

琉球大学学術リポジトリ

褐藻アツバモク (*Sargassum crassifolium* J. Agardh) の成分研究

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学理学部 公開日: 2008-03-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 国吉, 正之, Kuniyoshi, Masayuki メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/5444

Studies on the constituents of brown alga *Sargassum crassifolium* J. Agardh.

Masayuki KUNIYOSHI

Department of Chemistry, College of General Education, University of the
Ryukyus, Nishihara, Okinawa 903-01, JAPAN

(Received 7 May 1985)

ABSTRACT

We have continuously investigated on the secondary metabolites, especially on the structurally interesting and/or biologically active constituents, from many kinds of sea weeds growing in Okinawan sea. In this paper, we would like to report the isolation and the structural elucidation of some interesting constituents from the title alga.

From the ethanolic extract of the brown alga *Sargassum crassifolium* (Japanese name "Atsubamoku") collected at Sesoko-jima island area, a new tetraterpene which contains two terminal diene system of double bonds in its chemical structure has been isolated as a major component accompanying by (-)-loliolide, (+)-loliolide and palmitic acid. The structural determinations of these compounds were carried out on the basis of chemical and spectral analysis using IR, UV, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, and Mass spectroscopies.

褐藻アツバモク (*Sargassum crassifolium* J. Agardh) の成分研究

国吉 正之

緒 言

著者等は沖縄近海に産する種々の海藻について、その生理活性成分の検索を目的として研究を行なっているが、今回褐藻アツバモクより興味ある二、三の化合物が単離できたので報告する。

アツバモクは褐藻綱 (Phaeophyceae)、ヒバマタ目 (Fucales)、ホンダワラ科 (Sargassaceae)、ホンダワラ属 (*Sargassum*) の植物で低潮線付近または、それ以下の岩上に生育する。外見上は

付着部、基状部、葉状部の3部が明瞭に区別できる高さ50cmほどの海藻である。葉は楕円形でへりに歯のような突起が二列に並んでついている(千原, 1983)。ホンダワラ属のほとんどは、いわゆる流れ藻(drifting weeds)の主な構成員としてよく知られており(新崎ら, 1980)、近似種にフタエモク(*Sargassum duplicatum* J. Agardh)があるが、その海藻の気胞はやや長めであり区別することができる。

実 験

1. 抽出・分離精製

抽出分離は chart 1 に従った。1984年7月および8月の2回にわたり瀬底島にて採集されたアツバモク(8.5 kg)は、付着物をきれいに取り除き、水洗した後、数日間日陰で自然乾燥させ

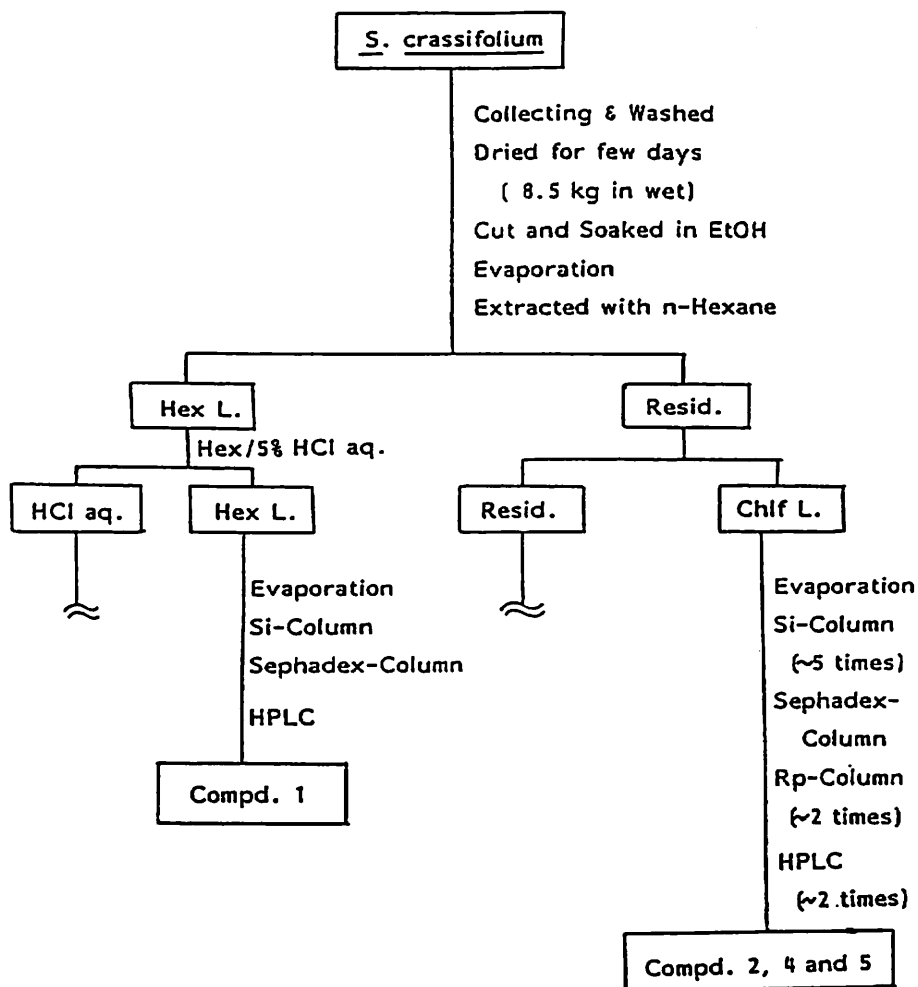
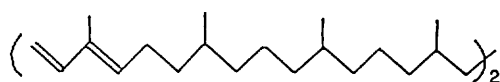


