

化学応用分野

Division of Natural Products Chemistry

教授	門田 重利	Professor	Shigetoshi Kadota (Ph.D.)
准教授	手塚 康弘	Associate Professor	Yasuhiro Tezuka (Ph.D.)
助教	Awale Suresh	Assistant Professor	Suresh Awale (Ph.D.)
技術補佐員	岩白 円	Assistant	Madoka Iwashiro

◇研究目的

和漢薬や天然薬物（特にアジアの伝統薬物）から、膵臓癌、糖尿病、抗マラリア、骨粗鬆症、痛風などに有用な医薬シーズを探索すること、ならびに、和漢薬や天然薬物が薬物代謝酵素に及ぼす影響を解明することを目的とする。

◇研究概要

I) 伝統薬物から栄養飢餓状態で殺細胞作用を有する物質の探索

国立がんセンターとの共同研究で、膵臓癌PANC-1細胞株を用い、低栄養状態(IMEM)でPANC-1に対する殺細胞活性を示し、通常培地(DMEM)では細胞の成育に活性を示さないような薬物を天然資源より探索している。その結果、ミャンマー産薬用植物 *Soymida febrifuga* より PANC-1細胞株に対して選択的な細胞毒性を有する新化合物を見出し、報告した。

II) 天然薬物から酵母 Ca^{2+} シグナル伝達阻害物質の探索と医薬への応用

広島大学で開発したポジティブスクリーニング法を用いて、新規医薬シーズ開発を目的に研究を行っている。中国及び東南アジア産生薬によるスクリーニングを行い、これまで約1000サンプルの試験を終え、25検体に阻害活性を見い出している。その中で、ベトナム産薬用植物 *Eurycoma longifolia* の成分を検討中である。

III) 天然薬物の薬物代謝酵素阻害に関する研究

天然薬物が“薬物代謝酵素(シトクローム P450, CYP)”に及ぼす影響(薬物間相互作用)を解明する目的で、インドネシア・ジャムウ生薬“*Lunasia amara*”及び“*Averrhoa bilimbi*”の阻害活性成分について検討している。

IV) 骨粗鬆症に有効な天然薬物成分の開発研究

抗骨粗鬆活性が見い出された紅豆杉のリグナンと類縁のリグナンについて、破骨細胞類似の細胞を用いたアッセイ系で活性を検討中である。

V) プロポリスの生物活性成分の研究

プロポリスの生物活性成分研究の一環として、ミャンマー産プロポリスが膵臓癌PANC-1細胞株に対して低栄養状態で選択的殺細胞活性を示す事を見だし、その活性成分の研究を行っている。

上記の研究課題によって得られた本年度の成果(原著及び学会報告)は下記の通りである。

◇原著論文

- 1) Li F., Awale S., Zhang H., Tezuka Y., Esumi H., and Kadota S.: Chemical constituents of propolis from Myanmar and their preferential cytotoxicity against a human pancreatic

cancer cell line. J. Nat. Prod., 72: 1283–1287, 2009.

Abstract: A methanolic extract of propolis obtained in Myanmar was found to inhibit PANC-1 human pancreatic cancer cells preferentially under nutrient-deprived conditions (NDM), with a PC₅₀ value of 9.3 µg/mL. Bioactivity-guided fractionation of the extract led to the isolation of two new cycloartane-type triterpenes, (22*Z*,24*E*)-3-oxocycloart-22,24-dien-26-oic acid (1) and (24*E*)-3-oxo-27,28-dihydroxycycloart-24-en-26-oic acid (2), together with 13 cycloartanes (3–13) and four known prenylated flavanones (14–17). Among these, compound 1 exhibited the most potent preferential cytotoxicity (PC₅₀ 4.3 µM) in a concentration- and time-dependent manner. Furthermore, 1 induced apoptosis-like morphological changes of PANC-1 cells within 24 h of treatment.

