

シダ植物のケモタキソノミー (II)¹⁾
ミョウギシダについて荒井洋子, 増田和夫, 上田博之*
昭和薬科大学Chemotaxonomy of Fern Plants (II)¹⁾
Polypodium someyae YATABE

YOKO ARAI, KAZUO MASUDA and HIROYUKI AGETA*

Showa College of Pharmaceutical Sciences, 5-1-8 Tsurumaki, Setagaya-ku, Tokyo 154

(Received July 2, 1983)

A tetracyclic triterpenoid hydrocarbon, eupha-7,21-diene (4) was first isolated from fresh leaves of *Polypodium someyae* as its main component. The chemical structure was identified by comparison of physicochemical data with those of authentic specimen derived from butyrospermol. In the leaves and rhizome of this fern were also contained fern-8-ene (1), fern-9(11)-ene (2), hop-22(29)-ene (3), cycloartanyl acetate (9), cycloartenyl acetate (10), cyclolaudenyl acetate (11), cyclomargenyl acetate (12), dryocrassyl acetate (13), 17 α H-trisnorhopan-21-one (14), 12-oxofern-9(11)-ene (15) and dryocrassol (16), which were identified by GC-MS and ¹H-NMR spectra.

According to chemotaxonomical data, *Polypodium* ferns in Japan may be classified into three groups, a) *P. niponicum*, *P. formosanum* and *P. amamianum*; b) *P. someyae*; c) *P. vulgare*, *P. virginianum* and *P. fauriei*.

Keywords—triterpenoid hydrocarbon; eupha-7,21-diene; 12-oxo-fern-9(11)-ene; fern chemotaxonomy; *Polypodium someyae*; *Polypodium niponicum*; *Polypodium vulgare*

ミョウギシダ *Polypodium someyae* YATABE は群馬県妙義山産の標本について1891年に記載された²⁾ 特徴あるシダ植物で、静岡県、徳島県および高知県にも分布しているが、各産地とも固体数が著しく減少しており、貴重な日本特産種である。私達はこのシダの他の *Polypodium* 属植物との類縁関係について興味をもち、わずかに入手した材料についてトリテルペノイド成分の検討を行ったところ、日本産の他の *Polypodium*, すなわちアオネカヅラ *P. niponicum* METT. やオオエゾデンダ *P. vulgare* LINN. それぞれのグループとは明らかに区別されると考えられたので、その結果を報告する。

ミョウギシダ葉のトリテルペノイド成分

材料 A. 群馬県南牧村産, B. 静岡県春野町産

2種の新鮮葉および根茎(Bのみ)のヘキサン抽出エキスの薄層クロマトグラフィー(TLC)パターンを、他の *Polypodium* 属植物のそれらと比較したものを Fig. 1 に示す。いずれの植物でも炭化水素、脂肪属エステル、アセタート、アルコール等のスポットを認めるが、葉は根茎に比べてスポットの数が少ない。ミョウギシダ A, B 葉のパターンはよく類似している。次にヘキサンエキスのシリカゲル-カラムクロマトグラフィー(CC)を行い、得られた炭化水素部分のガスクロマトグラフィー(GC)は Fig. 2 のようなパターンで、A, B の差は基本的には認められない。アオネカヅラ、アマミアオネカヅラ *P. amamianum* TAGAWA, タイワンアオネカヅラ *P. formosanum* BAKER 等のエキスにみられる R_{R} 1.60 付近のピークは olean-18-ene, olean-12-ene 等であるが^{1,3)}、ミョウギシダの同一場所のピークは質量分析(MS)のパターンが違っていた。なおまた、アオネカヅラ等では乾燥葉のヘキサンエキスから得た炭化水素部分もほぼ同一のパターンを示すが、ミョウギシダの場合は乾燥葉では R_{R} 1.62 のピークは非常に小さい

