

学位論文

海藻における特徴的ポリエン類に関する研究

(Studies on characteristic polyenes in marine algae)

盧 士劍

(Shi Jian Lu)

2018 年

目次

第1章 緒論	1
第2章 乾燥ワカメにおける特徴的香気成分について	
2-1 序論	4
2-2 実験材料及び手法	4
2-3 結果および考察	12
第3章 褐藻ウミトラノオにおける2タイプの揮発性ポリエン類について	
3-1 序論	19
3-2 実験材料及び手法	19
3-3 結果および考察	28
総括	34
摘要	35
謝辞	39
引用文献	40
原著論文	44

第1章 緒論

海藻は色の違いで、緑藻、褐藻、紅藻と分類される大型藻類と珪藻や渦鞭毛藻などの微細藻類に分けられる。¹⁾日本、韓国では、海藻は古来より食用として利用されてきたが、最近では健康増進のための日本食が注目され、海藻も健康食材としての認識が広まっている。²⁻⁴⁾一方、中国では食用のみならず、薬用としても使用されている。近年、海藻からさまざまな生理活性物質が発見され、フコイダンの免疫効果、レクチンの細胞凝集効果、フロロタンニン、フコキサンチンの抗酸化作用、タウリンの自律神経機能への効果などが注目されている。⁵⁻⁸⁾ところで、高等植物同様、海藻においても揮発性の有機化合物を海中に放出しており、フェロモンやアレロケミカルなどの生理活性物質として重要な役割を持つことがわかってきた。⁹⁻¹³⁾1970年代に、褐藻のシオミドロの雌性配偶子から分泌される雄性配偶子誘引活性物質 (ectocarpene, dictyotene D') が発見されて以降、12種の性フェロモンが褐藻から発見されている(**Fig. 1**)。これらの性フェロモンは、炭素数8あるいは11の炭化水素またはその含酸素を有した、鎖状、3員環、5員環、7員環化合物であり、水圏における生理活性物質としては、特異な構造を持つ揮発性の化合物群である。一方で、これら化合物は、“オーシャンスメル”いわゆる“海洋”をイメージする特徴的香気成分としても知られている。¹⁴⁾

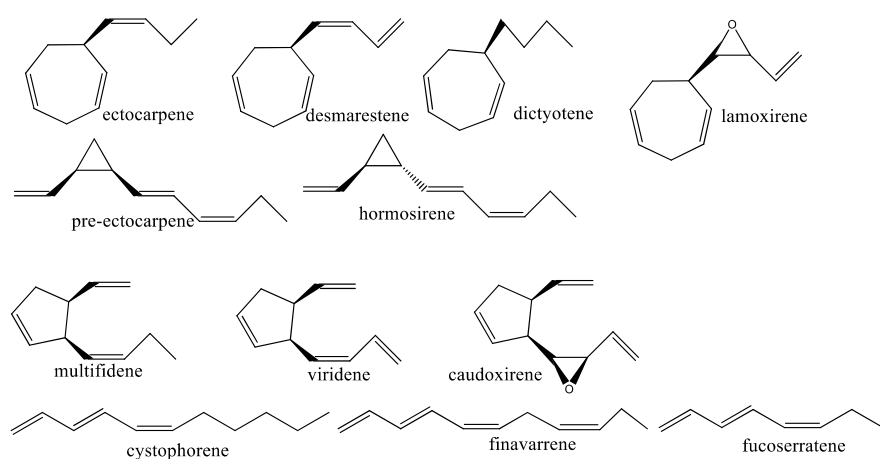


Fig. 1 同定された褐藻のフェロモンの化学構造

また、関連の香気を有する化合物として(**Fig. 2**)、dictyoprolenol, neodictyoprolenol, dictyoprolene, neodictyoprolene がある。¹⁵⁾このように、海藻から放出される揮発性の有機化合物には特有の香気を有するものが多く、dimethyl sulfide は紅藻 (*Polysiphonia fastigiata* and *P. nigrescens*)¹⁶⁾と緑藻 (*Enteromorpha intestinalis*) から見出された香気成分であり、青ノリ様の香気を有する。アオサ (*Ulva pertusa*) ヒトエグサ (*Monostroma nitidum*)、スジアオノリ (*Enteromorpha prolifera*) などの精油からは、(8Z,11Z)-8,11-heptadecadienal, (8Z,11Z,14Z)-8,11,14-heptadecatrienal, (7Z,10Z,13Z)-7,10,13-hexadecatrienal などの長鎖アルデヒド類が検出され、アオサ様、磯様の香気成分である。¹⁷⁻²¹⁾紅藻ミツデンゾ (*Laurencia okamurae*) の debromolaurinterol^{22,23)}もまた磯様の香気を有しており、²⁴⁾この化合物及びその類縁体は摂食障害、抗菌性、フジツボ付着阻害、細胞毒性などの生理活性が知られている。²⁵⁾その他揮発成分として、褐藻のワカメ (*Undaria spp*) やコンブ (*Laminaria spp*)、緑藻のアオサ (*Ulva spp*) やアオノリ (*Enteromorpha spp*) などからは、セスキテルペンアルコール類やセスキテルペン炭化水素類などが検出されている。^{26,27)}さらに、カロテノイド類の開裂によって生じるノルイソプレノイド類も同定されている。¹⁴⁾

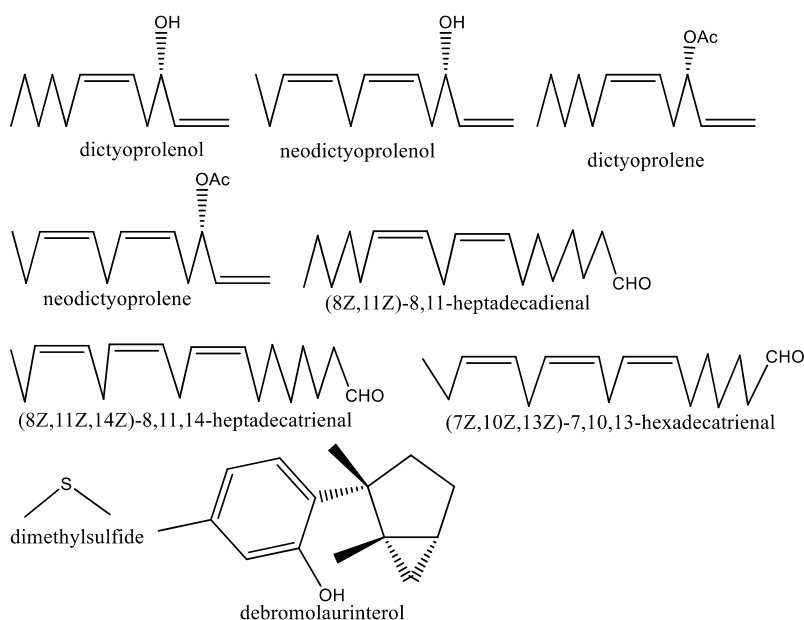


Fig. 2 海を想起させる香気物質の化学構造

これら香気成分の抽出方法としては、水蒸気蒸留法や連続蒸留抽出法 (Simultaneous distillation extraction, SDE)が一般的であり、溶媒抽出法、固相抽出法、超臨界抽出法などもある。^{28,29)}得られた精油の香気成分の同定には GC-MS が利用され、ライブラリー検索によって構造を推定できるが、その異性体や類縁体の同定には困難を極める。通常、この様な場合は、標品を入手して機器データと比較するか、入手困難な場合は有機化学合成によって決定する必要がある。

本研究は、新規な海洋を想起させる香気成分の同定を目的として、連続蒸留抽出法(SDE)法を用いて精油を調製し、GC-MS 分析することにした。未知の化合物の場合は精油より単離して各種機器分析で構造を帰属し、標的及び類縁体化合物の合成も行い、それらの香気特徴も検討することにした。

第2章 乾燥ワカメにおける特徴的香気成分について

2-1 序論

ワカメは、コンブ目チガイソ科ワカメ属であり、ワカメ(*Undaria pinnatifida*), ヒロメ(*Undaria undarioides*)及びアオワカメ(*Undaria peterseniana*)の3種類であるが、養殖として利用されるのはワカメ(*U. pinnatifida*)のみである。ワカメは日本、朝鮮半島及び中国の一部に生育しているが、天然ワカメの収穫量は低く、日本では生産量の95%が養殖ワカメであり、中国や韓国に至っては100%が養殖ワカメである。³⁰⁾ワカメは通常、生よりは塩蔵もしくは乾燥した状態で取り扱われ、酢の物、サラダ、スープの具材として利用される。生ワカメを茹でたのち冷却して塩を揉み込んだものを塩蔵ワカメと呼び、これを水洗して乾燥したものが乾燥ワカメとなり、長期保存が可能となる。生ワカメの香気に関しては、水蒸気蒸留による精油において Cubenol が9割近く含まれていたという報告がある。³¹⁾一方、乾燥ワカメは、ニオイは強くないものの独特の海藻様香気を有する。そこで、連続蒸留抽出(simultaneous distillation extraction, SDE)法で精油を調製し、その特徴的香気成分の同定を試みた。

2-2 実験材料及び手法

2-2.1 実験材料

乾燥および塩蔵ワカメ(2013年2,3月製造)は、食品加工メーカーより提供を受け、実験に使用するまで-20℃で保存した。精油を調製する際の溶媒及び合成に用いた薬品は、関東化学(株)、シグマ-アルドリッチジャパン(株)、東京化成工業(株)より購入した。使用する前に、THFはナトリウム/ベンゾフェノン、dichloromethaneは水素化カルシウムで蒸留した。GC分析は島津GC-14B毛細管カラムを使用した。すべての反応は、TLC(0.25mm E. Merck silica gel plates (60 F₂₅₄))及びGC(Shimadzu GC-14B)で追跡した。IRスペクトルは、Nicolet FT-IRで測定した。¹H-及び¹³C-NMRならびに各種スペクトルは、Bruker AVANCE 400で行った。

2-2.2 精油の調製

乾燥(10 g)、塩蔵(50 g)をそれぞれ蒸留水(200 ml)を加えて摩砕後、dichloromethane-pentane (1:2、150 ml) を抽出溶媒として、SDE 法で 2 時間抽出した。抽出液は、anhydrous Na₂SO₄ を用いて冷蔵庫で一晩乾燥させた。乾燥剤をろ過した後、抽出液をロータリーエバポレーターによって完全濃縮した(30°C、700-293 Torr)。その結果、乾燥ワカメから精油率 0.076%、塩蔵ワカメから 0.013% で得られた。得られた精油はジクロロメタン(100 μ l)で希釈し、分析するまで窒素置換して-20°Cで保存した。

2-2.3 GC-MS 分析

GC-MS (Shimadzu QP5050A) に、希釈した精油 (1 μ l) を注入して分析を行った。分析用カラムは DB-WAX (0.25 mm i.d.×60 m) を使用した。カラム温度は 40°C で 5 分間保持後、2°C/min で 230°C まで昇温させ、50 分間保持した。導入部の温度は 220°C、キャリアガスは He を用い、流速は 1.6 ml/min とし、スプリット比は 10:1、イオン化するための電圧は 70eV とした。香気成分の同定は標品リテンションインデックス(RI)とマススペクトルの比較、文献に記載されている RI とマススペクトルの比較、及びマススペクトルの NIST ライブラリー検索により行った。また、RI は *n*-alkanes (C7-C27) を使用して求めた。

2-2.4 精油からポリエーテル類の単離

SDE を繰り返し調製した精油 (ca. 30 mg) をシリカゲルクロマトグラフィーによって分画を行い、ポリエーテルを非極性画分として得(10 mg)、GC-MS 及び NMR 分析を行った。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm: δ = 0.98 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.50-1.43 (m, 2H), 2.11-2.04 (m, 6H), 2.86-2.80 (m, 8H), 4.95 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 5.01 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H), 5.42-5.33 (m, 10H), 5.81 (ddt, *J* = 10.2, 17.1, 6.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm: δ = 14.24, 20.55, 25.54, 25.64, 25.66 (C2), 26.67, 28.85, 33.31, 114.50, 127.03, 127.90, 127.97 (2C), 128.17, 128.21, 128.47, 128.56, 129.97, 132.04, 138.75; GC-MS *m/z*: 284(M⁺, 0.09), 159(6), 133(15), 119(26), 105(29), 91(69), 79(100), 67(57), 41(59)

2-2.5 アルデヒド類の合成

(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-5,8,11,14,17-icosapentaenal

1.0M DIBAL in THF (8.5 ml, 8.5 mmol)溶液を (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-5,8,11,14,17-icosapentaenoic acid (1.17 g, 3.87 mmol) in THF (15 ml) に室温で加えた。-78°Cで9時間窒素気流下で攪拌後、反応液はmethanol (350 μ l, 8.64 mmol)でクエンチした。次に、0°Cで反応液に飽和potassium sodium L-(+)-tartrate tetrahydrate solution (10 ml) を加え、沈殿が生成するまで30分間室温で攪拌した。反応液をEt₂Oで抽出を行い、抽出液を飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄で乾燥した。ロータリーエバポレーターで濃縮後、抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、386.0mgの(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-5,8,11,14,17-icosapentaenalを淡黄色の液体として純度99.9%、収率38.4%で得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm : δ = 0.96 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.71 (quin, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.12-2.04 (m, 4H), 2.45 (td, *J* = 7.4 Hz, 1.7 Hz, 2H), 2.86-2.79 (m, 8H), 5.43-5.32 (m, 10H), 9.77 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm : δ = 14.26, 20.56, 21.95, 25.54, 25.63 (3C), 26.49, 43.28, 127.01, 127.87, 128.06, 128.11, 128.21, 128.29, 128.58, 128.82, 129.07, 132.05, 202.39. IR (film) cm⁻¹ : $\tilde{\nu}$ = 3013.1, 2960.0, 2929.1, 2871.5, 2849.4, 2721.1, 1725.4, 1654.6, 1455.4, 1389.0, 1269.6, 1123.5, 1070.4, 1039.4, 919.9, 796.0, 720.8.

