

亜熱帯植物成分の分離および生物活性に関する研究

比嘉, 松武

<https://doi.org/10.11501/3088205>

出版情報：九州大学, 1991, 博士（工学）, 論文博士
バージョン：
権利関係：

第6章 リュウキュウコクタンの抽出成分

第1節 はじめに

リュウキュウガキに含まれる豊富なナフトキノン類が、リュウキュウガキに特有なものか或いは琉球列島産のカキノキ属植物に特有のものなのかを調べるために、リュウキュウガキと同様に琉球列島に自生するリュウキュウコクタンの成分検索を行った。

リュウキュウコクタンは琉球列島の山地に自生し、心材は固く器具材（家具、装飾、三味線の棹）として利用され、また庭園樹としても好まれる。

本植物の成分については、D. S. Bhakuni ら¹⁾ が葉と枝からステロイドおよびトリテルペノイド成分を報告しているが、ナフトキノン成分は報告されていない。また、S. Natori ら²⁾ は根からステロイドおよびトリテルペノイド成分の他に、4種のナフトキノン誘導体を報告している。また、これまでに果実の成分に関する報告は見られない。

第2節 予備的な生物活性試験

果実、葉、樹皮および木部について予備的な魚毒、発芽抑制および抗菌試験を行った結果を Table 6-1~6-3 に示す。

魚毒試験 (Table 6-1) では各部位のメタノール抽出物に活性が観察されたが、とくに木部はかなり強い活性 (MLC: 10 ppm) を示した。メタノール抽出物を酢酸エチルと水に分配すると、果実の活性は水溶部に移るが、葉、樹皮および木部の活性は酢酸エチル可溶部に移る。このことから、果実の魚毒成分は水溶性の極性物質であり、葉、樹皮および木部の魚毒成分は脂溶性の物質である。

発芽抑制試験 (Table 6-2) では各部位のメタノール抽出物は 1000 ppm で

活性を示さなかった。しかし、メタノール抽出物を酢酸エチルと水に分配すると、木部の酢酸エチル可溶部に弱い活性（発芽率 64%）が観察された。

抗菌試験（Table 6-3）では各部位のメタノール抽出物はともに活性を示さなかった。また、メタノール抽出物の酢酸エチル可溶部および水溶部もともに活性を示さなかった。

Table 6-1. Piscicidal Activities of the Crude Extracts of *Diospyros ferrea* var. *buxifolia*.

Minimum Lethal Concentration (ppm)			
	MeOH extract	EtOAc layer	H ₂ O layer
Fruit	600	700	600
Leaves	600	50	600
Bark	200	9	100
Wood	10	<1	>1000

Fish: guppy (*Poecilia (Lebites) reticulata* Peters)

Table 6-2. Germination Inhibitory Activities of the Crude Extracts of *Diospyros ferrea* var. *buxifolia*.

	Activity (Germination percentage)		
	MeOH extract	EtOAc layer	H ₂ O layer
Fruit	(-) (98)	(-) (94)	(-) (96)
Leaves	(-) (94)	(-) (96)	(-) (94)
Bark	(-) (100)	(-) (98)	(-) (98)
Wood	(-) (96)	(+) (64)	(-) (100)

Seed: lettuce (*Lactuca sativa* L., cv. Great Lakes 366)

Concentration: 1000 ppm

Table 6-3. Antifungal Activities of the Crude Extracts of *Diospyros ferrea* var. *buxifolia*.

	Activity		
	MeOH extract	EtOAc layer	H ₂ O layer
Fruit	(-)	(-)	(-)
Leaves	(-)	(-)	(-)
Bark	(-)	(-)	(-)
Wood	(-)	(-)	(-)

Fungus: *Penicillium citrinum*

Disc size: 8 mm

Concentration: 250 μ g/disc

第3節 リュウキュウコクタンの成分の抽出および分離方法

1. 果実, 葉および小枝のエタノールによる抽出

新鮮な果実 (20.4 kg) をエタノールで抽出した。抽出物をクロロホルムと水に分配し, クロロホルム可溶部と水溶部に分画した。クロロホルム可溶部は溶媒を留去したのちベンゼンに溶かし, ベンゼン可溶部と不溶部に分けた。ベンゼン可溶部についてシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い, 化合物 3, 4, 6, 7, 9-12 および 14-17 を分離した (Chart 6-1)。

新鮮な葉 (5.3 kg) について果実と同様の操作を行い, 化合物 6, 7, 10, 11, 14, 15 および 18 を分離した (Chart 6-2)。

新鮮な小枝 (3.2 kg) についても果実と同様の操作を行い, 化合物 3-11, 13, 14 および 18 を分離した (Chart 6-3)。

2. 果実, 葉, 樹皮および木部のクロロホルムによる抽出

新鮮な果実 (13.9 kg) をクロロホルムで抽出した。抽出液は溶媒を留去したのちベンゼンに溶かし, ベンゼン可溶部と不溶部に分けた。ベンゼン可溶部についてシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い, ナフトキノン誘導体 1, 2 および 18 を分離した (Chart 6-4)。ナフトキノン誘導体以外の成分については分離精製を行わなかった。

新鮮な葉 (5.0 kg) について果実と同様の操作を行い, ナフトキノン誘導体 1, 2 および 18 を分離した (Chart 6-5)。

新鮮な樹皮 (450 g) について果実と同様の操作を行い, ナフトキノン誘導体 18 を分離した (Chart 6-6)。

新鮮な木部 (1.45 kg) について果実と同様の操作を行い, ナフトキノン誘導体 1, 2 および 18 を分離した (Chart 6-7)。

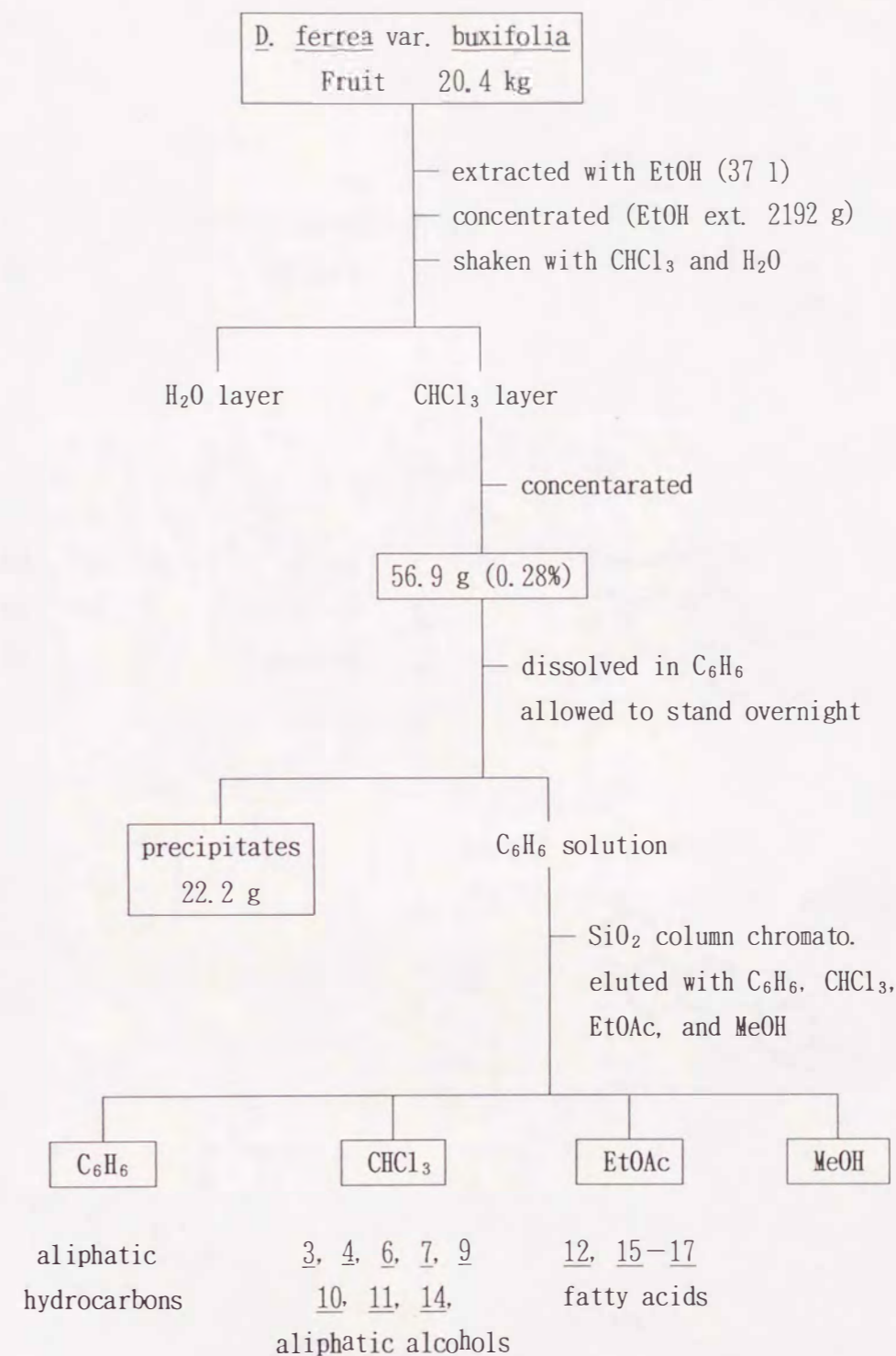
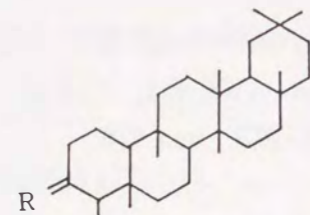
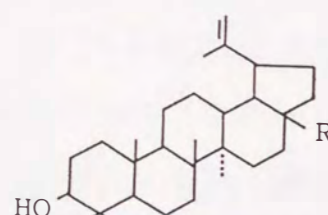
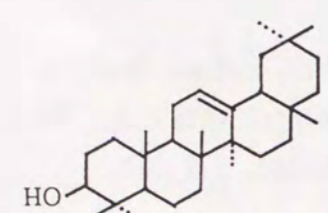
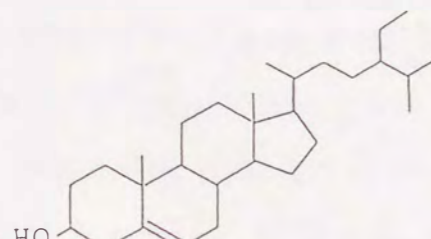
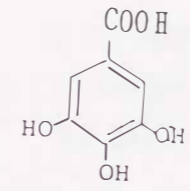
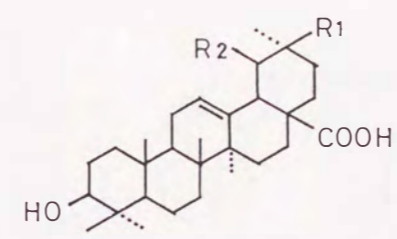
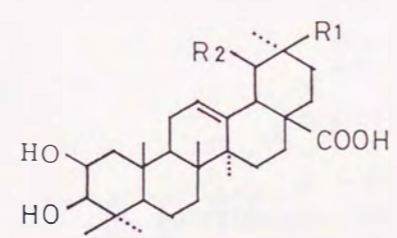
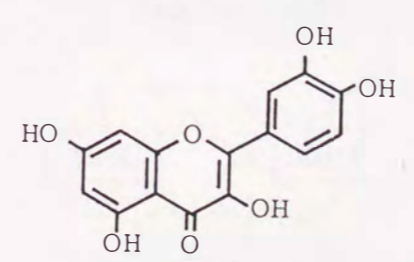
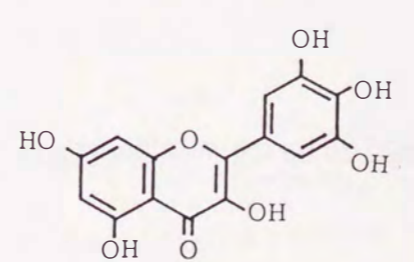


Chart 6-1. Extraction of the Fruit of *Diospyros ferrea* var. *buxifolia* with EtOH

		Yields
	<u>3</u> R=O	15 mg
	<u>4</u> R=H, OH	15 mg
	<u>6</u> R=CH ₃	600 mg
	<u>10</u> R=CH ₂ OH	40 mg
	<u>11</u> R=COOH	20 mg
	<u>7</u>	310 mg
	<u>9</u>	1.35 g

		Yields
	<u>12</u>	845 mg
	<u>14</u> (<u>14a</u> + <u>14b</u>)	1.17 g
	<u>14a</u> R ₁ =CH ₃ R ₂ =H	
	<u>14b</u> R ₁ =H R ₂ =CH ₃	
	<u>15</u> (<u>15a</u> + <u>15b</u>)	845 mg
	<u>15a</u> R ₁ =CH ₃ R ₂ =H	
	<u>15b</u> R ₁ =H R ₂ =CH ₃	
	<u>16</u>	400 mg
	<u>17</u>	70 mg

