

令和 2 年 7 月 14 日現在

機関番号：23701

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14934

研究課題名(和文) バイオプロスペクティングを志向した植物由来新規機能性分子の探索基礎研究

研究課題名(英文) Discovery of novel plant-derived functional molecules for bio-prospecting

研究代表者

阿部 尚仁 (Abe, Naohito)

岐阜薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：70725754

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、近年国内では他に例をみないケモタキノミーの基礎研究である。本研究の対象であるカヤツリグサ科植物は、日本国内の植物資源として各地に数多く自生しているにも関わらず、成分研究は数例しか成されていない。また、本科植物は、植物分類学上の分子系統研究でも解明の余地が数多く残る未利用植物資源である。今回、日本各地で採取したカヤツリグサ科植物に含まれる化学成分を詳細に検討し、天然物化学としては稀有な新規化合物の構造を明らかにするとともに、含有化合物を解析することで植物化学分類の基礎的知見を示した。また、生物活性試験の結果から、稀有な構造を有する化合物が特異な生理活性を示すことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

カヤツリグサ科植物群は約0.2%しか研究対象になっていない未利用資源である。本科植物の化学多様性を明らかにすることは、今後の生物活性試験への応用に対する基盤研究となるとともに植物分類学への一助となる。さらに、本科植物の生物活性試験に関する研究は、本科唯一の生薬「香附子」の研究を除くと皆無に等しい。本研究において、カヤツリグサ科植物を化学成分の解明を目的に約15属128種を収集し、鹿児島県種子島において新たに9属32種の本科植物を収集することで、本科植物に含まれる基礎的化学成分が明らかとなったことから、今後さまざまな薬理活性試験に利用され、有用な生理活性を見出すことが期待できる。

研究成果の概要(英文)：This study is the first of its kind in recent years in Japan. The subject of this study, Cyperaceae, is a plant resource that grows wild in many parts of Japan. In spite of their existence, only a few cases of component studies have been completed. In addition, this family of plants is an underutilized plant resource that has a lot of scope for molecular phylogenetic studies in plant taxonomy. In this study, the chemical constituents of the Cyperaceae plants collected from various parts of Japan were studied in detail to identify the rare and novel The structure of the compounds and the analysis of the contained compounds provided basic insights into phytochemical classification. From the results of bioactivity tests, it was found that compounds with rare structures have specific bioactivity.

研究分野：天然物化学

キーワード：バイオプロスペクティング 天然物化学 カヤツリグサ科植物 化学多様性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 2014年10月12日に名古屋議定書が発効し、海外遺伝資源を利用することは非常に困難な状況になる。しかし、もとより日本は天然植物資源が豊富であり、国内に約7500種の植物が自生している世界でも有数の資源大国である。国内に自生する植物のうち約25%は本国固有の植物種と考えられており、これまではこの豊かな植生を利用することで日本が世界の天然物化学研究をリードしてきた。一方で、現在は国内を見回しても植物資源から意欲的にシード探索を指向している学術研究は数例しかなく、探索基礎研究を行うべく未利用植物資源の開発を目指す研究を行ってきた。

