天然色素の分離と構造解析

伊東 秀之*

1. はじめに

植物界, 動物界, 鉱物に広く分布し, 微生物によっても産生される天然色素は, 19 世紀後半における自然科学の興隆によって, 植物染料の色素分析に端を発して化学の立場から研究されるようになった。染料色素の分析に始まり, 初頭は水溶性の植物色素のなかでも特に安定なフラボンおよびフラボノール類が主として研究の対象であったが, 20 世紀に入り生化学的に重要な意義を持つ化合物が注目され, アントシアニン, クロロフィル, カロチノイドなどの化学構造が相次いで解明された。さらに近年のスペクトル機器の急速な技術革新により, 分析試料の微量化と構造情報の高精度化が同時に実現されるようになり, 高分子で複雑な構造を有する数多くの天然色素が解明され, 今日では天然色素は化学構造別に主にフラボノイド, カロチノイド, キノン, アルカロイド, ポルフィリンなどの化合物群に大別されるほどになった¹⁾。現在, 天然色素の研究は性状, 構造, 化学合成, 生合成, 生体機能など多岐にわたり, 有機化学に留まらず生命科学をはじめ広範な分野に影響を与え続けている。しかし個々化合物の化学構造の情報無しでは各研究分野での議論は困難であり, 化合物の化学構造を決定することは天然色素に限らず天然有機化合物を研究する上では最も重要なファクターとなる。本稿では天然素材から色素の抽出, 分離, 精製, さらに単離した色素の構造解析について, 特に重要な役割を果たしている質量分析法および核磁気共鳴スペクトル法を中心に実例を挙げて解説する。

2. 抽出, 分離, 精製

天然有機化合物を利用する材料はできるだけ新鮮なものを用いることが望ましいが, 一般に材料として新鮮品か乾燥品を用いるかは, 研究対象とする化合物の安定性などに依存する。いずれの場合も材料の基原植物などの学名, 品種, 採集時期・場所, 使用部位などを明確にしておく必要がある。

抽出は原理的にいかなる有機溶媒も使用可能であるが, 目的の物質を良く溶出し, 濃縮操作も容易な溶媒を主眼とする。一般に塩類, アミノ酸, ペプチド, アルカロイドの塩, 配糖体, ポリフェノールなどの水溶性物質は極性の高い溶媒に, 炭化水素, 精

油, 油脂, カロチノイド, ステロイド, クロロフィルなどの脂溶性物質は逆に極性の低い溶媒に溶けやすい。抽出に繁用される溶媒として, 主に極性の小さな順に石油エーテル, ヘキサン, ベンゼン, クロロホルム, ジクロロメタン, エーテル, 酢酸エチル, アセトン, ブタノール, イソプロパノール, エタノール, メタノール, 水などがあるが, 平成 6 年の「水質汚濁防止法」の改正により有機塩素化合物やベンゼンなどの排水基準が厳しくなり, それらの溶媒による抽出操作については溶媒の回収に十分配慮を施すか, あるいは使用を避けるべきである。一般に抽出には時間をかけて, 目的成分を完全に抽出できるように心掛ける。しかし煮沸条件下で抽出する場合, 加温抽出によりその効率は上がるが, 抽出目的の化合物が熱に不安定な場合は低温で行う必要がある, 抽出中の化合物の変化の恐れと抽出効率の良し悪しは相反する関係にならざるを得ない。一方, 目的成分が不明または両極性の成分を目的とした抽出を行う場合は, 種々の化合物への溶解度が大きく, 安価で, しかも濃縮操作が容易なメタノールを抽出溶媒として用いることが多い。濃縮して得られたメタノール抽出エキスは, たとえばエーテルで脂溶性成分を除き, 続いて酢酸エチル, *n*-ブタノールなど極性を順次上げて抽出し, ある程度極性の異なるエキスを得ることができる。抽出溶媒の除去はできるだけ低温で行うことが望ましく, ロータリーエバポレーターやフラッシュエバポレーターなどを利用するとよい。

