

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02837

研究課題名(和文)天然化合物を越える多様性を有した生物活性指向型化合物ライブラリーの構築

研究課題名(英文)Development of biologically active compounds with diversity beyond that of natural compounds

研究代表者

菊地 晴久(Kikuchi, Haruhisa)

慶應義塾大学・薬学部(芝共立)・教授

研究者番号：90302166

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者が開発した手法である多様性拡大抽出物を基礎的な技術として活用し、天然資源抽出物に対して、生合成では取り込まれることの無い化学構造を直接反応させることで、天然化合物を越える多様性を有した化合物群の創出をおこなった。特徴的な成分を含む薬用植物を原料として、非天然アミンを用いたインドールアルカロイド型・テルペノイドアルカロイド型化合物群ならびに、医薬品の構造によくみられるビアリール、ビアリールエーテル/アミン型化合物群をそれぞれ取得した。これらの化合物群に対して広範な生物活性スクリーニングを行った結果、免疫チェックポイント分子発現阻害作用・破骨細胞分化抑制作用などを示す生物活性物質を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題によって得られた成果は、「多様性拡大抽出物」が天然化合物を越える多様性を有した生物活性化合物群を取得するために有用な手法であることを実証したものであり、そのような点で学術的に大いに意義があると言える。一方で、本研究課題によって免疫チェックポイント分子発現阻害作用・破骨細胞分化抑制作用などの生物活性物質が見出され、創薬等への応用可能な分子の創出という点で社会的にも意義のある研究課題であった。

研究成果の概要(英文)：The diversity-enhanced extracts were utilized as a basic technology to create a group of compounds with diversity beyond that of natural compounds by directly reacting chemical structures that are not incorporated in biosynthesis with extracts from natural resources. Using medicinal plants containing characteristic components as raw materials, we obtained indole alkaloid-type and terpenoid alkaloid-type compounds using non-natural amines, as well as biaryl and biaryl ether/amine-type compounds commonly found in pharmaceutical structures. As a result of extensive bioactivity screening of these compounds, we found bioactive substances that inhibit the expression of immune checkpoint molecules and inhibit osteoclastic differentiation.

研究分野：天然物化学

キーワード：天然化合物 多様性指向型合成 生物活性物質 多様性拡大抽出物

1. 研究開始当初の背景

天然物化学は、新規な母核構造を有し、特異な生物活性を示す多種多様な天然由来化合物を、生命科学・創薬科学など様々な分野に対して提供するという重要な役割を担っている。このような有用性をもたらしている最も大きい要因は、化合物の高度な構造多様性であると考えられている (*J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 218). 創薬を指向した天然由来化合物の探索研究は世界中で精力的に行われており、現在でも多くの新規化合物が毎年報告されている。しかし、分子骨格レベルでユニークな構造を有した化合物の割合は年々低下しており、天然化合物の構造多様性の低下が懸念されている (*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2017**, *114*, 5601). したがって、今後も創薬等に重要な役割を果たしていくためには、多様な構造を有した天然化合物または天然化合物類縁体を継続的に得る手法を開発しなければならない。

申請者は、従来から行われてきた天然由来化合物の探索研究に多様性指向型合成の考え方を組み合わせた新たな手法である「多様性拡大抽出物 (diversity-enhanced extract)」を開発してきた。すなわち、天然資源の抽出物に対して直接、化合物の分子骨格を変化させるような反応を行うことで、それに含まれる化合物の構造多様性が一層高められた多様性拡大抽出物が得られる。これをカラムクロマトグラフィ等で各化合物を単離・精製することで、構造多様性の高い天然化合物類縁体ライブラリーを取得するという手法である (下図)。これまでに申請者は多様性拡大抽出物を活用することで、構造多様な天然化合物類縁体を取得するとともに、それらの中から種々の生物活性・薬理活性物質を見出してきた。

