フッキソウの中性成分 (第1報) Sterol および Triterpene の分離

菊池 徹, 豊田達郎, 有本昌弘, 高山雅治, 山野美津子

京都大学薬学部¹⁾

Studies on the Neutral Constituents of *Pachysandra terminalis* SIEB. et ZUCC. I.
Isolation and Characterization of Sterols and Triterpenes

TOHRU KIKUCHI, TATSUO TOYODA, MASAHIRO ARIMOTO,

MASAHARU TAKAYAMA, and MITSUKO YAMANO

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University¹⁾

(Received April 21, 1969)

Neutral components of the alcoholic extracts from *Pachysandra terminalis* SIEB. et Zucc. (Buxaceae) were submitted to alkaline hydrolysis and systematic examination was made on the benzene-soluble part of the neutral fraction thus obtained. Several kinds of sterols, friedelin-type triterpenes, and cycloartenol-type triterpenes were isolated in crystalline form and characterised.

フッキソウ *Pachysandra terminalis* SIEB. et Zucc. のアルカロイド成分についてはすでに富田, 菊池等²⁾ および Geissmann 等³⁾ によって詳細に研究されているが, その中性成分についてはまだ系統的な研究は見られない。今回われわれは本植物のメタノールエキスから塩基性成分を分離したあとの残渣を多量のベンゼンで抽出し, ベンゼン可溶部の中性フラクションについて検索を行なった結果, 数種のステロールおよびトリテルペンを単離したのでここに報告する。

まず大阪府本山寺にて冬期に採集したフッキソウのベンゼン可溶中性部をアルミナクロマトに付し, 一種のトリテルペンケトン, mp 259—261° とアルコール体, mp 285—287° を得た。前者は friedelin (IIIa) 標品と直接比較同定し, 後者は acetate, mp 297—300° に導き, Corey 等⁴⁾ および Jefferies⁵⁾ の報告に準じて friedelin から製した epifriedelanol acetate (IIIc) と同定した。残余の部分は IR から相当量の ester 体を含むと考えられたので, その一部をとりアルカリ加水分解を行なったのち, その中性部分をアルミナでクロマトを行なって分別し epifriedelanol (IIIb) と sterol 混合物を得たが, そのほかの部分は結晶に導くことができなかった。一方他の一部は acetate に導いてアルミナクロマトで精製したところ sterol acetate の混合物のほかにも新物質 pachysandiol-A monoacetate (IVb), mp 290—292° を単離した。Pachysandiol-A の構造についてはすでにわれわれによって IVa であることが決定された。⁶⁾

上記の sterol の混合物は acetate bromide に変えて再結晶およびシリカゲルクロマトで精製したのち Zn で脱ブロム化する方法によって stigmasterol (Ia) と β -sitosterol (IIa) をそれぞれ単離確認した。

次に笹ヶ峰にて夏期に採集したフッキソウ (乾燥品で約 120 kg) から得られるベンゼン可溶の中性成分について検索を行なったが, この場合は Chart 1 に示すように直ちにアルカリで加水分解したのち, ここに得られる中性部を多量のベンゼンで抽出し, 残渣をさらにクロロホルムで抽出した。⁷⁾ このうち今回はベンゼン抽出部のみに

1) Location: Yoshida-shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto.

2) a) M. Tomita, S. Uyeo, Jr., T. Kikuchi, *Tetrahedron Letters*, 1964, 1053; b) 富田真雄, 菊池 徹, 上尾庄一郎, 西永俊也, 安西まゆみ, 山本章博, 薬誌, 87, 215 (1967); c) T. Kikuchi, T. Nishinaga, M. Inagaki, M. Koyama, *Tetrahedron Letters*, 1968, 2077.

3) W.F. Knaack, Jr., T.A. Geissmann, *Tetrahedron Letters*, 1964, 1381.

4) E.J. Corey, J.J. Ursprung, *J. Chem. Soc.*, 1956, 5041.

5) P.R. Jefferies, *J. Chem. Soc.*, 1954, 473.

6) T. Kikuchi, T. Toyoda, *Tetrahedron Letters*, 1967, 3181.

7) クロロホルム抽出部は未検索である。

Chart 1. Scheme of Systematic Separation

Chart 2

ついて詳細に検索を行なったのであるが、上述と同様にまずアルミナクロマトで繰り返し分別し、さらに acetate に変えてクロマト分別を行なう方法によって、sterol 成分としては上記の stigmasterol (Ia) と β -sitosterol (IIa) の混合物のほかに微量の結晶性 diacetate (compound-XV diacetate と仮称), mp 88—90° を捕捉した。本品は Liebermann-Burchard 反応で青色から汚緑色を呈しステロールと考えられるが、その構造については現在検討中である。

一方トリテルペン成分としては、実験の部に詳述するように friedelin (IIIa), epifriedelanol (IIIb) および pachysandiol-A (IVa) (diacetate および monoacetate で捕捉) のほかに新たに新物質 pachysandiol-B と pachysonol をそれぞれ acetate として単離した。両者はいずれも friedelin 型トリテルペンと考えられるが、化学構造は目下検討中である。同時にこれらと密接な関係を有すると考えられる一種の dienol 体 (compound-IV と仮称) が acetate として捕捉され、さらに少量の 3 種の alcohol 体 (compound-III, compound-XI, compound-XIV と仮称) が単離された。

さらに 3 員環を含むトリテルペン数種が含有されることも今回明らかとなった。すなわち、実験の部に詳述するようにアルミナクロマトにおいてベンゼンによって epifriedelanol につづいて溶出される部分を繰り返しアルミナクロマトで精製すると mp 70—75° を示す結晶性物質が得られた。このものは NMR⁸⁾ で 9.5 τ 付近に 2 個の 3 員環水素のシグナルが認められ、通常アルミナまたはシリカゲルの TLC⁹⁾ では単一 spot を示すが、AgNO₃ 含有シリカゲルによる TLC¹⁰⁾ によっては明らかに混合物であることが認められ、なお acetate の TLC ではその R_f 値の差が大きくなることが認められた。そこで acetate を AgNO₃ 含有シリカゲルで preparative TLC にかけたところ 2 種の物質をそれぞれ mp 123—124°, C₃₂H₅₂O₂ (Vb) の結晶と mp 109—110°, C₃₃H₅₄O₂ (VIb) の結晶として純粋に単離することができた。その前者は混融および IR (KBr) 比較によって cycloartenol acetate (Vb)¹¹⁾ に、また後者は 24-methylenecycloartanol acetate (γ -oristerol acetate) (VIb)¹²⁾ と同一物質であることが確認された。

