

リュウタンの化学成分について (第3報¹⁾)

小林 渚, 角田 利枝, 菊地 正史, 八百板康範, 町田 浩一, 菊地 正雄

On the Chemical Constituents of *Gentianae Scabrae Radix*. III

Nagisa KOBAYASHI, Rie KAKUDA, Masafumi KIKUCHI, Yasunori YAOITA,
Koichi MACHIDA, and Masao KIKUCHI

(Received November 22, 2003)

Uvaol 3-*O*-palmitate, erythrodiol 3-*O*-palmitate, betulin 3-*O*-palmitate, campesterol, sitosterol, stigmasterol, loganic acid, kingside, and adenosine were isolated from *Gentianae Scabrae Radix*. Their structures were determined on the basis of spectral data.

Key words — *Gentianae Scabrae Radix*; Gentianaceae; triterpenoid; sterol; iridoid

著者らは先に, リュウタンから新規セコイリドイド配糖体²⁾及び新規トリテルペノイド¹⁾を単離し, それらの化学構造について報告した. 今回はその他の化学成分について検討を行ったので報告する.

前報¹⁾に詳述したように MeOH エキスを CHCl₃, AcOEt, *n*-BuOH 及び H₂O の順にそれぞれの可溶部に分画後, このうちの CHCl₃ 可溶部及び H₂O 可溶部をシリカゲルカラムクロマトグラフィー並びに分取 HPLC に付して各成分の単離を行った. その結果, CHCl₃ 可溶部から化合物 1 - 6 が, また, H₂O 可溶部から化合物 7 - 9 が得られた.

化合物 1 は ¹H-NMR スペクトルにおいて, 5 個の三級メチル基 [δ_{H} 0.87 (6H, s, H₃-23, H₃-24), 0.98 (3H, s, H₃-25), 0.99 (3H, s, H₃-26), 1.10 (3H, s, H₃-27)], 2 個の二級メチル基 [δ_{H} 0.81 (3H, d, $J = 5.8$ Hz, H₃-29), 0.94 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H₃-30)], 脂肪酸の末端メチル及びメチレンプロトン [δ_{H} 0.88 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H₃-16'), 1.25 (br s, CH₂), 2.29 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, H₂-2')], 酸素官能基の付け根のメチン及びメチレンプロトン [δ_{H} 3.19 (1H, br d, $J = 10.6$ Hz, H-28a), 3.53 (1H, br d, $J = 10.6$ Hz, H-28b), 4.50 (1H, dd, $J = 10.6, 5.5$ Hz, H-3)] 及び三置換二重結合 [δ_{H} 5.13 (1H, br t, $J = 3.6$ Hz, H-12)] に基づくシグナルが認められる. また, 電子イオン化 (EI)-MS において m/z 424

($[M - C_{16}H_{32}O_2]^+$) にフラグメントイオンピークが観察される. これより本化合物は uvaol 3-*O*-palmitate と推定され, 標品³⁾との直接比較 (EI-MS 及び ¹H-NMR スペクトル) により同定した.

化合物 2 は, 化合物 1 と類似の ¹H-NMR スペクトルを与えるが, 1 に認められた 2 個の二級メチル基が消失しており, 新たに 2 個の三級メチル基 [δ_{H} 0.87 (3H, s, H₃-30), 0.89 (3H, s, H₃-29)] のシグナルが認められる. これより本化合物は erythrodiol 3-*O*-palmitate と推定され, 標品³⁾との直接比較 (EI-MS 及び ¹H-NMR スペクトル) により同定した.

化合物 3 は ¹H-NMR スペクトルにおいて, 5 個の三級メチル基, 脂肪酸の末端メチル及びメチレンプロトン, 酸素官能基の付け根のメチン及びメチレンプロトンの他に, isopropenyl 基 [δ_{H} 1.68 (3H, br s, H₃-30), 4.58 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-29a), 4.68 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-29b)] に基づくシグナルが認められる. また, EI-MS において m/z 424 ($[M - C_{16}H_{32}O_2]^+$) にフラグメントイオンピークが観察されることから, 本化合物は betulin 3-*O*-palmitate と推定され, 標品³⁾との直接比較 (EI-MS 及び ¹H-NMR スペクトル) により同定した.

