薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
102 (2) 162-172 (1982)

抗炎症剤に関する研究 (第 6 報¹⁾) 肉桂の抗炎症活性成分²⁾

大塚紘司,^{*}^a 藤岡章二,^a 小宮威彌,^a 水田栄治,^b 高本正幸^b

武田薬品工業株式会社中央研究所 生薬研究所,^a 化学研究所^b

Studies on Anti-inflammatory Agents. VI.¹⁾ Anti-inflammatory Constituents of *Cinnamomum sieboldii* MEISSN.²⁾

HIROSHI OTSUKA,^{*}^a SHOJI FUJIOKA,^a TAKEYA KOMIYA,^a
EIJU MIZUTA,^b and MASAYUKI TAKAMOTO^b

Pharmacognostic Research Laboratories, Central Research Division, Takeda Chemical Industries, Ltd.,^a Ichijoji-Takenouchicho, Sakyo-ku, Kyoto, 606, Japan and
Chemical Research Laboratories, Central Research Division, Takeda Chemical Industries, Ltd.,^b Jusohonmachi, Yodogawa-ku, Osaka, 532, Japan

(Received July 14, 1981)

The crude drug "Cinnamomi Cortex" the bark of *Cinnamomum cassia* BLUME and other plants of the same genus (Lauraceae) is well described in herbals or medicinal books of Chinese medicine, and has been used medicinally from old times. This important crude drug is clinically prescribed for sweating, anti-pyretic, and analgesic effects in many Chinese medicine and widely used for aromatic stomachics as folk remedy or spice in the world.

In the course of search for active anti-inflammatory constituents in the crude drugs and plants, an aqueous methanolic (1:1, v/v) extract from the bark of *Cinnamomum sieboldii* MEISSN. was found to have the potent inhibitory activity of the formation of granulation tissue through the screening by the fertile egg method. Exploration on the bark of this plant resulted in the isolation of the known (–)-epicatechin (1), (+)-catechin (2), procyanidin B₂ (5), and procyanidin B₄ (6), and new compounds named cinnamonol D₁ (9), and cinnamonol D₂ (10) as their acetates, respectively. The activity increased in the order of monomers, dimers, and trimers.

Keywords—fertile egg method; anti-inflammatory constituents; *Cinnamomum sieboldii*; Lauraceae; (–)-epicatechin; (+)-catechin; procyanidin B₂; procyanidin B₄; cinnamonol D₁; cinnamonol D₂

桂皮は神農本草経をはじめ各時代の本草書に収録され、漢方では解熱、発汗、鎮痛を目標に桂枝湯、苓桂朮甘湯、八味丸など多くの漢方薬に処方される。また欧州では紀元前からシルクロードを通じて東洋より運ばれ、重要な香辛料として賞用されてきたほか Dioscorides の "De Materia Medica" に収載されていることから薬物としても早くから用いられていたことがうかがえる。このように桂皮は古くから汎世界的に用いられる重要生薬の 1 つであり、したがって基原植物をはじめその精油成分の化学的研究³⁾、薬理学的研究⁴⁾ などに関して多くの報告がみられるが、タンニン、ゴム質、粘液についての報告はほとんどみられない。

著者らは天然物を対象とした抗炎症活性成分に関する研究⁵⁾ の過程において桂皮に活性のある知見を得、*Cinnamomum* 属植物の数種について検討したところニッケイ *Cinnamomum sieboldii* MEISSN. (Lauraceae) に最も強い活性がみられ、かつ本活性成分はタンニン様物質であることが推察された。そこで、肉桂を取り上げ、受精卵法⁵⁾ を指標として数種の活性成分を単離し、それらの化学構造を明らかにすることができたので報告する。

まず、予備実験として市場品桂皮類、および肉桂を抽出、分画し、活性成分について検討したところ、とりわけ肉桂が高い活性を示し、活性成分はドラージェンドルフ反応、ニンヒドリン反応ともに陰性で、塩化第二鉄反応により灰緑色を示す水溶性物質であることからカテコール系のタンニン様物質であると推察された。また、ニッケイ *C. sieboldii* の新鮮樹皮は活性が強く、活性成分の収量もよいことから活性成分の単離にはニッケイ樹皮の

Chart 1. Isolation of Active Anti-inflammatory Constituents
from *Cinnamomum sieboldii* MEISSN.

TABLE I. Anti-inflammatory Activity of Fraction A, B, and C obtained from Bark
of *Cinnamomum sieboldii* MEISSN. by Means of Fertile Egg Method

Test material	Dose (μ g/disc)	Granulation tissue ^{a)}		Survival ratio of embryo
		Dry wt. (mg)	Inhibition (%)	
Control		6.9 $\pm$ 1.4		19/20
Fraction A	400	3.5 $\pm$ 0.6 ^{b)}	50.0	15/20
	100	5.7 $\pm$ 0.8	17.4	17/20
Fraction B	400	2.6 $\pm$ 0.4 ^{b)}	62.3	16/20
	100	5.0 $\pm$ 1.0	27.5	18/20
Fraction C	400	1.8 $\pm$ 0.3 ^{b)}	73.9	16/20
	100	3.8 $\pm$ 0.7 ^{b)}	44.9	16/20
Berberine chloride	25	2.3 $\pm$ 0.4 ^{b)}	66.7	18/20

a) Average of 20 embryos.

b) Significant at the 5% level in comparison with the control ($p < 0.05$).

