紅藻ハケサキノコギリヒバの成分に関する研究*

蔵多一哉・網谷孝・矢部和夫

(1973年6月4日受理)

Studies on the Constituents of a Red Marine Alga,
Odonthalia corymbifera

Kazuya KURATA**, Takashi AMIYA**, and Kazuo YABE***

Eight crystalline substances were isolated from a methanol extract of the red marine alga, *Odonthalia corymbifera*, and investigated by ultraviolet absorption, infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance, mass spectrometry and chemical methods. Three of them were identified as 2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl methyl ether, 2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl alcohol and 2,3-dibromobenzyl alcohol 4,5-disulfate dipotassium salt respectively. Another three compounds were shown to be L-phenylalanine, cholesterol and palmitic acid. The remaining two compounds were a tetrabromophenol $C_{13}H_8O_4Br_4$ m.p. (decomp.) $184-186^\circ$ and carboxylic acid $C_7H_6O_6$ m.p. $132-134^\circ$. Elucidation of the structures of the latter two compounds is now in progress.

海藻の化学成分に関する研究は、近年しだいに各方面で行われるようになってきたが、いまだ未知の分野といつてもよい。紅藻フジマツモ科の海藻は、臭素含量が多いとされており、斎藤ら¹⁾がその1種モロイトグサ *Polysiphonia morrowii* から 5-bromo-3,4-dihydroxybenzaldehyde (A) を単離し、構造を明らかにして以来、海藻の含臭素化合物が相ついで得られ、構造が決定されてきている。特に入江ら²⁻⁶⁾がフジマツモ科の海藻から8種の新しい含臭素化合物を単離し、化学構造を明らかにしたことは高く評価されている。しかしながら、含臭素化合物の生体内における機能や代謝については、いまだ明らかでなく、著者らは、天然物有機化学や生物化学的見地、あるいは含臭素化合物がフジマツモ科の海藻から特異的に発見されているという chemotaxonomy の立場から興味をもち、まずハケサキノコギリヒバ *Odonthalia corymbifera* の成分の検索を試みた。本海藻の成分については、松本ら^{****)}が、抗菌性物質のスクリーニング中に1種のブロムフェノール(後に、勝井ら²⁾により 2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl methyl ether (D₁) であることが確認された。)を単離しているのみで、他に報告はみあたらない。

実験方法

融点はすべて未補正。紫外線吸収スペクトル (UV) は日立 124 Spectrophotometer, 赤外線吸収スペクトル (IR) は日立 EPI-G2 型, 核磁気共鳴吸収 (NMR) は日立 R-20B 型, 日本電子 JEOL, 3H-60 型で tetramethylsilane を内部基準として測定し, NMR の表示は, singlet は s と略記した。質量スペクトル (MS) は日立 RMU-4E 型を用いて測定した。

* 本研究の一部は昭和46年10月2日、日本水産学会秋季大会および昭和47年4月4日、同春季大会において講演発表した。

** 函館工業高等専門学校工業化学科 (Department of Industrial Chemistry, Hakodate Technical College, Hakodate, Japan)

*** 北海道教育大学釧路分校化学教室 (Laboratory of Chemistry, Kushiro Branch, Hokkaido University of Education, Kushiro, Japan)

**** 松本 毅・香川昌平: 日本化学会第17年会講演要旨集, p. 278 (1964)

Fig. 1. Bromophenols isolated from red algae and their derivatives.

試料 海藻は、1969年-1971年の7月下旬から8月中旬の間に函館近郊の海岸で採集したものを風乾して使用した。

抽出 1969年に採集した海藻 6 kg からの抽出方法の概略を Fig. 2 に示した。海藻をミキサーで粉末とし、メタノール約 18 l に 5-6 日間室温浸漬抽出、濾過後抽出残渣にさらにメタノールを加えて同様の操

Fig. 2. Procedures for fractionation of methanolic extract from a red marine alga, *O. corymbifera*

