

野々村 進, 加奈川 宏, 牧本有浩: タデ科植物成分の研究
(第1報) 虎杖根の成分研究*¹

Susumu Nonomura, Hiroshi Kanagawa, and Arihiro Makimoto: Chemical
Constituents of Polygonaceous Plants. I. Studies on the
Components of Ko-jô-kon. (*Polygonum*
cuspidatum SIEB. et ZUCC.)

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Kumamoto*²)

A glycoside, isolated from the fresh root of *Polygonum cuspidatum* SIEB. et ZUCC. and named polydatin, was newly examined. Its molecular formula corresponded to $C_{20}H_{22}O_8 \cdot 3H_2O$ and its constants were m.p. 225~226°, $[\alpha]_D^{27} -74.9^\circ$ (c=1.709, EtOH). Its hydrolysis afforded a phenol, $C_{14}H_{12}O_3$, and glucose. The aglycone formed an acetate ($C_{20}H_{18}O_6$), methylate (methoxide) ($C_{17}H_{16}O_3$), benzoate ($C_{35}H_{24}O_6$), and a dihydro derivative ($C_{14}H_{14}O_3$). The ultraviolet spectra of these derivatives resembled those of stilbene derivatives. Oxidative decomposition of the methylated glycoside afforded anisic acid and the same treatment of the methylated aglycone gave anisic acid and 3,5-dimethoxybenzoic acid. These experimental evidences indicate that the aglycone is resveratrol and the glycoside was identified as 3,4',5-trihydroxystilbene-3- β -mono-D-glucoside (piceid). An anthraquinone and resveratrol were isolated from the ether-soluble portion and the latter was identified through paper partition chromatography and mixed melting point determination.

(Received June 24, 1963)

かつて野々村, 丸山は虎杖根 *Polygonum cuspidatum* SIEB. et ZUCC. よりアントラキノンとともに一種の配糖体を分離, polydatin と命名した. 本物質はフランス産イタドリより分離報告された polydatoside とは明らかに融点, 性状を異にする.¹⁾ その他アントラキノンおよびその配糖体については Perkin,²⁾ 月田, 米重³⁾ 等によって報告されている. 今回著者らは polydatin が 3,4',5-trihydroxystilbene-3- β -mono-D-glucoside (piceid)⁴⁾ なることを同定した. すなわち本物質はメタノール, エタノール, アセトンに易溶, 水に冷時不溶, 熱時可溶, Fehling 反応陰性である. 結合糖は 1 モルのグルコースであり, アグリコン (I) は塩化第二鉄で緑色, Fehling 反応陰性, 減圧下に昇華しメタノール, エタノール, アセトンに易溶, 臭素および過マンガン酸カリリウムを脱色, メチラートの酸化によりアニス酸および 3,5-dimethoxybenzoic acid を得, I の IR スペクトルは 965, 830, 675 cm^{-1} に吸収を示し, ジヒドロ体は 965 cm^{-1} の吸収を消失するゆえ, I はトランス配位の二重結合, パラ位置換, および 1,3,5 置換基の存在を予想し,⁵⁾ 誘導体の UV スペクトルは stilben 誘導体^{6,7)} と類似する. 以上の結果より I は 3,4',5-trihydroxystilbene (resveratrol⁸⁾) であり, polydatin は resveratrol-3- β -mono-

*¹ 本報の要旨は第 16 回日本薬学大会において発表 (1962).

*² Kuhonji, Ôe-machi, Kumamoto.

- 1) M. Bridel, C. Beguin: Compt. rend., **182**, 157 (1926); Bull. Soc. Chim. Biol., **8**, 136 (1926); C. Beguin: Pharm. Acta Helv., **1**, 122 (1926); 野々村, 丸山: 日本薬学大会 (1953).
- 2) A. G. Perkin: J. Chem. Soc., **67**, 1084 (1895); Chem. News, **72**, 278 (1895).
- 3) 月田, 米重: 本誌, **74**, 379 (1954).
- 4) 刈米, 高橋, 伊藤, 増谷: 本誌, **78**, 935 (1958); **79**, 219 (1959); **79**, 394 (1959).
- 5) L. J. Bellamy: "The infrared spectra of complex molecules", 31 (1954).
- 6) 近藤, 伊藤, 須田: 日農化, **32**, 1 (1958).
- 7) E. A. Brade: J. Chem. Soc., **1949**, 1902.
- 8) 高岡: 日化, **60**, 1090 (1939).

D-glucoside (piceid) であることを同定した. 一方エーテル振出部より, アントラキノンとともに少量の無色針状結晶を得, P.P.C. および混融により resveratrol であることを同定した.

実験の部

Polydatin (piceid) の抽出および分離 1962年3月上旬熊本市万日山で採集した新鮮なイタドリ根 8 kg. に CaCO_3 を加え MeOH で 3 hr. ずつ3回温浸する. 浸液は温時滷過し一夜放置後, 析出する蠟状物を滷去し滷液に CaCO_3 を添加, 低温減圧で MeOH を留去, シロップ状とし熱湯で繰返し抽出, 抽出液を合して一夜放置し生ずる樹脂状部分を除去, 水溶液に Et_2O を飽和層積する. 濃厚な場合にはこの時直ちに析出物を認めるが, なお約2週間冷蔵庫に放置すると, 黄色ないし黄褐色の粗結晶を析出する. 活性炭を用い水より再結晶を繰返し最後に 30% MeOH で再結晶するに無色針状結晶 11.5 g. を得る. m.p. 225~226°, $[\alpha]_D^{25} -74.9^\circ$ ($c=1.709$, EtOH). $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_8 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ Anal. Calcd.: C, 54.05; H, 6.35. Found: C, 54.15; H, 6.42. $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_8 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (90° 3 mm. Hg 1 hr. 乾燥) Anal. Calcd.: C, 58.82; H, 5.92. Found: C, 59.11; H, 6.21. 標品 piceid と混融し融点降下せず.

Polydatin (piceid) の加水分解 (A) アグリコンの分離 配糖体 2 g. をとり 5% H_2SO_4 で 1 hr. 加熱後冷却し析出する結晶を滷取, 40% MeOH または 10% EtOH で再結晶を繰返すと無色針状結晶 0.55 g. を得る. resveratrol (I) m.p. 256~257°(decomp.). $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_6$ Anal. Calcd.: C, 73.67; H, 5.30. Found: C, 73.43; H, 5.59. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 308 (4.42), 316 (4.40). 標品 piceid より製した resveratrol と混融し融点降下せず.

(B) 糖の証明 前記加水分解後析出したアグリコンを滷取した母液に BaCO_3 を加えて中和し沈殿物を滷過, 滷液を濃縮し糖の P.P.C. を行ない Rf 0.19, Toyo, No. 50, 28°, (BuOH-AcOH-H₂O (4:1:5)). また常法によりオサゾンを作り, 70% EtOH より再結晶し m.p. 204° の黄色針状結晶を得る. 既製グルコサゾンと混融し融点降下せず.

アグリコンのアセチル化 試料 0.3 g. を Ac_2O 3 ml. に溶解, conc. H_2SO_4 1 滴を加えて振盪しつつ室温に 2 hr. 放置し反応物を氷水中に投入, 析出する沈殿物を滷取, MeOH より再結晶を行なうと無色針状結晶 0.35 g. を得る. m.p. 111~112° resveratrol triacetate (II). $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_6$ Anal. Calcd.: C, 67.79; H, 5.12. Found: C, 67.35; H, 5.04. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 229 (4.26), 299 (4.50), 311 (4.49). 標品 resveratrol より製したアセテートと混融し融点降下せず.

アグリコンのメチル化 試料 0.5 g. を MeOH および Et_2O に溶解し過剰の CH_2N_2 を作用させ, 冷暗所に 4 日間放置後溶媒を減圧留去, 残渣を dil. NaOH で洗浄, MeOH より再結晶を繰返し無色長板状結晶 0.3 g. を得る. resveratrol trimethyl ether (III) m.p. 55~56°. $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_3$ Anal. Calcd.: C, 75.53; H, 6.71; mol. wt., 270.3. Found: C, 75.62; H, 6.90; mol. wt. (Rast), 257.7. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 306 (4.51), 318 (4.50).

