

キノコの成分研究 (第 27 報¹⁾) イロガワリのステロール成分について

都井 香織, 八百板康範, 菊地 正雄

Constituents of Mushrooms. XXVII. Sterol Constituents from the Fruiting Body of *Boletus pulverulentus* OPAT.

Kaori TOI, Yasunori YAOITA, and Masao KIKUCHI

(Received November 21, 2007)

Six sterols were isolated from the fruiting bodies of *Boletus pulverulentus* OPAT. (Boletaceae) and identified as (22*E*)-ergosta-5,7,9(11),22-tetraen-3 β -ol (**1**), ergosterol (**2**), ergosta-5,7-dien-3 β -ol (**3**), (22*E*)-ergosta-5,8,22-trien-3 β -ol (**4**), (22*E*)-ergosta-7,22-dien-3 β -ol (**5**) and ergost-7-en-3 β -ol (**6**). The structures were elucidated on the basis of their spectral data. Compounds **1** - **6** have been isolated from the fruiting bodies of *B. pulverulentus* for the first time.

Key words — *Boletus pulverulentus*; Boletaceae; sterol

イロガワリ *Boletus pulverulentus* OPAT. は、イグチ科 (Boletaceae) に属する担子菌類であり、その子実体は傷つくと直ちに濃青色に変わるという特徴を持つ。しかし、その変色に關する成分を含めてイロガワリの化学成分に關する研究はこれまでに行われていない。近年、担子菌類に含有されるステロール成分である ergosterol 並びに ergosterol peroxide に、抗炎症活性^{2,3)} や抗腫瘍活性³⁾ が見いだされ、注目されている。今回著者らは、キノコの化学成分研究の一環としてイロガワリのステロール成分について検討を行い、6種の化合物 (**1** - **6**) を単離したので、それらの化学構造について報告する。

実験の部に詳述したように、仙台市内で採集したイロガワリを Et₂O で抽出し、その Et₂O エキスをシリカゲルカラムクロマトグラフィー及び分取 HPLC に付すことにより化合物 **1** - **6** を単離した。

化合物 **1** は UV スペクトルにおいて、309, 322 及び 337 nm に $\Delta^{5,7,9(11)}$ 構造を有するステロールに特徴的な吸収を示した。⁴⁾ 電子イオン化 (EI)-MS においては m/z 376 ($M^+ - H_2O$) 及び 251 ($M^+ - H_2O - \text{side chain}$) にフラグメントイオンピークが認められることから、化合物 **1**

は分子内に1個の水酸基並びに炭素9個からなる側鎖を有することが示唆された。¹H-NMR スペクトルにおいては、2個の三級メチル基 [δ_H 0.58 (3H, s, H₃-18), 1.25 (3H, s, H₃-19)], 4個の二級メチル基 [δ_H 0.82 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-26), 0.84 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-27), 0.92 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H₃-28), 1.02 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H₃-21)], 二置換二重結合 [δ_H 5.19 (1H, dd, $J = 15.3, 7.4$ Hz, H-22), 5.22 (1H, dd, $J = 15.3, 7.1$ Hz, H-23)] に基づくシグナルが認められた。これより、本化合物は (22*E*)-ergosta-5,7,9(11),22-tetraen-3 β -ol と推定されたので、マイタケから単離された標品⁵⁾ との直接比較 (¹H-NMR スペクトル, HPLC) により同定した。

化合物 **2** は UV スペクトルにおいて、269, 280 及び 291 nm に $\Delta^{5,7}$ 構造を有するステロールに特徴的な吸収を与えた。⁴⁾ ¹H-NMR スペクトルにおいては、2個の三級メチル基 [δ_H 0.63 (3H, s, H₃-18), 0.94 (3H, s, H₃-19)], 4個の二級メチル基 [δ_H 0.82 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-26), 0.84 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-27), 0.92 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-28), 1.04 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H₃-21)], 二置換二重結合 [δ_H 5.17 (1H, dd, $J = 15.3, 5.9$ Hz, H-22), 5.23 (1H, dd, $J = 15.3, 6.9$ Hz, H-23)] に基づくシグナルが認められた。これより、本

