UDC 547.918 : 582.547.1

尾関昭二： ハンゲの成分研究 (第3報^{*1}) ハンゲのステリール配糖体についてShoji Ozeki : Studies on the Ingredients of *Pinellia ternata* BREITENBACH. III.SteryI Glucoside of *Pinellia ternata* BREITENBACH.(School of Pharmacy, Nagoya City University^{*2})

Examinations were made on the glucoside (colorless crystalline powder, m.p. 300~301°, $[\alpha]_D^{20} -26^\circ$ (pyridine)), obtained from the nonsaponifiable matter of the crude oil of *Pinellia ternata* BREIT. (Japanese name "Hange"). Analytical values of this glucoside correspond to the formula of $C_{35}H_{60}O_6$ and its hydrolysis with ethanolic hydrochloric acid afforded β -sitosterol as the aglycone and *d*-glucose as the sugar, which were identified with authentic samples. β -Glucoside tetraacetate was prepared from acetobromoglucose and β -sitosterol and identified with the tetraacetate obtained from the plant product. These experiments have proved that the glucoside obtained from the plant is β -(β -sitosteryl)-*D*-glucoside.

(Received July 5, 1961)

前報^{*1}において著者はハンゲ (*Pinellia ternata* BREITENBACH) のメタノールエキスより得た粗製油の不飽和部の中に一般の有機溶媒に難溶で、しかもステロール等の呈色反応である Liebermann 反応陽性の物質が微量存在していることを予報した。今回著者はこれについて種々検討した結果、その構造を明らかにすることができた。

メタノールエキスをエタノール性水酸化カリウムで鹼化して不飽和部をエーテルで抽出する際エーテル層と水層の中間に浮遊する油状物質を分取し、これを水およびエーテル等で充分洗浄するとさらさらした白色の小さな顆粒状となる。これをピリジンより繰り返し再結晶すると無色結晶性粉末, mp 300~301°, $[\alpha]_D^{20} -26 \pm 1^\circ$ (pyridine) を得る。本品の元素分析値は $C_{35}H_{60}O_6$ に一致する。また IR スペクトル (Fig. 1) は $\lambda_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 3400, 1074, 1024 cm^{-1} に吸収を示し、1 級および 2 級の水酸基の存在が予知される。

Fig. 1. Infrared Absorption Spectra of Steryl Glucoside (A) and Tetraacetate (B) in Nujol

次に本品をピリジン、無水酢酸でアセチル化すると tetraacetate, 無色針状晶, mp 168~169°, $[\alpha]_D^{25} -24 \pm 1^\circ$ (EtOH) を生成する。またピリジン、塩化ベンゾイルでベンゾイル化すると tetrabenzoate, 無色針状晶, mp 197~198°, $[\alpha]_D^{25} +16 \pm 1^\circ$ (CHCl_3) を得る。これ等 acyl 誘導体はエタノール性水酸化カリウムで鹼化すると原

*1 第2報：本誌 81, 1706(1961)。

*2 Hagiya-cho, Mizuho-ku, Nagoya.

料に復帰することから、本品は水酸基 4 個を持つことが判る。また本品はテトラニトロメタンにより黄色を呈し、その tetrabenzoate はクロロホルム溶媒で 1 mol の臭素と反応し dibromide, 無色針状晶, mp 156~157° (decomp) を得ることから、二重結合 1 個を持つことが判る。酸素 6 原子中少なくともその 4 原子は水酸基の形態であることが判ったが、tetraacetate の IR スペクトル (Fig. 1) は水酸基の吸収を示さないのので 4 個以上の水酸基は存在しない。また $\lambda_{\text{max}}^{\text{Niol}}$ 1105 cm^{-1} の吸収は C-O-C 結合¹⁾ の存在に基づくものと推定されるから、その他の酸素 2 原子はエーテル結合あるいはエポキシ結合等が考えられる。

酸素 2 原子の機能を解明するためつぎの実験を行なった。すなわち 0.02, 0.2, 2% のエタノール性塩酸でそれぞれ 10 時間水浴上で煮沸分解すると、前 2 者は原料の回収にとどまり、2% エタノール性塩酸の場合のみ反応が進行する。溶媒留去後エーテル抽出すると Liebermann 反応陽性の sterol の結晶を得る。本物質はエタノールより再結晶すると無色リン片状晶, mp 137~138° [α]_D²⁰ $-38 \pm 1^\circ$ (CHCl_3) を示し、元素分析値は $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ に一致する。またその acetate, benzoate の融点、分析値はともに文献²⁾ 記載の β -sitosterol のそれによく一致し、標本との混融並びに IR スペクトルの比較により同定確認した。sterol を分離した母液は Fehling 反応陽性であり、これを Amberlite IRA-400 を用いて精製し、ペーパークロマトグラフィー (PPC) で検索すると、D-glucose のスポット 1 個 (Rf 0.18) のみが検出される。またこれはフェニルヒドラジンと反応して osazone mp 208~209° を与える。これらは標本との比較により同定した。したがって以上の実験結果 mp 300~301° の結晶は β -sitosterol と D-glucose の配糖体であることを確認した。

一方 β -sitosteryl-D-glucose については Matlack,^{3,4)} Swift⁵⁾ 等が Florida Valencia Orange よりそれぞれ mp 250~255°, mp 280°, あるいは mp 298° の無晶性粉末として得たという報告がある。著者の得た glucoside と融点においてやや異なっているがその誘導体である tetraacetate, tetrabenzoate の融点、分析値、比旋光度等はほとんど一致しているからこれ等は全く同一の物質であると思われる。

つぎにこれを確かめるため Königs-Knorr の glucoside 合成法⁶⁾ に従って aceto-bromoglucose⁷⁾ と β -sitosterol より β -glucoside tetraacetate を合成し、ハンゲより得た tetraacetate と混融並びに IR スペクトルの比較により同定した。また glucoside 結合の性質は Hudson の法則⁸⁾ を適用した。すなわち Linstead⁹⁾ は cholestanol とその α, β -tetraacetyl glucosides との分子旋光度の差を計算し α 型の場合には $+727^\circ$, β 型の場合には -57° の値を得たと報告している (Table I)。

Table I. Comparison of Molecular Rotation Differences

Compound	$[\alpha]_D$	M_D	$4M_D$
β -Sitosterol	-38	-157	
"Hange" glucoside tetraacetate	-24	-178	-21
Cholestanol	+24	+93	
α -Cholestanyl-D-glucoside tetraacetate	+114	+820	+727
β -Cholestanyl-D-glucoside tetraacetate	+5	+36	-57

ハンゲより得られたものは -21° の値を与えるから、この glucoside は β -(β -sitosteryl)-D-glucoside であることが確認された。

実 験 の 部

Steryl glucoside の分離 市販のハンゲ (中国産) 10 kg を粉碎、常法により MeOH エキスを作る。ついで 5% H_2SO_4 で酸性とし Et_2O 抽出、 Et_2O 抽出液は溶媒を留去した後 10% EtOH 性 KOH 400 cc で 6 hr

1) L. Ruzicker, W. Baumgartner: *Helv. Chim. Acta* **32**, 2057(1949).

2) W. Dirscherl, H. Nahm: *Ann.* **555**, 57(1944).

3) M. B. Matlack: *J. Am. Pharm. Assoc.* **18**, 24(1929).

4) *Idem*: *J. Org.* **5**, 504(1940).

5) L. J. Swift: *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 1099(1952).

6) W. Königs, E. Knorr: *Ber.* **34**, 957(1901).

7) E. Fischer: *Ibid.* **49**, 585(1916).

8) C. S. Hudson: *J. Chem. Education* **18**, 353(1941) (L. F. Fieser: "Introduction to Organic Chemistry" 366(1950)).

9) R. R. Linstead: *J. Am. Chem. Soc.* **62**, 1766(1940).

鹼化。反応終了後 EtOH を留去し Et₂O を加えよく振り Et₂O 層と水層の中間に浮遊している油状の物質を汙取。これを Et₂O, ベンゼンで温浸し油状物を除去するとさらさらした白色の小顆粒 2.0 g を得, これは Et₂O, CHCl₃, AcOEt, ベンゼン, 石油ベンジン, Me₂CO, 水に不溶。多量の温 EtOH, 温 MeOH に微に可溶。ビリジン可溶, これをビリジンより再結晶。無色結晶性粉末 mp 300~301°, $[\alpha]_D^{30} -26 \pm 1^\circ$ (pyridine), C₃₅H₆₀O₆ · ½H₂O Anal. Calcd. C 71.75, H 10.49. Found C 71.77, H 10.57.

Tetraacetate glucoside 0.2 g を無水ビリジン 10 cc に溶解し, Ac₂O 20 cc を加え, 一夜室温に放置。反応液を水中に注ぎ Et₂O 抽出, 水洗, Na₂SO₄ 乾燥後 Et₂O 留去, MeOH より再結晶, 無色針状晶 mp 168~169°, $[\alpha]_D^{25} -24 \pm 1^\circ$ (EtOH). C₄₃H₆₈O₁₀ Anal. Calcd. C 69.30, H 9.20, CH₃CO 23.09. Found C 69.46, H 9.16, CH₃CO 22.94. tetraacetate 0.1 g を EtOH 性 KOH 20 cc と水浴上で 60 min 煮沸。析出した白色粉末を汙取。水洗。pyridine·EtOH 混液より再結晶。mp 300~301°. 原料 glucoside と同定。

Tetrabenzoate glucoside 0.2 g をビリジン 10 cc に溶解し BzCl 1 cc を加え 24 hr 室温放置後, dil H₂SO₄ 中に注ぎ, Et₂O 抽出, 水洗, Na₂SO₄ 乾燥後 Et₂O 留去。AcOEt·MeOH 混液より再結晶。無色針状晶, mp 197~198°, $[\alpha]_D^{25} +16 \pm 1^\circ$ (CHCl₃). C₆₃H₇₆O₁₀ Anal. Calcd. C 76.18, H 7.71, C₆H₅CO 42.33. Found C 76.14, H 7.70, C₆H₅CO 41.68. tetraacetate 0.1 g を EtOH 性 KOH 20 cc と水浴上で 60 min 煮沸。析出した白色粉末を汙取, 水洗, 乾燥, pyridine·EtOH 混液より再結晶。mp 300~301°. 原料 glucoside と同定。

Dibromide tetrabenzoate 0.1 g を約 20 cc の CHCl₃ に溶解。これに氷冷下約 1.5 mol の Br₂ を溶かした CHCl₃ 溶液 10 cc を滴加。反応終了後過剰の Br₂ を NaHSO₃ で除去。水洗, Na₂SO₄ 乾燥, CHCl₃ 留去。ligroin·AcOEt 混液より再結晶。無色針状晶。mp 156~157° (decomp). C₆₃H₇₀O₁₀Br₂ Anal. Calcd. Br 13.86. Found Br 14.23.

Glucoside の加水分解 glucoside 1.2 g を 5% EtOH 性 HCl 400 cc と 10 hr 煮沸分解。反応液を減圧濃縮, ついで水で希釈, Et₂O 抽出, aglycone と糖に分離。Et₂O 抽出液は水洗, Na₂SO₄ 乾燥, Et₂O 留去。EtOH より再結晶, 無色鱗片状晶 0.7 g を得。mp 137~138°, $[\alpha]_D^{20} -38 \pm 1^\circ$ (CHCl₃). C₂₉H₅₀O Anal. Calcd. C 83.98, H 12.16. Found C 84.17, H 12.00. これは既知 β-sitosterol と混融ならびに IR の比較により同定した。またこれを常法により acyl 誘導体にした。acetate mp 127~128°, $[\alpha]_D^{20} -40 \pm 1^\circ$ (CHCl₃), benzoate mp 146~147°, $[\alpha]_D^{20} -10 \pm 1^\circ$ (CHCl₃). これらは既知の標本とそれぞれ混融により同定した。

一方 glucoside の加水分解によって得られた糖液を Amberlite IRA-400 で処理。完全に脱 HCl した水溶液を展開溶媒 BuOH·AcOH·H₂O (4:1:2), 検出剤 NH₄OH 性 AgNO₃ で PPC を行なうとただ 1 個の spot (Rf 0.18) を与える。また本水溶液約 20 cc に phenylhydrazine·HCl 1.5 g, AcONa 1.5 g を溶解, 水浴上 60 min 加温。冷後析出した osazone を汙別, 水洗, 60% EtOH より再結晶。淡黄色針状晶, mp 208~209°. C₁₈H₂₂O₄N₄ Anal. Calcd. C 60.32, H 6.19, N 15.63. Found C 60.62, H 5.99, N 15.57. d-glucosazone と比較同定した。

β-Sitosteryl-β-D-glucoside tetraacetate の合成 β-sitosterol 0.8 g を無水 Et₂O 40 cc に溶解し, これに無水 CaSO₄ 3 g, Ag₂CO₃ 0.6 g を加え 30 min よく攪拌した後, acetobromo glucose 1.0 g を加え室温で 36 hr 攪拌。反応終了後不溶物を汙去, 汙液を水洗, Na₂SO₄ 乾燥後 Et₂O 留去, MeOH より再結晶。無色針状晶 0.3 g. mp 168~169°. $[\alpha]_D^{23} -24 \pm 1^\circ$ (EtOH). C₄₃H₆₈O₁₀ Anal. Calcd. C 69.30, H 9.20. Found C 69.49, H 9.36. これはハンゲより得た glucoside の tetraacetate と混融ならびに IR の比較により同定した。

本研究に当たり終始御懇篤な御指導御鞭撻を賜った京都大学 富田真雄教授に謹謝致します。また実験の便宜を与えられた本学 塚本長太郎教授。赤外部吸収スペクトル測定を担当された京大 町田勝之輔。浜中郁子両氏ならびに元素分析を担当された京大元素分析センター 穂積啓一郎博士とその協力者, および本学 長谷川 光氏の各位に厚く感謝致します。

名古屋市立大学薬学部