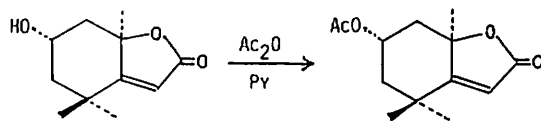
Chart 1

た。半乾燥した藻をハサミで細かく切断後、20 l の95%エタノールに室温で数週間浸漬した。得られたエタノール抽出物は濃縮後、n-ヘキサンと振って可溶部を分取した。ヘキサン不溶部の残渣オイルはさらにクロロホルムと振ることによりその可溶部を得た。このヘキサンとクロロホルム可溶部から、それぞれ下記に示すような種々のカラムクロマトグラフィーによる分離精製の結果、4つの化合物を単離した。

すなわち、ヘキサン可溶部は5%塩酸と数回振った後、そのヘキサン層を濃縮し、得られた粗オイルをシリカゲルクロマトグラフィー(Wako gel C-200)に2回通導した。n-ヘキサン-クロロホルム(20:1)混液で溶出してきた最初の画分をSephadex LH-20(Pharmacia Fine Chemicals)に付しメタノール-クロロホルム(1:1)の混液で溶出させ数画分に分取した。各々の画分を濃縮後、薄層クロマトグラフィー(TLC)や¹H-NMRスペクトルにより成分組成をチェックした。ひきつづき後半の画分をHPLC(Jascopack ss-05, silica gel 5-10 μ m)にかけ、クロロホルム-酢酸エチル(40:1)混液で溶出させると化合物1が得られた。この化合物1は、再び同様の条件下でHPLC精製をくり返すことにより純粋にされた。

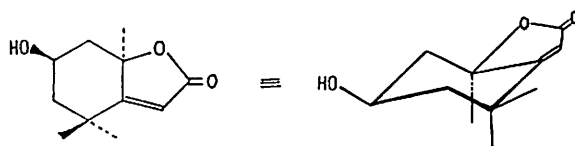


(1)

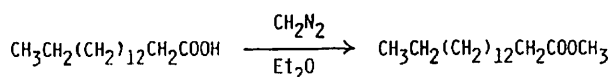


(2)

(3)



(4)



(5)

(6)

Scheme 1

またクロロホルム可溶部からは、上記と同様に適宜、TLCや $^1\text{H-NMR}$ スペクトルによる成分組成のチェックを行ないながら、シリカゲルクロマトグラフィー(n -ヘキサン \rightarrow クロロホルム \rightarrow 酢酸エチルと順次溶出溶媒の混合割合をかえていく)やSephadex LH-20(メタノール \rightarrow クロロホルム1:1混合溶媒)、ポリスチレンゲル(メタノール)などのカラムクロマトグラフィーにより、最終的にはHPLC(クロロホルム \rightarrow 酢酸エチル10:3混合溶媒)で数回にわたり分離精製をくり返して、純粋な化合物2、4、5を得た。

2. 測定及び分析機器

融点はすべて柳本ミクロ融点測定器(MP-J3型)で測定し、未補正で記載。薄層クロマトグラフィー(TLC)はMerck社製のKieselgel 60、F254を使用した。

UVスペクトルはJasco UVIDEC-610型、IRスペクトルはKBr錠剤法又はfilm法により日立・EPI-S2型で、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは重クロロホルム中、TMSを内部基準としてJEOL・JNM-PMX60型の分光光度計で、旋光度はAtago・AA-5型(観測管長20cm、内容量3ml)の光度計を使用して測定した。Massスペクトル及び $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルは大阪大学薬学部並びに千葉大学の分析センターに測定を依頼した。また元素分析の測定は理化学研究所分析センターに依頼した。

結果と考察

Fig.1に示すように、化合物1の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルでは、6~7ppmと4.8~5.7ppmのオレフィン領域のピークが特徴的である。これらのピークは、そのシフト位置及び積分値から考察すると、化合物1の両端に存在する末端共役ジエンによるもので(末端ジエンの存在は、UV吸収の実測値 $\langle\lambda_{\text{max}}230\text{nm}\rangle$ が共役ジエンのアルキルニ置換体の計算値 $\langle 227\text{nm}\rangle$ とほぼ一致することからも裏づけられる)(Williams, D. H. et al., 1973), 6~7ppmのピークは β 位のプロトンが末端メチレンプロトン(α 位)のシス及びトランスのプロトンによって大きく分裂していることに帰因する(シス位のプロトンとは $J_{\alpha, \beta}=10.2\text{Hz}$ 、トランス位のプロトンとは $J_{\alpha, \beta}=17.2\text{Hz}$)。 γ 位には置換基があり、 α 位及び δ 位のプロトンは4.8~5.7ppmに現われている。このことはまた、5.0ppm及び6.5ppmをそれぞれ照射した際に、4.8~5.7ppm及び6~7ppmのピークがデカップリングにより大きく変化したことから支持される。さらに1.80、1.77、0.87ppmのピーク及びそれらの積分値より、計8個のメチル基が存在することがわかる。

一方、IRスペクトルでは、3100、3020 cm^{-1} にアルケンのC-H伸縮振動($\nu_{\text{=CH}_2}$, $\nu_{\text{=CH-}}$)、1790 cm^{-1} に末端ビニルのC-H面外変角振動($\delta_{\text{=CH}_2}$)の倍音、1645、1605、1595 cm^{-1} に共役ジエンのC=C伸縮振動($\nu_{\text{C=C}}$)、990、895 cm^{-1} に末端ビニルのC-H面外変角振動($\delta_{\text{=CH}_2}$)、965 cm^{-1} にアルケンのトランスニ置換体のC-H面外変角振動($\delta_{\text{=CH-}}$)などの吸収ピークが観測された。 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルでは完全照射法のデータより、100~150ppmのオレフィン領域に8本の吸収ピークが観測され、また不完全照射法によるデータと比較検討したところメチル基に帰因する吸収ピーク(quartet)が8本観測された。

