

審査の結果の要旨

氏名 ダニエル アンドレス ペドラゾリ モラン

カイメン、ホヤ、サンゴをはじめとする海産無脊椎動物は、独特な化学構造を有した多様な生物活性物質（海洋天然物）を含有している。海洋天然物が示す多様な化学構造ならびに生物活性のゆえに、それらは創薬資源、特に抗がん剤として期待される。実際、4種類の海洋天然物が抗がん剤として認可され、さらに多数のものが臨床試験中である。抗がん剤の多くはがん細胞に対して殺細胞活性を示すため、正常細胞に対する副作用が伴う。一方、未分化ながん細胞を分化させることによってがんを治療する、分化誘導療法が別の選択肢を提供する。K562 白血病細胞はある種の抗がん剤による化学的刺激により、ヘモグロビンを作る赤血球に分化するため、分化誘導療法薬の探索に用いることができる。本研究では、海産無脊椎動物から HeLa 細胞に対する細胞毒性物質の探索ならびに K562 細胞に対する分化誘導活性物質の探索を行った。

まず、海産無脊椎動物の抽出物エキスライブラリーを用いて細胞毒性スクリーニングを行い、このスクリーニングで活性を示した屋久新曾根産カイメン S11-019 から活性成分の探索を行った。カイメンの抽出物を液々分配およびフラッシュクロマトグラフィーに付して得られた活性画分を、さらに高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いて精製し、3種の活性化合物を得た。それぞれの構造解析により、2種は既知化合物の petrosiacetylene D および penasterone で残りの1種が新規化合物であった。その化学構造は、以下のようにして決定された。まず、3つの部分構造式を NMR データの解析により導いた。それらの部分構造式が互いにメチレン鎖で結合していることがわかったので、中央の部分構造の位置をオゾン分解により生じるジカルボン酸の分子量から推定した。なお、この結果は FAB-MS/MS 実験により支持された。

ついで、スクリーニングで顕著な活性を示した刺胞動物イワスナギンチャクから細胞毒性成分の探索を行った。前述のようにして分画を行い、活性成分の精製を試みた。活性成分は HPLC において長時間にわたり溶出する、精製の難しい化合物であった。LCMS を行うと 2 価イオンピークが m/z 1340 に認められたことから、分子量が 2678 と予想され、その値はパリトキシンのものと一致した。活性成分が微量しか得られなかったため NMR スペクトルを測定できなかったが、LCMS ではピークの保持時間とマススペクトルの両者がパリトキシンのものと一致したため、当該化合物はパリトキシンと同定された。

ここで指標とする生物活性試験を変えて、前述のエキスライブラリーに対して K562 細胞分化誘導スクリーニングを行った。活性を示した大島新曾根産カ

イメン *Biemna* sp.の抽出物を前述したように分画し、HPLCにより 8種の活性成分を得た。機器分析データにより、このうち 6種が既知化合物、2種が新規化合物であることが判明した。いずれの化合物もピリドアクリジン骨格を有していた。ひとつ目の新規化合物には、NMR データから窒素に結合したヒドロキシメチル基があった。3つの部分構造式を導くことができたが、化合物が不安定で微量であったため、機器分析から全構造を導くことはできなかった。しかし、この化合物が保存中に徐々に既知化合物の *isocystodamine* に変換したため、部分構造式と併せて、*N*-hydroxymethylisocystodamine であることがわかった。ふたつ目の新規化合物はイミノキノン基に特有の炭素が含まれていた。そこで、NMR データを注意深く解析して化学構造を導いたところ、すでに *labuanine A* という名前で報告されていた化合物の化学構造式と一致した。しかし、NMR データを比較したところ、今回の化合物のものとは大きく異なっていて、イミノキノン基に由来する炭素に由来するピークがなく、既知化合物として報告されている *ecionine A* のデータとよい一致を示すことがわかった。*labuanine A* の質量分析データは *ecionine A* とは食い違うため、なぜ誤った構造式が出されたかは不明である。今回のカイメンからは *ecionine A* も得られたが、報告されていた *ecionine A* の NMR データとホヤ由来の化合物 *cystodimine A* の NMR データがよく一致していたため、両者を直接比較することとした。すると、LCMS による保持時間に若干の差違があることがわかり、今回の研究で単離された化合物は *ecionine A* であることを証明できた。なお、*ecionine A* が単離操作中に加水分解および空気酸化を受けることを明らかにした。

ついで、分化誘導活性を示した未同定種カイメン S011-001 に含まれる活性成分の探索を行った。前述のようにしてカイメンの抽出物を分画し、活性成分を得た。機器分析データの比較から、活性成分は既知化合物の *swinholide A* であることがわかった。*Swinholide A* に分化誘導活性があることを示したのは、本研究が初めてである。

以上、本研究では、二種類の培養細胞を用いた活性評価系を用いて活性物質の探索をおこない、多数の活性成分の単離に成功した。また、新規化合物に関しては、機器分析および化学変換などによりその化学構造が決定された。本研究の結果は、培養細胞を用いた活性評価が、多様な生物活性を有する新規化合物を見出すために有効な実験系であることを示した。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。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。