

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 19 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590037

研究課題名(和文) タイ天然薬物を素材としたメタボリックシンドローム予防および治療薬シーズの探索

研究課題名(英文) Search for new metabolic syndrome therapeutic candidates from Thai natural medicines

研究代表者

森川 敏生 (MORIKAWA, Toshio)

近畿大学・薬学総合研究所・准教授

研究者番号：10340449

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：熱帯から亜熱帯に位置し、薬用資源の世界的に豊富なタイ地域の薬用植物資源のうち、タイ伝統医学に用いられ、かつ、食経験があるなど安全性が確立している素材について厳選し、メタボリックシンドロームに対する予防効果を有する新規医薬シーズの探索研究を実施した。その結果、i. 小腸からの糖および中性脂質吸収抑制作用、ii. ラットおよびヒト小腸由来 α -グルコシダーゼ阻害作用、iii. リポ多糖刺激によるマクロファージ活性化抑制作用、およびiv. ヒト肝がん由来HepG2細胞を用いた中性脂質代謝促進作用を有するタイ天然薬物を見いだすとともに、その活性寄与成分および構造活性相関に関する知見を得た。

研究成果の概要(英文)：To investigate prevention and/or treatment for metabolic syndrome therapeutic candidates from Thai natural medicines, we examined following in vivo and in vitro pharmacological assays such as (i) suppressive effects on blood glucose and triglyceride elevation in sugar or olive oil-loaded mice, (ii) inhibitory effects on rat or human small intestinal α -glucosidases, (iii) suppressive effects on nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated macrophages, and (iv) inhibitory effects on triglyceride content in high glucose-pretreated HepG2 cells, etc. As the results, several constituents were identified as the active compounds and their structural requirements and the mode of action were suggested.

研究分野：医歯薬学

キーワード：タイ天然薬物 メタボリックシンドローム シーズ探索

1. 研究開始当初の背景

近年、豊かな食生活のみならず、偏食や過剰栄養も手伝って、糖尿病や肥満、脂質異常症などの生活習慣病あるいはそれらが一個人に集積したメタボリックシンドロームの進展が深刻さを増している。また、肥満に伴う内臓脂肪の蓄積により肥大化した脂肪組織から持続的、かつ、過剰に産生される NO や TNF- α などの各種炎症性サイトカインによる生活習慣病の増悪およびリウマチやクローン病、各種臓器障害などの難治性炎症性疾患も急増している。このような生活習慣に起因した難治性疾患の治療には、おもに食事および運動習慣などの指導・介入とともに対症療法的薬剤によるコントロールが実践されている。また、近年リウマチやクローン病などの治療を目的に臨床応用されている薬剤に抗 TNF- α モノクロナール抗体製剤などが上市され、一定の治療効果をあげているが、抗体医薬品であるがための副作用であるアナフィラキシー様症状や遅発性過敏症などが観察される場合があり、その使用には注意を要する。これらの薬剤は長期投与が必要とされるため、より有効性が高く、かつ、安全性の高い薬剤が求められており、現在でもそれらの候補物質となる低分子化合物の探索研究が精力的に行われている。本研究は、これまでに独自に構築したタイ地域の研究者らとの密接なネットワークを活用し、タイ天然薬物からメタボリックシンドロームの予防および治療薬シーズの探索研究を発展的に継続し、新たな医薬候補物質の創製に繋げるとともに、それらの作用メカニズム解析を実施することを目的とする。また、近年の世界的規模での乱開発により、多くの生物資源が失われつつある昨今において、本研究の遂行による天然資源の高付加価値化は、タイ地域の生物多様性の保全の一助となることも期待し、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

熱帯から亜熱帯に位置し、薬用資源の世界的に豊富なタイ地域の薬用植物資源のうち、タイ伝統医薬学に用いられ、かつ、食経験があるなど安全性が確立している素材について厳選し、メタボリックシンドロームに対する予防効果を有する新規医薬シーズの探索研究を目的とする。すなわち、糖尿病や肥満、脂質異常症などの生活習慣病あるいは肥満に伴う内臓脂肪の蓄積によって、肥大化した脂肪組織から過剰に分泌される各種炎症性サイトカインなどに起因した炎症性疾患などの予防および治療薬シーズについて、タイ天然薬物からの探索を実施する。

