

# 琉球大学学術リポジトリ

## 沖縄産海藻類の化学的研究

メタデータ	言語: 出版者: 国吉正之 公開日: 2009-03-19 キーワード (Ja): 海洋天然物化学, 海藻, TNF- $\alpha$ , テルペン, 抗菌, 抗カビ, TNF- $\alpha$ キーワード (En): COX, NMR, Marine natural products, Algae, COX, Terpenes, NMR, Antibacterial, Antifungal 作成者: 国吉, 正之, Kuniyoshi, Masayuki メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/9307">http://hdl.handle.net/20.500.12000/9307</a>

---

沖縄産海藻類の化学的研究

---

16550042

平成 16～17 年度科学研究費補助金  
(基盤研究 (C)) 研究成果報告書

平成 18 年 6 月

研究代表者 国吉 正之

琉球大学理学部教授

## ■ はしがき

海洋生物はその生活環境が陸上生物とは異なり、多様性に富んでいるため、陸上の生物には見られない新規な構造を持った化合物や特異的な生物活性を示す化合物がこれまでに多数発見されている。また、これらの物質が示す生理活性に関する研究は医学や、薬学、食品化学等の幅広い分野で注目されている。

平成16年度および17年度は、主に4種の沖縄産海藻類についてその成分研究を進めた。その結果、27種の既知化合物と共に20種の新規化合物を得た。また、これらの化合物について抗菌・抗カビ試験、細胞毒性試験、ブラインシュリンプ毒性試験、酵素阻害試験などの各種生理活性試験も行った。

## ■ 研究組織

- 平成16年度 研究代表者：国吉 正之（琉球大学理学部教授）  
研究分担者：比嘉 辰雄（琉球大学理学部教授）
- 平成17年度 研究代表者：国吉 正之（琉球大学理学部教授）

## ■ 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成16年度	2,600,000	0	2,600,000
平成17年度	600,000	0	600,000
総計	3,200,000	0	3,200,000

## ■ 研究発表

### (1) 学会誌等

- David S. Makhanu, Muneaki Yokoyama, Takayuki Miono and Masayuki Kuniyoshi, New sesquiterpenes from Okinawan red alga *Laurencia luzonensis*, *Bull. Fac. Soc. Univ. Ryukyus*, **2006**, No.81, 115-120.
- M. Kuniyoshi, P. G. Wahome, T. Hashimoto, M. Yokoyama, K. L. Shrestha, and T. Higa, Terpenoids from *Laurencia luzonensis*, *Journal of Natural Products*, **2005**, 68, 1314-1317.
- J. Tanaka, M. Kuniyoshi, C. Tanaka, H. H. Issa, W. Balansa, M. Otsuka, W. P. Githige, and T. Higa, Diverse metabolites of coral reef organisms, *Pure Appl. Chem.*, **2005**, 77, 83-89.
- T. Higa and M. Kuniyoshi, Biologically Active Terpenoids from Sponges, In biomaterials from Aquatic and Terrestrial Organisms (Eds. M. Fingerman and R. Nagabhusanam), Science Publishers, Enfield (NH), **2004**, USA *in print*.
- 橋本 岳, 三尾野 貴介, 国吉 正之, 沖縄産海藻類からの新規生理活性二次代謝物質の探索, 平成16年度 亜熱帯地域の有害・有毒生物に関する調査研究報告書, 125-130.
- 横山 宗明, 三尾野 貴介, 国吉 正之, 沖縄産海藻類からの新規生理活性二次代謝物質の探索,

平成 17 年度 亜熱帯地域の有害・有毒生物に関する調査研究報告書, *in print*.

(2) 口頭・ポスター発表等

- Masayuki Kuniyoshi *et al*, **2005**, Meroditerpenes from the blown alga *Styopodium zonale*, INTERNATIONAL CHEMICAL CONGRESS OF PACIFIC BASIN SOCIETIES., held in Hawaii, USA.
- J. Tanaka, M. Kuniyoshi, C. Tanaka, H. H. Issa, W. Balansa, M. Otsuka, W. P. Githige, and T. Higa, **2005**, Diverse metabolites of coral reef organisms., the 24<sup>th</sup> International Symposium on the Chemistry of Natural Products and the 4<sup>th</sup> International Congress on Biodiversity, held in Delhi, India.
- M. Kuniyoshi, P. G. Wahome, T. Miono, and T. Higa, **2004**, Additional Bromoterpenes from *Laurencia luzonensis*, International Congress on Natural Products Research., Phenix, Arizona, USA.
- M. Kuniyoshi, P. G. Wahome, T. Miono and T. Higa, **2004**, Chemistry of Okinawan Red Algae, 3<sup>rd</sup> International Conference on Natural Products, held in Nanjing, R. P. China.
- M. Kuniyoshi, P. G. Wahome, , T. Miono, and T. Higa, **2004**, New Bromoterpenes from the Okinawan Red Alga *Laurencia luzonensis*, 3<sup>rd</sup> International Conference on Natural Products, held in Nanjing, R. P. China.
- 橋本 岳, 三尾野 貴介, 国吉 正之, 沖縄産海藻類からの新規生理活性二次代謝物質の探索, 平成 16 年度 亜熱帯地域の有害・有毒生物に関する調査研究 中間報告会, 11 月, 於那覇.
- 橋本 岳, 三尾野 貴介, 国吉 正之, 沖縄産海藻類からの新規生理活性二次代謝物質の探索, 平成 16 年度 亜熱帯地域の有害・有毒生物に関する調査研究 最終報告会, 3 月, 於那覇.
- 横山 宗明, 三尾野 貴介, 国吉 正之, 沖縄産海藻類からの新規生理活性二次代謝物質の探索, 平成 17 年度 亜熱帯地域の有害・有毒生物に関する調査研究 中間報告会, 12 月, 於那覇.
- 横山 宗明, 三尾野 貴介, 国吉 正之, 沖縄産海藻類からの新規生理活性二次代謝物質の探索, 平成 17 年度 亜熱帯地域の有害・有毒生物に関する調査研究 最終報告会, 3 月, 於那覇.

