

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 6 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460139

研究課題名(和文)多環性天然物の構造と生物活性を基盤とした医薬シードの創製

研究課題名(英文) Search on Seeds for Drug Discovery using Polycyclic Natural Products

研究代表者

森田 博史 (Morita, Hiroshi)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：70220069

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：多環性天然物cassiarin Aをリード化合物として、新規機能性分子の探索のために構造活性相関の検討を行なった。また、ceramicine Bに脂肪細胞分化抑制作用およびメラニン産生抑制作用を見出した。熱帯未利用植物の抽出物ライブラリーを対象としてスクリーニングを行い、キョウチクトウ科 *Leuconotis griffithii* より単離したビスインドールアルカロイド、bisleuconothine A にオートファジーの活性を見出した。さらに、キョウチクトウ科 *Tabernaemontana phymata* より単離したインドール型アルカロイドに脂肪細胞分化抑制活性を認めた。

研究成果の概要(英文)：During our search for active ingredients from medicinal plants, we have isolated various kinds of polycyclic alkaloids, and terpenoids with various bioactivities as new drug discovery seeds. Chemical modification and SAR studies were conducted by using a tricyclic alkaloid, cassiarin A from *Cassia siamea*. Ceramicines, a series of limonoids from *Chisocheton ceramicus*, were evaluated for lipid-droplets accumulation inhibitory and anti-melanin deposition activities and several ceramicines were found to be active.

In our continuous quest to identify novel polycyclic active compounds of plant origin, bisleuconothine A, a novel bisindole alkaloid from *Leuconotis griffithii*, showed cytostatic activity in several cell lines. The cytostatic activity may be attributed to its induction of autophagosomes formation. Indole alkaloids from *Tabernaemontana phymata* was identified as active compounds in inhibiting lipid droplets accumulation.

研究分野：天然物化学、生薬学

キーワード：多環性天然物 アルカロイド リモノイド 脂肪細胞分化抑制作用 メラニン産生抑制作用 オートファジー

1. 研究開始当初の背景

近年、天然物探索の過程からリード化合物が見出され、天然物再重視への動きも見られるようになった。申請者は、多様な植物資源を利用するためにはメガダイバーシティセンターと呼ばれる生物資源の豊富な熱帯資源国にアクセスすることが有効であると認識し、東南アジアの熱帯地域において調査研究を行った結果、マメ科 *Cassia siamea* より、*Plasmodium falciparum* に対して強力な抗マラリア活性を示す新規骨格のアルカロイド cassiarin A の単離に成功した。また、センダン科 *Chisocheton ceramicus* より新規リモノイド ceramicine B を見いだした。

2. 研究の目的

このような背景から本研究では、多環性天然物 (cassiarin A および ceramicine B) に関する学術的基礎データと天然物化学的な精密技術、および薬理的手法を基盤として、がん、マラリア原虫、血管平滑筋、脂肪細胞などを標的とした新しい植物由来多環性骨格を有する医薬シードを創製する。さらに、既に保有する未利用植物の抽出物ライブラリーを用いて、新しい機能性を有する多環性天然物を探索することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 新規骨格の多環性天然物 cassiarin A、F, alasmontamine A、ceramicine B をリード化合物として、合成的な手法により誘導化し、作用機序の解明、さらに有望な新規機能性分子の創製へと発展させる。

(2) 当研究室が保有する熱帯未利用植物の抽出物ライブラリーを対象として、天然機能性分子の探索のためのスクリーニングを行い、さらに新しい環骨格を有する多環性天然分子を発見する。

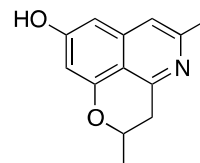
(3) 活性試験としては、脂肪前駆細胞株の分化抑制および脂肪滴蓄積抑制作用、各種ヒト由来のがん細胞を用いた増殖阻害やアポト

