川蜀七根の成分研究 (第 2 報¹⁾) スピロスタン系化合物の単離と構造研究

高平正行, 近藤嘉和, 草野源次郎, 野副重男

東北大学薬学部²⁾

Studies on the Constituents of "Senshokushichikon". II.¹⁾ Isolation and Structural Elucidation of Spirostane Derivatives

MASAYUKI TAKAHIRA, YOSHIKAZU KONDO, GENJIRO KUSANO and SHIGEO NOZOE

Pharmaceutical Institute, Tohoku University²⁾

(Received January 5, 1979)

Three new spirostane steroids were obtained from a kind of chinese crude drug, "Senshokushichikon." On the basis of physicochemical properties and the results of couples of the reactions, the first compound, which was characterized as the acetate (I), mp 123—124°, $C_{35}H_{50}O_{11}$, was elucidated to be $\Delta^{25(27)}$ -pentrogenin acetate. The second compound (II), mp 122—125°, $[\alpha]_D -93^\circ$, $C_{33}H_{52}O_9$ and the third compound (III), mp 130—132°, $[\alpha]_D -96^\circ$, $C_{33}H_{50}O_9$ were shown to be 3-*epi*-ruscogenin 3- β -D-glucopyranoside and 2-*epi*-neoruscogenin 3- β -D-glucopyranoside, respectively.

Keywords—spirostane steroids; β -D-glucopyranosides; Chinese crude drugs; ruscogenin; neoruscogenin; pentrogenin; periodic acid oxidation; NMR-spectra

中国産の生薬, 川蜀七根の成分検索を行い, 4 種の新化合物を単離し, 3-*epi*-diosgenin 3- β -D-glucopyranoside (VI), 3-*epi*-scepttrumgenin 3- β -D-glucopyranoside (VII), 3-*epi*-ruscogenin (IV), 3-*epi*-neoruscogenin (V) であることを明らかにし, 前報¹⁾で報告した. 今回新たに 3 種の文献未記載の化合物 (I, II, III) を単離し, その構造を検索して, 一応の結論を得たので, その経過について報告する.

川蜀七根の 70% エタノールエキスをブタノールで抽出し, 得られる可溶部をシリカゲルクロマトグラフィーに付し, クロロホルム-メタノール (5:1) で溶出される画分をアセチル化し, 化合物 (I) を得た. I は無色の微細晶で mp 123—124° を示し, 組成式は $C_{35}H_{50}O_{11}$ で示される. その赤外線吸収 (以下 IR と略記) スペクトルでは 1740, 1235 cm^{-1} にアセチル基に帰属される強い吸収, 980, 955, 915, 895 cm^{-1} にスピロスタン環,³⁾ 3500 cm^{-1} に水酸基, 1651, 875 cm^{-1} に末端メチレン基に帰属される吸収が認められた. その核磁気共鳴 (以下 NMR と略記) スペクトルを pentrogenin tetraacetate (VIII) のそれと比較すると, I では 4.81 ppm に末端メチレン基に帰属される 2H 相当のシグナルが認められるのに対し, VIII では 0.78 ppm に C_{25} -メチル基に帰属される 3H 相当の二重線が認められるが, それ以外の点では両者のスペクトルは類似している (Table I). さらに先に述べた末端メチレン基のシグナルと共に, 3.92 ppm と 4.36 ppm にそれぞれ 1H 相当の二重線 ($J=12$ Hz) が認められるが, これらのシグナル群は 3-*epi*-scepttrumgenin (IX) と 3-*epi*-neoruscogenin (V) の NMR スペクトルでも認められ, 二重線は C_{26} -2H に帰属されている.⁴⁾ また, I のマスペクトルでは m/e 137 に強いフラグメントピークが認められ, C_{25} 位に末端メチレン基のあるスピロスタン系化合物の側鎖由来のものに帰属された.⁴⁾ 以上の事実および I の組成式が pentrogenin tetraacetate (VIII) のそれより 2H 少ないことを考慮して, I は $C_{25(27)}$ に二重結合のある pentrogenin tetraacetate の dehydro 体と推定された.

