難加水分解性フラノイドジテルペン配糖体の質量分析

Mass Spectrometry of Furanoid Diterpene Glucosides Resisted to Hydrolysis

米光 美知子*・福田 直通*・木村 孟淳*

磯部 隆一**・古森 徹哉**

Michiko YONEMITSU*, Naomichi FUKUDA*, Takeatsu KIMURA*, Ryuichi ISOBE**,
and Tetsuya KOMORI**

(平成元年9月28日受理)

The comparative investigation into the mass spectrometric analysis of nine furanoid diterpene glucosides and their aglycones were made by the electron impact (EI), fast atom bombardment (FAB), and field desorption (FD) mass spectrometry (MS).

The EI mass spectra provided the diagnostic informations concerning stereoisomerism of the aglycone parts. The FAB mass spectra could reveal the molecular ion peaks of the glucosides by both the positive and the negative ion modes, and the abundant knowledge on the structural features of those compounds could be obtained by the FDMS. Particularly, the ions at m/z 163 which indicated the sugar moieties were easily detected, even if their glucosidic bonds resisted to chemical and enzymatic hydrolysis.

As a promising aid for obtaining structural information of minute amounts of furanoid diterpene glucosides and their aglycones, the utility of the combined use of the EI and the FDMS was emphasized.

1. 緒 言

我々はコロンボ根 (*Jateorhiza palmata* MIERS) から7種のフラノイドジテルペン配糖体(1~7)を得、それらの構造を明らかにしている¹⁾。これらは低収量(原料50 kgから1: 0.572 g, 2: 0.098 g, 3: 0.558 g, 4: 0.168 g, 5: 0.340 g, 6: 0.179 g, 7: 0.200 g)であり、このうち1~6は酸や酵素による加水分解を受けにくい化合物であった。配糖体の構造研究にはまず分子量の決定とアグリコンや糖部の構造を明らかにする必要がある、したがって加水分解は構造解明の化学的必須手段となっている。我々はこのような難加水分解性化合物が配

糖体かどうかをごく微量で迅速に同定する手段としてマスマススペクトロメトリー(MS)の応用を試み、1~7に加え、我々がタイ国産生薬 Borapet (*Tinospora tuberculata* BÉUMÉE) から単離、構造決定している2種の配糖体(8, 9)²⁾、ならびにそれらのアグリコン(10~18)のEI, FDおよびFABマスマスペクトルを検討した。

フラン環を有するジテルペンのEIMSについては既に報告がなされているが³⁾、配糖体を含めたFDおよびFABMSに関する報告は著者らの知るかぎり極めて少ない。今回これら各種スペクトルの比較から、微量で難加水分解性配糖体の構造解析にもMSが有効な手段であり、またア

* 第一薬科大学(福岡市南区玉川町22-1, 〒815)

Daichi College of Pharmaceutical Sciences (22-1 Tamagawa-cho, Minami-ku, Fukuoka 815, Japan)

** 九州大学薬学部(福岡市東区馬出3-1-1, 〒812)

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University (3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan)

検討した。これらの化合物はその構造の特徴から 5 グループに分類した (Table I, Chart 1)。各群の MS の特徴は Table II に示される。

3.1. EIMS

Class I~V のすべての化合物は m/z 81, 94,

Table I. Furanoid Diterpenes and Their Glucosides Studies.

Class	Compound No.	Name	Mol. formula	MW
I	1	palmatoside A	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₂	536
	2	palmatoside B	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₂	536
	5	palmatoside E	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₂	536
	6	palmatoside F	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₂	536
	12	chasmanthin	C ₂₀ H ₂₂ O ₇	374
	13	palmarin	C ₂₀ H ₂₂ O ₇	374
	14	isojateorin	C ₂₀ H ₂₂ O ₇	374
II	15	jateorin	C ₂₀ H ₂₂ O ₇	374
	3	palmatoside C	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	520
	4	palmatoside D	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	520
	10	columbin	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	358
III	11	isocolumbin	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	358
	7	palmatoside G	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	492
IV	16	aglycone of 7	C ₁₉ H ₂₂ O ₅	330
	8	borapetoside A	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₂	538
V	17	borapetol A	C ₂₀ H ₂₄ O ₇	376
	9	borapetoside B	C ₂₇ H ₃₆ O ₁₂	552
	18	borapetol B	C ₂₁ H ₂₆ O ₇	390

121 のフラグメントイオンが強く観測される。この m/z 121 のピークは C-9 位に核間メチル基、C-12 位にフラン環を有するジテルペン類に特有のものである³⁾。配糖体では m/z 60 にピークが見られる。これは高分解能 MS の測定の結果、C₂H₄O₂ の組成を有し、グルコースの開裂により形成されたイオンであると推測された⁴⁾。配糖体のスペクトルではいずれも分子イオンピークは認められなかった。

