

キノコ子実体からのアルツハイマー病治療薬の開発

Development of anti-Alzheimer's Disease Drugs  
from Fungal Fruiting Bodies

令和元年度入学 増田 優紀 (Masuda, Youki)

**1.序論**

これまで、天然由来化合物は医薬品や医薬品シード化合物として利用されてきたことから、創薬において重要な役割を担ってきた。このように天然由来化合物が重要視されてきた理由として、その多様な構造や特異な活性を有することが挙げられる。そして、長年にわたり医薬品や医薬品シード化合物となり得る天然由来化合物の探索研究が行われ続けてきた結果、身近な天然資源からの新規医薬品シード化合物の発見は困難になりつつある。そこで、当研究室では未開拓資源の一つとしてキノコ子実体に注目してきた。キノコ子実体は菌糸体から子実体形成がなされたものであり、菌糸体からは得られない特有の二次代謝産物を有することが知られている。また、十分な量のキノコ子実体を確保できない等の理由から、現在までほとんど研究がなされていない種も多く、新規医薬品シード化合物が得られる可能性が高いといえる。

アルツハイマー病 (AD) は記憶障害を主な症状とする神経変性疾患の一種であり、AD 患者数は増加の一途を辿っている。そして、今後も AD 患者数の増加が見込まれているにもかかわらず、従来

の AD 治療法は対症療法のみであることから、根本的な治療法の開発が急務である。現在、AD の発症において、アミロイド前駆タンパク (APP) から  $\beta$ -secretase (BACE1) および  $\gamma$ -secretase によりアミロイド  $\beta$  ( $A\beta$ ) が切り出されるステップ ( $A\beta$  仮説) と  $A\beta$  が凝集するステップ (オリゴマー仮説) が重要とされていることから、これらのステップを阻害することが AD の予防もしくは治療薬の開発につながると考えた。<sup>1)</sup> 以上の理由から、キノコ子実体から  $A\beta$ 凝集抑制活性を指標とし、根本的な AD 治療薬のシード化合物の探索を行うこととした。

## 2. キノコ子実体抽出エキスの選定

当研究室が保有するキノコ子実体 55 種を乾燥し、粉碎したものを  $CHCl_3$ , MeOH で順次抽出して得られたキノコ子実体抽出エキス 110 種について、チオフラビン T (Th-T) 法を用いて  $A\beta$ 凝集抑制活性の評価を行った。その結果、ヌメリアイタケ (*Albatrellus yasudae*) MeOH 抽出エキスに  $A\beta$ 凝集抑制活性が認められたことから、本抽出エキスから AD 治療薬のシード化合物の探索を行うこととした。

## 3. ヌメリアイタケ MeOH 抽出エキスからの $A\beta$ 凝集抑制活性化合物の探索

ヌメリアイタケ MeOH 抽出エキスについて、 $A\beta$ 凝集抑制活性を指標に、各種クロマトグラフィーを用いて分離・精製を行い、10 種の化合物(1-10)を単離した。得られた化合物について、MS および各種 NMR スペクトルデータを用いて構造解析を行ったところ、10 種すべての化合物が酢酸-マロン酸経路から生合成されるオルセリン酸ユニットとイソプレノイド経路から生合成されるプレニルユニットからなるメロテルペノイド構造を有することが明らかとな

った．単離した化合物 10 種のうち 5 種 (1-5) は，それぞれ Fig. 1 に示したような構造と決定し，新規化合物であったことから，Fig. 1 の通りに命名した．その中でも，1 についてはオルセリン酸ユニットの置換基の配置の決定が困難であったため，メチル化体 1a へ誘導し，置換基の配置を決定した (Fig. 2)．また，4 の水酸基の立体化学については金属錯体形成による誘導 ECD スペクトルによって *S* 体と決定した．6-10 は，すでに当研究室において単離している化合物とそれぞれ同定した．<sup>2-6)</sup>

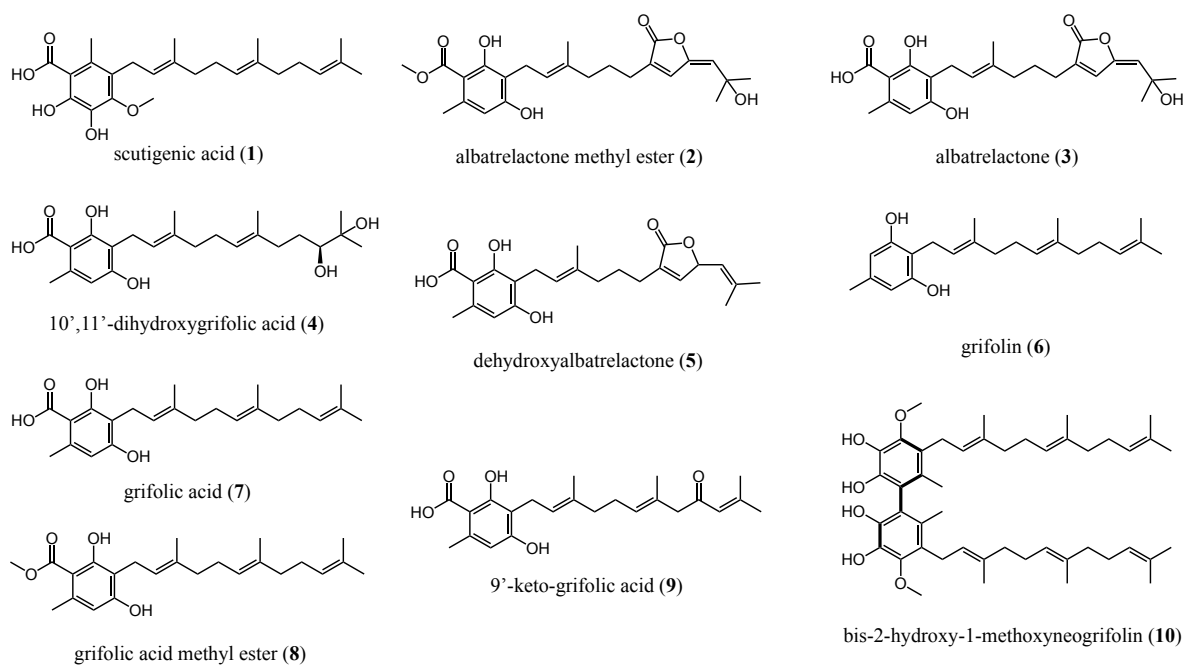


Fig. 1. The structures of meroterpenoids from *A. yasudae*.

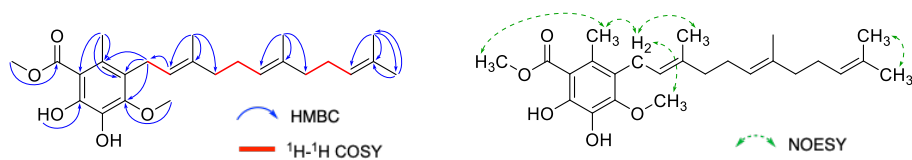


Fig. 2. HMBC,  $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY, and NOESY correlations of 1a.

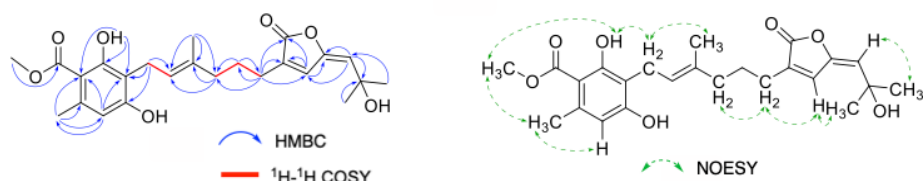


Fig. 3. HMBC,  $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY, and NOESY correlations of 2.

単離した化合物 **1-10** と **1** のメチル化体 **1a** の A $\beta$ 凝集抑制活性を評価したところ、全ての化合物が濃度依存的に活性を示した。これらのうち **1** の IC<sub>50</sub> は 6.6  $\mu$ M であり、ポジティブコントロールの myricetin と同程度の活性を示した。さらに BACE1 阻害活性についても検討した結果、**1** と **7** に良好な活性を見いだした (Table 1)。

**Table 1.** A $\beta$  aggregation and BACE1 inhibitory activity of **1-10**, **1a**, myricetin and Inhibitor IV (IC<sub>50</sub>:  $\mu$ M)

	A $\beta$ aggregation	BACE1 <sup>c)</sup>
<b>1</b>	6.6	1.6
<b>2</b>	40.7	10.9
<b>3</b>	51.4	10.5
<b>4</b>	53.3	34.4
<b>5</b>	nd	nd
<b>6</b>	148.8 <sup>b)</sup>	6.1
<b>7</b>	20.3 <sup>b)</sup>	1.4
<b>8</b>	221.0 <sup>b)</sup>	nd
<b>9</b>	150.8 <sup>b)</sup>	nd
<b>10</b>	12.3 <sup>b)</sup>	nd
<b>1a</b>	50.3	>100
myricetin	9.9	nd
Inhibitor IV <sup>a)</sup>	>100	0.015

nd: no data

a) positive control for BACE1 inhibitory activity.

b) ref. 6.

c) BACE1 inhibitory activity was evaluated by BACE1 FRET assay kit. red.

#### 4. ニンギョウタケ MeOH 抽出エキスからの A $\beta$ 凝集抑制活性化合物の探索

ヌメリアイタケより A $\beta$ 凝集抑制活性および BACE1 阻害活性化合物としてメロテルペノイドが得られたことから、メロテルペノイドについてより詳細な構造活性相関を検討するために、ヌメリアイタケと同じニンギョウタケモドキ科に分類されるニンギョウタケ (*Albatrellus confluens*) に着目した。そこで、ニンギョウタケ MeOH 抽出エキスについて、ヌメリアイタケと同様に A $\beta$ 凝集抑制活性を指標に、各種クロマトグラフィーを用いて分離、精製を行い、12種の化合物 (**6**, **7**, and **11-20**) を単離した。これら化合物について、

各種スペクトルデータを用いて構造解析を行ったところ、すべての化合物がメロテルペノイドであり、そのうち 5 種(11-15)は Fig. 4 に示したような新規構造と推定した。また、16-20 は Fig. 4 の通りに同定した。(4,7,8)

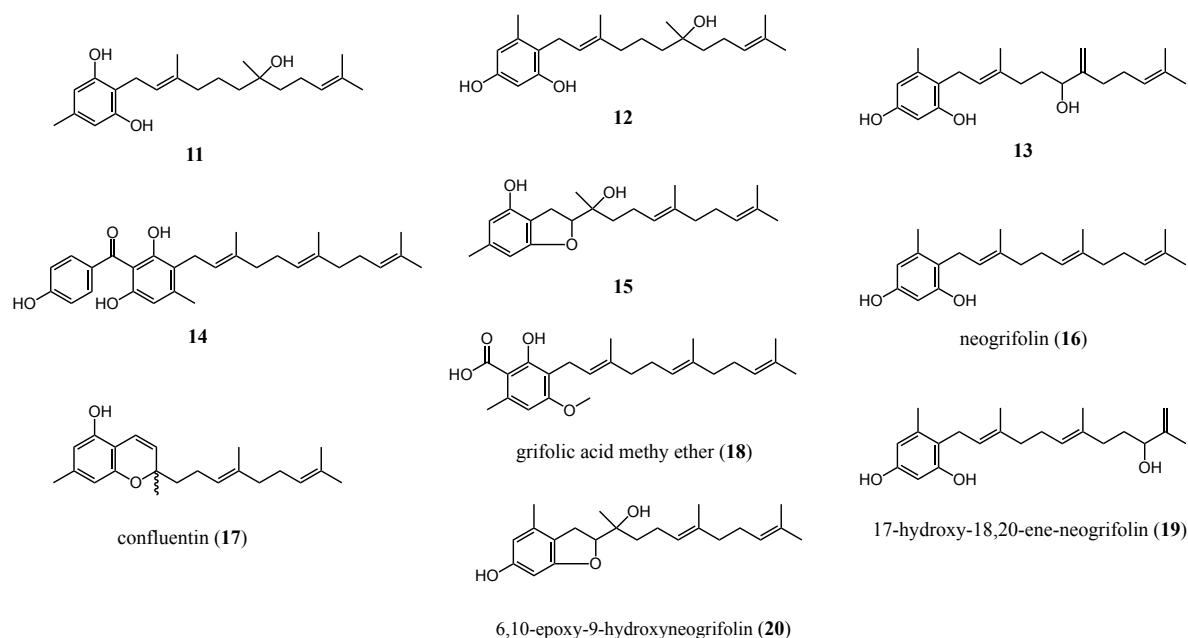


Fig. 4. The structures of meroterpenoids from *A. confluens*.

ニンギョウタケから得られた 11-20 について、A $\beta$ 凝集抑制活性および BACE1 阻害活性を評価したところ、全ての化合物が活性を示したが、特筆すべき活性を見出すことはできなかった。

## 5. ニンギョウタケモドキ科キノコ子実体由来メロテルペノイドの A $\beta$ 凝集抑制活性に関する構造活性相関の検討

本研究で得られた知見から、良好な A $\beta$ 凝集抑制活性を示したメロテルペノイドである 1 および 7 の構造と他のメロテルペノイドの構造を比較し、構造活性相関の検討を行った。その結果、オルセリン酸ユニットのカルボキシ基の存在が A $\beta$ 凝集抑制活性の発現において重要であること、プレニルユニットの酸化や環化によってその活性が減弱する傾向にあることの 2 点が示唆された。

## 6. 結語

キノコ子実体から AD 治療薬のシード化合物の探索を遂行するべく、ニンギョウタケモドキ科のキノコ子実体であるヌメリアイタケおよびニンギョウタケからアルツハイマー病治療薬の開発を目指して A $\beta$ 凝集抑制活性化合物の探索を行った。その結果、両キノコ子実体から新規化合物 10 種を含む合計 20 種のメロテルペノイドを単離し、構造を明らかにした。さらに、抗アルツハイマー病活性として A $\beta$ 凝集抑制活性および BACE1 阻害活性を検討したところ、新規化合物である **1** がポジティブコントロールの myricetin (IC<sub>50</sub> 9.9  $\mu$ M) と同程度の活性を示した。また、構造活性相関についても検討したところ、カルボキシ基の存在の重要性とプレニルユニットの修飾が活性を減弱させることが示唆された。より詳細な構造活性相関やより活性の強い化合物への構造最適化の検討は今後の課題である。

## 6. 参考文献

- 1) Hardy J., Dennis J. S., *Science*, **297**, 353–356 (2002).
- 2) Masuda Y., Fujihara K., Hayashi S., Sasaki H., Kino Y., Kamauchi H., Noji M., Satoh J., Takanami T., Kinoshita K., Koyama K., *J. Nat. Prod.*, **84**, 1748–1754 (2021).
- 3) Hellwig V., Nopper R., Mauler F., Freitag J., Ji-Kai L., Zhi-Hui D., Stadler M., *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, **336**, 119–126 (2003).
- 4) Ishii N., Takahashi A., Kusano G., Nozoe S., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2918–2924 (1988).
- 5) Liang-Yan L., Zheng-Hui L., Zhi-Hui D., Ze-Jun D., Gen-Tao L., Yan L., Ji-Kai L., *J. Nat. Prod.*, **76**, 79–84 (2013).
- 6) Akiba M., Kinoshita K., Kino Y., Sato J., Koyama K., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **30**, 126808–126810 (2020).
- 7) Kegang L., Wolf-D. W., *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, 1033–1036 (2010).
- 8) Liang-Yan L., Zheng-Hui L., Gang-Qiang W., Kun W., Ze-Jun D., Tao F., Gen-Tao L., Yan L., Ji-Kai L., *Nat. Prod. Bioprospect.*, **4**, 119–128 (2014).