

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05811

研究課題名(和文) インドネシア産自生植物および伝承薬の化学的保存

研究課題名(英文) Phytochemistry study of Indonesian authigenic and traditional medicinal plants

研究代表者

後藤 享子 (Nakagawa-Goto, Kyoko)

金沢大学・薬学系・准教授

研究者番号：50180245

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：豊富な固有種が急速に失われつつあるインドネシア産植物に着目した植物化学的調査を行った。伝統的に使用されている薬用植物や未解析植物の調査をスラウェシ島で行い、新種と思われるフトモモ科植物を含め約50種を採取した。各エキスについて有望ながん細胞増殖阻害活性を示した5種について、各種カラムクロマトグラフィーによる分画を行い、新規骨格を有する複数の化合物を含め約80種の天然物を単離精製・構造決定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物多様性に富むメガダイバース国であるインドネシアは固有種の宝庫であるが、創薬研究に附されたインドネシア自生植物は全体の僅か1%だと言われている。貴重な植物資源が急速に失われていく現状で、未解析の植物を化学的に精査し、天然物として化学的に保存した。本研究で得られた成果は、植物化学的な知見の充足と共に、がんや新型感染症等に対する将来の創薬研究に寄与する構造多様性化合物ライブラリーの拡充につながる。

研究成果の概要(英文)：About 50 kinds of Indonesian plants were collected in Sulawesi Island, Indonesia. Five of them were selected based on their antiproliferative activity against human cancer cell lines. Isolation and the structure elucidations revealed approximately 80 of natural products including several novel ones with unique skeletons.

研究分野：天然物医薬品化学

キーワード：インドネシア植物 二次代謝産物

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

## 1. 研究開始当初の背景

植物は医薬品の起源でもあり、パクリタキセル、ビンクリスチン、エトポシドなどに代表される抗がん剤に限れば約60%が天然物に由来する。2010年に米国FDAが新しく認可した医薬品の約50%は天然物由来のものであり、その約25%がインドネシアを含む熱帯雨林に生息する生物由来天然物から開発されたものである。二次代謝産物としての天然物は宿主特有の酵素反応によって生成されるため、生物多様性に依存した構造多様性を示す。酵素に対して親和性を有する天然物の構造多様性は、種を超えたヒトに対しては多彩な生理作用を示す。従って、有用な薬理活性を示す天然物を見出すことにより、疾病治療や健康増進に寄与することが可能となる。さらに、ライブラリーに保存された化合物の構造多様性の充足は、今後の創薬研究発展に不可欠であると考えられる。

熱帯雨林地帯に位置するインドネシアは、生物多様性が豊かな「メガダイバースカントリー」の一つとして知られており、約38,000種ある植物の内18,700種が固有種だと考えられている。特に発展途上のインドネシアでは、飛躍的な経済改革と民主化が森林破壊を誘発し、貴重な植物資源が急速に失われている。驚くことに、インドネシアの植物のうち創薬研究に附されたものは全体の僅か1%だと言われている。従って、植物種の多様性と固有種が豊富なインドネシア産植物の二次代謝産物の探索は、新規骨格あるいは新規な医薬品候補と成り得るリード化合物の発見を目指す上で、天然資源の枯渇が起こる前に早急に進めるべき課題である。

申請者は天然物を基盤として、新規抗がん剤候補ならびに抗ウイルス薬の創薬研究を行っている。インドネシアに限定した伝承薬用植物及び地域限定種を対象とし、植生調査を行うと共に、抗がんあるいは抗ウイルス作用に着目した新規生理活性天然物の発見と化学的保存は、植物化学的にも重要な知見を残すと共に、化合物ライブラリーの構造多様性の充足が求められている創薬研究にも多大なる貢献をすると考えた。

## 2. 研究の目的

環境変動によりもたらされる植物多様性の消失は、新規生理活性天然物を利用した新薬開発の可能性を大きく損なう。失われゆく植物多様性と固有種が持つ潜在的な可能性を、植物種の二次代謝産物（天然物）として化学的に保存し、次世代の新薬開発に供することを目的とする。本課題では事前調査により新規生理活性天然物同定の可能性が高く、豊富な固有種が急速に失われつつあるインドネシア産植物に着目した。天然物は、がん細胞増殖阻害作用並びに抗ウイルス作用さらには新規構造を指標に単離精製・保存し、創薬化学的に発展させてゆくことをも目指した。本研究課題では、1) 活性新規性が認められた植物の植生調査と十分量の確保、2) インドネシアで伝統的に使用されている薬用植物や未解析植物の調査と採取、および、3) それら伝承薬用植物の利用法として着目されていなかった抗がん或いは抗ウイルス活性を持つ天然物の単離精製・構造決定とそれらの化学的保存を通して、新薬候補の発見・開発へと繋げる事を目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) インドネシアにて伝承薬用植物および未調査植物の調査・採取と粗抽出液の作成

インドネシア、スラウェシ島マカッサルを拠点とし、南、西スラウェシの植物を調査、採取した。採取の際にはできるだけ根・茎・葉・花等の部位毎に行い、活性評価により生理活性天然物の存在部位特定にも繋げる。採集した植物は現地にて乾燥保存し、可能な限り MeOH、水それぞれの抽出エキスを濃縮して持ち帰った。

### (2) 活性エキスからの生理活性天然物の単離・構造決定

申請者が既に入手済みの40種類程のインドネシア産植物エキスの内、9種の伝承薬用植物エキスが、がん細胞に対して顕著な細胞増殖阻害活性を示した。従ってこれらの生理活性天然物の単離・構造決定を先行して行った。本課題中に得られた植物エキスにつ

いても順次生理活性評価を行い、有望な活性が認められたものから単離精製に着手した。単離した天然物は、各種 NMR、HRMS 等の分析を駆使し、必要であれば計算化学も導入し、絶対立体構造を含めてその構造を決定した。

### (3) 抗がん・抗ウイルスを対象とした生物活性試験

粗抽出液では、濃度 0.02 mg/mL において 5 種のヒトがん細胞に対して 100%増殖を阻害したもの、あるいは 50%ウイルス増殖阻害濃度 (EC<sub>50</sub>) が 0.02 mg/mL 以下の抗 HIV 活性を示したのから優先的に単離を進める。単離途中のフラクション、単離精製された天然物についてもすべて、ヒトがん細胞増殖阻害活性試験に付した。細胞毒性を示さなかった化合物のうち、過去のデータより抗ウイルス活性を有する可能性があると考えられる構造を有する化合物については、HIV に対する活性を評価した。

### (4) リード化合物の全合成と化学修飾によるリードの最適化ならびに構造活性相関研究

創薬シードと成り得る活性本体を発見した際には、全合成を開始する。その工程は出来るだけ簡便でありその後の化学修飾が容易になるような反応系を選択した。リード化合物の最適化を目指した化学修飾は、創薬化学の知見に基づいたアプローチにより行い、結果を構造活性相関研究としてまとめる。

## 4. 研究成果

本研究課題では、既知および新規を含み約 80 種類の天然物を単離精製・構造決定し化学的に保存することができた。これら全ての天然物に関して、5 種のヒトがん細胞に対する細胞増殖阻害活性を評価した。

2 度のインドネシア訪問では、南ならび西スラウェシ島の森林から約 50 種の伝承薬用植物ならびに地域限定植物を採取した。これらのうち新種と推測される植物もあり、植物分類学の専門家による同定・鑑定が進行中である。全てのエキスの生理活性を評価したところ、濃度 20 µg/mL において 5 種のヒトがん細胞 (多剤耐性がん細胞を含む) 全てに強力な増殖抑制効果を示すもの、難治性トリプルネガティブ乳がん選択的に強力な増殖抑制効果を示すもの、EC<sub>50</sub> が 20 µg/mL 以下の抗ウイルス活性を示すものが数種含まれていた。それらの植物エキスについては、順次単離精製を開始し複数の興味深い新規化合物を得ており、その成果の一部を近日中に発表する予定である。

本課題開始時に既に入手済みであったインドネシア産植物エキスの内、アオイ科 *Kleinhovia hospita* ならびに *Melochia umbellata* からは、ラクタム環や  $\alpha$ -シクロプロパン環を持つ珍しいシクロアルタン類や oxabicyclo[3.2.1]octane が付加した 3,4-methylenedioxyquinoline 骨格を有するユニークなアルカロイド 5 種の単離精製に成功した。同時に得られた類似既知化合物と共にがん細胞増殖抑制効果、抗 HIV 活性等を評価し、構造活性相関も明らかにした。シクロアルタン類については、その成果を ACS 発行の Journal of Natural Products に掲載済みである (*J Nat Prod*, 2018, 81, 1619)。後者のキノリンアルカロイドについても同誌に投稿中であり、化合物の全合成にも既に取り掛かっている。また、ミカン科の *Lunasia amara* からは、2 種の新規フラノキノリンとともに 22 の類似既知キノリンを単離し、生合成経路の考察を含めた研究成果を国際学術誌 Tetrahedron Letters に掲載した (*Tetrahedron Lett.* 2020, 61, 151861)。

固有種の宝庫として知られているインドネシアでは、貴重な植物資源が急速に失われている。伝承薬用植物の数に関してはアマゾンに次いで多い国であるが、創薬化学的な研究が行われたのは全体の約 1%に過ぎないと言われている。本研究課題では、それら未解析の植物を化学的に精査し、天然物として化学的に保存することに成功した。本研究で得られた成果は、植物化学的な知見の充足と共に、がんや新型感染症等に対する将来の創薬研究に寄与する構造多様性化合物ライブラリーの拡充に繋がる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Rahim A, Saito Y, Miyake K, Goto M, Chen CH, Alam G, Morris-Natchke S, Lee KH, Nakagawa-Goto K	4. 巻 81
2. 論文標題 Kleinhospitine E and cycloartane triterpenoids from <i>Kleinhovia hospita</i> L	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 1619-1627
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.8b00211	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamashita M, Saito Y, Rahim A, Fukuyoshi S, Miyake K, Goto M, Nakagawa-Goto K	4. 巻 61
2. 論文標題 Novel Furoquinolinones from an Indonesian Plant, <i>Lunasia amara</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 151861
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2020.151861	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Abdul Rahim, Yohei Saito, Masuo Goto, Kyoko Nakagawa-Goto
2. 発表標題 Kleinhospitine E and New Cycloartane Triterpenoids from <i>Kleinhovia hospita</i> Linn.
3. 学会等名 日本生薬学会第64回年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Abdul Rahim, Yohei Saito, Gemini Alam, Masuo Goto, Kyoko Nakagawa-Goto
2. 発表標題 Quinoline Alkaloids from <i>Melochia umbellata</i> (Houtt.) Stapf. var. <i>degrabrata</i>
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 後藤 享子
2. 発表標題 薬用生体活性天然物の単離精製・合成・メディシナルケミストリーへの展開
3. 学会等名 日本薬学会第140年会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

（招待講演） 後藤 享子、Drug discovery and development based on natural products, Special Seminar in Hasanuddin University, Indonesia、2017年
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	三宅 克典  (Miyake Katsunori)  (20597687)	東京薬科大学・薬学部・講師    (32659)	
研究分担者	斎藤 洋平  (Saito Yohei)  (90723825)	金沢大学・先進予防医学研究センター・助教    (13301)	
研究協力者	後藤 益生  (Goto Masuo)	ノースカロライナ大学・School of Pharmacy・Research Assistant Professor	