

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293023

研究課題名(和文) 薬用資源植物を素材とした記憶と痛みを制御する天然分子の探索と創薬研究への展開

研究課題名(英文) Search for natural molecules that control memory and pain from medicinal resources and drug development reserach

研究代表者

高山 廣光 (TAKAYAMA, HIROMITSU)

千葉大学・薬学研究科(研究院)・教授

研究者番号：90171561

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000円

研究成果の概要(和文)：がん性疼痛に有効な新規鎮痛剤の探索研究を行い、強力なオピオイド性鎮痛作用を有し、代謝安定性が向上した誘導体を創製した。非オピオイド性鎮痛作用を有する C5-nor stemmadenine型インドールアルカロイド類の効率的合成法を確立した。痛み受容に關与するTRPM8の強力なアンタゴニストであるIboga型アルカロイド類を見出した。認知症改善作用のあるアセチルコリンエステラーゼ阻害剤の探索として、リコボジウム属植物より新規アルカロイド類を見出した。また、リコボジウムアルカロイド類の不斉全合成を達成した。

研究成果の概要(英文)：Search on drug development of new analgesics for cancer pain based on natural molecules were investigated. New indole alkaloid derivatives having potent opioid analgesic activity and good metabolic stability were developed. The total synthesis of C5-nor stemmadenine-type alkaloids with non-opioid analgesic activity was accomplished. Ibooga-type indole alkaloids having potent TRPM8 antagonistic activity were found. To search new acetylcholinesterase inhibitors for development of medicines improving the memory disorders, isolation and asymmetric total syntheses of new Lycopodium alkaloids were achieved.

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 鎮痛剤 認知症改善薬 全合成 アルカロイド 構造活性相関

1. 研究開始当初の背景

超高齢化に伴い、患者数が増加し、国民の生活の質を脅かす「がん」や「生活習慣病」に対応するための質の高い、がん性疼痛に有効な鎮痛剤や認知症改善薬の開発が強く求められている。

2. 研究の目的

薬用資源植物の成分探索により、脳機能、特に「痛み」と「記憶」の制御に関する天然リガンドを見だし、これらシード分子の化学合成および医薬化学研究を実施することで、新規な「鎮痛剤」および「認知症改善薬」開発のための先導化合物の創出へと展開する。具体的には、(1)オピオイド受容体アゴニスト、(2)カンナビノイド受容体リガンド、TRP チャンネルリガンドの探索を実施することで、がん性疼痛に有効な新規鎮痛剤リード化合物の創製を目指す。加えて、(3)アセチルコリンエステラーゼ阻害剤および(4)NMDA受容体チャンネルブロッカーの探索研究を実施し、認知症改善薬シード化合物の創製を目指す。

3. 研究の方法

(1) がん性疼痛に有効な新規鎮痛剤の探索

オピオイド受容体アゴニスト

伝承ハーブであるアカネ科 *Mitragyna* 属植物から発見した微量オピオイドアゴニスト 7-hydroxymitragynine はモルヒネとは全く異なる基本骨格を有している。そこで、これをシード分子として機能評価と構造活性相関を繰り返すことにより、強力な新規鎮痛性アルカロイド誘導体 MGM-9 の創製に成功した。しかし、本化合物は初期 ADME 試験において、代謝安定性を欠くことが明らかとなった。そこで、MGM-9 を基に分子設計と分子修飾を繰り返し、この点を克服した創薬開発候補化合物の創製を目指す。また、7-hydroxymitragynine をシード分子とした構造活性相関研究により強力な活性化合物の取得を目指す。

カンナビノイド受容体、TRP チャンネルリガンド

カンナビノイド CB1 受容体アンタゴニスト作用あるいは痛み受容体に関する TRP チャンネルに対するアンタゴニスト作用を持つことが明らかとなったイボガ型アルカロイド類の全合成による大量供給法の確立と誘導体合成と活性評価を検討する。

