

学 位 論 文 題 名

Studies on Bioactive Compounds from Unutilized Marine Natural Resources

(海洋未利用資源より得られた生物活性物質に関する研究)

学位論文内容の要旨

環境問題への対応と未利用資源の有効利用が重要視される今日、海洋生物資源を適切に保護・利用し、海産廃棄物を活用する必要がある。一例として、海藻類は、他の動植物や微生物との競合および捕食に対抗するために、摂食阻害物質や付着阻害物質などの他感作用物質(アレロケミカルス)を生産し含有している。大型海藻種の紅藻カレキグサなどは、ウニなどの植食動物によって捕食されないために繁茂し、有用種の生育を妨げている。そのため雑海藻と呼ばれ、未利用のまま産業廃棄物として処理されており、環境上の問題となっている。また、近年、北海道全域ではヒトデが大量発生し、水産有用種の被害などの被害を及ぼしている。回収後のヒトデは、利用価値が見出せないために廃棄物処理され、未利用資源となっているが、多様な生物活性を有することが知られている。そのような現状から、ヒトデに含まれる機能性物質の有効活用を通じて、環境に配慮した循環型利用法の開発が期待される。一方、持続可能な資源供給を支えるうえで、藻場や漁場の環境修復など、海洋環境保全技術の開発も重要である。海産動植物より得られた付着生物に対する阻害・忌避物質などは、有機スズ化合物に代わる環境にやさしい天然魚網防汚剤や船底塗料の開発に役立つと考えられる。

本研究は、低・未利用海洋資源、特に廃棄物となる雑海藻やヒトデ、さらに普遍的に繁茂する海藻類より、環境に適合した天然物由来の有用生物活性物質を探索し、得られた化合物の機能性および構造活性相関の評価を行った。第 1 章では、これまでに報告されている海産動植物中の有用生物活性物質について概説し、本研究の目的とその概要について記述した。第 2 章では、紅藻カレキグサについて、アビセル板法を用いた稚ウニに対する摂食阻害活性試験によりアレロケミカルスの探索を行った。第 3 章では、キヒトデから、コマツナ種子を用いた発芽・初期生育試験を指標に、有用生物活性物質の探索を行い、得られた物質の機能性を明らかにした。第 4 章では、紅藻ソゾ属の海藻より、珪藻および海藻胞子に対する付着阻害物質を探索した。第 5 章では、本研究を総括した。以下に、第 2 章から第 4 章までの概要を述べる。

第 2 章では、北海道東部の沿岸に広く生育する大型海藻の一種である紅藻カレキグサより、植食動物に対する摂食阻害物質の探索および活性の評価を行った。その結果、行動規制試験において、ウニがカレキグサ抽出液から遠ざかる忌避行動が観察できた。また、稚ウニに対する摂食阻害活性を示した水溶性画分からは、4 種の化合物を単離した。種々の機器分析法および化学反応を用いて、新規フェニルプロパノイドの tichocarpol A と B および紅藻特有の代謝産物である floridoside と isethionic acid を同定した。2 種の新規物質ならびに floridoside には摂食阻害活性が認められたが、isethionic acid は逆に誘引効果を示した。植食動物に対する摂食阻害活性物質の多くは脂溶性のものであり、水溶性低分子化合物は少ない。これらの物質は環境問題となっている「磯焼け」海域の海中林回復の手段になると考えられる。

第 3 章では、道東沿岸域で生息度の高いキヒトデを対象種として、コマツナの発芽・初期生育試験を指標に機能性成分の探索を行った。作製したヒトデ混和堆肥にはコマツナの生育促進作用が認められたことから、ヒトデ水抽出物およびメタノール抽出物から分離操作を行い、コマツナ種子に対して発芽抑制・阻害あるいは生育促進を示す画分を得た。強い阻害能を有する水溶性画分より、アステロサポニン類の glycoside B₂ と asterosaponin-1 および 4 を得た。次に、水溶性促進画分からは、種々のアミノ酸および K および Na を含む無機塩、さらに低分子化合物の asterubine が検出された。タウリンと dimethylcyamide を用いて asterubine を合成し、天然物と同程度の生育促進活性を認めた。また、無機塩は顕著な活性を示したが、アミノ酸は初期生育に関与していないことがわかった。一方、脂溶性画分より分離した画分にも促進効果が確認された。全体的な促進活性を示す画分の主成分はスフィンゴ糖脂質であった。種々の脂肪酸およびスフィンゴシン塩基が混在するスフィンゴ糖脂質類は構造が極めて類似しており、NMR 法による通常の構造解析が困難であった。そこで、メタノリシスして糖部と脂肪酸部および長鎖塩基部に分離した。その後、DMDS 化などの化学変換を行い、得られた各誘導体を GC/MS などで解析することによって、新規セブレロシドの asteriacerebroside G および既知の asteriacerebroside A と B を同定した。また、根伸長活性を示す画分にはセラミドが含まれており、セブレロシドと同様の解析法を用いることで、新規セラミドの asteriaceramide A を同定した。今までに asterubine やセブレロシドならびにセラミドにおける植物生育促進作用の報告はなく、本研究によって、それらの活性物質に新たな機能性が見出された。これらの結果より、環境に配慮した農業技術の開発に向けて、環境面で副作用などを発生しない植物生育制御物質の開発や堆肥化などによるリサイクルなど、ヒトデの有効利用法の開発につながる可能性が導き出せた。

第 4 章では、海産バクテリアなどに対して強い防御機能を有し、世界中の海域で普遍的に繁茂する紅藻ソゾ属の海藻より、バイオフィーム形成後の付着過程で重要となる珪藻および海藻胞子に対する付着阻害物質の探索および活性の評価を行った。その結果、強い阻害活性を示した化合物の多くは含ハロゲン二次代謝産物であり、中でも cuparane (laurane) 型や chamigrane 型のセスキテルペン類が低濃度でも顕著な阻害活性を示した。これらはフジツボ幼生などの付着阻害物質として知られる elatol と同等もしくはそれ以上の強い阻害能を有した。さらに、約 40 種の化合物について活性試験を行い、構造活性相関について検討したところ、ハロゲンの存在よりも cyclolaurane 骨格やブロモアレンなどの特定の構造が付着阻害活性に重要であることが示唆された。得られた活性物質は、環境負荷の少ない防汚剤候補となることが期待できた。

以上本研究では、海洋生物に恵まれた北海道の地の利を生かし、未利用資源となる海産動植物より、様々な化合物を抽出・単離し、活性物質の構造と機能を明らかにした。得られた成果は、環境修復技術を創製するための緒となり、海産未利用資源の有効利用に関する基礎データとして有用なものである。

学位論文審査の要旨

主 査 助 教 授 沖 野 龍 文
副 査 教 授 田 中 俊 逸
副 査 教 授 坂 入 信 夫
副 査 教 授 松 田 冬 彦

学 位 論 文 題 名

Studies on Bioactive Compounds from Unutilized Marine Natural Resources

(海洋未利用資源より得られた生物活性物質に関する研究)

近年、北海道で大量発生しているヒトデは、水産廃棄物として大きな未利用資源となっている。ヒトデと同様、海藻類でも他の生物に捕食されないために、他種に比べて繁茂しながら未利用な藻類も多数存在する。本研究では、未利用のまま廃棄物となっているヒトデの有効利用の一方策としての堆肥化に注目し、ヒトデ堆肥の有効性を含有成分の観点から明らかにした。また、北海道で未利用な藻類について、他種に比べて繁茂する原因を化学生態学あるいは天然物化学の観点から明らかにした。さらに、同じく未利用な藻類から有用な付着阻害活性を指標として生物活性物質を探索した。つまり、北海道産の海洋未利用資源に注目し、資源としての有効利用、未利用資源に含まれる生物活性物質、未利用資源となる生態学的理由という3つの角度から天然物化学的な研究を進めた。

まず、北海道で大量発生するヒトデの問題は、水産廃棄物の問題でも五指に入る環境問題である。これまで、多くの方の努力により堆肥としての利用が、実用に入っている。しかしながら、その効果については、ヒトデの一般的な成分から推察するのみであった。そこで、本研究では、コマツナの発芽・初期生育試験を導入し、堆肥としての機能を向上させる成分の探索を行った。その結果、生育阻害能を示す成分として三種のアステロサポニン類を同定した。これらは既知の成分で、これまでの予想と同様堆肥の駆虫効果と関連することが、より確かとなった。次に水溶性の生育促進物質として *asterubin* が同定された。七〇年以上前に報告されて以後、ほとんど研究例のないこの物質の新たな活性が認められた。本物質の活性は、合成品を用いて確認された。さらに、脂溶性の促進物質として新規セブレロシド一種、既知セブレロシド二種、新規セラミド一種が得られた。二種の新規化合物については、NMR および MS の分析と化学分解および分解物の GC/MS 分析などにより、精密に構造が解析された。ヒトデ類からは、これまで多くのセブレロシドあるいはセラミドが報告されている中で、新規物質を見いだしたことは驚くべきことであり、さらに

これら脂質類のこれまでに報告のない生物活性を初めて報告した。

次に、北海道東部に生息する紅藻カレキグサは、ウニなどに食されずに繁茂することが知られている。しかしながら、その原因は明らかでなかった。本研究では、ウニを用いた行動規制試験、および接触刺激試験により、四種の水溶性物質を同定した。うち二種は、新規のフェニルプロパノイドで、NMR および MS により構造を決定した。これまで、このような摂餌忌避物質で報告されてきたのは、脂溶性物質ばかりで、本研究で得られた水溶性物質はきわめて珍しい。

最後に、船底防汚塗料開発の一環として、未利用資源でかつ二次代謝産物が豊富であることで知られる紅藻ソゾ類に着目して、付着阻害物質の探索を行った。本研究では、付着珪藻を用いてマイクロファウリングの阻害活性を、付着海藻を用いてマクロファウリングの阻害活性を検討したことに特長がある。また、約四〇種の化合物を単離し、一部の新規化合物については構造決定した上で、付着阻害活性を評価した。その結果、cycloaurane 骨格やブロモアレンなどの構造をもつ化合物に高い付着阻害活性が見いだされた。これらは、今後の防汚塗料開発のリード化合物になることが強く期待される。

以上のように北海道の海洋未利用資源に着目した生物活性物質の探索研究を展開し、新規化合物の構造決定と多数の化合物の活性評価を完成させた。特に、水産廃棄物のヒトデの研究は、環境修復という視点から興味をもたれる。また、二〇〇八年の有機スズ化合物の船体存在禁止の国際条約発効を目前として、新たな防汚物質が求められている現在、環境負荷の少ない防汚塗料開発のリードが得られたことは、有機スズの代替技術開発に大いに貢献すると期待される。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（地球環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。