

## A302 ナトリウムチャンネルに作用する微量ポリエーテル化合物の構造解析と活性

日本食品分析センター 安元 健  
東北大院農 佐竹 真幸

【目的】Ciguatoxin (CTX)と brevetoxin (BTX)は、電位依存性ナトリウムチャンネル(VSSC)の分極を阻害する毒であり、共にエーテル環が梯子状に連結した化学構造(ポリエーテル構造)を有し、かつ、単細胞藻類の渦鞭毛藻によって生産される。CTX 類は魚類に、BTX 類は二枚貝に蓄積され、構造的な修飾を受けて多様な類縁体を生じる。本研究の目的は、新規手法を導入することによって微量にしか得られない多数の類縁体の構造を決定し、VSSC との相互作用を解析することにある。

【実験】まず微量成分の構造決定法として、高エネルギーコリジョンが可能な FAB/MS/MS を検討した。構造既知の CTX 成分の Na 付加イオンを選択し、解裂イオンを検討した結果、分子両端に存在する vicinal または geminal な酸素 2 原子に Na イオンが固定され、電荷を有する化合物に特有な Charge Remote Fragmentation と同様なスペクトルが得られた。したがって、構造既知成分のスペクトルを鋳型に用いて未知成分の解析が可能と推定された。供試した CTX 類縁体は、肉食魚 2 種、藻食魚 1 種、および毒の起源渦鞭毛藻である *Gambierdiscus toxicus* から、夕チチの共同研究者によってマウス毒性を指標に精製された。提供を受けた 50 の画分は、いずれも 10  $\mu$ g 以下の量であり、同一成分を含むものが多く、かつ複数成分が共存して純度的にも不十分であったが構造解析には支障なかった。分子末端に水酸基を有する成分は 2-スルホベンゾエートとすることで、さらに詳細な解析を行った。スピロケタール環については、塩酸添加によって不安定型から安定型へと組み替えが起きることを利用して立体化学を区別できた。BTX 類縁体 3 成分は、ニュージーランドで神経性貝毒の原因となったイガイの 1 種から単離した。いずれも NMR と上述の FAB/MS/MS の併用によって構造を決定した。

【結果】CTX 類縁体では、既知化合物 7 成分と新奇類縁体 16 成分の構造が決定された。構造の修飾は分子両末端の酸化による水酸基やケトンの生成およびスピロケタール環の開環であった。CTX 類の強力なマウス毒性が VSSC との相互作用に基づいていると仮定すると、末端への極性基の導入(最大で水酸基 4、ケトン 1)は VSSC との結合あるいは膜透過性を阻害しないか、あるいは従来モデルとは異なる作用機構の存在が示唆された。

BTX 類縁体では、D 環の解裂とそれによって生じた水酸基のアシル化、末端側鎖のシステインとの抱合体の酸化とアシル化が明らかになった。システイン抱合体は、アミノ基、カルボキシル基、スルホキンド基などの極性基を有し、膜の透過性は極めて低いと予想されたにも拘わらず、強い VSSC 結合活性を示した。

以上の結果は、既知の化合物の構造に基づいて提唱されていた VSSC 貫通型あるいは膜透過型などのモデルでは考慮されなかった新しい知見である。

## A303 アンフォテリシン B 連結分子の作製と複合体形成

阪大院理 松森信明・松岡 茂・永楽哲嗣・山路奈保子・○村田道雄

【目的】アンフォテリシン B (AmB, 1) は最も重要な抗真菌物質のひとつであり、感染症治療に広く使われている。その抗真菌作用は主に真菌細胞膜に存在するエルゴステロールを認識してチャンネル複合体を形成することによって発現されると言われているが、分子複合体やステロール認識の分子機構はほとんど分かっていない。複合体の構造を正確に決定するためには、膜中における複合体を安定化することおよび複合体中の各 AmB 分子を区別することが重要である。そこで、本研究では AmB 分子同士(6)や AmB と脂質分子(7)およびステロール分子(8)を化学的に連結させた誘導体を調製し、これら 2 つの課題の解決を試みた。

【実験・結果】連結分子の調製には、AmB 分子中最も反応性の高いアミノ基を利用することとし、以下の誘導体をアミノ基のアルキル化およびアミド化反応等によって作製した。これらの AmB 誘導体について、ヒト赤血球に対する溶血活性を測定した結果、いずれも顕著な生物活性を示した。特に、6 など比較的長い連結部分を有する二量体は、AmB よりも一桁高い溶血活性を示した。また、7 や 8 なども AmB の半行程の活性を示した。これら連結分子の膜における複合体の構造解明を固体 NMR などの分光学的方法を用いて現在進めている。

