

別刷

日本化学会誌 (化学と工業化学)
NIPPON KAGAKU KAISHI 1981

Journal of the Chemical Society of Japan, Chemistry and Industrial Chemistry

社団法人 日本化学会

論文特集「生物活性物質」

(日本化学会誌, 1981, (5), p.665~670)

© 1981 The Chemical Society of Japan

マルバハネゴケに含まれる植物生長阻害物質

(1980年10月31日受理)

松尾昭彦*・灘谷和美・中山 充・林 修一**

苔類に含まれる植物生長阻害活性テルペノイドの研究の一環として、今回マルバハネゴケから4種のセスキテルペノイドが単離され、それらの構造が(+)-オバリホリエン〔1〕, (+)-オバリホリエナロン〔2〕, (+)-オバリホリエナール〔3〕および(+)-プラギオキリンA〔4〕と同定された。これらのセスキテルペノイド〔1〕, 〔2〕, 〔3〕および〔4〕はそれぞれ25, 250, 50および50 ppmの濃度でイネ幼苗の生長をほとんど完全に阻止した。その生長阻害効果について詳細な検討を行なった。

さらに、生長阻害活性と化学構造の相互関係を研究するために、オバリホリエン〔1〕から誘導した化合物〔5〕~〔9〕の活性試験を行なった。その結果、生長阻害活性はアセチルヘミアセタール部位に依存していることが指示された。 α -メチレン- δ -ラクトン〔9〕は天然産阻害物質〔1〕, 〔3〕および〔4〕の活性とほとんど同じくらいの活性を有していた。しかしながら、ケトン〔2〕と γ -ラクトン〔8〕は低濃度において根の生長を促進した。

1 緒 言

蘚苔類 (Bryophyta) は、植物分類学上からは、羊歯植物 (Pteridophyta) とともに蕨卵器植物 (Archegoniatae) として一括して種子植物 (Spermatophyta) と藻類 (Algae) との中間に位置づけられている。蘚苔類の通常の植物体は配偶体 (Gametophyte) であって、高等植物の植物体が複相の造胞体 (Sporophyte) であるのに対して、これは単相である点でも大きく相違している。その上、蘚類 (Hepaticae) は蘚類 (Musci) とも異なり、配偶体の各細胞中に油体 (Oil body) を含み、この油体は種によって数と形状に大きな特徴がある。

このような通常植物と大きく異なる蘚類には、特異な代謝機構が予想され、著者らは十数年来蘚類テルペノイドの研究を遂行している。すでに多数の新奇セスキテルペノイドおよびジテルペノイドの単離と構造決定を報告した。それとともに、これら蘚類セスキテルペノイドのほとんどが、種子植物からのものの光学対掌体ないしは対掌体系列に入るものであることを見いだしたり³⁾。これは蘚類セスキテルペノイドの生合成、とくに環化反応における酵素反応の立体化学が高等植物における場合とは逆の立体特異性で進行することを示唆している。

ところで、一般に蘚類は種子植物に見られるアブシシン酸

(Abscisic acid) を欠き、かわりにルヌラル酸 (Lunularic acid) を代謝して、自らの生育を調節しているとされている⁴⁾⁵⁾。しかしながら、蘚類と他の植物群とのかわり合いに関しては、現在までのところほとんど知られていない⁶⁾。著者らは、蘚類テルペノイドの研究過程において、蘚類と他の植物との間で一種のアレロパシー現象の出現している場面を、実際の生態系で、度々観察した。

著者らは苔と他植物との相互関連に興味をもち、近年はその機構の解明をめざして、蘚類中の植物生長阻害物質の探索を進めている。既報のタカネハネゴケ (*Plagiochila semidecurrrens* Lehm. et Lindenb.)⁷⁾⁸⁾ およびスギバゴケ (*Lepidozia vitrea* Steph.)⁹⁾¹⁰⁾ の阻害物質についての研究に引きつづいて、本研究ではマルバハネゴケ (*Plagiochila ovalifolia* Mitt.) からアセチルヘミアセタール環を含む *ent*-2,3-セコ-アロアロマデンドラン型の4種のセスキテルペノイド、(+)-オバリホリエン〔1〕,

広島大学理学部化学教室, 730 広島市中区東千田町

** 岡山理科大学理学部化学教室, 700 岡山市理大町

1) 林 修一, 松尾昭彦, 化学の領域, 29, 46(1975) およびその引用文献。

2) 林 修一, 松尾昭彦, 化学, 31, 518(1976) およびその引用文献。

3) A. Matsuo, S. Sato, M. Nakayama, S. Hayashi, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, 1979, 2652 and references therein.

