

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 5月27日現在

機関番号：32702

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22603008

研究課題名（和文）生体膜類似構造を有する生理活性物質の動的挙動の解明

研究課題名（英文）The dynamic function of membrane-mimic bioactive substances

研究代表者

中村 和彦 (NAKAMURA KAZUHIKO)

神奈川大学・付置研究所・研究員

研究者番号：50286647

研究成果の概要（和文）：

海洋生物などに由来する生理活性物質について、環形動物ウミケムシの炎症惹起物質コンプラニンモデルに機能解明を目的として化学的研究を進めた。また植物成分からコンプラニンに構造が類似したアセチレンアミドを単離し、メラニン生成を阻害することを見出した。また Grubbs 触媒によるジオールの開裂反応を見出し、生理活性について考察した。

研究成果の概要（英文）：Chemical studies of complanin, an inflammatory substance isolated from a marine annelid, and related bioactive substances, were carried out. The closely related acetylenic amides to complanin were isolated from a plant resource, and the biological properties of these compounds were revealed. And a novel reaction by Grubbs catalyst was developed through analyzing chemical properties of such compounds.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：時限

科研費の分科・細目：ケミカルバイオロジー

キーワード：天然物化学、生理活性物質

1. 研究開始当初の背景

(1) 海洋生物の二次代謝産物には特異な構造及び生理活性を示すものが数多く知られ、これまで盛んに探索研究が行われてきた。しかし海洋資源の網羅的な探索研究が世界規模で行われた結果、活性や構造の点で新規性が高いものを発見することは年々困難になっていた。こうした中で、海洋生物由来のオ

カダ酸の生物科学的研究は生体内のリン酸化機構の解明につながった。このような生理機能の解明によって、ケミカルバイオロジーを基盤とした物質探索の展開が期待されるようになっていた。

(2) 我々はすでに海洋生物である環形動物ウミケムシから、哺乳類に対して炎症作用を惹起する物質コンプラニンを単離構造決定

していた。コンプラニン是不飽和炭素鎖と GABA 由来の四級アンモニウム塩を分子内に有する、新規化合物であり全合成的検討によって立体化学を含む構造が明らかになっている。さらにコンプラニンは発癌プロモーターホルボールエステル TPA の存在下で PKC (プロテインホスファターゼ C) を活性化し、リン酸化を促進することを見出している。また、ヒトゲノム計画の進行によって、GPCR (G タンパク共役受容体) の研究が発展し、リガンドとしての低分子生理活性物質の重要性が注目されるに至った。

(3) このように生理活性に主導された物質探索や化学的性質の解明はケミカルバイオロジー研究の中核となるものであり、あらたなる発展が求められていた。

2. 研究の目的

(1) ウミケムシの刺傷行動は、干潟での捕食生物からの防御であると考えられる。この生態現象に生体内でのリン酸化の制御という普遍的な生物現象を利用していることは非常に示唆に富んでいる。本研究では、海洋生物に関わる物質とその生理活性メカニズムをいわば指標とすることによって、細胞レベルから個体レベルに至る生命現象を解明することを目的とする。

(2) コンプラニンは膜に作用する生理活性物質であり、PKC に関連したシグナル伝達機構への作用が考えられた。そこで類似の活性を示す物質を天然物から新たに見出してくるというアプローチが考えられた。また膜機能に関連する生理活性物質について、化学的・生物学的な機能を物質レベルで解明することを目指した。同時にこれらの生理活性物質について統一した生物機能について分子レベルで解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 海洋環形生物ウミケムシの産生する炎症惹起成分について、これまでの研究を元にして精査を行う。また生理活性発現機構について、より深い検討を加え、これまでに知られている同様の物質との比較研究を行う。また、膜機能のモデルであるミセル形成能について化学構造ベースで検討を加え、その機能について評価する。

(2) 同様に膜機能が示唆される生物現象について、生理活性物質探索を行う。具体的にはメラニン形成阻害物質について実験系を構築し、物質探索を行う。これにあたっては海洋生物にこだわることなく、医薬品・健康

食品としての実用化を意識した生物資源について検討を加える。

(3) 海洋天然物については、既存の化合物について化学的性質を検討する。特に膜に埋没した状態でのシグナル伝達との関わりが示唆されている巨大分子シンビオジノリドを材料に、構造に立脚した化学的性質について主に有機化学的手法によって検討し、より多くの情報を得ることを目指していく。

4. 研究成果

(1) ウミケムシの炎症惹起物質について微量成分の探索を引き続いておこなったところ、ネオコンプラニン A 及び B と命名した物質を単離し、その構造を飽和アルキルヒドロキシアミンのアミド誘導体であると決定した。このうちネオコンプラニン B は分枝した飽和炭素鎖を分子内に有しているが、この化合物の PKC 活性化能はコンプラニンよりも高かった。PKC の活性化は C2 ドメインのホスファチジルセリン結合部に生体膜類似構造が結合することによって起こると考えられるが、コンプラニン B の高い活性はミセル形成能を反映していると考えられる。また、類似化合物の単離によって化学的多様性が増大し既存の化合物との比較が可能になった。この結果、コンプラニン類の生合成経路を推定することができ、これは合成化学的に決定されたコンプラニンの絶対立体化学と完全に対応している。また、この推定はネオコンプラニン類においても同様である。

