

学 位 論 文 題 名

植物毒素アルタナル酸の立体化学と全合成、
及び新規関連化合物の単離、構造研究

学位論文内容の要旨

近年、天然有機化学の分野に於いて、飛躍的に進歩した単離技術や構造決定法により種々の生理活性物質の構造が明らかにされ、合成、生合成を含めた幅広い研究がなされている。その中で特に発展がめざましい分野に " 植物病原菌の生産する生理活性物質 " を対象とする研究がある。これらの生理活性はその殆どが微量で極めて顕著な活性を示すため、有機化学の分野のみならず、薬理学、病理学などの各方面から注目を浴びている。

アルタナル酸はジャガイモ夏疫病菌 (*Alternaria solani*) の生産する植物毒素であり、最近の研究ではその条件をすべて満たすわけではないものの、その作用様式が宿主特異的毒素 (host-specific toxin) のそれに類似していることが報告されており、本病における第一義的な病原性決定因子として考えられるようになってきた。また、化学的立場からではアルタナル酸は分子内にトリカルボニルメタン構造を有し、さらに側鎖には3連続した不斉中心やエキソオレフィンなどを有する高度に官能基化された化合物であり、合成対象としても非常に興味を持たれる。本論文では植物病原菌の代謝毒素としてアルタナル酸の立体化学の決定と全合成を意図とし、さらに新規関連化合物の単離、構造研究、生合成、及び構造活性相関研究を行った。

アルタナル酸の全合成研究では、アルタナル酸を3つのセグメント A、B、そして C に分け、これらをそれぞれ合成し、その後各セグメントの縮合により全合成を達成した (Scheme 1)。まず、セグメント A では立体化学の明かでない不斉炭素を2ケ含むため、(S)-2-メチルブタノールを出発原料とし、ジアステレオ選択的なオスミウム酸化とシリルエーテル保護基とアセタール保護基の選択的な除去を鍵として可能な4種のジアステレオ異性体を全て合成し、天然物の分解物とデータを比較することでアルタナル酸の絶対立体配置を決定し、それと同時に合成中間体、セグメント A を得た。セグメント B はイタコン酸メチルを原料に、逆 Diels-Alder 反応を利用することでオレフィンの保護を

行い、効率の良い合成経路を開発した。セグメント C は (*R*)-3-ヒドロキシ酪酸メチルと酢酸 *t*-ブチルから Claisen 縮合と加水分解反応のわずか 2 段階で合成した。本全合成において最も鍵となる段階が各セグメントの縮合であり、セグメント A と B の縮合は Julia オレフィン化反応により行い、セグメント AB と C の連結は今回新たに開発した改良 Fries 型転位反応により行った。つまり、Julia オレフィン化反応ではほとんど前例のない 3 級で、しかも隣接炭素原子にメトキシカルボニル基を有するアルデヒド(セグメント A)を用い、セグメント B であるフェニルスルホンアニオンとのカップリングの条件を見出し、セグメント AB を得た。セグメント AB と C の縮合では DCC と DMAP を用いた改良 Fries 型転位反応により、カルボン酸と β -ケト- δ -バレロラク톤からわずか 1 段階で 3-アシル-5,6-ジヒドロ-4-ヒドロキシ-2-ピロン構造を合成し、アルタナル酸の全炭素骨格を構築した。最後に、保護基の除去は分子内のカルボキシル基をうまく利用したより温和な加水分解反応により行い、アルタナル酸(1)のはじめての全合成に成功した。

また、今回開発した改良 Fries 型転位反応を、トリカルボニルメタン構造を有する他の化合物合成への応用を検討した結果、3-アシル-5,6-ジヒドロ-4-ヒドロキシ-2-ピロン構造以外に、3-アシル-4-ヒドロキシ-2-ピロン、2-アシル-3-ヒドロキシ-2-シクロヘキセン-1-オン、そして 5-アシル-2,2-ジメチル-1,3-ジオキササン-4,6-ジオン(アシル Meldrum's 酸)構造の合成にも応用が可能であることを見出した(Scheme 2)。

