

アルチロキシソシン関連化合物の合成と構造 - 活性相関

笹村泰昭*・川上幸宏**・市原耿民***・坂村貞雄***

The synthesis and structure-activity relationship of some compounds related to Altiloxin.

要 旨

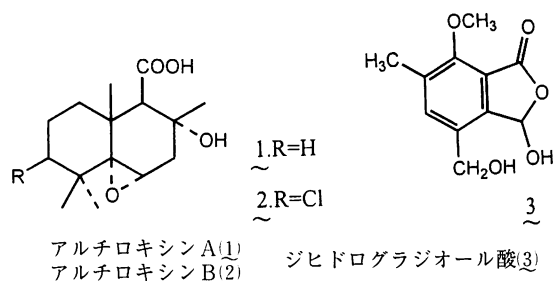
(2E,6E)-ファルネソールを出発物質とする(±)アルチロキシソシンAの合成中間体から新たに類似の化学構造を有する化合物を誘導した。それらの誘導体のイネ幼苗に対する阻害活性を調べた結果、アルチロキシソシンAの有するエポキシドは活性発現に必須の官能基ではなく、カルボキシル基と水酸基の両官能基の相互作用による水素結合の強弱が活性発現に寄与していると推定した。アルチロキシソシン類の宿主であるアスパラガス種子に対する試験では、個体間のばらつきが大きく化合物の官能基の違いと活性相関についての明瞭な結論は得られなかった。

Abstract

We synthesized some compounds related to Altiloxin from (2E,6E)-farnesol for starting material. Altiloxin have a driman type sesquiterpene structure. From the examination of their inhibitory effects for rice seedlings, we concluded that epoxide structure is not necessarily functional group and presumed that the difference is caused by intensity of hydrogen bond arising between carboxyl and hydroxy groups. In the case for asparagus seedlings we could not obtain the definite results from the biotests because of the individual deviations.

1 緒 言

アルチロキシソシンA(1)は1984年に市原ら¹⁾²⁾によってアスパラガス茎枯れ病菌 (*Phoma asparagi* Sacc.)の培養ろ液から単離された植物毒素で、塩素を含んだ類似の構造を持つアルチロキシソシンB(2)や既知物質であるジヒドログラジオール酸(3)と同時に見い出された。アルチロキシソシン類が属するドリマン型セスキテルペンは、たばこの香気成分や苔類の化学成分として同定されている³⁾。アルチロキシソシンの化学構造はアルチロキシソシンB(2)の1への変換、1を立体化学既知の(-)-11-アセトキシドリマン-8-オールへ誘導し各種スペクトルデータ、比旋光度の比較により決定した⁴⁾⁵⁾。さらに5,6-エポキシドの相対配置については(2E,6E)-ファルネソール(4)を出発物質とし合成によってアルチロキシソシンAメチルエステル(12)を得て、更に天然物質から誘導したメチルエステルとTLC、NMR、MSスペクトルのデータの一致により決定した¹⁾⁵⁾⁶⁾。



アルチロキシソシンA、Bはレタス種子を用いた生理活性試験を指標にして単離されたが、宿主であるアスパラガス種子に対して伸長阻害作用を有している点興味深い。本報ではアルチロキシソシンAと類似の構造を有する化合物をその合成過程の中間体から誘導し、イネ幼苗及びアスパラガス種子に対する生理活性試験により、アルチロキシソシンA(1)自身の伸長阻害作用の各官能基の機能、化学構造と活性-相関を明らかにすることが出来るのではないかと考えた。

