Penicillium atramentosum の代謝産物について

藤本 康雄*, 横山 栄蔵*, 諸岡 信久*,
角田 廣*, 辰野 高司*

Y. FUJIMOTO*, E. YOKOYAMA*, N. MOROOKA*, H. TSUNODA*,
T. TATSUNO*: Studies on the metabolite of
Penicillium atramentosum

Summary

Secalonic acid D was isolated as major metabolite from the mycelia of *Penicillium atramentosum*, and its cytotoxicity against Yoshida sarcoma cells in tissue culture was investigated.

角田ら^{1),2)}は, *Ceratosystis densiflora* nov. sp が立枯れ松に共通に分布し, しかも本菌が赤松苗木にきわめて強い病原性を示すことを見出した。立枯れ松から分離された青カビ中でよく見られるものは *Penicillium roseo-purpureum*, *Penicillium atramentosum* および *Penicillium diversum* var. *aureum* の3種であり, これらは *C. densiflora* が寄生して枯死した松に腐生したものと考えられる。これら3種の青カビのうち, *P. roseo-purpureum* は citromycin および carviolin³⁾ を生産することが知られている。しかしながら *P. atramentosum* と *P. diversum* var. *aureum* の代謝産物については未だに報告されていない。*P. atramentosum* は山本⁴⁾によりカビ餅から分離され, 本菌代謝産物が Brine shrimp larvae に対して毒性を示すことが報告されている。また当研究室で行った吉田肉腫細胞に対する毒性試験においても, 本菌の菌体抽出物は細胞毒性を示した。そこで著者らは吉田肉腫細胞に対する毒性試験を指標として本菌代謝産物の検索を行った。

菌の培養および活性物質の単離

P. atramentosum を Czapek-Yeast extract 培地 (シヨ糖 50 g, KCl 0.5 g, MgSO₄ 0.5 g, K₂HPO₄ 1.0 g, NaNO₃ 2.0 g, Yeast extract 5.0 g, 滅菌水

1.0 l に接種し, 20~25°C で3週間静置培養する。

菌蓋と汙液を分離し, 20~25 前者をよく水洗した後, 2 N H₂SO₄ 10 ml を含むアセトン 3 l に浸漬し約24時間後に汙過してアセトン抽出液を得た。この抽出操作を再度繰返した後, アセトン抽出液を減圧濃縮し析出する沈殿物を吸引汙取する。この沈殿物を酢酸エチルに溶かし, 同量の飽和食塩水で洗浄後, 芒硝で乾燥し溶媒を減圧留去する。残留物を n-ル-ヘキサンおよびメタノールで順次洗浄後, クロロホルムまたはアセトンから再結晶して活性物質 (PA-I と命名) の黄色針状晶 1.8 g を得た。

構造研究および生理活性

PA-1 は MS: m/z 638 (M⁺), C₃₂H₃₀O₁₄ を示し, ¹H-NMR では15個分のプロトンシグナル, また ¹³C-NMR では16個分の炭素シグナルしか観察されないことから二量体型の化合物であると思われる。さらに ¹H-NMR decoupling, ¹³C-NMR における Nuclear Overhauser Effect (NOE) 条件下での測定結果および塩化第二鉄反応 (赤褐色) の結果等から Fig. 1 に示す部分構造式 (A~E) の存在が推定された。これらの部分構造式の組合わせを種々のスペクトルデータから考え, さらに $[\alpha]_D^{22} + 214^\circ$ の値を考慮すると PA-1 は secalonic acid D (SA-D) であろうと推定されたので, 400 MHz NMR スペクトルにて標品と比較して同定した。

* 理化学研究所 (〒351 和光市広沢 2-1)

The Institute of Physical and Chemical Research (Hirosawa, Wako-shi, Saitama 351)

Fig. 1

Fig. 2. Secalonic acid D

Fig. 3. Effects of secalonic acid D on the growth of Yoshida sarcoma cells in tissue culture.

