

サカキカズラの成分研究 (第2報¹⁾) —新フェノール配糖体について²⁾

嶋 剋人, 久田末雄, 稲垣 勲

名古屋市立大学薬学部³⁾

Studies on the Constituents of *Anodendron affine* DURCE. II.¹⁾
Structure and Synthesis of a New Natural
Phenolic Glucoside²⁾

KATSUHIITO SHIMA, SUEO HISADA and ISAO INAGAKI

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University³⁾

(Received May 10, 1971)

Structure of the phenolic glucoside (I), mp 206—207°, reported as compound IX in the preceding paper, was discussed. I gave an aglycone (II) and D-glucose by acid hydrolysis. II was identified as syringic acid by a mixed fusion, and comparison of ultraviolet and infrared spectra and thin-layer chromatography with the authentic sample. Therefore, I was assumed to be glucosyringic acid and confirmed by synthesis. I was isolated for the first time from a natural source.

著者らは前報¹⁾においてサカキカズラ *Anodendron affine* DURCE の茎の水溶性区分 [G] から sucrose のほかに mp 206—207° の無色針状晶 (I) を得て一種のフェノール配糖体と推定した。今回その構造を以下のようにして決定した。

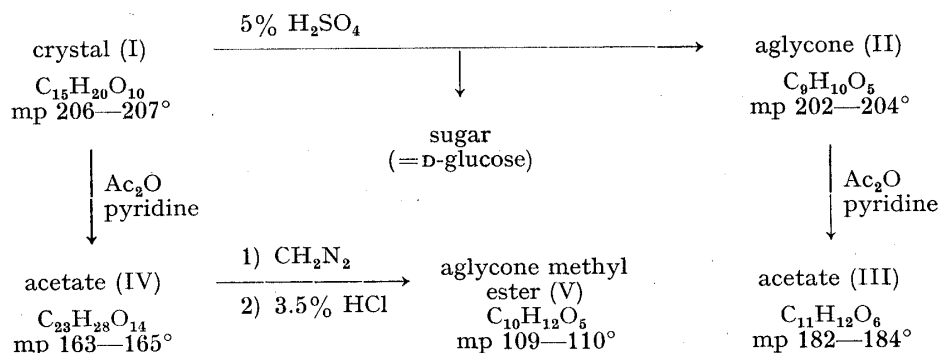


Chart 1

I は赤外線吸収スペクトル (IR) で水酸基, カルボニル基, 芳香核の存在を示すが, 塩化第二鉄反応, ジアゾ化ベンチジン反応はいずれも陰性で遊離のフェノール性水酸基が存在しないことが推定された。

I を酸で加水分解すると非糖部として無色針状晶 (II), mp 202—204°, $C_9H_{10}O_5$, が得られた。II は塩化第二鉄反応, ジアゾ化ベンチジン反応いずれも陽性でフェノール性水酸基の存在が予想される。II のアセチル誘導体 (III), mp 182—184°, $C_{11}H_{12}O_6$, の核磁気共鳴スペクトル (NMR) は 1 個のアセチル基 (2.30 ppm, 3H, singlet), 2 個のメトオキシ基 (3.86 ppm, 6H, singlet), 2 個の芳香核水素 (7.28 ppm, 2H, singlet) および 1 個の重水で置換される水素 (9.88 ppm, 1H, broad) の存在を示した。III の IR で 3020—2320 cm^{-1} , 1690 cm^{-1} にカルボン酸の吸収を示すことから, 重水で置換される水素はカルボン酸の水素と思われる。このことから III を syringic acid のアセチル誘導体と推定した。それで II を標品の syringic acid と薄層クロマトグラフィー (TLC), IR を

1) 第1報: 稲垣 勲, 久田末雄, 嶋 剋人, 薬誌, 91, 1135 (1971).

2) 日本薬学会東海支部例会で発表, 名古屋, 1970年6月。

3) Location: Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya.