2) Toyooka N., Zhou D., Nemoto H., Tezuka Y., Kadota S., Andriamaharavo N. R., Garraffo H. M., Spande T. F., and Daly J. W.: Efficient Enantio- and Diastereodivergent Synthesis of Poison-Frog Alkaloids 251O and 223B. *J. Org. Chem.*, 72: 1631–1636, 2009.

3) Li F., Awale S., Tezuka Y., and Kadota S.: Cytotoxic Constituents of Propolis from Myanmar and Their Structure–activity Relationship. *Biol. Pharm. Bull.*, 32: 2075–2078, 2009.

Abstract: Thirteen cycloartane-type triterpenes (1–13) and four prenylated flavanones (14–17) isolated from propolis collected in Myanmar, were evaluated for their cytotoxic activity against a panel of six different cancer cell lines; three murine cancer cell lines (colon 26-L5 carcinoma, B16-BL6 melanoma, and Lewis lung carcinoma) and three human cancer cell lines (lung A549 adenocarcinoma, cervix HeLa adenocarcinoma and HT-1080 fibrosarcoma). Among them, a cycloartane-type triterpene, 3*α*,27-dihydroxycycloart-24*E*-en-26-oic acid (3), showed the most potent cytotoxicity against B16-BL6 cells with an IC₅₀ value of 5.91 µM, comparable to those of positive controls, doxorubicin (IC₅₀, 5.66 µM) and 5-fluorouracil (IC₅₀, 4.88 µM). In addition, (2*S*)-5,7-dihydroxy-4'-methoxy-8,3'-diprenylflavanone (14) exhibited strong cytotoxicity against all the tested cancer cell lines with the IC₅₀ values ranging from 14.0 to 26.4 µM. Based on the observed results, the structure-activity relationships are discussed.

4) Hamazaki T., Suzuki N., Widyowati R., Miyahara T., Kadota S., Ochiai H., and Hamazaki K.: The depressive effects of 5,8,11-eicosatrienoic Acid (20:3n-9) on osteoblasts. *Lipids*, 44: 97-102, 2009.

5) Awale S., Miyamoto T., Linn T. Z., Li F., Win N. N., Tezuka Y., Esumi H., and Kadota S.: Cytotoxic Constituents of *Soymida febrifuga* from Myanmar. *J. Nat. Prod.*, 72: 1631-1636, 2009.

Abstract: The 70% ethanol extract of *Soymida febrifuga* was found to kill PANC-1 human pancreatic cancer cells preferentially under nutrition-deprived conditions at a concentration of 10 µg/mL. Phytochemical investigation led to the isolation of 27 compounds including four new compounds [(3*R*)-6,4'-dihydroxy-8-methoxyhomoisoflavan (1), (2*R*)-7,4'-dihydroxy-5-methoxy-8-methylflavan (2), 7-hydroxy-6-methoxy-3-(4'-hydroxybenzyl)coumarin (3), and 6-hydroxy-7-methoxy-3-(4'-hydroxybenzyl)coumarin (4)]. 2',4'-Dihydroxychalcone (8) displayed the most potent preferential cytotoxicity (PC₅₀ 19.0 µM) against PANC-1 cells. In addition, the cytotoxic activity against colon 26-L5 carcinoma (colon 26-L5), B16-BL6 melanoma (B16-BL6), lung A549 adenocarcinoma (A549), cervix HeLa adenocarcinoma (HeLa), and HT-1080 fibrosarcoma (HT-1080) cell lines and their structure-activity relationship are discussed. The cytotoxic activity of 4'-hydroxy-3,5-dimethoxystilbene (6) against colon 26-L5 (IC₅₀ 2.96 µM) was found to be stronger than the positive control, doxorubicin, at IC₅₀ 3.12 µM.

6) Miyake K., Tezuka Y., Awale S., Li F., and Kadota S.: Quassinoids from *Eurycoma longifolia*. *J. Nat. Prod.*, 72: 2135–2140, 2009.

Abstract: Ten new structurally diverse quassinoids (1–10) and 14 known compounds were isolated from the stems of *Eurycoma longifolia*. The new compounds were two eurycomanone-type C₂₀ quassinoids (1, 2), one klaineanone-type C₂₀ quassinoid (3), one C₁₉ quassinoid (4) with a 1,2-*seco*-1-nor-6(5→10)-*abeo*-picrasan-2,5-olide skeleton, and six eurycomalactone-type C₁₉ quassinoids (5–10). Compounds 5 and 6 both possessed a 3,4-epoxy group observed for the first time in eurycomalactones. Compound 1 had an α -oriented OH group at C-14 that had not been reported

previously in eurycomanone-type quassinoids. All of the isolates were evaluated for cytotoxicity toward the highly metastatic HT-1080 human fibrosarcoma cell line, and compounds **11**, **23**, and **24** showed potent cytotoxicity (IC₅₀ values 0.93–1.1 μM).

◇学会報告 (*: 特別講演, シンポジウム, ワークショップ等)

- 1) 李 峰, Suresh Awale, 江角浩安, 手塚康弘, 門田重利: ミャンマー産プロポリスの化学成分とそれらのPANC-1細胞に対する選択的細胞毒性活性. 日本薬学会第129年会, 2009, 3, 26-28, 京都.
- 2) Awale Suresh, 東田千尋, 手塚康弘, 宮崎 真, 門田重利: Protective effects of *Rosa damascena* and its active constituent on Aβ(25-35)-induced neuritic atrophy. 第26回和漢医薬学会大会, 2009, 8, 29-30, 幕張.
- 3) Widyowati Retno, 宮原龍郎, 手塚康弘, Awale Suresh, 門田重利: Alkaline Phosphatase (ALP) Stimulatory Constituents of *Barleria lupulina*. 第26回和漢医薬学会大会, 2009, 8, 29-30, 幕張.
- 4) 三宅克典, 手塚康弘, Suresh Awale, 門田重利: ベトナム生薬 *Euricomia longifolia* Jack の成分研究. 日本生薬学会第56回年会, 2009, 10, 3-4, 長崎.
- 5) 手塚康弘, 張 紅燕, Suresh Awale, 東田千尋, 門田重利, 山川裕一郎, 松谷裕二, 根本英雄, 豊岡尚樹: 薔薇に含有される長鎖不飽和脂肪酸の誘導体の合成と神経保護活性. 第28回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2009, 11, 25-27, 東京.
- 6) 豊岡尚樹, 周 徳軍, 根本英雄, 手塚康弘, 門田重利, Nirina R. Andriamaharavo, H. Martin Garraffo, Thomas F. Spande, John W. Daly: 毒ガエルアルカロイド **251O**, *trans*-**223B** のエナンチオおよびジアステレオダイバージェント合成. 日本薬学会北陸支部第121回例会, 2009, 12, 6, 富山.

◇その他

- 1) Yasuhiro Tezuka, Subehan, Shigetoshi Kadota: Mechanism-Based Cytochrome P450 3A4 and 2D6 Inhibitors from Indonesian Jamu Medicines. The Eighth NRCT-JSPS Joint Seminar: Innovative Research in Natural Products for Sustainable Development, 2009, 2, 3-4, Bangkok, Thailand.
- * 2) Shigetoshi Kadota, Suresh Awale, Yasuhiro Tezuka, Hiroyasu Esumi: Anti-austerity strategy based drug discovery from the natural products. Makassar International Symposium on Pharmaceutical Science 2009 Recent Progress in Drug Discovery, 2009, 3, 19-20, Makassar, Indonesia.
- 3) Subehan, Shigetoshi Kadota, Yasuhiro Tezuka: CYP3A4 and CYP2D6 Inhibitory Activities of Indonesian Medicinal Plants. Makassar International Symposium on Pharmaceutical Science 2009 Recent Progress in Drug Discovery, 2009, 3, 19-20, Makassar, Indonesia.
- 4) Subehan, Shigetoshi Kadota, Yasuhiro Tezuka: Novel Cyp3A4 and 2D6 Inhibitors from Indonesian Medicinal Plants. Makassar International Symposium on Pharmaceutical Science 2009 Recent Progress in Drug Discovery, 2009, 3, 19-20, Makassar, Indonesia.
- 5) 張 紅燕, Awale Suresh, 手塚康弘, 東田千尋, 門田重利, 山川祐一郎, 松谷裕二, 根本英雄, 豊岡尚樹: アルツハイマー病治療薬開発を指向した長鎖不飽和脂肪酸誘導体の合成と活性評価. 平成21年度有機合成化学北陸セミナー, 2009, 10, 9-10, 富山.
- * 6) Yasuhiro Tezuka: Research in propolis: geographical variations, scope and opportunities of anticancer drug discovery. 2009 International Symposium of Phytochemicals and Functional Foods, 2009, 10, 23, Chiayi, Taiwan.
- 7) 門田重利: 栄養飢餓条件下で作用する天然薬物資源の探索. 岐阜薬科大学・富山大学 学術交流セミナー –伝統医療と先端創薬の融合–, 2009, 12, 13, 岐阜.

◇共同研究

国内

- 1) 江角浩安：国立がんセンター研究所支所, 「がん生物学に基づく新しい治療法に関する研究」, 2003, 4～

海外

- 1) Dejour Message, Alfredo A. G. Fuertas：ブラジル・ヴィソサ大学, 「プロポリスの品質評価に関する研究」, 1996, 10～
- 2) 殷 軍：中国・瀋陽薬科大学, 「漢方方剤の抗骨粗鬆症活性成分に関する研究」, 2004, 10～
- 3) 李 建新：中国・南京大学化学工学院・薬物化学研究所, 「抗骨粗鬆症に有効な薬物の開発研究」, 2004, 4～
- 4) Tran Le Quan：ベトナム・国立ホーチミン市大学, 「ベトナム産薬用植物の科学的評価に関する研究」, 2003, 4～

◇国際交流

- 1) 門田重利：日本学術振興会による論博事業による派遣, 2009, 1/7～1/17, ミャンマー, 論博研究者 Thein Zaw Linn.
- 2) 門田重利：日本学術振興会による論博事業による研究者受入, 2009, 1/27～3/26, 2009, 9/22～12/20, ミャンマー, 論博研究者 Thein Zaw Linn.

◇研究費取得状況

- 1) 厚生労働省がん研究助成（分担：門田重利）「がんの生物的特性に着目した治療法および診断法の評価系の確立に関わる研究」

◇研究室在籍者

学部 4 年生：加藤 護, 高橋光生

大学院修士 1 年：岡村侑香里, Dibwe Fita Eddy

大学院修士 2 年：張 紅燕, Lidyawati (10 月入学)

大学院博士 2 年：信川真智子 (社会人学生)

大学院博士 3 年：李 峰, 三宅克典, 守川耕平 (社会人学生, 10 月入学)

外国人客員研究員：Thein Zaw Linn (ミャンマー・マンダレー伝統医療大学・研究開発部長, JSPS 論博研究者, 2009, 9/22～2009, 12/20),
Subehan (インドネシア・ハサヌジン大学・講師, 2009, 9/1～2009, 11/30),
Rosany Tayeb (インドネシア・ハサヌジン大学・講師, 2009, 9/1～2009, 11/30),
Ermina Pakki (インドネシア・ハサヌジン大学・講師, 2009, 9/1～2009, 11/30),
Rachmawati Syukur (インドネシア・ハサヌジン大学・講師, 2009, 9/1～2009, 11/30)

◇学位（修士，博士）取得者

修士論文：

Retno Widjowati：Chemical Constituents of *Barleria lupulina* and Their Alkaline Phosphatase Stimulatory Activity