

ホヤ由来の Polysulfur Dopamine-Derived Alkaloids の構造と生物活性

浪越 通夫

Structures and Bioactivities of Polysulfur Dopamine-Derived Alkaloids from Ascidians

Michio NAMIKOSHI

(Received November 21, 2007)

はじめに

ホヤは脊索動物門, 尾索動物亜門, ホヤ綱に属する動物で, 成体は固着生活を営む. 脊索動物門には, ホ乳類や爬虫類, 魚類などが属す脊椎動物亜門とナメクジウオなどの頭索動物亜門が分類されている (Fig. 1). ホヤ綱に属する動物は浮遊幼生の時期に脊索をもち, 成体に変態する際に脊索が消失する. このことから, ホヤ類は比較的進化した動物であることが分かる.

尾索動物亜門にはホヤ綱の他にオタマボヤ綱とタリア綱が分類されており, これら3つの綱に属する動物はいずれも被のうという独特の組織によって体が包まれているので, 被のう動物

とも呼ばれている. オタマボヤ綱とタリア綱の動物は終生浮遊生活をするが, ホヤ類は幼生期にのみ浮遊する.

ホヤ綱の動物は, 世界で2目15科約170属2300種以上が知られており (Fig. 1), 本邦には2目14科約63属約300種が棲息する. その分布は広く, 全世界の潮間帯から8000 mを超える超深海底に及ぶ.

固着生活を営むホヤの成体は, 吸水口から海水を取り込み, 海水中に存在する有機物や微生物などをこしとって栄養源としている filter feeder である. その形態は様々で, 1個体が単独で生活する単体ボヤと, 多様な群体を形成す

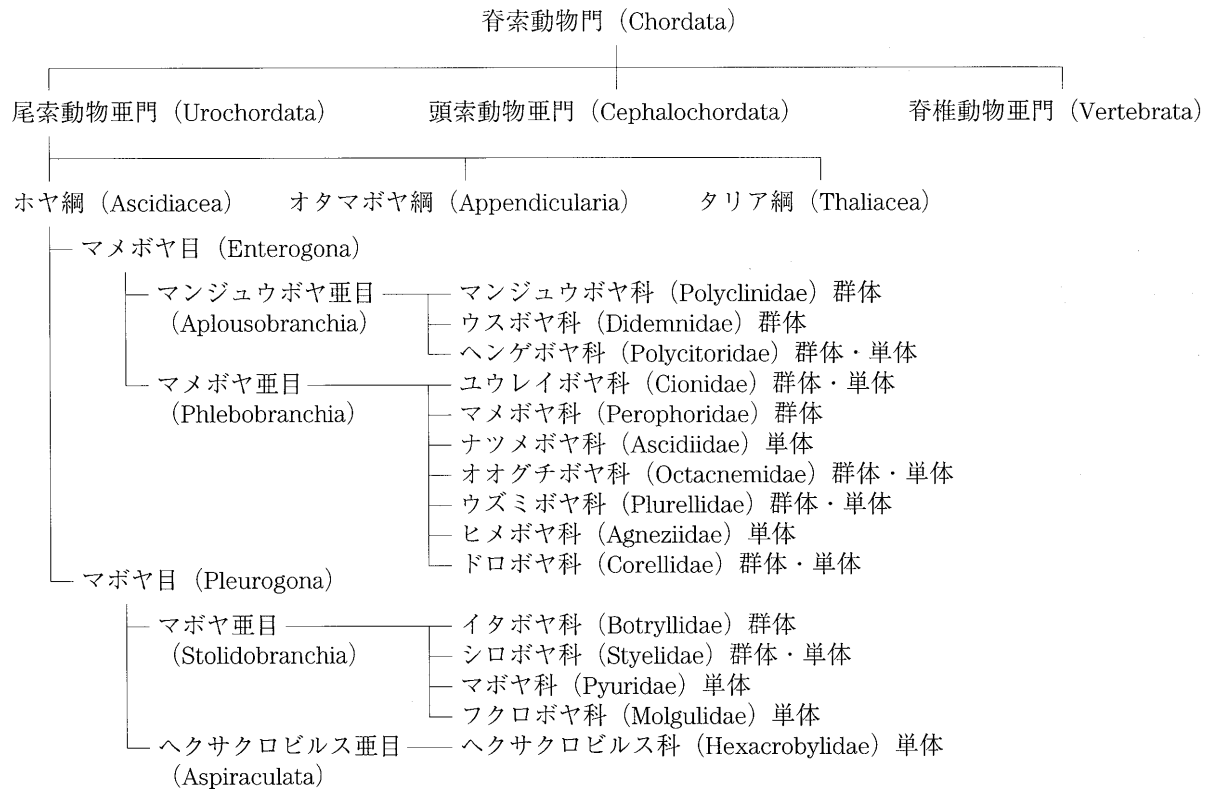


Fig. 1. Phylogenetic Chart of Chordates

Table 1. Number of reports and new compounds published in scientific journals up to 2006

年	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	
報文数	2	1	2	3	3	2	5	2	3	5	17	14	9	22	9	10	22	
化合物数	3	3	3	5	6	4	20	2	4	13	37	25	25	50	19	27	54	
年	95	96	97	98	99	00	01	02	03	04	05	06	合計					
報文数	17	15	17	17	19	18	17	21	18	11	12	3	316					
化合物数	56	39	55	57	38	33	42	39	39	31	28	6	763					

る群体ボヤがある (Fig. 1). 食用となるマボヤ (*Halocynthia roretzi*) は単体ボヤの代表である. 群体ボヤの個々の個体を個虫といい, 1つの群体は1つの幼生が変態した後に出芽や横分裂などの無性生殖によってできたクローンによって形成されている. 単体ボヤは有性生殖のみによって殖える. ホヤ類は雌雄同体であるが自家受精はしない.

