

学位論文題名

Survey of Physiologically Active Plant Secondary
Metabolites by Using *Aphanomyces cochlioides* Zoospores

(*Aphanomyces cochlioides* の遊走子を用いた
生理活性植物二次代謝産物の探索)

学位論文内容の要旨

卵菌類 (Oomycetes: 新しい分類では、菌界から独立させて Peronosporomycetes とされている) には、*Phytophthora*, *Pythium*, *Aphanomyces* 属などが含まれ、植物病原性のものが少なくない。それらは生活環の一部に、鞭毛を有し運動能を備えた遊走子の世代を持つ。ハウレンソウ根腐れ病やビートの苗立枯れ病の原因菌である *Aphanomyces cochlioides* は、難防除土壌病原菌として知られている。本研究では、土壌病原菌の生物合理的制御研究の一環として、*A. cochlioides* 遊走子の示す走化性を指標に、宿主あるいは非宿主植物の二次代謝産物を検索した。検定法は、試料をガスクロマトグラフィー用担体クロモソルブ W AW に塗布し、遊走子懸濁液に投下、粒子周辺の遊走子の応答(誘引、忌避、遊泳停止、被のう化など)を低倍率の顕微鏡下で観察するという簡便な担体法を用いた。結果は以下のように要約される。

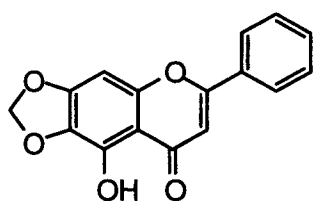
1. コブシ (*Magnolia praecocissima* Koiz.) の果実の粗抽出物が遊走子に忌避応答を起こさせることから、成分検索を行い、既知リグナン6種類を単離したが、活性は弱く1%溶液を塗布した担体(1個当たり約40 ngの供試化合物を含む)で、忌避活性が観察された。同時に得られたセスキテルペンの parthenolide も遊走子に対する生理作用は顕著ではなかった。

2. ヒユ科ケイトウ (*Celosia cristata* L.) は、*A. cochlioides* に感受性で、無傷芽生えの根を用いた遊走子誘引試験では、顕著な誘引現象が観察されたことから *C. cristata* L. var. *childisii* Hort. の芽生えに含まれる遊走子誘引物質を追究した。顕著な誘引活性物質として、先に親和関係にあるハウレンソウ、ビート、シロザにその存在が知られていた本菌の宿主特異的遊走子誘引物質 cochliophilin A (1) 及び合成品の生物検定で1よりも誘引活性が大きいことの分かっていた化合物 2 を主要な誘引活性物質として単離した。その他活性は弱い化合物 3, 4, 5 の存在も確認した。本研究によってアカザ科以外の親和関係にあるヒユ科植物にも化合物 1 が存在することが確認されたことは、cochliophilin A (1) が感染成立に重要な役割を果たしていることの間接的な証拠のひとつとなりうるものと思われる。

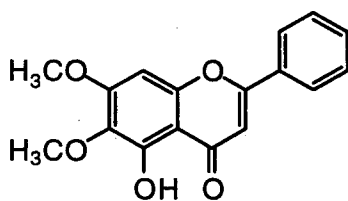
3. ケイトウ芽生えの cochliophilin A (1)含量を知るために、抽出、部分分画法を検討し、特異なケミカルシフト値を与える化合物 1 のメチレンジオキシ基の積分強度を内部標準のそれと比較する H-NMR 法を応用して、定量実験を行った。新鮮重 1 グラムに少なくとも約 1.4 μg (= 1.4 ppm)が含まれていることが明らかになった。この値は、ハウレンソウ新鮮根部の含量 5.3 μg の 1/4 程度ではあるが、0.0005 ppm 溶液を塗布した担体でも誘引作用が見られることより、芽生えの無傷根の誘引性は 1 や 2 に依っていると考えられた。

4. 関連成分の存在が期待される開花期ケイトウの地上部のフラボノイド成分についても検索を行った。その結果、cristatein (6)と命名した新規イソフラボンと既知イソフラボン(tlatlancuayin, 7)を単離同定することができた。ヒユ科植物にはこれまでに、5,2'-dihydroxy-6,7-methylenedioxyisoflavone とそのモノメチルエーテル 2 種類、ジメチルエーテル (= 7) の合計 4 種類の存在が知られているが、化合物 6 のようにフラボノイド骨格炭素にヒドロキシメチル基の置換した天然の化合物は、フラバノンで 1 例が知られているに過ぎず、cristatein (6) は天然フラボノイドとしては極めて珍しい構造のものである。

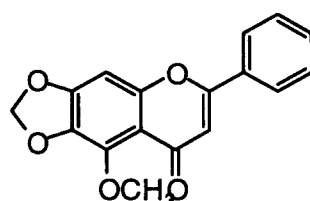
5. 化学分類学的な興味から、他の植物成分についても、遊走子誘引活性を調べた。ヒユ科ノゲイトウ (*Celosia argentea* L.) は、*A. cochlioides* に感染すると報告されているが、本種の芽生えにも、1 及び 2 が含まれることを質量分析、H-NMR および薄層クロマトグラフィーにより確認した。その他ヒユ科ハゲイトウ (*A. tricolor* L.)、アオビユ (*A. retroflexus* L.)、ナデシコ科カワラナデシコ (*Dianthus superbus* L.)、シソ科シソ (*Perilla frutescens* Britt.) の粗抽出液にも、強い遊走子誘引活性がみられた。