そこで, I を 5% Pd-C の存在下水素化し, 2 種の成績体を認め, そのうちの 1 つは pentrogenin tetraacetate の標品に薄層クロマトグラフィー (以下 TLC と略記) とガスクロマトグラフィー (以下 GC と略記) で一致を見た. 従って, 化合物 (I) を $\Delta^{25(27)}$ -pentrogenin tetraacetate と結論した. なお, I のアセチル化前のアル

1) 第 1 報: 高平正行, 近藤嘉和, 草野源次郎, 野副重男, 薬誌, 99, 264 (1979).

2) Location: Aobayama, Sendai, 980, Japan.

3) R.N. Jones, K. Katzenellenbogen, K. Dohriner, *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 158 (1953).

4) H. Budzikiewicz, J.M. Wikon, C. Djerassi, *Monatsh. Chem.*, 93, 1033 (1962).

TABLE I. NMR Spectral Data of I and VIII in CDCl_3 (100 MHz, δ ppm, J shown in Hz)

	$\text{C}_1\text{-H}$	$\text{C}_2\text{-H}$	$\text{C}_3\text{-H}$	$\text{C}_4\text{-H}$	$\text{C}_{19}\text{-3H}$	$\text{C}_{18}\text{-3H}$	$\text{C}_{21}\text{-3H}$	$\text{C}_{27}\text{-}n\text{H}$
I	5.58 m	5.76 t ($J_1=J_2=4$)	5.26 t ($J_1=J_2=4$)	5.58 m	1.19 s	0.81 s	0.99 d ($J=7$)	4.81 b.s ($W_{1/2}=8$) $n=2$
VIII	5.62 m	5.76 t ($J_1=J_2=4$)	5.28 t ($J_1=J_2=4$)	5.62 m	1.16 s	0.77 s	0.97 d ($J=7$)	0.78 d ($J=7$) $n=3$

コール体は pentrogenin の標品と近以の R_f 値を示したが、得られたものが少量で、加水分解してアルコール体を単離するに至らなかった。

化合物 (II) はアセテート (IIa), mp 247—248°, $[\alpha]_D^{20} - 20^\circ$, $\text{C}_{43}\text{H}_{62}\text{O}_{14}$ として単離した。それをケン化し、アルコール体 (II), mp 122—125°, $[\alpha]_D^{20} - 93^\circ$, $\text{C}_{33}\text{H}_{52}\text{O}_9$ を得た。その IR スペクトルでは 3350 cm^{-1} を中心に水酸基の広い吸収, $980, 960, 920, 895\text{ cm}^{-1}$ に 25R-スピロケタール環に由来する吸収³⁾ が認められた。II のマスペクトル (MS) では, m/e 592 ($\text{C}_{33}\text{H}_{52}\text{O}_9$) に分子イオンピークが認められると共に, m/e 429 ($\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{O}_4$) と m/e 412 ($\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_3$) にフラグメントピークが認められ、非糖体部に由来するものと推定された。また, m/e 139 ($\text{C}_9\text{H}_{15}\text{O}$) にスピロスタノールの側鎖由来の開裂イオンピーク, m/e 162 ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3$) にグルコシル部分に由来するピークが認められた。

以上の事実から、化合物 (II) は配糖体の一種と考えられたので、II をセルラーゼを用いて加水分解すると、3-*epi*-ruscogenin (IV) とグルコースが得られた。従って、II は 3-*epi*-ruscogenin を非糖体とし、グルコースを糖体とする配糖体であることがわかった。また、そのアセテート (IIa) の NMR スペクトルでは、4.68 ppm に二重線 (1H, $J=8\text{ Hz}$) が認められ、アノメリック水素に帰属される。その化学シフトおよび結合定数から糖部は β -glucopyranose と考えられた。さらに、糖部の水素に帰属されるシグナルがすべて認められ、上記の推定が正しいものと支持された。また、化合物 (II) の分子旋光度 ($[\text{M}]_D$) とそのゲニン (IV) のその差が -40° であることから、II は 3-*epi*-ruscogenin- β -D-glucopyranoside と結論した。⁵⁾