(5Z,8Z,11Z,14Z)-5,8,11,14-icosatetraenal

上記と同様な手法で、icosapentaenal, (5Z,8Z,11Z,14Z)-5,8,11,14-icosatetraenalを淡黄色の液体として純度purity 99.4%、収率37.6%で得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm : δ = 0.89 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H), 1.38-1.25 (m, 8H), 1.72 (quin, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.15-2.03 (m, 4H), 2.44 (td, *J* = 7.3 Hz, 1.7 Hz, 2H), 2.85-2.79 (m, 6H), 5.45-5.31 (m, 8H), 9.77 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm : δ = 14.05, 21.95, 22.57, 25.64 (3C), 26.49, 27.22, 29.32, 31.52, 43.28, 127.53, 127.82, 128.04, 128.29, 128.61, 128.29.09, 130.50, 202.36. IR (film) cm⁻¹ : $\tilde{\nu}$ = 3012.4, 2954.3, 2930.1, 2857.5, 2717.1, 1734.4, 1656.9, 1453.6, 1390.7, 1361.6, 1264.8, 1095.4, 1076.0, 1037.3, 916.3, 804.9, 703.3.

(11Z,14Z,17Z)-11,14,17-icosatrienal

上記と同様な手法で、icosapentaenal, (11Z,14Z,17Z)-11,14,17-icosatrienalを淡黄色の液体として純度99.4%、収率32.9%で得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta = 0.98$ (t, $J = 7.5$ Hz, 3H), 1.33-1.28 (m, 12H), 1.66-1.59 (m, 2H), 2.12-2.03 (m, 4H) 2.42 (td, $J = 7.4$ Hz, 1.9 Hz, 2H), 2.81 (t, $J = 6.0$ Hz, 4H), 5.43-5.28 (m, 6H), 9.76 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta = 14.26, 20.55, 22.08, 25.53, 25.62, 27.23, 29.16, 29.26, 29.34, 29.38, 29.45, 29.63, 43.91, 127.13, 127.68, 128.27$ (2C), 130.33, 131.95, 202.85. IR (film) cm^{-1} : $\tilde{\nu} = 3002.7, 2964.0, 2925.3, 2847.8, 2717.1, 1724.7, 1652.1, 1463.3, 1390.7, 1366.5, 1264.8, 1114.7, 1071.2, 1022.8, 911.4, 867.8, 795.2, 717.8$.

(11Z,14Z)-11,14-icosadienal

上記と同様な手法で、icosapentaenal, (11Z,14Z)-11,14-icosadienalを淡黄色の液体として純度99.9%、収率35.0%で得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta = 0.89$ (t, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.37-1.28 (m, 18H), 1.65-1.61 (m, 2H), 2.05 (q, $J = 6.8$ Hz, 4H), 2.42 (td, $J = 7.4$ Hz, 1.9 Hz, 2H), 2.77 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 5.41-5.30 (m, 4H), 9.76 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta = 14.04, 22.09, 22.56, 25.63, 27.20$ (2C), 29.16, 29.26, 29.34(C2), 29.38, 29.45, 29.64, 31.53, 43.90, 127.93, 128.00, 130.11, 130.19, 202.81. IR (film) cm^{-1} : $\tilde{\nu} = 3007.6, 2925.3, 2852.7, 2717.1, 1724.7, 1647.3, 1463.3, 1395.5, 1264.8, 1100.2, 1071.2, 1037.3, 911.4, 809.8, 722.6$.

(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-4,7,10,13,16,19-docosahexaenal

上記と同様な手法で、icosapentaenal, (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-4,7,10,13,16,19-docosahexaenalを淡黄色の液体として純度99.8%、収率41.2%で得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta = 0.97$ (t, $J = 7.5$ Hz, 3H), 2.11-2.04 (m, 2H), 2.43-2.37 (m, 2H), 2.53-2.49 (m, 2H), 2.85-2.80 (m, 10H), 5.43-5.32 (m, 12H) 9.78 (t, $J = 1.6$ Hz, 1H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta = 14.26, 20.08, 20.56, 25.54, 25.60, 25.64, 25.65$ (2C), 43.67, 127.02, 127.70, 127.87, 127.90, 128.06 (2C), 128.28, 128.30, 128.36, 128.59, 129.42, 132.04, 201.85. IR (film) cm^{-1} : $\tilde{\nu} = 3017.3, 2964.0, 2930.1, 2872.0, 2712.3, 1724.7, 1652.1, 1443.9, 1390.7, 1347.1, 1264.8, 1066.3, 969.5, 925.9, 863.0, 800.1, 708.1$.

2-2.6 ポリエン類の合成

(6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene

2時間80°CでMethyltriphenylphosphonium bromide (532.5 mg, 1.49 mmol)を乾燥した。1.63 M *n*-BuLi in hexane (925 μ l, 1.51 mmol) 溶液を methyltriphenylphosphonium bromide in THF (7 ml)へ窒素気流下室温で加えた。30分間室温で攪拌後、5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-5,8,11,14,17-icosapentaenal (426.6 mg, 1.49 mmol) in THF (8 ml)を-78°Cで加え1時間攪拌した。冷やしたpentane (20 ml)で希釈した後、反応液をpentaneで抽出した。抽出液は飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄で乾燥した。ロータリーエバポレーターで濃縮後、抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、126.6 mgの(6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaeneを無色の液体として純度99.9%、収率29.8%で得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm : δ = 0.98 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.50-1.43 (m, 2H), 2.11-2.04 (m, 6H), 2.86-2.80 (m, 8H), 4.95 (dd, *J* = 10.2 Hz, 2.0 Hz, 1H), 5.01 (dd, *J* = 17.2 Hz, 2.0 Hz, 1H), 5.41-5.33 (m, 10H), 5.81 (ddt, *J* = 17.1 Hz, 10.3 Hz, 6.6 Hz, 1H).
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm : δ = 14.24, 20.55, 25.54, 25.64 (2C), 25.66, 26.67, 28.85, 33.31, 114.50, 127.03, 127.90, 127.98 (2C), 128.18, 128.21, 128.47, 128.56, 129.97, 132.04, 138.75. IR (film) cm⁻¹ : $\tilde{\nu}$ = 3079.5, 3017.6, 2960.0, 2924.6, 2876.0, 2853.8, 1650.1, 1459.8, 1437.7, 1389.0, 1260.7, 990.8, 911.1, 703.1.

(6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaene

上記と同様な手法で、(6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaeneを無色の液体として純度99.9%、収率25.2%で得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm : δ = 0.90 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H), 1.45-1.27 (m, 6H), 1.50-1.46 (m, 2H), 2.12-2.03 (m, 6H), 2.86-2.80 (m, 6H), 4.95 (dd, *J* = 10.2 Hz, 2.1 Hz, 1H), 5.01 (dd, *J* = 17.1 Hz, 1.9 Hz, 1H), 5.43-5.31 (m, 8H), 5.81 (ddt, *J* = 17.0 Hz, 10.3 Hz, 6.7 Hz, 1H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm : δ = 14.05, 22.57, 25.64 (2C), 25.66, 26.67, 27.22, 28.86, 29.33, 31.52, 33.32, 114.50, 127.57, 127.94, 128.01, 128.04, 128.40, 128.52, 129.94, 130.47, 138.74. IR (film) cm⁻¹ : $\tilde{\nu}$ = 3075.2, 3011.8, 2961.9, 2925.6, 2871.2, 2857.6, 1642.8, 1456.9, 1438.8, 1388.9, 1375.3, 1262.0, 1044.4, 990.0, 908.4, 718.0.

(12Z,15Z,18Z)-1,12,15,18-henicosatetraene

上記と同様な手法で、(12Z,15Z,18Z)-1,12,15,18-henicosatrieneを無色の液体として純度99.9%、収率29.7%で得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta = 0.98$ (t, $J = 7.5$ Hz, 3H), 1.39-1.27 (m, 14H), 2.12-2.01 (m, 6H), 2.82-2.79 (m, 4H), 4.88 (dd, $J = 10.2$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 4.99 (dd, $J = 17.1$ Hz, 2.0 Hz, 1H), 5.43-5.28 (m, 6H), 5.81 (ddt, $J = 17.0$ Hz, 10.3 Hz, 6.7 Hz, 1H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta = 14.25, 20.55, 25.53, 25.62, 27.25, 28.95, 29.14, 29.31, 29.49, 29.53, 29.57, 29.65, 33.81, 114.07, 127.14, 127.64, 128.26, 128.30, 130.40, 131.95, 139.24$. IR (film) cm^{-1} : $\tilde{\nu} = 3075.2, 3011.8, 2961.9, 2961.9, 2925.6, 2853.1, 1651.8, 1466.0, 1434.2, 1388.9, 1370.8, 1257.4, 1067.1, 990.0, 903.9, 867.6, 795.1, 713.5$.

(12Z,15Z)-1,12,15-henicosatriene

上記と同様な手法で、(12Z,15Z)-1,12,15-henicosatrieneを無色の液体として純度99.9%、収率28.7%で得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta = 0.89$ (t, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.37-1.28 (m, 20H), 2.08-2.01 (m, 6H), 2.77 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.93 (dd, $J = 10.2$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 4.99 (dd, $J = 17.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 5.42-5.29 (m, 4H), 5.81 (ddt, $J = 17.0$ Hz, 10.2 Hz, 6.7 Hz, 1H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta = 14.04, 22.57, 25.64, 27.21, 27.24, 28.95, 29.14, 29.31, 29.35, 29.49, 29.53, 29.57, 29.67, 31.53, 33.80, 114.07, 127.96$ (2C), 130.17 (2C), 139.23. IR (film) cm^{-1} : $\tilde{\nu} = 3075.2, 3007.2, 2952.8, 2930.2, 2848.6, 1633.7, 1466.0, 1434.2, 1275.6, 994.5, 908.4, 722.5$.

(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z,20Z)-1,5,8,11,14,17,20-tricosaheptaene

上記と同様な手法で、henicosahexaene, (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z,20Z)-1,5,8,11,14,17,20-tricosaheptaeneを無色の液体として純度99.9%、収率37.0%で得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta = 0.97$ (t, $J = 7.5$ Hz, 3H), 2.19-2.06 (m, 6H), 2.96-2.95 (m, 10H), 4.97 (dd, $J = 10.2$ Hz, 2.0 Hz, 1H), 5.03 (dd, $J = 17.1$ Hz, 1.9 Hz, 1H), 5.41-5.00 (m, 12H), 5.82 (ddt, $J = 17.0$ Hz, 10.4 Hz, 6.3 Hz, 1H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta = 14.27, 20.56, 25.55, 25.64, 25.65$ (2C), 25.69, 26.70, 33.72, 114.71, 127.03, 127.89, 128.00, 128.11, 128.14, 128.16, 128.22, 128.26, 128.40,

128.58, 129.41, 132.04, 138.31. IR (film) cm^{-1} : $\tilde{\nu}$ = 3075.2, 3011.8, 2957.4, 2925.6, 2875.8, 2848.6, 1642.8, 1438.8, 1388.9, 1266.5, 1071.6, 1039.9, 994.5, 908.4, 699.9.

2-2.7 5-hexenalの合成

TEMPO (81.0 mg, 0.52 mmol), $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (216.0 mg, 0.53 mmol), NaCl (30.4 mg, 0.52 mmol)をdichloromethane (1ml) 中で酸素気流下室温で5分間攪拌した。次に、5-hexen-1-ol (501.5 mg, 5.01 mmol) in dichloromethane (4 ml) を加え、室温で2時間攪拌を続けた。反応液をセライトでろ過後、ロータリーエバポレーターで濃縮を行い、シリカゲルクロマトグラフィーにより、162.0 mgの5-hexenalを無色の液体として純度99.4%、収率 32.8%で得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) ppm : δ = 1.74 (quint, J = 7.3 Hz, 2H), 2.13-2.08 (m, 2H), 2.46 (td, J = 7.4 Hz, 1.6 Hz, 2H), 5.06-4.99 (m, 2H), 5.77 (ddt, J = 16.8 Hz, 10.4 Hz, 6.6 Hz, 1H), 9.78 (t, J = 1.6 Hz, 1H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) ppm : δ = 21.18, 32.96, 43.11, 115.56, 137.55, 202.50. IR (film) cm^{-1} : $\tilde{\nu}$ = 3079.8, 2998.2, 2975.5, 2939.2, 2862.2, 2844.0, 2825.9, 2721.7, 1724.4, 1633.7, 1556.6, 1456.9, 1438.8, 1407.0, 1388.9, 1357.2, 1298.2, 1180.4, 1130.5, 999.1, 912.9, 808.7.

2-2.8 酸素気流下での(6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaeneの安定性

(6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene (19.4 mg) in dichloromethane (1 ml)を酸素気流下、33-35°Cで攪拌を続けた。窒素ガスで濃縮してTHFで希釈した後、GC-MS分析した。

2-2.9 乾燥ワカメの脂質抽出及び脂肪酸のメチルエステル化

乾燥ワカメの脂質は、Bligh-Dyer法によって抽出を行った。³²⁾乾燥ワカメ(3 g)をミルで5分間磨砕した。得られたパウダーをchloroform-methanol-water (1:2:0.8 v/v, 38 ml)を加えて1時間攪拌した。次に、chloroform-water (1:1.2 v/v, 22 ml)を加えた後、フィルターでろ過を行い抽出した。抽出液は、ロータリーエバポレーターで濃縮を行い、総脂質を得た。得られた脂質は、2N KOH-95% methanolに溶解して、80-90°Cで1時間けん化を行なった。反応後、ethyl acetateで抽出を行い、飽和食塩水で洗浄後、anhydrous MgSO_4 で乾燥した。抽出液は、ロータリーエバポレーターで濃縮を行い、濃縮物を3% H_2SO_4 -methanol (50 ml)溶解し、

還流を1.5時間行った。反応液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、濃縮物へwater (30 ml)を加えた。混合液をethyl acetateで抽出し、 K_2CO_3 水溶液および飽和食塩水で洗浄し、anhydrous $MgSO_4$ で乾燥した。抽出液は、ロータリーエバポレーターで濃縮を行い、総脂肪酸メチルエステルを得た。

2-2.10 乾燥ワカメの総脂肪酸メチルエステルのGC分析

GC-FID (Shimadzu 14B) に、希釈した総脂肪酸メチルエステル ($1\mu l$) を注入して分析を行った。分析用カラムはTC-WAX column (0.25 mm i.d. \times 30 m)を使用した。カラム温度は140°Cで5分間保持後、4°C/minで230°Cまで昇温させ、100分間保持した。導入部の温度は220°C、検出器の温度は230°C、キャリアガスは N_2 (170 kPa)を用いた。

2-3 結果および考察

乾燥ワカメより連続蒸留抽出(SDE)法により精油を調製したところ、0.08%得ることができた。この精油は、わずかながら海洋香気を有していた。得られた精油のGC-MS分析によるトータルイオンクロマトを **Fig. 3** に示す。

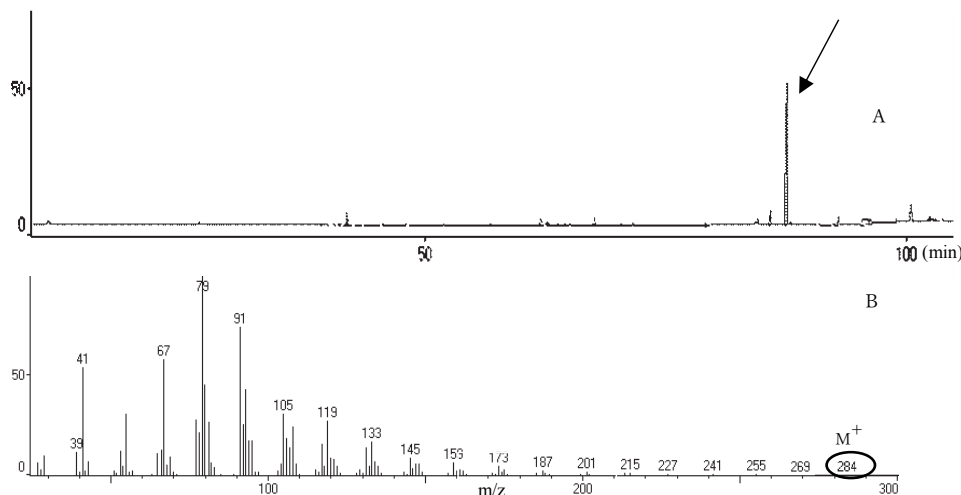
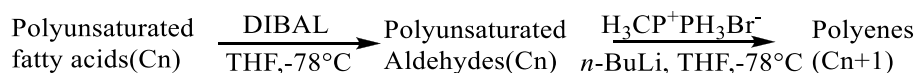


Fig. 3 乾燥ワカメの精油のトータルイオンクロマト(A)及び主要成分のマススペクトル(B)

精油中、85 付近に主要な香氣成分(>40%)が含まれていることがわかった。そこで、SDE 法を繰り返して精油を調製して、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより目的の化合物(10 mg)を単離した。目的の化合物の GC-MS 分析により、分子イオン(M⁺)は m/z 284 であった。¹H-NMR スペクトルにより、1 組のビニルプロトン、10 個のオレフィンプロトン、4 つのペンタジエニル構造のビスアリル位のメチレンプロトン、3 つの二重結合に隣接するメチレンプロトン、1 つのメチレンとメチルプロトンが観測された。このことから、1,4-skipped diene のポリエン構造及び末端ビニル構造が示唆された。¹³C-NMR スペクトルでは、21 炭素のシグナルが観測され、DEPT 法によって、12 のオレフィンカーボン、8 個のメチレンカーボン、1 個のメチルカーボンが確認できた。二次元の H-H COSY および HMBC スペクトルから、末端メチルおよびビニルプロトンと 1,4-skipped diene 構造間の相関を確認した。以上の結果より、乾燥ワカメの精油に含まれる主要成分は、1,6,9,12,15,18-henicosahexaene と予想した。



Scheme 1 ポリエン類縁体の合成

この二重結合の位置並びに幾何を確認するため、目的の化合物を立体選択的に合成することにした。この *skipped diene* 構造は、入手可能な脂肪酸の骨格を利用することにし、末端の二重結合は、Wittig 反応を用いた 1 炭素増炭反応で構築できると考えた。すなわち、(5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-5,8,11,14,17-icosapentaenoic acid を出発原料として、還元剤の DIBAL in THF を用い、-78°C で(5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-5,8,11,14,17-icosapentaenal を収率 38.4%で得た。次に、このアルデヒドと methyltriphenylphosphorane を-78 °C で、塩基として *n*-BuLi を用いた Wittig 反応によって(6*Z*,9*Z*,12*Z*,15*Z*,18*Z*)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene を収率 29.8 % で得た(Scheme 1)。得られた henicosahexaene は 2 段階で全収率 11.4 %であった。そこで、精油中の成分と合成品の henicosahexaene を GC-MS および NMR スペクトルの比較を行ったところ、完全に一致することがわかった(Fig. 4)。

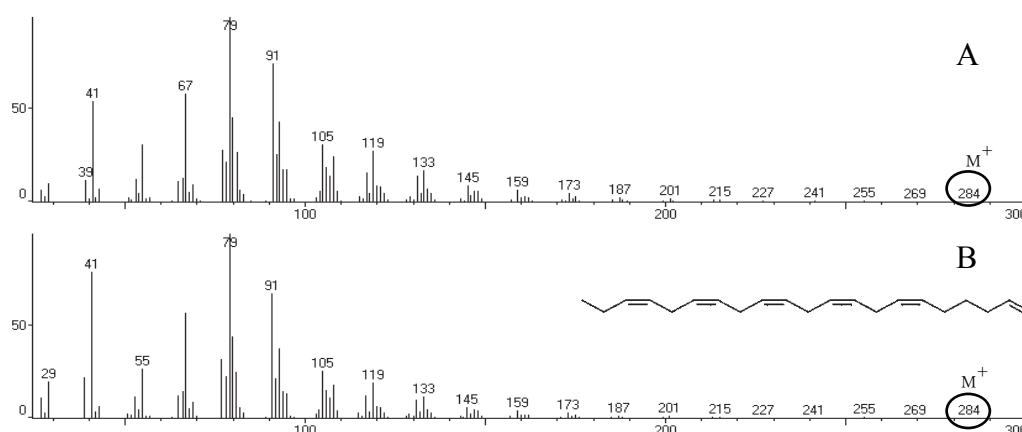


Fig. 4 精油中の主要成分(A)と合成品(B)のマスマスペクトル

以上の結果より、乾燥ワカメの精油中に含まれる主要香気成分は、(6*Z*,9*Z*,12*Z*,15*Z*,18*Z*)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene であると決定した。この henicosahexaene は、これまで褐藻、紅藻、ケイ藻などで検出されている。³³⁻⁴⁴⁾以前の報告によると、生ワカメの水蒸気蒸留による精油中には、主要な成分として cubenol が含まれていたとの報告がある。³¹⁾この cubenol は、その他褐藻類でも検出されている。^{45,46)}今回、乾燥ワカメの精油中から cubenol の検出をマスマスペクトルやリテンションインデックスを用いて試みたが、見当たらなかった。このことから、乾燥ワカメの製造過程が香気成分組成に影響を及ぼしていることが考えられた。すなわち、生ワカメの加熱、切断工程で cubenol を含め

た香気成分の減少が予想され、それに対して、塩蔵および乾燥工程や貯蔵において目的のポリエンの増加が起こったのではないかと予想した。

ところで、興味深いことに、この **hencosahexaene** は、わずかに海洋香気を有していた。そこで、このニオイ-構造相関を調べるため、類縁化合物であるポリエン類を合成した。(5Z,8Z,11Z,14Z)-5,8,11,14-icosatetraenoic acid, (11Z,14Z,17Z)-11,14,17-icosatrienoic acid, (11Z,14Z)-11,14-icosadienoic acid 及び (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid を用いて DIBAL 還元を行なって、(11Z,14Z,17Z)-11,14,17-icosatrienal, (11Z,14Z)-11,14-icosadienal 及び (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-4,7,10,13,16,19-docosahexaenal を収率 32.9 - 41.2% で調製した。続いてこれらアルデヒドとホスホランとの Wittig 反応により、(6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaene, (12Z,15Z,18Z)-1,12,15,18-henicosatetraene, (12Z,15Z)-1,12,15-henicosatriene 及び (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z,20Z)-1,5,8,11,14,17,20-tricosaeptaene を収率 25.2 - 37.0% で合成した。(Fig. 5) 全収率は、9.5% - 15.2% であった。合成したポリエンのニオイを評価したところ、henicosapentaene は hencosahexaene と類似していたが、ニオイ強度が弱かった。ポリエンの海洋の香気は、tetraene や triene ではなくなり、tricosaeptaene では、わずかにフルーティーであった。当研究室の海洋香気の探索により、(7Z,10Z,13Z)-7,10,13-hexadecatrienal 及び (8Z,11Z,14Z)-8,11,14-heptadecatrienal がアオサ様、磯様香気を有するのに対し、(8Z,11Z)-8,11-heptadecadienal や pentadecanal がオイリー臭を持つことを報告している。^{17,47)}つまり、skipped diene の構造の数によって、海洋香気に影響を及ぼすことが分かっており、今回のポリエンにおいても同様な傾向が見られた。

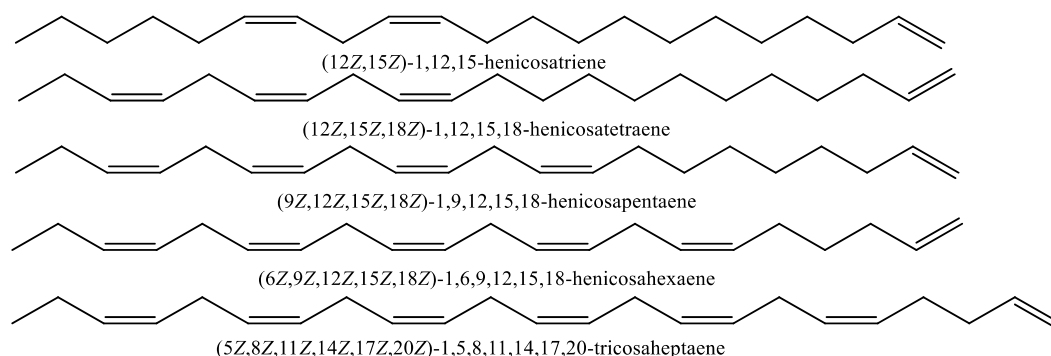


Fig. 5 合成した hencosahexaene 及びその類縁体

一方、乾燥ワカメの精油の GC-MS 分析におけるトータルイオンクロマト中、82 分付近に主要なポリエンの類縁体が検出された(**Fig. 6**)。その分子イオンは m/z 286 であり、GC-MS スペクトル及び合成品との比較から (6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaene であると同定した。

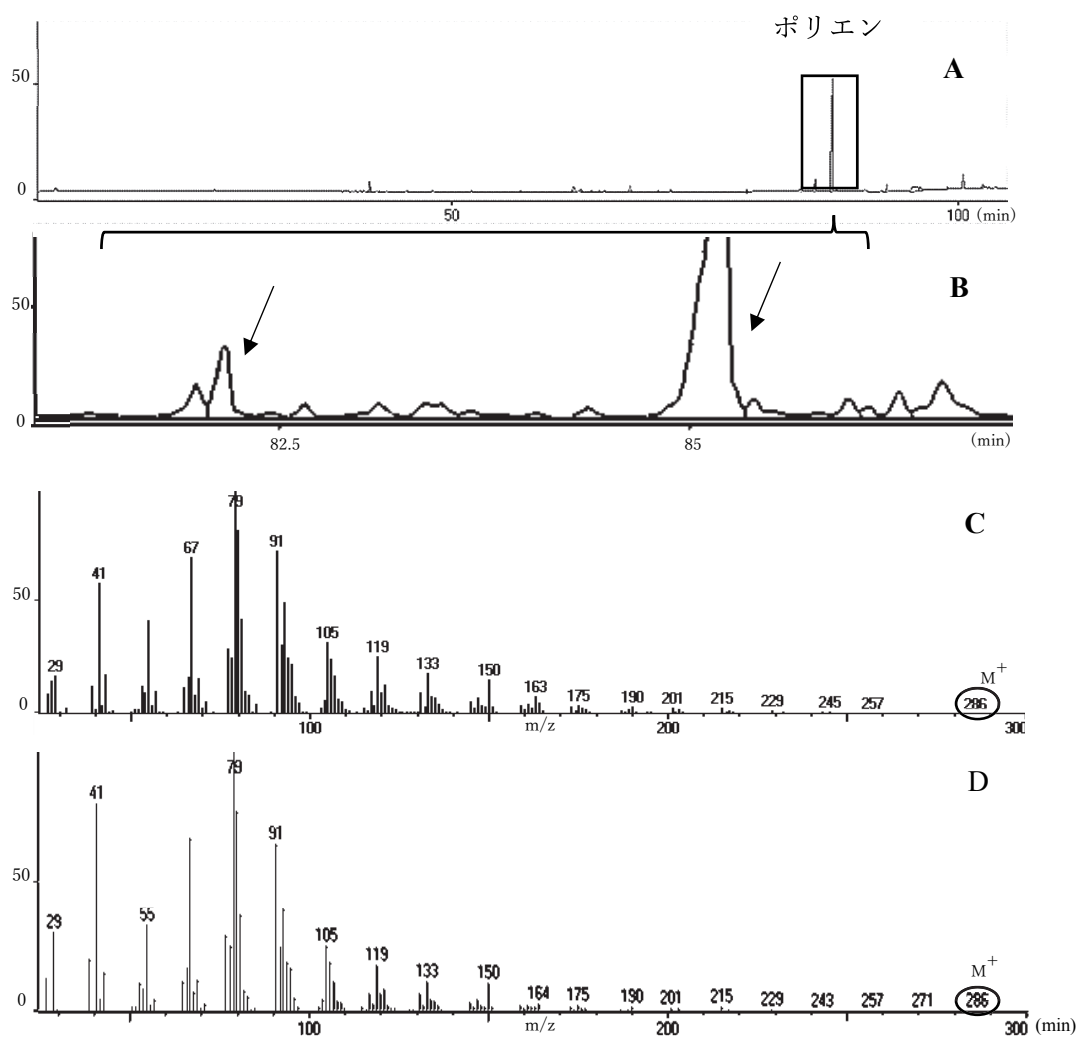


Fig. 6 乾燥ワカメの精油のトータルイオンクロマトおよびマススペクトル

- A : 乾燥ワカメの精油のトータルイオンクロマト
- B : その拡大図 (右矢印が (6Z, 9Z, 12Z, 15Z, 18Z)-1, 6, 9, 12, 15, 18-henicosahexaene, 左矢印が微量なポリエン)
- C : 微量なポリエンのマススペクトル
- D : 合成した (6Z, 9Z, 12Z, 15Z)-1, 6, 9, 12, 15-henicosapentaene のマススペクトル

さらに、塩蔵ワカメにおいても SDE 法で精油を調製したところ、乾燥より低かった(0.01%)。得られた精油を GC-MS 分析したところ、乾燥ワカメの精油と同様に主要な香気成分が認められ(Fig. 7)、(6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene と同定し、微量成分として、(6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaene も検出された。これらポリエンは海洋香気を有することから、乾燥や塩蔵ワカメの特徴的香気に寄与すると考えた。

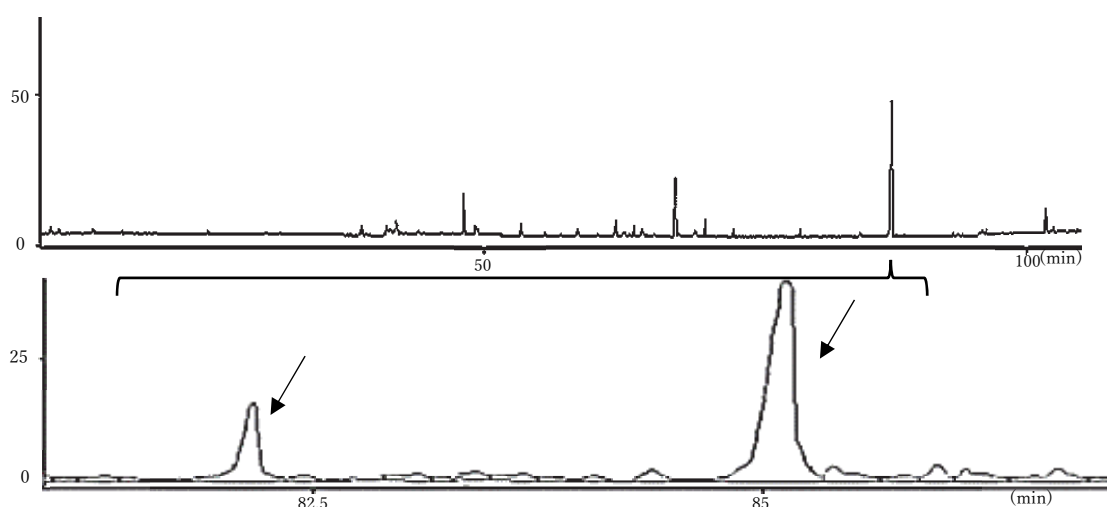


Fig. 7 塩蔵ワカメの精油中のトータルイオンクロマト

A : 塩蔵ワカメの精油のトータルイオンクロマト

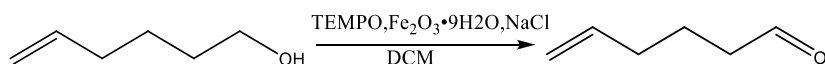
B : その拡大図 (右矢印が(6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene、左矢印が(6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaene)

次に、これらポリエン類の生合成について検討した。その構造を見ると、脂肪酸が前駆体と予想されるため、乾燥及び塩蔵ワカメから総脂質を抽出して脂肪酸組成を決定した。henicosahexaene の場合、docosapentaenoic acid (C22:5) から 1 炭素減炭して生成すると予想したが、目的の脂肪酸は検出されなかった。乾燥ワカメ中の多く見られる脂肪酸は、octadecatetraenoic acid (C18:4; 30.4%), icosapentaenoic acid (C20:5; 14.5%), linolenic acid (C18:3; 10.8%), palmitic acid (C16:0; 10.7%)及び arachidonic acid (C20:4; 8.7%)であった。塩蔵ワカメの脂肪酸組成もほぼ同様であった。Youngblood, W.W.らも、ポリエン類の生合成を脂肪酸由来と考えたが、今回同様、相当する脂肪酸を検出するに至っていない。³³⁾

これらの結果より、より鎖長の短い octadecatetraenoic や icosapentaenoic acid の増炭並びに脱炭酸によってポリエンが生成する機構を推定した。

以上の研究より、ワカメの香気は、生、塩蔵、乾燥の条件によって変化することがわかった。中でも、henicosahexaene は塩蔵や乾燥の工程で増え、ワカメの全体のニオイの質に影響を及ぼすと考えられた。

Broekhof, N. L らは、ポリエン類は空気中で酸化を受けやすく、分解生成物を与えると報告している。⁴⁸⁾一方、Kurihara, H らは、数週間の空気暴露においても安定であると述べた。³⁷⁾そこで、(6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene の酸素気流下での安定性を精査した。henicosahexaene を酸素気流下 33-35°C で 3 週間攪拌を続けて、酸化生成物を GC-MS 分析したところ、2 週間程度では変化が認められなかったが、それ以降は黄色に変化し、沈殿物も見られた。3 週間後に GC-MS 分析した時に、主要な酸化生成物が確認された。予想された構造をもとに 5-hexen-1-ol を TEMPO を用いて酸化したところ、⁴⁹⁾収率 32.8% で 5-hexenal を得、この化合物が henicosahexaene の酸化生成物と一致することがわかった(Scheme 2)。



Scheme 2 5-hexenal の合成

このことより、塩蔵や乾燥ワカメ中の henicosahexaene は保存中に空気中の酸素によって酸化を受け、5-hexenal へと分解され、全体の香気に影響を及ぼすことが示唆された(Fig. 8)。

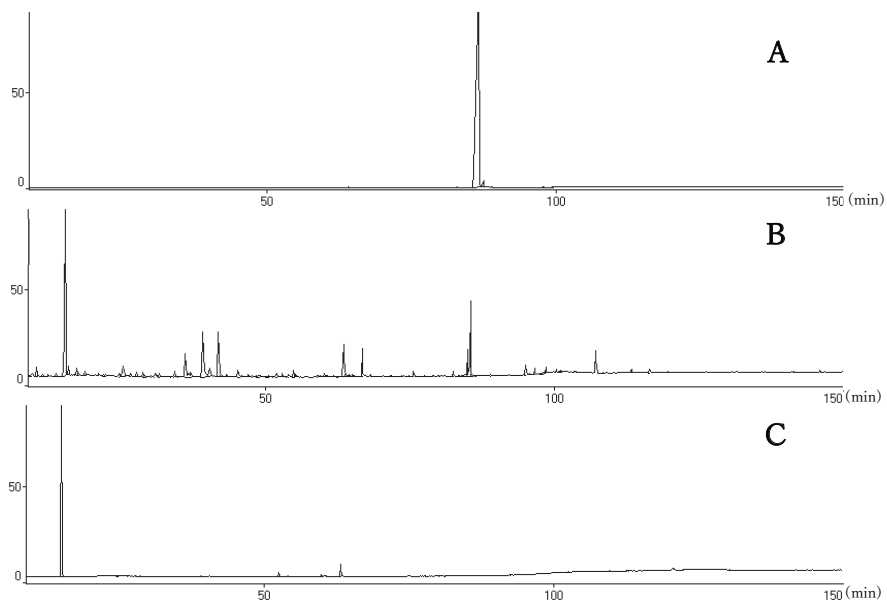


Fig. 8 (6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene の酸素下での変化

A : 反応前のトータルイオンクロマト

B : 21 日後のトータルイオンクロマト

C : 合成した 5-hexenal のトータルイオンクロマト

第3章 褐藻ウミトラノオにおける2タイプの揮発性ポリエン類について

3-1 序論

ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属に分類されているウミトラノオ (*Sargassum thunbergii*)は褐藻の一種で、日本各地、朝鮮半島、中国、太平洋沿岸の潮間帯下部に広く生育している。様々な動植物に生息場を提供するとともに、海域の環境保全の役割も担っており、養殖アワビ、ナマコの餌としても利用されている。⁵⁰⁾中国では、約500年前から漢方薬の海藻玉壺湯に使用されてきた。^{51,52)}近年の研究では、マウス実験で解熱、鎮痛剤、抗炎症の活性があり、人に対しては免疫調節機能や含まれる多糖類の抗癌剤としての利用が注目されている。⁵³⁾

新規な海洋香気の探索の一環で、ウミトラノオから連続蒸留抽出(SDE)法により精油を調製し、GC-MS分析したところ、乾燥ワカメと同様に、(6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene 及び(6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaene が微量成分として検出された。興味深いことに、これら henicosahexaene および henicosapentaene の類縁化合物が主要な成分として検出されたため、精油よりこれらポリエン類を単離して構造を決定し、さらに合成品との比較によって同定することにした。

3-2 実験材料及び手法

3-2.1 実験材料

ウミトラノオ(*Sargassum thunbergii*)は山口県沿岸にて、2015年12月に採取した。濾過海水で洗浄し、抽出まで、-20℃で保存した。精油を調製する際の溶媒及び合成に用いた薬品は、関東化学(株)、シグマ-アルドリッチジャパン(株)、東京化成工業(株)より購入した。使用する前に、THFはナトリウム/ベンゾフェノン、dichloromethaneは水素化カルシウムで蒸留した。GC分析は島津GC-14B毛細管カラムを使用した。すべての反応は、TLC(0.25mm E. Merck silica gel plates (60 F₂₅₄))及びGC(Shimadzu GC-14B)で追跡した。IRスペクトルは、Nicolet FT-IRで測定した。¹H-及び¹³C-NMRならびに各種スペクトルは、Bruker AVANCE 400で行った。

3-2.2 精油の調製

ウミトラノオ(200 g)へ蒸留水(200 ml)を加えて摩砕後、dichloromethane - pentane (1:2, 150 ml) を抽出溶媒として、SDE 法で2時間抽出した。抽出液は、anhydrous Na₂SO₄を用いて冷蔵庫で一晩乾燥させた。乾燥剤をろ過した後、抽出液をロータリーエバポレーターによって完全濃縮した(30°C、700-293 Torr)。その結果、精油率 $2.6 \times 10^{-3}\%$ で得られた。得られた精油はジクロロメタン(100 μ l)で希釈し、分析するまで窒素置換して-20°Cで保存した。

3-2.3 GC-MS 分析

GC-MS (Shimadzu QP5050A) に、希釈した精油 (1 μ l) を注入して分析を行った。分析用カラムは DB-WAX (0.25 mm i.d.×60 m) を使用した。カラム温度は 40°C で 5 分間保持後、2°C/min で 230°C まで昇温させ、50 分間保持した。導入部の温度は 220°C、キャリアガスは He を用い、流速は 1.6 ml/min とし、スプリット比は 10:1、イオン化するための電圧は 70 eV とした。香気成分の同定は標品リテンションインデックス(RI)とマススペクトルの比較、文献に記載されている RI とマススペクトルの比較、及びマススペクトルの NIST ライブラリー検索により行った。また、RI は *n*-alkanes (C7-C27) を使用して求めた。

3-2.4 精油からポリエン類の単離

SDEを繰り返し調製した精油(25.7 mg)をシリカゲルクロマトグラフィーによって分画を行い、非極性画分にポリエンI (1.8 mg)及びポリエンII (0.9 mg)を得(10 mg)、GC-MS及びNMR分析を行った。

ポリエン I: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm: δ = 5.41-5.33 (m, 12H), 2.85-2.80 (m, 10H), 2.12-2.01 (m, 4H), 0.98 (t, *J* = 7.6 Hz, 6H); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm: δ = 132.05 (2C), 128.57 (2C), 128.25 (2C), 128.13 (2C), 127.89 (2C), 127.02 (2C), 25.63 (3C), 25.54 (2C), 20.56 (2C), 14.27 (2C); GC-MS *m/z*: 284 (M⁺), 269, 255, 241, 227, 215, 199, 187, 173, 159, 145, 133, 119, 108, 91, 79, 67, 55, 41, 39, 29.

ポリエン II: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm: δ = 5.39-5.30 (m, 10H), 2.87-2.80 (m, 8H), 2.10-2.01 (m, 4H), 1.35-1.20 (m, 6H), 0.98 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 0.89 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H); GC-MS *m/z*: 286 (M⁺), 271, 257, 243, 232, 215, 201, 187, 175, 159, 150, 133, 119, 105, 91, 79, 67, 55, 41, 39, 29.

3-2.5 Syntheses of (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-3,6,9,12,15,18-henicosahexaene (I)

2-propynyl-1-bromide (4)

PBr₃ (62.7 g, 231.6 mmol)をゆっくり触媒量の pyridine を含む 2-propyn-1-ol (**1**; 34.2 g, 610.9 mmol)へ-10°Cで加えた。室温で2時間攪拌後、直接蒸留を行い、**4** (45.0g, 61.0%)を無色の液体として得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm : δ= 3.88 (d, *J*= 2.6Hz, 2H), 2.53 (t, *J*= 2.6Hz, 1H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm : δ= 78.72, 74.87, 13.39. IR (film) cm⁻¹ : $\tilde{\nu}$ = 3300, 3009, 2980, 2933, 2877, 2122, 1217

2-(2-propynyloxy)tetrahydropyran (5)

NaHSO₄(1.0 ml, 5.0 M)水溶液をアルコール **1** (2.2 g, 39.3 mmol)及び DHP (5.0 g, 59.0 mmol)の混合液へ加えた。室温で24時間攪拌後、NaHCO₃を加えて反応を止め、etherで抽出した。抽出液は飽和食塩水で洗浄後、anhydrous Na₂SO₄で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、蒸留して THP ether **5** (4.4 g, 71.4%)を無色の液体として得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm : δ= 4.83 (t, *J*= 3.4 Hz, 1H), 4.26 (m, 2H), 3.89-3.81 (m, 1H), 3.57-3.50 (m, 1H), 2.42 (t, *J*= 2.4 Hz, 1H), 1.82-1.51 (m, 6H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm : δ = 96.83, 79.76, 73.98, 61.99, 53.99, 30.20, 25.32, 18.98. IR (film) cm⁻¹ : $\tilde{\nu}$ = 3315, 3292, 3259, 2956, 2873, 2846, 2248, 1733.

2-pentyn-1-bromide (6)

PBr₃ (25.9 g, 93.8 mmol)をゆっくり触媒量の pyridine を含む 2-pentyn-1-ol (**2**; 22.0 g, 256.0 mmol)へ-10°Cで加えた。室温で3時間攪拌後、反応液を氷水へ注ぎ、etherで抽出した。抽出液を水、飽和 NaHCO₃水溶液及び飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、蒸留して **6** (26.0 g, 66.9%)を無色の液体として得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm : δ= 3.93 (t, *J*= 2.3 Hz, 2H), 2.26 (qt, *J*= 7.5 Hz, 2.3 Hz, 2H), 1.14 (t, *J*= 7.5 Hz, 3H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm : δ= 89.44, 74.63, 15.72, 13.48, 12.66. IR (film) cm⁻¹ : $\tilde{\nu}$ = 2967, 2937, 2911, 2233, 1644, 1209.

2-(2,5-hexadiynyloxy)tetrahydropyran (7)

THP ether **5** (6.6 g, 47.0 mmol)を 1M EtMgBr(50.0 ml, 50.0 mmol) in THF 溶液へ 10°C で加え、65°C で 1 時間攪拌した。室温で CuI (40.0 mg, 0.2 mmol)を加え 10 時間攪拌後、bromide **4** (6.4 g, 53.0 mmol)を加えた。65°C で 5 時間攪拌後、反応液を注意深く冷やした飽和 NH₄Cl 水溶液に注ぎ、ether で抽出した。抽出液を飽和 NaHCO₃ 水溶液及び飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーをして THP ether **7** (6.5 g, 69.7%)を無色の液体として得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm : δ= 4.79 (t, *J*= 3.4 Hz, 1H), 4.32-4.19 (m, 2H), 3.87-3.81 (m, 1H), 3.56-3.51 (m, 1H), 3.23 (dt, *J*= 4.8 Hz, 2.4 Hz, 2H), 2.08(t, *J*= 2.7 Hz, 1H), 1.85-1.51(m, 6H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm : δ= 96.86, 79.33, 77.80, 76.83, 68.92, 61.94, 54.38, 30.21, 25.34, 19.02, 9.74. IR (film) cm⁻¹ : $\tilde{\nu}$ = 3400, 2939, 2874, 2845, 2250, 1732.

2, 5, 8-undecatriyn-1-ol (8)

THP ether **7** (6.5 g, 34.0 mmol)を K₂CO₃ (6.84 g, 49.5 mmol), CuI (6.28 g, 33 mmol), NaI (7.42 g, 49.5 mmol) in DMF (40 ml)の懸濁液に加えた。bromide **6** (8.0 g, 54.0 mmol)を反応液へ加え、室温で 5 時間攪拌した。反応液をセライトでろ過して、ether で抽出した。抽出液を飽和 NH₄Cl 水溶液、水、飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮後、5% (w/w) PTS-MeOH (90 ml)溶液に加え、室温で 20 時間攪拌した。ロータリーエバポレーターで MeOH を留去後、濃縮物をエーテルで抽出した。抽出液を飽和 NaHCO₃ 水溶液および飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄ で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーをして triynol **8** (4.0 g, 64.7%)を黄色の液体として得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 4.26 (t, *J*= 2.1Hz, 2H), 3.21 (tt, *J*= 2.2 Hz, 2.3 Hz, 2H), 3.14 (tt, 2.3 Hz, 2.4 Hz, 2H), 2.17 (m, 2H), 1.12 (t, *J*= 7.5 Hz, 3H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 82.28, 80.09, 78.70, 75.52, 73.68, 72.92, 51.21, 13.81, 12.34, 9.88, 9.70. IR (film) cm⁻¹: $\tilde{\nu}$ = 3337, 2982, 2939, 2913, 2871, 2246, 2207.

2,5,8-undecatriyn-1-bromide (9)

1M PBr₃ (8 ml, 8.0 mmol) in ether をゆっくり触媒量の pyridine を含む **8** (4.0 g, 22.0 mmol) in ether (20 ml) へ -10°C で加えた。室温で 2 時間攪拌後、反応液を氷水へ注ぎ、ether で抽出した。抽出液を水、飽和 NaHCO₃ 水溶液及び飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄ で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーをして **9** (1.6 g, 29.1%) を黄色の液体として得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 3.91(t, *J*= 2.3Hz, 2H), 3.24 (tt, *J*= 2.2, 2.3 Hz, 2H), 3.14 (tt, *J*= 2.3, 2.4 Hz, 2H), 2.17 (m, 2H), 1.12 (t, *J*= 7.5 Hz, 3H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 82.32, 81.33, 75.74, 75.57, 73.19, 72.85, 14.69, 13.83, 12.36, 10.14, 9.72. IR (film) cm⁻¹ : $\tilde{\nu}$ = 2977, 2930, 2918, 2888, 2879, 2246, 2233, 1719, 1321.

2, 5-octadiyn-1-ol (10)

Alcohol **1** (5.5 g, 33.0 mmol) を K₂CO₃ (6.8 g, 49.5 mmol), CuI (6.3 g, 33.0 mmol), NaI (7.4 g, 49.5 mmol) in DMF (40 ml) の懸濁液に加えた。bromide **6** (3.7 g, 25.2 mmol) を反応液へ加え、室温で 5 時間攪拌した。反応液をセライトでろ過して、ether で抽出した。抽出液を飽和 NH₄Cl 水溶液、水、飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄ で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーをして **10** (2.7 g, 93.1%) を無色の液体として得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 4.27(t, *J*= 2.2 Hz, 2H), 3.19(tt, *J*= 2.3 Hz, 2.2 Hz, 2H), 2.17(tq, *J*= 2.3 Hz, 7.5 Hz, 2H), 1.13 (t, *J*= 7.5 Hz, 3H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 82.45, 80.81, 78.36, 72.67, 51.25, 13.79, 12.32, 9.79. IR (film) cm⁻¹: $\tilde{\nu}$ = 3334, 2980, 2937, 2920, 2882, 2255.

2,5-octadiyn-1-bromide (11)

1M PBr₃ (10 ml, 10.0 mmol) in ether をゆっくり触媒量の pyridine を含む alcohol **10** (3.8 g, 25.0 mmol) in ether (10 ml) へ -10°C で加えた。室温で 3 時間攪拌後、反応液を氷水へ注ぎ、ether で抽出した。抽出液を水、飽和 NaHCO₃ 水溶液及び飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄ で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーをして bromide **11** (2.8 g, 52.9%) を黄色の液体として得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 3.92 (t, *J*= 2.4 Hz, 2H), 3.21 (tt, *J*= 2.4, 4.7 Hz,

2H), 2.17 (tq, $J=2.4, 7.5$ Hz, 2H), 1.12 (t, $J=7.5$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) ppm: $\delta=82.67, 82.08, 75.24, 72.16, 14.82, 14.10, 12.33, 10.06$. IR (film) cm^{-1} : $\tilde{\nu}=2977, 2939, 2909, 2871, 1728, 1211$.

trimethyl (1,4,7-decatriynyl)silane (12)

Bromide **11** (1.8 g, 9.0 mmol)を CuI (1.7 g, 8.9 mmol), NaI (2.0 g, 13.5 mmol), K_2CO_3 (1.9 g, 13.5 mmol) in DMF (10 ml)の懸濁液に加えた。trimethylsilylacetylene (**3**; 1.1 g, 1.0 mmol)を反応液へ加え、室温で16時間攪拌した。反応液をhexaneで抽出した。抽出液を飽和 NH_4Cl 水溶液、水、飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na_2SO_4 で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーをしてTMS ether **12** (1.3 g, 65.4%)を得た。

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) ppm: $\delta=3.21$ (t, $J=2.4$ Hz, 2H), 3.14 (tt, $J=2.2, 2.4$ Hz, 2H), 2.17 (tq, $J=2.4, 7.5$ Hz, 2H), 1.12 (t, $J=7.5$ Hz, 3H), 0.16 (s, 9H). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) ppm: $\delta=99.91, 85.06, 82.18, 75.37, 73.70, 73.02, 13.83, 12.35, 10.92, 9.77, -0.11(3\text{C})$. IR (film) cm^{-1} : $\tilde{\nu}=2965, 2935, 2913, 2900, 2875, 2182, 1720, 1681$. GC-MS m/z : 202 (M)⁺, 187, 159, 135, 111, 73, 59.

1,4,7-decatriyne (13)

TMS ether **12** (767.0 mg, 3.8 mmol)をDMI (10 ml), CsF (600.0 mg, 4.0 mmol)及びwater (0.5 ml)の混合物へ加え、室温で一晩攪拌した。反応液をpentaneで抽出した。抽出液を水と飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na_2SO_4 で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、triyne **13** (433.0 mg, 78.7%)を無色の液体として得た。

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta=3.17$ (m, 2H), 3.14 (m, 2H), 2.17 (tq, $J=2.4, 7.5$ Hz, 2H), 2.07 (t, $J=2.6$ Hz, 1H), 1.12 (t, $J=7.5$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) ppm : $\delta=82.25, 78.19, 76.65, 73.36, 72.89, 68.71, 13.81, 12.34, 9.70, 9.61$. IR (film) cm^{-1} : $\tilde{\nu}=3294, 2969, 2935, 2918, 2892, 2871, 2849, 2216, 1728$. GC-MS m/z : 130 (M)⁺, 128, 115, 89, 77, 65, 51, 39.

3,6,9,12,15,18-henicosahexayne (14)

Triyne **13** (232.0 mg, 1.4 mmol) を CuI (405.0 mg, 2.1 mmol), NaI (319.0 mg, 2.1 mmol), K₂CO₃ (294.0 mg, 1.4 mmol) in DMF (10 ml) の懸濁液に加え、40°C で攪拌した。bromide **9** (700.0 mg, 3.1 mmol) を 40°C でゆっくり 5 時間かけて反応液へ加え、さらに 45°C で 3 時間攪拌した。反応液を ether で抽出した。抽出液を飽和 NH₄Cl 水溶液と飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄ で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーをして henicosahexayne **14** (180.0 mg, 46.4%) を白色の結晶として得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 3.23 (m, 2H), 3.14 (m, 4H), 2.37-2.45 (m, 4H), 2.21-2.12 (m, 4H), 1.12 (t, *J*= 7.5 Hz, 3H), 1.11 (t, *J*= 7.5 Hz, 3H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 77.20 (12C), 31.58 (3C), 22.64 (2C), 14.09 (2C), 13.82 (2C). IR (film) cm⁻¹: $\tilde{\nu}$ = 2972, 2933, 2925, 2873, 2839, 2365, 2314, 2208, 1725. TOF-MS *m/z*: 273.1646 (M+H)⁺ (Calcd for C₂₁H₂₁: 273.1638).

