



Title	数種の中国産甘草サポニン成分の化学的研究
Author(s)	堀, 一之
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3070540
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

数種 of 中国産甘草サポニン成分
の化学的研究

1993年

堀 一 之

数種中国産甘草サポニン成分
の化学的研究

(1993年)

堀 一 之

目 次

緒 論	1
本 論	6
第一章 中国東北地区産甘草 <i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCHER のサポニン成分	6
第一節 Licorice-saponin 類の抽出、単離	6
第二節 Licorice-saponin A3 の化学構造	7
第三節 Licorice-saponin B2 および C2 の化学構造	10
第四節 Licorice-saponin D3, E2 および F3 の化学構造	13
第五節 Licorice-saponin G2, H2, J2 および K2 の化学構造	17
第二章 中国新疆地区産甘草 <i>Glycyrrhiza inflata</i> BATALIN のサポニン成分	22
第一節 サポニン 類の抽出、単離	22
第二節 Apioglycyrrhizin の化学構造	23
第三節 Araboglycyrrhizin の化学構造	29
第四節 Licorice-saponin 類の甘味	30
第三章 中国新疆地区産甘草 <i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCHER のサポニン成分	32
第一節 サポニン 類の抽出、単離	32
第二節 Licorice-saponin L3 の化学構造	33
第四章 中国新疆地区産甘草 <i>Glycyrrhiza glabra</i> L. のサポニン成分	39
第五章 各種甘草のサポニン成分のHPLCによる比較	40
第一節 市販 glycyrrhizin のHPLC分析	40
第二節 各種甘草のサポニン成分のHPLC分析	42
結 論	47
謝 辞	48

実験の部	49
第一章の実験	50
第一節の実験	50
第二節の実験	55
第三節の実験	59
第四節の実験	65
第五節の実験	73
第二章の実験	79
第一節の実験	79
第二節の実験	81
第三節の実験	91
第四節の実験	94
第三章の実験	95
第一節の実験	95
第二節の実験	96
第四章の実験	101
第五章の実験	102
第一節の実験	102
第二節の実験	103
引用文献および注	105

結 論

甘草は、第12改正日本薬局方ではマメ科 (Leguminosae) Glycyrrhiza 属植物の根またはストロンと規定されている生薬で、漢方方剤に最も多く配合されるのみならず、食品甘味料やタバコのフレーバーなどとして、日本では年間約1万トンあまりが用いられている重要な生薬の一つである。

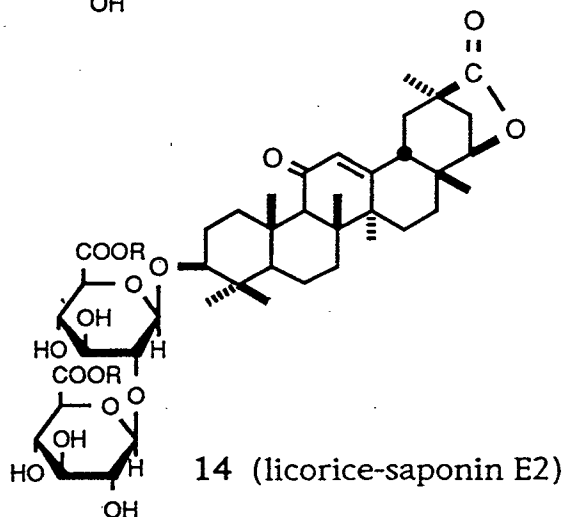
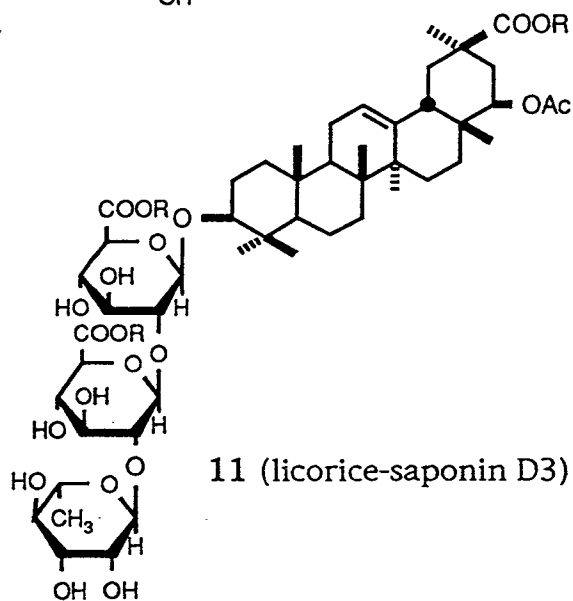
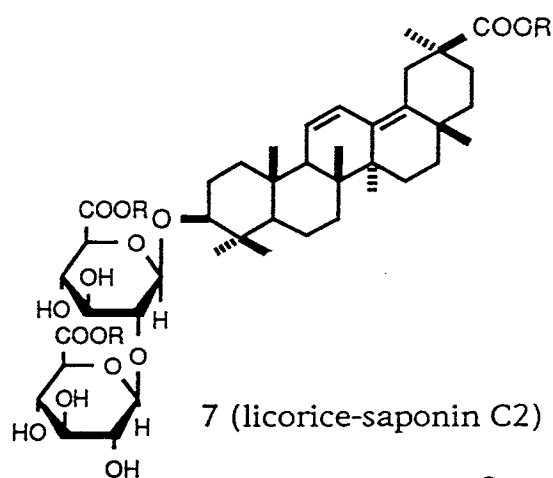
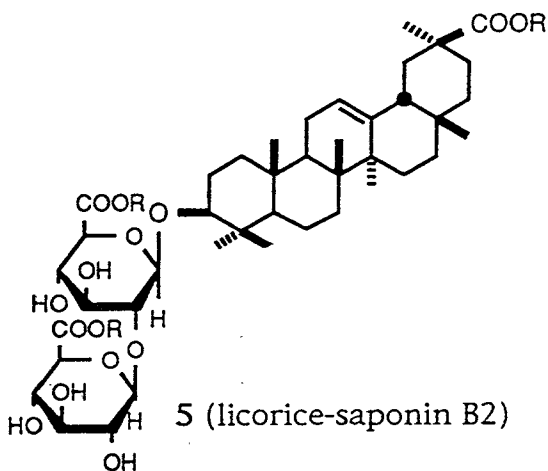
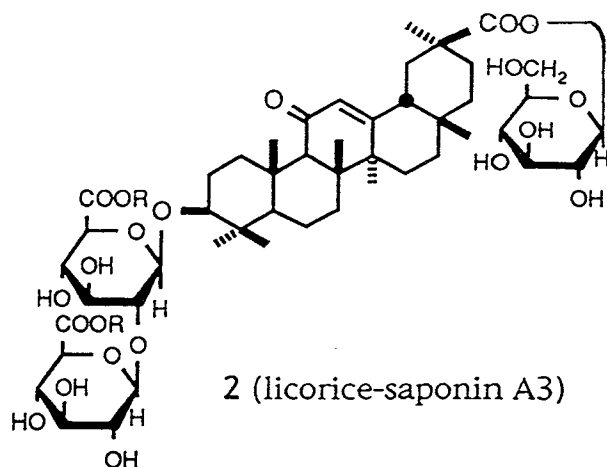
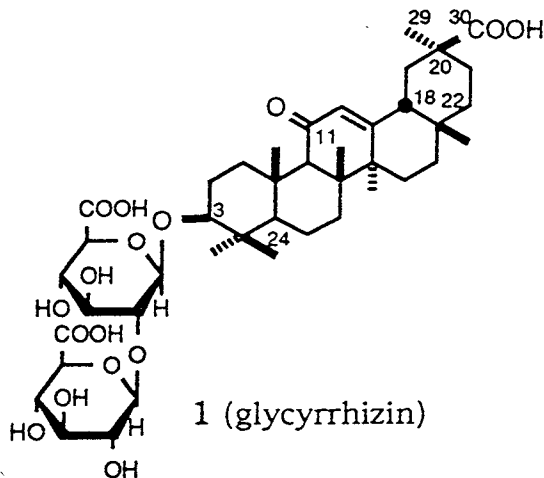
甘草の含有成分については、これまでにフェノール性成分について詳細に検討され、種々のflavanone, chalcone, isoflavane, isoflavone, flavone およびそれらの配糖体など、数多くの flavonoid系化合物が明らかにされている。¹⁾ また、中国新疆地区産の甘草の特有成分として、retrochalcone類が見出だされ、その特徴的な生合成経路が明らかにされるとともに、甘草の品質評価の指標成分の一つとされている。²⁾ しかし、甘草の主要成分であるサポニン成分としては、glycyrrhizin(1)が明らかにされているのみで、そのほかには、欧州産 Glycyrrhiza属植物のサポニン分画を酸で加水分解して得られる生成物から、数種のオレアナン型トリテルペンサポゲノールが単離報告されているに過ぎない。³⁾

甘草は、中国においては、単に乾燥したものを切片として用いるのみならず、蜂蜜とともに炙った「炙甘草」としても処方され、両者は薬物としては区別して用いられている。一方、日本においては、周皮を除去した「皮去り甘草」として用いられることも多く、生薬修治の科学的な解明の課題として興味深い。著者は、当教室（大阪大学薬学部生薬学講座）における生薬修治の科学的解明研究⁴⁾の一環として、まず「甘草」についての詳細な検討を行なうこととした。

中国において甘草は、Glycyrrhiza uralensis FISCHER (ウラル甘草)、G. inflata BATALIN (脹果甘草)、G. glabra L. (光果甘草) などが生薬「甘草」の基原植物と規定され、⁵⁾ それらのいずれもが漢方方剤に用いられている。一方、日本市場において、中国から輸入される甘草は、東北甘草、西北甘草、新疆甘草など中国の産地方別の通称で区別され取り扱われ、それらの基原植物や明確な産地など日本では不明な部分が多い。また、これまでの日本における甘草の成分研究においても、その殆どが、基原植物や産地が明確なものではなかった。

そこで、甘草修治にかかわる化学成分の変動を明らかにするための前段階として、産地および基原植物の明確な甘草の含有成分について、詳細な検討を行なう

必要があると考え、中国の研究者の協力を得て、基原植物と産地の明確な数種の中国産の甘草を入手し、それらの含有成分、特にサポニン（トリテルペンオリゴ配糖体）成分について詳細な検討を行なうことにした。



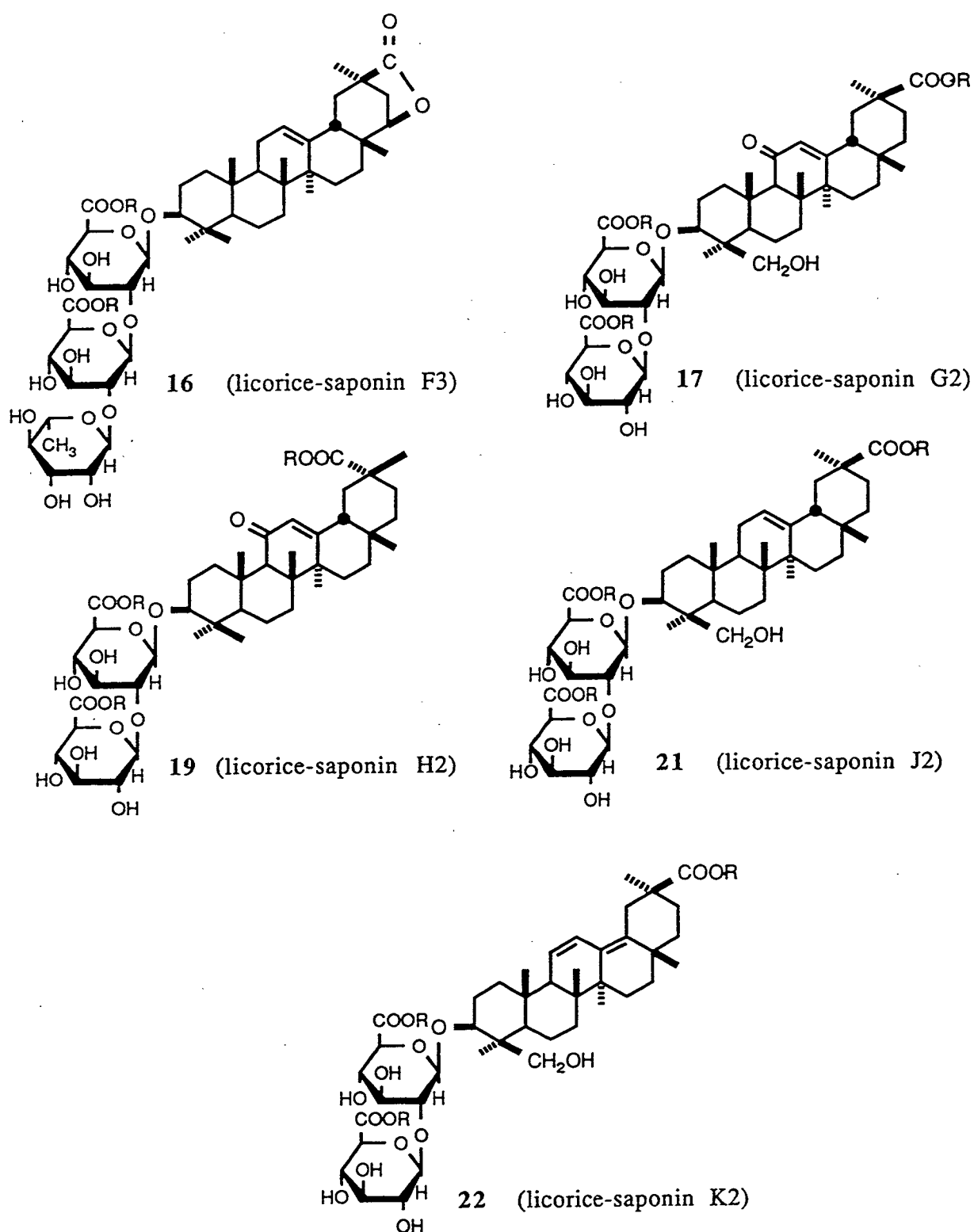


Fig. 1

まず、中国東北地区産の *Glycyrrhiza uralensis* FISCHER を基原植物とする甘草の含有成分を検討し、サポニン成分として glycyrrhizin(1) を単離同定するとともに、新規サポニン成分10種、すなわち、licorice-saponin A3(2), B2(5), C2(7), D3(11), E2(14), F3(16), G2(17), H2(19), J2(21) および K2(22) を見出し、それらの化学構造を明らかにした。^{6,7)} (Fig. 1)

また、その研究の過程で、glycyrrhizin(1) を出発物質として、licorice-saponin A3(2), B2(5) および C2(7) へ化学誘導する方法を開発した。⁶⁾ (第一章)

また、中国新疆地区産の *Glycyrrhiza inflata* BATALIN を基原植物とする甘草のサポニン成分として、glycyrrhizin(1), licorice-saponin A3(2), G2(17), H2(19) とともに、2種の新規サポニン成分 apioglycyrrhizin(23) と araboglycyrrhizin(27) を単離し、それらの化学構造を明らかにした。⁸⁾ (Fig. 2)

そして、23の構造研究の過程で、オリゴ配糖体の糖部アルコール性水酸基が、ジアゾメタン処理によって部分的にメチル化されることを見出した。さらに、23, 27 および licorice-saponin 類の甘味について検討し、甘草に含有されるサポニン類の化学構造と甘味作用の関連性について若干の知見を得た。(第二章)

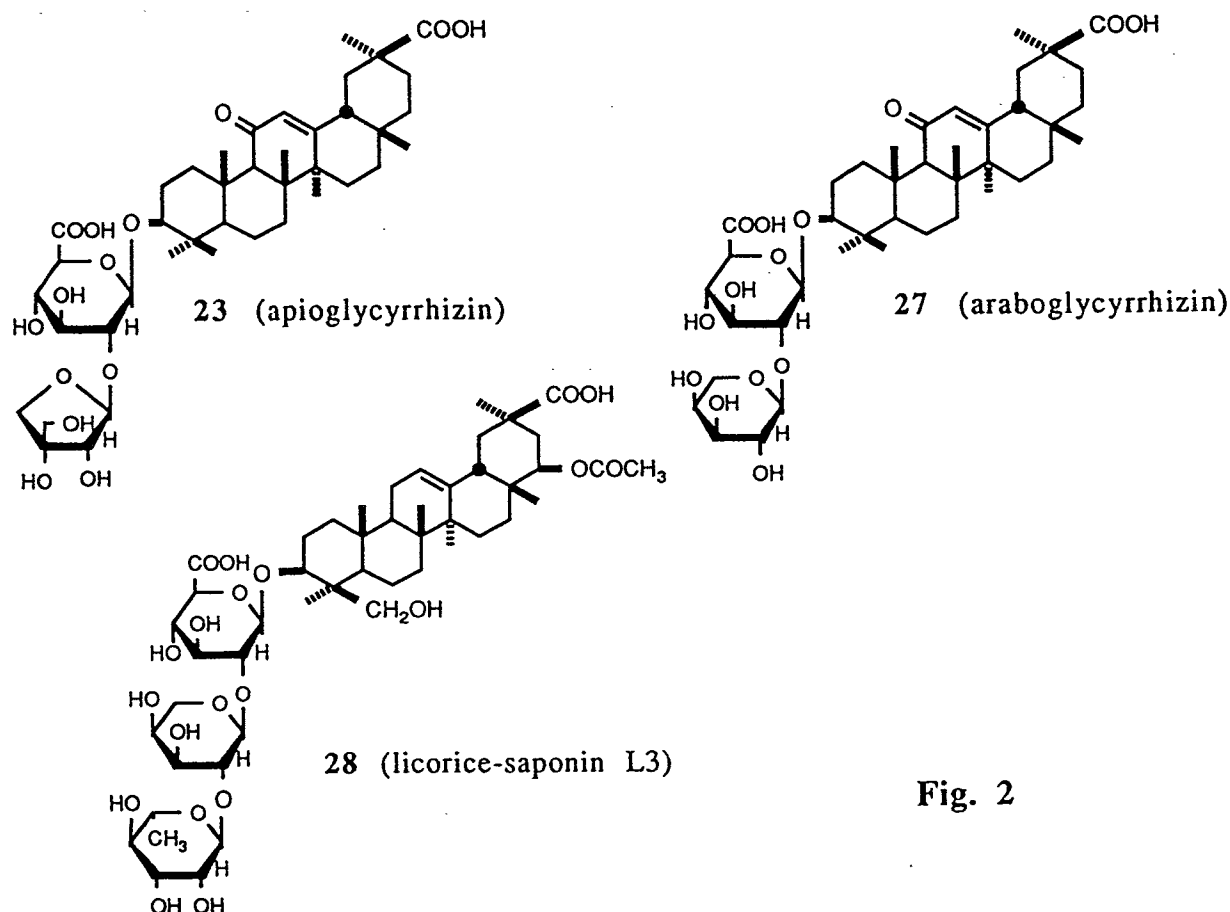


Fig. 2

つぎに、中国新疆地区産の Glycyrrhiza uralensis FISCHER が基原植物の甘草のサポニン成分として、glycyrrhizin(1), licorice-saponin A3(2), E2(14), G2(17), H2(19), apioglycyrrhizin(23), araboglycyrrhizin(27)および 18 α -glycyrrhizin(29)⁹⁾を得たほか、新規化合物 licorice-saponin L3(28)を得、その化学構造を明らかにした。¹⁰⁾ (第三章)

さらに、中国新疆地区産の甘草 Glycyrrhiza glabra L. のサポニン成分として、glycyrrhizin(1), licorice-saponin A3(2), G2(7), E2(14), G2(17), H2(19), apioglycyrrhizin(23)および araboglycyrrhizin(27)の存在を確認した。(第四章)

Glycyrrhizin(1)は、ショ糖の150倍の甘味を示すほか、抗炎症、抗アレルギー、鎮咳、解毒、抗ウイルスなど種々の作用を示すことが知られ、実際、肝機能障害や消化管潰瘍の治療薬や抗炎症剤(点眼薬、軟膏剤)として使われている。しかし、市販の glycyrrhizin(1)にはその製造法から考えて、今回、著者が得た licorice-saponin類の夾雑が推測された。そこで、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で市販の glycyrrhizin を分析したところ、夾雑成分として licorice-saponin G2(17), H2(19)などの存在していることが明らかになった。

また、今回得られた licorice-saponin類を指標物質として、甘草の特にサポニン成分の、HPLCによる定量を含めた分析方法を開発した。そして、先に成分研究を行なった、基原植物の明らかな甘草4種(東北地区産 G. uralensis, 新疆地区産 G. inflata, G. glabra および G. uralensis)と、大阪市場品の東北甘草、西北甘草、新疆甘草、アフガニスタン甘草およびロシア甘草について、含有サポニン成分のパターン分析を行ない、産地による特徴を見出だすことができた。¹¹⁾ (第五章)

本論

第一章 中国東北地区産甘草 *Glycyrrhiza uralensis* FISCHER のサポニン成分

第一節 Licorice-saponin類の抽出、単離

中国東北地区産で、その基原植物が *Glycyrrhiza uralensis* FISCHERと確認された甘草¹²⁾を、メタノールで加熱抽出し、得られたメタノールエキスを酢酸エチル-水で分配し、水層に移行する画分を、逆相、順相のカラムクロマトグラフィーと分取HPLCで分離精製し、glycyrrhizin(1)とともに、10種の新規サポニン licorice-saponin A3(2), B2(5), C2(7), D3(11), E2(14), F3(16), G2(17), H2(19), J2(21)および K2(22)を、それぞれ Chart 1 に示す収率で単離した。

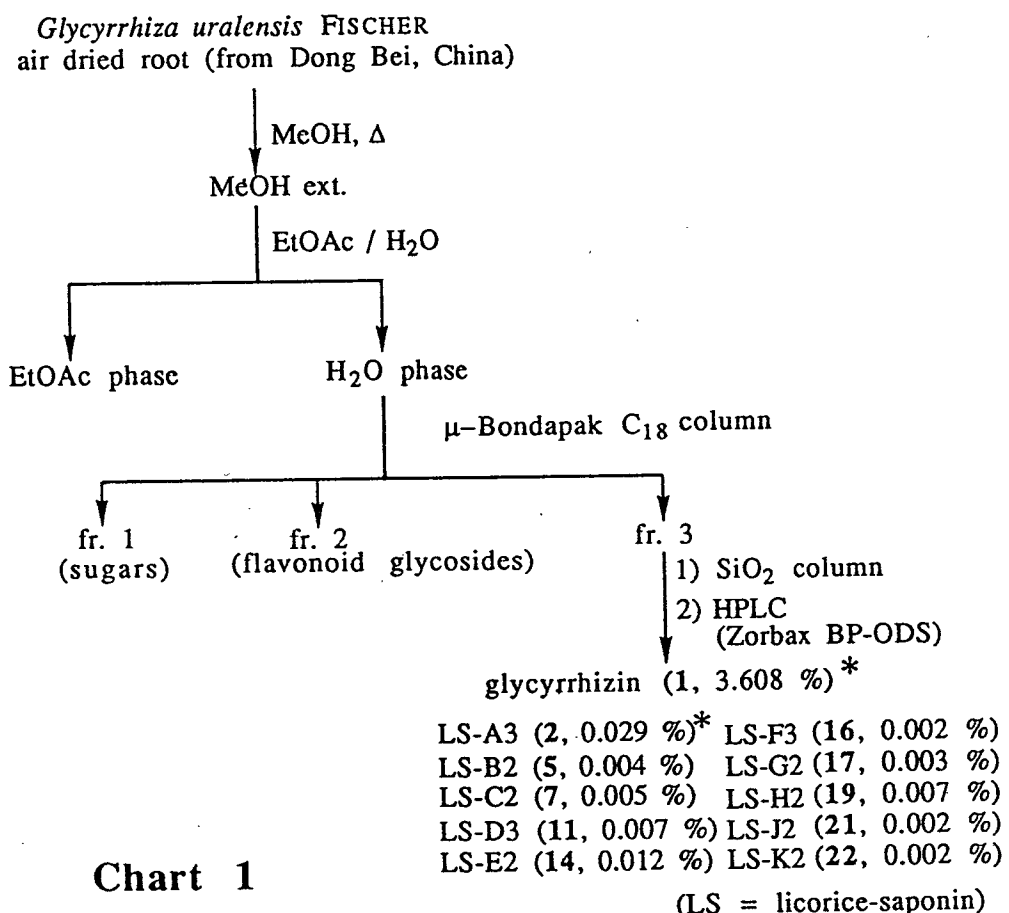


Chart 1

*The % yield from the air dried root.

第二節 Licorice-saponin A3 の化学構造

Licorice-saponin A3 (2) は、その赤外線吸収スペクトル (IR) において、水酸基、エステル、カルボキシル基およびエノンに由来する吸収 (3360 , 1741 , 1716 , 1650 cm^{-1}) が認められ、紫外線吸収スペクトル (UV) においても、エノンの吸収 [258 nm ($\epsilon=8,800$)] が観測された。また、2 のプロトンおよび炭素-13核磁気共鳴スペクトル ($^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$) では、それぞれ3個ずつのアノマー位のプロトンと炭素のシグナル [δ 5.01 (d, $J=7.6\text{ Hz}$), 5.36 (d, $J=7.8\text{ Hz}$), 6.30 (d, $J=8.2\text{ Hz}$); δ_c 95.5 , 104.5 , 106.2 (Table I, 9 頁)] が認められたので、2 には、糖が3個存在すると推定された。

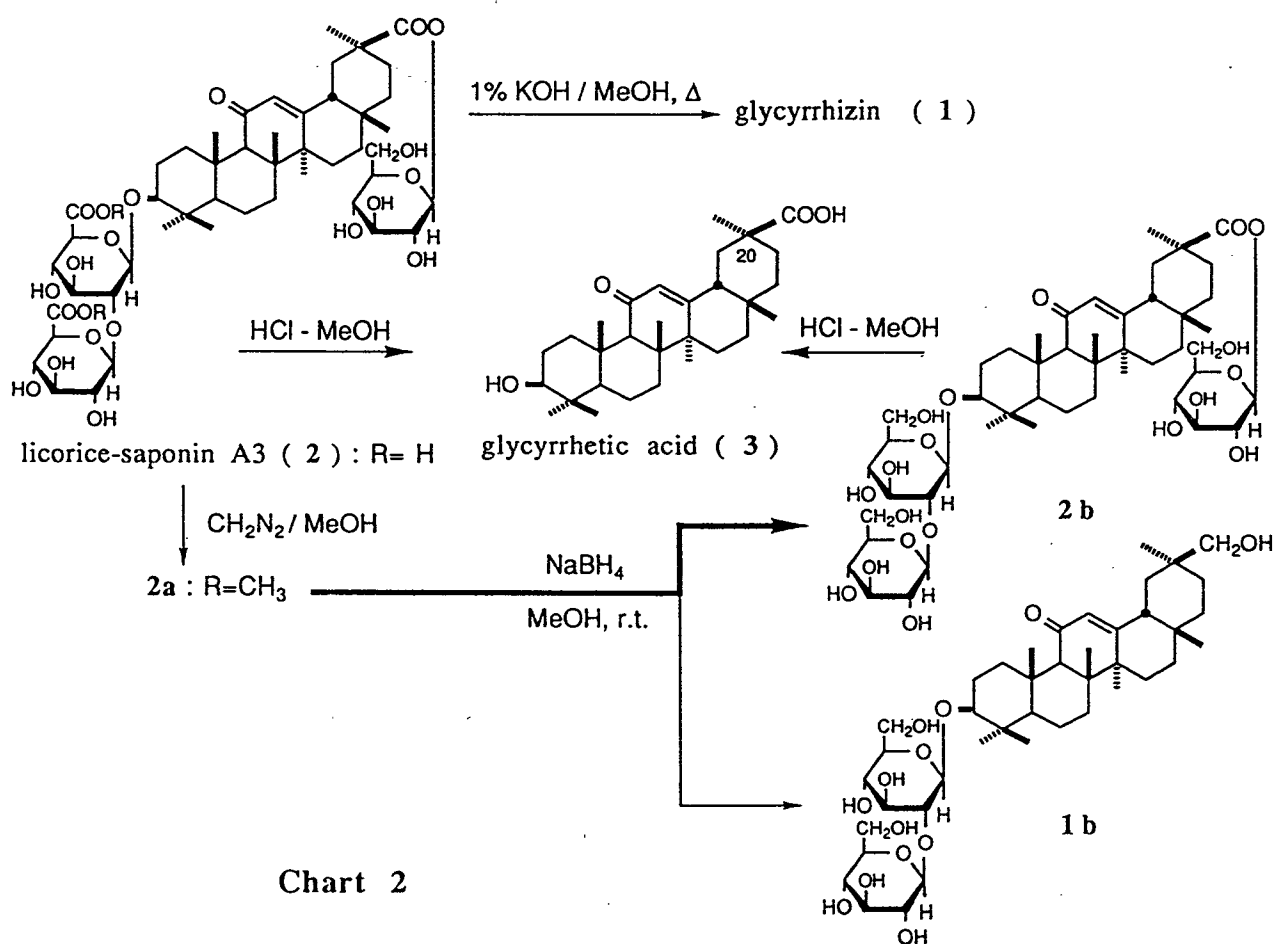


Chart 2

2を9% HCl-MeOHでメタノリシスすると、glycyrrhetic acid(3)が得られ、methyl glucuronide および methyl glucoside が検出・同定された。さらに、2をアルカリ加水分解すると、glycyrrhizin(1)が得られたことから、2は1にglucose が β -エステル結合している構造であることが明らかになった。

そこで、glucoseの結合位置を化学的に証明するため、2を CH_2N_2 でメチル化(2aが生成)後、 NaBH_4 で還元して、2bおよび1bに誘導した。(Chart 2, 7頁)ここで、2bをメタノリシスすると、glycyrrhetic acid(3)と methyl glucoside が検出・同定され、この結果から、2におけるエステル配糖体結合の位置は、20 β 位カルボキシル基であることが化学的に証明された。

さらに、2の化学構造を部分合成によって確認する目的で、glycyrrhizin(1)から2への誘導を行なった(Chart 3)。

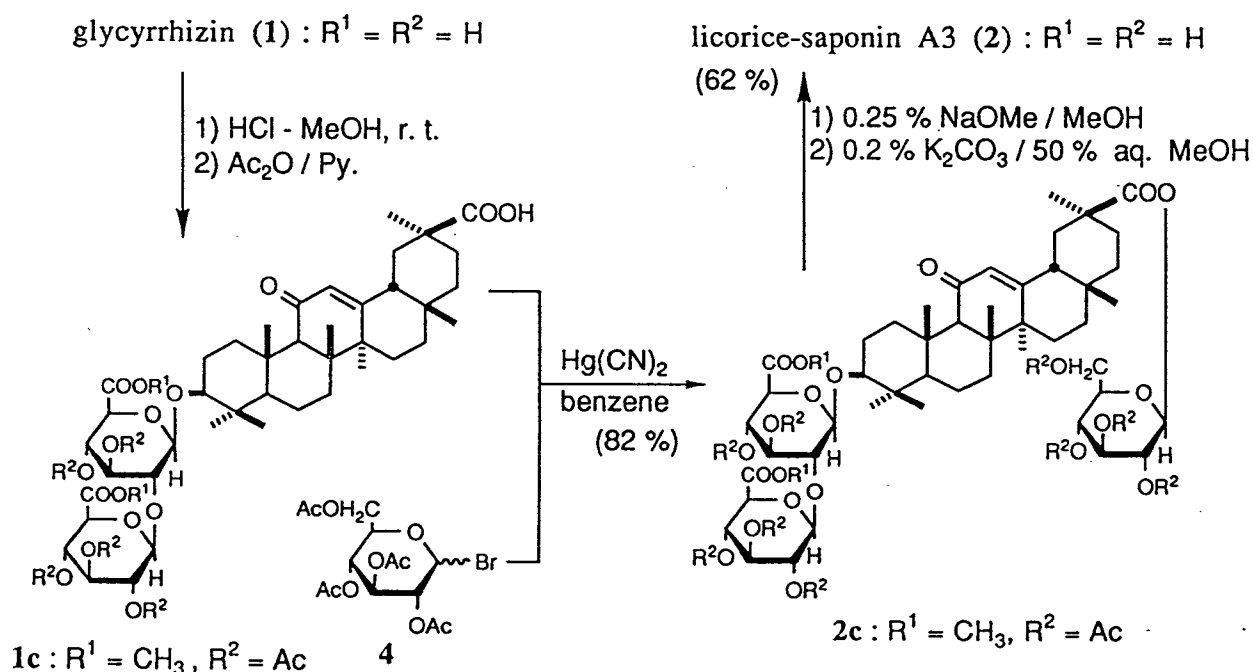


Chart 3

すなわち、1を室温下、9 % HCl-MeOH処理すると、グルグルン酸部のカルボキシル基のみがメチルエステル化され、続いてアセチル化し、1 cを97 %の収率で得た。得られた1 cを、乾燥ベンゼン中、Hg(CN)₂存在下、D-glucoseより誘導した2,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glucopyranosyl bromide(4)と加熱還流し、糖がエステル結合した2 cを得た。2 cを0.25 % NaOMe-MeOH中、室温で20分攪拌したところ、脱アセチル化のみが進行し、さらに、0.2 % K₂CO₃-50% aq.MeOHでメチルエステル部分のみを加水分解して、2を得た。¹³⁾

以上の結果を総合して、licorice-saponin A3の構造は、3-O-[β-D-glucuronopyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-30-O-(β-D-glucopyranosyl)-glycyrrhetic acid(2)と決定された。

Table I ¹³C NMR Data for 1a, 2a, 2b, 5a and 7a (at 22.5 MHz, in pyridine-d₅, δ_C)

		1a	2a	2b	5a	7a
sapogenol moiety	C-3	89.2	89.0	88.6	89.5	89.5
	C-11	199.0	199.3	199.5	47.8	125.5 ^{a)}
	C-12	128.7	128.2	128.4	122.9	126.7 ^{a)}
	C-13	168.7	169.1	169.1	144.7	135.8
	C-18	48.5	47.9	47.9	48.6	135.8
	C-30	176.5	175.4	175.5	177.3	178.4
3-O-β-D-Glucuronor or gluco- pyranosyl moiety	C-1'	104.5	104.3	104.6	105.0	104.8
	C-2'	84.0	83.7	82.8	84.4	84.3
	C-3'	76.2 ^{a)}	76.0 ^{a)}	77.5 ^{a)}	76.3 ^{a)}	76.5
	C-4'	72.2	72.2 ^{b)}	71.3	72.6 ^{b)}	72.4 ^{b)}
	C-5'	77.1	77.0	77.5 ^{a)}	77.4 ^{c)}	77.2 ^{c)}
	C-6'	169.5 ^{b)}	169.6 ^{c)}	62.4 ^{c)}	170.1 ^{d)}	169.8 ^{d)}
2'-O-β-D-Glucuronor or gluco- pyranosyl moiety	C-1''	106.3	106.1	105.4	106.8	106.6
	C-2''	75.9 ^{a)}	75.8 ^{a)}	76.5	76.4 ^{a)}	76.5
	C-3''	77.1	77.0	77.7 ^{a)}	77.6 ^{c)}	77.4 ^{c)}
	C-4''	72.4	72.3 ^{b)}	71.3	72.9 ^{b)}	72.7 ^{b)}
	C-5''	77.1	77.0	77.5 ^{a)}	76.7 ^{a)}	77.2 ^{c)}
	C-6''	169.7 ^{b)}	169.7 ^{c)}	62.4 ^{c)}	170.3 ^{d)}	170.1 ^{d)}
30-O-β-D-Gluco- pyranosyl moiety	C-1'''		95.4	95.5		
	C-2'''		73.6	73.7		
	C-3'''		78.7	78.9		
	C-4'''		70.7	70.9		
	C-5'''		78.1	78.2		
	C-6'''		61.8	62.0 ^{c)}		

a), b), c), d) Assignments may be interchangeable within the same column.