(2) 認知症改善薬のシード化合物探索

アセチルコリンエステラーゼ阻害剤

アセチルコリンエステラーゼ阻害剤探索のため、*Lycopodium* 属植物 (*L. carinata*, *L. nummularifolium*) からの新規リコポジウムアルカロイドの探索と、新規微量天然物を含むリコポジウムアルカロイド類 (lycodine, lycoposerramine-R, lycopoclavamine-A など) の不斉全合成によ

る大量供給法の確立を行う。

NMDA 受容体チャンネルブロッカー

保有のアルカロイド類、合成品を用いてスクリーニングを実施する。活性化化合物については詳細な活性評価を行う。

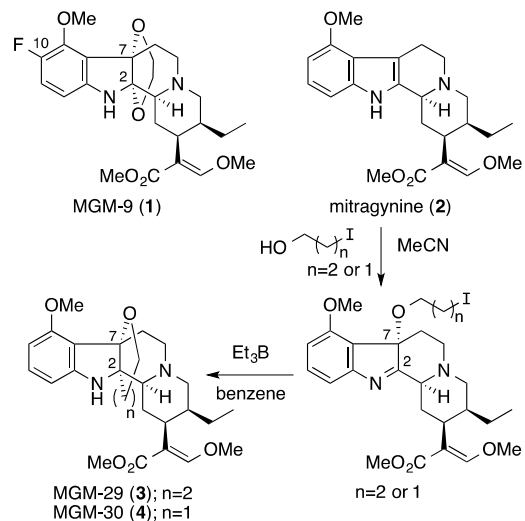
また、新たなシード分子の発見のため、コプシアアルカロイド類、シニクイチアルカロイド類、ストリクタミン類、サルパギン型アルカロイド類の全合成研究を実施し、これら化合物とその合成中間体の活性を評価する。

4. 研究成果

(1) がん性疼痛に有効な新規鎮痛剤の探索

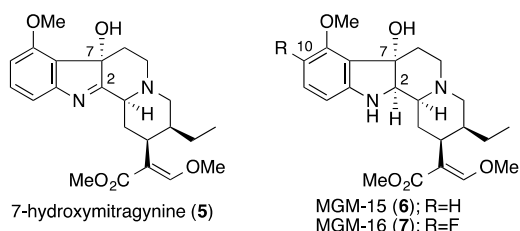
オピオイド受容体アゴニスト

オピオイド性鎮痛作用を有する MGM-9(1) の代謝安定性の改善を目的とした誘導体合成と活性評価を行った。Mitragynine(2) より、MGM-9(1) の不安定なヘミアミナル構造の 2 位架橋部位を炭素原子に置き換えた MGM-29(3)、MGM-30(4) を合成した。μ オピオイド受容体への結合親和性は、MGM-9(1) と比較して MGM-29(3) は同程度、MGM-30(4) は約 30 倍を示した。また、その安定性は MGM-9(1) と比べ著しく高く、MGM-9(1) のヘミアミナル構造の 2 位架橋部位を炭素原子に置き換えることで代謝安定性が向上したことが明らかとなった。続いてマウスを用いた *in vivo* での活性評価を行った。その結果、いずれの化合物も皮下投与で用量依存的に鎮痛作用を示した。とくに、MGM-30(4) の鎮痛作用が強力で、作用持続時間が長いことが明らかとなり、この成果について特許申請した。



