

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：35408

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06740

研究課題名(和文) マダガスカルで採集した固有種からの医療用天然物の探索

研究課題名(英文) Search for medicinal natural products from Malagasy endemic plants

研究代表者

大塚 英昭(Otsuka, Hideaki)

安田女子大学・薬学部・教授

研究者番号：00107385

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：大学より経費を支弁された二度のマダガスカル採集旅行で固有の植物を入手できた。一度目はパイロット的採集、二度目は本格的採集を行った。本経費を利用して、成分検索を開始した。トウダイグサ科*Croton jennyanus*より新規クレロダン型ジテルペンを単離した。絶対構造について、現在検討している。トウダイグサ科*Croton radiata*よりフラボノイド1種と2種のエントカウラン型ジテルペンを単離した。*Rhodolaena bakerana*のメタノールエキスに培養がん細胞成長阻害活性を見出し、成分検索を行った結果、2種のフラボノイドを単離した。活性については今後検討する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生理活性を有する天然物の探索はスカルにおける伝統的医療文化を解き明かし、マダガスカルに無数にある未利用、未同定の植物は同国にとって宝で有り、それらを開発して世に送り出すことができると考え、既知化合物に加え、新規化合物が単離できた。更にリード化合物の探索により、アフリカで大きな社会問題となっているAIDSの治療、また医療知識の不行き届きの輸血に起因するC型肝炎、更にがんの治療薬の開発など、それらの現代科学的探究は日本、マダガスカル両国が共同して行う今後の医療面での進展に互恵の環境をうみだすと共に、マダガスカル、日本両国に限ることなくグローバルな展開をもたらすことも期待できる。

研究成果の概要(英文)：Two time expeditions to Madagascar financially supported by Yasuda Women's University enabled to collect Malagasy endemic plants. In the first trip, small amounts of several plants were collected and in the second trip, further amount of some promising plants were collected. From *Croton jennyanus*, Clerodane-type diterpene was isolated together with several phenolic and terpenic compounds. The absolute structure of new diterpene is under investigation. From *Croton radiata*, one flavonoid and two ent-kaurane type diterpenes were isolated. The MeOH extract of *Rhodolaena bakerana*, whose family, Sarcolaenaceae, is also endemic, showed moderate inhibitory activity toward a cultured cancer cell line, A549. Isolation work on this methanolic extract afforded flavonol galactopyranoside bis coumaric acid ester and flavonoid. Further isolation work is still continued and the biological evaluation of isolates was under investigation.

研究分野：天然物化学

キーワード：生理活性天然物 マダガスカル固有種

1. 研究開始当初の背景

マダガスカルは、東 Gondwana 大陸から分離後、現在の位置に到達するまで孤立した島であり続けたことから、固有種が 80% 以上と世界的に最も重要な植物資源を保有する地域の一つである。また、実際に、マダガスカル原産のニチニチソウから抗がん剤ビンカルカロイドが発見されたことは有名である。一方、シーボルトが「日本植物誌」でその多様性を紹介したように、我国も植物資源の世界的な宝庫であり、**Conservation International** によって”生物多様性ホットスポット”にも指定されている。そのため、マダガスカルおよび沖縄の植物から医薬品資源として利用可能性のある植物を見出し詳細に天然物化学的な解析を行うことは重要な課題である。

