

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
104 (9) 935-938 (1984)

蘇木から Brazilin の生合成前駆体といわれる Sappanchalcone の分離

永井正博,^{*,a} 南雲清二,^b 江口郁代,^a 李 淑美,^a 鈴木 勉^b星薬科大学医薬品化学研究所,^a 薬学部^bSappanchalcone from *Caesalpinia sappan* L., the Proposed Biosynthetic Precursor of BrazilinMASAHIRO NAGAI,^{*,a} SEIJI NAGUMO,^b IKUYO EGUCHI,^aSHU-MEI LEE,^a and TSUTOMU SUZUKI^bInstitute of Medicinal Chemistry^a and Faculty of Pharmaceutical Sciences^b,
Hoshi University, Ebara 2-4-41, Shinagawa-ku, Tokyo, 142, Japan

(Received March 6, 1984)

A new chalcone methyl ether, named sappanchalcone (I), $C_{16}H_{14}O_5$, mp 199.5–200.5°C was isolated from the heartwood of *Caesalpinia sappan* L. (Sappan Lignum). On the basis of the spectrometric data and the synthesis from 2-*O*-methylresacetophenone (=isopaeonol) and protochatechualdehyde, the chemical structure of I was established as 2'-methoxy-3,4,4'-trihydroxychalcone (=2'-*O*-methylbutein).

It has been proposed that brazilin, a distinguished constituent of this heartwood, is biosynthesized via a homoisoflavone intermediate from a hypothetical chalcone methyl ether, to which sappanchalcone (I) just corresponds.

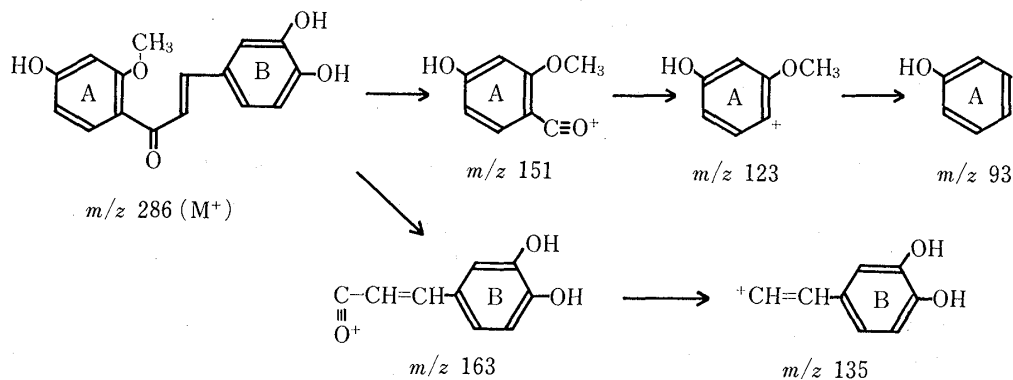
Keywords—Leguminosae; *Caesalpinia sappan*; Sappan Lignum; chalcone; sappanchalcone; brazilin-biosynthetic precursor; sedative effect

蘇木 (Sappan Lignum) はマメ科ジャケツイバラ亜科スホウ (*Caesalpinia sappan* L.) の心材を乾燥したものである。本植物はインド、マレイ半島、インドシナ半島、中国南部など熱帯アジアに分布する常緑小木で、その心材は古くから紅色染料として使用されてきた。我国正倉院薬物中にも、帳外薬物の1つに「蘇芳」として記載されている。染料としての本質は特異な骨格を持つ蘇木の成分 brazilin から酸化により生ずる紫色色素 brazilein であるとされている。一方蘇木は下痢、嘔吐、赤痢等に対し薬用として使用されてきた。中薬大辞典¹⁾ によれば蘇木の薬理作用として心臓血管に対する作用、中枢抑制作用、抗菌作用等が挙げられている。また、ヒキノラ²⁾ は蘇木に抗炎症作用があり、これは brazilin によるものであることを発表している。蘇木の brazilin 以外の化学成分としてはフェノール性化合物、精油、タンニン、¹⁾ 配糖体、アミノ酸、糖³⁾ および脂肪酸エステル等⁴⁾ の存在が知られていたが、最近富松ら⁵⁾ および斉藤ら⁶⁾ は各々 brazilin 関連化合物の存在を報告した。著者らは蘇木の MeOH エキスにマウスにおける hexobarbital 睡眠を強く延長させる効果がある事を確かめ、その有効成分を明らかにする研究に従事してきた。この研究過程の中で、蘇木の主要成分 brazilin の生合成を考える上で興味深い chalcone を単離し、その化学構造を明らかにしたのでここに報告する。

