

機関番号：14501

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20580111

研究課題名 (和文) 根圏情報物質ストライゴラクトンの構造活性相関の新展開

研究課題名 (英文) New developments on structure-biological activity relationship of strigolactones, chemical transmitters in rhizosphere

研究代表者

三宅 秀芳 (MIYAKE HIDEYOSHI)

神戸大学・農学研究科・教授

研究者番号：40181995

研究成果の概要 (和文)：熱帯および亜熱帯の農業に深刻な被害をもたらしているオロバンキやストライガなどの根寄生雑草の防除を目的として、根寄生雑草の種子発芽刺激活性を有する根圏情報物質ストライゴラクトンをモデルに構造活性相関研究を行い、天然ストライゴラクトンの環境中での不安定性を改善できることが予想される高い発芽刺激活性を有する新規な化合物を見出した。これらの種子自殺発芽誘導剤としての実用化に向けて研究を展開中である。

研究成果の概要 (英文)：To control root parasitic weeds like *Orobanche* and *Striga* severely damaged to agricultural production in both tropical and subtropical areas, new seed germination stimulants were discovered on the basis of a study on the structure-biological activity relationship of strigolactones, chemical transmitters in rhizosphere. Trial on the practical use of the chemicals as a suicidally inducing seed germination stimulant is underway.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・生物生産化学・生物有機化学

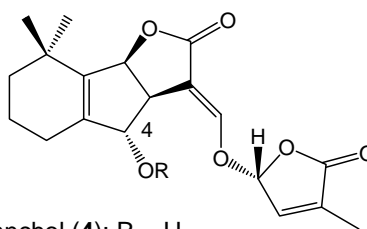
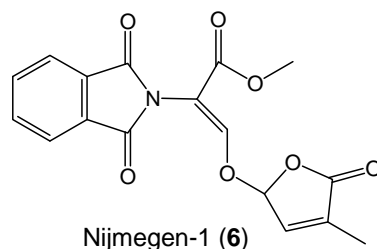
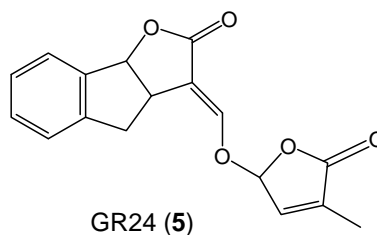
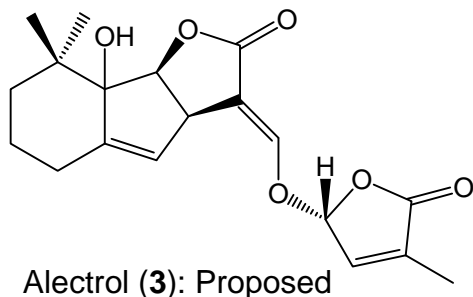
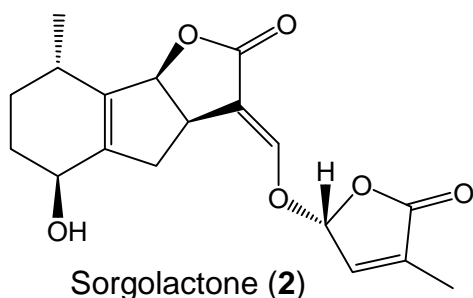
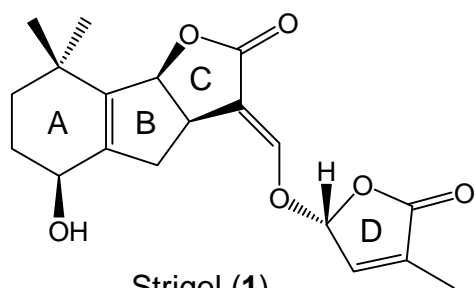
キーワード：根寄生雑草、根圏情報物質、オロバンキ、ストライガ、植物ホルモン

