

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 張 宰赫

---

真菌による感染は、近年の抗生物質の繁用ならびにエイズ、悪性腫瘍、臓器移植などに対する免疫抑制剤あるいは制がん剤などによる治療のため免疫力が低下した患者を中心に増加している。真菌症に有効な薬剤はポリエンマクロライド系のアンホテリシン B など限られたものしかなく、新しい作用機序あるいは新しい化学構造を持つ抗真菌剤の開発が急務とされている。海洋生物には陸産の生物には認められない生物活性や化学構造を持つ化合物が含まれることが知られており、海洋生物の示す多様性を考慮すると、海洋生物は未だ未開拓な生化学資源であると言える。この様な背景の下、本研究では日本沿岸で採集した海洋無脊椎動物から、特定の遺伝子に損傷がある出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の変異株に対する増殖阻害物質を探索した。細胞膜の生合成遺伝子に変異があるため抗真菌物質に対する感受性の高い *erg6* 変異株に対する活性に注目してスクリーニングを行い、有望な活性を示した 2 種の実験室産海綿から活性成分の単離と構造解析が行われた。

まず、海洋無脊椎動物 867 種由来の脂溶性および水溶性画分を試料とし、ペーパーディスク法を用いて出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の野生株および 13 種の変異株に対する増殖阻害活性がおこなわれ、その結果、脂溶性画分および水溶性画分とも、海綿 (それぞれ 29 % および 18 %) およびホヤ (20 % および 15 %) において高頻度で認められた。これらの中から *erg6* 変異株のみに阻害活性を示した大島新曾根産海綿海綿 S01-117 および阻害の選択性は低い様々な変異株に対し強い阻害活性を示した式根島産海綿 S97-335 が選択された。

S01-117 (1 kg) をメタノールで抽出後、溶媒分画および HPLC で精製し、化合物 A (26 mg)、化合物 B (57 mg)、化合物 C (0.5 mg) および化合物 D (0.8 mg) が得られた。

まず、化合物 A の構造決定が行われた。FABMS スペクトルで  $m/z$  1080, 1082, 1084, 1086, 1088 ( $M+H$ )<sup>+</sup> に 1:4:6:4:1 の強度比で分子イオンピークが検出されたことから、化合物 A は 4 個の臭素原子を含むことが示唆され、<sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C NMR データを考慮して分子式が C<sub>35</sub>H<sub>36</sub>Br<sub>4</sub>N<sub>6</sub>O<sub>14</sub> と決定された。DMSO-*d*<sub>6</sub> 中の COSY, HOHAHA および HSQC データを解析し、2 つの部分構造が導かれた。また、炭素のケミカルシフト値を考慮して HMBC データを解析し、さら 3 つの部分構造が得られた。なおこれらの部分構造中の交換性プロトンは <sup>13</sup>C NMR スペクトルにおける重水素シフト実験により特定された。HMBC データを解析することにより、部分構造間のつながりが明らかにされた、最後は消去法により、全構造が決定された。

化合物 B は化合物 A と同一の FABMS データを与え、NMR スペクトルもよく似ていた。2 次元 NMR から化合物 A と同一の平面構造をもつことが示され、トリオール部のケミカルシフトに差が認められることから、両者はジアステレオマーの関係にあるものと考えられた。化合物 C および D は FABMS データからそれぞれ分子量が 518 および 449 と推定され、NMR データからこれらの化合物もブロモチロシン由来の化合物であることがわかった。

化合物 A および B は *Saccharomyces cerevisiae* の *erg6* 変異株に対して弱いながら活性を示す一方、*Candida albicans* に対し強い活性を示し、さらに両者は *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* などのバクテリアに対し抗菌性を示した。

式根島産海綿 S97-335 (凍結重量 700 g) をメタノールで抽出後、溶媒分画および各種クロマトグラフィーにより順次精製し、新規化合物 C121A (1.5 mg) を単離した。化合物 C121A の分子式は FABMS および  $^{13}\text{C}$  NMR データから  $\text{C}_{31}\text{H}_{53}\text{NO}_{11}$  と決定し、さらに各種二次元 NMR データを解析し theopederin B の Q-メチル基が Q-*n*-ブチル基に置き換わった化合物であることを決定した。化合物 C121A は野生株の成育を阻止する一方 *erg6* 変異株に対してより強い活性を示し、P388 マウス白血病細胞に対して  $\text{IC}_{50}$  値  $< 10.0$  pg/mL と非常に強い細胞毒性を示した。

以上、本研究により、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の変異株の増殖阻害を指標とし 2 種の海綿から 4 種の新規 bromotyrosine 類縁体および 1 つの新規 theopederin 類縁体が発見された。本研究により新しい骨格を持つ生物活性化合物が発見され、海洋性化学資源の開発に新しい知見を加えた。そこで、審査委員一同は本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。