

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19510222
 研究課題名 (和文) 沖縄近海産軟体サンゴからの海洋生物に特有なプロスタノイドの探索研究
 研究課題名 (英文) RESEARCH STUDY ON PROSTANOIDS CHARACTERISTIC OF MARINE ORGANISMS FROM OKINAWAN SOFT CORALS
 研究代表者
 井口 和男 (IGUCHI KAZUO)
 東京薬科大学・生命科学部・教授
 研究者番号：50057345

研究成果の概要：沖縄近海のサンゴ礁海域で数種の軟体サンゴを採集し、それらの抽出物から脂質成分を各種クロマトグラフィーを用いて分離・精製した。純粋に得られた脂質成分の化学構造は核磁気共鳴法を中心とする機器分析で明らかにした。その結果、プロスタノイド関連化合物を含む約 30 種の新規脂質成分を発見し、今後さらに研究を継続する必要性を示すことができた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学・生物分子科学

キーワード：有機化学、海洋資源、軟体サンゴ、脂質、プロスタノイド

1. 研究開始当初の背景

筆者らはこれまで沖縄近海産無脊椎動物からの生理活性化合物の探索研究を一貫して行ってきた。とりわけ 1982 年に軟体サンゴ *Clavularia viridis* から抗腫瘍性プロスタノイドであるクラブロン類を発見して以来、現在に至るまで約 60 種の高産プロスタノイドを *C. viridis* から単離し構造決定してきた。

クラブロン類に代表される *C. viridis* 由来のプロスタノイドは、哺乳動物由来のプロスタノイドとは異なる特異な化学構造を持っており、また抗腫瘍活性などの生理活性も特徴的である。*C. viridis* 以外にもいくつかの

軟体サンゴからプロスタノイドが見出されているが、それらは哺乳動物由来のものと同じあるいはきわめて構造が類似しており、生理活性も新たなものは報告されていない。したがってクラブロン類のようなプロスタノイドは、構造的にも生理活性の面からも真に海洋生物特有のプロスタノイドと言えるが、その存在は軟体サンゴ *C. viridis* に限られていた。しかし最近 *C. viridis* 以外の軟体サンゴ (紅海産など) から、クラブロン類に関連するプロスタノイドが発見され驚きを与えた。このことはこれまで未発見ではあるが多くの軟体サンゴにクラブロン類のような海洋生物に特有なプロスタノイドが存在する

可能性を示唆している。

2. 研究の目的

(1) 前述の研究背景を踏まえて、沖縄近海のサンゴ礁海域に豊富に生息する各種の軟体サンゴにつき、それらの脂質成分を探索し、クラブロン類のような海洋生物に特有なプロスタノイドの発見を目指す。

(2) 軟体サンゴには脂質成分としてテルペノイド類が豊富に含まれている。そこで本研究ではプロスタノイド以外の脂質成分として、新たなテルペノイドの発見も目的とした。

3. 研究の方法

(1) 軟体サンゴの採集

平成19年度に沖縄県石垣島近海のサンゴ礁海域において、各種軟体サンゴの採集を行う。軟体サンゴとしては、*Sinularia* 属、*Sarcophyton* 属および *Xenia* 属を予定する。採集は採集補助者のスキューバダイビングにより行い、得られた生物試料は現地でドライアイスを用いて凍結し東京に空輸する。

(2) 軟体サンゴの抽出と脂質成分の分離・精製

軟体サンゴの凍結試料を解凍し、メタノールで抽出する。抽出物は酢酸エチルと水の間で分配し、脂質成分が豊富な酢酸エチル可溶部について順相および逆相の高性能液体クロマトグラフィー (HPLC) を中心とする分離・精製を行う。プロスタノイドは核磁気共鳴 (NMR) スペクトルにおいて特徴的なシグナルを示すので、分離の各段階における画分の NMR スペクトルを測定しプロスタノイドを追跡する。またテルペノイドについても同様の指針で探索を行う。

