

酸棗仁の成分研究

田中由美*, 真田修一
第一製薬株式会社中央研究所Studies on the Constituents of *Ziziphus jujuba* MILLER

YUMI TANAKA* and SHUICHI SANADA

Research Institute, Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.,
16-13, Kitakasai 1-chome, Edogawa-ku, Tokyo 134, Japan

(Received September 21, 1990)

Ziziphus jujuba MILLER, a Chinese traditional medicine, has been recognized to possess a mild sedative activity and used for the treatment of insomnia. In the present experiments, from a water extract of the seeds of *Z. jujuba*, the following compounds were isolated and identified: spinosin (I), swertisin (II), 6'''-feruloylspinosin (III), 6'''-sinapoylspinosin (IV), 6'''-p-coumaloylspinosin (V), 2''-O-glucosylisowertisin (VII), vicienin-2 (VIII), and a new flavonoid, apigenin 6-C-[(6-O-p-hydroxybenzoyl) β -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-glucopyranoside (VI).

Keywords—*Ziziphus jujuba* MILLER; Rhamnaceae; spinosin; swertisin; 6'''-feruloylspinosin; 6'''-sinapoylspinosin; 6'''-p-coumaroylspinosin; 6'''-p-hydroxybenzoylspinosin; 2''-O-glucosylisowertisin; vicienin-2

サンソウニン（酸棗仁）は、サネブトナツメ *Ziziphus jujuba* MILLER または、その他近縁植物 (Rhamnaceae) の種子であり、古来より鎮静、催眠の目的で、酸棗仁湯、帰脾湯等の漢方処方に配合されている主要な生薬である。現在、サンソウニンは、わが国の市場に、中国産およびビルマ産が出回っているが、中国産が良品とされている。

サンソウニンの成分としては、脂肪酸¹⁾、トリテルペンとして betulin, betulinic acid¹⁾、サポニンとして, jujuboside A, B, C²⁾、フラボノイドとして spinosin, 6'''-sinapoylspinosin, 6'''-feruloylspinosin, 6'''-p-coumaroylspinosin³⁾ が報告されている。

今回、中国産サンソウニンの水抽出エキスの成分検索を行い、8種のフラボノイド配糖体を単離し、構造検討を行ったので報告する。なお、中国産サンソウニンと、ビルマ産サンソウニンとの、フラボノイドの成分比較を、薄層クロマトグラム (TLC) によって行ったが、TLC 上では差異は認められなかった。

中国産サンソウニン 4 kg を水抽出し、Chart 1 ならびに実験の部記載の方法により、抽出、分画および、分離精製を行い、化合物 I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII と仮称する 8 種の化合物を単離し、構造検討を行った。

化合物 I~VIII はすべて淡黄色針状晶として得られ、Mg-HCl 反応、FeCl₃ 反応陽性の、フラボノイド化合物である。化合物 I, II, III, IV, VII, VIII は、その種々物理的データより、それぞれ、spinosin⁴⁾、swertisin⁵⁾、6'''-feruloylspinosin³⁾、6'''-sinapoylspinosin³⁾、2''-O-glucosylisowertisin⁶⁾、vicienin-2⁷⁾ と推定し、それらは、文献値と一致した。化合物 V, VI の赤外吸収スペクトル (IR) では、フラボノイドに由来する吸収の他に、エステル吸収 (1686~1695 cm⁻¹) が認められる。化合物 V, VI の ¹H-NMR スペクトル (PMR) は実験の部に、また、化合物 I, V, VI の ¹³C-NMR スペクトル (CMR) は TABLE I に示した。化合物 I の CMR スペクトルにおいて、各炭素のシグナルが 2 本ずつ認められたが、このことは、D. Davoust ら⁸⁾ が apigenin C- β -D-glucoside の室温測定 CMR において、6 位の C- β -D-glucoside の 7 位の水酸基に、メチル基または β -D-glucosyl 基が結合した場合、立体的な障害が生じ、A, B 環の炭素シグナルが 2 本ずつ認められ、90° で測定すると、1 本のシグナルとして測定できると報告していることに一致する。また、PMR も同様に、各炭素上のプロトンが 2 本のシグナルとして測定される。本報告ではすべて室温での測定を行った (TABLE I 実験の部参照)。化合物 V, VI は、5% HCl-MeOH で、それぞ

