セネガ根の成分研究 (第 1 報¹⁾) 配糖体の分離と定性庄司順三, 川西幸子,^{2a)} 築谷康桓^{2b)}昭和大学薬学部,^{2a)} 医薬資源研究所^{2b)}Studies on the Constituents of Senegae Radix. I.¹⁾ Isolation and Qualitative Analysis of the GlycosidesJUNZO SHOJI, SACHIKO KAWANISHI,^{2a)} and YASUMASA TSUKITANI^{2b)}School of Pharmaceutical Sciences, Showa University^{2a)} and
Iyakushigen Institute for Medical Research^{2b)}

(Received September 2, 1970)

Three kinds of saponin, named senegin-II, -III, and -IV, were isolated from Senegae radix (root of *Polygala senega* LINNÉ var. *latifolia* TORRY et GRAY, Polygalaceae). Senegin-II, $C_{70}H_{104}O_{32} \cdot 4H_2O$, colorless needles, mp 247—248°, is a glucoside of presenegenin bonded with rhamnose, fucose, xylose, galactose, glucose, and 3,4-dimethoxycinnamic acid. Senegin-III, $C_{69}H_{102}O_{31} \cdot 4H_2O$, crystalline powder, mp 247—248° (decomp.), is a glucoside of presenegenin bonded with rhamnose, fucose, galactose, glucose and 4-methoxycinnamic acid. Senegin-IV, $C_{75}H_{112}O_{35} \cdot 4H_2O$, crystalline powder, mp 250° (decomp.), is a glucoside of presenegenin bonded with 2 moles of rhamnose, fucose, xylose, galactose, glucose, and 4-methoxycinnamic acid. In addition to these substances, the presence of 1,5-anhydrosorbitol and phenolic glycosides was detected.

セネガ根は *Polygala senega* LINNÉ (セネガ) あるいは *P. senega* LINNÉ var. *latifolia* TORRY et GRAY (ヒロハセネガ) (Polygalaceae) の根を乾燥したサポニン生薬で去痰薬として広く用いられている。本生薬の成分についての研究は大部分がサポゲニンに関するものであり、Wedeking ら³⁾ により着手されたその構造研究は Jacobs ら⁴⁾ Shamma ら⁵⁾ さらには DeMayo⁶⁻⁸⁾ および Pelletier ら⁹⁻¹¹⁾ によりサポニンの酸加水分解中に二次的に生成する senegenin, polygalic acid の構造研究を経て presenegenin の構造が決定されるに至った。また吉岡, 北川¹²⁾ は土壌菌を用いてセネガサポニンを加水分解し, この presenegenin が真性サポゲニンであることを確認した。

サポニンに関する研究は R. Cross ら¹³⁾ R. Bouché ら¹⁴⁾ A. Moes ら¹⁵⁾ の報告があるが, いずれも粗サポニンについての報告で, 単離精製されたサポニンに関する知見は得られていない。また最近木村¹⁶⁾ により報告されたセネガサポニンの単離ならびに定量法は, その組成, 構造についての十分な解明がなされていない。

1) 日本薬学会第 90 年会, 札幌, 1970 年 7 月。

2) Location: a) Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo; b) Nukuikitamachi-3-chome, Koganei-shi, Tokyo.

3) E. Wedeking, R. Krecke, *Chem. Ber.*, **57**, 1118 (1924).4) W.A. Jacobs, O. Isler, *J. Biol. Chem.*, **119**, 155 (1937).5) M. Shamma, L.P. Rieff, *Chem. Ind. (London)*, **1960**, 1272.6) J.J. Dugan, P. De Mayo, *Canad. J. Chem.*, **43**, 2033 (1965).7) J.J. Dugan, P. De Mayo, *Tetrahedron Letters*, **1964**, 2567.8) J.J. Dugan, P. De Mayo, *Canad. J. Chem.*, **42**, 491 (1964).9) S.W. Pelletier, N. Adityachaudhury, *Tetrahedron Letters*, **1964**, 3065.10) S.W. Pelletier, N. Adityachaudhury, M. Tomaz, J.J. Raynalds, *J. Org. Chem.*, **30**, 4234 (1965).11) Y. Shimizu, S.W. Pelletier, *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 1544 (1966).12) I. Yoshioka, M. Fujio, M. Osamura, I. Kitagawa, *Tetrahedron Letters*, **1966**, 6303.13) R. Cross, *Pharm. Tidsher. Belg.*, **31**, 25 (1956).14) R. Bouché, *J. Pharm. Belg.*, **10**, 169 (1956).15) A. Moes, *J. Pharm. Belg.*, **21**, 7 (1967).16) 北 史男, 相川 広, 滝戸道夫, 木村雄四郎, 薬誌, **89**, 1111 (1969).