なお、II のグルコースの結合位は ruscogenin (IV) の 1 位と 3 位の可能性があるが、次のようにして決定した。II を過ヨード酸溶液とシクロヘキシルアミン溶液で処理し、生成物をシリカゲルクロマトグラフィーに付して精製すると、ゲニン (IV) と共にホルメート (IVf), mp 243—244°, $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}_5$ が得られた。その IR スペクトルでは $1720, 1175\text{ cm}^{-1}$ にホルミル基に帰属される吸収が認められた。その NMR スペクトルでは 8.10 ppm (1H, s) にホルミル基の水素に帰属される一重線, 3.81 ppm (1H, q, $J_1=10.5, J_2=5\text{ Hz}$) に 1 位の水酸基のつけ根の水素, 5.22 ppm (1H, $W_{1/2}=7\text{ Hz}$) に 3 位の O-ホルミル基のつけ根の水素に帰属されるシグナルが認められた。5.22 ppm の多重線が $\text{C}_{3\beta}\text{-H}$ に帰属されることから、化合物 (II) のグルコースは ruscogenin (IV) の 3 位の水酸基と結合していることは明らかで、3-*epi*-ruscogenin 3- β -D-glucopyranoside と結論した。

化合物 (III) はアセテート (IIIa), mp 225—228°, $[\alpha]_D - 50^\circ$, $\text{C}_{43}\text{H}_{60}\text{O}_{14}$ として単離された。アセテートの IR スペクトルでは $1745, 1240\text{ cm}^{-1}$ にアセチル基, $985, 965, 925, 885\text{ cm}^{-1}$ にスピロスタン環, $1651, 880\text{ cm}^{-1}$ に末端メチレン基に帰属される吸収が認められた。その NMR スペクトルは IIa のそれと類似しており、IIa で 0.81 ppm に認められた 3H 相当の二重線が、IIIa では 4.80 ppm の未分化の一重線 (2H 相当) として認められる点が違っている (Table II)。さらに、IIIa の NMR スペクトルでは 3.86 ppm と 4.34 ppm にそれぞれ 1H 相当の二重線 ($J=12\text{ Hz}$) が認められ、 $\text{C}_{26}\text{-2H}$ に帰属された。また、IIIa の MS では m/e 800 に分子イオンピークが認められると共に、 m/e 137 にフラグメントイオンピークが認められ、 C_{25} 位に末端メチレン基を有するスピロスタン系化合物の側鎖由来のものに帰属された。⁴⁾ また、アセチルグルコピラノシル基に由来するものとして帰属される一連のピーク (m/e 331, 271, 229, 221, 109) も認められた。⁶⁾

アセテート (IIIa) をケン化すると、アルコール体 (III), mp 130—132°, $[\alpha]_D - 96^\circ$, $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{O}_9$ が微細晶として得られた。その IR スペクトルでは 3350 cm^{-1} に水酸基, $985, 965, 925, 885\text{ cm}^{-1}$ にスピロスタン環の吸収が

5) W. Klyne, *Biochem. J.*, **47**, xli (1950).

6) H. Budzikiewicz, C. Djerassi, D.H. Williams, "Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry," Vol. II, Holden-Day, Inc., San Francisco, London, Amsterdam, 1964.

TABLE II. NMR Spectral Data of Spirostane Derivatives in CDCl₃ (100 MHz, δ ppm, J shown in Hz)

	C ₁ -H	C ₃ -H	C ₁₉ -3H	C ₁₈ -3H	C ₂₁ -3H	C ₂₆ -2H	C ₂₇ -nH <i>n</i> =2 or 3
IIa	—	—	1.14 s	0.80 s	0.97 d(J =6)	3.48 m	0.81 d(J =6.5) n =3
IIIa	—	—	1.14 s	0.81 s	0.97 d(J =6.5)	3.86, 4.34 d(J =12)	0.80 b.s($W_{1/2}$ =8) n =2
IV	3.84 q(J_1 =10.5, J_2 =5.5)	4.08 m($W_{1/2}$ =8)	1.06 s	0.82 s	0.98 d(J =7)	3.52 m	0.84 d(J =7) n =3
V	3.84 m	4.08 m($W_{1/2}$ =8.5)	1.04 s	0.81 s	0.97 d(J =6.5)	3.88, 4.34 d(J =12)	4.80 b.s($W_{1/2}$ =8) n =2
IVa ^{a)}	4.95—5.12 m	4.95—5.12 m	1.13 s	0.80 s	0.95 d(J =7)	3.48 m	0.78 d(J =7) n =3
Va ^{b)}	4.88—5.12 m	4.88—5.12 m	1.13 s	0.81 s	0.96 d(J =6.5)	3.88, 4.34 d(J =12)	4.79 b.s($W_{1/2}$ =8) n =2
IVf	3.81 q(J_1 =10.5, J_2 =5)	5.22 m($W_{1/2}$ =7)	1.08 s	0.84 s	1.00 d(J =7.5)	3.50 m	0.81 d(J =6.5) n =3
Vf	3.80 m	5.20 m($W_{1/2}$ =7)	1.06 s	0.81 s	0.97 d(J =6.5)	3.90, 4.34 d(J =12)	4.80 b.s($W_{1/2}$ =8) n =2