アグリコンのベンゾイル化 試料 0.3 g. をピリジン 15 ml. に溶解し氷冷しながらベンゾイルクロリド 3 g. を滴加, 一夜放置後 dil. HCl 中に注入, 器底に沈下する固化困難な油状物を氷冷させ, 傾斜により油状物のみを分離, 石油エーテルで安息香酸を除去, 残渣に Et_2O を加えて抽出し Na_2SO_4 により乾燥, Et_2O を留去, 残渣を $\text{Me}_2\text{CO}-\text{H}_2\text{O}$ (9:1) で再結晶し無色針状結晶 0.35 g. を得る. resveratrol tribenzoate (IV) m.p. 163~164°. $\text{C}_{35}\text{H}_{24}\text{O}_6$ Anal. Calcd.: C, 77.76; H, 4.48. Found: C, 77.50; H, 4.39.

アグリコンのジヒドロ化 試料 0.3 g. を MeOH 75 ml. に溶解し新たに製した Pd-C 1 g. を添加, 振盪しつつ H_2 ガスを通し接触還元を行ない発泡停止後 30 min. 振盪, Pd-C を滷去し滷液を減圧濃縮, 残渣を水より再結晶すると無色菱板状結晶 0.3 g. を得る. dihydroresveratrol (V) m.p. 158~160°. $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_3$ Anal. Calcd.: C, 73.03; H, 6.13. Found: C, 73.39; H, 6.05. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 226 (4.22), 278 (3.52).

Polydatin (piceid) のメチル化 試料 1 g. を MeOH に溶解しニトロソメチル尿素 5 g., 25% KOH 15 ml., Et_2O 50 ml. を用いて CH_2N_2 を作用させ, 冷暗所に 2 日間放置後, 溶媒を減圧留去, 残渣を dil. NaOH で洗浄し MeOH, Et_2O 混液より再結晶, FeCl_3 溶液反応陰性の白色無晶形物質 0.7 g. を得る. polydatin (piceid) dimethyl ether (VI) m.p. 167°. $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ Anal. Calcd.: C, 61.82; H, 6.32. Found: C, 61.68; H, 6.28.

VI の加水分解 試料 0.3 g. に 5% H_2SO_4 を加え, 湯浴上に 2 hr. 加熱加水分解する. 冷却 Et_2O で抽出し, 水洗, Na_2SO_4 で乾燥後 Et_2O を留去, 残渣を 70% MeOH で再結晶すると無色板状結晶 0.05 g. を得る. 3,4'-dimethylresveratrol (VII) m.p. 116~117°. $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_3$ Anal. Calcd.: C, 74.98; H, 6.29. Found: C, 74.72; H, 6.26.

VII のメチル化 試料 0.2 g. を MeOH, Et_2O 混液に溶解し CH_2N_2 でメチル化, 冷暗所に 3 日間放置後溶媒を留去し, 残渣を dil. NaOH で洗浄, MeOH より再結晶. resveratrol trimethyl ether (III) m.p. 55~56°. 無色柱状結晶. 先に得た I の trimethyl ether と混融し融点降下せず.

VI の KMnO_4 による酸化 試料 0.5 g. を Me_2CO 40 ml. に溶解し 3% KMnO_4 溶液 ($\text{H}_2\text{O}:\text{Me}_2\text{CO}=1:1$) 60 ml. を加え室温で反応させ, 一夜放置後生じた褐色を滷去, Me_2CO で洗浄, 洗液を合し亜硫酸水で脱

色, Me_2CO を減圧留去, 残渣をアルカリ性とし Et_2O で振盪し, 水層を $\text{dil. H}_2\text{SO}_4$ で酸性にする. 生じた白色沈殿を Et_2O で抽出, Na_2SO_4 で乾燥後 Et_2O を留去し, 残渣を熱湯より再結晶すると無色針状結晶 0.1 g. を得る. 4-methoxybenzoic acid (anisic acid) (VIII) m.p. 183°. $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$ Anal. Calcd.: C, 63.15; H, 5.30. Found: C, 63.14; H, 5.40. アニス油より製したアニス酸と混融し融点降下せず.

