

北方性渦鞭毛藻由来の抗腫瘍性物質の探索と開発

津田 正史 [北海道大学大学院薬学研究科/助教授]

背景・目的

渦鞭毛藻は、海産物の食中毒成分の生産者として取り上げられ、多くの有毒成分が単離報告されてきたが、世界に2千種存在する渦鞭毛藻を医薬探索の生物資源として利用しようという試みについては、まだ十分な成果が得られていない。

本研究では、北海道近海で採取した渦鞭毛藻を生物材料として取り上げ、その抽出物について、従来の培養腫瘍細胞の殺細胞活性等のスクリーニングの対象として、新規化合物の単離・構造解析を行い、これらの化合物をリード化合物として、新しい作用機序をもつ抗腫瘍性分子の開発を目的とする。

内容・方法

1. 北海道近海で採取した海藻類より、それらの表面に付着している海洋渦鞭毛藻の分離を行う。
2. 得られた微細藻について、18S rDNAの解析や形態学特徴に基づいて、渦鞭毛藻を選別し、予備培養を試験管スケールで行う。
3. 各培養株の抽出物に対して殺細胞活性や癌の分子標的に対する活性試験(ヒストンデアセチラーゼ、チロシキナーゼ、DNAポリメラーゼ、サイクリン依存性キナーゼ、cdcキナーゼなど)を行い、良好な活性を示す株を選別する。
3. 得られた株について、実験室で大量培養を行う。
4. 培養した藻体について、有機溶媒で抽出し、これらの抽出物について生物活性を指標にして、各種クロマトグラフィーを行い、活性物質の分離・精製を行う。
5. 単離した活性物質について、NMR、MSなどの各種機器分析を駆使するとともに化学変換などを行うことにより、化学構造を解明する。
6. 単離した活性物質について大量培養の条件検討により、目的物質の効率よい生産法を見い出す。

結果・成果

渦鞭毛藻 *Amphidinium* sp. (Y-42) を2週間静置培養して得られた藻体を、各種クロマトグラフィーにより分離・精製し、新規化合物 Amphidinolide X (0.0024%)、Y (0.0012%) を単離した。一方、渦鞭毛藻 *Amphidinium* sp. (Y-71株) の培養藻体より新規マクロリド Amphidinolide C2 (0.00015 %) を単離した。

Amphidinolide X ($C_{26}H_{40}O_6$) の平面構造は、主に2D NMRデータの解析によりC-1~C-6、C-7~C-22部分を推定し、

C-10/C-6、C-17/C-1のエステルを介したつながりは、2次元遠隔C-Cスペクトルで観察されたコリレーションにより明らかにした。THF環の相対立体配置は、NOESYデータにより推定し、また、C10/C11の相対配置は、*J*-based configuration analysisにより、*erythro*と帰属した。

Amphidinolide Xを $LiAlH_4$ による還元後、(S)および(R)-MTPAエステル化することで、C1~C6セグメントの(S)および(R)-MTPAエステル体、C7~C22セグメントの(S)および(R)-MTPAエステル体を得、改良Mosher法、ならびにRigueraらの1,3-ジオールの絶対立体配置の解析法を適用することで、8、10、11、16、17、19、位の絶対立体配置を帰属した。4位の絶対立体配置は、C7~C22セグメントの(R)-MTPAエステル体を合成することで帰属した。以上の結果より、Amphidinolide Xの絶対立体配置は、4S、10S、11R、16S、17R、19Rであることが示された。

Amphidinolide Yの分子式は、高分解能FABMSより $C_{26}H_{42}O_6$ であることが示唆された。2次元NMRを含む各種スペクトルデータの詳細な解析に基づいて、Amphidinolide Yの構造は、Amphidinolide XのC-6とC-8の間でC-C結合を形成した17員環マクロリドであり、6-keto体とC-6とC-9間でヘミケタール化したTHF体が9:1で存在する平衡混合物と帰属した。C-15、C-18間のTHF環の相対立体配置は、NOESYデータにより推定し、C-4、C-7、C-9、C-10の相対立体配置は、*J*-based configuration analysisにより帰属した。Amphidinolide Yの絶対立体配置は、9位水酸基の改良Mosher法、および、Amphidinolide Xを $Pb(OAc)_4$ で処理したところAmphidinolide Yが生成したことから、Amphidinolide Yの絶対立体配置はAmphidinolide Xと同一であり、4S、7R、9S、10R、15S、16R、18Rと帰属した。

Amphidinolide X、Y、C2は、マウス白血病細胞L1210 (IC_{50} , 0.6, 0.8, 0.8mg/mL)と、ヒト上皮癌細胞KB (IC_{50} 7.5, 8.0, 3.0mg/mL)に対して殺細胞活性を示した。

今後の展望

海洋性渦鞭毛藻 *Amphidinium* sp. の培養藻体より、培養腫瘍細胞に対して顕著な殺細胞活性を示す3種の新規マクロリドを単離し、それらの化学構造を明らかにした。これらの化合物について、標的分子の探索、in vivoでの活性評価、構造活性相関を検討することにより抗がん剤のリード化合物として展開したいと考えている。このように海洋性渦鞭毛藻が医薬素材探索の生物材料として、重要な資源であるということを示すことができたと考えられる。今後は分離した他の渦鞭毛藻からの生物活性物質の探索を検討し、新たな医薬シーズを開発したいと考えている。