コシアブラ *Acanthopanax sciadophylloides* FRANCH. et SAV. の成分研究

(第1報) 葉の水溶性成分および Antoside の構造について¹⁾

安江政一, 加藤義成, 林 玉美, 榊原仁作

名古屋市立大学薬学部²⁾

Studies on the Constituents of *Acanthopanax sciadophylloides*

FRANCH. et SAV. I. Isolation of Cyclitols and Flavonoid

Glycosides. Structure of Antoside¹⁾

MASAICHI YASUE, YOSHISHIGE KATO, YUH-MEEI LIN,

and JINSAKU SAKAKIBARA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University²⁾

(Received December 5, 1967)

Dried leaves of *Acanthopanax sciadophylloides* FRANCH. et SAV. were extracted with methanol and the water-soluble part of the extract was treated successively with solutions of lead acetate, basic lead acetate, and ammoniacal alkaline lead salt, as shown in Chart 1. *myo*-inositol, scyllitol, kaempferitrin, and antoside were isolated and identified. The constituents of these leaves were somewhat different according to the district where the materials came from. Utkin⁴⁾ had suggested the structure of antoside as quercetin 3(7)-glucosido-7(3)-rhamnose. Relative positions of glucose and rhamnose in the antoside molecule were now determined by enzymatic cleavage of rhamnose to give quercetin 3-glucoside (isoquercitrin) (Chart 2).

コシアブラはウコギ科 Araliaceae に属する落葉性小喬木で、山地に自生している。著者等は同じ科に属するイモノキ (タカノツメ) からマルトールを約 2% の収率で得た³⁾ ので、比較的近縁の本植物がマルトールの資源となるか否かを知る目的で本研究をはじめた。現在までに得た結果ではマルトールは全く含まれず、cyclitol と flavonoid 配糖体のあることがわかった。

抽出は Chart 1 にしたがって行なった。乾燥葉をメタノールで抽出、濃縮して析出するものを汙別し、水を加えて析出するものを分け、汙液に酢酸鉛を加えて生ずる沈殿 (I) を汉過し、この汉液に塩基性酢酸鉛を飽和させて生ずる沈殿 (II) を汉取、さらにアンモニア水を加えて析出する沈殿 (III) をとった。

滋賀県堅田で採集した葉から得た沈殿 (II) を水に加えて脱鉛、濃縮乾固し、メタノール処理して不溶部から *myo*-inositol を得た。メタノール可溶部を乾固し、5% メタノールに溶解し、ポリアミドカラムに吸着させ、5—30% メタノールで溶離する部分から 1 種の flavonoid 配糖体を得た。これを 70% メタノールから再結晶すると mp 219—221° の淡黄色針晶となる。本品を希硫酸で加水分解すると kaempferol と rhamnose が得られる。元素分析値は C₂₇H₃₀O₁₄ に一致するから rhamnose は 2 個結合していると思われる。配糖体を硫酸ジメチルでメチル化後 10% 硫酸で加水分解すると 5,4'-dimethyl ether of kaempferol が得られる。これは robinin (kaempferol 3-robinobiosido-7-rhamnose) を同様にメチル化後分解して得た kaempferol dimethyl ether と混融およびペーパークロマトグラフィー (PPC) において一致した。故に rhamnose は 3 位と 7 位に結合しており kaempferitrin と思われ、森田の標品と比較したところ完全に一致した。

沈殿 (III) を脱鉛処理して得られる結晶を 50% メタノールから再結晶して mp 345.5° の結晶を得、本品をアセチル化して mp 294.5° のアセタートを得た。これらを scyllitol およびそのアセタートの標品とそれぞれ混融および PPC で一致することを認めた。

1) 日本生薬学会岐阜大会講演, 1967 年 10 月。

2) Location: Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya.

3) 安江政一, 板谷元一, 稲垣正博, 片山 肇, 河村典久, 薬誌, 87, 247 (1967); 安江政一, 河村典久, 加藤武, 薬誌, 88, 390 (1968)

Chart 1

岐阜県中津川市根ノ上高原で採集した葉を同様に処理したところ scyllitol は得られず, myo-inositol のみを得た. flavonoid 画分を PPC で調べると kaempferitrin のほかもう 1 種の化合物のあることがわかった. この混合物のメタノール溶液に酢酸鉛のメタノール溶液を加えて析出する沈殿を濾過し, 濾液から kaempferitrin を得た. 沈殿を脱鉛して未知の flavonoid を得. これを 70% メタノールから再結晶すると mp 195° の黄色針晶となる. C₂₇H₃₀O₁₆ なる組成をもち, 酸で加水分解すると quercetin, glucose および rhamnose を与える. 本配糖体をメチル化後加水分解して得る aglycone は Kuhn 等⁴⁾ により合成された 5,3',4'-trimethyl ether of quercetin の標品と一致した. よって糖は biose 結合でなく, 1 分子ずつ 3 位と 7 位にそれぞれ結合していることになる. この配糖体を酸で不完全に加水分解して PPC にかけると isoquercitrin (querectin 3-glucoside) の spot があらわれる. また市販の naringinase 水溶液を PH 6.7, 60° で 1 時間処理したものを作用させて isoquercitrin を結晶として得た. ゆえに 3 位に結合している糖は glucose であり, したがって rhamnose は 7 位に結合していることになる.

Quercetin に glucose と rhamnose が monose として二つの位置に結合している天然物に関する文献を調べると, ポーランドの Bodalski 等⁵⁾ は *Celastrus hypoglauca* の葉から quercetin 3-rhamnosido-7-glucoside を抽出し, ソ連の Utkin 等⁶⁾ は *Antitoxicum funebrae* の地上部から antoside を単離し, その構造を quercetin 3(7)-glucosido-7(3)-rhamnoside と推定しているが, 糖の相対的位置を決定するにいたっていない. 著者等は両氏からそれぞれ標品の分与を受けて比較し, antoside は quercetin 3-rhamnosido-7-glucoside とは異なること, および著者等の物質は antoside に一致することを認めた. それゆえ未定であった antoside の糖の相対的位置は著者等による酵素分解の結果によって決定したことになる.

以上により滋賀県産のコシアブラ葉は myo-inositol, scyllitol および kaempferitrin を含み, 岐阜県産のものは myo-inositol, kaempferitrin および antoside を含むことがわかり産地によって成分にいくらかの差のあることが認められた.

4) R. Kuhn, I. Löw, *Chem. Ber.*, **77**, 208 (1944).

5) T. Bodalski, H. Rzadzowska-Bodalska, *Diss. Pharm. Pharmacol.*, **18**, 285 (1966) [*C.A.*, **66**, 474 (1967)].

6) L. M. Utkin, A.P. Serebryakova, *Khim. Priv. Soedin.*, **1966**, 319 (Uzbek).

Chart 2

本稿を書き終わったとき Bodalski 等が *Hydrangea radiata* の葉から quercetin 3-glucosido-7-rhamnoside mp 186—188° を得たとの報告⁷⁾ を入手した。この抄録では antoside について言及せず、どのようにして糖の位置決定したかも明らかにされていない。また融点は antoside より 7° 低く、その他の物理定数は記載されていない。quercetin-3-glucoside にも isoquercitrin と異なる物質 hirsutin⁸⁾ の存在が報告されているから、Bodalski 等の物質と antoside の異同についてもなお検討の必要がある。