以上の方法により得られたエキスはさらに分離, 精製のステップを経て目的化合物の単離に至るが, その手段として分別沈殿, 再結晶, 分別蒸留, 昇華, 向流分配, 液滴向流分配, クロマトグラフィーなどを行うが, 最近ではとくにクロマトグラフィーの利用法が著しく進歩しており, その使用頻度も高く, とくに天然色素においては不可欠な実験手段となっている。カラムクロマトグラフィーは比較的少量の試料の分離に用いられるが, まず種々の固定相をカラムに充填し, その上部に試料をのせ, 溶媒を通過させて分離を行う。固定相の種類によって吸着(シリカゲル, アル

〔氏名〕 いう ひでゆき
 〔現職〕 岡山大学大学院自然科学研究科助手
 〔趣味〕 音楽鑑賞, テニス
 〔経歴〕 1990 年岡山大学大学院薬学研究科修士課程修了, 同年日清製粉株式会社医薬研究所入社, 1993 年岡山大学薬学部助手, 2003 年岡山大学大学院自然科学研究科助手, 現在に至る。2002 年 INRA, フランス, 文部科学省在外研究員。博士(薬学)。

平成 15.11.12 受理

Isolation and Structural Elucidation of Natural Pigments
Hideyuki ITO

*岡山大学大学院自然科学研究科

岡山県岡山市津島中3-1-1 (〒700-8530)

ミナ, フロリジル, 炭酸カルシウム, ポリビニル系など), 分配 (セルロース末, セライト, シリカゲル, 活性炭, デンプンなど), イオン交換 (イオン交換樹脂, ポリマー系など), ゲルろ過 (セファデックス, ポリマー系など) などのクロマトグラフィーを用いる。たとえば, シリカゲルカラムクロマトグラフィーの場合, 極性の大きな試料は固定相に強く吸着され, また移動相として用いる溶媒の極性が大きいほど, 試料は早く移動し, 溶出する。したがって極性の大きく異なる2種以上の溶媒を用い, その比率を適当に組合わせることにより極性を連続的に変化させることができ, 混合成分の吸着力の弱いものから順次溶出され, 結果として良好な分離をもたらす。この方法は比較的極性の低い化合物が対象となる。一方, 各種配糖体, 糖, アミノ酸などの比較的極性の高い化合物の分離には, 吸着クロマトグラフィーよりも, 固定相にはオクタデシルシリル基 (ODS 基) などの低極性置換基で修飾されたシリカゲルを, 移動相には水系の高極性溶媒を用いる逆相型分配クロマトグラフィー, またはポリスチレン, ポリビニル系のクロマトグラフィーなどが便利である。さらに, アントシアンなどのような分極した物質を分析する場合は, セルロース・アセテート膜を支持体とする電気泳動法が用いられることがある。通常, 上述の分離方法を組合わせたり, 繰り返したりすることにより化合物の精製を行う。また, 分取薄層クロマトグラフィー (TLC) や分取高速液体クロマトグラフィー (HPLC) なども化合物の精製手段としては有効である。

とくに天然物は純粋な場合と不純な状態とでは溶解度や安定性など性質が随分異なる場合があるので注意を要する。いずれの分離, 精製方法においても, TLC または HPLC などを用いて目的化合物の追跡およびその精製度を確認しなければならない。

3. 化学構造の決定

天然物の確認, 同定, 新規化合物の化学構造の決定は古くは元素分析, 融点, 沸点, 呈色反応, 分解反応, 誘導体の合成などに頼らざるを得ず, 多量の試料, 長い時間と労力を必要としたが, 赤外吸収スペクトル (IR), 紫外・可視吸収スペクトル (UV・VIS), 質量分析法 (MS), 核磁気共鳴法 (NMR) など, 近年の各種機器分析技術の急速な進歩に伴って, 非常に複雑な構造を持つものや微量試料でも, 正確かつ短時間でその化学構造を決定することが可能となってきた。IR は各原子間の振動状態に起因するもので, とくに官能基の検出とその周辺の部分構造を知るために有効である。UV・VIS は分子の不飽和度を含む部分構造などについて, MS は分子量に関する情報が得られる。もっとも多くの情報を与える NMR は, 原子間の結合状態, 分子の骨格あるいは立体構造などについて知ることができる。その他, 元素分析からは分子式を決定することができるが, 試料が微量で元素分析が行えない場合は高分解能 MS を行えばよい。また分子内に不斉中心がある化合物の立体の情報を得るには円二色性 (CD) スペクトルが有効で, 化合物が単結晶で得られた場合には X 線解析により最良の立体情報が得られる。化学構造を決定することは, 通常一種のスペクトルデータからでは不可能であり, いろいろなスペクトルデータの組合わせによって初めて推定構造式を導くことができる。これらスペクトルデータの測定は自動化されているものが多いが, やはり測定データの解析には研究者の「経験」

