

ヤツデ葉のサポニンについて<sup>1)</sup>

富森 毅, 木津治久

北陸大学薬学部<sup>2)</sup>On the Saponins from the Leaves of *Fatsia japonica* DECNE. et PLANCH.<sup>1)</sup>

TSUYOSHI TOMIMORI and HARUHISA KIZU

School of Pharmacy, Hokuriku University<sup>2)</sup>

(Received June 10, 1978)

Two triterpenoid saponins, hederagenin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside (I) and oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside (III), were obtained from the leaves of *Fatsia japonica* DECNE. et PLANCH. In addition, the structures of two formerly reported *Fatsia* saponins, " $\alpha$ -fatsin"<sup>5)</sup> and "oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside,"<sup>6a)</sup> were revised as being I and III, respectively.

**Keywords**—*Fatsia japonica*; Araliaceae; oleanane type saponins; hederagenin glycoside; oleanolic acid glycoside; revised structure of *Fatsia* saponins

ヤツデ *Fatsia japonica* (Araliaceae) の葉のサポニンについては古く太田<sup>3)</sup> および小竹ら<sup>4)</sup> の研究があるが、最近種村ら<sup>5)</sup> はヤツデ葉の粗サポニンをアルカリで処理して得られるプロサポゲニンについて検討し、hederagenin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside ( $\alpha$ -fatsin), oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside( $\beta_1$ -fatsin), hederagenin 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranoside ( $\beta_2$ -fatsin) とともに oleanolic acid の配糖体 ( $\beta_3$ -fatsin) および echinocystic acid の配糖体 ( $\beta_4$ -fatsin) を単離、報告している。また青木ら<sup>6)</sup> は本植物の葉、花および果実のサポニンについて比較研究を行なっており、葉からは前記  $\alpha$ - および  $\beta_2$ -fatsin とともに hederagenin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside および oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside を真正サポニンとして単離、報告している。著者らは現在二三の生薬のサポニン成分について検討を行なっているが、<sup>7)</sup> 今回その一環として比較用のサポニン標品を得る目的でヤツデ葉について種村らの方法<sup>5)</sup> を追試したところ新たに前記以外の 2 種のプロサポゲニン、A (I) および B (III), が単離された。これらは検討の結果それぞれ hederagenin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside (I) および oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside (III) と同定した。同時に本研究過程で、従来報告されている前記  $\alpha$ -fatsin<sup>5)</sup> と oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside<sup>6a)</sup> の構造に疑問点が生じ、再検討を行なった結果両者の糖部分の結合位置にいずれも誤りがあることが判明し、前者は I に後者は III に一致することが証明されたので併せ報告する。

まず実験の部に示すようにヤツデ葉を処理し、A および B を単離した。A (I), 無色針状晶, mp 254—256° (dec.),  $[\alpha]_D + 40.0^\circ$  ( $c = 1.00$ , pyridine),  $C_{41}H_{66}O_{13} \cdot 3H_2O$ , は酸加水分解により hederagenin, glucose および arabinose を与える。I のプロトン核磁気共鳴 (PMR) スペクトルでは 5.06 ppm に糖部分のアノメリック水素に基づく 2H 分のシグナルが doublet ( $d, J=6.0$  Hz) として認められる。Kuhn 法<sup>8)</sup> により得た I の完全メチル

1) 日本薬学会第 98 年会で発表、岡山、1978 年 4 月。

2) Location: 3, Ho, Kanagawa-machi, Kanazawa.

3) 太田賢一郎、慶医, 3, 1111 (1924); *idem*, 北里報告, 7, 95, 109, 119 (1925).

4) 小竹無二雄、田口勝太、岡本楨次、理研報, 12, 589 (1933).

5) 種村 满、高村圭一、葉誌, 95, 1 (1975).

6) a) T. Aoki, Y. Tanio, T. Suga, *Phytochem.*, 15, 781 (1976); b) T. Aoki, T. Suga, *ibid.*, 17, 771 (1978).-7) a) M. Shimizu, M. Arisawa, N. Morita, H. Kizu, T. Tomimori, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 26, 655 (1978); b) M. Shimizu, K. Shingyouchi, N. Morita, H. Kizu, T. Tomimori, *ibid.*, 26, 1666 (1978).8) R. Kuhn, *Angew. Chem.*, 67, 32 (1955).