また、*A. solani* 培養液から新規アルタナル酸関連化合物の検索を行ったところ、新たに 10-デオキシアルタナル酸(2)、10-デオキシ-6,19-ジヒドロアルタナル酸(3)、10-デオキシ-6,8,9,19-テトラヒドロアルタナル酸(4)、(10*E*)-10,11-デオキシ-10,11-デヒドロ-6,19-ジヒドロアルタナル酸(5)、そして 10,11-デオキシ-6,19-ジヒドロアルタナル酸(6)の 5 種の新規アルタナル酸関連化合物を単離し、各種スペクトルデータの解析により平面構造を決定した。また、これらの立体化学の決定はスペクトルデータの解析、分解反応、及び化学的関連付けにより行い、量的に十分であった化合物 2、3、そして 4 の全絶対立体配置を、微量成分であった化合物 5 と 6 に関してはその一部の立体化学を明らかにした。

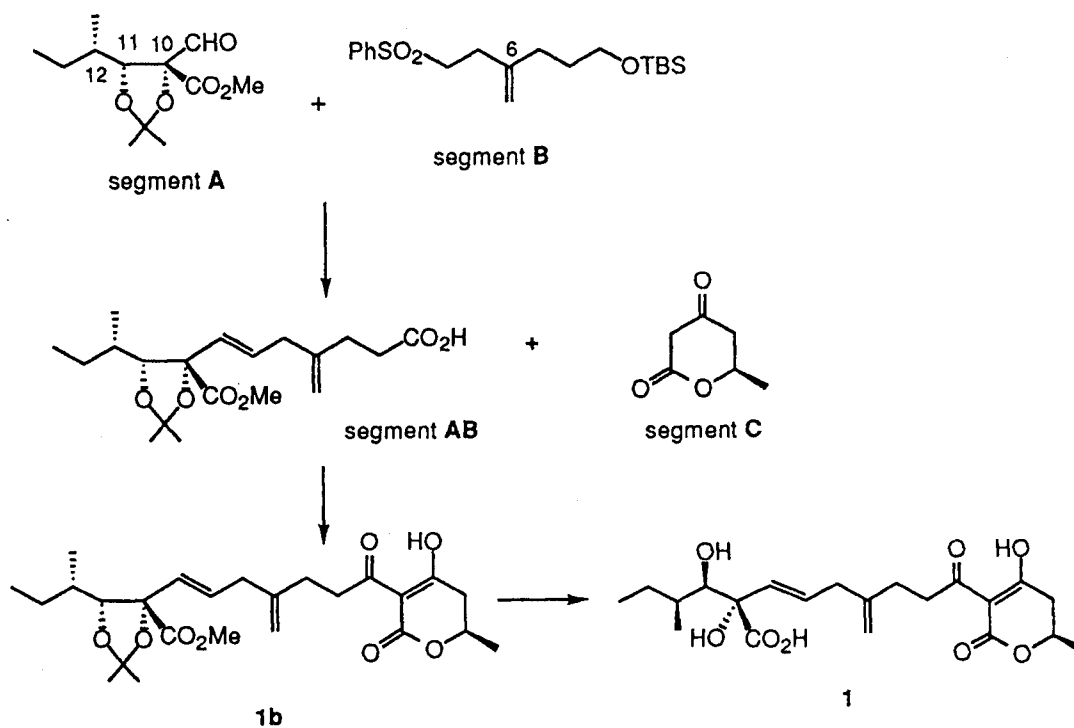
また、これら今回新たに単離したアルタナル酸類や合成研究の際に得られたアルタナル酸の各セグメントなどを用いた宿主植物に対する生理活性試験を行い、アルタナル酸(1)の構造活性相関に関する知見を得た。つまり、アルタナル酸において C-10 位の 3 級水酸基や C-6 位のエキソメチレン基は植物毒素活性に重要であり、特に C-6 位のエキソメチレン基は植物毒素活性に対し大きく関与していることが示唆された。また、側鎖構

