

オトギリソウ属植物の成分研究(第6報)¹⁾ オトギリソウの アリルグリセロール配糖体の化学構造

松岡絵理香, 町田 浩一, 菊地 正雄

Studies on the Constituents of *Hypericum* Species. VI Chemical Structures of Arylglycerol Glycosides from *Hypericum erectum* THUNB.

Erika MATSUOKA, Koichi MACHIDA, and Masao KIKUCHI

(Received November 21, 2006)

L-threo-Guaiacylglycerol 8-*O*- β -D-glucopyranoside, *D-threo*-syringoylglycerol 8-*O*- β -D-glucopyranoside and (7*S*,8*S*)-4-hydroxy-3-methoxy-7,8-(2',1'-*O*- β -D-glucopyranosyl)-phenylpropanetriol were isolated from *Hypericum erectum* THUNB. Their structures were established on the basis of chemical and spectral data.

Key words — *Hypericum erectum*; Guttiferae; arylglycerol glycoside

先に著者らは、オトギリソウ *Hypericum erectum* THUNB から、フェニルプロパノイド化フラバン3-オール誘導体を単離し、その絶対構造について報告した。¹⁾ 今回、更にオトギリソウの成分を検討したところ、新たに3種のアリルグリセロール配糖体を単離することができたので、それらの化学構造について報告する。

化合物 **1** は、比旋光度 +7.54° 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 C₁₆H₂₄O₁₀ と決定された。¹H-NMR スペクトル (Table 1) では、1, 3, 4-三置換ベンゼンプロトン

[δ_{H} 6.77(1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.82(1H, dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, H-6), 7.01(1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2)], 1個のメトキシプロトン [δ_{H} 3.87(3H, s, 3-OCH₃)], 2個のオキシメチンプロトン [δ_{H} 3.80(1H, ddd, $J = 7.3, 6.1, 3.4$ Hz, H-8), 4.67(1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-7)], 1個のオキシメチレンプロトン [δ_{H} ca. 3.30(1H, m, H-9A), 3.53(1H, dd, $J = 12.0, 3.4$ Hz, H-9B)] および1個のアノメリックプロトン [δ_{H} 4.41(1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1')] のシグナルが確認された。以上のスペクトルデータ並びに ¹H-¹H correlation spectroscopy (¹H-¹H COSY) より、化合物 **1** は guaiacylglycerol 配

