

Mentha aquatica L. の精油成分研究 I—III*

清水純夫・唐沢伝英・池田長守**

信州大学農学部 分析化学研究室

緒 言

Mentha aquatica L. は *Capitatae* に属する野生薄荷の一種であって、欧州各地から、アジアの西南部地方に野生するが、特に南欧に多い。我々が、この様に日本に原産しない *aquatica* の精油成分に関心をもつのは、次に述べる理由にもとづく。

日本薄荷は周知の様に、長年にわたる我国多数の研究者の努力により、結晶メントール高含量、耐病性、高収油率、多収の新品種が次々と育成され、我国薄荷産業をささえてきたが、近年合成メントール工業のめざましい発展により、昭和42年度では245トンを越え、栽培日本薄荷の国内生産量をはるかにしのぐに至っている。一方洋種薄荷に属するミッチャム油は、メントール含量は33%~48%、日本薄荷よりはるかに低い香味の点で、優秀といわれる。したがってミッチャム油の微量成分が注目を引く。このミッチャム薄荷は *M. piperita* の精油であるが、このものは形態的に、*M. aquatica* L と *M. spicata* の中間にあって両者の交雑に由来するといわれていた。従ってミッチャム油の微量成分は、*aquatica*, *spicata* の微量成分と関連する可能性も充分考えられる。

最近、岡山大学の池田は、欧州および北米から直接とりよせた栽培系統、古くから輸入されて、わが国に標本的に栽培されている系統、および、栽培系統の野生化したものと考えられる系統などの合計8系統の *M. piperita* につき、形態的、細胞学的観察を行ない、*M. aquatica* × *M. spicata* の F₁ と比較し、6系統の *piperita* は $2n=72$ であって、体染色体数、減数分裂の際の染色体の行動、稔性などが、人為育生 F₁ ($2n=72$) のそれらと一致し、 $2n=72$ の *M. piperita* は *M. aquatica* × *M. spicata* の F₁ そのものであることを報告した¹⁾。しかしながら、この F₁ の一方の親である *M. aquatica* については、どのような精油型が存在するか詳細な研究は少ない。又、ミッチャム薄荷の香気に関連づけて *M. aquatica* の精油成分が研究されておらない。従って今回はまず、岡山大学の池田から送られた染色体数の確定した6系統の *M. aquatica* の精油成分型を明らかにし、未確定の成分についてはその化学構造を確定し、さらに岡山大学で行なわれた *M. aquatica* と他の薄荷との種間交雑によって得られた種々の F₁ について、その精油成分の分析を試みた。

*本報告の要は既に下記の様に1報から3報まで別々に報告した。

第1報、日本化学会第7回香料テルペン精油化学討論会講演要旨集(1963) p61

第2報、" 9回 " (1965) p44; *Agr. Biol. Chem.* (Japan) 30, 200 (1966)

第3報、日本農芸化学会大会講演集(1966) p130

**岡山大学農学部育種学研究室

昭和44年5月13日受付

I 精油成分による *M. aquatica* の分類

薄荷属の分類については既に多くの報告があり、藤田等は、精油成分から、池田等は、細胞核学的方法により、従来の形態学的分類では解決し得なかった多くの点を明らかにしつつある。本研究では、池田等によって、染色体および減数分裂のときの性状の明らかにされた欧州 *aquatica* 6系統につき²⁾、その精油成分を最初にガスクロマトグラフィー（以下GCと略称）で検索することとした。

aquatica の染色体数にはふれずに精油成分のみの研究は、既に欧州および米国の多くの研究者によって行なわれたが³⁾、これらの報告のうちしばしば用いられるカルボニル化合物、アルコール、エステル等の基の反応にもとづく定量法によった結果は、再検討の余地が多いと考えられる。米国の *aquatica* 油につき Reitsema が $[\alpha]_D + 46.5^\circ$ menthofuran 主成分 (40%) を確認し⁴⁾、その後、カナダの Nigam 等も同様の結果を明らかにし⁵⁾、Hegnauer も欧州の *aquatica* につき menthofuran の存在を報告した³⁾。

我々が分析に用いた試料は、岡山大学の池田が欧州各地から入手したものを、同大学農場で保存、栽培されたものであり、GC分析によって次の3組に分類した。

Table 1. Physical constants and main components of *aquatica* oils

	$[\alpha]_D^{25}$	d_4^{15}	n_D^{15}	Origins
A Linalool strain	-9.50°	0.8864	1.4655	France
B Menthofuran stain	+31.60°	0.9450	1.4830	Belgium
C Iso-pinocamphone strain (new strain)	-24.70°	0.8794	1.4750	Italy, Belgium, Portugal.

A strain : [146]*, B strain : [219-1]*, [164-2]*

C strain [131]*, [228]* [164-3]*

* These numbers are related to those in studies by Prof. N. Ikeda, Okayama university.

[A] 型 精 油

本種はフランスより *M. aquatica* として送られたもので $2n=96$ であることが明らかにされたが、1964年イタリー、トリノ大学、サツコ教授来日の節、現地において *M. citrata* Ehr と鑑定された。Index Kewensis によると、*M. citrata* は *M. aquatica* と同一であるとされており、リナロールを主成分とする故に「ベルガモットミント」とも呼ばれるものであるが、我々のGC分析では、次表に示す様に linalool はエステル、オキサイドと合計して

Table 2. Components of *aquatica* [146] oil

α -pinene	12.3(%)
β -pinene	4.1
limonene	20.0
linalool oxide	7.0
linalool	20.9
linalyl acetate	22.1

50.0%であり、栽培条件が異なるためにリナロール含量はサツコ、その他の分析に比較して低下しているが、明らかに *M. citrata* に相当するものであると考えられる。

