

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 上岡 麗子

申請者は、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。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。概要は以下の通りである。

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。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。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、IC50 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

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 *ophiodilactone* A, B を単離した。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、IC50 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 *Ceratopsis* sp. 由来の新規鎖状ペプチドの単離、構造決定

カイメン *Ceratopsis* 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。*Yaku' amide* A の絶対配置は 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、OHIle、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、(2S, 3R)-OHIle、2S-CTA であると決定した。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 により精製してフラグメントペプチドを得た。これらのアミノ酸配列は、ESIMS から推定し、絶対配置は酸加水分解物のキラル HPLC から決定した。このようにして、全てのアミノ酸残基の絶対配置を決定できた。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。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。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。

以上、申請者は 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、絶対配置も明らかにした。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。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。