薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
105 (7) 655-658 (1985)

シダ類の化学とケモタキソノミー (第 57 報¹⁾) タイワンクリハラン及び
オオクリハランの成分について

村上孝夫,^{*,a} 田中信壽,^a 佐武紀子,^b 齋木保久,^b 陳 秋明^c
東京理科大学薬学部,^a 神戸学院大学薬学部,^b 清華大学化学系^c

Chemical and Chemotaxonomical Studies on Filices. LVII.¹⁾ Chemical
Studies on the Constituents of *Colysis hemionitidea* (WALL) PRESL.
and *Microsorium fortunei* (MOORE) CHING

TAKAO MURAKAMI,^{*,a} NOBUTOSHI TANAKA,^a TOSHIKO SATAKE,^b
YASUHISA SAIKI^b and CHIU-MING CHEN^c

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Science University of Tokyo,^a Funakawara-machi,
Shinjuku-ku, Tokyo, 162, Japan, Department of Pharmaceutical Sciences, Kobe
Gakuin University,^b Arise, Igawatani-machi, Nishi-ku, Kobe, 673, Japan and
Department of Chemistry, National Tsing Hua University,^c
Kuang Fu Road, Hsinchu, Taiwan, China

(Received March 6, 1985)

Uracil and uridine were isolated from the air-dried fronds of *Colysis hemionitidea* (WALL) PRESL. and *Microsorium fortunei* (MOORE) CHING. Their contents in the former fern were 1.6% and 1.3%, respectively. The latter fern contained also 3-carboxyesculetin, fern-9(11)-ene, 24-methylenecycloartanyl acetate and 24-methylenecycloartanone.

Keywords—*Colysis hemionitidea*; *Microsorium fortunei*; Polypodiaceae; fern; chemotaxonomy; uracil; uridine; coumarin; ¹³C-NMR

タイワンクリハランの成分について

タイワンクリハラン *Colysis hemionitidea* (WALL) PRESL. はイワヒトデ属 *Colysis* の基準種で、葉は薄い紙質で、ソーラスは多数散在し、葉形が横長になるなどの特徴がある。7月に鹿児島県屋久島で採集したタイワンクリハランの乾燥地上部のメタノール抽出液から、化合物 I と II が得られた。

I は分子式 $C_4H_4N_2O_2$ の化合物で、メタノールから再結晶させると mp 306°C の無色針状結晶を与える。I の紫外吸収 (UV) スペクトルは 260 nm に、赤外吸収 (IR) スペクトルは 3100, 1720, 1660 cm^{-1} に極大吸収を示し、¹H 核磁気共鳴 (¹H-NMR) スペクトルでは δ_{DMSO-d_6} 5.40 (1H, d, $J=8$ Hz), 7.32 (1H, d, $J=8$ Hz) にシグナルを示す。これらのスペクトルデータから考えて、I が uracil であることが予想され、標品との比較を行い、uracil であることを確認した。

II はクロロホルム-メタノールから再結晶させると mp 165–166°C, $[\alpha]_D^{25} +4^\circ$ の無色針状結晶を与える。UV, IR スペクトルは I のそれらと類似しているが、IR スペクトルでは 3350, 1140, 1090, 1050 cm^{-1} に水酸基に由来すると思われる吸収が新たにみられる。また、¹H-NMR では、 $\delta_{Pyr.-d_6}$ 5.75 (1H, d, $J=8$ Hz), 8.46 (1H, d, $J=8$ Hz) に I のシグナルに相当するものがみられるほか、6.70 (1H, d, $J=3.5$ Hz) と 4.9–4.1 (5H) に糖の存在を予想させるシグナルがみられた。さらに、マスマスペクトル (MS) で m/z 244 に分子イオンピークがみられたことから、II は、I の配糖体である uridine と予想し、標品との比較により uridine であることを確認した。

タイワンクリハランの成分については、佐々木らによって uracil の存在が報告されているが、²⁾ 今回の研究結果から、この uracil と uridine の含量が非常に高いことが判明した (地上部乾燥重量の 1.6% 及び 1.3%)。これは他のシダにみられない特質であり、注目に値する。