a) IV diacetate, b) V diacetate.

I

II : R₁=H, R₂= β -D-glucopyranosylIIa : R₁=Ac, R₂=tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosylIV : R₁=H, R₂=HIVf : R₁=H, R₂=CHOIVa : R₁=Ac, R₂=Ac III : R₁=H, R₂= β -D-glucopyranosylIIIa : R₁=Ac, R₂=tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosylV : R₁=H, R₂=HVf : R₁=H, R₂=CHOVa : R₁=Ac, R₂=Ac

Chart

認められた. III の MS では, m/e 590 に分子イオンピーク, m/e 162 (C₆H₁₀O₅) にグルコシル基由来のピーク, さらに, m/e 427 (C₂₇H₃₉O₄) と m/e 410 (C₂₇H₃₈O₃) に非糖体由来のピークが認められた. これらのイオンに相当するピークは II の MS でも同様に認められ, 帰属された.

これらの事実から, 化合物 (III) は配当体と考えられたので, セルラーゼで加水分解し, 3-*epi*-neoruscogenin (V) とグルコースを認めた. アセテート (IIIa) の NMR スペクトルでは 4.68 ppm に 1H 相当の二重線 (J =8 Hz) が認められ, アノメリック水素に帰属された. 従って, この配糖体結合は β であることがわかった. また, 糖部の水素に由来するシグナルが明らかに分離して認められた. さらに, III の分子旋光度とそのゲニン (V) のその差が -48° であったので, III は 3-*epi*-neoruscogenin- β -D-glucopyranoside と結論した.⁵⁾

なお, 化合物 (III) のグルコースの結合位置は, II の場合と同様の方法で決定した. ゲニン (V) と共に得られたホルメート (Vf) mp 199—201°, C₂₈H₄₀O₅ はその IR スペクトルで 1718, 1175 cm⁻¹ にホルミル基の吸収, NMR スペクトルでは 8.09 ppm (1H, s) にホルミル基の水素, 5.20 ppm (1H, $W_{1/2}$ =7 Hz) に O-ホルミル基のつけ根の C_{3 β} -H に帰属されるシグナルが認められた. 従って, 化合物 (III) は 3-*epi*-neoruscogenin 3- β -D-glucopyranoside と結論した.

川蜀七根から 3 種の文献未記載の化合物を得, 4²⁵(²⁶)-pentrogenin tetraacetate (I), 3-*epi*-ruscogenin 3- β -D-glucopyranoside (II), 3-*epi*-neoruscogenin 3- β -D-glucopyranoside (III) であることを明らかにしたが, 前報¹⁾

の結果と合わせて、今回までに川蜀七根から 7 種のスピロスタン系化合物を得ることになる。川蜀七根の基原植物については、未だに結論を得ていないが、今回まで得られたスピロスタン系化合物は、基原植物を同定する上で、重要な資料になるものと期待される。

実験の部⁷⁾

化合物 (I, II, III) の単離 川蜀七根 (2 kg) を 70% EtOH で熱時抽出、得られたエキスを (940 g) を *n*-BuOH で振とう抽出し、可溶部 (250 g) を得。このエキスをシリカゲルクロマトグラフィーに付し、CHCl₃-MeOH (3—4: 1) 溶出画分 (90 g) を得た。その一部 (80 g) を EtOH (1.5 l) に溶かし、ヘスペリジナーゼ (400 g) を含む水 (2.0 l) を加えて、7 日間振とう。反応後水を加えて、AcOEt で振とう抽出。得られたエキスをシリカゲルクロマトグラフィーに付した。CHCl₃-MeOH (10: 1) 溶出物 (13 g) の一部 (4 g) をピリジンに溶かし、無水酢酸を加え一夜室温に放置。常法処理後、生成物を MeOH から再結晶、無色鱗片状晶 (4.1 g) を得た。その一部 (0.8 g) を 10% AgNO₃ を含むシリカゲルを用いてクロマトし、CHCl₃ で溶出し、まず、アセテート (IIa, 162 mg), 次いでアセテート (IIIa, 314 mg) を得。