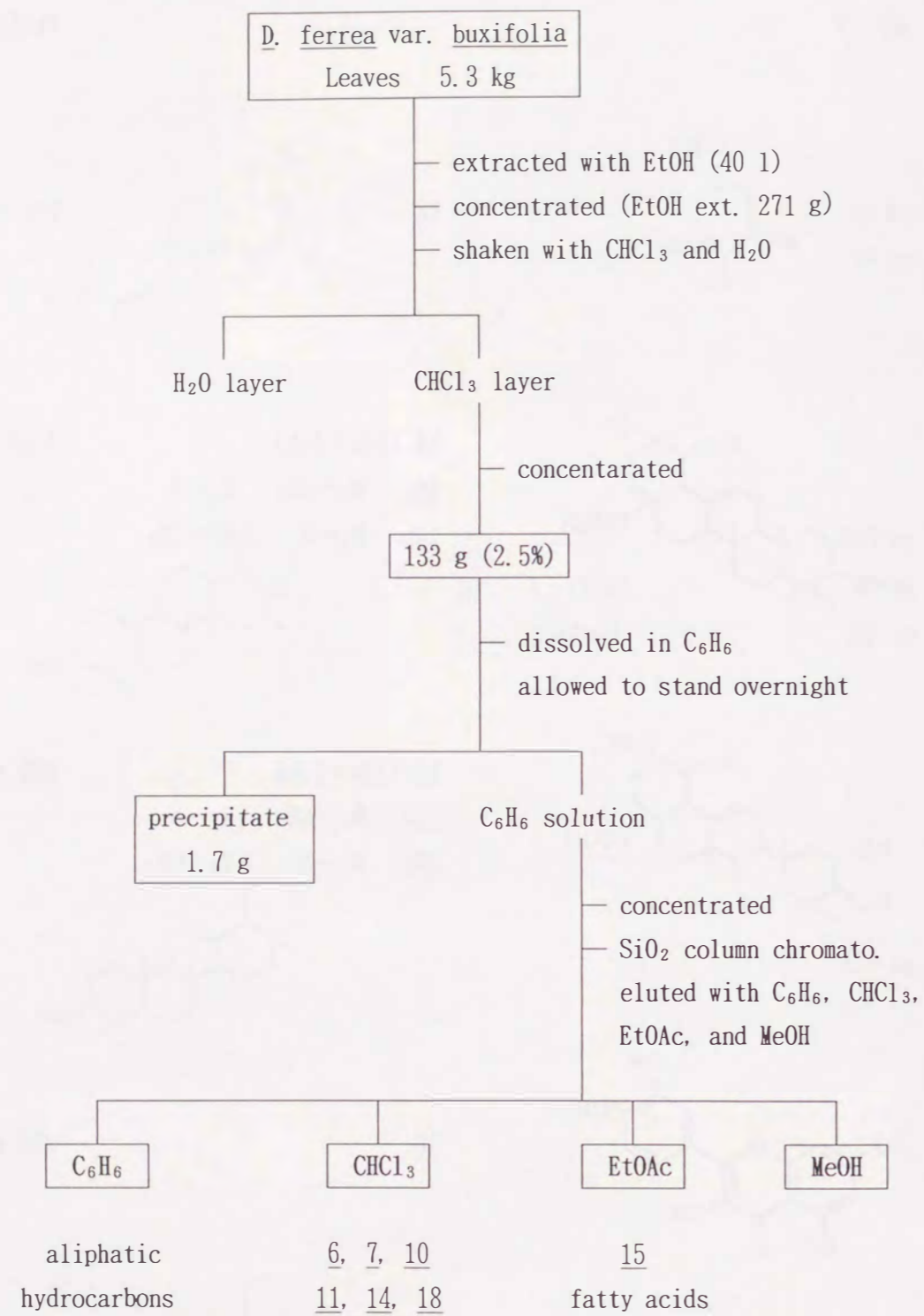
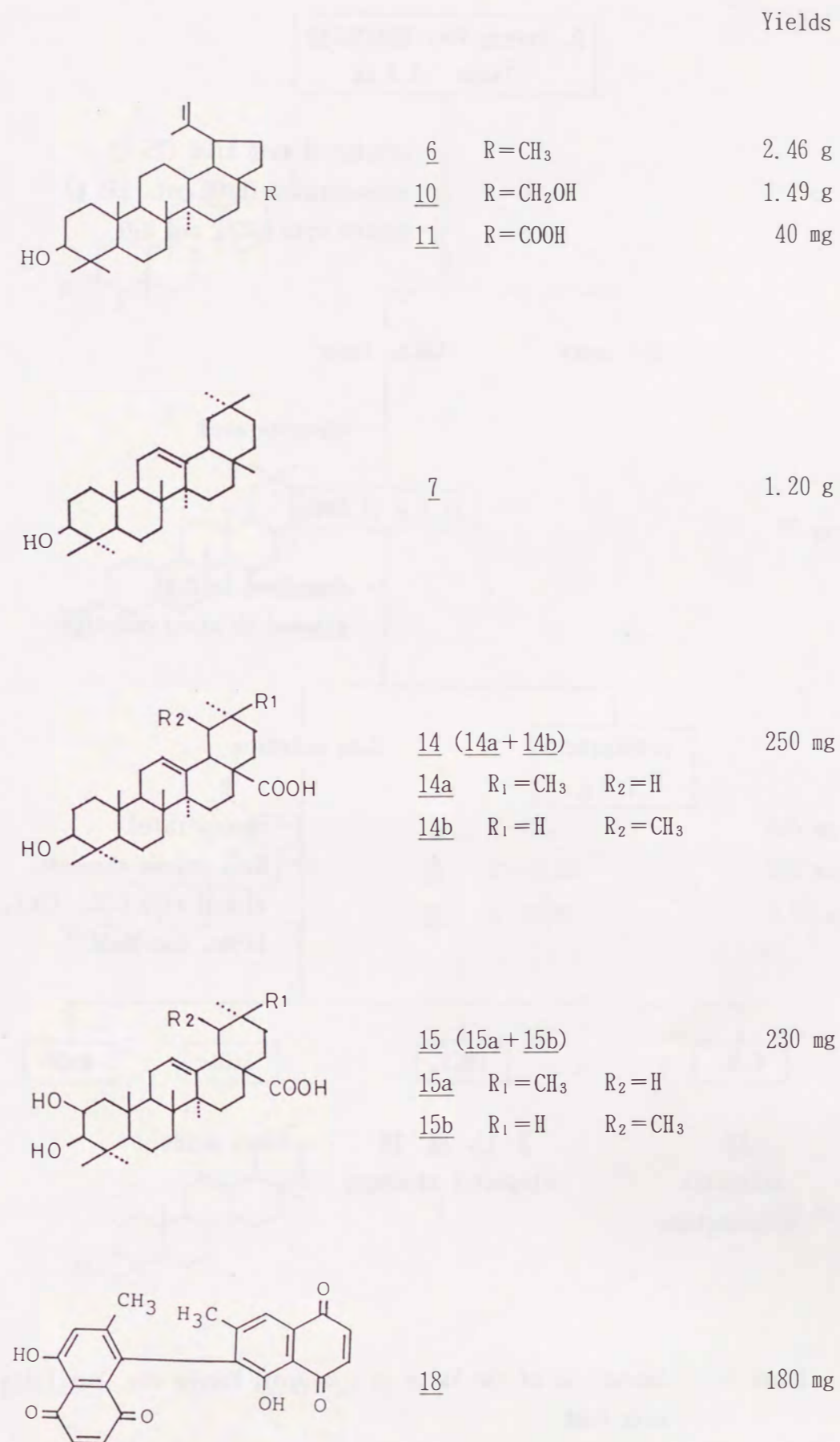


Chart 6-2. Extraction of the Leaves of *Diospyros ferrea* var. *buxifolia* with EtOH



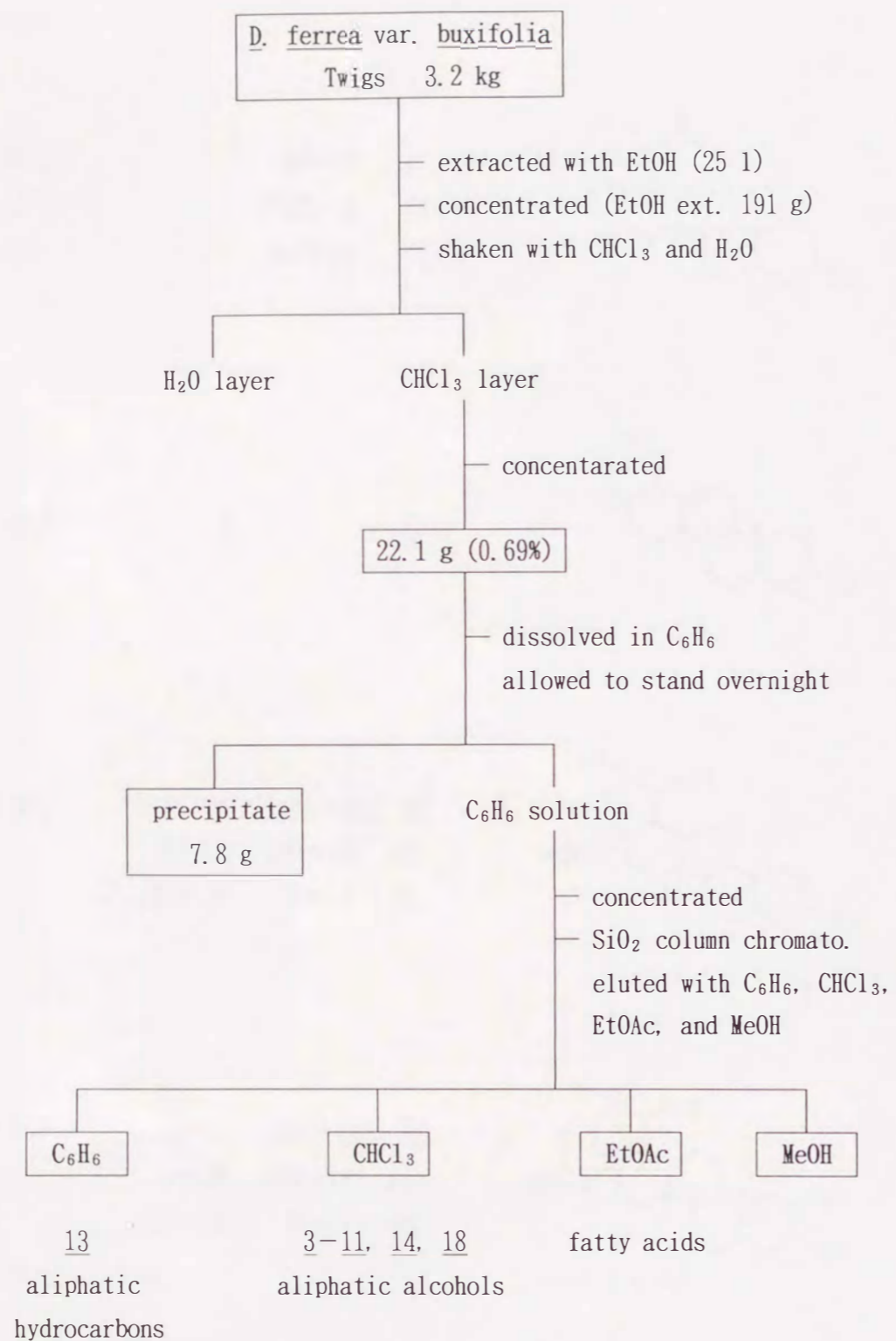
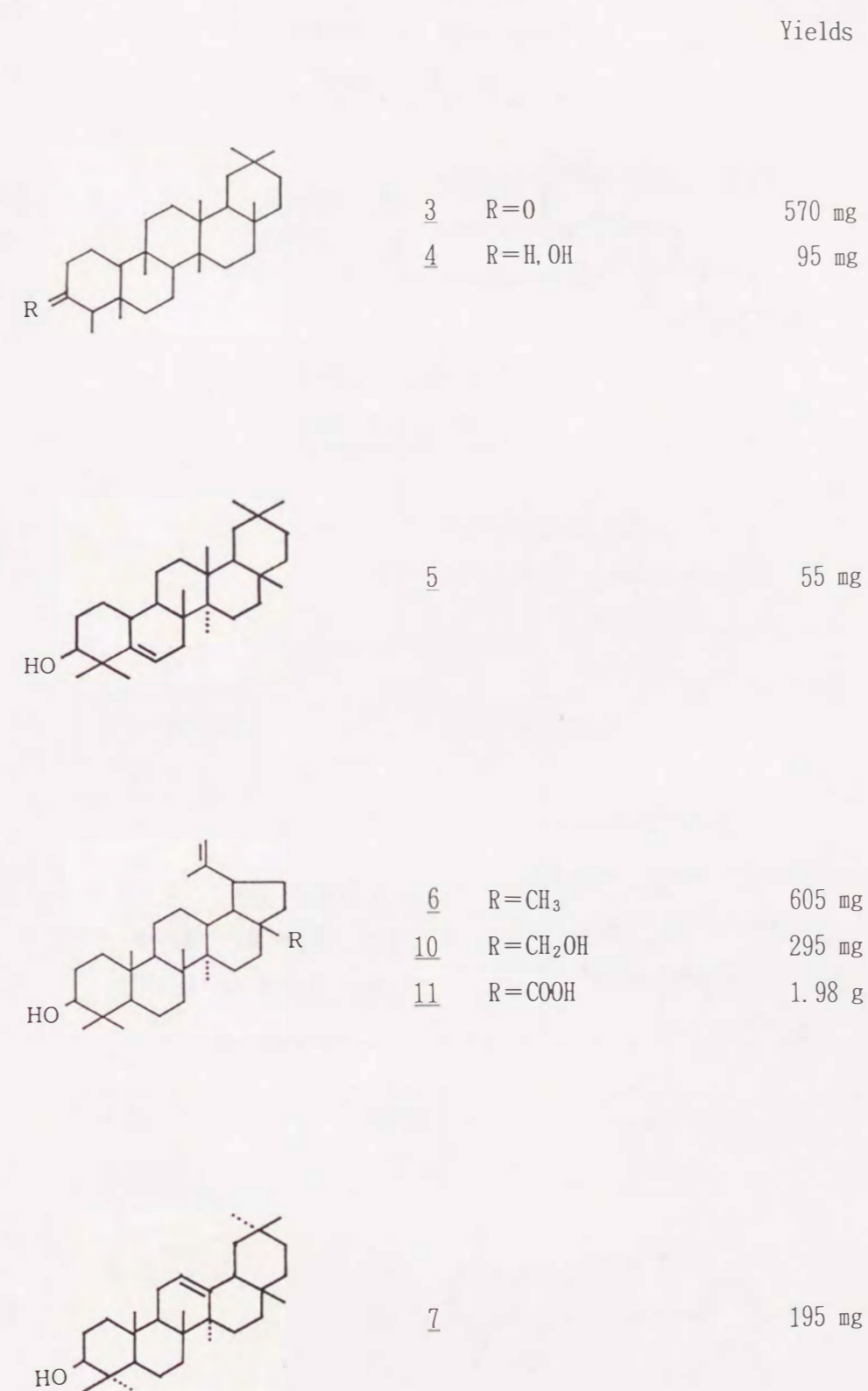


