

Fig. 6. Calibration Curves of Thioouracils

1: Ia, 2: IIa, 3: IIIa, 4: IVa, 5: Va.

3) pH の検討 至適 pH を検討するため pH 9, 10, 11 および 12 の緩衝液中での 1.2% H_2O_2 による Ia の反応速度をそれぞれ求めた。時間に対する吸光度の減少率を求めるとき、Fig. 4 のような結果が得られた。これから塩基性が大きくなるほど Ia の場合は、反応速度が大きくなることがわかった。またグラフより、測定時の pH の値は 11—12 が適当であった。

4) 反応速度定数の測定および定量 そこで以上の条件すなわち 1.2% H_2O_2 を用いて pH 11 における他のチオウラシル類の反応速度を検討した。その結果を Fig. 5 に示した。このグラフより、反応速度定数 (K) を求める際の測定時間を決定した。時間および K 値については Table II に示す結果となった。これから K 値が最も大きいのは IVa で、他のチオウラシル類に比してかなり大きい値を示す。Ia, IIa および IIIa はほぼ同じ値を示し、Va が最も低い値を示した。このことはフェニル基およびアミノ基がアルキル基に比して、反応速度に影響を与えることを示唆していると思われる。

最後にこれら的一次反応を満足する時間内で反応速度を測定し、検量線を求めるとき各々のチオウラシル類については、Fig. 6 のような結果を得た。このことから、十分定量可能であることがわかった。今後この定量法の応用について、更に詳細な検討を加える必要があると考える。

[薬学雑誌]
98(5) 672-675 (1978)

UDC 547.913.02 : 581.192

マニラコパールの成分について

沖川正善, 二宮義和, 羽坂則子, 河野信助,^{1a)} 上田博之^{1b)}
長崎大学薬学部,^{1a)} 昭和薬科大学^{1b)}

On the Ingredients of Manila Copal

MASAYOSHI OKIGAWA, YOSHIKAZU NINOMIYA, NORIKO HASAKA,
NOBUKAZU KAWANO^{1a)} and HIROYUKI AGETA^{1b)}

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagasaki University^{1a)} and
Showa College of Pharmaceutical Sciences^{1b)}

(Received November 1, 1977)

Isolation of sandaracopimamic acid (III), 15-methyl agathate (IV), agatholic acid acetate (V), and agathalic acid (VI) from Manila copal is described. This is the first report on the isolation of agatholic acid acetate from a natural source.

Keywords—Manila copal; sandaracopimamic acid; 15-methyl agathate; agatholic acid acetate; agatholic acid; agathalic acid

マニラコパールの成分として agathic acid^{2a)} (I) および agatholic acid^{2b)} (II) が報告されている。オーストラリア産のカウリコパールからは多くの成分が報告されているが、マニラコパールの成分に関する報告は比較的

- 1) Location: a) 1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki, 852 Japan; b) 5-1-8 Tsurumaki, Setagaya-ku, Tokyo 154, Japan.
- 2) L. Ruzicka, J.R. Hosking, *Ann. Chem.*, 469, 147 (1929).
- 3) C. Enzell, *Acta Chem. Scand.*, 15, 1303 (1961).

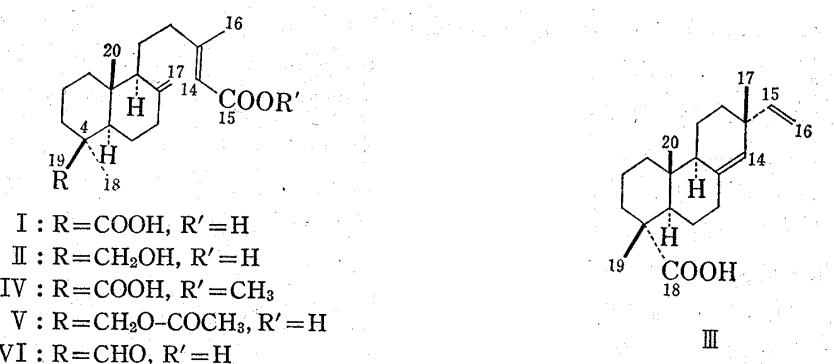


TABLE I. Column Chromatography of Soluble Resin (6.5 g)