(3) プロスタノイドおよびテルペノイドの構造解析

分離・精製して得られた純粋なプロスタノイドおよびテルペノイドの化学構造を機器分析および化学変換を用いて解明する。すなわち、高分解能質量スペクトルおよび炭素核磁気共鳴 (^{13}C NMR) スペクトルを用いて分子式を明らかにする。次いで一次元および二次元 NMR スペクトルを解析し、平面構造へと導く。この時点で文献調査を行い、既知化合物について同定を行う。文献に記載のない新規な化合物については、二次元 NOESY スペクトルを用いて相対立体配置を明らかにする。さらに新モッシャー法や励起子キラリテイー法の適用により絶対立体配置を明らかにする。当研究室には絶対立体配置まで構造が確定したプロスタノイドやテルペノイドのサンプルを多数保持しているため、あらたに見出した今回の化合物と化学変換を用いて結

びつけることによる構造の確認もあわせて行う。

(4) 生理活性の検討

新規なプロスタノイドおよびテルペノイドについては、細胞レベルでの腫瘍細胞増殖抑制作用を検討する。これにはこれまでの研究を通じて協力関係にある癌研究会化学療法センターの研究グループに依頼する予定である。ここでは、肺癌、胃癌、乳癌、卵巣癌、結腸癌、メラノーマなど39種の腫瘍細胞から成るヒト癌細胞パネルが用意されており、広範なスクリーニングが可能となっている。

4. 研究成果

(1) 軟体サンゴの採集

平成19年9月に沖縄県石垣島南岸のサンゴ礁海域において、*Sinularia* 属、*Sarcophyton* 属、*Lobophytum* 属、*Litophyton* 属の4種の軟体サンゴ試料 (No 1-10) を採集した。これらの試料は現地でドライアイス凍結後東京に空輸し、当研究室の冷凍庫中に保管した。

(2) 脂質成分の分離・精製

採集した10種の軟体サンゴのうち、*Sinularia leptocladis*、*Sinularia ornata*、*Sinularia flexibilllis*、*Sinularia maxima*、*Sarcophyton glaucum* の5種について前述の研究方法にしたがって抽出、分離・精製を行った。またすでに研究室で保管してあった *Xenia* 属軟体サンゴについてもあわせて検討した。その結果、*S. leptocladis* から1種の新規プロスタノイド関連化合物および20種を超える新規ジテルペノイドを、*S. ornata* から1種の既知ジテルペノイドを、*S. flexibilllis* から1種の新規ジテルペノイドを、*S. maxima* から3種の既知ジテルペノイドを、そして *S. glaucum* から2種の既知ジテルペノイドをそれぞれ見出した。また *Xenia* sp. からは4種の新規ジテルペノイドを得ることができた。

(3) 新規脂質成分の化学構造の解明

S. leptocladis から見出された新規プロスタノイド関連化合物1の構造は機器分析の結果から、相対立体配置を含めて明らかにした。化合物1はシクロプロパン環をもつプロスタノイド関連化合物であるが、このような化合物は軟体サンゴ体内で不飽和脂肪酸であるアラキドン酸からペンタジエニルカチオン中間体を經由して生合成されることが報告されている。このペンタジエニルカチオン中間体からはクラブロンのような海洋生物に特有なプロスタノイドが生合成されることも報告されている。今のところ *S.*

*leptocladis*を含めて検討した6種の軟体サンゴからクラブロン類は発見できていないが、化合物1が見出されたことはクラブロン類が存在する可能性を強く示す知見である。

*S. leptocladis*からは化合物1以外に16種の新規ジテルペノイドを見出すことができた、その多くは軟体サンゴの主ジテルペノイドであるセンブラン骨格のものであったが、化合物2および3のようにきわめて特異な新規骨格をもつジテルペノイドも2種見出すことができた。化合物2は6員環-5員環-7員環が縮合しており、また化合物3は5員環-6員環-4員環-5員環が縮合しており、いずれも海洋生物はもとより陸生生物由来の化合物にも類例のない特異な環状骨格をもつ化合物として天然物化学の領域で特筆すべき知見である。

