

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20780086

研究課題名 (和文) ササラダニ類の油腺分泌物に関する研究

研究課題名 (英文) The research of the oil gland secretions from oribatid mites

研究代表者

清水 伸泰 (SHIMIZU NOBUHIRO)

京都学園大学・バイオ環境学部・講師

研究者番号：30434658

研究成果の概要 (和文)：

京都府亀岡市の京都学園大学敷地内に生息するササラダニ類について、油腺分泌物の天然物化学研究を行った。2005年にササラダニから同定された矢毒蛙アルカロイドであるプミリオトキシンとは分子骨格が異なるアルカロイドを、GC/MS分析により新たに検出した。また、ハムシ幼虫の防御物質として知られるイリドイドモノテルペンを初めて検出し、エナンチオ選択的合成により絶対立体配置を明らかにした。さらに、近縁のコナダニ類から発見した雌特異的なノルモノテルペン2種の立体化学を、キラルカラムを装着したGC分析により決定した。

研究成果の概要 (英文)：

This study analyzed the secretions of the oil glands of oribatid mites collected from the field on our campus of Kyoto Gakuen University in Kameoka, Kyoto Prefecture. Poison-frog alkaloids different from pumiliotoxins identified in 2005 were newly detected by GC/MS analyses. Iridoid monoterpene known to serve as a defensive compound in leaf beetle larvae was first identified from oribatid mites. To determine the absolute stereochemistry, we accomplished an enantioselective synthesis to obtain an optically active compound. Furthermore, the stereochemistry of two female-specific normonoterpenes detected from related astigmatid mite was determined by GC analyses with chiral column.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：化学生態学，天然物化学，有機合成化学

科研費の分科・細目：生物生産化学・生物有機化学

キーワード：ササラダニ，アルカロイド，テルペン，イリドイド，防御物質，有機合成

## 1. 研究開始当初の背景

ケナガコナダニの後胴体部腺分泌成分である蟻酸ネリルが，警報フェロモンとして機能することを桑原教授らが発見するまで，無気門亜目ダニ（以下コナダニと略す）に対して全くその化学生態学研究は行なわれていなかった．その後，研究グループによって精力的にフェロモン研究が行なわれ，コナダニ9科60種中，19種から警報フェロモン，14種から性フェロモン，4種から集合フェロモンが同定された．当研究代表者は大学院時代（1998～2003年），研究グループの一員としてコナダニを材料として天然物化学および化学生態学的研究を展開した．その成果としてモノテルペンを中心に新規に5化合物を同定し，さらに5種のコナダニでフェロモン機能を明らかにした．コナダニ類の研究と並行して近縁種の隠気門亜目ダニ（以下ササラダニと略す）の研究が1995年にスタートし，まずヨコズナオニダニ若虫の警報フェロモンとしてゲラニールが同定された（2002年）．2005年には中米産イチゴヤドクガエル *Dendrobates pumilio* に見つかるアルカロイドの一種プミリオトキシシン 237A が日本産ササラダニ（オトヒメダニ属未同定種）の分泌化合物として新たに同定された．さらに詳細なGC/MS分析により，数種の分子骨格が異なる矢毒蛙アルカロイドの存在が明らかになった．研究代表者は2006年から再び桑原教授の研究グループに加わり，ササラダニ類

分泌成分の探索と合成研究に貢献してきた．その成果としてオトヒメダニ属ダニだけではなく，他属ササラダニも多様なアルカロイドを分泌していると推測できる知見をえた．国内外のササラダニ類の化学生態学研究において，研究代表者らはトップランナーであり，本研究の成果は生産者が不明である矢毒蛙アルカロイドの起源を解明する上で，重要な知見となっている．蛙毒を長年研究しているNIHのJohn W. Daly博士らは，矢毒蛙とその生息地のダニ類から多数のアルカロイドが見つかったと報告した．我々が提案した「蛙毒のダニ起源説」を実証しようとしたものであるが，その論文では個々のアルカロイドに対応するダニ種は特定されていない．

## 2. 研究の目的

本研究は，日本産のササラダニでそのダニ種を特定し，それらが一連の矢毒蛙アルカロイドの起源であることを総括的に証明しようとするものであり，さらにササラダニ類がアルカロイドを生合成する化学生態学的意義についても考察を行う．アルカロイドを分泌するササラダニが生息する土壤環境で，捕食者であるアリやヤスデ，その他の土壤動物によるアルカロイドの取り込みや蓄積に関しては全く不明であるため，それら捕食者についても成分分析を総合的に進め，毒を介した両者間の生態学的関係を有機化学的手法によって明らかにする．

ササラダニを対象とした天然物化学研究はまだ始まったばかりで、構造未知成分が多数存在する。天然物化学における重要性が高いだけでなく、創薬化学の分野である強力な薬理効果をもった新規な治療薬のリード化合物の創製にもつながる可能性もある。そこで、これまで近縁種のコナダニで確立した研究手法を応用して、総合的に有機化学研究を展開する。

