

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350959

研究課題名(和文)天然資源抽出物の化学変換による構造多様性の高い化合物ライブラリーの創出

研究課題名(英文)Development of Natural Product-like Library by Using Diversity-enhanced Extracts

研究代表者

菊地 晴久(Kikuchi, Haruhisa)

東北大学・薬学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90302166

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：構造多様性の高い天然化合物類縁体を得るための新たな方法論として、多様性指向型合成の考え方と従来の天然由来化合物の探索研究とを組み合わせた多様性拡大抽出物を用いる手法を考案した。すなわち、天然資源の抽出物に対して直接、化合物の分子骨格を変化させるような反応を行うことで、それに含まれる化合物の構造多様性が一層高められた多様性拡大抽出物が得られる。これを各化合物へと分離・精製することで、構造多様性の高い化合物ライブラリーを取得することができる。本手法による構造多様性の高い天然由来化合物ライブラリーの創出は新規生物活性物質の発見につながり、創薬等へ発展させることができると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Diversity-enhanced extracts are prepared from chemical reactions that remodel molecular scaffolds directly on extracts of natural resources. The subsequent isolation of each compound produced from such reactions affords a diverse natural product-like library. Although there have been several reports on similar methods that chemically convert natural extracts, diversity-enhanced extracts represents an unprecedented approach in terms of applying reactions to form new carbon-carbon bonds and modify molecular skeletons.

We applied this method of diversification on the medicinal plant, *Curcuma zedoaria*. Epoxidation and subsequent ring-opening reactions of epoxides were used to modify molecular skeletons. As a result, new and diverse sesquiterpene-like compounds with some containing new molecular skeletons. Therefore, this method of diversification was efficient for producing chemically-diverse natural products.

研究分野：天然物化学

キーワード：天然物化学 多様性指向型合成 化合物ライブラリー

1. 研究開始当初の背景

天然物化学は、新規な母核構造を有し、特異な生物活性を示す多種多様な天然物リガンドを、生命科学・創薬科学など様々な分野に対して提供するという重要な役割を担っている。このような有用性をもたらしている要因としてはいくつか挙げられるが、最も大きい要因は、化合物の高度な構造多様性であると考えられている (*J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 2003, 43, 218)。しかし、天然由来化合物の探索は非常に古くから行われており、膨大な種類の生物資源を材料とした探索研究が行われてきているものの、新規骨格を含む化合物の発見は困難になりつつあるのが現状である。したがって、今後も創薬等に重要な役割を果たしていくためには、多様な構造を有した天然化合物または天然化合物類縁体を継続的に得る手法を開発しなければならない。

一方、近年では、共通あるいは類似の構造を有した原料に対して、その分子骨格を変化させる様な反応を行うことで構造多様性の高い化合物群を得る多様性指向型合成 (Diversity-oriented synthesis) により、十分な多様性を有する化合物ライブラリーが提供されるようになった。それらの中から天然化合物に匹敵する強力な生物活性物質が発見されており、非常に有用な手法であると言える。

2. 研究の目的

本研究では、従来から行われてきた天然由来化合物の探索研究に DOS の考えを組み合わせた手法を提唱し、それにより構造多様性の高い天然由来化合物ライブラリーを創出することを目的とする。すなわち、入手が容易な天然資源の抽出物に対して直接、化合物の分子骨格を変化させるような反応を行うことで、それに含まれる化合物の構造多様性が一層高められた多様性拡大抽出物 (diversity-enhanced extract) が得られる。これをカラムクロマトグラフィ等で各化合物を単離・精製することで、構造多様性の高い化合物ライブラリーを取得するという手法である (図 1)。

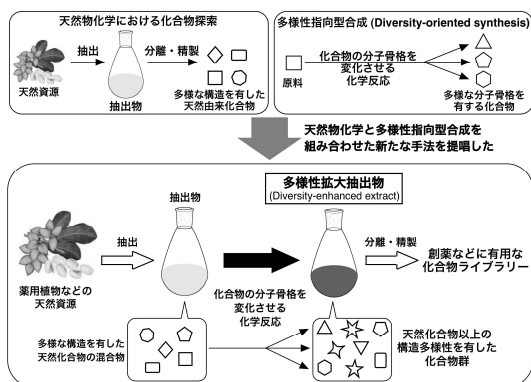


図 1 多様性拡大抽出物のコンセプト

得られた新規分子骨格を有した化合物 (群) については、独自に開発した自然免疫制御作用等を評価するアッセイ系によって、その生物活性の検討を行う。本研究による構造多様性の高い天然由来化合物ライブラリーの創出は新規生物活性物質の発見につながり、創薬等へ発展させることができる。

