Epimedium 属植物の成分研究 (第 5 報¹⁾) イカリソウのフラボノイド その 4

徳岡康雄, 醍醐皓二,^{2a)} 竹本常松^{2b)}
堺化学工業株式会社,^{2a)} 東北大学薬学部^{2b)}

Studies on the Constituents of *Epimedium*. V.¹⁾ Flavonoids of *Epimedium grandiflorum* MORR. (4)

YASUO TOKUOKA, KOJI DAIGO^{2a)} and TSUNEMATSU TAKEMOTO^{2b)}

Sakai Chemical Industry Co., Ltd.^{2a)} and Faculty of Pharmacy, Tohoku University^{2b)}

(Received December 23, 1974)

Two flavonoids, compounds A and B, were isolated from the herb of *Epimedium grandiflorum* MORR. (Berberidaceae). Their structures were established from their chemical and spectroscopic evidence as 4'-O-methyl-8- γ,γ -dimethylallylkaempferol 3-rhamnosido-7-glucoside and 4'-O-methyl-8- γ,γ -dimethylallylkaempferol 7-glucoside, respectively. It was presumed that compound A is icariin and compound B is icaridisid I, and it is proposed to correct their chemical structures as above.

イカリソウ *Epimedium grandiflorum* MORR. (Berberidaceae) は多年草で、地上部は淫羊藿と称し、強壮強精の目的で使用されている。

地上部の成分については、フラボノール配糖体 icariin (I) が赤井³⁾ によって単離され、その構造が明らかにされている。

著者らはこれまで地下部の成分研究を行ってきたが、単離されたフラボノール配糖体すべてが、赤井らの報告している, des-O-methylcarin (II) の構造と異なり、いずれも kaempferol の 8 位に isopentenyl 基が結合していることを明らかにした。これらの事実から地上部から得られる icariin に対しても再検討の必要を感じ、本研究を行なった。その結果、得られたフラボノール配糖体は赤井らの報告している icariin は見当らず、単離した配糖体は異なることを確認した。赤井らの icariin との同定は試料がなく不可能であったが、種々の事実から総合的に判断すると、icariin の構造に誤りがあったものと結論し得る。また今回新たに monoglycoside をも単離したので、その経過についても報告する。

抽出分離は仙台近郊で採集したイカリソウの地上部を温時メタノールで抽出、抽出液を濃縮し、これに水を加え、不溶部と可溶部に分け、可溶部を酢酸エチルで抽出し、抽出液をカラムクロマトグラフィーに付し、compound A, compound B を単離した。

Compound A (III) は mp 225—227°, $[\alpha]_D^{25} - 92^\circ$ 組成 $C_{33}H_{40}O_{15} \cdot 1\frac{1}{2} H_2O$ に一致する黄色針状晶、塩化第二鉄塩酸マグネシウム反応はいずれも陽性、Gibbs 反応は陰性を示す。

紫外線吸収 (IR) スペクトルは 3400—3000 cm^{-1} に水酸基、1650 cm^{-1} に共役カルボニル基、1100—1000 cm^{-1} にエーテル酸素にもとづく吸収が認められる。

紫外線吸収 (UV) スペクトルでは 270, 315 m μ に極大吸収をもち、IR, UV スペクトルは、地下部から単離された epimedinoside A (V)⁴⁾ と非常に類似しており、同じタイプのフラボノール配糖体であることを示唆している。

III を 25% 硫酸で加水分解すると、糖と非糖体が得られ、糖は常法により glucose, rhamnose と同定した。非糖体は酢酸エチルで再結晶して黄色針状晶 (VI), mp 221—223°, 組成 $C_{21}H_{20}O_6$ を得た。

1) 第 4 報：徳岡康雄, 醍醐皓二, 竹本常松, 薬誌, 95, 698 (1975).

2) Location: a) 5-Chome, Ebisujima-cho, Sakai; b) Aobayama, Sendai.

3) 赤井左一郎, 薬誌, 55, 537 (1935); 赤井左一郎, 松川泰三, 薬誌, 55, 705 (1935); 赤井左一郎, 中沢浩一, 薬誌, 55, 719, 788 (1935).

4) 第 1 報：徳岡康雄, 醍醐皓二, 竹本常松, 薬誌, 95, 312 (1975).

VI はアセチル化により, 無色針状晶 (VII), mp 199—201°, $C_{25}H_{24}O_9$ を与える. VII の核磁気共鳴 (NMR) スペクトルでは, 2.30, 2.40 ppm にアセトキシ基, 1.38 ppm (6H, singlet) に 3 級メチル, 1.87 ppm (2H, triplet, $J=6$ Hz), 2.89 ppm (2H, triplet, $J=6$ Hz) にメチレンが観察される. 3.85 ppm (3H, singlet) にメトキシ基 1 個, ベンゼンプロトン領域に 5H 分のシグナルが観察される. すなわち, 6.98, 7.80 ppm (各 2H) の 1 対の doublet ($J=9$ Hz) は A 環の 3', 5' および 2', 6' 位のプロトン, 6.50 ppm (1H) の singlet は A 環の 6 位プロトンと帰属される.

以上の知見から VII は β -anhydroicaritin diacetate と推定される.

III はアセチル化により, 無色粉末晶 (VIII), mp 128—131° を与える. VIII の NMR スペクトルでは 2.00—2.07 ppm に glucose, rhamnose に由来するアセトキシ基 7 個分, 2.44 ppm に芳香核上のアセトキシ基が 1 個観察される. これらのことは glucose, rhamnose がそれぞれ別の位置に 1 mole ずつ結合していることを示すとともに, β -anhydroicaritin が真性のアグリコンでないことを示している. さらに 3.90 ppm に 4' 位のメトキシ基, 1.69 ppm (6H, singlet) に vinylmethyl, 3.53 ppm (2H, doublet, $J=6$ Hz) に arylmethylene にもとづくシグナルが認められ, Table I に示すように epimedeside A acetate (IX) の chemicalshift とよく一致する. したがって VIII には γ,γ -dimethylallyl 基が存在することが明らかである. さらに glucose, rhamnose の carbynylproton も IX と非常に類似している.

したがって糖は kaempferol の 7 位に glucose, 3 位に rhamnose が結合していると推定される. これらを明らかにするため, つぎの実験を行なった.

TABLE I. Proton Magnetic Resonance Spectra ($CDCl_3$, 60 MHz)

VIII	IX	XV	Multiplicity	Assignment
0.90	0.86		d ($J=6$ Hz)	CH_3-CH
1.69	1.68	1.69	s	$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} > C=C$
2.00—2.13	1.98—2.02	2.01—2.08	s	$OCOCH_3$
	2.31	2.28	s	$OCOCH_3$
2.44	2.41	2.38	s	$OCOCH_3$
3.53	3.50	3.48	d ($J=6$ Hz)	benzyl CH_2
3.90		3.79	s	aromatic OCH_3
4.00—5.70	3.90—5.70	4.10—5.70	m	carbynyl H
6.77	6.74	6.68		C-6-H
7.06	7.25	6.87	d ($J=9$ Hz)	C-3',5'-H
7.86	7.88	7.67	d ($J=9$ Hz)	C-2',6'-H

s.; singlet d.; doublet m.; multiplet

III を過剰のジアゾメタンでメチル化すると黄色針状晶 (X), mp 238—240° $C_{34}H_{42}O_{15} \cdot 3H_2O$ を与える. X はアセチル化すると, 無色粉末晶 (XI) mp 140—142° を与える. XI の NMR スペクトルでは 3.85, 3.92 ppm に 2 個分のメトキシ基が観察される. X を 25% 硫酸で加水分解すると, 黄色針状晶 (XII), mp 179—181°, $C_{22}H_{22}O_6$ を与える. XI, XII の IR, NMR スペクトルは標品 epimedeside A をジアゾメタンでメチル化して得られる epimedeside A dimethylether の acetate, 酸加水分解体のそれぞれと完全に一致し, また混融しても融点降下を示さない.

以上のことから compound A (III) の構造は epimedeside A の 4' 位がメチル化されたものと結論される. すなわち compound A は 4'-O-methyl-8- γ,γ -dimethylallylkaempferol-3- α -L-rhamnosid-7- β -D-glucoside と結論される.

Compound A の物理定数は赤井らの icariin, mp 231.5°, 黄色針状晶, 組成 $C_{33}H_{42}O_{16} \cdot 1\frac{1}{2} H_2O$, $[\alpha]_D^{25} -87.09$ に非常に類似していることから同一物質と考えられる.

したがって icariin 構造は異なり, 訂正されるべきと考える.

