

2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノンと その関連化合物の抗真菌活性

青山 政和 森 満範*¹ 奥村真由己*¹
土居 修一*² 姉帯 正樹*³

Anti fungal Activity of 2',6'-dihydroxy-4'-methoxyacetophenone and Related Compounds against True Fungi

Masakazu AOYAMA Mitsunori MORI*¹ Mayumi OKUMURA*¹
Shuichi DOI*² Masaki ANETAI*³

Keywords: antifungal activity, plant pathogenic fungi, acetophenones
抗菌活性, 植物病原菌, アセトフェノン類

1. はじめに

エゾムラサキツツジ (*Rhododendron dahuricum* L.) は北海道, 東シベリア, 内モンゴル, 中国東北部, 朝鮮などに広く分布し, 本道では園芸花木として植栽されている。中国東北部ではその乾燥葉を「満山紅 (Manshanhong)」と称し, 鎮咳, 去疾, 気管支炎などの民間薬として利用されている¹⁾。

最近, 姉帯ら²⁾はエゾムラサキツツジ葉の粗抽出物がアズキ萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum*) に対して高い抗菌活性を示し, その活性物質が2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノンであることを明らかにした。これまでもいくつかのアセトフェノン類が広範な抗菌活性を示すことが知られている。例えば, 溝淵ら^{3,4)}はホップの苦み成分に関連した2',4'-ジヒドロキシアシロフェノンや2',4',6'-トリヒドロキシアシロフェノン類が, ヒト伝染性皮膚病菌である白癬菌 (*Trichophyton* spp.) に対して高い抗菌性を示し, その活性がアシル基やアルキル基の構成炭素数と密接に関連していることを認めている。

また, 仁科らは, ヒメバラモミ葉⁵⁾やコーヒー残さ抽出物⁶⁻⁹⁾中に含まれている3'-4'-ジヒドロキシアセトフェノンがグラム陽性細菌に対し優れた抗菌性のあることを報告している。

本研究では, 樹木成分の高位利用法開発の一環として, エゾムラサキツツジ葉から単離された2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノンとその関連化合物の数種の植物病原菌に対する抗真菌活性を調べ, その活性と化学構造との相関について検討した。なお, 本研究は第2回樹木抽出成分の化学と利用に関する国際シンポジウム (中国林学会林産化学化工学会主催, 福建省福州市, 1995年11月) において発表し, 詳細は木材学会誌 (43巻1号, 1997年) に掲載されている。

2. 実 験

2.1 試料の調製

エゾムラサキツツジ葉は, 旭川林務署管内の道有林において1994年7月に採取した。新鮮葉を70%ア

セトンで24時間室温抽出し、粗抽出物を得た（収量：30.5%，対絶乾試料）。

3',4',5'-トリメトキシアセトフェノンは、4'-ヒドロキシ-3',5'-ジメトキシアセトフェノンの3N水酸化カリウム溶液中にジメチル硫酸を滴下し調製した。2',4'-ジヒドロキシ-6'-メトキシアセトフェノン、2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノン、2'-ヒドロキシ-4',6'-ジメトキシアセトフェノンは、2',4',6'-トリヒドロキシアセトフェノンの無水炭酸カリウム存在下でのジメチル硫酸による部分メチル化で合成した。その他のアセトフェノン類は市販品を

用いた。

2.2 供試菌

はいろいろかびびょう 灰色黴病菌 (*Botrytis cinerea* 58SR), アズキ萎凋病菌 (*F. oxysporum* IFO 30709), ホウレンソウなえたちがれびょう 苗立枯病菌 (*Pythium aphanidermatum* IFO 7030), こしおれびょう 腰折病菌 (*Rhizoctonia solani* IFO 30936) および2種ゆきぐされこつぶの雪腐小粒菌核病菌 (*Typhula incarnate* F 59-1, *T. ishikariensis* F 59-2) を供試菌として生物検定に用いた。