2 (±)アルチロキシソシンA及び関連化合物の合成

(2E,6E)-ファルネソールを出発物質とする(±)アルチロキシソシンA及び関連化合物の合成行程を図-1に示した。

* 教 授 物質工学科

** 高砂香料株式会社

*** 名誉教授 北海道大学

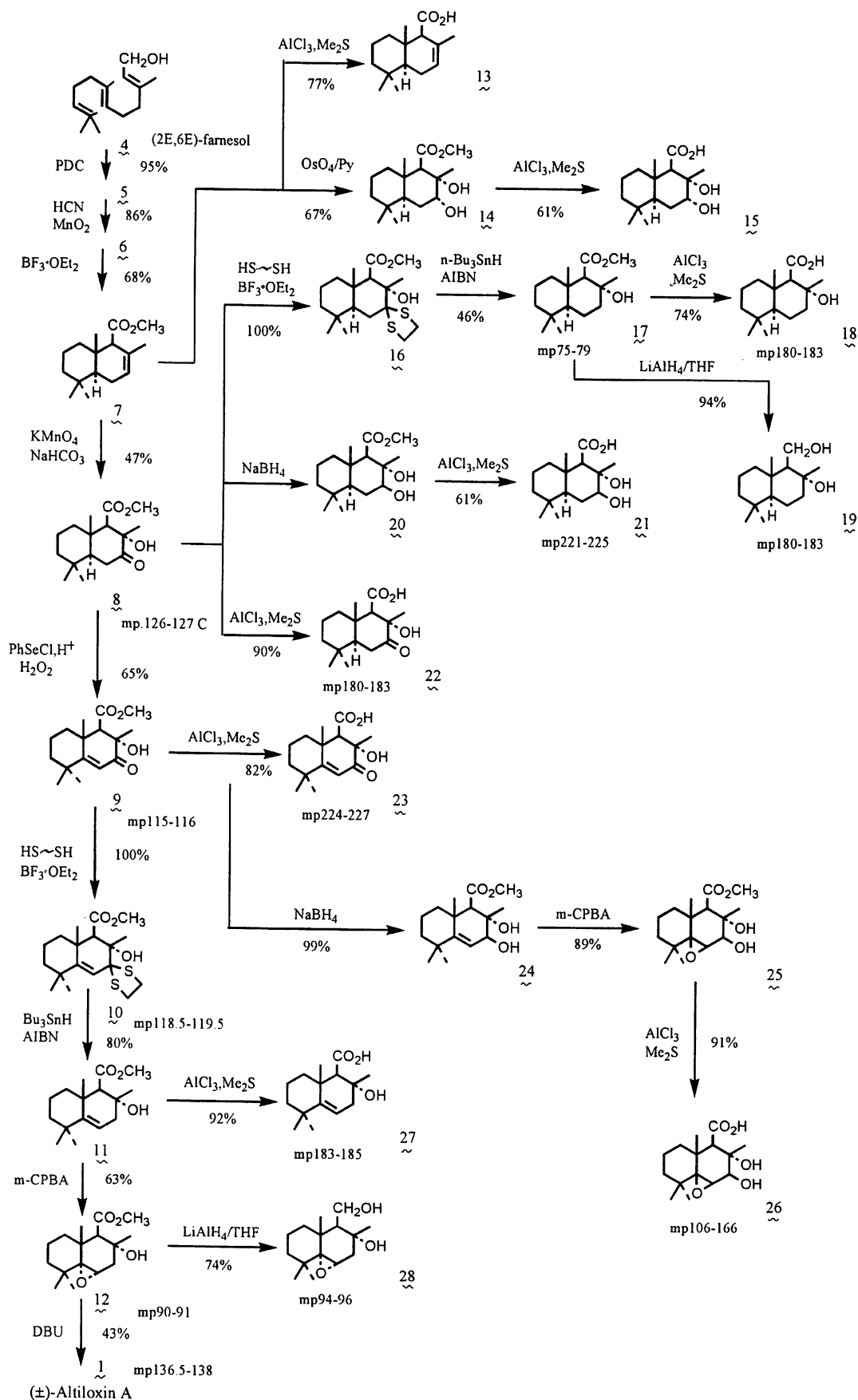


図-1 アルチロキシン A 及び関連化合物の合成

2-1 (±)-アルチロキシシキ A の合成

図-1 の左側、上から下へと(±)-アルチロキシシキ A(1)の合成工程を示した⁶⁾⁷⁾⁸⁾。Coreyらの方法⁹⁾¹⁰⁾に従って(2E,6E)-ファルネソール(4)をDMF中PDCを用いて酸化しアルデヒドを経てシアン化水素、活性二酸化マンガン、メタノールで処理してファルネソールメチルエステル(6)を得た。引続き北原らの方法¹¹⁾により三ふっ化ホウ素エチルエーテルで処理、閉環し化合物 7 を得た。7 から α -ケトール(8)への誘導はアセトン-水の混合溶媒中炭酸水素ナトリウムを加え、過マンガン酸カリウムと 0℃で反応させて得た。過マンガン酸カリウムは、立体障害の少ない α 側から優先して攻撃する。8 を酢酸エチル中、酸触媒下、フェニルセレニルクロリドでセレニル化し、次いでジクロロメタン中過酸化水素で酸化を行い、 α 、 β -不飽和ケトン 9 を得た。このときのセレニル化は 3 つのメチル基の立体障害により α 側から優先して起こると考えられる。9 を三ふっ化ホウ素エチルエーテルを酸触媒として エタンジオールで処理しチオケタール 10 を定量的に得、ベンゼン中AIBNを触媒としBu₃SnH₄で脱硫してオレフィン 11 を得た。11 をジクロロメタン中-22℃以下でm-CPBAにてエポキシ化反応を行うと(±)アルチロキシシキ A メチルエステル 12 が得られる。この反応は温度を上げたりあるいはm-CPBAの濃度を上げることで立体選択性が失われると考えられる。12 を 0-キシレン中165℃DBUで処理し収率43%で(±)-アルチロキシシキ A(1)を得た。

