

氏名	おくにしともや 奥西智哉
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	農博第1348号
学位授与の日付	平成15年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	農学研究科応用生命科学専攻
学位論文題目	Stereochemistry of Lignan Biosynthesis in Thymelaeaceae Plants (ジンチョウゲ科植物におけるリグナン生合成の立体化学)

(主査)
論文調査委員 教授 島田幹夫 教授 桑原保正 教授 坂田完三

論文内容の要旨

リグナンは代表的な植物二次代謝産物であるフェニルプロパノイドの一種であり、二分子のフェニルプロパン単量体がプロピル側鎖の中心炭素(C8)同士で結合した構造を基本骨格としている。また、種々のリグナンは、抗菌性、抗腫瘍性などの有用生理活性をもつことの他に、種々の植物種から単離されたリグナンのエナンチオマー組成が相互に大きく異なるという特異な立体化学的特徴をもつ。このような立体化学のおよび生化学的な特徴により、リグナンの生合成機構は、樹木生理学、木質利用学および天然物化学的な観点から興味をもたれてきた。

一方、文献調査によりリグナンの立体化学につき下記の点が指摘された。すなわち、1) 各種植物から単離されたリグナンの比旋光度の値は、光学的に純粋でないリグナンが数多く存在することを示している。また、2) マタイレジノールなど、生合成経路上でより下流に位置するジベンジルブチロラクトン型リグナンに関しては、ほとんどのリグナン産生植物から単離されたこの型のリグナンが、同じ絶対配置をもつものに対し、ジンチョウゲ科植物は特異的に、これらとは反対の絶対配置を有するエナンチオマーを産生することが示唆された。これまでリグナン生合成の立体化学に関する研究では、レンギョウ属植物(*Forsythia* spp.)において立体化学的に制御された化合物の変換系列が示されていたが、本研究では、上記の文献調査結果に基づいてジンチョウゲ科植物のリグナン生合成の立体制御機構について検討した。

ジンチョウゲ科植物のリグナンについては、比旋光度の報告があるのみで、正確なエナンチオマー組成はほとんど報告されていなかった。そこで、まず各種ジンチョウゲ科植物からリグナンを単離し、そのエナンチオマー組成をキラル HPLC と安定同位体希釈法を用いて正確に決定した。

その結果は次の A) および B) に要約される。A) (-)-ピノレジノール、(-)-ラリシレジノール、(+)-セコイソラリシレジノール及び(+)-マタイレジノールは、C8(C8')に関して同じ絶対配置をもつが、三種のジンチョウゲ科植物から単離されたリグナンの優先エナンチオマーの絶対配置は、*Wikstroemia sikokiana* のセコイソラリシレジノール以外いずれも同じである。そして、これらの優先エナンチオマーは、レンギョウリグナンの場合と完全に逆転している。B) 一方、生合成経路上で最上流部に位置するピノレジノールとラリシレジノールは光学的に純粋ではなく、下流部に位置するジベンジルブチロラクトンリグナンはすべて光学的に純粋であり、両者の中間に位置するセコイソラリシレジノールは、光学的に純粋な場合とそうでない場合がある。また、この結果は、ジンチョウゲ科植物以外の植物についても成立しており、植物の一般的特徴と考えられる。以上、A) および B) の結果は、リグナン生合成の立体化学に関して *Daphne* spp. が、*Forsythia* spp. と対極をなす植物種であることを明確に示すとともに、中間体リグナンのエナンチオマー組成には多様性が見られるが、最終的にはマタイレジノールの生成段階において光学的に純粋なリグナンが生成することを示している。そこで、*Daphne* spp. を用い、ジンチョウゲ科植物のリグナン合成酵素が触媒する反応の立体化学について検討するため、まず、リグナンを産生する *D. odora* のカルス培養系を確立した。このカルス系から単離されたリグナンのエナンチオマー組成は、本質的に母植物から得られたリグナンのそれと同様であったことから、本カルス系はリグナン合成酵素反応の立体化学研究