ホヤ類の2次代謝産物に関する研究の歴史は比較的浅く, *Aplidium* sp.からの geranyl hydroquinone 化合物の単離が1974年に初めて学会で報告された¹⁾. これは, 海洋天然物化学の対象として最も盛んに研究されている海綿の化学成分に関する報告に遅れること四半世紀であった. しかしながらその後の海洋天然物化学研究の隆盛に伴って, 様々な炭素骨格をもつ2次代謝産物が発見され, 生物活性物質探索資源としての重要性が認識された²⁾. 2006年までに316の学術論文が報告され, 763種類の新規化合物の構造が明らかにされている (Table 1).

ホヤ由来の化合物の大きな特徴は, 窒素原子を含むものが非常に多いということである²⁾. 2006年までに報告された新規化合物763種類のうち, 実に611 (80.1%) の化合物が分子中に1個以上の窒素原子を含む. そのうち423種類 (69.2%) がアルカロイド, 120種類 (19.6%) がペプチド類で, その他 (アミン類や核酸類) が68種類 (11.1%) である. 海綿から得られた窒素原子を含む化合物はおよそ26%で, 海藻や刺胞動物由来ではわずか7%であるので, ホヤ類の窒素原子の利用率の高さがうかがえる. 臨床試験に入った didemnin B, ecteinascidin-743, aplidine, および前臨床試験が行われている vitilevuamide, diazomamide, ascididemin は, いずれも窒素原子を含む³⁾. カリブ海で採集され

た *Trididemnum solidum* から単離された didemnin B は, 海洋天然物として初めて臨床試験に進んだ化合物である^{4,6)}.

ホヤ類の中にはイオウを蓄積する種があり, 硫酸イオンとして特殊な細胞に蓄えているものや, 2次代謝産物の中にイオウ原子を取り込む種もある. イオウ原子を分子中に含むホヤ由来の新規化合物 (硫酸エステルを除く) は167種類が知られており, 全体 (763種類) のおよそ22%にのぼる. イオウ原子を1個含む化合物は69種類 (167種類の41.3%) で, すべてアルカロイドである. チアゾール環やチアゾリン環をもつペプチド類が68種類 (40.7%), イオウ原子を2個以上もつ化合物が30種類 (18.0%) 報告されている.

我々はホヤ類からの生物活性物質の探索の一環として, インドネシア産の群体ボヤ *Lissoclinum* cf. *badium* のエタノール抽出物が強い抗カビ活性と培養がん細胞の増殖抑制活性を示すことを発見し, 成分研究の結果, 複数のイオウ原子を含むドーパミン由来のアルカロイドを単離した. 本稿では, これらの特異な構造をもつ polysulfur dopamine-derived alkaloids の構造と生物活性について述べる.

ドーパミン由来の Polysulfur Alkaloids

植物塩基として発見されたアルカロイドは, 昆虫, ほ乳類, は虫類などの動物に対する摂餌忌避・阻害物質としての機能をもつ. そのようなアルカロイドが海洋無脊椎動物から次々と単離されている. 前項で述べたように, ホヤ類からは特に高率でアルカロイドが見いだされている.

海洋無脊椎動物は, 岩などの構造物に固着する種類と移動速度の非常に遅い種類が多い. サンゴ, 巻貝, 二枚貝などは固い殻などで内部の

柔らかい体を守っているが、そのような物理的防御機構をもたないホヤ、海綿、ソフトコーラル（軟体サンゴ）などの固着性動物あるいは巻貝から進化したウミウシやアメフラシなどは体表に摂食忌避・阻害物質を分泌して、魚などの捕食者から身を守っている。生物種によって物質の種類に特徴的な違いがあり、ソフトコーラルはテルペン類を多く含み、ホヤ類では含窒素化合物が多い。その違いは共生・共存する微生物の特徴に由来すると考えられる。すなわち、海洋無脊椎動物から単離される低分子有機化合物およびその生合成前駆体が共生・共存する細菌や微細藻などによって作られている可能性が指摘されている。ちなみに、ウミウシやアメフラシなどは、餌から摂取した化合物をそのまま、あるいは代謝により変換した化合物を利用している。

