

A Thesis for the Degree of Ph.D. in Science

**Chemistry and biology of pharmacological active
compounds from natural products**

June 2014

Graduate School of Science and Technology

Keio University

Takahiro Fujimaki

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	藤巻 貴宏
主 論 文 題 目： Chemistry and biology of pharmacological active compounds from natural products (天然物由来薬理活性物質の化学および生物学研究)				
(内容の要旨) 天然物は多様な構造を持つ化合物を多く含むため、古くから創薬の研究及び開発プロセスにおいて利用されてきた。そこで、本研究では、前立腺がん治療薬を微生物二次代謝産物より、パーキンソン病(PD)治療薬シードを漢方薬より探索した。				
(1) 放線菌 MK756-CF1 株が生産する新規アンドロゲンアンタゴニスト arabilin の単離精製及び構造解析 前立腺がんはアンドロゲン受容体(AR)にアンドロゲンが結合することで悪性化する。そこで、その結合を阻害するアンドロゲンアンタゴニストが治療薬として用いられているが、それらによる長期治療は AR 変異、そして薬剤耐性を引き起こす。そこで、本研究では微生物培養液をスクリーニングソースとし、 ³ H 標識したアンドロゲン(DHT)とリコンビナント AR を用いた <i>in vitro</i> binding assay により、新たなアンドロゲンアンタゴニストの探索を行った。その結果、放線菌 MK756-CF1 株の培養液より新規アンドロゲンアンタゴニスト arabilin を取得した。arabilin は既存のアンドロゲンアンタゴニスト製剤であるフルタミドよりも強くアンドロゲンと AR との結合を阻害した。さらに arabilin は LNCaP 細胞において、DHT 依存的な、前立腺がんマーカーである PSA mRNA の発現と増殖を阻害した。以上より、arabilin は新たな前立腺がん治療の可能性を切り開くアンドロゲンアンタゴニストシード化合物としての可能性が示唆された。				
(2) 漢方薬由来パーキンソン病治療薬シードとしての神経保護化合物 licopyranocoumarin 及び glycyrurol の同定 PD は、中脳黒質において脳内伝達物質であるドーパミンが減少する神経変性疾患であるが、治療法は対症療法しか存在せず完治治療には至っていない。そこで本研究では、神経様細胞である PC12D 細胞において、神経毒である MPP ⁺ もしくは rotenone が誘導する細胞死をキャンセルする新たなパーキンソン病治療薬シードを 128 種類の漢方薬から探索した。その結果、神経保護効果を示す漢方薬として「調胃承気湯」および「大黃甘草湯」を取得した。さらにこれら 2 つの漢方薬に共通に含まれる生薬成分である甘草より活性主成分として licopyranocoumarin (LPC) 及び glycyrurol (GCR) を取得した。LPC 及び GCR は MPP ⁺ が誘導する ROS 産生、JNK の活性化、ミトコンドリア膜電位、そして細胞死を抑制した。よって、今回取得した神経保護効果を示す漢方薬及び漢方薬由来化合物は新たな治療薬シードとしてだけでなく PD 発症メカニズム解析のツールとしての可能性が示唆された。				

SUMMARY OF Ph.D. DISSERTATION

School Fundamental Science and Technology	Student Identification Number	SURNAME, First name Fujimaki, Takahiro
Title Chemistry and biology of pharmacological active compounds from natural products		
Abstract Natural products have long been used as drug discovery and development process, because of their high structural diversity. In this study, the author screened for drug-seed for prostate cancer and Parkinson's disease (PD) from second metabolites of microbes and traditional herbal medicine, respectively. (1) Isolation and structure elucidation of a novel androgen antagonist, arabilin, produced by <i>Streptomyces</i> sp. MK756-CF1 Prostate cancer cells become malignant through binding of androgen receptor (AR) and androgen. Thus, treatment with AR antagonist is expected to be an effective prostate cancer therapy. However, long-term treatment with classical AR antagonists that develop AR mutation, and give rise to hormone-refractory prostate cancer. Thus, the author screened for a new type of AR antagonist using a [³ H] dihydrotestosterone (DHT)-AR <i>in vitro</i> binding assay from microbial extracts. In the course of screening, the author isolated a novel compound arabilin from <i>Streptomyces</i> sp. MK756-CF1. Arabilin inhibited the binding of androgen and AR more potent than flutamide, a clinically used AR antagonist. Moreover, arabilin inhibited the DHT-induced expression of endogenous prostate-specific antigen (PSA) mRNA, target gene of AR, and cell growth in LNCaP cells. These results suggested that arabilin might be an attractive androgen antagonist well suited for potential novel therapies for prostate cancer. (2) Identification of licopyranocoumarin and glycyrurol from herbal medicines as neuroprotective compounds for Parkinson's disease PD is a common neurodegenerative disease characterized by dopaminergic neuronal cell death in the substantia nigra. Although current therapies are based on dopamine complement, they cannot completely cure patients with PD. In this study, the author screened 128 extracts of traditional herbal medicine to find agents, which exert neuroprotective activity against neurotoxin (MPP ⁺ or rotenone)-induced in neuron-like PC12D cells. In the course of screening, we identified <i>choi-joki-to</i> and <i>daio-kanzo-to</i> as neuroprotective herbal medicines, and isolated licopyranocoumarin (LPC) and glycyrurol (GCR) as potent neuroprotective substances from <i>Glycyrrhiza</i> . LPC or GCR exert their neuroprotective effects by inhibiting MPP ⁺ -induced ROS production and thus limiting JNK activation, and causing a subsequent decrease in mitochondrial membrane potential. Thus, these results provided that source of new drug discovery and biological tool to understand the underlying mechanism of PD.		