8　多様性拡大抽出物による創薬指向型化合物ライブラリー	菊地　晴久

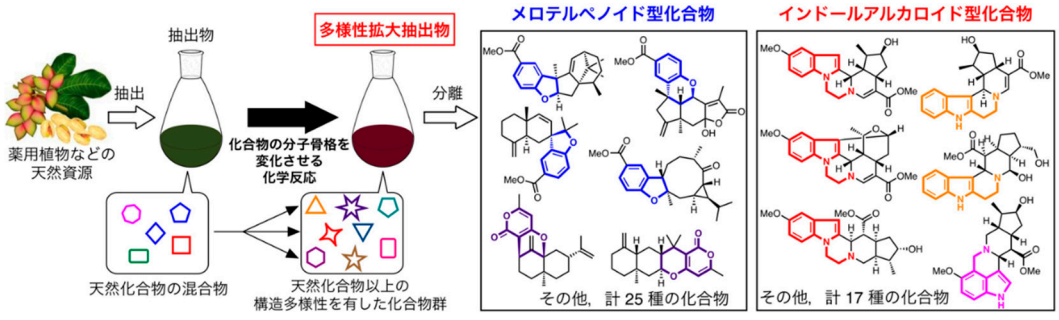
【目的】天然物化学は、新規な母核構造を有し、特異な生物活性を示す多種多様な天然由来化合物を、生命科学・創薬科学など様々な分野に対して提供するという重要な役割を担っている。このような有用性をもたらしている要因としてはいくつか挙げられるが、最も大きい要因は、化合物の高度な構造多様性であると考えられている。しかし、天然由来化合物の探索は古くから行われており、多様な新規骨格を含む化合物の発見は困難になりつつあるのが現状である。したがって、今後も創薬等に重要な役割を果たしていくためには、多様な構造を有した天然化合物または天然化合物類縁体を継続的に得る手法を開発しなければならない。本研究は、我々が独自に開発した手法である「多様性拡大抽出物」を活用することで、高度な構造多様性と生物活性を示す可能性の高い化学構造とを併せ持つ創薬を指向した天然化合物類縁体ライブラリーの構築を目的とする。

【方法】本研究の基盤となる技術である「多様性拡大抽出物」は、従来の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ものである。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おこなうことで、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によって各化合物を分離・精製することで、構造多様性の高い化合物ライブラリーを取得することができる、といった手法である。実際に創薬等に役立つような化合物ライブラリーとするためには、単に分子骨格が新しいというだけでは不十分であることから、本研究では、これまでに知られている生物活性天然化合物や医薬品の構造を参考にし、メロテルペノイド型化合物およびモノテルペンインドールアルカロイド型化合物ライブラリーの構築を行った。

【結果】ガジュツ、ハマスゲ、オケラなどのセスキテルペン類を多く含む薬用植物を原料として、これらの抽出物に対して DIBAL を作用させて、含まれる化合物中のケトンを第二級アルコールへと還元した。つづいて光延反応によって σヨードフェノール誘導体あるいはヒドロキシヨードピロン誘導体とエーテル結合させ、さらに溝呂木-Heck 反応をおこなうことで環状エーテル構造を形成し多様性拡大抽出物とした。これを分離することで、非天然型骨格を有するメロテルペノイド類縁体 25 種を得た。得られたメロテルペノイド型化合物群について広範な生物活性スクリーニングを行った結果、骨粗鬆症などの治療薬のシーズとなり得る破骨細胞分化抑制作用を有する化合物を見出した。一方、イリドイド配糖体を多く含む薬用植物であるサンシュユおよびクチナシのメタノール抽出物を脱グルコシド化し、さらにビスマストリフラートを触媒として芳香族非天然アミンをそれぞれ作用させることで、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。これらを分離することで非天然型インドールアルカロイド型化合物 17 種を得た。得られた化合物はいずれも、これまで天然化合物としても合成化合物としても報告例の無い 6 種の新規五環式あるいは多環式骨格を含んでいた。

以上のように、多様性拡大抽出物を用いることで、薬用植物などの容易に入手可能な天然資源から、新規骨格を有する多くの天然化合物類縁体を得ることができた。引き続き、創薬研究に十分利用できる構造多様性の高い化合物ライブラリーの構築を進めていきたい。

