薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
104 (1) 42-49 (1984)

ツチアケビ *Galeola septentrionalis* REICHB. fil. の研究 (第1報¹⁾)

土通草の成分の単離と構造

井上 敏, 若井 敦, 小西天二, 清沢 脩,* 沢田徳之助

京都薬科大学

Studies on *Galeola septentrionalis* REICHB. fil. I.¹⁾ Isolation and Structures of the Constituents of "Dotuusoo"

SATOSHI INOUE, ATSUSHI WAKAI, TENJI KONISHI, SHIU KIYOSAWA,*
and TOKUNOSUKE SAWADA

Kyoto College of Pharmacy, Nakauchi-cho, Misasagi,
Yamashina-ku, Kyoto, 607, Japan

(Received July 1, 1983)

Nine kinds of constituents, named Sub I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII and IX were isolated from MeOH extractives of "Dotuusoo," *Galeolae fructus*, Orchidaceae. Three new compounds, Sub IV, V and VI were characterized as 1-[4-(β -D-glucopyranosyloxy)benzyl] (S)-(-)-2-isopropylmalic acid metallic salt, bis[4-(β -D-glucopyranosyloxy)benzyl] (S)-(-)-2-isopropylmalate and 4-methyl ester of Sub IV respectively, together with three known compounds *p*-hydroxybenzyl methyl ether (Sub I), 4-(β -D-glucopyranosyloxy)-benzyl alcohol (Sub II) and (S)-(-)-2-isopropylmalic acid metallic salt (Sub III).

Keywords—*Galeolae fructus*; *Galeola septentrionalis*; Orchidaceae; bis[4-(β -D-glucopyranosyloxy)benzyl] (S)-(-)-2-isopropylmalate; 4-hydroxybenzyl derivative; ¹³C-NMR; CD

ツチアケビ *Galeola septentrionalis* REICHB. fil. は本邦山地に自生する無葉緑体の腐生植物であるが、秋日形成される真紅の長楕円形、多肉質の果実を採取乾燥したものを古来土通草と称し、民間では強壯、強精薬とし、淋病、瘡疥の治療にも効があるといわれる。しかしなお含有成分については、研究されていない。今回市場品土通草のメタノールエキスについて成分検索を行い、Sub I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX と仮称する9物質を単離し、Sub I, II, III, IV, V, VI の6物質について構造解明をしたので報告する。

抽出、単離は Chart 1 に従い、residue-1 を水とクロロホルムで振盪し、その水層を減圧濃縮して得られる residue-5 から Sub II, III, IV, V, VI, VII を単離し、クロロホルム層から residue-3 を得て、Chart 1-A に従い分画を進め Sub I, VIII, IX を単離した。

Sub I (1) は無色針状晶、mp 86—89°C を示し、マス (MS) スペクトル (M^+ 138) および元素分析値から分子式 $C_8H_{10}O_2$ が与えられる。赤外吸収 (IR) スペクトルは水酸基、1,4 二置換ベンゼノイドの吸収を示し、¹H 核磁気共鳴 (¹H-NMR) スペクトルの各シグナルより、二置換基として OH, CH_2OCH_3 あるいは OCH_3 , CH_2OH の組み合わせが考えられる。また ¹³C 核磁気共鳴 (¹³C-NMR) スペクトルでメチレン炭素のシグナルが δ 74.6 ppm の低磁場にシフトしてあらわれることから、二置換基として OH, CH_2OCH_3 が支持され、このことは Sub II の水解によって得られる 1a との ¹³C-NMR スペクトルによる比較でも確認された。したがって Sub I の構造は、*p*-hydroxybenzyl methyl ether (1) と推定される。

Sub II (2) は無色針状晶、mp 159—160°C, $[\alpha]_D -63.1^\circ$ を示し、IR スペクトルは 1 同様に水酸基、1,4 二置換芳香環の吸収がみられ、¹H-NMR スペクトルの δ 5.62 (d, $J=7$ Hz), δ 3.95—4.55 (4 H) の各シグナルは、糖の anomeric および水酸基付け根のプロトンが推定され、2 はフェノール配糖体と考えられる。なお δ 4.88 には、極性基に結合したメチレンプロトンのシグナルがある。2 を almond emulsin で水解して得られる 1a は無色プリズム晶で、mp 115—116°C を示し、¹H-NMR スペクトルから benzyl diol の構造が推察され、¹³C-NMR スペ

クトルから *p*-hydroxybenzy alcohol (**1a**) の構造が支持される。また糖部については、ペーパークロマトにより D-glucose と *R_f* 値の一致するスポットを検出した。常法により、無水酢酸-ピリジンから得られる **2** の peracetate は、¹H-NMR スペクトルで 5 個の acetoxyl 基の存在を示し、benzyl 基のメチレンシグナルが **2** と比較して 0.36 ppm 低磁場シフトしてあらわれることから、糖の結合位置は benzyl alcohol の *para* 位の水酸基が考えられる。さきの anomeric プロトンの結合常数 ($J=7$ Hz) から β 結合が考えられ、⁹⁾ glucose を通常の D 体とすると、**2** の構造は 4-(β -D-glucopyranosyloxy)benzyl alcohol と推定され、¹³C-NMR スペクトルもこの構造を支持する。Sub I, Sub II は最近ラン科植物一般に知られる既知物質で、文献値⁴⁾ との比較によっても前記の構造は支持される。

Sub III (**3**) は無色針状晶、mp 300°C 以上で、メタノール難溶、水に可溶である。IR スペクトルで水酸基の吸収の他、1590, 1430 cm⁻¹ にカルボン酸イオンに基づく強い吸収があり、1395, 1375 および 1170, 1140 cm⁻¹ の吸収は、isopropyl 基⁵⁾ に基づくものと推察される。**3** は ¹H-NMR スペクトルで broad なシグナルを示し、有機溶媒に対する難溶性、IR スペクトルの結果から、有機酸塩が推察され、Amberlite (IR 120B) 通過後、物質 **3a** を得た。**3a** は無色板状晶、mp 169–171°C, $[\alpha]_D -17.8^\circ$ で、IR スペクトルでカルボン酸イオンの吸収は消失し、2700, 2650 cm⁻¹ にカルボン酸の二量体による吸収、1745, 1720 cm⁻¹ に遊離カルボン酸の吸収を示す。¹H-NMR スペクトルで isopropyl 基の二個のメチルシグナルは、 δ 1.18 (6H, d, $J=7$ Hz), methine プロトンは δ 2.29 (1H) にあらわれる。また δ 3.15, 3.37 (各 1H, d, $J=16$ Hz) のシグナルは、AB 系のメチレン基のシグナルで、その不等価性から隣接する不斉炭素の存在と、⁶⁾ そのケミカルシフト値から極性基との結合が示唆される。なお重水素置換可能な 3 個分のプロトンシグナルが、 δ 11.44 にあらわれる。**3** の ¹³C-NMR スペクトルは 7 個の炭素

Chart 1

Chart 1-A

シグナルを示し、そのうち δ 174.3, 178.3 の2個の炭素はカルボン酸基に基づくものと推察され、isopropyl 基の2個のメチル炭素は δ 16.9, 17.2 に異なるケミカルシフトを示すことから、isopropyl 基は不斉炭素に結合することが示唆される。⁷⁾ また δ 78.0 の4級炭素はそのケミカルシフトから水酸基の結合が推測され、さきの $^1\text{H-NMR}$ の結果も考え合わせて、この炭素を不斉中心とする 2-isopropylmalic acid (3a) の構造が推察される。3a の絶対構造は、その molybdate complex の CD スペクトルによって検討し、⁸⁾ 218, 250 nm に正, 234, 273 nm に負の Cotton 効果を示すことから、*S* 配置と決定した。したがって 3a の構造は (*S*)-(-)-2-isopropyl malic acid と推定した。なお $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルの結果は、2位の置換基効果を考慮して Table I に示す。3 の焰色反応で、 Na^+ が検出されたが、精査していない。