一方、先の酵素処理物のシリカゲルクロマトグラフィーで CHCl₃-MeOH (5: 1) で溶出される画分 (1.5 g) をピリジン-無水酢酸でアセチル化し、生成物をシリカゲルクロマトグラフィーに付し、CHCl₃-MeOH (100: 1) 溶出物を MeOH から再結晶、無色微細晶 (I, 18 mg) を得。

化合物 (I) の性状 mp 123—124°, C₃₅H₅₀O₁₁. Anal. Calcd. M⁺, 646, 3350. Found: M⁺, 646, 3383 (高分解能マススペクトル). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3500 (OH), 1740, 1235 (Ac), 980, 955, 915, 895 (spirostane ring), 1651, 875 (>C=CH₂). NMR (CDCl₃) δ : 0.81 ppm (3H, s, C₁₈-3H), 1.19 (3H, s, C₁₉-3H), 0.99 (3H, d, *J*=7 Hz, C₂₁-3H), 2.02 (3H, s, OAc), 2.15 (3H, s, OAc), 2.19 (6H, s, 2×OAc), 3.92 (1H, d, *J*=12 Hz, C₂₆-H), 4.36 (1H, d, *J*=12 Hz, C₂₆-H), 4.81 (2H, bs, *W*1/2=8 Hz, C₂₇-2H), 5.27 (1H, dd, *J*₁=*J*₂=3 Hz, C₂-H or C₃-H), 5.56 (1H, d, *J*=3 Hz, C₁-H), 5.62 (1H, bd, *J*=3 Hz, C₄-H), 5.74 (1H, dd, *J*₁=*J*₂=3 Hz, C₃-H または C₂-H). MS *m/e* (%): M⁺, 646 (4.8); M⁺-H₂O, 638 (1.0); M⁺-H₂O-AcOH, 579 (7.7); 534 (9.1); 516 (7.1); 456 (24.8); 354 (8.0); 294 (5.9); C₉H₁₃O⁺, 137 (100).

化合物 (I) の接触還元 I (2 mg) を AcOEt (1 ml) に溶かし、5% Pd-C (5 mg) を加え、45 分間水素ガスを通導。常法処理後、生成物を TLC (C₆H₆-AcOEt=49: 1, 5 回反復展開) と GC (*t*_R, 36.5 min; カラム, 4 mm (ID)×1.5 m ガラスカラム, 1.5% OV-17; 担体, 80/100 chromosorb W; カラム温度, 280°; キャリヤー, 窒素ガス; 流速, 45 ml/min) で pentrogenin tetraacetate の標品と比較して一致することを認めた。

化合物 (IIa) の性質 MeOH から再結晶して無色針状晶。mp 247—248°, [α]_D²⁰ -20° (CHCl₃, *c*=0.2). C₄₃H₆₂O₁₄. Anal. Calcd. C, 64.32; H, 7.78. Found: C, 63.94; H, 7.77. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3030, 840 (-CH=C<), 1740, 1235 (OAc), 980, 960, 920, 895 (spirostane ring). NMR (CDCl₃) δ : 0.80 (3H, s, C₁₈-3H), 1.14 (3H, s, C₁₉-3H), 0.97 (3H, d, *J*=6 Hz, C₂₁-3H), 0.81 (3H, d, *J*=6 Hz, C₂₇-3H), 2.02—2.12 (5×3H, s, 5×OAc), 3.48 (2H, m, C₂₆-2H), 4.68 (1H, d, *J*=8 Hz, anomeric H), 4.14 (1H, dd, *J*₁=12 Hz, *J*₂=2 Hz, C₆-H), 4.35 (1H, dd, *J*₁=12 Hz, *J*₂=7 Hz, C₆-H), 3.7 (1H, m, C₅-H), 4.45 (1H, m, C₁₅-H), 4.75 (1H, dd, *J*₁=10 Hz, *J*₂=4 Hz, C₁-H), 5.00 (1H, t, *J*₁=*J*₂=8 Hz, C₃-H), 5.07 (1H, t, *J*₁=*J*₂=8 Hz, C₄-H), 5.27 (1H, t, *J*₁=*J*₂=8 Hz, C₂-H), 5.52 (1H, *W*1/2=10 Hz, C₆-H). MS *m/e* (%): M⁺, 802 (2.8); M⁺-AcOH, 742 (8.1); 331 (40.2); 271 (9.3); 229 (10.6); 221 (3.8); 169 (65.5); C₉H₁₅O⁺, 139 (100).