またアルミナクロマトにおいて pachysandiol-B よりもややおくれて 50% エーテル-ベンゼンで溶出される部分をベンゼンから再結晶することにより難溶な柱状晶 (VIIa) が得られた。本品は mp 202—204°, C₃₀H₅₀O₂ を示し、アセチル化によって monoacetate (VIIb), mp 143—148° を与え、また PtO₂ 上接触還元によって cycloartanol (VIIIa), mp 99—106° と cycloartane-3 β ,25-diol (VIIIb), mp 189—191° を与えることから 23-dehydrocycloartane-3 β ,25-diol (VIIa)¹³⁾ と推定される。そこで monoacetate を VIIb 標品と混融ならびに IR (KBr) 比較を行なった結果同一物質であることが確認された。また上記の VIIa を分別した母液はさらに繰り返しクロマトを行なって精製したところ、もう一種の diol 体 (IXa) が mp 170—176° の結晶として得られた。本品は C₃₀H₅₀O₂ の組成を有し、アセチル化すると diacetate, mp 132—135°, C₃₄H₅₄O₄ を生成する。その NMR スペクトルを検討した結果本物質は Djerassi 等によって報告されている 25-dehydrocycloartane-3 β ,24 ξ -diol (IXa)¹³⁾ であろうと考えられたが、その diacetate を Djerassi 等の標品 (IXb) (mp 246—248°) と直接比較したところ KBr 中の IR が指紋領域でわずかに異なり完全には合致しなかった。そこで diol 体をクロホルム中 MnO₂ で酸化したところ共役ケトン体 (IXc), mp 111—113°, [α]_D+48° (CHCl₃), が得られ、IR スペクトルで 1670 cm⁻¹ に吸収を有し、またその acetate (IXd) は mp 132—134°, [α]_D+52° (CHCl₃) を示す。これらのデータは文献記載の値とよく合致し、また acetate の標品 (IXd) と混融の結果融点降下を示さないことから同一物と認められる。¹⁴⁾ したがってもとの diol 体の構造は IXa でなければならないが、Djerassi 等の 25-dehydrocycloartane-3 β ,24 ξ -diol (IXa) とは 24 位の OH 基の配位を異にする epimer か、あるいは両 epimer

8) NMR はすべて Varian Associate Recording Spectrometer A-60 により CDCl₃ 中で測定し、chemical shift は tetramethylsilane を内部基準として τ 値で表示した。

9) Aluminiumoxid G (Merck) および Kieselgel G nach Stahl (Merck) を使用し、*n*-ヘキサン、ベンゼン、クロホルムあるいはそれらの混合液で展開、H₂SO₄ あるいは Ce(SO₄)₂ で呈色。

10) T. Norin, L. Westfelt, *Acta Chem. Scand.*, **17**, 1828 (1963).

11) D.S. Irvine, J.A. Henry, F.S. Spring, *J. Chem. Soc.*, **1955**, 1316.

12) G. Ohta, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **8**, 5, 9 (1960).

13) C. Djerassi, R. McCrindle, *J. Chem. Soc.*, **1962**, 4034.

14) 標品が微量のため、IR の比較ができなかった。

TABLE I. Properties and Yields of Substances

Name	mp. (°C)	Formula	Acetate mp (°C)	Yield from 120 kg, dried plant (ca. g)
Friedelin (IIIa)	259—261	C ₃₀ H ₅₀ O		1.17
Epifriedelanol (IIIb)	288—291	C ₃₀ H ₅₂ O	297—300	30
Compound-III			224—225	0.65
Compound-IV	211—213	C ₃₀ H ₄₈ O	260—261	2.2
Cycloartenol (Va)		C ₃₀ H ₅₀ O	123—124	1.8
24-Methylenecycloartanol (VIa)		C ₃₁ H ₅₂ O	109—110	0.4
Pachysonol	278—280	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	234—237	2.3
Pachysandiol-B	281—282	C ₃₀ H ₅₂ O ₂	223—225	6.0
Stigmaterol (Ia)		C ₂₉ H ₄₈ O	143—144	36
β-Sitosterol (IIa)		C ₂₉ H ₅₀ O	124—125	
Compound-XI	285—286	C ₃₀ H ₅₀ O		0.05
23-Dehydro-3β,25-di- hydroxycycloartane (VIIa)	202—204	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	143—148	3.38
25-Dehydro-3β,24ξ-di- hydroxycycloartane (IXa)	170—176	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	132—135	0.5
Compound-XIV			220—227	0.05
Compound-XV			88—90	0.1
Pachysandiol-A (IVa)	291—292	C ₃₀ H ₅₂ O ₂	235—236	3.4

の混合物であろうと考えられる。

今回単離されたステロールおよびトリテルペンの種類および得量を一括表示すれば Table I のとおりである。

ツゲ科植物のうち *Buxus* 属植物からは cyclobuxine¹⁵⁾ をはじめとして cyclopropane 環を含むアルカロイドが数種単離されており、それらは cycloartenol 型トリテルペノイドと生合成的に関連深いと考えられているが、*Buxus* 属植物の中性成分からは cyclopropane 環を有するトリテルペンはいまだ発見されていない。これに対して *Pachysandra* 属のフッキソウから現在までに多数分離されているアルカロイドはすべて pregnane 型ステロイドアルカロイドであって cyclopropane 環を含むアルカロイドはまだ報告されていないにもかかわらず、今回中性成分から cycloartenol (Va) をはじめ 4 種の関連トリテルペンが発見されたことはきわめて興味深いことである。