Compound B (XIII) は mp 251—253°. 組成 $C_{27}H_{30}O_{11} \cdot \frac{1}{2} H_2O$ に一致する黄色針状晶で, 塩化第二鉄, 塩酸マグネシウム反応はいずれも陽性, IR スペクトルでは 3400—3000 cm^{-1} に水酸基, 1100—1000 cm^{-1} にエーテル酸素にもとづく吸収が認められる. UV スペクトルでは 272 m μ に極大吸収を与える. IR, UV スペク

ルトとともに epimedeside C(XIV) のスペクトルと非常に類似しており, kaempferol タイプのフラボノール配糖体であることを示唆する。

XIII を 25% 硫酸で加水分解すると, 糖, glucose を与え, 非糖体として黄色針状晶 (VI), mp 221—223° を与える。VI はアセチル化により無色針状晶 (VII), mp 199—201°, $C_{25}H_{24}O_9$ を与える。VI および VII は標品の β -anhydroicaritin および β -anhydroicaritin diacetate とそれぞれ IR スペクトルは一致し, また混融しても融点降下を示さない。したがって VI は β -anhydroicaritin と同定した。

XIII はアセチル化により無色針状晶 (XV), mp 141—143° を与える。XV の NMR スペクトルは Table I に示すように, 2.04 ppm 付近に glucose に由来するアセトキシル基 4 個, 2.28, 2.38 ppm に芳香核上のアセトキシル基 2 個, 3.79 ppm にメトキシル基 1 個観察される。したがって XIII には glucose が 1 mole 結合している。

Glucose の結合位置は 7 位と決定された。すなわち XIII を過剰のジアゾメタンでメチル化すると, 黄色針状晶 (XVI), mp 264—265°, $C_{28}H_{32}O_{11}$ を与える。XVI を 25% 硫酸で加水分解すると, 黄色針状晶 (XVII), mp 197—199°, $C_{22}H_{22}O_6$ を与える。XVII の NMR スペクトルでは, 1.36 ppm (6H, singlet), 1.85, 2.84 ppm (各 2H, triplet, $J=6$ Hz) に 2,2-dimethylchroman 環にもとづくシグナル, 3.82, 3.83 ppm に 2 個分のメトキシル基が観察され, ジメチル体であることを示している。

その他, 13.08 ppm に 1H 分のプロトンが観察され, 非常に低磁場にあることから 5 位のプロトンと解釈される。

XVII の UV スペクトルで, 塩化アルミニウムの添加により極大吸収が長波長に移動することからも, 5 位に水酸基が存在することが明らかである。⁵⁾

これらのことから, XVII は標品との IR, NMR スペクトルの比較, 混融試験より, XVII は β -anhydroicaritin-3-methyl ether と同定した。

以上の事実から glucose の結合位置は 7 位と結論され, compound B の構造は 4'-O-methyl-8- γ,γ -dimethylallylkaempferol-7-glucoside と決定された。

なお compound B は赤井らが icariin の構造解明の際, 酸加水分解によって得た icarisid I, $C_{27}H_{32}O_{12} \cdot 2H_2O$, mp 256°, 黄色針状晶と類似していることから同一物質と思われる。したがって赤井らの報告している icarisid I (XVIII)³⁾ の構造も訂正されるべきであると結論される。なお, compound B は今回天然から初めて単離されたものである。

実験の部

融点は未補正。UV スペクトルは Jurd の方法により測定, NMR スペクトルは Hitachi Model R-20 (60 Mcps) で測定, TMS を内部基準としケミカルシフトは ppm 値で表示した。s=singlet, d=doublet, t=triplet. p.p.c は東洋ろ紙 No. 51 を使用, 発色はフタル酸アニリン試薬を使用, 展開溶媒, n -BuOH-AcOH- H_2O (4:1:5)。

抽出・分離 仙台市近郊で 1968 年 8 月採集したイカリソウ地上部を乾燥し, その 3.5 kg を MeOH 20liter で温時 6 hr 還流を 3 回行なったのち, 溶媒を留去。MeOH ext, 480 g 得, MeOH ext. に水 2 liter を加え, 可溶部と不溶部に分離, 可溶部に benzene 2 liter を加え抽出を行ない, 溶媒を留去し, benzene ext 38 g 得, 水層は AcOEt 2 liter で抽出, 溶媒を留去し, AcOEt ext. 45 g 得, AcOEt ext. をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, AcOEt-EtOH (20:1) 溶出部から compound A, 3.5 g. benzene-AcOEt (1:5) 溶出部から compound B 0.8 g 得。

