

氏名(本籍)	宗像達夫	(神奈川県)
学位の種類	博士(薬学)	
学位記番号	乙第197号	
学位授与年月日	平成24年3月15日	
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当者	
学位論文の題名	Marine CembranoidとEicosanoylphloroglucinolの反応性と有効利用に関する研究	
論文審査委員	主査	教授 本多利雄
	副査	教授 森田博史
	副査	教授 津吹政可

論文内容の要旨

生物が自ら生産する有機化合物やその類縁体を研究対象とした天然物化学に関する研究は、有機化学だけに留まらず多種多様な分野について行われている。その天然物研究の多くは、生物を採取、または微生物の培養を行った微生物生産物を含む培地より抽出操作を繰り返し、今まで知られていない構造のユニークな化合物、または強い生理活性を持った化合物の探索を主な目的として行い、医薬品としてのリード化合物の発見や、化合物の生物学的役割や生合成メカニズムを明らかにしてきた。また、これらの一連の研究の中で単離されてくる構造が不明な化合物については、近年発展のめざましい機器分析的手法を駆使することで、化合物の平面構造並びに絶対配置を含む立体構造等を決定することが可能となった。しかしながら天然より微量にしか得られない化合物もある。このような化合物については有用な生理活性が発見されたとしても、その作用機序の解明や医薬品として原料としての供給に関して量的な問題を抱えることとなる。このような問題を解決するために有機合成化学的、生物工学的手法を用いて効率よく、安定的な化合物の供給を目的とした研究が展開されている。一方、地球の約7割は海であり、そこに生息する生物から得られる海洋性天然物は、地上の動植物から得られるそれとは異なった、大変ユニークな構造や生理活性を持つことから、新たな天然物資源のソースとして注目されている。

このように多彩な分野で行われている天然物化学の研究ではあるが、多くの場合注目される天然化合物は新規化合物であり、既知化合物は新規化合物ほど注目されることは少ない。しかしながら、そんな既知化合物であってもその構

造や物性に注目し、必要であれば化学修飾を行うことで医薬資源として十分価値のある化合物の原料として利用できる可能性を多分に秘めている。また、ある生物においては、時として自己防御等の目的や、共生微生物等による産生によりある化合物が大量に生産される場合がある。これらの化合物は、その生物にとって意味のある化合物である場合も多い。

そこで著者は、海洋生物である brown alga, *Zonaria diesingiana* (和名：シマオウギ) と soft coral, *Sarcophyton glaucum* (和名：オオウミキノコ) から得られ、既知ではあるが大量に単離することの出来る化合物について、その構造的特徴や反応性に着目し、医薬資源としての可能性について研究を行った。

シマオウギは、温帯、亜熱帯地域において、ごく普通に見られる褐藻である。著者は、このシマオウギのメタノール抽出物より、構造上に非常に特徴ある二つの既知化合物 (eicosanoylphloroglucinol) を単離収率で 5% 及び 30% と大量に得ることに成功した。その二つの既知化合物とは、共通して微酸性を示すフロログルシノール基を有し、一つはヒドロキシアラキドン酸が結合したと見なせる化合物 17(*R*)-hydroxyeicosatetraenoylphloroglucinol、もう一つはエイコサペンタン酸 (EPA) が結合した化合物 eicosapentaenoylphloroglucinol である。

ヒドロキシアラキドン酸や EPA のようなエイコサノイド類は、アラキドン酸カスケードの初期段階で生成し、生理的重要性についての研究が行われている。また、EPA は、既に青魚より抽出するという方法で製造され、血栓防止や抗高脂血症薬として使用されているが、これらエイコサノイド類は、高度なシス二重結合部分を有しており、非常に不安定な物質である。一方、著者が得た eicosanoylphloroglucinol は、エイコサノイド類と同様に分子内に高度なシス二重結合部分を有しているにも関わらず、室温においても極めて安定である。これは、抗酸化能をもつフロログルシノールが構造中に存在することで、不安定なポリオレフィン部分を保護しているものと考えている。つまり eicosanoylphloroglucinol は天然より大量に得られ、取扱いが容易かつストックが可能な化合物であり、医薬品等への化学変換が可能であれば、医薬資源として価値のある化合物になる可能性が非常に高いと言える。そこで、eicosanoylphloroglucinol より、これらの化合物中のフロログルシノール基結合部分の効率的結合切断反応について計画し、様々な条件で検討を行った。すると、eicosanoylphloroglucinol を含水エタノールに溶解し、水酸化ナトリウムを加えて加熱還流を行うという極めて容易な方法で、所望していたエイコサノイド類を得る反応手法の確立に成功した。また、

