

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 吉田 圭司郎

天然に広く存在するトリテルペノイドの中には抗腫瘍作用、抗炎症作用、抗菌作用、コレステロール生合成阻害作用、血糖降下作用等の興味深い生理活性を示す化合物が多い。また、これら生理活性のいくつかについては構造活性相関が報告されており、それらの報告からカルボニル基や水酸基などの親水性官能基が基本骨格のどの部分に存在しているかという点が重要であることが明らかにされている。従って、立体選択的にトリテルペノイドへ官能基を導入する技術が確立できれば、未利用資源の有効利用や医薬等への応用も期待される。しかしながら、有機合成によるトリテルペノイドの立体選択的修飾には限界があり、例えば、立体選択的なメチル基の酸化反応等は通常の有機化学的手法では非常に困難である。このような反応を効率的に行う方法の一つとして、微生物等の酵素を利用する方法が考えられるが、トリテルペノイドの微生物変換については報告例が少なく、実用的価値を考えるためには、さらに研究を進める必要がある。そのような背景に基づき本論文は、トリテルペノイドの微生物変換に関する知見を得るために、比較的入手が容易である 18 β -glycyrrhetic acid (18 β -GRA) をモデル化合物として微生物における 18 β -GRA の代謝について検討したものである。

序論では研究の背景と目的について述べている。第 1 章では、18 β -GRA を唯一炭素源として生育可能な微生物のスクリーニングについて述べ、菌学的諸性質から分離株 G5 を *Sphingomonas paucimobilis* と同定している。さらに G5 株における 18 β -GRA や 18 β -GRA と構造類似の化合物に対する生育についても述べている。

第 2 章では、18 β -GRA を唯一炭素源とする培地で G5 株を培養した場合に培養液中に認められた主要代謝物 M-A の精製と構造決定について述べており、NMR スペクトルとマスマスペクトルの結果から M-A が 3,4-*seco*-4,23,24-*trinor*-11-oxoolean-12-en-3,28,30-*trioic acid* であることを明らかにしている。また、M-A の構造から G5 株が 18 β -GRA の A 環を開裂する反応と 28 位メチル基をカルボキシル基に酸化する反応を触媒できることについて考察している。

第 3 章では、トランスポゾン挿入変異による G5 株から 18 β -GRA 代謝能に何らかの欠陥がある変異株の取得について述べている。分離した Tn5 挿入変異株 TM9638 の培養液には、野生株に見られない 2 つの代謝物 (M-B、M-C) の蓄積が認められ、それらをメチル化誘導体として精製している。NMR スペクトルとマスマスペクトルの結果から M-B は 1,2,3,4,23,24-*hexanor*-11,5-dioxoolean-12-en-28,30-*dioic acid*、M-C は

1,2,3,4,23,24,28-heptanor-11,5-dioxoolean-9,12,17-trien-30-oic acidであることを明らかにしている。

第4章では、oxygenase 阻害剤が G5 株の 18 β -GRA 代謝に及ぼす影響について述べている。G5 株の休止菌体を4種類の oxygenase 阻害剤(1-aminobenzotriazole、metyrapone、proadifen、ketoconazole)とプレインキュベートし 18 β -GRA を基質とした休止菌体反応を行った。反応溶液を HPLC 分析した結果、1-aminobenzotriazole や metyrapone を加えた場合には、阻害剤を加えていないときには見られないいくつかのピークが検出された。そこで、それらの一つ(M-D)を精製し、NMR スペクトルやマスマスペクトルを測定した結果、M-D は 3 β -hydroxy-11-oxoolean-12-en-24,30-dioic acid であることが明らかとなった。さらに、M-D の構造と oxygenase 阻害剤添加時に M-D が蓄積する事実から、G5 株における 18 β -GRA の A 環の開裂においては、M-D へと変換された後に 5 位に水酸基が導入され、さらに、4 位と 5 位の炭素-炭素結合が開裂すると考察している。

総括と展望では構造決定した4つの化合物の構造から G5 株の 18 β -GRA 代謝経路について総合的に考察しており、G5 株は 18 β -GRA の 28 位や 24 位のメチル基を選択的に酸化できることからトリテルペノイドの微生物変換に利用する菌株として興味深い菌株であると述べるとともに、今後の展望についても記述している。

以上、本論文は *Sphingomonas paucimobilis* G5 における 18 β -GRA の代謝経路について考察しており、トリテルペノイドの微生物変換に関して学術上、応用上貴重な知見を提供するものである。よって、審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。