ツバキ果実より Camelliagenin A, B, C の分離

糸川秀治,^{1a)} 澤田尚敏,^{1b)} 村上孝夫^{1c)}東京薬科大学,^{1a)} 興和株式会社東京研究所,^{1b)} 東京理科大学薬学部^{1c)}Isolation of Camelliagenin A, B and C from the Fruits
of *Camellia japonica* L.HIDEJI ITOKAWA,^{1a)} NAOTOSHI SAWADA,^{1b)} and TAKAO MURAKAMI^{1c)}Tokyo College of Pharmacy,^{1a)} Tokyo Research Laboratory, Kowa Co. Ltd.,^{1b)}
and Faculty of Pharmaceutical Sciences, Science University of Tokyo^{1c)}

(Received July 12, 1968)

Camellia saponin was isolated from *Camellia japonica* L. The saponin was first hydrolyzed by alkali to give prosapogenin and was further hydrolyzed by hydrochloric acid to yield camelliagenin A, B and C. Camelliagenin A was derived from camelliagenin B by Wolff-Kishner reduction, and camelliagenin C also derived from camelliagenin B by LiAlH_4 reduction. The physical and the chemical results suggested that these sapogenins belong to the pentacyclic triterpenes.

ツバキ果実のサポニンに関しては、以前に勝山、北村、²⁾ 松山、福地、³⁾ 青山⁴⁾ 等の報告があるが、その構造を検討したものとしては、石館、高村⁵⁾ の報告がある。石館等は伊豆大島、利島産のツバキ *Camellia japonica* L. の果実の搾油粕を 80% EtOH で抽出し、その濃縮エキスから以前青山の得た mp 207—208° (decomp.) のサポニンと同一のものを得て camellia saponin $\text{C}_{58}\text{H}_{92}\text{O}_{25}$ と命名した。このサポニンをアルカリで加水分解して prosapogenin I, $\text{C}_{47}\text{H}_{76}\text{O}_{19}$ と tiglic acid, glucose を得、さらに酸で加水分解して mp 290—292.5° の無色柱状晶を得て camellia sapogenol $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_4$ と命名した。なお、酸加水分解母液より arabinose, galactose, glucuronic acid 様物質を検出している。camellia sapogenol は接触還元により飽和されない二重結合を有する中性トリテルペンで、オキシムを生成せず、赤外線吸収スペクトル (IR) からカルボニル基が存在せず、conc. H_2SO_4 の存在下アセトンと反応して isopropylidene sapogenol, mp 225—226° を生ずる。また、この isopropylidene 体をアセチル化すれば, diacetyl isopropylidene sapogenol, mp 193—195° を得ることより、4 個の酸素原子はすべて水酸基であることを確認している。さらに 4 個の水酸基の性質について、camellia sapogenol を CrO_3 酸化して tetraone 体 mp 254—258° を得ることから、すべて 2 級の水酸基であると結論した。また、diacetyl isopropylidene sapogenol を AcOH 中二酸化ゼレンで酸化して mp 234—234.5°, λ_{max} 251 m μ の diene 体を得、さらに diene-dione 体に誘導して λ_{max} 255—275 m μ の物質を得たことから β -amyrin 系のトリテルペンであると推定している。

著者等はその構造に関してすでに速報⁶⁾ したが、今回はサポゲニンの分離および性質について報告する。

まず大島産ツバキの果実の搾油粕を用いてサポニンの検討を行なった。Chart 1 に示すように粉碎した搾油粕を ether で脱脂した後、MeOH で抽出し、濃縮するとサポニンが得られる。これを MeOH から再結晶すると無色の結晶性粉末となる。