2-2 アルチロキシシキ関連化合物の合成

13: 先ず環化したエステル 7 をNodeら¹²⁾の方法によって、脱アルキル化し13を得た。

15: 同じくエステル 7 をピリジン中四酸化オスミウムでオスメート化した後、亜硫酸水素ナトリウムで処理し、cis-ジオール 14 を経て脱アルキル化によって化合物 15 を得た。

18: α -ケトール 8 からは、三ふっ化ホウ素エチルエーテルの存在下エタンジオールで処理しチオケタール 16 の結晶を定量的に得た。次いで16のベンゼン溶液にBu₃SnH₄と触媒のAIBNを加え脱硫し17を得た。17を脱アルキル化し収率74%で化合物 18 を得た。18はアルチロキシシキ A(1)からエポキシドを取り除いた化合物である。

19: 化合物 17 を THF 中 LiAlH₄ で還元し化合物 19 を得た。

21: さらに α -ケトール 8 をメタノール溶液中水素

化ホウ素ナトリウムで7位のケトン還元しトランスジオール 20 を経てそのまま脱アルキル化することによって7 β , 8 α -ジヒドロキシドリマン-11-カルボン酸(21)を α -ケトール 8 からの収率61%で得た。8 から 20 への反応は8の8位の-OHの隣接基効果と共に8位のメチル基の立体障害によって水素化ホウ素ナトリウムの攻撃は α 側から起こり7位の水酸基は β 配置になる。

22: α -ケトール 8 の脱アルキル化によった。

23: α 、 β -不飽和ケトン 9 を脱アルキル化した。

26: 化合物 26 は α 、 β -不飽和ケトン 9 をメタノール中水素化ホウ素ナトリウムで還元しtrans-ジオール 24 をほぼ選択的に導き、脱アルキル化によって得た。24 をジクロロメタン中m-CPBAと反応させる7 β -水酸基の隣接基効果を強く受け β -エポキシジオール、さらにに脱アルキル化して26を得た。

27: オレフィン 11 を脱アルキル化して27を得た。

28: アルチロキシシキ A メチルエステル(12)を窒素気流下無水THF中にLiAlH₄で還元し化合物 28 を得た。28はアルチロキシシキ A のカルボキシル基-COOHをアルコール-CH₂OHに変換した化合物である。

3 生理活性試験

天然のアルチロキシシキ A、B 及び合成アルチロキシシキ A と A 関連化合物とにどのような生理活性の違いがあるか興味深い。本報では天然アルチロキシシキ A、B と合成アルチロキシシキ A に加えて新たに A の合成中間体から誘導した A 関連化合物を比較した。試験に供した植物試料はトキシシキに対して敏感で幼根の伸長が斉一なイネ幼苗および宿主であるアスパラガス種子で、供試化合物を種々の濃度で投与し芽(shoot)と根(root)の伸長に及ぼす影響を調べた。試験結果より関連化合物の中に天然物と同程度か、あるいはそれ以上の強い活性の化合物が見つかることを期待した。

3-1 イネ幼苗に対する生理活性試験

イネ初は予め28℃で2日間暗中で水浸し発芽1~2mmのものを選んで試験に供した。

試験(1): 発芽したイネ初を自作の溝付きアクリル板に固定し管瓶の中にいれる。所定濃度の供試溶液2ccを加え蛍光灯(10W)下28℃で5日間放置後観察した。

試験(2): 供試化合物を所定の濃度になるように

0.8%寒天の入った35ccの管瓶に取りイネ粉を播種し、蛍光灯(2300lux)照明下、28℃に保った。4日後コントロールの稲が管底に到達するのを待ってrootの長さを測定し阻害の様子を観察した。試験(3):試験方法は(2)と同様であるが観察は3日後に行なった。

結果を表-1に示した。

表-1 イネ幼根に対するアルチロキシシンA,B
およびA関連化合物の伸長阻害活性

試料 化合物	化学構造の特徴	試料濃度(M)					
		1×10 ⁻³		5×10 ⁻⁴			1×10 ⁻⁴
		①	②	①	②	③	①
1		70		4			-18
2	3-Cl	96		28	※28		-16
13	脱エポキシド 脱水					12	
18	脱エポキシド	92		8	92		-16
21	脱エポキシド 7-β-OH		50		19		
22	脱エポキシド 7-oxo	89	95	41	86	75	-19
23	エポキシド→オレフィン	75	56	1	28		-18
27	エポキシド→オレフィン		91		91		
28	-COOH→-CH ₂ OH				37		