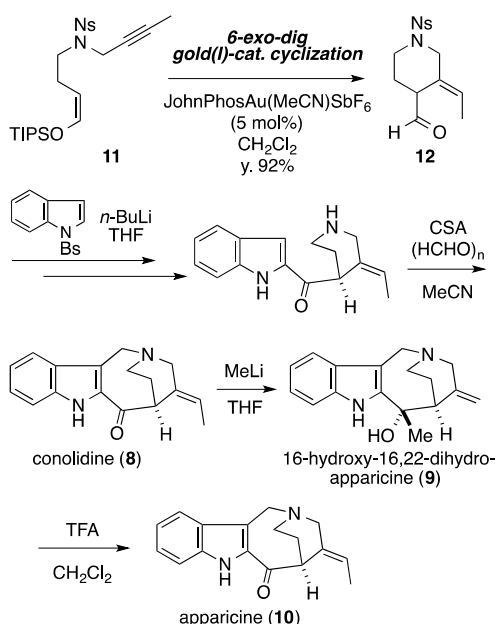
7-Hydroxymitragynine(5) をシード分子とした構造活性相関研究により新規鎮痛性アルカロイド MGM-15(6)、MGM-16(7) を創製した。これら化合物についてマウスを用いた *in vivo* での活性評価を行った結果、morphine と比べ、皮下投与で MGM-15(6) は 15 倍、MGM-16(7) は 71 倍、また、経口投与で、MGM-15(6) は 50 倍、MGM-16(7) は 240 倍の強力な抗侵害作用を示した。さらに神経障害性

疼痛下での MGM-16(7)の作用は、 μ 、受容体を同程度介したものであることが明らかとなった。



Mitragynine(2)の細胞毒性の作用機序を明らかにした。また、Mitragynine 誘導体の体内動態解明のための SPECT 用プローブの合成を検討した。

C5-nor stemmadenine 型インドールアルカロイドである conolidine(8)は非オピオイド性新規鎮痛薬のリード化合物と報告されているが、その詳細な作用機序は解明されていない。そこで、作用機序解明の為に分子プローブ合成を指向し、conolidine(8)及びその類縁体(9,10)の合成を行った。シリルエノールエテルを用いた金触媒 6-exo-dig 型環化反応による E 型エチリデン側鎖を有するペリジジン環の構築(11-12)を鍵反応として、3つの天然物 conolidine(8)、16-hydroxy-16,22-dihydroapparicine(9)、apparicine(10)の全合成を達成し、効率的合成法を確立した。

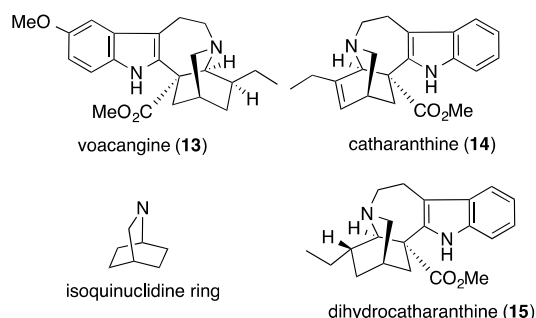


カンナビノイド受容体、TRP チャネルリガンド

カンナビノイド受容体、あるいは痛み受容体に関する TRP チャネルに対するアンタゴニスト作用を有するイボガ型アルカロイド類(13等)の不斉全合成を検討した。これまでに本アルカロイドの中心骨格であるイソキヌ

クリジン環の構築に成功した。

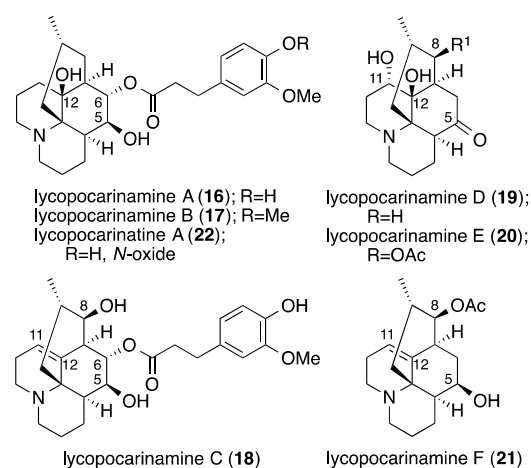
TRP チャネル阻害作用について voacangine(13)とその関連化合物の構造活性相関研究を行った。その結果、voacangine(13)が TRPV1 並びに TRPM8 アンタゴニストであり、さらに TRPM8 受容体に対して化学アゴニスト選択的阻害作用を示すことが明らかとなった。この選択的阻害作用には、voacangine(13)と同じ絶対配置のイソキヌクリジン環の構造が重要であることが示唆された。また、catharanthine(14)と dihydrocatharanthine(15)が強力な TRPM8 アンタゴニストであることが明らかとなった。