化合物 (II) の性状 アセテート (IIa, 150 mg) を MeOH (20 ml) に溶かし、5% KOH (10 ml) を加え還流、反応完了後、水を加え AcOEt で抽出。AcOEt 層を水洗後 Na₂SO₄ で乾燥。乾燥剤を除去後、溶媒を留去。残留物を MeOH から再結晶し、無色微細晶を得た。mp 122—125°, [α]_D²⁰ -93° (CHCl₃, *c*=0.44). [M]_D²⁰ -552°. C₃₃H₅₂O₉. Anal. Calcd. C, 66.86; H, 8.84. Found: C, 66.43; H, 8.91. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 835 (>C=CH-), 980, 960, 920, 895 (spirostane ring), 3350 (OH). MS *m/e*: M⁺, 592 (1.2); M⁺-glucose, 412 (100); genin -2H₂O, 394 (25.3); 429 (20.6); 413 (22.4); 298 (32.1); 213 (6.9); 139 (58.8).

化合物 (IIIa) の性状 MeOH から再結晶、無色針状晶。mp 225—228°. [α]_D¹⁵ -50° (CHCl₃, *c*=0.22). C₄₃H₆₀O₁₄. Anal. Calcd. C, 64.28; H, 7.62. Found: C, 64.28; H, 7.62. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 835 (>C=CH-), 1745, 1240 (OAc), 985, 965, 925, 885 (spirostane ring), 1651, 880 (>C=CH₂). NMR (CDCl₃) δ : 0.81 (3H, s, C₁₈-3H), 0.97 (3H, d, *J*=7 Hz, C₂₁-3H), 1.14 (3H, s, C₁₉-3H), 2.02 (3H, s, OAc), 2.05 (6H, s, 2×OAc), 2.12 (6H, s, 2×OAc), 3.86 (1H, d, *J*=12 Hz, C₂₆-H), 4.34 (1H, d, *J*=12 Hz, C₂₆-H), 4.68 (1H, d, *J*=8 Hz, anomeric H), 4.80

7) NMR スペクトルは日本電子 PS-100 スペクトロメーターで測定した。CDCl₃ を溶媒とし、TMS を内部標準とした。略号: s 一重線, d 二重線, t 三重線, q 四重線, m 多重線, b 幅広い。IR スペクトルは島津赤外分光光度計 IR-27 G, 旋光度は HITACHI NO. 053-4 型 を使用して測定した。融点は未補正、柳本製作所製微量融点測定装置で測定。TLC は Kiesel Gel G nach Stahl (Merck) で製し、50% H₂SO₄ を噴霧後加熱して発色した。カラムクロマトは Wakogel C-200 を用い、溶媒の混合比は v/v。加水分解に使用したセルラーゼは天野製薬 K.K. 製のセルラーゼ AP CTI 1511。

(2H, bs, C₂₇-2H), 4.12 (1H, bd, $J=12$ Hz, C₆-H), 4.34 (1H, dd, $J_1=12$, $J_2=6$ Hz, C₆-H), 5.00 (1H, t, $J_1=J_2=8$ Hz, C₃-H), 5.08 (1H, t, $J_1=J_2=8$ Hz, C₄-H), 5.27 (1H, t, $J_1=J_2=8$ Hz, C₂-H), 4.8 (1H, C₁-H), 5.51 (1H, bd, $W1/2=10$ Hz, C₆-H). MS m/e (%): M⁺, 800 (2.4); M⁺-AcOH, 740 (6.5); 331 (37.1); 271 (8.1); 229 (11.3); 221 (7.2); 169 (61.3); C₆H₁₃O⁺, 137 (100); 109 (13.9).

