〔薬 学 雑 誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
94 (12) 1634—1638 (1974)

UDC 547.91.02.05 : 581.192

ホツツジ *Tripetaleia paniculata* SIEB. et ZUCC. の成分研究 (第 5 報¹⁾)
花の成分と材の成分 (その 3) について²⁾

安江政一, 榊原仁作, 伊奈郊二, 柳澤いく子
名古屋市立大学薬学部³⁾

Studies on the Constituents of *Tripetaleia paniculata* SIEB. et ZUCC. V.¹⁾ On
the Constituents of the Flowers and of the Wood. (3)²⁾

MASAITI YASUE, JINSAKU SAKAKIBARA, HIROJI INA and IKUKO YANAGISAWA
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University³⁾

(Received May 2, 1974)

The flowers of *Tripetaleia paniculata* were extracted with methanol and the extract was treated (Chart 1). Compounds detected are higher aliphatic saturated hydrocarbons, ester, alcohols, epifriedelinol, β -sitosterol, ursolic acid, oleanolic acid, maslinic acid, β -sitosteryl β -D-glucoside, quercetin, avicularin, hyperoside, 6-hydroxy-7-methoxycoumarin, monotropein, arabinose, xylose, glucose, sucrose, and toxic diterpene, rhodojaponin-III.

From the wood extract of the same plant were detected hydrocarbons, esters, taraxerol, taraxeryl acetate, friedelin, epifriedelinol, β -sitosterol, ursolic acid, oleanolic acid, acetyl-oleanolic acid, 3-O-(*p*-hydroxy-*trans*-cinnamoyl)-ursolic acid, β -sitosteryl β -D-glucoside, monotropein, monotropein methyl ester, lyonisidem, and 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone.

蜂蜜中毒とホツツジの関係を明らかにする目的で本研究を開始し, すでに葉から有毒物質 rhodojaponin-III を検出するとともに葉および材から数種の化合物を単離報告した.^{1,4,5)} 今回花の成分を検索して rhodojaponin-III の存在を証明するとともに数種の化合物を同定した. また材の成分については再検索を行ない, 先に報告した物質の他に新たに 5 種の化合物を単離したので以上合せて報告する.

花の抽出は Chart 1 にしたがった. 各画分はシリカゲル (SiO₂) カラムクロマトグラフィーまたは活性炭カラムクロマトグラフィーによって分離し, 画分 [1] からはイリドイド配糖体の monotropein を得た. このものは画分 [5] および [7] の水層からも得られた. 画分 [2] から ursolic acid と oleanolic acid のほぼ等量混合物, maslinic acid および β -sitosteryl β -D-glucoside, 画分 [3] からは高位直鎖飽和炭化水素,

I

Fig. 1

エステル, アルコール, さらに epifriedelinol および β -sitosterol, 画分 [4] からフラボノイドとして quercetin, avicularin, hyperoside を単離した. 有毒物質を含むと予想される画分 [6] のカラムクロマトで最初に溶離する部分からは mp 184—186° の無色針状晶を得, マススペクトル (MS) と種々のスペクトルデータから 6-hydroxy-7-methoxycoumarin (I) と推定し, esculin, (7-hydroxycoumarin-6-O-glucoside) から誘導した標品と混融, 赤外線吸収 (IR) スペクトルを比較, 同定した. 続いて溶離する部分から有毒 diterpenoid, rhodojaponin-III (II) を

1) 第 4 報: 榊原仁作, 伊奈郊二, 安江政一, 薬誌, 94, 1377 (1974).

2) 日本薬学会第 94 年会, 仙台, 1974 年 4 月講演.

3) Location: Tanabe-dori, Mizoho-ku, Nagoya.

4) 安江政一, 榊原仁作, 伊奈郊二, 薬誌, 91, 1252 (1971).

5) 安江政一, 榊原仁作, 伊奈郊二, 薬誌, 93, 687 (1973).