と「慣れ」が必要となってくる。もちろんスペクトルデータの結果だけでは全構造の判明は困難な場合があり, その場合は各種誘導体の調製や分解反応などの推定構造への化学的な裏付けも重要となってくる。

各種機器分析のなかでも, とくに MS と NMR は最近その技術の進歩が著しく, 化学構造を決定する上では欠かすことのできないツールとなっている。以後, それら分析方法の基本的な測定原理や解析方法の実際について触れる。

4. 質量分析法 (MS)

質量分析の原理は試料を何らかの方法でイオン化して, 得られたイオンを質量/電荷 (m/z) に従って分離し, 各イオンの強度を測定, 試料の分子量を決定する。その分析計は主に試料をイオン化する部分とイオンを分離・検出する部分から構成されるが, それら構成要素が異なる様々な分析方法がある。たとえば, イオン化法には電子衝撃イオン化 (EI), 化学イオン化 (CI), フィールドイオン化 (FI), 高速原子衝撃法 (FAB), エレクトロスプレーイオン化 (ESI), 大気圧化学イオン化 (APCI), マトリックス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI) など, 分離・検出法には磁場型, 四重極型, 飛行時間型などがある。FAB には磁場型, ESI には四重極型, MALDI には飛行時間型の組合わせで用いられることが多い。イオン化法のなかでも ESI と MALDI の発明は 2002 年のノーベル化学賞の受賞にも繋がったことは記憶に新しいところである。

本項ではその機器の普及もめざましく, 多くの天然物に適用され, さらに低分子から高分子化合物まで広範な試料において使用頻度が高い ESI-MS について説明する。

4.1 エレクトロスプレーイオン化 (Electrospray ionization; ESI) 法の特徴

ESI-MS は高極性化合物, 難揮発性化合物や電荷のある金属錯体などの質量分析に適している。ESI の原理を図-1 に示す。試料溶液は高電圧を印加したキャピラリーの先端から噴霧され, 高度に荷電された霧状の液滴となる。窒素ガスなどの不活性ガス (ネブライザーガス) により吹き付けられた溶媒分子は電氣的に中性で蒸発し, イオンを含む液滴が大気圧下で生成する。クロウン反発力により液滴表面にイオンが集まり, 液滴の乾燥が進み微小になり, 最後には臨界状態に達してイオンが微小液滴から放出される。このように液相から気相へと直接蒸発, 放出されたイオンは細孔を通して高真空になっているイオンの分離・検出部へ導入される。

ESI-MS は四重極型検出器と組合わせて使用することが多い。四重極は4本の円柱状電極からなり, 相対する電極を電氣的に連結し, それぞれに直流と高周波交流を重ね合わせた電圧をかけて双曲線型の高周波電場をつくる。四重極の一端にイオン源を置き, 他方にイオン検出器を配置するが, 磁場型に対してイオンは低い加速電圧で押し出されてイオン源からフィルターにはいると, 四重極の電極間距離に応じてある一定の m/z イオンのみ振幅が大きくなり安定な振動を保ちながらイオン検出器に到達する。他のイオンは振幅が大きくなり電極に衝突してイオン検出器では検出されない。このため特定のイオンを分離することができる。実際, 分子量2,000程度の質量範囲の測定が現実的で, 分

図-1 ESI法によるイオン化の原理

図-2 Alienanin B の ESI-MS スペクトル

解能を上げると安定領域が狭くなり感度の低下を伴うので、高分解能分析には不向きであるが、加速電圧は低いので ESI 法や APCI 法などに繁用される²⁾。

4.2 ESI-MS 分析の測定

ESI-MS 分析は通常、低～中分子量化合物（分子量数百～数千）からペプチド、タンパク質などの高分子量化合物（分子量数万以上）の測定にも有効で、とくに高分子量化合物の場合は (M+nH)ⁿ⁺ や (M-nH)ⁿ⁻ などの多価イオンが生成し、検出できる。電荷が大きくなると、これら多価イオンは低分子量領域に検出できることから、機器の分子量測定許容範囲内で高分子量化合物の質量分析が可能となる。