作を2回繰り返した。抽出液を減圧濃縮後、デンケーター内で乾燥して粉状物質とし、ソックスレー抽出器でエーテル抽出した。エーテル不溶部 (約 600 g) は、大部分が無機塩類であるため、水 300 ml を加えて 30 分間加熱、遠心分離 (4000 rpm) して上澄液を分取し、減圧濃縮後、激しく攪拌しながらエタノール濃度が約 80% になるようにエタノールを加え、生じた沈殿物を遠心分離で除去した後、溶液を減圧濃縮した。このものはまだ多量の無機塩を含むため、さらにイオン交換樹脂 Amberlite IR-120 (H^+ type), Amberlite IR-4B (CO_3^{2-} type) で処理し、通過液を減圧濃縮した。濃縮物 (約 110 g) は、水 1 l に溶解後、武田薬品製クロマトグラフィー用活性炭 350 g を用いたカラムクロマトグラフィーに付し、水、10% エタノール、30% エタノールで順次溶出した。

エーテル可溶部は、5% 苛性カリ溶液、1 N 塩酸溶液で順次酸性、塩基性 (微量)、中性成分 (8 g) に分別した。酸性成分は、5% 苛性カリ溶液を塩酸酸性にすると、タール状の沈殿と上澄液に分かれるため、上澄液を酸性成分 I (6 g)、沈殿物 (95 g) を酸性成分 II としてシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製を行なった。

さらに 1970 年に採集した海藻 5 kg を上述のごとくメタノールで室温浸漬抽出、減圧濃縮後、ただちにエーテルを加えて、エーテル可溶部を塩基性、中性、酸性成分に分別した。酸性成分は、前記と同様に、タール状沈殿物を生じたため、上澄液を酸性成分 I (8 g) としてクロマトグラフィーにより精製した。

また 1971 年に採集した海藻 500 g を 80% メタノール 4 l で 3 時間加熱抽出、減圧濃縮後、赤橙色の無機塩を含む粗結晶を得た。

シリカゲルカラムクロマトグラフィーおよび薄層クロマトグラフィー (TLC) シリカゲルカラムクロマトグラフィーは、和光純薬製ワコーゲル C-200 を使用し、溶離剤としてベンゼン、ベンゼン-エーテル (19:1, v/v, 以下同様)、ベンゼン-エーテル (9:1)、メタノールを順次用いた。溶出液は減圧濃縮後、Kiesel gel G と展開溶媒としてベンゼン、ベンゼン-ジオキサノ-酢酸 (90:25:4) あるいはベンゼン-エタノール-酢酸 (45:8:4) を用いる TLC により各成分の検索を行なった。スポットの検出は濃硫酸を噴霧後、5 分間 100-110°C で加熱して行なった。また 2% 塩化第二鉄溶液を噴霧し、生じた色調により定性的にフェノールの検出を行なった。

実験結果および考察

L-フェニルアラニン エーテル不溶成分を予備的にペーパークロマトグラフィーで調べたところ、*o*-アミノフェノールによる還元糖の発色はなく、過ヨウ素酸塩試薬陽性のスポットが数個みられたことから、フロリドシッド、イソフロリドシッド、マンニット、 α, α -トレハロースのような低分子量の糖類が含まれているものと思われ、活性炭カラムクロマトグラフィーにより精製を行なった。しかしながら、結晶性物質としては、30% エタノール溶出区分から糖成分以外の化合物を得たのみであつた。このためペーパークロマトグラフィーにより過ヨウ素酸塩試薬陽性の各成分を分離し、濾紙から抽出後、2 N 硫酸溶液中 2 時間 100°C で加水分解し、予想されるグルコース、ガラクトースの検出を試みたが、クロマトグラム上で *o*-アミノフェノールによる発色はなく、わずかに数種の溶媒でマンニットの存在が推定されたにすぎなかつた。

30% エタノール溶出区分より得た結晶物質は、ニンヒドリン陽性で、融点を測定すると 200°C ぐらいからしだいに着色し、熱分解をはじめた。本品の UV, IR は、味の素 K. K. 製の標品のそれと全く一致したことから L-フェニルアラニンと同定した。

コレステロール 中性成分から結晶性物質を得、酢酸エチルから再結晶し、m.p. 146-148°C の無色鱗片状晶 130 mg を得た。IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1} : 3400, 2900, 1470, 1050。コレステリルアセテート⁸⁾: 本物質 50 mg に無水酢酸 0.5 ml を加えて [1 時間還流冷却器を付して加熱後冷却し、反応生成物をメタノールで洗浄後、酢酸エチルより再結晶して m.p. 113-114°C のアセチル誘導体を得た。IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1} : 1730。コレステノン⁹⁾: 本物質 50 mg を二臭化コレステリンを経て無水クロム酸による酸化を行ない、メタノールから再結晶して m.p. 82-84°C のコレステノンを得た。IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1} : 1680。

本物質および上記誘導体の IR は、すべて相当する標品と一致、またコレステロール、コレステリールアセテートは、混融による融点降下を認めず、中性成分からの結晶性物質をコレステロールと同定した。

Compound I 上述の海藻 6 kg の酸性成分 I をデシケータ内で濃縮し、0.1 g の粗結晶を得た。また海藻 5 kg の酸性成分 I を同様に濃縮後、後述のごとく得られた Compound IV の結晶 400 mg を濾過後、濾液をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、ベンゼン-エーテル (19: 1) 溶出部より粗結晶 1 g を得た。ベンゼン-酢酸エチルよりそれぞれ再結晶を行ない m.p. 132–134°C の無色針状晶を得た。Anal. Calcd. $C_7H_8O_6$: C, 44.68; H, 4.76. Found: C, 44.72; H, 4.41. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3025, 2970, 1735, 1705, 1430, 1295, 1205. NMR (CD_3SOCD_3) τ : 7.5 (2H, s), 6.42 (3H, s), 6.22 (2H, s), 3.20 (1H, s). この化合物は *trans*-アコニット酸の誘導体と推定されるが、その構造については現在検討中である。

パルミチン酸 酸性成分 II のシリカゲルカラムクロマトグラフィーのベンゼン溶出部の最初の画分より粗結晶を得、エタノールより再結晶し m.p. 60–61.5°C の無色鱗片状晶を得た。Anal. Calcd. $C_{16}H_{32}O_2$: C, 74.94; H, 12.58. Found: C, 75.02; H, 13.06. 本物質の融点は、パルミチン酸の標品の融点 63–64°C よりやや低い、IR で完全に一致したためパルミチン酸と同定した。

2,3-Dibromo-4,5-dihydroxybenzyl methyl ether (Compound II, D₁) 酸性成分 II のシリカゲルカラムクロマトグラフィーのベンゼン溶出部でパルミチン酸が溶出しきつた後の画分とベンゼン-エーテル (19: 1) 溶出部の再クロマトグラフィーおよび酸性成分 I から Compound I を濾過した後の濾液をカラムクロマトグラフィーに付し、ベンゼン溶出部より得られた化合物をベンゼン-メタノールより再結晶を行ない m.p. 111–112°C の無色針状晶を得た。Anal. Calcd. $C_8H_8O_3Br_2$: C, 30.80; H, 2.58; Br, 51.23. Found: C, 30.75; H, 2.52; Br, 50.78. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ $m\mu$: 293 ($\epsilon=2900$). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3470 (OH), 1608, 1575, 1425, 875 (ベンゼン核), 3000–2800, 1465, 1370 (アルカン), 1095 (脂肪族エーテル). NMR (CD_3SOCD_3) τ : 6.7 (3H, s), 5.65 (2H, s), 3.03 (1H, s). MS: (M^+ 314, 312, 310), ($M^+-\text{OCH}_3$ 283, 281, 279), ($M^+-\text{Br}$ 233, 231). 本物質は、塩化第二鉄溶液で濃緑色を呈し、さらに酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム溶液を加えるとそれぞれ緑色より赤紫色、紫色に変色した。またリンモリブデン酸により青色を呈し、酢酸鉛により白色沈殿を生成した。このことから本物質は二価フェノールのカテコールと推定される。ジアセチル誘導体 (D_2): Compound II 600 mg を常法どおり無水酢酸-ピリジンで処理し、*n*-ヘキサン-エタノールより再結晶して m.p. 96–97°C の無色針状晶 660 mg を得た。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1770, 1595, 1570, 870. ジメチル誘導体 (D_3): Compound II 250 mg と炭酸カリウム 2.5 g をアセトン 60 ml に溶解し、加熱還流しつつジメチル硫酸 1.5 ml を少量ずつ添加し、1 時間反応させる。反応終了後、濾過して炭酸カリウムを除き、アセトン-水より再結晶して m.p. 69.5–71°C のメチル誘導体 170 mg を得た。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 2950, 1590, 1555, 1270. 以上の結果からメトキシメチル基と 2 個の臭素がベンゼン核に入ったカテコールであろうと思われる。勝井ら²⁾はすでにフジマツモ *Rhodomela larix* より 2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl methyl ether (D_1) を単離してその構造を決定し、さきに松本ら****がハケサキノコギリヒバから単離したブロムフェノールに一致することを確かめている。 D_1 は m.p. 129–130°C であり、Compound II の融点は 18° も低い、 D_1 およびそのジアセチル誘導体 (D_2)、ジメチル誘導体 (D_3) の標品の IR がそれぞれ Compound II およびその誘導体のそれに一致したので Compound II を D_1 と同定した。

