

香附子由来成分とその誘導体のトビムシ忌避活性

森本 正則・中川 雅史・杉原 忠・駒井 功一郎

(近畿大学農学部農芸化学科)

Repellency of components in Kobushi and its derivatives against springtails

Masanori MORIMOTO, Masafumi NAKAGAWA, Tadashi SUGIHARA, Koichiro KOMAI

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Kinki University

Synopsis

Purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) is famous weed in the world, because of the tolerance of soil borne disease and insect. On the other, dried tubers of this plant use to folk medicine for treatment of female disorder. There is a large amount of sesquiterpene in this tuber and these sesquiterpenes affect to surround plant called allelopathy.

In this time, we have evaluated that these allelochemicals effect on soil habitat springtail by choice test. The ketone fraction from purple nutsedge extract have shown repellency against springtail. The isolation of pure natural compounds produced by purple nutsedge has performed by silica gel column chromatography from hexane extract of folk medicine (Ko-bushi). Sesquiterpene hydrocarbons, cyperene and β -selinene, sesquiterpene ketones, α -cyperone and cyperotundone were isolated and 2 sesquiterpene ketones have shown strong springtail repellency.

Several derivatives and structural different compounds have prepared for structure activity relationship (SAR) study. The reduction of α , β -unsaturated ketone moiety has disappeared the biological activity drastically. Similarly, structural different α , β -unsaturated ketones have shown strong springtail repellency. These results suggest that α , β -unsaturated ketone moiety is very important for appearance of this biological activity in this bioassay.

緒 言

香附子(こうぶし)は、婦人薬の漢方薬として利用される木様の香気を持つカヤツリグサ科カヤツリグサ属ハマスゲ (*Cyperus rotundus* L.) 塊茎の乾燥品である¹⁾。本種の生育分布は、全世界の温帯から熱帯にかけてであるが、香料や漢方薬として利用されるものはインドから朝鮮で栽培される。同時に繁殖力が旺盛で、農耕地にはびこることから、強害雑草として防除対象となっている²⁾。本種は生態学的に他種の生育を阻害する他感作用を持つことが知られており、その有効成分は塊茎に蓄積する精油成分であると報告されている³⁾。香附子由来の精油成分に関しては、アリやカなどに対しても忌避活性を持つことも報告されている⁴⁾。同様にカヤツリグサ属植物には、昆虫に対する摂食阻害活性成分や植物毒性物質が知られている⁵⁾。本研究では、ハマスゲが土壌伝播性害虫や植物病原菌に侵されにくいことから、これらの忌避活性について検討した。忌避評価試験の対象生物としては、土壌に普遍的に存在し、取り扱いの容易なトビムシを用いた。供試化合物は、植物抽出成分だけでなく環境中での化学変化を考慮した酸化誘導体を作製し、併せて活性評価を実施した。本研究は、香附子を農業生産や公衆衛生の観点から有用な害虫防除資材として利用するために、バイオマス生産性の高い本種の有用利用に関する新たな知見を得ることが可能であると考えられる。

材料および方法

1. 供試化合物の調製

奈良市富雄川沿いで採集したハマスゲ塊茎(400 g)を粉砕し、1.6リッターのメタノールにて80度で24時間ソックスレー抽出を行い抽出物(13 g)を得た。その抽出物をヘキサン抽出することでヘキサン抽出画分(1.01 g)を得た。ヘキサン抽出画分(110 mg)は、ベンゼン：酢酸エチル(50：3)を展開溶媒としたシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって分画し、酢酸エチル溶出画分を得た。

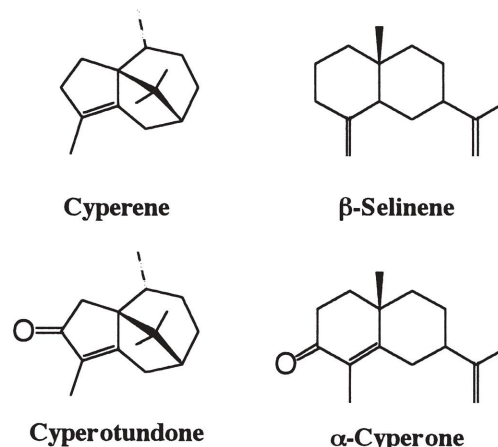


Fig. 1. Sesquiterpenes from hexane extract of Ko-bushi (*C. rotundus*)

ハマスゲ乾燥塊茎粉末(香附子、1.5 kg)は、ヘキサン(3 L)を用いて4℃で3日間抽出を行った。この抽出物を減圧農出することでヘキサン抽出物(41 g)を得た。ヘキサン抽出物は、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて分画精製し、セスキテルペン炭化水素であるcyperene, β-selineneと、それらの酸化誘導体であるα-cyperone, cyperotundoneを得た(Fig. 1)。

得られたセスキテルペン類は、構造活性相関研究の為、酸化還元反応により誘導体化を行いcypereneを原料としてcyperenyl acetate, cyperenyl acetate-3-one, cyperenol-3-one, cyperenal-3-one, patchouloneの5誘導体、cyperotundoneを原料としてdihydrocyperotundone, cyperen-3-olの2誘導体を調製した(Fig. 2)。

