

邦産 *Chrysosplenium* 属植物の成分 Chrysosplenin および Chrysosplenetin の構造¹⁾

清水岑夫, 森田直賢

富山大学薬学部²⁾

The Constituents of *Chrysosplenium* Plants in Japan. Structure of Chrysosplenin and Chrysosplenetin¹⁾

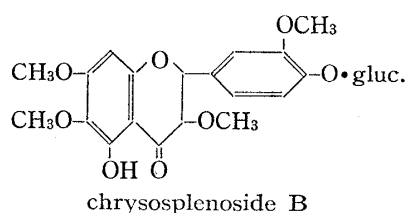
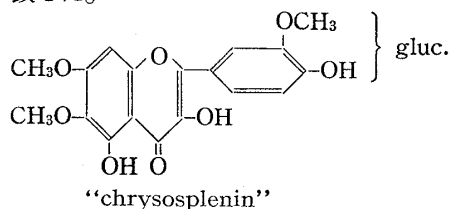
MINEO SHIMIZU and NAKATA MORITA

Faculty of Pharmacy, University of Toyama²⁾

(Received October 28, 1968)

Chrysosplenin, a flavonoid glycoside from *C. japonicum* (MAXIM.) MAKINO (japanese name "Yamanekonomeso"), had been assumed to be 3,5,4'-trihydroxy-6,7,3'-trimethoxyflavone monoglucoside.³⁾ Using paper partition chromatography, however, chrysosplenin was revealed to be a mixture of I and II. I, mp 226—228°, $C_{25}H_{28}O_{13} \cdot 2H_2O$, was identified as chrysosplenoside B⁴⁾ and II, mp 163—165°, $C_{24}H_{26}O_{13}$, was determined to be 5,3',4'-trihydroxy-6,7,3'-trimethoxyflavone 4'-monoglucoside. We proposed the names chrysosplenoside D and chrysospenol D for the glycoside and its aglycone, respectively.

ヤマネコノメソウ *Chrysosplenium japonicum* (MAXIM.) MAKINO の成分についてはさきに一新配糖体 chrysosplenin³⁾ (chrysosplenetin monoglucoside) が分離され、その構造は 3,5,4'-trihydroxy-6,7,3'-trimethoxyflavone-monoglucoside と推定報告されているが、著者等が再検討を行なった結果、chrysosplenin と称されているものは 2 物質の混合物であることが判明し、それぞれの構造を解明することができた。すなわち中沖、森田等の抽出法³⁾ にしたがってヤマネコノメソウより黄色結晶 (A), mp 203°, を得た。A はペーパークロマトグラフィー (PPC) において 60% 酢酸、ブタノール-酢酸-水 (4:1:2) (以下「4:1:2」と略記) を展開溶媒とした場合ほぼ 1 スポットを示すが、15% 酢酸を用いた場合 *R_f* 値 0.585 (I), 0.50 (II) の 2 スポットを示し、また薄層クロマトグラフィー (TLC) においてもクロロホルム-メタノール (5:1) を展開溶媒とした場合明らかに 2 スポットを示した。また A を加水分解して得た非糖体の PPC においても 60% 酢酸を展開溶媒とした場合 *R_f* 値 0.87 (III), 0.80 (IV) の 2 スポットを示した。A は中沖等の得た chrysosplenin (mp 203°) と赤外線吸収 (IR) スペクトルで全く一致することより、chrysosplenin は 2 成分 I, II の混合物であり、また chrysosplenetin も同様に III, IV の混合物である。A はシリカゲルクロマトを行なって I, II をそれぞれ 68%, 32% の収率で分離した。I, mp 226—228°, は分子式 $C_{25}H_{28}O_{13} \cdot 2H_2O$ に一致し、紫外線吸収 (UV) スペクトルで 254, 274, 341 mμ に極大吸収を有する。I を加水分解して得た非糖体 III, mp 186—187°, は分子式 $C_{19}H_{18}O_8$ に一致し、UV スペクトルは 257.5, 271.5, 351.0 mμ に極大吸収を有する。I, III の諸性状は著者等がさきにタチネコノメソウ *C. tosaense* MAKINO より得た一新配糖体 chrysosplenoside B⁴⁾ およびその非糖体 chrysosplenol B にそれぞれ酷似し、IR スペクトルで比較の結果それぞれ全く一致した。



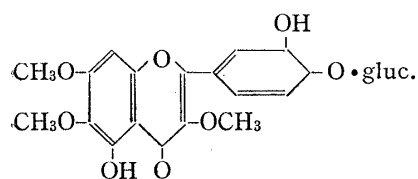
1) 概要は M. Shimizu, N. Morita, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **16**, 2310 (1968) で報告.

2) Location: *Gohoku* 3190, Toyama.

3) 中沖太郎, 森田直賢, 薬誌, **76**, 320 (1956).

4) 清水岑夫, 森田直賢, 薬誌, **88**, 1349 (1968)

II, mp 163—165°, は分子式 $C_{24}H_{26}O_{13}$ に一致し, UV スペクトルでは 255, 273, 342 $m\mu$ に極大吸収を有し, chrysosplenol B によく類似している. II はフラボン反応陽性, 塩化鉄反応緑褐色を呈し, 希酸分解で非糖体 IV および glucose 各 1 モルを与える. IV, mp 236—238°, は UV スペクトルで 262.5, 273, 362 $m\mu$ に極大吸収を有する. さらに塩化アルミニウム (a), 酢酸ナトリウム (b), および酢酸ナトリウム・ホウ酸 (c) の添加による極大吸収の shift 状況^{5,6)}をみると, a では band I, II とも長波長に shift することより 5 位水酸基の存在は明らかである. b では吸収波長の移動はみられず 7 位に遊離の水酸基は存在しないものと思われる. さらに c で Band I, II とも長波長に shift することより 3', 4' 位にそれぞれ遊離の水酸基の存在が予想される. このことは IV の塩化ストロンチウム反応⁷⁾で黄褐色の沈殿を生ずることからも支持される. IV のアルカリ分解ではフェノール性物質として 4,5-dimethoxyresorcinol, 酸性物質として protocatechuic acid をそれぞれ与える. IV を無水酢酸で常法によりアセチル化すると無色針状晶, mp 165—167° の triacetate (VI) を与える. VI の核磁気共鳴 (NMR) スペクトルでは 2.50 ppm (3H, singlet), 2.33 ppm (6H, singlet) に計 3 個のアセトキシル基, 3.97, 3.85, 3.83 ppm に計 3 個のメトオキシル基に基づく各 3 H singlet がみられる. また芳香環上のプロトンとしては 6.84 ppm に 8 位のプロトンに基づく 1H singlet がみられるほか, 7.33 ppm (1H, doublet, $J=9$ cps), 7.97 ppm (1H, quartet, $J_1=9$ cps, $J_2=3$ cps) および 7.91 ppm (1H, doublet, $J=3$ cps) に 5' 位, 6' 位および 2' 位の各プロトンに基づくシグナルがみられる. また IV をジメチル硫酸で完全メチル化すると, quercetagenin hexamethyl ether (V), mp 145°, を与える. IV が zircon-citric acid test⁸⁾ 陰性であることを考えあわせると, IV の 3 位にメトオキシル基が存在すること明らかである. 以上の所見より IV は 5,3',4'-trihydroxy-3,6,7-trimethoxyflavone と結論され, chrysosplenol D と命名した. 糖の結合位置については II の UV スペクトルで塩化アルミニウムを添加して極大吸収が長波長に shift することから 3', 4' 位のいずれかに限定される. II をジメチル硫酸で完全メチル化し, 鉍酸で加水分解すると淡黄色針状晶 (VII), mp 166—166.5°, を生成する. VII は chrysosplenol B の完全メチル化物を加水分解して得た 4'-hydroxy-3,5,6,7,3'-pentamethoxyflavone, mp 167—167.5°, と混融して



chrysosplenol D

D の混合物であり “chrysosplenetin” は chrysosplenol B, D の混合物である.