比較したところ全く一致し、混融しても融点降下を示さなかつた。また糖としてペーパークロマトグラフィー (PPC) で D-glucose が確認された。したがって I は syringic acid に D-glucose の結合したものである。

糖の結合位置としてはフェノール性水酸基またはカルボン酸の 2 カ所が考えられるが、先に述べた I のフェノール性水酸基の定性試験が陰性であること、また I の紫外線吸収スペクトル (UV) でアルカリ添加により極大吸収が浅色移動することは遊離のフェノール性水酸基がなくカルボン酸が遊離の状態が存在していることを示している。このことは I のアセチル誘導体 (IV) の NMR が 4 個のアセチル基 (2.05 ppm, 12H, singlet) の存在を示すことによっても明らかであり、また I が monoglucoside であることを示すものである。したがって I を glucosyringic acid (4-β-D-glucopyranosyloxy-3,5-dimethoxybenzoic acid) と推定した。

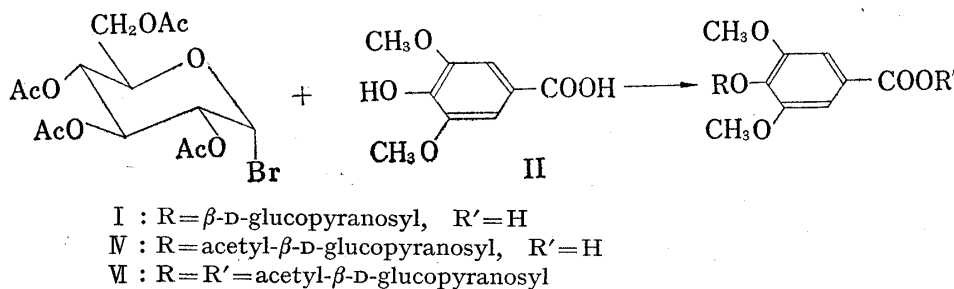


Chart 2

これを確定するために tetraacetyl-α-bromoglucopyranose と syringic acid から合成を試み (Chart 2), glucosyringic acid tetraacetate を得、これを脱アセチルして glucosyringic acid を得た。これらの合成品は天然からの IV および I に TLC, IR, 混融などにおいて完全に一致した。合成した glucosyringic acid tetraacetate をメチル化後酸で加水分解して methyl syringate (V) を得ることによってさらにその構造を確かめた。なお合成の際フェノール性水酸基およびカルボン酸の両方に acetyl glucose の結合した化合物 (VI), mp 192—193°, C₃₇H₄₆O₂₃, も得られた。

Glucosyringic acid は天然に存在するであろうということは Pearl ら⁴⁾ が予想しており、また syringin を過マンガン酸カリで酸化しても得られる⁵⁾ が、実際に単離されまた合成を行なったのは本報が最初で、天然のフェノールカルボン酸の配糖体に一例を加えるものである。

実験の部

融点はすべて未補正, UV は EPS-3T (Hitachi), IR は IR-S (Jasco), NMR は JNM-MH-60 (Jeol) で tetramethylsilane を内部基準として測定。NMR の記載は次の略号によった。s=singlet; br=broad.

PPC および TLC PPC は東洋汙紙 No. 51 を使用。展開溶媒: BuOH: AcOH: H₂O=4:1:1 (PPC-1); BuOH: pyridine: H₂O=3:2:1.5 (PPC-2)。

TLC は Kieselgel G nach Stahl (Merck) を使用、プレートは 105°, 30 分加熱乾燥。展開溶媒: AcOEt-MeCOEt: HCOOH: H₂O=5:3:1:1 (TLC-1); AcOEt: MeCOEt: HCOOH: H₂O-benzene=4:3:1:1:2, 上層, (TLC-2); benzene: dioxane: AcOH=90-25-4 (TLC-3); toluene: HCOOEt: HCOOH=5:4:1 (TLC-4)。

Glucosyringic Acid (I) MeOH-ether で再結晶、無色針状晶, mp 206—207°. FeCl₃ (—), ジアゾ化ベンチジン (—)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3520, 3440, 3400—3340 (OH), 1690 (shoulder), 1668 (COOH), 1600, 1505 (aromatic C=C)。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ mμ (log ε): 257.5 (3.85); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}+\text{NaOH}}$ mμ: 248.5。R_f: 0.55 (TLC-1); 0.20 (TLC-2)。10% H₂SO₄ を噴霧後加熱して発色。Anal. Calcd. C₁₅H₂₀O₁₀: C, 50.00; H, 5.60。Found: C, 49.87; H, 5.63。

