

学 位 論 文 題 名

塊茎形成誘導物質の化学的研究

学位論文内容の要旨

植物の生活環を構成する種々の生理現象、すなわち発芽、成長、開花、結実、老化などは主として植物ホルモンによって制御されている。現在までに auxin, cytokinin, gibberellin, abscisic acid, ethylene が植物ホルモンとして認められている。しかしこれらの植物ホルモンのみでは説明されない幾多の現象、及び微量で種々の生理現象に関わる化合物の報告がなされている。このような化合物の検索は植物生理学的研究に多大な知見をもたらすのみならず、植物化学調節剤などのリード化合物に結びつく可能性があり、さらなる研究が望まれる分野と思われる。以上のことから既知の植物ホルモンのみでは解明のなされていない作物の塊茎形成誘導について化合物レベルでの解明を試みた。またバレイショマイクロチューバー形成を誘起する化合物の検索は植物生理学上極めて重要と考えられた。また農業上、以下の点で多大な有効性を含んでいると考えられた。

- 1) 馬鈴薯品種改良期間の短縮、
- 2) 馬鈴薯の早晩生の判定、
- 3) 種薯の輸送コストの削減、
- 4) 無菌的に育成された種薯の使用による生産性の向上、
- 5) 親薯の優秀な形質の効率的な次世代への転換、
- 6) 植物界における塊茎形成機構解明の手段

以上のことから微生物由来のバレイショマイクロチューバー形成誘導物質の検索を行った。上記の化合物を探る生物検定法としてバレイショ茎断片組織培養法を用いた。

1. バレイショ、キクイモ塊茎形成誘導物質

バレイショ（ナス科、*Solanum tuberosum* L.）塊茎形成誘導物質については Omer らにより tuberonic acid glucoside が明らかにされているが、さらにバレイショ葉部からそのアグリコン、epituberonic acid を単離した。また活性を示す化合

物として ethyl caffate の存在を明らかにした。さらに活性は示さないが新規セスキテルペン、tuberone を単離した。(Fig. 1)

植物界での塊茎形成誘導物質の普遍性、並びに特異性を比較するため実験材料として科の異なるキクモ (キク科、Helianthus tuberosus L.) を用い、その葉部から、methyl epituberonate glucoside 及び 6 種の新規ポリアセチレン配糖体、methyl helianthenate A、B、C、D、E、F glucoside を単離し、その構造を決定した。また、jasmonic acid、heliangine が活性を示す化合物として単離された。(Fig. 2)

epituberonic acid の絶対配置については ORD 及び、jasmonic acid 類の  $^1\text{H-NMR}$  の比較により (1R、2R) と決定した。Tuberone の相対配置は NOE、NOESY、カップリング定数により決定した。7 位の絶対配置は tuberone を N、N-dimethylaminobenzoyl 体に誘導し、円二色性励起子カイラリティー法を適用し (7R) と決定した。ポリアセチレン配糖体の glucosyloxymethine の絶対配置については化学合成的誘導、並びに化学合成によって (R) と決定した。(scheme 1、II)

塊茎形成誘導については jasmonic acid、epituberonic acid、methyl epituberonate glucoside は  $10^{-6}$  M 程度の濃度で塊茎形成を誘導した。ポリアセチレン配糖体、ethyl caffate、heliangine は実験に用いるバレイショの貯蔵期間によりばらつきがあるものの、 $10^{-4}$  M、 $10^{-3}$  M 程度の濃度で塊茎形成を誘導した。科の異なる 2 種の植物から tuberonic acid 関連化合物単離されたことから、tuberonic acid は植物の塊茎形成誘導にたいして普遍的に働いていることが考えられた。

## 2. 微生物由来のバレイショマイクロチューバー形成誘導物質

Lasiodiplodia theobromae IFO 31059 の培養濾液にその活性を確認した。種々のカラムクロマトグラフィー、HPLC によりこの培養液を精製し、mellein、theobroxide、(5R)、(5S) - 5-hydroxylasiodiplodine、jasmonic acid を単離し、その構造を決定した。(Fig. 3)

