UDC 547.94 : 582.572.2

130. 鈴木 稔, 村瀬安弘, 林 了三, 三瓶信良: 日本産 *Veratrum* 属植物の成分
研究 (第3報) こばいけい草の成分

Minoru Suzuki, Yasuhiro Murase, Ryoza Hayashi, and Nobuyoshi Sanpei:

Studies on the Constituent of Domestic *Veratrum* Plants. III.

Constituent of *Veratrum album* *Staminium* MAXIM.

(Takamine Research Laboratory, Sankyo Co., Ltd.**)

Effective principle of domestic *Veratrum* plants was examined and angeloylzygadenine was isolated as the chief component from *Veratrum album* *Staminium* MAXIM. growing in Nagano Prefecture.

(Received October 30, 1958)

清水, 鈴木は第1報¹⁾において日本産 *Veratrum* 属植物の中北海道産えぞばいけい草の有効成分および副塩基について報告し, また清水, 林は第2報²⁾においては長野産ばいけい草の有効成分について報告した. 今回は長野産こばいけい草の成分について報告する.

本植物もまた前2者と同じく多年草木で本邦北部高山地帯に自生し, 現在は農薬用殺虫剤としてのみ用いられている. こばいけい草の成分に関しては尾瀬沼産のものについて塚本, 岸本³⁾により jervine および veratramine が分離されているのみである.

著者等の使用したこばいけい草 *Veratrum album staminium* MAXIM. は 1956 年 8 月長野県戸隠地方で採集したものである. その主成分として著者等は angeloylzygadenine (A 塩基) アセトンより柱状晶, mp 222~224°, [α] -35° (c=1.00, CHCl₃) を得た. このほかに副塩基として B 塩基, mp 231~233° と C 塩基, mp 251~253° および D 塩基, mp 241~244° を得た.

著者等はこれらの塩基を分離するに当りアンモニア水加ベンゼン抽出後文献⁴⁾に示す方法でまず非結晶性粗塩基を製した.

こばいけい草から結晶成分の分離 二級アミン類を非結晶性粗塩基より除いて得た残りの粉末状粗塩基を, 一旦同容のアセトンに溶かして後冷処に数日間放置すると, 約 1/4 量の白色沈殿を沝取することが出来る. これをアセトンから再結晶して A 塩基, mp 222~224° を得る. 上記粉末状粗塩基から, クロマトグラフィー精製法にても本結晶を得る. またアセトン沝液からはクロマトグラフィーと再結晶により B 塩基, mp 231.5~233°; C 塩基, mp 251.5~253°; D 塩基, mp 241~243° をそれぞれ得た. この A 塩基, mp 222~224° は, こばいけい草の主成分であつて赤外部吸収スペクトルは, α, β -unsaturated carboxylic acid ester (5.88, 6.04 μ) の存在を示し, cevadine (cevine の angelic acid ester) の赤外部吸収スペクトルに類似している.

A 塩基を還元するとそのジヒドロ体, mp 201~203° が得られ, その赤外部吸収スペクトルは明らかに二重結合の消失を示し, ester の carbonyl group の吸収が 0.5 μ 位短波長に動く. この事実から A 塩基は carbonyl group に共軛した二重結合を持つことが推定される. A 塩基を過剰の無水酢酸およびピリジンで処理すると diacetate mp 167~169° および monoacetate mp 243.5° が得られるが, triacetate は殆んど出来ない. つぎに A 塩基をメタノール性苛性ソーダで加水分解すると, ケトン基を有する非結晶粗塩基 (II) と angelic acid, mp 43~45° を得るが, ナトリウムアルコキサイドで加熱加水分解すると結晶性塩基, mp 169.5~170.5° および tiglic acid, mp 66° に分かれる. この結晶性塩基, mp 169.5~170.5° は混融試験とその赤外部吸収スペクトルの比較から, veratroylzygadenine の加水分解により得られる pseudozygadenine (III), mp 168° に一致した. また (II) はナトリウムエトキサイドで (III) になるから isozygadenine である. 故にこばいけい草の有効成分 A 塩基は angeloylzygadenine (I)*¹ である. 天然のステリン系化合物の3位の -OH は β 配位であると知ら

* 本論文の速報: 本誌 77, 1050(1957).

** 1-888 Nishishinagawa, Shinagawa-ku, Tokyo.

1) 清水, 鈴木: 本誌 79, 609(1959).

2) 清水: 本誌 79, 615(1959).

3) 塚本, 岸本: 本誌 74, 729(1954).

4) W. A. Jacobs, L. C. Craig: J. Biol. Chem. 160, 555(1945).

