

Chemical Study on the Bioactive Constituents from Red Sea Marine Organisms (紅海産海洋生物由来の生物活性成分に関する化学的研究)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻 Reda Fouad Ahmed Abdelhameed

[目的]

人類はこれまで、植物や陸棲微生物が産生する二次代謝産物を医薬品やそのリード化合物として利用してきたが、近年、新しい探索資源として海洋生物が注目されている。海洋生物からは、特異な化学構造を有し、顕著な生物活性を示す有機化合物が数多く発見されており、医薬品などのリード化合物として注目されている。海洋天然物自身を医薬品とすることは、その生産量などから難しい場合が多いが、最近、クロイソカイメンから発見されたハリコンドリン類をリード化合物として、強力な合成有機化学に基づき開発されたエリブリンが上市されたトピックは、海洋天然物化学と合成有機化学にとって、重要な研究成果といえる。超高齢化社会への階段を上りつつある現在社会において、今なお、多くの人々がインフルエンザなどの各種ウイルスや細菌の感染、さらにその毒素の脅威にさらされ、時には生命の危機にみまわれている。また、癌や神経疾患をはじめとするいまだ治療法が確立されていない疾患も知られている。アルツハイマー病の改善・治療薬などの開発も重要な課題である。

本研究では、海洋生物由来の新規医薬品リード化合物の探索を目指して、アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害活性物質、並びに新型インフルエンザウイルス (H5N1) に対する抗ウイルス活性物質の探索を目的として、紅海産海洋生物のスクリーニング、並びに活性成分の検索を行った。また、紅海産海洋生物由来の新規 sphingolipid 成分の検索を行うことを目的として、化学的研究を行った。

[実験方法と結果]

エジプト国シャルムエルシャイフ沿岸の紅海で採集した120種の海洋生物を処理して得られた粗抽出物について、抗ウイルス活性試験並びに AChE 阻害活性によるスクリーニングを行った。そのうち、海草 *Thalassodendron ciliatum* 由来の粗抽出物が抗ウイルス活性を、更に、海綿動物 *Mycale euplectellioides* 由来の抽出物が AChE 阻害活性をそれぞれ示すことを見出し、その活性成分の検索を試みた。また、紅海産海洋生物由来の新規 sphingolipid の検索を行うことを目的として、海綿動物 *Stylissa carteri* の成分検索を行った。

海草 *T. ciliatum* の活性成分 (Chapter 2-1)

T. ciliatum (250 g, dry weight) を MeOH / CH₂Cl₂ = 1 : 1 混液で処理して得られた粗抽出物 (30 g) を silica gel カラムクロマトグラフィーに繰り返し付すことによって、

asebotin (**14**) を単離することができた。また、順相 TLC において単一物質の挙動を示す **TCC-1** と仮称する ceramide 分子種を分離することができた。**TCC-1** については、更に HPLC にて精製を試み、**TCC-1-1 (1)** ~ **TCC-1-9 (9)** の 9 種の成分に分離することができた。このうち、**TCC-1-5 (5)** と **TCC-1-7 (7)** は新規化合物であった。また、同時に、7 β -hydroxy cholesterol (**10**), 7 β - hydroxysitosterol (**11**), stigmasterol glucoside (**12**), 並びに β -sitosterol glucoside (**13**) を単離し同定した。これら化合物の化学構造については、FAB-MS、IR、¹H-NMR、¹³C-NMR、並びに各種 2D-NMR スペクトルデータの解析、及び化学的手法によって明らかにすることができた。

海綿動物 *M. euplectelloides* の活性成分 (Chapter 2-2)

M. euplectelloides (500 g, wet weight) を MeOH で抽出し、得られた粗抽出物 (4.5 g) について、AChE 阻害活性を指標にしながら、silica gel、並びに Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーを繰り返し行うことによって、**MEC-1** と仮称するセラミド分子種を得ることができた。更に、HPLC にて分子種の構成成分の単離を試みた結果、主成分として、**MEC-1-4 (15)**、**MEC-1-7 (16)**、並びに、**MEC-1-8 (17)** を単離することができた。また、6 種の既知化合物、chimyl alcohol (**18**)、batyl alcohol (**19**)、thymine (**20**)、uracil (**21**)、thymidine (**22**) 並びに uridine (**23**) を単離し同定することができた。これらの化学構造式についても、前述と場合と同じ方法でその解明を行った。

海綿動物 *Stylissa carteri* の sphingolipid 成分 (Chapter 2-3)

S. carteri (1500 g, wet weight) を MeOH で抽出し、得られた粗抽出物 (30.0 g) について、silica gel、並びに Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーを繰り返し行うことによって、順相 TLC において単一物質の挙動を示す **SCC-1 (24)** と仮称するセレブロシド分子種を得ることができた。更に、2-bromo aldisine (**25**) を単離することができた。これらの化学構造式についても、前述の場合と同じ方法でその解明を行った。**SCC-1** は α -galactose と α -hydroxy fatty acid を有する phytosphingosine 型のセレブロシド分子種であることが明らかになった。ここで、構成糖の絶対配置については、田中隆先生らの方法に従い、**SCC-1** を酸加水分解後、得られた構成糖含有画分を L-cysteine ester 塩酸塩と反応させ、1,3-thiazolidine に誘導した後、*o*-tolylisothiocyanate と縮合して、得られた反応液を直接 HPLC で標品誘導体の保持時間と比較することで D-galactose と決定した。

