報 文

イチハツ種子油中のセスキテルペン炭化水素

関 桂・大江 靖・金子良平

宇都宮大学工学部工業化学科 (宇都宮市石井町 2753)

Sesquiterpene Hydrocarbons from the Seed Oil of *Iris tectorum* Maxim.

Katsura SEKI, Yasushi OHE, and Ryohei KANEKO

Department of Industrial Chemistry, Faculty of Engineering, Utsunomiya University
(2753, Ishii-cho, Utsunomiya-shi)

Sesquiterpene hydrocarbons from the seed oil of *Iris tectorum* M. were investigated. Fractionation of the hexane extract of the seeds by column chromatography on activated alumina and steam distillation gave monoterpene-free hydrocarbons which showed approximately thirty peaks by capillary gas chromatography. A combination of techniques including a silver nitrate addition procedure, rectification and silver nitrate-impregnated silica gel column chromatography was used to separate the sesquiterpenes.

Twenty-four compounds could be identified on the basis of spectral data (IR, NMR, GC, GC-MS) and chemical transformations. The main components were germacrene D (45%), alloaromadendrene (12%), δ -, γ -cadinene (13%), and β -caryophyllene (7%). These sesquiterpenes in Iridaceae plants were characterized for the first time in the present research.

1 結 言

著者らは化学的植物分類, 生理活性などの見地から広くアヤメ科植物種子の成分検索を行っており, これまでに irisquinone¹⁾ に代表される多くのフェノール, ペンゾキノン類を単離, 構造決定してきた。今回, その一環としてアヤメ属であるイチハツ (*Iris tectorum* M.) 種子について成分検索を行った。イチハツは中国原産の多年生草木で, その根茎をとび(鳶)尾根と称して, 民間では吐剤, 下剤に用いられてきた²⁾。

すでに報告した様に, イチハツも他のアヤメ科植物と同様なフェノール, キノン類を含有するが, これらは側鎖炭素数を異にする belamcandaphenol 及び belamcandaquinone などであり, 成分的にはむしろヒオウギ属に近いという化学的植物分類上, 興味深い知見を得ている。また, 本種子油は他のアヤメ科植物と異なり, iristectorumin A, B などのテルペン関連物質を著量に含有している³⁾。

ここでは, 同種子油中に比較的多量に含まれるセスキテルペン炭化水素の成分検索を行い, 24 種の炭化水素を同定したので報告する。

2 実 験

2.1 機器分析

比旋光度はアタゴ偏光計ポラックスを用い, クロロホルム溶液として測定した。

GC は PEG 20 M ガラスキャピラリーカラム (ϕ 0.25 mm $\times$ 30 m) を装着した日立 063 型ガスクロマトグラフ (FID) を用いて測定し, データ処理には島津 CR-1 A を使用した。

IR は日本分光 IR-G 型分光光度計を使用し, 液膜法または KBr 錠剤法で行った。

UV はエタノール溶液として Beckman 34 型で測定した。

NMR は日本電子 JNM-C-60 HL 型を用い, TMS を内部標準として四塩化炭素または重クロロホルム溶液で測定した。

MS は日立 M-80 型質量分析計により, イオン化電圧 70 eV, イオン源温度 160°C で直接導入法及び GC-MS 法 (5% PEG 20 M/クロモソルブ W 80~100 mesh, ϕ 3 mm $\times$ 1 m ガラスカラム) で測定した。分子量測定は PFK を標準物質としたミリマス法で行った。

EAG はダイヤモンドカル EAG 測定システムを用いて行った。

2.2 セスキテルペン炭化水素の単離

イチハツ種子は宇都宮大学工学部内で栽培したものをを用いた。乾燥種子 1,403 g を粉碎後, 室温でヘキサン 10 l を用いて抽出し, 40°C 以下で溶媒を減圧留去する