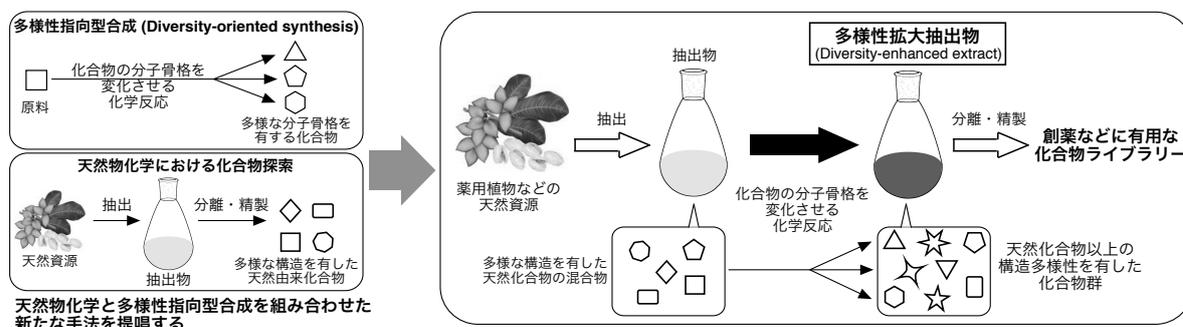


図1 多様性拡大抽出物の概要

しかし、天然化合物の化学構造や生合成経路を模倣することで得られる天然化合物類縁体では、既存の天然化合物の構造多様性をある程度拡張する程度にすぎない。創薬研究において抗体医薬などバイオ医薬品の隆盛によって、低分子創薬研究の進め方に大きな変革が必要とされている。そのような中、求められるのは従来の研究では生み出されることの無かった「天然物を越える多様性」を有した化合物群では無いだろうか。天然化合物の生合成において、出発原料となる基本分子骨格はそれほど多様ではない。基本分子骨格に対して、酸化反応やそれに伴う結合形成反応、転位反応など多様な反応が起こることで天然化合物の構造多様性がもたらされている。したがって、生合成の過程で基本分子骨格として利用されることの無い化学構造を、天然化合物に導入することができれば、「天然物を越える多様性」を有した化合物群を作り出すことにつながると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では「多様性拡大抽出物」を基礎的な技術として活用し、天然資源抽出物に対して、生合成では取り込まれることの無い化学構造を直接反応させることで「天然化合物を越える多様性」を有した化合物群を創出することを目的とする。そのような化学構造として、例えば非天然アミン由来アルカロイド型化合物、医薬品の構造に特徴的なピアリアル、ピアリアルエーテル構造を導入した化合物などが挙げられる。構築した天然化合物類縁体ライブラリーについては、網羅的な生物活性スクリーニングを行い、創薬のリード化合物に成りうる新規生物活性物質を多数取得することを目指す。

3. 研究の方法

研究の目的で述べた「天然化合物を越える多様性」を有した化合物群を創出するため、以下に示す3種類の化合物群の構築をおこなった。

(1) 非天然アミンを用いたインドールアルカロイド型化合物群

モノテルペンインドールアルカロイドは、天然化合物の中でも特に多様な生物活性を有する化合物群であり、医薬品あるいはそのリード化合物も数多く存在する。これらの化合物は、tryptamine とセコイリド配糖体 secologanin との Pictet-Spengler 型反応によって生じる strictosidine を経由して合成される。この知見に基づき、これまでに申請者は secologanin に類似したイリド型化合物と tryptamine とを縮合させることで、多様なアルカロイド類縁体を創出している。ここで、tryptamine ではなく、生体内で合成されることが無いような非天然アミンを作用させることが出来れば、「天然化合物を越えた多様性」を有したアルカロイド型化合物ライブラリーを構築することが可能となる。

(2) 非天然アミンを用いたテルペノイドアルカロイド型化合物群

モノテルペンインドールアルカロイドと同様に、インドール骨格を有したテルペノイドアルカロイドもやはり多様な生物活性を有する化合物群である。テルペノイド型化合物に人工的なベンジルアミン誘導体あるいはアニリン誘導体を縮合させることができれば、「天然化合物を越えた多様性」を有したアルカロイド型化合物ライブラリーを構築することが可能となる。

(3) 医薬品の構造に特徴的な分子骨格の導入

天然化合物と医薬品の化学構造を比較すると、天然化合物にはほとんど見られず医薬品に特徴的な分子骨格が存在する。例えばビアリアル、ビアリアルエーテル、といった2つの環構造が直接あるいはリンカーで連結された化学構造である。これらの構造を天然化合物に導入することで「天然化合物を越えた多様性」を有した化合物ライブラリーを構築することが可能となる。

4. 研究成果

(1) 非天然アミンを用いたインドールアルカロイド型化合物群

原料としてイリド配糖体を多く含む植物(サンシュユ、クチナシ)を用い、これらの抽出物に対してグルコシダーゼを作用させて脱グリコシド化した。次に適切なルイス酸触媒下で、tryptamine の位置異性体や各種誘導体を作用させることで Pictet-Spengler 型に縮合した化合物群を含む多様性拡大抽出物を得た。これを各種クロマトグラフィにより分画し、含まれる化合物を単離・構造決定した結果、計45種の非天然インドールアルカロイド型化合物およびその二量体を得た。

