

氏名	松村春記 まつむらはるき
学位の種類	薬学博士
学位記番号	薬博第196号
学位授与の日付	昭和56年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	薬学研究科製薬化学専攻
学位論文題目	ムラサキ (<i>Lithospermum erythrorhizon</i>) および <i>Echium lycopsis</i> のカルスの色素の生合成研究

論文調査委員 (主査) 教授 井上博之 教授 犬伏康夫 教授 田端 守

論文内容の要旨

ムラサキ (*Lithospermum erythrorhizon*) の根部 (紫根) に含有される赤色色素 shikonin (1) の生合成経路に関しては従来十分な研究は行われていなかった。

そこで著者は色素生成能を有するムラサキカルス (M-18 株および M-231 a 株) を実験材料として用い、shikonin の生合成研究を行い、その経路をほぼ明らかにした。

また培養株の中で本来色素生成能を欠くカルスや、培養条件の変更によって色素生成を抑制されたカルスにおける shikonin 生合成の阻害段階について検討するとともに、その知見に基づき生合成中間体 geranyl hydroquinone (5) の biotransformation についても検討した。

さらに同じムラサキ科植物である *Echium lycopsis* のカルスの成分のうち、2種の新キノン物質についても検討し、geranyl hydroquinone (5) から誘導されたと考えられるそれらの構造を明らかにした。

1. shikonin の生合成

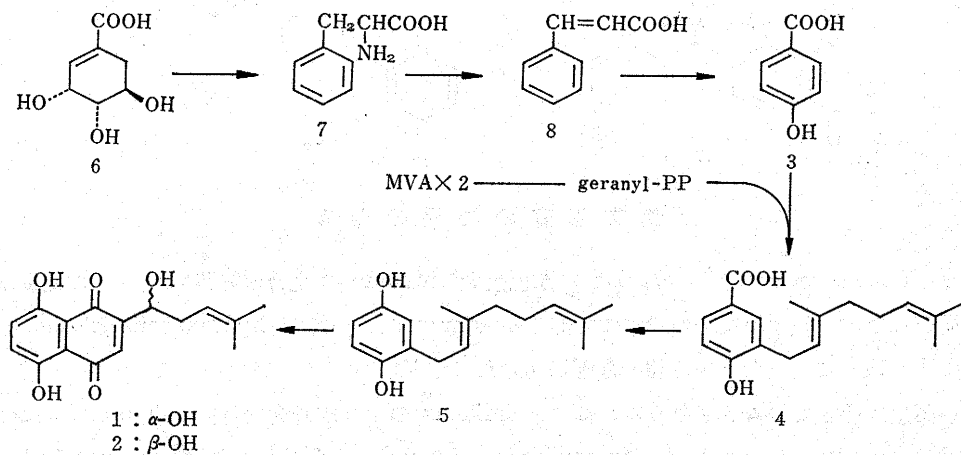
shikonin (1) の対掌体である alkannin (2) は2分子の MVA と *p*-hydroxybenzoic acid (3) とから生合成されることが明らかにされている。そこで著者は [$3\text{-}^3\text{H}$]-*p*-hydroxybenzoic acid (3) と [$2\text{-}^{14}\text{C}$]-MVA とを M-231 a 株に投与し、3 および MVA が shikonin (1) に取込まれること、したがってムラサキカルスにおいても 1 が 2 と同様の生合成経路によって生合成されることを証明した。

次に 3, MVA に続く中間体としては *m*-geranyl-*p*-hydroxybenzoic acid (4) と geranylhydroquinone (5) とが想定される。そこでまずこれら中間体の存在を証明するため、[$3\text{-}^3\text{H}$]-3 を M-18 株に投与後、4 と 5 とを用いて同位体希釈分析を行った結果、両者に放射活性が認められた。続いて 4 と 5 の ^3H 標識化合物を M-18 株に投与し、これらが 1 に取込まれることを認め、3 以後の中間体として 4 および 5 が存在することを証明した。

