

令和 2 年 5 月 8 日現在

機関番号：12501  
研究種目：基盤研究(B) (一般)  
研究期間：2017～2019  
課題番号：17H03993  
研究課題名(和文) 植物アルカロイド由来の新規抗腫瘍薬開発に向けたシード分子の探索と創薬研究への展開

研究課題名(英文) Search for seed molecules for development of new antitumor drugs from plant alkaloids

研究代表者  
北島 満里子 (KITAJIMA, Mariko)  
千葉大学・大学院薬学研究院・准教授

研究者番号：60195261  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト腫瘍細胞に対して細胞毒性を有するゲルセジン型ゲルセミウムアルカロイドの全合成研究を実施し、7種のアルカロイドの不斉全合成を達成した。薬用資源植物より新規アルカロイド類を見出した。Ophiorrhiza属植物より見出した新規環状テトラペプチドを見出し、その不斉全合成を達成した。また、誘導体合成と活性評価を行い、ヒト腫瘍細胞毒性作用を有する環状テトラペプチド誘導体を得た。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの罹患数やがんによる死亡数は増加し続けており、新たな抗がん剤の開発が望まれている。本研究では、薬用資源植物からの新規抗腫瘍性アルカロイドの探索、天然アルカロイド類の全合成、誘導体合成、活性評価を実施し、ヒト腫瘍細胞毒性作用を有する化合物や新規天然アルカロイド類の取得、詳細な活性評価に向けた微量アルカロイド類の不斉全合成を達成した。今後、これらアルカロイドの活性評価、構造活性相関研究等を通して新規抗腫瘍薬開発に向けたシード分子の取得が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Total synthesis of gelsedine-type Gelsemium alkaloids which have cytotoxic activity toward human cancer cell lines were carried out and asymmetric total synthesis of seven alkaloids was accomplished. New alkaloids were isolated from medicinal plant resources. New cyclic tetrapeptide was isolated from Ophiorrhiza plant and its asymmetric total synthesis was accomplished. Some cyclic tetrapeptide derivatives possessing cytotoxicity toward human cancer cell lines were obtained via the structure-activity relationship study.

研究分野：天然資源系薬学

キーワード：天然活性物質 生物活性物質の探索 アルカロイド 化学合成 構造解析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

がんの罹患数やがんによる死亡数は増加の一途をたどっており、既存の抗がん剤を超える新たな治療薬の開発が望まれている。我々はこれまでに、薬用資源植物より腫瘍細胞毒性作用を有するアルカロイド類を見出している。

### 2. 研究の目的

植物含有アルカロイド由来の、新規抗腫瘍薬開発のためのリード分子の取得と創製を目的とし、薬用資源植物からの新規抗腫瘍性アルカロイドの探索、天然アルカロイド類の全合成、誘導体合成、活性評価を実施する。

