

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
86 (1) 67 ~ 68 (1966)

UDC 547.92[615.711].04 : 576.095.3

岡田正志, 蓮沼美恵子: *Cunninghamella blakesleeana* による Digitoxigenin
の変換: 7 β -Hydroxydigitoxigenin の生成

Masashi Okada and Mieko Hasunuma: Microbiological Transformation
of Digitoxigenin by *Cunninghamella blakesleeana*.
Formation of 7 β -Hydroxydigitoxigenin.

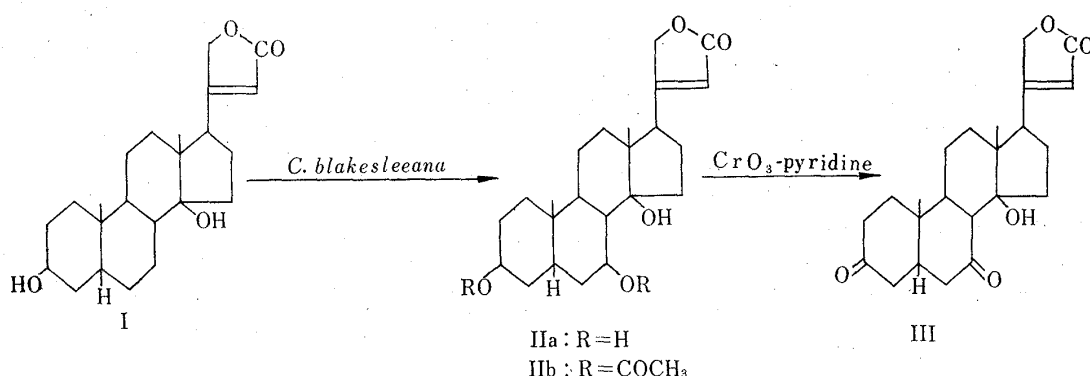
(Tokyo Biochemical Research Institute*1)

The principal transformation product of digitoxigenin by *Cunninghamella blakesleeana*
LENDNER was found to be identical with 7 β -hydroxydigitoxigenin.

(Received April 2, 1965)

著者等は digitoxigenin 誘導体の微生物変換に関連して, digitoxigenin (I) の *Cunninghamella blakesleeana* LENDNER による変換をおこなった. 同菌種による I の変換に関しては, すでに那波等の報告がある.¹⁾ かれらはペーパークロマトグラフィー (以下 PC と略) によって変換生成物を検索し, 2 種の生成物を認め, その 1 つは digitoxigenin に相当すること, 主生成物である他の 1 つは当時未知の cardenolide であることを報告した.

著者等は I の *C. blakesleeana* による変換生成物をアルミナクロマトグラフィーで分離し, 1 物質を結晶として単離した. 本物質是那波等の用いた PC の条件に, かれらのいう未知の cardenolide に相当した. 本物質 (IIa) の元素分析値は monohydroxydigitoxigenin で合致し, アセチル化によりジアセート (IIb) を与えた. IIa, IIb の諸性状, さらに IIa の無水クロム酸・ピリジン酸化によって得られた酸化生成物 (III) の性状は, 近年, I の微生物酸化によって得られている 7 β -hydroxydigitoxigenin およびその誘導体 (ジアセート, ジケトン) の性状^{2,3)} に一致する. そこで, IIa および IIb を 7 β -hydroxydigitoxigenin, di-O-acetyl-7 β -hydroxydigitoxigenin の標品²⁾ と PC, 混融, IR スペクトルにより比較し, それぞれ同一物質であることを確認した.



I を 7 β -hydroxydigitoxigenin に変換する微生物としては, これまでに *Rhizopus arrhizus*,^{2,3)} *Tricothecium roseum*,^{3,4)} *Aspergillus oryzae*³⁾ が報告されている.

*1 2-593, Takadaminami-cho, Toshima-ku, Tokyo.

*2 これらの標品をご分与下さった塩野義製薬研究所の佐藤大助博士に深謝する.

1) H. Nawa, M. Uchibayashi, T. Kamiya, T. Yamano, H. Arai, M. Abe: *Nature*, **184**, 469 (1959).

2) 石井, 野崎, 奥村, 佐藤: 本誌, **80**, 1150 (1960); **81**, 805 (1961).

3) G. Juhasz, Ch. Tamm: *Helv. Chim. Acta*, **44**, 1063 (1961).

4) E. Titus, A. W. Murray, H. E. Spiegel: *J. Biol. Chem.*, **235**, 3399 (1960). 本報文で 6 β -hydroxydigitoxigenin として報告されたものは, 後に 7 β -hydroxydigitoxigenin であることが明らかにされた.³⁾

なお、那波等は PC により gitoxigenin の生成を報告しており、著者等もアルミナクロマトグラフィーによる 7 β -hydroxydigitoxigenin の単離に際し、PC で gitoxigenin に相当するスポットを与えるフラクションを得たが、著者等の行なったスケールでは、これを結晶化して gitoxigenin であることを確認することはできなかった。

実 験 の 部

C. blackesleeana による digitoxigenin (I) の変換 *C. blackesleeana*^{*3} を Czapek-Dox 培養基で 27°, 48 hr. 培養した後、I 400 mg. を加え (培養基 100 ml. に対し I 20 mg. を 2 ml. の MeOH に溶解して加える) 96 hr. 振盪培養する。菌体を汙取し、これを AcOEt で抽出、汙液はやはり AcOEt で抽出し、両抽出液を合わせてこれを 2% NaHCO₃ ついで水で洗浄し、脱水 Na₂SO₄ で乾燥後溶媒を留去し、エキス約 1.9 g. を得た。これをベンゼンに溶解し、40 g. の中性アルミナをつめたカラムに流しこむ。ベンゼン、ベンゼン-CHCl₃ 混液、CHCl₃、ついで MeOH 含有 CHCl₃ で順次溶出する。ベンゼン-CHCl₃ (3:2, 1:1) 混液で溶出するフラクションより I (m.p. 238~247°) 120 mg. を回収。CHCl₃ および 1% MeOH 含有 CHCl₃ で溶出するフラクションを合わせ、MeOH-エーテルから再結晶すると m.p. 260~272° の 7 β -hydroxydigitoxigenin (IIa) 104 mg. を得る。PC (東洋汙紙 No. 51 使用) で溶媒系としてベンゼン-AcOEt-H₂O (8:5:4)¹⁾ を用いれば Rf 0.79 (digitoxigenin 0.93, gitoxigenin 0.66, digoxigenin 0.47), ベンゼン-MeOH-H₂O (5:3:2)¹⁾ では Rf 0.31 (digitoxigenin 0.51, gitoxigenin 0.10, digoxigenin 0.02), ギ酸アミドを固定相とし CHCl₃ を溶媒とした場合の Rf 0.68 (digitoxigenin 0.85, gitoxigenin 0.32, digoxigenin 0.09)。検出剤として Kedde 試薬、トリクロル酢酸および SbCl₃ を使用。UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 218 (4.16). $[\alpha]_D^{25} + 38^\circ$ (MeOH). C₂₃H₃₄O₆ Anal. Calcd.: C, 70.74; H, 8.78. Found: C, 70.84; H, 8.55. 本物質は標品の 7 β -hydroxydigitoxigenin (m.p. 260~266°) と混融 (260~265°) するも融点降下を認めず、PC, IR スペクトルで完全に一致した。

上述のアルミナカラムより 2~5% MeOH 含有 CHCl₃ で溶出し、PC で gitoxigenin に対応するスポットを与えるフラクションを合わせ (約 20 mg.), これを再びアルミナカラムで分離精製を行なったが、gitoxigenin を結晶として単離することはできなかった。

7 β -Hydroxydigitoxigenin diacetate (IIb) IIa 20 mg. を常法によりピリジン中 Ac₂O でアセチル化。アセトン-エーテル-石油エーテルより再結晶すると m.p. 147~153°. $[\alpha]_D^{25} + 27^\circ$ (CHCl₃). C₂₇H₃₈O₇ Anal. Calcd.: C, 68.33; H, 8.07. Found: C, 68.44; H, 7.96. 本物質は標品 (m.p. 143~151°) と混融 (143~151°) するも融点降下せず、ギ酸アミドを固定相としベンゼン-シクロヘキサン (1:1) を溶媒とする PC で同一の Rf 値 0.71 を示し、IR スペクトルも両者完全に一致した。

7-Oxo-3-digitoxigenone (III) IIa 30 mg. を 0.3 ml. のピリジンに溶解、CrO₃ 40 mg. とピリジン 0.4 ml. からなるコンプレックスで 22 hr. 室温で酸化。アセトン-エーテル-石油エーテルから再結晶すると m.p. 225~231°. UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 217 (4.14). IR $\lambda_{\max}^{\text{KBr}}$ μ : 2.85, 5.62, 5.74, 5.85, 6.18.

本研究に当たり、菌の培養につきご協力を得た中外製薬総合研究所 小川春樹氏、元素分析および IR スペクトルの測定を施行された同研究所分析研究室の方々に謝意を表します。

東京生化学研究所

*3 東京大学応用微生物研究所より分与をうけた。