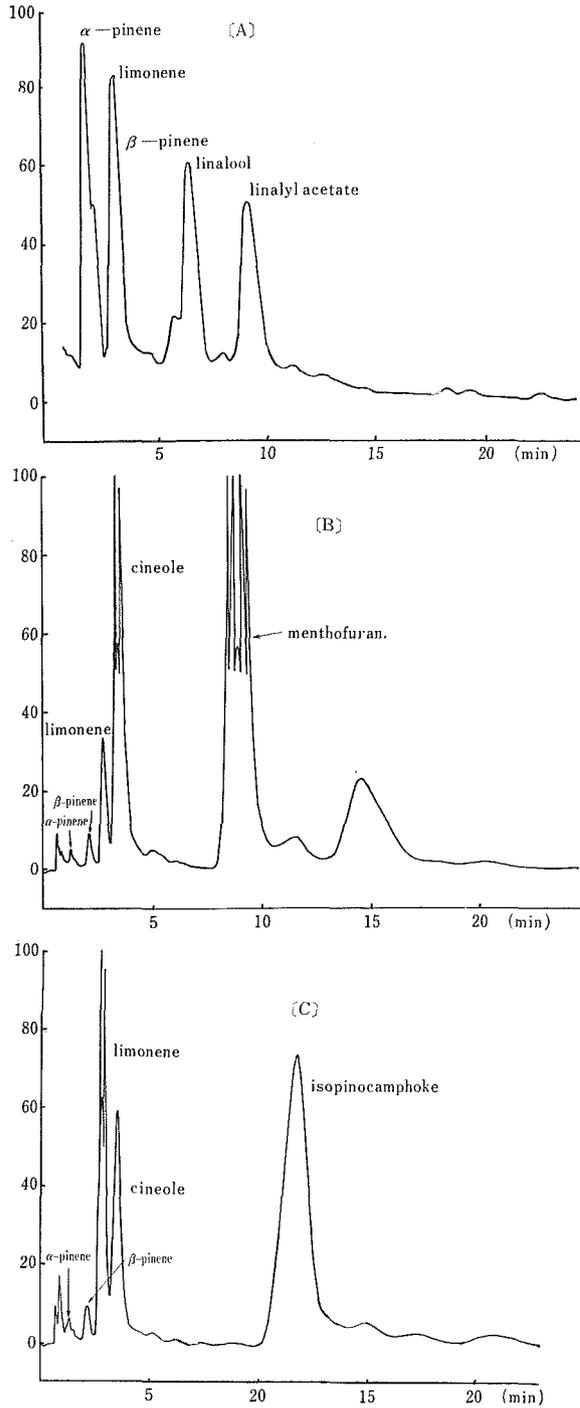


Fig. 1. Gaschromatograms of *M. aquatica* oils. [A], SAIB; 155° [B],[C] PEG 6000; 160° He gas

〔B〕型精油

このグループの精油は、Flückiger の HNO_3 反応で、深赤紫色を呈し、放置しておくとな酸化され易く、次第に粘重になる。薄層クロマトグラフィーでメントフランの R_f と同一のスポットを示し、精油の主留分 bp $80\sim 90^\circ/55\text{mm}$ の IR は、第2図に示す様に、標準 menthofuran の主要吸収と一致している。従って、この結果から我々の入手した欧州 *aquatica* にも米国にあるものと同様の menthofuran 系が3系存在することが認められた。

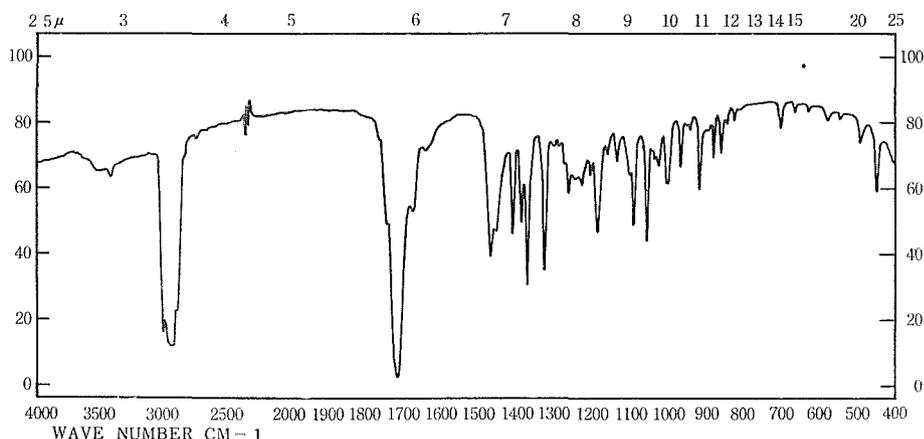


Fig. 2. Infrared spectrum of menthofuran.

〔C〕型精油

このグループの精油の IR は 1705cm^{-1} に強い吸収を示し、ケトンの存在が推定され、GC における Rt の主ピークは、原油のセミカルバゾン処理によって消失するからこの推定は確められた。主成分ケトンの含量は GC 面積法から求めると51%であった。セミカルバゾンを経メタノール再結すると、mp 232° に止り、このものの分析から $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$ の分子式が明らかとなった。このセミカルバゾンを経酸化処理して、原ケトンの再生を行ない、このものの GC をみると、2ピークを示し、酸化処理で異性化がおこるものと推定された。IR に二重結合の吸収が認められないから、本ケトンは双環性の飽和モノテルペンである。このものは薄荷属精油成分としては文献に全く報告を見ない新ケトンであって、*aquatica* の新しい chemical strain である。このものの化学構造は、次の〔II〕に詳細する経過により(-) iso-pinocampnone であることを確定した。

以上により欧州の *aquatica* は、(A)リナロール系、(B)メントフラン系の外に新たに(C)イソピノカンホン系が存在することを今回の研究で確定することができた。

II *aquatica* 新精油主成分(-) iso-pinocampnone の確認

前項において *aquatica* 〔C〕型の精油成分は、双環性モノテルペンケトン $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$ であることを明らかにした。このものを LiAlH_4 で還元すると、 $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$ の分子式を有するボルネオール状芳香を有するアルコール (mp $42\sim 45^\circ$) が得られるが、GC 分析を試みると2

ピークを示し、アルコールの立体異性体の混合物である。

そこで、ケトンの単離につき、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを (i) n-ヘキサン、(ii) ヘキサン：エーテル混液 (4 : 1) の溶剤で処理すると、後者から GC で単一のピークを示す部分を分離することができる。 $[\alpha]_D^{15} - 7.3^\circ$ で IR は第 3 図に示す如くであった。

このケトンは、アルカリ性 KMnO_4 酸化で、ピノン酸を生成することから、ピナン骨格を有するものと考えられる。NMR は第 4 図に示す様に、2 つのシングレット 9.12, 8.68