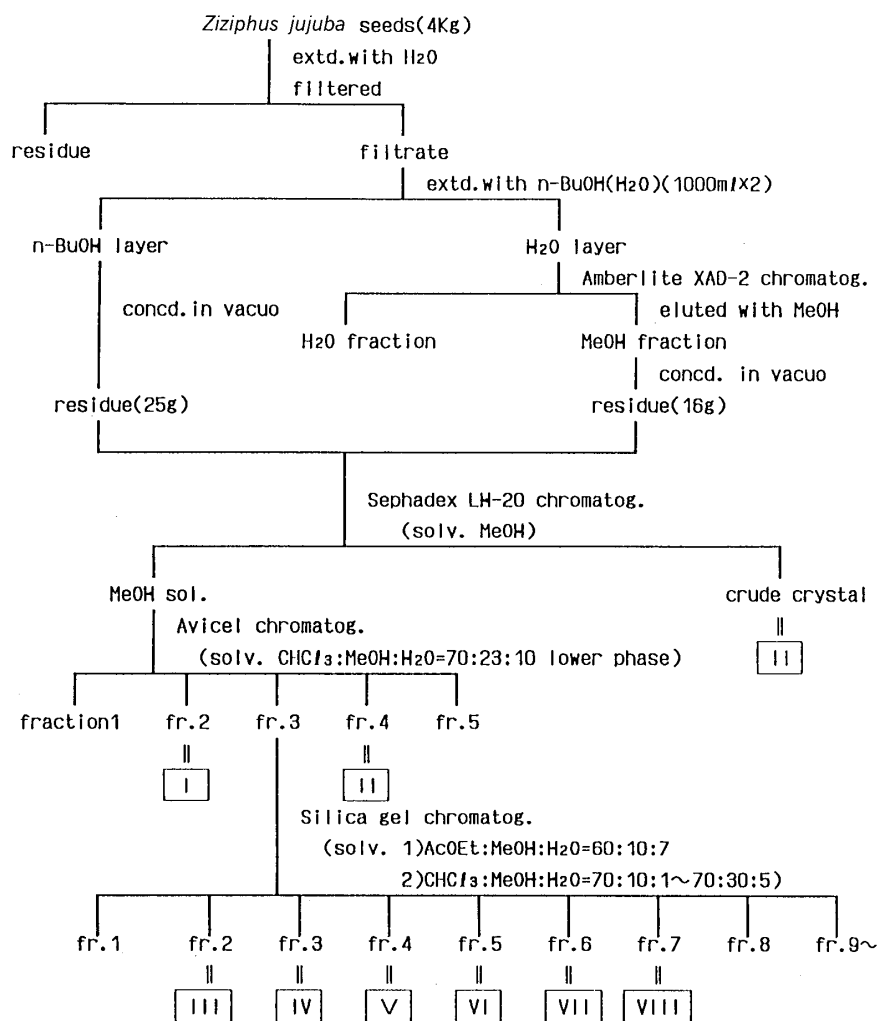


Chart 1. Extraction and Separation of *Ziziphus jujuba* Seeds

れを methanolysis すると両者とも spinosin を与え、その他に、V からは methyl *p*-coumalate (化合物 V_a), VI からは methyl *p*-hydroxybenzoate (化合物 VI_a) を与えることを確認した。また、これらのアシル基の結合位置は、CMR より spinosin の末端 glucose の 6 位と推定した。

以上のことより、化合物は V は 6'''-*p*-coumaloylspinosin, 化合物 VI は 6'''-*p*-hydroxybenzoylspinosin (apigenin 6-C-[(6-O-*p*-hydroxybenzoyl) β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)] β -D-glucopyranoside) と結論した。

なお、化合物 I, III, IV は、W.S. Woo ら³⁾ が、*Ziziphus jujuba* より単離し、その構造を報告している化合物であり、化合物 V は、混合物でその構造を推定し、その物性が明らかにされていなかった。化合物 VI は新化合物であり、化合物 VII, VIII は本植物では初めての報告である。

実験の部

融点は、ヤナギモトマイクロ融点測定装置（未補正）、旋光度は、SEPA-200 自動旋光計（HORIBA）、IR は、JIR-5300 型フーリエ変換赤外吸収スペクトロメーター（日本電子）、UV は、U-3200 spectrophotometer（日立）、FD-MS は、JMC-HX 110（JEOL）にてそれぞれ測定。NMR は、XL-200 FT-NMR（Varian）（¹H-NMR（PMR）: 500.00 MHz, ¹³C-NMR（CMR）: 125.65 MHz）にて測定し、ケミカルシフトは、tetramethylsilane（TMS）を内部標準とし、 δ 値（ppm）で示した。TLC 用シリカゲルは、silica gel *F*₂₅₄（Merck）を用い、クロロホルム-メタノール-水（70 : 30 : 5）または、酢酸エチル-メタノール-水（60 : 10 : 7）で展開し、風乾後、UV（254 nm）下で、あるいは、希硫酸噴霧後、110°C、15分で加熱発色させて検出した。カラムクロマトグラフィーは、アンバーライト XAD-2（オルガノ）、Sephadex LH-20（pharmacia）、Avicel（フナコシ）および、ワコーゲル C-300（和光純薬）を使用した。

化合物 I~VIII の抽出ならびに分離

原生薬 4 kg を、Chart 1 に示した方法に従って分離操作を行い、サンソウニン水抽出エキス (500 g)、水飽和ブタ

TABLE I. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (ppm from TMS) of Compound I, V, VI in $\text{DMSO}-d_6$

		I		V		VI	
Aglycone	2	163.7	163.7	163.5	163.8	163.5	163.7
	3	102.9	103.0	102.8	103.1	102.9	103.0
	4	181.9	182.2	181.7	182.2	181.7	182.2
	5	159.6	160.5	159.4	159.7	158.8	159.4
	6	108.4	108.5	108.6	108.7	108.6	108.7
	7	163.8	165.0	164.0	165.1	163.8	164.9
	8	90.2	90.7	89.8	90.5	89.7	90.4
	9	156.9	157.0	156.8	156.9	156.7	156.9
	10	104.1	104.3	103.9	104.4	103.9	104.4
	1'	120.9	121.0	121.1	121.2	121.1	121.2
	2',6'	128.5	128.5	128.4	128.5	128.4	128.4
	3',5'	115.9	115.9	115.7	115.7	115.6	115.7
	4'	161.2	161.2	161.1	161.1	161.6	161.7
	OMe	56.0	56.4	56.0	56.3	56.0	56.2
Glycosyl	1''	76.3	76.3	76.2	76.2	76.1	76.1
	2''	80.7	81.1	80.0	81.6	80.0	81.6
	3''	70.7	71.0	70.6	70.9	70.6	71.0
	4''	69.1	69.4	68.7	68.9	68.8	68.8
	5''	81.5	81.8	81.9	81.9	81.7	81.9
	6''	61.4	61.4	61.4	61.5	61.4	81.9
Glycosyl	1'''	105.1	105.3	105.0	105.5	105.1	105.5
	2'''	74.5	74.6	74.3	74.4	74.4	74.5
	3'''	78.2	78.6	78.5	78.8	78.4	78.8
	4'''	70.4	70.4	70.2	70.3	70.2	70.3
	5'''	76.3	76.6	73.2	73.3	73.2	73.2
	6'''	60.0	60.5	62.1	62.6	61.8	62.5
Acyl	α			166.1	166.2	165.0	165.0
	β			113.4	113.7		
	γ			144.3	144.4		
	1''''			124.8	124.9	120.1	120.2
	2''''			115.6	115.6	114.9	114.9
	3''''			130.0	130.1	131.0	131.1
	4''''			160.7	160.7	160.7	161.0
	5''''			130.0	130.1	131.0	131.1
	6''''			115.6	115.6	114.9	114.9

ノール可溶部 (25 g), Amberlite XAD-2 でのメタノール溶出部 (16 g), Sephadex LH-20 でのフェノール性画分を得た。このフェノール性画分を、アビセルおよび、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを繰り返して行い、化合物 I (2.7 g), 化合物 II (2 mg), 化合物 III (360 mg), 化合物 IV (280 mg), 化合物 V (60 mg), 化合物 VI (30 mg), 化合物 VII (230 mg), 化合物 VIII (30 mg) を得た。

化合物 V, VI の物性

化合物 V

淡黄色針状晶 (H_2O), mp. 203~207°C (decomp.), $\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{O}_{17}$ (MW. 754. 67), FD-MS m/z : 754. 00 (M^+), EI-MS m/z : 446, 410, 392, 297, 164, 147. Mg-HCl: 赤橙色, FeCl_3 : 深緑色. $[\alpha]_D^{25} - 14.3^\circ$ ($c=0.14$, pyridine). $\text{IR}_{\nu_{\max}} \text{ cm}^{-1}$: 3385 (OH), 1684 (ester), 1653 (C=O), 1606 (C=C). $\text{UV}\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 276 (4.58), 320 (4.74). $\text{UV}\lambda_{\max}^{\text{EtOH}+\text{NaOAc}}$ nm: 274, 321. $\text{UV}\lambda_{\max}^{\text{EtOH}+\text{AlCl}_3}$ nm: 285, 303, 325. PMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 3.85, 3.91 (3 H, s, $\text{C}_7\text{-OCH}_3$), 6.13, 6.16 (1 H,

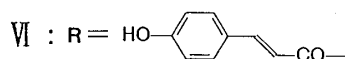
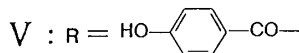
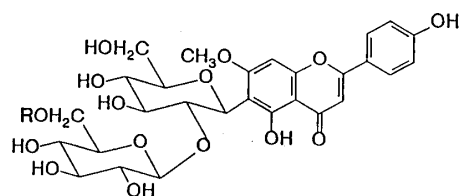


Fig. 1.

d, $J=15.9$ Hz, $\text{C}_7\text{-H}$), 6.58, 6.68 (1 H, s, $\text{C}_8\text{-H}$), 6.73, 6.75 (1 H, s, $\text{C}_3\text{-H}$), 6.76, 6.78 (2 H, d, $J=8.7$ Hz, $\text{C}_3', 5'\text{-H}$), 6.85, 6.90 (2 H, d, $J=8.7$ Hz, $\text{C}_3''', 5'''\text{-H}$), 7.14, 7.24 (1 H, d, $J=15.9$ Hz, $\text{C}_\beta\text{-H}$), 7.31, 7.40 (2 H, d, $J=8.7$ Hz, $\text{C}_2''', 6'''\text{-H}$), 7.83, 7.84 (2 H, d, $J=8.7$ Hz, $\text{C}_2', 6'\text{-H}$), 10.00 (1 H, s, $\text{C}_4'\text{-OH}$), 13.48, 13.61 (1 H, s, $\text{C}_5\text{-OH}$). CMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : TABLE I 参照.

化合物 VI

淡黄色針状晶 (H_2O), mp. 207~211°C (decomp.), $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{O}_{17}$ (MW. 728.64), FD-MS m/z : 728.00 (M^+), EI-MS m/z : 392, 297, 138, 121. Mg-HCl: 赤橙色, FeCl_3 : 深緑色. $[\alpha]_D^{25} -38.4^\circ$ ($c=0.125$, pyridine). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBL}}$ cm^{-1} : 3404 (OH), 1695 (ester), 1653 ($\text{C}=\text{O}$), 1608 ($\text{C}=\text{C}$). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 268 (4.47), 341 (4.40). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}+\text{NaOAc}}$ nm: 269, 342. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}+\text{AlCl}_3}$ nm: 277, 302, 348. PMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 3.80, 3.87 (3 H, s, $\text{C}_7\text{-OCH}_3$), 6.52, 6.53 (1 H, s, $\text{C}_8\text{-H}$), 6.63, 6.70 (1 H, s, $\text{C}_3\text{-H}$), 6.66, 6.74 (2 H, d, $J=8.7$ Hz, $\text{C}_3''', 5'''\text{-H}$), 6.89, 6.94 (2 H, d, $J=8.7$ Hz, $\text{C}_3', 5'\text{-H}$), 7.43, 7.52 (2 H, d, $J=8.7$ Hz, $\text{C}_2''', 6'''\text{-H}$), 7.78, 7.85 (2 H, d, $J=8.7$ Hz, $\text{C}_2', 6'\text{-H}$), 13.47, 13.61 (1 H, s, $\text{C}_5\text{-OH}$). CMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : TABLE I 参照.