試料はメタノールやアセトニトリルなどの高極性の溶媒あるいは水との混合溶媒に完全に溶解させ、目的化合物のイオン化効率や、機器の測定感度にも依存するが試料濃度を 0.01% 程度に調整する。高濃度の試料注入は、機器の汚染、感度の低下を招くので避ける。一般にアミンなど塩基性化合物の場合は溶液を弱酸性にしてポジティブイオンモードで測定し、カルボン酸などの酸性化合物の場合はネガティブイオンモードで測定する。通常ポジティブモードの方がイオン化効率は高いが、酸性度が高い化合物以外は弱酸性溶液にして、ポジティブモードで測定した方が良好な結果が得られることがある。移動相は水、メタノール、アセトニトリル、エタノール、2-プロパノールなどが一般に用いられる。ポジティブイオンモードの場合、移動相の pH の低下、すなわち移動相中のプロトン濃度を上げることで、イオン化効率が上

がり、結果として感度が上昇する。pH を下げるためには揮発性有機酸が有効で、ギ酸、酢酸などが良く用いられ、0.1% 程度移動相に添加する。ただし、HPLC 分析で使用されるリン酸緩衝液などは揮発性が低いため、ESI-MS には使用できない。筆者らの研究グループは 0.1% の酢酸アンモニウムを添加した 50% メタノール-水を移動相として使用することにより、タンニンをはじめとするポリフェノール類を (M+NH₄)⁺ イオンピークとして高感度に検出できることを見出ししている³⁾ (図-2)。

ESI は同じ難揮発性化合物に対して有効な FAB とくらべて、試料に大きなエネルギーを与えない非常にソフトなイオン化法である。そのため結合開裂を引き起こし難くなるために分子イオンによるピークが検出され易く、さらにフラグメントイオンを生じにくい。ただし、サンプリングコーンの電圧などの設定を変えることにより、フラグメンテーションの強弱を調節することができる。このように生成したフラグメントイオンを利用し、ペプチドの配列決定などに応用される。エンジュの蕾、ソバやヘンルーダなど、植物に広く分布している天然フラボノイド黄色色素である Rutin の ESI-MS スペクトルを図-3 に示すが、ここではサンプリングコーンの電圧を調整し、フラグメントイオンの生成を容易にした結果、アグリコン（非糖部分）すなわち Quercetin に結合している二つの単糖の配列を知ることができる。

一方、移動相が気体であるガスクロマトグラフィーは質量分析計と組合わせて GC-MS としてよく利用されている。それに対して液体を用いる HPLC では真空部分を有する質量分析計との連

図-3 Rutin の ESI-MS スペクトル

結は困難であったが、種々インターフェイスが開発され、HPLCとMSを組合わせた HPLC-ESI-MS が開発されるようになった。さらに MS-MS も導入されて、いまでは HPLC-ESI-MS-MS として、薬物動態解析、ペプチドやタンパクの分析、臨床診断など様々な分野に応用されている^{4,5)}。

5. 核磁気共鳴法 (NMR)

前述のように NMR は開発、普及、発展など著しい進歩を遂げているが、超伝導装置は今では 600 MHz レベルは珍しくはなく、800 さらに 920 MHz が実用化されている。測定面でも二次元 NMR が出現して以来、新しいパルス系列に関して多くの発表がなされ、多核 NMR、固体 NMR、3 次元 NMR 法、NMR イメージング (MRI) 法、さらに HPLC-NMR 法など種々の測定方法が今もなお開発され続けている。化合物の構造解析を行う上で、それら測定方法にはどのような特徴があり、実際にどのような構造の情報を提供してくれるのかを把握しておく必要がある。ここでは基本的な二次元 NMR の解析方法について諸例を挙げて解説する。

5.1 各種二次元 NMR の特徴

横軸に周波数次元、縦軸に強度を持つものを一次元 NMR スペクトルと称するのに対し、横軸、縦軸に二つの周波数次元を持ち強度を contour plot または stacked plot で表したものが二次元 NMR である。

各種二次元 NMR を測定する前に、測定の目的、計画、試料の量、得たい構造の情報の種類などによって測定項目を絞る。基本的な二次元 NMR 手法⁶⁻¹⁰⁾の一般的な名称と、その方法によって得られる情報について以下にまとめる。