得られた化合物について生物活性スクリーニングを行った結果、CTLA-4、PDL-1 の二つの免疫チェックポイント分子に対する発現阻害作用を示す化合物を見いだした。インドール環上に嵩高い置換基(ベンジル基、シクロヘキシルオキシ基など)を導入すると、より強力な作用を示すことが明らかとなった。

(2) 非天然アミンを用いたテルペノイドアルカロイド型化合物群

原料として主にセスキテルペン類を多く含む植物(ガジュツ、ハマスゲ、テンダイウヤクなど)を用い、それらの抽出物に対して ortho-ヨードベンジルアミンを縮合させた。続いて、適切なパラジウム触媒存在下 Mizoroki-Heck 反応条件に付すことで多様性拡大抽出物を得た。これを各種クロマトグラフィにより分画し、含まれる化合物を単離・構造決定した結果、計21種のキノリン型新規テルペノイドアルカロイドを取得した。一方、同様にして ortho-ヨードアニリンとの縮合と Mizoroki-Heck 反応によって得られた多様性拡大抽出物から計17種のインドール型新規テルペノイドアルカロイドを取得した。得られた化合物について生物活性スクリーニングを行った結果、一部の化合物に、マウスマクロファージ由来 RAW267.4 細胞の RANKL 刺激による破骨細胞分化を抑制する作用を見出した。

(3) 医薬品の構造に特徴的な分子骨格の導入

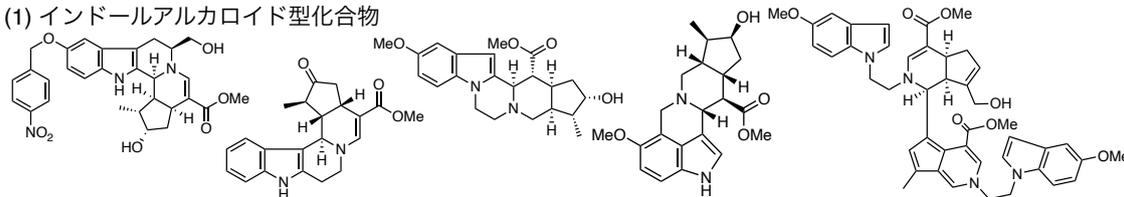
原料として多数の芳香族化合物を含む植物(ヨロイグサ、カンゾウなど)を用い、それらの抽出物に対してハロゲン化剤を作用させたのち、フェニルボロン酸、フェノール、アニリン誘導体

とのカップリングによって、それぞれビアリール、ビアリールエーテル、ビアリールアミン型化合物を含む多様性拡大抽出物を得た。これを各種クロマトグラフィにより分画し、含まれる化合物を単離・構造決定した結果、計15種のビアリールエーテル・アミン型化合物を取得した。得られた化合物について生物活性スクリーニングを行った結果、一部の化合物にATP合成酵素阻害作用、薬物排出トランスポーターABCG2機能抑制作用を見出した。

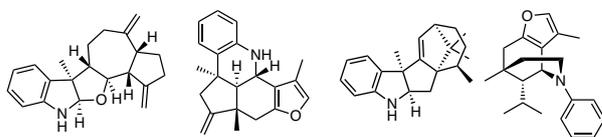
以上の(1)~(3)の各項目で得られた化合物はそのほとんどが、天然化合物としても合成化学によっても得られたことの無い分子骨格を有しており、「天然物を越える多様性」を有した化合物群を作り出すという、本研究課題の目的が達成されたといえる。

【得られた化合物の一例】

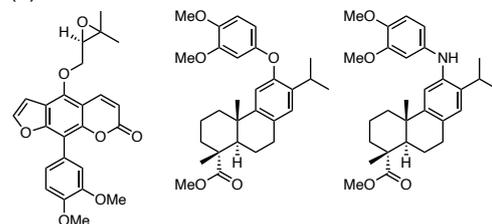
(1) インドールアルカロイド型化合物



(2) テルペノイドアルカロイド型化合物



(3) ビアリール (エーテル・アミン) 型化合物



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Sasaki Hitomi, Kubohara Yuzuru, Ishigaki Hirota, Takahashi Katsunori, Eguchi Hiromi, Sugawara Akihiro, Oshima Yoshiteru, Kikuchi Haruhisa	4. 巻 25
2. 論文標題 Two New Terpenes Isolated from Dictyostelium Cellular Slime Molds	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 2895 ~ 2895
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules25122895	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kyoko Totsuka, Yuka Makioka, Kyoichi Iizumi, Katsunori Takahashi, Yoshiteru Oshima, Haruhisa Kikuchi, Yuzuru Kubohara	4. 巻 9
2. 論文標題 Halogen-Substituted Derivatives of Dictyostelium Differentiation-Inducing Factor-1 Suppress Serum-Induced Cell Migration of Human Breast Cancer MDA-MB-231 Cells in Vitro	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 256 ~ 256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom9070256	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kokubo Shoji, Ohnuma Shinobu, Murakami Megumi, Kikuchi Haruhisa, Funayama Shota, Suzuki Hideyuki, Kajiwara Taiki, Yamamura Akihiro, Karasawa Hideaki, Sugisawa Norihiko, Ohsawa Kosuke, Kano Kuniyuki, Aoki Junken, Doi Takayuki, Naitoh Takeshi, Ambudkar Suresh V., Unno Michiaki	4. 巻 22
2. 論文標題 A Phenylfurocoumarin Derivative Reverses ABCG2-Mediated Multidrug Resistance In Vitro and In Vivo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 12502 ~ 12502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms222212502	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Yoshihide, Ichinohe Keisuke, Sugawara Akihiro, Kida Shinya, Murase Shinya, Zhang Jing, Yamada Osamu, Hattori Toshio, Oshima Yoshiteru, Kikuchi Haruhisa	4. 巻 9
2. 論文標題 Development of Indole Alkaloid-Type Dual Immune Checkpoint Inhibitors Against CTLA-4 and PD-L1 Based on Diversity-Enhanced Extracts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Chemistry	6. 最初と最後の頁 766107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fchem.2021.766107	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Babbar Palak, Sato Mizuki, Manickam Yogavel, Mishra Siddhartha, Harlos Karl, Gupta Swati, Parvez Suhel, Kikuchi Haruhisa, Sharma Amit	4. 巻 22
2. 論文標題 Inhibition of <i>Plasmodium falciparum</i> Lysyl tRNA Synthetase via a Piperidine Ring Scaffold Inspired Cladosporin Analogues	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 2468 ~ 2477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.202100212	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11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 佐藤由希, 西村壮央, 志賀皓介, 菅原章公, 菊地晴久
2. 発表標題 分子骨格組み替え戦略による brefeldin A を基盤としたペプチドアルカロイドライブラリーの構築
3. 学会等名 第63回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 室谷拓治, 佐々木瞳, 江口裕美, 植草義徳, 菊地晴久
2. 発表標題 栄養源バクテリアの変化による細胞性粘菌由来新規二次代謝産物の探索
3. 学会等名 第11回日本細胞性粘菌学会例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuki Sato, Takehiro Nishimura, Kosuke Shiga, Akihiro Sugawara, Yoshinori Uekusa, Haruhisa Kikuchi
2. 発表標題 Development of Peptide Alkaloid-type Compound Library Based on Brefeldin A by Molecular Skeleton Recombination Strategy
3. 学会等名 13th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤由希, 西村壮央, 志賀皓介, 菅原章公, 菊地晴久
2. 発表標題 Brefeldin A の構造に基づいたペプチドアルカロイドライブラリーの構築
3. 学会等名 第59回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中野静香, 鈴木佳英, 一戸佳祐, 菅原章公, 大島吉輝, 菊地晴久
2. 発表標題 多様性拡大抽出物を基盤としたインドール骨格を含むアルカロイド型化合物ライブラリーの構築
3. 学会等名 第62回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 室谷拓冶, 佐々木瞳, 菅原章公, 菊地晴久
2. 発表標題 Pseudomonas 属細菌を栄養源として利用した細胞性粘菌由来二次代謝産物
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruhisa Kikuchi
2. 発表標題 Development of Natural Product-Like Compound Library Based on Diversity-Enhanced Extracts
3. 学会等名 The 5th Japan-Taiwan Joint Symposium for Pharmaceutical Sciences (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木佳英, 一戸佳祐, 菅原章公, 大島吉輝, 菊地晴久
2. 発表標題 Iso-Pictet-Spengler 反応を用いた構造多様なインドールアルカロイド型化合物ライブラリーの構築
3. 学会等名 日本生薬学会第66回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野静香, 河合航輔, 菅原章公, 大島吉輝, 菊地晴久
2. 発表標題 多様性拡大抽出物を用いたテルペノイドアルカロイド型化合物ライブラリーの創出
3. 学会等名 日本生薬学会第66回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 船山将太, 菅原章公, 大島吉輝, 菊地晴久
2. 発表標題 カップリング反応に基づく多様性拡大抽出物由来ピアリール・ピアリールアミン型化合物群
3. 学会等名 日本生薬学会第66回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野静香, 河合航輔, 菅原章公, 大島吉輝, 菊地晴久
2. 発表標題 多様性拡大抽出物を用いたテルペノイドアルカロイド型化合物ライブラリーの構築
3. 学会等名 第58回日本薬学会東北支部大会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------