Chaetomium 属数種のマイコトキシン産生

小山清隆*¹, 高橋邦夫*¹, 名取信策*¹, 宇田川俊一*²

K. KOYAMA*¹, K. TAKAHASHI*¹, S. NATORI*¹, S. UDAGAWA*²: Production of mycotoxins by *Chaetomium* species

Summary

Chetomin was isolated from *Chaetomium angustispirale*, and chaetoviridin A and chaetoglobosin F were isolated from *C. subaffine*. From *C. longicolleum*, three new related to aflatoxin biosynthesis, and eight known metabolites were isolated: the former were sterigmatocystin hemiacetal acetate (8), 1',4'-diacetylversiconol (11) and 1'-acetylversiconol (13), and the latter were sterigmatocystin, averufin, versicolorin B, nidurufin, dihydrosterigmatocystin, sterigmatocystin hemiacetal, 4'-acetyl versiconol (versiconol acetate) and versiconol.

Chaetomium 属菌類が chaetocin, chetomin などの細胞毒性物質のほか, cytochalasin の一種 chaetoglobosin 類, あるいは sterigmatocystin などを産生することを著者らは先に報告した^{1,3)}. その後, さらに *Chaetomium* 属の産生するマイコトキシンについて研究を続け, chaetochromin 類³⁾, epipolythiodioxopiperazine 類⁴⁾, azaphilone 類⁵⁾ などの二次代謝産物について報告した.

今回, *Chaetomium angustispirale* より chetomin (1) を, *C. subaffine* より chaetoviridin A (2) と chaetoglobosin F (3) を単離・同定し, さらに *C. longicolleum* より aflatoxin 生合成に関連する二次代謝産物11種類 (4-14) (うち3種類は新規化合物) を単離し, 同定および構造決定を行った.

材料および方法

供試菌株: *Chaetomium angustispirale* Sergejeva TRTC 47862株, *C. subaffine* Sergejeva TRTC 35600

株, および *C. longicolleum* Krezm. et Badura TRTC 48536 株の3菌株を用いた. これらは, いずれもトロント大学植物学部菌学研究室 (TRTC) より分与された.

培養・抽出: ルーフラスコに基質として麦 (商品名白麦米) 150 g と水 40 ml をいれ, 高圧滅菌後, 供試菌を接種し 25°C で培養した. 培養期間は生育状況により *C. angustispirale* が17日間, *C. subaffine* が22日間, *C. longicolleum* が10日間とした. 培養終了後, *C. angustispirale* と *C. subaffine* の場合は, カビ麦を酢酸エチルで抽出, *C. longicolleum* の場合は塩化メチレン, 次いで酢酸エチルで抽出した.

分離・同定: *C. angustispirale* および *C. subaffine* の場合, カラムクロマトグラフィーは Merk Kieselgel 60, 70-230 メッシュを, HPLC は Nucleosil 50-5 を用いて行った. *C. longicolleum* の場合は, 上記の担体についてそれぞれ シュウ酸処理をして用いた. また, 標品との同定は sterigmatocystin hemiacetal (10) を除いて ¹H-NMR, IR, UV を用いた.

C. angustispirale より chetomin (1) の単離: 酢酸エチル抽出エキス 7 g (基質 1.5 kg あたり, フラスコ10本分) をシリカゲル 70 g でカラムクロマトグラフィーを行い酢酸エチルで溶出したフラクションを, さらに HPLC (n-ヘキサン: 酢酸エチル=1:3) で分離した. アセトン-n-ヘキサンの再結晶を行い, 1 を 189 mg を得た. 標品と比較し chetomin⁶⁾ と同定し

*¹ 明治薬科大学 (〒188 東京都田無市谷戸町1-22-1) Meiji College of Pharmacy (1-22-1, Yatocho, Tanashi-shi, Tokyo 188).

*² 千葉大学真核微生物研究センター (〒280 千葉市友鼻1-8-1) Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University (1-8-1, Inohana, Chiba 280).

Fig. 1. Chemical structures of secondary metabolites produced by *Chaetomium* spp.

た。

C. subaffine より chaetoviridin A (2) および chaetoglobosin F (3) の単離: 酢酸エチル抽出エキス 36 g (基質 3.9 kg あたり, フラスコ26本分) をシリカゲル 360 g でカラムクロマトグラフィーを行い, n-ヘキサン: 酢酸エチル (2:1) で溶出した画分を fr A, (1:3~4) で溶出した画分を fr B, (1:7) で溶出した画分を fr C とした。fr A をさらに HPLC (n-ヘキサン: 酢酸エチル=7:1) で分画し, p-hydroxybenzaldehyde 50 mg と 2 を 365 mg 得た。標品と比較し chaetoviridin A⁵⁾ と同定した。また, fr B からは既報⁷⁾ の chaetoglobosin C 1.3 g が得られたほか, fr C をさらにクロロホルムで再結晶を行い, 3 を 1.33 mg 得た。標品と比較し chaetoglobosin F⁷⁾ と同定した。

C. longicollum より sterigmatocystin (4), averufin (5), versicolorin B (6) および nidurufin (7) の単離: 塩化メチレン抽出エキス 6.5 g (基質 1.5 kg あたり, フラスコ10本分) にアセトンを加えたところ不溶物を生じたので, ろ取した。このアセトン不溶物 (4) 2.5 g は TLC で単一スポットであったので, 標品と比較し sterigmatocystin⁸⁾ と同定した。またアセトン可溶部 4 g をシュウ酸処理したシリカゲル 50 g で n-ヘキサナー酢酸エチル系を溶出溶媒としてカラムクロマトグラフィーを行い, 8 個の画分 (fr A から fr H) を得た。fr B を HPLC (n-ヘキサン: 酢酸エチル=5:1) で分画し, 5 を 176 mg 得た。標品と比較し averufin⁸⁾ と同定した。fr D を HPLC (クロロホルム: メタノール=25:1) で分画し, 6 を 52 mg 得た。標品と比較し, versicolorin B⁹⁾ と同定した。fr H を HPLC (クロロホルム: メタノール=25:1) で分画し, 7 を 82 mg 得た。標品と比較し, nidurufin⁸⁾ と同定した。

C. longicollum より 8, dihydrosterigmatocystin (9), sterigmatocystin hemiacetal (10), 11, versiconol acetate (12), 13, および versiconol (14) の単離: 酢酸エチル抽出エキス 8.8 g をシュウ酸処理したシリカゲル100 g でクロロホルム-メタノール系を溶出溶媒としてカラムクロマトグラフィーを行い15個の画分 (fr 1 から fr 15) を得た。fr 2 を HPLC (n-ヘキサン: 酢酸エチル=4:3) で分画し, 8 を 8 mg, 9 を 11 mg 得た。8 の構造は, 各種スペクトルデータから sterigmatocystin hemiacetal acetate と決定した。9 は標品と比較し dihydrosterigmatocystin¹⁰⁾ と同

定した。fr 3 を HPLC (n-ヘキサン: 酢酸エチル=5:6) で分画し, 10 を 28 mg 得た。10 は Ashley らの報告¹¹⁾ と ¹H-NMR を比較し, sterigmatocystin hemiacetal と同定した。fr 5 を HPLC (クロロホルム: メタノール=50:1) で分画し, 11 を 43 mg 得た。11 の構造は各種スペクトルデータから 1', 4'-diacetylversiconol と決定した。fr 7 を HPLC (クロロホルム: メタノール=30:1) で分画し, 12 を 13 mg, 13 を 12 mg 得た。12 は標品と比較し, 4'-acetylversiconol (versiconol acetate)¹²⁾ と同定した。13 は各種スペクトルデータから 1'-acetylversiconol と決定した。fr 8 を HPLC (クロロホルム: メタノール=20:1) で分画し, 14 を 58 mg 得た。標品と比較し versiconol¹³⁾ と同定した。

なお, 新規化合物, 8, 11, 13 に関しての物理データおよび構造決定については別に報告する。

結果および考察

Chaetomium 属菌類は強いセルラーゼ活性を有することから, その有用性が注目されているが, 本報で用いた *C. longicollum* のように sterigmatocystin を多量に産生する菌が認められることは, より一層安全性に対しての検討が必要である。

また, sterigmatocystin を経由しての aflatoxin 類の生合成については多数報告されているが, とくに versicolorin B → dihydrosterigmatocystin → aflatoxin B₂, および versicolorin A → sterigmatocystin → aflatoxin B₁ の経路については Bennett ら^{14,15)}, 矢部ら^{16,17)}, および Townsend¹⁸⁾ らが詳細に検討している。しかしながら, これらは *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* を用いてのものであり, sterigmatocystin などの化合物について *Chaetomium* 属が *A. flavus* や *A. parasiticus* と同様な生合成経路をとるのかどうか, *C. longicollum* を用いての生合成実験に興味を持たれる。

謝辞 本研究の一部を担当して下さいました井浦毅一, 大柴早苗, 光武順子の諸氏に感謝致します。

引用文献

- 1) Udagawa, S., Muroi, T., Kurata, H., Sekita, S., Yoshihira, K., Natori, S., Umeda, M.: Can. J. Microbiol., 25, 170 (1979).
- 2) Sekita, S., Yoshihira, K., Natori, S., Udagawa, S., Muroi, T., Sugiyama, Y., Kurata, H.,

- Umeda, M.: *Can. J. Microbiol.*, **27**, 766 (1981).
- 3) Koyama, K., Natori, S.: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 578 (1987).
- 4) Saito, T., Suzuki, Y., Koyama, K., Natori, S., Iitaka, Y., Kinoshita, T.: *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 1942 (1988).
- 5) Takahashi, M., Koyama, K., Natori, S.: *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 625 (1990).
- 6) Safe, S., Taylor, A.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1972**, 473.
- 7) Sekita, S., Yoshihira, K., Natori, S., Kuwano, H.: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 1629 (1982).
- 8) Aucamp, P., Holzapfel, C.: *J. S. Afr. Chem. Inst.*, **23**, 40 (1970).
- 9) Hamasaki, T., Hatsuda, Y., Terashima, N., Renbutsu, M.: *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 11 (1967).
- 10) Hatsuda, Y., Hamasaki, T., Ishida, M., Matsui, K., Hara, S.: *Agr. Biol. Chem.*, **36**, 521 (1972).
- 11) Ashley, D., Orti, D., Hill, Jr., R.: *J. Agr. Food Chem.*, **35**, 782 (1987).
- 12) Maes, C., Steyn, P.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1984**, 1137.
- 13) Hatsuda, Y., Hamasaki, T., Ishida, M., Yoshikawa, S.: *Agr. Biol. Chem.*, **33**, 131 (1969).
- 14) Bennett, J., Papa, K.: "Advances in Plant Pathology, Vol. 6, Genetics of plant pathogenic fungi," (Siddhu, G. S. Ed.), p. 263 (1988), Academic Press, N.Y.
- 15) Bennett, J., Lee, L., Shoss, S., Boudreaux, G.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 835 (1980).
- 16) Yabe, K., Ando, Y., Hashimoto, J., Hamasaki, T.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 2172 (1989).
- 17) Yabe, K.: *Proc. Jpn. Assoc. Mycotoxicol.*, **30**, 1 (1989).
- 18) McGuire, S., Brobst, S., Graybill, T., Pal, K., Townsend, C.: *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 8308 (1989).