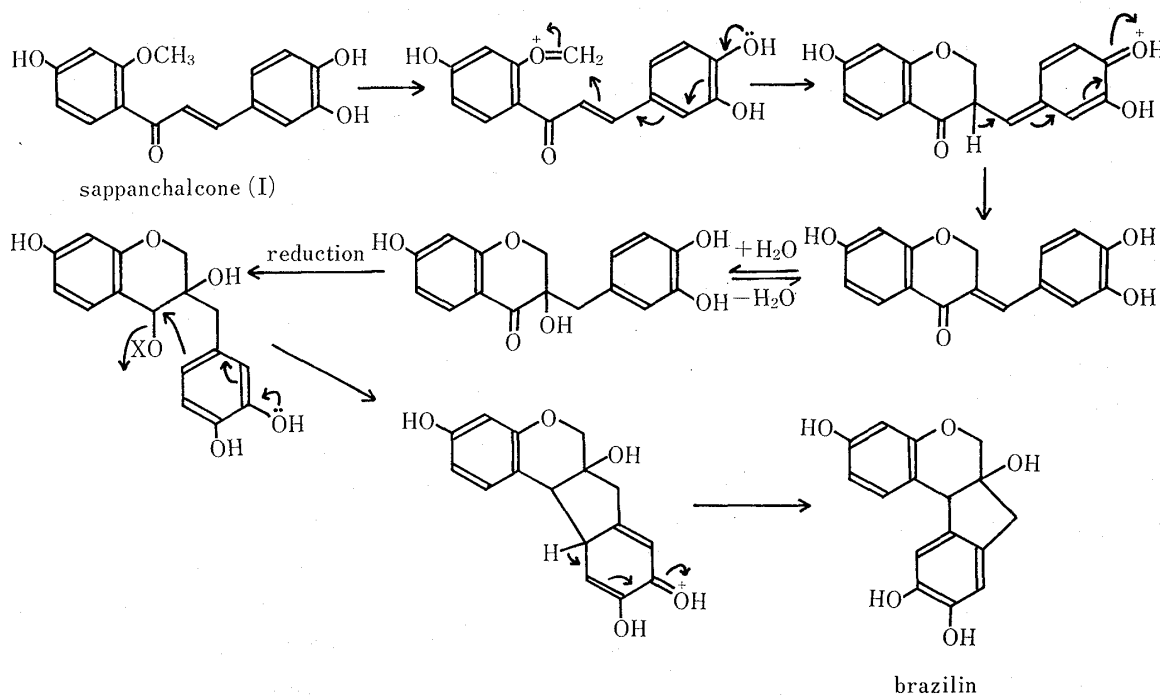
市販されている蘇木について、その MeOH エキスを EtOAc 可溶部と水可溶部に分けた。EtOAc 可溶部を各種クロマトグラフィーにより分離、精製を繰返したところ sappanchalcone と命名した黄色針状結晶 mp 199.5–200.5°C, $C_{16}H_{14}O_5$ を得た。I は赤外線吸収 (IR) スペクトルにおいて $3550\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ にフェノール性水酸基の強い吸収を示す。¹³C-核磁気共鳴 (NMR) スペクトルにおいては全体で 16 本のシグナルを与え、そのうち 1 本は methoxy 基による sp^3 炭素によるものであるが、残り 15 本のシグナルはすべて sp^2 型炭素によるものである。また、紫外線吸収 (UV) スペクトルでは 250 nm および 363 nm に各々強い吸収が観測されたところから I は chalcone 誘導体と推定された。⁷⁾ I の質量スペクトル (MS) では m/z 286 に分子イオンピーク (M^+) が観測され、chalcone の A 環に由来する fragment ion として m/z 151, 123, 93 他方 B 環由来のものとして m/z