Compound A (III) 含水ピリジンから再結晶, mp 225—227°, 呈色反応; $FeCl_3$ (+), $Mg-HCl$ (+), Gibbs (—). Anal. Calcd. $C_{33}H_{40}O_{15} \cdot 1\frac{1}{2}H_2O$: C, 56.32; H, 6.16. Found: C, 56.47; H, 5.88. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3400—3000 (OH), 1650 (conjugated C=O), 1600, 1500 (arom. C=C). UV λ_{max}^{EtOH} $m\mu$ (log ϵ): 272 (4.25); $\lambda_{max}^{EtOH-AlCl_3}$ $m\mu$ (log ϵ): 280 (4.28), 308 (4.16), 345 (4.25), $\lambda_{max}^{EtOH-AcONa}$ $m\mu$ (log ϵ): 272 (4.46), $[\alpha]_D^{25} -92^\circ$ ($c=0.25$, pyridine)。

Compound A (III) の酸加水分解, β -Anhydroicaritin (VI) の生成 III 200 mg を 25% 硫酸で水浴上で 6 hr 煮沸還流冷後析出する結晶をろ取, 含水アセトンより再結晶, 黄色針状晶 (VI) 90 mg 得, mp 221—223°。

5) L. Jurd, "The Chemistry of Flavonoid Compounds," ed. by, I.A. Geisman, Pergamon Press, London, 1962, pp. 107—129.

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3300 (OH), 1660 (conjugated C=O). Anal. Calcd. $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$; C, 68.47; H, 5.48. Found: C, 67.74; H, 5.60. ろ液は中和後減圧濃縮し, p.p.c 行なう. $R_f=0.18, 0.39$ (褐色), 標品の glucose, $R_f=0.18$, rhamnose, $R_f=0.39$.

VI のアセチル化, β -Anhydroicaritin Diacetate (VII) の生成 VI 80 mg を pyridine 2 ml, Ac_2O 2 ml に溶かし, 室温で 1 夜放置, 反応液に水を加え, ether で抽出, 水洗, Na_2SO_4 で乾燥後, 溶媒を留去, CHCl_3 -MeOH 混液で再結晶, 無色針状晶 (VII) 90 mg 得. mp 199—201°. Anal. Calcd. $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_9$; C, 64.10; H, 4.99. Found: 63.78; H, 5.02. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1770 (acetyl), 1640 (conjugated C=O) 呈色反応; FeCl_3 (—), NMR

(CDCl_3 , ppm): 1.38 (6H, s., $-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_3$), 1.87 (2H, t., $J=6$ Hz, $-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_2-$), 2.30 (3H, s., $-\text{OCOCH}_3$).

Compound A (III) のアセチル化, Compound A Acetate (VIII) の生成 III 100 mg を pyridine 3 ml, Ac_2O 3 ml に溶解し, 室温 1 夜放置, 反応液に水を加え, エーテルで抽出を行なう. エーテル層を水洗, Na_2SO_4 で脱水後, 溶媒を留去し, 含水 EtOH から再結晶. 無色粉末晶 (VIII) 120 mg 得, mp 128—130°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1750 (acetyl), 1640 (conjugated C=O). 呈色反応; FeCl_3 (—). NMR (CDCl_3 , ppm): 0.90 (3H, d., $J=6$ Hz, $-\text{CH}-\text{CH}_3$), 1.69 (6H, s., $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.00—2.13 (21H, s., $-\text{OCOCH}_3 \times 7$), 2.44 (3H, s., $-\text{OCOCH}_3$), 3.53 (2H, d., $J=6$ Hz, Ar- CH_2-CH), 3.90 (3H, s., $-\text{OCH}_3$), 4.15—5.70 (11H, carbynyl CH), 6.77 (1H, s., C-6-H), 7.06 (2H, d., $J=9$ Hz, C-3',5'-H), 7.86 (2H, d., $J=9$ Hz, C-2',6'-H).

Compound A (III) のメチル化, Compound A Methyl Ether (X) の生成 III 200 mg をジメチルホルムアミド-MeOH 混液 100 ml に溶解し, 過剰の CH_2N_2 エーテル溶液を加えて, 氷室で 5 日間放置, 析出する結晶をろ取, 含水ピリジンから再結晶. 黄色針状晶 (X) 190 mg 得, mp 238—240°. Anal. Calcd. $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{O}_{15} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; C, 54.68; H, 6.74. Found: C, 54.25; H, 6.98. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3300 (OH), X は標品 epimedeside A dimethyl ether と IR 一致. 混融するも融点降下を示さない.