多様性拡大抽出物より得られたメロテルペノイド型化合物およびインドールアルカロイド型化合物



8. 多様性拡大抽出物による創薬指向型化合物ライブラリー

菊地　晴久

東北大学 大学院薬学研究科 医薬資源化学分野

Key words：多様性指向型合成，多様性拡大抽出物，天然化合物，化合物ライブラリー，薬用植物

緒　言

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。特に植物は、多くの生物活性物質を産生しており、天然物化学研究において非常に重要な生物資源である。天然由来化合物が、上記のような重要性をもたらしている要因として最も大きい要因は、その高度な構造多様性であると考えられている［1］。しかし、天然由来化合物の探索は古くから行われており、多様な新規骨格を含む化合物の発見は困難になりつつあるのが現状である。

我々は構造多様性の高い天然化合物類縁体ライブラリーを提供するための新たな手法として、従来の天然由来化合物の探索研究に多様性指向型合成［2］の考え方を組み合わせた「多様性拡大抽出物（diversity-enhanced extracts）」を提唱している［3，4］。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おこなうことで、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によって各化合物を分離・精製することで、構造多様性の高い化合物ライブラリーを取得することができる、といった手法である（図 1）。

しかし、実際に創薬等に役立つような化合物ライブラリーとするためには、単に分子骨格が新しいというだけでは不十分である。そこで本研究では、これまでに知られている生物活性天然化合物や医薬品の構造を参考にして、多様性拡大抽出物を利用した創薬活性指向型化合物ライブラリーの構築を行うことにした。

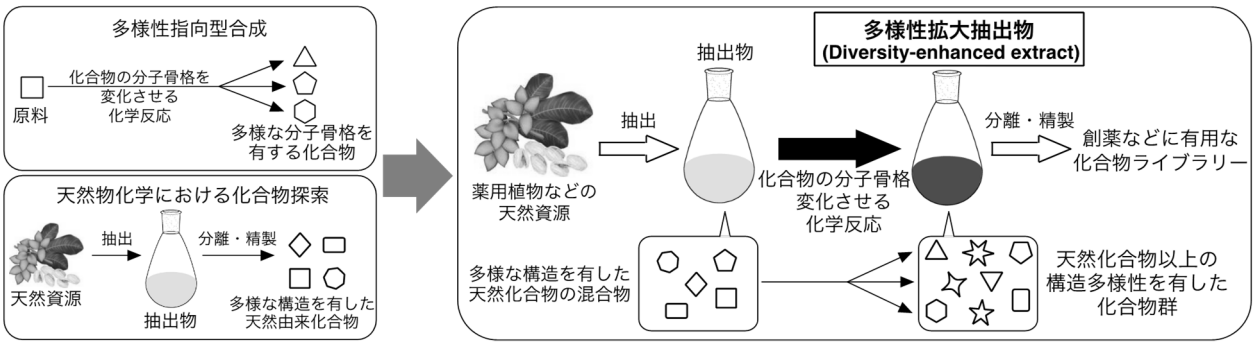


図 1. 多様性拡大抽出物の概略

方法および結果

1. メロテルペノイド型化合物ライブラリーの構築

メロテルペノイドは、テルペノイドとそれ以外の生合成経路由来の構造を併せ持つハイブリッド型天然化合物であり、強力な薬理活性を示す化合物も数多く知られている。その大部分はテルペノイドとポリケチドとが融合した構造をもっているが、特に sp^3 炭素から成る立体的な広がりをもったテルペノイド部分と sp^2 炭素から成る平面性の高いポリケチド部分（ベンゼン環・ピロン環など）とが環状エーテル構造を介して結合している化合物が多く存在する（図 2）。そこで、天然に存在するテルペノイドに対して、フェノール類またはヒドロキシピロン類を結合・環化させれば、新規骨格を有したフェノール型またはピロン型メロテルペノイド類縁体を得ることが可能となる。このような考え方をもとに、