3. 研究の方法

(1) 構造多様性の高い天然由来化合物ライブラリーの創出

購入可能な生薬など容易に入手可能な天然資源の抽出物に対して、直接、化合物の分子骨格を変化させるような反応を行うことで、それに含まれる化合物の構造多様性が高められた多様性拡大抽出物 (diversity-enhanced extract) を用いて、構造多様性の高い天然化合物様ライブラリーの創出を行う。

エポキシドの開環反応の利用

求核剤によるエポキシドの開環反応は、多彩な骨格を有する天然有機化合物の生合成においても重要な役割を果たす反応であることから、多様性拡大抽出物の作成にも有用であると考えられる。すなわち、天然資源抽出物に対してジオキシラン誘導体を作用させることで一部のオレフィンを経由してエポキシ化し、希土類金属トリフラートを触媒として、オレフィンなどを求核剤とした開環反応を行う。得られた多様性拡大抽出物をカラムクロマトグラフィ等で分離・精製することで、新規骨格・環構造を有した天然化合物類縁体を多数得ることが出来ると考えられる。

メロテルペノイド型化合物の創出

メロテルペノイドは、ポリケチドとテルペノイドの構造を併せ持つハイブリッド型天然物であり、強力な生物活性を有しているものも多い。そこで、多様性拡大抽出物を用いて、そのようなメロテルペノイド様化合物ライブラリーを得ることにした。すなわち、天然資源抽出物に対してジイソブチルアルミニウムヒドリドを作用させることで、抽出物に含まれる化合物の一部のカルボニル基を還元する。つづいて、生じたアルコール性水酸基に対して、*o*-ヨードフェノールを光延反応条件下でエーテル結合させ、さらにパラジウム触媒存在下で Heck 反応を行うことで多様性拡大抽出物が得られる。これを各種クロマトグラフィにより分離・精製することで、メロテルペノイド型構造を有した天然化合物類縁体を多数得ることが出来ると考えられる。

ビアリアル型化合物の創出

ビアリアル型化合物は、いずれも医薬品の構造によくみられる drug-like な化学構造であり、生物活性を示しやすい化合物群であるといえる。そこで、多様性拡大抽出物を利用したこのような化合物群から成る化合物ライブラリーの創製を行うこととした。原料と

しては多種類の芳香族化合物を含むことが知られている天然資源を用い、その抽出物に対して塩化スルフリルなどのハロゲン化剤を作用させることで、それに含まれる化合物の芳香環をハロゲン化する。つづいて、アリールボロン酸との鈴木-宮浦カップリングを行うことでビフェニル結合が形成された多様性拡大抽出物を得られる。これを各種クロマトグラフィーにより分離・精製することで、ビアリール型構造を有した天然化合物類縁体を多数得ることが出来ると考えられる。

(2) 得られた天然由来化合物ライブラリーを用いた自然免疫制御物質の探索

(1) で得られた構造多様性の高い化合物ライブラリーを用いて、自然免疫に作用する化合物の探索を行う。その際には、応募者らが以前開発した、ショウジョウバエを用いた自然免疫制御作用を評価する独自のアッセイ系を用いる。本アッセイ系は、自然免疫に対する作用だけでなく、細胞毒性・転写翻訳阻害活性をも同時に検出することができるため、幅広い生物活性の評価が可能である。このアッセイにより新規生物活性物質を見出すことができれば、本研究で開発した天然由来化合物ライブラリーの有用性を示すことができる。

4. 研究成果

(1) 構造多様性の高い天然由来化合物ライブラリーの創出

エポキシドの開環反応の利用

生薬・ガジュツの抽出物に対してジオキサン誘導体を作用させることで一部のオレフィンにエポキシ化し、さらにランタントリフラートを触媒として、エポキシド開環反応を行うことで、多様性拡大抽出物を得た。これを各種クロマトグラフィーにより分離した結果、新規セスキテルペン様化合物 1-7 が得られた(図2)。