III のアルカリ性 KMnO_4 による酸化 試料 0.5 g. を水 50 ml. に懸濁し, 2% NaOH 15 ml. を加え, 充分攪拌しながら 1.5 g. の KMnO_4 粉末を少量ずつ加えて液温を徐々に上昇させ 40~50° に保つ. 反応後 MeOH を加えて過剰の試薬を分解し, 生じた褐石を濾去, 2% NaOH で洗浄, 濾液と洗液を合し HCl 酸性とし, Et_2O で抽出, 抽出液はふたたび 5% Na_2CO_3 で振盪, 転溶させた後 HCl 酸性とし, 析出する白色沈殿を一夜放置, 濾取し水洗乾燥, 減圧昇華により分別する. すなわち析出物を小皿に入れて昇華装置に挿入し, 第1回 120°, 第2回, 第3回は 100° (油浴温度, 2 mm. Hg) を分別温度とし, 各回の残渣を合し熱湯より再結晶し無色針状結晶 0.15 g. を得る. 3,5-dimethoxybenzoic acid (IX) m.p. 182°. $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$ Anal. Calcd.: C, 59.34; H, 5.53. Found: C, 59.46; H, 5.38. 合成品 (m.p. 181°) と混融し融点降下せず. 一方第3回昇華物は熱湯より再結晶し無色針状結晶 0.1 g. を得る. 4-methoxybenzoic acid (anisic acid) (VIII) m.p. 183°. 合成アニス酸と混融し融点降下せず.

Resveratrol の分離 熱湯抽出液に飽和層積した Et_2O および粗結晶析出母液の Et_2O 振出液を合し, 5% NaHCO_3 可溶部を除き, 5% Na_2CO_3 で振出, 振出液を酸性とし Et_2O 抽出, Na_2SO_4 で乾燥し Et_2O を留去, 残渣を少量の MeOH に熱時溶解し冷時析出するエモジンを分離, 濾液をアルミナ, 70% MeOH で液体クロマトを行ない溶出液を濃縮放置, 析出結晶を 40% MeOH より再結晶し無色針状結晶少量を得る. m.p. 256~257° (decomp.), P.P.C.: Rf=0.61, Toyo, No. 53, 19~20°. 呈色試薬: HNO_3 で褐色. $\text{pyridin-H}_2\text{O-benzen}$ = 1:3:1 下層. polydatin (piceid) より得たる resveratrol の Rf=0.61 (同一条件下) と一致し, また混融の結果融点降下せず.

本研究に際し piceid の標品を御恵送戴いた京都大学薬学部 伊藤徳三博士に深謝し, IR, UV スペクトルの測定に当たられた当学部分析化学教室 田中善正教授夫妻, 薬剤学教室 児島昭次講師, ならびに元素分析を担当された藤島セイ子嬢に厚く感謝します.

熊本大学薬学部



ライダー印

東京大学薬学部生薬学教室御指導

新発売! 迅速鋭敏、最新の分析法

薄層クロマトグラフィー用 シリカゲル

シリカ・ライダー

SILICA-RIDER

特徴

- Binderを加えてあるので直ちに使用出来る
- 展開時間が短い
- 分離能及び感度が優れている
- 多種類の物質に適用できる
Lipids, Amino acids, Steroids,
Alkaloids, plant pigments,
Saccharides, etc.
- 検出には腐蝕性試薬 (H_2SO_4 , $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_7$ + H_2SO_4 , etc.) の噴霧又は加熱等の操作が出来る

テストミックス

クロマトプレート検定用色素溶液

5 ml 1アンプル 300円

価格 250g 1,300円

<説明書進呈>

第一化学薬品株式会社

東京都中央区日本橋本町3~7

TEL (270) 2651 (代表)