芳香族アルカロイドは、L-Tyr およびその水酸化体である L-DOPA から生合成される化合物と、L-Trp から作られるインドールアルカロイドが大部分を占める。植物では、L-Tyr あるいは L-DOPA から生成されるチラミンやドーパミンからベンジルイソキノリンアルカロイドなどのイソキノリン系・テトラヒドロイソキノリン系のアルカロイドが生合成されている。これに対して、海洋無脊椎動物では多様な構造のアルカロイドがこれらの芳香族アミンから作られている。複数のイオウ原子を分子中に含む特異なアルカロイドもその中の1つのグループを形成しており、我々の研究成果も含めてこれまでに30種類の化合物が報告されている (Table 2, 3)。動物はシキミ酸経路による芳香族アミノ酸の生合成能をもたないため、これらの polysulfur alkaloids の生合成の出発原料となる芳香族アミンあるいはアミノ酸は細菌や微細藻などの微生物に由来すると考えられる。

フィジー諸島で採取されたウスボヤ科 (Didemnidae) の *Lissoclinum vareau* から polysulfur alkaloid として一番初めの化合物 varacin (1) が単離され、1991年にその構造とがん細胞増殖抑制活性が報告された⁷⁾。Varacin は pentathiepin 構造をもつユニークな化合物

(Table 2) で、その構造の特異性と生物活性への興味から、多くの研究者の注目を集めた。その後、*Lissoclinum*, *Eudistoma*, *Polycitor* 属の群体ボヤからドーパミン由来の polysulfur alkaloid が次々に発見されている。*Eudistoma* と *Polycitor* 属はヘンゲボヤ科 (Polycitoridae) に分類されているので、異なる科の一部の種に局在しているのも興味深い。

Varacin と同じ pentathiepin 構造をもつアルカロイドとしては、フランス産 *Lissoclinum perforatum* から lissoclinotoxin A (2) と B (3)^{8,9)}、パラオ産 *Lissoclinum japonicum* から *N,N*-dimethyl-5-(methylthio)-varacin (4)¹⁰⁾、ポナペ産 *Lissoclinum* sp. から 5-(methylthio)varacin (5)¹⁰⁾、ポナペ産 *Eudistoma* sp. から 3,4-desmethylvaracin (6)¹⁰⁾ が単離報告されている。パラオとポナペのホヤからは、pentathiepin 化合物 4, 5, 6 とともに、イオウ3個を含む trithiane 構造をもつ化合物 7 と 8 が同時に単離された¹⁰⁾。日本海 (北緯 45°04', 東経 134°30') の 90 m の海底からドレッジで採集された *Polycitor* sp. から、trithiane 構造をもつ varacin A ~ C (9 ~ 11) が得られた¹¹⁾。Varacin B と C は S-oxide をもつ点で新しい。Varacin と varacin A はニュージーランド産の *Lissoclinum notti* から単離された¹²⁾。ドーパミン由来の pentathiepin と trithiane の合成に関する研究も報告されている¹³⁻¹⁶⁾。

Varacin (1) は酵母 *Candida albicans* に対して 2 μg/disc で 14 mm の生育阻止円を示し、ヒト大腸がん HCT-116 細胞の増殖を抑制した (IC₅₀ = 0.05 μg/mL)⁷⁾。この増殖抑制活性は抗がん剤の 5-fluorouracil (5-FU) の 100 倍であった。また、培養がん細胞に対する増殖抑制活性のプロフィールから、varacin (1) は DNA を傷害する活性を持つと推定された⁷⁾。実際、varacin のモデル化合物の 7-methylbenzopentathiepin が生理的条件化で DNA を開裂させることから、ホヤ由来の pentathiepin 化合物も同様の活性によりがん細胞の増殖を抑制していると考えられる¹⁷⁾。Lissoclinotoxin A (2) と B (3) はさまざまな Gram 陽性菌および陰性菌に対して抗菌活性を示

Table 2. Dopamine-derived polysulfur alkaloids from ascidians

compound	structure	source	bioactivity	ref.
varacin 1		<i>Lissoclinum vareau</i> Fiji Is.	antifungal, cytotoxic	7
lissoclinotoxin A 2		<i>Lissoclinum perforatum</i> France	antifungal, antibacterial, antimalarial, cytotoxic	8, 9
lissoclinotoxin B 3		<i>Lissoclinum perforatum</i> France	antimicrobial	9
4		<i>Lissoclinum japonicum</i> Palau	antimicrobial, PKC inhibitor, cytotoxic	10, 22, 29, 30
5		<i>Lissoclinum</i> sp. Pohnpei	PKC inhibitor	10
6		<i>Eudistoma</i> sp. Pohnpei	PKC inhibitor	10
7		<i>Lissoclinum japonicum</i> Palau	antimicrobial, PKC inhibitor, cytotoxic	10, 22, 29, 30
8		<i>Lissoclinum</i> sp. Pohnpei	PKC inhibitor	10
varacin A 9		<i>Polycitor</i> sp. Sea of Japan	antimicrobial	11
varacin B 10		<i>Polycitor</i> sp. Sea of Japan	antimicrobial	11
varacin C 11		<i>Polycitor</i> sp. Sea of Japan	antimicrobial, acid-promoted DNA-cleavage	11, 16
lissoclinotoxin C 12		<i>Lissoclinum</i> sp. Great Barrier Reef	—	18
lissoclinotoxin D 13		<i>Lissoclinum</i> sp. Great Barrier Reef	antimicrobial	18
lissoclinotoxin E 14		Didemnid ascidian Philippines	cytotoxic	19
lissoclinotoxin F 15		Didemnid ascidian Philippines	cytotoxic, antimicrobial, induce IL-8 production	19, 22, 29, 30
lissoclin disulfoxide 16		<i>Lissoclinum</i> sp. South Africa	IL-8 R α /R β inhibitor	20