第三節 Licorice-saponin B2およびC2の化学構造

Licorice-saponin B2 (5) のIRスペクトルにおいて、水酸基およびカルボキシル基に由来する吸収 ($3400, 1720 \text{ cm}^{-1}$) が認められ、その ^1H NMRスペクトルでは、2個のアノメリックプロトンのシグナル [$\delta 5.03$ (1H, d, $J=7.7 \text{ Hz}$), 5.39 (1H, d, $J=7.6 \text{ Hz}$)] が観測された。5のメチル化体5aを9% HCl-MeOHでメタノリシスすると、11-deoxoglycyrrhetic acid methyl ester (6a)¹⁴⁾ が得られ、methyl glucuronideが検出・同定された。さらに、5aと glycyrrhizin dimethyl ester (1a)¹⁵⁾ の ^{13}C NMRスペクトル (Table I, 9 頁) を詳細に比較すると、deoxosapogenol部分由来のいくつかを除くシグナルが良い一致を示すことから、5は 11-deoxoglycyrrhizinと推定された。11-Deoxoglycyrrhizin は、glycyrrhizin (1) の Clemmensen還元によって誘導されている¹⁶⁾ ので、glycyrrhizin (1) より5を誘導し、天然物と直接に比較・同定した。(Chart 4) なお、11-deoxoglycyrrhizin が天然から得られたのは初めての例で licorice-saponin B2 (5) と命名した。また、5には、四塩化炭素による実験的肝細胞障害の回復促進作用 (*in vitro* および *in vivo*) が認められている。¹⁷⁾

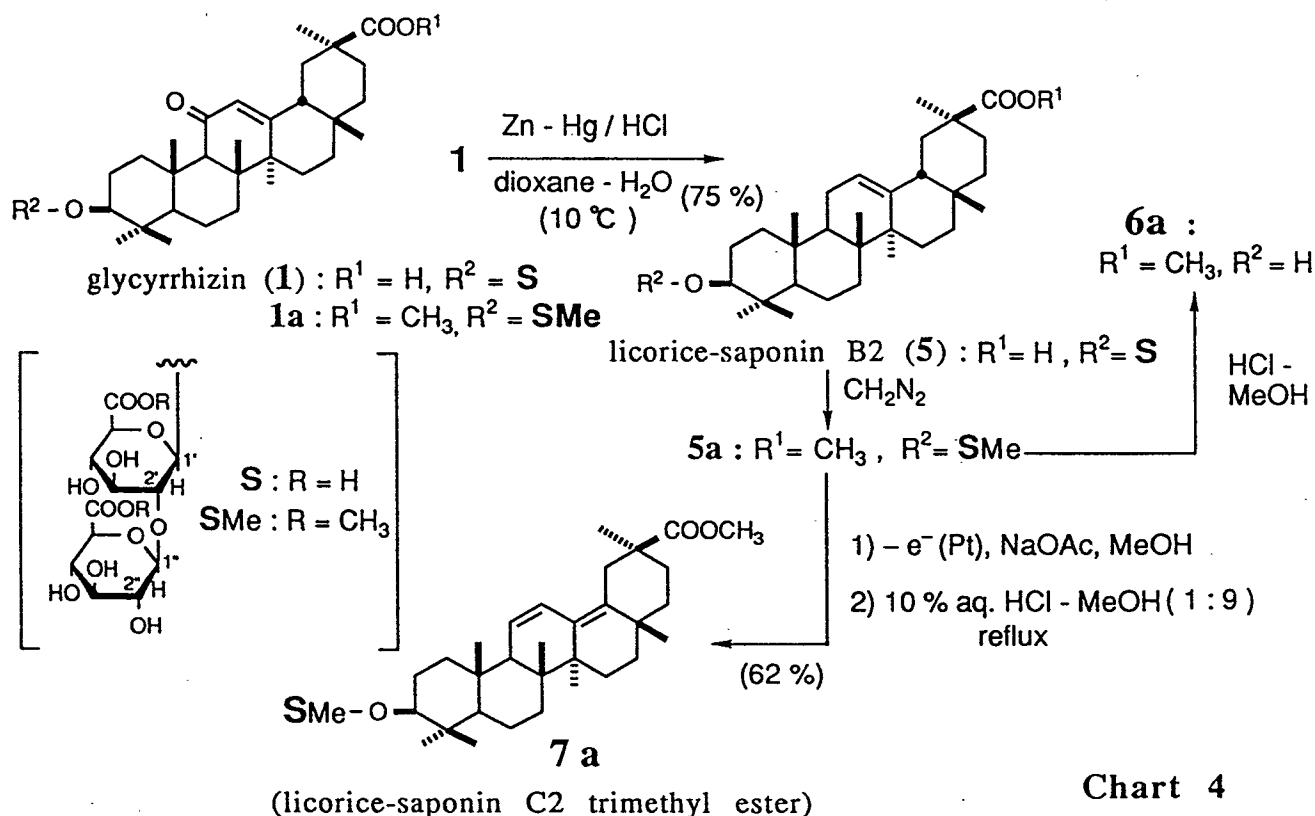


Chart 4

Licorice-saponin C2 (7)では、UVスペクトルから共役ジエンの存在 ($\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 241, 249, 259 nm)が示唆された。メチル化体 7a の ^1H NMRスペクトルでは、2個のアノメリックプロトンのシグナル [δ 4.98 (1H, d, $J=7.3$ Hz), 5.34 (1H, d, $J=7.3$ Hz)]のほかに、それぞれ 1H分の11,12位に帰属されるオレフィンプロトンのシグナル [δ 5.62 (br. d, $J=\text{ca. } 10$ Hz), 6.41 (br. d, $J=\text{ca. } 10$ Hz)]が観測された。さらに、7aをメタノリシスしたところ、糖部分として methyl glucuronideの存在が確認され、ザボゲノール部分として、3 β -hydroxyoleana-11,13(18)-dien-30-oic acid methyl ester (8a)¹⁸⁾が得られた。以上の結果と、7aの ^{13}C NMRスペクトルを考えあわせて、7は11, 13(18)ヘテロ共役ジエンを有し、糖鎖構造は glycyrrhizin(1)や licorice-saponin B2(5)と同じであると推定された。そこで、1を出発物質として7への誘導を行なった。

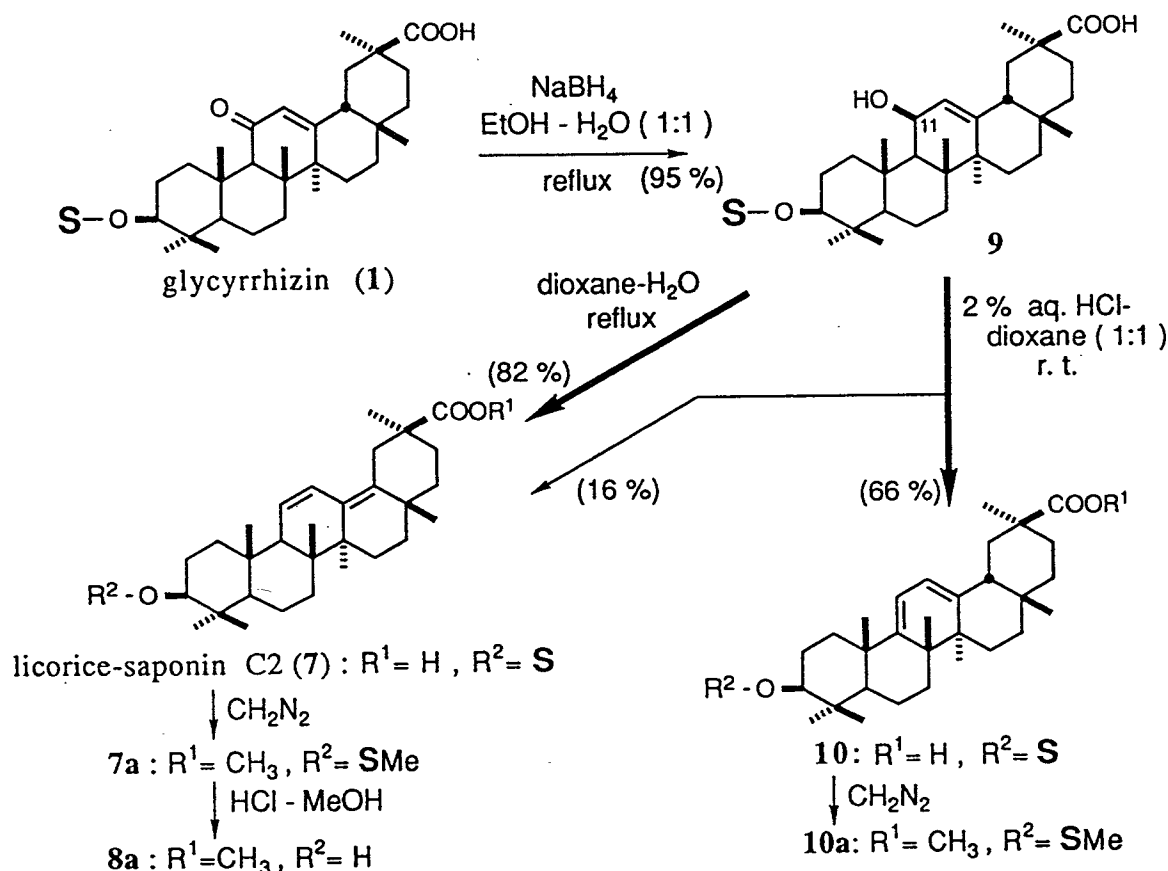


Chart 5

まず、1 を EtOH-H₂O (1:1) 中加熱還流の条件で NaBH₄処理すると、11位カルボニルが還元された 11β-アルコール体 9 が高収率 (95 %) で得られることを見出した。9 を 2 % HCl-dioxane (1:1) で処理すると、ホモジエン体 10 および 7 が、約 4:1 の比率で得られ、一方、9 を dioxane-水中で加熱還流すると、7 のみが 9 より 82 % の収率で得られることがわかった。(Chart 5, 11 頁)

また、licorice-saponin B2 のメチル化体 5 a を陽極酸化、ついで 10 % HCl-MeOH (1:9) により加熱還流処理したところ、62 % の収率で 7 a が得られた。(Chart 4, 10 頁)

以上の結果、licorice-saponin C2 の構造は 3β-[β-D-glucuronopyranosyl-(1→2)-β-D-glucuronopyranosyloxy]oleana-11,13(18)-dien-30-oic acid (7) と決定された。

第四節 Licorice-saponin D3, E2およびF3の化学構造

Licorice-saponin D3 (11) のメチル化体 11 a の ^1H NMR スペクトルにおいて、7 個の三級メチル基、1 個の二級メチル基 [δ 1.81 (d, $J=5.8$ Hz)] のシグナルが認められたほか、1 個のアセトキシ基 [δ 2.10 (3H, s)]、3 個のメトキシカルボニル基 [δ 3.77, 3.78, 3.81 (all 3H, s)] のシグナルが観測され、また、3 個のアノメリックプロトン [δ 5.01 (1H, d, $J=7.6$ Hz), 5.76 (1H, d, $J=7.6$ Hz), 6.39 (1H, br. s)] のシグナルが認められた。そして、 ^{13}C NMR スペクトルの検討結果 (Table II, 16 頁) も考え合わせ、11 a のサポゲノール部分は、11-deoxoglycyrrhetic acid の 22 位にアセトキシ基が結合した構造と推測された。そこで、11 a をメタノリシスしたところ、methyl glucuronide および methyl rhamnoside が検出・同定されたほか、サポゲノール部分として 12 a が得られた。

12 a の ^1H NMR スペクトルでは、 δ 3.24 (1H, dd, $J=5.2, 11.5$ Hz) に 3α 位プロトンのシグナルと、 δ 4.61 (1H, dd, $J=2.8, 3.4$ Hz) にアセトキシ基の付け根の 22α 位エカトリアルメチンプロトンのシグナルが、7 個の三級メチル基と 1 個ずつのアセトキシ基とメトキシカルボニル基のシグナルとともに認められた。また、12 a の電子衝撃イオン化マススペクトル (EI-MS) において、分子イオンピーク m/z 528 のほかに、retro-Diels-Alder 開裂によると推測される D/E 環由来のフラグメントイオンピーク m/z 320 (i) と m/z 260 (ii)、および A/B 環由来のフラグメントイオンピーク m/z 208 (iii) が観測された。(Fig. 3)

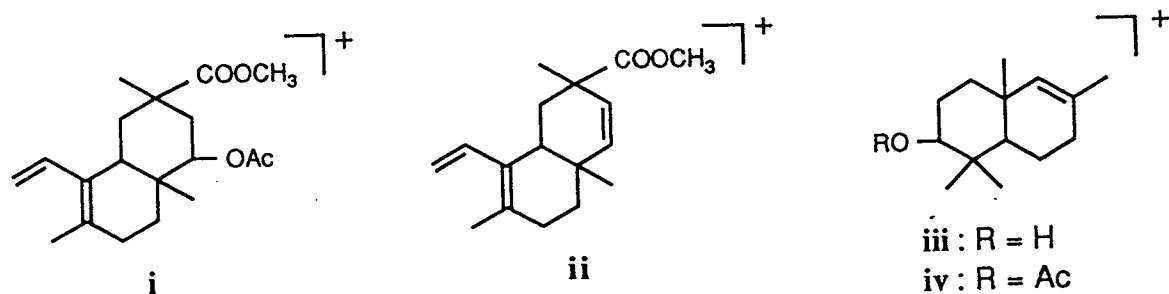


Fig. 3

一方、12aをアセチル化すると、モノアセチル化体12bが得られ、12aを酸処理すると 11-deoxoglabrolide(13)¹⁸⁾ が得られた。(Chart 6)

これらの結果は、12aの20位メトキシカルボニル基はβ配置であること、これとγ-ラクトン環を生成し得る位置にアセトキシル基が存在していることを意味し、アセトキシル基は22β配置であることが証明された。一方、糖鎖部分の構造については、11aのアノメリック炭素の J_{C-H} 値 [171 Hz (rhamnose), 160 Hz (glucose x 2)] から、rhamnoseの結合はα配置¹⁹⁾ であることが判明し、さらに糖部分のメチル化分析の結果から糖鎖構造が明らかになった。

すなわち、licorice-saponin D3の構造は、2'-O-(α-L-rhamnopyranosyl)-22β-acetoxy-11-deoxoglycyrrhizin(11)と決定された。

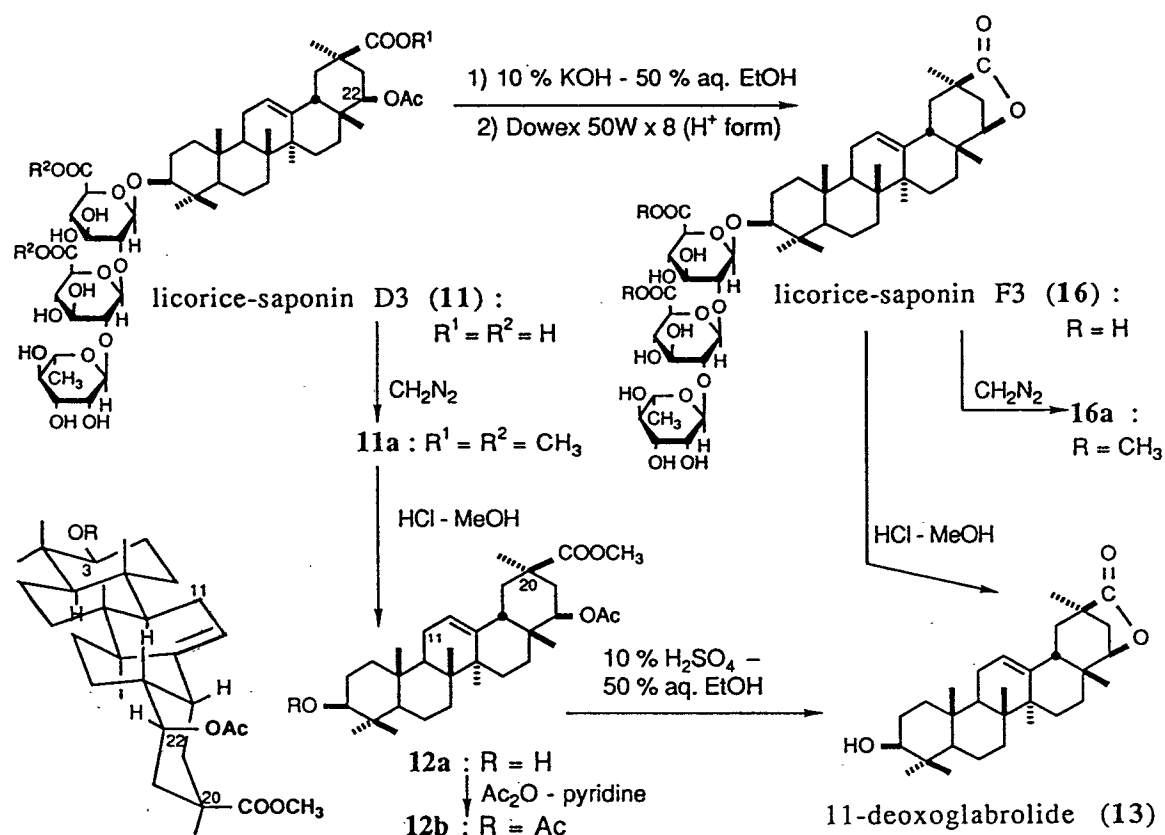


Chart 6

Licorice-saponin E2(14)をメタノリシスすると glabrolide(15)²⁰⁾ が得られ、methyl glucuronide が検出・同定された。また、ジメチルエステル体14aをNaBH₄還元、箱守法²¹⁾による完全メチル化、ついでメタノリシスしたところ、methyl 2,3,4,6-tetra-O-methylglucopyranosideと methyl 3,4,6-tri-O-

methylglucopyranosideが1:1の比率で検出された。これらの結果から、licorice-saponin E2の構造は 3-O-[β -D-glucuronopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]glabrolide(14)と決定された。

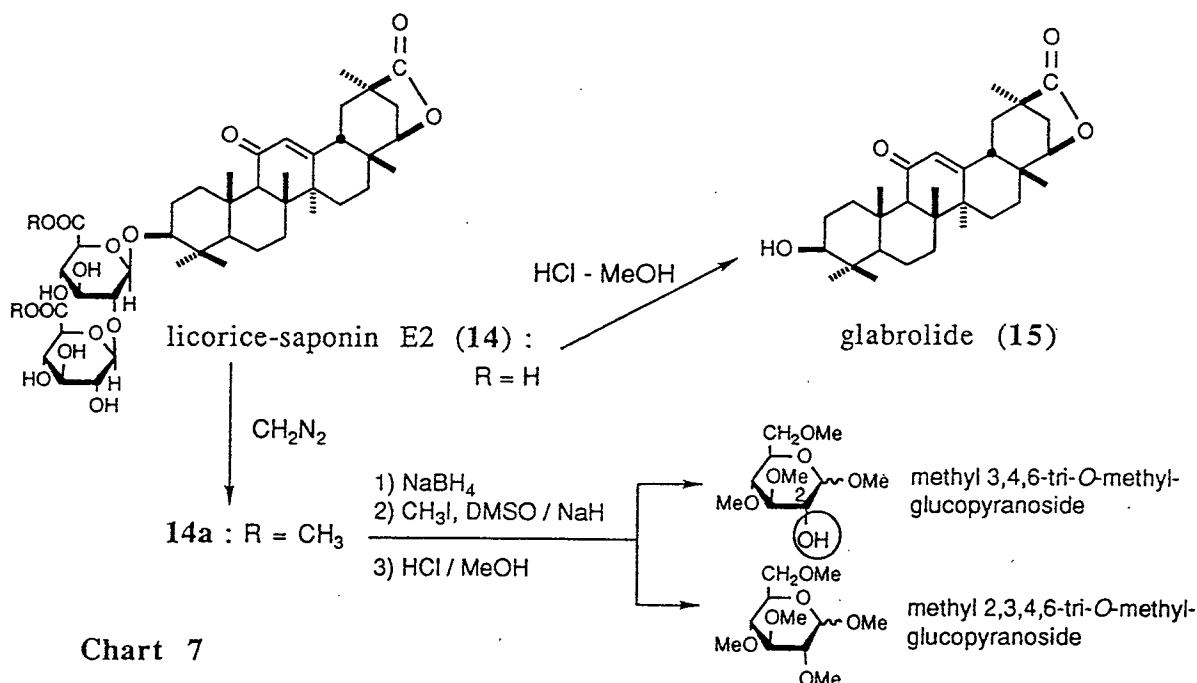


Chart 7

Licorice-saponin F3(16)では、そのIRスペクトルから、水酸基(3600-3200 cm^{-1})とともに γ -ラクトン環(1760 cm^{-1})の存在が示唆された。16をメタノリシスすると、11-deoxoglabrolide(13)¹⁸⁾が得られ(Chart 6, 14 頁)、methyl glucuronide および methyl rhamnosideが 2:1の比率で検出・同定された。また、ジメチルエステル体 16a の¹H NMRおよび¹³C NMRスペクトル(Table II, 16 頁)の解析の結果、16は licorice-saponin D3(11)と同じ三糖の糖鎖構造を有する化合物と推定された。そこで、16aについて、糖部のメチル化分析を行ない、11と同じ糖鎖であることを証明した。さらに、11を 10% KOH-50% 含水エタノール(1:1)中で加熱還流、続いて Dowex 50W x 8 (H^+ form)による処理をすると、16の生成が認められた。(Chart 6, 14 頁)

以上の結果、licorice-saponin F3の構造は 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-11-deoxoglabrolide(16)と決定された。

Table II ^{13}C NMR Data for 1a, 11a, 14a, 16a, 17a, 19a, 21a, and 22a (22.5 MHz, pyridine-d₅, δC)

		1a	11a	14a	16a	17a	19a	21a	22a
sapogenol moiety	C-3	89.2	89.9	89.0	89.9	89.9	89.2	89.8	89.8
	C-11	199.0	23.6	198.8	23.6	198.9	199.0	23.7	125.3
	C-12	128.7	122.2	129.6	124.8	128.6	128.6	122.2	126.4
	C-13	168.7	143.6	164.3	140.6	168.7	168.4	144.3	135.2
	C-18	44.5	44.0	44.8	44.1	44.2	44.0	44.0	135.2
	C-22	38.1	77.5 ^{c)}	84.0 ^{a)}	84.3	38.2	37.1	36.2	36.2
	C-24	16.5	16.4	16.4	16.3	63.1	16.2	62.8	62.4
	C-29	28.4	29.1	28.0	28.0	28.0	178.1	29.1	28.1
	C-30	176.5	177.2	179.3	180.1	176.5	19.3	177.0	178.2
3-O- β -D-glucurono-pyranosyl moiety	C-1'	104.5	104.7	104.6	104.7	104.1	104.9	104.0	104.0
	C-2'	84.0	79.1	83.8 ^{a)}	79.1	81.9	84.3	81.1	80.8
	C-3'	76.2 ^{a)}	76.2 ^{a)}	76.2 ^{b)}	76.3 ^{b)}	75.2	76.4 ^{a)}	76.3 ^{a)}	76.6
	C-4'	72.2	72.2 ^{a)}	72.2 ^{c)}	72.2 ^{b)}	72.2	72.5 ^{b)}	72.1	72.1
	C-5'	77.1	77.9 ^{c)}	77.2	77.9 ^{c)}	77.2	77.3 ^{c)}	77.4 ^{b)}	77.7 ^{a)}
	C-6'	169.5 ^{b)}	169.6 ^{d)}	169.7 ^{d)}	170.1 ^{d)}	169.6	170.1 ^{d)}	169.6	169.8
2'-O- β -D-glucurono-pyranosyl moiety	C-1''	106.3	102.4	106.2	102.4	105.5	106.8	104.7	104.5
	C-2''	75.9 ^{a)}	78.2	76.1	78.2	76.5 ^{a)}	76.6 ^{a)}	76.6 ^{a)}	76.6
	C-3''	77.1	76.7 ^{a)}	77.2	76.6 ^{a)}	76.8 ^{a)}	77.4 ^{c)}	77.0 ^{b)}	77.0 ^{a)}
	C-4''	72.4	42.9 ^{b)}	72.5 ^{c)}	72.8 ^{b)}	72.2	72.9 ^{b)}	72.1	72.1
	C-5''	77.1	77.5	77.2	77.6 ^{c)}	77.2	77.6 ^{c)}	77.4 ^{b)}	77.4 ^{a)}
	C-6''	169.7 ^{b)}	169.8 ^{d)}	169.8 ^{d)}	169.8 ^{d)}	169.6	170.2 ^{d)}	169.6	169.8
2''-O- α -L-rhamno-pyranosyl moiety	C-1'''		101.6		101.6				
	C-2'''		71.9		71.8				
	C-3'''		72.9		72.8				
	C-4'''		73.9		73.9				
	C-5'''		69.2		69.1				
	C-6'''		18.5		18.5				

a), b), c), d) Assignments may be interchangeable within the same column.

第五節 Licorice-saponin G2, H2, J2およびK2の化学構造

Licorice-saponin G2 (17) の高速原子衝撃 (FAB) -MSスペクトルより得られる分子組成 ($C_{42}H_{62}O_{17}$) は, glycyrrhizin (1) の分子組成 ($C_{42}H_{62}O_{16}$) より、酸素原子 1 つ分多い。また、FAB-MSスペクトルでは、陽イオン (positive) 測定で、擬分子イオンピーク [m/z 861 ($M+Na$)⁺, m/z 839 ($M+H$)⁺] のほか、フラグメントイオンピークとして、 m/z 663 ($viii+H$)⁺, m/z 487 ($v+H$)⁺ および m/z 469 ($v-H_2O+H$)⁺ が認められ、陰イオン (negative) 測定で、対応する各イオン [m/z 837 ($M-H$)⁻, m/z 661 ($viii-H$)⁻ および m/z 485 ($v-H$)⁻] が観測された。(Fig. 4)

17 をジアゾメタン処理するとトリメチルエステル 17a が得られ、17a の ^{13}C NMR スペクトル (Table II, 16 頁) を 1 のトリメチルエステル 1a のスペクトルと比較検討したところ、1a で δ_c 16.5 に帰属された 24 位 (4 β メチル) のシグナルが、17a では δ_c 63.1 にシフトして認められる²²⁾ 以外は、糖部分も含めて両スペクトルは良い一致を示した。そこで、17a をメタノリシスしたところ、24-hydroxyglycyrrhetic acid (18) のメチルエステル (18a)²³⁾ が得られ、methyl glucuronide が検出・同定された。

以上を総合して、licorice-saponin G2 の構造は 24-hydroxyglycyrrhizin (17) と決定された。

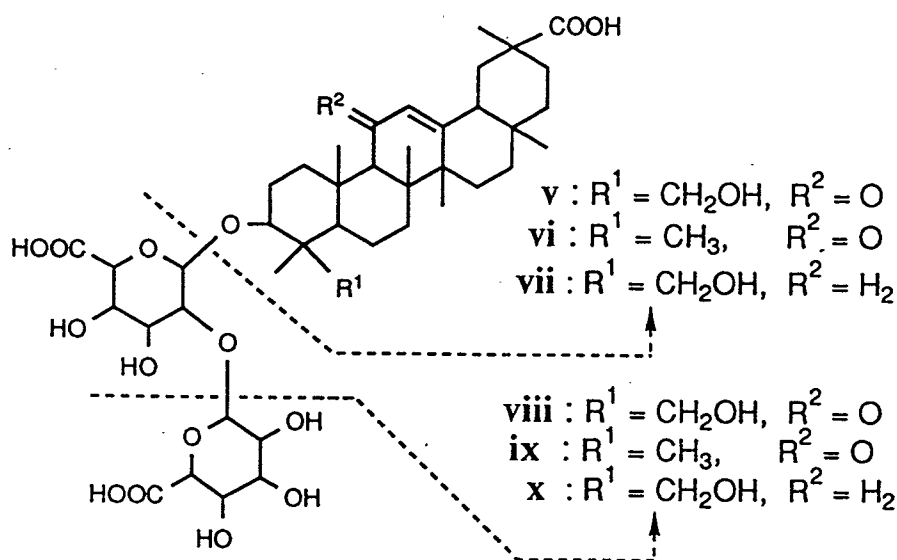


Fig. 4

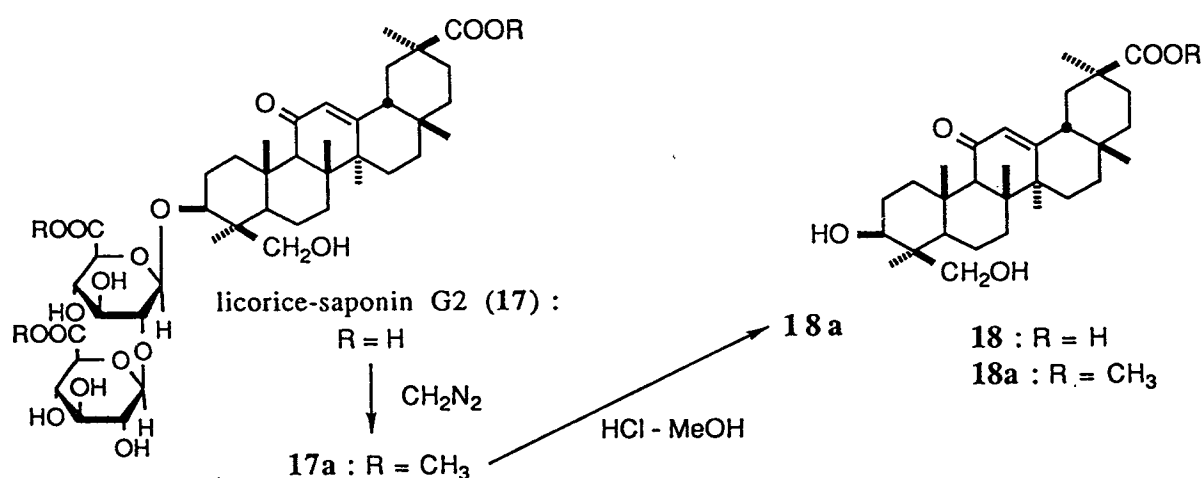


Chart 8

Licorice-saponin H2 (19) では、IR および UV スペクトルから、glycyrrhizin (1) と同様のエノンの存在 [IR ν_{max}^{KBr} : 1720 cm^{-1} , UV λ_{max}^{MeOH} : 248 nm] が示唆され、FAB-MS より得られる分子組成 ($C_{42}H_{62}O_{16}$) は 1 のそれと全く同じであった。19 のトリメチルエステル 19a の ^{13}C NMR スペクトルを、1 のトリメチルエステル 1a の場合と比較検討してみると、19 は 1 の 30 位カルボキシル基が、29 位に置き代わった liquiritic acid (20) をアグリコンとし、糖鎖構造は同じである 1 の異性体と推定された。そこで、糖鎖構造の確認のため、19a について、 $NaBH_4$ 還元後、完全メチル化、ついでメタノリシスしたところ、methyl 2,3,4,6-tetra-O-methylglucopyranoside と methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranoside が 1:1 の比率で検出・同定された。また、19a のメタノリシスでは liquiritic acid (20) のメチルエステル (20a)²³⁾ が得られた。(Chart 9, 19 頁)

以上の結果より、licorice-saponin H2 の構造が 3-O-[β -D-glucuronopyranosyl (1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]liquiritic acid (19) と決定された。

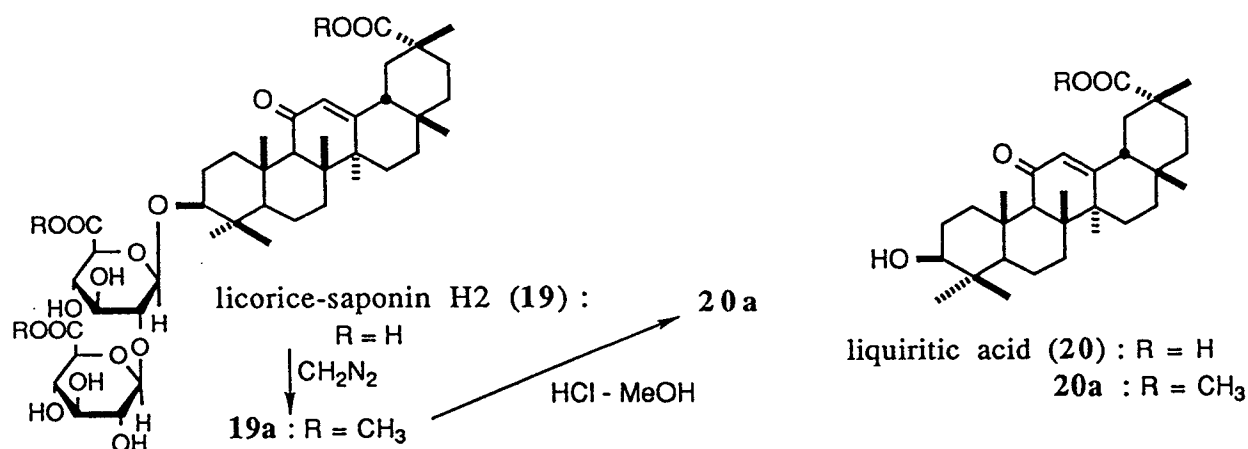


Chart 9

Licorice-saponin J2 (21) は高分解能 FAB-MS スペクトルよりその分子組成が $C_{42}H_{64}O_{16}$ と判明した。また、FAB-MS スペクトルでは、陽イオン (positive) 測定で、擬分子イオンピーク [m/z 847 ($M+Na$) $^+$, m/z 825 ($M+H$) $^+$] のほか、フラグメントイオンピークとして、 m/z 455 ($vii-H_2O+H$) $^+$ が、陰イオン (negative) 測定で、以下の各イオン [m/z 823 ($M-H$) $^-$, m/z 647 ($x-H$) $^-$ および m/z 471 ($vii-H$) $^-$] が観測された。(Fig. 4, 17 頁) 一方、トリメチルエステル体 21a の ^{13}C NMR スペクトルを、licorice-saponin B2 (5) のトリメチルエステル 5a や licorice-saponin G2 (17) のトリメチルエステル 17a と比較検討 (Table II, 16 頁) したところ、21 は 17 の 11-deoxo 体で、また 5 の 24-hydroxy 体に相当する 11-deoxo-24-hydroxyglycyrrhizin と推定された。そこで、17 を亜鉛アマルガムによる Clemmensen 還元処理し (Chart 10, 20 頁)、得られた生成物を licorice-saponin J2 と直接比較同定することによって、licorice-saponin J2 の構造 21 が明らかになった。

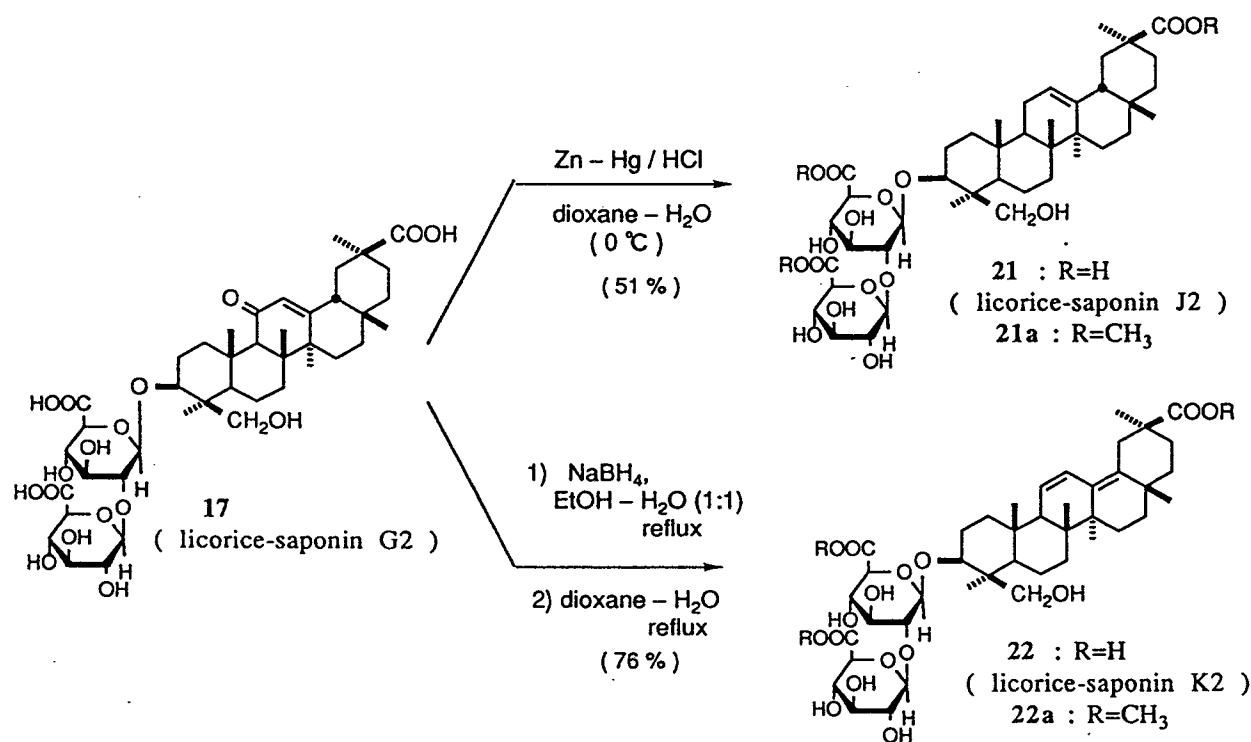


Chart 10

Licorice-saponin K2 (22) のUVスペクトルで、licorice-saponin C2 (7) と同じ様に11,13(18)-ヘテロ共役ジエンによる特徴的な3分裂吸収 ($\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$: 241, 249, 259 nm) が認められた。しかし、22のFAB-MSより得られる分子組成 ($\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}$) は glycyrrhizin (1) と全く同じで、7 ($\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{15}$) と比較すると、酸素原子1つ分多いことになる。また、以下に示す各フラグメントイオンピークが認められた (Fig. 5): m/z 453 [(xii-H₂O+H)⁺] (positive): m/z 645 [(xi-H)⁻], m/z 469 [(xii-H)⁻] (negative).

