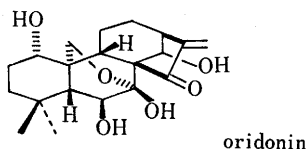
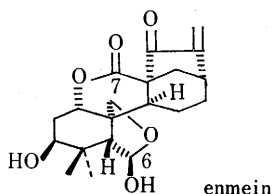


氏 名 高 尾 佐 知 子
たか お さ ち こ
 学位の種類 薬 学 博 士
 学位記番号 論 薬 博 第 216 号
 学位授与の日付 昭 和 54 年 5 月 23 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
 学位論文題目 Studies on the Biosynthesis of Diterpenoids, Enmein
 and Oridonin, in *Isodon japonicus* Hara
 (ジテルペノイド, エンメイン及びオリドニンのヒキオコシ
Isodon japonicus Hara 中での生合成に関する研究)

(主 査)
 論文調査委員 教 授 藤 田 栄 一 教 授 犬 伏 康 夫 教 授 井 上 博 之

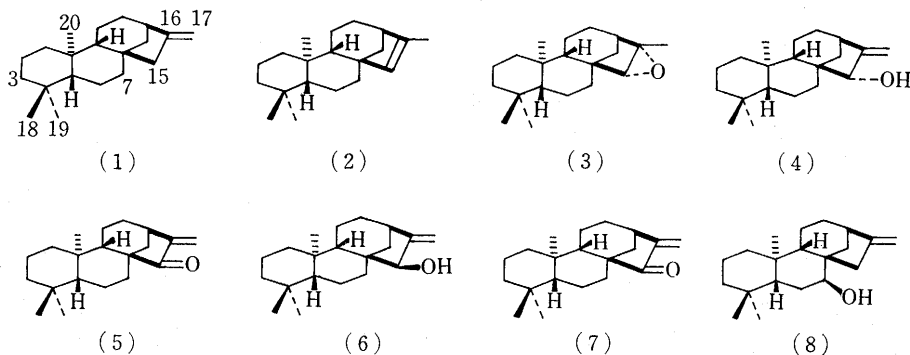
論 文 内 容 の 要 旨

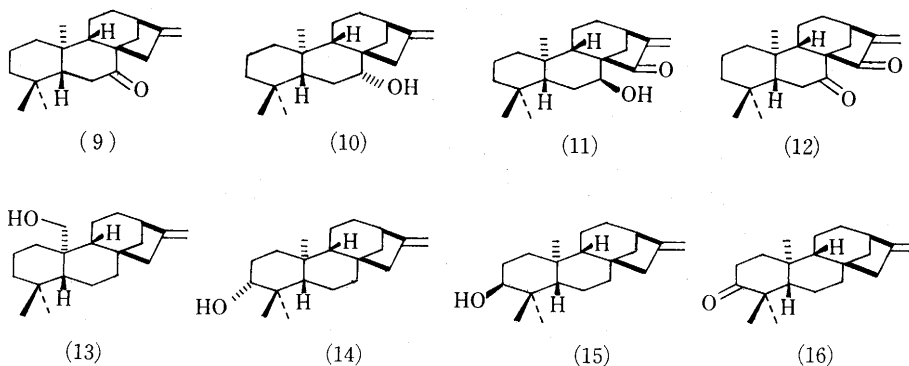
Isodon 属植物ジテルペノイドはすべて, *ent*-kaurene 型か *ent*-6,7-secokaurene 型のどちらかに属している。生合成的には, メバロン酸から *ent*-kaur-16-ene を経て生合成される或る適当な中間体の C₆, C₇ 間の酸化開裂によって *ent*-6,7-secokaurene 型ジテルペノイドが生成すると考えられる。しかしこの biogenesis に対する実験的証明は全くなされていない。



著者は下記の順序に従ってヒキオコシに種々の標識 *ent*-kaurene 誘導体を投与(塗布法による)することにより enmein 及び oridonin の生合成研究を行なった。

投与した化合物は次の通りである。





〔Ⅰ〕 [17-¹⁴C]-(1) をヒキオコンに投与した結果 enmein, oridonin の両方にとりこまれ、これら両者の生合成前駆体になりうる実証された。