実験の部⁹⁾

Chrysosplenol B, D (I, II) の抽出および分離 ヤマネコノメソウ生全草 1 kg を MeOH 3 liter で 2 回温浸抽出, MeOH を留去後, 残渣に熱湯 500 ml を加え, 汙過, 汙液に 5% Pb (OAc)₂ 水溶液を加え, 生ずる黄緑色沈殿物を汙去, 汙液を脱鉛, 減圧濃縮後 ether を飽和し, 冷室中に放置すると黄色結晶析出, 得量 800 mg (0.08 %), MeOH で再結晶, mp 203° (160° 付近でいったん軟化), R_f 0.585, 0.50 (15% AcOH). 本混晶 200 mg をシリカゲルクロマトに付し, 石油ベンジン (P.B.)-AcOEt (1:1), AcOEt で順次流出して AcOEt 溶出部より II 60 mg, I 124 mg を得.

I: mp 226—228°, Mg+HCl→淡桃色, Zn+HCl→桃色, FeCl₃→緑色, UV $\lambda_{max}^{H_2O}$ $m\mu$ (log ϵ): 254 (4.32), 274 (4.31), 341 (4.34). R_f 0.585 (15% AcOH), 0.910 (60% AcOH), 0.830 (30% AcOH). Anal. Calcd. $C_{25}H_{28}O_{13} \cdot 2H_2O$: C, 52.43; H, 5.65. Found: C, 52.71; H, 5.80. I は chrysosplenol B (5, 4'-dihydroxy-3, 6, 7, 3'-tetramethoxyflavone 4'-monoglucoside), mp 226—228°, と混融, 降下なし.

II: mp 163—165°, Mg+HCl→橙色, Zn+HCl→橙赤色, FeCl₃→緑色, UV λ_{max}^{EtOH} $m\mu$ (log ϵ): 255 (4.456), 273 (4.464), 342 (4.484); UV $\lambda_{max}^{EtOH(AICl_3)}$ $m\mu$: 262, 286, 360. UV は AcONa, NaOEt のいずれの添加においても変化なし, R_f 0.86 (60% AcOH), 0.76 (30% AcOH), 0.50 (15% AcOH). Anal. Calcd. $C_{24}H_{26}O_{13}$: C, 55.17; H,

5) L. Jurd, R.M. Horowitz, *J. Org. Chem.*, **22**, 1618 (1957).

6) L. Jurd, “*The Chemistry of Flavonoid Compound*,” ed. by T.A. Geissman, Pergamon Press, 1962, p. 124.

7) A. G. Perkin, *J. Chem. Soc.*, **103**, 650 (1913).

8) L. Härhammer, R. Hansel, *Arch. Pharm.*, **286**, 425 (1953).

9) 融点はすべて未補正.

5.02. Found: C, 54.97; H, 5.01.

Chrysosplenol B (III) I 100 mg を 10% H_2SO_4 10 ml と直火 4 hr 加熱還流し, aglycone III, mp 186—187°, を得. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 257.5 (4.33), 271.5 (4.29), 351.0 (4.35). *Anal.* Calcd. $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$: C, 60.96; H, 4.85. Found: C, 60.80; H, 4.60. III は chrysosplenol B と混融降下なし, IR で完全に一致.

Chrysosplenol D (IV) II 71.5 mg を 10% H_2SO_4 と 15 min 煮沸, 橙色析出 oil を熱湯で洗浄し固化する. MeOH から再結晶すると黄色針状晶 III, mp 236—238°, 46 mg (64.3%) を得, $\text{Mg} + \text{HCl} \rightarrow$ 橙色, $\text{Zn} + \text{HCl} \rightarrow$ 紫 $\text{FeCl}_3 \rightarrow$ 緑(濃), Zircon-citric acid test 陰性, SrCl_2 で黄褐色の沈殿を生ず. *Rf* 0.80 (60% AcOH). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ : 262.5, 273, 362; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}(\text{NaOEt})}$ m μ : 267, 414; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}(\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3)}$ m μ : 268, 389, 酸分解水溶液は常法によりシロップ状となし, PPC より glucose を確認, *Rf* 0.31 (4:1:2, glucose 0.31), 0.435 (75% PhOH, glucose 0.430).

