

令和元年6月21日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08309

研究課題名(和文) 特異な環骨格を有するリモノイドを基盤とした医薬シードの開発と機能解明

研究課題名(英文) Research on seeds from unique ring skeletal limonoids for drug discovery

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)：創薬シードの探索を目的として、リモノイド分子に新たな創薬素材分子としての可能性を見出す。新たに見出したCer-Bによるメラニン産生抑制は、tyrosinase、およびその関連タンパク質の発現を抑制することに起因した。一方、脂肪細胞分化抑制は、PPARの発現抑制に関与するインスリンシグナル経路が影響することを見出した。また、*C. ceramicus*より、新規リモノイドを単離し、各種の誘導体を合成し構造活性相関を解析した。さらに、*Walsura chrysogyne*、*Chukrasia velutina*などのセンダン科植物より、新規成分を単離し、構造を解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでリモノイド類の作用として着目されてこなかったメラニン産生抑制作用および脂肪滴蓄積抑制作用の作用機序を解明する。これらの作用機序を解明することにより、特にceramicine類の活性の本質を解明する。また、*Chisocheton ceramicus*に主成分として含有されるceramicine Bを利用して、構造変換を行うことにより、新たな創薬素材分子を設計する。さらに、熱帯未利用植物抽出エキスをスクリーニングすることで、特異的な環骨格を有するリモノイドの探索を行い天然物特有の多様性に富んだ新規創薬シードを見出す。

研究成果の概要(英文)：During our search for bioactive limonoids from medicinal plants, we have isolated ceramicines, which are a series of limonoids from the bark of *Chisocheton ceramicus* (Meliaceae). Ceramicine B has shown a strong lipid droplets accumulation (LDA) inhibitory activity and also anti-melanin deposition activity.

With the purpose of discovering compounds with stronger activity than ceramicine B, we further investigated the constituents of *C. ceramicus*. As a result, several new ceramicines were isolated, and their structures were determined on the basis of spectroscopic analyses. We also investigated the effect of the substituent by synthesizing several derivatives and evaluating their LDA inhibitory activity. Furthermore, some new limonoids from *Walsura chrysogyne* and *Chukrasia velutina*, were isolated and their structures were elucidated.

研究分野：天然物化学

キーワード：リモノイド ceramicine B 脂肪滴蓄積抑制作用 メラニン産生抑制作用

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

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。実際、新薬の70%は天然物由来の化合物である事実を考慮すると、未利用天然資源の探索研究は重要なステップと考えられる。当研究室では、以前より、多様な植物資源を利用するためには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、多様な植物資源を利用することで、新しい環骨格を有する多環性骨格を有する機能性分子を見出してきた。例えば、各種のスクリーニングにおいてセンダン科 *Chisocheton ceramicus* に含有されるリモノイド ceramicine 類や *Walsura chrysogyne* より、特異な Walsogyne 類、*Sandoricum koetjape* より、ユニークな sanjecumin 類を見出してきた。最近、特に ceramicine B (Cer-B) が、脂肪細胞分化抑制作用、メラニン産生抑制作用などの複数の異なる生物活性を有することについて明らかにしてきた。従来、センダン科に多く含有されるリモノイド類には、細胞毒性作用、昆虫摂食阻害作用などが知られてきた。

2. 研究の目的

申請者は、創薬シードの探索を目的として、種々のセンダン科植物より特異な環骨格を有する新規リモノイドを発見し、脂肪細胞の分化を抑制すると共に強いメラニン産生抑制作用を見出してきた。これらの異なる生物活性を同一のリモノイドが有するという特異な性質に興味を持った。本研究申請は、それらの生物活性の機序を詳細に解明し、新しい機能分子を開発することにより、リモノイド分子に新たな創薬素材分子としての可能性を見出すことを目的とするものである。さらに、これらの分子を用いて新しい機能性を有する多環性リモノイドを設計すると同時に、大量に保有する植物抽出ライブラリーを用いて、新しい創薬シードの創製を目指すものである。

3. 研究の方法

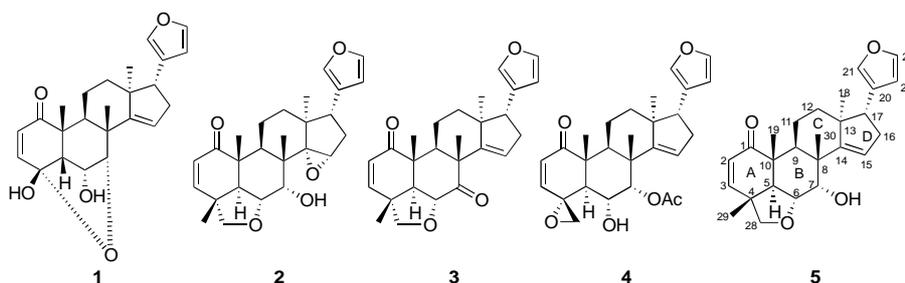
本申請研究では、Cer-B のメラニン産生抑制作用および脂肪滴蓄積抑制作用の機序を解明することである。メラニン産生抑制に関しては、TYR タンパクの分解に至る機序の解明を検討する。脂肪蓄積抑制作用については、脂肪細胞分化に関する遺伝子発現、タンパク発現、そして転写活性化能について調べる。特に、PPAR の発現に関与するインスリンシグナル経路の解析を行い両生物活性に関して共通する因子の解明を目指す。

