

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：32676

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860084

研究課題名(和文)キョウチクトウ科植物を素材とする新規多量体アルカロイドの探索

研究課題名(英文)Studies on the alkaloids of Apocynaceae

研究代表者

平澤 祐介(Hirasawa, Yusuke)

星薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：90434183

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：キョウチクトウ科 *Voacanga grandifolia* および *Tabernaemontana corymbosa* を素材として新規医薬リードの探索研究を行った結果、3種の新規骨格アルカロイドを含む12種の新規モノテルペンインドールアルカロイドを単離した。得られた新規化合物について各種活性評価を行ったところ、新規骨格アルカロイド voacalgine A にヒト白血病細胞(HL-60)に対する成長阻害活性を見出した。また、*Tabernaemontana phymata* より分離したアルカロイド 9-methoxyellipticine に脂肪滴産生抑制作用を見出し、その作用機序を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Twelve new indole alkaloids including three novel skeletons were isolated from *Voacanga grandifolia* and *Tabernaemontana corymbosa*. The novel alkaloid, voacalgine A showed moderate cell growth inhibitory activities against HL-60 and HCT116 cells. 9-Methoxyellipticine (9-Mep) isolated from *Tabernaemontana phymata* specifically inhibits C/EBP expression of murine macrophage cell line, RAW264.7 and murine pre-adipocyte cell line, MC3T3-G2/PA6. 9-Mep was found to inhibit C/EBP expression of both mRNA and protein level. Inhibition of RAW264.7 cells C/EBP expression led to attenuation of TNF- α , COX-2, and MCP-1 expression suggesting anti-inflammatory activity. On the other hand, inhibition of MC3T3-G2/PA6 cells C/EBP expression interrupted MC3T3-G2/PA6 differentiation into adipocyte.

研究分野：天然物化学

キーワード：キョウチクトウ科 アルカロイド Apocynaceae

1. 研究開始当初の背景

(1) キョウチクトウ科の植物は、古くから種々の伝統的民間薬として用いられ、その薬効成分の多くは、モノテルペンインドールアルカロイドであると考えられてきた。例として、キョウチクトウ科植物ニチニチソウ (*Catharanthus roseus*) から単離された vincristine や vinblastine は抗悪性腫瘍活性を、また同科インドジャボク (*Rauwolfia serpentina*) より単離された reserpine は血圧降下作用を見出され、本科植物の創薬資源としての地位を確固たるものになっている。

(2) 植物を対象として行われてきた天然機能性分子の探索研究において、新しい骨格を有する天然分子の発見は減少傾向にある。このような中で、申請者は、数多くの新規骨格を有する天然分子を未利用植物資源より発見してきた。近年、種々のキョウチクトウ科植物の研究にも着手し、*Hunteria zeylanica* より bisnicalaterine A-C を、*Leuconotis griffithii* より bisleuconurine A および bisleuconothine A を単離、構造決定している。これらの二量体モノテルペンインドールアルカロイドの多くは、それぞれを構成する単量体とはまったく異なる強い抗マラリア原虫活性を示したことから、詳細な構造活性相関の検討ならびに、さらなる多量体アルカロイドの探索、開発が望まれる。

2. 研究の目的

本研究は、熱帯域に自生するキョウチクトウ科 *Tabernaemontana* 属、*Leuconotis* 属、および *Voacanga* 属植物を素材として、申請者が既に有する学術的基礎データと天然物化学的な精密技術を基盤に、抗マラリア原虫活性、抗がん活性、チューブリン重合阻害活性、血管弛緩作用などを有する未利用植物由来の新しい多量体アルカロイドを探索し、開発することを目的としている。

3. 研究の方法

(1) 国内、マレーシアおよびインドネシアに自生する *Tabernaemontana* 属、*Leuconotis* 属、*Voacanga* 属植物を採取あるいは研究協力者を通して入手する。採集した材料を用いて、抽出物を調製する。抽出物について、酸および塩基を用いた液々分配を行い、アルカロイド画分を得る。