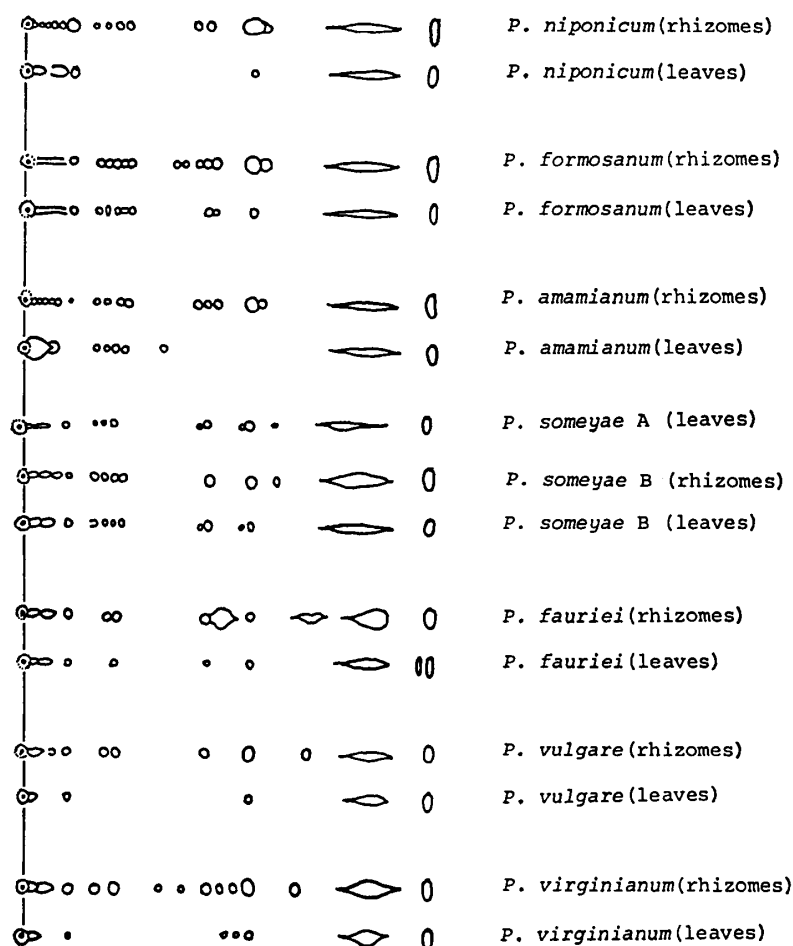


Fig. 1. TLC Patterns of *n*-Hexane Extracts of some *Polypodium* Ferns
(solvent system: *n*-C₆H₁₄ (9): EtOAc (1))

かまったく検出されず、C₃₁H₆₄、C₃₃H₆₈等のパラフィンが顕著に認められた。

以上の様にミョウギシダの *R_L* 1. 62 の炭化水素は、アオネカヅラ等のそれとは明らかに違った不安定な化合物であることが判明したので、Bの新鮮材料から得た炭化水素部分を硝酸銀シリカゲル CC によって分別し、パラフィン、微量の fern-8-ene(1), fern-9(11)-ene(2), hop-22(29)-ene(3)³⁾とともに上記化合物(4)を単離しその構造を決定した。4は油状で分子式は High MS により C₃₀H₅₀ (M⁺ *m/z* 410. 3815) であり、その開裂パターンは Chart 2 のとおりであって、側鎖末端部にイソプロピリデン (*m/z* 69) を有する4環性トリテルペノイド (*m/z* 297) で、もう1個の2重結合は7位または9(11)位 (*m/z* 243 と 257) であることが示唆された。次に化合物4の¹H-核磁気共鳴(NMR)スペクトルは TABLE I に示すように8個のメチル基のケミカルシフト値を C-23, 24, 25, 26 メチル基については fern-7-ene(5)³⁾のそれと、C-28, 29, 30 メチル基については cycloartenol(6)⁴⁾のそれと比較し、CHCl₃-C₆H₆の solvent shift 値も含めてよく一致することが明らかになり、MSの結果と考え合わせると化合物4は eupha-7, 21-diene^{4, 5)}であろうと推定された。Eupha-7, 21-dien-3β-ol は butyrospermol(7)⁶⁾であり sheanut butter から得た7を butyrospermone(8)とし、Wolff-Kishner 還元して得た eupha-7, 21-diene と化合物4が、GC, MS, ¹H-NMR および [α]_Dにおいて完全に一致することを確認した。なお、7の¹H-NMR スペクトルは4のそれと、A環部分のメチル基シグナルを除いてほぼ一致する。以上のように化合物4は eupha-7, 21-diene であり、天然からはじめて4環性トリテルペノイドが炭化水素として存在する例が確認された。