実験の部¹⁶⁾

分離, その 1 大阪府下の本山寺および京都市京都大学理学部植物園で 1963 年 1 月に採集したフッキソウ約 40 kg (非乾燥) を EtOH で温浸し溶媒を留去して得たエキスを 3% クエン酸で加温抽出、酸性水溶液は ether で振って中性、酸性物質を抽出、ether 溶液部は MgSO₄ 乾燥後溶媒留去し油状物 (約 20 g) を得。一方、3% クエン酸に不溶の残渣は benzene で数回加温抽出、benzene 抽出液を濃縮し、さきの油状物と合して緑色鉛状物を得、これを再び多量の benzene-ether 混液にとかし 5% NaOH と振って酸性物質をできるだけ除く。有機溶媒層は K₂CO₃ で乾燥し減圧で溶媒を留去し、これを Al₂O₃ 3.2 kg を用いてクロマトにかけ 50% benzene-*n*-hexane (6 liter), benzene (10 liter), ether-benzene 混液 (10%: 6 liter, 20%: 20 liter), CHCl₃ (6 liter) および 30% MeOH-CHCl₃ (15 liter) で展開。最初に benzene-*n*-hexane で黄色油状物が流出したのち benzene で溶出される部分から結晶を析出。これをろ取し (1.5 g), さらに benzene から再結晶すれば mp 259—261° の無色針状晶を得。[α]_D²⁵ -14° (CHCl₃, *c*=1.0). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1705. 本品は friedelin 標品 (IIIa) と混融および IR (KBr), NMR 比較により同定。Anal. Calcd. C₃₀H₅₀O: C, 84.44; H, 11.81. Found: C, 84.37; H, 11.80. つぎに 20% ether-benzene で溶出される部分は MeOH で処理すれば mp 285—287° の難溶性結晶を得 (1.8 g). これを pyridine 中 Ac₂O と 3 hr 加温してアセチル化。常法により処理し benzene から数回再結晶すれば無色長板状晶, mp 297—300°, 1.3 g を得。[α]_D²⁵ +34° (CHCl₃, *c*=1.0). NMR τ : 5.07 (1H, broad,

15) K.S. Brown, Jr., S.M. Kupchan, *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 4414, 4424 (1964).

16) 融点は柳本微量融点測定器にて測定し、すべて未補正、クロマトグラフィーの際使用した混合溶媒の混合比は例えば 30% ether-benzene のように表示したが、これは 30% (v/v) の ether を含むことを示す。

W^{1/2} 8 cps; CH-OAc), 7.95 (3H, s., OAc), 8.80—9.25 (8×CH₃). Anal. Calcd. C₃₂H₅₄O₂: C, 81.64; H, 11.56. Found: C, 81.40; H, 11.59. 本品は friedelin を LiAlH₄ 還元⁴⁾ あるいは AcOH 中 PtO₂ を用いる接触還元⁵⁾ によって還元しついでアセチル化して製した epifriedelanol acetate 標品 (IIIc) と混融および IR (KBr) 比較の結果同定。

CHCl₃ および MeOH-CHCl₃ により溶出される部分は結晶しがたいので ether-benzene 溶出部の母液と合す (約 50 g). はじめその半量をとって 10% KOH-MeOH で常法により加水分解したのち中性フラクション (12 g) を Al₂O₃ (250 g) でクロマトを行なうと少量の epifriedelanol および sterol 混合物 (0.9 g) を得たが他のフラクションは結晶に導けなかった. 一方残りの半量は pyridine 中 Ac₂O で常法により室温にてアセチル化し, ここに得られる粗 acetate (約 20 g) を 20 倍量の Al₂O₃ でクロマト. 最初に *n*-hexane および 20% benzene-*n*-hexane で溶出される部分を MeOH-ether で再結晶を行ない sterol acetate 混合物, mp 129—134°, 1.5 g を得. このものは下に述べるごとく stigmasterol acetate (Ib) と β -sitosterol acetate (IIb) の混合物であることを証明した. つぎに benzene および 20% ether-benzene で油状物が溶出されたのち 50% ether-benzene および ether から溶出される部分を CH₂Cl₂-MeOH で処理すれば結晶性物質 0.12 g が得られる. 本品はさらに Al₂O₃ (5 g) で再クロマトに付し, ついで MeOH-CH₂Cl₂ から再結晶すると mp 290—291° の無色針状晶 (IVb) を得. 本品は pachysandiol-A monoacetate (IVb) と一致した.

Stigmasterol と β -Sitosterol の分離確認 Sterol acetate 混合物 1.6 g を ether 30 ml にとかし Br₂ 1 g を AcOH 20 ml にとかした溶液を徐々に滴下し 2 hr 攪拌. 析出した結晶を濾取, ether で洗浄し mp 192—194° の結晶を得 (0.40 g). このものはさらに CH₂Cl₂-MeOH で再結晶すれば mp 197—200° の板状晶 (tetrabromostigmasterol acetate) 0.29 g を与える. ついでこれを AcOH 10 ml 中 Zn 末 1.0 g と 3 hr 加温攪拌. 常法により処理し, 得られる残渣 (190 mg) を benzene-*n*-hexane にとかし Al₂O₃ (3 g) でクロマトしたのち ether-MeOH から再結晶. 無色鱗片状晶 100 mg を得る. mp 143—144°, $[\alpha]_D^{20}$ -52° (CHCl₃, *c*=1.0). 本品は stigmasterol acetate 標品 (Ib) と混融および IR (KBr) 比較で同定. Anal. Calcd. C₃₁H₅₀O₂: C, 81.88; H, 11.08. Found: C, 81.67; H, 11.36.

一方上記の難溶性 tetrabromide を濾別した ether 溶液部は水, 1N NaOH, 1% Na₂S₂O₃ で順次洗ったのち MgSO₄ で乾燥, 溶媒留去, 残渣を ether-MeOH で再結晶し mp 120—125° の結晶性物質 1.39 g を得. このうちの 0.70 g をとりメルク社 Kiesel-gel (unter 0.08) 30 g を用いて 50% benzene-*n*-hexane からクロマト. 最初に溶出される TLC 単一の部分 (160 mg) をとり AcOH-ether (10 ml づつ) にとかし, 上記と同様に Zn 末 0.6 g で 5 hr 還流下反応. 常法処理し, 生成物 (114 mg) は Al₂O₃ クロマト (3 g) により精製した後 ether-MeOH から再結晶. mp 124—125° の結晶 85 mg を得. $[\alpha]_D^{25}$ -36° (CHCl₃, *c*=1.0). Anal. Calcd. C₃₁H₅₂O₂: C, 81.52; H, 11.48. Found: C, 81.46; H, 11.70. 本品は NMR で 4.63 τ に 1 個のオレフィン水素を示し, β -sitosterol acetate 標品 (IIb) と IR (KBr) で完全に一致.

