

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：33708

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2023

課題番号：20K22727

研究課題名(和文)メロテルペノイドに着目した抗腫瘍薬およびP-糖タンパク質阻害薬の開発

研究課題名(英文)Development of Antitumor Agents and P-Glycoprotein Inhibitors Focusing on Meroterpenoids

研究代表者

深谷 匡 (FUKAYA, MASASHI)

岐阜医療科学大学・薬学部・助教

研究者番号：70880417

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：フトモモ科植物はメロテルペノイドと呼ばれる芳香環とテルペノイドが結合した化合物を生成することが知られ、腫瘍細胞に対して毒性を示すことが知られている。本研究では、フトモモ科植物、特にユーカリ属植物を中心にメロテルペノイドやテルペノイドを生成する植物に着目して、化合物の探索を行い数十種類の化合物を単離した。得られた化合物のうち、新規化合物として得られたものに関しては、物理化学データを測定して構造を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

医療の発展と共に高齢化社会になるにつれて悪性腫瘍の罹患者数が増大している。そこで問題になる点が、悪性腫瘍治療を継続することで薬剤耐性を獲得した難治性の腫瘍細胞の出現してしまうことであり、難治性の悪性腫瘍に対する治療薬の開発が強く望まれている。テルペノイドは、複数のキラル中心や酸素原子を持ち、その化学構造の多様性が特徴として挙げられる。テルペノイドと生体由来タンパク質は互いに水素結合や疎水性相互作用などを介して結合を形成することで相互作用を引き起こす。そこで、本研究では、テルペノイド含有植物素材から化合物の単離・精製・構造解析、殺細胞活性の評価を実施し、難治性抗悪性腫瘍候補薬の創出を目標とする。

研究成果の概要(英文)：Dipterocarpaceae plants are known to produce compounds called meroterpenoids, which are aromatic rings combined with terpenoids, and are known to be toxic to tumor cells. In this study, we focused on plants that produce meroterpenoids and terpenoids, especially those in the genus Eucalyptus, and isolated several dozen compounds. For those compounds obtained as novel compounds, physicochemical data were measured to clarify their structures.

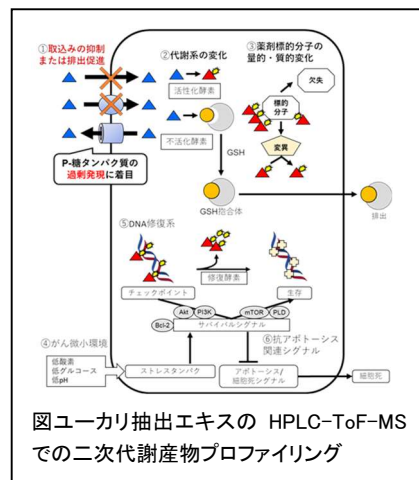
研究分野：生薬学、天然物化学

キーワード：メロテルペノイド テルペノイド 構造決定

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、天然物由来の抗腫瘍薬は広く用いられているが、連用によって抗腫瘍薬に対して耐性を有する腫瘍細胞株の出現が大きな問題となっている。その薬剤耐性獲得メカニズムは、P-糖タンパク質 (P-gp, ABCB1, MDR1) の過剰発現や特定の遺伝子の変異の関与等によるものである。中でも、P-gp は、腸や肺、近位尿管、血液脳関門の毛細血管内皮細胞等に発現する ABC トランスポーターの一種で、薬物の排出に関与する。P-gp の過剰発現は抗腫瘍薬の感受性の著しい低下を引き起こすことが知られている。そこで申請者は、P-gp の基質とならずに腫瘍細胞に作用する化合物による腫瘍増殖抑制作用、また、P-gp を阻害することで既存の抗腫瘍薬の作用が増強するとの仮説を立てた。



