〔薬 学 雑 誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
96 (8) 984—987 (1976)

UDC 547.98.02.05 : 581.192

サルスベリ属植物の成分研究 (第 3 報¹⁾) オオバナサルスベリ *Lagerstroemia speciosa* (L.) PERS. 葉の新タンニン Lagertannin の構造

高橋三雄, 大沢啓助, 上田條二, 山本文美, 蔡 哲宗

東北薬科大学²⁾

The Components of the Plants of *Lagerstroemia* Genus. III.¹⁾ On the Structure of the New Tannin “Lagertannin” from the Leaves of *Lagerstroemia speciosa* (L.) PERS.

MITSUO TAKAHASHI, KEISUKE OSAWA, JOJI UEDA,
FUMIYOSHI YAMAMOTO and CHE-TSUNG TSAI

Tohoku College of Pharmacy²⁾

(Received February 5, 1975)

In addition to β -sitosterol, a new tannin was separated and named “lagertannin” from the leaves of *Lagerstroemia speciosa* (L.) PERS. Its chemical structure was clarified as 3,4-di-*O*-methyl-4'-*O*- β -D-glucosylellagic acid. Stigmasterol, campesterol, and five kinds of olefins were identified by gas chromatography.

前報¹⁾において、オオバナサルスベリ *Lagerstroemia speciosa* (L.) PERS., シマサルスベリ *L. subcostata* KOEHNE., サルスベリ *L. indica* LINN. ならびにヤクシマサルスベリ *L. fauriei* KOEHNE. などの葉成分として lageracetal, *n*-amyl alcohol ならびに ellagic acid の分布を検討報告した。

今回、オオバナサルスベリの葉から新タンニンを単離し、その構造が 3,4-di-*O*-methyl-4'-*O*- β -D-glucosylellagic acid であることを決定し、また sterol として β -sitosterol, stigmasterol, campesterol の存在を、また C₂₆—C₃₄ の 5 種の olefin 類の存在をガスクロマトグラフィー (GLC) と質量分析 (MS) によって明らかにした。

オオバナサルスベリの乾燥葉を Chart 1 に示す方法で分離操作を行ない、沈殿 1 より tannin を得、沈殿 2 から olefin 類と sterol 類を得た。

Chart 1

1) 第 2 報 : 大沢啓助, 上田條二, 高橋三雄, 薬誌, 94, 271 (1974).

2) Location: Komatsujima, Sendai.

Tannin (I) は $[\alpha]_D^{25} + 44.0^\circ$ ($c=0.10$ in EtOH), mp 360° 以上の淡黄色結晶で紫外吸収スペクトル (UV) は $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ 251 nm, 344 nm, 358 nm を示す. このものを 5% H_2SO_4 で加水分解することにより糖と非糖部 (II) を得, 糖はペーパークロマトグラフィー (PPC) およびオサゾンから D-glucose であることが, またエムルシンで加水分解されることから β -結合していることが明らかである. さらに Somogyi 法による糖の定量で約 1 mol となることから glucose 1 個が結合していると考えられる. 非糖部 (II) は m/e 330 に親イオンを示し, フラグメントパターンは ellagic acid のそれとよく類似している (Fig. 1). すなわち m/e 315 (M^+-CH_3), m/e 302 (M^+-2CH_3)+2H, m/e 301 (M^+-2CH_3)+H, m/e 246 ($\text{M}^+-2\text{CH}_3-2\text{CO}$)+2H, m/e 228 ($\text{M}^+-2\text{CH}_3-2\text{CO}-\text{H}_2\text{O}$)+2H, m/e 79 ($\text{C}_6\text{H}_5+2\text{H}$) に相当すると考えられ, このものの構造は ellagic acid の 3, 4, 3', 4' 位のいずれか 2 個の水酸基の水素がメチル基と置換したものと考えられる. Ellagic acid の定性反応も陽性であった. また, 非糖部 (II) のメチル化体は ellagic acid から得た tetra-*O*-methylellagic acid に赤外吸収スペクトル (IR), PPC ともに全く一致した. 以上のことから非糖部 (II) は ellagic acid の dimethyl 誘導体と考えられる.