すが、化合物 **3** の方が強い⁹⁾。一方、化合物 **2** はマウス白血病 L1210 細胞に対して増殖抑制活性を示し ($IC_{50} = 1 \mu\text{g/mL}$)、薬剤耐性のマラリア原虫 *Plasmodium falciparum* に対し quinine と chloroquine よりも強い活性を示した⁹⁾。また、化合物 **2** はウニ卵の分割を $16 \mu\text{g/mL}$ で阻害するが、その有糸分裂阻害活性は微小管の重合・解重合の過程とは関連していなかった⁹⁾。化合物 **4** ~ **8** は protein kinase C の活性を $0.3 \sim 3.0 \mu\text{g/mL}$ (IC_{50}) で阻害するが PKA には影響しなかった¹⁰⁾。化合物 **5** と **8** は同じ芳香環構造にそれぞれ pentathiepin と trithiane の構造をもつ異性体で、2 : 3 の混合物として得られたが、この混合物が PKC に対して最も強い活性を示した ($IC_{50} = 0.3 \mu\text{g/mL}$)¹⁰⁾。Varacin A ~ C (**9** ~ **11**) は varacin (**1**) とともに得られ、これら 4 化合物は *C. albicans* と *Bacillus subtilis* に対して比較的強い生育阻害活性を示した¹¹⁾。また、varacin C (**11**) は 7 種類の培養ヒトがん細胞に対して $2.4 \sim 48.2 \text{ nM}$ (IC_{50}) で増殖を抑制した¹⁶⁾。化合物 **11** はチオール依存性の DNA 開裂活性を示し、分子状酸素をヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) に変換することによって生理的条件下で DNA を開裂していると考えられる¹⁶⁾。

オーストラリアのグレートバリアリーフで採集された *Lissoclinum* sp. から、lissoclinotoxin C (**12**) と D (**13**) および既知化合物として lissoclinotoxin A (**2**) が単離された¹⁸⁾。Lissoclinotoxin D (**13**) はドーパミン由来の polysulfur alkaroid として初めての 2 量体である。化合物 **2** と **13** は *C. albicans* に対してそれぞれ $1 \mu\text{g/disc}$ で 8 mm ($10 \mu\text{g/disc}$ で 19 mm) および $10 \mu\text{g/disc}$ で 15 mm の生育阻止円を示した¹⁸⁾。フィリピン産のウスボヤ科の群体ボヤからは、2 種類の 2 量体化合物 lissoclinotoxin E (**14**) と F (**15**) が単離された¹⁹⁾。化合物 **14** と **15** は phosphatase/tensin homolog-deficient MDA-MB-468 細胞に対してそれぞれ 2.3 および $1.5 \mu\text{g/mL}$ (IC_{50}) で増殖抑制活性を示した¹⁹⁾。南アフリカ産の *Lissoclinum* sp. から得られた lissoclin disulfoxide (**16**) は、IL-8 の α 受容体 ($IC_{50} = 0.6 \mu\text{M}$) と β 受容体 ($IC_{50} = 0.82 \mu\text{M}$) および PKC ($IC_{50} = 1.54 \mu\text{M}$) を阻害

する²⁰⁾。化合物 **16** は 2 量体スルホキサイド構造をもつと推定されたが、NMR データは lissoclinotoxin D (**15**) と一致している。

インドネシア産 *Lissoclinum* cf. *badium* から単離した Polysulfur Alkaroids

我々はインドネシア北スラウェシ島のサンゴ礁で採集したホヤ、海綿などの海洋無脊椎動物および海洋糸状菌の代謝産物と化学生態学に関する研究を行っている。その研究途上で、群体ボヤ *Lissoclinum* cf. *badium* のエタノール抽出液が糸状菌 *Mucor hiemalis* に強い生育阻害活性を示すことを見いだした。生物活性成分の単離を行ったところ、これまでに 18 種類のドーパミン由来 polysulfur alkaroid が得られた²¹⁻²⁵⁾。そのうちの 14 種類 (Table 3) が新規化合物であった。

Lissoclibadin **1** (**17**) はドーパミン由来 polysulfur alkaroid として初めての 3 量体化合物である^{21,22)}。Lissoclibadin **2** (**18**) と **3** (**19**) および既知化合物の lissoclinotoxin E (**14**) と F (**15**)、化合物 **4** と **7** が lissoclibadin **1** (**17**) とともに得られた²²⁾。その後、4 種類の新規 2 量体 lissoclibadin **4** (**20**) ~ **7** (**23**) の構造を報告した²³⁾。また、さらに成分研究を行い、lissoclibadin **8** (**24**) ~ **14** (**30**) を単離した^{24,25)}。Lissoclibadin **8** (**24**) はユニークな 4 量体構造をもつ。Lissoclibadin **9** (**25**) は化合物 **17** に次ぐ 2 番目の 3 量体である。これらの化合物の芳香環部分は 2 種類に分類できる (Fig. 2 の **a** と **b**)。部分構造 **b** は、lissoclinotoxin A (**2**) などに見られる芳香環上の置換基の配置とは異なり、OH 基と OMe 基の位置が逆になっている。この置換基の配置を持つ化合物は、有機合成によって作られた isolissoclinotoxin A¹⁵⁾ が知られているのみである