オオクリハランの成分について

オオクリハラン *Microsorium fortunei* (MOORE) CHING の葉は革質で、ソーラスは中軸の両側に一列ずつ着く

傾向が強く、ヌカボシクリハラン属 *Microsorium* の基準種の *M. punctatum* COPEL. に近い。12 月に台湾の桃園県巴陵で採集したオオクリハランの乾燥地上部のメタノール抽出液から uracil (I) と uridine (II) のほかに coumarin 系の化合物 III と fern-9(11)-ene (IV),³⁾ 24-methylenecycloartanyl acetate (V),⁴⁾ 24-methylenecycloartanone (VI)⁴⁾ を単離した。

III はメタノール-水から再結晶させると mp 270—280°C の黄色針状結晶を与え、その溶液は淡黄色の蛍光を発する。分子式は高分解能質量分析の結果から $C_{10}H_6O_6$ と判明した。III の IR (KBr) では 1745, 1620, 1580, 1520 cm^{-1} に coumarin 骨格の存在を予想させる吸収がみられるが、さらに 3420, 3310 cm^{-1} の吸収から水酸基の存在、3300—2700 cm^{-1} の幅広い吸収及び 1680 cm^{-1} の吸収からカルボン酸の存在も予想された。また、III の MS では m/z 222 の分子イオンピークのほかに 178 ($M^+ - CO_2$), 150 (178 - CO), 121 (150 - CO) のフラグメントイオンピークが観測されており、III がカルボキシル基を持った coumarin 系化合物であることを支持している。⁵⁾ 以上の知見と分子式を合せた考察から、III はカルボキシル基と 2 つの水酸基を持った coumarin であると推定した。

III の ^1H -NMR は $\delta_{Pyr.-d_5}$ 6.76, 7.15, 8.60 にそれぞれプロトン 1 コ分の singlet のシグナルを与える。このうち、6.76 と 7.15 のシグナルはベンゼン環プロトンのものと考えられるが、singlet であることから、互いに *p*-位に配置されていることになり、それぞれ 8 位、5 位のプロトンシグナルと推定した。残る 8.60 のシグナルは、3 位又は 4 位のプロトンによるものと考えられるが、シフト値から考えて 4 位のプロトンによるものと考えられる。しかし、通常の coumarin 系化合物の 4 位のプロトンのシフト値と比較して大きく低磁場にシフトしている。⁶⁾ これは 3 位に電子吸引基（この場合はカルボキシル基）が置換していると考え以外に説明がつかない。したがって、III は 3 位にカルボキシル基、6 位と 7 位に水酸基が置換した coumarin、すなわち 3-carboxyesculetin であると推定した。Table I に coumarin, 3-carboxycoumarin, esculetin 及び III の ^{13}C -NMR のデータを示した。3-Carboxycoumarin のシフト値から coumarin のシフト値を引いた値は、coumarin 骨格の各炭素が、3 位のカルボキシル基の導入によりどのような効果を及ぼされたかを示している。この値を esculetin のシフト値に加えたもの（計算値）は III のシフト値とよく一致している。このことも III が 3-carboxyesculetin であることを支持している。そこで III を 305°C で加熱したところ、脱炭酸された化合物が得られたが、これは標品との

TABLE I. ^{13}C -NMR Data

	A Coumarin DMSO- d_6	B 3-Carboxy- coumarin ⁶⁾ DMSO- d_6	C (B - A)	D Esculetin Pyr.- d_5	E (D + C)	F III Pyr.- d_5
C- 2	159.9	157.5	-2.4	161.6	159.2	158.6
C- 3	116.2	118.3	+2.1	112.1	114.2	111.9
C- 4	144.2	148.9	+4.7	114.2	148.9	149.2
C- 5	128.4	130.5	+2.1	113.0	115.1	113.4
C- 6	124.4	125.3	+0.9	144.7	145.6	143.4
C- 7	131.9	134.8	+2.9	152.4	155.3	153.6
C- 8	116.2	116.5	+0.3	103.6	103.9	102.1
C- 9	153.6	154.7	+1.1	149.8	150.9	150.4
C-10	118.8	118.2	-0.6	111.6	111.0	110.1

比較により *esculetin* と同定された。これらのことから **III** を 3-carboxyesculetin であると決定した。3-Carboxyesculetin は合成品としては古くから知られているが、⁷⁾ 植物から得られたのはこれが初めてと思われる。

タイワンクリハランとオオクリハランは、共にウラボシ科 *Polypodiaceae* のシダで、uracil と uridine を高濃度に蓄積する性質を持っているが、これらが同属的であるかどうかは、近縁種の成分の検討の結果に待ちたい。

実験の部

融点は柳本微量融点測定器を用い未補正值である。旋光度は日本分光 DIP-SL 型旋光計、IR スペクトルは日立 215 型赤外分光光度計、UV スペクトルは日立 323 型分光光度計を用いた。¹H-NMR, ¹³C-NMR スペクトルは日本電子 JEOL-FX 100 核磁気共鳴装置を用い、TMS を内部標準とした。MS は日立 M-80 型二重収束 GC 質量分析計を用い直接導入法により測定した。

抽出分離法

タイワンクリハラン 7 月に鹿児島県屋久島で採集したタイワンクリハランの乾燥地上部 820 g をメタノール 4 l で熱時 6 時間の抽出を 3 回行い、抽出エキスを 12 l を得た。これを活性炭カラム (カラム直径 7 cm, カラムクロマト用活性炭 80 g) に通し、カラムは、さらにメタノール 10 l で溶出した。溶出液を減圧下 300 ml まで濃縮すると **I** (9 g) が析出してきたので、これをろ取した。ろ液はさらにシロップ状になるまで濃縮し、シリカゲル 100 g にまぶし、シリカゲルカラム (カラム直径 7 cm, シリカゲル 150 g) の上にのせた後、クロロホルム-メタノールの溶媒系でカラムクロマトグラフィーを行い、**I** (4 g) と **II** (11 g) を得た。

オオクリハラン 12 月に台湾の桃園県巴陵で採集したオオクリハランの乾燥地上部 1.1 kg をメタノール 3 l で、熱時 6 時間の抽出を 3 回行い、抽出エキスを 9 l を得た。これを活性炭のカラム (カラム直径 6 cm, カラムクロマト用活性炭 110 g) に通し、さらにメタノール 12 l, 30% クロロホルム-メタノール混液 16 l を流した。メタノール溶出部は、減圧下 300 ml まで濃縮し、水 900 ml を加え、クロロホルム 1 l で 2 回、*n*-ブタノール 600 ml で 3 回振り分けを行った。*n*-ブタノール抽出液を減圧下濃縮乾固し、残渣を droplet counter current chromatography (溶媒系、クロロホルム: メタノール: 水=4: 4: 3) にかき、**I** (500 mg), **II** (1.2 g) 及び **III** (21 mg) を得た。上記活性炭カラムクロマトグラフィーの 30% クロロホルム-メタノール混液溶出部は、減圧下濃縮乾固し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶媒系、*n*-ヘキサン-クロロホルム) にかき、fern-9 (11)-ene (370 mg), 24-methylenecycloartanyl acetate (17 mg), 24-methylenecycloartanone (24 mg) を得た。

I (=Uracil) メタノールより再結晶して mp 306°C の無色針状晶を得る。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$: 260 nm ($\log \epsilon$ 3.96), IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3100, 1720, 1660, 1420, 1390, 1240. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ : 5.40 (1H, d, *J*=8 Hz), 7.32 (1H, d, *J*=8 Hz). MS *m/z*: 112.0281 (M⁺, Calcd C₄H₄N₂O₂: 112.0273), 69, 43. 標品の IR, ¹H-NMR データとの比較及び、TLC, 混融試験により同定した。

II (=Uridine) クロロホルム-メタノールより再結晶して mp 165—166°C, $[\alpha]_D^{20} +4.4^\circ$ (*c*=2.5, H₂O) の無色針状晶を与える。UV $\lambda_{\max}^{\text{H}_2\text{O}}$: 263 nm ($\log \epsilon$ 4.01). IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3350, 3100, 2920, 1670, 1470, 1420, 1270, 1140, 1090, 1050. ¹H-NMR (Pyr.-*d*₅) δ : 4.1—4.9 (5H), 6.70 (1H, d, *J*=3.5 Hz), 5.75 (1H, d, *J*=8 Hz), 8.46 (1H, d, *J*=8 Hz). 標品の IR, ¹H-NMR データとの比較及び薄層クロマトグラフィー (TLC), 混融試験により同定した。

III (=3-Carboxyesculetin) メタノール-水から再結晶して mp 270—280°C の黄色針状晶を与える。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm ($\log \epsilon$): 239 (4.00), 267 (3.74), 313 (3.81), 380 (4.41), 444 (3.60). IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3420, 3310, 1745, 1680, 1620, 1580, 1520, 1475, 1435, 890, 870. ¹H-NMR (Pyr.-*d*₅) δ : 6.76 (1H, s), 7.15 (1H, s), 8.60 (1H, s). MS *m/z*: 222.0153 (M⁺, Calcd C₁₀H₆O₆: 222.0164, 178, 150, 122, 121).

III の脱炭酸反応 10 mg の **III** を融点測定用のガラス管 (外径約 2 mm) 5 本に分注し、305°C に熱した鉄粉浴に 1 分間挿入する。冷後ガラス管を碎き、内容物をメタノールで抽出する。得られた反応物をシリカゲルの preparative TLC (溶媒系、クロロホルム: メタノール=10: 1) にかき、2 mg の *esculetin* を得る。

Esculetin メタノールより再結晶して淡黄色針状晶を得る。mp 275—277°C. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3200, 1670, 1620, 1570, 1405, 1285, 1150. UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm ($\log \epsilon$): 229 (4.26), 258 (3.83), 300 (3.87), 350 (4.18). ¹H-NMR (Pyr.-*d*₅) δ : 6.24 (1H, d, *J*=9 Hz), 7.10 (1H, s), 7.23 (1H, s), 7.64 (1H, d, *J*=9 Hz). 標品の IR, ¹H-NMR データとの比較及び TLC, 混融試験により同定した。

Fern-9 (11)-ene mp 169—170°C, $[\alpha]_D^{20} -22^\circ$ (*c*=1.0, CHCl₃). IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2960, 2940, 2880, 2860, 1480, 1470, 1390, 1380, 1650, 820. ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 0.74 (3H, s), 0.76 (3H, s), 0.83 (3H, d, *J*=7 Hz), 0.84 (3H, s), 0.85 (3H, s), 0.89 (3H, d, *J*=7 Hz), 1.05 (3H, s), 5.27 (1H, m). ¹³C-NMR (CDCl₃) δ : 151.5 (s).

115.5 (d), 59.6 (d), 52.0 (d), 44.8 (d), 42.9 (s), 42.4 (t), 41.5 (t), 40.0 (d), 38.0 (s), 37.7 (s), 36.7 (s), 36.7 (t), 36.2 (t), 33.6 (s), 32.8 (d), 30.7 (q), 29.3 (t), 28.2 (t), 25.0 (q), 23.0 (q), 22.1 (q), 21.7 (q), 20.1 (t), 19.5 (t), 19.5 (t), 17.9 (t), 15.8 (q), 15.4 (q), 14.0 (q). MS m/z : 410, 395, 257, 243, 231.

24-Methylenecycloartanyl Acetate メタノール-クロロホルムより再結晶して mp 118—120°C, $[\alpha]_D^{20} +31^\circ$ ($c=0.6$, CHCl_3) の無色針状晶を与える. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3050, 2940, 2870, 1735, 1650, 1460, 1445, 1375, 1260, 1030, 1000, 890. ^{13}C -NMR (CDCl_3) δ : 31.6 (C-1), 26.6 (C-2), 80.6 (C-3), 39.5 (C-4), 47.3 (C-5), 21.0 (C-6), 28.1 (C-7), 47.9 (C-8), 20.2 (C-9), 26.0 (C-10), 25.9 (C-11), 35.6 (C-12), 45.3 (C-13), 48.8 (C-14), 32.9 (C-15), 26.6 (C-16), 52.3 (C-17), 17.9 (C-18), 29.8 (C-19), 36.1 (C-20), 18.4 (C-21), 35.0 (C-22), 31.4 (C-23), 156.6 (C-24), 34.0 (C-25), 21.7 (C-26), 21.9 (C-27), 19.3 (C-28), 25.5 (C-29), 15.2 (C-30), 106.0 (C-31), 170.7 ($\text{CH}_3\text{-CO-}$), 21.3 ($\text{CH}_3\text{-CO-}$). MS m/z : 482, 422, 407, 357, 300, 297, 203, 182, 175, 123, 122.

24-Methylenecycloartanone メタノール-クロロホルムより再結晶して, mp 110—112°C, $[\alpha]_D^{20} +11^\circ$ ($c=0.8$, CHCl_3) の無色針状晶を与える. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3075, 2940, 2860, 1715, 1645, 1470, 1450, 1380, 1115, 1010, 885. ^{13}C -NMR (CDCl_3) δ : 33.4 (C-1), 37.5 (C-2), 216.3 (C-3), 50.2 (C-4), 48.4 (C-5), 21.5 (C-6), 28.1 (C-7), 47.9 (C-8), 21.1 (C-9), 25.9 (C-10), 25.9 (C-11), 35.6 (C-12), 45.3 (C-13), 48.7 (C-14), 32.8 (C-15), 26.8 (C-16), 52.3 (C-17), 18.1 (C-18), 29.6 (C-19), 36.1 (C-20), 18.3 (C-21), 35.0 (C-22), 31.3 (C-23), 156.7 (C-24), 33.9 (C-25), 21.5 (C-26), 21.5 (C-27), 19.3 (C-28), 26.0 (C-29), 20.8 (C-30), 106.0 (C-31). MS m/z : 438, 424, 423, 409, 355, 313, 300, 205, 175, 138.

謝辞 本研究に際し, 実験に協力いただいた当時の卒研 児島利典, 甲田浩子, 石井佳子, 塚田朋子の諸氏に感謝する.

引用文献及び注

- 1) 第56報: 村上孝夫, 和田浩志, 田中信壽, 倉石忠幸, 齋木保久, 陳秋明, 薬誌, **105**, 649 (1985).
- 2) 佐々木慎一, 姜安哲, 幅口一夫, 山田泰司, 中西香爾, 松枝澄, 許鴻源, 吳武男, 薬誌, **86**, 869 (1966).
- 3) H. Ageta, K. Iwata, S. Natori, *Tetrahedron Lett.*, **1963**, 1447; H. Ageta, Y. Arai, *Phytochemistry*, **22**, 1801 (1983).
- 4) F. Khuong-Huu, M. Sangare, V. M. Chari, A. Bekaert, M. Devys, M. Barbier, G. Lukacs, *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 1787; W. Cocker, T. B. H. McMurry, M. S. Ntamila, *J. Chem. Soc.*, **1965**, 1692; 田中靖子, 東原公子, 寺沢京子, 沢田三和子, 上田博之, 生薬, **32**, 260 (1978).
- 5) S. E. Dremes, "Progress in Mass Spectrometry," Vol. 2, ed. by H. Budzikiewicz, Verlag Chemie, Weinheim, 1974, p. 19.
- 6) Esculetin は ^1H -NMR (Pyr.-d_6) で 6.24 (1H, d, $J=9$ Hz, 3-H), 7.10 (1H, s, 8-H), 7.23 (1H, s, 5-H), 7.64 (1H, d, $J=9$ Hz, 4-H) にシグナルを示す.
- 7) F. Bohlmann, H. Kritzler, *Chem. Ber.*, **90**, 1512 (1957).
- 8) C.-J. Chang, H. G. Floss, *J. Org. Chem.*, **42**, 1337 (1977).