Di-*O*-methylellagic acid としては天然から 3,3'-di-*O*-methylellagic acid³⁾ が, また合成された 4,4'-di-*O*-methylellagic acid⁴⁾ が報告されているが IR, PPC, UV のいずれも非糖部 (II) のそれ等と一致しない. そこで Jurd らの報告している UV の方法⁴⁾ で検討を行ない (Table I), 非糖部 (II) に AcONa を添加すると 274 nm に極大吸収が現われ, NaOEt 添加すると 397 nm に深色移動することから 3, 4 位が遊離しているものと考えられ, さらに AcONa と H_3BO_3 を添加することにより 260 nm, 380 nm に深色移動することからこれらの水酸基はカテコール型であることが明らかである (Fig. 2).⁵⁾

以上の事実を総合して, 非糖部 (II) は 3,4-di-*O*-methylellagic acid であることは確かである.

糖の結合位置を決定する目的で tannin (I) をメチル化後加水分解を行ない得られた (III) を UV, IR, PPC で検討した結果, 3,4,3'-tri-*O*-methylellagic acid⁶⁾ に全く一致した.

Fig. 1. Mass Spectra of Ellagic Acid and 3,4-Di-*O*-methylellagic Acid

TABLE I. UV Spectra of Tannins $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ)

Compound	EtOH [*]	EtOH+AcONa	EtOH+NaOEt	EtOH+AcONa+H ₃ BO ₃
I	251 (4.87)	254 (4.71)	256sh (4.66)	unchanged
		275 (4.58)	269 (4.73)	
	344 (4.19)	315 (4.28)	295 (4.64)	
II	358 (4.21)	355 (4.21)	375 (4.20)	260 (4.47)
	255 (4.38)	255 (4.38)	283 (4.45)	
	277sh (4.33)	274 (4.32)		
	343 (3.88)	330 (3.87)	365 (3.76)	
III	362 (3.95)	354 (3.92)	397 (3.79)	380 (8.76)
	250 (4.49)	251 (4.33)	254 (4.34)	
	285sh (3.81)	282 (4.13)	299 (4.28)	
	355 (3.84)	354 (3.55)	315 (3.77)	
	371 (3.90)	408 (3.64)	409 (3.86)	

sh: shoulder

3) J. Shinoda, Ch. P. Kun, *Chemisches Zentralblatt*, 1931, II, 2170.

4) L. Juro, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 4606 (1959).

5) “実験化学講座続 5,” 436 巻, 日本化学会編, 丸善, 東京, 1965.

6) W. E. Hilits, Y. Yazaki, *Phytochemistry*, **12**, 2963 (1973).

Fig. 2. UV Spectra of 3,4-Di-O-methylellagic Acid

—: EtOH -△-: EtOH+AcONa
 -x-: EtOH+NaOEt -○-: EtOH+AcONa+H₃BO₃

Fig. 3. Mass Spectrum of Olefins

これらのことから tannin (I) は 3,4-di-O-methyl-4'-O-β-D-glucosylellagic acid であると決定し、このものは新物質であるので Lagertannin と命名する。

次に沈殿 2 をアルミナカラムクロマトグラフィーに付し石油ベンジン流出画分から薄層クロマトグラフィー

(TLC) で単一スポット, GLC で 5 個のピークを与える無色結晶を得, このものの MS は Fig. 3 に示すとおり, m/e 364, 392, 420, 448, 476 分子式 $C_{26}H_{52}$, $C_{28}H_{56}$, $C_{30}H_{60}$, $C_{32}H_{64}$, $C_{34}H_{68}$, 不飽和度 1 を与え, またフラグメントパターンはオレフィンに見られる C_nH_{2n-1} , C_nH_{2n} が C_nH_{2n+1} よりも強く現われ, 規則的に 14 質量単位の間隔で見られることから二重結合を一個有するオレフィンと推定されるが微量のためこれ以上の検索が困難で二重結合の位置等は未解決である。

カラムクロマトグラフィーから引き続き石油エーテル-酢酸エチル流出画分から TLC 単一スポット, GLC で 3 ピークを与える Liebermann-Burchard 反応陽性の無色結晶を得, GLC で標品の β-sitosterol, stigmasterol, campesterol に一致, MS は m/e 400, 412, 414 分子式 $C_{28}H_{48}O$, $C_{29}H_{48}O$, $C_{29}H_{50}O$ のピークを与えることからこのものが campesterol, stigmasterol, β-sitosterol の混合物であることが確認された。さらにこのものを再クロマト, 再結晶を繰り返すことにより mp 142° で, GLC 単一ピークを与える結晶を得, GLC, MS, IR で β-sitosterol に一致した。

