漢薬・レンギョウの成分研究 (第 1 報¹⁾) 市販レンギョウの成分について

西部三省, 千葉真理子, 久田末雄

東日本学園大学薬学部²⁾

Studies on the Chinese Crude Drug "Forsythiae Fructus." I.¹⁾ On the Constituents of Forsythiae Fructus on the Market

SANSEI NISHIBE, MARIKO CHIBA and SUEO HISADA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Higashi Nippon Gakuen University²⁾

(Received March 28, 1977)

The constituents of the fruits of *Forsythia suspensa* VAHL (Oleaceae) on the market were investigated. Betulinic acid, oleanolic acid, phillygenin, (+)-pinosresinol, phillyrin, and rutin were isolated from the methanolic extract and respectively identified with authentic samples.

Keywords—forsythiae fructus; triterpenoids; betulinic acid; oleanolic acid; lignans; phillygenin; pinosresinol; phillyrin; flavonol glycoside; rutin

レンギョウ (連翹) は消炎, 利尿, 解毒に効ありとされ, 古くから用いられている漢方の要薬の 1 つであり, 第九改正日本薬局方に新たに収載された生薬である。

その成分に関しては村上³⁾により oleanolic acid が報告されているのみである。

今回著者らは市販レンギョウ⁴⁾の成分検索を行ない, 数種の化合物を単離確認することができた。

レンギョウをメタノールにて加温抽出し, 濃縮後水を加え, 沈殿物をろ取し, 水層はエーテル, クロロホルム, ブタノールで順次抽出を行なった。沈殿物はシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, ベンゼン-酢酸エチル (9:1) で展開し, triterpenoid (I) と triterpenoid (II) を単離した。エーテル抽出エキスはシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, クロロホルム-酢酸エチル (2:1) 続いて (1:1) で展開し, lignan (III) と lignan (IV) を単離した。クロロホルム抽出エキスはシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, クロロホルム-エタノール (4:1) で展開し, lignan 配糖体 (V) を単離した。ブタノール抽出エキスはシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, クロロホルム-エタノール系溶媒でエタノール濃度を高めながら順次展開し, flavonol 配糖体 (VI) を単離した。

I は mp 279—280°, 無色針状結晶, Liebermann-Burchard 反応陽性で, 赤外吸収スペクトル (IR), 核磁気共鳴スペクトル (NMR) から betulinic acid と推定し, 標品と比較同定した。

II は mp 298—300° 無色針状結晶, Liebermann-Burchard 反応陽性で, IR から oleanolic acid と推定し, 標品と比較同定した。

III は $C_{21}H_{24}O_6$, mp 133—134°, $[\alpha]_D^{25} +120^\circ$ (MeOH) の無色針状結晶で, 紫外吸収スペクトル (UV) は 231.5, 280 nm に極大吸収を有し, IR は 1600, 1585, 1510 cm^{-1} に芳香環の吸収, NMR は Ludwig ら⁶⁾の報告にみられる (+)-epipinosresinol のそれに類似し, δ 3.88 に 3 個分のメトキシ基のシグナルを認めることから III を phillygenin と推定し, 標品と比較同定した。

1) 日本生薬学会第 23 回大会, 広島, 1976 年 11 月で一部発表。

2) Location: Ishikari-Tobetsu, Hokkaido, 061-02, Japan.

3) 村上誠懋, 薬誌, 77, 437 (1957)。

4) 本品は外觀形状, 内部構造が村上の報告⁵⁾によるモクセイ科 (Oleaceae) レンギョウ (*Forsythia suspensa* VAHL) 果実のそれによく一致した。

5) 村上誠懋, 薬誌, 77, 403 (1957)。

6) C.H. Ludwig, B.J. Nist, J.L. McCarthy, J. Am. Chem. Soc., 86, 1186 (1963)。

Chart 1

Fig. 1. The Fragmentation Pathways of Phillyrin Mass Spectrum

IV は無色シロップ状として得られ、質量スペクトル (MS) で m/e 358 に親ピークを認め、 $[\alpha]_D^{25} + 61.6^\circ$ ($CHCl_3$), UV は 232, 281 nm に極大吸収, IR で 1600, 1580, 1490 cm^{-1} に芳香環の吸収を有し, NMR は Ludwig ら⁶⁾ の報告の (+)-pinoresinol のそれによく一致した。さらに IV の diacetate (VII), $C_{24}H_{26}O_8$, mp 168—169°, 無色針状結晶は標品の (−)-pinoresinol diacetate, mp 165—167° と IR がまったく一致したが、その円偏光二色性曲線 (CD) が標品と対称型であることから、IV を (+)-pinoresinol と確認した。