Sub IV (4) は吸湿性、無晶形粉末 (mp 136–141°C, $[\alpha]_D -50.4^\circ$) で、IR スペクトルで水酸基、エステル結合の他、3 同様カルボン酸イオンの吸収があり、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルも鮮明なシグナルを示さない、4 はケン化により 2 および 3 を与えることから、4 の構造として 3 の2つのカルボン酸基のうち、一方は 2 とエステル結合、他方は塩を形成していることが考えられる。4 を 3 と同様に脱塩後、ジアゾメタンでメチルエステル化し、無晶形粉末 4a を得た。4a は IR スペクトルで 1730 cm^{-1} に強いエステル結合の吸収を示すが、カルボン酸イオンの吸収はみられない。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは、3 および 2 の各部分構造に基づくシグナルの他、 δ 3.56 (3H, s) にあらたにメチルエステルのシグナルがあらわれる。次に $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルで、4 のカルボキシル炭素はそれぞれ δ 177.3, 179.3 にシグナルを示す。一般にカルボン酸がイオン化すると、その炭素は約 5 ppm 低磁場シフトすることが知られているので、⁹⁾ 3a の1および4位のカルボン酸炭素のケミカルシフトから、 δ 177.3 はエステル化による1位の炭素、 δ 179.3 はイオン化に伴う4位の炭素にそれぞれ帰属される。また 4-エステル体を推定し4位のカルボキシル炭素のケミカルシフトを 177.3 あるいは 179.3 ppm とすると、3a の4位のカルボキシル炭素と比較して3あるいは5 ppm 低磁場シフトすることになり、4-エステル体の推定は否定される。エステル化による1位の炭素のシフト幅の小さいのは、イオン化の電場効果¹⁰⁾によるものと推測される。したがって Sub IV は 1-[4-(β -D-glucopyranosyloxy)benzyl] (*S*)-(-)-2-isopropylmalic acid の金属塩 (4) であり Field Desorption マススペクトル (FDMS) で $\text{M}^+ + \text{H}$ が m/z 467, 483 に2つのシグナルを示すことから、金属としてナトリウム、カリウムの混在が考えられる。誘導体 4a は 4-メチルエステル体であり、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルの結果 (Table I) からその構造は支持される。

Sub V (5) は無晶形粉末 (mp 114–116°C, $[\alpha]_D -2.7^\circ$)、IR スペクトルは水酸基の他、エステル結合、1,4 二置換ベンゼノイドの各吸収を示すが、カルボン酸イオンの吸収はない。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルで、4 と同様 isopropyl 基に基づくメチルプロトンが δ 0.99 (3H, d, $J=6.4\text{ Hz}$), 1.07 (3H, d, $J=5.6\text{ Hz}$) にあらわれ δ 2.10 (1H, m) にそのメチンプロトンのシグナルを示す。不斉炭素に隣接するメチレンプロトンは、 δ 3.04, 3.18 (各 1H, d, $J_{AB}=16\text{ Hz}$) に、またフェニル基、糖部に基づくそれぞれのプロトン数は、4 と比較して倍加し、ベンジル基のメチレンプロトンが δ 5.30, δ 5.09 にそれぞれ 2H 分の singlet のシグナルを示す。さらに無水酢酸-ピリジンによ

るアセチル化で, **5** は無色針状晶, mp 111—113°C の octacetate (**5a**) を与える. この結果 **5** は, **3a** に 2 分子の **2** がエステル結合した bis 体と推定され, **5** を 1 N 水酸化ナトリウムでケン化して得られる **2** および **3a** を, さきに得た標品と融点, IR スペクトル, TLC で比較同定した, 以上のことから Sub V は **5** 式で示され, bis [4-(β -D-glucopyranosyloxy) benzyl] (S)-(-)-2-isopropylmalate と推定した.

Sub VI は吸湿性無晶形粉末 ($[\alpha]_D -47.3^\circ$) で, 元素分析値から分子式 $C_{21}H_{30}O_{11}$ となり, IR, 1H -, ^{13}C -NMR 各スペクトルは, **4a** と同様のシグナルを示した. したがって Sub VI は Sub IV のメチルエステル化物で, メタノール抽出などの過程における副産物の可能性もあるが, とくに検討をしていない.

以上 Sub I, II, III, IV, V, VI の各物質について構造解明をしたが, Sub I, II, III は, Sub IV, V, VI の部分構造を構成する物質であり, なお Sub III は菌類における leucine 生合成の前駆物質¹¹⁾ として一般に知られ, ツチアケビが地下部に取り込むといわれるナラタケ菌¹²⁾ との代謝相関を知る上に興味ある物質である. Sub IV, V, VI はいずれも新物質であり, Sub V は同じラン科植物から単離されている militarine¹³⁾ と malic acid の 2 位に結合するアルキル基が, isopropyl 基か, isobutyl 基の相違だけであるが, chemotaxonomy の観点から関心のもたれる物質である.

