

日本農薬学会
農薬科学研究成果報告書
(令和4年度研究奨励金交付課題)

研究課題

トウモロコシの自己防御機構解明を指向した合成化学的研究

筆頭研究者氏名 矢島 新

所属 東京農業大学生命科学部分子生命化学科

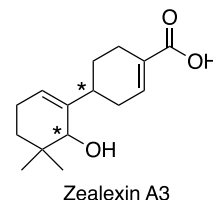
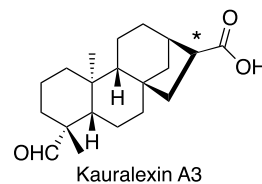
共同研究者名 (所属)

高木浩志 (東京農業大学生命科学研究科)

研究成果 (目的・方法・成果の順に概要を記載してください)

【研究目的】

ヒトやその他の生物に病気を引き起こす病原性微生物に対し、現代では抗菌作用を有する薬剤を用いた対処療法が一般に用いられている。しかし、この手法では原理的にしばしば耐性菌の出現が問題となることから、耐性菌の出現を抑える手法が益々重要になってきている。また厳密な安全性試験を経て上市されているにも関わらず、農薬に対する社会的風当たりは未だ強く、その使用量を減らす手法の開発も重要である。そこで申請者は植物の自己防御システムに重要な役割を果たす天然有機化合物であるファイトアレキシンに着目した。ファイトアレキシンは健康な植物体には存在せず、微生物の感染などの外的刺激を受けてはじめて生産される抗菌物質の総称である。すなわち動物の免疫機構に相当するものであるが、十分に理解が進んでいるとは言いがたい。近年米国などで重要な農作物であるトウモロコシのファイトアレキシンとして **zealexin** 類および **kauralexin** 類が重要な化合物として注目を集めている。しかし、遺伝学的解析が先行していることから、常に分子レベルで曖昧な議論に終始している。**Kauralexin A1-A4** については天然物の 16 位の不斉中心の立体化学についても明確には決定できていない。さらに、**zealexin A3** については天然物の相対および絶対立体配置も明らかではない。そこで本研究ではこれらの化合物の合成、続く化学遺伝学的研究を起点として、自己防御システムを制御する新奇抗菌戦略を創出することを目的とした。



【研究方法】

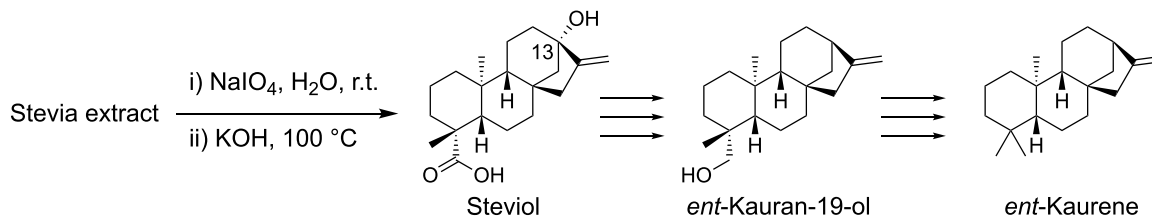
本研究では、まず **kauralexin** 類およびその生合成中間体候補化合物、およびそれらの同位体標識化合物を網羅的に合成することを計画した。合成した化合物を標品として用いることで、**kauralexin** 類の生合成に関与していると考えられる遺伝子群の機能を精密に決定することが可能であると考えられる。しかし、**kauralexin** 類は比較的複雑な四環性のカウラン骨格を有しているため、その骨格を構築するためには多段階の反応が必要であり、様々な誘導体

を合成することは困難である。そこで、類似の骨格を有し、甘味料として用いられていることから天然から大量に入手可能なステビオシドを用いることで目的とする化合物を迅速に合成可能な手法を開発することを計画した。