ーシス、細胞周期に及ぼす影響の解析、チューブリンタンパクに対する重合阻害/促進活性、メラニン産生抑制活性、血管平滑筋弛緩作用や NO(一酸化窒素)を指標としたアッセイを行い、多機能性を有する新しい多環性天然物の探索と開発を行う。

4. 研究成果

(1) 多環性天然物 cassiarin A をもとに、その骨格を維持しながら様々な置換基の導入、削除を行い、更に強力な活性を有する化合物の合成を行なった。この際、分子標的をより明確にするため、各種生物活性試験の検討もを行い、標的とする化合物の合成を行なった。具体的には、cassiarin A のアナログ合成は、出発物質に様々なアルキル置換のジヒドロキシエステルを用い、Sonogashira カップリングによるアルキニル化と 6-endo-dig 環化を繰り返す合成計画を立て、各種アナログを合成した。一方、アルキル置換のクロモン誘導体からの biomimetic な cassiarin A 関連化合物の合成ルートも検討した。

強力な抗マラリア活性を有する cassiarin A の新たな生物活性として、血管平滑筋弛緩作用、メラニン産生促進作用を見出した。また、cassiarin A の各種アナログを合成し、活性を評価した。

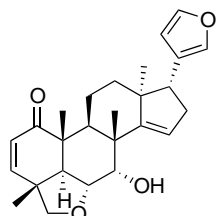


cassiarin A

(2) センダン科 *Chisocheton ceramicus* より単離した ceramicine B に脂肪細胞分化抑制作用を見出した。大量に単離された ceramicine B を原料として、各種アナログを合成した。こうして得られた様々な活性と構造に関する知見をもとに、コンピュータシミュレーションによる構造活性相関を解析

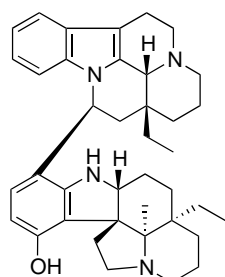
した。

一方、各種スクリーニングにおいて、ceramicine 類に対してメラニン産生抑制作用を見出した。この活性は、ceranicine B がメラニン産生における律速酵素として知られる tyrosinase タンパクの発現を抑制することに起因した。



ceranicine B

(3) また、確立したスクリーニング系を活用して、研究室保有の植物抽出ライブラリーを検討した。その結果、キョウチクトウ科 *Leuconotis griffithii* より単離したビスインドールアルカロイド、bisleuconothine A にオートファジーの活性を見出した。ヒト乳腺がん細胞 (MCF7 細胞)、ヒト非小細胞肺癌 (A549 細胞) において濃度依存的にオートファジーの指標である LC3-II の発現を促進した。作用機序の解析より、bisleuconothine A による細胞増殖抑制活性は、オートファゴソーム形成の誘導に起因し、AKT-mTOR シグナル伝達経路の阻害によって引き起こされることが示唆された。



bisleuconothine A

(4) また、キョウチクトウ科 *Tabernaemontana phymata* 樹皮のメタノール抽出物に脂肪滴蓄積抑制活性を認め、活性化化合物として、インドール型アルカロイドを単離した。脂肪前駆細胞株 (MC-3T3-G2/PA6) における作用機序を解析した結果、PPAR の

有意な発現抑制が認められ、脂肪細胞分化抑制に起因するものと示唆された。また、PPAR の上流因子について検討した結果、C/EBP の遺伝子発現とタンパク発現の抑制が認められた。次に、マクロファージ様細胞株 (RAW264.7) を用いて解析した結果、このアルカロイドは LPS で誘導される C/EBP や C/EBP によって発現が制御される炎症性因子 (IL-6、TNF- α 、MCP-1、COX-2) の発現を抑制した。

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15件)

1. Chin Piow Wong, Ari Seki, Kaori Horiguchi, Tomokazu Shoji, Takashi Arai, Alfarius Eko Nugroho, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, Fumiaki Sato and Hiroshi Morita, Bisleuconothine A Exclusively Induces Autophagy by Interfering with AKT-mTOR Signaling Pathway, *J. Nat. Prod.* 査読有, **2015**, 78(7), 1656-1662.
2. Alfarius E. Nugroho, Takanori Momota, Rio Sugiura, Marina Hanzawa, Erika Yajima, Yuta Nagakura, Naoki Yasuda, Yusuke Hirasawa, Chin Piow Wong, Toshio Kaneda, A. Hamid A. Hadi, Haruhiko Fukaya, and Hiroshi Morita, Dysotriflorins A – M, Triterpenoids from *Dysoxylum densiflorum*, *Tetrahedron*, 査読有, **2014**, 70, 9661-9667.
3. Hiroshi Morita, Alfarius Eko Nugroho, Yuta Nagakura, Yusuke Hirasawa, Haruka Yoshida, Toshio Kaneda, Osamu Shiota and Intan Safinar Ismail, Chrotacumines G – J, chromone alkaloids from *Dysoxylum acutangulum* with osteoclast differentiation inhibitory activity, *Bioorg.*

- Med. Chem. Lett.* 査読有, **2014**, *11*, 2437-2439.
4. Yusuke Hirasawa, Yuri Kato, Chin Piow Wong, Nahoko Uchiyama, Yukihiro Goda, A. Hamid A. Hadi, Hapipah Mohd Ali, and Hiroshi Morita, Hupermine A, a novel C₁₆N₂-type *Lycopodium* alkaloid from *Huperzia phlegmaria*, *Tetrahedron Lett.* **2014**, 査読有, *55*, 1902-1904.
 5. Jun Deguchi, Tadahiro Sasaki, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, Idha Kusumawati, Osamu Shirota, and Hiroshi Morita, Two Novel Tetracycles, Cassibiphenols A and B from the Flowers of *Cassia siamea*, *Tetrahedron Lett.* 査読有, **2014**, *55*, 1362-1365.
 6. Chin Piow Wong, Toshio Kaneda, A. Hamid A. Hadi, and Hiroshi Morita, Ceramicine B, A Limonoid with Anti-Lipid Droplets Accumulation Activity from *Chisocheiton ceramicus*, *J. Nat. Med.* 査読有, **2014**, *68*, 22-30.
 7. Yusuke Hirasawa, Hiroko Arai, Abdul Rahman, Idha Kusumawati, Noor Cholies Zaini, Osamu Shirota, and Hiroshi Morita, Voacalgines A – E, New Indole Alkaloids from *Voacanga grandifolia*, *Tetrahedron* 査読有, **2013**, *69*, 10869-10875.
 8. Yusuke Hirasawa, Yuri Kato, Chin Piow Wong, Nahoko Uchiyama, Yukihiro Goda, A. Hamid A. Hadi, and Hiroshi Morita, Huperminone A, a novel C₁₆N-type *Lycopodium* alkaloid from *Huperzia phlegmaria*, *Tetrahedron Lett.* 査読有, **2013**, *54*, 1593-1595.
 9. Alfarius E. Nugroho, Maho Okuda, Yukari Yamamoto, Yusuke Hirasawa, Chin-Piow Wong, Toshio Kaneda, Osamu Shirota, A. Hamid A. Hadi and Hiroshi Morita, Walsogynes B – G, limonoids from *Walsura chrysogyne*, *Tetrahedron* 査読有, **2013**, *69*, 4139-4145.
 10. Chin-Piow Wong, Jun Deguchi, Alfarius Eko Nugroho, Toshio Kaneda, A. Hamid. A. Hadi and Hiroshi Morita, Ceramicines from *Chisocheiton ceramicus* as lipid-droplets accumulation inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 査読有, **2013**, *23*, 1786-1788.
 11. Yuta Nagakura, Alfarius Eko Nugroho, Yusuke Hirasawa, Takahiro Hosoya, Abdul Rahman, Idha Kusumawati, Noor Cholies Zaini, and Hiroshi Morita, Sanjecumins A and B, New Limonoids from *Sandoricum koetjape*, *J. Nat. Med.* 査読有, **2013**, *67*, 381-385.
 12. Mineri Ishizuka, Ikumi Koga, Kazumasa Zaima, Toshio Kaneda, Yusuke Hirasawa, A. Hamid A. Hadi, and Hiroshi Morita, Vasorelaxant effects on rat aortic artery by two types of indole alkaloids, naucline and cadamine, *J. Nat. Med.* 査読有, **2013**, *67*, 399-403.
 13. Kazumasa Zaima, Ikumi Koga, Nobuhide Iwasawa, Takahiro Hosoya, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, Intan Safinar Ismail, Nordin Hj Lajis, and Hiroshi Morita, Vasorelaxant activity of indole alkaloids from *Tabernaemontana dichotoma*, *J. Nat. Med.* 査読有, **2013**, *67*, 9-16.
 14. Kazumasa Zaima, Jun Deguchi, Yosuke Matsuno, Toshio Kaneda, Yusuke Hirasawa, and Hiroshi Morita, Vasorelaxant effect of FR900359 from *Ardisia crenata* on rat aortic artery, *J. Nat. Med.* 査読有, **2013**, *67*, 196-201.
 15. Jun Deguchi, Yusuke Motegi, Takahiro Hosoya, and Hiroshi Morita, Cyclic Diarylheptanoids as inhibitors of NO

production from *Acer nikoense*, *J. Nat. Med.* 査読有, **2013**, 67, 234-239.

〔学会発表〕(計 17 件)

1. 関詩織、橘川侑季、橘将人、池上一平、平澤祐介、金田利夫、森田博史 (星薬大)「キョウチクトウ科 *Tabernaemontana phymata* の脂肪滴蓄積抑制活性に関する研究」日本生薬学会第 62 回年会、2015 年 9 月 11 ~ 12 日 (岐阜)
2. 張 雯佳, Alfarius Eko Nugroho, 平澤祐介, 内山奈穂子, 袴塚高志, 金田利夫, 森田博史 (星薬大、国立衛研)「キョウチクトウ科 *Leuconotis griffithii* より単離した新規アルカロイドの構造」日本生薬学会第 62 回年会、2015 年 9 月 11 ~ 12 日 (岐阜)
3. 飯塚菜々子、Chin Piow Wong、金田利夫、森田博史 (星薬大)「Ceramicine B の脂肪細胞分化に対する抑制作用」日本生薬学会第 62 回年会、2015 年 9 月 11 ~ 12 日 (岐阜)
4. 橋本朱世, 川口拓也, 中川茉莉, Alfarius Eko Nugroho, Chin Piow Wong, 平澤祐介, 金田利夫, 森田博史, A. Hamid A. Hadi (星薬大、マラヤ大・理)「センダン科 *Chisocheton ceramicus* から単離した ceramicine 類の構造研究」日本生薬学会第 62 回年会、2015 年 9 月 11 ~ 12 日 (岐阜)
5. 飯島千絵、Chin Piow Wong、外園弥生、Alfarius Eko Nugroho、平澤祐介、金田利夫、A. Hamid A. Hadi、森田博史 (星薬大、²マラヤ大・理)「Ceramicine B のメラニン産生抑制作用」日本生薬学会第 62 回年会、2015 年 9 月 11 ~ 12 日 (岐阜)
6. Chin Piow Wong, 金田利夫, A. Hamid A. Hadi, 森田博史「Anti-Adipogenesis Activity of Ceramicine B」日本生薬学会第 61 回年会、2014 年 9 月 13 ~ 14 日 (福岡)
7. Alfarius Eko Nugroho, 馬上未帆, 金田利夫, 森田博史, A. Hamid A. Hadi「Indole Alkaloids from *Tabernaemontana corymbosa*」日本生薬学会第 61 回年会、2014 年 9 月 13 ~ 14 日 (福岡)
8. 橋本朱世, 川口拓也, Alfarius Eko Nugroho, Chin Piow Wong, 平澤祐介, 金田利夫, 森田博史, A. Hamid A. Hadi「センダン科 *Chisocheton ceramicus* の成分研究」日本生薬学会第 61 回年会、2014 年 9 月 13 ~ 14 日 (福岡)
9. 飯島千絵, Chin Piow Wong, 外園弥生, Alfarius Eko Nugroho, 平澤祐介, 金田利夫, A. Hamid A. Hadi, 森田博史「Ceramicine B のメラニン産生抑制作用に関する研究」日本生薬学会第 61 回年会、2014 年 9 月 13 ~ 14 日 (福岡)
10. Chin Piow Wong, Jun Deguchi, Alfarius Eko Nugroho, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, A. Hamid A. Hadi, Hiroshi Morita「Structures and Anti-Lipid Droplets Accumulation Activity of Ceramicines from *Chisocheton ceramicus*」第 55 回天然有機化合物討論会、2013 年 9 月 18 日 ~ 9 月 20 日 (京都)
11. 出口潤, 佐々木忠裕, 平澤祐介, 金田利夫, 森田博史「マメ科 *Cassia siamea* より単離した新規 anhydrobarakol 誘導体の構造研究」日本生薬学会第 60 回年会、2013 年 9

