

学 位 論 文 題 名

ヒノキ漏脂病菌 *Cryptosporiopsis abietina* および、
マツ類の青変病菌 *Ceratocystis piceae* の産生する
生理活性物質に関する化学的研究

学位論文内容の要旨

現在までに多くの植物生理活性物質が微生物、特に植物病原菌の代謝産物中に見いだされている。しかし、植物病原菌の中で樹木病原菌の生産する植物生理活性物質の探索研究は、農作物（草本植物）のそれと比べて研究例が少ない。樹木病原菌の生産する生理活性物質の検索は、植物病理学の一分野である樹病学的見地から望まれているだけでなく、農薬や医薬などのリード化合物の発見に結び付く可能性がある。著者は、簡便な生理活性試験法を考案、または利用することで、ヒノキ漏脂病菌およびマツ類の青変病菌の産生する、abscisterol類などの新規生理活性物質の単離、構造決定に成功した。

本論文の第一部において、ヒノキ漏脂病の病徴である樹脂流出がヒノキ漏脂病菌 *Cryptosporiopsis abietina* の生産する物質による継続的刺激によって引き起こされるという仮説をたて、新たに考案したヒノキ鱗片葉を用いた生理活性試験を指標として *Cryptosporiopsis abietina* の菌体 *n*-ヘキササン画分について生理活性物質の検索を行い、ヒノキ鱗片葉の結合部分を脱離させる活性をもつ新規化合物abscisterol A (1) を単離した (Fig. 1)。1 の構造は、1D-および2D-NMRより相対立体構造を、改良Mosher法ならびに1の酸化反応により得た3-oxoabscisterol AのCDスペクトルを測定することにより絶対

立体配置を決定した。1は構造的な特徴として、21-nor- $\Delta^{17(20)}$ -E-二重結合と、4 β ,19-エーテル結合を有していた。現在までに、天然より $\Delta^{17(20)}$ -二重結合を有するステロイドは数種類報告されているが、21位の炭素を失ったものは1が初めてであり、その生合成機構について興味を持たれる。*Cryptosporiopsis abietina*の菌体n-ヘキサン画分についてさらに検索を行い、1の構造類縁体である21位の炭素を失った abscisterol B~F (2~6) ならびに21位がカルボキシル基となった 21-oic acid型のステロール (7)を単離構造決定した(Fig. 1)。これら関連化合物の構造を考慮して、abscisterol Aの構造的な特徴である21-nor- $\Delta^{17(20)}$ -E-二重結合の生成機構は、21-oic acid型ステロールの17位に脱離基をもつ仮想中間体の脱炭酸と共に形成されると予想した。またその他の成分として、ステロールおよび芳香族化合物を単離し、構造決定または同定した(Fig. 1)。*Cryptosporiopsis abietina*から単離した1, abscisterol B (2), D (4), ergosterol (9), ergosterol peroxide (8), 芳香族化合物である 10, 11ならびに植物ホルモンのアブシジン酸(ABA), インドール酢酸(IAA), ナフタレン酢酸(NAA), 市販のステロール4種類についてヒノキ鱗片葉脱離活性試験を行ったところ、1, 2, 4, ergosterol, IAAおよびNAAにのみ脱離活性が認められた。脱離活性の強さは、abscisterol類の間では、1, 4, 2の順で活性が強く、IAAとNAAは1と同程度の活性、ergosterolは abscisterol類と比べてかなり弱い活性を示した。本論文では漏脂現象とabscisterol類の示す鱗片葉脱離活性の関係を明らかにするには至らなかったが、ヒノキ漏脂病抵抗性候補木ならびに罹病性木の鱗片葉について1に対する感受性を試験したところ、1が低濃度の場合において、抵抗性候補木のなかに脱離活性が現われるまでに時間がかかるもの、または脱離活性の現われないものが認められ、1を漏脂病抵抗性候補木の選抜育種に利用できる可能性が示された。また、1, 2, 4の薬理活性について依頼試験を行ったところ、colchicineにより誘導されるアポトーシス型神経細胞死を抑制する効果が見られた。アポトーシス型神経細胞死は、アルツハイマー病などの脳の疾患に深く関与していると考えられている。

1, 2, 4のアポトーシス型神経細胞死抑制効果は、1に対して行われた他の活性試験の結果から、ある種のタンパク質リン酸化酵素に対する阻害作用が関与している可能性が考えられる。