著者らはセネガ根の成分を明らかにする目的で、まずヒロハセネガ (*Polygala senega* LINNÉ var. *latifolia* TORREY et GRAY) の配糖体成分の単離精製を行ない senegin II, senegin III, senegin IV と命名した3種の主サポニンを単離し、その組成および化学的諸性質を明らかにしたので報告する。

兵庫県産のヒロハセネガの乾燥根 (500 g) を熱メタノール (3 liter×3) で抽出して得たエキス (220 g; 収率 44%) を水に懸濁させ、ベンゼンで抽出し可溶部を分離した (16 g; 収率 3.2%)。次いで水層を水飽和 *n*-BuOH で3回抽出し、溶媒を減圧溜去すると淡黄色粉末 95 g (収率 19%) が得られた。この粗配糖体部を精製するためシリカゲルを担体としカラムクロマトグラフィーを行ない、水飽和 AcOEt に順次 MeOH を 5—100% 添加した溶剤を用いて溶出を行なった。各溶出フラクションの性状ならびに収率は Table I に示したとおりである。

Chart 1

TABLE I

Fraction	Yield (%)	Form	Main products
1	8.8	resin (brown)	
2	17.6	powder (pale yellow)	phenolic glycoside
3	5.0	powder (brown)	phenolic glycoside 1,5-anhydro-D-sorbitol
4	39.8	powder (yellow)	crude saponins

10% MeOH 溶出部 (Fr.2) をメタノールから再結晶して得られる柱状晶, mp 143.5—144° は分子式 $C_6H_{12}O_5$ で示され, 本田, 滝浦ら¹⁷⁾ が遠志 (*Polygala tenuifolia* WILLDENOW) から得た 1,5-anhydro-D-sorbitol に一致することを混融, 赤外線吸収スペクトル (IR) により確認した。

10—30% MeOH 溶出部 (Fr. 2—3) は Corner ら¹⁸⁾ により報告された $A_1, A_2, A_3, E_1, X_1, X_2$ と仮称される一群のケイヒ酸誘導体の配糖体混合物と考えられる。これら配糖体の構造は未詳であり著者らも今後検討を行なう予定である。

50—100% MeOH 溶出部 (Fr. 4) を減圧乾固して得られる粗サポニンは薄層クロマトグラフィー (TLC) で4スポットが検出され (Fig. 1), R_f の大なるスポットから senegin I, II, III, IV と命名した。

この粗サポニンを 1000 倍量の silicic acid を担体とし $CHCl_3$ -MeOH- H_2O (7:3:1, 下層) の溶媒を用いてカラムクロマトグラフィーを行ない、さらに精製単離した。後述のごとく senegin I—IV の紫外線吸収スペクトル

17) 滝浦 潔, 本田 進, 薬誌, **84**, 1223 (1964).

18) J.J. Corner, J.B. Harborne, S.G. Humphries, W.D. Ollis, *Phytochemistry*, **1**, 73 (1962).