### 3. 研究の方法

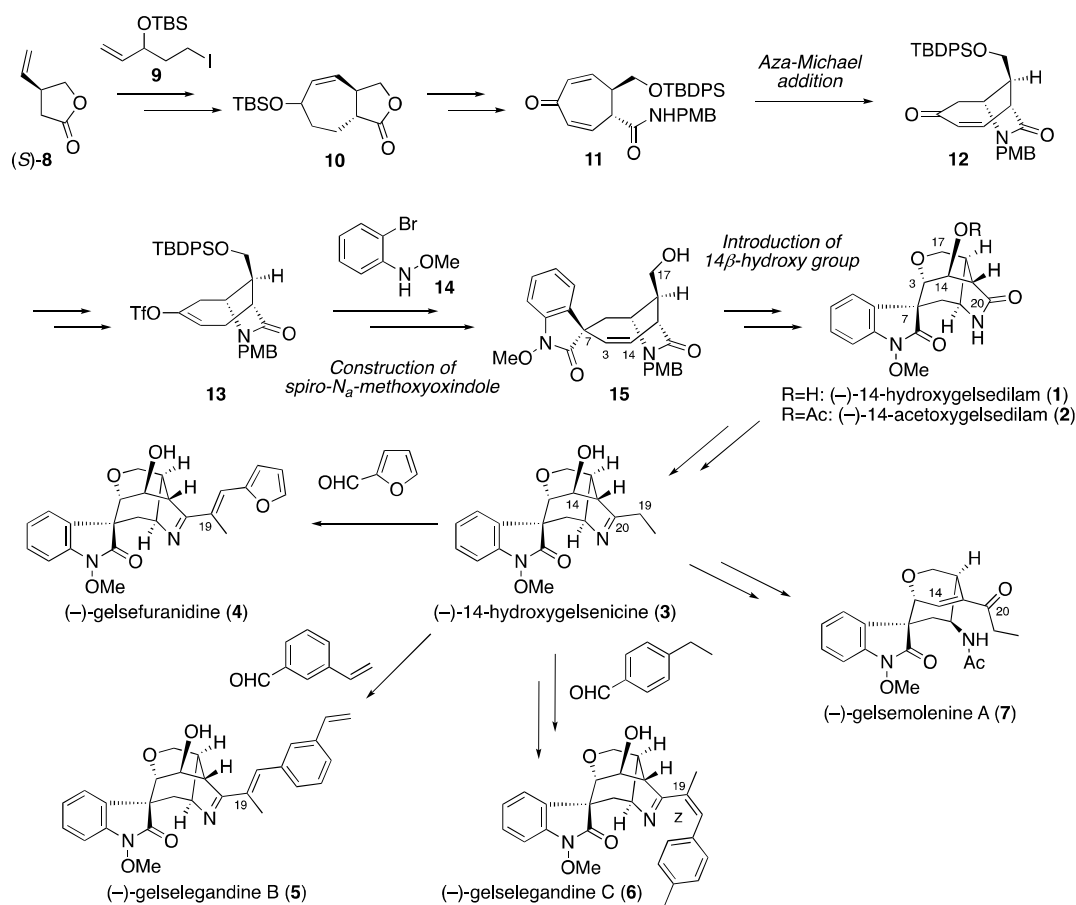
(1) ゲルセミウム科ゲルセミウム属植物に含有されるゲルセジン型アルカロイドがヒト腫瘍細胞に対して強力な細胞毒性を有することをこれまでに見出している。そこで、構造活性相関研究、作用機序の解明に向けて、ゲルセジン型アルカロイドの合成法の確立を目指す。また、新規抗腫瘍性化合物の取得を目指し、ゲルセミウム属植物含有アルカロイドの探索と構造解析を行う。得られた化合物について活性評価を行う。

(2) 抗腫瘍性アルカロイドであるカンプトテシンを含有するアカネ科 *Ophiorrhiza* 属植物について、成分探索、取得化合物の全合成、活性評価を行い、新規抗腫瘍性化合物の取得を目指す。