3. 研究の方法

これまでに蓄積したノウハウを生かし、かつ、タイ地域の薬用素材あるいは香辛料などの文献調査およびタイ研究者との密接な連

携から得られる情報などにより、糖尿病や肥満、脂質異常症などの生活習慣病の予防あるいは治療、または慢性炎症性疾患の治療に適している素材を中心にピックアップする。我々は既に約 140 種のタイ地域の薬用および食品素材についての抽出エキストラライブラリーを有しているが、現在も継続してエキストラライブラリーの充実をはかっている。これらのエキストラライブラリーについて、i. 図. に示す生物活性評価試験を実施し候補素材を絞り込む。ii. 強い活性の認められた素材について生物活性を指標に成分探索を行い、活性寄与成分を見出す。iii. 活性寄与成分に化学修飾を加えるなどして合成した各種類縁体や関連化合物の活性を比較検討し、活性発現に必須構造や構造活性相関を解明する。iv. 顕著な活性が認められた化合物の作用メカニズムについて、タンパクレベルおよび遺伝子レベルでの解析研究を実施する。

これまでの予備的検討により、すでに数種の有用素材をピックアップしており、本研究においては、まず、これらの有用素材の抽出エキスから生物活性を指標に分離・精製し、NMR をはじめとする各種スペクトルの解析から活性寄与成分および新規化合物の構造解析を実施する。また、見いだされた活性寄与成分について、各種類縁体合成を実施して、活性発現の必須構造や構造活性相関研究へと繋げ、医薬候補物質としての提案へ繋げたい。

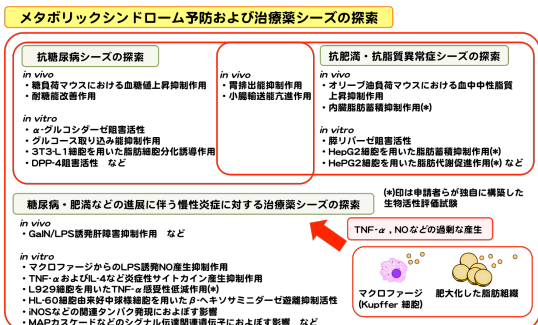


図. 実施した生物活性評価試験 - *in vivo*評価試験から作用メカニズム解析まで

4. 研究成果

これまでに我々の所属機関と学術交流協定を締結しているタイ南部の Rajamangala 工科大学の研究者との交流研究ネットワークを駆使して、独自に収集した約 140 種の抽出エキストラライブラリーについて、各種 *in vivo* および *in vitro* スクリーニング試験を実施し有望素材をピックアップするとともに、それらの活性寄与成分を探索した。その結果、フタバガキ科植物 *Shorea roxburghii* から、糖および中性脂質吸収抑制作用を示すオリゴスチルベノイドおよびジヒドロイソクマリン類を、また、ショウガ科植物 *Kaempferia parviflora* およびマメ科植物 *Cassia auriculata* 葉部から初代培養肝細胞における D-ガラクトサミン誘発細胞障害抑制活性成分、テリハボク科植物 *Mammea*

siamensis およびセンダン科植物 *Carapa guianensis* 花部から強力な iNOS 発現抑制活性を有するプレニルクマリンおよびリモノイド類を見いだした。

また、我々が独自に構築したアッセイ系であるヒト肝がん由来 HepG2 細胞を用いた中性脂肪蓄積抑制活性、あるいは、中性脂肪代謝促進活性が認められた2種の食用素材、茶花 (*Camellia sinensis*, flower buds) およびニゲラ (*Nigella sativa*, seed) から、新規な活性寄与成分を見いだした。

