

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 22 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22510239

研究課題名（和文） 多環性アルカロイドを用いた新機能性分子の創製

研究課題名（英文） DEVELOPMENT OF NEW FUNCTIONAL MOLECULES BY POLYCYCLIC ALKALOIDS

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

研究成果の概要（和文）：多様な植物資源に含まれる多環性アルカロイドを用いて新しい機能性分子を開発し，創薬リード化合物を開発することを目的として検討した．抗マラリア活性を有する新しい骨格のアルロイド類や脂肪的蓄積抑制作用を有するリモノイドを発見して活性評価を検討した．

研究成果の概要（英文）：Plants remain to this day one of the most important sources of biological active compounds and continue to provide drug discovery seeds. During our search for active ingredients from medicinal plants, we have isolated anti-malarial polycyclic alkaloids and limonoids with anti-lipid-droplets accumulation activity as new drug discovery seeds and evaluated their activities.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	950,000	4,250,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学・生物分子科学

キーワード：植物，生理活性，天然物

## 1. 研究開始当初の背景

（1）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．

（2）これまでに得られたこれらの知見にもとづいて，各種誘導体合成と活性の評価，活性メカニズムの解明を目標に，多環性アルカ

ロイドの新規創薬素材分子としての開発を狙って計画したものである．

## 2. 研究の目的

申請者は，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含窒素骨格を有する機能性分子を見出してきた．これらの多環性アルカロイドを用いて新しい多機能性分子を開発するとともに，既に数百種もの保有する未利用資源植物の抽出物ライブラリーを用いて，新しい機能性を有するアルカ

ロイドを探索し、創薬リード化合物を創製することを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) 新規骨格のアルカロイド cassiarin A をリード化合物として、合成的な手法により誘導化し、さらに有望な新規機能性分子の合成を行う。

(2) 当研究室が保有する数百種の熱帯未利用植物の抽出物ライブラリーを対象として、天然機能性分子の探索のためのスクリーニングを行い、さらに新しい環骨格を有する含窒素天然分子を発見する。

(3) 活性試験としては、抗マラリア活性試験、脂肪滴蓄積抑制試験、各種ヒト由来のがん細胞を用いた増殖阻害試験、アポトーシス、細胞周期に及ぼす影響の解析、チューブリンタンパクに対する重合阻害、促進活性、血管平滑筋弛緩作用や“NO”を標的としたアッセイを行い、多機能性を有する新しい多環性天然物の探索と開発を行う。

### 4. 研究成果

(1) 抗マラリア活性を有する Cassiarin A の関連アルカロイドを探索した結果、新たに Cassiarin F, G, H, J, K などの新規骨格のアルカロイドを発見した。創薬素材分子として活性評価を検討した。Cassiariin F は、chloroquine-sensitive *P. falciparum* 3D7 に対して  $IC_{50}$  3.3  $\mu$ M で活性を示した。

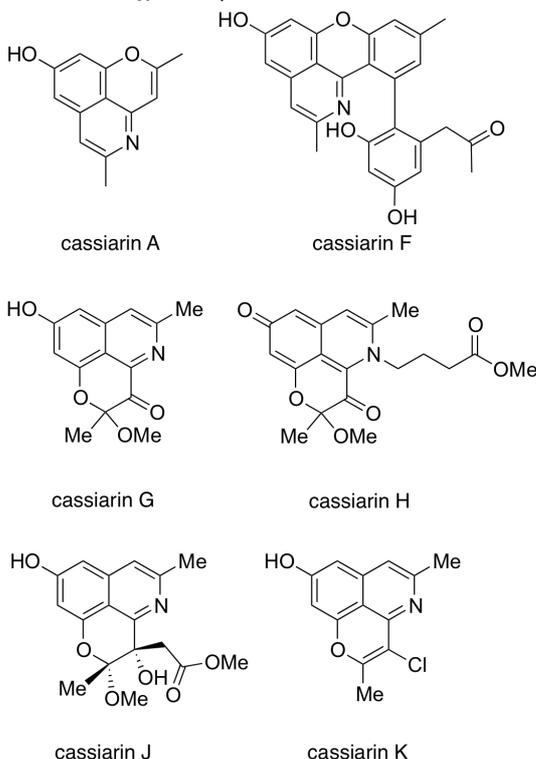


図1 : Cassiariins A, F - K の構造

(2) Cassiariin F の合成研究を行い、全合成を達成することにより構造を検定した。

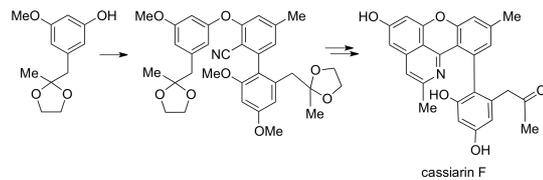


図2 : Cassiariin F の全合成ルート

(3) マレーシア、インドネシアにて採集した熱帯未利用植物資源のスクリーニングの結果、活性を示した植物抽出物の活性成分の検討を行った。*Chisocheton ceramicus* の樹皮のメタノールエキスを液液分配し、各画分の脂肪滴蓄積抑制活性を検討した結果、活性はヘキサン可溶性画分に認められた。各種クロマトグラフィーにより分離を行い、新規 ceramicine E - L を ceramicine A - D とともに単離した。Ceramicine E - L の構造は、2次元 NMR を中心としたスペクトル解析と化学変換により決定した。Ceramicine 類は、4環性のテトラノトリテルペノイド骨格の17位にフラン環を有しており、A環を含めて様々な酸化状態が異なる構造であると帰属した。相対立体構造は、NOESY 相関により明らかにした。また、ceramicine B の絶対構造を、p-Br ベンゾエート体の CD スペクトルの解析(励起子キラリティー法)とX線結晶解析により決定した。

