

平成 22 年 6 月 3 日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20790109
 研究課題名（和文）ギンコライド類の脳神経保護作用機序解明を目指した炭素 11 標識誘導体の合成
 研究課題名（英文） Clarification of the neuro-protective effect of ginkgolides using it' s carbon-11 derivatives
 研究代表者
 石井 英樹 (Ishii Hideki)
 独立行政法人理化学研究所・分子イメージング創薬化学研究チーム・副チームリーダー
 研究者番号：80425610

研究成果の概要（和文）：

イチョウ葉エキスは記憶力の減退や抗鬱、めまい、耳鳴や痴呆の治療に有効であることから、ドイツやフランスなど多数の国で医薬品として扱われ、我が国では健康食品として販売されている。このようなイチョウ葉エキスの脳神経細胞保護作用を明らかにするため主成分ギンコライド類を短寿命放射性化合物で標識し、動物での体内動態を観測してその作用機序の解明を目指した。脳神経細胞保護作用を持った誘導体および 18F-フッ素誘導体の合成に成功した。

研究成果の概要（英文）：

A ginkgo biloba, which is the effective for treatment of the decline of the memory, is treated as medical supplies in a large number of countries such as Germany or France, and is sold as a health food in Japan. In order to elucidate of the reaction mechanism of the cerebral nerve cytoprotection of the ginkgo biloba, I aimed at the synthesis of ginkgolide derivatives which is labelled with a short-lived radioactive compound. The synthesis of ginkgolide derivatives with the cerebral nerve cytoprotection and the 18F-fluorine derivative was achieved.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2008 年度 | 2,700,000 | 810,000 | 3,510,000 |
| 2009 年度 | 600,000 | 180,000 | 780,000 |
| | | | |
| | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：医歯薬学

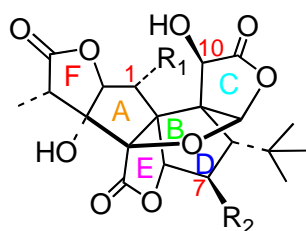
科研費の分科・細目：薬学 ・ 創薬化学

キーワード：(1) イチョウ (2) イチョウ葉抽出液 (3) ギンコライド類 (4) 陽電子放射断層画像撮影法(PET法) (5) ジテルペノイド (6) PAF 受容体 (7) PET プローブ (8) 神経変性疾患

1. 研究開始当初の背景

|

イチョウ（銀杏）は2億5千万年前から存在し、「生きた化石」と呼ばれている最古の植物である。イチョウ葉の抽出液（EGb761）は記憶力の減退や抗鬱、めまい、耳鳴や痴呆の治療に有効であることから、ドイツやフランスなど多数の国で医薬品として取り扱われている。近年、我が国でも、健康ブームからイチョウ葉エキスをを用いた製品が多数販売されている。イチョウ葉エキスの有効成分はフラボノイド類とギンコライド類である。特にギンコライド類は唯一イチョウから単離された天然物であり、その構造は天然物として極めて稀な *tert*-ブチル基を有した、高度に酸化された複雑なカゴ型構造を持つジテルペノイドである。分子内の水酸基の数の違いによりギンコライド A、B、C、J および M が知られている（図1）。ギンコライド類が血小板活性化因子（PAF）受容体、GABA_A受容体およびグリシン受容体の拮抗剤として働くことはすでに報告されていたが、近年、申請者等によりギンコライド類が脳虚血後の梗塞部位の脳神経細胞保護作用を示すことが明らかになってきた（未発表）。



| Ginkgolide | R1 | R2 |
|-------------------|----|----|
| Ginkgolide A (GA) | H | H |
| Ginkgolide B (GB) | OH | H |
| Ginkgolide C (GC) | OH | OH |
| Ginkgolide J (GJ) | H | OH |

図1

2. 研究の目的

本研究ではギンコライド類の作用機序を陽電子放射断層画像撮影法(PET法)等により明らかにし、神経変性疾患の診断マーカーおよびその治療薬の創成を目指して行った。

3. 研究の方法

(1) **血液脳関門 (BBB) 移行性の賦活をめざしたギンコライド誘導体の設計・合成**: ギンコライド類は脂溶性の高い *tert*-ブチル基を有しているが高度に酸素化されているために分子としては低い $\log P$ を示しており、血液脳関門 (BBB) 移行性が低いと考えられる。従って BBB 移行性の賦活をめざしたギンコライド誘導体の設計・合成を行う。まず、ギンコライドの入手であるが単離精製されている市販品は非常に高額であるため本研究ではすでに確立されているギンコライド種の単離方法にし