*¹ angeloylzygadenine は文献未記載の新規物質である.

れているので, zygadenine の場合も 3 位の $-OH$ は β 配位をとり, ψ -zygadenine となると α 配位をとるものとする。

3 位の $-OH$ に angelic acid がエステル結合をしているのであろうということは数多の steroid の例から類推されるのではあるが, 一応アセチル化, アセトン化, 酸化等の諸反応を行ない実験証明を行なった。

i) まず A 塩基 (I) を少量の濃塩酸と過剰の無水アセトンで処理してアセトン体 (IV) を作った。zygadenine 誘導体でアセトン化の可能性のある位置は C_{14} , C_{15} の水酸基である。実験の結果は monoacetone 体を与える。このことは (I) (zygadenine ester) の 14, 15 位の水酸基が遊離していることを示している。

ii) つぎに A 塩基自体 (I) を過沃素酸で酸化すると 2 mol を消費する。かつその酸化成績体の赤外部吸収スペクトルは五員環ケトンの吸収 5.75μ を示す。しかるにアセトン体 (IV) は過沃素酸で処理しても変化しない。すなわち acetone 体には遊離の α -glycol (3, 4 位) は存在しない。

また原料 I を過剰の無水酢酸と熱時アセチル化を行なうに triacetate を与えず, mono および diacetate を得るのみである。さてこの条件下アセチル化可能の水酸基は 3, 15, 16 位である (4-OH は acetyl 化されぬ)。したがってこれ等 3 者の中 1 個の水酸基が angeloyl ester となつていと推定される。

しかるに 15 位は i) の事実から, また 16 位は ii) の事実から両者の OH は遊離していることが明らかである。したがって 3-OH に angeloyl 基が存在すると断定される。さらに以上の推論はつぎの事実によつて確定される。angeloylzygadenine acetone (IV) をアセチル化すると, 一旦 (IV)-diacetate となり, これはメタノリシスによつて (IV)-monoacetate となる (すなわち 4, 15, 16 および 20 位の水酸基は遊離である)。

したがって A 塩基には (I) 式, 過沃素酸々化成績体には (VII) 式, アセトン体には (IV) 式, その diacetate は (V) 式の構造を与えることが妥当である。

以上長野産こばいけい草の有効成分並びに副塩基の分離について研究した結果その主有効成分はえぞばいけい草並びに長野産こばいけい草の場合と同様 zygadenine の骨核を有することが明らかになった。すなわち angeloyl-zygadenine でありこれは新規物質である。

終りに臨み御指導を賜つた津田教授と, 発表の機会を与えられた松居研究部長に深謝する。また熱心に協力された赤外分析室の進藤, 甘粕, 樋口の諸氏, および微量分析室の小野江, 古河, 大塚の諸氏に御礼申し上げる。なお粗塩基抽出を御願した品川工場第六課長の古谷氏, こばいけい草の採集に尽力された長野市の飯島清治氏に深謝する。

実 験 の 部

i) **Total amorphous base の無水酢酸処理** 180 g の total amorphous base を 1.8 L の無水 MeOH にとかし, 周囲を水で冷し, 内温 $26 \sim 27^\circ$ にしながら 80 cc の Ac_2O を加える。室温に 4 時間放置後, 浴温 50° で減圧下に溶媒を除去し, 真空で乾燥し, 1.4 L の $CHCl_3$ を加えて溶解せしめ, 5% 酒石酸で抽出。ほぼ 8 L の酒石酸溶液を用う。この酒石酸抽出液を 4 等分し, 4 回に分けてつぎの操作を行なう。ほぼ 2 L の酒石酸抽出液に 1 L の $CHCl_3$ を混じ, 氷浴で 5° に冷却し, $5 \sim 10^\circ$ で始め 20% NaOH 溶液を用いて pH 7.0 とし, ついで 20% Na_2CO_3 溶液で pH 9.5 とする。水層と有機層を分け, 水層をさらに $CHCl_3$ で抽出。4 回のくり返しに用いた $CHCl_3$ はほぼ 6 L $CHCl_3$ 抽出液を水洗, Na_2SO_4 で乾燥し, 浴温 50° で減圧濃縮乾固する。残渣は三級アミンで収量は 160 g。