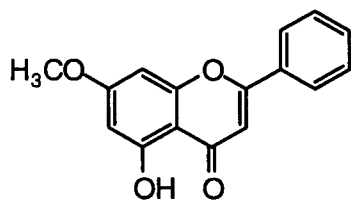
1 cochliophilin A



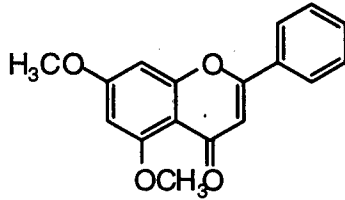
2



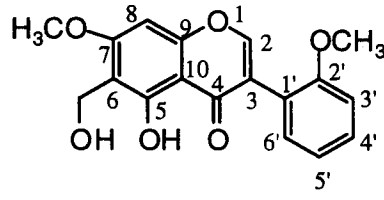
3



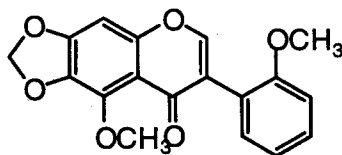
4



5



6 cristatein



7 tlatlancuayin

本研究によってケイトウより単離、構造解析がなされたフラボノイド

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 田 原 哲 士

副 査 教 授 鍋 田 憲 助

副 査 助 教 授 橋 床 泰 之

学 位 論 文 題 名

Survey of Physiologically Active Plant Secondary Metabolites by Using *Aphanomyces cochlioides* Zoospores

(*Aphanomyces cochlioides* の遊走子を用いた

生理活性植物二次代謝産物の探索)

本論文は、158 ページの英文論文で、引用文献 188、図 31、表 11、スキーム 12 を含み、要旨 3 ページ、略号一覧 2 ページが添えられている。また、参考論文 3 編が付されている。

卵菌類 (Oomycetes: 新しい分類では、Peronosporomycetes とされる) には、*Phytophthora*、*Pythium*、*Aphanomyces* 属などが含まれ、植物病原性のものが少なくない。それらは生活環の一部に、鞭毛を有し運動能を備えた遊走子の世代を持つ。本研究では、ハウレンソウ根腐れ病やビートの苗立枯れ病の原因菌である *Aphanomyces cochlioides* の遊走子が示す走化性を指標に、宿主あるいは非宿主植物の二次代謝産物を検索している。試料をガスクロマトグラフィー用担体粒子に塗布し、遊走子懸濁液に投下、粒子周辺の遊走子の応答を低倍率の顕微鏡下で観察するという簡便な生物検定法 (担体法) を用いて、以下のような結果を得ている。

1. コブシ (*Magnolia praecocissima* Koiz.) の果実の粗抽出物が遊走子に忌避応答を起こさせることから、成分検索を行い、既知リグナン 6 種類を単離したが、活性は弱く 1 % 溶液を塗布した担体 (約 40 ng の供試化合物を含む) で、忌避活性を観察した。セスキテルペンの parthenolide も単離されたが遊走子に対する生理作用は顕著ではなかった。

2. ヒコ科ケイトウ (*Celosia cristata* L.) は、*A. cochlioides* に感受性で、無傷芽生えの根を用いた遊走子誘引試験でも顕著な誘引現象が観察された。*C. cristata* L. var. *childisii* Hort. の芽生えに含まれる遊走子誘引物質を追究し、親和関係にあるアカザ科植物ハウレンソウ、ビート、シロザにその存在が知られていた本菌遊走子に対する宿主特異的誘引物質 cochliophilin A (1) 及び合成品の生物検定で 1 よりも誘引活性が大きいことの分かっていた化合物 2 を主要な誘引活性物質として単離した。関連化合物 3、4、5 の存在も確認した。

3. 化合物 1 のメチレンジオキシ基の積分強度を内部標準物質のそれと比較する H-NMR 法による定量実験を行い、ケイトウ芽生え新鮮重 1 グラムに cochliophilin A (1) が少なくとも約 1.4 μg (= 1.4 ppm) 含まれることを明らかにした。この値は、ハウレンソウ根部の含量 5.3 μg の 1/4 程度ではあるが、0.0005 ppm 溶液を塗布した担体 (1 を約 2 fg 含む) でも誘引作用が見られたことから、芽生えの無傷根の誘引性は 1 や 2 によると判断した。

4. 開花期のケイトウ地上部成分検索を行い、cristatein (6) と命名した新規イソフラボンと既知イソフラボン (tlatlancuayin, 7) を単離同定した。ヒユ科植物にはこれまでに、7 の関連化合物 4 種類の存在が知られているが、化合物 6 のようにフラボノイド骨格炭素にヒドロキシメチル基の置換した天然の化合物は、フラバノンで 1 例が知られているに過ぎず、cristatein (6) は天然フラボノイドとしては極めて珍しい構造のものであった。

5. 化学分類学的な興味から、各種植物成分の遊走子誘引活性も調べた。*A. cochlioides* に感受性とされているヒユ科ノゲイトウ (*Celosia argentea* L.) の芽生えにも、1 及び 2 が含まれることを質量分析, H-NMR および薄層クロマトグラフィーにより確認した。その他ヒユ科ハゲイトウ (*A. tricolor* L.)、アオビユ (*A. retroflexus* L.)、ナデシコ科カワラナデシコ (*Dianthus superbus* L.)、シソ科シソ (*Perilla frutescens* Britt.) の粗抽出液にも強い遊走子誘引活性がみられた。

以上、本研究により、親和関係にあるヒユ科植物にも、従来アカザ科植物にのみ存在が知られていた宿主特異的遊走子誘引物質 cochliophilin A (1) が存在することを初めて明らかにし、その含量を測定、1 が *A. cochlioides* の感染成立に重要な役割を果たしていることを支持する重要な証拠を得ている。また、生合成的ならびに化学分類学的にも興味深い新規イソフラボン (4) を、ケイトウより単離し構造を明らかにしており、これらの成果は、植物病理学や植物化学の面から高く評価されている。

よって、審査員一同は、Wen Yaolin が博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。