4) I. F. M. Valio, R. S. Burdon, W. W. Schwabe, *Nature*, 223, 1176(1969).

5) R. J. Pryce, *Phytochemistry*, 11, 1759(1972).

6) 最近、浅川らはジャゴケから植物生長阻害活性をもつセスキテルペンラクトンを単離している。

Y. Asakawa, T. Takemoto, *Phytochemistry*, 18, 285 (1979).

7) A. Matsuo, K. Atsumi, M. Nakayama, S. Hayashi, K. Kuriyama, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1979, 1010.

8) A. Matsuo, K. Atsumi, K. Nadaya, M. Nakayama, S. Hayashi, *Phytochemistry*, in press.

9) A. Matsuo, N. Kubota, S. Uto, M. Nakayama, S. Hayashi, K. Yamasaki, *Chem. Lett.*, 1979, 1383.

10) A. Matsuo, S. Uto, H. Nozaki, M. Nakayama, S. Hayashi, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1980, 1220.

(+)-オバリホリエナロン〔2〕, (+)-オバリホリエナール〔3〕および(+)-ブラギオキリンA〔4〕, を単離してそれらの構造を明らかにし, イネ幼苗に対する生長阻害活性を詳細に試験した。さらに, 〔1〕の構造研究の過程ですでに得ている反応生成物〔5〕~〔9〕の活性試験も実施し, 天然産生長阻害物質〔1〕~〔4〕と比較検討して, 分子構造と生長阻害活性との相関についても研究した。

2 結果と考察

マルバハネゴケ (*Plagiochila ovalifolia* Mitt.), ホラゴケモドキ (*Calyptogeia trichomanis* (L.) Corda), チャボヒシヤクゴケ (*Scapania stephanii* K. Muell.) およびオオムチゴケ (*Bazzania pompeana* (Lac.) Mitt.) などのメタノール抽出物について, 植物生長阻害活性試験をした結果, マルバハネゴケのメタノール抽出物が顕著な活性を示したので, まずこの苔から生長阻害物質を単離することにした。

マルバハネゴケのメタノール抽出物をシリカゲルのカラムクロマトグラフィーで大まかに分画し, その後各画分の薄層クロマトグラフィー (TLC) を行なって, 4種の活性物質〔1〕~〔4〕を単離した。

2.1 植物生長阻害物質の構造

2.1.1 (+)-オバリホリエン〔1〕:〔1〕は油状物として得られ, その分子式は高分解質量スペクトル (MS) の結果から $C_{19}H_{26}O_5$ と決定された。赤外吸収スペクトル (IR) および 1H -核磁気共鳴スペクトル (1H -NMR) の解析により, オバリホリエンはアセチルヘミアセタール構造 [ν 1760 cm^{-1} ; δ 2.08 (3H, s), 6.53 (1H, d, $J=10.0$ Hz)] に1個の第一級アセトキシル基 [ν 1740 cm^{-1} ; δ 2.06 (3H, s), 4.35 および 4.58 (各 1H, d, $J=12.5$ Hz)] および1個の *exo*-メチレン基 [ν 895 cm^{-1} ; δ 4.78 (2H, s)] をもち, *gem*-ジメチル置換された三員環を含む三環性のセスキテルペノイドと推定された。これらの諸スペクトルおよび比旋光度はすでにタカネハネゴケから得られている (+)-オバリホリエンのものと一致したので⁷⁾, この化合物を *ent*-2,3-セコ-2,3-エポキシ-2 β ,14-ジアセトキシ-アロアロマデンドラ-3,10(15)-ジエン〔1〕と決定した。

2.1.2 (+)-オバリホリエナロン〔2〕:〔2〕は mp 203°C の結晶として単離され, その分子式 $C_{19}H_{22}O_7$ は元素分析により決定された。スペクトルデータの解析から, アセチルヘミアセタール [ν 1760 cm^{-1} ; δ 2.07 (3H, s), 6.35 (1H, d, $J=10.0$ Hz)], β -置換ビニルエーテル [ν 1670 cm^{-1} ; δ 6.48 (1H, s)], 第一級アセトキシル基 [ν 1740 cm^{-1} ; δ 4.45 および 4.70 (各 1H, d, $J=12.0$ Hz)], *gem*-ジメチル置換した三員環 [ν 1385 および 1365 cm^{-1} ; δ 0.7~1.3 (2H, m), 1.12 および 1.30 (各 3H, s)] 以外に α, α, β -三置換- α, β -不飽和アルデヒド [λ 233 nm; ν 2720, 1705 cm^{-1} ; δ 6.62 (1H, s), 9.57 (1H, s)] ともう1個のカルボニル基 [ν 1705 cm^{-1} ; δ 198.8 (s)] を部分構造として持っていることが指示された。 1H -NMR において22個のプロトンがすべて分離して出現しており, これからオバリホリエナロンの構造は立体化学を含めて〔2〕の構造として合理的に説明された。さらに, これはタカネハネゴケの成分としてすでに単離・構造決定されている (+)-オバリホリエナロン〔2〕の諸スペクトルおよび比旋光度の一致により決定された¹¹⁾。