図ユーカリ抽出エキスの HPLC-ToF-MS での二次代謝産物プロファイリング

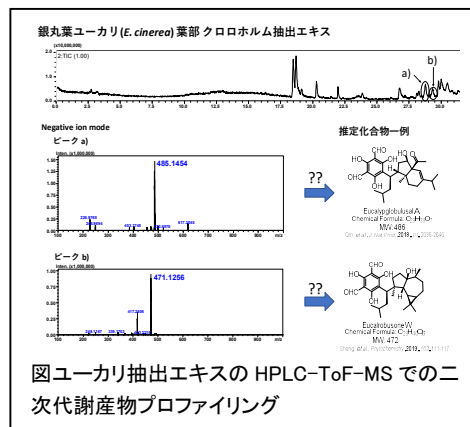
2. 研究の目的

P-gp の発現頻度と治療成績の関連を見ると完全寛解率は P-gp 陰性群で明らかに高い。P-gp が発現している場合、寛解導入が難しいことが多くこのような多剤耐性腫瘍の発現は代替治療法が確立されていない。多剤耐性腫瘍の発現は代替治療法が確立されておらず患者の予後を著しく悪化させ、多剤耐性腫瘍に対する有効な治療法の確立が喫緊の課題となっている。本課題では、P-gp 発現型腫瘍に着目し、薬剤抵抗性腫瘍細胞株に対し細胞増殖抑制効果を示す化合物や、P-gp による細胞外への抗腫瘍薬の排出を阻害する化合物の探索を目的とした。

植物や海洋生物、菌類が生成する二次代謝産物は、ヘテロ環や架橋構造、スピロ環といった複雑な環構造と複数のキラル炭素や水酸基を持つ生体作用物質であり、生物学的意義を持つ化合物群である。この点は、単に構造多様性を指向とする有機化学合成戦略によるコンビナトリアル化合物との決定的な違いであり、シーズ開発において二次代謝産物の持つ大きなアドバンテージであることに加え、複雑かつ多様なファーマコフォア結合部位を有することが特徴として考えられる。近年、生物資源が創出する二次代謝産物の骨格の多様性がケミカルスペースの網羅性と多彩な生物活性に反映されることが示され、今なお天然資源由来二次代謝産物による化合物ライブラリーは、創薬シーズとして不可欠とされる。テルペン類はシーズ候補として長年基礎研究が行われており、近年では天然有機化合物のなかでもとりわけ広範なケミカルスペースを持つ化合物群として認知されている。新規化合物の報告によって、化合物ライブラリーを拡充することは、新たな活性を見出し、新規の医薬品の創出につながる可能性がある。

3. 研究の方法

3 種類のユーカリ (*E. cinerea*, *E. gunnii*, *E. polyanthemos*) の葉部および枝部を入手し、HPLC-ToF-MS を用いて二次代謝産物プロファイリングを進めている。E. cinerea 葉部クロロホルム抽出エキスを分析した結果、メロテルペノイドである eucalyptoglobulsal A および eucalrobosone W と同一の分子量を示すピークの同定に成功した。これらのピークに加えてターゲットとする同系誘導体の存在を精密質量分析により確認した。初めに HPLC-Q-ToF-MS および生物活性評価の結果を基に成分の分画を進めた。すなわち、得られた抽出エキスについて各溶媒を用いて、分液分画を行った後に、順相および逆相クロマトグラフィーに付し複数の分画に分離する。その際、随時 HPLC-Q-ToF-MS を用いた MS/MS 測定により主要成分から微量成分まで幅広くターゲット分子を追跡し、単離・精製の指標とした。それらの化学構造は、核磁気共鳴装置 (NMR) や MS を用いて決定した。構造解析においては絶対立体配置を含めた化学構造の解明を目指し、各種二次元 NMR のデータ解析や質量分析におけるフラグメント解析、円二色性 (CD) 測定で得られるコットン効果の考察、単結晶 X 線構造解析といった多様な物理化学的手法を駆使する。また、改良モッシャー法や既知化合物への誘導化等の化学的手法も適宜組み合わせることで構造決定を行った。



