

文 冠 果 の 成 分 研 究 (第 1 報)¹⁾陳 英傑^a, 竹田忠紘^b, 荻原幸夫^{b,*}^a 瀋陽薬学院, ^b 名古屋市立大学薬学部Studies on the Constituents of *Xanthoceras sorbifolia* BUNGE. (I)¹⁾YINGJIE CHEN^a, TADAHIRO TAKEDA^b and YUKIO OGIHARA^{b,*}^a Pharmaceutical College of Shenyang, 2-7, Culture-road, Shenyang, China^b Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya, Japan

(Received November 15, 1983)

3,4-Dihydroxybenzoic acid (Protocatechuic acid), 7,8-dihydroxy-6-methoxycoumarin (fraxetin) and 7,8-dihydroxy-6-methoxycoumarin 8-β-D-glucopyranoside (fraxin) were isolated from the fruits of *Xanthoceras sorbifolia* BUNGE.

Keywords—*Xanthoceras sorbifolia*; Sapindaceae; protocatechuic acid; fraxetin; fraxin

無患子科 (Sapindaceae) に属する文冠果 (*Xanthoceras sorbifolia* BUNGE.) の果実および樹皮は、中国民間薬として関節炎と小児夜尿症の治療に使用されている²⁾。その含有成分については、これまでに miricitrin³⁾, fraxoside⁴⁾, xanthocerasaponin⁵⁾ および脂肪油が⁶⁾ 報告されている。今回、われわれは文冠果の果実について、その化学成分を明らかにする目的で研究を行った。

中国の内モンゴルで採集した文冠果の果実を Chart 1 ならびに実験の部記載の方法により抽出、分画精製を行い、Compound 1, 2 および 3 を単離し、化学構造の検討を行った。

Compound 1 は、メタノールより mp 200~203° の淡褐色プリズム晶として得られた。13C-NMR (CMR) スペクトルにおいて δ 115.9~151.5 ppm に 6 個の芳香環炭素シグナルが観察され、そのうち doublet ピークが 3 個あることにより三置換ベンゼン骨格の存在が明らかになった。さらに 1H-NMR (PMR) における δ 6.82~7.50 ppm のピークは、特徴的な 1,3,4-三置換ベンゼンの構造を指示している。

置換基については、FeCl₃ 反応および Tollens 反応陽性により 2 個の水酸基が *ortho* の関係にあると推定された。CMR における 170.4 ppm のピークから、カルボキシル基の存在が明らかになり、以上のデータにより compound 1 を 3,4-dihydroxybenzoic acid (protocatechuic acid) と同定した⁷⁾。

Compound 2 は、メタノールより mp 229~232° の淡黄色針状晶として得られた。質量分析スペクトルにおいて *m/z* 208 に M⁺ を与え、254 nm 紫外線照射で紫色の蛍光が認められた。IR において、1685, 1610, 1580, 1500 cm⁻¹ にそれぞれのカルボニル基と芳香環の吸収を与え、特に、UV スペクトルにおいて 260, 345 nm にクマリンの骨格吸収が認められることから、クマリン誘導体と推定された。PMR および CMR のデータはクマリン誘導体の推定をよく支持する。すなわち、δ 6.32 (1H, d, *J*=9.5 Hz) と 7.66 (1H, d, *J*=9.5 Hz) のシグナルがたがいに coupling し、それぞれクマリンの C(3) および C(4) 位の proton で、CMR において 161.6~100.5 ppm のシグナルは、クマリン骨格の吸収をよく説明する。

置換基については、FeCl₃ 反応陽性、Fast Blue Salt B 反応陽性により水酸基の存在が認められ、常法によりアセチル化すると diacetate を与える。PMR において 2.34 および 2.39 ppm にアセチル基に由来するシグナルが観察されることから compound 2 は 2 個の水酸基があることが認められた。Tollens 反応陽性により 2 個の水酸基は *ortho* の関係にあることが推定された。PMR において 6.71 ppm に singlet の proton が観測され、CMR において 4 位の炭素と 5 位の水素の間に 6.1 Hz の long range coupling が観測されることから 6.71 ppm の proton は