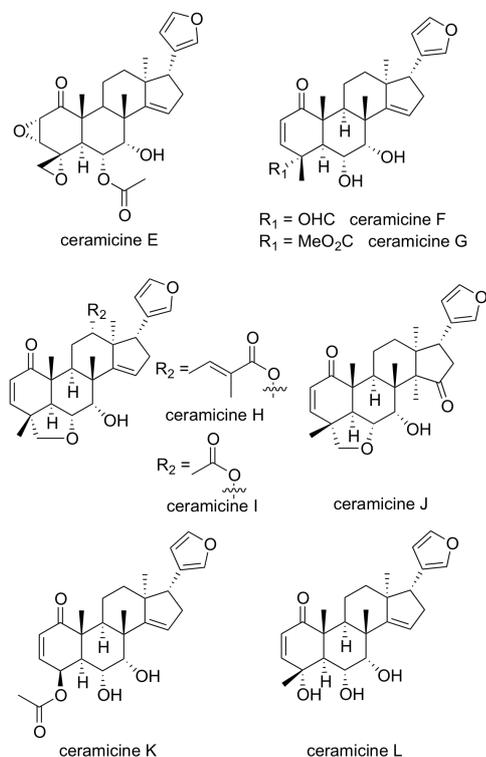


図3 : Ceramicines E - L の構造

(4) 単離した12種類のceramicine A - Lの脂肪蓄積抑制活性を検討した結果, ceramicine AとBに濃度依存的な強い脂肪蓄積抑制活性が認められた. Ceramicine Iにも僅かな活性があったが, その他には認められなかった. Ceramicine Bを脂肪前駆細胞株であるMC3T3-G2PA6に添加すると(12.5 μM)コントロールの細胞の形態に殆ど影響を与えず, インスリンとIBMXとDEXを添加して分化させる過程において脂肪滴の生成を抑制した.

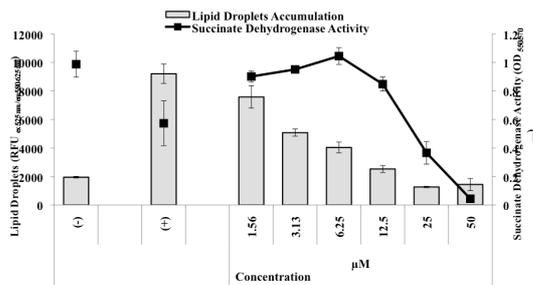


図4: 脂肪前駆細胞株 MC3T3-G2PA6 を用いた Ceramicine B による脂肪蓄積抑制作用 (コントロール: ベルベリン) 折れ線グラフは, MTTアッセイを用いた細胞毒性値

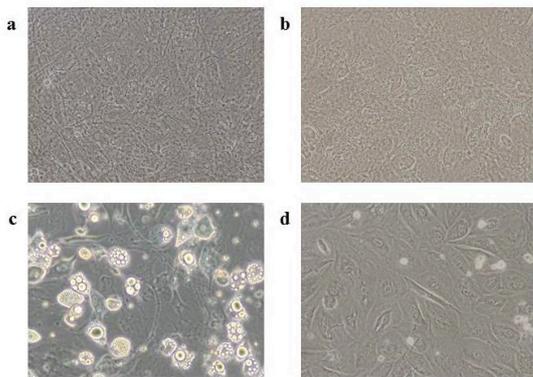


図5: Ceramicine B 添加による脂肪前駆細胞株 MC3T3-G2PA6 の形態変化 (a: コントロール, b: ceramicine B 添加 (12.5 μM), c: MDI 添加細胞, d: MDI と ceramicine B 添加 (12.5 μM))

(5) 活性の強いceramicine Bの脂肪蓄積抑制作用について, 遺伝子発現を指標として解析したところ, 脂肪細胞の分化マーカーであるGLUT4, PLP, HSD11βの各mRNA発現の抑制を認めた. さらに, ceramicine Bは分化誘導を担う遺伝子であるPPARγとC/EBPαの2つの転写因子の遺伝子発現も抑制し, ウェスタンブロット(WB)法によりPPARγタンパクの発現も抑制されていることが明らかとなった. 抗肥満薬の創薬シーズの探索の面から価値ある研究成果であると考えられる.

