トキンソウの成分研究 その 1¹⁾

村上孝夫, 陳 秋明

東京理科大学薬学部²⁾Studies on the Constituents of *Centipeda minima* O. KUNTZE. I.¹⁾

TAKAO MURAKAMI and CHIU-MING CHEN

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Science University of Tokyo²⁾

(Received February 14, 1970)

From the ether extract of the whole herb of *Centipeda minima* O. KUNTZE (Compositae), taraxasteryl palmitate (I), taraxasteryl acetate (II), taraxasterol (III), stigmasterol (IV) (contaminated with β -sitosterol), and arnidiol (V) were isolated and identified.

An unknown pentacyclic triterpenoid diol (VI), mp 204—206°, $C_{30}H_{50}O_2$, was also isolated and its structure was discussed from spectroscopic evidences.

トキンソウ *Centipeda minima* O. KUNTZE は日本各地のほか、インド、東南アジア、オーストラリアにかけて温帯から熱帯に広く分布するキク科の植物で、きわめて小さな草である。従来、これを鵝不食草または石胡菜³⁾と称し、中国民間では⁴⁾これを鼻の中へ入れ、粘膜を刺激して、鼻の疾患、頭痛、感冒、喘息、痔、瘡疾等の治療に用いられているが、成分に関してはいまだ明らかでない。著者らは全草のエーテルエキスについて検討し、若干の知見を得たので報告する。

埼玉県飯能市で夏季に採集したトキンソウ全草をエーテルで抽出し、Chart 1 に示すように分離した。すなわち中性部はシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行ない、A, B, C, D, E の 5 画分に分け、さらにシリカゲルクロマトグラフィーを繰り返して、A より mp 78—79° の無色無晶形物質 (I), B より mp 248—250° の無色針状晶 (II), C より mp 218—220° の無色針状晶 (III), D より mp 152—154° の無色板状晶 (IV) を得た。E はカラムクロマトグラフィーで精製した後、さらに $AgNO_3$ で処理した厚層クロマトグラフィーで分離し、mp 228—230° の無色針状晶 (V) ならびに mp 204—206° の無色針状晶 (VI) を得た。

I は Liebermann-Burchard 反応 (以下 L.B. 反応と略) 陽性で、赤外線吸収 (IR) スペクトルで 1740 cm^{-1} にエステル基、1178—1340 cm^{-1} にメチレン連鎖による吸収を示すので、高級脂肪酸のエステルと予想し、アルカリ加水分解より中性部から taraxasterol を得た。Taraxasterol は標品と IR スペクトルならびに混融により同定した。酸性部は常法によりジアゾメタンでメチルエステルとし、ガスクロマトグラフィー (GLC) を行なった結果、パルミチン酸であることを確認したので、I は taraxasteryl palmitate⁵⁾ である。

II は L. B. 反応陽性で、IR スペクトルで 1733, 1245 cm^{-1} にエステル基、1645, 880 cm^{-1} に末端メチレン基に帰属される吸収が認められ、またその核磁気共鳴 (NMR) スペクトルでは、メチル領域において、7 個のメチル基、2.04 ppm に 1 個のアセトキシのメチル基、4.63 ppm に末端メチレン基の 2 個のプロトンに相当するシグナルが認められる。Taraxasteryl acetate⁶⁾ を予想し、IR スペクトル、混融により比較同定した。

III は標品と IR スペクトルならびに混融により直接比較して taraxasterol と同定した。

IV は L.B. 反応陽性で、sterol の呈色を示し、IR スペクトルは 970 cm^{-1} に鋭い吸収があり、GLC の結果

1) 日本生薬学会東京大会で発表、東京、1969 年 9 月。

2) Location: Ichigaya Funakawara-cho, Shinjuku-ku, Tokyo.

3) 佐藤潤平, “漢薬の原植物,” 日本学術振興会, 1959, p. 353.

4) 葉 橘泉, “現代実用中薬,” 上海衛生出版社, 1956, p. 500.

5) J. Grzybowska, Z. Jerzmanowska, H. Witkowski, *Roczniki. Chem.*, **28**, 197 (1954) [*C.A.*, **48**, 12378 (1954)].