第二部では、マツ類の青変病菌である *Ceratocystis piceae* の代謝産物について、レタス実生に対する生育阻害活性試験と、*Cladosporium herbarum* を用いた TLC bioautography による抗菌活性試験を指標として生理活性物質の検索を行い、活性物質として 3,5-dihydroxytetradecanoic acid より誘導される化合物群と、安息香酸ならびにフェニル酢酸の誘導体を単離した。単離した化合物について、1D-および 2D-NMR、化学合成、改良 Mosher 法、化学変換ならびに CD スペクトルの比較などにより絶対配置を含めた化学構造を決定した (Fig. 2)。得られた活性物質のなかでは δ -ラクトン 12 が最も生成量が多く、レタス実生に対する生育阻害活性も試験した化合物の中で最も強いことから、*Ceratocystis piceae* の病原性に深く関わっていると考えられた。量的に多く得られた 12 および 13、ならびにこれら二つの天然物から化学変換によって得られた δ -ラクトン 16, 17, 18 (Fig. 3)、化学合成によって得られた安息香酸誘導体 14、フェニル酢酸誘導体 15 について、*Ceratocystis piceae* の宿主であるアカマツの幼苗に対する生理活性試験を行った。レタスの場合と同様に 12 が根にネクローシスを引き起こし、試験した化合物の中では最も強い生育阻害活性を示した。根を切ったアカマツ幼苗を用いた試験では、12 は生育阻害活性を示さなかったことから、12 は根の細胞にネクローシスを引き起こし、生育阻害活性は二次的に現われたものと考えられる。