Fig. 1

	TLC-I <i>R_f</i>	TLC-II <i>R_f</i>
Senegin I	0.22	0.075
Senegin II	0.18	0.063
Senegin III	0.14	0.042
Senegin IV	0.11	0.021

TLC-I: Kieselgel H *n*-BuOH-AcOH-H₂O (4:1:5 upper layer)

TLC-II: Kieselgel H treated with 3% oxalic acid CHCl₃-MeOH-H₂O (65:35:10 under layer)

ル (NMR) から 3,4-dimethoxycinnamic acid であり, 他方は CH₂N₂ でメチル化し dimethyl ester とし元素分析, IR などを検討した結果 presenegenin と推定し, いずれも標品と混融, IR の比較により確認した. 以上の結果 senegin II は presenegenin をゲニンとして rhamnose, fucose, xylose, galactose, glucose を糖部とし, これに 3,4-dimethoxycinnamic acid がエステル結合をしたサポニンであることが明らかとなった.

Senegin III は EtOH より再沈澱法により精製して得られる無色結晶性粉末で mp 247—248° (decomp.) C₆₉H₁₀₂O₃₁·4H₂O で示される. IR は 3500—3300 cm⁻¹ (水酸基), 1750, 1730 cm⁻¹ (エステル基), 1710 cm⁻¹ (カルボキシル基), 1635 cm⁻¹ (二重結合), 1610, 1515 cm⁻¹ (ベンゼン環) の吸収を示し, UV は 315 mμ に吸収極大を有する (Fig. 3). 蒸気圧法による分子量測定の結果 MeOH 中 1482 (C₆₉H₁₀₂O₃₁ の計算値, 1426) を

Fig. 2. Elution Curve of Chromatography

column: silicic acid
solvent: CHCl₃-MeOH-H₂O (7:3:1) lower layer

(UV) はいずれも 315 mμ 付近に吸収極大を有することが明らかとなったので各溶出分画の吸光度を 315 mμ で測定し, Fig. 2 に示す溶出曲線が得られた.

このクロマトグラフィーによる分離で 4 種の配糖体は 1:8:8:3 の重量比で含有されていることが明らかとなった.

Senegin I は収量が少いため詳細な組成については検討続行中であり後日報告する.

Senegin II は C₇₀H₁₀₄O₃₂·4H₂O, 無色針状晶 (*n*-BuOH-AcOH-H₂O (4:1:5 上層) より再結晶), mp 247—248° で IR は 3500—3300 cm⁻¹ (broad) に水酸基, 1750, 1730 cm⁻¹ にエステル基, 1710 cm⁻¹ にカルボキシル基, 1635 cm⁻¹ に二重結合, 1610, 1515 cm⁻¹ にベンゼン環の吸収がそれぞれ見られる. UV は 315 mμ に吸収極大がある (Fig. 3). また蒸気圧法による分子量測定値は MeOH 中 1383 (C₇₀H₁₀₄O₃₂ の計算値 1456) を示す.

Senegin II を 4N HCl-ジオキサン-ベンゼン (3:1:2) で 4 時間加熱還流後ベンゼン層を除去し, 水層をエーテルでよく洗い炭酸銀で中和後減圧濃縮して得た糖部を partition paper chromatography (PPC) および gas-liquid chromatography (GLC) により検討し, rhamnose, fucose, xylose, galactose, glucose を確認した. また senegin II を De Mayo の方法⁶⁾ に従って水性アルコール中 NaIO₄ で酸化後, 3N KOH で N₂ 気流中水浴上 1 時間加熱還流を行ない, 冷後反応液をエーテル抽出して得る分解生成物をシリカゲルおよび CHCl₃-AcOH (4:1) により TLC を行ない 2 物質を単離した. mp 182—183° の物質は IR ならびに核磁気共鳴スペクトル

Fig. 3. Absorption Spectra of Senegin

—: 4-methoxy cinnamic acid
- - - : 3,4-dimethoxy cinnamic acid
.....: senegin II - · - · : senegin III
——: senegin IV

示した。Senegin III の組成を前者と同条件で検討した結果, presenegenin, 4-methoxycinnamic acid および糖部として rhamnose, fucose, xylose, galactose, glucose を確認同定した。すなわち senegin III は presenegenin をゲニンとして, rhamnose, fucose, xylose, galactose, glucose を糖部とし, 4-methoxycinnamic acid とエステル結合をするサポニンであることが明らかとなった。