(I) の加水分解 I 228 mg を 5% H₂SO₄ 40 ml と 2.5 時間水浴上で加熱。冷後 ether 40 ml ずつ 4 回抽出。ether 層は水洗後芒硝で乾燥、非糖部とした。水層は洗液と合わせ BaCO₃ で処理して糖部とした。糖部の R_f: 0.20 (PPC-1), 0.40 (PPC-2) はいずれも標品の D-glucose と比較一致。発色は aniline hydrogen phthalate を使用。

Syringic Acid (II) 加水分解後の非糖部を減圧下に濃縮して得たエキスを少量の MeOH を加え生じた粗結晶を MeOH を少し含む benzene から再結晶、無色針状晶, mp 202—204°, 65 mg 得る。FeCl₃ (+), ジアゾ化ベンチジン (+)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3360 (OH), 1740 (shoulder), 1700 (COOH), 1618, 1598 (shoulder), 1522 (aro-

4) I.A. Pearl, D.L. Beyer, D.Laskowski, *J. Org. Chem.*, **24**, 443 (1959)。

5) 嶋田玄彌, 薬誌, **72**, 67 (1952); 米一亨, 沢田英夫, 薬誌, **79**, 1226 (1959)。

matic C=C). UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ $m\mu$ (log ϵ): 274 (3.92); $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}+\text{NaOH}}$ $m\mu$: 301. *Rf*: 0.90 (TLC-2); 0.50 (TLC-3). 発色は 10% H_2SO_4 噴霧後加熱または FeCl_3 による. *Anal.* Calcd. $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$: C, 54.54; H, 5.09. Found: C, 54.32; H, 5.07. 標品と TLC, IR, 混融で一致.

Syringic Acid Acetate (III) II 50 mg を Ac_2O , pyridine でアセチル化, 氷水中に注いだが結晶化せず, 減圧下に濃縮して得た白色残渣を benzene ついで dil. MeOH で再結晶, 無色針状晶, mp 182—184°, 38 mg を得た. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3020—2320, 1690 (COOH), 1780 (acetyl), 1603, 1505 (aromatic C=C). NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$: 2.30 (3H, s, $\text{CH}_3\text{COO}-$), 3.86 (6H, s, $2 \times \text{CH}_3\text{O}-$), 7.28 (2H, s, $2 \times \text{aromatic H}$), 9.88 (1H, br, $-\text{COOH}$, D_2O 添加により消失). *Anal.* Calcd. $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_6$: C, 55.00; H, 5.04. Found: C, 55.02; H, 5.08.

Glucosyringic Acid Tetraacetate (IV) I 82 mg を Ac_2O , pyridine でアセチル化, dil. MeOH で再結晶, 無色針状晶, mp 163—165°, IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3480—2600, 1700 (shoulder) (COOH), 1770—1720 (acetyl), 1600, 1505 (aromatic C=C), NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3+\text{D}_2\text{O}}$: 2.05 (12H, s, $4 \times \text{CH}_3\text{COO}-$), 3.94 (6H, s, $2 \times \text{CH}_3\text{O}-$), 3.6—4.3, 5.1—5.4 (ca. 7H, br, sugar H), 7.30 (2H, s, $2 \times \text{aromatic H}$). *Rf*: 0.60 (TLC-3), 10% H_2SO_4 噴霧後加熱して発色. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$: C, 52.27; H, 5.34. Found: C, 52.11; H, 5.36.