(2) カヤツリグサ科植物は、日本で多様に分化したグループであり26属約500種が自生している植物群である。その国内分布は沿岸部から高山帯と非常に幅広く、街角や道端などでも散見され約半数は本国の固有種だと考えられている。本科植物には、生薬として用いられる香附子の基原植物であるハマスゲ (*Cyperus rotundus*) が含まれ、地下部の主要成分である α -cyperoneにはNF- κ B調節作用が見出されており、強力な抗炎症作用を有することが明らかになっている¹。そのほか、これまでに本科植物スゲ属 (*Carex*) からはブドウ科植物を連想させるオリゴスチルベノイド²、ワタスゲ属 (*Eriophorum*) からはマメ科植物様イソフラボノイド³、またクロアブラガヤ属 (*Scirpus*) ではプレニルフラボノイド⁴ など異なる生合成経路を有する化学成分が主要構成成分として報告されている。このため、本科植物群は学術的にも稀有な化学多様性を有しており化学系統分類学的に非常に興味深い。また、このような化学多様性は、言い換えると多彩な活性発現に關与すると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 本研究は、かつて世界的にも盛んに行われていたが、近年国内では他に例をみないケモタキソノミーの基礎研究である。本研究の対象であるカヤツリグサ科植物は、日本国内の植物資源として各地に数多く自生しているにも関わらず、成分研究は数例であり本科植物の約0.2%しか研究対象になっていない未利用資源である。この根本たる原因は、植物分類において、本植物は果胞や鱗片の形態など微細な形質で分類されることが多く、分類が非常に困難な植物群であることが挙げられる。右の系統略図で示したように、2009年にMuasyaら⁵によって行われた本科植物の分子系統研究においては、特に *Cyperus* 属に分類される特定の種が散在する結果となっており、この事は今後のさらなる分子系統研究により属が再編されることを示唆している。したがって、本科植物群の化学多様性を明らかにすることは、今後の生物活性試験への応用に対する基盤研究となるとともに植物分類学への一助となる。

(2) 化学成分未詳の国内未利用資源に新規機能性分子を探索し、本科植物群の化学多様性を効率的に応用することで、今後種々の薬理活性試験に利用され、新規機能性分子として有用な生理活性を見出すことが期待できる。

3. 研究の方法

本研究では、申請者の天然物化学的なアプローチに植物分類学的なアプローチも加え、カヤツリグサ科植物の化学多様性を明らかにするとともに動脈硬化症予防薬探索の基盤構築を行う。

(1) カヤツリグサ科植物の収集：学内研究協力者である岐阜薬科大学薬草園酒井英二教授のご協力を得て本学薬草園の圃場にてカヤツリグサ科植物の栽培を行っており、今後も継続して栽培研究も行う。学外研究協力者の摂南大学薬草園邑田裕子助手、近畿植物同好会田中光彦氏および元種子島基盤研究所の鍋木紘一氏の協力を得て、日本各地に自生するカヤツリグサ科植物の収集を行う。

(2) カヤツリグサ科植物に含まれる成分の分析および構造解析：詳細な成分検索が可能なレベルで収集できた素材については、各種クロマトグラフィー (SiO₂ CC, ODS CC, Sephadex LH-20, preparative HPLC など) を用いることにより化合物の単離精製を行う。得られた化合物について、各種機器スペクトルをそれぞれ測定し解析する。

(3) 生理活性物質の探索：植物エキスについて動脈硬化症発症のキープロセスであるホルボールエステル (TPA) 誘導性の単球系細胞 (THP-1 細胞) からマクロファージへの分化を抑制するエキス群を見出す。また、単離化合物については様々な生物活性を行う。

4. 研究成果

(1) カヤツリグサ科植物の収集：科研費採択の前年までに5年をかけて約15種類128種の本科植物を収集した。2018年9月には、鹿児島県の種子島において4日間の植物採取を行った(自費)。その結果、初採集となったヒゲスゲ (*Carex boottiana*) を含む8種のスゲ属 (*Carex*)、イガガヤツリ (*Cyperus polystachyos*: 初採集) を含む8種のカヤツリグサ属 (*Cyperus*)、2種のハリイ属 (*Eleocharis*)、シオカゼテンツキ (*Fimbristylis cymosa* var. *spathacea*: 初採集) を含む5種のテンツキ属 (*Fimbristylis*)、1種のミカヅキグサ属 (*Rhynchospora*)、貴重なヒメ