化合物 4, 5 及び 6 は EI-MS 及び ¹H-NMR スペクトルを標品⁴⁾と比較することによりそれぞれ, campesterol, sitosterol 及び stigmasterol と同定した.

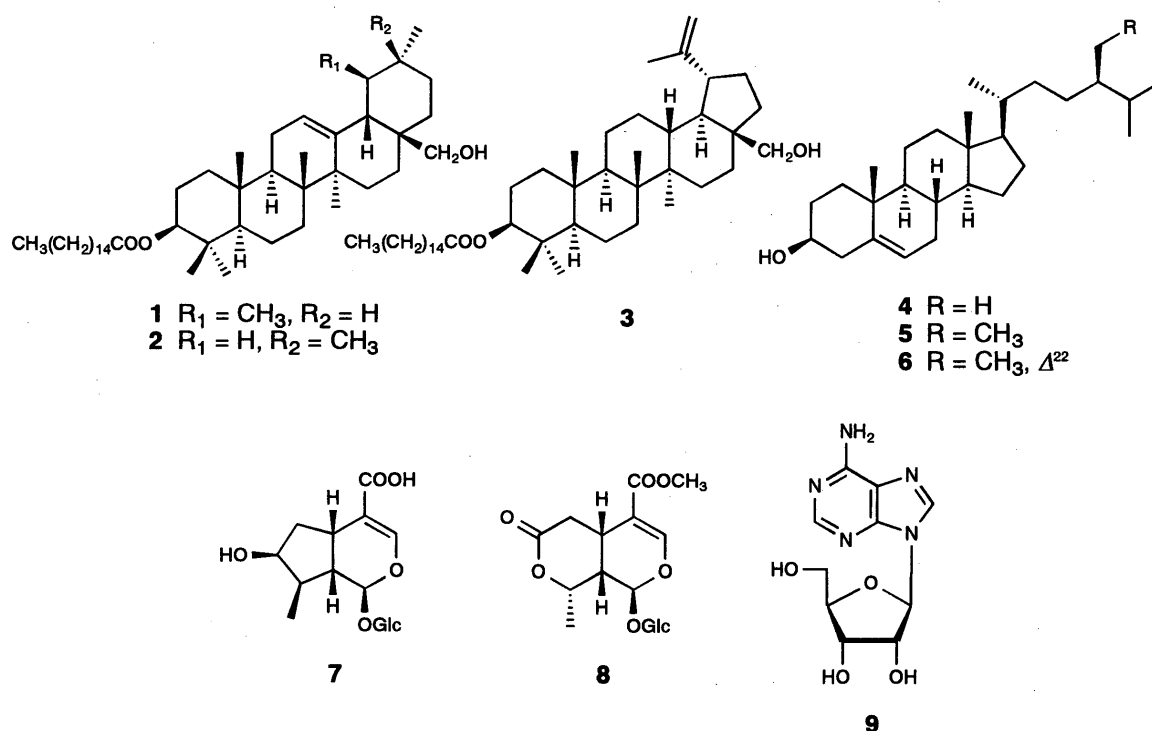


Chart 1

化合物 7 は, $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいてイリド化合物に特徴的な 1 位及び 3 位のプロトン [δ_{H} 5.27 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H-1), 7.38 (1H, s, H-3)] 並びに二級メチル基 [δ_{H} 1.09 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-10)] が観察され, 更に糖のアノメリックプロトン [δ_{H} 4.65 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1')] に基づくシグナルが認められる. これより本化合物は loganic acid と推定され, 標品⁴⁾との直接比較 ($^1\text{H-NMR}$ スペクトル及び HPLC) により同定した.

化合物 8 及び 9 は標品との直接比較 ($^1\text{H-NMR}$ スペクトル及び HPLC) によりそれぞれ, kingiside,⁵⁾ adenosine⁴⁾ と同定した.

以上, 苦味健胃薬として用いられるリュウタンの化学成分について検討を行い, 9 種の既知化合物の存在を新たに確認することができた.

実験の部

EI-MS は日本電子 JMS-DX 303 型を用いて測定した. $^1\text{H-NMR}$ 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. 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は充填剤として Kieselgel 60 (Merck, 230-400 mesh) を用いた. 分取 HPLC は, 東ソー製装置 [ポンプ, CCPS; 検出器, RI-8020; column, TSKgel ODS-120T, 7.8 mm i.d. \times 30 cm; column temperature, 40 $^{\circ}\text{C}$; mobile phase, MeOH or MeOH- H_2O (1 : 4); flow rate, 1.0 ml/min] を使用し, 標品との同定は同じ条件で行った.

分離 前報¹⁾ に詳述した CHCl_3 可溶部の 29 g をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [CHCl_3 -MeOH (19 : 1)] に付して得たそれぞれの画分を分取 HPLC に付し, 化合物 1 (2.0 mg), 化合物 2 (1.5 mg), 化合物 3 (2.0 mg), 化合物 4 (2.0 mg), 化合物 5 (4.0 mg) 及び化合物 6 (3.0 mg) を単離した. H_2O 可溶部をダイヤイオンに吸着させ, MeOH で溶出して得たエキス 35 g をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [CHCl_3 -MeOH- H_2O (30 : 10 : 1)] に付して粗分画後, 分取 HPLC により化合物 7 (1.5 mg), 化合物 8 (2.0

mg) 及び化合物 **9** (2.5 mg) を単離した。

Uvaol 3-O-palmitate (1) 無晶形粉末. EI-MS m/z : 680 $[M]^+$, 424 $([M - C_{16}H_{32}O_2]^+)$. 1H -NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.81 (3H, d, $J = 5.8$ Hz, H_3-29), 0.87 (6H, s, H_3-23, H_3-24), 0.88 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H_3-16'), 0.94 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H_3-30), 0.98 (3H, s, H_3-25), 0.99 (3H, s, H_3-26), 1.10 (3H, s, H_3-27), 1.25 (CH_2), 2.29 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, H_2-2'), 3.19 (1H, br d, $J = 10.6$ Hz, H-28a), 3.53 (1H, br d, $J = 10.6$ Hz, H-28b), 4.50 (1H, dd, $J = 10.6, 5.5$ Hz, H-3), 5.13 (1H, br t, $J = 3.6$ Hz, H-12).

Erythrodiol 3-O-palmitate (2) 無晶形粉末. EI-MS m/z : 680 $[M]^+$, 424 $([M - C_{16}H_{32}O_2]^+)$. 1H -NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.87 (9H, s, H_3-23, H_3-24, H_3-30), 0.88 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H_3-16'), 0.89 (3H, s, H_3-29), 0.94 (3H, s, H_3-25), 0.96 (3H, s, H_3-26), 1.16 (3H, s, H_3-27), 1.25 (CH_2), 2.29 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, H_2-2'), 3.22 (1H, br d, $J = 11.0$ Hz, H-28a), 3.55 (1H, br d, $J = 11.0$ Hz, H-28b), 4.50 (1H, dd, $J = 10.6, 5.5$ Hz, H-3), 5.19 (1H, br t, $J = 3.6$ Hz, H-12).

Betulin 3-O-palmitate (3) 無晶形粉末. EI-MS m/z : 680 $[M]^+$, 424 $([M - C_{16}H_{32}O_2]^+)$. 1H -NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.84 (6H, s, H_3-23, H_3-24), 0.85 (3H, s, H_3-25), 0.88 (3H, t, $J = 6.4$ Hz, H_3-16'), 0.98 (3H, s, H_3-27), 1.02 (3H, s, H_3-26), 1.25 (CH_2), 1.68 (3H, br s, H_3-30), 2.28 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H_2-2'), 3.33 (1H, br d, $J = 11.0$ Hz, H-28a), 3.80 (1H, br d, $J = 11.0$ Hz, H-28b), 4.47 (1H, dd, $J = 10.7, 5.3$ Hz, H-3), 4.58 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-29a), 4.68 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-29b).

Campesterol (4) 無晶形粉末. EI-MS m/z : 400 $[M]^+$. 1H -NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.68 (3H, s, H_3-18), 0.77 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H_3-28), 0.80 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, H_3-26), 0.85 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H_3-27), 0.91 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H_3-21), 1.01 (3H, s, H_3-19), 3.53 (1H, m, H-3), 5.35 (1H, br d, $J = 5.3$ Hz, H-6).

Sitosterol (5) 無晶形粉末. EI-MS m/z : 414 $[M]^+$. 1H -NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.68 (3H, s, H_3-18), 0.81 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H_3-27), 0.84 (3H, d, $J = 5.3$ Hz, H_3-26), 0.85 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, H_3-29),

0.92 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H_3-21), 1.01 (3H, s, H_3-19), 3.52 (1H, m, H-3), 5.35 (1H, br d, $J = 5.3$ Hz, H-6).

Stigmasterol (6) 無晶形粉末. EI-MS m/z : 412 $[M]^+$. 1H -NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.70 (3H, s, H_3-18), 0.79 (3H, d, $J = 5.6$ Hz, H_3-27), 0.80 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, H_3-29), 0.85 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H_3-26), 1.01 (3H, s, H_3-19), 1.02 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H_3-21), 3.50 (1H, m, H-3), 5.01 (1H, dd, $J = 15.2, 8.4$ Hz, H-23), 5.15 (1H, dd, $J = 15.2, 8.4$ Hz, H-22), 5.35 (1H, br d, $J = 5.3$ Hz, H-6).

Loganic acid (7) 1H -NMR (270 MHz, CD_3OD) δ : 1.09 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H_3-10), 1.65 (1H, m, H-6 α), 1.88 (1H, m, H-8), 2.03 (1H, m, H-9), 2.24 (1H, m, H-6 β), 3.66 (1H, dd, $J = 11.9, 5.4$ Hz, H-6'a), 3.87 (1H, dd, $J = 11.9, 1.3$ Hz, H-6'b), 4.04 (1H, m, H-7), 4.65 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 5.27 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H-1), 7.38 (1H, s, H-3). 標品⁴⁾と HPLC により比較し同定 ($t_R = 27.8$ min).

Kingiside (8) 1H -NMR (270 MHz, CD_3OD) δ : 1.51 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H_3-10), 2.42 (1H, m, H-9), 2.61 (1H, dd, $J = 17.1, 6.1$ Hz, H-6a), 3.01 (1H, dd, $J = 17.1, 7.6$ Hz, H-9), 3.71 (3H, s, OCH_3), 4.69 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 5.66 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-1), 7.50 (1H, s, H-3). 標品⁵⁾と HPLC により比較し同定 ($t_R = 18.8$ min).

Adenosine (9) 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 3.74 (1H, dd, $J = 12.7, 2.6$ Hz, H-5'a), 3.88 (1H, dd, $J = 12.7, 2.3$ Hz, H-5'b), 4.16 (1H, m, H-4'), 4.32 (1H, dd, $J = 5.1, 2.6$ Hz, H-3'), 5.96 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-1'), 8.17 (1H, s, H-8), 8.30 (1H, s, H-2). 標品⁴⁾と HPLC により比較し同定 ($t_R = 15.3$ min).

謝辞 本研究に当たり、MS 及び NMR スペクトルを測定して頂いた本学中央機器室の方々に深謝致します。

REFERENCES

- 1) Part 2: Kakuda R., Iijima T., Yaoita Y., Machida K., Kikuchi M., *Phytochemistry*, **59**, 791 - 794 (2002).

- 2) Kakuda R., Iijima T., Yaoita Y., Machida K., Kikuchi M., *J. Nat. Prod.*, **64**, 1574–1575 (2001).
- 3) Toriumi Y., Kakuda R., Kikuchi Masaf., Yaoita Y., Kikuchi Masao, *Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 89–91 (2003).
- 4) Kakuda R., Yaoita Y., Machida K., Kikuchi M., *J. Tohoku Pharmaceutical University*, **47**, 55–60 (2000).
- 5) Kakuda R., Imai M., Yaoita Y., Machida K., Kikuchi M., *Phytochemistry*, **55**, 879–881 (2000).