

|   |  |           |         |
|---|--|-----------|---------|
| 氏 名   | NGUYEN THI KHANH NGOC  |           |         |
| 授与した学位  | 博 士  |           |         |
| 専攻分野の名称   | 学 術  |           |         |
| 学位授与番号  | 博甲第  | 7 4 0 2   | 号       |
| 学位授与の日付   | 2 0 2 5 年 9 月 2 5 日  |           |         |
| 学位授与の要件   | 環境生命科学研究科 農生命科学専攻<br>(学位規則第 4 条第 1 項該当)  |           |         |
| 学位論文の題目   | Pair of <i>cis-trans</i> isomers as novel asteltoxin analogs with a hydroxylated $\alpha$ -pyrone moiety produced by solid-state fermentation of <i>Pochonia suchlasporia</i> TAMA 87<br>( <i>Pochonia suchlasporia</i> TAMA 87 株の固体培養により生産される水酸化された $\alpha$ -ピロン部位をもつ新規アステルトキシンの類の <i>cis-trans</i> 異性体ペア) |           |         |
| 論文審査委員  | 教授 田村 隆  | 教授 仁戸田 照彦 | 教授 神崎 浩 |
| 学位論文内容の要旨   |  |           |         |
| <p><u>Chapter 1.</u> In our previous study, asteltoxin H was isolated from the MeOH extract of solid-state fermentation (SSF) cultures of <i>Pochonia suchlasporia</i> TAMA 87. This compound was identified as the first member of a new series of asteltoxin analogs having a <math>\alpha</math>-pyrone moiety with a 3,5-dimethyl-2-pyrone-based structure. ET-4 was isolated as the second member of this series of compounds. The product ion mass spectrum of asteltoxin H and ET-4 showed characteristic product ions at <math>m/z</math> 137 and 123, which were found to be derived from the novel <math>\alpha</math>-pyrone moiety. Therefore, asteltoxin analogs with the same <math>\alpha</math>-pyrone moiety as that in asteltoxin H were searched using these ions as the diagnostic ions. LC/MS-MS analysis of the partially purified SSF culture extract indicated that peak 1 was one of the highly potential candidates of the new asteltoxin analogs. Thus, peak 1 was decided to be the target of this research.</p> <p><u>Chapter 2.</u> To obtain the target compound, <i>P. suchlasporia</i> TAMA 87 was cultivated on the rolled barley-based medium. The SSF culture harvested from 200 flasks was then extracted by MeOH to afford MeOH extract (31.5 g).</p> <p><u>Chapter 3.</u> The MeOH extract (31.5 g) was partitioned between EtOAc and water. The obtained EtOAc extract (13.8 g) was subsequently purified by silica gel column chromatography to afford nine fractions (F1-F7). Afterward, F4 (476 mg) was purified by preparative ODS-HPLC to give target compound peak 1 (11.22 mg). Peak 1 was proven to contain two compounds by <math>^1\text{H}</math>- and <math>^{13}\text{C}</math>-NMR spectra. Then, the separation was achieved by preparative C30-HPLC to obtain peak 1-a (4.3 mg) and peak 1-b (3.3 mg).</p> <p><u>Chapter 4.</u> The chemical structure of peak 1-b was elucidated by a combination of spectroscopic analyses. Comparing spectroscopic data of peak 1-b to those of asteltoxin H, the structure of peak 1-b was established as a new asteltoxin that differs from asteltoxin H in its <math>\alpha</math>-pyrone moiety. In detail, the methyl group on the <math>\gamma</math>-position of the <math>\alpha</math>-pyrone moiety in asteltoxin H was replaced by a hydroxymethyl group. Peak 1-b was a novel compound and named as asteltoxin U.</p> <p><u>Chapter 5.</u> The chemical structure of peak 1-a was also elucidated by a combination of spectroscopic analyses. Peak 1-a was identified as isomer of peak 1-b differing in the geometry of the double bond between C-11 and C-12 in the conjugated triene moiety. Peak 1-a was a novel compound and named as asteltoxin V.</p> <p><u>Chapter 6.</u> Two compounds were examined for their inhibitory activity toward the first cleavage of sea urchin embryos. Peak 1 showed inhibitory activity with a minimum inhibition concentration value of 3.1 <math>\mu\text{g/mL}</math>, whereas peak 1-a did not show inhibitory activity up to 25 <math>\mu\text{g/mL}</math>.</p> |  |           |         |

## 論文審査結果の要旨

本論文提出者の研究室では、糸状菌*Pochonia suchlasporia* TAMA87株の固体培養抽出物から新規アステルトキシシン類縁体であるET-1およびET-4が単離された。これまでに報告されたアステルトキシシン類は共通して同じ炭素骨格の $\alpha$ -ピロン部位を有しているのに対して、ET-1, ET-4の $\alpha$ -ピロン部位は異なる炭素骨格を有しており、新たなアステルトキシシン類化合物グループの存在が示唆された。そこで本論文提出者は、このグループに属する新たな化合物を見出すことを試みた。TAMA87株固体培養抽出物の部分精製画分をODS-HPLC分析に供したところ、10種類以上のピークがET-1, ET-4と類似したUVスペクトルを示した。これらのうち、ピーク1は、UVスペクトルにおける2つの極大波長がET-1, ET-4と比べてわずかに短波長側にシフトしており、ET-1, ET-4とは異なる保持時間で溶出された。そこで、ピーク1がET-1, ET-4と同じ化合物グループに属する新たな化合物であると考え、この化合物の精製、構造解析を行った。TAMA87株の固体培養物MeOH抽出物を溶媒分画、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、分取HPLCに供して精製し、ピーク1を11.22 mg得た。これを $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMRに供したところ、2本のシグナルのペアが複数観測され、ピーク1は、構造の類似した化合物2種の混合物であると考えられた。ピーク1は通常のODSカラムでのHPLC分析では1ピークとして検出されることから、異なる性質をもつ3種のカラムを用いて検討を行った。その結果、C30カラムを用いて50%MeOHで溶出することにより分離可能なことが判明し、その条件での分取HPLCにより、ピーク1を2つの化合物ピーク1-aおよびピーク1-bに分離し、それぞれ4.3 mg, 3.3 mgを得た。各種機器分析による構造解析の結果、ピーク1-bはET-1の $\alpha$ -ピロン部位の $\gamma$ -メチル基が水酸化された構造を有する化合物であること、ピーク1-aは、ピーク1-bの共役トリエン部位の中央の二重結合が*trans*から*cis*となった幾何異性体であり、ともに新規化合物であることが判明した。両化合物をウニ胚卵割阻害試験に供したところ、ピーク1-bが最小阻害濃度3.1  $\mu\text{g/mL}$ で阻害活性を示したのに対し、ピーク1-aは25  $\mu\text{g/mL}$ においても阻害活性を示さなかったことから、これらの化合物の共役トリエン部位の幾何異性が生物活性に関与していることが考えられた。本論文提出者は学術論文1報、国際学会1回の発表を行っている。以上のことから、本論文内容は博士の学位に見合うものと判定する。