

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24年 5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22790265

研究課題名（和文） 生薬成分の炭素11標識体の合成と動態解析

研究課題名（英文） Syntheses of PET probes of Chinese medicinal plants, and those pharmacokinetics analysis

研究代表者

石井 英樹 (ISHII HIDEKI)

独立行政法人理化学研究所・分子イメージング創薬化学研究チーム・副チームリーダー

研究者番号：80425610

研究成果の概要（和文）：

生薬として市販されている半夏、乾姜、鬱金、夏白菊、呉茱萸から、有機溶媒での抽出およびカラムクロマトグラフィーを用いた精製により β -sitosterol、6-gingerol、curcumin、parthenolide、および evodiamine を単離した。これらを原料もしくは評品として β -sitosterol および curcumin の PET プローブ前駆体（ボロン酸エステル体）の合成を達成した。

研究成果の概要（英文）：

β -Sitosterol, 6-gingerol, curcumin, parthenolide, and evodiamine, which have used for the synthesis of PET-probe precursors or standard samples, have isolated using column chromatography after the extraction with organic solvents of corresponding powders from the commercially available Chinese medicinal plants: Pinellia tuber, Zingiber siccatum, Curcuma longa, Feverfew, and Evodiae fructus. Corresponding ^{11}C -PET probe precursors (boronic acid esters) of β -sitosterol and curcumin have successfully synthesized.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：(1)生薬 (2)天然物薬理学 (3)PET

1. 研究開始当初の背景

生薬は世界各地で古来より用いられてきた薬であり英語名 crude drug が示すように多様な薬効成分を含有した天然由来の薬である。現在、生薬成分からは鎮痛薬のヘロイン、

気管支拡張剤のエフェドリンや心疾患薬のジギトキシン等の多くの物質が抽出単離され医薬品として使用されている。しかし、多くの生薬や漢方薬は多くの成分を含んだ状態で今なお使用されている。その原因は、多

くの生薬の副作用がほとんどなく誰でも使用可だからである。しかし、天然のものである故その成分の含有量は一定ではなく、産地や収穫の時期によって常に変動し、従ってその薬効も変動する問題点がある。さらに、多くの人体実験を重ね長年の間に自然淘汰され選りすぐられた現在の生薬とはいえ、副作用が全くないわけではない。一般に新薬の開発では放射性標識体を合成し、動物を用いて臓器分布や血中濃度解析および代謝物解析によりその体内動態を求め、その結果をヒトに外挿する研究が行われているが、多剤併用時の薬物動態への影響は要素が多くて非常に困難であり、生薬での放射性標識体での研究はほとんど例がない。

陽電子放出断層画像法(Positron Emission Tomography ; PET)法は陽電子放出核種(^{18}F ; 半減期約 110 分, ^{11}C ; 半減期約 20 分など)で標識した極微量の化合物(陽電子放出核種は生体内に投与後 β^+ 崩壊により γ 線を放出し、外部検出器で検出することにより位置を特定できる)を使用し、高感度かつ高精度で生体内の動態を定量性高く評価できる方法である。しかも半減期が短いため生体への影響はほとんどなく、同じ個体で何度でも観察可能である。昨年マイクロドーズ臨床試験認められたことにより、ヒトでの体内動態研究も可能となった。放射性薬剤の発する γ 線を外部から検出し、画像化するため薬剤の投与の状態(単体か混合物か)によらずその体内分布が経時変化で観測できることから、本手法を生薬の体内動態解析に適用できれば投与形態による生薬の体内動態の変化(少なくとも臓器への取り込みや代謝経路がわかる)が観測でき、薬効発現の解明につながる。

2. 研究の目的

生薬や漢方薬の体内動態研究は含有成分が多く構造が複雑で全合成や化学変換が難しいことから、一般に新薬で行われる放射性標識体での研究がほとんど行われていない。^{1,2)}生薬や漢方薬の薬効発現メカニズムや副作用の予測などを行うには、その体内動態研究が必須である。陽電子放出断層画像法(PET法)は陽電子で標識した極微量の化合物を使用し、高感度かつ高精度で生体内での薬物動態を定量性高く評価できる方法である。そこで生薬や漢方薬の主成分を陽電子放出核種(^{11}C)で標識したPETプローブを合成し、これを再び副成分と混合して経口投与すれば、生薬中の主成分の体内動態が解明でき、生薬

や漢方薬の有効性のエビデンス構築が可能となる。

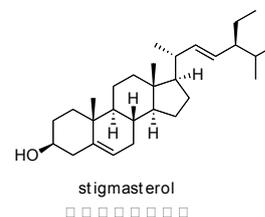
3. 研究の方法

研究計画・方法(平成22年度)

1) 市販の半夏、乾姜、鬱金、夏白菊、呉茱萸を購入し、ブレンダーで粉碎、ソックスレー抽出、カラムクロマトにより生成し、それぞれ単離し標品となる β -sitosterol、6-gingerol、curcumin、parthenolide、および evodiamine を得る。 β -sitosterol の ^{11}C 標識体はパンプキンシードの stigmasterol を出発原料として用いるため、パンプキンシードから stigmasterol の単離精製を行う。Parthenolide と evodiamine はこれら ^{11}C 標識体合成の出発原料として用いるのでそれぞれ 10 g 前後を目安に単離する。

2) 生薬の ^{11}C 標識体の合成

β -sitosterol の ^{11}C 標識体はパンプキンシードの stigmasterol のステロイド側鎖の二重結合をオゾン酸化でアルデヒドに変換し、高速メチル化反応適用のためのホウ素ユニットを導入し合成する。



3) β -sitosterol PET プローブの体内動態の画像解析

上記で合成予定の PET プローブは理化学研究所の PET 研究所において迅速にマウスおよびラットに投与し、その動態をマイクロ PET で画像解析し体内動態を観測する。PET プローブ単体と半夏と混合した状態での比較、および投与形態(経口と静注)での体内動態の違いを比較検討する。また、血液から、代謝物解析(LC-MSを使用)を行い、代謝物の道程を行う。さらに半夏厚朴湯(半夏、茯苓、厚朴、蘇葉、生姜を含む漢方薬)中での動態の解析も行う。 β -sitosterol は植物ステロールとして多くの植物(大豆、アボカド、ノコギリ椰子、カシューナッツ、コーンオイルなど)に見いだされており、中でもノコギリ椰子のエキス

は前立腺肥大に効果がある（これは β -sitosterol の薬効と考えられている）とされている。従って、ノコギリ椰子のエキスに (^{14}C) β -sitosterol PET プローブを添加してその体内動態を検討する。

研究計画・方法（平成23年度）

- 1) 6-gingerol、curcumin、parthenolide、および evodiamine の PET プローブの合成を行う。6-gingerol は vanillin から誘導したホウ素前駆体の高速メチル化反応で合成し、curcumin の標識体は高速メチル化反応と続く酸化反応で ^{14}C vanillin を合成し、さらに acetylacetone とのアルドール縮合で合成する。
- 2) Parthenolide の PET プローブは夏白菊から得られる parthenolide のケトンを保護した後にオゾンで酸化しメチレン部位をケトンに変換し、 ^{14}C の Wittig 試薬 ($^{14}\text{CH}_2\text{PPh}_3$) と反応、脱保護して合成する。
- 3) evodiamine の PET プローブは呉茱萸から単離する evodiamine のインドール部位の窒素を保護し、塩酸で脱 N-メチル化し、これを $^{14}\text{CH}_3\text{I}$ でメチル化して合成する。

4. 研究成果

漢方薬として市販されている半夏、乾姜、鬱金、夏白菊、呉茱萸を購入し、それぞれ有機溶媒で抽出後、カラムクロマトグラフィーを用いて精製し、対応する β -sitosterol、6-gingerol、curcumin、parthenolide、および evodiamine を各 10g 前後、単離する事に成功した。単離した、 β -sitosterol、6-gingerol、curcumin、parthenolide、および evodiamine はそれぞれ対応する PET プローブ前駆体合成に使用、もしくは標準サンプルとして使用した。結果として、PET を用いた動態解析までは行えなかったが、 β -sitosterol および curcumin においては PET プローブ前駆体であるボロン酸エステル体の合成に成功した。