1. ¹H-¹H COSY (correlated spectroscopy), TOCSY

(total correlated spectroscopy) [または HOHAHA (homonuclear Hartmann-Hahn)] : スピンスピン結合している炭素骨格上のプロトン进行特定する。

2. HMQC (heteronuclear multiple quantum coherence), HSQC (heteronuclear single quantum coherence), HETCOR (heteronuclear shift correlation) : 直接結合している C-H が帰属できる。

3. HMBC (heteronuclear multiple bond connectivity), COLOC (correlation *via* long-range coupling) : 分子中の四級炭素やヘテロ元素を含む場合に、これらを介した遠距離カップリングの C-H が帰属できる。通常は 2~3 の共有結合を介した相関が出る。

4. NOESY (nuclear Overhauser enhancement and exchange spectroscopy), ROESY (rotating frame NOE spectroscopy) : 空間的に近いプロトンどうしがわかる。

5. INADEQUATE (incredible natural abundance double quantum transfer experiment) : プロトンの有無にかかわらず、どの炭素とどの炭素が直接結合しているかがわかる。

5.2 同種核間二次元化学シフト相関法 —COSY—

プロトンの同種核間二次元 NMR 化学シフト相関法は COSY と略され、二次元 NMR のなかでも最もポピュラーな手法となっている。

通常 COSY スペクトルでは、縦軸、横軸とも ¹H の化学シフトを設定し、スペクトルでは両軸に通常の一次元スペクトルが描かれる。¹H-¹H COSY スペクトルではあるプロトンから系統的にクロスピークを追いかけることにより、簡単にスピンスピン結合しているひとつの繋がったプロトンの系を見出すことができる。

図-4 Chrysophanolの化学構造とその ^1H - ^1H COSY スペクトル (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

ダイオウやカスカラサグラダなどに含まれるアントラキノン系色素の Chrysophanol を例として、図-4 にその ^1H - ^1H COSY スペクトルを示す。スペクトルを見ると、対角に現れているピーク以外の場所に現れているピークがクロスピークとなる。Chrysophanol の場合、まず拡大図の H-5 のシグナルに注目し、上方から垂線を引くと、H-6 のシグナルに至り、補助線をたどると H-7 のシグナルに当たる。このことからこれら三つのスピグが隣り合っていることがわかる。また、H-2 と H-4 は互いにベンゼン環上のメタカップリングによるクロスピークが認められる他、それらシグナルはさらに 3- CH_3 のシグナルともクロスピークを示しており、これはアリルカップリングによるものである。

一方、COSY のバリエーションのひとつに COSY-45 スペクトルという手法があるが、これは 2 本の結合を通したジェミナルカップリングおよび 3 本の結合を通したビシナルカップリングが、それぞれクロスピークの傾斜の違いから区別することができるものである。

また、Chrysophanol の H-5、H-6、H-7 のように 3 スピグ系の場合、隣り合ったプロトンどうしの相関が観察される ^1H - ^1H COSY では H-5 と H-7 のクロスピークが認められないが、リレー法である TOCSY (HOHAHA) の測定を行うと、スピグスピグ結合しているスピグは全て繋がって見える。この方法はペプチドや糖などのように幾つかスピグ系として孤立したユニットが

繋がっているような化合物に対しては非常に有効な手段となる。

5.3 異種核間二次元化学シフト相関法 —HMQC, HSQC, HMBC—

異種核間二次元化学シフト相関法では、一方の軸には ^1H の化学シフト、他方の軸には ^{13}C の化学シフトを設定する。炭素にプロトンが結合していると、 ^1H と ^{13}C は ^{13}C の混成状態に応じて大きくカップリング($^1J_{\text{CH}}$)する。その値は sp^3 ($\sim 125\text{ Hz}$)、 sp^2 ($\sim 150\text{ Hz}$)、 sp ($\sim 250\text{ Hz}$)で、直接結合しているC-Hを観測するHETCOR, HMQC, HSQCなどの場合は、 $^1J_{\text{CH}}$ のみが観察されるように設定される。HETCORは異種核スピンのプロトンの化学シフトによる変調をかけて異種核スピン側で測定するのに対し、HMQC, HSQCは異種核スピンの周波数をプロトン側に変調して観測するので感度がよい。HMQCはプロトン間の二量子遷移による分裂が起こり、クロスピークがブロードになる場合があるが、HSQCは磁化移動に一量子遷移を利用するためにクロスピークがブロードにはならない。

ChrysophanolのHSQCスペクトルを図-5に示した。縦軸に ^1H 、横軸に ^{13}C 化学シフトを設定しているが、プロトン側から右へ水平線をたどるとクロスピークにあたるが、これを上方にたどると、そのプロトンが直接結合している炭素のシグナルにあたる。その他の相関も同様にたどれば、あらかじめプロトンの帰属がついていると炭素の帰属が容易となる。しかし、この場合はChrysophanolの9つの四級炭素のシグナルはプロトンとの相関がない。このような場合、四級炭素の帰属に非常に有効な手法であるCOLOC, HMBCの測定を行うと、通常2または3の結合を介した遠距離カップリングのC-Hが帰属できる。COLOCはHETCORと同様、異種核側スピンの測定で、感度が悪いが、HMBCはプロトン側観測のために感度が良く、現在ではHMQC, HSQCと同様、HMBCを用いるのが一般的である。HMBCの場合は通常 $^3J_{\text{CH}}$ を5~10 Hzに設定して観測を行う。

図-6にはChrysophanolのHMBCスペクトルを示したが、もっとも低磁場側に見られる分子内水素結合した2本の水酸基のシグナル、すなわち1-OHからはC-1とC-1a、8-OHからはC-8とC-8aへの相関がそれぞれ観察され、H-4, 5からはC-10のケトンカーボンにそれぞれクロスピークが認められる。また3-CH₃プロトンからはC-3と2-ボンド、C-2, 4にそれぞれ3-ボンドの相関が見られ、メチル基が3位に結合していることがわかる。このように四級炭素の帰属を行うことができる。また、本法は分子内の構成ユニット間の結合様式に関しても有用な情報を提供してくれる。たとえば図-7はバラ科植物の*Coleogyne ramosissima*から得られた黄色物質である新規フラボノイド配糖体^{11,12)}の主なHMBC相関を矢印で示したが、糖のアグリコンへの結合部位や糖どうしの結合様式に関する構造の情報が、HMBCスペクトルにより一度に得られる。どの測定法にも該当するが、分子量が大きくなると ^1H 、 ^{13}C ともシグナルの数が多くなるので、時として鍵となるシグナルが重複し、解析を困難にする場合がある。そのような時はNMRの測定溶媒や測定温度などを変えることにより、シグナルの重複を回避し、解析を可能にする場合がある。

5.4 核Overhauser 相関NMR —NOESY—

核Overhauser効果(nuclear Overhauser effect; NOE)とは、スペクトル中のある共鳴シグナルを飽和させたときに、空間的に近傍にある他の共鳴シグナルの強度が変化する現象である。NOESYスペクトルは空間的に近いプロトン間のNOEを同時に相関ピークとして観測することができる二次元スペクトルである。図-8はChrysophanolのNOESYスペクトルであるが、縦軸、横軸ともに ^1H の化学シフトを設定している。H-6はそのオルト位のH-5およびH-7のシグナルとそれぞれクロスピークが認められ、また3-CH₃のシグナルはH-2およびH-4のシグナルとの間に明瞭なクロスピークが観察される。したがって、これら

図-5 ChrysophanolのHSQCスペクトル (600 MHz, DMSO- d_6)

図-6 Chrysophanol の HMBC スペクトル (600 MHz, DMSO- d_6 , $^3J_{CH}=8$ Hz)

図-7 *Coleogyne ramosissima* から単離したフラボノイド配糖体の HMBC 相関 (500 MHz, DMSO- d_6 , $^3J_{CH}=8$ Hz)

プロトンは互いに空間的に近いことがわかる。NOESY の測定する際、混合時間の長さによって NOE の出方が変わってくる。これは分子量や測定溶媒または化合物のタイプによっても幅があるが、たとえば分子量 500 以下で重クロロホルム溶液の場合、混合時間は数秒オーダーであるが、分子量が大きくなると数十ミリ秒まで短くしないと NOE が観測されない。また、分子の回転相関時間と測定周波数の関係にもよるが、低分子化合物の場合に NOE は正であるが、高分子化合物の場合は負になり、分子量が 1,000 前後の化合物では NOE がゼロになる場合がある。このような化合物の場合 ROESY を測定すると正の NOE が観測でき

