

漢薬何首烏の新スティルベン配糖体

秦 清之, 小澤 貢, 馬場きみ江

大阪薬科大学¹⁾

A New Stilbene Glucoside from Chinese Crude Drug "Heshouwu (何首烏),"
the Roots of *Polygonum multiflorum* THUNB.

KIYOSHI HATA, MITSUGI KOZAWA, and KIMIYE BABA

Osaka College of Pharmacy¹⁾

(Received August 17, 1974)

A phenolic glucoside was isolated from the acetone extract of a chinese crude drug, Heshouwu (何首烏), the roots of *Polygonum multiflorum* THUNB. (Polygonaceae), and it was elucidated as 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene 2-O-β-D-glucoside (I).

何首烏の成分としてはさきろ紙クロマトグラフィーにより chrysophanol, emodin, physcion 等のアンスラキノン類と同時にケイ光成分として rhapontin が報告されている。²⁾ 著者らは今回ポリアミド末による薄層クロマトグラフィー (TLC) により本生薬のケイ光成分を再検討した結果, rhapontin は検出されず, これよりやや小さい *R_f* 値を示すケイ光成分の存在が明らかとなった. 故に以下にのべる方法により本物質を単離し, その構造が 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside (I) であることを明らかにした.

大阪市場の何首烏をエーテルで連続抽出後アセトンで抽出し, アセトンエキスを先ずシリカゲル, ついでポリアミド末のカラムクロマトグラフィーにかけ, TLC により単一のケイ光スポットを与えるフラクションから微黄色粘ちよう油状物質 (I) を得た. I は容易には結晶化せず, エタノール溶液を冷凍器中に 1 ヶ月以上放置することにより mp 183—184° の淡黄色結晶塊を生じる. しかしこの結晶は元素分析するには純度がいまだ充分でなく再結晶を反復するには長時間を要するため直接組成を確認するには至らない.

I はフェノール試薬に対し陽性の反応を示し, 常法により β-グルコシダーゼを作用させるとグルコースを生成する. I を希硫酸で加水分解すればアグリコンは比較的速かに暗赤色樹脂状の物質となりアグリコンを直接収量よく得ることは困難である. I を常法によりアセチル化すれば mp 166—167°, C₃₄H₃₆O₁₆ に一致するアセテート (II) を生じる. II は核磁気共鳴 (NMR) スペクトルで 7 個のアセチル基にもとづくシグナルを示し, その化学シフトから 4 個は糖部, 3 個はフェノール性水酸基に結合することが判明する. もとの物質 I は NMR スペクトルでアセチル基の存在を示さないの以上から I はグルコース 1 分子を持つ配糖体で, その組成は C₂₀H₂₂O₉ と推定される.

次に I をメタノール溶液中ジアゾメタンでメチル化し, フェノール反応が陰性になったことを確認した後その反応生成物 (III) を希硫酸で加水分解すると mp 103—103.5°, C₁₇H₁₈O₄ に一致するアグリコン (IV) が得られる. 同時に糖部からグルコサゾンを得, 標品との比較により確認した. IV は NMR スペクトルにおいて 3 個のメトキシ基にもとづくシグナルのほか, 互にメタ位をしめる 2 個のベンゼンプロトン, パラ二置換型のベンゼンプロトン, トランス二置換型のオレフィンプロトンおよび 1 個の水酸基プロトンのシグナルを示し, 以上から IV はメトキシ基 3 個, 水酸基 1 個を持つスティルベン誘導体と考えられる. この骨格および置換基の相互位置は次の分解反応により確認された. すなわち IV を酢酸エチル中でオゾン分解し, 生成物をアルカリ溶液中酸化銀で処理することにより *p*-anisic acid (V) および mp 129—130° のアルデヒド (VI) を得た. VI は NMR スペクトルおよび塩化第二鉄試液による呈色からキレートしたアルデヒドすなわち 2-hydroxy-3,5-dimethoxyben-

1) Location: Kawai-2-chome, Matsubara, Osaka.

2) 月田 潔, 横田ミヤ, 薬誌, 74, 230 (1954).

