

令和元年6月4日現在

機関番号：32624

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18903

研究課題名(和文) コメットアッセイ法によるDNA損傷抑制作用を有する天然資源の探索研究

研究課題名(英文) Searching for natural resources with DNA damage inhibitory activity by comet assay

研究代表者

栗本 慎一郎 (KURIMOTO, Shin-ichiro)

昭和薬科大学・薬学部・特任助教

研究者番号：70735018

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：DNA損傷とその蓄積は、がんなどの生活習慣病の発症に関わっており、DNA損傷を抑制する物質は生活習慣病の予防に有効であると考えられる。DNA損傷抑制作用を有する天然資源ならびに活性成分を探索し、生活習慣病予防に有効なシーズを供給することを目的として研究を行った。天然資源を対象にコメットアッセイ法によるスクリーニングを実施し、DNA損傷抑制作用を有する天然資源を見いだした。また、10種の天然資源の成分検索を行い、13個の新規化合物を含む43個の化合物を単離・構造決定した。単離した化合物のDNA損傷抑制作用をコメットアッセイ法により評価したところ、4個の化合物が活性を示すことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により見いだしたDNA損傷抑制作用を有する天然資源および含有成分は、今後研究を進めることで、生活習慣病予防に有効な機能性食品、サプリメント、化学予防薬としての応用が期待でき、健康寿命の延伸によるQOLの向上に貢献できると考えている。

研究成果の概要(英文)：DNA damage and its accumulation are related to lifestyle-related disorders such as cancer so that materials possessing DNA damage inhibitory activity may be efficient to protect lifestyle-related disorders. The purpose of our study is to provide effective seeds for preventing lifestyle-related disorders. We screened the extracts of natural resources by comet assay to find several resources with the DNA damage inhibitory activity. Furthermore, forty-three compounds containing thirteen new compounds were isolated from ten samples. Their structures were elucidated by the analyses of spectral data. UV-induced DNA damage inhibitory activity of isolates was evaluated by comet assay. As a result, four compounds showed the activity.

研究分野：天然物化学

キーワード：コメットアッセイ 天然資源 DNA損傷

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 日本では平均寿命の延伸に伴って疾病構造に変化が生じており、がん、心疾患、脳血管疾患、アルツハイマー型認知症などの生活習慣病の罹患者数が増加している。これらの疾病は死因の大部分を占めるだけでなく、患者及びその家族の QOL を大きく低下させることから、国も生活習慣病の予防を国民の健康づくりを推進する上での最重要課題の 1 つに挙げている。

(2) 生活習慣病の発症には様々な要因が関係しているが、発症リスクを増大させる主要因の 1 つに加齢に伴う DNA 損傷の蓄積がある。したがって DNA 損傷を抑制することができれば、生活習慣病の発症リスクを低下させることができると考えられる。

### 2. 研究の目的

DNA 損傷の優れた検出方法であるコメットアッセイ法を用いて DNA 損傷抑制作用を有する天然資源および活性成分を探索し、生活習慣病予防に有効なシーズを供給することを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 天然資源抽出エキスの DNA 損傷抑制作用のスクリーニング

天然資源の抽出エキスを調製し、調製した抽出エキスについてコメットアッセイ法を用いて UV による DNA 損傷抑制作用を評価する。コメットアッセイ法を用いた活性評価において顕著な活性を示した抽出物については、*in vitro* 小核試験により、DNA 損傷抑制作用を評価する。また、細胞毒性が活性に影響していないことを確認するため、MTT 法により抽出エキスの細胞毒性を評価する。

#### (2) 含有成分の単離・構造決定

スクリーニングにおいて活性を示した抽出エキスを有機溶媒と水で分配し、得られた画分を各種クロマトグラフィーにより分離・精製し、含有成分を単離する。単離した化合物の化学構造は、機器分析法 (UV、IR、MS、NMR、X 線結晶構造解析など)、化学的手法 (誘導体化、部分合成など)、計算化学的手法 (DFT 計算を用いた CD や NMR スペクトルの予測) により立体配置を含めて決定する。

#### (3) 単離した化合物の DNA 損傷抑制作用の評価

単離した化合物の DNA 損傷抑制作用をコメットアッセイ法により評価する。活性を示した化合物については、機器分析データを活用して天然から類縁体を網羅的に探索するとともに、化学反応による誘導体調製を行う。

