

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025年5月2日

採択番号	2024 共同-4		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	菅沼 啓輔
研究課題名	抗トリパノソーマ活性物質の動物生体内動態解析・安全性評価に向けた 分析方法の検討		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	むらた としひろ 村田 敏拓	東北医科薬科大学・薬学部・准教授 (役割分担) 対象化合物の単離・精製・物性検討、グループ統括	
研究分担者	あぼし たかこ 網干 貴子	山形大学・農学研究科・准教授 (役割分担) 生体試料中の LC/MS・GC/MS 分析と方法検討	
	なりた こういち 成田 紘一	東北医科薬科大学・薬学部・講師 (役割分担) 対象化合物の合成による量の確保	
	こんの たいすけ 金野 太亮	東北医科薬科大学・薬学部・助教 (役割分担) 生体試料の LC・GC 注入前処理方法の検討	
	すがぬま けいすけ 菅沼 啓輔	帯広畜産大学原虫病研究センター (役割分担) 抗トリパノソーマ活性試験、動物実験	
研究期間	2024年4月1日 ~ 2025年3月31日		
目的・趣旨	<p>2023 年度原虫病研究センター共同研究「漢方薬構成生薬—特に基金・黄耆のフラボノイド類—の原虫病への応用を志向した構造活性相関研究」をはじめ、当グループでは抗トリパノソーマ活性物質の探索を主題に継続的に研究活動を行っている。当課題は、そのうちマメ科 <i>Astragalus</i> 属、<i>Oxytropis</i> 属あるいはシソ科 <i>Scutellaria</i> 属、またキク科 <i>Artemisia</i> 属由来のアルカロイドやフラボノイド、テルペノイド類が、有力な抗トリパノソーマ活性を示した成果を起点に展開してきた共同研究課題の新たな方向性探索に位置づけられる。</p> <p>すなわち、<b>1.</b> 天然物医薬シーズ探索により、アルカロイド、フラボノイドに加え、テルペノイドやリグナンで一定のトリパノソーマ生育阻害活性物質を示す化合物を明らかにした。<b>2.</b> それら有力な化合物のうちいくつかについて、化学合成により構造多様性を創出し、構造活性相関を検討した。結果、毒性が少なく活性を維持した分子を見出している。<b>3.</b> 特にオキサゾール類はマウス <i>in vivo</i> 試験まで行われ、特許出願に至っている。<b>4.</b> ここまでの知見を十分に活用し、市販されている漢方薬配合生薬(類縁化合物が得られる)から有力な抗トリパノソーマ活性化合物・画分を得ることを目標に特定の生薬成分を候補として見出した。<b>5.</b> 獣医学領域で漢方薬・生薬の利用が現実的であるかの評価・調査を進めることを、当課題研究分担者を加え進めてきた。</p> <p>上記の通り、獣医学領域と薬学のお互いの強みを活かした共同研究が開始された一方で、天然物としては有力な候補化合物を見出したものの、「これまでに分析方法などの先例が存在しない対象物質について、どのように動物生体での薬物動態解析と安全性評価を行うか」が重要な共通の課題として上がった。</p>		

	<p>そこで、当申請課題では、<b>I.</b> これまで見出した抗トリパノソーマ活性オキサゾールやフラボノイドが実際に動物体内で吸収・効果発現・蓄積するかなど動態に関する知見を得ること。<b>II.</b> 揮発性があり、一般的な濃縮操作や UV 検出が困難なテルペノイド類の簡易的分析方法に関する知見を得ること。を目的に研究を行う。</p>
<p>研究経過の概要</p>	<p>今年度の研究を進めるにあたり、サンプルの準備から動物実験計画、液体・ガスクロマトグラフィー (LC・GC) 分析用前処理方法や分析条件について web 会議、対面ミーティング等で確認・検討した。次に各担当者の専門に応じて次の手順で各種実験を行った。</p> <p>① 東北医薬大で対象化合物(オキサゾールアルカロイド: 2-(2',3'-dihydroxyphenyl)-5-(2''-hydroxyphenyl) oxazole、アシル化リグナン: brachangobinan A)の合成が成された。</p> <p>② フラボノイドの 1 化合物を加えて、上記と併せて 3 種類の化合物について試験用サンプルを調整した。またテルペノイド含有エキスを調整した。</p> <p>③ 上記で調整した試験用サンプルのオキサゾール (2-(2',3'-dihydroxyphenyl)-5-(2''-hydroxyphenyl) oxazole)、アシル化リグナン (brachangobinan A)、フラボノイド(化合物 X1 とする)、テルペノイド(特定の精油混合物)について、マウスに腹腔内投与、経口投与、経皮投与それぞれで与え、経時的に採血しサンプルを得た。 (「動物実験等に関する規程」に従い、帯畜大「動物実験委員会」の承認済)</p> <p>④ 血液サンプル中の対象化合物と代謝化合物をターゲットに HPLC 並びに GC/MS を用いた分析を行った。すなわち東北医薬大で簡易分析を志向し、HPLC/PDA・UV・IR で分析方法を検討した。また、山形大で高感度分析を志向し、GC/MS で検出条件や分析方法を検討した。</p>
<p>研究成果の概要</p>	<p>&lt;実験用化合物の合成&gt; 今回の一連の実験に供するためのオキサゾールアルカロイド 1 種類、アシル化リグナン 1 種類を化学合成により確保しており、投与用に調整した。</p> <p>&lt;投与・採血・試料化&gt; マウスに各化合物群【オキサゾール (2-(2',3'-dihydroxyphenyl)-5-(2''-hydroxyphenyl) oxazole)、アシル化リグナン (brachangobinan A)、フラボノイド(化合物 X1)、テルペノイド(特定の精油混合物)】別に腹腔内・経口・経皮で投与し、投与前・30 分・60 分・4 時間・1 日・2 日・4 日後に Dry Blood Spot (DBS) 法により採血。試料保存した。</p> <p>&lt;HPLC 分析・GC/MS 分析&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・オキサゾールアルカロイド: HPLC/PDA・UV・IR で分析を行った。</li> <li>・アシル化リグナン: HPLC/PDA・UV・IR で分析を行った。</li> <li>・フラボノイド: HPLC/PDA・UV・IR で分析を行った。</li> </ul> <p>上記 3 群について、腹腔内・経口・経皮いずれもマウス血中成分と考えられる全てに共通する成分ピークと、群と時間に固有のピークが複数認められた。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・テルペノイド: GC/MS により分析を行った。</li> </ul> <p>経皮投与→いずれの試料もピーク検出されず。 経口投与→30 分サンプルでテルペノイドと考えられる成分ピーク A が比較的強く検出され、60 分・4 時間でもわずかに検出された。他の時間帯サンプルはピークが検出されなかった。 腹腔内投与→投与前サンプルと 3 日サンプルからピーク B が検出された。</p>

	<p>&lt;今後の展開&gt;</p> <p>HPLC 分析、GC 分析における各種ピークの化合物同定と、より効果的な分析方法の確立が今後の課題である。</p>
研究成果の 発 表	論文 1 報を投稿中である。