## 目次

はしがき・研究組織・交付決定額・研究発表	1
目次	3
1. 実験方法	4
2. 化合物	
2-1. <i>Styopodium zonale</i> から得られた化合物	5
2-2. <i>Laurencia luzonensis</i> から得られた化合物	6
2-3. <i>Laurencia brongniartii</i> から得られた化合物	7
2-4. <i>Portieria hornemannii</i> から得られた化合物	8
3. Isolation Scheme	
3-1. Isolation Scheme of <i>Styopodium zonale</i>	9
3-2. Isolation Scheme of <i>Laurencia luzonensis</i>	10
3-3. Isolation Scheme of <i>Laurencia brongniartii</i>	11
3-4. Isolation Scheme of <i>Portieria hornemannii</i>	12
4. 生理活性試験	
4-1. 抗菌試験	13
4-2. 抗カビ試験	14
4-3. AChE 阻害試験	15
4-4. プラインシュリンブ毒性試験	15
4-5. COX 阻害試験	16
4-6. TNF- $\alpha$ 阻害試験	16
5. 発表ポスター	
5-1. PacifiChem 2005	17
5-2. 3 <sup>rd</sup> ICNP 2004	32
6. 2005 年 発表論文	38
7. Experimental Section	43
8. References	48

## 1. 実験方法.

- ① 沖縄県各地で Table 1. に示す 4 種の海藻類を採集した.

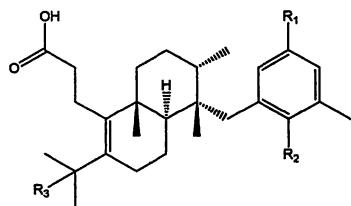
Table 1. Samples

<i>Laurencia luzonensis</i>	(紅藻)	2005 年 4 月	伊計島・瀬底島沿岸にて採集
<i>Laurencia brongniartii</i>	(紅藻)	2003 年 4 月	伊計島沿岸にて採集
<i>Stypopodium zonale</i>	(褐藻)	2005 年 4 月	金武湾沿岸にて採集
<i>Portieria hornemannii</i>	(紅藻)	2003 年 4 月	具志頭村沿岸にて採集

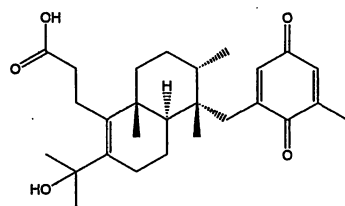
- ② これらの海藻類をエタノールやメタノールなどの有機溶媒に数日間浸漬後, 水と酢酸エチルを用いて分配した. 酢酸エチル層を減圧濃縮することで粗オイルを得た.
- ③ 得られた粗オイルをオープンカラムクロマトグラフィー (OCC) および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて分離・精製を行った. その際, カラムの充填剤としては, シリカゲル, オクタデシルシリカゲル等を用いた.
- ④ 得られた化合物の構造は 1D, 2D-NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, HMQC, HMBC, COSY) および MS, IR, UV などの各種スペクトルにより決定した.
- ⑤ 得られた化合物やその誘導体について, 細胞毒性試験, ブラインシュリンプ毒性試験, 抗菌・抗カビ試験, 酵素阻害試験などの各種生理活性試験を行った.

## 2. 化合物.

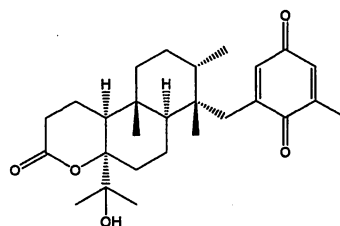
### 2-1. *S. zonale* から得られた化合物.