(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-3,6,9,12,15,18-henicosahexaene (I)

Hexayne **14** (66.9 mg, 0.2 mmol) in THF (6 ml) へ Lindlar catalyst (80.0 mg, 5% Pd-BaSO₄) と触媒毒として quinoline (5.0 mg) を 0°C で加え、理論量の H₂ gas (26.9 ml) を吸収するまで反応を続けた。反応液をセライトでろ過後、ether で抽出した。抽出液を水と飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄ で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーをして henicosahexaene **I** (9.2 mg, 13.8%) を無色の液体として得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 5.44-5.30 (m, 12H), 2.85-2.80 (m, 10H), 2.11-2.04 (m, 4H), 0.98 (t, *J*= 7.5 Hz, 6H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 132.04 (2C), 128.57 (2C), 128.25 (2C), 128.13 (2C), 127.89 (2C), 127.02 (2C), 25.63 (3C), 25.54 (2C), 20.56 (2C), 14.26 (2C). IR (film) cm⁻¹: $\tilde{\nu}$ = 3014, 2960, 2928, 2874, 2852, 1456, 1433, 717. TOF-MS *m/z*: 285.2584 (M+H)⁺ (Calcd for C₂₁H₃₃: 285.2577).

3-2.6 Syntheses of (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-3,6,9,12,15-henicosapentaene (II)

1, 4-decadiyne (16)

1-heptyne **15** (4.4 g, 39.9 mmol) を 3M EtMgBr (13.1 ml, 39.3 mmol) in THF へ 10°C で加えた後、反応液を 65°C で 1 時間攪拌した。CuI (40.0 mg, 0.2 mmol) を

加えて 10 分間攪拌後、bromide **4** (5.0 g, 41.0 mmol)を加え、65°C で 10 時間攪拌した。反応液を注意深く冷やした飽和 NH₄Cl 水溶液に注ぎ、ether で抽出した。抽出液を飽和 NaHCO₃ 水溶液及び飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、蒸溜をして decadiyne **16** (1.1 g, 20.6%)を無色の液体として得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 3.15 (dt, *J*= 2.5, 2.5 Hz, 2H), 2.16 (tt, *J*= 2.5, 7.2 Hz, 2H), 2.06 (t, *J*= 2.7 Hz, 1H), 1.50 (m, 2H), 1.37 (m, 4H), 0.89 (t, *J*= 7.1 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 81.32, 78.98, 72.95, 68.32, 31.04, 28.35, 22.18, 18.63, 13.93, 9.54. IR (film) cm⁻¹: $\tilde{\nu}$ = 3303, 2956, 2930, 2879, 2853, 2229, 1732, 1689.

3,6,9,12,15-henicosapentayne (17)

Diyne **16** (485.0 mg 3.6 mmol)を CuI (685.6 mg, 3.6 mmol), NaI (539.6 mg 3.6 mmol) and K₂CO₃ (746.3 mg, 5.4 mmol) in DMF (10 ml) の懸濁液に加え、40°C で攪拌した。bromide **9** (845.0 mg 3.96 mmol)を 40°C でゆっくり 5 時間かけて反応液へ加え、さらに 45°C で 3 時間攪拌した。反応液を ether で抽出した。抽出液を飽和 NH₄Cl 水溶液と飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーをして henicosapentayne **17** (221.0 mg, 22.2%)を無色の液体として得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 3.13 (m, 8H), 2.16 (m, 4H), 1.49 (t, *J*= 7.3 Hz, 2H), 1.38 (m, 4), 1.12 (t, *J*= 7.4 Hz, 3H), 0.90 (t, *J*= 7.4 Hz, 3H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 82.19, 80.95, 75.28, 75.22, 74.49, 74.46, 74.04, 73.99, 73.58, 73.01, 31.57, 31.07, 28.41, 22.64, 22.19, 18.67, 13.95, 13.82, 12.35, 9.80, 9.75. IR (film) cm⁻¹: $\tilde{\nu}$ = 2952, 2930, 2875, 2858, 2254, 2207, 1317. TOF-MS *m/z*: 277.1947 (M+H)⁺ (Calcd for C₂₁H₂₅: 277.1951).

(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-3,6,9,12,15-henicosapentaene (II)

Pentayne **17** (60.0 mg, 0.2 mmol) in ethanol (6 ml)へ Lindlar catalyst (30.0 mg, 5%Pd-BaSO₄)と触媒毒として quinoline (30.0 mg) を 0°C で加え、理論量の H₂ gas (22.4 ml) を吸収するまで反応を続けた。反応液をセライトでろ過後、ether で抽出した。抽出液を水と飽和食塩水で洗浄し、anhydrous Na₂SO₄で乾燥した。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーをして henicosapentaene **II** (20.0 mg, 31.4%)を無色の液体として得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) ppm: δ= 5.42-5.33 (m, 10H), 2.87-2.80 (m, 8H), 2.12-2.03

(m, 4H), 1.36-1.29 (m, 6H), 0.99 (t, $J=7.4$ Hz, 3H), 0.90 (t, $J=7.4$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) ppm: $\delta=$ 132.03, 130.48, 128.55 (2C), 128.20, 128.18, 127.91 (2C), 127.55, 127.03, 31.59, 31.52, 29.33, 27.22, 25.64, 25.54, 22.65, 22.57, 20.55, 14.20, 14.05. IR (film) cm^{-1} : $\tilde{\nu}=$ 3012, 2969, 2918, 2866, 2845, 1651, 1463, 719. TOF-MS m/z : 287.2729 (M+H) $^+$ (Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{35}$: 287.2733).

3-3 結果および考察

褐藻ウミトラノオ(*Sargassum thunbergii*)を用いて連続蒸留抽出(SDE)法により精油を調製したところ、 $2.6 \times 10^{-3}\%$ 得ることができた。**Fig. 9** に GC-MS 分析のトータルイオンクロマトを示す。香氣成分の調べたところ、4種のポリエン類が含まれていることがわかった。これらの内、主要なポリエン **I** 及び **II** は henicosahexaene と henicosapentaene と予想されたため、乾燥ワカメ(*Undaria pinnatifida*)で検出された(6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene および(6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaene の合成品と比較したところ、一致しないことがわかった。一方、残り2種の微量な成分が乾燥ワカメ中のポリエンと一致することがわかった。よって、ウミトラノオの精油に含まれる主要なポリエン類 **I** および **II** は、henicosahexaene と henicosapentaene の異性体と予想された。そこで、目的のポリエン類の構造を決定するため、SDE を繰り返して精油を調製し、分取 TLC で単離を試みた。その結果、ポリエン **I** 及び **II** を得ることができた。ポリエン **I** は GC-MS 分析により、分子イオン(M^+)が m/z 284 であった。**(Fig. 9)** 1H -NMR スペクトルにより、末端ビニルプロトンは含まれておらず、それに対して12個のオレフィンプロトン、ペンタジエニル構造の5つのビスアリル位のメチレンプロトン、二重結合に隣接する2つのメチレンプロトンおよび2つのメチルプロトンが観測され、1,4-skipped diene 構造が予想された。 ^{13}C -NMR スペクトルでは、10個の炭素シグナルしか観測されず、DEPT 法によって、6つのオレフィン炭素、3つのメチレン炭素および1つのメチル炭素であることがわかった。炭素骨格は21から構成されることを考えると、目的のポリエン **I** は分子内に対称構造を持つことが示唆された。さらに、二次元の H-H COSY および HMBC スペクトルにより、末端メチルと 1,4-skipped diene 構造との相関が観測された。したがって、ウミトラノオの精油に含まれるポリエン **I** は、3,6,9,12,15,18-henicosahexaene と予想された。一方、ポリエン **II** は、分子イオン(M^+)が m/z 286 であった。**(Fig. 9)** 1H -NMR スペクトルにより、末端ビニルプロトンは含まれておらず、それに対して10個のオレフィンプロトン、ペンタジエニル構造の4つのビスアリル位のメチレンプロトン、二重結合に隣接する2つのメチレンプロトン、3つのメチレンプロトンおよび2つのメチルプロトンが観測された。 ^{13}C -NMR スペクトルは、分析したサンプル量が低いため、正確なシグナルが観測できなかつたものの、ビニル基由来の炭素のシグナルは観測できなかつた。このことから、ポリエン **II** は、

3,6,9,12,15-henicosapentaene と予想した。このように、ポリエン **I** 及び **II** は、末端に二重結合を持たない飽和型のポリエンと考えられた。これまでの文献において、1,6,9,12,15,18-henicosahexaene 及び 1,6,9,12,15-henicosapentaene は褐藻や紅藻で検出した報告があり、^{33-44, 56)}末端飽和型のポリエン類は緑藻から検出された例がある。^{42, 54)}

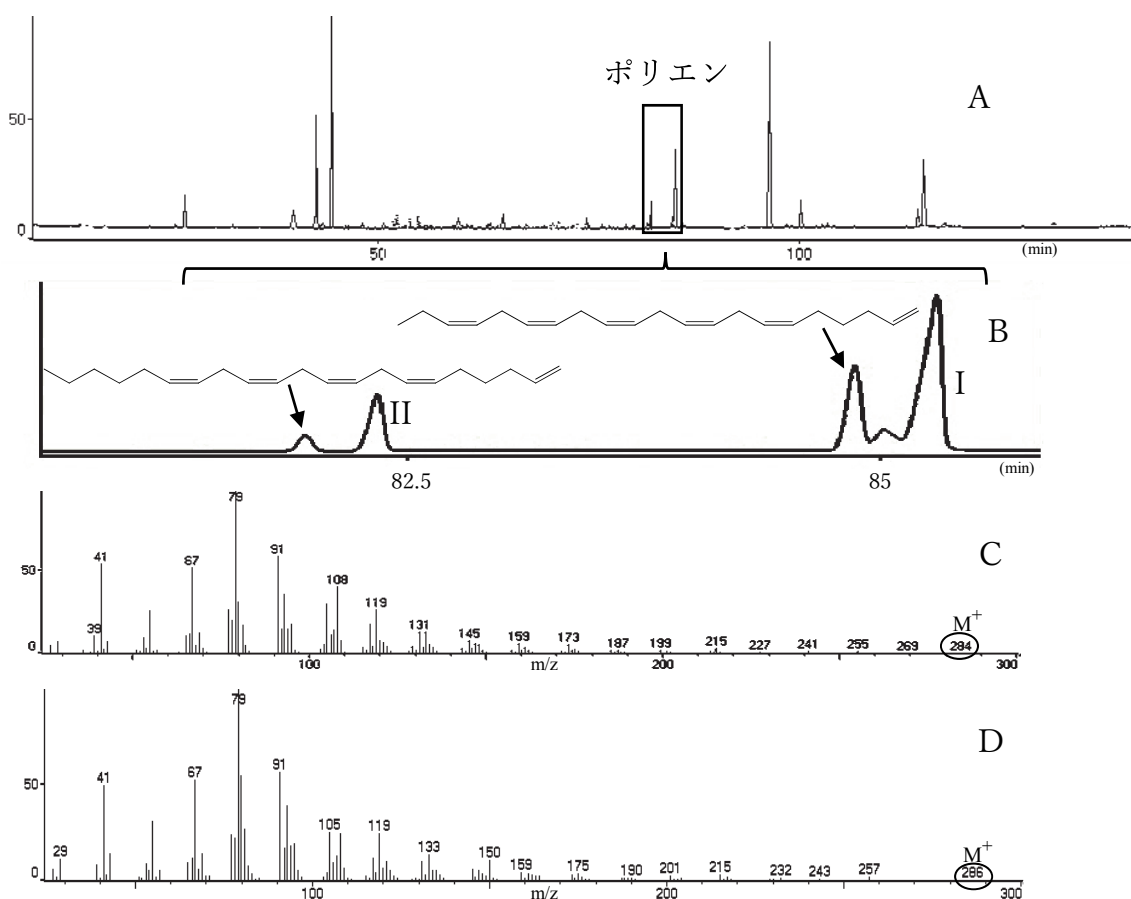


Fig. 9 ウミトラノオの精油のトータルイオンクロマトおよびマススペクトル

A: ウミトラノオの精油のトータルイオンクロマト

B: ポリエン領域の拡大図

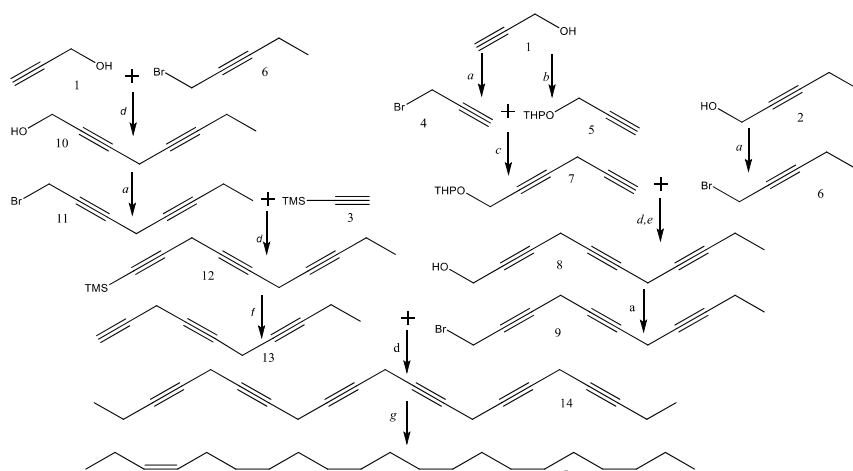
C: ポリエン (**I**)のマススペクトル

D: ポリエン(**II**)のマススペクトル

そこで、ウミトラノオの精油に含まれる主要なポリエン **I** 及び **II** の構造を証明するため、推定した 3,6,9,12,15,18-henicosahexaene 及び 3,6,9,12,15-henicosapentaene を位置及び立体選択的に合成することにした。3,6,9,12,15,18-

