

## 学術交流・研究推進プロジェクト 成果報告書

研究代表者 所属 医薬分子化学研究室  
職・氏名 助教・菊地 崇

研究テーマ：新規変形 ergostane 型ステロイドの探索と生物活性

研究期間：

2018 年 4 月 1 日 ～ 2020 年 3 月 31 日

研究担当者：

<本学>

研究代表者 菊地 崇 (大阪薬科大学・薬学部・医薬分子化学研究室)

研究分担者 尹 康子 (大阪薬科大学・薬学部・薬品物理化学研究室)

<共同研究機関>

研究代表者 張 傑 (中国薬科大学・中薬学部)

研究目的：

申請者らは、有望な医薬シーズを得るため、天然資源を研究材料として新規分子の探索研究を行っている。新規分子の中でも、炭素骨格の開裂や転位により特異な構造を有する分子には、新たなメカニズムによる生物活性が期待でき、医薬分子の開発においてブレイクスルーをもたらす可能性があることから、それら分子の発見に重きを置いて、化合物を探索している。

申請者らは、近年ヒラタケ科エリンギ (*Pleurotus eryngii*) 子実体から、11(9→7)abeo-ergostane 骨格を有する転位型 ergostane 系ステロイド: pleurocin A および B を発見した。これらは、それまでに例のない炭素骨格を有しており、リポ多糖 (LPS) 刺激したマウスマクロファージ細胞 (RAW264.7) を用いた一酸化窒素 (NO) 産生抑制試験で、優れた NO 産生抑制活性を示した。新規骨格を有するステロイドの生物活性は非常に興味深く、詳細な構造活性相関解析が望まれる。

本研究ではヒラタケ科 (*Pleurotus family*) キノコから、さらなる新規骨格を有する変形 ergostane 型ステロイドを発見すること、また、新たな pleurocin 型ステロイドを多種単離し、生物活性および構造活性相関を明らかにすることを目的として、化合物探索を行った。

研究内容および研究成果：

エリンギ (*Pleurotus eryngii*) は、ヨーロッパ、アジア、北アフリカなどを原産地とするが日本でも栽培されており、アミノ酸、ビタミン、食物繊維等を含む食品として親しまれている。エリンギ子実体メタノールエキスを、溶剤分配、カラムクロマトグラフィー、HPLCなどで分離精製し、6種の新規ステロイド (**1-6**) を単離し、構造を決定した。strophasterol E (**1**) および F (**2**) は、二次元 NMR スペクトルやマススペクトル解析と併せて、tris-*p*-bromobenzoyl 体 (**1a**, **2a**) の X線結晶構造解析により、

絶対構造を決定した。これらは、報告例の少ない転位型 ergostane 系ステロイド、すなわち 14 位と 15 位の C-C 結合が開裂し、15 位と側鎖の 22 位が C-C 結合することで新たな環を形成している 15(14→22)abeo-ergostane 骨格を有していた。1 と 2 は、互いにエピマーの関係にあり、1 は、23R 体、2 は 23S 体であった。化合物 3-6 に関しては、NMR, MS, IR など種々のスペクトル解析により、構造を決定した。

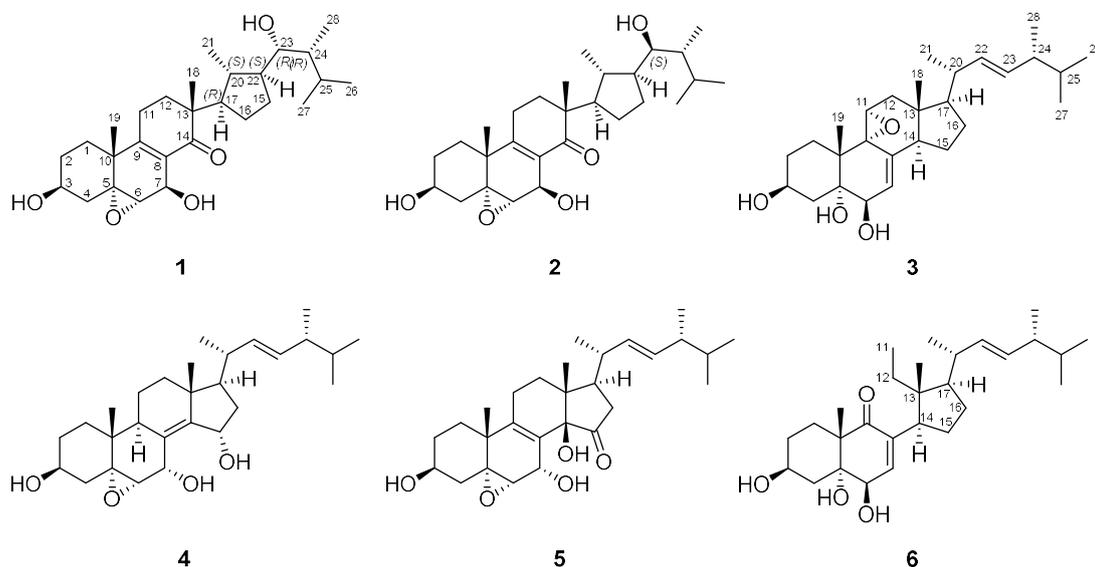


Fig. 1. Structures of compounds 1-6.

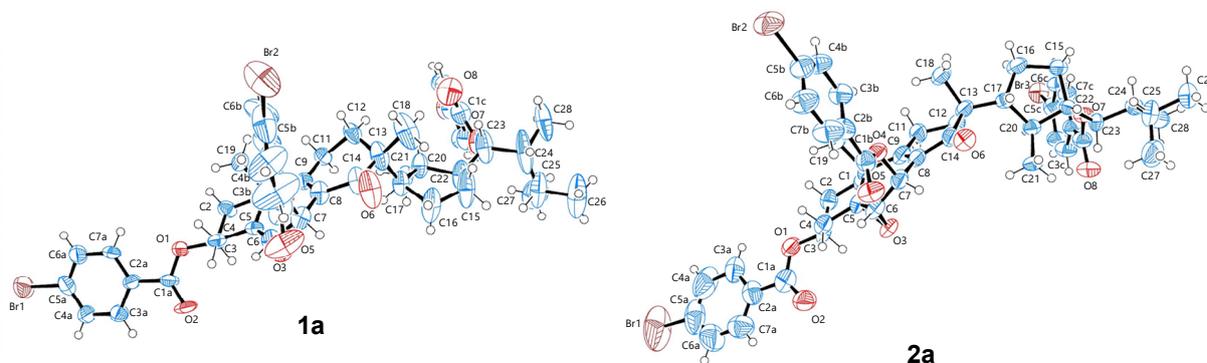


Fig. 2. ORTEP drawing of 1a and 2a.

タモギタケ (*Pleurotus cornucopiae*) は、ロシア東部、中国北部、日本の北海道などを原産地とする食用キノコである。タモギタケ子実体エキスからは、pleurocorol A (7) および pleurocorol B (8) を単離した。二次元 NMR スペクトルやマススペクトル解析より、7 は六員環の B 環と五員環の C 環が、8 位のスピロ炭素で結合した 11(9→8)abeo-ergostane 骨格を有しており、8 は 6/5/6/5 系の四環性骨格である 5(6→7),11(9→7)diabeo-ergostane 骨格を有していることが示唆された。これらは新規炭素骨格の転位型 ergostane 系ステロイドで、絶対構造は *p*-bromobenzoyl 体 (7a, 8a) の X 線結晶構造解析により明らかにした。

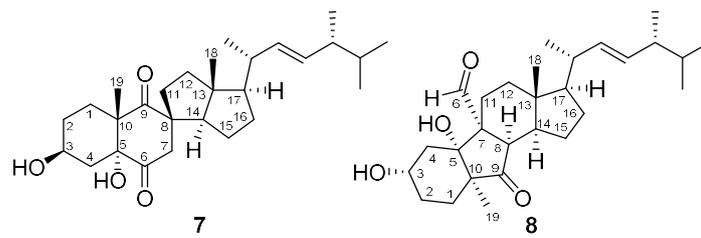


Fig. 3. Structures of pleurocorols A (7) and B (8).

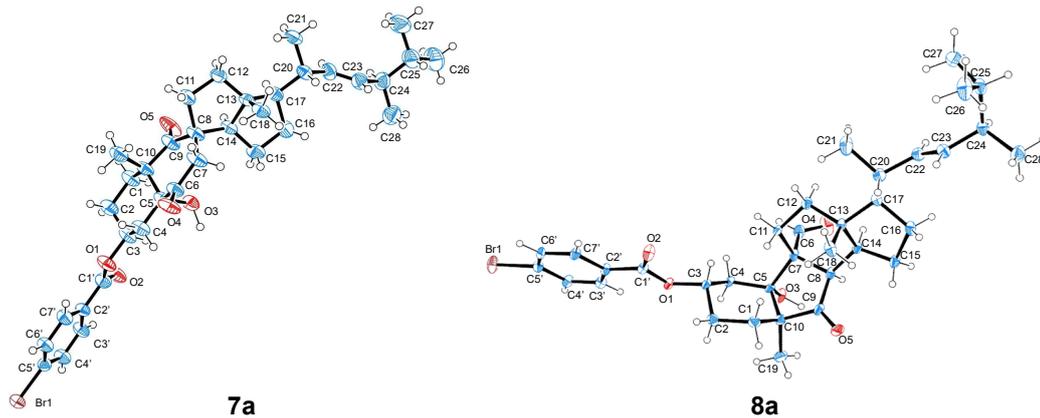


Fig. 4. ORTEP drawing of 7a and 8a.

化合物 1-8 について、抗慢性炎症活性の評価として、LPS 刺激した RAW264.7 を用いて、NO 産生抑制試験を行った。その結果、化合物 5 ( $IC_{50} = 13.2 \mu M$ ), 7 ( $IC_{50} = 28.9 \mu M$ ) および 8 ( $IC_{50} = 15.8 \mu M$ ) は、positive control の L-NMMA ( $IC_{50} = 47.6 \mu M$ ) よりも強い NO 産生抑制活性を示した。これら化合物は、RAW264.7 に対し 1-30  $\mu M$  で細胞毒性を示さなかったことから、NO 産生抑制活性が細胞毒性によるものではないと考えられ、有望な抗慢性炎症化合物とみなされる。化合物 2 および 6 については、30  $\mu M$  でいくらか NO 産生抑制活性を示した (Produced NO = 2: 78.2%; 6: 57.9 % at 30  $\mu M$ )。そのほかの化合物については、NO 産生の抑制は認められなかった

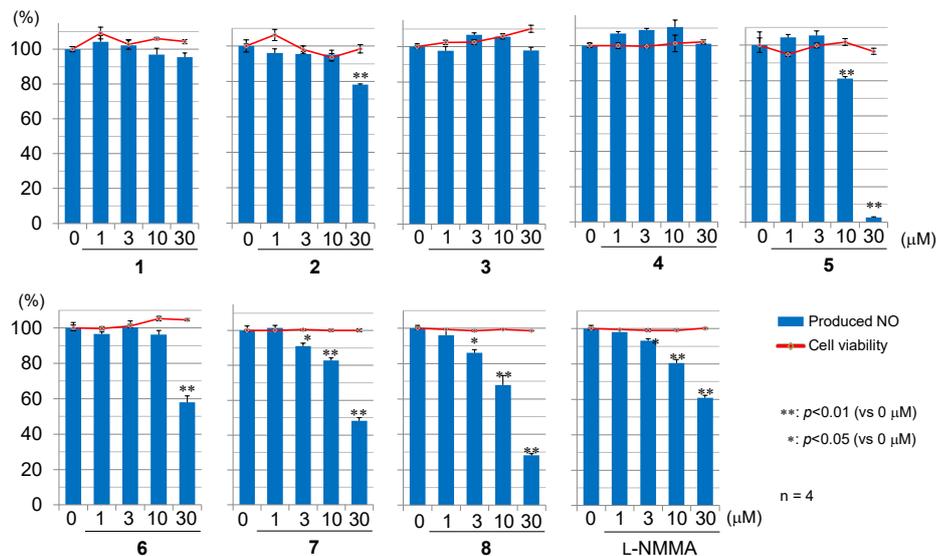


Fig. 5. Inhibitory effects on nitric oxide production of 1-8.

以上、本研究で新たな pleurocin 型ステロイドは単離できなかったが、ヒラタケ科キノコから、報告例の少ない転位型ステロイド 2 種 (**1**, **2**), 新規ステロイド 4 種 (**3-6**), 新規骨格ステロイド 2 種 (**7**, **8**) を単離し、構造を決定した。これらのうち、**5**, **7** 及び **8** は優れた NO 産生抑制活性を示した。

成果発表：

<原著論文>

- Strophasterols E and F: Rearranged ergostane-type sterols from *Pleurotus eryngii*. T. Kikuchi, M. Isobe, S. Uno, Y. In, J. Zhang, T. Yamada, *Bioorg. Chem.* **2019**, *89*, 103011.
- Pleurocorols A and B: rearranged steroids from the fruiting bodies of *Pleurotus cornucopiae*. T. Kikuchi, M. Mori, Y. In, J. Zhang, T. Yamada, T. Hirano, *Org. Chem. Front.* **2020**, *7*, 2022-2028.

<学会発表>

- エリンギ子実体のステロイド -新規 15(14 → 22)-abeo-ergostane 型ステロイドについて-, 菊地 崇, 磯部 真椰, 尹 康子, 山田 剛司, 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 3 月 23 日