

ハクトウオウの化学成分 (第1報) Hederagonic Acid の同定並びに立体配座について

八百板康範, 星野 麻美, 菊地 正雄

Constituents of the Roots of *Pulsatilla chinensis* (BUNGE) REGEL. I. Identification and Conformation of Hederagonic Acid

Yasunori YAOITA, Asami HOSHINO, and Masao KIKUCHI

(Received November 20, 2009)

From the roots of *Pulsatilla chinensis* (BUNGE) REGEL (Ranunculaceae), hederagonic acid (**1**) was isolated and identified on the basis of spectral data. Compound **1** has been isolated from the roots of this plant for the first time. Some correlations in the HMBC and NOESY spectra of compound **1** suggested the existence of a conformational equilibrium on the C23-hydroxyl group.

Key words — *Pulsatilla chinensis*; Ranunculaceae; triterpenoid; conformation

ハクトウオウは、ヒロハオキナグサ *Pulsatilla chinensis* (BUNGE) REGEL (キンポウゲ科, Ranunculaceae) の根を乾燥したものであり、抗アメーバ原虫作用や抗トリコモナス作用を有することが知られている。¹⁾ ハクトウオウの化学成分に関してはこれまでに、オレアナン型トリテルペンサポニンについての報告がある。¹⁻⁵⁾ 本論文において著者らは、ハクトウオウの低極性成分について検討を行い、オレアナン型トリテルペノイドの hederagonic acid (**1**) を単離、同定したので報告する。また、立体配座についても検討を行ったので併せて報告する。

化合物 **1** は、高分解能 (HR)-電子イオン化 (EI)-MS から $C_{30}H_{46}O_4$ の分子式を有することが判明した。EI-MS においては m/z 248 に 12 位に二重結合を有するトリテルペノイドに特徴的なフラグメントイオンピークが認められる。⁶⁾ ¹H-NMR スペクトルにおいては、6 個の三級メチル基 [δ_H 0.83 (3H, s, H₃-26), 0.90 (3H, s, H₃-29), 0.93 (3H, s, H₃-30), 1.01 (3H,

s, H₃-24), 1.14, 1.15 (each 3H, s, H₃-25, H₃-27)], 水酸基の付け根のメチレンプロトン [δ_H 3.42 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-23a), 3.65 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-23b)] 及び三置換二重結合 [δ_H 5.30 (1H, dd, $J=3.7, 3.3$ Hz, H-12)] に基づくシグナルが認められる。また、¹³C-NMR スペクトルにおいては 30 本のシグナルが観察され、そのうち、 δ_C 182.2 (C-28) 及び 219.1 (C-3) にカルボニル炭素のシグナルが認められる。更に、各種二次元 NMR スペクトルを検討することにより本化合物は hederagonic acid と推定されたので、文献値^{7,8)} (EI-MS, ¹H- 及び ¹³C-NMR スペクトル) との比較により同定した (Chart 1)。本化合物は既にスイカズラ科 (Caprifoliaceae) の植物である *Viburnum erubescens* の全草より報告されているが、⁹⁾ ハクトウオウより単離されたのは今回が初めてである。

化合物 **1** の同定に際して ¹H-detected heteronuclear multiple bond correlation (HMBC) スペクトルの測定を行ったところ、23 位のメチレン基の水素に関して、23a の水素から 24 位のメチル基の炭素に相関が認められるが、23b の水素については相関が認められないことを確認した。また、23b の水素は 5 位の炭素に相関を示すが、23a の水素は相関を示さないことも確認された。この相関の差異は 23 位の水酸基に関する配座異性体間の相互変換によるものと推定されたので、その立体配座について検討を行った。Zeng らは HMBC スペクトルにおいて観察される ³J_{CH} に基づく相関は ³J_{HH} と同様に Karplus 型の二面角依存性を示し、三結合を隔てた水素と炭素と

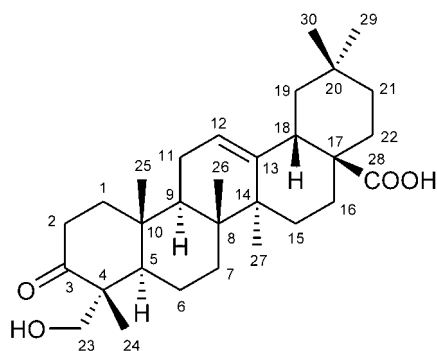


Chart 1

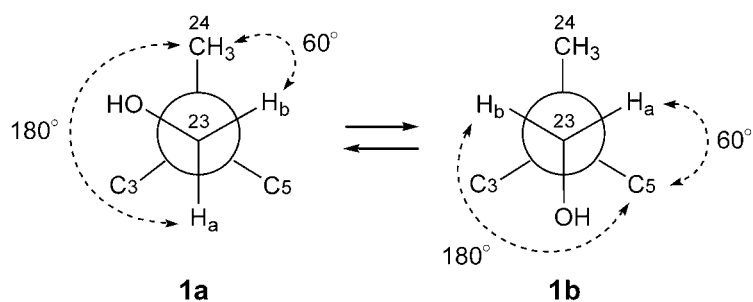


Fig. 1. Newman Projections Along C4–C23 Bond of Compound **1** Depicting Two Conformers for **1a** and **1b**