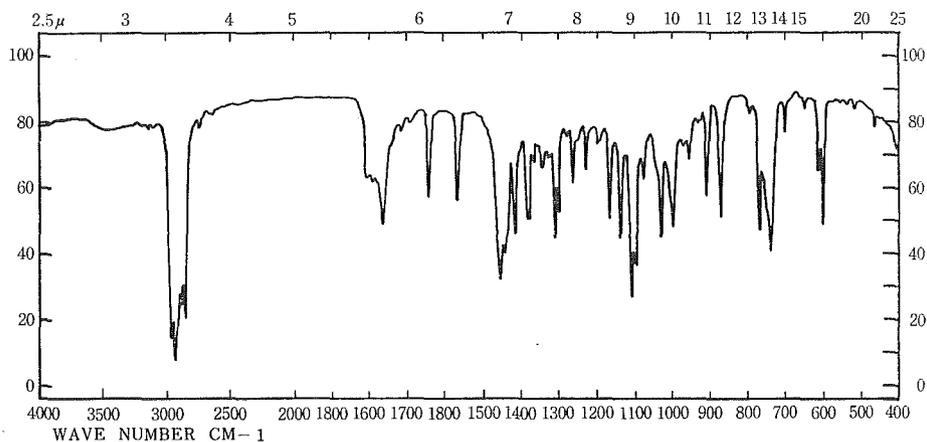


Fig. 3. Infrared spectrum of iso-pinocamphone.

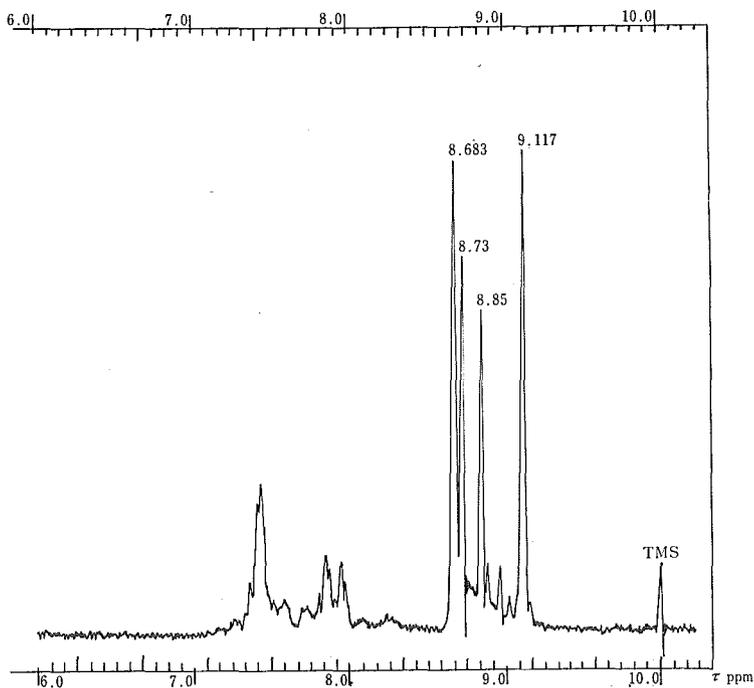
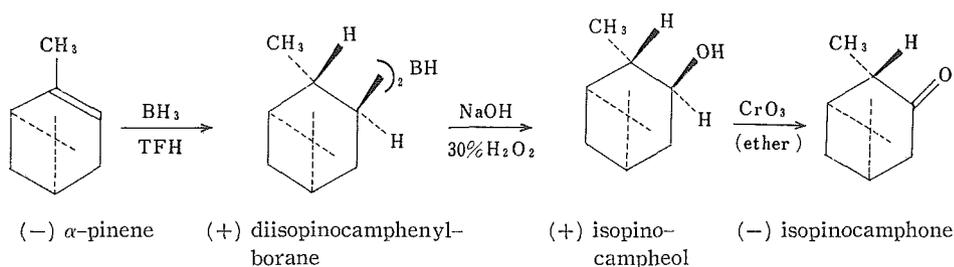


Fig. 4. N M R spectrum of iso-pinocamphone.

τ は gem-dimethyl に相当し、ダブルット 8.85, 8.73 τ ($J = 7$ cps) は 1 個の methyl に相当するから、ピナン骨格のケトンとして pinocamphone と vervanone のうち pinocamphone が可能性を有してくる。

このものにつき Erskine 等⁶⁾ の NMR の研究からは, iso-pinocamphone に一致した結果を与えるので, 次の様に Brown の方法⁷⁾ により α -pinene の hydroboration で (-) iso-pinocamphone を合成して, *aquatica* ケトンと IR で比較したところ, 完全に両者は一致した。従って, 新ケトンは (-) iso-pinocamphone であることが確定された。



従来文献によるとヒソップ油の主成分は, pinocamphone であると報告されているが⁸⁾, iso-pinocamphone は, 熱処理等で容易に pinocamphone に異性化し易いものであるが, 我々の入手したヒソップ油も iso-pinocamphone であることを明らかにし得た。なお, *aquatica* 新ケトンは, 薄荷属以外にも存在しており, ヒソップ油の外に, カキドオシの精油にもその存在が報告されている⁹⁾。*aquatica* oil を昇温法で行なうと第5図に示すガスクロマトグラムを示し, isopinocamphone 以外の他の成分については現在研究中である。

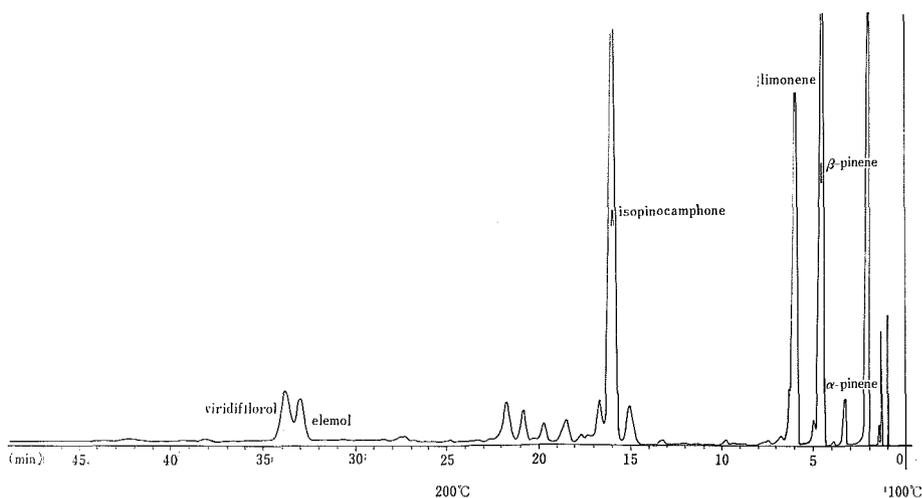


Fig. 5. Temperature programmed gaschromatogram of *M. aquatica* [C] type oil (column : PEG 20M.)