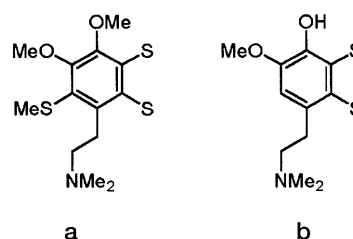


Fig. 2. Partial structures **a** and **b** in lissoclibadins

Table 3. Lissoclibadins isolated from *Lissoclinum* cf. *badium*

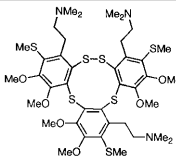
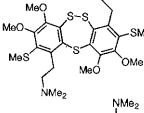
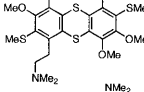
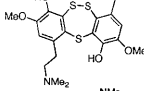
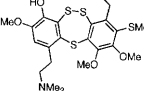
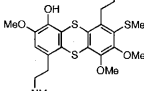
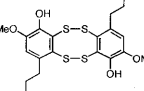

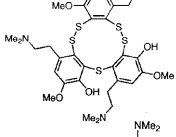
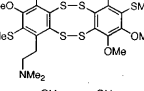
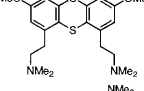
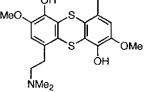
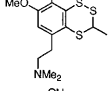
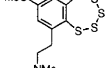
compound	structure	bioactivity	ref.
lissoclibadin 1 17		antibacterial, cytotoxic	21, 22, 29, 30
lissoclibadin 2 18		antifungal, antibacterial, cytotoxic, induce IL-8 production	22, 29, 30
lissoclibadin 3 19		cytotoxic, induce IL-8 production, reduce TNF- α production	22, 29, 30
lissoclibadin 4 20		antibacterial, cytotoxic	23
lissoclibadin 5 21		antiyeast, antibacterial, cytotoxic	23
lissoclibadin 6 22		antiyeast, antibacterial, cytotoxic	23
lissoclibadin 7 23		antiyeast, antibacterial, cytotoxic	23
lissoclibadin 8 24		cytotoxic	24, 25
lissoclibadin 9 25		cytotoxic	24, 25
lissoclibadin 10 26		cytotoxic	24, 25
lissoclibadin 11 27		cytotoxic	24, 25
lissoclibadin 12 28		cytotoxic	24, 25
lissoclibadin 13 29		cytotoxic	24, 25
lissoclibadin 14 30		cytotoxic	24, 25

Table 4. Antimicrobial activity of lissoclibadins 1-7 (**17-23**) and compounds **4**, **7**, **14**, and **15** isolated from *Lissoclinum cf. badium*^{22,23)}

Compd	<i>M. hiemalis</i> ^a		<i>R. atlantica</i>			<i>S. cerevisiae</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	50 ^b	20	50	20	5	50	20	50	20	50	20
17	---	---	23.4 ^d	15.2	---	---	---	---	---	---	---
18	13.8	---	28.2	21.2	12.2	---	---	---	---	---	---
19	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
20	---	---	n.t. ^e	n.t.	n.t.	---	---	13.1	10.8	15.7	---
21	---	---	n.t.	n.t.	n.t.	6.2	---	15.8	9.0	11.6	---
22	---	---	n.t.	n.t.	n.t.	7.8	---	13.8	10.0	10.8	---
23	---	---	n.t.	n.t.	n.t.	16.8	---	13.1	9.4	9.9	---
4	26.2	19.6	30.0	24.5	15.8	15.2	10.5	14.2	n.t.	17.1	13.1
7	23.0	17.4	32.4	23.3	14.2	11.8	---	10.3	n.t.	17.8	14.4
14	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
15	18.0	10.5	20.0	12.1	---	---	---	---	---	---	---

^aTest organisms: *Mucor hiemalis* IAM 6088 (fungus), *Ruegeria atlantica* TUF-D (marine bacterium)²⁶⁾, *Saccharomyces cerevisiae* IAM 1438T (yeast), *Staphylococcus aureus* IAM 12544T (Gram+ bacterium), *Escherichia coli* IAM 12119T (Gram- bacterium).

^bAmount: μ g/disc.

^cNot active.

^dInhibition zone (mm).

^eNot tested.

ので、天然物としては lissoclibadin 類が初である。

Lissoclibadin 2 (**18**) は糸状菌 *Mucor hiemalis* に対して弱い抗カビ活性 (13.8 mm at 50 μ g/disc) を示した (Table 4)²²⁾. Lissoclinotoxin F (**15**) も抗カビ活性をもつが、単量体化合物 **4** と **5** がより強くカビの生育を阻害した。化合物 **4** と **5** はこのホヤの polysulfur alkaloid の主たる成分であるので、エタノール抽出液が示した抗カビ活性はこれらの単量体の活性に由来すると考えられる。単量体化合物 **4** と **5** は酵母とグラム陽性・陰性菌に対しても増殖抑制活性を示した²²⁾。フェノール基をもつ2量体 (化合物 **20** ~ **23**) も酵母およびグラム陽性・陰性菌の増殖を阻害した²³⁾。興味深いことに、ジスルフィド結合を持つ3量体 (化合物 **17**) と2量体 (化合物 **18** と **15**) および単量体 (**4** と **5**) が海洋細菌 *Ruegeria atlantica* に対して比較的強い生育阻害活性を示した²²⁾。 *R. atlantica* はバイオフィームから分離したグラム陰性菌であるので²⁶⁾、これらの化合物はホヤ体表でのバイオフィームの形成を阻害する作用をもつと推定できる。

Lissoclibadin 1 ~ 9 (**17** ~ **25**), 13 (**29**), お

よび **14** (**30**) は L1210 細胞に対して 0.38 ~ 2.79 μ M (IC₅₀) で増殖を抑制したが、**11** (**27**) と **12** (**28**) は活性を示さなかった (Table 5)。また、lissoclibadin 1 ~ 9 (**17** ~ **25**), **13** (**29**) および **14** (**30**) はチャイニーズハムスター肺繊維芽細胞 V79 のコロニー形成を比較的強く抑制した (Table 5)。V79 細胞のコロニー形成抑制活性を調べる生物検定は、試験化合物の細胞に対する直接的な影響を検出することができる²⁷⁻²⁹⁾。Lissoclibadin **11** (**27**) と **12** (**28**) は V79 細胞に対しても非常に弱い活性を示した。そこで抗がん剤として開発に適するかどうかを検討するため、一番初めに単離した新規化合物 lissoclibadins 1 ~ 3 (**17** ~ **19**) および既知物質 **4**, **7**, **15** のヒト培養固形がん細胞に対する増殖抑制活性を調べた (Table 6)²⁹⁾。

Lissoclibadin **1** (**17**) と **2** (**18**) は9種類のヒト固形がん細胞に対して、同様の増殖阻害活性を示した (Table 6)²⁹⁾。Lissoclibadin **2** (**18**) は大腸がん (DLD-1, HCT-116), 乳がん (MDA-MB-231), 腎臓がん (ACHN) および大細胞性肺がん (NCI-H460) に比較的強い活性を

Table 5. Cytotoxicity (IC_{50} , μM) of lissoclibadins against murine leukemia L1210 and Chinese hamster V79 cells

	17	18	19	20	21	22	23	24	25	27	28	29	30
L1210	1.50	2.04	2.79	1.94	0.97	0.63	2.17	2.00	0.38	>20	>20	2.20	1.80
V79 ^a	0.40	0.08	0.34										
V79 ^b	0.20			0.71	0.06	0.06	0.17						
V79 ^c	0.21							0.14	0.63	>20	7.90	0.44	0.70

a, b, c: Three different experiments.

Table 6. Cytotoxicity (IC_{50} , μM) of lissoclibadins 1-3 (17-19) and compounds 4, 7, and 15 isolated from *Lissoclinum* cf. *badium* against cultured human solid tumor cell lines²⁹⁾

Compd	Breast		Large-cell lung	Prostate	Renal		Colon		Melanoma
	T-47D	MDA-MB-231	NCI-H460	PC-3	ACHN	UO31	DLD-1	HCT-116	MALME-3M
Cisplatin	8.75	6.89	0.72	4.65	1.71	2.97	1.76	1.99	1.81
17	0.39	0.30	0.28	0.24	0.25	0.20	0.13	0.22	0.82
Cisplatin	6.12	5.71	0.67	3.36	1.57	2.65	2.88	2.46	3.27
18	0.57	0.20	0.27	0.64	0.24	0.58	0.10	0.14	0.77
19	3.18	3.59	2.32	7.02	3.26	2.22	1.12	1.49	2.96
4	2.30	3.65	3.50	5.31	3.78	2.33	0.82	2.86	5.83
7	3.39	5.34	10.2	10.0	4.62	3.22	1.00	3.04	6.99
15	1.04	0.69	0.48	1.06	0.43	0.68	0.24	0.48	1.42

