クミスクチン (*Orthosiphon stamineus* BENTH.) のフラボノイドについて¹⁾

松浦 信, 國井敏信, 飯沼宗和

岐阜薬科大学²⁾Studies on the Flavonoid of Kumis-kuching (*Orthosiphon stamineus* BENTH.)¹⁾

SHIN MATSUURA, TOSHINOBU KUNII and MUNEKAZU INUMA

Gifu College of Pharmacy²⁾

(Received June 25, 1973)

Eupatrin, sinensetin, and 3'-hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone were isolated from Kumis-kuching (*Orthosiphon stamineus* BENTH.). These compounds were identified with the respective flavones synthesized from 2-hydroxy-4,5,6-trimethoxyacetophenone.

クミスクチン (*Orthosiphon stamineus* BENTH.) (シソ科 Labiatae) はインド, インドネシア, オーストラリアに広く分布する多年草で, 利尿剤として広く利用されている。

クミスクチンの成分に関してはリモネン, ボルネオール, チモール,³⁾ glucose, fructose, pentose,⁴⁾ 尿素, 無機物質, 脂肪油,⁵⁾ 酒石酸, クエン酸, *d*-グルクロン酸,⁴⁾ グリコール酸, グリセリン酸,⁶⁾ β -sitosterol, α -amyrin,⁷⁾ β -carotene,⁸⁾ saponin⁵⁾ および利尿活性物質⁸⁻¹¹⁾ などの研究があるが, 特に利尿活性成分に関して 1959 年 F. Kurzen¹²⁾ は mp 222—224° の結晶を単離し, これが強い利尿作用を有すると報告したが, 藤本ら¹³⁾ は Kurzen の追試を行ない, mp 222—224° 物質は myo-inositol であり, 利尿活性物質としてははなはだ疑問であると報告している。

著者らはクミスクチンの利尿作用が含有されるフラボノイドではないかと考えフラボノイドの検索を行なった。すなわちクミスクチンのメタノールエキスについて Chart 1 に示す方法によって 3 種のフラボノイドを分離した。

まず結晶 [II] は赤外線吸収スペクトル (以下 IR) において HO の吸収を示さず, 核磁気共鳴スペクトル (以下 NMR) において 5 コ分の OCH₃ および 5 コ分のベンゼン性 H の peak を示し, 融点は sinensetin (5,6,7,3',4'-pentamethoxyflavone) のそれと一致することから, 2-hydroxy-4,5,6-trimethoxyacetophenone (A) と veratric acid chloride とから得た 2-(3',4'-dimethoxybenzoyloxy)-4,5,6-trimethoxyacetophenone (B) を Baker 転位, ついで脱水閉環する方法で sinensetin を合成し, 天然 sinensetin と同定した。

物質 [I] はアルコール性塩化第二鉄 (alc. FeCl₃) 反応陽性, メチル化によって sinensetin を生成する。また NMR は 3 コ分の OCH₃ および 2 コ分の OH の peak を示す。したがって遊離 OH 基 2 コのうち 1 コは C₈ 位である。5,6,7,3',4'-Pentahydroxyflavone 誘導体の中では eupatrin (6,7,4'-trimethoxy-5,3'-dihydroxyflavone)

1) 日本薬学会東海支部例会で発表, 名古屋, 1973年 6 月。

2) Location: *Mitahora, Gifu.*

3) Schunck de Goldfiem, *Presse. Méd.*, **52**, 1039 (1938).

4) Q. Keller, *Arch. Pharm.*, **272**, 245 (1934).

5) P. Casparis, C. Fevrier, *Pharm. Acta. Helv.*, **8**, 75 (1933).

6) J. Balansard, *Prod. Pharm.*, **7**, 457 (1952).

7) G. Di. Modica, P.F. Rossi, *Gazz. Chim. Ital.*, **88**, 737 (1958).

8) R. Dietzel, E. Schmidt, *Arch. Pharm.*, **274**, 10 (1936).

9) Van Italli, *Nieuw Tijdschrift voor de Pharmacie in Nederland*, **1886**, 232.

10) G. Kuhlmann, *Pharmaz. Ztg.*, **76**, 367 (1931).

11) V.I. Kiryutina, *Farmakol. i. Toksikol.*, **22**, 375 (1959).