III *M. aquatica* を一方の親とする各種の種間雑種の精油成分

両親の精油成分が異なる薄荷属の各種について、種々の組合せの種間雑種をつくり、そのF₁の精油について報告を行ってきたが、今回は、岡山大学の池田等が、*M. aquatica*のうちメントフラン系と、イソピノカンホン系とにつき、別々に他の薄荷との間に交雑を行なって得られた、各種のF₁の乾葉を受けることができたので、その精油成分を主としてGCにより分析した結果は第4表に示し、薄荷属精油成分の遺伝につき、既報の結果と併せて考察する。

aquatica と組合せて F₁ をつくった他方の親は、*spicata*, *japonica* (ヒメハッカ), *arvensis* var. *agrestis* (欧州アルペンシス), *arvensis* var. *piperascens* (日本ハッカ) に属する7系統で、それぞれの染色体数、精油成分は次の第3表に示すとおりである。これらの植物形態的特徴や細胞核学的性状については、既に池田により詳細に報告されている²⁾。

Table 3. Essential oils of parent mint species

Parent Species	Line number	Number of chromosomes (2n)	$[\alpha]_D^{15}$	main components
<i>aquatica</i>	[219-1]	96	+31.02°	(+) menthofuran (49.0%)
"	[164-2]	96	+31.60	" (51.0)
"	[164-3]	96	-23.60	(-) iso-pinocamphone (49.0)
<i>rotundi folia</i>	[3]	24	+130.80	(+) piperitenone oxide (70.0)
<i>spicata</i> var. <i>longifolia</i>	[1]	48	-43.80	(-) carvone (50.2)
<i>spicata</i> var. <i>crispa</i>	[4]	48	-58.80	(-) carvone (51.3)
<i>japonica</i>	[55]	48	-9.90	(-) menthone (80.0)
<i>arvensis</i> var. <i>agrestis</i>	[152-2]	72	-24.00	octanone (90%ca)
"	[152-9]	72	-31.40	octanone (88%ca)
<i>arvensis</i> var. <i>piperascens</i>	[93]	96	-40.90	(-) menthol (79.6)

〔A〕 メントフラン系 *aquatica* を一方の親とする F₁ の精油

spicata を交配した F₁ 113, 114はともに、メントフランを含有するけれども、*spicata* の主成分カルボン認められない。

オクタノンの主成分とする *arvensis* を交配させた F₁ 140, F₁ 141の系は、メントールを主成分とした *arvensis* を組合せ、F₁ 142, F₁ 143とともに、両者の影響を受けて、両者の主成分をともに含有している。又、メントフランを主成分とする *aquatica* の F₁ は、本実験に関するかぎり、全部メントフランをかなり含有しており、メントフラン生成能の強いことが認められる。

〔B〕 イソピノカンホン系 *aquatica* を一方の親とする F₁ の精油

カルボン主成分とする *spicata* の組合せた F₁ 169は、炭化水素リモネン、ピネン等の生成は著しく、カルボンは殆んど認められないことは F₁ 113, 114の場合と同様に特異的である。

メントンを主成分とする *japonica* を組合せた F₁ 170の系は、iso-pinocamphone は20%の含量を示したが、メントン、メントールは認められず炭化水素類が多い。

Table 4. Physical constants and main

F ₁ Clones		Crossing	wt. of herb g	wt. of essential oil g	oil yield (%)	d ₁₅ ²⁰
[I]*	F ₁ 113-1	<i>spicata</i> [4] × <i>aq.</i> [219-1]	1,250	2.0	0.16	0.923
	F ₁ 114-2	<i>aq.</i> [219-1] × <i>spicata</i> [4]	950	3.8	0.40	0.917
	F ₁ 115-6	<i>aq.</i> [219-1] × <i>aq.</i> [164-2]	320	0.8	0.25	0.925
	F ₁ 115-39	<i>aq.</i> [219-1] × <i>aq.</i> [164-2]	500	1.1	0.22	0.936
	F ₁ 140-2	<i>aq.</i> [219-1] × <i>arv.</i> [152-2]	400	1.0	0.25	0.898
	F ₁ 141-2	<i>arv.</i> [152-9] × <i>aq.</i> [219-1]	300	0.6	0.20	0.893
	F ₁ 141-6	<i>arv.</i> [152-9] × <i>aq.</i> [219-1]	150	0.25	0.17	0.892
	F ₁ 142-2	<i>aq.</i> [219-1] × <i>arv.</i> [93]	990	3.9	0.39	0.924
F ₁ 143-2	<i>arv.</i> [93] × <i>aq.</i> [219-1]	950	4.4	0.46	0.945	
[II]	F ₁ 169-2	<i>spicata</i> [4] × <i>aq.</i> [164-3]	200	1.6	0.80	0.864
	F ₁ 169-3	"	280	2.8	1.00	0.881
	F ₁ 170-1	<i>japonica</i> [55] × <i>aq.</i> [164-3]	1,100	6.8	0.62	0.886
	F ₁ 170-2	"	670	4.2	0.63	0.884
	F ₁ 171-1	<i>arv.</i> [152-9] × <i>aq.</i> [164-3]	1,100	1.7	0.15	0.970
	F ₁ 172-2	<i>arv.</i> [93] × <i>aq.</i> [164-3]	1,200	6.4	0.53	0.848
	F ₁ 172-9	"	900	4.6	0.51	0.855
	F ₁ 183-1	<i>aq.</i> [164-3] × <i>spicata</i> [4]	1,050	7.3	0.70	0.849
	F ₁ 183-2	"	880	6.1	0.69	0.890
	F ₁ 183-3	"	730	4.5	0.62	0.853
	F ₁ 204-1	<i>rot.</i> [3] × <i>aq.</i> [164-3]	430	3.0	0.70	0.868
	F ₁ 204-2	"	900	7.9	0.80	0.886

*[I] : Parent *aquatica* [219-1], [164-2] are menthofuran strain.

