

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 村山 周平

---

本研究では、新しい抗がん剤リード化合物の探索を目的として、がん転移に関連する酵素としてカテプシン B を選択しその酵素阻害活性をスクリーニングした。日本沿岸で採取した 303 検体の無脊椎動物の粗抽出液（脂溶性画分、水溶性画分）について、阻害活性のスクリーニングを行った。海綿動物と原索動物に活性を示すサンプルが高頻度で認められた。

スクリーニングにおいて強い活性を示した東京都根島産海綿 *Asteropus simplex* から活性成分の単離を試みた。海綿を各種溶媒で抽出し液液分配、ODS フラッシュクロマトグラフィー、ゲルろ過で分画した後に、逆相の HPLC で精製し、新規化合物 **asteropterin (1)** を得た。**Asteropterin** の構造は各種スペクトル解析によって決定し N-メチルヒスタミンとルマジンが結合した化合物であることがわかった。**Asteropterin** はカテプシン B に対して IC<sub>50</sub> 値 1.4 µg/mL で活性を示した。構造活性相関を調べるために **asteropterin** の部分構造であるルマジン、ヒスタミン、ルマジンの類縁体であるキサントプテリン、イソキサントプテリンさらにルマジンとヒスタミンの混合物についても活性試験を行ったが 50 µg/mL の濃度において阻害活性を示すものはなかった。したがって、ルマジンとヒスタミンが連結した構造が活性発現に必要であることがわかった。

ついで、鹿児島県獅子島産海綿 *Crella (Yvesia) spinulata* から活性成分の単離を試みた。海綿をメタノールで抽出し液液分配、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分画した。活性成分は無機塩を添加しない条件の逆相 HPLC ではよい分離を示さなかったが、過塩素酸ナトリウムを含む溶媒系で分析したところ、塩濃度の上昇に伴って、分離能が向上するという結果が得られた。そこで 1.5 M と高濃度の過塩素酸ナトリウムを添加して HPLC を行い、活性成分として **shishicrellastatin A (2)** および **B (3)** と名づけた 2 つの新規ステロール二量体を得た。**Shishicrellastatin** 類の構造決定はスペクトル解析によって行った。相対配置は ROESY データより導いた。**Shishicrellastatin A**、および **B** はカテプシン B に対してそれぞれ IC<sub>50</sub> 値 7.0 µg/mL、7.8 µg/mL を示した。

鹿児島県獅子島産未同定種海綿から活性成分の単離を試みた。海綿をメタノールで抽出し液液分配、ODS フラッシュクロマトグラフィー、ゲルろ過で分画し、さらに活性画分を逆相 HPLC によって精製した。HPLC での挙動などから、活性成分が無機物であることが疑われたため、元素分析を依頼した。元素分析の結果、炭素は全体の 26%程度含まれていることが判明したが、窒素、炭素、水素の量が全体の 50%程度と少なく、金属イオンが含まれているものと推察された。そこで、金属イオンの定性分析を依頼したところ、マグネシウム、ナトリウム、ニッケルを

高濃度で含んでいることがわかった。

鹿児島県大島新曾根産未同定種海綿から活性成分の単離を試みた。海綿をメタノールで抽出し液液分配、ODS フラッシュクロマトグラフィー、シリカゲルクロマトグラフィーで分画した。HPLC で分析し、活性の分布の広がり方などから硫酸エステルが存在を予想した。そこで、shishicrellastatin 類を単離した際に有効であった高濃度の過塩素酸ナトリウムを添加した溶媒系を用いる HPLC で、1 つの化合物を精製した。化合物の構造は各種スペクトル解析を用いて検討している。この化合物の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルでは、過去に当研究室において  $\alpha$  グリコシダーゼ阻害剤として海綿から見出された schulzeine 類に特有の 2 本の 6 ppm 付近のシグナルが得られたため、類似の構造を持つ化合物であると推測された。しかし、200 ppm 付近にケトン基由来のシグナルが見られるなど、既知の schulzein 類とは異なっていた。

以上の研究内容に関する質疑応答を経て、審査委員一同は、申請者に博士の学位を授与して良いとの結論に達した。