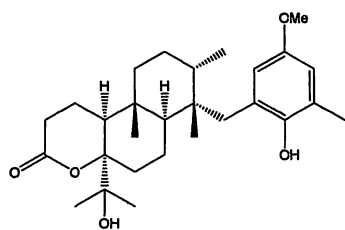
1



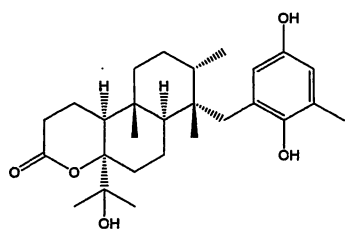
2



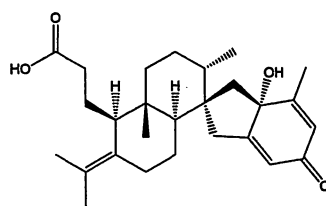
3



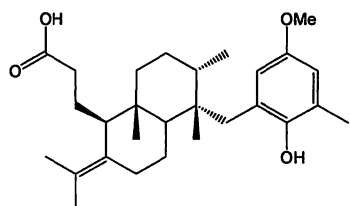
4



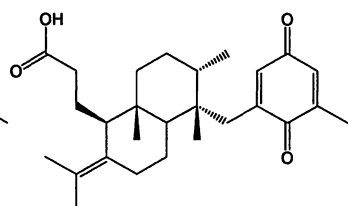
5



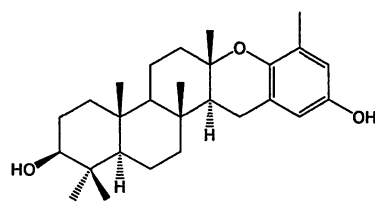
6



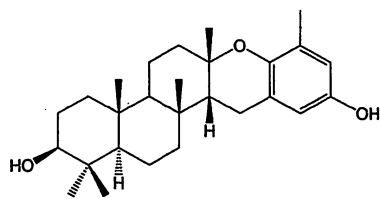
7



8

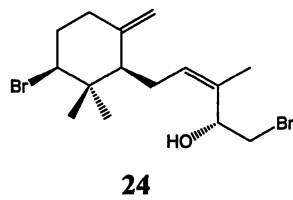
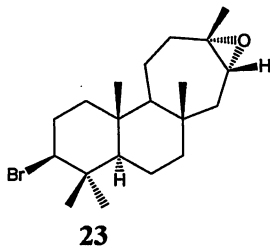
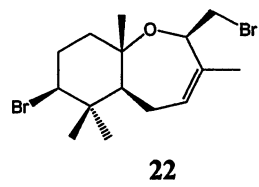
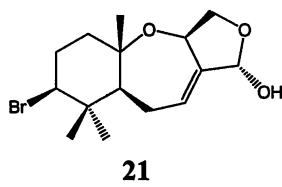
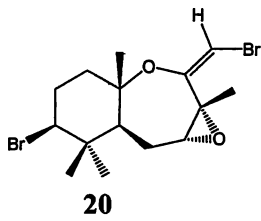
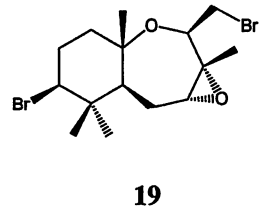
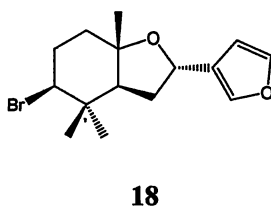
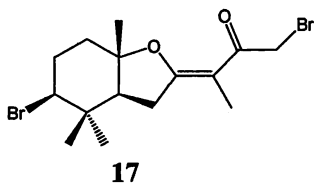
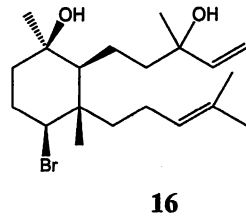
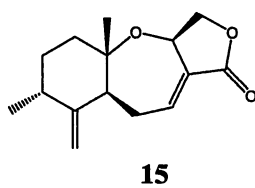
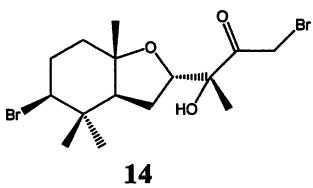
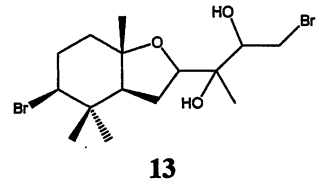
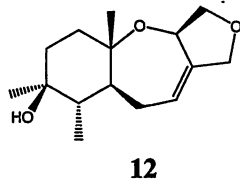
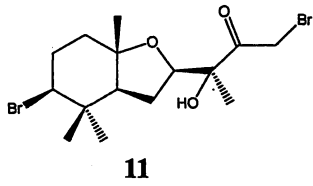


9



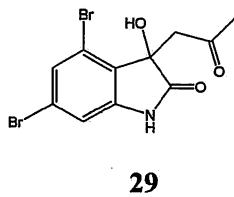
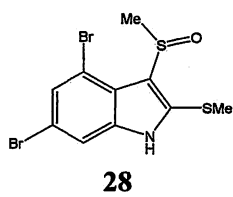
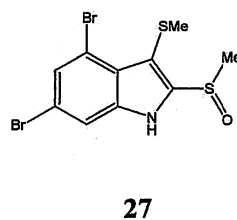
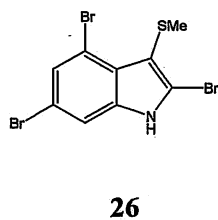
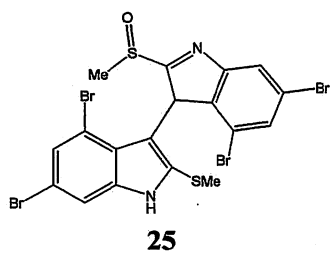
10

2-2. *L. luzonensis* から得られた化合物.