造部分と 3-アシル-5,6-ジヒドロ-4-ヒドロキシ-2-ピロン構造部分との間では宿主植物に対する作用様式が異なることを示唆する結果が得られた。

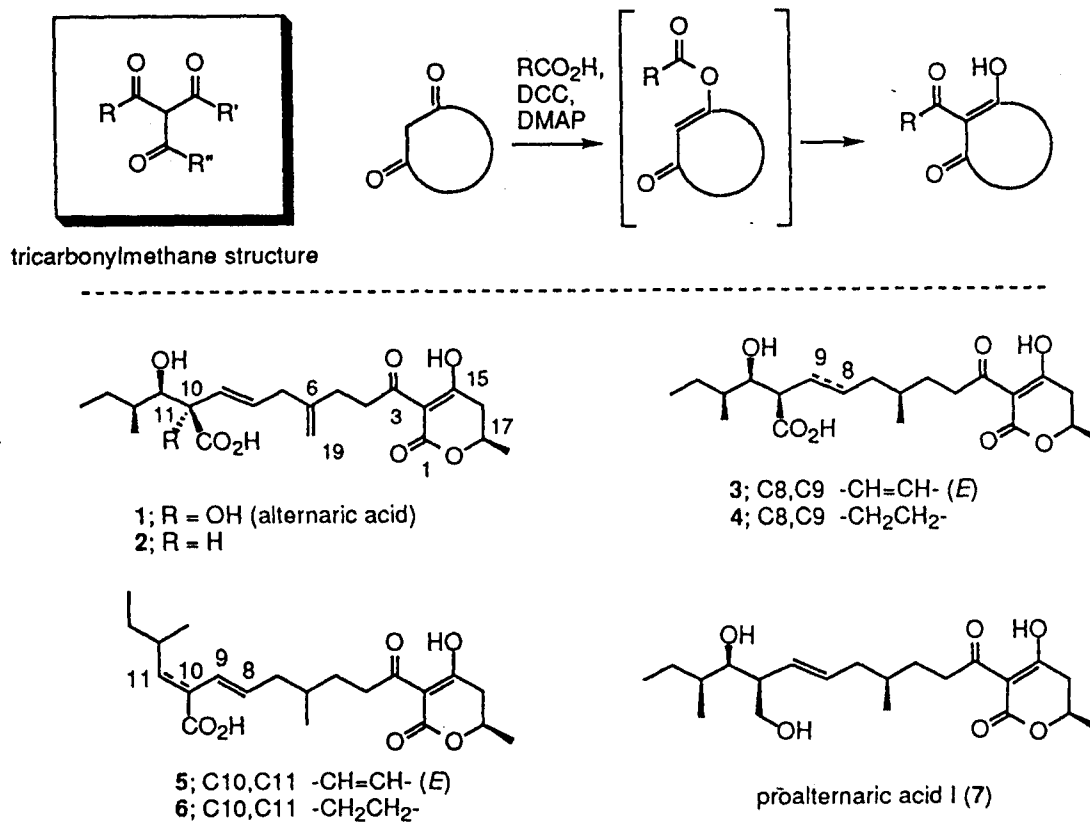
さらに、新規アルタナル酸類の構造的情報、各種同位体標識化合物のアルタナル酸類への取り込み実験の結果、及びチトクローム P-450 阻害剤添加実験によるアルタナル酸類の生産量変動分析等から、1) アルタナル酸(1) は 1 本鎖のポリケチド鎖からではなく、むしろ C_{14} と C_4 か C_{12} と C_6 の 2 本のポリケチド鎖から生合成されること、2) C-8 位と C-9 位の二重結合は炭素骨格形成時にできること、3) アルタナル酸における C-11 位の酸素原子は酢酸に由来するのではなく、むしろ空気中の酸素分子が水分子に由来すること、3) C-20 位のカルボキシル基はヒドロキシメチル基あるいはメチル基から順次酸化され生成すること、4) C-6 位のエキソメチレン基は 2 級メチル基から生成すること、5) C-10 位の 3 級水酸基はアルタナル酸生合成の最終段階に立体保持のまま導入されること等を支持する結果を得た。また、これらを総合的に考慮することによりアルタナル酸の推定生合成経路を提案した。また、チトクローム P-450 阻害剤添加実験ではより酸化度の低いアルタナル酸関連化合物、プロアルタナル酸 I (7) が新たに蓄積し、これを単離、構造決定し、さらには合成研究を行った。これにより、水酸化酵素チトクローム P-450 阻害剤を用い、関連化合物の量的変動を解析することやより酸化度の低い関連化合物を単離構造決定することが糸状菌二次代謝産物の生合成研究に有効な手段となることを示した。