新鮮材料を用いることにした。

すなわち、ニッケイ樹皮の新鮮材料をアセトン抽出し、受精卵法による肉芽形成抑制作用を指標としてカラムクロマトグラフィーに付し、活性成分の分画を繰り返した結果、活性画分 A, B, および C をそれぞれ 0.16%, 0.02%, および 0.23% の収率で得た (Chart 1)。

画分 A, B, および C はディスク当たり 400 μ g の用量で強い肉芽形成抑制作用を示し、活性は画分 A から B, C となるに従って強くなる傾向を示した (Table I)。

Chart 2

画分 A をエタノールから再結晶すると無色針状晶 (1), mp 240—242°C, $[\alpha]_D^{25} -52^\circ$, を得た. 1 はドラージェンドルフ反応, Liebermann-Burchard 反応は陰性であるが, 塩化第二鉄反応が陽性である. 分子式は質量スペクトル (MS), 元素分析値, および分子量測定の結果から $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ と決定された. また, 本品の紫外線吸収 (UV) スペクトル, 赤外線吸収スペクトル, および核磁気共鳴 (NMR) スペクトルデータ, さらに 1 を無水酢酸-ピリジンでアセチル化して得た pentaacetate (3), 無色針状晶, mp 151—153°C, $[\alpha]_D^{25} -10^\circ$, $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$, の理化学的性状より本品 (1) を (–)-epicatechin と推定した. そこで本品を (–)-epicatechin の標品⁶⁾ と混融して融点降下を示さないこと, IR スペクトル, TLC の R_f 値が一致したことから同定した.

ついで, 1 を再結晶して得た母液について無水酢酸-ピリジンによってアセチル化し, シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付すと (–)-epicatechin pentaacetate (3), mp 151—153°C, のほかに pentaacetate (4), 無色針状晶, mp 130—131°C, $[\alpha]_D^{25} +39.5^\circ$, $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$, が得られた (Chart 2). 本品の理化学的性状は文献記載⁷⁾ の (+)-catechin pentaacetate (4) に一致する. そこで標品⁸⁾ の (+)-catechin pentaacetate と混融して融点降下を示さないこと, IR スペクトル, TLC の R_f 値が一致したことから本品を (+)-catechin pentaacetate (4) と同定した.

本実験 (実験の部参照) により画分 A は主成分として (–)-epicatechin (1), 副成分として (+)-catechin (2) を含有することが明らかになった.

画分 B は UV, IR スペクトルにおいて 1 のそれらと酷似し, MS では m/e 560 ($\text{M}^+ - 18$) を示すこと, その元素分析値および本品を無水酢酸-ピリジンでアセチル化すると 2 種の decaacetate (7) および (8) [いずれも $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_{22}$, $\text{M}^+ 998$] を与えることから 1 および (または) 2 の 2 量体よりなることが示唆された.

Chart 3

7 および 8 の理化学的性状はさきに Weinges ら^{7a)} が *Crataegus oxiacantha* LINN. から得た (−)-epicatechin dimer の procyanidin B₂ decaacetate および *Wistaria sinensis* DC. から得た procyanidin B₄ decaacetate のそれにそれぞれ酷似する。そこで、両者をそれぞれの標品⁹⁾ と直接比較した結果、NMR スペクトル、TLC の *R_f* 値が一致したことから、7 および 8 をそれぞれ procyanidin B₂ decaacetate および procyanidin B₄ decaacetate と同定した。

Procyanidin B₂ および B₄ のフラバン間の結合位置については Weinges¹⁰⁾ および Ahn¹¹⁾ らは 6' 位よりも 8' 位が空間的ならびに電子的にも求核反応に対して活性であることから、天然の 2 量体は 4—8' 位結合であると推定した。また Flecher ら¹²⁾ は procyanidin B₂, B₃ のフラバン間の C (*sp*²)-C (*sp*³) 結合にみられる回転障害エネルギーを算出するとともにモデル化合物 (合成品) のそれらとの比較などから 4—6' 位結合よりも 4—8' 位結合が妥当であることを証明した。

本実験 (実験の部参照) から、画分 B は主成分として procyanidin B₂ (5), 副成分として procyanidin B₄ (6) からなることが明らかになった。

画分 C も画分 B と同様で IR, UV スペクトルは 1 のそれらと類似する。画分 C を無水酢酸-ピリジンでアセチル化すると 2 種の acetate (11) および (12) が 3 : 2 の比率で得られた。両成績体の分子式は MS *m/e*: 1410 (*M*⁺ - 42) および元素分析値からともに C₇₈H₆₄O₃₂ と決定された。NMR スペクトル (nitrobenzene-*d*₅) ではそれぞれ δ 1.70—2.28 および 1.70—2.32 の領域に 14 個のアセチル基によるプロトンシグナルが認められることから両成績体はともに tetradecaacetate であると推定した。さらに本画分をジアゾメタン-エーテル溶液でメチル化すると undecamethylether (13) および (14) [いずれも C₅₆H₅₈O₁₈, *M*⁺ 1018] を与える。

ついで 13 を無水酢酸-ピリジンでアセチル化すると triacetate (15), C₆₂H₆₄O₂₁, *M*⁺ 1144, を与える。以上の実験結果および後述の分解反応から画分 C は 2 種の 3 量体からなると推定した (Chart 4)。そこで Thompson ら¹³⁾ がカテキンの 2 量体 (procyanidin B₁, B₂, B₃, および B₄) の構造解析に用いた酸による分解反応を試みた。すなわち、画分 C を酢酸の存在下にエタノール中 toluene-α-thiol と反応させると (−)-epicatechin (1), (+)-catechin (2), および thiobenzylether (16) を与えた。16 が 2 架橋構造を有する 2 量体であることは元素分析

Chart 4

TABLE II. NMR Spectral Data for Procyanidin A₂ Thiobenzylether (16) and Its Nonaacetate (17)