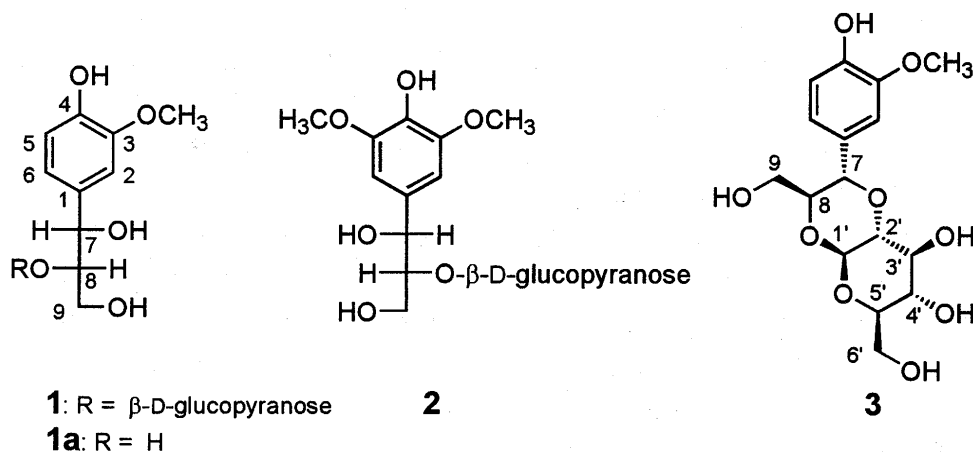


Chart 1

糖体と推定された。 ^{13}C -NMRスペクトル(Table 2)では、その化学シフト値から β -glucopyranoseの存在が推定され、酸加水分解によりD-glucoseが確認された。糖の結合位置については、 ^1H -detected heteronuclear multiple bond connectivity (HMBC) スペクトルにおいて、Chart 2に示す相関が認められたことから、 β -D-glucopyranoseはguaiacylglycerolの8位の水酸基に結合していることが確認された。化合物**1**の酵素加水分解で得られたアグリコン(**1a**)のnuclear Overhauser effect difference (NOED) スペクトル (Chart 2)では、H-7照射によりH-8および H_2 -9、H-8照射によりH-7と共にH-2、H-6にNOEが観察され、更にH-7の結合定数は6.1 Hzであることからglycerol部分は体であることが確認された。このことは、 ^{13}C -NMRスペクトル(Table 2)のC-7およびC-8の化学シフト値 $[\delta_{\text{C}} 74.7(\text{C-7}), 77.2(\text{C-8})]$ からも支持される(体 $[\delta_{\text{C}} 74.9(\text{C-7}), 77.9(\text{C-8})]$), *erythro*体 $[\delta_{\text{C}} 76.2(\text{C-7}), 76.5(\text{C-8})]$ 。²⁾ また、**1a**はプラスの旋光性($[\alpha]_{\text{D}}^{27} + 12.6^\circ$)を示したことから、L体であることが確認された。³⁾

以上のことから、化合物**1**はL-*threo*-guaiacylglycerol 8-O- β -D-glucopyranosideと推定され、文献値^{3,4)}との比較により同定した。なお、化合物**1**は*Quercus mongolica*³⁾および*Pinus sylvestris*⁴⁾より確認されている化合物であるが、遊離状態で単離され、かつその絶対構造を明らかにすることができたのは、今回が初めてである。

化合物**2**は、比旋光度 -30.8° の無晶形粉末として得られ、HR-FAB-MSより分子式は $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$ と決定された。化合物**2**の ^1H -NMRスペクトルは、**1**と類似しているが、ベンゼン環プロトン領域に等価な2H分のシグナル $[\delta_{\text{H}} 6.70 (2\text{H}, \text{s}, \text{H-2}, \text{H-6})]$ および等価な2個のメトキシプロトンシグナル $[\delta_{\text{H}} 3.85 (6\text{H}, \text{s}, 3\text{-OCH}_3, 5\text{-OCH}_3)]$ が観測されたことから、アグリコン部はsyringoylglycerolと推定され、その酸加水分解ではD-glucoseが得られた。 ^1H - ^1H COSYおよびHMBCスペクトルでは、Chart 2に示す相関が確認されたことから、化合物**2**は、syringoylglycerolの8位の水酸基に β -D-glucopyranoseが結合した構造であることが確認された。7, 8位の立体については、C-7, 8, 9の ^{13}C -NMRスペクトル

の化学シフト値 $[\delta_{\text{C}} 75.1(\text{C-7}), 87.3(\text{C-8}), 63.3(\text{C-9})]$ が、化合物**1**とほぼ同じであることから旋光度とも合せ、D-*threo*体と推定される。

以上のことから、化合物**2**はD-*threo*-syringoylglycerol 8-O- β -D-glucopyranosideと推定され、文献値^{5,6)}との比較により同定した。

化合物**3**は、比旋光度 $+56.8^\circ$ の無晶形粉末として得られ、HR-FAB-MSより分子式は $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_9$ と決定された。化合物**3**の ^1H および ^{13}C -NMRスペクトルは、**1**と類似しているが、C-7が低磁場シフト($\delta_{\text{C}} 80.8$)、C-8が高磁場シフト($\delta_{\text{C}} 82.7$)しており、更に酸加水分解で確認された β -D-glucopyranose部分のカーボンシグナルにもシフトが観察された(Table 2)。HMBCスペクトルでは、Chart 2に示す相関が観測されたことから、分子式とも併せguaiacylglycerolの7, 8位と β -D-glucopyranoseの2', 1'位間で、1, 4-dioxane環を形成していること、更にその立体配座は、NOEDスペクトル (Chart 2)並びに結合定数より、共にイス形配座であることが確認された。したがって、 β -glucopyranoseがD体であることから、7, 8位の絶対配置は共にS配置となる。

