紅藻エゾツノマタより 320 nm 吸収物質の単離・結晶化^{*1}

辻野 勇・矢部和夫

(1980 年 4 月 5 日受理)

Purification and Crystallization of a 320 nm Absorbing Substance from the Red Alga, *Chondrus yendoi*^{*1}Isami TSUJINO^{*2} and Kazuo YABE^{*3}

Using a repeated active carbon column chromatography, a characteristic 320 nm UV-absorbing substance (X_1) from the red alga, *Chondrus yendoi*, was isolated as white crystals. It is very soluble in water, slightly soluble in methanol, and insoluble in all other organic solvents. Its chemical formula was $C_{10}H_{16}N_2O_6$, mp 156-158°C (dec.), $[\alpha]_D -7.9$ ($c=1.5$, water), UV (water) λ_{max} 320 nm ($\log \epsilon=4.55$), MS (FD) m/e 245 (MH⁺).

著者の1人はすでに海藻の過塩素酸抽出液について紫外吸収スペクトルを測定した結果、紅藻のみは 320~330 nm 付近に特異な吸収極大を示すことを見いだした^{1,2)}。この近紫外部に吸収極大を示す物質は単一の成分ではないが^{2,3)}、これらの分布は一応紅藻の分類と何らかの関係があるのではないかと考えて、その後本紫外吸収物質の研究を続行してきた⁴⁾。

紅藻から 320~330 nm 付近に吸収を示す水溶性物質を単離確認した報告としては、 OH-Eocha ら^{5,6)}は数種の紅藻に 328 nm に吸収極大を示す螢光物質 (compound C) を認め、ソゾよりこの物質を結晶として分離し、不飽和アミンの側鎖をもつ芳香族ハロゲノカルボン酸 ($C_{13}H_{17}NO_2Cl_2$) としている。また吉田ら⁷⁾はスサビノリよりゲル濾過をくりかえし、337 nm に吸収極大を示す成分を単離し、 $C_{36}H_{60}N_4O_{24}Na_4$ の式を与えている。その後 SIVALINGAM ら⁸⁾はこれを追試し $C_{11}H_{16}N_2O_6Na$ (λ_{max} 334 nm) の結晶を単離しているが、その化学構造は未決定である。さらに岡市らは赤潮プランクトンに属する夜光虫にも類似の紫外吸収物質の存在を認めている⁹⁾。

著者らはエゾツノマタ乾物より紫外吸収物質の主成分である λ_{max} 320 nm 物質 (X_1) の単離、結晶化に成功した⁴⁾ので、その若干の性質とともに以下報告する。

試料および実験方法

試料 主として昭和 47 年 5 月函館市志海苔町海岸および釧路市興津海岸で採集したエゾツノマタ (北海道産クロバギンナンソウ) *Chondrus yendoi* を使用した。

抽出方法 天日乾燥した試料 1 kg に対し 4~5 l のエタノール-水 (1:1) を加え、4~10 日間浸漬抽出して濾液を集め、残渣はさらに同じ組成の溶剤で再抽出する。濾液は全部合一し、減圧 40°C 以下で濃縮する。途中析出した無機塩などを遠心分離で除去し、上清をメタノールで処理して可溶部を集める。減圧濃縮しメタノール処理をくりかえし、最終的にメタノール可溶性のシラップを得る。このシラップを水に溶かして遠心分離 (7,000 rpm, 20 分) にかかけ、浮上した黒色粘稠の油状物を除き、下層の淡褐色の水層を活性炭クロマトグラフィーの試料として用いた。

活性炭クロマトグラフィー 活性炭 (和光純薬製、クロマトグラム用) を水で泥状にねり、ガラスカラムに充填して用いた。カラムに対する吸着量は、活性炭 100 g あたり試料 100 ml の吸光度が 320 nm において 1,500 以内とし、精製のための再クロマトグラフィーではその倍量の吸光度を一応の規準として行なつた。調製用には 68×1,300 mm のカラムに活性炭 800 g を充填して使用した。

^{*1} 海藻の特殊成分の研究—VI (Studies on the Compound Specific for Each Group of Marine Algae—VI).

^{*2} 北海道大学水産学部水産化学科 (Department of Chemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate 041, Japan).

^{*3} 北海道教育大学釧路分校化学教室 (Chemical Laboratory, Kushiro College, Hokkaido University of Education, Kushiro 085, Japan).

