苦参 (*Sophora flavescens* AIT.) の成分に関する研究 (第4報¹⁾)

呉 立軍,^a 宮瀬敏男,^a 上野 明,^a 黒柳正典,^a
野呂忠敬,^a 福島清吾,^{*,a} 佐々木 査^b
静岡薬科大学,^a 理研アドソール工業株式会社^b

Studies on the Constituents of *Sophora flavescens* AIT. IV¹⁾

LI-JUN WU,^a TOSHIO MIYASE,^a AKIRA UENO,^a MASANORI KUROYANAGI,^a
TADATAKA NORO,^a SEIGO FUKUSHIMA,^{*,a} and SATOSHI SASAKI^b
Shizuoka College of Pharmacy, 2-2-1, Oshika, Shizuoka, 422, Japan
and Riken Adsoul Industry Co. Ltd.,^b 3-44-2 Minamidai,
Nakano-ku, Tokyo, 164, Japan

(Received June 5, 1985)

Four new flavanonols, kushenol J (I), kushenol K (II), kushenol L (III) and kushenol M (IV), were isolated from the dry roots of *Sophora flavescens* AIT. (Leguminosae). Their structures were elucidated on the basis of spectral data especially ¹H nuclear magnetic resonance and ¹³C nuclear magnetic resonance. It is the first case that the isolation of a flavonoid glycoside (I) and a *cis* flavanonol (II) derivatives from *Sophora flavescens* AIT.

Keywords—*Sophora flavescens*; flavanonol; lavandulyl group; isopentenyl group; kushenol J; kushenol K; kushenol L; kushenol M

前報¹⁾で著者らは、苦参 (*Sophora flavescens* AIT. の根) の脂溶性成分について検索し、数種の新化合物を単離し、酵素阻害活性のあることを報告²⁾ した。本報において kushenol J, kushenol K, kushenol L, kushenol M と命名した4種の新フラバノールを単離し、その構造を明らかにしたので報告する。

Kushenol J (I) は淡黄色針状晶で、赤外線吸収 (IR) スペクトルは水酸基 (3450 cm⁻¹), 共役カルボニル基 (1620 cm⁻¹), ベンゼン環 (1570, 1510 cm⁻¹) の存在を示す。紫外線吸収 (UV) スペクトルは 277 nm と 324 nm に極大吸収を示すことから、I はフラバノン又はフラバノールと推定できる。³⁾ I は極性が高いこと及び ¹³C-核磁気共鳴 (¹³C-NMR) スペクトルにおいて 66.8—105.6 ppm に糖に由来すると考えられるシグナルが認められることから、配糖体と推定し、酸で加水分解したところ、糖として、グルコースとキシロース (1:1) を得た。しかし、I は不安定で純品を得るのは困難なために、アセテート (Ia), C₄₁H₄₆O₂₁·CH₃OH, mp 119—121°C とした。Ia のプロトン核磁気共鳴 (¹H-NMR) スペクトルにおいては7個のアセトキシル基のシグナル [1.92 (6H), 2.00 (3H), 2.04 (12H)] が認められる。したがって I の分子式は C₂₇H₃₂O₁₄ となる。また、4.50 ppm (1H, d, J=8.0 Hz) と 4.92 ppm (1H, d, J=8.0 Hz) にそれぞれフラバノールの H-3, H-2 に帰属されるシグナルが認められることか

Chart 1

Chart 2

ら H-2 と H-3 は互いに *trans* と結論⁴⁾ した。さらに 3.90 ppm にメトキシル基のシグナルが認められる。一方、I の質量分析スペクトル (MS) において m/z 107 (V) 及び 150 (VI) (Chart 2) のフラグメントが認められることから糖は 3 位又は 7 位の水酸基と結合していると予想される。I の ^{13}C -NMR スペクトルにおいて C-3 は 70.9 ppm に現れ、低磁場シフトしていないこと及び 101.7 ppm にアノメリック炭素が観察されることから、糖は 7 位に結合していると結論できる。なお、I における primeverose 糖鎖の存在は、同じ糖鎖を有する gypenoside 類 (IX, XIII, XV 等) との ^{13}C -NMR データの比較によって分かった。⁵⁾

