薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
109 (4) 256-264 (1989)

栝楼根類生薬の成分に関する研究 (第2報¹⁾) カラスウリ根の成分

北島潤一,* 田中靖子

昭和薬科大学

Studies on the Constituents of *Trichosanthes* Root. II.¹⁾ Constituents of Roots of *Trichosanthes cucumeroides* MAXIM.

Junichi KITAJIMA* and Yasuko TANAKA

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

(Received September 12, 1988)

From the fresh roots of *Trichosanthes cucumeroides* MAXIM., three new triterpenoid glycosides with a bitter taste were obtained together with methyl palmitate, palmitic acid, α -spinasterol, stigmast-7-en-3 β -ol, α -spinasterol 3-*O*- β -D-glucopyranoside, stigmast-7-en-3 β -ol 3-*O*- β -D-glucopyranoside and vanillic acid.

On the basis of the results of spectral and chemical investigations, these glycosides were characterized as 25-*O*- β -D-glucopyranosyl-11-oxocucurbit-5-ene-3 β , 24(*R*), 25-triol 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside, 25-*O*- β -D-(6-*O*-acetyl)-glucopyranosyl-11-oxocucurbit-5-ene-3 β , 24(*R*), 25-triol 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside and 11-oxocucurbit-5-ene-3 β , 24(*R*), 25-triol 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside.

Keywords—*Trichosanthes* Root; *Trichosanthes cucumeroides*; Cucurbitaceae; bitter substance; cucurbitane glycoside; NMR; FD-MS

前報で著者等は栝楼根の原植物の1つであるキカラスウリ [*Trichosanthes kirilowii* MAXIM. var. *japonicum* KITAM. (Cucurbitaceae)] の根の成分検索の結果について報告した.¹⁾ 今回は同属植物カラスウリ [*T. cucumeroides* MAXIM. (土瓜根)] の根の化学成分の検討を行い, 強い苦味を有する新サポニン3種を含む10種の成分を確認したので報告する.

神奈川県にて12月に採取したカラスウリの新鮮根(29 kg)を細切し, MeOHにて室温抽出し, 得られたMeOHエキスをChart 1並びに実験の部記載の方法により処理し, エーテル抽出部より化合物I—III及びステロール混合物A, Bを, ブタノール抽出部のサポニンフラクションより化合物S-I, S-II, S-IIIを得た.

化合物I (1), II (2) 及びステロール混合物A (3), B (4) は前報でキカラスウリの根より分離報告した methyl palmitate, palmitic acid, α -spinasterol と stigmast-7-en-3 β -ol の混合物, α -spinasterol と stigmast-7-en-3 β -ol の 3-*O*- β -D-glucopyranoside の混合物と一致した.

化合物III (5) は赤外線吸収スペクトル(IR)において水酸基(3450 cm⁻¹), カルボン酸(1680 cm⁻¹), ベンゼン環(1595, 1520 cm⁻¹)の存在が示され, 電子衝撃マススペクトル(EI-MS)では *m/z* 168 に M⁺ イオンが認められる. 以上の結果より5を vanillic acid と推定し, 標品と IR 及び acetate の ¹³C-核磁気共鳴スペクトル(¹³C-NMR)を比較し, 同定した.

化合物S-I (6) は強い苦味を有する白色粉末で Liebermann-Burchard 反応陽性を示し, その IR は強い水酸基(3350 cm⁻¹)の吸収の他, カルボニル基(1690 cm⁻¹)の吸収を示す. 6の ¹³C-NMR 及び 6の permethyl ether (7) の ¹H-NMR において anomeric carbon 及び anomeric proton のシグナルがそれぞれ4本ずつ認められることより, 6は4モルの糖を有する配糖体と推定される.

6の電界脱離マススペクトル(FD-MS)では *m/z* 1129 に [M+Na]⁺ と考えられるピークが強く認められる他, これより1モルのメチルペントース (*m/z* 983), 1モルのヘキソース (*m/z* 967), メチルペントースとヘキソース各1モル (*m/z* 821), 2モルのヘキソースと1モルのメチルペントース (*m/z* 659) が脱離したピークが認められる.