### 3. 研究の方法

#### (1)ダニ類分泌成分の探索研究

多種のダニ類を野外から効率的に採集し、本学所有のGC/MS (アジレント・テクノロジー社の6890N)による成分分析を行った。また、NMR や FTIR など各種機器分析を行うのに必要なサンプル量を確保するために、安定した繁殖を可能にするササラダニの飼育条件 (餌, 温度, 湿度, 密度等) を検討した。さらに餌として与えているクロレラあるいは乾燥酵母をベースとした人工飼料の開発を目指した。

#### (2)ダニ由来アルカロイドのマススペクトルデータ収集と化学合成

脂溶性の矢毒蛙アルカロイドはこれまで800種以上同定されている。主にマススペクトルとIRスペクトルで同定されているので、できるだけ多くのスペクトルデータを収集した。ササラダニ由来のアルカロイドのスペクトルデータと比較することにより化学構造の推定を行った。

#### (3)ダニ由来アルカロイドの化学合成

化学構造を同定し、さらに生物機能および薬理作用の検討が行える量の供給を目的とし、これまでオトヒメダニ属未同定種とアズマオトヒメダニのGC/MS分析で、構造が推定できたアルカロイドについて化学合成を行った。矢毒蛙アルカロイドは多くの

場合、特有の分子骨格と多官能基化された構造をもつ。含窒素生理活性天然物の全合成研究で樹林教授らが報告している立体制御および不斉中心の構築法を精査し、分子骨格構築および多官能基導入のための有効な方法論を探索した。

#### (4)ササラダニ類タテイレコダニ科ダニの共通成分イリドイドの絶対立体構造

ラセミ合成により平面構造を決定したイリドモノテルペンについて、絶対立体構造を決定するため不斉合成を行った。なお、本化合物のエナンチオ選択的合成は皆無であるため、有効な立体制御の方法を検討した。また野外から多種のタテイレコダニ科ダニを採集し、種毎にイリドジアルの立体構造を解析した。併せて、忌避活性およびフェロモン活性など生物機能の探索を行った。

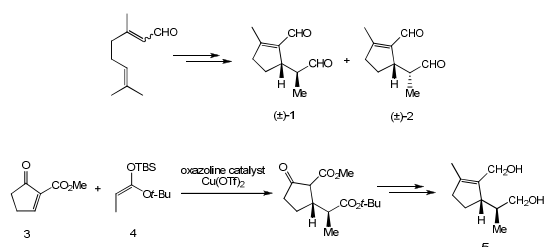
### 4. 研究成果

(1)矢毒蛙アルカロイド類縁体を産生していると推定できる未同定ササラダニを数種発見した。ダニから検出できるアルカロイドは微量で、各種分析機器を利用した構造解析が困難である。そこで、これまで報告されている脂溶性矢毒蛙アルカロイドのGC/MSスペクトルデータを可能な限り収集した。これらとササラダニから検出したアルカロイドのマススペクトルデータとを比較解析することにより、アルカロイドの基本骨格および官能基を推定した。合成により化学構造を決定する予定である。

(2)これまで報告例のない新奇アルカロイドについては、NMRおよびIRスペクトルを測定できる量が必要となる。そこで、ササラダニの安定した繁殖を可能にする飼育条件を検討した。餌としてクロレラあるいは乾燥酵母を一定湿度条件で与えた場合、飼育は可能であったが繁殖速度を上げるこ

とはできなかった。そこで、野外でのササラダニ類の生育環境を精査して最適な飼育条件を確立し、増殖率を高める人工飼料の開発を進めている。

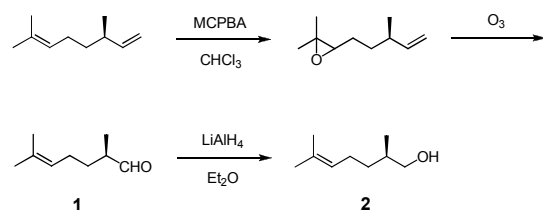
(3)ササラダニの防御物質を探索する中で、タテイレコダニ科ダニ 10 種が共通して比較的大量に分泌するイリドイド類のジール化合物を新たに検出した。本化合物はハムシの防御物質として知られるが、その類縁体はクサカゲロウの誘引物質、カミキリムシやナナフシの防御物質、アルゼンチンアリのバイタルサインなどの生物活性が報告されている。そこで、タテイレコダニ科ダニ由来イリドイドの、アリなど捕食者に対する忌避活性に加え、未知の生物機能を解明するため、まず天然物の絶対立体配置を決定するため合成を行った。



