

博士學位論文

柑橘類果皮中の生理活性物質の構造と
それらの生理活性

平成3年1月

近畿大学大学院
工学研究科応用化学専攻

澤 邊 昭 義

目 次

	頁
緒 言	1
第一章 摘果温州みかん果皮中のフラボノイド 配糖体の構造と血圧降下作用	2
序 説	2
文 献	13
第二章 8種 [レモン, 温州みかん, キンカン, スダチ, ユズ, ハッサク ザボンおよびオレンジ] の柑橘類果皮中のフェニルプロパノイド 配糖体の構造と生理活性	15
序 説	15
文 献	29
第三章 6種 [レモン, 温州みかん, 摘果温州みかん, ユズ, ハッサク およびオレンジ] の柑橘類果皮中のテルペノイドおよびテルペ ノイド配糖体の構造	31
序 説	31
第一節 温州みかん果皮中のテルペノイド	31
第二節 レモン果皮中のステロイド	36
第三節 5種 [温州みかん, 摘果温州みかん, ユズ, ハッサクおよび オレンジ] の柑橘類果皮中のテルペノイド配糖体	40
文 献	49
第四章 レモンおよび温州みかん果皮中のリモノイド配糖体の構造	51
序 説	51
文 献	61
結 び	63
謝 辞	

緒 言

従来、柑橘類果皮は一部がそのままあるいは加工のうえ食品として、また果皮の成分中の極く一部を占める精油が食品香料、香粧料あるいは医薬、農薬および化学製品の合成原料として利用されているが、そのほとんどが廃棄物として扱われており、有機化学資源として貴重な柑橘類果皮の高度利用法を確立することは極めて重要な課題である。著者はこのような点に着眼し、柑橘類果皮のより高度な利用開発を目的に柑橘類果皮中の生理活性物質の検索を試みた。

さきに松原らはレモン、温州みかん、キンカン、スダチ、ユズ、ハッサク、ザボン、グレープフルーツおよびオレンジなど9種の柑橘類果皮中から19種の新規化合物を含む44種のフラボノイド配糖体の分離に成功し、それらの内の多数の成分に強い血圧降下作用を有することを見出し、それらが上記柑橘類果皮中の血圧降下作用物質の主要な成分の一部であることを明確にした。

今回、著者は引き続き摘果（未熟）温州みかん果皮中のフラボノイド配糖体について検討し、3種の新規化合物を含む11種の成分を分離し、それらの構造と血圧降下作用について検討した。また、8種の柑橘類果皮中の構造上から生理活性に対する知見が期待されるフェニルプロパノイド配糖体について検討し、4種の新規化合物を含む7種の成分を分離し、生理活性について極めて興味ある知見を得た。さらに6種の柑橘類果皮中のテルペノイドおよびテルペノイド配糖体について検討し、テルペノイドとして7種、テルペノイド配糖体として6種の成分を分離し、それらの構造を明確にした。また、柑橘類果皮中のテルペノイド配糖体と併行して、レモンおよび温州みかん果皮中のリモノイド配糖体についても検討を進め、2種の成分の分離に成功した。

本論文はこれらの研究を総括したものであって、以下これらを四章に分けて詳述する。

第一章 摘果温州みかん (Young *Citrus unshiu* MARCOV.) 果皮中のフラボノイド配糖体の構造と血圧降下作用

序 説

さきに松原らは、温州みかん (*Citrus unshiu* MARCOV.) 果皮中のフラボノイド配糖体の構造と血圧降下作用について検討し^{1) 2)}、リモシトリン3-β-D-グルコシド [1]、リモシトリン3-α-L-ラムノシド [2]、3,6-ジ-C-グルコシルアピゲニン [3]、ナリルチン [4]、ルチン [5]、ナルシシン [6]、ヘスペリジン [7]、3-ヒドロキシ-5,6,7,8,3',4'-ヘキサメトキシフラボン3-β-D-グルコシド [8]、リモシトリン3-O-[5-α-グルコシル-3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル(1→2)]-β-グルコシド [9] およびナリルチン4'-グルコシド [10] の10種の成分の分離に成功し、それらの構造を明確にした (図1)。また、各成分の血圧降下作用について検討し、[3]、[5]、[8] および [10] に強い血圧降下作用を示すことを見出した。

著者は温州みかん成熟果皮と未熟 (摘果) 果皮中のフラボノイド配糖体の差異を検討する目的で本研究を行った。

結果および考察

摘果温州みかん果皮 (11kg) を従来法¹⁾ に従い熱水抽出し抽出物 (426 g) を得た。ついでヘキサン、*n*-ブタノールで順次抽出して得た *n*-ブタノール抽出物 (151 g) に塩基性酢酸鉛の飽和水溶液を添加し、選択的にフラボノイド類を沈殿させ濾別した。この沈殿物を炭酸ナトリウムの飽和水溶液に溶解し、生成する炭酸鉛を除去したのち、溶液をpH 5.3に調整し、再び *n*-ブタノールで抽出して粗画分 (53 g) を得た (図2)。ついでTSKゲルHW-40Fを用いたゲル濾過ならびにシリカゲルカラムクロマトグラフィーを反復して、11種の成分を分離した。

温州みかん成熟果皮^{1) 2)} と未熟 (摘果) 果皮中のフラボノイド配糖体の収量は表Iに掲げた。各成分のUVおよび¹H-NMRスペクトルは、それぞれ表II、IIIおよびIVに掲げた。

[1]、[4]、[5]、[6]、[7] および [8] のUVおよび¹H-NMRスペクトルは、さきに松原らが温州みかん果皮中^{1) 2)} から分離した標品のそれらと一致した。

[11] は最も強い血圧降下作用を示し、さきに松原らがレモン果皮中²⁾ から分離した標品の

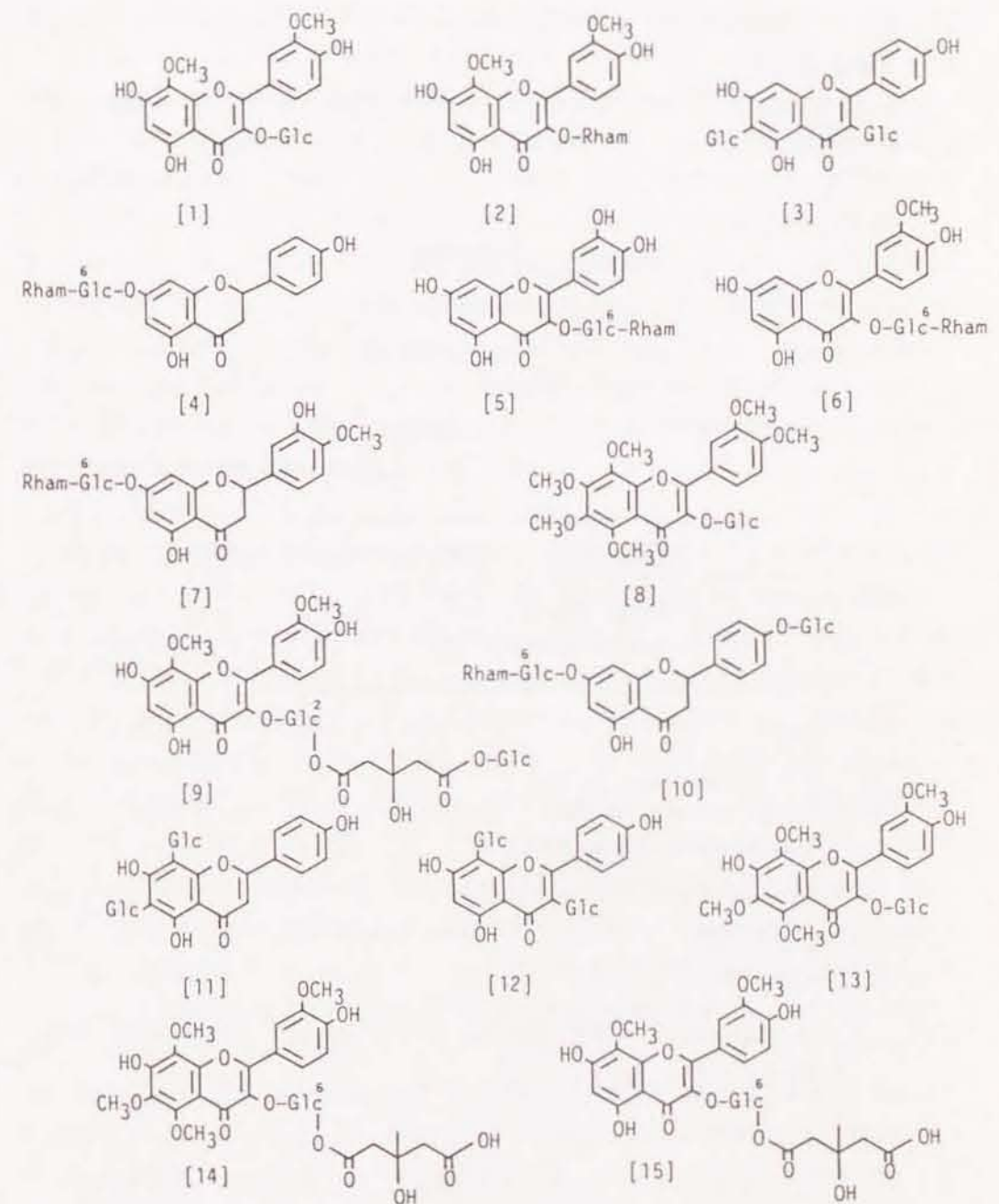


Fig. 1 Structures of Isolated Flavonoid Glycosides

UVおよび¹H-NMRスペクトルと一致したことから 6,8-ジ-C-グルコシルアピゲニンであることを確認した。

[12] はさきに松原らが、スタチ果皮中¹¹⁾から分離した標品のUVおよび¹H-NMRスペクトルと一致したことから 3,8-ジ-C-グルコシルアピゲニンであることを確認した。

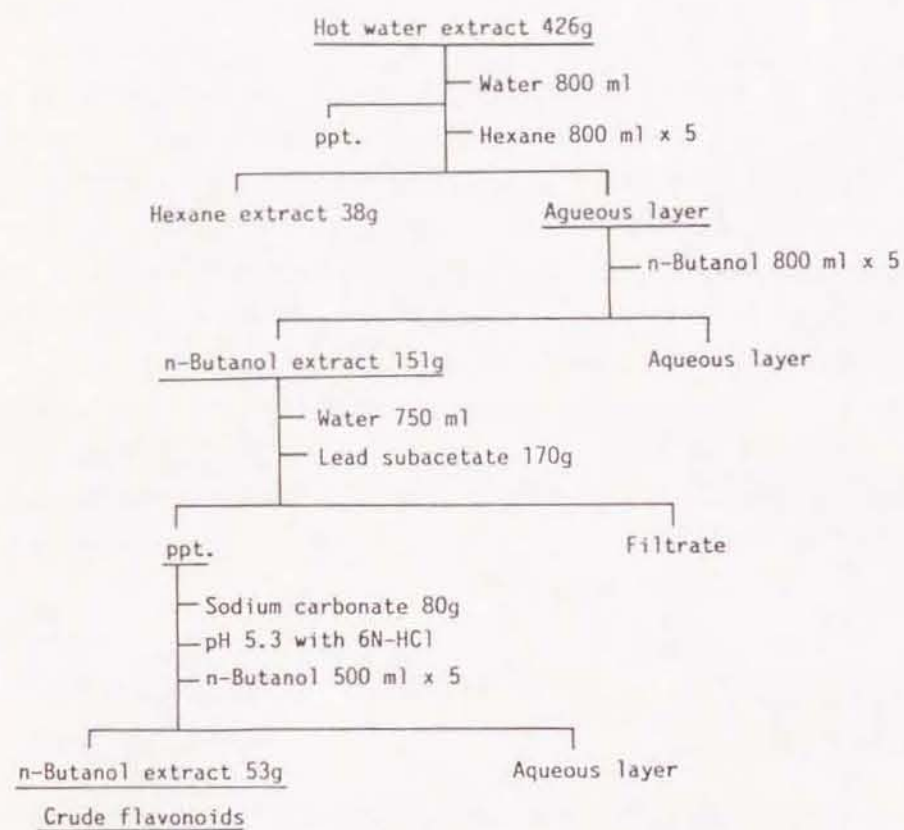


Fig. 2 Preparation of Crude Flavonoids from the Hot Water Extract.

[13] は 180~200°Cで分解する黄色針状結晶で、そのFAB-MSスペクトルには m/z 391 [aglycone+H]⁺、 m/z 553 [M+H]⁺ および m/z 575 [M+Na]⁺ に基づくイオンピークが認められ、552の分子量を有することが判明し、またHR-FAB/MSスペクトルからC₂₅H₂₈O₁₄の組成を有することが判明した。[13]のエタノール中のUVスペクトルには 261、279、355nmに極大吸収を示し、酢酸ナトリウムおよび塩化アルミニウムを添加したエタノール中ではシフトしないことから3-ヒドロキシ-4-オキソ、5-ヒドロキシ-4-オキソあるいはO-ジヒドロキシのようなシステム¹²⁾が存在しないことが示唆された。また、¹H-NMRスペクトルには δ 7.98 (H_{2'}, $J=2$ Hz)、7.70 (H_{6'}, $J=2.8$ Hz) および 6.93 (H_{5'}, $J=8$ Hz) にABXタイプの芳香環プロトン、 δ 3.83、3.87、3.91 および 4.04ppmに4個のメトキシ基および δ 5.46ppm ($J=7$ Hz) に β -グルコースのアノメリックプロトンが観測された。さらに[13]の糖分析の結果、D-グルコース ([α]_D²⁰+42.2, c=0.1, H₂O) が、そのアセチル誘導体から認められた。したがって、[13]は3,7,4'-トリヒドロキシ-5,6,8,3'-テトラメトキシフラボン3- β -D-グルコシドと決定した。

[14] は 176~186°Cで分解する黄色針状結晶で、そのFAB-MSスペクトルには m/z 697 [M+H]⁺ および m/z 719 [M+Na]⁺ に基づくイオンピークが認められ、696の分子量を有することが判明し、またHR-FAB/MSスペクトルからC₂₅H₂₈O₁₄の組成を有することが判明した。[14]のエタノール中のUVスペクトルには 261、278、351nmに極大吸収を示し、酢酸ナトリウムを添加したエタノール中では第II吸収帯(240~285nm)が11nm長波長側にシフトした。しかし、塩化アルミニウムを添加したエタノール中では第I吸収帯(300~400nm)が19nmしか長波長側にシフトしないことからC₆位には水酸基がなく、C₇位に水酸基の存在が示唆された¹³⁾。[14]の¹H-NMRスペクトルには δ 1.00および2.18~2.33ppmに3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸のメチルおよびメチレンプロトンに由来するシグナルが認められたほかは、[13]のそれらと酷似していた。さらに¹³C-NMRスペクトル(表V)には4個のメトキシ基に由来する炭素、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸に由来する6個の炭素および β -グルコースに由来する6個の炭素シグナルを含む合計31個の炭素シグナルが観測された。また、[14]のアルカリ加水分解から3,7,4'-トリヒドロキシ-5,6,8,3'-テトラメトキシフラボン3- β -D-グルコシド [13]を得、一方[14]のメチル化¹⁴⁾およびメタノリシスからメチル2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコピラノシドを得た。以上の諸事実より[14]は3,7,4'-トリヒドロキシ-5,6,8,3'-テトラメトキシフラボン3-O-[3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル(1→6)]- β -D-グルコシドと決定した。

[15] は 210~220°Cで分解する黄色針状結晶で、そのFAB-MSスペクトルには m/z 653 [M+H]⁺ および m/z 675 [M+Na]⁺ に基づくイオンピークが認められ、652の分子量を有することが判明し、またHR-FAB/MSスペクトルからC₂₅H₂₈O₁₇の組成を有することが判明した。[15]のエタノール中のUVスペクトルには 262、277、364nmに極大吸収を示し、酢酸

Table I. Yield of Each Compound

	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]	[13]	[14]	[15]	(mg)
Citrus unshiu	8	6	24	89	30	7	2100	28	5	3	--	--	--	--	--	
young Citrus unshiu	5	--	--	126	14	16	4800	6	--	--	38	20	8	32	400	

Table II. Characteristic UV Spectral Data (λ_{max} in nm) for the Isolated Flavonoids

Compound	in EtOH	in AcONa-EtOH	in AlCl ₃ -EtOH
[1]	258, 275, 360	283, 328, 372	276, 284, 306 ^s , 370, 419
[4]	228, 284, 330	228, 285, 331	226, 310, 387
[5]	259, 266 ^s , 307 ^s , 360	274, 329, 415	277, 302 ^s , 337, 439
[6]	254, 265 ^s , 306 ^s , 358	271, 330, 414	267, 300 ^s , 368 ^s , 401
[7]	273, 333	283, 370	283, 299 ^s , 370, 390
[8]	254, 269 ^s , 343	256, 270 ^s , 345	256, 270 ^s , 343
[11]	216, 273, 335	283, 390	283, 307, 350, 383
[12]	273, 333	283, 302 ^s , 380	283, 309, 358, 380 ^s
[13]	261, 279, 355	262, 278, 358	274, 286, 377
[14]	261, 278, 351	263, 289, 360	277, 289, 370
[15]	262, 277, 364	282, 330, 379	268, 286, 309, 366, 415

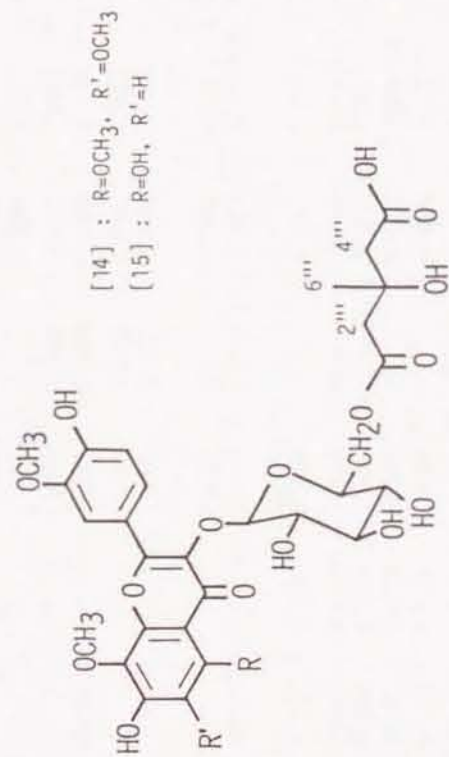
s, shoulder

Table III. ¹H-NMR Data for Each Flavonoid at 200MHz [δ ppm(J Hz)]

Compound	H ₂	H ₃	H ₆	H ₈	H _{2'}	H _{3'}	H _{5'}	H _{6'}	OCH ₃	H _{1''}		
[1] [*]	--	--	6.07s	--	7.95d (J=2)	--	6.86d (J=8)	7.72dd (J=8,2)	3.84s, 3.94s	5.20d (J=7.5)		
[4] ^{**}	5.29dd (J=12,3)	2.68dd (J=17,3)	3.09dd (J=17,12)	6.14d (J=1)	6.14d (J=1)	7.27d (J=8)	6.81d (J=8)	6.81d (J=8)	7.27d (J=8)	--	5.01d (J=7)	4.69d (J=1)
[5] [*]	--	--	6.21d (J=2)	6.40d (J=2)	7.62d (J=2)	--	6.88d (J=8)	7.62dd (J=8,2)	--	5.11d (J=8)	4.53d (J=2)	
[6] [*]	--	--	6.20d (J=2)	6.40d (J=2)	7.93d (J=2)	--	6.90d (J=8)	7.62d (J=8,2)	3.94s	5.22d (J=8)	4.52d (J=2)	
[7] ^{**}	5.42dd (J=12,3)	2.76dd (J=17,3)	obsured	6.07s	6.07s	6.87d (J=2)	--	6.82	6.82	3.73s	4.91d (J=7)	4.50d (J=1)
[8] ^o	--	--	--	--	7.87d (J=2)	--	6.96d (J=9)	7.85dd (J=9,2)	3.89s, 3.90s 3.92s x 2, 3.97s 4.08s	4.88d (J=7)		
[11] ^{**}	--	6.70s	--	--	7.96d (J=8)	6.90d (J=8)	6.90d (J=8)	7.96d (J=8)	--	4.85d (J=10)	4.76d (J=10)	
[12] ^{**}	--	--	6.22s	--	7.74d (J=8)	6.76d (J=8)	6.76d (J=8)	7.74d (J=8)	--	4.77d (J=10)	4.52d (J=10)	
[13] [*]	--	--	--	--	7.98d (J=2)	--	6.93d (J=8)	7.70dd (J=8,2)	3.83s, 3.87s 3.91s, 4.04s	5.46d (J=7)		

s, singlet; d, doublet; dd, double doublet. Solvent: ³CD₃OD, ^{**}DMSO-d₆.

Table IV. $^1\text{H-NMR}$ Data for [14] and [15] at 200MHz [δ ppm(J Hz)]



Compound	H _{1''}	H ₆	H _{2'}	H _{5'}	H _{6'}	OCH ₃	CH ₃ (6''')	H _{2'''} , H _{4'''}
[14]	5.45d (J=8)	---	7.84d (J=2)	6.97d (J=8)	7.64dd (J=8,2)	3.83s 3.91s	1.00 [3H, s]	2.18 ~ 2.33 [4H, m]
[15]	5.45d (J=8)	6.37s	7.86d (J=2)	6.98d (J=8)	7.62dd (J=8,2)	3.82s	1.01 [3H, s]	2.16 ~ 2.40 [4H, m]

s, singlet; d, doublet; dd, double doublet. solvent: DMSO-d₆

Table V. $^{13}\text{C-NMR}$ Data for [14] and [15]

Carbon No.	[14]	[15]
2	156.8	157.0
3	135.5	133.2
4	170.1	170.1
5	147.1	156.0
6	133.0	99.1
7	150.1	156.2
8	131.3	127.7
9	144.3	148.6
10	106.5	104.0
1'	120.6	121.3
2'	113.0	113.4
3'	152.4	149.7
4'	148.2	147.1
5'	115.5	115.5
6'	122.5	122.3
OCH ₃	55.6, 60.5 61.4, 61.7	55.8, 60.5
Glc-1''	100.9	101.2
Glc-2''	74.2	74.3
Glc-3''	76.2	76.4
Glc-4''	70.0	70.3
Glc-5''	74.2	74.3
Glc-6''	63.0	63.2
1''', 5'''	173.7*, 177.6*	172.3*, 177.6*
2''', 4'''	45.3*, 45.6*	45.2*, 45.3*
3'''	68.6	68.8
6'''	27.0	27.1

solvent: DMSO-d₆

* The assignments may be interchangeable.

Table VI. Hypotensive Effect

Compound	Maximal decrease of blood pressure (mmHg) [Time after administration (hr)]
[1]	-12 ^b [0.5]
[4]	0
[5]	-45 ^d [0.5]
[6]	-8 ^a [0.5]
[7]	--
[8]	-12 ^c [0.5]
[11]	-78 ^b [0.5]
[12]	-10 ^a [1.0]
[13]	-28 ^a [1.0]
[14]	-15 ^a [0.5]
[15]	-20 ^a [0.5]

^aDose : 1.0mg/100g body weight, i.v.

^bDose : 0.5mg/100g body weight, i.v.

^cDose : 0.3mg/100g body weight, i.v.

^dDose : 0.015mg/100g body weight, i.v.

ナトリウムを添加したエタノール中では第Ⅱ吸収帯が5nm長波長側にシフトし、さらに塩化アルミニウムを添加したエタノール中では第Ⅰ吸収帯が51nm長波長側にシフトすることからC₇位およびC₈位に水酸基の存在が示唆された。[15]の¹H-NMRスペクトルにはδ6.37 (H_a), 7.86 (H₂, *J* = 2 Hz), 6.98 (H₃, *J* = 8 Hz) および 7.62 (H₄, *J* = 2, 8 Hz) に4個の芳香環プロトン, δ3.82および3.86ppmに2個のメトキシ基, δ5.45ppm (*J* = 8 Hz) にβ-グルコースのアノメリックプロトンおよびδ1.01, 2.16~2.40ppmに3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸のメチルおよびメチレンプロトンに由来するシグナルが観測された。さらに¹³C-NMRスペクトル(表V)には2個のメトキシ基に由来する炭素, 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸に由来する6個の炭素およびβ-グルコースに由来する6個の炭素シグナルを含む合計29個の炭素シグナルが観測された。また, [15]のアルカリ加水分解からリモシトリン3-β-D-グルコシド[1]を得、一方[15]のメチル化²¹およびメタノリスからメチル2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコピラシノドを得た。以上の諸事実より[15]はリモシトリン3-O-[3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル(1→6)]-β-D-グルコシドと決定した。

つぎにSHR-SPを使用して各成分の血圧降下作用を検討した。すなわち、各成分の静脈内投与を3回行い、その平均値を表VIに掲げた。その結果、[1]、[6]、[12]、[13]、

[14] および [15] は若干の血圧降下作用を示し、[8]は強い血圧降下作用を示した。また、[5] および [11] は極めて強い血圧降下作用を示した。しかし、[4]は全く活性を示さず、[7]は水に難溶のため生理活性の検討を行わなかった。これらの成分の構造と血圧降下作用の相関性について考察した結果、フラボノイド配糖体は置換基の種類と結合位置ならびに糖の結合位置によって著しく生理活性に影響を与えることが判明した。特にA環にすべて置換基が入った成分に強い生理活性を示す傾向が認められた。

以上、摘果温州みかん(未熟)果皮中から11種のフラボノイド配糖体を分離し各成分の構造を明確にした。また、著者は温州みかん成熟果皮中には存在しなかった[11]~[15]の5種の成分を分離し、成熟果皮と未熟果皮に大きな差異があることを確認した。

なお、本研究において単離構造決定した成分のうち、[13]、[14] および [15] は文献未載の新規フラボノイド配糖体である。

実 験

1. 試料

摘果温州みかんは1986年6月に和歌山県有田町で採集した。

2. 熱水抽出

摘果温州みかん1979個の果皮(11.0kg)を熱水でやわらかくし、ミキサーにかけ撹鉢で微細化してから、あらかじめ加熱した蒸留水3lを注ぎ、30分間よくかきまぜてから濾過して抽出液を得た。濾過して得た残渣はさらに2回、同一の操作を繰り返して再抽出した。得られた抽出液を合わせて減圧下で濃縮し、900mlの濃縮液を得た。ついで2.1lの冷エタノールを加え一夜放置した。その後、濾過して得た濾液を300mlに減圧下濃縮し、凍結乾燥して固形の熱水抽出物426gを得た。

3. 熱水抽出物の有機溶媒による抽出分離

熱水抽出物を800mlの水に溶解し、ヘキサン(800ml×5回)、*n*-ブタノール(800ml×5回)で順次抽出してヘキサン抽出部38g、*n*-ブタノール抽出部151gおよび水溶性部に画した。

4. 塩基性酢酸鉛を用いた沈殿法によるフラボノイド配糖体の分離

n-ブタノール抽出部151gを750mlの水に溶解し、塩基性酢酸鉛の飽和水溶液170gを添

加して生成する黄色沈殿物を濾別した。得られた黄色沈殿物に炭酸ナトリウムの飽和水溶液 80 gを加え、1時間かきまぜてから静置し、沈殿物を濾別除去した。濾液を6 N-HClでpH 5.3に調整したのち、*n*-ブタノールで5回抽出し、*n*-ブタノール抽出物(フラボノイド混合物) 53 gを得た。

5. ゲル濾過

TSKゲルHW-40F(東洋曹達製)を充填したφ5 cm×1 mのバックドカラムを用いてゲル濾過を行った。溶出にはpH 5の炭酸水、蒸留水、pH 9のアンモニア水を順次使用した。検出には280 nmの吸光度を測定(UVICON-540M; 東洋科学産業製)し、得られた吸収曲線を見ながら分画した。

6. シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離

充填剤にシリカゲル(ワコーゲル C-300; 和光純薬製)、溶出液にクロロホルム:メタノール:酢酸:水=70:15:12:3あるいは60:20:15:5を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行った。

7. 血圧降下作用の測定

血圧200~250 mmHgのSHR-SP(脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット)を用いて静脈内投与で無麻酔下、tail pulse pick-up法で経時的に血圧を測定した。

8. 機器分析

日立323型可視、紫外自記分析計を用い、種々の溶媒でUVスペクトルを測定し、日本電子JMS-HX100型質量分析計を用いて、FAB-MSスペクトルを、また日本電子JNM-FX200型高分解能核磁気共鳴装置を用いてDMSO-*d*₆あるいはCD₃ODを溶媒に、TMSを内部標準としてNMRスペクトル(¹H:200 MHz; ¹³C:50 MHz)を測定した。

9. [14]、[15]のメチル化およびメタノリシス

DMSO 1 mlに試料10 mgを溶かし、それにメチルスルフィニルカルバニオン溶液(DMSO 35 mlとNaH 2 gで調製した)⁷⁾ 1 mlを加え、窒素下で1時間攪拌した。ついでCH₂Cl₂(1 ml)で処理して、さらに1時間攪拌した。混合物はTSKゲルHW-40Fを用いてゲル濾過を行った。つぎに10% HCl/MeOHで試料を溶かし、1時間加熱還流してから蒸留水で希釈し、ヘキサンで抽出した。ヘキサン抽出物はGLC(YANACO G180型ガスクロマトグラフ(FID);カラム:10% PEG 20M, φ3.0 mm×1.5 m, カラム温度 215°C, キャリヤーガス: N₂ 28 ml/min)で分析し、メチル-2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコピラノシドの

それらと同一した。*t*_r(min): 7.03, 8.85,

10. [14]および[15]のアルカリ加水分解

試料(10 mg)を0.5 N KOH-EtOH(10 ml)に溶解し、1時間加熱還流してから0.5 N HClで中和した。混合物は乾燥させ、ゲル濾過によって精製した。

11. 糖分析

試料3 mgに0.5 N HCl 2 mlを加え、90°Cで1時間加熱して加水分解を行い、減圧下乾燥したのち酢酸エチルでアグリコンを除去し単糖類を得た。十分に乾燥した単糖類に無水酢酸1 mlとピリジン1 mlを加え90°Cで1時間加熱してアセチル化を行い、既知標品のアセチル化糖とのガスクロマトグラフィー[YANACO G180型ガスクロマトグラフ(FID);カラム: Dexil 400, φ3.0 mm×3 m, カラム温度 150~300°C(5°C/min昇温), キャリヤーガス: N₂ 26 ml/min]で同一した。

12. 単離した成分

12.1 3,7,4'-トリヒドロキシ-5,6,8,3'-テトラメトキシフラボン3-β-D-グルコシド [13]

HR-FAB/MS found: *m/z* 553.1572, calcd. for C₂₅H₂₈O₁₄: M+H, 553.1557.

12.2 3,7,4'-トリヒドロキシ-5,6,8,3'-テトラメトキシフラボン3-O-([3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル(1→6)]-β-D-グルコシド) [14]

HR-FAB/MS found: *m/z* 697.1948, calcd. for C₃₁H₃₇O₁₈: M+H, 697.1980.

12.3 リモシトリン3-O-([3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル(1→6)]-β-D-グルコシド) [15]

HR-FAB/MS found: *m/z* 653.1741, calcd. for C₂₉H₃₄O₁₇: M+H, 653.1718.

文 献

- 1) Y. Matsubara, H. Kumamoto, Y. Iizuka, T. Murakami, K. Okamoto, H. Miyake, and K. Yokoi: *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 909 (1985).

- 2) H. Kumamoto, Y. Matsubara, Y. Iizuka, K. Okamoto, and K. Yokoi: *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 35, 379 (1986).
- 3) 隈元浩康, 松原義治, 飯塚義富, 村上哲男, 岡本耕造, 三宅英夫, 横井勝美: 農化, 58, 137 (1984).
- 4) 松原義治, 隈元浩康, 米本浩之, 飯塚義富, 岡本耕造, 横井勝美: 農化, 59, 405 (1985).
- 5) J. B. Harbone, T. J. Mabry, and H. Mabry, "The Flavonoids", London (1985) p. 57.
- 6) T. J. Mabry, K. R. Markham, and M. B. Thomas, "Systematic Identification of Flavonoids", Springer-Verlag, Berlin (1970) p. 41.
- 7) S. Hakomori: *J. Biochem.*, 55, 205 (1964).

第二章 8種 [レモン (*Citrus limon* BURM.f.), 温州みかん (*Citrus unshiu* MARCOV.), キンカン (*Fortunella japonica*), スダチ (*Citrus sudachi* HORT.), ユズ (*Citrus junos* SIEB.), ハッサク (*Citrus hassaku* HORT.), ザボン (*Citrus gradis* OSBECK.) およびオレンジ (*Citrus sinensis* OSBECK.)] の柑橘類果皮中のフェニルプロパノイド配糖体の構造と生理活性

序 説

さきに松原らは、レモン^{1,2)}、温州みかん^{3,4)}、キンカン⁵⁾、スダチ^{6,7)}、ユズ⁸⁾、ハッサク⁹⁾、ザボン⁹⁾、グレープフルーツ⁹⁾ およびオレンジ¹⁰⁾ など9種の柑橘類果皮中の血圧降下作用物質のうち、主要な成分の一部と考えられるフラボノイド配糖体の分離法、構造および血圧降下作用について詳細に検討した。すなわち、9種の柑橘類果皮中から19種の文献未載の新規化合物を含む44種のフラボノイド配糖体の分離に成功し、それらの構造を明確にするとともに血圧降下作用について興味ある多くの知見を得、報告してきた¹¹⁾。

著者は引き続き、新たに構造上から生理活性に期待の持たれる柑橘類果皮中のフェニルプロパノイド配糖体に着目して検討を進めることにした。すなわち、8種 [レモン (*Citrus limon* BURM.f.), 温州みかん (*Citrus unshiu* MARCOV.), キンカン (*Fortunella japonica*), スダチ (*Citrus sudachi* HORT.), ユズ (*Citrus junos* SIEB.), ハッサク (*Citrus hassaku* HORT.), ザボン (*Citrus gradis* OSBECK.) およびオレンジ (*Citrus sinensis* OSBECK.)] の柑橘類果皮中から4種の新規化合物を含む7種のフェニルプロパノイド配糖体の分離に成功し、それらの構造を明確にするとともにSHR-SP (脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット) の血圧に与える影響について検討した。

結果および考察

レモン、温州みかん、キンカン、スダチ、ユズ、ハッサク、ザボンおよびオレンジ果皮は、それぞれ同様の方法で熱水抽出を行った。ついて熱水抽出物をヘキサン、*n*-ブタノールで順次抽出を行って得た*n*-ブタノール抽出物に塩基性酢酸鉛の飽和水溶液を添加して、選択的にフラボ

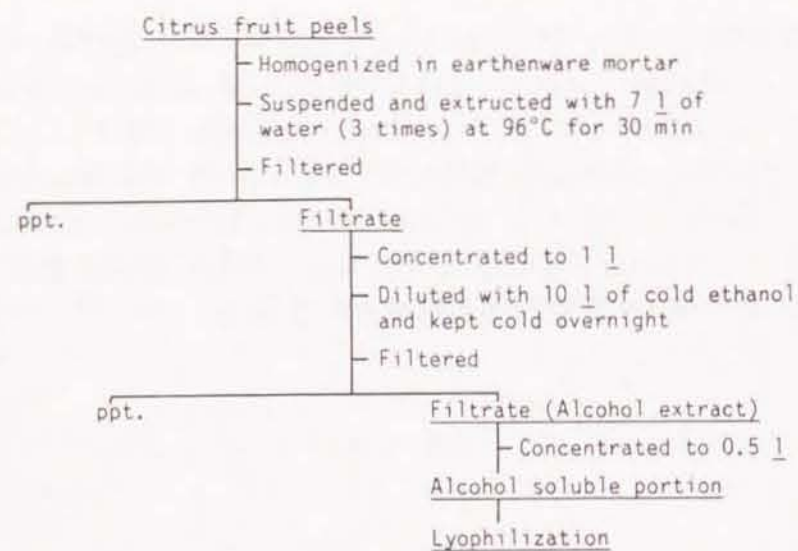


Fig. 1 Procedure for Extracting the Constituents of Citrus Fruit peels.

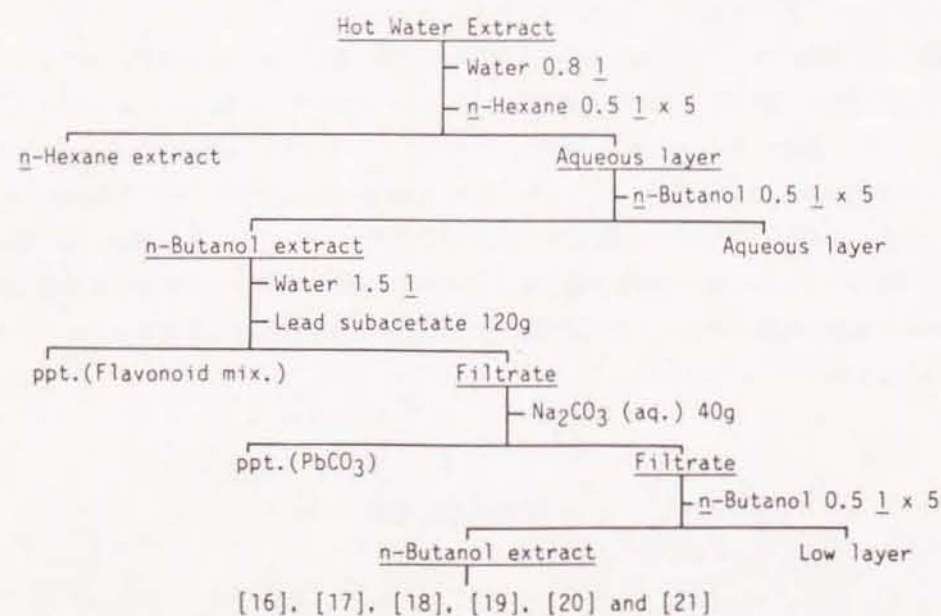


Fig. 2 Separation of Neutral Compounds. (Crude Phenyl Propanoids I)

ノイド類などの酸性化合物を沈殿させて濾別し、濾液を再びn-ブタノールで抽出して中性部画分を得た(図1, 2)。このようにして得た中性部画分をゲル濾過、シリカゲルカラムクロマトグラフィーならびに再結晶を行い、レモン果皮中から[16]~[20]、温州みかん果皮中から[16]、[17]、[19]および[20]、キンカン果皮中から[16]~[21]、スダチ果皮中から[16]、[17]、[19]および[20]、ユズ果皮中から[16]~[20]、ハッサク果皮中から[16]~[21]、ザボン果皮中から[16]、[17]、[19]、[20]および[21]、オレンジ果皮中から[16]~[21]の成分を分離した(図3)。

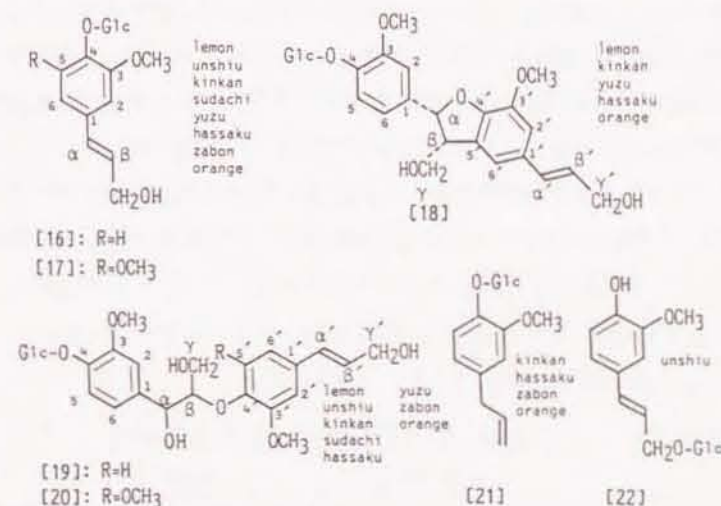


Fig. 3 Structures of Isolated Phenyl Propanoid Glycosides.

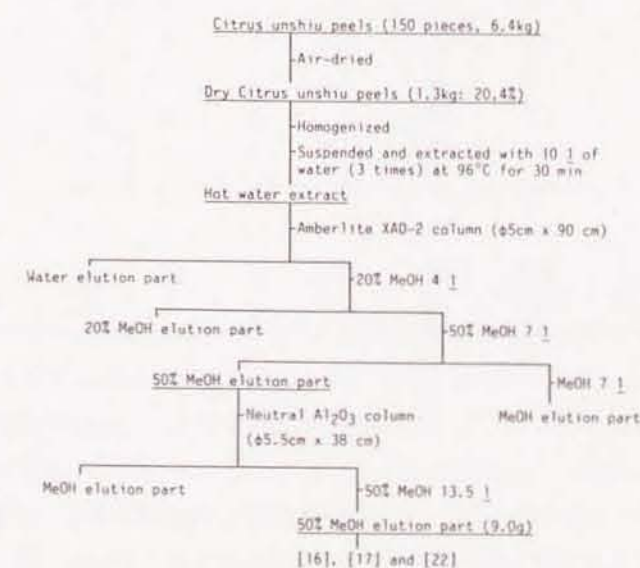


Fig. 4 Separation of Crude Phenyl Propanoids II.

また、温州みかん果皮を風乾して乾燥果皮を得た。これを微細化したのち、熱水抽出を行い、得られた抽出液をアンバーライトXAD-2に通導し、水、20%メタノールを用いて洗浄後、50%メタノール、メタノールを用いて順次溶出を行った。ついで得られた50%メタノール溶出物をメタノールに溶解して、中性アルミナを充填したカラムに通導後、50%メタノールを用いて溶出を行い粗画分を得た(図4)。このようにして得た粗画分をシリカゲルカラムクロマトグラフィおよびゲル濾過を行い[16]、[17]および[22]の成分を分離した(図3)。

各成分の収量およびUVスペクトルは表IおよびIIに掲げた。

[16]はmp 178~179°C, $[\alpha]_D^{25}$ -54.2° (c=0.5, MeOH)を示す白色針状結晶で、その¹H-NMRスペクトルにはABXタイプの芳香環プロトン、メトキシ基ならびにアリルアルコール部に由来するtransのオレフィンとそれらとカップリングした水酸基付け根のメチレンプロトンがそれぞれ認められた。また、¹³C-NMRスペクトル(表III)にはβ-グルコースに由来する6個のシグナルとアグリコン部に由来する10個のシグナルが観測されたのでコニフェリンと推定した。[16]の構造を確認する目的で[16]をアセチル体[16a]へ誘導した。[16a]のEI-MSスペクトルおよび¹H-NMRスペクトルはコニフェリンの文献値¹⁾と一致した。

Table I. Yield of Each Compound

	[16]	[17]	[18]	[19]	[20]	[21]	[22] (mg)
Lemon	540	15	18	12	4	--	--
Unshiu	860	32	--	16	4	--	--
Kinkan	12	8	5	2	1	3	--
Sudachi	207	22	--	8	3	--	--
Yuzu	85	120	21	7	5	--	--
Hassaku	332	27	11	8	2	4	--
Zabon	280	27	--	8	3	6	--
Orange	614	28	25	12	6	12	--
Dry unshiu	281	21	--	--	--	--	12

[17]はmp 187~188°C, $[\alpha]_D^{25}$ -8.5° (c=0.3, MeOH)を示す白色針状結晶で、その¹H-NMRスペクトルには2個の芳香環プロトンおよび2個のメトキシ基のシグナルがそれぞれ重なって認められ対称体構造を持っていることが明らかとなった。そのほかアリルアルコ-

ール部に由来するシグナルは[16]と酷似していた。また、¹³C-NMRスペクトルにはβ-グルコースに由来する6個の炭素シグナルとアグリコン部の各炭素シグナルが観測され、シリンギンと推定された。[17]の構造を確認する目的で[17]をアセチル体[17a]へ誘導した。[17a]のEI-MSスペクトルおよび¹H-NMRスペクトルはシリンギンの文献値¹⁾と一致した。

[18]はmp 125~126°C, $[\alpha]_D^{25}$ -22.1° (c=0.3, MeOH)を示す白色の結晶で、そのFAB-MSスペクトルにはm/z 543 [M+Na]⁺に基づくイオンピークが認められ、C₂₆H₃₂O₁₁の組成を有することが示唆された。また、¹H-NMRスペクトルにはABXタイプを含む5個の芳香環プロトン、2個のメトキシ基およびアリルアルコール部に由来するシグナルが認められたほか、ジヒドロフラン環のメチンプロトンがδ5.57ppmにJ値6 Hzのダブルットで観測された。さらに[18]の¹³C-NMRスペクトルおよび[18]のアセチル化で得たアセチル体[18a]の¹H-NMRスペクトルはO. Salamaらが報告しているデヒドロジコニフェリルアルコール-4-β-グルコシド²⁾のそれと一致した。

Table II. Characteristic UV Spectral Data for the Isolated Component

Compound	λ _{max} (ε)
[16]	260 (12400)
[17]	267 (9000)
[18]	260 (8600)
[19]	266 (8300)
[20]	272 (7100)
[21]	277 (6080)
[22]	275 (5000)

[19]はmp 108~109°C, $[\alpha]_D^{25}$ -17.2° (c=0.3, MeOH)を示す白色の結晶で、そのFAB-MSスペクトルにはm/z 561 [M+Na]⁺に基づくイオンピークが認められ、C₂₆H₃₄O₁₂の組成を有することが示唆された。また、¹H-NMRスペクトルにはδ6.84~7.08 ppmに6個の芳香環プロトン、2個のメトキシ基およびアリルアルコール部の各シグナルが認められたほか、酸素原子付け根のメチレンプロトンがδ4.31および4.90ppmに、ヒドロキシメチルのプロトンがδ3.46および3.75ppmに観測された。[19]のアセチル化で得たアセチル体[19a]の¹H-NMRスペクトルには7個のアセチル基に基づくシグナルが認められ、アセチル基の導入によってアリルアルコール部のメチレンプロトン、1個のメチンプロトンおよびヒド

Table III. ^{13}C -NMR Data for Each Component

Carbon No.	[16]	[17]	[18]	[19]	[19b]	[21]	[22]
1	131.3	131.3	138.1	137.5	133.5	138.8	130.4
2	118.1	105.6	111.2	114.4	111.2	118.4	116.3
3	151.0	154.3	150.9	150.7	149.0	150.8	149.1
4	147.6	136.0	147.6	147.5	147.0	146.3	147.7
5	111.6	154.3	118.1	117.8	115.7	114.2	110.8
6	120.8	105.6	119.4	118.7	120.7	122.1	121.2
α	133.8	135.3	88.7	75.0	73.9	40.6	134.3
β	129.0	130.1	55.2	86.0	87.1	136.5	123.7
γ	63.7	63.6	64.9	62.0	61.7	115.9	71.1
1'	---	---	130.0	133.1 ^a	133.1 ^a	---	---
2'	---	---	112.3	112.7	111.7 ^b	---	---
3'	---	---	145.4	149.1	148.6	---	---
4'	---	---	149.1	151.7	151.7	---	---
5'	---	---	132.6	120.7 ^b	118.9	---	---
6'	---	---	116.5	120.8 ^b	120.7	---	---
α'	---	---	131.9	131.4 ^a	131.2 ^a	---	---
β'	---	---	127.6	128.7	128.5	---	---
γ'	---	---	63.8	63.8	63.5	---	---
OCH ₃	56.9	57.1	56.8	56.6	56.3	56.8	56.5
	---	57.1	56.8	56.8	56.5	---	---
Glc-1	102.9	105.5	102.5	103.1	---	103.1	103.1
Glc-2	74.9	75.8	74.8	73.7	---	74.9	75.1
Glc-3	78.2	78.4	78.1	78.2	---	78.0	78.1
Glc-4	71.4	71.4	71.3	71.4	---	71.3	71.7
Glc-5	77.9	77.8	77.7	77.8	---	77.7	77.9
Glc-6	62.6	62.7	62.5	62.7	---	62.5	62.8

Solvent: CD₃OD

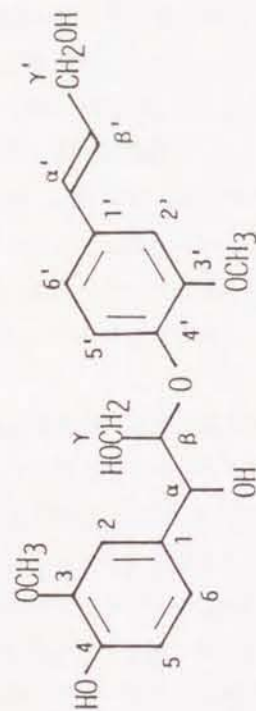
a, b The assignments may be interchangeable.

ロキシメチルのプロトンが特徴的に低磁場シフトして観測された。[19]の ^{13}C -NMRスペクトルには β -グルコースに由来する6個の炭素シグナルとアグリコン部に由来する20個のシグナルが表IIIに掲げたように帰属された¹⁴⁾。さらに[19]の加水分解で得たアグリコン[19b]のEI-MSスペクトルは1-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)-2-(2-メトキシ-4-[1-(E)-プロペン-3-オール]-フェノキシ)プロパン-1,3-ジオール¹⁵⁾と酷似していたほか、[19b]の ^1H -NMRスペクトル(表IV)はK. Mikiらの文献値¹⁶⁾のそれと一致した。さらに[19b]の ^{13}C -NMRスペクトルも表IIIに掲げたように矛盾なく帰属された¹⁴⁾。したがって、[19]は1-(4-グルコシル-3-メトキシフェニル)-2-(2-メトキシ-4-[1-(E)-プロペン-3-オール]-フェノキシ)プロパン-1,3-ジオールと決定した。著者は、この化合物をシトラシンA (citrusin A)と命名した。

[20]はmp 105~106°C, $[\alpha]_D^{25}$ -11.3° (c=0.3, MeOH)を示す白色の結晶で、そのFAB-MSスペクトルには m/z 591 [M+Na]⁺に基づくイオンピークが認められ、C₁₆H₂₂O₁₀の組成を有することが示唆された。また、 ^1H -NMRスペクトルには2個の芳香環プロトンが対称構造により重なって出現していたほか、ABXタイプの芳香環プロトンおよび3個のメトキシ基のシグナルが観測された。これら以外のシグナル(H_a, H_b, H_c, H_d, および H_e)は[19]のそれらと同様のパターンで認められた。したがって、[20]は1-(4-グルコシル-3-メトキシフェニル)-2-(2,6-ジメトキシ-4-[1-(E)-プロペン-3-オール]-フェノキシ)プロパン-1,3-ジオールと決定した。著者は、この化合物をシトラシンB (citrusin B)と命名した。

[21]はmp 130~131°C, $[\alpha]_D^{25}$ -54.0° (c=0.1, MeOH)を示す白色針状結晶で、そのFAB-MSスペクトルには m/z 349 [M+Na]⁺に基づくイオンピークが認められ、C₁₆H₂₂O₇の組成を有することが示唆された。また、 ^1H -NMRスペクトルにはABXタイプの芳香環プロトン、メトキシ基ならびにアシル基に由来する各シグナルが認められた。さらに ^{13}C -NMRスペクトル(表III)には β -グルコースに由来する6個の炭素シグナルとアグリコン部に由来する10個の炭素シグナルが観測された。また、[21]の加水分解で得たアグリコン[21a]のEI-MSスペクトルは既知標品のオイゲノールのそれと一致した。したがって、[21]は3-(4-グルコシル-3-メトキシフェニル)プロパン-1-エンと決定した。著者は、この化合物をシトラシンC (citrusin C)と命名した。

[22]の ^1H -NMRスペクトルにはABXタイプの芳香環プロトンが δ 6.97 (d, $J=2$ Hz), 6.69 (d, $J=8$ Hz) および 6.81 ppm (dd, $J=8, 2$ Hz) に、また *trans* のオレフィンプロトンが δ 6.54 (dt, $J=15.5, 1.5$ Hz) および 6.15 ppm (dt, $J=15.5, 5.5$ Hz) に観測され、[16]のそれらと酷似していた。しかし、C₃位の芳香環プロトンが[16]のそれより0.39 ppm 高磁場側に認められることから、C₃位の置換基が異なるものと考えられる。また、 δ 3.85 ppm にメトキシ基、 δ 4.38 ppm に β -グルコースに由来するアノメリックプロトンが J 値

Table IV. $^1\text{H-NMR}$ Data for [19b]

Compound	H ₂	H ₅	H ₆	H _α	H _β	H _{γA}	H _{γB}
[19b]*	6.98 (1H, d, J=2)	6.72 (1H, d, J=8)	6.82 (1H, dd, J=8, 2)	4.85 (1H, d, J=6)	4.24 (1H, m)	3.45 (1H, dd, J=12, 5)	3.71 (1H, dd, J=12, 4)
[A]**	6.7-7.1 (3H)	6.7-7.1 (3H)		4.94 (1H, d, J=6)	4.36 (1H, m)	3.6-4.0 (2H, m)	

Compound	H _{2'}	H _{5'}	H _{6'}	H _{α'}	H _{β'}	H _{γ'A}	H _{γ'B}	OCH ₃
[19b]*	7.01 (1H, d, J=2)	6.97 (1H, d, J=8)	6.87 (1H, dd, J=8, 2)	6.49 (1H, dt, J=16, 1.5)	6.21 (1H, dt, J=16, 5.5)	4.18 (2H, dd, J=5.5, 1.5)	3.81, 3.87 (3H)	
[A]**	6.7-7.1 (3H)	6.7-7.1 (3H)		6.54 (1H, d, J=16)	6.32 (1H, dt, J=16, 5)	4.22 (2H, d, J=5)	3.84, 3.87 (3H)	

s : singlet, d : doublet, t : triplet, m : multiplet

* $^1\text{H-NMR}$, 200MHz, solvent; CD_3OD

** $^1\text{H-NMR}$, 100MHz, solvent; $(\text{CD}_3)_2\text{CO} + \text{D}_2\text{O}$

[A]: K.Miki, T.Takehara, T.Sasaya and A.Sakakibara : *Phytochemistry*, **19**, 449(1980).

8 Hzのダブルレットで観測された。さらに $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルには β -グルコースに由来する6個の炭素シグナルならびにアグリコン部に由来する10個の炭素シグナルが観測され、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルと同様 [16] と酷似していた。しかし、C₃位の炭素シグナルが [16] のそれと比較し、7.4 ppm低磁場側に認められることからC₃位の環境も異なることが推察された。さらに [22] のアセチル化で得たアセチル体 [22 a] のEI-MSスペクトルには m/z 552に分子イオンピークが認められたほか、 m/z 43にアセチル基がベースイオンピークとして認められ、さらに m/z 510に脱アセチルに由来するイオンピークが認められた。また、[22 a] の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルには δ 2.00, 2.02, 2.05および 2.07 ppmに β -グルコースに結合した4個のアセチル基、 δ 2.33 ppmに芳香環に結合した1個のアセチル基のシグナルが確認された。以上の諸事実から [22] は3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)-1-グルコシル-2-プロペンと決定した。著者は、この化合物をシトラシンD (citrusin D) と命名した。

以上、8種の柑橘類果皮中から7種のフェニルプロパノイド配糖体を分離し、各成分の構造を明確にした。

Table V. Hypertensive and Hypotensive Effects

Compound	Maximal increase and decrease of blood pressure (mmHg)	
	[Time after administration (hr)]	
[16]	+10	[1.0]
[17]	+16	[0.5]
[18]	-14	[0.5]
[19]	-11	[1.0]
[20]	---	
[21]	-20	[0.5]
[22]	-30	[1.0]

Dose : 1mg/100g body weight (i.v.).

つぎにSHR-SPを使用して各成分の血圧に与える影響について検討した。すなわち、各成分1 mg/100 g体重の静脈内投与を3回行い、その平均値を表Vに掲げた。その結果、[16] および [17] は血圧上昇作用を示したのに対し、[18]、[19]、[21] および [22] は血圧降下作用を示した。本研究において、柑橘類果皮中から血圧上昇作用物質を見出したことは興味深く、同じ基本構造を持ちながら逆の生理活性を示したことは注目値する。特に [16] と [22] を比較すると糖の結合位置が異なるだけで、一方は血圧上昇を示し、他方は血圧降下を示したことは興味深く、また [16] と [21] を比較するとC₃位の置換基の違いだけで逆の生理活性を示

した。したがって、フェニルプロパノイド配糖体の血圧に与える効果では、C₁位の置換基は大変重要な部位であることが示唆された。

なお、本研究において単離構造決定した成分のうち、[19]、[20]、[21] および [22] は文献未載の新規化合物であり、[16]、[17] および [18] は柑橘類果皮中から著者が初めて見出したフェニルプロパノイド配糖体である。

実 験

1. 試料

レモン、温州みかん、キンカン、スダチ、ユズ、ハッサク、ザボンおよびオレンジは市販のものを使用した。

2. 粗フェニルプロパノイド配糖体の分離 I

熱水で柔らかくした果皮（レモン 1.3kg、温州みかん 22.6kg、キンカン 0.14kg、スダチ 2.6kg、ユズ 5.2kg、ハッサク 6.6kg、ザボン 9.2kg およびオレンジ 9.5kg）をミキサーでホモジナイズしたのち、さらに摺鉢で微細化してから従来法¹⁾で熱水抽出を行った。ついて熱水抽出物を水に溶解し、ヘキサン、*n*-ブタノールで順次抽出を行って得た*n*-ブタノール抽出物について、塩基性酢酸鉛の飽和水溶液を用いてフラボノイド類などの酸性化合物を沈殿させて濾別したのち、濾液を再び*n*-ブタノールで抽出して中性部画分〔粗フェニルプロパノイド（レモン 4.8g、温州みかん 16.7g、キンカン 1.9g、スダチ 14.7g、ユズ 17.2g、ハッサク 17.2g、ザボン 18.7g およびオレンジ 19.5g）〕を得た。

3. 粗フェニルプロパノイド配糖体の分離 II

風乾した乾燥果皮（温州みかん 1.3kg）を微細化したのち、熱水抽出を行い、得られた抽出液 20 l をアンバーライト XAD-2（オルガノ製、1 l）を充填したカラム（φ50mm×900mm）に通導し、水 3 l、20%メタノール 4 l を用いて洗浄後、50%メタノール 7 l、メタノール 7 l を用いて順次溶出を行った。ついて得られた50%メタノール溶出物（34.1g）をメタノール 1 l に溶解して、中性アルミナ（70~230mesh、メルク製、600g）を充填したカラム（φ55mm×380mm）に通導後、50%メタノール 13.5 l を用いて溶出を行い粗フェニルプロパノイド（9.0g）を得た。

4. ゲル濾過

TSKゲルHW-40F（東洋曹達製）を充填したφ5cm×1mのバックドカラムを用いてゲル濾過を行った。溶出には蒸留水を用い280nmの吸光度を測定（UVICON-540M：東洋科学産業製）し、得られた吸収曲線を見ながら分画した。

5. シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離

充填剤にシリカゲル（ワコーゲル C-300：和光純薬製）、溶出液にクロロホルム：メタノール=5：1（CM 51と略す）あるいはクロロホルム：メタノール：水=65：35：10の下層部（CMWと略す）の混合溶媒を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行った。

6. 生理活性試験

血圧200~250mmHgのSHR-SP（脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット）を用いて静脈内投与で無麻酔下、tail pulse pick-up法で経時的に血圧を測定した。

7. 機器分析

日立323型可視、紫外自記分析計を用い、メタノール溶媒中でUVスペクトルを測定し、日本電子JMS-HX100型質量分析計を用いて、EI-MSスペクトル（70eV）およびFAB-MSスペクトルを、また日本電子JNM-FX200型高分解能核磁気共鳴装置を用いてCD₃ODあるいはCDCl₃を溶媒に、TMSを内部標準としてNMRスペクトル（¹H：200MHz；¹³C：50MHz）を測定した。

8. [16]、[17]、[18]、[19] および [22] のアセチル化

試料 3 mg をピリジン 2 ml、無水酢酸 1 ml の混合溶媒に溶媒し、封管中 30℃ で 24 時間放置してアセチル化を行った。反応終了後、水を加え 30 分間放置してからクロロホルムでアセチル体を抽出した。ついてシリカゲルカラムクロマトグラフィー（展開溶媒：クロロホルム：酢酸エチル=9：1）で精製してアセチル体を得た。

9. [19] および [21] の加水分解

試料 3 mg と β-グルコシダーゼ 2 mg をリン酸水素ナトリウム-クエン酸緩衝溶液（pH 4.0）に溶解し、かきませながら 37℃ で 3 日間反応させた。反応終了後、酢酸エチルで抽出し、ついてシリカゲルカラムクロマトグラフィー（展開溶媒：酢酸エチル）で精製してアグリコンを得た。

10. 単離した成分および誘導体

10.1 コニフェリン [16]

Rf値 0.27 (CM51) を示す白色針状結晶 (メタノール-水より再結晶) を単離した。

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 3.86ppm (3 H, s, OCH_3), 4.20 (2H, d d, $J=5.5, 1.5$ Hz, H_7), 6.25 (1 H, d t, $J=16, 5.5$ Hz, H_a), 6.52 (1H, d t, $J=16, 1.5$ Hz, H_a), 6.92 (1H, d d, $J=9, 2$ Hz, H_b), 7.06 (1H, d, $J=2$ Hz, H_2), 7.08 (1H, d, $J=9$ Hz, H_3).

10.2 ペンタアセチルコニフェリン [16a]

[16] のアセチル化を行って得た。

EI-MS m/z 552 (M^+)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 2.02ppm (6 H, s, $\text{Ac}\times 2$), 2.06 (6 H, s, $\text{Ac}\times 2$), 2.08 (3 H, s, Ac), 3.82 (3 H, s, OCH_3), 4.71 (2H, d d, $J=5.5, 2$ Hz, H_7), 4.96 (1 H, d, $J=8$ Hz, Glc-H_1), 6.20 (1 H, d t, $J=16, 5.5$ Hz, H_a), 6.56 (1 H, d t, $J=16, 2$ Hz, H_a), 6.88 (1H, d d, $J=8, 2$ Hz, H_b), 6.93 (1H, d, $J=2$ Hz, H_2), 7.06 (1H, d, $J=8$ Hz, H_3).

10.3 シリンギン [17]

Rf値 0.38 (CM51) を示す白色針状結晶 (メタノール-水より再結晶) を単離した。

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 3.85ppm (6 H, s, $\text{OCH}_3\times 2$), 4.21 (2H, d d, $J=5.5, 1.5$ Hz, H_7), 6.32 (1H, d t, $J=16, 5.5$ Hz, H_a), 6.56 (1H, d t, $J=16, 1.5$ Hz, H_a), 6.74 (2H, s, H_2 and H_6).

10.4 ペンタアセチルシリンギン [17a]

[17] のアセチル化を行って得た。

EI-MS m/z 582 (M^+)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 2.03ppm (9 H, s, $\text{Ac}\times 3$), 2.04 (3 H, s, Ac), 2.10 (3 H, s, Ac), 3.84 (6 H, s, $\text{OCH}_3\times 2$), 4.72 (2H, d d, $J=6, 1.5$ Hz, H_7), 5.07 (1 H, d, $J=7$ Hz, Glc-H_1), 6.22 (1 H, d t, $J=16, 6$ Hz, H_a), 6.55 (1 H, d t, $J=16, 1.5$ Hz, H_a), 6.60 (2 H, s, H_2 and H_6).

10.5 デヒドロジコニフェリルアルコール-4- β -グルコシド [18]

Rf値 0.21 (CM51) を示す白色結晶を単離した。

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 3.81ppm (3 H, s, OCH_3), 3.87 (3 H, s, OCH_3), 4.19 (2 H, d d, $J=5.5, 1.5$ Hz, H_7), ~ 4.82 (1 H, Glc-H_1), 5.57 (1 H, d, $J=6$ Hz, H_a), 6.20 (1 H, d t, $J=16, 5.5$ Hz, H_a), 6.51 (1 H, d t, $J=16,$

1.5 Hz, H_a), 6.92 (1 H, d d, $J=8, 2$ Hz, H_b), 6.93 (2 H, s, H_2 and H_6), 7.00 (1 H, d, $J=2$ Hz, H_2), 7.13 (1 H, d, $J=8$ Hz, H_3).

10.6 ヘキサアセチルデヒドロジコニフェリルアルコール-4- β -グルコシド [18a]

[18] のアセチル化を行って得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 2.02ppm (9 H, s, $\text{Ac}\times 3$), 2.06 (6 H, s, $\text{Ac}\times 2$), 2.10 (3 H, s, Ac), 3.79 (3 H, s, OCH_3), 3.92 (3 H, s, OCH_3), 4.29 (1 H, d d, $J=11, 7$ Hz, H_7), 4.45 (1 H, d d d, $J=11, 5.5, 1.5$ Hz, H_7), 4.71 (2 H, d d, $J=6.5, 1$ Hz, H_7), 4.93 (1 H, d, $J=7$ Hz, Glc-H_1), 5.50 (1 H, d, $J=7$ Hz, H_a), 6.16 (1 H, d t, $J=16, 6.5$ Hz, H_a), 6.58 (1 H, d t, $J=16, 1$ Hz, H_a), 6.84~6.94 (4 H, m, $\text{H}_2, \text{H}_6, \text{H}_2$ and H_6), 7.08 (1 H, d, $J=8$ Hz, H_3).

10.7 1-(4-グルコシル-3-メトキシフェニル)-2-(2-メトキシ-4-[1-(E)-プロペン-3-オール]-フェノキシ)プロパン-1,3-ジオール (シトラシンA) [19]

Rf値 0.20 (CM51) を示す白色結晶を単離した。

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 3.46ppm (1 H, d d, $J=12, 5$ Hz, H_1), 3.75 (1 H, d d, $J=12, 5$ Hz, H_1), 3.82 (3 H, s, OCH_3), 3.84 (3 H, s, OCH_3), 4.18 (2 H, d d, $J=5.5, 1.5$ Hz, H_7), 4.31 (1 H, m, H_a), ~ 4.81 (1 H, Glc-H_1), 4.90 (1 H, d, $J=5$ Hz, H_a), 6.23 (1 H, d t, $J=16, 5.5$ Hz, H_a), 6.48 (1 H, d t, $J=16, 1.5$ Hz, H_a), 6.87 (1 H, d d, $J=8.5, 2$ Hz, H_b), 6.91~6.96 (2 H, H_2 and H_6), 7.02 (1 H, d, $J=2$ Hz, H_2), 7.18 (1 H, d, $J=8.5$ Hz, H_3), 7.19 (1 H, d, $J=1$ Hz, H_2).

10.8 ペンタアセチルシトラシンA [19a]

[19] のアセチル化を行って得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 2.01ppm (3 H, s, Ac), 2.02 (9 H, s, $\text{Ac}\times 3$), 2.06 (6 H, s, $\text{Ac}\times 2$), 2.10 (3 H, s, Ac), 3.81 (3 H, s, OCH_3), 3.84 (3 H, s, OCH_3), 4.01 (1 H, d d, $J=12, 6$ Hz, H_1), 4.28 (1 H, d d, $J=12, 4$ Hz, H_1), 4.73 (2 H, d d, $J=5.5, 1.5$ Hz, H_7), 4.95 (1 H, d, $J=8$ Hz, Glc-H_1), 6.04 (1 H, d, $J=6$ Hz, H_a), 6.18 (1 H, d t, $J=16, 5.5$ Hz, H_a), 6.58 (1 H, d t, $J=16, 1.5$ Hz, H_a), 6.85~6.98 (5 H, m, $\text{H}_2, \text{H}_6, \text{H}_2, \text{H}_6$ and H_6), 7.07 (1 H, d, $J=8$ Hz, H_3).

10.9 1-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)-2-(2-メトキシ-4-[1-(E)-プロペン-3-オール]-フェノキシ)-プロパン-1,3-ジオール [19b]

[19] の加水分解を行って得た。

EI-MS m/z 376 (M^+ , 33%), 358(2), 206(100), 180(95), 163(23), 153(31), 137(73), 124(59), 119(28), 91(32), 77(20), 65(25).

HR-MS found : 376.1537, calcd. for $C_{20}H_{24}O_5$, 376.1520.

1H -NMR (CD_3OD) δ 3.45 (1H, dd, $J=12, 5$ Hz, H_{7a}), 3.71 (1H, dd, $J=12, 4$ Hz, H_{7b}), 3.81 (3H, s, OCH_3), 3.87 (3H, s, OCH_3), 4.18 (2H, dd, $J=5.5, 1.5$ Hz, H_{7c}), 4.24 (1H, m, H_8), 4.85 (1H, d, $J=6$ Hz, H_9), 6.21 (1H, dt, $J=16, 5.5$ Hz, H_{6a}), 6.49 (1H, dt, $J=16, 1.5$ Hz, H_{6b}), 6.72 (1H, d, $J=8$ Hz, H_5), 6.82 (1H, dd, $J=8, 2$ Hz, H_6), 6.87 (1H, dd, $J=8, 2$ Hz, H_{6c}), 6.97 (1H, d, $J=8$ Hz, $H_{5'}$), 6.98, 7.01 (2H, each d, $J=2$ Hz, H_3 and/or $H_{3'}$).

10.10 1-(4-グルコシル-3-メトキシフェニル)-2-(2,6-ジメトキシ-4-[1-(E)-プロペン-3-オール]-フェノキシ)-プロパン-1,3-ジオール (シトラシンB) [20]

Rf値 0.31 (CM51) を示す白色結晶を単離した。

1H -NMR (CD_3OD) δ 3.83ppm (9H, s, $OCH_3 \times 3$), 4.08 (1H, dt, $J=6, 3.5$ Hz, H_8), 4.21 (2H, dd, $J=5.5, 1.5$ Hz, H_{7c}), ~4.81 (1H, Glc- H_1), 5.01 (1H, d, $J=6$ Hz, H_9), 6.30 (1H, dt, $J=16, 5.5$ Hz, H_{6a}), 6.51 (1H, dt, $J=16, 1.5$ Hz, H_{6b}), 6.71 (2H, s, H_{2c} and H_{6c}), 6.79 (1H, dd, $J=8.5, 2$ Hz, H_6), 7.08 (1H, d, $J=2$ Hz, H_3), 7.09 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H_5).

10.11 3-(4-グルコシル-3-メトキシフェニル)-プロペン-1-エン (シトラシンC) [21]

Rf値 0.33 (CM51) を示す白色針状結晶 (メタノール-水より再結晶) を単離した。

1H -NMR (CD_3OD) δ 3.81ppm (3H, s, OCH_3), 5.03 (1H, dd, $J=16, 1.5$ Hz, H_{7a}), 5.05 (1H, dd, $J=10, 1.5$ Hz, H_{7b}), 5.91 (1H, ddt, $J=16, 10, 7$ Hz, H_8), 6.68 (1H, dd, $J=8, 2$ Hz, H_6), 6.78 (1H, d, $J=2$ Hz, H_3), 7.04 (1H, d, $J=8$ Hz, H_5).

10.12 オイゲノール [21a]

[21] の加水分解を行って得た。

EI-MS m/z 164 (M^+ , 100%), 149(29), 137(16), 131(18), 121(12), 103(17), 91(13),

77(18), 55(12).

10.13 3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)-1-グルコシル-2-プロペン (シトラシンD) [22]

Rf値 0.41 (CMW) を示す無色油状物を単離した。

1H -NMR (CD_3OD) δ 3.85ppm (3H, s, OCH_3), 4.26 (1H, ddd, $J=12.5, 5.5, 1.5$ Hz, H_{7a}), 4.38 (1H, d, $J=8$ Hz, Glc- H_1), 4.50 (1H, ddd, $J=12.5, 5.5, 1.5$ Hz, H_{7b}), 6.15 (1H, dt, $J=15.5, 5.5$ Hz, H_8), 6.54 (1H, dt, $J=15.5, 5.5$ Hz, H_6), 6.69 (1H, d, $J=8$ Hz, H_5), 6.81 (1H, dd, $J=8, 2$ Hz, H_6), 6.97 (1H, d, $J=2$ Hz, H_3).

10.14 ペンタアセチルシトラシンD [22a]

[22] のアセチル化を行って得た。

EI-MS m/z 552 (M^+)

1H -NMR ($CDCl_3$) δ 2.00ppm (3H, s, Ac), 2.02 (3H, s, Ac), 2.05 (3H, s, Ac), 2.07 (3H, s, Ac), 2.33 (3H, s, Ac), 3.85 (3H, s, OCH_3), 4.50 (1H, ddd, $J=12.5, 5.5, 1.5$ Hz, H_{7a}), 4.63 (1H, d, $J=8$ Hz, Glc- H_1), 6.16 (1H, dt, $J=16, 5.5$ Hz, H_8), 6.56 (1H, dt, $J=16, 1.5$ Hz, H_6), 6.90 (1H, dd, $J=9, 3$ Hz, H_6), 6.96 (1H, d, $J=3$ Hz, H_3), 7.38 (1H, d, $J=9$ Hz, H_5).

文 献

- 1) 隈元浩康, 松原義治, 飯塚義富, 村上哲男, 岡本耕造, 三宅英夫, 横井勝美: 農化, 58, 137 (1984).
- 2) 隈元浩康, 松原義治, 飯塚義富, 岡本耕造, 横井勝美: 農化, 59, 667 (1985).
- 3) Y. Matsubara, H. Kumamoto, Y. Iizuka, T. Murakami, K. Okamoto, H. Miyake, and K. Yokoi: *Agric. Biol. Chem.*, 49, 909 (1985).
- 4) H. Kumamoto, Y. Matsubara, Y. Iizuka, K. Okamoto, and K. Yokoi: *J.*

Jpn. Oil Chem. Soc., 35, 379 (1986).

- 5) H. Kumamoto, Y. Matsubara, Y. Iizuka, K. Okamoto, and K. Yokoi : *Agric. Biol. Chem.*, 49, 2613 (1985).
- 6) 松原義治, 隈元浩康, 米本浩之, 飯塚義富, 岡本耕造, 横井勝美 : 農化, 59, 405 (1985).
- 7) H. Kumamoto, Y. Matsubara, Y. Iizuka, K. Okamoto, and K. Yokoi : *Agric. Biol. Chem.*, 49, 2797 (1985).
- 8) 隈元浩康, 松原義治, 飯塚義富, 岡本耕造, 横井勝美 : 農化, 59, 683 (1985).
- 9) Y. Matsubara, H. Yonemoto, H. Kumamoto, Y. Iizuka, K. Okamoto, and K. Yokoi : *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 35, 435 (1986).
- 10) H. Kumamoto, Y. Matsubara, Y. Iizuka, K. Okamoto, and K. Yokoi : *Agric. Biol. Chem.*, 50, 781 (1986).
- 11) 松原義治, 隈元浩康, 米本浩之, 飯塚義富, 村上哲男, 三宅英夫, 岡本耕造, 横井勝美 : 近畿大医誌, 9 補冊, 61 (1984).
- 12) C. P. Falshaw, W. D. Ollis, and K. L. Ormanp : *Phytochemistry*, 8, 913 (1969).
- 13) O. Salama, R. K. Chaudhuri, and O. Sticher : *Phytochemistry*, 20, 2603 (1981).
- 14) H. D. Ludemann and H. Nimz : *Makromol. Chem.*, 175, 2393 (1974).
- 15) K. Miki, T. Takehara, T. Sasaya, and A. Sakakibara : *Phytochemistry*, 19, 449 (1980).

第三章 6種 [レモン (*Citrus limon* BURM.f.), 温州みかん (*Citrus unshiu* MARCOV.), 摘果温州みかん (Young *Citrus unshiu* MARCOV.), ユズ (*Citrus junos* SIEB.), ハッサク (*Citrus hassaku* HORT.) およびオレンジ (*Citrus sinensis* OSBECK.)] の柑橘類果皮中のテルペノイドおよびテルペノイド配糖体の構造

序 説

著者は第二章で詳述した柑橘類果皮中のフェニルプロパノイド配糖体^{1,2)}の検討中, 柑橘類果皮熱水抽出物中の中性部画分にテルペノイド配糖体が集中し, 存在していることを見出した。テルペン類は最も広く植物界に分布している成分の一つであり, 香料あるいは農薬, 医薬品の中間体として, よく知られており, それらの生理活性についても多く報告されているが, その配糖体についての報告は極めて少なく, 今後テルペノイド配糖体の生理活性に対する知見が期待される。

著者は6種 [レモン (*Citrus limon* BURM.f.), 温州みかん (*Citrus unshiu* MARCOV.), 摘果温州みかん (Young *Citrus unshiu* MARCOV.), ユズ (*Citrus junos* SIEB.), ハッサク (*Citrus hassaku* HORT.) およびオレンジ (*Citrus sinensis* OSBECK.)] の柑橘類果皮から7種のテルペノイドおよび6種のテルペノイド配糖体の分離に成功し, それらの構造を明確にした。

第一節 温州みかん果皮中のテルペノイド

結果および考察

温州みかん果皮 (22.6kg) を従来法³⁾で処理して得た熱水抽出物をヘキサン, *n*-ブタノールで順次抽出し, *n*-ブタノール抽出物 251.6g を採取した。ついて *n*-ブタノール抽出物に塩基性酢酸鉛の飽和水溶液を添加して, フラボノイド類などの酸性化合物を沈殿させて濾別し, 濾液を炭酸ナトリウムの飽和水溶液で過剰の鉛を沈殿させて除去してから再び *n*-ブタノールで抽出を行い中性部画分 16.7g を得た (図1, 2)。ついてゲル濾過, シリカゲルカラムクロマトグ

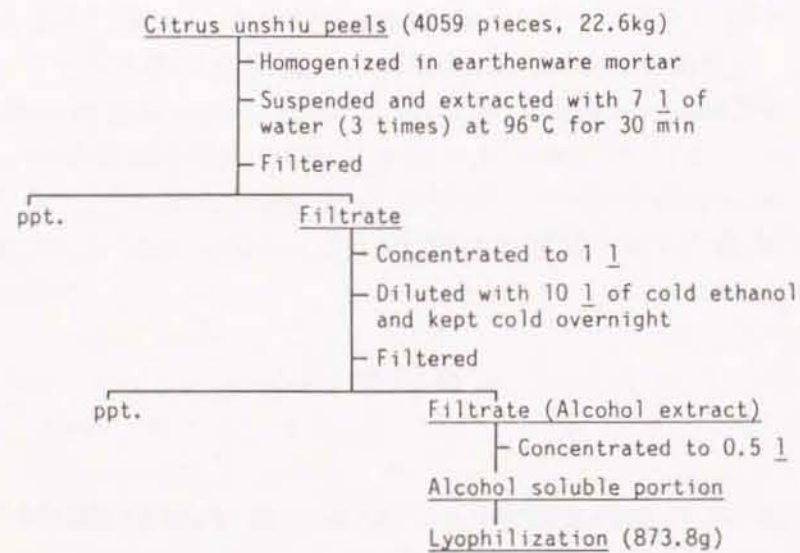


Fig. 1 Procedure for Extracting the Constituents of Citrus unshiu Peels.

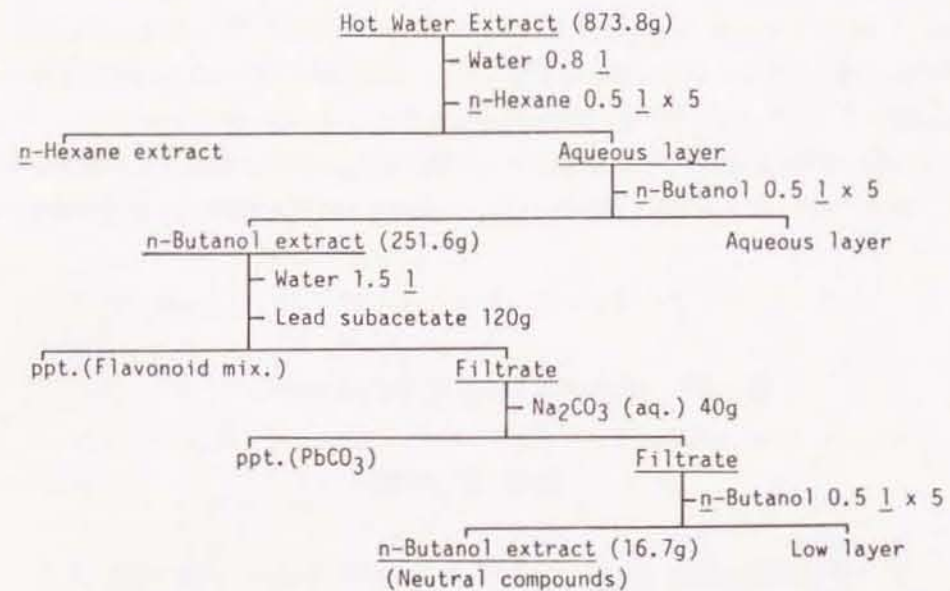


Fig. 2 Separation of Neutral Compounds.

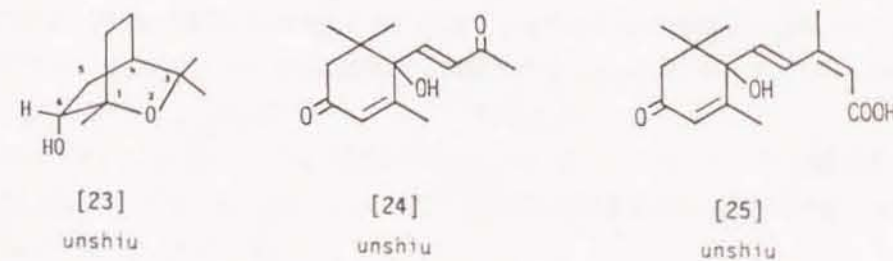


Fig. 3 Structures of Isolated Terpenoids.

ラフィーならびにHPLC分取を行い [23] ~ [25] の成分を分離した (図3)。

[23] および [24] のEI-MS, ¹H-NMRおよび¹³C-NMRスペクトルはそれぞれ既知の (1*S*, 4*R*, 6*R*)-1,3,3-トリメチル-2-オキサビシクロ [2.2.2] オクタシ-6-オール⁴⁾および6-ヒドロキシ-3-オキソ- α -ヨノン⁵⁾のそれらと一致した。

[25] は mp 167~168°C, $[\alpha]_D^{25} +75.27^\circ$ ($c=0.2$, CHCl₃) を示す白色結晶で, そのEI-MSおよび¹H-NMRスペクトルは既知のアブジジン酸⁶⁾のそれらと一致した。

本研究において温州みかん果皮中から植物生長阻害作用物質であるアブジジン酸を見出したことは注目に値する。

なお, [23] ~ [25] は温州みかん果皮中から著者が初めて見出したテルペノイドである。

実験

1. 試料

温州みかんは市販のものを1986年12月に購入し使用した。

2. 熱水抽出

第一章と同様の方法で処理し, 温州みかん果皮 22.6kgから熱水抽出物 873.8gを得た。

3. 熱水抽出物の有機溶媒による抽出分離

第一章と同様の方法で処理し, *n*-ブタノール抽出部 251.6gを得た。

4. 塩基性酢酸鉛を用いた沈殿法

n-ブタノール抽出物を 1.5 lの水に溶解し, 塩基性酢酸鉛の飽和水溶液 140gを添加して, 選択的にフラボノイド類などの酸性化合物を沈殿させて沈殿部と濾液部に分画した。濾液部を炭

酸ナトリウムの飽和水溶液でpH 9に調整し、過剰の鉛を沈殿させて沈殿物を濾別したのち、濾液を再び*n*-ブタノール (500ml×5回)で抽出して中性部画分 16.7gを得た。

5. ゲル濾過

第二章と同様の方法でゲル濾過を行った。

6. シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離

第二章と同様の方法でシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行った。

7. 機器分析

第二章と同一の機器を用い、同一条件下測定した。

8. 単離した成分

8.1 (1*S*, 4*R*, 6*R*)-1,3,3-トリメチル-2-オキサビシクロ [2.2.2] オクタン-6-オール [23]

Rf値 0.29 (CM51) を示す白色結晶 18mgを単離した。

mp 121~122°C, $[\alpha]_D^{20} -24.2^\circ$ ($c=0.2$, MeOH).

EI-MS m/z 170 (M^+ , 3%), 155(10), 137(6), 126(40), 112(49), 108(33), 71(100), 59(55), 43(58).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 1.06ppm (6H, s, H_{10} and H_{11}), 1.09 (3H, s, H_7), 1.40~1.80 (7H, m, $\text{H}_{1,5,7,8}$), 3.52 (1H, br. s, H_6).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD) δ 23.0ppm (t, C_8), 26.8 (q, C_{10} or C_{11}), 27.0 (q, C_{10} or C_{11}), 27.7 (q, C_9), 31.0 (t, C_7), 34.4 (t, C_5), 42.2 (d, C_4), 71.5 (s, C_1), 73.2 (s, C_3), 74.5 (d, C_6).

8.2 6-ヒドロキシ-3-オキソ- α -ヨノン [24]

Rf値 0.64 (CM51) を示す無色油状物 5mgを単離した。

$[\alpha]_D^{20} +0^\circ$ ($c=1$, CHCl_3)

EI-MS m/z 222 (M^+ , 4%), 207(5), 204(1), 180(11), 166(30), 150(4), 149(35), 137(5), 124(100), 107(7), 93(8), 79(2), 69(6), 55(3), 43(18).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.02ppm (3H, s, H_{12}), 1.10 (3H, s, H_{11}), 1.88 (3H, d, $J=1\text{Hz}$, H_{10}), 2.28 (3H, s, H_{10}), 2.32 (1H, d, $J=17\text{Hz}$, H_{2A}), 2.50 (1H, d, $J=17\text{Hz}$, H_{2B}), 5.94 (1H, br. s, H_4), 6.44 (1H, d, $J=16\text{Hz}$, H_8), 6.82 (1H, d, $J=16\text{Hz}$, H_7).

8.3 アブシジン酸 [25]

Rf値 0.50 (CM51) を示す白色結晶 8mgを単離した。

mp 167~168°C, $[\alpha]_D^{20} +75.27^\circ$ ($c=0.2$, CHCl_3).

EI-MS m/z 264 (M^+ , 7%), 246(15), 231(5), 221(3), 208(14), 190(100), 175(4), 167(15), 162(33), 154(12), 147(7), 134(27), 119(4), 111(15), 106(5), 100(3), 96(4), 91(7), 83(5), 69(4), 55(2), 43(3).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.03ppm (3H, s, H_{12}), 1.11 (3H, s, H_{11}), 1.92 (3H, d, $J=1.5\text{Hz}$, H_{10}), 2.09 (3H, s, H_{10}), 2.28 (1H, d, $J=16.5\text{Hz}$, H_{2A}), 2.50 (1H, d, $J=16.5\text{Hz}$, H_{2B}), 5.74 (1H, br. s, H_{10}), 5.94 (1H, br. s, H_4), 6.15 (1H, d, $J=16\text{Hz}$, H_8), 7.78 (1H, d, $J=16\text{Hz}$, H_7).

第二節 レモン果皮中のステロイド

結果および考察

レモン果皮を従来法³⁾に従って得た熱水抽出物をヘキサンで抽出して粗画分を得た。この粗画分をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで11画分に分画し、ローバーカラムクロマトグラフィーの反復あるいは再結晶を行い、[26]～[29]の成分を分離した(図4)。

Fr. 5を再結晶して得た主成分[26]の¹H-NMRおよび¹³C-NMRスペクトルはRubinsteinら⁴⁾およびWrightら⁵⁾が報告している値と完全に一致したことからβ-シトステロールと同定した。

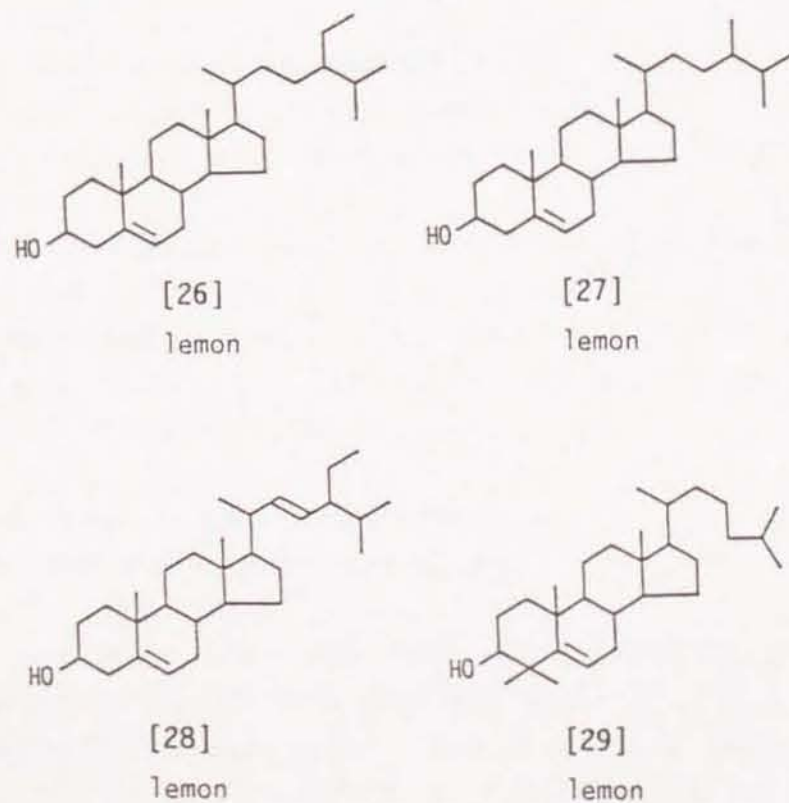


Fig. 4 Structures of Isolated Steroids.

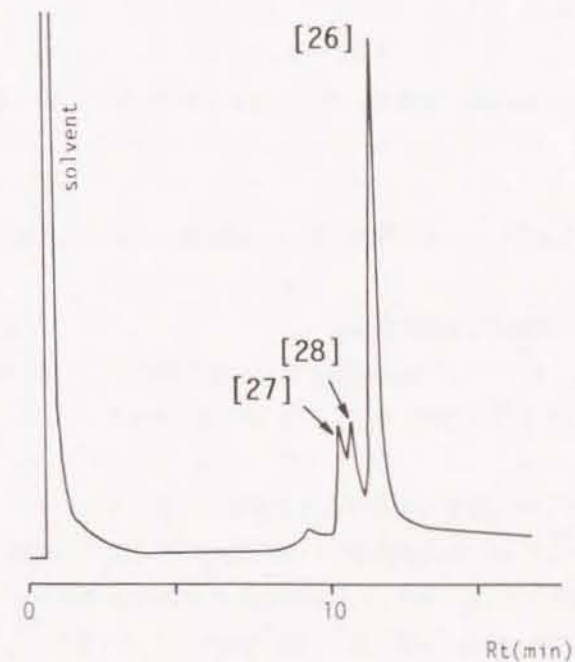


Fig. 5 GLC Diagram of Mother Liquor from Recrystallization of β-Sitosterol [26].

[26]の再結晶母液のガスクロマトグラム(図5)に2種の微量成分([27]、[28])が認められた。[27]および[28]のGC-MSスペクトルは既知のカンペステロール⁶⁾およびスティグマステロール⁷⁾のそれらと一致した。

Fr. 4のローバーカラムクロマトグラフィーの反復によって得た[29]の¹H-NMRスペクトルはIidaら⁸⁾が報告している値と完全に一致したことから4,4-ジメチルコレスト-5-エン-3β-オールと同定した。

なお、[27]、[28]および[29]はレモン果皮中から著者が初めて見出したステロイドである。

実 験

1. 試料

市販レモン（サンキスト社販売の米産レモン）の果皮を剥ぎとって研究試料とした。

2. 熱水抽出

第一章と同様の方法で処理し、レモン果皮 13.0kg（190個分）から熱水抽出物 654.9gを得た。

3. 熱水抽出物の有機溶媒による抽出分離

熱水抽出物（654.9g）を750mlの水に溶解して不溶物を濾別したのち、濾液部を分液漏斗を用いてヘキサン（500ml×5回）で抽出して粗画分（5.2g）を得た。

4. シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離

充填剤にワコーゲル C-300（和光純薬製）、溶出溶媒にヘキサン：酢酸エチル=85：15の混合溶媒を用いて、粗画分（3.0g）をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（φ45mm×250mm）でFr. 1～Fr. 11の11画分に分離した。収量（mg）：Fr. 1：228, Fr. 2：151, Fr. 3：215, Fr. 4：183, Fr. 5：232, Fr. 6：216, Fr. 7：192, Fr. 8：210, Fr. 9：161, Fr. 10：136, Fr. 11：1053。

5. ローバカラムクロマトグラフィーによる分離

カラムにSi 60（φ25mm×30mm, Merck製）、溶出溶媒にはクロロホルム：メタノール=95：5の混合溶媒、検出には屈折計（RID-2A：島津製作所製）を用いて流量 30ml/hrでローバカラムクロマトグラフィーを行った。

6. 機器分析

GLCはOV-1カラム（φ3.0mm×4m）を装着したYANACO G180型ガスクロマトグラフィー（FID）を用いて 250～300°C（昇温度：5°C/min）で測定した。日本電子JMS-HX100型質量分析計を用いてEI-MS（70eV）およびGC-MSスペクトルを、また日本電子JNM-FX200型高分解能核磁気共鳴装置を用いてCDCl₃を溶媒に、TMSを内部標準としてNMRスペクトル（¹H：200MHz；¹³C：50MHz）を測定した。

7. 単離した成分

7.1 β-シトステロール [26]

mp 134～135°C, 白色針状結晶（ヘキサンより再結晶）56.3mg

EI-MS *m/z* 414 (M⁺, 76%), 396(32), 381(22), 329(27), 303(37), 273(24), 255(29), 213(32), 145(42), 119(34), 107(54), 81(54), 55(75), 43(100).

HR-MS found: 414.3831, calcd. for C₂₉H₅₀O. 414.3861.

¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.68ppm (3H, s, H₁₈), 0.80 (3H, d, *J*=7Hz, H₂₇), 0.82 (3H, d, *J*=7Hz, H₂₆), 0.84 (3H, t, *J*=8Hz, H₂₈), 0.90 (3H, d, *J*=7Hz, H₂₁), 1.01 (3H, s, H₁₉), 3.50 (1H, m, H₃), 5.33 (1H, d, *J*=5.5Hz, H₆).

¹³C-NMR (CDCl₃) δ 11.9ppm (q, C₁₈), 12.0 (q, C₂₈), 18.9 (q, C₂₁), 19.1 (q, C₂₇), 19.5 (q, C₁₉), 19.9 (q, C₂₆), 21.1 (t, C₁₆), 23.1 (t, C₂₈), 24.4 (t, C₁₁), 26.2 (t, C₂₃), 28.3 (d, C₉), 29.3 (d, C₂₅), 31.7 (t, C₂), 31.9 (t, C₇), 31.9 (d, C₈), 34.1 (t, C₂₂), 36.2 (d, C₂₆), 36.6 (t, C₁₅), 37.3 (t, C₁), 39.8 (d, C₁₂), 42.3 (t, C₁), 42.3 (s, C₁₃), 45.9 (d, C₂₄), 50.2 (d, C₁₄), 56.1 (s, C₁₆), 56.8 (t, C₁₂), 71.8 (d, C₅), 121.7 (d, C₆), 140.8 (s, C₃).

7.2 カンベステロール [27]

EI-MS *m/z* 400 (M⁺, 76%), 385(36), 382(47), 367(37), 315(45), 289(49), 273(36), 255(62), 231(30), 213(100).

7.3 ステイグマステロール [28]

EI-MS *m/z* 412 (M⁺, 85%), 394(7), 379(7), 369(25), 351(32), 312(15), 299(55), 282(15), 271(75), 255(100), 241(15), 229(17), 213(41).

7.4 4,4-ジメチルコレステ-5-エン-3β-オール [29]

mp 132～133°C, 白色針状結晶（ヘキサンより再結晶）5mg

EI-MS *m/z* 414 (M⁺, 100%), 399(75), 396(88), 381(88), 371(35), 378(67), 331(75), 314(36), 301(44), 283(53), 275(54), 248(55), 213(34).

¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.67ppm (3H, s, H₁₈), 0.83 (3H, d, *J*=7Hz, H₂₇), 0.87 (3H, d, *J*=7Hz, H₂₆), 0.92 (3H, d, *J*=7Hz, H₂₁), 1.01 (6H, s, H₁₉ and H₁₁), 1.25 (3H, s, H₁₀), 3.48 (1H, m, H₃), 5.32 (1H, d, *J*=6Hz, H₆).

第三節 5種〔温州みかん, 摘果温州みかん, ユズ, ハッサクおよびオレンジ〕の柑橘類果皮中のテルペノイド配糖体

結果および考察

温州みかん, 摘果温州みかん, ユズ, ハッサクおよびオレンジ果皮は, それぞれ第三章・第一節と同様の方法で分画を行い, 温州みかん果皮中から [30], [32], [33], [34] および [35], 摘果温州みかん果皮中から [30], [32], [33], [34] および [35], ユズ果皮中から [30], [32], [34] および [35], オレンジ果皮中から [30], [31], [32], [34] および [35] の成分を分離した (図6)。

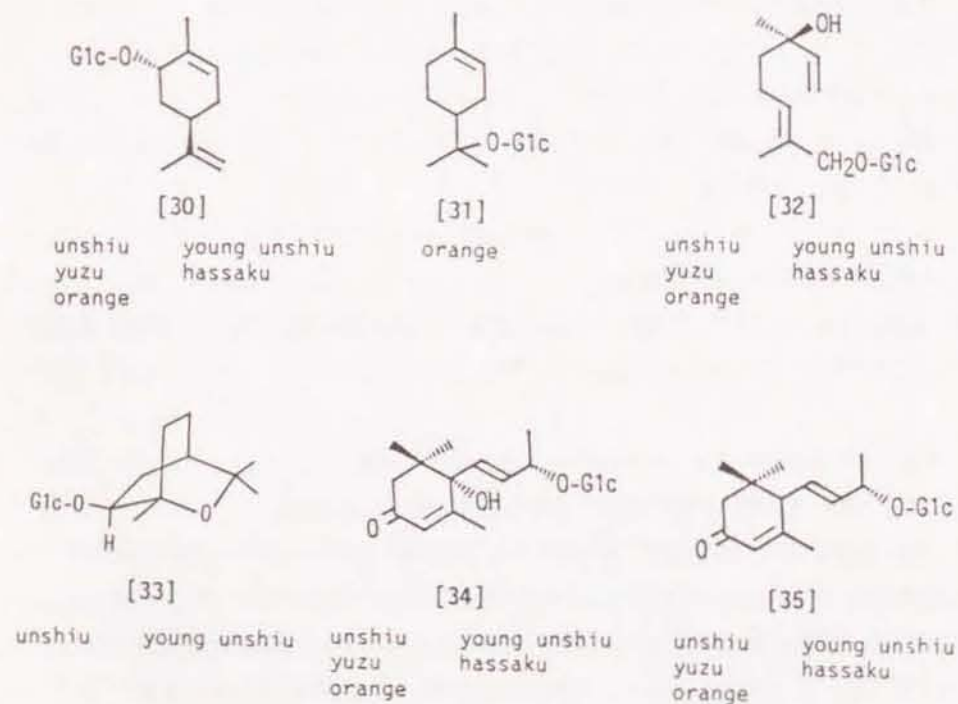


Fig. 6 Structures of Isolated Terpenoid Glycosides.

Table I. Yield of Each Compound

	[30]	[31]	[32]	[33]	[34]	[35] (mg)
Unshiu	18	--	32	2	120	15
Young unshiu	8	--	4	16	132	26
Yuzu	2	--	12	--	73	3
Hassaku	4	--	19	--	88	5
Orange	15	12	56	--	104	31

各成分の収量は表 I に掲げた。

[30] は mp 82~83°C, $[\alpha]_D^{20} +34.0^\circ$ ($c=0.97$, MeOH) を示す白色針状結晶で, その FAB-MS スペクトルには m/z 315 $[M+H]^+$ および m/z 337 $[M+Na]^+$ に基づくイオンピークが認められ, $C_{16}H_{26}O_6$ の組成を有することが示唆された。また, ^1H-NMR スペクトルには δ 1.77 および 1.80 ppm に 2 個のビニルメチル基のシグナルがそれぞれシングレットで, δ 4.72 ppm に末端オレフィンプロトンが重なって認められたほか, δ 5.63 ppm にオレフィンプロトンが J 値 6 Hz のダブルットで観測された。さらに δ 4.35 ppm に β -グルコースのアノメリックプロトンが J 値 8 Hz のダブルットで観測された。また, $^{13}C-NMR$ スペクトル (表 II) には β -グルコースに由来する 6 個の炭素, 2 組のオレフィン炭素および 1 個の酸素原子付け根の炭素を含む合計 16 個の炭素シグナルが観測された。さらに [30] の加水分解で得たアグリコン [30a] の比旋光度および EI-MS スペクトルは *trans*-カルベオールのもので一致した。したがって, [30] は *trans*-カルベオール 6- β -グルコピラノシドと決定した。

[31] は無色油状物で, その FAB-MS スペクトルには m/z 317 $[M+H]^+$ および m/z 339 $[M+Na]^+$ に基づくイオンピークが認められ, $C_{16}H_{26}O_6$ の組成を有することが示唆された。また, ^1H-NMR スペクトルには δ 1.21 ppm に 2 個のメチル基のシグナルが, δ 1.61 ppm に 1 個のビニルメチル基のシグナルがそれぞれシングレットで観測されたほか, δ 5.35 ppm にオレフィンプロトンが J 値 5 Hz のダブルットで観測された。さらに δ 4.46 ppm に β -グルコースのアノメリックプロトンが J 値 8 Hz のダブルットで観測された。また, $^{13}C-NMR$ スペクトル (表 II) には β -グルコースに由来する 6 個の炭素, 1 組のオレフィン炭素および 1 個の酸素原子付け根の炭素を含む合計 16 個の炭素シグナルが観測された。さらに [31] の加水分解で得たアグリコン [31a] の EI-MS スペクトルは α -テルピネオールのもので一致した。したがって, [31] は α -テルピネオール 8- β -グルコピラノシドと決定した。

[32] は $[\alpha]_D^{20} -31.82^\circ$ ($c=0.2$, MeOH) を示す無色油状物で, その FAB-MS スペクトルには m/z 333 $[M+H]^+$ および m/z 355 $[M+Na]^+$ に基づくイオンピークが認められ,

Table II. ^{13}C -NMR Data for Each Component

Carbon No.	[30]	[31]	[32]	[33]	[34]	[35]
1	127.0	127.1	75.8	73.8	42.3	37.1
2	134.1	121.9	132.7	---	50.7	obscured
3	32.1	25.1 ^a	130.0	75.5	201.1	201.8
4	33.9	45.2	23.4	35.5	133.6	131.0
5	33.3	24.2 ^a	42.8	24.7	167.0	165.4
6	75.5	28.0	73.6	80.9	79.9	56.8
7	21.1 ^a	21.1	146.1	34.6	133.6	131.0
8	150.9	81.0	112.0	23.0	127.0	136.9
9	109.2	23.6 ^b	14.0	26.8	74.0	74.7
10	21.2 ^a	23.9 ^b	27.6	29.3 ^a	22.2	28.0
11	---	---	---	28.9 ^a	24.7	23.8
12	---	---	---	---	23.5	22.2
13	---	---	---	---	19.7	27.3
Glc-1	102.1	102.1	102.5	106.1	102.2	101.1
Glc-2	75.0	75.3	74.9	75.1	74.9	74.9
Glc-3	78.3	78.4	78.0	78.2	78.3	78.3
Glc-4	71.9	71.9	71.6	71.8	71.6	71.6
Glc-5	77.9	77.5	77.7	77.7	78.0	78.0
Glc-6	63.0	63.0	62.7	63.0	62.7	62.8

Solvent: CD_3OD ^{a, b} The assignments may be interchangeable.

$\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_7$ の組成を有することが示唆された。また、 ^1H -NMRスペクトルには δ 1.26ppmにメチル基および δ 1.68ppmにビニルメチル基のシグナルがそれぞれシングレットで観測されたほか、 δ 5.47ppmにマルチプレットで1個のオレフィンプロトンが観測された。 δ 5.03, 5.20および5.92ppmにABXタイプ ($J_{\text{AB}}=1.5$, $J_{\text{AX}}=11$ および $J_{\text{BX}}=17\text{Hz}$) で出現する3個のオレフィンプロトンが観測され、これらの J 値の関係からビニル基が第3級炭素に結合した部分構造を有することが推察された。さらに δ 4.24ppmに β -グルコースのアノメリックプロトンが J 値8 Hzのダブルットで観測された。また、 ^{13}C -NMRスペクトル(表II)には β -グルコースに由来する6個の炭素、2個のメチル炭素、2個のメチレン炭素、2組のオレフィン炭素および2個の酸素原子付け根の炭素シグナルが観測された。この ^{13}C -NMRスペクトル、[32]の加水分解で得たアグリコン [32a] の比旋光度: $[\alpha]_D^{20} -20.80^\circ$ ($c=0.2$, MeOH)

およびEI-MSスペクトルはTschesheら¹¹⁾が *Betula alba* (Betulaceae) の葉および *Chaenomeles japonica* (Rosaceae) の果実から単離した(2*E*, 6*R*)-2,6-ジメチル-2,7-オクタジエン-6-オール-1-*O*- β -D-グルコピラノシド(9-ヒドロキシリナロール9- β -グルコピラノシド)のそれらと一致した。

[33]はmp 81~83°C, $[\alpha]_D^{20} -9.18^\circ$ ($c=0.71$, MeOH)を示す白色針状結晶で、その ^1H -NMRスペクトルには δ 1.14, 1.20および1.28ppmに3個のメチル基のシグナルがそれぞれシングレットで認められたほか、 δ 4.31ppmに β -グルコースのアノメリックプロトンが J 値8 Hzのダブルットで観測された。また、 ^{13}C -NMRスペクトル(表II)には β -グルコースに由来する6個の炭素および3個の酸素原子付け根の炭素を含む合計16個の炭素シグナルが観測された。さらに[33]のアセチル化で得たアセチル体 [33a] のEI-MSスペクトルには m/z 500に分子イオンピークが認められ、高分解能MSスペクトルから $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_{11}$ の組成を有することが判明した。また、[33a]の ^1H -NMRスペクトルには3個のメチル基、4個のアセチル基および β -グルコースに由来する各シグナルが観測された。さらに[33]の加水分解で得たアグリコン [33b] の比旋光度: $[\alpha]_D^{20} +28.0^\circ$ ($c=0.03$, MeOH)はMacRaeら¹²⁾が報告している(1*S*, 4*R*, 6*S*)-1,3,3-トリメチル-2-オキサビシクロ [2.2.2] オクタン-6-オールのと一致した。したがって、[33]は(1*S*, 4*R*, 6*S*)-1,3,3-トリメチル-2-オキサビシクロ [2.2.2] オクタン-6-*O*- β -グルコピラノシドと決定した。

[34]は $[\alpha]_D^{20} +48.2^\circ$ ($c=0.97$, MeOH)を示す無色油状物で、そのFAB-MSスペクトルには m/z 387 $[\text{M}+\text{H}]^+$ および m/z 225 $[\text{aglycone}+\text{H}]^+$ に基づくイオンピークが認められ、 $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_6$ の組成を有することが示唆された。また、 ^1H -NMRスペクトルには δ 0.98および1.04ppmにメチル基のシグナルがそれぞれシングレットで、 δ 1.28ppmにメチル基が J 値7 Hzのダブルットで、さらに δ 1.92ppmにビニルメチル基のシグナルが J 値1 Hzのダブルットで観測された。また、 ^{13}C -NMRスペクトル(表II)には β -グルコースに由来する6個の炭素、4個のオレフィン炭素、2個の酸素原子付け根の炭素および1個のカルボニル炭素を含む合計19個の炭素シグナルが観測された。さらに[34]のアセチル化で得たアセチル体 [34a] の ^1H -NMRスペクトルには δ 2.00, 2.02, 2.03および2.08ppmに4個のアセチル基のシグナルが観測されたほか、 δ 1.80ppmに D_2O 処理によって消失する1個の水酸基のシグナルが観測された。[34a]のEI-MSスペクトルには m/z 554に分子イオンピークが認められたほか、 m/z 331および m/z 347にテトラアセチルグルコースに由来するイオンピークが認められたことから4個のアセチル基はグルコースに結合していることが判明した(図7)。以上の諸事実からOkamuraら¹³⁾が *Zizyphus jujuba* Mill. var. *inermis* Bunge (ナツメ) から単離したボミホリオール9-*O*- β -グルコピラノシドと決定した。

[35]は $[\alpha]_D^{20} +31.45^\circ$ ($c=0.05$, MeOH)を示す無色油状物で、そのFAB-MSスペクトルには m/z 371 $[\text{M}+\text{H}]^+$ および m/z 209 $[\text{aglycone}+\text{H}]^+$ に基づくイオンピークが認め

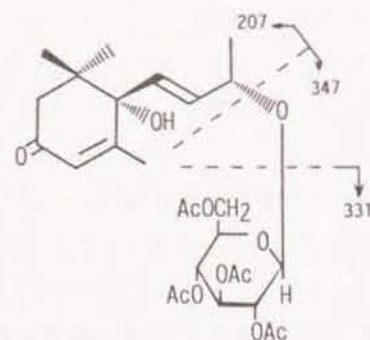


Fig. 7 EI-MS Spectrum for [34a].

られ、 $C_{19}H_{30}O_7$ の組成を有することが示唆された。その 1H -NMRスペクトルには δ 2.66 ppm ($J=8.5$ Hz)にオレフィンプロトンとカップリングを有するメチンプロトンが δ 5.54 ($J=15.5, 7$ Hz)および5.68ppm ($J=15.5, 8.5$ Hz)にそれぞれ $trans$ のオレフィンプロトンが観測された。また、 δ 4.25ppmに β -グルコースのアノメリックプロトンが J 値7Hzのダブルレットで観測され、他のシグナルは[34]のそれと酷似していた。さらに ^{13}C -NMRスペクトル(表II)には β -グルコースに由来する6個の炭素、4個のオレフィン炭素、1個の酸素原子付け根の炭素および1個のカルボニル炭素を含む合計19個の炭素シグナルが観測された。以上の諸事実から[35]はMurakamiら¹⁾が*Polystichum tripterum*(十文字シダ)から単離した(6*R*, 7*E*, 9*R*)-9-ヒドロキシメガスチグマ-4,7-ジエン-3-オン-9-O- β -D-グルコシドと決定した。

なお、本研究において単離構造決定した成分のうち、[30]、[31]および[33]は文献未載の新規化合物であり、[32]、[34]および[35]は柑橘類果皮中から著者が初めて見出したテルペノイド配糖体である。

実 験

1. 試料

温州みかん、ユズ、ハッサクおよびオレンジは市販のものを、また摘果温州みかんは1986年6月に和歌山県有田町で採集したものを使用した。

2. 熱水抽出

第一章と同様の方法で処理し、果皮(温州みかん 22.6kg, 摘果温州みかん 11.0kg, ユズ 5.2kg, ハッサク 6.6kg, オレンジ 9.5kg)から熱水抽出物(温州みかん 873.8g, 摘果温州みかん 426g, ユズ 535g, ハッサク 579.8g, オレンジ 760.8g)を得た。

3. 熱水抽出物の有機溶媒による抽出分離

第一章と同様の方法で処理し、*n*-ブタノール抽出部(温州みかん 251.6g, 摘果温州みかん 151g, ユズ 92.5g, ハッサク 125.4g, オレンジ 121.9g)を得た。

4. 塩基性酢酸鉛を用いた沈殿法

第三章・第一節と同様の方法で処理し、中性部画分(温州みかん 16.7g, 摘果温州みかん 29.5g, ユズ 17.2g, ハッサク 17.2g, オレンジ 19.5g)を得た。

5. ゲル濾過

第二章と同様の方法でゲル濾過を行った。

6. シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離

第二章と同様の方法でシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行った。

7. HPLCによる分離

ポンプ: LC-6A(島津製)、検知: 示差屈折検出器 RID-2A(島津製)、カラム: Develosil ODS-5(野村化学製)を用い、溶出溶媒に75%メタノール、流速1ml/minでHPLCを行った。

8. 機器分析

第二章と同一の機器を用い、同一条件下測定した。

9. [30]、[31]、[32]および[33]の加水分解

試料 3mgと β -グルコシダーゼ 2mgをリン酸水素ナトリウム-クエン酸緩衝溶液(pH 4.0)に溶解し、かき混ぜながら37°Cで3日間反応させた。反応終了後、エーテルで抽出し、GLC分析[YANACO G180型ガスクロマトグラフ(FID);カラム: 5%PEG 20M, ϕ 0.28mm \times 20m, カラム温度100~180°C(昇温度: 2°C/min)、キャリアーガス: N_2 1.0kg/cm³]およびEI-MSスペクトルを測定した。

10. [33] および [34] のアセチル化

第二章と同様の方法でアセチル体を得た。

11. 単離した成分および誘導体

11.1 *trans*-カルベオール 6-β-グルコピラノシド [30]

R_f値 0.38 (CM51) を示す白色針状結晶を単離した。

¹H-NMR (CD₃OD) δ 1.77ppm (3 H, s, H₇), 1.80 (3 H, s, H_{10a}), 3.68 (1 H, d d, *J*=12, 5 Hz, Glc-H_{6a}), 3.88 (1 H, d d, *J*=12, 2 Hz, Glc-H_{6b}), 4.12 (1 H, m, H₉), 4.35 (1 H, d, *J*=8 Hz, Glc-H₁), 4.72 (2 H, s, H₈), 5.63 (1 H, br. d, *J*=6 Hz, H₂).

11.2 *trans*-カルベオール [30a]

[30] の加水分解を行って得た。

$[\alpha]_D^{25} +156.22^\circ$ (*c*=0.73, CHCl₃).

EI-MS *m/z* 152 (M⁺, 12%), 137(13), 123(9), 119(18), 109(100), 95(24), 91(34), 84(84), 82(40), 77(25), 69(33), 55(53), 41(75).

11.3 α-テルピネオール 8-β-グルコピラノシド [31]

R_f値 0.35 (CM51) を示す無色油状物を単離した。

¹H-NMR (CD₃OD) δ 1.21ppm (6 H, s, H_{9,10a}), 1.61 (3 H, br. s, H₇), 3.70 (1 H, d d, *J*=12, 5 Hz, Glc-H_{6a}), 3.80 (1 H, d d, *J*=12, 1.5 Hz, Glc-H_{6b}), 4.46 (1 H, d, *J*=8 Hz, Glc-H₁), 5.35 (1 H, br. d, *J*=5 Hz, H₂).

11.4 α-テルピネオール [31a]

[31] の加水分解を行って得た。

EI-MS *m/z* 154 (M⁺, 2%), 136(23), 121(34), 93(46), 81(35), 67(28), 59(100), 53(18), 44(44), 40(52).

11.5 (2*E*, 6*R*)-2,6-ジメチル-2,7-オクタジエン-6-オール-1-*O*-β-D-グルコピラノシド [32]

R_f値 0.19 (CM51) を示す無色油状物を単離した。

¹H-NMR (CD₃OD) δ 1.26ppm (3 H, s, H_{10a}), 1.68 (3 H, br. s, H₇), 3.66 (1 H, d d, *J*=12, 6 Hz, Glc-H_{6a}), 3.86 (1 H, d d, *J*=12, 2 Hz, Glc-

H_{6b}), 4.02 (2 H, br. d, *J*=12 Hz, H₁), 4.24 (1 H, d, *J*=8 Hz, Glc-H₁), 5.03 (1 H, d d, *J*=11, 1.5 Hz, H_{6a}), 5.20 (1 H, d d, *J*=17, 1.5 Hz, H_{6b}), 5.47 (1 H, m, H₉), 5.92 (1 H, d d, *J*=17, 11 Hz, H₂).

11.6 (2*E*, 6*R*)-2,6-ジメチル-2,7-オクタジエン-1,6-ジオール [32a]

[32] の加水分解を行って得た。

$[\alpha]_D^{25} -12.80^\circ$ (*c*=0.2, MeOH).

EI-MS *m/z* 152 ([M-H₂O], 12%), 137(14), 119(14), 96(15), 93(20), 84(18), 82(27), 79(19), 71(90), 67(62), 55(34), 43(100), 41(41), 39(19).

11.7 (1*S*, 4*R*, 6*S*)-1,3,3-トリメチル-2-オキサビシクロ [2.2.2] オクタン-6-*O*-β-グルコピラノシド [33]

R_f値 0.25 (CM51) を示す白色針状結晶を単離した。

FAB-MS *m/z* 333 [M+H]⁺, 355 [M+Na]⁺, 331 [M-H]⁻.

¹H-NMR (CD₃OD) δ 1.14ppm (3 H, s, CH₃), 1.20 (3 H, s, CH₃), 1.28 (3 H, s, CH₃), 4.31 (1 H, d, *J*=8 Hz, Glc-H₁).

11.8 (1*S*, 4*R*, 6*S*)-1,3,3-トリメチル-2-オキサビシクロ [2.2.2] オクタン-6-*O*-テトラアセチル-β-グルコピラノシド [33a]

[33] のアセチル化を行って得た。

EI-MS *m/z* 500 (M⁺, 12%), 331(100), 271(10), 256(6), 239(4), 224(4), 221(4), 191(6), 169(66), 153(32), 139(9), 126(70), 108(6), 97(20), 85(14), 71(16), 57(16), 43(6).

HR-MS found : 500.2236, calcd. for C₂₄H₃₈O₁₁, 500.2258.

¹H-NMR (CDCl₃) δ 1.02ppm (3 H, s, CH₃), 1.16 (3 H, s, CH₃), 1.25 (3 H, s, CH₃), 2.00 (3 H, s, Ac), 2.02 (3 H, s, Ac), 2.03 (3 H, s, Ac), 2.10 (3 H, s, Ac), 3.65~3.76 (1 H, m, Glc-H₆), 4.13 (1 H, d d, *J*=13, 2.5 Hz, Glc-H_{6a}), 4.30 (1 H, d d, *J*=13, 5 Hz, Glc-H_{6b}), 4.56 (1 H, d, *J*=8 Hz, Glc-H₁), 4.97~5.26 (3 H, m, Glc-H_{2,3,4,5}).

11.9 (1*S*, 4*R*, 6*S*)-1,3,3-トリメチル-2-オキサビシクロ [2.2.2] オクタン-6-オール [33b]

[33] の加水分解を行って得た。

$[\alpha]_D^{20} +28.0^\circ$ (*c*=0.03, MeOH).

EI-MS m/z 170 (M^+ , 34%), 126(93), 111(57), 109(20), 108(98), 93(42), 83(34), 71(78), 69(48), 68(20), 58(24), 55(25), 43(100), 41(36).

11.10 ボミホリオール9-O- β -グルコピラノシド [34]

R_f値 0.19 (CM51) を示す無色油状物を単離した。

¹H-NMR (CD₃OD) δ 0.98ppm (3 H, s, H₁₂), 1.04 (3 H, s, H₁₁), 1.28 (3 H, d, $J=7$ Hz, H₁₀), 1.92 (3 H, d, $J=1$ Hz, H₁₃), 2.16 (1 H, d, $J=17$ Hz, H_{2A}), 2.60 (1 H, d, $J=17$ Hz, H_{2B}), 3.62 (1 H, dd, $J=12, 6$ Hz, Glc-H_{6B}), 3.84 (1 H, dd, $J=12, 3$ Hz, Glc-H_{6A}), 4.26 (1 H, d, $J=8$ Hz, Glc-H₁), 4.52 (1 H, m, H₉), 5.70 (1 H, dd, $J=15.5, 7$ Hz, H₈), 5.86 (1 H, br. s, H₄), 5.97 (1 H, d, $J=15.5$ Hz, H₇).

11.11 ボミホリオール9-O-テトラアセチル- β -グルコピラノシド [34a]

[34] のアセチル化を行って得た。

EI-MS m/z 554 (M^+ , 0.2%), 536(0.4), 511(1), 347(3), 331(62), 207(100), 43(22).
¹H-NMR (CDCl₃) δ 1.01ppm (3 H, s, H₁₂), 1.08 (3 H, s, H₁₁), 1.30 (3 H, d, $J=7$ Hz, H₁₀), 1.80 (1 H, br. s, -OH), 1.93 (3 H, d, $J=1$ Hz, H₁₃), 2.00 (3 H, s, Ac), 2.02 (3 H, s, Ac), 2.03 (3 H, s, Ac), 2.08 (3 H, s, Ac), 2.28 (1 H, d, $J=17$ Hz, H_{2A}), 2.46 (1 H, d, $J=17$ Hz, H_{2B}), 3.58~3.68 (1 H, m, Glc-H₂), 4.13 (1 H, dd, $J=12, 3$ Hz, Glc-H_{6B}), 4.26 (1 H, dd, $J=12, 5$ Hz, Glc-H_{6A}), 4.36 (1 H, m, H₉), 4.51 (1 H, d, $J=8$ Hz, Glc-H₁), 4.96~5.22 (3 H, m, Glc-H_{3,4}), 5.66 (1 H, dd, $J=15.5, 6$ Hz, H₈), 5.77 (1 H, d, $J=15.5$ Hz, H₇), 5.93 (1 H, m, H₄).

11.12 (6*R*, 7*E*, 9*R*)-9-ヒドロキシメガスティアグマ-4,7-ジエン-3-オン-9-O- β -D-グルコシド [35]

R_f値 0.33 (CM51) を示す無色油状物を単離した。

¹H-NMR (CD₃OD) δ 0.97ppm (3 H, s, H₁₂), 1.02 (3 H, s, H₁₁), 1.27 (3 H, d, $J=6.5$ Hz, H₁₀), 1.95 (3 H, d, $J=1$ Hz, H₁₃), 2.02 (1 H, d, $J=17$ Hz, H_{2A}), 2.46 (1 H, d, $J=17$ Hz, H_{2B}), 2.66 (1 H, d, $J=8.5$ Hz, H₆), 3.58 (1 H, dd, $J=12, 6$ Hz, Glc-H_{6B}), 3.82 (1 H, dd, $J=12, 1.5$ Hz, Glc-H_{6A}), 4.25 (1 H, d, $J=7$ Hz, Glc-H₁), 4.42 (1 H, m, H₉), 5.54 (1 H, dd, $J=15.5, 7$ Hz, H₈), 5.68 (1 H, dd, $J=15.5, 8.5$ Hz, H₇), 5.84

(1 H, br. s, H₄).

文 献

- 1) 沢辺昭義, 松原義治, 隈元浩康, 飯塚義富, 岡本耕造: 農化, 60, 593 (1986).
- 2) 沢辺昭義, 松原義治, 飯塚義富, 岡本耕造: 農化, 62, 1067 (1988).
- 3) Y. Matsubara, H. Kumamoto, Y. Iizuka, T. Murakami, K. Okamoto, H. Miyake, and K. Yokoi: *Agric. Biol. Chem.*, 49, 909 (1985).
- 4) I. C. MacRae, V. Alberts, R. M. Carman, and I. M. Shaw: *Aust. J. Chem.*, 32, 917 (1979).
- 5) D. L. Roberts, R. A. Heckman, B. P. Hege, and S. A. Bellin: *J. Org. Chem.*, 33, 3566 (1968).
- 6) I. Rubinstein, L. J. Goad, A. D. H. Clague, and L. J. Mulheirn: *Phytochemistry*, 15, 195 (1976).
- 7) J. L. C. Wright, A. G. McInnes, S. Shimizu, D. G. Smith, and J. A. Walter: *Can. J. Chem.*, 56, 1898 (1978).
- 8) Ed. by E. Stenhagen, S. Abrahamsson, and F. W. McLafferty, "Registry of Mass Spectral Data", 3, 1974, pp. 2496.
- 9) Ed. by E. Stenhagen, S. Abrahamsson, and F. W. McLafferty, "Registry of Mass Spectral Data", 4, 1974, pp. 2554.
- 10) T. Iida, M. Kikuchi, T. Tamura, and T. Matsumoto: *Chem. Phys. Lipids*, 20, 157 (1977).

- 11) R. Tscheshe, F. Ciper, and E. Breitmaier: *Chem. Ber.*, 110, 3111 (1977).
- 12) N. Okamura, A. Yagi, and I. Nishoka: *Chem. Pharm. Bull.*, 29, 3507 (1981).
- 13) T. Murakami, T. Kimura, H. Wada, N. Tanaka, Y. Saiki, and C-M. Chen: *Chem. Pharm. Bull.*, 29, 866 (1981).

第四章 レモン (*Citrus limon* BURM.f.) および温州みかん (*Citrus unshiu* MARCOV.) 果皮中のリモノイド配糖体の構造

序 説

著者は第一章、第二章および第三章で詳述した生理活性物質¹⁻³⁾の分離過程で柑橘類果皮熱水抽出物中に、ある種のトリテルペノイド配糖体が存在することを知り、モノテルペノイド配糖体と併行してトリテルペノイド配糖体について検討を進めることにした。すなわち、レモン (*Citrus limon* BURM.f.) および温州みかん (*Citrus unshiu* MARCOV.) 果皮中から2種のリモノイド配糖体の分離に成功し、それらの構造を明確にした。

結果および考察

レモンおよび温州みかんは同様の操作を行った。果皮を風乾して乾燥果皮を得た。これを微細化したのち、熱水抽出し、得られた抽出液をアンバーライトXAD-2に通導し、水および20%メタノールを用いて洗浄後、50%メタノールおよびメタノールを用いて順次溶出を行った。ついで得られた50%メタノール溶出物をメタノールに溶解して中性アルミナを充填したカラムに通導後、50%メタノールを用いて溶出を行い粗画分を得た(図1)。このようにして得た粗画分をクロロホルム:メタノール:水=65:35:10の下層部を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、レモンは15画分に、温州みかんは29画分にそれぞれ分画した。各画分の重量は表Iに掲げた。各画分のシリカゲルカラムクロマトグラフィーの反復ならびにTSK HW-40F、HW-60Fを用いたゲル濾過を行い、レモン果皮中から[36]および[37]、温州みかん果皮中から[36]および[37]の成分を分離した(図2)。

[36]は268~270℃で分解する無色の結晶で、 $[\alpha]_D^{20} -0.70^\circ$ ($c=0.72$, MeOH)を示した。そのFAB-MSスペクトルには m/z 673 $[M+Na]^+$ および m/z 649 $[M-H]^-$ に基づくイオンピークが認められ、650の分子量を有することが判明し、またHR-FAB/MSスペクトルから $C_{12}H_{12}O_{11}$ の組成を有することが判明した。¹H-NMRスペクトルには4個のメチル基のシグナルがそれぞれシングレットで観測されたほか、 δ 3.02ppmに C_{11} 位、 δ 5.53ppmに C_{12} 位のメチンプロトンが、 δ 4.47および4.52ppmに C_{10} 位のメチレンプロトンが特徴的に認められた。また、 δ 6.63ppmにフラン環の β 位、 δ 7.36および7.72ppmにフラン環の α 位に

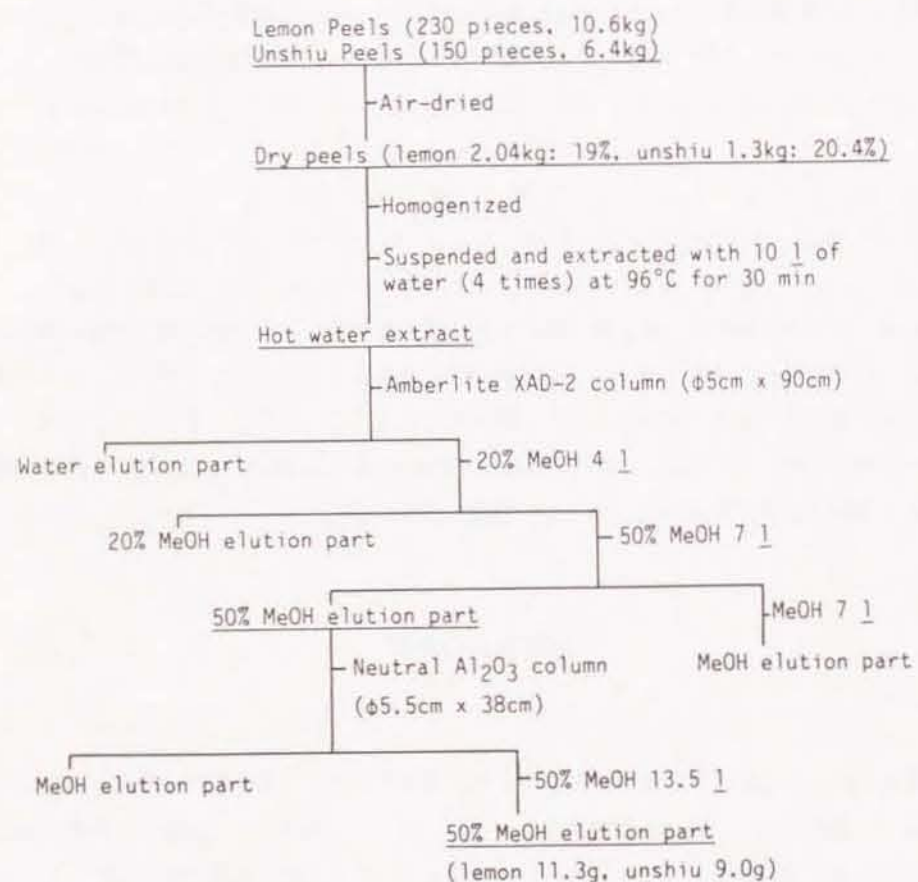


Fig. 1 Separation of Crude Limonoid Glycosides.

由来するシグナルがそれぞれブロードなシングレットで観測された。これらのアグリコン部に由来する¹H-NMRスペクトルは、さきにBennettら⁷⁾がオレンジの種子から単離したイカンギンのそれと酷似していた。さらに糖部に由来するシグナルとして、δ4.39ppmにβ-グルコースのアノメリックプロトンがJ値7.7Hzのダブルレットで認められた。また、[36]のアセチル化で得たアセチル体 [36a] の¹H-NMRスペクトルにはδ1.98, 1.99 (6H), 2.04および2.12ppmに5個のアセチル基に由来するシグナルが観測され、[36]の水酸基は第1級および第2級水酸基であることが示唆された。[36]の糖分析の結果、D-グルコース ([α]_D²⁵+45.6°, c=0.11, H₂O) がそのアセチル誘導体から認められた。さらに¹³C-¹H COSYスペクトル (図3) から¹³C-NMRスペクトル (表II) は矛盾なく帰属され、C₁位の¹³Cケミカルシフトを除く [36] のアグリコン部の¹³C-NMRスペクトルはイカンギン⁷⁾のそれと酷

Table I. Ratio of Silica Gel Column

Lemon			
Fr.	Yield (mg)	Fr.	Yield (mg)
1	420	9	350
2	140	10	> 660
3	280	11	> 640
4	310	12	160
5	700	13	1210
6	340	14	370
7	300	15	
8	370		

Unshiu					
Fr.	Yield (mg)	Fr.	Yield (mg)	Fr.	Yield (mg)
1	1258.8	11	72.4	21	92.3
2	1435.3	12	101.8	22	104.8
3	1312.8	13	110.8	23	94.3
4	743.1	14	89.8	24	117.5
5	614.0	15	78.8	25	187.7
6	327.0	16	82.7	26	115.2
7	218.9	17	127.7	27	104.1
8	168.8	18	114.7	28	127.5
9	62.3	19	109.8	29	869.2
10	50.0	20	96.6		

似していた。したがって、[36]のグルコースはC₁位の水酸基に結合していることが判明した。また、[36]のNOESYスペクトルにはC₁位のメチル基がC₂位のメチル基と、C₂位のメチル基がC₃位のメチンプロトンと、またC₃位のメチンプロトンがC₄位のメチル基とNOEが認められたことから図2に掲げたコンホーメーションをとっていることが判明した。以上の諸事実から [36] はイカンギン 4-β-グルコピラノシドと決定した。

[37] は 250~252°Cで分解する無色の結晶で、[α]_D²⁵+35.44° (c=0.75, MeOH) を示した。そのFAB-MSスペクトルにはm/z 717 [M+Na]⁺ およびm/z 693 [M-H]⁻に基

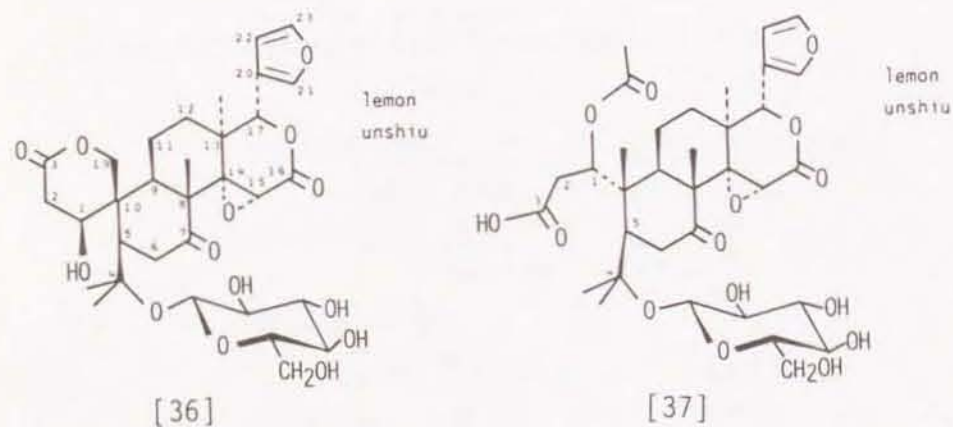


Fig. 2 Structures of Isolated Limonoid Glycosides.

づくイオンピークが認められ、694の分子量を有することが判明し、またHR-FAB/MSスペクトルから $C_{34}H_{48}O_{15}$ の組成を有することが判明した。 ^1H-NMR スペクトルには5個のメチル基および1個のアセチル基のシグナルがそれぞれシングレットで観測されたほか、 δ 2.85 ppmに C_{15} 位、 δ 5.56 ppmに C_{17} 位のメチンプロトンが特徴的に認められた。また、 δ 6.62 ppmにフラン環の β 位、 δ 7.34および7.72 ppmにフラン環の α 位に由来するシグナルがそれぞれブロードなシングレットで観測された。これらのアグリコン部に由来する ^1H-NMR スペクトルは、さきにBennettら⁹⁾がグレープフルーツの種子から単離したノミリニックアシッドのそれと酷似していた。さらに糖部に由来するシグナルとして、 δ 4.37 ppmに β -グルコースのアノメリックプロトンが J 値7.8 Hzのダブルットで認められた。また、[37]のアセチル化で得たアセチル体 [37a] の ^1H-NMR スペクトルには δ 1.97, 1.98, 1.99, 2.04および2.10 ppmに5個のアセチル基に由来するシグナルが観測され、[37]の水酸基は第1級および第2級水酸基であることが示唆された。[37]の糖分析の結果、D-グルコース ($[\alpha]_D^{25} + 46.8^\circ$, $c = 0.12$, H_2O) がそのアセチル誘導体から認められた。さらに $^{13}C-^1H$ COSYスペクトル (図4) から $^{13}C-NMR$ スペクトル (表II) は矛盾なく帰属され、 C_{15} 位のメチンの 1H ケミカルシフトはアセチル基が結合していることを示した。[37]のアグリコン部に由来する $^{13}C-NMR$ スペクトルはさきにBennettら⁹⁾がカラモンディンの種子から単離した関連化合物であるメチルデアセチルノミリネートのそれとの比較から [37] のグルコースは C_{17} 位の水酸基に結合していることが判明した。また、[37]のNOESYスペクトルには C_{15} 位のメチル基が C_{10} 位および C_{16} 位のメチル基とNOEが認められたことから図2に掲げたコンホーメーションをとっていることが判明した。以上の諸事実から [37] はノミリニックアシッド4- β -グルコピラノシドと決定した。

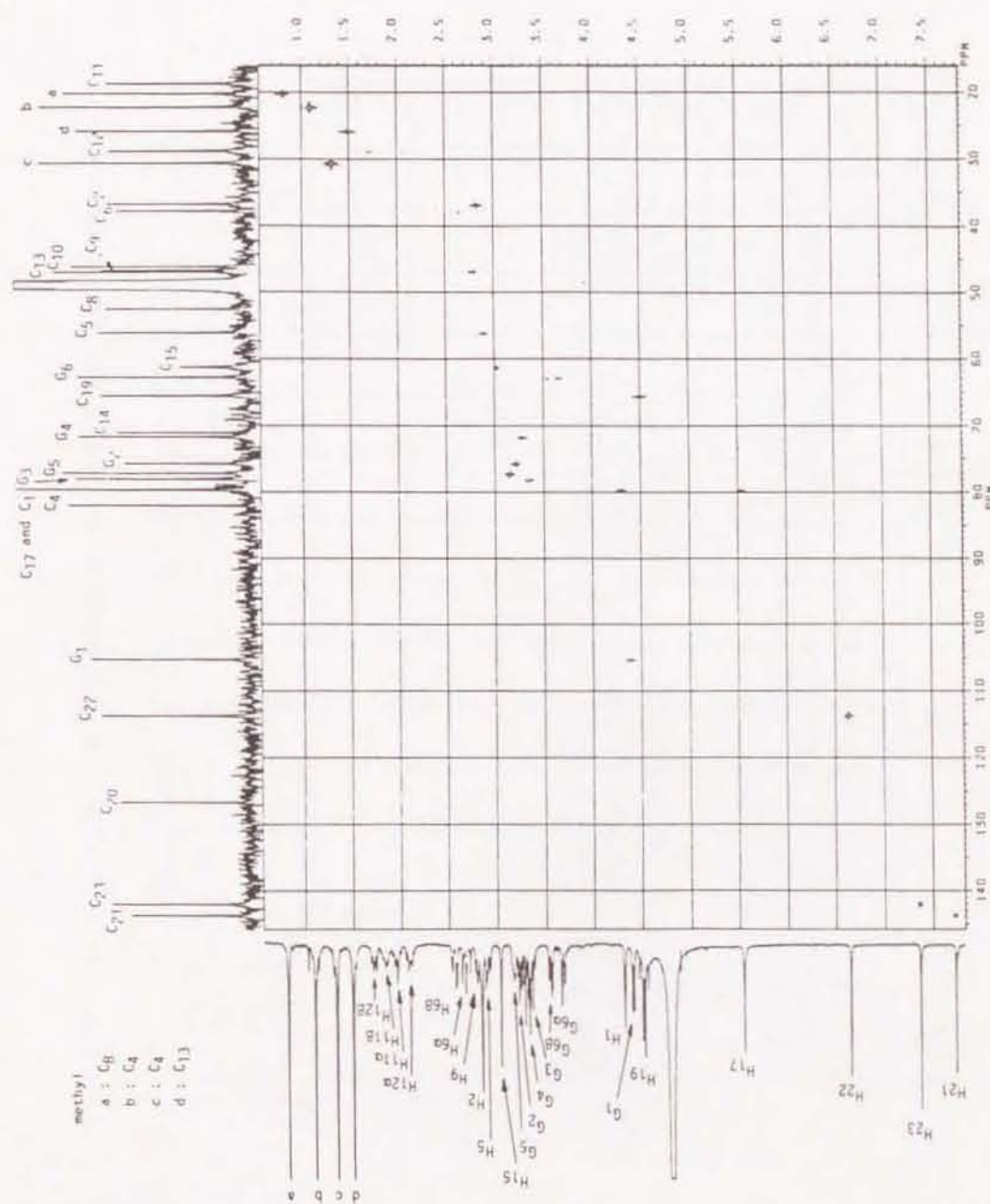


Fig. 3 $^{13}C-^1H$ COSY Spectrum of [36] in Methanol- d_4 .

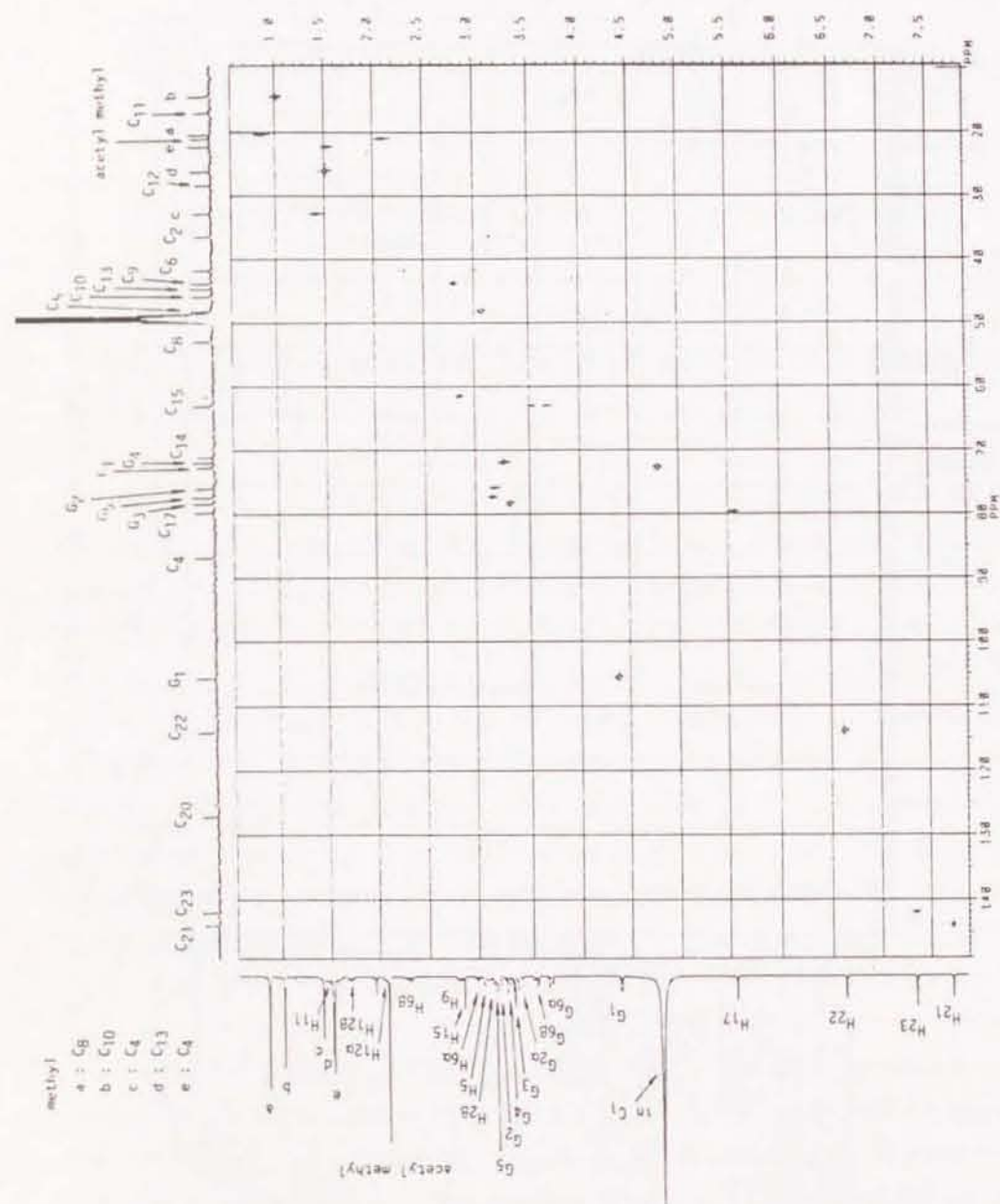


Fig. 4 ^{13}C - ^1H COSY spectrum of [37] in Methanol- d_4 .

Table II. ^{13}C -NMR Data for [36] and [37]

Carbon No.	[36]	[37]
Methyl-C ₄	22.21 q	22.16 q
Methyl-C ₄	30.61 q	32.70 q
Methyl-C ₈	20.17 q	20.26 q
Methyl-C ₁₀	-	14.18 q
Methyl-C ₁₃	25.62 q	28.02 q
Acetyl methyl	-	20.90 q
1	79.63 d	72.49 d
2	36.79 t	36.32 t
3	176.31 s	176.43 s
4	82.00 s	86.65 s
5	56.12 d	47.98 d
6	37.83 t	41.59 t
7	211.23 s	213.61 s
8	52.57 s	52.71 s
9	46.78 d	43.45 d
10	46.23 s	45.71 s
11	16.67 t	16.79 t
12	28.61 t	28.20 t
13	47.05 s	44.47 s
14	71.66 s	70.86 s
15	61.30 d	61.49 d
16	173.61 s	173.22 s
17	79.63 d	79.55 d
19	65.53 t	-
20	126.65 s	126.88 s
21	143.65 d	143.78 d
22	113.67 d	113.81 d
23	141.96 d	141.78 d
Acetyl carbonyl	-	171.44 s
Glc-1	105.20 d	105.38 d
Glc-2	75.69 d	75.75 d
Glc-3	78.05 d	78.17 d
Glc-4	71.03 d	71.69 d
Glc-5	77.17 d	77.18 d
Glc-6	62.81 t	62.84 t

Solvent ; CD_3OD

なお、本研究において単離構造決定した成分 [36] および [37] は文献未載の新規リモノイド配糖体である。

実 験

1. 試料

レモンおよび温州みかん果皮は市販のものを使用した。

2. 熱水抽出

果皮 (レモン 230個分, 10.6kg, 温州みかん 150個分, 6.4kg) を風乾 (レモン 2.04kg, 温州みかん 1.3kg) したのち、細かく砕いて熱水20 l を用いて2回 (96°C, 30min) 抽出を行った。さらに濾過残渣はミキサーにて微細化し、同様に熱水20 l を用いて2回抽出を行った。

3. アンバーライト XAD-2 による分画

アンバーライト XAD-2 (オルガノ製, カラム: ϕ 5 cm \times 90 cm) 1 l を用いて吸着カラムクロマトグラフィーを行った。2で得られた熱水抽出液を通導後、水3 l, 20%メタノール4 l を用いて洗浄し、ついで50%メタノール7 l, メタノール7 l を用いて吸着物を溶出した。

4. 中性アルミナによる分画

中性アルミナ (70~230 mesh, メルク製, カラム: ϕ 5.5 cm \times 38 cm) 600 g を用いて吸着カラムクロマトグラフィーを行った。3で得られた50%メタノール溶出部 (レモン 53.3 g, 温州みかん 34.1 g) を1 l のメタノールに溶解してカラムに通導後、50%メタノール 13.5 l で溶出した。この50%メタノール溶出液を減圧下濃縮後、凍結乾燥し粗リモノイド類 (レモン 11.3 g, 温州みかん 9.0 g) を得た。

5. シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離

充填剤にシリカゲル (ワコーゲル C-300; 和光純薬製), 溶出液にクロロホルム: メタノール: 水 = 65: 35: 10 の下層部 (CMW と略す) あるいは *n*-ブタノール: 酢酸エチル: 水 = 4: 1: 5 の上層部 (BEW と略す) の混合溶媒を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行った。

6. ゲル濾過による精製

TSKゲル HW-40F あるいは HW-60F (東ソー製) を用いてゲル濾過を行った。溶出には蒸留水を用いて280 nm の吸光度を測定 (UVICON UV-750; アドバンテック東洋製) し、得られた吸収曲線を見ながら分画した。

7. 機器分析

日本分光 DIP-140 型旋光光度計を用いて比旋光度を測定し、日立 323 型可視、紫外自記分析計および Perkin-Elmer 1760-X 型フーリエ変換赤外吸収装置を用いて UV および IR スペクトルを測定した。日本電子 JMS-HX100 型質量分析計を用いて FAB-MS スペクトルを測定し、日本電子 JMA-DA5000 型データ処理システムで処理を行った。また、BRUKER AM-400 および日本電子 JNM-FX200 型高分解能核磁気共鳴装置を用いて NMR スペクトル (^1H : 400 MHz および 200 MHz; ^{13}C : 100 MHz) を測定した。2D-NMR スペクトル (^{13}C - ^1H COSY および NOESY) は [36]: 40 mg, [37]: 20 mg で測定し、TMS を内部標準に用いてケミカルシフトを ppm 単位で表示した。

8. 糖分析

第一章と同様の方法で単糖類 ([36]: $[\alpha]_D^{25} + 45.6^\circ$ ($c = 0.11$, H_2O); [37]: $[\alpha]_D^{25} + 46.8^\circ$ ($c = 0.12$, H_2O) を得、そのアセチル誘導体から単糖類は D -グルコースであることを確認した。グルコースペンタアセテート t_R (min) 14, 23。

9. [36] および [37] のアセチル化

第二章と同様の方法でアセチル化を行った。

10. 単離した成分および誘導体

10.1 イカンギン 4- β -グルコピラノシド [36]

R_f 値 0.06 (CMW) を示す無色の結晶を単離した。

UV λ_{max} (MeOH) nm: 270 ($\epsilon = 690$),

IR max ν (KBr) cm^{-1} : 3392, 2947, 2837, 1742, 1693, 1605, 1447, 1423, 1384, 1364, 1079, 1024.

Positive FAB-MS m/z 673 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; Negative FAB-MS m/z 649 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

HR-FAB/MS m/z 673, 2429 (M+Na): calcd. for $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{O}_{14}\text{Na}$: 673, 2472.

^1H -NMR (CD_3OD) δ 0.81 ppm (3 H, s, C_8-CH_3), 1.09 (3 H, s, C_4-CH_3), 1.31 (3 H, s, C_1-CH_3), 1.48 (3 H, s, $\text{C}_{13}-\text{CH}_3$), 1.70 (1 H, d d, $J = 13.9, 8.7$ Hz, H_{12a}), 1.82 (1 H, m, H_{13a}), 1.94 (1 H, m, H_{13b}), 2.10 (1 H, m, H_{12b}), 2.54 (1 H, d d, $J = 18.8, 5.4$ Hz, H_{6a}), 2.66 (1 H, d d, J

=18.8, 14.8Hz, H_{6a}), 2.78 (1H, dd, $J=11.6, 7.9$ Hz, H₉), 2.82 (2H, m, H₂), 2.89 (1H, dd, $J=14.8, 5.4$ Hz, H₅), 3.02 (1H, s, H₁₅), 3.16 (1H, m, Glc-H₃), 3.19~3.37 (3H, m, Glc-H_{2,4,5}), 3.53 (1H, dd, $J=11.7, 5.2$ Hz, Glc-H₆), 3.66 (1H, dd, $J=11.7, 2.4$ Hz, Glc-H₈), 4.30 (1H, s, H₁), 4.39 (1H, d, $J=7.7$ Hz, Glc-H₁), 4.47 (1H, d, $J=13.4$ Hz, H_{19a}), 4.52 (1H, d, $J=13.4$ Hz, H_{19a}), 5.53 (1H, s, H₁₇), 6.63 (1H, br. s, H₂₂), 7.36 (1H, br. s, H₂₃), 7.72 (1H, br. s, H₂₁).

10.2 ペンタアセチルイカンギン4-β-グルコピラノシド [36a]

[36]のアセチル化を行って得た。

¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.79ppm (3H, s, C₈-CH₃), 1.13 (3H, s, C₄-CH₃), 1.28 (3H, s, C₁-CH₃), 1.32 (3H, s, C₁₃-CH₃), 1.64~1.92 (4H, m, H_{11,12}), 1.98 (3H, s, Ac), 1.99 (6H, s, Ac×2), 2.04 (3H, s, Ac), 2.12 (3H, s, Ac), 2.40~2.62 (3H, m, H_{2,9}), 2.66 (1H, m, H_{6a}), 2.96 (1H, m, H_{8a}), 3.33 (1H, m, H₅), 3.56 (1H, m, Glc-H₃), 3.92 (1H, dd, $J=12, 2.5$ Hz, Glc-H₆), 4.12 (1H, dd, $J=12, 5.5$ Hz, Glc-H₈), 4.17 (1H, s, H₁₅), 4.36 (2H, s, H₁₉), 4.57 (1H, d, $J=8$ Hz, Glc-H₁), 5.84~6.02 (3H, m, Glc-H_{2,4,5}), 6.11 (1H, m, H₁), 5.29 (1H, s, H₁₇), 6.52 (1H, s, H₂₂), 7.28 (1H, s, H₂₃), 7.66 (1H, s, H₂₁).

10.3 ノミリニックアシッド4-β-グルコピラノシド [37]

R_f値 0.17 (CMW) を示す無色の結晶を単離した。

UV λ_{max} (MeOH) nm: 270 (ε=841).

IR max ν (KBr) cm⁻¹: 3402, 2991, 2950, 2839, 1686, 1645, 1605, 1427, 1379, 1228, 1124, 1105, 1080, 1025.

Positive FAB-MS m/z 717 [M+Na]⁺; Negative FAB-MS m/z 693 [M-H]⁻.

HR-FAB/MS m/z 717.2695 (M+Na); calcd. for C₃₄H₄₈O₁₃Na: 717.2734.

¹H-NMR (CD₃OD) δ 0.85ppm (3H, s, C₈-CH₃), 1.00 (3H, s, C₁₀-CH₃), 1.40 (3H, s, C₄-CH₃), 1.46 (2H, m, H₁₁), 1.50 (3H, s, C₁₃-CH₃), 1.52 (3H, s, C₁-CH₃), 1.70 (1H, m, H_{12a}), 2.07 (1H, m, H_{12a}), 2.08 (3H, s, acetyl methyl), 2.37 (1H, m, H_{6a}), 2.79 (1H, m, H₉), 2.85 (1H, s, H₁₅), 2.98 (1H, m, H_{8a}), 3.04 (1H, m, H₅), 3.07~3.39 (6H, m, H_{2,9}, Glc-H_{3,2,4,5} and H₁₉), 3.52 (1H, dd, $J=11.7, 5.3$ Hz, Glc-H₆), 3.65 (1H, dd, $J=11.7, 2.6$ Hz, Glc-H₈), 4.37 (1H, d, $J=7.8$ Hz, Glc-

H₁), 4.80 (1H, obscured, H₁), 5.56 (1H, s, H₁₇), 6.62 (1H, br. s, H₂₂), 7.34 (1H, br. s, H₂₃), 7.72 (1H, br. s, H₂₁).

10.4 テトラアセチルノミリニックアシッド4-β-グルコピラノシド [37a]

[37]のアセチル化を行って得た。

¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.87ppm (3H, s, C₈-CH₃), 1.01 (3H, s, C₁₀-CH₃), 1.38 (2H, m, H₁₁), 1.42 (3H, s, C₁-CH₃), 1.47 (6H, s, C₄-CH₃ and C₁₃-CH₃), 1.64 (2H, m, H₁₂), 1.97 (3H, s, Ac), 1.98 (3H, s, Ac), 1.99 (3H, s, Ac), 2.03 (3H, s, Ac), 2.04 (3H, s, Ac), 2.10 (3H, s, Ac), 2.22~2.38 (1H, m, H_{6a}), 2.48~2.90 (3H, m, H_{6,8,9}), 3.12 (1H, s, H₁₅), 3.22 (2H, m, H₂), 3.54 (1H, m, Glc-H₃), 3.96 (1H, dd, $J=12, 2.5$ Hz, Glc-H₆), 4.08 (1H, dd, $J=12, 5.5$ Hz, Glc-H₈), 4.56 (1H, d, $J=8$ Hz, Glc-H₁), 4.76~5.00 (3H, m, Glc-H_{2,4,5}), 5.10 (1H, d, $J=9$ Hz, H₁), 5.28 (1H, s, H₁₇), 6.52 (1H, s, H₂₂), 7.28 (1H, s, H₂₃), 7.65 (1H, s, H₂₁).

文 献

- 1) A. Sawabe, Y. Matsubara, Y. Iizuka, and K. Okamoto: *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **38**, 53 (1989).
- 2) 沢辺昭義, 松原義治, 隈元浩康, 飯塚義富, 岡本耕造: *農化*, **60**, 593 (1986).
- 3) 沢辺昭義, 松原義治, 飯塚義富, 岡本耕造: *農化*, **62**, 1067 (1988).
- 4) Y. Matsubara, A. Sawabe, Y. Iizuka, and K. Okamoto: *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **37**, 13 (1988).
- 5) 沢辺昭義, 松原義治, 飯塚義富: *農化*, **62**, 1475 (1988).
- 6) 沢辺昭義, 松原義治, 飯塚義富: *農化*, **63**, 1115 (1989).

- 7) R. D. Bennett and S. Hasegawa : *Phytochemistry*, 19, 2417 (1980).
- 8) R. D. Bennett : *Phytochemistry*, 10, 3065 (1971).
- 9) R. D. Bennett and S. Hasegawa : *Tetrahedron*, 37, 17 (1981).

結 び

著者は有機化学資源として、貴重な柑橘類果皮のより高度な利用開発の基礎研究として、本邦で大量に生産されている温州みかんを始めとする6種の柑橘類および米国から大量に輸入されているレモンならびにオレンジの2種の柑橘類を加え、8種の柑橘類果皮中の生理活性物質の分離、精製、構造決定ならびにそれらの生理活性について研究を進めた。その結果、8種の柑橘類果皮

Structures of Physiologically Active Substances and Their Physiological Activity in Citrus Fruit Peelings

Flavonoid Glycosides

limocitrin 3-β-D-glucoside
 narirutin
 rutin
 narcissin
 hesperidin
 3-hydroxy-5,6,7,8,3',4'-hexamethoxyflavone 3-β-D-glucoside
 6,8-di-C-glucosylapigenin
 3,8-di-C-glucosylapigenin
 3,7,4'-trihydroxy-5,6,8,3'-tetramethoxyflavone 3-β-D-glucoside*
 3,7,4'-trihydroxy-5,6,8,3'-tetramethoxyflavone 3-O-([3-hydroxy-3-methylglutaryl(1→6)]-β-D-glucoside)*
 limocitrin 3-O-([3-hydroxy-3-methylglutaryl(1→6)]-β-D-glucoside)*

Phenyl Propanoid Glycosides

coniferin
 syringin
 dehydrodiconiferyl alcohol-4-β-glucoside
 citrusin A* [1-(4-glucosyl-3-methoxyphenyl)-2-(2-methoxy-4-[1-(E)-propene-3-ol]-phenoxy)-propane-1,3-diol]
 citrusin B* [1-(4-glucosyl-3-methoxyphenyl)-2-(2,6-dimethyl-4-[1-(E)-propene-3-ol]-phenoxy)-propane-1,3-diol]
 citrusin C* [3-(4-glucosyl-3-methoxyphenyl)-propane-1-ene]
 citrusin D* [3-(4-hydroxyl-3-methoxyphenyl)-1-glucosyl-2-propene]

Terpenoid

(1S,4R,6R)-1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ol
 6-hydroxy-3-oxo-α-ionone
 abscisic acid
 β-sitosterol
 campesterol
 stigmasterol
 4,4-dimethylcholest-5-ene-3β-ol

Terpenoid Glycosides

trans-carveol 6- β -glucopyranoside*
terpineol 8- β -glucopyranoside*
(2E,6R)-2,6-dimethyl-2,7-octadien-6-ol-1-O- β -glucopyranoside
(1S,4R,6S)-1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octan-6-O-
 β -glucopyranoside*
vomifoliol 9-O- β -glucopyranoside
(6R,7E,9R)-9-hydroxymegastigma-4,7-dien-3-one-9-O- β -glucoside

Limonoid Glycosides

ichangin 4- β -glucopyranoside*
nomilinic acid 4- β -glucopyranoside*

*: New compounds

中から表 I に掲げたように12種の新規化合物を含む33成分の分離に成功し、それらの構造を明確にするとともに多数の成分に血圧上昇作用あるいは植物生長阻害作用を見出し得たことは極めて興味深い。

謝 辞

本研究に対し終始御懇篤なご指導とご鞭撻を賜わった近畿大学工学部 松原義治教授に厚く御礼申し上げます。

また、適切なお助言を賜りました近畿大学工学部 亀岡弘教授および吉原正邦教授、近畿大学農学部 飯塚義富教授、近畿大学医学部 岡本耕造教授ならびに本研究を進めるにあたりご援助戴いた有機工業化学研究室の諸学兄に深く感謝致します。