

ヌメリアイタケ (*Albatrellus yasudae*) CHCl_3 エキスとツチスギタケ (*Pholiota terrestris*) CHCl_3 エキスからの $\text{A}\beta$ 凝集抑制活性物質の探索とその構造活性相関

Search for $\text{A}\beta$ Aggregation Inhibitory Active Compounds from *Albatrellus yasudae* and *Pholiota terrestris* and their Structure Activity Relationship

平成 29 年度入学 秋庭 愛 (Akiba, Megumi)

指導教員 小山 清隆

【背景】アルツハイマー型認知症 (AD) は認知症発症原因の 7 割を占め、超高齢化社会を迎える日本にとって解決しなければならない病の一つである。そこで本研究では AD の根治を目指して、アミロイドカスケード仮説¹⁾ (アミロイド前駆体蛋白質から β -secretase と γ -secretase によって切り出されるアミロイド β ($\text{A}\beta$) の凝集を AD の原因とする説) に基づき、 $\text{A}\beta$ 凝集抑制活性をもつ化合物をキノコ子実体 (ヌメリアイタケ CHCl_3 エキス, ツチスギタケ CHCl_3 エキス) から探索し、得られた化合物の構造活性相関について検討した。また、活性成分として単離した化合物は抽出エキスや各フラクションと比較して活性が低下する傾向が認められた。そこで、単離した化合物を混合し、活性の上昇が認められるか検討した。さらに、近年、AD 治療を目指した、 $\text{A}\beta$ 凝集物解離活性についても検討されていることから、²⁾ 今回単離した化合物の $\text{A}\beta$ 凝集物解離活

性を検討した.

【方法】各抽出エキスを，活性を指標に各種クロマトグラフィーにて分離精製し，単離化合物は各種スペクトルデータから構造解析を行った．A β 凝集抑制活性と A β 凝集物解離活性はチオフラビン T (Th-T) 法³⁾を用いて評価した．また，単離化合物の A β 凝集抑制活性における構造活性相関を検討した．さらに，単離化合物混合サンプルの A β 凝集抑制活性に関しては各化合物を等量(5 μ M)ずつ混合し，活性を評価した．

【結果・考察】ヌメリアイタケ CHCl₃ エキスから新規化合物 3 種(1-3)を含む計 10 種の化合物(Figure 1),⁴⁾ ツチスギタケ CHCl₃ エキスから 4 種(11-14)の既知化合物を単離した(Figure 2)．

