、長さは約5mmである。液果は紫褐色に熟し、径は約5mmである。液果は甘酸っぱく美味であり果実酒などに加工される。

しかしツツジ科の植物の多くに神経に毒性を示す多環性ジテルペン類の含有が報告

されており、本年度の研究ではギイマの材部に同様の成分が含有されているかを精査することを目的とした。



写真1 ギイマの葉



写真2 ギイマの未熟実

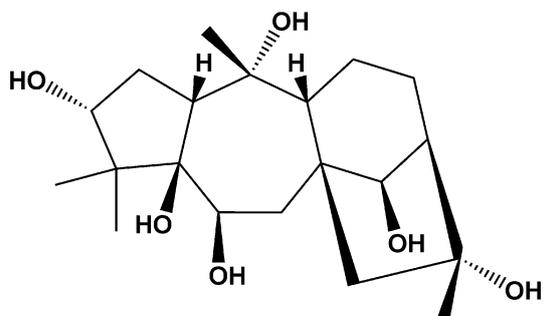


図1 Grayanotoxin I (=Asebotoxin)

## B. 研究方法

沖縄県国頭郡で採集したギイマの乾燥材(6.22 kg)を MeOH で抽出し、濃縮残渣を水に懸濁して、EtOAc で分配して

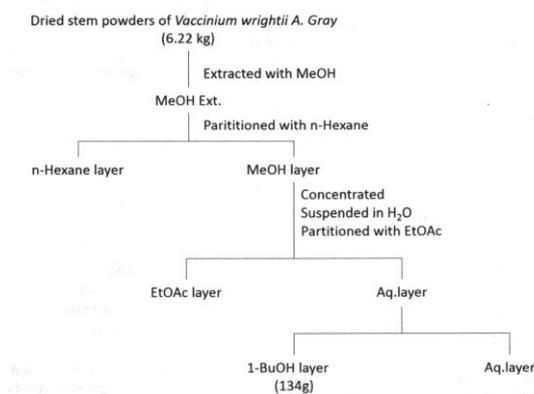


Chart 1

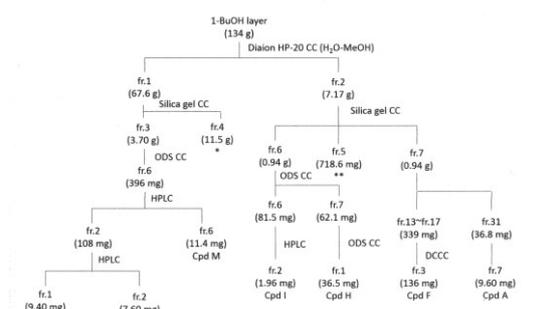


Chart 2

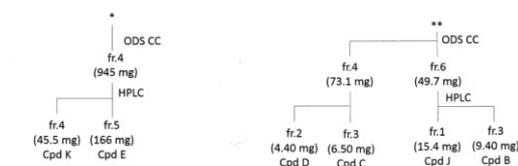


Chart 3

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 134 g 得た(Chart 1)。1-BuOH 画分を順相、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で精製して13種の化合物を得た(化合物A~M)(Chart 2 およ

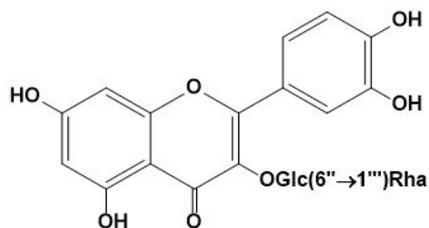
び 3)。

### C. 研究結果

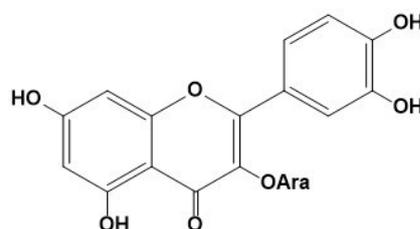
得られた化合物 **A**~**M** の構造は核磁気共鳴スペクトルを中心とする、機器分析によって推定し、文献値と比較することにより決定した。その結果化合物 **A**: quercetin 3-*O*-rutinoside、化合物 **B**: quercetin 3-*O*-arabinopyranoside、化合物 **C**: (-)-taxifolin、化合物 **D**: (+)-taxifolin 3-*O*-xylopyranoside、化合物 **E**: (-)-epicatechin、化合物 **F**: epicatechin-(4 $\beta$ →8,2  $\beta$ →*O*→7)-epicatechin-(4 $\beta$ →8)-epicatechin、化合物 **G**: 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -epoxy-5,7,3',4'-tetrahydroxyflavan-(4 $\beta$ →8)-epicatechin、化合物 **H**: monotropein、化合物 **I**: 1,2-erythro-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-2-( $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)propan-1,3-diol、化合物 **J**: 5-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester、化合物 **K**: (2*R*)-*O*-[4'-hydroxypropyl]-2'-methoxyphenyl]-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-glycerol、化合物 **L**: 4,7,9-trihydroxy-3,3'-dimethoxy-8-*O*-4'-neolignan 3'-*O*-glucopyranoside、化合物 **M**: 2-phenylethylrutinoside とそれらの構造を決定した。

