

氏名(本籍)	ひろ せ かつ とし 広瀬 克利 (兵庫県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第 3290 号
学位授与年月日	平成 15 年 12 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	粘性多糖類を原料とした植物成長促進物質レピジモイドの製造法に関する研究

主査	筑波大学教授	理学博士	長谷川 宏 司
副査	筑波大学教授	農学博士	久 島 繁
副査	筑波大学教授	農学博士	白 井 健 二
副査	筑波大学教授	農学博士	坂 井 直 樹

論文の内容の要旨

レピジモイドは、クレス種子が発芽時に分泌・放出し、混植した相手植物のシュートの成長を顕著に促進するアレロノパシー物質として発見された新規の二糖化合物である。クレスの学名 (*Lepidium sativum* L.) にちなんで命名されたレピジモイドは、様々な植物種の発芽種子から分泌・放出されることが明らかになり、この現象は植物に普遍的なものであると考えられている。また、その生理作用はシュートの成長を促進するだけでなく、花芽形成、子葉の拡大やクロロフィル合成を促進したり、老化を抑制する等、多面的な生理活性を有することが明らかにされている。更に、種子の発芽時に放出されるだけでなく、植物の成長中の組織でレピジモイドが検出され、植物の成長に関与していることを示唆する報告もあり、レピジモイドは新しいタイプの植物成長調節剤として農業への応用が期待されている。レピジモイドはグルコースとラムノースを原料として合成されているが、22 工程もの難解な反応を経ていることから大量に製造することは容易ではない。また、種子分泌液におけるレピジモイド含有量は極めて少ないことからサンプルの入手は極めて難しく、簡便にしかも大量に製造する方法の開発が望まれている。

本研究ではレピジモイドと構成糖が酷似するラムノガラクトツロナンを含む多糖類を原料としてレピジモイドの製造法の開発研究を行った。まず、原料について検討を行い、オクラ (*Hibiscus esculentus* L.) の未熟果実からの抽出が最も収率が高く、入手の容易さ、比較的安価であること等から、以後レピジモイド製造の原料とした。次にオクラから粘性多糖類の抽出方法を確立し、主にガラクトース、ラムノース、ガラクトツロン酸から成る糖鎖の繰り返し構造にタンパク質が結合した分子量約 1000 万の巨大分子であることを明らかにした。得られた粘性多糖類を原料として、脱ガラクトース反応、小糖化反応、エステル化反応、脱水反応、加水分解反応を経て、レピジモイド酸を合成し、各種クロマトグラフィーによる精製工程を経てレピジモイド酸を単離し、NMR、MS、IR 等で構造を確認した。得られたレピジモイド酸をナトリウム塩にしてレピジモイドを合成することができた。しかし、合成したレピジモイドの HPLC 測定条件を精査することにより、1 本のピークが 4 本のピークに分かれてきた。そこで誘導体を作り、各々のピークを単離して NMR 及び X-線解析により構造決定を行った。その結果、レピジモイドとレピジモイドの L-ラムノシル基が 6-デオキシ-L-グルコシル基に異性化した物質 (レピジモイド-2-エピマー) の約 1:1 の混合物であること

が分かった。レピジモイド及びレピジモイド-2-エピマーは分子内にアノメリック炭素原子を持っているので、それぞれがHPLCで2本のピークを示すことから、4本のピークが得られたことが分かった。また、アルカリ条件でレピジモイドがレピジモイド-2-エピマーへ異性化することも明らかにした。一方、レピジモイド及びレピジモイド-2-エピマーの施光度を測定し、文献により異なる施光度問題に見解を加えた。得られたレピジモイド及びそのアナログの生理活性について、ケイトウ下胚軸伸長テストを用いて調べた。その結果、レピジモイド酸及びレピジモイド酸-2-エピマーの1:1混合物（粘性多糖類から合成）、化学合成レピジモイド、レピジモイド（粘性多糖類から合成）及びレピジモイド-2-エピマー（粘性多糖類から合成）は全てケイトウ下胚軸の伸長に対して同程度の高い促進活性を示した。レピジモイドのメチルグリコシドは殆ど活性を示さなかった。しかし、酸分解を伴うレピジモイド合成法では、大量のレピジモイドメチルグリコシドの副生が避けられないことから、アルカリ分解によってレピジモイド及びレピジモイド-2-エピマーを効率良く合成する方法を開発し、酸分解を経由する方法に比べて収率を6倍程度上げることに成功した。この方法でもレピジモイド-2-エピマーが約50%含まれていた。これらの研究を通してオクラ粘性多糖類（ラムノガラクトン）を原料として簡便な方法でレピジモイドを合成することに成功し、農業への応用展開を可能にした。

審 査 の 結 果 の 要 旨

ラムノースとデオキシガラクトン酸から成るレピジモイドは、植物の成長や花芽・種子形成等を促進する多面的な生理活性を有し、農業への応用が期待されてきた。しかし、ラムノースとグルコースを原料とした有機合成は多くの工程を要し、安価で大量に製造することは極めて難しく、簡便な製造方法の開発が待望されていた。

著者はレピジモイドの化学構造が植物細胞壁の構成多糖類のラムノガラクトンのユニットと酷似していることに着目し、ラムノガラクトンから化学処理によってレピジモイドのユニットを切り出し、分離・精製することによってレピジモイドを製造することを目指した。原料の検討から始め、オクラ未熟果実が抽出効率や経済面から適していることを突き止め、酸分解を経た化学的手法によるレピジモイドの製造法を確立した。また、そのレピジモイド製造の際に、副次的に生成する物質はレピジモイドと同程度の成長促進活性を有するレピジモイド-2-エピマーであることも明らかにした。

更に、著者は酸分解を伴うレピジモイド合成が不活性のレピジモイドメチルグリコシドの大量副生を生みレピジモイドの収率が低いことを解消するため、アルカリ条件で糖鎖から直接二糖に開裂させ、二重結合を導入する方法を開発し、レピジモイド合成の収率を飛躍的に上げることに成功した。

着眼点も良く、更に卓越した合成・精製手法を駆使して、長年の夢であったレピジモイドの合成方法を開発したことは高く評価できる。レピジモイドの大量製造法が確立したことによって、作物の成長促進や増収といった農業への応用展開を実現可能にした点においても本研究成果の役割は大きいと判断する。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。