たがい、市販のイチョウ葉抽出エキスから各ギンコライドを単離し、2年間の研究に必要である十分量（およそ10g）の確保を行う。次に BBB 移行性の賦活をめざしたギンコライド誘導体の設計・合成であるが、これはギンコライド基本構造中の10位水酸基が反応性に富むことおよびこれまでの構造活性相関研究の結果10への置換基の導入は活性の向上が見込めることなどに着目し、10位へエーテル結合を介して炭化水素鎖を伸長し、その長さにより脂溶性を調節した誘導体への変換を行なう。また、申請者が開発したギンコライド類のラントン環のエーテル環への変換によるカルボニル酸素の除去反応も行い $\log P$ の高いギンコライド誘導体剛性を目指す。また PET 法による BBB 移行性の評価を行うため、Stille 型 sp^2/sp^3 クロスカップリングによる ^{11}C ラベル化反応（高速メチル化反応による $^{11}CH_3$ 基の導入）の適用を考慮して、炭化水素鎖の末端をプロペニル基（メチルビニル基）にした化合物を合成する（図2）。そこでそのための前駆体化合物である対応するギンコライドのスズ体やホウ素体を合成し、あらかじめ非放射体ヨウ化メチルを用いてパラジウム触媒による高速メチル化反応を行いメチル基が導入されることを確認する。

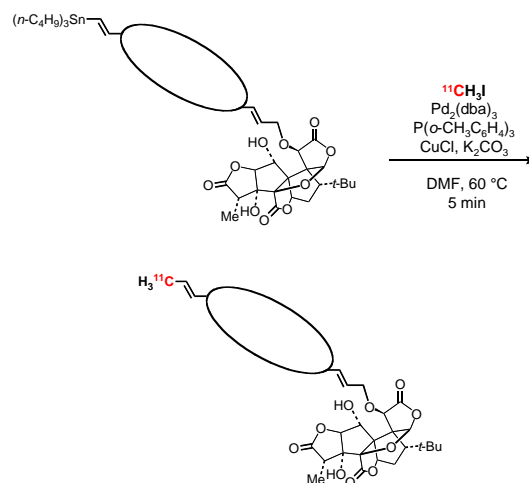


図2

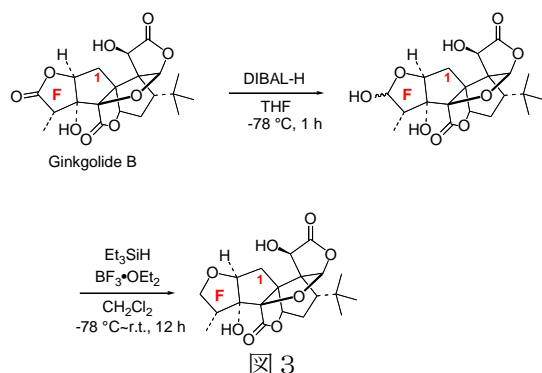
(2) **ギンコライド誘導体の生理活性試験**: 上記により合成したギンコライド誘導体の各種中枢神経関連生物活性試験（特に脳神経細胞保護作用についての検討を行う）を行い、化合物の活性を評価し、保護作用が認められた誘導体について実際の PET プローブ化に用いる。

(3) **ギンコライド PET プローブ合成**: 上記(2)で脳神経細胞保護作用が認められたギンコライド誘導体について理化学研究所 分子イメージング科学研究センターの所有するマイクロトロンおよびホットセル内の自動合成装置を用いてギンコライドの ^{11}C ラベル化反応を行う。

4. 研究成果

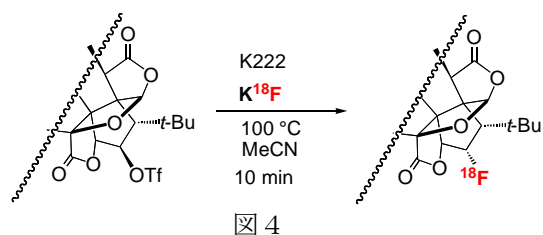
市販のイチョウ葉粉末 1.5 kg からギンコライド

類約 20g を単離し、これを用いた誘導体合成を行った。ギンコライド A および B は 10 位水酸基に置換基を導入したもの、F 環ラク톤をテトラヒドロフラン環に還元した誘導体を合成した。ギンコライド C および J は 7 位水酸基にフッ素を導入したものおよびその F 環ラク톤をテトラヒドロフラン環に還元した誘導体の合成を行った (図 3)。



ギンコライド誘導体は脳虚血モデルマウスを用いた神経保護作用の検証を行った。その結果テトラヒドロフラン環に還元した誘導体に顕著な脳神経細胞保護作用が観測された。従って 7 位水酸基にフッ素を導入した¹⁸F-PET プローブ合成を行うことにした。ギンコライド C を出発原料として 7 位水酸基にトリフルオロメタンスルホニル基を導入した前駆体を合成し、¹⁸F フッ化カリウムを用いた¹⁸F-フッ素化反応によって目的の PET プローブを得ることに成功した (図 4)。

合成した PET プローブはマウスを用いた動態解析研究に適用した。今後はモデル動物での動態解析を検討中である。



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 1 件、査読有)

Ottavio Vitolo, Bing Gong, Zixuan Cao, Hideki Ishii, Stanislav Jaracz, Koji Nakanishi, Ottavio Arancio, Sergei V. Dzyubab, Roger Lefort, Michael Shelanski "Protection against β -amyloid induced abnormal synaptic function and cell death by Ginkgolide J", *Neurobiology of Aging* **2009**,

30, 257-264.

[学会発表] (計 7 件)

- 1) 「民間薬から医薬品を目指したイチョウ葉エキス成分ギンコライドの研究」、 「TGF- β 活性化反応を標的とした肝疾患の新規診断法、治療・予防法の開発」 研究班シンポジウム、大阪 千里ライフサイエンスセンター、2010年2月
- 2) 石井英樹、鈴木辰徳、松田 剛、武田英里、三浦智行、間 陽子、鈴木正昭「ヒト免疫不全ウイルス1型 (HIV-1) アクセサリータンパク質Vpr検出用試薬の開発」第 5 7 回日本ウイルス学会学術集会、東京都、2009年10月
- 3) 間 陽子、武田英里、石井英樹、北原玄太、鈴木正昭「HIV-1アクセサリータンパク質Vprの核移行を阻害する小分子化合物の開発と評価」第 5 7 回日本ウイルス学会学術集会、東京都、2009年10月
- 4) 間 陽子、石井英樹、萩原恭二、鈴木辰徳、北原玄太、橋本祥江、野中瑞穂、松田 剛、武田英里、薛 光愛、山本典生、三浦智行、鈴木正昭「ヒト免疫不全ウイルス1型 (HIV-1) Vprの新規核移行機序を標的とする創薬開発」第 5 7 回日本ウイルス学会学術集会、東京都、2009年10月
- 5) 高島忠之、田中雅彰、嶋原良仁、安宅鈴香、伊集院良祐、石井英樹、和田康弘、土居久志、前田和哉、杉山雄一、渡辺恭良「¹⁵R-TIC-Meを用いた薬物動態PETイメージングの有用性評価」第 49 回日本核医学会学術総会、旭川市、2009年10月
- 6) 石井英樹 「Studies for Accelerating New Drug Development」分子イメージング研究シンポジウム2008、神戸市、2008年12月
- 7) 渡辺恭良、尾上浩隆、鈴木正昭、安宅鈴香、吉岡英斗、石井英樹、伊集院良祐、土居久志、高橋佳代、長田浩子、横山ちひろ、中江崇敬、渡辺由美子、水間広、徳田景子、尾上嘉代、田村泰久、崔翼龍、片岡洋祐、林中恵美、和田康弘「分子イメージングによる神経変性疾患に対する創薬戦略」第3回日本分子イメージング学会総会・学術集会、埼玉、2008年5月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石井 英樹 (Ishii Hideki)

独立行政法人理化学研究所・分子イメージン

グ創薬化学研究チーム・副チームリーダー

研究者番号：80425610