

## 審査の結果の要旨

氏名 Abou Zid Sameh

キク科の多くの植物はポリアセチレン骨格を有する多種類の化合物(PA)を生産することが知られている。これらの化合物は顕著な抗菌、抗ウイルス、抗線虫活性を持っているものが多い。Abou Zid Samehは、まず、ナイル川河岸に分布する*Ambrosia maritima*植物体より毛状根およびカルスの培養系を構築し、PAの最適生産条件を確立した。この系を用い、生産するPAの生合成経路の重要なポイントを明らかにした。さらに、PAの新規な生物活性として、住血吸虫症の中間宿主である淡水産巻貝類への顕著な活性を明らかにした。

### 1. 植物組織培養系の確立とPA生産の最適化

無菌植物体へ*Agrobacterium rhizogenes* ATCC15834を感染させることにより、3系統の毛状根培養を得た。3系統間では、成長曲線において明白な違いが見られた。カルス培養は無菌植物体を切断し、2,4-D (1 ppm), kinetin (0.1 ppm)を含むMS寒天培地 (DK培地) 上に置床し、誘導した。生じたカルスは、NAA (1 ppm), kinetin (0.1 ppm)を含むMS寒天培地(NK培地)で継代した。

PAの収量の最適化のために、エリシターを用いる二次代謝産物の生産誘導を試みた。エリシターとしては植物に普遍的に見られるストレスや発生のシグナル化合物であるmethyl jasmonate (MeJ)を用いた。PAの生産は初期対数増殖期に40 $\mu$ MのMeJを72時間処理したときに最大であった。MeJで誘導をかけたときの代謝物はthiarubrine A (1), thiarubrine A epoxide (2), thiarubrine A diol (3) および、それらの前駆体であるpentayneene (4) であった(Fig. 1)。化合物4は量的には毛状根で生産される主PAであった。連続光照明下で培養した毛状根からは対応するthiarubrine類の光分解産物であるthiophene A (5) およびthiophene A diol (6) が単離された。細胞懸濁培養にMeJを作用させると、化合物4のみが誘導された。

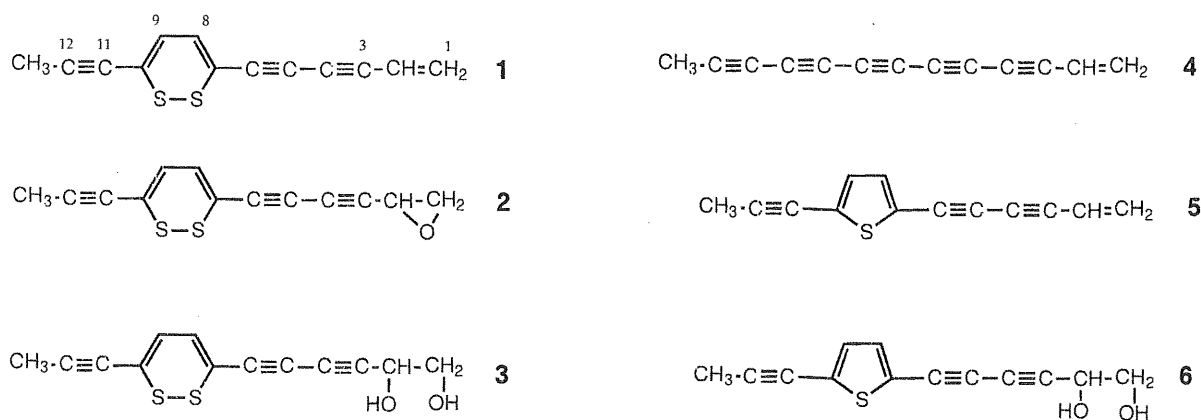


Fig. 1. Chemical structure of the isolated polyacetylenes

## 2. 生合成研究

[1-<sup>13</sup>C]-, [2-<sup>13</sup>C]-および[1,2-<sup>13</sup>C]-酢酸を用いた投与実験の結果から化合物**1**および**5**の生合成は同化経路あるいは異化経路どちらの可能性もあることが示された。酢酸から化合物**4**へのキーとなる経路は主としてそれらが共存していることと構造の類似性から不飽和脂肪酸が関与していると考えられてきた。しかしながら、この反応の順序あるいは反応に与る酵素についてはほとんど知られていない。毛状根培養におけるMeJの全体的な効果について検討してみると、リノール酸(LA)の増加が120時間で最大となるのに対して、化合物**1**およびその前駆体**4**のピークは72時間であった。

上記の結果を補完するために、毛状根培養にリノール酸-<sup>13</sup>C<sub>18</sub>を投与し、化合物**1**のラベル化体を得た。<sup>13</sup>Cの取り込み率から脂肪酸前駆体の鎖長の減少と不飽和化がthiarubrine類の生合成に関わっていることが示唆された。ポリアセチレンの生合成にリノール酸が関与していることはその経路上に多価不飽和脂肪酸のヒドロパーオキシド化を触媒する酵素リポキシゲナーゼ(LOX)の存在が示唆される。LOX活性はエリシター添加後24時間、ポリアセチレン化合物の増加よりも前にピークを迎えた。LOX阻害剤である*N*-propylgallateは100μMの濃度で、ポリアセチレンの生産を明確に減少させた。

以上まとめると、thiarubrine類の生合成にはその初期段階でLOXを含むリノール酸の異化作用により生成したpentayneene (**4**)を経て、硫黄の導入によりthiarubrine A (**1**)、酸化によりthiarubrine A epoxide (**2**)、エポキシ環の開環によりthiarubrine A diol (**3**)が生成する。光照射下の培養では、thiarubrine類は対応するthiophene類に光分解される(Fig. 2)。

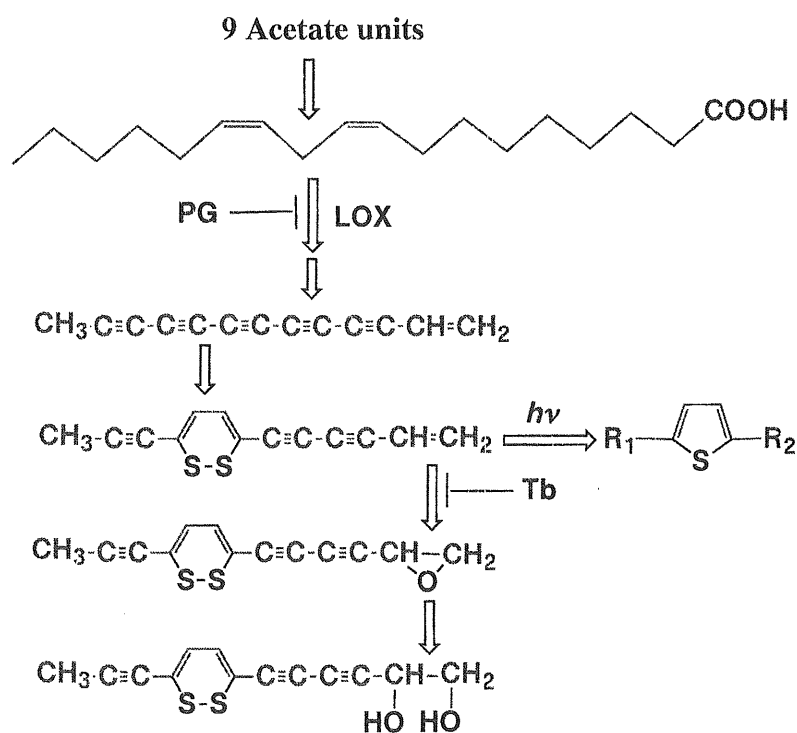


Fig. 2. Hypothesis for PA biosynthesis in the root culture of *A. maritima*

## 3. 住血吸虫症の中間宿主*Biomphalaria glabrata*に対するPAの効果

住血吸虫症は熱帯地方発展途上国74カ国の田園部で健康上の危険因子とされている寄生虫症である。およそ2億人がこの寄生虫に感染していると見積もられている。この寄生

虫症を防ぐ効果的な方法のひとつは中間宿主である淡水産巻貝類を駆除薬で減らすことである。植物由来の駆除薬はそれがもともとその生態系に存在するものであるため、環境に対する負荷が少ないと考えられる。

*A. maritima*毛状根抽出物と単離した個々のPAの*Biomphalaria glabrata*に対する殺巻貝活性を調べた。MeJで誘導をかけた毛状根のクロロホルム抽出物は50ppmの濃度で5日間処理すると、100%の巻貝を殺すことができた。Ambrosinは*A. maritima*地上部の殺巻貝活性の本体と考えられてきたセスキテルペンであるが、化合物**1**はそれと比べて強い活性（5ppmの濃度で93%の巻貝を殺し、LC50は2.64ppmであった）を持っていた。他のPAも同様に活性を測定したところ、活性の強い順に**3>2>1>4**となった。とくに、もっとも強い活性を示した化合物**3**はPAのなかで培地中に分泌された唯一のものである。

以上まとめると、AbouZid Samehは*A. maritima*の毛状根および培養細胞系を構築し、エリシター処理によるPAの生産の最適化を行った。その後、PAの生合成に関して標識前駆体の投与により、脂肪酸の異化経路により生合成されることを明らかにした。さらに、PAの新たな生物活性として、住血吸虫症の中間宿主である淡水産巻貝に対する顕著な活性を明らかにした。以上の結果は薬用植物学、天然物化学ばかりではなく、化学生態学の進展にも寄与するものであり、博士（薬学）に相応しいと判断した。