UDC 547. 991 : 582. 949. 2

226. 池田鉄太郎, 金友昭一 : クロバナヒキオコシ成分の研究 (第1報)

Tetsutaro Ikeda and Shoichi Kanatomo : Study of Bitter principles of *Isodon trichocarpus*. I.

(Pharmaceutical Faculty, University of Kanazawa*)

Two kinds of bitter principle were isolated from the dried leaves of *Isodon trichocarpus* (MAXIM.) KUDO. The one of m.p. 297~299°(decomp.), $C_{20}H_{26(28)}O_6$, was named enmein (I), and the other melted at 263~265° with decomposition. (I) forms a dihydro compound (II) and a diacetate (III), suggesting the presence of at least one double bond and two hydroxyls, one of which was found to be secondary by chromium trioxide oxidation of (I). Saponification of (III) with oxalic acid afforded monoacetylenmein (IV) while saponification of (III) with hydrochloric acid and ethanol afforded (V), $C_{20}H_{26(28)}O_6 \cdot C_2H_5OH$. The presence of at least one lactone was presumed from the result of saponification of (I) with ethanol and potassium hydroxide.

(Received March 25, 1958)

ヒキオコシ *Isodon japonicus* (BURM.) HARA はシソ科 Labiatae に属する多年生の草本で, 別名延命草とも呼ばれ古来我が国では苦味健胃薬として賞用されてきたものである。

今回著者らは金沢市近郊の山間部にかなり豊富にみられる同属のクロバナヒキオコシ *Isodon trichocarpus* (MAXIM.) KUDO を原植物に選びその苦味成分の探索及びその化学構造の究明を目的として本研究に着手した。本報では2種の苦味成分の抽出単離とその化学的性質の若干について検討した。

ヒキオコシに関する化学的研究は今迄少なく、八木¹⁾はヒキオコシの茎葉をエタノール抽出して mp 220~226° (decomp), $[\alpha]_D^{20} : -6.9^\circ$ (0.5%, $CHCl_3$), 組成式 $C_{25}H_{34}O_8$ をもつ結晶性苦味質をとり出し、このものを plectranthine と命名した。また田辺、西川²⁾はヒキオコシの全草をエタノール抽出し分析値 C 66.49, H 7.40 を示す mp 306~308° の配糖体らしき結晶性物質を得たと報告している。更に高橋、藤多³⁾は同じくヒキオコシ葉をエタノール抽出或いはエーテル抽出して (A) mp 310° (decomp), $C_{26}H_{34}O_6$, (B) mp 245° (decomp), $C_{25}H_{34}O_8$, (C) mp 231° (decomp), $C_{25}H_{36}O_8$ の3物質を捕捉したと発表した。

著者等は高橋、藤多等と偶然に時を同じくして 1955 年の夏から秋にかけ石川県の鶴来後高山附近で採集したクロバナヒキオコシの乾燥葉から Fig. 1 に示した如く処理して mp 297~299° (decomp), mp 263~265° (decomp) を示す2種の結晶性苦味成分を抽出単離した。即ち乾燥葉を水で温浸して得た水浸液に吸着炭を加えて苦味成分を吸着させ、次にこれをメタノールで抽出する事により収率 0.75% で前者の粗結晶が得られ、このものを 60% エタノールから再結精製して mp 297~299° (decomp) の無色短柱状晶を得た。本物質は従来の文献記載の物質と比較検討の結果全く別個の苦味成分と認められたので、著者等は本物質に対し延命草に因んで enmein と命名した⁴⁾。次に enmein を除去した水溶液を実験の部記載の如く処理して mp 263~265° (decomp) の無色針状晶を得た。本物質は強い苦味を有し分析値 C 65.15, H 7.60 を与え八木¹⁾の得た plectranthine $C_{25}H_{34}O_8$ の組成とよく一致するが、著者等は火災で試料を喪失したため未だその分子量の測定を行っていないから果してこの分子式を有するか否かは不明である。また融点から見て両者は同一物とは考えられない。また高橋、藤多³⁾の得た (B) 物質 mp 245° (decomp) との比較検討は今後にまきたい。

enmein (I) は元素分析及び氷点降下法による分子量測定の結果その分子式は $C_{20}H_{26(28)}O_6$ に一致し、また $[\alpha]_D^{10} : -131.1^\circ$ (AcOH) である。一般に各種溶媒に対して難溶であるが特に水、エーテル、ベンゼン、石油

* Tsuchitoribanaga-machi, Kanazawa.

1) 八木 : 京都医学雑誌 7, 30 (1910).

2) 田辺, 西川 : 日本細菌学雑誌 9, 475 (1954).

3) 高橋, 藤多 : 第 76 回日本薬学会総会発表 (1956).