(2) 認知症改善薬のリード化合物探索

アセチルコリンエステラーゼ阻害剤

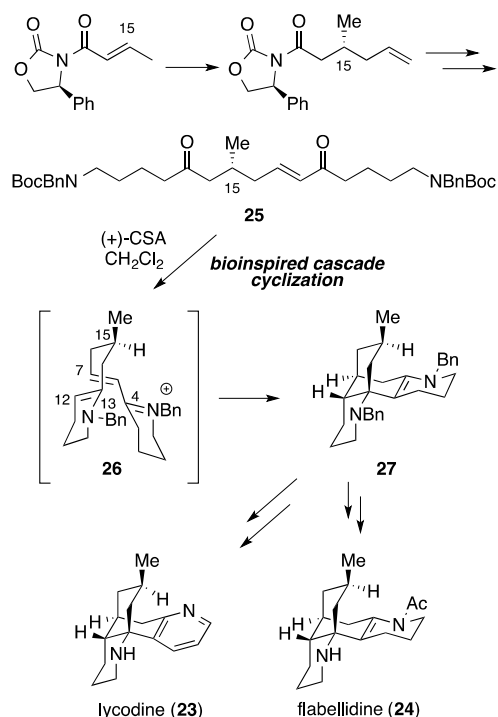
アセチルコリンエステラーゼ阻害剤探索のため、タイ産 *Lycopodium carinatum* の成分探索を行い、新規 6 種(16-21)を含む 26 種のアルカロイドを単離した(図 5)。既知アルカロイドの内、lycocarinatine A として報告された化合物の化学構造を 22 式のように訂正した。



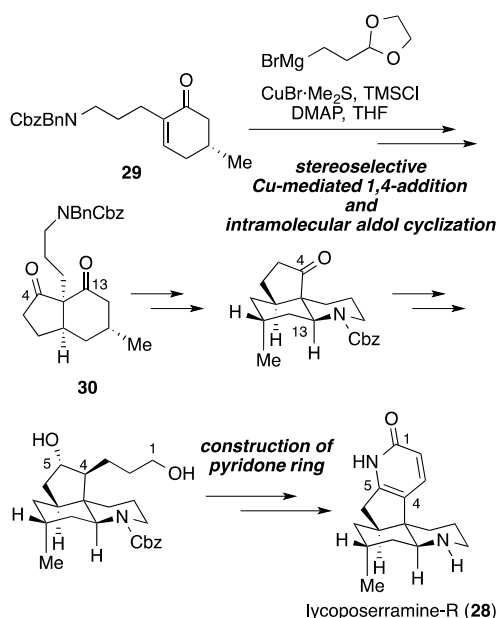
また、タイ産 *Lycopodium nummularifolium* の成分探索を行い、新規アルカロイド 7 種を含む計 15 種のアルカロイドを単離した。

一方、リコポジウムアルカロイド類の大量供給法の確立を目指して不斉全合成を検討した。その結果、強力な AChE 阻害活性を有する huperzine と同じ lycodine 型アルカロイドの lycodine (23)、flabellidine(24)に

ついて、生合成経路にヒントを得たカスケード反応による四つの環の構築 (25 26 27) を鍵段階として不斉全合成を達成した。



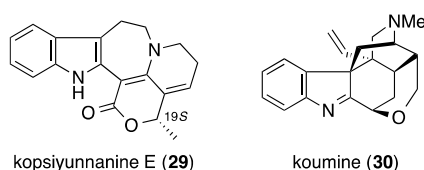
また、新規骨格を有する lycoposerramine-R (28) の不斉全合成を達成した。本反応では、銅を用いた 1,4-付加反応と続く分子内アルドール環化 (29 30) により *cis* 結合した 5/6-二環性骨格を構築し、最終段階に aza-Wittig 反応を利用してピリドン環の構築を行った。



