

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18885

研究課題名(和文) 抗菌活性天然物質を素材とした新しい眼科感染症治療薬リードの開発

研究課題名(英文) Search for antimicrobial natural products as leads of therapeutic agents for the treatment of ophthalmic infections

研究代表者

田中 直伸 (Tanaka, Naonobu)

徳島大学・大学院生物資源産業学研究部・准教授

研究者番号：40455598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：新しい眼科領域感染症の治療薬リードの開発を目的として、国内外で採集した植物や海洋生物に含まれる抗菌活性物質の探索を行った。

その結果、オトギリソウ科植物より抗菌活性を示す新規メロテルペンとアシルフロログルシノール誘導体を、テリハボク科植物から新規フェニルクマリン類を単離し、それらの化学構造を明らかにした。特にオトギリソウ科植物由来のhypatulin Aはユニークな三環性骨格をもつ抗菌活性メロテルペンである。

研究成果の概要(英文)：Searching study for antimicrobial natural products were carried out to develop new leads of therapeutic agents for the treatment of ophthalmic infections. The study resulted in the isolation of new antimicrobial meroterpenes and acylphloroglucinols from Hypericaceae plants and new antimicrobial phenylcoumarins from a Calophyllaceae plant. Hypatulins A isolated from *Hypericum patulum* is a structurally interesting tricyclic meroterpene possessing antimicrobial activity.

研究分野：天然物化学

キーワード：抗菌活性天然物質 植物 海洋生物

1. 研究開始当初の背景

(1) 抗生物質耐性菌が院内感染ならびに術後感染症などの原因菌として問題となっている。また近年、免疫力の低下した患者の真菌感染症が増加傾向にあり、社会問題となっている。

(2) 一方、眼科領域においては、溶解性や刺激性の観点から利用できる薬剤が限定されるため、薬剤耐性菌の出現は治療上の大きな障害であり、これらの感染症に対する新しい抗菌薬(抗バクテリア薬, 抗真菌薬)の開発は喫緊の課題である。

2. 研究の目的

(1) 抗菌活性天然物質を素材とした眼科領域感染症に対する治療薬リードの開発を目的とする。

(2) そのため、①多彩な化学構造の抗菌活性天然物質ライブラリを作成する。

②作成したライブラリを、眼科領域感染症の薬剤耐性菌を含む臨床分離株に対する *in vitro* ならびに *in vivo* スクリーニングに付し、顕著な抗菌活性を示す化合物を見出す。

③見出した抗菌活性天然物質に対して有機化学的な修飾を施し、構造活性相関を検討すること。

以上の検討から、抗菌活性発現のための最適な化学構造を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 抗菌活性天然物質ライブラリの構築

① 海綿動物を沖縄県にて採取後、抽出エキスを作成し、各種クロマトグラフィーにより成分を精製・単離する。

② 国内外の薬用植物を採集し、成分を精製・単離する。

③ 単離した化合物について、NMR, MS, UV, IR, CD スペクトル, および X 線結晶構造解析などの各種スペクトルデータの解析, ならびに計算化学的手法により化学構造を明らかにする。

④ これらに、申請者が保有している抗菌活性天然物質に加え、構造の新規性が高く、かつ幅広い物理化学的性質をもつライブラリを構築する。

(2) ライブラリの抗菌活性スクリーニング

① 作成した抗菌活性天然物質のライブラリに対して、薬剤耐性株を含む臨床分離株(バクテリア約 10 種, 真菌約 20 種)を対象とする *in vitro* スクリーニングを行い、顕著な活性を示す化合物を選定する。

