

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2007-2008  
 課題番号：19580119  
 研究課題名 (和文) フィリピン産紅藻カタオゴノリ由来の新規プロスタグランジン類の単離、構造、生理活性

研究課題名 (英文) Isolation, purification, and biological activity of a novel prostanoid from the red alga *Gracilaria edulis* collected in Philippines.

## 研究代表者

山下 まり (YAMASHITA MARI)  
 東北大学・大学院農学研究科・教授  
 研究者番号：50192430

## 研究成果の概要：

フィリピン産紅藻カタオゴノリ *Gracilaria edulis* に新規プロスタグランジン類の存在を認めたため、単離し平面構造を決定した。また、生理活性試験を実施し、生合成・代謝経路を推定した。本化合物の分子量を 366 と決定し、プロスタグランジン D2 からレトロアルドール反応により開環した後、海藻中または付着生物の酸化反応を触媒する酵素が関与して生成すると考えられた。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

## 研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・生物生産化学・生物有機化学

キーワード：紅藻、プロスタグランジン、アラキドン酸、構造決定、代謝

## 1. 研究開始当初の背景

プロスタグランジン (PG) は、アラキドン酸カスケードから産出され、強力かつ多彩な生理活性をもち、発ガン、生殖、炎症との関連から、非常に重要な化合物である。また、トロンボキサン A2 も PG 同様にアラキドン酸カスケードから産出され、血小板の凝集や血管壁の収縮に関与し、短時間で不活性な B2 に加水分解される。初期の研究では PG は主に陸上動物由来と考えられていたが、1969 年に 15-*epi*PGA2 が海洋腔腸動物ヤギ類から発見された (TL 1969)。北川、小林ら (TL 1982)

および山田、井口ら (TL 1982) は軟サンゴからクラブロン類と称する一群の新規 PG 類縁体を単離、構造決定した。また、サンゴからハロゲン化された新規 PG (J. Nat. Prod. 2003) や、また 2 環性の塩素化された新規 PG も単離されている (OL 2004)。

一方、日本産の食用の紅藻オゴノリ *G. verrucosa* (現在 *G. vermiculophylla* と呼ばれる) は、極希に致死性の食中毒を起こすことがあり、伏谷らはその原因物質の候補として、PGE2 を同定した (Bull. Japan. Fish. Soc. 1984)。これは植物として初めての PG の

発見であった。また、野口らも致死性オゴノリ中毒の原因物質として PG 類を報告している (Toxicon 1994)。このように、海洋生物は新規 PG の宝庫であり、医薬資源として注目に値すると考えられた。

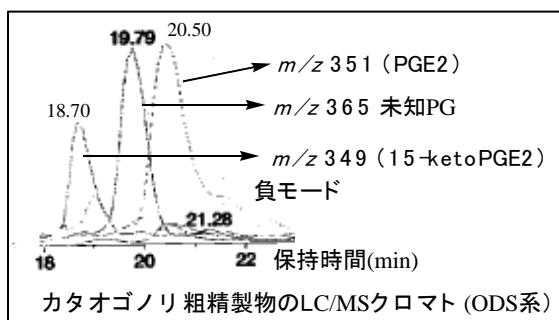
さらに、植物におけるプロスタノイドの代謝経路は解明されていない。海藻において、PG は防御物質である可能性も高いので、海藻が表面が傷つけられるなどの条件にさらされた場合に PG 酵素系が働き、合成されるとも予測される。以上より、プロスタノイドは動物に対して多様な高い生理作用を有し、また植物における存在に興味をもち、海藻からの新規 PG 類縁体の単離、構造決定、生理作用の研究は新規有用天然物の探索として意義が大きいと考えられた。

## 2. 研究の目的

本研究では、食用のフィリピン産紅藻カタオゴノリ *Gracilaria edulis* に新規のプロスタノイドの存在を認めた。第一の目的は、構造を決定することである。第二に、それら新規 PG 類縁体の生理作用について明らかにする。第三に、植物におけるプロスタノイドの代謝経路を推定することである。第4に、本研究の途中において、日本産のオゴノリ *G. vermiculophylla* に新規のヒドロキシエイコサノイドの存在を認めたので、その単離と構造決定を行う。

