

センブリに含まれるフラボン-C-配糖体の生合成

藤田正雄, 井上隆夫

星薬科大学¹⁾Biosynthesis of C-Glucosylflavones in *Swertia japonica*

MASAO FUJITA and TAKAO INOUE

Hoshi College of Pharmacy¹⁾

(Received August 17, 1978)

Various labelled compounds shown in Table I—III were fed to the aerial parts of *Swertia japonica* which contains four 6-C-glucosylflavones, isovitexin (1), swertisin (2), isoorientin (3) and swertiajaponin (4).

Naringenin-3-¹⁴C was incorporated not only into 1 and 2 but also 3 and 4, whereas apigenin-4-¹⁴C was almost not incorporated into 1 and 2. In contrast, hemiphloin-3',5'-T₂ was incorporated into 1 and 2, but not into 3 and 4. Furthermore, caffeic acid and eriodictyol were found to be as good precursors as naringenin for 3 and 4. Isovitexin- and isoorientin-¹⁴C were incorporated into 2 and 4 respectively, but isovitexin-¹⁴C was not incorporated into 3.

These results revealed that C-glucosylflavones were biosynthesized *via* C-glucosylflavanone and that 3'-hydroxylation of 3 and 4 occurs at the stage of naringenin prior to C-glucosylation and the 3'-hydroxyl group also can be introduced at that of *p*-coumaric acid. 7-O-Methylation of 2 and 4 was confirmed to take place at the last stage of their biosynthesis. C-Glucosylation of flavone was briefly discussed.

Keywords—*Swertia japonica* MAKINO; biosynthesis; 6-C-glucosylflavones; hydroxylation; 7-O-methylation; apigenin-4-¹⁴C; naringenin-3-¹⁴C; eriodictyol-3-¹⁴C; hemiphloin-3',5'-T₂; sakuranetin-3',5'-T₂

フラボン-C-配糖体の生合成については、先に Wallace ら²⁾ は *Spirodela polyrrhiza* の培養組織を用いて、¹⁴C-標識した apigenin が 8-C-glucosylflavone の vitexin および orientin に導入されずに naringenin が取り込まれたことから、これらの C-glucosylation はフラバノンの段階で起こることを報告している。また、¹⁴C-標識した vitexin が orientin にほとんど取り込まれなかったことより、orientin の 3' 位の hydroxylation は C-glucosylation に先だってフラバノンの段階で起こることを推定している。

センブリ *Swertia japonica* MAKINO (Gentianaceae) はその地上部に 4 種の 6-C-glucosylflavone, すなわち isovitexin (1) とその 7-methyl ether (swertisin) (2), および isoorientin (3) とその 7-methyl ether (swertiajaponin) (4) を含んでいる。³⁾

今回、著者らはこれら 4 種のフラボン-C-配糖体の生合成について研究を行なったので報告する。

結果および考察

センブリの地上部に Table I に示した種々の標識化合物を投与した後、1—4 を単離し、それらへの取り込みを比較した。

Phenylalanine-3-¹⁴C および *p*-coumaric acid-2-¹⁴C は、予想どおりこれらの C-glucoside (1—4) へ導入されたが、apigenin-4-¹⁴C の 1 および 2 への導入率はいずれも 0.001% 以下であり、ほとんど取り込みが認められ

1) Location: Ebara 2-4-41, Shinagawa-ku, Tokyo.

2) a) J. W. Wallace, T. J. Mabry, R. E. Alston, *Phytochemistry*, **8**, 93 (1969); J. W. Wallace, H. Grisebach, *Biochim. Biophys. Acta*, **304**, 837 (1973); b) J. W. Wallace, *Phytochemistry*, **14**, 1765 (1975).

3) M. Komatsu, T. Tomimori, M. Ito, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **15**, 263 (1967); M. Komatsu, T. Tomimori, Y. Makiguchi, *ibid.*, **15**, 1567 (1967); 小松曼者, 富森 毅, 牧口裕貴子, 浅野恵司, 薬誌, **88**, 832 (1968).