カンガレイ (*Schoenoplectiella mucronata*: 初採集) を含む 2 種のホソガタホタルイ属 (*Schoenoplectiella*), 1 種のクロアブラガヤ属 (*Scirpus*), 2 種のシンジュガヤ属 (*Scleria*) 植物を採集することに成功した。本研究には直接的な関係はないが、カヤツリグサ科植物以外にも 109 種の植物を採集しライブラリ化を行った。また、当初の目的の一つでもあった本学園場でのカヤツリグサ科植物の栽培であるが、環境省カテゴリにおいて絶滅危惧種 II 類 (VU) に指定されているハナビスゲ (*Carex cruciata*) の種子からの生育に成功し、現在採集および化学的な研究が可能なレベルで栽培を行っている。

(2) カヤツリグサ科植物に含まれる成分の分析および構造解析：これまでカヤツリグサ科植物の成分研究においては、生薬である本科植物の「香附子」に倣い、地下部に含まれる成分をターゲットとした研究がなされてきた。そこで、本研究では地下部だけではなく地上部および花部の成分について詳細な検討を行った。

：カヤツリグサ属 (*Cyperus*) 植物の成分について

・カヤツリグサ属植物は、世界に広く分布し約 700 種が知られている。日本にはそのうち約 27 種が自生している。ハマスゲ (*C. rotundus*) の根茎は生薬「香附子」として、健胃や婦人病の改善に用いられている。カヤツリグサ科植物で、最も詳細に成分研究が成されているのがハマスゲの地下部であり、精油成分を始めとしてセスキテルペノイド⁶、フラボノイド⁷、スチルベノイド⁸ が報告されている。そこで本研究では、カヤツリグサ属植物でこれまで研究報告の殆どない地上部の成分研究を行った。

シチトウイ (*C. malaccensis* subsp. *monophyllus*) は、日本では本州南部から沖縄に自生する植物であり、琉球畳の畳表として用いられている。これまで研究報告ではモノテルペン、セスキテルペンなどの成分が報告されている事から、本研究では、シチトウイ地上部の芳香族成分についての検討を行った。その結果、シチトウイのアセトン抽出エキスから、クロモン 1 種、リグナン 1 種、スベリン誘導体 3 種、フラボノイド 1 種、およびフェニルプロパノイド誘導体 4 種を含む 12 種の化合物を単離し構造決定を行った。リグナンについては本科植物からは初めての報告となる。また、スベリン誘導体についても後述する新規スベリン誘導体について 2 例目の報告となり、草本地上部からの報告は珍しい成分であった。

メリケンガヤツリ (*C. eragrostis*) は、熱帯アメリカを原産とする植物であり国内では関東以西に分布する。化学成分についてはベンゾキノンの報告⁹があるのみであり成分は未詳であると考えられた。そこで、詳細な成分研究を行った結果、新規化合物 1 種を含むイソフラボン誘導体 4 種、新規フラバノール誘導体 2 種、フラバノン 2 種、新規化合物 1 種を含むカルコン誘導体 2 種など計 12 種の化合物を単離した。新規イソフラボン誘導体は、核メチル基を有する希なイソフラボンであった。また、新規フラバノール誘導体およびフラバノン誘導体の絶対立体配置は CD スペクトルを解析した結果、天然物としては報告の少ない (2*S*, 3*S*) および 2*R* を有する化合物であった。さらに、単離した 12 種のフラボノイドのうち 8 種は核メチル基を有する化合物であったことから、本植物は核メチル化された多様なフラボノイドを産出する植物資源であることが示唆された。

：ヒトモトススキ属 (*Cladium*) 植物の成分について

・ヒトモトススキ属はヨーロッパ、北アフリカおよび北アジアの温帯から熱帯にかけて分布する植物であり、現在のところ 3 種が独立した種として考えられており、*Cladium mariscus* には 4 亜種が認められている。本属植物はいずれも成分研究はなされておらず、成分未詳の植物群である。