以上のことから、化合物**3**は(7S,8S)-4-hydroxy-3-methoxy-7,8-(2',1'-O- β -D-glucopyranosyl)-phenylpropanetriolと推定され、文献値⁷⁾との比較により同定した。

化合物**2**および**3**の天然からの単離報告例は極めて少なく、**2**は*Alangium premnifolium*⁵⁾および*Cremanthodium ellisii*⁶⁾から、また、**3**は*Juniperus phoenicea*⁷⁾から単離されているのみである。更にアリルグリセロール成分がオトギリソウ科から確認されたのは今回が初めてである。

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型を使用し測定した。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), DIAION HP-20 (三菱化学)を使用した. 分取高速液体クロマトグラフィー (prep. HPLC) には 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, CHCl₃, Et₂O, AcOEt, *n*-BuOH, H₂O 可溶部に分画した. H₂O 可溶部を DIAION HP-20 カラムクロマトグラフィーに付して, H₂O 溶出部と MeOH 溶出部に分画した. MeOH 溶出部をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [CHCl₃-MeOH-H₂O(40:10:1)] に付し10分画した (frs. 1-10). Fr. 4 を Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー [MeOH-H₂O(1:1)] に付して, 8分画した (frs. 4-1-4-8). Fr. 4-2 を prep. HPLC [column, TSK gel Amide-80(7.8 mm i.d.×30 cm,

Tosoh); mobile phase, CH₃CN-H₂O(10:1); flow rate, 1.5 mL/min; col. temp., 40 °C] で精製, 化合物 **3** (5.0 mg) を得た. Fr. 5 を Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー [MeOH-H₂O(1:1)] に付して, 7分画した (frs. 5-1-5-7). Fr. 5-1 を prep. HPLC [column, TSK gel ODS-80TM(6.0 mm i.d.×15 cm, Tosoh); mobile phase, MeOH-H₂O(1:15); flow rate, 1.0 mL/min; col. temp., 40 °C] で精製, 化合物 **1** (5.5 mg) および化合物 **2** (3.1 mg) を得た.

1-threo-Guaiacylglycerol 8-O- β -D-glucopyranoside (**1**): 無晶形粉末, $[\alpha]_D^{27} + 7.54^\circ$ ($c = 0.40$, MeOH); UV λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ): 204(4.2), 229(3.9), 278(3.5); FAB-MS m/z : 399[M+Na]⁺; HR-FAB-MS m/z : 399.1258 (Calcd for C₁₆H₂₄O₁₀Na, 399.1267); ¹H-NMR: Table 1; ¹³C-NMR: Table 2.

化合物1の酵素加水分解: 化合物 **1** (3.0 mg) を精製水 5 mL に溶かし, cellulase (26.0 mg, Sigma) を加え, 38 °C で 30 時間攪拌. その反応液を減圧濃縮後, prep. HPLC [column, TSK gel ODS-80TM (6.0 mm i.d.×15 cm, Tosoh); mobile phase, MeOH-H₂O (1:10); flow rate, 0.8 mL/min; col. temp.,