TABLE I. Incorporation of Labelled Precursors into C-Glucosylflavones in *Swertia japonica*

Expt.	Precursors (Sp. act.; amount fed)	Flavones	Yield (mg)	Sp. act. (dpm/mm)	Incorporation (%)
1.	Phenylalanine-3- ¹⁴ C ^{a)}	Isovitexin	3.6	7.74×10^7	0.58
		Swertisin	20.3	3.02×10^7	1.24
		Isoorientin	5.2	4.42×10^7	0.46
		Swertiajaponin	5.6	1.71×10^7	0.19
2.	<i>p</i> -Coumaric acid-2- ¹⁴ C (3.96×10^8 dpm/mm; 2 mg)	Isovitexin	9.0	4.53×10^5	0.20
		Swertisin	60.6	2.17×10^5	0.61
		Isoorientin	17.4	2.05×10^5	0.17
		Swertiajaponin	12.8	9.77×10^4	0.056
3.	Naringenin-3- ¹⁴ C (3.88×10^8 dpm/mm; 5 mg)	Isovitexin	14.4	2.81×10^5	0.13
		Swertisin	80.4	1.70×10^5	0.43
		Isoorientin	25.8	3.18×10^4	0.026
		Swertiajaponin	23.7	2.08×10^4	0.015
4.	Apigenin-4- ¹⁴ C (3.82×10^7 dpm/mm; 5 mg)	Isovitexin	6.6	5.83×10^2	0.0013
		Swertisin	70.8	0	

Feeding period: 50 hours.

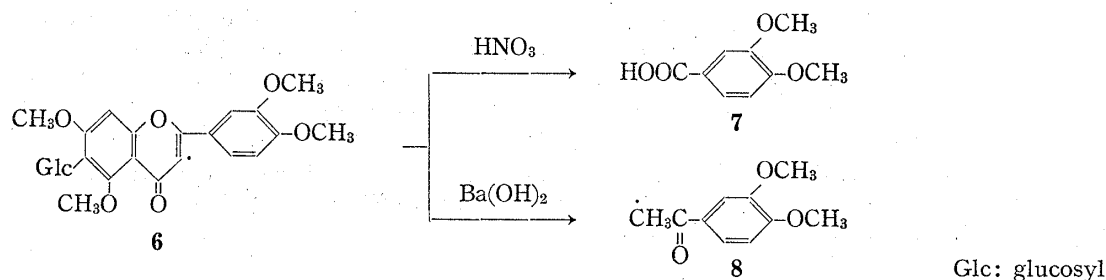
a) Total act.: 50 μ Ci, 1.9 mg.

Chart 1. Degradation of Tetra-O-methylisoorientin (6)

なかった。さらに naringenin-3-¹⁴C (5) もまたこれら C-glucoside へ比較的良好に取り込まれたが、3 および 4 への導入率は 5 と同じ B 環の水酸基のパターンを有する 1 および 2 への導入率に比べてかなり低いことが認められた。したがって、5 を投与して得た 3 および 4 における ¹⁴C の標識位置を確認するために、3 と 4 を合わせてメチル化し、得られた tetra-O-methylisoorientin (6) について Chart 1 の方法で分解反応を行なったところ、3,4-dimethoxybenzoic acid (7) にはまったく放射能は検出されず、3,4-dimethoxyacetophenone (8) に 6 の 94.0% の放射能が認められた。このことは 6 における ¹⁴C の大部分が 3 位の炭素に存在することを示しており、5 が randomization なしに 3 および 4 へ導入されたことが明らかとなった。

以上の結果から、isoorientin (3) および swertiajaponin (4) が 1 および 2 と同様に naringenin を中間体として生合成されることが明らかとなった。したがって、3 と 4 において 3' 位の hydroxylation と C-glucosylation のいずれが先におこるかを調べるが必要となった。

フラボノイドの B 環の hydroxylation についてはいくつかの研究^{4,5)}があり、Hess は B 環の酸化パターンがすべて cinnamic acid の段階で決定されるという推定を行なったが、その後トレーサーおよび酵素を用いた研究によって、3' 位の hydroxylation はカルコンまたはフラバノンの形成以後に生じることが示されている。また C-glucosylflavone については、3' 位の水酸基が C-glucosylation に先立ってフラバノンの段階で導入され

4) K. Hahlbrock, H. Grisebach, "The Flavonoids," ed. by J. B. Harborne, T. J. Mabry, and H. Mabry, Chapman and Hall Ltd., London, 1975, pp. 866—915.