以上、植物毒素アルタナル酸のはじめての全合成、全立体化学、新規関連化合物の単離、構造研究、構造活性相関、及び生合成研究の結果はアルタナル酸の病原性決定因子としての作用機作解明に役立つのみならず、他の有用な生理活性物質の開発に繋がるものと考えられる。

Scheme 1



Scheme 2



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 吉 原 照 彦

学 位 論 文 題 名

植物毒素アルタナル酸の立体化学と全合成、 及び新規関連化合物の単離、構造研究

本論文は3章からなる総頁数177頁の和文論文である。図37、表11、スキーム31を含み、別に参考論文7編が添えられている。

植物毒素は植物病害における病徴の発現に関わる重要因子としての役割が解明されているが、一方これらの毒素類は植物生長調節物質としての利用の可能性を秘めており、多面的応用研究が展開されている。最近、植物毒素アルタナル酸(1)がバレイショ疫病菌の感染により起こるバレイショの過敏感細胞死を著しく遅延させることが明らかとなり、注目されている。本論文はアルタナル酸の立体化学を決定し、全合成を完成ずるとともに、同病原菌より新規関連化合物の単離、構造研究を行い、生合成研究を経てアルタナル酸の生成機構を論じたものである。

第1章ではアルタナル酸の立体化学と全合成について述べている。アルタナル酸の平面構造は1960年に古典的な分解反応を駆使することによって決定されていたが、立体化学については4個のキラル炭素の中で、C-12位とC-17位の絶対配置は分解物の旋光度から、それぞれSとRと推定されるが、C-10位とC-11位の立体化学は不明のままであった。(S)-2-メチルブタノールを出発原料とし、ジアステレオ選択的なオスミウム酸化と水酸基およびホルミル基の選択的保護と脱保護を鍵反応として、分解物に可能な4個の立体異性体を合成し、天然物由来の分解物と比較することによりアルタナル酸の絶対配置を決定した。この過程でアルタナル酸の全合成に利用できるセグメントAを得ており、これを用いて、Scheme 1に示した経路で全合成を完成している。即ち、イタコン酸メチルを原料に、Diels-Alder反応を含む効率の良いセグメントBの合成法を開発し、得られたセグメントBとセグメントAを縮合させ、セグメントABを得た。セグメ

ントABとCの連結は新たに開発した改良Fries型転位反応を用いている (Scheme 2)。この反応はカルボン酸と β -ケト- δ -バレロラクトンから1段階で3-アシル-5,6-ジヒドロ-4-ピロンを合成する方法であり、トリカルボニルメタン構造を有する他の化合物にも応用が可能であることを見出している。この方法で得られた多数の転位化合物を用いて、構造-生物活性相関研究に発展させた。アルタナル酸の全炭素骨格を有する転位化合物は最終的に保護基を除去し、アルタナル酸のはじめての全合成に成功している。