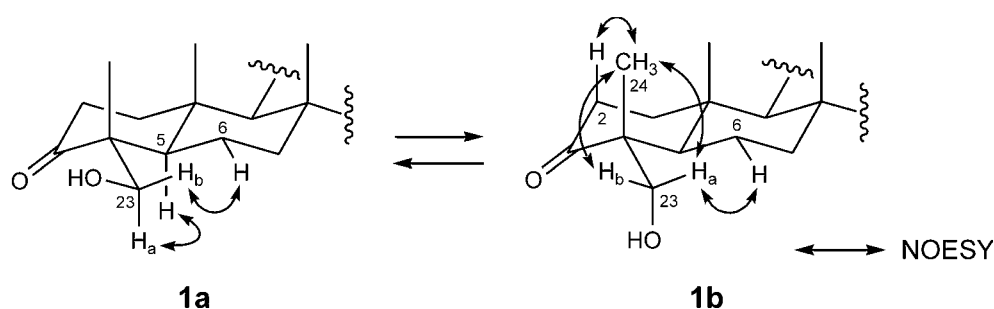


Fig. 2. NOE Interactions for Conformers **1a** and **1b** of Compound **1**

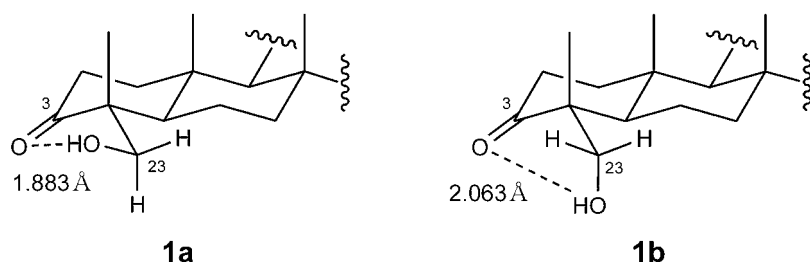


Fig. 3. Distance of Intramolecular Hydrogen Bond Between C3-Carbonyl Group and C23-Hydroxyl Group in Conformers **1a** and **1b** of Compound **1** Calculated by PM3

の間の二面角が 180° のときに相関が認められ、 60° のときは相関が認められないことに基づく立体配座解析法を報告している。¹⁰⁾これを適用すると、化合物**1**は23位の水酸基と24位のメチル基がゴーシュ形 (**1a**) 及びトランス形 (**1b**) をとる配座異性体の平衡混合物として存在することが明らかとなった (Fig. 1). このことは nuclear Overhauser effect correlation spectroscopy (NOESY) スペクトルの結果からも支持される (Fig. 2). この配座平衡には3位のカルボニル基と23位の水酸基との間の分子内水素結合の関与が示唆されるので、¹¹⁾**1a**及び**1b**の配座について半経験的分子軌道法 (PM3) により3位のカルボニル基の酸素原子と23位の水酸基の水素原子間の距離を計算した。¹²⁾その結果、**1a**

については 1.883Å 、**1b**については 2.063Å の値が得られ、これらは分子内水素結合が形成可能な距離 ($1.4\text{Å}\sim 2.1\text{Å}$)¹¹⁾であることを確認した (Fig. 3).

以上、ハクトウオウの成分について検討を行い、オレアナン型トリテルペノイドの hederagonic acid (**1**) を単離、同定した。また、化合物**1**の立体配座についても検討を行い、23位の水酸基に関する平衡混合物の存在を明らかにした。

実験の部

HR-EI-MS 及び EI-MS は日本電子 JMS-700 型を用いて測定した。NMR スペクトルは日本電子 JNM-LA 600 型を使用し、内部標準物質に tetramethylsilane

(TMS) を用いて測定した (略語: s=singlet, d=doublet, dd=double doublet, ddd=double double doublet, m=multiplet). 化学シフトは δ 値 (ppm) で示し, 結合定数 (J) は Hz で表した. シリカゲルカラムクロマトグラフィーには充填剤として Kieselgel 60 (Merck, 230–400 mesh) を使用した. 分取 HPLC には, 東ソー製装置 [ポンプ, CCPS; 検出器, RI-8020; カラム恒温槽, CO-8020; カラム, TSKgel ODS-120T (7.8 mm i.d. \times 30 cm); カラム温度, 40°C] を使用した.

