



Title	ノギランの一新prosapogenin及びトチノキ種子の二、三の真正sapogeninの研究
Author(s)	西條, 加奈子
Citation	大阪大学, 1973, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31058
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【4】

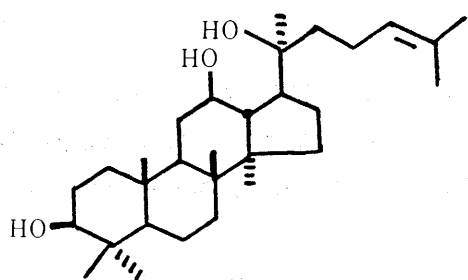
氏名・(本籍)	さい 西	じょう 條	か 加	な 奈	こ 子
学位の種類	薬	学	博	士	
学位記番号	第	2	9	4	9 号
学位授与の日付	昭和 48 年 12 月 13 日				
学位授与の要件	薬学研究科生薬学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当				
学位論文題目	ノギランの一新 prosapogenin 及びトチノキ種子の二、三の真正 sapogenin の研究				
論文審査委員	(主査) 教授	吉岡 一郎			
	(副査) 教授	田村	恭光	教授	枅井雅一郎
	教授	池原	森男		

論文内容の主旨

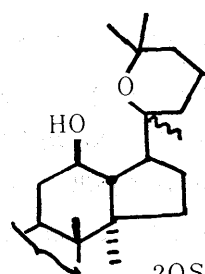
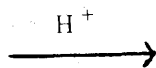
〔緒 論〕

saponin, sapogenin の研究に於て、酸加水分解で得られる sapogenin にはしばしば二次的な変化を受けたものが見受けられ、常に「真正 sapogenin」というものが問題となる。例えば薬用人参 (*Panax ginseng* C. A. Meyer) の Sapogenin, I と II, シクラメン (*Cyclamen europaeum*) の sapogenin, III と IV など詳細な化学的研究により、いずれも前者が真正 sapogenin であることが証明されている。吉岡らは真正 sapogenin 追求のより一般的な方法として、酵素的加水分解に注目し、その酵素源を土壤中に広く分布している土壤菌に求めた新しい分解法を開発し、既にいくつかの saponin に適用して好結果を収めてきた。その際、単に真正 sapogenin を好収率で得るだけでなく、竹節人参 (*Panax japonicum* C. A. Meyer)、薬用人参の saponin, 及び *Stevia rebaudiana* Bertoni の配糖体からは各々の prosapogenin である compound O (V), compound K (VI) 及び steviolbioside (VII) を夫々好収率で得ている。これらはいずれも saponin がある種の結合だけを選択的に残して加水分解を受けたもので培養期間の調節などを加味すれば土壤菌加水分解法が saponin の構造研究に於ける有効な手段となり得ることを示唆しており、興味ぶかい。

著者はこれら研究の一部を分担してきたが、本論文の内容は日本産トチノキ種子 saponin およびノギラン saponin に適用して得た知見に関するものである。

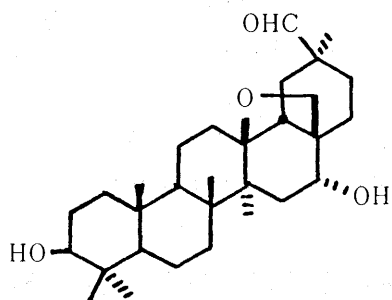


I. S-protopanaxadiol

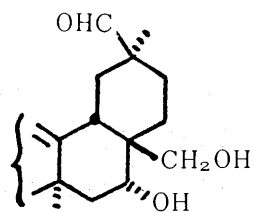
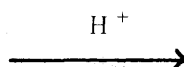


