薬 学 雜 誌
YAKUGAKU ZASSHI
13 (10) 940 ~ 944

UDC 547.94 : 582.675.4

175. 富田真雄, 井深俊郎: 防已科植物アルカロイド研究 (第204報^{*1}) 台湾産
ハスノハカズラ *Stephania japonica* MIERS のアルカロイド その 2
第3級フェノール性 Biscoclaurine 型新塩基 Stepholine の構造

Masao Tomita and Toshiro Ibuka: Studies on the Alkaloids of Menispermaceae Plants. CCIV. Alkaloids of Formosan *Stephania japonica* MIERS. (2). The Structure of a New Tertiary Phenolic Biscoclaurine Type Alkaloid "Stepholine."

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University^{*2})

A new phenolic tertiary base was isolated from Formosan *Stephania japonica* MIERS (Japanese name "Hasunohakazura"). It was isolated as a benzene adduct of m.p. 171~173° and was named stepholine. Its empirical formula is represented as $C_{32}H_{26}O_2 \cdot (OH)_2(OCH_3)_2(NCH_3)_2$. Its methylation with diazomethane gives isotetrandrine (VII), $C_{32}H_{26} \cdot (OCH_3)_4(NCH_3)_2$, one of the known non-phenolic biscoclaurine-type bases. Cleavage reaction of O,O-diethylstepholine (IX), obtained by ethylation of stepholine with diazoethane, with metallic sodium in liquid ammonia afforded D-(-)-N-methyl-O,O-diethylisococlaurine (XIII) as a non-phenolic base and L-(+)-N-methylcoclaurine (XI) as the phenolic base. Permanganate oxidation of O,O-diethylstepholine gave 4-ethoxy-3,4'-oxydibenzoic acid (X). These experimental evidences indicate that the structure of stepholine should be represented as V.

(Received June 21, 1963)

前報^{*1}において著者らは台湾産ハスノハカズラ *Stephania japonica* MIERS (menispermaceae) より新塩基と思われる第3級フェノール性塩基 (base A と仮称) を単離したことを報告した。本塩基はベンゼンより m.p. 171~173° の無色針状結晶として得られ, dibenzo-*p*-dioxin (diphenylenedioxide) 反応,¹⁾ Gibbs 試薬呈色反応, $TiCl_3$ 呈色反応²⁾ 等はいずれも陰性である。分析値はベンゼン付加物 $C_{36}H_{38}O_6N_2 \cdot 1\frac{1}{3}C_6H_6$ に一致し, メトキシル基2ヶを検出する。また $[\alpha]_D +273^\circ$ ($CHCl_3$), UV: λ_{max} 284 m μ (log ϵ 4.03) を示す。本塩基は遊離塩基, 鉍酸塩, picrate, styphnate あるいは有機酸塩などはいずれも結晶化に成功しなかったが, dimethiodide は m.p. 271~273° 無色針状結晶として得られ, 分析値は $C_{36}H_{38}O_6N_2 \cdot 2CH_3I \cdot 3\frac{1}{2}H_2O$ に一致する。現在まで biscoclaurine 型塩基のうちでベンゼン付加体としてのみ結晶状に単離されているものに berbamine,³⁾ cepharanthine⁴⁾ および obamegine⁵⁾ 等があり, これらはいずれも塩類などは結晶化の困難なものとされていること, $[\alpha]_D$ の大きさ, UV の maximum の位置, log ϵ の値などの点より考慮すれば, 本塩基は示性式 $C_{34}H_{32}O_2N_2 \cdot (OCH_3)_2 \cdot (OH)_2$ で表されるフェノール性 biscoclaurine 型塩基と推定される。

まず本塩基を常法によりジアゾメタンで methyl 化を行ない, 非フェノール性 m.p. 182° の無色プリズム状結晶を得た。本物質の分析値は $C_{38}H_{42}O_6N_2$ に一致し, $[\alpha]_D +153^\circ$ ($CHCl_3$) を示し, 標品の isotetrandrine⁶⁾ (VII) と混融ならびに IR スペクトル (KBr) を比較の結果同一物質であることを確認した。したがって今回得たフェノール性塩基はメトキシル基2ヶを有し, その O,O-dimethyl 体がその2個の不斉中心の立体配置が (D, L) である isotetrandrine (VII) に一致することより考えて, I, II, III, IV, V または VI のいずれかにより表される構造を有するものと考えられる。

*1 第203報。その1: 本誌, 83, 996 (1963)。

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

1) 富田: 本誌, 52, 889 (1932); 54, 891 (1934); M. Tomita, S. Ueda, Y. Nakai, Y. Deguchi, H. Takai: Tetrahedron Letters (in Press).