Chart 2. FD-MS of 6 (MW=1106, C₅₄H₉₀O₂₃)

6 を 2N H₂SO₄ で 2 時間加熱し、加水分解するとアグリコンとして 8 及び微量の 9 が得られ、糖部として D-glucose, L-rhamnose が確認された。

8 は Liebermann-Burchard 反応陽性で、IR から水酸基 (3400 cm⁻¹), カルボニル基 (1685 cm⁻¹) の存在が示される。EI-MS では m/z 474 に M⁺ イオンが認められ、¹H 及び ¹³C-NMR より三級メチル基 7 個、二級メチル基 1 個、カルボニル基 1 個、二級水酸基 2 個、三級水酸基 1 個、三置換二重結合 1 個の存在が示されることより、8 は C₃₀H₅₀O₄ の分子式を持つ四環性トリテルペノイドと考えられる。8 を無水酢酸-ピリジンでアセチル化すると diacetate (10) が得られる。また 8 を 50% MeOH 性 4N H₂SO₄ で水浴上加熱処理すると脱水し、9 と一致する diketo monool が得られ、さらに 9 をアセチル化すると diketo monoacetate (11) が得られる。このことは 8 の三級水酸基と二級水酸基の 1 個がグリコール構造をとっていることを示す。8 及び 10 の ¹H-NMR における

メチル基のシグナルのケミカルシフトを **9**, **11** のものと比較することより、水酸基は **24**, **25** 位及び **3** 位に存在すると推定され、また **8** は δ 3.46 に、**10** では δ 4.69 にアクシャル (ax.) 水酸基, ax. アセトキシル基が結合しているメチンのシグナルがそれぞれ認められ、**3** 位の水酸基は ax. と考えられる。以上の結果及び **8**, **10** の ^{13}C -NMR を lanostane, dammarane, cucurbitane type のトリテルペノイドの文献値と比較することより,²⁾ **8** はウリ科植物に見られる 11-oxocucurbit-5-ene type のトリテルペノイドであり、 3β , **24**, **25** 位に水酸基を有する化合物と推定した。

竹本, 在原等は中国南部の高冷地に栽培されているウリ科植物 *Momordica grosvenori* SWINGLE の果実を基原とする生薬, 羅漢果より甘味を有する配糖体 morgroside **V** を得,³⁾ その加水分解成積体としてアグリコンの cucurbit-5-ene- 3β , **11** α , **24**(*R*), **25**-tetraol (mogrol) の他, **11** 位が酸化された 11-oxocucurbit-5-ene- 3β , **24**(*R*), **25**-triol を得ており,⁴⁾ このものが *Bryonia* 根より単離された bryodulcoside のアグリコン, bryodulcosigenin と一致することを示しているが,⁵⁾ **8**, **10** の融点, 旋光度, EI-MS, ^1H -NMR は 11-oxocucurbit-5-ene- 3β , **24**(*R*), **25**-

Chart 3

triol 及びその diacetate の文献値とよく一致し、さらに **8** より導びかれた **9** の融点, MS, $^1\text{H-NMR}$ も 3 β -hydroxy-11,24-dioxo 体の文献値と一致する.⁵⁾ 以上の結果より **8** は 11-oxocucurbit-5-ene-3 β ,24(*R*),25-triol (bryodulcosigenin) と同定され, **6** は **8** をアグリコンとし, 3 モルの D-glucose, 1 モルの L-rhamnose を構成糖とする配糖体であることが示される.

6 を 50% MeOH 性 1N H_2SO_4 で 1 時間加水分解するとプロサポゲニン **A** (**12**) が, 50% MeOH 性 0.5 N H_2SO_4 で 30 分間加水分解するとプロサポゲニン **E** (**13**) の他, プロサポゲニン **B** (**14**) 及び **C** (**15**) が, ヘスペリジナーゼで 3 時間 37°C で酵素分解すると **13**, **15** がそれぞれ得られた.

12 はその FD-MS の $[\text{M}+\text{H}]^+$ のピーク (m/z 637) より, 構成糖として D-glucose 1 モルを有することがわかる. **12** の $^{13}\text{C-NMR}$ を **8** 及び **9** のそれと比較すると **12** では **8** の C (3) に対応するシグナルが大きく低磁場にシフトしており, glucose の結合位置が 3 位であることがわかる (Table I).⁶⁾

13 はその FD-MS の $[\text{M}+\text{Na}]^+$ のピーク (m/z 821) 及び $^{13}\text{C-NMR}$ の anomeric carbon のシグナルより, 構成糖として D-glucose 2 モルを有することがわかる. **13** の $^{13}\text{C-NMR}$ を **12** のものと比較すると **12** の glucose の 2 位に帰属されるシグナルが低磁場シフトしており, **13** は glucose の 2 位に glucose が結合した糖部構造を有することが示される (Table I).⁶⁾

TABLE I. $^{13}\text{C-NMR}$ Spectral Data of **6**, **8**, **9**, **12**—**15** and **17** (δ :)