^{*4} 岡市友利ら: 夜光虫の化学成分—II, 昭和 49 年日本水産学会春季大会講演要旨 No. 633.

試料水溶液をカラムに添加後、硝酸銀反応およびフェノール硫酸反応⁹⁾が通過液に認められなくなるまでよく水洗をする(調製用カラムでは通常 110 l 以上の水洗を必要とする)。つぎにメタノール-水 (1:1, v/v) で溶出すると、まずフェノール硫酸反応陽性物質が溶離し、つづいて紫外吸収物質が溶出してくる(紫外吸収の溶出回収率は平均 80~90% である)。315, 320, 325 nm における吸光度 (A) を測定し、320 nm の吸光度の高い区分を合一減圧濃縮する。

精製のためこの区分の再クロマトグラフィーを行ない、 $A_{320\text{ nm}} > A_{315\text{ nm}} > A_{325\text{ nm}}$ の区分を分取し X_1 区分とした。

ペーパークロマトグラフィー 東洋汙紙 No. 50 を用い、イソプロピルアルコール-水 (8:2, v/v) を溶媒とし、上昇法により多層展開し、紫外線照射³⁾または赤血塩-塩化鉄反応¹⁰⁾により紫外吸収物質の分離度を判定した。

結果と考察

原藻から紫外線吸収物質の調製には当初水で抽出し、酢酸鉛とアンモニアで夾雑物を沈澱させ、また活性炭からの溶出にアンモニア性アルコールを使用した。また精製のためにセルロースパウダークロマトグラフィー、セファデックスカラムマロマトグラフィーなども試みた。しかしながらこれら紫外吸収物質の不安定性を考慮し、さらに操作を簡略にし収量を向上させるため、実験方法に記した方法を採用した。

1 例をあげるとエゾツノマタ乾物 55.5 kg より抽出液 409 l [100 ml に換算すると 320 nm の吸光値 ($A_{320\text{ nm}}$) 199,156 である。]を得た(この抽出液に λ_{max} 358 nm の Z 物質は存在していない³⁾)。濃縮、メタノール処理後活性炭クロマトグラフィーに供した試料の吸光値 (320 nm) は、抽出液の 87.9% の回収率であった。

活性炭合計 11.6 kg を用いたクロマトグラフィーを行ない、320 nm 極大の区分 40,900 ml を集めた(全溶出量に対し 73.3% の吸光値であり、原抽出液に対しては 60.8% の吸光値となる)。活性炭クロマトグラフィーの 1 例を Fig. 1 に示す。

この区分はまだ単一になつていないので、活性炭 3.6 kg を使用した再クロマトグラフィーを行ない、 $A_{320\text{ nm}} > A_{315\text{ nm}} > A_{325\text{ nm}}$ の区分 (X_1) を吸着量の 83.0% の収量で得た。この区分はペーパークロマトグラフィーによるとほとんど単一成分である。減圧で濃縮してシラップとし、メタノールに溶解し少量の不溶物を汙別し、もし着色していればメタノール溶液のまま少量の活性炭で

Fig. 1. Elution pattern (assayed by 320 nm absorption) from a carbon column of crude extract from *Chondrus yendoi*.

Crude extract ($A_{320\text{ nm}}$ 12,200/100 ml) was chromatographed on column (68 × 1,300 mm) at a flow rate of 500 ml/h and 200 ml of fractions were collected.

Fig. 2. Microphotograph of a 320 nm absorbing substance from the red alga, *Chondrus yendoi* (recrystallized from water).

脱色する。汙液は減圧で濃縮し強く乾固し、メタノールを加えてよくかきまぜて溶解し、放置すると白色結晶が析出する。粗結晶の収量 49.9 g (乾燥原藻の 0.089%, 改良前の従来法では 0.003%)。区分により異なるが mp は 152~156°C (dec.) の間である。水より再結晶した結晶写真を Fig. 2 に示す。

メタノールより再結晶すると次の数値を示す。mp 156~158°C (dec.), λ_{max} 318~320 nm ($\log \epsilon = 4.55$), $[\alpha]_D = -7.9$ ($C = 1.5$, 水)。S, ハロゲンを含まない。60°C/1 mmHg で 1 時間乾燥後の分析値: C, 49.21; H, 6.74; N, 10.72; O, 32.81; OCH_3 , 13.29 ($\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$ として C, 49.17; H, 6.60; N, 11.47; O, 32.75; OCH_3 , 12.71 分子量 244)。マスマスペクトル (CI)* は m/e 226 ($\text{M} - \text{H}_2\text{O}$) であるが、マスマスペクトル (FD)* では m/e 245 (MH^+) を示した。