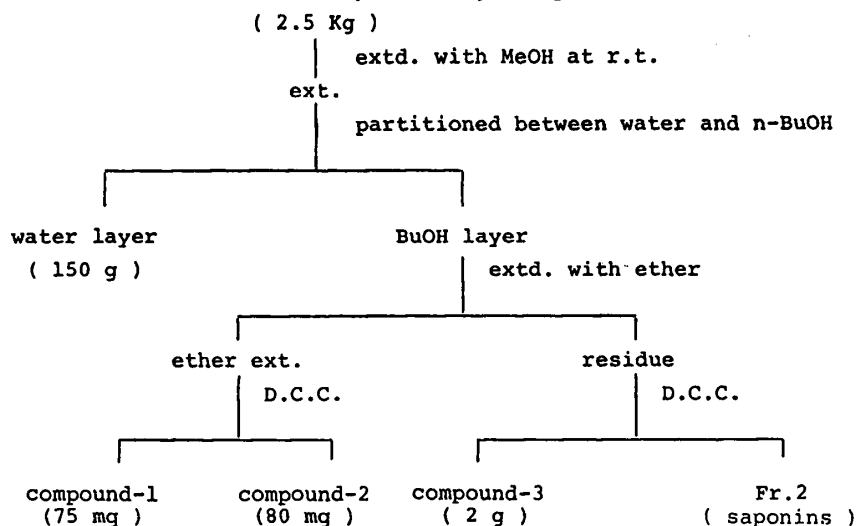
Fruits of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge. (Sapindaceae)

Chart 1.

C(5)-H と推定された。また、CMR の 56.3 ppm (q) ピークおよび PMR の 3.84(3H, S)ppm のシグナルによりメトキシル基の存在が明らかであり、さらに NOE において、このメトキシル基のシグナルを照射すると 6.71 ppm の proton(H-5) の積分強度が13%増加した。このメトキシル基が C(5)-H と *ortho* の関係にあるので C(6) 位にあることが判明した。以上より Compound 2 は 7,8-dihydroxy-6-methoxycoumarin (fraxetin) と推定された。Compound 2 および 2 の diacetate の融点、PMR は文献記載値と完全に一致した⁸⁾。

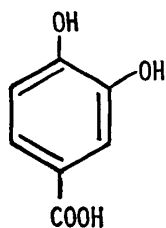
Compound 3 は、メタノールより mp 149~150° の淡黄色針状晶として得られた。本物質は青色蛍光があり、UV スペクトルにおいて 259, 349 nm にクマリン骨格の吸収がある。CMR において 160.1~110.1 ppm にクマリン骨格吸収を与え、103.9~60.7 ppm に糖の吸収を示し、以上より compound 3 はクマリン配糖体と推定され、さらに compound 3 を酸あるいは酵素分解すると aglycone と糖を与えた。糖については、TLC および GLC により標品の D-glucose と同定した。Aglycone については、加水分解し得た沈澱を濾別、メタノールより再結晶し、融点 229~231° の淡黄色針状晶を得た。UV, IR, PMR のデータは compound 2 と完全に一致して、fraxetin と同定した。

Glucose の結合位置については、compound 3 を分解して得た aglycone の UV スペクトルにおいて 345 nm の吸収が酢酸ナトリウムを加えると 385 nm に移動した。red shift は 40 nm である。この原因は C(7) 位の水酸基が C(2) 位のカルボニル基と共役の関係にあるので酸性がつよいからである⁹⁾。Compound 3 にも同じ red shift (41 nm) が認められることから、ともに C(7) 位の水酸基がフリーであり、glucose の結合位置は C(8) 位の水酸基と推定された。

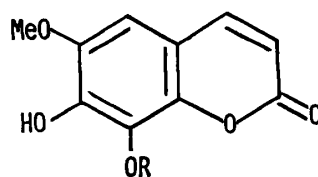
Glucose の結合については、 β -D-glucosidase で加水分解されること、PMR における anomeric proton 4.97 ppm doublet $J=6.0$ Hz であることから糖の結合は β -結合であり、以上より compound 3 は 7,8-dihydroxy-6-methoxycoumarin 8- β -D-glucopyranoside(fraxin) と同定された¹⁰⁾。

Compound 1 および 2 は本植物からは初めての化合物である。

Fr. 2 はサポニンの混合物であり、これらの単離および構造については、現在検討中である。



compound 1



compound 2 R=H
compound 3 R=Glc

Chart 2.