2) F. Weygand, E. Csencle: Chem. Ber., 85, 45 (1952).

3) 富田, 久郷: 本誌, 75, 753 (1955).

4) M. Tomita, Y. Sasaki: Pharm. Bull. (Japan), 1, 105 (1953); *ibid.*, 2, 89, 375 (1954).

5) 富田, 久郷: 本誌, 79, 317 (1959).

6) 富田, 国友: 本誌, 82, 734, 741 (1962).

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
I	CH ₃	H	CH ₃	H	V	H	CH ₃	CH ₃	H
II	H	H	CH ₃	CH ₃	VI	CH ₃	CH ₃	H	H
III	H	CH ₃	H	CH ₃	VII	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
IV	CH ₃	H	H	CH ₃	VIII	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H

このうち I はかつて, 富田, 久郷⁷⁾ によりメギ科植物 (berberidaceae) オオバメギ *Berberis Tschonoskiana* REGEL より単離され, 構造はすでに解明された obamegine である. そこで今回著者等の得たフェノール性塩基と obamegine (I) とを比較すれば Table I の通りである.

Table I.

	Benzene-adduct		O,O-Dimethylether (isotetrandrine)		O,O-Diethylether	
	m.p. (°C)	[α] _D	m.p. (°C)	[α] _D (CHCl ₃)	m.p. (°C)	[α] _D (CHCl ₃)
Obamegine (I) ⁷⁾	135~136	+98 (MeOH)	180~182	+146	196~198	+140
A new base from <i>S. japonica</i> (Stepholine)	171~173	+273 (CHCl ₃)	182	+153	203~204	+86

Fig. 1. IR spectra of
— stepholine (V)
----- obamegine (I)
(CHCl₃, cm⁻¹)

このうち O,O-diethyl 体の融点は近似し, 両者の IR スペクトル (CHCl₃) もほとんど一致しているが, その他の物理的測定値は明らかに相違する. さらに IR スペクトル (CHCl₃) は Fig. 1 に示すように obamegine は ν_{OH} 3590 cm⁻¹ に一本示すのに対し, 本塩基は ν_{OH} 3590 および 3325 cm⁻¹ 付近に 2 本の吸収を示す. なお hypoepistephanine,⁸⁾ berbamine (VIII)³⁾ などの biscoclaurine 型塩基は高波数側 3550 cm⁻¹ 付近に benzyloquinoline 核の 4'-OH に基づく吸収を一本示すのみであり, 本塩基の 3590 cm⁻¹ の吸収も同様に 4'-OH に基づく吸収と推定される.

現在までに単離確認されている berbamine 型塩基はフェノール性では berbamine³⁾ (VIII), obamegine (I) および非フェノール性塩基の isotetrandrine (VII) のみであり, 今回得られたフェノール性塩基は一新塩基と認め “stepholine” と命名し, さらに本塩基の 2 ケのフェノール性水酸基の位置を証明するために次の実験を行なった.

まず stepholine (V) を常法によりジアゾエタンで ethyl 化すれば m.p. 203~204° の無色菊花状結晶 O,O-diethylstepholine (IX) を得た. IX の分析値は C₄₀H₄₆O₆N₂ に一致し, メトキシル基およびエトキシル基の分別定量の結果それぞれ 2 ケを検出した. ついで IX を KMnO₄ 酸化すれば m.p. 277~278° の無色砂状結晶を得る. 本品の分析値は C₁₆H₁₄O₆ に一致し, 標品の 4-ethoxy-3,4'-oxydibenzoic acid⁹⁾ (X) と混融しても融点降下なく, かつ IR スペクトル (KBr) の完全に一致することから, IX の酸化成績体は 4-ethoxy-3,4'-oxydibenzoic acid (X) であることを確認した. したがって stepholine における 2 ケの水酸基のうち 1 個は berbamine (VIII) と全く同一の位置にあることを確認することができた.

7) 富田, 久郷: 本誌, **79**, 322 (1959).

8) 近藤, 野副: 本誌, **63**, 333 (1943); M. Tomita, E. Fujita: Pharm. Bull. (Japan), **2**, 378 (1954).

9) 藤田, 富松, 加納: 本誌, **82**, 311 (1962).

以上の実験結果より *stepholine* の可能構造式 I, II, III, IV, V および VI のうち I, II, III および IV は否定される。ついでに残った可能構造式 V または VI のいずれかを解明するため富田およびその協力者¹⁰⁾ により確立された *biscoclaurine* 型塩基に対する液安中アルカリ金属による開裂反応を適用し, *O,O*-diethylstepholine (IX) について液安中金属ナトリウムで開裂反応を行なった。その結果フェノール性塩基として m.p. 130°*⁴ の無色針状結晶を得た。分析値は長時間真空中乾燥したものは $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_3\text{N}$ に一致し, $[\alpha]_{\text{D}} + 55.5^\circ$ (CHCl_3) を示す。本品を標品の *L*-(+)-*N*-methylcoclaurine¹¹⁾ (XI) と混融しても融点降下せず, かつ両者の IR スペクトル (CHCl_3 , KBr) は完全に一致し, したがって開裂フェノール性塩基は *L*-(+)-*N*-methylcoclaurine (XI) であることを確認した。さらに XI を常法によりジアゾメタンで methyl 化すれば m.p. 59~61°, $[\alpha]_{\text{D}} + 83.6^\circ$ (CHCl_3) を示す無色砂状結晶を得た。本品を標品の *D*-(-)-*N,O,O*-trimethylcoclaurine¹¹⁾ と IR スペクトル (CHCl_3) で比較の結果その antipode である *L*-(+)-*N,O,O*-trimethylcoclaurine (XII) であることを確認した。

一方開裂非フェノール性塩基はアルミナクロマトで精製したのち, 常法で oxalate とし m.p. 181~183°, $[\alpha]_{\text{D}} - 99.3^\circ$ (MeOH) を示す無色針状結晶を得た。本品の分析値は $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{O}_3\text{N} \cdot (\text{CO}_2\text{H})_2$ に一致する。ついで本 oxalate を常法で遊離塩基に導き m.p. 28°, $[\alpha]_{\text{D}} - 121.1^\circ$ (EtOH) の無色針状結晶を得た。本品の分析値は

*⁴ 本品は著者の一人富田等¹¹⁾ が *isotetrandrane* の液安中金属 Na で開裂して得た *L*-(+)-*N*-methylcoclaurine hemihydrate と考えられる。

10) M. Tomita: Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe, **9**, 184 (1952).

11) 富田, 藤田, 村井: 本誌, **71**, 1035 (1951); Pharm. Bull. (Japan), **2**, 372 (1954).

$C_{22}H_{29}O_3N$ に一致し, 標品の L-(+)- および D-(-)-N-methyl-O,O-diethylisococlaurine¹²⁾ と IR スペクトル ($CHCl_3$) を比較の結果, 開裂非フェノール性塩基は D-(-)-N-methyl-O,O-diethylisococlaurine (XIII) なることを確認した。

以上の実験結果より今回著者等が台湾産ハスノハカズラより得た m.p. 171~173° のフェノール性塩基は V で表される構造を有する biscoclaurine 型のうち berbamine 系に属する一新フェノール性塩基であることが明らかになった。

なおハスノハカズラより biscoclaurine 型塩基のうち berbamine 系塩基 stepholine が単離されたのは今回が初めてであり, また biscoclaurine 型塩基で tetrahydroisoquinoline 核の 6 位に水酸基を有する事実は極めて興味深い。また富田, 国友⁶⁾ により isotetrandrine (VII) の 2 ケの不斉中心の絶対配置は (D, L), または Prelog 等¹³⁾ の方法にしたがえば (R, S) で表示されることがすでに確定しているから stepholine における 2 ケの不斉中心の絶対配置も (D, L) または (R, S) で示されることは明らかである。

実験の部^{*5)}

Stepholine (V) benzene adduct: 無色針状結晶, m.p. 171~173°. 遊離塩基は結晶化困難, また benzene 以外の有機溶媒に易溶, また有機酸塩, 鉍酸塩なども結晶化困難。TiCl₃, Gibbs 試薬, KNO₃·H₂SO₄ 試薬 (dibenzo-*p*-dioxin 反応) による呈色反応はいずれも陰性。P.P.C.,^{*6)} Rf 0.30. MbPC^{*7)} pH 5.0 に固着 zone を作る。[α]_D²⁰ +273° (c=1.10, CHCl₃)。UV: λ_{max}^{EtOH} 284 mμ (log ε 4.03)。IR ν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹: 3590, 3325 (OH)。C₃₆H₃₈O₆N₂·1½C₆H₆ Anal. Calcd.: C, 76.22; H, 6.67; N, 3.87; OCH₃, 8.56. Found: C, 76.45; H, 6.71; N, 3.84; OCH₃, 9.64.

Stepholine dimethiodide V benzene adduct 30 mg. を MeOH 2 ml. に溶解, MeI 2 ml. を加え水浴上 3 hr. 還流後, 減圧下 MeOH, MeI を留去。残渣を H₂O-EtOH 混液より再結晶。無色砂状結晶 30 mg. を得。m.p. 271~273°(decomp.)。C₃₆H₃₈O₆N₂·2CH₃I·3½H₂O Anal. Calcd.: C, 48.47; H, 5.46. Found: C, 48.45; H, 5.47.

O,O-Dimethylstepholine (VII) (isotetrandrine の生成) V benzene adduct 100 mg. を MeOH 2 ml. に溶解, CH₂N₂ の Et₂O 溶液を加え 3 日放置後, 溶媒ならびに過剰の CH₂N₂ 溶液留去, 残渣を 3% HCl 30 ml. に溶解し, Et₂O 抽出, Et₂O 層除去した水層は 5% NaOH でアルカリ性とし Et₂O 抽出, 水洗, 無水 Na₂SO₄ で乾燥し Et₂O 留去すれば無色粗結晶 78 mg. を得。Me₂CO-Et₂O 混液より再結晶すれば無色プリズム状結晶を得。m.p. 182° (文獻 m.p. 182°⁶⁾)。P.P.C., Rf 0.50±0.01。[α]_D²⁰ +153° (c=1.07, CHCl₃)。IR (Nujol) は標品の isotetrandrine と一致。C₃₈H₄₂O₆N₂ Anal. Calcd.: C, 73.29; H, 6.80; N, 4.50. Found: C, 73.05; H, 6.96; N, 4.40.

O,O-Diethylstepholine (IX) V benzene adduct 119 mg. を EtOH 2 ml. に溶解, C₂H₄N₂ の Et₂O 溶液を加え 3 日放置。反応終了後常法により処理すれば無色油状物 101 mg. を得。Me₂CO を加え放置すれば結晶固化。Me₂CO より再結晶すれば無色菊花状結晶を得。m.p. 203~204°。[α]_D²⁰ +86.17°, [α]_D²⁵ +101.80° (c=0.528, CHCl₃)。C₄₀H₄₆O₆N₂ Anal. Calcd.: C, 73.82; H, 7.12; N, 4.30; OCH₃, 9.54; OC₂H₅, 13.84. Found: C, 73.85; H, 7.19; N, 4.33; OCH₃, 9.28; OC₂H₅, 13.48.

O,O-Diethylstepholine (IX) の液安中金属 Na との反応 IX 515 mg. を無水 toluene 20 ml., 無水 Et₂O 40 ml. の混液に溶解, 一方 1 L. の三頸フラスコに液安約 500 ml. を入れ金属 Na の小片による青色を呈した溶液を -45±2° に保ち攪拌下, 上記の Et₂O-toluene 溶液を滴下する。金属 Na と Et₂O-toluene 溶液とを交互に入れる。反応液の青色が 15 min. 持続するまで金属 Na を加え, 反応終了後一夜室温に放置し, NH₃ を揮散させる。残留物を水 20 ml. と 5% HCl 20 ml. を加え溶解させ, 一度 Et₂O 抽出, Et₂O 層除去。水層は NH₃ アルカリ性とし Et₂O 抽出。Et₂O 抽出液は 5% NaOH で振盪し, フェノール塩基を分離。非フェノール性塩基を含有する Et₂O 層は水洗, 無水 MgSO₄ で乾燥後 Et₂O 留去, 油状の非フェノール性塩基 245 mg. を得。一方 NaOH 水層は NH₄Cl を加え NH₃ アルカリ性とし Et₂O 抽出, 無水 MgSO₄ で乾燥後, Et₂O 留去。無水フェノール性塩基 196 mg. を得。

D-(-)-N-Methyl-O,O-diethylisococlaurine (XIII) 上記液安中金属 Na による開裂反応で得た非フェノール

*5) 融点はすべて未補正, 柳本製作所“微量融点測定器”による。

*6) P.P.C. は東洋汙紙 No. 50. 展開溶媒 BuOH-AcOH-H₂O (63:10:27) 振盪後, 3 日間静置したものの上澄液を使用。検出は Dragendorff 試薬。以下これに準ずる。

*7) T.C. McIlvaine: J. Biol. Chem., 49, 183 (1921); 渡辺, 内山, 安田: 本誌 77, 807 (1957) に準じて製する。検出は Dragendorff 試薬。

12) 富松, 加納: 本誌, 82, 315 (1962)。

13) R. S. Cahn, C. K. Ingold, V. Prelog: Experientia, 12, 81 (1956)。

ル性塩基を Me_2CO に溶解, 修酸飽和 Me_2CO 溶液を加え析出する結晶を Me_2CO - MeOH 混液より再結晶. 無色針状結晶 250 mg. を得. m.p. $181\sim 183^\circ$. $[\alpha]_D^{25} -99.3^\circ$ ($c=0.69$, MeOH). $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{O}_3\text{N} \cdot (\text{CO}_2\text{H})_2$ Anal. Calcd.: C, 64.70; H, 7.01; N, 3.14. Found: C, 64.78; H, 7.19; N, 3.10. oxalate 100 mg. を H_2O に溶解, Et_2O で振盪, Et_2O 層除去. 水層は 5% NaOH でアルカリ性とし Et_2O 抽出, 水洗, 無水 MgSO_4 で乾燥後 Et_2O 留去. 無色油 70 mg. を得. 氷室に放置すれば結晶析出, 少量の hexane より反復再結晶. 無色針状結晶, m.p. 28° . 本遊離塩基は石油エーテル, hexane など以外には易溶. $[\alpha]_D^{25} -121.1^\circ$ ($c=0.9$, EtOH). $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{O}_3\text{N}$ Anal. Calcd.: C, 74.33; H, 8.22. Found: C, 74.04; H, 8.10. 本品の IR (CHCl_3) は L-(+)-N-methyl-O,O-diethylisococlearine のそれと一致. 互に antipode と確認.

L-(+)-N-Methylcoclearine (XI) IX の液安中金属 Na による開裂で得たフェノール性塩基は benzene を加えれば結晶固化. benzene より再結晶. 無色針状結晶 150 mg. を得. m.p. 130° . $[\alpha]_D^{25} +55.5^\circ$ ($c=0.54$, CHCl_3). $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_3\text{N}$ Anal. Calcd.: C, 72.21; H, 7.07. Found: C, 72.51; H, 7.31. 本品の IR (CHCl_3 または KBr) は標品の L-(+)-N-methylcoclearine と完全に一致.

L-(+)-N,O,O-Trimethylcoclearine (XII) XI 20 mg. を MeOH 2 ml. に溶解, CH_2N_2 - Et_2O 溶液を加え 3 日放置. 常法処理すれば 17 mg. の無色油を得. ついで Al_2O_3 カラム (1×5 cm.) を benzene 溶液とし溶出, 精製, hexane - Et_2O 混液を加えれば結晶固化. hexane - Et_2O 混液より再結晶. 無色砂状結晶 13 mg. を得. m.p. $59\sim 61^\circ$ (文献 m.p. $61\sim 62^\circ$ ¹¹⁾). 本品の IR (CHCl_3) は標品の D-(-)-N,O,O-trimethylcoclearine と比較の結果互に antipode であることを確認.

O,O-Diethylstepholine (IX) の KMnO_4 酸化 4-Ethoxy-3,4'-oxydibenzoic acid (X) の生成 IX 97 mg. を 5% H_2SO_4 10 ml. に溶解し, 5% NaOH で pH $6\sim 7$ とし, 5% KMnO_4 を攪拌下 3 hr. かかって滴下. ついで 65° で 5% KMnO_4 を 30 ml. 5 hr. かかって滴下. SO_2 gas を通じ, 析出する白沈を AcOEt で抽出, AcOEt 層は 5% Na_2CO_3 で抽出し, Na_2CO_3 水層は HCl 酸性とし AcOEt 抽出, 無水 Na_2SO_4 で乾燥, AcOEt 留去すれば淡黄色油 25 mg. を得. Me_2CO を加え放置. 微細無色結晶析出. Me_2CO - MeOH の混液, ついで MeOH より再結晶. 無色砂状結晶 18 mg. を得. m.p. $277\sim 278^\circ$ (文献 m.p. 274° ⁹⁾). $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$ Anal. Calcd.: C, 63.57; H, 4.67. Found: C, 63.29; H, 4.90. 本品は IR (KBr) で 4-ethoxy-3,4'-oxydibenzoic acid なることを比較同定確認.

終わりに臨み終始御指導をいただいた大阪大学薬学部 犬伏康夫教授に深くお礼申し上げます. また種々助言を与えられ, L-(+)-N-methyl-O,O-diethylisococlearine のサンプルを送付された徳島大学薬学部 富松利明助教授に深謝いたします. メトキン, エトキン分別定量は大阪大学薬学部 福田 稔講師, 元素分析は本学元素分析センター 穂積啓一郎助教授ならびに協力者諸氏, 武庫川女子大学薬学部分析室のかたがたにより施行されたものでありここに記して深甚の謝意を表します. また旋光度測定の方をとりられた日本新薬株式会社 小泉淳二博士ならび岡田節子氏に感謝いたします.

京都大学薬学部