ミョウギシダ根茎のトリテルペノイド成分

材料Bの新鮮根茎 33 g を *n*-ヘキサンで抽出し、エキスをシリカゲル CC で分画した。炭化水素分画の GC パターンは Fig. 2 に示す様で、アオネカヅラ等やオオエゾデング等とはパターンが違っている。さらに AgNO₃-シリカゲル CC 等で単離し fern-9(11)-ene(2), hop-22(29)-ene(3) および eupha-7, 21-diene(4) をそれぞれ IR, GC; GC-MS; GC-MS により標品と比較同定した。次にエステル分画は GC-MS により cycloartanyl acetate(9), cycloartenyl acetate(10)⁷⁾, cyclolaudenyl acetate(11), cyclomargenyl acetate(12)⁸⁾等の cycloartane 系化合物と

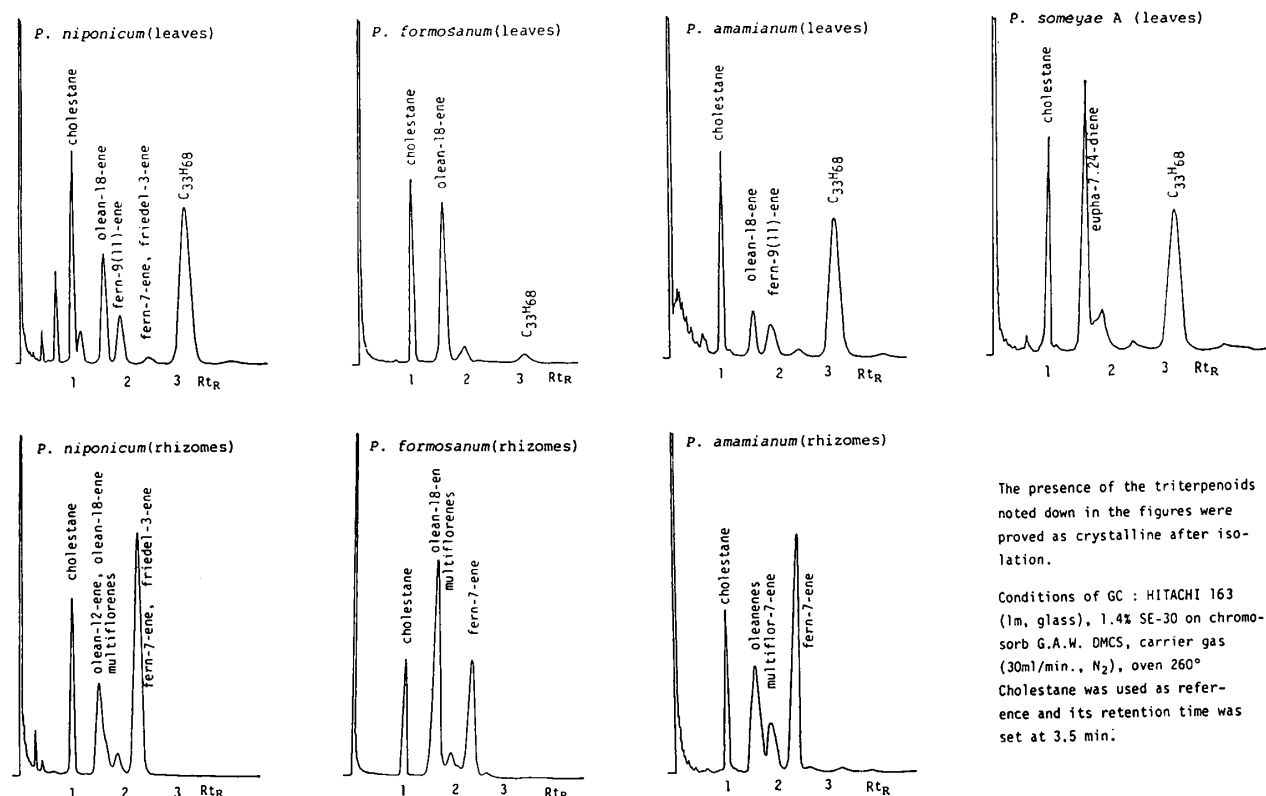


Fig. 2. GC Patterns of Triterpenoid Hydrocarbons of some *Polypodium* Ferns (part 1)