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2件）

- ① Tadayuki Takashima, Satoshi Kitamura, Yasuhiro Wada, Masaaki Tanaka, Yoshihito Shigihara, Hideki Ishii, Ryosuke Ijuin,

Susumu Shiomi, Takahiro Nakae, Yumiko Watanabe, Yilong Cui, Hisashi Doi, Masaaki Suzuki, Kazuya Maeda, Hiroyuki Kusuhara, Yuichi Sugiyama, and Yasuyoshi Watanabe “PET Imaging-Based Evaluation of Hepatobiliary Transport in Humans with (^{15}R)- ^{11}C -TIC-Me”, *J. Nucl. Med.* **2012**, 53, 741-748. 査読有り

- ② Hideki Ishii, Hiroko Koyama, Kyoji Hagiwara, Tomoyuki Miura, Guangai Xue, Yoshie Hashimoto, Genta Kitahara, Yoko Aida, Masaaki Suzuki “Synthesis and biological evaluation of deoxy-hematoxylin derivatives as a novel class of anti-HIV-1 agents”, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, 22, 1469-1474. 査読有り

〔学会発表〕（計5件）

国際学会（逆年代順）

- ① Hideki Ishii, “SAR studies of (-)-cytoxazone as potent anti-hepatic-fibrosis agents and development of its radioisotope-free photoaffinity probes”, The 1st International Symposium on Latent TGF- β Activation Reaction, RIKEN Kobe Inst, Japan, Feb 25, 2012.
- ② Masaaki Suzuki, Misato Takashima-Hirano, Chika Watanabe, Hideki Ishii, Kengo Sumi, Hiroko Koyama, Hisashi Doi, “Synthesis of [^{14}C]all-*trans*-retinoic acid via an alkenylboron precursor by Pd(0)-mediated rapid C-[^{14}C]methylation”, 19th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences, Amsterdam, The Netherlands, August 28 - September 2, 2011.
- ③ Tadayuki Takashima, Hiroko Nagata, Hideki Ishii, Ryosuke Ijuin, Takahiro Nakae, Masaaki Tanaka, Yoshihito Shigihara, Suzuka Ataka, Hisashi Doi, Yasuhiro Wada, Masaaki Suzuki, Kazuya Maeda, Hiroyuki Kusuhara, Yuichi Sugiyama, Yasuyoshi Watanabe, “EVALUATION OF IN VIVO HEPATOBILIARY TRANSPORT

USING POSITRON EMISSION TOMOGRAPHY (PET): STUDIES IN RATS AND APPLICATION TO MICRODOSING CLINICAL STUDIES”, 9th ISSX international symposium, Istanbul, Turkey on Sep. 4-8, 2010.

独立行政法人理化学研究所・分子イメージング創薬化学研究チーム・副チームリーダー
研究者番号：80425610

国内学会（逆年代順）

- ④ 羽毛田 匡，石井 英樹，服部 明，掛谷 秀昭，小嶋 聡一，鈴木 正昭
「TGF- β シグナル伝達系を阻害する新規サイトキザゾン誘導体の合成および標的タンパク質探索用光標識プローブの開発」日本薬学会第132年会、札幌、北海道、2012年3月28日-3月31日
- ⑤ 萩原恭二、村上知行、石井英樹、近藤恭光、本田香織、長田裕之、横田恭子、鈴木正昭、間陽子、「Vpr Helix3領域と結合する新規HIV-1阻害剤の開発」第25回日本エイズ学会学術集会・総会、ハイアットリージェンシー東京、東京都、2011年11月30日-12月2日

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
特になし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石井 英樹 (ISHII HIDEKI)