そこで、22のトリメチルエステル体 22a の ¹³C NMRスペクトルを、licorice-saponin C2 (7) のメチルエステル 7a や licorice-saponin G2 (17) のメチルエステル 17a の場合と比較検討した結果、22は7の24位

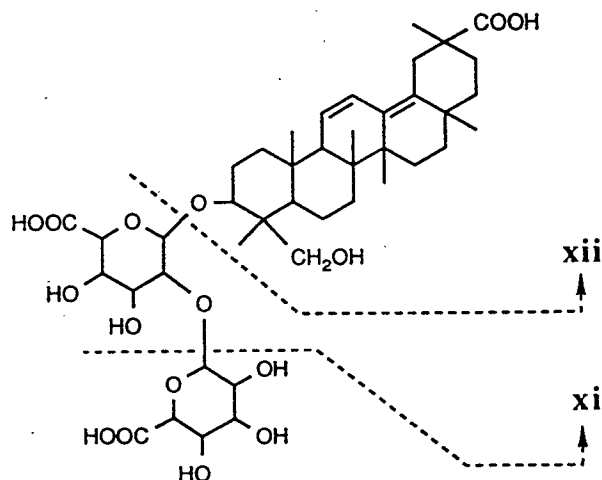


Fig. 5

がヒドロキシメチル基となった化合物であると推定された。そこで、17を出発原料として、NaBH₄還元とそれに続く dioxane-H₂O処理により、11,13(18)-ヘテロ共役ジエン誘導体に導く方法により、22を 76 %の収率で得た。(Chart 10, 20 頁)

以上の結果、licorice-saponin K2の構造は、3β-[β-D-glucuronopyranosyl-(1→2)-β-D-glucuronopyranosyloxy]-24-hydroxyoleana-11,13(18)-dien-30-oic acid (22)であることが明らかになった。

第二章 中国新疆地区産甘草 *Glycyrrhiza inflata* BATALIN のサポニン成分

第一節 サポニン類の抽出、単離

基原植物が *Glycyrrhiza inflata* BATALIN と確認された中国新疆地区産の甘草²⁴⁾を、Chart 16に示した様に抽出分離し、glycyrrhizin(1)とともに、3種の licorice-saponin [A3(2), G2(17), H2(19)]を単離同定し、さらに新規サポニン apioglycyrrhizin(23)および araboglycyrrhizin(25)を単離した。
(Chart 11)

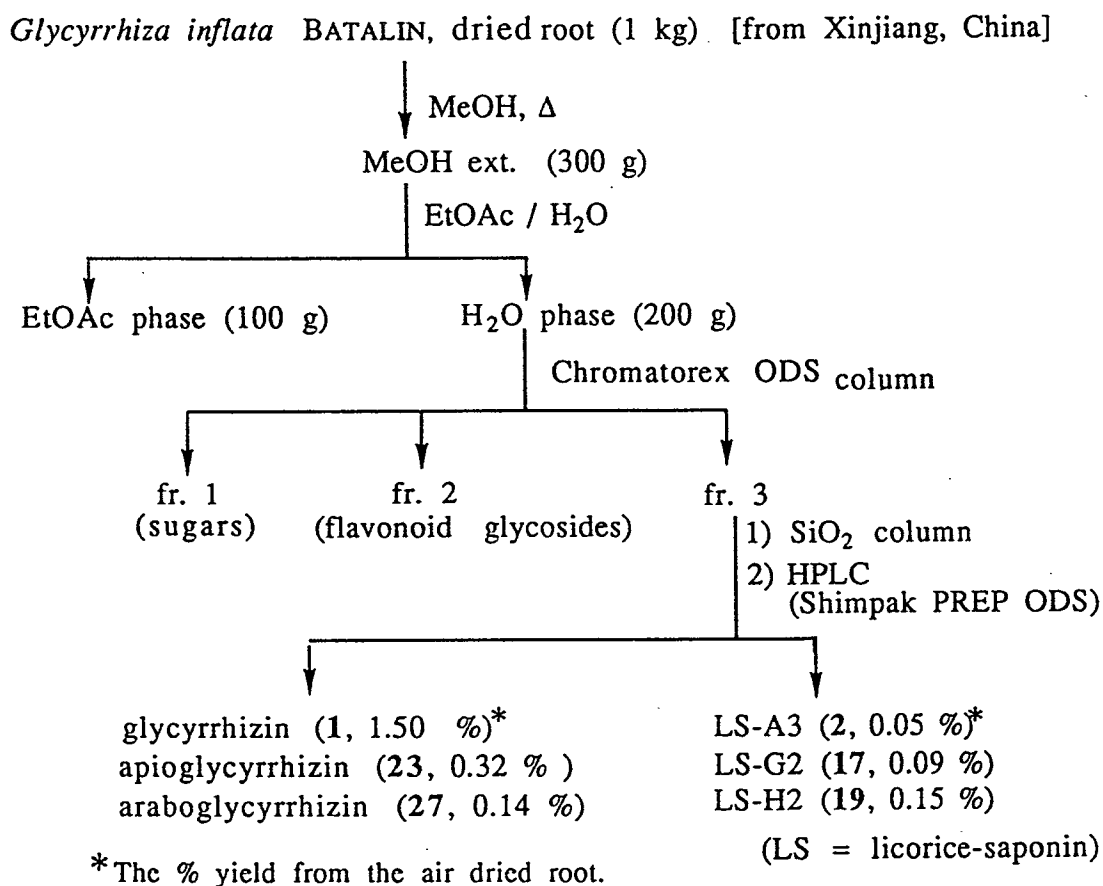


Chart 11

第二節 Apioglycyrrhizinの化学構造

Apioglycyrrhizin(23)は融点193-195 °Cを示す無色針状結晶(MeOH)で、そのIRスペクトルでは、水酸基、カルボキシル基およびエノンに由来する吸収[3500-3100, 1716, 1650 cm^{-1}]が観測され、また、UVスペクトルで、エノン由来の吸収[249 nm (ϵ 9300)]が認められた。一方、その ^{13}C NMRスペクトルを、glycyrrhizin(1)のデータと比較検討した結果(Table IV, 28 頁)と23の ^1H NMRスペクトルデータの詳細な解析により、糖部分のすべてのプロトンのシグナル[δ 4.18(dd, $J=7.7, 9.0$ Hz, $2'-\text{H}$), 4.25(br s, $5'-\text{H}_2$), 4.28(dd, $J=9.0, 9.0$ Hz, $3'-\text{H}$), 4.37, 4.69(each d, $J=9.4$ Hz, $4'-\text{H}_2$), 4.44(dd, $J=9.0, 9.8$ Hz, $4'-\text{H}$), 4.51(d, $J=9.8$ Hz, $5'-\text{H}$), 4.90(br s, $2''-\text{H}$), 4.96(d, $J=7.7$ Hz, $1'-\text{H}$), 6.38(br s, $1''-\text{H}$)]が帰属されたことから、23は1と同じくglycyrrhetic acid(4)をサポゲノールとし、糖部構造としては apiofuranosyl(1 \rightarrow 2)- β -glucuronopyranosyl基を有していると推定された。

そこで、23をメタノール中ジアゾメタンで室温(25 °C)下、1時間処理し、ジメチルエステル体(23a)へ誘導し、ついで23aを NaBH_4 で還元して23bを得た。この23bをメタノリシスしたところ、methyl glycyrrhetate(4a)を同定するとともに、methyl glucopyranoside と methyl apiofuranoside を単離・同定した。さらに、それぞれのメチルグリコシドを酸加水分解して、23bの構成糖が D-glucose ($[\alpha]_D^{25} +47^\circ$) および D-apiose ($[\alpha]_D^{25} +9.1^\circ$) であることが明らかになった。

また、23bを箱守法²¹⁾で完全メチル化した後、メタノリシスし、methyl 2,3,5-tri-O-methylapiofuranoside および methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranoside が検出・同定されたことから、23aの糖鎖は還元末端の D-glucuronic acidの2位に D-apioseが結合している構造であることが判明した。

D-Apiose のアノマー位置の結合様式については、以下のようにして決定した。すなわち、23を室温(24 °C)下、9 % HCl-MeOH で部分メタノリシスした後10 % aq. K_2CO_3 で処理すると、末端 apiose部分のみが加水分解されたプロサポゲノール(24)²⁵⁾ が得られた。この23と24に、Klyne 則²⁶⁾ (脚注参照: 24 頁)を適用した。すなわち、23の分子旋光度の値から24の分子旋光度の値をさし引く

と -150° となる。これに対応する apiose 部分の標準となる methyl α -D-apiofuranoside (25 a) と methyl β -D-apiofuranoside (25 b) の、それぞれの分子旋光度の値は、 $+190^\circ$ と -156° ²⁷⁾ であることから、23 における apiose のアノマー位の結合様式は β であることが判明した。(Chart 12)

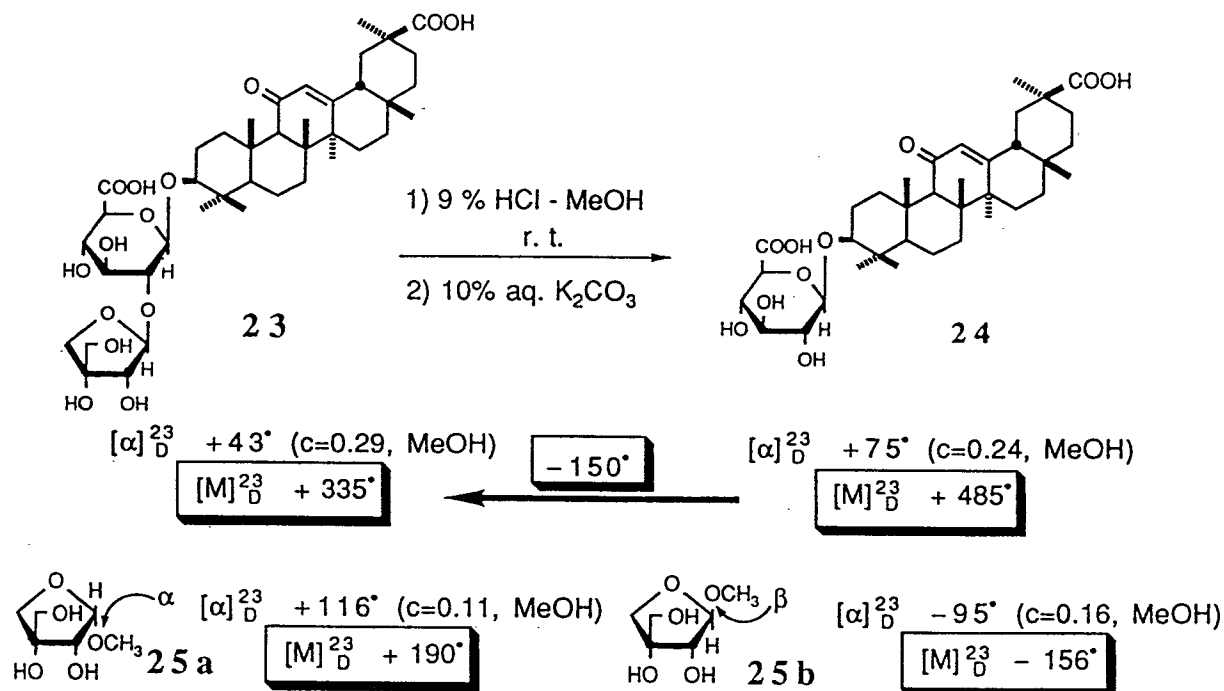


Chart 12

Klyne 則：

配糖体の分子旋光度と、非糖部分の分子旋光度の差、すなわち糖部分の分子旋光度への寄与は、非糖部分の構造に関係なく、対応するメチル化糖の分子旋光度の値に近い値を示す (α 結合の場合は methyl α -glycopyranoside、 β 結合の場合は methyl β -glycopyranoside) という法則。ただし、同じ溶媒で各成分を測定する必要があることと、この場合のようにメチル化糖間で符号が異なる場合には有効だが、符号が同じ場合や分子旋光度の絶対値が小さい場合には、許容誤差 (通常 $+100^\circ \sim -70^\circ$) 範囲内に入ってしまうため、そのアノマー位の配置を確定できない場合が生ずることもある。

通常、単糖のアノマー位の結合様式は、アノマー炭素などの ^{13}C NMRケミカルシフト値を、それぞれアノマー異性体で比較することによって明らかになることが多い。しかし、 $\underline{\underline{\text{D}}}$ -apiose については、まだそれらのケミカルシフト値が報告されていない。そこで、今回我々は、合成によって得られた methyl α - $\underline{\underline{\text{D}}}$ -apiofuranoside (25 a) および methyl β - $\underline{\underline{\text{D}}}$ -apiofuranoside (25 b) それぞれについて ^{13}C NMR (pyridine- d_5) を測定したところ、Table III に示すように両者の間、特に1位アノマー位炭素のケミカルシフトの値に明確な差の現れることが判明した。このことは、 ^{13}C NMRスペクトルによって $\underline{\underline{\text{D}}}$ -apiose のアノマー位の結合様式が容易に決定されることを示すものである、そこで、この結果を上述の23に適用したところ (Table IV)、末端 apiose のアノマー位は β 結合であることが支持された。

Table III ^{13}C NMR Data for methyl α -D-apiofuranoside (25a) and methyl β -D-apiofuranoside (25b) (125 MHz, pyridine- d_5 , δ_{C})

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-1-OMe
methyl α -D-apiofuranoside (25a)	104.5	75.2	77.7	73.4	65.5	55.0
methyl β -D-apiofuranoside (25b)	111.5	77.7	80.3	74.9	65.5	55.3

以上の結果を総合して、23の構造を、3-O- β - $\underline{\underline{\text{D}}}$ -apiofuranosyl (1 \rightarrow 2)- β - $\underline{\underline{\text{D}}}$ -glucuronopyranosylglycyrrhetic acid と決定した。

また、23の化学構造研究の過程で、23をジアゾメタン処理して23 a (ジメチルエステル体) に誘導する際、23をメタノール中過剰のジアゾメタンと24時間処理すると、目的とする23 a (45 %) のほかに、末端 apiose の2'位または3'位がメチル化された 2'-O-メチル化体 (23 c, 30 %) および 3'-O-メチル化体 (23 d, 15 %) が生成することを見出だした。(Chart 13, 26頁) これらの化学構造は、23 c と 23 d の ^{13}C NMRスペクトルを23 a のそれと比較検討 (Table IV, 28 頁) すること、および23 c, 23 d それぞれを NaBH_4 還元の後、メタノリシスした生成物から、共通の成分として methyl glucopyranoside が得られ、同時に 23 c からは methyl 2-O-methylapiofuranoside が、23 d からは methyl 3-O-methylapiofuranoside が得られたことから判明した。

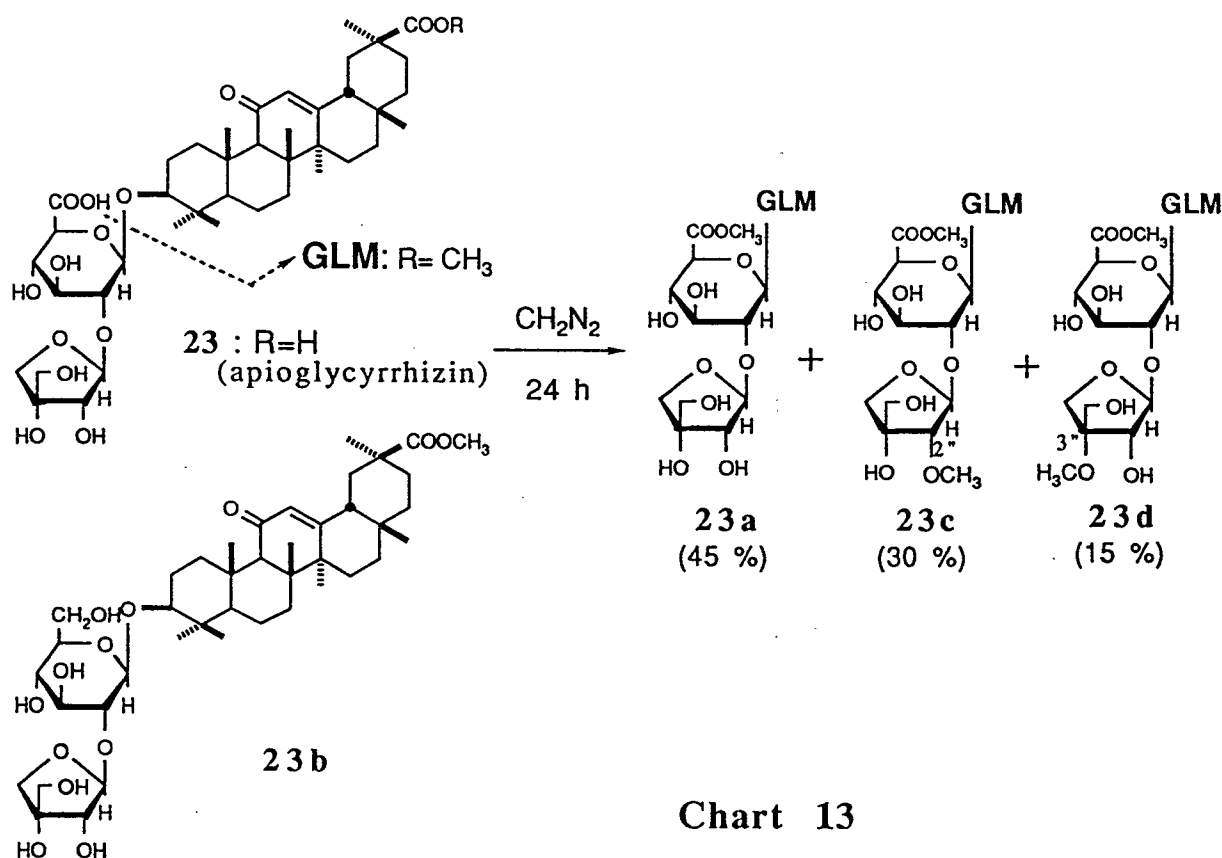


Chart 13

この様な、糖部アルコール性水酸基のメタノール中ジアゾメタン処理によるメチル化について、さらに調べるため、glycyrrhizin (1)をメタノール中、過剰のジアゾメタンと24時間処理した。その結果、通常のトリメチルエステル体(1 a)が38 %の収率で得られるとともに、末端のグルグロン酸の 2' 位または3' 位水酸基がメチル化された、2'-O-メチル体(1 c, 25 %)と3'-O-メチル化体(1 d, 29 %)が得られた。(Chart 14, 27頁) これらの1 cおよび1 dの化学構造については、1 aとの ^{13}C NMRスペクトルの比較検討(Table IV, 28 頁)、および23 c, 23 dの場合と同様、1 c、1 dそれぞれを NaBH_4 還元し、引き続きメタノリシスした生成物のGLC分析、および1 c, 1 dを無水酢酸とピリジンによってアセチル化した化合物(26 c, 26 d)の ^1H NMR(500 MHz, pyridine- d_5)スペクトルの検討によって、それらの化学構造を確認した。

これまでに、微量の SnCl_4 存在下、 $\underline{\text{C}}$ - および $\underline{\text{O}}$ -glucopyranosideのアルコール性水酸基が、ジアゾメタンによって部分メチル化（特に3位）されたという報告^{2,8)}がある。しかし、我々の検討におけるグルグロン酸部水酸基の $\underline{\text{O}}$ -メチル化の場合では、蒸留直後のメタノールを使用し、Lewis 酸の混入が考えられないため、グルグロニドサポニンにおける特異な反応であると推定される。これらの結果は、グルグロニドサポニンの構造研究において、常法的に行なわれるジアゾメタンによるメチル化反応において、注意を払う必要のあることを示している。

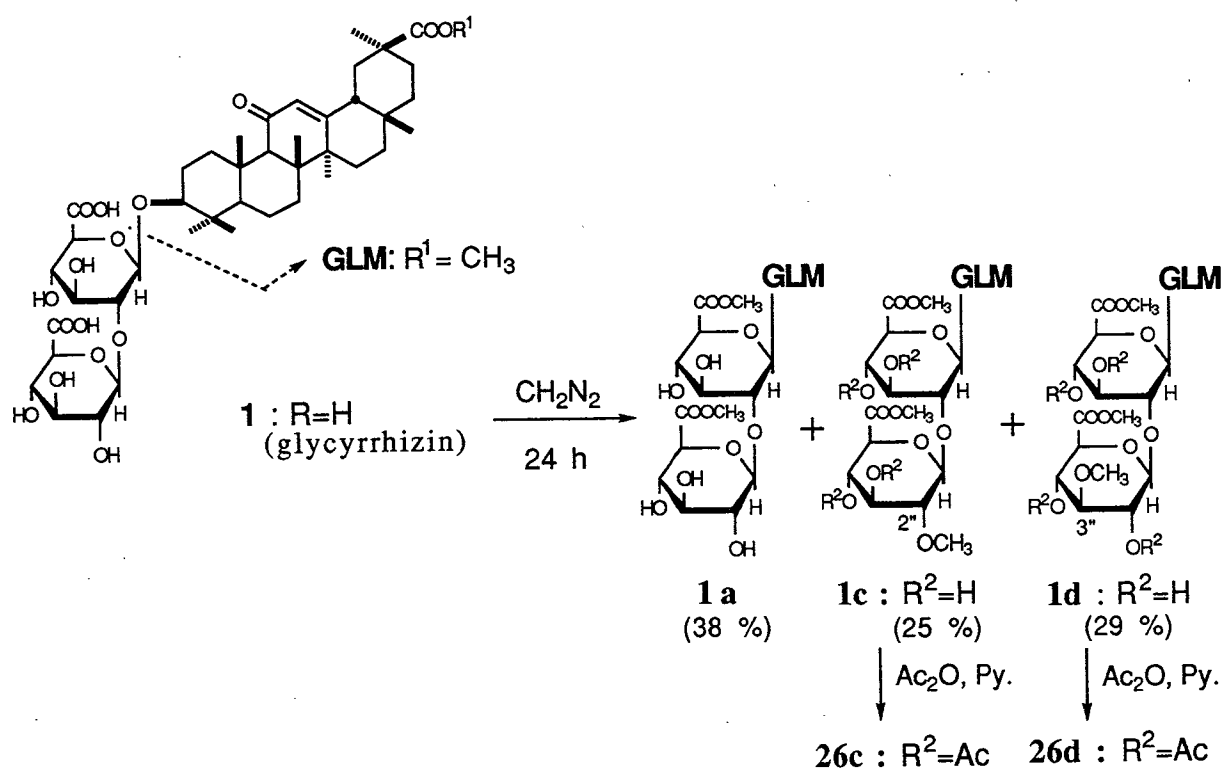


Chart 14

Table IV ^{13}C NMR Data for 23, 23a, 23b, 23c, 23d, 27, 27a, 1, 1a, 1c and 1d (125 MHz, pyridine- d_5 , δc)

	23	23a	23b	23c	23d	27	27a	1	1a	1c	1d
C-3	88.8	89.1	88.7	89.2	89.2	88.9	89.0	88.9	89.2	89.5	89.2
C-11	199.1	199.4	199.5	199.4	199.4	199.4	199.3	199.3	199.0	199.2	199.3
C-12	128.4	128.7	128.7	128.8	128.7	128.6	128.6	182.8	128.7	128.5	128.6
C-13	169.7	168.9	169.0	169.0	169.0	169.5	168.9	169.4	168.7	168.8	169.7
C-30	178.8	176.8	176.8	176.8	176.8	179.1	176.7	178.8	176.5	176.7	176.8
30-OMe	—	51.6 ^{a)}	51.6	51.6 ^{a)}	51.6 ^{a)}	—	51.5 ^{a)}	—	51.5 ^{a)}	51.5 ^{a)}	51.5 ^{a)}
C-1'	105.4	105.7	105.5	105.6	105.7	105.2	105.1	104.6	104.5	104.7	104.8
C-2'	79.4 ^{a)}	79.2 ^{b)}	79.5	80.8	79.3	83.4	83.1	83.9	84.0	85.0	84.1
C-3'	79.0 ^{a)}	78.1 ^{c)}	78.5 ^{a)}	79.3	78.3	77.4	76.6 ^{b)}	76.2	76.2 ^{b)}	76.6	77.2
C-4'	73.0	73.0	71.9	73.1	73.0	73.0	72.6	72.7	72.2	72.6 ^{b)}	72.3 ^{b)}
C-5'	77.8 ^{b)}	76.8	78.0 ^{a)}	77.9	77.5	77.4	77.2 ^{b)}	77.1	77.1	78.0 ^{c)}	77.2 ^{c)}
C-6'	172.0	170.3	62.8	170.4	170.3	172.3	170.2	172.1 ^{a)}	169.5 ^{c)}	170.0	170.0
6'-OMe	—	51.9 ^{a)}	—	52.0 ^{a)}	51.9 ^{a)}	—	51.9 ^{a)}	—	51.8 ^{a)}	51.8 ^{a)}	51.8 ^{a)}
C-1''	110.9	111.2	111.1	109.0	111.5	106.6	106.6	106.2	106.3	104.0	106.2
C-2''	77.6 ^{b)}	77.7 ^{c)}	78.0 ^{a)}	87.2	76.8	73.6	73.5	76.2	75.9 ^{b)}	80.6	75.7
C-3''	80.1 ^{a)}	80.4 ^{b)}	80.4	76.8	85.3	74.1	74.1	77.1	77.1	75.7	86.9
C-4''	75.2	75.5	75.5	75.6	71.7	69.2	68.9	72.7	72.4	72.4 ^{b)}	71.9 ^{b)}
C-5''	65.3	65.9	66.0	66.0	63.0	66.9	66.8	77.1	77.1	77.8 ^{c)}	76.4 ^{c)}
C-6''								171.7 ^{a)}	169.7 ^{c)}	169.6	169.7
2''-OMe				58.7						55.0	
3''-OMe					52.8 ^{a)}						60.8
6''-OMe									51.8 ^{a)}	51.8 ^{a)}	52.0 ^{a)}

a), b), c) Assignments may be interchangeable within the same column.

第三節 Araboglycyrrhizinの化学構造

Araboglycyrrhizin(27)のIRスペクトルで、水酸基、エステル、エノンの吸収[3500-3200, 1711, 1658 cm^{-1}]が認められ、27をメタノリシスすると、glycyrrhetic acid(3)、methyl glucuronide および methyl arabinoside が検出・同定された。また、27のジアゾメタン処理生成物(27a)の ^1H NMRスペクトルでは、 δ 4.96(d, $J=7.6$ Hz)と δ 5.16(d, $J=6.7$ Hz) に2個のアノメリックプロトン由来のシグナルが観測され、 ^{13}C NMRスペクトル(Table IV, 28 頁)では、 δ 105.1 にglucuronic acidのアノメリック炭素由来のシグナルが、また、 δ 106.6, 73.5, 74.1, 68.9, 66.8 に α -L-arabinopyranosyl 基由来のシグナルが認められた。

そこで、27aを NaBH_4 で還元して27bを得、27bをメタノリシスしてmethyl glycyrrhetate(3a)、methyl glucopyranoside および methyl arabinopyranosideを単離・同定した。(Chart 15)

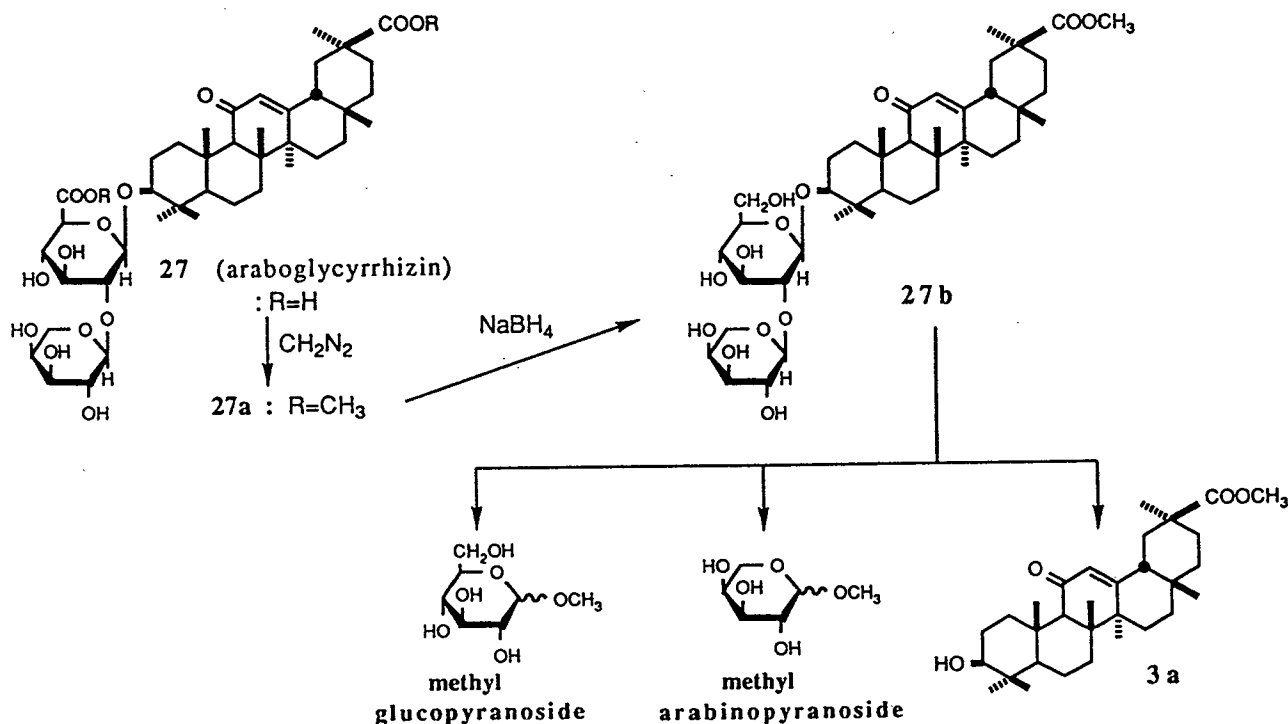


Chart 15

そして、得られた2種のメチル化糖を、それぞれ酸加水分解して、27bの構成糖が、D-glucose ($[\alpha]_D^{25} +47^\circ$) および L-arabinose ($[\alpha]_D^{25} +97^\circ$) であることが判明した。次に、糖鎖の結合様式を明らかにするため、27bを、箱守法²¹⁾で完全メチル化した後、メタノリシスしたところ、methyl 2,3,4-tri-O-methyl-arabinopyranoside および methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranoside が検出・同定された。したがって、27bの糖鎖は glucose の2位に arabinose が結合している構造であることが判明した。以上の結果を総合して、araboglycyrrhizin(27)の構造は 3-O- β -D-arabopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosylglycyrrhetic acid と決定された。

第四節 Licorice-saponin類の甘味

甘草の主サポニン glycyrrhizin(1)は、食品甘味料としても利用されている。しかし、その甘味はショ糖の約150倍と言われているが、あとに甘味が残留し、高濃度では苦味をも呈するので、清涼飲料水などには用いられていない。今日、ショ糖の大量摂取が、糖尿病や、肥満、う歯(虫歯)の原因と考えられ、新たな甘味化合物が求められている。そこで、1と化学構造が類似している apioglycyrrhizin(23)、araboglycyrrhizin(27)と licorice-saponin A3(2), B2(5), G2(17), H2(19) についてそれらの甘味を検討した。²⁹⁾

その結果、apioglycyrrhizin(23)が glycyrrhizin(1)の約2倍の甘味を示すこと、araboglycyrrhizin(27)は1と同程度の甘味を示すことが認められた。また、licorice-saponin A3(2)は、1の約半分の甘味を示すが、その甘味は清涼な甘味であることや、licorice-saponin B2(5)は、甘味を呈さず苦味を示すなど、甘草含有配糖体の化学構造と甘味に関する興味ある知見が得られた。(Chart 16, 31頁)

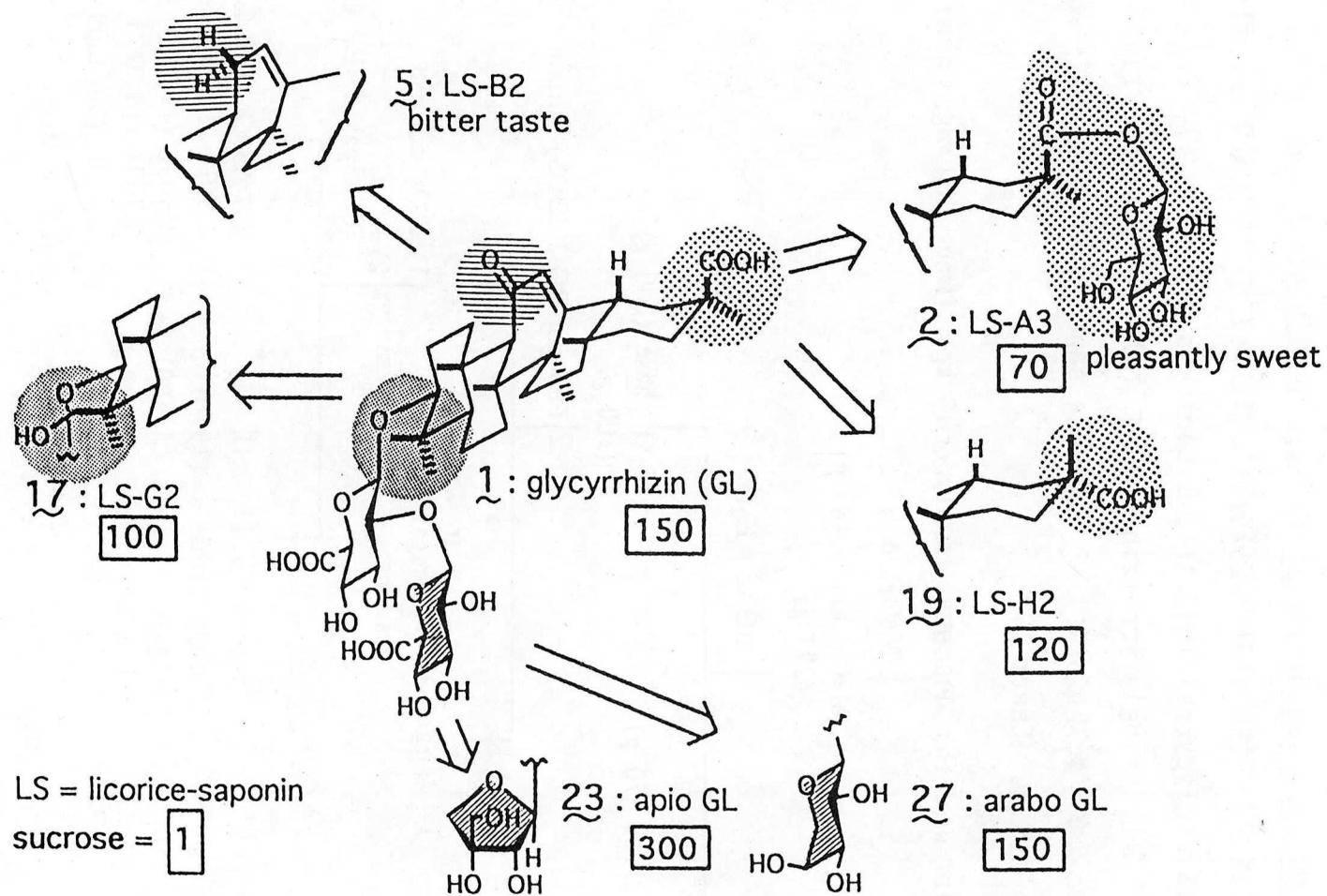


Chart 16

第三章 中国新疆地区産甘草 *Glycyrrhiza uralensis* FISCHER のサポニン成分

第一節 サポニン類の抽出、単離

基原植物が *Glycyrrhiza uralensis* FISCHER と確認された中国新疆地区産の甘草³⁰⁾を、先に述べた二種の甘草の成分分画に準じた方法で抽出分離し、glycyrrhizin(1)、18 α -glycyrrhizin(29), licorice-saponin A3(2), E2(14), G2(17), H2(19), apioglycyrrhizin(23)および araboglycyrrhizin(27)を単離・同定したほか、新規成分として licorice-saponin L3(28)を原生薬から 0.03 % の収率で得た。(Chart 17)