化合物 (III) の精製 アセテート (IIIa, 200 mg) を MeOH (30 ml) に溶かし, 5% KOH (15 ml) を加え還流. 反応完了後, 水を加え AcOEt で抽出. 溶媒留去後, 残渣に *n*-hexane を加え, 無色微細晶として沈殿させ, 化合物 (III, 86.5 mg) を得た. mp 130—132°, $[\alpha]_D^{20} -96^\circ$ (CHCl₃, $c=0.4$). $[M]_D -567^\circ$. C₃₃H₅₀O₉. Anal. Calcd. C, 67.09; H, 8.53. Found: C, 67.46; H, 8.56. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3350 (OH), 985, 965, 925, 885 (spirostane ring), 8.35 ($>C=CH-$). MS m/e (%): M⁺, 590 (2.0); M⁺-H₂O, 572 (0.8); 427 (16.8); M⁺-glucose, 410 (57.4); M⁺-glucose-H₂O, 392 (27.7); 298 (45.5); 269 (15.8); 162 (5.9); 137 (100).

化合物 (II) のセルラーゼによる加水分解 化合物 (II, 10 mg) を EtOH (10 ml) に溶かし, セルラーゼ (100 mg) を含む水 (20 ml) を加え, 20—25° で 72 hr 攪拌. 反応後, 液量を半量まで濃縮. AcOEt で振とう抽出. 得られた生成物をシリカゲルクロマトグラフィーに付し, 加水分解物 (IV, 5 mg) を得た. mp 196—197°. $[\alpha]_D^{20} -119^\circ$ (CHCl₃, $c=0.4$). $[M]_D -512^\circ$. C₂₇H₄₂O₄. Anal. Calcd. C, 75.31; H, 9.83. Found: C, 75.32; H, 9.83. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3450 (OH), 980, 960, 910, 895 (spirostane ring). NMR: Table II. MS m/e (%): M⁺, 430 (12); M⁺-H₂O, 412 (3); 298 (45.5); 139 (100). mp TLC, IR-, NMR-スペクトルを 3-*epi*-ruscogenin の標品のものと比較し, 一致することを認めた. 一方, 水層は透析処理後, 透析物を減圧濃縮して, 得られた残渣からグルコースを検出した. TLC (R_f : 0.71, BuOH: AcOH: H₂O=1: 1: 1). TMS 化体の GC (t_R : 10.5 min, カラム: 4 mm (ID) × 1.5 m のガラスカラム; 1.5% OV-17, 担体: 80/100 chromosorb W, カラム温度: 140°, キャリヤー: 窒素ガス, 流速: 45 ml/min).

化合物 (III) のセルラーゼによる加水分解 化合物 (III, 15 mg) を EtOH (10 ml) に溶かし, セルラーゼ (100 mg) を含む水 (20 ml) を加え, II の加水分解と同様に処理し, ゲニン (V, 6 mg) を得た. V を MeOH から再結晶して, 無色板状晶として得た. mp 167—169°. C₂₇H₄₀O₄. Anal. Calcd. C, 75.66; H, 9.41. Found: C, 75.66; H, 9.53. $[\alpha]_D^{20} -121^\circ$ (CHCl₃, $c=0.24$). $[M]_D -519^\circ$. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3500 (OH), 980, 960, 920, 900 (spirostane ring), 875 ($>C=CH_2$). NMR: Table II. MS m/e (%): M⁺, 428 (14.3); M⁺-H₂O, 410 (28.6); 298 (71.4); C₆H₁₃O⁺, 137 (100). mp TLC, IR-, NMR-スペクトルを 3-*epi*-neoruscogenin の標品のものと比較し, 一致することを認めた. 水層については, II の場合と同様に透析し, グルコースの存在を認めた.