(3) 新規抗腫瘍性アルカロイドの取得を目指し、薬用資源植物(キョウチクトウ科コブシア属植物など)の成分探索を行う。

### 4. 研究成果

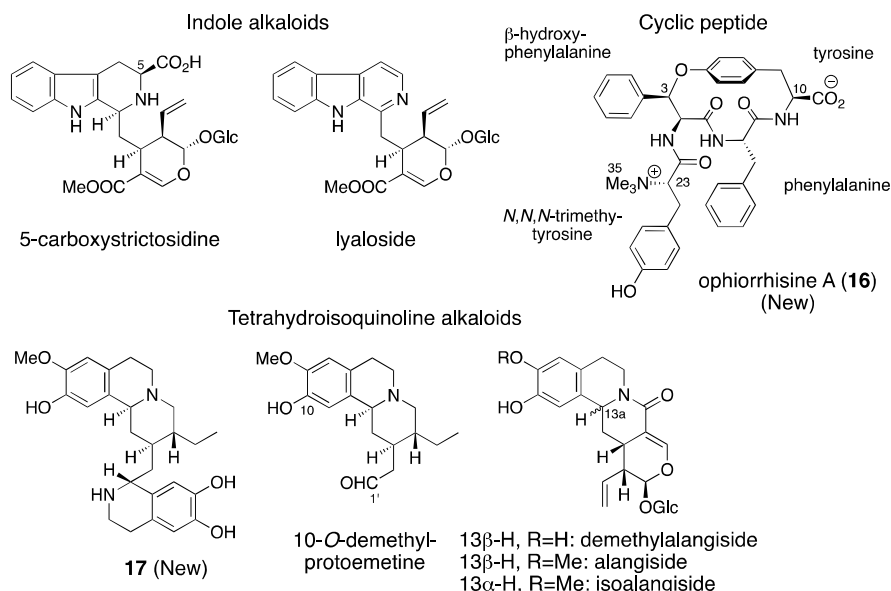
(1) ゲルセジン型アルカロイドについて全合成を検討し、7種のアルカロイド 1-7 の不斉全合成を達成した (*Org. Lett.* 2019)。光学活性な既知のラクトン 8 より、ヨウ化物 9 を用いたカルボニル $\alpha$ 位の立体選択的なアルキル化と続く閉環メタセシス反応を行うことで七員環化合物 10 に導いた。続いて、ラクトンのアミノリシスとジエノンへの酸化を経て 11 とした。11 に対して aza-Michael 反応を行うことで 7-azabicyclo[4.2.1]nonane 骨格を構築し、12 を合成した。エノンの 1,4-還元とトリフレート化によりピニルトリフレート 13 に導いた。続いて、アニリンユニット 14 とのカルボニル化を伴うクロスカップリング反応と立体選択的な分子内 Heck 反応を経て、 $N_a$ -メトキシオキシンドール 15 を得た。さらに、テトラヒドロピラン環の構築と 14 $\beta$ 位への立体選択的な水酸基の導入、 $N_6$ の脱保護により (-)-14-hydroxygelsedilam (1) を合成することができた。さらに、1 より (-)-14-acetoxygelsedilam (2)、(-)-14-hydroxygelsenicine (3)、



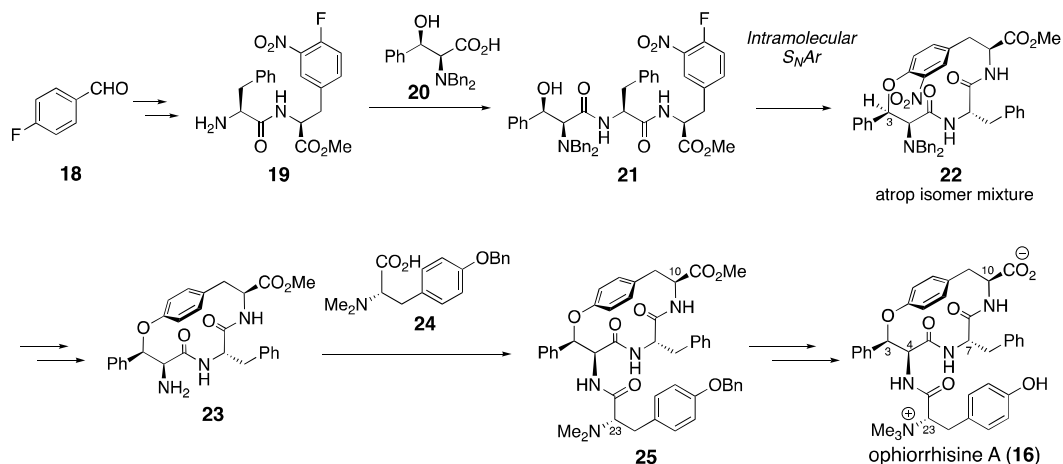
(-)-gelsefuranidine (4)、(-)-gelselegandine B (5)、(-)-gelselegandine C (6)、(-)-gelsemolenine A (7)の6つの天然物の不斉全合成を達成し、ゲルセジン型アルカロイドの合成経路を確立することができた。現在、合成したアルカロイドの生物活性を評価中である。