ことにより、暗褐色粘ちようの種子油 218 g (15.5%) を得た。この種子油を等量のヘキサンに溶解し、低温処理 (-15°C) によって析出物を除いた後、母液部をアルミナカラムクロマトグラフィーにより分画した。そのヘキサンフラクションから水蒸気蒸留、アルミナ及びシリカゲルカラムクロマトグラフィーなどによって、無色液体 n_D^{20} 1.5070 のセスキテルペン炭化水素 14.0 g (6.4%) を得た。そのガスクロマトグラムを Fig.-1 に、硝酸銀-シリカゲル TLC を Fig.-2 に示した。

炭化水素成分の分離は Fig.-3 に示したように行い、硝酸銀付加法、硝酸銀-シリカゲルカラムクロマトグラフィー及び精留などにより、12 成分を単離した。

2.3 セスキテルペン炭化水素の反応性及び同定

単離された成分については各種スペクトルを測定し、また主要成分ピーク 22 及び 16 では、その反応性についても併せて検討した。これらの同定は、主としてスペクトルデータなどの文献値との比較により行った。単離できなかった成分については GC-MS 及び GC により、その確認を行った。

2.3.1 ピーク 22 (1) の光異性化

窒素気流下、(1) 540 mg のヘキサン溶液 100 ml に内部照射型低圧水銀燈 (ウシオ電機社製) で 10 h 光照射した。精製後、ほぼ定量的に β -bourbonene (2) を得た。

2.3.2 β -bourbonene (2) の酸異性化

(2) 117 mg を 10 ml のエタノールに溶解し、これに 10% 塩酸 2 滴を加えて 1 h 還流加熱した。生成物をアルミナカラムクロマトグラフィーで精製したところ、 α -bourbonene (3) 37% 及び 1-ethoxybourbonene (4) 39% が得られた。また (2) のヘキサン溶液によるアンパーライト IR-120 B 処理 (還流加熱, 8 h) では、生成物として (3) のみが得られた (転換率 41%)。

1-ethoxybourbonene (4)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{neat}}$ cm^{-1} : 1388, 1375 ($-\text{CHMe}_2$), 1080 ($-\text{OEt}$)
 NMR δ_{ppm} (CCl_4): 0.86 (6H, d, $J=6.0$ Hz, $-\text{CHMe}_2$), 0.91 (3H, t, $J=7.1$ Hz, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Me}$), 1.14 (3H, s, C-Me), 1.53 (3H, s, $-\text{O}-\text{C}-\text{Me}$), 3.20 (2H, q, $J=7.1$ Hz, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Me}$)

MS m/z (rel. int.): 250.2301 (M^+) (4) (Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{O}$: 250.2298), 204 (69), 81 (100)

2.3.3 ピーク 16 (5) のオゾン分解

(5) 300 mg をメタノール 35 ml に溶解し、 -75°C においてオゾン化した。この反応液に硫化ジメチルを加えて分解し、生成物からシリカゲルカラムクロマトグラフィー、昇華により alloapoaromadendrone (6) 213 mg を得た (収率 85%)。

2.3.4 alloapoaromadendrone (6) のアルミナ異性化 (6) 50 mg のヘキサン溶液をアルミナカラム (200 倍量) に通したところ、72% が apoaromadendrone (7) に異性化した。

2.3.5 ピーク 16 (5) の四酸化オスミウム酸化

(5) 456 mg の無水ジオキサン溶液 (20 ml) に四酸化オスミウム 564 mg を加え、暗所に 32 h 放置した。これに硫化水素を通し、生成した黒色沈殿を除去し、エーテル抽出物として生成物を得た。アルミナカラムクロマトグラフィーにかけた後、再結晶したもの (273 mg, 収率 51%) は alloaromadendranediol (8) であった。

2.3.6 alloaromadendranediol (8) の過ヨウ素酸ナトリウム酸化

(8) 76 mg をメタノール 8 ml に溶解後、過ヨウ素酸ナトリウム 137 mg を加え、室温で 8 h 放置した。析出した結晶から、昇華により (6) 53 mg を得た (収率 81%)。