抽出及び分離 ウチダ和漢薬より購入したハクトウオウ (2.0 kg) を MeOH で抽出し, MeOH エキス (209.7 g) を得た. これを水に懸濁し, CHCl₃ で抽出を行い, CHCl₃ 可溶部 (12.5 g) を得た. CHCl₃ エキスをシリカゲルカラムクロマトグラフィー [n-hexane–AcOEt (7:3–1:7), AcOEt, MeOH] に付して分画を行い, フラクション (fr.) 1–32 を得た. このうちの fr. 12 を分取 HPLC [mobile phase, MeOH–H₂O (9:1) containing 0.1% CH₃COOH; flow rate, 1.5 ml/min] に付し, 化合物 **1** (10.0 mg) を単離した.

Hederagonic Acid (1) 無晶形粉末. EI-MS m/z (%): 470 (M⁺, 1), 248 (100), 233 (10), 203 (94). HR-EI-MS m/z : 470.3395 (M⁺, Calcd for C₃₀H₄₆O₄; 470.3396). ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 0.83 (3H, s, H₃-26), 0.90 (3H, s, H₃-29), 0.93 (3H, s, H₃-30), 1.01 (3H, s, H₃-24), 1.14, 1.15 (each 3H, s, H₃-25, H₃-27), 1.41 (1H, m, H-6a), 1.62 (1H, dd, $J=8.1, 3.7$ Hz, H-5), 2.27 (1H, ddd, $J=16.5, 5.1, 2.6$ Hz, H-2a), 2.63 (1H, ddd, $J=16.5, 13.6, 6.6$ Hz, H-2 β), 2.84 (1H, dd, $J=13.9, 4.4$ Hz, H-18), 3.42 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-23a), 3.65 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-23b), 5.30 (1H, dd, $J=3.7, 3.3$ Hz, H-12). ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 15.2 (C-25), 16.8 (C-26), 17.1 (C-24), 19.1 (C-6), 23.0 (C-16), 23.49 (C-11), 23.54 (C-30), 25.9 (C-27), 27.7 (C-15), 30.7 (C-20), 32.1 (C-22), 32.4 (C-7), 33.0 (C-29), 33.8 (C-21), 35.2 (C-2), 36.6 (C-10), 38.8 (C-1), 39.3 (C-8),

41.1 (C-18), 41.8 (C-14), 45.8 (C-19), 46.5 (C-17), 46.8 (C-9), 49.2 (C-5), 52.4 (C-4), 66.9 (C-23), 122.2 (C-12), 143.8 (C-13), 182.2 (C-28), 219.1 (C-3).

謝辞 本研究にあたり, MS 及び NMR スペクトルを測定していただいた本学中央機器センターの方々へ深謝いたします.

REFERENCES AND NOTES

- 1) Mimaki Y., Kuroda M., Asano T., Sashida Y., *J. Nat. Prod.*, **62**, 1279–1283 (1999).
- 2) Ye W., Ji N., Zhao S., Liu J., Ye T., McKervey M. A., Stevenson P., *Phytochemistry*, **42**, 799–802 (1996).
- 3) Ye W., He A., Zhao S., Che C., *J. Nat. Prod.*, **61**, 658–659 (1998).
- 4) Mimaki Y., Yokosuka A., Kuroda M., Hamanaka M., Sakuma C., Sashida Y., *J. Nat. Prod.*, **64**, 1226–1229 (2001).
- 5) Ye W., Zhang Q., Hsiao W. W. L., Zhao S., Che C., *Planta Med.*, **68**, 181–183 (2002).
- 6) Shiojima K., Arai Y., Masuda K., Takase Y., Ageta T., Ageta H., *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 1683–1690 (1992).
- 7) Bhandari P., Rastogi R., *Phytochemistry*, **23**, 2082–2085 (1984).
- 8) Johns S. R., Lamberton J. A., Morton T. C., Soares H., Willing R. I., *Aust. J. Chem.*, **36**, 2537–2547 (1983).
- 9) Agarwal S. K., Rastogi R. P., *Phytochemistry*, **13**, 666–668 (1974).
- 10) Zeng B., Pollack R. M., Summers M. F., *J. Org. Chem.*, **55**, 2534–2536 (1990).
- 11) Oki M., Iwamura H., Aihara J., Iida H., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **41**, 176–182 (1968).
- 12) Semiempirical molecular orbital calculations by the PM3 method were performed with MOPAC program implemented by Cambridge Software Chem3D Ultra (Version 7) using default parameters.