* 測定を依頼した(株)島津製作所に感謝します。

赤血塩-塩化鉄反応¹⁰⁾は少時間後陽性。水に易溶、メタノールにわずかに溶けるが、エタノール、エーテルなどの有機溶剤にはほとんど不溶である。臭素および過マンガン酸カリウム溶液をただちに消費する。

PMR により芳香族プロトンは認められない。CMR により C_{10} の化合物であることが確認できる。IR から分子内塩を形成していると推定された。

本化合物は弱酸性ではある程度安定であるが、アルカリ性では非常に不安定であり、0.1 N 水酸化ナトリウム溶液中では室温においても分解し、 λ_{max} 297 nm 物質とエニヒドリン陽性物質とを生成する。この反応は単に塩基性樹脂と接触させるだけでも進行する。

本化合物はアセチル化により基本型がそのままのモノアセチル化物と、分子内脱水により芳香族化したトリアセチル化物とを生じる。

紅藻よりの近紫外吸収物質中で結晶とし単離されたものは、 $OH\text{EOCHA}^{(6)}$ の compound C $C_{13}H_{17}NO_2Cl_2$ (λ_{max} 328 nm), YOSHIDA ら⁷⁾ の 337 物質, $C_{38}H_{80}N_4O_8Na_4$ (λ_{max} 337 nm) および SIVALINGAM ら⁸⁾ の $C_{11}H_{19}N_2O_8Na$ (λ_{max} 334 nm) が報告されているが、著者らが今回単離した X_1 はこれらの化合物とは明らかに性状が異なり、新物質である。

この新物質の化学構造については次報でのべるが、最近になり高野ら¹¹⁾がイワスナギンチャクより λ_{max} 320 nm 物質 $C_{10}H_{18}N_2O_8$ を分離し palythine と命名したが、palythine はエゾツノマタの近紫外吸収物質 (X_1) と化学構造は同一である⁹⁾。

要 約

紅藻に存在する特異な近紫外吸収物質の分離精製法を検討した。

エゾツノマタの乾燥試料を 1:1 エタノールで浸漬抽出し、メタノール処理後、活性炭クロマトグラフィーをくりかえし、主成分である λ_{max} 320 nm 物質 (X_1) を結晶として単離した。

X_1 は mp 156~158°C (dec.), $[\alpha]_D -7.9$, λ_{max} 320 nm ($\log \epsilon = 4.55$), マススペクトル (FD) 245 (MH^+) を示し、分子式 $C_{10}H_{18}N_2O_8$ で示される。

文 献

- 1) 辻野 勇・斎藤恒行: 北大水産彙報 **12**, 49-58 (1961).
- 2) 辻野 勇: 北大水産彙報 **12**, 59-65 (1961).
- 3) 辻野 勇・矢部和夫・桜井正俊: 北大水産彙報 **30**, 100~108 (1979).
- 4) I. TSUJINO, K. YABE, I. SEKIKAWA, and N. HAMANAKA: *Tetrahedron Letters*, 1401-1402 (1978).
- 5) C. OHEOCHA, E. N. CHONARIRE, and P. OHARE: *Intern. Seaweed Symp., 3rd, Galway*, 68-69 (1958).
- 6) C. OHEOCHA: *Chemie et Physicochimie des Principes Immediats Tire des Algues, Colloques International du Centre National de la Recherche Scientifique*, No. 103, 121-134 (1960).
- 7) T. YOSHIDA and P. M. SIVALINGAM: *Plant & Cell Physiol.*, **11**, 427-434 (1970).
- 8) P. M. SIVALINGAM, T. IKAWA, and K. NISIZAWA: *Botanica Marina*, **19**, 1-7 (1976).
- 9) M. DUBOIS, K. A. GILLES, J. K. HAMILTON, P. A. REBERS, and F. SMITH: *Anal. Chem.*, **28**, 350-356 (1956).
- 10) 久保田 尚志: 実験化学講座 (日本化学会編), 続 **5**, 丸善, 東京, 1965, p. 452.
- 11) S. TAKANO, D. UEMURA, and Y. HIRATA: *Tetrahedron Letters*, 2299-2300 (1978).