以上の諸スペクトルデータ及びmMS、元素分析(Found: C, 86.93; H, 13.74%. Calcd. for $\text{C}_{40}\text{H}_{74}$: C, 86.64; H, 13.36%)の結果より、この化合物1は図に示すような構造をもつテトラテルペン系の新化合物であると推定された。

化合物2はmp 155.5~156.5 $^{\circ}\text{C}$ 、 $[\alpha]^{22}_{\text{D}}=-96.3^{\circ}$ (c. 0.095, CHCl_3)、 $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3$ 、MS: m/e 196(M^+)

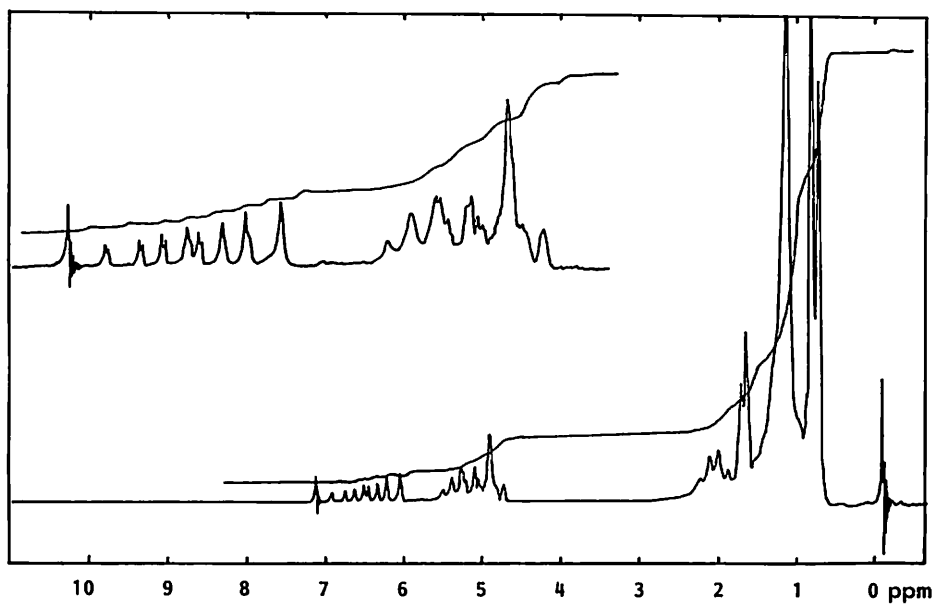
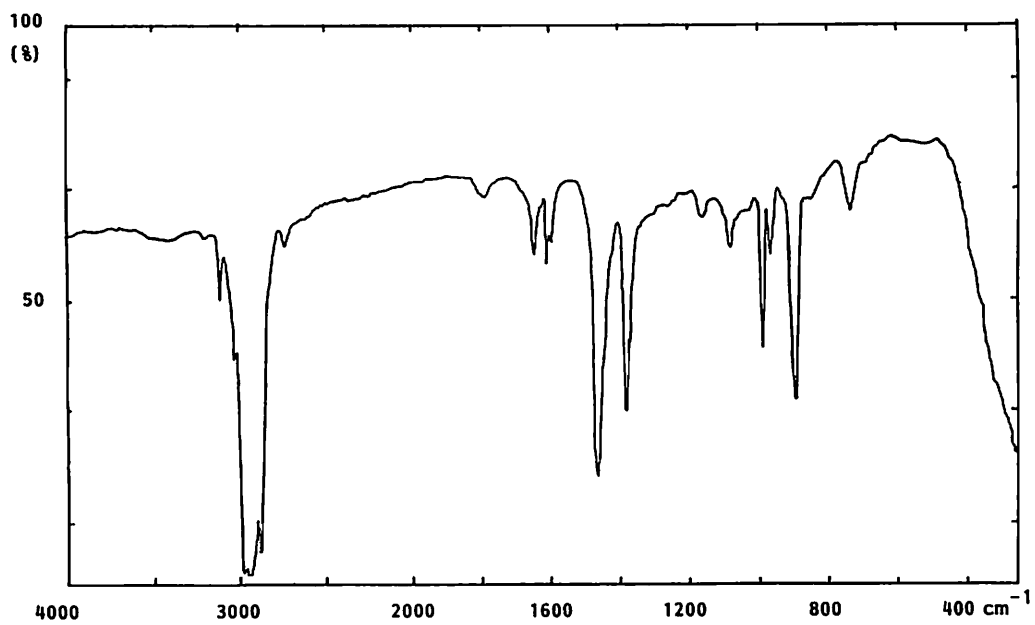
Fig. 1 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of Compound 1