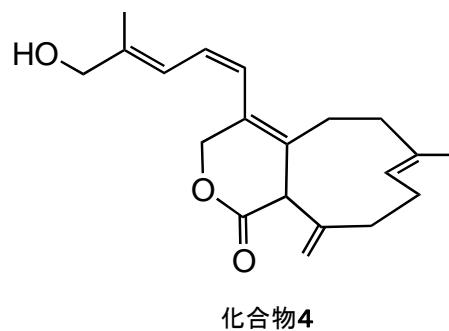
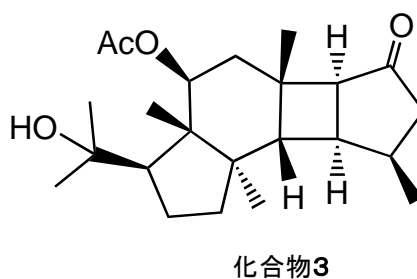
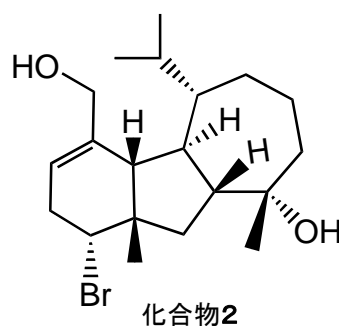
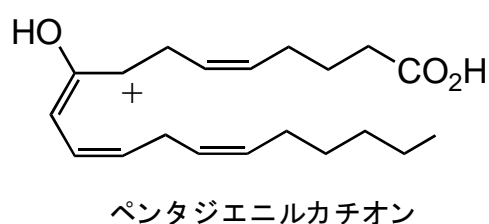
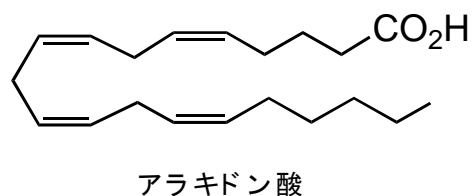
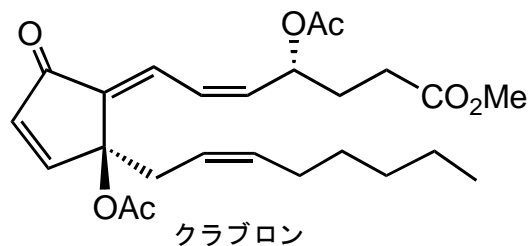
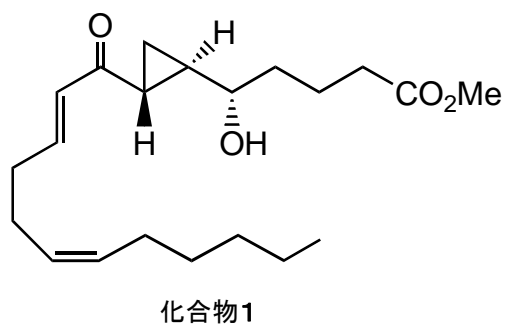
Xenia sp. から見出された化合物4を含む4種のジテルペノイドはいずれもゼニカン骨格をもつ。ゼニカン骨格のジテルペノイドは *Xenia* 属軟体サンゴに特有のテルペノイドである。

*S. ornatas*など残る4種の軟体サンゴから見出された化合物はいずれもセンブラン骨格をもつジテルペノイドであった。このタイプのジテルペノイドは軟体サンゴに特有のものであり、それらの多くは抗腫瘍作用などの生理活性を示すことから注目されている。

(4) 今後の展望

前述のように、*S. leptocladis* からプロスタノイド関連化合物1が発見されたことは、軟体サンゴにクラブロンのような海洋生物に特有のプロスタノイドが存在する可能性を示唆しており、今後の検討に期待が持たれる。

また軟体サンゴのジテルペノイドに関してはこれまで膨大な研究がなされており、もはや新奇な化合物が見出される確率は低いと見なされていたが、今回の研究によりいまだに価値あるジテルペノイドの発見が可能であることを示すことができた。



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)

〔学会発表〕(計 2件)

- ①八方優子、高橋治子、渡辺謹三、井口和男、沖縄近海産軟体サンゴより単離された新規ジテルペノイドについて、日本薬学会第128年会、2008年3月、横浜
- ②遠藤伸一、高橋治子、井口和男、沖縄近海産 *Sinularia* 属軟体サンゴから単離され新規骨格を有する新規ジテルペノイドについて、第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、2008年10月26日、板倉(群馬)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井口 和男 (IGUCHI KAZUO)
東京薬科大学・生命科学部・教授
研究者番号：50057345

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者