Chart 6-3. Extraction of the Twigs of *Diospyros ferrea* var. *buxifolia* with EtOH



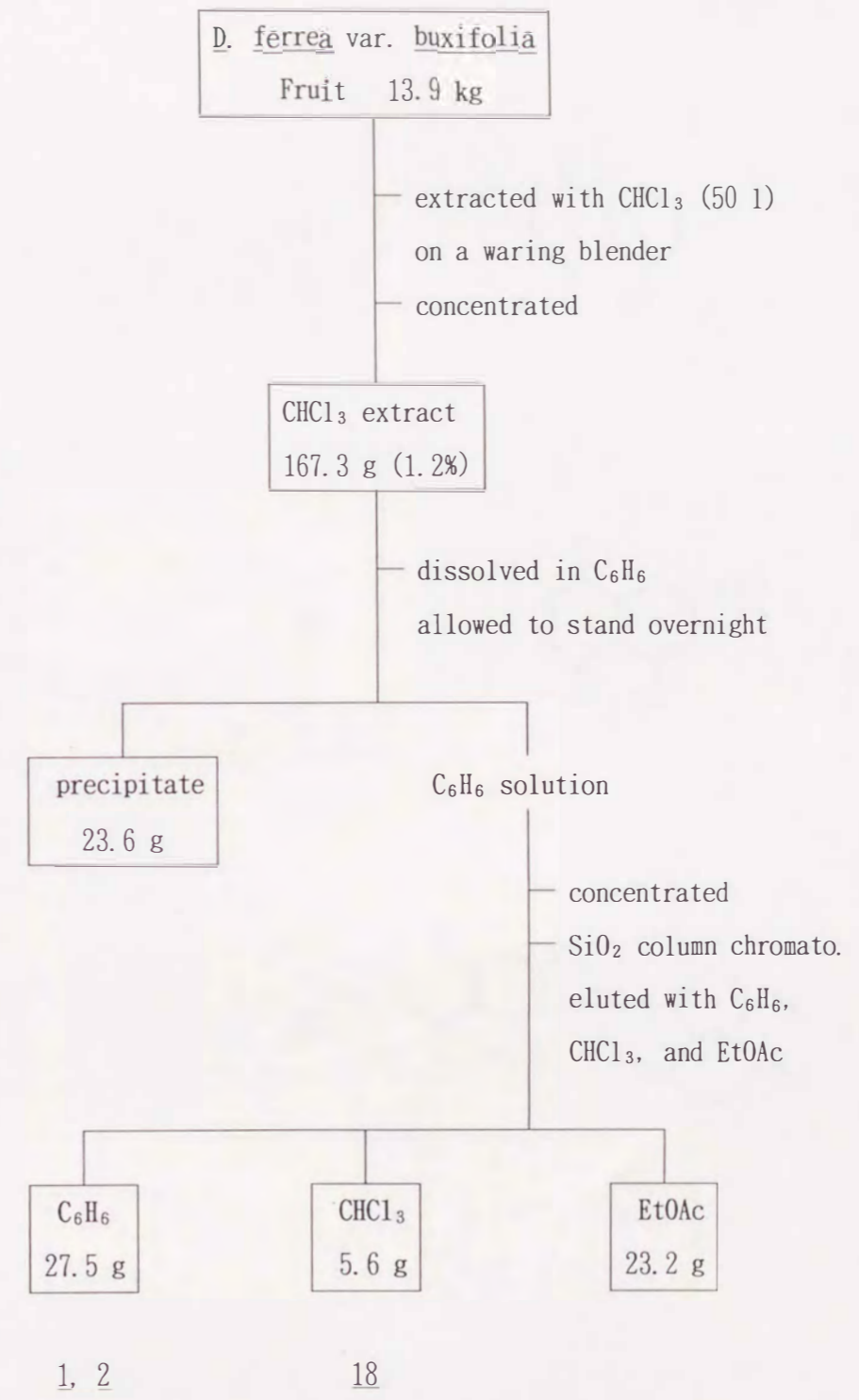
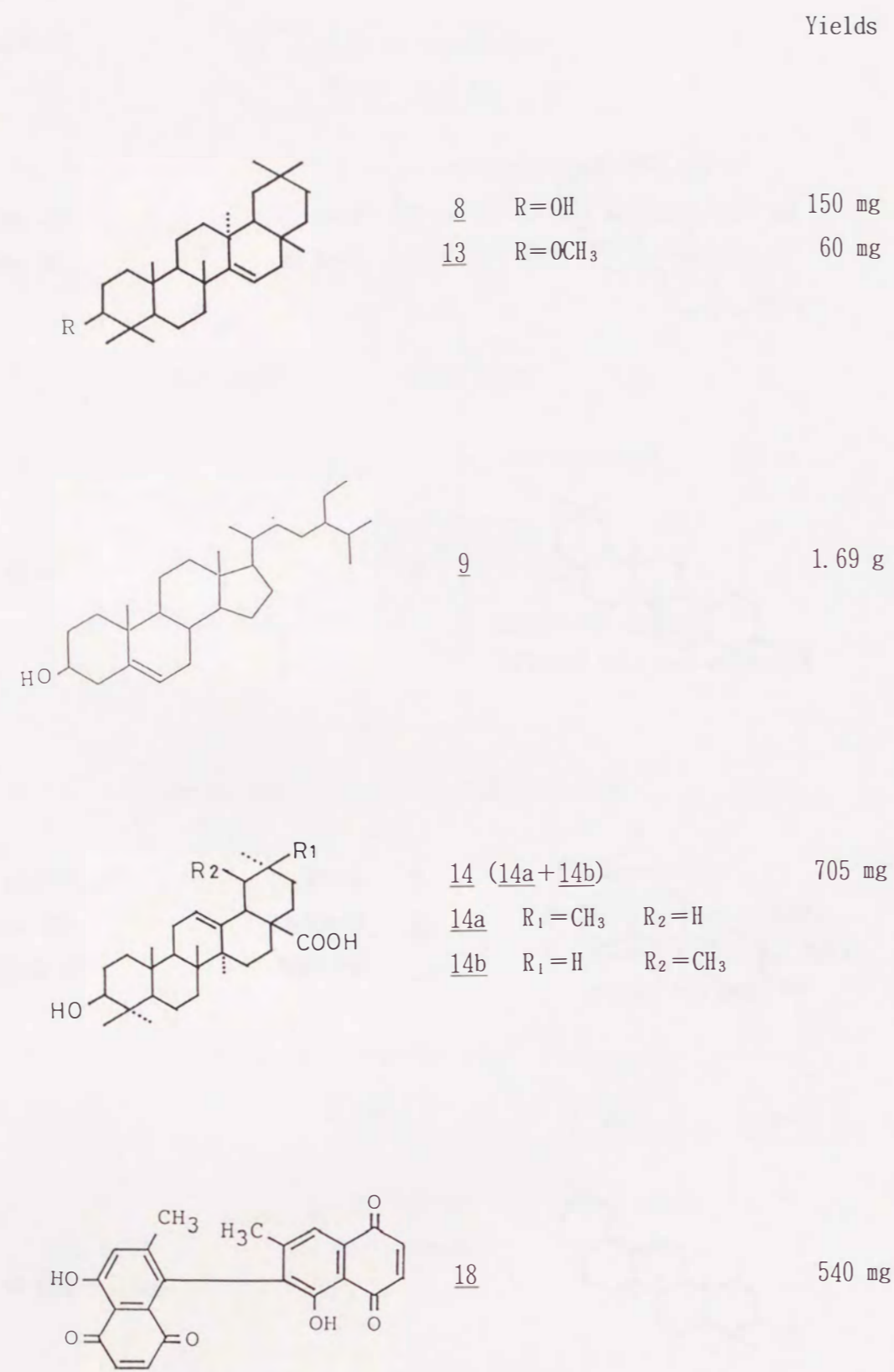
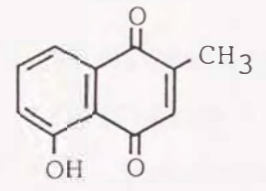
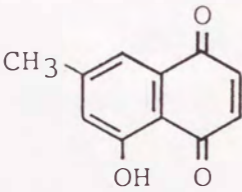
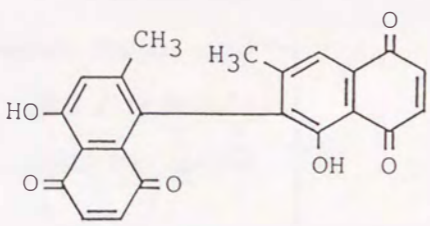


Chart 6-4. Extraction of the Fruit of *Diospyros ferrea* var. *buxifolia* with CHCl₃ (naphthoquinone derivatives only)

		Yields
	<u>1</u>	4 mg
	<u>2</u>	123 mg
	<u>18</u>	97 mg

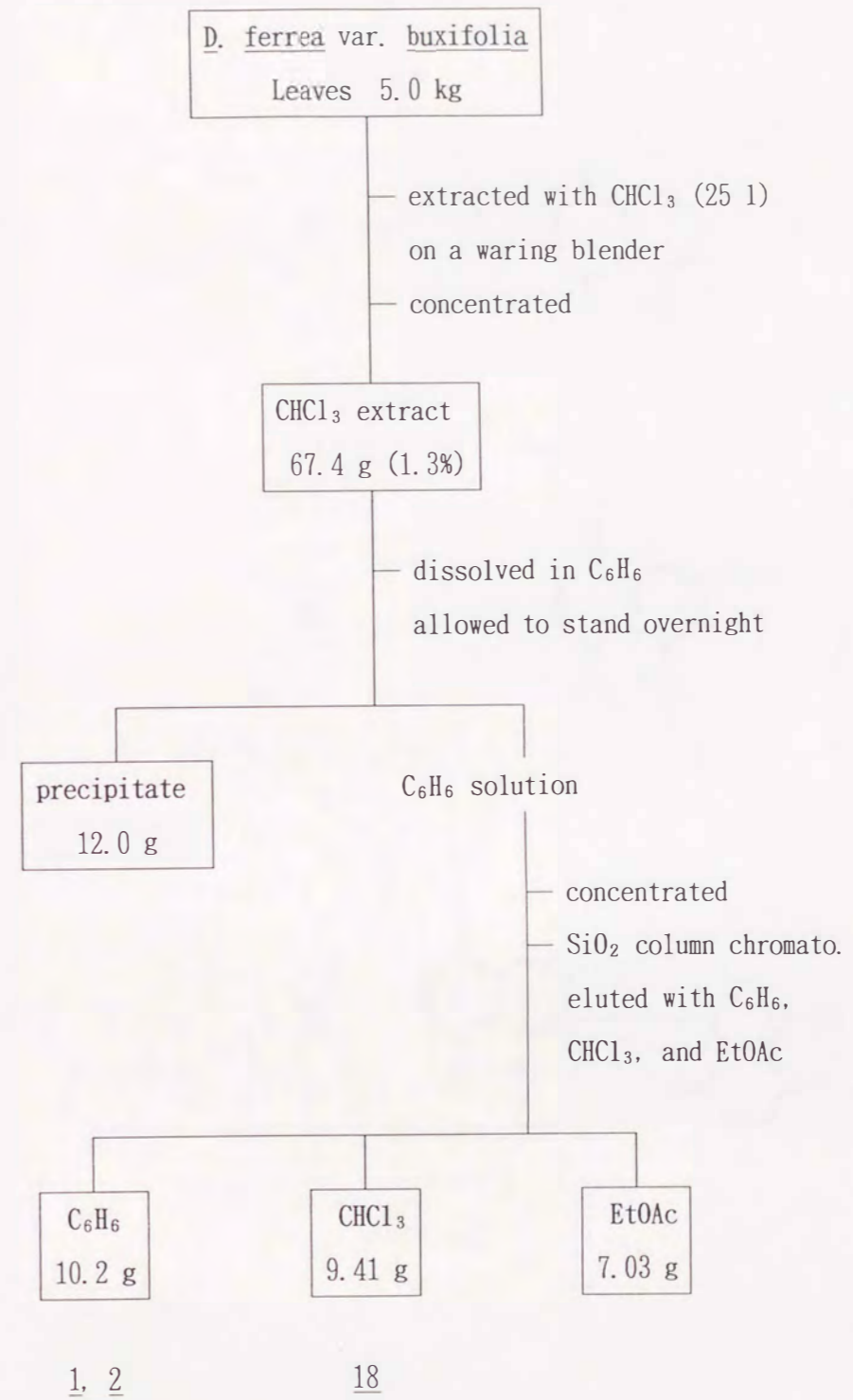
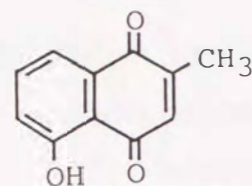


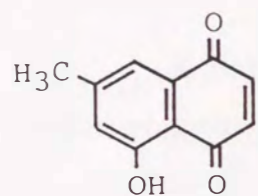
Chart 6-5. Extraction the Leaves of *Diospyros ferrea* var. *buxifolia* with CHCl_3 (naphthoquinone derivatives only)

Yields



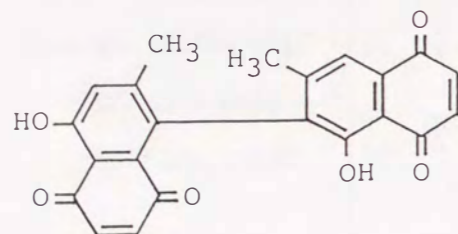
1

8 mg



2

243 mg



18

1.34 g

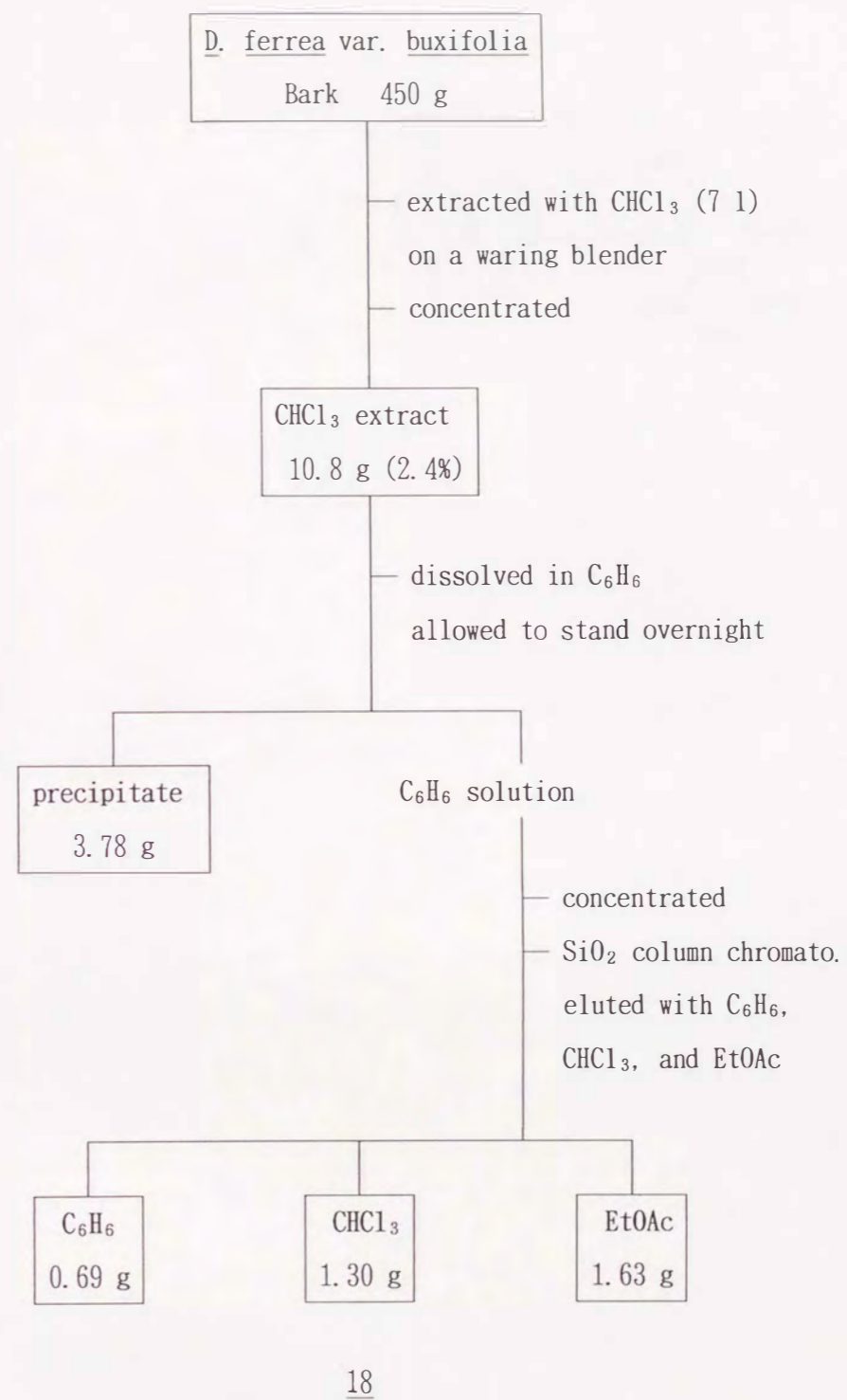
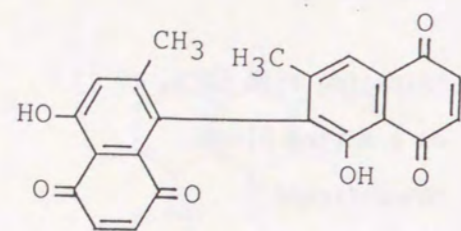


Chart 6-6. Extraction of the Bark of *Diospyros ferrea* var. *buxifolia* with CHCl_3 (naphthoquinone derivatives only)



18

Yields

215 mg

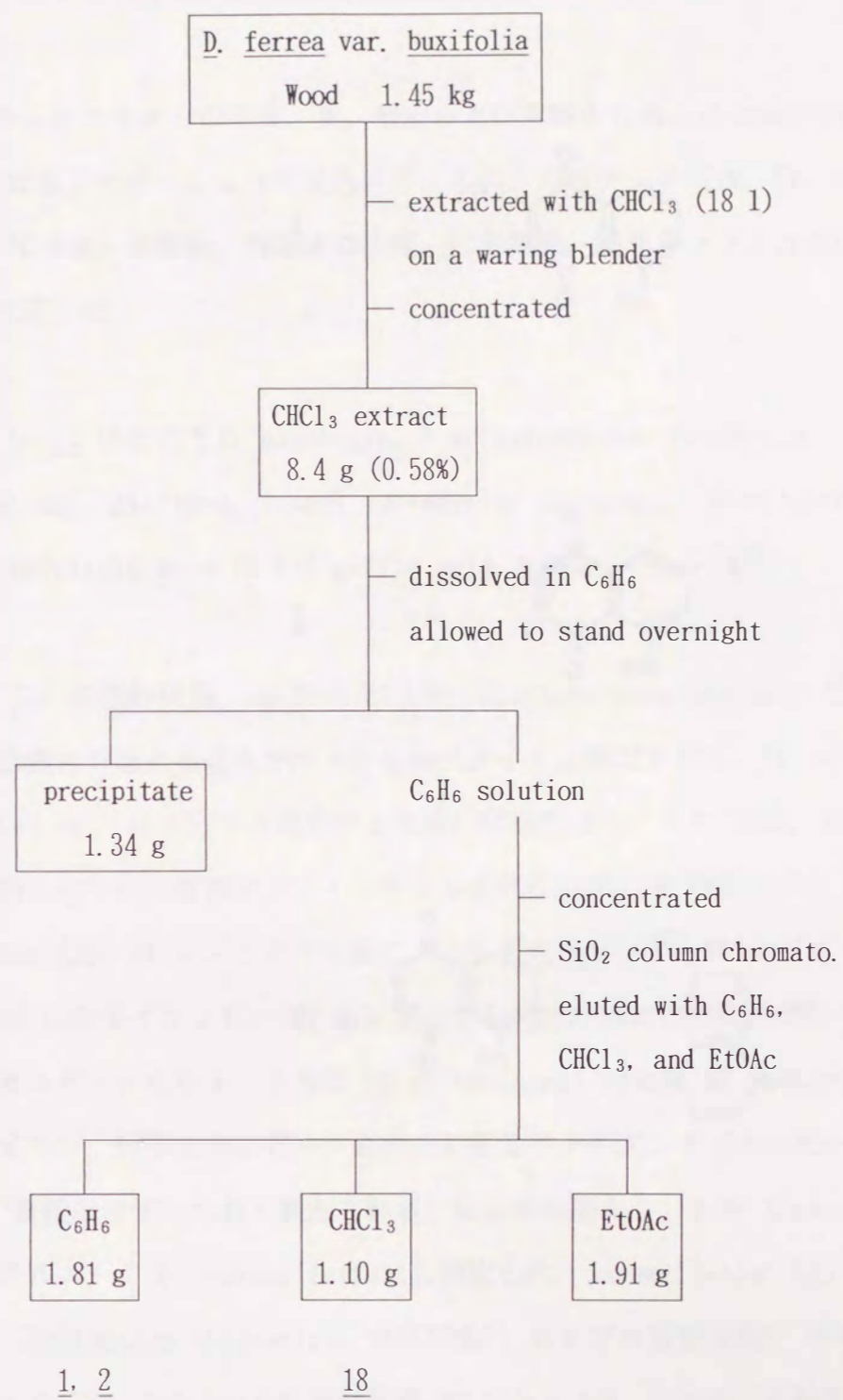
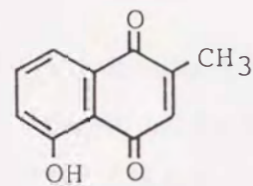


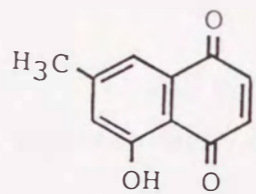
Chart 6-7. Extraction of the Wood of *Diospyros ferrea* var. *buxifolia* with CHCl_3 (naphthoquinone derivatives only)

Yields



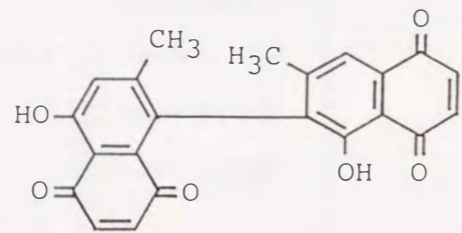
1

28 mg



2

60 mg



18

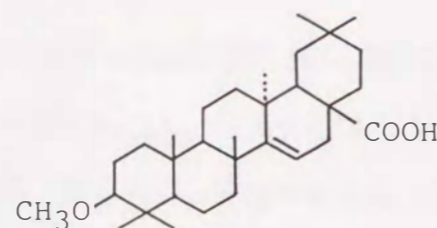
550 mg

第4節 リュウキュウコクタンの成分の構造決定

リュウキュウコクタンの果実、葉、樹皮および木部から得られた化合物 1–18 の構造は以下に述べるように呈色反応、スペクトルデータ (IR, UV, MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$) の解析、誘導体の合成、化学変換、標準サンプルとの比較等により同定した。

化合物 1–12 はそれぞれ plumbagin, 7-methyljuglone, friedelin, epifriedelinol, glutinol, lupeol, β -amyrin, taraxerol, β -sitosterol, betulin, betulinic acid および gallic acid と同定した。

化合物 13, 無色針状晶, mp 270–273 °C, は Liebermann-Burchard 反応に陽性で, 赤紫色を呈することからトリテルペノイドと推定される。IR スペクトルは 1100 cm^{-1} にエーテル結合による強い吸収を示し, また 3040 , 1638 および 815 cm^{-1} に三置換オレフィンによる吸収を示す。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは 3.38 ppm (3H, s) にメトキシル基によるシグナルを示す。MS スペクトルは m/z 440 に分子イオンピーク, m/z 316, 301 及び 204 に特徴的なフラグメントイオンピークを示す。化合物 13 と taraxerol (8) の MS スペクトルは良く似ており, 分子イオンピークを含めて主なフラグメントイオンピークは 13 が 14 質量単位ずつ大きく観測される。以上の結果から 13 を taraxerol (8) のメチルエーテル (sawamilletin) と推定した。sawamilletin (13) はすでにヒエ (*Echinocloa crusgallis*) の種実油³⁾ および本植物の根²⁾ から単離されており, IR スペクトルを文献記載のスペクトル³⁾ と比較した結果一致した。

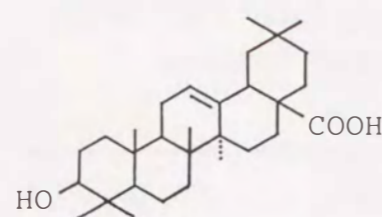


13

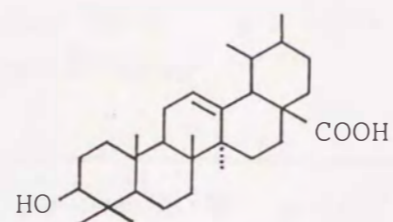
化合物 14, 無色粉末, は Liebermann-Burchard 反応に陽性で, 赤紫色を呈することからトリテルペノイドと推定される. MS スペクトルは m/z 456 に分子イオンピーク, m/z 248, 207, 203 及び 189 に特徴的な強いフラグメントピークを示し, oleanolic acid (14a) のスペクトルと殆ど一致する. IR スペクトルは $3600-2500\text{ cm}^{-1}$ と 1690 cm^{-1} にカルボキシル基による吸収を示し, oleanolic acid (14a) のスペクトルに良く似ているが完全には一致しない. 以上の結果は 14 が oleanolic acid (14a) と ursolic acid (14b) との混合物であることを示唆する. 化合物 14 をジアゾメタンで処理して得たメチルエステル 100 の $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトル (Table 6-4) は 31 個の炭素原子に対して 52 本のシグナルを示し, methyl oleanolate^{4, 5)} と methyl ursolate^{4, 5)} の文献値と比較した結果 100 はそれらの混合物であることが解った. 以上の結果から 14 は oleanolic acid (14a) と ursolic acid (14b) の混合物である. 化合物 14 を無水酢酸-ピリジンで処理して得たアセテート 101 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは 2.18 ppm に acetyl ursolic acid の 18 位のプロトン, 2.80 ppm に acetyl oleanolic acid の 18 位のプロトンによるシグナルを示す. 18 位のプロトンの積分値の比較から 14 に於ける oleanolic acid (14a) と ursolic acid (14b) の混合比は約 1:3 である.