現在までの検討の結果、Ceramicine 類の A 環、B 環の 4, 5, 6, 7 位近傍の立体配置を含む立体的要因と静電的要因とが、脂肪滴蓄積生成抑制作用に大きく影響することが推定された。この点を踏まえて、以下の2点に着目した構造変換を行う。6位、7位置換基の立体配置の影響、水酸基の立体配置の反転を行い、さらにそれぞれの水酸基をエステル、エーテル誘導体へと変換する。6位、7位の立体効果について解析する。B環のピナコール型環縮小転移反応による誘導体の影響、すなわち、Cer-B よりセミピナコール型環縮小転移反応により、新たに B 環が5員環となる新しい環骨格の誘導体が生成されることを見出した。この反応を応用し、種々の誘導体を合成し、それらの活性評価を行う。さらに、本研究室が所有する植物エキス/天然化合物ライブラリーを利用し、さらに特異性および抑制活性の高いリモノイド類をスクリーニングする。ここで発見されたりリモノイド類の脂肪滴蓄積抑制作用の有無を試験する。

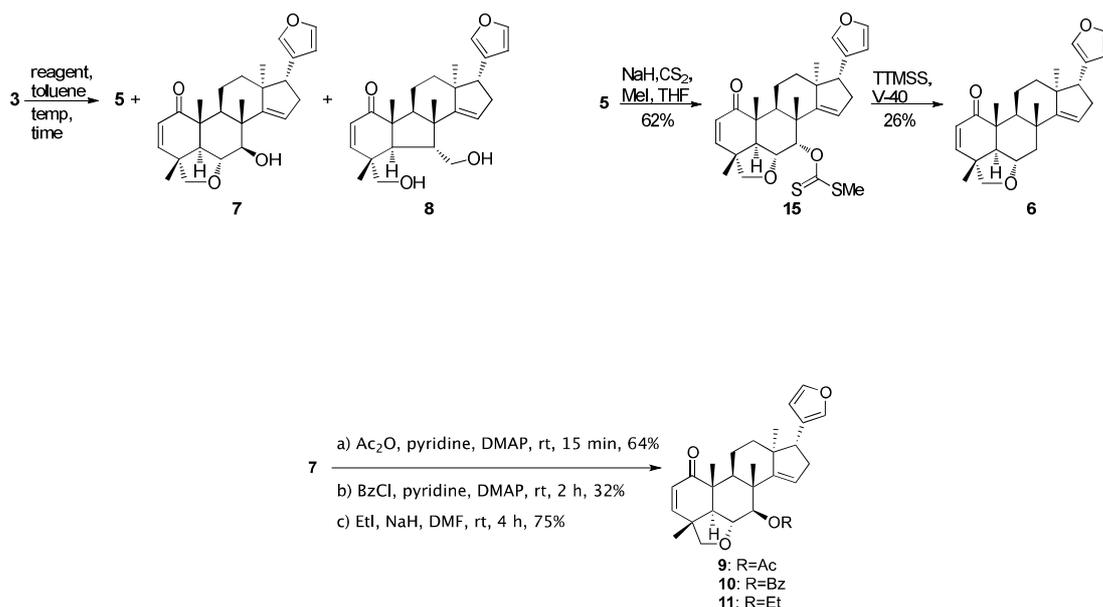
4. 研究成果

(1) 新たに見出した Cer-B によるメラニン産生抑制は、Cer-B がメラニン産生における律速酵素として知られる tyrosinase (TYR) およびその関連タンパク質 (TYR1, TYR2) の発現を抑制することに起因した。一方、脂肪細胞分化抑制は、PPAR の発現抑制に関与するインスリンシグナル経路が影響することを見出した。

(2) マレーシアにて採取した *C. ceramicus* の樹皮をメタノール抽出後、水とヘキサン、酢酸エチル、ブタノールで順次液々分配した。つづいて、得られたヘキサン層について各種カラムクロマトグラフィーによる分離、精製を行った結果、新規リモノイド 1-4 を得た。各種2次元 NMR の解析により、1 は 4-7 位にヘミケタールを有し、5 位のプロトンが配置である新規 ceramicine 類と推定した。また、2 は Cer-B の 14, 15 位がエポキシ基であり、3 は Cer-B (5) の 7 位がケトン基であると推定した。さらに、4 は ceramicine L の 4, 29 位にエポキシ基ならびに、7 位にアセトキシ基を有すると推定した。