- 1) Location: a) Kashiwagi, Shinjuku-ku, Tokyo; b) Noguchi-cho, Higashimurayama-shi, Tokyo; c) Funagawara-cho, Shinjuku-ku, Tokyo.
- 2) Herren Katsuyama, *Arch. Pharm.*, **213**, 334 (1878); 北村良一, 薬誌, **30**, 702 (1919).
- 3) 松山芳彦, 福地清, 農化, **3**, 297 (1927).
- 4) 青山新次郎, 薬誌, **48**, 958 (1928).
- 5) 石館守三, 高村圭一, 薬誌, **73**, 347 (1953); **74**, 641 (1954); **74**, 645 (1954).
- 6) H. Itokawa, N. Sawada, T. Murakami, *Tetrahedron Letters*, **1967**, 597; 同時に伊東等により同一構造式が提出された, S. Ito, M. Kodama, M. Konoike, *Tetrahedron Letters*, **1967**, 591.

このサポニンを 10% MeOH 性 NaOH 溶液で加水分解すると無色針状の prosapogenin, mp 210° が得られる。さらに prosapogenin を 5% EtOH 性 HCl で加水分解し、析出する沈殿を濾取、乾燥してシリカゲルのカラムクロマトを行なう。CHCl₃-MeOH (40:1) を展開剤として精製すると、3 種類の無色針状晶が得られる。溶出してくる順序に camelliagenin A, B, C とする。このうち camelliagenin A は以前、石館、高村が分離した camellia sapogenol に一致したが、camelliagenin B および C は文献未知の化合物である。

Camelliagenin A (I) mp 290—293°, C₃₀H₅₀O₄, [α]_D +20.05°

Camelliagenin B (II) mp 195—204°, C₃₀H₄₈O₅, [α]_D +47.55°

Camelliagenin C (III) mp 280—283°, C₃₀H₅₀O₅, [α]_D +25.35°

Camelliagenin A, B, C に関してはすでに camellia sapogenol I, II, III として薄層クロマトグラフィー (TLC) による R_f 値を記載したが,⁷⁾ その後 camellia sapogenol を camelliagenin に統一して記載することにした。⁸⁾

I を Ac₂O, ピリジンでアセチル化すると、無晶形無色粉末を得る。長期間放置したものは TLC により 3 種のスポットを与える。シリカゲルクロマト分離により、それぞれ IVa, IVb, IVc のスポットを分離したが、IVc のみ無色針状晶として得られ、IVa および IVb はいまだ結晶化していない。IVc は核磁気共鳴スペクトル (NMR) により 2.0, 2.1 ppm に 2 個のアセチル基の CH₃ の吸収、およびマススペクトルにより、M⁺ 558 のピークが見られるため diacetate である。また IVb および IVa はそれぞれ tri- および tetraacetate であると推定される。I を conc. H₂SO₄ の存在下アセトンに作用させると容易に isopropylidene 体 (V) を生じ、さらに V を

Chart 2

7) T. Murakami, H. Itokawa, F. Uzuki, N. Sawada, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 13, 1346 (1965).

Ac_2O , ピリジンでアセチル化すれば diacetyl-isopropylidene 体 (VI) を与える. 以上のことは 4 個の水酸基全部がアルコール性水酸基であることを証明する.

VI を AcOH 中二酸化セレンで酸化すれば, mp 234—234.5° の無色針状晶 (VII) が得られ, これは紫外線吸収スペクトル (UV) により 243, 251, 262 $\text{m}\mu$ に吸収を示すので heteroannular diene である. この結果, I は β -amyrin 系のトリテルペンであることが推定できる.⁸⁾

つぎに camelliagenin B (II) を Wolff-Kishner 還元すると I が得られ, II のアセテートを LiAlH_4

で還元すると III が得られることから I の 1 個の $-\text{CH}_3$ 基は II では $-\text{CHO}$ 基に III では $-\text{CH}_2\text{OH}$ 基に酸化されていることが判明した.

Fig. 1. IR Spectra of Camelliagenin A, B and C (KBr)

実験の部

IR スペクトルは日立赤外分光光度計 SPI-S 2 型を使用し, KBr 錠剤法で測定. NMR スペクトルは Varian HR-100 型高分解能核磁気共鳴装置を使用し, TMS を内部標準として測定.

サポニンの抽出 ツバキ果実の搾油粕 6.2 kg を粉碎し, ether 15 liter で 4 日間冷浸後, 残渣を MeOH 25 liter で温浸. 母液を約 5 liter に濃縮すれば黄褐色の沈殿を析出する. 沈殿を母液, 少量の MeOH で洗滌し, 乾燥すれば淡褐色の粉末 264 g を得る. この粉末は発泡性があり, MeOH で数回再結晶すれば, 無色の粉末となる.

Prosapogenin の分離 サポニン 200 g を 10% MeOH 性 NaOH 溶液 (NaOH 200 g, MeOH 1 liter, H_2O 1 liter) に溶かし, 水浴上 5 hr 還流, 冷後水冷しながら 10% HCl で中和し, 析出する沈殿を母液, 水洗する. 含水アセトン (H_2O -acetone 1:2) で再結晶して, 無色針状の prosapogenin, mp 210° を得る.

Camelliagenin A, B, C の分離 Prosapogenin を 5% HCl で水浴上 4 hr 加水分解する. 反応終了後, 急冷して水中に投入し, 析出する沈殿を母液, 酸性を示さなくなるまで水洗し, 減圧乾燥すれば, 暗褐色の粉末の粗サポゲニン 96 g を得る. 粗サポゲニン 96 g を適量の EtOH に溶かし, この EtOH 溶液に約 250 g のシリカゲルを加えて混合したのを乾燥する. 混合物を 2 分し, 2 本のカラム (7×35 cm) を用いて溶媒 CHCl_3 -MeOH (40:1) で展開する. Camelliagenin A (I), B (II), C (III) の順に溶出し, 収量はそれぞれ 2.2 g, 2.7 g, および少量である.

Camelliagenin A (I) EtOH- H_2O より再結晶して無色柱状晶, mp 293° を得る. $[\alpha]_D^{24.5} + 20.05^\circ$ (EtOH), Anal. Calcd. $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_4$: C, 75.90; H, 10.62. Found: C, 75.86; H, 10.35.

Camelliagenin B (II) EtOH- H_2O より再結晶して無色針状晶, mp 194—204° を得る. $[\alpha]_D^{24.5} + 47.55^\circ$ (EtOH), Anal. Calcd. $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_5$: C, 73.73; H, 9.90. Found: C, 73.50; H, 10.43.

Camelliagenin C (III) EtOAc より再結晶して無色柱状晶, mp 283° を得る. $[\alpha]_D^{24.5} + 25.35^\circ$ (EtOH), Anal. Calcd. $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_5$: C, 73.43; H, 10.27. Found: C, 73.44; H, 10.12.

Camelliagenin のアセチル化 Camelliagenin A (I) 500 mg を Ac_2O 15 ml に溶かし, ピリジン 15 ml を滴下する. 一夜放置後水中に投入し析出する沈殿を母液, 水洗乾燥後, benzene を展開溶媒としてシリカゲルカラムクロマトで精製を行なったが, 無色の粉末を得ただけで結晶化し得なかった. TLC により検討したところ, 3 個のスポットが確認されたので, ガラス板 (20×20 cm) 4 枚に約 1 mm の厚さに silica gel G を塗布し, 活性化後試料を原線に帯状につけ, benzene-EtOAc (7:3) を展開溶媒として展開した. 展開後, それぞれの部分をかきとり, カラムに詰めて EtOH で溶出し, IVa, IVb, IVc 各成分を単離した. このうち, IVa, IVb は比較的量が少なく, 結晶化せず, IVc は EtOH より再結晶して無色針状晶を得た. mp 250—256°, IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 1740, 1725 (shoulder), 1254 cm^{-1} , NMR: 2.0, 2.1 ppm ($2-\text{COCH}_3$), Mass $M^+ = 538$. Anal. Calcd. $\text{C}_{34}\text{H}_{54}\text{O}_6$: C, 73.08; H, 9.74. Found: C, 72.83; H, 9.39.

Camelliagenin A の Isopropylidene 体 (V) I 2.9 g を無水アセトン 75 ml に溶解し, conc. H_2SO_4 15 滴を攪拌しながら滴下. 一夜放置後, 1% NaOH 水溶液 300 ml 中に氷冷しながら投入し, 析出する沈殿を母液, アルカリ性を示さなくなるまで水洗. 減圧乾燥後, シリカゲルカラムクロマト (2.5×30 cm) で CHCl_3 -MeOH (40:1) を展開溶媒として分離し, benzene より再結晶して無色板状晶 (1.6 g) を得る. mp 224—226°. Anal.

8) L. Ruzicka, *Helv. Chim. Acta*, **22**, 791 (1939); *ibid.*, **24**, 1244 (1941).

Calcd. $C_{33}H_{54}O_4$: C, 76.99; H, 10.57. Found: C, 77.16; H, 10.33.

Diacetyl-isopropylidene Camelliagenin A (VI) V 500 mg を Ac_2O 15 ml に溶解し、ピリジン 15 ml を滴下。一夜放置後、水中に投入し析出する沈殿を濾取。水洗後減圧乾燥し、アセトンより再結晶すれば無色針状晶 (VI) が得られる。mp 193—195°. *Anal.* Calcd. $C_{37}H_{58}O_6$: C, 74.25; H, 9.69. Found: C, 74.28; H, 9.23.

Camelliagenin B の Wolff-Kishner 還元 II 400 mg をジエチレングリコール 6 ml に溶かし、さらに金属ナトリウム 0.5 g を加え、約 150° に加熱。Na が完全に溶けた後、無水ヒドラジン 1 ml を加え封管中 200—220° で 8 hr 加熱する。冷後、反応液を水中に投入し、析出する沈殿を濾取、水洗する。減圧乾燥後、シリカゲルカラムクロマト (2×25 cm, $CHCl_3$ -MeOH 40:1) で分離。EtOH- H_2O より再結晶すれば mp 293° の無色柱状晶を得る。I と混融して融点降下せず。IR スペクトルも完全に一致した。

Camelliagenin B の $LiAlH_4$ 還元 II のアセテート 600 mg を 60 ml の無水 ether に溶解し、さらに 500 mg の $LiAlH_4$ を加え室温で 4 hr 攪拌する。反応終了後、過剰の $LiAlH_4$ を水で分解し、少量の MeOH を含んだ $CHCl_3$ で抽出。 $CHCl_3$ を留去し減圧乾燥後、EtOAc より再結晶して mp 283° の無色柱状晶を得た。III と混融して融点降下せず。IR スペクトルも完全に一致した。

Camelliagenin A (I) の SeO_2 酸化 Isopropylidenediacetate (VI) 300 mg に SeO_2 300 mg を加え AcOH 30 ml 中で 3 hr 攪拌する。常法のごとく処理して MeOH より再結晶すれば、mp 220—223° の無色針状晶 (VII) が得られる。I $R_{\max}^{KBr}$: 1740, 1725 (shoulder), 1250 cm^{-1} , UV $\lambda_{\max}^{EtOH}$: 243, 251, 262 $m\mu$. *Anal.* Calcd. $C_{34}H_{54}O_6$: C, 73.08; H, 9.74. Found: C, 73.50; H, 10.43.

謝辞 原料のツバキを提供された東大薬学部 岡本敏彦教授に感謝します。また実験上種々の御指導、御鞭撻を賜った東京薬大 藤田路一教授、東京理大 長沢元夫教授、中外製薬 高村圭一博士に深謝します。種々協力された卯月富美子、小林信子、増田 滋の諸氏に感謝します。