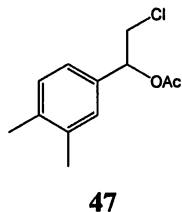
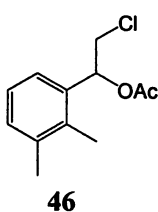
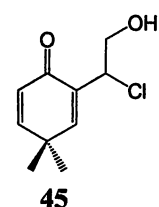
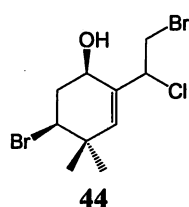
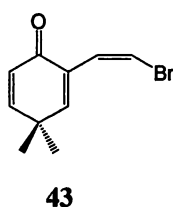
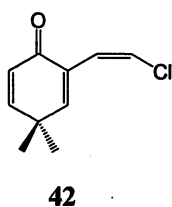
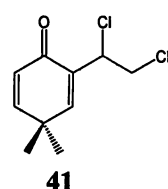
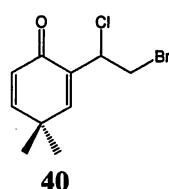
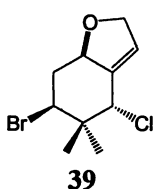
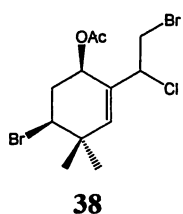
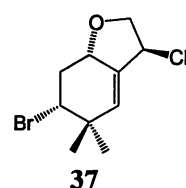
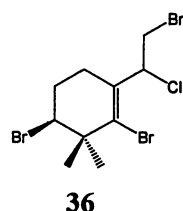
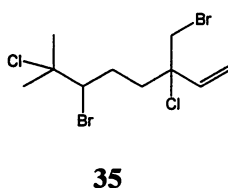
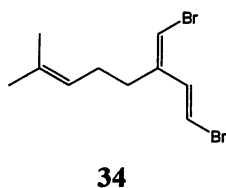
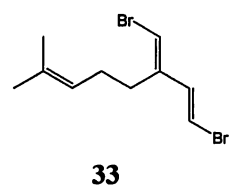
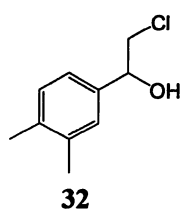
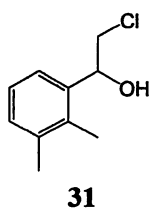
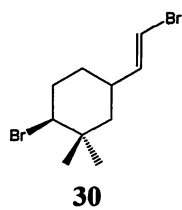




2-3. *L. brongniartii* から得られた化合物.