MeOH % in CHCl ₃	Fractions	Total weight	Remarks
0	2—13	600 mg	
0	14—18	390	
0	19—23	585	Sandaracopimamic acid (III)
0	24—35	360	15-Methyl agathate (IV)
0	36—44	350	
2	45—48	510	Agatholic acid acetate (V)
5	49—70	2450	(agathalic acid)
8	71—90	830	(agathic acid)

TABLE II. PMR (CDCl₃) Data of Samples^a

Compounds	H-14	H-17	Me-16	Me-20	Me-18	H-19	Others
Agathic acid (I)	5.68 4.89	4.52 4.89	2.14	0.61	1.23		
15-Me ester (IV)	5.61 4.82	4.47 4.82	2.12	0.61	1.23		3.64 (Me)
19-Me ester	5.66 4.89	4.47 4.89	2.16	0.51	1.17		3.60 (Me)
Dimethyl ester	5.62 4.84	4.46 4.84	2.14	0.50	1.18		3.56 (Me) 3.62 (Me)
Agathalic acid (VI)	5.65 4.90	4.52 4.90	2.13	0.56	1.00		9.83 (CHO)
Agatholic acid (II)	5.66 4.84	4.49 4.84	2.15	0.65	1.14	3.37 d ^b	
						3.73 d	
19-Acetate (V)	5.63 4.83	4.48 4.83	2.20	0.68	0.95	3.82 d ^c	2.00 (Ac) 4.19 d

a) All chemical shifts are shown by δ values. b) $J=11.5$ Hz. c) $J=11$ Hz.

少い。マニラコパールには軟質コパールと硬質コパールとがあるが、本邦で市販されているコパール（硬質）についてその成分の分離を行った。

先ず、Ruzicka らの方法²⁾に従って、I を分離したが、この方法はアルカリ性で水蒸気蒸留をするので、エステル類は加水分解を受けやすく、その他の成分も変化する可能性がある。そこで、コパールから有機溶媒不溶の高分子部分を除去し、得られた淡黄色樹脂状物質をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離した。上昇法により展開溶媒にクロロホルムを使用して、後徐々にメタノールの混合比を増加した。90 フラクションを分取したが、

薄層クロマトグラフィー (TLC) の結果から、8 区分として Table I に表示した。含有される多くの成分のうち、sandaracopimamic acid (III), 15 methyl agathate (IV), agatholic acid acetate (V) の 3 種を単離することができた。その他の成分は更にクロマト分離を繰返しても途中で変化するものもあり、単離は困難であった。49—70 番目の留分には最も多く物質があり、TLC および陽子磁気共鳴 (PMR) スペクトルから主として agatholic acid (VI)⁴⁾ と考えられたが、このクロマトでは単離できなかった。しかし、Ruzicka 法で I を分離した残渣からドライカラムによる分離で VI を得ることができた。I はこのクロマトの最後に留出したが、これも混合物の状態でこのクロマトでは単離できなかった (Table I)。

単離された III は mp, $[\alpha]_D$, 質量分析 (MS), PMR および炭素核磁気共鳴 (CMR) スペクトルから sandaracopimamic acid⁵⁾ と推定された。カウリコパールからは既に III が報告されている。⁶⁾ IV はジアゾメタンでメチル化すると dimethyl agathate となり、I のモノメチルエステルであると考えられるが、これには 2 種類が報告されている。⁷⁾ I からその両者を作成し、直接比較することによって 15-methyl ester と同定された。なお、最初に短時間ではあるが、コパールをメタノールと加温しているので、この時 I から IV を生じたことも考えられる。そのためメタノールの代りにエタノールを使用して同様に処理したが、対応する留分にエチルエステルは認められず、IV が得られたのでこれはコパールの一成分であると考えられる。V は後に述べる II をアセチル化して得たもの⁸⁾ と直接比較同定した。Enzell⁹⁾ は軟質マニラコパールでは主成分が I でなく II であると報告しているが、これは途中でアルカリを使用しているので、acetate で加水分解されたためではないかと思われる。クロマト分離前の混合物においても、V の CH_2OAc に基づく 4 ppm 付近の PMR シグナル (Table II) は認められるが、II の CH_2OH に基づく 3.5 ppm 付近のものは認められない。本研究に使用したコパール中にはほとんど II の acetate として存在するものと考えられる。天然物として V が分離されたことはこれまでに報告がなく、これが最初である。

