

令和 4 年 5 月 11 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07152

研究課題名(和文) 生物活性を指向した植物由来多環状含窒素化合物の探索

研究課題名(英文) Research of polycyclic alkaloids from plants towards new biologically active substances

研究代表者

森田 博史 (Morita, Hiroshi)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：70220069

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：熱帯資源国の多様な植物資源を利用することで、特異な環骨格を有する多環状含窒素骨格を有する機能性分子を探索した。Leuconotis eugenifolius、Tabernaemontana macrocarpa、Voacanga grandifolia、Tabernaemontana divaricataに含有される抗マラリア活性アルカロイドを探索した結果、新規二量体アルカロイド(leucophyllinines A and B、bisnaecarpamines A and B)、新規三量体アルカロイド(divaricamine A)を単離し、構造を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、天然物探索の過程からリード化合物が見出され、天然物再重視への動きも見られるようになった。実際、新薬の70%は天然物由来の化合物である事実を考慮すると、未利用天然資源の探索研究は重要なステップと考えられる。多様な植物資源を利用するためには生物資源の豊富な熱帯資源国にアクセスすることが有効であると認識し、多様な植物資源を利用することで、新しい多環状骨格を有する天然機能性分子を見出す。

研究成果の概要(英文)：By utilizing various plant resources of tropical countries, we searched for functional molecules with unique polycyclic nitrogen-containing skeletons. As a result of examining the antimalarial alkaloids contained in Leuconotis eugenifolius, Tabernaemontana macrocarpa, Voacanga grandifolia, and Tabernaemontana divaricata, new dimer alkaloids (leucophyllinines A and B, bisnaecarpamines A and B) and a new trimer alkaloid (divaricamine A) were isolated and their structures were elucidated.

研究分野：天然物化学

キーワード：天然機能性分子 アルカロイド

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 臨床で用いられている医薬品の多くは天然資源由来であり、今なお天然資源からの新しい医薬シードの開発が必要とされている。一方、国民医療費の圧迫から予防に重点をおいた健康管理の時代が到来しており、セルフメディケーションが注目されてサプリメントの摂取率が高まっているが、それらサプリメントの多くが植物由来の天然資源である。

(2) 世界には、固有種を含む多種、多様な生物が生息している17ヶ所のメガダイバーシティ国家がある。現在、生物多様性条約(CBD)において遺伝資源の国家主権の尊重が認知され、また、遺伝資源から得られる知識や材料については公正で公平なアクセスと利益配分(ABS)が最大の課題となっている。しかしながら、今なお未解明な遺伝資源の有効利用、また、植物由来サプリメントに科学的証明を得て適切に利用することが大きな課題となっている。

### 2. 研究の目的

(1) メガダイバーシティセンターと呼ばれる生物資源の豊富な熱帯資源国の多様な植物資源を利用することで、特異な多環状含窒素骨格を有する機能性分子を探索する。すなわち、抗原虫活性(抗マラリア活性)、オートファジーの制御、脂肪細胞の分化抑制、破骨細胞の分化抑制作用などの生物活性を指向し、学内外の未利用植物資源の抽出物ライブラリーを用いることにより、新しい機能性を有する多環状含窒素天然物を探索し、医薬および機能性シードを創製する。

(2) 申請者のグループでは、すでに20年以上前から現地の様々な研究機関、大学との協力関係を構築しており、未利用植物資源の利用許可とともに、共同体制も整っている。加えて、現地の薬用植物の伝統利用法と候補素材の生物活性に関するエビデンスに基づいた医薬候補化合物や機能性分子の提案、開発が実践可能である。申請者は、この関連課題に対して、がんやマラリア感染などの難治性疾患などの治療に有効な多種多様な多環状骨格を有するアルカロイドを見出してきた。また、本研究の計画過程において、新たな多環状含窒素化合物(特異なダイマー、トリマー、テトラマーなどのアルカロイドやペプチド)を見出している。