化物 (II) の PMR スペクトルは 4.32 ppm' ( $1\text{H}$ , d,  $J=6.0\text{ Hz}$ ) と 4.55 ppm ( $1\text{H}$ , d,  $J=7.2\text{ Hz}$ ) にそれぞれ arabinose および glucose のアノメリック水素に基づくシグナルを与える。II のマススペクトル (MS) では  $\text{M}^+$  に相当する  $m/e 878$  のほか末端 glucose に由来する  $m/e 219$  のフラグメントピークが認められる。II はメタノリシスにより 23-O-methylhederagenin methyl ester, methyl 3,4-di-O-methyl-L-arabinopyranoside ( $S_1$ ) および methyl 2,3,4,6-tetra-O-methyl-D-glucopyranoside ( $S_2$ ) を与える。また I における糖部分の結合様式は、前記の PMR データから D-glucopyranose は  $\beta$ -結合, L-arabinopyranose は  $\alpha$ -結合と考えられ、これはさらに実験の部に示すように Hudson 則<sup>9)</sup> ならびに Klyne 法<sup>10)</sup> を適用した結果とも一致している。以上の結果から I は hederagenin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1→2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside と結論した。本品はすでにアケビの種子より単離されている saponin C<sup>11)</sup> に相当することから標品と混融、赤外線吸収 (IR) スペクトル、薄層クロマトグラフィー (TLC) の  $R_f$  値を比較し同定した。

B (III), 無色針状晶, mp 264—266° (dec.),  $[\alpha]_D +20.1^\circ$  ( $c=1.00$ , pyridine),  $C_{41}\text{H}_{66}\text{O}_{12} \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ , は酸加水分解により oleanolic acid, glucose および arabinose を、また Kuhn 法<sup>8)</sup> によるメチル化では完全メチル化物 (IV) を与える。PMR スペクトルは arabinose のアノメリック水素に基づくシグナルが III では 4.88 ppm ( $1\text{H}$ , d,  $J=5.5\text{ Hz}$ ), IV では 4.56 ppm ( $1\text{H}$ , d,  $J=4.0\text{ Hz}$ ) に、また glucose のそれにに基づくシグナルが III では 5.08 ppm ( $1\text{H}$ , d,  $J=7.0\text{ Hz}$ ), IV では 4.46 ppm ( $1\text{H}$ , d,  $J=7.2\text{ Hz}$ ) にそれぞれ認められる。IV の MS は  $m/e 848$  ( $\text{M}^+$ ) のほか末端 glucose に基づく  $m/e 219$  のフラグメントピークを与える。IV はメタノリシスにより methyl oleanolate とともに前記  $S_1$  および  $S_2$  を与える。また糖部分の結合様式は I の場合と同様にして決定した。以上の知見から III は oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl (1→2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside と結論される。本品はアケビの果皮から得られている saponin P<sub>E</sub><sup>12)</sup> に相当することから標品と直接比較 (混融, IR, TLC) して同定した。

一方著者らは先に白頭翁の一サボニンを酸で部分加水分解し、hederagenin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1→4)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside (V)<sup>7b)</sup> を得ている。V はすでに報告されている前記  $\alpha$ -fatsin<sup>5)</sup> と同構造であるが、両者の諸性状は若干異なっており、 $\alpha$ -fatsin の性状はむしろ今回著者らが得た A (I) に類似することと、今回の実験で  $\alpha$ -fatsin に相当するものがヤツデ葉から得られなかったことからその構造に疑問を持ち、 $\alpha$ -fatsin 標品を入手して以下再検討を行なった。 $\alpha$ -fatsin 標品と A (I) は混融、IR、および TLC 所見で完全に一致する。さらに本標品の完全メチル化物の PMR, IR MS, および TLC は II のそれに一致し、メタノリシスにより 23-O-methylhederagenin methyl ester と  $S_1$  および  $S_2$  を与える。以上の知見から  $\alpha$ -fatsin の構造は V ではなく I 式で示されるのが妥当と考えられる。また  $\alpha$ -fatsin を比較標品として oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1→4)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside なる構造で提出されているサボニン<sup>6a)</sup> についても同様に再検討を行なった結果、本物質は III との直接比較で一致した。さらにその完全メチル化物のメタノリシス生成物として methyl oleanolate とともに  $S_1$  および  $S_2$  が証明された。<sup>13)</sup> 以上の結果本物質の構造は III 式に訂正するのが妥当と考えられる。