1. 研究開始当初の背景

根圏情報物質ストライゴラクトンをモデルに構造活性相関研究の新展開を図り、根寄生雑草種子自殺発芽誘導剤の開発を行う。被子植物の約1%が他の植物に寄生すると見積もられている。このうち農業に深刻な被害をもたらしているのは根寄生雑草のオロバンキ (*Orobanche* spp.) とストライガ (*Striga* spp.) である。オロバンキが広葉作物を宿主として地中海沿岸を中心に分布しているのに対し、ストライガはアフリカを中心に分布している。ストライガによる被害は7-13億米ドルと試算されており、ストライガは病原菌、害虫、鳥を上回る、食糧生産を阻害するアフリカ最

大の生物的要因と考えられている。とりわけ大きな被害をもたらしているのは、*S. hermonthica* と *S. gesnerioides* であり、前者はソルガム、ミレット、トウモロコシ等の主食となる作物の生産に、後者は貴重なタンパク質源であるササゲの生産に甚大な被害をもたらしている。ストライガは一個体あたり十萬粒ときわめて高い種子生産能力を有するため、いったん侵入された畑は耕作が困難になり放棄される。このことは砂漠化の一因ともなっている。オロバンキも同様に高い種子生産能力を有するが、被害の程度はストライガよりは穏やかである。根寄生雑草は宿主から独立しては生きられないため、発芽には温

度と湿度に加えて、化学シグナル（発芽刺激物質）を要求する。最初に単離された発芽刺激物質は strigol であり、ワタの根浸出液から *S. hermonthica* 種子に対する発芽刺激活性を指標に精製され結晶として得られた。その構造は X 線解析および合成によって決定された。ソルガムの根浸出液から *S. hermonthica* 種子に対する発芽刺激活性を指標に sorgolactone が単離され、合成によって構造が確認された。同じ年に同じグループによって *Alectla fogerii* および *S. gesnerioides* 種子に対する発芽刺激活性を指標に alectrol が単離され推定構造が提出されたが、後に否定された。アカクローバーの根浸出液からは *O. minor* 種子に対する発芽刺激活性を指標に orobanchol が単離され、合成によって構造が決定された。一連の発芽刺激物質は構造が類似していることからストライゴラクトン (strigolactone) と総称されている。



Orobanchol O-acetate = Alectrol(7): R = CH₃CO

2. 研究の目的

Strigol の単離構造決定を機に、1970-80 年代に Johnson らによって GR24 を含め、多様なストライゴラクトンの化学合成が精力的に進められた結果、ストライゴラクトンの活性発現には C 環と D 環、およびそれを連結するマイケル受容体部分 (-O-CH=C-C=O) と標的酵素との反応が必須であると考えられた。また、1980-1990 年代には、Zwanenburg らによって宿主の存在しない畑に処理して根寄生雑草種子を強制的に発芽させ自殺に追い込む、いわゆる自殺発芽誘導剤の開発に重点をおいた研究が進められた結果、A、B、C 環部の構造を簡素化した Nijmegen-1 が開発された。しかし、Johnson および Zwanenburg らが合成した一連のストライゴラクトンのオロバンキとストライガに対する作用スペクトルは概ね同様であり、いずれも、*S. gesnerioides* の発芽は誘導しなかった。

1970-90 年代に活発に研究されたストライゴラクトンには二つの大きな謎が残されていた。一つは *S. gesnerioides* の発芽を誘導できる唯一の化合物である alectrol の真の化学構造であり、いま一つは、そもそも宿主となる植物がストライゴラクトンを生産・分泌する意義であった。最近、これらの問題は相次いで解決した。すなわち、alectrol は orobanchol O-acetate であることが判明した。また、スト

ライゴラクトンがアーバスキュラー菌根菌の菌糸分裂誘導因子として再単離された。この結果、ストライゴラクトンは数年前まで考えられていたよりもはるかに重要な生態学的意義を有する根圏情報物質であることが明らかとなった。以上のように、Zwanenburgの引退後停滞しているストライゴラクトンの構造活性相関研究を、新たな視点で展開する機が熟している。このような背景のもと、本研究では次の二つの課題について取り組む。

(1) JohnsonやZwanenburgらの研究では、ストライゴラクトンの4-O-acetyl体を基本とした構造活性相関研究は行われていない。そこで、*S. gesnerioides*に対する自殺発芽誘導剤の創製を目指して、高活性化合物の開発を行う。