2. 研究の目的

マダガスカル島は約 3 億年前に Gondwana ランド、インド西岸より切り放たれ、その後悠久の年月をかけて、現在の地図上に位置、モザンビーク東岸に到達したとウェーゲナーは大陸漂移説で説いている。よってそこに展開される動物相、植物相はアフリカのそれではなく、また長い年月が独自の進化をもたらし、インド西岸のマラバル地方のそれでもない。ガラパゴス諸島とともに世界的にみても動植物相的に特異な地域といえる。ただ、ガラパゴス諸島と異なることは、マダガスカルは島嶼ではなく、そこには比較的大きな地域（日本の約 1.7 倍）で草原ではなく植生豊かな地域が展開しており、人が永年自然と共存してそれとの融合してきたことがあげられる。文化的には原住民とアフリカから移住してきた民族と更にはインド洋を渡ってインドネシアより渡来した民族の融合がみられる。このような地域における伝統医療はいわゆるウイッチドクターが長らく患者を治療してきた歴史があり、それが有する知識は神秘でもあり現在の医療に照らし合わせると呪術的で荒唐無稽な面と、なるほどと思える現代医療に照らし合わせても的を得た両面がある。このよおなウイッチドクターが地域外から降って沸いてきたような外国人である我々に容易にそれらの神秘的な知識を開陳することはなく、またそのようなウイッチドクターに面会することも不可能に近い。また、フランス語が公用語ではあるが、このような伝統的医療現場で主として用いられる言語は、土着の言語マダガスカル語である。そこで、マダガスカル人の助教を迎えるにあたってマダガスカル人がマダガスカル人の手で伝統的医療文化を解き明かし、マダガスカルに無数にある未利用、未同定の植物は同国にとって宝で有り、それらを開発して世に送り出すことができると考えた。更にリード化合物の探索により、アフリカで大きな社会問題となっている AIDS の治療、また医療知識の不行き届きの輸血に起因する C 型肝炎、更にがんの治療薬の開発など、それらの現代科学的探究は日本、マダガスカル両国が共同して行う今後の医療面での進展に互惠の環境をうみだすと共に、マダガスカル、日本両国に限ることなくグローバルな展開をもたらすことも期待できる。

3. 研究の方法

マダガスカル産固有植物の入手 すでに 2017 年 2019 年 2 度の調査隊が入手した植物ならびに **Dr. Liva Harinantenaina** に依頼してさらに植物サンプルの入手に努める。種々のカラムクロマトグラフィーによる分離・精製、NMR、MS スペクトルなどの解析による化学構造の決定すでに先行して **Dr. Liva Harinantenaina** との共同研究でマダガスカル産植物から多剤耐性抑制活性、抗酸化活性を示すドリマン型セスキテルペンや新規ジヒドロアガロフラノイド型セスキテルペンを単離した。また、沖縄産植物を対象に十分な研究経験があり、技術的に問題がない。各種クロマトグラフィー、HPLC による精製、NMR、MS などのスペクトルによる化学構造解析、改良 Mosher 法、などの化学的方法により絶対配置を含めて活性本体の化学構造を明らかにする。

ゼブラフィッシュ *in vivo* アッセイ系は 96 well plate でアッセイ可能な whole animal drug screening と呼ばれる方法の一種で培養細胞などと同様に微量成分の解析が必要な天然物化学研究にも適合する。加えて、ヒトと同じ脊椎動物であり、ゲノム配列の相同性も 80% と高く、96 well plate でアッセイできる *in vivo* モデルとして注目されている。

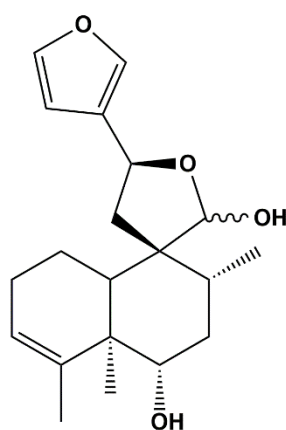
さらに “neglected tropical diseases*” の一つである抗リーシュマニア原虫活性試験などを新たに加え、より多面的に活性を評価し、貴重なサンプルを最大限に利用して研究成果につなげる。

4. 研究成果

葉および小枝を乾燥後メタノールにて抽出した。得られたメタノール抽出エキスをダイヤイオン HP-20、シリカゲルカラムクロマトグラフィーおよび HPLC を用いて分離、精製を行い多くの化合物を単離した。これらの化学構造は各々 NMR などの各種スペクトルデータ解析により決定した。