ヒトモトススキ (*C. mariscus* subsp. *mariscus*) は海岸に自生する大型の多年草であり、国内では、本州、四国、九州および南西諸島に分布する植物である。本研究では、大阪府で採集した本植物の地下部を用いて成分検索を詳細に行った。その結果現在までに 9 種の新規化合物を含む 18 種の化合物を単離しその構造を決定した。新規化合物は、核メチル基を有する 4 種のフラバノン誘導体、4 種のベンゾ[a]キサンテン骨格を有する化合物 (Fig. 1) および 1 種のアシルスクロースであった。このうち、ベンゾ[a]キサンテン骨格を有する化合物は天然では初めての報告となる炭素骨格を有する化合物であった。

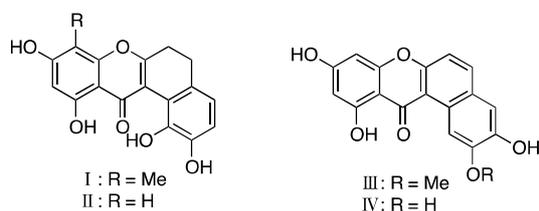


Fig. 1 Compounds with benzo[a]xanthen skeletons isolated from *C. mariscus*

：クロアブラガヤ属 (*Scirpus*) 植物の成分について

・クロアブラガヤ属 (*Scirpus*) は、元々広義のホタルイ属に含まれていたが、現在は多くの属

に分かれており含有する成分にも混乱が見られる植物群である。そのため *Scirpus* 植物成分として報告されている植物は現在、別属の植物として認識されており、クロアブラガヤ属植物の成分は殆ど研究されていないと推察される。日本では約 15 種が本州から九州にかけて自生している植物であるが、いずれも成分未詳の植物群である。

エゾアブラガヤ (*S. lushanensis*) は、北海道から九州にかけて分布する植物であり、主として湿地に自生している。本研究では、本植物の地下部を用いて研究を行い、4 種のスチルベン誘導体を含む 7 種の化合物を単離した。スチルベン誘導体は、スチルベンモノマー 1 種、ダイマー 1 種およびトリマー 2 種であった。これらのオリゴマー体はいずれもピセアタンノールを基本骨格とした化合物であり、本科植物地下部から報告のある化合物であった。

： スゲ属 (*Carex*) 植物の成分について

・スゲ属は世界に約 1500 種存在すると考えられており、日本には約 250 種が自生している。一つの属に含まれる種数が最も多い属であるが、成分についてはあまり進んでいないのが現状である。この根本たる原因は、植物分類において、本植物は果胞や鱗片の形態など微細な形質で分類されることが多く、分類が非常に困難な植物群であることが挙げられる。そこで、在野の植物研究者などに広く協力を仰ぎ、日本に自生する約 120 種のスゲ属植物を収集した。そのうち化学的なアプローチが可能であった植物について成分研究を行った。

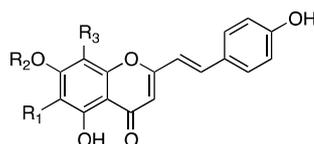
ニシノホンモンジスゲ (*C. stenostachys*) は、日本固有の多年草であり、成分未詳の植物である。本研究では、岐阜県に自生する植物を用いた。結果として、本植物の地下部から 3 種のアセチルスクロース誘導体 3 種および 2 種のスチルノイド誘導体を単離した。同科植物では初めてとなるアセチルスクロース誘導体を別属のヒトモトススキに見出し既に報告している。今回はその 2 例目であり、スゲ属にも存在していることを明らかにした。

ヒカゲスゲ (*C. lanceolata*) は、北海道から九州にかけて自生している植物であり、日当たりの良い森林や草地にふつうに見られる多年草である。本研究の結果 4 種のスチルベン誘導体を単離した。これらの化合物は、いずれも高含量で含まれておりスチルベン誘導体の供給資源になると考えられる。