る。しかし設定によっては TOCSY のようなリレー相関が出る場合があるので注意を要する。NOESY は最近タンパクの高次構造の解析などにも応用されており、分子の立体情報を得るには強力なツールとなる。

6. おわりに

天然色素の分離技術と構造解析について述べてきたが、紙数の関係で基本的な手法のみとなった。天然素材から化合物を単離し、その構造を解明するまでの間、分離、精製のステップに大方の時間を費やすことが普通で、根気と忍耐を必要とする。また最近では、天然物の構造解析を行えるコンピュータソフトも出現し¹³⁾、構造解析が簡単に行える環境になってきているが、構造解析のステップはオートメーションに頼らず、様々な機器分析データから未知の化合物の構造式を構築して行く過程が研究の醍醐味でもある。いかに効率良く、正確に構造解析するかは研究者の腕の見せ所でもあり、それにはある程度の経験が必要となってくる。天然物の機能性開発あるいは広範な分野への研究展開には化合物の化学構造を明らかにし、その化学的性質を知らずには始まらない。今後の分離、精製技術、各種機器分析の益々の進展に期待するものである。

文 献

- 1) 林孝三編：植物色素，p. 3-11，養賢堂（1980）。
- 2) 日本化学会生体機能関連化学部会編：生体機能関連化学実験法，p. 161-178，化学同人（2003）。
- 3) T. Yoshida, T. Hatano, H. Ito, T. Okuda : Atta-ur-Rahman (Ed.) Studies in Natural Products Chemistry, Vol. 23, p. 423-424, Elsevier Science B. V. (2000)。
- 4) 原田健一，岡尚男編：LC/MS の実際，p. 101-208，講談社サイエンティフィック（1996）。

図-8 Chrysophanol の NOESY スペクトル (600 MHz, DMSO- d_6)

- 5) 丹羽利充編著：最新のマスペクトロメトリー，p. 57-241，化学同人 (1995)。
- 6) 日本化学会編：第4版実験化学講座5，NMR，p. 32-50，丸善 (1991)。
- 7) J. K. M. Sanders, B. K. Hunter：Modern NMR Spectroscopy, p. 97-204, Oxford University Press (1993)。
- 8) ラーマン著，通元夫，廣田洋訳：最新NMR，p. 173-269，シュプリンガー・フェアラーク東京 (1988)。
- 9) 佐々木喜男編著：高分解能核磁気共鳴入門，p. 115-202，廣川書店 (1991)。
- 10) 中西香爾編，楠見武徳，岩下孝，直木秀夫著：チャートでみる超伝導 FT-NMR，p. 62-161，講談社 (1986)。
- 11) H. Ito, Nishitani, T. Konoshima, M. Takasaki, M. Kozuka, T. Yoshida：Phytochemistry, 54, 695-700 (2000)。
- 12) H. Ito, M. Miyake, E. Nishitani, K. Mori, T. Hatano, T. Okuda, T. Konoshima, M. Takasaki, M. Kozuka, T. Mukainaka, H. Tokuda, H. Nishino, T. Yoshida：Cancer Letters, 143, 5-13 (1999)。
- 13) http://www.acdlabs.com/products/spec_lab/complex_tasks/str_elucidator/

用語解説

(1) MS-MS 法

タンデム質量分析法とも呼ばれ，通常，質量分析装置を2台連結し，イオン源で生成した分子イオン種やフラグメントイオンのうち特定のイオン (precursor ion) を第一の装置で選別通過させ，第二の装置にはいる前に collision cell や collision tube の中で，不活性ガス (He, Ne, Ar, Xe) などと衝突させ，励起分解させることにより生成したイオン種 (fragment ion) を，第二の装置で検出する方法。

(2) NMR イメージング (MRI) 法

近年急速に発展した NMR 法のひとつで，人体の 60% を占める水分の分布を水素原子核の NMR を用いて二次元画像として正確に決定し，その組織 (細胞) 内における水分子の生理情報を得，病体変化の早期診断に応用するものである。特にこの生理情報は核磁気緩和時間を通じて変化が現れ，細胞レベルでの早期診断が可能となってきた。この技術は診断医学の分野において革新的な変化をもたらし，現在多くの医療現場で実用化されている。