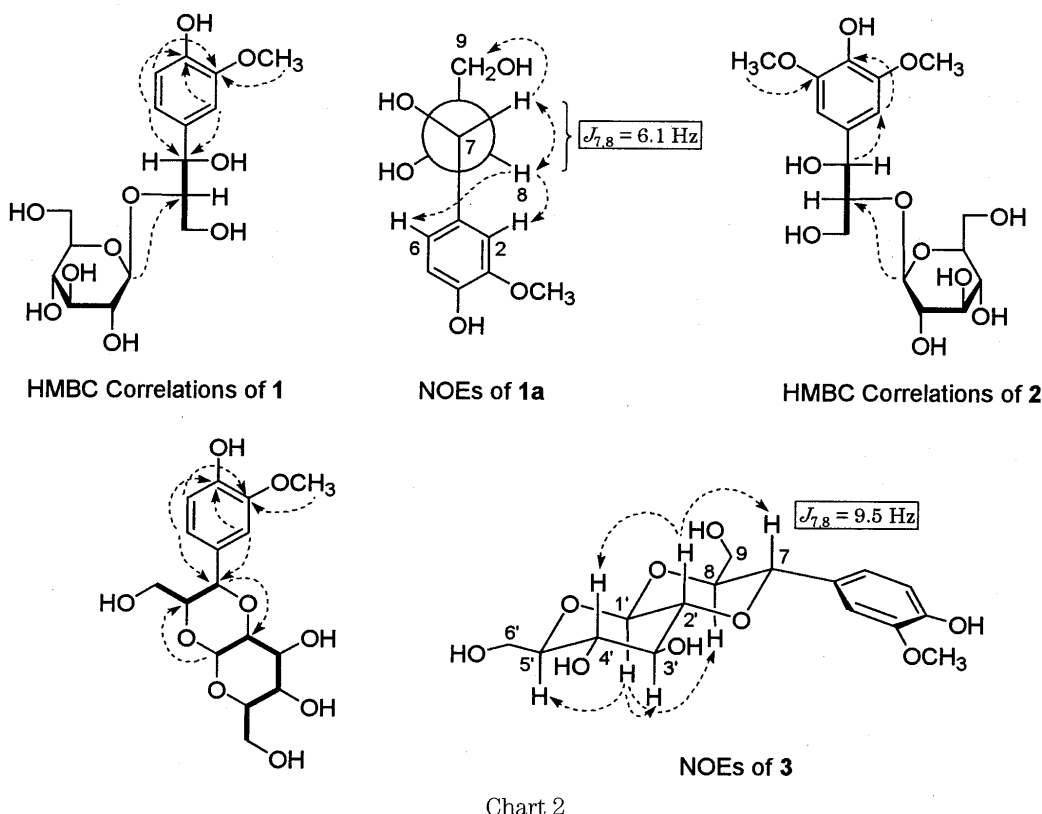


Table 1. ¹H-NMR Data for Compounds **1**, **1a**, **2** and **3** (400 MHz, CD₃OD)

	1	1a *	2	3
2	7.01 d (1.7)	7.02 d (2.0)	6.70 s	6.99 d (2.0)
5	6.77 d (8.1)	6.76 d (8.1)	—	6.77 d (8.3)
6	6.82 dd (8.1, 1.7)	6.82 dd (8.1, 2.0)	6.70 s	6.86 dd (8.3, 2.0)
7	4.67 d (7.3)	4.55 d (6.1)	4.69 d (6.6)	4.44 d (9.5)
8	3.80 ddd (7.3, 6.1, 3.4)	3.62 br dd (6.1, 3.9)	3.82 m	3.79 ddd (9.5, 5.1, 2.4)
9A	3.30 m	3.38 dd (11.0, 5.9)	3.42 m	3.43 m
9B	3.53 dd (12.0, 3.4)	3.48 dd (11.0, 3.9)	3.57 dd (11.7, 3.7)	3.43 m
1'	4.41 d (7.3)	—	4.37 d (7.3)	4.59 d (7.8)
OCH ₃	3.87 s	3.84 s	3.85 s	3.86 s

*acetone-*d*₆. Coupling constants (*J* in Hz) are given in parentheses.