Fig. 2 IR spectrum of Compound 1

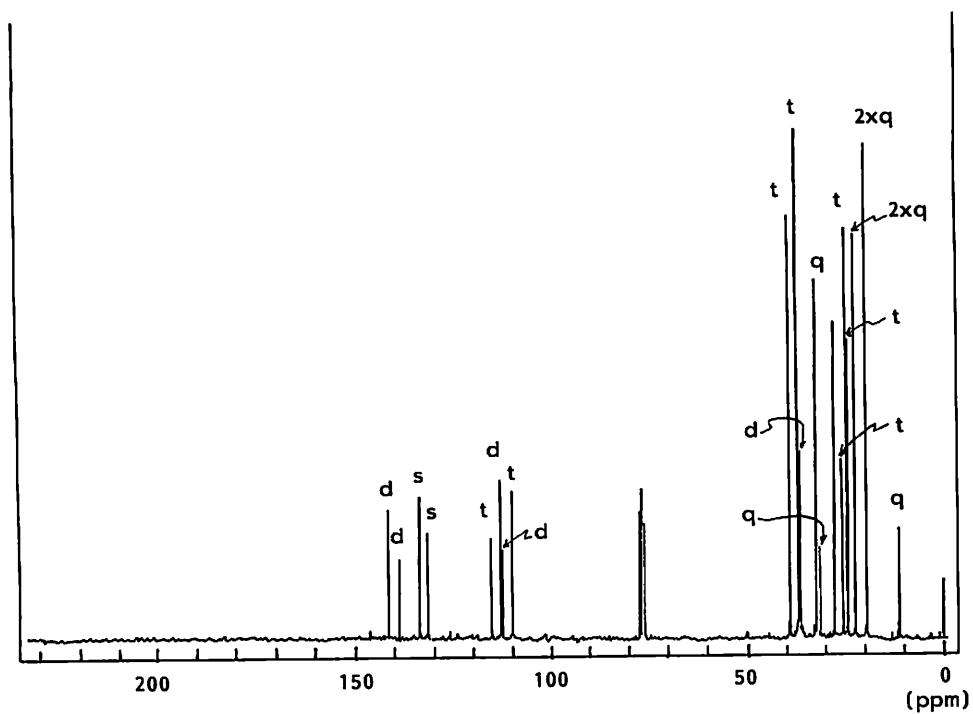
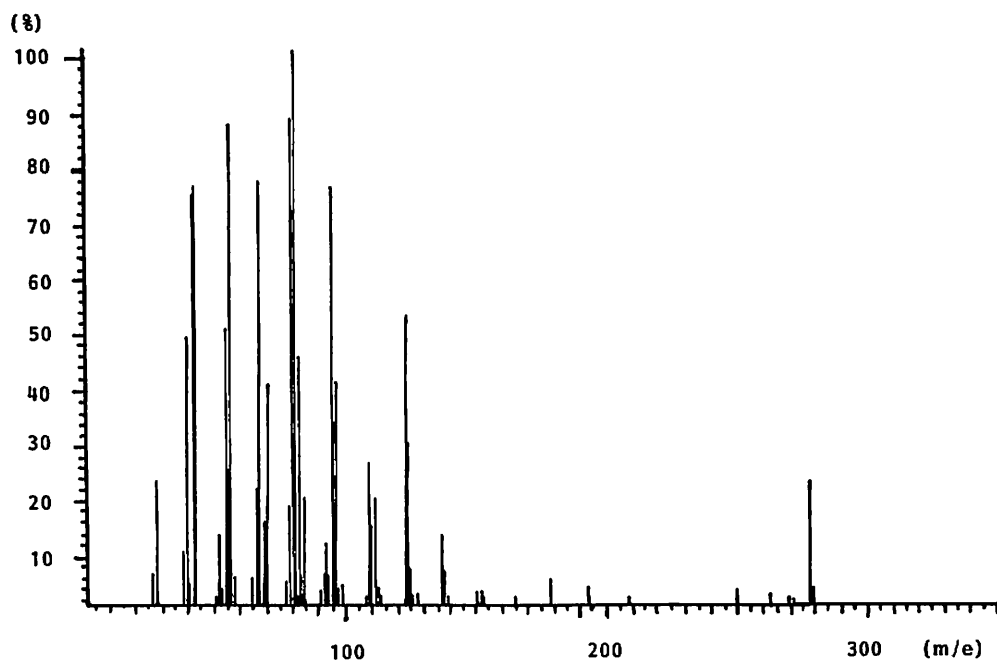
Fig. 3 ^{13}C -NMR spectrum of Compound 1

Fig. 4 mMS spectrum of Compound 1

ピーク)の無色針状結晶(ヘキサン-メタノール混液から再結晶)で、UV: $\lambda_{\text{Max}}^{\text{MeOH}}$ 218nm($\epsilon = 8580$)、IR: $\nu_{\text{Max}}^{\text{KBr}}$ 3450、3030、1743、1625、1260、860 cm^{-1} の特性吸収が認められ、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルでは重クロロホルム中(CDCl_3)、 δ 1.27、1.48、1.78に各3級メチル基、1.51(dd, $J = 14.5$ 、 3.8Hz)、1.74(dd, $J = 13.9$ 、 3.8Hz)、2.38(br.s, D_2O , exchangeable)、2.02(ddd, $J = 14.5$ 、 3.8 、 2.5Hz , W字則に由来)、2.49(ddd, $J = 13.9$ 、 3.8 、 2.5Hz , W字則に由来)、5.65(s)、また4.32 ppmに水酸基の根元の炭素に付いた水素に基づく5重線($J = 3.8\text{Hz}$)と、いずれも水素1個に基づいたシグナルが観測された。さらに $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルでは次のようなシグナルが観測された。 $\delta(\text{CDCl}_3)$ 183.23(s)、172.34(s)、112.58(d)、87.23(s)、66.48(d)、47.25(t)、36.04(s)、30.62(q)、26.99(q)、26.45(q)。これらの所見は、すでに佐藤ら(1956)が *Digitalis purpurea* L. (Scrophulariaceae) から、White(1958)やHodgesら(1964)が *Lolium perenne* (Gramineae) からそれぞれ単離した(-)-loliolideに一致することを確認した。この化合物2をピリジン中、無水酢酸と処理して次に示すアセチル誘導体(化合物3)を得た。UV: $\lambda_{\text{Max}}^{\text{MeOH}}$ 223nm($\epsilon = 5906$)。IR: $\nu_{\text{Max}}^{\text{KBr}}$ 3120、3030、2924、1770、1740、1635、1450、1290、1240、1060、990、860 cm^{-1} 。 $^1\text{H-NMR}$: $\delta(\text{CDCl}_3)$ 5.60(s, 1H)、5.20(quintet, $J = 3.5\text{Hz}$, 1H)、2.40(m, 2H)、2.10(s, 3H)、1.80(m, 2H)、1.70(s, 3H)、1.40(s, 3H)、1.30(s, 3H)。