実験の部

抽出, 分離 中華民国台湾省で花期前の 5 月に採集したオオバナサルスベリ *Lagerstroemia speciosa* (L.) PERS. の乾燥葉 8 kg を EtOH 40 liter で温浸し, これを 1 liter まで濃縮, 析出する沈殿 1 をろ取, さらにろ液を 120 ml まで濃縮, 析出する沈殿 2 をろ取。

Lagertannin; 3,4-Di-O-methyl-4'-O-β-D-glucosylellagic Acid (I) の精製 沈殿 1 をアルミナカラムクロマトグラフィー [MERK, Aluminiumoxid standardisiert, (Aktivitätsstufe II—III)] を行ない含水 EtOH 流出画分を含水 MeOH, 含水 EtOH, アセトン・MeOH 混液で再結晶, 淡黄色結晶を得。mp 360° 以上, $[\alpha]_D^{25} +44.0$ ($c=0.10$, in EtOH), $^{7)} FeCl_3$ 反応陽性。Anal. Calcd. $C_{22}H_{20}O_{13}$: C, 53.65; H, 4.07; O, 42.28. Found: C, 53.63; H, 4.36; O, 42.01. PPC [東洋ろ紙 No. 53, 展開溶媒: n -BuOH-AcOH-1% $NaHSO_3$ (4:1:5)] R_f 0.60. UV⁸⁾ λ_{max}^{EtOH} nm (log ϵ) 251 (4.87), 344 (4.19), 358 (4.21). IR⁹⁾ ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3360, 1720, 1600, 1575, 1480, 1440, 1355, 1150, 1100, 1060, 1035, 970, 910, 890, 810, 790, 780, 755, 720, 670, 610. 収量 1.0 g 収率 0.013%。

オレフィン類の分離 沈殿 2 をアルミナカラムクロマトグラフィー [西尾工業, クロマト用活性アルミナ, TYPE-200] に付して石油ベンジン流出画分より無色結晶を得, TLC [Wakogel B-5, 展開溶媒: ベンゼン-酢酸エチル (4:1)] R_f 0.82, GLC¹⁰⁾ [Silicon SE-30, 3% Chromosorb WAW, glass, 3φ-2 m. Column. Temp. 250°, Inj. Temp. 280°, N_2 1.0 kg/cm², H_2 0.6 kg/cm²] t_R (min) 10, 13, 17, 22.3, 29. Mass Spectrum¹¹⁾ m/e : 476.53 ($C_{34}H_{68}$), 448.50 ($C_{32}H_{64}$), 420.46 ($C_{30}H_{60}$), 392.44 ($C_{28}H_{56}$), 364.41 ($C_{26}H_{52}$)。

Sterol 類の分離ならびに β-Sitosterol の単離 さらにアルミナカラムクロマトグラフィーの石油エーテル-酢酸エチル (4:1) 流出画分から Liebermann-Burchard 反応陽性の無色結晶を得, アセトン, ベンゼン, MeOH

7) レックス光学計器製 Rex Photoelectric Polarimeter NEP-2-40-1-13 を使用した。

8) 島津製 Double Beam Spectrophotometer UV-200 を使用した。

9) 日立製作 EPI-G2 型回折格子型赤外分光光度計を使用した。

10) 日本電子製 JEOL-JG-750-1100 型を使用した。

11) 日立製 RMU-7M 型を使用した。

で再結晶 mp 138° の結晶を得。TLC [Wakogel B-5, 展開溶媒: ペンゼン-酢酸エチル (4: 1)] R_f 0.45 GLC¹⁰⁾ [Column. Silicon SE-30, 3% Chromosorb WAW, glass, 3φ-2 m. Column. Temp. 250°, Inj. Temp. 280°, N₂ 1.0 kg/cm², H₂ 0.6 kg/cm²] t_R (min) 20.5, 21.7, 25.1. Mass Spectrum¹¹⁾ m/e : 400.37 (C₂₈H₄₈O), 412.37 (C₂₈H₄₈O), 414.38 (C₂₉H₅₀O). 収量 2.0 g 収率 0.025%.