Table 6-4. $^{13}\text{C-NMR}$ spectra of Methyl Ester (100) of 14, Methyl Oleanolate and Methyl Ursolate.

Carbon	Me oleanolate	Me ursolate	100	
1	38.5	38.8	38.4	38.6
2	27.1	27.3	27.2	27.2
3	78.7	78.8	79.0	79.0
4	38.7	38.8	38.7	38.8
5	55.2	55.4	55.2	55.2
6	18.3	18.4	18.3	18.3
7	32.6	33.0	32.7	32.9
8	39.3	39.6	39.2	39.4
9	47.6	47.5	47.6	47.6
10	37.0	37.0	36.9	37.0
11	23.1	23.3	23.0	23.3
12	122.1	125.5	122.3	125.6
13	143.3	138.0	143.8	138.1
14	41.6	42.0	41.6	42.0
15	27.7	28.2	27.7	28.1
16	23.4	24.3	23.4	24.2
17	46.6	48.1	46.7	48.1
18	41.3	52.8	41.3	52.8
19	45.8	39.1	45.8	39.0
20	30.6	38.8	30.6	38.8
21	33.8	30.7	33.8	30.6
22	32.3	36.7	32.3	36.6
23	28.1	28.2	28.0	28.1
24	15.6	15.5	15.5	15.4
25	15.3	15.7	15.3	15.6
26	16.8	16.9	16.8	16.9
27	26.0	23.6	25.9	23.6
28	177.9	177.7	178.0	178.0
29	33.1	16.9	33.1	17.0
30	23.6	21.2	23.6	21.2
COOMe	51.3	51.4	51.4	51.5



14a



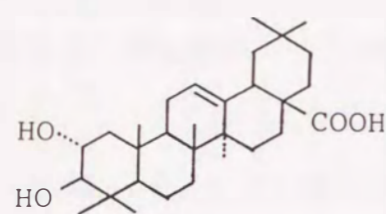
14b

化合物 15, 無色粉末, は Liebermann-Burchard 反応に陽性で, 赤紫色を呈することからトリテルペノイドと推定される. IR スペクトルは $3600-2500\text{ cm}^{-1}$ と 1690 cm^{-1} にカルボキシル基による吸収を示す. MS スペクトルは m/z 472 に分子イオンピーク, m/z 248, 203 及び 189 に特徴的な強いフラグメントピークを示し, oleanolic acid (14a) のスペクトルに良く似ている. oleanolic acid (14a) の MS スペクトルでは A, B 環に基づくフラグメントイオンが m/z 207 に観測されるが, 15 の MS スペクトルでは m/z 207 のピークが消失し m/z 233 に新たなピークが観測される. 以上の結果は 15 が oleanolic acid (14a) の A, B 環のいずれかに水酸基が 1 個置換した構造であることを示唆している. 化合物 15 をアセトン中 2,2-dimethoxypropane で処理すると acetonide 102 が得られることから 15 の 2 個の水酸基の位置は $(2\alpha, 3\beta)$, $(2\beta, 3\beta)$, $(3\beta, 23)$ 及び $(3\beta, 24)$ のうちのいずれかであると推定される. 化合物 15 をジアゾメタンで処理して得たメチルエステル 103 の $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトル (Table 6-5) は 31 個の炭素原子に対して 54 本のシグナルを示し, 103 が olean-12-ene 系と urs-12-ene 系の混合物であることを示唆している. 文献値と比較した結果 103 は methyl maslinate^{4, 5)} と methyl 2α -hydroxyursolate^{4, 5)} の混合物であることが解った. 以上の結果から 15 は maslinic acid ($2\alpha, 3\beta$ -dihydroxyolean-12-ene-28-oic acid,

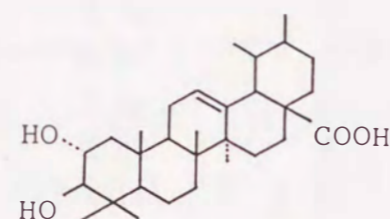
Table 6-5. $^{13}\text{C-NMR}$ spectra of Methyl Ester (103) of 15, Methyl Maslinate and Methyl 2α -Hydroxyursolate.

Carbon	Me maslinate	Me 2α -hydroxy- ursolate	103	
1	46.4	46.8	46.4	46.7
2	68.8	68.9	68.9	68.9
3	83.8	83.8	83.9	83.9
4	39.1	39.1	39.2	39.3
5	55.3	55.4	55.3	55.3
6	18.3	18.4	18.3	18.3
7	32.6	32.9	32.5	32.8
8	39.1	39.6	39.0	39.5
9	47.5	47.5	47.5	47.6
10	38.3	38.3	38.2	38.2
11	23.1	23.4	23.0	23.3
12	122.0	125.3	122.2	125.3
13	143.6	138.1	143.8	138.2
14	41.7	42.1	41.6	42.0
15	27.6	28.0	27.6	27.9
16	23.5	24.3	23.4	24.2
17	46.6	48.1	46.6	48.1
18	41.3	52.8	41.2	52.8
19	45.8	39.1	45.8	39.2
20	30.7	38.9	30.6	38.8
21	33.8	30.7	33.8	30.6
22	32.3	36.7	32.3	36.6
23	28.6	28.7	28.6	28.6
24	16.8	17.0	16.6	16.8
25	16.8	17.0	16.7	16.9
26	16.8	17.0	16.7	17.0
27	26.0	23.7	25.9	23.6
28	178.0	177.9	178.3	178.0
29	33.1	17.0	33.1	16.8
30	23.5	21.2	23.6	21.1
COOMe	51.5	51.5	51.4	51.5

15a) と 2 α -hydroxyursolic acid (2 α ,3 β -dihydroxyurs-12-ene-28-oic acid, 15b) の混合物である. 化合物 15 を無水酢酸-ピリジンで処理して得たアセテート 104 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは 2.17 ppm に diacetyl 2 α -hydroxyursolic acid の 18 位のプロトン, 2.80 ppm に diacetyl maslinic acid の 18 位のプロトンによるシグナルを示す. 18 位のプロトンの積分値の比較から maslinic acid (15a) と 2 α -hydroxyursolic acid (15b) の混合比は約 1:5 である.



15a

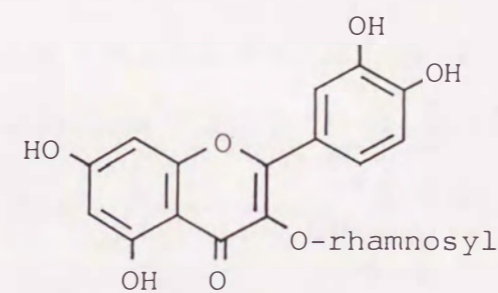


15b

化合物 16, 黄色針状晶, mp 167–174 °C, は Mg-HCl 反応に陽性でフラボノイドと推定される. IRスペクトルは 3300 cm^{-1} に水酸基, 1655 cm^{-1} にカルボニル基による吸収を示す. 化合物 16 のトリメチルシリル (TMS) 誘導体の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CCl_4) は 7.2–7.5 ppm (2H, m) と 6.7–7.0 ppm (1H, m) に B 環の 2', 5' 及び 6' 位のプロトンによる ABX 型吸収, 6.14 ppm (1H, d, $J=2.5$ Hz) と 6.43 ppm (1H, d, $J=2.5$ Hz) に A 環の 6 および 8 位のプロトンによる AB 型吸収を示し, 高磁場側には糖のプロトンによる吸収を示す. 以上の結果は 16 が quercetin (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone) の配糖体であることを示している. 化合物 16 を加水分解してアグリコンと糖部を得た. アグリコンの $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを文献記載の quercetin のスペクトルと比較した結果一致した.⁶⁾ 糖部はペーパークロマトグラフィーによ

り L-rhamnose であることを確認した. また, 16 の TMS 誘導体の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて, 5.08 ppm の anomeric proton による doublet の結合定数が 1.5 Hz であることは L-rhamnose が α 型であることを示している.⁶⁾

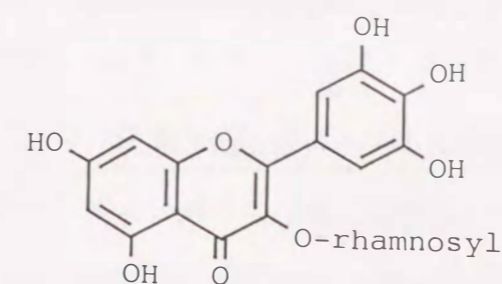
糖の結合位置は次のように UV スペクトルにおけるシフト試薬添加時の挙動から証明した.⁴⁾ 化合物 16 の UV スペクトル (MeOH) ではシフト試薬 (NaOMe) 添加時 band I に深色移動 ($\Delta\lambda_{\text{max}}=42$ nm) が認められ, 4' 位に水酸基が存在することを示している. また, NaOAc 添加時 band II に深色移動 ($\Delta\lambda_{\text{max}}=13$ nm) が認められ, 7 位に水酸基が存在することを示している. さらに, (NaOAc+ H_3BO_3) 添加時 band I に深色移動 ($\Delta\lambda_{\text{max}}=17$ nm) が認められること, AlCl_3 添加後の band I の吸収が HCl の添加により浅色移動 ($\Delta\lambda_{\text{max}}=33$ nm) することは B 環に ortho-dihydroxy の部分構造が存在することを示している. さらに, (AlCl_3 +HCl) 添加時のスペクトルは 4 つのピークに分裂するとともに, band I はメタノール溶液に比較して大きく深色移動 ($\Delta\lambda_{\text{max}}=48$ nm) している. このことは, 16 の 5 位に水酸基が存在し, 3 位には水酸基が存在しないことを示している. 以上の結果から糖は quercetin の 3 位に結合していることが証明され, 16 は quercetin-3- α -L-rhamnoside (quercitrin) と結論される. UV 及び $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは文献記載のスペクトルと一致した.⁶⁾



16

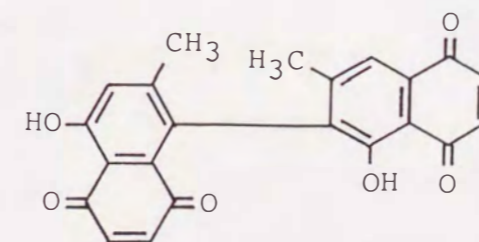
化合物 17, 黄色針状晶, mp 180–185 °C, は Mg-HCl 反応に陽性でフラボノイドと推定される. IR スペクトルは 3200 cm^{-1} に水酸基, 1650 cm^{-1} にカルボニル基による吸収を示す. 化合物 17 の TMS 誘導体の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CCl_4) は 6.94 ppm (2H, s) に B 環の 2' 及び 6' 位のプロトンによる吸収, 6.15 ppm (1H, d, $J=2.0$ Hz) と 6.40 ppm (1H, d, $J=2.0$ Hz) に A 環の 6 および 8 位のプロトンによる AB 型吸収を示し, 高磁場側には糖のプロトンによる吸収を示す. 以上の結果は 17 が myricetin (3,3',4',5,5',7-hexahydroxyflavone) の配糖体であることを示している. 化合物 17 を加水分解してアグリコンと糖部を得た. アグリコンの $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを文献記載の myricetin のスペクトルと比較した結果一致した.⁶⁾ 糖部はペーパークロマトグラフィーにより L-rhamnose であることを確認した. また, 17 の TMS 誘導体の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて, 5.04 ppm の anomeric proton による doublet の結合定数が 1.5 Hz であることは L-rhamnose が α 型であることを示している.⁶⁾

糖の結合位置は 16 の場合と同様に UV スペクトルにおけるシフト試薬添加時の挙動から証明した.⁶⁾ すなわち, 17 の UV スペクトル (MeOH) において NaOMe, NaOAc 及び (AlCl_3+HCl) の添加時, それぞれ 4', 7 及び 5 位の水酸基の存在を示す挙動が観察される. また AlCl_3 添加後の band I の吸収は HCl の添加により浅色移動 ($\Delta\lambda_{\text{max}}=25$ nm) するが, そのシフト値が小さいことから B 環に 3 個の隣接した水酸基が存在すると考えられる (ortho-dihydroxy の場合は 30–40 nm). 以上の結果から糖は myricetin の 3 位に結合していることが証明され, 17 は文献記載の myricetin-3- α -L-rhamnoside (myricitrin) と結論される.^{7, 8)}



17

化合物 18, 橙赤色板状晶, mp 220–230 °C (dec.), の MS スペクトルは m/z 374 に分子イオンピークを示し, IR [ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1667, 1640, 1600] および UV [λ_{max} (CHCl_3) nm (log ϵ): 245(4.38), 256(4.46), 437(3.94)] スペクトルは juglone 誘導体の特徴を示す. $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは 2.03 ppm (3H, s) と 2.05 ppm (3H, s) に 2 個の aromatic methyl 基, 6.70 ppm (1H, d, $J=10$ Hz) と 6.92 ppm (1H, d, $J=10$ Hz) に 2 個の quinonoid proton, 6.93 ppm (2H, s) に別の 2 個の quinonoid proton, 7.30 ppm (1H, m) と 7.61 ppm (1H, s) に 2 個の芳香族プロトン, 12.06 ppm (1H, s) と 12.44 ppm (1H, s) に水素結合をしている 2 個の水酸基によるシグナルを示す. 以上の結果から 18 は 2 個の 7-methyljuglone (2) が 6,8' 位で結合した二量体 isodiospyrin である.^{9, 10)}



18

第5節 リュウキュウコクタンの成分について

1. 果実, 葉および枝のエタノール抽出液の成分

リュウキュウコクタンの果実, 葉および枝のエタノール抽出液から得られた化合物を Table 6-6 に示した.

