

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 今榮 康文

がんは先進国における主要な死亡原因のひとつであり、有効な抗がん剤の開発が常に求められている。現在臨床で用いられている抗がん剤の半数以上は、動植物や微生物の産生する二次代謝産物（天然物）またはその誘導体であり、近年では、海洋生物由来の天然物またはその誘導体が抗がん剤として認可されるケースが出てきた。それら天然物由来の抗がん剤の多くは、がん細胞に対する細胞毒性を指標に見いだされた。細胞毒性物質の多くは選択性に乏しく、正常細胞にも作用して副作用を引き起こすため、近年の抗がん剤開発の動向は、分子標的治療薬の開発にシフトしてきている。分子標的治療薬はがん細胞に特有の分子をターゲットとするため、正常細胞への影響が少なく、細胞毒性に基づく従来の薬剤と比べて副作用が少ないと考えられている。そこで、ユニークな化学構造を持つ二次代謝産物を豊富に含むことで知られるカイメンを用いて、新しい分子標的治療薬のリード化合物の探索を行なった。分子標的には、がん浸潤と転移に寄与するカテプシン B と、がん細胞において過剰発現していることが知られているヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)を選択した。本研究の結果、新規カテプシン B 阻害物質として 2 つの化合物を、新規 HDAC 阻害物質として 4 つの化合物を単離し、その構造を決定した。また、カテプシン B 阻害物質探索の過程で新規リポペプチドを単離し、構造決定を行なうとともに、2 つの異なる絶対配置が提唱されていたその類縁化合物の構造の精査を行なった。

まず、大島新曾根にて採集されたカイメン *Jaspis* sp. の粗抽出物が、カテプシン B 阻害活性スクリーニングにおいて強い活性を示した。その活性を指標として精製を行なったところ、新規イソキノリン化合物 jasisoquinoline A (1) と B (2) および、既知化合物の schulzeine A (3) と B (4) を活性化化合物として単離した。NMR データを解析した結果、化合物 1 はイソキノリン、5-(2-アミノエチル)レゾルシノール、硫酸エステル基とメチル基で置換されたアルキル鎖で構成されていることがわかった。アルキル鎖上の置換基の位置はイソキノリン部位から遠く、NMR データでは特定できなかったため、化合物 1 の化学分解により生成した 6 の分子量を求めることで決定した。メチル基で置換された不斉炭素の絶対配置は、化合物 1 の分解で得られた化合物 7 の (*R*)-MTPA エステル誘導体 8 のメチンプロトンシグナルの分裂様式から決定した。<sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C NMR のケミカルシフト値の比較から、化合物 1 と 3 のアルキル鎖上の不斉炭素の相対配置が同一であることが示唆されたため、化合物 8 の絶対配置と合わせて化合物 1 のアルキル鎖上の不斉炭素の絶対配置を決定できた。イソキノリン骨格中の四級炭素の絶対配置は CD スペクトルの解析により推定した。化合物 2 の NMR スペクトルは、二級メチルのシグナルが見られないことを除いて化合物 1 のものと一致していた。したがって、化合物 2 は化合物 1 のデスメチル体であると決定した。化合物 1 と化合物 2 のカテプシン B 阻害活性(IC<sub>50</sub>) はともに 10 μg/mL であった。また、化合物 3 と化合物 4 はそれぞれ 5.0 μg/mL と 12

$\mu\text{g/mL}$  の  $\text{IC}_{50}$  値を示した。化合物 **5** (化合物 **1** の加水分解物) がカテプシン B 阻害活性を示さなかったことから、硫酸エステル基が活性発現に必須であることが示唆された。

ついで、大島新曾根産カイメン *Stelletta* sp. の粗抽出物が強いカテプシン B 阻害活性を示したため、活性化合物の単離を試みた。精製の最中に、活性成分とは別に、新規リポペプチド ciliatamide D (**9**) を単離した。NMR スペクトルの解析から、化合物 **9** は環化したリジン、メチオニンスルホキシドおよび、9-デセン酸で構成されたリポペプチドであり、スルホキシドの *R/S* 異性と三級アミドの *E/Z* 異性に由来する四つの異性体の混合物であることがわかった。また、化合物 **9** の加水分解物を Marfey 分析に付し、化合物 **9** に含まれるアミノ酸はともに L 型であることがわかった。化合物 **9** は、過去にカイメン *Aptos ciliata* から単離された抗リーシュマニア化合物 ciliatamide A (**10**) とよく似た平面構造を有していた。化合物 **10** は当初、2 つの L-アミノ酸によって構成される構造が提唱されていた。しかし後に、合成物との比旋光度の比較により鏡像異性体である *ent*-**10** が真の構造であると訂正された。化合物 **9** は L-アミノ酸で構成されている一方、*ent*-**10** は D-アミノ酸で構成されることから、ciliatamide A の真の絶対配置に興味を持たれた。LC-MS を用いて、今回の *Stelletta* sp. の粗抽出物に化合物 **10** が含まれることが判明したため、その単離を行なった。新たに単離された化合物の NMR、MS データおよび比旋光度は、過去に報告された化合物 **10** のものとよく一致した。さらに、今回の化合物の加水分解物の Marfey 分析から、化合物 **10** の構成アミノ酸がいずれも L 型であることを示し、論争に終止符を打った。

さらに、屋久新曾根産未同定種カイメンの粗抽出物が顕著な HDAC 阻害活性を示したため、活性化合物の単離を行なった。その結果、compound A (**11**) を含む 4 つの活性化合物を単離した。NMR スペクトルの解析から、化合物 **11** は 3 つのアセトキシ基、硫酸エステル、および水酸基で置換された長鎖脂肪酸と *O*-メチルプロリンから構成されることがわかった。脂肪酸上の置換基の位置は、加水分解物の FAB-MSMS データの解析により決定し、プロリンが L 型であることは Marfey 法により決定した。また、ケミカルシフト値をデータベースと比較することにより、トリアセテートの相対配置が *anti-anti* であることが判明した。現在、類縁化合物を含めて、全不斉炭素の絶対配置の決定を試みている。化合物 **11** は、HDAC に対し、 $\text{IC}_{50}$  値  $8.0 \mu\text{g/mL}$  の阻害活性を示した。

以上、本研究は海洋生物の化合物資源としての有用性を実証する内容で、水産学ならびに天然物有機化学に資する所の多い研究である。よって審査委員一同は、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。