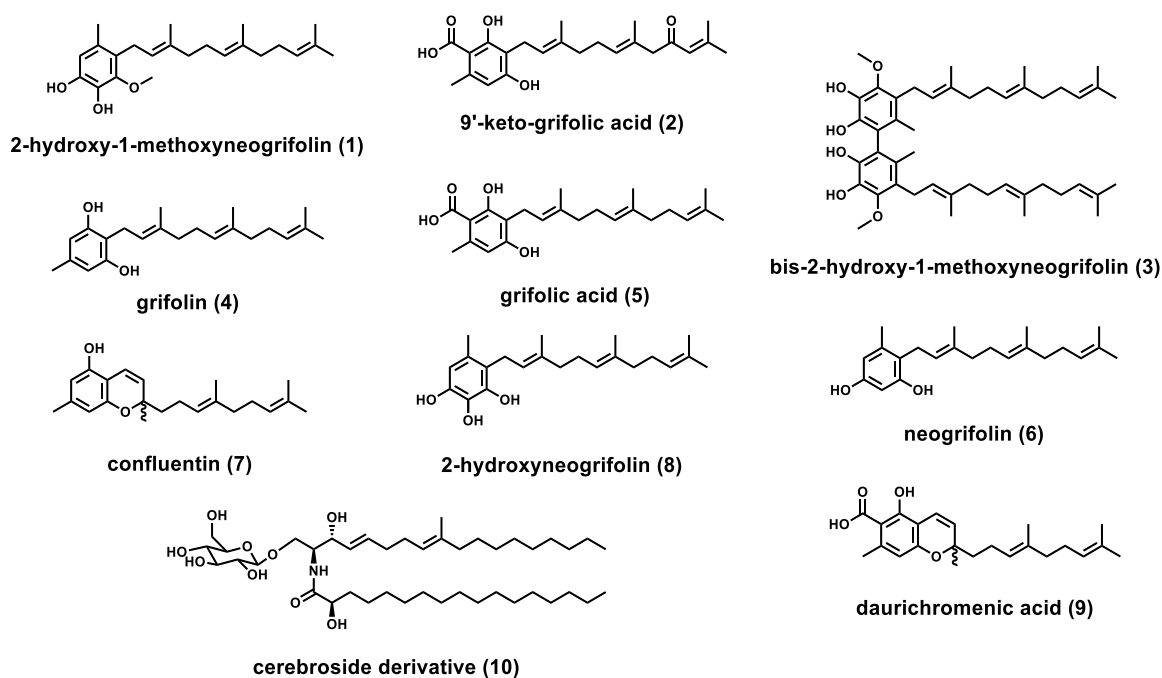


Figure 1. Isolated Compounds from *A. yasudae*.

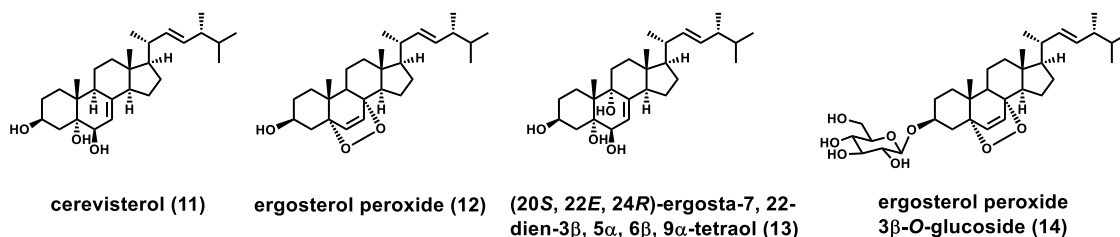


Figure 2. Isolated Compounds from *P. terrestris*.

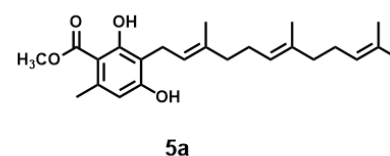
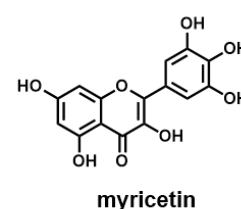
単離化合物の A β 凝集抑制活性

ヌメリアイタケから単離した 10 種の化合物 (**1-10**) と化合物から誘導したメチル化体 (**5a**), ツチスギタケから単離した 4 種の化合物 (**11-14**) に対し, A β 凝集抑制活性試験を行った (Table 1). なお, ポジティブコントロールとして myricetin を用いた.

Table 1. A β_{40} -Aggregation Inhibitory Activity of Compounds **1-14** and **5a**

compound	IC ₅₀ (μ M)	compound	IC ₅₀ (μ M)
1	29.3	11	>100.0
2	150.8	12	43.6
3	12.3	13	41.5
4	148.8	14	6.5
5	20.3		
6	19.9	5a	221.0
7	68.0	myricetin	7.4
8	16.7		
9	24.7		
10	62.7		

*Each test was performed in duplicate.



ヌメリアイタケから単離した化合物 **3**, **6**, **8** に比較的強い A β 凝集抑制活性が認められた. **5** は A β 凝集抑制活性を示したが, **5** のメチルエステルである **5a** は活性を示さなかった. また, フェルネシル基の一部でピラン環を形成した **7** と **9** もまた A β 凝集抑制活性が減弱した. これらのデータからカルボキシ基とフェルネシル基は A β 凝集抑制活性において重要な役割を担っていると考えられた. また, **5** のフェルネシル基の一部が酸化された **2** が **5** に比べ活性が減弱したことから, A β 凝集抑制活性の発現には未修飾のフェルネシル基が必要であることが示唆された (Figure 3).

一方, ツチスギタケから単離した化合物では **14** がポジティブコントロールの myricetin と同程度の強い活性を示した. **14** は **12** が

配糖体になることで著しく活性が上昇した。 **12** の活性が中程度であったことから，糖部が活性に重要であると考えられたが，*glucose* には活性が認められなかった (Figure 4).

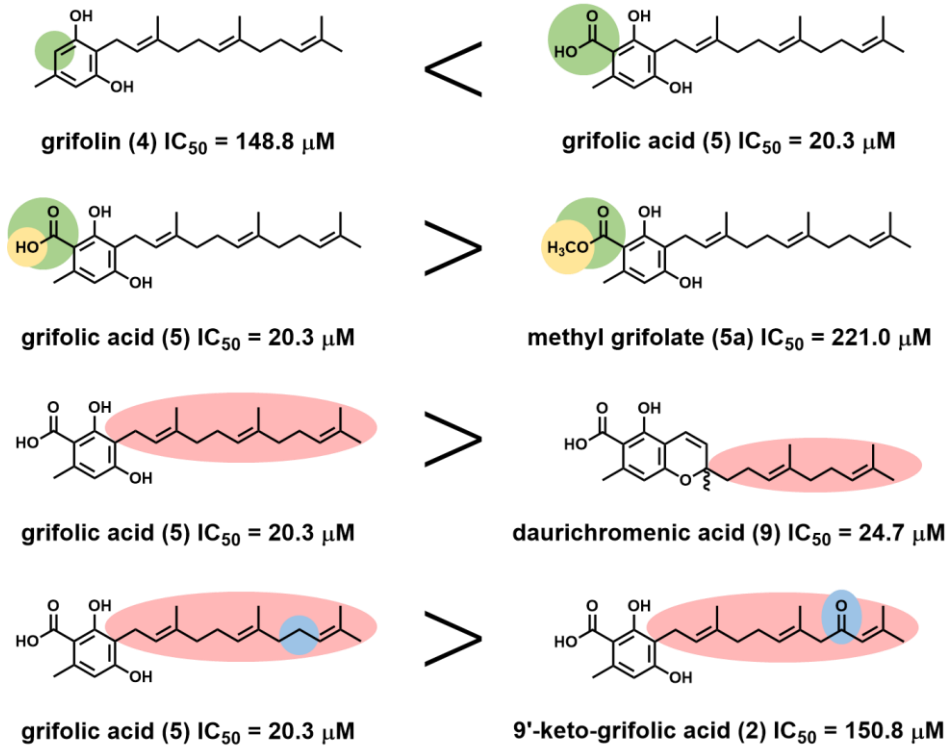


Figure 3. Structure Activity Relationship (1)

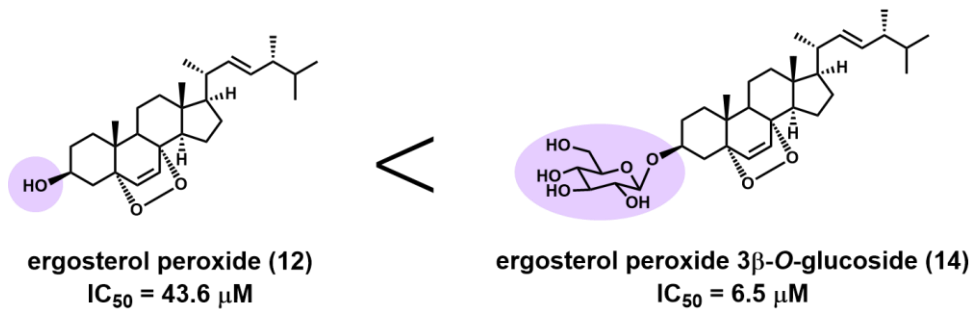


Figure 4. Structure Activity Relationship (2)

単離化合物混合サンプルでの Aβ 凝集抑制活性

ヌメリアイタケ由来の単離化合物混合サンプル (各化合物 5 μM ずつ混合) の活性を評価したところ， **7** と **10** の組合せで活性が上昇した (Figure 5, 活性は Aβ の凝集率で示した).

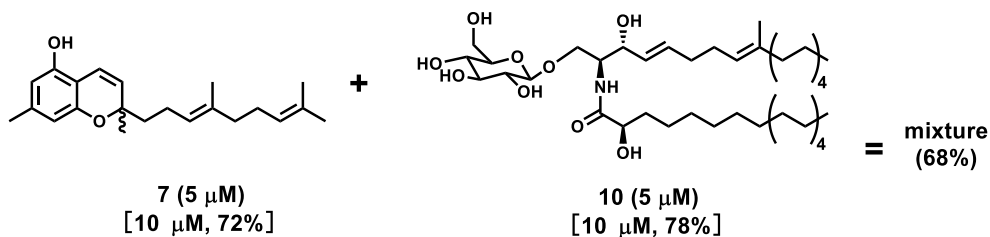


Figure 5. Combination of Isolated Compounds (1).

ツチスギタケから単離した化合物 (11-14) は多くのキノコ子実体から単離される化合物であったため、ツチスギタケの単離化合物同士での混合は行わず、ヌメリアイタケから単離した化合物と混合し(各化合物 5 μM ずつ混合), 新たな相乗効果を期待し, $\text{A}\beta$ 凝集抑制活性を検討した. その結果, 12 と 5, および 13 と 6 又は 5a の組合せにおいて活性の向上がみられた (Figure 6).

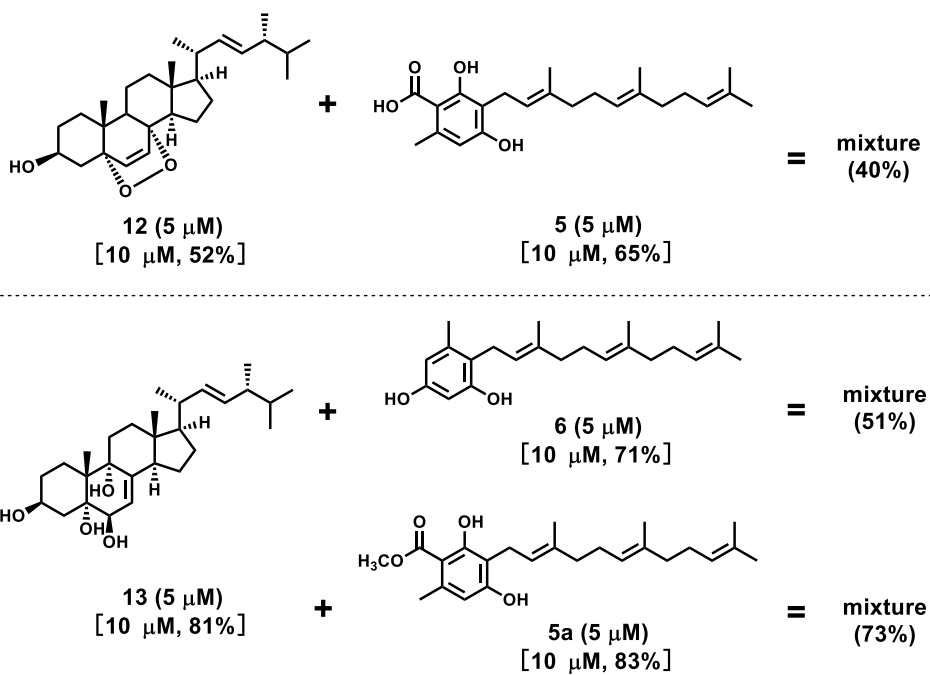


Figure 6. Combination of Isolated Compounds (2).

