

生理活性物質の単離と構造決定の最近の話題

カリフォルニア大学

パークレイ校

久保伊佐夫

未知の生体成分の単離，構造決定を主にして発展してきた天然物化学は，最近では超微量なもの，不安定なもの，水溶性のもの，そして高分子さえも扱うようになってきた。そのうえそれらの生体成分を動的にも扱えるようになり，生物現象の物質レベルでの解明にも重要な役割を演じることが出来るようになってきた。

分析機器の凄まじい発展がこれらの事を可能にしたことは言うまでもない。言い換えれば，簡単に出来るようになった構造決定だけでは，もはや天然物研究の旨みがなくなってしまった。しかし，それはほんの小さな事で，生体成分を動的に追いかけて生物現象を物質レベルで解明する天然物の研究は未だ序幕が上がったばかりである。

このような研究に不可欠な，生体成分の単離や，それらの生体内での動きを追うのに種々のクロマトグラフィーのはたす役割が重要であることは論を待たない。クロマトグラフィーの進歩は，天然物に限ってみても，以前は分析不可能であったものの多くを可能にしてきた。最近では，不安定な超微量成分の定量的な扱いさえも比較的容易になった。

一方，このような華々しさはないが，分析可能になったものを更に研究を進めるために必要な量を分取する事は，クロマトグラフィーのもう一つの重要な使命である。ところがこの事は案外重要視されていない。私たちの研究も，そのへんのところがずっと泣き所であった。ところが最近使い始めたリサイクルシステムを組込んだ日本分析工業の LC-09 は曲がりなりにも上記の目的を達してくれ，これまでの多くの宿題が片付き始めた。そのうちの二，三のデータを紹介しよう。

比較的極性の高い昆虫の脱皮ホルモン，エクジソン類の分離に液滴向流分配クロマトグラフィー (DCCC) が優れた分取方法である事は以前紹介したことがある (1)。

図 1 はアフリカのクマツヅラ科の薬用植物 *Vitex fisherii* から

エクジソン類の分離を示した物である。この場合，DCCC で二つのエクジソンは簡単に分離したが，水酸基の数が同じで，つまり極性が非常に似通った二つは分離できなかった。

しかし，LC-09 の応用で，この混合物のフラクションに含まれた

エクジソンは容易に分取された。序でながら 11 の位置に水酸基を持つこれら三つのエクジソンは文献未記載であった (2)。図 2 と図 3 も，同じくエクジソン類の分離

の例で，DCCC と LC-09 を組み合わせることによって目的を果たした。(3)

図 4 はアフリカのマメ科の薬用植物 *Albizia anthelmintica* から坑カビ活性を持つ新しいサポニン類の単離の例である。誘導体に導くことなしに

植物成分としては珍しい N-アセチルグルコサミンを含むサポニンそのものを分取出来た(4)。

図5は同じくアフリカのニシキギ科の薬用植物 *Catha edulis* から昆虫に強い成長阻害活性を持つ複雑な構造をしたセスキテルペン誘導体の分取の例である。ODSを用いて低速液体クロマトグラフィーを繰り返すこと12回、それでも未だ単離に至らなかった。しかし、LC-09を用いる事によって解決できた(5)。

最後の例は、植物成分の分取ではなく昆虫フェロモンの光学分割の例である。図6に示したモノテルペン類はキクイムシの集合フェロモンで光学活性が生理活性を持つための必要条件である。d, l-化合物をジアステレオマーに変換する事によって高速液体クロマトグラフィーで分取したのが図7の例である。リサイクル無しでは分析スケールでも二つのピークがやっと見られるくらいであったが、これもLC-09が見事に解決してくれた。(6)

種々の分離方法にもそれぞれ特徴があり、それらを組み合わせる事によって最高の分離の目的が達せられる。その中でも高速液体クロマトグラフィーの良さは、適当なカラムを選択する事によっていかなる化合物でも取り扱える事にある。もっともそのカラムの容量と長さが一つの分離限界でもある。ここに紹介した例に見られるように、リサイクルのテクニックがその限界を克服している。ここで紹介していないが、分取だけでなく分離の難しい微量成分の分析にも、LC-09のリサイクルのテクニックを応用することがいかに有用かはいうまでもない。

(1) 久保 伊佐夫、化学、41 467 (1986)。

(2) 未発表。

(3) 未発表

(4) 未発表

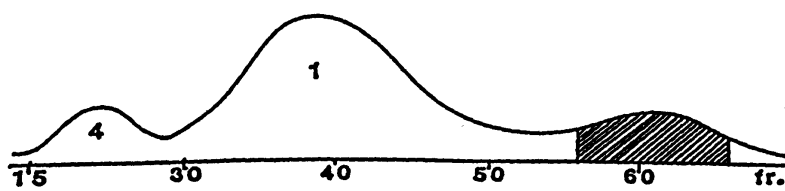
(5) 未発表

(6) I kubo S komatsu, T Iwagawa and D L
Wood J Chromatogr 363 309 (1986)

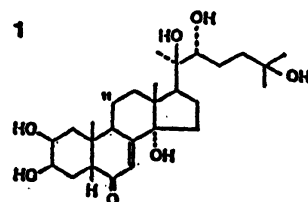
Vitex fisherii (Verbenaceae)

DCCC

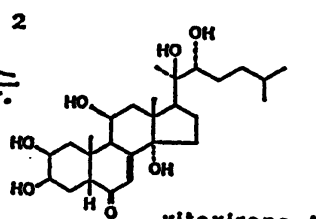
1g



$\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ 13:7:4



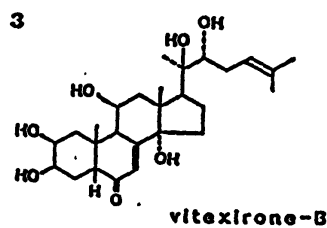
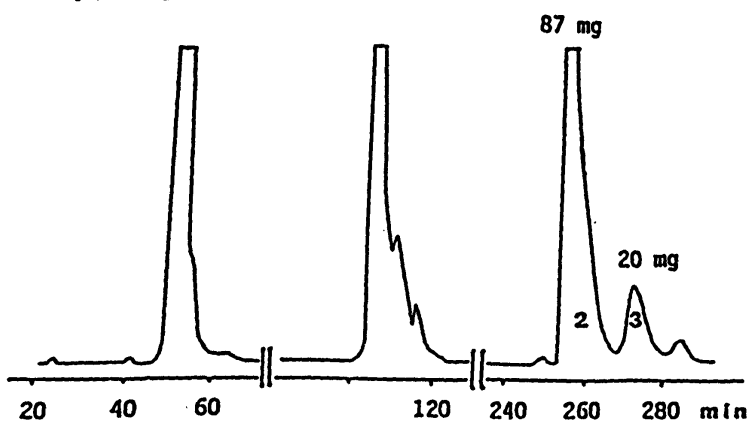
20-hydroxyecdysone



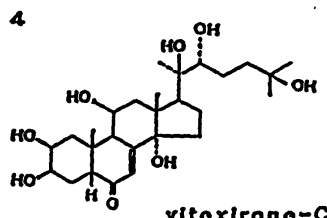
vitexirone-A

LC-09

136mg



vitexirone-B

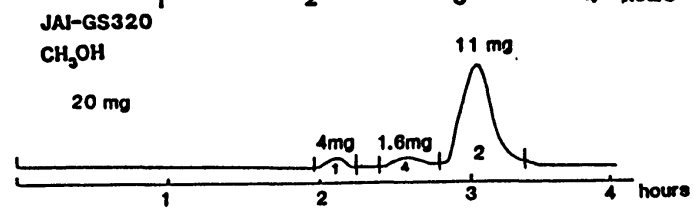
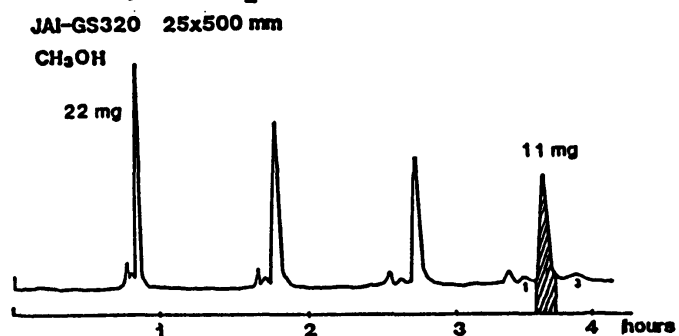
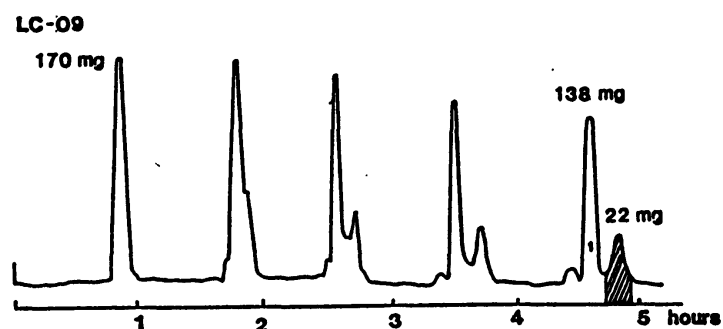
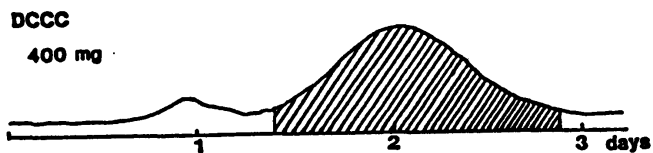