5) L. Patschke, H. Grisebach, *Z. Naturforsch.*, **20b**, 1039 (1965); P. F. T. Vaughan, V. S. Butt, H. Grisebach, L. Schill, *Phytochemistry*, **8**, 1373 (1969); L. Schill, H. Grisebach, *Z. Physiol. Chem.*, **354**, 1555 (1973); H. Fritsch, H. Grisebach, *Phytochemistry*, **14**, 2437 (1975).

TABLE II. Incorporation of Labelled Precursors into C-Glucosylflavones in *Swertia japonica*

Expt.	Precursors (Sp. act.; amount fed)	Flavones	Yield (mg)	Sp. act. (dpm/mm)	Incorporation (%)
5.	Isovitexin- ¹⁴ C ^{a)} (7.74×10^7 dpm/mm; 2 mg)	Isoorientin	4.8	1.04×10^3	0.0031
6.	Swertisin- ¹⁴ C ^{a)} (3.02×10^7 dpm/mm; 5 mg)	Swertiajaponin	5.1	1.05×10^3	0.0034
7.	Hemiphloin-3',5'-T ₂ (2.06×10^7 dpm/mm; 2.5 mg)	Isovitexin	2.5	1.00×10^4	0.049
		Swertisin	11.8	6.83×10^3	0.15
		Isoorientin	3.2	0	
		Swertiajaponin	5.0	0	
8.	Eriodictyol-3- ¹⁴ C (7.28×10^7 dpm/mm; 4 mg)	Isoorientin	12.8	1.52×10^4	0.043
		Swertiajaponin	10.4	1.31×10^4	0.029
9.	Caffeic acid-2- ¹⁴ C (1.11×10^8 dpm/mm; 5 mg)	Isoorientin	18.2	4.18×10^5	0.055
		Swertiajaponin	6.7	4.05×10^5	0.021

Feeding period: 50 hours.

a) Obtained biosynthetically in Expt. 1.

ることが推定されているが、^{2b)} いまだ実験的な証明を見ない。

著者らは Table II に示した標識化合物をセンブリの地上部に投与し、それらの C-glucoside (1—4) への取り込みを比較した。標識した isovitexin (1) および swertisin (2) の 3 および 4 への取り込みは非常に低いことが認められ、3' 位の水酸基の導入はかなり早い時期におこることが示唆された。さらに、hemiphloin (naringenin-6-C-glucoside)-3',5'-T₂ (9) は isovitexin (1) および swertisin (2) へ明らかに取り込みが認められ、9 が 1 と 2 の precursor となることが示されたが、9 は isoorientin (3) と swertiajaponin (4) へはまったく導入されず、3 および 4 の 3' 位の hydroxylation が C-glucosylation に先立っておこることが明らかとなった。その上、eriodictyol-3-¹⁴C (10) が 3 と 4 に対して naringenin に匹敵する良好な precursor であることが認められた。一方、caffeic acid-2-¹⁴C もまた *p*-coumaric acid-2-¹⁴C よりは低率ではあるが 3 と 4 に対して 10 と同程度の導入率を示した。これらの結果から 3' と 4' 位に水酸基をもつ C-glucosylflavone は eriodictyol (10) を中間体として生合成されることが明らかとなり、さらに 10 は naringenin の hydroxylation によって生じるほかに、caffeic acid から直接生合成される経路もあると思われる。

最近、キク科の *Haplopappus gracilis* の培養細胞より得られた flavanone synthase が *p*-coumaric acid のみならず caffeic acid をも基質とすることが報告され、⁶⁾ これは著者らのトレーサーを用いた実験結果とよく一致している。

