アケボノソウ *Swertia bimaculata* の Xanthone 類について

井上博之, 上田伸一, 稲田正道, 辻井昌彦

京都大学薬学部¹⁾On the Xanthoness of *Swertia bimaculata*

HIROYUKI INOUE, SHINICHI UEDA, MASAMICHI INADA and MASAHIKO TSUJII

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University¹⁾

(Received June 22, 1971)

Three xanthoness have been isolated from *Swertia bimaculata*. One of these was the known 1,3-dihydroxy-4,5-dimethoxyxanthone; the others were proved to be 1- and 3-O- β -D-glucopyranosides of the xanthone, respectively. Biogenesis of these gentianaceous xanthoness was also discussed.

われわれはリンドウ科植物のセコイリド配糖体研究の一環としてアケボノソウ, *Swertia bimaculata* (SIEB. et Zucc.) Hook et THOMS. の成分検索を行ない既報のように sweroside と swertiamarin の2種を検出した²⁾がこの他に3種の xanthone 類を単離しその構造を明らかにしたのでここに報告する.

これら成分の単離については実験の部に詳述するが, アケボノソウ地上部をメタノールで抽出しその濃縮残渣を水溶液としメチレンクロリド, エーテル, 酢酸エチルで順次抽出しメチレンクロリド層からは xanthone A (I), 酢酸エチル層からは xanthone B (II) と xanthone C (III) を得た. なおその際 sweroside と swertiamarin は水層に溶存する.

Xanthone A (I) は組成 $C_{15}H_{12}O_6$, mp 274—276° の黄色針状晶である. 紫外線吸収 (UV) スペクトル (EtOH) は 244, 260, 318, 364 nm に吸収極大を持ち, 赤外線吸収 (IR) スペクトルは 1650, 1610, 1580, 1510, 1490 cm^{-1} に吸収帯を示す. 核磁気共鳴 (NMR) スペクトル ($DMSO-d_6$) は τ -2.51 (s, 1H) に水素結合した水酸基, τ -1.0 (IH) を中心としてなお1個の水酸基, τ 2.35 (q, $J=4$ Hz, 6 Hz, 1H), τ 2.58 (m, 2H) に計3個のベンゼンプロトン, τ 3.69 (s) にさらに1個のベンゼンプロトン, τ 6.00, 6.14 に各1個のメトキシル基の諸シグナルを示す. I をアセチル化すると diacetate (IV), $C_{19}H_{16}O_8$, mp 173—176° が得られる. また I をジメチル硫酸-炭酸カリでメチル化すると dimethyl ether (V), $C_{17}H_{16}O_6$, mp 180° が得られる. したがって xanthone A (I) が dihydroxydimethoxyxanthone であることは明らかである. I の UV スペクトルがナトリウムメチラートあるいは塩化アルミニウムの添加により深色移動することはその水酸基が1位 (あるいは8位) と3位とにあることを意味する. I の NMR スペクトルの τ -2.51 の singlet もその水酸基の一つが1位あるいは8位に存在することを示す. また上記の NMR スペクトルのベンゼンプロトンに由来するシグナルは xanthone の両ベンゼン環の一方に1個のプロトンが孤立し, 他方には3個のプロトンが互に隣接して存在することを示す. したがって xanthone A (I) の置換基は 1,3,4,5-, 1,3,4,8-, 1,2,3,5-, あるいは 1,2,3,8-, のいずれかにあり, その中1位 (あるいは8位) と3位は遊離の水酸基, 残りの両位置は methoxyl 基によって占められていることが推定される.

さてアケボノソウからは先に小松ら³⁾も xanthone を単離し, 主として NMR スペクトルの解析に基づき構造 VI あるいは VII を推定した. また Stout ら^{4,5)} はリンドウ科 *Frasera* 属植物から多数の xanthone 体を単離したがその中には 1,3-dihydroxy-4,5-dimethoxyxanthone およびその dimethyl ether と推定されたものもある

1) Location: Yoshida-shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto.