4) 池田, 金友 : 日本薬学会北陸支部第 2 回例会発表 (1956).

Fig. 1.

エーテルには極めて難溶で、酢酸エステル、クロロホルムには難溶、エタノール、含水エタノールには熱時可溶、特に 60% エタノールは再結溶媒として適當である。氷酢、ジオキサン、ピリジンには可溶である。メトキシ基、

アセチル基はなく、荒田、板谷等⁵⁾のセミマイクロ C-CH₃ 基定量法によつて C-CH₃ 基 1 個を検出した。また塩化第二鉄反応、Liebermann 反応はなく、Fehling 試薬を還元しない。濃硫酸と濃硝酸の混液で呈色せず、Legal 反応は陽性でまたアセトン中過マンガン酸カリを直ちに脱色するが氷酢酸溶液でブロムは脱色しない。重曹に不溶で熱時 10% 苛性ソーダには徐々にとけ、これを酸性にしても原物質を回収しない。また *N* KOH-EtOH にとかし放置すると 1 mol の KOH を消費する。この事実から少なくとも 1 個のラク톤の存在を推定出来る。紫外外部吸収スペクトルには恐らく共軛二重結合或いはカルボニル基と共軛した二重結合によると思われる $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 232.5 m μ (ϵ 7,100) の吸収と 276 m μ (ϵ 400), 300 m μ (ϵ 310) に小さな inflection が現われている (Fig. 2)。また赤外部吸収スペクトルでは 2.89 μ に OH, 5.725 及び 5.88 μ にカルボニルの吸収, 6.07, 10.58, 10.66 μ にそれぞれ二重結合の吸収が認められる (Fig. 3)。

Fig. 2. Ultraviolet Absorption Spectra
(in EtOH)

- (1) Enmein
- (2) Dihydroenmein
- (3) Diacetylenmein

Fig. 3. Infrared Absorption Spectra (in Nujol)

パラジウム炭を触媒として (I) を接触還元すると 1 mol の水素を吸収して mp 274~275° (decomp) の dihydroenmein (II) を得た故二重結合は少なくとも 1 個存在する。(II) は Legal 反応陽性で、(I) の紫外外部吸収スペクトルで見られた 232.5 m μ の吸収はもはや消失し 295 m μ (ϵ 80) にのみ吸収極大がある。また (II) の C-CH₃ 基を測定すると C-CH₃ 基 2 個の値を示し、この事実は (I) に >C=CH₂ の存在を推定出来る。

(I) を無水酢酸と濃硫酸或いは無水酢酸と塩化亜鉛でアセチル化すると mp 220~222° (decomp) の diacetylenmein (III) を与え、(III) をメタノール中 KHCO₃ で処理するか或いは修酸の水溶液と加熱すると 1 個のアセチル基だけが鹼化されて mp 258~260° (decomp) の monoacetylenmein (IV) となり、また (III) をエタノー

5) 荒田、板谷、安田：金沢大学薬学部研究年報 7, 67 (1957)。

ル性塩酸で鹼化すると (I) に戻らずに mp 97~99° (decomp) の (V) が得られた. (V) は分析の結果組成式 $C_{20}H_{26(28)}O_6 \cdot C_2H_5OH$ に一致し Legal 反応陽性である.

(I) が diacetate を作る事から少なくとも 2 個の水酸基の存在が考えられ更に (I) を常温でクロム酸酸化して得た mp 219~221° (decomp) の物質 (VI) に 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを反応させると, mp 242~243° (decomp) のモノ-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンが得られるので 2 個の水酸基の中 1 個は $>CH-OH$ である. また (I) は四酢酸鉛と反応しないから vicinal OH の可能性はない.

(I) の赤外部吸収スペクトルからケトンの存在が予想されるが, 塩酸ヒドロキシルアミンと酢酸ソーダまたはピリジン, 塩酸セミカルバジドと酢酸ソーダ, *p*-ニトロフェニルヒドラジン或いは 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン等の試薬とは反応せず, 化学的なケトンの証明は現在のところ出来ていない.

終りに臨み御校閲を賜った京都大学富田真雄教授に深謝し, 又本研究の機会を与えられ且つ植物の鑑定, 採集等に多大の御厚意, 御援助をいただいた当学部木村久吉助教授並びに有力なる助言を寄せられた小菅卓夫助教授に厚く御礼申上げる. 尚赤外部吸収スペクトルの測定にあられた塩野義製薬株式会社松井芳樹, 成定昌幸の両氏, 元素分析をお願いした当学部板谷芳京氏及び塩野義分析室の諸氏, $C-CH_3$ 基の測定をして戴いた安田久子氏に感謝する. 又実験に協力して頂いた浅野, 長瀬, 高, 西川, 菊井, 日置, 池田, 小池, 上田, 蓮川, 新田の諸氏及び原料の採集に御援助いただいた小藤氏其他の諸氏に深謝する.

実験の部

Enmein (I) 及び mp 263~265° (decomp) 体の抽出分離 クロバナヒキオコシの乾燥葉 (少量の細茎を含む) 2.0 kg を水で 3 回温浸し水浸液にそれぞれ吸着炭を加えて苦味成分を吸着させ, 炭末を集めて MeOH 抽出し溶媒を留去, 粗結晶 12.5 g を得. この濾液を $CHCl_3$ で振り更に 2.57 g の粗結晶を得. 収率 0.75%, 60% EtOH から再結を反覆し無色短柱状晶, mp 297~299° (decomp) (enmein).

(I) を $CHCl_3$ で除去した水溶液に次酢酸鉛液を加えて生ずる沈澱を濾別し, 濾液に H_2S を通じて脱鉛し濾液を水浴上で濃縮. 得た強苦味の褐色シロップを AcOEt で連続抽出. AcOEt を留去後残った鉛状物に水を加え少量の不溶物を濾去. 水溶液を Et_2O で連続抽出. Et_2O 留去. 鉛状物残留. これを少量の EtOH で結晶化させ粗結晶 83 mg を得. EtOH から再結, mp 263~265° (decomp), 無色針状晶. $C_{25}H_{34}O_8$ 計算値 C 64.92, H 7.16, 実験値 C 65.15, H 7.60.

Enmein (I) の恒数及び性質 $[\alpha]_D^{10}$: -131.1° ($c=1.136$, AcOH). $C_{20}H_{26}O_6$ 計算値 C 66.28, H 7.23, 分子量 362.4, $C_{20}H_{28}O_6$ 計算値 C 65.91, H 7.74, 分子量 364.4, 実験値 C 66.19, 66.11, 66.06, H 7.66, 7.33, 7.51, 分子量 366.4 (氷酢溶媒, 氷点降下法). $C-CH_3$ 基の測定で AcOH 0.985 mol, 0.924 mol を検出. Legal 反応は濃赤褐色. Me_2CO 中 $KMnO_4$ を直ちに脱色. 飽和 $NaHCO_3$ 水に不溶, 熱時 10% NaOH に徐々に溶解し後酸性として常法処理を行うも原物質を回収出来ず. 冷時 $Pb[(AcO)_4]$ と反応せず. U.V. λ_{max}^{EtOH} 232.5, 276 (shoulder), 300 $m\mu$ (ϵ 7, 100, 400, 310) (Fig. 2). I.R. λ_{max}^{Nujol} 2.89 (OH), 5.725 (γ - or δ -lactone と推定), 5.88 (ketone?), 6.07, 10.58, 10.66 μ ($>C=CH_2$) (Fig. 3).

Dihydroenmein (II) (I) 0.6225 g を EtOH 200 cc に溶解し 10% Pd-C 1.0 g を加えて接触還元を行う. 最初急速に H_2 を吸収し約 10 分間で殆んど吸収しなくなるがなお 1 時間振盪. H_2 42.1 cc 吸収. 後 Pd-C を濾別し濾液を留去. 残渣を希 EtOH から再結. 無色巾のある針状晶 mp 274~275° (decomp). $C_{20}H_{28}O_6$ 計算値 C 65.91, H 7.74. $C_{20}H_{30}O_6$ 計算値 C 65.55, H 8.25, 実験値 C 65.55, H 8.25. U.V. λ_{max}^{EtOH} 295 $m\mu$.

(ϵ 80) (Fig. 2). I.R. $\lambda_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 2.9 (OH), 5.70 (γ - or δ -lactone と推定), 5.85 μ (ketone?) (Fig. 3). C—CH₃ の定量で AcOH 1.987 mol を検出。Legal 反応は濃赤褐色を呈す。

(I) の KOH-EtOH による鹼化 a) 冷時の場合: (I) 1.0051 g を N KOH-EtOH 30 cc に溶解, 一方空試験として N KOH-EtOH 30 cc をとりそれぞれを室温 24 時間放置後, 各 5 cc 宛を取りフェノールフタレインを指示薬として N HCl で滴定。所要 N HCl 0.48 cc。C₂₀H₂₆(28)O₆ としてアルカリ 1.04 mol 消費に相当。b) 熱時の場合: (I) 1.0522 g を N KOH-EtOH 30 cc に溶解し空試験の N KOH-EtOH 30 cc と共に水浴上で 6 時間還流。冷後 N HCl で滴定。所要 N HCl 5.26 cc。C₂₀H₂₆(28)O₆ としてアルカリ 1.79 mol 消費に相当。

Diacetylenmein (III) (I) 10 g に無水 ZnCl₂ 6.0 g, Ac₂O 80 cc を加え振盪すると発熱して溶解。後 80° の水浴で 1 時間加熱。冷後水中に注入し析出せる結晶を吸濾水洗。収量定量的。EtOH から再結, 無色鱗片状晶, mp 220~222° (decomp)。C₂₄H₃₀O₈ 計算値 C 64.56, H 6.77, COCH₃ 19.3, C₂₄H₃₂O₈ 計算値 C 64.27, H 7.19, COCH₃ 19.2, 実験値 C 64.28, H 7.09, COCH₃ 19.77。U.V. $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 233, 315 m μ (shoulder) (ϵ 5,500, 50)。I.R. $\lambda_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 5.72, 5.76, 10.49, 10.60 μ 。

Monoacetylenmein (IV) a) (III) 200 mg を MeOH 80 cc に溶解し KHCO₃ 200 mg と水 12 cc の溶液を加え室温 14 日間放置後 2% AcOH で中和, 溶媒を減圧留去, 析出せる結晶を吸濾水洗。収量 100 mg。60% EtOH から 2 回再結し無色稜柱状晶, mp 258~260° (decomp)。Legal 反応濃赤褐色。C₂₂H₂₈O₇ 計算値 C 65.33, H 6.98, C₂₂H₃₀O₇ 計算値 C 65.01, H 7.44, 実験値 C 65.37, H 6.77。b) (III) 100 mg, 結晶修酸 30 mg, 水 10 cc の混合物を沸騰水浴上で 4 時間加熱。冷後結晶を吸濾水洗。収量 70 mg。希 EtOH から再結, 無色稜柱晶 mp 258~260° (decomp)。Legal 反応濃赤褐色。C₂₂H₂₈O₇ 計算値 C 65.33, H 6.98, COCH₃ 10.65。C₂₂H₃₀O₇ 計算値 C 65.01, H 7.44, COCH₃ 10.60, 実験値 C 65.20, H 6.93, COCH₃ 10.03。

(III) の HCl-EtOH による鹼化 (III) 1.5 g に 2% HCl 25 cc, EtOH 120 cc を加え水浴上で 0.5 時間加熱還流。後減圧で溶媒を留去。残渣をベンゼンに溶解し径 1 cm, 長さ 10 cm の活性アルミナを用いクロマトグラフィーを行う。流出液各 20 cc 宛を 11 区分に分取しそれぞれ溶媒を留去し残った無色飴状物を EtOH で結晶化する。No. 1 (0.0 mg), No. 2 (2 mg), No. 3 (14 mg), No. 4 (497 mg), No. 5 (101 mg), No. 6 (45 mg), No. 7 (30 mg), No. 8 (21 mg), No. 9 (15 mg), No. 10 (8.5 mg), No. 11 (7 mg)。No. 4~No. 8 の部分を集め EtOH から再結。無色プリズム晶, mp 97~99° (decomp) (V)。C₂₀H₂₆O₆·C₂H₅OH 計算値 C 64.68, H 7.90, C₂₀H₂₈O₆·C₂H₅OH 計算値 C 64.37, H 8.35, 実験値 C 65.02, 65.02, 65.16, H 8.06, 8.24, 8.11。

(I) の CrO₃ 酸化 (I) 2.0 g を氷酢 200 cc に加温溶解し冷後 CrO₃ 1.1 g を水 4 cc, 氷酢 40 cc にとかした溶液を加え室温 24 時間放置。過剰の CrO₃ を MeOH でこらし溶媒を減圧留去。残渣に水を加え析出沈澱を吸濾水洗。収量 1.7 g。これを Me₂CO に溶かし径 1 cm, 長さ 5 cm の活性アルミナ層を通す。流出液を濃縮し析出せる微細な無色結晶を集め Me₂CO から再結を反覆し mp 219~221° (decomp) の無色柱状晶を得。C₂₀H₂₂O₆ 計算値 C 67.02, H 6.19, C₂₀H₂₄O₆ 計算値 C 66.65, H 6.71, 実験値 C 66.99, H 6.97。2,4-dinitrophenylhydrazones: 橙黄色プリズム状晶 (AcOEt), mp 242~243° (decomp), C₂₆H₂₆O₉N₄ 計算値 N 10.41, C₂₆H₂₈O₉N₄ 計算値 N 10.37, 実験値 N 9.68。

(I) と Pb(AcO)₄ との反応 (I) 0.162 g を氷酢 40 cc に溶解し ca 0.1 N Pb (AcO)₄ 20 cc を加え, 空試験と対称して室温 20 時間放置。後それぞれに 20 cc の KI 溶液 (KI 5 g, AcONa 125 g を水 250 cc 中に含むもの) を加え析出した I₂ を 0.1 N Na₂S₂O₃ で滴定。滴定値 45.0 cc, 盲検値 45.0 cc。

金沢大学薬学部