アノメリック炭素のケミカルシフト [101.7 ppm (glucose), 105.6 ppm (xylose)] から glucose と xylose がともに β -D 配糖体結合となる。^{5,6)} 以上の結果から、化合物 I は 4'-methoxyflavanonol-7-O- β -D-xylopyranosyl¹⁻⁶ β -D-glucopyranoside と決定した。

Kushenol K (II) 黄緑色無晶形, $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_8 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ は Mg-HCl 反応陽性で、IR スペクトルは水酸基 (3400 cm^{-1}), 共役カルボニル基 (1650 cm^{-1}), ベンゼン環 ($1600, 1520\text{ cm}^{-1}$) の存在を示している。UV スペクトルは 290 nm と 325 nm に極大吸収を示しシフト試薬添加時のシフトパターン ($\Delta\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}+\text{NaOAc}} = +41\text{ nm}$) から II の 7 位に水酸基の存在するフラバノン又はフラバノノール骨格が示唆される。³⁾ ^1H -NMR スペクトルでは 5-hydroxy-2-isopropenyl-5-methylhexyl 基のシグナルを有する他に、5.66 ppm (1H, d, $J=3.5\text{ Hz}$), 4.26 ppm (1H, d, $J=3.5\text{ Hz}$) にフラバノノールの 2 位, 3 位のシグナルが認められ、その結合定数から、H-2, H-3 が互いに *cis* のフラバノノールと結論⁴⁾ した。一方 MS では m/z 152 に B 環に由来するフラグメント (VII) が観察される (Chart 2)。したがって B 環に水酸基を 2 個有するフラバノノールと考えられる。 ^1H -NMR スペクトルから 2,4-dihydroxyphenyl と判明した。すなわち 6.40 ppm (1H, d, $J=2.0\text{ Hz}$) は H-3' に、6.42 ppm (1H, dd, $J=8.0, 2.0\text{ Hz}$) は H-5' に、7.26 ppm (1H, d, $J=8.0\text{ Hz}$) は H-6' にそれぞれ帰属される。又、キレート水酸基のプロトンのシグナルは認められず、3.74 ppm (3H, s) にメトキシル基に由来するシグナルが観察され、このメトキシル基と 6.20 ppm (1H, s) のアロマティックプロトンとの間には、核オーバーハウザー効果 (NOE) (11%) が観察されること及び UV, MS スペクトルの結果を総合するとメトキシル基の位置は 5 位、5-hydroxy-2-isopropenyl-5-methylhexyl 側鎖の位置は 8 位と結論できる。II の円二色性 (CD) スペクトルにおいて、293 nm に negative maximum, 347 nm に positive maximum を示すことより、C-2 における、立体配置は *R* となる。⁷⁾ 以上の結果から、II は (2*R*, 3*S*)-7, 2', 4'-trihydroxy-5-methoxy-8-(5-hydroxy-2-isopropenyl-5-methylhexyl)-flavanonol である。