阻害率(%)

※濃度 2.5×10⁻⁴M

- ①使用品種イシカリ 5日間controlの根長48mm
- ②使用品種キタヒカリ 4日間controlの根長66mm
- ③使用品種キタヒカリ 3日間controlの根長52mm

数値はコントロールの根の長さを基準とし12個の測定値のうち最大値と最小値を除いた10ケの平均値から阻害率%で表わした。なお芽の生育は根に比べ遅く伸長の差は認められなかった。

表-1の結果より以下のことが明らかになった。

- 1)天然のアルチロキシシンAに比べ塩素を有するアルチロキシシンBの方の阻害活性が大きい。
- 2)アルチロキシシンA合成中間体から誘導した化合物の中に天然のアルチロキシシンAよりも活性の強い化合物が認められる。
- 3)試料濃度が薄い場合には伸長阻害ではなく逆に若干の促進作用が認められる。
- 4)試料濃度 5 × 10⁻⁴Mでは試料による差が明らかになりアルチロキシシンAの脱エポキシド化合物 18、脱エポキシドされた 7-OXO 化合物・22、エポキシドをオレフィンに変えた化合物27が何れも高い阻害活性を示している。従ってエポキシドは活性発現に必須な官能基でないと推察される。
- 5) 5 × 10⁻⁴Mで阻害率の小さい脱エポキシドされた 7-β-OH 化合物21、α,β-不飽和ケトン23も 1 × 10⁻³Mと濃度が濃くなると明らかな阻害作用が現れる。21ではβ-OHと-COOHとの水素結合のため、また23では5,6位の二重結合のπ

電子の寄与により7位の酸素上の電子密度が大きくなり-COOHとの相互作用を生じているため-COOHと8位の-OHとの水素結合が弱められていると考えられる。

6)アルチロキシシンAの-COOHを-CH₂OHに変えた化合物28は阻害は小さい。

以上アルチロキシシンAの活性発現はカルボキシル基-COOHとヒドロキシル基-OHによると考えられるが、この2つの官能基があっても活性発現に強弱が認められることから、化合物の-COOHと8位の-OHとの立体配座による水素結合の強弱が活性発現に寄与しているものと推察される。

3-2 アスパラガスに対する生理活性試験

アスパラガス種子(メリーワシントン)をシャーレ中の湿った脱脂綿上に播き24℃のオープン中に保存し発芽させた。5日目までに約80%が発芽し生理活性試験には発芽1～2mmのものを選んで供した。

試験方法:試料1.5mgを 5 mlの特級メタノールに溶解し、その2.0、1.0、0.5ml、100、10μlを高さ11cm、径5cmのガラス容器に測り取った。次いでメタノールを減圧にて除去しTween-80の100ppm水溶液 2 mlを加えた。試料濃度はそれぞれ200、100、50、10、1ppm溶液となる。ろ紙を敷き発芽したアスパラガス種子を植え、蛍光灯下25℃に保った培養室にて生育を待った。9日後ガラス容器から取り出しshootおよびrootの長さをはかり阻害の様子を観察した。得られた結果を表-2に示した。数値は同一ガラス容器に12ケ植えた中からrootの一番大きい値と一番小さな値とを除いた10ケの平均値をコントロールの値とを比較した阻害率(%)である。上欄がshoot、下欄がrootの結果である。表-2より天然のアルチロキシシンBの阻害活性が顕著でありイネ幼苗の試験で阻害活性の大きかった化合物18、22、27がアスパラガス種子に対してもその作用が大きい。しかし同一容器内、同一条件で生育しているにもかかわらず種子間の固体差にバラツキが大きく、本試験結果から各試料化合物の官能基と活性発現との関係を得ることは困難であった。バラツキの大きい原因としてアスパラガス種子自体の固体差によると考えられ種子のTween-80溶液への浸り方、試験化合物の溶解に注意した試験方法の検討が必要である。