の実験材料として適切であることが確認された。また、非常に微量な酵素反応生成物を定量する必要があり、高感度キラル HPLC による分析条件を確立した。すなわち、断面積に反比例して検出感度の上昇が期待できる内径 1mm のセミマイクロキラルカラムを使用することにより、従来と比較して約20倍の高感度で分析を行うことが可能となった。

次に、上記の結果 A) を受け、生合成経路上の上流段階を触媒するピノレジノール還元酵素 (PLR) の性質を検討した。その結果、*D. genkwa* 植物体から調製した PLR 標品は(±)-ピノレジノールから(-)-ラリシレジノールを生成することが分かった。生成物の優先エナンチオマーは、植物体から得られたものと一致しており、*D. genkwa* におけるラリシレジノールのエナンチオマー組成決定に関わる PLR 活性を初めて見いだすことに成功した。

生合成経路上で最終的に光学的に純粋なリグナンを与えるのはジベンジルブチロラクトンリグナンの生成段階であるので、セコイソラリシレジノール還元酵素 (SIRD) が触媒する反応の立体化学的性質について検討した。その結果、*D. genkwa* シュートおよび *D. odora* カルスより調製した SIRD 標品はいずれも(±)-セコイソラリシレジノールから(-)-マタイレジノールを高い光学純度で生成させた。一方、*Daphne* spp. からは光学的に純粋な(+)-マタイレジノールが得られている。すなわち、酵素反応で生成したリグナンと対応する植物体から単離されたリグナンとでは、優先エナンチオマーが逆転しており、基質のエナンチオマーに関する立体選択性を制御する因子が別途存在することが示された。

以上、本論文はジンチョウゲ科植物のリグナン生合成に見られる特異な立体化学的制御機構の一端を明らかにしたものである。

論文審査の結果の要旨

樹木生理学、木質利用学および天然物化学的な観点から興味もたれているリグナンの生合成については、レンギョウ属植物において多くの知見が得られているが、その立体化学的機構については十分に解明されているとは言えない。また、ジンチョウゲ科植物におけるリグナン生合成の立体化学的機構は他科植物のそれとは異なる可能性があり、各種植物におけるリグナン生合成の立体化学的機構を統一的に解明するためには、ジンチョウゲ科植物の生合成機構をも明らかにすることが重要である。本論文は、ジンチョウゲ科植物のリグナン生合成における立体化学的制御機構についてまとめたものであり、評価すべき点は以下のとおりである。

1) リグナン生成後の生合成経路において、上流段階に位置するリグナンは光学的に純粋ではなく、また、すべてのジベンジルブチロラクトンリグナンは光学的に純粋であった。このことから、光学的に純粋なリグナンを与える生合成の段階はマタイレジノールの生成段階であることが示された。さらにこの段階を触媒する SIRD 反応の立体化学的性質について検討した結果、SIRD は(±)-セコイソラリシレジノールから(-)-マタイレジノールを高い光学純度で生成させた。一方、ジンチョウゲ科植物は、光学的に純粋な(+)-マタイレジノールを産生する。すなわち、酵素反応で生成したリグナンと対応する植物体から単離されたリグナンとで、優先エナンチオマーが逆転しており、基質のエナンチオマーに関する立体選択性を制御する因子が別途存在することが示された。この機構の詳細は、今後の検討を要するとはいえ、立体化学的に極めて興味深いことである。

2) また、リグナン生合成の初期段階を触媒する PLR は(±)-ピノレジノールから(-)-ラリシレジノールを生成させたことから、本酵素がジンチョウゲ科植物におけるラリシレジノールのエナンチオマー組成の決定に関与することを初めて明らかにした。

3) *D. odora* のカルス培養系と高感度キラル HPLC 条件を確立した。すなわち、実験植物材料の安定供給を可能にし、微量リグナン組成を決定するための技術的問題を解決した。

以上、本論文はジンチョウゲ科植物におけるリグナン生合成の立体化学的制御機構について新しい可能性を示すものであり、樹木生理学、木質利用学および木質天然物化学への発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成15年2月20日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。