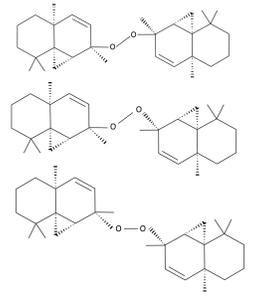


Thujopseneの加熱による自動酸化生成物の抗蟻活性

(岩手連大農) ○向井堯徳、高橋孝悦、芦谷竜矢

はじめに

日本の針葉樹には多様なテルペノイドが含有することが知られている。中でも、モノテルペンやジテルペンと比べ、セスキテルペン炭化水素の利用は進んでいない。我々はこれまでに、セスキテルペン炭化水素の自動酸化や生物活性について検討し、thujopsene¹⁾、 β -caryophyllene²⁾、longifolene³⁾は容易に自動酸化し、その酸化物は生物活性⁴⁾を有することを見出している。前報⁵⁾ではthujopseneの加熱による自動酸化を行い、mayuroneおよびepoxy thujopsanolなどの生成を確認した。今回は、前回単離したthujopseneの自動酸化生成物の抗蟻活性試験を行った。また、Nagahamaら¹⁾によって単離されたthujopseneの過酸化二量体であるbis(Δ^9 -thujopsen-8-yl) peroxideの活性についても検討した。



Nagahamaら¹⁾によって単離された過酸化物

実験方法

ペーパーディスク強制摂食試験

試料

・研究室所有のヒバ精油をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製したthujopseneを試料として用いた

自動酸化反応

・ナス型フラスコ (10 ml) に試料および攪拌子を入れ、溶媒や触媒を用いずに、グリセリン浴中で加熱攪拌処理 (100°C) し、所定時間ごとに採取した
・Thujopseneを室温、暗条件下で1年間放置した

反応物の分析方法

・GC-FID (GC-2014 SHIMADZU)、GC-MS (GCMS-QP2010 Ultra SHIMADZU) で分析を行った。内部標準 (I.S.) にヘネイコサンを用いた

成分同定

・MSスペクトル、NMRを文献と比較して同定した

過酸化物の定量

・ヨウ素滴定法⁶⁾を用いて、過酸化物価 (meq/kg) を算出した

試料

・前報⁵⁾で単離したThujopsene, Thujopsadiene, Mayurone, Thujopsanone, Epoxy thujopsanol, Bis(Δ^9 -thujopsen-8-yl) peroxide

・Thujopseneを加熱処理 (4, 12, 24, 36, 48時間) および室温で自動酸化させた試料

実験方法

・試料をacetoneまたはn-hexaneに溶解させ、所定濃度% (w/w) を含浸させたペーパーディスク (PD) (直径8 mm、約30 mg) に調製した

・ControlとしてAcetoneまたはHexaneのみを添加し揮発させた

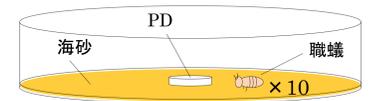
・直径45 mmシャーレに、海砂約2.0 gを敷き、ヤマトシロアリ (*Reticulitermes speratus*) の職蟻10匹投入した
・無給試験 (No feed test) を同時に実施した

・21日間、26°C \pm 1°Cの暗所に設置 (n=3)

・PDを強制的に摂食させた

・殺蟻活性は21日目の平均致死率と標準誤差で評価した

・摂食阻害活性はPD減少量と標準誤差で評価した



結果と考察

ペーパーディスク強制摂食試験

Thujopseneの酸化生成物の抗蟻活性

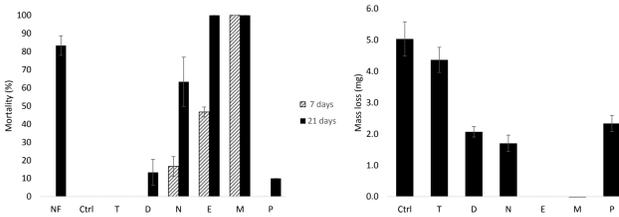


Fig. ヤマトシロアリに対するThujopsene酸化物の抗蟻活性 (1%) (上: 平均致死率, 下: 摂食阻害活性)
NF: No Feed, Ctrl: Control, T: Thujopsene, D: Thujopsadiene, N: Thujopsanone, E: Epoxy thujopsanol, M: Mayurone, P: bis(Δ^9 -thujopsen-8-yl) peroxide

殺蟻活性

- ・Thujopsene, Thujopsadiene, bis(Δ^9 -thujopsen-8-yl) peroxideは活性がほとんど見られない
- ・Epoxy thujopsanol, Mayuroneはすべての個体が致死し、Mayuroneは7日目にはすべて致死した
- ・Thujopsanoneは中程度の殺蟻活性を示した

摂食阻害活性

- ・Thujopseneは活性がほとんど見られない
- ・Thujopsadiene, Thujopsanone, bis(Δ^9 -thujopsen-8-yl) peroxideは中程度の阻害活性を示した
- ・Epoxy thujopsanol, Mayuroneは高い阻害活性を示した

過酸化物

過酸化物価

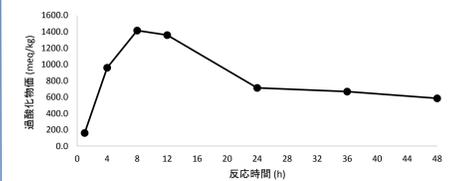


Fig. Thujopseneの反応時間ごとの過酸化物価 (加熱処理)

Table Thujopsene自動酸化物の過酸化物価 (meq/kg)

室温 (1年間)	加熱処理 (h)						
	1	4	8	12	24	36	48
1556.9	160.6	960.0	1414.3	1359.1	712.9	668.0	584.8