$\text{A}\beta$ 凝集抑制活性と $\text{A}\beta$ 凝集物解離活性

$\text{A}\beta$ 凝集抑制活性により AD を予防する他に, $\text{A}\beta$ 凝集物解離活性についても検討した (Figure 7). その結果, 10 μM において 6, 8, 9,

13 に解離活性が認められた。

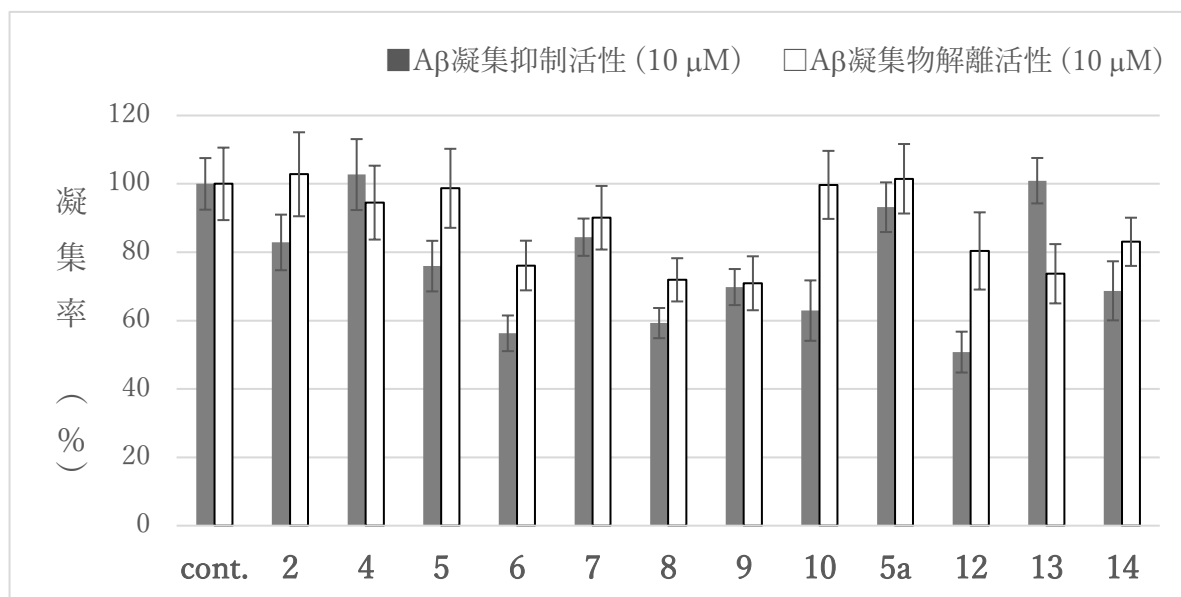


Figure 7. Inhibition of Aβ aggregation and disaggregation of Aβ.

Figure 7 に示したように、13 は Aβ凝集抑制活性が認められないものの、Aβ凝集物解離活性が認められた。

以上、混合サンプルによる活性の上昇や Aβ凝集物解離活性試験の結果は大変興味深いものであった。今後、種々の化合物の組み合わせでの活性変動や、Aβ凝集に対する各化合物の挙動を検討していく必要がある。

【引用文献】

- 1) Hardy J. *et al.*, *Science*, **256**, 184-185 (1992).
- 2) 井上ら, 日本薬学会第 139 年会 21PO-am049 (2019).
- 3) Naiki H. *et al.*, *Yakugaku Zasshi*, **130**, 503-509 (2010).
- 4) Akiba M. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **30**, 126808 (2020).