オタルスゲ (*C. otaruensis*) は、北海道から九州にかけて自生している日本固有の植物である。本研究では本植物の地下部を用いて成分探索を行い、新規化合物 1 種を含む 11 種のスチルベン誘導体を単離した。スチルベン誘導体は、スチルベンモノマー 2 種、およびテトラマー 7 種であった。これらのオリゴマー体は、前述したエゾアブラガヤとは違いいずれもレスベラトロールを基本骨格とした化合物であった。その結果、スゲ属植物はクロアブラガヤ属植物とは異なる生合成経路を有することが推察された。また、オタルスゲのエキスは、エキスの調製が可能であった 32 種のスゲ属植物の中で最も強いマクロファージの分化抑制作用が認められた。

コウボウムギ (*C. kobomugi*) は多年生草本であり、日本、朝鮮半島、台湾、中国の東北地方・北部地方に自生し、海岸や砂浜に見られる多年生の海浜植物である。本植物において地下部からスチルベンオリゴマーの報告²があるが、花部については成分研究が行われておらず、未だその成分系が不明であった。そこで、花部に含まれるフェノール性成分について検討した。

結果として、2-スチリルクロモン誘導体 5 種 (Fig. 2)、フラボノイド 3 種、フラボノリグナン 2 種、フェニルプロパノイド 1 種、スベリン誘導体 1 種の計 12 種の化合物を単離し、それらの構造を決定した。2-スチリルクロモン誘導体をこれまでに産生することが報告されている植物は 4 例¹⁰⁻¹³のみで、本植物が 5 例目の報告となる。特に、新規化合物はクロモン環の 6 位または 8 位に核メチル基を有していた。これまで報告されている 2-スチリルクロモン誘導体は 5, 7, 4' 位に水酸基のみを有するものがほとんどで、新規化合物のように 6 位または 8 位に置換基を有する 2-スチリルクロモン誘導体は、高等植物においてはスズカケノキ科のモミジバズカケノキ (*Platanus x acerifolia*) から報告¹³があるのみであった。さらに、前述したヒトモトススキからベンゾ[a]キサンテン骨格をなす化合物を単離しており、これは 2-スチリルクロモンが環化した構造であると考えられることから、本科植物がスチリルクロモンを産生する植物群である可能性が示唆された。本植物花部はスチルベンを含まず、クロモン類に富んでおり、地下部とは明らかに異なる成分系を有することが明示された。2-スチリルクロモン誘導体は本科植物の成分研究において新たな指標成分となる可能性がある。また、新規 2-スチリルクロモン誘導体は、HCT15, MCF7, 22Rv1 細胞において強力な抗腫瘍作用が認められた。



- 1: R₁ = Me, R₂ = R₃ = H
- 2: R₁ = R₂ = H, R₃ = Me
- 3: R₁ = R₃ = Me, R₂ = H
- 4: R₁ = Me, R₂ = Glc, R₃ = H
- 5: R₁ = R₂ = R₃ = H