$C_{13}H_8O_4Br_4$ (Compound III) シリカゲルクロマトグラフィーのベンゼン-エーテル (19: 1) で溶出してきたこの化合物は、ベンゼン-エタノールより再結晶を繰り返すと、m.p. 184–186°C の無色鱗片状晶を与えた。本物質は、Compound II と同様に定性的に二価フェノールのカテコールであることが支持された。Anal. Calcd. $C_{13}H_8O_4Br_4$: C, 28.47; H, 1.46; Br, 58.39. Found: C, 28.18; H, 1.86; Br, 57.61. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ $m\mu$: 295. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3400 (OH), 1603, 1590, 875 (ベンゼン核), 1470 (アルカン). NMR (CD_3SOCD_3) τ : 6.05 (2H, s), 3.55 (2H, s), 0.76 (2H, s), 0.25 (2H, s). MS: (M^+ 552, 550, 548, 546, 544), ($M^+-\text{Br}$ 471, 469, 467, 465), ($M^+-2\text{Br}$ 390, 388, 386), ($M^+-2\text{Br}-\text{H}_2\text{O}$ 372, 370, 368), ($M^+-3\text{Br}$ 309, 307). 本物質は、diphenylmethane の構造を持つ化合物ではないかと予想されるが、詳細は現在検討中

ある。

2,3-Dibromo-4,5-dihydroxybenzyl alcohol (Compound IV, E₁) 1970年に採集した海藻5kgの酸性成分Iをデシケータ内で濃縮すると粗結晶400mgを得、ベンゼン-酢酸エチルより再結晶を行ない m.p. 123–124°Cの無色針状晶を得た。本物質は、Compound II, IIIと同様に定性反応でカテコールであることが支持された。Anal. Calcd. C₇H₆O₃Br₂: C, 28.22; H, 2.03; Br, 53.62. Found: C, 28.23; H, 1.85; Br, 53.85. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ : 291. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3450 (OH), 1610, 1590, 878 (ベンゼン核), 2940, 2870, 1468 (アルカン)。NMR (CD₃SOCD₃) τ : 5.75 (1H, s), 5.46 (2H, s), 2.88 (1H, s), 1.80 (2H, s). MS: (M⁺ 300, 298, 296), (M⁺-H₂O 282, 280, 278), (M⁺-Br 219, 217)。トリアセチル誘導体(E₂): Compound IV 40mgを常法どおり無水酢酸-ピリジンで処理して m.p. 104–105°Cの無色針状晶40mgを得た。ジメチル誘導体(E₃): Compound IV 50mgをジアゾメタンのエーテル溶液に溶解し、室温で24時間反応後、減圧濃縮、*n*-ヘキサン-アセトンから再結晶し、m.p. 91–92°Cの無色針状晶を得た。

すでに J. H. HODGIKIN ら⁷⁾は、*Polysiphonia lanosa*より2,3-dibromobenzyl alcohol 4,5-disulfate dipotassium salt (F)を単離し、その加水分解生成物である2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl alcohol (E₁)について詳細に報告している。上述のデータからCompound IVとE₁が同一物質であると推定されたので、後述のFの加水分解により得られたE₁の標品との直接比較によりCompound IVをE₁と同定した。なおE₁は硫酸エステルとしてではなく、この形で得られたのは、これが初めてである。