化合物4(参考までにその立体配置の図も示した)は mp 122.5°-123.5°C、 $[\alpha]^{19.5} + 90.8^\circ$ (c. 0.197, CHCl_3)、 $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3$ の無色針状結晶(n-ヘキサン-メタノールから再結晶)で、UV、IR、 ^1H 及び $^{13}\text{C-NMR}$ 、MS の各スペクトルデータが Schmitz ら(1983)が報告している(+)-epiloliolide に一致することを確認した。

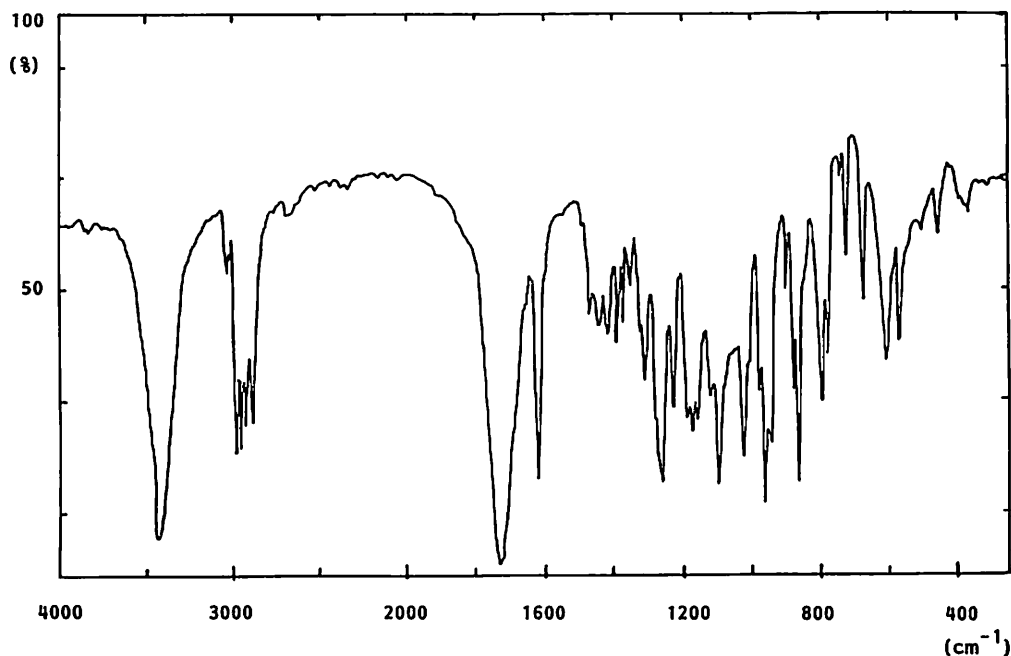


Fig. 5 IR spectrum of Compound 2

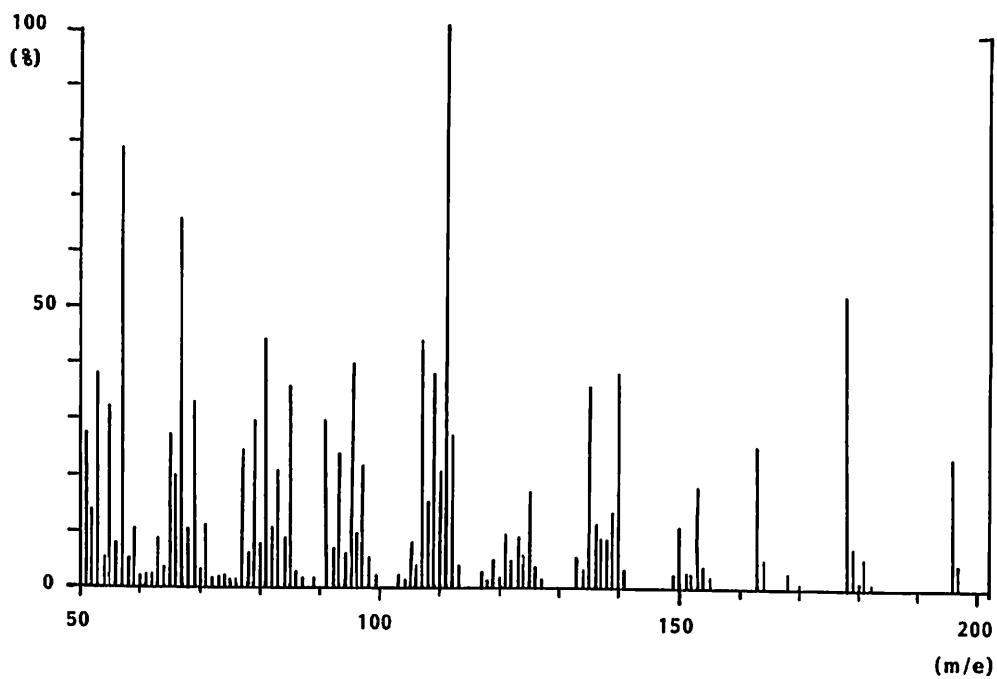
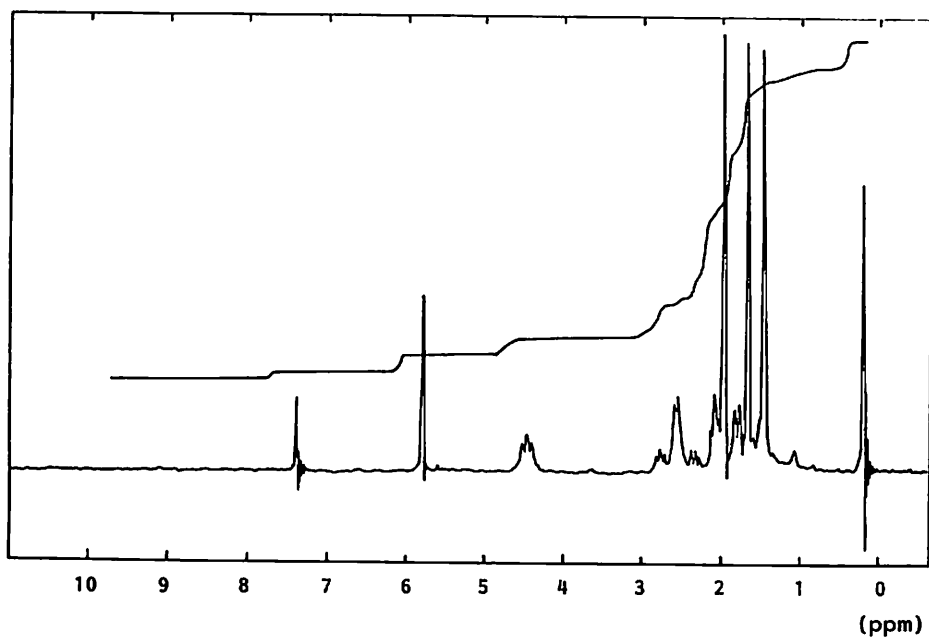