(2) すでに申請者らは、活性発現に必須であると考えられてきたC環とD環の連結部で、しかもマイケル受容体を有する部分(—O—CH=C—C=O)のCHを(—O—N=C—C=O)のように窒素に替えたイミノアナログが活性を発現することを見出している。このことは、活性発現にはその分子の酵素との反応性よりも酵素と分子との親和性が重要であることを示唆しており、創薬デザインのポイントで大きなブレークスルーを得ている。この知見をもとに構造活性相関研究を行う。特に、D環にも存在するマイケル受容体部分の改変を行う。天然のストライゴラクトンは実験室条件ではナノ〜ピコモルで発芽誘導活性を示す。一方、Nijmegen-1は活性の発現にマイクロモルを必要とする。上述の(1)、(2)いずれにおいても、*S. gesnerioides*および*S. hermonthica*の発芽に対してED₅₀がナノモル以下となる高活性化合物の開発を目標とする。なお、学術的な価値は少ないが既知の方法に従いGR24を合成し、Zwanenburg引退とともに供給者を失い研究の継続に不安定要因を抱える根寄生植物研究者コミュニティに提供する。こうして築いた関係に立脚し、合成した多数の類縁体の活性評価を依頼する。さらには、共生菌研究者にも菌糸分岐誘導活性の評価を依頼して、化合物の有用性を検証する。

本研究の主目的は、ストライゴラクトンの炭素原子の窒素原子による置換や4位の修飾による化合物群を合成し、新規な発芽誘導剤を創製開発することである。この過程で*S. gesnerioides*、*S. hermonthica*、菌根菌などに対して選択性の高い化合物を見出すことにより、将来の受容体探索に有用な分子プローブを供給できる。前述の通り4位の化学修飾や酵素と分子との親和性(分子の形)を基盤に分子設計し、その構造と活性との相関を研究することはこれまでに試みられておらず、活性、選択性、実用性いずれも高い根寄生雑草種子自殺発芽誘導剤の開発を目指す。製剤検

討を経て実用化されると、アフリカの農業生産を40%も低下せしめている、最大の生物的阻害要因の克服への道が拓ける。欧州、豪州で猛威を振るうオロバンキの克服にも貢献できる。

3. 研究の方法

新規発芽誘導剤の創製を目指して、以下の2つの研究を行う。

(1) *S. gesnerioides*の発芽を誘導できる唯一の化合物である alectrol の真の化学構造である orobanchol *O*-acetate をモデルに、高活性化合物の創製開発を行う。具体的には、既知の方法に従った GR24 の合成、および GR24 の合成中間体を利用した4位が水酸化された OHGR24 とそのアセチル体 AcOGR24の合成と生物活性試験を行う。

(2) C環とD環の連結部およびD環部に存在するマイケル受容体部分の改変を行う。D環の改変については、Zwanenburgらにより、若干検討されてきたが、天然型のメチルブテノライドを上回るものは見出されていない。また、そのメチルブテノライドの経済的な合成自体が相当困難であるため、実用化に向けてメチルブテノライドに代替できるD環部を見出すことが必要である。

次に、高活性化合物のいくつかを選抜する。それとともに、活性発現機構の解明のため、活性発現機構の解明のため、受容体探索に有用な分子プローブを見出された高活性化合物をモデルに設計、合成し、根寄生植物研究者に提供する。を見出された高活性化合物をモデルに設計、合成し、根寄生植物研究者に提供する。選抜した高活性化合物の実用化のための大量合成法や製剤処方確立、および屋外での生物活性試験を行う。

4. 研究成果

(1) *S. gesnerioides*の発芽を誘導できる唯一の化合物である orobanchol *O*-acetate をモデルに、GR24の合成中間体を利用した4位が水酸化された OHGR24 とそのアセチル体 AcOGR24のラセミ体を合成し、生物活性試験を行ったところ、*S. gesnerioides*の発芽は誘導されなかった。しかし、*O. minor*に対しては高い活性を示した。それらの光学活性体の取得に成功し、生物試験を実施中である。

(2) C環とD環の連結部およびD環部に存在するマイケル受容体部分の改変を行い、高活性を示すフェニル酢酸誘導体、カーボネート誘導体、カーバメート誘導体、ホスホン酸エステル誘導体を見出した。このうち、天然ストライゴラクトンの環境中での不安定性

を改善できることが予想される高い発芽刺激活性を有するいくつかの化合物について実用化に向けての生物試験を実施中である。

(3) 天然ストリゴラクトンについて、solanacol, sorgomol, strigol, deoxystigol と orobanchol の新規な合成法を開発した。これにより sorgomol, strigol と orobanchol を基にした受容体探索に有用な分子プローブの合成が可能となった。

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6件)

- ① Saiko Kitahara, Takuya Tashiro, Yukihiro Sugimoto, Mitsuru Sasaki, and Hirosato Takikawa, First synthesis of (±)-sorgomol, the germination stimulant for root parasitic weeds isolated from *Sorghum bicolor*, *Tetrahedron Letters*, 査読有, Vol.52, 2011, 1166-1168
- ② 佐々木満、ストリゴラクトンの根規制植物趣旨発芽刺激活性およびアーバスキュラー菌根菌菌糸分岐誘導活性における構造要求性と農業への利用を指向した分子デザイン、植物の生長調節、査読有、45巻、2010、95-103
- ③ Hirosato Takikawa, Hiromasa Imaishi, Aya Tanaka, Satoshi Jikumaru, Mami Fujiwara and Mitsuru Sasaki, Synthesis of optically active strigolactones: Enzymatic resolution and asymmetric hydroxylation, *Tetrahedron: Asymmetry*, 査読有, Vol.21, 2010, 1166-1168
- ④ 佐々木満、ストリゴラクトンの合成と生物活性、日本農薬学会誌、査読有、34巻、2009、315-318
- ⑤ Hirosato Takikawa, Satoshi Jikumaru, Yukihiro Sugimoto, Xu Xie, Koichi Yoneyama and Mitsuru Sasaki, Synthetic disproof of the structure proposed for solanacol, the germination stimulant for seeds of root parasitic weeds, *Tetrahedron Letters*, 査読有, Vol.50, 2009, 4549-4551
- ⑥ Yuki Kondo, Eriko Tadokoro, Mayuko Matsuura, Kyoko Iwasaki, Yukihiro Sugimoto, Hideyoshi Miyake, Hirosato Takikawa and Mitsuru Sasaki, Synthesis and Seed Germination Stimulating Activity of Some Imino-analogs of Strigolactones, *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 査読有, Vol.71, 2007, 2781-2786

[学会発表] (計6件)

- ① 滝川浩郷、根寄生雑草種子発芽刺激物質

Sorgomolの合成、日本農芸化学会関西支部第467回講演会、2010年12月4日、神戸大学、神戸

- ② 佐々木満、ストリゴラクトンの合成と生物活性、第24回農薬デザイン研究会、2009年11月27日、メルパルク京都、京都
- ③ Mitsuru Sasaki, Synthesis and biological activity of strigolactones, 1st China-Japan-Korea Workshop on Pesticide Science, 2009年10月29日、Shanghai, China
- ④ 佐々木満、ストリゴラクトンの合成と生物活性、日本農薬学会第34回大会シンポジウム、2009年3月18日
- ⑤ Mitsuru Sasaki, Synthesis and seed germination stimulating activity of some oxime derivatives, 4th Pan Pacific Conference on Pesticide Science, 2008年6月3日、Honolulu, Hawaii
- ⑥ 佐々木満、根寄生植物の発芽刺激物質ストリゴラクトンの合成と生物活性、日本農薬学会第33回大会、2008年4月1日、近畿大学、奈良

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称：発芽刺激物質カーバメート誘導体およびその製造法

発明者：佐々木満、杉本幸裕、滝川浩郷、三宅秀芳、松尾憲忠

権利者：神戸大学、住友化学株式会社

種類：特許

番号：特願2010-82370

出願年月日：2010年3月31日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三宅 秀芳 (MIYAKE HIDEYOSHI)

神戸大学・農学研究科・教授

研究者番号：40181995

(2) 研究分担者

佐々木 満 (SASAKI MITSURU)

神戸大学・農学研究科・名誉教授

研究者番号：80314508

(3) 研究分担者

滝川 浩郷 (TKIKAWA HIROSATO)

神戸大学・農学研究科・教授

研究者番号：40271332