実験の部

コシアブラ葉の抽出 1967 年 6 月滋賀県堅田で採集した葉を風乾して葉柄を除く 1.2 kg を、MeOH 10 liter で 3 回温浸、全抽出液を濃縮して約 1 liter とし、同量の水を加え、析出物を汙別、水層を C_6H_6 で洗った後 $Pb(OAc)_2$ 水溶液を沈殿が生じなくなるまで加えて沈殿 (I) を汉取、汉液に $Pb(OH)OAc$ 液を十分加えて沈殿 (II) を汉取、さらに NH_4OH を加えて析出する沈殿 (III) をとる。1966 年 6 月岐阜県中津川で採集した葉 4.3 kg も同様に処理した。

myo-Inositol 滋賀県産の葉から得た沈殿 (II) を水に加え、 H_2S で脱鉛、濃縮乾固し、MeOH を加えて不溶分 0.9 g を得、これを 50% MeOH から再結晶、無色砂状晶、mp 227—228.5°。myo-Inositol と混融および PPC で一致した。Anal. Calcd. $C_6H_{12}O_6$: C, 40.00; H, 6.71. Found: C, 40.30; H, 6.84. PPC R_fn 0.047 (BuOH—AcOH— H_2O : (4:1:5) upper layer) 0.25 (PhOH saturated with H_2O).⁹⁾ hexaacetate: Ac_2O とピリジンでアセチル化、EtOH から再結晶、無色四角板晶、mp 220.5—222°、標品から同様に合成したものと混融、一致。Anal. Calcd. $C_{18}H_{24}O_{12}$ (myo-inositol hexaacetate) C, 50.00; H, 5.60. Found: C, 50.10; H, 5.86. 岐阜県産の葉についての実験では沈殿 (II) から本品を得ず、沈殿 (III) から myo-inositol のみを約 1 g 得た。

Scyllitol 滋賀県産の葉から得た沈殿 (III) を脱鉛処理し、乾固して得る MeOH 不溶部約 1 g を 50% MeOH から再結晶、無色柱晶、mp 345.5—348.5°、scyllitol の標品と混融および PPC で一致した。Anal. Calcd. $C_6H_{12}O_6$: C, 40.00; H, 6.71. Found: C, 39.82; H, 6.94. PPC R_f 0.040 (BuOH—AcOH— H_2O : (4:1:5) upper layer), 0.19 (PhOH saturated with H_2O).⁹⁾ hexaacetate: Ac_2O とピリジンでアセチル化、氷酢酸から再結晶、無色針晶、mp 293.6—294.5° scyllitol hexaacetate の標品と混融、一致した。Anal. Calcd. $C_{18}H_{24}O_{12}$ (scyllitol hexaacetate) C, 50.00; H, 5.60. Found: C, 50.11; H, 5.51.

Kaempferitrin 滋賀県産の myo-inositol の MeOH 母液を乾固、5% の MeOH に溶解、ポリアミド 100 g をつめたカラムに吸着させ、5, 10, 30% MeOH で溶離、三者は PPC で同一物と判明、合わせて乾固、0.2 g, 70% MeOH から再結晶、淡黄色針晶、mp 219—221°。岐阜県産の葉から得た沈殿 (II) を脱鉛、乾固、MeOH に全部溶解する。 $Pb(OAc)_2$ の MeOH 溶液を加え、析出する沈殿を汉別、汉液に H_2S を通じて脱鉛、濃縮、70%

7) T. Bodalski, W. Cisowski, *Diss. Pharm. Pharmacol.*, **19**, 99 (1967) [*C.A.*, **67**, 61605 (1967)].

8) Z. P. Pakudina, A. S. Sadykov, *Khim. Prir. Soedin.*, **1967**, 98 (Uzbek.).

9) Spot の検出は $AgNO_3$ —NaOH reagent¹⁰⁾ による。

10) W.E. Trevelyan, D.P. Proctor, J.S. Harrison, *Nature*, **166**, 444 (1950).