Fig. 6 mMS spectrum of Compound 2

Fig. 7 ¹H-NMR spectrum of Compound 2

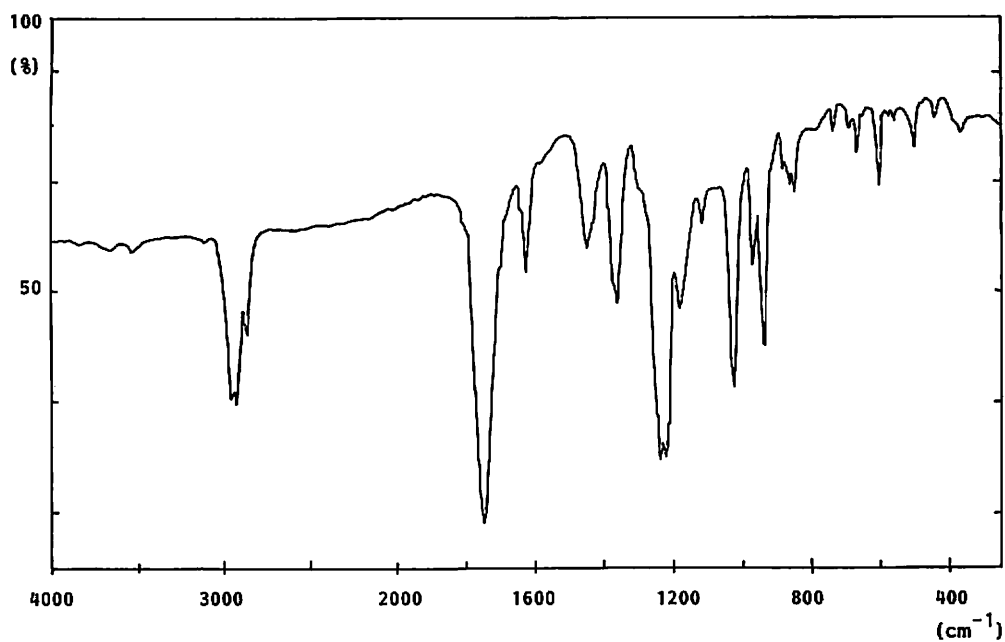


Fig. 8 IR spectrum of Compound 3

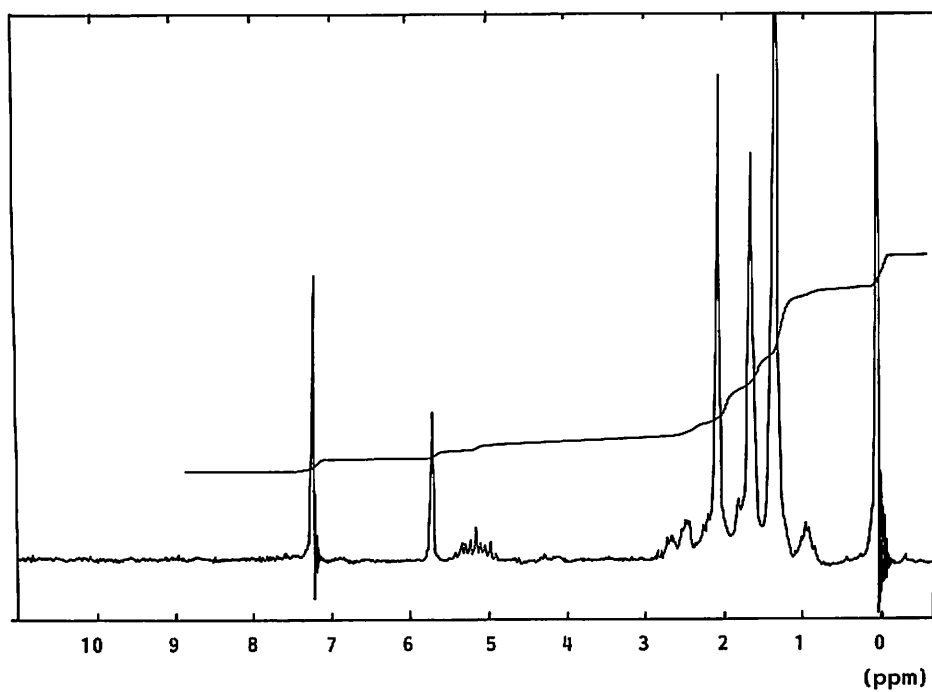