分離, その 2 妙高高原笹ヶ峰で 8 月に採集したフッキソウ (乾燥, 約 120 kg) の MeOH エキス^{2b)} を上記と同様な操作を行ない, 中酸性物質約 2.7 kg を得. これを酸性部を分離することなく直ちにアルカリ加水分解を行なう. すなわち全体を 4 回に分け, benzene 少量にとかし 10% KOH-EtOH (2 liter づつ) を加えて水浴上 7 hr 還流したのち減圧で EtOH の大部分を留去. 残留物に多量の benzene を加えて加温抽出し, benzene 抽出液は celite を用いて吸引濾過し不溶物をできるだけ除く. また benzene 不溶部はさらに CHCl₃ を用いて加温抽出し, CHCl₃ 抽出液は同様に celite を用いて吸引濾過を行ない不溶物を除去. ここに得られる benzene 溶液および CHCl₃ 溶液はそれぞれ希 NaOH と振って可及的に酸性物質を除き, MgSO₄ で乾燥, 溶媒留去して緑色中性物質を得 (benzene 溶液および CHCl₃ 溶液からそれぞれ 1.35 kg, 0.6 kg. 後者については未検索). 一方 NaOH 洗浄液は両者を合し, HCl 酸性に変えて CHCl₃ 抽出し油状の酸性物質約 110 g を得 (未検索).

上記の benzene 抽出部を再び benzene にとかすとき難溶性の緑色 paste (約 200 g) が析出するのでこれを濾取し少量の MeOH を含む CHCl₃ にとかして濾過, 濃縮し, ここに析出する結晶を濾取して CHCl₃ から再結晶すると粗製 epifriedelanol (mp 260—274°) 5.5 g を得. 母液部は silica gel カラム (600 g) を通して CHCl₃ および 30% MeOH-CHCl₃ で洗い濃縮, 残留物 (約 160 g) に benzene を加えると結晶性物質 (14 g) を析出 (本品は TLC により epifriedelanol, pachysandiol-B, pachysandiol-A などを含む混合物と判明したが精査せず, また母液部も未検索である).

一方最初の benzene 可溶の中性物質 (約 1.14 kg) は 3 分し, benzene にとかして Al₂O₃ (それぞれ 4.5 kg づつ) でクロマトを行ない溶媒の極性を順次増してつぎのフラクションに大別する.

Fract. 1: benzene, 46 g (hydrocarbon と考えられる油状物).

Fract. 2: benzene, 144 g

Fract. 3: 20% ether-benzene, 40 g

Fract. 4: 20% および 50% ether-benzene, 129 g

Fract. 5: 50% ether-benzene, 109 g

Fract. 6: CHCl₃, 94 g

Fract. 7: 20% および 50% MeOH-CHCl₃, 146 g (結晶化困難, 未検索).

Fract. 2 の処理 (Friedelin, Epifriedelanol, Compound-III および Compound-IV の分離) 本フラクション

のうち初めに溶出される部分には結晶性 ketone が含まれ, ether-MeOH で処理するとき得られる粗結晶 (1.2 g) をさらに ether-benzene で再結晶すれば mp 259—261° の friedelin (IIIa) 0.85 g が得られる. また後で溶出される部分も同様に処理すれば, 粗製 epifriedelanol (IIIb), mp 288—291°, 19.5 g を得る.

つぎに母液部は ether 少量を含む MeOH で処理すれば結晶性物質約 30 g が得られる. これを Al_2O_3 1.3 kg を用いて再クロマトに付し 50% benzene-*n*-hexane で展開. 初めに油状物 (hydrocarbon) 約 7 g および friedelin (IIIa) (0.32 g) を含む部分 2.9 g が流出し, これに続いて mp 200—220° の結晶 (compound-III および -IV を含む混合物) を含むフラクションが溶出されるので展開溶媒を benzene に変えてさらに展開を続行し約 5 g の粗製物質を捕捉する. ついで benzene および 5% ether-benzene でさらにクロマトを続けると長鎖 alcohol と考えられる物質約 6 g が溶出される.

つぎに上記の compound-III および -IV を含む粗製物質 (5 g) は一旦 benzene にとかし難溶な epifriedelanol (0.25 g) をできるだけ除いたのち室温, pyridine 中 Ac_2O (10 ml づつ) でアセチル化し, ここに得られる acetate (4.7 g) を Al_2O_3 200 g でクロマト. *n*-hexane および 50% benzene-*n*-hexane で展開し TLC で単一のフラクションを集める (約 3.4g). しかし本品は AgNO_3 -silica gel による TLC¹⁰⁾ では 2 個の spot を示すので Norin 等の方法¹⁰⁾ に準じて製した AgNO_3 -silica gel カラム (130 g) を用いてさらにクロマト分別を行なう. すなわち *n*-hexane (fr. 1—5, 各フラクションは約 70 ml づつ分取) で展開したのち benzene-*n*-hexane 混液 (5%: fr. 6—9; 10%: fr. 10—37; 15%: fr. 38—52; 30—50%: fr. 53—57) および benzene (fr. 58—62) で溶出. このうち fr. 12—25 (0.64 g) は単一 spot を示すので, これを合して CH_2Cl_2 -MeOH から再結晶すれば mp 224—225° の針状晶 0.45 g を得る (compound-III acetate).¹⁷⁾ また fr. 44—60 (2.0 g) も単一 spot を示すのでこれを合し CH_2Cl_2 -MeOH から再結晶を行ない無色針状の compound-IV acetate, mp 260—261°, 1.79 g を捕捉, $[\alpha]_D^{25} + 194^\circ$ (CHCl_3 , $c = 0.89$). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ : 238 sh, 245 (ϵ : 24400), 252 sh. NMR τ : 3.72 (1H, d., $J = 10$ cps, olefinic H), 4.58 (1H, d., $J = 10$ cps, olefinic H), 5.10 (1H, broad, CHOAc), 7.97 (3H, s., Ac), 8.32 (3H, d., $J = 2$ cps, $\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$), 9.0—9.3 ($7 \times \text{CH}_3$). Mass Spectrum m/e : 466 (M^+).¹⁸⁾ Anal. Calcd. $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_2$: C, 82.34; H, 10.80. Found: C, 82.11; H, 10.52. 一方 fr. 26—43 (0.53 g) は両者のほぼ等量の混合物であるので上記と同様に再クロマトを行ない両者を分別.