vitexirone-C

JAI-GS320 MeOH 3ml/min

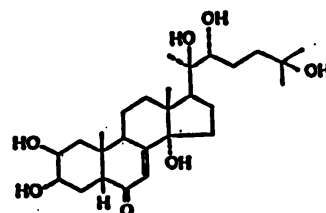
☒ 1.

Lychnis miqueliana (Caryophyllaceae)

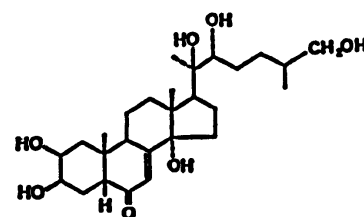


I-15 ODS
H₂O-CH₃CN-CH₃OH = 85:15:2

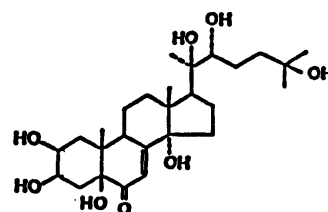
2.



1 20-hydroxyecdysone

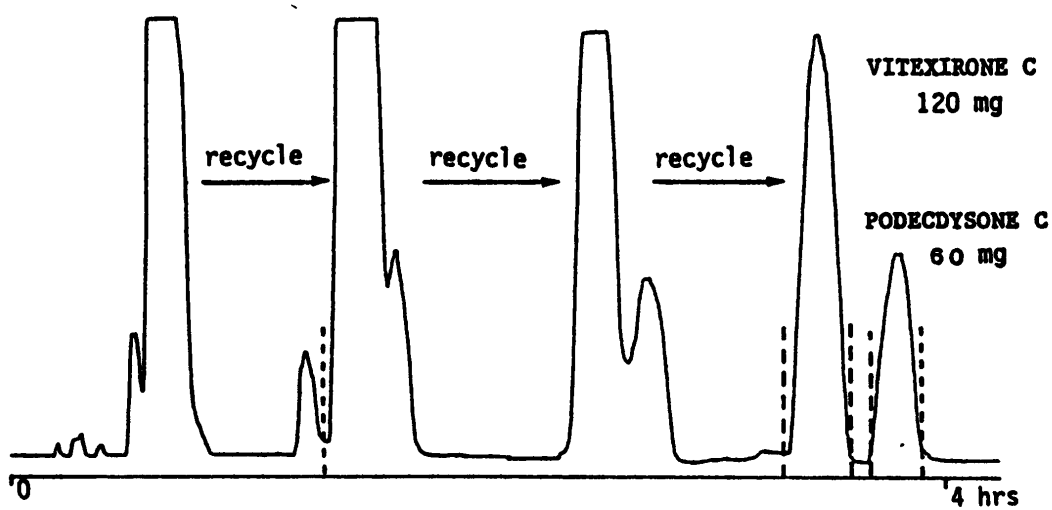
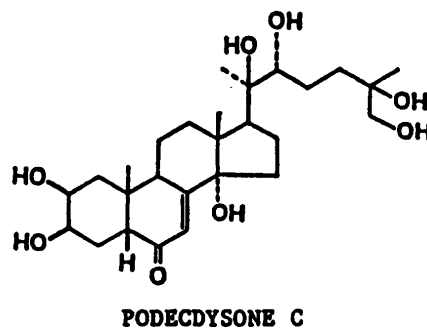
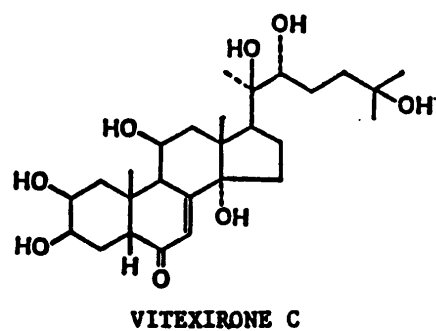