Fig. 9 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of Compound 3

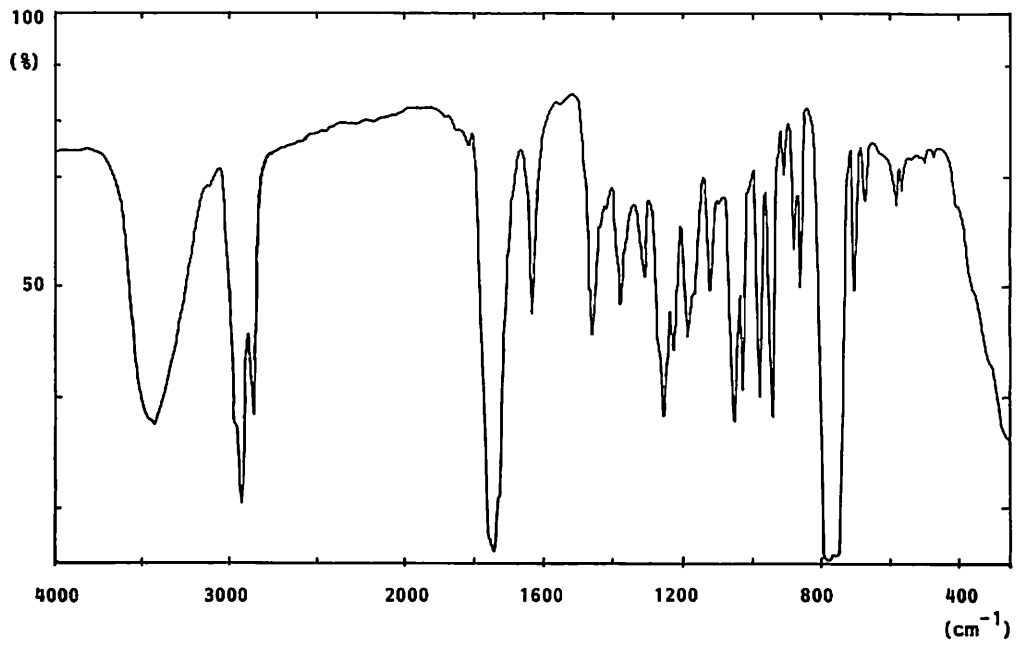
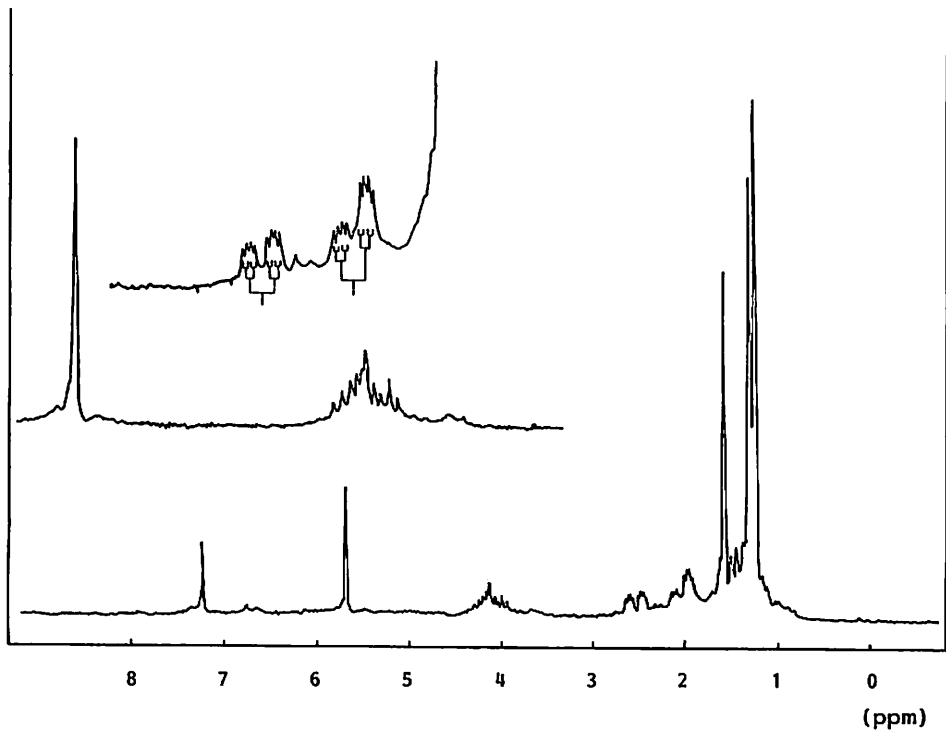