Chart 2

TABLE I. ^{13}C -NMR Spectral Chemical Shifts of 1, 1a, 2, 3a, 4, 4a and 5 (δ Value, in Pyridine- d_5)

Carbon	1	1a	2	3a	4	4a	5
Malic acid moiety							
1				178.3	177.3	175.2	175.3
2				78.0	78.7	78.3	78.2
3				42.6	44.4	42.4	42.6
4				174.3	179.3	171.5	171.2
5				36.0	36.0	36.3	34.4
6				16.9	16.8	16.6	16.6
7				17.2	17.6	17.5	17.4
Benzyl moiety							
1	129.1	133.8	136.8		130.0	129.8	129.9
2,6	130.0	129.0	128.4		130.4	130.5	130.4
3,5	115.1	116.0	116.8		117.0	116.9	117.0
4	156.1	157.9	157.5		158.5	158.5	158.4
7	74.6	64.3	63.9		67.0	67.0	67.0
1'							129.7
2',6'							130.3
3',5'							117.0
4'							158.3
7'							66.3
Glucose moiety							
1			102.0		102.1	102.0	101.8
2			74.7		74.9	74.7	74.5
3			78.2		78.4	78.3	78.2
4			71.1		71.2	71.1	71.0
5			78.4		79.3	78.6	78.4
6			61.2		62.3	62.2	62.0
OMe	57.5					51.4	

TABLE II. Comparisons of ^{13}C -NMR Spectral Chemical Shifts among 3a, 4, 4a and 5 (δ ppm)

Carbon	3a ^{a)}	4-3a	4a-3a	5-3a	4a-4	5-4	5-4a
1	+ 1.9	-1.0	-3.1	-3.0	-2.1	-2.0	+0.1
2	+48.0	+0.8	+0.3	+0.2	-0.4	-0.5	-0.1
3	+12.6	+1.8	-0.2	0.0	-2.0	-1.8	+0.1
4	- 2.1	+5.0	-2.8	-3.1	-7.8	-8.1	-0.3

a) The ^{13}C -NMR spectral data of 3a was compared with the data of succinic acid, C₁ at 176.4 and C₂ at 30 ppm obtained by Lippmaa *et al.*¹⁴⁾

次に ^{13}C -NMR スペクトルのケミカルシフト値を, (S)-(-)-2-isopropyl malic acid (3a) およびそのエステル化合物 (4, 4a, 5) の対応する各炭素について比較検討し, Table II にまとめた. 3a の 1 および 4 位のカルボキシン炭素は, succinic acid¹⁴⁾ と比較してそれぞれ約 2 ppm の高磁場あるいは低磁場シフトを示すが, これは 2 位置換基の β あるいは γ 効果によるものと推察される. 4 と 3a の比較では, イオン化による 4 位の炭素のシフト幅は, 通常の場合と同様 5 ppm の低磁場シフトを示すが, 1 位のエステル化による高磁場へのシフトは 1.0 ppm の幅がみられるにすぎず, 4 位のイオン化による電場効果がこのような結果をもたらしているものと考えられる. 4a と 3a あるいは 5 と 3a の比較で明かなように, エステル化にともなう高磁場シフトは約 3 ppm 前後で, 置換基のメチルおよび 4-(β -D-glucopyranosyloxyl) benzyl 基の間では, 大きな差は認められない.

実 験 の 部

融点は、柳本微量融点測定装置を使用、未補正、旋光度は Union Automatic Polarimeter Model P-101, IR スペクトルは、Shimadzu IR-27G Spectrometer で測定. NMR スペクトルは、Varian CFT-20 NMR Spectrometer により ^1H -NMR は 80 MHz, ^{13}C -NMR は 20 MHz でそれぞれ TMS を内部標準, CDCl_3 あるいは pyridine- d_5 溶媒で測定. MS スペクトルは、Hitachi M-80AM-003 装置で測定. EIMS: イオン化ポテンシャル 20 eV, イオン源温度 180°C, 加速電圧 3 kV, 試料加熱温度 80—250°C, FDMS: 加速電圧 3 kV, エミッター電流 0—30 mA, SIMS: 一次イオン Xe^+ , 一次イオン加速電圧 8 kV, 電流密度 10^{-7} — 10^{-8} A°, 二次イオン加速電圧 3 kV. CD スペクトルは JASCO J-20C Automatic Recording Spectro Polarimeter で測定. シリカゲルクロマトは、Silica gel 60 (Merck) を使用. NMR の data 中, s; singlet, d; doublet, t, triplet, q; quartet, m, multiplet, br; broad を示す.