Proton(s)	Chemical shift (δ)		Chemical shift (δ)	
	16		17	
	Our data	Literature	Our data	Literature
3	4.14 (d, $J=4\text{Hz}$)	3.8—4.2 (m)	5.19 (d, $J=4\text{Hz}$)	5.22 (br)
4	4.45 (d, $J=4\text{Hz}$)	4.46 (d)	4.56 (d, $J=4\text{Hz}$)	4.60 (d)
6	6.00 (d, $J=2\text{Hz}$)	6.02 (d)	6.52 (d, $J=2\text{Hz}$)	6.54 (d)
8	6.10 (d, $J=2\text{Hz}$)	6.08 (d)	6.82 (d, $J=2\text{Hz}$)	6.84 (d)
2'	5.46 (br)	5.48 (br)	5.76 (br)	5.80 (br)
3'	4.14 (m)	4.11 (m)	5.16 (d, $J=2\text{Hz}$)	5.18 (br)
4'	4.14 (m)	4.10 (m)	4.11 (d, $J=2\text{Hz}$)	4.16 (br)
8'	6.19 (s)	6.20 (s)	6.46 (s)	6.48 (s)
Aromatic	6.8—7.5 (m)	6.8—7.5 (m)	7.1—7.6 (m)	7.1—7.6 (m)
SCH ₂	3.8—4.2 (m)	3.8—4.2 (m)	4.07, 3.83	4.08, 3.84
OH	7.9—8.3 (m)	7.9—8.25 (m)		
OAc			1.28 (1 ^a)	1.30 (1 ^a)
			1.45 (1 ^a)	1.46 (1 ^a)
			1.73 (1 ^a)	1.76 (1 ^a)
			1.83 (1 ^a)	1.86 (1 ^a)
			1.96 (1 ^a)	1.98 (1 ^a)
			2.31 (1 ^a)	2.34 (1 ^a)
			2.34 (3 ^a)	2.36 (3 ^a)

a) Numbers of acetyl groups.

では benzylthio 基と catechin 分子の比が 1:2 の関係にあること, および 2 位または 2' 位に相当するプロトンは δ 5.46 (1H, br s) に 1 個分しか認められないことから支持された. さらに 16 をアセチル化すると nonaacetate (17) を与え, 16 をジアゾメタン-エーテル溶液でメチル化すると heptamethylether (18) を与えた. 16 および 17 の NMR スペクトルはすでに Jacques ら¹⁴⁾ が *Persea gratissima* の種子から得た 3 量体の proanthocyanidin-D1 および -D2 の混合物に酸分解反応を行い得られた thiobenzylether (16) およびその nonaacetate (17) のそれとそれぞれ一致した (Table II). ついで 16 を Raney nickel で脱硫還元すると procyanidin A₂ (19), mp >300°C を与え, さらに 19 をアセチル化すると procyanidin A₂ nonaacetate (20), mp 156—158°C, を与えた. Procyanidin A₂ (19) の理化学的性状は標品¹⁵⁾ のそれと直接比較により一致し, またその nonaacetate (20) の理化学的性状は標品¹⁵⁾ をアセチル化して得たもののそれと一致し, かつ両者を混融しても融点降下を示さないことから同定した. 以上の実験成績から 9 および 10 は procyanidin A₂ (19) に (–)-epicatechin (1) または (+)-catechin (2) が結合した 3 量体であると推定される. ここで procyanidin A₂ の構造について文献上の考察を行うと Mayer ら¹⁶⁾ は *Aesculus hippocastanum* Linn. (Hippocastanaceae) から procyanidin A₂ (彼らは本成分を procyanidino-(–)-epicatechin, ein zweiarmig verknüpftes, kondensiertes proanthocyanidin と称した) を最初に単離して ¹H-NMR スペクトルを解析し, 19, 21, あるいは 22 を含むフラボン間の 2 架橋構造を推定した (Chart 5).

Weinges ら^{10,17)} は *Vaccinium vitis-idaea* Linn. (Ericaceae) から procyanidin A₁ および A₂ (彼らの命名に従って記載している) を得, procyanidin A₂ の物理恒数は Mayer らが得た 2 架橋構造の成分と一致することを認めた. 1973 年 Schilling ら¹⁸⁾ は procyanidin A₁ および A₂ ならびにこれらのモデル化合物の ¹³C-NMR スペクトルについての解析から procyanidin A₁ および A₂ の C-2 位における結合様式は C-C 結合した 21 型ではなく C-O 結合した 19 型と推定したが A₁ と A₂ の区別については未解決であった. 1974 年 Jacques ら¹⁴⁾ は *Aesculus hippocastanum* Linn. から proanthocyanidin-A2 (procyanidin A₂ と同一物質) を得, ¹H-および ¹³C-NMR スペクトルの解析および生合成の観点から 19 の構造であると提案した. その後 1975 年になって Schilling¹⁹⁾ は procyanidin A₁ および A₂ についての詳細な ¹H-NMR および ¹³C-NMR スペクトルの解析から procy-

Chart 5

anidin A₂ の構造は 22 であり, procyanidin A₁ の構造が 19 であるとした. Procyanidin A₂ の構造は両者のうちいずれが正しいのか明確でなかった. そこで著者らが得た procyanidin A₂ の X 線構造解析²⁰⁾によると 19 の構造であることが確証された (Chart 6).

ついで tetradecaacetate (11), (12) の NMR スペクトル (nitrobenzene-*d*₅) ならびに decoupling 実験により両 3 量体の各プロトンシグナルの帰属を行った. 室温では複雑なスペクトルが得られ, 二重共鳴実験により予測しないシグナルまでが変化した. このことはすでに Weinges ら²¹⁾ および Thompson ら¹³⁾ が報告している回転異性体の存在を認めるとよく説明がつく. そこで 160—170°C に昇温し, coalescence させると帰属可能なシグナルが得られた (Table III). すなわち, 3 量体 11 の decoupling 実験において δ 3.10 (2H, m) に照射すると δ 5.54 のプロトンシグナル 1 個分が multiplet から broad singlet に変わり, 改めて δ 5.54 に照射すると δ 5.16 (1H, br s) のシグナルが sharp singlet に変化することから δ 3.10, 5.54, および 5.16 をそれぞれ 4'' 位, 3' 位, および 2'' 位の各プロトンに帰属した. ついで δ 5.44 (1H, d, $J=4$ Hz) に照射すると δ 4.92 (1H, d, $J=4$