(3) これらの特異な多環状含窒素化合物に様々な生物活性も見出している。その波及効果として、見出された高付加価値を有する含窒素化合物を活用した機能性シード分子への応用が見込める。超高齢者社会における国民の健康寿命の延伸にも資する。また、我が国と共に、共同研究のメガダイバーシティ国家との双方に向けての貢献が期待できる。

### 3. 研究の方法

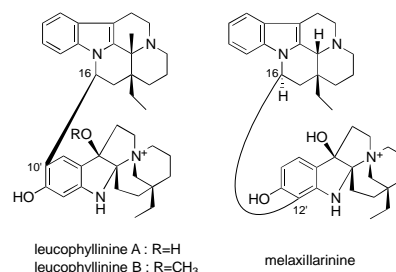
(1) 多様な植物資源からの医薬シード探索研究の実施で培ったノウハウを生かし、保有する学内外の植物抽出ライブラリーを用いて、新しい創製シードの創製を目指す。指向する生物活性としては、抗原虫活性(抗マラリア活性)試験を中心として、オートファジーの制御、脂肪細胞の分化抑制、破骨細胞の分化抑制活性試験を実施する。

(2) 抗マラリア活性試験: メロゾイトは赤血球に侵入し、輪状体(リング体)を経て赤血球膜を破壊して、新たな赤血球に侵入する。サンプルをマラリア原虫のリング期に同調させた3D7株培養液に添加し、48時間培養(リング期から次のリング期まで)。マラリア原虫の増殖阻害率、DNA含量、赤血球サイズを多項目自動血球分析装置XN-30にて測定する。増殖阻害率を求め検鏡により、増殖サイクルのどの段階に作用するかを観察する。

(3) 新たな活性天然物の探索スクリーニングと既に活性候補化合物として上がってきた化合物の構造解析、作用機序の解析を同時に検討する。

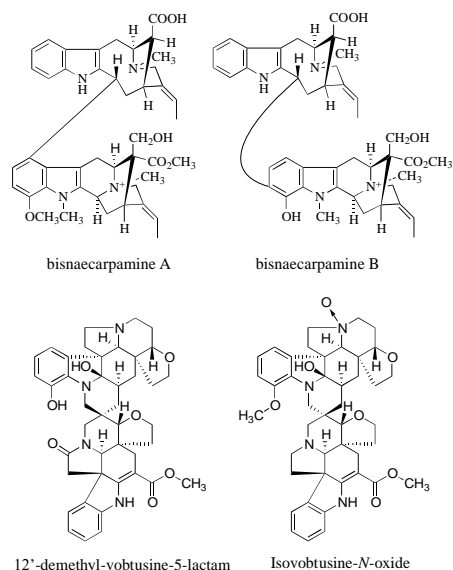
### 4. 研究成果

(1) マレーシア産 *Leuconotis eugenifolius* に含有される成分に注目した抗マラリア活性アルカロイドの探索を検討した。*L. eugenifolius* 樹皮を抽出、精製し、2種の新規二量体モノテルペンインドールアルカロイド(leucophyllinines A and B)及び既知二量体アルカロイド melaxillarinine、bisleuconothine A を単離した。新規アルカロイドの構造は各種二次元 NMR の解析により推定した。絶対立体配置の不明な melaxillarinine の配置は TD-DFT によ

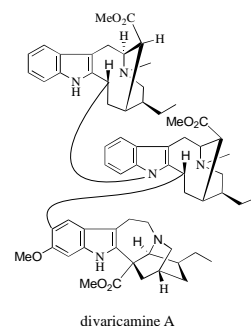


る CD 計算で決定した。Leucophyllinines A and B の立体配置は、スペクトル解析と TD-DFT 計算を行い、理論計算値と実測値を比較することにより明らかにした。

(2) 抗原虫活性 (抗マラリア活性) を有する多環状含窒素化合物の探索を指向し、学内外の未利用植物資源の抽出物ライブラリーを用いたところ、インドネシア産 *Tabernaemontana macrocarpa* に注目した。T. *macrocarpa* 樹皮を抽出、精製し、2 種の新規二量体モノテルペンインドールアルカロイド (bisnaecarpamines A and B) を単離した。新規アルカロイドの構造は各種二次元 NMR の解析により推定した。Bisnaecarpamines A and B の立体配置は、スペクトル解析と TD-DFT による CD 計算を行い、理論計算値と実測値を比較することにより明らかにした。抗マラリア活性を検討したところ、分子のコンフォメーションと活性とが関係することが示唆された。

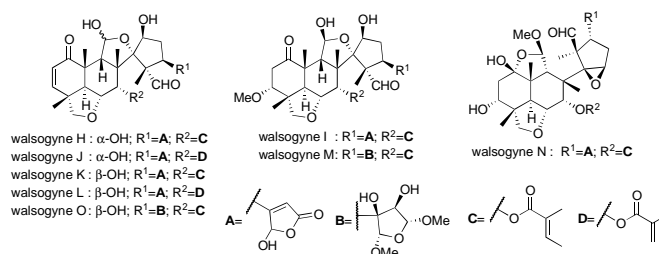


(3) インドネシア産 *Voacanga grandifolia* 由来エキスの抗マラリア活性成分の単離を進めたところ、2 種の新規二量体モノテルペンインドールアルカロイドを単離した。構造解析により、12'-demethyl-vobtusine-5-lactam および Isovobtusine-N-oxide であると明らかになり、共にマラリア原虫 *P. falciparum* 3D7 に対して抗マラリア活性を示した。

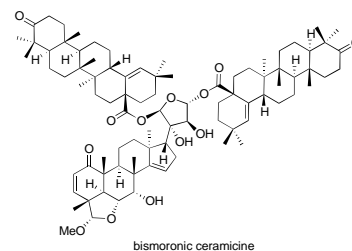


(4) 抗原虫活性 (抗マラリア活性) を有する多環状化合物の探索を指向し、未利用植物資源の抽出物ライブラリーを用いて検討したところ、*Tabernaemontana divaricata* に注目した。T. *divaricata* 樹皮を抽出、精製し、抗マラリア活性を示す新規三量体モノテルペンインドールアルカロイド (divaricamine A) を単離した。Divaricamine A の構造は各種二次元 NMR の解析により推定し、立体配置はスペクトル解析と TD-DFT による CD 計算を行い、理論計算値と実測値を比較することにより明らかにした。

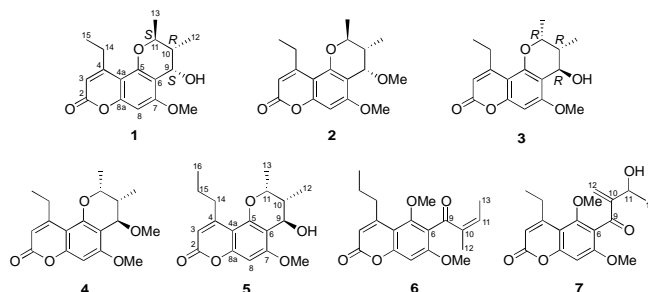
(5) *Walsura chrysogyne* 由来のエキスが抗マラリア活性を示し他ので、その活性成分を探索したところ 8 種の新規リモノイド、walsogynes H-0 を単離し、構造を解明した。



(6) *Chisocheton ceramicus* より新規トリテルペントリマー、bismoronic ceramicine を単離し、構造を解明するとともに抗マラリア活性を示すことを見出した。