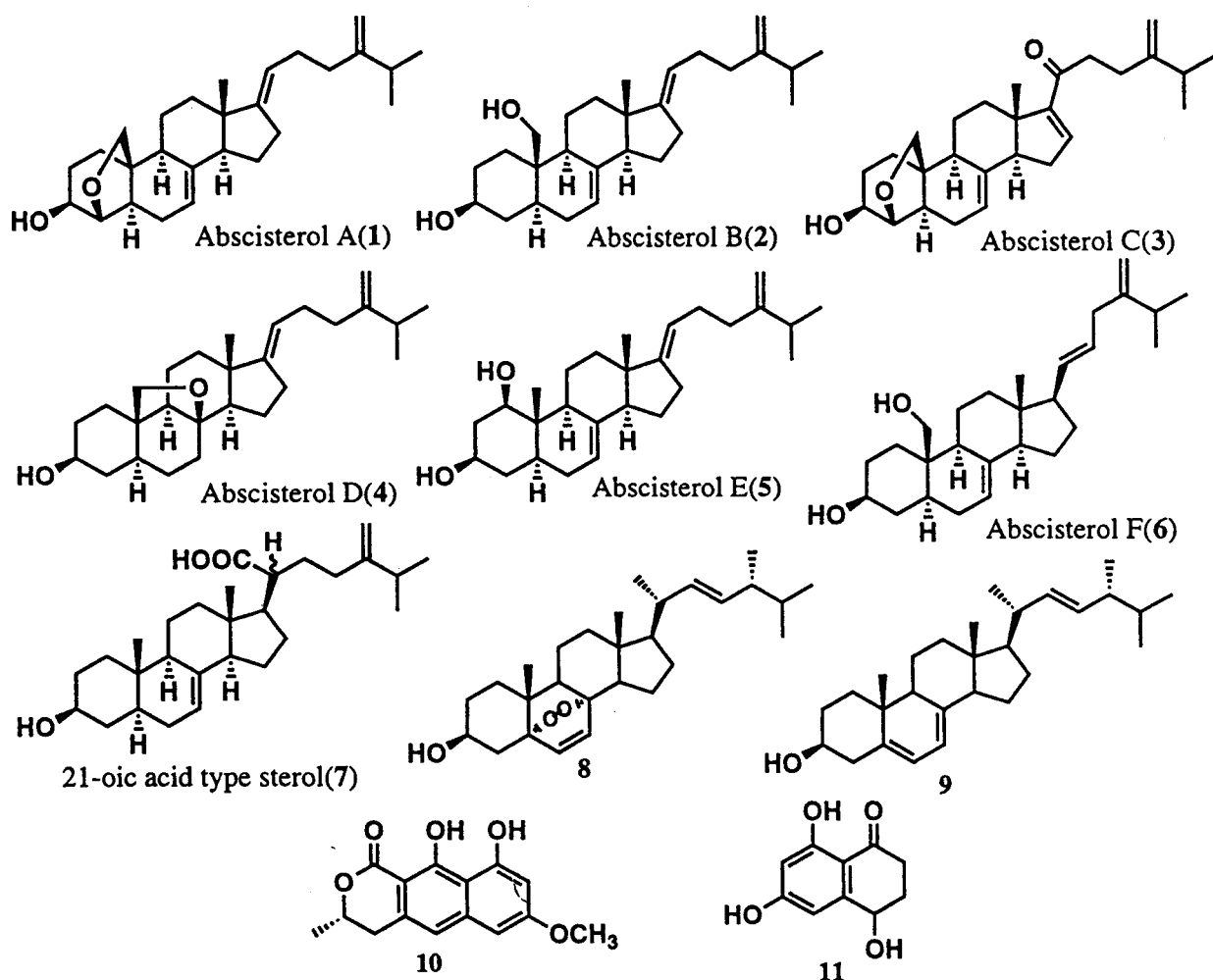


Fig. 1 *Cryptosporiopsis abietina*より得られた化合物

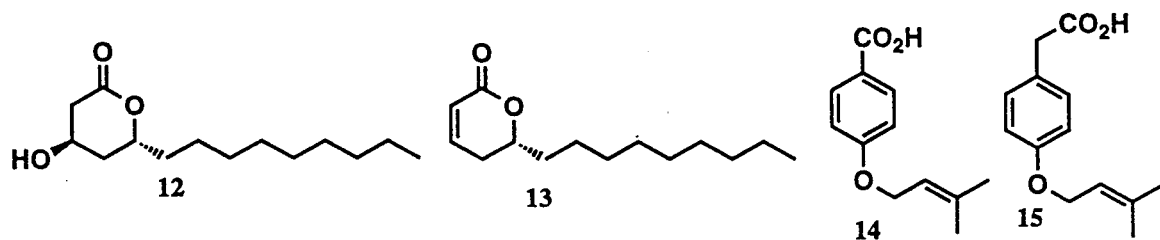


Fig. 2 *Ceratocystis piceae*より得られた化合物

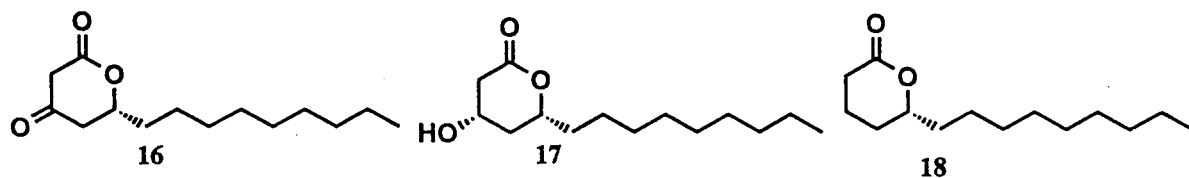


Fig. 3 12または13より化学変換によって得られた化合物

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 助 教 授 佐 藤 博 二

学 位 論 文 題 名

ヒノキ漏脂病菌 *Cryptosporiopsis abietina* および、 マツ類の青変病菌 *Ceratocystis piceae* の産生する 生理活性物質に関する化学的研究

本論文は緒論、本文2部で構成され、図109、表24、スキーム4、引用文献78を含む、総頁数168頁の和文論文である。ほかに参考論文3編が添えられている。

植物病原菌の産生する生理活性物質は植物病害における病徴の発現に関わる重要因子である植物毒素としての役割が解明されているほか、植物ホルモンにみられるような植物成長調節物質や医薬品のリード化合物としての可能性もあることから、多面的応用研究が展開されている。本論文は比較的研究例の少ない樹木病原菌を対象とし、簡便な生理活性試験法を考案することにより、アブシステロール類などの新規生理活性物質の単離、構造研究、生理活性について述べたものである。