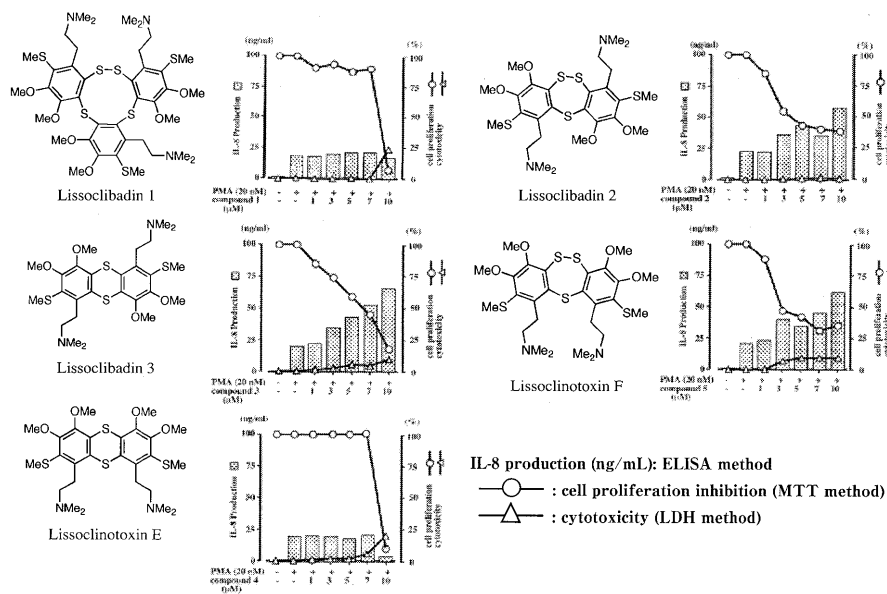


Fig. 3. Effect of lissoclibadins 1-3 (17-19) and lissoclinotoxins E (14) and F (15) on IL-8 production in PMA-stimulated HL-60 cells

示し、量的にも得られたので、ヌードマウスによる抗がん試験を行った。化合物 2 はラット血漿中で 30 分以上安定で、マウスに 50 mg/kg で静注してもまったく毒性を示さなかった²⁹⁾。ヒト大腸がん (HCT-116) を移植したヌードマウスに化合物 2 を連続 5 日間 (1 日 1 回) それぞ

れ 25 と 50 mg/kg を静注して観察したところ、投与終了後 6 日目に最大の縮小率 (それぞれ 36 と 37%) を示したが、濃度依存性が見られなかった (未発表データ)。Lissoclibadin 4 ~ 14 (20 ~ 30) の培養がん細胞に対する増殖抑制活性と抗がん活性については現在検討中である。

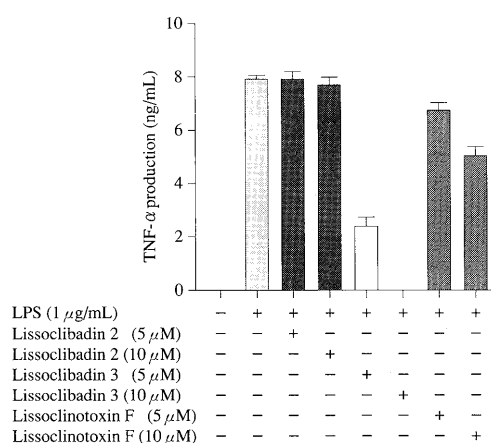


Fig. 4. Effect of lissoclibadins 2 (**18**) and 3 (**19**) and lissoclinotoxin F (**15**) on TNF- α production in LPS-stimulated RAW264.7 cells

インターロイキン-8 (IL-8) の産生に対する Lissoclibadin 1 ~ 3 (**17** ~ **19**) および lissoclinotoxin E (**14**) と F (**15**) の影響を調べた³⁰⁾。ヒト前骨髄性白血病細胞 HL-60 をフォルボルエステル (PMA) で刺激して IL-8 の産生を誘導し、化合物による IL-8 の産生量の増減を検出したところ、lissoclibadin 2 (**18**) と 3 (**19**) および lissoclinotoxin F (**15**) に産生誘導活性が検出された (Fig. 3)。

IL-8 は炎症にも関連している。そこで、炎症性サイトカイン TNF- α の産生に対する lissoclibadin 2 (**18**) と 3 (**19**) および lissoclinotoxin F (**15**) の影響を検討した (未発表データ)³¹⁾。リポ多糖 (LPS) で TNF- α の産生を誘導したマウスマクロファージ RAW264.7 細胞を用いて化合物の影響を調べた結果、lissoclibadin 3 (**19**) が TNF- α の産生を抑制することを見いだした (Fig. 4)。現在、活性発現機構の解明を進めているが、I κ B- α の分解を阻害することにより NF- κ B の活性化を阻害し、MAP kinases の活性化を阻害することによって AP-1 活性を抑制することが分かってきた。

TNF- α と IL-8 の過剰産生は種々の病態に関連しており、それらの産生制御は治療に有効である。Lissoclibadin 4 ~ 14 (**20** ~ **30**) の TNF- α および IL-8 産生に対する影響も検討しているが、予備実験の段階で TNF- α の産生のみを抑制

