薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
95 (3) 347 - 349 (1975)

UDC 547.75.057 : 542.98 : 615.33.011.5

**^{13}C -NMR の生合成研究への応用 (第 3 報¹⁾) Aureothricin
へのプロピオン酸- $3\text{-}^{13}\text{C}$ の導入**

山崎幹夫, 前林行雄,^{2a)} 加藤文男,^{2b)} 小山泰正^{2c)}
千葉大学生物活性研究所,^{2a)} 千葉大学薬学部^{2c)}

**Application of ^{13}C -NMR to the Biosynthetic Investigations. III.¹⁾
Incorporation of Propionate- $3\text{-}^{13}\text{C}$ into Aureothricin**

MIKIO YAMAZAKI, YUKIO MAEBAYASHI,^{2a)} FUMIO KATOH,^{2b)}
and YASUMASA KOYAMA^{2c)}

Research Institute for Chemobiodynamics, Chiba University^{2a)} and Faculty of
Pharmaceutical Sciences, Chiba University^{2c)}

(Received August 15, 1974)

Incorporation of propionate into the propionamide of aureothricin (I) has been demonstrated as a result of a comparison of ^{13}C -NMR spectra of I in natural abundance level and enriched, which was obtained by feeding sodium propionate [$3\text{-}^{13}\text{C}$] to the culture of *Streptomyces luteoreticuli*.

Aureothricin は梅沢ら³⁾により 1948 年 *Streptomyces thioluteus* より分離された, グラム陽性菌, 陰性菌, 抗酸性菌, 真菌類に抗菌性を示す抗生物質である. 構造は Celmer ら⁴⁾によって I のごとく決定され, Schmidt⁵⁾によって全合成も行なわれた, I はその後 *S. thioluteus* の他にも *S. celluloflavus*,⁶⁾ *S. cyanoflavus*,⁷⁾ *S. pimprina*,⁸⁾ *S. kasugaensis*,⁹⁾ *S. luteoreticuli*¹⁰⁾ から分離され, また pyrrothine 骨格を有する類似物質としては他に thiolutin (II, $\text{R}=\text{CH}_3$)⁴⁾ holomycin (II, $\text{R}=\text{H}$)¹¹⁾ isobutylopyrrothine (III)⁸⁾ などが単離, 構造決定されている. このような pyrrothine 化合物の生合成についての知見はまだないが, おそらくは 2 分子の cysteine または cystine の閉環によるものと思われる.

脱炭酸, N-メチル化と同時に一方のアミノ基は酢酸, プロピオン酸, イソ酪酸などとアミドを形成し, 上のごとき化合物が生合成されるものと思われる.

われわれは先に *Streptomyces luteoreticuli* の代謝産物 aureothin の生合成研究にプロピオン酸の関与することを ^{13}C 標識化合物によるトレーサー法と ^{13}C -NMR スペクトル法を利用して証明した.¹⁾ その際, 副代謝産物

- 1) 第 2 報: M. Yamazaki, Y. Maebayashi, F. Katoh, J. Ohishi Y. Koyama, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 569 (1975).
- 2) Location: a) Izumicho, Narashino, Chiba; b) Present address: School of Pharmaceutical Sciences, Toho University, Miyamacho, Funabashi, Chiba; c) Yayoicho, Chiba.
- 3) H. Umezawa, K. Maeda, H. Kusaka, *Japan Med. J.*, **1**, 512 (1948); *idem*, *J. Antibiotics*, **A2**, 105 (1949).
- 4) W.D. Celmer, F.W. Tanner, M. Harfenist, T. M. Less, I.A. Solomons, *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 6304 (1952).
- 5) U. Schmidt, *Ber.* **97**, 1511 (1964).
- 6) H. Nishimura, *J. Antibiotics*, **A6**, 57 (1953).
- 7) M. Funaki, F. Tsuchiya, K. Maeda, T. Kamiya, *J. Antibiotics*, **A11**, 143 (1958).
- 8) D.S. Bhata, R.K. Hulyakar, S.K. Menon, *Experientia*, **16**, 504 (1960).
- 9) H. Umezawa, Y. Okami, T. Hashimoto, Y. Suhara, M. Hamada, T. Takeuchi, *J. Antibiotics*, **A18**, 101 (1965).
- 10) 山岸三郎, 小山泰正, 深草佑一, 興村伸夫, 大石洵一, 浜道則光, 新井 正, 薬誌, **91**, 351 (1971).
- 11) L. Ettlinger, E. Gaeumann, R. Huetter, W. Keller-Schierlein, F. Krandolfer, L. Neipp, V. Prelog, H. Zaehner, *Helv. Chim. Acta*, **42**, 563 (1959).