Ruzicka 法で I を分離した抽出残渣には、かなりの量の II および VI が含まれていることが予想されたので、この混合物を NaBH_4 で還元したところ、原料コパールに対して 6.6% の収量で II が得られた。VI は不安定で単離困難であるが、⁴⁾ 混合物のまま還元すると、比較的収量よく II を得ることができる。

実験の部

融点は未補正。PMR スペクトルは JEOL PS-100 で、CMR は JEOL FX-60 で測定し、いずれも tetramethyl silane (TMS) からの δ 値 (ppm) で記載。MS スペクトルは JEOL OISG で測定。TLC はシリカゲル G を使用し、スポットの検出にはヨード蒸気を用いた。カラムクロマトグラフィーには Mallinckrodt シリカゲル (100 mesh) を使用。

Agathic Acid (I) 市販のマニラコパール (Gum copal Grade III), mp 105—125° (325 g) を Ruzicka らの方法²⁾ に従って処理し、mp 203—204° の無色柱状晶 (17 g) を得た。収率 5.2%, $[\alpha]_D^{18} +56^\circ$ (0.5% エタノール溶液)。

15-Methyl Ester (IV) I (100 mg) を MeOH (10 ml) および濃塩酸 (1 ml) とともに水浴上で I が認められなくなるまで還流 (約 4 h) 後、NaOH 水溶液を加えて中和し減圧下に MeOH を留去。得られた弱アルカリ性水溶液を CHCl_3 で抽出 (dimethyl ester の除去) 後、希塩酸々性にして再び CHCl_3 抽出。 CHCl_3 層を水洗乾燥後溶媒を留去して無色油状物質 (65 mg) を得た。本品は Carman らの方法^{7a)} によって得たものと一致した (IR, PMR)。

19-Methyl Ester McCreadie らの方法^{7b)} に従って作成し、これらエステルの PMR データは Table II にあり。

Chromatographic Separation 前記市販コパール (100 g) をアセトン (350 ml) に加温溶解し、*n*-hexane (350 ml) を加えて一夜放置。上澄液をろ取。減圧濃縮後 MeOH (500 ml) を加えて加温攪拌放冷。不溶分をろ去 (セライト使用)、減圧濃縮して、淡黄色透明な樹脂状物質 (56 g) を得。この樹脂 (6.5 g) をシリカゲルカラム (3 cm × 150 cm) を用い、 CHCl_3 を使用して上昇法で分離。Table 1 に示すように後半は徐々に MeOH を混じ、

4) R.M. Carman, R.A. Marty, *Aust. J. Chem.*, 21, 1923 (1968).

5) O.E. Edwards, A. Nicolson, M.N. Rodger, *Can. J. Chem.*, 38, 663 (1960).

6) L.J. Gough, *Chem. Ind. (London)*, 50, 2059 (1964).

7) a) R.M. Carman, R.A. Marty, *Aust. J. Chem.*, 19, 2403 (1966); b) T. McCreadie, K.H. Overton, A.J. Allison, *J. Chem. Soc. (C)*, 1971, 317.

8) R.M. Carman, D.E. Cowley, R.A. Marty, *Aust. J. Chem.*, 22, 1681 (1969).