Fig. 10 IR spectrum of Compound 4

Fig. 11 ¹H-NMR spectrum of Compound 4

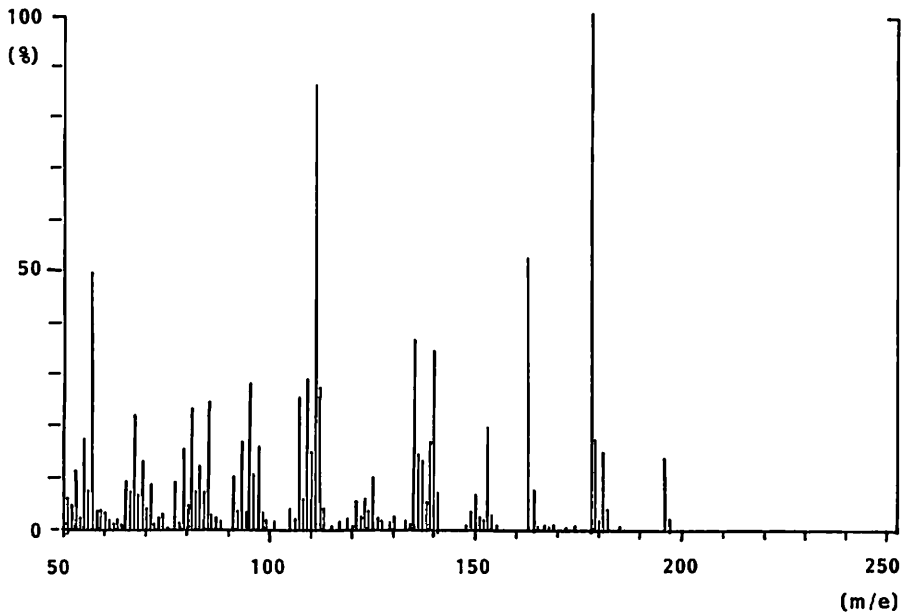


Fig. 12 mMS spectrum of Compound 4

これら化合物2と4については、種々の生理活性テストの結果、弱い抗菌作用とともに、注目に値するかなりの強い発芽阻害作用を示すことがわかった。この生理活性テストの結果については他誌へ投稿する予定である。この化合物2と4は主に陸性植物から単離報告 (Pettit, G. R. et al., 1980) されており、海洋動植物からの単離例はわずかに二、三の報告 (Takemoto, T. et al., 1970 and Ravi, B. N. et al., 1982) があるのみである。最近(-)-Loliolideがこれと近縁の化合物である Dihydroactinidiolide とともに marine sediment から単離されたという興味ある報告 (Klok, J. et al., 1984) もなされており、これらの化合物が violaxanthin や fucoxanthin などのカロチノイドから光分解により生成したものであろうと考えられている。

化合物5は mp 60.5–61.5°C、 $C_{16}H_{32}O_2$ の無色鱗片状結晶 (メタノールより再結晶) で次の諸スペクトルデータを示した。MS: m/e 256(M^+ ピーク)、IR: ν_{max} 3350、1690、1470、1307、1220、940 cm^{-1} 。 $^1\text{H-NMR}$: $\delta(\text{CDCl}_3)$ 10.75(br. s)、2.30(t)、1.30(m)、0.92(t)、 $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta(\text{CDCl}_3)$ 180.45(s)、34.15(t)、31.96(t)、24.71(t)、22.72(t)、14.14(q)。またこの化合物5をエーテル中ジアゾメタンにより室温で処理すると、前記 (Scheme 1) に示すようなメチルエステル体 (化合物6) が得られた。mp. 32.3–33.5°C、IR: ν_{max} 2920、1750、1470、1380。 $^1\text{H-NMR}$: $\delta(\text{CDCl}_3)$ 3.64(s)、2.30(t)、1.30(m)、0.92(t)。これらの知見より、化合物5は陸性動植物の脂質 (グリセリド) 成分の一つとして一般によく知られている Palmitic acid (hexadecanoic acid) と同一物であることを確認した。

謝 辞

終りにあたり、実験の便宜と御指導をいただきました当学科の森巖教授ならびに海洋学科の比嘉辰雄教授に、また採集試料の鑑定をしていただきました熱帯海洋センターの香村真徳教授に深く感謝の意を表します。また海藻試料の採集および実験室における諸測定に協力していた

いただきました卒論研究生の宮里正、露木一英、當間靖（生物学科）の諸氏にも感謝いたします。

文 献

- 新崎盛敏・新崎輝子共著、海藻のはなし、東海大学出版会、p.43 (1980)
- 千原光雄著、学研生物図鑑「海藻」、学習研究社、p.210 (1983)
- Hodge, R. & Porte, A. L. (1964) *Tetrahedron*, 20: 1463-1467.
- Klok, J., Baas, M. Cox, H. C., de Leeuw, J. W. & Schenck, P. A. (1984) *Tetrahedron Lett.* 25 (48): 5577-5580.
- Pettit, G. R., Herald, C. L., Ode, R. H., Brown, P., Gest, D. J. & Michel, C. (1980) *J. Nat. Prod.* 43: 752-755.
- Satoh D., Ishii, H., Oyama, Y., Wada, T. & Okumura, T. (1956) *Pharm. Bull. (Japan)*, 4: 282-286
- Schmitz, F. J., Vanderah, D. J., Hollenbeak, K. H., Enwall, C. E. L. & Gopichand, Y. (1983) *J. Org. Chem.* 48(22): 3941-3945.
- Takemoto, T. & Takeshita, Y. (1970) *Yakugaku Zasshi*, 90(8): 1057-1060.
- White, E. P. (1958) *New Zealand J. Agric.* 1: 859-865.
- Williams, D. H. & Fleming, I. (1973) *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*, McGraw-Hill, 2nd. Ed., p.11-15.