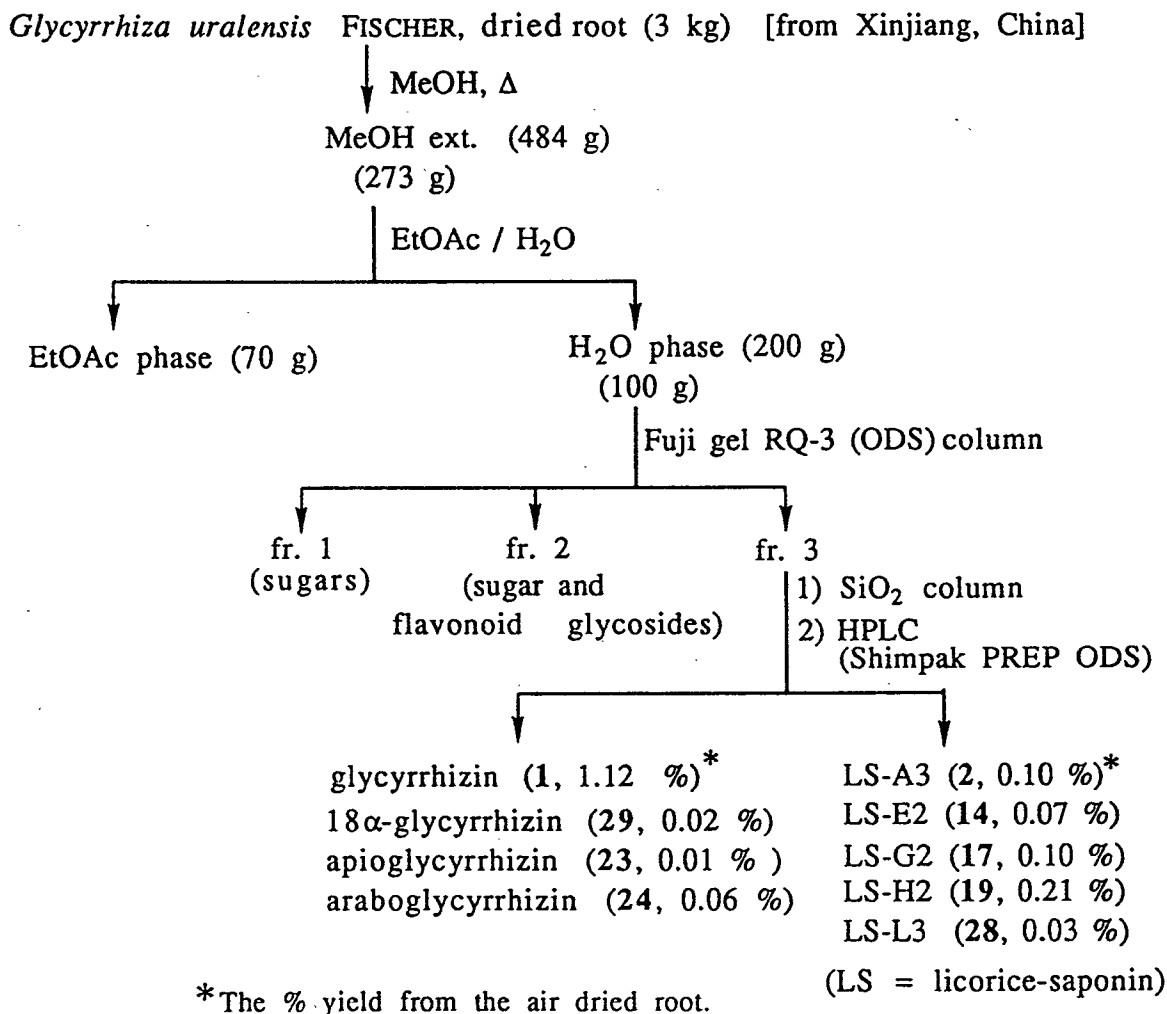


Chart 17

第二節 Licorice-saponin L3の化学構造

Licorice-saponin L3(28)の high resolution FAB-MSから、その分子式は $C_{49}H_{76}O_{20}$ と判明した。28の 1H NMRスペクトルでは、3種のアノマー位プロトンのシグナル [δ 4.95 (1H, d, $J=7.6$ Hz), δ 5.52 (1H, d, $J=7.3$ Hz), δ 6.15 (1H, br s)]が観測され、また、 ^{13}C NMRスペクトル (Table V, 38 頁)の検討から、28はoleanane型トリテルペンの3糖配糖体であることが推測された。一方、negative FAB-MSでは、擬分子イオン m/z 983 [$(M-H)^-$]のほかに、3糖の糖鎖が順次離脱して生成したと推測される m/z 837 [xiii, $(M-C_6H_{11}O_4)^-$], m/z 705 [xiv, $(M-C_{11}H_{19}O_8)^-$] および m/z 529 [xv, $(M-C_{17}H_{27}O_{16})^-$] の各イオンが認められた。このことは、28が3糖配糖体であることを支持し、かつその糖鎖が直鎖状に構成されていることを示唆している。(Fig. 6)

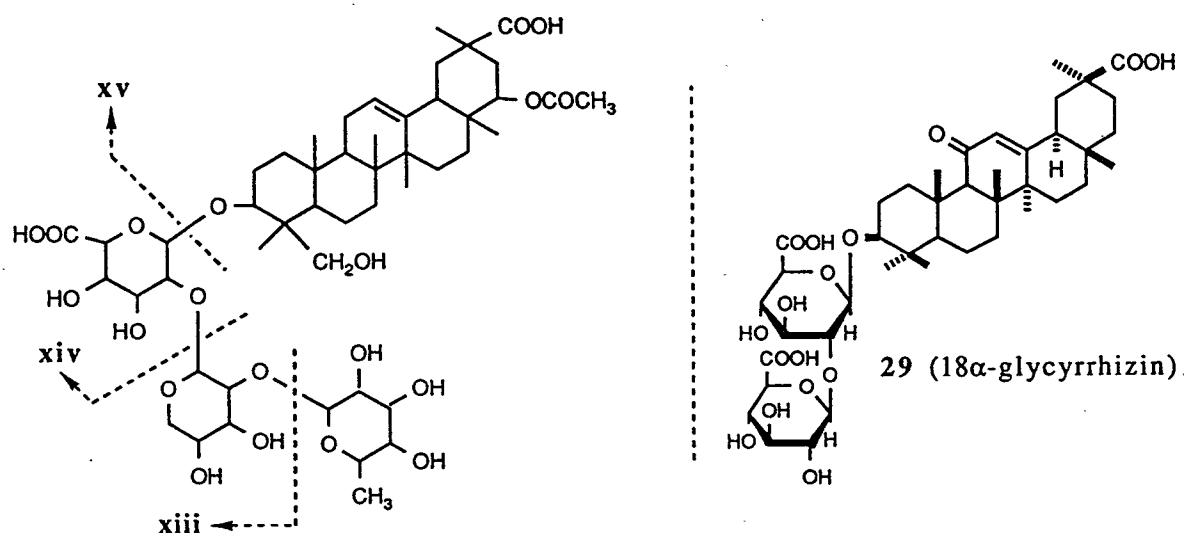


Fig. 6

そこでlicorice-saponin L3(28)を 9 % HCl-MeOH でメタノリシスしたところ、サポゲノール部分由来の化合物30とともに、methyl glucuronide, methyl arabinosideおよび methyl rhamnosideが単離・同定された。そして、それらのメチルグリコシドの加水分解生成物の旋光度測定 (methyl glucuronideは $NaBH_4$ 還元し、methyl glucosideに誘導した)の結果、構成糖は D-glucuronic acid, L-arabinoseおよび D-apioseであることが判明した。また、 ^{13}C - 1H カップリング

定数の測定によって、rhamnoseが α (171 Hz)^{19, 31)}、arabinoseが α (161 Hz)³¹⁾そして glucoseが β (160 Hz)¹⁹⁾の各結合であることが明らかになった。

さらに糖鎖については、大豆より得られ同一の構成糖で、かつ末端から rhamnose(1 \rightarrow 2)arabinose(1 \rightarrow 2)glucuronic acid の直鎖状の糖鎖を有する soyaaponin II(31)³²⁾の¹³C NMRスペクトルを、28のそれと比較してみると (Table V, 38 頁)、糖部分はよい一致を示した。したがって、28と31は同一の糖鎖を有していると推定され、最終的に、28をジアゾメタン処理してジメチルエステル体28aへ誘導し、箱守法²¹⁾で28aを完全メチル化したのちメタノリシスして得られた糖部をGLC分析し methyl 3,4,6-tri-O-methylglucuronopyranoside, methyl 3,4-di-O-methylarabinopyranoside および methyl 2,3,4-tri-O-methylrhamnopyranosideが同定・確認された。したがって、licorice-saponin L3(28)は soyaaponin II(31)と同一の糖鎖構造を有していることが明らかになった。

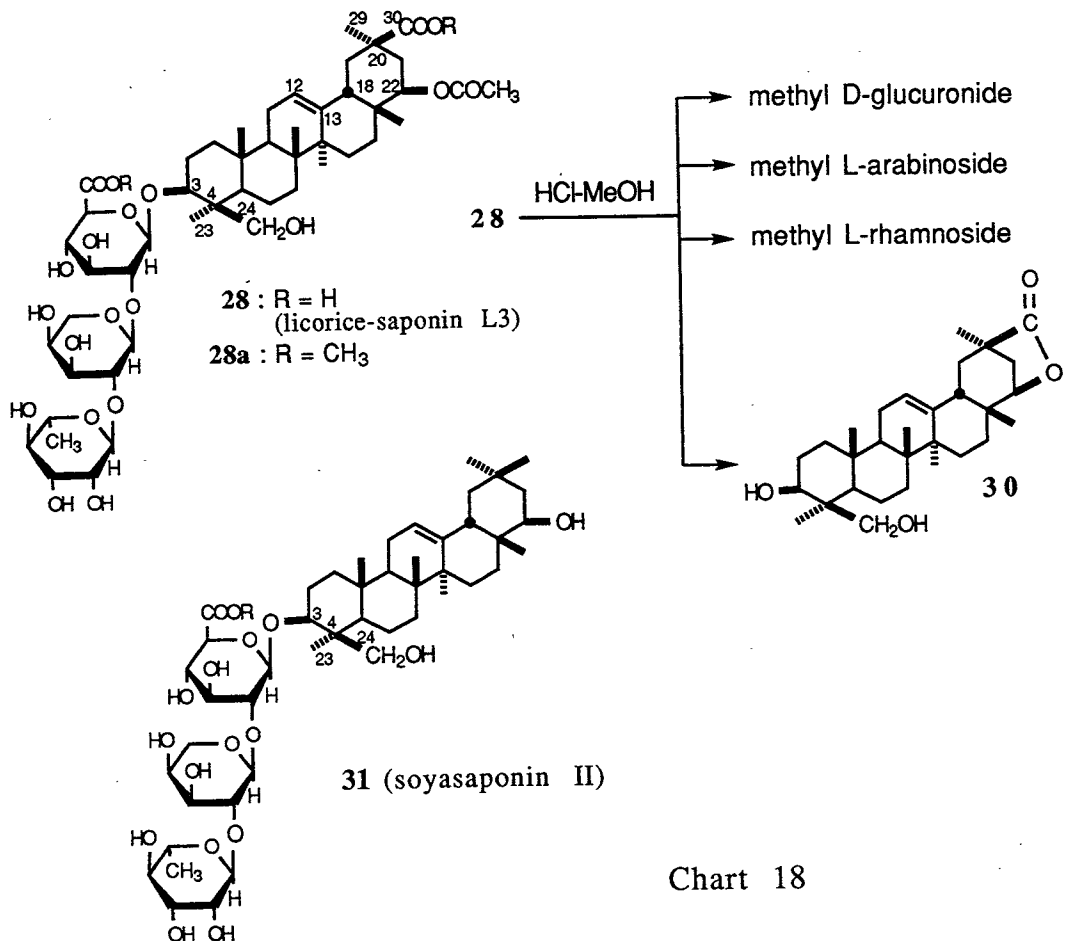


Chart 18

一方、licorice-saponin L3(28)のサポゲノール部分の構造については、28の ^1H NMRスペクトル(δ 2.02, 3H, s)から、acetyl基の存在が判るが、28のメタノリシスで生成した30の ^1H NMRにおいて、acetyl methyl基のシグナルが消失している。したがって、28は30の真正サポゲノールではなく、酸によって二次的に acetyl基が脱離変化して生成したものと推測される。また、30はジアゾメタンによるメチル化反応を受けないことや、28がジアゾメタン処理によってジメチルエステルを与えるのに、その構造中には glucuronic acidが1分子しか存在しないことから、28ではサポゲノール部分に遊離のカルボキシル基が存在しており、30ではそのカルボキシル基部分が失われていることがわかる。

この様に、酸処理によってサポゲノール部分のアセチル基とカルボキシル基部分に変化する例としては、先に述べた東北地区産甘草 *G. uralensis*から得られた licorice-saponin D3(11)のサポゲノールのメチルエステル体12aが、酸によって acetyl基の脱離とともにラクトン化が起こり 11-deoxoglabrolide (13)が生成するという例⁷⁾がある。

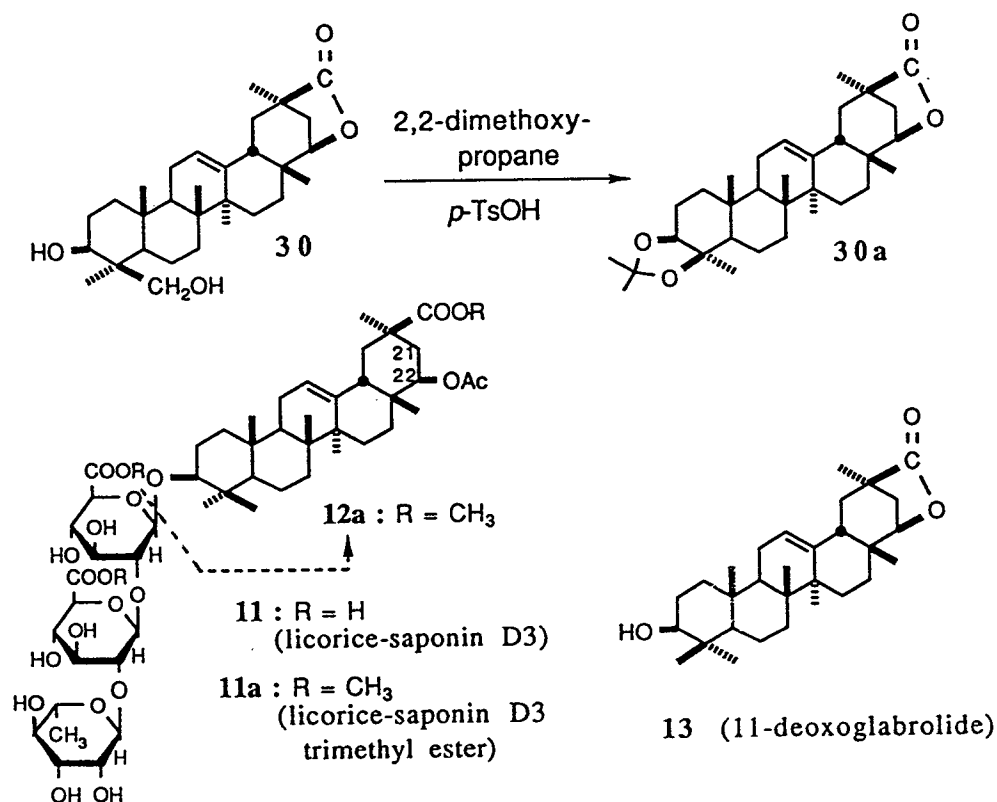


Chart 19

そして、生成した γ -ラクトン環部分の22 α 位プロトンに帰属される ^1H NMRシグナルのカップリングパターンは、21位メチレンプロトンの1個の21 α 位プロトンとの dihedral angleが約 90° になるため doublet (δ 4.15, 1H, $J=5.2$ Hz)に観測される。

30の ^1H NMRスペクトルにおいても、22 α 位プロトンに帰属されるシグナル (δ 4.18, 1H, d, $J=5.8$ Hz)は同様のカップリングパターンで観測された。したがって、30では13の場合と同様に、oleanane E環部の22位 acetoxylと 20位に結合している 29または30位のカルボキシル基(お互いの相対的な立体配置はcis)の間でラクトン環が二次的に形成されたものと推定された。また、28の ^1H NMRスペクトルにおいて、12位オレフィンプロトンのシグナルが double doublet (δ 5.31, 1H, $J=3.7, 3.7$ Hz)にカップリングしていることや、28の ^{13}C NMRスペクトルで11位カルボニルに相当する200 ppm付近のシグナルが認められないことから、28や30では、11位がメチレンになっていることが判明した。

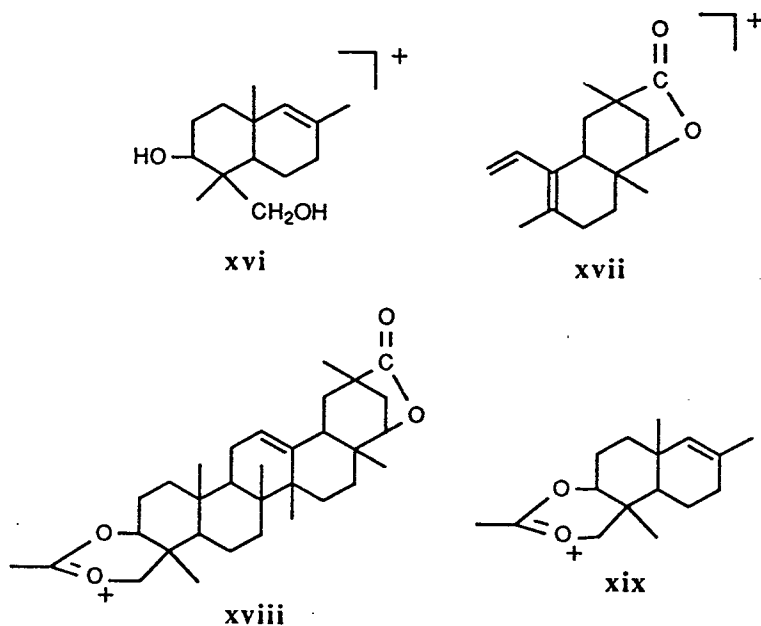


Fig. 7

30の EI-MSでは、分子イオンピーク m/z 470 (high resolution EI-MSから分子式は $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_4$ と判明、以下同様)のほか、C環部分で retro-Diels-Alder型開裂によって生じたと推定される A, B環由来の m/z 224(xvi, $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_2$)と D, E環由来の m/z 246(xvii, $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_2$)の両イオンの存在が認められた。しかし、

13のEI-MSでは、分子イオンピークは m/z 454 ($C_{30}H_{46}O_3$) に認められ、30と比較すると酸素原子1つ少ない。

また、13のフラグメントイオンとして、D、E環由来の m/z 246 (xvii) のイオンは認められるが、A、B環由来のイオンとしては酸素原子1つ分に相当する16マスユニット少ない m/z 208 (iii, 13 頁) イオンが認められるので、30は13のA、B環部分に酸素1原子分多い化合物と推測された。(Fig. 7, 36頁)

また、licorice-saponin L3 (28) の ^{13}C NMRスペクトルのサポゲノール部分に由来するシグナルを、licorice-saponin D3 (11) の trimethyl ester (11a) のサポゲノール部分由来のシグナルと比較すると、11aの methyl基 1個 (δ_c 16.3 ppm) が hydroxymethyl基 1個 (δ_c 63.4 ppm) に変化していることがわかり、マスペクトルより得られた結果を支持している。

そこで、A、B環のいずれの methyl基 (23,24または25位) が hydroxymethyl基になっているかを確定する目的で、30を 2,2-dimethoxypropane と p-TsOH で処理してアセトニド誘導体 30a に導いた。(Chart 19, 35頁) 30a のEI-MSにおいて、アセトニド部のメチル基が脱離して生成したイオン m/z 495 (xviii, $C_{30}H_{46}O_4$) とその retro-Diels-Alder型開裂で生成したと考えられる2個のフラグメントイオンが m/z 246 (xvii) と m/z 264 (xix, $C_{17}H_{28}O_2$) に認められた。

(Fig. 7, 36頁) 以上の結果、30の構造は13 (11-deoxoglabrolide) の3位水酸基とアセトニドが形成可能な位置すなわち23または24位のいずれかが水酸基になったものと判明した。次に、30について Brooksらの Modified Horeau法³³⁾ を適用したところ、3位はS配置と判明した。また、30の 1H NMRでヒドロキシメチレンに帰属される2つのプロトンシグナル [δ 4.29, 4.23 (ABq, $J=8.8$ Hz)] のケミカルシフト値から、アキシャル配置の水酸基に結合しているメチレンのプロトンであることが判明³⁴⁾ し、この結果から、30には4 β -hydroxymethyl基すなわち24位に水酸基が存在していることが証明された。

以上を総合して、licorice-saponin L3 (28) の構造は、3 β -[α -L-rhamno-pyranosyl- β -D-arabinopyranosyl- β -D-glucuronopyranosyloxy]-22 β -acetoxy-24-hydroxyolean-12-en-30-oic acid と決定した。

Table V ^{13}C NMR Data for Licorice-saponin L3 (28), 30, Soyasaponin II (31),
and Licorice-saponin D3 trimethyl ester (11a, sapogenol moiety only)
(pyridine- d_5 + D_2O , δ_{C})

		28a)	30a)	31b)	11a ^{c)}
sapogenol moiety	C-1	38.7	38.5	38.6	39.3
	C-2	26.3 ^{d)}	28.2	25.5	26.3 ^{f)}
	C-3	91.0	80.8	90.9	89.9
	C-4	44.0	43.2	43.8	44.0
	C-5	56.1	56.4	56.0	55.7
	C-6	18.8	19.1	18.7	20.7
	C-7	32.9	33.6	33.2	32.5
	C-8	40.1	39.8	39.8	40.0
	C-9	47.7	48.0	47.7	47.6
	C-10	36.2	36.1	36.3	35.9
	C-11	24.0	23.6	24.0	23.6
	C-12	124.7	125.2	122.3	122.2
	C-13	144.1	144.2	144.7	143.6
	C-14	41.9	42.8	42.3	41.6
	C-15	26.6 ^{d)}	26.5	26.3	26.1 ^{f)}
	C-16	27.8	27.5	28.6	28.1
	C-17	37.5	37.1	37.9	37.6
	C-18	44.2	45.2	44.8	44.0
	C-19	40.8	42.8	46.6	40.7
	C-20	29.8	32.1	30.8	29.8
	C-21	41.7	42.7	42.3	41.6
	C-22	78.1	80.2	75.5	77.9
	C-23	22.9	23.6	22.8	22.9
	C-24	63.4	64.0	63.3	16.4
	C-25	15.7	15.8	15.6	15.3
	C-26	16.8	16.9	16.9	16.7
	C-27	26.3 ^{e)}	26.5	25.5	26.3
	C-28	26.6 ^{e)}	26.5	28.1	26.3
	C-29	29.8	28.4	33.0	29.1
	C-30	179.4	172.4	21.0	177.2
	acetyl	170.3, 21.4			170.1, 21.0
3-O- β -D-glucurono-pyranosyl	C-1'	105.4		105.1	
	C-2'	78.1		77.8	
	C-3'	75.8		75.5	
	C-4'	72.6		72.3	
	C-5'	77.6		77.3	
2'-O- α -L-arabino-pyranosyl	C-6'	172.2		172.2	
	C-1''	102.2		101.7	
	C-2''	78.1		77.2	
	C-3''	76.7		76.8	
	C-4''	70.7		70.0	
2''-O- α -L-rhamno-pyranosyl	C-5''	66.8		66.5	
	C-1'''	101.8		101.7	
	C-2'''	72.3		71.9	
	C-3'''	73.9		73.4	
	C-4'''	74.4		74.1	
	C-5'''	69.4		69.0	
	C-6'''	18.5		18.5	

Measured at a) 125 MHz, b) 67.8 MHz, and c) 22.5 MHz.

d e, f) Assignments may be interchangeable within the same column.

第四章 中国新疆地区産甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. のサポニン成分

中国新疆地区産の甘草 *Glycyrrhiza glabra* L.³⁵⁾ について、先の三種の甘草の場合と同様の抽出分離を行ない、サポニン成分として、glycyrrhizin(1), licorice-saponin A3(2), C2(7), E2(14), G2(17), H2(19), apioglycyrrhizin(23)および araboglycyrrhizin(25)を単離し、それらの構造を確認した。(Chart 20)

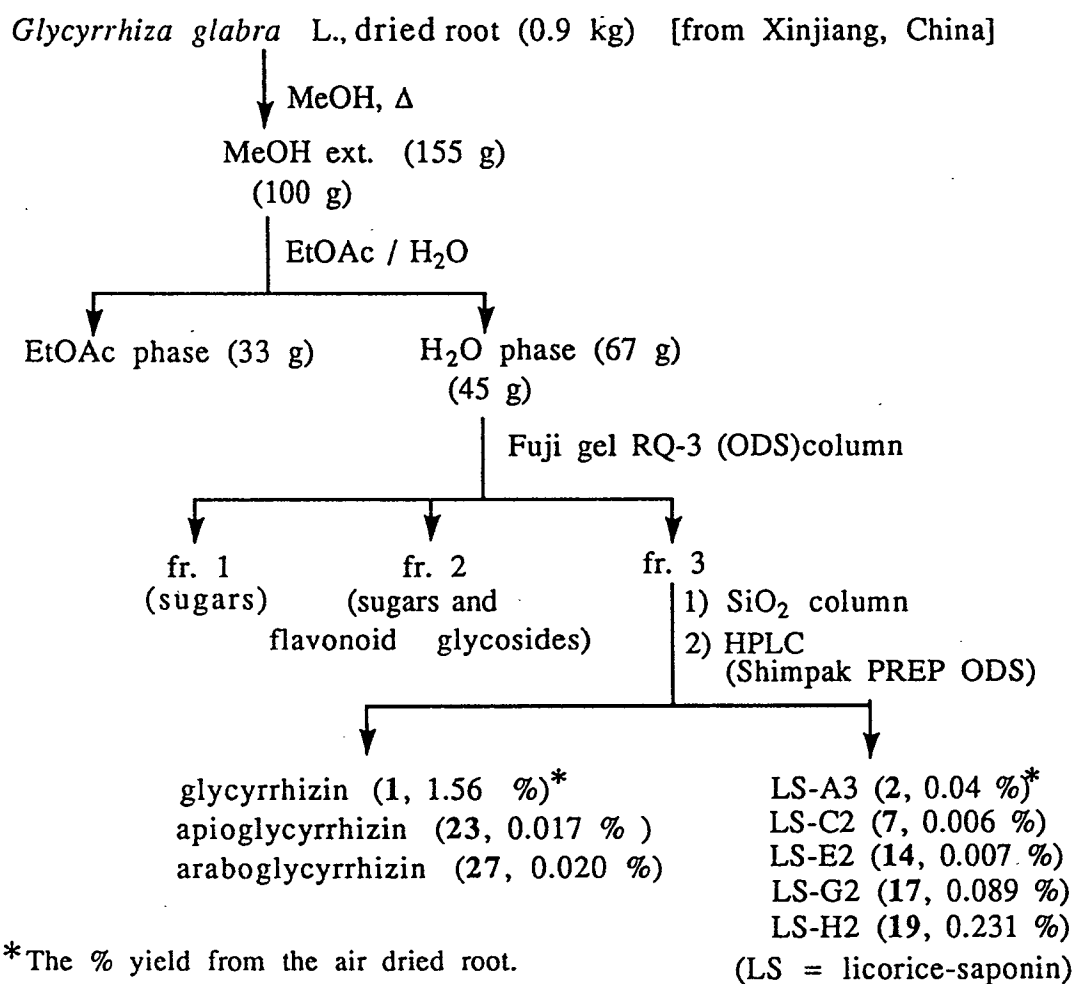


Chart 20

第五章 各種甘草のサポニン成分のHPLCによる比較

第一節 市販 glycyrrhizinのHPLC分析

市販 glycyrrhizinには、その製造法から考えて、今回著者が得た licorice-saponin類の夾雑が推定された。そこで、これらの市販 glycyrrhizin中に混在が予想される微量サポニン成分を、主成分の glycyrrhizin(1)と分離し確認されるHPLC条件を検討した。そして、逆相(ODS)のカラムを用い、2 % 酢酸-アセトニトリル (62:38)を移動相とする分析条件で、それらが分離されることを見出だした。(Chart 21) そこで、市販の4種の glycyrrhizin について定量分析を行なった。(Fig. 8, 41頁)

その結果、市販 glycyrrhizinの純度は 71~84 % であって、夾雑物としては licorice-saponin G2(17), H2(19)などであることが明らかになった。^{*a} これらの結果は、これまで明らかにされている glycyrrhizinの種々の生物活性に、混在する licorice-saponin類の寄与の可能性も考えられ、licorice-saponin個々の生物活性について検討する必要性のあることを示しているものと考えられる。

Chart 21 Conditions for HPLC

chromatograph: Shimadzu LC-6A connected with Chromatopak C-R1A

column: YMC-pack A-312 (ODS, 6 mm ϕ x 150 mm)

column temp.: 30 °C

solvent: 2 % AcOH-CH₃CN (62:38)

flow rate: 1.0 ml/min

detaction: UV 254 nm (Shimadzu SPD-6A)

sample (10 mg) dissolvd in mobile phase (10 ml)

5 μ l

↓

injected to HPLC

^{*a} この方法の検出には、254 nm のUV吸収を用いているので、licorice-saponin B2 (5), D3 (11), F3 (16)や J2 (21) のような 11-deoxo 体は夾雑物としては検出されていない。

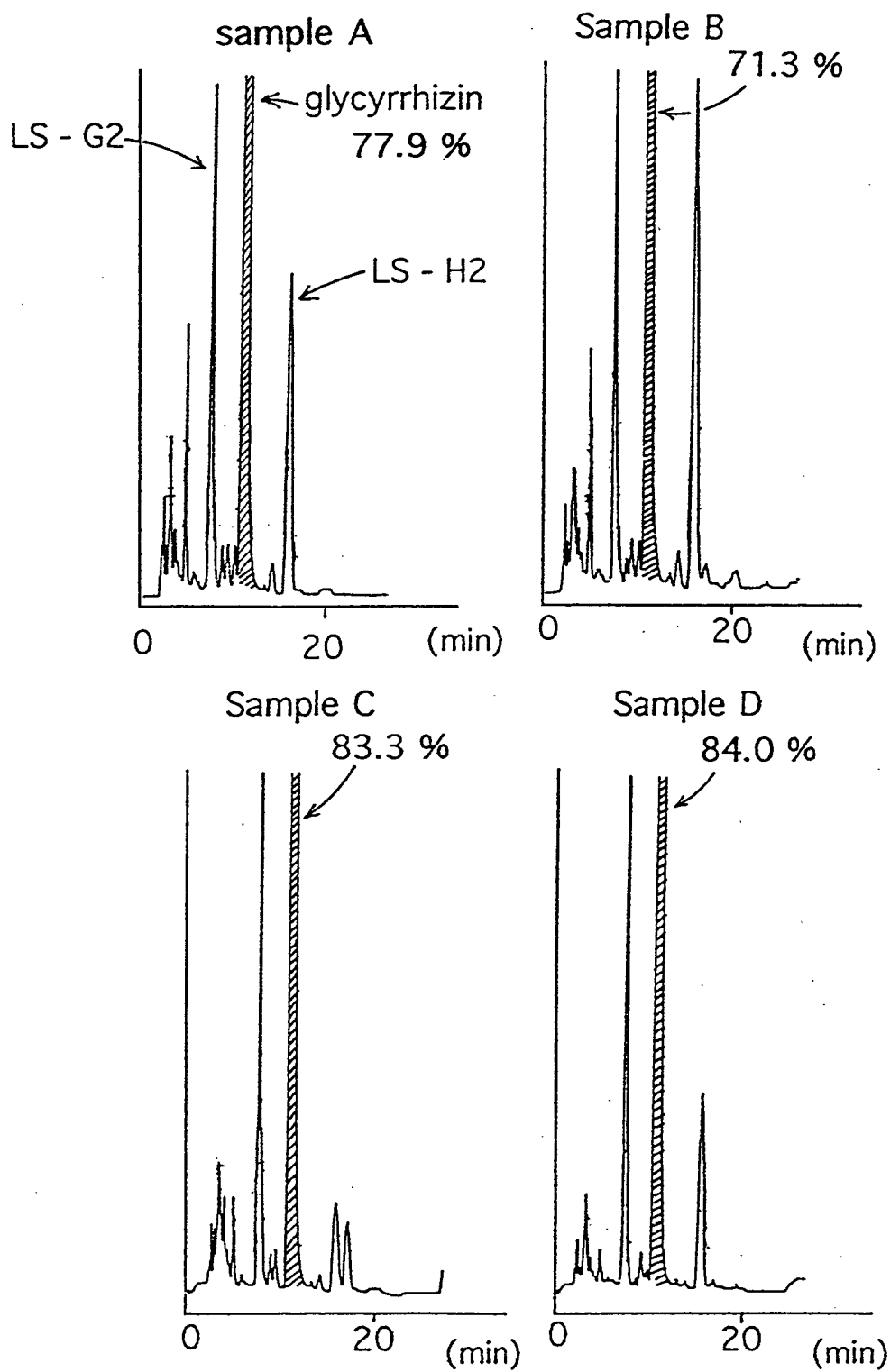


Fig. 8 samples A~D: commercial glycyrrhizin

第二節 各種甘草のサポニン成分のHPLC分析

甘草の品質評価の指標成分の一つとして、retrochalcone類が知られている。²⁾ 著者は、甘草の主要成分の一つであるサポニン、特に、今回得られた licorice-saponin類が、甘草の基原植物や産地によってどの様に変動するのか、ひいては、これらの化合物が、甘草の品質評価に果たす役割の可能性を検討するため、甘草サポニン成分のHPLCによる定量を含めた分析方法を検討した。その結果、Chart 22 (43頁)に示すサンプル調製法および分析条件を見出だした。そして、著者が含有成分について検討した基原植物の明らかな甘草4種(東北地区産 *G. uralensis*, 新疆地区産 *G. inflata*, *G. glabra* および *G. uralensis*) と大阪市場品の東北甘草、西北甘草、新疆甘草、アフガニスタン甘草およびロシア甘草について、サポニン成分のパターン分析を行なった。¹¹⁾ (Fig. 9, Table VI, Fig. 10)

その結果、新疆地区産の3種の甘草は、そのサポニン成分の組成が類似し、特に licorice-saponin H2(19)の含量が多いこと、東北地区産の *G. uralensis*では apioglycyrrhizin(23)やaraboglycyrrhizin(27)の存在が認められず、licorice-saponin A3(2)の含量が多い、などの産地による特徴が認められた。さらに、市販の甘草でも、東北甘草、西北甘草は 23, 27を含有せず、東北地区産 *G. uralensis*と同様の組成を有し、新疆甘草、アフガニスタン甘草、ロシア甘草は、いずれも 23, 27を含有し、また微量サポニンの中では19の含量が多いという、新疆地区産の各種甘草のサポニン成分と類似した結果が得られ、サポニン成分の組成は、甘草の産地によって傾向のあることが分かった。

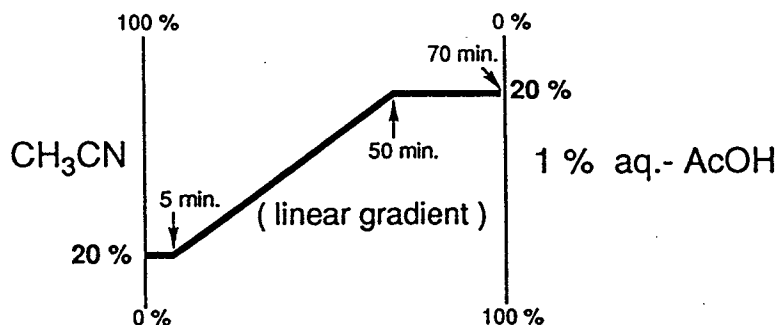
Conditions

Chromatograph : Shimadzu LC-6A or JASCO TRI ROTAR VI

Column : YMC-PACK AQ-312 (ODS 6mm ϕ X 150 mm)

Column Temp : 40 °C

Mobile phase :



Flow rate : 1.0 ml / min.