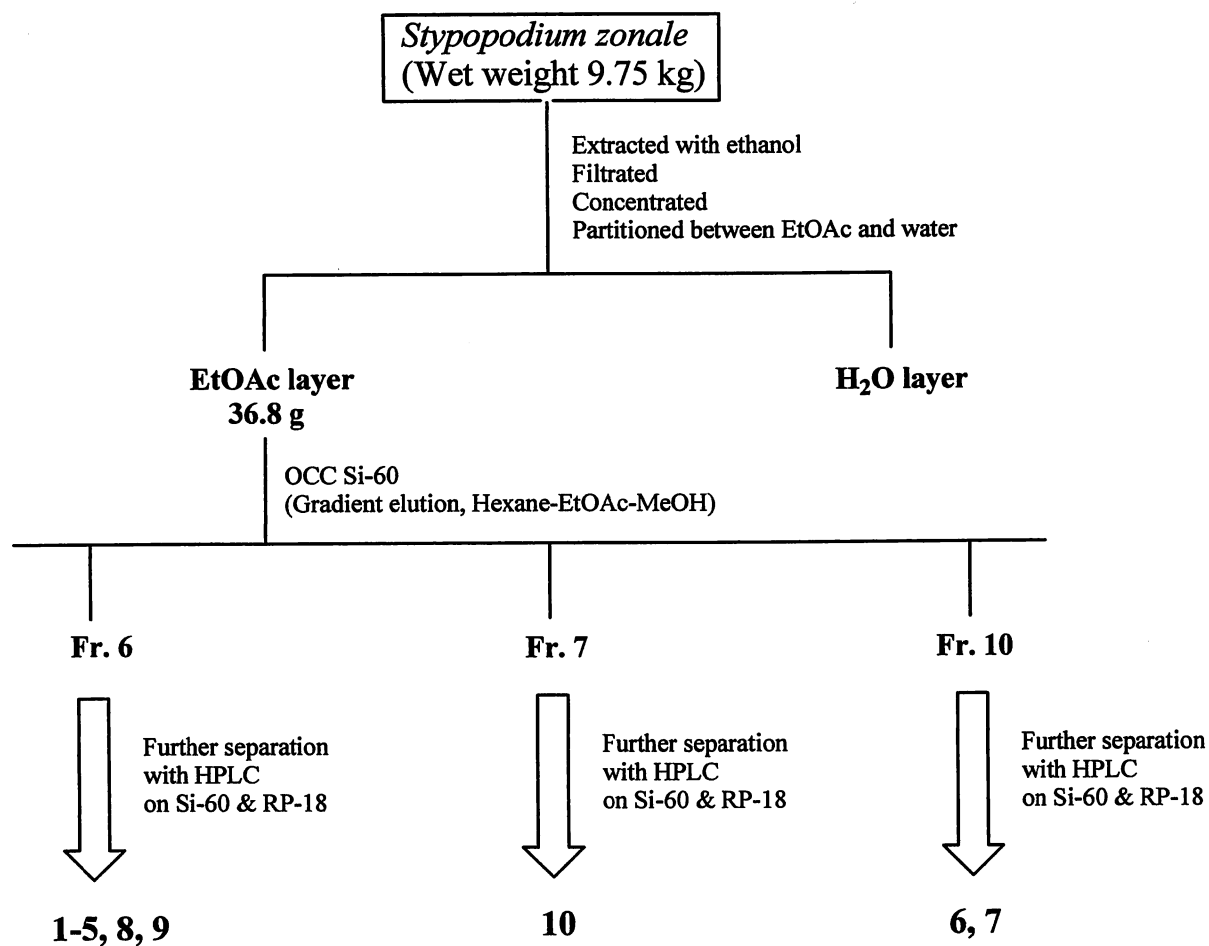


2-4. *P. hornemannii* から得られた化合物.