- 月7～8日(札幌)
12. 後藤沙織, Alfarius Eko Nugroho¹, 山本ゆかり, 奥田真歩, Wong Chin Piow, 平澤祐介, 金田利夫, 森田博史, A. Hamid. A. Hadi, 代田修「センダン科 *Walsura chrysogyne* より単離した新規テルペノイドの構造研究」日本生薬学会第60回年会、2013年9月7～8日(札幌)
 13. 馬上未帆, Alfarius Eko Nugroho, 田村典子, 佐々木忠裕, 平澤祐介, 金田利夫, 森田博史, A. Hamid. A. Hadi 「キョウチクトウ科 *Tabernaemontana corymbosa* のアルカロイドと血管弛緩作用に関する研究」日本生薬学会第60回年会、2013年9月7～8日(札幌)
 14. 菅谷陸統, Chin Piow Wong, 金田利夫, 森田博史, A. Hamid A. Hadi 「*Chisocheton ceramicus* より単離したceramicine Bの脂肪細胞分化に対する抑制作用」日本生薬学会第60回年会、2013年9月7～8日(札幌)
 15. 飯島千絵, Chin Piow Wong, 外園弥生, Alfarius Eko Nugroho, 平澤祐介, 金田利夫, 森田博史 「センダン科 *Chisocheton ceramicus* より単離したceramicine Bのメラニン産生抑制作用に関する研究」日本生薬学会第60回年会、2013年9月7～8日(札幌)
 16. 平澤 祐介, 新井 寛子, Abdul Rahman, Idha Kusumawati, Noor Cholies Zaini, 代田 修, 森田博史 「キョウチクトウ科 *Voacanga grandifolia* の成分研究」日本生薬学会第60回年会、2013年9月7～8日(札幌)
 17. Chin Piow Wong, 出口潤, Alfarius Eko Nugroho, 平澤祐介, 金田利夫,

森田博史, A. Hamid A. Hadi
「Structure-Activity Relationship of Ceramicines with Anti-Adipogenesis Activity」日本生薬学会第60回年会、2013年9月7～8日(札幌)

〔その他〕
ホームページ
<http://polaris.hoshi.ac.jp/kyoshitsu/shouyaku/shouyaku.html>

6. 研究組織
(1) 研究代表者
森田 博史 (MORITA, Hiroshi)
星薬科大学・薬学部・教授
研究者番号：70220069