加えて、タイ地域などに分布する *Salacia* 属植物に含有される顕著な α -グルコシダーゼ阻害活性を有するスルホニウム化合物である salacinol 類の *in silico* デザインを駆使したアナログ合成および構造活性相関研究による医薬候補物質の創出をめざした研究を実施するとともに、*Salacia chinensis* などに含有されるスルホニウム化合物について、タイおよびその周辺地域において採取した 32 検体を LC-MS 定量分析を実施し、その成分組成と抽出エキスの α -グルコシダーゼ阻害活性との相関性を明らかにするとともに、KK-A^y マウスなどを用いた連続投与による2型糖尿病改善作用や小腸からの吸収性評価などを実施した。

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 13 件)

- ① Morikawa T., Akaki J., Ninomiya K., Kinouchi E., Tanabe G., Pongpiriyadacha Y., Yoshikawa M., Muraoka O. Salacinol and related analogs: new leads for type 2 diabetes therapeutic candidates from the Thai traditional natural medicine *Salacia chinensis*. *Nutrients*, **7**, 1480-1493 (2014). DOI: 10.3390/nu7031480 査読有り
- ② Akaki J., Morikawa T., Miyake S., Ninomiya K., Okada M., Tanabe G., Pongpiriyadacha Y., Yoshikawa M., Muraoka O. Evaluation of *Salacia* Species as Anti-diabetic Natural Resources Based on Quantitative Analysis of Eight Sulphonium Constituents: A New Class of α -Glucosidase Inhibitors. *Phytochem. Anal.*, **25**, 544-550 (2014). DOI: 10.1002/pca.2525 査読有り
- ③ Morikawa T., Ninomiya K., Miyake S., Miki Y., Okamoto M., Yoshikawa M., Muraoka O.,

Flavonol glycosides with lipid accumulation inhibitory activity and simultaneous quantitative analysis of 15 polyphenols and caffeine in the flower buds of *Camellia sinensis* from different regions by LCMS. *Food Chem.*, **140**, 353-360 (2013). DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.02.079 査読有り

- ④ Morikawa T., Sueyoshi M., Chaipech S., Matsuda H., Nomura Y., Yabe M., Matsumoto T., Ninomiya K., Yoshikawa M., Pongpiriyadacha Y., Hayakawa T., Muraoka O. Suppressive effects of coumarins from *Mammea siamensis* on inducible nitric oxide synthase expression in RAW264.7 cells. *Bioorg. Med. Chem.*, **20**, 4968-4977 (2012). DOI: 10.1016/j.bmc.2012.06.031 査読有り
- ⑤ Tanabe G., Nakamura S., Tsutsui N., Balakishan G., Xie W., Tsuchiya S., Akaki J., Morikawa T., Ninomiya K., Nakanishi I., Yoshikawa M., Muraoka O. *In silico* design, synthesis and evaluation of 3-*O*-benzylated analogs of salacinol, a potent alphaglucohydrolase inhibitor isolated from an Ayurvedic traditional medicine "*Salacia*". *Chem. Commun.*, **48**, 8646-8648 (2012). DOI: 10.1039/c2cc34144a 査読有り
- ⑥ Morikawa T., Chaipech S., Matsuda H., Hamao M., Umeda Y., Sato H., Tamura H., Ninomiya K., Yoshikawa M., Pongpiriyadacha Y., Hayakawa T., Muraoka O. Anti-hyperlipidemic constituents from the bark of *Shorea roxburghii*. *J. Nat. Med.*, **66**, 516-524 (2012). DOI: 10.1007/s11418-011-0619-6 査読有り
- ⑦ Morikawa T., Chaipech S., Matsuda H., Hamao M., Umeda Y., Sato H., Tamura H., Kon'i H., Ninomiya K., Yoshikawa M., Pongpiriyadacha Y., Hayakawa T., Muraoka O. Antidiabetogenic oligostilbenoids and 3-ethyl-4-phenyl-3,4-dihydroisocoumarins

from the bark of *Shorea roxburghii*. *Bioorg. Med. Chem.*, **20**, 832-840 (2012). DOI: 10.1016/j.bmc.2011.11.067 査読有り

他 6 件

〔学会発表〕(計 5 5 件)