フラボノイドの B 環の O-methylation については今までに多くの研究があり、生合成の最終段階でおこることが証明されている。^{4,7)} A 環の O-methylation については、いまだ報告を見ないが、おそらく B 環の場合と同様に最終段階で生じるものと思われる。今回、swertisin (2) および swertiajaponin (4) について、これを確かめるために、Table III に記した標識化合物をセンブリに投与した。

¹⁴C- 標識した isovitexin (1) および isoorientin (3) はともに、それらの methyl ether である 2 と 4 へ顕著に取り込まれたが、sakuranetin (naringenin 7-methyl ether)-3',5'-T₂ は 2 へはまったく取り込まれなかった。このことは、swertisin (2) および swertiajaponin (4) の 7 位の methylation が生合成の最終段階でおこることを示している。

フラボンの生合成におけるフラバノンおよびカルコンの中間体としての役割に関しては、多くの研究が行なわれているが、⁴⁾ 最近いくつかの植物の培養細胞より、3 分子の malonyl-CoA と *p*-coumaryl-CoA からフラバノ

6) N.A.M. Saleh, H. Fritsch, F. Kreuzaler, H. Grisebach, *Phytochemistry*, **17**, 183 (1978), および引用文献。

7) J.E. Poulton, K. Hahlbrock, H. Grisebach, *Arch. Biochem. Biophys.*, **180**, 543 (1977); K.F. Kho, *Phytochemistry*, **17**, 245 (1978).

(isoliquiritigenin) の段階で起こり, isoliquiritigenin-3'-C-glucoside を中間体として生合成されることを報告したが,¹¹⁾ その後フジキ *Cladrastis platycarpa* (マメ科) より, 上記の isoliquiritigenin-3'-C-glucoside がそれと同じ水酸基のパターンを有する 8-C-glucosylflavone (bayin) と共に初めて分離された。¹²⁾ 一方, 著者らは C-glucosylflavone としばしば共存し, 生合成上密接な関係があると思われる C-glucosylxanthone の mangiferin について, その C-glucosylation がエーテル環の開いたところのベンゾフェノンの段階でおこることも明らかにした。¹³⁾ これらのことより, 著者らはセンブリに含まれるフラボンの C-glucosylation もカルコンの段階で生じる可能性を考え, 標識したカルコンとフラバノンを用いて competitive feeding experiment¹⁴⁾ を試みたが, フロログルシン核をもつカルコンは水溶液中で容易にフラバノンに変化することから, 今回, この方法では明確な結論が得られなかった。この点については, 今後さらに検討する予定である。

以上の結果から, センブリに含まれる 4 種の 6-C-glucosylflavone の生合成経路は Chart 2 の如く推定される。

実験の部

放射能は Aloka LSC-602 型液体シンチレーションカウンタで測定し, シンチレーターは PPO, POPOP および naphthalene の dioxane 溶液を使用した。薄層クロマトグラフィー (TLC) は Kieselgel GF₂₅₄ (Merck) を用い, 展開溶媒は T-1: benzene-AcOEt-HCOOH (80:30:4), T-2: benzene-AcOEt-HCOOH (20:5:1), T-3: toluene-HCOOEt-HCOOH (5:4:1) を使用。合成した標識化合物はラジオ薄層クロマトグラフ (Aloka, JTC-201 型) で単一のスポットを与えるまで精製した。

Carbethoxy-*p*-coumaric Acid-2-¹⁴C (11)¹⁵⁾ Carbethoxy-*p*-hydroxybenzaldehyde 2 g と malonic acid-2-¹⁴C (2 mCi, 17 mCi/mm) および malonic acid 1 g の混合物中に pyridine 3 ml と数滴の piperidine を加えて水浴上で 40 min 加温する。冷後, 反応液は 300 ml の水中に投じ一夜放置した後, 生じた沈殿を MeOH より再結晶, 無色針状晶 (11) 500 mg を得た。