NMDA 受容体チャンネルブロッカー
保有のアルカロイド類並びに合成品につ

いて NMDA 受容体チャンネルブロッカーのスクリーニングを行った。In vitro で強力な活性を示した化合物について in vivo での評価を行ったが、脳への移行性が良好ではなく、また心機能副作用評価は擬陽性であった。

コプシアアルカロイド類、シニクイチアルカロイド類、ストリクタミン類、サルパギン型アルカロイド類、ヒガンバナ科アルカロイドの全合成研究を実施し、新規コプシアアルカロイド 2 種 kopsiyunnanine E (29)、kopsiyunnanine K と、かご型構造を有するサルパギン型アルカロイド koumine (30) の不斉全合成を達成した。



また、リコポジウムアルカロイドの不斉全合成研究およびビスインドールアルカロイドに関してそれぞれ英文総説を執筆した。

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 24 件)

- (1) N. Takanashi, K. Suzuki, M. Kitajima, and H. Takayama: Total Synthesis of Conolidine and Apparicine. *Tetrahedron Lett.*, **57** (3), 375-378 (2016). 査読有, DOI: 10.1016/j.tetlet.2015.12.029.
- (2) H. Ishida, S. Kimura, N. Kogure, M. Kitajima, and H. Takayama: Total Synthesis of (±)-Lycoposerramine-R, a Novel Skeletal Type of *Lycopodium* Alkaloid. *Tetrahedron*, **71** (1), 51-56 (2015). 査読有, DOI: 10.1016/j.tet.2014.11.038.
- (3) H. Ishida, S. Kimura, N. Kogure, M. Kitajima, and H. Takayama: The First Asymmetric Total Synthesis of Lycoposerramine-R. *Org. Biomol. Chem.*, **13** (28), 7762-7771 (2015). 査読有, DOI: 10.1039/C5OB00827A.
- (4) H. Takayama: Recent Progress in Total Synthesis of *Lycopodium* Alkaloids. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.*, **73** (11), 1062-1071 (2015). 査読有
- (5) N. A. Saidin, E. Holmes, H. Takayama, and N. J. Gooderham: The Cellular Toxicology of Mitragnine, the Dominant Alkaloid of the Narcotic-like