一方、ベトナム産ゲルセミウム属植物の成分探索を行い、新規化合物を含むインドールアルカロイド類を単離・構造決定した。

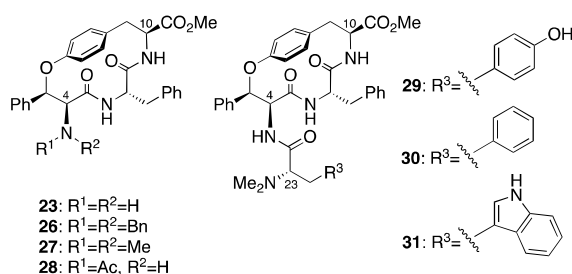
(2) 抗腫瘍性のカンプトテシン類を含有するアカネ科 *Ophiorrhiza* 属植物の1つである、タイ産 *Ophiorrhiza nutans* の成分探索を行った。その結果、既知インドールアルカロイド配糖体、テトラヒドロイソキノリンアルカロイド配糖体を単離するとともに新規環状テトラペプチド ophiorrhisine A (16) と新規テトラヒドロイソキノリンアルカロイド 7',10-dide-O-methylcephaeline (17) を見出した (*J. Nat. Prod.* 2017)。本属植物よりイソキノリンアルカロイドや環状ペプチドが単離されるのは初めてである。また、シクロペプチドアルカロイド類は様々な生物活性を有することが報告されており、創薬リード分子としての期待が持たれている。



Ophiorrhisine A (16)は、一般的なシクロペプチドアルカロイドと異なり、3位が *R* 配置であり、また、10位にカルボキシル基を有し、側鎖のチロシンのアミノ基がトリメチル化されていることにより双性イオン型となっている。そこで、絶対配置を含めた構造決定を目的として、不斉全合成を行った。4-フルオロベンズアルデヒド(18)よりジペプチド19を合成したのち、カルボン酸20との縮合によってトリペプチド21を得た。続いて21にTBAFを作用させたところ、分子内芳香族求核置換 ( $S_NAr$ )反応が進行し、14員環パラシクロファン型の環化体22(主成績体)がアトロプ異性体混合物として得られた。その後、環状トリペプチド23に導き、チロシン誘導体24を縮合させることでテトラペプチド25を合成した。続いて、メチルエステルの加水分解、ジメチルアミノ基のメチル化、フェノール性水酸基の脱保護を順次行うことで16の不斉全合成を達成した (*J. Org. Chem.* 2018)。合成した16は旋光性を含め各種スペクトルデータが天然物のものと完全に一致し、これにより ophiorrhisine A (16)の構造を絶対配置を含めて決定した。



続いて、*ophiorrhisine A* (**16**)の14員環パラシクロファン型誘導体の合成を行った。**16**が双性イオン型であることから、誘導体は、生体膜を通過できるように極性を下げ、カルボキシル基をメチルエステル化した14員環骨格に、*N,N*-ジメチルアミノ酸側鎖を導入した。*Ophiorrhisine A* (**16**)とその合成中間体 (**23**, **26**)、ならびに誘導体 (**27-31**)について、ヒト腫瘍細胞 (A549、HT29、HCT116) に対する毒性作用の評価を行った結果、**16**、**28**、**29** は毒性作用 (> 15  $\mu\text{M}$ ) を示さなかったが、**23**、**26**、**27**、**30**、**31** が中程度の毒性作用を示すことがわかった (*J. Org. Chem.* 2018)。



Compound	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )		
	A549	HT29	HCT116
<b>23</b>	>15	>15	11.6
<b>26</b>	>15	7.0	>15
<b>27</b>	10.8	7.1	3.9
<b>30</b>	9.0	3.5	2.9
<b>31</b>	>15	10.0	8.4

A549, human lung adenocarcinoma; HT29, human colon adenocarcinoma; HCT116, human colorectal carcinoma. IC<sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) of colchicine (positive control); 0.0093 (A549), 0.0075 (HT29), 0.0075 (HCT116).