Fig. 1. Biogenetic Pathway of Pyrrothine Compounds

Fig. 2. ¹³C-MRN Spectra of Aureothricin

として得られた I の ¹³C-NMR を観測した結果, I の構造中のプロピオンアミド部分に, プロピオン酸の明らかな導入が見られた.

Fig. 2a には, 培地中にプロピオン酸-3-¹³C を加えて培養した *S. luteoreticuli* からの I の ¹³C-NMR スペクトルを, 2-b には natural abundance の I のスペクトルを示した. I は有機溶媒に著しく難溶のため a はジメチルスルホキシド (DMSO) 溶液として測定したが, 測定条件はほぼ同様である. Fig. 2b には δ 値 (ppm from TMS) 9.768 に 3'-CH₃, 27.423 に CH₂, 29.364 に N-CH₃ のシグナルが観察され, その他低磁場領域にはオレフィン炭素, カルボニル炭素に起因するシグナルが見られるが, いずれも試料の難溶

解性や該当する炭素の緩和時間の長さなどの原因によって強度が低く, 正確なシグナルとしてとらえることができなかった. Fig. 2a においても結果はほぼ同様であるが, 明らかに 3'-CH₃ 基に帰属されるシグナルのみは強化されていることがわかる. したがって, 与えられたプロピオン酸のメチル基は I の 3'-CH₃ 基に導入されたと結論することができる. なお当然のことながら酢酸-2-¹³C の添加は I に ¹³C 強化をもたらさなかった. *S. luteoreticuli* からは同時に II をうることもできたが, II は I よりもさらに難溶性であり, 測定が著しく困難であったため明確な ¹³C-NMR スペクトルを測定することができなかった. II の酢酸アミドへの酢酸-2-¹³C の導入についてははっきりとした結論を得ることはできなかった.

実験の部

Aureothricin (I) の分離 *Streptomyces luteoreticuli* KATO et ARAI (strain KS. 2.74) は本研究所抗生物質部新井正教授により分与をうけ, 実験に用いた. 培養には 500 mg のプロピオン酸-3-¹³C (64% enriched, Sharp and Dohm of Canada) を添加したグルコース-ブイヨン培地 (肉エキス 0.5%, ポリペプトン 1.0%, グルコース 1.0%, NaCl 0.3%, pH 7.2) を 10 本の 500 ml 坂口コルベンに 100 ml ずつ分注し, 接種後 27°C 160 rpm で 72 時間振盪した. のち菌体を別乾燥しアセトンで抽出, 抽出エキスより既報の方法¹⁾により I を分離した. 収率 8 mg.

¹³C-NMR スペクトルの測定 上に得られた I, 8 mg を 0.8 ml *d*-DMSO に溶解し,¹²⁾ 日本電子製 PFT-100 高分解能 NMR 測定機に JEC-6 型電子計算機を接続しフーリエ変換を行なって ¹³C-NMR を測定した. 条件は下の通り:

- 12) 各サンプル溶液は次のごとく調製した. ¹³C-NMR 測定条件は同じである. I, propionate-3-¹³C より標識. 8 mg/0.8 ml *d*-DMSO; I, acetate-2-¹³C, 10 mg/0.6 ml *d*-pyridine; II, propionate-3-¹³C, 40 mg/0.8 ml *d*-DMSO; II, acetate-2-¹³C, 12 mg/0.6 ml *d*-pyridine.

F=6250 Hz, $tw=9\ \mu\text{sec}$, Rep. 4 sec. $\times 10,000$, Ref.=TMS, Temp.=room temp.