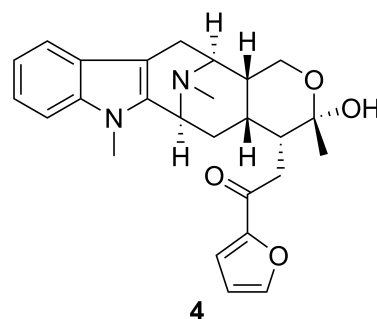
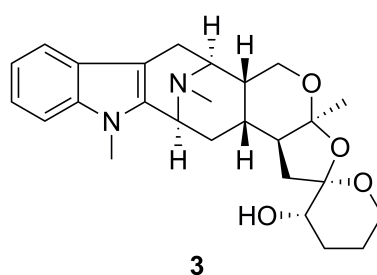
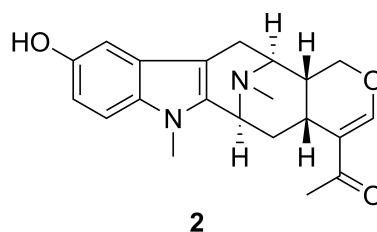
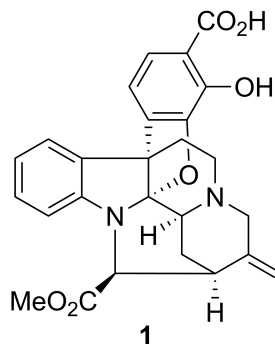
(2) アルカロイド画分について、複数回の Sephadex LH-20 (ゲルろ過) カラムグラフィーを行い、高分子量画分を得る。このものについて、詳細な MS の分析による多量体アルカロイドの検索を行い、さらに各種カラムクロマトグラフィーによって目的化合物の分離、精製をする。

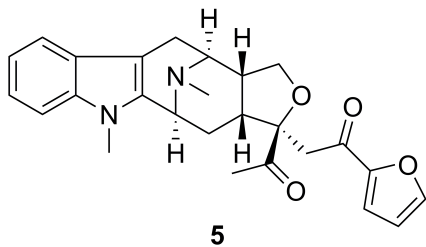
(3) 得られた多量体アルカロイドについては、NMR, MS 等を中心とした分光学的手法により構造解析を行う。また、結晶化に成功した場合には X 線結晶解析を行う。立体化学の解析において必要な場合には分解反応を行い、分解生成物の光学活性体を合成し、天然物と比較することにより絶対立体配置を決定する。

(4) 構造が確定した活性成分について、抗マラリア原虫活性、抗がん活性、チューブリン重合阻害活性、血管弛緩作用を検討し、詳細な活性評価を行う。

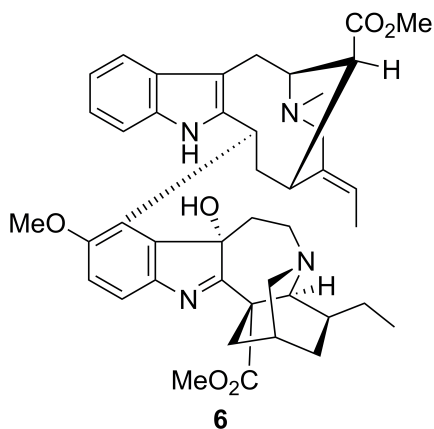
4. 研究成果

(1) インドネシア産キョウチクトウ科 *Voacanga grandifolia* を素材として成分研究を行った結果、voacalgine A~E (1~5) と命名した新規モノテルペンインドールアルカロイドの単離に成功し、それらの構造を各種二次元 NMR によって明らかにした。



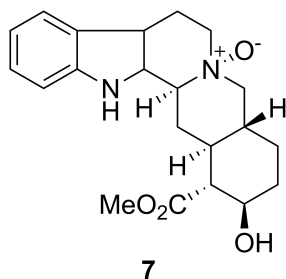


Voacalgine A (1) は C-mavacurine 骨格と 2,3-dihydroxybenzoate が 1:1 で縮合した構造、voacalgine B (2) は alstonerine の C-10 位に水酸基が結合した構造、voacalgine C (3) は macroline 骨格と C6 ユニットが縮合した 7 環性の構造、voacalgine D (4) および E (5) は voacalgine C と同様に macroline 骨格と C6 ユニットが縮合した構造であるが、2-furyloyl 基を有する全く新しい構造であった。他方、異なるロットの本植物からは、vobasine 型と iboga 型からなる新規二量体アルカロイド voacalgine F (6) の単離に成功し、その相対立体配置を明らかにした。