実験の部

融点は柳本微量融点測定器で測定し未補正である。UV スペクトルは島津 UV-240 型, MS スペクトルは JEOL DX-300 型, 旋光計は JASCO DIP-140 型を使用し測定した。 $^1\text{H-NMR}$ は MH-100 型, $^{13}\text{C-NMR}$ は JEOL JNM-FX-100 型, TMS を内部標準とし chemical shift は δ 値(ppm) で示し, coupling constant(J) は Hz で表わした。GLC, 島津 GC-6A 型, 2% OV-17 on chromosorb WAN-DMCS 3 mm $\times$ 2m を使用し測定した。

抽出と分離

文冠果の果実 (2.5 kg) を粉碎後, 石油 ether で脱脂し, 残渣は MeOH (5 l, 6 回) で室温浸出し, MeOH エキス (193 g) を得た。さらに MeOH エキスを *n*-BuOH (1 l) と H₂O (1 l) に分配し, *n*-BuOH エキス (95 g) を hexane (150 ml, 3 回), ether (150 ml, 5 回) で抽出し, hexane エキス (28.2 g), ether エキス (2.0 g) および不溶部 (46.8 g) を得た。ether エキスは, 溶媒系 CHCl₃-MeOH-H₂O (35 : 65 : 40) を用いて DCC を行い, compound 1 (75 mg) および compound 2 (80 mg) を得た。不溶部は, 同じ溶媒系で DCC を行い, compound 3 (2 g) を得た。

Compound 1

淡褐色プリズム晶, mp 200~203° (MeOH) (Lit.⁸⁾ mp 200~202°, FeCl₃ 反応陽性 (暗青色), Tollens 反応陽性 (黒色)。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 268, 294 (Lit.⁸⁾ 270, 290, H₂O)。PMR (CD₃OD) δ : 7.50 (1H, br. s, H-2), 6.82 (1H, d, $J=8$ Hz, H-5), 7.48 (1H, dd, $J=8$ Hz, 2Hz, H-6)。CMR (CD₃OD) δ : 123.1 (s, C-1), 117.8 (d, C-2), 145.9 (s, C-3), 151.5 (s, C-4), 115.9 (d, C-5), 124.1 (d, C-6), 170.4 (s, COOH)。

Compound 2

淡黄色針状晶, mp 229~232° (MeOH) (Lit.⁹⁾ 228°。FeCl₃ 反応陽性 (青色), Fast Blue Salt B 反応陽性 (赤色), Gibbs 反応陽性 (緑色), Tollens 反応陽性 (黒色)。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 212, 260, 345, $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}+\text{NaOAc}}$ nm: 220, 268, 385。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400, 1685, 1610, 1580, 1500, 1460, 1383, 1280, 1080, 930, 835, 742, 630。MS m/z (%): 208 (M⁺, 21), 193 (M⁺-CH₃, 100), 180 (M⁺-CO, 54), 167 (20), 165 (193-CO, 42), 149 (68), 137 (165-CO, 52), 109 (137-CO, 55)。PMR のデータは文献値⁸⁾と一致。CMR (pyridine-d₅) δ : 161.6 (s, C-2), 112.3 (d, C-3), 145.0 (d, C-4), 100.5 (d, C-5), 146.6 (s, C-6), 141.3 (s, C-7), 134.9 (s, C-8), 140.7 (s, C-9), 110.9 (s, C-10), 56.3 (q, OCH₃)。

Compound 2 のアセチル化

Compound 2 (22.5 mg) にピリジン (1 ml), 無水酢酸 (1 ml) を加え, 室温下 48 時間放置した後, 反応液を氷水中に滴下し, CHCl₃ で抽出し, 溶媒を留去後, 残渣は MeOH より再結晶し diacetate を得た。無色針状晶, mp 195~198°。MS m/z (%): 292 (M⁺, 25), 250 (M-COCH₃+H, 64), 208 (M-2COCH₃+2H, 100), 207 (35), 195 (35), 180 (8), 123 (10), 109 (7)。PMR (CDCl₃) δ : 6.35 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-3), 7.58 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-4), 6.68 (1H, s, H-5), 3.87 (3H, s, OCH₃), 2.34, 2.39 (each 3H, s, COCH₃)。