2.3.7 ピーク 16 (5) のエポキシ化

(5) 289 mg の塩化メチレン溶液 (2 ml) に、 m -クロロ過安息香酸 368 mg の塩化メチレン溶液 (17 ml) を滴下し、室温で 5 h 放置した。この反応液を常法により処理し、alloaromadendrene epoxide (9) を得た (185 mg, 収率 74%)。

2.3.8 alloaromadendrene epoxide (9) の水素化アルミニウムリチウム還元

水素化アルミニウムリチウム 118 mg の無水エーテル懸濁液 5 ml に、 -10°C でかくはんしながら (9) 160 mg の無水エーテル溶液 3 ml を滴下し、さらに 2 h かくはんした。この反応液を氷水に注ぎ、常法により処理して生成物を得た。アルミナカラムクロマトグラフィーにより精製したもの (129 mg, 収率 80%) は, viridiflorol (10) と ledol (11) の混合物 (87:13) であった。

2.3.9 ピーク 16 (5) の酸異性化

(5) 38 mg を 80% THF 水溶液 1 ml に溶解し、これに 4 N 塩酸 1 ml を加え、室温で 4 日間かくはんした。GC-MS によると、生成物 (33 mg) の 70% が viridiflorene (12) であった。

3 結果と考察

GC (Fig.-1) より、イチハツ中の炭化水素はモノテルペンを含まない 30 成分以上のセスキテルペン炭化水素の混合物であり、硝酸銀-シリカゲル TLC において 5 つのスポットに分離した。この点を考慮して、硝酸銀付加法及び硝酸銀-シリカゲルカラムクロマトグラフィー、精留などを組み合わせることにより、11 のフラクション (Fr-Al~A 4, Fr-B1~B 7) に分画した。Fig.-2 は、このような操作により成分分別が効率的に行われたことを示している。さらに各フラクションについて硝

Fig.-1 Gas chromatogram of the sesquiterpene hydrocarbon fraction from the seed oil of *Iris tectorum* M.

酸銀-シリカゲルカラムクロマトグラフィーを繰り返して行い、12種の炭化水素を単離した (Fig.-3)。

主成分であるピーク 22 は Fr-A 2 から単離され、 $[\alpha]_D^{25} -230^\circ$, IR $\nu_{\max}^{\text{neat}}$ 3080, 1625, 1600, 980, 880 cm^{-1} (>C=CH_2 , $\text{H}_2\text{C=C<}$), 1665, 850 cm^{-1} (>C=CH-), NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ 4.70 (2H, m), 4.9~5.4 (1H, br s), 5.15 (1H, dd, $J=15.8, 9.4$ Hz), 5.76 (1H, d, $J=15.8$ Hz) などから、(-)-germacrene D⁴⁾ (1) と推定された。このものは、その UV ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ 210, 260 nm) において、2つの二重結合間にトランスアニユール相互作用が認められたので、広瀬ら⁴⁾の手法に従って光異性化を行ったところ、ほぼ定量的に β -bourbonene⁵⁾ (2) が得られた。さらに (2) のエタノール中での酸異性化を行ったが、目的の α -bourbonene⁵⁾ (3) のほかに $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ 3.20 (2H, q, $J=7.1$ Hz, $\text{O-CH}_2\text{-Me}$), m/z 250 (M^+) を示す物質が副生し、このものはエタノールが (2) の二重結合に付加した 1-ethoxybourbonene (4) であった。そこで (3) のみを得るため、(2) を強酸型イオン交換樹脂で処理したところ、その 41% が (3) に変換した (Scheme-1)。以上

* Original sesquiterpene hydrocarbon fraction
Plate: 25% $\text{AgNO}_3\text{-SiO}_2$, 0.25mm
Solvent: 5% acetone in benzene (solvent front: 12cm)

Fig.-2 TLC of the sesquiterpene hydrocarbons and its each fraction.