謝辞 菌株を分与された本研究所 新井 正教授, ^{13}C -NMR スペクトル測定に御協力御援助いただいた日本電子株式会社 松下和弘氏に感謝します. 本研究の一部は文部省科学研究費によったものでありあわせて感謝します.

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
95 (3) 349—351 (1975)

UDC 547.91.02 : 581.192

各地産植物精油に関する研究 (第 38 報¹⁾) メタセコイアの精油成分 その 1²⁾

藤田安二,^{3a)} 藤田真一,^{3b)} 岩村淳一, 西田節夫^{3a)}

大阪工業技術試験所,^{3a)} 武庫川女子大教科^{3b)}

Miscellaneous Contributions to the Essential Oils of the Plants from Various Territories. XXXVIII.¹⁾ On the Components of the Essential Oils of *Metasequoia glyptostroboides* Hu et CHENG. (1)²⁾

YASUJI FUJITA,^{3a)} SHIN-ICHI FUJITA,^{3b)} JUN-ICHI IWAMURA and SHETSUO NISHIDA^{3a)}

Government Industrial Research Institute, Osaka^{3a)} and Department of Education, Mukogawa Women's University^{3b)}

(Received August 19, 1974)

Essential oils of the young trees of *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng were examined. The yield of oils from shoots was 0.08—0.09%, and the oils contained *l*- α -pinene as high as 80.3—86.1%. The branchlet oil was obtained in the yield of 0.002%, and contained 22.7% of β -pinene, 11.8% of α -terpinyl acetate, and 5.3% of α -calacorene, together with 7.0% of 1-octen-3-yl acetate and 6.0% of 1-octen-3-ol. The yield of trunk oil was 0.009%, and the main constituents determined were calamenene and α -cadinol, and others have not yet been identified.

Metasequoia はスギ科 (Taxodiaceae) に属し, 三木⁴⁾ によってわが国の古第三紀粘土層から見いだされた遺体にもとづき 1941 年に設定されたもので, 毬果の鱗片は *Sequoia* に似ているが, 他の形態は *Taxodium* に近い. 現生植物としてのメタセコイア (アケボノスギ) *Metasequoia glyptostroboides* Hu et CHENG は 1945 年中国四川省萬県で発見され, 1946 年に発表された著名な Living fossil で, 今では広く栽培され, 葉は秋期落葉前に美しく紅葉し, 染色体数は $2n=22$ である.

著者らは化学分類学的見地からこのものと *Sequoia* などとの類縁関係を明確にするためにこのものの枝葉油, 小枝油および幹油の精油成分の検索を行なった.

このものの精油については, まず Sato ら⁵⁾ によって心材成分が検索され, 13 年生のものの心材から α -pinene と α -terpineol とが証明されたが, 他の成分はすべて未確認である. また林ら⁶⁾ は 8 月中旬に切り落した葉のない直径 5 cm 以下の枝をメタノール抽出に付して β -sitosterol, stigmasterol, campesterol, β -sitosterone の外, dibutyl phthalate, α -cadinol, *p*-および *m*-cresol, C_{12} — C_{20} の各種脂肪酸のメチルエステルなどの存在を証明した.

著者らは当大阪工業技術試験所内に栽植された 10—13 年生のメタセコイアの新葉をつけた小枝から 0.09%,

1) 第 37 報: 藤田安二, 菊池光子, 藤田真一, 薬誌, 95, 241 (1975).

2) 日本化学会, 第 12 回 香料, テルペンおよび精油化学に関する討論会で発表, 浜松, 1968 年 10 月.

3) Location: a) Midorigaoka, Ikeda-shi, Osaka; b) Ihebiraki-cho, Nishinomiya-shi, Hyogo.

4) 三木 茂, “最近の生物学, I,” 培風館, 東京, 1950, p. 300; M. Hida, Bot. Mag. Tokyo, 75, 316 (1962).

5) A. Sato, M. Senda, T. Kakutani, Y. Watanabe, K. Kitao, Wood Research, no. 39, 13 (1966).

6) 林 修一, 奥出敏子, 清水 亮, 松浦多聞, 日本化学会第 20 年会講演予講集, IV, 1967, p. 581.