Chart 6. Chemical Structure of Procyanidin A₂ (19)TABLE III. NMR Spectral Data for Cinnamonol D₁ Tetradecaacetate (11) and Cinnamonol D₂ Tetradecaacetate (12)

Proton(s)	Chemical shift ^{a)} : δ	
	11	12
3	5.44 (1H, d, $J=4$ Hz)	5.49 (1H, d, $J=4$ Hz)
4	4.92 (1H, d, $J=4$ Hz)	4.81 (1H, d, $J=4$ Hz)
6 or 8	6.70 (1H, d, $J=2$ Hz)	6.70 (1H, d, $J=2$ Hz)
8 or 6	6.87 (1H, d, $J=2$ Hz)	6.87 (1H, d, $J=2$ Hz)
2'	5.90 (1H, d, $J=3$ Hz)	5.87 (1H, d, $J=3$ Hz)
3'	5.78 (1H, dd, $J=3, 5$ Hz)	5.73 (1H, dd, $J=3, 4$ Hz)
4'	4.75 (1H, d, $J=5$ Hz)	4.71 (1H, d, $J=4$ Hz)
8' or 6''	6.52 (1H, s)	6.58 (1H, s)
6'' or 8'	6.89 (1H, s)	6.90 (1H, s)
2''	5.16 (1H, br s)	4.95 (1H, d, $J=8$ Hz)
3''	5.54 (1H, m)	5.32 (1H, m)
4''	3.02—3.19 (2H, m)	2.82—3.20 (2H, m)
OAc	1.70—2.28 (42 H, s)	1.70—2.32 (42 H, s)

a) solvent: nitrobenzene-*d*₅.

Hz) が singlet になり, 他の変化は観察されなかったことから, 前者 (δ 5.44) を C-3-H, 後者 (δ 4.92) を C-4-H に帰属した. 最後に δ 4.75 (1H, d, $J=5$ Hz) に照射すると δ 5.78 (1H, dd, $J=3$ Hz, 5 Hz) が doublet (1H, d, $J=3$ Hz) になり, また δ 5.78 に照射すると δ 4.75 ならびに 5.90 (1H, d, $J=3$ Hz) のシグナルが singlet に変化することから δ 4.75, 5.78, および 5.90 をそれぞれ C-4'-H, C-3'-H, C-2'-H に帰属した. また, 11 の 2'' 位, 3'' 位プロトンの coupling constant ($J_{2'',3''}$) は 1 Hz 以下である^{7a)} ことから, 本 3 量体は部分構造として (−)-epicatechin (1) を有する成分 11 であることが支持された.

12 の NMR スペクトルにおける個々のシグナルの帰属も同様に decoupling 実験によって行い, 2'', 3'' 位のプロトンの coupling constant ($J_{2'',3''}$) は 8 Hz^{7a)} であることから, この 3 量体は部分構造として (+)-catechin (2) を持つ成分 12 であると推定した.

ついで, 11 および 12 における部分構造の procyanidin A₂ nonaacetate と (−)-epicatechin pentaacetate あるいは (+)-catechin pentaacetate との結合位置に関しては procyanidin B 類において適用されたのと同じ理由^{10,11)} から 4', 6'' 位結合よりも 4', 8'' 位結合が妥当であろうと推察される.

また, 11 および 12 における 4' 位の立体配置に関しては coupling constant ($J_{3',4'}$) がそれぞれ 5 Hz, および 4 Hz であることから 3', 4'-trans あるいは cis の関係にあるのかははっきりしたことがいえない.^{7a)} 一方, 天然物, 合成物ともに flavan-3-ol の C-4 aryl 基は C-3 hydroxyl 基に対して常に trans の関係にあることが報告¹²⁾ されていることから, 11 および 12 においても恐らく 3', 4'-trans の関係にあると推定される.

Jacques および Haslam ら¹⁴⁾ は *Persea gratissima* の種子から proanthocyanidin-D1, D2 ならびに *Aesculus hippocastanum* LINN. の種皮から proanthocyanidin-D2, D3 の 3 種の 3 量体を得たがいずれも単離するに至っていない. すなわち, 本報告は procyanidin A₂ の部分構造を有する trimer 9 および 10 をそれぞれ tetradecaacetate 11 および 12 として天然物から単離された最初の例であり, 9 および 10 をそれぞれ cinnamonol D₁ および cinnamonol D₂ と命名した.

従来, 肉桂のタンニンについてはほとんど報告がみられなかったが, その一部が 1, 2, 5, 6, 9 および 10 などからなっていることが判明した.

一方, 桂皮の薬理作用としては抗菌作用,^{4a)} 発熱家兎に対する解熱作用,^{4b)} 抗アレルギー作用,^{4c)} 抗トリプシン作用,^{4d)} 中枢抑制作用^{4e)} などが知られているが, 抗炎症に関連する活性成分については明らかにされていない. 本草書や漢方医書には胃炎, 腹痛, 四肢痛を治すとされ, 消炎に結びつく薬効が記載されているが, 今回著者らが得た肉桂タンニンの肉芽形成抑制作用はこれらの一部を明らかにしたものとして意義あるものと考ええる.

実験の部²²⁾

抽出・分離 1977 年秋京都府下で採集したニッケイ *Cinnamomum sieboldii* MEISSN. の新鮮樹皮 11.0 kg (剝切品) を Me₂CO 40.0 l で 48 h 2 回室温抽出し, 抽出液から溶媒を留去し約 1/10 量になった時点で等量の水を加えて一夜放置した. ついで樹脂状物質を除去した上澄液 (茶褐色) を AcOEt 5.0 l で抽出し, AcOEt ext. 123 g (収率 1.12%) を得た. 本エキスを EtOH-水 (1:9, v/v) 混液に懸濁し, 予め同溶媒で充てんした high porous polymer (ダイヤイオン HP-20, 500 ml, 三菱化成製) カラムクロマトグラフィーに付し, 同溶媒 [EtOH-水 (1:9, v/v)] 10.0 l で溶出し, 微黄色飴状物質 25.0 g (0.2%) を得た. 本物質を室温下に放置すると無色針状晶が析出し, 本品は IR スペクトルならびにペーパークロマトグラフィー [AcOEt-ピリジン-水 (5:3:1, v/v), 発色試薬: アニリン水素フタル酸塩] の R_f 値からグルコースと同定した. ついで EtOH-水 (1:4, v/v) 混液 10.0 l で溶出すると淡褐色の成績体 51.3 g (収率 0.47%) を得た. 受精卵法により強い肉芽抑制作用を示した本画分をさらに Sephadex LH-20 (2.0 l, Pharmacia Fine Chemicals AB 社製) カラムクロマトグラフィーに付し, EtOH で溶出して画分 A 18.0 g (収率 0.16%), 画分 B 2.0 g (収率 0.02%), および画分 C 25.5 g (収率 0.23%) を得た.