シトラールを出発原料として数段階でジール体の立体異性体混合物 1, 2 を合成し、天然物と GC 保持時間、マススペクトルの比較を行い、相対立体配置を決定した。次に絶対立体配置を決定するため、シクロペンテノン 3 とシリルケテンアセタール 4 を原料として、ビスオキサゾリンと銅の不斉リガンドを用いた向山—Michael 反応で、エナンチオ選択的にアルキルエステル側鎖を導入した。そのあと、エノールエステルを経て数段階でイリドイド骨格をもつジール体 5 に誘導した。別途調製したラセミ体は GC キラルカラムで分離可能であっ

たため、天然物を還元してジオールに誘導し絶対立体配置を決定した。現在、ジールを酸化して調製したジールのエナンチオマーとラセミ体を用いて、アリやムカデなど捕食者に対する忌避効果およびフェロモンなどの生物活性を多角的に検討している。

(4) コナダニ科未同定種 *Tyreophagus* sp. から新規な雌特異的成分としてノルモノテルペン 2 化合物を検出した。両化合物の平面構造は、合成物との GC/MS によるクロマトグラフ法で 2,6-dimethyl-5-heptenal (1) および 2,6-dimethyl-5-hepten-1-ol (2) と同定した。化合物 2 の立体化学は、キラルカラムを装着した GC 分析により R 体と決定し、化合物 1 の立体化学は、生合成的側面から化合物 2 と同様であると推定した。



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

①Kuwahara, Y., Shimizu, N., Sakamoto, F., Tanabe, T.

Mandelonitrile as the defense secretion, and phenylacetonitrile as its biosynthetic precursor in *Nedyopus tambanus tambanus* (Paradoxomatidae: Polydesmida)

Japanese Journal of Environmental Entomology and Zoology, 19, 79-84, 2008, 査読有

②Shimizu, N., Kuwahara, Y.

Syntheses of bioactive bisabolane-type *Cryptomeria japonica* sesquiterpenes. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73, 588–591, 2009, 査読有

③ Shimizu, N., Kuwahara, Y. Female sex pheromone of a Japanese population of the allium leafminer, *Acrolepiopsis sapporensis* (Lepidoptera: Acrolepiidae). *Journal of Pesticide Science*, 34, 181-183, 2009, 査読有

④ Shimizu, N., Miwa, K., Noge, K., Yakumaru, R., Mori, N., Kuwahara, Y. Stereochemistry of Female Specific Normonoterpenes, Sex Pheromone Candidates from Acarid Mite, *Tyreophagus* sp. (Astigmata: Acaridae). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73, 2332–2334, 2009, 査読有

⑤ Tamura, S., Hattori, Y., Kaneko, M., Shimizu, N., Tanimura, S., Kohno, M., Murakami, N. Peumusolide A, unprecedented NES non-antagonistic inhibitor for nuclear export of MEK. *Tetrahedron Letters*, 51, 1678–1681, 2010, 査読有

⑥ Noge, K., Shimizu, N., Becerra, X. J. (R)-(-)-Linalyl acetate and (S)-(-)-germacrene D from the leaves of Mexican *Bursera linanoe*. *Natural Product Communications*, 5, 351–354, 2010, 査読有

⑦ Tamura, S., Shimizu, N., Fujiwara, K., Kaneko, M., Kimura, T., Murakami, N. Bioisostere of valtrate, anti-HIV principle by inhibition for nuclear export of Rev. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20, 2159–2162, 2010, 査読有

[学会発表] (計 5 件)

- ① 清水伸泰, 桑原保正  
日本スギに含まれるトノサマバッタ摂食阻害物質ビスボラン型セスキテルペンの合成  
日本農芸化学会関西支部大会, 2008年9月, 京都府亀岡市
- ② 桑原保正, 清水伸泰, 田辺力  
オビヤスデ目ヤスデ類における青酸産生の新機構  
日本環境動物昆虫学会年次大会, 2008年11月, 京都市
- ③ 清水伸泰, 桑原保正  
隠気門亜目タテイレコダニ科ダニの共通成分イリドジアールの同定  
日本農芸化学会 2009年度大会, 2009年3月, 福岡市
- ④ 桑原保正, 清水伸泰, 薬丸亮太, 田辺力  
フジヤスデ属種 *Anaulaciulus* sp. からラウリン酸 *n*-ヘキシルを主成分とするワックスの同定  
日本環境動物昆虫学会年次大会, 2009年11月, 大阪府箕面市
- ⑤ 清水伸泰, 薬丸亮太, 桑原保正  
ササラダニ類が生産するイリドジアールの合成と絶対立体配置  
日本農芸化学会 2010年度大会, 2010年3月, 東京

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計◇件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

清水 伸泰 (NOBUHIRO SHIMIZU)

京都学園大学・バイオ環境学部・講師

研究者番号：30434658

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

### (3)連携研究者

( )

研究者番号：