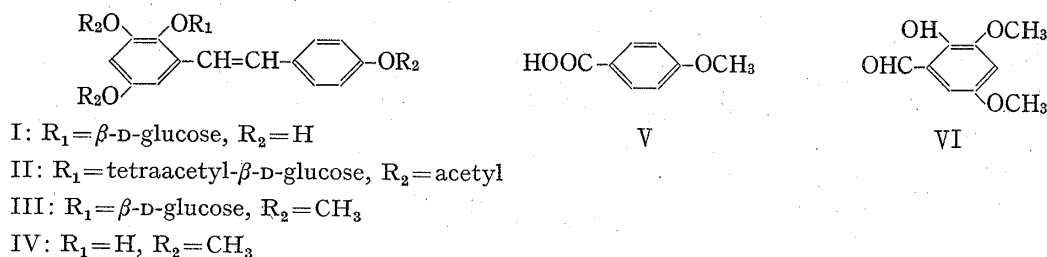


Chart 1

zaldehyde と推定されるが本物質はいまだ文献上に見出されないため融点その他のデータを比較して確認することができない。故に実験の部に記載する方法により本物質の合成を行なった結果両者は完全に一致した。以上により IV は 2-hydroxy-3,5,4'-trimethoxystilbene であることが確認され, III は IV の O-glucoside であり従って I は 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside と決定される。

I の収量は原生薬に対して 1.2% 以上に達し, これが何首烏の主成分をなすもののように考えられる。一方アンスラキノン成分は emodin と physcion が遊離型で単離確認されたほか, これらは結合型としても存在することが確認された。しかし chrysophanol は全く見出されなかった。

実験の部

TLC による予試験 検体：中国産何首烏（大阪三国株式会社）のアセトンエキス，プレート：ポリアミド末，展開溶剤：MeOH, R_f 値：rhapontin 標品 0.65; 検体のケイ光成分 0.55。

抽出および物質の分離 上記生薬 2 kg を粉碎し，連続抽出装置（朝日奈式）を用いてエーテルで 3 日抽出，ついでアセトン毎回 2 liters で 3 回還流下抽出。エーテル抽出液は 5% Na_2CO_3 で赤色を呈しなくなるまで抽出，ついで 5% NaOH で同様抽出， Na_2CO_3 可溶部から emodin, NaOH 可溶部から physcion を得た。

上記アセトン抽出液を濃縮して得たエキス (70 g) をシリカゲル (2 kg)-hexane: アセトンのカラムクロマトグラフィ（以下クロマトと略称）にかけ，溶出液を次のフラクション（各 400 ml）に分画：No. 1—35 (1:1), No. 36—59 (2:3) [() 内の数字は溶剤の混合比を示す]。上記フラクションの No. 1—2 から physcion, No. 3—9 から emodin を得。またフラクション No. 29—39 の一部を 10% H_2SO_4 で加水分解し，エーテル抽出，その抽出物からシリカゲルの TLC [展開溶剤 benzene: ギ酸エチル: ギ酸 (75:24:1)] により physcion および emodin を検出した。さらにフラクション No. 40—49 から得られた淡黄色油状物質 (34 g) をポリアミド末 (100 g)-MeOH のクロマトにかけ溶出液を 200 ml ずつのフラクションに分け，その No. 2—3 から微黄色粘ちょう油状物質 (I) を得た。

Emodin EtOH から再結晶，橙黄色針状結晶，mp 250—253°，標品との混融により融点降下を示さない。収量 0.048%。

Physcion EtOH から再結晶，橙黄色針状結晶，mp 205—206°，標品との混融により融点降下を示さない。収量 0.0016%。

物質 I EtOH 溶液を冷凍器 ($ca. -10^\circ$) 中に 35 日間放置すれば淡黄色針状結晶塊，mp 183—184°， $[\alpha]_D^{25} + 31.6^\circ$ ($c=0.95$, MeOH)。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ m μ (log ϵ): 216 (4.18), 307 sh. (4.38), 319 (4.39)。FeCl₃ 試液で暗青色，リンモリブデン酸試液と NH_4OH で青色，紫外線下に青紫色ケイ光を發す，収量 1.2%。

I の β -グルコシダーゼによる加水分解 I 50 mg を酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.25) 10 ml に溶解， β -グルコシダーゼ 20 mg を加え，37° に 72 hr 放置，反応液から下記の TLC によりグルコースを検出した。

プレート：アビセル，展開溶剤：ギ酸: MeCOEt: *n*-BuOH: H₂O (15:30:40:15)，検出方法：Tollens 試液噴霧後加熱，グルコース標品の R_f 値：0.22。対照として β -グルコシダーゼを加えないものを同時に実験。

I のアセチル化 I 5 g を Ac_2O 20 ml，無水 NaOAc 10 g と還流下 1.5 hr 加熱，常法により処理，生成物をアルミナ- CHCl_3 によるクロマトで精製，EtOH から再結晶，白色針状結晶，mp 166—167°， $[\alpha]_D^{25} - 21.6^\circ$ ($c=0.56$, CHCl_3)。Anal. Calcd. $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{O}_{16}$: C, 58.28; H, 5.18。Found: C, 58.48; H, 5.13。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 1750 (C=O), 1600, 1500 (arom. ring)。NMR (in CDCl_3) τ^3 : 8.05, 8.00, 7.97, 7.92 (12H, singlet $\times 4$, $\text{COCH}_3 \times 4$), 7.70, 7.67 (9H, singlet $\times 2$, $\text{COCH}_3 \times 3$), 4.6—6.0 (7H, glucose), 2.3—3.1 (8H, aglycone)。収量 3 g。

I のメチル化および加水分解 (IV およびグルコサゾンの生成) I 3 g を MeOH 30 ml に溶解しジアゾメタンのエーテル溶液を加え放置，時々反応液をろ紙に点滴し，リンモリブデン酸試液と NH_4OH を加え，呈色が陰性になることを確かめた後溶剤と過剰のジアゾメタンを回収，淡黄色粘ちょう油状物 (III) 3.3 g を得。これを

3) NEVA Model A-60D Analytical NMR Spectrometer により測定。Tetramethylsilane を内部基準とする。

EtOH 50 ml に溶解し, 20% H_2SO_4 50 ml を加え水浴上 1 hr 還流下加熱し, 冷後エーテル 50 ml で 6 回抽出エーテル層を水洗, 脱水後エーテルを留去, 残留物を EtOH から再結晶, 白色針状結晶 (IV), mp 103—103.5°. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_4$: C, 71.31; H, 6.34. Found: C, 71.09; H, 6.51. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ $m\mu$ (log ϵ): 215 (4.43), 300 (4.44), 325 sh. (4.36), 345 sh. (4.25). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{NaCl}}$ cm^{-1} : 3400 (OH), 1600, 1510 (arom. ring). NMR (in CDCl_3) τ : 6.20, 6.15 (9H, singlet $\times 2$, $\text{OCH}_3 \times 3$), 3.58, 3.31 (2H, doublet $\times 2$, $J=2.5$ cps, aromatic H $\times 2$), 3.10, 2.50 (4H, doublet $\times 2$, $J=8.5$ cps, aromatic H $\times 4$), 2.88, 2.66 (2H, doublet $\times 2$, $J=17$ cps, $\text{CH}=\text{CH}$). 収量 1 g.

上記の H_2SO_4 酸性の水層を BaCO_3 で中和後ろ過, ろ液を濃縮し常法により処理してオサゾンを作製, シリカゲル-EtOAc によるクロマトで精製, EtOH から再結晶, mp 203—204°, グルコサゾンの標品と混融して融点降下を示さない, 収量 0.48 g.

IV のオゾン分解 (V および VI の生成) IV 0.7 g を EtOAc に溶解し, 氷冷下 O_3 を *ca.* 2.5% 含む酸素 (1 liter/min) を 1 hr 通じた後減圧下溶剤を留去, 残留物に氷冷下水 30 ml を加え暫時放置後水浴上で加温, 冷後エーテルで抽出, エーテル液からエーテルを留去し残留物に 10% NaOH 10 ml, AgNO_3 0.82 g から製した Ag_2O を加え, 60° で 1 hr 攪拌した後ろ過, Ag_2O を熱湯でよく洗い洗液をろ液に合し, 希 HCl で酸性にしてエーテルで抽出, エーテル層を 5% NaHCO_3 で抽出, エーテル層からエーテルを留去し, 残留物をポリアミド末-MeOH によるクロマトにかけ, hexane: EtOAc から再結晶, 淡黄色針状結晶 (VI), mp 129—130°. 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン試液で橙黄色, FeCl_3 試液で暗緑色を呈し, Gibbs 試液には反応しない. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{NaCl}}$ cm^{-1} : 3200—2500 (OH); 1660 (C=O); 1600 (arom. ring). NMR (in CDCl_3) τ : 6.17, 6.08 (6H, singlet $\times 2$, $\text{OCH}_3 \times 2$), 3.38, 3.21 (2H, doublet $\times 2$, $J=2.5$ cps, aromatic H $\times 2$), 0.08 (1H, singlet, CHO), -0.57 (1H, singlet, OH). 収量 0.09 g. 別途合成した 2-hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde と混融して融点降下を示さない.

上記 5% NaHCO_3 抽出液を希 H_2SO_4 で酸性にしエーテル抽出, エーテル層からエーテルを留去し残留する白色結晶性物質を真空昇華した後 EtOH から再結晶, 白色針状結晶 (V), mp 181—182°, IR $\nu_{\text{max}}^{\text{NaCl}}$ cm^{-1} : 3200—2500 (OH); 1680 (C=O); 1600, 1510 (arom. ring). NMR (in $\text{DMSO}-d_6$) τ : 6.15 (3H, singlet, OCH_3), 2.95, 2.05 (4H, doublet $\times 2$, $J=8.5$ cps, aromatic H $\times 4$), *ca.* -0.8 (1H, broad singlet, COOH). *p*-Anisic acid の標品と混融して融点降下を示さない. 収量 0.05 g.

VI の合成 i) α -Resorcinic Acid より 2,3,5-Trihydroxybenzoic Acid の合成— α -Resorcinic acid 25 g を 6% NaOH 470 ml に溶解し, 40° に保ちながら $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 44 g を 3 hr にわたり少量ずつ加え, 37° で 48 hr 放置後 HCl を加えて pH 3 とし, エーテル毎回 300 ml で 5 回抽出, エーテル層から未反応の原料を 9 g 回収. 水層に濃 HCl 120 ml を加え, 37° で 40 hr 放置した後エーテル毎回 350 ml で 6 回抽出, エーテル層を水洗, 脱水後エーテルを留去, 残留する粉末状物質を活性炭を用いて水から 3 回再結晶, 淡黄色結晶状粉末, mp 219—223° (decomp.) [lit. mp 223° (decomp.)⁴⁾]. FeCl_3 試液で濃赤褐色. NMR (in $\text{DMSO}-d_6$) τ : 3.43, 3.32 (2H, doublet $\times 2$, $J=2.5$ cps, aromatic H $\times 2$), 1.7—0 (4H, broad singlet, OH $\times 4$). 収量 4 g.

ii) Methyl 2-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzoate の合成—上記 2,3,5-trihydroxybenzoic acid 3 g をエーテル 30 ml に溶解, 過剰のジアゾメタンのエーテル溶液を加えて 6 日間放置した後エーテルおよび残余のジアゾメタンを回収, 残留物をシリカゲル-hexane: EtOAc (2:1) で精製, hexane: EtOAc から再結晶, 白色針状結晶, mp 91—92°. FeCl_3 試液で青緑色. NMR (in CDCl_3) τ : 6.23, 6.12, 6.05 (9H, singlet $\times 3$, $\text{OCH}_3 \times 3$), 3.31, 3.15 (2H, doublet $\times 2$, $J=2.5$ cps, aromatic H $\times 2$), -0.61 (1H, singlet, OH). 収量 1.5 g.

iii) 2-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzylalcohol の合成—上記 methyl 2-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoate 1.2 g を無水エーテル 40 ml に溶解し, これを LiAlH_4 800 mg のエーテル 15 ml 溶液中に攪拌しながら滴加, 10 min 攪拌した後水 15 ml を滴加, ついで 10% H_2SO_4 を加えて酸性にした後エーテル毎回 50 ml で 4 回抽出, エーテル層からエーテルを留去し残留物をシリカゲル-hexane: EtOAc (1:1) のクロマトにかけ淡黄色粘ちょう油状物質を得. FeCl_3 試液で青緑色後暗褐色. NMR (in CDCl_3) τ : 6.27, 6.18 (6H, singlet $\times 2$, $\text{OCH}_3 \times 2$), *ca.* 5.7 (1H, broad singlet, OH), 5.47 (2H, singlet, OCH_2), *ca.* 4.9 (1H, broad singlet, OH), 3.58 (2H, singlet, aromatic H $\times 2$). 収量 0.9 g.

iv) VI の合成—上記 2-hydroxy-3,5-dimethoxybenzylalcohol 0.85 g を CHCl_3 60 ml に溶解, 氷冷下活性 MnO_2 2 g を加えて 10 min 攪拌した後速かに MnO_2 をろ別, ろ液から CHCl_3 を留去, 残留物をシリカゲル-hexane: EtOAc (1:1) のクロマトにかけ, hexane: EtOAc から再結晶, 淡黄色針状結晶, mp 129—130°. NMR スペクトルは分解反応で得た VI と一致. 収量 0.3 g.

謝辞 本研究に際し元素分析を依頼した京都大学元素分析センターの諸氏および NMR スペクトルを測定された本学 沼田助教授に深謝します.

4) R.E. Corbett, C.H. Hassall, A.W. Johnson, A.R. Toda, *J. Chem. Soc.*, 1950, 1.