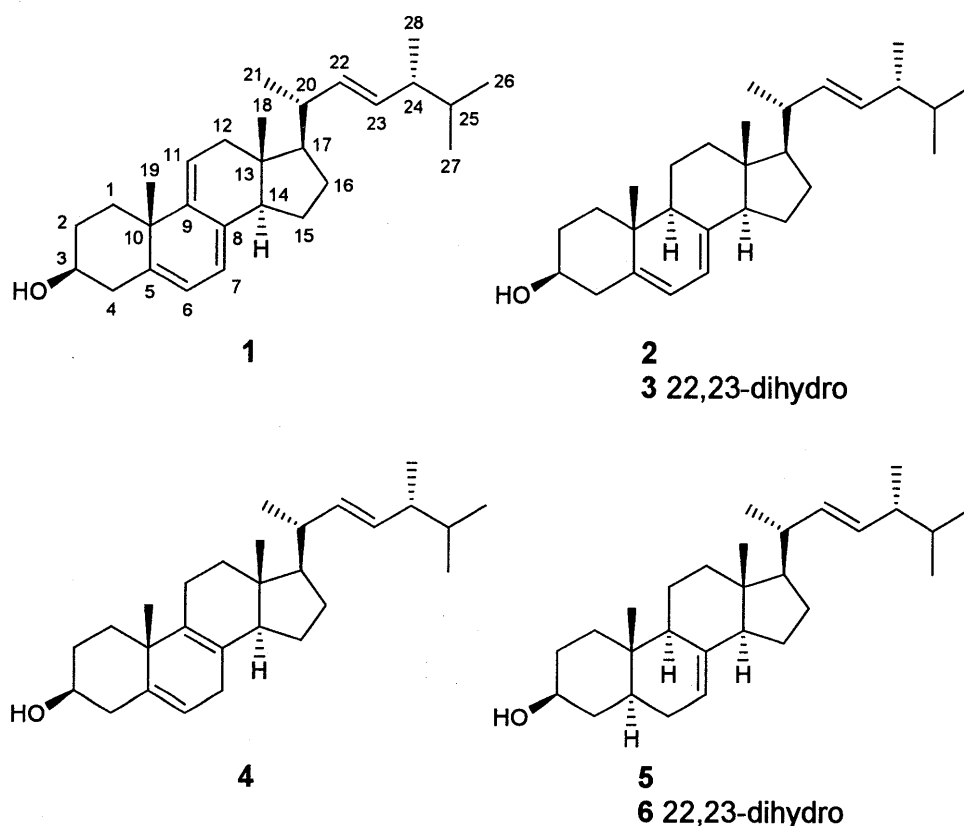


Chart 1

化合物を ergosterol と推定し、コウタケから単離された標品⁶⁾との直接比較 (¹H-NMR スペクトル, HPLC) により同定した。

化合物 **3** の ¹H-NMR スペクトルは化合物 **2** に類似しているが、**2** に認められた側鎖の二重結合に由来するシグナルが消失していることから、本化合物は ergosta-5,7-dien-3β-ol と推定された。そこで、マイタケから単離された標品⁵⁾との直接比較 (¹H-NMR スペクトル, HPLC) により同定した。

化合物 **4** は、¹H-NMR スペクトル [δ_{H} 0.66 (3H, s, H₃-18), 1.19 (3H, s, H₃-19), 5.16 (1H, dd, $J = 15.3, 7.1$ Hz, H-22), 5.20 (1H, dd, $J = 15.3, 5.4$ Hz, H-23), 5.43 (1H, m, H-6)]⁷⁾より $\Delta^{5,8,22}$ 構造を有するステロールである (22*E*)-ergosta-5,8,22-trien-3β-ol と推定されたので、マイタケから単離された標品⁵⁾との直接比較 (¹H-NMR スペクトル, HPLC) により同定した。

化合物 **5** は ¹H-NMR スペクトル [δ_{H} 0.54 (3H, s, H₃-18), 0.80 (3H, s, H₃-19), 5.19 (3H, m,

H-7, H-22, H-23)]⁷⁾より $\Delta^{7,22}$ 構造を有するステロールである (22*E*)-ergosta-7,22-dien-3β-ol と推定され、マイタケから単離された標品⁵⁾との直接比較 (¹H-NMR スペクトル, HPLC) により同定された。

化合物 **6** は、¹H-NMR スペクトル及びマイタケから単離された標品⁵⁾との直接比較 (¹H-NMR スペクトル, HPLC) により ergost-7-en-3β-ol と同定された。

以上、化学成分に関する報告がなかったイロガワリのステロール成分について検討を行い、6種の ergostane 型ステロールの存在を初めて明らかにすることができた。

実験の部

UV スペクトルは Beckman DU-64 型を用いて測定した。EI-MS は日本電子 JMS-DX 303 型を用いて測定した。NMR スペクトルは日本電子

JNM-EX 270 型を使用し, 内部標準物質に tetramethylsilane (TMS) を用いて測定した (略語: s = singlet, d = doublet, dd = double doublet, ddd = double double doublet, m = multiplet). 化学シフトは δ 値 (ppm) で示し, 結合定数 (J) は Hz で表した. シリカゲルカラムクロマトグラフィーには充填剤として Kieselgel 60 (Merck, 230 - 400 mesh) を使用した. 分取 HPLC には, 東ソー製装置 (ポンプ, CCPD; 検出器, RI-8011) を使用した.

抽出及び分離 1997 年 7 月に, 宮城県仙台市内において採集したイロガワリ 0.7 kg を Et₂O で 2 週間室温にて 3 回抽出後, 抽出液を濃縮し, Et₂O エキス (0.6 g) を得た. このエキスは, 実験に用いるまで冷凍庫中 (-20 °C) に保存した. これをシリカゲルカラムクロマトグラフィー [n-hexane - AcOEt (7 : 3 - 1 : 7), AcOEt, MeOH] に付して分画を行い, フラクション (fr.) 1 - 26 を得た. このうちの fr. 5 を分取 HPLC [column, TSKgel ODS-120T (7.8 mm i.d. × 30 cm, Tosoh); mobile phase, MeOH; flow rate, 1.0 ml/min; column temperature, 40 °C; detector, RI] に付し, 化合物 **1** (1.8 mg), 化合物 **2** (95.6 mg), 化合物 **3** (0.9 mg), 化合物 **4** (0.3 mg), 化合物 **5** (0.6 mg) 及び化合物 **6** (0.8 mg) を単離した.

(22E)-Ergosta-5,7,9(11),22-tetraen-3 β -ol (**1**) 無晶形粉末. UV λ_{\max} (MeOH) nm: 309, 322, 337. EI-MS m/z (rel. int., %): 394 (M⁺, 17), 376 (M⁺ - H₂O, 100), 361 (M⁺ - H₂O - CH₃, 32), 251 (M⁺ - H₂O - side chain, 98), 209 (M⁺ - H₂O and ring D fission, 34). ¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃) δ : 0.58 (3H, s, H₃-18), 0.82 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-26), 0.84 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-27), 0.92 (3H, d, J = 6.9 Hz, H₃-28), 1.02 (3H, d, J = 6.6 Hz, H₃-21), 1.25 (3H, s, H₃-19), 3.61 (1H, m, H-3), 5.19 (1H, dd, J = 15.3, 7.4 Hz, H-22), 5.22 (1H, dd, J = 15.3, 7.1 Hz, H-23), 5.40 (1H, m, H-7), 5.52 (1H, m, H-6), 5.68 (1H, m, H-11). 標品⁵⁾ と HPLC により比較し同定 (t_R = 30.5 min).

Ergosterol (**2**) 無晶形粉末. UV λ_{\max} (MeOH) nm: 269, 280, 291. EI-MS m/z (rel. int., %): 396 (M⁺, 100), 378 (M⁺ - H₂O, 6), 363 (M⁺ - H₂O -

CH₃, 53), 337 (22), 271 (M⁺ - side chain, 11), 253 (M⁺ - H₂O - side chain, 21), 211 (M⁺ - H₂O and ring D fission, 12). ¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃) δ : 0.63 (3H, s, H₃-18), 0.82 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-26), 0.84 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-27), 0.92 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-28), 0.94 (3H, s, H₃-19), 1.04 (3H, d, J = 6.6 Hz, H₃-21), 3.64 (1H, m, H-3), 5.17 (1H, dd, J = 15.3, 5.9 Hz, H-22), 5.23 (1H, dd, J = 15.3, 6.9 Hz, H-23), 5.38 (1H, ddd, J = 5.6, 3.1, 2.5 Hz, H-7), 5.57 (1H, dd, J = 5.6, 2.3 Hz, H-6). 標品⁶⁾ と HPLC により比較し同定 (t_R = 40.0 min).