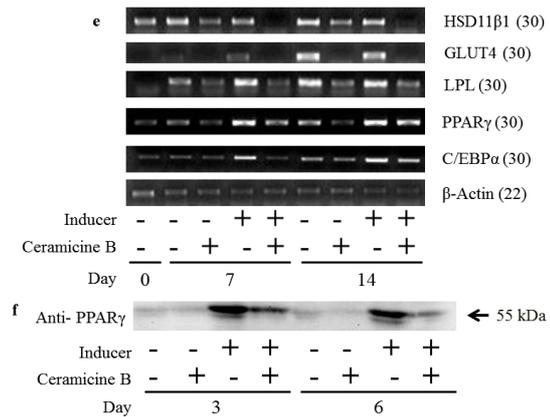


図6: RT-PCR法による脂肪細胞の分化マーカーの mRNA 発現と WB 法による PPARγ タンパクの発現抑制 (ceramicine B, 12.5 μM)

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

① Wong Chin Piow, Misae Shimada, Alfarius Eko Nugroho, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, A. Hamid A. Hadi, Shirota Osamu and Hiroshi Morita, Ceramicines J-L, New Limonoids from *Chisocheton ceramicus*, *J. Nat. Med.*, 査読有, 66, 2012, 566-570  
DOI: 10.1007/s11418-011-0616-9

② Jun Deguchi, Tomoe Hirahara, Yusuke Hirasawa, Wiwied Ekasari, Aty Widawaruyanti, Osamu Shirota, Motoo Shiro, and Hiroshi Morita, New Tricyclic Alkaloids, Cassiarins G, H, J, and K from Leaves of *Cassia siamea*, *Chem. Pharm. Bull.*, 査読有, 60, 2012, 219-222.  
DOI: 10.1248/cpb.60.219

③ Wong Chin Piow, Misae Shimada, Yuta Nagakura, Alfarius Eko Nugroho, Yusuke Hirasawa, Toshio Kaneda, Khalijah Awang, A. Hamid A. Hadi, Khalit Mohamad, Motoo Shiro, and Hiroshi Morita, Ceramicines E - I, New Limonoids from *Chisocheton ceramicus*, *Chem. Pharm. Bull.*, 査読有, 59, 2011, 407-411.  
DOI: 10.1248/cpb.59.407

④ Jun Deguchi, Tomoe Hirahara, Shiori Oshimi, Yusuke Hirasawa, Wiwied Ekasari, Osamu Shirota, Toshio Honda, and Hiroshi Morita, Total Synthesis of Cassiarin F, A

Novel Tetracyclic Alkaloid from the Flowers of *Cassia siamea*, *Org. Lett.*, 査読有, 13, 2011, 4344-4347.

DOI: 10.1021/ol201674a

⑤ Chin Piow Wong, Toshio Kaneda, A. Hamid A. Hadi, and Hiroshi Morita, Ceramicine B, A Limonoid with Anti-Lipid Droplets Accumulation Activity from *Chisocheton ceramicus*, *J Nat Med.*, 査読有, *in press*.

DOI: 10.1007/s11418-013-0755-2

[学会発表] (計5件)

① 出口潤, 平原朋恵, 石川登希夫, 押見史織, 平澤祐介, 本多利雄, 代田修, Wiwied Ekasari, 森田博史, *Cassia siamea* および *C. spectabilis* に含有される抗マラリア活性アルカロイドの構造と合成, 第54回天然有機化合物討論会, 2012年9月18日～9月19日(東京)

② Chin Piow Wong, 出口潤, Alfarius Eko Nugroho, 平澤祐介, 金田利夫, A. Hamid A. Hadi, 森田博史, Ceramicines類の脂肪蓄積抑制作用とその構造活性相関, 第19回天然薬物の開発と応用シンポジウム, 2012年11月1, 2日(大阪)

③ 小山晃一郎, 平澤祐介, 金田利夫, Alfarius E. Nugroho, 細谷孝博, 在間一将, Teh Chin Hoe, Kit-Lam Chan, 森田博史, *Alstonia pneumatophora* および *A. angustiloba* 由来の新規多環性インドールアルカロイドの構造研究, 第53回天然有機化合物討論会, 2011年9月27日～9月29日(大阪)

④ 在間一将, 古賀生美, 岩沢信秀, Intan Safinar Ismail, Nordin Hj Lajis, 細谷孝博, 平澤祐介, 金田利夫, 森田博史, マレーシア産 *Tabernaemontana dichotoma* より単離したインドールアルカロイドの構造と血管平滑筋弛緩作用およびラットにおける降圧作用, 第53回天然有機化合物討論会, 2011年9月27日～9月29日(大阪)

⑤ Alfarius Eko Nugroho, 平澤祐介, 細谷孝博, 在間一将, Khalijah Awang, A. Hamid A. Hadi, 森田博史, マレーシア産 *Hunteria zeylanica* および *Leuconotis griffithii* より単離した新規インドールアルカロイドの構造と生物活性, 第52回天然有機化合物討論会, 2010年9月29日～10月1日(静岡)

[その他]

ホームページ等

<http://polaris.hoshi.ac.jp/kyoshitsu/shouyaku/shouyaku.html>

## 6. 研究組織

### (1) 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