20S + 20R

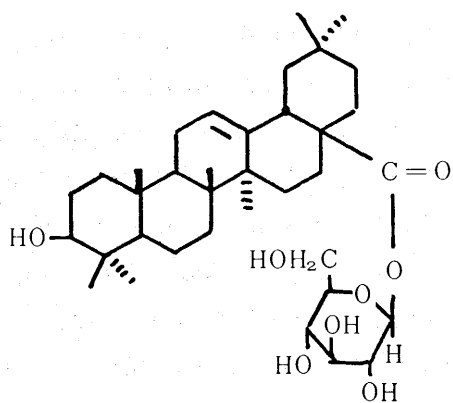
II. panaxadiol



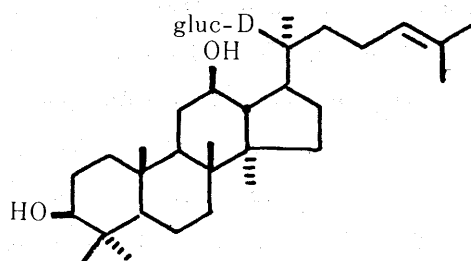
III. cyclamiretin A



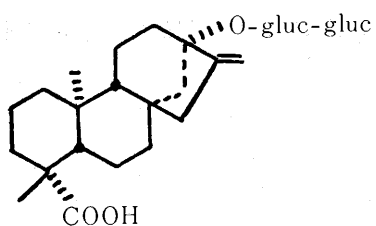
IV. cyclamiretin D



V. compound O



VI. compound K



VII. steviolbioside

[本 論]

§ 1. 土壤菌加水分解一般法

異なった場所から採取した約10~30種の土から saponin を唯一の炭素源とする Table 1 のような組成の合成培地で淘汰培養をくり返して選んだ菌を用いて大量培養を行なう。次いで培養液を Et_2O , 続いて $n\text{-BuOH}$ で抽出して夫々 Et_2O エキス、 $n\text{-BuOH}$ エキスをを得る。各エキスについて適当な方法で精製を行なって分解生成物を単離する。

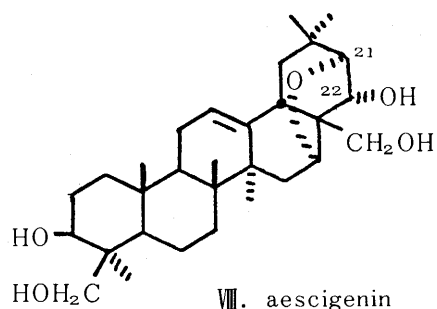
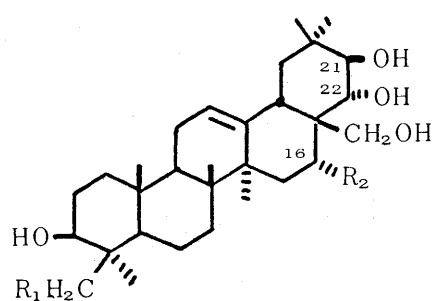
Table 1. 合成 saponin 培地

KH_2PO_4	1g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.7g
NaCl	1g
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	4g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.03g
Saponin	3g
蒸 溜 水	1ℓ

以上を稀 HCl で pH 6 に調整する。

§ 2. 日本産トチノキ種子 saponin への適用

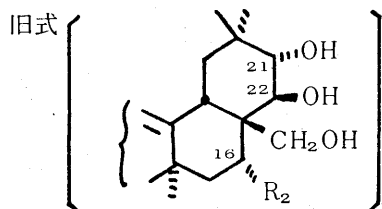
西洋トチノキ (*Aesculus hippocastanum* L.) 種子の sapogenin として当時 Jeger, Kuhn, Tschesche らにより aescigenin, protoaescigenin, barringtogenol C が単離され夫々に VIII', IX', X' 式が与えられていた。又その saponin aescin については Tschesche らによつて XI' の構造が提出されていた。一方日本産トチノキ (*Aesculus turbinata* BLUME) 種子に関しては著者らは先にその sapogenin 構成が西洋トチノキ種子のそれと、ほぼ同じであることを明らかにしたがその際吉岡らによる茶実 (*Thea sinensis* L., seeds) の sapogenin 研究と関連して protoaescigenin, barringtogenol C の E 環の水酸基の配位を 21α , 22β -glycol system から 21β , 22α -glycol system (IX, X 式) に、aescigenin を VIII 式に訂正した。更に日本産トチノキ種子から Rx と仮称する新しい triterpenoid sapogenin を得てその構造を 16-desoxy-barringtogenol C (XII) と決定した。これら sapogenin の内 aescigenin (VIII) についてはその 16, 21-oxide 構造が saponin の酸加水分解時に protoaescigenin (IX) から脱水閉環して生じた可能性が考えられていたが、両者が常に随伴して得られるためにその確証は得られていなかった。もし aescigenin (VIII) が二次的産物であるならば当然 saponin aescin に与えられていた XI' 式も改められなければならない。更に又 $\Delta^{12,17}$ -carbinol 構造を有する protoaescigenin (IX), barringtogenol C (X) 及び Rx (XII) に関しても cyclamiretin A (III) に於けるような 13, 28-oxide 構造であつたものが酸加水分解条件下で開裂して生成した可能性が考えられる。これらの点を明らかにする目的で土壤菌加水分解を行なった。