を得た。画分 [B] からは高位直鎖飽和炭化水素、エステル、friedelin, epifriedelinol のほか、新たに taraxeryl acetate を得た。画分 [C] では monotropein およびその methylester を確認した。水層 [D] からは lyoniside を得、その母液からは 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone を単離した。

実 験 の 部

融点はすべて微量融点測定装置 (Yanaco) によって測定した未補正值である。旋光度は OR-10 spectrometer (Yanaco), 紫外線吸収スペクトル (UV) は EPS-3T spectrometer (Hitachi), IR は EPI-G3 (Hitachi), MS は RMU-6E および RMU-7L (Hitachi), 核磁気共鳴 (NMR) スペクトルは JNM-MH-100 および JNM-4H-100 (Jeol) を用いて測定した。NMR は tetramethylsilane を内部基準とし、記載は次の略号によった。s=singlet, d=doublet, t=triplet, q=quartet, m=multiplet, br=broad. ガスクロマトグラフィー (GLC) は JGC-1100 (Jeol) を用い、carrier gas は N_2 , detector は hydrogen flame ionization detector を用いて測定した。

ホツツジ花の抽出 1972 年 8 月長野県で採集したホツツジの乾燥花 2.4 kg を MeOH で熱浸し 2 liters に濃縮、放置しておくで結晶性沈殿 [1] と微細沈殿を生ずる。母液に同量の水を加えて生じる沈殿を濾取し、微細沈殿とともに hexane に懸濁して hexane 不溶部 [2] 28.5 g と hexane 可溶部 [3] 17.5 g を得る。濾液は Pb-(OH)OAc の 50% MeOH 溶液を加えて沈殿および濾液とした。

Monotropein 前記沈殿 [1] を dil. acetone から再結晶。無色針状晶。2.0 g. mp 158.5—160°. *Anal.* Calcd. $C_{16}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$: C, 47.06; H, 5.92. Found: C, 46.83; H, 5.68. Monotropein の標品⁴⁾ と混融、IR において一致。

Hexane 不溶部の分離 画分 [2] 28.5 g を SiO_2 カラムにかけ C_6H_6 ·EtOAc (8:1) 溶出部より ursolic acid および oleanolic acid, C_6H_6 ·EtOAc (1:1) 溶出部より maslinic acid, EtOAc 溶出部より β -sitosterol β -D-glucoside を得た。

Ursolic Acid および Oleanolic Acid 8.9 g の粗結晶を EtOH から再結晶、無色針状晶。Ursolic acid と IR 一致。粗結晶を CH_2N_2 で methyl ester として GLC⁶⁾ を行なったところ約 42.5% の oleanolic acid (t_R = 35.6 min) と約 57.5% の ursolic acid (t_R = 39.6 min) の混合物であった。

Maslinic Acid 粗結晶 320 mg を得た。IR は maslinic acid に一致。遊離のものは精製困難なため常法によりアセチル化、hexane より再結晶。無色針状晶。mp 231—233°. Diacetylmassinic acid の標品と混融、IR の比較で一致。

β -Sitosteryl β -D-Glucoside 活性炭カラムを通して精製後 MeOH から再結晶。無色板状晶。270 mg. mp 284—286° (decomp.). 常法によりアセチル化、MeOH より再結晶、無色針状晶、mp 172—174°. β -Sitosteryl β -D-glucoside の acetate と、IR、混融一致。

Hexane 可溶部の分離 画分 [3] を SiO_2 カラムクロマトにかけ、hexane 溶出部より炭化水素類、hexane- C_6H_6 (10:1) 溶出部よりエステル、同じく hexane- C_6H_6 (1:1) 溶出部からは epifriedelinol とアルコール類、 C_6H_6 溶出部より β -sitosterol を分離した。

Hydrocarbons Hexane から再結晶。無色板状晶、145 mg. mp 52—61°. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 720, 730. GLC⁷⁾ (standard $C_{28}H_{58}$) retention time (t_R) min (面積強度よりの概算 %, 炭素数 n): 4.2 (0.78%, $n=23$), 5.3 (0.26%, $n=24$), 6.7 (3.47%, $n=25$), 8.2 (0.61%, $n=26$), 10.0 (6.77%, $n=27$), 12.0 (2.87%, $n=28$), 14.8 (43.4%, $n=29$), 16.6 (5.56%, $n=30$), 19.2 (28.73%, $n=31$), 21.0 (0.52%, $n=32$), 23.0 (4.77%, $n=33$), 25.8 (—%, $n=34$), 27.5 (0.69%, $n=35$).

Esters Hexane-acetone 混液から再結晶、無色板状晶、40 mg. mp 80—85°. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 1733, 728, 718. ホツツジ材から得られた高級脂肪酸と高級アルコールのエステル⁵⁾ に IR が一致。

Epifriedelinol C_6H_6 から再結晶、無色針状晶、7 mg, mp 279—282°. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3420. Epifriedelinol の標品と IR、混融一致。

Alcohols C_6H_6 -MeOH 混液から再結晶、白色無晶型粉末、122 mg, 液化点 81.5—84°. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3500—3300, 730, 720. 常法によりアセチル化し、MeOH より再結晶、無色板状晶、mp 69—71°. 粗アセチル化物の GLC⁸⁾ (standard $C_{24}H_{49}OAc$) t_R (面積強度からの概算 %, 炭素数 n): 12.6 (2.0%, $n=28$), 14.8 (0.7%, $n=29$), 16.2 (12.5%, $n=30$), 18.8 (5.6%, $n=31$), 21.0 (50.4%, $n=32$), 23.4 (4.5%, $n=33$), 25.6 (22.1%, $n=34$), 28.0 (0.3%, $n=35$), 30.2 (1.9%, $n=36$).

β -Sitosterol Acetone から再結晶、無色板状晶、130 mg, mp 143—145°. β -Sitosterol の標品と IR、混融一致。粗結晶の GLC⁹⁾ を行なうと約 5.3% の stigmasteryl (t_R : 33.2 min) を含むことがわかった。

6) column: 3% SE-52 on 60—80 mesh Chromosorb-W, temp: 270°.

7) column: 10% SE-30 on 60—80 mesh Chromosorb-W, temp: 200°—275° (program rate 2°/min).

8) column: 10% SE-30 on 60—80 mesh Chromosorb-W, temp: 210°—275° (program rate 2°/min).

9) column: 3% SE-52 on 60—80 mesh Chromosorb-W, temp: 220°.

塩基性酢酸鉛沈殿部の処理 Pb(OH)OAc 沈殿部を H₂S で脱鉛, 減圧濃縮後 EtOAc 抽出し, EtOAc 層 [4] 10.2 g を SiO₂ カラム, 水層 [5] を活性炭カラムに付した。

Quercetin 画分 [4] の SiO₂ カラムで C₆H₆-EtOAc (2:1) 溶出部を C₆H₆-EtOAc から再結晶, 黄色針状晶. 40 mg, mp >300°. IR は quercetin に一致. 常法によりアセチル化, EtOH から再結晶, 無色針状晶, mp 191—194°. Quercetin pentaacetate と IR, 混融一致。

Avicularin C₆H₆·EtOAc (1:2) 溶出部を dil. MeOH から再結晶, 淡黄色針状晶. 1.18 g. mp 223°. TLC は avicularin に一致. Anal. Calcd. C₂₀H₁₈O₁₁·H₂O: C, 53.10; H, 4.46. Found: C, 53.14; H, 4.27. $[\alpha]_D^{25}$ -178° (c=0.002, EtOH). IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400—3100, 1650, 1605, 1550, 1505, 1065, 1040. NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{CDCl}_3}$: 3.6—4.3 (sugar protons), 5.38 (1H, s, anomeric H), 6.27, 6.40 (each 1H, d, J=2.0 Hz, C₆-, C₈-H), 6.95 (1H, d, J=8.0 Hz, C₅'-H), 7.5 (2H, m, C₂'-, C₆'-H). UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm: 265 (ε: 12300), 372 (ε: 10200). 粗結晶を 5% H₂SO₄ (in MeOH) で加水分解し, 水を加えて生じた沈殿から quercetin を確認, 母液を Amberlite CG-400 のカラムを通して中和後, TMS 化して GLC¹⁰⁾ を行ない arabinose の標品に一致した。

Hyperoside EtOAc 溶出部を dil. MeOH から再結晶, 黄色針状晶, 136 mg. mp 236—237°. Anal. Calcd. C₂₁H₂₀O₁₂·H₂O: C, 52.28; H, 5.56. Found: C, 52.16; H, 4.72. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3450—3100, 1655, 1605, 1555, 1505. NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{CDCl}_3}$: 3.3—4.0 (sugar H), 5.18 (1H, d, J=8.0 Hz, anomeric H), 6.18, 6.35 (each 1H, d, J=2.0 Hz, C₆-, C₈-H), 6.80 (1H, d, J=9.0 Hz, C₅'-H), 7.59—7.60 (2H, m, C₂'-, C₆'-H). $[\alpha]_D^{25}$ -45° (c=0.0024, C₅H₅N+EtOH). UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm: 262 (ε: 13600), 370 (ε: 10600). 混融, IR の比較で hyperoside と同定した. Avicularin の場合と同様にして加水分解し, quercetin と galactose を確認. 糖はさらに TMS 化による GLC¹⁰⁾ で標品と同定した。

水層 [5] の処理 水層を活性炭カラムクロマトに付し, H₂O 溶出部より GLC¹⁰⁾ によって arabinose, xylose, glucose, sucrose を確認し, 50% MeOH 溶出部より monotropein 705 mg を得た。

塩基性酢酸鉛不沈部の処理 Pb(OH)OAc 沈殿部を除いた母液を H₂S にて脱鉛, 濃縮後, CHCl₃ 抽出し CHCl₃ 層 [6] 4.0 g を SiO₂ カラム, 水層 [7] を活性炭カラムで分離した。

6-Hydroxy-7-methoxycoumarin (I) 画分 [6] の SiO₂ カラムで C₆H₆-EtOAc (5:1) で溶出する部分を C₆H₆ より再結晶, 無色針状晶. 11 mg. mp 184—186°. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3500—3300, 1700, 1620, 1552. NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{CDCl}_3}$: 3.91 (3H, s, C₇-OCH₃), 6.14 (1H, d, J=10.0 Hz, C₄-H), 6.78, 6.91 (each 1H, s, C₅-, C₈-H), 7.61 (1H, d, J=10.0 Hz, C₃-H). Mass Spectrum *m/e*: 192 (M⁺). Esculin (7-hydroxycoumarin-6-O-glucoside) より導いた標品と IR, 混融一致。

Esculin より 6-Hydroxy-7-methoxycoumarin の誘導¹¹⁾ Esculin (市販) 0.5 g を 5 ml の MeOH および 3 ml の 0.5N MeOH 性 KOH に溶解し, CH₃I の 20% MeOH 溶液 2.1 ml を加え, N₂ 気流中で 5.5 hr 還流, 冷後得られる沈殿を 10% H₂SO₄-MeOH 混液中 2 hr 還流, 冷後水を加え, MeOH を減圧留去, 白色沈殿を浮取, C₆H₆ より再結晶. mp 184—186°. Anal. Calcd. C₁₀H₈O₄: C, 62.50; H, 4.20. Found: C, 62.79; H, 4.26.

Rhodojaponin-III (II) 画分 [6] の SiO₂ カラムで C₆H₆-EtOAc (1:1) 溶出部を preparative TLC にて精製, EtOAc から再結晶, 無色針状晶 15 mg, mp 283—286.5°. Rhodojaponin-III の標品と IR, 混融一致。

水層 [7] の処理 水層 [7] の活性炭クロマトグラフィーにより monotropein 2.54 g を得た。

ホツツジ材の抽出 1970 年 5 月中旬, 犬山市で採集したホツツジの乾燥材¹²⁾ 70 kg を MeOH で熱浸し, 浸液を 8 liters に濃縮, 同量の水を加えて可溶部と不溶部に分けた. 不溶部は C₆H₆ を加えて残渣を除き, C₆H₆ 溶液を 500 ml に濃縮したもの約 15 liters の hexane を加えて不溶部 [A] 376 g と可溶部 [B] 380 g を得た. 水可溶部は濃縮し acetone を加えて残渣を除き, acetone 溶液を 1 liter に濃縮し, さらに約 15 liters の EtOAc を加えて不溶部 [C] 365 g と可溶部に分けた. この可溶部を水で抽出, 水層 [D] を濃縮して lyoniside¹⁾ 36.5 g を得た。

Hexane 不溶部 [A] のクロマトグラフィーによる分離 画分 [A] 376 g を SiO₂ カラムクロマトグラフィーに付して C₆H₆-EtOAc (20:1) 混液に溶出する部分から betulinic acid, 3-O-(*p*-hydroxy-*trans*-cinnamoyl)-ursolic acid, C₆H₆-EtOAc (10:1) 溶出部から ursolic acid および oleanolic acid,⁵⁾ C₆H₆-EtOAc (1:5) 溶出部から β-sitosteroyl β-D-glucoside¹⁾ を得た。

Taraxerol 画分 [A] の SiO₂ カラムクロマトグラフィーにおいて C₆H₆ で溶出する部分 9.0 g を SiO₂ で再クロマトを行ない, hexane-C₆H₆ (5:1) 溶出部分を C₆H₆ から再結晶, 無色プリズム状晶. 285 mg, mp 281—282° (文献値¹²⁾ mp 277—278°). Taraxerol 標品と混融, IR を比較同定した. 常法によりアセチル化, hexane から再結晶, 無色針状晶, mp 289—291°. Anal. Calcd. C₃₂H₅₂O₂ (taraxeryl acetate): C, 81.99; H, 11.18. Found: C, 81.84; H, 11.24.

Acetyloleanolic Acid 前項の SiO₂ カラムクロマトにおいて hexane-C₆H₆ (1:1) 混液溶出部分から β-sitosterol を得. つぎに C₆H₆ で溶出する部分を MeOH から再結晶, 無色針状晶. 338 mg, mp 255—258° 文献。

10) column: 3% SE-52 on 60—80 mesh Chromosorb-W, temp: 100°→200° (program rate 2°/min).

11) K.W. Merz, *Arch. Pharm.*, 270, 476 (1932).

12) 安江政一, 河村典久, 加藤 武, 薬誌, 87, 732 (1967).

値¹³⁾ mp 257—258°). *Anal.* Calcd. $C_{32}H_{50}O_4$ (acetyloleanolic acid): C, 77.06; H, 10.11. Found: C, 76.86; H, 9.99. 標品と混融, IR の比較で一致した. 本品 50 mg を MeOH, 5% KOH 混液中で 2 hr 還流, 冷後 EtOAc で抽出, 水洗, 乾燥, 溶媒を留去し, 残渣を CH_2N_2 でメチル化, GLC⁶⁾ で標品の methyl oleanolate と一致する単一ピークを示した.

Hexane 可溶部 [B] のクロマトグラフィーによる分離 画分 [B] 380 g の SiO_2 カラムクロマトグラフィーを行ない, hexane 溶出部分から炭化水素, エステル, hexane- C_6H_6 (8:1) 混液で溶出する画分から friedelin を, hexane- C_6H_5 (5:1) 混液で溶出する部分から epifriedelinol を得た.⁵⁾

Taraxeryl Acetate 画分 [B] のクロマトグラフィーにおいて hexane でエステルに続いて溶出する部分 2.1 g の再クロマトを行ない, hexane 溶出部分を hexane から再結晶, 無色針状晶, 256 mg を得た. mp 289—291° (文献値¹²⁾ mp 287—291°). *Anal.* Calcd. $C_{32}H_{52}O_2$: C, 81.99; H, 11.18. Found: C, 81.72; H, 11.03. 標品と混融, IR を比較して一致した.

酢酸エチル不溶部 [C] のクロマトグラフィーによる分離 画分 [C] 365 g を 500 ml の MeOH に溶解したものに約 15 liters の水を加えて残渣を除き, 得られた水層をそのまま活性炭のカラムで分離し, 0—30% MeOH 溶出部分から monotropein, 40—60% MeOH 溶出部分から monotropein methylester を得た.¹⁾

2,6-Dimethoxy-*p*-benzoquinone 水層 [D] から lyoniside を得たあとの母液濃縮物 315 g を SiO_2 カラムで分離し, C_6H_6 -EtOAc (3:1) 溶出部分を $CHCl_3$ から再結晶. 黄色針状晶 615 mg, mp 252—253° 熔閉毛管中). IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ cm^{-1} : 1698, 1645, 1598. UV λ_{max}^{EtOH} nm: 287 (ϵ : 10100), 372 (ϵ : 2400). *Anal.* Calcd. $C_8H_8O_4$: C, 57.14; H, 4.80. Found: C, 57.37; H, 4.56. 混融 IR の比較で標品と一致.

謝辞 本研究における実験の一部は伊藤光男, 橋本正通両氏に協力して頂いた. 元素分析は本学総合機器分析施設の方々に施行して頂いた. 東京薬科大学 藤田路一博士には貴重な avicularin の標品を分与して頂いた. NMR 測定の一部は東京理科大学薬学部 梅澤文輔博士の, MS 測定は千葉大学薬学部 石井 永博士, 東京薬科大学 飯田英夫博士の御厚意によった. 以上に対して厚く感謝いたします.

13) 安江政一, 榊原仁作, 貝谷トヨ, 薬誌, 90, 1174 (1970).