新規化合物 theobroxide の絶対配置については、その誘導体に円二色性励起子カイラリティー法、改良 Mosher 法を適用し、決定した。また 2 種の新規化合物 (5R)、(5S) - 5-hydroxylasiodiplodine の水酸基の置換様式については改良 Mosher 法を適用し決定した。3 位の立体については本菌の代謝産物である lasiodiplodine の 3 位の配置が S であ

ることから、(5R)、(5S)-5-hydroxylasiopiplodineにおいても同様にSであると考えられる。

バレイショマイクロチューバー誘導についてはtheobroxideは $10^{-5}$ M程度の濃度でマイクロチューバーを誘導した。Melleinは実験に用いるバレイショの貯蔵期間によりばらつきがあるものの、 $10^{-4}$ M、 $10^{-5}$ M程度の濃度でマイクロチューバーを誘導した。

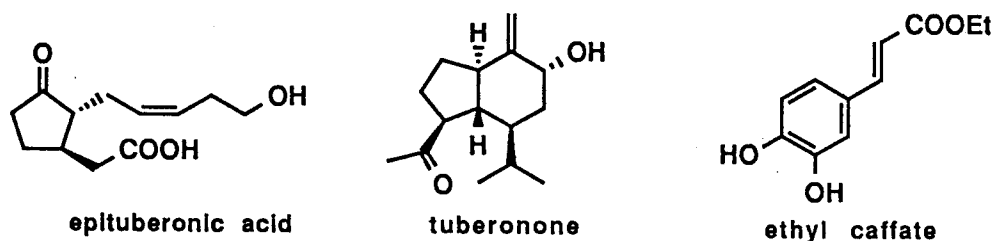


Fig. 1

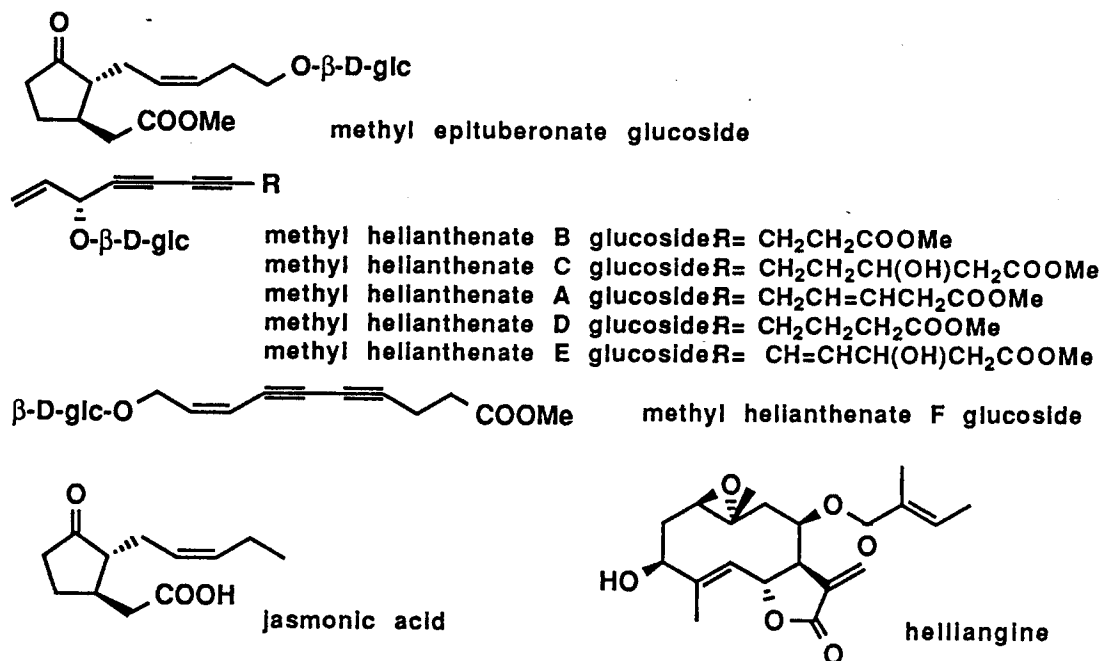
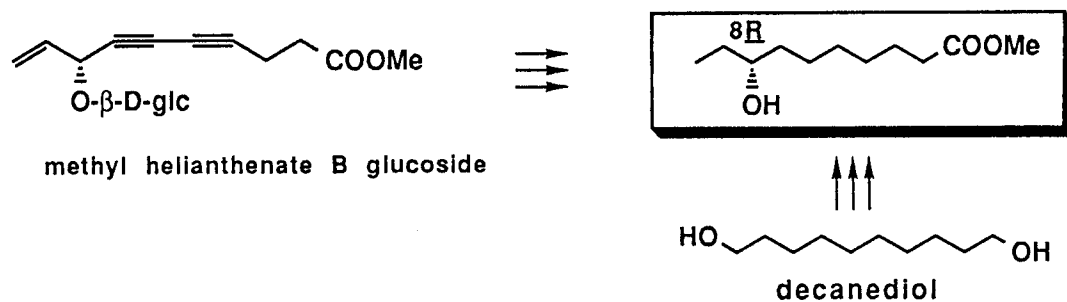


Fig. 2

scheme I



scheme II

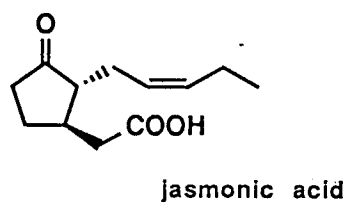
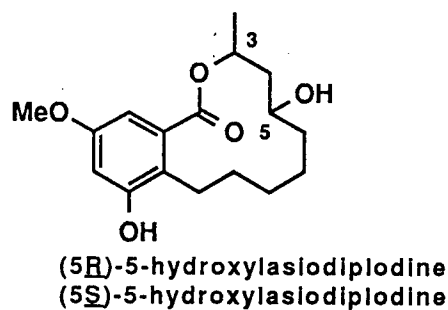
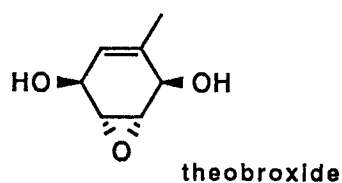
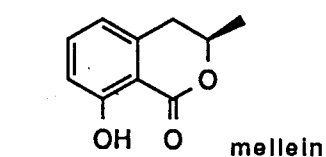
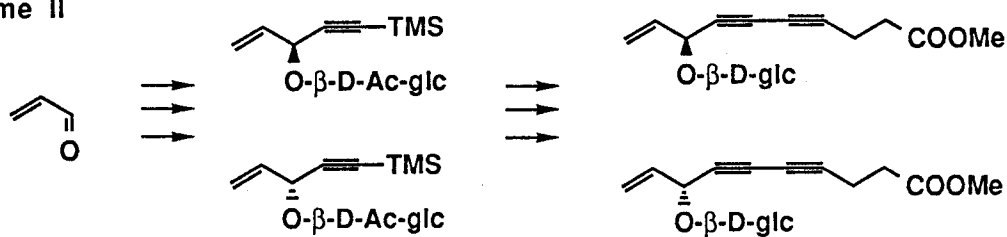


Fig. 3

## 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 市 原 耿 民  
副 査 教 授 水 谷 純 也  
副 査 教 授 喜久田 嘉 郎  
副 査 助教授 吉 原 照 彦

### 学 位 論 文 題 名

塊茎形成誘導物質の化学的研究

本論文は緒論、本文2部で構成され、図64、スキーム5、表78、引用文献132を含む、総頁数168頁の和文論文である。ほかに、参考論文5編が添えられている。

植物貯蔵器官である塊茎の形成は、種々の環境要因によって支配されている。なかでも、日長の影響が最も大きく、誘導条件下、葉部で形成された活性物質は地下部へ移行し、ストロン先端部細胞の肥大を誘起し、その後の細胞分裂を経て塊茎が形成される。この活性物質については、バレイショ (*Solanum tuberosum*) から単離された tuberonic acid glucoside が明らかにされているのみである。そこで著者は、バレイショ塊茎形成誘導物質の検索をさらに進めた。また、科は異なるが、バレイショと同様に短日条件下で塊茎を形成するキク科キクイモ (*Helianthus tuberosus*) の塊茎形成誘導物質の検索を行なった。以上の研究には、バレイショ黄化徒長茎培養法を生物検定に用いたが、これを微生物の代謝産物に適用し、微生物起源のバレイショマイクロチューバー形成物質の研究も行っている。