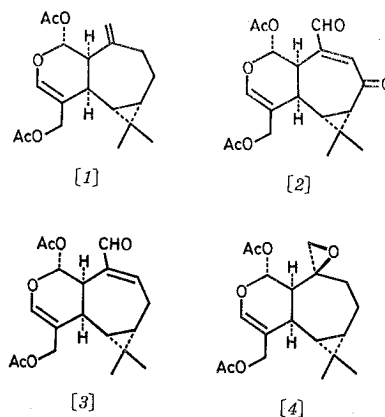


Fig. 1 Structures of the sesquiterpenoids isolated from the liverwort *Plagiochila ovalifolia*

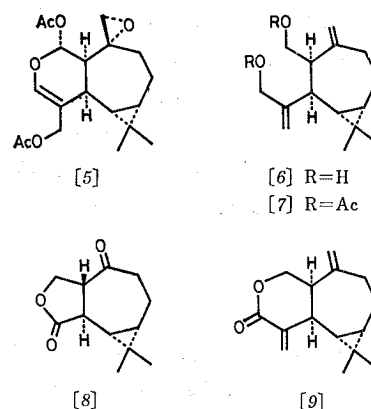


Fig. 2 Structures of the reaction products derived from (+)-ovalifoliene〔1〕

2.1.3 (+)-オバリホリエナール〔3〕:〔3〕, $C_{19}H_{24}O_6$, は〔2〕と同様に官能基として, アセチルヘミアセタール, β -置換ビニルエーテル, 第一級アセトキシル基, *gem*-ジメチル置換三員環および α, β -不飽和アルデヒドを有している。しかし, 〔2〕の 1H -NMR には α, β -不飽和アルデヒドの β 位のプロトンが一重線 (δ 6.62, s) で見られたのに対し, 〔3〕では四重線 (δ 6.79, dd, $J=8.0, 4.0$ Hz) として現れた。その上, ^{13}C -NMR では〔2〕の七員環ケトン (δ 198.8) が消失して, 〔3〕には新しくメチレン炭素が δ 39.8 (t) に出現した。この構造は, 最終的に, 〔3〕を酸化クロム(VI)で酸化して得たケトンの比旋光度を含めた諸データが (+)-オバリホリエナロン〔2〕のものと一致したので, 〔3〕と決定された。

2.1.4 (+)-ブラギオキリンA〔4〕:〔4〕, $C_{19}H_{26}O_6$, の 1H -NMR および IR は〔1〕~〔3〕に共通に見られたアセチルヘミアセタール, β -置換ビニルエーテル, 第一級アセトキシル, *gem*-ジメチル置換三員環以外にエポキシ環 [δ 2.48 (2H, s); δ 51.7 (t)] の存在を示した。これらのスペクトルデータおよび比旋光度は, すでに同属の *P. yokogurensis*¹²⁾, *P. hattoriana*¹³⁾ およ

11) A. Matsuo, H. Nozaki, K. Atsumi, H. Kataoka, M. Nakayama, S. Hayashi, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1979, 1012.

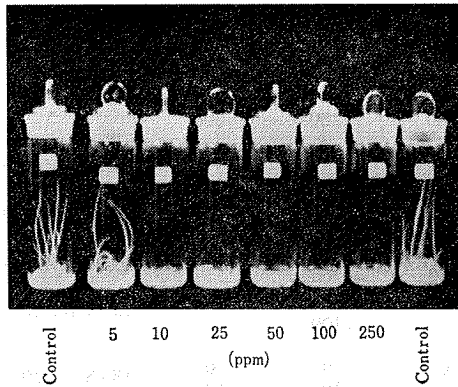


Fig. 3 A photographic illustration of growth-inhibitory effect of (+)-ovalifoliene [1] on the rice seedlings

び *P. semidecurrens*⁹⁾ から単離されている (+)-ブラギオキリン A [4] のものに一致した。なお、エポキシ環の配置は ¹³C-NMR から β と決定されている⁹⁾。