② *In vitro* スクリーニングで顕著な活性を示した化合物について、白色ラットを用いた *in vivo* スクリーニングを行う。

(3) 抗菌活性天然物質の構造最適化

① *in vivo* スクリーニングにより、治療効果あるいは発症防止効果を示した化合物に対して、有機化学的な修飾を施し化学構造を変換する。

② 再度これらのアナログの *in vivo* 抗菌活性

試験を行い、感染症発症防止効果あるいは治療効果発現のための最適な化学構造について検討する。

4. 研究成果

(1) 新規抗菌活性天然物の単離を目的として、海洋生物と植物の含有成分の探索研究を行った。

(2) 海洋生物から下記の新規化合物を得た。
① 沖縄県産 *Agelas* 属の海綿より、新規プロモピロールアルカロイドのアゲラマジン F とタウロアシジン E を単離し、構造を明らかにした。

(3) 国内外にて採集した植物から新規化合物を単離し、化学構造を明らかにした。

① 徳島県で採集したオトギリソウ科植物キンシバイから、高度に置換された特異な三環性骨格を有する新規メロテルペン、ヒパツリン A とその関連化合物ヒパツリン B を単離し、各種スペクトルデータの解析と計算化学的手法を用いて化学構造を明らかにした。

② 徳島県で栽培したオトギリソウ科植物オトギリソウの根部の成分を探索し、新規プレニル化アシルフロログルシノール誘導体、エレクリシン A-E とアドオトギリンを単離し、化学構造を明らかにした。

③ 徳島県で採集したオトギリソウ科植物ビヨウヤナギの葉部より、ユニークな経路で生合成されたと考えられる新規メロテルペン、メロヒペリン A-C を単離し、化学構造を明らかにした。

④ モンゴルで採集したリンドウ科植物 *Gentianella amarelle* ssp. *acuta* の地上部から、新規キサントン配糖体を単離し、化学構造を明らかにした。

⑤ 北海道産のオトギリソウ科植物エゾオトギリの含有成分を探索し、新規アシルフロログルシノール誘導体と新規メロテルペン誘導体、エゾオトギリ D-H を単離し、それらの化学構造を決定した。

⑥ 徳島大学薬学部附属薬用植物園で栽培したオトギリソウ科植物 *Hypericum frondsom* cv. *Sunburst* から、ショートケチドとフェニルケチドの複合体、フロンドヒペリン A-D を単離し、化学構造を明らかにした。

⑦ 中国雲南省産のリンドウ科植物 *Gentiana rigescens* Franch. からノルセコイリドとセコイリド配糖体の複合体を単離し、化学構造を明らかにした。