リュウキュウガキに大量に含まれているジテルペノイドはリュウキュウコクタンからは得られなかった.

13 種のトリテルペノイドが得られたが, その中にはリュウキュウガキからは得られていない化合物もあるが, sawamilletin (13) を除けばカキノキ属には広く分布する化合物である.

2 種のフラボノイドが得られたが, フラボノイドはリュウキュウガキには含まれていないがカキノキ属ではすでに報告がある.

ナフトキノン誘導体としては isodiospyrin (18) が得られた. 化合物 18 はリュウキュウガキには含まれていないが, カキノキ属植物には広く分布する化合物であり, すでに本植物の根からも報告されている.^{2, 9-13)}

Table 6-6. Constituents of the Ethanol Extracts of the Fruit, Leaves and Twigs of *Diospyros ferrea* var. *buxifolia*.

	Fruit	Leaves	Twigs
Naphthoquinone			
isodiospyrin (18)	-	○	○
Triterpenoids			
sawamilletin (13)	-	-	○
friedelin (3)	○	-	○
epifriedelinol (4)	○	-	○
glutinol (5)	-	-	○
lupeol (6)	○	○	○
β -amyrin (7)	○	○	○
taraxerol (8)	-	-	○
betulin (10)	○	○	○
betulinic acid (11)	○	○	○
Mix. of oleanolic acid and ursolic acid (14)			
	○	○	○
Mix. of maslinic acid and 2 α -hydroxyursolic acid (15)			
	○	○	-
Steroids			
β -sitosterol (9)	○	-	-
Flavonoids			
quercitrin (16)	○	-	-
myricitrin (17)	○	-	-
Others			
gallic acid (12)	○	-	-

2. 果実, 葉, 樹皮および木部のクロロホルム抽出液の成分

エタノール抽出では得られない不安定なナフトキノン成分でもクロロホルムによる抽出では得られることがリュウキュウガキの場合で分かったので, リュウキュウコクタン¹⁾の果実, 葉, 樹皮および木質部についてもクロロホルムによる抽出を行い, そのナフトキノン成分を検索した.

Table 6-7 Naphthoquinone Constituents of the CHCl₃ Extracts of the Fruit, Leaves, Bark and Wood of *D. ferrea* var. *buxifolia*.

	Fruit	Leaves	Bark	Wood
plumbagin (1)	○	○	—	○
7-methyljuglone (2)	○	○	—	○
isodiospyrin (18)	○	○	○	○

ナフトキノン成分として plumagin (1), 7-methyljuglone (2) および isodiospyrin (18) が得られた. plumagin (1) と 7-methyljuglone (2) はエタノール抽出では得られなかったが, クロロホルムで抽出することによって得られた. また, 1 はこれまでリュウキュウコクタンには含まれていないと考えられていたが本研究で初めてリュウキュウコクタンから得られた. 一方, リュウキュウガキに含まれる豊富なナフトキノン誘導体の大部分はリュウキュウコクタンからは得られなかった.

第6節 リュウキュウコクタンの生物活性成分

第2節で述べたようにリュウキュウコクタンの予備的な生物活性試験では, 葉, 樹皮および木部の酢酸エチル可溶部に魚毒作用が, 木部の酢酸エチル可溶部に発芽抑制作用が観察されたが, 抗菌作用はどの部位にも観察されなかった (Table 6-1~6-3).

リュウキュウコクタンから分離した化合物について魚毒, 発芽抑制および抗菌試験を行った結果をそれぞれ Table 6-8, 6-9 および 6-10 に示す.

魚毒試験 (Table 6-8) では isodiospyrin (18) が極めて強い活性を示した (MLC: 0.1 ppm). これはリュウキュウガキおよびリュウコクタンから得られたナフトキノン誘導体のなかで最も強い値である. また, oleanolic acid と ursolic acid の約 1:3 の混合物 (14) にもかなり強い活性 (MLC: 3.5 ppm) が観察された.

予備試験では木部の酢酸エチル可溶部に弱い発芽抑制作用が観察されたが, リュウキュウコクタンから分離した化合物には発芽抑制試験 (Table 6-9) に活性を示す化合物はなかった. また, 抗菌試験 (Table 6-10) に活性を示す化合物もなかった.

以上に述べたようにリュウキュウコクタンのナフトキノン成分はリュウキュウガキに比べて種類は少ないが, 葉から比較的少量に得られる isodiospyrin (18) は極めて強い魚毒作用を示した. 最近, isodiospyrin (18) が HCT-8 人結腸腫瘍に対して強い細胞毒性を示すことが報告され注目を集めている.¹⁴⁾

Table 6-8. Piscicidal Activities of the Compounds
Isolated from *Diospyros ferrea* var. *buxifolia*.

Compounds	MLC (ppm)
plumbagin (1)	0.4
7-methyljuglone (2)	0.2
friedelin (3)	>20
epifriedelinol (4)	>50
glutinol (5)	>50
lupeol (6)	>50
β -amyrin (7)	>50
taraxerol (8)	>20
β -sitosterol (9)	>50
betulin (10)	50
betulinic acid (11)	>50
gallic acid (12)	>50
sawamilletin (13)	>50
Mix. of oleanolic acid and ursolic acid (14)	3.5
Mix. of maslinic acid and 2 α -hydroxyursolic acid (15)	>10
quercitrin (16)	>20
myricitrin (17)	NT
isodiospyrin (18)	0.1

MLC: minimum lethal concentration

NT: not tested

Table 6-9. Germination Inhibitory Activities of the Compounds
Isolated from *Diospyros ferrea* var. *buxifolia*.

Compounds	Conc. (ppm)	Germination %
plumbagin (1)	100	0
	10	42
	1	62
7-methyljuglone (2)	100	4
	50	14
	10	96
friedelin (3)	100	98
	100	96
	100	100
lupeol (6)	100	96
	100	92
	100	96
β -amyrin (7)	100	96
	100	98
	100	96
betulin (10)	100	96
	100	94
	100	92
sawamilletin (13)	100	96
	100	96
	100	96
Mix. of oleanolic acid and ursolic acid (14)	100	96
	100	98
	100	98
Mix. of maslinic acid and 2 α -hydroxyursolic acid (15)	100	98
	100	98
	100	98
myricitrin (17)	NT	NT
isodiospyrin (18)	100	100

NT: not tested

Table 6-10. Antifungal Activities of the Compounds Isolated from *Diospyros ferrea* var. *buxifolia*.

Compounds	Concentration ($\mu\text{g}/\text{disc}$)	Activity (Inhibitory zone, mm)
plumbagin (1)	250	(+) (30)
7-methyljuglone (2)	250	(+) (13)
sawamilletin (13)	63	(-)
friedelin (3)	63	(-)
epifriedelinol (4)	63	(-)
glutinol (5)	250	(-)
lupeol (6)	250	(-)
β -amyrin (7)	250	(-)
taraxerol (8)	63	(-)
betulin (10)	250	(-)
betulinic acid (11)	250	(-)
Mix. of oleanolic acid and ursolic acid (14)	250	(-)
Mix. of maslinic acid and 2α -hydroxyursolic acid (15)	250	(-)
β -sitosterol (9)	250	(-)
gallic acid (12)	250	(-)
quercitrin (16)	250	(-)
myricitrin (17)		NT
isodiospyrin (18)	250	(-)

NT: not tested

第7節 まとめ

リュウキュウコクタンから1種のステロイド β -sitosterol (9), 13種のトリテルペノイド friedelin (3), epifriedelinol (4), glutinol (5), lupeol (6), β -amyrin (7), taraxerol (8), betulin (10), betulinic acid (11), sawamilletin (13), oleanolic acid (14a), ursolic acid (14b), maslinic acid (15a) および 2α -hydroxyursolic acid (15b), 1種のピロガロール誘導体 gallic acid (12), 2種のフラボノイド quercitrin (16) および myricitrin (17) の他に3種のナフトキノン誘導体 plumbagin (1), 7-methyljuglone (2) および isodiospyrin (18) を分離した。

リュウキュウコクタンはリュウキュウガキと同属であるがナフトキノン成分の種類は少なく, 3種が得られただけである。plumbagin (1) はこれまでリュウキュウコクタンには含まれていないと報告されていたが,²⁾ 少量ではあるが含まれていることが分かった。isodiospyrin (18) にはリュウキュウガキとリュウキュウコクタンから得られたナフトキノン誘導体のうち最も強い魚毒作用が観察された。最近, isodiospyrin (18) は HCT-8 人結腸腫瘍などに対して強い細胞毒性を示すことが報告されており注目を集めているが,¹⁴⁾ リュウキュウコクタンの葉には isodiospyrin が比較的多量 (270 mg/kg) に含まれており, その点からリュウキュウコクタンも有用な植物資源であると思われる。

第8節 実験の部

1. リュウキュウコクタンの実の果実のエタノール抽出 (Chart 6-1)

1985年8月に沖縄県西原町で採集したリュウキュウコクタンの新鮮果実 (20.4 kg) を95% エタノール (37 l) に2カ月間浸漬した。抽出液を減圧濃縮したのち水と酢酸エチルに分配し、酢酸エチル可溶部と水溶部に分画した。酢酸エチル可溶部を減圧濃縮したのち濃縮残渣 (56.9 g) にベンゼンを加え、ベンゼン可溶部とベンゼン不溶部 (22.2 g) に分けた。ベンゼン可溶部についてシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C₆H₆, CHCl₃, EtOAc, MeOH) を行い C₆H₆ 溶出部, CHCl₃ 溶出部, EtOAc 溶出部および MeOH 溶出部に分離した。それぞれの溶出部についてさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C₆H₆-EtOAc 混合溶媒のグラジエント) を行い、溶出順に C₆H₆ 溶出部から aliphatic hydrocarbons を, CHCl₃ 溶出部から aliphatic alcohols, 3 (15 mg), 6 (600 mg), 7 (310 mg), 9 (1.35 g), 10 (40 mg), 11 (20 mg), 4 (15 mg) および 14 (1.17 g) を, EtOAc 溶出部から fatty acids, 12 (845 mg), 15 (845 mg), 16 (400 mg) および 17 (70 mg) を得た。

Mix. of oleanolic acid and ursolic acid (14)

無色粉末。Liebermann-Burchard 反応 (赤紫色)。IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3600-2500, 1690(COOH)。MS m/z(%): 456(M⁺, 5), 248(100), 207(18), 203(57), 189(11), 133(14)。

Mix. of maslinic acid and 2 α -hydroxyursolic acid (15)

無色粉末。Liebermann-Burchard 反応 (赤紫色)。IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3600-2500, 1690(COOH)。MS m/z(%): 472(M⁺, 3), 248(100), 223(7), 203(35), 189(8), 133(13)。

Quercitrin (quercetin-3- α -L-rhamnoside) (16)

黄色針状晶 (MeOH), mp 167-174 °C。Mg-HCl 反応 (橙赤色)。TLC: Rf 0.56 (CHCl₃-MeOH(5:2))。IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3300(OH), 1655(C=O)。

UV λ_{\max} (MeOH) nm(log ϵ): 352(4.04), 258(4.21); λ_{\max} (MeOH+NaOMe) nm (log ϵ): 394(4.14), 326(3.86), 271(4.29); λ_{\max} (MeOH+AlCl₃) nm (log ϵ): 433(4.17), 275(4.29); λ_{\max} (MeOH+AlCl₃+HCl) nm(log ϵ): 400(3.98), 358(3.94), 297(3.81), 271(4.22); λ_{\max} (MeOH+NaOAc) nm (log ϵ): 391(4.09), 324(3.87), 271(4.29); λ_{\max} (MeOH+NaOAc+H₃BO₃) nm(log ϵ): 369(4.07), 261(4.25)。¹H-NMR (TMS ether, CCl₄): 7.2-7.5 (2H, m, H-2', 6'), 6.7-7.0 (1H, m, H-5'), 6.43 (1H, d, J=2.5 Hz, H-8), 6.14 (1H, d, J=2.5 Hz, H-6), 5.08 (1H, d, J=1.5 Hz, H-1"), 4.28 (1H, brt, H-2"), 2.8-3.7 (3H, m, H-3", 4", 5"), 0.80 (3H, d, J=6.0 Hz, rhamnosyl CH₃)。MS m/z(%): 302(100), 137(13)。

16 の加水分解

16 (50 mg) に濃塩酸 (5 ml) を加えて直火で6分間加熱した。これを濾取し、水洗したのち乾燥して quercetin を得た。

quercetin: 黄色粉末。TLC: Rf 0.47 (CHCl₃-MeOH(5:1))。IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3400(OH), 1655(C=O)。UV λ_{\max} (MeOH) nm: 372, 254; λ_{\max} (MeOH+NaOMe) nm: 428, 328, 287; λ_{\max} (MeOH+AlCl₃+HCl) nm: 430, 363, 300, 267; λ_{\max} (MeOH+NaOAc) nm: 397, 320, 266; λ_{\max} (MeOH+NaOAc+H₃BO₃) nm: 388, 268。¹H-NMR (TMS ether, CCl₄): 7.5-7.8 (2H, m, H-2', 6'), 6.7-7.0 (1H, m, H-5'), 6.43 (1H, d, J=2.5 Hz, H-8), 6.14 (1H, d, J=2.5 Hz, H-6)。

濾液は減圧濃縮したのち PC を行い L-rhamnose を確認した。

L-rhamnose: Rf 0.38 (BuOH-AcOH-H₂O(4:1:5)), 発色試薬; アニリン水素フタレート)。

Myricitrin (myricetin-3- α -L-rhamnoside) (17)

黄色針状晶 (MeOH), mp 180-185 °C (lit.,⁸⁾ 187-190 °C)。Mg-HCl 反応 (橙赤色)。TLC: Rf 0.42 (CHCl₃-MeOH(5:2))。IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3300 (OH), 1658(C=O)。UV λ_{\max} (MeOH) nm(log ϵ): 359(4.06), 306(3.79), 257

(4.18); $\lambda_{\max}(\text{MeOH}+\text{NaOMe})$ nm(log ϵ): 393(3.90), 264(4.20); $\lambda_{\max}(\text{MeOH}+\text{AlCl}_3)$ nm(log ϵ): 426(4.16), 312(3.67), 271(4.29); $\lambda_{\max}(\text{MeOH}+\text{AlCl}_3+\text{HCl})$ nm(log ϵ): 401(4.03), 366(3.97), 307(3.77), 271(4.21); $\lambda_{\max}(\text{MeOH}+\text{NaOAc})$ nm(log ϵ): 388(4.07), 323(3.86), 269(4.22). $^1\text{H-NMR}$ (TMS ether, CCl_4): 6.94(2H, s, H-2', 6'), 6.40(1H, d, J=2.0 Hz, H-8), 6.15(1H, d, J=2.0 Hz, H-6), 5.04(1H, d, J=1.5 Hz, H-1"), 4.28(1H, br t, H-2"), 2.8-3.7(3H, m, H-3", 4", 5"), 0.79(3H, d, J=6.0 Hz, rhamnosyl CH_3). MS m/z(%): 318(100), 153(25).

17 の加水分解

16 と同様の方法で加水分解を行い myricetin を得た.

myricetin: 黄色粉末. TLC: Rf 0.32 (CHCl_3 -MeOH(5:1)). UV $\lambda_{\max}(\text{MeOH})$ nm: 374, 295, 249; $\lambda_{\max}(\text{MeOH}+\text{NaOMe})$ nm: 436, 320; $\lambda_{\max}(\text{MeOH}+\text{AlCl}_3)$ nm: 453, 310, 270; $\lambda_{\max}(\text{MeOH}+\text{AlCl}_3+\text{HCl})$ nm: 431, 366, 306, 266; $\lambda_{\max}(\text{MeOH}+\text{NaOAc})$ nm: 331, 263. $^1\text{H-NMR}$ (TMS ether, CCl_4): 7.27(2H, s, H-2', 6'), 6.37(1H, d, J=2.5 Hz, H-8), 6.10(1H, d, J=2.5 Hz, H-6).

濾液は減圧濃縮した後 PC を行い L-rhamnose を確認した.

L-rhamnose: Rf 0.38 (BuOH-AcOH- H_2O (4:1:5), 発色試薬; アニリン水素フタレート).

Aliphatic hydrocarbons

無色粉末. MS m/z(%): 492, 464, 436, 408.

pentatriacontane, tritriacontane, hentriacontane および nonacosane の混合物.

Aliphatic alcohols

無色粉末. MS m/z(%): 476, 448, 420, 392.

tetratriacontanol, laccerial, melissyl alcohol および octacosanol の混合物.

Fatty acids

無色粉末. MS m/z(%): 508, 480, 452, 424, 396, 368, 340, 312, 284, 256.

geddic acid, laccerial acid, melissic acid, montanic acid, cerotic acid, lignoceric acid, behenic acid, arachic acid, stearic acid および palmitic acid の混合物.

2. リュウキュウコクタン の葉 のエタノール抽出 (Chart 6-2)

1985 年 5 月に沖縄県西原町で採集したリュウキュウコクタンの新鮮葉 (5.3 kg) を 95% エタノール (25 l) に 2 カ月間浸漬した. 抽出液を減圧濃縮したのち水とクロロホルムに分配し, クロロホルム可溶部と水溶部に分画した. クロロホルム可溶部を減圧濃縮したのち濃縮残渣 (133 g) にベンゼンを加え, ベンゼン可溶部とベンゼン不溶部 (1.7 g) に分けた. ベンゼン可溶部についてシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C_6H_6 , CHCl_3 , EtOAc, MeOH) を行い, C_6H_6 溶出部, CHCl_3 溶出部, EtOAc 溶出部および MeOH 溶出部に分離した. それぞれの溶出部についてさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C_6H_6 -EtOAc 混合溶媒のグラジエント) を行い, C_6H_6 溶出部から aliphatic hydrocarbons を, CHCl_3 溶出部から 6 (2.46 g), 7 (1.20 g), 10 (1.49 g), 11 (40 mg), 18 (180 mg) および 14 (250 mg) を, EtOAc 溶出部から fatty acids および 15 (230 mg) を得た.

Aliphatic hydrocarbons

無色粉末. MS m/z(%): 548, 520, 492, 464, 436, 408.

nonatriacontane, heptatriacontane, pentatriacontane, tritriacontane, hentriacontane および nonacosane の混合物.

Fatty acids

無色粉末. MS m/z(%): 508, 480, 452, 424, 396, 368.

geddic acid, laccerial acid, melissic acid, montanic acid, cerotic acid および lignoceric acid の混合物.

3. リュウキュウコクタンの小枝のエタノール抽出 (Chart 6-3)

1985年5月に沖縄県西原町で採集したリュウキュウコクタンの小枝 (3.2 kg) を95%エタノール (10/1) に2カ月間浸漬した。抽出液を減圧濃縮したのち水とクロロホルムに分配し、クロロホルム可溶部と水溶部に分画した。クロロホルム可溶部を減圧濃縮したのち濃縮残渣 (22.1 g) にベンゼンを加え、ベンゼン可溶部とベンゼン不溶部 (7.8 g) に分けた。ベンゼン可溶部についてシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C₆H₆, CHCl₃, EtOAc, MeOH) を行い、C₆H₆ 溶出部, CHCl₃ 溶出部, EtOAc 溶出部および MeOH 溶出部に分離した。それぞれの溶出部についてさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C₆H₆-EtOAc 混合溶媒のグラジエント) を行い、溶出順に C₆H₆ 溶出部から aliphatic hydrocarbons および 13 (60 mg) を, CHCl₃ 溶出部から aliphatic alcohols, 3 (570 mg), 5 (55 mg), 6 (605 mg), 7 (195 mg), 9 (1.69 g), 10 (295 mg), 11 (1.98 g), 4 (95 mg), 8 (150 mg), 18 (540 mg) および 14 (705 mg) を, EtOAc 溶出部から fatty acids を得た。

Sawamilletin (taraxerol methyl ether) (13)

無色針状晶 (n-hexane), mp 270–273 °C (lit.,²⁾ 269–270 °C).

Liebermann-Burchard 反応 (赤紫色). IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3050, 1630, 815 (>C=CH-), 1100 (C-O-C). ¹H-NMR (CDCl₃): 0.81 (3H, s, CH₃), 0.85 (3H, s, CH₃), 0.97 (3H, s, CH₃), 1.05 (3H, s, CH₃), 1.27 (3H, s, CH₃), 3.36 (3H, s, OCH₃), 4.6 (1H, m, =CH-), 2.6 (1H, m, -CHOCH₃). MS m/z (%): 440 (M⁺, 100), 425 (43), 410 (12), 393 (19), 316 (22), 273 (21), 221 (26), 218 (32), 204 (53), 191 (31), 189 (43).

Aliphatic hydrocarbons

無色粉末. MS m/z (%): 520, 492, 464, 436, 408.

heptatriacontane, pentatriacontane, tritriacontane, hentriacontane, および nonacosane の混合物.

Aliphatic alcohols

無色粉末. MS m/z (%): 476, 448, 420.

tetratriacontanol, laccerol および melissyl alcohol の混合物.

Fatty acids

無色粉末. MS m/z (%): 508, 480, 452, 424, 396, 368, 340, 312, 284, 256.

geddic acid, lacceric acid, melissic acid, montanic acid, cerotic acid, lignoceric acid, behenic acid, arachic acid, stearic acid および palmitic acid の混合物.

4. リュウキュウコクタンの果実のクロロホルム抽出 (Chart 6-4)

1989年8月に沖縄県西原町で採集したリュウキュウコクタンの新鮮果実 (13.9 kg) をクロロホルム (50/1) と共にミキサー中で粉碎することによって抽出した。抽出液を減圧濃縮したのち濃縮残渣 (167.3 g) にベンゼンを加え、ベンゼン可溶部とベンゼン不溶部 (23.6 g) に分けた。ベンゼン可溶部についてシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C₆H₆, CHCl₃, EtOAc) を行い、C₆H₆ 溶出部 (27.5 g), CHCl₃ 溶出部 (5.6 g) および EtOAc 溶出部 (6.6 g) に分離した。それぞれの溶出部をさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C₆H₆-EtOAc 混合溶媒のグラジエント) で分離し、ナフトキノン成分として C₆H₆ 溶出部から 1 (4 mg) および 2 (123 mg) を, CHCl₃ 溶出部から 18 (97 mg) を得た。

Isodiospyrin (18)

橙赤色板状晶 (C₆H₆), mp 220–230 °C (dec.) (lit.,⁹⁾ 228 °C). IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 1667, 1640, 1600, 1363, 1340, 1280, 1240, 1205, 1100, 1048, 850. UV λ_{\max} (CHCl₃) nm (log ϵ): 245sh (4.38), 256 (4.46), 437 (3.94). ¹H-NMR (CDCl₃): 2.03, 2.05 (each, 3H, s, CH₃-7', 7'), 6.70, 6.92 (each, 1H, d, J=10 Hz, H-2', 3'), 6.93 (2H, s, H-2, 3), 7.30 (1H, m, H-6'), 7.61 (1H, s, H-8), 12.06, 12.44 (each 1H, s, OH-5, 5'). MS m/z (%):

374(M⁺, 100), 359(79), 357(18), 356(17), 345(18), 339(13), 331(26),
319(17), 189(26), 165(24), 152(21), 139(23), 115(26).

5. リュウキュウコクタンの葉のクロロホルム抽出 (Chart 6-5)

1989年8月に沖縄県西原町で採集したリュウキュウコクタンの新鮮葉 (5.0 kg) をクロロホルム (25 l) と共にミキサー中で粉碎することによって抽出した。抽出液を減圧濃縮したのち濃縮残渣 (67.4 g) にベンゼンを加え、ベンゼン可溶部とベンゼン不溶部 (12.0 g) に分けた。ベンゼン可溶部についてシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C₆H₆, CHCl₃, EtOAc) を行い、C₆H₆ 溶出部, CHCl₃ 溶出部および EtOAc 溶出部に分離した。それぞれの溶出部をさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C₆H₆-EtOAc 混合溶媒のグラジエント) で分離し、ナフトキノン成分として C₆H₆ 溶出部から 1 (8 mg) および 2 (243 mg) を, CHCl₃ 溶出部から 18 (1.34 g) を得た。

6. リュウキュウコクタンの樹皮のクロロホルム抽出 (Chart 6-6)

1989年8月に沖縄県西原町で採集したリュウキュウコクタンの新鮮樹皮 (450 g) をクロロホルム (7 l) と共にミキサー中で粉碎することによって抽出した。抽出液を減圧濃縮したのち濃縮残渣 (10.8 g) にベンゼンを加え、ベンゼン可溶部とベンゼン不溶部 (3.78 g) に分けた。ベンゼン可溶部についてシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C₆H₆, CHCl₃, EtOAc) を行い、C₆H₆ 溶出部 (0.69 g), CHCl₃ 溶出部 (1.30 g) および EtOAc 溶出部 (1.09 g) に分離した。それぞれの溶出部をさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C₆H₆-EtOAc 混合溶媒のグラジエント) で分離し、ナフトキノン成分として CHCl₃ 溶出部から 18 (215 mg) を得た。

7. リュウキュウコクタンの木部のクロロホルム抽出 (Chart 6-7)

1989年8月に沖縄県西原町で採集したリュウキュウコクタンの新鮮木部

(1.45 kg) をクロロホルム (18 l) と共にミキサー中で粉碎することによって抽出した。抽出液を減圧濃縮したのち濃縮残渣 (8.4 g) にベンゼンを加え、ベンゼン可溶部とベンゼン不溶部 (1.34 g) に分けた。ベンゼン可溶部についてシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C₆H₆, CHCl₃, EtOAc) を行い、C₆H₆ 溶出部 (1.81 g), CHCl₃ 溶出部 (0.92 g) および EtOAc 溶出部 (1.87 g) に分離した。それぞれの溶出部をさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (C₆H₆-EtOAc 混合溶媒のグラジエント) で分離し、ナフトキノン成分として C₆H₆ 溶出部から 1 (28 mg) および 2 (60 mg) を, CHCl₃ 溶出部から 18 (550 mg) を得た。

8. リュウキュウコクタンの成分の誘導体の合成

14 の methylester (100)

14 (50 mg) を MeOH (10 ml) に溶かし、ジアゾメタンのエーテル溶液 (ニトロソメチル尿素 2 g から調製) を加え 24 時間放置した。減圧下で濃縮したのち PLC (SiO₂; C₆H₆) で精製した。収量 29 mg (28%)。

100: 無色針状晶 (EtOH), mp 240–241 °C. IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3420(OH), 1725(COOCH₃). ¹H-NMR (CDCl₃): 3.57 (s, COOCH₃). ¹³C-NMR: Table 6-4. MS m/z (%): 470(M⁺, 10), 262(100), 207(27), 203(89), 189(16), 133(42).

