

令和元年5月31日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H03279

研究課題名(和文) 多様性拡大抽出物を基盤とした生物活性指向型天然化合物類縁体ライブラリーの創出

研究課題名(英文) Development of biologically active natural product-like compound library based on diversity-enhanced extracts

研究代表者

菊地 晴久(Kikuchi, Haruhisa)

東北大学・薬学研究科・准教授

研究者番号：90302166

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者が開発した手法である「多様性拡大抽出物」を活用することで、高度な構造多様性と生物活性を示す可能性の高い化学構造とを併せ持った天然化合物類縁体ライブラリーの創出を目指した。テルペン類を多く含む植物の抽出物に対して直接、連続した3段階の化学反応を行うことで、多様性拡大抽出物へと変換し、それを分離・精製した結果、いずれも新規分子骨格を有した20種以上のフェノール型およびピロン型メロテルペノイド化合物群を取得した。これらの化合物群に対して広範な生物活性スクリーニングを行った結果、破骨細胞分化抑制作用などの生物活性物質を見出すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題によって得られた成果は、「多様性拡大抽出物」が構造多様性の高い生物活性を指向した天然化合物類縁体ライブラリーを構築する上で有用な手法であることを実証したものであり、そのような点で学術的に大いに意義があると言える。一方で、本研究課題によって破骨細胞分化抑制作用などの生物活性物質が見出されたことは、創薬等への応用によって社会への成果還元の可能性をもたらすものであり、社会的にも意義があると言える。

研究成果の概要(英文)：We proposed a new approach, diversity-enhanced extracts, for increasing the diversity of natural product-like compounds. Diversity-enhanced extracts are prepared from chemical reactions that remodel molecular scaffolds directly on extracts of natural resources. The subsequent isolation of each compound produced from such reactions affords a diverse natural product-like library. Direct, three successive chemical reactions were performed on plant extracts containing a large amount of terpenes to prepare diversity-expanding extracts, which were then separated to give more than 20 kinds of phenolic and pyrone-type meroterpeneoids. As a result of carrying out extensive biological activity screening for these compounds, bioactive substances such as osteoclast differentiation inhibitory activity were found.

研究分野：天然物化学

キーワード：天然物化学 多様性指向型合成 化合物ライブラリー メロテルペノイド

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

天然物化学は、新規な母核構造を有し、特異な生物活性を示す多種多様な天然化合物群を、生命科学・創薬科学など様々な分野に対して提供するという重要な役割を担っている。このような有用性をもたらしている要因としてはいくつか挙げられるが、最も大きい要因は、化合物の高度な構造多様性であると考えられている。しかし、天然由来化合物の探索は非常に古くから行われており、膨大な種類の生物資源を材料とした探索研究が行われてきているものの、新規骨格を含む化合物の発見は困難になりつつあるのが現状である。したがって、今後も創薬等に重要な役割を果たしていくためには、多様な構造を有した天然化合物または天然化合物類縁体を継続的に得る手法を開発しなければならない。

申請者はそのような新たな手法として、従来から行われてきた天然由来化合物の探索研究に多様性指向型合成の考え方を組み合わせた「多様性拡大抽出物 (diversity-enhanced extract)」を開発してきた。すなわち、天然資源の抽出物に対して直接、化合物の分子骨格を変化させるような反応を行うことで、それに含まれる化合物の構造多様性が一層高められた多様性拡大抽出物が得られる。これをカラムクロマトグラフィ等で各化合物を単離・精製することで、構造多様性の高い天然化合物類縁体ライブラリーを取得するという手法である（下図）