2) 井上博之, 中村有伸, 薬誌, 91, 755 (1971).

3) 富森 毅, 小松曼著, 薬誌, 89, 410 (1969).

4) G. H. Stout, W. J. Balkenhol, *Tetrahedron*, 25, 1947 (1969).5) G. H. Stout, E. N. Christensen, W. J. Balkenhol, K. L. Stevens, *Tetrahedron*, 25, 1961 (1969).

り、後者については合成も行なっている。

われわれの今回得た xanthone A は Stout らの得たものと諸性質がほぼ一致する。また小松らの得たものも上記のように起源植物も同じであるし融点を除く諸性質はよく一致する。⁶⁾

そこでわれわれは合成品との比較によってこの物質の構造の再確認を行なった。すなわち 1,2,3,5-tetramethoxybenzene と 2,3-dimethoxybenzoyl chloride とを塩化アルミニウムの存在下 Friedel-Crafts 反応に付して得られる 2-hydroxy-2',3',3',4',6'-pentamethoxybenzophenone を Stout ら⁵⁾にしたがいピリジンと tetramethylammonium 水溶液の混液で煮沸し mp 178—179° と mp 143—145° の両 xanthone 体を得た。前者は Stout の記載する 1,3,4,5-tetramethoxyxanthone と諸性質が一致しわれわれの得た前記のジメチル体 (V) とも同定された。また後者は Stout ら⁴⁾が別途に合成した 1,2,3,5-tetramethoxyxanthone と一致した。ここにおいて V, したがって I はいずれも Stout らが得たものと同一物であることが確認され、構造も確定した。

Chart 1

Xanthone B (II) は組成 $C_{21}H_{22}O_{11} \cdot \frac{1}{2}H_2O$ mp 264—266°, $[\alpha]_D^{19} -47.9^\circ$ (pyridine) の淡黄色針状晶である。UV スペクトルは I の場合とほぼ等しく、NMR スペクトル (DMSO- d_6) も $\tau -2.53(s)$ にあらわれる 1 個の水素結合性水酸基をはじめ、 $\tau 2.32 (q, 1H)$, $2.50 (m, 2H)$, $3.32 (s, 1H)$ の芳香族プロトン、 $\tau 6.00, 6.12$ のメトキシ基のプロトンなど I とほぼ同じ位置にシグナルを示す。II をアセチル化すると mp 223—225° の pentaacetate (VIII), $C_{31}H_{32}O_{16}H_2O$ が得られる。本物質の NMR スペクトル ($CDCl_3$) には $\tau 7.53$ にフェノール性アセトキシ基 1 個、 $\tau 7.90—7.95$ にアルコール性アセトキシ基 4 個のシグナルが見られる。また $\tau 4.60—5.00$ に糖の C-1'—C-4' プロトンに由来するシグナル、 $\tau 5.75$ に C-6' の 2 個のプロトンのシグナルなども見られる。したがって II は xanthone A の配糖体であることがわかる。実際に II は β -glucosidase の作用で xanthone A (I) と D-glucose を生ずる。また II の NMR スペクトルで $\tau -2.53$ に水酸基のシグナルが存在することは遊離水酸基が C-1 位に存在することを示す。したがって xanthone B は 1-hydroxy-3- β -D-glucopyranosyloxy-4,5-dimethoxyxanthone であることが明らかとなった。

Xanthone C (III) は組成 $C_{21}H_{22}O_{11} \cdot \frac{1}{2}H_2O$ mp 269—274° (decomp.), $[\alpha]_D^{23} -119.5^\circ$ (MeOH) の微黄色針状晶である。UV スペクトル、NMR スペクトル共 II と類似するが低磁場の水素結合性水酸基のシグナルは本物質の NMR スペクトルには見られない。III をアセチル化すると mp 222—224° の pentaacetate (IX), $C_{31}H_{32}O_{16}$, が得られる。本物質も VIII と同様、NMR スペクトル ($CDCl_3$) において $\tau 7.62$ に 1 個のフェノールアセトキシ基、 $\tau 7.82—7.93$ に 4 個のアルコール性アセトキシ基のシグナルを示す。また III も β -glucosidase により加水分解されて xanthone A (I) と D-glucose を与える。したがって xanthone C (III) は 1- β -D-glucopyranosyloxy-3-hydroxy-4,5-dimethoxyxanthone であることがわかった。