(−)-Epicatechin (1) 画分 A 15.0 g を EtOH から再結晶して (−)-epicatechin (1), 無色針状晶, mp 240–242°C, 5.1 g を得た. 1 は塩化第二鉄反応: 灰緑色. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$: 281 nm. $[\alpha]_D^{25}$ -52° [$c=0.1$, acetone-水 (1:1, v/v)] [lit.²³⁾ $[\alpha]_D^{25} -60^\circ$]. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3450 (OH), 1620, 1520 (arom. nucleus). Anal. Calcd C₁₅H₁₄O₆ · 1/2 H₂O: C, 59.99; H, 5.37. Found: C, 59.93; H, 4.99. NMR (acetone-*d*₆) δ : 2.72–2.85 (2H, m, C-4-H × 2),

4.15 (1H, m, C-3-H), 4.82 (1H, br s, C-2-H), 5.82 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. proton), 5.95 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 6.7–7.1 (3H, m, arom. H $\times 3$). MS m/e : 272 ($M^+ - 18$). Vapor pressure osmometer 法による分子量測定: 293. **1** は標品と混融, IR スペクトル, TLC の R_f 値の比較により同定された.

(-)-Epicatechin Pentaacetate (**3**) (-)-Epicatechin (**1**) 100 mg をピリジン-Ac₂O (1:1, v/v) 混液 2 ml に溶かし, 室温下に 16 h 放置. 反応液を常法により処理し, 115 mg の無色結晶を得た. EtOH から再結晶し, (-)-epicatechin pentaacetate (**3**), 無色針状晶, mp 151–153°C (lit.²⁴) mp 150–151°C) を得た. MS m/e : 500 (M^+). $[\alpha]_D^{25} -10^\circ$ ($c=0.1$, C₂H₂Cl₄) [lit.²³) -12°]. Anal. Calcd C₂₅H₂₄O₁₁: C, 60.00; H, 4.83. Found: C, 59.97; H, 4.78. NMR (CDCl₃) δ : 2.80–2.95 (2H, m, C-4-H $\times 2$), 5.06 (1H, br s, C-2-H), 5.35 (1H, m, C-3-H), 6.50 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 6.62 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 7.10–7.45 (3H, arom. H $\times 3$), 1.89 (3H, s, alcoholic acetoxyl), 2.26 (12H, s, phenolic acetoxyl $\times 4$).

本品 (**3**) は標品との混融により融点降下を示さず, TLC の R_f 値も一致した.

(+)-Catechin Pentaacetate (**4**) (-)-Epicatechin (**1**) の結晶母液から得られた残留物 3.0 g を Ac₂O-ピリジン (1:1, v/v) 混液 10 ml で処理し, 微黄色の成績体 3.1 g を得た. 本品をカラムクロマトグラフィー (SiO₂-gel 60, Merck 社製) に付し, CHCl₃-*n*-ヘキサン-AcOEt (14:7:4, v/v) 混液で溶出して (-)-epicatechin pentaacetate (**3**), 無色針状晶, mp 151–153°C, 1.1 g のほか無色の成績体 300 mg を得た. これを EtOH から再結晶し, (+)-catechin pentaacetate (**4**), 無色針状晶, mp 130–131°C を得た. $[\alpha]_D^{25} +39.5^\circ$ ($c=0.1$, C₂H₂Cl₄) [lit.²³) $+40.6^\circ$]. MS m/e : 500 (M^+). IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm⁻¹: 1770 (C=O), 1740 (C=O), 1620, 1610, 1500 (arom. nucleus). NMR (CDCl₃) δ : 5.10 (1H, d, $J=6$ Hz, C-2-H), 5.25 (1H, m, C-3-H), 2.48–2.90 (2H, m, C-4-H $\times 2$), 6.58 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 6.63 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 7.10–7.50 (3H, m, arom. H $\times 3$), 1.97 (3H, s, alcoholic acetoxyl), 2.26 (12H, s, phenolic acetoxyl $\times 4$). Anal. Calcd C₂₅H₂₄O₁₁: C, 60.00; H, 4.83. Found: C, 59.83; H, 4.77.

4 は標品との混融により融点降下を示さず, TLC の R_f 値も一致した.

Procyanidin B₂ Decaacetate (**7**) および Procyanidin B₄ Decaacetate (**8**) 画分 B 300 mg を Ac₂O-ピリジン (1:1, v/v) 混液 3 ml に溶かし, 室温に一夜放置. 常法により処理して得られた成績体 295 mg をシリカゲル (SiO₂-gel 60, 100 g, Merck 社製) カラムクロマトグラフィーに付し, イソプロピルエーテル-AcOEt-CHCl₃ (2:1:1, v/v) 混液で溶出, 精製して procyanidin B₂ decaacetate (**7**), 無色固体, 180 mg および procyanidin B₄ decaacetate (**8**), mp 171–173°C (EtOH), 80 mg を得た.