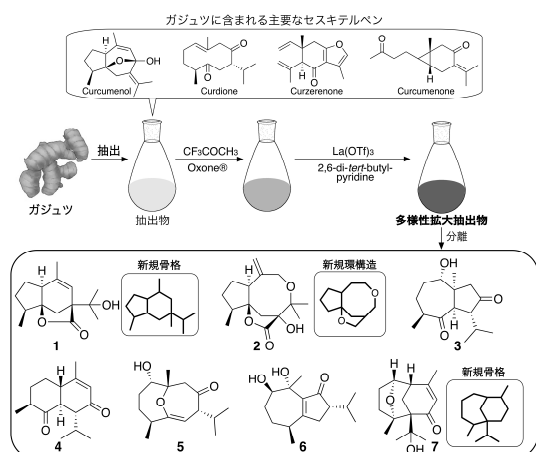


図2 新規セスキテルペン様化合物 1-7

化合物1および7はセスキテルペンとして新規骨格を有していた。また、化合物2のような三環性エーテル構造を含む化合物はこ

れまでに全く報告されていなかった。

メロテルペノイド型化合物の創出

ガジュツ抽出物に対して直接 DIBAL を作用させ、つづいて光延反応によるフェニルエーテルの形成、分子内溝呂木-Heck 反応による関係性を行い、多様性拡大抽出物を得た。これを各種クロマトグラフィーにより分画した結果、新規骨格を有するメロテルペノイド様化合物 8-11 を得られた(図3)。

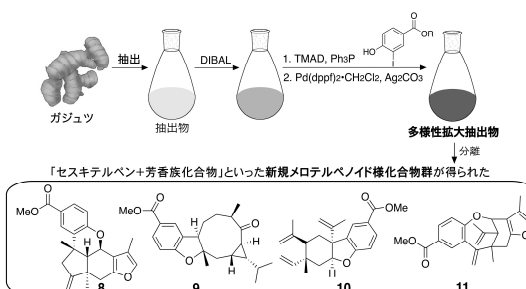


図3 新規メロテルペノイド様化合物 8-11

ビアリール型化合物の創出

生薬・ヨロイグサの抽出物に対して塩化スルフリルなどのハロゲン化剤を作用させることで、それに含まれる化合物の芳香環をハロゲン化した。つづいて、アリールボロン酸との鈴木-宮浦カップリングを行うことでビフェニル結合が形成された多様性拡大抽出物を得た。これを分離・精製することで、5種類のビフェニル型化合物を得た。

(2) 得られた天然由来化合物ライブラリーを用いた自然免疫制御物質の探索

得られた構造多様性の高い天然化合物様ライブラリーについて、自然免疫に関わる生物活性のスクリーニングをおこなった。スクリーニング法としては、以前我々が独自に開発したショウジョウバエ幼虫を用いたアッセイ系を用いた。その結果、ガジュツより得られた新規セスキテルペン類に自然免疫抑制作用を見出した。また、ビアリール型化合物2種が、ヘルパーT細胞のサイトカイン産生に関わる NFAT の核内移行抑制作用を示した。

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3件)

1. Kikuchi, H.; Hoshikawa, T.; Fujimura, S.; Sakata, N.; Kurata, S.; Katou, Y.; Oshima, Y. Isolation of a Cyclic Depsipetide, Aspergillicin F, and Synthesis of Aspergillicins with Innate Immune Modulating Activity. *J. Nat. Prod.* **2015**, *78*, 1949-1956. (査読有) DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00286

2. Kikuchi, H.; Suzuki, T.; Ogura, M.; Homma, M. K.; Homma, Y.; Oshima, Y. Synthesis of

prenylated quinolinecarboxylic acid derivatives and their anti-obesity activities. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 66-72. (査読有) DOI: 10.1016/j.bmc.2014.11.024

3. Kikuchi, H.; Sakurai, K.; Oshima, Y. Development of Diversity-enhanced Extracts of *Curcuma zedoaria* and Their New Sesquiterpene-like Compounds. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1916-1919. (査読有) DOI: 10.1021/ol5004324

[学会発表](計18件)

1. 菊地晴久 多様性拡大抽出物を活用した天然化合物類縁体ライブラリーの創出, 日本薬学会第 136 年会(招待講演), 2016 年 3 月 26 日~2016 年 3 月 29 日, パシフィコ横浜(横浜市)

2. 榎大介, 中城陽太, 菊地晴久, 大島吉輝 多様性拡大抽出物を利用したピアリアル・ピアリアルアミン型化合物群の創出, 日本薬学会第 136 年会, 2016 年 3 月 26 日~2016 年 3 月 29 日, パシフィコ横浜(横浜市)

3. 河合航輔, 中城陽太, 菊地晴久, 大島吉輝 多様性拡大抽出物を利用したメロテルペノイド様化合物群の創出, 日本薬学会第 136 年会, 2016 年 3 月 26 日~2016 年 3 月 29 日, パシフィコ横浜(横浜市)

4. Haruhisa Kikuchi, Yota Nakashiro, Kazuyoshi Sakurai, Keisuke Ichinohe, Daisuke Enoki, Yoshiteru Oshima Development of Natural Product-like Library by Using Diversity-enhanced Extracts, PACIFICHEM 2015 (国際学会), 2015 年 12 月 15 日~2015 年 12 月 20 日 Hilton Hawaiian Village Waikiki Beach Resort (Hawaii, USA)