多様性拡大抽出物を用いたメロテルペノイド型化合物ライブラリーの構築をおこなった［5］。

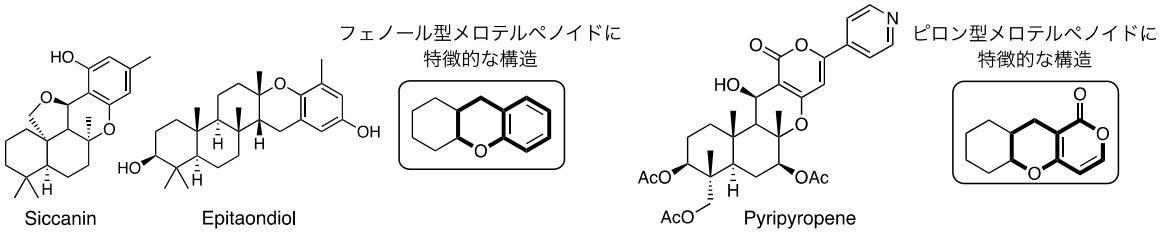


図 2. メロテルペノイドに見られる特徴的な構造

原料となる天然資源として、ガジュツ *Curcuma zedoaria*、ハマスゲ *Cyperus rotundus*（生薬名コウブシ）、オケラ *Atractylodes japonica*（生薬名ビャクジュツ）などのセスキテルペン類を多く含む薬用植物を用いた。これらの抽出物に対して DIBAL を作用させて、含まれる化合物中のケトンを第二級アルコールへと還元した。つづいて光延反応によって σ-ヨードフェノール誘導体 **A** とエーテル結合させ、さらに溝呂木-Heck 反応をおこなうことで環状エーテル構造を形成し多様性拡大抽出物とした。これを分離することで、非天然型骨格を有するフェノール型メロテルペノイド類縁体 **1**〜**16** を得た。また、ヒドロキシヨードピロン誘導体 **B** を用いることで、ピロン型メロテルペノイド類縁体 **17**〜**25** を得た（図 3）。

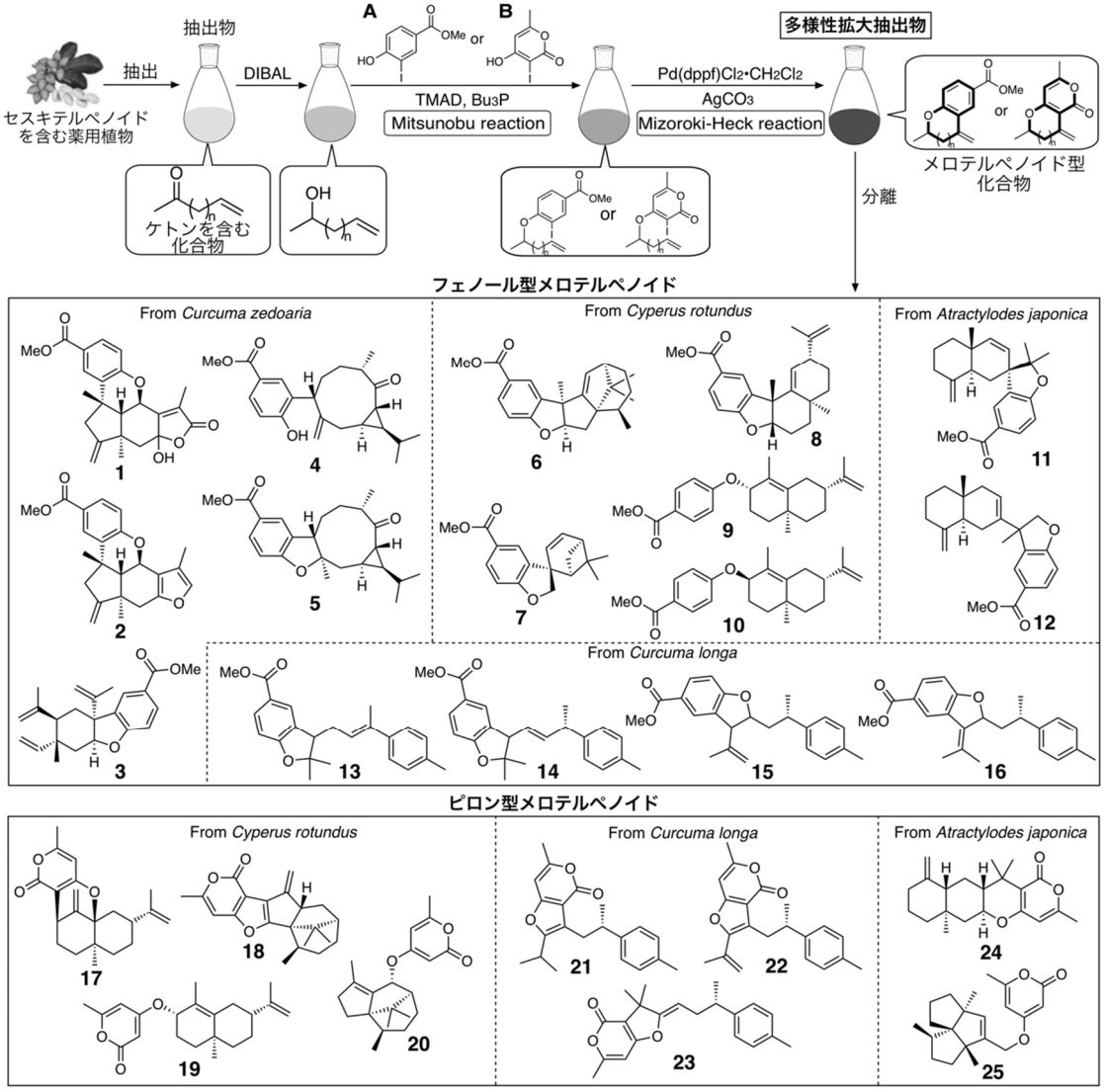


図 3. 多様性拡大抽出物より得られたメロテルペノイド型化合物群

得られたメロテルペノイド型化合物群について広範な生物活性スクリーニングを行った。その結果、化合物 **12** が破骨細胞分化抑制作用を示すことを見出した（図 4）。破骨細胞の過剰な分化の抑制は骨吸収量の減少につながるため、**12** は骨粗鬆症などの治療薬のシーズとなり得ると考えられる。

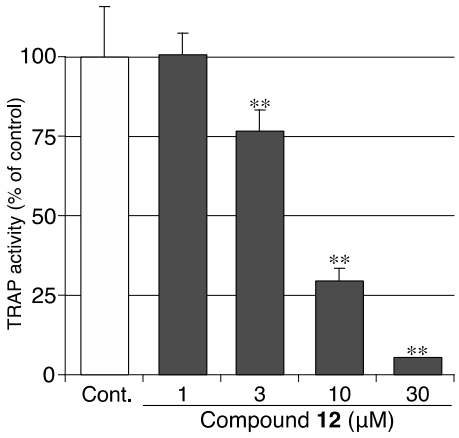


図 4. 化合物 **12** の破骨細胞分化抑制作用

マウス由来 RAW264.7 細胞を破骨細胞分化因子（Receptor activator of NF-kB ligand：RANKL）で刺激し、化合物存在下 4 日間培養した後の酒石酸抵抗性ホスファターゼ（Tartarate-resistant acid phosphatase：TRAP）活性を測定した。$^{**}p < 0.01$ vs control by Dunnett's test.

2. 非天然型モノテルペンインドールアルカロイド型化合物ライブラリーの構築

モノテルペンインドールアルカロイドは、天然由来化合物の中でも特に多様な薬理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として利用されている化合物も数多く知られている。天然に存在するほぼ全てのモノテルペンインドールアルカロイドは、tryptamine とセコイリドイド配糖体 secologanin との Pictet-Spengler 型反応によって生成される strictosidine を経て生合成される。この知見に基づき、我々はこれまでに secologanin に類似したイリドイド型化合物と 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、その中から免疫チェックポイント分子 CTLA-4 の阻害剤を見出している［6］。

ここで tryptamine ではなく、その位置異性体やベンゾチアゾール・ベンゾフラン誘導体などの生体内で生合成されない芳香族アミンをイリドイド型化合物と縮合させることができれば、従来以上の多様性を有したインドールアルカロイド類縁体を得ることが可能となる（図 5）。このような考え方をもとに、多様性拡大抽出物を用いたインドールアルカロイド型化合物ライブラリーの構築をおこなった。