### 4. 研究成果

(1) *Acer nikoense* (メグスリノキ) の樹皮から 2 個の新規アシル化トリテルペン配糖体を単離し、化学構造を決定した。

(2) 食用菊『上大野』の花部から、2 個の新規ポリアセチレン配糖体を単離し、化学構造を決定した。

(3) シソ科植物 *Teucrium chamaedrys* (ウォールジャーマンダー) の地上部から、2 個の新規ジテルペンを単離し、化学構造を決定した。

(4) 沖縄産 *Pseudoceratina* 属海綿から 2 個の新規プロモチロシナルカロイド、セラチナジン E および F を単離し、化学構造を決定した。

(5) 沖縄産 *Hyrtios* 属海綿から新規 -カルボリンアルカロイド、イシガジン A を単離し、化学構造を決定した。

(6) その他、2 種の渦鞭毛藻、2 種の高綿動物から 4 個の新規化合物を単離した。

(7) 天然資源抽出物のスクリーニングにおいて UV による DNA 損傷を有意に抑制した 3 種の食用菊の抽出エキスについて、*in vitro* 小核試験により UV による DNA 損傷抑制作用を評価したところ、小核の発生を有意に抑制した。

(8) 10 種の天然資源から単離した 43 個の化合物のうち、12 個についてコメットアッセイ法により UV による DNA 損傷抑制作用を評価したところ、4 個の化合物が活性を示すことが明らかになった。

### 5. 主な発表論文

[雑誌論文] (計 2 件)

Shin-ichiro Kurimoto, Taito Ohno, Rei Hokari, Aki Ishiyama, Masato Iwatsuki, Satoshi Omura, Jun'ichi Kobayashi, Takaaki Kubota "Ceratinadins E and F, new bromotyrosine alkaloids from an Okinawan Marine sponge *Pseudoceratina* sp." *Mar. Drugs*, **2018**, *16*, 463. DOI:10.3390/md16120463. (査読有)

Hideaki Takahashi, Shin-ichiro Kurimoto, Jun'ichi Kobayashi, Takaaki Kubota "Ishigadine A, a new canthine-6-one alkaloids from an Okinawan marine sponge *Hyrtios* sp." *Tetrahedron Lett.* **2018**, *59*, 4500-4502. DOI:10.1016/j.tetlet.2018.11.019. (査読有)

[学会発表] (計 12 件)

石田理紗、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明、渦鞭毛藻 *Symbiodinium* sp. から単離した

新規マクロリドの構造、日本薬学会第 139 年会、2019 年  
大山英将、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明、沖縄産 *Stylissa* 属海綿から単離した新規環状ペプチドの構造、日本薬学会第 139 年会、2019 年  
木村悠登、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明、沖縄産 *Plakortis* 属海綿から単離した新規ポリケチドの構造、日本薬学会第 139 年会、2019 年  
坂根美和子、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明、渦鞭毛藻 *Amphidinium* sp. から単離した新規ポリケチドの構造、日本薬学会第 139 年会、2019 年  
清野皐月、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明、沖縄産 *Suberea* 属海綿から単離した新規プロモチロシンアルカロイドの構造、日本薬学会第 139 年会、2019 年  
藤田浩輝、栗本慎一郎、中村隆典、久保田高明、食用菊『上大野』から単離した新規ポリアセチレン配糖体の構造、日本薬学会第 139 年会、2019 年  
若林宏治、栗本慎一郎、中村隆典、久保田高明、シソ科植物 *Teucrium chamaedrys* から単離した新規ジテルペンの構造、日本薬学会第 139 年会、2019 年  
高橋秀彰、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明、沖縄産 *Hyrtios* 属海綿から単離した新規-カルボリンアルカロイドの構造、第 22 回天然薬物の開発と応用シンポジウム、2018 年  
高橋秀彰、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明、沖縄産 *Hyrtios* 属海綿から単離した新規 Canthin-6-one アルカロイドの構造、日本生薬学会第 65 回年会、2018 年  
中村隆典、栗本慎一郎、川口恵未、久保田高明、佐々木有、新品種の食用菊『上大野』花部の機能性に関する研究、日本薬学会第 138 年会、2018 年  
栗本慎一郎、佐々木有、山本飛鳥、久保田高明、中村隆典、メグスリノキ (*Acer nikoense*) 樹皮の成分研究 (2)、日本生薬学会第 63 回年会、2016 年  
栗本慎一郎、佐々木有、山本飛鳥、久保田高明、中村隆典、メグスリノキ (*Acer nikoense*) 樹皮の成分研究、第 60 回日本薬学会関東支部大会、2016 年

〔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：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

昭和薬科大学天然物化学研究室ホームページ <http://www.shoyaku.ac.jp/research/laboratory/tennen/top>

## 6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）:

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

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。