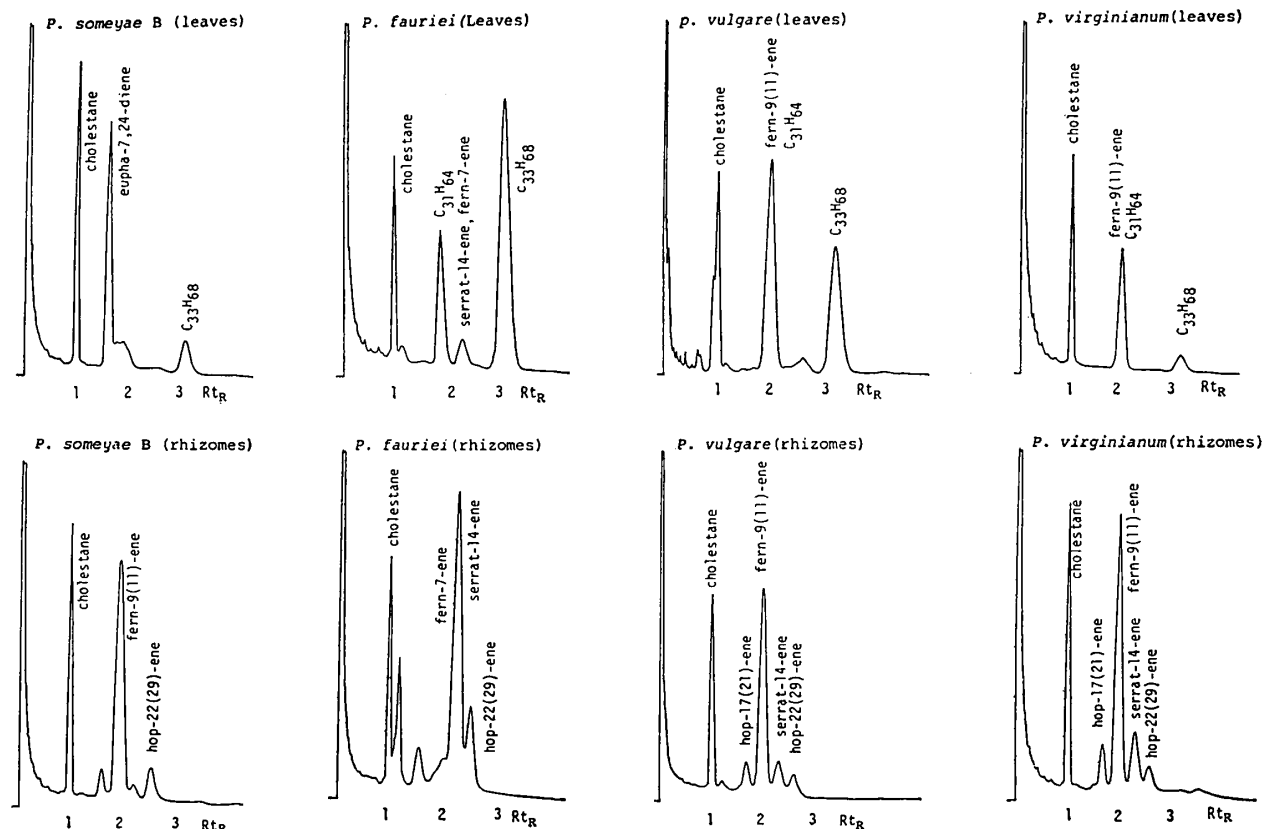


Fig. 2. GC Patterns of Triterpenoid Hydrocarbons of some *Polypodium* Ferns (part 2)

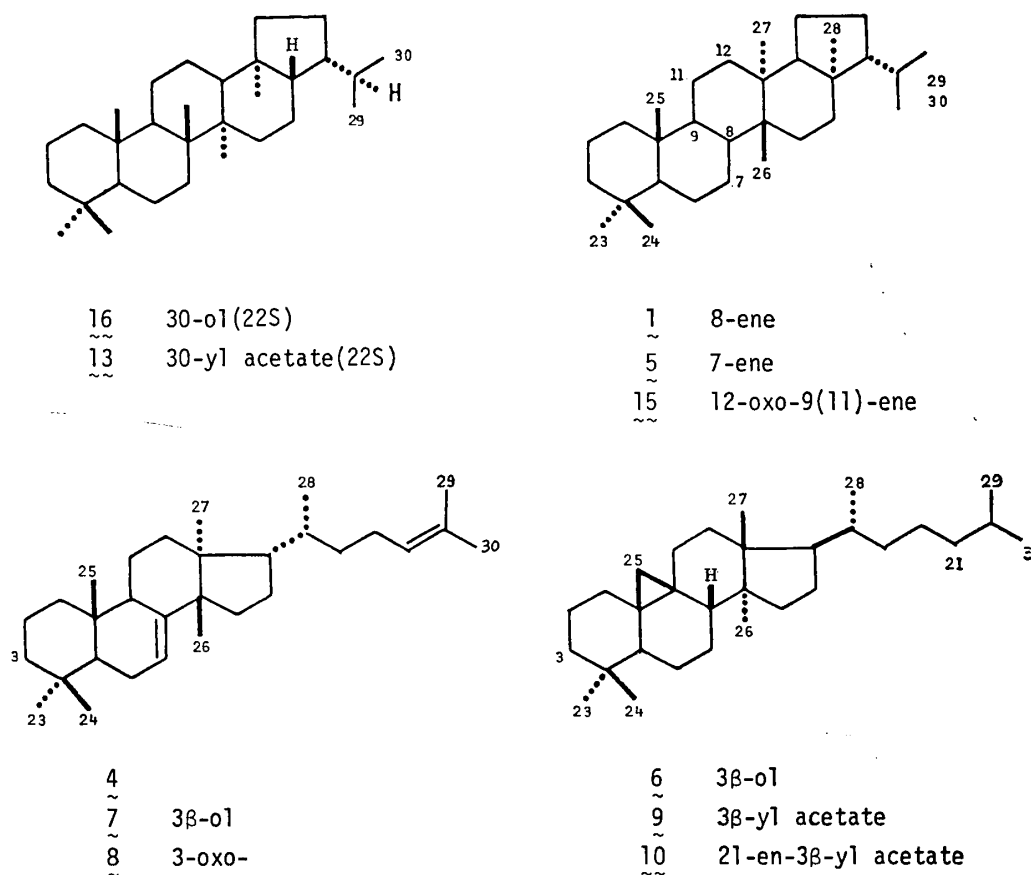


Chart 1.

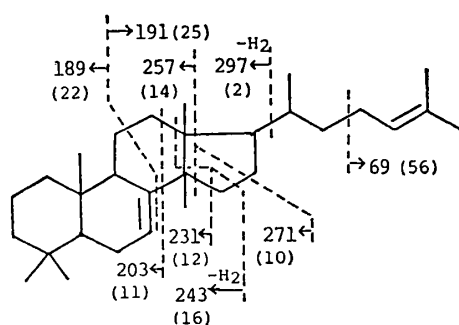


Chart 2. MS Fragmentation Patterns of Eupha-7, 24-diene (4)

TABLE I. ¹H-Chemical Shifts (δ) in CDCl₃ Solution (JEOL FX-100)

	Methyl or methylene signals of C-								Olefinic protons	
	23	24	25	26	27	28	29	30	7	21
4	0.846	0.882	0.746	0.978	0.818	0.850d ^{b)}	1.604	1.684	5.240ddd ^{e)}	5.100bt ⁱ⁾
5	0.844	0.878	0.742	0.996	0.906	0.742	0.830 ^{1d)}	0.898d ^{d)}	5.354ddd ^{f)}	—
6	0.966	0.808	0.328d ^{a)} 0.558d ^{a)}	0.892	0.956	0.882d ^{c)}	1.600	1.688	—	5.100bt ⁱ⁾
7	0.970	0.858	0.742	0.970	0.804	0.842d ^{b)}	1.598	1.684	5.252ddd ^{g)}	5.094bt ⁱ⁾
8	1.110	1.046	1.002	1.002	0.804	0.850d ^{b)}	1.604	1.680	5.302ddd ^{h)}	5.092bt ⁱ⁾

Signals otherwise stated were singlet. Coupling constants were: ^{a)} 4.3 Hz; ^{b)} 5.6 Hz; ^{c)} 6.4 Hz; ^{d)} 6.6 Hz; ^{e)} 3.0, 3.0, 3.7 Hz; ^{f)} 3.2, 3.2, 3.7 Hz; ^{g)} 2.9, 2.9, 3.1 Hz; ^{h)} 3.1, 3.1, 2.9 Hz; ⁱ⁾ 6.9–7.0 Hz.

dryocrassyl acetate(13)³⁾ の存在を推定した. また残余の分画は GC-MS により 17 α H-trisnorhopan-21-one(14)³⁾, fern-9(11)-en-12-one(15)⁹⁾ および dryocrassol(16)³⁾ であると同定した. 15 は天然物としては最初の例で, 混合物の ¹H-NMR で 5.640d ($J=2$ Hz) の特徴あるオレフィンプロトンのシグナルが確認された.

ミョウギンダのケモタキソノミー

ミョウギンダは *Polypodium* 属のなかでは, アオネカヅラ, アマミアオネカヅラやタイワンアオネカヅラのようにトリテルペノイド成分として, oleanane および migrated oleanane 系化合物を著量に含むグループや, Fig. 2 でも明らかな様にこれらの化合物がまったく検出されず serratene を共通成分として含むオオエゾデンダ (*Polypodium* 属の基準種), エゾデンダ *P. virginianum* LINN. やオシヤグジデンダ *P. fauriei* CHRIST (Fig. 1, 2) とは明らかに別系統のシダで, これらとは別属として取扱われるべきものとする. ミョウギンダをアオネカヅラやタイワンアオネカヅラ等と共に *Polypodium* 属と区別し *Marginaria someyae* NAKAI とされた分類¹⁰⁾ は, ミョウギンダに oleanane 系化合物がまったく検出されない点から考え同列に扱うことは不適当であるが, *Marginaria* 属の基準種 *polypodium polypodioides* HITCHCOCK (南米産) の成分の検討が終るまではミョウギンダに対して妥当であるかどうか不明である. 一方 Ching¹¹⁾ はミョウギンダを *Polypodium argutum* WALL. を基準種とする新属に分類し *Polypodiastrum someyae* CHING とし, アオネカヅラやタイワンアオネカヅラは *Polypodium amoenum* WALL. を基準種とする *Polypodiodes* 属に分類しているが, 2つの新属の基準種の成分には台湾産の材料によるとどちらも oleanane および migrated oleanane 系化合物が含まれており, ミョウギンダに対して成分的には適当でない.

以上, 著者等は Copeland¹²⁾ の解釈による *Polypodium* 属は, 葉が単葉多足形 (polypod) である点その他形態的には多くの共通点をもつが, 含有トリテルペノイド成分のケモタキソノミー的考察からは, 日本および台湾産のものについてだけでも, 生合成的に非常に違った成分を含む3つのグループの集合体であるとする. 中国や南米に多い近縁種成分を検討の上, 整理されることが望まれる.

最後に, ミョウギンダの材料について御世話になった群馬県下仁田町里見哲夫氏, 分類について御教示を頂いた伊藤 洋名誉教授, 齊木保久教授に深謝する.

実験の部

本研究に使用した各種測定機器および条件は前報¹⁾ で使用したものと同一である. トリテルペノイド炭化水素比較のための GC サンプルは次の植物の自生または栽培したものを10月に採集後ただちに n -C₆H₁₄ で抽出し, 得られたエキスを少量の Si gel CC に付し, n -C₆H₁₄ 溶出部をサンプルとした. アオネカヅラ (静岡市産), アマミアオネカヅラ (奄美大島産), タイワンアオネカヅラ (屋久島産), オオエゾデンダ (隠岐西ノ島産), オシヤグジデンダ (山梨県鳴沢産), エゾデンダ (北海道弟子屈産).

葉部の抽出と分離 A) 群馬県南牧村で1980年10月採集したミョウギンダ葉 10 g を n -C₆H₁₄ で抽出, エキス約 30 mg を得, Si gel CC によってトリテルペノイド炭化水素分画を得た. B) 静岡県下春野町で1981年10月採集した葉部 60 g を n -C₆H₁₄ で3回抽出, 水分 21 g とともにエキスを 230 mg を得る. 粗エキスを Si gel 20 g で CC を行い次の分画とする. 第I分画 n -C₆H₁₄ 溶出部 (以下同じ) 25 mg. 第II分画 n -C₆H₁₄(1): C₆H₆(1) 22 mg. 第III分画 n -C₆H₁₄(1): C₆H₆(1) 13 mg. 第IV分画 C₆H₆ 15 mg. 第V分画 Et₂O 150 mg.

パラフィンおよびトリテルペノイド炭化水素の分離, 同定 第I分画は 20% AgNO₃-Si gel CC を行ない n -C₆H₁₄ で溶出して, 順次次の化合物を得る. パラフィン 4 mg. C₂₉H₆₀, R_{T_R} 1.10, MS m/z : M⁺ 408, 7%. C₃₁H₆₄, 1.92, 436, 44%. C₃₃H₆₈, 3.10, 464, 37%. Fern-8-ene(1) trace, R_{T_R} 1.89. MS m/z (rel. int.): M⁺ 410(18), 395(70), 257(20), 243(100), 231(16). Fern-9(11)-ene(2) 3 mg, mp 169–170°C, R_{T_R} 2.00. MS m/z (rel. int.): M⁺ 410(9), 395(80), 257(29), 243(100), 231(25). Hop-22(29)-ene(3) trace, R_{T_R} 2.62. MS m/z (rel. int.): M⁺ 410(21), 395(16), 191(100), 189(91). MS および GC が標品²⁾ のそれらと一致した. 次いで C₆H₆ で溶出する分画から油状の化合物 eupha-7,21-diene (4) が得られる. 17 mg. $[\alpha]_D^{25}$ -3.3° (CHCl₃, $c=0.3$).

Eupha-7,21-diene の合成 Sheanut butter より文献記載の方法⁶⁾ によって得た butyrospermol(7), mp 111–113°, $[\alpha]_D^{25}$ -7.6° (CHCl₃, $c=1.0$) [lit. mp 111–112°, $[\alpha]_D$ -12.0°], $\nu_{\max}^{KBr}$ cm⁻¹: 3330, 845, 811 を CrO₃/C₅H₅N で常法どおり酸化して butyrospermone, mp 82–84°, $\nu_{\max}^{KBr}$ cm⁻¹: 1711, 837, 823, を得, これを Wolff-Kishner (Barton 法) 還元して油状の炭化水素を得る. 本化合物は R_{T_R} , MS, ¹H-NMR および $[\alpha]_D$ が 4 に一致した.

根茎部の抽出と分離 Bで同時に採集した根茎 33 g は n -C₆H₁₄ で3回抽出, 水分 20 g とともにエキスを 940 mg

を得る。エキスを Si gel CC を行い次の分画とした。第 1 分画 $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$ 50 mg. 第 2 分画 $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$ (7): C_6H_6 (3) 4.5 mg. 第 3 分画 $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$ (4): C_6H_6 (6) 4.5 mg. 第 4 分画 $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$ (4): C_6H_6 (6) 6.5 mg. 第 5 分画 C_6H_6 45 mg. 第 6 分画 Et_2O 360 mg.

トリテルペノイド炭化水素の分離, 同定 第 1 分画は 20% $\text{AgNO}_3\text{-Si gel CC}$ を行い $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$ で溶出し, 順次次の化合物を得る. *Fern-9(11)-ene* (2) 15 mg, mp 170–172°, R_{tR} 1.99. MS m/z (rel. int.): M^+ 410(41), 395(88), 257(25), 243(100), 231(22). *Hop-22(29)-ene* (3) 3 mg, mp 210–212°, R_{tR} 2.61. MS m/z (rel. int.): M^+ 410(19), 395(7), 191(100), 189(81). *Eupha-7, 21-diene* (4) 2 mg R_{tR} 1.62. MS m/z (rel. int.): M^+ 410(27), 395(100), 297(9), 271(12), 257(13), 243(15), 231(12), 203(16), 191(18), 189(12), 69(72). 第 2 分画は Me_2CO より再結晶を繰り返し *hop-22(29)-ene* (3), MS m/z (rel. int.): M^+ 410(18), 395(7), 191(100), 189(80) の白色結晶を微量得た.

Cycloartanols acetates, dryocrassyl acetate(13) の同定 第 3 分画は GC で 5 本の主ピークを認め, GC-MS の結果を標品⁵⁾ の値と比較し次の化合物を同定した. *Crycloartanyl acetate* (9), R_{tR} 3.72. MS m/z (rel. int.): M^+ 470(2), 455(2), 410(10), 396(100), 395(11), 297(6), 288(21), 255(23), 213(18). *Cycloartenyl acetate* (10), R_{tR} 4.01. MS m/z (rel. int.): M^+ 468(4), 453(5), 408(35), 393(25), 297(7), 295(8), 286(5), 69(100). *Cyclo-laudenyl acetate* (11), R_{tR} 4.67. MS m/z (rel. int.): M^+ 482(9), 467(8), 422(100), 407(75), 353(2), 300(30), 297(25), 175(60). *Cyclomargenyl acetate* (12), R_{tR} 5.64. MS m/z (rel. int.): M^+ 496(18), 481(15), 436(100), 421(79), 393(29), 367(30), 314(37), 297(40), 175(65). 13, R_{tR} 6.42. MS m/z (rel. int.): M^+ 470(6), 410(6), 249(10), 191(100), 189(53).

トリテルペノイドケトンおよびトリテルペノイドアルコールの同定 第 4 分画は微細なピークを多数認めるが主成分は 3 種で GC-MS の結果および粗分画の $^1\text{H-NMR}$ を標品のそれらと比較し次の化合物を同定した. *17 α H-Tris-norhopan-21-one* (14), R_{tR} 1.81. MS m/z (rel. int.): M^+ 384(16), 369(12), 191(100), 163(9). $^1\text{H-NMR}$ δ : 0.843 (C-23), 0.843 (C-26), 1.027 (C-27), 1.152 (C-28). *12-Oxofern-9(11)-ene* (15), R_{tR} 3.57. MS m/z (rel. int.): M^+ 424(63), 409(94), 339(76), 271(71), 259(14), 257(7), 218(18), 135(100). $^1\text{H-NMR}$ δ : 0.882 (C-23), 0.916 (C-24), 1.204 (C-27), 0.822 (C-28), 5.640d (C-11, $J=2$ Hz). *Dryocrassol* (16), R_{tR} 4.40. MS m/z (rel. int.): M^+ 428(8), 413(6), 385(18), 341(21), 281(35), 207(100), 191(84). $^1\text{H-NMR}$ δ : 0.848 (C-23), 0.794 (C-24), 0.814 (C-25), 0.956 (C-26), 0.956 (C-27), 0.728 (C-28), 1.050d (C-29, $J=6$ Hz), 3.388 dd, 3.630 dd (C-30).

引用文献および註

- 1) 前報: 上田博之, 荒井洋子, 生薬, **38**, 46 (1984).
- 2) R. Yatabe, *Bot. Mag. Tokyo*, **5**, 245, pl. 27 (1981).
- 3) H. Ageta, Y. Arai, *Phytochemistry*, **22**, 1801 (1983) ならびにその中の引用文献.
- 4) Y. Arai, K. Masuda, H. Ageta, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4219 (1982).
- 5) ステロイド命名規約に準ずると *eupha-7, 24-diene* であるが, 本報では他のトリテルペノイドとの比較を便にするため, Chart 1 のナンバリングに従った. K. Masuda, K. Shiojima, H. Ageta, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 2350 (1983).
- 6) M. C. Dawson, T. G. Halsall, E. R. H. Jones, *J. C. S.*, **1956**, 3172.
- 7) R. T. Aplin, G. M. Hornby, *J. Chem. Soc. (B)*, **1966**, 1078.
- 8) H. Ageta, Y. Arai, *Chem. Lett.*, **1982**, 881.
- 9) H. Ageta, K. Iwata, S. Natori, *Tetrahedron Lett.*, **1963**, 1447.
- 10) T. Nakai ex H. Ito, *J. Jap. Bot.*, **11**, 95 (1935).
- 11) R. C. Ching, *Acta Phytotax. Sin.*, **16**, 16 (1978).
- 12) E. B. Copeland, "Genera Filicum," Ronald Press, New York, 1947, p. 180.