12) F. Kurzen, Ger. 1065132, Sep. 10, 1959 (Cl. 30h).

13) 藤本琢憲, 津田喜典, 薬誌, **92**, 1060 (1972).

の mp 196—198° が物質 [I] の mp に一致するので標品¹⁴⁾ との比較によって eupatrin と同定した。

また物質 [III] は alc. FeCl₃ 反応陰性、メチル化によって sinensetin を生成する。また IR で OH の吸収を示し、NMR では 4 コ分の OCH₃ の peak を示すことなどから eupatrin-5-methyl ether が予想される。そこで A を isovanillin と縮合して得られた 3,2'-dihydroxy-4,4',5',6'-tetramethoxychalcone (D)¹⁵⁾ をイソアミルアルコール中二酸化セレンで酸化的に閉環することによって 3'-hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone (mp 175°) (lit.¹⁶⁾ mp 179—180°) を得、物質 [III] と同定した。

またさらに合成した物質 [III] を乾燥ニトロベンゼン中無水塩化アルミニウムと室温で部分脱メチル化することによって合成 eupatrin¹⁷⁾ を得、天然 eupatrin と同定した。

以上クミスクチンからフラボノイドとして eupatrin, sinensetin および 3'-hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone を分離し、それらの各々を合成することによって確認した。

実験の部¹⁸⁾

クミスクチンの抽出 クミスクチン乾燥品 2.5 kg をメタノールで抽出し、抽出液を約 600 g まで濃縮し、これに水 500 ml およびベンゼン 400 ml ずつ 2 回加えて振り混ぜ、ベンゼン層を集める。また水層はエーテル抽出する。ベンゼン層およびエーテル層はともに Mg-HCl 反応陽性なので合併してシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行ない、クロロホルムで展開して物質 [I—III] のフラボノイドフラクション (Fr.) に分離した。

Sinensetin (天然) 物質 [II] Fr. はさらに精製して無色プリズム晶、mp 178.5° (acetone), 1.98 g (0.08%) を得た。Alc. FeCl₃ 反応陰性、Mg-HCl 反応赤黄色、Zn-HCl 反応赤黄色。Anal. Calcd. C₂₀H₂₀O₇: C, 64.51; H, 5.41. Found: C, 64.64; H, 5.42. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ mp: 266, 328. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1622 (C=O). NMR (CDCl₃) δ : 3.95, 3.98, 4.0 (3×OCH₃, s), 4.02 (2×OCH₃, s), 6.65 (C₃-H, s), 6.84 (C₈-H, s), 7.01 (C₅'-H, d, *J*_{ortho}=9 cps), 7.38 (C₂'-H, d, *J*_{meta}=2.5 cps), 7.56 (C₆'-H, dd, *J*_{ortho}=9 cps, *J*_{meta}=2.5 cps)。

2-(3',4'-Dimethoxybenzoyloxy)-4,5,6-trimethoxyacetophenone (B) 2-Hydroxy-4,5,6-trimethoxyacetophenone (A) 4.5 g (0.02 mole), veratric acid chloride 6 g (0.03 mole) および乾燥ピリジン 20 ml の混合物を 110° 油浴中 2 時間加熱、減圧下にピリジンをできるだけ除き、残渣に水を加え、析出した油状物をベンゼン抽出し、ベ

14) S.M. Kupchan, J.R. Knox, M.S. Udayamurthy, *J. Pharm. Sci.*, **54**, 929 (1965).

15) H. Wagner, *et al.* は本物質を eupatretin の中間体として得たと報告しているが、詳細には触れていない。H. Wagner, G. Flores, L. Horhammer, L. Farkas, J. Strelicky, *Tetrahedron Letters*, **1971**, 1233.

16) L. Farkas らは本化合物を A と 3-benzoyloxy-4-methoxybenzoic acid chloride から得た ester の Baker 転位、脱水閉環、ついで脱ベンジル化によって得ている。L. Farkas, J. Strelicky, B. Vermes, *Chem. Ber.*, **102**, 112 (1968).