** O.D. optical density at 235m μ of solution (oil 100 γ in 10ml methanol)

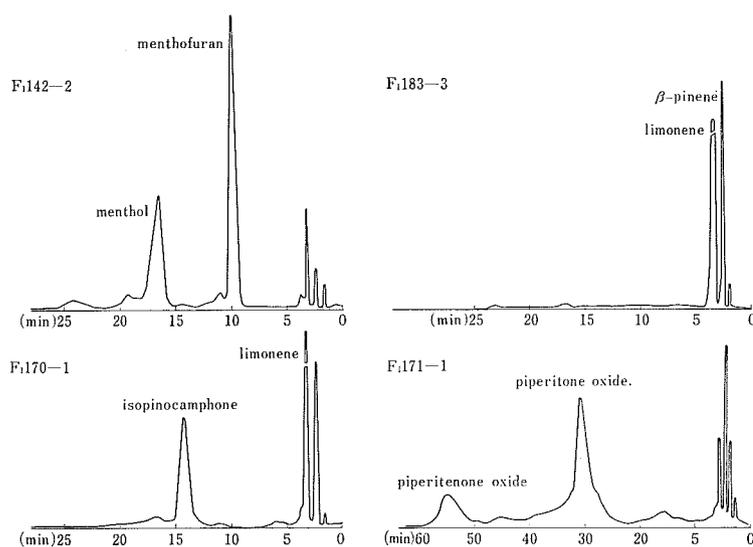


Fig. 6. Gaschromatograms of F₁ oils (column : SAIB)

components of F₁-oils

¹⁸ n _D	[α] _D ¹⁶	O. D. ** (235mμ.)	main components of oil. (%)			
1. 4860	+16.5	0.197	menthofuran (28.6)	pulegone (24.9)	limonene (10.2)	
1. 4770	+0.97	0.185	" (26.7)	limonene (16.6)	menthone (13.0)	
1. 4828	+23.1	0.117	" (49.6)	" (21.7)	cineole (7.7)	
1. 4820	+41.4	0.159	" (60.4)	" (13.1)	" (12.9)	
1. 4715	+18.5	0.181	" (26.3)	octanol (16.6)	" (19.5)	
1. 4675	+13.5	0.263	" (23.8)	" (27.8)	" (18.5)	
1. 4660	+11.5	0.155	" (22.5)	" (29.8)	" (19.8)	
1. 4752	+13.2	0.105	" (48.5)	menthone (3.0)	menthol (24.9)	
1. 4771	+35.0	0.143	" (54.0)	" (11.3)	" (11.4)	
1. 4765	-84.5	0.105	limonene (68.0)	β-pinene (19.9)		
1. 4817	-39.3	0.097	iso-PC (19.0)	limonene (32.6)	β-pinene (28.1)	
1. 4757	-59.3	0.041	" (24.5)	" (48.5)	" (18.2)	
1. 4780	-64.0	0.049	" (21.4)	" (53.1)	" (17.0)	
1. 4803	-19.4	0.114	piperitenone (174)	piperitone (59.3)		
1. 4765	-92.3	[260]0.148 0.033	oxide limonene (89.3)	oxide β-pinene (6.5)		
1. 4770	-98.8	0.028	" (83.9)	" (6.5)		
1. 4756	-71.5	0.065	" (69.6)	" (18.8)		
1. 4795	-42.4	0.078	iso-PC (19.7)	β-pinene (33.6)	limonene (30.6)	
1. 4775	-84.4	0.064	limonene (68.3)	" (18.4)		
1. 4800	-70.6	0.105	" (60.3)	" (26.0)		
1. 4792	-51.9	0.103	iso-PC (18.2)	" (22.2)	limonene (40.3)	

[II] : Parent *aquatica* [164-3] is iso-pinocamphone (iso-PC) strain.

octanone を主成分とする欧州 *arvensis* を組合せた F₁171-1 は、きわめて異常の精油を示し、両親の精油成分に認められない piperitenone oxide, piperitone oxide を主成分としている。

日本薄荷を組合せた F₁172 は、*spicata* の場合と同様に、炭化水素が 80% 以上の場合が多く両親のいずれの影響も受けていないのが著しく特異的である。

piperitenone oxide を主成分とする *rotundifolia* を組合せた F₁ 204 の 2 系統について、一つは両親の双方の影響を受けないことは前述と同様であったが、もう一つの系は、iso-pinocamphone を 18% 含有し、*aquatica* の影響を受けていることを示している。しかし、メントフラン系 *aquatica* のものに比較して、イソピノカンホン系の *aquatica* はその F₁ の精油につき、影響を示さない場合が様々であり、F₁ の精油中に iso-pinocamphone の認められない例が 12 系の F₁ につき 5 系にすぎなかった。

spicata を一方の親として他の薄荷と組合せた場合、その F₁ の中に、しばしば *spicata* の特有成分カルボン主成分が認められたのに、*aquatica* との組合せの場合には、その F₁ の中にカルボン主成分の系が 1 例も見出されなかった。

〔C〕 F₁ の精油成分と精油生成経路

我々は既報¹⁰⁾において、染色体数と精油成分の異なる薄荷の相互に種間雑種を多数作り、そ

の精油成分を分析し、次の三つに分類した。

- a) F_1 が、両親の双方の精油主成分を有する。
- b) F_1 が、両親の一方のみの精油主成分を有する。
- c) F_1 の精油主成分は、両親のいずれとも全く異なる。

このc)の場合の様に、両親の精油成分として全く知られない成分が F_1 に見いだされた場合は、薄荷属精油成分の生合成経路により説明が可能であると考えられる。生合成経路については、藤田¹¹⁾、勝原¹²⁾、REITSEMA¹³⁾、LOOMIS¹⁴⁾、HEFENDEHL¹⁵⁾等により詳細な報告があり、我々もさきに一応の推定を試みたが、さらに最近植物体内における反応は酵素化学反応であるから、基質の立体構造が重要であることに基いて、その推定経路第7図をあげ若干の問題を提起した¹⁶⁾。この我々の説に「単純な立体化学的な考え方では *l*-isopulegone → *d*-pulegone → *l*-menthone → *d*-isomenthone という。ほぼ確立した定則* さえ説明し得ないであろう」と藤田氏は批判した¹⁷⁾。しかし、酵素反応は基質の構造について立体特異的で