4. 研究成果

フトモモ科植物銀丸葉ユーカリ (*Eucalyptus cinerea*) 葉部のクロロホルム抽出エキスより、フロログルシノールにテルペノイドが結合したメロテルペノイド類をはじめとする計 15 種類の化合物 (1-15) を単離した。このうち、2 種類の化合物が新規化合物として得られ、一次元 NMR および 2 次元 NMR (HMQC, HMBC および DQF-COSY) の詳細な解析により、平面構造を得たのちに NOESY 相関を観測することでこれらの相対立体配置を決定した。また、新規化合物の絶対立体配置を円偏光二色性スペクトルの測定値と計算で求めた予測値との比較および、過去の文献における経験的解釈を併せて絶対立体配置を決定した。加えて、他 3 種類の化合物については、これまでに化合物の報告はされてきたが、一部立体配置が決定しておらず、また、相対立体配置のみの決定であったことから、前述の新規化合物と同様の手法を用いてその絶対立体配置を含めた立体構造の決定を行った。また、フロログルシノールとテルペノイドの付加体やその類似化合物が報告されており、類似の化合物が期待されるフトモモ科植物のグアバ (*Psidium guajava*) や クローブ (*Pimenta dioica*) の成分探索を行った。その結果、グアバからはアシルフロログルシノールとテルペノイドの付加体である Psidial A をはじめとする数種類の化合物 (16-19) を、クローブからは coniferyl aldehyde や 5-hydroxy eugenol といったフェニルプロパノイド類を単離同定した。また、テルペノイド類含有植物として知られているヘクソカズラ (*Paederia scandens*) についても同様に成分探索を実施した。その結果、ヘクソカズラのアセトン抽出エキスのブタノール分画より 7 種類の新規の含硫黄イリドイド配糖体とフラボノイド配糖体 (20-27) を単離した。

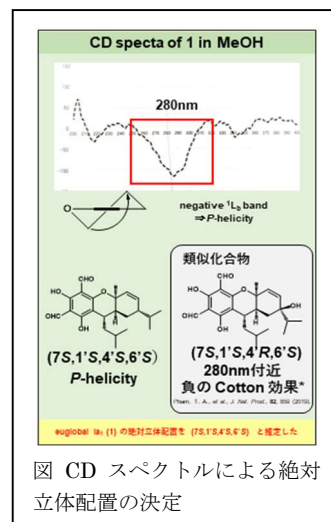
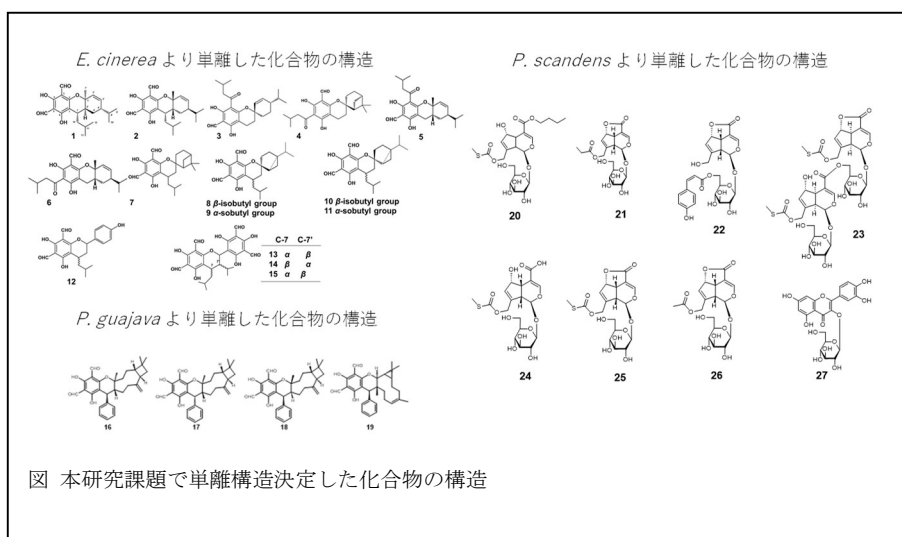


図 CD スペクトルによる絶対立体配置の決定



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 深谷 匡、笠 香織、伊藤哲朗
2. 発表標題 アカネ科植物ヘクソカズラ <i>Paederia scandens</i> 地上部より得られた含硫黄イリドイド配糖体の構造解析
3. 学会等名 日本薬学会144年会（横浜）
4. 発表年 2024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
---------	---------