- ① 森川敏生, 佐伯竣介, 松本 拓, 末吉真弓, 二宮清文, Chaipech Saowanee, 村岡修. タイ天然薬物 *Mammea siamensis* 花部の機能性成分(4)-新規プレニルクマリンの化学構造-. 日本薬学会第135年会, 2015年3月25-28日(デザイン・クリエイティブセンター神戸, 神戸)
- ② 森川敏生, 赤木淳二, 二宮清文, 田邊元三, 吉川雅之, 村岡 修. サラシア属植物の α -グルコシダーゼ阻害活性成分を指標とした品質評価. 第43回生薬分析シンポジウム, 2014年11月7日(大阪薬業年金会館(大阪)).
- ③ 森川敏生, 赤木淳二, 二宮清文, 木内恵里, 田邊元三, 仲西 功, 中村真也, 吉川雅之, 村岡 修. サラシア属植物含有 α -グルコシダーゼ阻害活性成分 salacinol およびその類縁体の食後過血糖改善作用. 第20回天然薬物の開発と応用シンポジウム, 2014年11月5-6日(東京大学弥生講堂一条ホール, 東京).
- ④ 森川敏生, 松尾一彦, 八幡郁子, 二宮清文, 村岡 修, 中山隆志. メース (*Myristica fragrans*, 仮種皮) のケモカイン受容体 CCR3 選択的アンタゴニスト作用を指標とした抗アレルギー作用成分の探索. 第56回天然有機化合物討論会, 2014年10月14-16日(高知県立県民文化ホール, 高知).
- ⑤ Morikawa T., Hachiman I., Ninomiya K., Matsuda H., Hata Y., Sugawara K., Sakata Y., Yoshikawa M., Hayakawa T., Muraoka O. Antiallergic principles from *Myristica fragrans*: inhibitors of degranulation and TNF- α release in RBL-2H3 cells. The 27th International Conference on Polyphenols

(ICP2014), 2-6 September 2014, (Toyoda Auditorium & Symposion, Nagoya University, Nagoya, Japan).

- ⑥ Morikawa T., Akaki J., Ninomiya K., Kinouchi E., Tanabe G., Yoshikawa M., Muraoka O. Salacinol and related analogs, new leads for type 2 diabetes therapeutic candidates from Thai traditional natural medicina *Salacia chinensis*. 5th International Conference on Natural Products for Health and Beauty (NATPRO5), 6-8 May, 2013 (Moevenpick Resort & Spa Karon Beach Phuket, Thailand).
- ⑦ 森川敏生, 二宮清文, Chaipech Saowanee, 三宅荘八郎, 坪山晃大, 早川堯夫, 村岡修. タイ天然薬物 *Kaempferia parviflora* 由来メトキシフラボノイド成分のメラニン産生抑制作用. 第5回食品薬学シンポジウム, 2013年11月1-2日(京都大学, 京都).
- ⑧ Morikawa T., Akaki J., Miyake S., Ninomiya K., Yoshikawa M., Muraoka O. Salacinol and related analogs, a new class of potent α -glucosidase inhibitors from Ayurvedic traditional medicine, were scarcely absorbed from the digestive tract. 9th AFMS International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS13), 15-18 October 2013 (Taipei, Taiwan).
- ⑨ 森川敏生, 金敷辰之介, 二宮清文, 牛尾名恵花, 松田久司, 松本朋子, 一川怜史, 袴田祐里, 三宅史織, 吉川雅之, 早川堯夫, Chaipech Saowanee, 村岡 修. タイ天然薬物 *Melodrum fruticosum* 花部の一酸化窒素産生抑制活性成分. 第57回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会, 2013年10月5-7日(埼玉大学, 埼玉).
- ⑩ 森川敏生, 末吉真弓, 松本 拓, Saowanee Chaipech, 二宮清文, 松田久司, 野村友起子, 梅山美樹子, 吉川雅之, 向井秀仁, 木曾良明, 早川堯夫, 村岡 修. タイ天