ギイマ葉部より得られたフラボノイド骨格を有する化合物 7 種 (**A**~**G**) についてコラーゲナーゼ阻害活性試験を行った。ヒトの表皮は真皮から形成されている。真皮は表皮と比較して 10~15 倍の厚みを有し、皮膚の弾力性やハリを保つ役割を担っている。真皮の主要成分はコラーゲンであり、コラーゲンが減少、変性することにより皺や弛み等の皮膚の老化現象が進行すると考えられている。故にコラーゲンの減少を防ぐことにより、皮膚の老化を防止が可能と

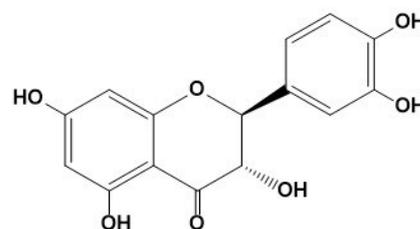
思われるコラーゲンはコラーゲナーゼと呼ばれる酵素で分解されるため、コラーゲナーゼを阻害する化合物は皮膚の老化を防ぐ有効な手段となると考えられる。



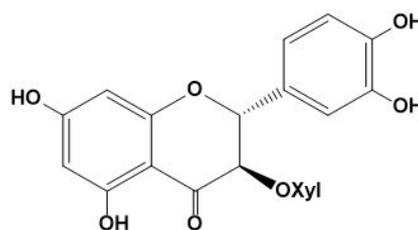
Quercetin 3-*O*-rutinoside (Comp. A)



Quercetin 3-*O*-arabinopyranoside (Comp. B)

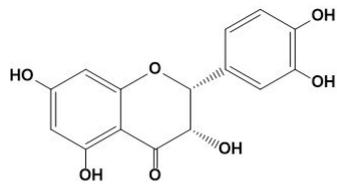


(-)-Taxifolin (Comp. C)

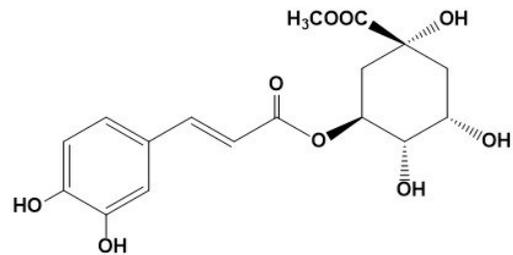


(+)-Taxifolin 3-*O*-xylopyranoside (Comp. D)

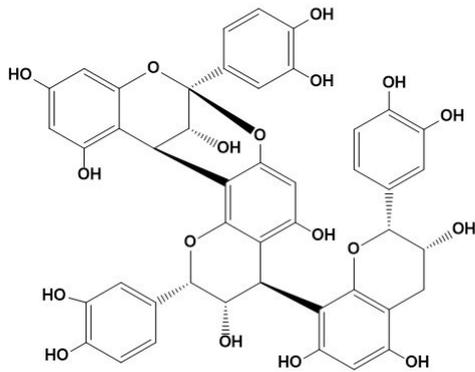
コラーゲナーゼ阻害活性を指標としたスクリーニングを行った結果、ギイマ材部の 1-BuOH 可溶画分が、比較的強い阻害活性を示したので活性成分の精査を行、生物学的評価を行った。



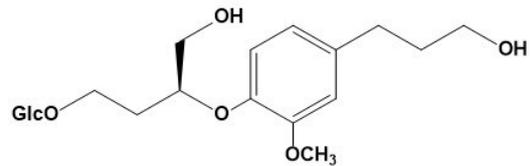
(-)-Epicatechin (Comp. E)



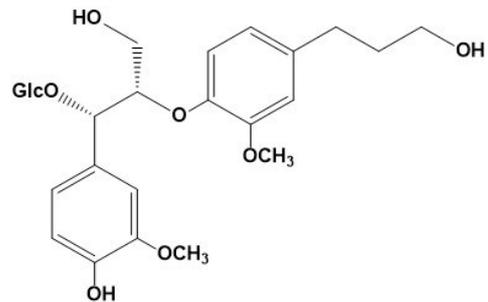
5'-O-Caffeoylquinic acid methyl ester (Comp. J)



