



Title	Antimalarial Principles from African Medicinal Plants
Author(s)	Syamsurizal
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46532
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	シャムスリザル Syamsurizal
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 20243 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科分子薬科学専攻
学位論文名	Antimalarial Principles from African Medicinal Plants (アフリカ産薬用植物由来抗マラリア活性物質)
論文審査委員	(主査) 教授 村上 啓寿 (副査) 教授 田中 徹明 教授 今西 武 教授 小林 資正

論文内容の要旨

マラリアは、ハマダラ蚊が媒介するマラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malarie*) によって引き起こされる寄生虫病であり、年間の感染者は 3 億から 5 億人、死亡者数は 100 万人以上に上るとされている。さらに、近年、航空機の発達による輸入マラリアの増加が被害地域を熱帯域から世界中へと広げるとともに、ワクチン開発の難航や特効薬とされてきたクロロキンなど既存の抗マラリア薬に耐性を持つ原虫の出現によって事態はより深刻なものとなっていることから、世界中で新規抗マラリア薬の開発が求められている。

一方、マラリアの高度感染地域である中央アフリカでは、古来よりマラリアの治療に薬用植物が伝承的に経口で用いられている。このような背景のもと、最も深刻な病状をもたらす熱帯熱マラリア原虫 (*P. falciparum*) に対する抗マラリア活性と宿主のモデルとして用いたヒト由来細胞に対する細胞毒性との間に高い選択性を有する抗マラリア薬リード化合物の探索を中央アフリカ伝承薬用植物をソースとして行った。スクリーニングの結果、強力な抗マラリア活性を示した 3 種の薬用植物 (*Morinda morindoides*, *Euphorbia hirta*, *Hymenocardia acida*) を見出し、それぞれ高い選択性を有する抗マラリア活性物質として *Morinda morindoides* からは新規化合物を含む 5 種のフェニルプロパノイド縮合型イリドイド配糖体類、*Euphorbia hirta* からはフラボン C-配糖体、*Hymenocardia acida* からは 3 種のフラボノール配糖体を単離、構造決定した。

Morinda morindoides より見出した新規フェニルプロパノイド縮合型イリドイド配糖体の化学構造は、MS、NMR 等のフィジカルデータを類縁体のそれと比較することで決定した。また、これら一連のフェニルプロパノイド縮合型イリドイド配糖体類は、これまで絶対立体配置が決定されていなかったことから、改良 Mosher 法により絶対配置を決定した。単離した活性化合物のうち、最も収量が高く *in vitro* 試験で中程度の活性を示した化合物についてマウスを用いた *in vivo* での抗マラリア活性を評価したところ、経口投与で 100 mg/kg の投与量においてコントロール群と比較して 42% のマラリア原虫生育阻害率を示したが、延命率は 26% 程度であった。一般に配糖体類は消化・吸収の過程においてグルコシダーゼによって糖部が切断されることが報告されており、本活性物質についても糖部の加水分解に伴う不安定なアグリコンの生成により *in vivo* 試験における活性の低下が推察された。そこで、フェニルプロパノイド縮合型イリドイド配糖体をシーズとして糖部に化学的修飾を加えることによって分解抑制を志向した数種のアナログの合成を行い、*in vitro* 試験において強力な活性を示したアナログについてさらに *in vivo* での検討を行った。

その結果、4",6"-メチルアセタール体にシーズ化合物より原虫生育阻害率、生存日数ともに向上した結果が認められた。

一方、抗マラリア活性物質として *E. hirta* より単離したフラボン C-配糖体 isoorientin と *H. acida* より単離した 3 種のフラボノール配糖体のうち最も強力な活性を示した afzelin についてもマウスを用いた *in vivo* 抗マラリア試験を行った結果、経口投与で 250 mg/kg の投与量において afzelin が 25.7% の原虫生育阻害率と 17% の延命率を示したのに対し、isoorientin は原虫生育阻害率 44.2%、延命率 45% と C-配糖体により強力な抗マラリア効果が認められた。

さらに、抗マラリア活性物質としてすでに報告されている isoquercitrin について、生体内における糖部の加水分解を抑制する目的で化学修飾を施した数種のアナログを合成し、*in vitro* 抗マラリア活性試験において良好な活性を示した化合物について *in vivo* での抗マラリア効果を評価したところ、4",6"-ジ-n-プロピルアセタール体に isoquercitrin より強力な原虫生育阻害率と延命率が認められた。また、isoquercitrin から誘導化したジアジリン環とビオチン構造を有するフォトアフィニティープローブ分子を用いて、標的蛋白探索の検討を行った。まず、UV 照射による反応性を確認する目的で、MeOH に溶解させたプローブ分子に 365 nm の波長の UV を 20 min 照射したところ、ジアジリン環が消失しメトキシル基が導入された化合物が高収率で得られたことから、プローブ分子が光によって反応することを確認した。次に、マラリア原虫感染/非感染赤血球に対してプローブ分子を添加して培養後、UV を照射しプローブ分子を反応させた。サポニン処理によって赤血球膜を破碎し、遠心分離によって得られたマラリア原虫を含む不溶画分に lysis buffer を加えて原虫の細胞膜を破碎した。それぞれの画分についてストレプトアビジンビーズ処理により分離したラベル化蛋白を SDS PAGE で展開し、抗ビオチン抗体を用いたウェスタンプロットによる解析を行った。その結果、感染/非感染にかかわらず、サポニン可溶部および lysis buffer 可溶部の約 70 kDa 付近にバンドが認められた。さらに、このバンドは競合物質として isoquercitrin を前処理することで消失することから isoquercitrin が特異的に結合した蛋白であると考えられた。このことから、isoquercitrin は赤血球膜に存在する蛋白に作用してマラリア原虫の感染、生育を阻害している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

マラリアは、現在、感染者は 3 億から 5 億人、死亡者数は 100 万人以上に上る地球上で最も脅威とされている寄生感染症であり、ワクチン開発の難航や特効薬とされてきたクロロキンなど既存の抗マラリア薬に耐性を持つ原虫の広範な出現が事態をより深刻なものとしている。それゆえ、世界中で新規抗マラリアの開発に繋がるリード化合物の探索が盛んに行われている。

申請者は、中央アフリカ伝承薬用植物からの抗マラリアリード化合物の探索に関する研究を行い、以下の成果を得た。

- 1) スクリーニングの結果、強力な抗マラリア活性を示した 3 種の薬用植物 (*Morinda morindoides*, *Euphorbia hirta*, *Hymenocardia acida*) を早出し、抗マラリア活性物質として 5 種のフェニルプロパノイド縮合型イリドトイド配糖体類、フラボン C-配糖体および 3 種のフラボノール配糖体を単離、構造決定した。
- 2) フェニルプロパノイド縮合型イリドトイド配糖体およびフラボノール配糖体の糖部にアセタールを導入することにより、マウスモデルにも有効な活性を示すアナログを見出した。
- 3) 抗マラリア活性フラボノール配糖体から合成した光親和性プローブ分子を用いて、赤血球上の蛋白のラベル化を達成した。

以上の研究成果は、博士（薬学）の学位論文として相応しい内容であると判断致します。