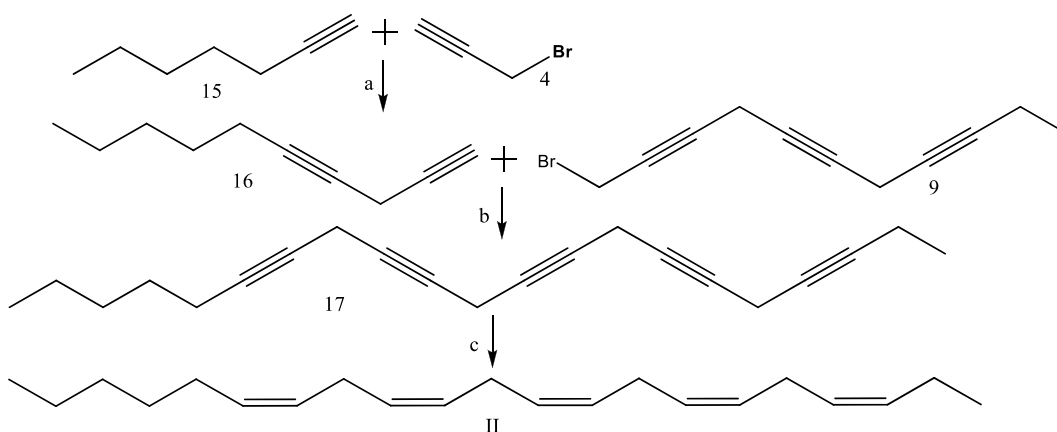
hencosahexaene **I** の合成を Scheme 3 に示す。目的のポリエンに含まれる skipped diene 構造は、Grignard もしくは Jeffery coupling で構築することを考えた。よって、2-pentyn-1-ol (**1**)を出発原料として用い、PBr₃ でブロモ化を行い、bromide **4** 得た。また、**1** の水酸基は、DHP を用いて保護を行い、THP ether **5** とした。^{55,56} THP ether **5** と bromide **4** の Grignard coupling により、2,5-hexadiynyloxy-THP **7** を得た。⁵⁷ 2-pentyn-1-ol (**2**)は、PBr₃ を用いて bromide **6** とした。THP ether **7** と bromide **6** との Jeffery coupling、引き続く THP の PTS による脱保護によって、undecatriyn-1-ol **8** へと導いた。^{58,59} alcohol **8** は、PBr₃ と処理することで、カウンターパートの bromide **9** を 6 段階で構築した。一方、alcohol **1** と bromide **6** の Jeffery coupling により、2,5-octadiyn-1-ol (**10**)を得た。

alcohol **10** は、PBr₃ を用いて bromide **11** とした。Jeffery coupling of trimethylsilylacetyene (**3**)と **11** の Jeffery coupling により、TMS ether **12** を得た。TMS 基の脱保護により、もう一方のカウンターパートとして、1,4,7-decatriyne (**13**)へ導いた。そこで、全体の炭素骨格 C21 を構築するために、triyne **13** と **9** の Jeffery coupling を行なって、hencosahexayne **14** を得た。最後に、hexayne **14** を Lindlar catalyst⁶⁰)を用いたシス選択的水添を行なって、(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-3,6,9,12,15,18-hencosahexaene (**I**)を合成した。ポリエン **I** は、12 段階で、全収率 0.06%であった。興味深いことに、ポリエン **I** は、わずかに海洋香気を有していた。



Scheme 3 (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-3,6,9,12,15,18-hencosahexaene(I)の合成
a PBr₃, pyridine; **b** DHP, H⁺; **c** EtMgBr, CuI, THF; **d** CuI, NaI, K₂CO₃, DMF;
e PTS, MeOH; **f** CsF, DMI; **g** Lindlar catalyst, H₂, quinoline

次に、3,6,9,12,15-henicosapentaene **II** の合成を行なった。(Scheme 4)まず、1-heptyne (**15**)と bromide **4** の Grignard coupling により、1,4-decadiyne (**16**)を得た。diyne **16** とカウンターパートの **9** の Jeffery coupling により、henicosapentayne **17** へ導いた。最後に、pentayne **17** を Lindlar catalyst を用いたシス選択的水添を行なって、(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-3,6,9,12,15-henicosapentaene (**II**)を合成した。ポリエン **II** は、3段階全収率 1.4%であった。ポリエン **II** もまた、ポリエン **I** よりも弱いものの、海洋の香気を有していた。



Scheme 4 (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-3,6,9,12,15-henicosapentaene(II)の合成

a EtMgBr, CuI, THF; **b** CuI, NaI, K₂CO₃, DMF;
c Lindlar catalyst, H₂, quinoline

以上の合成により得られたポリエン **I** 及び **II** を用いて、ウミトラノオの精油に含まれるポリエン類の同定を行ったところ、GC-MS 並びに NMR スペクトルデータが完全に一致したため、主要なポリエン **I** は(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-3,6,9,12,15,18-henicosahexaene、ポリエン **II** は(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-3,6,9,12,15-henicosapentaene と決定できた。(Fig. 10)

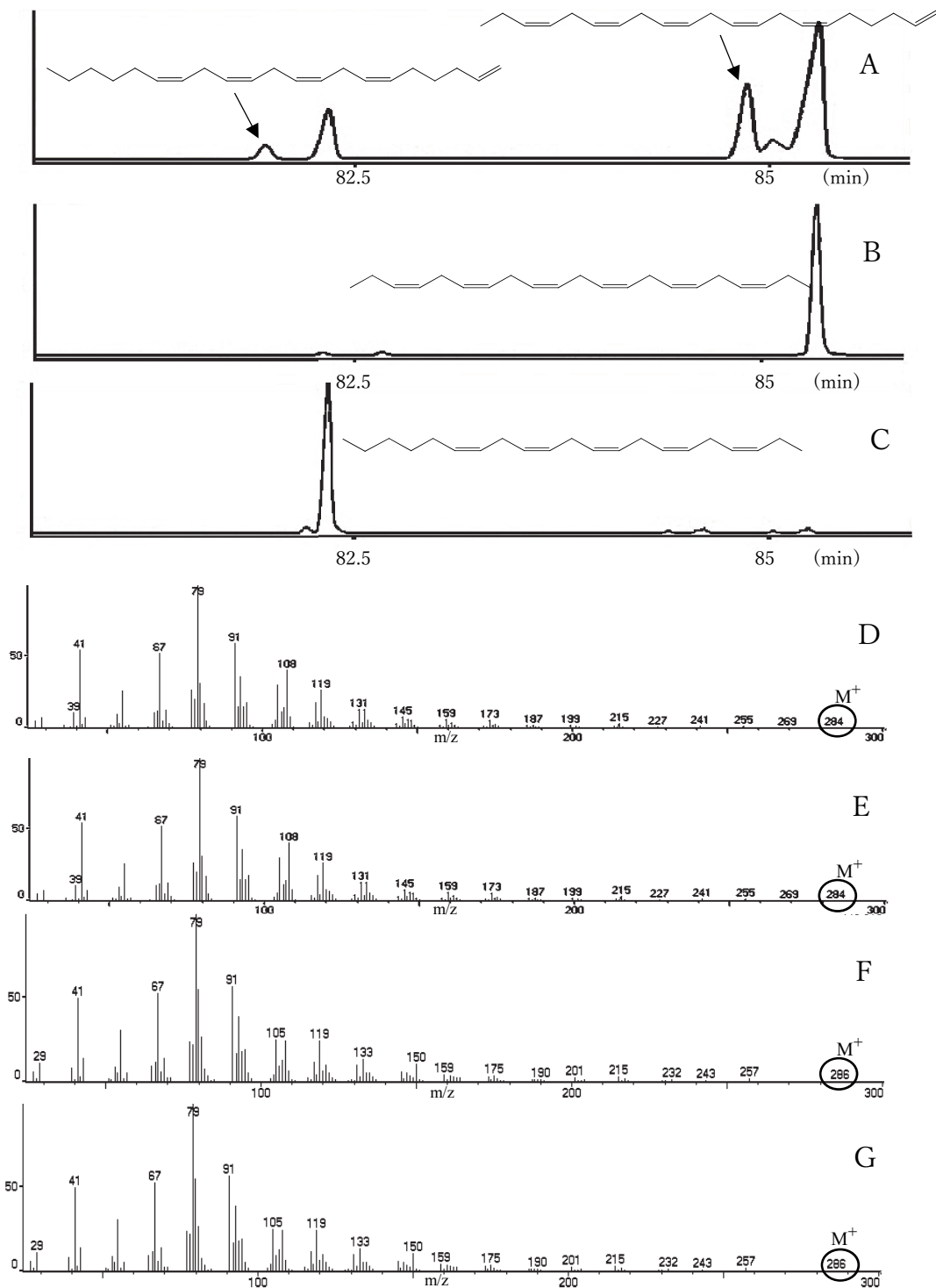


Fig. 10 ウミトラノオの精油のトータルイオンクロマト及びマススペクトル

- A: ウミトラノオの精油のトータルイオンクロマトのポリエン領域の拡大図
- B: 合成した(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-3,6,9,12,15,18-henicosahexaene(I) のトータルイオンクロマト
- C: 合成した末(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-3,6,9,12,15-henicosapentaene(II) のトータルイオンクロマト
- D: ウミトラノオの精油中のポリエン (I) のマススペクトル
- E: 合成した(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-3,6,9,12,15,18-henicosahexaene(I) のマススペクトル
- F: ウミトラノオの精油中のポリエン (II) のマススペクトル
- G: 合成した(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-3,6,9,12,15-henicosapentaene(II) のマススペクトル

これまでの文献では、褐藻からは末端に二重結合を持つポリエン類の(6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene や(6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaene が検出されている一方で、緑藻やケイ藻からは末端飽和型が報告されている。^{42, 54)} Blumer, M.らは、1971年に末端飽和型を褐藻から検出したと報告したが、1973年にMS, GC, UV, IRの再検証によって、褐藻には末端不飽和型のポリエンが含まれ、飽和型は緑藻にのみ含まれるとした。^{42, 54)} 本研究では、褐藻ウミトラノオから主要な香気成分として末端飽和型のポリエン類を同定し、緑藻のみならず、褐藻や紅藻にも存在することを示唆した。

これらポリエン類は、脂肪酸由来と考えられているが、その生成機構は不明である。乾燥ワカメにおいては、docosapentaenoic acidが末端二重結合を有するhenicosahexaeneの前駆体と予想したが、ワカメの総脂質中からは見いだすことができず、octadecatetraenoic acidやicosapentaenoic acidの増炭反応に伴う末端二重結合の導入を伴う特異な反応が考えられた。一方、ウミトラノオに見られる末端飽和型も脂肪酸からの増炭もしくは減炭を伴う脱炭酸により生成すると考えられるがその機構は不明で、今後の研究が必要である。

総括

本研究は、新規な海洋を想起させる香気成分の同定を目的として開始した。第2章の乾燥ワカメの特徴的香気成分に関する研究では、精油を調製してGC-MS分析を行なった結果、主要な香気成分を見出し、カラムクロマトグラフィーによる単離・構造決定による推定構造に基づいた立体選択的有機化学合成により、海洋香気を有するポリエン類の同定に成功した。また、ポリエン類の類縁体の合成から、ニオイ評価並びに二重結合の効果によるニオイ-構造相関に関して知見を得ることができた。さらに、ポリエン類が塩蔵や乾燥工程によって生成することや、ポリエン類の安定性とその酸化生成物を精査した結果を考慮すると、これら化合物を指標とした海産物の品質管理にも利用できる可能性が示唆された。

また、第3章の褐藻ウミトラノオにおける2タイプの揮発性ポリエン類に関する研究では、精油を調製してGC-MS分析を行なった結果、ポリエン類4種を見出し、カラムクロマトグラフィーによる単離・構造決定による推定構造に基づいた位置および立体選択的有機化学合成により、末端二重結合型と飽和型の両方を見出すことに成功した。また、これまでの報告とは異なり、緑藻のみならず褐藻においても末端飽和型のポリエン類の存在を初めて証明し、化学分類の観点からも興味深い結果を得た。

以上の研究手法は、GC-MSのスペクトルやライブラリー検索のみではその二重結合の位置や幾何構造の帰属が難しい、ポリエン類のより精度の高い同定方法を提供することに成功した。また、これまであまり注目されていなかった揮発性のポリエン類に焦点を当て、これら化合物の海藻における生理的役割、生成機構に関する研究に寄与するものと確信する。

摘要

陸上植物と同様に、海藻においても揮発性の有機化合物を海中に放出しており、フェロモンやアレロケミカルなどの生理活性物質として重要な役割を持つことがわかってきた。これら化合物の中には、“海洋”をイメージする特徴的香氣成分も知られており、褐藻フェロモン類、dimethyl sulfide、長鎖アルデヒド類、debromolaurinterolなどが挙げられる。これら香氣成分の抽出方法としては、水蒸気蒸留法や連続蒸留抽出法(Simultaneous distillation extraction, SDE)が一般的であり、得られた精油の香氣成分の同定にはGC-MSが利用される。

本研究は、新規な海洋を想起させる香氣成分の同定を目的として、連続蒸留抽出法(SDE)法を用いて精油を調製し、GC-MS分析することにした。未知の化合物の場合は精油より単離して各種機器分析で構造を帰属し、標的及び類縁体化合物の合成も行い、それらの香氣特徴も検討することにした。