化合物 V, VI の methanolysis

化合物 V (30 mg), VI (5 mg) に, それぞれ 5% HCl-MeOH 溶液 (1 ml) を加え, 50°, 3 h 加熱し, 反応液を冷却後, 室温で減圧濃縮し, 残留物にクロロホルム 5 ml を加え, 可溶部 (それぞれ化合物 V_a , VI_a) および, 不溶部 (それぞれ化合物 V_b , VI_b) に分画した. クロロホルム可溶部 (化合物 V_a , VI_a) は, 薄層クマロトグラフィー (TLC) (展開溶媒 a) hexane-acetone (2:1), b) $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$ (99:1), c) AcOEt および, HPLC (カラム: YMC AM-302 (4.6 mm $\times$ 150 mm), 波長: 230 nm (化合物 V_a), 254 nm (化合物 VI_a), 移動相: $\text{H}_2\text{O-MeOH}$ (13:7) (化合物 V_a), $\text{H}_2\text{O-MeOH}$ (7:3) (化合物 VI_a), カラム温度: 40°C) により, それぞれの標品と比較同定した.

化合物 V_a (methyl *p*-coumalate): TLC 溶媒 a) R_f : 0.30, 溶媒 b) R_f : 0.15, 溶媒 c) R_f : 0.61, HPLC t_R : 18.5 min.

化合物 VI_a (methyl *p*-hydroxybenzoate): TLC 溶媒 a) R_f : 0.36, 溶媒 b) R_f : 0.13, 溶媒 c) R_f : 0.64, HPLC t_R : 12.7 min.

クロロホルム不溶部 (化合物 V_b , VI_b) は, TLC (展開溶媒 a) $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ (14:6:1), b) AcOEt-MeOH-H₂O (60:10:7) および, HPLC (カラム: YMA AQ-302 (4.6 mm $\times$ 150 mm), 波長: 280 nm, 移動相: 0.2% AcOH-MeOH (7:3), カラム温度: 40°C) により, 化合物 I (spinosin) と比較同定した.

化合物 V_b , VI_b : TLC 溶媒 a) R_f : 0.22, 溶媒 b) R_f : 0.20, HPLC t_R : 17.8 min.

クロロホルム不溶部 (化合物 V_b , VI_b) は, TLC (展開溶媒 a) $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ (14:6:1), b) AcOEt-MeOH-H₂O (60:10:7) および, HPLC (カラム: YMC AQ-302 (4.6 mm $\times$ 150 mm), 波長: 280 nm, 移動相: 0.2% AcOH-MeOH (7:3), カラム温度: 40°C) により, 化合物 I (spinosin) と比較同定した.

化合物 V_b , VI_b : TLC 溶媒 a) R_f : 0.22, 溶媒 b) R_f : 0.20, HPLC t_R : 17.8 min.

引用文献および注

- 1) 川口利一, 金 基禹, 薬誌, **60**, 343 (1940).
- 2) K. Kawai, T. Akiyama, Y. Ogihara, S. Shibata, *Phytochemistry*, **13**, 2829 (1974).
- 3) W.S. Woo, S.S. Kang, H. Wagner, O. Seligmann, V.M. Chari, *Phytochemistry*, **19**, 2791 (1980).
- 4) W.S. Woo, S.S. Kang, S.H. Shim, H. Wagner, V.M. Chari, O. Seligmann, G. Obermeier, *Phytochemistry*, **18**, 353 (1979).
- 5) M. Komatsu, T. Tominori, M. Ito, *Chem. Pharm. Bull.*, **15**, 263 (1967).
- 6) A. Ouabonzi, M.L. Bouillant, J. Chopin, *Phytochemistry*, **22**, 2632 (1983).
- 7) M.L. Bouillant, F. Ferreres De Arce, J. Vavre-Bonvin, J. Chopin, A. Zoll, G. Mathieu, *Phytochemistry*, **18**, 1043 (1979).
- 8) D. Davoust, M. Massias, D. Molho, *Org. Magn. Reson.*, **13**, 218 (1980).