生物活性 (Chapter 3)

海草 *T. ciliatum* から得られた asebotin (**14**) の H5N1 ウイルスの増殖抑制効果について検討を行った結果、1 ng/ml の濃度で 53.8% の増殖阻害活性が認められた。一方、海綿動物 *M. euplectelloides* から得られた **MEC-1** の活性については、AChE 阻害活性を Ellman's assay 法によって調べた結果、IC₅₀ 20.9 μ M の濃度で阻害活性を示すことが明らかになった。更に、**MEC-1** と AChE の分子ドッキングシミュレーション実験を行った結果、AChE は **MEC-1** を芳香族領域で結合していることが判明した。

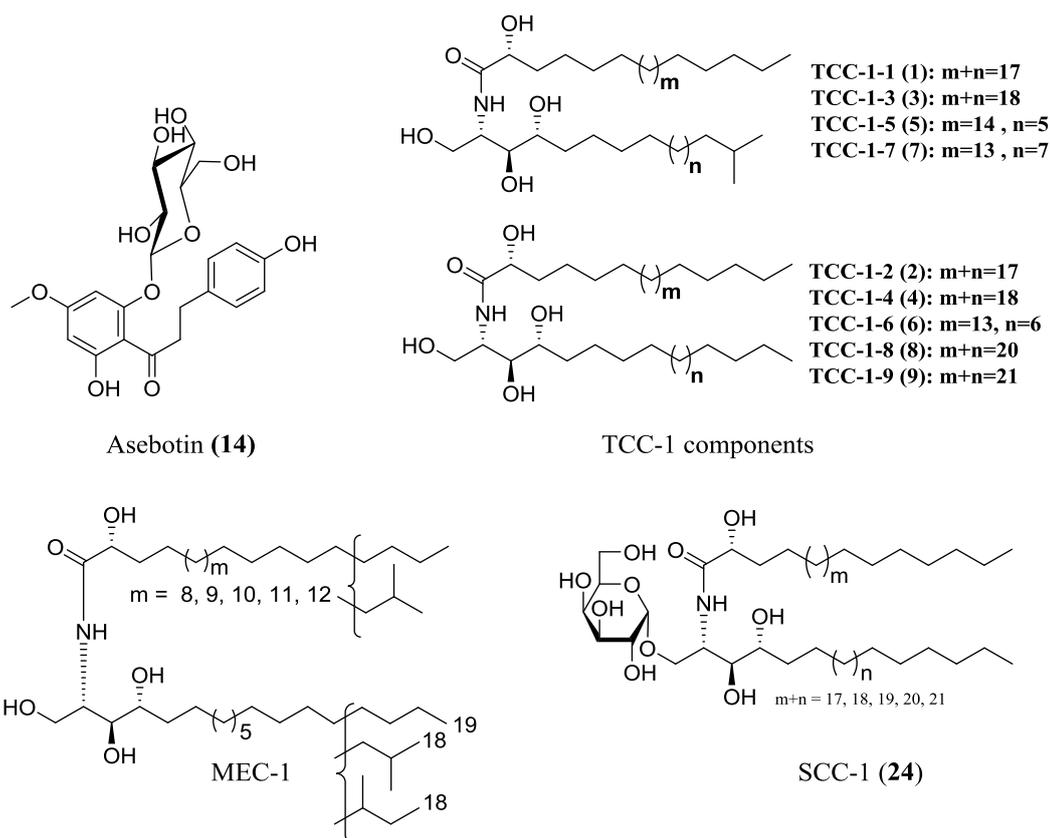


Fig. 1. Structures of selected isolated compounds

[結論]

本研究において、海草 *T. ciliatum* が抗 H5N1 型ウイルス活性を示す asebotin (14) を含有することを見出し、*T. ciliatum* が薬用資源として有用であることを明らかにすることができた。また、海綿動物 *M. euplectellioides* から得られた phytosphingosine 型 ceramide 分子種 MEC-1 が AChE 阻害活性を示すことを見出した。MEC-1 は、AChE の芳香族領域で結合することが明らかになった。この領域と結合することで、周辺陰イオン並びに 4 級アンモニウム結合部位と相互作用することが可能となる。この周辺結合部位はアミロイド β ($A\beta$) ペプチドとの複合体を形成し、 $A\beta$ ペプチドのフィブリル種への蓄積を加速することで、アルツハイマー病が進行することが知られている。今回明らかになった結果は、抗アルツハイマー薬のリード化合物を開発する際に有効な情報をもたらすことが期待できる。更に、海綿動物 *S. carteri* から得ることができたガラクトシルセラミド SCC-1 (24) は、この *Stylissa* 属海綿から初めて見出された。 α -ガラクトシルセラミドは多様な薬理活性を示すことが報告されていることから、今後医薬品の素材として十分期待できる。

[基礎となった学術論文]

1. Abdelhameed R., Elgawish M. S., Amira Mira, Ibrahim A. K., Ahmed S. A., Shimizu K., Yamada K., Anti-choline esterase activity of ceramides from the Red Sea marine sponge *Mycale euplectellioides*. *RSC Adv.* **6**, 20422-20430 (2016).