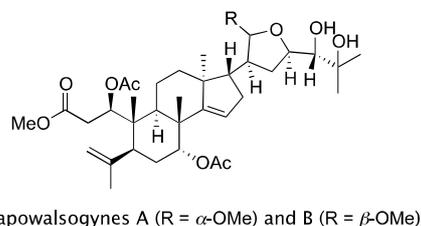
(3) Ceramicine 類の脂肪滴蓄積抑制作用には 1 位のエノン、14 位の二重結合、17 位の 3-フランニル基、4 位から 7 位の置換基が活性に影響するが、今回は 7 位に着目した構造活性相関について検討した。Cer-B の 7 位水酸基の異性体 (7)、デヒドロ体 (6)、エステル体 (9)、エーテル体 (10, 11) など合成した。さらに、Cer-B にセミピナコール転移反応を行うことにより、新しい環縮小骨格を有する化合物 (8) を合成した。



(4) Ceramicine 類の脂肪滴蓄積抑制作用を検討した。化合物 1, 2, 4 は Cer-B と比較して弱い作用であったが、ケトン体 3 は同等の活性を示した。7 位の置換基の影響は大きくないが、7 位の置換基を有する誘導体の活性は減弱した。また、環縮小骨格を有する化合物は、活性を示さなかった。

(5) 新たにマレーシアにて採取した *C. ceramicus* の樹皮をメタノールで抽出し、得られたヘキサン可溶画分を分離・精製し、Cer-B と共に、トリテルペン - セスキテルペン複合体およびビストリテルペン - リモノイド複合体を単離した。

(6) マレーシアにて採取した *Walsura chrysogyne* の樹皮の成分検索を行った結果、2 種の新規 3,4-*seco*-apotirucallane トリテルペノイド Apowalsogynes A and B を単離した。



(7) *Chukrasia velutina* は、南アジアから東南アジアまで分布するセンダン科植物の一種である。ミャンマー産植物エキスライブラリーのスクリーニングを行った。*Chukrasia velutina* 根のメタノール抽出物に脂肪滴蓄積抑制作用が認められたことから、生物活性物質の単離を目的に成分探索し、イソピマラン型ジテルペノイドを単離した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 3 件)

Alfarius Eko Nugroho, Akiyo Hashimoto, Chin-Piow Wong, Hiromasa Yokoe, Masayoshi Tsubuki, Toshio Kaneda, A. Hamid A. Hadi and Hiroshi Morita, Ceramicines M-P from *Chisoche-ton ceramicus*: isolation and structure-activity relationship study *J. Nat. Med.* **2018**, *72*, 64-72. (査読有)

Alfarius Eko Nugroho, Maho Okuda, Yukari Yamamoto, Wong Chin-Piow, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, Osamu Shirota, A. Hamid A. Hadi, and Hiroshi Morita, Apowalsogynes A and B, Two Highly Oxidized 3,4-*Seco*-Apotirucallane Triterpenoids from *Walsura chrysogyne*, *Natural Product communications*, **2017**, *12*(8), 1189-1192. (査読有)

Chie Iijima, Alfarius Eko Nugroho, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, A. Hamid. A. Hadi, and Hiroshi Morita Anti-melanin deposition activity of ceramicines from *Chisoche-ton ceramicus*, *J. Nat. Med.* **2016**, *70*(4), 702-707. (査読有)

〔学会発表〕(計 4 件)

Alfarius Eko Nugroho, 吉川夏生, 岡部真理佳, 小室智之, Chin Piow Wong, 平澤祐介, 金田利夫, A. Hamid A. Hadi, 森田博史 (星薬大, マラヤ大・理) 「センダン科 *Chisoche-ton ceramicus* の成分研究」日本生薬学会第 65 回年会、2018 年 9 月 16 ~ 17 日 (広島)

丹下雅貴, 日下部寿美, Alfarius Eko Nugroho, 平澤祐介, 金田利夫, 松野倫代, 幾井康仁, 森田博史 (星薬大, 高知牧野植物園) 「センダン科 *Chukrasia velutina* の成分探索」日本生薬学会第 65 回年会、2018 年 9 月 16 ~ 17 日 (広島)

吉川夏生, 岡部真理佳, Alfarius Eko Nugroho, 小室智之, Chin Piow Wong, 平澤祐介, 金田利夫, A. Hamid A. Hadi, 森田博史 (星薬大, マラヤ大・理) 「センダン科 *Chisoche-ton ceramicus* の成分研究」日本生薬学会第 64 回年会、2017 年 9 月 9 ~ 10 日 (千葉)

小室智之, Alfarius Eko Nugroho, 橋本朱世, 川口拓也, Chin Piow Wong, 平澤祐介, 金田利夫, A. Hamid A. Hadi, 森田博史 (星薬大, マラヤ大・理) 「センダン科 *Chisoche-ton ceramicus* から単利した ceramicine 類の構造研究」日本生薬学会第 63 回年会、2016 年 9 月 24 ~ 25 日 (富山)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。