Senegin IV は EtOH から再沈澱法により精製して得られる無色結晶性粉末で mp 250° (decomp.), $C_{75}H_{112}O_{35} \cdot 4H_2O$ で示される。IR は senegin II および III に酷似し, 3500—3300 cm^{-1} (水酸基), 1750, 1730 cm^{-1} (エステル基), 1710 cm^{-1} (カルボキシル基), 1635 cm^{-1} (二重結合), 1610, 1515 cm^{-1} (ベンゼン環) の吸収が見られる。UV は 315 $m\mu$ に吸収極大を示す (Fig. 3)。本物質の組成を上記同一条件で検討した結果, presenegenin, 4-methoxycinnamic acid および rhamnose, fucose, xylose, galactose, glucose より成ることを確認し, GLC のピーク強度の相対比から rhamnose が senegin II および III より 1 分子多く結合していることが推定されているが詳細な定量を検討中である。すなわち senegin IV は presenegenin をゲニンとし 2 rhamnose, fucose, xylose, galactose, glucose を糖部とし, 4-methoxycinnamic acid がエステル結合しているサポニンであることが明らかとなった。

セネガおよび遠志は共にヒメハギ科に属する著名なサポニン生薬であるが, その有効成分であるサポニンについての知見はほとんど見るべきものがなかった。今回著者らは主サポニンの分離と定性について述べたが, その化学構造の研究は目下進行中であり, さらに単離成分の生理作用についても今後検討する予定である。

実 験 の 部

セネガ根の抽出および分画 兵庫県産のヒロハセネガの乾燥根 500 g を 3 liter の MeOH で加熱還流下に 3 回抽出し, 減圧濃縮して得たあめ状エキスを (220 g 44%) を水に懸濁させ, benzene で可溶部を分離する (16 g)。次いで, 水層を水飽和 *n*-BuOH で 3 回抽出し, 減圧下溶媒を留去し淡黄色粉末を得る (95 g 19%)。

粗配糖体のカラムクロマトグラフィーによる分画 a) BuOH エキスをシリカゲルを担体とし水飽和 AcOEt に MeOH 5—100% 順次加えた溶媒によりカラムクロマトグラフィーを行ない, 5% MeOH 添加部 Fr.1, 10% MeOH 添加部 Fr.2, 20—30% MeOH 添加部 Fr.3, 50% ないし 100% MeOH より回収される部 Fr.4 に分画した (Table I)。

1,5-Anhydro-D-sorbitol の確認 Fr.2 を MeOH より再結晶を行ない mp 143.5—144° の無色柱状晶を得た。Anal. Calcd. $C_6H_{12}O_5$: C, 43.90; H, 7.37. Found: C, 44.12; H, 7.24. 本物質は 1,5-anhydro-D-sorbitol の性状に一致するので滝浦教授より分与された標品と混融ならびに IR により同定した。

フェノール性配糖体 Fr.2 および Fr.3 から数種の $FeCl_3$ 陽性物質を分離した。これらを TLC (Kieselgel H, $CHCl_3$ -MeOH- H_2O 65:35:10 下層¹⁹⁾) で検索した結果, R_f 0.67 および R_f 0.25 に主スポットが検出され, R_f 0.67 のスポットは $FeCl_3$ で紫紅色を呈する。 R_f 0.25 のものは $FeCl_3$ で緑色を呈し, 4N HCl-dioxane-benzene (3:1:2) で 4 時間加熱還流下に加水分解を行ない, 冷後反応液を benzene で抽出し, benzene 加溶部より benzoic acid, 3,4-dimethoxycinnamic acid および 4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid が得られることを標品と混融, IR により同定確認した。水層より glucose が検出されたが, これらフェノール性配糖体はすでに Corner らにより A_1 , A_2 , A_3 , E_1 , X_1 , X_2 として組成が報告されている物質群に一致するものと思われ, 検討中である。

b) Fr.4 の分離精製—a) で分離された粗サポニン部 Fr.4 を TLC (Kiesel gel H, 3% 修酸処理 plate, $CHCl_3$ -MeOH- H_2O 65:35:10 下層で検索すると 4 個のスポットが確認され (Fig. 1)。 R_f の大なるものから senegin I, II, III, IV と命名した。この 4 種の配糖体を単離するために, Fr.4, 200 mg に対し silicic acid (Mallinckrodt 100 mesh) 200 g を担体として $CHCl_3$ -MeOH- H_2O (7:3:1 下層) の溶媒でカラムクロマトグラフィーを行ない, TLC による分離の判定と共に, 315 $m\mu$ における吸光度による溶出曲線を作成し分画を行なった (Fig. 2)。Senegin I, II, III, IV の収量は乾燥原料よりそれぞれ 0.37%, 2.4%, 2.4%, 1.1% であった。

Senegin II 無色針状晶 (*n*-BuOH-AcOH- H_2O 4:1:5 上層より) mp 247—248°, $[\alpha]_D^{20} -6.2^\circ$ ($c=2.0$ MeOH)。Anal. Calcd. $C_{70}H_{104}O_{32} \cdot 4H_2O$: C, 54.89; H, 7.37. Found: C, 54.71; H, 7.38; Mol. wt. (Hitachi Perkin-Elmer Model 115 (蒸気圧方式分子量測定装置) MeOH 中測定)。1383 ($C_{70}H_{104}O_{32}$ の計質値 1456) IR $\nu_{max}^{Nujol} cm^{-1}$ 3500—3300 (OH), 1750, 1730 (COOR), 1710 (COOH), 1635 (C=C), 1610, 1515 (benzenoid)。UV $\lambda_{max}^{EtOH} m\mu$ (log ϵ) 317 (4.28)。

Senegin III 無色結晶性粉末 (EtOH より再沈殿) mp 247—248° (decomp.) $[\alpha]_D^{20} -6.6^\circ$ ($c=2$, MeOH)。Anal. Calcd. $C_{69}H_{102}O_{31} \cdot 4H_2O$: C, 55.26; H, 7.39. Found: C, 55.53; H, 7.10; Mol. wt., 1482 ($C_{69}H_{102}O_{31}$ の計質値 1426)。IR $\nu_{max}^{Nujol} cm^{-1}$: 3500—3300 (OH), 1750, 1730 (COOR), 1710 (COOH), 1635 (C=C), 1610, 1515 (benzenoid)。

19) T. Kawasaki, K. Miyahara, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 11, 1546 (1963)。

UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 315(4.30).

Senegin IV 無色結晶性粉末 (EtOH より再沈殿), mp 249—250° (decomp.) [α]_D²⁰ -20.2° ($c=2$ MeOH). *Anal.* Calcd. C₇₅H₁₁₂O₃₅·4H₂O: C, 54.93; H, 7.31. Found: C, 54.92; H, 7.14. IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3500—3300 (OH), 1750, 1730 (COOR), 1710 (COOH), 1635 (C=C), 1610, 1515 (benzenoid). UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 315 (4.30).

Senegin II, III および IV の加水分解 i) Presenegenin の確認——Senegin II, III および IV 500 mg をそれぞれ MeOH-EtOH-H₂O (2:0.3:1) 333.3 ml に溶解し, NaIO₄ 2 g を加え暗所で3日間攪拌, 反応終了後ろ過し, EtOH を減圧留去し, 水を少量添加して *n*-BuOH で抽出し, 溶媒を減圧濃縮して無色粉末 450—500 mg を得た. この粉末を H₂O-EtOH-MeOH (35:5:10) 50 ml の混液に溶解し, これに KOH 2.5 g を加え, N₂ 気流中加熱還流下に1時間加水分解した後, 反応液を減圧濃縮し, 水で希釈し, 次いで dil. H₂SO₄ で pH 4.2 付近に調整し, ether で抽出 ether 層は芒硝で乾燥後溶媒を留去し, 残渣をそれぞれ Kieselgel H (0.5 mm) の preparative TLC (CHCl₃-AcOH 3:1) により分離を行なった. Senegin II より 3,4-dimethoxycinnamic acid (mp 182°) 40 mg, senegin III, IV より 4-methoxycinnamic acid (mp 170—171°) 約 25 mg が得られた. また3者共 presenegenin が得られ, ether 中 CH₂N₂ で presenegenin dimethyl ester に誘導し, 結晶として 12—16 mg を得, TLC, IR スペクトル, 混融により標品と同定した.

ii) Presenegenin Dimethyl Ester——稜柱状晶 (EtOH より) mp 216—217°. *Anal.* Calcd. C₃₂H₅₀O₇: C, 70.30; H, 9.22. Found: C, 70.20; H, 9.25. IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3500—3300 (OH), 1725, 1250, 1050 (COOR).

iii) 4-Methoxycinnamic Acid——無色針状晶 (H₂O より), mp 170—171°. IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 1690 (COOH), 1630 (C=C), 1600, 1520 (benzenoid). NMR²⁰⁾ (in CDCl₃) δ : 3.70 (3H, singlet, OCH₃), 6.28 (1H, doublet, $J=15$ cps,

-C=CH-CO), 6.75 $\left(2\text{H, doublet, } J=7 \text{ cps } \text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}-\right)$, 7.34 $\left(2\text{H, doublet, } J=7 \text{ cps, } -\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}-\right)$, 7.58

(1H, doublet, $J=15$ cps, C₆H₅-CH=C-), 9.00 (1H, singlet, -COOH).

iv) 3,4-Dimethoxycinnamic Acid——無色針状晶 (H₂O より) mp 182—183°, IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 1685 (COOH), 1630 (C=C), 1595, 1515 (benzenoid). NMR (in CDCl₃) δ : 3.90 (6H, singlet, OCH₃×2), 6.24 (1H, doublet, $J=$

16 cps, -C=CH-CO), 6.82 $\left(1\text{H, doublet, } J=1.4 \text{ cps, } -\text{O}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{O})-\text{C}-\right)$, 7.02 $\left(1\text{H, singlet, } -\text{O}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{O})-\text{C}-\right)$, 7.70

(1H, doublet, $J=16$ cps, C₆H₅-CH=C-) 9.80 (1H, singlet, -COOH).

v) Senegin-II, III および IV の糖部——試料を 4N HCl-dioxane-benzene (3:1:2) で4時間加熱還流下に加水分解後, 反応液の benzene を除去, 水層を ether で洗滌後, Ag₂CO₃ で中和し減圧濃縮した. 各試料の濃縮物を PPC および GLC により検討した.

a) PPC: 東洋濾紙 No. 51, iso-BuOH-EtOH-H₂O (5:1:4 上層) *Rf*: 0.13 (galactose), 0.18 (glucose), 0.28 (xylose), 0.32 (fucose), 0.43 (rhamnose). 呈色試薬: aniline hydrogen phthalate.

b) GLC: Hitachi K53 column 5% SE-52 (on chromosorb W), 6 mm×2 m, column temp., 150°, injection temp., 230°, carrier gas N₂ 31.5 ml/min 検体はいずれも常法²¹⁾により trimethylsilyl ether として測定. *t_R* (min): 4.8, 6.5 (α,β -rhamnose), 5.9, 7.1 (α,β -fucose), 7.1, 9.0 (α,β -xylose), 12.3, 14.5, 17.9 (γ,α,β -galactose), 16.8, 26.8 (α,β -glucose).

謝辞 終りに本研究に際し, 貴重な標品を分与されました大阪大学 滝浦 潔教授, 吉岡一郎教授, 北川 勲助教授に深謝致します. また元素分析をして下さった本学中央分析室の方々に深謝致します.

20) NMR スペクトルはテトラメチルシランを内部標準とし, 日立 R-20 型高分解能 NMR 装置で測定.

21) G. Wulf, *J. Chromatography*, **18**, 285 (1965).