表-2 アスパラガスに対するアルチロキシシA,B
およびA関連化合物の伸長阻害活性

試料 化合物	構造の特徴	試料濃度 (ppm)				
		200	100	50	10	1
天然 1		37	47	27	-4	16
		49	41	30	9	17
天然 2	3-C I	87	75	36	32	11
		91	87	58	36	22
1 ME	-CO ₂ H→CO ₂ CH ₃	50	36	50	-17	-1
		34	25	30	4	1
2 ME	3-C I -CO ₂ H→CO ₂ CH ₃	45	36	35	22	-1
		36	29	21	13	0
合成 1		57	43	28	30	26
		64	48	16	18	18
13	脱エポキシド 脱水	51	50	15	23	-3
		68	34	15	30	12
15	脱エポキシド 7-α-OH	35	37	7	15	27
		34	14	23	21	18
18	脱エポキシド	61	38	44	26	22
		75	50	42	27	16
19	脱エポキシド -CO ₂ H→-CH ₂ OH	47	22	16	-18	13
		61	28	35	15	-6
21	脱エポキシド 7-β-OH	37	20	27	2	2
		29	16	36	16	12
22	脱エポキシド 7-oxo	31	51	26	15	22
		59	49	20	32	9
23	エポキシド→オレフィン 7-oxo	41	21	32	18	0
		58	28	43	21	4
26	β-エポキシド 7-β-OH	86	46	26	-7	13
		42	46	28	6	18
27	エポキシド→オレフィン	64	46	16	6	37
		80	54	27	18	51
28	-CO ₂ H→CH ₂ OH	63	56	3	37	10
		64	43	10	28	26

阻害率(%)

上欄shoot controlの長さ44mm、下欄shoot controlの長さ53mm

4 まとめ

アルチロキシシAは、市原らによってアスパラガス茎枯れ病菌（Phoma asparagi Sacc.）の培養ろ液から単離され、構造が決定された。引き続き化学合成と関連化合物の誘導と、それらの化合物のイネ幼苗に対する生理活性試験が行った。本研究では植物毒素の有効利用のための基礎的な知見を得、毒素の病害防除への応用へと発展させるため、新に数種のアルチロキシシA関連化合物を合成し植物試験を試みた。合成した試料化合物の生理活性試験は、イネ幼苗だけでなく宿主であるアスパラガス種子に対しても行った。その結果イネ幼苗に対する試験結果よりアルチロキシシAの阻害作用は、必ずしもアルチロキシシAの有するエポキシドに起因するのではないことがわかった。即ちエポキシドは活性発現に必須の官能基ではなく種々の関連化合物の試験結果から-COOHと-OHの両官能基の相互作用、両官能基の立体的な位置による水素結合の強弱が活性発現に寄与して

いるものと推定した。しかし宿主であるアスパラガス種子に対する試験結果は、同一条件下での試験結果にバラツキがあり、試料化合物の官能基の差異と活性相関について考察するまでに至らなかった。

謝 辞

本報は北海道大学農学部農芸学科農産物利用学（現生物有機化学）講座にて行われた。その間生理活性試験等に適切な助言を頂いた酒井隆太郎博士、アスパラガス種子試験でお世話になった農学科果樹蔬菜園芸学講座荒木肇助手（現新潟大学助教授）に感謝する。

参考文献

1) A. Ichihara, S. Sawamura, S. Sakamura, Tetrahedron Lett., 25, 3209 (1984)
2) A. Ichihara, S. Sawamura, Y. kawakami, S. Sakamura, Agric. Biol. Chem., 49, 1891 (1985)
3) 藤森嶺、化学と生物, 22, 358 (1979)
4) 市原耿民・川上幸宏・坂村貞雄, 日本農芸化学会講演要旨集, P37 (札幌, 1985)
5) 市原耿民・川上幸宏・坂村貞雄, 東北支部第100回例会記念合同学術講演会要旨集, P20 (仙台, 1984)
6) 市原耿民・川上幸宏・坂村貞雄, 第29回香料・テルペン及び精油化学に関する討論会講演要旨集, P192 (1985)
7) 笹村泰昭・川上幸宏・市原耿民・酒井隆太郎・坂村貞雄, 第30回香料・テルペン及び精油化学に関する討論会要旨集, P279 (1986)
8) A. Ichihara, Y. kawakami, S. Sakamura, Tetrahedron Lett., 27, 61 (1986)
9) E. J. Corey, G. Schmidt, Tetrahedron Lett., 399 (1979)
10) E. J. Corey, N. W. Gilman, B. E. Garen, J. Am. Chem. Soc., 90, 5616 (1968)
11) Y. Kitahara, T. Kato, T. Suzuki, S. Konno, M. Tanemura, Chem. Commun., 342 (1969)
12) M. Node, K. Nishide, M. Sai, K. Fuji, E. Fujita, J. Org. Chem., 46, 1991 (1981)

(平成13年11月27日受理)