## 3. 研究の方法

まず、海藻の PG 類を LC/MS で分析する方法を検討した。その結果、緩衝液を用いた逆相クロマトグラフィーで各種 PG を分離することが可能であった。抽出方法、前処理方法についても検討し、高収量で分離がし易い方法を設定した。*G. edulis* の抽出物を



negative モードで ESI-MS で分析すると、既

知の PGE<sub>2</sub>, 15-ketoPGE<sub>2</sub>, PGA<sub>2</sub> などの他に、新規プロスタノイドと思われる、*m/z*365 のイオンを与えた。Single ion monitoringによる LC/MS のクロマトグラム (部分) を図に示した。この化合物を UK365 と仮称し、単離を試みた。UK365 は非常に微量しか存在しなかったが、精密な逆相液体クロマトグラフィーにより、1.5 kg のフィリピン産 *G. edulis* から 0.05 mg 程度ほぼ単離できた。また、PGE<sub>2</sub> との混合物として 0.1 mg ほど得られ、これらを HR-ESI-MS (negative) および各種 NMR スペクトル測定に供して、平面構造を決定した。また、生理作用の研究には十分な量が得られなかったため、細胞毒性試験のみに供した。また、その化学構造から植物の PG の代謝機構について推定した。日本産のオゴノリ *G. vermiculophylla* に新規のヒドロキシエイコサノイドについても上記と類似の方法で平面構造を中心に構造決定した。

## 4. 研究成果

*G. edulis* から得られた新規 PG と思われる UK365 の化学構造 (平面構造) は以下のようにして決定した。HR-ESI-MS (negative) *m/z* 365.19557 (Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>O<sub>6</sub>, 365.19642 Δ0.84 mmu) より分子式を C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub> と決定した。UV (λ<sub>max</sub> 265 nm, MeOH) を与え、共役系の存在が示唆された。バリアンにより 800 MHz コールドプローブを用いた NMR で COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, ROESY を測定し、その相関から平面構造を決定した。その構造から、新規の PGD<sub>2</sub> のレトロアルドール反応物からさらに代謝を受けた化合物と考えられた。海藻から PGD<sub>2</sub> はまだ発見されていないが、植物でも PGD<sub>2</sub> が生産される可能性が示された。また、PGD<sub>2</sub> から UK365 が生成する代謝過程には、*G. edulis* あるいは付着生物の酵素が関与するものと推定された。特に、C<sub>8</sub>, C<sub>12</sub> 間に二重結合を形成する反応と、レトロアルドール反応で生成するアルデヒドからカルボン酸を生成する反応は *G. edulis* または付着物が関与すると考えられた。生理作用としては、得られた量が微量であったため、ヒト前骨髄球性白血病細胞 HL60 に対する細胞毒性を調べた

が、顕著な細胞毒性は示されなかった。

また、日本産のオゴノリ *G. vermiculophylla* には新規のヒドロキシエイコサノイドの存在が示され、数成分を単離し、平面構造および一部の化合物の絶対立体配置を新 Mosher 法で決定した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