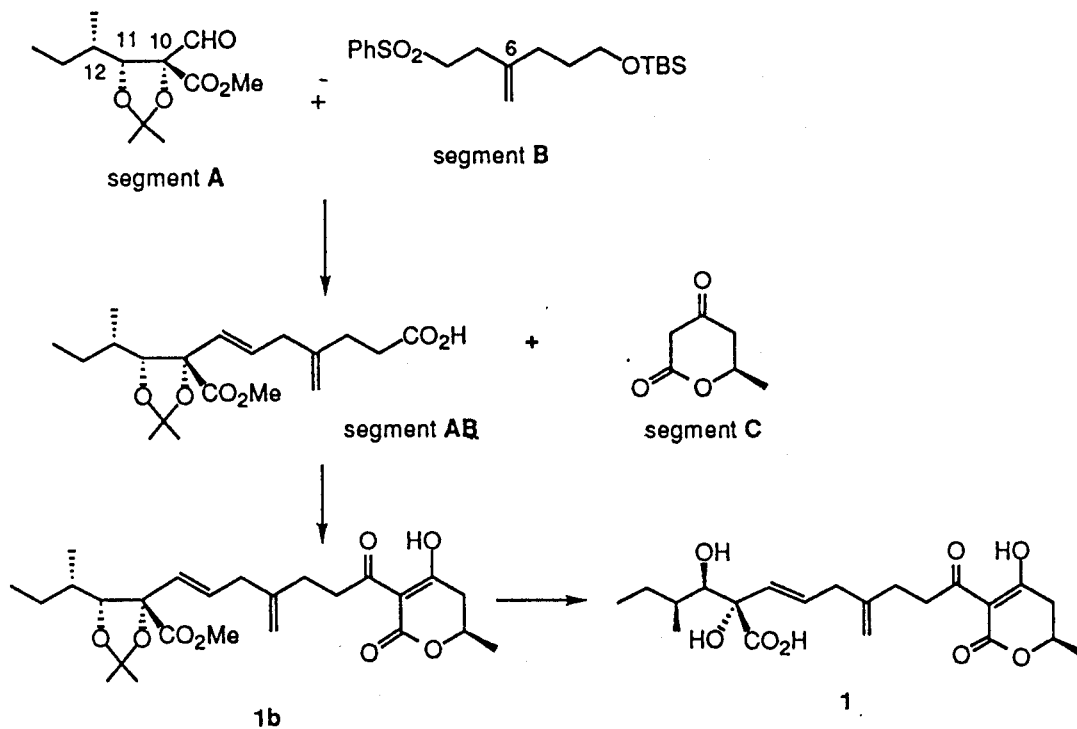
第2章では新規アルタナル酸関連化合物の単離と構造決定について述べられている。バレイショ夏疫病菌がアルタナル酸関連毒素を生産している可能性と生合成研究を行うため、代謝産物の検索を行った。その結果10-デオキシアルタナル酸(2)、10-デオキシ-6,19-ジヒドロアルタナル酸(3)、10-デオキシ-6,8,9,19-テトラヒドロアルタナル酸(4)、(10E)-10,11-デオキシ-10,11-デヒドロ-6,19-ジヒドロアルタナル酸(5)、10,11-デオキシ-6,19-ジヒドロアルタナル酸(6)の5種の新規アルタナル酸関連化合物を単離し、各種スペクトルデータの解析により、これらの平面構造を決定している。さらに分解反応および化学的関連付けにより2,3,4の全立体化学を、微量成分5,6に関してはその一部の立体化学を明らかにしている。

単離したアルタナル酸関連化合物や合成研究の過程で得られたアルタナル酸の各セグメントを用いた宿主植物に対する生理活性試験により、C-10位の水酸基と特にC-6位のエキソメチレン基が植物毒性発現に大きく関与していることが明らかとなった。また側鎖構造部分とピロン構造部分との間では宿主植物に対する作用様式がことなり、前者は褐変化、後者は胚軸の湾曲化に関与しているものと推定している。