17) L. Farkas らは 3'-hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone をエーテル中 AlCl₃ と煮沸して得た (lit.¹⁶⁾。

18) 融点はすべて未補正。IR は日本分光 IRA-1 型、NMR は日立 R-20B 型、Mass Spectrum は日本電子 JMS-01SG 型、UV は島津 MPS-50L 型を用いた。TLC は Kieselgel G、呈色試薬は 10% H₂SO₄。また column chromatography の SiO₂ は WAKOGEL C-200 を用いた。

ンセン層は希塩酸で洗浄後溶媒を留去する。無色プリズム晶, mp 109° (MeOH), 6.4 g (82.1%). *Anal.* Calcd. $C_{20}H_{22}O_8$: C, 61.53; H, 5.68. Found: C, 61.67; H, 5.62.

2-Hydroxy-4,5,6,3',4'-pentamethoxydibenzoylmethane (C) B 6 g (0.0154 mole), 水酸化カリウム末 5.1 g および乾燥ピリジン 25 ml の混合物を攪拌しながら加温し, 約 20 分を要して 70° とすると内容物は緑黄色泥状となる。この中へ氷片を加えて均一液としてから氷酢酸 20 ml ついで濃塩酸 30 ml を加えて酸性とし, 析出した黄色結晶をろ取する。橙色針状晶, mp 135—136° (EtOH), 4.8 g (80.0%). *Anal.* Calcd. $C_{20}H_{22}O_8$: C, 61.53; H, 5.68. Found: C, 61.38; H, 5.67.

5,6,7,3',4'-Pentamethoxyflavone (合成 Sinensetin) C 3.9 g (0.01 mol) の熱氷酢 30 ml 溶液中へ濃硫酸 2 ml の熱氷酢 4 ml 溶液を加えて振り混ぜ, 室温に 5 分間放置する。冷水でうすめると結晶が析出する。無色プリズム晶, mp 175° (acetone), 3.62 g (97.0%). *Anal.* Calcd. $C_{20}H_{20}O_7$: C, 64.51; H, 5.41. Found: C, 64.64; H, 5.42.

ここに合成した sinensetin は天然 sinensetin (mp 178—178.5°) と混融しても融点低下せず, また IR および TLC も一致した。TLC: Rf 0.81, 天然 sinensetin Rf 0.81 ($CHCl_3$: MeOH=95: 5).

Eupatrin (天然) 物質 [I] Fr. はさらに精製して淡黄色プリズム晶, mp 197.5° (EtOH), 1.56 g (0.06%) を得た。Alc. $FeCl_3$ 反応暗紫色, Mg-HCl 反応黄褐色, Zn-HCl 反応紅色。 *Anal.* Calcd. $C_{18}H_{16}O_7$: C, 62.79; H, 4.68. Found: C, 62.71; H, 4.84. Mass Spectrum *m/e*: 344 (M^+), 329 (M^+-CH_3), 301 (M^+-COCH_3), 298, 181, 153, 148. UV λ_{max}^{MeOH} mp: 275, 341. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3100 (OH), 1649 (C=O). NMR ($DMSO-d_6$) δ : 3.79 (OCH_3 , s), 3.92 (OCH_3 , s), 3.96 (OCH_3 , s), 6.75 (C_3-H , s), 6.83 (C_8-H , s), 7.07 ($C_5'-H$, d, *Jortho*=9.0 cps), 7.47 ($C_2'-H$, d, *Jmeta*=2.5 cps), 7.57 ($C_6'-H$, dd, *Jmeta*=2.5 cps, *Jortho*=9.0 cps), 9.41 ($C_3'-OH$, s), 12.95 (C_5-OH , s). 標品 (Kupchan¹⁴) と混融しても融点低下せず。また IR および TLC も一致した。TLC: Rf 0.715, 標品 eupatrin¹⁴) Rf 0.715 ($CHCl_3$: MeOH=95: 5).