Fig. 2 2-Styrylchromone derivatives isolated from *C. kobomugi* Flower

<引用文献>

1. Jung, S.-H.; Kim, S. J.; Jun, B.-G.; Lee, K.-T.; Hong, S.-P.; Oh, M. S.; Jang, D. S.; Choi, J.-H., α -Cyperone, isolated from the rhizomes of *Cyperus rotundus*, inhibits LPS-induced COX-2 expression and PGE2 production through the negative regulation of NF B signalling in RAW 264.7 cells. *J. Ethnopharmacol.* **2013**, *147*, (1), 208-214.
2. Kawabata, J.; Mishima, M.; Kurihara, H.; Mizutani, J., Kobophenol B, A tetrastilbene from *Carex pumila*. *Phytochemistry* **1991**, *30*, (2), 645-647.
3. Maver, M.; Queiroz Emerson, F.; Wolfender, J.-L.; Hostettmann, K., Flavonoids from the stem of *Eriophorum scheuchzeri*. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, (7), 1094-8.
4. Abdel-Mogib, M.; Basaif, S.; Sobahi, T., Stilbenes and a New Acetophenone Derivative from *Scirpus holoschoenus*. *Molecules* **2001**, *6*, (8), 663-667.
5. Muasya, A. M.; Simpson, D.; Verboom, G. A.; Goetghebeur, P.; Naczi, R. C.; Chase, M.; Smets, E., Phylogeny of Cyperaceae Based on DNA Sequence Data: Current Progress and Future Prospects. *Bot. Rev.* **2009**, *75*, (1), 2-21.
6. Ryu, B.; Kim, H. M.; Lee, J.-S.; Cho, Y. J.; Oh, M. S.; Choi, J.-H.; Jang, D. S., Sesquiterpenes from rhizomes of *Cyperus rotundus* with cytotoxic activities on human cancer cells in vitro. *Helv. Chim. Acta* **2015**, *98*, (10), 1372-1380.
7. Cheng, C.-H.; Chen, Y.-R.; Ye, Q.-Q.; Liang, Y.; He, X.-R.; Zhou, Z.-L.; Feng, Z.-C., A new isoflavonoid from the rhizomes of *Cyperus rotundus*. *Asian J. Chem.* **2014**, *26*, (13), 3967-3970.
8. Ito, T.; Endo, H.; Shinohara, H.; Oyama, M.; Akao, Y.; Iinuma, M., Occurrence of stilbene oligomers in *Cyperus* rhizomes. *Fitoterapia* **2012**, *83*, (8), 1420-1429.
9. Gamal, M. A.; Hani, K. M. K.; Sameh, E. S.; Sabrin, I. R. M., A Review: Compounds Isolated From *Cyperus* Species (Part I): Phenolics and Nitrogenous. *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.* **2015**, *7*, (1), 51-67.
10. Yoon, J. S.; Lee, M. K.; Sung, S. H.; Kim, Y. C., Neuroprotective 2-(2-Phenylethyl)chromones of *Imperata cylindrica*. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, (2), 290-291.
11. Jung, H. J.; Jung, H. A.; Min, B.-S.; Choi, J. S., Anticholinesterase and β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 inhibitory compounds from the heartwood of *Juniperus chinensis*. *Chem. Pharm. Bull.* **2015**, *63*, (11), 955-960.
12. Chaniad, P.; Wattanapiromsakul, C.; Pianwanit, S.; Tewtrakul, S., Anti-HIV-1 integrase compounds from *Dioscorea bulbifera* and molecular docking study. *Pharm. Biol. (Abingdon, U. K.)* **2016**, *54*, (6), 1077-1085.
13. Yang, C.-H.; Yang, Y.; Liu, J.-H., Platychromone A-D: Cytotoxic 2-styrylchromones from the bark of *Platanus x acerifolia* (Aiton) Willd. *Phytochem. Lett.* **2013**, *6*, (3), 387-391.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Naohito Abe, Shinnosuke Ayabe, Manami Haba, Toshiyuki Tanaka, Masayoshi Oyama
2. 発表標題 Phenolic constituents isolated from the flower of Carex kobomugi
3. 学会等名 GA2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mayu Hibi, Naohito Abe, Manami Haba, Toshiyuki Tanaka, Hiroko Murata, Masayoshi Oyama
2. 発表標題 Phytochemical investigation of Cyperus malaccensis subsp. monophyllus
3. 学会等名 GA2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究協力者	大山 雅義 (Oyama Masayoshi)	岐阜薬科大学・生薬学研究室・教授 (23701)	
研究協力者	田中 稔幸 (Tanaka Toshiyuki)	岐阜薬科大学・薬用資源学研究室・教授 (23701)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	酒井 英二 (Sakai Eiji)	岐阜薬科大学・薬草園研究室・教授 (23701)	
研究協力者	邑田 裕子 (Murata Hiroko)		
研究協力者	田中 光彦 (Tanaka Mitsuhiko)		