4-(2,3,4,6-Tetraacetyl- β -D-glucopyranosyloxy)-3,5-dimethoxybenzoic Acid (Glucosyringic Acid Tetraacetate (IV)) の合成 新製した 2,3,4,6-tetraacetyl- α -glucopyranosyl bromide, mp 88—90°, 1.74 g (ca. 0.005 mole) を acetone 8 ml に溶かし, これを 3,4,5-trimethoxybenzoic acid より製した syringic acid,⁶⁾ mp 203—204°, 0.74 g (ca. 0.0037 mole) を 1N NaOH 5 ml に溶かした液に加えて振盪後氷室に 16 時間放置, 減圧下に acetone を留去後氷水で冷しながら器壁をこするとガム様物質を生じた. これを汫去した液を dil. H_2SO_4 で酸性にし, CHCl_3 で 3 回抽出, CHCl_3 抽出液を水洗後芒硝で乾燥し減圧下に溶媒を留去, 得られた褐色エキスを約 1 g を 70g のシリカゲルカラムで CHCl_3 (300 ml), CHCl_3 -MeOH (99:1) (500 ml, さらに 200 ml=Fr. 1), CHCl_3 -MeOH (95:5) (1 フラクション 200 ml として Fr. 2—7), MeOH (500 ml) の順で溶出して分離した. Fr. 1—3 を EtOH で結晶化して無色針状晶 434 mg を得た. dil. MeOH で再結晶, 無色針状晶, mp 164—166°, *Anal.* Calcd. $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$: C, 52.27; H, 5.34. Found: C, 52.34; H, 5.37. IV と TLC, IR, NMR, 混融で一致. なお CHCl_3 抽出後の水層から濃縮放置して未反応の syringic acid 31 mg を得た.

4- β -D-Glucopyranosyloxy-3,5-dimethoxybenzoic Acid (Glucosyringic Acid (I)) の生成 合成した IV 200 mg を MeOH 2 ml に溶かしナトリウムメチラート 0.4 ml を加え 40° に 5 分間保ち, さらに室温に 1 時間放置後, 氷室で 12 時間放置した. 減圧下に MeOH を留去し残渣に水を加えて溶かし amberlite IRC-50 で脱アルカリし減圧下に溶媒を留去, 残渣に少量の MeOH を加えて結晶させ汫取, これを活性炭カラムクロマトで水, MeOH の順で溶出, MeOH 溶出部を MeOH-ether で再結晶, 無色針状晶, mp 209—210°, 17 mg を得た. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$: C, 50.00; H, 5.60. Found: C, 49.89; H, 5.50. I と TLC, IR, 混融で一致.

Methyl Syringate (V) IV 100 mg を EtOH 溶液中 CH_2N_2 とともに一夜氷室に放置した後溶媒を減圧下に留去, そのまま EtOH 25 ml に溶かし, 3.5% HCl 6 ml を加えて水浴上 1 時間加熱. 減圧下に溶媒を留去し, 残渣に水を加え CHCl_3 で抽出, CHCl_3 層は水洗後芒硝で乾燥後溶媒を留去, ether-石油エーテルで再結晶 無色針状晶, mp 109—110°, 12 mg を得た. *Rf*: 0.96 (TLC-3); 0.48 (TLC-4). IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3280 (OH), 1693 (ester), 1610, 1595, 1517 (aromatic C=C). *Anal.* Calcd. $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_5$: C, 56.60; H, 5.70. Found: C, 56.40; H, 5.67. 標品と TLC, IR, 混融で一致.

1-[4-(2,3,4,6-Tetraacetyl- β -D-glucopyranosyloxy)-3,5-dimethoxybenzoate]-2,3,4,6-tetraacetyl- β -D-glucose (VI) IV の合成過程で得られたガム様物質に EtOH を加え加熱溶解後放置すると無色針状晶が析出, EtOH で再結晶, 無色針状晶, mp 192—193° を得る. FeCl_3 (—), IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1758 (ester), 1595, 1500 (aromatic C=C). NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$: 2.03, 2.07 (24H, s, $8 \times \text{CH}_3\text{COO}-$), 3.93 (6H, s, $2 \times \text{CH}_3\text{O}-$), 3.6—4.4, 5.1—5.5, 5.8—6.0 (14H, br, sugar H), 7.38 (2H, s, $2 \times \text{aromatic H}$). *Rf*: 0.68 (TLC-3). 10% H_2SO_4 噴霧後加熱して発色. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{O}_{23}$: C, 51.75; H, 5.40. Found: C, 51.53; H, 5.38.

謝辞 本研究において syringic acid の標品を分与していただいた本学薬化学教室 加藤義成博士, 元素分析を担当された本学分析センターの山岸民枝, 伊藤節子両氏, NMR を測定された河村典久博士に深く感謝致します.

6) M.T. Bogert, B.B. Coyne, *J. Am. Chem. Soc.*, **51**, 569 (1929).