

平成 22 年 6 月 7 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20780127

研究課題名（和文） セスキテルペン炭化水素の反応に関する研究

研究課題名（英文） Study for reaction of sesquiterpene hydrocarbons

研究代表者

芦谷 竜矢（ASHITANI Tatsuya）

山形大学・農学部・准教授

研究者番号：20423486

研究成果の概要（和文）：樹木抽出成分の中で効果的利用法の確立されていない，特殊な環構造を有するセスキテルペン炭化水素の酸素または硫黄との反応を調べ，その反応生成物の生理活性（抗害虫・抗菌活性）について検討した。その結果，カリオフィレン，フムレンは自動酸化によりエポキシドを，硫黄との反応によりエピスルフィドを容易に生成することを確認した。ロンギホレン，ツヨブセンは，特徴的な自動酸化生成物に変換されるが，硫黄との反応では，特別な挙動は示さなかった。各化合物の抗蟻・抗菌活性を検討した結果，元の炭化水素には活性は見られないが，自動酸化生成物，硫黄との反応生成物には顕著な活性が見られた。

研究成果の概要（英文）：Reactions of autoxidation and direct-episulfidation were examined for sesquiterpene hydrocarbons which have unique ring structure. And bioactivities of products of the reaction were also tested for termite and wood decay fungi. Caryophyllene and humulene were easily changed to epoxides or episulfides by autoxidation or direct-episulfidation. Longifolene and thujopsene were easily changed to unique products, norterpeneoids or peroxides etc., by autoxidation. However, unique products were not produced in the reactions of longifolene or thujopsene with elemental sulfur. In the bioactivity tests, original sesquiterpene hydrocarbons had no bioactivities against the termite and the wood decay fungi. The autoxidation and direct-episulfidation products had termiticidal, anti-feedant and anti-fungal activities.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・木質科学

キーワード：抽出成分，テルペノイド

1. 研究開始当初の背景

木材抽出物のうち，テルペノイド化合物は構造が多岐に渡ることから，分子構造の決定が難しいものや，反応性に特徴的なものも多く，有機化学的に興味深いため古くから研究されてきた。また，香料としても古くから利用されており，抗菌・抗害虫活性等を有しているものもあるため，天然由来の農薬・医薬品として利用されてきた歴史がある。

テルペノイドの中で，特に環構造を取るものでは，その構造自体が特殊であるため，合成の難しいものも多く，樹木等から抽出して利用することがコスト的に望ましい。そのためこれらを利用することは有機化学，森林化学の学問分野のみならず，林産業界にとって有益であると思われる。

また，立体障害を有するテルペン炭化水素は，二重結合の自動酸化反応に特徴的なものも多く(カリオフィレン，ロンギホレン，ツヨブセン等)，さらに，酸素と同属である硫黄との反応も，一般に知られているオレフィン類とは異なった挙動を示すものもある。しかしながら，それらセスキテルペンの自動酸化や硫黄との反応について，反応機構や生成物の検討の研究例は十分とは言えず，未知の領域が多い。長濱らは1960年代から1990年初頭にかけて，セスキテルペン類，特にツヨブセンの自動酸化について研究し，マクロン，ウィッドロール等へ至る中間体としてツヨブセンの過酸化二量体等が生成することを報告しているが，反応機構の速度論的解析や，生成物の生理活性については未知である。他の研究例も国内外を含めて，主に構造決定の一環として酸化反応の研究が行われており，近年の研究例は稀であり，反応機構や生成物の生理活性について系統的に研究された例は少ないのが現状である。

一方，申請者らは，セスキテルペンのカリオフィレン，フムレンが酸素との常温自動酸化で容易に対応するエポキシサイドを与えることに注目し，それらテルペンと単体硫黄との120 °Cでの直接反応により，対応するエピスルフィドが主生成物として簡便に得られることを見出し，その反応機構についても報告している。カリオフィレン，フムレンのエポキシサイドは抗菌活性等が知られていることから，硫黄との反応で得られた生成物も抗菌活性等が期待される。その他の特異な自動酸化挙動を示すテルペン(ツヨブセン，ロンギホレン)についても同様に酸素，硫黄との反応生成物

