

学位論文題名

海綿由来新規含窒素化合物ならびに
渦鞭毛藻由来マクロライドの構造に関する研究

学位論文内容の要旨

海洋無脊椎動物を研究材料とした天然有機化合物の探索は、新規生物活性物質開発の一翼を担っている。このうち、海洋生物由来の含窒素化合物やマクロライドは、その特異な化学構造のみならず興味深い生物活性をもつものが多く、単離・構造決定をはじめ、全合成、医薬化学、ケミカルバイオロジー等の諸分野で精力的に研究が展開されている。このような背景の下、筆者は本研究にて、沖縄県近海にて採取した海綿の成分検索を行った。その結果、Spongiidae 科海綿よりアミノ基を持つ新規セスキテルペノイドキノンを、*Amphimedon* 属海綿より新規マンザミンアルカロイドを単離し、それらの構造を明らかにした。また、渦鞭毛藻 *Amphidinium* sp.由来の 12 員環マクロライド amphidinolide Q について、これまで未解明であった絶対立体配置を明らかにした。

Spongiidae 科海綿より単離した nakijiquinone 類の構造

沖縄産 Spongiidae 科海綿 SS-1074 の MeOH 抽出物を、水と酢酸エチル、続いて *n*-ブタノールで順次分配した。得られた酢酸エチル可溶画分について、シリカゲルおよび C₁₈ カラム、C₁₈ HPLC により分離、精製を行い、低極性画分から nakijiquinone E, F を、高極性画分から nakijiquinone G を単離した。*n*-ブタノール可溶画分についても同様に分離を行い、nakijiquinone H を単離した。また、同様の手法を用いて、別の Spongiidae 科海綿 SS-1047 より nakijiquinone I~K および M~Q を単離した。

各種二次元 NMR を中心とした構造解析の結果、nakijiquinone E および F は、セスキテルペノイドキノンとセスキテルペノイドフェノールが窒素原子を介して結合した二量体であると帰属した。一方、nakijiquinone G~K および M~Q についても、各種スペクトルデータの解析から、アミノ酸由来のアミノ基側鎖を有する新規セスキテルペノイドキノンと帰属した。

Nakijiquinone G~K および M~Q について、チロシンキナーゼ EGFR, HER2 に対する阻害活性を評価した結果、nakijiquinone G~I および P は EGFR に対して、nakijiquinone N および O は HER2 に対して、それぞれ阻害活性を示した。

Amphimedon 属海綿より単離した zamamidine 類の構造

沖縄県瀬良垣近海にて採取した *Amphimedon* 属海綿 SS-975 をメタノールで抽出し、抽出物を酢酸エチルと水で分配した。得られた酢酸エチル層について、シリカゲルカラムによる分離、精製を行い、新規マンザミンアルカロイド zamamidine A および B を単離した。

二次元 NMR をはじめとする各種スペクトルデータの解析により、zamamidine A は、manzamine H の 2 位に β -カルボリン環がエチレン鎖を介して結合した化合物

と帰属した。MacroModel による zamamidine A の配座探索の結果、最安定配座では、 β -カルボリン環がデカリン環の真下に配向し、H-22b および H-35b が β -カルボリン環の遮へい領域に位置することが示唆された。このことから、zamamidine A のプロトンの高磁場シフトが異方性効果によるものであることが示唆された。

Zamamidine B についても、二次元NMRおよびCDスペクトルの解析ならびに既知化合物とのスペクトルデータの比較から、1,2,3,4-tetrahydromanzamine Bの2位に、 β -カルボリン環がエチレン鎖を介して結合した化合物と帰属した。Zamamidine B についても同様に配座解析を行い、zamamidine A の最安定配座と比較した結果、zamamidine B の安定配座では β -カルボリン環がデカリン環に対して zamamidine A とは逆の位置に配向しており、いずれのプロトンに対しても異方性効果を与えにくいことが示唆された。

Zamamidine A および B には、クロロキン耐性マラリア原虫 *Plasmodium falciparum* (K1 strain) (IC_{50} , 7.16, 12.20 $\mu\text{g/mL}$) およびトリパノソーマ原虫 *Trypanosoma brucei brucei* (GUTat 3.1) (IC_{50} , 1.04, 1.05 $\mu\text{g/mL}$) に対して阻害活性が認められた。

渦鞭毛藻由来マクロライド amphidinolide Q の立体化学の解明

Amphidinolide Q は、1996年に当研究室にて渦鞭毛藻 *Amphidinium* sp. (Y-5 株) より単離された、細胞毒性を示す 12 員環マクロライドである。サンプル量が 1.2 mg と少量であったことから、これまで平面構造の帰属のみにとどまっていた。今回、NMR を詳細に解析し、*J*-based configuration analysis (JBCA) 法と改良 Mosher 法を適用することで、amphidinolide Q の絶対立体配置を帰属した。

Amphidinolide Q の相対立体配置は、主に重ベンゼン中における JBCA 法の適用ならびに NOESY 相関により推定した。重ベンゼン中での解析が困難であった 11 位、13 位間の相対関係については、NMR の測定溶媒を重クロロホルムに変更し、JBCA 法により帰属した。また、MacroModel による配座探索で得られた amphidinolide Q の最安定配座は、実際の NOESY 相関をよく満たすものであった。

Amphidinolide Q の 4 位の絶対立体配置は、改良 Mosher 法により *R* 配置と帰属した。さらに、amphidinolide Q の加溶媒分解を行い、生じた 11 位の水酸基に改良 Mosher 法を適用した。その結果、11 位は *R* 配置であることが明らかとなり、先に示した絶対立体配置と一致した。以上より、amphidinolide Q の絶対立体配置を、4*R*, 7*R*, 9*S*, 11*R*, 13*R* と帰属した。

まとめ

2 種の Spongiidae 科海綿よりアミノ基をもつ新規セスキテルペノイドキノン nakijiquinone E~K および M~Q を、*Amphimedon* 属海綿より新規マンザミンアルカロイド zamamidine A および B を単離し、これらの構造を明らかにした。Nakijiquinone E および F は 3-aminobenzoate を持つセスキテルペノイドキノン二量体として初めての例であり、Nakijiquinone G~K は、これまでのセスキテルペノイドキノンには例のない側鎖を有している。一方、zamamidine A および B は、2 つ目の β -カルボリン環がエチレン鎖を介して 2 位に結合しており、これまでに前例のないマンザミンアルカロイドである。Amphidinolide Q については、NMR の詳細な解析ならびに天然物 0.4 mg を用いた分解・誘導化反応により、限られたサンプル量で絶対立体配置を帰属した。

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 准教授 中 村 精 一
副 査 准教授 久保田 高 明

学 位 論 文 題 名

海綿由来新規含窒素化合物ならびに 渦鞭毛藻由来マクロライドの構造に関する研究

新たな天然有機化合物の探索は、新規生物活性物質開発の一翼を担っている。このうち、海洋生物由来の含窒素化合物やマクロライドは、その特異な化学構造のみならず興味深い生物活性をもつものが多く、単離・構造決定をはじめ、全合成、医薬化学、ケミカルバイオロジー等の諸分野で精力的に研究が展開されている。著者は本論文にて、沖縄県近海にて採取した数種の海綿について成分検索を行い、アミノ基を持つ新規セスキテルペノイドキノンならびに新規マンザミンアルカロイドを単離し、それらの構造を明らかにした。また、渦鞭毛藻由来の 12 員環マクロライドについて、未解明であった絶対立体配置を明らかにした。