V は $C_{27}H_{34}O_{11} \cdot 1/2 H_2O$, mp 146—148°, $[\alpha]_D^{25} + 46.9^\circ$ (MeOH) の無色針状結晶, UV は 229, 278 nm に極大吸収を有し, IR は 1590, 1518 cm^{-1} に芳香環の吸収, NMR は δ 6.76 付近に 6 個のベンゼンプロトン, δ 3.83, 3.73 に 3 個分のメトキシ基のシグナル, MS は m/e 372, 219, 205, 166, 165, 152, 151, に phillygenin 部の開裂にもとづくフラグメントピークが認められた (Fig. 1)。

V の tetraacetate (VIII) の MS は m/e 702 に親ピーク, m/e 331, 169, 109, に glucose の acetate に特有なフラグメントピークが認められた。これらの性状から V を phillyrin と推定し、標品と比較同定した。

VI は $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 2H_2O$, 184—193° で粘稠化, 黄色微細針状結晶で塩化第二鉄反応および塩酸-マグネシウム反応いずれも陽性, UV, IR から rutin と推定し、標品と比較同定した。

なお以上の結果から局方記載レンギョウの確認試験 (1) の Liebermann-Burchard 反応には betulinic acid, oleanolic acid が、確認試験 (2) の塩酸-マグネシウム反応には rutin がそれぞれ関与していると思われる。

実験の部

融点はすべて未補正。カラムクロマトグラフィーはシリカゲル (SiO_2 , 100 mesh, Mallinckrodt) を使用した。薄層クロマトグラフィー (TLC) ならびに preparative TLC は pre-coated TLC plates SILICA GEL 60F-254 (Merck) を使用し, spot は Toshiba 蛍光検査灯 F1-3S 形, または 10% H_2SO_4 液を噴霧後加熱発色によって検出した。IR は Shimadzu IR-400, UV は Shimadzu UV-210, MS は Shimadzu LKB 9000, NMR は Jeol

JNM-PMX60 で tetramethylsilane を内部基準, 旋光度は Yanagimoto OR-10, CD は Jasco J-40 でそれぞれ測定した。

なお NMR の記載はつぎの略号によった。s=singlet; br.s=broad singlet; d=doublet; q=quartet; m=multiplet.

抽出と分離 市販レンギョウ (栃本天海堂より購入, Lot. No. 091076) 750 g を MeOH にて加温抽出し, MeOH 抽出液は約 1/10 量に濃縮する。濃縮液に約 10 倍量の水を加え, 析出した沈殿物をろ別後, ろ液は ether, CHCl_3 , BuOH の順に各溶媒約 1 l 宛数回ずつ抽出する。沈殿物はその 1/15 量 3 g をとり, MeOH に溶かし, SiO_2 に吸着させたのちシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, benzene-AcOEt (9:1) で展開し, 各フラクション 15 ml ずつ分取する。Fr. 16—18 から triterpenoid (I), Fr. 24—30 から triterpenoid (II) を単離した。

Ether 抽出エキ스는シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, CHCl_3 -AcOEt (2:1) で展開し, 各フラクション 10 ml ずつ分取し, Fr. 11—18 から lignan (III) を単離, 続いて CHCl_3 -AcOEt (1:1) で展開し, Fr. 21—30 から lignan (IV) を単離した。

CHCl_3 抽出エキ스는シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, CHCl_3 -EtOH (4:1) で展開し, 各フラクション 10 ml ずつ分取し, Fr. 38—39 から lignan 配糖体 (V) を単離した。

BuOH 抽出エキ스는 EtOH に溶かし, SiO_2 に吸着させたのち, シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, CHCl_3 -EtOH 系溶媒で EtOH 濃度を CHCl_3 , CHCl_3 -EtOH=19:1, 9:1 の順で比率を高めて展開し, 各フラクション 50 ml ずつ分取し, Fr. 29—30 から flavonol 配糖体 (VI) を単離した。

Betulinic Acid (I) EtOH から再結晶し, 無色針状結晶 10.85 mg を得。mp 279—280°. Liebermann-Burchard 反応紅紫色。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3400 (OH), 3050 (=CH), 1680 (CO), 1635 (C=C); $\delta_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 870 (=CH). NMR ($\text{C}_6\text{D}_6\text{N}$) δ : 0.83 (3H, s, CH_3), 0.97 (3H, s, CH_3), 1.07 (6H, s, $2 \times \text{OCH}_3$), 1.20 (3H, s, CH_3), 1.77 (3H, s, CH_3), 3.50 (1H, q, $J=8$ Hz), 4.83 (2H, br.d, $J=8$ Hz). Anal. Calcd. $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3 \cdot 1/2 \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$: C, 77.66; H, 10.65. Found: C, 77.39; H, 10.36.