(7) *Calophyllum scriblitifolium* より新規クマリン類 7 種 (1-7) を単離し、構造を解明するとともに抗マラリア活性を示すことを見出した。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Alfarius Eko Nugroho, Yurika Ono, Eunji Jin, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, Abdul Rahman, Idha Kusumawati, Takahiro Tougan, Toshihiro Horii, Noor Cholies Zaini, and Hiroshi Morita	4. 巻 75
2. 論文標題 Bisindole Alkaloids from Voacanga grandifolia Leaves	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 408, 414
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-020-01475-w	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 Puteri Amelia, Alfarius Eko Nugroho, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, Takahiro Tougan, Toshihiro Horii, and Hiroshi Morita	4. 巻 75
2. 論文標題 Two New Bisindole Alkaloids from Tabernaemontana macrocarpa Jack	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 633, 642
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-021-01510-4	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 Yiming Tang, Alfarius Eko Nugroho, Yusuke Hirasawa, Takahiro Tougan, Toshihiro Horii, A. Hamid A. Hadi, and Hiroshi Morita	4. 巻 73
2. 論文標題 Leucophyllinines A and B, Bisindole Alkaloids from Leuconotis eugeniifolia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 533, 540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-019-01297-5	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 Yusuke Hirasawa, Reina Yasuda, Wakayo Minami, Momoko Hirata, Alfarius Eko Nugroho, Takahiro Tougan, Nahoko Uchiyama, Takashi Hakamatsuka, Toshihiro Horii, and Hiroshi Morita	4. 巻 83
2. 論文標題 Divaricamine A, A new Anti-Malarial Trimeric Monoterpenoid Indole Alkaloid from Tabernaemontana divaricata	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 153423, 153424
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2021.153423	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 Alfarius Eko Nugroho, Marika Okabe, Yusuke Hirasawa, Chin Piow Wong, Toshio Kaneda, Takahiro Tougan, Toshihiro Horii, and Hiroshi Morita	4. 巻 16
2. 論文標題 A Novel Trimeric Triterpene from <i>Chisocheton ceramicus</i> Miq.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Natural Product Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1934578X211053202	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 Alfarius Eko Nugroho, Saori Nakajima, Chin Piow Wong, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, Osamu Shiota, Takahiro Tougan, Toshihiro Horii, A. Hamid A. Hadi, and Hiroshi Morita	4. 巻 76
2. 論文標題 Walsogynes H-0 from <i>Walsura chrysogyne</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 94, 101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-021-01556-4	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 Ai Ogasawara, Ryo Noguchi, Takuya Shigi, Alfarius Eko Nugroho, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, Takahiro Tougan, Toshihiro Horii, A. Hamid. A. Hadi, and Hiroshi Morita	4. 巻 76
2. 論文標題 Caloforines A-G, Coumarins from the Bark of <i>Calophyllum scriblitifolium</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-022-01613-6	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Puteri Amelia, Alfarius Eko Nugroho, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, Takahiro Tougan, Toshihiro Horii, and Hiroshi Morita
2. 発表標題 Two New Bisindole Alkaloids from <i>Tabernaemontana macrocarpa</i> Jack
3. 学会等名 日本薬学会関東支部例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 唐怡鳴, Alfarius Eko Nugroho, Chin Piow Wong, 平澤祐介, 金田利夫, A. Hamid A. Hadi, 森田博史
2. 発表標題 キョウチクトウ科 <i>Leuconotis eugenifolius</i> より単離した新規アルカロイドの構造
3. 学会等名 日本生薬学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 陳 垠志, 小野 百合香, Alfarius Eko Nugroho, 平澤 祐介, 金田 利夫, Noor Cholies Zaini, 森田博史
2. 発表標題 キョウチクトウ科 <i>Voacanga grandifolia</i> の成分研究
3. 学会等名 日本生薬学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Puteri Amelia, Alfarius Eko Nugroho, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, Takahiro Tougan, Toshihiro Horii, and Hiroshi Morita
2. 発表標題 Bisnaecarpamines A and B from <i>Tabernaemontana macrocarpa</i> Jack
3. 学会等名 日本生薬学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------