2.2 植物生長阻害活性

植物の生長阻害活性を検定する方法(すなわち、バイオアッセイ)には試験に使用する植物の種類および成長のどの段階で試験するか(たとえば種子の発芽、幼苗の生長など)などにより種々の方法がある。著者らは、すでに方法が確立し操作も容易なイネ幼苗生長抑制試験法を採用して¹⁴⁾¹⁵⁾、マルバハネゴケから単離したアセチルヘミアセタール環を含むセスキテルペノイドの生長阻害活性を試験した。

2.2.1 (+)-オバリホリエン [1], (+)-オバリホリエナロン [2], (+)-オバリホリエナール [3] および (+)-ブラギオキリン A [4] の植物生長阻害活性: まず (+)-オバリホリエン [1] を任意の濃度に調製して、前述のイネ幼苗を用いる浸漬法でバイオアッセイした。その試験結果の写真を図3に示している。10 ppm (3.0×10^{-5} mol/l) 以上の濃度では幼苗の生長がほとんど見られない。この試験によって得られた各幼苗の第二葉鞘の長さおよび根の重量を、表1および表2の最上段に示しているように試験管ごとにそれぞれ実測した。つぎに、各実測値から試料無添加の標準の生長に対する生長阻害率を算出してカッコ内に示している。また、第二葉鞘および根の生長を 50% 阻止する濃度 (I_{50}) も求めて表に記した。

同様な操作を実施して、(+)-オバリホリエナロン [2], (+)-オバリホリエナール [3] および (+)-ブラギオキリン A [4] のイネ幼苗の第二葉鞘および根の生長に対する影響を表1および表2にまとめている。

これから明らかなように、[1], [3] および [4] はそれぞれ 25, 50, 50 ppm 以上の濃度でイネ幼苗の第二葉鞘(表1)と根(表2)の生長をほとんど完全に阻止している。また、第二葉鞘および根の生長に対する I_{50} はすべて 20 ppm 以下であり、強力

な生長阻害作用を示している。実際の生態系でこれらのセスキテルペノイドがアロモンとして作用し¹⁶⁾、他の植物の生長を抑制してこの苔の純群落形成を促進させているものと考えられる。しかし、[2] の生長阻害活性は弱く、10~50 ppm の範囲ではむしろ根の生長を促進している。

天然産の植物生長阻害物質としては、すでにテルペノイド、フラボノイド、クマリン類、安息香酸やケイ皮酸のヒドロキシル誘導体および脂肪酸誘導体など種々の化合物が報告されている^{17)~20)}。そのうち、テルペン系の生長阻害物質は部分構造としてラクトン環をもったものがほとんどである。今回著者らがマルバハネゴケから単離したセスキテルペノイドはアセチルヘミアセタール環を保持している新しい型の生長阻害物質として非常に興味がある。

2.2.2 化学構造と生長阻害活性との関係: 前に述べたように [1], [3] および [4] は強い生長阻害活性を有する新しい型の化合物である。著者らは、これらのセスキテルペノイドにおいて分子構造のどの部位が活性に寄与しているかということに興味をもち、[1] の構造決定の段階で得られている誘導体、[5]~[9]⁹⁾ のバイオアッセイも行なった。その試験結果を表1および表2の下段に示している。

エポキシ環の配置がブラギオキリン A [4] とは逆になっているエポキシ [5] の第二葉鞘および根の生長に対する I_{50} はどちらも [4] の値とほとんど変化なく、エポキシ環の配置は活性に影響をおよぼさないことが明らかである。ヘミアセタール環を開いたジオール [6] およびそのジアセタート [7] においてはそれらの活性が減少した。とくに、第二葉鞘の生長に対する活性の減少がいちじるしい。 γ -ラクトン [8] では、第二葉鞘および根の生長阻害活性がどちらもさらに減少している。 α -メチレン- δ -ラクトン [9] の第二葉鞘および根の生長に対する阻害作用は、アセチルヘミアセタール環を有するオバリホリエナール [3] およびブラギオキリン A [4] の活性にたいして匹敵している。

これらの実験結果から、生長阻害活性の発現にはアセチルヘミアセタール環の寄与が重要であることが指示された。しかし、 α -メチレン- δ -ラクトン環でもその役割を演じるようである。七員環部に関しては、*exo*-メチレンを七員環にもつ [1] の活性が最強であるが、アルデヒド [3], エポキシ [4] および [5] でもなおかなり強い活性を示している。しかしながら、酸化がさらに進んで七員環の配座がイス形から舟形に変わった [2] においては¹¹⁾、その活性が非常に減少している。これから七員環の配座も活性に影響を与えていることが推測される。ところで、 γ -ラクトン [8] は 5~100 ppm の濃度において [2] で認められた現象と同じく根の生長を促進している。また、[8] は [6] とともに第二葉鞘の生長も促進している。この生長促進効果については、今後の研究課題として残された重要な問題であり、さらに研究を拡大していきたい。

12) Y. Asakawa, M. Toyota, T. Takemoto, *Tetrahedron Lett.*, 1978, 1553.

13) Y. Asakawa, M. Toyota, T. Takemoto, *Phytochemistry*, 17, 1794(1978).

14) 加藤忠弘, 高橋成人, 北原喜男, “天然有機化合物実験法(名取信策, 池川信夫, 鈴木真言共編)”, 講談社(1977) p.235.

15) 小清水弘一, 福井宏至, 文献 14) の p.249.

16) R. H. Whittaker, P. P. Feeny, *Science*, 171, 757(1971).

17) 高橋信孝, 丸茂晋吾, 大岳 望, “生理活性天然物化学”, 東京大学出版会(1973) p.63.

18) 山下恭平, “植物の生理活性物質(化学の領域選書 10)”, 南江堂(1975) p.47.

19) D. Gress, *Phytochemistry*, 14, 2105(1975).

20) N. Bhushan Mandava, “Plant Growth Substances (Ed. by N. Bhushan Mandava)”, ACS Symposium Series 111, American Chemical Society (1979) p.135.

Table 1 Growth-inhibitory effect of the sesquiterpenoids ([1]~[9]) on the length of second leaf sheath of rice seedlings

Compound	Concentration of the plant growth inhibitor (ppm)								I_{50}
	0	5	10	25	50	100	250	500	
[1]	22.9±0.9 (0)	21.8±3.8 (5)	2.3±2.3 (90)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	—	7 (2.1×10^{-5} mol/l)
[2]	24.8±2.3 (0)	—	25.1±0.9 (-1)	21.9±1.1 (12)	23.6±0.5 (5)	22.7±1.3 (8)	—	0 (100)	210 (5.8×10^{-4} mol/l)
[3]	26.1±1.6 (0)	22.7±3.9 (13)	21.7±2.4 (17)	10.0±2.7 (62)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	—	19 (5.5×10^{-5} mol/l)
[4]	24.7±2.1 (0)	16.6±4.8 (33)	21.7±3.0 (12)	1.6±1.6 (94)	1.7±1.7 (94)	—	0 (100)	—	14 (4.0×10^{-5} mol/l)
[5]	25.5±1.0 (0)	18.7±3.2 (33)	14.3±3.4 (42)	6.9±3.6 (72)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	13 (3.7×10^{-5} mol/l)
[6]	25.7±0.9 (0)	26.3±1.5 (-2)	25.7±1.1 (0)	28.9±1.3 (-13)	26.0±1.5 (-1)	17.9±4.8 (30)	10.8±4.0 (58)	0 (100)	190 (8.1×10^{-4} mol/l)
[7]	23.9±1.4 (0)	—	22.8±0.8 (5)	22.2±1.5 (7)	25.0±0.9 (-5)	9.9±1.3 (17)	16.1±2.3 (33)	0 (100)	300 (9.4×10^{-4} mol/l)
[8]	23.1±1.1 (0)	23.4±2.3 (-1)	21.6±1.4 (6)	24.5±2.4 (-6)	26.5±2.0 (-15)	21.4±1.1 (7)	15.4±5.4 (33)	10.4±5.1 (55)	410 (2.0×10^{-3} mol/l)
[9]	25.8±1.6 (0)	—	22.4±0.8 (13)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	—	15 (6.5×10^{-5} mol/l)

The numerals in this Table show the average length (mm) of second leaf sheath of seven seedlings with standard error except for control seedlings ($n=14$).

The figures in parentheses indicate the percent inhibition (minus sign shows the growth stimulation).

The concentration of I_{50} (50% growth inhibition) are represented by ppm and also by mole concentration in parentheses.

Bioassay: rice seedlings were treated with the growth inhibitors for 7 days at $30 \pm 1^\circ\text{C}$ under 2500 lux illumination.

Table 2 Growth-inhibitory effect of the sesquiterpenoids ([1]~[9]) on the weight of root of rice seedlings

Compound	Concentration of the plant growth inhibitor (ppm)								I_{50}
	0	5	10	25	50	100	250	500	
[1]	98.0 (0)	78.2 (20)	9.7 (90)	1.3 (99)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	—	7 (2.1×10^{-5} mol/l)
[2]	89.2 (0)	—	103.4 (-16)	121.7 (-36)	131.7 (-48)	71.2 (20)	—	0 (100)	180 (5.0×10^{-4} mol/l)
[3]	84.7 (0)	69.7 (18)	35.3 (58)	7.2 (91)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	—	9 (2.6×10^{-5} mol/l)
[4]	118.3 (0)	27.0 (77)	81.2 (31)	6.5 (95)	1.0 (99)	—	0 (100)	—	13 (3.7×10^{-5} mol/l)
[5]	119.1 (0)	81.3 (32)	60.5 (49)	9.0 (92)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	—	10 (2.9×10^{-5} mol/l)
[6]	99.2 (0)	106.2 (-7)	79.4 (20)	93.5 (6)	63.3 (36)	38.9 (61)	14.7 (85)	0 (100)	75 (3.2×10^{-4} mol/l)
[7]	91.8 (0)	—	49.1 (46)	60.6 (34)	45.2 (51)	17.4 (81)	30.3 (67)	5.3 (94)	50 (1.6×10^{-4} mol/l)
[8]	92.1 (0)	117.2 (-27)	125.3 (-36)	116.9 (-27)	118.8 (-29)	109.4 (-19)	31.2 (66)	14.9 (84)	210 (1.0×10^{-3} mol/l)
[9]	91.9 (0)	—	76.6 (17)	5.1 (94)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	—	15 (6.5×10^{-5} mol/l)

The numerals in the Table show the total weight (mg) of roots of seven seedlings in each test tube but control is the average value of 2 test tubes.

The figures in parentheses and the concentration have the same meaning as described in Table 1.

3 実 験

記載の融点は未補正である。IR は日立 EPI-G 3 分光光度計を使用し、溶液法で測定した。MS は日立 RMU-6L および RMU-7L 質量分析計を用いてイオン化電圧 70 eV で測定した。 ^1H -NMR は Varian T-60 (60 MHz) および日立 R-22 (90 MHz) 核磁気共鳴分光装置で、テトラメチルシランを内部標準として測

定し、 δ 値で示した。 ^{13}C -NMR は日立 R-42 FT (22.63 MHz) 核磁気共鳴装置によった。比旋光度はクロロホルム溶液として柳本 OR-50 で測定した。UV の測定は日立 124 分光光度計を使用した。

3.1 抽出および分離

材料のマルバハネゴケ (*Plagiochila ovalifolia* Mitt.) は大分県九重町で採取した。水洗し日陰で1週間風乾したのち(風乾

量 2.5 kg), メタノールで2週間浸漬して抽出した。抽出液を減圧下で濃縮後エーテルで再抽出して油状物 (35.0 g) を得た。これをシリカゲルの大型カラムに通して、展開液としてヘキサンに酢酸エチルを段階的に増加させて溶出し、大まかに分画した。その後、各画分を展開溶媒としてヘキサン、ベンゼン、クロロホルムおよびエーテルなどを適宜組み合わせ、シリカゲルの分取 TLC を行ない各成分に単離した。

(+)-オバリホリエン [1]: 800 mg

(+)-オバリホリエナロン [2]: 200 mg

(+)-オバリホリエナール [3]: 500 mg

(+)-ブラギオキリン A [4]: 30 mg

3.2 (+)-オバリホリエン [1]

無色の液体, $C_{19}H_{26}O_6$ (M^+ 334.1746; 理論値 334.1778), $[\alpha]_D^{24} + 24.5^\circ$ ($c=2.1$), クロロホルム-エーテル (5:1) の展開溶媒による TLC において R_f 0.45 にスポットを示す。

IR (CCl_4) (cm^{-1}): 1760, 1740, 1670, 1635, 1380, 1370, 1360, 895, 855

1H -NMR ($CDCl_3$) (ppm): 0.3~1.0 (2 H, m), 1.02, 1.08, 2.06, 2.08 (各 3 H, s), 2.18 (1 H, dd, $J=6.0, 4.0$ Hz), 2.81 (1 H, dd, $J=10.0, 4.0$ Hz), 4.35, 4.58 (各 1 H, d, $J=13.0$ Hz), 4.78 (2 H, s), 6.29 (1 H, s), 6.53 (1 H, d, $J=10.0$ Hz)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$) (ppm): 19.7, 116.3, 148.7, 169.7, 170.9 (各 s), 29.4, 26.6, 34.3, 51.7, 91.5, 140.4 (各 d), 25.6, 35.4, 63.5, 116.4 (各 t), 15.6, 20.9, 21.0, 28.8 (各 q)

3.3 (+)-オバリホリエナロン [2]

無色の結晶, mp 203°C, $C_{19}H_{22}O_7$ (M^+ 362; 元素分析 C 62.69, H 6.16; 理論値 C 62.97, H 6.12), $[\alpha]_D^{24} + 149.8^\circ$ ($c=1.7$), クロロホルム-エーテル (5:1) の溶媒での TLC で R_f 0.23 にスポットを与える。

UV (EtOH) (nm): 204 ($\epsilon=22440$), 233 ($\epsilon=6880$)

IR ($CHCl_3$) (cm^{-1}): 2720, 1760, 1740, 1705, 1670, 1645, 1385, 1365, 1230, 1160, 960

1H -NMR ($CDCl_3$) (ppm): 0.7~1.3 (2 H, m), 1.12, 1.30 (各 3 H, s), 1.38 (1 H, dd, $J=8.0, 6.0$ Hz), 2.00, 2.07 (各 3 H, s), 2.65 (1 H, dd, $J=6.0, 4.0$ Hz), 3.58 (1 H, dd, $J=10.0, 4.0$ Hz), 4.45, 4.70 (各 1 H, d, $J=12.0$ Hz), 6.35 (1 H, d, $J=10.0$ Hz), 6.48 (1 H, s), 6.62 (1 H, s), 9.57 (1 H, s)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$) (ppm): 29.6, 116.0, 145.2, 160.6, 169.1, 198.8 (各 s), 32.3, 35.4, 37.9, 39.1, 92.2, 141.6, 146.5, 193.5 (各 d), 63.4 (t), 16.6, 20.6, 21.0, 23.9 (各 q)

3.4 (+)-オバリホリエナール [3]

無色の液体, $C_{19}H_{24}O_6$ (M^+ 348.1624; 理論値 348.1572), $[\alpha]_D^{24} + 93.7^\circ$ ($c=3.7$), クロロホルム-エーテル (5:1) を用いて TLC を行なうと R_f 0.37 にスポットを与える。

UV (EtOH) (nm): 215 ($\epsilon=3410$), 227 ($\epsilon=3410$)

IR ($CHCl_3$) (cm^{-1}): 2720, 1760, 1740, 1700, 1675, 1645, 1385, 1375, 1235, 1165, 1025, 963

1H -NMR ($CDCl_3$) (ppm): 1.11 (6 H, s), 2.04 (6 H, s), 2.38 (1 H, dd, $J=9.0, 4.0$ Hz), 2.76 (1 H, t, $J=7.0$ Hz), 3.45 (1 H, ddd, $J=10.0, 4.0, 2.0$ Hz), 4.35, 4.57 (各 1 H, d, $J=13.0$ Hz), 6.38 (1 H, s), 6.45 (1 H, d, $J=10.0$ Hz), 6.79 (1 H, dd, $J=8.0, 4.0$ Hz), 9.33 (1 H, s)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$) (ppm): 21.0, 115.5, 140.1, 170.0, 171.1 (各 s), 24.4, 28.4, 30.8, 32.1, 92.5, 141.4, 154.4, 194.1 (各 d), 39.8, 63.3 (各 t), 15.6, 20.0, 21.0, 25.6 (各 q)

(+)-オバリホリエナール [3] の酸化クロム(VI)酸化 (Collins 酸化の変法): 無水ピリジン (0.5 ml) とジクロロメタン (6.6 ml) の混合液にかきまぜながら酸化クロム(VI) (265 mg) を少量ずつ加えて溶解し, 15 分後にこの溶液に [3] (150 mg) を少量のジクロロメタンに溶かして加えて, 70°C で6時間かきまぜた。この反応液をシリカゲル層に通したのち, 5% 水酸化ナトリウム, 5% 塩酸, 5% 炭酸水素ナトリウム, 飽和塩化ナトリウム水溶液で順次洗浄した。ジクロロメタン溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥して, 溶媒を留去し分取 TLC を行ない, ケトン [2] (16 mg) を得た。

$C_{19}H_{22}O_7$ (M^+ 362), $[\alpha]_D^{24} + 169.0^\circ$ ($c=0.4$), mp 202°C

IR ($CHCl_3$) (cm^{-1}): 2720, 1760, 1740, 1705, 1670, 1645, 1385, 1365, 1230, 1160, 960

1H -NMR ($CDCl_3$) (ppm): 1.13, 1.32, 2.01, 2.07 (各 3 H, s), 1.38 (1 H, dd, $J=8.0, 6.0$ Hz), 2.65 (1 H, dd, $J=6.0, 4.0$ Hz), 3.58 (1 H, dd, $J=10.0, 4.0$ Hz), 4.45, 4.75 (各 1 H, d, $J=12.0$ Hz), 6.35 (1 H, d, $J=10.0$ Hz), 6.48 (1 H, s), 6.62 (1 H, s), 9.55 (1 H, s)

3.5 (+)-ブラギオキリン A [4]

無色の液体, $C_{19}H_{26}O_6$ (M^+ 350), $[\alpha]_D^{24} + 32.3^\circ$ ($c=1.6$)

IR (CCl_4) (cm^{-1}): 1760, 1740, 1695, 1675, 1380, 1370, 1365, 1230, 845

1H -NMR ($CDCl_3$) (ppm): 1.06, 1.11 (各 3 H, s), 1.72 (1 H, dd, $J=10.0, 4.0$ Hz), 2.08, 2.23 (各 3 H, s), 2.48 (2 H, s), 4.35, 4.57 (各 1 H, d, $J=13.0$ Hz), 6.35 (1 H, s), 6.83 (1 H, d, $J=10.0$ Hz)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$) (ppm): 19.1, 60.1, 116.2, 170.1, 171.0 (各 s), 27.8, 28.7, 31.8, 50.0, 92.0, 140.5 (各 d), 21.9, 33.9, 51.7, 63.4 (各 t), 15.8, 21.2, 21.2, 29.8 (各 q)

3.6 イネ幼苗生長抑制試験 (浸漬法)¹⁴⁾¹⁵⁾

下記の操作手順で試験した。

1) 8% 塩化ナトリウム溶液で塩水選したもみ (新千本) をビーカーに入れ, エタノール中に5分間浸漬したのち, 水道水で3回洗浄する。さらに, 1% 過塩素酸ナトリウム溶液に1時間浸漬し, その後流水中で3時間洗浄する。

2) このように滅菌操作を終えたもみを沓紙をしいたペトリ皿に入れて, 冠水状態で $30 \pm 1^\circ C$ の恒温器 (2500 ルックス) 内に3日間たもち発芽させる。

3) 被験試料をエーテルまたはクロロホルムに溶かして任意の濃度 (表1および表2参照) に調製して, その各 2 ml を管ビン (2.5×10 cm) に入れ, アスピレーターで溶媒を完全に追い出す。つぎに, Tween 80 の 100 ppm 水溶液 2 ml を加えて, 一夜放置する。

4) 各管ビンに発芽状態の揃った上記のもみを7粒ずつ入れて密栓し, $30 \pm 1^\circ C$ の恒温器内で光 (2500 ルックス) を照射して7日間生育させる。

5) 管ビンごとに, 各幼苗の第二葉鞘の長さ (mm) および根の全重量 (mg) を測定する。得られた実測値から, 標準の生長に対する阻害率および 50% 阻止濃度 (I_{50}) を算出する。

終りにのぞみ、苔の同定をして下さった国立科学博物館井上
浩博士および生長阻害活性試験に関してご教示いただいた本学倉

石 晋教授に深謝する。また、本研究における研究費の一部は、
文部省科学研究費(554160)の援助によった。

**Special Articles on
Biologically Active Substances**

**Plant Growth Inhibitors Isolated from the Liverwort,
*Plagiochila ovalifolia***

Akihiko MATSUO*, Kazumi NADAYA, Mitsuru NAKAYAMA
and Shūichi HAYASHI**

*Department of Chemistry, Faculty of Science, Hiroshima
University; Higashisenda-machi, Naka-ku,
Hiroshima-shi 730 Japan*

** *Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama
University of Science; Ridai-cho,
Okayama-shi 700 Japan*

In the course of our investigation on the terpenoids displaying plant growth-inhibiting properties from the liverworts (Hepaticae), four sesquiterpenoids were isolated from a leafy liverwort, *Plagiochila ovalifolia* Mitt. and their structures were identified as (+)-ovalifoliene [1], (+)-ovalifolienalone [2], (+)-ovalifolienal [3], and (+)-plagiochiline A [4]. The *ent*-2,3-seco-alloaromadendranes [1], [2], [3], and [4] almost completely inhibited the growth of the rice seedlings at the concentrations of 25, 250, 50 and 50 ppm, respectively. The details of their growth-inhibitory effects are shown in Table 1 and 2.

Furthermore, the reaction products [5]~[9] derived from (+)-ovalifoliene [1] were also tested for the biological activity (see Table 1 and 2) in order to study relationship between the biological activity and the chemical structure. The results suggest that the inhibitory activity is due to the acetyl hemiacetal moiety. α -Methylene- δ -lactone [9] revealed almost similar inhibitory activity to the natural inhibitors [1], [3], and [4]. The ketone [2] and the γ -lactone [8], however, promoted the growth of the root at the low concentration.