・Thujopseneの加熱処理では、過酸化物価が8時間まで増加し、それ以降減少した

・室温での自動酸化物は、加熱処理よりも高い過酸化物価を示した

活性の高かった成分の濃度ごとの抗蟻試験

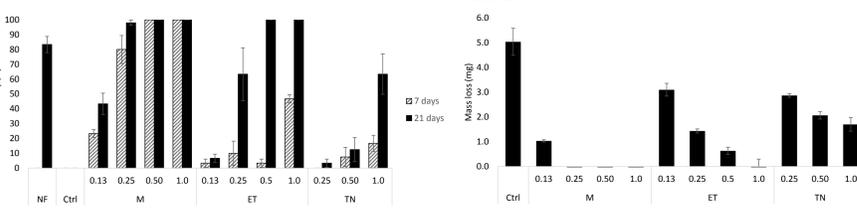
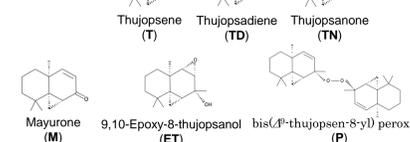


Fig. ヤマトシロアリに対するThujopsene酸化物の抗蟻活性 (上: 平均致死率, 下: 摂食阻害活性)
NF: No Feed, Ctrl: Control, N: Thujopsanone, E: Epoxy thujopsanol, M: Mayurone



・Mayurone, Epoxy thujopsanolはより低濃度でも強い殺蟻活性を示した

・Thujopsanoneは低濃度でも弱い摂食阻害活性を示した

Thujopsene自動酸化物の抗蟻活性

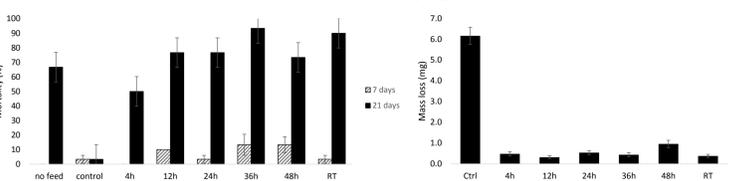


Fig. ヤマトシロアリに対するThujopsene自動酸化物の酸化物の抗蟻活性 (上: 平均致死率, 下: 摂食阻害活性)
NF: No Feed, Ctrl: Control, RT: 室温での自動酸化物 (1年間)

Table Thujopsene自動酸化物の定量結果 (GC-FID分析)

	加熱処理					RT
	4h	12h	24h	36h	48h	
T	81.2	55.7	38.8	28.5	18.9	0.226
TD	1.59	4.37	4.16	2.04	1.73	3.16
TN	1.13	4.41	4.24	3.34	2.29	1.38
M	3.09	6.60	7.56	8.76	7.66	37.6
ET	trace	0.991	1.53	2.26	2.77	1.27

M: Mayurone, ET: Epoxy thujopsanol, TN: thujopsanone, TD: thujopsadiene, T: Thujopsene
RT: 室温 (1年間) でのThujopsene自動酸化物

・すべての自動酸化物が殺蟻および摂食阻害活性を示した

・特に強い摂食阻害活性が見られた

→ 強い殺蟻活性を示すMayurone等が生じているためと考えられる

→ Thujopseneは、成分を単離せずとも簡便な加熱処理や暗所での保管で、抗蟻活性を有する成分に変化

GC分析

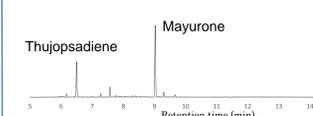
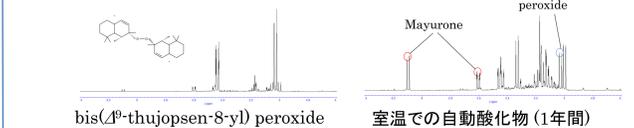


Fig. bis(Δ^9 -thujopsen-8-yl) peroxideのTIC

・GC分析では、既知の過酸化物であるbis(Δ^9 -thujopsen-8-yl) peroxideが分析中にMayuroneやThujopsadieneに変化

GC分析では正確な定量ができない可能性

¹H-NMR



・室温での自動酸化物に既知のbis(Δ^9 -thujopsen-8-yl) peroxideやMayuroneなどが含有していることが確認された

→ NMRによる定量の可能性が示唆

・抗蟻活性成分であるMayuroneやEpoxy thujopsanolを実際に使用する際には、定量に注意する必要がある

・GC分析以外の定量方法を考える必要がある

まとめ

Thujopseneの酸化物の抗蟻活性

- ・殺蟻活性 → Mayurone, Epoxy thujopsanol, thujopsanone
- ・摂食阻害活性 → 全てのthujopsene酸化物に確認
- ・特にMayurone, Epoxy thujopsanolに強い活性

Thujopseneの自動酸化物の抗蟻活性

- ・すべての自動酸化物に殺蟻および摂食阻害活性が確認
- ・自動酸化する事で抗蟻活性を発現

過酸化物

- ・過酸化物が12時間を基点に増加から減少に転じた
- ・室温での自動酸化物は、加熱処理よりも高い過酸化物価を示した
- ・bis(Δ^9 -thujopsen-8-yl) peroxideはGC分析でMayuroneやThujopsadieneに変化

→ GC分析では正確な定量ができない可能性

課題

- ・過酸化物の反応機構の検討
- ・GC分析以外の定量法の検討
- ・Thujopsene自動酸化生成物の同定
- ・生成物の生物活性の評価

謝辞 本研究はJSPS科研費15K07503の助成を受けたものである。