- 然薬物 *Mammea siamensis* 由来プレニル
クマリン mammeasin 類のiNOS合成酵素
発現抑制作用および好中球様細胞活性化
抑制作用. 第55回天然有機化合物討論会.
2013年9月18-20日 (同志社大学, 京都) .
- ⑪ 赤木淳二, 森川敏生, 二宮清文, 三宅荘
八郎, 吉川雅之, 村岡 修. Neokotalanol
含有サラシアエキスの遺伝性肥満モデル
ob/ob マウスに対する抗糖尿病作用. 日本
薬学会第133年会, 2013年3月27-30日 (パ
シフィコ横浜, 神奈川) .
- ⑫ 森川敏生, 金敷辰之介, 二宮清文, 早川
堯夫, 吉川雅之, 村岡 修. タイ天然薬
物 *Mimusops elengi* L. 花部の機能性成分
(1) -新規フェニルプロパノイド配糖体
の化学構造-. 日本薬学会第133年会, 2013
年3月27-30日 (パシフィコ横浜, 神奈川) .
- ⑬ 森川敏生, 牛尾名恵花, 金敷辰之介, 二
宮清文, 松田久司, 松本朋子, 一川怜史,
袴田祐理, 吉川雅之, 早川堯夫, 村岡 修.
タイ天然薬物 *Melodorum fruticosum* 花部
の一酸化窒素産生抑制活性成分. 日本油
化学会フレッシュマンサミット
OSAKA2012, 2012年11月11日 (近畿大学,
大阪) .
- ⑭ 森川敏生, 末吉真弓, Saowanee Chaipech,
三宅荘八郎, 松本 拓, 松田久司, 野村友
起子, 家邊美久子, 松本明子, 二宮清文,
吉川雅之, 早川堯夫, 村岡 修. タイ天
然薬物 *Mammea siamensis* 由来クマリン
成分の誘導型一酸化窒素合成酵素発現抑
制作用. 第19回天然薬物の開発と応用シ
ンポジウム, 2012年11月1-2日 (大阪大学,
大阪) .
- ⑮ 森川敏生, Chaipech Saowanee, 二宮清文,
三宅荘八郎, 奥村尚道, 八木亮平, 松田
久司, 濱尾 誠, 梅田洋平, 佐藤宏樹,
田村晴佳, 紺井 悠, 吉川雅之,
Pongpiriyadacha Yutana, 村岡 修. タイ天
然薬物 *Shorea roxburghii* 樹皮由来オリゴ

スチルベノイドおよびジヒドロイソクマ
リンのメタボリックシンドローム予防作
用. 第54回天然有機化合物討論会, 2012
年9月18-20日 (東京農業大学, 東京) .

- ⑯ 二宮清文, 八木亮平, Chaipech Saowanee,
吉川雅之, 村岡 修, 早川堯夫, 森川敏
生. タイ天然薬物 *Shorea roxburghii* の機
能性成分 (6) -含有スチルベン成分の
TNF- α 感受性低減作用-. 日本生薬学会第
59回年会, 2012年9月17-18日 (かずさアカ
デミアパーク, 千葉) .
- ⑰ Morikawa T., Miyake S., Akaki J., Ninomiya
K., Yoshikawa M., Muraoka O. Quantitative
analysis of thiosugar sulfoniums, potent
 α -glucosidase inhibitors from *Salacia* species,
using LC-MS. 26th International
Carbohydrate Symposium (ICS2012), 22-27
July 2012 (Melia Castilla Hotel, Madrid,
Spain).

他38件

〔図書〕 (計 1件)

- ① 森川敏生 (著), 吉川雅之, 村岡 修 (監
修). 薬用食品の開発 II-薬用・有用植物
の機能性食品素材への応用-第18章 ジャ
ワナガコショウの肝保護作用成分. シー
エムシー出版 (2012).

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.phar.kindai.ac.jp/medfood/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森川 敏生 (MORIKAWA Toshio)

近畿大学・薬学総合研究所・准教授

研究者番号: 10340449

(2) 連携研究者

二宮 清文 (NINOMIYA Kiyofumi)

近畿大学・薬学総合研究所・講師

研究者番号: 10434862