その反応機構について検討を行い、類推される反応機構の推定を行った。つまり、既知化合物である *eicosanoylphloroglucinol* を、医薬資源として非常に価値のある化合物にできたものとする。

オオウミキノコは、インド洋、西部太平洋の珊瑚礁域に分布している軟体サンゴの一種であり、日本では沖縄近海に生息している。オオウミキノコのような軟体サンゴ類は、14員環ジテルペン骨格である *cembranoid* を有していることが知られており、これら *cembranoid* の一部には、*sarcophytol A* のように抗腫瘍活性や抗発癌プロモータ活性を有するものもある。著者は、沖縄県石垣島より採取したオオウミキノコより、*cembranoid* 化合物 *sarcophytoxide* を簡便な手法により結晶で得る事が出来た。そこで、この大量に得られる *sarcophytoxide* の結晶に対し、化学的手法を用いて修飾を行うことで、強い薬理活性をもつ化合物へ変換出来るかどうかの可能性について検討を行った。また、同じ *cembranoid* 化合物である *sarcophine* については、既に同様の研究が始まっている。まず *sarcophytoxide* の構造に着目すると、(i) エポキシ基、(ii) 二重アリル位炭素(C-2)にエーテル酸素がつながったジヒドロフラン環、(iii) 3つの二重結合が存在する。そして、(iii) の二重結合のうち二つは14員環中に、もう一つはジヒドロフラン環内に存在するという構造的特徴を持っている。さらに、これらの官能基は、酸によって何かしらの影響を受けるという共通点を有している。そこで、*sarcophytoxide* に対し様々な酸を作用させ、反応挙動の検討を行った。

最初に *sarcophytoxide* に対して Lewis 酸との反応を行った。まず、0.5 当量の Lewis 酸を用いて反応を行うと、ケトン構造を持つ渡環生成物が得られるが、その主として得られる渡環生成物はベンゼン環を有するユニークな構造であるということが判明した。また同様にして 0.3 当量以下の Lewis 酸と反応を行うと、期待された渡環生成物はごく微量しか得られず、代わりに先とは異なるケトン化合物が優先して得られた。つまり、Lewis 酸との反応においては、量的変化により生成物が異なり、量的条件によっては、渡環化合物が主として生成されることを見いだした。そこで、これらの反応の差違に着目した。まず生成する渡環化合物の絶対立体配置について決定を行った。そして、主として得られた渡環生成物が部分的にラセミ化していることを明らかにした。この結果と得られた反応生成物の構造を基盤として、化合物生成の反応機構について推定を行い、さらに酸性条件下におけるエポキシド-ケトン転位反応に対してはカルボカチオン中間体を經由している可能性を示唆するに至った。

つぎに、sarcophytoxide に対して Brønsted 酸との反応について検討を行った。すると、反応時間の長短により生成物の立体化学が変化し、一部の化合物においては立体が逆転したエナンチオマーが得られることが明らかとなった。また、生成した一部の既知化合物について、その構造を詳細に検討した結果、報告されている構造が異なっていることが判明し、その構造の訂正を行った。さらに、酸条件下におけるエポキシド-ケトン転位反応に着目し、その反応機構が、従来より知られている協奏的反応機構ではなく、カルボカチオン中間体を經由する段階的反応機構であることを提案し、その論理の裏付けを計算化学と実験化学の両方から行った。そして、著者の提案に基づいた反応機構で、先の反応時間の長短における生成物の違いが矛盾なく説明できることを示した。

また、sarcophytoxide より得られた化合物の、生理活性試験を行った結果、渡環化合物には細胞障害活性が、一部の化合物には弱いながら MRSA 及び肺癌細胞に対して活性が見られた。

以上のように、著者は既知の海洋性天然物である eicosanoylphloroglucinol 化合物及び sarcophytoxide について、その構造的特徴や反応性に着目し医薬資源としての可能性を探り、その価値を高めることを検討した。そして eicosanoylphloroglucinol 化合物からエイコサノイドを得る簡便な方法を確立した。また sarcophytoxide の反応性検討の中より、エポキシド-ケトン転位反応の反応機構について、新たな提案をした。今回提唱した手法や反応機構の解明は、既知化合物の医薬資源としての可能性、並びにその有効利用への一つの方向性を示したものであり、今後はさらに強力な生物活性を示す化合物の探索に繋がる手段を提供したものと考えている。