バレイショ塊茎形成誘導物質として、葉から新たに tuberonic acid を単離し、この立体化学が天然の epijasmonic acid と同じく 1R、2Sであることを明らかにした。また活性は認められないが新

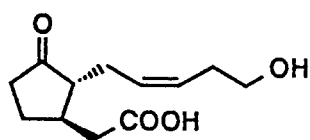
規セスキテルペン tuberone を単離し立体化学を含めた構造を決定した。

キクイモ塊茎形成誘導物質については、葉部を用い種々のクロマトグラフィーで精製を行ない、二群の化合物の存在を明らかにした。一つは、バレイショと同じ methyl tuberone glucoside である。本物質がキクイモから単離されたことより、tuberonic acid が植物塊茎形成誘導に普遍的に関与している可能性を示した。他の一群として、6 種の新規ポリアセチレン化合物 (helianthenic acid A~F) をアグリコンとするグルコース配糖体を単離した。各種機器分析により平面構造を決定し、化学合成により立体化学を明らかにしている。さらに、これらアセチレン化合物に共通の部分構造 (glucosyloxy methine) について、R 体、S 体の 2 種の化合物を合成し NMR のケミカルシフトの差異を検討することにより、同様の部分構造を有する化合物の立体化学を NMR によって決定する方法を開発している。なお、これら二群の化合物の他に、既知化合物 heliangine も活性を示すことが明らかとなった。

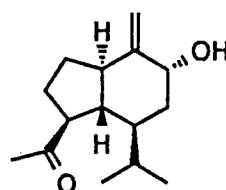
微生物起源のマイクロチューバー形成物質の単離を目的に、糸状菌の代謝産物を検索した結果、Lasiodiplodia theobromae が数種の活性物質を代謝することが明らかとなった。シクロヘキセン化合物 theobroxide と 4 (R)- および 5 (S)-hydroxylasiodiplodine の 3 種の新規化合物を単離し、立体化学を含めた構造を明らかにした。これらの化合物は、バレイショマイクロチューバー生産の実用化に用いられることが考えられ、特に theobroxide は tuberonic acid と同程度の活性を示し、また安定な化合物であることから可能性は高い。

以上のように、著者は内生塊茎形成誘起物質および微生物起源マイクロチューバー形成物質を明らかにしたが、これらの化合物は今後の植物塊茎形成誘導機作の解明に役立つだけでなく、生物有機化学に新しい知見を加えるものである。

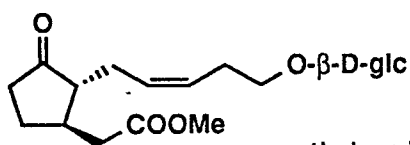
よって審査員一同は、最終試験の結果と合わせて、本論文の提出者松浦英幸は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格があるものと認定した。



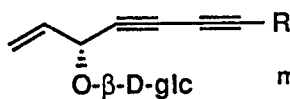
epituberonic acid



tuberone



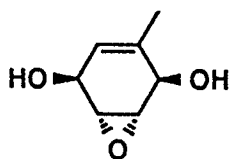
methyl epituberonate glucoside



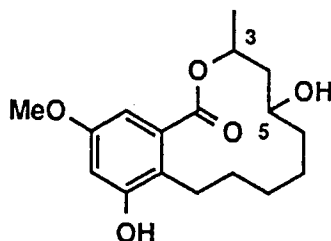
- |                                   |    |                                                             |
|-----------------------------------|----|-------------------------------------------------------------|
| methyl hellanthenate B glucoside: | R= | CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOMe                       |
| methyl hellanthenate C glucoside: | R= | CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH(OH)CH <sub>2</sub> COOMe |
| methyl hellanthenate A glucoside: | R= | CH <sub>2</sub> CH=CHCH <sub>2</sub> COOMe                  |
| methyl hellanthenate D glucoside: | R= | CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOMe       |
| methyl hellanthenate E glucoside: | R= | CH=CHCH(OH)CH <sub>2</sub> COOMe                            |



methyl hellanthenate F glucoside



theobroxide



(5R)-5-hydroxylasiodiplodine  
(5S)-5-hydroxylasiodiplodine