MeOH に溶解, 70 g の活性炭をつめたカラムに吸着させ, 70% MeOH, acetone を流した後, 5% NH_4OH 含有 MeOH で溶離する部分 3.1g, 70% MeOH から再結晶, mp 219—221°, 滋賀県産のものと同じである。 $[\alpha]_D^{25}$ —218.8° ($c=0.527$, EtOH), UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ) 232 (4.27), 266.5 (4.38), 320 (4.18), 347.5 (4.26). PPC Rf 0.67 (15% AcOH), 0.71 (BuOH: AcOH: H_2O (4:1:5) upper layer), 0.79 (PhOH saturated with H_2O).¹¹⁾ Anal. Calcd. $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$: C, 51.26; H, 5.74, Found: C, 51.33; H, 5.78. Kaempferitrin の標品と混融および PPC で一致した。加水分解 試料 100 mg に MeOH 10 ml, 10% H_2SO_4 2 ml を加えて溶解, 水浴上に 1 hr 還流, 減圧下に MeOH を除き, 析出する沈殿を集めて 70% EtOH から再結晶, 黄色針晶, mp 278—280°. Anal. Calcd. $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$ (kaempferol): C, 62.94; H, 3.52. Found: C, 62.55; H, 3.70. PPC Rf, 0.05 (15% AcOH), 0.85 (BuOH—AcOH— H_2O (4:1:5) upper layer), 0.68 (PhOH saturated with H_2O).¹¹⁾ kaempferol の標品と一致。Tetraacetate. Ac_2O とピリジンでアセチル化, 50% EtOH から再結晶, 無色針晶, mp 193.5—195°. Anal. Calcd. $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ (kaempferol tetraacetate) C, 60.79; H, 3.99. Found: C, 60.72; H, 4.05. Aglycone の母液は常法により処理して糖を検索 PPC Rf 0.56 (PhOH saturated with H_2O), 0.35 (BuOH—AcOH— H_2O (4:1:5) upper layer). L-rhamnose に一致した。

5,4'-Dimethyl Ether of Kaempferol Kaempferitrin 100 mg を butanone 50 ml に溶解, $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ 2 ml, K_2CO_3 2.8 g, 6 hr 還流, 溶媒留去, 水を加え, 10% NaOH を加えてアルカリ性とし, NaCl 飽和, EtOAc で抽出, EtOAc 液を濃縮, 残渣を MeOH に溶解, 10% H_2SO_4 を加えて煮沸, MeOH を留去して得る結晶を EtOH から再結晶, 黄色微細針晶, mp 300—310°. Robinin (kaempferol 3-robinobiosido-7-rhamnoside) を同様に処理して得た結晶と混融一致した。PPC Rf 0.07 (15% AcOH), 0.84 (BuOH—AcOH— H_2O (4:1:5) upper layer) によっても両者一致した。

Antoside 岐阜県産の葉から得た沈殿 (II) を脱鉛乾固して得た物質の MeOH 溶液に $\text{Pb}(\text{OAc})_2$ の MeOH 溶液を加えて得る沈殿を回収, MeOH で洗った後脱鉛乾固, 結晶 5.2g を得。70% EtOH から再結晶。黄色針晶, mp 193.5—195° $[\alpha]_D^{25}$ —104.1° ($c=0.537$, pyridine), UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ) 259 (4.39), 365 (4.23). Anal. Calcd. $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$: C, 47.51; H, 5.61. Found: C, 47.94; H, 5.65. PPC Rf 0.58 (15% AcOH), 0.49 (BuOH—AcOH— H_2O (4:1:5) upper layer), 0.70 (PhOH saturated with H_2O).¹¹⁾ の標品と一致。混融においても融点降下なし。加水分解 Antoside 100 mg, MeOH 10 ml, 10% H_2SO_4 2 ml を混合溶解し, 水浴上に 1 hr 還流。MeOH を留去して得る沈殿を 70% EtOH から再結晶, 黄色針晶, mp 300—304°. Anal. Calcd. $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ (quercetin) C, 59.61; H, 3.34. Found: C, 59.50; H, 3.78. PPC Rf 0.04 (15% AcOH), 0.78 (BuOH—AcOH— H_2O (4:1:5) upper layer), 0.49 (PhOH saturated with H_2O).¹¹⁾ quercetin と一致した。Pentaacetate Ac_2O とピリジンでアセチル化, 50% EtOH から再結晶, 無色針晶, mp 197—200°. Anal. Calcd. $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ (quercetin pentaacetate) C, 58.60; H, 3.93. Found: C, 58.49; H, 4.16. 標品と混融, 融点降下なし。Quercetin をとった加水分解母液は常法により処理して糖を検索 PPC Rf 0.56 (rhamnose) 0.39 (glucose) (PhOH saturated with H_2O), 0.34 (rh.), 0.12 (gl.) (BuOH—AcOH— H_2O (4:1:5) upper layer) rhamnose および glucose の標品とそれぞれ一致した。

5,3',4'-Trimethyl Ether of Quercetin Antoside 100 mg を butanone 50 ml に溶解し, $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ 1 ml, K_2CO_3 2.8 g を加えて 4.5 hr 還流, 1 夜の後 butanone 10 ml, $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.5 ml 追加, 5 hr 還流, 溶媒を留去, NaOH アルカリ性として EtOAc 抽出, EtOAc 残渣は FeCl_3 で呈色しない。これに 10% H_2SO_4 を加えて煮沸, 冷後不溶物を回収, EtOH から再結晶, 黄色微細板晶, mp 293—294.5°. Anal. Calcd. $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$: C, 62.79; H, 4.68. Found: C, 62.49; H, 4.82. Kuhn の標品と混融一致。PPC Rf 0.05 (15% AcOH), 0.72 (BuOH—AcOH— H_2O (4:1:5) upper layer)¹¹⁾ 標品と一致した。

Antoside から Isoquercitrin の生成 1.5 g の市販 naringinase を水に溶解し, pH 6.7 の McIlvaine buffer 150 ml を加え, 60° に 1 hr 加熱¹²⁾ 後冷却, これに antoside 100 mg を加え, 1 夜放置後 15 min 90—100° に加熱。減圧下に濃縮し, MeOH で抽出, MeOH 不溶部を水に溶かし, MeOH を含む EtOAc で抽出, 全抽出液を合せて溶媒を留去して得られる結晶を 20% MeOH から再結晶, 黄色針晶, mp 219—226°. $[\alpha]_D^{25}$ —46.4° ($c=0.500$, pyridine). Anal. Calcd. $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}\cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$: C, 49.51; H, 4.95. Found: C, 49.37; H, 4.81. PPC Rf 0.40 (15% AcOH), 0.65 (BuOH—AcOH— H_2O (4:1:5) upper layer), 0.68 (PhOH saturated with H_2O).¹¹⁾ isoquercitrin の標品と一致した。混融においても融点降下なし。

謝辞 本研究において元素分析は本学伊藤研究室 山岸民枝嬢にお願いした。京都大学 井上博之教授にはクロマト用ポリアミドの一部と助言を賜った。Kaempferitrin の標品は富山大学 森田直賢教授, antoside は Utkin 教授, quercetin 3-rhamnosido-7-glucosido は Bodalski 教授, 5,3',4'-trimethyl ether of quercetin は Löw 博士, scyllitol およびその hexaacetate は Plouvier 博士から分与された。静岡女子大学の神谷真太郎教授には robinin の試料と naringinase に関する御教示を得た。またクロマト用ポリアミドの主要部分は東洋レーヨン株式会社の御厚意に, そして naringinase は三共株式会社の御厚意によった。以上に対し厚く感謝致します。

11) spot の検出は UV と 0.5% FeCl_3 MeOH 溶液噴霧による。

12) S. Kamiya, S. Esaki, M. Hama, *Agr. Biol. Chem.* (Tokyo), **31**, 133 (1967).