論文審査の結果の要旨

医薬資源として、そのシード化合物をどこに求めるかは非常に難しい問題である。従来の創薬研究においては自然界に存在する有効物質、すなわち植物起源、鉱物起源、さらには土壌中に存在する微生物やカビなどから得られる生理活性化合物をそのまま使用したり、あるいはその誘導体や類縁物質が基盤になっていた。これは人類発展の歴史とも符合する。一方、現代では科学技術の飛躍的な進歩、またコンピュータを始めとする医薬創製支援システムの急速な発展に伴い、ゲノム創薬を筆頭とする革新的創薬が盛んに行われている。病気にかかわる遺伝子を解明し、その原因から医薬品を考えていく。たとえば病気に関連する受容体（タンパク質）が特定でき、またその受容体に作用する因子（リガンド）が特定できれば、それらの機能の解明が可能になり、その結果としてそれら因子のアゴニストやアンタゴニストを合成し新規医薬品を創製しようとするものである。このような現状で、天然物化学は創薬においては古典的と捉えられがちである。しかしながら、天然物は未だに医薬資源として確固たる地位を保っており、低分子医薬の多くが天然物の構造を基盤としており、抗がん剤の分野に到っては天然物をそのまま使用したり、リード化合物として用いた例は未だに50%以上に上ることが知られている。

本論分は、既に知られている化合物が、偶然やある種の化学修飾により有用なシード化合物や医薬品原料となり得るといふ、医薬資源に関するひとつの方向性を示したものであり、有用な生物活性を示す化合物の探索に繋がる手段を提供したものと考えている。

本研究によって得られた結果は以下のようなものである。

1) 褐藻シマオウギ (*Zonaria diesingiana*) 成分 Eicosanoylphloroglucinol 類の反応性と有効利用

brown alga, *Zonaria diesingiana* より eicosanoylphloroglucinol 類を大量に得ることに成功した。次に、この eicosanoylphloroglucinol 化合物の構造的特徴を捉え、化学反応を行いエイコサノイド部分の効率的な切断反応を計画し、その結果エイコサノイドを簡便な方法で、高純度かつ高収率で得る方法を確立した。また、その反応機構について検討を行い、類推される反応機構の推定を行った。

2) Marine Cembranoid, Sarcophytoxide の反応性とその有効利用可能性の検討

soft coral, *Sarcophyton glaucum* より cembranoid 化合物 sarcophytoxide を簡便な手法により結晶で得ることに成功した。さらに、得られた sarcophytoxide の構造的特徴ならびにその反応性に着目し、薬理活性化合物への化学変換可能性を検討した。最初に sarcophytoxide に対して Lewis 酸を作用させたところ、酸の量的変化により生成物が異なることを見出した。また、Lewis 酸を作用させた場合に渡環化合物が生成する事を見出し、その渡環化合物の絶対立体配置及び化合物生成の反応機構について推定を行った。さらに、反応機構の検討を行う中で酸性条件下におけるエポキシド-ケトン転位反応が協奏反応で進行するよりもむしろカルボカチオン中間体を經由している可能性を示した。

つぎに、sarcophytoxide に対して Brønsted 酸との反応について検討を行い、反応時間の長短により生成物の立体化学が変化することを見出した。また、生成した既知化合物の構造を精査し、その訂正を行った。さらに、酸条件下におけるエポキシド-ケトン転位反応に着目し、その反応が従来知られている協奏的反応機構ではなく、カルボカチオン中間体を經由する段階的な反応機構で進行することを提唱し、その論理の裏付けを計算化学と実験化学の両方から行った。

また、sarcophytoxide より得られた化合物の生理活性試験を行った結果、渡環化合物には細胞障害活性が、また一部の化合物には弱いながら MRSA 及び肺癌細胞に対して活性が見られた。

以上のように、本論文は既知の海洋性天然物である eicosanoylphloroglucinol 化合物及び sarcophytoxide について、その構造的特徴や反応性に着目し、医薬資源としての可能性を探り、その価値を高めることを検討したものである。その結果、eicosanoylphloroglucinol 化合物からエイコサノイドを得る方法を確立した。また、sarcophytoxide の反応性の検討より、エポキシド-ケトン転位反応の反応機構について新たな提唱をした。構造決定や反応機構の解明は極めて論理的に行われており、基礎知識のみならず先端知識の豊富さも窺わせる。また、本論文に記述された内容は医薬資源としての天然物に関しても貴重な情報を提供するものである。新規性と有用性の面から価値のある優れた研究成果を含んでおり、博士（薬学）論文に値するものと判断する。