

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：32624

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460115

研究課題名(和文) 海産アルカロイドをシーズとした新しいトリパノソーマ症治療薬の開発

研究課題名(英文) Development of new antitrypanosomal drugs from marine alkaloids

研究代表者

久保田 高明 (KUBOTA, Takaaki)

昭和薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：60399954

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：海洋生物を素材として、新たな抗トリパノソーマ物質の探索を行い、海綿動物および渦鞭毛藻から12個の新規化合物を単離、構造決定した。また、これまでに研究代表者らが見いだした抗トリパノソーマ物質の構造活性相関を明らかにする目的で、アナログ化合物を含むことが推定された海綿抽出物から、3個のアナログ化合物を含む5個の新規化合物を単離、構造決定した。これらのうち、十分な物質量が得られた化合物について、詳細な抗トリパノソーマ活性の評価を進めている。

研究成果の概要(英文)：The search for new anti-trypanosomal natural products from marine organisms was performed. As a result, seventeen new natural products were isolated from marine sponges and dinoflagellates, and the structures of new compounds were elucidated. Three new compounds were analogs of anti-trypanosomal natural products previously found by us. These compounds were isolated to analyze the structure activity relationships of anti-trypanosomal natural products. The detailed investigation about anti-trypanosomal activity of new compounds were currently in progress.

研究分野：天然物化学

キーワード：海洋生物 生物活性物質 アルカロイド トリパノソーマ

1. 研究開始当初の背景

トリパノソーマ症は「顧みられない熱帯病 (NTD: Neglected Tropical Diseases)」の一つで、寄生性の原虫であるトリパノソーマによって引き起こされる感染症の総称である。主に中南米で見られるシャーガス病と、アフリカで見られるアフリカ睡眠病が代表的な疾患である。シャーガス病は吸血性昆虫サシガメにより *Trypanosoma cruzi* が、アフリカ睡眠病ではツェツェバエにより *Trypanosoma brucei gambiense* または *Trypanosoma brucei rhodesiense* が、それぞれ人に伝播されることにより発症する。中南米においては 2,000 万人以上が *Trypanosoma cruzi* に感染しており、南米の農村地域の一部ではシャーガス病が死因の第 1 位となっている。一方、アフリカ大陸におけるアフリカ睡眠病の患者数は 6,000 万人と推計され、年間の死者数は 3 万人に上る。

いずれのトリパノソーマ症も極めて危険な原虫感染症であるが、現在用いられている治療薬は、いずれも高い毒性や重篤な副作用を有し、有効なワクチンも開発されていない。また今後、輸血による感染や地球温暖化の影響により、トリパノソーマ症は世界的な脅威になることが危惧されるため、安全で有効なトリパノソーマ症治療薬の開発が強く望まれており、WHO や DNDi (Drugs for Neglected Diseases initiative) も新しいトリパノソーマ症治療薬の開発に力を入れている。

2. 研究の目的

抗トリパノソーマ活性を有する新たな化合物の探索は行われているが、多くの場合は陸生の植物を素材としており、海洋生物を素材とした研究は立ち後れている。しかし、研究代表者らが沖縄産海綿より単離した新規マンザミンアルカロイドのザマミジン C は、アフリカ睡眠病の治療薬であるスラミンの 5 倍、エフロールニチンの 10 倍の抗トリパノソーマ活性を示し、これらの薬剤と同等の Selectivity Index 値を示した。

本研究では、トリパノソーマ症治療薬の素材としてあまり注目されていない海洋生物に焦点をあて、新しい抗トリパノソーマ物質を見だし、これを利用してトリパノソーマ原虫に特異的に作用する毒性の少ない新しいタイプのトリパノソーマ症治療薬の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) 海洋生物からの新たな抗トリパノソーマ物質の探索

海洋天然物ライブラリーを拡張するために、海洋生物 (海綿、ホヤ、渦鞭毛藻、真菌類、細菌類など) の採集を行う。

採取した微生物 (渦鞭毛藻、真菌類、細菌類など) については、藻体や菌株の分離、培養を行う。

新たに採取した海洋生物の抽出物から、

各種分離用担体を用いたカラムクロマトグラフィーを用いて化合物を単離する。

NMR、MS 等を中心とした分光学的手法により、単離した化合物の構造解析を行い、立体化学を含めて構造を明らかにする。

立体化学解析において必要な場合には分解反応を行い、分解生成物の光学活性体を合成し、天然物と比較することにより絶対立体配置を特定する。また、化合物の結晶化に成功した場合は、X 線結晶解析を行う。