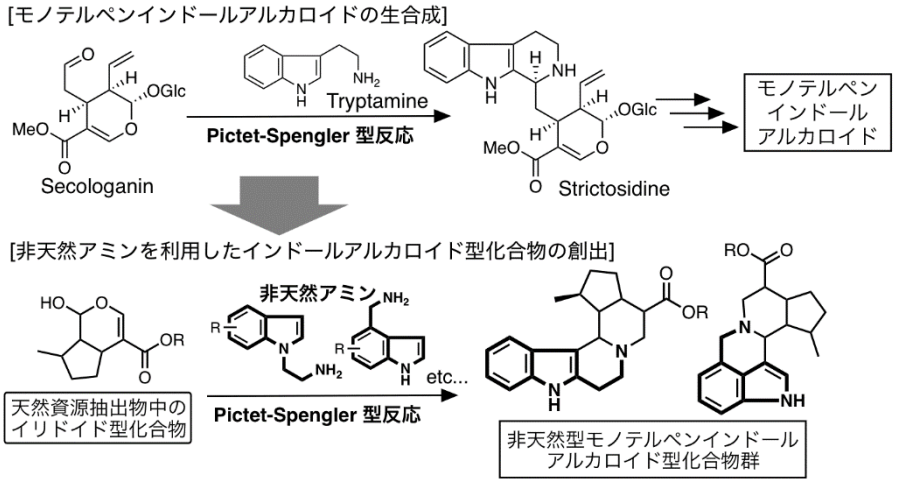


図 5. 非天然アミン由来アルカロイド型化合物を取得するための戦略

原料となる天然資源として、イリドイド配糖体を多く含む薬用植物であるサンシュユ *Cornus officinalis* およびクチナシ *Gardenia jasminoides*（生薬名サンシシ）を用いた。これらのメタノール抽出物は大量の糖を含むため、まず活性炭を用いたカラムクロマトグラフィによって糖を除いた後、β-グルコシダーゼを作用させてイリドイド配糖体を脱グルコシド化した。さらにビスマストリフラートを触媒として tryptamine の位置異性体（あるいはそのメトキシ体）をそれぞれ作用させることで、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。これらを分離した結果、1-ethanamine-5-methoxy-1*H*-indole 由来の非天然型インドールアルカロイド型化合物として **26**～**28** および **31**～**33** を、2-ethanamine-1*H*-indole 由来の化合物として **34**～**39** を、4-methanamine-5-methoxy-1*H*-indole 由来の化合物として **40**、**41** をそれぞれ得た（図 6）。また、化合物 **27**、**28** および **41** についてはトリフルオロ酢酸を作用させることで分子内環化反応を進行させ、化合物 **29**、**30** および **42** をそれぞれ得た。得られた化合物はいずれも新規化合物であり、これまで天然化合物としても合成化合物としても報告例の無い 6 種の新規五環式あるいは多環式骨格を含んでいた。現在これらの化合物群について、網羅的な生物活性スクリーニングをおこなっているところである。

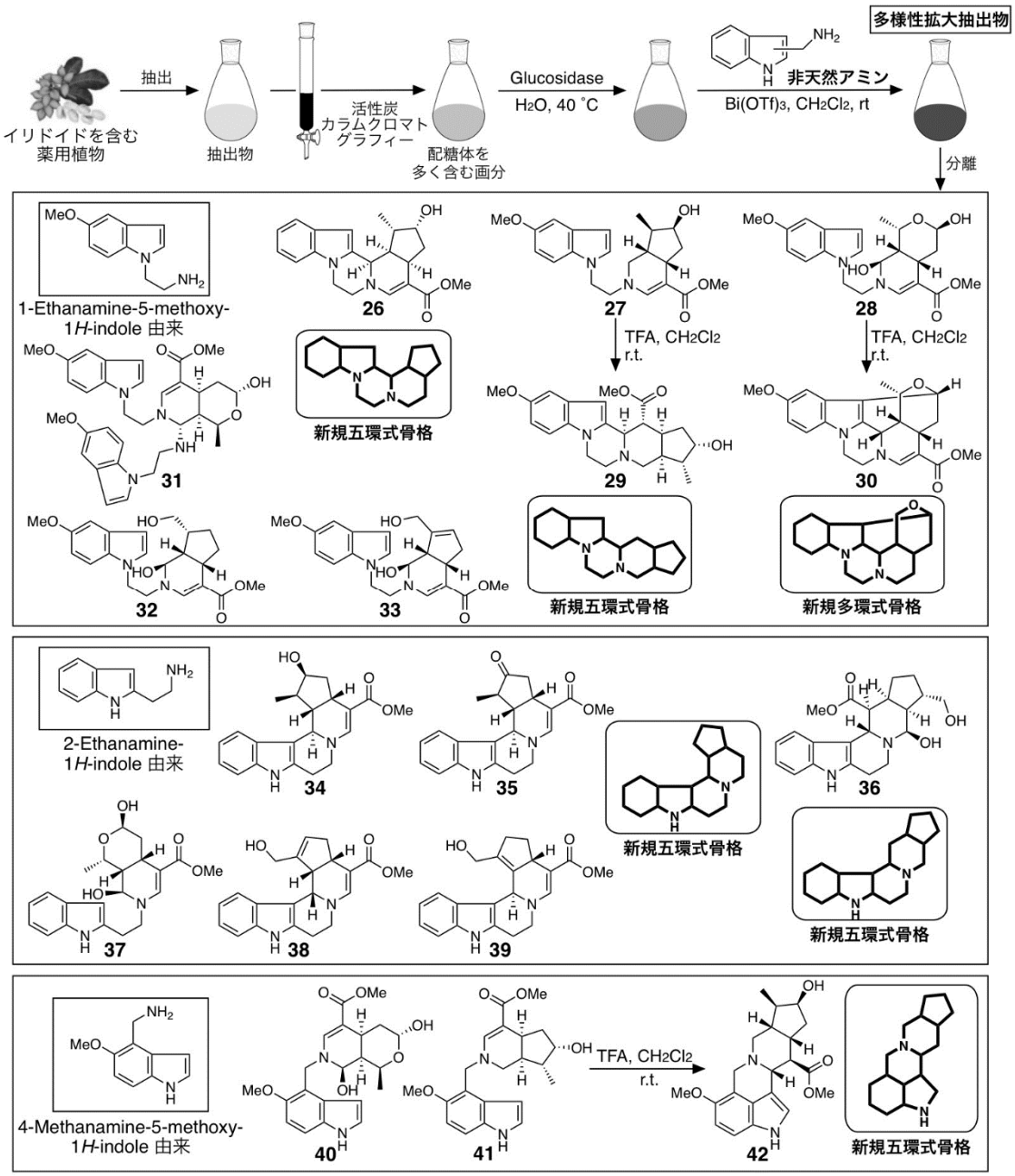


図 6. 多様性拡大抽出物より得られた非天然型モノテルペンインドールアルカロイド型化合物群

考　察

以上のように、多様性拡大抽出物を用いることで、薬用植物などの容易に入手可能な天然資源から、新規骨格を有する多くの天然化合物類縁体を得ることができた。引き続き、創薬研究に十分利用できる構造多様性の高い化合物ライブラリーの構築を進めていきたい。

共同研究者・謝辞

本研究を遂行する上で、東北大学大学院薬学研究科の大島吉輝教授（現・東北大学オープンイノベーション戦略機構特任教授）の多大なるご支援をいただいた。また、大学院生の中城陽太、一戸佳祐、河合航輔、鈴木佳英の諸氏の成果である。破骨細胞分化抑制作用については、中部大学生物機能開発研究所の米澤貴之准教授との共同研究によるものである。

文　献

1) Feher M, Schmidt J M Property Distributions: Differences between Drugs, Natural Products, and Molecules from Combinatorial Chemistry. J. Chem. Inf. Comput. Sci. 2003 43(1):218-227. PMID: 12546556 DOI: 10.1021/ci0200467
2) Schreiber S L Target-oriented and diversity-oriented organic synthesis in drug discovery. Science 2000 287(5460):1964-1969. DOI: 10.1126/science.287.5460.1964
3) Kikuchi H, Sakurai K, Oshima Y Development of diversity-enhanced extracts of curcuma zedoaria and their new sesquiterpene-like compounds. Org Lett 2014 16(7):1916-1919. PMID: 24646363 DOI: 10.1021/ol5004324
4) Kikuchi H, Oshima Y Developments toward the Production of Diverse Natural-Product-Like Compounds: Diversity-Oriented Synthesis and Diversity-Enhanced Extracts. Heterocycles 2018 96(9):1509-1527. DOI: 10.3987/REV-18-885
5) Kikuchi H, Kawai K, Nakashiro Y, Yonezawa T, Kawaji K, Kodama E N, Oshima Y Construction of a Meroterpenoid-like Compounds Library Based on Diversity-Enhanced Extracts. Chem–Eur J 2019 25(4):1106-1112. PMID: 30379362 DOI:10.1002/chem.201805417
6) Kikuchi H, Ichinohe K, Kida S, Murase S, Yamada O, Oshima Y Monoterpene Indole Alkaloid-Like Compounds Based on Diversity-Enhanced Extracts of Iridoid-Containing Plants and Their Immune Checkpoint Inhibitory Activity. Org Lett 2016 18(22):5948-5951. PMID: 27934494 DOI: 10.1021/acs.orglett.6b03057