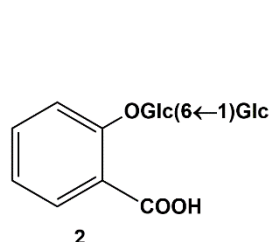
① *Croton jennyanus* の成分研究

本植物は Euphorbiaceae (トウダイグサ科) に属するマダガスカル固有の植物である。

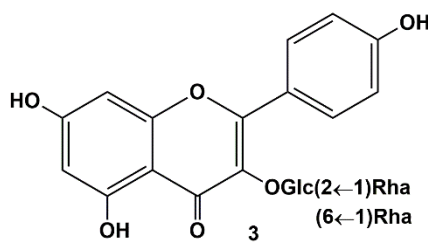


1

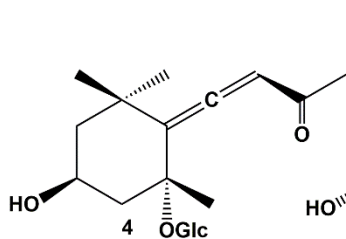
化合物 1 は clerodane 型ジテルペンであり、ヘミアセタール部の混合物としてえ得れたが、文献未記載の化合物である。NMR スペクトルの検討により、水酸基が α 位の異性体が薬 70%、 β のものが 30% であった。相対構造までのけっけいであるが、今後、ヘミアセタールを保護したのち、6 位の水酸基をよりどころに Mosher 変法を用いるか、計算 CD スペクトルと実際の CD スペクトルの比較で、絶対構造の決定を行う予定にしている。今後、2 度目の採集旅行で、さらに多くの材料を入試で来たので、詳細な成分検索を継続する予定である。その他、2 から 6 に示す既知化合物を得ている。



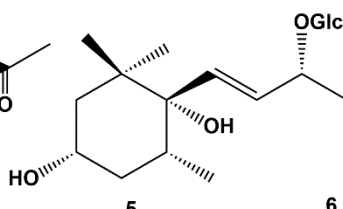
2



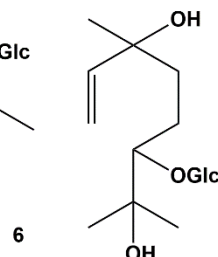
3



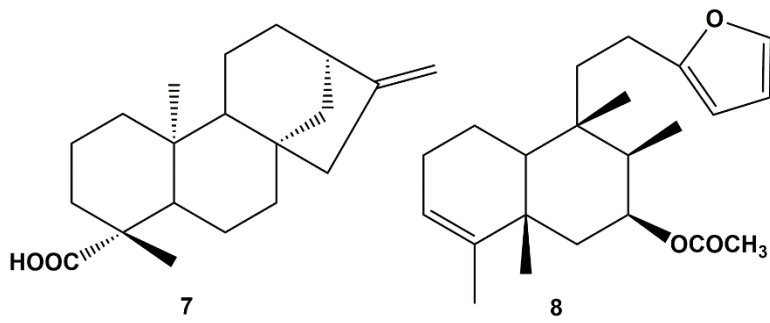
4



5



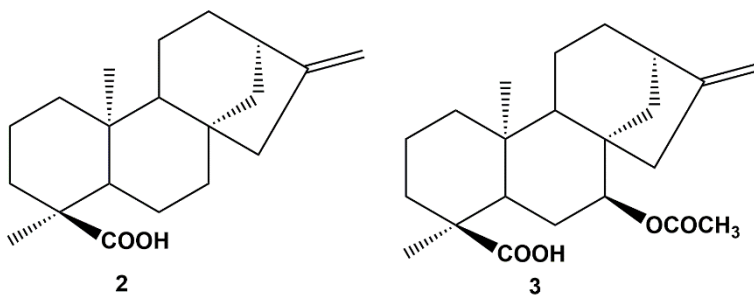
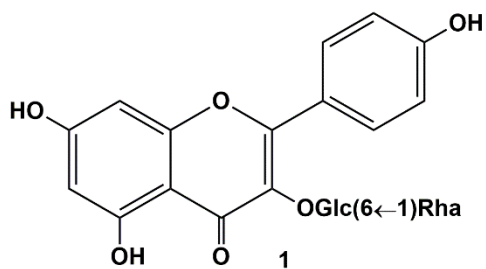
6