Detector : Shimadzu UV-VIS detector SPD-6A
or JASCO UVIDEK 100-VI

Detection : UV 254 nm

Preparation of Sample

Licorice-Root (powder, 5 g)

- i) 90 % aq. MeOH (50 ml), reflux. for 1 hr 3 times
- ii) filt. and evap. *in vacuo*

MeOH ext. / 50 % aq. EtOH (50 ml)
(10 ml)

- i) evap. *in vacuo*
- ii) AcOEt(20 ml) / H₂O(20 ml), 2 times

H₂O phase

AcOEt phase

- i) evap. *in vacuo*
- ii) dissolve. in 50% aq. EtOH (50 ml)

sample (5 μ l)

Chart 22

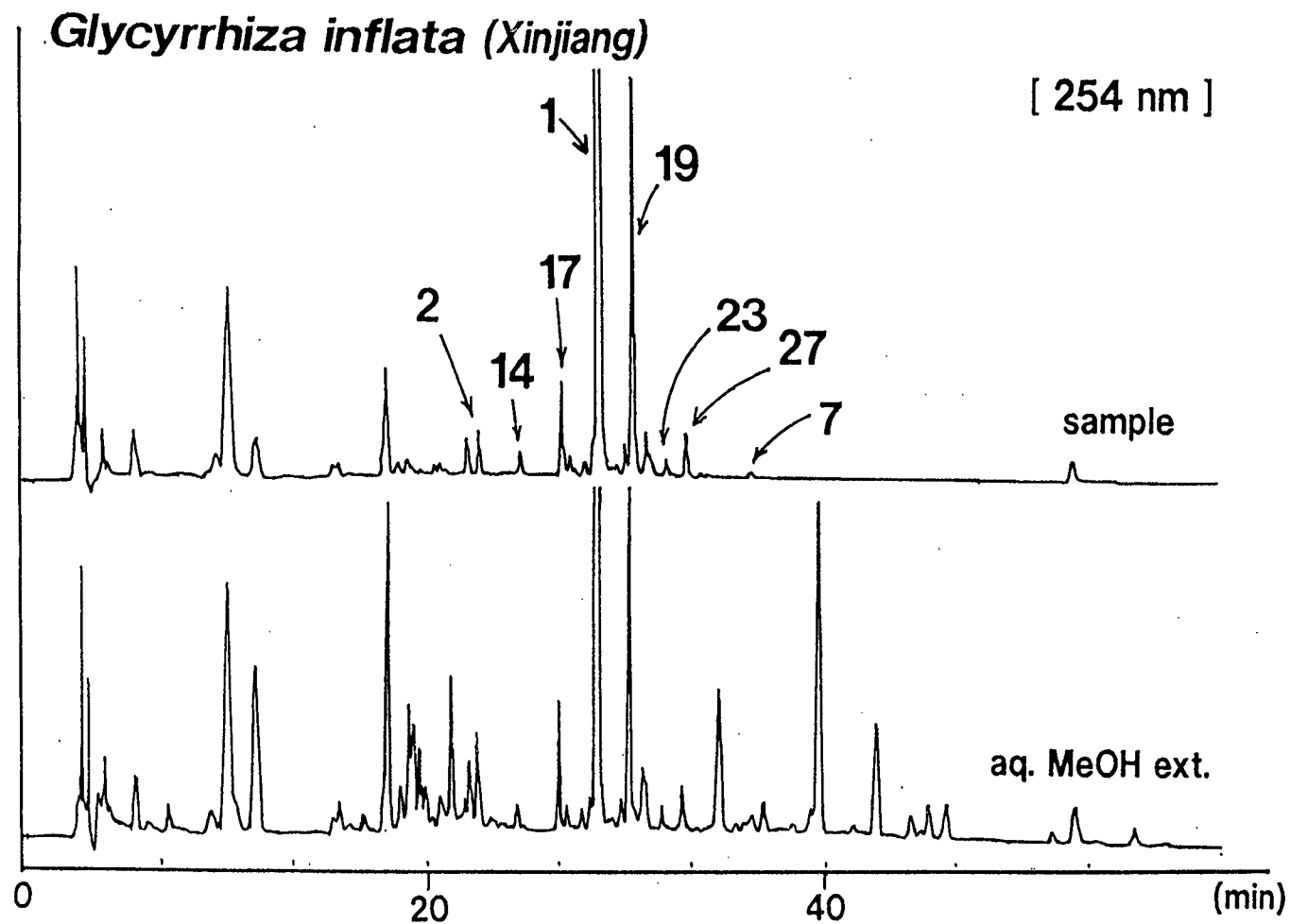


Fig. 9

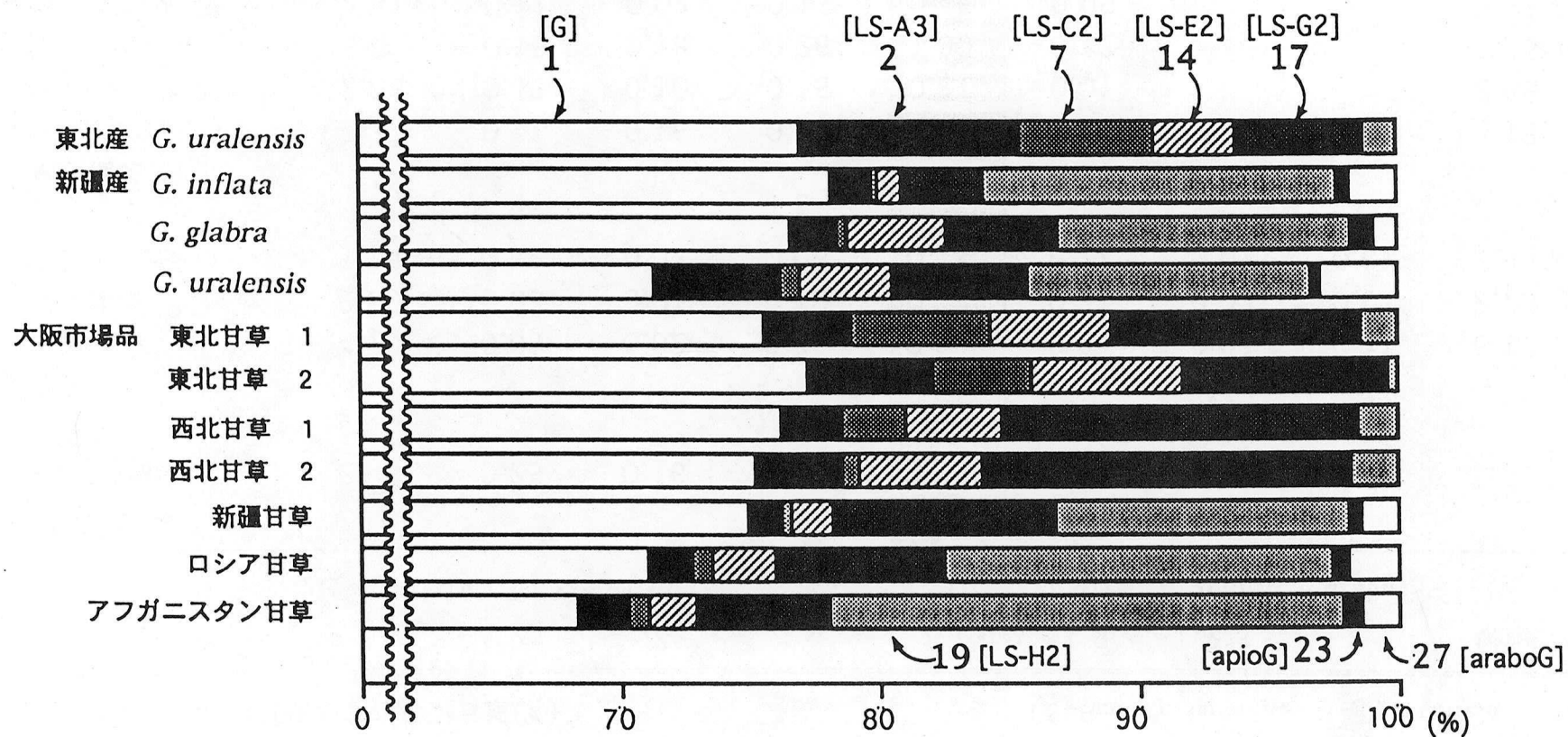
1: glycyrrhizin, 2: licorice-saponin A3, 7: licorice-saponin C2
 14: licorice-saponin E2, 17: licorice-saponin G2, 19: licorice-saponin H2
 23: apioglycyrrhizin, 27: araboglycyrrhizin

Table VI 各種甘草のサポニン含量(%)

LS=licorice-saponin, G=glycyrrhizin

	1 glycyrrhizin	2 LS-A3	7 LS-C3	14 LS-E2	17 LS-G2	19 LS-H2	23 apioG	27 araboG	total
東北産									
<i>G. uralensis</i>	2.33	0.25	0.16	0.09	0.15	0.04			3.02
新疆産									
<i>G. inflata</i>	4.79	0.09	0.02	0.06	0.18	0.84	0.03	0.11	6.12
<i>G. glabra</i>	2.09	0.05	0.01	0.10	0.12	0.31	0.02	0.03	2.73
<i>G. uralensis</i>	1.74	0.12	0.02	0.08	0.13	0.27	0.01	0.07	2.44
大阪市場品									
東北甘草(No.1)	2.37	0.11	0.16	0.15	0.30	0.04			3.13
東北甘草(No.2)	2.06	0.13	0.10	0.15	0.21	0.01			2.66
西北甘草(No.1)	5.51	0.18	0.18	0.26	1.00	0.12			7.25
西北甘草(No.2)	2.41	0.11	0.02	0.15	0.46	0.06			3.21
新疆甘草	2.12	0.04	0.01	0.05	0.24	0.32	0.02	0.04	2.84
ロシア甘草	2.74	0.06	0.03	0.10	0.25	0.58	0.03	0.07	3.86
アフガニスタン甘草	4.83	0.14	0.05	0.13	0.38	1.41	0.06	0.10	7.10

Fig. 10 各種甘草含有サポニンの組成 (%) [G=glycyrrhizin, LS=licorice-saponin]



糸吉 論

1. 中国東北地区産の甘草 Glycyrrhiza uralensis FISCHER から、10種の新規サポニン成分 licorice-saponin A3, B2, C2, D3, E2, F3, G2, H2, J2, K2 を単離し、それらの化学構造を明らかにした。
2. Glycyrrhizin から、licorice-saponin A3, B2およびC2への化学変換に成功した。
3. 中国新疆地区産の甘草 Glycyrrhiza inflata BATALIN から、2種の新規サポニン成分 apioglycyrrhizinおよび araboglycyrrhizin を見出し、それらの化学構造を明らかにするとともに、licorice-saponin 類を含めたこれらの甘草サポニン成分の、化学構造と甘味について若干の知見を得た。
4. 中国新疆地区産の甘草 Glycyrrhiza uralensis FISCHER から、licorice-saponin L3 を単離し、その化学構造を明らかにした。
5. Licorice-saponin 類を指標物質として、甘草のサポニン成分のHPLC分析法を開発し、基原と産地が明かな甘草および各種市販甘草について分析し、産地によって、サポニンの組成に特徴があることを見出した。

謝 辞

本研究に際し、終始ご指導、ご鞭撻を賜りました 恩師 北川 勲先生に心から感謝いたします。

本論文をまとめるにあたり、種々ご指導下さいました 京都薬科大学教授 吉川雅之先生に深く感謝いたします。

実験に際し、ご指導、ご助言およびご討論下さいました 大阪大学薬学部生薬学教室の澁谷博孝博士（現、福山大学薬学部教授）、小林資正博士 ならびに大阪大学薬学部生薬学教室の方々に感謝いたします。

また、実験にご協力いただきました、谷山登志男博士、阪上昌浩修士、原田（旧姓 内田）英美子修士、周 軍良、橋内扶美、名手光子の皆様に感謝いたします。

新疆甘草 (*Glycyrrhiza glabra*, *G. inflata*, *G. uralensis*) の入手並びに同定にご協力いただきました、中国科学院新疆化学研究所 任 家礼教授、東北甘草 (*G. uralensis*) の入手にご協力いただきました、瀋陽薬学院 崔 征博士に感謝いたします。

Licorice-saponin 類の実験的肝障害回復活性試験を行っていただきました、金沢大学薬学部 大場義樹先生に感謝いたします。

元素分析をしていただきました、大阪大学薬学部元素分析室、マススペクトルを測定していただきました、大阪大学薬学部質量分析室、大塚製薬株式会社分析研究所の皆様に感謝いたしますとともに、マススペクトルの測定にご便宜をはかっていただきました神戸学院大学薬学部中央測定室の皆様に感謝いたします。

最後に、あたたかいご激励を賜りました神戸学院大学薬学部 斎木保久先生、佐武紀子先生に深謝いたします。

実験の部

実験に用いた各種測定装置およびクロマトグラフィー条件は以下の通りである。

融点：柳本微量融点測定装置(未補正)；旋光度：日本分光 DIP-181 および DIP-370 型自記デジタル旋光計(光路長 5 cm)；高分解能質量分析および質量分析(High MS, MS)：日本電子 JMS new D-300型二重収束ガスクロマトグラフ質量分析装置およびJMA-2000データ解析装置(直接導入法、EI)；赤外線吸収スペクトル(IR)：日立 260-30型赤外分光光度計；紫外線吸収スペクトル(UV)：日立 330型紫外可視分光光度計；核磁気共鳴スペクトル(^1H NMR, ^{13}C NMR)；日本電子 JMN FX-90Q 型(^1H ; 90 MHz, ^{13}C ; 22.5 MHz)または日本電子 JMN GX-500型(^1H ; 500 MHz, ^{13}C ; 22.5 MHz)核磁気共鳴スペクトル測定装置を用いた。内部標準はtetramethylsilane (δ , δ_c 0 ppm) またはクロロホルム(δ 7.27, δ_c 77.1 ppm)；ガスクロマトグラフィー(GLC)：日立 663-50型および島津 GC-9A型ガスクロマトグラフ(FID detector)；順相シリカゲルカラムクロマトグラフィー担体：Merck Silica gel 60 (60-230 mesh)；薄層クロマトグラフィー(TLC)：Merck Pre-Coated TLC plate(Silica gel 60F₂₅₄, 0.25mm) [検出は1 % $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ -10 % aq. H_2SO_4 噴霧後、加熱時の呈色]；高速液体クロマトグラフィー(HPLC)：島津製作所 LC-5A, LC-6A または日本分光 TRIROTAR VI, 870をポンプとし、検出には示差屈折検出器(島津 RID-2Aまたは昭和電工 SE-51)および紫外可視吸収検出器 SPD-6A または 日本分光 UVIDEK 100-VI)を用いた。

なお、FABマススペクトルは、日本電子 JMS-SX102型二重集束高分解能質量分析計および JMA-DA6000データ・システムを用い、FAB用ガスとしてXeガスを用い、一次および二次加速電圧をそれぞれ3および10 KVで測定した。各試料はクロロホルム-メタノール (1:1)に溶解し、マトリックスとしては m-ニトロベンジルアルコールを用いて導入した。また高分解能用標準試料として、ポリエチレングリコール#1000および#1540を用いた。SIMSスペクトルは、日立 M-2000A型二重集束高分解能質量分析計および M-0201型データ・システムを用いて、一次イオン原子としてXeを用い、一次および二次加速電圧をそれぞれ10および2 KVで測定した。各試料はメタノールに溶解し、マトリックスとしてはグリセリンを用いて導入した。また高分解能用標準試料として、Ultramark 1621(GLサイエンス)を用いた。

第一章の実験

第一節の実験

抽出・分離

中国東北地区産 Glycyrrhiza uralensis FISCHER の乾燥根を細切したもの (5 kg) を、メタノール (10 l) で3回加熱還流抽出した。得られたメタノール抽出液を合し、減圧下溶媒を留去してメタノール抽出エキス (1.5 kg) を得た。メタノール抽出エキスを、酢酸エチルー水 (1:1, 6 l) で分配し、得られた水移行部を40℃以下で減圧下水を留去して、水移行部エキス (1.1 kg) を得た。得られた水移行部エキス

(200 g) を、逆相シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (1 kg, H₂O-MeOH 9:1→1:9 グラディエント溶出, μ -Bondapak C₁₈) で分離し、4つの分画を得、それぞれの溶媒を減圧下留去した。：フラクション1 (主として糖分画、メタノールー水 9:1→7:1, 75 g)、フラクション2 (糖類およびフラボノイド配糖体混合分画、メタノールー水 7:1→6:1, 48 g)、フラクション3 (サポニン混合分画、メタノールー水 6:1→3:1, 50 g) および最終溶出分画 (メタノールー水 2:1→1:9, 16 g)。

フラクション3を、順相シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (クロロホルムーメタノールー水 10:3:1→6:4:1 グラディエント溶出)、ついで分取高速液体クロマトグラフィー (Zorbax BP-ODS 9.6 mm x 25 cm, アセトニトリルー1%酢酸 65:35) で分離精製し、glycyrrhizin (1), licorice-saponin A3 (2), B2 (5), C2 (7), D3 (11), E2 (14), F3 (16), G2 (17), H2 (19), J2 (21), および K2 (22) を G. uralensis 乾燥根からそれぞれ, 3.608, 0.029, 0.004, 0.005, 0.007, 0.012, 0.002, 0.003, 0.007, 0.002, および 0.002 %の収率 (生薬から換算) で単離した。

<Licorice-saponin A3(2)のphysical data>

mp 198-199 °C (colorless fine prisms from MeOH-H₂O), $[\alpha]_D^{25} +69^\circ$ (c=1.1, MeOH). Anal. Calcd for C₄₈H₇₂O₂₁ · 3H₂O: C, 55.53; H, 7.60. Found: C, 55.52; H, 7.58. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 249 (8800). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3360, 3000-2500(br), 1741, 1716, 1650, 1041. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅+D₂O, δ) 0.89, 1.01, 1.19, 1.21, 1.25, 1.34, 1.38 (all 3H, s), 3.00 (1H, br d, J=ca. 13 Hz, 18-H), 3.35 (1H, dd, J=4.7, 11.8 Hz, 3 α -H), 5.01 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.36 (1H, d, J=7.8 Hz, 1''-H), 5.92 (1H, s, 12-H), 6.30 (1H, d, J=8.2 Hz, 1'''-H). ¹³C NMR (22.5 MHz, pyridine-d₅, δ_c): 89.0(C-3), 199.3(C-11), 128.4(C-12), 168.9(C-13), 44.4(C-18), 37.6(C-22), 175.3(C-30), 104.5(C-1'), 106.2(C-1''), 95.5(C-1'''), 171.6, 172.0(C-6', C-6''), 62.5(C-6''').

<Licorice-saponin B2(5)のphysical data>

mp 209-210 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +54^\circ$ (c=0.3, MeOH). Anal. Calcd for C₄₂H₆₄O₁₅ · H₂O: C, 60.02; H, 8.00. Found: C, 60.28; H, 8.07. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400, 3000-2800 (br), 1720, 1050. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅+D₂O, δ) 0.83, 0.89, 0.92, 1.20, 1.28, 1.36, 1.39 (all 3H, s), 3.33 (1H, dd, J=4.6, 11.9 Hz, 3 α -H), 5.03 (1H, d, J=7.7 Hz, 1'-H), 5.39 (1H, d, J=7.6 Hz, 1''-H), 5.49 (1H, br.s, 12-H). ¹³C NMR (22.5 MHz, pyridine-d₅, δ_c): 88.7(C-3), 122.0(C-12), 144.3(C-13), 44.3(C-18), 178.3(C-30), 104.1(C-1'), 105.7(C-1''), 171.1, 171.6(C-6', C-6'').

<Licorice-saponin C2(7)のphysical data>

mp 249-251 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} -120^\circ$ (c=0.2, MeOH). Anal. Calcd for C₄₂H₆₂O₁₅ · 3H₂O: C, 58.61; H, 8.03. Found: C, 58.77; H, 8.18. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 241(14100), 249(15800), 259(10200). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400, 3000-2850(br), 1710, 1640, 1020. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-

d_5+D_2O , δ) 0.80, 0.88, 0.92, 1.05, 1.25, 1.31, 1.38 (all 3H, s), 3.28 (1H, dd, $J=4.0, 11.0$ Hz, 3α -H), 5.00 (1H, d, $J=7.3$ Hz, $1'$ -H), 5.37 (1H, d, $J=7.4$ Hz, $1''$ -H), 5.92 (1H, br.d, $J=ca.11$ Hz, 11-H), 6.36 (1H, br.d, $J=ca.11$ Hz, 12-H). ^{13}C NMR(22.5 MHz, pyridine- d_5 , δ_c): 89.2(C-3), 125.8, 127.2(C-11, C-12), 135.2, 135.9(C-13, C-18), 39.6(C-22), 179.3(C-30), 103.7(C-1'), 105.8(C-1''), 171.1, 171.4(C-6', C-6'').

<Licorice-saponin D3(1 1)の physical data>

A colorless amorphous powder. $[\alpha]_D^{20} -5.0^\circ$ ($c=0.15$, MeOH). Anal. Calcd for $C_{50}H_{76}O_{21} \cdot 3H_2O$: C, 56.27; H, 7.74. Found: C, 56.16; H, 7.68. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3700-3200(br), 2940, 1730, 1712, 1410, 1065. 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5+D_2O , δ) 0.89, 0.91, 0.99, 1.13, 1.21, 1.28, 1.38 (each 3H, all s), 1.79 (3H, d, $J=5.7$ Hz, rhamnosyl methyl), 2.16 (3H, s, acetyl methyl), 3.28 (1H, dd, $J=4.2, 11.0$ Hz, 3α -H), 4.59 (1H, dd, $J=2.6, 3.4$ Hz, 22α -H), 5.02 (1H, d, $J=7.4$ Hz, $1'$ -H), 5.34 (1H, d, $J=7.6$ Hz, $1''$ -H), 5.44 (1H, br s, 12-H), 6.30 (1H, br s, $1'''$ -H).

<Licorice-saponin E2(1 4)の physical data>

mp 216-219 $^\circ C$ (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{20} +68.0^\circ$ ($c=0.2$, MeOH). Anal. Calcd for $C_{42}H_{60}O_{16} \cdot 2H_2O$: C, 58.87; H, 7.52. Found: C, 58.62; H, 7.50. UV λ_{max}^{MeOH} nm(ϵ): 250(12700). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3400-3000(br), 2920, 1780, 1724, 1645, 1385, 1010. 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5+D_2O , 40 $^\circ C$, δ) 0.79, 1.06, 1.21, 1.22, 1.34, 1.40, 1.42 (each 3H, all s), 3.02 (1H, br d, $J=ca. 12$ Hz, 18-H), 3.35 (1H, dd, $J=4.4, 11.2$ Hz, 3α -H), 5.02(1H, d, $J=7.6$ Hz, $1'$ -H), 5.38 (1H, d, $J=7.6$ Hz, $1''$ -H), 5.94(1H, s, 12-H).

<Licorice-saponin F3(16)のphysical data>

mp 214-217 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{20}$ -20.0° (c=0.1, MeOH). Anal. Calcd for $C_{48}H_{72}O_{19} \cdot 5H_2O$: C, 55.27; H, 7.86. Found: C, 54.27; H, 7.81. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3600-3200(br), 2940, 1760, 1720, 1456, 1340. 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 + D_2O , 40 °C, δ) 0.52, 0.71, 0.75, 1.11, 1.14 (all 3H, s), 1.26 (3H x 2, s), 1.55 (3H, d, J=6.4 Hz, rhamnosyl methyl), 3.27 (1H, dd, J=4.4, 10.8 Hz, 3 α -H), 4.96 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.68 (1H, d, J=6.9 Hz, 1''-H), 5.70 (1H, br s, 12-H), 6.10 (1H, br s, 1'''-H).

<Licorice-saponin G2(17)のphysical data>

mp 229-230 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{20}$ +34.0° (c=0.12, MeOH). High resolution FAB-MS(positive): Calcd. for $C_{42}H_{62}O_{17}Na$: 861.3886; Found: 861.3848. FAB-MS m/z: 861[(M+Na)⁺], 839[(M+H)⁺], 663[(viii+H)⁺], 487[(v+H)⁺], 469[(v-H₂O+H)⁺] (positive); 837(M-H)⁻, 661[(viii-H)⁻], 485[(v-H)⁻] (negative). UV λ_{max}^{KBr} nm(ϵ): 249(10560). IR ν_{max}^{MeOH} cm^{-1} : 3500-3000(br), 2910, 1720, 1648, 1385, 1040. 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 + D_2O , δ) 0.78, 1.05, 1.20, 1.34, 1.43, 1.48 (all 3H, s), 2.99 (1H, br.d, J=ca. 14 Hz, 18-H), 3.52 (1H, dd, J=4.8, 11.0 Hz, 3 α -H), 4.58, 4.68 (each 1H, both d, J=10.6 Hz, 24-H₂), 5.64 (1H, d, J=7.0 Hz, 1'-H), 5.94 (1H, s, 12-H). The anomeric proton (1'-H) signal was overlapped with water' proton signal.

<Licorice-saponin H2(19)のphysical data>

mp 209-210 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{20}$ +31.3° (c=0.21, MeOH). High resolution FAB-MS(positive): Calcd. for $C_{42}H_{62}O_{16}Na$: 845.3934; Found: 845.3957. FAB-MS m/z: 845[(M+Na)⁺], 823[(M+H)⁺], 647[(ix+H)⁺], 471[(vi+H)⁺], 453[(vi-H₂O+H)⁺] (positive); 821(M-H)⁻, 645[(ix-H)⁻],

469[(vi-H)⁻] (negative). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 248(10650). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3500-3300(br), 2920, 1725, 1645, 1386, 1200, 1040. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅, 40 °C, δ) 0.87, 1.06, 1.19, 1.20, 1.35, 1.36, 1.38 (all 3H, s), 3.00 (1H, br.d, J=ca. 13Hz, 18-H), 3.35 (1H, dd, J=4.0, 10.2 Hz, 3 α -H), 4.97 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.35 (1H, d, J=7.6 Hz, 1''-H), 5.79 (1H, br.s, 12-H).

<Licorice-saponin J2(2 1)のphysical data>

mp 263-265 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +21.0^\circ$ (c=0.18, MeOH). High-resolution FAB-MS(positive): Calcd. for C₄₂H₆₄O₁₆Na: 847.4092 ;Found: 847.4087. FAB-MS m/z: 847[(M+Na)⁺], 825[(M+H)⁺], 455[(vii-H₂O+H)⁺] (positive); 823(M-H)⁻, 647[(x-H)⁻], 471[(vii-H)⁻] (negative). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3500-3300(br), 2930, 1720, 1648, 1405, 1385, 1040. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅, 40 °C, δ) 0.82, 0.84, 0.91, 1.18, 1.24, 1.45 (all 3H, s), 3.45 (1H, dd, J=4.3, 9.8 Hz, 3 α -H), 4.50, 4.56 (each 1H, both d, J=9.0 Hz, 24-H₂), 5.00 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.35 (1H, br s, 12-H), 5.65 (1H, d, J=7.0 Hz, 1''-H).

<Licorice-saponin K2(2 2)のphysical data>

mp 207-209 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +28.0^\circ$ (c=0.20, MeOH). High-resolution FAB-MS(positive): Calcd. for C₄₂H₆₂O₁₆Na: 845.3934 ;Found: 845.3945. FAB-MS m/z: 845[(M+Na)⁺], 823[(M+H)⁺], 453[(xii-H₂O+H)⁺] (positive); 821(M-H)⁻, 645[(xi-H)⁻], 469[(xii-H)⁻] (negative). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 241(13000), 249(15000), 259(9200). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3500-3100(br), 2928, 1690, 1629, 1395, 1050. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅, 40 °C, δ): 0.72, 0.88, 1.07, 1.33, 1.37, 1.45, 1.47 (all 3H, s), 3.50 (1H, br d, J=ca.10 Hz, 3-H), 5.04 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.54 (1H, br d, J=ca. 12 Hz, 11-H), 5.64 (1H, d, J=6.9 Hz, 1''-H), 6.52 (1H, br d, J=ca. 12 Hz, 12-H).

第二節の実験

2のメタノリシス

2 (20 mg) を 9 % 塩化水素-メタノール (5 ml) に溶解し、3時間加熱還流した。冷後、反応液を炭酸銀で中和し、TLC (ベンゼン:酢酸エチル=1:1、クロロホルム:メタノール=10:1、ベンゼン:メタノール=5:1、クロロホルム:メタノール:水=7:3:1の下層)により、反応生成物を分離した。それぞれを glycyrrhetic acid (3)、およびグルグロン酸とグルコースより、同様にメタノリシスして誘導した methyl glucuronide および methyl glucoside と同定するとともに、生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム:メタノール:水=6:4:1, 2 g) で分離精製して、methyl glucoside を単離した。これを、3 % HCl に溶解し、2時間加熱還流、Amberlite IRA-2 (OH⁻ form) で中和、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去して、glucose (2.8 mg) を得、その旋光度を測定した。[α]_D²⁴ +45° (c=0.28, H₂O, 溶解後24時間たってから測定)。

2のアルカリ加水分解

2 (100 mg) を 1 % 水酸化カリウム-メタノール (10 ml) に溶解し、室温下 3時間攪拌した。反応液を、Dowex 50W x 8 (H⁺ form) により中和し、樹脂をろ別、減圧下ろ液の溶媒を留去し、生成物をメタノールから結晶化して 1 (glycyrrhizin, 59 mg) を得た。mp 212-214 °C, [α]_D²³ +44° (c=0.8, エタノール)。生成物を IR, mp および TLC (クロロホルム:メタノール:水=6:4:1、n-ブタノール:酢酸:水=4:1:5の上層)により、市販の glycyrrhizin と同定した。

2のジアゾメタン処理 (2 a への誘導)

2 (30 mg) をメタノール (5 ml) に溶解し、氷冷下でジアゾメタン-エーテル溶液を黄色が持続するまで (約 30 ml) 加え、反応液を1時間静置した。減圧下、反応液の溶媒を留去し、2 a (31 mg) を得た。

< 2 a の physical data >

mp 206-208 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +75^\circ$ (c=1.1, MeOH). Anal. Calcd for $C_{50}H_{76}O_{21} \cdot H_2O$: C, 58.25; H, 7.57. Found: C, 58.21; H, 7.77. UV λ_{max}^{MeOH} nm(ϵ): 249 (8900). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3420, 1740, 1650, 1058. 1H NMR (500MHz, pyridine- d_5 + D_2O , δ): 0.81, 1.06, 1.16, 1.33, 1.37 (all 3H, s), 1.27 (3H x 2, s), 3.06 (1H, br.d, J=ca. 12 Hz, 18-H), 3.30 (1H, dd, J=4.3, 11.6 Hz, 3-H), 3.70, 3.84 (each, 3H, s, -OCH₃), 4.96 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.38 (1H, d, J=7.8 Hz, 1''-H), 5.96 (1H, s, 12-H), 6.36 (1H, d, J=8.2 Hz, 1'''-H). ^{13}C NMR (22.5 MHz, pyridine- d_5 , δ_c): 51.6, 51.7, 52.0 (OCH₃), and other signals as given in Table I.

2 a の NaBH₄ 還元

2 a (100 mg) のメタノール溶液 (8 ml) に、NaBH₄ (150 mg) を加え、室温下 1 時間攪拌した。反応液を Dowex 50w x 8 (H⁺ form) で中和し、樹脂をろ別、減圧下ろ液の溶媒を留去し、生成物を、逆相シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (μ -Bondapak C₁₈, 10 g, メタノール:水=1:1) で分離精製して、2 b (63 mg) および 1 b (23 mg) を得た。

< 2 b の physical data >

mp 222-224 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +20^\circ$ (c=0.5, MeOH). Anal. Calcd for $C_{48}H_{76}O_{19} \cdot 4H_2O$: C, 56.03; H, 8.17. Found: C, 56.18; H, 8.11. UV λ_{max}^{MeOH} nm(ϵ): 249 (10700). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3500-3200, 1741, 1652, 1071. 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 + D_2O , δ): 0.82, 1.07, 1.14, 1.25, 1.26, 1.32, 1.36 (all 3H, s), 3.02 (1H, br.d, J=ca. 12 Hz, 18-H), 3.33 (1H, dd, J=4.0, 11.0 Hz, 3 α -H), 4.88 (1H, d, J=7.3 Hz, 1'-H), 5.33 (1H, d, J=7.3 Hz, 1''-H), 5.96 (1H, s, 12-H), 6.36 (1H, d, J=7.2 Hz, 1'''-H). ^{13}C NMR: as given in Table I.

< 1 b の physical data >

mp 223-225 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +26^\circ$ (c=0.4, MeOH). Anal. Calcd for $C_{44}H_{66}O_{16} \cdot 3H_2O$: C, 61.23; H, 6.37. Found: C, 61.18; H, 6.31. UV λ_{max}^{MeOH} nm(ϵ): 249 (10300). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3530-3200 (br.), 1650, 1075. 1H NMR (90 MHz, pyridine- d_5 +D $_2$ O, δ): 0.82, 1.01, 1.13, 1.30, 1.36 (all 3H, s), 1.25 (3H x 2, s) 3.06 (1H, br.d, J=ca. 12 Hz, 18-H), 3.33 (1H, dd, J=ca. 4, 11 Hz, 3 α -H), 4.91 (1H, d, J=7.3 Hz, 1'-H), 5.28 (1H, d, J=7.3 Hz, 1'-H), 6.02 (1H, s, 12-H). ^{13}C NMR (22.5 MHz, pyridine- d_5 , δ_c): 88.7 (C-3), 199.4 (C-11), 128.3 (C-12), 169.1 (C-13), 44.6 (C-18), 39.5 (C-22), 65.3 (C-30), 104.7 (C-1'), 83.0 (C-2'), 77.5, 77.7 (C-3', C-3''), 71.4 (C-4'), 78.0, 78.1 (C-5', C-5''), 62.6 (C-6', C-6''), 105.4 (C-1''), 76.6 (C-2''), 71.6 (C-4'').

2 b のメタノリシス

2 b (2 mg) を 9 % HCl-MeOH (0.5 ml) に溶解し、3時間加熱還流した。冷後、反応液を、炭酸銀で中和し、TLC (ベンゼン:酢酸エチル=1:1、クロロホルム:メタノール=10:1、ベンゼン:メタノール=5:1、クロロホルム:メタノール:水=7:3:1の下層)により、反応生成物中に glycyrrhetic acid (5) および methyl glucuronide, methyl glucoside の存在を確認した。

Glycyrrhizin (1.) より 1 c への変換

1 (100 mg) を 9 % HCl-MeOH (2 ml) に溶解し、室温で1時間攪拌した。反応液を、Dowex 1 x 2 (OH $^-$ form) で中和し、樹脂をろ別、減圧下ろ液の溶媒を留去し、得られた残渣を、無水酢酸-ピリジン (1:2, 4.5 ml) に溶解し、室温下 3時間攪拌した。この反応液を、氷水にあげ、酢酸エチルで抽出した。抽出液は、常法にしたがって処理した後、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン:酢酸エチル=1:1, 10 g) で分離精製し、1 c (125 mg, 97 %) を得た。

< 1 c の physical data >

mp 183-185 °C (colorless fine prisms from EtOH), $[\alpha]_D^{25} +45^\circ$ (c=0.75, CHCl₃). Anal. Calcd for C₅₄H₇₆O₂₁ · 2H₂O: C, 59.11; H, 7.35. Found: C, 59.22; H, 7.31. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 249 (10300). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1750, 1710, 1651, 1371, 1029. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅, δ): 0.81, 1.24, 1.28, 1.34, 1.40 (all 3H, s), 1.11 (3H x 2, s), 2.00, 2.01, 2.02, 2.08, 2.17 (all, 3H, s, acetyl methyl), 3.10 (1H, br. d, J=ca. 13 Hz, 18-H), 3.28 (1H, dd, J=4.2, 11.0 Hz, 3 α -H), 3.69, 3.81 (each 3H, s, methoxyl), 4.96 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.34 (1H, d, J=7.9 Hz, 1''-H), 5.97 (1H, s, 12-H).

1 c より 2 c への変換

1 c (100 mg) を dry benzene (2 ml, 0.094 mmol) に溶解し、Hg(CN)₂ (48 mg, 0.19 mmol) および、2,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glucopyranosyl bromide (4, 100 mg, 2.5 eq. D-glucose より誘導したもの) を反応液に加え、3時間加熱還流した。反応液は、無機物をガラスフィルターによりろ別、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣について、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン-酢酸エチル=1:1, 10 g) で分離精製し、2 c (108 mg, 82 %) を得た。

< 2 c の physical data >

mp 176-178 °C (colorless needlese from EtOH), $[\alpha]_D^{25} +43^\circ$ (c=0.70, CHCl₃). Anal. Calcd for C₆₈H₉₆O₃₀ · 3H₂O: C, 56.36; H, 7.09. Found: C, 56.18; H, 6.98. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 249 (6500). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1745, 1655, 1368, 1075, 1035. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅, δ): 0.83, 1.10, 1.11, 1.20, 1.24, 1.27, 1.34 (all 3H, s), 2.00, 2.01, 2.02, 2.08, 2.17 (all, 3H, s, acetyl methyl), 3.08 (1H, br. d, J=ca. 13 Hz, 18-H), 3.27 (1H, dd, J=4.0, 11.0 Hz, 3 α -H), 3.69, 3.81 (each 3H, s, methoxyl), 4.95 (1H, d, J=7.7 Hz, 1'-H), 5.33 (1H, d, J=7.9 Hz, 1''-H), 5.94 (1H, s, 12-H), 6.33 (1H, d, J=8.2 Hz, 1'''-H).

2 c より licorice-saponin A3(2)への誘導

2 c (100 mg, 0.072 mmol)を 0.25 % NaOMe-MeOH(1 ml) に溶解し、室温で30分攪拌した。反応液は、Dowex 50W x 8 (H⁺ form) で中和し、樹脂をろ別、減圧下ろ液の溶媒を留去した。得られた生成物(2 a)は精製分離することなく 0.2 % K₂CO₃-50% aq. MeOH(1:1, 2 ml) に溶解し、室温下 2時間攪拌した。この反応液を、Dowex 1 x 2 (OH⁻ form) で中和し、樹脂をろ別、減圧下ろ液の溶媒を留去し、得られた残渣をシリカゲルのカラムクロマトグラフィー(CHCl₃-MeOH-H₂O=6:4:1, 8 g)により精分離製し、licorice-saponin A3(2, 57 mg, 62 % form 2 c)を得た。なお、得られた化合物は、天然物と旋光度を含めた各種スペクトルデータが一致した。

第三節の実験

5 のジアゾメタン処理 (5 a への誘導)

5 (20 mg)のメタノール溶液(3 ml)に、ジアゾメタノーエーテル溶液を氷冷下、黄色が持続するまで加え(約 30 ml)、1時間静置した後、減圧下反応液の溶媒を留去し 5 a (21 mg)を得た。

< 5 a の physical data >

mp 171-172 °C (colorless needles from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +51^\circ$ (c=0.70, MeOH).
Anal. Calcd for C₄₅H₇₀O₁₅ · H₂O: C, 62.19; H, 8.35. Found: C, 62.21; H, 8.27.
IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3280, 1740, 1720, 1060. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅, δ): 0.87, 0.92, 0.98, 1.12, 1.19, 1.24, 1.31 (all 3H, s), 3.26 (1H, dd, J=4.5, 11.6 Hz, 3 α -H), 3.70, 3.72, 3.82 (all, 3H, s, methoxyl), 4.94 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.33 (1H, d, J=7.9 Hz, 1''-H), 5.96 (1H, s, 12-H), 6.36 (1H, d, J=8.2 Hz, 1'''-H). ¹³C NMR (22.5 MHz, pyridine-d₅, δ_c): 51.7, 51.9, 52.0 (OCH₃) and other signals as given in Table I.

5 a のメタノリシス

5 a (10 mg) を 9 % HCl-MeOH (0.5 ml) に溶解し、3 時間加熱還流した。反応液は、冷後、Dowex 1 x 2 (OH⁻ form) で中和し、TLC (ベンゼン:メタノール=5:2、クロロホルム:メタノール:水=7:3:1 の下層) により、methyl glucuronide の存在を確認・同定するとともに、樹脂をろ別したろ液を、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣は、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン-酢酸エチル=1:1, 1 g) で分離精製し、11-deoxoglycyrrhetic acid methyl ester (6 a, 3 mg) を得、融点、IR および ¹H NMR (pyridine-d₅) のデータを文献値¹⁵⁾と比較して同定した。

< 6 a の physical data >

mp 244-246 °C (colorless needles from EtOH), $[\alpha]_D^{25} +75.4^\circ$ (c=0.6, CHCl₃), High-resolution EI-MS: Found 470.3740, Calcd for C₃₁H₅₀O₃ (M⁺) 470.3761. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3350, 1740, 1072. ¹H NMR (90 MHz, CDCl₃, δ): 0.78, 1.13 (each 3H x 2, s), 0.93, 0.95, 0.99 (all 3H, s), 3.21 (1H, dd, J=5.0, 9.0 Hz, 3 α -H), 3.68 (3H, s, methoxyl), 5.27 (1H, dd, J=3.6, 5.6 Hz, 11-H). EI-MS m/z (%): 470 (M⁺, 3.3), 262 (100).

1 の Clemmensen 還元による 5 への誘導

1 のモノアンモニウム塩 (1 g) を 70 % ジオキサン-水 (5 ml) に溶解し、その中に亜鉛粉末と塩化水銀 (I) より調製した亜鉛アマルガム (2 g) を加え、10 % 塩酸 (12 ml) を 10 分間かけて、徐々に滴下した。その後、10 °C で、2 時間攪拌し、デカンテーションで亜鉛アマルガムを除いた後、反応液に氷水 (200 ml) を加え、n-ブタノール (60 ml, 2 回) で抽出した。n-ブタノール抽出液は、Amberlite IRA-400 (OH⁻ form) で中和し、樹脂をろ別、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣は、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (クロロホルム:メタノール:水=6:4:1, 30 g) で分離精製し、licorice-saponin B2 (5, 0.75 g, 75 %) を得た。

7 のジアゾメタン処理 (7 a への誘導)

7 (20 mg) のメタノール溶液 (2 ml) に、ジアゾメタン-エーテル溶液を氷冷下、黄色が持続するまで加え (約 15 ml)、1 時間静置した後、減圧下溶媒を留去し 7 a (21 mg) を得た。

< 7 a の physical data >

mp 174-176 °C (colorless needles from MeOH), $[\alpha]_D^{25}$ -110 ° (c=0.30, MeOH). Anal. Calcd for $C_{45}H_{68}O_{15} \cdot 2H_2O$: C, 54.93; H, 7.32. Found: C, 55.16; H, 7.26. UV λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 242 (13000), 250 (14600), 259 (9300). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3400, 1720, 1640, 1080. 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 + D_2O , δ): 0.78, 0.92, 1.06, 1.10, 1.12, 1.18, 1.32 (all 3H, s), 3.30 (1H, dd, $J=4.0, 11.0$ Hz, 3α -H), 3.71, 3.74, 3.82 (all 3H, s, methoxyl), 4.98 (1H, d, $J=7.3$ Hz, $1'$ -H), 5.34 (1H, d, $J=7.3$ Hz, $1''$ -H), 5.62 (1H, br.d, 11-H), 6.41 (1H, br.d, 12-H). ^{13}C NMR: as given in Table I.

7 a のメタノリシス

7 a (10 mg) を 9 % HCl-MeOH (1.0 ml) に溶解し、3 時間加熱還流した。反応液は、冷後、Dowex 1 x 2 (OH^- form) で中和し、TLC (ベンゼン:メタノール=5:2、クロロホルム:メタノール:水=7:3:1 の下層) により、反応生成物中に、methyl glucuronide の存在を確認・同定した。さらに反応液は、樹脂をろ別、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣は、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン-酢酸エチル=1:1, 1 g) で精製し、3 β -hydroxyoleane-11,13(18)-diene-30-oic acid methyl ester (8 a, 3 mg) を得、融点、IR および 1H NMR のデータを文献値¹⁸⁾と比較して同定した。

< 8 a の physical data >

mp 263-264 °C (colorless needles from MeOH), $[\alpha]_D^{23}$ -40° (c=0.2, CHCl₃),
High-resolution EI-MS: Found 468.3595, Calcd for C₃₁H₄₈O₃ (M⁺) 468.3603.
UV λ_{max}^{MeOH} nm(ϵ): 241(12800), 250(13500), 259(8100). IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹:
3300-3000, 1725, 1650, 1080. ¹H NMR(90 MHz, CDCl₃, δ): 0.71, 0.78, 0.89,
0.96, 0.99, 1.07, 1.09 (all 3H, s), 3.23 (br. dd, J=ca. 5, 11 Hz, 3 α -H),
3.69 (3H, s, methoxyl), 5.55 (1H, dd, J=3.6, 9.8 Hz, 11-H).
EI-MS m/z(%): 468 (M⁺, 100), 469 (M⁺+1, 34).

7 a の NaBH₄還元、完全メチル化およびそれに続くメタノリシス

7 a (5 mg) をメタノール (1 ml) に溶解し、NaBH₄ (2 mg) を加え、室温 (23 °C) で
1時間攪拌した。反応液は Dowex 50w x 8 (H⁺ form) で中和、樹脂をろ別し、減圧
下反応液の溶媒を留去した。得られた残渣は、シリカゲルのカラムクロマトグラ
フィー (クロロホルム:メタノール:水=7:3:1の下層、1 g) で分離精製した。生成物
(4.5 mg) は、引き続き DMSO (0.5 ml) に溶解し、別に調製した sodium methylsul-
finylmethide (以下一般名 dimsylna と表記) 溶液 (1ml, NaH 100mg と DMSO
2 ml より調製) を加え、遮光下、室温 (23 °C) 中で1時間攪拌した後、ヨウ化メチ
ル (1 ml) を加え、さらに 2時間攪拌した。反応液は、氷水中にあげ、酢酸エチル
で抽出し、飽和食塩水で酢酸エチル層を洗浄後、無水硫酸マグネシウム上で乾燥
した。この酢酸エチル層をろ過し、得られたろ液を減圧下溶媒を留去し、粗生成
物 (6.7 mg) を得た。粗生成物は、分離することなく、9 % 塩化水素-メタノール
(1 ml) に溶解し、3時間加熱還流した。その反応液は、冷後、炭酸銀で中和し、反
応生成物が、TLC (ベンゼン:アセトン=2:1、クロロホルム:メタノール=50:1) お
よび GLC 分析によって methyl 2,3,4,6-tetra-O-methyl glucopyranoside およ
び methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranosideであることを明らかにした。
GLC分析条件: 5 % BDS on Uniport B (80-100 mesh); 3 mm i.d. x 2 m, glass
column; column temp. 160°C; N₂ flow rate 35 ml/min; t_R: methyl 2,3,4,6-
tetra-O-methylglucopyranoside, 15 min 46 s, 18 min 10 s, methyl 3,4,6-
tri-O-methylglucopyranoside, 5 min 30 min, 7 min 40 s.

1 のNaBH₄による9への還元

Glycyrrhizin(1, 1 g)をエタノール-水(1:1, 20 ml)に溶解し、NaBH₄(2.0 g)を加え、90 °Cで1時間加熱還流した。反応液は、冷後、Dowex 50W x 8 (H⁺ form)で中和、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去し、9 (950 mg, 95 %)を得た。

< 9のphysical data>

mp. 208-210 °C (colorless fine needles from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +18.3^\circ$ (c=1.80, MeOH), High resolution FAB-MS: Found 847.4070, Calcd. for C₄₂H₆₄O₁₆Na [(M+Na)⁺] 847.4092. FAB-MS m/z (positive, %): 847[(M+Na)⁺, 2], 437[(M-sugars+H)⁺, 100]. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3700-3000, 1717, 1627, 1035. ¹H NMR(500 MHz, pyridine-d₅+D₂O, δ): 0.87, 1.07, 1.13, 1.32, 1.39 (all 3H, s), 1.15 (3H x 2, s), 2.58 (1H, br. d, J=ca. 13 Hz, 18-H), 3.28 (1H, dd, J=4.2, 11.0 Hz, 3 α -H), 4.45 (1H, dd, J=6.5, 6.5 Hz, 11 α -H), 4.91 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.31 (1H, d, J=7.6 Hz, 1''-H), 5.67 (1H, d, J=6.5 Hz). ¹³C NMR (22.5MHz, pyridine-d₅, δ_c): 84.2(C-11), 89.6(C-3), 103.9(C-1'), 105.4(C-1''), 128.2(C-12), 145.9(C-13), 171.9, 172.3(C-6', C-6''), 179.2(C-30).

9から10aおよびlicorice-saponin C2(4)への誘導

9 (500 mg)を2 % aq.HCl-dioxane(1:1, 10 ml)に溶解し、室温(24 °C)で2時間攪拌した。反応液を、Amberlite IRA-400(OH⁻ form)で中和、樹脂をろ別して、減圧下溶媒を留去し、粗生成物(410 mg)を得た。粗生成物の¹H NMRスペクトルを測定したところ、ジエン部分の異性体の混合物と推定されたが、このままでは分離が困難であったので、この混合物(300 mg)をジアゾメタン処理し、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー(CHCl₃-MeOH-H₂O=6:4:1, 10 g)によって分離精製し、9,12-ホモジエン体のトリメチルエステル体10a(210 mg, 9よりの換算収率66 %)、およびlicorice-saponin C2 trimethyl ester 7a(52 mg, 9よりの換算収率16 %)を得、標品と直接比較(mp, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR)して同定した。

< 10a の physical data >

mp. 180 °C (fine needles from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +27.6^\circ$ (c=1.72, MeOH),
High-resolution FAB-MS: Found 871.4483, Calcd. for $C_{45}H_{68}O_{15}Na[(M+Na)^+]$
847.4461. FAB-MS m/z (positive, %): 871 $[(M+Na)^+, 13]$, 433 $[(M-sugars+H)^+, 100]$. UV λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 245 (13300), 251 (14800), 276 (7200). IR ν_{max}^{KBr}
 cm^{-1} : 3440, 1727, 1660, 1035. 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 + D_2O , δ): 0.88, 1.07, 1.13, 1.14, 1.15, 1.17, 1.31 (3H each, all s), 2.64 (1H, br. d, J= ca. 13 Hz, 18-H), 3.31 (1H, dd, J=4.0, 10.6 Hz, 3 α -H), 3.70, 3.74, 3.85 (3H each, all s, methoxyl), 4.93 (1H, d, J=7.3 Hz, 1'-H), 5.30, 5.31 (1H each, both d, J=7.3 Hz, 11, 12-H), 5.37 (1H, d, J=7.6 Hz, 1''-H).
 ^{13}C NMR (22.5 MHz, pyridine- d_5 , δ_c): 89.1 (C-3), 104.6 (C-1'), 106.5 (C-1''), 115.7 (C-11), 125.5 (C-12), 146.0 (C-13), 154.9 (C-9), 169.8, 170.0 (C-6', C-6''), 178.3 (C-30).

9 の選択的 7 への変換

9 (500 mg) を dioxane- H_2O (1:1, 10 ml) に溶解し、1 時間加熱還流した。反応液は、Amberlite IRA-400 (OH^- form) で中和、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去し、得られた粗生成物を、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー ($CHCl_3$ -MeOH- H_2O =6:4:1, 20 g) によって分離精製したところ、7 (420 mg, 82%) のみを得られ、標品と直接比較 (mp, IR, 1H NMR, ^{13}C NMR) して同定した。なお、この条件では 10 の生成は認められなかった。

5a の電解酸化、引き続いて酸処理による 7a への誘導

Licorice-saponin B2 trimethyl ester (3a, 100 mg) のメタノール溶液 (20 ml) に酢酸ナトリウム (250 mg) を加え、定電流分解 (Pt 電極、40 mA/ cm^{-1} 、2 時間、25 °C) を行った。反応液は、Dowex 50W x 8 (H^+ form) で中和、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去して、酸化成績体 (103 mg) を得た。酸化成績体は、 1H NMR スペクトルなどの測定から、11 α -OAc、11 α -OCH $_3$ 誘導体の混合物と推定されたが、分離

することなく、メタノール (9 ml) に溶解し、10 % aq. HCl (1 ml) を加え、室温 (23 °C) で 1 時間攪拌した。反応液を、飽和食塩水中にあげ、n-ブタノールで抽出した。この n-ブタノール抽出液は、飽和重曹水、水で順次洗浄し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣は、逆相シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (μ -Bondapak C₁₈, MeOH-H₂O, 5g) で精製し、licorice-saponin C2 trimethyl ester (7 a, 61mg, 62 %) を得、標品と直接比較 (mp, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR) して同定した。

第四節の実験

11 のジアゾメタン処理 (11 a への誘導)

2 (20 mg) のメタノール溶液 (2 ml) に、ジアゾメタン-エーテル溶液を氷冷下、黄色が持続するまで加え (約 15 ml)、1 時間静置した後、減圧下溶媒を留去し 11 a (21 mg) を得た。

< 11 a の physical data >

mp 221-223 °C (colorless fine needles from MeOH), $[\alpha]_D^{25}$ -5.0° (c=0.10, MeOH). Anal. Calcd for C₅₃H₈₂O₂₁ · 3H₂O: C, 57.38; H, 7.99. Found: C, 57.27; H, 7.98. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3600-3200 (br.), 2950, 1733, 1440, 1372, 1243. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅, δ): 0.90, 0.93, 0.98, 1.16, 1.20, 1.29, 1.39 (all 3H, all s), 1.81 (3H, d, J=5.8 Hz, rhamnosyl methyl), 2.10 (3H, s, acetyl methyl), 3.28 (1H, dd, J=4.2, 11.0 Hz, 3 α -H), 3.77, 3.78, 3.81 (all 3H, s, -OCH₃ x 3), 5.01 (1H, d, J=7.3 Hz, 1'-H), 5.49 (1H, br. s, 12-H), 5.76 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 6.39 (1H, br.s, 1''-H). ¹³C NMR (22.5 MHz, pyridine-d₅, δ_c): 170.1 (acetyl carbonyl), 21.8 (acetyl methyl), 51.5 x 2, 51.6 (OCH₃ x 3), and other signals as given in Table II; J_{C-H} value (δ): 171 Hz (101.6, C-1'', rhamnose), 160 Hz (102.4, C-1', glucuronic acid), 160 Hz (104.7, C-1', glucuronic acid).

1 1 a のメタノリシス

1 1 a (25 mg) を 9 % HCl-MeOH (2 ml) に溶解し、2 時間加熱還流した。反応液は、冷後、Dowex 50W x 8 (H⁺ form) で中和、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣は、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン:酢酸エチル=2:1 で 1 2 a を溶出後、クロロホルム:メタノール:水=7:3:1 の下層で展開、シリカゲル 2 g) で精製し、1 2 a (11 mg) を単離するとともに、methyl glucuronide, methyl rhamnoside を単離し、それぞれを標品との TLC (クロロホルム:メタノール:水=7:3:1 の下層および水飽和 n-ブタノール) によって同定した。また、得られた methyl rhamnoside (5.8 mg) は、3 % HCl (0.5 ml) に溶解させ、2 時間加熱還流し、Amberlite IRA-2 (OH⁻ form) で中和し、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去し、rhamnose (5.0 mg) を得、その旋光度を測定した。[α]_D²⁴ +8.0° (c=0.50, H₂O, 溶解24時間後に測定)。また、methyl glucuronide (8.3 mg) は、MeOH (1 ml) に溶解させ、NaBH₄ (3 mg) を加え、室温 (23 °C) で1時間攪拌した。反応液を常法に従い処理し、その後上記同様に酸加水分解し glucose (4.7 mg) を得、その旋光度を測定した。[α]_D²⁴ +42° (c=0.47, H₂O, 溶解24時間後に測定)。

< 1 2 a の physical data >

mp 232-234 °C (colorless fine needles from MeOH), [α]_D²³ -68° (c=0.20, CHCl₃). High-resolution EI-MS: Calcd. for C₃₃H₅₂O₅: 528.3825; Found: 528.3831. EI-MS m/z (%): 528 (M⁺, 5), 468 (M⁺-AcOH, 100), 320 (i, 8.2), 260 (ii, 45.3), 208 (iii, 3.4). IR ν_{max} cm⁻¹: 3600-3200 (br.), 2940, 1760, 1720, 1460, 1384, 1372, 1025. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 0.79, 0.96, 0.99, 1.01, 1.15, 1.18, 1.27 (all 3H, s), 1.98 (3H, s, acetyl methyl), 3.24 (1H, dd, J= 5.2, 11.5 Hz, 3 α -H), 3.68 (3H, s, -OCH₃), 4.61 (1H, dd, J=2.8, 3.4 Hz, 22 α -H), 5.40 (1H, t-like, J=ca. 3.7 Hz, 12-H).

1 2 a のアセチル化

1 2 a (3 mg) をピリジン (1 ml) に溶解し、氷冷下、無水酢酸 (0.5 ml) を加え、その後反応液を、室温 (22 °C) で3時間放置した。反応液を、氷水にあげ、酢酸エチルで抽出し、常法に従い後処理して、1 2 b (3 mg) を得た。

< 1 2 b のphysical data >

mp 201-203 °C (colorless fine needles from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +68^\circ$ (c=0.20, CHCl₃). High-resolution EI-MS: Calcd. for C₃₅H₅₄O₆ (M⁺): 570.3918; Found: 570.3813. EI-MS m/z (%): 570 (M⁺, 1.5), 320 (i, 18.8), 260 (ii, 100), 250 (iv, 4.2). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2940, 1764, 1758, 1720, 1460, 1384, 1370, 1025. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 0.79, 0.88, 0.89, 0.98, 0.99, 1.14, 1.18, 1.26 (all 3H, s), 1.98, 2.06 (each 3H, both s, -OCOCH₃), 3.68 (3H, s, -OCH₃), 4.51 (1H, dd, J=4.3, 11.5 Hz, 3 α -H), 4.60 (1H, dd, J=2.8, 3.0 Hz, 22 α -H), 5.40 (1H, t-like, J=ca. 3.7 Hz, 12-H).

1 2 a の酸処理

1 2 a (5 mg) を 10 % H₂SO₄- 50 % aq. EtOH (1:1, 4ml) に溶解し、4時間加熱還流した。反応液は、氷水中にあげ、酢酸エチルで抽出後、飽和重曹水、飽和食塩水で順次洗浄後、無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、減圧下溶媒を留去し、11-deoxoglabrolide (1 3, 4 mg) を得、旋光度を含めた諸データが、文献¹⁸⁾記載値と一致したことにより同定した。

< 1 3 のphysical data >

mp 271-274 °C (colorless fine needles from isopropanol-EtOH, lit. 272-276 °C), $[\alpha]_D^{25} +57^\circ$ (c=0.20, CHCl₃, lit +59.6°). High-resolution EI-MS: Calcd. for C₃₀H₄₆O₃: 454.3443; Found: 454.3435. EI-MS m/z (%): 454 (M⁺, 0.9), 436 [(M-H₂O)⁺, 1.2], 246 (100), 208 (11.8). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400-3100 (br), 2900, 1760, 1720, 1460, 1384, 1370, 1025. (lit. 3610, 3490, 1760, 1456)

^1H NMR (90 MHz, CDCl_3 , δ): 0.79, 0.97, 1.00, 1.16 (all 3H, s), 0.94, 1.16 (each 3H x 2, both s), 3.19 (1H, dd, $J=5.4, 11.0$ Hz, $3\alpha\text{-H}$), 4.15 (1H, d, $J=5.2$ Hz, $22\alpha\text{-H}$), 5.27 (1H, t-like, $J=\text{ca. } 3.6$ Hz, 12-H).

11aの完全メチル化、続く NaBH_4 還元およびメタノリシス

11a (5 mg) の DMSO 溶液 (1 ml) に、別に調製した dimethylsodium 溶液 (1 ml, NaH 100 mg と DMSO 2 ml より調製) を加え、遮光下、室温 (23 $^\circ\text{C}$) 中で1時間攪拌し、ヨウ化メチル (1 ml) を加え、さらに2時間攪拌した。反応液を、氷水中にあげ、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で酢酸エチル層を洗浄後、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。酢酸エチル層をろ過後、ろ液を減圧下溶媒留去し、粗生成物 (10 mg) を得た。粗生成物は、そのまま MeOH (2 ml) に溶解し、 NaBH_4 (3 mg) を加え、室温 (24 $^\circ\text{C}$) 下2時間攪拌した。反応液を Dowex 50W x 8 (H^+ form) で中和処理を行い、樹脂をろ別し、反応液を減圧下溶媒留去した。ついで、残渣を 9 % HCl-MeOH (2 ml) に溶解させ、3時間加熱還流した。反応液は、炭酸銀で中和、無機物をろ過で除いて、そのろ液から、TLC (ベンゼン:アセトン=2:1、クロロホルム:メタノール=50:1) および GLC 分析によって methyl 2,3,4-tri-O-methylrhamnopyranoside および methyl 3,4-di-O-methyl glucopyranoside を検出同定した。

GLC 分析条件: 5 % BDS on Uniport B (80-100 mesh); 3mm i.d. x 2 m, glass column; column temp. 160 $^\circ\text{C}$; N_2 flow rate 35 ml/min; t_R : methyl 2,3,4-tri-O-methylrhamnopyranoside, 1 min 25 s, methyl 3,4-di-O-methylglucopyranoside, 38 min 5 s, 46 min 4 s, なお、methyl 2,3,4-tri-O-methylrhamnopyranoside と methyl 3,4-di-O-methylglucopyranoside の比率は、面積比で 1:2 を示した。

14のメタノリシス

14 (4 mg) を9 % HCl-MeOH (0.5 ml) に溶解し、1時間加熱還流した。反応液は、冷後、Dowex 1 x 2 (OH⁻ form) で中和し、TLC (n-BuOH:酢酸エチル:水=4:1:5の上層、クロロホルム:メタノール:水=7:3:1の下層) により、methyl glucuronide の存在を確認・同定した。また、樹脂をろ別したろ液を、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン-酢酸エチル=1:1, 500 mg) で精製し、glabrolide (15, 3 mg) を得、融点、旋光度およびIRを文献値¹⁸⁾と比較して同定した。

< 15のphysical data>

mp 263-264 °C (colorless needles from MeOH, lit 260-265 °C), $[\alpha]_D^{24}$ -40° (c=0.2, CHCl₃, lit. -41.2°), High-MS: Found 468.3595, Calcd for C₃₁H₄₈O₃ (M⁺) 468.3603. EI-MS m/z (%): 468 (M⁺, 100), 469 (M⁺+1, 34). UV λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 250 (12700) [lit. 248 (11500) in EtOH]. IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3400-3000 (br.), 1725, 1650, 1380, 1080 (lit. 3550, 1725, 1660 in nujol). ¹H NMR (90 MHz, CDCl₃, δ): 0.71, 0.78, 0.89, 0.96, 0.99, 1.07, 1.09 (all 3H, s), 3.23 (1H, dd, J=5.4, 11.2 Hz, 3 α -H), 4.21 (1H, d, J=4.2 Hz, 22 α -H), 5.55 (1H, dd, J=3.6, 9.8 Hz, 11-H).

14のジアゾメタン処理 (14 a への誘導)

14 (25 mg) のメタノール溶液 (2 ml) に、ジアゾメタン-エーテル溶液を氷冷下、黄色が持続するまで加え (約15 ml)、1時間静置した後、減圧下溶媒を留去し 14 a (25 mg) を得た。

< 14 a の physical data >

mp 232-234 °C (colorless fine needles from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +65^\circ$ (c=0.30, MeOH). Anal. Calcd for $C_{46}H_{68}O_{16} \cdot 3H_2O$: C, 59.33; H, 8.01. Found: C, 59.13; H, 8.00. UV λ_{max}^{MeOH} nm(ϵ): 250 (11000). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 2920, 1733, 1440, 1372, 1243. 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , δ): 0.80, 1.11, 1.12, 1.27, 1.31, 1.34, 1.44 (all 3H, s), 3.04 (1H, br. d, J=ca. 12 Hz, 18-H), 3.32 (1H, dd, J=4.6, 11.3 Hz, 3 α -H), 3.75, 3.85 (each 3H, both s, -OCH₃ x2), 4.92 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.20 (1H, d, J=8.2 Hz, 1''-H), 5.97 (1H, s, 12-H).

14 a の NaBH₄還元、完全メチル化およびそれに続くメタノリシス

14 a (5 mg) のメタノール溶液 (2 ml) に、NaBH₄ (2 mg) を加え、室温 (23 °C) で 1 時間攪拌した。反応液を Dowex 50W x 8 (H⁺ form) で中和処理を行い、樹脂をろ別し、ろ液は、減圧下溶媒を留去し、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (クロロホルム:メタノール:水=7:3:1 の下層、1 g) で分離精製した。生成物 (4.5 mg) は、引き続き DMSO (0.5 ml) に溶解し、別に調製した dimethylsodium 溶液 (1 ml, NaH 100 mg と DMSO 2 ml より調製) を加え、遮光下、室温 (23 °C) 中で 1 時間攪拌後、ヨウ化メチル (1 ml) を加え、さらに 2 時間攪拌した。反応液は、氷水中にあげ、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で酢酸エチル層を洗浄後、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。酢酸エチル層をろ過後、ろ液を減圧下溶媒留去し、粗生成物 (5.7 mg) を得た。粗生成物は、分離することなく、9 % HCl-MeOH (1 ml) に溶解し、3 時間加熱還流した。その反応液を、冷後、炭酸銀で中和し、TLC (ベンゼン:アセトン=2:1、クロロホルム:メタノール=50:1) および GLC 分析によって反応生成物中に、methyl 2,3,4,6-tetra-O-methyl glucopyranoside および methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranoside が存在していることを明らかにした。

GLC 分析条件: 5 % BDS on Uniport B (80-100 mesh); 3 mm i.d. x 2 m, glass column; column temp. 160 °C; N₂ flow rate 35 ml/min.; t_R: methyl 2,3,4,6-tetra-O-methylglucopyranoside, 15 min 46 s, 18 min 10 s, methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranoside, 5 min 30 min, 7 min 40 s. なお、methyl 2,3,

4,6-tetra-O-methylglucopyranosideおよび methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranosideの存在比は、GLCの面積比で1:1であった。

16のメタノリシス

16 (10 mg)を9 % HCl-MeOH(1.0 ml)に溶解し、3時間加熱還流した。反応液は、冷後、Dowex 1 x 2 (OH⁻ form)で中和し、反応液中に、TLC (n-BuOH:酢酸エチル:水=4:1:5の上層、クロロホルム:メタノール:水=7:3:1の下層)で、methyl glucuronide の存在を確認・同定するとともに、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去した残渣について、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン-酢酸エチル=1:1, 1 g)で分離精製し、11-deoxoglabrolide(13, 3 mg)を得、融点、IR、¹H NMR および旋光度を文献値¹⁸⁾および12より酸処理して誘導した標品と直接比較して同定した。

16のジアゾメタン処理 (16aへの誘導)

16 (20 mg)のメタノール溶液(2 ml)に、ジアゾメタン-エーテル溶液を氷冷下、黄色が持続するまで加え(約15 ml)、1時間静置した後、減圧下溶媒を留去し16a (22 mg)を得た。

< 16aのphysical data >

mp 207-209 °C (colorless fine needles from MeOH), $[\alpha]_D^{25}$ -14° (c=0.30, MeOH). High-resolution FAB-MS(positive): Calcd. for C₅₀H₇₆O₁₉Na: 1003.4882 ;Found: 1003.4901. FAB-MS m/z: 1003 [(M+Na)⁺]; (+Li) 987 [(M+Li)⁺] (positive); 979 (M-H)⁻, 965 (M-CH₃)⁻, 833 [(M-rhamnosyl moiety)⁻] (negative). IR ν_{max} cm⁻¹: 3500-3100 (br.), 2942, 1745, 1440, 1384, 1221. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅+D₂O, δ): 0.78, 0.79, 0.92, 1.06, 1.14, 1.15, 1.28 (all 3H, s), 1.70 (3H, d, J=5.8 Hz, 6''-H), 3.21 (1H, dd, J=4.0, 11.0 Hz, 3 α -H), 3.68, 3.72 (each 3H, both s, OCH₃ x 2), 4.92 (1H, d, J=7.2 Hz,

1'-H), 5.44 (1H, br s, 12-H), 5.67 (1H, d, $J=7.3$ Hz, 1'-H), 6.20 (1H, br s, 1''-H). ^{13}C NMR (22.5 MHz, pyridine- d_5 , δ_c): 51.6, 51.7 ($\text{OCH}_3 \times 2$), and other signals as given in Table II.

16aの完全メチル化、続く NaBH_4 還元およびメタノリシス

16a (5 mg)のDMSO溶液(1 ml)に、別に調製した dimsylsodium 溶液(1 ml, NaH 100 mg と DMSO 2 ml より調製)を加え、遮光下、室温(23 °C)中で1時間攪拌後、ヨウ化メチル(1 ml)を加え、さらに2時間攪拌した。反応液を、氷水中にあげ、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で酢酸エチル層を洗浄後、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。酢酸エチル層をろ過後、ろ液を減圧下溶媒留去し、粗生成物(10 mg)を得た。粗生成物は、分離することなく MeOH(2 ml)に溶解し、 NaBH_4 (3 mg)を加え、室温(24 °C)で2時間攪拌した。反応液は Dowex 50W x 8 (H^+ form)で中和、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣は 9 % HCl-MeOH(2 ml)に溶解し、3時間加熱還流した。この反応液を炭酸銀で中和し、無機物をろ別し、そのろ液から、TLC (ベンゼン:アセトン=2:1、クロロホルム:メタノール=50:1)およびGLC分析によって methyl 2,3,4-tri-O-methylrhamnopyranoside および methyl 3,4-di-O-methylglucopyranoside を検出同定した。

GLC分析条件: 5% BDS on Uniport B(80-100 mesh); 3mm i.d. x2 m, glass column; column temp. 160 °C; N_2 flow rate 35 ml/min; t_R : methyl 2,3,4-tri-O-methylrhamnopyranoside, 1 min 25 s, methyl 3,4-di-O-methylglucopyranoside, 38 min 5 s, 46 min 4 s. なお、methyl 2,3,4-tri-O-methylrhamnopyranoside と methyl 3,4-di-O-methylglucopyranoside の比率は、11a と同様に面積比で1:2を示した。

11のアルカリ処理による16への誘導

11 (20 mg)をメタノール(5 ml)に溶解し、10 % KOH水溶液(5 ml)を加え、1時間加熱還流した。反応液をDowex 50W x 8(H^+ form)で中和し、樹脂をろ別、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣を、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (クロロホルム:メタノール:水=65:35:10の下層、5 g)で分離精製して、11

(12 mg)を得た。得られた 11 は天然物と旋光度を含めた各種データ (mp, IR, ^1H NMR) が一致したことによりその構造を確認した。

第五節の実験

17 のジアゾメタン処理 (17 a への誘導)

17 (30 mg) のメタノール溶液 (2 ml) に、ジアゾメタン-エーテル溶液を氷冷下、黄色が持続するまで加え (約 15 ml)、1 時間静置した後、減圧下溶媒を留去し 17 a (30 mg) を得た。

< 17 a の physical data >

mp 176-178 °C (colorless fine needles from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +36^\circ$ (c=0.15, MeOH). High resolution FAB-MS (positive): Calcd. for $\text{C}_{45}\text{H}_{68}\text{O}_{17}\text{Na}$: 903.4354; Found: 903.4296. FAB-MS m/z: 903 [(M+Na) $^+$]; (+Li) 887 [(M+Li) $^+$] (positive); 879 (M-H) $^-$, 865 (M-CH $_3$) $^-$ (negative). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3450-3100 (br.), 2897, 1720, 1648, 1380, 1007. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 248 (9460). ^1H NMR (500 MHz, pyridine, δ): 0.77, 1.06, 1.20, 1.22, 1.41, 1.46 (each 3H, all s), 2.99 (1H, br.d, J=ca.14 Hz, 18-H), 3.50 (1H, dd, J=5.0, 11.6 Hz, 3 α -H), 3.75, 3.79, 3.87 (each 3H, all s, -OCH $_3$), 4.94 (1H, d, J=7.9 Hz, 1'-H), 5.55 (1H, d, J=7.6 Hz, 1''-H), 5.86 (1H, s, 12-H). ^{13}C NMR (22.5 MHz, pyridine- d_5 , δ_c): 51.4, 51.9, 51.9 (OCH $_3$) and other signals as given in Table II.

17 a のメタノリシス

17 a (5 mg) を 9 % HCl-MeOH (0.5 ml) に溶解し、1 時間加熱還流した。反応液は、冷後、Dowex 1 x 2 (OH $^-$ form) で中和し、TLC (n-BuOH:酢酸エチル:水=4:1:5 の上層、クロロホルム:メタノール:水=7:3:1 の下層) により、反応液中に、methyl glucuronide の存在を確認同定するとともに、樹脂をろ別した、ろ液を減

圧下溶媒を留去した残渣について、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン-酢酸エチル=2:3, 500 mg) で分離精製し、24-hydroxyglycyrrhetic acid methyl ester (18a, 3 mg) を得、融点、旋光度および IR を文献値²³⁾と 比較して同定した。

< 18a の physical data >

mp 246-248 °C (colorless needles from MeOH, lit. 243-246 °C), $[\alpha]_D^{25} +125.5^\circ$ (c=0.30, CHCl₃, lit. +134°), High-resolution EI-MS: Found 500.3633, Calcd for C₃₁H₄₈O₅ (M⁺) 500.3667. EI-MS m/z (%): 500 (M⁺, 16.5), 453 (52.1), 317 (100). UV λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 248 (10500). IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3600-3400 (br), 2960, 1729, 1653, 1618, 1455, 1155, 1038. (lit. 3571, 2460, 1724) ¹H NMR (90MHz, CDCl₃, δ): 0.80, 1.08, 1.10, 1.15, 1.25, 1.36 (all 3H, s), 3.69 (3H, s, -OCH₃), 4.23 (1H, dd, J=4.5, 10.0 Hz, 3 α -H), 4.20, 4.35 (each 1H, both d, J=10.0 Hz, 24-H₂), 5.60 (1H, br. s, 12-H).

17a の NaBH₄還元、完全メチル化およびそれに続くメタノリシス

17a (5 mg) のメタノール溶液 (2 ml) に、NaBH₄ (2 mg) を加え、室温 (23 °C) で 1 時間攪拌した。反応液を Dowex 50W x 8 (H⁺ form) で中和し、樹脂をろ別した。得られたろ液は、減圧下溶媒を留去し、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (クロロホルム:メタノール:水=7:3:1 の下層、1 g) で分離精製した。生成物 (4.2 mg) は、引き続き DMSO (0.5 ml) に溶解し、別に調製した dimethylsodium 溶液 (1 ml, NaH 100 mg と DMSO 2 ml より調製) を加え、遮光下、室温 (23 °C) 中で 1 時間攪拌後、ヨウ化メチル (1 ml) を加え、さらに 2 時間攪拌した。反応液は、氷水中に あけ、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で酢酸エチル層を洗浄後、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。この酢酸エチル層の無機物をろ過後、ろ液を減圧下溶媒 留去し、粗生成物 (5.2 mg) を得た。粗生成物は、分離することなく、9 % HCl-MeOH (1 ml) に溶解し、3 時間加熱還流した。その反応液は、冷後、炭酸銀で中和し、TLC (ベンゼン:アセトン=2:1、クロロホルム:メタノール=50:1) および GLC 分析によって、反応液中に methyl 2,3,4,6-tetra-O-methylglucopyranoside および methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranoside が存在していることを明らかにした。なお、GLC 分析条件および結果は 14a の実験項と同じである。

19のジアゾメタン処理 (19aへの誘導)

19 (20 mg) のメタノール溶液 (2 ml) に、ジアゾメタン-エーテル溶液を氷冷下、黄色が持続するまで加え (約15 ml)、1時間静置した後、減圧下溶媒を留去し 19a (20 mg) を得た。

< 19a の physical data >

mp 169-170 °C (colorless fine needles from MeOH-H₂O), $[\alpha]_D^{25} +29^\circ$ (c=0.20, MeOH). High resolution FAB-MS (positive): Calcd. for C₄₅H₆₈O₁₆Na: 887.4405 ; Found: 887.4333. FAB-MS m/z: 887 [(M+Na)⁺], 865 [(M+H)⁺] (positive); 863 (M-H)⁻ (negative). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3550-3100 (br.), 2900, 1722, 1654, 1435. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (ε): 249 (10900). ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅, δ): 0.87, 1.09, 1.13, 1.31, 1.36 (all 3H, s), 1.26 (3H x 2, s), 3.04 (1H, br. d, J=ca. 13 Hz, 18-H), 3.37 (1H, dd, J=4.6, 10.0 Hz, 3α-H), 3.79, 3.80, 3.91 (all 3H, s, -OCH₃ x 3), 4.95 (1H, d, J=7.3 Hz, 1'-H), 5.33 (1H, d, J=7.7 Hz, 1''-H), 5.71 (1H, br. s, 12-H). ¹³C NMR (22.5 MHz, pyridine-d₅, δ_c): 51.8, 51.9, 52.0 (OCH₃) and other signals as given in Table II.

19a のメタノリシス

19a (7 mg) を9 % HCl-MeOH (0.5 ml) に溶解し、1時間加熱還流した。反応液は、冷後、Dowex 1 x 2 (OH⁻ form) で中和し、TLC (n-BuOH:酢酸エチル:水=4:1:5の上層、クロロホルム:メタノール:水=7:3:1の下層) により、反応生成物中に、methyl glucuronide の存在を確認同定するとともに、樹脂をろ別したろ液を、減圧下溶媒を留去した残渣について、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン-酢酸エチル=1:1, 500 mg) で分離精製し、liquiritic acid methyl ester (20a, 4 mg) を得、融点、旋光度および IR を文献値²²⁾と比較して同定した。

< 20 a の physical data >

mp 223-225 °C (colorless needles from EtOH, lit. 223-224°), $[\alpha]_D^{25} +65^\circ$ (c=0.4, CHCl₃, lit. +71.5°), High MS: Found 484.3603, Calcd for C₃₁H₄₈O₄ (M⁺) 484.3634. EI-MS m/z (%): 484 (M⁺, 85), 485 (M⁺+1, 26), 262 (100). UV λ_{max}^{MeOH} nm(ϵ): 248(10500) [lit 248(11200) in MeOH]. IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3600-3300(br.), 2965, 1728, 1656, 1455, 1380, 1038. (lit. 3528, 1727, 1653 in nujol). ¹H NMR (90 MHz, CDCl₃, δ): 1.00, 1.34, 1.36 (all 3H, s), 0.80, 1.13 (each 6H, both s), 2.98 (1H, br d, J=ca. 13 Hz, 18 Hz), 3.30 (1H, dd, J=5.0, 10.0 Hz, 3 α -H), 3.69 (3H, s, -OCH₃), 5.64 (1H, br s, 12-H).

19 a の NaBH₄還元、完全メチル化およびそれに続くメタノリシス

19 a (5 mg) の MeOH 溶液に、NaBH₄ (2 mg) を加え、室温 (23 °C) で 1 時間攪拌した。反応液を Dowex 50W x 8 (H⁺ form) で中和し、樹脂をろ別した。得られたろ液は、減圧下溶媒を留去し、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (クロロホルム:メタノール:水=7:3:1 の下層、1 g) で分離精製した。生成物 (4.2 mg) は、引き続き DMSO (0.5 ml) に溶解し、別に調製した dimsylsodium 溶液 (1 ml, NaH 100mg と DMSO 2 ml より調製) を加え、遮光下、室温 (23 °C) 中で 1 時間攪拌後、ヨウ化メチル (1 ml) を加え、さらに 2 時間攪拌した。反応液を、氷水中にあげ、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で酢酸エチル層を洗浄後、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。酢酸エチル層の無機物をろ過後、ろ液を減圧下溶媒留去し、粗生成物 (5.1mg) を得た。粗生成物は、分離することなく、9 % HCl-MeOH (1 ml) に溶解し、3 時間加熱還流した。その反応液は、冷後、炭酸銀で中和し、TLC (ベンゼン:アセトン=2:1、クロロホルム:メタノール=50:1) および GLC 分析によって、反応液中に、methyl 2,3,4,6-tetra-O-methylglucopyranoside および methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranoside が存在していることを明らかにした。なお、GLC 分析条件および結果は 14 a の実験項と同じである。

21 のジアゾメタン処理 (21 a への誘導)

21 (15 mg) のメタノール溶液 (2 ml) に、ジアゾメタン-エーテル溶液を氷冷下、黄色が持続するまで加え (約 10 ml)、1 時間静置した後、減圧下溶媒を留去し 21 a (15 mg) を得た。

< 21 a の physical data >

mp 198-199 °C (colorless fine needles from MeOH), $[\alpha]_D^{23} +23^\circ$ (c=0.20, MeOH). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3650-3200 (br), 2930, 1730, 1626, 1387, 1116.

^1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , δ): 0.83, 0.84, 1.00, 1.18, 1.31, 1.36 (all 3H, s), 3.46 (1H, dd, $J=5.0, 9.2$ Hz, $3\alpha\text{-H}$), 3.79, 3.80, 3.88 (all 3H, s, $-\text{OCH}_3 \times 3$), 4.51, 4.62 (each 1H, both d, $J=10.2$ Hz, 24-H_2), 5.02 (1H, d, $J=7.3$ Hz, $1'\text{-H}$), 5.31 (1H, br.s, 12-H), 5.70 (1H, d, $J=7.0$ Hz, 12-H).

^{13}C NMR (22.5 MHz, pyridine- d_5 , δ_c): 51.5, 51.6, 51.8 (OCH_3) and other signals as given in Table II.

17 の Clemmensen 還元による 21 への誘導

17 のモノアンモニウム塩 (100 mg) を 70 % ジオキサン-水 (5 ml) に溶解し、その中に亜鉛粉末と塩化水銀 (I) より調製した亜鉛アマルガム (100 mg) を加え、10 % 塩酸 (2 ml) を 10 分間かけて、徐々に滴下した。その後、0 °C で、30 分間攪拌し、亜鉛アマルガムをガラスフィルターによるろ過で除いた後、反応液に濃アンモニア水を加え、pH 6 に調製し、生じた白色沈澱物をろ別した。次に、この沈澱物を pH 1.5 に調製した希塩酸 (40 ml) にあけ、 n -ブタノール (20 ml, 2 回) で抽出した。 n -ブタノール抽出液は、Amberlite IRA-400 (OH^- form) で中和、樹脂をろ別し、ろ液を減圧下溶媒を留去した。得られた残渣は、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (クロロホルム:メタノール:水=6:4:1, 8 g) で精製し、21 (51 mg, 52 %) を得、旋光度を含めた各種データ (mp, IR, ^1H NMR) が天然物と一致したことにより同定した。

22のジアゾメタン処理 (22 aへの誘導)

22 (15 mg)のメタノール溶液(2 ml)に、ジアゾメタン-エーテル溶液を氷冷下、黄色が持続するまで加え(約10 ml)、1時間静置した後、減圧下溶媒を留去し22 a (15 mg)を得た。

< 22 aのphysical data >

mp 179-181 °C (colorless fine needles from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +27^\circ$ (c=0.16, MeOH). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3500-3120(br), 2940, 1731, 1621, 1386, 1059. ^1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , δ): 0.87, 1.09, 1.13, 1.31, 1.36 (all 3H, s), 1.26 (6H, s), 3.46 (1H, dd, $J=4.4, 10.0$ Hz, $3\alpha\text{-H}$), 3.79, 3.80, 3.91 (all 3H, s, $-\text{OCH}_3$), 4.46, 4.56 (each 1H, both d, $J=10.2$ Hz, 24-H_2), 4.95 (1H, d, $J=7.3$ Hz, $1'\text{-H}$), 5.33 (1H, d, $J=7.7$ Hz, $1'\text{-H}$), 5.52 (1H, br d, $J=\text{ca. } 12$ Hz, 11-H), 6.49, (1H, br d, $J=\text{ca. } 12$ Hz, 12-H). ^{13}C NMR (22.5 MHz, pyridine- d_5 , δ_c): 51.5, 51.6, 52.0 (OCH_3) and other signals as given in Table II

17の NaBH_4 による還元、引き続きdioxane- H_2O 処理による22の生成

Licorice-saponin G2 (17, 50 mg)をエタノール-水(1:1, 3 ml)に溶解し、 NaBH_4 (300 mg)を加え、90 °Cで1時間加熱還流した。反応液は、冷後、Dowex 50W x 8 (H^+ form)で中和、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去した。得られた反応生成物は分離することなく dioxane- H_2O (1:1, 3 ml)に溶解し、1時間加熱還流した。この反応液を、Amberlite IRA-400 (OH^- form)で中和し、樹脂をろ別して、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー ($\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}=6:4:1$, 5 g)によって分離精製を行ない、22 (38 mg, 76 %)を得た。得られた22は、天然物と直接比較(mp, IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR)することにより、その化学構造を確認した。

第二章の実験

第一節の実験

抽出・分離

中国新疆地区庫爾勒で1986年に採集された Glycyrrhiza inflata BATALINの乾燥根を細切したもの(1 kg)を、メタノール(2 l)で3回加熱還流抽出した。得られたメタノール抽出液を合し、減圧下溶媒を留去してメタノール抽出エキス(300 g)を得た。メタノール抽出エキスを、酢酸エチルー水(1:1, 2 l)で分配し、得られた水移行部を40℃以下で減圧下水を留去して、水移行部エキス(200 g)を得た。得られた水移行部エキス(200 g)を、逆相のシリカゲルカラムクロマトグラフィー(1 kg, H₂O-MeOH 9:1→1:9 グラディエント溶出, Chromatorex ODS)に付し、3つの分画を得てそれぞれ減圧下溶媒を留去した。

フラクション1(主として糖分画、メタノールー水9:1→7:1, 95 g)、フラクション2(糖類およびフラボノイド配糖体混合分画、メタノールー水 7:1→6:1, 26 g)、フラクション3(サポニン混合分画、メタノールー水 6:1→4:1, 45 g)および最終溶出分画(メタノールー水 2:1→1:9, 20 g)。

フラクション3は、順相シリカゲルカラムグラフィー(クロロホルムーメタノールー水 10:3:1→6:4:1 グラディエント溶出)ついで分取高速液体クロマトグラフィー(Shimpak PREP ODS 20 mm x 25 cm, アセトニトリルー1%酢酸 65:35)で分離精製し、glycyrrhizin(1), licorice-saponin A3(2), G2(17)および H2(19)を G. inflata 乾燥根からそれぞれ 1.50, 0.05, 0.09および 0.15%の換算収率で単離し、標品と直接同定したほか、apioglycyrrhizin(23)と araboglycyrrhizin(27)をそれぞれ G. inflata 乾燥根から 0.32, 0.14%の換算収率で単離した。

<Apioglycyrrhizin(23)のphysical data>

mp 193-195 °C (colorless fine needles from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +43^\circ$ (c=0.29, MeOH). Anal. Calcd for $C_{41}H_{62}O_{14} \cdot H_2O$: C, 61.44; H, 8.33. Found: C, 61.69; H, 8.30. UV λ_{max}^{MeOH} nm(ϵ): 249 (9300). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3511-3100(br), 2913, 1716, 1650, 1410, 1028. 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , 25 °C, δ): 0.89, 1.09, 1.12, 1.23, 1.43 (all 3H, s), 1.34 (6H, s), 3.38 (1H, dd, J=4.2, 11.0 Hz, 3 α -H), 4.18 (1H, dd, J=7.7, 9.0 Hz, 2'-H), 4.25 (2H, br.s, 5'-H₂), 4.28 (1H, dd, J=9.0, 9.0 Hz, 3'-H), 4.37, 4.69 (each 1H, ABq, J=9.4 Hz, 4'-H₂), 4.44 (1H, dd, J=9.0, 9.8 Hz, 4'-H), 4.51 (1H, d, J=9.8 Hz, 5'-H), 4.90 (1H, br s, 2'-H), 4.96 (1H, d, J=7.7 Hz, 1'-H), 5.95 (1H, s, 12-H), 6.38 (1H, br s, 1'-H). ^{13}C NMR: as given in Table III.

<Araboglycyrrhizin(27)のphysical data>

mp 237-238 °C (colorless fine needles from MeOH-H₂O), $[\alpha]_D^{25} +31^\circ$ (c=0.25, MeOH). Anal. Calcd for $C_{41}H_{62}O_{14} \cdot H_2O$: C, 61.79; H, 8.09. Found: C, 61.44; H, 8.17. UV λ_{max}^{MeOH} nm(ϵ): 249 (9300). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3500-3200(br.), 2924, 1711, 1658, 1396, 1033. 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , 25 °C, δ): 1.10, 1.15, 1.26, 1.28, 1.35, 1.36, 1.42 (all 3H, s), 3.05 (1H, br, d, J=ca. 13 Hz, 18-H), 3.40 (1H, dd, J=5.0, 11.4 Hz, 3 α -H), 3.82 (1H, dd, J=1.5, 12.2 Hz, 5'-H), 4.25 (1H, dd, J=3.4, 8.5 Hz, 3'-H), 4.30-4.44 (3H, m, 3'-H, 4'-H, 4''-H), 4.44 (1H, dd, J=3.1, 12.2 Hz, 5'-H), 4.61 (1H, dd, J=6.7, 8.5 Hz, 2'-H), 5.03 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.99 (1H, s, 12-H); 25 °Cで測定した場合 1'-Hのシグナルが、水のシグナルと重なったため 40 °Cで測定した結果を以下に示す (40 °C, δ): 0.80, 1.10, 1.14, 1.27, 1.34, 1.35, 1.46 (all 3H, s), 3.03 (1H, br. d, J=ca. 13 Hz, 18-H), 3.42 (1H, dd, J=4.8, 11.4 Hz, 3 α -H), 3.80 (1H, dd, J=1.8, 12.2 Hz, 5'-H), 4.17 (1H, dd, J=8.0, 9.0 Hz, 2'-H), 4.22 (1H, dd, J=3.4, 7.6 Hz, 3'-H), 4.26-4.34 (3H, m, 3'-H, 4'-H, 4''-H), 4.40 (1H, dd, J=3.4, 12.2 Hz, 5'-H), 4.51 (1H, d, J=9.0 Hz, 5'-H), 4.57 (1H, dd, J=6.4, 7.6 Hz), 5.19 (1H, d, J=6.4 Hz, 1'-H).

H), 5.97 (1H, s, 12-H) (ただしこの場合は1'-Hのシグナルが水のシグナルと重なっている). ^{13}C NMR: as given in Table III.

第二節の実験

23のジアゾメタン処理 (23aへの誘導)

23 (20 mg)のメタノール溶液 (2 ml)に、ジアゾメタン-エーテル溶液を氷冷下、黄色が持続するまで加え (約 20 ml)、1時間静置した後、減圧下溶媒を留去し 23a (21 mg)を得た。

< 23aのphysical data >

mp 219-220 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +37^\circ$ (c=0.76, MeOH). Anal. Calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{66}\text{O}_{14} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: C, 59.98; H, 8.42. Found: C, 60.08; H, 8.48. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 249 (9630). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3500-3150 (br), 2910, 1727, 1651, 1405, 1044. ^1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , δ): 0.79, 1.08, 1.11, 1.21, 1.23, 1.36, 1.43 (all 3H, s), 3.34 (1H, dd, $J=4.2, 10.8$ Hz, 3 α -H), 3.76, 3.77 (both 3H, each s, methoxyl), 4.28 (2H, br s, 5'-H), 4.92 (1H, d, $J=2.1$ Hz, 2'-H), 4.95 (1H, d, $J=7.6$ Hz, 1'-H), 5.88 (1H, s, 12-H), 6.40 (1H, d, $J=2.4$ Hz, 1''-H). ^{13}C NMR: as given in Table III.

23aの NaBH_4 還元

23a (15 mg)のMeOH溶液 (3 ml)に、 NaBH_4 (10 mg)を加え、室温 (24 °C)下 2時間攪拌した。反応液は Dowex 50W x 8 (H^+ form)で中和し、樹脂をろ別後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣は、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (2 g, $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=8:1$)で分離精製を行い、23b (10 mg)を得た。

< 2 3 b の physical data >

mp 179-182 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +41^\circ$ (c=0.35, MeOH). Anal. Calcd for $C_{44}H_{66}O_{13} \cdot 2H_2O$: C, 61.90; H, 8.66. Found: C, 61.83; H, 8.60. UV λ_{max}^{MeOH} nm(ϵ): 249 (9300). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3500-3100 (br), 3500-3100 (br), 2940, 1725, 1651, 1380, 1073. 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , δ): 0.79, 1.09, 1.13, 1.20, 1.24, 1.35, 1.41 (all 3H, s), 3.06 (1H, br. d, J=ca. 14 Hz, 18-H), 3.39 (1H, dd, J=4.0, 10.6 Hz, 3 α -H), 3.73 (3H, s, methoxyl), 3.98 (1H, m, 5'-H), 4.08-4.14 (2H, m, 2'-H, 3'-H), 4.28 (1H, s, 5''-H), 4.30 (1H, dd, J=5.4, 10.5 Hz, 6'-H), 4.42, 4.73 (both 1H, ABq, J=9.5 Hz, 4''-H₂), 4.88 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 4.94 (1H, d, J=2.8 Hz, 2''-H), 5.88 (1H, s, 12-H), 6.41 (1H, d, J=2.8 Hz, 1''-H). ^{13}C NMR : as given in Table III.

2 3 b の メ タ ノ リ シ ス

2 3 b (200 mg) を 9 % HCl-MeOH (3 ml) に溶解し、1時間加熱還流した。反応液は、冷後、Dowex 50W x 8 で中和、樹脂をろ別し、ろ液を減圧下溶媒留去した。粗生成物はシリカゲルのカラムクロマトグラフィー (5 g、クロロホルム:メタノール=10:1) で分離精製し、methyl glycyrrhetate (90 mg), methyl glucoside (31 mg) および methyl apioside (10 mg) を得、それぞれの標品と直接同定した。また、methyl glucoside と methyl apioside はそれぞれ、3 % H_2SO_4 に溶解させ、2時間加熱還流した。それぞれの反応液を Amberlite IRA-2 (OH^- form) で中和し、樹脂をろ別、減圧下溶媒を留去し、glucose および apiose をそれぞれ得、その旋光度を測定した。Glucose; $[\alpha]_D^{25} +47^\circ$ (c=1.20, H_2O), apiose; $[\alpha]_D^{25} +9.1^\circ$ (c=0.50, H_2O , いずれも溶解後24時間経過してから測定)。

23bの完全メチル化およびそれに続くメタノリシス

23b (3 mg) の DMSO (0.5 ml) 溶液に、別に調製した dimethylsodium 溶液 (1 ml, NaH 100mg と DMSO 2 ml より調製) を加え、遮光下、室温 (24 °C) 中で1時間攪拌後、ヨウ化メチル (1 ml) を加え、さらに2時間攪拌した。反応液を、氷水中にあげ、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で酢酸エチル層を洗浄後、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。酢酸エチル層の無機物をろ過後、減圧下溶媒を留去し、粗生成物 (4.7 mg) を得た。粗生成物は、分離することなく、9 % HCl-MeOH (0.5 ml) に溶解し、3時間加熱還流した。冷後、炭酸銀で中和し、ろ別によって無機物を除いた反応液について、TLC (benzene:acetone=2:1) およびGLC分析を行ない methyl 2,3,5-tri-O-methylapiofuranoside および methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranoside が存在していることを確認した。

GLC分析条件: 5 % BDS on Uniport B (80-100 mesh); 3 mm i.d. x 2 m, glass column; column temp. 160 °C; N₂ flow rate 35 ml/min; t_R, methyl 2,3,5-tri-O-methylapiofuranoside, 1 min 14 s, 2 min 27 s, methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranoside, 5 min 27 s, 7 min 43 s.

23の部分メタノリシスついでアルカリ処理による24への誘導

氷冷下23 (40 mg) を 9 % HCl-MeOH (1 ml) に溶解し、2時間室温 (23 °C) で攪拌した。反応液は、Dowex 1 x 2 (OH⁻ form) で中和、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去し、粗生成物 (45 mg) を得た。粗生成物は分離精製することなく、10 % aq. K₂CO₃-MeOH (1:1, 1 ml) に溶解し、30分間室温 (23 °C) で攪拌した。この反応液を Dowex 50 W x 8 (H⁺ form) で中和し、樹脂をろ別、減圧下溶媒を留去し、得られた粗生成物について、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー [CHCl₃-MeOH-H₂O=65:35:10 (下層), 2 g] で分離精製し24 (10 mg) を得た。

< 2 4 の physical data >

An amorphous powder. $[\alpha]_D^{25} +65^\circ$ ($c=0.80$, H_2O). Anal. Calcd for $C_{36}H_{54}O_{10} \cdot H_2O$: C, 65.04; H, 8.46. Found: C, 64.93; H, 8.40. UV λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 249 (10200). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3400-3100(br), 2940, 1729, 1648, 1405, 1071. 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , δ): 0.79, 1.03, 1.09, 1.25, 1.31, 1.32, 1.45 (all 3H, s), 3.08 (1H, br. d, $J=ca.$ 14 Hz, 18-H), 3.44 (1H, d, $J=4.0$, 11.0 Hz, 3α -H), 4.16 (1H, dd, $J=7.9$, 8.0 Hz, $2'$ -H), 4.32 (1H, dd, $J=8.0$, 8.2 Hz, $3'$ -H), 4.59 (1H, dd, $J=8.2$, 8.2 Hz, $4'$ -H), 4.66 (1H, d, $J=8.2$ Hz, $5'$ -H), 5.03 (1H, d, $J=7.9$ Hz, $1'$ -H), 5.98 (1H, s, 12-H).

Liquiritin apiosideから methyl α -D-apiofuranoside(2 5 a)および methyl β -D-apiofuranoside(2 5 b)への誘導

Liquiritin apioside(1 g)を9 % HCl-MeOH に懸濁し、3時間加熱還流した。反応液は、Dowex 1 x 2 (OH^- form)で中和し、樹脂をろ別、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣をシリカゲルのカラムクロマトグラフィー($CHCl_3$ -MeOH=6:1, 25 g)で分離精製し、methyl \underline{D} -apioside(α, β mixture, 160 mg)を得た。この混合物は、直接HPLCで分離することは困難だったので、混合物(70 mg)のまま、DMF(0.5 ml)に溶解させ、*tert*-butyldimethylsilylchloride (170 mg)と imidazole (35 mg)を加え、室温(22 $^\circ C$)で1時間攪拌し、常法にしたがって後処理し、反応混合物(150 mg)を得た。この反応混合物を、シリカゲルのフラッシュカラムクロマトグラフィー(benzene-acetone=40:1, 40 g)で分離精製し、それぞれをTHFに溶解し、tetra-*n*-butylammoniumfluorideを加え、脱シリル化し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(benzene-acetone=1:1, 3 g each)でそれぞれ精製して、methyl α - \underline{D} -apiofuranoside(2 5 a, 12 mg)とmethyl β - \underline{D} -apiofuranoside(2 5 b, 35 mg)を得た。

< 25 a の physical data >

Colorless syrup. Anal. Calcd for $C_6H_{12}O_5 \cdot 2H_2O$: C, 65.93; H, 7.75.
Found: C, 65.41; H, 7.55. $[\alpha]_D^{25} +116^\circ$ ($c=0.11$, MeOH). 1H NMR (90 MHz, pyridine- d_5 , δ): 3.47 (3H, s, methoxyl), 4.07 (2H, s, 5- H_2), 4.21, 4.57 (both 1H, ABq, $J=9.5$ Hz, 4- H_2), 4.57 (1H, d, $J=4.6$ Hz, 2-H), 5.15 (1H, d, $J=4.6$ Hz, 1-H); (90 MHz, D_2O , δ): 3.42 (3H, s, methoxyl), 3.59 (2H, s, 5- H_2), 3.87, 4.05 (both 1H, ABq, $J=9.5$ Hz, 4- H_2), 4.00 (1H, d, $J=4.6$ Hz, 2-H), 4.98 (1H, d, $J=4.6$ Hz, 1-H). ^{13}C NMR: as given in Table IV.

< 25 b の physical data >

Colorless syrup. Anal. Calcd for $C_6H_{12}O_5 \cdot 2H_2O$: C, 65.93; H, 7.75.
Found: C, 65.33; H, 7.51. $[\alpha]_D^{25} -95^\circ$ ($c=0.16$, MeOH). 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , δ): 3.41 (3H, s, methoxyl), 4.08 (2H, s, 5- H_2), 4.29, 4.45 (both 1H, ABq, $J=9.5$ Hz, 4- H_2), 4.60 (1H, d, $J=2.4$ Hz, 2-H), 5.35 (1H, d, $J=2.4$ Hz, 1-H); (90 MHz, D_2O , δ): 3.43 (3H, s, methoxyl), 3.63 (2H, s, 5- H_2), 3.86, 4.15 (both 1H, ABq, $J=10.0$ Hz, 4- H_2), 3.93 (1H, d, $J=3.5$ Hz, 2-H), 4.96 (1H, d, $J=3.5$ Hz, 1-H). ^{13}C NMR: as given in Table IV.

23 のジアゾメタンによる異常反応

23 (50 mg) のメタノール溶液 (3 ml) に、過剰のジアゾメタン-エーテル溶液 (通常量の約10倍に相当する約300 ml) を加え、室温下24時間放置した。反応液を減圧下溶媒を留去し、得られた残渣についてシリカゲルのカラムクロマトグラフィー ($CHCl_3$ -MeOH=8:1, 5 g) で分離精製し、23 a (23 mg, 45 %) とともに 23 c (16 mg, 30 %) および 23 d (8 mg, 15 %) を得た。

< 2 3 c のphysical data >

mp 138-139 °C (colorless fine needles from MeOH). $[\alpha]_D^{25} +41^\circ$ (c=0.40, CHCl₃). Anal. Calcd for C₄₄H₆₈O₁₄·3H₂O: C, 60.39; H, 8.52. Found: C, 60.34; H, 8.35. FAB-MS (positive, %): 821[(M+H)⁺, 3], 467[(M-sugars+H)⁺, 100]. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 249 (9300). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3500-3100(br), 2945, 1727, 1651, 1380, 1044. ¹H NMR (500MHz, pyridine-d₅, δ): 0.78, 1.10, 1.14, 1.20, 1.26, 1.38, 1.42 (all 3H, s), 3.08 (1H, br d, J=ca. 13 Hz, 18-H), 3.34 (1H, dd, J=4.4, 10.6 Hz, 3 α -H), 3.69, 3.71, 3.74 (each 3H, s, methoxyl), 4.12 (1H, dd, J=9.0, 9.0 Hz, 3'-H), 4.17 (1H, dd, J=7.6, 9.0 Hz, 2'-H), 4.27 (2H, br s, 5'-H₂), 4.33, 4.69 (both 1H, ABq, J=9.2 Hz, 4'-H₂), 4.44 (1H, d, J=2.0 Hz, 2'-H), 4.52 (1H, d, J=9.8 Hz, 5'-H), 4.99 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.87 (1H, s, 12-H), 6.38 (1H, d, J=2.0 Hz, 1'-H). ¹³C NMR: as given in Table III.

< 2 3 d のphysical data >

mp 133-135 °C (colorless fine needles from MeOH). $[\alpha]_D^{25} +25^\circ$ (c=0.40, CHCl₃). Anal. Calcd for C₄₄H₆₈O₁₄·3H₂O: C, 60.39; H, 8.52. Found: C, 60.22; H, 8.47. FAB-MS (positive, %): 821[(M+H)⁺, 2], 467[(M-sugars+H)⁺, 100]. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 249 (9300). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3550-3100(br.), 2940, 1727, 1651, 1400, 1044. ¹H NMR (500MHz, pyridine-d₅, δ): 0.78, 1.09, 1.10, 1.18, 1.24, 1.32, 1.41 (all 3H, s), 3.03 (1H, br d, J=13 Hz, 18-H), 3.35 (1H, dd, J=4.2, 11.6 Hz, 3 α -H), 3.61, 3.71, 3.72 (all 3H, s, methoxyl), 4.10 (1H, dd, J=9.0, 9.0 Hz, 3'-H), 4.20 (1H, dd, J=7.7, 9.0 Hz, 2'-H), 4.24 (2H, br. s, 5'-H₂), 4.41, 4.55 (both 1H, ABq, J=9.0 Hz, 4'-H₂), 4.47 (1H, d, J=9.8 Hz, 5'-H), 4.85 (1H, d, J=2.0 Hz, 2'-H), 4.90 (1H, d, J=7.7 Hz, 1'-H), 5.85 (1H, s, 12-H), 6.20 (1H, d, J=2.0 Hz, 1'-H). ¹³C NMR: as given in Table III.

23c および 23d それぞれの NaBH_4 還元とそれに引き続いてのメタノリシス

23c および 23d (それぞれ 4 mg) を別々にメタノール (3 ml) に溶解し、 NaBH_4 (5 mg) をそれぞれ加え、室温 (24 °C) 下 2 時間攪拌した。反応液はそれぞれ Dowex 50W x 8 (H^+ form) で中和し、減圧下溶媒を留去した。それぞれの残渣は 9 % HCl-MeOH (0.5 ml) に溶解し、3 時間加熱還流した。反応液は、冷後、炭酸銀で中和し、無機物をろ過で除き、反応液それぞれを pyridine 溶液 (各 0.5 ml) とし、*N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetoamide (BSTFA) を加えて trimethylsilyl (TMS) 化した。これら生成物それぞれについて、GLC 分析によって共通成分 methyl glucopyranoside の存在を確認したほか、23c からは methyl 2-*O*-methylapiofuranoside、23d からは methyl 3-*O*-methylapiofuranoside の存在を明らかにした。

GLC 分析条件: 2% OV-17 on Chromosorb WAWDMCS (80-100 mesh); 3mm i.d. x 2 m, glass column; column temp. 160 °C; N_2 flow rate 40 ml/min; t_R , methyl 2-*O*-methyl 3,5-di-*O*-trimethylsilylapiofuranoside, 3 min 42 s, 4 min 57 s, methyl 2,3,4,6-tetra-*O*-trimethylsilylglucopyranoside, 7 min 30 s, 11 min 10 sec (from 23c); methyl 3-*O*-methyl 2,5-di-*O*-trimethylsilylapiofuranoside, 4 min 10 s, 5 min 34 s, methyl 2,3,4,6-tetra-*O*-trimethylsilylglucopyranoside, 7 min 30 s, 11 min 10 s (from 23d).

なお、標品の methyl 2-*O*-methylapiofuranoside および methyl 3-*O*-methylapiofuranoside は、methyl *D*-apiofuranoside (α, β mixture) を 3 モル当量の *tert*-butyldimethylsilylchloride で silyl 化して得られた、2 位または 3 位のみが silyl 化されていない disilylether 体それぞれを $\text{CH}_3\text{I}/\text{NaH}$ 条件下メチル化し、その後、それぞれを tetra-*n*-butylammoniumfluoride で脱 silyl 化したもの [^{13}C NMR (125 MHz, pyridine- d_5 , δ_c : 108.9 (C-1), 86.8 (C-2), 75.9 (C-3), 75.0 (C-4), 65.2 (C-5), 58.7 (OCH_3) main signals of methyl 2-*O*-methylapiofuranoside; 111.4 (C-1), 78.2 (C-2), 85.1 (C-3), 71.2 (C-4), 61.9 (C-5), 52.5 (OCH_3) main signals of methyl 3-*O*-methylapiofuranoside] を、TMS 化し GLC 比較標品とした。

1 のジアゾメタンによる異常反応

1 (100 mg) のメタノール溶液 (5 ml) に、過剰のジアゾメタン-エーテル溶液 (通常量の約10倍に相当する約500 ml) を加え、室温下24時間放置した。反応液を減圧下溶媒を留去し、得られた残渣をシリカゲルのカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 -MeOH=8:1, 5 g) で分離精製し、1 a (39 mg, 38 %) とともに 1 c (26 mg, 25 %) および 1 d (30 mg, 29 %) を得た。

< 1 c の physical data >

mp 243-245 °C (colorless fine needles from MeOH). $[\alpha]_D^{25} +40^\circ$ (c=0.60, CHCl_3). Anal. Calcd for $\text{C}_{46}\text{H}_{70}\text{O}_{16} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 60.37; H, 8.15. Found: C, 60.27; H, 8.08. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 249 (11800). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3550-3100(br), 2955, 1724, 1655, 1440, 1030. ^1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , δ): 0.79, 1.10, 1.17, 1.19, 1.27, 1.37, 1.39 (all 3H, s), 3.00 (1H, br d, J =ca. 13 Hz, 18-H), 3.36 (1H, dd, J =4.2, 11.0 Hz, 3 α -H), 3.70, 3.73, 3.79, 3.87 (all 3H, s, methoxyl), 4.10-4.55 (8H, m, sugar protons), 4.97 (1H, d, J =8.0 Hz, 1'-H), 5.66 (1H, d, J =7.8 Hz, 1''-H), 5.86 (1H, s, 12-H). ^{13}C NMR: as given in Table III.

< 1 d の physical data >

mp 238-240 °C (colorless fine needles from MeOH). $[\alpha]_D^{25} +46^\circ$ (c=0.83, CHCl_3). Anal. Calcd for $\text{C}_{46}\text{H}_{70}\text{O}_{16} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 60.37; H, 8.15. Found: C, 60.39; H, 8.10. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 249 (11200). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3500-3100(br), 2940, 1726, 1660, 1440, 1040. ^1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , δ): 0.78, 1.10, 1.13, 1.18, 1.28, 1.31, 1.39 (all 3H, s), 3.01 (1H, br. d, J =ca. 13 Hz, 18-H), 3.35 (1H, dd, J =4.2, 11.0 Hz, 3 α -H), 3.70, 3.72, 3.83, 3.87 (all 3H, s, methoxyl), 4.94 (1H, d, J =7.6 Hz, 1'-H), 5.32 (1H, d, J =7.7 Hz, 1''-H), 5.86 (1H, s, 12-H). ^{13}C NMR: as given in Table III.

1 c および 1 d それぞれの NaBH_4 還元とそれに引き続いてメタノリシス

1 c および 1 d (それぞれ 5 mg) を別々にメタノール (3 ml) に溶かし、 NaBH_4 (8 mg) をそれぞれ加え、室温 (24 °C) 下 2 時間攪拌した。反応液はそれぞれ Dowex 50W x 8 (H^+ form) で中和し、減圧下溶媒を留去した。それぞれの残渣を 9 % HCl - MeOH (0.5 ml) に溶解し、3 時間加熱還流した。反応液は、冷後、炭酸銀で中和し、それぞれ無機物をろ別し、反応液をそれぞれ pyridine-BSTFA 処理し、GLC 分析によって共通成分として methyl glucopyranoside の存在を確認したほか、1 c からは methyl 2-O-methylglucopyranoside が、1 d からは methyl 3-O-methylglucopyranoside が存在していることを明らかにした。

GLC 分析条件: 2% OV-17 on Chromosorb WAWDMCS (80-100 mesh); 3 mm i.d. x 2 m, glass column; column temp. 160 °C; N_2 flow rate 40 ml/min; t_R , methyl 2-O-methyl-3,4,6-tri-O-trimethylsilylglucopyranoside, 9 min 35 s, 14 min 22 s, methyl 2,3,4,6-tetra-O-trimethylsilylglucopyranoside, 7 min 30 s, 11 min 10 s (1 c); methyl 3-O-methyl-2,4,6-tri-O-trimethylsilylglucopyranoside, 10 min 2 s, 14 min 45 s, methyl 2,3,4,6-tetra-O-tri-methylsilylglucopyranoside, 7 min 30 s, 11 min 10 s (1 d).

1 a、1 c および 1 d のアセチル化 (2 4 a、2 4 c および 2 4 d への誘導)

1 a (5 mg) のピリジン溶液 (2 ml) に、氷冷下無水酢酸 (1 ml) を加え、その後室温 (25 °C) で 2 時間放置した。反応液は、常法に従って後処理し、2 4 a (5 mg) を得た。また、1 c (3 mg) および 1 d (3 mg) についてもそれぞれ 1 a 同様にアセチル化を行い、対応するアセテート体 2 4 c (3 mg) および 2 4 d (3 mg) を得た。

< 2 4 a の physical data >

Colorless syrup, $[\alpha]_D^{25} +38^\circ$ ($c=0.20$, CHCl_3). High-resolution SIMS (positive): Calcd for $\text{C}_{55}\text{H}_{78}\text{O}_{21}\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 1097.4933; Found: 1097.4992. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 2945, 1726, 1660, 1625, 1420. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ): 0.81, 0.82, 1.03, 1.12, 1.13, 1.15, 1.36 (all 3H, s), 1.99, 2.00,

2.03, 2.04, 2.11 (all 3H, s, acetyl methyl), 2.82 (1H, d, J =ca. 13 Hz, 18-H), 3.26 (1H, dd, J =4.4, 11.0 Hz, 3α -H), 3.69, 3.71, 3.71 (all 3H, s, OCH₃), 3.85 (1H, dd, J =7.6, 9.2 Hz, 2'-H), 3.99 (1H, d, J =10.1 Hz) and 4.00 (1H, d, J =9.8 Hz) [5'-H, 5''-H], 4.50 (1H, d, J =7.6 Hz, 1'-H), 4.73 (1H, d, J =8.3 Hz, 1''-H), 4.92 (1H, dd, J =8.3, 9.2 Hz, 2''-H), 5.10-5.23 (4H, m, other sugar protons), 5.66 (1H, s, 12-H).

< 2 4 c のphysical data >

Colorless syrup, $[\alpha]_D^{23} +47^\circ$ (c =0.18, CHCl₃). High-resolution SIMS (positive): Calcd for C₅₄H₇₉O₂₀ (M+H)⁺: 1047.5164; Found: 1047.5200. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2940, 1728, 1665, 1620, 1433, 1080. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 0.80, 0.81, 1.02, 1.12, 1.13, 1.15, 1.36 (all 3H, s), 1.99, 2.01, 2.06, 2.07 (all 3H, s, acetyl methyl), 2.84 (1H, d, J =ca. 13 Hz, 18-H), 3.22 (1H, dd, J =4.2, 10.8 Hz, 3α -H), 3.39, 3.69, 3.70, 3.75 (all 3H, s, OCH₃), 3.83 (1H, dd, J =7.6, 9.4 Hz, 2'-H), 3.94 (1H, d, J =9.8 Hz) and 4.04 (1H, d, J =9.8 Hz) [5'-H, 5''-H], 4.53 (1H, d, J =7.6 Hz) and 4.55 (1H, d, J =7.6 Hz) [1'-H, 1''-H], 5.04-5.28 (5H, m, other sugar protons), 5.67 (1H, s, 12-H).

< 2 4 d のphysical data >

Colorless syrup, $[\alpha]_D^{23} +41^\circ$ (c =0.18, CHCl₃). High-resolution SIMS (positive): Calcd for C₅₄H₇₈O₂₀Na (M+Na)⁺: 1069.4984; Found: 1069.5033. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2920, 1728, 1663, 1615, 1430, 1090. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 0.80, 0.82, 1.02, 1.13, 1.14, 1.26, 1.34 (all 3H, s), 2.00, 2.01, 2.04, 2.08 (all 3H, s, acetyl methyl), 2.86 (1H, d, J =ca. 13 Hz, 18-H), 3.24 (1H, dd, J =4.0, 11.0 Hz, 3α -H), 3.47, 3.69, 3.71, 3.72 (all 3H, s, OCH₃), 3.74 (1H, dd, J =7.6, 9.5 Hz, 2'-H), 3.82 (1H, d, J =10.0 Hz) and 3.99 (1H, d, J =9.5 Hz) [5'-H, 5''-H], 4.41 (1H, d, J =7.6 Hz, 1'-H),

4.79 (1H, d, $J=7.9$ Hz, 1'-H), 5.03 (1H, dd, $J=7.9, 9.5$ Hz, 2'-H), 5.11-5.28 (4H, m, other sugar protons), 5.67 (1H, s, 12-H).

なお、24 a, 24 c および 24 d の ^1H NMR アサイメントについては、詳細な decoupling 実験を行い明らかにしている。

第三節の実験

27 のジアゾメタン処理 (27 a への誘導)

27 (30 mg) のメタノール溶液 (3 ml) に、ジアゾメタン-エーテル溶液を氷冷下、黄色が持続するまで加え (約 30 ml)、1 時間静置した後、減圧下溶媒を留去し 27 a (31 mg) を得た。

< 27 a の physical data >

mp 135-136 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +27^\circ$ ($c=0.60$, MeOH). Anal. Calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{66}\text{O}_{14} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 61.26; H, 8.37. Found: C, 61.08; H, 8.35. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 249 (11650). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3500-3200 (br), 2926, 1722, 1641, 1380, 1055. ^1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , δ): 0.79, 1.10, 1.12, 1.18, 1.28, 1.32, 1.41 (all 3H, s), 3.05 (1H, br. d, $J=\text{ca. } 13$ Hz, 18-H), 3.36 (1H, dd, $J=4.4, 10.8$ Hz, 3 α -H), 3.69, 3.72 (both 3H, s, $\text{OCH}_3 \times 2$), 3.74 (1H, dd, $J=1.6, 12.2$ Hz, 5'-H), 4.13 (1H, dd, $J=7.6, 9.0$ Hz, 2'-H), 4.22 (1H, dd, $J=3.4, 8.2$ Hz, 3'-H), 4.26-4.38 (3H, m, 3'-H, 4'-H, 5'-H), 4.44 (1H, dd, $J=3.1, 12.2$ Hz, 5'-H), 4.54 (1H, dd, $J=6.7, 8.2$ Hz, 2'-H), 4.96 (1H, d, $J=7.6$ Hz, 1'-H), 5.16 (1H, d, $J=6.7$ Hz, 1'-H), 5.86 (1H, s, 12-H). ^{13}C NMR: as given in Table III.

27のメタノリシス

27 (3 mg) を9 % HCl-MeOH (1 ml) に溶解し、3時間加熱還流した。反応液は、Dowex 1 x 2 (OH⁻ form) で中和、樹脂をろ別し、そのろ液から、glycyrrhetic acid (4) および methyl glucuronide, methyl arabinoside を TLC [展開溶媒 CHCl₃-MeOH-H₂O=7:3:1 (下層), n-BuOH-AcOEt-H₂O=4:1:5 (上層)] で検出・同定した。

27 a のNaBH₄還元

27 a (25 mg) のメタノール溶液 (5 ml) に、NaBH₄ (15 mg) を加え、室温下2時間攪拌した。反応液は Dowex 50w x 8 (H⁺ form) で中和、樹脂をろ別し、得られたろ液を減圧下溶媒留去し、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー (2 g, CHCl₃: MeOH=5:1) で精製を行い、27 b (14 mg) を得た。

< 27 b の physical data >

mp 174-175 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +65^\circ$ (c=0.40, MeOH). Anal. Calcd for C₄₃H₆₈O₁₃·3H₂O: C, 60.97; H, 8.80. Found: C, 61.00; H, 8.80. UV λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 249 (9300). IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3500-3210 (br), 2940, 1728, 1662, 1387, 1050. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅, δ): 0.79, 1.10, 1.15, 1.20, 1.28, 1.34, 1.42 (all 3H, s), 3.04 (1H, br.d, J=ca. 13 Hz, 18-H), 3.40 (1H, dd, J=4.0, 11.0 Hz, 3 α -H), 3.72 (3H, s, OCH₃), 3.80 (1H, dd, J=2.0, 12.2 Hz, 5'-H), 4.18 (1H, dd, J=7.6, 8.8 Hz, 2''-H), 4.26 (1H, dd, J=3.4, 8.5 Hz, 3''-H), 4.30-4.38 (5H, m, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-H, 4''-H), 4.60 (1H, dd, J=3.5, 12.2 Hz, 5''-H), 4.51 (1H, dd, J=2.2, 12.0 Hz, 6'-H), 4.60 (1H, dd, J=6.7, 8.5 Hz, 2''-H), 4.92 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.20 (1H, d, J=6.7 Hz, 1''-H), 5.89 (1H, s, 12-H). ¹³C NMR (125 MHz, pyridine-d₅, δ_c): 88.7 (C-3), 199.4 (C-11), 128.7 (C-12), 168.8 (C-13), 176.7 (C-30), 51.5 (3O-CH₃), 104.9 (C-1'), 83.7 (C-2''), 78.1 (C-3'), 71.6 (C-4'), 78.5 (C-5'), 62.7 (C-6'), 106.5 (C-1''), 73.6 (C-2'), 74.1 (C-3''), 68.9 (C-4''), 66.8 (C-5'').

27bのメタノリシス

27b (100 mg) を 9 % HCl-MeOH (3 ml) に溶解し、1 時間加熱還流した。反応液は、冷後、Dowex 1 x 2 (OH^- form) で中和、樹脂をろ別し、得られたろ液を減圧下溶媒留去した。粗生成物はシリカゲルのカラムクロマトグラフィーで (5 g、クロロホルム:メタノール=10:1)、methyl glycyrrhetate (45 mg), methyl glucoside (14 mg) および methyl arabinoside (10 mg) を分離精製し、標品と直接同定した。また、methyl glucoside と methyl arabinoside (それぞれ 8 mg) はそれぞれ、3 % H_2SO_4 に溶解させ、2 時間加熱還流し、Amberlite IRA-400 (OH^- form) で中和、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去し、glucose および arabinose を得、その旋光度を測定した。Glucose; $[\alpha]_D^{25} +47^\circ$ ($c=0.50$, H_2O), arabinose; $[\alpha]_D^{25} +97^\circ$ ($c=0.50$, H_2O) [それぞれ、溶解後 24 時間経過したものを測定]。

27bの完全メチル化およびそれに続くメタノリシス

27b (5 mg) の DMSO (0.2 ml) 溶液に、別に調製した dimethylsodium 溶液 (1 ml, NaH 100mg と DMSO 2 ml より調製) を加え、遮光下、室温 (24 $^\circ\text{C}$) 中で 1 時間攪拌後、ヨウ化メチル (1 ml) を加え、さらに 2 時間攪拌した。反応液を、氷水中にあげ、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で酢酸エチル層を洗浄後、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。酢酸エチル層をろ過後、ろ液を減圧下溶媒留去し、粗生成物 (5.1 mg) を得た。粗生成物は、分離することなく、9 % HCl-MeOH (1 ml) に溶解し、3 時間加熱還流した。その反応液は、冷後、炭酸銀で中和し、無機物をろ別し、TLC (benzene:acetone=2:1) および GLC 分析によって、methyl 2,3,4-tri-O-methylarabopyranoside および methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranoside の存在を確認した。

GLC 分析条件: 5% DEGS on Uniport B (80-100 mesh); 3mm i.d. x 2 m, glass column; column temp. 160 $^\circ\text{C}$; N_2 flow rate 40 ml/min; t_R , methyl 2,3,4-tri-O-methylarabopyranoside, 1 min 50 s, methyl 3,4,6-tri-O-methylglucopyranoside, 5 min 30 s, 8 min 10 s.

第四節の実験

甘草含有サポニンの甘味試験

試験するサンプルは、0.5 % (W/V 以下同様) から 5.0 %まで、0.5 %毎の濃度になる様に溶液をそれぞれ調製した。そして、その甘味について、ショ糖 0.01 % 溶液と比較して、同等の甘味を有する溶液を選択させる方法で試験を行った。なお、試験は、12名のパネラーによって行われ、各パネラーが、各サンプルについて4回ずつ試験を行った。そして、上下1名づつを除いた、10名のパネラーの平均を求め、最終的には、ショ糖に対する甘味の倍率として表現した。

第三章の実験

第一節の実験

抽出・分離

中国新疆地区阿克蘇にて、1988年に採集された Glycyrrhiza uralensis FISCHER の乾燥根を細切したもの (3 kg) を、メタノール (10 l) で3回加熱還流抽出を行った。得られたメタノール抽出液を合し、減圧下溶媒を留去してメタノール抽出エキスを (484 g, 16 %) を得た。メタノール抽出エキスを (273 g) を、酢酸エチル-水 (1:1, 3 l) で分配し、得られた水移行部を 40 °C 以下で減圧下水を留去して、水移行部エキスを (207 g) を得た。得られた水移行部エキスを (100 g) を、逆相のシリカゲルカラムクロマトグラフィー (800 g, 水-メタノール 7:1→1:3 グラディエント溶出, Fuji gel RQ-3 75A, 30/50 μ) に付し、以下の4つの分画を得てそれぞれ減圧下溶媒を留去した。：フラクション1 (主として糖分画、水-メタノール 7:1→5:1, 35 g), フラクション2 (糖類およびフラボノイド配糖体分画、水-メタノール 5:1→3:1, 30 g), フラクション3 (主としてサポニン分画、水-メタノール 2:1→1:2, 23 g) および最終溶出分画 (水-メタノール 1:2→1:3, 8 g)。

フラクション3 (23 g) は、順相シリカゲルカラムグラフィー (シリカゲル 350 g, クロロホルム-メタノール-水 10:3:1→6:4:1 グラディエント溶出) ついで分取高速液体クロマトグラフィー (Shim PACK Prep ODS 20 mm x 25 cm, アセトニトリル-1 % 酢酸 65:35) で分離精製し、glycyrrhizin (1), 18 α -glycyrrhizin (29), licorice-saponin A3 (2), licorice-saponin E2 (14), licorice-saponin G2, (17) licorice-saponin H2 (19), apioglycyrrhizin (23), araboglycyrrhizin (27) および licorice-saponin L3 (28) を G. uralensis 乾燥根からそれぞれ、1.12, 0.02, 0.10, 0.07, 0.10, 0.21, 0.01, 0.06, および 0.03 % の換算収率で単離した。

<Licorice-saponin L3(28)のphysical data>

mp 233-234 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +3.7^\circ$ (c=0.3, MeOH). High resolution FAB-MS: Found 1007.4840, Calcd for $C_{42}H_{64}O_{16}Na$ [(M+Na)⁺] 1007.4828. FAB-MS m/z (positive): 1007 [(M+Na)⁺], (+LiCl) 993 [(M+Li)⁺]; (negative): 983 [(M-H)⁻], 837 (xiii), 705(xiv), 529 (xv). IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3650-3100(br), 2912, 1704(br), 1658, 1622, 1382, 1048. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅+D₂O, δ) 0.92, 0.93, 0.99, 1.32, 1.33, 1.44 (all 3H, s), 1.74 (3H, d, J=6.1 Hz, rhamnose methyl), 2.02 (3H, s, acetyl methyl), 3.42 (1H, dd, J=3.6, 12.0 Hz, 3 α -H), 4.95 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.52 (1H, d, J=7.3 Hz, 1''-H), 5.54 (1H, br. s, 12-H), 6.15 (1H, br.s, 1'''-H). ¹³C NMR: as given in Table V.

第二節の実験

28のメタノリシス

28 (40 mg)を、9 % HCl-MeOH(4 ml)に溶解し、Amberlite IRA-400 (OH⁻ form)で中和した後、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去した。残渣の一部(約1 mg)をピリジン(0.1 mg)に溶解し、bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (0.1 mg)を加えて、TMS誘導体とし、以下に示したGLC条件で methyl glucuronide, methyl arabinoside, methyl rhamnosideの存在を検出同定した。

GLC 条件 1a) 3 % SE-30 on Uniport B (80-100 mesh):3 mm (i.d.) x 1 m, glass column, N₂ flow rate 35 ml/min, column temp. 120 °C; t_R: methyl arabinoside 17 min 12 s, methyl rhamnoside 20 min 48 s (この温度条件では、methyl glucuronide は retention timeが遅くかつ broadなピークとなり、retention time とピーク面積の計測が不正確となってしまう)、1b) 1a)と同じ column で同じ流速であるが column temp. が160 °C; t_R: methyl glucuronide 7 min 0 s, 15 min 7 s. (この条件では、methyl arabinoside と methyl rhamnoside は分離せず 3 min 32 sec にピークが出る、なお 1a)での methyl ara-

binoside と methyl rhamnoside のピーク面積比は 1:1であり、1b)の methyl arabinoside, methyl rhamnoside のピークの和と methyl glucuronide のピークの面積比は 2:1 であるので、構成糖 3種の比は 1:1:1 と判明した。

また、得られた残渣の残り (40 mg)を、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー [Bondapak C18(Waters) 5 g, H₂O-MeOH 2:3] で精製し、30 (11 mg)およびメチル化糖混合分画 (20 mg)を得た。

< 30のphysical data>

mp 269-270 °C (colorless fine prisms from MeOH). $[\alpha]_D^{25} +20.4^\circ$ (c=0.20, MeOH). High-resolution EI-MS: Found 470.3402, Calcd for C₃₀H₄₆O₄ (M⁺) 470.1396; Found 246.1629, Calcd for C₁₆H₂₂O₂ (xvii) 246.1619; Found 224.1783, Calcd for C₁₄H₂₄O₂ (xiv) 224.1777. EI-MS m/z (%): 470 (M⁺, 4.1), 246 (xvii, 100), 224 (xiv, 11.9). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3432, 2932, 2858, 1740, 1658, 1460, 1381, 1083, 1038. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅+D₂O, δ) 0.90, 0.93, 1.26 (all 3H, s), 1.17 (6H, s), 3.45 (1H, br. d, J=ca. 12 Hz, 3 α -H), 4.18 (1H, d, J=5.8 Hz, 22 α -H), 4.19, 4.23 (1H both, ABq, J=8.8 Hz, 24-H₂), 5.31 (1H, dd, J=3.7, 3.7 Hz, 12-H). ¹³C NMR: as given in Table V.

メチル化糖混合分画については、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー [シリカゲル 3.5 g, クロロホルム:メタノール:水 7:3:1の下層]で分離精製し、methyl glucuronide (4.4 mg), methyl arabinoside (3.3 mg)および methyl rhamnoside (3.8 mg) を単離した。methyl arabinoside (3.3 mg)および methyl rhamnoside (3.8 mg)は、それぞれ 3% HCl (0.5 ml)に溶解し、2時間加熱還流し、Amberlite IRA-2 で中和、樹脂をろ別し、減圧下溶媒を留去し、arabinose (2.2 mg)および rhamnose (2.6 mg)を得、その旋光度を測定した。arabinose $[\alpha]_D^{24} +58^\circ$ (c=0.22, H₂O), rhamnose $[\alpha]_D^{24} +9.0^\circ$ (c=0.26, H₂O) [それぞれ溶解後24時間経ったものを測定]。また、methyl glucuronide (4.4 mg)は、MeOH (1 ml)に溶解し、NaBH₄ (2 mg)を加え、室温 (24 °C)で1時間攪拌

した。反応液は常法に従い処理し、その後上記同様に酸加水分解し、glucose (1.9 mg)を得、その旋光度を測定した。 $[\alpha]_D^{25} +42^\circ$ ($c=0.19$, H_2O , 溶解後24時間経ったものを測定)。

30のアセトニド化

30 (3 mg)を 2,2-dimethoxypropane (1 ml) に溶解し、パラトルエンスルホン酸・1水和物 (2 mg)を加えて、室温 (23 $^\circ C$) 下、20分攪拌した。反応液は、氷水 (30 ml) にあけ、酢酸エチル (15 ml x2) で抽出し、酢酸エチル層を、飽和食塩水で洗浄 (10 ml x 2) 後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、無機物をろ別し、溶媒を減圧下留去し、30 a (2 mg)を得た。

< 30 a の physical data >

mp 162-163 $^\circ C$ (colorless fine prisms from MeOH). $[\alpha]_D^{25} +16.2^\circ$ ($c=0.20$, $CHCl_3$). High resolution EI-MS: Found 495.3464, Calcd for $C_{32}H_{47}O_4$ (xviii) 495.3471; Found 264.2089, Calcd for $C_{17}H_{28}O_2$ (xix) 264.2089; Found 246.1778, Calcd for $C_{14}H_{24}O_2$ (xvii) 246.1777. EI-MS m/z (%): 495 (xviii, 10.1), 264 (xix, 11.0), 246 (xvii, 100). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 2930, 2855, 1763, 1720, 1601, 1460, 1375, 1090, 1008. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, δ) 0.87, 0.88, 0.89, 1.16, 1.21, 1.37 (all 3H, s), 1.39, 1.44 (both 3H, s, acetonide methyls), 3.46 (1H, dd, $J=4.0, 11.9$ Hz, $3\alpha-H$), 4.17 (1H, d, $J=5.8$ Hz, $22\alpha-H$), 4.04, 4.22 (1H both, ABq, $J=9.1$ Hz, $24-H_2$), 5.34 (1H, t-like, $J=3.7$ Hz, $12-H$).

30のModified Horeau 法

30 (2.5 mg, 4 μmol) のピリジン溶液 (50 μl) に、dl-phenylbutyric anhydride (6.1 mg, 20 μmol) を加え、窒素雰囲気下、45 $^\circ C$ で、4時間静置した。反応液を、室温まで放冷したのち、(+)-R-phenylethylamine (3 μl) を加え、また、

窒素雰囲気下、45℃で15分静置した。再び反応液を室温に放冷し、EtOAc (0.5 ml)に溶解し、GLC試料とした。また、基準物質として、cyclohexanol (rac.)について、同様の反応を行った。

GLC条件: FS-WSCOT silicone OV-101 capillary column : 0.25 mm(i.d.) x 50 m (Gasukuro kougyou), N₂ flow rate 35 ml/min with split method, split rate 45:1, column temp. 180 °C; injection temp 200 °C, t_R: 22 min 18 s (amide from R-acid), 26 min 6 s (amide from S-acid). なお、P値は R-acidより生成したアミドの面積/S-acidより生成したアミドの面積 で定義され、30のP値は 1.2232、cyclohexanolのP値は 1.0733 (それぞれ5回の測定による平均値) となった。すなわち、30における R-acid由来のアミドの増加率は +7.0 %となり、30では S-acidが多く消費されたことが判明したので、30における2級水酸基(3位)の絶対立体配置はSと決定した。

28のジアゾメタンによるメチル化 (28aの生成)

28 (18 mg)のメタノール溶液(2 ml)に、ジアゾメタン-エーテル溶液(ca. 10 ml)を黄色が持続するまで加え、室温(23 °C)下、1時間放置した。反応液を減圧下溶媒留去し、得られた残渣(18 mg)を、シリカゲルのカラムクロマトグラフィー(1g, CHCl₃-MeOH-H₂O=7:3:1)で分離精製し、28a (7 mg)を得た。

<28aのphysical data>

mp 199-200 °C (colorless fine prisms from MeOH), $[\alpha]_D^{25} +1.2^\circ$ (c=0.3, MeOH). High-resolution SIMS: Found 1035.5087, Calcd for C₅₁H₈₀O₂₀Na [(M+Na)⁺] 1035.5140. High-resolution FAB-MS: Found 1035.5200, Calcd for C₅₁H₈₀O₂₀Na [(M+Na)⁺] 1035.5140. FAB-MS m/z (positive): 1035 [(M+Na)⁺], (+LiCl) 1019 [(M+Li)⁺]; (negative): 997 [(M-H)⁻]. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3600-3250, 2929, 1729, 1680, 1386, 1255, 1051. ¹H NMR (500 MHz, pyridine-d₅+D₂O, δ) 0.74, 0.91, 0.91, 1.13, 1.27, 1.42 (all 3H, s), 1.70 (3H, d, J=6.5 Hz, rhamnosyl methyl), 2.03 (3H, s, acetyl methyl), 3.38 (1H, dd, J=

3.4, 11.6 Hz, 3 α -H), 3.70, 3.74 (each 3H, both s, OCH₃), 4.92 (1H, d, J=7.6 Hz, 1'-H), 5.45 (1H, br. s, 12-H), 5.52 (1H, d, J=7.2 Hz, 1"-H), 6.15 (1H, br. s, 1'''-H).

28aの完全メチル化およびそれに続くメタノリシス

28a (8 mg) の DMSO (0.5ml) 溶液に、別に調製した dimethylsodium 溶液 (1 ml, NaH 100 mg と DMSO 2 ml より調製) を加え、遮光下、室温 (24 °C) 中で2時間攪拌し、ヨウ化メチル (1ml) を加え、さらに10時間攪拌した。反応液を、氷水中にあげ、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で酢酸エチル層を洗浄後、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。酢酸エチル層の無機物をろ別後、ろ液を減圧下溶媒留去し、粗生成物 (4.8 mg) を得た。粗生成物は、分離することなく、9 % HCl-MeOH (0.5 ml) に溶解し、3時間加熱還流した。その反応液は、冷後、炭酸銀で中和し、ろ過後、TLC (benzene:acetone=2:1) および GLC 分析によって、methyl 2,3,4-tri-O-methylrhamnopyranoside, methyl 3,4,5,6-tetra-O-methylglucuronopyranoside および methyl 2,3-di-O-methylarabinopyranoside の存在を確認した。

GLC分析条件 i): 3 % PEGS (polyethylene glycol succinate) on Uniport B (80-100 mesh); 3 mm (i.d.) x 2 m, glass column; column temp. 170 °C; N₂ flow rate 35 ml/min; t_R, methyl 2,3,4-tri-O-methylrhamnopyranoside, 11 min 24 s, 12 min 42 s, methyl 3,4,5,6-tetra-O-methylglucuronopyranoside, 35 min 36 s, methyl 2,3-di-O-methylarabinopyranoside; 30 min 6 s, 35 min 36 s. ii): 15% DEGS (diethyleneglycol succinate) on Uniport B (80-100 mesh); 3 mm (i.d.) x 2 m, glass column; column temp. 170 °C; N₂ flow rate 35 ml/min; t_R, methyl 2,3,4-tri-O-methylrhamnopyranoside, 8 min 54 s, 10 min 6 s, methyl 3,4,5,6-tetra-O-methylglucuronopyranoside, 26 min 18 s, methyl 2,3-di-O-methylarabinopyranoside; 22 min 54 s, 28 min 18 s.

第四章の実験

抽出・分離

中国新疆地区阿克蘇にて、1988年に採集された Glycyrrhiza glabra L. の乾燥根を細切したもの (0.9 kg) を、メタノール (1.5 l) で3回加熱還流抽出を行った。得られたメタノール抽出液を合し、減圧下溶媒を留去してメタノール抽出エキス (155 g, 17 %) を得た。メタノール抽出エキス (100 g) を、酢酸エチルー水 (1:1, 1 l) で分配し、得られた水移行部を40 °C以下で減圧下水を留去して、水移行部エキス (67 g) を得た。得られた水移行部エキス (45 g) を、逆相のシリカゲルカラムクロマトグラフィー (600 g, 水-メタノール 7:1→1:3 グラディエント溶出, Fuji gel RQ-3 75A, 30/50 μ) に付し、以下の4つの分画を得てそれぞれ減圧下溶媒を留去した。：フラクション1 (主として糖分画、水-メタノール 7:1→5:1, 15 g), フラクション2 (糖類およびフラボノイド配糖体分画、水-メタノール 5:1→3:1, 13 g), フラクション3 (主としてサポニン分画、水-メタノール 2:1→1:2, 16 g) および最終溶出分画 (水-メタノール 1:2→1:3, 2 g)。

フラクション3 (16 g) は、順相シリカゲルカラムグラフィー (シリカゲル 300 g, クロロホルム-メタノール-水 10:3:1→6:4:1 グラディエント溶出) ついで分取高速液体クロマトグラフィー (Shim PACK Prep ODS 20 mm x 25 cm, アセトニトリル-1 % 酢酸 65:35) で分離精製し、glycyrrhizin (1), licorice-saponin A3 (2), licorice-saponin C2 (7), licorice-saponin E2 (14), licorice-saponin G2, (17) licorice-saponin H2 (19), apioglycyrrhizin (23) および araboglycyrrhizin (27) を G. glabra 乾燥根からそれぞれ、1.56, 0.04, 0.006, 0.007, 0.089, 0.231, 0.017 および 0.020 % の換算収率で単離した。

第五章の実験

第一節の実験

市販 glycyrrhizin の HPLC による分析

市販品の glycyrrhizin 4種類（いずれも恒量となったもの）について、正確に 10 mg を秤量し、下記 HPLC移動層で 10 ml にメスアップした。また、純品の glycyrrhizin は、下記 HPLC条件に準じ[カラムを同じ担体でセミ分取カラムである、YMC-pack A-323、10 mm (i.d.) x 250 mm (L), 流速を 1.5 ml/min に変更]、市販品のうちの glycyrrhizin 相当部分を分取し、下記分析条件で単一ピークとなったものを作製し、同様に恒量となるまで、減圧乾燥した後 10 mg を精秤し、移動層 10 ml にメスアップし、純品の試料溶液とした。

各試料溶液の、5 μ l を HPLC に注入し、純品に対するのピーク面積比を求め、含量とした。なお、各試料および純品の測定は、7 回測定し、最大値と最小値を除いた 5 回の平均値であり、また、各試料 5 μ l に、純品試料溶液 1 μ l を添加して測定した添加回収実験での回収率は、いずれも 99.5~100.5 % の範囲となった。

装置および測定条件

装置：島津製作所製 高速液体クロマトグラフ LC-6A アイソラクティクシステム（システムコントローラ付属）、なお注入には、オートサンプラー SIL-6A（注入シリンジ容積 10 μ l）を使用した。

検出器：島津製作所製 高速液体クロマト用可視紫外検出器 SPD-6A

検出波長：254 nm

カラム：YMC-pack A-312 6 mm (i.d.) x 150 mm (L)

流速：1 ml/min

カラム温度：30 $^{\circ}$ C（カラムオープン CT0-6A 使用）

なお、夾雑サポニン成分の同定は、標品のコクロマトグラフィーにより行った。

第二節の実験

分析対象試料

中国産で種の同定されている各種甘草（4種類）

- 1) 東北地区産 G. uralensis
- 2) 新疆産（採集地：庫爾勒）G. inflata
- 3) 新疆産（採集地：阿克蘇）G. glabra
- 4) 新疆産（採集地：阿克蘇）G. uralensis

大阪市場品の各種甘草（7種類、入手はすべて栃本天海堂より）

東北甘草（2種）、西北甘草（2種）、新疆甘草、アフガニスタン甘草
ロシア甘草

試料調製法

各甘草を粉末にし、5 gを精秤し、90 %含水メタノール(50 ml)で1時間加熱抽出し、放冷後ろ過した。抽出した甘草の残渣は同様に更に2回抽出を行い、全ろ液を合わせて減圧下溶媒を留去して、残留物を50 %含水エタノール(50 ml)に定溶した。そのうち、10 mlを正確に量り、減圧下溶媒を留去し、残留物を酢酸エチルと水（各 20ml）で分配後、遠心分離し、分離した水層を減圧下溶媒留去後、50 %含水エタノール 50 mlに定溶し、メンブランフィルター(0.45 μ m)でろ過し、その 5 μ lをHPLC試料とした。（検出波長：254 nm）

分析条件

装置：島津製作所製 高速液体クロマトグラフ LC-6A, 2ポンプ高圧
グラディエントシステム または 日本分光高速液体クロマトグラフ
TRIROTAR VI 低圧グラディエントシステム

検出器：前者の場合は島津製作所 紫外可視検出器 SPD-6A、
後者の場合は日本分光 紫外可視検出器 UVIDEC 100-VI
(いずれも検出波長は 254 nm、島津クロマトパック C-R6Aを使用した)

カラム：YMC製 YMC-pack AQ-312 [ODS, 6 mm (i.d.) x 150 mm (L)]
いずれもカラムオープンを用い、40 °Cとした。

移動層：1 % aq. AcOH - CH₃CN (80:20) → 5 min (80:20) → 50 min (20:80)

流速：1.0 ml/min

なお、検知対象成分については、各種甘草から単離構造決定または同定したものを
を用い、含量については、ピーク面積について、標品との絶対検量線法で算出
した。また、各ピークの同定は、標品のコクロマトグラフィーにより行った。

引用文献および注

- 1) a) 柴田承二, 現代東洋医学, 2(1), 46 (1981);
b) 北川 勲, 堀 一之, 現代東洋医学, 14(1), 80 (1993).
- 2) T. Saito, S. Shibata, U. Sankawa, T. Furuya, and S. Ayabe, Tetrahedron Lett., 1975, 4463.
- 3) 柴田承二, 斎藤 保, "代謝" 10巻 (増刊号: 和漢薬), 中山書店, 東京, 1973, p 157.
- 4) 北川 勲, 薬学雑誌, 112, 1(1992).
- 5) "中薬誌", 第2版, 人民衛生出版社, 北京, 1979, p 385.
- 6) I. Kitagawa, K. Hori, T. Taniyama, J.-L. Zhou, and M. Yoshikawa, Chem. Pharm. Bull., 41, 43 (1993),
- 7) I. Kitagawa, K. Hori, M. Sakagami, J.-L. Zhou, and M. Yoshikawa, Chem. Pharm. Bull., 41, 1337 (1993).
- 8) I. Kitagawa, K. Hori, M. Sakagami, F. Hashiuchi, M. Yoshikawa, and J. Ren, Chem. Pharm. Bull., 41, 1350 (1993).
- 9) K. Tubone, S. Ohnishi, and T. Yoneya, J. Chromatogr., 248, 469 (1982).
- 10) I. Kitagawa, K. Hori, E. Uchida, W.-Z. Chen, M. Yoshikawa, and J. Ren, Chem. Pharm. Bull., 41, 1567 (1993).
- 11) a) 北川 勲, 堀 一之, 陳 偉衆, 谷山登志男, 吉川雅之, 第20回生薬分析討論会, 大阪, 1991, 講演要旨集, p 1;
b) 北川 勲, 陳 偉衆, 川西聡政, 堀 一之, 谷山登志男 日本薬学会第113年会, 大阪, 1993, 講演要旨集2, p 222;
c) I. Kitagawa, K. Hori, W.-Z. Chen, and T. Taniyama, to be published.

- 12) 東北地区産 G. uralensis FISCHER の入手にあたっては、瀋陽薬学院 崔 征博士にご尽力いただいた。
- 13) Licorice-saponin A3については、広島大学 田中 治先生らのグループによる別法の合成例がある; Y. Sasaki, K. Mizutani, R. Kasai, and O. Tanaka, Chem. Pharm. Bull., 36, 3491 (1988).
- 14) L. Cannonica, G. Russo, and E. Bombardelli, Gazz. Chim. Ital., 96, 833 (1966).
- 15) M. Yoshikawa, N. Murakami, T. Taniyama, Y. Hamamoto, T. Nakae, and I. Kitagawa, Tetrahedron Lett., 28, 2029 (1987).
- 16) 岡田憲三. 日本公開特許, 昭和60-38392 (1985).
- 17) Y. Ohba and I. Kitagawa, to be published.
- 18) L. Cannonica, B. Danieli, G. Russo, and A. Bonati, Gazz. Chim. Ital., 97, 769 (1967).
- 19) 田中 治, 薬学雑誌, 105, 323 (1985).
- 20) L. Cannonica, B. Danietti, P. Manitto, G. Russo, E. Bombartelli, and A. Bonati, Gazz. Chim. Ital., 97, 712 (1967).
- 21) S. Hakomori, J. Biochem., (Tokyo), 55, 205 (1964).
- 22) 北川 勲, 谷山登志男, 洪 文旺, 堀 一之, 吉川雅之, 薬学雑誌, 108, 538 (1988).
- 23) L. Cannonica, G. Russo, and E. Bombardelli, Gazz. Chim. Ital., 96, 772 (1966).
- 24) G.inflata BATALINは、中国新疆地区庫爾勒で1986年に採集されたもので、中国科学院新疆土壤沙漠研究所 徐 国鈞博士によって鑑定されたもので

ある。なお、新疆産の甘草の入手にあたっては中国科学院新疆化学研究所 任 家礼教授にご尽力いただいた。

- 25) M. Kanaoka, S. Yano, H. Kato, and T. Nakada, Chem. Pharm. Bull., 34, 4978 (1986).
- 26) W. Klyne, Biochem. J., 47, xii (1950).
- 27) S. J. Angyal, C. L. Bodkin, J. A. Mills, and P. M. Pojar, Aust. J. Chem., 30, 1259 (1977).
- 28) M. Aritomi and T. Kawasaki, Chem. Pharm. Bull., 18, 677 (1970).
- 29) 岡田憲三. 日本公開特許, 昭和59-14478 (1984).
- 30) G. uralensis FISCHERは、中国新疆地区阿克蘇で1988年に採集されたもので、中国科学院新疆化学研究所 劉 銘庭博士によって鑑定されたものである。
- 31) a) K. Bock and C. Pedersen, J. Chem. Soc. Perkin Trans 1, 1974, 293;
b) P. K. Agrawal and M. C. Bansal, "Carbon-13 NMR of Flavonoids," edited by P. K. Agrawal, Elsevier, Amsterdam-New York, 1989, pp 285-288.
- 32) I. Kitagawa, H. K. Wang, T. Taniyama, and M. Yoshikawa, Chem. Pharm. Bull., 36, 153 (1988).
- 33) a) C. J. Brooks and J. D. Gilbert, J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1973, 174;
b) A. Horeau, Tetrahedron Lett., 1961, 506;
c) Idem. ibid., 1962, 965.
- 34) A. Gaudemer, J. Polonsky, and E. Wenkert, Bull. Soc. Chim. France, 1964, 407.
- 35) G. glabra L.は、中国新疆地区阿克蘇で1988年に採集されたもので、中国科学院新疆化学研究所 劉 銘庭博士によって鑑定されたものである。

