

審査の結果の要旨

氏名 人羅 勇気

カイメン、ホヤ、サンゴをはじめとした海洋無脊椎動物は、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）を含有していることが知られている。近年、海洋天然物をシードとしたがん化学治療薬が複数上市され、20種以上の海洋天然物およびその誘導体が臨床試験に進んでいる。このように、海洋天然物は創薬資源、あるいは研究ツールとしての有用性が実証されてきた。本研究では、以下に示す2種類の培養がん細胞を用いた活性評価系（(1) ヒト子宮頸がん細胞（HeLa 細胞）に対する細胞毒性試験、(2) 細胞周期可視化蛍光プローブ（Fucci2）が導入された Fucci2-HeLa 細胞のタイムラプスイメージングを用いた生物試験）を用いて、カイメンを探索源とし、抗がん活性に結びつくことが期待される生物活性を示す化合物の探索の単離、構造決定が行われ、下掲の研究成果が得られた。

まず、宮古島近海の水深 415 m の海底にて採集された *Petrosia* 属カイメンに含まれる細胞毒性成分として(-)-duryne およびその類縁体が単離された。各種 NMR データの解析によって、(-)-duryne 類は、三重結合、水酸基、および二重結合が連続する末端構造を有していることが明らかとなり、また、一つあるいは二つの二重結合を含む長鎖脂肪鎖が、この末端構造と連結していることが判明した。脂肪鎖中の二重結合の位置は、FAB-MS/MS データの解析により決定された。両末端に存在する不斉炭素の絶対配置は、改良 Mosher 法によって決定された。なお、(-)-Duryne 類は、HeLa 細胞に対して IC₅₀ 0.08-0.50 μ M で細胞毒性を示した。さらに、同カイメンより、分子中央部の構造の異なる miyakosyne 類が得られた。NMR データの解析から、miyakosyne 類は、(-)-duryne 類と共通の末端構造を有しているが、長鎖脂肪鎖中に二重結合ではなく、分岐メチル基を一つ有していることが判明した。Miyakosyne 類の FAB-MS/MS 測定によって生じるプロダクトイオンの強度を予測し、実測値と比較することで、分岐メチル基が 14 位の炭素上に存在していることが明らかになった。両末端に存在する不斉炭素の絶対配置は、改良 Mosher 法によって、(-)-duryne 類の立体化学と同一であると決定された。また、miyakosyne 類は、HeLa 細胞に対して(-)-duryne 類と同等の強さの細胞毒性を示した。Miyakosyne A の 14 位不斉炭素は、修飾可能な末端構造から遠方に位置してお

り、不斉点を挟んだ左右の脂肪鎖長の差は一炭素分のみで、このような遠隔位に存在する不斉炭素のキラリティー認識は非常に困難である。本研究では、遠隔位キラル識別試薬による化学誘導体化が適用された。すなわち、化学分解反応によって **miyakosyne A** から、9位に分岐メチルを有する炭素鎖 18 のジオールを調製した。続いて、その両鏡像異性体をそれぞれ化学合成により調製した。天然物由来および合成由来のジオールに対して、遠隔位不斉識別試薬でエステル化し、合成標品および天然物由来の誘導体の $^1\text{H NMR}$ スペクトルを比較したところ、**miyakosyne A** の 14 位不斉炭素の絶対配置を **R** と決定した。次いで、深海性の未同定種カイメンの細胞毒性成分として **poecillastrin C** および新規 **poecillastrin** 類縁体が単離された。NMR スペクトルデータの解析によって、分子内にペンタエン構造を有する新規 **poecillastrin** の平面構造を決定した。また、**poecillastrin C** 中の相対配置が部分的に導かれた。

さらに、**Fucci2-HeLa** 細胞に対する 29 種の海洋天然物の生物活性を評価した。その結果、**onnamide B** が **S/G2** 期で細胞周期の停止を誘導し、複数の海洋天然物において、特徴的な作用が観察されたことから、**Fucci2-HeLa** 細胞を用いた活性評価系の有用性を示した。次いで、約 1000 種類のカイメン抽出エキスをライブラリーをスクリーニングし、**S/G2** 期での細胞周期の停止を誘導するサンプルが 20 種選別され、顕著な活性を示したサンプルから、後述のような活性成分の探索が行われた。まず、**Fucci2-HeLa** 細胞に対して、**S/G2** 期で細胞周期を停止させる化合物として二種類の新規 **metachromin** 類縁体および既知の **metachromin** 類が単離された。分子中の不斉炭素の絶対配置は、キラルカラムを用いた **HPLC** 分析によりラセミ体であると決定された。これら化合物を用いて細胞周期に与える影響を解析したところ、**S/G2** 期で細胞周期を停止させる成分には、共通して、**2-hydroxy-5-methoxy-1,4-benzoquinone** 構造を含むとの知見が得られた。

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、**(-)-duryne** 類、**miyakosyne** 類、**poecillastrin** 新規類縁体、および **metachromin** 新規類縁体が単離、構造決定された。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。