各誘導体調製方法の概要は以下の通りである。Cyperenyl acetateは、cypereneを酢酸：無水酢酸(59：1)中で二酸化セレンによって酸化させた⁶⁾。Cyperenyl acetateをアルカリ加水分解することでcyperenolを得た。得られたcyperenolはピリジウムジクロム酸(PCC)によって酸化しcyperenalへ誘導した⁶⁾。3位にケト基を持つ誘導体cyperenyl acetate-3-one, cyperenol-3-one, cyperenal-3-one、6位にケト基を持つpatchouloneへは、t-ブチルクロム酸を用いた酸化反応によって調製した⁷⁾。4-5位の二重結合の還元には、5%パラジウム炭素触媒による接触水素添加を行いdihydrocyperotundoneを得た⁸⁾。3位のケト基の

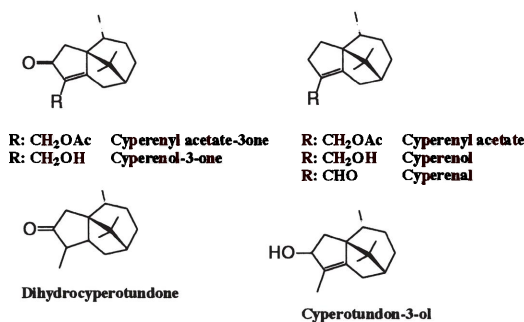


Fig. 2. Cyperene derivatives for springtails repellency test.

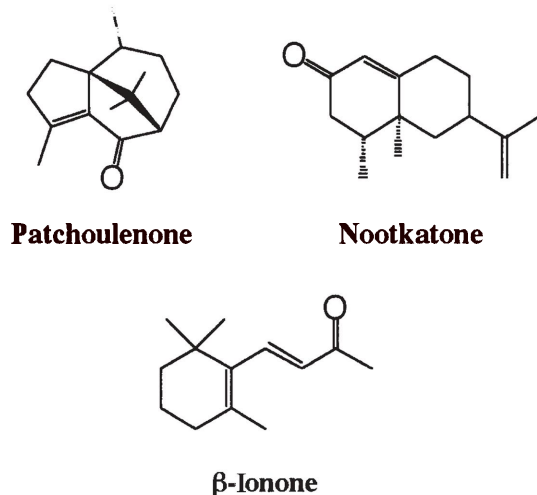


Fig. 3. α , β -Unsaturated ketone derivatives for springtails repellency test.

還元反応は、水素化アルミニウムを用いcyperen-3-olを調製した⁹⁾。

さらに、 α , β -不飽和カルボニル基の活性への影響を評価するために、cyperotundoneのカルボニル基置換位置の異なる patchouloneならびに香料として使用される nootkatone, β -iononeを用いた (Fig. 3)。

2. トビムシに対する忌避活性試験

直径4.6 cmのP-2シャーレに抗菌試験用のペーパーディスクを2つ置床し、一方は処理区として被検液を0.1% sugar esterと5% tween 20を分散剤として用いて50 μ lを含浸させた。一方は対照区として分散剤のみを同量含浸させた (Fig. 4)。供試化合物は、50, 25, 12.5, 5 μ g/diskで処理した。各シャーレにトビムシ約50匹を放し、蓋をして25 $^{\circ}$ C遮光条件下で3時間静置し、-80 $^{\circ}$ Cで急冷することで、トビムシをその場に固定し、処理区と無処理区それぞれのディスクから半径1 cm以内に存

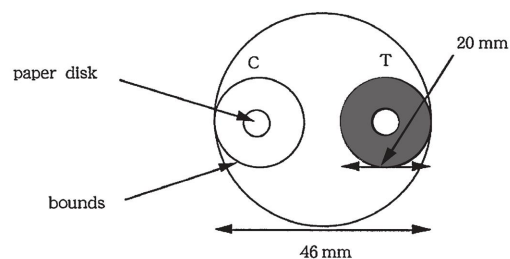


Fig. 4. Bioassay method for repellency test against springtails

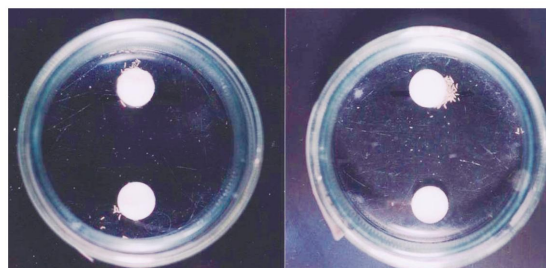


Plate 1. Bioassay method for repellency test against springtails (left: inactive, right: active, upper disks: control, lower disks: treated)

在するトビムシの個体数をカウントした。得られた数値を以下の式により忌避活性指数として活性評価の指標とした。

$$\text{忌避活性指数} = (C - T) / T \times 100$$

結果と考察

1. 供試化合物の調製

得られた天然化合物は、以前に単離・同定した研究室保有標準品とのGCの保持時間、ならびにTLC分析のRf値との比較によって同定した。天然物の誘導体に関しては、EIMS、¹H NMR、¹³C NMRを用いて構造の確認を行った。