IX. $R_1=R_2=OH$: protoaescigenin

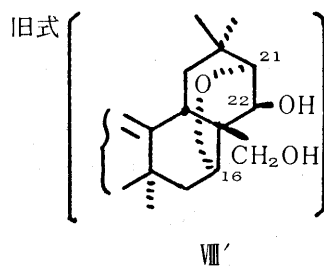
X. $R_1=H$, $R_2=OH$: barringtogenol C

XII. $R_1=R_2=H$: 16-desoxy-barringtogenol C ($=R_x$)

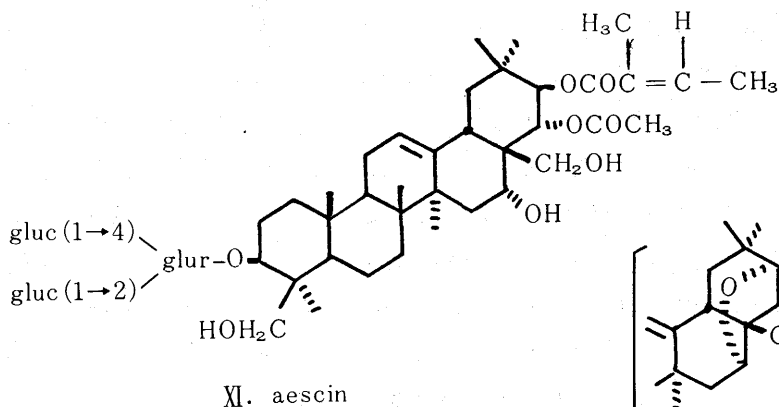


IX'. $R_1=R_2=OH$

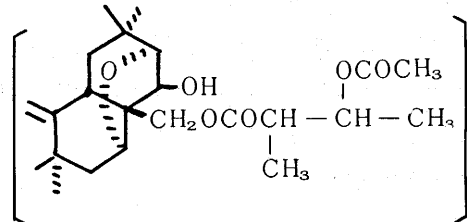
X'. $R_1=H$, $R_2=OH$



VIII'



XI. aescin

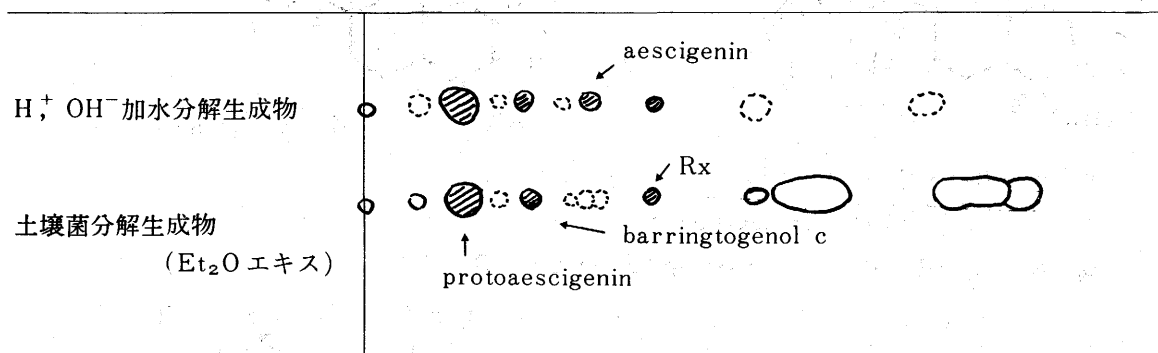


XI'

日本産トチノキ種子 (*Aesculus turbinata* BLUME) の粗 saponin 3g を用いて先の合成培地で 31℃、17日間静置培養後、 Et_2O 抽出を行ない 540mg のエキスを得て、これを SiO_2 カラムで分離した。TLC 図で R_f 値の高い部分は既に Kuhn, Loew によって報告されている acylated saponin と考えられたので $KOH-MeOH$ で加水分解したのち再び TLC 分離を行なって、カラム分離 fraction と合して protoaescigenin (IX) (Et_2O エキスより 7.4%), barringtogenol C (X) (2.2%), R_x ($=16$ -desoxy-barringtogenol C) (XII) (0.7%) を得たが aescigenin (VIII) は TLC

上でもその存在は認められなかった。

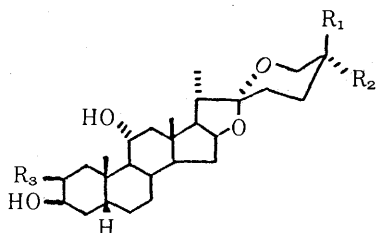
Fig 1. 酸、アルカリ加水分解生成物と土壌菌分解生成物の TLC 図
(CHCl₃:MeOH = 8:1, Silica gel G)



即ち、ここに aescigenin (VIII) は真正 sapogenin ではなく酸条件による二次的生成物であることが証明された。又これら $\Delta^{12,17}$ -carbinol 構造を有する sapogenin は全て真正 sapogenin であることも合わせて証明された。尚、後に Tschesche らにより saponin mixture “aescin” の主成分の構造は XI 式の如く訂正された。

§ 3. ノギラン saponin への適用

ノギラン (*Metanartheceum luteo-viride* MAXIM) の saponin からこれまでに metagenin (XIII), nogiragenin (XIV), neonogiragenin (XV), narthogenin (XVI), isonarthogenin (XVII), meteogenin (XVIII), neometeogenin (XIX) 及び luvigenin (XX) の 8 種の steroidal sapogenin が単離、構造決定されている。これら spirostane 型 sapogenin の spiroketal 構造に関して 1947 年に Marker らが saponin の酸加水分解時に二次的に閉環した可能性を示唆している以外は一様に steroidal sapogenin は spiroketal 構造を有するものとして知られてきた。1966 年になって Schreiber らが spiroketal 構造をもたない窒素含有 steroidal glucoside, jurubin (XXI) を単離し、このものは酸加水分解で容易に閉環して jurubidin (XXII) を与えることを報告した。その後相次いで jurubin のような furostanol 構造を有する sarsaparilloside (XXIII), convallamaroside (XXIV), kikubasaponin (XXV) が得られ、いずれも酸条件で夫々 spiroketal 構造の sapogenin を与えることが報告されるに及んで真正 sapogenin に於ける側鎖の構造が問題となってきた。



XIII. $R_1=H$, $R_2=CH_3$, $R_3=OH$:

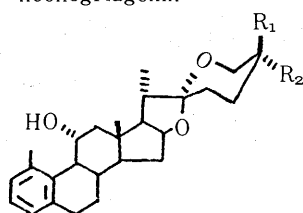
metagenin

XIV. $R_1=H$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$:

nogriagenin

XV. $R_1=CH_3$, $R_2=R_3=H$:

neonogriagenin

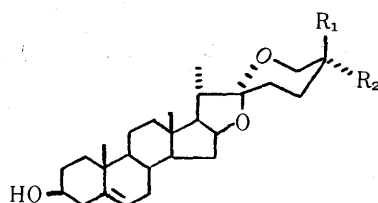


XVIII. $R_1=H$, $R_2=CH_3$:

meteoegenin

XIX. $R_1=CH_3$, $R_2=H$:

neometeoegenin

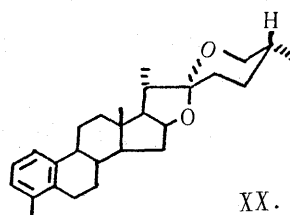


XVI. $R_1=CH_2OH$, $R_2=H$:

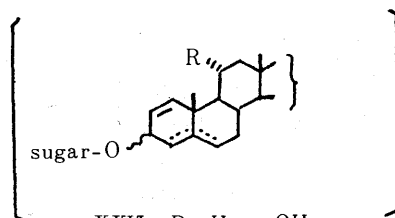
narthogenin

XVII. $R_1=H$, $R_2=CH_2OH$:

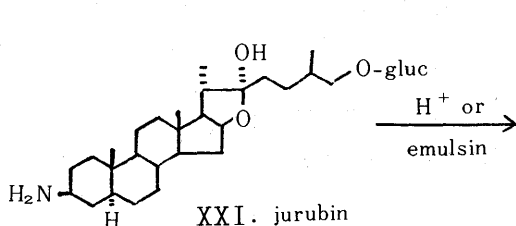
isonarthogenin



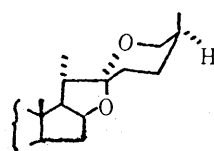
XX. luvigenin



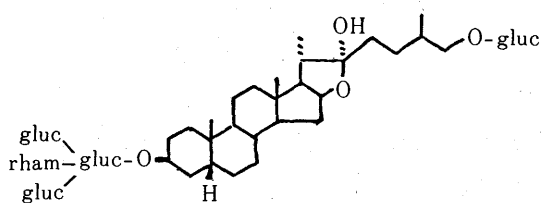
XXVI. $R=H$ or OH



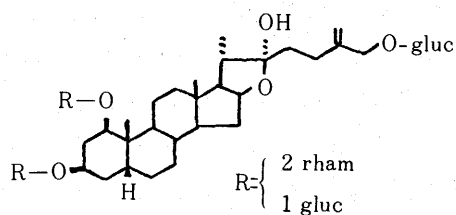
XXI. jurubin



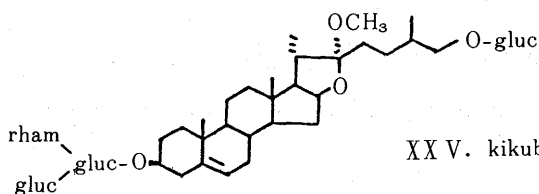
XXII. jurubidin



XXIII. sarsaparilloside

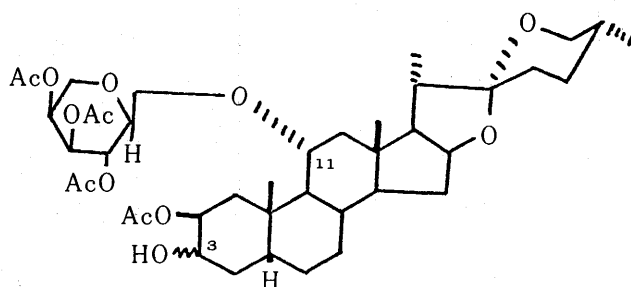


XXIV. convallamaroside



XXV. kikubasaponin

更にノギランの場合、meteogenin (XVIII), luvigenin (XX) のような A 環が芳香化した珍しいタイプの saponin が得られている。Takeda らは生合成の見地及び化学的見地、即ち dienone-phenol 転位による芳香化反応を考え合せて、これらは XXVI のような saponin から酸条件で dienol-benzene 転位により二次的に生成した可能性を考え、XXVI のような中間体を経る反応を用いて meteogenin (XVIII), luvigenin (XX) を部分合成している。即ち、ノギラン saponin には TLC 上 Ehrlich 反応陽性のスポットを多数示すことから furostane 骨格を有する saponin の存在が十分伺える上に今述べた A 環に関する問題が残されている。このような背景の下にノギラン saponin に土壌菌加水分解を行なった。その結果、以上の二点を明らかにするような化合物はまだ得るには到らなかったが新しいタイプの prosapogenin が好収率で得られた。これを NE-1 と仮称して構造研究を行なった結果、NE-1 は 2 種の prosapogenin の混合物で major 成分であるものに XXVII 式を提出するに到った。又 minor 成分のものには XXVIII 式を推定している。尚、土壌菌加水分解生成物は TLC 上、全て Ehrlich 反応陰性で、先に jurubin (XXI) に於て Schreiber らが emulsin による酵素分解でも直ちに閉環を伴って spiroketal を与えると報告しており、この場合も同様に furostane 骨格をもった saponin が菌加水分解中に閉環した可能性が考えられる。



XXVII. 3 α -OH (major) } NE-1
 XXVIII. 3 β -OH (minor)

土壌菌加水分解

常法に従って土壌菌で 31 $^{\circ}$ 、1～2 週間培養した後、Et₂O 抽出して saponin 6g から Et₂O エキス 3.6g を得、次いで BuOH 抽出で BuOH エキス 1.22g を得た。この Et₂O エキスよりカラム分離で 9.6% の収率で NE-1 (無晶形) 345mg を得た。

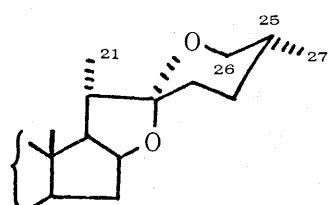
NE-1 は IR で水酸基及び強い acetate の吸収を示し、988～882cm⁻¹ の吸収及び NMR のメチル領域の signal から 25D-spiroketal 構造を有していることが推定された。次に NE-1 をアルカリ加水分解すると DA-1, DA-2 と仮称する 2 つの生成物を与える。両者はその R_f 値から mono-

※) Ehrlich 試薬によって furostane 骨格を有するものは TLC 上紅色に発色するが spiroketal 構造になればもはやその発色は見られず、従って saponin に於ける furostane 骨格の検出に利用出来るというもの。

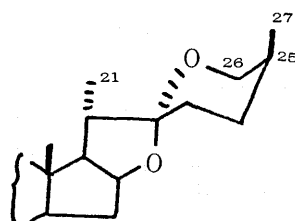
glycoside と考えられたので続いて酸加水分解を行なった。その結果、DA-1 から DAS-1, DA-1, 2 の mixture から DAS-1 と DAS-2 を与え、その時の水層から PPC で arabinose が検出された。NE-1 から得られる DAS-1 と DAS-2 は約12:1で圧倒的にDAS-1が多い。この内DAS-2は metagenin (XIII) に混融、TLC, IR で一致したが、DAS-1 は既知の sapogenin には一致せず、新しい sapogenin であると考えられた。

そこで別途に saponin を酸、アルカリ加水分解したところ、second major として得られた未知の ML (XXIX) と仮称する sapogenin に DAS-1 は完全に一致した。

以上から NE-1 は ML (XXIX), metagenin (X) を夫々 aglycone とする arabinoside の acyl 化物の混合物と判明したが、両者を単離することは成功しなかった。そこで NE-1 の major 成分である ML を aglycone とするものについて構造研究を進めた。



25D



25L

IR : spiroketal group 特有の吸収 : 980, 920, 900, 860 cm^{-1}

cf. $\begin{cases} 25\text{D} : 920 \sim 915 < 899 \sim 894 \text{ cm}^{-1} \\ 25\text{L} : 920 \sim 915 \gg 899 \sim 894 \text{ cm}^{-1} \end{cases}$

NE-1 : 988, 929 < 906, 882 cm^{-1}

NMR : spirostan の $\text{C}_{(21)}\text{H}_3$, $\text{C}_{(26)}\text{H}$, $\text{C}_{(27)}\text{H}$ の signal (τ 値)

	$\text{C}_{(21)}\text{H}_3$	$\text{C}_{(26)}\text{H}$	$\text{C}_{(27)}\text{H}_3$
cf. $\begin{cases} 25\text{D} \\ 25\text{L} \end{cases}$	9.03	~ 6.6	9.20
	8.91	6.70, 6.02	9.00
NE-1	9.02	6.59	9.23

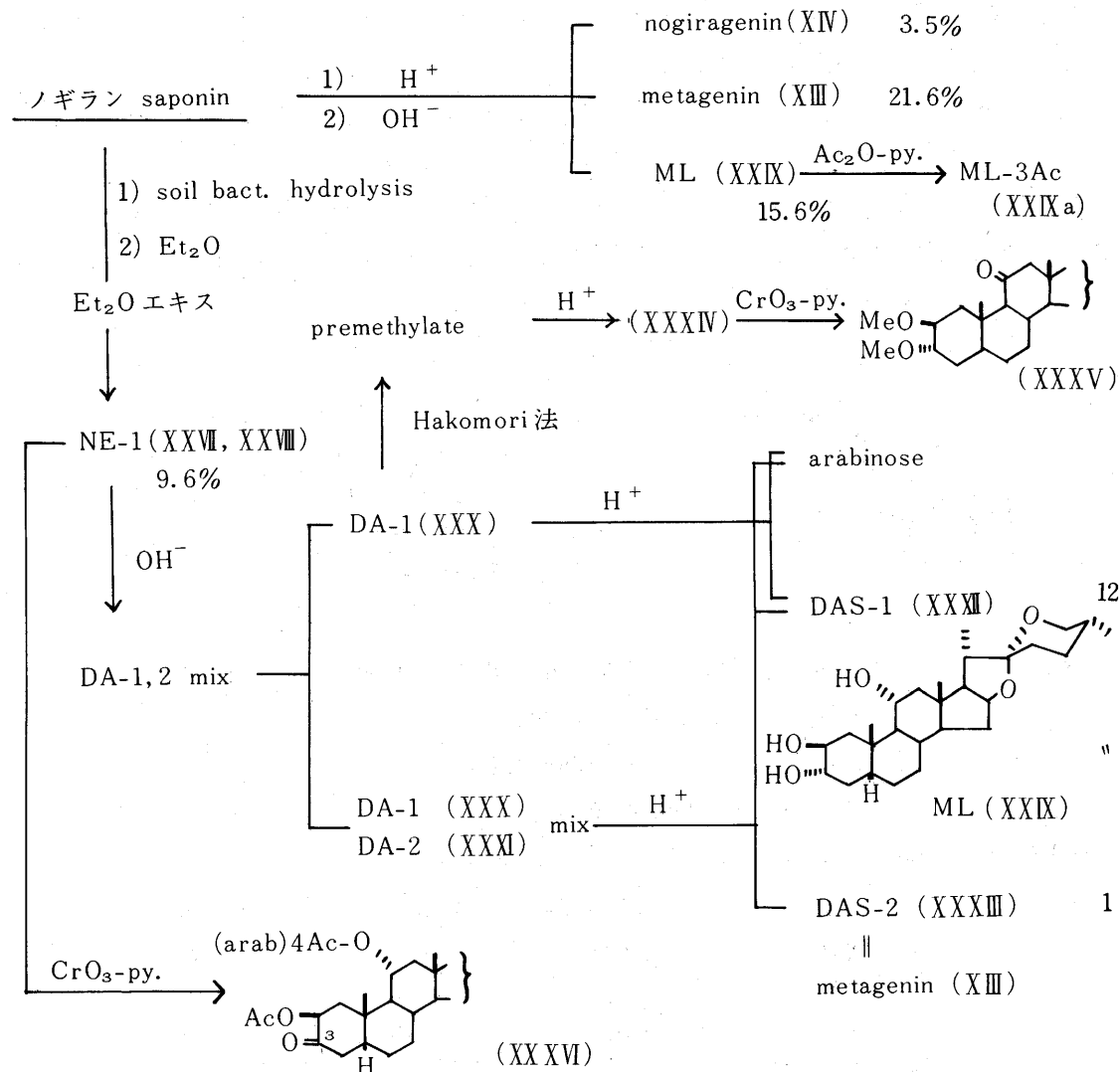
ML について

ML は IR で 25D-spiroketal 特有の band を示し、 $\text{Ac}_2\text{O-py}$ で triacetate (XXIXa) を与える。ML と metagenin (XIII) の Mass スペクトルの pattern が酷似すること及び両者の acetate の NMR の 18,19-メチルの signal に steroid に於ける Zurcher の “18,19-メチルの chemical shift に及ぼす置換基効果” を適用することにより ML を 3-epimetagenin (XXIX) と推定して Fig 3 に示す route で metagenin (XIII) より導いてこれを証明した。即ち ML は $5\beta, 25\text{D-spirostan-}2\beta, 3\alpha, 11\alpha\text{-triol}$ である。

次に DA-1 を methyl 化した後、酸加水分解して XXXIV とし、これを $\text{CrO}_3\text{-py.}$ で酸化して、XXXV を得た。XXXV はその CD, ORD より 11-ketone 体と考えられる。従って DA-1 は、

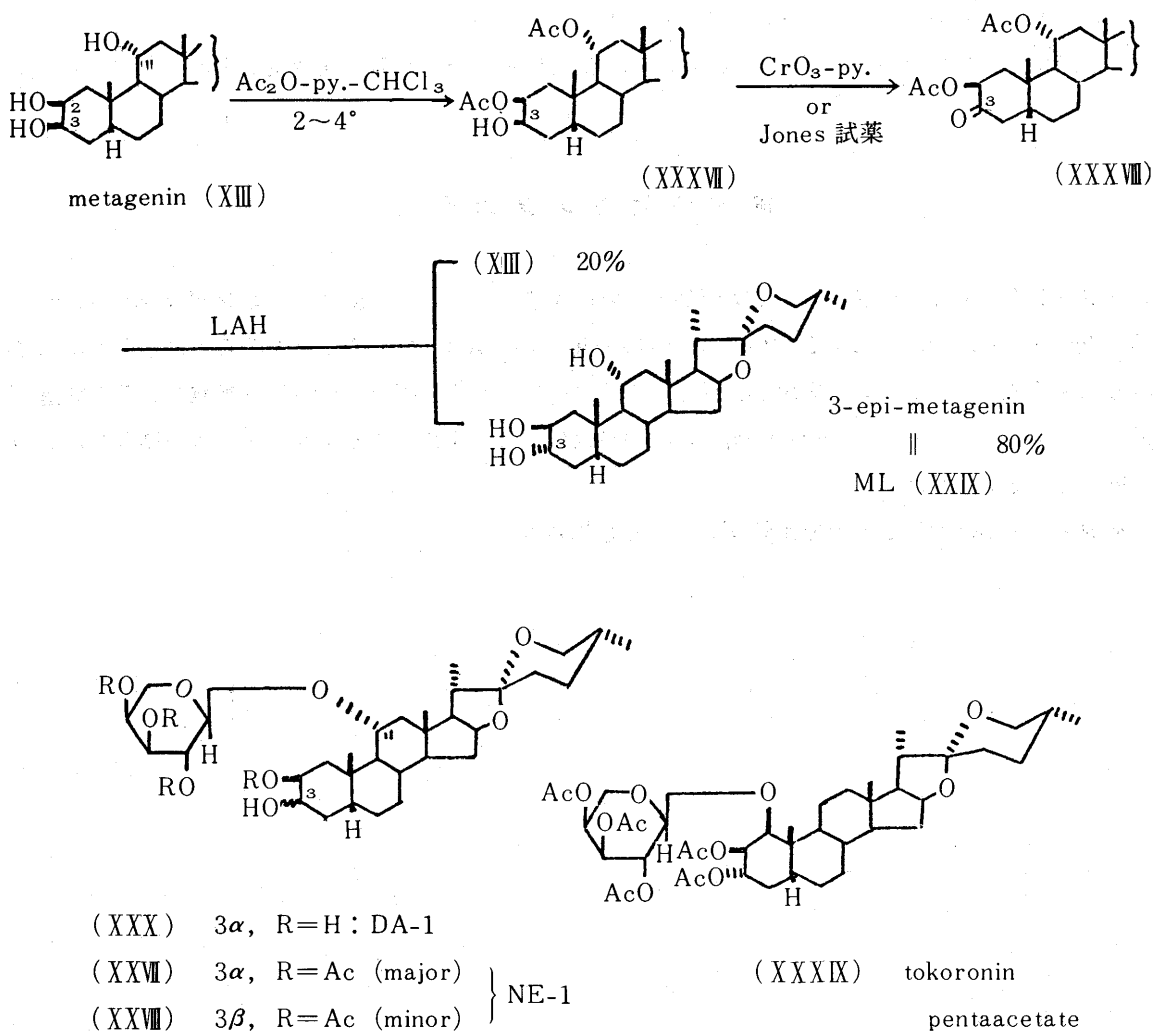
ML の 11-O-arabinoside である。(Fig 2)

Fig 2.



又 NE-1 の NMR で anomeric proton が tokoronin pentaacetate (XXXIX) のそれとほぼ同じ chemical shift, J 値を示していることから DA-1 は XXX 式と考えられる。又 NE-1 は 4 個の acetoxyl methyl のシグナルを示し、Mass スペクトルで pentose の triacetyl pyranoside に由来すると考えられる顕著な一連の fragment を示すことから NE-1 の arabinose 部分の 3 個の水酸基は全て acetyl 化されていると考えられる。更に NE-1 の CrO_3 -py. 酸化で得られる XXXVI は、その CD から 3-ketone 体と考えられることから NE-1 の主成分に対して XXXVII 式を提出するに至った。尚、minor 成分には XXXVIII 式を推定している。

Fig 3.



〔結 論〕

- 1) 真正 sapogenin 追求の一手段として吉岡らが開発した土壤菌加水分解法を日本産トチノキ種子の saponin に適用してその真正 sapogenin が protoaescigenin (IX), barringtogenol C (X) 及び 16-desoxy-barringtogenol C (XII)であることを明らかにした。
- 2) 次のノギランの saponin に適用して新しいタイプの prosapogenin NE-1 (二種の prosapogenin の混合物)を得て、その major 成分の構造を XXVII 式の如く決定し、又 minor 成分の構造を XXVIII 式と推定した。NE-1 は C-11 に糖結合を持った steroidal 配糖体として初めての例であり、しかもその糖の水酸基が全て acetyl 化されているという非常に珍しい配糖体である。このように多くの acetyl 基をもった prosapogenin は化学的な方法では全く得難いものであり、土壤菌加水分解法が化学的に不安定な置換基を残すなど saponin の部分加水分解にも利用し得ることを更に裏付けて (cf. compound O (V), compound K (VI) etc.) この方法が saponin の構

造研究に於ける有効な手段となり得ることを証明するものである。尚、同時に土壤菌加水分解法が triterponoid saponin, diterpenoid glycoside, monoterpenoid glycoside に続いて steroidal saponin にも応用出来ることを併せて証明した。

3) この結果、新しい steroidal sapogenin (ML と仮称) を、単離、構造決定することが出来た。

論文の審査結果の要旨

日本産トチノキ種子サポニンに土壤菌加水分解法を適用し、その真正サポゲニンが protoaescigenin, barringtogenol C および 16-desoxy-barringtogenol C であることを明らかにした。次にこの方法をノギランサポニンに適用し、新しいタイプのプロサポゲニン、NE-1 を単離し、その構造が新サポゲニン、2-acetyl-3-epi-metagenin の11位にアセチル化されたアラビノースが結合したものであることを決定した。

本論文は薬学博士として充分価値があることを認める。