3'-Hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone (天然) 物質 [III] Fr. はさらに精製して無色針状晶, mp 175.5° (AcOEt), 0.75 g (0.03%) を得た。Alc. $FeCl_3$ 陰性, Mg-HCl 反応橙黄色。 *Anal.* Calcd. $C_{19}H_{18}O_7$: C, 63.68; H, 5.06. Found: C, 63.77; H, 5.05. UV λ_{max}^{MeOH} mp: 242, 330. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3070 (OH), 1625 (C=O). NMR ($CDCl_3$) δ : 3.94 (OCH_3 , s), 3.98 (OCH_3 , s), 3.99 (OCH_3 , s), 4.02 (OCH_3 , s), 6.62 (C_3-H , s), 6.83 (C_8-H), 6.95 ($C_2'-H$, d, *Jortho*=9 cps), 7.44 ($C_6'-H$, dd, *Jmeta*=2.5 cps, *Jortho*=9 cps), 7.53 ($C_5'-H$, d, *Jmeta*=2.5 cps).

2',3-Dihydroxy-4',5',6',4'-tetramethoxychalcone (D) A 2.26 g (0.01 mole) および isovanillin 1.83 g (0.012 mole) のエタノール 25 ml 溶液に KOH 8.3 g (0.15 mole) の水 8.3 ml 溶液を加え, 室温で 20 時間反応せしむ。水 30 ml を加えてから塩酸酸性として放置すれば結晶が析出する。褐赤色板状晶, mp 131° (50% EtOH), 3.29 g (91.2%). Alc. $FeCl_3$ 反応暗褐色。 *Anal.* Calcd. $C_{19}H_{20}O_7$: C, 63.33; H, 5.59. Found: C, 63.24; H, 5.60. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} 3360 (OH), 1630 (C=O).

3'-Hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone (合成) D 1.8 g (0.005 mole), 二酸化セレン 3.33 g (0.03mole) および新たに蒸留したイソアミルアルコール 50 ml の混合物を 7 時間加熱還流せしめる。反応物は減圧下に溶媒をできるだけ留去し, 残渣にクロロホルムを加えて不溶の Se をろ去し, クロロホルム蒸発残渣をベンゼンから再結晶, 無色針状晶, mp 175° (AcOEt), 1.55 g (89.5%). *Anal.* Calcd. $C_{19}H_{18}O_7$: C, 63.68; H, 5.06. Found: C, 63.53; H, 5.04.

本フラボン天然品 (mp 175.5°) との混融試験によって融点低下せず, また IR および TLC も完全に一致した。TLC: Rf 0.63, 天然品 Rf 0.63 ($CHCl_3$: MeOH=95: 5).

5,3'-Dihydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone (合成 Eupatrin) 合成した 3'-hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone 0.72 g (0.002 mole) を無水 $AlCl_3$ 8 g (0.06 mole) の乾燥ニトロベンゼン 80 ml 中に加え, 均一液になってから室温に 5 時間放置する。これを氷 50 g と濃塩酸 50 g の混合物中に注いで分解し, 直ちに水蒸気蒸留してニトロベンゼンを除くと淡黄色結晶が析出する。結晶はろ取, 水洗する。淡黄色プリズムまたは針状晶, mp 196° (EtOH), 0.59 g (85.7%). *Anal.* Calcd. $C_{18}H_{16}O_7$: C, 62.79; H, 4.68. Found: C, 62.89; H, 4.71.

ここに得た合成 eupatrin は天然 eupatrin と混融しても融点低下せず, また IR および TLC も完全に一致した。TLC: Rf 0.715, 天然 eupatrin Rf 0.715 ($CHCl_3$: MeOH=95: 5).

3'-Hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone あるいは Eupatrin のメチル化 (Sinensetin の生成) 3'-Hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone あるいは eupatrin 20 mg, ジメチル硫酸 0.15 ml, 無水炭酸カリウム 0.2 g およびメチルエチルケトン 5 ml の混合物を 5 時間還流し, 以下常法通り処理すると sinensetin (5,6,7,3',4'-pentamethoxyflavone), 無色プリズム晶, mp 175° (アセトン), が得られる。

本 sinensetin は上記合成 sinensetin と混融しても融点低下せず, また IR および TLC も完全に一致した。TLC: Rf 0.81, 合成 sinensetin Rf 0.81 ($CHCl_3$: MeOH=95: 5).

謝辞 終わりに eupatrin の標品をお譲り下さいました Dr. S. Morris Kupchan, Department of Pharmaceutical Chemistry, University of Wisconsin, クミスクチンと研究費の一部を御援助下さったエーザイ(株), 元素分析を担当された本学機器分析センター 鷲見みゑ子嬢に感謝します。