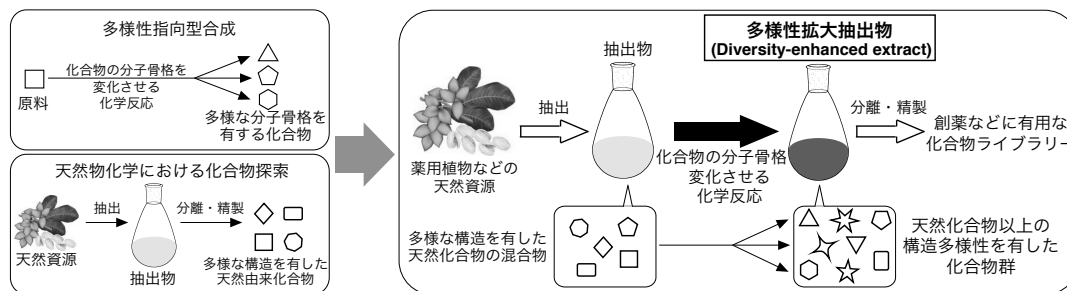


図1 多様性拡大抽出物の概要

申請者は、薬用植物ガジュツの抽出物に対し、オレフィンのエポキシ化とその開環反応を直接行うことで得られた多様性拡大抽出物から、多数の新規骨格を有するセスキテルペノイドを取得している (*Org. Lett.* **2014**, *16*, 1916-1919). この結果は、多様性拡大抽出物を用いる手法が、構造多様性に富んだ化合物群を得る手法として有用であることを示すものであった。しかし、これらの化合物に対して様々な生物活性試験を行ったにも関わらず、一部の化合物が弱い免疫抑制作用を示すのみであった。このことは、創薬に役立つ化合物ライブラリーを構築するためには、単に構造多様性が高いというだけではなく、生物活性を示す可能性の高い化学構造を考慮する必要がある、ということを示唆していた。

2. 研究の目的

本研究では「多様性拡大抽出物」を活用することで、高度な構造多様性と生物活性を示す可能性の高い化学構造とを併せ持った、生物活性・薬理活性を指向した天然化合物類縁体ライブラリーの創出を目的とする。このような化合物ライブラリーは、これまでに知られている生物活性天然化合物や医薬品の構造を元に創り出すことが出来ると考えられる。そのような化学構造として、例えばメロテルペノイド型化合物、テルペノイドアルカロイド型化合物などが挙げられる。構築した天然化合物類縁体ライブラリーについては、網羅的な生物活性スクリーニングを行い、創薬のリード化合物に成りうる新規生物活性物質を多数取得することを目指す。

3. 研究の方法

メロテルペノイドは、テルペノイドとそれ以外の生合成経路由来の構造を併せ持つハイブリッド型天然化合物であり、強力な薬理活性を示す化合物も数多く知られている。その大部分はテルペノイドとポリケチドとが融合した構造をもっているが、特に sp^3 炭素から成る立体的な広がりをもったテルペノイド部分と sp^2 炭素から成る平面性の高いポリケチド部分（ベンゼン環・ピロン環など）とが環状エーテル構造を介して結合している化合物が多く存在する（図2）。そこで、天然に存在するテルペノイドに対して、フェノール類またはヒドロキシピロン類を結合・環化させれば、新規骨格を有したフェノール型またはピロン型メロテルペノイド類縁体を得ることが可能となる。このような考え方をもとに、多様性拡大抽出物を用いたメロテルペノイド型化合物ライブラリーの構築をおこなった。

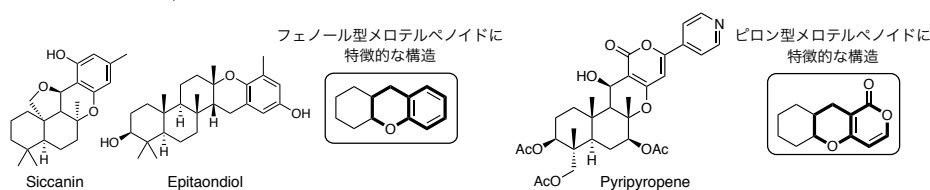


図2 メロテルペノイドに見られる特徴的な構造

4. 研究成果

(1) フェノール型メロテルペノイド群

原料となる天然資源として、ガジュツ *Curcuma zedoaria*, ハマズゲ *Cyperus rotundus* (生薬名コウブシ), オケラ *Atractylodes japonica* (生薬名ビャクジュツ) などのセスキテルペン類を多く含む薬用植物を用いた。これらの抽出物に対して DIBAL を作用させて、含まれる化合物中のケトンに第二級アルコールへと還元した。つづいて光延反応によって *o*-ヨードフェノール誘導体 **A** とエーテル結合させ、さらに溝呂木-Heck 反応をおこなうことで環状エーテル構造を形成し多様性拡大抽出物とした。これを分離することで、非天然型骨格を有するフェノール型メロテルペノイド群 **1-16** を得た (図 3)。

(2) ピロン型メロテルペノイド群

(1)のフェノール型メロテルペノイド群を生み出した反応経路において、*o*-ヨードフェノール誘導体 **A** を他の骨格を有した化合物に置き換えることで、新たな骨格を有した化合物群を生み出すことが可能である。実際にヒドロキシヨードピロン誘導体 **B** を用いることで、ピロン型メロテルペノイド類縁体 **17-25** を得た (図 3)。

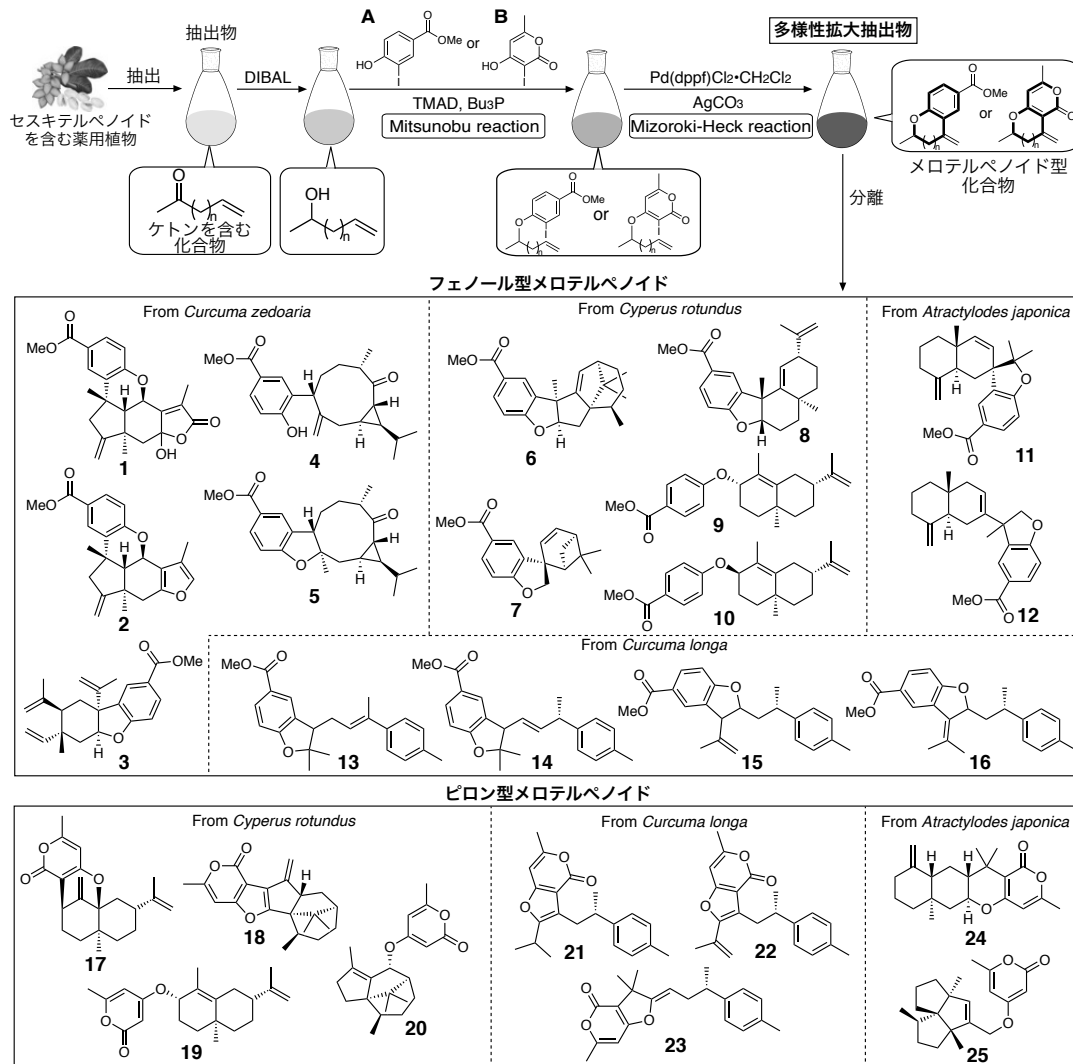


図 3 多様性拡大抽出物より取得したメロテルペノイド型化合物群

(3) インドリン型テルペノイドアルカロイド群

さらに上記の反応経路において、光延反応によるエーテル化を他の反応に置き換えることで、さらなる構造多様化合物群の取得が可能となる。例えば、酸触媒下における *o*-ヨードアニリンによるアミノ化を行うことで、ハマズゲ抽出物からインドリン骨格を有したテルペノイドアルカロイド型化合物の取得に成功した (図 4)。

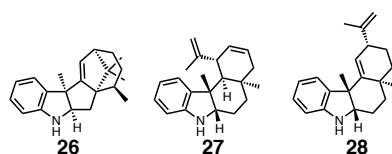


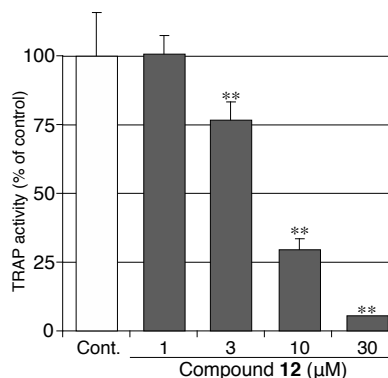
図 4 多様性拡大抽出物より取得したテルペノイドアルカロイド型化合物 (抜粋)

(1)~(3)の各項目で得られた化合物はそのほとんどが、天然化合物としても合成化学によっても得られたことの無い分子骨格を有しており、構造多様性の高い天然化合物類縁体ライブラリーを構築するという、本研究課題の目的が達成されたといえる。

(4) 得られた化合物群の生物活性スクリーニング

(1)~(3)の各項目で得られた化合物について、広範な生物活性スクリーニングを行った。その結果、化合物 **12** が破骨細胞分化抑制作用を示すことを見出した (図5)。破骨細胞の過剰な分化の抑制は骨吸収量の減少につながるため、**12** は骨粗鬆症などの治療薬のシーズとなり得ると考えられる。

図5 化合物 **12** の破骨細胞分化抑制作用
** p < 0.01 vs control by Dunnett's test.



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 10 件)

1. Kikuchi, H.; Kawai, K.; Nakashiro, Y.; Yonezawa, T.; Kawaji, K.; Kodama, E. N.; Oshima, Y. Construction of a Meroterpenoid-like Compounds Library Based on Diversity-Enhanced Extracts. *Chem.-Eur. J.* **2019**, *25*, 1106-1112. (査読有り) DOI: 10.1002/chem.201805417
2. Ogura, M.; Kikuchi, H.; Shakespear, N. B.; Suzuki, T.; Yamaki, J.; Homma, M. K.; Oshima, Y.; Homma, Y. Prenylated quinolinecarboxylic acid derivative prevents neuronal cell death through inhibition of MKK4. *Biochem. Pharmacol.* **2019**, *162*, 109-122. (査読有り) DOI: 10.1016/j.bcp.2018.10.008
3. Kikuchi, H.; Oshima, Y. Developments toward the Production of Diverse Natural-Product-Like Compounds: Diversity-Oriented Synthesis and Diversity-Enhanced Extracts. *Heterocycles* **2018**, *96*, 1509-1527. (査読有り) DOI: 10.3987/REV-18-885.
4. Nishimura, T.; Kawai, J.; Oshima, Y.; Kikuchi, H. Removal of the E-olefin Barrier of Humulene Leading to Unnatural Terpenoid-like Skeletons. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 7317-7320. (査読有り) DOI: 10.1021/acs.orglett.8b03259
5. 菊地晴久, 大島吉輝, 多様性拡大抽出物が生み出す薬理活性指向型化合物ライブラリー (総説), *有機合成化学協会誌*, **2017**, *75*, 349-359. (査読有り) DOI: 10.5059/yukigoseikyokaishi.75.349
6. Kikuchi, H.; Ito, I.; Takahashi, K.; Ishigaki, H.; Iizumi, K.; Kubohara, Y.; Oshima, Y. Isolation, Synthesis, and Biological Activity of Chlorinated Alkylresorcinols from *Dictyostelium* Cellular Slime Molds. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80*, 2716-2722. (査読有り) DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00456
7. Nguyen, V. H.; Kikuchi, H.; Sasaki, H.; Iizumi, K.; Kubohara, Y.; Oshima, Y. Production of Novel Bispyrone Metabolites in the Cellular Slime Mold *Dictyostelium giganteum* Induced by Zinc(II) Ion. *Tetrahedron* **2017**, *73*, 583-588. (査読有り) DOI: 10.1016/j.tet.2016.12.040
8. Kikuchi, H.; Ichinohe, K.; Kida, S.; Murase, S.; Yamada, O.; Oshima, Y. Monoterpene Indole Alkaloid-like Compounds Based on Diversity-enhanced Extracts of Iridoid-Containing Plants and Their Immune Checkpoint Inhibitory Activity. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5948-5951. (査読有り) DOI: 10.1021/acs.orglett.6b03057
9. Kikuchi, H.; Nishimura, T.; Kwon, E.; Kawai, J.; Oshima, Y. Development of Terpenoid Alkaloid-like Compound Library Based on a Humulene Skeleton. *Chem.-Eur. J.*, **2016**, *22*, 15819-15825. (査読有り) DOI: 10.1002/chem.201603224
10. Kikuchi, H.; Hoshikawa, T.; Kurata, S.; Katou, Y.; Oshima, Y. Design and Synthesis of Structure-Simplified Derivatives of Gonytolide for the Promotion of Innate Immune Responses. *J. Nat. Prod.* **2016**, *79*, 1259-1266. (査読有り) DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00829