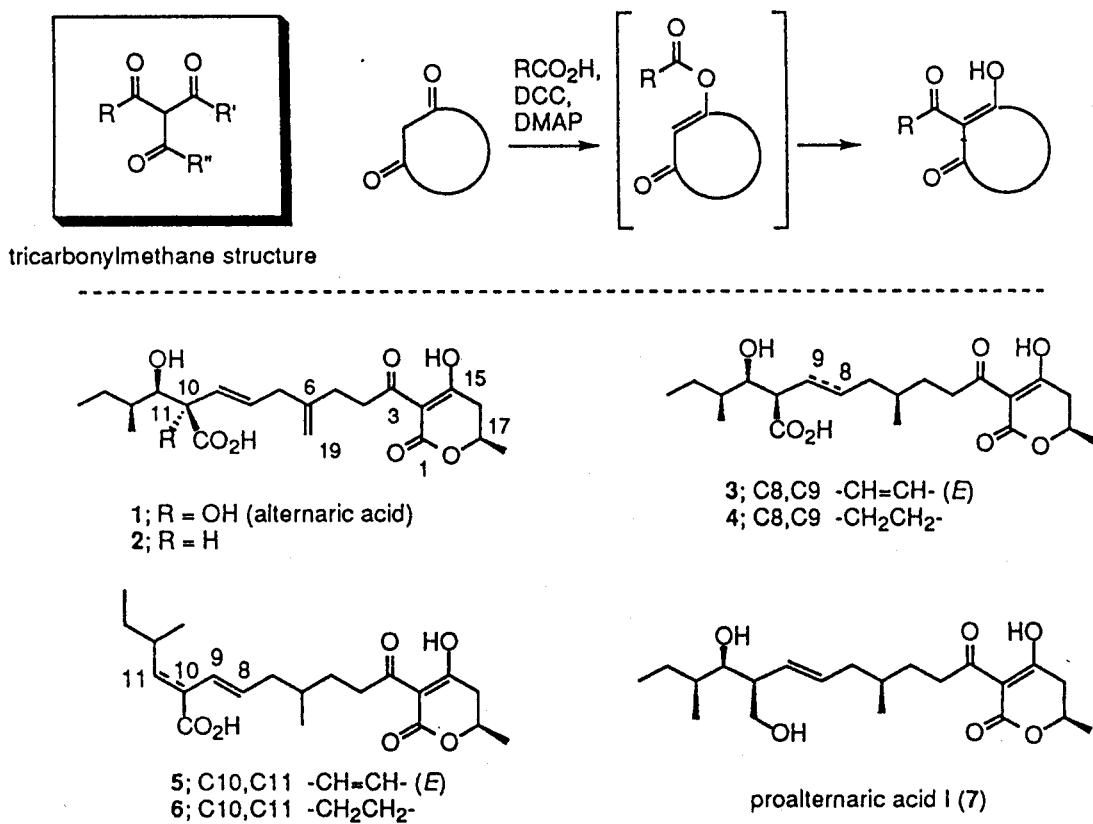
さらに新規アルタナル酸類の構造、各種同位体標識化合物のアルタナル酸類への取り込み実験、およびチトクロームP-450阻害剤の添加実験によるアルタナル酸類の生産量変動分析等から推定生合成経路を提案している。特にチトクロームP450阻害剤の添加ではプロアルタナル酸(7)が蓄積することから、これが順次酸化され、アルタナル酸へ変換されるものと推定した。

第3章は第1章、第2章の実験部である。

Scheme 1



Scheme 2



以上のように、本研究は植物毒素アルタナル酸の生物有機化学を多面的に展開し、植物病理化学のみならず天然物化学に対しても多くの知見を加えたものであり、学術的に貢献するところ極めて大である。よって審査員一同は、最終試験の結果と合わせて、本論文の提出者田淵浩康は博士（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。