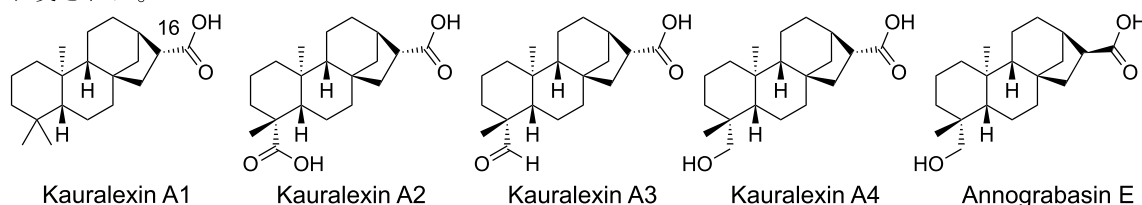
Zealexin 類については既に zealexin A1 の不斉合成に成功していることから、その合成法を応用することでその他の zealexin 類および生合成中間体候補化合物を網羅的に合成する。次に、合成物を酵素反応の基質とする、または酵素反応生成物の構造決定のための標品とすることにより、zealexin 類および kauralexin 類の生合成の全貌を明らかにすることを計画した。

【研究成果】

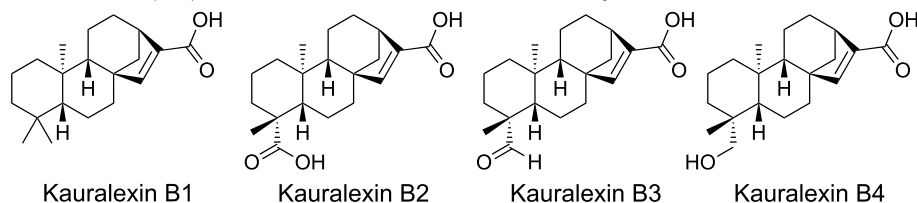
まず kauralexin 類の網羅的合成を指向しカウラン型ジテルペン類を簡便かつ大量に合成可能な手法の開発について検討した。まずは市販の stevioside から steviol を合成する手法を参考とし、stevioside を 40% 程度含有する極めて安価に入手可能なステビア抽出物からも steviol が合成可能であることを確認した。次にステビア甘味料に 40% 程度含有される rebaudioside A についても steviol へ変換可能であるかを検討し、最適化した反応条件を用いることでステビア甘味料から steviol を中程度の収率ではあるが極めて安価に合成可能な手法を確立することができた。さらに、合成した steviol の 13 位ヒドロキシ基を除去し、数段階の変換を経て *ent*-kauran-19-ol とした後、19 位ヒドロキシ基を高収率で除去する手法を見いだすことにより *ent*-kaurene を大量に合成する手法を開発することができた。



次に、合成した *ent*-kauran-19-ol および *ent*-kaurene を出発原料として kauralexin A1-A4 の合成に成功した。また、kauralexin A4 とは 16 位の立体化学が異なる天然物としてバンレイシ科の熱帯果樹より単離構造決定されていた annograbin E を合成し、その NMR スペクトルと合成した kauralexin A4 の NMR スペクトルの明確な相違点に関する情報を検討することで天然の kauralexin A4 の 16 位の立体化学を *R* と決定することができた。従って kauralexin A1-A3 についても同様の立体化学であることが強く示唆された。



続いて、*ent*-kauran-19-ol および *ent*-kaurene を出発原料とし、二重結合部位を足がかりとすることにより kauralexin B1-B4 へ誘導する手法を開発することができた。



以上により現在までにトウモロコシファイトアレキシンとして見いだされている kauralexin 類の全てを網羅的に合成することに成功した。鍵となる合成中間体として *ent*-kauran-19-ol および *ent*-kaurene を大量に合成する手法を開発したことから、現在は kauralexin 類の生合成中間体候補化合物として提案されているものの、天然物として単離構造決定の報告がないため物性などの情報が得られていない化合物群を網羅的に合成することを検討している。

また、zealexin 類の合成研究については、zealexin A3 の合成について現在検討中である。