2,3-Dibromobenzyl alcohol 4,5-disulfate dipotassium salt (Compound V, F) 1971年に採集した海藻500gの熱80%メタノール抽出物から得た赤橙色の粗結晶を水から再結晶を繰り返して無色針状晶約10gを得た。Anal. Calcd. C₇H₄O₉Br₂S₂K₂: C, 15.74; H, 0.75; Br, 29.96; S, 11.98; K, 14.61. Found: C, 15.14; H, 0.55; Br, 24.59; S, 11.45; K, 14.96. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ m μ : 291. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3320 (OH), 1603, 1572, 880 (ベンゼン核), 1450 (アルカン), 1240, 1030 (硫酸エステル)。本物質のIRは、HODGIKIN ら⁷⁾が、*P. lanosa*より得たFと完全に一致し、また0.1N塩酸溶液中蒸気浴で加水分解後、エーテル抽出し、ベンゼン-酢酸エチルより再結晶を行ない m.p. 123–124°Cの無色針状晶のE₁を得た。この結果本物質をFと同定した。

現在までにフジマツモ科の海藻から含臭素フェノールとして5種の化合物、A¹⁾, B²⁾, C¹⁰⁾, D¹²⁾, F⁷⁾が単離されているが、これらの化合物は、すべて生合成のうえで密接な関係があると思われる。しかしながら含臭素フェノールの生合成についての知見は、いまのところまったく見あたらない。著者らは、今回新たに2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl alcohol (E₁)と分子式C₁₃H₈O₄Br₄を持ち、diphenylmethaneの構造を持つと推定される化合物を得たが、これらの化合物の藻体内における生合成、代謝機構あるいは生理作用等は興味ある点である。

要 約

紅藻ハケサキノコギリヒバの成分を検索し、L-フェニルアラニン、コレステロール、パルミチン酸、2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl methyl ether, 2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl alcohol, 2,3-dibromobenzyl alcohol 4,5-disulfate dipotassium saltを単離同定し、また分子式C₁₃H₈O₄Br₄でdiphenylmethaneの構造を持つと推定される含臭素フェノールと分子式C₇H₆O₃を持つ *trans*-アコニット酸誘導体と思われるカルボン酸を単離した。

終りに本研究の遂行にあたり種々御教示いただいた北海道大学入江 遠名誉教授、理学部松本 毅教授、理学部勝井信勝教授、水産学部辻野 勇助教授に深く感謝いたします。また海藻の採集に御協力いただいた北海道栽培漁業総合センター場長結城了伍博士、質量スペクトルならびに核磁気共鳴吸収の測定をしていただいた北海道大学結核研究所関川 勲助教授、工学部鈴木 章助教授、元素分析をしていただいた水産学部米田 勤氏、西田清義氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 斎藤恒行・安藤芳明: 日化, **76**, 478-479 (1955).
- 2) N. KATSUI, Y. SUZUKI, S. KITAMURA, and T. IRIE: *Tetrahedron*, **23**, 1185-1188 (1967).
- 3) T. IRIE, M. SUZUKI, and T. MASAMUNE: *ibid.*, **24**, 4193-4205 (1968).
- 4) T. IRIE, M. SUZUKI, and Y. HAYAKAWA: *Bull. Chem. Soc. Japan*, **42**, 843-844 (1968).
- 5) T. IRIE, M. IZAWA, and E. KUROSAWA: *Tetrahedron*, **26**, 851-870 (1970).
- 6) M. SUZUKI, E. KUROSAWA, and T. IRIE: *Tetrahedron Letters*, **59**, 4995-4998 (1970).
- 7) J. H. HODGKIN, J. S. CRAIGIE, and A. G. MCINNES: *Can. J. Chem.*, **44**, 74-78 (1966).
- 8) W. E. BRUCE and J. O. RALLS: "Organic synthesis" Vol. 17, Wiley, New York, 1937, pp. 45-47 (1937).
- 9) 奥村重雄: 実験有機化学 I, 第1版, 共立出版, 東京 1958, pp. 253-254.
- 10) J. S. CRAIGIE and D. E. GRUENIG: *Science*, **157**, 1058-1059 (1967).