- Herb, *Mitragyna speciosa* Korth. *Toxicol. Res. (Cambridge, U. K.)*, **4** (5), 1173-1183 (2015). 査読有, DOI: 10.1039/C5TX00113G.
- (6) K. Matsumoto, M. Narita, N. Muramatsu, T. Nakayama, K. Misawa, M. Kitajima, K. Tashima, T. Suzuki, H. Takayama, and S. Horie: Orally Active Opioid μ/δ Dual Agonist MGM-16, a Derivative of the Indole Alkaloid Mitragynine, Exhibits Potent Analgesic Effect on Neuropathic Pain in Mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **348** (3), 383-392 (2014). 査読有, DOI: 10.1124/jpet.113.208108.
- (7) Y. Terada, S. Horie, H. Takayama, K. Uchida, M. Tominaga, and T. Watanabe: Activation and Inhibition of Thermosensitive TRP Channels by Voacangine, an Alkaloid Present in *Voacanga africana*, an African Tree. *J. Nat. Prod.*, **77** (2), 285-297 (2014). 査読有, DOI: 10.1021/np400885u.
- (8) M. Azuma, T. Yoshikawa, N. Kogure, M. Kitajima, and H. Takayama: Biogenetically Inspired Total Syntheses of *Lycopodium* Alkaloids, (+)-Flabellidine and (-)-Lycodine. *J. Am. Chem. Soc.*, **136** (33), 11618-11621 (2014). 査読有, DOI: 10.1021/ja507016g.
- (9) Y. Terada, M. Kitajima, F. Taguchi, H. Takayama, S. Horie, and T. Watanabe: Identification of Indole Alkaloid Structural Units Important for Stimulus-Selective TRPM8 Inhibition: SAR Study of Naturally Occurring Iboga Derivatives. *J. Nat. Prod.*, **77** (8), 1831-1838 (2014). 査読有, DOI: 10.1021/np500235b.
- (10) M. Kitajima, Y. Murakami, N. Takahashi, Y. Wu, N. Kogure, R. Zhang, and H. Takayama: Asymmetric Total Synthesis of Novel Pentacyclic Indole Alkaloid, Kopsiyunnanine E, Isolated from *Kopsia arborea*. *Org. Lett.*, **16** (19), 5000-5003 (2014). 査読有, DOI: 10.1021/ol502265q.
- 〔学会発表〕(計 55 件)
- (1) 高梨憲幸, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光: Akuammiline 型インドールアルカロイドの全合成研究. 日本薬学会第 136 年会, 2016 年 3 月 29 日, パシフィコ横浜(横浜).
- (2) 高梨憲幸, 鈴木健太, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光: 非オピオイド様鎮痛活性を有する C5-nor stemmadenine 型インドールアルカロイドの全合成研究. 第 33 回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2015 年 11 月 25 日, 幕張国際研修センター(千葉).
- (3) 渡辺慧介, 前田博行, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光: 金触媒環化反応を用いたサルパギン型インドールアルカロイドの不斉全合成. 第 41 回反応と合成の進歩シンポジウム, 2015 年 10 月 26 日, 近畿大学(大阪).
- (4) 高山廣光: 生物活性アルカロイドの探索・合成・創薬化学研究. 日本生薬学会第 62 回年会, 2015 年 9 月 12 日, 長良川国際会議場(岐阜).
- (5) 丸山萌, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光: ヒカゲノカズラ科 *Lycopodium carinatum* 含有アルカロイドの探索研究. 日本生薬学会第 62 回年会, 2015 年 9 月 11 日, 長良川国際会議場(岐阜).
- (6) 東雅之, 良川哲也, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光: Lycodine 型アルカロイド類の生合成経路を模擬した効率的な不斉全合成研究. 第 57 回天然有機化合物討論会, 2015 年 9 月 9 日, 神奈川県民ホール(横浜).
- (7) 北島満里子, 寺田祐子, 田口芙悠美, 浅場絢ヌネツ, 小暮紀行, 渡辺達夫, 高山廣光: 温度感受性 TRP チャネルアンタゴニスト活性を有する Voacangine 関連化合物の全合成研究と構造活性相関. 第 32 回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2014 年 11 月 26 日, 神戸国際会議場(神戸).
- (8) 石田寛明, 木村真也, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光: 新規骨格 *Lycopodium* アルカロイド Lycoposerramine-R の不斉全合成研究. 第 40 回反応と合成の進歩シンポジウム, 2014 年 11 月 10 日, 東北大学(仙台).
- (9) 村上洋介, 小山徹也, 鈴木悠太, 高橋伸明, Yuqui Wu, 小暮紀行, Rongping Zhang, 北島満里子, 高山廣光: キョウチクトウ科植物 *Kopsia arborea* 含有新規インドールアルカロイド Kopsiyunnanines E, I, J1, J2. 第 56 回天然有機化合物討論会, 2014 年 10 月 15 日, 高知県立県民ホール(高知).
- (10) 片山健, 井上峻, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光: オピオイド性鎮痛インドールアルカロイド Mitragynine 誘導体の医薬化学的研究. 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月 29 日, 熊本市総合体育館(熊本).
- (11) 高山廣光: 生物活性天然物の探索と全合成-創薬研究に向けて. 創薬懇話会 2013 年 7 月 4-5 日, 定山溪ビューホテル(定山溪).
- 〔図書〕(計 3 件)
- (1) M. Kitajima, H. Takayama: Monoterpenoid Bisindole Alkaloids.