単離と精製 (Chart 1, 1A) 市場品土通草 4.5 kg を細切, メタノール (20 l) で室温抽出 (3 回/1 箇月). 濾液を減圧濃縮, メタノール抽出物 (933 g) を得る. メタノールエキスを水, 水飽和ブタノール各 2 l を加え振盪放置後, ブタノール層を分取, 減圧濃縮し, residue-1 (195 g) を得る. Residue-1 を水 (2 l) に懸濁, クロロホルム (2 l) で振盪, クロロホルム層, 中層, 水層をそれぞれ減圧濃縮, residue-3 (72 g), residue-4 (59 g), residue-5 (42 g) を得る. このうち residue-5 について, Chart 1 に従って Sephadex LH-20, シリカゲルカラムクロマトを進め, Sub II, III, IV, V, VI, VII の各物質を単離した. Sub II は AcOEt - MeOH 系溶媒から, Sub III は MeOH - H_2O の溶媒系からそれぞれ無色針状晶として得た. Sub V, VI, VII は CHCl_3 , MeOH , Me_2CO あるいは AcOEt - MeOH 系の溶媒から無晶形粉末として精製した. Residue-3 は Chart 1A に従いシリカゲルカラムクロマトを進め, Sub I, Sub VIII, Sub IX を単離した. Sub I は ether-hexane 系の溶媒から無色のプリズム晶, Sub VIII は Me_2CO , Sub IX は CHCl_3 - MeOH 系溶媒から再結を繰返し, 無色微細結晶を得た.

Sub I (1) の性状 mp 86—89°C, 無色針状晶 (ether-hexane). MS m/z : 138 (M^+), 107 ($\text{M}^+ - \text{OCH}_3$). IR (KBr) cm^{-1} : 3300 (OH), 2935, 2870, 1450, 1382 (CH_3), 1615, 1600, 1517, 829 (1,4 二置換ベンゼノイド), 1083 (エーテル). ^1H -NMR (CDCl_3) δ ppm: 3.37 (3H, s, OCH_3), 4.39 (2H, s, OCH_2Ar), 6.67 (1H, s, OH), 6.71, 7.17 (各 2H, $J_{\text{AA'BB'}}$ = 8.6 Hz, aromatic H). High resolution MS m/z : Calcd $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$ (M^+) 138.068. Found: 138.068.

Sub II (2) の性状 mp 159—160°C, 結晶無色針状晶 (AcOEt - MeOH), $[\alpha]_D^{25}$ -63.1°C (c = 1.03, MeOH). IR (KBr) cm^{-1} : 3375 (OH), 1611, 1590, 832 (1,4 二置換ベンゼノイド). ^1H -NMR (pyridine- d_5) δ ppm: 3.95—4.55 (4H), 4.88 (2H, s, CH_2O), 5.62 (1H, d, J = 7.2 Hz, anomeric H), 7.38, 7.50 (各 2H, $J_{\text{AA'BB'}}$ = 8 Hz, aromatic H), Anal. Calcd $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_7 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$: C, 52.87; H, 6.49. Found: C, 52.58; H, 6.35.

2 のアセチル化 2 (100 mg) に pyridine (1 ml), 無水酢酸 (1 ml) を加え, 室温で一昼夜放置後反応液に氷水を加え, 沈澱物を濾取, 水洗後メタノール-水の混合溶媒で再結, 無色針状晶 2a (109 mg) を得る. mp 124—125°C, $[\alpha]_D^{25}$ -18.8° (c = 1.0, MeOH). ^1H -NMR (pyridine- d_5) δ ppm: 2.01, 2.02, 2.03, 2.08 (15H, 各 s, $\text{COCH}_3 \times 5$), 4.20—4.55 (3H, br, sugar), 5.24 (2H, s, $\text{CH}_2\text{-OAc}$), 5.45—5.90 (4H, br, sugar), 7.23, 7.43 (各 2H, J = 8 Hz, aromatic H). Anal. Calcd $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$: C, 55.64; H, 5.68. Found: C, 55.69; H, 5.67.