6) N. Ahmad, G. Hahn, *Pakistan J. Sci. Ind. Research.*, **2**, 55 (1959) [*C.A.*, **54**, 5836 (1960)].

Chart 1

から、大部分が stigmasterol で β -sitosterol が少量混在する混合物であることがわかった。

V は L. B. 反応陽性で、分子式 $C_{30}H_{50}O_2$ を与え、IR スペクトルで 3400 cm^{-1} に水酸基、 $1645, 874\text{ cm}^{-1}$ に末端メチレン基の吸収を示す。そのアセタートの NMR スペクトルでは、メチル領域において、7 個のメチル基、 $2.02, 2.04\text{ ppm}$ に 2 個のアセトキシのメチル基、 4.67 ppm に末端メチレン基の 2 個のプロトンのシグナルが認められ、arnidiol⁷⁾ と IR スペクトル、NMR スペクトルならびに混融により比較同定した。またアセタートの GLC によっても確認した。

VI は L. B. 反応陽性で、IR スペクトルでは 3400 cm^{-1} に水酸基、 $1645, 880\text{ cm}^{-1}$ に末端メチレン基の吸収が認められ、V に類似の吸収を示す (Fig. 1)。

またマスペクトルより分子式 $C_{30}H_{50}O_2$ を与える。そのアセタートの NMR スペクトルでは、メチル領域において 6 個のメチル基、 1.7 ppm に 1 個のビニルメチル基、 $2.02, 2.04\text{ ppm}$ に 2 個のアセトキシのメチル基、 $4.63, 4.74\text{ ppm}$ に末端メチレン基の 2 個のプロトンのシグナルが認められる。さらに VI のマスペクトルでは $M^+ 442$ を base peak として与える他に、 $m/e 360 (M^+-82), 234, 207, 189$ 等の強いフラグメントが認められる。したがって、A, B 環ならびに C, D 環に各々 1 個の水酸基が存在すると考えられる。以上のデータから VI はイソプロペニル基を持つ五環性トリテルペンの diol であることがわかる。なお、骨格については lupane 系が予想されるが、目下検討中である。

Fig. 1. IR Spectrum of (VI) (KBr)

7) J.O. Santer, R. Stevenson, *J. Org. Chem.*, **27**, 3204 (1962).

実験の部⁹⁾

IR スペクトルは日立赤外分光光度計 SPI-S2 型を使用し, NMR スペクトルは JNM-4H-100 型を使用, tetramethylsilane を内部基準とした. 厚層クロマトグラフィーはシリカゲル G (メルク社) をプレートに厚さ 1 mm に塗布し, 風乾 (1 hr) 後, 80°, 30 min 加熱, 後, 120°, 45 min 活性化したものを用いた. また, AgNO₃ 処理としては, 活性化したシリカゲルプレートに 20% MeOH 性 AgNO₃ 水溶液を均一に噴霧した後, 120°, 30 min 活性化して使用.⁹⁾ 呈色剤は 10% H₂SO₄ 使用.

抽出, 分離 1965 年夏季埼玉県飯能市で採集したトキンソウ乾燥全草 800 g を粉碎, 朝比奈式抽出器を用いてエーテルで抽出, 抽出液を濃縮, 5% NaHCO₃, 5% NaOH で酸性成分を除いた後, エーテル留去, 汚緑色粘稠なエキスを 11 g を得る. これを Chart 1 に示すようにシリカゲルを吸着剤, CHCl₃-AcOEt (1:1) を展開溶媒とするカラムクロマトグラフィーを行ない, 約 200 ml ずつ分取, fraction 1; 3—4; 5—9; 11—17; 22—31 をそれぞれ画分 A, B, C, D, E の 5 画分とした.