Class I の 8 β -H の化合物 (2, 6, 12, 15) では遊離のジテルペン、配糖体のどちらでも Chart 2c の開裂が考えられる m/z 259 [C₁₆H₁₉O₃] および m/z 275 [C₁₆H₁₉O₄] のピークが出現した (Fig. 1a, 1c) が、8 α -H のもの (1, 5, 13, 14) では観測されなかった (Fig. 1b, 1d)。

Class II では遊離のジテルペン、配糖体ともに Chart 2d⁵⁾ による m/z 246, 231, 204 のフラグメントイオンが特徴的に観察される。また遊離のジテルペン 10 に見られる m/z 314 [M-CO₂]⁺ ならびに配糖体 3 の m/z 314 [M-162-CO₂]⁺ もこの Class に特有のフラグメントピークである (Fig. 1e, f)。さらに遊離のジテルペンでは分子イオンピークは見られるが、配糖体 3, 4 では分子イオ

Table II. Characteristic Fragments of Diterpene Glucosides in EI, FD, Positive FAB, and Negative FAB Mass Spectra (m/z).

MS	Class				
	I	II	III	IV	V
EI	60, 81, 94, 121, 259, 275 (8 β), 374 (M-162) ⁺	60, 81, 94, 121, 204, 231, 246, 314 (M-162-CO ₂) ⁺	60, 81, 94, 121, 206, 300, 330 (M-162) ⁺	60, 81, 94, 121, 178, 219, 376 (M-162) ⁺	60, 81, 94, 121, 388 (M-162-2H) ⁺
FD	163 (weak), 374 (M-163+H) ⁺ , 375 (M-163+2H) ⁺ , 537 (M+H) ⁺	163, 314 (M-163+H-CO ₂) ⁺ , 476 (M-CO ₂) ⁺ , 521 (M+H) ⁺	163, 331 (M-163+2H) ⁺ , 492 (M ⁺)	163, 359 (M-163+2H-H ₂ O) ⁺ , 377 (M-163+2H) ⁺ , 539 (M+H) ⁺	163, 373 (M-163+2H-H ₂ O) ⁺ , 391 (M-163+2H) ⁺ , 553 (M+H) ⁺
Positive FAB	375 (M-163+2H) ⁺ , 537 (M+H) ⁺	359 (M-163-2H) ⁺ , 521 (M+H) ⁺	331 (M-163+2H) ⁺ , 493 (M+H) ⁺	377 (M-163+2H) ⁺ , 539 (M+H) ⁺	373 (M-163+2H-H ₂ O) ⁺ , 391 (M-163+2H) ⁺ , 553 (M+H) ⁺
Negative FAB	373 (M-163) ⁻ , 535 (M-H) ⁻	313 (M-163-CO ₂) ⁻ , 519 (M-H) ⁻	491 (M-H) ⁻	357 (M-163-H ₂ O) ⁻ , 537 (M-H) ⁻	551 (M-H) ⁻

Chart 2. Partial structures of fragments from furanoid diterpene glucosides and their aglycones.

Fig. 1. EI mass spectra of 2, 1, 6, 5, 10, 3, 16, 8 and 18.

ンはもちろん Class I で見られたアグリコン部に由来するフラグメントイオン (Chart 2c) は検出されなかった。

Class III では遊離型、配糖体ともに Chart 2e の開裂による m/z 206, 300 のピークが特徴的であった。

16 では m/z 330 に分子イオンが、その配糖体でも同様に m/z 330 に $[M-162]^+$ ピークがみられる (Fig. 1g)。

Class IV は遊離型も配糖体においても Chart 2f の開裂によるフラグメントピーク m/z 178, 219 が特徴的であった。また遊離のジテルペンでは分子イオン、配糖体においては $[M-162]^+$ の

ピークが観測された (Fig. 1h)。

Class V では遊離のジテルペン、配糖体ともに分子イオンは見られず、遊離型では $[M-2H]^+$ 、配糖体では $[M-162-2H]^+$ のピークが見られた (Fig. 1i)。これらは脱 H_2 の起こりやすい構造がアグリコン部に存在することを示唆しており、Borapet から 9, 18 とともに分子量 388 $[C_{21}H_{24}O_7]$ の enone 化合物^{2a)} が単離されていることから、これは Chart 2g の構造のフラグメントイオンと考えられた。

3.2. FDMS

配糖体について検討した結果、すべての化合物について分子イオンが $[M+H]^+$ 、あるいは M^+ イ

Fig. 1. Continued

オンとして観測された。アグリコン部のシグナルは Class II 以外はプロトン化^{6~10)}に基づく開裂イオン $[M-163+2H]^+$, $[M-163+H]^+$ あるいは $[M-163+2H-H_2O]^+$ として得られた (Fig. 2a~d).