Fract. 3 の処理 (Epifriedelanol, compound-IV, compound-XI, cycloartenol および 24-methylenecycloartanol の分離) 本フラクションを ether 少量を含む MeOH で処理すると結晶性物質 11.4 g を得. このものを benzene から再結晶すれば難溶性部分から epifriedelanol (IIIb) 3.33 g が捕捉される. 一方 benzene 可溶性部 (約 8 g) は Al_2O_3 500 g を用いて再クロマトに付し *n*-hexane (fr. 1—2, 各フラクションは 500 ml づつ分取) および benzene-*n*-hexane 混液 (30%: fr. 3—5, 40%: fr. 6—12, 50%: fr. 13—27) で溶出. はじめ油状物が溶出されるが fr. 6—7 (1.0 g) が結晶化する. この部分を常法にしたがい Ac_2O -pyridine と 2 日放置してアセチル化し, 生成物を Al_2O_3 カラム (60 g) を通して 50% benzene-*n*-hexane で溶出される部分 (0.65 g, AgNO_3 -silica gel による TLC で 2 個の spot を与える) をさらに 58 g の AgNO_3 -silica gel カラム¹⁰⁾ により再クロマトを行なう. すなわちはじめ *n*-hexane および 10—30% benzene-*n*-hexane で注意して展開を行なって epifriedelanol acetate (IIIc) (150 mg) を分離したのち, 50% benzene-*n*-hexane で溶出し続けると TLC 単一の結晶性物質 (210 mg) が得られる. これを CH_2Cl_2 -MeOH で再結晶すれば mp 259—261° の compound-IV acetate 160 mg を得る.

つぎに fr. 9—11 (4.1 g) は溶媒留去すると容易に結晶化するが, これを *n*-hexane に溶かすと少量の難溶性結晶を析出するのでこれを浮取り CHCl_3 -MeOH から数回再結晶を行ない mp 285—286° の板状晶として compound-XI 50 mg を捕捉. 本品は Mass Spectrum で m/e 426 に分子イオンピークを示し $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ に合致する. 一方 fr. 9—11 の *n*-hexane 易溶部は MeOH から結晶化させるとはば mp 70—75° を示す結晶性物質約 3.5 g を与える (本品は通常の silica gel による TLC では単一であるが AgNO_3 -silica gel による TLC で 3 個の spot を示し, 長鎖 alcohol, cycloartenol および 24-methylenecycloartanol のほぼ 2:4:1 の混合物と考えられる). このうち 950 mg をとり Ac_2O -pyridine (各 5 ml づつ) で常法により acetate となし Al_2O_3 60 g でクロマトを行ない *n*-hexane で注意して溶出し続けると最初に長鎖 alcohol の acetate, mp 62—64°, 240 mg が流下し, つぎに 15% benzene-*n*-hexane によって AgNO_3 -silica gel の TLC で 2 個の spot (ほぼ 4:1) を示す結晶性物質 600 mg が得られる. このものを AgNO_3 -silica gel 板を用いて preparative TLC にかけて両者を分離し, それぞれ ether-MeOH から再結晶. 上の spot に対応する部分は mp 123—124° の結晶 (Vb) となる (250 mg). $[\alpha]_D^{25} + 51^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1.48$). NMR τ : 4.90 (1H, broad t., $J = 7$ cps, olefinic H), 8.31, 8.38 (6H, $\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 9.43, 9.65 (2H, AB q., $J = 4.5$ cps, cyclopropane). Mass Spectrum m/e : 468 (M^+). Anal. Calcd. $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$: C, 81.99; H, 11.18. Found: C, 81.90; H, 11.42. 本品は cycloartenol acetate 標品 (Vb) と混融, IR (KBr) 比較により同一物と確認. またその下の spot に対応する部分は mp 109—110° を示す針状晶 (VIb) となる (70 mg). $[\alpha]_D^{25} + 59^\circ$ (CHCl_3 , $c = 0.98$). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 890 ($\text{C}=\text{CH}_2$). NMR τ : 5.30 (2H, broad s., $\text{C}=\text{CH}_2$), 9.41, 9.67 (2H, AB q., $J = 4.5$ cps, cyclopropane). Mass Spectrum m/e : 482 (M^+). Anal. Calcd.

17) 本物質の純度はマス・スペクトル測定の結果やや疑問の点があるので, なお検討中である.

18) 日立製質量分析計 Model RMU-6D にて直接導入装置を用いて測定.

$C_{33}H_{54}O_2$: C, 82.09; H, 11.27. Found: C, 82.37; H, 11.40. 本品は 24-methylenecycloartanol acetate 標品 (VIb) と混融および IR (KBr) 比較により同定。

Fract. 4 の処理 (Epifriedelanol, Pachysandiol-B, Phachysonol, Sterol Mixture, 23-Dehydrocycloartane-3 β ,25-diol および Compound-XIV の分離) 本フラクションは ether-MeOH で処理すると一部結晶を含むゼリー様沈殿を析出, これをろ取し (49 g), Al_2O_3 4 kg を用いてクロマトに付しつぎのごとく溶媒の極性を順次増して分画する. 50% benzene-*n*-hexane (fr. 1—40, 各フラクションは 1 liter ずつ分取), benzene (fr. 41—79), ether-benzene 混液 (3%: fr. 80—85; 5%: fr. 86—153; 10%: fr. 154—174; 20%: fr. 175—179), $CHCl_3$ (fr. 180—195). このうち fr. 46—60 (3.1 g) は benzene-*n*-hexane から再結晶すると mp 285° の epifriedelanol (IIIb), 2.79 g が得られ (TLC および IR で同定), fr. 64—85 は長鎖 alcohol と考えられる. 続いて 5% ether-benzene で溶出されるフラクション (fr. 89—163, 29.2 g) には多量の結晶が含まれるが, このうち fr. 89—101 を合して (4.0 g) benzene で処理し難溶な結晶性物質 (2.2 g) をろ取 (TLC でほぼ等量の 2 個の spot を示す). これを常法により acetate となし Al_2O_3 160 g を用いて TLC で検索しながら 30% benzene-*n*-hexane で注意してクロマトを行うと初めに溶出される TLC 単一の部分 (900 mg) から pachysandiol-B diacetate が得られる. ether-MeOH から再結晶, 無色柱状晶, mp 223—225°. $[\alpha]_D^{25} + 61^\circ$ ($CHCl_3$, $c = 1.0$). NMR τ : 4.80 (1H, t., $J = 9$ cps, CH-OAc), 5.10 (1H, broad, CHOAc), 7.96, 8.00 (6H, s., $2 \times$ Ac), 8.75—9.25 ($8 \times$ CH_3). Mass Spectrum m/e : 528 (M^+). Anal. Calcd. $C_{34}H_{56}O_4$: C, 77.22; H, 10.67. Found: C, 77.05; H, 10.92. つぎに 2 種の混合物 (750 mg) が溶出され, 最後に TLC 単一の部分 (670 mg) が溶出されるのでこれを CH_2Cl_2 -MeOH で再結晶すれば無色柱状晶として pachysonol acetate, mp 234—237° を得る. $[\alpha]_D^{25} + 14^\circ$ ($CHCl_3$, $c = 1.33$). IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ cm^{-1} : 1720 sh, 1250 (OAc), 1700 (ketone). NMR τ : 4.80 (1H, t., $J = 9$ cps, CHOAc), 8.00 (3H, s., Ac), 8.75, 8.89, 8.91, 8.98, 9.03, 9.12, 9.28 ($7 \times$ tert. CH_3), 9.13 (3H, d., $J = 7$ cps, sec. CH_3). Mass Spectrum m/e : 484 (M^+). Anal. Calcd. $C_{32}H_{52}O_3$: C, 79.28; H, 10.81. Found: C, 78.99; H, 10.68. また fr. 102—163 (25.2 g) も同様に benzene で処理し pachysonol 少量を含む粗製 pachysandiol-B 約 5.1 g を得. 一方上記の fr. 89—163 から benzene 難溶部をろ別した母液は合して溶媒を留去したのち常法にしたがい Ac_2O -pyridine (18 ml ずつ) と加温してアセチル化. 粗 acetate を ether-MeOH から再結晶すると sterol (stigmasterol, β -sitosterol) acetate 混合物 14.3 g を与える (mp 123—129°). Acetate の母液部 (約 11 g) は Al_2O_3 530 g を用いてクロマトを行なって分別. *n*-hexane および 10% benzene-*n*-hexane で溶出される部分 (4.3 g) は TLC および IR により sterol acetate 混合物と判明. ひき続いて 20% benzene-*n*-hexane で展開したのち 50% benzene-*n*-hexane で溶出される部分からは ether-MeOH で再結晶することにより pachysandiol-B diacetate 0.55 g と pachysonol acetate 0.50 g を得.

また fr. 169—174 (1.1 g) は ether-benzene で処理するとき結晶性物質 0.37 g を析出. このものは常法により acetate に変えて Al_2O_3 22 g でクロマト. 最初に 5% benzene-*n*-hexane で溶出される部分 (70 mg) から捕捉される結晶 (mp 120—125°) は IR (KBr) 比較により後述の 25-dehydrocycloartane-3 β ,24 ξ -diol diacetate (IXb) と一致. ついで 10% および 30% benzene-*n*-hexane を流したのち (eluate: 190 mg), 最後に benzene で溶出される部分 (85 mg) を ether-MeOH から再結晶すると無色絹糸状晶, mp 220—227°, 50 mg を与える (compound-XIV acetate). $[\alpha]_D^{25} + 132^\circ$ ($CHCl_3$, $c = 1.0$). 本品は Liebermann-Burchard 反応で赤紫色を示しトリテルペノイドと考えられる. 最後に fr. 182—192 (2.3 g) からは benzene-*n*-hexane から再結晶すると mp 198—200° の柱状晶として 23-dehydrocycloartane-3 β ,25-diol (VIIa), 110 mg が捕捉される (本品の構造確認については後述).

Fract. 5 の処理 (23-Dehydrocycloartane-3 β ,25-diol-, 25-dehydrocycloartane-3 β ,24 ξ -diol および Sterol 混合物の分離) 本フラクションに ether 少量を含む MeOH を加えると結晶を析出するのでこれをろ取 (約 28.5 g). このものを benzene-ether から分別再結晶を行ない難溶部から 23-dehydrocycloartane-3 β ,25-diol (VIIa) の柱状晶 (mp 200—202°), 2.4 g を得る. 一方 benzene 可溶部には多量の sterol (stigmasterol, β -sitosterol) が含まれるので常法によりアセチル化した後 ether-MeOH から再結晶して sterol acetate 混合物 (17.0 g) を除き, ついで acetate 母液部は 5% KOH-MeOH と水浴上 5 hr 還流して加水分解. 常法により処理し, ここに得られる中性部分を benzene で再結晶すればさらに 23-dehydrocycloartane-3 β ,25-diol (VIIa) 0.87 g が得られる. この際の母液部 (7.9 g) はさらにつぎのごとく分別処理を行なう. すなわち Al_2O_3 500 g でクロマトに付し benzene で展開して sterol 混合物 (2.6 g) を除いた後 20% ether-benzene で溶出される部分 (2.6 g) を Ac_2O -pyridine で再び acetate となし (2.9 g), 本 acetate はさらに Al_2O_3 100 g を用いて TLC で検索しながら注意深くクロマトを行なう. 最初 *n*-hexane 500 ml を流したのち 10% benzene-*n*-hexane で溶出を続けると TLC でほぼ単一を示す粗製 25-dehydrocycloartane-3 β ,24 ξ -diol diacetate (IXb), 950 mg を与える (本品の構造確認は後述).

Fract. 6 の処理 (Pachysandiol-A および Compound-XV の分離) 本フラクションを MeOH で処理しゼリー状の沈殿 (約 8.9 g) をろ取. これを Ac_2O -pyridine (20 ml ずつ) と時々加温しながら 2 日間放置後水を加えて粗 acetate をろ取し水洗. これを CH_2Cl_2 にとかし水洗, 乾燥, 溶媒留去. 残渣 (9.5 g) を ether-MeOH (ほぼ 3:7) で再結晶すると無色針状晶として pachysandiol-A diacetate (IVc), mp 235—236°, 2.4 g を与える. $[\alpha]_D^{25} - 18^\circ$ ($CHCl_3$, $c = 1.0$). NMR τ : 5.15 (2H, broad, $W^{1/2}$ 7 cps, $2 \times$ CHOAc), 7.91, 7.93 (6H, s., $2 \times$ Ac),

8.8—9.15 (7×tert. CH₃), 9.18 (3H, d., $J=7$ cps, sec. CH₃). Mass Spectrum m/e : 528 (M⁺). Anal. Calcd. C₃₄H₅₆O₄: C, 77.22; H, 10.67. Found: C, 77.11; H, 10.67. 母液部 (7 g) は Al₂O₃ 200 g からクロマトを行ない *n*-hexane. (fr. 1—5, 各フラクションは 500 ml づつ分取) で流したのち benzene-*n*-hexane 混液 (10%: fr. 6—12; 30%: fr. 13—19; 50%: fr. 20—24) および 50% ether-benzene (fr. 25—28) で溶出. このうち fr. 14—15 (650 mg) は ether-MeOH (ほぼ 1:1) から再結晶を行なうとき TLC 単一の pachysandiol-A diacetate (IVc), mp 233—235°, 150 mg を与える. その母液部の残渣を ether 少量を含む MeOH で処理すると約 200 mg の結晶が捕捉される. このものは TLC で pachysandiol-A diacetate に対応する spot の上にもう 1 個の spot を示すので silica gel 板を用いて preparative TLC で分別を行なう. 上の spot に対応する部分から得られる結晶性残渣 (135 mg) を ether 少量を含む MeOH から数回再結晶すると mp 88—90° の鱗片状晶 70 mg を得る (compound-XV diacetate). $[\alpha]_D^{25} - 39^\circ$ (CHCl₃, $c=1.0$), IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1725, 1250 (OAc). Liebermann-Burchard 反応: 青→汚緑色. また fr. 16—20 (1.0 g) は TLC で単一で再結晶により IVc の針状晶 0.7 g が得られる. つぎに fr. 25 (1.43 g) は benzene-*n*-hexane または CH₂Cl₂-MeOH から再結晶を行なえば pachysandiol-A monoacetate (IVb), 無色針状晶, mp 290—292°, 150 mg が得られる. $[\alpha]_D^{25} + 7^\circ$ (CHCl₃, $c=0.83$). NMR τ : 5.30 (1H, t., $J=2.5$ cps, CHOAc), 6.10 (1H, broad, CHOH), 7.95 (3H, s., Ac), 8.8—9.25 (8×CH₃). Anal. Calcd. C₃₂H₅₄O₃· $\frac{1}{2}$ H₂O: C, 77.52; H, 11.18. Found: C, 77.67; H, 11.16.

23-Dehydrocycloartane-3 β ,25-diol の確認 i) 23-Dehydrocycloartane-3 β ,25-diol (VIIa)——Benzene-ether から再結晶すれば mp 202—204° の柱状晶となる. $[\alpha]_D^{25} + 36^\circ$ (CHCl₃, $c=1.0$). NMR τ : 4.38 (2H, broad s., olefinic H), 6.70 (1H, broad, CHOH), 8.68 (6H, s., C(OH)(CH₃)₂), 9.0—9.2 (5×CH₃), 9.42, 9.67 (2H, ABq., $J=4.5$ cps, cyclopropane). Mass Spectrum m/e : 442 (M⁺). Anal. Calcd. C₃₀H₅₀O₂: C, 81.39; H, 11.38. Found: C, 81.34; H, 11.41. 本品は 23-dehydro-3 β ,25-dihydroxycycloartane 標品 (VIIa) と混融により mp 降下せず.¹⁴⁾

ii) Acetate (VIIb)——上記 VIIa 300 mg を pyridine 5 ml 中 Ac₂O 4 ml とともに一夜放置. 常法で処理し残渣 (295 mg) を CH₂Cl₂-MeOH で再結晶. mp 145—148° の鱗片状晶を得. $[\alpha]_D^{25} + 42^\circ$ (CHCl₃, $c=1.0$). NMR τ : 4.38 (2H, broad s., olefinic H), 5.42 (1H, broad, CHOAc), 7.95 (3H, s., Ac), 8.68 (6H, s., C(OH)(CH₃)₂), 9.0—9.2 (5×CH₃), 9.42, 9.67 (2H, ABq., $J=4$ cps, cyclopropane). Mass Spectrum m/e : 484 (M⁺) (C₃₂H₅₂O₃). 本品は 3 β -acetoxy-23-dehydrocycloartane-25-ol 標品 (VIIb) と IR (KBr) 比較により同定.

iii) 接触還元——VIIa 160 mg を EtOH 20 ml と AcOEt 3 ml にとかし PtO₂ 60 mg を加えて接触還元 (室温, 常圧). 触媒を汙別したのち溶媒留去. 残渣 (160 mg) は TLC で 2 個の spot を示すので Al₂O₃ 5 g によりクロマト. 初めに benzene で溶出される部分 (90 mg) を ether-MeOH から再結晶し mp 99—106° の鱗片状晶 (VIIIa) 72 mg を得. NMR τ : 6.68 (1H, broad, CHOH), 9.0—9.2 (7×CH₃), 9.44, 9.66 (2H, AB q., $J=4.5$ cps, cyclopropane). 本品は cycloartanol 標品 (VIIIa) と混融および IR (KBr) 比較により同定. つぎに 20% ether-benzene で溶出された部分 (54 mg) も同様に ether-MeOH から再結晶すれば mp 189—191° の柱状晶 (VIIIb) 44 mg を与える. $[\alpha]_D^{25} + 47^\circ$ (CHCl₃, $c=1.0$). NMR τ : 6.72 (1H, broad, CHOH), 8.78 (6H, s., C(OH)(CH₃)₂), 9.0—9.2 (5×CH₃), 9.45, 9.68 (2H, AB q., $J=4.5$ cps, cyclopropane). Mass Spectrum m/e : 444 (M⁺). Anal. Calcd. C₃₀H₅₂O₂: C, 81.02; H, 11.79. Found: C, 80.82; H, 11.78. 本品は cycloartane-3 β ,25-diol 標品 (VIIIb) と IR (KBr) 比較により同一物と確認.

25-Dehydro-cycloartane-3 β ,24 ξ -diol の確認 i) 25-Dehydrocycloartane-3 β ,24 ξ -diol (IXa)——上述の Fract. 5 から得られた粗製 diacetate (IXb) を無水 ether 中で LiAlH₄ により還元し常法により処理して得られる alcohol 体 (650 mg) を ether から再結晶を行ない mp 156—170° を示す柱状晶 420 mg を得. 本品はさらに ether から再結晶を行なうと mp 170—176° を示す. $[\alpha]_D^{25} + 48^\circ$ (CHCl₃, $c=1.0$). IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 900 ($c=\text{CH}_2$). NMR τ : 5.12 (2H, broad, C=CH₂), 6.00, 6.70 (2H, broad, 2×CHOH), 8.27 (3H, broad s., C=CCH₃), 9.0—9.2 (5×CH₃), 9.43, 9.67 (2H, AB q., $J=4.5$ cps, cyclopropane). Anal. Calcd. C₃₀H₅₀O₂: C, 81.39; H, 11.38. Found: C, 81.09; H, 11.65.

ii) Diacetate (IXb)——上記 IXa (mp 170—176°) 53 mg をとり pyridine-Ac₂O で常法によりアセチル化し ether-MeOH から再結晶すると mp 132—135° の結晶 40 mg を与える. $[\alpha]_D^{25} + 51^\circ$ (CHCl₃, $c=1.0$). IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1720, 1250 (OAc), 1650, 910 (C=CH₂). NMR τ : 5.07 (2H, broad, C=CH₂), 4.85, 5.45 (2H, broad, 2×CHOAc), 7.95 (6H, s., 2×Ac), 8.27 (3H, broad s., C=CCH₃), 9.0—9.2 (5×CH₃), 9.42, 9.67 (2H, AB q., $J=4.5$ cps, cyclopropane). Mass Spectrum m/e : 526 (M⁺). Anal. Calcd. C₃₄H₅₄O₄: C, 77.52; H, 10.33. Found: C, 77.73; H, 10.43. 本品は 25-dehydrocycloartane-3 β ,24 ξ -diol diacetate 標品 (IXb)¹³⁾ と IR (KBr) がきわめて類似するが指紋領域においてわずかに異なる.

iii) MnO₂ 酸化——上記 IXa (mp 156—170°) 120 mg を CHCl₃ 7 ml にとかし MnO₂ 1.0 g を加えて室温で 2 日攪拌. MnO₂ を汙別, 溶媒留去し残渣 (109 mg) を Al₂O₃ クロマト (5 g) で精製後 ether-MeOH で再結晶すると無色板状晶 (IXc), mp 111—113°, 73 mg を得. $[\alpha]_D^{25} + 48^\circ$ (CHCl₃, $c=1.0$). IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1670 (conj. C=O), 1630, 890 (C=CH₂). NMR τ : 4.05, 4.25 (2H, broad s., C=CH₂), 6.70 (1H, broad, CHOH), 8.12 (3H, broad s., C=CCH₃), 9.0—9.2 (5×CH₃), 9.42, 9.67 (2H, AB q., $J=4.5$ cps, cyclopropane). Anal. Calcd. C₃₀H₄₈O₂· $\frac{1}{2}$ H₂O: C, 80.15; H, 10.99. Found: C, 80.38; H, 11.21. ここに得た keto-alcohol (IXc) 30

mg を pyridine 中 Ac_2O で室温 2 日間反応し, 常法処理により得られる acetate を MeOH から再結晶. mp $132-134^\circ$ の板状晶 (IXd) 20 mg を得. $[\alpha]_D^{25} + 52^\circ$ (CHCl_3 , $c=1.0$). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 1725, 1250 (OAc), 1675 (conj, $\text{C}=\text{O}$), 1635, 900 ($\text{C}=\text{CH}_2$). NMR τ : 4.06, 4.27 (2H, broad s., $\text{C}=\text{CH}_2$), 5.40 (1H, broad, CHOAc), 7.95 (3H, s., Ac), 8.13 (3H, broad s., $\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$), 9.0—9.2 ($5 \times \text{CH}_3$), 9.40, 9.65 (2H, AB q., $J=4.5$ cps, cyclopropane). Anal. Calcd. $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_3$: C, 79.62; H, 10.44. Found: C, 79.33; H, 10.67. 本品は 3 β -acetox-25-dehydrocycloartane-24-one 標品 (IXd) と混融するも mp 降下を認めず同一物と考えられる.¹⁴⁾

謝辞 本研究に際し御指導いただいた本学名誉教授 富田真雄先生および犬伏康夫教授に感謝致します。また friedelin 標品を分与された武庫川女子大学 上裕和補助教授, 貴重な cycloartenol acetate, cycloartanol および acetate, 24-methylenecycloartanol acetate の標品を御恵与頂いた第一製薬研究所 清水正夫所長および太田元吉博士, また 23-dehydrocycloartane-3 β ,25-diol およびその acetate, 25-dehydrocycloartane-3 β ,24 ξ -diol diacetate, 3 β -acetox-25-dehydrocycloartan-24-one 標品を分与下されたスタンフォード大学 C. Djerassi 教授, NMR スペクトルを測定された本学部 新宮徹朗博士および大河美都子嬢, マススペクトルを測定された本学部 加藤 旭氏, 元素分析を担当された本学微量分析センターの方々に深謝致します。