の生理活性も十分に期待されると思われる。

2. 研究の目的

特徴的な自動酸化の挙動を示す，カリオフィレン，フムレン，ロンギホレン，ツヨブセン等のセスキテルペン類の酸素または硫黄との反応について調べ，その反応機構と生成物の抗菌，抗害虫活性の有無を明らかにし，合成法を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 自動酸化反応

原料セスキテルペンをシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製(GC 99%以上)し，アルミホイルで蓋をした三角フラスコ中，室温で保存して自動酸化を行った。ロンギホレンの自動酸化生成物の単離については，松根油から単離精製(GC 99%以上)されたサンプルを，上記と同様に三角フラスコ中空气中に解放で10年間保存したものを使用した。自動酸化後の各サンプルをシリカゲルクロマトグラフィーに供し，生成物の単離を行い，単離物の同定を行った。反応の確認および化合物の同定にはGC-MS(SHIMADZU QP-5000)，NMR(JEOL JNM-EX400)を用いた。

(2) 硫黄との反応

各原料炭化水素をフラスコ中で，等モルの硫黄と120 -140 °Cで攪拌しつつ加熱した。GCによって反応を追跡しつつ，特徴的な生成物(硫黄の付加体など)が見られ，十分に単離可能な量が生成したら反応を停止し，生成物の単離，構造の確認を行った。

(3) 生理活性試験

原料炭化水素および反応生成物の生理活性試験はペーパーディスク法による坑シロアリ活性試験およびカワラタケの菌糸成長抑制試験によって検討した。

4. 研究成果

(1) セスキテルペン炭化水素の自動酸化と硫黄との反応

カリオフィレン，フムレンの自動酸化および硫黄との反応生成物についての生理活性試験とマツ材，ヒバ材油中の主成分で利用法の確立されていない，ロンギホレン，ツヨブセンと酸素，硫黄との反応の解析を行った。

カリオフィレン，フムレンの反応では，活性試験用に数十gのスケールで反応を行い，反応後，生成物を単離した。その結果，過去の報

告知の収率で対応する酸化物(エポキシド), 硫化物(エピスルフィド)を得ることができた。また, ツヨブセン, ロンギホレンの酸素による自動酸化反応と硫黄との直接反応の解析を行った。ヒバ, 松の材油から原料をクロマトグラフィーにより精製し, それぞれの反応に供して反応生成物をガスクロマトグラフィー等で分析した。酸素との反応では, 既知の特徴的な化合物を確認することができた。ツヨブセンの反応では, 長濱らが報告している, 過酸化物およびマユロン, ウィッドロール等を確認できた。また, ロンギホレンでは, exo 二重結合の開裂したケトンを含む特徴的な化合物が単離された。

自動酸化の反応で得られた生成物および原料炭化水素の例として, カリオフィレンの酸素, 硫黄との反応およびロンギホレンの自動酸化生成物の構造を Fig. 1 に示す。

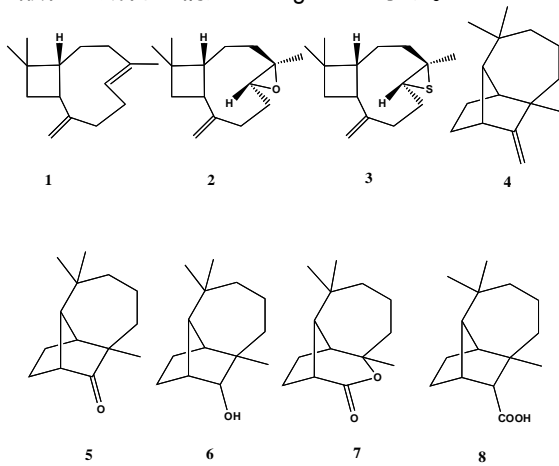


Fig. 1. カリオフィレンの酸素, 硫黄との反応およびロンギホレンの自動酸化生成物

1: カリオフィレン, 2: カリオフィレンオキサイド, 3: カリオフィレンエピスルフィド, 4: ロンギホレン, 5: ロンギカンフェニロン, 6: ロンギカンフェニロール, 7: ノルロンギラクトン, 8: ロンギホレン酸