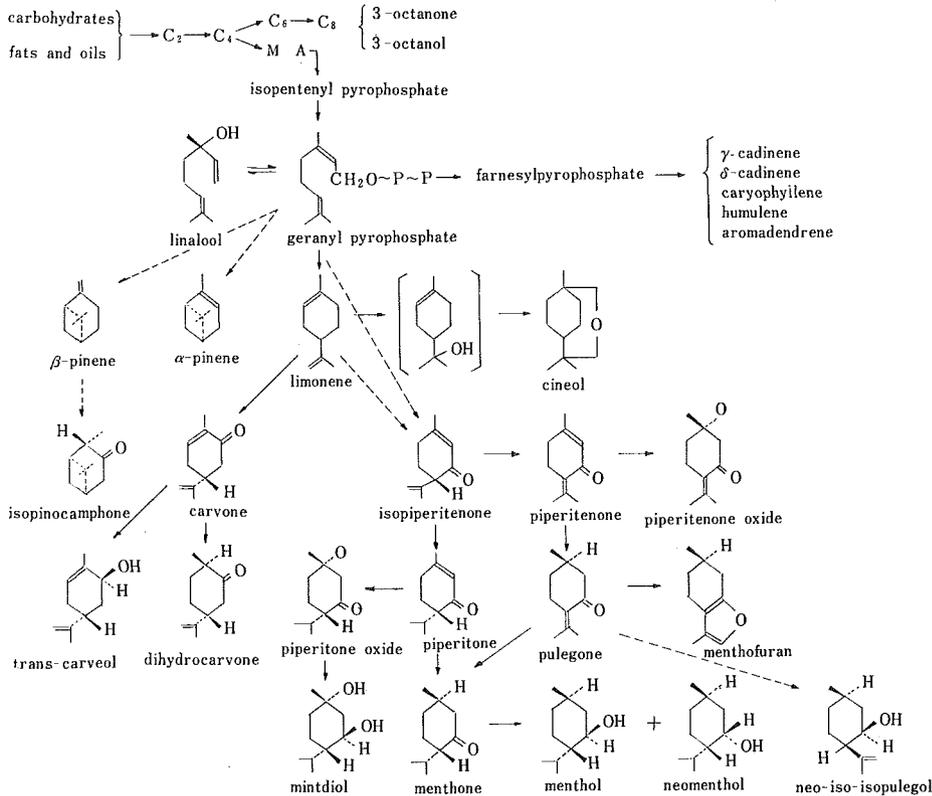


Fig. 7. Biogenesis of monoterpenes in the genus *Mentha*.

* この経路以外には考えられないという意味では、必ずしも定則として確立されていないと思う。種間雑種について、イソメントン含量の高いものが、しばしば見出し得ることをさきに我々は発表し、その前駆物質として、ピペリトンの可能性も考慮した。ドイツの HEFENDEHL¹⁵⁾も C^{14} トレーサー法で研究しイソメントン部分に強い C^{14} アクチビティを認め、その前駆物質はブレゴンかピペリトンのいずれかであろうとし、別に HOLZEL も piperitone → menthone → menthol の経路は、日照時間の影響を受けると報告した。

あるのが通例である。勿論「ラセマーゼ」や、光学活性の逆転に関する酵素化学の新しい問題が、重要な意味をもつことが明らかにされつつあるから、生合成経路の確立のため、細部について今後多くの実験が期待されねばならない。今回の *aquatica* の新ケトン iso-pino-camphone は、その立体構造は(-) α -pinene のそれと同一であるから、hydroboration と同様に、酵素分子がブリッジと反対側から二重結合に反応するとしても説明可能である。そうすれば藤田氏による¹⁷⁾「(-) iso-pinocamphone のごときは、 α - または β -pinene のこれに別の酵素系による酸化によって生じ、この際立体構造の変化もおこって、pinocamphone から iso-pinocamphone となったものであろう……」という解説によらねばならないことはない。我々の説についての氏の批判のもう一つの問題は、geranyl phosphate から「C₁₀ 環状中間体」をおいた点にある。

我々は氏の geranyl phosphate \rightarrow linalool \rightarrow limonene $\begin{matrix} \text{a)} \rightarrow \text{carvone} \\ \text{b)} \rightarrow \text{isopiperitenone} \end{matrix}$ の経路を立体化学的な面から検討したのであるが、limonene の酸化で、ある場合 carvone, 他の場合 isopiperitenone となるとすると、既報で指摘した様に limonene の光学活性が大きな問題であって通常の酵素反応の様に立体特異的に進むものとする、(-) carvone には (+) limonene が相対応している。しかし、(-) carvone の高含量のスペアミント油では、limonene は殆んど左旋性である。しかし isopiperitenone の基質となる limonene の旋光性は明らかでない、はたして共通のある光学活性の limonene が、ともに、(a), (b) 経路の基質となるのか確言できないので、C₁₀ 化合物の実体を保留した次第である。この点につき、藤田氏は、今回の説で limonene equivalent という仮説を用い、光学活性についてはふれていない。

次に我々は、既に200系近い F₁ の精油成分を分析したが、*arvensis* (日本ハッカ, menthol 主成分) と *spicata* (スペアミント, carvone 主成分) との組合せによる種々の F₁ について、menthol と carvone とを共に含有するケースを本実験によるガスクロマトグラフィーの条件下においては一度も見いだし得なかった。本報告の *aquatica* を一方の親として、これに carvone 主成分の *spicata* を組合せた F₁ について、(-) limonene 68.0% という様に高含量から 10% という低含量に至るまで、全部に見いだされるのに、carvone 生成経路は menthone, menthofuran 生成経路ならびに iso-pinocamphone 生成経路とも同一植物体内で両立していない。この問題については更に今後の研究の進展に期待しなくてはならない。

両親に見られない成分として、piperitenone oxide, piperitone oxide を有する F₁ 171-1 の場合、既報で発表した *rotundifolia* や *spicata* var. *longifolia* にたびたび見いだされる成分で、piperitenone, piperitone から由来するものと考えられている。しかし、この [152-9] という一方の親は C₈ 成分を有する特異の薄荷で、F₁ 141, F₁ 142 に見られる様に C₈ 成分の生成能力は、微弱とは考えられないことも注目に値する。

最後に *aquatica* \times *spicata* の F₁ は形態学的にも細胞核学的にも *piperita* そのものであることが、池田により明らかにされたが¹⁾ F₁ の精油成分は全く、ミッチャム油と異なっている。*piperita* の成立に必要な *aquatica* は menthofuran 系であって、iso-pinocamphone 系でないことは容易に推定されるが、問題はいかなる化学成分を有する *spicata* がミッチャム成立に必要なかを定めることにかかる。我々も既に報告¹⁶⁾した様に *spicata* は、多数の精油型に分れており、カルボン系は *piperita* には関係しないであろう。いかなる精油型の *spicata* と *aquatica* と組合され、ミッチャム油成立に至ったかは、なお今後の研究にま

たねばならない。

実験の部

1) 薄荷乾草および精油採取

本実験に用いた *aquatica* および *aquatica* を一方の親とする F₁ の栽培は、全部岡山大学農学部作物育種研究圃場で栽培された。これらの植物形態的観察および細胞核学的性状については、池田等により既に詳細に報告されている²⁾。分析に用いた精油試料は、7月下旬から8月中旬までにかけて開花直前に刈取り、雨をさけて風乾した植物を、常法により水蒸気蒸留し、留出液をエーテル抽出し、無水芒硝処理して溶剤を除く方法によって得た。岡山大学に送られた *aquatica* の起源は次のとおりである。

Belgium : Plantentuin der Rijksuniversiteit to Gent

Belgium : Institut et Jardin de Botanique de l'Université de Liège

France : Jardin Botanique Ville de Nantes

Italy : Istituto ed Orto Botanico dell'univ. di Roma

Portugal : Hortus Botanicus Coimbra.

2) ガスクロマトグラフィーによる精油の分析条件

Fig. 1 の B, C は (i) の条件, Fig. 1 の A および, Fig. 6 は (ii) の条件, Fig. 5 は (iii) の条件で測定した。

測定条件 (i), カラム : PEG6000, 内径 3 mm, 長さ 2 m, カラム温度 : 160° キャリヤーガス : He, 流速 : 45ml/min, 検出, 熱伝導度型

測定条件 (ii) カラム : SAIB, 内径 4 mm, 長さ 2 m, カラム温度 : 155°, キャリヤーガス : H₂, 流速 : 80ml/min, 検出, 熱伝導度型

測定条件 (iii) カラム : PEG 20M, 内径 3 mm, 長さ 3 m, カラム温度 : 100~200°C, 毎分 4°C 昇温, 検出, 水素炎イオン化型

ガスクロマトグラフィーによる精油の分析は1960~1968年の長期にわたり、使用機は、東洋GCM-3型、島津GC-2B型、日立K-53型、日本電子 JCG-810型であった。含量は面積法により、成分の同定は、分取後 IR 比較によったが、微量の精油成分は、標準テルペン成分の添加法によった。

3) 精油の物理恒数の測定

屈折率はアツベ屈折計により、施光度は 1~5% のメタノール溶液で測定した。紫外部吸収スペクトルは、バックマン DU 型分光光度計を用い、メタノール溶液中で測定した。赤外吸収スペクトルは、日立回折格子赤外分光計により、KBr ペレット法、又は、フィルム法によった。NMR は、Varian-60型により、deuterio chloroform 溶液として測定した。

4) *aquatica* oil より iso-pinocamphone の単離

aquatica [219-1] の精油 13.2 g を分留すると、60~80°/5mm の部分 6.3 g を得る。この留分から常法により semicarbazone が 30% の収量で得られる。メタノールから再結すると、mp. 232°, 分析 C : 63.01, H : 9.08 (C₁₀H₁₆=N.NHCONH₂ の計算値 C : 63.12 H : 9.15) 従って主成分の *aquatica* ケトン は、C₁₀H₁₆O の分子式を有す。この semicarbazone を 5%

H₂SO₄ で処理すると、得られる再生油の GC が 2 ピークを示すことから、異性化反応がおこることが認められた。後ピークが *aquatica* ケトン, iso-pinocamphone に一致し、前ピークは安定型の pinocamphone と考えられた。従ってこの方法では、*aquatica* ケトンは単離されないの、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行なった。ヘキサンで、さきに溶出する炭化水素類を除き、次いでヘキサン：エーテル（4：1）で処理すると GC で単一のピークを示す部分を得られる。 $[\alpha]_D^{15} - 7.3^\circ$ このものの IR は、 α -pinene から得られる iso-pinocamphone と全く一致する。

5) Iso-pinocamphone (*aquatica* oil よりの) の LiAlH₄ 還元

前項の留分 60~80°/5mm, 3g につきエーテル中で過剰の LiAlH₄ 還元すると, GC で 2 ピークの油状物を得る。後ピークの含有量 79%, このものをヘキサンで処理すると, ボルネオール様芳香を有する mp. 40~45° の結晶アルコールが得られる。分析 C : 77.42, H : 11.21% (C₁₀H₁₈O の値, C : 77.86, H : 11.76%) このものの 3.5-dinitrobenzoate mp. 101°, 分析値 C : 58.52, H : 5.67 (C₁₀H₁₇O·COC₆H₃N₂O₄ の計算値 C : 58.61, H : 5.79) iso-pinocampheol の 3.5-dinitrobenzoate に一致する。

6) α -pinene より (-)iso-pinocamphone の合成

α -pinene $[\alpha]_D^{15} - 35^\circ$ を用い Brown の方法に従い、テトラヒドにフラン中で氷冷しながら, LiAlH₄ と BF₃ との反応により生成するところの diborane で hydroboration を行ない, NaOH と H₂O₂ で酸化して (+)iso-pinocampheol mp. 42°, $[\alpha]_D^{15} + 26.5^\circ$ を得る。このものをエーテル中でクロム酸酸化し, 95~105°/20mm の留分を, シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し, $[\alpha]_D^{15} - 8.8^\circ$ の iso-pinocamphone を得た。

7) *aquatica* [219-1] を一方の親とする種間雑種の精油成分の GC 分析 (%)

	α -pinene	β -pinene	limonene	cineole	3-octanol
F ₁ 113-1	2.9	8.1	10.2	12.5	1.1
F ₁ 114-2	2.1	5.5	16.6	10.3	0.7
F ₁ 115-6	2.2	10.7	21.7	7.7	0.5
F ₁ 115-39	2.8	7.2	13.1	12.5	1.1
F ₁ 140-2	2.2	7.1	10.3	19.5	16.6
F ₁ 141-2	2.0	6.6	9.3	18.5	27.8
F ₁ 141-6	1.0	5.7	8.0	19.8	29.8
F ₁ 142-2	1.7	3.5	7.8	1.3	—
F ₁ 143-2	1.4	2.7	8.9	2.2	0.3

	menthofuran	menthone	isomenthone	menthol	pulegone
F ₁ 113-1	28.6	1.9			24.9
F ₁ 114-2	26.7	13.0	1.6	5.5	7.6
F ₁ 115-6	49.6				
F ₁ 115-39	60.4				
F ₁ 140-2	26.3		6.0		
F ₁ 141-2	23.8		3.3		
F ₁ 141-6	22.5		3.3	2.6	
F ₁ 142-2	48.5	3.0	1.0	24.9	3.4
F ₁ 143-2	54.0	11.3	1.1	11.1	4.2

謝辞 精油の一部は岡山県農業試験場、中山孟郎氏の格別の御配慮により入手したものであり、ここに厚くお礼申上る。ヒソップ油、および本油の加熱異性化反応について貴重な御教示をいただいた高砂香料工業研究所、小松、吉田両博士に深く感謝する。NMR の測定は、京大薬学部、神宮博士の御厚意によった。併せて厚くお礼申し上げたい。

本研究は1960年より開始したものであり、文部省科学研究費、機関研究費の助成により行なわれたものであることを、ここに附記して当局に感謝の意を表する。

文 献

1. 宇渡清六・清水純夫・池田長守：岡山大学農学術報告 20, 1 (1962)
2. 池田長守：細胞遺伝学的方法による薄荷属植物の育種学的基礎研究 p 21, 126 (1961)
3. Gildemeister, Hoffmann: "Die ätherischen Ole" Ed. VII (Akademie Verlag, Berlin, 1961), p. 393.
4. R. H. Reitsema: *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, 43, 414 (1954)
5. K. L. Handa, D. M. Smith I. C. Nigam, L. Levi: *J. Pharm. Sci.*, 53, 1407 (1964)
6. R. L. Erskine and S. A. Knight: *Chem. & Ind.* 1960, Sept. 1160.
7. H. C. Brown and G. Zweifel: *J. Am. Chem. Soc.*, 83, 2550, 2951 (1961).
8. E. GUENTHER: "The Essential Oil" Vol II (D. VAN NOSTRAND CO. NEW YORK, 1949) p389
9. ヒキノ、草野・竹本：第6回香料テルペン精油化学シンポジウム要旨集 p 45 (1962).
10. 清水純夫・池田長守：日本農芸化学雑誌 36, 907, 912 (1962)
11. 藤田安二：香料, 59, 41 (1960), 61, 1 (1961)
12. 勝原淳：香料, 83 51 (1966)
13. R. H. Reitsema: *J. Pharm. Sci.*, 47 267 (1958)
14. J. Battaile, W. D. Loomis: *Biochem. Biophys. Acta.* 51 545 (1961), *Plant Physiol.* 1966, 20.
15. F. W. Hefendehl: *Phytochemistry*, 6, 823 (1967)
16. 清水純夫：化学 22 67 (1967)
17. 藤田安二：香料 88 23 (1968)

追記：本文 Fig. 5 の *aquatica* oil 後沸点部にみられるピークがセスキテルペンアルコールに属する，elemol ならびに viridiflorol であることを昭和44年4月の日本農芸化学会大会講演において明らかにした。

Studies on the Essential Oils of *Mentha aquatica* L. I-III

By Sumio SHIMIZU, Den-ei KARASAWA and Nagamori IKEDA*

Laboratory of Analytical Chemistry, Fac. Agric. Shinshu Univ.

Summary

M. aquatica were imported from the following countries; Belgium, Plantentuin der Rijksuniversiteit to Gent; Belgium, Institut et Jardin de Botanique de l'Université de Liège; France, Jardin Botanique Ville de Nantes; Italy, Istituto ed Orto Botanico dell' Univ. di Roma; Portugal Hortus Botanicus Coimbra. They were cultivated in Okayama University and Kurashiki Experimental Station for Agriculture.

By analyzing the essential oils obtained from *aquatica* herbs by gas chromatography (column, SAIB 20% on Celite 545; column temp., 155°C; carrier gas, hydrogen; flow rate, 65 ml/min.), we divided *aquatica* mint into following three chemical strains.

Linalool strain seems to be very similar to *Mentha citrata* from chemical and morphological point of view. Menthofuran in the second oil was identified by infrared spectrum, thin-layer chromatography (a purple red spot by vanillin sulfuric acid reagent) and Flückiger reagent test. It will be surely identical with American *aquatica* reported by Reitsema.

The essential oil obtained from third strain showed strong absorption at 1700cm^{-1} and gave semicarbazone of m. p. 232°C in the yield of 30%. The oil regenerated from this semicarbazone by treatment with acid media showed two peaks in the gas chromatogram, the later of which was determined to coincide with the main peak of *aquatica* original oil; retention time relative to (-)-menthol was 0.88. This indicates that *aquatica* ketone is sensitive to acid and isomerizes to a stable isomer. The original ketone was isolated purely by silica column chromatography (first eluting solvent, petroleum ether, then followed by ether): b. p. 81°C/5mm., $[\alpha]_D^{15} -7.3^\circ$. By the reduction with lithium aluminum hydride, a borneol-like smelling crystal (m. p. 42~45°C) was obtained. From the elementary analysis of its 3,5-dinitrobenzoate (Found: C, 58.70; H, 5.83; Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$ =dinitrobenzoate of $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$: C, 58.61; H, 5.79%), the molecular formula for original ketone was established to be $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$.

It showed no double bond in the infrared spectrum and gave pinonic acid by potassium permanganate oxidation (identified as semicarbazone of m. p. 204°C). From these results *aquatica* ketone seemed to be a bicyclic ketone such as pinocamphone or isopinocamphone. NMR spectrum of this ketone in deuterio-chloroform showed the presence of gem-dimethyl (singlets, 9.12 8.68 τ) and one methyl (doublet, 8.85, 8.73 τ , $J=7$ c. p. s.), which support isopinocamphone skeleton.

Then, (-)-isopinocamphone was prepared by hydroboration of (-)-pinene, $[\alpha]_D^{25} -35^\circ$ according to Brown's method; b. p. 91~105°C/20mm., after silica chromatography, $[\alpha]_D^{25} -8.8^\circ$. Infrared spectrum absorption and retention time of (-)-isopinocamphone were found to be completely identical with those of *aquatica* ketone.

This is the first paper which shows the presence of (-)-isopinocamphone in the essential oil of the Genus *Mentha*, while (-)-pinocamphone was found in the oil of *Hyssopus officinalis* L. and ground ivy (*Glechoma hederacea* L. subsp. *grandis* (A. Gray) Hara). Then, oils of various interspecific hybrid clones between *aquatica* and several mint species such as *rotundifolia* (2n=24), *spicata* (48), *japonica* (48), *arvensis* var. *agrestis* (72) and *arvensis* var. *piperascens* (96) were analyzed by gas-chromatography. The results obtained are shown in Table 4.