⑧ バングラデシュ産テリハボク科植物 *Mesua ferrea* の葉部の成分を探索し、新規フェニルクマリンを単離し、化学構造を明らかにした。

⑨ バングラデシュ産薬用植物、センダン科 *Aphanamixis polystachya* の樹皮より、新規鎖状テルペノイドを単離し、化学構造を明らかにした。

⑩ 徳島大学薬学部附属薬用植物園にて栽培したフトモモ科植物ギンバイカの葉部に含まれる成分を探索し、新規フロログルシノール-フラボノイド複合体を単離し、化学構造を

明らかにした。

(4) 上記の化合物に対して抗菌活性スクリーニングを行った。その結果、新規アシルフロログルシノール誘導体のエゾオトギリソウとアドオトギリソウ、新規メロテルペンのヒパツリン A, ならびに新規フェニルクマリン類が抗菌活性を示すことを見出した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- 1) Niwa, K.; Tanaka, N.; Kashiwada, Y. "Fronthyperins A-D, short ketide-phenylketide conjugates from *Hypericum frondosum* cv. Sunburst" *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 1495-1498, DOI: 10.1016/j.tetlet.2017.02.089 (査読有).
- 2) Suyama, Y.; Tanaka, N.; Kawazoe, K.; Murakami, K.; Li, S.-L.; Sun, H.-D.; Kashiwada, Y. "Rigenolides B and C, conjugates of norsecoiridoid and secoiridoid glucoside from *Gentiana rigescens* Franch." *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 1459-1461, DOI: 10.1016/j.tetlet.2017.02.075 (査読有).
- 3) Tanaka, N.; Yano, Y.; Tatano, Y.; Kashiwada, Y. "Hypatulins A and B, meroterpenes from *Hypericum patulum*" *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5360-5363, DOI: 10.1021/acs.orglett.6b02725 (査読有).
- 4) Kim, S.-Y.; Nagashima, H.; Tanaka, N.; Kashiwada, Y.; Kobayashi, J.; Kojoma, M. "Hitorins A and B, hexacyclic C₂₅ terpenoids from *Chloranthus japonicus*" *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5420-5423, DOI: 10.1021/acs.orglett.6b02842 (査読有).
- 5) Lu, S.; Tanaka, N.; Tatano, Y.; Kashiwada, Y. "Erecricins A-E, prenylated acylphloroglucinols from the roots of *Hypericum erectum*" *Fitoterapia*, **2016**, *114*, 188-193, DOI: 10.1016/j.fitote.2016.08.014 (査読有).
- 6) Tanaka, N.; Niwa, K.; Kashiwada, Y. "Merohyperins A-C, meroterpenes from the leaves of *Hypericum chinense*" *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 3175-3178, DOI: 10.1016/j.tetlet.2016.06.028 (査読有).
- 7) Lu, S.; Tanaka, N.; Kawazoe, K.; Murakami, K.; Damdinjav, D.; Dorjbal, E.; Kashiwada, Y. "Tetrahydroxanthones from Mongolian medicinal plant *Gentianella amarelle* ssp. *acuta*" *J. Nat. Med.* **2016**, *70*, 780-788, DOI: 10.1007/s11418-016-1015-z (査読有).
- 8) Tanaka, N.; Tsuiji, E.; Kashiwada, Y.; Kobayashi, J. "Yezo'otogirins D-H, acylphloroglucinols and meroterpenes from *Hypericum yezoense*" *Chem. Pharm. Bull.* **2016**, *64*, 991-995, DOI: 10.1248/cpb.c16-00243 (査読有).
- 9) Kurimoto, S.-I.; Sasaki, Y.F.; Suyama, Y.; Tanaka, N.; Kashiwada, Y.; Nakamura, T. "Acylated triterpene saponins from the stem bark

of *Acer nikoense* (Aceraceae)" *Chem. Pharm. Bull.* **2016**, *64*, 924-929, DOI: 10.1248/cpb.c16-00245 (査読有).

10) Tanaka, N.; Kusama, T.; Kashiwada, Y.; Kobayashi, J. "Bromopyrrole alkaloids from Okinawan marine sponges *Agelas* spp." *Chem. Pharm. Bull.* **2016**, *64*, 691-694, DOI: 10.1248/cpb.c16-00245 (査読有).

11) Kusama, T.; Tanaka, N.; Kashiwada, Y.; Kobayashi, J. "Agelamadin F and tauroacidin E, bromopyrrole alkaloids from an Okinawan marine sponge *Agelas* sp." *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 4502-4504, DOI: 10.1016/j.tetlet.2015.05.114 (査読有).

[学会発表] (計 37 件)

- 1) 丹羽莞慈, 田中直伸, 柏田良樹, オトギリソウ科 *Hypericum* 属植物に関する研究(45) -*H. pseudohenryi* 地上部由来の新規 phenylketide-short ketide 複合体, pseudoherin A-E の構造-, 日本薬学会第 137 年会, 2017 年 3 月 27 日, 仙台国際センター (宮城県仙台市)
- 2) 福田明穂, 田中直伸, Fakhruddin Ali Ahmed, 柏田良樹, バングラデシュ産薬用植物に関する研究 (12) -センダン科植物 *Aphanamixis polystachya* 樹皮由来の新規鎖状テルペノイドの構造-, 日本薬学会第 137 年会, 2017 年 3 月 26 日, 仙台国際センター (宮城県仙台市)
- 3) 東野勇佑, 田中直伸, Fakhruddin Ali Ahmed, 柏田良樹, バングラデシュ産薬用植物に関する研究 (13) -テリハボク科植物 *Mesua ferrea* 葉由来のプレニル化アシルフロログルシノール誘導体と 4-フェニルクマリンの構造-, 日本薬学会第 137 年会, 2017 年 3 月 26 日, 仙台国際センター (宮城県仙台市)
- 4) 賈玉鈺, 田中直伸, 柏田良樹, フトモモ科植物ギンバイカ葉由来の新規フロログルシノール-フラボノイド複合体の構造, 日本薬学会第 137 年会, 2017 年 3 月 26 日, 仙台国際センター (宮城県仙台市)
- 5) 森岡諒, 金尚永, 長嶋絃紗子, 田中直伸, 高石喜久, 柏田良樹, 小林淳一, 高上馬希重, 北海道産ヒトリシズカ (*Chloranthus japonicus*) 地上部の成分研究, 日本薬学会第 137 年会, 2017 年 3 月 26 日, 仙台国際センター (宮城県仙台市)
- 6) 丹羽莞慈, 田中直伸, 柏田良樹, オトギリソウ科 *Hypericum* 属植物に関する研究 (44) -*H. pseudohenryi* 地上部の成分探索-, 第 55 回日本薬学会中国四国支部学術大会, 2016 年 11 月 6 日, 就実大学 (岡山県岡山市)
- 7) 東野勇佑, 田中直伸, Fakhruddin Ali Ahmed, 柏田良樹, バングラデシュ産薬用植物に関する研究 (11) -テリハボク科植物 *Mesua ferrea* 葉の成分研究-, 第 55 回日本薬学会中国四国支部学術大会, 2016 年 11 月 6 日, 就実大学 (岡山県岡山市)
- 8) 田中直伸, 浅井美貴, 草間大志, 柏田良樹, 小林淳一, 沖縄産 *Plakortis* 属海綿から単離し

た新規オキシリピンmanzamenone OおよびPの構造と生物活性, 第21回天然薬物の開発と応用シンポジウム, 2016年10月28日, 千葉大学(千葉県千葉市)

9) 東野勇佑, 田中直伸, 多田納豊, Fakhruddin Ali Ahmed, 柏田良樹, バングラデシュ産薬用植物に関する研究(10)-テリハボク科植物 *Mesua ferrea* 葉の成分研究(2)-, 第21回天然薬物の開発と応用シンポジウム, 2016年10月28日, 千葉大学(千葉県千葉市)

10) 矢野優希, 田中直伸, 多田納豊, 柏田良樹, オトギリソウ科 *Hypericum* 属植物に関する研究(43)-キンシバイより単離した新規ベンゾフェノン誘導体hypatulins AおよびBの構造-, 日本生薬学会第63回年会, 2016年9月24日, 富山国際会議場(富山県富山市)

11) 岩屋愛美, 田中直伸, 柏田良樹, ジンチョウゲ科植物 *Mitsumata Edgeworthia chrysantha* 樹皮の成分研究, 日本生薬学会第63回年会, 2016年9月24日, 富山国際会議場(富山県富山市)

12) 東野勇佑, 田中直伸, Fakhruddin Ali Ahmed, 柏田良樹, バングラデシュ産薬用植物に関する研究(8)-テリハボク科植物 *Mesua ferrea* 葉の成分研究-, 日本生薬学会第63回年会, 2016年9月24日, 富山国際会議場(富山県富山市)

13) 金尚永, 長嶋紘紗子, 田中直伸, 柏田良樹, 高石喜久, 小林淳一, 高上馬希重, センリョウ科植物ヒトリシズカ (*Chloranthus japonicus*) 地上部の成分研究, 日本生薬学会第63回年会, 2016年9月24日, 富山国際会議場(富山県富山市)

14) 森越祥太, 金尚永, 坂井大地, 増子ひとみ, 田中直伸, 柏田良樹, 高石喜久, 小林淳一, 高上馬希重, センリョウ科植物フタリシズカ (*Chloranthus serratus*) 地上部の成分研究, 日本生薬学会第63回年会, 2016年9月24日, 富山国際会議場(富山県富山市)

15) 中谷愛, 田中直伸, Fakhruddin Ali Ahmed, Chin-Ho Chen, Kuo-Hsing Lee, 柏田良樹, バングラデシュ産薬用植物に関する研究(9)-トウダイグサ科植物 *Sapium indicum* 果実の成分研究(3)-, 日本生薬学会第63回年会, 2016年9月24日, 富山国際会議場(富山県富山市)

16) 田中直伸, 矢野優希, 大屋厚, 金尚永, 高上馬希重, 小林淳一, 柏田良樹, オトギリソウ科 *Hypericum* 属および *Triadenum* 属植物から単離した新規ベンゾフェノン誘導体の構造, 第58回天然有機化合物討論会, 2016年9月15日, 東北大学(宮城県仙台市)

17) 金尚永, 長嶋紘紗子, 田中直伸, 高石喜久, 柏田良樹, 小林淳一, 高上馬希重, ヒトリシズカ (*Chloranthus japonicus*) 地上部より単離したC25テルペノイドの構造, 第58回天然有機化合物討論会, 2016年9月15日, 東北大学(宮城県仙台市)

18) Tanaka, N., Kusama, T., Kashiwada, Y., Kobayashi, J., Agelamadins, bromopyrrole

alkaloids from Okinawan marine sponges *Agelas* spp., 9th Joint Natural Products Conference 2016, 2016年7月26日, Tivoli Congress Hall (Copenhagen, Denmark)

19) Wada, S., Tanaka, N., Chen, C.-H., Morris-Natschke S. L., Lee, K.-H., Kashiwada, Y., Anti-HIV natural products (28): preparation of conjugate for 3-O-acyl botulin derivative and AZT as anti-HIV agents, 9th Joint Natural Products Conference 2016, 2016年7月26日, Tivoli Congress Hall (Copenhagen, Denmark)

20) Niwa, K., Tanaka, N., Kashiwada, Y., Studies on the constituents of *Hypericum* plants (43): Meroterpenes from the leaves of *Hypericum chinense*, 9th Joint Natural Products Conference 2016, 2016年7月25日, Tivoli Congress Hall (Copenhagen, Denmark)

21) 丹羽莞慈, 田中直伸, 柏田良樹, オトギリソウ科 *Hypericum* 属植物に関する研究(42)-*H. pseudohenryi* 地上部の成分探索-, 日本薬学会第136年会, 2016年3月29日, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

22) 金尚永, 長嶋紘紗子, 田中直伸, 柏田良樹, 高石喜久, 小林淳一, 高上馬希重, センリョウ科植物ヒトリシズカ (*Chloranthus japonicus*) 地上部の成分研究, 日本薬学会第136年会, 2016年3月28日, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

23) 田口響, 栗本慎一郎, 佐々木有, 田中直伸, 柏田良樹, 中村隆典, メグスリノキ (*Acer nikoense*) 樹皮の成分研究, 日本薬学会第136年会, 2016年3月28日, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

24) 洲山佳寛, 田中直伸, 川添和義, 村上光太郎, 孫漢董, 李順林, 柏田良樹, 雲南省産伝統薬物に関する研究(27)-*Gentiana rigescens* の成分研究(7)-, 日本薬学会第136年会, 2016年3月28日, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

25) Kashiwada, Y., Tanaka, N., Studies on Chinese and Mongolian traditional medicinal plants, International Conference of Conservation of Biodiversity and Sustainable Use of Tropical and Subtropical Plants, 2015年11月3日, Guangxi Institute of Botany (Guilin, China)

26) 中谷愛, 田中直伸, Ahamed Fakhruddin Ali, 柏田良樹, バングラディッシュ産薬用植物に関する研究(7)-トウダイグサ科植物 *Sapium indicum* 果実の成分研究(2)-, 第54回日本薬学会中国四国支部学術大会, 2015年10月31日, 高知市文化プラザカルポート(高知県高知市)