***p*-Coumaric Acid-2-¹⁴C** 11 300 mg を 2% メタノール性 NaOH 溶液 20 ml に溶かし, 水浴上で 30 min 加温後, 希塩酸で中和, 溶液を減圧濃縮し放置すると無色針状晶 200 mg を得た。含水 MeOH より再結晶。mp 210—211° (無水物), sp. act. 3.96×10^8 dpm/mm。

Naringenin-3-¹⁴C (5) 11 に新たに精製した SOCl₂ を作用させたのち, 過剰の SOCl₂ を減圧下で留去して得た carbethoxy-*p*-coumaroyl chloride-2-¹⁴C 152 mg を nitrobenzene 1 ml に溶解し, これを無水 phloroglucinol 80 mg, 無水 AlCl₃ 230 mg および乾燥 nitrobenzene 2 ml の混合物中へ氷冷下に加え, 氷室中に 3 日間放置する。反応物は Patschke らの方法¹⁶⁾ に従って精製し, 4'-carbethoxynaringenin-3-¹⁴C の粗結晶 28 mg を得た。これを少量の EtOH に溶かし, 1N アンモニア水 0.6 ml を加え一夜放置, 1N 塩酸にて中和した後, セルロース (市販名 Avicel, 旭化成) のカラムクロマト (solvent ; 30% AcOH) およびシリカゲルの preparative TLC (solvent: T-1) を用いて精製, 無色結晶性粉末 (5) 8.9 mg を得た。Sp. act. 3.88×10^8 dpm/mm。

Phloracetophenone-(carbonyl-¹⁴C) (12)¹⁷⁾ 無水 phloroglucinol 700 mg, 無水 acetonitrile 400 mg, acetonitrile-1-¹⁴C (0.25 mCi/mm), 無水 ether 10 ml および溶融 ZnCl₂ 400 mg の混合物中へ, -3° で激しく塩化水素ガスを 2 hr 通導後, 氷室中に 2 日間放置, 生じた沈殿を分離し少量の ether で 2 回洗浄すると橙黄色の塩酸ケチミンを得。これに水 30 ml を加え 2 hr 加熱還流した後, 活性炭を加えて熱時濾過, 濾液を一夜放置, 微黄色針状晶 (12) 210 mg を得た。

2,4-Di-*O*-methylphloracetophenone (carbonyl-¹⁴C) (13) 12 200 mg の無水 acetone 溶液 25 ml に無水 K₂CO₃ 700 mg およびジメチル硫酸 1.8 ml を加え, 室温で 3 hr 攪拌する。反応後, 水 25 ml を加え一夜攪拌した後放置, 無色板状晶 (13) 174 mg を得た。mp 80—81°。

2'-Hydroxy-4,4',6'-trimethoxychalcone-(carbonyl-¹⁴C) (14) 13 170 mg を EtOH 0.8 ml に加温して溶解し, これに anisaldehyde 0.16 ml を加え, 冷却しつつ濃水酸化カリウム溶液 (KOH 12 g に水を加えて 10 ml としたもの) 1.3 ml を加え時々振とうしつつ N₂ 気流中で 5 日間放置する。反応物は水 30 ml を加え, 希塩酸で酸性とした後, ether で抽出。抽出液は水洗, 乾燥後溶媒を留去, 残渣に 1% NaOH 溶液を加え不溶部を濾

11) T. Inoue, M. Fujita, *Chem Pharm. Bull.* (Tokyo), **25**, 3226 (1977).

12) H. Ohashi, M. Goto, H. Imamura, *Phytochemistry*, **16**, 1106 (1977).

13) M. Fujita, T. Inoue, *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 4503.

14) E. Wong, H. Grisebach, *Phytochemistry*, **8**, 1419 (1969).

15) 篠田淳三, 佐藤壮吉, 薬誌, **48**, 933 (1928).

16) L. Patschke, W. Barz, H. Grisebach, *Z. Naturforsch.*, **19b**, 1110 (1964).

17) K.C. Gulati, S.R. Seth, K. Venkataraman, "Organic Syntheses," Coll. Vol. II, ed. by A.H. Blatt, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1943, p. 522.