さらにえられたジテルペン類は、kaurenoic acid および(+)-hardwikiic acid とどうていした。

② *Croton radiata* の成分研究

本植物は Euphorbiaceae (トウダイグサ科) に属するマダガスカル固有の植物である。



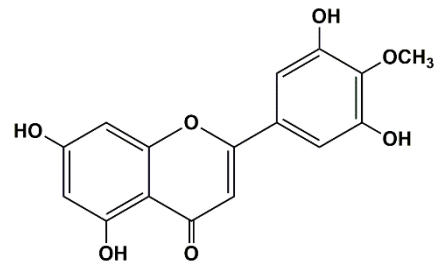
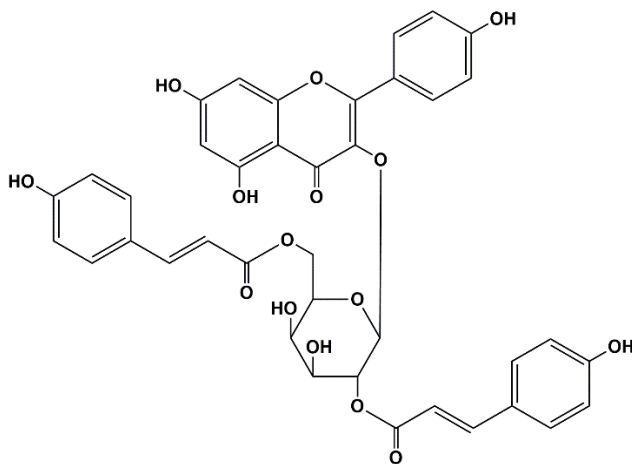
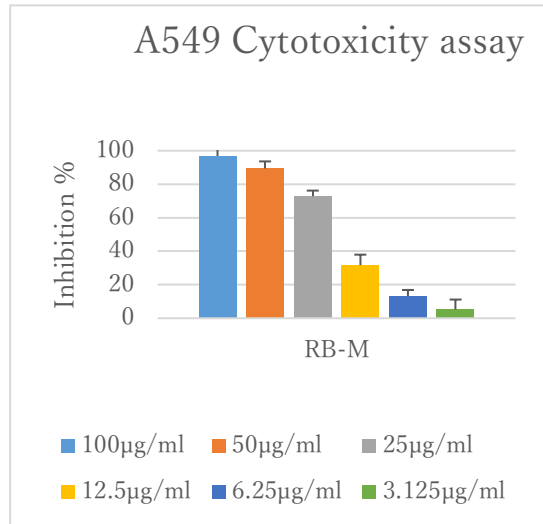
化合物 2、3 はいずれも *ent*-kaurene ジテルペンであり、2 は 4-*epi*-kaurenic acid と 3 は Acetylsventenic acid と同定した。

② *Rhodolaena bakerana* の成分研究

本植物は *Sarcolaenaceae* というマダガスカル固有の科に属する固有の珍しい植物であり、



またそのメタノールエキスにヒト肺癌細胞由来 A549 細胞にする細胞増殖抑制活性が認められたことより含有成分に興味を持たれた。ただ特定の活性成分には到達してない。これまでにフラボノールの配糖体とフラボンを得ている。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川上晋、大里麻衣、田中智紗子、稲垣昌宣、西村基弘、松浪勝義、大塚英昭、Harinantenaina Rokotondraide Liva
2. 発表標題 マダガスカル固有種Croton属植物の成分研究
3. 学会等名 日本薬学会第140年会（京都）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川上 晋、稲垣 昌宣、西村 基弘、松浪 勝義、大塚英昭
2. 発表標題 マダガスカルの固有種Croton jennyanusの成分探索
3. 学会等名 日本薬学会139年会（千葉）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 末田 正太、LIVA Harinantenaina、杉本 幸子、山野 喜、大塚 英昭、RASOLOHERY Claudine Aimee、RAKOTOVAO Marcelle、RANDRIAMAMPIONONA RAZAFINDRAKOTO Heriniaina、RANDRIANARIVO Saholinirina Marie Hortensia、松浪 勝義
2. 発表標題 マダガスカル産植物 Distephanus trinervis 葉部の成分研究
3. 学会等名 日本薬学会第139年会（千葉）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Home page of Hideaki Otsuka
<http://www.hidjun.sakura.ne.jp>

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	松浪 勝義 (Matsunami Katsuyoashi) (70379890)	広島大学・医系科学研究科(薬)・教授 (15401)	
研究分担者	稲垣 昌宣 (Inagaki Masanori) (90274480)	安田女子大学・薬学部・准教授 (35408)	
研究分担者	川上 晋 (Kawakami Susumu) (10611311)	安田女子大学・薬学部・助教 (35408)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
マダガスカル	C N A R P			
米国	Ohio State University			