

審査の結果の要旨

氏名 坂野 勇 一

高脂血症は、動脈硬化性疾患に至らしめる危険因子であり、生活習慣病の一つとして認識されている。その治療には HMG-CoA 還元酵素阻害剤によるコレステロール生合成の抑制が広くとられている。しかし、同酵素はコレステロール生合成経路の上流に位置しているため、その阻害によって、生合成的に前駆体を共有するドリコール、ユビキノン、プレニル化蛋白質等の生理的に必須なイソプレノイド類の生合成も同時に抑制してしまうことから、長期投与による副作用が危惧されている。ラノステロール合成酵素は、コレステロール生合成経路中ステロイド骨格形成直前に位置し、標的酵素としてコレステロール生合成により選択的であるが、これまで天然物を対象とした同酵素阻害物質のスクリーニングは行われていなかった。本論文の著者は、修士課程で確立したヒト由来ラノステロール合成酵素の *in vitro* アッセイ系を利用し、菌類（放線菌及び糸状菌）約 1,300 株を対象に同酵素阻害活性の一次スクリーニングを行い、(1) 放線菌由来新規ラノステロール合成酵素阻害物質、(2) 糸状菌由来新規ラノステロール合成酵素阻害物質、を単離・構造解析した結果について記載している。

(1) 放線菌由来新規ラノステロール合成酵素阻害物質

放線菌 K99-5041 株の培養粗抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画し、TLC 上の単一スポットに相当する活性フラクション I を得た。同フラクションを LC-APCIMS で解析し、側鎖を異にする同族体が少なくとも 20 種含まれているものと推測した (Fig. 1)。それらの同族体のうち、4 種の化合物 C1x, C2x, C1y, C2y を、高速液体クロマトグラフィーを繰り返すことにより単離した。それらの IC_{50} はそれぞれ 15, 33, 18, 41 μM と、ほぼ同等であった。

単離した化合物のそれぞれにつき、各種スペクトルデータに基づき構造解析を行った。その結果、化合物 C1x, C2x はいずれも (3E)-methylidene-2-methyl-1-pyrroline を基本骨格とする新規化合物で、それぞれ (3E)-isohexadecyl methylidene-2-methyl-1-pyrroline、(3E)-hexadecylmethylidene-2-methyl-1-pyrroline であると決定した。また、化合物 C1y, C2y は、それぞれ化合物 C1x, C2x の側鎖の途中に二重結合が 1 個 ($C_2H_2 = 26$ マスユニット) 挿入された化合物で、その幾何的配置を隣接メチレンの δ_c 値 (27.2 ppm) から *cis* と決定し、更にその位置を、EIMS のフラグメンテーションパターンを解析することにより、11', 12' 位の間であると推定した (Fig. 2)。

また、上記活性フラクション I に含まれる残り 16 種の同族体の化学構造については、NMR, LC-APCIMS での検討結果から、それら C 系列の化合物に対して側鎖の炭素数が異なるものと推定している。

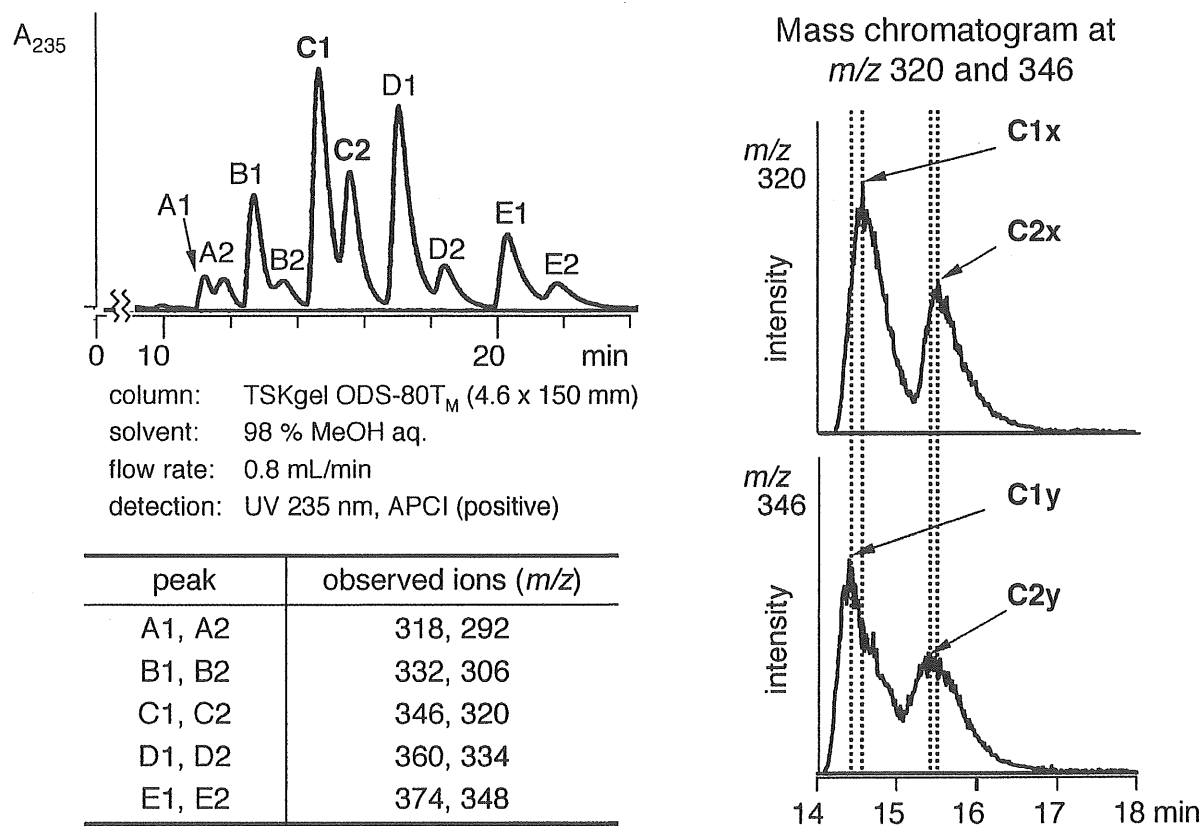


Fig. 1 LC-APCIMS analysis of Fr. I from an Actinomycete strain K99-5041

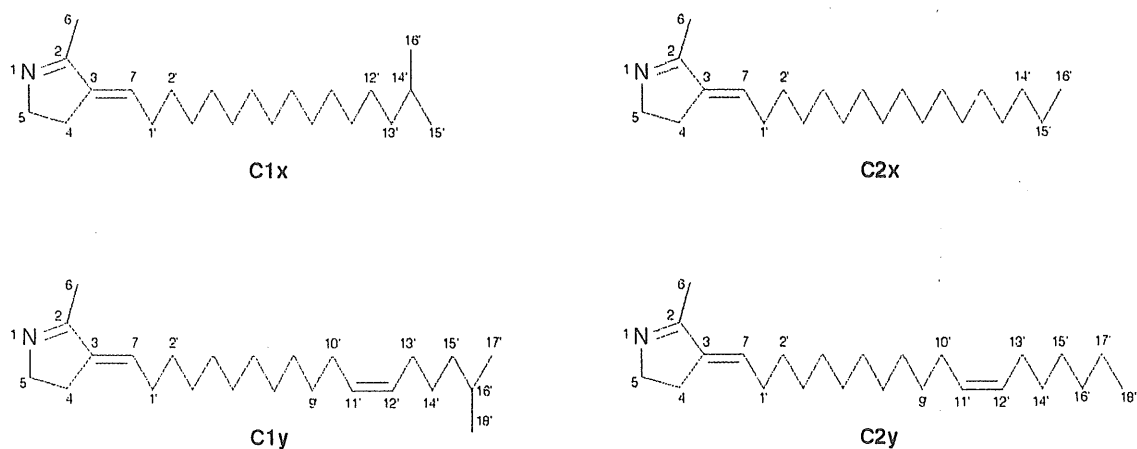


Fig. 2 Isolated compounds from an Actinomycete strain K99-5041

(2) 糸状菌由来新規ラノステロール合成酵素阻害物質

糸状菌 FKI-0929 株の培養粗抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画し、TLC 上の単一スポットに相当する活性フラクション II を得た。同フラクションより、2 種の化合物 II-1, II-2 を、高速液体クロマトグラフィーを繰り返すことにより単離した。それらの IC_{50} はそれぞれ 10, 6.0 μM とほぼ同等であった。

それらの化合物につき、各種スペクトルデータに基づき構造解析を行った。その

結果、いずれも新規同一平面構造 4,5-epoxy-2-(4'-oxoundec-(5'*E*)-enyl)-heptamethylenamine (以下、EHMA-1、EHMA-2 と称する) を与えることが判明した。両化合物の環状骨格部分における NMR スペクトルが互いに異なっていることから、両化合物はジアステレオマーの関係にあるものと考えられた。それぞれにつき結合定数及び NOE を解析したところ、化合物 II-1 (EHMA-1) については (2*R*, 4*R*, 5*R*) あるいは (2*S*, 4*S*, 5*S*)、化合物 II-2 (EHMA-2) については (2*R*, 4*S*, 5*R*) あるいは (2*S*, 4*R*, 5*S*) の絶対配置であると推定した (Fig. 3)。

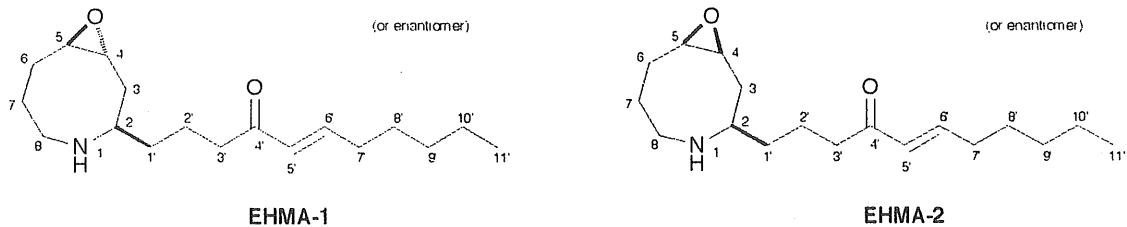


Fig. 3 Isolated compounds from a fungal strain FKI-0929

以上本研究は、ラノステロール合成酵素阻害活性を持つ天然物を初めて単離・構造解析したものである。本研究で単離・構造解析された新規化合物は、(3*E*)-methylidene-2-methyl-1-pyrroline, 4,5-epoxyheptamethylenamine 両骨格自体天然物として初めての例であり、薬剤開発のためのリード化合物としてのみならず、生化学・酵素化学研究用プローブとしての応用の可能性を秘めており、天然物化学、医薬品化学の進展に寄与するところが大きく、博士(薬学)の学位に相応しいものと認めた。