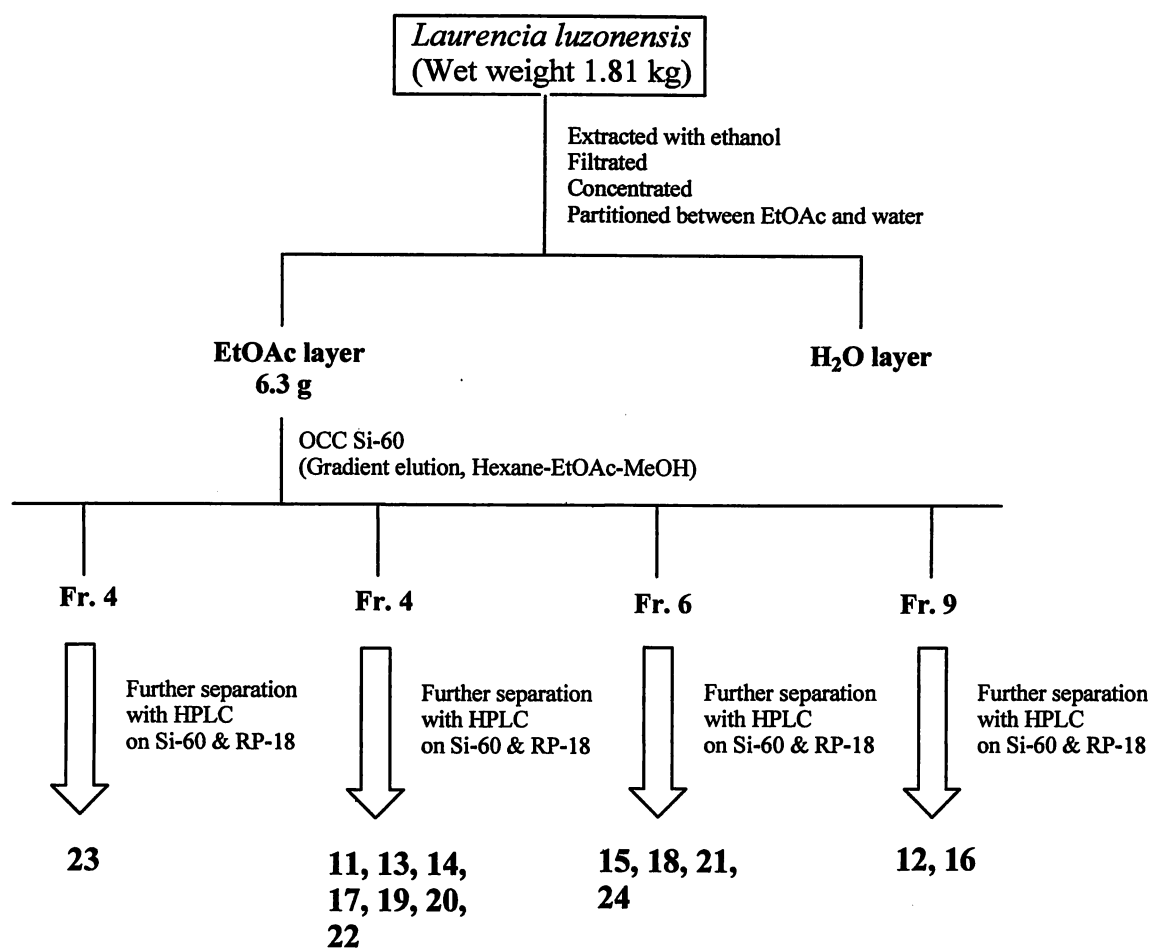


### 3. Isolation Scheme.

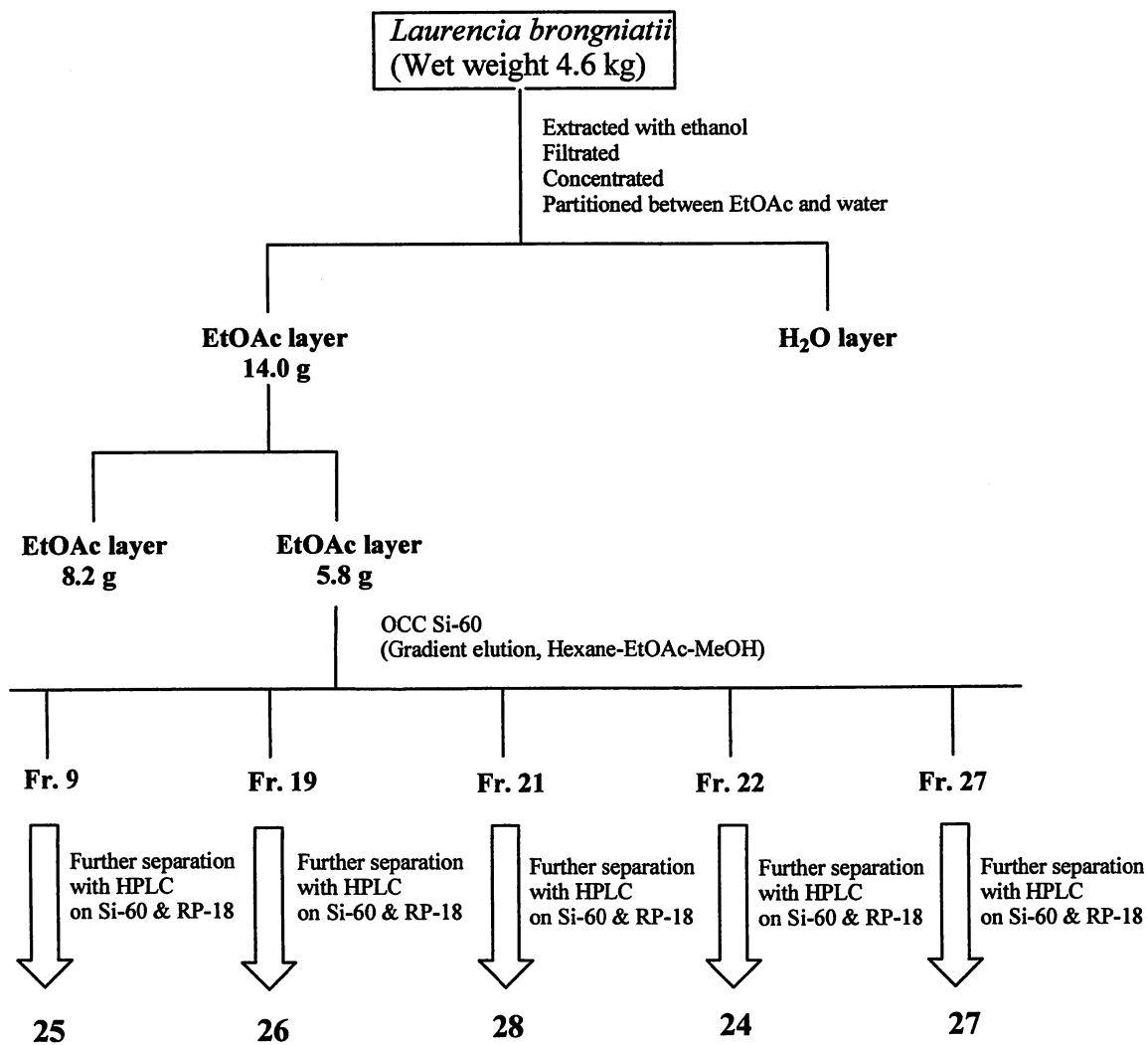
#### 3-1. Isolation Scheme of *S. zonale*.



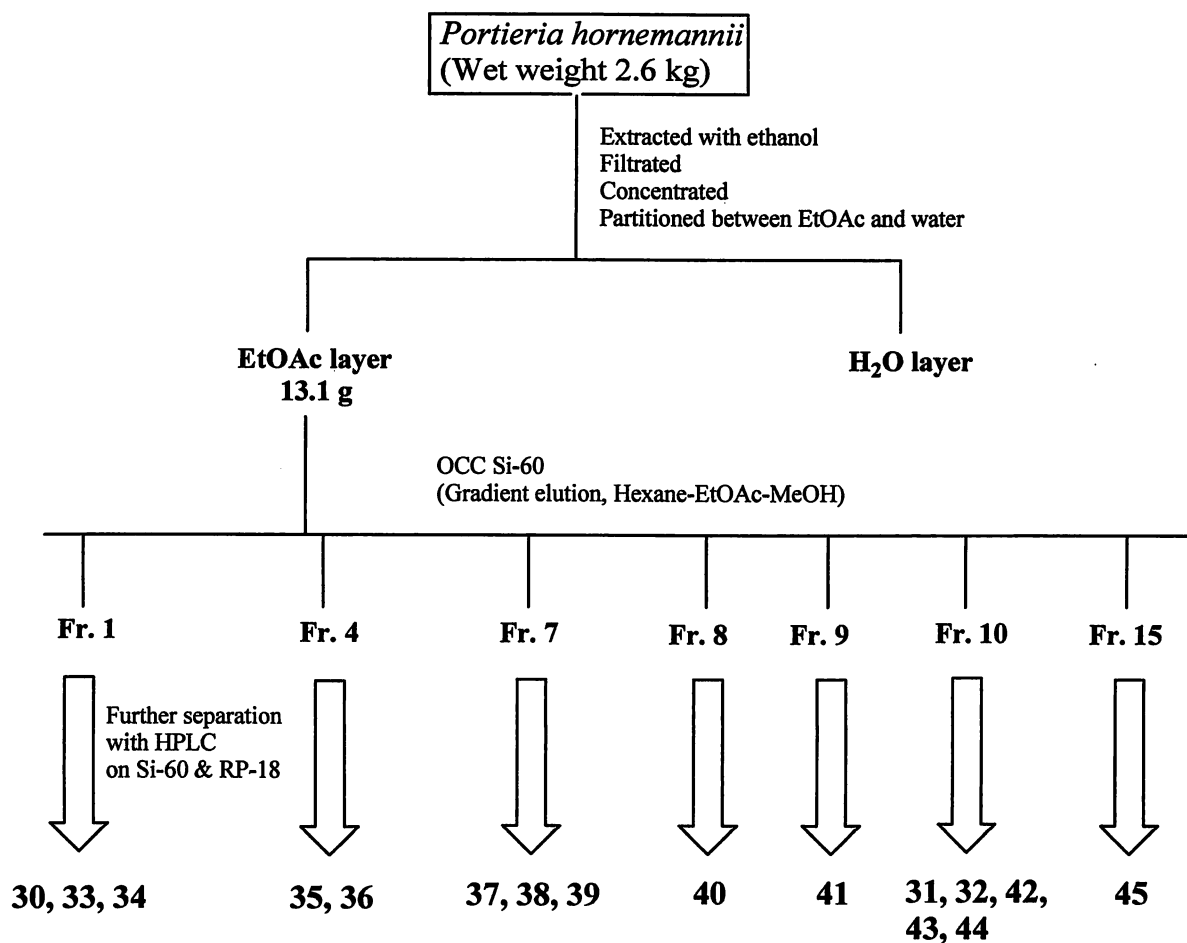
3-2. Isolation Scheme of *L. luzonensis*.



3-3. Isolation Scheme of *L. brongniartii*.



3-4. Isolation Scheme of *P. hornemannii*.



## 4. 生理活性試験.

### 4-1. 抗菌試験

得られた化合物について, 3種の菌(枯草菌/*Bacillus subtilis*, 大腸菌/*Escherichia coli*, 黄色ブドウ球菌/*Staphylococcus aureus*) に対する阻害活性試験を行った. 試験を行った化合物の内, 29以外の全ての化合物は枯草菌に対して一定の活性を示した. 中でも7および26が最も強い活性を示した. また, 26は黄色ブドウ球菌に対しても強い活性を示した. なお, 活性評価に際しては阻害円の直径を用いた. **Table 2** にその結果を示す.

**Table 2** Result of antibacteria activity test

Compounds	SOURCE	Conc. μg/disk	Strain		
			<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Compound 1	Sz	50	+	-	-
		100	+	-	-
Compound 3	Sz	50	+	-	-
		100	+	-	-
Compound 4	Sz	50	+	-	-
		100	+	-	-
Compound 7	Sz	50	+	-	-
		100	++	+	-
Compound 8	Sz	50	+	-	-
		100	+	+	-
Compound 9	Sz	50	+	-	-
		100	+	-	-
Compound 10	Sz	50	+	-	-
		100	+	-	-
Compound 26	Lb	50	+	+++	-
		100	++	+++	-
Compound 29	Lb	50	-	-	-
		100	-	-	-

Diameter of paper disk = 6 mm

Diameter of inhibition zone (mm) ; + = 8-12 mm, ++ = 12-16, +++ = 16-20, -- = no activity

Sz = *S. zonale*, Lb = *L. brongniartii*

#### 4-2. 抗カビ試験.

得られた化合物について, 4 種のカビ (*Alternaria* sp, *Cladosporium* sp, *Fusarium moniliform*, *Gelacinospora retispora*) に対する阻害活性試験を行った. 試験を行った化合物の内, 30 以外の全ての化合物は *Alternaria* sp に対して一定の活性を示した. 中でも 44, 46 および 47 が最も強い活性を示した. なお, 活性評価に際しては阻害円の直径を用いた. Table 2 にその結果を示す.

**Table 3** Results of antifungal activity test

Compounds	Source	Conc. μg/disk	Strain			
			<i>Alternaria</i> sp	<i>F. moniliform</i>	<i>Cladosporium</i> sp	<i>G. retispora</i>
Compound 30	Ph	50	—	—	—	—
		100	—	—	—	—
Compound 31	Ph	50	—	—	—	—
		100	+	+	—	—
Compound 32	Ph	50	+	—	—	—
		100	+	+	—	—
Compound 39	Ph	50	—	—	—	—
		100	+	—	+	—
Compound 40	Ph	50	—	—	—	—
		100	+	+	—	—
Compound 41	Ph	50	—	—	—	—
		100	+	++	—	+
Compound 43	Ph	50	+	—	—	—
		100	+	—	—	+
Compound 44	Ph	50	++	—	—	—
		100	+++	+	+	+++
Compound 46	Ph	50	+	—	—	—
		100	+++	+	—	—
Compound 47	Ph	50	++	—	—	—
		100	+++	+	—	—

Diameter of paper disk = 6 mm

Diameter of inhibition zone (mm) ; += 8-12 mm, ++ = 12-16, +++ = 16-20, — = no activity

Ph = *P. hornemannii*



#### 4-3. アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害活性試験.

得られた化合物について AChE 阻害試験を行った. 1 は 10 $\mu$ M で 66% の阻害活性を示し, 試験を行った化合物の中で最も強く AChE を阻害した. ついで, 31 および 14 が同様の条件でそれぞれ 42%, 40% の阻害活性を示した.

**Table 4** Results of AChE inhibition activity test

Compounds	Source	CONC.	INHIBITION %
Compound 1	Sz	10 $\mu$ M	66
Compound 12	LI	10 $\mu$ M	2
Compound 14	LI	10 $\mu$ M	40
Compound 31	Ph	10 $\mu$ M	42
Compound 32	Ph	10 $\mu$ M	16
Compound 35	Ph	10 $\mu$ M	16
Compound 36	Ph	10 $\mu$ M	14
Compound 47	Ph	10 $\mu$ M	4
Compound 50	Ph	10 $\mu$ M	34

Sz = *S. zonale*, LI = *L. luzonensis*, Ph = *P. hornemannii*

#### 4-4. ブラインシュリンプ毒性試験.

得られた化合物について, ブラインシュリンプ (*Artemia salina*) に対する毒性試験を行った. 全ての化合物は 30 $\mu$ g/ml において 100% の活性を示した. 中でも, 4, 7, 8, 9 は 5 $\mu$ g/ml においても, それぞれ 80, 60, 60% という強い活性を示した.

**Table 5** Results of brine shrimp activity test

Compounds	Source	Concentration ( $\mu$ g/ml)				
		30	20	10	5	1
Compound 1	Sz	100%	30	10	3.3	0
Compound 2	Sz	100	50	40	26.7	0
Compound 3	Sz	100	20	10	0	0
Compound 4	Sz	100	100	80	80	6.7
Compound 7	Sz	100	73.3	66.7	60	26.7
Compound 8	Sz	100	66.7	63.3	60	16.7
Compound 9	Sz	100	66.7	30	20	0
Compound 10	Sz	100	40	30	23.3	3.3

% of dead brine shrimp after 24 hrs

Sz = *S. zonale*

#### 4-5. シクロオキシゲナーゼ (COX) 阻害活性試験.

得られた化合物について COX1 および COX2 阻害試験を行った。この内、26 が最も強い阻害活性を示し、10 $\mu$ M において COX-1 および COX-2 をそれぞれ 74%、100%阻害した。ついで 27 が同様の条件で、それぞれ 33%、23%の阻害活性を示した。

**Table 6** Results of COX inhibition activity test

Compounds	Source	CONC.	COX-1 INHIBITION	COX-2 INHIBITION
			%	%
Compound 26	Lb	10 $\mu$ M	74	100
Compound 27	Lb	10 $\mu$ M	33	23
Compound 32	Ph	10 $\mu$ M	14	0
Compound 35	Ph	10 $\mu$ M	17	5
Compound 46	Ph	10 $\mu$ M	5	0
Compound 47	Ph	10 $\mu$ M	4	3

Lb = *L. brongniatii*, Ph = *P. hornemannii*

#### 4-6. 腫瘍壊死因子 (TNF- $\alpha$ ) 阻害試験.

得られた化合物について TNF- $\alpha$ 阻害活性試験を行った。この内、35 が最も強い阻害活性を示し、10 $\mu$ M で 20%阻害した。

**Table 7** Results of TNF- $\alpha$  inhibition activity test

	Source	CONC.	INHIBITION %
Compound 12	Li	10 $\mu$ M	0
Compound 14	Li	10 $\mu$ M	0
Compound 26	Lb	10 $\mu$ M	1
Compound 27	Lb	10 $\mu$ M	3
Compound 31	Ph	10 $\mu$ M	8
Compound 32	Ph	11 $\mu$ M	10
Compound 35	Ph	10 $\mu$ M	20
Compound 36	Ph	10 $\mu$ M	0
Compound 46	Ph	10 $\mu$ M	17
Compound 47	Ph	10 $\mu$ M	12

Li = *L. luzonensis*, Lb = *L. brongniatii*, Ph = *P. hornemannii*