

Algicidal hydroxy monounsaturated fatty acids of the red alga *Tricleocarpa jejuensis*: Isolation, structure determination, synthesis, and biological activities  
(紅藻ガラガラ *Tricleocarpa jejuensis* 由来の殺藻活性ヒドロキシ不飽和脂肪酸の単離・同定・合成及び生理活性に関する研究)

長崎大学大学院 水産・環境科学総合研究科 ZHA SHIJIAO

種々の海藻(大型藻類)が、他の海藻の侵入や生育を抑制する多感作用(アレロパシー)物質を生産・放出しているが、これらの多感作用物質が赤潮の原因となるラフィド藻や渦鞭毛藻などの微細藻に対しても毒性を示すことが知られており、環境負荷が少ない赤潮防除物質としての利用が期待される。

著者は、紅藻ガラガラ *Tricleocarpa jejuensis* のメタノール抽出物が、0.1 mg/mL 濃度で赤潮プランクトン *Chattonella antiqua* を完全に死滅させることを見出し、活性物質の単離と同定を行った(第2章)。*C. antiqua* に対する殺藻活性を指標に、ガラガラのメタノール抽出物を、液液分配、次いで各種クロマトグラフィー(Diaion® HP20, silica gel 60, 逆相分配 HPLC)で分画し、活性画分 f5 (4.4 mg)を得た。この画分をさらに分離することは困難であったため、混合物のまま機器分析(NMR, IR, MS)による構造解析を行った。その結果、f5 は、(*E*)-9-hydroxyoctadec-10-enoic acid (1), (*E*)-10-hydroxyoctadec-8-enoic acid (2), (*E*)-11-hydroxyoctadec-12-enoic acid (3)及び(*E*)-12-hydroxyoctadec-10-enoic acid (4)の混合物であると決定し、キラル HPLC 分析により、化合物1~4は全てラセミ体であることを確認した。さらに、化合物1~4それぞれを化学合成することにより標準サンプルを得、天然物のスペクトルデータと比較したところ完全に一致した。これにより、構造決定に誤りがないことが確認された。

化合物1~4及びこれらの合成中間体を含む全12化合物の *C. antiqua* に対する殺藻活性を調べたところ、①ヒドロキシ基の存在が活性発現に必須であるが、結合位置は活性に影響しない、②二重結合は三重結合に変更可能、③二重結合の幾何異性は活性に影響しない、④カルボキシル基はヒドロキシ基で代用可能など、構造と活性の関係に関する

る基礎的な知見が得られた。また、三重結合をもつ 12-hydroxyoctadec-10-ynoic acid (10) に天然物をしのご急性毒性を見出した。

第 3 章では、赤潮防除物質としての有効性の検討、及び作用機構解明への手掛かりを得るために、化合物 4 と 10 を用いて詳細な生理活性を検討した。まず、ラフィド藻 *C. antiqua* と *C. marina* 及び渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* と *Karenia mikimotoi* に対する殺藻活性を調べたところ、両者ともに 4 種全ての赤潮プランクトンに対して 10  $\mu\text{g/mL}$  以下の  $\text{LC}_{50}$  値を示した。一方、いずれの化合物も動物プランクトンのワムシ *Brachionys plicatilis* には比較的無毒で、赤潮プランクトン暴露実験においてワムシへの保護効果が見られた。化合物 4 と 10 は、がん細胞株 (HeLa, XC, U937) に対する細胞毒性及びグラム陽性菌 *Staphylococcus aureus* に対する殺菌活性を示した。さらに化合物 10 は、強い溶血活性を示すことにより、これらヒドロキシ不飽和脂肪酸類は、微細藻の細胞膜に作用し毒性を発現することが示唆された。また、行ったいずれの生理活性試験においても化合物 10の方がより高活性であった。

前章において、化合物 4 が、がん細胞株に対して細胞毒性を示すことが明らかになったが、その作用機構は不明であった。ある種の不飽和脂肪酸がヒトリンパ腫由来 U937 細胞株においてアポトーシスを誘導することが知られているので、第 4 章では、化合物 4 の細胞毒性機構解明の手掛かりとして、アポトーシス誘起活性の有無を調べた。その結果、化合物 4 が U937 細胞に対して数十  $\mu\text{g/mL}$  濃度で、細胞溶解や DNA の断片化等のアポトーシス様形態変化を引き起こすことが明らかになった。

本研究の結果、ガラガラの殺藻活性物質として 4 種類の C18 ヒドロキシ *trans*-モノ不飽和脂肪酸を同定するとともに、二重結合の三重結合への変換は活性を増大させることなど、構造と活性の関係に関する重要な知見が得られた。これらのヒドロキシ不飽和脂肪酸とそのプロパルギル誘導体 10 は、赤潮防除剤としてだけでなく、抗ガン剤や抗菌剤のリード化合物としても期待できる。