(2) 植物成分からメラニン生成阻害物質の探索をおこなった結果、食品用ハーブであるタラゴンから二種の三重結合と共役不飽和系を有する 2 種のカルボン酸アミドを得ることに成功した。これら化合物は既知であったが、新規な生理活性を見出すことができた。またこれらは不飽和結合とアミドの存在などコンプラニン類と構造的に強い類似性を有しており、同様に溶液中で生体膜類似の会合体を形成する可能性および、生体膜との相互作用などの生物機能が考えられる。これらの化合物について統一した生理活性発現のメカニズムについて検討した。なお、ヒハツなどの他の植物からメラニン生成阻害物質としてバクチオールなど一連の既知物質を別途単離することにも成功した。

(3) 膜関与のシグナル伝達との関わりが示唆されている海洋天然物シンビオジノリドを材料に、Grubbs 触媒によるジアリルジオールの開裂反応を見出した。この反応についてさらに検討を加え、共酸化剤の改良によって触媒反応へと発展させることに成功した。シ

ンビオジノリドおよびモデル天然物（プソイロチン A）について、所期の反応が進行しその汎用性を確認した。反応の応用と膜構造に関わる機能解明について検討を加えた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 4 件）

- ① Han, C.; Yamano, Y.; Kakiuchi, F.; Nakamura, K.; Uemura, D. “Grubbs carbene complex-catalyzed cleavage of allyl vic-diols to aldehydes with a co-oxidant: application to the selective cleavage of huge marine molecules” *Tetrahedron* **2011**, *67*, 9622-9626. 査読有
doi:10.1016/j.tet.2011.09.002
- ② Yamada, M.; Nakamura, K.; Watabe, T.; Ohno, O.; Kawagoshi, M.; Uotsu, N.; Chiba, T.; Yamaguchi, K.; Uemura, D. “Melanin Biosynthesis Inhibitors from *Artemisia dracunculus*” *Biosci. Biotech. Biochem.* **2011**, *75*, 1628-1630. 査読有
doi:10.1271/bbb.110306
- ③ Ohno, O.; Watabe, T.; Nakamura, K.; Kawagoshi, M.; Uotsu, N.; Chiba, T.; Yamada, M.; Yamaguchi, K.; Yamada, K.; Miyamoto, K.; Uemura, D. “Inhibitory effects of bakuchiol, bavachin and isobavachalcone isolated from *Piper longum* on melanin production in B16 mouse melanoma cells” *Biosci. Biotech. Biochem.* **2010**, *74*, 1504-1506. 査読有
doi: 10.1271/bbb.100221
- ④ Nakamura, K.; Tachikawa, Y.; Ohno, O.; Suganuma, M.; Kitamura, M.; Uemura, D. “Neocomplanines A and B, a complanine family isolated from the marine fireworm *Eurythoe complanata*” *J. Nat. Prod.* **2010**, *73*, 303-305. 査読有
doi: 10.1021/np900694j

〔学会発表〕（計 6 件）

- ① 発表者： Kazuhiko NAKMURA
発表 標 題： Melanin Biosynthesis Inhibitors from Plant Resources
学 会 名： ICOB-7 & ISCNP-27: International Conference on Biodiversity and Natural Products
年 月 日： 2011.7.14
場 所： オーストラリア・ブリスベン

- ② 発表者： 中村和彦
発表 標 題： タラゴンに含まれるメラニン生成阻害物質
学 会 名： 第 91 回日本化学会春季年会
年 月 日： 2011.3.29
場 所： 横浜
- ③ 発表者： Kazuhiko NAKAMURA
発 表 標 題： Inhibitory effects of prenylated phenolic compounds isolated from *Piper longum* on melanin biosynthesis in B16 cells
学 会 名： 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem2010)
年 月 日： 2010.12.19
場 所： アメリカ・ホノルル
- ④ 発表者： Kazuhiko NAKAMURA
発 表 標 題： Biological Function of Complanine and Related Compounds
学 会 名： 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem2010)
年 月 日： 2010.12.19
場 所： アメリカ・ホノルル
- ⑤ 発表者： 中村和彦
発 表 演 題： ヒハツに含まれるメラニン生成阻害物質
学 会 名： 日本ケミカルバイオロジー学会第 5 回年会
年 月 日： 2010.5.18
場 所： 横浜
- ⑥ 発表者： Kazuhiko NAKAMURA
発 表 標 題： Molecular Mechanism of Complanines, Inflammatory Substances Isolated from a Marine Annelid
学 会 名： The 21st French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry
年 月 日： 2010.5.1
場 所： 京都

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 1 件）

名称：メラニン産生抑制剤及び美白剤
発明者：川越大、山田昌良、千場智尋、中村和彦、大野修、渡部多恵子、上村大輔

権利者：ファンケル(株)
種類：特許
番号：特開 2012-102063
出願年月日：2012. 5. 31
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 和彦 (NAKAMURA KAZUHIKO)
神奈川大学・付置研究所・研究員
研究者番号：50286647

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし