

フェニルフェナレノンの構造と生合成

加茂 綱嗣

信州大学農学部 応用生命科学科 生物制御化学講座

要約 フェニルフェナレノンはバナナのファイトアレキシンである。バナナ果皮より24種類のフェニルフェナレノンをファイトアレキシンとして単離し、主な光学活性体の構造を明らかにした。推定されるフェニルフェナレノン前駆体の標識化合物の投与実験を行い、その結果を元にバナナ果皮におけるフェニルフェナレノンの生合成経路を提唱した。この総説では、筆者が明らかにしたことを概説するとともに、他の植物が生産するフェニルフェナレノンおよび構造上関連が深いジアリルヘプタノイドの生合成について、現在までに明らかにされていることを紹介する。

キーワード：フェニルフェナレノン、ファイトアレキシン、バナナ、絶対構造

1. はじめに

バナナは世界中でデザートとして (*Musa acuminata*)、また熱帯地方では主食としても (*M. balbisiana*) 消費されている果物である。主に、熱帯地方のプランテーションにおいて栽培されている。バナナの栽培も他の作物と同様、病気との闘いである。バナナの品種や病気について、また、果実と病原菌との関わりについては平井の総説¹⁾に記載されているので、ぜひ参照されたい。

本総説は、バナナのファイトアレキシンであるフェニルフェナレノンの構造や生合成を中心に解説する。ファイトアレキシンとは、病原菌の菌糸の侵入や傷害などのストレスに対応して植物が生成する防御化合物の総称である²⁾。植物の生体防御は物理的防御と化学的防御に大きく区分され、ファイトアレキシンは後者に属する。定義上、元々蓄積している(プロヒビチン)、微量ながら蓄積しており感染時に著しく増加する(インヒビチン)、もしくは感染に際して迅速に化合物を放出できるようわずかに構造の異なる前駆体をあらかじめ蓄積している(ポストインヒビチン)といったケースは除外される。ファイトアレキシンによる防御は、完全に動的な性質を持った化学的防御である。

この総説では、最初に、バナナ果皮より単離したファイトアレキシンであるフェニルフェナレノンの構造決定について述べる。次に、安定同位体を用い

た取り込み実験結果を元に、フェニルフェナレノンの生合成を提唱する。最後に、他の植物を対象に行われたフェニルフェナレノンの研究や、生合成上関係が深いジアリルヘプタノイドの研究も含めて論ずる。

2. フェニルフェナレノンの研究

1. フェニルフェナレノンの単離と構造決定

筆者は、傷害処理後、炭疽病菌 *Colletotrichum musae* の分生子懸濁液を塗布した未熟バナナ果実より24種類のフェニルフェナレノンを単離した (Fig. 1)³⁾。2-(4'-Hydroxyphenyl)-1,8-naphthalic anhydride (1)は平井らによってバナナ果皮から⁴⁾、hydroxyanigorufone (2)、irenolone (3)などは Luisらによってバナナ根茎から既にファイトアレキシンとして単離されていたが⁵⁾、4-14は新規化合物である。これらのフェニルフェナレノンは、構造の特徴から、4-フェニル型、9-フェニル型、酸無水物型およびその他の4つのグループに分類した。

4-フェニル型と9-フェニル型は、2次元 NMR スペクトルによってそのフェニル基の位置を決定することができるが、収量が 1 mg 以下の場合には EI-MS が両者を区別する上で有効な手段となる。以前から報告されているように、4-フェニル型では $[M]^+$ イオンが $[M-H]^+$ イオンより強く現れるのに対し、9-フェニル型では $[M-H]^+$ イオンの方が強く現れる⁶⁾。筆者の研究においても、例外はなかった。この特性の理由は、9-フェニル型では安定な $[M-H]^+$ イオンが生じやすいからであると考えら

受理日 10月30日

採択日 11月20日

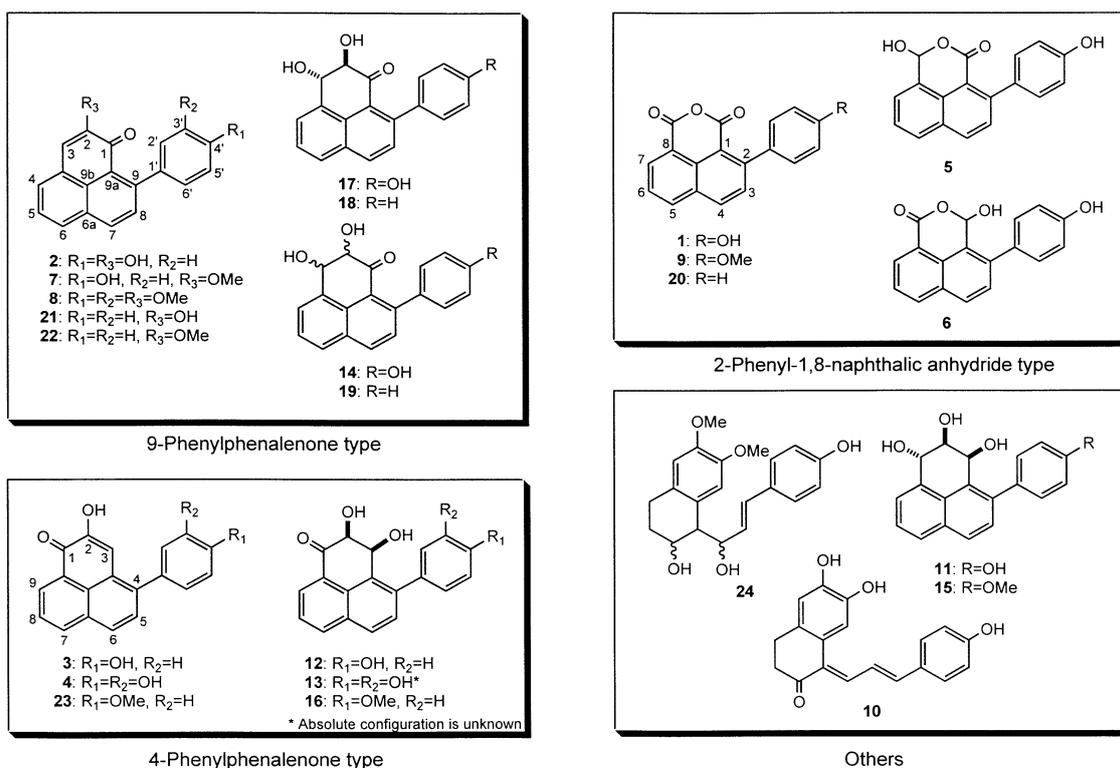


Fig. 1. Four types of phenylphenalenones 1-24 isolated from banana fruits.

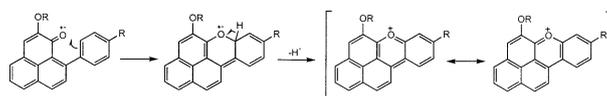


Fig. 2. Formation of $[M-H]^+$ ions from 9-phenylphenalenones in EIMS.

れる (Fig. 2)。

2. 光学活性体の絶対構造決定

前述のフェニルフェナレノンのうちいくつかは、不斉炭素を有する光学活性体である。生合成経路におけるこれらの物質の関連を明らかにするために、それらの絶対構造を解明する必要があった。

まず、**11**と**15**の絶対構造の決定に着手した (Fig. 3)。化合物**15**のC-1, C-2およびC-3の立体化学を明らかにするために、その部分構造を含むC-9a-C-1-C-2-C-3-C-3a部位をアラビトールへ変換することを試みた。しかし、酢酸溶媒中におけるオゾン分解による芳香環の分解は失敗に終わった。隣接水酸基の存在が原因であると考えられたため、**15**をアセチル化した後に同様のオゾン分解を行い、ジアゾメタンによるメチル化後に中間体**25**を得た。化合物**25**を還流下で水素化ホウ素ナトリウムにより還元し、続いてアセチル化をして目的化合物であるアラビトールペンタアセテート(**26**)に導いた。この化合物の $[\alpha]_D^{25}$ は、市販品より合成したL-アラビトールペンタアセテートの値とほぼ同一であった。こ

のことから、**15**の絶対構造は(1*S*,2*R*,3*S*)であると決定した。また、**11**のメチル化物は比旋光度も含めて**15**と同一であるため、**11**の絶対構造も同様に(1*S*,2*R*,3*S*)であることが判った。

化合物**12**および**16-18**の絶対構造は、先の結果を元にして以下のように決定した。化合物**12**はメチル化によって**16**に導かれ、**16**は還元によって**15**とその1-エピマーに変換された。このことは、**12**と**16**が(2*S*,3*S*)であることを意味する。また、**17**の還元は**11**とその3-エピマーを与えたため、**17**が(2*R*,3*S*)であることが判った。さらに、**18**は還元により**27**とその3-エピマーを与え、**27**はアセチル化の後にオゾン分解され**25**を与えた。このことは、**27**が**11**や**15**と同様に(1*S*,2*R*,3*S*)であることを示しており、すなわち、**18**は(2*R*,3*S*)であることが明らかになった。なお、光学活性体**13**, **14**および**19**は、量が少なかったために絶対構造の決定には至っていない。

3. フェニルフェナレノンの生合成

これまでに述べたように、光学活性を有するフェ

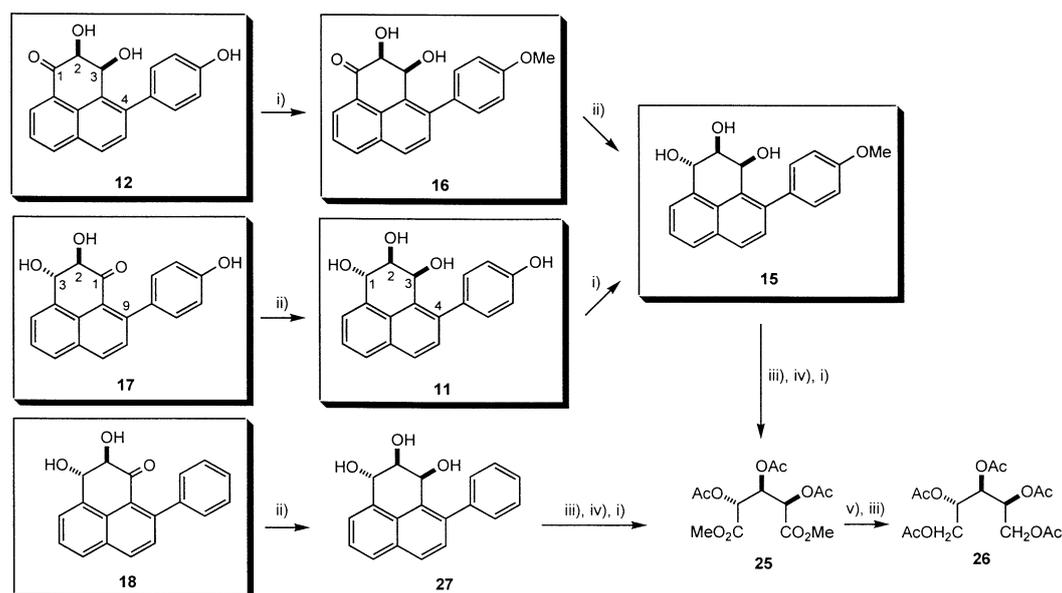


Fig. 3. Determination of absolute configurations of 11, 12, 15-18.

i) $\text{CH}_2\text{N}_2/\text{MeOH}$, ii) $\text{NaBH}_4/\text{EtOH}$ (room temperature), iii) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{pyridine}$,
iv) a) O_3/AcOH , b) $\text{H}_2\text{O}_2/\text{AcOH}$, v) $\text{NaBH}_4/\text{MeOH}$ (reflux)

ニルフェナレノン共通の絶対構造 (1*S*, 2*R*, 3*S*) を基本としており、各々はその酸化型および還元型とみなすことができる。この事実は、お互いが生合成経路上で前駆体と代謝物の関係にあることを強く示唆している。それでは、これらの光学活性体も含め、フェニルフェナレノンの骨格はどのように生合成されているのであろうか。

カンガルーポーなどの観賞用植物で知られるヘモドム科植物はフェニルフェナレノンを色素として含んでおり、この科の植物を用いてフェニルフェナレノン生合成の研究が進められてきた⁷⁾。現在までに、2分子のフェニルプロパノイド (C₆-C₃単位) と1分子の酢酸 (脱炭酸により C₁単位) より、ジアリルヘプタノイド型中間体を経てフェニルフェナレノン骨格 (C₁₉) が形成されることが明らかにされた⁸⁾。バナナのファイトアレキシンであるフェニルフェナレノンもそれと共通の経路で生合成される可能性が高いが、いくつかの実験から確認した。

筆者は、バナナ果実を材料に用いて標識化合物の取り込み実験を行った⁹⁾。バナナ果実に [1-¹³C] ケイ皮酸を投与し、培養後に主要なファイトアレキシンである **2** を単離した。その ¹³C-NMR スペクトルを標品のものと比較すると、C-6とC-7のシグナル強度がそれぞれ増大していた。この結果は、2分子のケイ皮酸が1分子のフェニルフェナレノンに取り込まれていることを示している。[1-¹³C] ケイ皮酸の代わりに [2-¹³C] ケイ皮酸を用いた同様の実験

では、C-5とC-8にラベルが取り込まれたこともこの結果を支持している。ヘモドム科植物と同じようにバナナにおいても、2分子のフェニルプロパノイドからフェニルフェナレノンが生合成されることが明らかになった。

C-6aもヘモドム科植物と同様に酢酸由来であろうか。予想に反し、[2-¹³C] 酢酸ナトリウムは**2**に取り込まれず、[2-¹³C] マロン酸ナトリウムが取り込まれた。この結果から、バナナにおいてはフェニルフェナレノンのC-6aはマロン酸のC-2由来ということになる。しかし、*in vivo* で実際の C₁単位として用いられている可能性が高いマロニル CoA およびアセチル CoA は、酢酸から生合成される。このため、マロン酸が酢酸より取り込まれやすいという結果の解釈は難しい。

また、**1**のような酸無水物型の化合物も、フェニルプロパノイド2分子から生合成されることを同様の実験から確認した。この結果は、9-フェニル型と酸無水物型が、共通の生合成経路上にあることを示唆している。酸化と脱炭酸の経路が一般的に考えやすいため、順序としてはおそらく**2**が先で、そこから**1**に変換されるのであろうと予想された。

[2', 3', 5', 6'-²H₄]-**2**と [2', 3', 5', 6'-²H₄]-**3**を合成し、それぞれバナナ果実に投与して代謝させ、そこから得た**1**のマススペクトルを検討した。標品の**1**のスペクトルと比較すると、[2', 3', 5', 6'-²H₄]-**2**を取り込ませた場合は [M+4]⁺イオンの強度が増

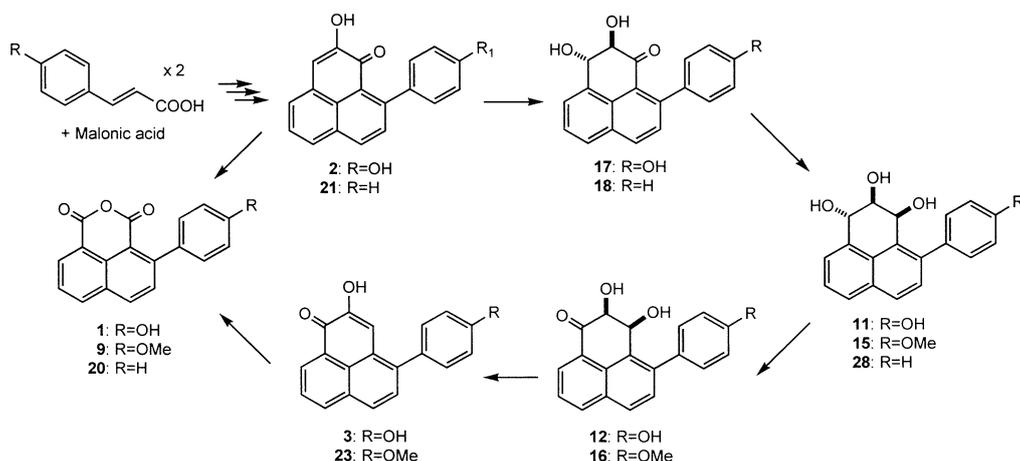


Fig. 4. A proposed biosynthetic pathway for phenylphenalenones in banana fruit. Compound 28 have not been found.

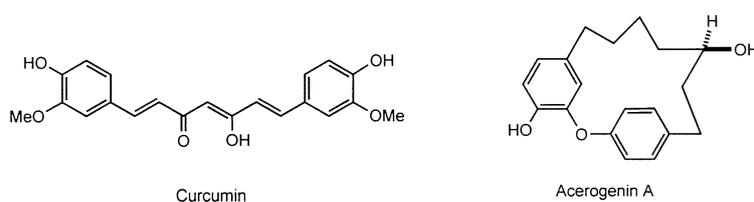


Fig. 5. Structures of curcumin and acerogenin A.

大した。一方, $[2',3',5',6'-^2\text{H}_4]-\mathbf{3}$ を取り込ませた場合はわずかしき増大しなかった。これらの結果から, 9-フェニル型と4-フェニル型は酸無水物型に代謝されること, 前者の方がよい基質であることが示された。

これらの取り込み実験の結果とフェニルフェナレノンの消長から, Fig. 4 に示したような生合成経路が考えられる。以前, 化合物 **11** のようなトリオール体が中間体と想定され, それが酸化されることで **2** や **3** が生合成されるという経路が Luis らによって提唱された¹⁰⁾。しかし筆者は, 最初に **2** が生合成される経路がより妥当であると考えている。なぜなら, i) **2** の蓄積は他の化合物に比べて早く, 条件によっては **2** が単独で生じる⁹⁾, ii) 2 分子のフェニルプロパノイドからの生合成経路は **2** のような9-フェニル型の方が単純である, iii) ヘモドルム科植物はほとんど9-フェニル型のみを生成しているからである。この生合成経路は, 今後さまざまな実験を通して検証していく必要がある。

4. 他の植物における関連化合物の生合成経路

ヘモドルム科植物とバナナにおけるフェニルフェナレノン生合成経路は, 4-フェニル型の合成などいくつかの違いがあるものの, 基本的に共通していることが判った。従来, ユリ目に含まれていたヘモド

ルム科は, ショウガ目バショウ科のバナナとやや遠い関係にあった¹¹⁾。しかし, リブロース-1,5-ビスフォスフェートカルボキシラーゼ大ユニット (*rbcL*) 遺伝子の分析結果による植物の系統分類において, ヘモドルム科はヘモドルム目に格上げされ, ショウガ目と比較的近縁であるとされた¹²⁾。共通の二次代謝産物の経路を有している植物がお互い近い関係にあるという結果は妥当であり, 化学分類学の立場から分子系統学の分類を支持する。また, ミズアオイ科とされていたホテイアオイ *Eichhornia crassipes* も, フェニルフェナレノン成分として有することが知られているが¹³⁾, これもおそらく前述の経路とほぼ共通であろう。なぜなら, ミズアオイ科 (ミズアオイ目に昇格した) も, ヘモドルム目やショウガ目と近縁であることが *rbcL* 遺伝子の分析結果により示されたからである。

これらの結果から, 従来のクルクミン生合成経路に再考の余地が生じる。クルクミンはショウガ科のウコン *Curcuma longa* に含まれる色素で, ジアリルヘプタノイドである (Fig. 5)。Roughley と Whiting は, ^{14}C を標識に用いた取り込み実験の結果より, クルクミンは1分子のフェニルプロパノイド (C_6-C_3 単位) と5分子のマロニル CoA (C_2 単位 $\times 5$) から生合成されていると報告した¹⁴⁾。しか

し、同じショウガ目のバナナは、2分子のフェニルプロパノイドからジアリルヘプタノイドを中間体としてフェニルフェナレノンを生合成している。また、クルクミンのベンゼン環の酸化パターンはポリケチド由来とは考えにくい。さらに、カエデ科の植物 *Acer nikoense* より単離された環状ジアリルヘプタノイドであるアセロゲニンAは、2分子のフェニルプロパノイドと1分子のマロン酸から生合成されている (Fig. 5)¹⁵⁾。これらのことから、クルクミンが2分子のフェニルプロパノイド由来である可能性は排除し切れない。その場合、RoughleyとWhitingの実験では¹⁴C標識化合物が代謝されて拡散していたものと推測される。

3. おわりに

バナナ果実は、筆者が単離しただけでも24種類のフェニルフェナレノンを生合成しているが、そのうちの数種類しかバナナ炭疽病菌に対する抗菌活性を示さない。この一見無駄に見える多様性は、自然界においてはこの菌以外にも外敵となる菌が多く存在すること、そして菌の耐性の変化に即座に対応できるような工夫がなされていることの表れかもしれない。また、近縁の植物がある程度共通する二次代謝産物の生合成経路を有していることも、分子系統学の発達と効果的に結びつきながら示された。同じ起源と考えられる植物群が、同一性を残しながらも地球上で個々の種の独自性を展開しているのである。

4. 参考文献

- 1) 平井伸博, バナナの花アレルキシン, 日本農芸化学会誌, **72**, 661-664, 1998.
- 2) Daverall, B. J. in "Phytoalexins" edited by Bailey, J. A. and Mansfield, J. W., Blackie, Glasgow and London, pp1-20, 1982.
- 3) (a)Kamo, T., Kato, N., Hirai, N., Tsuda, M., Fujioka, D. and Ohigashi, H., Phenylphenalenone-type phytoalexins from unripe Buñgulan banana fruit. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 95-101, 1998. (b)Kamo, T., Kato, N., Hirai, N., Tsuda, M., Fujioka, D. and Ohigashi, H., A biosynthetic intermediate of phytoalexins in banana fruits. *Phytochemistry*, **49**, 1617-1621, 1998. (c)Kamo, T., Hirai, N., Iwami, K., Fujioka, D. and Ohigashi, H., New phenylphenalenones from banana fruit. *Tetrahedron*, **57**, 7649-7656, 2001.
- 4) Hirai, N., Ishida, H. and Koshimizu, K., A phenalenone-type phytoalexin from *Musa acuminata*. *Phytochemistry*, **37**, 383-385, 1994.
- 5) Luis, J. G., Echeverri, F., Quiñones, W., Brito, I., López, M., Toress, F., Cardona, G., Aguiar, Z., Pelaez, C. and Rojas, M., Irenolone and emenolone: two new types of phytoalexin from *Musa paradisiaca*. *J. Org. Chem.*, **58**, 4306-4308, 1993.
- 6) Bick, I. R. C. and Blackman, A. J., Heamodorin-a phenalenone pigment. *Aust. J. Chem.*, **26**, 1377-1380, 1973.
- 7) (a)Cooke, R. G. and Thomas, R. L., Colouring matters of Australian plants. XVIII. Constituents of *Anigozanthos rufus*. *Aust. J. Chem.*, **28**, 1053-1057, 1975. (b)Thomas, R., The biosynthesis of the plant phenalenone Haemocorin. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 739-740, 1971. (c)Edwards, J. M., Schmitt, R. C. and Weiss, U., Biosynthesis of a 9-phenylperinaphthenone by *Lachnanthes tinctoria*. *Phytochemistry*, **11**, 1717-1720, 1972. (d)Harmon, A. D., Edwards, J. M. and Highet, R. J., The biosynthesis of 2,5,6-trihydroxy-9-phenylphenalenone by *Lachnanthes tinctoria*. Incorporation of 1-¹³C-phenylalanine. *Tetrahedron Lett.*, 4471-4474, 1977.
- 8) (a)Hölscher, D. and Schneider, B., A diarylheptanoid intermediate in the biosynthesis of phenylphenalenones in *Anigozanthos preissii*. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 525-526, 1995. (b)Hölscher, D. and Schneider, B., The biosynthetic origin of the central one-carbon unit of phenylphenalenones in *Anigozanthos preissii*. *Nat. Prod. Lett.*, **7**, 177-182, 1995.
- 9) Kamo, T., Hirai, N., Tsuda, M., Fujioka, D. and Ohigashi, H., Changes in the content and biosynthesis of phytoalexins in banana fruit. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 2089-2098, 2000.
- 10) Luis, J. G., Fletcher, W. Q., Echeverri, F. and Grillo, T. A., Intermediates with biosynthetic implications in *de novo* production of phenylphenalenone-type phytoalexins by *Musa acuminata*. *Tetrahedron*, **51**, 4117-4130, 1995.
- 11) Cronquist, A. "An Integrated System of Classification of Flowering Plants" Columbia Univ. Press, New York, 1981.
- 12) Chase, M. W. *et al.*, Phylogenetics of seed plants: An analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcl*. *Ann. Missouri Bot. Grad.*, **80**, 528-580, 1993.
- 13) (a)Greca, M. D., Lanzetta, R., Molinaro, A., Monaco, P. and Previtera, L., Phenalene metabolites from *Eichhornia crassipes*. *Biomed. Chem., Lett.*, **2**, 311-314, 1992. (b)Greca, M. D.,

- Molinaro, A., Monaco, P. and Previtera, L., Dimeric phenalene metabolites from *Eichhornia crassipes*. *Tetrahedron*, **48**, 3971-3976, 1992.
- 14) Roughley, P. J. and Whiting, D. A., Experiments in the biosynthesis of curcumin. *J. Chem. Soc., Perkin I*, 2379-2388, 1973.
- 15) Inoue, T., Kenmochi, N., Furukawa, N. and Fujita, M., Biosynthesis of acerogenin A, a diarylheptanoid from *Acer nikoense*. *Phytochemistry*, **26**, 1409-1411, 1987.
-

Phenylphenalenones and Their Biosynthetic Pathway

Tsunashi KAMO

Department of Bioscience and Biotechnology,
Faculty of Agriculture, Shinshu University

Twenty-four phenylphenalenone-phytoalexins were isolated from the peels of banana fruits *Musa acuminata* and *M. balbisiana*. Absolute configurations of the optically active phenylphenalenones were determined by chemical conversions to L-arabitol pentaacetate. The biosynthetic pathway for phenylphenalenones in banana fruit is proposed on the basis of the results of feeding experiments. Biosyntheses of phenylphenalenones in other plants and diarylheptanoids are also discussed.

Key word : phenylphenalenone, phytoalexin, banana, *Musa*, absolute configuration