Fig.-3 Separation scheme for the sesquiterpene hydrocarbons.

のことからピーク 22 は明らかに germacrene D (1) であり、(2), (3) は、保持時間、GC-MS より本種子油中には含有されていない。

Scheme-1

Fr-B 5 から単離されたピーク 16 は $[\alpha]_D^{25} -15.4^\circ$, $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ 0.20~0.73 (2H, m, >H-), 0.94 (3H, d, $J=6.6$ Hz, >CH-CH_3), 4.62 (2H, m, >C=CH_2) などの分析データを示し、alloaromadendrene⁶⁾ (5) と予想されたので、Scheme-2 に示すような反応を行った。まず (5) を相当するケトンに誘導するため、常法によりオゾン分解を行った。得られたケトンは mp 81~82°C で、そのシクロプロパン環上のメチンプロトンがカルボニル基のシャヘイ領域からはずれた通常的位置 ($\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ 0.58~0.80) に現れた。従ってこのケトンは予想された alloaromadendrone^{6),7)} (6) ではなく、その C_1 エピマーである apoaromadendrone^{6),7)} (7) と判明した。これは生成した (6) がアルミナカラムクロマトグラフィー精製の際、(7) に異性化したためと考えられた。そこで四酸化オスmiumによりジオール⁸⁾ (8) とした後、過ヨウ素酸ナトリウムによるケトンへの誘導を試みた。生成物は mp 71.0~71.5°C, $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ 0.16~0.69 (2H, m) などを示す (6) であった。この (6) から (7) へのアルミナ異性化を確認するため、(6) をアルミナで処理したところ、その 72% が (7) に変換した。次に (5) を m -ク

Scheme-2

ロ過安息香酸により相当するエポキシドに誘導した。その生成物は $\nu_{\max}^{\text{neat}}$ 3030, 1270 cm^{-1} , $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ 0.18~0.78 (2H, m, D-H), 2.38, 2.44 (各 1H, d, $J=6.8\text{ Hz}$, O-CH_2), m/z 220 (M^+) を示し, alloaromadendrene epoxide⁹⁾ (9) と同定された。さらに (9) の立体配置を確認するため, 水素化アルミニウムリチウム還元により相当するアルコールに誘導した。生成物は 2 成分 (9:1) からなり, 主成分は $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ 0.20~0.78 (2H, m, D-H), 1.08 (3H, s, C-O-Me), m/z 222 (M^+) などの分析データを示し, viridiflorol⁹⁾ (10) に一致した。少量成分は MS パターンから (10) の C_{10} エピマーである ledol⁹⁾ (11) と考えられた。さらに (5) の酸異性化を行った。主生成物は MS パターン (基準ピーク, m/z 161) から

Table-1 Sesquiterpene hydrocarbons from the seed oil of *Iris tectorum* M.

Peak No.	Fraction	Component	[%]	Rel. amount ^{b)}	$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$	Identification
1	B3	α -Cubebene	0.7	M	-20.8°	IR, NMR, GC-MS
2	A1	δ -Elemene ^{a)}		S		GC-MS
3	B2	α -Ylangene		S		GC-MS
4	B2	α -Copaene	1.3	M		IR, NMR, GC-MS
5	B3	α -Gurjunene		S		GC-MS
6	B3	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	—	S		GC-MS
7	B3	β -Cubebene	1.0	M		
8	B6	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.7	T		GC-MS
9	B6	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$		T		
10	B4	β -Ylangene		S		
11	B6	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	1.1	T	-15.4°	IR, NMR, GC-MS
12	B4	β -Copaene		M		
13	A3	β -Elemene	7.7	S		GC-MS
14	A1	β -Caryophyllene		L		IR, NMR, GC-MS
15	B6	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$		T		IR, NMR, GC-MS
16	B5	Alloaromadendrene	12.8	L		
17	B5	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$		T		IR, NMR, GC-MS
18	B5	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$		T		
19	A4	α -Humulene	8.8	M	-12.1°	IR, NMR, GC-MS
20	B6	γ -Murolene		M		IR, NMR, GC-MS
21	B6	Viridiflorene		T		GC-MS
22	A2	Germacrene D	49.9	L		IR, NMR, GC-MS
23	B2	α -Murolene		M		IR, NMR, GC-MS
24	B6	α -Amorphene ^{a)}		T		t_R
25	A2	Bicyclogermacrene	12.9	S		NMR, GC-MS
26	B2	δ -Cadinene		L		IR, NMR, GC-MS
27	B7	γ -Cadinene		L		IR, NMR, GC-MS
28	B7	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	1.3	T	+85.8°	GC-MS
29	A3	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$		T		
30	B4	α -Cadinene		S		GC-MS
31	B1	Calamenene	1.5	M		IR, NMR, GC-MS
32	B1	α -Calacorene	0.2	S		GC-MS
33	B1	β -Calacorene ^{a)}	—	T		GC-MS

a) Tentative identification

b) Relative amount : L=large; M=medium; S=small; T=trace

c) $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ hexane

Table-2 Mass spectral data of the identified sesquiterpene hydrocarbons.

Peak No.	Compound	$M_r^{a)}$	Base peak	m/z (Relative intensity %)
1	α -Cubebene	204.1930	161	119(95), 105(94), 204(52), 91(45), 41(31)
2	δ -Elemene	204	81	161(88), 105(81), 93(71), 91(71), 41(63)
3	α -Ylangene	204.1875	119	105(62), 133(48), 41(47), 93(42), 91(38)
4	α -Copaene	204.1935	161	119(92), 105(89), 93(47), 91(40), 41(36)
5	α -Gurjunene	204	204	105(94), 41(89), 161(87), 91(76), 189(69)
7	β -Cubebene	204	161	105(81), 119(66), 120(45), 91(35), 204(28)
10	β -Ylangene	204.1912	161	120(80), 105(49), 91(37), 107(34), 41(31)
12	β -Copaene	204.1869	161	105(31), 91(23), 119(18), 41(18), 120(17)
13	β -Elemene	204.1867	93	81(99), 41(81), 68(73), 107(72), 91(51)
14	β -Caryophyllene	204.1894	133	93(96), 41(87), 69(71), 91(70), 79(67)
16	Alloaromadendrene	204.1858	161	41(93), 91(87), 105(82), 204(80), 93(71)
19	α -Humulene	204.1906	93	80(59), 121(58), 147(49), 41(38), 92(32)
20	γ -Murolene	204.1900	161	105(41), 119(36), 204(34), 91(31), 93(30)
21	Viridiflorene	204	161	105(74), 41(69), 91(62), 93(55), 79(43)
22	Germacrene D	204.1868	161	105(41), 91(35), 41(28), 81(26), 119(26)
23	α -Murolene	204.1851	105	161(63), 204(41), 93(34), 91(31), 119(28)
25	Bicyclogermacrene	204.1878	121	161(87), 93(78), 107(61), 41(59), 105(57)
26	δ -Cadinene	204.1886	161	134(59), 204(54), 105(48), 119(46), 91(30)
27	γ -Cadinene	204.1886	161	105(35), 204(29), 91(28), 119(25), 93(23)
30	α -Cadinene	204	105	161(71), 204(37), 119(28), 41(27), 93(25)
31	Calamenene	202.1768	159	160(14), 202(12), 129(10), 128(10), 144(7)
32	α -Calacorene ^{b)}	200	157	200(26), 142(26), 158(15), 156(15), 141(9)
33	β -Calacorene ^{b)}	200	157	200(30), 142(23), 158(17), 141(9), 81(6)

a) M_r : Calcd for $C_{15}H_{24}$, 204.1879;
Calcd for $C_{15}H_{22}$, 202.1722

b) GC-MS: 20 eV

viridiflorene⁹⁾ (12) と同定され、また (12) の保持時間はピーク 21 のそれと一致した。これら一連の化学変換により、ピーク 16 は alloaromadendrene (5) と確認された。

今回、同様にして同定されたセスキテルペン炭化水素を Table-1 に、その MS パターンを Table-2 に示した。

なお germacrene D はワモンゴキブリ (*Periplaneta americana* L.) のパラフェロモン¹⁰⁾ として知られているので、今回得られたセスキテルペン炭化水素についても、その触角電図 (EAG) を測定した。Table-3 のように、ピーク 22 (1) 及び炭化水素部には共に顕著な活性 (m/f 4.92, 4.00) が認められ、また (1) の含有量変化の結果から、その生理活性は明らかに germacrene D に起因し、その他の炭化水素には活性がないことも明らかになった。

以上述べたようにイチハツ種子中のセスキテルペン炭化水素の主成分は、germacrene D (ピーク 22; 45%), alloaromadendrene (ピーク 16; 12%), δ -及び γ -cadinene (ピーク 26, 27; 13%), β -caryophyllene (ピーク 14; 7%) であり、その他多数の微量成分が含有されている。さらに同種子油中には、少量ながらセスキテル

Table-3 EAG response of *Periplaneta americana* L. to germacrene D (peak 22).

Content of peak 22 (%)	EAG amplitude (mV)		m/f
	male	female	
45 ^{a)}	2.64	0.66	4.00
0	0.67	0.62	1.08
5	0.77	0.53	1.45
20	1.75	0.52	3.37
35	2.57	0.70	3.67
70	2.47	0.59	4.19
95	2.51	0.51	4.92

a) Original hydrocarbon fraction

ペンアルコールも共存しており、現在検討中である。なおアヤメ科植物からセスキテルペン炭化水素が単離されたのは、今回の報告が最初のものである。

終わりに、本研究に際して EAG 測定をお願いした大正製薬株式会社総合研究所山口洋室長、島野公秀氏に感謝いたします。本研究の概要は昭和 59 年 10 月、第 28 回香料・テルペン及び精油化学に関する討論会 (金沢) で発表した。

(昭和 60 年 9 月 6 日受理)

文 献

- 1) K. Seki, R. Kaneko, *Chem. Ind. (London)*, 1975,

- 349
- 2) 木村康一, 木島正夫, “改稿版薬用植物学各論”, 広川書店 (1974) p. 61
 - 3) 内藤 崇, 野崎友己, 関 桂, 金子良平, 日本化学会第 46 秋季年会講演予稿集, p. 731 (1982); 内藤 崇, 関 桂, 金子良平, 創立 30 周年記念油化学討論会・油化学研究発表会講演要旨集, p. 148 (1982)
 - 4) K. Yoshihara, Y. Ohta, T. Sakai, Y. Hirose, *Tetrahedron Lett.*, **1969**, 2263
 - 5) J. Křepinský, Z. Samek, F. Šorm, D. Lamparsky, P. Ochsner, Y.-R. Naves, *Tetrahedron Suppl.*, **8**, 35 (1966)
 - 6) G. Büchi, S.W. Chow, T. Matsuura, T.L. Popper, H.H. Rennhard, M.S.v. Wittenau, *Tetrahedron Lett.*, **1959** (6), 14; L. Dolejš, O. Motl, M. Souček, V. Herout, F. Šorm, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **25**, 1483 (1960); G. Büchi, W. Hofheinz, J.V. Pauckstelis, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 6473 (1969)
 - 7) A.J. Birch, F.N. Lahey, *Aust. J. Chem.*, **6**, 379 (1953)
 - 8) R. Tressel, K.-H. Engel, M. Kossa, H. Köppler, *J. Agric. Food Chem.*, **31**, 892 (1983)
 - 9) G. Swords, G.L.K. Hunter, *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 734 (1978)
 - 10) S. Tahara, M. Yoshida, J. Mizutani, C. Kitamura, S. Takahashi, *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 1517 (1975)
-