Taraxasteryl Palmitate (I) 画分 A を熱 EtOH に溶かし, 冷後析出した白色粉末を回収し, これを厚層クロマトグラフィー, 展開溶媒: hexane-benzene (5:1) で精製, 石油エーテル (bp 45—55°) から再結晶, 無色無晶形物質, mp 78—79°, 50 mg を得. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1740 (ester), 1178—1340 (methylene long chain). I 40 mg を dioxane 5 ml, 5% KOH 1 ml とともに 90°, 5 hr 加熱, 溶媒を留去し, 水を加え, エーテル抽出, 水洗, Na₂SO₄ で脱水後エーテル留去, 残留物を厚層クロマトグラフィー, 展開溶媒: CHCl₃-AcOEt (10:1) で精製, CHCl₃-MeOH で再結晶, 無色針状晶, mp 218—220° を得, 標品と IR スペクトル, 混融により taraxasterol と比較同定. 水層は dil.HCl で酸性とし, エーテル抽出, 水洗, Na₂SO₄ で脱水後エーテル留去し, 残留物を常法により CH₂N₂ でメチルエステルにして GLC を行ない, 標品と保持時間の比較ならびに標品添加法によりパルミチン酸メチルエステル (保持時間 (min) (以下 t_R と略) 1.4) に同定. GLC は島津 GC-1C 型の装置を用い, カラムはステンレス製, 長さ 150 cm (U 字型 2 本) 内径 6 mm のものを用い, 充填剤は 8% SE-30 を担体 Chromosorb W にコーティングしたものについて column temp. 225°, carrier gas N₂ 30 ml/min で行なった.

Taraxasteryl Acetate (II) 画分 B をカラムクロマトグラフィー, 展開溶媒: hexane-CHCl₃ (2:1) で精製, acetone より再結晶, 無色針状晶, mp 248—250°, 2.9 g を得. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1733, 1245 (acetoxyl), 3050, 1645, 880 (terminal methylene), NMR (CDCl₃) δ (ppm): 0.86 (12H, singlet, 4×CH₃), 0.94 (3H, singlet, 1×CH₃), 1.04 (3H, singlet, 1×CH₃), 1.06 (3H, singlet, 1×CH₃), 2.04 (3H, singlet, OCOCH₃), 4.63 (2H, doublet, $J=2.4$ cps, >C=CH₂), 4.46 (1H, multiplet, -CH-OAc). Anal. Calcd. C₃₂H₅₂O₂: C, 81.99; H, 11.18. Found; C, 82.30; H, 11.28. Taraxasteryl acetate の標品と混融, IR 一致.

Taraxasterol (III) 画分 C をシリカゲルカラムクロマトグラフィー, 展開溶媒: benzene-AcOEt (20:1) で精製, EtOH から再結晶, 無色針状晶, mp 218—220°, 100 mg を得. Taraxasterol の標品と混融, IR 一致 IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3320 (hydroxyl), 3050, 1645, 880 (terminal methylene). Anal. Calcd. C₃₀H₅₀O: C, 84.44; H, 11.81. Found: C, 84.32; H, 11.85.

Sterol (IV) 画分 D を acetone から再結晶して, 無色板状晶, mp 152—154°, 200 mg を得. GLC を行ない, 大豆ステロール (campesterol, stigmasterol, β -sitosterol) との保持時間の比較ならびに標品添加法により stigmasterol 90% (t_R 5.15), β -sitosterol 10% (t_R 5.75) の混合物と判明. GLC は島津 model 4AP の装置を用い, ガラスカラムの長さ 2 m; 内径 4 mm, 充填剤は 1.5% OV-1 を担体 Shimalite にコーティングしたものについて, column temp. 280°, carrier gas N₂ pressure 1.45 kg/cm² で行なった.

Arnidiol (V) および (VI) 画分 E をシリカゲルカラムクロマトグラフィー, 展開溶媒: benzene-AcOEt (7:3) で精製すると diol 体の混合物が得られ, さらに AgNO₃ 処理の厚層クロマトグラフィー, 展開溶媒: CHCl₃-AcOEt (10:1) を行ない, 2 種の物質 a, b を単離した.

a は acetone-hexane から再結晶して無色針状晶 (V), mp 228—230°, 16 mg を得. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400 (hydroxyl), 3050, 1645, 874 (terminal methylene). NMR (CDCl₃) δ (ppm): 0.77 (3H, singlet, 1×CH₃), 0.86 (6H, singlet, 2×CH₃), 0.99 (6H, singlet, 2×CH₃), 1.03 (3H, singlet, 1×CH₃), 1.04 (3H, singlet, 1×CH₃), 4.67 (2H, doublet, $J=2.4$ cps, >C=CH₂). Anal. Calcd. C₃₀H₅₀O₂: C, 81.39; H, 11.38. Found: C, 81.53; H, 11.46. Arnidiol の標品と混融, IR, NMR の場合により比較同定. V を常法により Ac₂O-ピリジンでアセチル化し, EtOH より再結晶, 無色針状晶, mp 185—187°, を得. NMR (CDCl₃) δ (ppm): 0.86 (6H, singlet, 2×CH₃), 0.89 (6H, singlet, 2×CH₃), 0.93 (3H, singlet, 1×CH₃), 1.03 (3H, singlet, 1×CH₃), 1.06 (3H, singlet, 1×CH₃), 2.02 (3H, singlet, OCOCH₃), 2.04 (3H, singlet, OCOCH₃), 4.55 (1H, multiplet, -CH-OAc), 4.67 (2H, doublet, $J=2.4$ cps, >C=CH₂), 4.81 (1H, multiplet, -CH-OAc). GLC を行ない, arnidiol diacetate の標品と一致 (t_R 8.2), GLC は sterol の場合と同様な装置および column を用い, column temp 290°, carrier gas N₂ pressure 1.95 kg/cm² で行なった.

b は acetone-hexane から再結晶して無色針状晶 (VI), mp 204—206°, 15 mg を得, IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400

8) 融点はすべて未補正, 微量融点測定器 (柳本製作所) により測定.

9) R. Ikan, *J. Chromatog.*, **17**, 591 (1965).

(hydroxyl), 3060, 1645, 880 (terminal methylene). NMR (CDCl_3) δ (ppm): 0.77 (3H, singlet, $1 \times \text{CH}_3$), 0.80 (3H, singlet, $1 \times \text{CH}_3$), 0.85 (3H, singlet, $1 \times \text{CH}_3$), 0.98 (3H, singlet, $1 \times \text{CH}_3$), 1.00 (3H, singlet, $1 \times \text{CH}_3$), 1.05 (3H, singlet, $1 \times \text{CH}_3$), 1.70 (3H, singlet, $=\text{C}-\text{CH}_3$), 4.63, 4.74 (each 1H, doublet, $J=2.4$ cps, $>\text{C}=\text{CH}_2$). Mass Spectrum m/e : 442 (M^+), 427 (M^+-CH_3), 424 ($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}$), 360 (M^+-82), 234, 219, 216, 207, 203, 201, 189. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$: C, 81.39; H, 11.38. Found; C, 81.11; H, 11.23. VI を常法により Ac_2O -ピリジンでアセチル化し, acetone から再結晶して無色針状晶, mp $165-167^\circ$, $[\alpha]_D^{25} +48.1^\circ$ ($c=0.054$, CHCl_3). NMR (CDCl_3) δ (ppm): 0.85 (12H, singlet, $4 \times \text{CH}_3$), 1.05 (6H, singlet, $2 \times \text{CH}_3$), 1.70 (3H, singlet, $=\text{C}-\text{CH}_3$), 2.02 (3H, singlet, OCOCH_3), 2.04 (3H, singlet, OCOCH_3), 4.63, 4.74 (each 1H, doublet, $J=2.4$ cps, $>\text{C}=\text{CH}_2$), 4.82—5.01 (1H, multiplet, $-\text{CH}-\text{OAc}$), 4.42—4.55 (1H, multiplet, $-\text{CH}-\text{OAc}$).

謝辞 本研究にあたり種々御助言をいただいた本学部 長沢元夫教授に厚く感謝いたします。また原料植物の採集ならびに抽出に協力された日本メルク万有株式会社の星野孝道氏, マススペクトルの測定に便宜を与えられた理化学研究所有機合成研究室, ガスクロマトグラフィーの測定に便宜いただいた東京工業大学天然物研究施設の池川信夫助教授, 貴重な arnidiol の標品を恵与されたアメリカ Brandeis 大学の R. Stevenson 教授, 元素分析を施行された東京大学薬学部中央分析室の諸氏に深謝いたします。