Compound A Methyl Ether (X) のアセチル化, XI の生成 X 70 mg を pyridine 2 ml, Ac_2O 2 ml に溶解し, 室温 1 夜放置. 反応液に水を加え, ether 抽出, 水洗, Na_2SO_4 脱水後, 溶媒留去, 含水 MeOH より再結晶, 無色粉末晶 (XI) 90 mg 得, mp 138—140°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1760 (acetyl), NMR (CDCl_3 , ppm): 0.86 (3H, d., $J=6$ Hz, $-\text{CH}-\text{CH}_3$), 1.70 (6H, s., $\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.98—2.08 (21H, s., $-\text{OCOCH}_3 \times 7$), 3.45 (1H, m., Ar., $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}$), 3.89 (6H, s., $\text{OCH}_3 \times 2$), 3.97 (3H, s., $-\text{OCH}_3$), 6.64 (1H, s., C-6-H), 7.02 (2H, d., $J=9$ Hz, C-3',5'-H), 7.86 (2H, d., $J=9$ Hz, C-2',6'-H).

Compound A Methyl Ether (X) の酸加水分解, XII の生成 X 100 mg を MeOH 5 ml に溶解させ, 25% 硫酸 5 ml を加え, 水浴上 6 hr 還流. 反応液を減圧濃縮後, CHCl_3 で抽出, 水洗, Na_2SO_4 で脱水, 溶媒留去, 析出する結晶を AcOEt -MeOH 混液から再結晶, 黄色針状晶 (XII) 40 mg 得, mp 179—181°, XII は標品 5-O-methyl- β -anhydroicaritin と IR 一致. NMR スペクトルも一致する. また混融するも融点降下を示さない.

Compound B (XIII) 含水ピリジンから再結晶, mp 251—253°, 呈色反応; FeCl_3 (+), $\text{Mg}-\text{HCl}$ (+), Gibbs (—). Anal. Calcd. $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{11} \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$; C, 60.10; H, 5.79. Found: C, 60.27; H, 6.23. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3300 (OH), 1660 (conjugated C=O), 1610, 1550 (arom. C=C), UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ μm (log ϵ): 271 (4.23).

Compound B (XIII) の酸加水分解, β -Anhydroicaritin の生成 XIII 200 mg を 25% 硫酸で水浴上 7 hr 還流, 冷後析出する結晶をろ取, 含水アセトンより再結晶, 黄色針状晶 (VI) 120 mg, mp 221—223°. VI は標品 β -anhydroicaritin と IR スペクトルが完全に一致, 混融するも融点降下を示さない. ろ液は中和し, 減圧濃縮, p.p.c を行なう. $R_f=0.19$ 標品 glucose と R_f が完全に一致.

Compound B (XIII) のアセチル化, Compound B Hexaacetate (XV) の生成 XIII 100 mg を pyridine 2 ml, Ac_2O 2 ml に溶解し, 室温 1 夜放置, 反応液に水を加え, ether 抽出, 水洗, Na_2SO_4 で脱水, 溶媒留去, EtOH より再結晶. 無色針状晶 (XV) 110 mg 得, mp 141—143°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1765 (acetyl).

Compound B (XIII) のメチル化, Compound B Methyl Ether (XVI) の生成 XIII 150 mg をジメチルホルムアミド-MeOH 混液 10 ml に溶解. 過剰の CH_2N_2 ether 溶液を加えて, 氷室に 7 日間放置. 減圧下溶媒を留去後, MeOH から再結晶. 黄色針状晶 (XVI) 130 mg 得, mp 264—266°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3400 (OH), 1630 (conjugated C=O). Anal. Calcd. $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{11}$; C, 61.75; H, 5.92. Found: C, 60.96; H, 5.85, XVI は標品 epimedeside C dimethylether と IR スペクトルが完全に一致. 混融するも融点降下示さない.

Compound B Methyl Ether (XVI) の酸加水分解, XVII の生成 XVI 100 mg を 25% 硫酸 10 ml に溶解し, 5 hr 煮沸還流, 冷後析出する結晶をろ取, MeOH から再結晶. 黄色針状晶 (XVII) 40 mg 得. mp 197—199°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3400 (OH), 1660 (conjugated C=O). NMR (CDCl_3 , ppm): 1.35 (6H, s., $\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_3$),

1.85 (2H, d., $J=6$ Hz, $-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_2-$), 2.83 (2H, d., $J=6$ Hz, Ary. $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 3.82, 3.83 (各 3H, s., $-\text{OCH}_3$), 6.18 (1H, s., C-6-H), 6.94 (2H, d., $J=9$ Hz, C-3',5'-H), 8.01 (2H, d., $J=9$ Hz, C-2',6'-H), 13.08 (1H, s., C-5-OH).

謝辞 終りにのぞみ, 元素分析, NMR スペクトル (60 MHz) を測定していただいた東北大学薬学部中央分析室の諸氏に感謝いたします.