163, 135 などがそれぞれ観測された (Chart 2).⁸⁾ これらの fragment ion の存在は I の A 環には methoxy 基と hydroxyl 基が各々 1 個, B 環には hydroxyl 基 2 個が置換していることを示している. 一般に 2'-hydroxychalcone 誘導体に観測される, 測定中閉環して生ずる flavanone 骨格由来の fragment ion⁸⁾ は I においては認められなかった.

I の ¹H-NMR (CD₃OD 中で測定) は全体として



butein (2',3,4,4'-tetrahydroxychalcone) のそれに類似している. すなわち, C-3'-H が δ 6.48 ppm (br s), C-5'-H が δ 6.44 ppm (dd, $J=8.8, 2.2$ Hz), C-6'-H が δ 7.57 ppm (d, $J=8.8$ Hz) にあらわれ, C-2-H, C-5-H, C-6-H のシグナルが δ 7.09 ppm (d, $J=2.0$ Hz), δ 6.77 ppm (d, $J=8.2$ Hz), δ 6.98 ppm (dd, $J=8.2, 2.0$ Hz) にそれぞれあらわれている. さらに, α, β -不飽和ケトン部分構造における α -H と β -H がそれぞれ δ 7.31, 7.52 ppm (各々 d, $J=15.6$ Hz) に, methoxy 基のシグナルが δ 3.90 ppm (3H, s) に観測されている. これらの事から I は butein の monomethyl ether 体と推定された.



I の methoxy 基の位置を明らかにするため I と合成して得た butein との UV スペクトルを比較検討した。Butein の 380 nm ($\log \epsilon = 4.55$) の強い吸収は AlCl_3 添加により 488 nm に、 $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ 添加により 430 nm に深色移動する。一方、I の 363 nm ($\log \epsilon = 4.40$) の吸収は AlCl_3 添加により 402 nm に深色移動するものの $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ 添加の場合には、何ら吸収波長の移動はみられなかった。この事は butein における 2' 位の水酸基が methyl ether になっている事を示している。⁷⁾ 以上の事から sappanchalcone (I) の化学構造を 2'-methoxy-3,4,4'-trihydroxychalcone と結論した。I は resacetophenone の 2 位水酸基を methyl ether とした 2-O-methylresacetophenone (isopaeonol) と protocatechualdehyde から aldol 縮合により合成したものと比較したところ、完全に一致した。

Brazilin の生合成については Chart 3 に示した chalcone から homoisoflavone を経由する経路が仮説として提出されている。⁹⁾ これが事実とすれば I はその homoisoflavone に至る出発物質に相当し、興味深い。なお、sappanchalcone (I) のマウスに対する hexobarbital 睡眠延長効果について調べたところ投与量 142 mg/kg (*i.p.* 投与) で有意にこれを延長させた。睡眠延長活性と蘇木成分との関係についての詳細は、現在なお検討中であるが I が活性を示す主物質とはいえない。

実 験 の 部

融点は島津微量融点測定装置で測定し、未補正である。IR は島津 IR-400 型、UV は島津 UV-250 型、MS は日本電子 JMS-D-300 型でそれぞれ測定した。NMR は日本電子 JNM-FX-100 型で測定し、chemical shift は TMS からの δ 値 (ppm) で表わした。また singlet, doublet, triplet ならびに broad はそれぞれ s, d, t および br と略記した。薄層クロマトグラフィー (TLC) は Merck Kieselgel 60 F₂₅₄ を用い、検出は UV (254 nm) における吸収および 10% H_2SO_4 噴霧後加熱して検出した。

抽出および分離 市販されている蘇木 500 g を MeOH 2 l で 6 回加熱還流抽出、全抽出液を濃縮しエキス 73 g を得た。これを EtOAc-水 (1.11:0.91) で分画し EtOAc 可溶部 57 g を得た。分画操作の際析出した不溶物はすべて除去した。EtOAc 可溶部を半量ずつ polyamide C-100 (和光純薬) カラム (1.5 kg) に通導し、次のようなフラクション (Fr.) に分けた。Fr. 1, 水-MeOH (1:1, 1.5 l), Fr. 2, 水-MeOH (5:6, 2.4 l), Fr. 3, 水-MeOH (5:7, 1.4 l), Fr. 4, 水-MeOH (5:8, 2 l), Fr. 5, MeOH (前半部, 2 l), Fr. 6, MeOH (後半部, 2 l)。2 回に分けて行ったクロマトの同じフラクションを合わせた。各フラクションの合計溶出物量は次の通りであった。Fr. 1, 9.5 g; Fr. 2, 19.4 g; Fr. 3, 2.1 g; Fr. 4, 2.8 g; Fr. 5, 6.8 g; Fr. 6, 3.1 g。

Fr. 4 (2.8 g) のうち 1.3 g をシリカゲルカラムに通導し、 CHCl_3 -MeOH (11:1) で溶出される部分 240 mg を水-MeOH より再結晶し、黄色針状晶の sappanchalcone (I) mp 199.5—200.5°C を 229 mg 得た。Anal. Calcd $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_5$: C, 67.12; H, 4.93. Found: C, 67.06; H, 4.95. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ ($\log \epsilon$): 250 (3.73), 363 (4.40). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH-AlCl}_3}$ 250, 278, 330 (sh), 402. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH-AlCl}_3\text{-HCl}}$ 250, 363. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3550—3100 (OH), 1650, 1630, 1600, 1570, 1375, 820, 800. ^{13}C -NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 55.8 (O-CH₃), 120.3, 126.6, 145.7, 148.2, 160.5, 162.6 (各 s), 99.4, 108.0, 114.5, 116.0, 121.7, 123.9, 132.3, 141.9 (各 d), 188.9 (C=O). MS m/z : 286 (M^+ , 100%), 271 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 24%), 258 ($\text{M}^+ - \text{CO}$, 12%), 164 (58.8%), 163 (33.3%), 151 (96.1%), 135 (21.6%), 123 (25.5%), 93 (11.8%). 本化合物は合成した sappanchalcone (後述) と混融および IR で一致した。

Butein の合成 Geismann らの方法¹⁰⁾に基づいた。即ち、resacetophenone 1.52 g と protocatechualdehyde 1.38 g を EtOH 3 ml に溶かした。これに窒素气流中 -5°C に冷却しつつ 60% NaOH 21 ml を少量ずつ加えた。反応液は室温中 1 週間放置後水 30 ml を加え、氷冷しつつ 6N HCl で酸性とした。Ether 抽出を行い抽出物 3.0 g を得、これを polyamide カラムに通導した。MeOH-水 (4:6) で洗浄後 MeOH で展開し、溶出した黄色帯の部分を集め濃縮、黄褐色粗結晶 (110 mg) を得た。これを MeOH-水より再結晶、黄色針状晶の butein, mp 211—214°C (lit¹¹⁾ 211—213°C), 101 mg を得た。Anal. Calcd $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$: C, 66.17; H, 4.44. Found: C, 65.96; H, 4.76. MS m/z : 272 (M^+). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm ($\log \epsilon$): 262 (4.02), 380 (4.55); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH-AlCl}_3}$ 297, 327, 488; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH-AlCl}_3\text{-HCl}}$ 272, 325, 430. ^1H -NMR (CD_3OD) δ : 6.28 (1H, d, $J=2.4$, 3'-H), 6.41 (1H, dd, $J=8.8$, 2.4, 5'-H), 6.81 (1H, d, $J=7.8$, 5-H), 7.12 (1H, dd, $J=2.2$, 7.8, 6-H), 7.17 (1H, br s, 2-H), 7.50 (1H, d, $J=15.3$, 5-H), 7.74 (1H, d, $J=15.3$, β -H), 7.93 (1H, d, $J=8.8$, 6'-H). ^{13}C -NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 113.2, 126.4, 145.7, 149.0, 165.1, 165.9 (各 s), 102.8, 108.4, 115.7, 116.0, 117.4, 122.6, 132.8, 145.0 (各 d), 191.6 (C=O)。

2-O-Methylresacetophenone (Isopaeonol) の合成 Resacetophenone (1.5 g) と tetraacetyl α -D-glucopyranosyl bromide (4 g) を acetone 20 ml に溶かし、9% NaOH 5 ml を氷冷下少量ずつ加えた。室温中 24 h 放置

後水 10 ml を加え acetone のみを減圧下で留去した。残った溶液に CHCl_3 30 ml を加え水層部を除去した後 CHCl_3 層を水で 3 回洗浄し無水 Na_2SO_4 で乾燥、溶媒留去し残渣 6.5 g を得た。残渣をシリカゲルカラム (展開溶媒 EtOAc-benzene (1:9)) で精製し、2-hydroxy-4-O-tetraacetylglucosyl acetophenone (1.9 g) mp 131—132°C (MeOH) を得た。これを MeOH 20 ml に溶かし、diazomethane の ether 溶液を加え、メチル化を繰返し行った。反応液の溶媒を留去した後、残渣を MeOH 10 ml に溶かし、10% HCl 20 ml を加え 2 h 加熱還流した。反応液に水 10 ml を加え大部分の MeOH を留去した後 ether で抽出した。抽出液を水洗し、溶媒留去後得られた残渣をシリカゲルカラムに通導、EtOAc-benzene (1:4) で溶出される部分より 2-O-methylresacetophenone (400 mg) mp 136—138°C (lit¹²⁾ mp 135—138°C) を得た。Anal. Calcd $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$: C, 65.05; H, 6.07. Found: C, 64.74; H, 6.16.

Sappanchalcone (I) の合成 2-O-Methylresacetophenone 360 mg と protocatechualdehyde 350 mg を EtOH 2 ml に溶かし、butein の合成の場合と同様な方法で処理し、I の黄色針状晶 (5 mg) を得た。mp 197.5—200°C (水-MeOH)。

謝辞 本研究にあたり、技術的協力をいただいた大月恵子、梅本欣子、工藤美佐子、鈴木佐奈、田中富貴子、山内正子の諸嬢に感謝いたします。

引用文献および注

- 1) 江蘇新医学院編“中藥大辭典,” 上冊, 上海人民出版社, 上海, 1977, p. 1083.
- 2) H. Hikino, T. Taguchi, H. Fujimura, Y. Hiramatsu, *Planta Medica*, **31**, 214 (1977).
- 3) S. S. Nigam, V. K. Saxena, R. N. Yadava, *Indian J. Pharm.*, **1977**, 85.
- 4) R. N. Yadava, V. K. Saxena, S. S. Nigam, *Acta Cienc. Indica*, **4**, 120 (1978).
- 5) 福家千昭, 富松利明, 山原條二, 野原稔弘, 日本生薬学会第 30 回年会講演要旨集, 徳島, 1983 年 10 月, p. 76.
- 6) 斉藤 保, 川辺智晴, 日本生薬学会第 30 回年会講演要旨集, 徳島, 1983 年 10 月, p. 77.
- 7) T. J. Mabry, K. R. Markham, M. B. Thomas, “The Systematic Identification of Flavonoids,” Springer-Verlag, Inc., New York, 1970, pp. 33—56.
- 8) Y. Itagaki, T. Kurokawa, S. Sasaki, C. T. Chang, F. C. Chen, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **39**, 538 (1966).
- 9) W. Heller, C. Tamm, “Progress in the Chemistry of Organic Natural Products,” Vol. 40, ed. by W. Herz, H. Criesbach, W. Kirby, Springer-Verlag, Inc., New York, 1980, pp. 105—152. およびその引用文献.
- 10) T. A. Geissman, R. O. Clinton, *J. Am. Chem. Soc.*, **68**, 697 (1946).