第一部ではヒノキ鱗片葉を用いた新しい生理活性試験を指標として、ヒノキ漏脂病菌 *Cryptosporiopsis abietina* よりヒノキ鱗片葉の結合部分を脱離させる活性をもつ新規化合物アブシステロール A (1) を単離した (Fig. 1)。1 の平面構造ならびに相対配置は1次元および2次元核磁気共鳴スペクトルを中心とする各種スペクトル、絶対立体配置は改良Mosher法ならびに1の酸化反応により得た3-オキソアブシステロール A のCDスペクトルを測定することにより決定した。1は21位の炭素原子を消失した21-nor- $\Delta^{17(20)}$ -E 二重結合と、4 β ,19-エーテル結合を有している。現在まで21-norsteroid は発見されておらず、1が初めての例である。さらに代謝産物の検索を行ったところ、21-位に炭素を有しない類緑体アブシステロールB~F (2~6) ならびに21位がカルボキシル基となったステロール7を単離・構造決

定している。従ってアブシステロール類の生合成機構として、7の17位に脱離基をもつ仮想中間体の脱炭酸を伴う経路を提案している。またその他の成分として、ステロール(8, 9)および芳香族化合物(10, 11)を単離し、同定している。これらの化合物と市販の植物ホルモン類、ステロール類についてヒノキ鱗片葉脱離活性試験を行い、アブシステロール類では1, 4, 2の順で活性が弱くなり、IAAとNAAは1と同程度の活性、エルゴステロールはアブシステロール類と比べてかなり弱い活性を示した。本論文では漏脂現象と鱗片葉脱離活性の関係を明らかにするには至らなかったが、ヒノキ漏脂病抵抗性候補木ならびに罹病性木の鱗片葉について1に対する感受性を試験したところ、1が低濃度の場合、抵抗性候補木の中に脱離活性の現れないもの、現れるまで時間のかかるものが認められ、1を漏脂病抵抗性候補木の選抜育種に利用できる可能性が示された。また、1, 2, 4について薬理活性試験を行ったところコルヒチンにより誘導されるアポトーシス型神経細胞死を抑制する効果が確かめられた。アポトーシス型神経細胞死はアルツハイマー病などの脳の疾患に深く関与していると考えられ、1がある種のタンパク質リン酸化酵素に対して阻害作用を示すものとの推察を行っている。

第二部ではマツ類の青変病菌*Ceratocystis piceae*の代謝産物について、レタス実生に対する生育阻害活性試験と抗菌活性試験を併用し、活性物質として3, 5-ジヒドロキシテトラデカン酸の誘導体(12, 13)のほか有機酸(14, 15)を単離した(Fig. 2)。生成量の最も多い δ -ラクトン12を化学変換して得られる誘導体(16, 17, 18)(Fig. 3)と共にこれらの代謝産物のアカマツ幼苗に対する生理活性試験を行い、 δ -ラクトン12が最も強い生育阻害活性を示し、病原性に深く関わっている可能性を示した。

以上のように本研究は樹木病理化学に新しい知見を加えたのみならず、天然物化学ならびに脳神経化学にも多面的な展開が可能であることを示したものであり、学術的に貢献すること極めて大である。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箭田浩士は博士(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。