7: $[\alpha]_D^{25} +44^\circ$ ($c=0.1$, acetone) [lit.²³) $+47^\circ$ ($c=2.0$, acetone)]. MS m/e : 998 (M^+). Anal. Calcd C₅₀H₄₆O₂₂: C, 60.12; H, 4.68. Found: C, 59.97; H, 4.56. NMR (CDCl₃) δ : 5.53 (1H, br s, C-2-H), 5.12 (1H, m, C-3-H), 4.42 (1H, d, $J=1.5$ Hz, C-4-H), 5.95 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 6.21 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 4.52 (1H, br s, C-2'-H), 5.06 (1H, m, C-3'-H), 2.82–3.02 (2H, m, C-4'-H $\times 2$), 5.95 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 6.20 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 6.60 (1H, s, arom. H), 7.10–7.50 (6H, m, arom. H $\times 6$), 1.85 (6H, s, alcoholic acetoxyl $\times 2$), 1.95–2.35 (24H, s, phenolic acetoxyl $\times 8$). 本品を標品と比較した結果, NMR スペクトルおよび TLC の R_f 値が一致した. **8**: $[\alpha]_D^{25} -130^\circ$ ($c=0.1$, acetone) [lit.¹⁰) -131.7°]. MS m/e : 998 (M^+). Anal. Calcd C₅₀H₄₆O₂₂: C, 60.12; H, 4.68. Found: C, 59.98; H, 4.61.

NMR (CDCl₃) δ : 4.80 (1H, d, $J=10$ Hz, C-2-H), 5.70 (1H, m, C-3-H), 4.50 (1H, d, $J=10$ Hz, C-4-H), 6.48 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 6.58 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 4.97 (1H, br s, C-2'-H), 5.15 (1H, m, C-3'-H), 2.60–2.95 (2H, m, C-4'-H $\times 2$), 6.53 (1H, s, arom. H), 1.65 (6H, s, alcoholic acetoxyl $\times 2$), 1.84–2.23 (24H, s, phenolic acetoxyl $\times 8$). 本品は標品と NMR スペクトルおよび TLC の R_f 値の直接比較により同定された.

Cinnamonomol D₁ Tetradecaacetate (**11**) および Cinnamonomol D₂ Tetradecaacetate (**12**) 画分 C 2.0 g を Ac₂O-ピリジン (1:1, v/v) 混液 20 ml に溶かし, 室温で一夜放置. 常法により処理して得られた成績体 2.3 g をシリカゲル (SiO₂-gel 60, 500 g, Merck 社製) カラムクロマトグラフィーに付し, イソプロピルエーテル-Me₂CO-*n*-ヘキサン (2:1:1, v/v) 混液で溶出して tetradecaacetate (**11**), 無色固体 1.1 g および tetradecaacetate (**12**), 無色固体, 0.68 g を得た. それぞれを EtOH から再沈殿を繰り返して 3 量体の cinnamonomol D₁ tetradecaacetate (**11**), 無色固体, 800 mg および cinnamonomol D₂ tetradecaacetate (**12**), 無色固体, 450 mg を得た. **11**: UV $\lambda_{\max}^{EtOH}$: 281 nm. IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm⁻¹: 1750 (C=O), 1610, 1590, 1500 (arom. nucleus). MS m/e : 1410 ($M^+ - 42$), 1392 ($M^+ - 60$), 1368 ($M^+ - 42 \times 2$). Anal. Calcd C₇₃H₆₄O₃₂: C, 60.33; H, 4.41; OAc, 41.46. Found: C, 59.89; H, 4.43; OAc, 42.05. NMR (nitrobenzene-*d*₅) δ : Table III 参照.

12: UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$: 281 nm. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1750 (C=O), 1610, 1590, 1500 (arom. nucleus). MS m/e : 1410 ($M^+ - 42$). NMR (nitrobenzene- d_5) δ : Table III 参照.

Cinnamonomol D₁ Undecamethylether (13) および Cinnamonomol D₂ Undecamethylether (14) 画分 C 2.0 g を MeOH 20 ml に溶かし, 過剰の CH_2N_2 -ether 溶液を加えて -10°C で一夜放置. この反応液を室温にもどして再び過剰の CH_2N_2 -ether 溶液を加え 24 h 反応させて成績体 2.15 g を得た. 本品をシリカゲル (SiO_2 -gel 60, 400 g, Merck 社製) カラムクロマトグラフィーに付し, CHCl_3 - Me_2CO -EtOH (80 : 20 : 3, v/v) 混液で溶出して主成績体 300 mg および微量の副成績体 15 mg を得た. 主成績体を EtOH から再沈殿を繰り返し, cinnamonomol D₁ undecamethylether (13), 無色固体, 191 mg を得た. Anal. Calcd $\text{C}_{56}\text{H}_{58}\text{O}_{18} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 63.88; H, 5.88. Found: C, 63.98; H, 5.58. NMR (CDCl_3) δ : 3.46—3.95 (33H, s, $\text{OCH}_3 \times 11$). 副成績体の cinnamonomol D₂ undecamethyl ether (14) [無色固体, MS m/e : 1018 (M^+)] は微量のため精査できなかったが画分 C の他の誘導体 11, 12 との関連からその構造は 14 と推定した.

Cinnamonomol D₁ Undecamethylether Triacetate (15) Cinnamonomol D₁ undecamethylether (13) 100 mg を Ac_2O -ピリジン (1 : 1, v/v) 混液 2 ml で処理したのち得られた成績体を EtOH から再沈殿して 3 量体の cinnamonomol D₁ undecamethylether triacetate (15), 無色固体, 60 mg を得た. MS m/e : 1144 (M^+), 1130 ($M^+ - 14$), 1098 ($M^+ - 60$). Anal. Calcd $\text{C}_{62}\text{H}_{64}\text{O}_{21}$: C, 65.02; H, 5.63; OAc, 11.28; OCH_3 , 29.81. Found: C, 65.08; H, 5.65; OAc, 11.02; OCH_3 , 29.33. NMR (CDCl_3) δ : 3.41—3.92 (33H, s, $\text{OCH}_3 \times 11$), 1.68—1.86 (9H, s, $\text{OCOCH}_3 \times 3$).