“*The Alkaloids: Chemistry and Biology*”, ed. by H.-J. Knölker, Academic Press, **76**, 259-309 (2016).

- (2) M. Kitajima, H. Takayama: *Chemistry of Mitragyna Alkaloids. “Kratom and Other Mitragynines: The Chemistry and Pharmacology of Opioids from a Non-Opium Source”*, ed. by R. B. Raffa, CRC Press, 101-116 (2015).
- (3) H. Takayama, M. Kitajima: *Medicinal Chemistry Based on Mitragynine., “Kratom and Other Mitragynines: The Chemistry and Pharmacology of Opioids from a Non-Opium Source”*, ed. by R. B. Raffa, CRC Press, 117-134 (2015).

〔産業財産権〕

出願状況 (計 4 件)
名称 : Opioid Analgesic
発明者 : H. Takayama
権利者 : 千葉大学
種類 : 出願
番号 : 15/032,070
出願年月日 : 2016 年 4 月 26 日
国内外の別 : 国外

名称 : Opioid Analgesic with High Metabolic Stability, Pharmaceutical Composition Containing It, and Method for Inducing Analgesic Effect
発明者 : H. Takayama
権利者 : 千葉大学
種類 : PCT Int. Appl.
番号 : WO 2015064573 A1
出願年月日 : 2015 年 5 月 7 日
国内外の別 : 国外

名称 : Opioid Analgesic
発明者 : H. Takayama
権利者 : 千葉大学
種類 : 出願
番号 : PCT/JP2014/078632
出願年月日 : 2014 年 10 月 28 日
国内外の別 : 国外

名称 : オピオイド鎮痛剤
発明者 : 高山廣光
権利者 : 千葉大学
種類 : 出願
番号 : 特願 2013-224412
出願年月日 : 2013 年 10 月 29 日
国内外の別 : 国内

取得状況 (計 5 件)
名称 : Compound Having Activity of Blocking NMDA Receptor Channel, and Pharmaceutical Agent Using the Same
発明者 : K. Igarashi, H. Takayama
権利者 : 千葉大学 他
種類 : US Patent

番号 : US 8,987,253 B2
取得年月日 : 2015 年 3 月 24 日
国内外の別 : 国外

名称 : Indole Alkaloid Derivatives Having Opioid Receptor Antagonistic Effect, and Therapeutic Compositions and Methods Relating to Same
発明者 : H. Takayama, M. Kitajima, K. Matsumoto, S. Horie
権利者 : 千葉大学 他
種類 : US Patent
番号 : US 8,648,090 B2
取得年月日 : 2014 年 2 月 11 日
国内外の別 : 国外

名称 : NMDA 受容体チャンネルブロック作用を示す化合物及びそれを用いた薬剤
発明者 : 五十嵐一衛, 高山廣光
権利者 : 千葉大学 他
種類 : 特許
番号 : 第 5312022 号
取得年月日 : 2013 年 7 月 12 日
国内外の別 : 国内

名称 : オピオイド鎮痛剤
発明者 : 高山廣光, 北島満里子, 松本健次郎, 堀江俊治
権利者 : 千葉大学 他
種類 : 特許
番号 : 第 5308352 号
取得年月日 : 2013 年 7 月 5 日
国内外の別 : 国内

名称 : Compound Having Activity of Blocking NMDA Receptor Channel, and Pharmaceutical Agent Using the Same
発明者 : K. Igarashi, H. Takayama
権利者 : 千葉大学 他
種類 : US Patent
番号 : US 8,476,258
取得年月日 : 2013 年 7 月 2 日
国内外の別 : 国外

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.p.chiba-u.jp/lab/skb/index.html>

6. 研究組織
(1) 研究代表者
高山 廣光 (HIROMITSU TAKAYAMA)
千葉大学・大学院薬学研究院・教授
研究者番号 : 90171561