2. トビムシに対する忌避活性

奈良市富雄川沿いで採取したハマスゲ由来の抽出成分は12.5 μ g/diskの処理量で100%の忌避活性を示した。本抽出物の炭化水素画分とその他の極性物質を含む画分では、25 μ g/diskの処理量で忌避活性29%と84.2%と、その他の極性物質を含む画分に忌避活性が認められた。

漢方薬の香附子ヘキササン抽出を用いて活性画分に該当する画分を分画し、活性成分としてセスキテルペンケトンのcyperotundoneと α -cyperoneを

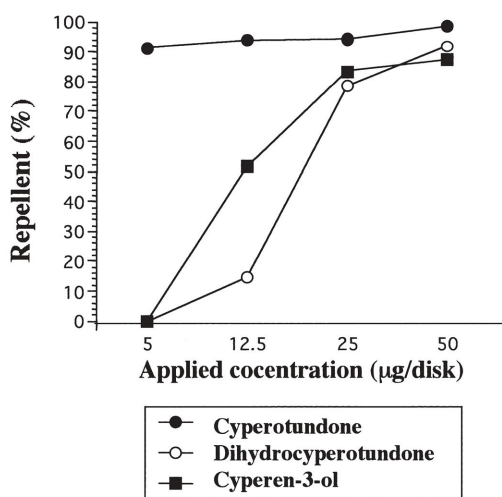


Fig. 5. Springtail repellency of cyperotundone and its derivatives.

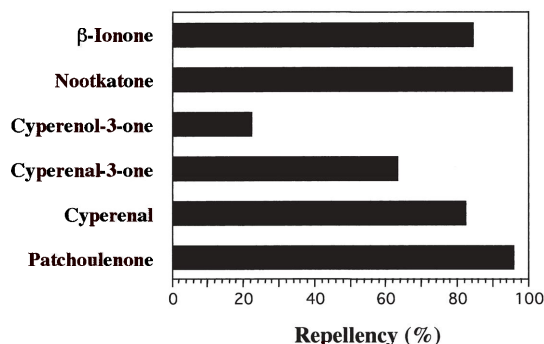


Fig. 6. Springtail repellency of cyperotundone analogue and other α , β -unsaturated ketones at 5 $\mu\text{g}/\text{disk}$ treatment.

単離・同定した。これらの化合物の忌避活性は、5 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の処理量で、それぞれ91.4%と89.0%と高活性を示した。これは、汎用される害虫忌避剤の有効成分であるジエチルトルアミド (DEET) の同処理量における忌避活性値73.8%を上回る結果であった。一方で、活性の認められなかった炭化水素画分の主成分である cyperene は、25 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の処理量で忌避活性10.7%、 β -selinene は、25 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の処理量で忌避活性9.5%と低活性であった。

活性の認められたセスキテルペンケトン類の構造活性相関研究について、cyperotundone 誘導体の二重結合の飽和とケトンの還元は、活性が低下することが判明した (Fig. 5)。

さらに α , β -不飽和カルボニル基の活性発現への関与の重要性を確認するために化学構造の異なる化合物も加えた構造活性相関を検討した結果、今回供試した α , β -不飽和カルボニル基を持つ全ての

化合物は、5 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の処理量でトビムシに対して忌避活性を示した (Fig. 6)。これらのことから、トビムシ忌避活性には化学構造上 α , β -不飽和カルボニル基が重要であることが示唆された。

引用文献

- 1) 刈米達夫：最新生薬学、廣川書店、pp. 228-229, (1992).
- 2) Ueki, K. and Yamasue, Y.: Studies on control of nutsedge, *Cyperus rotundus* L., a perennial weed in upland fields. *Weed Research, Japan* 7, 38-40, (1968).
- 3) 駒井功一郎：多年生雑草ハマスゲの防除に関する生理生態学的研究、学位論文, 151, (1982).
- 4) Komai, K., Hamada, M., Tsuchiya, T., Minagawa, F. and Obama, T.: Insect repellents to some insect species in essential oil of purple nutsedge. *Jpn. J. Environ. Entomol. Zool.* 3 (3): 148-157, (1991).
- 5) 森本正則、駒井功一郎：カヤツリグサ属植物の化学成分と生物活性、植調、36(8), 303-314, (2002).
- 6) Takano, S. and Kawaminami, S.: Cyperenyl acetate and cyperenal from *Cirsium dipsacolepis*. *Phytochemistry* 27(4): 1197-1199, (1988).
- 7) Hikino, H., Ito, K. and Aota, K.: Synthesis of cyperene, cyperotundone, and patchoulenone. *Chem. Pharm. Bull.*, 16(1): 43-51, (1968).
- 8) Hikino, H., Aota, K. and Takemoto, T.: Structure and absolute configuration of cyperotundone. *Chem. Pharm. Bull.* 14(8): 890-896, (1966).
- 9) Hikino, H., Aota, K., Maebayashi, Y. and Takemoto, T.: Structure and absolute configuration of cyperolone. *Chem. Pharm. Bull.* 15(9): 1349-1355, (1967).