Cells were suspended in DM-160 culture medium containing 20% fetal bovine serum.→

SA-D は Fig. 3 に示す如く吉田肉腫細胞に対して 0.3 $\mu\text{g/ml}$ の濃度から生育阻害活性を示し, 3 $\mu\text{g/ml}$ の濃度では 80% の阻害活性を示した。

SA-D は, すでに *Penicillium oxalicum*⁵⁾, *Aspergillus ochraceus*⁶⁾ および *Aspergillus aculeatus*⁷⁾ 等から単離されており, その毒性^{8),9)} および制ガン性¹⁰⁾ についても報告されている。

著者らは本研究において SA-D が *P. atramentosum* によって大量に生産されること, および SA-D の吉田肉腫細胞に対する毒性について明らかにした。

←2 ml of cell suspension (approximately 20×10^4 cells/ml) was transferred into each vials. After addition of secalonic acid D at the final concentration indicated, the vials were incubated at 37°C with rubber stoppers. Total cell number was counted after days' incubation.

SA-D data

mp. 255-257° (from acetone)

MS: m/z 638 (M^+)

Analysis Found: C, 60.0; H, 4.7; O, 35.2,

reguiers: C, 60.2; H, 4.7; O, 35.1

 $[\alpha]_D^{22} + 214^\circ$ (pyridine, $C=0.3$)UV: $\lambda_{\max}^{EtOH}/nm$ 338, 267IR: $\nu_{\max}^{KBr}/cm^{-1}$: 3500 (H-bonded OH), 1725 (ester C=O), 1600 (H-bonded C=O) 1H -NMR: δ ($CDCl_3$, 400 MHz) 1.18 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H-11), 2.32 (1H, dd, $J=10.5$, 18.8 Hz, H-7), 2.42 (1H, m), 2.74 (1H, dd, $J=5.9$, 18.8 Hz, H-7), 2.80 (1H, d, $J=2.9$ Hz, 5-OH), 3.73 (3H, s), 3.93 (1H, dd, $J=2.9$, 11.2 Hz, H-5), 6.63 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-4), 7.46 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-3), 11.76 (1H, s, 8-OH), 13.79 (1H, s, 1-OH) ^{13}C -NMR: δ ($DMSO-d_6$, 22.5 MHz) 17.7 (q, C-11), 29.9 (d, C-6), 35.8 (t, C-7), 52.6 (q, C-13), 75.3 (d, C-5), 85.1 (s, C-10a), 101.7 (s, C-8a), 106.2 (s, C-9a), 107.4 (d, C-4), 117.2 (s, C-2), 140.1 (d, C-3), 158.5

(s, C-4a), 158.9 (s, C-1), 169.9 (s, C-12), 178.1 (s, C-8), 186.5 (s, C-9)

謝 辞

Secalonic acid D の標品を御恵与頂いた明治薬科大学名取信策教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 角田 広, 諸岡信久, 辰野高司: マイコトキシン, 12, 36 (1980).
- 2) 諸岡信久, 角田 広, 辰野高司: マイコトキシン, 14, 29 (1982).
- 3) Shibata, S., Natori, S., Udagawa, S.: "List of Fungal Products" (1964), University of Tokyo Press.
- 4) 山本勝彦: 奈医誌, 26, 264 (1975).
- 5) Steyn, P. S.: Tetrahedron, 26, 51 (1970).
- 6) Yamazaki, M., Maebayashi, Y., Miyaki, K.: Chem. Pharm. Bull., 19, 199 (1971).
- 7) Andersen, R., Büchi, G., Kobbe, B., Demain, A. L.: J. Org. Chem., 42, 352 (1977).
- 8) Reddy, C. S., Hayes, A. W., Williams, W. L., Ciegler, A.: J. Toxicol. Environ. Health, 5, 1159 (1979).
- 9) Ciegler, A., Hayes, A. W., Vesonder, F.: Appl. Environ. Microbiol., 39, 285 (1980).
- 10) Iwaguchi, T., Kitagawa, H., Hirose, K., Ishida, T., Yamamoto, T.: Gann, 71, 900 (1980).