(3) 新規抗腫瘍性アルカロイドの取得を目指し、薬用資源植物の成分探索を行った。キョウチクトウ科コプシア属植物からは、*Strychnos* 型を含むインドールアルカロイド、ビスインドールアルカロイド類を単離した。Andranginine について不斉全合成を行い、*Kopsia arborea* から得た天然物の絶対立体配置と光学純度を決定した (*Org. Lett.* 2017)。現在、特異な骨格を有する新規コプシアアルカロイドの不斉全合成を検討中である。キョウチクトウ科 *Ervatamia* 属植物より、新規インドールアルカロイド、新規ビスインドールアルカロイドを見出した。ミソハギ科 *Heimia salicifolia* より新規ビフェニルエーテルキノリジジンアルカロイド並びにビフェニルキノリジジンアルカロイドを見出した (*Tetrahedron* 2018, 2019)。取得した化合物についてヒト腫瘍細胞 A549 などに対する毒性作用を評価した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 A. Saito, N. Kogure, M. Kitajima, and H. Takayama	4. 巻 21
2. 論文標題 Total Synthesis of (-)-14-Hydroxygelsenicine and Six Biogenetically Related Gelsemium Alkaloids.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Org. Lett.	6. 最初と最後の頁 7134-7137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b02703	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 M. Kitajima, Y. Yamaguchi, T. Yanagisawa, N. Kogure, J. Ogata, R. Kikura-Hanajiri, and H. Takayama	4. 巻 75
2. 論文標題 Biphenyl Quinolizidine Lactone Alkaloids from "Sinicuichi" (Heimia salicifolia).	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 3733-3739
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2019.05.045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 T. Onozawa, M. Kitajima, N. Kogure, and H. Takayama	4. 巻 83
2. 論文標題 Asymmetric Total Synthesis and Evaluation of Antitumor Activity of Ophiorrhisine A and Its Derivatives.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Org. Chem.	6. 最初と最後の頁 15312-15322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.8b02554	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 M. Kitajima, T. Yanagisawa, M. Tsukahara, Y. Yamaguchi, N. Kogure, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda, O. Iida, Y. Sugimura, N. Kawahara, and H. Takayama	4. 巻 74
2. 論文標題 Biphenyl Ether and Biphenyl Quinolizidine Lactone Alkaloids from Heimia salicifolia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 441-452
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2017.12.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 S. Tooriyama, Y. Mimori, Y. Wu, N. Kogure, M. Kitajima, and H. Takayama	4. 巻 19
2. 論文標題 Asymmetric Total Synthesis of Pentacyclic Indole Alkaloid Andranginine and Absolute Configuration of Natural Product Isolated from <i>Kopsia arborea</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Org. Lett.	6. 最初と最後の頁 2722-2725
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.7b01076	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 T. Onozawa, M. Kitajima, N. Kogure, N. Peerakam, D. Santiarworn, and H. Takayama	4. 巻 80
2. 論文標題 A Cyclopeptide and a Tetrahydroisoquinoline Alkaloid from <i>Ophiorrhiza nutans</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Nat. Prod.	6. 最初と最後の頁 2156-2160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.7b00290	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