Procyanidin A₂ Thiobenzylether (16) 画分 C 2.5 g を EtOH 20 ml に溶かし, toluene- α -thiol 8 ml, AcOH 20 ml を加え, 窒素気流中 80 h 加熱還流し, 40°C 以下で溶媒を留去し, 茶褐色の油状物質を得た. セファデックス (Sephadex LH-20, ϕ 3 cm $\times$ 40 cm) カラムクロマトグラフィーに付し, CHCl_3 - n -BuOH (4 : 1, v/v) 混液で溶出して fraction 1, 600 mg および fraction 2, 1.1 g を得た. Fraction 1 を Ac_2O -ピリジン (1 : 1, v/v) 混液で処理して (–)-epicatechin pentaacetate (3) および (+)-catechin pentaacetate (4) を得た. Fraction 2 を EtOH で再沈殿し, procyanidin A₂ thiobenzylether (16), 無色固体, 515 mg を得た. NMR (acetone- d_6) δ : Table II 参照. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3550, 3450 (OH), 1600, 1520 (arom. nucleus). Anal. Calcd $\text{C}_{37}\text{H}_{30}\text{O}_{12}\text{S} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 60.49; H, 4.63; S, 4.36. Found: C, 60.35; H, 5.45; S, 3.95.

Procyanidin A₂ Thiobenzylether Nonaacetate (17) Procyanidin A₂ thiobenzylether (16) 100 mg を Ac_2O -ピリジン (1 : 1, v/v) 混液 2 ml で処理して得られた成績体をシリカゲル (SiO_2 -gel 60, 30 g, Merck 社製) カラムクロマトグラフィーに付した. CHCl_3 -MeOH (19 : 1, v/v) 混液で溶出した画分を EtOH から再結晶し, procyanidin A₂ thiobenzylether nonaacetate (17), 無色針状晶, mp 138 — 140°C , 60 mg を得た. NMR (CDCl_3) δ : Table II 参照.

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1770 (C=O), 1620, 1600, 1510 (arom. nucleus). MS m/e : 1016 ($M^+ - 60$). Anal. Calcd $\text{C}_{55}\text{H}_{48}\text{O}_{21}\text{S}$: C, 66.53; H, 4.84; S, 3.23. Found: C, 66.23; H, 4.44; S, 3.15.

Hepta-O-methylprocyanidin A₂ Thiobenzylether (18) Procyanidin A₂ thiobenzylether (16) 100 mg を MeOH 5 ml に溶かし, 過剰の CH_2N_2 -ether 溶液で処理して微黄色の成績体 95 mg を得た. 本品をシリカゲル (SiO_2 -gel 60, 50 g, Merck 社製) カラムクロマトグラフィーに付し, CHCl_3 -MeOH (9 : 1, v/v) 混液で溶出, 精製して hepta-O-methylprocyanidin A₂ thiobenzylether (18), 無色固体, 61 mg を得た. MS m/e : 796 (M^+). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3400 (OH), 1610, 1600, 1520, 1500 (arom. nucleus). Anal. Calcd $\text{C}_{44}\text{H}_{44}\text{O}_{12}\text{S} \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$: C, 65.60; H, 5.60; S, 3.98. Found: C, 65.51; H, 5.57; S, 4.15. NMR (CDCl_3) δ : 4.22 (1H, d, $J=4$ Hz, C-3-H), 4.89 (1H, d, $J=4$ Hz, C-4-H), 6.06 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 6.30 (1H, d, $J=2$ Hz, arom. H), 5.41 (1H, br s, C-2'-H), 4.10 (1H, d, $J=2$ Hz, C-3'-H), 3.95 (1H, d, $J=2$ Hz, C-4'-H), 6.20 (1H, s, arom. H), 7.15—7.35 (6H, m, arom. H $\times$ 6), 3.99 (2H, s, S-CH_2 -), 3.42—3.96 (21H, s, $\text{OCH}_3 \times 7$).

Procyanidin A₂ (19) Procyanidin A₂ thiobenzylether (16) 300 mg を EtOH 5 ml に溶かし, Raney nickel (EtOH 性泥状物) 10 ml を加え室温下に放置. TLC [シュウ酸処理 SiO_2 -gel, CHCl_3 -MeOH (3 : 1, v/v)] で原料が認められなくなった時点で Raney nickel を汙別, 溶媒を留去して procyanidin A₂ (19) 120 mg を得た. H_2O - Me_2CO から再結晶し, mp $>300^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{25} + 5.0^\circ$ ($c=0.1$, MeOH) 200 mg を得た. NMR (dimethylsulfoxide- d_6) δ : 4.0 (1H, d, $J=4$ Hz, C-3-H), 4.44 (1H, d, $J=4$ Hz, C-4-H), 6.0 (1H, d, $J=2$ Hz, C-6-H または C-8-H), 6.10 (1H, d, $J=2$ Hz, C-8-H または C-6-H), 6.8—7.2 (6H, m, arom. H $\times$ 6), 4.94 (1H, br s, C-2'-H), 4.25 (1H, br s, C-3'-H), 2.82 (2H, m, $-\text{CH}_2-$), 6.13 (1H, s, C-6'-H), 8.15—9.5 (6H, m, phenolic hydroxyl $\times$ 6). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3550, 3450 (OH), 1600, 1520 (arom. H). Anal. Calcd $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_{12} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 58.8;

H, 4.6. Found: C, 58.42; H, 4.7. 本品は標品との直接比較により NMR, IR スペクトル, TLC の R_f 値が一致した。また, 確認のため高速液体クロマトグラフィー (HPLC 条件: Instrument; Waters Analytical LC, Pump unit; Waters 6000 A, Column; Zorbax ODS, ϕ 4.6 $\times$ 250 mm, Eluate; 30% MeOH (0.5% AcOH 含有), Flow rate; 1.3 ml/min, Temperature; Room temperature, Detector; 島津 SPD-2A: 280 nm) に付したところ, 両者の保持時間 (t_R : 13 min) も一致した。