- ① Satoshi Maruta, Kaoru Yamaoka and Mari Yotsu-Yamashita, Two critical residues in p-loop regions of puffer fish Na<sup>+</sup> channels on TTX-sensitivity, *Toxicon*, 51, 381-387, 2008. (査読あり)
- ② Michiko Kono, Takashi Matsui, Kiyoshi Furukawa, Mari Yotsu-Yamashita, Kunio Yamamori, Accumulation of tetrodotoxin and 4,9-anhydrotetrodotoxin in cultured juvenile kusafugu *Fugu niphobles* by dietary administration of natural toxic komonfugu *Fugu pociilonotus* liver, *Toxicon*, 51, 1269-1273, 2008. (査読あり)
- ③ Michiko Kono, Takashi Matsui, Kiyoshi Furukawa, Takuhiko Takase, Kunio Yamamori, Hideko Kaneda, Daisuke Aoki, Jun-Ho Jang, Mari Yotsu-Yamashita, Examination of transformation among tetrodotoxin and its analogs in the living cultured juvenile puffer fish, kusafugu, *Fugu niphobles* by intramuscular administration, *Toxicon*, 52, 714-720, 2008. (査読あり)
- ④ Jun-Ho Jang and Mari Yotsu-Yamashita Tetrodotoxin and 5,6,11-trideoxytetrodotoxin in *Tetraodon nigroviridis* and *T. biocellatus* collected from Southeast Asia, The proceedings of the 5th World Fisheries Congress, 1, 1-2 (2008). (査読あり)
- ⑤ 中島康賀、金井良和、廣木禎彦、谷口和也、山下まり、紅藻オゴノリ属(*Gracilaria*)由来の新規エイコサノイドの単離と構造、第 50 回天然有機化合物討論会要旨集、1, 297-302 (2008). (査読なし)
- ⑥ Mari Yotsu-Yamashita, Kazumi Abe, Tetsuya Seki, Kenshu Fujiwara and Takeshi Yasumoto, Polycavernoside C and C2, the new analogs of the human lethal toxin polycavernoside A, from the red alga, *Gracilaria edulis*,

*Tetrahedron Lett.*, 48, 2255-2259 (2007). (査読あり)

- ⑦ Mari Yotsu-Yamashita, Dietrich Mebs, Axel Kwet and Michael Schneider, Tetrodotoxin and its analogue 6-epitetrodotoxin in newts (*Triturus* spp.; Urodela, Salamandridae) from southern Germany, *Toxicon* 50, 306-309 (2007). (査読あり)
- ⑧ E. Cagide, M.C. Louzao, I.R. Ares, M.R. Vieytes, M. Yotsu-Yamashita, L.A. Paquette, T. Yasumoto and L.M. Botana, Effects of a synthetic analog of polycavernoside on a human neuroblastoma cells, *Cell Physiol. Biochem.*, 2007, 19, 185-194. (査読あり)
- ⑨ Jun-Ho Jang and Mari Yotsu-Yamashita, 6,11-Dideoxytetrodotoxin from the puffer fish, *Fugu pardalis*. *Toxicon*, 50, 947-951, 2007. (査読あり)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 金井良和、廣木禎彦、越野広雪、山下まり、日本農芸化学会 2009 年度大会、紅藻カタオゴノリ *Gracilaria edulis* 由来の新規プロスタグランジンの構造と生成経路の推定、2009 年 3 月 28 日、福岡、マリンメッセ福岡。
- ② 中島康賀、金井良和、廣木禎彦、谷口和也、山下まり、第 50 回天然有機化合物討論会 紅藻オゴノリ属 (*Gracilaria*) 由来の新規エイコサノイドの単離と構造、2008 年 9 月 30 日、福岡、福岡国際会議場。
- ③ 中島康賀、谷口和也、山下まり、第 5 回東北大学バイオサイエンスシンポジウム、紅藻オゴノリ (*Gracilaria vermiculophylla*) 由来新規エイコサノイドの単離と構造、2008 年 5 月 19 日、仙台、仙台国際センター。
- ④ 中島康賀、谷口和也、山下まり、日本農芸化学会 2008 年度大会紅藻オゴノリ (*Gracilaria vermiculophylla*) 由来の新規エイコサノイドの単離と構造、2008 年 3 月 29 日、名古屋、名城大学。

[図書] (計 2 件)

- ① M. Carmen Louzao, Eva Cagide, Mari Yotsu-Yamashita, and Makoto Sasaki, Polycavernosides and Gambierol: Chemistry, Pharmacology, Toxicology, and Detection, in *Seafood and Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology and*

detection (Food Science and Technology), Part VIII E, Chapter 28, 597-628 (total 960 pages), 2008, Editor, Louis M. Botana, CRC Press LLC.

- ② Leo A. Paquette and Mari Yotsu-Yamashita, Polycavernosides, In "Phycotoxins: chemistry and biochemistry", Chapter 15, P275-296, 2007, Ames, Iowa, USA. Blackwell Publ.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山下 まり (YAMASHITA MARI)

東北大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号: 50192430

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし