〔薬学雑誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
87 (7) 793 ~ 796 (1967)

UDC 547.94.02:582.657.4

138. 富田真雄, 古川 宏, 深川 清: 防已科植物アルカロイド研究 (第231報^{*1})

Limacia cuspidata (MIERS) HOOK. f. et THOM. のアルカロイド その 1

新 Bisbenzylisoquinoline 型フェノール性塩基 Limacine,

Limacusine および Cuspidaline の構造^{*2}

Masao Tomita, Hiroshi Furukawa, and Kiyoshi Fukagawa: Studies on the Alkaloids of Menispermaceous Plants. CCXXXI.^{*1} Alkaloids of

Limacia cuspidata (MIERS) HOOK. f. et THOM. (I). The

Structure of Limacine, Limacusine and Cuspidaline,

New Phenolic Bisbenzylisoquinoline Bases.^{*2}

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University^{*3})

Basic components of Bornean *Limacia cuspidata* (MIERS) HOOK et THOM. (Menispermaceae) were examined and three new phenolic, bisbenzylisoquinoline-type alkaloids, limacine, limacusine, and cuspidaline, were isolated and their structure identified.

Limacine (I), m.p. 154~156°, $[\alpha]_D -212^\circ$ (CHCl₃). The various properties of this alkaloid agreed with those of fangchinoline except for the direction of its rotation.

Limacusine (III), m.p. 235~237°, $[\alpha]_D +110^\circ$. Its O-methyl compound was identified with N-methyldihydroepistephanine-B (II). From its NMR and MS, limacusine was assumed to be represented by the formula III.

Cuspidaline (IV), oil. $[\alpha]_D -48^\circ$ (CHCl₃). Its O-methyl compound was identified with O-methyldauricine (V). Its structure was presumed from the result of cleavage reaction of its O-ethyl compound with sodium in liquid ammonia.

Biogenetical relationship among these three kinds of bases was considered and it was assumed that limacine (I) and limacusine (III) were formed by the intramolecular dehydrogenative condensation of cuspidaline (IV).

(Received September 12, 1966)

今回著者等は以前ボルネオにおいて採集されたツヅラフジ科植物 *Limacia cuspidata* (MIERS) HOOK f. et THOM. の塩基性成分について検索し, 3種の新しい bisbenzylisoquinoline 型塩基を単離, それらをそれぞれ limacine, limacusine, および cuspidaline と命名し, それらの構造研究を行ない構造を明らかにしたのでここに報告する.

まず塩基の単離は実験の部に詳述するように植物のメタノールエキスを常法により処理して得た粗製の総塩基をクロロホルムに溶解し, 希可性アルカル水溶液と振とうし, 分別する. アルカリ性水層より得られる塩基性物質はシリカゲルクロマトにより分離, 精製し, limacine および limacusine をそれぞれ結晶状に単離した. 一方クロロホルム層に残留する塩基性物質は buffer 抽出により分離精製し, 薄層クロマト (TLC)^{*4} で単一スポットを示す油状物質として cuspidaline を単離した.

以下これら3種の塩基の性状ならびに構造について述べる.

limacine (I) の構造: limacine はベンゼン・アセトン混液より m.p. 154~156° (sint. 125°), $[\alpha]_D -212^\circ$ (クロロホルム) の無色針状結晶として得られ, その分析値は C₃₇H₄₀O₆N₂・H₂O に一致する. またその picrate はアセトンより m.p. 184~186° の黄色針状結晶として得られる. 本塩基は核磁気共鳴 (NMR) スペクトル^{*5} より N-methyl 基2個 (7.67, 7.40 τ), methoxyl 基3個 (6.67, 6.25, 6.08 τ) を有していることが明らかとなり, また

*1 第230報, 富田, 犬伏, 井深: 本誌, 87, 381 (1967).

*2 本報告の一部は速報した. M. Tomita, H. Furukawa: Tetrahedron Letters, 4293 (1966).

*3 Sakyo-ku, Kyoto.

*4 a) silica gel, MeOH-acetone (1:1). b) aluminium oxyde, CHCl₃-acetone (1:1).

*5 Varian A-60 spectrometer で 60 Mc. で測定. 溶媒: CDCl₃, chemical shift は TMS を内部基準とした τ 値で表わした.

その UV スペクトルは 284 mμ に極大吸収を持ち、アルカリの添加により bathochromic shift が観察される。

これらのデータより、本塩基はフェノール性の bisbenzylisoquinoline 型塩基であることが予想され、さらにその性状が旋光方向を異にする他はすべて天然より単離されている fangchinoline (I の対掌体)¹⁾ によく一致するので、そのクロロホルム中における IR スペクトルを比較の結果、全く一致することを認めた。したがって今回得た塩基 limacine は I 式で示される構造を有することが明らかとなった。

limacusine (III) の構造：limacusine はメタノール・アセトン混液より m.p. 235~237°, $[\alpha]_D +110^\circ$ (クロロホルム) の無色砂状結晶として得た。本塩基の分析値は C₃₇H₄₀O₆N₂·½H₂O に一致する。その紫外吸収 (UV) スペクトルは 283 mμ に極大吸収を有し、NMR スペクトルは 7.53, 7.48 τ に 2 個の N-methyl 基, 6.67, 6.25, 6.05 τ に 3 個の methoxy 基の signal を示す。本塩基をジアゾメタンで O-メチル化するとメタノールより m.p. 210~212°, $[\alpha]_D +90^\circ$ (クロロホルム) の無色針状結晶が得られ、この O-メチル化体はその性状、ならびにクロロホルム溶液中における IR スペクトルより N-methyldihydroepistephanine-B²⁾ (O-methylrepandine antipode) (II) であることを標品と直接比較同定した。したがって limacusine は N-methyldihydroepistephanine-B (II) における 4 個の methoxyl 基のうちいずれか 1 個がフェノール性水酸基である構造を有することが明らかとなった。

かつて Bick 等³⁾ は bisbenzylisoquinoline 型塩基の NMR スペクトルについて報告し、この型の塩基のうち、構造式 II で示されるように分子内に 2 個のエーテル結合を持つ化合物においては、isoquinoline 核の 7 位の methoxyl 基は 6.80~6.98 τ に現われ、他の位置の methoxyl 基より高磁場側であることを報告している。今回単離した limacusine の NMR スペクトルにおいては、さきに記したように、その 3 個の methoxyl 基は 6.05~6.67 τ に見られ、7 位の methoxyl 基に特徴的な高磁場の位置 (6.80~6.98 τ) に methoxyl 基の signal を欠いている。したがって limacusine においては N-methyldihydroepistephanine-B (II) における isoquinoline 核の 7 位の methoxyl 基が hydroxyl 基である構造 III を有するものと推定される。

さらに limacusine のマスペクトル⁴⁾ は m/e 191 に base peak を持ち、これは fragment a に帰属することができ、さらにその他の主な peak は m/e 382, 381, 174, 168, 141 に見られ、これらは fangchinoline (I の対掌体) のマスペクトル⁴⁾ に見られるものと一致しており、したがって limacusine の構造が III 式

で示されることを確認するものである。

cuspidaline (IV) の構造：cuspidaline は遊離状態では結晶化困難であり、その styphnate はエタノールより黄色無晶型粉末として沈殿する。遊離状態において本塩基は $[\alpha]_D -48^\circ$ (クロロホルム) を示し、UV スペクトルは 286 mμ に極大吸収を示し、アルカリの添加により長波長へ移動する。その NMR スペクトルは 7.56, 7.52 τ に 2 個の N-methyl 基, 6.19 τ に 3 個の methoxyl 基に相当する signal を示し、さらに 4.75 τ に broad な 2

*6 Hitachi Mass Spectrometer RMU-6D. Direct inlet system (Model MG-150) で測定。

1) S. M. Kupchan, W. L. Asburn, B. S. Thyagarajan : J. Pharm. Sci., 50, 819 (1961).

2) 古川 : 本誌, 86, 253 (1966).

3) I. R. C. Bick, J. Harley-Mason, N. Sheppard, M. J. Vernengo : J. Chem. Soc., 1961, 1896.

4) M. Tomita, T. Kikuchi, K. Fujitani, A. Kato, H. Furukawa, Y. Aoyagi, M. Kitano, T. Ibuka : Tetrahedron Letters, 857 (1966); J. Baldas, Q. N. Porter, I. R. C. Bick, M. J. Vernengo : Ibid., 2059 (1966).

個の proton に対応する signal を持つ。この broad な signal は重水の添加により消失する。また本塩基は IR (クロロホルム) スペクトルにおいて 3505 cm^{-1} に鋭い吸収を示している。これらのデータより本塩基はフェノール性 bisbenzylisoquinoline 型塩基であることが予想された。つぎに本塩基をジアゾメタンで O-メチル化して得られる化合物は NMR スペクトルにおいて従来より存在した methoxyl 基の signal よりも高磁場側の 6.42, 6.38 τ に 2 個の methoxyl 基の signal を新生し、その NMR および IR (クロロホルム) スペクトルより O,O-dimethylcuspidaline は O-methylauricine (V)⁵⁾ と同一物質であることを標品と直接比較により確認した。

つぎに cuspidaline における 2 個のフェノール性水酸基の位置を確認するために、まずジアゾメタンで O-エチル化し、ここに得られる O,O-diethylcuspidaline (VI) を液体アンモニア中金属ナトリウムと反応し diphenyl ether 結合を開裂し 2 個の coclaurine 型塩基を得た。まずフェノール性塩基部よりは m.p. 129~131°, $[\alpha]_D -91^\circ$ (クロロホルム) の無色針状結晶を得、その NMR および IR (クロロホルム) スペクトルより *p*-1-(*p*-hydroxybenzyl)-2-methyl-6-methoxy-7-ethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (VII) であることを標品⁶⁾ と直接比較同定した。一方非フェノール性塩基部からは oxalate として m.p. 171~172°, $[\alpha]_D -101^\circ$ (メタノール) の無色針状結晶を得た。本塩基はさきに述べたフェノール性塩基 VII をジアゾメタンにより O-メチル化して得られる *p*-1-(*p*-methoxybenzyl)-2-methyl-6-methoxy-7-ethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (VIII) と同一物質であることを遊離塩基の IR (クロロホルム) および NMR スペクトルの比較により確認した。したがって以上の実験データより cuspidaline の構造は IV 式で示される。

なお bisbenzylisoquinoline 型アルカロイドのうち、cuspidaline (IV) のように分子内に diphenyl ether 結合 1 個を持ち、2 個の isoquinoline 核の 7 位がともにフェノール性水酸基である塩基は、分子内に 2 個の diphenyl ether 結合を有する bisbenzylisoquinoline 型アルカロイドの植物体内における前駆物質の 1 つと考えられている。⁷⁾ 今回単離した limacine (I) および limacusine (III) は Chart 1 に示すように cuspidaline (IV) の分子内フェノール酸化的縮合生成体と解釈される。

このように同一植物から limacine (I), limacusine (III) と同時にその前駆物質と考えられている cuspidaline (IV) を単離したことは、bisbenzylisoquinoline 型アルカロイドの植物体内における生合成を考察する上に興味ある資料を与え得るものと考えられる。

実験の部

塩基の抽出、分離 ボルネオサラワク地方において採集した *Limacia cuspidata* (Miers) Hook. f. et Thom. を常法によりメタノールエキスとする。ついでエキスを dil. H₂SO₄ に溶解、不溶物を汙去後エーテルと数回振

5) 富田, 岡本: 本誌, 84, 1030 (1964).

6) 富田, 菊池: 本誌, 77, 238 (1957).

7) D. H. R. Barton, T. Cohen: "Festschrift A. Stoll," p. 177 (1957). Birkhäuser, Basel.

邊. つぎに酸性水層を NH_4OH アルカリ性とし, エーテル抽出. エーテル層は水洗, 無水 Na_2SO_4 で乾燥, 溶媒留去. 無晶型粉末の粗製塩基を得る. つぎにこれを CHCl_3 に溶解し, 5% NaOH 水溶液と振盪. NaOH 水層は NH_4Cl を加えアンモニア・アルカリ性とし CHCl_3 で抽出. CHCl_3 層は水洗, 無水 Na_2SO_4 で乾燥, 溶媒留去. ここに得られた油状物質をシリカゲルクロマトにかけ最初 CHCl_3 で展開. 各フラクションは $\text{TLC}^{*4a)}$ で検査. 最初微量の塩基が溶出. 精査せず. ついで CHCl_3 -アセトン (5:1) の混液で展開すると limacine (I) が溶出. limacine (I) のスポットを TLC で認めなくなったところで溶媒を MeOH にかえると limacusine (III) が溶出してくる. 一方 NaOH 水溶液で抽出した母液の CHCl_3 溶液は pH 5.0 の McIlvaine 緩衝液で抽出. 緩衝液層は NH_4OH アルカリ性とし CHCl_3 抽出. CHCl_3 層は水洗, 無水 K_2CO_3 で乾燥, 溶媒留去. ここに得られる油状物質はシリカゲルクロマトにかけ CHCl_3 , ついでアセトンで展開. $\text{TLC}^{*4a)}$ で単一スポットを示す塩基性物質 cuspidaline (IV) を得る. なお buffer 抽出を行なった母液の CHCl_3 層に含まれる塩基性物質は微量のため精査せず.

Limacine (I) の性状 ベンゼン-アセトン混液より無色針状結晶. m.p. $154\sim 156^\circ$ (sint. 125°). $[\alpha]_D^{25} -212^\circ$ ($c=0.77$, CHCl_3). UV λ_{max} 284 m μ (alkali の添加により bathochromic shift). NMR signals: 7.67, 7.40 τ (6H, $2\times\text{N-CH}_3$); 6.67, 6.25, 6.08 τ (9H, $3\times\text{O-CH}_3$). $\text{C}_{37}\text{H}_{40}\text{O}_6\text{N}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ Anal. Calcd.: C, 70.92; H, 6.71. Found: C, 70.82; H, 7.23. picrate: アセトンより黄色針状結晶. m.p. $184\sim 186^\circ$. 遊離塩基の NMR, IR (CHCl_3) は fangchinoline (I の対掌体) に完全に一致.

Limacusine (III) の性状 MeOH , アセトンより再結晶. 無色針状結晶. m.p. $235\sim 237^\circ$. $[\alpha]_D^{25} +110^\circ$ ($c=0.48$, CHCl_3). UV λ_{max} 283 m μ . NMR signals: 7.53, 7.48 τ (6H, $2\times\text{N-CH}_3$); 6.67, 6.25, 6.05 τ (9H, $3\times\text{O-CH}_3$). MS m/e 608 (M^+), 382, 381, 367, 191 (base peak), 174, 168, 141. $\text{C}_{37}\text{H}_{40}\text{O}_6\text{N}_2\cdot\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ Anal. Calcd.: C, 71.96; H, 6.65. Found: C, 71.98; H, 6.90.

O-Methyllimacusine (II) limacusine (III) 20 mg. を MeOH 10 ml. に溶解. nitrosomethylurea 3 g. を分解して得た CH_2N_2 のエーテル溶液 30 ml. を加え, 1 夜室温に放置. 常法により処理し, 非フェノール性塩基部 20 mg. を得る. MeOH より無色針状結晶析出. m.p. $210\sim 212^\circ$. $[\alpha]_D^{25} +90^\circ$ ($c=0.50$, CHCl_3). IR (CHCl_3) は N-methyldihydroepistephanine-B (O-methylrepandine antipode) (II) と完全に一致.

Cuspidaline (IV) の性状 遊離状態では結晶化困難. $[\alpha]_D^{25} -48^\circ$ ($c=0.20$, CHCl_3). IR (CHCl_3): ν_{max} 3505 cm^{-1} ($-\text{OH}$). UV λ_{max} 286 m μ (alkali の添加により bathochromic shift). NMR signals: 7.56, 7.52 τ (6H, $2\times\text{N-CH}_3$); 6.19 τ (9H, $3\times\text{O-CH}_3$); 4.75 τ (2H, broad, D_2O の添加により消失, $2\times\text{OH}$). styphnate: EtOH より黄色無晶型粉末.

O,O-Dimethylcuspidaline (V) cuspidaline (IV) 40 mg. を MeOH 5 ml. に溶解. nitrosomethyl urea 3 g. を分解して得た CH_2N_2 のエーテル溶液 20 ml. を加え 1 夜室温に放置. 常法により処理し油状の非フェノール性塩基 30 mg. を得る. NMR signals: 7.52, 7.47 τ (6H, $2\times\text{N-CH}_3$); 6.42, 6.38, 6.22, 6.20, 6.18 τ (15H, $5\times\text{O-CH}_3$). NMR, IR (CHCl_3) は O-methyldauricine (V) に完全に一致. methiodide: MeOH , アセトンより無色針状結晶. m.p. $181\sim 184^\circ$.

O,O-Diethylcuspidaline (VI) cuspidaline (IV) 180 mg. を MeOH 100 ml. に溶解. nitrosoethylurea 5 g. を分解して得た $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}_2$ のエーテル溶液 40 ml. を加え 2 日間室温に放置. 溶媒留去後常法により処理し油状の非フェノール性塩基 180 mg. を得る. 種々試みるも結晶化困難. NMR signals: 8.65 τ (triplet, $J=7.0\text{ c.p.s.}$, 6H, $2\times\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$); 7.53, 7.50 τ (6H, $2\times\text{N-CH}_3$); 6.18 τ (9H, $3\times\text{O-CH}_3$).

O,O-Diethylcuspidaline (VI) の液体アンモニア中金属ナトリウムによる反応 liq. NH_3 150 ml., 無水エーテル 20 ml. の混液に少量の Na を加え, 攪拌下 $-60\sim -65^\circ$ に冷却. 反応液の青色を保ちつつ O,O-diethylcuspidaline (VI) 160 mg. の無水エーテル溶液 20 ml. を滴下. 滴下に 20 min. を要す. 滴下終了後 10 min., 反応液は青色を保ち, 後脱色する. 室温に放置し溶媒を留去. 常法により処理し非フェノール性塩基部 (80 mg.) とフェノール性塩基部 (30 mg.) に分つ. フェノール性塩基部: アセトンより無色針状結晶. m.p. $129\sim 131^\circ$. $[\alpha]_D^{25} -91^\circ$ ($c=0.35$, CHCl_3). NMR signals: 8.68 τ (triplet, $J=7.0\text{ c.p.s.}$, 3H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$); 7.48 τ (3H, N-CH_3); 6.18 τ (3H, O-CH_3). NMR, IR (CHCl_3) は *p*-1-(*p*-hydroxybenzyl)-2-methyl-6-methoxy-7-ethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (VII) と完全に一致. 非フェノール性塩基部: アルミナクロマトにかけベンゼン-エーテル (10:1) で展開し精製. $\text{TLC}^{*4b)}$ 1 spot. $[\alpha]_D^{25} -36^\circ$ ($c=0.50$, CHCl_3). NMR signals: 7.50 τ (3H, N-CH_3); 6.25, 6.20 τ (6H, $2\times\text{O-CH}_3$); 8.68 τ (triplet, $J=7.0\text{ c.p.s.}$, 3H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$). oxalate: アセトンより無色針状結晶. m.p. $171\sim 173^\circ$. $[\alpha]_D^{25} -101^\circ$ ($c=1.0$, MeOH). $\text{C}_{31}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{N}\cdot\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4\cdot\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ Anal. Calcd.: C, 62.72; H, 6.81. Found: C, 62.60; H, 7.28. 遊離塩基の NMR, IR (CHCl_3) は VII を常法により CH_2N_2 で O-メチル化して得られる *p*-1-(*p*-methoxybenzyl)-2-methyl-6-methoxy-7-ethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (VIII) のそれと完全に一致.

本研究に際し用いた原料植物は故花田延平氏がボルネオ・サラワク地方において採集, Dr. D. T. van Flooton の鑑定によったものでありここに厚くお礼申し上げます. また NMR スペクトルを測定された本学 新宮徹朗博士, マススペクトルを測定された本学 井深俊郎博士, 元素分析を担当された本学元素分析センターの方々に礼申し上げます.

京都大学薬学部