Kushenol L (III) 黄緑色無晶形, $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_7 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ は Mg-HCl 反応は陽性を示す。IR スペクトルは水酸基 (3300 cm^{-1}), 共役カルボニル基 (1625 cm^{-1}), ベンゼン環 ($1600, 1450\text{ cm}^{-1}$) の存在を示す。UV スペクトルでは 298 nm と 343 nm に極大吸収を示し、シフト試薬添加時のシフトパターン ($\Delta\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}+\text{NaOAc}} = +46\text{ nm}$) から、III の 7 位には水酸基を有するフラバノン又はフラバノノール骨格の存在が示唆される。³⁾ ^1H -NMR スペクトルでは 2 個のイソペンテニール基¹⁾ [1.56 ppm (6H, s), 1.64 ppm (3H, s), 1.76 ppm (3H, s), 5.16 ppm (2H, br t, $J=7.0\text{ Hz}$)] を有するフラバノノール骨格の存在 [5.38 ppm (1H, d, $J=12.5\text{ Hz}$), 4.72 (1H, d, $J=12.5\text{ Hz}$)] が示唆される。H-2 と H-3 はその結合定数 (12.5 Hz) から、互いに *trans* と結論した。一方 MS では m/z 152 に B 環に由来するフラグメント (VII) が観察される (Chart 2)。したがって B 環に水酸基を 2 個有するフラバノノールと考えられる。 ^1H -NMR スペクトルから B 環は II の場合と同様に 2,4-dihydroxyphenyl と判明した。また、12.1 ppm にキレート水酸基のプロトンのシグナルが認められることから、5 位に水酸基の存在が推定される。UV, MS スペクトルの結果を総合すると 2 個の isopentenyl 基はそれぞれ 6 位と 8 位に結合していると考えられる。 ^{13}C -NMR スペクトルのデータもこの構造を支持している。III の CD スペクトルにおいて、296 nm に negative

maximum, 331 nm に positive maximum を示すことより, C-2 における, 立体配置は *R* となる.⁷⁾ 以上の結果から III は (2*R*,3*R*)-5,7,2',4'-tetrahydroxy-6,8-diisopentenylflavanonol と決定した.

Kushenol M (IV) 黄緑色無晶形, $C_{30}H_{36}O_7 \cdot 1/2H_2O$ は Mg-HCl 反応は陽性を示す. IR スペクトルは水酸基 (3300 cm^{-1}), 共役カルボニル基 (1630 cm^{-1}) ベンゼン環 ($1600, 1450\text{ cm}^{-1}$) の存在を示し, シフト試薬添加時の挙動も先の III と酷似している. $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて, 母格に由来するシグナルは III と同様なパターンを示し, H-2 と H-3 は互いに *trans* ($J=12.5\text{ Hz}$) で lavandulyl 基に由来するシグナル [1.50 ppm (3H, s), 1.58 ppm (3H, s), 1.65 ppm (3H, s), 2.60–3.30 ppm (5H, m), 4.54 ppm (2H, br s), 4.96 ppm (1H, br t, $J=7.0\text{ Hz}$)] が認められること及び isopentenyl 基に由来するシグナル [1.58 ppm (3H, s), 1.76 ppm (3H, s), 3.34 ppm (2H, m), 5.16 ppm (1H, br t, $J=7.0\text{ Hz}$)] が認められることから, 側鎖部分に lavandulyl 基と isopentenyl 基を有するフラバノールと考えられる. 又, MS では m/z 152 に B 環に由来するフラグメント (VII) が観察される (Chart 2). したがって B 環に水酸基を 2 個有することになり, 側鎖の lavandulyl 基と isopentenyl 基がともに A 環に結合していると考えられる. $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルからも以上のような構造が支持される. 苦参からは lavandulyl 基が 8 位に結合した化合物が多く単離されていることから, lavandulyl 基は 8 位, isopentenyl 基は 6 位に結合していると考えているが逆の可能性も否定できない. なお, IV の CD スペクトルは 295 nm に negative maximum, 321 nm に positive maximum を示すことより, C-2 における, 立体配置は *R* となる.⁷⁾ 以上結果から, IV は (2*R*,3*R*)-5,7,2',4'-tetrahydroxy-6-isopentenyl-8-lavandulylflavanonol と推定した.

実 験 の 部

融点は柳本微量融点測定器で測定し未補正である. UV スペクトルは島津 360 型 UV 測定装置, IR スペクトルは JASCO A202 型 IR 測定装置, MS スペクトルは JEOL JMS-D100 型質量分析装置, $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは JEOL FX-90Q (90 MHz) 核磁気共鳴装置, $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルは JEOL FX-90Q (22.5 MHz) 核磁気共鳴装置を用い, ケミカルシフトはテトラメチルシランを内部基準とし, δ (ppm) で表示 (s: singlet; d: doublet; t: triplet; m: multiplet; br: broad) 旋光度は JASCO DIP-140 旋光々度計, CD 曲線は JASCO J-20A 型自記旋光分散計で測定.

