The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	海生真菌Emericella variecolor GF10株の培養と二次代謝産物
Author(s)	韋, 宏
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45688
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【13】

氏　　名	韋（イ）　宏（コウ）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学位記番号	第　１９４２５　号
学位授与年月日	平成 17 年３月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学位論文名	**海生真菌 *Emericella variecolor* GF10 株の培養と二次代謝産物**
論文審査委員	（主査） 教　授　小林　資正 （副査） 教　授　田中　徹明　　教　授　北　　泰行　　教　授　今西　　武

論文内容の要旨

これまで、天然資源からの医薬リード化合物の探索は、陸棲の動植物や微生物を中心に行われてきた。特に、微生物からは数多くの抗生物質が見出され、感染症やがんなどの治療薬として使用され、多くの人命を救ってきたが、陸棲の微生物からの探索研究が進むにつれ、徐々に新規生物活性物質を得ることが難しくなってきている。

一方、海洋は地表の約 70%を占め、地球上の動物種の約 80%にあたる 50 万種以上におよぶ海洋生物が棲息していると言われている。また、海洋生物は陸上とは違った特異的な環境下に棲息している。したがって、このような環境に適応するために、海洋生物はその進化過程において、陸棲生物とは大きく異なった代謝系、または生体防御機構を発達させてきたと考えられる。このような観点から、近年海洋生物由来の二次代謝産物について研究されるようになり、多種多様な化学構造を有し、様々な生物活性を示す化合物が単離、構造決定されている。

このように、海洋生物に関する生物活性物質の探索研究が進み、これまでに海洋生物から見出された二次代謝産物は１万を越えようとしている。しかしながら、海洋微生物由来の生物活性物質の探索研究は始まったばかりということもあり、海洋微生物から見出された二次代謝産物の種類は 1000 にも満たない。これまで人間が分離・培養できた微生物は、全体の１%程度であると言われるが、海洋に棲息する未開拓な微生物を分離・培養できれば、より高い確率で新規活性物質を見出すことができると期待される。

著者は、陸棲の微生物の探索研究において多くの活性物質が放線菌と真菌から見出されていることから、海洋土壌からこれら微生物を選択的に分離することにした。そして、分離できた微生物を培養し、得られた培養物の抽出エキスを *Candida albicans* に対する抗真菌活性試験、マウス神経芽細胞腫 Neuro 2A 細胞に対する神経突起伸展活性試験や細胞毒性試験によりスクリーニングを行った。生物活性の認められた有望な菌株について、大量に培養して活性成分の探索を行った。しかしながら、得られた活性成分のほとんどは陸棲の微生物から単離された既知化合物ばかりであった。

2002 年三重県五ケ所湾にて採取した海底土壌から分離した真菌 *Emericella variecolor* GF10 株の米培養抽出エキスは Neuro 2A 細胞に対する神経突起伸展活性を示した。この抽出エキスについて、活性試験の結果を指標に分画・精製を行ったところ、神経突起伸展活性を有する８種のセスタテルペン ophiobolin 類と shimalactone と命名した２種の新規ポリケタイドを単離した。

セスタテルペン ophiobolin 類の各種スペクトルデータを詳細に解析した結果、ophiobolin C（1）、ophiobolin K

(6)、6-epi-ophiobolin C (2)、6-epi-ophiobolin K (7) の既知物質が同定された。また、ophiobolin G (3) の6位プロトンはβ配置であると改定され、4は6αプロトンを有する新規化合物6-epi-ophiobolin Gと判明した。さらに、8は6-epi-ophiobolin G (4) の16位二重結合の還元体であり、6-epi-ophiobolin Nと命名した。一方、既知化合物ophiobolin Hと同定された5は、6位プロトンがβ配置であると訂正され、3、5位の立体配置についても決定することができた。

Shimalactone A (9) は各種スペクトルデータを詳細に解析した結果、oxabicyclo [2.2.1]-heptane 環構造と、bicyclo [4.2.0] octadiene 環構造を含む新規化合物であることが明らかになった。9の3位5員環ケトンを還元して得られた還元体が結晶化したことから、X線結晶構造解析を行い、9の相対立体構造を明らかにした。また、9の絶対立体構造を決定するために、17位アリルアルコールのベンゾエート体を合成し、CDアリルベンゾエート則を適用した。その結果、shimalactone A (9) の全化学構造を決定することができた。

Shimalactone B (10) は各種スペクトルデータの解析より、Shimalactone A (9) と同じ平面構造を有することが明らかとなった。9および10の17位水酸基を酸化して得られたそれぞれのエノン体のNMRデータを比較解析した結果、両者は一致しないことから、9および10は17位の立体異性体の関係ではないことが明らかとなった。10の3位ケトンを還元して得られた還元体と9の還元体のNMRデータを比較検討した結果、両者のoxabicyclo [2.2.1] heptane 環部分の相対配置が同一であることを確認した。また、9および10とそれぞれの還元体のCDスペクトルを解析した結果、9と10とではbicyclo [4.2.0]-octadiene 環部分の絶対配置が逆であると推定された。

10の絶対立体配置を決定する目的で、9および10をオゾン酸化し、それぞれの生成物のヒドラゾン誘導体が一致したことから、9および10のoxabicyclo [2.2.1] heptane 環部分は同じ絶対立体構造であると判明した。また、10のベンゾエート体へのCDアリルベンゾエート側の適用と10への改良Mosher法の適用により、10の17位も*R*配置と決定され、Shimalactone B (10) の全化学構造を決定することができた。

論文審査の結果の要旨

微生物の代謝産物からは、これまで抗生物質をはじめとして多くの医薬が開発されてきた。これまで人間が分離・培養できた微生物は、全体の1%程度であると言われているが、陸棲の微生物からの医薬探索研究が進むにつれ、徐々に新規活性物質を得ることが難しくなってきている。一方、海洋に棲息する微生物については探索研究が活発になってきたばかりであり、未開拓な微生物を分離・培養できれば、より高い確率で新規活性物質を見出すことができると期待される。

申請者は、海洋土壌から放線菌や真菌などの微生物を選択的に分離培養し、得られた培養物の抽出エキスを抗菌活性試験、神経突起伸展活性試験や細胞毒性試験によりスクリーニングを行った。生物活性の認められた有望な菌株については、さらに大量に培養して活性成分の探索を行った。研究成果として、海底土壌から分離した真菌 *Emericella variecolor* GF10株の米培養抽出エキスがNeuro 2A細胞に対する神経突起伸展活性を示したことから、この抽出エキスについて、活性試験の結果を指標に分画・精製を行ったところ、神経突起伸展活性を有するophiobolin型セスタテルペン類と2種の新規ポリケタイドshimalactone AおよびBを見出した。

申請者は、セスタテルペンophiobolin類については古くから知られている化合物であったが、最新の構造解析の手法を用いて詳細に解析した結果、ophiobolin Gおよびophiobolin Hの化学構造を改定し、2種の新規化合物6-epi-ophiobolin Gおよび6-epi-ophiobolin Nを見出し、化学構造を決定した。また、shimalactone Aおよびshimalactone Bが、oxabicyclo [2.2.1] heptane 環とbicyclo [4.2.0] octadiene 環の得意な化学構造を有するポリケタイドであることを明らかにし、種々の機器分析並びに化学変換、X線結晶解析により全化学構造を解明するとともに、これらの化合物の生合成過程についても考察している。

以上の研究成果は、博士（薬学）の学位論文として充分価値あるものと認められる。