Procyanidin A₂ Nonaacetate (20) Procyanidin A₂ (19) 50 mg を Ac₂O-ピリジン (1:1, v/v) 混液 1 ml で処理, 得られた成績体を EtOH から再結晶して procyanidin A₂ nonaacetate (20), 無色針状晶, mp 155—158°C, 20 mg を得た。[α]_D²⁵ -85° ($c=0.1$, MeOH). Anal. Calcd C₄₈H₄₂O₂₁: C, 60.4; H, 4.4. Found: C, 60.6, H, 4.3. 本品は標品との混融および IR スペクトル, MS, TLC の R_f 値の直接比較により同定された。

生物試験法 受精卵法は前報⁵⁾に準じて行った。

謝辞 本研究に当たり貴重な標品 procyanidin B₂ decaacetate, procyanidin B₄ decaacetate, および procyanidin A₂ の分与をいただいた Sheffield 大学の Edwin Haslam 博士に感謝します。

引用文献および注

- 1) 第5報: H. Otsuka, S. Fujioka, T. Komiya, M. Goto, Y. Hiramatsu, H. Fujimura, *Chem. Pharm. Bull.* **29**, 3099 (1981).
- 2) 第28回日本薬学会近畿支部大会, 西ノ宮, 1978年10月で発表.
- 3) M.S.F. Ross, *J. Chromatogr.*, **118**, 273 (1976); U.M. Senanayake, R.A. Edwards, T.H. Lee, *J. Chromatogr.*, **116**, 468 (1976); F. Karig, *Dtsch. Apoth. -Ztg.*, **115**, 1781 (1975); J.E. Angmor, D.M. Dicks, W.C. Evans, D.K. Santra, *Planta Med.*, **21**, 416 (1972); J. Ellis, E. Gellert, R.E. Summons, *Aust. J. Chem.*, **25**, 1829 (1972).
- 4) a) J.C. Maruzzella, N.A. Sicurella, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **49**, 692 (1960); b) 野口 衛, 生薬, **21**, 17 (1967); c) 江田昭英, 勝田栄二, 渡辺茂勝, 日薬理, **66**, 366 (1970); d) 古沢良雄, 黒沢雄一郎, 中馬一操, 農化, **47**, 359 (1973); e) 原田正敏, 尾崎幸紘, 薬誌, **92**, 135 (1972); M. Harada, S. Yano, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 941 (1975); 伊藤秀夫, 日薬理, **53**, 627 (1957); 岡田寛蔵, 大島壮一, 薬誌, **73**, 690 (1953).
- 5) 大塚紘司, 津久井誠, 松岡敏郎, 後藤 實, 藤村 一, 平松保造, 沢田徳之助, 薬誌, **94**, 796 (1974).
- 6) Sigma 社より購入した (–)-epicatechin を EtOH から再結晶したものを用いた.
- 7) a) K. Weinges, K. Göritz, F. Nader, *Ann. Chem.*, **715**, 164 (1968); b) O. Th. Schmidt, W. Mayer, *Angew. Chem.*, **68**, 103 (1956).
- 8) Sigma 社より購入した (+)-catechin および (–)-epicatechin をそれぞれ無水酢酸-ピリジンでアセチル化し, エタノールから再結晶したものを用いた.
- 9) Procyanidin B₂ decaacetate, procyanidin B₄ decaacetate の標品は英国, Sheffield 大学の Edwin Haslam 博士より恵与された.
- 10) K. Weinges, W. Kaltenhäuser, H. -D. Marx, E. Nader, F. Nader, J. Perner, D. Seiler, *Ann. Chem.*, **711**, 184 (1968).
- 11) B.-Z. Ahn, F. Gstirner, *Arch. Pharmaz.*, **303**, 925 (1970).
- 12) A.C. Fletcher, L.J. Porter, E. Haslam, R.K. Gupta, *J. Chem. Soc. Perkin I*, **1977**, 1628.
- 13) R.S. Thompson, D. Jacques, E. Haslam, R.J.N. Tanner, *J. Chem. Soc. Perkin I*, **1972**, 1387.
- 14) D. Jacques, E. Haslam, G.R. Bedford, D. Greatbanks, *J. Chem. Soc. Perkin I*, **1974**, 2663.
- 15) Procyanidin A₂ の標品は Sheffield 大学の Edwin Haslam 博士より恵与された.
- 16) W. Mayer, L. Goll, E.V. Arndt, A. Mannschreck, *Tetrahedron Lett.*, **1966**, 429.
- 17) K. Weinges, K. Freudenberg, *Chem. Commun.*, **1965**, 220.
- 18) G. Schilling, K. Weinges, O. Müller, W. Mayer, *Ann. Chem.*, **1973**, 1471.
- 19) G. Schilling, *Ann. Chem.*, **1975**, 1822.
- 20) Procyanidin A₂ の詳細な X 線構造解析については別途報告する.
- 21) K. Weinges, H. -D. Marx, K. Göritz, *Chem. Ber.*, **103**, 2336 (1970).
- 22) 融点は微量融点測定器 (Reichert 社製) によって測定し, 未補正である. 旋光度は Perkin-Elmer 141

型, IR スペクトルは日立 251 型, UV スペクトルは日立 EPS-3T, NMR スペクトルは Varian XL-100A ならびに Varian EM-390, 質量スペクトルは日立 RMU-6D, RMS-4, 日本電子 JMS-01SC型, X 線結晶解析は理化学電気社製 AFC-5 によってそれぞれ測定された. TLC は precoat した silica gel 60 F₂₅₄ (Merck 社製) を 3% シュウ酸で処理し, 加熱して再活性化したものを用いた.

- 23) K. Weinges, W. Bähr, W. Ebert, K. Göritz, H. -D. Marx, *Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe*, **27**, 158 (1969).
- 24) 竹本常松, 宮瀬敏男, 薬誌, **95**, 180 (1975).