2 の Emulsin による水解 2 (200 mg) の水溶液 (10 ml) に almond emulsin (Sigma) を加え, 37°C で 24 時間振盪後, エーテル (20 ml) で振り分け, エーテル分画を減圧濃縮して残留物 (62 mg) を得る. これを酢酸エチルで再結を繰返し, 無色プリズム晶, 1a (54 mg) を得る. mp 115—116.5°C, MS m/z : 124 (M^+), 107 ($\text{M}^+ - \text{OH}$), 106 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$). IR (KBr) cm^{-1} : 3390 (OH), 1618, 1600, 1521, 840 (1,4 二置換ベンゼノイド). ^1H -NMR (pyridine- d_5) δ ppm: 4.92 (2H, s, CH_2O), 6.50, 11.20 (各 1H, s, OH), 7.21, 7.57 (各 2H, J = 8.6 Hz, aromatic H). Anal. Calcd $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2$: C, 67.72; H, 6.50. Found: C, 67.69; H, 6.56. 水層は濾過後, 濾液を減圧濃縮し, シロップ状残留物 (69 mg) を得る. この物質についてペーパークロマトを行い, 糖の標品と同時展開し, glucose を確認した. (濾紙: Toyo-No 50, 展開溶媒: iso-ProOH-BuOH- H_2O , 7 : 1 : 2. 検出: 飽和硝酸銀 0.5% アセトン溶液噴霧後, 直ちに乾燥し, 0.5 N の 80% エタノール性 NaOH 溶液を噴霧するとかっ色となる. R_f 値: 0.35).

Sub III (3) の性状 mp 300°C 以上, 無色針状晶 (MeOH - H_2O). IR (KBr) cm^{-1} : 3350 (OH), 1590, 1430 (COO^-), 1395, 1375, 1170, 1140 (isopropyl).

3 の遊離化 3 (160 mg) の水溶液をカチオン交換樹脂 (Amberlite IR 120 B) の層を通し, 減圧濃縮後再結を繰返し, 無色板状晶, 3a (64 mg) を得る. mp 169—171°C, $[\alpha]_D^{25}$ -17.8° (c = 0.56, MeOH). MS m/z : 177 ($\text{M}^+ + \text{H}$), 159 (177- H_2O), 134 (177- $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). IR (KBr) cm^{-1} : 3350, 3100 (OH), 2700, 2650 (カルボン酸二量体), 1745, 1720 (COOH), 1380, 1155 (isopropyl). ^1H -NMR (pyridine- d_5) δ ppm: 1.18 (6H, d, J = 7 Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.29 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3.15, 3.37 (2H, J_{AB} = 16 Hz, C- CH_2), 11.44 (3H, s, OH). Anal. Calcd

$C_7H_{12}O_5$: C, 47.72; H, 6.86. Found: C, 47.66; H, 6.91.

3a のメチル化 3a (11 mg) のアセトン (1 ml) 溶液に、過剰のジアゾメタンエーテル溶液を加え、室温で 3 時間放置後溶媒を留去し、油状物質, 3b (12.8 mg) を得る. 1H -NMR ($CDCl_3$) δ ppm: 0.87, 0.96 (6H, 各 d, $J=6.9$ Hz, $CH(CH_3)_2$), 2.74, 2.87 (各 1H, $J_{AB}=16$ Hz, C- CH_2), 3.67, 3.80 (各 3H, s, O- CH_3).

3a の Molybdate Complex の CD スペクトル 3a (1.9 mg) の 5 ml 水溶液 (2.16 mM) に 2.3—2.5 倍モルのモリブデン酸ナトリウム (3.01 mg) を加え、塩酸酸性 (pH 3.36) とし CD スペクトルを測定. CD ($c=0.038$, H_2O) $[\theta]^{21.5 \times 10^{-4}}$ (nm): +2.68 (218), -1.75 (230), +2.31 (250), -2.26 (273).

Sub IV (4) の性状 吸湿性無晶形粉末 (mp 136—141°C, $[\alpha]_D^{20} -50.4^\circ$ ($c=1.1$, MeOH). FD-MS m/z (%): 467 (100), 483 (39), SI-MS m/z (%): 467 (34), 483 (100), 487 (6), 505 (10), IR (KBr) cm^{-1} : 3350 (OH), 1720 (エステル), 1590, 1420 (COO^-), 1505, 820 (1,4 二置換ベンゼノイド), 1390, 1375 (isopropyl).

4 のケン化 4 (100 mg) に 1 N NaOH (10 ml) を加え、室温で 12 時間放置、ケン化後 BuOH (15 ml) で振盪、ブタノール層を分取、減圧濃縮し、残留物 (52 mg) をシリカゲルカラムクロマト ($CHCl_3$ -MeOH- H_2O , 8:2:0.2) にかけて精製後、AcOEt-MeOH 系溶媒より再結、無色針状晶 (25 mg) を得る. mp 157—159°C, Sub II と TLC (展開溶媒: BuOH-AcOEt- H_2O , 4:1:2, 上層. 検出: 10% 硫酸噴霧後加温. R_f 値: 0.56), IR スペクトルもよく一致し、混融試験で融点降下を示さない. 水層は Amberlite IR 120B を通過後、減圧乾固、残留物 (28 mg) を酢酸エチルで再結、無色板状晶 (17 mg) を得る. mp 167—169°C, 3a と TLC (展開溶媒: EtOH-conc. NH_4OH , 4:1. 検出: Bromocresolgreen 試液. R_f 値: 0.21), IR スペクトルともよく一致し、混融試験で融点降下を示さない.

4 の脱塩後のメチルエステル化 4 のメタノール溶液を Amberlite IR 120B の層を通過後、約 2 ml まで減圧濃縮、ジアゾメタンエーテル溶液を加え、室温で 1 時間放置、減圧乾固して吸湿性無晶形粉末, 4a (83 mg) を得た. ($[\alpha]_D^{20} -49.5^\circ$) ($c=1.13$, MeOH). IR (KBr) cm^{-1} : 3400 (OH), 1735, 1730 (エステル), 1614, 1591, 1513, 830 (1,4 二置換ベンゼノイド). 1H -NMR (pyridine- d_5) δ ppm: 1.04 (3H, d, $J=7.2$ Hz, $CH(CH_3)_2$), 1.05 (3H, d, $J=6.4$ Hz, $CH(CH_3)_2$), 2.97, 3.11 (2H, $J_{AB}=16$ Hz, C- CH_2), 3.56 (3H, s, OCH_3), 5.33 (2H, s, $ArCH_2O$), 5.55 (1H, d, $J=7.2$ Hz, anomeric H), 6.50 (5H, s, OH), 7.39, 7.40 (4H, aromatic H). Anal. Calcd $C_{21}H_{29}O_{11} \cdot 1/2 H_2O$ C, 54.07; H, 6.48. Found: C, 54.13; H, 6.81.

Sub V (5) の性状 吸湿性無晶形粉末 (mp 114—116°C, $[\alpha]_D^{20} -2.7^\circ$ ($c=1.0$, MeOH)), FD-MS m/z (%): 735 (M^++Na) (100), 751 (M^++K) (10), SI-MS m/z (%): 713 (M^++H) (13), 735 (M^++Na) (100), 751 (M^++K) (27). IR (KBr) cm^{-1} : 3400 (OH), 1738 (エステル), 1615, 1590, 1517, 830 (1,4 二置換ベンゼノイド), 2890, 1395, 1375 (isopropyl). 1H -NMR (pyridine- d_5) δ ppm: 0.99 (3H, d, $J=6.4$ Hz, $CH(CH_3)_2$), 1.07 (3H, d, $J=5.6$ Hz, $CH(CH_3)_2$), 2.10 (1H, m, $CH(CH_3)_2$), 3.04, 3.18 (2H, $J_{AB}=16$ Hz, C- CH_2), 4.15—4.49 (12H, sugar), 5.09, 5.30 (各 2H, s, $ArCH_2O$), 5.60 (2H, d, $J=6.4$ Hz, anomeric H), 6.17 (9H, s, OH), 7.32, 7.39 (8H, aromatic H). Anal. Calcd $C_{33}H_{44}O_{17} \cdot 2H_2O$: C, 52.93; H, 6.46. Found: C, 52.73; H, 6.61.

5 のケン化 5 (100 mg) に 1 N NaOH (10 ml) を加え、室温で 24 時間放置し、反応溶液をブタノールで振盪、ブタノール層を分取、減圧濃縮後得た残留物 (63 mg) をシリカゲルカラムクロマト ($CHCl_3$ -MeOH- H_2O), 8:2:0.2) にかけて精製、主分画を AcOEt-MeOH 系の溶媒によって再結、無色針状晶 (38 mg) を得た. mp 158—160°C, 2 との混融試験で融点降下を示さない. 水層は Amberlite IR 120B の層を通し、減圧濃縮乾固後、残留物を酢酸エチルから再結、無色板状晶 (11 mg) を得た. mp 168—171°C, IR スペクトルは 3 と一致し、混融試験でも融点降下を示さない.

5 のアセチル化 5 (100 mg) に pyridine (1 ml), 無水酢酸 (1 ml) を加え、室温で一昼夜放置後、反応液に氷水を入れ、沈澱物を汙取、水洗後乾燥し MeOH- H_2O 系溶媒から無色微細結晶, 5a (87 mg) を得た. mp 111—113°C, $[\alpha]_D^{20} -0.9^\circ$ ($c=1.07$, MeOH), 1H -NMR (pyridine- d_5) δ ppm: 0.98 (3H, d, $J=6.4$ Hz, $CH(CH_3)_2$), 1.07 (3H, d, $J=5.6$ Hz, $CH(CH_3)_2$), 2.06, 2.09 (24H, $COCH_3 \times 8$), 3.04, 3.20 (2H, $J_{AB}=16$ Hz, C- CH_2), 4.25—4.68 (6H, sugar), 5.10, 5.30 (各 2H, s, $ArCH_2O$), 5.45—5.90 (8H, sugar), 6.52 (1H, s, OH), 7.25, 7.32 (8H, aromatic H). Anal. Calcd $C_{49}H_{60}O_{25}$: C, 56.13; H, 5.77. Found: C, 55.96; H, 5.72.

Sub VI (6) の性状 吸湿性無晶形粉末, ($[\alpha]_D^{20} -47.3^\circ$ ($c=0.95$, MeOH)). Anal. Calcd $C_{21}H_{29}O_{11} \cdot H_2O$: C, 53.03; H, 6.57. Found: C, 53.16; H, 6.96.

IR スペクトルおよび TLC (展開溶媒: BuOH-AcOEt- H_2O , 4:1:2, 上層. 検出: 10% 硫酸噴霧後加温. R_f 値: 0.65) は 3b と一致する.

謝辞 本研究に際し、NMR スペクトルを、本学藤原靖弘氏、mass スペクトルを本学橋本圭二助教授、日立

那阿工場霰石賢一氏, CD スペクトルを第一薬大 木村孟淳教授, 九大薬学部 宮原一元博士, また元素分析は, 京都大学元素分析センターにそれぞれ測定依頼しました. なお材料蒐集には, 本学後藤勝実氏に労を戴きました. 以上の各氏に, あわせて深謝いたします.

引用文献および注

- 1) 日本薬学会第 102 年々会, 大阪, 1982 年 4 月, に一部発表.
- 2) 木村雄四郎, 刈米達夫, “最新和漢薬用植物学,” 改稿第 1 版, 広川書店, 1959, p. 361.
- 3) J. M. van der Veen, *J. Org. Chem.*, **28**, 564 (1963).
- 4) J. Dahman, K. Leander, *Phytochemistry*, **15**, 1986 (1976); H. Taguchi, I. Yoshioka, K. Yamasaki, I. Hyuk Kim, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 55 (1981); 周 俊, 楊 雁賓, 楊 崇仁, 化学学報, **37**, 183 (1981).
- 5) 金子武夫, 久保田尚志, “実験化学講座続 5 巻, 有機化合物の定性確認法 (上),” 日本化学会編, 丸善, 東京, 1965, p. 3.
- 6) J. A. Pople, *Molecular Phys.*, **1**, 3 (1958).
- 7) J. I. Kroschwitz, M. Winkur, H. J. Reich, J. D. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 5927 (1969).
- 8) S. Brandänge, S. Josephson, S. Vallén, *Acta Chem. Scand.*, **B28**, 153 (1974); *idem, ibid.*, **B31**, 179 (1977); S. Brandänge, S. Josephson, L. Mörch, S. Vallén, *ibid.*, **B31**, 307 (1977).
- 9) R. Hagen, J. D. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 4504 (1969).
- 10) W. J. Horsley, H. Sternlicht, *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 3738 (1968).
- 11) R. O. Burns, H. E. Umbarger, S. R. Grass, *Biochemistry*, **2**, 1053 (1963); M. Strassman, L. N. Ceci, *J. Biol. Chem.*, **238**, 2445 (1963).
- 12) 北村四郎, 村田 源, 小西鐵夫, “原色日本植物図鑑, 下, 草本編 [III] 単子葉類,” 保育社, 1964, p. 24; 川村清一, “原色日本菌類図鑑, 第四巻,” 風間書房, 東京, 1954, p. 457.
- 13) J. Dahman, K. Leander, *Phytochemistry*, **15**, 1986 (1976).
- 14) E. Lippmaa, T. Pehk, *Kem. Teollisuud*, **24**, 1001 (1967) [*Chem. Abstr.*, **69**, 14621 (1968)].