2 Inokosterone



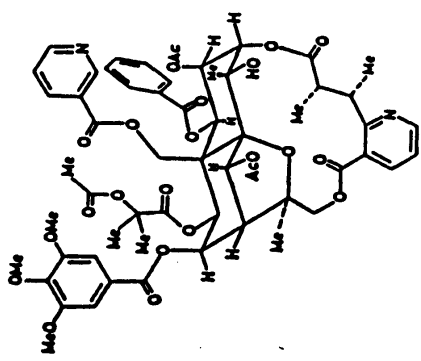
3 polypodine B

Vitex keniensis (Verbenaceae)

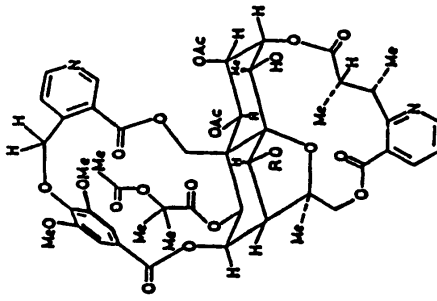


3. Column: JAI-GS 320 (25x500 mm), Eluent: MeOH,
Flow rate: 3 ml/min, Detector: UV at 254 nm,
Injection amount: 200 mg

Catha edulis (Celastraceae)



(1): Cathedul in-E5 (MM=1168)



(2): R=Ac, Cathedul in-E3 (MM=1104)

(3): R=H, Cathedul in-E4 (MM=1062)

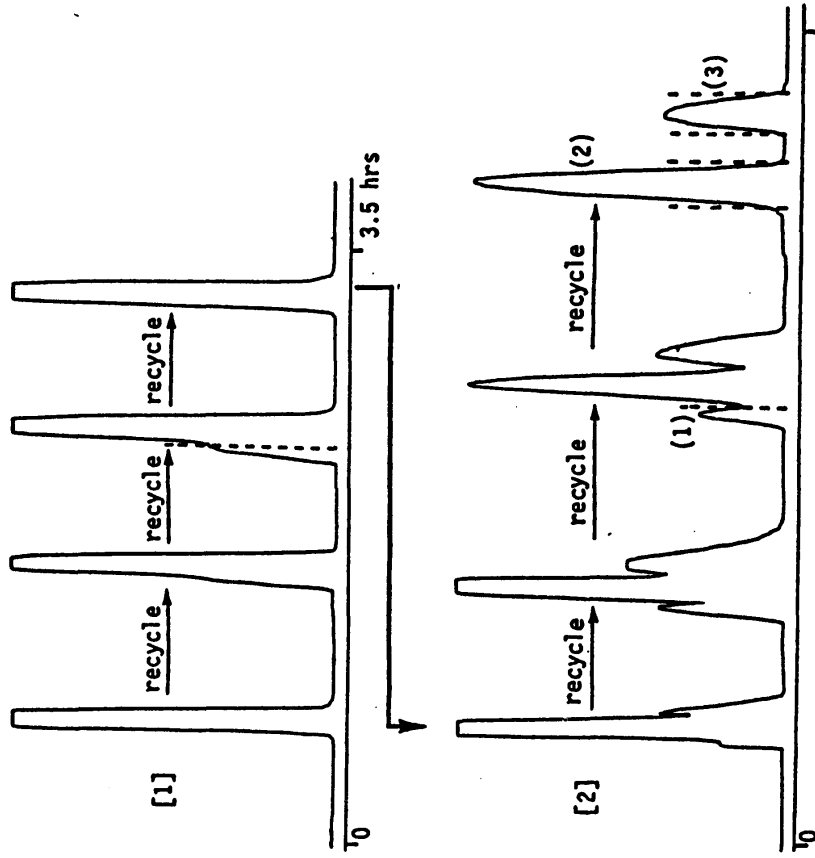
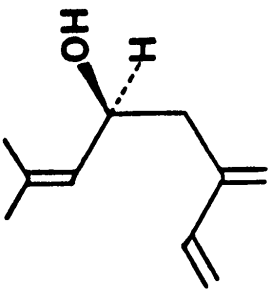
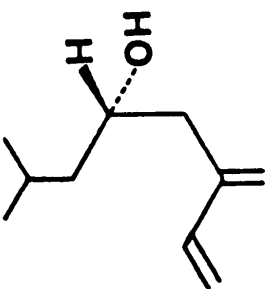