Ergosta-5,7-dien-3 β -ol (**3**) 無晶形粉末. UV λ_{\max} (MeOH) nm: 269, 280, 291. EI-MS m/z (rel. int., %): 398 (M⁺, 100), 380 (M⁺ - H₂O, 12), 365 (M⁺ - H₂O - CH₃, 56), 339 (32), 271 (M⁺ - side chain, 9), 253 (M⁺ - H₂O - side chain, 12), 211 (M⁺ - H₂O and ring D fission, 14). ¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃) δ : 0.62 (3H, s, H₃-18), 0.78 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-28), 0.79 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-27), 0.86 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-26), 0.94 (3H, s, H₃-19), 0.94 (3H, d, J = 6.3 Hz, H₃-21), 3.64 (1H, m, H-3), 5.39 (1H, m, H-7), 5.57 (1H, m, H-6). 標品⁵⁾ と HPLC により比較し同定 (t_R = 46.5 min).

(22E)-Ergosta-5,8,22-trien-3 β -ol (**4**) 無晶形粉末. EI-MS m/z (rel. int., %): 396 (M⁺, 44), 378 (M⁺ - H₂O, 75), 363 (M⁺ - H₂O - CH₃, 100), 271 (M⁺ - side chain, 27), 253 (M⁺ - H₂O - side chain, 77), 211 (M⁺ - H₂O and ring D fission, 24). ¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃) δ : 0.66 (3H, s, H₃-18), 0.82 (3H, d, J = 6.6 Hz, H₃-26), 0.84 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-27), 0.91 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-28), 1.03 (3H, d, J = 6.6 Hz, H₃-21), 1.19 (3H, s, H₃-19), 3.55 (1H, m, H-3), 5.16 (1H, dd, J = 15.3, 7.1 Hz, H-22), 5.20 (1H, dd, J = 15.3, 5.4 Hz, H-23), 5.43 (1H, m, H-6). 標品⁵⁾ と HPLC により比較し同定 (t_R = 39.5 min).

(22E)-Ergosta-7,22-dien-3 β -ol (**5**) 無晶形粉末. EI-MS m/z (rel. int., %): 398 (M⁺, 100), 383 (M⁺ - CH₃, 24), 273 (M⁺ - side chain, 42), 255 (M⁺ - H₂O - side chain, 40), 231 (ring D fission, 11), 213 (M⁺ - H₂O and ring D fission, 15). ¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃) δ : 0.54 (3H, s,

H₃-18), 0.80 (3H, s, H₃-19), 0.82 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-26), 0.83 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-27), 0.91 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-28), 1.01 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H₃-21), 3.60 (1H, m, H-3), 5.19 (3H, m, H-7, H-22, H-23). 標品⁵⁾と HPLC により比較し同定 ($t_R = 42.5$ min).

Ergost-7-en-3 β -ol (6) 無晶形粉末. EI-MS m/z (rel. int., %): 400 (M^+ , 100), 385 ($M^+ - CH_3$, 20), 273 ($M^+ -$ side chain, 13), 255 ($M^+ - H_2O -$ side chain, 32), 231 (ring D fission, 10), 213 ($M^+ - H_2O$ and ring D fission, 11). ¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃) δ : 0.53 (3H, s, H₃-18), 0.776 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H₃-28), 0.782 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-27), 0.79 (3H, s, H₃-19), 0.85 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H₃-26), 0.92 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H₃-21), 3.59 (1H, m, H-3), 5.16 (1H, m, H-7). 標品⁵⁾と HPLC により比較し同定 ($t_R = 50.0$ min).

謝辞 本研究にあたり, MS 及び NMR スペクトルを測定していただいた本学中央機器室の方々に深謝いたします.

REFERENCES

- 1) Part XXVI: Yaoita Y., Satoh Y., Kikuchi M., *J. Nat. Med.*, **61**, 205 – 207 (2007).
- 2) Yasukawa K., Akihisa T., *Nihon Yukagakkaiishi*, **49**, 571 – 582 (2000).
- 3) Kobori M., Yoshida M., Ohnishi-Kameyama M., Shinmoto H., *British J. Pharmacol.*, **150**, 209 – 219 (2007).
- 4) Good L. F., Akihisa T., "Analysis of Sterols," Chapman & Hall, London, 1997, pp. 144 – 151.
- 5) Ishizuka T., Yaoita Y., Kikuchi M., *Natural Medicines*, **52**, 276 – 278 (1998).
- 6) Ueno T., Yaoita Y., Kakuda R., Machida K., Kikuchi M., *J. Tohoku Pharmaceutical University*, **46**, 71 – 76 (1999).
- 7) Wilson W. K., Sumpter R. M., Warren J. J., Rogers P. S., Ruan B., Schroepfer G. J., Jr., *J. Lipid Res.*, **37**, 1529 – 1555 (1996).