〔Ⅱ〕 Isodon 属植物から単離されているすべてのジテルペノイドが C-15 に酸素官能基を有する事実より C-15 は生合成過程の初期の段階で酸素化されるだろうと想像される。そこで C-15 が酸素化された化合物が enmein, oridonin の生合成の直接の前駆体になりうるか否かを検討することにした。そのため [17-¹⁴C]-標識の (2), (3), (4), (5), (6) 及び(7)を(1)から合成し enmein, oridonin へのとりこみを調べた。その結果(5)だけが enmein, oridonin の両方に、(6)が enmein にだけとりこまれ、他のものはどちらにもとりこまれなかった。このことから C-15 の酸化は triplet oxygen species が関与して直接 C-15 の酸素化が起ると考えられる。

〔Ⅲ〕 Isodon 属植物ジテルペノイドは inflexin を除くすべてのものが C-15 の他に C-7 にも酸素官能基を有する。そこで C-7 に酸素官能基を有する *ent*-kaur-16-ene 誘導体が enmein, oridonin の前駆体になりうるか否かを検討した。そのため [17-¹⁴C]-標識の(8), (9), (10)及び(11)を epicandicandiol より合成し投与実験を行なった。その結果(8), (9)及び(11)は enmein, oridonin の両方の、(10)は enmein の前駆体になりうるということがわかった。(10)の oridonin へのとりこみについては結論が得られなかった。

〔Ⅳ〕 以上の実験に於て、同一化合物の絶対的なとりこみ値が、投与方法や投与時期(6月下旬)が同じであるにもかかわらず個々の実験によって著るしく異なることがわかった。それ故、このとりこみ値を、異なった投与物質の相対的な biosynthetic efficiencies を知るために用いることは、あまり価値がないと考えられる。たこで著者は mono-酸素化化合物の, enmein, oridonin の前駆体としての有用性を比較するために、“double-isotope technique” を用いることにした。即ち [18-³H₁]- (9) と [17-¹⁴C]- (5), [18-³H₁]- (9) と [17-¹⁴C]- (8), 及び [18-³H₁]- (9) と [17-¹⁴C]- (10) の混合物をそれぞれ植物に投与して enmein, oridonin 中の ³H/¹⁴C ratio よりそれらの相対的なとりこみを比較した。その結果, enmein, oridonin の両方に対し(9)が最もよくとりこまれ、又(10)の enmein へのとりこみは(9)の 1/5 以下にすぎなかった。

〔Ⅴ〕 〔Ⅱ〕の実験で C-15 酸素化化合物の中では(5)だけが enmein, oridonin の前駆体になりえたこと、又〔Ⅳ〕の実験で C-7 酸素化化合物(9)が前駆体として最も有効であったことを考慮すると、7, 15-di-酸素化化合物のうち最も好ましい生合成中間体として(12)を選ぶことができる。そこで仮想的生合成ルートとし

て i) (1)→(9)→(12)→enmein, oridonin, ii) (1)→(5)→(12)→enmein, oridonin を想定し ([IV] の結果からは i) の方が好ましいけれども), mono-酸素化化合物(9), (5)と di-酸素化化合物(12)のとりこみ率を比較してこのルートの妥当性について検討を試みた。このため $[18-^3\text{H}_1]$ -(12) と $[17-^{14}\text{C}]$ -(12) を epicandicandiol から合成し, $[18-^3\text{H}_1]$ -(12) と $[17-^{14}\text{C}]$ -(9), $[18-^3\text{H}_1]$ -(9) と $[17-^{14}\text{C}]$ -(12), 及び $[18-^3\text{H}_1]$ -(12) と $[17-^{14}\text{C}]$ -(5) の混合物をそれぞれ植物に投与した。その結果, 酸化段階の1つ進んだ 7, 15-dioxo 体(12)よりも monooxo 体(9)及び(5)の方が効果的に enmein と oridonin にとりこまれた。従って共通酸素化位置の C-7, C-15 が必ずしも他の位置に優先して酸素化されるとは考えられないという結論を得た。従ってこれ以外のルートを検討する必要があると思われる。

[V] 次にヒキオコシ中のすべてのジテルペノイドの共通酸素化位置の1つであるところの C-20 が酸素化された *ent*-kaurene 誘導体(13)について enmein 及び oridonin の前駆体としての有用性を(5)と比較することにした。そのため $[17-^{14}\text{C}]$ -(13) を enmein より, $[17-^3\text{H}_2]$ -(5) を(1)より合成し両者の混合物を植物に投与した。(13)は(5)と同程度 enmein の前駆体として有効であることがわかったが oridonin には殆どとりこまれなかった。この事実は *ent*-kaurene 型ジテルペノイドと *ent*-6,7-secokaurene 型ジテルペノイドの生合成ルートに於て C-20 の酸素化段階に違いのあることを示唆していると考えられることができる。

[VI] ヒキオコシ中には C-3 に酸素官能基を有するジテルペノイドが3種(enmein, enmein-3-acetate, 及び isotrocin) 存在し, いずれも *ent*-6,7-secokaurene 型である。この事実と, 以上迄の実験結果とを考え合せ enmein, oridonin の非共通酸素化位置であるところの C-3 が酸素化された *ent*-kaurene 誘導体が enmein の有効な前駆体になりうるか否かを検討することにした。そこで $[17-^{14}\text{C}]$ -標識の(14), (15)及び(16)を *ent*-kaur-16-ene-3 β , 19-diol から合成し, これらのとり込み率を $[17-^3\text{H}_2]$ -(5)と比較した。その結果は, (14)>(16)>(15) \approx (5) の順でいずれも enmein にとりこまれ, C-3 酸素化化合物が enmein の有効な前駆体になりうるということがわかった。

このようにして enmein, oridonin の共通酸素化位置が必ずしも両者の生合成ルートの初期に共通に酸素化されるとは限らないと考えざるを得ない結果を得た。また enmein の生合成が初期の段階での C-3 への酸素官能基の導入によって規定される可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

高等植物中のジテルペンの生合成に関する標識化合物を用いてのトレーサー実験による研究は, 従来殆んど例をみない。本論文はシソ科植物ヒキオコシ (*Isodon japonicus* Hara) に標識 *ent*-kaurene 誘導体を投与し, これらの enmein および oridonin へのとりこみを観察し, 詳細な生合成研究を行なった成果について述べたものである。

最初に投与方法について種々検討の結果, 植物の葉の裏面に試料のアセトン溶液を塗布する方法を採用した。先ず第一に杉の葉から抽出した *ent*-kaur-16-ene から $[17-^{14}\text{C}]$ 標識化合物を製し, これの投与実験を行なった結果, enmein, oridonin 両者にとりこまれることを証明した。ついで, *ent*-kaur-16-ene から $[17-^{14}\text{C}]$ *ent*-kaur-15-ene, $[17-^{14}\text{C}]$ *ent*-15 β , 16-epoxykaurane, $[17-^{14}\text{C}]$ *ent*-kaur-16-en-15 β -ol, $[17-^{14}\text{C}]$ *ent*-kaur-16-en-15-one, $[17-^{14}\text{C}]$ *ent*-kaur-16-en-15 α -ol, および $[17-^{14}\text{C}]$ *ent*-kauran-15-one

を合成し、これらの両ジテルペンへのとりこみを調べた。その結果 15-ketone のみが enmein, oridonin 両方にとりこまれた。これにより C-15 位の酸化機構を明らかにした。

次に epicandicandiol から [17-¹⁴C] 標識の *ent*-kauren-7 α -ol, -7 β -ol, -7-one, -7 α -ol-15-one を合成して、それらの投与実験を行なった。また double-isotope 手法をも実施した。その結果 *ent*-kauren-7-one が最もよくとりこまれた。さらに *ent*-kaurene-7, 15-dione のとりこみをも調べたが、これよりもむしろモノケトン体 (7-one, 15-one) の方がより効果的に両ジテルペンにとりこまれた。C-7 位と C-15 位は *Isodon* 属植物ジテルペンに共通して酸化されている位置であるが、以上の結果は C-7, C-15 位が優先的に酸素化されるとは考えにくいことを示す。

C-20 位のみ酸素化された *ent*-kaur-16-ene の挙動も興味深く、[17-¹⁴C] *ent*-kaur-16-en-20-ol を enmein から合成し、これと [17-³H₂] *ent*-kaur-16-en-15-one との混合物の投与実験を行なった。両者は同程度に enmein にとりこまれたが、前者は oridonin には殆んどとりこまれなかった。

最後に C-3 位が酸素化された *ent*-kaurene 誘導体について検討した。すなわち [17-¹⁴C] *ent*-kaur-16-en-3 α -ol, -3 β -ol, および -3-one を *ent*-kaur-16-ene-3 β , 19-diol から合成し、これらのとりこみ実験を行なった。これらは enmein にのみ有効にとりこまれた。

以上のように著者は16種類におよぶ [17-¹⁴C] あるいは [17-³H₂] 標識 *ent*-kaurene, *ent*-kaurane 誘導体を合成し、これらをヒキオコンに投与して enmein と oridonin の生合成過程に特徴的な差異のあることを見出した。その成果は高等植物中のジテルペンの生合成研究分野に寄与するものである。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。