取すると橙黄色板状晶 (14) 200 mg を得る. mp 105—107°. アルカリ可溶部は再び ether で抽出, 溶媒留去後の残渣に少量の含水 MeOH を加えて一夜放置, 油状物は徐々に結晶となるのでこれを汙取, さらに 14 20 mg を得た.

5,7,4'-Trimethoxyflavone-4-¹⁴C (15) 14 220 mg, SeO₂ 200 mg および *n*-AmOH 8 ml の混合物を 18 hr 加熱還流する. 冷後, 沈殿を汉去し母液を減圧濃縮, 残渣を CHCl₃ で抽出, 抽出液は preparative TLC (solvent; T-2 および T-3) を用いて精製, 微褐色粉末状の 15 17 mg を得た.

Apigenin-4-¹⁴C (16)¹⁸⁾ 15 15 mg を少量の Ac₂O に溶解し, HI 1 ml を加えて 2 hr 加熱還流する. 冷後 NaHSO₃ 飽和溶液を加えて常法通り処理, 粗結晶は preparative TLC (solvent; T-1 および T-2) を用いて精製, 淡褐色粉末状の 16 を 8.2 mg 得た. Sp. act. 3.82×10^7 dpm/mm.

Caffeic Acid-2-¹⁴C (17)¹⁹⁾ Malonic acid-2-¹⁴C (1 mCi, 17 mCi/mm), malonic acid 130 mg および protocatechualdehyde 115 mg の混合物中へ pyridine 0.2 ml および aniline 0.005 ml を加えて 55° で 6 hr 加温後, 減圧下で溶媒を留去し残渣を水より再結晶, 黄色結晶 (17) 122 mg を得た. mp 193—194°, sp. act. 1.11×10^9 dpm/mm.

Dicarbethoxycaffeic Acid-2-¹⁴C (18) 17 100 mg および caffeic acid 400 mg をあらかじめ水素を飽和した 2N NaOH 6 ml に溶かし, -5—-10° で ethyl chlorocarbonate 870 mg を加えて攪拌する. 反応物は ether で抽出, 抽出液を水洗, 乾燥後, 溶媒を留去し残渣をシリカゲルクロマトで分離する. Benzene-AcOEt-AcOH (40:2:1) で溶出, EtOH より再結晶, 無色結晶 (18) 248 mg を得た. mp 132—133°.

Eriodictyol-3-¹⁴C (10)²⁰⁾ 18 に新たに精製した SOCl₂ を作用させたのち, 過剰の SOCl₂ を減圧下で留去して得た dicarbethoxycaffeoyl chloride-2-¹⁴C 232 mg を少量の nitrobenzene に溶解し, これを無水 phloroglucinol 120 mg, 無水 ether 1 ml および乾燥 nitrobenzene 1 ml の混合物中へ加え, さらに無水 AlCl₃ 400 mg を加えて水浴上で 30 min 加温後, 4 日間放置する. 反応物は nitrobenzene を留去後 5% KOH 10 ml を加え, ゆるやかに 10 min 加温, 不溶部を汉去し希塩酸で酸性とした後, ether で抽出する. 溶媒留去後の残渣は熱湯処理し不溶部を汉取, これに少量の EtOH を加えて不溶部を汉去した汉液に担体として eriodictyol 20 mg を加えてシリカゲルカラムを通し, benzene-AcOEt (1:1) 溶出部を再びシリカゲルクロマトに付し, ether で展開する. Eriodictyol を含む部分はさらにシリカゲルの preparative TLC (solvent: T-1) を用いて精製, 希 EtOH より再結晶, ほとんど無色の結晶 (10) 4.4 mg を得た. Sp. act. 7.28×10^7 dpm/mm.