[学会発表] (計 4 件)

1. 志賀皓介, 西村壮央, 菅原章公, 米澤貴之, 大島吉輝, 菊地晴久 Humulene の構造に基づいたアザ中員環形成を指向するテルペノイドアルカロイド型化合物ライブラリーの構築, 日本薬学会第 139 年会, 2019 年, 千葉市.
2. 米澤貴之, 渡辺章夫, 菊地晴久, 大島吉輝, 禹濟泰 多様性拡大抽出物から得られたメロテルペノイド化合物群の破骨細胞分化に対する作用, 日本薬学会第 139 年会, 2019 年, 千葉市.

- 鈴木佳英, 一戸佳祐, 大島吉輝, 菊地晴久 Iso-Pictet-Spengler 反応を利用した構造多様なインドールアルカロイド型化合物ライブラリーの創出, 日本薬学会第 139 年会, 2019 年, 千葉市.
- 船山 将太, 大島吉輝, 菊地晴久 パラジウム触媒を利用したカップリング反応に基づく多様性拡大抽出物由来ビアリール・ビアリールアミン型化合物群, 日本薬学会第 139 年会, 2019 年, 千葉市.
- 中野静香, 河合航輔, 大島吉輝, 菊地晴久 多様性拡大抽出物を利用したテルペノイドアルカロイド型化合物ライブラリーの創出, 日本薬学会第 139 年会, 2019 年, 千葉市.
- 志賀皓介, 西村壮央, 菅原章公, 大島吉輝, 菊地晴久 Humulene を基盤としたアザ中員環含有テルペノイドアルカロイド型化合物群の創出, 第 57 回日本薬学会東北支部大会, 2018 年, 仙台市.
- 船山将太, 大島吉輝, 菊地晴久 多様性拡大抽出物を用いたビアリール・ビアリールアミン型化合物の創出, 第 57 回日本薬学会東北支部大会, 2018 年, 仙台市.
- 船山将太, 大島吉輝, 菊地晴久 多様性拡大抽出物による非天然ビアリール・ビアリールアミン型化合物群の創出, 日本生薬学会第 65 回年会, 2018 年, 広島市.
- 船山将太, 菊地晴久, 大島吉輝 多様性拡大抽出物を利用した新規ビアリールアミン型化合物ライブラリーの創出, 日本薬学会第 138 年会, 2018 年, 金沢市.
- Haruhisa Kikuchi, Yoshiteru Oshima Diversity-enhanced Extracts: A New Approach for Enhancing Chemical Diversity of Natural Product-like Compounds, 26th French-Japanese Symposium on Medicinal & Fine Chemistry, 2017 年, ストラスブール (フランス).
- 菊地晴久, 河合航輔, 一戸佳祐, 中城陽太, 村瀬新也, 喜田進也, 山田修, 大島吉輝 多様性拡大抽出物から得られる創薬指向型化合物ライブラリー, 第 59 回天然有機化合物討論会, 2017 年, 札幌市.
- 河合航輔, 中城陽太, 菊地晴久, 大島吉輝 多様性拡大抽出物を利用した新規環骨格を有するメロテルペノイド型化合物ライブラリーの創出, 日本薬学会第 137 年会, 2017 年, 仙台市.
- 一戸佳祐, 菊地晴久, 村瀬新也, 喜田進也, 山田修, 大島吉輝 多様性拡大抽出物を利用したモノテルペンインドールアルカロイド様ライブラリーの創出, 第 34 回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2016 年, つくば市.
- 河合航輔, 中城陽太, 菊地晴久, 大島吉輝 多様性拡大抽出物を利用した非天然型メロテルペノイド型化合物ライブラリーの創出, 日本生薬学会第 63 回年会, 2016 年, 富山市.

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。