Quercetagenin Hexamethyl Ether (V) IV 28 mg, Me_2SO_4 0.2 ml, K_2CO_3 0.3 g を MeCOEt 4 ml 中油浴上 (130—140°) 5 hr 煮沸還流, 反応液を減圧蒸留後残渣を CHCl_3 で抽出, CHCl_3 可溶部をシリカゲルクロマトで精製し, AcOEt -P.B. (5:1) で再結晶, 無色針状晶 mp 144—145°, 本品は quercetagenin hexamethyl ether, mp 145°, と混融して降下せず, IR も完全に一致.

Chrysosplenol D Triacetate (VI) IV を常法により Ac_2O でアセチル化し, 無色針状晶, mp 165—167°を得. NMR¹⁰⁾ (10% solution in CDCl_3) δ : 2.50 (3H, singlet, $-\text{OCOCH}_3$), 2.33 (6H, singlet, $\text{OCOCH}_3 \times 2$), 3.97, 3.85, 3.83 (各 3H, singlet, $\text{OCH}_3 \times 3$), 6.84 (1H, singlet, $\text{C}_8\text{-H}$), 7.33 (1H, doublet, $J=9$ cps, $\text{C}_5\text{-H}$), 7.97 (1H, quartet, $J_1=9$ cps, $J_2=3$ cps, $\text{C}_6\text{'-H}$), 7.91 (1H, doublet, $J=3$ cps, $\text{C}_2\text{'-H}$).

Chrysosplenol D のアルカリ分解 IV 15 mg を 30% KOH 水溶液 3 ml と 3 hr 煮沸還流, 濾過, 濾液を HCl 酸性とし, エーテル抽出, エーテル可溶部は常法により酸, フェノール部に分離. PPC を行なって酸部は protocatechuic acid, フェノール部は 4,5-dimethoxyresorcinol と同定. 酸部 *Rf* 0.810 [4:1:2, protocatechuic acid (以下「P.A.」と略記) 0.820], 0.640 (15% AcOH, P.A. 0.645), 0.756 (60% AcOH, P.A. 0.755), 0.720 (30% AcOH, P.A. 0.730). フェノール部 *Rf* 0.90 [4:1:2, 4,5-dimethoxyresorcinol (以下「4,5-D」) と略記] 0.90], 0.795 (15% AcOH, 4,5-D 0.800), 0.860 (60% AcOH, 4,5-D 0.865), 0.830 (30% AcOH, 4,5-D 0.840).

4'-Hydroxy-5,6,7,3,3'-pentamethoxyflavone (VII) II 195 mg, Me_2SO_4 1.5 ml, MeCOEt 10 ml, K_2CO_3 2 g を 55 hr, 130—140° で加熱還流, 反応液の CHCl_3 可溶部をアルミナカラムに通導し, AcOEt で溶出して UV 照射下に青色螢光を有する単一のエキスを得. 本品は各種溶媒で結晶化しないが, IR で OH の吸収を認めないのでそのまま conc. HCl と加熱加水分解し, 黒褐色の油状物質を得. H_2O を加えて冷却すると固化, 水洗, 乾燥後シリカゲルクロマトで精製 [AcOEt -P.B. (1:1) で溶出]. AcOEt , MeOH で順次再結晶. 淡黄色針晶, mp 166—166.5°, NMR (5% solution in pyridine) δ : 4.0 (6H, singlet, $-\text{OCH}_3 \times 2$), 3.86 (9H, singlet, $\text{OCH}_3 \times 3$). *Anal.* Calcd. $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_8$: C, 61.85; H, 5.19. Found: C, 61.98; H, 5.16. 本品は別に chrysosplenoside B を同様に完全メチル化後, 加水分解して得た 4'-hydroxy-5,6,7,3,3'-pentamethoxyflavone, mp 167—167.5°, と混融して降下せず, IR スペクトルで完全に一致した. なお VII をアルカリ分解し, 酸性物質として vanillic acid の生成を確認した.

謝辞 本研究に当たり種々御助言, 御鞭撻を賜った東北大学教授竹本常松博士, ヒキノヒロシ博士に深く感謝します. また NMR, 元素分析の測定をお願いした本学部森腰正弘, 高見春男の両氏にあわせて深謝します.