

論文の内容の要旨

論文題目 **Studies on Biologically Active Metabolites from Marine Invertebrates**
 (海洋無脊椎動物由来の生物活性物質に関する研究)

氏名 上岡 麗子

ガンの治療法のひとつに化学療法があり、無制限に増殖するガン細胞をターゲットとした治療薬が臨床的に使用されてきた。しかし、ガン細胞の耐性獲得や抗ガン剤の副作用など、化学療法剤には大きな問題点がある。したがって、既存の抗ガン剤とは異なる作用機序を示す新しい骨格を持った抗腫瘍性化合物が求められている。

本研究では、抗ガン剤の探索源として、頑丈な外骨格を有さないため化学物質によって外敵から身を守っているといわれるカイメンや、微生物を捕食して体内に微生物由来の二次代謝産物を濃縮しているといわれるクモヒトデを用いた。海洋無脊椎動物の抽出物には、ガン細胞に対して毒性を示すものが高頻度で含まれているということが知られており、すでにさまざまな生理活性物質が見ついている。海洋由来で初めて抗ガン剤として認可を受けた ecteinascidin-743 は、群体ボヤ *Ecteinascidia turbinata* から単離された化合物で、現在、軟部組織肉腫の治療に抗ガン剤として用いられている。また、カイメン *Halicondria okadai* から単離された化合物 halicondrin B の誘導体である eribulin mesylate は、乳がんに対して第3相試験が行われており、好成績を挙げている。そこで、ガン細胞に対する細胞毒性を指標に精製を行ない、それぞれから異なる化合物群に属する化合物を単離し、化学構造を決定した。

1. 八丈島産カイメン *Petrosia* sp.由来の新規ポリアセチレンの単離、構造決定

カイメン *Petrosia* sp.を有機溶媒で抽出後、クロマトグラフィーにより精製し、4つの新規化合物 neopetroformyne A-D を単離した (Figure 1)。平面構造は、NMR および FAB-MS/MS データの解析により決定した。

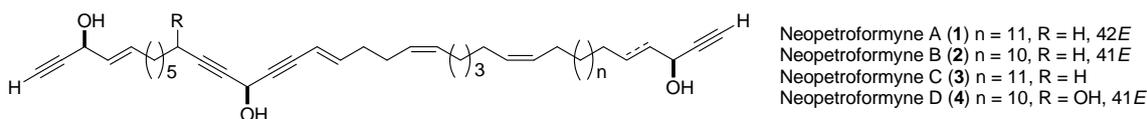


Figure 1. Structures of neopetroformyne A-D.

水酸基の絶対配置は、MTPA エステルに誘導し改良 Mosher 法により決定した。それぞれ、P388 マウス白血病細胞に対して、 IC_{50} 値 0.089、0.2、0.45、0.45 $\mu\text{g/mL}$ で細胞毒性を示した。

2. 奄美大島産ウデフリクモヒトデ由来の新規ジラクトンの単離、構造決定

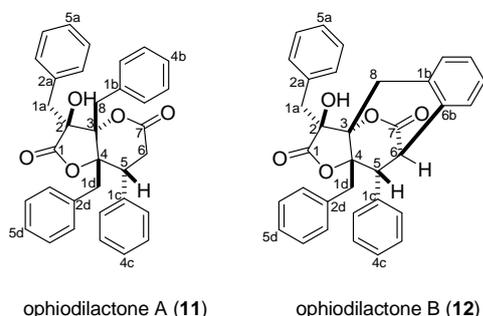


Figure 2. Structures of ophioidilactones A and B.

ウデフリクモヒトデを有機溶媒で抽出後、各種クロマトグラフィーによる精製を経て、2つの新規化合物 ophioidilactone A, B を単離した (Figure 2)。これらの化学構造は、NMR、MS および IR スペクトルの解析により決定した。相対配置は NOESY から、絶対配置は CD スペクトルの解析により決定した。

それぞれ P388 マウス白血病細胞に対して、 IC_{50} 値 5.0、2.2 $\mu\text{g/mL}$ で細胞毒性を示した。

3. 屋久新曾根産カイメン *Ceratopsion* sp.由来の新規鎖状ペプチドの単離、構造決定

カイメン *Ceratopsion* sp. をメタノールおよびクロロホルム/メタノール (1:1) で順次抽出後、各種溶媒系を用いた溶媒分画で得られた活性画分を、ODS フラッシュクロマトグラフィーやシリカゲルカラムクロマトグラフィーなどで分画した後に、ODS-HPLC に付して、新規細胞毒性化合物 yaku'amide A と B を単離した。これらの化合物は、いずれも 13 残基のアミノ酸からなる鎖状ペプチドで、平面構造は、NMR スペクトルおよびマススペクトルデータを詳細に解析して決定した (Figure 3)。

Yaku'amide A の絶対立体は Marfey 法を用いて決定した。標品との ODS HPLC の保持時間を比較し、D-Ala、L-Val が 1 個、D-Val が 2 個、D-*allo*-Ile であるとわかった。OHVal、OHlle、CTA は、過去の文献をもとに片方のエナンチオマーの標品を合成し、L-FDAA と D-FDAA を反応させることで Marfey 法を適用した。その結果、L-OHVal が 1 個、D-OHVal

が 1 個、(2*S*,3*R*)-OHlle、2*S*-CTA であると決定した。

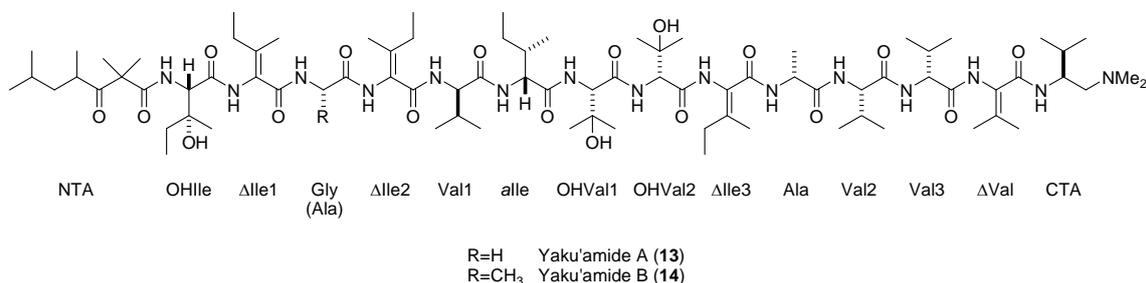


Figure 3. Structures of yaku'amide A and B.

L 型と D 型の OHVal と Val の位置を決定するために、yaku'amide A を部分酸加水分解に付した。すなわち、70% 酢酸中で 110 °C、4 日間加水分解し、ODS HPLC により精製して **15-17** を得た (Figure 4)。これらの構造は、ESIMS から推定した。

OHVal2-Δlle3-Ala-Val2-Val3-ΔVal-CTA 15	15 と 16 に Marfey 法を適用し、OHVal2 と Val1 が
Ala-Val2-Val3-ΔVal-CTA 16	どちらも D 型であると決定した。さらに、Val2 の絶
Val2-Val3-ΔVal-CTA 17	対配置は、17 をダンシル化した後、酸加水分解し、 得られたダンシル化 Val のキラル HPLC における保

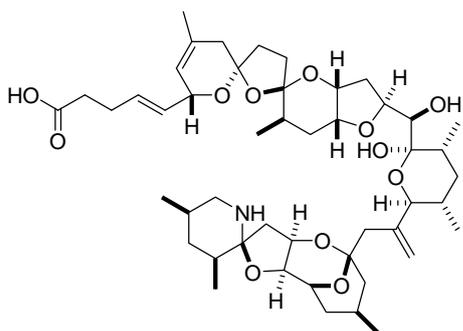
Figure 4. Structures of **15-17**. 保持時間を標品と比較した結果、L 型であると決定し

た。よって、Val1、OHVal1、Val3 の絶対配置も決定できた。

Yaku'amide A および B の P388 マウス白血病細胞に対する IC₅₀ 値はそれぞれ 14 ng/mL および 4.0 ng/mL で、いずれも強い細胞毒性を示した。

4. 奄美大島産カイメン *Echinoclathria* sp.由来の azaspiracid-2 の単離、同定

カイメン *Echinoclathria* sp.を有機溶媒で抽出後、各種クロマトグラフィーで精製を行ない、二枚貝に含まれる毒性物質として知られる azaspiracid-2 (**18**) を 0.1 mg 単離し、¹H NMR スペクトルを文献値と比較し同定した (Figure 5)。



Azaspiracid-2 は、UV 吸収が 210 nm 以上に無く含有量が微量であったため、単離が困難であったが、Phenylhexyl-phase カラムと GS320 カラムを用い、ESIMS によって検出することで、酢酸を用いることなく単離することに成功した。

Figure 5. Structure of azaspiracid-2 (**18**).

Azaspiracid-2 は、P388 マウス白血病細胞に対する IC₅₀ 値が 0.72 ng/mL で強い毒性を示し、フローサイトメトリーによる分析から、細胞周期を S 期で阻害することが分かった。

本研究では、3 種のカイメンと 1 種のクモヒトデから、それぞれ種類の異なる化合物を単離、構造決定した。

Neopetroformynes は、Petrosia 属カイメンにみられる長鎖ポリアセチレン化合物 petroformyne の類縁体で、絶対立体も明らかにした。Ophiodilactones は、シアノバクテリア等から単離されているフェニルアラニン由来の γ -ラクトン化合物の類縁体であり、ophiodilactone B の炭素骨格は新規である。Yaku'amides は、多数の dehydro アミノ酸や β -hydroxy アミノ酸を含むユニークな化合物である。また、両末端の修飾基は、天然物としては初めての例である。Azaspiracid-2 は、貝毒の原因物質であるが、カイメンから、主な細胞毒性物質として初めて単離された。このように、海産無脊椎動物は、新しい骨格をもつ細胞毒性物質を含む生理活性物質の有望な探索源であることを実証した。