

論文の内容の要旨

水圏生物科学専攻
平成12年博士課程 入学
Preecha Phuwapraisirisan
指導教官 伏谷伸宏

論文題目 Studies on Cytotoxic Metabolites from Marine Sponges (海綿からの細胞毒性物質に関する研究)

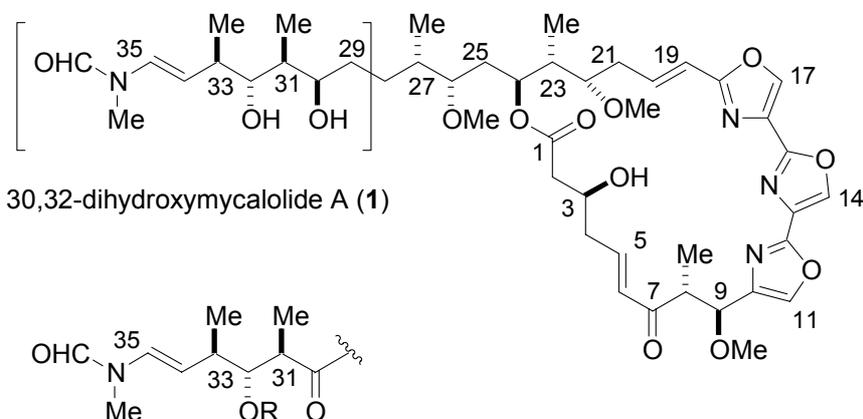
1970年初頭から始まった海洋生物からの医薬素材探索において、多くの細胞毒性(抗腫瘍)物質が発見されている。これらのうち、近く抗がん剤として認可されるものと思われるものも含め、20を越える化合物が臨床試験に入っている。特に、海綿から得られた細胞毒性物質は、活性が強く、構造が新奇なものが多いので、新奇抗がん剤として期待されるものが多い。

このような背景の下、本研究では、日本およびタイ産海綿から新奇抗腫瘍性リード化合物を開発することを目的に、ヒト子宮頸がん由来の HeLa 細胞に対する細胞毒性試験の結果、有望な活性を示した 4 種の海綿から活性物質の単離と構造決定を試みたところ、9種の新規化合物を含む、合計18種の細胞毒性物質を得ることができた。その概要は以下の通りである。

1. 天草諸島産 *Mycale izuensis* からの mycalolide 類および新奇ポリヒドロキシル化合物の単離と構造決定

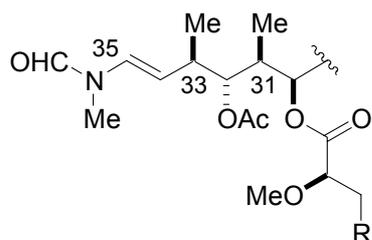
まず、細胞毒性試験で強い活性を示した天草諸島産 *M. izuensis* から活性物質の単離と構造決定を試みた。すなわち、凍結試料2kgを MeOH と EtOH で抽出後、HeLa 細胞に対する細胞毒性を指標に、溶媒分画、ODS フラッシュクロマトグラフィー、ゲル濾過で分画し、最終的に ODS HPLC で精製して6つの活性物質(1-6)を得た。これらの構造を機器分析により解析したところ、30, 32-dihydroxymycalolide A (1)を除き、既知の mycalolide 誘導体であることが判明した。そこで、1の構造を2D NMRなどで詳細に解析して平面構造を決定するとともに、1および既知の mycalolide B (6)から化学的

に共通の誘導体に導き、さらに Mosher 法を適用して絶対立体配置を決定した。これらの化合物は、 IC_{50} 1.4 – 6.8 ng/mL で HeLa 細胞の増殖を抑えた。

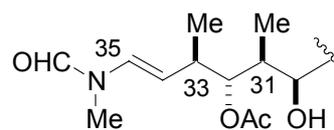


30,32-dihydroxymycalolide A (1)

32-hydroxymycalolide A (2) R = H
mycalolide A (5) R = Ac



38-hydroxymycalolide B (3) R = OH
mycalolide (6) R = OMe

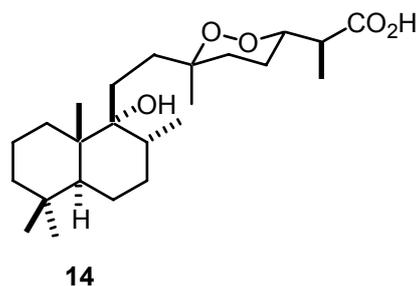
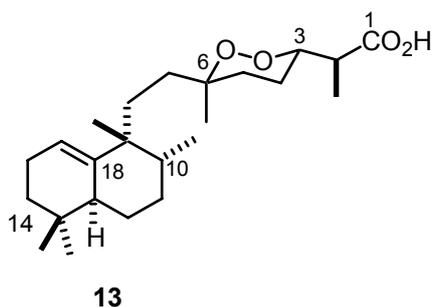
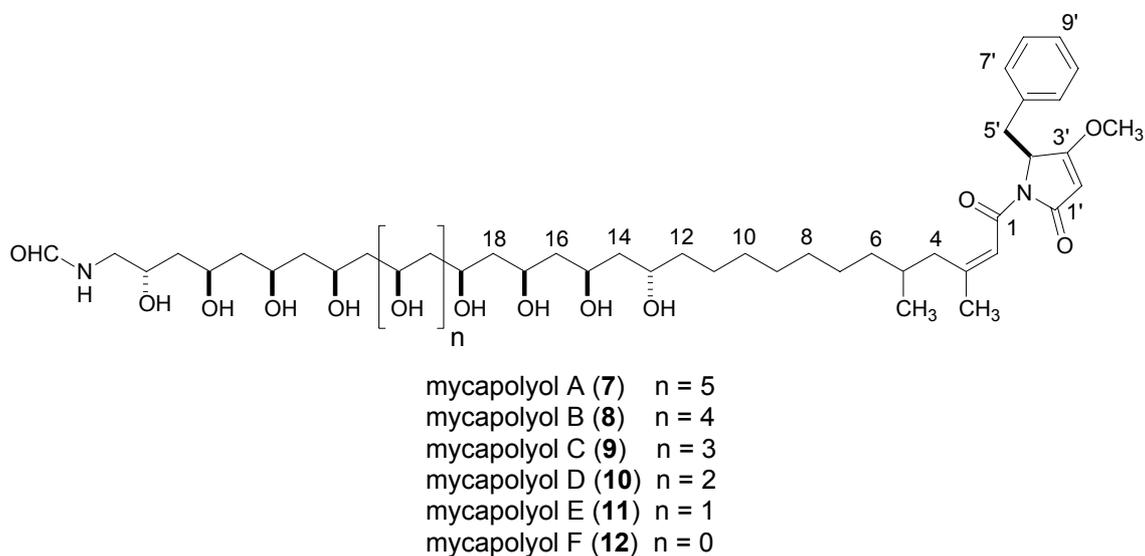


30-hydroxymycalolide A (4)

上記化合物の分画中、活性が認められた画分を、ODS HPLC で精製した結果、6つの活性物質が得られた。これらの構造を、2D NMR と FABMS で詳細に解析したところ、ピロリドン環と多くの 1, 3-ジオールユニットを含むこれまでにない新奇化合物であることが判明したので、mycapolyol A-F (7–12) と命名した。さらに、1, 3-ジオールユニットの相対立体化学を ^{13}C NMR シフト値から推定し、ピロリドン部分の絶対立体化学を化学分解反応によって決定した。なお、mycapolyol A–F は、HeLa 細胞の増殖を IC_{50} 0.05 – 0.90 μ g/mL で抑制した。

2. タイ産 *Mycale* sp. からの新規ノルセスタテルペンパーオキシドの単離と構造決定
 次に、有望な活性が認められたタイの Shichang 島で採集した *Mycale* sp. から活性物質の単離・精製を試みたところ、既知の mycaperoxide B (14) とともに新規化合物、mycaperoxide H (13) を得ることができた。平面構造は 2D NMR データの詳細な解析に

より決定し、絶対立体化学は既知の **14** と化学的に関連づけることにより決定した。これらの化合物は、 IC_{50} 0.8-0.9 $\mu\text{g/mL}$ の細胞毒性を示した。