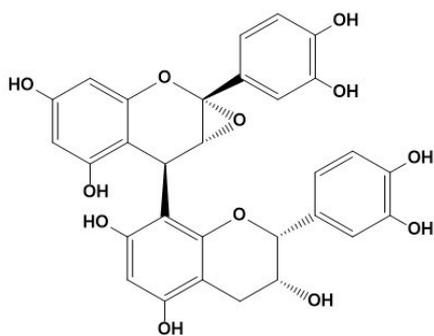
Epicatechin-(4 $\beta$ →8,2 $\beta$ →7)-epicatechin-(4 $\beta$ →8)-epicatechin (Comp. F)



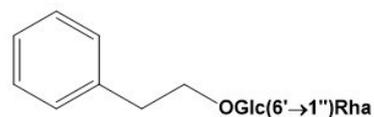
(2R)-O-[3''-Hydroxypropyl]-2'-methoxyphenyl]-3- $\beta$ -D-glucopyranosylglycerol (Comp. K)



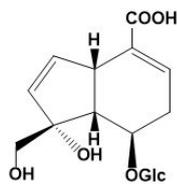
4,7,9-Trihydroxy-3,3'-dimethoxy-8-O-4'-neolignan 3'-O-glycopyranoside (Comp. L)



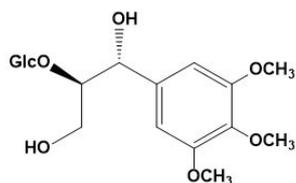
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Epoxy-5,7,3',4'-tetrahydroxyflavan-(4 $\beta$ →8)-epicatechin (Comp. G)



2-Phenethyl rutinose (Comp. M)

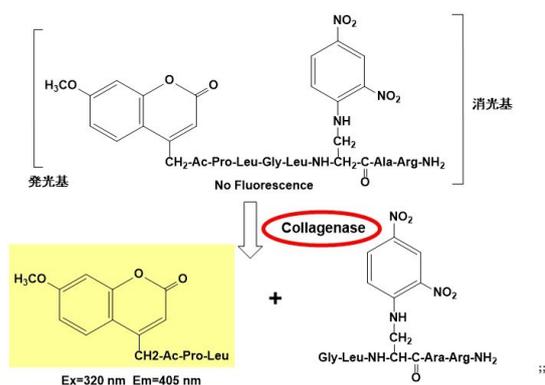


Monotropein (Comp. H)



1,2-Erythro-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-2-( $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)propan-1,3-diol (Comp. I)

96-well plate に最大濃度が 100 $\mu$ M になるように調整したサンプル溶液 (DMSO) 10mM を 50 $\mu$ L 及び酵素溶液 100 $\mu$ L を加え、10 秒間攪拌した後 37 $^{\circ}$ C で 10 分間インキュベートした。インキュベートした後に 20 $\mu$ M に調整した基質溶液 50 $\mu$ L を加え。基質溶液添加直後の蛍光強度を 0 分とし、15 分、30 分、60 分の蛍光強度を測定した。コラゲナーゼ阻害率は、励起波長 320nm、蛍光波長 405nm の蛍光強度から、以下の式で算出した。



$$\text{Inhibition(\%)} = [1 - (\text{30min sample FI} - \text{0min sample FI}) / (\text{30min control FI} - \text{0min control FI})] \times 100$$

Comp	A	B	C	D
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )	64.9	>100	>100	>100
Comp	E	F	G	
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )	>100	11.8	25.1	

表に簡易法を用いて算出した各化合物の IC<sub>50</sub> を示す。

#### D. 考察

本研究ではギイマ (*Vaccinium wrightii*) の材部よりフラボノイド骨格を有する化合物が多数得られた。それらには特に重篤な活性はないものと思われる。毒性を有すると考えられるジテルペン類は得られなかった。さらなる研究として EtOAc 可溶画分の精査を行う必要があると判断される。

フラボノイド骨格を有する Compound A ~ G のうちフラボノイドの重合体である Compound F 及び Compound G には強いコラゲナーゼ阻害活性がみられた。フラボノイドの重合体である Compound F 及び Compound G では二量体である

Compound G に対して、三量体である Compound F により強い活性が見られた。これが本化合物に構造特異な活性か、所謂タンニンによる酵素阻害活性によるものか興味を持たれる。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表等

なし

#### 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] 初島住彦 琉球植物誌 (追加・訂正) 462頁 沖縄生物教育研究会 1975、那覇、沖縄