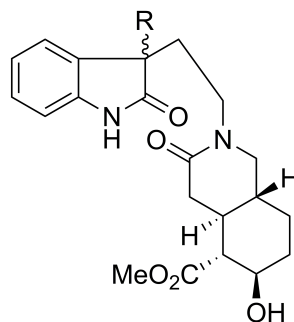
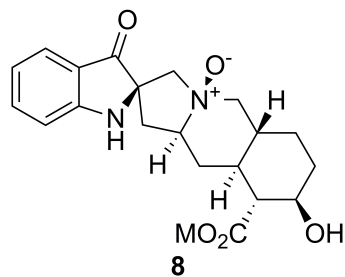


単離した新規アルカロイドについて抗マラリア原虫活性、抗がん活性、チューブリン重合阻害活性、メラニン産生阻害活性、ラット血管弛緩活性等の評価を行ったところ、voacalgine A が HL-60 細胞に対して IC_{50} 12.1 μ M、および HCT116 細胞に対して IC_{50} 45.7 μ M で増殖抑制活性を示した。

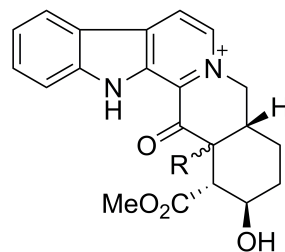
(2) マレーシア産キョウチクトウ科 *Tabernaemontana corymbosa* の葉の成分検索を行った結果、6 種の新規モノテルペンインドールアルカロイド (7~12) を単離し、その構造を各種スペクトルデータにより明らかにした。3 種については CD スペクトルに



より絶対立体配置まで帰属した。

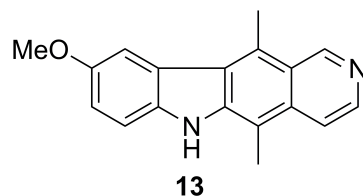


10: R = β -OH



12: R = β -OH

(3) マレーシア産キョウチクトウ科 *Tabernaemontana phymata* より 9-methoxyellipticine (13) を単離し、脂肪滴蓄積抑制作用を見出した。13 はマウスマクロファージ細胞とマウス前脂肪細胞 MC3T3-G2/PA6 の C/EBP β 発現を特異的に阻害することを見出した。また 13 は mRNA およびタンパクレベルにおいて C/EBP β 発現を抑制することを見出した。



5. 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計 2 件)

Haseo, A., Nugroho, A. E., Hirasawa, Y., Kaneda, T., Shirota, O., Rahman, A., Kusumawati, I., Zaini, N. C., Morita, H., A new indole alkaloid from *Voacanga grandifolia*, *Heterocycles*, 査読あり, Vol. 90, 2015, pp. 601-606

DOI: 10.3987/COM-14-S(K)6

Hirasawa, Y., Arai, H., Rahman, A.,
Kusumawati, I., Zaini, N. C., Shirota, O.,
Morita, H., Voacalginines A-E, new indole
alkaloids from *Voacanga grandifolia*,
Tetrahedron, 査読あり, Vol. 69, 2013, pp.
10869-10875
DOI: 10.1016/j.tet.2013.10.097

〔学会発表〕(計4件)

Alfarius Eko Nugroho, Indole alkaloids from
Tabernaemontana corymbosa, 日本生薬学会第
61 回年会, 2014 年 9 月 13 日~14 日, 福岡大
学薬学部(福岡県福岡市)

平澤 祐介, キョウチクトウ科 *Voacanga
grandifolia* の成分研究, 日本生薬学会第 60 回
年会, 2013 年 9 月 7 日~8 日, 北海道医療大
学薬学部(北海道当別町)

馬上未帆, キョウチクトウ科 *Tabernaemontana
corymbosa* のアルカロイドと血管弛緩作用に
関する研究, 日本生薬学会第 60 回年会, 2013
年 9 月 7 日~8 日, 北海道医療大学薬学部(北
海道当別町)

橘川侑季, キョウチクトウ科 *Tabernaemontana
phymata* の脂肪滴蓄積抑制作用に関する研究,
日本生薬学会第 60 回年会, 2013 年 9 月 7 日
~8 日, 北海道医療大学薬学部(北海道当別町)

〔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

平澤 祐介 (HIRASAWA, Yusuke)

星薬科大学・生薬学教室・助教

研究者番号: 90434183