	8	9	12	13	14	15	6	17
C(3)	75.6	75.7	87.0	86.2	86.1	88.0	88.0	87.9
C(24)	79.0		79.0	79.0	75.8	78.9	75.9	75.9
C(25)	72.8		72.7	72.7	80.8	72.7	80.5	80.7
3-glc.								
1			107.0	105.1	105.0	105.1	105.1	105.2
2			75.4	81.9	81.9	79.2 ^{b)}	79.3	79.3
3			78.0 ^{a)}	77.7 ^{a)}	77.7 ^{a)}	77.7 ^{a)}	78.1 ^{a)}	77.7 ^{a)}
4			71.7	71.6	71.5	71.8	71.6	71.6
5			78.6 ^{a)}	78.0 ^{a)}	78.2 ^{a)}	78.3 ^{a)}	78.7 ^{a)}	78.6 ^{a)}
6			62.9	62.8	62.7	62.7	62.2	62.6
1'				104.6	104.6	101.6	101.5	101.6
2'				77.0	76.9	79.3 ^{b)}	79.3	79.3
3'				77.7 ^{a)}	77.7 ^{a)}	77.1 ^{a)}	77.1 ^{a)}	77.1 ^{a)}
4'				71.6	71.5	72.2	72.3	72.3
5'				78.2 ^{a)}	78.2 ^{a)}	78.5 ^{a)}	78.1 ^{a)}	78.6 ^{a)}
6'				62.8	62.8	63.4	63.4	63.4
3-rha.								
1						101.9	101.7	101.8
2						72.7	72.8	72.8
3						72.5	72.4	72.5
4						74.3	74.2	74.2
5						69.4	69.3	69.4
6						18.6	18.5	18.6
25-glc.								
1					97.5		97.5	97.6
2					75.3		75.3	75.2
3					78.7 ^{a)}		78.7 ^{a)}	78.6 ^{a)}
4					71.5		71.6	71.6
5					77.7 ^{a)}		77.7 ^{a)}	74.9
6					62.7		62.6	64.8
OAc								20.7
								170.7

The signals marked *a*, *b*) may be reversed. solv.: $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$.

14 はその FD-MS の $[M+K]^+$ (m/z 999) 及び $[M+Na]^+$ (m/z 983) のピーク, ^{13}C -NMR の anomeric carbon のシグナルより構成糖として D-glucose 3 モルを有する配糖体であることが示される. 14 の ^{13}C -NMR を diglucoside の 13 のそれと比較するとアグリコン部の C(25) のシグナルが低磁場に 8.1 ppm シフトし, C(24) のシグナルが高磁場に 3.2 ppm シフトしており, 新しい glucose はアグリコンの 25 位に結合していることがわかる. このことは新しい anomeric carbon のシグナルが δ 97.5 と比較的高磁場に認められ, 三級水酸基に結合した glucose の存在を示すことから支持される (Table I).⁷⁾

15 は微量サポニン S-III と一致し, FD-MS では $[M+K]^+$ (m/z 983), $[M+Na+H]^+$ (m/z 968) のピークの他, それぞれのピークからメチルペントース 1 モルが脱離したピーク (m/z 837, 822) が認められ, かつ ^{13}C -NMR で 3 本の anomeric carbon が認められることより, 構成糖として D-glucose 2 モル, L-rhamnose 1 モルを有する配糖体であることが示される (Table I). 15 の permethyl ether (16) のメタノリシスの結果, メチル化糖として 2,3,4-tri-O-methyl- α -L-rhamnose, 2,3,6-tri-O-methyl- α -D-glucose の methyl pyranoside が確認された. また 16 の ^1H -NMR では 3 モルの糖の anomeric proton のシグナルが δ 4.12, 4.73 に $J=7$ Hz の doublet, δ 5.26 に singlet 様に認められる. また 15 と 13 の分子旋光度の差を Klyne 則に適用して,⁸⁾ 糖の結合様式は glucose が β , rhamnose が α となる. さらに 15 の ^{13}C -NMR を 13 のそれと比較し, 15 が 8 の 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside であることが示される.

以上のことより, 6 の構造としてアグリコン 8 の 3 位の水酸基に α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside, 25 位の水酸基に D-glucopyranoside を持つ配糖体であることがわかり, 25 位に結合している glucose の配位は 7 の ^1H -NMR (anomeric proton: δ 4.42, doublet, $J=7$ Hz) より β である. また 7 のメタノリシスの結果, メチル化糖として 2,3,4-tri-O-methyl- α -L-rhamnose, 3,4,6-tri-O-methyl- α -D-glucose の他, 2,3,4,6-tetra-O-methyl- α -D-glucose の methyl pyranoside が確認された. 以上の結果より, 6 は 25-O- β -D-glucopyranosyl-11-oxocucurbit-5-ene-3 β ,24(R), 25-triol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside であり, 微量サポニン S-III は 11-oxocucurbit-5-ene-3 β ,24(R),25-triol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside であると決定された.

化合物 S-II (17) は強い苦味を有する白色粉末で 10% アンモニア性 MeOH で加水分解すると 6 となる. さらに 17 を無水酢酸-ピリジンでアセチル化すると 6 の peracetate (18) と一致する化合物が得られる. また 17 の ^1H -NMR では 6 に比べアセトキシル基のシグナル 1 個分 (δ 2.00) が認められ, 17 が 6 の monoacetate であることが示される.

17 の ^{13}C -NMR を 6 のそれと比較すると, 17 では 1 個分のアセトキシル基のシグナル (δ 20.7, 170.7) が認められ, かつ glucose の 6 位のシグナル 1 個が低磁場に 2.2 ppm, 5 位に帰属され则认为るシグナル 1 個が高磁場に 2.8 ppm シフトしている他はよく一致しており, 17 のアセチル基の結合位置は glucose の 6 位であることがわかる (Table I).⁹⁾ 17 をヘスペリジナーゼで 6 時間, 37°C で酵素分解すると, 主生成物として 13, 15 が得られ, さらに糖部を検索し, monoacetyl glucose と rhamnose の混合物を得た. またこの混合物は 10% アンモニア性 MeOH で加水分解すると, glucose と rhamnose の混合物となる. これらの事実より, アセチル基はアグリコンの 25 位の水酸基に結合している glucose の 6 位に結合していることが示される. 以上の結果より 17 は 6 のモノアセチル化物であり, 25-O- β -D-(6-O-acetyl)-glucopyranosyl-11-oxocucurbit-5-ene-3 β ,24(R),25-triol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside であると決定された.

最近, 竹本, 在原等により報告された甘味を有する配糖体 mogroside V は 24-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl-cucurbit-5-ene-3 β ,11 α ,24(R),25-tetraol 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside の構造を有することが示された.¹⁰⁾ またヨーロッパ産ウリ科植物 *Bryonia dioica* の根より甘味物質 bryonoside[25-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranosyl-11-oxocucurbit-5-ene-3 β ,24(R),25-triol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside], bryoside[25-O- β -D-glucopyranosyl-11-oxocucurbit-5-ene-3 β ,24(R),25-triol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside] が得られている.⁵⁾ Mogroside V, bryonoside, bryoside が甘味を示す一方, カラスウリの根より得られたサポニン 6, 15, 17 が強い苦味を有することは, 苦味物質と甘味物質の構造関係上興味を持たれる.

土瓜根は栝楼根と比べ苦味が強いことで区別することができるが,¹¹⁾ 今回カラスウリの新鮮な根より強い苦味

を有する3種の新クルビタン配糖体 **6**, **15**, **17** を得、その構造を決定した。一方土瓜根は栝楼根の代用生薬として用いられることもあるが、我々は前報でキカラスウリの根(栝楼根)には cucurbitane type のトリテルペンが遊離の形で、今回カラスウリの根(土瓜根)では配糖体の形で存在している事を示し、両者の成分には大きな差異が認められることを明らかにした。

実験の部

融点、旋光度、各種スペクトルの測定条件、クロマトグラフィーの条件は前報に準じた。融点: 柳本 MP-S1 型微量融点測定装置, 未補正。IR: JASCO A-102 型赤外分光計。旋光度: JASCO DIP-140 型自動旋光計。NMR: JEOL JNM FX100 フーリエ変換核磁気共鳴装置 [^1H : 100 MHz, ^{13}C : 25 MHz, 化学シフトは TMS を内部標準とした δ 値 (ppm) で表した]。MS: JEOL JMS-D300 質量分析計を用いて測定。EI-MS は直接導入法でイオン化電流 300 μA , イオン化電位 70 eV で測定, FD-MS はイオン原ポテンシャル +2.5—3 kV, エミッター電流 12—20 mA で測定した。GLC: 島津 GC-4CM 型ガスクロマトグラフを用い, 1.4% SE-30 chromosorb GHP を充填剤とした 1 m ガラスカラムを用いた。逆相のカラムクロマトは Lober column RP-8 (Merck) を用いた。アビセル薄層クロマトグラフィー (TLC) による糖の定性は, アビセル SF (フナコシ) を用い, 発色はフタル酸アニリン試薬噴霧後加熱による方法を用いた。なおクロマトに用いた展開溶媒の混合比は () 内に v/v として示した。

分離, 精製 神奈川県愛甲郡にて 12 月に採取したカラスウリの新鮮根 (29 kg) を細切し, MeOH 30I で常温抽出し, 得た MeOH エキス (1.23 kg) を Chart 1 に示すように処理し, エーテル抽出部 (11.0 g), ブタノール抽出部 (76.0 g) 及び水層部 (1.13 kg) を得た。エーテル抽出部はシリカゲルクロマトグラフィー (SiO_2 クロマト, 120 g) に付し, hexane-EtOAc (7:3) 溶出部 (Ea; 3.3 g と Eb; 1.0 g), hexane-EtOAc (1:1) 溶出部 (Ec; 1.1 g), EtOAc 溶出部 (Ed; 2.6 g), EtOAc-MeOH (7:3) 溶出部 (Ee; 3.0 g) に分画。Ea からは SiO_2 クロマト [hexane-EtOAc (9:1, 4:1, 7:3, 3:2, 1:1)] を繰り返し **1** (0.08 g), **2** (0.13 g) を得た。Eb からは SiO_2 クロマト [hexane-EtOAc (7:3, 1:1)] を繰り返し **3** (0.36 g) を得た。Ed からは SiO_2 クロマト [CHCl_3 -MeOH (9:1)], Sephadex LH-20 [MeOH] のゲルろ過を行い **5** (0.21 g) を得た。また Ee からは SiO_2 クロマト [CHCl_3 -MeOH (4:1)] を繰り返し **4** (0.23 g) を得た。ブタノール抽出部は SiO_2 クロマト (400 g) に付し, CHCl_3 -MeOH- H_2O (7:3:0.5) 溶出部 (Ba; 5.8 g, Bb; 4.7 g, Bc; 6.3 g, Bd; 9.6 g, Be; 18.3 g) 及び MeOH 溶出部 (Bf; 31.3 g) に分画した。Bc からは Sephadex LH-20 [MeOH] のゲルろ過, SiO_2 クロマト [CHCl_3 -MeOH- H_2O (7:3:0.5)], Lober column RP-8 [65% MeOH] を繰り返し S-III (0.13 g) を得た。Bd からは Sephadex LH-20 [MeOH] のゲルろ過, SiO_2 クロマト [acetone-MeOH (4:1), CHCl_3 -MeOH- H_2O (7:3:0.5)], Lober column RP-8 [65% MeOH] を繰り返し **17** (1.65 g) を得た。また Be からは Sephadex LH-20 [MeOH] のゲルろ過, SiO_2 クロマト [acetone-MeOH (7:3), CHCl_3 -MeOH- H_2O (7:3:0.5)], Lober column RP-8 [65% MeOH] を繰り返し, **6** (2.35 g) を得た。

- 1 白色粉末 (mp 34—36°C), methyl palmitate と一致。
- 2 白色粉末 (mp 60—62°C), palmitic acid と一致。
- 3 無色針状晶 (MeOH), mp 159—160°C, α -spinasterol と stigmast-7-en-3 β -ol の約 7:3 の割合の混合物。
- 4 白色粉末 (mp 267—272°C), α -spinasterol と stigmast-7-en-3 β -ol の 3-O- β -D-glucopyranoside の約 7:3 の割合の混合物。

Vanillic Acid (5) 無色針状晶 (Et_2O), mp 203—205°C。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3450 (OH), 1680 (COOH), 1595, 1520。EI-MS m/z : 168 (M^+)。5-Acetate ^{13}C -NMR (CDCl_3) δ : 20.6 (q, CH_3COO), 56.1 (q), 114.0 (d), 112.9 (d), 123.4 (d), 127.9 (s), 144.4 (s), 151.3 (s), 168.3 (s), 170.8 (s, CH_3COO)。

S-I (6) 白色粉末 (mp 191—195°C (dec.)), $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +18.3^\circ$ ($c=2.0$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}$)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3350 (OH), 1690 (C=O)。FD-MS m/z : Chart 2。 ^1H -NMR ($\text{C}_6\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.70 (3H, s, CH_3), 0.95 (3H, s, CH_3), 0.96 (3H, s, CH_3), 1.15 (3H, d, $J=4.5$ Hz, CH_3), 1.52 (9H, s, CH_3), 1.60 (3H, s, CH_3), 1.78 (3H, d, $J=6.0$ Hz, CH_3)。 ^{13}C -NMR ($\text{C}_6\text{D}_5\text{N}$) δ : Table I。

6 のメチル化 市販の NaH (60 mg) を hexane で洗い, DMF (4 ml) と 10 分間攪拌, **6** (30 mg), CH_3I (1.5 ml) を加えて更に 5 時間攪拌した後水を加えて Et_2O で抽出, 水洗 Na_2SO_4 で乾燥後溶媒を留去し, 残留物を SiO_2 クロマト [hexane-EtOAc (2:3)] に付し, **7** (28 mg) を得た。

7 白色粉末。 ^1H -NMR (CDCl_3) δ : 4.12 (1H, d, $J=7.0$ Hz), 4.42 (1H, d, $J=7.0$ Hz), 4.73 (1H, d, $J=7.0$ Hz), 5.25 (1H, br s), anomeric protons。

6 の酸加水分解 6 (0.4 g) を 50% MeOH 性 2 N H₂SO₄ (20 ml) に溶かし、水浴上で 2 時間還流、後冷水を加えて EtOAc で抽出、水洗 Na₂SO₄ で乾燥後溶媒を留去し、残留物を SiO₂ クロマト [CHCl₃-MeOH (9 : 1), hexane-EtOAc (1 : 1)] に付し、8 (96 mg) 及び 9 (33 mg) を得た。水層は Na₂CO₃ で中和後減圧下濃縮し、Sephadex LH-20 [MeOH] で脱塩後 SiO₂ クロマト [CHCl₃-MeOH-H₂O (7 : 3 : 0.5)] に付し、糖として L-rhamnose; $[\alpha]_D^{20} +10.8^\circ$ ($c=0.4$, MeOH), D-glucose; $[\alpha]_D^{20} +55.0^\circ$ ($c=0.8$, MeOH), R_f 値: 0.50, 0.25; アビセル SF [BuOH-C₆H₅N-H₂O (6 : 2 : 3) の上層と C₆H₅N との 1 : 1 の混合溶媒] を確認。

8 無色針状晶 (MeOH-acetone), mp 178—180°C, $[\alpha]_D^{18} +175.0^\circ$ ($c=1.0$, CHCl₃). IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400 (OH), 1685 (C=O). EI-MS m/z : 474 (M⁺), 459 (M⁺ - CH₃), 456 (M⁺ - H₂O). ¹H-NMR: 文献⁴⁾ と一致。 ¹³C-NMR (CDCl₃) δ : 16.8 (q), 18.3 (q), 18.4 (q), 20.0 (q), 20.6 (t), 23.4 (q), 24.0 (t), 25.4 (q), 26.6 (t), 27.4 (t), 27.8 (q), 28.2 (t), 28.6 (q), 33.1 (t), 34.4 (s), 35.5 (d), 35.6 (d), 41.6 (s), 43.9 (d), 48.4 (t), 48.8 (s), 48.8 (s), 49.4 (s), 49.6 (d), 73.2 (s, C(25)), 76.1 (d, C(3)), 78.6 (d, C(24)), 120.4 (d, C(6)), 139.6 (s, C(5)), 214.6 (s, C(11)).

9 無色針状晶 (Et₂O-hexane), mp 155—156°C. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3450 (OH), 1715, 1680 (C=O). EI-MS m/z : 456 (M⁺). ¹H-NMR: 文献⁴⁾ と一致。

8 のアセチル化 8 (30 mg) を無水酢酸-C₆H₅N 各 1 ml に溶かし、室温で一昼夜放置後水を加えて Et₂O で抽出、水洗 Na₂SO₄ で乾燥後溶媒を留去し、残留物を SiO₂ クロマト [hexane-EtOAc (3 : 2)] に付し、10 (28 mg) を得た。

10 無色針状晶 (hexane), mp 193—194°C. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3450 (OH), 1735, 1710, 1690 (C=O), 1245 (C-O-C). EI-MS m/z : 540 (M⁺ - H₂O), 498, 480, 438, 420. ¹H-NMR: 文献⁴⁾ と一致。 ¹³C-NMR (CDCl₃) δ : 16.6 (q), 18.1 (q), 18.1 (q), 19.7 (q), 21.0 (t), 21.0 (q, CH₃COO), 21.0 (q, CH₃COO), 23.8 (t), 24.8 (q), 25.2 (q), 26.0 (t), 26.0 (t), 26.4 (q), 27.4 (t), 27.5 (q), 33.2 (t), 34.3 (s), 35.4 (d), 35.4 (d), 39.8 (s), 43.7 (d), 48.4 (t), 48.7 (s), 48.7 (s), 49.3 (s), 49.3 (d), 72.2 (s, C(25)), 78.0 (d, C(3)), 79.8 (d, C(24)), 118.9 (d, C(6)), 139.5 (s, C(5)), 170.4 (s, CH₃COO), 170.9 (s, CH₃COO), 214.6 (s, C(11)).

9 のアセチル化 9 (30 mg) を 8 と同様に処理してアセチル化し、11 (24 mg) を得た。

11 無色針状晶 (hexane), mp 134—135°C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 0.74 (3H, s, CH₃), 0.87 (3H, d, $J=6.0$ Hz, 21-H₃), 1.03 (3H, s, CH₃), 1.05 (6H, s, CH₃), 1.08 (6H, d, $J=7.0$ Hz, 26-H₃, 27-H₃), 1.11 (3H, s, CH₃), 2.01 (3H, s, CH₃COO), 4.69 (1H, m, 3-H), 5.60 (1H, br d, $J=6.0$ Hz, 6-H). ¹³C-NMR (CDCl₃) δ : 16.8 (q), 18.3 (q), 18.3 (q), 18.4 (q), 18.4 (q), 19.8 (q), 21.1 (t), 21.2 (q, CH₃COO), 24.0 (t), 25.0 (q), 26.2 (q), 27.6 (t), 27.8 (q), 30.0 (t), 34.5 (s), 35.6 (d), 35.6 (d), 37.3 (t), 40.0 (s), 41.0 (t), 43.9 (d), 48.5 (t), 48.9 (s), 48.9 (s), 49.5 (s), 49.7 (d), 78.3 (d, C(3)), 119.1 (d, C(6)), 139.7 (d, C(5)), 170.6 (s, CH₃COO), 214.3 (s), 214.8 (s).

8 の脱水処理 8 (20 mg) を 50% MeOH 性 4 N H₂SO₄ (5 ml) に溶かし、水浴上で 4 時間還流、後水を加えて Et₂O で抽出、水洗 Na₂SO₄ で乾燥後溶媒を留去し、残留物を SiO₂ クロマト [hexane-EtOAc (1 : 1)] に付し、9 (13 mg) 及び原料の 8 (4 mg) を得た。

6 の 1 N H₂SO₄ による部分加水分解 6 (300 mg) を 50% MeOH 性 1 N H₂SO₄ (15 ml) に溶かし、水浴上で 1 時間還流、後 Na₂CO₃ で中和し減圧濃縮、MeOH を加え析出する無機塩を除き Sephadex LH-20 [MeOH] で脱塩後溶媒を留去、残留物を SiO₂ クロマト [CHCl₃-MeOH-H₂O (8 : 2 : 0.2)] に付し、12 (72 mg) を得た。

12 無色針状晶 (dil. MeOH), mp 248—250°C (dec.). FD-MS m/z : 637 [M+H]⁺. ¹³C-NMR (C₅D₅N) δ : Table I.

6 の 0.5 N H₂SO₄ による部分加水分解 6 (700 mg) を 50% MeOH 性 0.5 N H₂SO₄ (20 ml) に溶かし、水浴上で 30 分間還流、後 1 N H₂SO₄ による部分加水分解と同様に処理し、残留物から SiO₂ クロマト [CHCl₃-MeOH-H₂O (8 : 2 : 0.2, 7 : 3 : 0.5)] 及び Lober column RP-8 [65% MeOH] を繰り返す、13 (92 mg), 14 (32 mg), 15 (20 mg) 及び原料の 6 (230 mg) を得た。

13 無色針状晶 (dil. MeOH), mp 295—300°C (dec.), $[\alpha]_D^{18} +8.7^\circ$ ($c=1.0$, C₆H₅N). FD-MS m/z : 821 [M+Na]⁺. ¹³C-NMR (C₅D₅N) δ : Table I.

14 白色粉末 (mp > 300°C). FD-MS m/z : 999 [M+K]⁺, 983 [M+Na]⁺. ¹³C-NMR (C₅D₅N) δ : Table I.
S-III (15) 白色粉末, mp 183—187°C (dec.), $[\alpha]_D^{18} +19.8^\circ$ ($c=1.0$, C₆H₅N). IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400 (OH), 1690 (C=O). FD-MS m/z : 983 [M+K]⁺, 968 [M+Na+H]⁺, 837 [M+K-146]⁺, 822 [M+Na+H-146]⁺. ¹³C-NMR (C₅D₅N) δ : Table I.

6 の酵素分解 6 (200 mg) を水 (15 ml) に溶かし hesperidinase (20 mg) を加えて 37°C で 6 時間振とう、後減圧下で濃縮し SiO₂ クロマト [CHCl₃-MeOH-H₂O (7:3:0.5)] 及び Lober column RP-8 [65% MeOH] にて精製し, 13 (23 mg), 15 (25 mg) を得た。

15 のメチル化メタノリシス 15 (20 mg) を 6 と同様な方法でメチル化し, 16 (19.5 mg) を得た。更に 16 を 8% HCl-MeOH (5 ml) に溶かし, 水浴上 2 時間加熱還流, 冷後反応液を NaHCO₃ で中和し析出する無機塩を除き Sephadex LH-20 [MeOH] のゲルろ過に付し, メチル化糖画分を得た。TLC [EtOAc-MeOH (49:1)] より, 2,3,4-tri-*O*-methyl- α -L-rhamnose, 3,4,6-tri-*O*-methyl- α -D-glucose の methyl pyranoside (*R_f* 値: 0.64, 0.37) を確認。16 ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 4.12 (1H, d, *J*=7.0 Hz), 4.73 (1H, d, *J*=7.0 Hz), 5.26 (1H, br s), anomeric protons。

7 のメタノリシス 7 (20 mg) を 8% HCl-MeOH (5 ml) に溶かし, 16 と同様に処理し, メチル化糖画分を得た。TLC [EtOAc-MeOH (49:1)] より 2,3,4-tri-*O*-methyl- α -L-rhamnose, 2,3,4,6-tetra-*O*-methyl- α -D-glucose, 3,4,6-tri-*O*-methyl- α -D-glucose の methyl pyranoside (*R_f* 値: 0.64, 0.52, 0.37) を確認。

S-II (17) 白色粉末, mp 182–185°C (dec.), [α]_D²⁰ +15.9° (*c*=2.0, C₅H₅N). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3350 (OH), 1720, 1690 (C=O), 1230 (C-O-C). ¹H-NMR (C₅D₅N) δ : 0.70 (3H, s, CH₃), 0.95 (3H, s, CH₃), 0.97 (3H, s, CH₃), 1.14 (3H, d, *J*=4.5 Hz, CH₃), 1.52 (9H, s, CH₃), 1.60 (3H, s, CH₃), 1.77 (3H, d, *J*=6.0 Hz, CH₃), 2.00 (3H, s, CH₃COO). ¹³C-NMR (C₅D₅N) δ : Table I.

17 のアルカリ加水分解 17 (100 mg) を 10% アンモニア性 MeOH (20 ml) に溶かし, 水浴上 2 時間加熱還流, 後減圧下で濃縮し, SiO₂ クロマト [CHCl₃-MeOH-H₂O (7:3:0.5)] に付し, 白色粉末 (72 mg) を得た。このものは TLC, ¹³C-NMR で 6 と一致。

6 のアセチル化 6 (50 mg) を無水酢酸-C₅H₅N 各 2 ml に溶かし, 8 と同様に処理し, SiO₂ クロマト [hexane-EtOAc (2:3)] に付し, 18 (53 mg) を得た。

18 ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 3.98 (1H, d, *J*=7.0 Hz), 4.37 (1H, d, *J*=7 Hz), 4.67 (1H, d, *J*=7.0 Hz), 5.14 (1H, br s), anomeric protons。

17 のアセチル化 17 (50 mg) を 6 と同様に処理し, peracetate (46 mg) を得た。このものは TLC, ¹H-NMR で 18 と一致。

17 の酵素分解 17 (200 mg) を水 (10 ml) に溶かし, hesperidinase (20 mg) を加えて 37°C で 6 時間振とう、後減圧下で濃縮し SiO₂ クロマト [CHCl₃-MeOH-H₂O (8:2:0.2)], Sephadex LH-20 [MeOH] のゲルろ過を繰り返し, 13 (22 mg), 15 (23 mg) 及び糖画分 (4 mg) を得た。糖画分は ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 2.05 (s, CH₃COO) 及び TLC [CHCl₃-MeOH-H₂O (7:3:0.5)] より L-rhamnose, 6-acetyl-D-glucose (*R_f* 値: 0.35, 0.41) を確認。

糖画分のアルカリ加水分解 上記の糖画分 (4 mg) を 10% アンモニア性 MeOH (5 ml) に溶かし, 水浴上 2 時間加熱還流した後 TLC [CHCl₃-MeOH-H₂O (7:3:0.5)] にて L-rhamnose, D-glucose (*R_f* 値: 0.35, 0.15) を確認。

謝辞 本研究にあたり FD-MS を測定していただき, また貴重な御助言を賜りました九州大学薬学部 古森徹哉教授に深謝いたします。また ¹H 及び ¹³C-NMR, EI-MS を測定していただきました本学中央機器室 高瀬洋一氏に感謝いたします。

引用文献

- 1) 北島潤一, 田中靖子, 薬誌, **109**, 250 (1989).
- 2) 秋久俊博, 松本太郎, 油化学, **36**, 301 (1987); V. V. Velde, D. Lavie, *Tetrahedron*, **39**, 317 (1983).
- 3) 竹本常松, 在原重信, 中島 正, 奥平 恵, 薬誌, **103**, 1151 (1983).
- 4) 竹本常松, 在原重信, 中島 正, 奥平 恵, 薬誌, **103**, 1155 (1983).
- 5) G. Biglino, G. M. Nano, *Il Farmaco., Ed., Sc.*, **22**, 140 (1967); P. Tunmann, W. Gerner, G. Stapel, *Ann. Chem.*, **694**, 102 (1966); P. J. Hylands, J. Kosugi, *Phytochemistry*, **21**, 1379 (1982).
- 6) R. Kasai, M. Suzuo, J. Asakawa, O. Tanaka, *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 175; K. Tori, S. Seo, Y. Yoshimura, H. Arita, Y. Tomita, *ibid.*, **1977**, 179.
- 7) S. Yahara, R. Kasai, O. Tanaka, *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 2041 (1977).
- 8) W. Klyne, *Biochem. J.*, **47**, 41 (1950).
- 9) H. Ishi, S. Seo, K. Tori, T. Tozoy, Y. Yoshimura, *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 1227; K. Yamasaki, R.

Kasai, Y. Masaki, M. Okihara, O. Tanaka, H. Oshio, S. Takagi, M. Yamaki, K. Masuda, G. Nonaka, M. Tsuboi, I. Nishioka, *ibid.*, **1977**, 1231.

- 10) 竹本常松, 在原重信, 中島 正, 奥平 恵, 薬誌, **103**, 1167 (1983).
- 11) 木村雄四郎, 和漢薬, **26** (11), 1 (1976).