2.3 生物検定

ポテトデキストロース寒天 (PDA) 培地に、各ア

第1表 エゾムラサキツツジ葉抽出物およびアセトフェノン類の植物病原菌に対する抗菌活性

(試料濃度：500 μ g/ml)

試料	抗菌活性 (AFA, %) ^{*1}					
	BC ^{*2}	FO ^{*2}	PA ^{*2}	RS ^{*2}	TIN ^{*2}	TIS ^{*2}
エゾムラサキツツジ葉アセトン抽出物	52	50	17	8	29	10
2'-ヒドロキシアセトフェノン	80	20	100 ^{*3}	95	91	100 ^{*3}
2'-メトキシアセトフェノン	100 ^{*3}	73	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}	98
3'-ヒドロキシアセトフェノン	88	56	100 ^{*4}	88	100 ^{*3}	100 ^{*3}
3'-メトキシアセトフェノン	100 ^{*3}	54	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}
4'-ヒドロキシアセトフェノン	80	65	100 ^{*4}	90	100 ^{*4}	100 ^{*3}
4'-メトキシアセトフェノン	73	55	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}
2',4'-ジヒドロキシアセトフェノン	100 ^{*4}	100 ^{*3}	100 ^{*4}	96	100 ^{*4}	100 ^{*4}
2'-ヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノン	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*4}	100 ^{*3}
2',4'-ジメトキシアセトフェノン	100 ^{*3}	84	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}
2',5'-ジヒドロキシアセトフェノン	83	69	100 ^{*4}	96	96	100 ^{*4}
2'-ヒドロキシ-5'-メトキシアセトフェノン	76	83	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}
2',5'-ジメトキシアセトフェノン	100 ^{*3}	68	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}	100 ^{*3}
2',6'-ジヒドロキシアセトフェノン	100 ^{*4}	100 ^{*4}	100 ^{*4}	100 ^{*3}	100 ^{*4}	100 ^{*4}
2'-ヒドロキシ-6'-メトキシアセトフェノン	88	83	21	22	100 ^{*3}	100 ^{*3}
3',4'-ジヒドロキシアセトフェノン	29	31	100 ^{*4}	22	80	100 ^{*3}
4'-ヒドロキシ-3'-メトキシアセトフェノン	89	51	100 ^{*3}	92	61	33
3',4'-ジメトキシアセトフェノン	40	53	50	84	100 ^{*3}	93
3',5'-ジヒドロキシアセトフェノン	9	6	10	68	40	15
2',3',4'-トリヒドロキシアセトフェノン	59	69	100 ^{*4}	100 ^{*3}	43	2
2',4',6'-トリヒドロキシアセトフェノン	47	49	100 ^{*4}	52	54	52
2',4'-ジヒドロキシ-6'-メトキシアセトフェノン	88	62	100 ^{*3}	56	43	72
2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノン	100 ^{*4}	100 ^{*4}	100 ^{*4}	100 ^{*4}	100 ^{*4}	100 ^{*4}
2'-ヒドロキシ-4',6'-ジメトキシアセトフェノン	100 ^{*3}	67	12	98	80	38
4'-ヒドロキシ-3',5'-ジメトキシアセトフェノン	37	63	70	76	70	78
3',4',5'-トリメトキシアセトフェノン	-12	45	33	60	100 ^{*3}	98

*1: 抗菌活性 AFA (%) = 100(Gc - Gt)/Gc

Gc: 対照培地での菌糸生長半径; Gt: 試験培地での菌糸生長半径。

*2: BC: 灰色黴病菌; FO: 萎凋病菌; PA: ホウレンソウ苗立枯病菌; RS: 腰折病菌;

TIN: 雪腐小粒菌核病菌(*Typhula incarnata*); TIS: 雪腐小粒菌核病菌(*T. ishikariensis*).

*3: 静菌作用

*4: 殺菌作用

セトフェノン試料のエタノール溶液を1% (v/v) 濃度で添加した寒天平板を試験培地とした。これに各供試菌を接種し、所定期間培養した後、各供試菌に対する抽出物の抗菌活性 (AFA) を以下に示す菌糸生長阻止率で求めた。

$$AFA (\%) = 100 \times \frac{(G_c - G_t)}{G_c}$$

G_c: 対照培地上での菌糸生長半径

G_t: 試験培地上での菌糸生長半径

3. 結果と考察

2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノンとその関連化合物の抗真菌活性を第1表に示す。エゾムラサキツツジ葉の粗アセトン抽出物は、濃度500 μg/mlで対照と比較して、灰色黴病菌 (*B. cinerea*) やアズキ萎凋病菌 (*F. oxysporum*) の菌糸生長を約50%抑制しているが、2種の雪腐小粒菌核病菌 (*Typhula* spp.), 腰折病菌 (*R. solani*), ホウレンソウ苗立枯病菌 (*P. aphanidermatum*) に対する抗菌活性はいずれも30%以下と極めて弱いものであった。一方、2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノンを含む芳香環に水酸基あるいはメトキシル基を有するアセトフェノン類は、いくつかの例外を除き、同じ濃度ですべての供試菌に対して強い抗菌活性を示した。一般に2',3',4',2',4',2',5',2',6',2',4',6'-

置換体の活性は、3',4',3',5',3',4',5'-置換体のそれよりも高いことが認められた。なかでも、エゾムラサキツツジの葉²⁾や西洋スモモ (*Prunus domestica*) の樹皮¹⁰⁾から単離されている2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノン^{ほたんび}、生薬「牡丹皮」の芳香成分¹¹⁾である2'-ヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノン、2',4'-ジヒドロキシアセトフェノンなど3種のアセトフェノン誘導体は、濃度500 μg/mlですべての供試菌の菌糸生長を完全に阻止した。2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノン含有培地で培養後、菌糸体を新鮮な寒天培地に移植したが、その後も全く菌糸生長が認められず、その抗菌活性が殺菌作用であることが示唆された。

第2表に2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノンとその関連化合物の供試植物病原菌に対する最小阻止濃度を示す。2',6'-ジヒドロキシアセトフェノンと2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノンはすべての供試菌に対して強い活性を示したが、2'-ヒドロキシ-6'-メトキシアセトフェノンは、2種の雪腐小粒菌核病菌を除けば強い活性を示さなかった。このことはアセチル基に対してオルソ位の水酸基が抗菌活性に重要な役割をはたしていることを示唆しており、少なくともオルソ水酸基の一つがアルキルエーテル化されることによって活性が大きく減少することが判明した。一方、2',4'-ジヒドロキシアセトフェノンと2',4',6'-トリヒドロキシアセト

第2表 2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノンおよび関連化合物の植物病原菌菌糸生長に対する最小阻止濃度(MICs)

試料	最小阻止濃度 (MIC, μg/ml)					
	BC ^{*1}	FO ^{*1}	PA ^{*1}	RS ^{*1}	TIN ^{*1}	TIS ^{*1}
2',4'-ジヒドロキシアセトフェノン	300 ^{*2}	500 ^{*3}	50 ^{*2}	- ^{*4}	300 ^{*2}	200 ^{*2}
2'-ヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノン	500 ^{*3}	50 ^{*3}	300 ^{*3}	500 ^{*3}	400 ^{*2}	400 ^{*3}
2',4'-ジメトキシアセトフェノン	400 ^{*3}	-	400 ^{*3}	200 ^{*3}	300 ^{*3}	400 ^{*3}
2',6'-ジヒドロキシアセトフェノン	300 ^{*2}	300 ^{*2}	100 ^{*2}	200 ^{*3}	200 ^{*3}	200 ^{*2}
2'-ヒドロキシ-6'-メトキシアセトフェノン	-	-	-	-	200 ^{*3}	300 ^{*3}
2',4',6'-トリヒドロキシアセトフェノン	-	-	500 ^{*3}	-	-	-
2',4'-ジヒドロキシ-6'-メトキシアセトフェノン	-	-	100 ^{*3}	-	-	-
2',6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノン	200 ^{*2}	400 ^{*2}	100 ^{*2}	500 ^{*2}	200 ^{*2}	100 ^{*2}
2'-ヒドロキシ-4',6'-ジメトキシアセトフェノン	-	-	-	-	-	-

*1: BC: 灰色黴病菌; FO: 萎凋病菌; PA: ホウレンソウ苗立枯病菌; RS: 腰折病菌;

TIN: 雪腐小粒菌核病菌(*T. incarnata*); TIS: 雪腐小粒菌核病菌 (*T. ishikariensis*).

*2: 殺菌作用

*3: 静菌作用

*4: MIC > 500 μg/ml

フェノンではアセチル基に対してパラ位の水酸基のメチル化により活性が高められた。このことから分子中の三つの水酸基のうち少なくとも一つが抗菌活性発現に不利にはたらし、その部分アルキルエーテル化によって活性が回復されることが明らかとなった。

4. まとめ

エゾムラサキツツジ葉に含まれている2', 6'-ジヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノンは、ボタンの根皮に含まれている2'-ヒドロキシ-4'-メトキシアセトフェノンと同様に、多くの植物病原菌に対して強い抗菌活性を有し、広範な抗菌スペクトルを示した。

また、アカエゾマツ (*Picea glehnii* Masters) 葉に含まれる4'-ヒドロキシアセトフェノン¹²⁾やヒメバラモミ (*Picea maximowiczii* Regel) 葉の3', 4'-ジヒドロキシアセトフェノン⁵⁾など、樹木由来のアセトフェノン類も、ハウレンソウ苗立枯病菌や雪腐小粒菌核病菌など特定の菌種に対して強い抗菌活性を示した。

一般にアセトフェノン類は植物病原菌に対して高い抗菌活性を有していたが、その活性は分子内の水酸基の位置およびそのアルキルエーテル化に大きく影響されることが判明した。

謝 辞

灰色黴病菌および2種の雪腐小粒菌核病菌は(株)日本農薬と(株)日本甜菜製糖総合研究所からそれぞれ恵与された。両社に対し感謝の意を表します。

文 献

- 1) 安田真宰穂 ; 五十嵐秀雄 ; 鹿野美弘 ; 木島正夫 : 生薬学雑誌, 38(4), 346-354(1984).
- 2) Anetai, M. ; Hasegawa, S. ; Kaneshima, H. : *Natural Med.*, 49(2), 217(1995).
- 3) Mizubuchi, S. ; Sato, Y. : *Agric. Biol. Chem.* 49(3), 719-724 (1985).
- 4) Mizubuchi, S. ; Sato, Y. : *Agric. Biol. Chem.*, 49(5), 1327-1333(1985).
- 5) 刈米達夫 ; 高橋三雄 ; 伊藤徳三 ; 増谷孝一郎 : 薬学雑誌, 79(1), 125(1959).
- 6) Nishina, A. ; Kajishima, F. ; Matsunaga, M. ; Tezuka, H. ; Inatomi, H. ; Osawa, T. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58(2), 293-296(1994).
- 7) 仁科淳良 ; 松長正見 : 食品流通技術, 23(8), 21-26(1994).
- 8) 仁科淳良 ; 松長正見 ; 橋本浩二 ; 手塚裕和 : 食品と開発, 29(12), 20-23(1994).
- 9) 仁科淳良 ; 手塚裕和 ; 松長正見 : 防菌防黴, 23(11), 681-684(1995).
- 10) Nagarajan, G. R. ; Parmar, V. S. : *Phytochem.*, 16, 614-615(1977).
- 11) 刈米達夫 ; 高橋三雄 ; 高石清和 : 薬学雑誌, 76(8), 917-919(1956).
- 12) 刈米達夫 ; 高橋三雄 ; 伊藤徳三 ; 増谷孝一郎 : 薬学雑誌, 79(3), 394-395(1959).

— 利用部 成分利用科 —

— *1 性能部 耐久性能科 —

— *2 秋田県立農業短期大学

— 木材高度加工研究所 —

— *3 北海道立衛生研究所 —

(原稿受理 : 1997. 4. 9)