

海綿動物由来の生物活性物質に関する研究

学位論文内容の要旨

本研究では、特異な化学構造や生物活性を示す新しいタイプの天然物を探索する目的で、数種の沖縄産海綿動物の成分検索を行った。その結果、1) *Theonella*属海綿より新規37員環マクロライドTheonezolid A~Cと新規臭素化プロトベルベリンアルカロイドTheoneberineを、2) *Aplysina*属海綿より新規ヌクレオシドAplysidineおよび新規トリプトファン誘導体Isoplysin-AとD-6-Bromohypaphorineを、3) *Ircinia*属海綿より新規アルカロイドIrcinal AとBを、それぞれ単離し、種々のスペクトルデータや化学反応によりそれらの化学構造を解明するとともに、それらの薬理活性を明らかにした。

1. *Theonella*属海綿より単離した新規37員環マクロライドTheonezolid A~C

*Theonella*属海綿(SS-355)のMeOH抽出物を種々のカラムクロマトグラフィーを用いて精製することにより、新規化合物としてTheonezolid A~Cを単離した。

Theonezolid A~Cの各種2次元NMRスペクトル(DQF-COSY, HOHAHA, ROESY, HSQC, gradient-enhanced HMBC, およびHSQC-HOHAHA)およびFABMS/MSの詳細な解析、ならびにそれらのオゾン分解生成物の構造に基づいて、Theonezolid A~Cの平面構造を明らかにし、末端の不斉炭素の絶対配置は、それぞれのオゾン分解生成物を合成することによりすべてRであると決定した。

Theonezolid A~Cは、硫酸エステル、オキサゾール、チアゾール等の官能基を有し、アミド結合で結合した長い側鎖と37員環ラク톤環からなる新規マクロライド化合物であり、それらは側鎖メチレンの数のみが異なっており、チアゾール環と末端メチレン炭素の間のメチレンの数はそれぞれ8、6、および10であった。

Theonezolid A~Cは、マウス白血病細胞L1210およびヒト上皮ガン細胞KBに対して殺細胞活性を示した。

2. *Theonella*属海綿より単離した新規臭素化プロトベルベリンアルカロイド

Theoneberine

*Theonella*属海綿(SS-346)のMeOH抽出物を種々のカラムクロマトグラフィーを用いて精製することにより、新規化合物としてTheoneberineを単離し、 ^1H - ^1H COSY およびHMBCスペクトルにより、Theoneberineの基本骨格はベンジルテトラヒドロプロトベルベリン構造であると推定した。置換基の位置を含めた平面構造は、 ^{13}C NMRおよびHMBCデータならびにTheoneberineの水素添加により得られたtridebromotheoneberineのNOE実験により明らかとなった。

TheoneberineのB/C環において、1位の臭素と13位の水素の間での立体障害のためにシス型が優勢であると考えられ、このことはIRおよびNMRデータから支持された。NOESYスペクトルにおける相関ピークにより、Theoneberineの相対配置を含めた構造を明らかにすることができた。

Theoneberineはグラム陽性細菌(*Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus*, etc.)に対して生育阻害活性を示した。

3. *Aplysina*属海綿より単離した新規アルカロイドAplysidine、Isoplysin-A、およびD-6-Bromohypaphorine

*Aplysina*属海綿(SS-231)のMeOH抽出物を種々のカラムクロマトグラフィーを用いて精製することにより、新規ヌクレオシドとしてAplysidineを、新規トリプトファンとしてIsoplysin-AとD-6-Bromohypaphorineを単離した。

Aplysidineの構造は ^1H および ^{13}C NMRを含むスペクトルデータにより推定し、さらにtheophyllineと α -ハロゲノ糖から β -選択的に合成することにより確認した。

Isoplysin-AはAplysinopsinの異性体であり、Isoplysin-AをDMSO中KOHで処理することによりAplysinopsinが生成したことからその構造を確認した。D-6-Bromohypaphorineの構造は水素添加でD-Hypaphorineに誘導することにより明らかとなった。

AplysidineはアデノシンA₁受容体に対して弱い拮抗作用を示した。

4. *Ircinia*属海綿より単離した新規アルカロイドIrcinal AとB

*Ircinia*属海綿(SS612)のMeOH抽出物を種々のカラムクロマトグラフィーを用いて精製することにより、新規アルカロイドとしてIrcinal AとB、Manzamine HとJを、既知化合物であるManzamine A、B、Dとともに単離した。

^1H - ^1H COSY、HSQCおよびHMBCスペクトルを詳細に検討することにより、Ircinal Aの構造を推定した。トルエン中TFA存在下、Ircinal AとtryptamineとのPictet-Spengler縮合反応、引き続きDDQ酸化反応により得られた化合物のすべての物理化学定数が、すでにX線解析により絶対構造が明らかであるManzamine Aの文献値と一致したので、Ircinal Aの構造は絶対配置を含めて決定することができた。

Ircinal Bの構造は、Ircinal Aのスペクトルデータとの比較により、Ircinal Aの34位と27位のC-N結合がない構造であると推定した。Ircinal Aと同様な操作によりIrcinal Bから誘導した化合物と、Manzamine Bから変換した化合物との比較において、両者の物理化学定数がすべて一致したことによりIrcinal Bの構造を確認した。

Ircinal AとB、Manzamine A、B、D、HおよびJは培養腫瘍細胞L1210およびKBに対してほぼ同程度の殺細胞活性を示した。

まとめ

1) Theonezolid A~Cは新しいタイプの新規ポリケタイド化合物であり、2本の長鎖脂肪酸を基本構成要素とし、ラクトン環、アミド結合、オキサゾール、チアゾール、硫酸エステルなどの種々の官能基を有する点など、生合成的に興味深い構造上の特徴を有している。

2) Theoneberineは、海洋生物から初めて単離されたベンジルテトラヒドロプロトベルベリンアルカロイドであり、海洋産特有の臭素置換基を多数有している。

3) Aplysidineは天然からは初めてのtheophyllineを有するヌクレオシドである。D-6-BromohypaphorineはD-トリプトファン由来の化合物である。

4) マンザミン類の生合成前駆体と考えられるIrcinal AとBを単離し、Ircinal Aとtryptamineとの縮合反応によりManzamine Aを合成した。Manzamine Aは生合成過程においてもこのような経路により生成するものと考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 林 淳 一
副 査 教 授 橋 本 俊 一
副 査 教 授 森 美和子
副 査 助 教 授 石 橋 正 己

学 位 論 文 題 名

海綿動物由来の生物活性物質に関する研究

海洋生物からは化学構造および生物活性の両面において特異な2次代謝産物が数多く分離され、新しい医薬品のリード化合物として、あるいは生命科学の基礎研究に有用な生物学試薬として期待され、実用面で具体的成果があげられつつある。

本研究では、特異な化学構造や生物活性を示す新しいタイプの天然有機化合物を探索する目的で、数種の沖縄産海綿動物の成分検索を行った。その結果、1) *Theonella* 属海綿より新規37員環マクロライドTheonezolidide A~Cと新規臭素化プロトベルベリンアルカロイドTheoneberineを、2) *Aplysina* 属海綿より新規ヌクレオシドAplysidineおよび新規トリプトファン誘導体Isoplysin-AとD-6-Bromohypaphorineを、3) *Ircinia* 属海綿より新規アルカロイドIrcinal AとBを、それぞれ単離し、種々のスペクトルデータや化学反応によりそれらの化学構造を解明するとともに、それらの薬理活性を明らかにした。

1. *Theonella* 属海綿より単離した新規37員環マクロライドTheonezolidide A~C

Theonella 属海綿(SS-355)の抽出物より新規37員環マクロライドとしてTheonezolidide A~Cを単離し、各種2次元NMRスペクトルおよびFABMS/MSの詳細な解析、ならびにそれらのオゾン分解生成物の構造に基づいて平面構造を明らかにするとともに、末端を含むオゾン分解生成物を合成することにより末端の不斉炭素の絶対配置を決定した。Theonezolidide A~Cは、硫酸エステル、オキサゾール、チアゾール等の官能基を有し、アミドで結合した長い側鎖と37員環ラクトン環からなり、これまでに類例の

ない新しいタイプの新規マクロライド化合物である。Theonezolidide A~Cはマウス白血病細胞L1210およびヒト上皮がん細胞KBに対して殺細胞活性を示すことを見出した。

2. Theonella属海綿より単離した新規臭素化プロトベルベリンアルカロイド Theoneberine

Theonella属海綿(SS-346)の抽出物より新規臭素化プロトベルベリンアルカロイドとしてTheoneberineを単離し、2次元NMRデータと水素添加誘導体のNOE実験により平面構造を推定し、IRとNOESY、CDデータの比較から絶対立体配置を帰属した。Theoneberineはグラム陽性菌(*Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus*, 等)に対して抗菌活性を示すことを見出した。

3. Aplysina属海綿より単離した新規アルカロイドAplysidine、Isoplysin-A、およびD-6-Bromohypaphorine

Aplysina属海綿(SS-231)の抽出物より新規ヌクレオシドとしてAplysidineを、新規トリプトファン誘導体としてIsoplysin-AとD-6-Bromohypaphorineを単離した。¹Hおよび¹³C NMRを含むスペクトルデータによりAplysidineの構造を推定し、さらにtheophyllineと α -ハロゲン糖から β -選択的に合成することによりその構造を確認した。一方、Isoplysin-AはAplysinopsinの異性体であり、Isoplysin-AをAplysinopsinに誘導することによりその構造を明らかにする一方、D-6-Bromohypaphorineを水素添加によりD-Hypaphorineに誘導することによりその構造を帰属した。AplysidineはアデノシンA₁受容体に対して弱い拮抗作用を示すことを見出した。

4. Ircinia属海綿より単離した新規アルカロイドIrcinal AとB

Ircinia属海綿(SS-612)の抽出物より新規アルカロイドとしてIrcinal AとB、Manzamine HとJを、既知化合物であるManzamine A、B、Dとともに単離した。種々のスペクトルデータに基づきIrcinal Aの構造を推定する一方、Ircinal AとtryptamineとのPictet-Spengler反応、引き続きDDQ酸化により既知のManzamine Aに誘導することにより、Ircinal Aの構造を絶対配置を含めて決定した。また、Ircinal B、Manzamine HとJの構造は、各々のスペクトルデータと誘導反応から帰属した。Ircinal AとB、Manzamine HとJは培養腫瘍細胞L1210およびKBに対してほぼ同程度の殺細胞活性を示すことを見出した。

以上、本研究では4種 of 海綿動物より4系統合計11個の新規化合物の単離、構造決定に成功している。とくにTheonezolid類は分子量が1500に及ぶポリケタイドであり、その構造解析には最新の分離・分析法が駆使されており、複雑な天然有機化合物の構造解析法のひとつのモデルケースとして注目に値する。また、Manzamine Aは海洋天然物の中でもっとも複雑な環構造をもつ化合物のひとつであり、その前駆体に相当するIrcinal Aの単離は、Manzamine類の生合成を示唆する重要な発見として位置づけられる。本研究は、新しいタイプの天然有機化合物の発見、新しい分離・分析法の適用例の拡張、注目される生合成関連物質の単離、という点で天然物化学の分野で多くの研究成果を挙げたものといえる。本研究成果は、既に多くの一流国際学術誌に発表されており、博士（薬学）の学位を受けるに値する業績と判断された。