27) 丹羽莞慈, 田中直伸, 柏田良樹, オトギリソウ科 *Hypericum* 属植物に関する研究(42)-*Hypericum chinense* 葉の成分探索-, 第54回日本薬学会中国四国支部学術大会, 2015年10月31日, 高知市文化プラザカルポート(高知県高知市)

28) 洲山佳寛, 田中直伸, 栗本慎一郎, 川添和義, 村上光太郎, 孫漢董, 李順林, 高石喜久, 柏田良樹, 雲南省伝統薬物に関する研究

(26) *Gentiana rigescens*の成分研究 (6)-, 第54回日本薬学会中国四国支部学術大会, 2015年10月31日, 高知市文化プラザカルポート (高知県高知市)

29) Lu, S.X.; Tanaka, N.; Kashiwada, Y., Studies on the constituents of *Hypericum* plants (41): Prenylated acylphloroglucinols from the roots of *Hypericum erectum*, 日本生薬学第62回年会, 2015年9月12日, 長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)

30) 丹羽莞慈, 田中直伸, 柏田良樹, オトギリソウ科*Hypericum*属植物に関する研究 (40) -*H. chinense*葉に含まれるメロテルペンの探索-, 日本生薬学第62回年会, 2015年9月12日, 長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)

31) 中山翔太, 金尚永, 長谷川由季, 佐藤佳輔, 田中直伸, 小林淳一, 高上馬希重, ドクウツギ科植物ドクウツギ (*Coriaria japonica*) 果実の成分研究, 日本生薬学第62回年会, 2015年9月11日, 長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)

32) 坂井大地, 金尚永, 増子ひとみ, 田中直伸, 柏田良樹, 高石喜久, 小林淳一, 高上馬希重, センリョウ科植物フタリシズカ (*Chloranthus serratus*) 地上部の成分研究, 日本生薬学第62回年会, 2015年9月11日, 長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)

33) 長嶋紘紗子, 金尚永, 田中直伸, 川野辺弘子, 柏田良樹, 高石喜久, 小林淳一, 高上馬希重, センリョウ科植物ヒトリシズカ (*Chloranthus japonicus*) 地上部の成分研究, 日本生薬学第62回年会, 2015年9月11日, 長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)

34) 苜舎里紗, 田中直伸, 川添和義, 村上光太郎, Davaadagva Damdinjav, Enkhjargal Dorjval, 柏田良樹, モンゴル民族伝統薬物に関する研究 (6) -キク科植物*Saussurea pricei*花部の成分研究-, 日本生薬学第62回年会, 2015年9月11日, 長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)

35) 田中直伸, 辻依利, 柏田良樹, 小林淳一, オトギリソウ科植物エゾオトギリより単離した yezo'otogirin D-Iの構造, 日本生薬学第62回年会, 2015年9月11日, 長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)

36) 丹羽莞慈, 田中直伸, 柏田良樹, オトギリソウ科*Hypericum*属植物に関する研究(39) -*Hypericum chinense*由来のメロテルペン-, 第57回天然有機化合物討論会, 2015年9月9日, 横浜県民ホール (神奈川県横浜市)

37) 田中直伸, 浅井美貴, 草間大志, 石黒悠一朗, 久保田高明, 小林淳一, 沖縄産*Plakortis*属海綿から単離した新規オキシリピンの構造, 第57回天然有機化合物討論会, 2015年9月9日, 横浜県民ホール (神奈川県横浜市)

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

○取得状況 (計0件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

(1) 徳島大学薬学部・生薬学・お知らせ,
<http://www.tokushima-u.ac.jp/ph/faculty/labocg/n/>

(2) 徳島大学・生薬学・研究業績,
<http://www.tokushima-u.ac.jp/ph/faculty/labocg/n/publication.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

田中 直伸 (TANAKA, Naonobu)

徳島大学・大学院生物資源産業学研究所・准教授

研究者番号 : 40455598

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし