

審査の結果の要旨

氏名 福原 和哉

カイメンは、地球上でもっとも原始的な多細胞生物のひとつとして知られる水生無脊椎動物で、その中には、強い生物活性を示す複雑な構造をした二次代謝産物を含むものが存在し、それらの活性物質は捕食者や競合生物、さらには有害な微生物に対する化学防御物質として機能すると考えられている。そのため、これらの生物活性物質は新たな創薬シードとして期待されており、有用化合物の探索研究が盛んにおこなわれてきた。本研究では、カイメンの中でも特に多様な生物活性物質を含むことが知られている *Theonella swinhoei* から生物活性物質の探索が行われた。

八丈島産カイメン *T. swinhoei* をメタノールで抽出し、抽出物を LC-MS で分析したところ、ODS カラムから幅広いピークとして溶出し、分子量およそ 1200 を示す成分を発見した。そこで、カイメン抽出物から当該ピークを nazumazoles A-C (1-3) の混合物として単離した。生物活性を検討したところ、この混合物は P388 マウス白血病細胞に対して毒性を示したため、それら成分の構造決定をおこなった。HRESIMS により、各化合物の分子式を決定し、1-3 は分子式がそれぞれ CH_2 ひとつずつ異なる同族体であることがわかった。各種 NMR データを解析したところ、1-3 は互いに分子量が 14 異なる 2 種のペンタペプチドの二量体であり、分子式の違いはこれらペプチドの組み合わせに由来していた。以上の解析から、1-3 の構造は環内でジスルフィド結合を形成する環状デカペプチド、もしくはジスルフィド結合を介して二量化する環状ペンタペプチド二量体のいずれかであることが示唆された。そこで、1-3 のジスルフィド結合を還元アルキル化したところ、1-3 のおよそ半分の分子量を示すアルキル化体を 2 種得たため、1-3 は環状ペプチドがジスルフィド結合を介して二量化していることが明らかとなった。各アミノ酸残基の絶対配置を Marfey 法により決定し、1-3 の構造を決定した。1-3 の混合物は P388 マウス白血病に対して毒性を示し (IC₅₀ 値: 0.83 M)、ジスルフィド結合を切断した誘導体は毒性を示さなかった (IC₅₀ 値 > 50 M)。

さらに、*T. swinhoei* の抽出物の LCMS データを解析したところ、長時間にわたり溶出し、1-3 のおよそ半分の分子量を示す成分、nazumazoles D-F (4-6) を発見した。カイメンの抽出物から各成分を単離し、構造決定および生物活性の

検討をおこなった。HRESIMSにより各成分の分子式を決定し、NMRデータによって平面構造を決定した。4-6は1-3中のCys残基がγ-アミノ酪酸 (Abu) ないしSer残基に置換した化合物であった。4-6はいずれもP388細胞に対して活性を示さなかった (IC₅₀ 値 > 50 nM)。そこで、構成アミノ酸残基のひとつであるαケトβアミノ酸の側鎖の構造に着目し、キモトリプシンに対する阻害活性を調べ、4-6はキモトリプシンを阻害することを明らかにした。

八丈島産 *T. swinhoei* 15個体を個体ごとにメタノールで抽出し、得られた抽出物をそれぞれLC-MSで分析したところ、一部の化合物は分布に個体差が見られた。それらの中で、限られた個体にだけ認められた m/z 1703 および 1705 にイオンピークを与える化合物に着目した。この化合物は、7個体にだけ含まれていたため、その含量の高いカイメン個体から当該物質を単離し、構造決定および生物活性の検討をおこなった。HRESIMSにより分子式を決定し、各種NMRデータの解析により構造解析をおこなった。本化合物はtheonellamide類縁体であったため、theonellamide H (7) と命名した。本化合物はHeLa細胞に対してIC₅₀ 値 1.9 μMで毒性を示した。

以上のように、カイメン *T. swinhoei* より7つの新規生物活性ペプチドを発見し、それぞれの化学構造を決定した。本成果は、過去の探索研究でおこなわれてきた生物活性やUV吸収を基準とした分画法では発見の難しい化合物の存在を実証し、カイメンの創薬資源としての利用の可能性を拓げるものである。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。