

氏 名	高 石 喜 久 たか いし よし ひさ
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	論 薬 博 第 241 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 9 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	シイタケ菌の生長を阻害するペプチド Hypelcin A, B 及び Trichopolyn A, B の構造研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 藤 田 栄 一 教 授 井 上 博 之 教 授 犬 伏 康 夫

論 文 内 容 の 要 旨

シイタケ (*Lentinus edodes*) 栽培において近年害菌による被害が数多く見られるようになってきた。最近特に注目されてきた害菌は *Trichoderma*, *Hypocrea*, *Gliocladium* 属の菌である。

著者はこれら害菌のうちオオボタンタケ (*Hypocrea peltata* (Jungh) Sacc) と *Trichoderma polysporum* (Link ex Pers.) Rifai TMI 60146 菌からシイタケ菌発育阻害作用を有する 4 物質を単離し、それらの構造研究を行った。

〔 I 〕 オオボタンタケ子座からシイタケ菌発育阻止作用を指標としてペプチド性抗生物質 2 種を単離しそれぞれ hypelcin A, B と命名した。

各物質の物理恒数および性状は次のとおりである。Hypelcin A (1), mp 283~286°, $[\alpha]_D^{25}$ -9.75° (c=1.0, MeOH), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 3320, 1660, 1530 cm^{-1} , $^1\text{HNMR}$ $\delta_{\text{ppm}}^{\text{C}_6\text{D}_6\text{N}}$: 2.28 (S, CH₃CO) = ニヒドリン反応: -, ドラゲンドルフ反応: +, アミド態窒素: 3; Hypelcin B (2), 無脂肪形, $[\alpha]_D^{25}$ -7.25° (C=1.0, MeOH), IR, $^1\text{HNMR}$, 呈色反応は 1 に類似, アミド態窒素: 2, Hypelcin A, B の構成アミノ酸比はアミノ酸分析, N-trifluoroacetyl-n-butyl ester のガスクロマトグラフィー (GC), 等速電気泳動より, いずれも (Glu)₃, (Pro)₂, (Ala)₁, (α -aminoisobutyric acid=Aib)₉₋₁₀, (Leu)₁, (Val)₁, (Gly)₁, と決定された。Hypelcin A, B 中に Leucinol=Lol の存在することは GC, GC-質量分析 (MS), Cellulose TLC, 沝紙電気泳動により確認された。また hypelcin A の酸完全加水分解物より単離した Lol は合成品の L-Lol と一致した。さらに hypelcin A, B の構成アミノ酸の絶対配置は, GC, D-amino acid oxidase 法, L-Leucine-N-carboxyanhydride 法によりいずれも L 配置と決定された。

Hypelcin B のメチルエステルを liq. NH₃-MeOH で処理すると hypelcin A を与えることより, hypelcin A は Ahypelcin B のアミドである事が予測された。

Hypelcin A の酸部分加水分解物から 9 種のペプチドが単離され, それらのアミノ酸分析, Edman 分解, N末端-C末端検出, スペクトルデーターから次の I~III の部分 sequence が決定された。また hypelcin A の in beam MS から IV, V の部分 sequence が得られた。

- I Ac-Aib
- II Pro-Aib-Ala-Aib-Aib-Gln-Leu-Aib-Gly-Aib-Aib-Aib
- III Pro-Val-Aib-Aib-Gln-Gln-Lol
- IV Ac-Aib-Pro-Aib-Ala-Aib-Aib
- V Pyroglu-Leu-Aib-Gly-Aib-Aib-Aib

これらの部分 sequence の組み合わせから hypelcin A は 1 式で示される事が明らかとなった。また hypelcin B は部分加水分解物の構造ならびにそのメチルエステルの in beam MS より 2 式で示される事が明らかとなった。

Ac-Aib-L-Pro-Aib-L-Ala-Aib-Aib-L-Gln-L-Leu-Aib-Gly-Aib-Aib-Aib-L-Pro-L-Val-Aib-Aib-L-Glx-L-Gln-L-Lol-OH

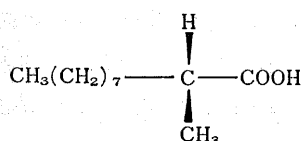
1: Glx=Gln, 2: Glx=Glu

〔II〕 *Trichoderma polysporum* 培養液から シイタケ菌発育阻止作用を指標として ペプチド性抗生物質 2 種を単離しそれぞれ trichopolyn A, B と命名した。それらの物理恒数および性状は次のとおりである。Trichopolyn A (9), 無晶形, $[\alpha]_D^{25} -32^\circ (c=1.0, \text{MeOH})$, IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}: 3300, 1670, 1535\text{cm}^{-1}$, ニシヒドリッン反応: -, ドラージェンドルフ反応: +, ニトロプルシッドナリウム試験: +; Trichopolyn B (10), mp $114^\circ \sim 116^\circ$, $[\alpha]_D^{25} -38^\circ (c=1.0, \text{MeOH})$, IR, 呈色反応は 9 に類似,

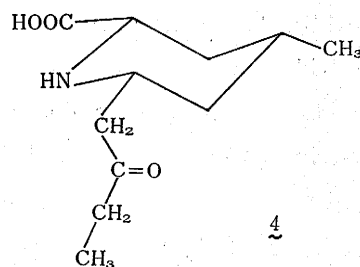
Trichopolyn A, B の構成アミノ酸比は hypelcin A と同様の方法により, (L-Ala)₂, (Aib)₄, (L-Pro)₁, (L-Ile)₁, である事が示された。

Trichopolyn A を Dowex 1×8, Cl 型で処理すると trichopolyn B を与え, 一方 trichopolyn B を 10% AgNO₃-MeOH: H₂O (1:1) 溶液で処理すると trichopolyn A に変換された。ゆえに trichopolyn A と B はそれぞれ同一塩基の硝酸塩, 塩酸塩であることが判明した。

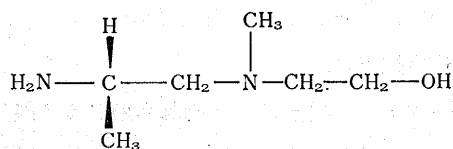
Trichopolyn B の酸完全加水分解物から (R)-(-)-2-methyl-decanoic acid (3), 新イミノケト酸 (4),



3



4

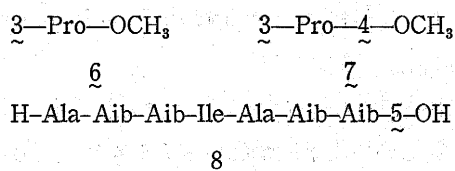


5

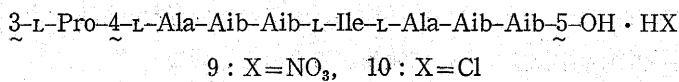
新ジアミノアルコール (5) が単離された。4 および 5 をそれぞれ trichoponamic acid, trichodiaminol と命名した。

3 および 5 はそれぞれ合成品と比較することにより同定された。4 はそのもの自身およびそのメチルエステルのスペクトルデータよりその構造を推定した。

Trichopolyn B の酸部分加水分解物からペプチド 6 ~ 8 を単離し、それらのスペクトルデータならびに化学反応からそれぞれの構造を推定した。



Trichopolyn B の in beam MS ならびに部分加水分解物 6 ~ 8 の組み合わせから trichopolyn A, B に対して 9, 10 式を提出した。



それらの構造は trichopolyn B の ^{13}C NMR がカルボニル領域に 11 個の存在を示し、その acetate の FD-MS が M+Na, M+K のピークを与えることから合理的に説明され、ここに両ペプチドの構造が 4 の絶対配置を除いて確立された。

〔Ⅲ〕 Hypelcin A, B はシイタケ菌に対し MIC 300 ppm を示し、trichopolyn A, B は 1.6 ppm を示した。また hypelcin A, B および trichopolyn A はラット肝臓ミトコンドリアに対しアンカツプリング作用を示す事が判明した。

論文審査の結果の要旨

シイタケ栽培における害菌による被害は莫大であるが、それら害菌の産生する有毒物質に関する研究は未だ詳細には行われていない。

本論文はこれら害菌のうちオオボタンタケと *Trichoderma polysporum* (Link ex Pers.) Rifai TMI 60146 菌とからシイタケ菌の生長を阻害する四物質を単離し、それらの構造を研究し明らかにしたことを述べたものである。

先ずオオボタンタケ子座からペプチド性抗生物質 2 種を単離しオオボタンタケの学名 *Hypocrea Peltata* (Jung) Sacc をもとに hypelcin A, B と命名した。アミノ酸分析、N-トリフルオロアセチル-n-ブチルエステルのガスクロマトグラフィー、等速電気泳動より、構成アミノ酸を明らかにし、またそれらの構成比を決定した。両者の構成アミノ酸の絶対配置はいずれも L 配置であることも決定された。

Hypelcin A が hypelcin B のアミドであることが B の A への化学変換により予測されたが、次いで hypelcin A の酸による部分加水分解産物 9 種のアミノ酸分析、Edman 分解、N-末端、C-末端の検出、スペクトルデータの解析等から 3 種の部分シーケンスを、また hypelcin A の in beam MS から 2 種の部分シーケンスを明らかにし、最終的にこれら部分シーケンスを組合せることにより、両ペプチド

の構造を明らかにした。

次に *Trichoderma polysporum* の培養液から trichopolyn A, B と命名した 2 種のペプチド性抗生物質を単離した。hypelcin A の場合と同様の方法で構成アミノ酸とそれらの比を求めた。A と B との相互変換から, trichopolyn A と B はそれぞれ同一塩基の硝酸塩と塩酸塩であることが判明した。

Trichopolyn B の酸による完全加水分解ならびに部分加水分解から, 既知のカルボン酸 1 種, trichoponamic acid と命名した新イミノケト酸, trichodiaminol と命名した新ジアミノアルコール, および 3 種のペプチドを単離し, それらの構造を明らかにした。最後に trichopolyn B の in beam MS ならびに上記分解産物の組合せから, trichopolyn A, B の構造を決定した。

Hypercin A, B は α -アミノイソ酪酸を分子中に 10 個も含有するユニークな構造をもつ抗生物質であり, 一方, trichopolyn A, B は分子中に 2 種の新しい構成単位すなわちイミノケト酸部とジアミノアルコール部とを含有する全く新しい構造をもつペプチド抗生物質である。

このようにしてシイタケ菌の生長を阻害する害菌の産生するペプチド性新抗生物質の構造を詳細に研究し, 合理的に構造解明を行った。本研究は生物活性ペプチドの新分野を開拓したものと見える。

よって, 本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。