90 留分（各留分は 30—40 ml）を分取。

Sandaracopimaric Acid (III) 前記カラムクロマトの 22 番目の留分 (85 mg) を EtOH から再結晶して mp 164—167° (lit.⁵) 169° の無色柱状晶を得た。[α]_D¹⁵ —25°, [α]₄₆₀¹⁵ —48°, [α]₂₉₀¹⁵ —255° (0.5% MeOH 溶液) (lit.⁵) それぞれ —20°, —50°, —250°。PMR (CDCl_3) δ : 0.85, 1.05, 1.22 (3 × Me), 4.88 (1H, d, $J=10$ Hz), 4.92 (1H, d, $J=18$ Hz), 5.24 (1H, broad S, H-14), 5.80 (1H, q, $J=10$, 18 Hz, H-15). CMR (CDCl_3) δ : 184.45 (C-18, COOH), 136.56 (8), 47.33 (4), 37.75 (10), 37.40 (13); 148.76 (15), 129.12 (14), 50.60 (9), 48.84 (5); 110.15 (16), 38.33 (1), 37.06 (3), 35.50 (7), 34.47 (12), 24.93 (6), 18.58 (11), 18.19 (2); 26.06 (17), 16.77 (19), 15.25 (20)⁹. MS m/e : 302 (M^+), 287, 275, 257, 241, 167, 151, 135, 121. Anal. Calcd. $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$: C, 79.42; H, 10.00. Found: C, 79.02; H, 9.88.

15-Methyl Agathate (IV) 前記カラムクロマトの 25 番目の留分 (100 mg) を更に同様なカラムクロマト (CHCl_3) で精製し、無色油状物質 (70 mg) を得た。本品は前記 I の部分エステル化で得た IV と一致した (TLC, IR, PMR)。また本品を CH_2N_2 でメチル化したものは dimethyl agathate に一致した。

Agatholic Acid Acetate (V) 45—48 の留分 (510 mg) を更にシリカゲルカラムで精製して無色油状物質 (80 mg) を得た。[α]_D¹⁵ +25.5° (1.96% CHCl_3 溶液)。Anal. Calcd. $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4$: C, 72.89; H, 9.45. Found: C, 72.32; H, 9.60. 本品は後記 agatholic acid (II) をアセチル化して得た V と一致した (TLC, [α]_D, IR, PMR)。

Agathalic Acid (VI) a) 50 番目の留分は PMR から VI を最も多く含有すると考えられたが、更にクロマト分離を繰返しても純品は得られなかった。b) Ruzicka 法で I を分離した際 6% $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 水溶液に不溶の抽出残渣を水洗乾燥後、5 倍量の MeOH を加えて加温攪拌放冷。不溶分をろ去し減圧濃縮すると褐色樹脂状物質（原料コペールに対して 26%）を得る。本品 (1 g) をシリカゲルドライカラム (2 cm × 70 cm) により、1% MeOH 含有 CHCl_3 を用いて上昇法で分離。最初に留出した留分 (30 mg) はその PMR (Table II) および TLC からほとんど純品の VI であった。

Agatholic Acid (II) Ruzicka 法による I の抽出残渣中 MeOH 可溶部分 (11 g) を MeOH (80 ml) に溶解し、5% NaOH 水溶液 (20 ml) を加え、 NaBH_4 (5 g) とともに加温攪拌 (24 hr). TLC で VI を認めなくなつた後に減圧下に MeOH の大部分を留去し、5% HCl で酸性とする。EtOAc で抽出し、EtOAc 層を水洗乾燥後 EtOAc を留去。得られた油状物質を前記同様に CHCl_3 を用い、上昇法によりシリカゲルカラムクロマト (3 cm × 140 cm) で精製すると白色結晶 (2.8 g) を得た。收率 6.6%. EtOAc から再結晶して mp 179—182° (lit.³) 184—186°, (lit.⁴) 179.6°, [α]_D¹⁵ +45.7° (0.7% MeOH 溶液) (lit.³) +42°, 2% EtOH). Anal. Calcd. $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_3$: C, 74.96; H, 10.06. Found: C, 74.65; H, 10.10. PMR は Table II.

Agatholic Acetate (V) II (100 mg) を Ac_2O (0.5 ml), ピリヂン (1 ml) とともに 1 夜放置。減圧下に溶媒留去。 CHCl_3 に溶解し、希塩酸ついで水で洗浄乾燥後溶媒留去して無色油状物質を得た。[α]_D¹⁵ +26.7° (1.87% CHCl_3 溶液) (lit.³) +25.6°, PMR は Table II にあり。

謝辞 元素分析、IR, MS, PMR を担当された長崎大学分析室の馬詰久子、大渡 優、山口憲昭、稻田勝博の諸氏並に CMR を測定された日本電子の担当者に御礼申し上げる。

9) E. Wenkert, B.L. Buckwalter, *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 4367 (1972).