14 の acetate (101)

14 (100 mg) をピリジン (1 ml) に溶かし、無水酢酸 (1 ml) を加え 1 夜放置した。反応液に水を加えたのち沈澱を濾過し水で洗浄した。収量 99 mg (91%)。

101: 無色粉末. IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3600–2500, 1695 (COOH), 1735 (C=O), 1242(OCOCH₃). ¹H-NMR (CDCl₃, 270 MHz): 2.05(s, OCOCH₃), 2.18(d, J=11.5 Hz, ursene H-18), 2.80(dd, J=4.5, 13.9 Hz, oleanene H-18), 4.49(H-3), 5.25(H-12). MS m/z (%): 498(M⁺, 2), 249(22), 248(100), 203(41), 190(24), 189(20), 133(22).

14 の acetate の methyl ester

14 の acetate (200 mg) を MeOH (10 ml) に溶かし, ジアゾメタンのエーテル溶液 (ニトロソメチル尿素 2 g から調製) を加え 24 時間放置した. 減圧下で濃縮したのち PLC (SiO₂; C₆H₆) で精製した. 収量 50 mg (23%). 無色針状晶 (EtOH), mp 238–239 °C. IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 1730(C=O), 1240(COCH₃). ¹H-NMR (CDCl₃): 2.02(s, OCOCH₃), 3.62(s, COOCH₃). MS m/z(%): 512(M⁺, 4), 262(100), 249(15), 203(59), 189(22), 133(31).

15 の acetonide (102)¹⁵⁾

15 (50 mg) をクロロホルム (50 ml) に溶かし acetone dimethylacetal (1.0 ml) と p-トルエンスルホン酸 (50 mg) を加え室温で約 1 時間攪拌したのち減圧下で濃縮し, カラムクロマトグラフィー (SiO₂; C₆H₆-EtOAc(7:3)) および PLC (SiO₂; CHCl₃) で精製した. 収量 15 mg (28%).

102: 無色粉末. IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3600–2500, 1690 (COOH), 1165, 1135, 1100, 1065, 1050 (C–O–C–O–C). ¹H-NMR (CDCl₃): 1.44(s, –O–C(CH₃)₂–O–). MS m/z(%): 512(M⁺, 3), 248(100), 203(41), 189(17), 133(27).

15 の methyl ester (103)

15 (80 mg) を MeOH (10 ml) に溶かし, ジアゾメタンのエーテル溶液 (ニトロソメチル尿素 2 g から調製) を加え 1 夜放置した. 減圧下で濃縮したのち PLC (SiO₂; CHCl₃-MeOH(20:1)) で精製した. 収量 58 mg (70%).

103: 無色粉末. IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3350(OH), 1730(COOCH₃). ¹H-NMR (CDCl₃): 3.61(s, COOCH₃). ¹³C-NMR (CDCl₃): Table 6-5. MS m/z(%): 486(M⁺, 7), 262(100), 203(79), 189(21), 133(41).

15 の acetate (104)

15 (50 mg) をピリジン (0.5 ml) に溶かし, 無水酢酸 (0.5 ml) を加え 1 夜放置した. 反応液に水を加え EtOAc で抽出した. 減圧下で濃縮したのち PLC (SiO₂; CHCl₃) で精製した. 収量 30 mg (51%).

104: 無色粉末. IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 1740(C=O), 1245(OCOCH₃). ¹H-NMR (CDCl₃, 270 MHz): 1.97, 2.05(each s, OCOCH₃), 2.18(d, J=10.8 Hz, ursene H-18), 3.82(dd, J=5.3, 14.0 Hz, oleanene H-18), 4.74(d, J=10.3 Hz, H-3), 5.10(H-2), 5.23(H-12). MS m/z(%): 556(M⁺, 2), 248(100), 203(31), 189(17), 133(27).

15 の acetate の methyl ester

15 の acetate (25 mg) を MeOH (10 ml) に溶かし, ジアゾメタンのエーテル溶液 (ニトロソメチル尿素 2 g から調製) を加え 24 時間放置した. 減圧下で濃縮したのち PLC (SiO₂; C₆H₆) で精製した. 収量 21 mg (82%). 無色粉末. IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 1740(C=O), 1245(OCOCH₃). ¹H-NMR (CDCl₃, 270 MHz): 3.57(s, COOCH₃), 1.97, 2.05(each s, OCOCH₃). MS m/z(%): 570(M⁺, 3), 262(100), 203(83), 189(24), 133(29).

文献

- 1) D. S. Bhakuni, S. Satish, Y. N. Shukla, J. S. Tandon, Phytochemistry, 10, 2829 (1971).
- 2) M. Tezuka, C. Takahashi, M. Kuroyanagi, M. Satake, K. Yoshihira, S. Natori, Phytochemistry, 12, 175 (1973).
- 3) 阿部昭吉, 日本化学雑誌, 80, 1491 (1959); 小原哲二郎, 阿部昭吉, 日本化学雑誌, 80, 677 (1959)
- 4) S. Seo, Y. Tomita, K. Tori, Tetrahedron Letters, 1975, 7.
- 5) K. Nakanishi, T. Goto, S. Ito, S. Natori, "Natural Products Chemistry Vol. 3," Kodansha, Tokyo, 1983, p. 179.
- 6) T. J. Mabry, K. R. Markham, M. B. Thomas, "The Systematic Identification of Flavonoids," Springer-Verlag, New York, 1970, p 129, 294.
- 7) 中沖太七郎, 森田直賢, 薬学雑誌, 80, 1298 (1960).
- 8) S. R. Gupta, B. Ravindranath, T. R. Seshadri, Phytochemistry, 11, 2634 (1972).
- 9) K. Yoshihira, M. Tezuka, S. Natori, Chem. Pharm. Bull., 19, 2308 (1971).
- 10) A. V. B. Sankaram, A. Srinivasarao, G. S. Sidhu, Phytochemistry, 15, 237 (1976).
- 11) A. V. B. Sankaram, A. S. Rao, G. S. Sidhu, Tetrahedron Letters, 1975, 3627.
- 12) S.-M. Zhong, P. G. Waterman, J. A. D. Jeffreys, Phytochemistry, 23, 1067 (1984).
- 13) K. Yoshihira, M. Tezuka, C. Takahashi, S. Natori, Chem. Pharm. Bull., 19, 851 (1971).
- 14) X.-Z. Yan, Y.-H. Kuo, T.-J. Lee, T.-S. Shiu, C.-H. Chen, D. R. McPhail, K.-H. Lee, Phytochemistry, 28, 1541 (1989).
- 15) M. Aburatani, T. Takeuchi, K. Mori, Agric. Biol. Chem., 50, 3043 (1986).

第7章 総括

我が国で唯一亜熱帯に属する琉球列島には特有の植物が自生している。亜熱帯圏域は高温高湿であり、そのために病原菌や病害虫が発生しやすく、雑草が繁茂しやすい環境にある。そのことは、植物側にこれらからの防御のために殺菌、殺虫あるいは雑草成育を抑制する成分を含有させていると考えられる。そこで、著者は亜熱帯の植物資源の有効利用を目的として琉球列島に自生する植物に含まれる生物活性物質の探索研究を計画した。

本研究では琉球列島に自生する5種の植物（トキワギョリュウ、ガジュマル、アワダン、リュウキュウガキおよびリュウキュウコクタン）の成分検索とそれらの成分の魚毒、発芽抑制および抗菌作用を調べ、以下に示した結果を得た。

1. トキワギョリュウから10種のトリテルペノイド、2種のステロイド、2種のピロガロール誘導体および2種のフラボノイドを分離した。

トキワギョリュウから単離した化合物はすべて既知化合物であり、魚毒、発芽抑制および抗菌作用を示す化合物もなかった。

2. ガジュマルから11種のトリテルペノイド、2種のステロイドおよび1種のピロカテコール誘導体を得た。

ガジュマルから分離した化合物はすべて既知化合物であり、発芽抑制および抗菌作用を示す化合物もなかったが、oleanolic acid がかなり強い魚毒作用を示した。

3. アワダンから1種のフェニルプロパノイド誘導体、2種のステロイドおよび2種のフロキノリン型アルカロイドの他に14種の既知フラボノイドと6種の新規フラボノイドを分離した。6種の新規フラボノイドのうち5種

はイソペンテニルオキシ基を持つ極めて珍しいフラボノイドフラボノール類である。

アワダンから分離した化合物には発芽抑制および抗菌作用を示す化合物はなかったが、4種のフラボノイドに強い魚毒作用が観察された。また、魚毒作用を示す4種のフラボノイドのうち1種がシロオビアゲハの終令幼虫に毒性を示した。

4. リュウキュウガキから11種のトリテルペノイド、2種のジテルペノイド、1種のクマリン誘導体および1種のピロカテコール誘導体のほかに11種の既知ナフトキノン誘導体と6種の新規ナフトキノン誘導体を得た。

3-bromoplumbagin 及び 3-chloroplumbagin は陸上植物の成分としてはきわめて珍しい含ハロゲン化合物である。3-chloroplumbagin は高等植物から得られた塩素化ナフトキノン誘導体としては唯一のものであり、3-bromoplumbagin は植物成分として単離された臭素化ナフトキノン誘導体の最初の例である。3-bromoplumbagin 及び 3-chloroplumbagin は artefacts である可能性はあるが、そのハロゲン元素の起源は抽出分離過程で導入されたものではないことを示した。

3-methylplumbagin および 3-(2-hydroxyethyl)plumbagin はこれまでにカキノキ属植物から単離されているナフトキノン誘導体に比べて3位に生合成的に説明できない余分の炭素原子を持っているが、これらのナフトキノン誘導体は抽出溶媒に関係のある artefacts である可能性を示した。

ethylidene-6,6'-biplumbagin は2個のナフトキノン誘導体がエチリデン基で結合した極めて珍しい構造である。このような構造を持つナフトキノン誘導体はこれまでに *Spatangus purpureus* (ウニ) から2種が単離されているのみであり、ethylidene-6,6'-biplumbagin は植物成分として単離された最初の例である。

2',7'-dimethyl-2,3'-bijuglone と 2,7'-dimethyl-3,3'-bijuglone は

plumbagin と 7-methyljuglone が結合した珍しい形のナフトキノン二量体であるが、この種のナフトキノン二量体としてはこれまで1種が報告されているのみであった。

(-)- β -dihydroplumbagin 及び 7-methyl- β -dihydrojuglone は植物成分としては報告例の極めて少ないナフトキノン誘導体の還元体であり、エタノール抽出液からは得られず、新鮮果実をクロロホルムで抽出することによって得ることができた。これらの β -ジヒドロナフトキノン誘導体は本研究で用いた抽出分離方法、すなわち新鮮な植物をクロロホルムで抽出したのち酸処理をしたシリカゲルのカラムで分離すれば、他のカキノキ属植物からも得られる可能性があることを示した。

abbeokutone と 3 α ,16 α ,17-trihydroxykauran-3-one はカキノキ科植物から単離された最初のジテルペノイドであり、リュウキュウガキが他のカキノキ属植物とは分類学的に離れていることを示唆していると考えられる。

リュウキュウガキから分離したナフトキノン誘導体のほとんどが魚毒作用を示し、数種は発芽抑制および抗菌作用も示した。とくに、plumbagin には強い魚毒、発芽抑制および抗菌作用が観察された。リュウキュウガキの果実は大量の plumbagin (新鮮果実の1.2%) を含んでいるが、このような例は他のカキノキ属植物からはこれまで報告がなく、農薬などの生物活性化合物や金属イオンの分析試薬などの合成の出発物質として有用であると思われる。

5. リュウキュウガキと同属で、琉球列島に広く自生しているリュウキュウコクタンにはナフトキノン誘導体の種類は少なく、plumbagin, 7-methyljuglone および isodiospyrin が得られただけである。plumbagin はこれまでリュウキュウコクタンには含まれていないと報告されていたが、少量ではあるが含まれていることが分かった。また、isodiospyrin にはリュウキュウガキとリュウキュウコクタンから得られたナフトキノン誘導体のうち最も強い魚毒作用が観察された。リュウキュウコクタンの葉には isodiospyrin が比較的

多量（新鮮葉の約 0.03%）に含まれており，抗腫瘍活性化合物などの合成の出
発物質として有用であると思われる。