6) 小松らは融点を 260° と記載した。

Chart 2. Biogenesis of Xanthones in Gentianaceous Plants

リンドウ科植物からはすでに約 30 種の xanthone 類が単離されている。⁷⁾ これらは gentisein 型 (1,3,7-tri-hydroxy-), norswertinin 型 (1,3,7,8-tetrahydroxy-), desmethylbellidifolin 型 (1,3,5,8-tetrahydroxy-), その他に分類される。

最近, Lewis ら⁸⁾ は *Gentiana lutea* に微量の 2,3',4,6-tetrahydroxybenzophenone (X) が存在すること, さらにこの benzophenone が gentisein などに取りこまれることを認め, phenylalanine (XI), *m*-hydroxybenzoic acid (XII) を経て生じた tetrahydroxybenzophenone (X) から a 方向への oxidative coupling により gentisein (XIII) が生ずるという生合成ルートを推定した。またわれわれの研究グループ⁹⁾ は ¹⁴C-phenylalanine や ¹⁴C-acetate の投与実験の結果からアケボノソウと同属のセンブリ *Swertia japonica* MAKINO にふくまれる強苦味配糖体 amarogentin, amaroswerin¹⁰⁾ の構成因子となっている 3,3',5-trihydroxybiphenyl-2-carboxylic acid

7) I. Carpenter, H.D. Locksley, F. Scheinmann, *Phytochem.*, **8**, 2013 (1969).

8) J.E. Atkinson, P. Gupta, J.R. Lewis, *Chem. Commun.*, **1968**, 1386; P. Gupta, J.R. Lewis, *J. Chem. Soc. (C)*, **1971**, 629.

9) 井上博之, 上田伸一, 武田美雄, 日本薬学会第 91 回年会 (1971 年 4 月 7 日福岡) 口頭発表。

10) H. Inouye, Y. Nakamura, *Tetrahedron*, **27**, 1951 (1971).

(XIV) がおそらく X と共通の中間体 *m*-hydroxybenzoyltriketide (XV) から生じ、その際 XV の閉環方式の相違によって一方では benzophenone, 他方では biphenylcarboxylic acid が生成するのであることを推定した。この考え方によれば xanthone A (I) の生成は benzophenone (X) が b 方向に oxidative coupling し XVI を生じ閉環、4 位に水酸化を受け XVII となり、さらに 4,5 位の水酸基がメチル化されたものとして説明できる。Norswertinin (XVIII), desmethylbellidifolin (XIX) なども Chart 2 に示すように基幹となる 1,3,7-trihydroxy 体, 1,3,5-trihydroxy 体が各々 8 位において水酸化を受けて生じたもの¹¹⁾ と考えることができる。XVII と同様に XIII, XVIII, XIX なども水酸基がメチル化あるいはグルコシル化されたさらに多数の xanthone 誘導体の母体となっている。

実 験 の 部¹²⁾

アケボノソウより Xanthone A (I), B (II), C (III) の単離 9 月下旬岐阜県下で採集したアケボノソウ地上部 2 kg を熱メタノール各 4 liter で 3 回抽出、減圧濃縮後残渣に 0.6 liter の水を加え、CH₂Cl₂, ether, AcOEt 各 0.6 liter, *n*-BuOH 0.8 liter で順次抽出した。

CH₂Cl₂ 層を減圧濃縮し 2.21 g の残渣を得た。このものにつき silica gel (Mallinckrodt) (17 g) 上 CH₂Cl₂ を展開溶媒としてクロマトグラフィーを行ない溶出液より I の結晶 61 mg を得た。MeOH から再結晶し mp 274—276° の黄色針状晶を得た。TLC: SiO₂, CHCl₃-MeOH (7:3), *R_f* 0.83. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 244 (4.49), 260 (4.37), 318 (4.27), 364 (3.67); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH-NaOAc}}$ nm (log ϵ): 239 (sh.) (4.42), 244 (4.44), 260 (4.19), 281 (4.17), 324 (sh.) (3.95), 354 (4.01), 390 (sh.) (3.88); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH-AlCl}_3}$ (log ϵ): 231 (4.32), 249 (sh.) (4.16), 282 (4.36), 342 (4.08), 430 (3.58). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1650, 1610, 1580, 1510, 1490. Anal. Calcd. C₁₅H₁₂O₆: C, 62.50; H, 4.20. Found: C, 62.46; H, 4.04.

AcOEt 層を約 15 ml まで減圧濃縮し放置したところ黄色の結晶が得られた。濾取後 MeOH から再結晶し mp 264—266°, $[\alpha]_D^{25} = -47.9^\circ$ ($c=0.33$, pyridine) の xanthone B (II) の淡黄色針状晶 20 mg を得た。TLC: SiO₂, CH₂Cl₂-MeOH (7:3), *R_f* 0.57; polyamide, MeOH, *R_f* 0.47. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 249 (4.47), 318 (4.10), 375 (3.84). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1650, 1610, 1580, 1490. Anal. Calcd. C₂₁H₂₂O₁₁·½H₂O: C, 54.90; H, 5.05. Found: C, 55.38; H, 4.99.

II を濾取した AcOEt 母液を濃縮し残渣を MeOH に溶かし polyamide C 200 (Wako) カラムに流しこみ同一溶媒で展開したところ最初に xanthone B (II) が、後から xanthone C (III) が溶出した。III の部分を EtOH から再結晶し mp 269—274° (分解) (最初 160—162° で熔融、再び固化後前記温度で発泡分解する)。 $[\alpha]_D^{25} = -119.5^\circ$ ($c=0.25$, MeOH) の微黄色針状晶 25 mg を得た。TLC: SiO₂, CHCl₃-MeOH (7:3), *R_f* 0.57; polyamide, MeOH, *R_f* 0.17. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 239 (sh.) (4.55), 248 (4.65), 299 (sh.) (4.23), 311 (4.28), 351 (3.08). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1640 (sh.), 1610, 1590, 1510, 1490. NMR (DMSO-*d*₆) τ : 2.32 (q, 8-H), 2.57 (m, 6,7-H), 3.10 (s, 2H), 5.99 (s, 2×OCH₃). Anal. Calcd. C₂₁H₂₂O₁₁·½H₂O: C, 54.90; H, 5.05. Found: C, 55.20; H, 4.92.

Xanthone A Diacetate (IV) I 19.6 mg を pyridine, Ac₂O 各 1 ml を用い常法によりアセチル化し、反応産物として得られる粉末を MeOH より再結晶し mp 173—176° の無色針状晶 (IV) 7.5 mg を得た。NMR (CDCl₃) τ : 2.23 (q, 8-H), 2.73 (m, 6,7-H), 3.23 (s, 2-H), 5.89 (s, OCH₃), 6.03 (s, OCH₃), 7.53 (s, OCOCH₃), 7.63 (s, OCOCH₃). Anal. Calcd. C₁₉H₁₆O₈: C, 61.29; H, 4.33. Found: C, 61.01; H, 4.24.

Xanthone A Dimethyl Ether (V) I 32 mg をアセトン 10 ml に溶かし、K₂CO₃ 1.6 g, (CH₃)₂SO₄ 0.3 ml を加え 2 時間半還流加熱、さらに (CH₃)₂SO₄ 0.2 ml を加えさらに 1 時間還流加熱後濾過、不溶物をアセトンで洗浄し濾液と合する。濾液を濃縮後 H₂O を加え析出する沈澱を濾取、26 mg を得た。別途合成品と混融、IR, NMR スペクトルの比較により同定した。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 248 (4.58), 310 (4.14), 352 (3.72). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1660, 1620, 1590, 1570, 1510, 1490. NMR (CDCl₃) τ : 2.17 (q, 8-H), 2.77 (m, 6,7-H), 3.59 (s, 2-H), 5.99 (s, 4×OCH₃) (CH₂Cl₂ 中の測定値は Stout らの記載⁵⁾ と一致した)。Anal. Calcd. C₁₇H₁₆O₆: C, 64.55; H, 5.10. Found: C, 64.73; H, 5.06.

Xanthone B Pentaacetate (VIII) II 15 mg を pyridine, Ac₂O 各 0.5 ml を用いてアセチル化した。粗反応産物を EtOH から再結晶し mp 225—227° の無色針状晶 (VIII) 10 mg を得た。NMR (CDCl₃) τ : 2.22 (q, 8-H), 2.72 (m, 6,7-H), 3.22 (s, 2-H), 4.60—5.00 (m, 1',4'-H), 5.75 (m, 6'-H), 5.99 (s, 2×OCH₃), 7.53 (s, arom. OCOCH₃), 7.90—7.95 (4×OCOCH₃). Anal. Calcd. C₃₁H₃₂O₁₆·H₂O: C, 54.86; H, 5.05. Found: C, 55.20; H,

11) Locksley ら (脚註 7 参照) の示唆しているようにこれらの水酸化反応が benzophenone (X) の段階でおこり、ついで oxidative coupling により XVI, XVIII, XIX などが生成する可能性もある。このことについては将来の検討に俟つべきであろう

12) 融点は柳本製作所微量融点測定装置を用いて測定、未補正。NMR スペクトルは Varian A-60 spectrometer を用いて測定、TMS を内部基準として使用。薄層クロマトグラフィー (TLC) は Silicagel G (nach Stahl), あるいは polyamide U (Wako) を吸着剤として行なった。スポットは紫外線下で観測した。

5.16.

Xanthone C Pentaacetate (IX) III 16 mg を上記同様常法によりアセチル化し反応産物を EtOH から再結晶し mp 222—224° の無色針状晶 14 mg を得た. NMR (CDCl₃) τ : 2.23 (q, 8-H), 2.75 (m, 6,7-H), 3.12 (s, 2-H), 4.50—5.00 (m, 1',4'-H), 5.77 (m, 6'-H), 5.92 (s, OCH₃), 6.00 (s, OCH₃), 7.62 (s, arom. OCOCH₃), 7.82—7.93 (4 $\times$ OCOCH₃), *Anal.* Calcd. C₃₁H₃₂O₁₆: C, 56.36; H, 4.88. Found: C, 56.07; H, 5.02.

Xanthone B (II) および Xanthone C (III) の β -Glucosidase による加水分解 II 45 mg を acetate 緩衝液 (0.1M, pH 4.9) 10 ml に溶かし β -glucosidase (杏仁より調製した emulsin) 10mg を加え 37° で一夜放置, 析出する結晶を濾取, MeOH より再結晶, xanthone A 10 mg を得た. 本物質は混融, IR, TLC により I と同定された. 濾液からは PPC により glucose が検出された. 東洋濾紙 No. 50, BuOH: AcOH: H₂O (4:1:5), *R_f* 0.18; BuOH: EtOH: H₂O (4:1:5), *R_f* 0.13. 発色: 2-aminobiphenyl hydrogen oxalate 溶液噴霧, 加熱,¹³⁾ 褐色; D-glucose oxidase, peroxidase, o-dianisidine 法,¹⁴⁾ 赤褐色.

III についても同じ操作を行ない同様の結果を得た.

謝辞 NMR の測定を担当された本学部 新宮徹朗博士, 大河美都子嬢, 元素分析を担当された本学元素分析センターの諸氏, ならびに採集に協力された本学部 池城安正氏に深謝する.

13) H.T. Gordon, W. Thornburg, L.N. Werum, *Anal. Chem.*, **28**, 849 (1956).

14) O. Hansen, *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, **14**, 651 (1962).