Spongiidae 科海綿より単離したナキジキノンの構造解析

沖縄産 Spongiidae 科海綿 SS-1074 の MeOH 抽出物の酢酸エチル可溶画分について、各種クロマトグラフィーにより分離、精製を行った結果、低極性画分からナキジキノ E, F が、高極性画分からナキジキノ G を単離した。一方、*n*-ブタノール可溶画分から、ナキジキノ H を単離した。また、同様の手法により、別の Spongiidae 科海綿 SS-1047 よりナキジキノ I~K および M~Q を単離した。

二次元 NMR を中心とした構造解析の結果、ナキジキノ E および F は、セスキテルペノイドキノンとセスキテルペノイドフェノールが窒素原子を介して結合した二量体であると帰属した。一方、ナキジキノ G~K および M~Q は、アミノ酸由来のアミノ基側鎖を有する新規セスキテルペノイドキノンと帰属した。

ナキジキノ G~I および P はチロシンキナーゼ EGFR に対して、ナキジキノ N および O はチロシンキナーゼ HER2 に対して、それぞれ阻害活性を示すことを明らかにした。

Amphimedon 属海綿より単離したザマミジン類の構造解析

沖縄産 *Amphimedon* 属海綿 SS-975 の MeOH 抽出物の酢酸エチル可溶画分について、シリカゲルカラムによる分離、精製を行った結果、新規マンザミンアルカロイド・ザマミジン A および B が単離された。

二次元 NMR を中心とした構造解析により、ザマミジン A はマンザミン H の 2 位に β -カルボリン環がエチレン鎖を介して結合した化合物であり、ザマミジン B は 1,2,3,4-テトラヒドロマンザミン B の 2 位に、 β -カルボリン環がエチレン鎖を介して結合した化合物であると帰属した。MacroModel による配座探索の結果、ザマミジン A の最安定配座では、 β -カルボリン環がデカリン環の真下に配向し、デカリン環の一部のプロトンが β -カルボリン環による異方性効果を受けているものと推定した。一方、ザマミジン B の安定配座では、 β -カルボリン環がデカリン環に対してザマミジン A とは逆の位置に配向しており、いずれのプロトンに対しても異方性効果を与えにくいことを明らかにした。

ザマミジン A および B には、クロロキン耐性マラリア原虫 *Plasmodium falciparum* (K1 strain) およびトリパノソーマ原虫 *Trypanosoma brucei brucei* (GUTat 3.1) に対して阻害活性が認められた。

渦鞭毛藻由来マクロライド・アンフィジノリド Q の立体化学の解明

アンフィジノリド Q は、渦鞭毛藻 *Amphidinium* sp. より単離された、細胞毒性を示す 12 員環マクロライドであるが、サンプルが少量であったことから平面構造の帰属のみにとどまっていた。

著者は、*J*-based configuration analysis 法、NOESY スペクトルの解析、ならびに MacroModel による配座探索を考慮に入れ、アンフィジノリド Q の相対立体配置を推定した。また、改良 Mosher 法によりアンフィジノリド Q の 4 位の絶対立体配置を *R* 配置と帰属し、さらに、アンフィジノリド Q の加溶媒分解を行った後に生じた 11 位の絶対立体配置を *R* 配置であると帰属した。以上より、アンフィジノリド Q の絶対立体配置は、4*R*, 7*R*, 9*S*, 11*R*, 13*R* と帰属した。

まとめ

ナキジキノン E および F は 3-アミノベンゾエートを持つセスキテルペノイドキノン二量体として初めての例であり、ナキジキノン G~K は、これまでのセスキテルペノイドキノンには例のない側鎖を有している。一方、ザマミジン A および B は、2 つ目の β -カルボリン環がエチレン鎖を介して 2 位に結合しており、前例のないマンザミンアルカロイドである。また、NMR の詳細な解析ならびに天然物の分解・誘導化反応により、限られたサンプル量(0.4 mg)でアンフィジノリド Q の絶対立体配置を帰属している。

本研究は天然物化学の分野で優れた研究成果を上げたものといえる。よって著者は、北海道大学博士(生命科学)の学位を授与される資格あるものと認める。