さらにこのものを再クロマト, 再結晶を繰り返し mp 142° の結晶を得。Anal. Calcd. C₂₉H₅₀O: C, 83.99; H, 12.15; O, 3.85. Found: C, 83.86 H, 12.16 O, 3.85. Mass Spectrum m/e 414.38 (C₂₉H₅₀O). GLC で標品の β -sitosterol に一致。IR⁹⁾ $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400, 2950, 2850, 1650, 1460, 1380, 1340, 1260, 1240, 1200, 1140, 1110, 1060, 1025, 1010, 990, 960, 930, 840, 800. $[\alpha]_D^{25}$ -36.4 ($c=1.85$, in CHCl₃).

Lagertannin (I) の加水分解 Lagertannin (I) 100 mg を 5% EtOH 性 H₂SO₄ で 4 時間加熱, 冷後析出してくる結晶をろ取, ろ液を Ba(OH)₂ 水溶液で中和, 沈殿を除いたものについて糖の検索を行ない, PPC [東洋ろ紙 No. 50, 展開溶媒: *n*-BuOH-AcOH-H₂O (4: 1: 5), 呈色試薬アニリンフタル酸] R_f 0.18. 標品の glucose に一致。塩酸フェニルヒドラジンによりオサゾンを作り標品のそれと一致。析出した非糖部 (II) を EtOH, MeOH で再結晶, 淡黄色結晶を得。mp 360° 以上。Anal. Calcd. C₁₆H₁₀O₈: C, 58.19; H, 3.05; O, 38.76. Found: C, 58.36; H, 3.11; O, 38.53. Mass Spectrum m/e : 330 (M⁺), 300, 274, 246, 228, 79. UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ) 255 (4.40), 277 (shoulder) (4.33), 343 (3.88), 362 (3.95). IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400, 3200, 1730, 1690, 1600, 1500, 1430, 1365, 1330, 1280, 1220, 1200, 1110, 1065, 980, 920, 800, 760. 収量 55 mg 収率 36.9%.

非糖部 (II) のメチル化 非糖部 (II) 10 mg をエーテル性 CH₂N₂ 中室温で 6 時間反応, 溶媒留去後 MeOH にて再結晶。mp 350°. FeCl₃ 反応陰性。Anal. Calcd. C₁₂H₁₄O₈: C, 60.34 H, 3.94 O, 35.72. Found: C, 60.23 H, 4.16; O, 35.61. PPC [東洋ろ紙 No. 53, 展開溶媒: *n*-BuOH-AcOH-H₂O (6: 1: 2), 検出法 UV UV/NH₄-OH] R_f 0.76 ellagic acid から同操作で製したものに一致。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3080, 3000, 2900, 2840, 1730, 1625, 1485, 1460, 1390, 1350, 1320, 1250, 1200, 1165, 1105, 990, 910, 870, 780, 755.

Lagertannin (I) のメチル化および加水分解 Lagertannin (I) 100 mg をエーテル性 CH₂N₂ で 6 時間反応 溶媒留去後 UV で AcONa, NaOEt による shift のないことを確認し [UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm 247, 277, 343, 361. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2950, 2930, 2850, 1740, 1720, 1455, 1340, 1250, 1170, 1125], このものを 10% H₂SO₄ で 4 時間加水分解を行ない, 冷後得られる結晶を MeOH で再結晶 mp 293—294° PPC [東洋ろ紙 No. 53, 展開溶媒: *n*-BuOH-AcOH-H₂O (6: 1: 2)] R_f 0.73. 3,4,3'-tri-O-methylellagic acid に一致。Anal. Calcd. C₁₇H₁₂O₈: C, 59.31; H, 3.51; O, 37.18. Found: C, 59.16; H, 3.63; O, 37.21. UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ) 250 (4.49), 285 sh (3.81), 355 (3.84), 371 (3.90). IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹ 3400, 1775, 1730, 1310, 1250, 1200, 1180, 1120, 1100, 990, 915, 780.

謝辞 元素分析を実施された本学 榊原房夫氏に謝意を表します。質量分析を実施された日立製作所那珂工場応用開発課の諸氏に謝意を表します。また原料を提供された台北医学院 顔焜熒教授に謝意を表します。また本研究に際して, 原料入手に便宜を計らって下さった第一製薬株式会社に謝意を表します。