化合物 (II) の過ヨード酸酸化によるホルミル体の生成 化合物 (II, 40 mg) を MeOH (5 ml) に溶かし, *n*-hexane (75 ml) とシクロヘキシルアミン溶液 (15 ml) および過ヨード酸溶液 (3 ml) を加え, 室温で一昼夜攪拌. 反応溶液を減圧濃縮後, 水を加え *n*-hexane で抽出. *n*-Hexane 層を 0.1N H₂SO₄ で洗い, Na₂SO₄ で乾燥. 乾燥剤をろ去後, 溶媒を減圧留去. 残渣をシリカゲルクロマトグラフィーに付し, CHCl₃ 溶出画分を MeOH から再結晶. 無色針状晶 (IVf, 4 mg) を得. CHCl₃-MeOH (50: 1) 溶出画分からは 3-*epi*-ruscogenin (III, 3 mg) を無色板状晶として得た.

IVf の性状—mp 243—244°. C₂₈H₄₂O₅. Anal. Calcd. M⁺, 458.3030. Found: M⁺, 458.3039 (高分解能マスペクトル). IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3400 (OH), 1720, 1175 (O-CHO), 980, 960, 920, 895 (spirostane ring). NMR (CDCl₃) δ : 0.84 (3H, s, C₁₈-3H), 1.08 (3H, s, C₁₉-3H), 1.00 (3H, d, $J=7.5$ Hz, C₂₁-3H), 3.50 (2H, m, C₂₆-2H), 3.81 (1H, dd, $J_1=10.5$, $J_2=5$ Hz, C₁-H), 5.22 (1H, m, $W1/2=7$ Hz, C₃-H), 5.54 (1H, bd, $W1/2=10$ Hz, C₆-H), 8.10 (1H, s, OCHO). なお, 酸化に用いた過ヨード酸溶液は NaIO₄ (2.139 g) を 100 ml の水に液かして製した. また, シクロヘキシルアミン溶液はシクロヘキシルアミン (3 ml) に水を加え 100 ml とし, 酢酸 (約 1.4 ml) を加えて液性を pH 8.0 に調節したものである.

化合物 (III) の過ヨード酸酸化によるホルミル体の生成 化合物 (III, 40 mg) を MeOH (5 ml) に溶かし, *n*-hexane (75 ml) を加え, 続いてシクロヘキシルアミン溶液 (15 ml) および過ヨード酸溶液 (3 ml) を加えて一昼夜室温で攪拌. 反応液を減圧濃縮後, 水を加え *n*-hexane で抽出. *n*-Hexane 層は分取後, 0.1N H₂SO₄ で洗い, Na₂SO₄ で乾燥. 常法処理後, 生成物をシリカゲルクロマトグラフィーで分離. CHCl₃ 溶出画分を MeOH で再結晶して, 無色針状晶 (Vf, 3 mg) を得た. CHCl₃-MeOH (50: 1) 溶出画分を MeOH で再結晶して, 3-*epi*-neoruscogenin (V, 4 mg) を得た.

化合物 (Vf) の性状—mp 199—201°. C₂₈H₄₀O₅. Anal. Calcd. M⁺, 456.2874. Found: M⁺, 456.2905 (高分解能マスペクトル). IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3400 (OH), 1718, 1175 (O-CHO), 980, 960, 895 (spirostane ring). NMR (CDCl₃) δ : 0.81 ppm (3H, s, C₁₈-3H), 1.06 (3H, s, C₁₉-3H), 0.97 (3H, d, $J=7$ Hz, C₂₁-3H), 3.90 (1H, d, $J=12$ Hz, C₂₆-H), 4.38 (1H, d, $J=12$ Hz, C₂₆-H), 4.80 (2H, bs, $W1/2=8$ Hz, C₂₇-2H), 5.20 (1H, m, $W1/2=7$ Hz, C₃-H), 5.52 (1H, m, $W1/2=10$ Hz, C₆-H), 8.09 (1H, s, OCHO). MS m/e (%): M⁺, 456 (2.7); 410 (19.3); 392 (8.9); 298 (55.4); 137 (100).

謝辞 マスペクトルは日本電子株式会社の方々に測定していただいた. お礼申し上げます. 元素分析, NMR スペクトルは本学薬学部中央分析室の方々に測定していただいた. お礼申し上げます. また, 数種のステロイドサボゲニンの標品を恵与された塩野義製薬株式会社中央研究所の赤堀 昭博士にお礼申し上げます.