まず、乾燥ワカメの特徴的香氣成分を特定するために、精油を調製してGC-MS分析を行い主要な香氣成分を見出した。そこで、カラムクロマトグラフィーにより目的とする化合物の単離・構造決定し、推定構造に基づいた立体選択的有機化学合成により、(6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene及び(6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaeneの同定に成功した。これらポリエン類は、海洋香氣を有することが判明した。また、ポリエン類の類縁体の合成から、ニオイ評価並びに二重結合の効果によるニオイ-構造相関に関して知見を得ることができた。さらに、ポリエン類が塩蔵や乾燥工程によって生成することや、ポリエン類の安定性とその酸化生成物を精査した結果を考慮すると、これら化合物を指標とした海産物の品質管理にも利用できる可能性が示唆された。

次に、褐藻ウミトラノオにおける揮発性ポリエン類を精査するために、精油を調製してGC-MS分析を行い、4種のポリエン類を見出した。そこで、カラムクロマトグラフィーにより目的とする化合物の単離・構造決定し、推定構造に基づいた位置及び立体選択的有機化学合成により、4種のポリエン類の内、主要な成分として(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-3,6,9,12,15,18-henicosahexaene及び(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-3,6,9,12,15-henicosapentaene、微量成分として(6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene及び(6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaeneと決定できた。このことから、褐藻中に、末端二重

結合型と飽和型の両方を見出すことに成功し、これまでの報告とは異なり、緑藻のみならず褐藻においても末端飽和型のポリエン類の存在を初めて証明した。これは、化学分類の観点からも興味深い結果であり、緑藻のみならず、褐藻や紅藻にも存在することを示唆した。

以上の研究手法は、GC-MSによる香気成分の同定において、マススペクトルやライブラリー検索のみではその二重結合の位置や幾何構造の帰属が難しい、揮発性ポリエン類のより精度の高い同定方法を確立することに成功した。

Summary

Volatile components in seaweeds are released into the seawater. The volatiles play important roles as chemical communications in marine ecosystems. The compounds act as pheromones, chemical defenses, inhibition of bacterial and fungal fouling, and suppression of competing neighbors. On the other hand, the marine aroma components in essential oils (EOs) from seaweeds are useful for flavors in foods and fragrances in cosmetics. The aim of this study was to explore for characteristic aroma components from seaweeds and to identify the structures of the compounds and their related ones by synthetic standards.

The EOs from dried “wakame” (*Undaria pinnatifida*), prepared by a simultaneous distillation extraction (SDE) method, were analyzed by GC-MS, indicating the presence of one major component of volatiles. The volatile component was identified as (6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene by comparison with the GC-MS and NMR spectra of synthetic. The henicosahexaene showed a subtly marine aroma. (6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaene was also detected as a minor polyene in the EOs. It was suggested that these polyenes contribute to the characteristic aroma of the dried wakame. The main finding of this study is that the polyenes in the dried wakame were determined as characteristic aroma components by GC-MS, isolation and synthesis. Synthesis of the polyenes provided more detailed information about the odor-structure relationship, therefore proving that the number of double bonds seem to have an important role in marine aroma. This work will contribute to a new insight into the role of polyenes on marine aroma perception, which should be taken into consideration in the quality of marine products.

The EOs from the brown alga *Sargassum thunbergii*, prepared by the SDE method, contained in two types of volatile polyenes with a terminal double bond such as (6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-1,6,9,12,15,18-henicosahexaene and (6Z,9Z,12Z,15Z)-1,6,9,12,15-henicosapentaene and with their saturated terminal structures such as (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z,18Z)-3,6,9,12,15,18-henicosahexaene and (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-3,6,9,12,15-henicosapentaene. These volatile polyenes were identified by comparison with the GC-MS and NMR spectra of synthetics. The polyenes with the saturated terminal structures were found in the brown algae for the first time. These findings showed that the polyenes in the EOs from the brown alga *S. thunbergii* were determined as volatile

components by GC-MS, isolation and synthesis. Synthesis of the proposed polyenes provided more detailed information about the two types of polyenes with the terminal double bond and with the saturated terminal structure. It was interesting that both the types of polyenes are existed in the EOs of the brown algae *S. thunbergii*. This work will focus attention on a new insight into the chemotaxonomy in marine algae.

謝辞

本研究を行うあたり、多年御指導、御鞭撻を教示賜りました山口大学大学院創成科学研究科教授赤壁善彦先生に厚い御礼申し上げます。

在学中、卒業した大変お世話になりました山口大学・赤壁研究室の緒先輩、後輩方に心より感謝いたします。

その他、様々場面で筆者を支援してくださった大勢の方々に感謝申し上げます。

最後に、長い間に学生生活を理解し、支えてくれた家族に感謝いたします。

2018年3月 盧 士劍

引用文献

- 1 新崎 盛敏, *原色海藻検索図鑑*, 北 隆館, 193-195 (1971)
- 2 今田 節子, *海藻の食文化*, 成山堂書店, 13-175 (2003)
- 3 L. Lei, M. Heinrich, S. Myers, S. Dworjanyn, *Journal of Ethnopharmacology*, 142, 591-619 (2012)
- 4 Y. Wei, C.Wang, J. Li, H.Qi, Q. Guo, *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao*, 39, 257-261 (2008)
- 5 M. S. Patankar, S. Oehninger, T. Barnett, R. L. Williams, G. F. Clark, *Journal of Biological Chemistry*, 268 (29), 21770-21776(1993)
- 6 Y. X. Li, I. Wijesekara, Y. Li, S, K. Kim, *Process Biochemistry*, 46 (12), 2219-2224 (2011)
- 7 Z. Demirel, F. F. Yilmaz-Koz, U. N. Karabay-Yavasoglu, G. Ozdemir, A. Sukatar, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 74 (6), 619-628 (2009)
- 8 J. T. Wang, A. E. Douglas, A. E, *Plant Physiology*, 114 (2), 631-636 (1997)
- 9 S. Nakai, Y. Inoue, M. Hosomi, A. Murakami, *Water Research*, 34 (11), 3026-3032 (2000)
- 10 W. M. Lewis, Jr, *The American Naturalist*, 127 (2), 184-194 (1986)
- 11 J. Frenkel, W. Vyverman, G. Pohnert, *The Plant Journal*, 79 (4), 632-644 (2014)
- 12 I. Maier, *Progress in Phycological Research*, 11, 51-102 (1995)
- 13 R. E. Moore, *Accounts of Chemical Research*, 10 (2), 40-47 (1977)
- 14 T. Kajiwara, *The Japanese society of phycology*, 日本藻類学会創立 50 周年記念版, 132-135 (2002)
- 15 Y. Yamamoto, Y. Akakabe, K. Matsui, H. Shimidzu, T. Kajiwara, *Zeitschrift für Naturforschung*, 54 (12), 1027-1032 (1999)
- 16 P. Haas, *Biochemical Journal*, 29 (6), 1297 (1935)
- 17 Y. Akakabe, K. Washizu, K. Matsui, T. Kajiwara, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 69 (7), 1348-1352 (2005)
- 18 T. Kajiwara, H. Yoshikawa, T. Saruwatari, A. Htanaka, T. Kawai, M. Ishihara, T. Tsuneya, *Phytochemistry*, 27 (6), 1643-1645 (1988)
- 19 T. Kajiwara, K. Matsui, Y. Akakabe, *Biogenesis of volatile compounds via oxylipins in edible seaweeds*. G. R. Takeoka, R.

- Teranishi, P. J. Williams & A. Kobayashi, *American Chemical Society*, 146-166 (1996)
- 20 T. Fujimura, T. Kawai, M. Shiga, T. Kajiwara, A. Hatanaka, *Phytochemistry*, 29 (3), 745-747 (1990)
- 21 T. Kajiwara, M. Kashibe, K. Matsui & A. Hatanaka, *Phytochemistry*, 29 (7), 2193-2195 (1990)
- 22 T. Irie, M. Suzuki, E. Kurosawa, T. Masamune, *Tetrahedron* 26 (13), 3271-3277 (1970)
- 23 K. Kuwano, S. Matsuka, S. Kono, M. Ninomiya, J. Onishi, N. Saga. *Journal of Applied Phycology*, 10 (1), 9-14 (1998)
- 24 赤壁 善彦, 日本農芸化学会中四国支部第 41 回講演会要旨 (2015)
- 25 J. J. Sims, M. S. Donnell, J.V. Leary, G.H. Lacy, 7 (3), 320-321 (1975)
- 26 D. B. Stengel, S. Connan. *Natural Products From Marine Algae. Humana Press*, 39-74 (2015)
- 27 B. M. Fraga, *Natural product reports*, 19 (5), 650-672 (2002)
- 28 菅原龍幸, 前川昭男, *新食品分析ハンドブック*, 建帛社, 300 (2000)
- 29 V. Seidel and W. Lindner, *Analtical Chemistry*, 65 (24), 3677-3683 (1993)
- 30 佐藤純一, 改訂版 *わかめ入門*, 日本食料新聞社, 1-150 (2015)
- 31 T. Kajiwara, A. Hatanaka, T. Kawai, M. Isihara, T. Tuneya, *Journal of Food Science*, 53 (3), 960-962 (1988).
- 32 E. G. Bligh, W. J. Dyer, *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-917 (1959)
- 33 W. W. Youngblood, M. Blumer, *Marine Biology* 21 (3) 163-172 (1973)
- 34 T. G. Halsall, I. R. Hills, *Journal of the Chemical Society Chemical Communications*, 178, 448-449 (1971)
- 35 J. L. C. Wright, *Phytochemistry*, 19, 143-144 (1980)
- 36 D. W. Laird, S. Bennett, B. Bian, B. Sauer, K. Wright, V. Hughes, I. A. van Altena, *Biochemical Systematics and Ecology*, 38 (2), 187-194 (2010)
- 37 S. Urban, M. Timmers, *Natural Product Communications*, 8 (6), 715-719 (2013)
- 38 H. Kurihara, Y. Kagawa, R. Konno, S. M. Kim, K. Takahashi,

- Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24 (5) 1383-1385 (2014)
- 39 Y. Takahashi, J. Miyachi, T. Ogino, J. Kimura, *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 60 (3), 371-375 (1994)
- 40 R. A. Barrow, R. J. Capon, *Australian Journal of Chemistry*, 43 (5), 895-911 (1990)
- 41 S. Caccamese, K. L. Rinehart, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 34 (9), 1130-1131 (1978)
- 42 R. F. Lee, A. R. Loeblich III, *Phytochemistry*, 10 (3), 593-602 (1971)
- 43 R. F. Lee, J. C. Nevenzel, G. A. Paffenhofer, A. A. Benson, S. Patton, T. E. Kavange, *Biochimica et Biophysica Acta*, 202 (2), 386-388 (1970)
- 44 J. K. Volkman, S. M. Barrett, G. A. Dunstan, *Organic Geochemistry*, 21, (3-4), 407-413 (1994)
- 45 Y. Y. Qiao, N. Y. Ji, W. Wen, X. L. Yin, Q. Z. Xue. *Marine drugs*, 7 (4), 600-604 (2009)
- 46 T. Kajiwara, A. Hatanaka, Y. Tanaka, T. Kawai, M. Ishihara, T. Tsuneya, T. Fujimura, *Phytochemistry*, 28 (2), 636-639(1989)
- 47 H. Sugisawa, K. Nakamura, H. Tamura, *Food Reviews International*, 6 (4), 573-589, (1990)
- 48 L. Nico, J. M. Broekhof, J. G. Witteveen, A. J. van der Weerd, *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 105 (10), 436-442 (1986)
- 49 J. Liu, S. Ma, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 11(25), 4186-4193, (2013)
- 50 大石 圭一, *海藻の科学*, 朝倉書店, 59-159 (1993)
- 51 L. Liu, M. Heinrich, S. Myers, S. A. Dworjanyn, *Journal of Ethnopharmacology*, 142 (3), 591-619 (2012)
- 52 X. H. Song, R. Zan, C. Yu, F. Wang, *Journal of Ethnopharmacology*, 135 (2), 321-324 (2011)
- 53 C. Zhuang, H. Itoh, T. Mizuno, H. Ito, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 59 (4), 563-567 (1995)
- 54 W. W. Youngblood, M. Blumer, R. L. Guillard, F. Fiore, *Marine Biology*, 8 (3), 190-201 (1971)
- 55 T. Nishiguchi, S. Hayakawa, Y. Hirasaka, M. Saitoh, *Tetrahedron Letters*, 41, 9843-9846 (2000)

- 56 A. Bongini, G. Cardillo, M. Orena, S. Sandri, *Synthesis*, 8, 618-620 (1979)
- 57 V. Grignard, *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 130, 1322-1324 (1900)
- 58 T. Jeffery, *Tetrahedron Letters*, 30 (17), 2225-2228 (1989)
- 59 M. A. Lapitskaya, L. L. Vasiljeva, K. K. Pivnitsky, *Synthesis*, 1, 65-66 (1993)
- 60 H. Lindlar, R. Dubuis, *Organic Syntheses*, 46, 89-92 (1966)

原著論文

1. 題目 : Characteristic aroma components from dried “wakame” *Undaria pinnatifida*

著者名 : Shi Jian Lu, Shohei Yosemite, Shiho Takayama, Daichi Satomi and
Yoshihiko Akakabe

学術雑誌名 卷・号・頁 : Journal of Oleo Science

出版: オンライン公表 : 受理:

発表年月又は受理年月日 (発表予定年月) : 2018 年 8 月

2. 題目 : Two types of volatile polyenes in the brown alga *Sargassum thunbergii*

著者名 : Shi Jian Lu, Shohei Yosemite, Daichi Satomi, Hikari Handa and Yoshihiko
Akakabe

学術雑誌名 卷・号・頁 : Journal of Oleo Science

出版: オンライン公表 : 受理:

発表年月又は受理年月日 (発表予定年月) : 2018 年 8 月