する活性を示す化合物も見いだされており、今後の研究の発展が期待される。

REFERENCES & NOTES

- 1) Fenical, W. "Food-Drugs from the Sea, Proceedings, 1974" Ed. by Webber, H. H. and Ruggieri, G. D., Marine Technology Society, Washington DC, 1976, pp. 388-394.
- 2) Wang, W.-F. and Namikoshi, M. *Heterocycles* **74**, in press (2007).
- 3) Newman, D. J. and Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.* **67**, 1216-1238 (2004).
- 4) Rinehart, K. L. *Med. Res. Rev.* **20**, 1-27 (2000).
- 5) Rinehart, K. L., Jr., Gloer, J. B., Hughes, R. G., Jr., Renis, H. E., McGovren, J. P., Swynenberg, E. B., Stringfellow, D. A., Kuentzel, S. L., and Li, L. H. *Science* **212**, 933-935 (1981).
- 6) Rinehart, K. L., Jr., Gloer, J. B., Cook, J. C., Jr., Mizzsak, S. A., and Scabill, T. A. *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 1857-1859 (1981).
- 7) Davidson, B. S., Molinski, T. F., Barrows, L. R., and Ireland, C. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 4709-4710 (1991).
- 8) Litaudon, M. and Guyot, M. *Tetrahedron Lett.*, **32**, 911-914 (1991).
- 9) Litaudon, M., Trigalo, F., Martin, M.-T., Frappier, F., and Guyot, M. *Tetrahedron*, **50**, 5323-5334 (1994).
- 10) Compagnone, R. S., Faulker, D. J., Carté, B. K., Chan, G., Freyer, A., Hemling, M. E., Hofmann, G. A., and Mattern, M. R. *Tetrahedron*, **50**, 12785-12792 (1994).
- 11) Makarieva, T. N., Stonik, V. A., Dmitrenok, A. S., Grebnev, B. B., Isakov, V. V., and Rebachyk, N. M. *J. Nat. Prod.*, **58**, 254-258 (1995).
- 12) Appleton, D. R., Pearce, A. N., Lambert, G., Babcock, R. C., and Copp, B. R. *Tetrahedron*, **58**, 9779-9783 (2002).
- 13) Behar, V. and Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 7017-7018 (1993).
- 14) Ford, P. W. and Davidson, B. S. *J. Org. Chem.*, **58**,

- 4522-4523 (1993).
- 15) Ford, P. W., Narbut, M. R., Belli, J., and Davidson, B. S. *J. Org. Chem.*, **59**, 5955-5960 (1994).
- 16) Lee, A. H. F., Chen, J., Liu, D., Leung, T. Y. C., Chan, A. S. C., and Li, T. *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 13972-13973 (2002).
- 17) Chatterji, T. and Gates, K. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8**, 535-538 (1998).
- 18) Searle P. A. and Molinski, T. F. *J. Org. Chem.*, **59**, 6600-6605 (1994).
- 19) Davis, R. A., Sandoval, I. T., Concepcion, G. P., da Rocha, R. M., and Ireland, C. M. *Tetrahedron*, **59**, 2855-2859 (2003).
- 20) Patil, A. D., Freyer, A. J., Killmer, L., Zuber, G., Carte, B., Jurewicz, A. J., and Johnson, R. K. *Nat. Prod. Lett.*, **10**, 225-229 (1997).
- 21) Liu, H., Pratasik, S. B., Nishikawa, T., Shida, T., Tachibana, K., Fujiwara, T., Nagai, H., Kobayashi, H., and Namikoshi, M. *Tetrahedron Lett.*, **45**, 7015-7017 (2004).
- 22) Liu, H., Fujiwara, T., Nishikawa, T., Mishima, Y., Nagai, H., Shida, T., Tachibana, K., Kobayashi, H., Mangindaan, R. E. P., and Namikoshi, M. *Tetrahedron*, **61**, 8611-8615 (2005).
- 23) Nakazawa, T., Xu, J., Nishikawa, T., Oda, T., Fujita, A., Ukai, K., Mangindaan, R. E. P., Rotinsulu, H., Kobayashi, H., and Namikoshi, M. *J. Nat. Prod.*, **70**, 439-442 (2007).
- 24) 王偉芳, 中澤孝浩, 鵜飼和代, Mangindaan, R. E. P., Wewengkang, D., Rotinsulu, H., 小林久芳, 塚本佐知子, 浪越通夫, 第49回天然有機化合物討論会, 札幌, 要旨集 pp. 359-364 (2007). 本要旨集に記載された Lissoclibadin 8 の構造は, 本論文の Table 2 のとおりに訂正された.
- 25) 王偉芳, 博士論文, 東京海洋大学, 2007年9月.
- 26) Namikoshi, M., Negishi, R., Nagai, H., Dmitrenok, A., and Kobayashi, H. *J. Antibiot.*, **56**, 755-761 (2003).
- 27) Sakakibara, Y., Saito, I., Ichinoseki, K., Oda, T., Kaneko, M., Saito, H., Kodama, M., and Sato, Y. *Mutant. Res.*, **263**, 269-276 (1991).
- 28) Sato, Y., Sakakibara, Y., Oda, T., Aizu-Yokota, E., and Ichinoseki, I. *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 182-184 (1992).
- 29) Oda, T., Kamoshita, K., Maruyama, S., Masuda, K., Nishimoto, M., Xu, J., Ukai, K., Mangindaan, R. E. P., and Namikoshi, M. *Biol. Pharm. Bull.*, **30**, 385-387 (2007).
- 30) Oda, T., Fujiwara, T., Liu, H., Ukai, K., Mangindaan, R. E. P., Mochizuki, M., and Namikoshi, M. *Mar. Drugs*, **4**, 15-21 (2006).
- 31) The 2nd East Asian Marine Bioscience Symposium, Sapporo, December 4, 2007 で発表.