## 実 驗 の 部

融点は柳本微量融点測定装置で測定、未補正值。PMR スペクトルは日本電子 JEOL-JNM-MH-100 を用い、tetramethylsilane を内部基準とし、ケミカルシフトは  $\delta$  (ppm) で示した。IR スペクトルは日本分光 JASCO-IRA-2, MS は日本電子 JEOL-01 SG-2, 旋光度は日本分光 JASCO-DIR-4 で測定。GLC は島津 GC-6 AM を使用。測定条件:  $\text{H}_2$  40 ml/min, He 60 ml/min, air 0.85 l/min; 5% SE-30 (Chromosorb W, 100—120 mesh) を充填剤とし column temp. 150° で測定したものを GLC-1, 15% 1,4-butanediol succinate (Chromosorb W, 100—120 mesh) で column temp. 195° の場合を GLC-2 として示した。TLC は Kieselgel G nach Stahl (Merck) を用い、 $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$  (25: 8: 1.2) (TLC-1),  $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$  (25: 14: 3) (TLC-2),  $n\text{-BuOH-AcOH-H}_2\text{O}$  (4: 1: 2) (TLC-3),  $n\text{-BuOH-acetone-H}_2\text{O}$  (4: 5: 1) (TLC-4), benzene-acetone (5: 2) (TLC-5), benzene-acetone- $\text{H}_2\text{O}$  (4: 11: 2, 上層) (TLC-6) を展開溶媒とし、dil- $\text{H}_2\text{SO}_4$  噴霧、加熱、発色。

9) C.S. Hudson, *J. Am. Chem. Soc.*, 31, 66 (1909); *ibid.*, 38, 1566 (1916).

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

11) D. Higuchi, K. Miyahara, T. Kawasaki, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 20, 1935 (1972).

12) R. Higuchi, T. Kawasaki, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 24, 1021 (1976).

13) 著者らの依頼により広島大学理学部 青木 正博士により行なわれたものである。

**サボニンの抽出・分離** 種村らの方法<sup>5)</sup>に準じて行なったヤツデ葉の MeOH エキスの温湯可溶部を Et<sub>2</sub>O で脱脂した後 n-BuOH で抽出。n-BuOH 層は濃縮後 MeOH-AcOEt から粗サボニンを沈殿として得。収率 1.7%。粗サボニンは 0.5 N KOH で加水分解し、dil HCl で中和して生ずる沈殿を pyridine-MeOH から再結晶を繰り返し Aを得。沈殿を除いた母液は n-BuOH で抽出、n-BuOH 層を水洗、濃縮後水飽和 AcOEt を展開溶媒とするシリカゲルクロマトに付し Bを得。

**A (I)** 無色針状晶 (pyridine-MeOH), mp 254—256°(dec.),  $[\alpha]_D^{25} +40.0^\circ$  ( $c=1.00$ , pyridine), IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$ : 3400, 1690. PMR ( $C_5D_5N$ )  $\delta$ : 5.06 (2H, d,  $J=6.0$  Hz, glucose および arabinose のアノメリック水素). Anal. Calcd.  $C_{41}H_{66}O_{13} \cdot 3H_2O$ : C, 59.98; H, 8.84. Found: C, 60.09; H, 8.51.  $[M]_D$ : Found, +328°; Calcd., +348.29° [次の  $[M]_D$  を用いて計算; methyl  $\beta$ -D-glucopyranoside (-62.08)<sup>9)</sup>, methyl  $\alpha$ -L-arabinopyranoside (+28.37)<sup>14)</sup> hederagenin (+382.3)<sup>15)</sup>.  $4[M]_D$  (I の  $[M]_D$ -hederagenin 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranoside<sup>16)</sup> の  $[M]_D$ ): -43° (methyl  $\beta$ -D-glucopyranoside の  $[M]_D$  は上記参照). 本品は Akebia seed saponin C 標品および  $\alpha$ -fatsin 標品とそれ混融、IR, TLC-1,6 にて一致。

**I の加水分解** I (10 mg) を 2 N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-50% EtOH で 2 hr 加水分解後半量まで減圧濃縮。生じた沈殿を MeOH から再結晶、無色プリズム晶、mp >300°。本品は hederagenin 標品と混融、IR, PMR にて一致。沈殿を除いた母液は BaCO<sub>3</sub> で中和、濃縮し、TLC-2, 3, 4 にて glucose および arabinose を確認、さらに常法によりトリメチルシリル化を行ない GLC-1 で確認。

**I の完全メチル化物 (II)** I (50 mg) を dimethylformamide (0.5 ml) に溶解し Ag<sub>2</sub>O (500 mg), CH<sub>3</sub>I (0.5 ml) を加え室温で 106 hr 振とうした後 CHCl<sub>3</sub> を加え不溶物を除去、ろ液を減圧濃縮、シリカゲルクロマト.[展開溶媒: benzene-acetone (97: 3)] で精製し II を得。白色粉末 (dil. MeOH) mp 100—103°, IR: no OH, PMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 4.32 (1H, d,  $J=6.0$  Hz, arabinose の C-1-H), 4.55 (1H, d,  $J=7.2$  Hz, glucose の C-1-H), MS  $m/e$ : 878 (M<sup>+</sup>), 379, 219. Anal. Calcd.  $C_{49}H_{82}O_{13}$ : C, 66.94; H, 9.40. Found: C, 66.78; H, 9.44. 本品は  $\alpha$ -fatsin 標品の完全メチル化物と IR, PMR, MS, TLC にて一致。

**II のメタノリシス** II (10 mg) を 8% HCl-MeOH で加水分解し析出した結晶を MeOH から再結晶、無色針状晶、mp 186—187°。標品の 23-O-methylhederagenin methyl ester と直接比較 (混融、IR, PMR) で同定。結晶を除いた母液は Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> で中和、濃縮。TLC-5, GLC-2 にて methyl 3,4-di-O-methyl-L-arabinopyranoside (S<sub>1</sub>) ( $t_R$ : 17.90 min) および methyl 2,3,4,6-tetra-O-methyl-D-glucopyranoside (S<sub>2</sub>) ( $t_R$ : 9.52, 12.96 min) を確認。 $\alpha$ -Fatsin 標品の完全メチル化物についても同様処理し S<sub>1</sub> および S<sub>2</sub> を確認。

**B (III)** 無色針状晶 (MeOH), mp 264—266°(dec.),  $[\alpha]_D^{25} +20.1^\circ$  ( $c=1.00$ , pyridine), PMR ( $C_5D_5N$ )  $\delta$ : 4.88 (1H, d,  $J=5.5$  Hz, arabinose の C-1-H), 5.08 (1H, d,  $J=7.0$  Hz, glucose の C-1-H). IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$ : 3400, 1695. Anal. Calcd.  $C_{41}H_{66}O_{12} \cdot 2\frac{1}{2}H_2O$ : C, 61.86; H, 8.99. Found: C, 61.77; H, 8.66. 本品は標品の “oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1→4)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside”<sup>6a)</sup> と混融、IR, TLC-1,6 にて一致。

**III の加水分解** I の場合と同様に加水分解し析出沈殿を EtoH から再結晶、無色針状晶、mp 308—309°。本品は oleanolic acid 標品と直接比較 (混融、IR, PMR) で同定。沈殿除去母液は I の場合と同様処理し TLC-2, 3, 4, GLC-1 で glucose および arabinose を確認。

**III の完全メチル化物 (IV)** III (100 mg) を dimethylformamide (1 ml), Ag<sub>2</sub>O (1 g), CH<sub>3</sub>I (1 ml) とともに室温で 70 hr 振とう後 I の場合と同様処理し完全メチル化物を得、無色針状晶 (MeOH), mp 146—147°. IR: no OH. PMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 4.46 (1H, d,  $J=7.2$  Hz, glucose の C-1-H), 4.56 (1H, d,  $J=4.0$  Hz, arabinose の C-1-H). MS  $m/e$ : 848 (M<sup>+</sup>), 379, 219, 205. Anal. Calcd.  $C_{48}H_{80}O_{12}$ : C, 67.89; H, 9.50. Found: C, 67.71; H, 9.60.

**IV のメタノリシス** IV (10 mg) を II の場合と同様処理し析出した結晶を MeOH から再結晶、無色針状晶、mp 201—202°。本品は methyl oleanolate 標品と混融、IR, PMR にて一致。結晶を除いた母液も II の場合と同様に処理し TLC-5, GLC-2 で S<sub>1</sub> および S<sub>2</sub> を確認。“oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1→4)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside” 標品<sup>6a)</sup> の完全メチル化物についても同様にメタノリシスを行ない methyl oleanolate, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub> を確認。<sup>13)</sup>

**謝辞** 本研究にあたり貴重なサボニンの標品を恵与された九州大学薬学部 川崎敏男教授、中外製薬株式会社総合研究所 高村圭一博士、広島大学理学部 青木 正博士に深謝いたします。また元素分析および MS の測定をして頂いた本学薬学部 円角美智子、浜野理恵子の両氏にも併せて感謝いたします。

14) C.S. Hudson, *J. Am. Chem. Soc.*, **47**, 265 (1925).

15) Y. Kumekawa, H. Itokawa, M. Fujita, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **22**, 2294 (1974).

16) キヅタ *Hedera rhombea* より単離。<sup>7a)</sup>