N-12

Gentiana kurroo Royle 茎部含水メタノール画分の成分探索および生理活性評価

Chemical Constituents Isolated from Stems of *Gentiana kurroo* Royle Aqueous Methanolic Extract and Their Biological Activities

○清田徹大[1]，深津誠[2]，浮谷基彦[2]，仁科淳良[2]

*Akihiro Kiyota[1], Makoto Fukatsu[2], Motohiko Ukiya[2] , Atsuyoshi Nishina[2]

Abstract: Isolation and identification of bioactive components from natural products have been studied because of the tendency of their safety and no side effects. *Gentiana kurroo* Royle is traditional crude drug in Myanmar and main use as a gastrointestinal drug. In the present study, we tried to found new bioactive compouds from stems of *Gentiana kurroo*. As the results, six sesquiterpene (spathulenol, 4α, 10β-aromadenadrandiol, cyperenoic acid, 4β, 10α-aromadendrandiol, 4α, 10α-aromadendrandiol, and pipelol A) and three diterpene (chettaphanin, teuvidin, and teucvidin) were isolated. Among these nine compounds, only cyperenoic acid showed cytotoxic effect in HL-60(Leukemia cells).

１．目的

世界には様々な伝承医学が存在し，古くから世界各国の伝承医薬について研究が行われてきている．一方，インドの隣国であるミャンマー産の薬用植物に関する研究は大きな進歩がみられていない．そこでミャンマー産生薬から新たな生理活性成分を見出すことに着目した．

Gentiana kurroo Royleはリンドウ科の植物であり，主にヒマラヤ地方の北西部に広く分布している．同植物はミャンマーの伝統医薬の1アイテムとして用いられており，胃腸薬としての利用が主である[1)]．根部には抗菌作用[1)]や抗精神作用[1)]があるという報告がなされているが，有効成分の報告や単離に関する報告は見当たらない．また，同じリンドウ科の*Gentiana lutea*の根部や根茎部がヨーロッパ生薬として古くから用いられ，抗がん作用，抗炎症作用など[2)]の報告がなされているので，同じリンドウ科の*G. kurroo*茎部にも生理活性成分の存在が期待できる．

上記の背景に鑑み，本研究では*G. kurroo*茎部から成分を単離，構造解析し，得られた化合物の生理活性評価を行い，新たな生理活性成分を見出すことを目的とした．

２．方法

・研究対象生薬はパセイン大学より供与された *G. kurroo* 茎部 15kg を用いた．

・*G. kurroo* 茎部を粉砕後メタノールに浸し，メタノール抽出物 794g を得た．得られたメタノール抽出物を種々の溶媒で分液し，ヘキサン画分，含水メタノール画分，*n*-ブタノール画分，水画分の計 4 種の画分を得た．本研究では含水メタノール画分を研究対象とした．

・得られた含水メタノール画分の一部を各種クロマトグラフィーにより分画し，成分の単離を行った．

・単離化合物については NMR スペクトルデータ(^{1}H-NMR，^{13}C-NMR，HMQC，HMBC など)の解析および文献値との比較により構造を決定した．

・構造決定後の化合物を種々の細胞［HL60 (白血病細胞)，A549(肺がん細胞)など］に添加し，MTT 法により生理活性を評価した．

３．結果・考察

・抽出物の選定および単離

分液後に各々の画分を濃縮し，ヘキサン画分 155g，含水メタノール画分 226g，*n*-ブタノール画分 85g，水画分 113g が得られた．得られた 4 種の画分の生理活性を評価した結果，含水メタノール画分に HL60 (白血病細胞)に

[1]：日大理工・院(前)・応化　２：日大理工・教員・応化

対する毒性が認められたので，含水メタノール画分中の成分探索を行った．Figure 1 に各抽出物の生理活性試験の結果を示した．含水メタノール画分を各種クロマトグラフィーにて分画し，13 種の化合物を単離した．