酒石酸抽出後の $CHCl_3$ を水洗乾燥濃縮乾固すると二級アミンの acetate 15 g が残る。

ii) **Amorphous tertiary amines より結晶の分離** a) Me_2CO による粗製の (IV) の析出 95 g の amorphous tertiary amines を Me_2CO 90 cc にとかして冷蔵庫中に 3 日間放置すると, 23 g の mp $202 \sim 207^\circ$ (decomp) の白色沈殿を生ずる。 Me_2CO より再結晶すると, 次のべる (IV) の結晶 mp $222 \sim 224^\circ$ (decomp) を 15 g 得。

b) クロマトグラフィーによる三級アミンの分離 粗製の (IV) を除いた Me_2CO 溶液を減圧にて浴温 50° で濃縮, 乾固してベンゼン 200 cc $\times$ 2 に溶解せしめ, H_2SO_4 にて処理した Brockmann のアルミナ (4N H_2SO_4 を加えて洗浄液の pH 4.0 とし, 後 $145 \sim 155^\circ$ で 48 時間加熱活性化したもの) 2 kg $\times$ 2 を径 7.0 cm の管二本につめてクロマトグラフィーを行なった。つぎに展開溶媒, 融点, 得量を記す。

展開溶媒	$C_6H_6 + 1\% CH_3OH$	$C_6H_6 + 1\% CH_3OH$	$C_6H_6 + 2\% CH_3OH$	$C_6H_6 + 4 \sim 30\% CH_3OH$
溶出内容総量	9.8 g $\times$ 2	7.8 g $\times$ 2	4.8 g $\times$ 2	25.2 g $\times$ 2
結晶得量	2.85 g $\times$ 2	1.15 g $\times$ 2	—	11.0 g $\times$ 2
融点	① $210 \sim 225^\circ$ (decomp)	② $233 \sim 238^\circ$ (decomp)	—	③ $220 \sim 223^\circ$ (decomp)

その他 MeOH で 6.0 g×2 流出し、アルミナを酒石酸で抽出して 7.3 g×2 (total 61.5 g) を得たが、結晶化しなかった。

c) 結晶の精製 ① mp 210~225°(decomp) の分別再結晶: 結晶 2.0 g をベンゼン・Me₂CO より再結晶を二度行くと, mp 231.5~233°(decomp) の毛状晶 1.2 g を得。実験値 C 77.25, H 10.11, N 3.75。

母液を濃縮乾固してベンゼン・Me₂CO より再結晶を行なうと, mp 251.5~253°(decomp) の板状晶 0.25 g を得。実験値 C 64.55, H 8.02, N 2.24。

② mp 233~238°(decomp) 1 g をベンゼン・Me₂CO で再結晶をくりかえし, mp 241~243°(decomp) の針状晶を得。実験値 C 75.12, H 10.20, N 3.45。

③ mp 220~223°(decomp) をベンゼン・Me₂CO より再結晶をくり返し, mp 222~224°(decomp) の柱状晶を得。これは angeloylzygadenine (I) と考えられる。C₃₂H₄₉O₈N 計算値 C 66.7, H 8.58, N 2.44, 実験値 C 66.64, H 8.49, N 2.36。

iii) (I) の分子量の決定 (I) の Rast 法による分子量の測定は一定値を与えず, C₃₂H₄₉O₈N としての分子量 575 に最も近いものでも 504 で, あとはもつと小さく, かつかなり相違している。そこで滴定法を用いた。

結晶 0.50 g を EtOH 40 cc と水 50 cc の混合溶媒にとかし, 0.02N H₂SO₄ で滴定し, 指示薬としてメチルオレンジを用いた。その結果分子量として 571 を得た。

iv) (I) の水素添加 0.57 g の (I) を MeOH 30 cc に溶解し, 5% Pd-C 0.5 g を用いて接触還元した。水素の吸収量は 27 cc (0°, 1 気圧) (1.2 mol)。MeOH を留去し, dil EtOH より再結晶。mp 203.5~205° の無色板状の dihydro 体を得。C₃₂H₅₁O₈N 計算値 C 66.4, H 8.86, N 2.42, 実験値 C 66.83, H 8.29, N 2.47。

v) (I) のアセチル化 a) (I) の 0.3 g を Ac₂O 6 cc, ピリジン 3 cc に溶解し, 蒸気浴上 2 時間還流する。浴温 40° で減圧下に Ac₂O およびピリジンを留去し, 水 9 cc に溶かして conc NH₄OH でアルカリ性にし生じた白色沈殿を母液。沈殿を CHCl₃ にとかし, 水洗, 乾燥後溶媒を留去。収量 200 mg。Et₂O に溶解して放置すると mp 165° の板状晶 150 mg を得。再度 Et₂O で再結晶すると mp 167~169° になる。これは (I) の diacetate である。C₃₆H₅₃O₁₀N 計算値 C 65.5, H 8.1, N 2.12, 実験値 C 65.29, H 8.12, N 2.07。

b) angeloylzygadenine 1.0 g (1.7×10⁻³ mol) を無水ベンゼン 20 cc およびピリジン 2 cc に溶解せしめ, 塩化アセチル 0.12 g (1.5×10⁻³ mol) を滴下するとただちに白色沈殿を生ずる。1.5 時間還流し, 水 2 cc と 10% Na₂CO₃ 溶液でアルカリ性とし, よく振盪してベンゼン層を分け, 水層および沈殿を CHCl₃ で抽出溶解せしめる。CHCl₃ 層を水洗乾燥して溶媒を除去し, Et₂O を加えて溶解せしめる。不溶物は約 100 mg あり, 原料の angeloylzygadenine の回収である。Et₂O を除去し, ベンゼンにとかし, 先のベンゼン層と合してアルミナを用いたクロマトグラフィーを行なう。

① ベンゼン流出部: 200 mg, mp 243.5° (ベンゼンより再結)。C₃₄H₅₁O₉N (angeloylzygadenine monoacetate) 計算値 C 66.1, H 8.32, N 2.27, 実験値 C 65.86, H 8.03, N 2.58。

② 1% MeOH・ベンゼン流出部: 500 mg, 原料回収。

③ MeOH 流出部: 結晶せぬもの 100 mg。

vi) (I) の加水分解 a) 1.5 g の (I) を 45 cc の MeOH に浮遊せしめ, 4% NaOH 15 cc および水 10 cc を加え, 静かに加温しつつとかす。溶解後 10 分間還流せしめる。水 25 cc を加え減圧で MeOH を除き CHCl₃ で抽出。水洗乾燥後, 濃縮乾固, 収量 1.1 g。これは isozygadenine (II) である。CHCl₃ 抽出後のアルカリ溶液を N HCl で pH 2.0 位にし, Et₂O で抽出。水洗乾燥後, 溶媒を留去, 油 150 mg を得。水 5 cc を加え, 加温溶解後水冷すると結晶 100 mg, mp 38~40° を得。さらに水より再結晶すると mp 43~45° の angelic acid を得。

b) ethanolic sodium ethoxide による法 500 mg の (I) を無水 EtOH 75 cc と金属 Na 500 mg よりなる ethanolic sodium ethoxide 溶液に溶解し, 4 時間還流する。0.2N HCl で pH 6 とし, EtOH を減圧留去し, 氷水で冷却しながら conc NH₄OH でアルカリ性にし, CHCl₃ で抽出, 水洗乾燥, 減圧留去乾固せしめ, Me₂CO を加えると固化する。450 mg を得。mp 160~170°, ベンゼンより再結晶して mp 169.5~170.5°(decomp), [α]_D²⁰: -33.5°。これは当研究室の清水がエゾバイケイ草有効成分としてとり出した veratroylzygadenine を加水分解して得た pseudozygadenine (III) に一致した。

CHCl₃ 抽出後の水溶液を 6N HCl で pH 2 とし Et₂O 抽出, 水洗乾燥後留去。石油エーテルを加えて放置すると無色板状晶の tiglic acid, mp 66° を得。

vii) Isozygadenine より pseudozygadenine の生成 isozygadenine (II) の 1 g を無水 EtOH 150 cc と金属 Na 1 g よりなる ethanolic sodium ethoxide 溶液に溶解せしめ, 4 時間還流し, 氷冷下に 0.1N HCl を用いて pH 6.5 とし減圧にて EtOH を留去し, conc NH₄OH でアルカリ性とし, CHCl₃ で抽出, 水洗乾燥後留去し, ベンゼン 50 cc を加えて加温すると, 溶解と同時に結晶も析出して来る。700 mg, mp 165°(decomp) を得。これは pseudozygadenine (III) に一致した。

viii) Angeloylzygadenine (I) の acetone の製造 a) zygadenine 3-angelate 14,15-acetonide・HCl angeloylzygadenine 1 g を 1 cc の無水 EtOH にとかし, 6N HCl でコンゴレッド酸性とする。過剰の Me₂CO 約 10 cc を加え摩擦すれば柱状晶を析出。mp 218~219°(decomp) (無水 EtOH より再結)。C₃₅H₅₃O₈N・HCl・H₂O 計算値 C 62.72, H 8.42, Cl 5.28, 実験値 C 61.54, H 8.83, Cl 5.8。

b) zygadenine 3-angelate 14,15-acetonide HCl 塩を 10% Na_2CO_3 にてアルカリ性とし, CHCl_3 で抽出. Na_2SO_4 で乾燥後 CHCl_3 を留去すれば mp 233~234.5°(decomp) の板状晶を得 (Me_2CO ・ベンゼンより再結). $\text{C}_{35}\text{H}_{53}\text{O}_8\text{N}$ 計算値 C 68.26, H 8.68, N 2.28, 実験値 C 68.93, H 8.96, N 2.48.

ix) Angeloylzygadenine acetonide diacetate (V) の製造 前記の zygadenine 3-angelate 14,15-acetonide (IV) 0.10 g を Ac_2O 0.20 cc, ピリジン 1.50 cc と油浴上浴温 110° で 1.5 時間加熱後ピリジンを追出し, 水を加えて NaHCO_3 で弱アルカリ性となし CHCl_3 で抽出. CHCl_3 液を Na_2SO_4 で乾燥後, CHCl_3 を留去すれば油を得. ベンゼンにとかし, シリカ・celite (3:1) のクロマトにて樹脂を除き, 流下液を蒸発乾固すれば粒状晶を得. mp 207~207.5° (無水 EtOH から再結晶). $\text{C}_{39}\text{H}_{57}\text{O}_{10}\text{N}$ 計算値 C 67.22, H 7.81, N 2.01, 実験値 C 66.89, H 8.20, N 2.61.

x) Zygadenine 3-angelate 14,15-acetonide 4,16-diacetate (V) の methanolysis 前記の zygadenine 3-angelate 14,15-acetonide 4,16-diacetate 0.2 g を過剰の MeOH にとかし 48 時間放置後 MeOH を留去すれば針状晶を得. mp 221~222.5°(decomp) (EtOH・石油エーテルより再結). $\text{C}_{37}\text{H}_{55}\text{O}_9\text{N}$ 計算値 C 67.59, H 8.37, 実験値 C 68.02, H 8.51.

xi) Angeloylzygadenine (I) の HIO_4 吸収量の滴定による定量 angeloylzygadenine 0.57375 g をジオキサン 25.0 cc にとかし, 0.2M HIO_4 水溶液 20.00 cc (原料 1-mol に対し 4 mol 当量) を加え, さらに水 45.00 cc を加える. 室温 (24°) に 17 時間放置後水 100 cc を加え, 飽和 NaHCO_3 水溶液 80 cc でアルカリ性とする. 少量の沈殿あるも, そのまま 0.1N As_2O_3 標準液にて滴定. 43 cc を要した. 消費した HIO_4 は 1.82 mol.

xii) Angeloylzygadenine の HIO_4 酸化生成物 前記のごとき操作にて, 0.1N As_2O_3 滴定後 CHCl_3 で抽出. CHCl_3 層を Na_2SO_4 にて乾燥後 CHCl_3 を留去し, 残渣をアルミナのクロマトにかける. ベンゼンにて流出するものよりベンゼンを追出して針状晶を得. 0.2 g. mp 189~191°(decomp) (ベンゼン・石油エーテルから再結). $\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{O}_7\text{N}$ 計算値 C 68.85, H 8.35, N 2.58, 実験値 C 68.55, H 8.78, N 2.77. IR ν_{max} 1740 (, 1720 ($-\text{C}=\text{O}$), 1745 (angelic acid double bond).

三共株式会社高峰研究所

UDC 547.786.1.07

131. 安田博幸：4,5 位置換イソオキサゾール類の合成及び開裂反応に関する研究(第2報*)

非対称型ケトンに対する義酸エチルエステルの作用位置決定への応用について

Hiroyuki Yasuda: Studies on the Synthesis of 4,5-Disubstituted Isoxazoles and their Cleavage Reaction with Sodium Ethoxide. II. Application to the Determination of Attack Point of Ethyl Formate on the Unsymmetrical Ketones.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyoto**)

When ethyl formate is applied to unsymmetrical ketones with a general formula of $\text{RCH}_2\text{COCH}_2\text{R}'$, the question is which of the two active methylenes on either side of the carbonyl would be formylated. The α -formyl-ketones so formed was reacted with hydroxylamine to form 4,5-disubstituted isoxazoles and this was cleaved by the action of sodium ethoxide to form α -cyano-ketones. The difference in the position of the formyl group in the original α -formyl-ketones would give result in the structural difference of α -cyano-ketones finally formed and this reaction was utilized as the new method for determining the action point of ethyl formate on unsymmetrical ketones. This reaction is effected in few steps, the yield is good, and characterization is easy. The action site of ethyl formate was determined in eight kinds of unsymmetrical ketones and relationship to the structure of ketones was also examined.

(Received October 30, 1958)

著者等は前報* において, α -ホルミルケトン類がエタノール溶媒中で塩酸ヒドロキシルアミンと反応して, 4,5

* 第1報：本誌 79, 467(1959).

** Yoshida-konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto.