

原 著

オトギリソウ属植物の成分研究 (第5報)¹⁾ オトギリソウから得られた
フェニルプロパノイド化フラバン3-オール誘導体の絶対構造

松岡絵理香, 町田 浩一, 菊地 正雄

Studies on the Constituents of *Hypericum* Species. V. Absolute Structure
of a Phenylpropanated Flavan 3-ol Derivative from *Hypericum erectum* THUNB.

Erika MATSUOKA, Koichi MACHIDA, and Masao KIKUCHI

(Received November 21, 2006)

Phenylpropanated flavan 3-ol derivative, (-)-epicatechin-(7,8-*bc*)-4 α -(3,4-dihydroxyphenyl)-dihydro-2(3*H*)-pyranone was isolated from *Hypericum erectum* THUNB. The absolute structure was established on the basis of chemical and spectral data.

Key words — *Hypericum erectum*; Guttiferae; Phenylpropanated flavan 3-ol; CD spectrum

先に著者らは、オトギリソウ *Hypericum erectum* THUNB の成分研究を行い、5種の新規配糖体を単離し、それらの化学構造について報告した。^{1,2)} 今回、更にオトギリソウの成分研究を進めたところ、未だ絶対構造が明確に確認されていないフェニルプロパノイド化フラバン3-オール

誘導体 (1) を単離、その化学構造をスペクトル解析並びに化学的方法により決定することが出来たので報告する。

化合物 1 は、比旋光度 +8.3° の無晶形粉末として得られ、高分解能 (HR)-FAB-MS より分子式は C₂₄H₂₀O₉ と決定された。¹H-NMR スペクトル

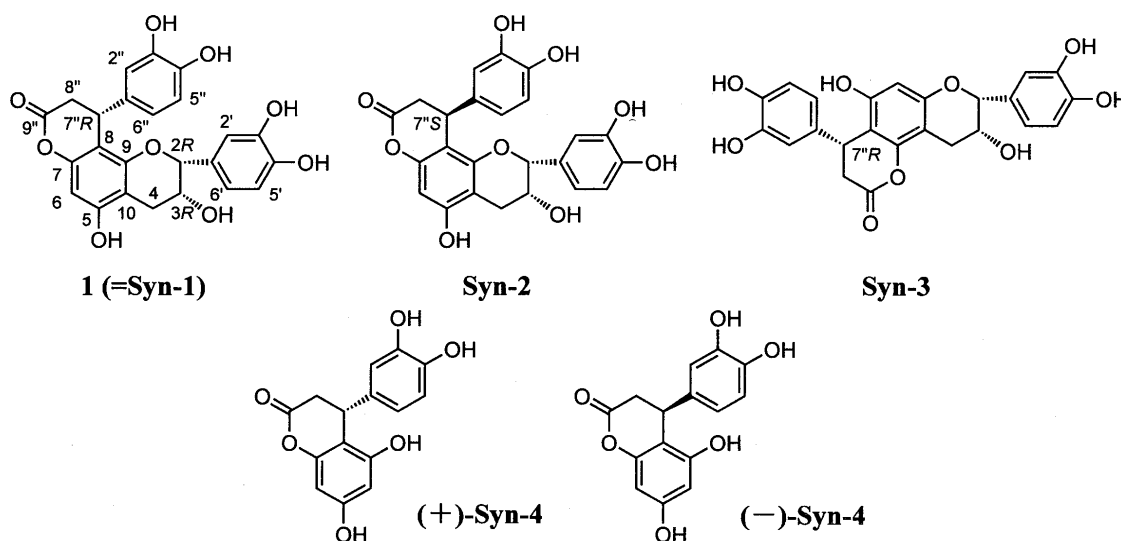


Chart 1

では, 2組のメチレンプロトン [δ_{H} 2.85(1H, dd, $J=16.9, 2.9$ Hz, H-4A), 2.95(1H, dd, $J=16.9, 4.4$ Hz, H-4B), δ_{H} 2.86(1H, dd, $J=15.8, 1.6$ Hz, H-8" A), 3.05 (1H, dd, $J=15.8, 7.0$ Hz, H-8" B)], 3個のメチンプロトン [δ_{H} 4.27(1H, ddd, $J=4.4, 2.9, 1.5$ Hz, H-3), 4.47(1H, dd, $J=7.0, 1.6$ Hz, H-7"), 5.00(1H, br s, H-2)], 1個の孤立ベンゼンプロトン [δ_{H} 6.24(1H, s, H-6)] 及び2組の1, 3, 4-三置換ベンゼンプロトン [δ_{H} 6.66(1H, dd, $J=8.4, 2.2$ Hz, H-6'), 6.70(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.94(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-2'), δ_{H} 6.58(1H, dd, $J=8.1, 2.2$ Hz, H-6"), 6.68(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-2"), 6.73(1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5")] のシグナルが確認された. ^{13}C -NMR スペクトルでは, 1個のカルボニルカーボ

ン [δ_{C} 168.3(s)] を含む24本のシグナルが確認された. ^1H -detected heteronuclear multiple bond connectivity (HMBC) スペクトルにより, プロトンとカーボンの連結性を検討したところ, Fig. 1 (A)に示す相関が観測された. 以上のデータより, 化合物**1**はフェニルプロパノイド化フラバン 3-オール誘導体であり, 2位および3位プロトンのカップリングパターンから, 母核であるフラバン 3-オール部分はepicatechinタイプであることが確認された. さらに, nuclear Overhauser enhancement and exchange difference [NOE差, Fig. 1(B)] スペクトルにおいて, 2位のプロトンを照射すると3位プロトンと共に, 7"位プロトンにNOEが観察されたことから, 7"位プロトン

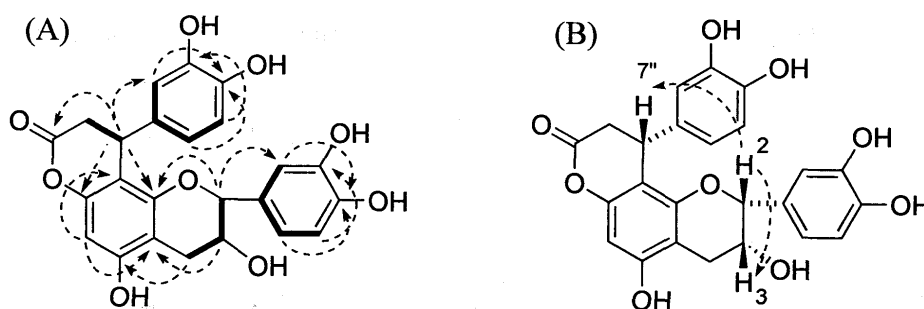


Fig. 1. HMBC (A) and NOED (B) Correlations of **1**
Heavy lines indicate partial structures inferred from ^1H - ^1H COSY

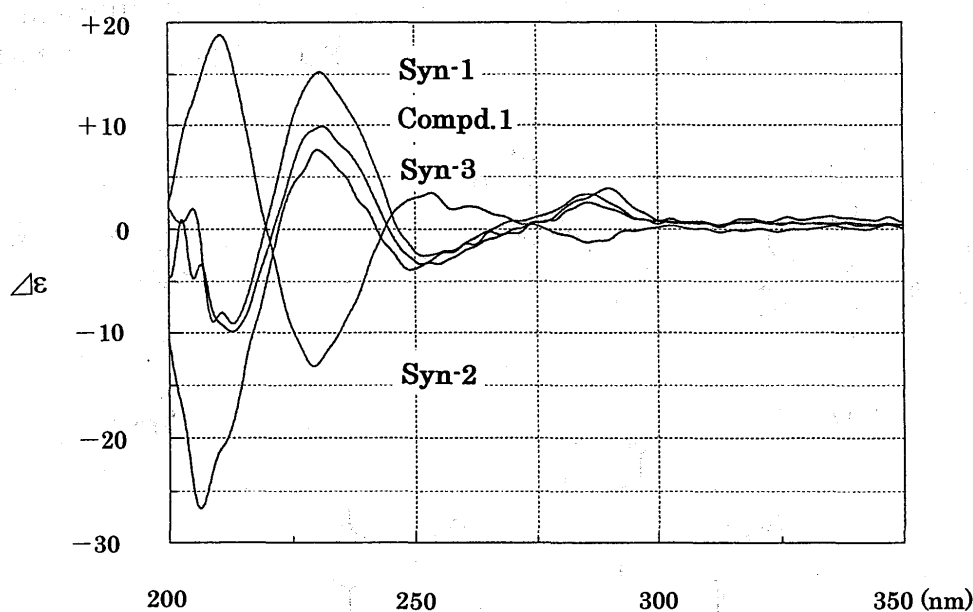


Fig. 2. CD Spectra of **1**, Syn-1, Syn-2 and Syn-3

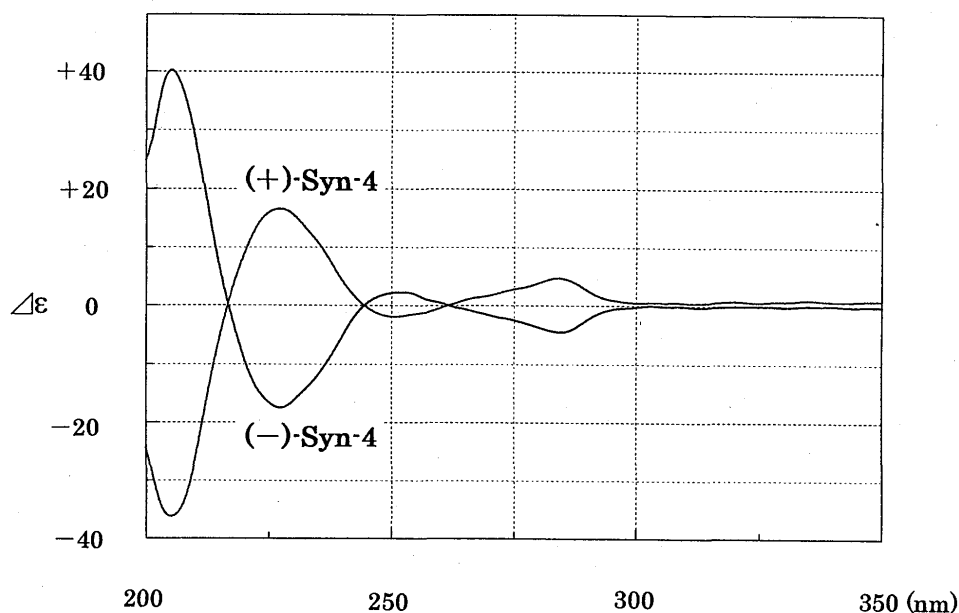


Fig. 3. CD Spectra of (+)-Syn-4 and (-)-Syn-4

は2位プロトンと同じ β 配置であることが確認された。化合物**1**およびその7"位エピマー体は、Foo³⁾やNishioka⁴⁾らにより既に報告されている既知化合物 [cinchonain Ia (H-7" β) および cinchonain Ib (H-7" α)] ではあるが、7"位の立体配置が逆であることが指摘されているにも関わらず、⁵⁾ それらの絶対構造は未だ明確に決定されていない。そこで、**1**の絶対構造を決定する目的で絶対構造既知の (-)-epicatechinにcaffeic acidを反応させるKadotaらの方法により合成⁶⁾を行ったところ、3種のフェニルプロパノイド化フラバン3-オール誘導体を得られた (**Syn-1**, **Syn-2**, **Syn-3**)。このうち、Syn-1のスペクトルデータは化合物**1**と一致したことから、**1**の7"位はR配置と決定された。さらに、円二色性 (circular dichroism: CD) スペクトルを測定したところ、Fig. 2に示すように化合物**1**は**Syn-1**および**Syn-3**と同じコットン効果が観察された。このCDコットン効果の明確な帰属並びに**Syn-3**の7"位の立体配置を確認するために、類似部分構造を有する(±)-5,7-dihydroxy-4-(3,4-dihydroxyphenyl)-chroman-2-oneのラセミ混合物 [(±)-**Syn-4**] を合成、⁷⁾ これらをキラルカラムにより光学分割し [(+)-**Syn-4** および

(-)-**Syn-4**]、それぞれのCDスペクトルを測定した (Fig. 3)。その結果、(+)-**Syn-4**は化合物**1** (**Syn-1**) および**Syn-3**、(-)-**Syn-4**は**Syn-2**とコットン効果がそれぞれよく一致していることから、化合物**1**および**Syn-1**~**3**のCDコットン効果は、ベンゾピラノン環とそれに結合したベンゼン環の立体配置に依存しており、フラバン3-オールのB環の寄与は少ないものと推定された。したがって、化合物**1** (**Syn-1**) および**Syn-3**の $\pi \rightarrow \pi^*$ 遷移によるB吸収帯とK吸収帯がともに正のコットン効果、即ち、ベンゾピラノン環と7"位に結合した3,4-dihydroxyphenyl基が時計回りのねじれを示す正のコットン効果を与えたことから、これら化合物の7"位はR配置であり、**Syn-2**では逆の反時計回りのねじれを示す負のコットン効果を与えることから、7"位はS配置と確認された。

以上のデータより、化合物**1**の化学構造は(-)-epicatechin-(7,8-*bc*)-4 α -(3,4-dihydroxyphenyl)-dihydro-2(3*H*)-pyranoneと決定された。本化合物は既にcinchonain Iaとして報告されている既知化合物であるが、7"位の立体配置が誤りであることが指摘されているにも関わらず、未だ明確な立体配置の証明は行われていなかった。今回、著

者らは化学的手法およびCDスペクトルを用いその化学構造を初めて明らかにすることが出来た。

実験の部

旋光度は日本分光DIP-360型, UVスペクトルはBeckman DU-64型, CDスペクトルは日本分光J-720型を使用し測定した. EI-MSおよびFAB-MSは日本電子JMS-DX 303型を使用し, FAB-MSのマトリックスにはグリセリンを用い測定した. ^1H -および ^{13}C -NMRスペクトルは, 日本電子JMN-LA 400型(^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)を使用し, 内部標準物質にtetramethylsilaneを用いて測定した. 化学シフトは δ 値(ppm)で示し, 結合定数(J)はHzで表した(略語: s=singlet, d=doublet, t=triplet, dd=double doublet, ddd=double double doublet, m=multiplet, br=broad). カラムクロマトグラフィーには, Kieselgel 60 (Merck, 230—400 mesh), Sephadex LH-20 (Pharmacia)を使用した. 分取高速液体クロマトグラフィー (prep. HPLC)はTosoh HPLC Systemを使用した.

分離 市販オトギリソウ(ウチダ和漢薬, 日本産) 2.0 kgをMeOHで室温抽出し, 得られた

MeOHエキス(327 g)を*n*-hexane, CHCl_3 , Et_2O , AcOEt, *n*-BuOH, H_2O 可溶部に分画した. AcOEt可溶部をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [CHCl_3 -MeOH- H_2O (60 : 10 : 1)]に付して61分画した (frs. 1-64). Fr. 26-58を逆相クロマトグラフィー [MeOH- H_2O (3 : 1)]に付して, 43分画した (frs. 26,58-1-26,58-43). Fr. 26,58-4をprep. HPLC [column, TSK gel ODS-80TM (6.0 mm i.d. \times 15 cm, Tosoh); mobile phase, MeOH- H_2O (1 : 2); flow rate, 1.0 mL/min; col. temp., 40 $^\circ\text{C}$]で精製, 化合物**1** (2.8 mg)を得た.

(-)-Epicatechin-(7,8-*bc*)-4 α -(3,4-dihydroxyphenyl)-dihydro-2(3*H*)-pyranone(**1**): 無晶形粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{27} + 8.30^\circ$ ($c=0.13$, MeOH); UV λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ): 207 (4.6), 230 sh(4.3), 280 (3.8); CD ($c=5.6 \times 10^{-5}\text{M}$, MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm): -9.9 (213), +9.9 (231), -3.4 (251), +2.5 (286); FAB-MS m/z : 453 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 475 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; HR-FAB-MS m/z : 453.1200 (Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{O}_9$, 453.1186); ^1H -NMR: Table 1; ^{13}C -NMR: Table 2.

(-)-Epicatechin-(7,8-*bc*)-4 α -(3,4-dihydroxyphenyl)-dihydro-2(3*H*)-pyranone (Syn-1), (-)-Epicatechin-(7,8-*bc*)-4 β -(3,4-

Table 1. ^1H -NMR Chemical Shifts of Compounds **1**, Syn-1, Syn-2 and Syn-3 (400 MHz, acetone- d_6)

H	1	Syn-1	Syn-2	Syn-3
2	5.00 br s	5.00 br s	4.95 br s	4.95 br s
3	4.27 ddd (4.4, 2.9, 1.5)	4.28 ddd (4.4, 2.9, 1.5)	4.29 ddd (4.0, 2.9, 1.5)	4.27 m
4	2.85 dd (16.9, 2.9)	2.85 dd (16.9, 2.9)	2.89 m	2.91 m
	2.95 dd (16.9, 4.4)	2.95 dd (16.9, 4.4)	3.00 dd (16.5, 4.4)	—
6	6.24 s	6.24 s	6.22 s	—
8	—	—	—	6.28 s
2'	6.94 d (2.2)	6.94 d (2.2)	7.08 d (2.2)	7.07 d (2.0)
5'	6.70 d (8.4)	6.71 d (8.4)	6.80 d (8.1)	6.80 d (8.3)
6'	6.66 dd (8.4, 2.2)	6.66 dd (8.4, 2.2)	6.86 dd (8.1, 2.2)	6.85 dd (8.3, 2.0)
2''	6.68 d (2.2)	6.68 d (2.2)	6.59 d (1.8)	6.64 d (2.2)
5''	6.73 d (8.1)	6.73 d (8.1)	6.71 d (8.1)	6.72 d (8.1)
6''	6.58 dd (8.1, 2.2)	6.58 dd (8.1, 2.2)	6.52 dd (8.1, 1.8)	6.55 dd (8.1, 2.2)
7''	4.47 dd (7.0, 1.6)	4.48 dd (7.0, 1.6)	4.54 dd (6.8, 1.7)	4.45 dd (6.8, 1.7)
8''	2.86 dd (15.8, 1.6)	2.86 dd (15.8, 1.6)	2.89 m	2.91 m
	3.05 dd (15.8, 7.0)	3.05 dd (15.8, 7.0)	3.09 dd (15.7, 6.6)	3.08 dd (15.6, 6.8)

Coupling constants (J in Hz) are given in parentheses.

Table 2. ¹³C-NMR Chemical Shifts of Compounds **1**, **Syn-1**, **Syn-2** and **Syn-3** (100 MHz, acetone-*d*₆)

C	1	Syn-1	Syn-2	Syn-3
2	79.8	79.8	79.6	79.8
3	66.3	66.4	66.3	66.2
4	29.0	29.0	29.5	29.0
5	156.5	156.5	156.1	152.2
6	96.1	96.1	97.1	106.7
7	151.7	151.7	152.3	153.8
8	106.0	105.9	106.4	99.6
9	153.2	153.2	153.8	156.0
10	104.9	104.9	105.2	101.0
1'	131.6	131.6	131.8	131.9
2'	115.0	115.0	115.2	115.3
3'	145.4	145.4	145.5	145.9
4'	145.3	145.3	145.4	145.5
5'	115.5	115.6	116.2	115.6
6'	119.1	119.2	119.2	119.3
1''	135.2	135.2	134.5	134.8
2''	115.0	115.0	114.9	114.9
3''	145.8	145.8	145.9	145.9
4''	144.8	144.8	144.9	144.8
5''	116.3	116.3	115.5	116.1
6''	119.4	119.4	119.3	119.1
7''	34.8	34.7	35.1	34.8
8''	38.0	38.0	38.5	37.9
9''	168.3	168.4	168.1	168.1

dihydroxyphenyl)-dihydro-2(3*H*)-pyranone(**Syn-2**)
 および(-)-Epicatechin-(5,6-*bc*)-4 α -(3,4-
 dihydroxyphenyl)-dihydro-2(3*H*)-pyranone(**Syn-3**)
 の合成: 30 mL の丸底フラスコを Ar 置換後,
 (-)-Epicatechin (200 mg, 0.688 mmol) を
 tetrahydrofuran (THF)-benzene (1 : 1) 8 mL に溶
 かし, caffeic acid (182 mg, 1.00 mmol), NaOAc
 (56.4 mg, 0.688 mmol) を加えて 5 分間攪拌後,
 trifluoroacetic acid (300 μ L, 3.90 mmol) を加え,
 85 °C で 30 時間加熱還流する. 反応終了後, 反応
 液に飽和 NaHCO₃ 水溶液を加えた後, AcOEt で
 抽出し, AcOEt 可溶部を減圧濃縮する. 得られ
 た粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフ
 ー [CHCl₃-MeOH-H₂O (50:10:1)] に付し 23 分画
 後 (frs. 1-23), frs. 5-8 を prep. HPLC [column,
 TSK gel ODS-120A (7.8 mm i.d. \times 30 cm, Tosoh);
 mobile phase, MeOH-H₂O (4 : 5); flow rate, 1.5 mL
 / min; col. temp., r. t.] により peaks 1—5 を得た.

Peak 2 を prep. HPLC [column, TSK gel ODS-
 80TM (6.0 mm i.d. \times 15 cm, Tosoh); mobile
 phase, MeOH-H₂O (1 : 2); flow rate, 1.0 mL / min;
 col. temp., r. t.] で精製し, **Syn-2** (3.0 mg) およ
 び **Syn-3** (7.3 mg) を得た. Peak 3 を prep. HPLC
 [column, TSK gel ODS-80TM (6.0 mm i.d. \times 15
 cm, Tosoh); mobile phase, MeOH-H₂O (1 : 2); flow
 rate, 1.0 mL / min; col. temp., r. t.] で精製し, **Syn-1**
 (20.0 mg) を得た.

(-)-Epicatechin-(7,8-*bc*)-4 α -(3,4-
 dihydroxyphenyl)-dihydro-2(3*H*)-pyranone(**Syn-1**)
 : 無晶形粉末, $[\alpha]_D^{27} + 8.60^\circ$ ($c=1.85$, MeOH);
 UV λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ): 211 (4.6), 281 (3.8)
 ; CD ($c=6.8 \times 10^{-5}$ M, MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm): - 9.0
 (209), - 9.1 (213), + 15.2 (231), - 2.6 (252), +
 3.3 (286); FAB-MS m/z : 453 [M + H]⁺, 475
 [M + Na]⁺; HR-FAB-MS m/z : 453.1200
 (Calcd for C₂₄H₂₁O₉, 453.1186); ¹H-NMR: Table

1; ^{13}C -NMR: Table 2.

(-) -Epicatechin- (7,8-*bc*) -4 β - (3,4-dihydroxyphenyl)-dihydro-2(3*H*)-pyranone(Syn-2): 無晶形粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{27} + 64.0^\circ$ ($c=0.15$, MeOH); UV λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ): 205 (4.8), 230 sh (4.5), 28 (3.9); CD ($c=3.3 \times 10^{-5}\text{M}$, MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm): +18.8 (211), -13.2 (229), +3.4 (253), -1.3 (285); FAB-MS m/z : 453 $[\text{M} + \text{H}]^+$; HR-FAB-MS m/z : 453.1195 (Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{O}_9$, 453.1186); ^1H -NMR: Table 1; ^{13}C -NMR: Table 2.

(-) -Epicatechin- (5,6-*bc*) -4 α - (3,4-dihydroxyphenyl)-dihydro-2(3*H*)-pyranone(Syn-3): 無晶形粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{27} - 25.0^\circ$ ($c=0.36$, MeOH); UV λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ): 207 (4.7), 230 sh (4.4), 282 (4.0); CD ($c=4.0 \times 10^{-5}\text{M}$, MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm): -26.4 (206), +7.6 (230), -3.9 (248), +3.9 (290); FAB-MS m/z : 453 $[\text{M} + \text{H}]^+$; HR-FAB-MS m/z : 453.1195 (Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{O}_9$, 453.1186); ^1H -NMR: Table 1; ^{13}C -NMR: Table 2.

(\pm)-5,7-Dihydroxy-4-(3,4-dihydroxyphenyl)-chroman-2-one[(\pm)-Syn-4]の合成並びに光学分割: 30mLの丸底フラスコに caffeic acid (500 mg, 2.78 mmol) の dioxane (10 mL) 溶液を加え, SOCl_2 (0.4 mL, 1.2当量) を滴加し, 3時間加熱還流する. 反応後, 溶媒を減圧溜去し得られた酸クロライドに phloroglucinol (0.4 g, 3.17 mmol), montmorillonite K-10(3.3 g)および dioxane(5 mL) を加え, 室温で20時間攪拌する. 反応液を減圧濃縮後, 得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [CHCl_3 -MeOH- H_2O (60:10:1)] に付し5分画後 (frs. 1-5), fr. 1を prep. HPLC [column, TSK gel ODS-80TM (6.0 mm i.d. \times 15 cm, Tosoh); mobile phase, MeOH- H_2O (1:2); flow rate, 0.8 mL/min; col. temp., r. t.] で精製し, (\pm)-Syn-4 (9.0 mg) を得た. さらに(\pm)-Syn-4をキラルカラムを用いた prep. HPLC [column, Chiralcel AD-H (4.6 mm i.d. \times 25 cm, Daicel); mobile phase, *n*-hexane-isoPrOH (5.5:1); flow rate, 0.7 mL/min; col. temp., r. t.] で光学分割を行い, (-)-Syn-4 (3.4 mg) および(+)-Syn-4

(3.8 mg) を得た.

(\pm)-5,7-Dihydroxy-4-(3,4-dihydroxyphenyl)-chroman-2-one[(\pm)-Syn-4]: EI-MS m/z : 288 $[\text{M}]^+$; HR-EI-MS m/z : 288.0621 (Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_6$, 288.0634); ^1H -NMR (CD_3OD) δ : 2.85 (1H, dd, $J=15.7, 2.0$ Hz), 3.01 (1H, dd, $J=15.7, 6.8$ Hz), 4.40 (1H, dd, $J=6.8, 2.0$ Hz), 6.07 (1H, d, $J=2.2$ Hz), 6.15 (1H, d, $J=2.2$ Hz), 6.44 (1H, dd, $J=8.2, 2.1$ Hz), 6.53 (1H, d, $J=2.1$ Hz), 6.65 (1H, d, $J=8.2$ Hz).

(+)-5,7-Dihydroxy-4-(3,4-dihydroxyphenyl)-chroman-2-one [(+)-Syn-4]: $[\alpha]_{\text{D}}^{27} + 20.3^\circ$ ($c=0.38$, MeOH); UV λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ): 206 (4.6), 281 (3.7); CD ($c=5.2 \times 10^{-5}\text{M}$, MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm): -36.2 (205), +16.6 (227), -1.9 (251), +4.7 (284).

(-)-5,7-Dihydroxy-4-(3,4-dihydroxyphenyl)-chroman-2-one [(-)-Syn-4]: $[\alpha]_{\text{D}}^{27} - 21.7^\circ$ ($c=0.34$, MeOH); UV λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ): 207 (4.5), 282 (3.7); CD ($c=4.6 \times 10^{-5}\text{M}$, MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm): +40.2 (205), -17.4 (227), +2.2 (252), -4.5 (285).

謝辞 本研究にあたり, NMRおよびMassスペクトルを測定していただいた本学中央機器室 佐藤 真一, 松木 智之 両氏に深謝いたします.

REFERENCES

- 1) Matsuoka E., Machida K., Kikuchi M., *Chem. Pharm. Bull.*, in press.
- 2) Matsuoka E., Machida K., Kikuchi M., submitted.
- 3) Foo L. Y., *Phytochemistry*, **26**, 2825-2830 (1987).
- 4) Nonaka G., Nishioka I., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4268-4276 (1982).
- 5) Chen H-F., Tanaka T., Nonaka G., Fujioka T., Mihashi K., *Phytochemistry*, **33**, 183-187 (1993).
- 6) Awale S., Tezuka Y., Wang S., Kadota S., *Org. Lett.*, **4**, 1707-1709 (2002).
- 7) Lee J-M., Tseng T-H., Lee Y-L., *Synthesis*, **15**, 2247-2254 (2001).