Table 2. ¹³C-NMR Data for Compounds **1**, **1a**, **2** and **3** (100 MHz, CD₃OD)

	1	1a *	2	3
1	133.5	134.9	132.9	130.2
2	111.7	111.2	105.3	112.4
3	149.1	148.0	149.3	149.0
4	147.5	146.6	136.3	148.1
5	116.1	115.2	149.3	116.1
6	120.9	120.4	105.3	121.9
7	75.0	74.7	75.1	80.3
8	87.8	77.2	87.3	82.7
9	63.2	63.8	63.3	62.6
1'	105.4	—	105.3	99.9
2'	75.6	—	75.6	80.8
3'	78.1	—	78.1	75.2
4'	71.5	—	71.5	71.9
5'	77.9	—	77.9	79.8
6'	62.7	—	62.6	62.2
OCH ₃	56.5	56.2	56.8	56.5

*acetone-*d*₆.

40 °C]により精製し, アグリコン **1a** (2.1 mg)を得た.

L-threo-Guaiacylglycerol (**1a**): 無晶形粉末, $[\alpha]_D^{27} + 12.6^\circ$ ($c = 0.21$, MeOH); UV λ_{\max} (MeOH) nm ($\log \epsilon$): 203(4.1), 228(3.6), 278(3.2); FAB-MS m/z : 237[M + Na]⁺; HR-FAB-MS m/z : 237.0742 (Calcd for C₁₀H₁₄O₅Na, 237.0739); ¹H-NMR: Table 1; ¹³C-NMR: Table 2.

D-threo-Syringoylglycerol 8-*O*-β-D-glucopyranoside (**2**): 無晶形粉末, $[\alpha]_D^{27} - 30.8^\circ$ ($c = 0.10$, MeOH); UV λ_{\max} (MeOH) nm ($\log \epsilon$): 204(4.5), 235sh (3.7), 271(3.4); FAB-MS m/z : 429 [M + Na]⁺;

HR-FAB-MS m/z : 429.1365 (Calcd for C₁₇H₂₆O₁₁Na, 429.1373); ¹H-NMR: Table 1; ¹³C-NMR: Table 2.

(7*S*,8*S*)-4-Hydroxy-3-methoxy-7,8-(2',1'-*O*-β-D-glucopyranosyl)-phenylpropanetriol (**3**): 無晶形粉末, $[\alpha]_D^{27} + 56.8^\circ$ ($c = 0.15$, MeOH); UV λ_{\max} (MeOH) nm ($\log \epsilon$): 202(4.4), 230(3.8), 277(3.4); FAB-MS m/z : 381[M + Na]⁺; HR-FAB-MS m/z : 381.1181 (Calcd for C₁₆H₂₂O₉Na, 381.1161); ¹H-NMR: Table 1; ¹³C-NMR: Table 2.

化合物**1**–**3**の糖部の絶対構造: 化合物**1**–**3** (それぞれ *ca.* 0.5 mg)を各々 5% HCl (5 mL)に溶か

し、水浴上で2時間還流。冷後、 Ag_2CO_3 を加え中和後ろ過。ろ液を旋光度検出器 [OR-2090, 日本分光]を用いたHPLC [column, TSK gel Amide-80 (7.8 mm i.d.×30 cm, Tosoh); mobile phase, $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ (4 : 1); flow rate, 1.0 mL / min; col. temp., 40 °C]に付して標品との比較によりそれぞれD-glucoseを確認した。

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., *J. Tohoku Pharmaceutical University*, **53**, 33-38 (2006).
- 2) Ishikawa T., Fujimatu E., Kitajima J., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 1460 – 1466 (2002).
- 3) Ishimaru K., Nonaka G., Nishioka I., *Phytochemistry*, **26**, 1147 – 1152 (1987).
- 4) Lundgren L. N., Popoff T., Theander O., *Acta Chem. Scand.*, **B 36**, 695 – 699 (1982).
- 5) Kijima H., Ide T., Otsuka H., Ogimi C., Hirata E., Takushi A., Takeda Y., *Phytochemistry*, **44**, 1551 – 1557 (1997).
- 6) Wang A. X., Zhang Q., Jia Z. J., *Pharmazie*, **59**, 889 – 892 (2004).
- 7) Comte G., Vercauteren J., Chulia A. J., Allais D. P., Delage C., *Phytochemistry*, **45**, 1679 – 1682 (1997).