特にロンギホレンの反応生成物からロンギカンフェニロンおよびその Baeyer-Villiger 様酸化物であるノルロンギラクトンが認められ, さらにロンギホレン酸が単離・同定できた。GC による反応の追跡からロンギカンフェニロンは反応初期から生成しており, 最終的な収量も多いことが示された。従って, 反応生成物の構造を合わせて考察するとロンギホレンの自動酸化は, カルボン酸を生成する反応と, ロンギカンフェニロンの生成に伴う exo メチレンの酸化開裂による生成物が酸化して生じた過酸等が作用してノルロンギラクトンが生成する機構があると推察され, Fig. 2 に示すように, 自動酸化反応機構の推定を行うことができた。

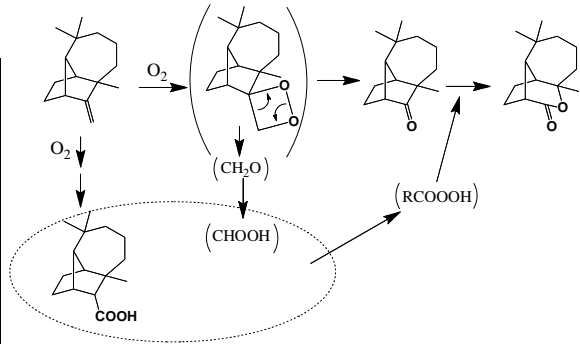


Fig. 2. ロンギホレンの自動酸化の推定機構

しかしながら, ロンギホレン, ツヨブセンの両化合物とも硫黄との反応では特徴的な反応生成物を得ることはできなかった。

(2) 生理活性試験

シロアリ試験

カリオフィレンの自動酸化物および硫黄との反応生成物, ロンギホレンの自動酸化生成物のヤマトシロアリに対する活性試験について殺蟻活性を Fig. 3 に, 抗蟻活性試験におけるペーパーディスクの減少量(摂食量)を Fig. 4 に示す。

Fig. 3 および Fig. 4 から原料のカリオフィレン, ロンギホレンの活性はブランクとほぼ同等であることが示された。特に強い殺蟻活性はカリオフィレンエピスルフィドに見られ, Fig. 4. に示す摂食阻害活性試験の結果, ペーパーディスクの重量減少もわずかであることが示された。また, 酸化物のカリオフィレンオキサイド, ロンギカンフェニロン, ノルロンギラクトンは, それぞれ原料炭化水素よりも活性を示しており, 特にノルロンギラクトンの摂食阻害活性が比較的高いことが示された。

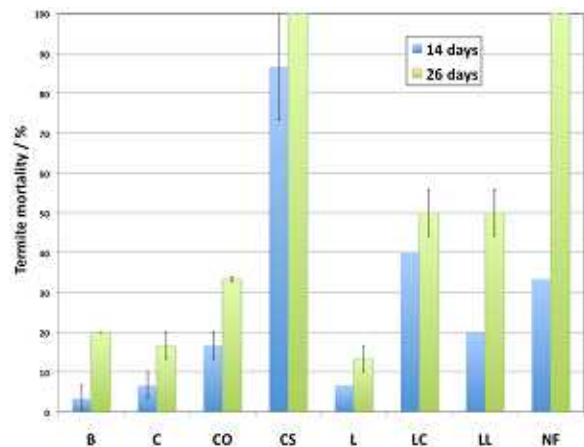


Fig. 3. 各化合物のヤマトシロアリに対する殺蟻活性(試験期間: 14日と26日)

B: ブランク, C: カリオフィレン, CO: カリオフィレンオキサイド, CS: カリオフィレンエピスルフィド, L: ロンギホレン, LC: ロンギカンフェニロン, LL: ノルロンギラクトン, NF: 無給