Naringenin-3',5'-T₂ (19)²¹⁾ 4-*O*-Benzoyl-2-*O*-tetraacetylglucosylphloroacetophenone 4.1 g を EtOH 3.4 ml に溶解し, これに氷冷下で 60% KOH 20 ml を加え 5 min 攪拌後, *p*-hydroxybenzaldehyde-3,5-T₂¹¹⁾ (sp. act. 1.87×10^9 dpm/mm) 300 mg, *p*-hydroxybenzaldehyde 700 mg および 60% KOH 7 ml を加え N₂ 気流下で 2 日間攪拌した後, さらに 2 日間放置. 反応物は氷水 250 ml で希釈し, 希塩酸で pH 6 とした後ポリアミドカラムに通導, 水洗. 吸着部は MeOH で溶出し, シリカゲルクロマトで精製, CHCl₃-MeOH (10:1) 溶出部を水より再結晶, 淡黄色針状晶の 2',4,4',6'-tetrahydroxychalcone 2'-*O*-glucoside-3,5-T₂ (20) 1.58 g を得た. mp 130—131°, sp. act. 5.94×10^8 dpm/mm. 20 1.3 g を 2% HCl 130 ml 中で加熱還流後, 少量の MeOH を加えてポリアミドカラムに通導, 水洗後 MeOH 溶出部を希 EtOH より再結晶, 19 の無色針状晶 584 mg を得た. mp 250—251°, sp. act. 4.81×10^8 dpm/mm.

Hemiphloin-3',5'-T₂ (9)²²⁾ Na 2.8 g の *n*-BuOH 溶液 280 ml に 19 300 mg, naringenin 5.3 g および Na I 600 mg を加え攪拌下に α -acetobromoglucose 50.4 g を少量ずつ加える. 24 hr 攪拌後, 水 200 ml を加え *n*-BuOH 層を分取, 水洗後, 減圧乾固する. 残渣に 4N 塩酸 200 ml および MeOH 200 ml を加え 5 hr 加熱還流した後, 大部分の MeOH を留去し生じた沈殿を汉去. 汉液はポリアミドカラムに通導し, 水洗後 50% MeOH 溶出部分をセルロースのカラムクロマト (solvent: 5% AcOH) により 2 回精製, 9 を含む溶出部をさらにポリアミドカラムで精製, 水および 30% MeOH で展開し 9 を含む溶出部分を水から再結晶, 無色針状晶 5.6 mg を得た. mp 195—198°, sp. act. 2.06×10^7 dpm/mm.

Sakuranetin-3',5'-T₂ (21) Phloroacetophenone 3 g を ether に溶解し, これに CH₂N₂ の ether 溶液 100 ml を加え 0.5 hr 放置, 溶媒留去後の残渣をシリカゲルクロマト, benzene-AcOEt (3:1) 溶出部を活性炭を用いて水より再結晶, phloroacetophenone-4-methyl ether (22) の無色綿状結晶 752 mg を得た. mp 140—141°. 20 750 mg と α -acetobromoglucose 2 g の acetone 溶液に, 氷冷下で 9% NaOH 2.3 ml を加え 24 hr 放置, Zemplén ら²³⁾ の方法に従って処理し 4-*O*-methyl-2-*O*-tetraacetylglucosylphloroacetophenone (23) の無色針状晶 480 mg を得た. 23 470 mg に EtOH 0.4 ml および 60% KOH 3.7 ml を加え, さらに *p*-hydroxybenzaldehyde-3,5-T₂ (sp. act. 1.87×10^9 dpm/mm) 30 mg と *p*-hydroxybenzaldehyde 120 mg を加え, 室温で

18) M.O. Farooq, I.P. Varshney, W. Rahman, M.S.Y. Khan, *Arch. Pharm.*, **292**, 792 (1959).

19) R. Adams, T.E. Bockstahler, *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 5346 (1952).

20) 篠田淳三, 佐藤壮吉, 薬誌, **49**, 71 (1929).

21) G. Zemplén, R. Bognár, *Chem. Ber.*, **75**, 1040 (1942).

22) J. Chopin, A. Durix, *C. R. Acad. Sci. Ser. C*, **263**, 951 (1966).

23) G. Zemplén, L. Mester, *Chem. Ber.*, **75**, 1298 (1942).

3 日間放置後、冷却しつつ希塩酸で酸性とする。析出したゼラチン状のカルコングルコシドをポリアミドカラムで精製、水で溶出する部分を除いた後、MeOH で展開し溶出した黄色帯の部分を集めて濃縮、黄褐色残渣を得た。これに MeOH 10 ml および 5 % 塩酸 20 ml を加えて 2 hr 加熱還流後、大部分の MeOH を留去し樹脂状物質を除去した母液を一夜放置、無色結晶を得た。樹脂状物質は水洗後、活性炭を用いて希 EtOH より再結晶、微褐色結晶を得。両結晶を合わせ希 EtOH より再結晶を繰り返し、21 の無色針状晶 187 mg を得た。mp 148—149° (無水物), sp. act. 3.02×10^8 dpm/mm.

標識化合物のセンブリへの投与と C-Glucosylflavone 類の単離 Phenylalanine-3- 14 C は水溶液として、その他の標識化合物は最少量の 0.1N NaOH に溶解した後、適当量の水で希釈した。10 月下旬—11 月中旬 (開花期)、センブリの根を取り去った地上部を上記標識化合物の溶液に浸し、その切り口より吸収させた。時々水を追加しつつ 50 hr 栽培した後、風乾 (乾燥重量 12.8—72.5 g)、細切後 MeOH で温浸した。MeOH エキスは熱湯処理し不溶部を母液、母液を ether で抽出し水層をポリアミドカラムに通導、水で溶出する部分を除いた後、吸着部を MeOH で溶出。溶出部はポリアミドクロマトで繰り返し精製し 1—4 を単離した。2 は MeOH で結晶化した後、水から再結晶、3 は 50 % EtOH から再結晶し、それぞれ微黄色および黄色の粉末状結晶として得た。1 および 4 は結晶化させるために微量の担体を加えた後、1 は MeOH-AcOEt 混液から、4 は 50 % EtOH から再結晶し、それぞれ黄色および微黄色の粉末状結晶として得た。

Tetra-O-methylisoorientin (6) の分解反応 5 を投与したセンブリより得た 3 19.6 mg と 4 16.8 mg の混合物を MeOH に溶解し、 CH_2N_2 の ether 溶液を加えて 2 日間放置後、溶媒を留去し、残渣を同様な方法で繰り返しメチル化する。粗生成物は少量の熱 MeOH に溶解し、AcOEt を加えた後、溶液が懸濁するまで濃縮。生じた沈殿は母液、水および ether で洗浄後、担体の 6 50 mg を加えて MeOH から再結晶、無色針状晶 (6) 57 mg を得た。mp 260—261°, sp. act. 1.16×10^4 dpm/mm.

6 の HNO_3 による酸化——6 21 mg に濃硝酸 0.4 ml および水 2 ml を加え 5 hr 加熱還流し一夜放置する。生じた沈殿は母液、少量の水で洗浄した後、MeOH に溶解しシリカゲルの preparative TLC (solvent: T-2) で分離、Rf 0.6—0.7 の部分を MeOH で溶出後、水より再結晶、3,4-dimethoxybenzoic acid 1.2 mg を得た。mp 179—180°, 放射能は検出されなかった。

6 の $\text{Ba}(\text{OH})_2$ による分解——6 30 mg を $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 飽和溶液 25 ml とともに N_2 気流中で 4 hr 加熱還流する。冷後 ether で抽出、溶媒留去後の残渣を常法通り塩酸セミカルバジドと処理し無色の 3,4-dimethoxyacetophenone semicarbazone 2.3 mg を得た。mp 214—215°, sp. act. 1.09×10^4 dpm/mm.

謝辞 本研究に際し、isovitexin, isoorientin, swertisin, swertiajaponin の標品を恵与された北陸大学薬学部 富森 毅教授、また hemiphloin および vitexin をそれぞれ恵与された Dr. W.E. Hillis, Division of Building Research, C.S.I.R.O., Australia ならびに静岡薬科大学 上野 明助教授に深謝いたします。なお、本研究の一部は文部省科学研究費にて支弁しました。