Compound 3

淡黄色針状晶, mp 149~150°。[α]_D²⁵ +39° (c=0.2, MeOH)。Anal. Calcd C₁₆H₁₈O₁₀·1/2H₂O: C, 50.69; H, 5.05, Found: C, 50.66; H, 5.01。UV, IR および PMR のデータは文献値¹⁰⁾と一致。CMR (DMSO-d₆) δ : 160.1 (s, C-2), 111.1 (d, C-3), 144.7 (d, C-4), 104.9 (d, C-5), 145.3 (s, C-6), 143.5 (s, C-7), 131.5 (s, C-8), 142.6 (s, C-9), 110.1 (s, C-10), 56.0 (q, OCH₃), 103.9 (d, C-1'), 73.8 (d, C-2'), 77.3 (d, C-3'), 69.6 (d, C-4'), 75.2 (d, C-5'), 60.7 (t, C-6')。

Compound 3 の酸加水分解

Compound 3 (100 mg) に 5% H₂SO₄ を加え, 水浴上 1 時間加温分解し, 冷後, 反応液に水 (40 ml) を加え, EtOAc で振出し, EtOAc エキスを hexane-EtOAc より再結晶, 淡黄色針状晶の aglycon を得た。TLC の *R_f* 値, UV, IR, PMR および CMR のデータは fraxetin と完全に一致。

水層を BaCO₃ で中和し, 濾過, 濾液を濃縮し, 濃縮液を TLC に付した。結果 (溶媒系 *n*-PrOH-NH₄OH-H₂O, 80 : 1 : 20) 水解液の中の糖 *R_f*=0.34; 標品 D-glucose *R_f*=0.34。さらに, 濃縮液を乾燥し, 残渣 (2 mg) に TMS-HT (0.5 ml) を加え, 5 分間放置後, 反応液を減圧濃縮, 乾燥後, GLC を行った。溶出時間: 標品 TMS 化 glucose 8.4 分, 12.9 分, sample 8.4 分, 12.9 分。

Compound 3 の酵素分解

Compound 3 (20 mg) および β -D-glucosidase(10 mg) を HOAc-NaOAc buffer(pH 5.0, 10 ml) に溶解して, 37° で12時間反応させる. 反応液を EtOAc で抽出, EtOAc エキスを TLC で fraxetin と比較して, 両者の *R_f* 値は (0.60, 溶媒系 CHCl₃-MeOH-H₂O 66:26:8) 完全に一致した.

水層を減圧濃縮後, MeOH で溶出し, MeOH エキスを TLC および GLC で標品の glucose および TMS 化 glucose と比較した. 結果: TLC (溶媒系 *n*-PrOH-NH₄OH-H₂O=80:1:20) *R_f* 値: sample 0.34; 標品 D-glucose 0.34. GLC 溶出時間: sample 8.4分, 12.9分; 標品 TMS 化 glucose 8.4分, 12.9分.

引用文献および注

- 1) 日本生薬学会第30回年会 (徳島, 1983年10月) で一部発表.
- 2) 江蘇新医学院, “中薬大辞典”, 上海人民出版社, 上海, 1977, 上冊, p. 496.
- 3) P. Victor, *Compt. Acad. Ser. D*, **262**(12), 1368 (1966).
- 4) P. Victor, *C.R. Acad. Sci. Paris Ser. D*, **267** (22), 1883 (1968).
- 5) V. Ya. Chirva, *Khim. Prir. Soedin*, **7**(4), 442 (1971).
- 6) 王 洪斗, 李 霞冰, 植物学報, **23**(4), 331(1981).
- 7) G.G. Jeanette, M.R. William, *Atlas of Spectral Data and Physical Constants for Organic Compounds*, 2nd ed. CRC Press, Cleveland, Ohio, 1975, Vol. 2, p 429 b2073; J.P. Charles, R.C. John, *The Aldrich Library of NMR Spectra*, Aldrich Chemical Company Inc., Wisconsin, 1974, Vol. 6, p 165-B.
- 8) The Merck Index, 9th ed., 4116; B. Talapatra, *J. Indian Chem. Soc.*, **52**, 1222 (1975).
- 9) M.H. Robert, *J. Org. Chem.*, **25**, 2183 (1960).
- 10) 郭 希聖, 薬学学報, **8**(6), 434(1983).