標品の betulinic acid と IR 一致。混融するも融点降下認めず。

Oleanolic Acid (II) EtOH から再結晶し, 無色針状結晶 35.3 mg を得。mp 298—300°. Liebermann-Burchard 反応紅紫色。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3430 (OH), 1688 (CO). Anal. Calcd. $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$: C, 76.44; H, 10.83. Found: C, 76.44; H, 10.72.

標品の oleanolic acid と IR 一致。混融するも融点降下認めず。

Phillygenin (III) MeOH から再結晶し, 無色針状結晶 6.65 mg を得。mp 133—134°. TLC: CHCl_3 -AcOEt=1:1, R_f 値 0.60. $[\alpha]_D^{25} + 120^\circ$ ($c=0.04$, MeOH). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 231.5 (4.25), 280 (3.83). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3430 (OH), 1600, 1585, 1510 (C=C). NMR (CDCl_3) δ : 6.87 (6H, br.s, arom. H), 5.43—5.80 (1H, br, OH), 4.87 (1H, d, $J=5$ Hz, α -H), 4.43 (1H, d, $J=7$ Hz, α' -H), 3.70—4.30 (4H, m, γ, γ' -H), 3.88 (9H, s, $3 \times \text{OCH}_3$), 3.33 (2H, m, β, β' -H). Anal. Calcd. $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_6$: C, 67.73; H, 6.50. Found: C, 67.86; H, 6.54.

標品の phillygenin と IR 一致。混融するも融点降下認めず。

(+)-Pinoresinol (IV) カラムクロマトグラフィーで分離した lignan (IV) 画分を preparative TLC (CHCl_3 -AcOEt=1:1 で展開) に付し, R_f 値 0.46 の部分をかき取り精製し, 無色シロップ状物質 29.35 mg を得。 $[\alpha]_D^{25} + 61.6^\circ$ ($c=0.26$, CHCl_3). MS m/e : 358 (M^+). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 232 (4.14), 281 (3.75). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 1600, 1580, 1490 (C=C). NMR (CDCl_3) δ : 6.90 (6H, s, arom. H), 5.50—6.00 (2H, br, $2 \times \text{OH}$), 4.75 (2H, d, $J=5$ Hz, α, α' -H), 3.65—4.50 (4H, m, γ, γ' -H), 3.90 (6H, s, $2 \times \text{OCH}_3$), 3.15 (2H, m, β, β' -H).

本品の NMR は Ludwig ら⁶⁾ の報告の (+)-pinoresinol のそれによく一致。

(+)-Pinoresinol Diacetate (VII) VI 26.4 mg を pyridine, Ac_2O を用い常法によりアセチル化し, 反応生成物を EtOH から再結晶し, 無色針状結晶 15.85 mg を得。mp 168—169°. CD ($c=4.73 \times 10^{-4}$, ethanol) $[\theta]^{20} \times 10^{-3}(\text{nm})$: +1.84 (263) (positive maximum). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 218 (4.30), 274.5 (3.81), 279 (3.79). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1750 (CO), 1600, 1510 (C=C). NMR (CDCl_3) δ : 6.97 (6H, s, arom. H), 4.80 (2H, d, $J=5$ Hz, α, α' -H), 3.90—4.50 (4H, m, γ, γ' -H), 3.83 (6H, s, $2 \times \text{OCH}_3$), 3.10 (2H, m, β, β' -H), 2.30 (6H, s, $2 \times \text{OCOCH}_3$). Anal. Calcd. $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_8$: C, 65.15; H, 5.92. Found: C, 64.88; H, 5.84.

標品の (−)-pinoresinol diacetate (mp 165—167°) と IR, UV はよく一致するが, 円偏光二色性曲線 [CD ($c=4.07 \times 10^{-4}$, ethanol) $[\theta]^{20} \times 10^{-3}(\text{nm})$: −1.60 (263) (negative maximum)] は対称型。

Phillyrin (V) EtOH から再結晶し, 無色針状結晶 25.15 mg を得。mp 146—148°. TLC: CHCl_3 -EtOH=4:1, R_f 値 0.51. $[\alpha]_D^{25} + 46.9^\circ$ ($c=0.25$, MeOH). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 229 (4.23), 278 (3.74). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1590, 1518 (C=C). NMR (CDCl_3) δ : 6.76 (6H, br.s, arom. H), 3.83, 3.73 (9H, each s, $3 \times \text{OCH}_3$). MS m/e : 372 (100%), 219 (7%), 205 (17%), 166 (23%), 165 (37%), 152 (21%), 151 (95%). Anal. Calcd. $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_{11} \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$: C, 59.59; H, 6.43. Found: C, 59.59; H, 6.61. Tetraacetate (VIII): V を pyridine, Ac_2O を用い常法によりアセチル化し, シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 -AcOEt=1:1 で展開) により精製, 白色粉末状 tetraacetate (VIII) を得。NMR (CDCl_3) δ : 6.75—7.15 (6H, m, arom. H), 3.90, 3.85 (9H, each s, $3 \times \text{OCH}_3$), 2.06, 2.03 (12H, each s, $4 \times \text{OCOCH}_3$). MS m/e : 702 (1.3%, M^+), 331 (32%), 169 (100%), 109 (52%).

標品の phillyrin と IR 一致. 混融するも融点降下認めず.

Rutin (VI) dil. EtOH から再結晶し, 黄色微細針状結晶 97.6 mg を得. 184—193° で粘稠化. FeCl₃ 反応暗緑色. HCl-Mg 反応赤紅色. UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 258 (4.35), 267 sh (4.31), 295 sh (3.92), 362 (4.28). IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3420 (OH), 1655 (CO), 1595 (C=C), 1060 (C-O). Anal. Calcd. C₂₇H₃₀O₁₆·2H₂O: C, 50.15; H, 5.30. Found: C, 50.20; H, 5.05.

標品の rutin と IR, UV 一致. 混融するも融点降下認めず.

謝辞 本研究にあたり貴重な標品を分与された Karl-Marx 大学 Prof. Dr. H. Thieme, 京都大学薬学部 井上博之教授, 名古屋市立大学薬学部 荻原幸夫教授, 貝谷トヨ博士に深謝いたします. また CD 測定の便宜を与えられた北海道大学薬学部薬品有機化学教室, 元素分析を施行していただいた北海道大学薬学部元素分析室ならびに名古屋市立大学薬学部総合機器分析施設の諸氏に感謝いたします.

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
97 (10) 1137—1141 (1977)

UDC 547.551.42.057.09 : 615.218.2.011.5.015.11.076.9

ω -Aminosubstituted-acetamide 誘導体の合成とその薬理作用¹⁾

濱田喜樹, 杉浦道治, 鈴木保子
名城大学薬学部²⁾

Preparations of ω -Aminosubstituted-acetamide Derivatives and Their Pharmacological Actions¹⁾

YOSHIKI HAMADA, MICHIHARU SUGIURA and YASUKO SUZUKI
Faculty of Pharmacy, Meijo University²⁾

(Received March 30, 1977)

ω -Aminosubstituted acetamide derivatives (1—33) were obtained in a high yield by the reaction of chloroacetamide derivatives and aliphatic secondary amines. Pharmacological tests of these derivatives by the Magnus method showed that 1—33 all have non-specific papaverine like action.

Keywords——aminoacetanilide; amination; haloacetanilide; papaverine-like action; antiacetylcholine; antihistamine; Magnus method

かつて濱田らは新しい薬剤を開発する研究の一環として Chart 1 に示すような haloacetamide 基を有するベンゼン誘導体の A type, ベンゼン環の *p*-位に O, NH, S の置換基で結合する B type, ナフタレン誘導体の C type の化合物を系統的に合成し, そのうち B type 化合物が優れた抗真菌性を有することを報告した.³⁾ 一方野口ら⁴⁾ は haloacetamide 基含有化合物が微弱ながら抗 acetylcholine (以後抗 ach.), 抗 histamine (以後抗 his.), 抗 adrenaline 作用を有すること, また Fournier ら⁵⁾ は B type 化合物より誘導される 4'-(phenylthio)-1-piperidine-acetanilide および 4'-(phenylthio)-4-morpholineacetanilide が鎮痙作用を有することを報告している. われわれはこれらの報告を基に A, B, C type 化合物を原料とし, Chart 1 および Table I に示すように容易に合成することができる ω -aminosubstituted-acetamide 誘導体 (D, E, F type 化合物) がいかなる薬理作用があるかに興味をもち, 合成し薬理試験を行なったところ知見を得たので報告する.

1) 濱田喜樹, 松岡英子, 蜂須賀養悦, 若山孝熙, 川瀬泰弘, 杉浦道治, 薬誌, 96, 1271 (1976).

2) Location: Yagoto-Urayama, Tempaku-chō, Tempaku-ku, Nagoya, 468 Japan.

3) 濱田喜樹, 松岡英子, 若山孝熙, 杉浦道治, 有機合成化学特別総合研究発表講演会, 東京, 1976 年 5 月.

4) 野口照久, 橋本喜信, 森 俊郎, 加納二郎, 薬誌, 88, 1620 (1968).

5) E. Fournier, L. Petit, J. Pichon-Gouot, M. Dursin, Bull. Soc. Chim. Fr., 1965, 1754.