連携研究者との研究結果から、マラリア原虫および真菌や細菌類に対して生育阻害活性を示す化学物質と、抗トリパノソーマ物質との間には、構造の相関性があることが分かっているため、得られた化合物について、少量の化合物量で活性評価が行える抗菌活性試験を 1 次スクリーニングとして行う。

十分な物質量が得られた化合物について、抗トリパノソーマ活性および抗マラリア活性を評価する。

(2) 抗トリパノソーマ物質の構造活性相関の解析

既に海綿より見いだしている抗トリパノソーマ物質 (ザマミジン類、チロケラジン類、アゲラシジン類) を含むことが推定される *Amphimedon* 属、Verongidae 目、Spongiidae 科の海綿抽出物から、関連化合物 (天然アナログ) を単離する。

(1) と同様の方法により立体化学を含めて構造を明らかにする。

十分な物質量が得られた化合物について、抗トリパノソーマ活性を評価し、構造活性相関を解析する。

4. 研究成果

(1) 海洋生物を素材として、新たな抗トリパノソーマ物質の探索を行い、以下の研究成果を得た。

Spongiidae 科の海綿から、抗菌活性を示す新規メロテルペンのナキジキノン S、ナキジノール C を単離、構造決定した。

Spongiidae 科の海綿から、抗菌活性を示す新規アセチレン脂肪酸誘導体のタウロスボンジン B および C を単離、構造決定した。

Amphidinium 属の渦鞭毛藻から、鎖状ポリケチドの amphidin A を単離し、絶対立体配置を分光学的手法、合成化学的手法、計算化学的手法により明らかにした。

Amphidinium 属の渦鞭毛藻から、抗菌活性を示す新規鎖状ポリケチド配糖体のアンフィジン D および F を単離、構造決定した。

Amphidinium 属の渦鞭毛藻から、抗菌活性を示す新規鎖状ポリケチドのアンフィジン C、E、および G を単離、構造決定した。

Hyrtilos 属の海綿から、抗菌活性を示す新規アゼピノインドールアルカロイドのヒルチナジン B および C を単離、構造決定した。

Stylissa 属の海綿から、新規環状ペプチドのスティリサミド I を単離、構造決定した。

これらの成果により得られた 12 個の新規化合物について抗菌活性を評価した結果、10 個の化合物に抗菌活性が認められた。現在、十分な物質量が得られた化合物について、抗トリパノソーマ活性および抗マラリア活性の評価を進めている。

(2) ザマミジン類、チロケラジン類、アゲラシジン類を含むことが推定される *Amphimedon* 属、Verongidae 目、*Agelas* 属の海綿抽出物について、関連化合物（天然アナログ）の探索を行った結果、以下の研究成果を得た。

Agelas 属の海綿から、新規プロモピロールアルカロイドのナゲラミド I、2,2'-ジデブロンナゲラミド B を単離、構造決定した。

Verongidae 目の海綿から、抗菌活性を示す新規プロモチロシンアルカロイドのチロケラジン G および H を単離、構造決定した。

Amphimedon 属の海綿から、新規マンザミンアルカロイドのザマミジン D を単離、構造決定した。

これらのうち および の成果により得られた化合物は、それぞれチロケラジン類、ザマミジン類の関連化合物であったが、 の成果により得られた化合物については、物質量の問題から抗トリパノソーマ活性の評価が困難であった。 の成果により得られた化合物については、抗トリパノソーマ活性および抗マラリア活性の評価を進めている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

Kubota, T.; Nakamura, K.; Sakai, K.; Fromont, J.; Gonoi, T.; Kobayashi, J. "Hyrtinadines B and C, new azepino-indole-type alkaloids from Okinawan sponge *Hyrtios* sp." *Chem. Pharm. Bull.* in press (査読有)

Kubota, T.; Watase, S.; Sakai, K.; Fromont, J.; Gonoi, T.; Kobayashi, J. "Tyrokeradines G and H, new bromotyrosine alkaloids from Okinawan Verongid sponge" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, 25, 5221-5223. DOI: 10.1016/j.bmcl.2015.09.061 (査読有)

Kubota, T.; Iwai, T.; Ishiyama, H.; Sakai, K.; Gonoi, T.; Kobayashi, J. "Amphidin G, a putative biosynthetic precursor of amphidin A from marine dinoflagellate *Amphidinium* sp." *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 990-993. DOI: 10.1016/j.tetlet.2015.01.058 (査読有)