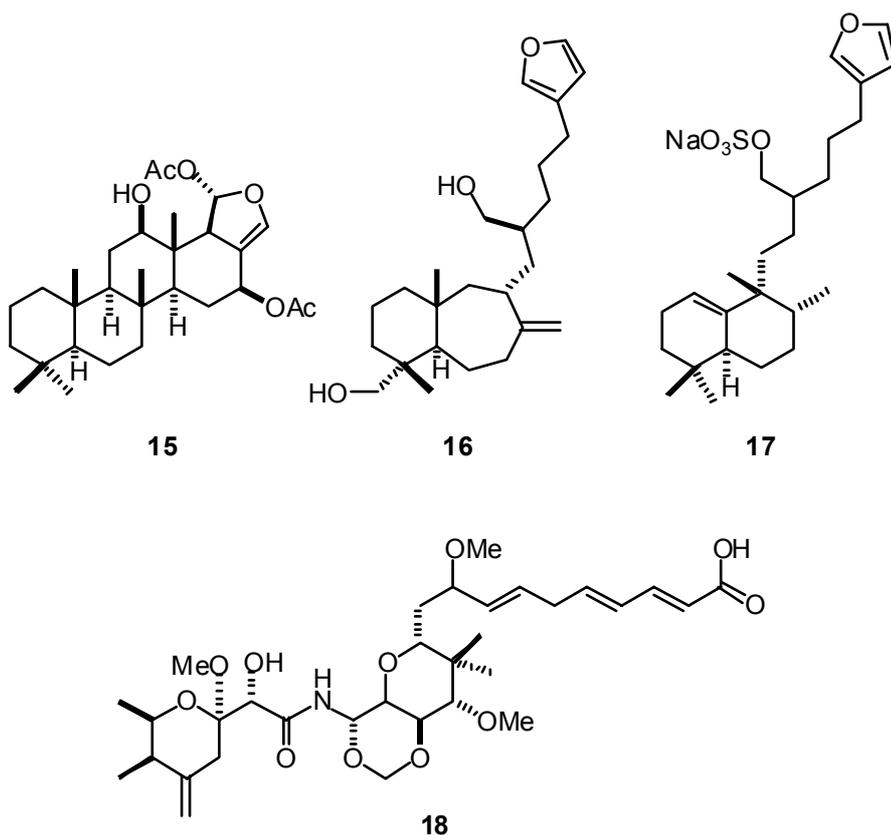


3. 深海海綿からの細胞毒性物質の探索

奄美大島近海の水深150mに位置する大島新曾根でドレッジにより採集した未同定海綿の脂溶性画分に強い細胞毒性が認められたので、活性成分の単離を行った結果、3つの活性物質が分離できた。まず、最も活性が強かった化合物の構造解析を行ったところ、既知のセスタテルペン誘導体、 12β -hydroxyheteronemin (**15**)と同定された。二番目の化合物もセスタテルペンであったが、スペクトルデータから新規化合物と判断されたので、詳細な 2D NMR データの分析を行った結果、widdrol 型の環構造を含む新規フラノセスタテルペンであることが明らかとなったので、shinsonefuran (**16**)と命名した。さらに、相対立体化学を NOESY データから推定した。また、残る活性物質については、既知フラノセスタテルペンの halisulfate **7** (**17**)と同定したが、NMR の詳細な解析から 8-エピ体が正しいことを示した。これらの絶対立体配置については、検討中で

ある。なお、**16**はHeLa細胞に対してIC₅₀16 μg/mLの細胞毒性を示した。

一方、同じ根で採集した *Discodermia japonica* の脂溶性画分がHeLa細胞の増殖を強く抑えたので、活性成分の単離を試みたところ、HeLa細胞に対してIC₅₀ 1.8 ng/mLの細胞毒性を示す化合物が得られた。残念ながら構造解析した結果、カリブ海産深海海綿から報告されている theopederin K (**18**)と一致した。



以上、本研究では、海綿から抗腫瘍性リード化合物を開発する目的で、HeLa細胞に対して有望な細胞毒性を示した日本およびタイ産海綿4種から、活性物質の分離・構造解析を試みたところ、9種の新規化合物を含む合計18種の細胞毒性物質を得ることができた。これらのなかには、mycapolyol類のようにこれまでにない新奇な構造をもつものも含まれており、改めて海綿が医薬資源として重要なことを証明した。