5. 榎大介, 菊地晴久, 大島吉輝 多様性拡大抽出物を利用した新規含窒素多環式化合物群の創出, 第 54 回日本薬学会東北支部大会, 2015 年 09 月 26 日, 岩手医科大学(岩手県矢巾町)

6. 一戸佳祐, 菊地晴久, 大島吉輝 多様性拡大抽出物を利用した非天然型芳香族アルカロイド様化合物ライブラリーの構築, 第 54 回日本薬学会東北支部大会, 2015 年 09 月 26 日, 岩手医科大学(岩手県矢巾町)

7. Haruhisa Kikuchi Development of Natural Product-like Library Derived from Diversity Enhanced Extracts, The 6th Japanese-Sino Symposium on Organic Chemistry for Young Scientists(招待講演)(国際学会), 2015 年 9 月 6 日~2015 年 9 月 8 日 ホテルクレセント(仙台市)

8. 西村壮央, 才川敦之, 菊地晴久, 大島吉輝 Humulene を基盤とした多様性指向型合成によるアルカロイド様化合物群の創出, 日本薬学会第 135 年会 2015 年 3 月 25 日~2015 年 3 月 28 日, 神戸学院大学(神戸市)

9. 一戸佳祐, 菊地晴久, 大島吉輝 多様性拡大抽出物を利用したインドールアルカロイド様化合物ライブラリーの創出, 日本薬学会第 135 年会 2015 年 3 月 25 日~2015 年 3 月 28 日, デザイン・クリエイティブセンター神戸(神戸市)

10. Haruhisa Kikuchi, Yoshiteru Oshima Development of Natural Product-like Library Derived from Diversity Enhanced Extracts, 9th International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia (国際学会), 2014 年 12 月 1 日~2014 年 12 月 4 日 Eastin Hotel Petaling Jaya (Petaling Jaya, Malaysia)

11. 菊地晴久, 大島吉輝 多様性拡大抽出物を利用した天然化合物様ライブラリーの構築, 第 32 回メディシナルケミストリーシンポジウム(招待講演), 2014 年 11 月 26 日~2014 年 11 月 28 日, 神戸国際会議場(神戸市)

12. 中城陽太, 菊地晴久, 大島吉輝 パラジウム触媒による結合形成反応を基盤とした多様性拡大抽出物, 第 53 回日本薬学会東北支部大会 2014 年 10 月 5 日, いわき明星大学(いわき市)

13. 西村壮央, 才川敦之, 菊地晴久, 大島吉輝 ホップ中に含まれる humulene の構造を基盤としたアルカロイド様化合物群の創出, 第 53 回日本薬学会東北支部大会 2014 年 10 月 5 日, いわき明星大学(いわき市)

14. Haruhisa Kikuchi, Yoshiteru Oshima Development of Natural Product-like Library Derived from Diversity Enhanced Extracts, 24th French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry (国際学会), 2014 年 9 月 14 日~2014 年 09 月 17 日, Faculte de medecine Lyon RTH Laennec (Lyon, France)

15. 中城陽太, 菊地晴久, 大島吉輝 パラジウム触媒反応を基盤とした多様性拡大抽出物とそれを利用した化合物ライブラリーの創出, 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月 27 日~2014 年 3 月 30 日, 熊本市青年会館(熊本市)

16. 菊地晴久, 櫻井和嘉, 渡邊哲理, 中城陽太, 大島吉輝 多様性拡大抽出物を利用した天然化合物様ライブラリーの構築, 第 31 回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2013 年 11 月 20 日~2013 年 11 月 22 日, アステールプラザ(広島市)

17. 櫻井和嘉, 菊地晴久, 大島吉輝 構造多様性を拡大したガジュツ抽出物より得られた新規化合物群, 第 52 回日本薬学会東北支部大会, 2013 年 10 月 20 日, 東北大学川内北キャンパス(仙台市)

18. Haruhisa Kikuchi, Kazuyoshi Sakurai, Tetsuri Watanabe, Yota Nakashiro, Yoshiteru Oshima Development of Natural Product-like Library by Using Diversity-enhanced Natural Extracts, 9th AFMC International Medicinal Chemistry

Symposium in 2013(国際学会), 2013年10月
15日~2013年10月18日, Grand Hotel (Taipei,
Taiwan)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊地 晴久 (KIKUCHI HARUHISA)
東北大学・大学院薬学研究科・准教授

研究者番号：90302166

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし