花の成分研究 (第 5 報¹⁾) 葛花の成分について
その 2²⁾ 新イソフラボン配糖体の単離

栗原藤三郎, 菊地正雄

東北薬科大学³⁾

Studies on the Constituents of Flowers. V.¹⁾ On the Components of Flower of
Pueraria thunbergiana BENTH. (2).²⁾ Isolation of a
New Isoflavone Glycoside

TOZABURO KURIHARA and MASAO KIKUCHI

Tohoku College of Pharmacy³⁾

(Received February 24, 1975)

A new isoflavone glycoside, kakkalide, was isolated from the methanol extract of fresh flower of *Pueraria thunbergiana* BENTH., and its chemical structure was determined as irisolidone-7- β -D-xylopyranosyl-6-O- β -D-glucopyranoside.

著者らは先にクズ *Pueraria thunbergiana* BENTH. の花の花香成分および irisolidone, genistein, daidzein, quercetin などのフラボノイドについて報告したが, その後さらに配糖体について検討し, 新イソフラボン配糖体を単離し kakkalide と命名し, その構造を推定し得たのでここに報告する。

クズの花の配糖体については久保ら⁴⁾ が乾燥物から新化合物として irisolidone-7-D-glucoside⁵⁾ を分離報告しているが, 新鮮な花にはこの物質の量は少なく irisolidone の大部分は著者らの見出した kakkalide として存在していることを確認した。

新鮮なクズの花 4 kg を採集直後, MeOH に浸漬し, MeOH 抽出溶液を濃縮後析出する結晶を濾取し, 含水アルコールから再結晶し無色針状晶 mp 253°, $C_{28}H_{32}O_{15} \cdot 4H_2O$ [I] を 0.34% (13.6 g) の高収率で得た。

I は塩化第二鉄反応は陽性であるが, 塩酸-マグネシウム反応は陰性である。

I を完全加水分解して得られた非糖部は混融, 赤外線吸収スペクトル (IR と略す), 紫外線吸収スペクトル (UV と略す), 薄層クロマトグラフィー (TLC と略す) で同定し irisolidone に一致した。糖部を濾紙クロマトグラフィー (PPC と略す) およびトリメチルシリル (TMS と略す) 化体のガスクロマトグラフィー (GLC と略す) で検索し D-glucose と D-xylose であることを確認した。

I を部分加水分解すると部分分解物 mp 238° $C_{23}H_{24}O_{11} \cdot 2H_2O$ [II] を得る。また糖部を PPC および TMS 化体の GLC で検討すると D-xylose であることが確認された。II をさらに加水分解すると非糖部は irisolidone に一致し, 糖部は D-glucose に一致した。

I の UV は 270 m μ に極大吸収を示し, 酢酸ナトリウム添加では全く変化が認められないが, 塩化アルミニウムを添加すると 12 m μ の深色移動が認められ, 糖の結合位置は irisolidone の 7 位で glycoside 型の結合をしていることを示唆している。

つぎに 2 個の糖の結合型式を検討した。I を完全メチル化したのち, メタノーリシスを行ない, GLC で 2,3,4-tri-O-methyl-D-xylose と 2,3,4-tri-O-methyl-D-glucose を確認した。II からは同様にして 2,3,4,6-tetra-O-methyl-D-glucose を確認した。したがって D-xylose と D-glucose は 1—6 結合をしていて, D-glucose の 1

1) 第 4 報: 栗原藤三郎, 菊地正雄, 薬誌, 95, 1098 (1975)。

2) 栗原藤三郎, 菊地正雄, 薬誌, 93, 1201 (1973)。

3) Location: Komatsushima, Sendai.

4) M. Kubo, K. Fujita, *Phytochemistry*, 1973, 2547.

5) 部分加水分解物 irisolidone-7-O- β -D-glucopyranoside (kakkalidone と命名) に一致する。

Fig. 1

位の水酸基が irisolidone の 7 位の水酸基とエーテル結合していることが知られる。また、I の完全メチル化物の核磁気共鳴 (NMR と略す) から glucose の anomeric proton のシグナルは 4.87 ppm に doublet ($J=7.5$ Hz) として認められるから glucose の結合様式は β 位であり, xylose の anomeric proton のシグナルは 4.22

ppm に doublet ($J=7.5$ Hz) として認められたので xylose の結合も β 位であることが証明できた^{6,7)}。さらに I を β -glucosidase で酵素分解すると D-xylose, D-glucose および irisolidone が得られ, α -glucosidase では何ら変化をうけなかったの、この事実からも xylose, glucose の結合様式は β 位であることが支持される。

以上の結果から I は irisolidone-7- β -D-xylopyranosyl-6-O- β -D-glucopyranoside であると結論されるので、本化合物を新たに kakkalide と命名した。

次に新鮮な花について irisolidone, irisolidone-7-D-glucoside の検索を行なったところ、エーテル抽出で多量に得られた irisolidone や乾燥した花から多量に得られると報告されている irisolidone-7-D-glucoside の含量は僅少であった。これはおそらく新鮮な植物を直接にエーテル抽出すると、抽出段階において配糖体が酵素分解を受け、糖 2 分子を放って irisolidone に変じ、また乾燥する際には D-xylose だけが特異的に酵素分解を受けるためと考えられる。なお、kakkalide 以外の配糖体については目下検討中である。

実験の部

融点はすべて未補正。TLC: Plate; Silica Gel, Solvent System; CHCl_3 -MeOH- H_2O (30:10:1 v/v/v), Coloring Reagent; FeCl_3 , conc. H_2SO_4 . PPC: Paper; Toyo Roshi Paper No. 51, Solvent System; BuOH-AcOH- H_2O (4:1:2 v/v/v), Coloring Reagent; Aniline Phthalate. GLC-1: Model; Shimadzu GC-6A. Column; 3% Silicone SE-52 on Chromosorb W(AW) (60—80 mesh), 3 mm $\times$ 2 m, Glass. Column Temp.; 200°. Carrier Gas; N_2 . Flow Rate; 1.0 kg/cm². H_2 Flow Rate; 0.5 kg/cm². Air Flow Rate; 1.0 kg/cm². Detector; FID. Injection Temp.; 250°. GLC-2: Model; Shimadzu GC-6A. Column; 10% 1,4-Butandiol Succinate on Shimalite W (60—80 mesh), 3 mm $\times$ 2 m, Glass. Column Temp.; 170°. Carrier Gas; N_2 . Flow Rate; 1.0 kg/cm². H_2 Flow Rate; 0.5 kg/cm². Air Flow Rate; 1.0 kg/cm². Detector; FID. Injection Temp.; 210°.

Kakkalide I の単離 1974 年 9 月上旬、仙台市近郊で採集したクズの花 4 kg を採集直後 20 liter の MeOH に浸漬し、数日間放置し抽出。数回くり返し、全抽出液を約 1 liter まで減圧濃縮し析出する結晶を回収。 H_2O -EtOH (8:2 v/v) で数回再結晶し、無色針状晶 13.6 g を得。mp 253°. FeCl_3 反応: +. Mg-HCl 反応: -。 $[\alpha]_D^{25} -31^\circ$ ($c=1.0$, pyridine). Anal. Calcd. $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{15} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: C, 49.41; H, 5.92. Found: C, 49.63; H, 6.11. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3500, 3350, 3200 (OH), 1650 (C=O), 1605, 1580, 1510 (フェニル). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 270 (4.18); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}+\text{AlCl}_3}$ m μ : 282; $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}+\text{NaOAc}}$ m μ : 270.

完全加水分解反応 I の 150 mg を 28 ml の EtOH に溶解し、2N- H_2SO_4 84 ml を加え水浴上で 2 時間還流。冷後析出する針状結晶を回収し MeOH で再結晶。62 mg を得。mp 189—190°. FeCl_3 反応: +. Mg-HCl 反応: -。 Anal. Calcd. $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$: C, 64.96; H, 4.49. Found: C, 64.85; H, 4.52. 本品は irisolidone と混融し融点降下を示さず、IR, UV, TLC ($R_f=0.86$) で同定し一致。Diacetate は標品と混融し融点降下を示さず、NMR は標品のスペクトルに一致。

母液を BaCO_3 で中和し過。母液を減圧濃縮しシロップ状物質を得。PPC: $R_{f1}=0.18$, $R_{f2}=0.25$. R_{f1} は D-glucose, R_{f2} は D-xylose の R_f 値に一致し、呈色も一致。GLC-1⁸⁾ (TMS 誘導体) min: $t_{R1}=3.7$ (w), 5.0 (s), 5.9 (s); $t_{R2}=7.9$ (w), 9.5 (s), 13.2 (s). t_{R1} は D-xylose から導いた標品⁹⁾ と、 t_{R2} は D-glucose から導いた標品⁹⁾ と一致。

部分加水分解反応 I の 200 mg を 25 ml の EtOH に溶解し、2% H_2SO_4 25 ml を加え 60 分間水浴上で加温。反応後少量の水を加え EtOH を減圧下に留去。析出する結晶を回収し、TLC でカキ取り分離 ($R_f=0.67$). H_2O -EtOH (8:2 v/v) で再結晶し無色針状晶 (II) 30 mg を得。mp 238°. FeCl_3 反応: +. Mg-HCl 反応: -。 Anal. Calcd. $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_{11} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 53.90; H, 5.51. Found: C, 53.97, H, 5.29. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 270

6) R.U. Lemieux, R.K. Kullnig, H.J. Bernstein, W.G. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 6098 (1958).

7) B. Casu, M. Reggiani, G.G. Gallo, A.V. Gevani, *Tetrahedron Letters*, **1964**, 2839; *idem, ibid.*, **1965**, 2253.

8) s: 多量, m: 中程度, w: 少量.

9) いったん水に溶解し、濃縮乾燥後 TMS 化した。

(4.18).

母液を BaCO_3 で中和し、母過。母液を減圧濃縮しシロップ状物質を得。PPC, GLC で多量の D-xylose と少量の D-glucose を確認。

II の加水分解反応 II の 6 mg に 1N-HCl 4 ml を加え水浴上で 4 時間加温。反応後析出する結晶を母取。MeOH で再結晶し無色針状晶 3.2 mg を得。mp 189—190°。本品は irisolidone と混融し融点降下を示さず、IR, UV, TLC で同定し一致。

母液を Ag_2O で中和し母過。母液中の過剰の Ag_2O を H_2S で沈殿させ母去。母液を減圧濃縮しシロップ状物質を得。PPC, GLC で D-glucose を確認し、D-xylose を認めない。

完全メチル化 石油エーテルで洗浄した NaH 640 mg を 20 ml の dimethyl sulfoxide (DMSO と略す) と 60—70° で 60 分間攪拌したのち DMSO 4 ml に溶解した I の 120 mg を加え 2 時間攪拌後、氷水で冷却しながら CH_3I 4 ml を加え室温で 24 時間攪拌。反応終了後 CHCl_3 を加え、 CHCl_3 溶液を水洗後無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を留去。残留物のシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行ない、benzene-AcOEt (7:3 v/v) 溶出部より無色針状晶 (III) 25 mg を得。Ether で再結晶。mp 152—153°。 $[\alpha]_D^{25} -61^\circ$ ($c=1.0$, CHCl_3)。Anal. Calcd. $\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{O}_{15}$: C, 59.48; H, 6.57. Found: C, 59.55; H, 6.61. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : OH の吸収なし。NMR (20% solution in CDCl_3) ppm¹⁰: 3.38 (3H, s, $\text{CH}_3\text{O}-$), 3.43 (3H, s, $\text{CH}_3\text{O}-$), 3.51 (3H $\times$ 2, s, $\text{CH}_3\text{O}-$ (2 個分)), 3.61 (3H, s, $\text{CH}_3\text{O}-$), 3.65 (3H, s, $\text{CH}_3\text{O}-$), 3.76 (3H, s, 4'- OCH_3), 3.84 (3H, s, 6'- OCH_3), 3.88 (3H, s, 5'- OCH_3), 4.22 (1H, d, $J=7.0$ Hz, xylopyranosyl-anomeric proton), 4.87 (1H, d, $J=7.0$ Hz, glucopyranosyl-anomeric proton), 6.86 (2H, d, $J=9.0$ Hz, 3'-H and 5'-H), 6.97 (1H, s, 8-H), 7.41 (2H, d, $J=9.0$ Hz, 2'-H and 6'-H), 7.78 (1H, s, 2-H)。

III の加水分解反応 III の 5 mg に 5% HCl-MeOH 2 ml を加え密封し、105° で 5 時間加熱し。反応後約 5 倍量の MeOH を加え Amberlite IR-120 [Na] で中和後母過し、母液を減圧濃縮。残留物を CHCl_3 抽出し GLC を行なった。GLC-2⁹) min: $t_{R1}=5.5$ (m), 6.9 (s): $t_{R2}=11.6$ (m), 13.7 (s)。 t_{R1} は D-xylose から合成した 2,3,4-tri-O-methyl-D-xylose に一致し、 t_{R2} は rutin から導いた 2,3,4-tri-O-methyl-D-glucose に一致した。

酵素分解 I の 6 mg を acetate buffer (pH 4.8) 6 ml に溶解し β -glucosidase (Sigma) 10 mg を加え、30° で 5 日間振とうし、反応液を母過。結晶部から TLC, UV により irisolidone を確認し、母液から PPC, GLC (TMS 誘導体) で D-xylose, D-glucose を確認。

同様の方法で α -glucosidase (Sigma) を作用させた場合は、原料だけを回収し、分解物は認められなかった。

10) s: singlet, d: doublet.