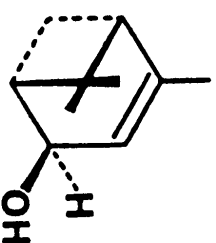
Fig 5. [1] Column: JAI-GEL-1H (20x500 mm) + JAI-GEL-2H (20x500 mm), Eluent: CHCl_3 , Flow rate: 3 ml/min, Detector: UV at 254 nm
 [2] Column: JAI-GS 320 (25x500 mm), Eluent: MeOH, Flow rate: 3 ml/min, Detector: UV at 254 nm



(S)-(+)-Ipsdienol

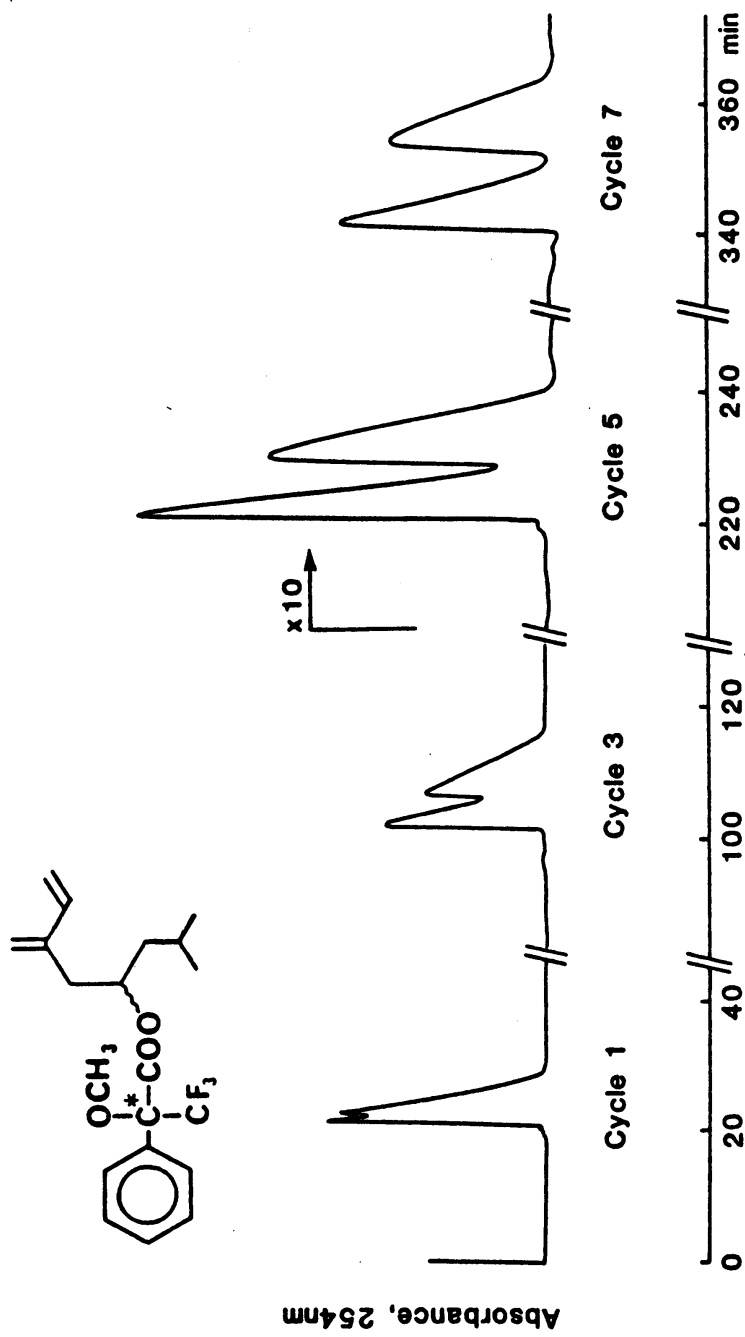


(S)-(-)-Ipsenol



(S)-(+)-cis-Verbenol

☒ 6. Aggregation pheromone of the bark beetles, Ips species.



7. Recycle preparative HPLC of ipsenol MTPA ester. Column: Nucleosil Silica 50 (50 cm x 10 mm). Mobile phase: *n*-pentane-acetone (100:0.2 v/v), 10 ml/min.