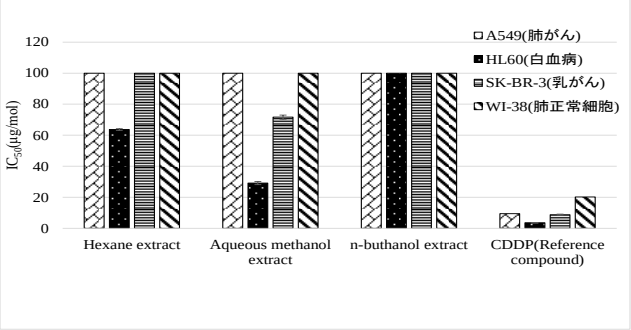

Figure 1. Cytotoxicity tesy

・単離化合物の構造解析

13 種の化合物のうち，6 種をセスキテルペン spathulenol (**1**), 4α, 10β-aromadenadrandiol (**2**), cyperenoic acid (**3**), 4β, 10α-aromadendrandiol (**4**), 4α, 10α-aromadendrandiol (**5**), pipelol A (**6**), 3 種をジテルペン chettaphanin (**7**), teuvidin (**8**), teucvidin (**9**)と判断した．単離化合物の構造を Figure 2 に示した．残りの 4 種は発表当日までに構造を明らかにする．また，単離した 9 種の化合物が *G. kurroo* から単離された報告は見当たらない点は新規の知見と考えている．

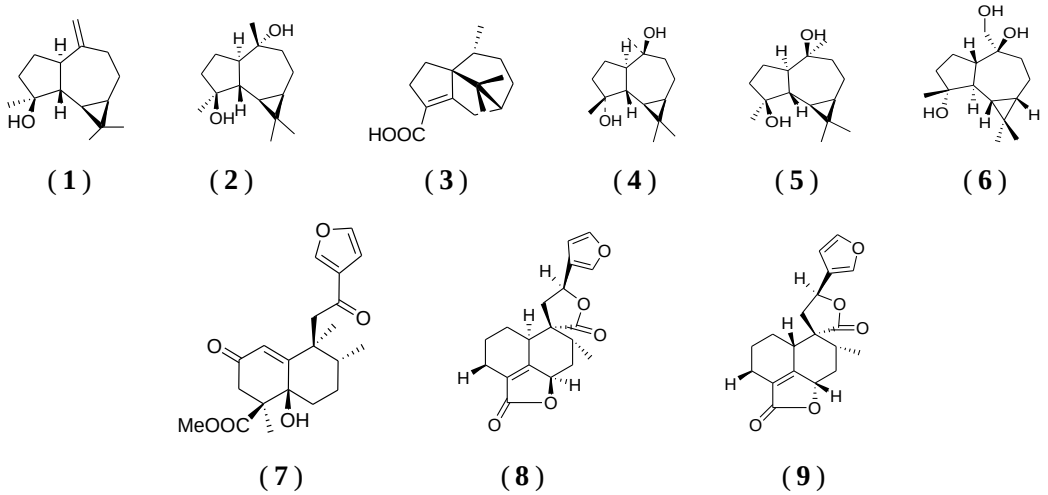

Figure 2. Structure of compounds isolated from stem of *G. kurroo*

・生理活性評価

9 種の単離化合物中 cyperenoic acid (**3**)にのみ HL60 (白血病細胞)に対する細胞毒性が認められた．6 種の同様の基本骨格を持つセスキテルペンのうち，cyperenoic acid (**3**)のみ活性を示したことから，カルボン酸部位または架橋部位が活性に影響していると考えられる．

４．参考文献

[1] M. Behera, *et al*,: “Gentiana kurroo Royle – A critically endangered bitter herb”, *J. Med. Arom. Plants*, Vol.2, pp22-29, 2012.

[2] A. Patenkovic, *et al*,: “Synergistic effect of *Gentiana lutea* L. on methyl methanesulfonate genotoxicity in the *Drosophila* wing spot test”, *J. Ethnophrm.*,Vol.146, pp632-636, 2013.