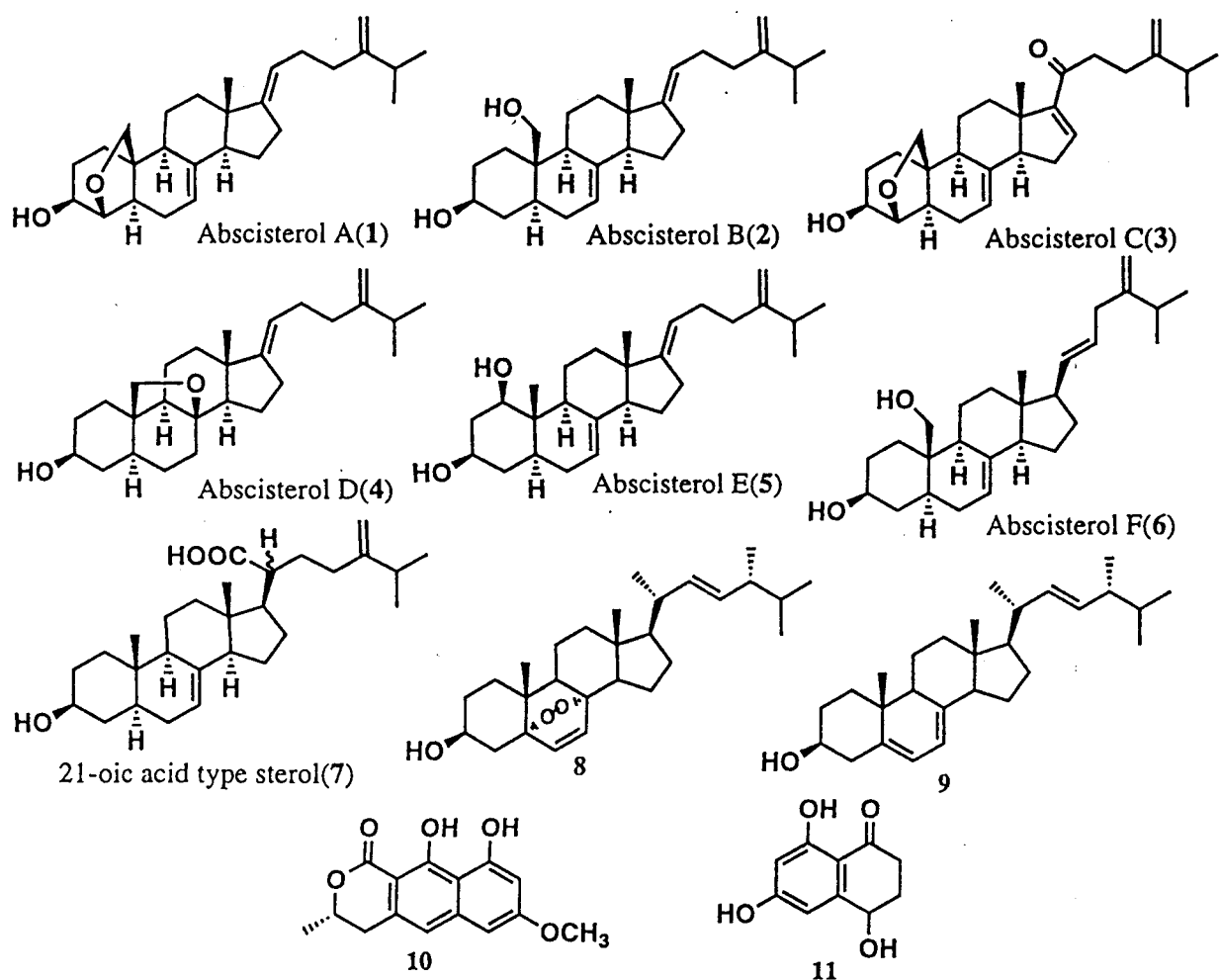


Fig. 1 *Cryptosporiopsis abietina*より得られた化合物

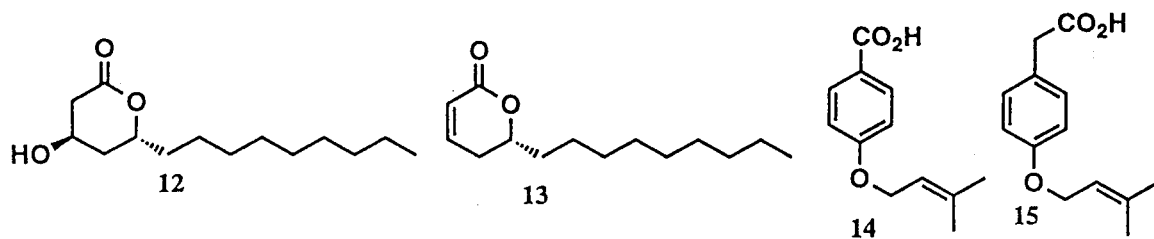


Fig. 2 *Ceratocystis piceae*より得られた化合物

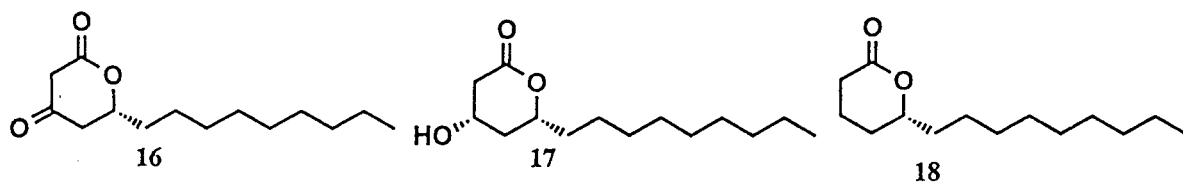


Fig. 3 12または13より化学変換によって得られた化合物