抽出及び分離 前報¹⁾ のセライトカラムにおける, ベンゼン溶出部からシリカゲルカラムクロマトグラフィー及び液体クロマトグラフィー分取により III (110 mg), IV (300 mg), 酢酸エチル溶出部から, 同様に II (30 mg). さらに水層のブタノール抽出画分からシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより, I (120 mg) を得た. なお, II, III, IV の HPLC の分取条件: Column, TSK-GEL (4 mm $\times$ 30 cm); solvent, H_2O - CH_3CN (40 : 60); detector (UV), 210 nm; flow rate, 1.5 ml/min; chart speed, 0.5 cm/min.

Kushenol J (I) 淡黄色針状晶で, UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 277 (4.09), 324 (3.89), $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}+\text{NaOAc}}$ nm: 281, 380. $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}+\text{AlCl}_3+\text{HCl}}$ nm: 295, 312, 375. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3450 (OH), 1620 (conjugated CO), 1570, 1510 (ベンゼン環). MS m/z : 299, 286, 256, 227, 197, 150, 149, 137, 135, 107, 92. $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$: Table I, II.

Kushenol J (I) のアセチル化 (Ia の生成) 化合物 (I) 50 mg をピリジン (2 ml) にとかし, 無水酢酸 (2 ml) を加え, 室温で 30 min 反応後, 反応液を水に注ぎ, 酢酸エチルで 2 回抽出, 酢酸エチル層を水洗後, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 酢酸エチルを留去, 残留物を 55 mg 得, メタノールより, 無色針状晶を 43 得た. Ia 無色針状晶. mp 119–121°C. Anal. Calcd $C_{41}H_{46}O_{21} \cdot \text{MeOH}$: C, 55.63; H, 5.56. Found: C, 55.40; H, 5.34. $^1\text{H-NMR}$: Table I.

Kushenol J (I) の糖の同定 化合物 I, 1 mg を 10% 硫酸 (1 ml) で溶解, 沸騰水浴中 30 min, 反応液を IR-45 樹脂カラムを通導, 水溶液を濃縮後, 残渣を水 2 滴で溶解し, NaBH_4 (2 mg) で 1 時間還元. 反応液を IR-120 樹脂カラム通導した. 水溶出部にメタノールを加え減圧留去後, よく乾燥し, アセチル化した. (Acetic anhydride 1 滴と無水ピリジン 1 滴, 100°C 1 時間), 反応液を減圧濃縮して, ガスクロマトグラフィー (GLC) 検査. 標品の glucitol acetate, xylitol acetate と比較同定した. カラム, 1.5% OV-17, 3 mm $\times$ 1 m, カラムの温度 200°C, キャリアーガス N_2 , t_R 3.9 min (xylitol acetate), 11.2 min (glucitol acetate).

Kushenol K (II) 黄緑色無晶形. Anal. Calcd $C_{28}H_{32}O_8 \cdot 1/2H_2O$: C, 64.85; H, 6.90, Found: C, 65.00; H, 6.60. Mg-HCl 反応 (+). CD ($c=3.3 \times 10^{-4}$, MeOH) $[\theta]^{25}$ (nm): +1083 (347) (positive maximum); -3363 (293) (negative maximum). $[\alpha]^{25}_{\text{D}} -58^\circ$ ($c=0.17$, MeOH). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 290 (4.19), 325 (3.70). $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}+\text{NaOAc}}$ nm: 286, 293, 331. $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}+\text{AlCl}_3+\text{HCl}}$ nm: 286 (sh), 290, 326, 351 (sh). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3400 (OH), 1650 (conjugated CO), 1600, 1520, 1460 (ベンゼン環). MS m/z : 454 ($M-H_2O$), 436, 349, 331, 179, 152, 149, 123, 109.

TABLE I. ¹H-NMR Chemical Shifts and Coupling Constants

Proton No.	Ia ^{a)}	II ^{b)}	III ^{b)}	IV ^{b)}
2	4.92 (1H, d, $J=8.0$ Hz)	5.66 (1H, d, $J=3.5$ Hz)	5.38 (1H, d, $J=12.5$ Hz)	5.44 (1H, d, $J=12.5$ Hz)
3	4.50 (1H, d, $J=8.0$ Hz)	4.26 (1H, d, $J=3.5$ Hz)	4.72 (1H, d, $J=12.5$ Hz)	4.76 (1H, d, $J=12.5$ Hz)
5	8.02 (1H, d, $J=8.0$ Hz)			
6	6.96 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz)	6.20 (1H, s)		
8	6.78 (1H, d, $J=2.0$ Hz)			
2'	7.90 (1H, d, $J=8.0$ Hz)			
3'	7.00 (1H, d, $J=8.0$ Hz)	6.40 (1H, d, $J=2.0$ Hz)	6.42 (1H, d, $J=2.0$ Hz)	6.46 (1H, d, $J=2.0$ Hz)
5'	7.00 (1H, d, $J=8.0$ Hz)	6.42 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz)	6.40 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz)	6.42 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz)
6'	7.90 (1H, d, $J=8.0$ Hz)	7.26 (1H, d, $J=8.0$ Hz)	7.30 (1H, d, $J=8.0$ Hz)	7.34 (1H, d, $J=8.0$ Hz)
1a			3.20 (2H, br s)	3.34 (2H, br s)
			3.36 (2H, br s)	
2a			5.18 (2H, br t, $J=7.0$ Hz)	5.16 (1H, br t, $J=7.0$ Hz)
4a			1.64 (3H, s)	1.76 (3H, s)
			1.76 (3H, s)	
			1.57 (6H, s)	
5a				1.58 (3H, s)
1b 2b 3b		1.34–2.72 (5H, m)		2.60–3.30 (5H, m)
4b		1.34–2.72 (2H, m)		4.96 (1H, br t, $J=7.0$ Hz)
6b		1.06 (3H, s)		1.65 (3H, s)
7b		1.06 (3H, s)		1.50 (3H, s)
9b		4.58 (2H, br s)		4.54 (2H, br s)
10b		1.64 (3H, s)		1.58 (3H, s)
C ₅ -OH			12.1 (1H, s)	12.0 (1H, s)
C ₅ -OMe		3.74 (3H, s)		
C ₄ '-OMe	3.90 (3H, s)			
COOCH ₃	1.92 (6H, s)			
	2.00 (3H, s)			
	2.04 (12H, s)			

a) Chloroform-*d*₁ solution; b) acetone-*d*₆ solution.

TABLE II. ^{13}C -NMR Chemical Shifts

Carbon No.	I ^{a)}	II ^{b)}	III ^{b)}	IV ^{b)}
2	77.8	78.6	79.2	79.0
3	70.9	73.5	72.5	72.7
4	197.0	189.6	198.8	198.7
5	131.6	163.0 ^{d)}	159.5 ^{e)}	159.6 ^{f)}
6	114.4 ^{e)}	93.7	108.8	108.6
7	166.2	163.2 ^{d)}	162.6 ^{e)}	163.0 ^{f)}
8	110.9	108.7	108.1	107.8
9	166.2	161.5 ^{d)}	159.7 ^{e)}	159.6 ^{f)}
10	103.5	104.0	101.6	101.4
1'	128.0	115.2	115.7	115.7
2'	131.1	156.8	157.7	157.6
3'	114.6 ^{e)}	104.0	103.9	103.9
4'	163.6	159.3	159.3 ^{e)}	159.4 ^{f)}
5'	114.6 ^{e)}	107.5	107.8	107.9
6'	131.1	130.6	130.1	130.0
1a			21.8	21.7
			22.2	
2a			123.0	124.2
			123.2	
3a			132.0	132.4
			132.1	
4a			25.8 $\times$ 2	25.8
5a			17.7	17.9
			17.9	
1b		27.5		27.8
2b		47.8		47.6
3b		28.4		31.8
4b		42.6		123.0
5b		70.3		131.6
6b		30.2		25.8
7b		30.0		17.9
8b		149.5		148.9
9b		111.2		111.1
10b		18.9		19.5
OMe		55.9		
Glucose moiety 1	101.7			
2	74.7 ^{g)}			
3	78.1 ^{h)}			
4	71.1			
5	77.8 ^{h)}			
6	69.6			
Xylose moiety 1	105.6			
2	74.4 ^{g)}			
3	77.8 ^{h)}			
4	70.9			
5	66.8			

a) CD_3OD solution; b) acetone- d_6 solution; c—h) assignments may be interchanged in each column.

¹H-NMR, ¹³C-NMR: Table I, II.

Kushenol L (III) 黄緑色無晶形. *Anal.* Calcd C₂₅H₂₈O₇·1/2H₂O: C, 66.80; H, 6.50. Found: C, 66.88; H, 6.77. Mg-HCl 反応 (+). CD (*c*=0.9×10⁻⁴, MeOH) [θ]²⁵ (nm): +495 (331) (positive maximum); -7428 (296) (negative maximum). [α]_D²⁵ +12° (*c*=0.5, MeOH). UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 288 (sh), 298 (4.21), 343 (3.60). λ_{max}^{MeOH+NaOAc} nm: 288, 297, 344. λ_{max}^{MeOH+AlCl₃+HCl} nm: 285, 320, 418. IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3300 (OH), 1625 (conjugated CO), 1600, 1450 (ベンゼン環). MS *m/z*: 441 (M⁺ + 1), 440 (M⁺), 422, 323, 289, 233, 177, 163, 152, 123, 109.

¹H-NMR, ¹³C-NMR: Table I, II.

Kushenol M (IV) 黄緑色無晶形. *Anal.* Calcd C₃₀H₃₈O₇·1/2H₂O: C, 69.61; H, 7.21. Found: C, 69.60; H, 7.48. Mg-HCl 反応 (+). CD (*c*=1.3×10⁻⁴, MeOH) [θ]²⁵ (nm): +2303 (321) (positive maximum); -25912 (295) (negative maximum). [α]_D²⁵ +18° (*c*=0.34, MeOH). UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 297 (4.53), 347 (3.95). λ_{max}^{MeOH+NaOAc} nm: 285, 300, 343. λ_{max}^{MeOH+AlCl₃+HCl} nm: 264, 286 (sh), 321. IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3300 (OH), 1630 (conjugated CO), 1600, 1450 (ベンゼン環). MS *m/z*: 509 (M⁺ + 1), 508 (M⁺), 490, 385, 367, 311, 233, 189, 177, 123, 109. ¹H-NMR, ¹³C-NMR: Table I, II.

謝辞 本研究に当り、終始御支援下さいました理研アドソール工業 **KK** の佐々木康德氏、元素分析及び MS の測定を担当された北村久代氏及び内田三夫博士に深謝致します。

引用文献及び注

- 1) 第3報: 呉 立軍, 宮瀬敏男, 上野 明, 黒柳正典, 野呂忠敬, 福島清吾, 薬誌, **105**, 736 (1985).
- 2) 大本太一, 相川良介, 二階堂 保, 呉 立軍, 上野 明, 福島清吾, 日本薬学会第105年会講演要旨集, 1985, p. 469.
- 3) T. J. Mabry, K. R. Markham, M. B. Thomas, "The Systematic Identification of Flavonoids," Springer-Verlag, New York, 1970, Chapter IV—VII.
- 4) F. Bohlmann, C. Zdero, *Phytochemistry*, **22**, 2877 (1983).
- 5) 竹本常松, 在原重信, 吉川和子, 中島 正, 奥平 恵, 薬誌, **104**, 325 (1984).
- 6) 田中 治, 薬誌, **105**, 323 (1985).
- 7) W. Goffield, *Tetrahedron*, **26**, 4093 (1970).