Kubota, T.; Iwai, T.; Sakai, K.; Gonoi, T.; Kobayashi, J. "Amphidinins C-F, amphidinolide Q analogs from marine dinoflagellate *Amphidinium* sp." *Org. Lett.* **2014**, 16, 5624-5627. DOI: 10.1021/ol502685z (査読有)

Iwai, T.; Kubota, T.; Kobayashi, J. "Absolute configuration of amphidin A" *J. Nat. Prod.* **2014**, 77, 1541-1544. DOI: 10.1021/np5003065 (査読有)

Kubota, T.; Suzuki, H.; Takahashi- Nakaguchi, A.; Fromont, J.; Gonoi, T.; Kobayashi, J. "Taurospongins B and C, new acetylenic fatty acid derivatives possessing a taurine amide residue from a marine sponge of the family Spongiidae" *RSC Advances* **2014**, 4, 11073-11079. DOI: 10.1039/C3RA47796G (査読有)

Iwai, T.; Kubota, T.; Fromont, J.; Kobayashi, J. "Nagelamide I and 2,2'-didebromonagelamide B, new dimeric bromopyrrole-imidazole alkaloids from a marine sponge *Agelas* sp." *Chem. Pharm. Bull.* **2014**, 62, 213-216. DOI: 9.1248/cpb.c13-00821 (査読有)

Suzuki, H.; Kubota, T.; Takahashi- Nakaguchi, A.; Fromont, J.; Gonoi, T.; Kobayashi, J. "Nakijiquinone S and nakijinol C, new meroterpenoids from a marine sponge of the family Spongiidae" *Chem. Pharm. Bull.* **2014**, 62, 209-212. DOI: 10.1248/cpb.c13-00810 (査読有)

〔学会発表〕(計 8 件)

久保田高明 (久保田高明), 沖縄産 Verongida 目海綿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 日, 長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)

久保田高明 (久保田高明), 渦鞭毛藻ポリケチドのケミカルバイオロジー, 日本薬学会第 17 回マリンバイオテクノロジー学会大会, 2015 年 5 月 31 日, 東京海洋大学品川キャンパス (東京都港区)

久保田高明 (久保田高明), 沖縄産 Spongiidae 科海綿由来の新規メロテルペノイド Nakijiquinone S および Nakijinol C の構造, 日本薬学会第 135 年会, 2015 年 3 月 27 日, デザインクリエイティブセンター (兵庫県神戸市)

久保田高明 (久保田高明), 沖縄産 Spongiidae 科海綿より単離した新規アセチレン脂肪酸誘導体 taurospongins B および C の構造, 第 20 回天然薬物の開発と応用シンポジウム, 2014 年 11 月 6 日, 東京大学弥生講堂 (東京都文京区)

久保田高明 (久保田高明), *Amphidinium* 属渦鞭毛藻より単離した新規ポリケチドの構造, 第 56 回天然有機化合物討論会, 2014 年 10 月 15 日, 高知県立県民文化ホール (高知県高知市)

久保田高明 (久保田高明), 沖縄産 *Agelas* 属海綿由来の新規二量体型プロモピロールアルカロイドの構造, 日本生薬学会第 61 回年会, 2014 年 9 月 13 日, 福岡大学薬学部(福岡県福岡市)

久保田高明 (久保田高明), 沖縄産 *Amphimedon* 属海綿由来の新規マンザミン関連アルカロイド *Zamamiphidin A* の構造, 日本生薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月 29 日, 熊本市総合体育館 (熊本県熊本市)

久保田高明 (久保田高明), 沖縄産 *Plakortis* 属海綿由来の新規ポリケタイド *Manzamenone L-N* の構造, 日本生薬学会第 60 回年会, 2014 年 9 月 7 日, 北海道医療大学(北海道当別市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.shoyaku.ac.jp/labosite/tennen/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久保田 高明 (KUBOTA, Takaaki)
昭和薬科大学・薬学部・教授
研究者番号 : 60399954

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

小林 淳一 (KOBAYASHI, Jun'ichi)
北海道大学・名誉教授
北海道大学・大学院薬学研究院・招聘教員

研究者番号 : 90221241

片倉 賢 (KATAKURA, Ken)
北海道大学・大学院獣医学研究科・教授
研究者番号 : 10130155

五ノ井 透 (GONOI, Tohru)
千葉大学・真菌医学研究センター・教授
研究者番号 : 30134365