Class II では m/z 476 $[M-CO_2]^+$, m/z 314 $[M-163+H-CO_2]^+$ の脱 CO_2 ピークが極めて

特徴的であり, $[M-163+2H]^+$ は検出されなかった (Fig. 2e). m/z 476 と m/z 314 のピークは Chart 2h のイオン構造に基づくと考えられる。またジテルペン 10, 11 にも m/z 359 $[M+H]^+$ とともに m/z 314 $[M-CO_2]^+$ のピークが特徴的であった (Fig. 2f).

さらに糖部由来のピーク m/z 163 は Class I で

難加水分解性フラノイドジテルペン配糖体の質量分析

Fig. 2. FD mass spectra of 1, 7, 8, 9, 3 and 10.

Fig. 3. Positive FAB mass spectra of 1, 3, 7, 8 and 9.

は弱いがその他の Class ではすべて顕著なピークとして検出された。なお遊離のジテルペンでは Class II での $[M-CO_2]^+$ ピークを除き、分子イオン $[M+H]^+$ が観測される以外に顕著なピークは

出現しなかった。

3.3. FABMS

FABMS も主に配糖体について検討した。正イオン FABMS ではすべて分子イオンピークが $[M$

難加水分解性フラノイドジテルペン配糖体の質量分析

Fig. 4. Negative FAB mass spectra of 1, 3, 8, 7 and 9.

+H)⁺として、またアグリコンのピークが[M-163+2H]⁺及び[M-163+2H-H₂O]⁺として観測される (Fig. 3a~e)。EI や FDMS と異なり Class II では脱 CO₂ のピークは非常に弱く、遊離のジテルペンでは脱 CO₂ ピークは全く出現しない。負イオン FABMS ではすべて分子イオンが[M-H]⁻として出現している (Fig. 4)。

アグリコン部に基づくピークは Class I, II, IV では[M-163]⁻, [M-163-CO₂]⁻, および[M-163-H₂O]⁻として各々認められるが (Fig. 4a~c), Class III, V では認められない (Fig. 4d, e)。

4. 結 論

EIMS は立体異性によりスペクトルに差が見いだせるなどアグリコンに関する情報を得るためには有意義であった。FABMS は、すべての配糖体の分子イオンを検出することは可能であったものの、全体にその検出強度は弱く、この点マトリックスの変更などさらに測定法を検討する必要が認められた。一方 FDMS は、遊離のジテルペンおよび配糖体のすべてについて明瞭な分子イオンを検出し、例えば Class II における脱 CO₂ イオンのように、アグリコンの特徴をも顕著に示した。さらに、Class I および II の配糖体のごとく、3 級水酸基に glucopyranosyl 基が結合し、化学的および酵素的加水分解に抵抗するとともに、酸、アルカリにも不安定な化合物に対して、配糖体であるか否かを決定するという目的を十分満足させた。

EIMS と FDMS の併用は、表記化合物の構造研究に極めて有効な分析手段であると結論する。

文 献

- 1) a) M. Yonemitsu, N. Fukuda, T. Kimura, T. Komori, H. J. Lindner, and G. Habermehl, *Liebigs Ann. Chem.*, **1989**, 485; b) M. Yonemitsu, N. Fukuda, T. Kimura, and T. Komori, *ibid.*, **1987**, 193; c) M. Yonemitsu, N. Fukuda, T. Kimura, and T. Komori, *ibid.*, **1986**, 1327.
- 2) a) N. Fukuda, M. Yonemitsu, and T. Kimura, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2868 (1986); b) N. Fukuda, M. Yonemitsu, T. Kimura, S. Hachiyama, K. Miyahara, and T. Kawasaki, *ibid.*, **33**, 4438 (1985).
- 3) 伊田喜光・川村美鈴・藤倉 峻・古森徹哉, 分析機器, **13**, 90 (1975).
- 4) H. Budzikiewicz, C. Djerrasi, and D. H. Williams, "Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry", Vol. II, Holden Day, Inc., San Francisco, 1964, p. 227.
- 5) H. Budzikiewicz, C. Djerrasi, and D. H. Williams, "Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry", Vol. II, Holden Day, Inc., San Francisco, 1964, p. 156.
- 6) T. Komori, T. Kawasaki, and H.-R. Schulten, *Mass Spectrom. Rev.*, **4**, 255 (1985).
- 7) H.-R. Schulten, T. Komori, T. Nohara, R. Higuruchi, and T. Kawasaki, *Tetrahedron*, **34**, 1003 (1978).
- 8) T. Komori, M. Kawamura, K. Miyahara, T. Kawasaki, O. Tanaka, S. Yahara, and H.-R. Schulten, *Z. Naturforsch.*, **34c**, 1094 (1979).
- 9) T. Komori, I. Maetani, N. Okamura, T. Kawasaki, T. Nohara, and H.-R. Schulten, *Liebigs Ann. Chem.*, **1981**, 683.
- 10) R. Isobe, T. Komori, F. Abe, and T. Yamauchi, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, **13**, 585 (1986).

Keywords

Furanoid diterpene glucosides
FAB-MS
EI-MS
FD-MS
Structural investigation