試験

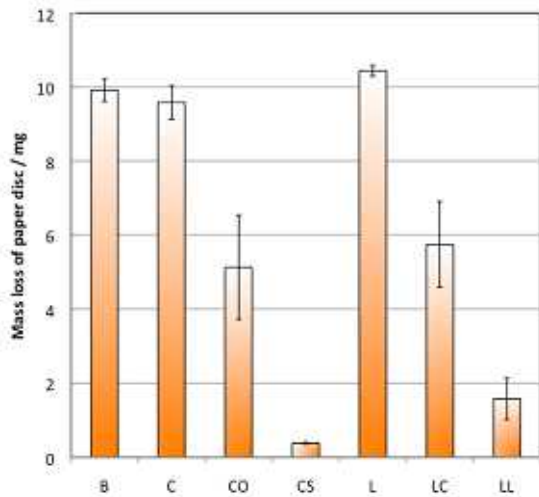


Fig. 4. 各化合物の摂食阻害活性（試験期間：26日）

注：抗蟻活性試験におけるペーパーディスクのシロアリに対する摂食量を初期重量からの減少量で示す。化合物の略称は Fig. 3 に準ずる。

抗菌活性試験

カワラタケに対する抗菌試験結果を Fig. 5 に示す。

白色腐朽菌であるカワラタケに対し、元の炭化水素はブランクとほぼ同等であった。シロアリに対して活性を示した、カリオフィレンオキシド、カリオフィレンエピスルフィド、ロンギカンフェニロン、ノルロンギラクトンもブランクや元の炭化水素と同等の活性であった。しかしながら、ロンギカンフェニロールに菌糸成長抑制効果が見られ、抗菌活性が確認された。

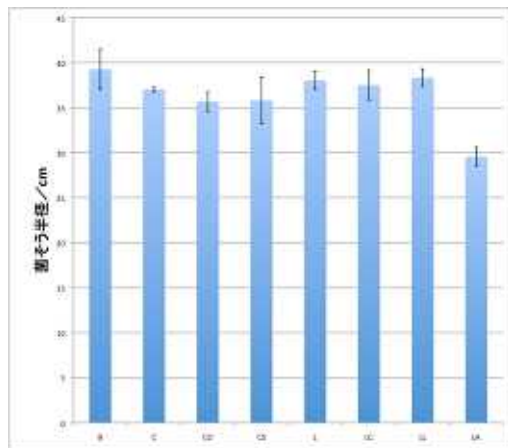


Fig. 5. カワラタケに対する抗菌試験結果
B: ブランク, C: カリオフィレン, CO: カリオフィレンオキシド, CS: カリオフィレンエピス

ルフィド, L: ロンギホレン, LC: ロンギカンフェニロン, LL: ノルロンギラクトン, LA: ロンギカンフェニロール

以上のように、自動酸化反応により元の化合物に無い活性が付与されることは樹木成分の存在意義を考察する上で非常に興味深いと思われる。また、簡便な酸化反応により大量に存在する抽出成分を活性化合物に変換させることが確認でき、今後の抽出成分利用に向けて新たな知見が得られたものと考えられる。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔学会発表〕(計3件)

芦谷 竜矢, 楠本倫久, 藤田弘毅, 高橋孝悦, 長濱静男: Caryophyllene, Longifolene の自動酸化と生成物の抗蟻活性, 第60回日本木材学会大会研究発表要旨集, 150, PM002, 2010年3月17-19日, 宮崎市

K. Tsuruta, Y. Yoshida, N. Kusumoto, T. Ashitani, K. Takahashi: Effect of extracts from Japanese trees on the growth of red tide planktons, 5th Asia-Pacific conference on chemical ecology, Abstracts p.131, 26-30 Oct. 2009 in Honolulu, Hawaii, USA

T. Ashitani, N. Kusumoto, K. Takahashi (2009): Anti-termite activity of sesquiterpene derivatives obtained by autoxidation or direct-episulfidation, 25th annual meeting of the International Society of Chemical Ecology, Abstract p.223, 23-27 Aug. 2009 in Neuchâtel, Switzerland

6. 研究組織

(1) 研究代表者

芦谷 竜矢 (ASHITANI Tatsuya)

山形大学・農学部・准教授

研究者番号: 20423486