[学会発表] 計42件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 齋藤惇, 福田勇斗, 江原悠生, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光
2. 発表標題 新規 <i>Kopsia</i> アルカロイド <i>Kopsiyunnanine L</i> の全合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今岡聖, 真鍋ひとみ, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光
2. 発表標題 <i>Kopsia</i> アルカロイド <i>Arboflorine</i> の不斉全合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mariko Kitajima, Haruka Kawabata, Taku Hirama, Tomomi Yanagisawa, Yasuka Yamaguchi, Noriyuki Kogure and Hiromitsu Takayama
2. 発表標題 Isolation and Asymmetric Total Synthesis of New Biphenyl Quinolizidine Lactone Alkaloids from <i>Heimia salicifolia</i> .
3. 学会等名 27th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齊藤惇, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光
2. 発表標題 Gelsedine型ゲルセミウムインドールアルカロイド類の網羅的全合成
3. 学会等名 第61回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齊藤惇, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光
2. 発表標題 ゲルセミウムアルカロイドGelsefuranidine及び関連アルカロイドの不斉全合成
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野沢忠吉, 北島満里子, 小暮紀行, Nichakan Peerakam, Damrong Santiarworn, 高山廣光
2. 発表標題 Ophiorrhiza pumila含有新規ヘテロヨヒンピン型インドールアルカロイドON-9の単離と全合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 門間古都, 北島満里子, 小暮紀行, 中谷泰貴, Amit Rai, 山崎真巳, 斉藤和季, 高山廣光
2. 発表標題 アカネ科 <i>Ophiorrhiza pumila</i> 毛状根の成分探索研究
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五十嵐舞, 北島満里子, Yuqi Wu, 小暮紀行, Rongping Zhang, 高山廣光
2. 発表標題 <i>Kopsia arborea</i> 含有新規アルカロイドの構造解析
3. 学会等名 日本生薬学会第65回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野沢忠吉, 北島満里子, 小暮紀行, Nichakan Peerakam, Damrong Santiarworn, 高山廣光
2. 発表標題 <i>Ophiorrhiza nutans</i> 含有新規シクロファン型環状ペプチド <i>Ophiorrhisine A</i> の単離と不斉全合成による構造決定
3. 学会等名 第60回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 斉藤惇, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光
2. 発表標題 14-Hydroxygelsedilam及び、関連アルカロイドの不斉全合成研究
3. 学会等名 第44回反応と合成の進歩シンポジウム
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 齊藤惇, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光
2. 発表標題 Gelsedine 型ゲルセミウムアルカロイドの全合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野沢忠吉, 北島満里子, 小暮紀行, Nichakan Peerakam, Damrong Santiarworn, 高山廣光
2. 発表標題 パラシクロファン型新規環状テトラペプチドOphiorrhisine Aの不斉全合成および誘導体合成
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福田勇斗, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光
2. 発表標題 新規 Kopsiaアルカロイド Kopsiyunnanine L の生合成 経路にヒントを得た全合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸田遙介, 徳田涼子, 佐々木みゆき, 高橋伸明, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光
2. 発表標題 不斉Claisen転位反応を鍵段階とした新規インドールアルカロイド Kopsiyunnanine N の不斉全合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小暮紀行, 徳田涼子, 通山紫乃, 中澤麻衣子, 小山徹也, 岡本佳樹, 三森雄二, Yuqi Wu, Rong-Ping Zhang, 北島満里子, 高山廣光
2. 発表標題 キョウチクトウ科 <i>Kopsia arborea</i> 含有新規インドールアルカロイド Kopsiyunnanines K, L, M の構造と Andranginine の絶対立体配置
3. 学会等名 第59回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小野沢忠吉, 北島満里子, 小暮紀行, Nichakan Peerakam, Damrong Santiarworn, 高山廣光
2. 発表標題 パラシクロファン型新規環状テトラペプチドOphiorrhisine Aの不斉全合成
3. 学会等名 第53回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 北島満里子	4. 発行年 2017年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 560 (35-64)
3. 書名 アルカロイドの科学(高山廣光編)(第2章 モノテルペノイドインドールアルカロイド)	

1. 著者名 北島満里子	4. 発行年 2017年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 229 (92-100)
3. 書名 生薬・薬用植物研究の最新動向(高松智監修)(第11章 薬用資源植物からの生物活性アルカロイドの探索)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

生体機能性分子研究室 千葉大学大学院 薬学研究院  
<http://www.p.chiba-u.jp/lab/skb/index.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----