2. 色素生成能を欠くカルスにおける shikonin 生合成の阻害段階について

次に培養株の中で本来色素生成能を欠く M-386 株、または色素生成能を有するカルスを 2, 4-D を含

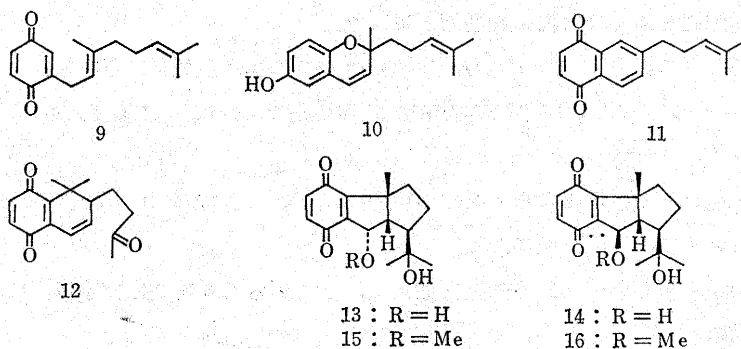
む培地で培養したり、照射下で培養したりして色素生成をおさえたカルス (M-18 (2, 4-D) 株および M-231 a (light) 株) においては shikonin の生成がどの段階で阻害されるのかを、同位体希釈分析法を用いて明らかにした。即ち、shikonin 生合成経路の初期段階の前駆物質であるシキミ酸(6)の ^3H 標識化合物を各カルスに投与し、中間体である *p*-hydroxybenzoic acid (3), *m*-geranyl-*p*-hydroxybenzoic acid (4), geranylhydroquinone (5) および最終産物 shikonin (1) の脂肪酸エステルを用いて同位体希釈分析を行った。その結果、M-386 株や M-18(2, 4-D) 株では4までしか放射活性が認められず、shikonin 生合成経路が4以後で遮断されていることを明らかにした。一方 M-231 a (light) 株では対照実験に比べ4以後の段階の放射活性が半減していることを認めた。これは光が塊状になったカルスの中心部に充分到達しないため、その部分では shikonin 生合成が阻害を受けずに進行したためと考えられる。



3. 色素生成能を欠くカルスにおける geranylhydroquinone (5) の代謝

上記のように色素生成能を欠くカルスにおいては *m*-geranyl-*p*-hydroxybenzoic acid (4) と geranylhydroquinone (5) の間で shikonin 生合成の阻害が起こっているため、次に shikonin の生成を期待しつつ、これらのカルスに5の大量投与を行い、その代謝について検討することにした。但し従来のように寒天培地上で培養したカルスを用いたのでは5の大量投与が不可能であるから、この実験では細胞懸濁培養を用いて投与実験を行った。

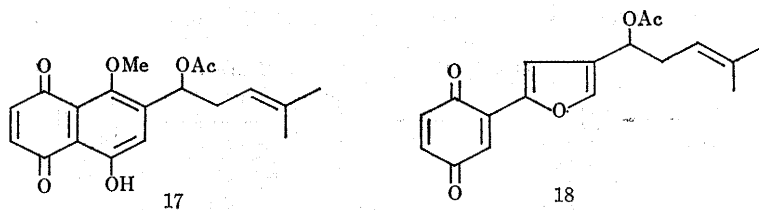
細胞懸濁培養に5を投与し、1ヶ月振盪培養を行ったところ、いずれの株からも8種と同じ代謝産物が



単離された。代謝産物の構造はそれら自身および諸誘導体のスペクトルデータ、並びに化学変換により下記の通り（但し相対配置）であることが明らかにされた。これらは5が対応するキノンに酸化された後、種々の環化反応を起こして生じたものと推定される。

4. *Echium lycopsis* L. のカルスの色素成分について

ヨーロッパ産ムラサキ科植物、*Echium lycopsis* L. のカルスの色素成分のうち、5種の既知 shikonin 脂肪酸エステルとともに得られた2種の新キノン echinone (17) および echinofuran (18) について、これら自身および諸誘導体のスペクトルデータから下記の構造を推定し、これらが shikonin (1) あるいは geranylhydroquinone (5) と密接な関係にある物質であることを明らかにした。



論文審査の結果の要旨

ムラサキ (*Lithospermum erythrorhizon*) の赤色色素 shikonin の生合成経路については従来ほとんど見るべき研究はなく、わずかにその対掌体である alkanin について *p*-hydroxybenzoic acid と mevalonic acid とが取りこまれたという報告などがあったにすぎない。

著者は色素生成能をもつムラサキカルスにつき shikonin の生合成研究を行い *p*-hydroxybenzoic acid, *m*-geranyl-*p*-hydroxybenzoic acid, geranylhydroquinone などが shikonin の生合成中間体となることを認めその生合成経路を明らかにした。

次に色素生成能を欠くカルス、色素生成能をもつものに 2,4-D を添加したり、光照射して色素生成能をおさえたカルスに [³H]-shikimic acid を投与後上記の生合成中間体による同位体希釈分析を行った結果、これらのカルスでは geranylhydroquinone より以前の段階で生合成経路が遮断されていることを明らかにした。

そこで次に色素生成能を欠くカルスの振盪培養液に geranylhydroquinone を投与しその代謝産物を検討し geranylbenzoquinone およびそれから誘導される二環性、三環性のキノン系物質を単離しそのうち8種類の物質の相対配置をふくめた構造を明らかにした。

またムラサキと同じ科に属する *Echium lycopsis* のカルスの赤橙色色素成分を検討し新ナフトキノン体 echinone と新フラノベンゾキノン体 echinofuran との構造を明らかにするとともに両者の biogenesis について考察した。

上記の研究を通じムラサキ科植物のキノン類の生合成において geranylhydroquinone が中間体として重要な役割を果していることを明らかにした。

この研究は植物化学に新しい興味ある知見を加えた。したがって本論文は薬学博士の学位論文として充分価値あるものと認める。