薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
107 (7) 525-529 (1987)

ジンチョウゲ科植物成分の化学的研究 (第4報) 芫花根の
新スピロビフラボノイド Genkwanol A の構造

馬場きみ江, 竹内一男, 多幡祐子, 谷口雅彦, 小澤 貢*
大阪薬科大学

Chemical Studies on the Constituents of the Thymelaeaceous Plants. IV.
Structure of a New Spiro Biflavonoid, Genkwanol A, from the
Root of *Daphne genkwa* SIEB. et ZUCC.

KIMIYE BABA, KAZUO TAKEUCHI, YUKO TABATA
MASAHIKO TANIGUCHI and MITSUGI KOZAWA*

Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 2-10-65,
Kawai, Matsubara, Osaka, 580, Japan

(Received February 23, 1987)

A new spiro biflavonoid, genkwanol A (4) was isolated from the root of *Daphne genkwa* SIEB. et ZUCC. (Thymelaeaceae), as well as daphnodorin B (2), umbelliferone, daphnoretin, daphnin, syringin and yuenkwanin. The structure of 4 was established by chemical transformation of 4 into 2 with dil. HCl in MeOH, and spectroscopic means (circular dichroism, mass and nuclear magnetic resonance).

Keywords—*Daphne genkwa*; Thymelaeaceae; flavan; genkwanol A; spiro biflavonoid; daphnodorin B

著者らは先にジンチョウゲ *Daphne odora* THUNB. の根 (瑞香根, rui xiang gen) について, フェノール成分を中心に検討を行い, 既知クマリン類とともに新規な骨格を有する3種のビフラボノイド daphnodorin A (1) daphnodorin B (2) 及び daphnodorin C (3) を単離し, その構造を明らかにした.¹⁻⁴⁾ 今回は同じくジンチョウゲ科 *Daphne* 属のフジモドキ (チョウジザクラ) *Daphne genkwa* SIEB. et ZUCC. の根 (芫花根, yuan hua gen) についてフェノール成分を中心に検討を行い, 既知クマリン, フラボノイド等とともに新スピロビフラボノイド, genkwanol A (4) を得ることができたので以下その構造について報告する.

Daphne genkwa SIEB. et ZUCC. は中国原産の低木で, その蕾みは芫花と称され, 水腫, 咳喘, 痔疾, 乳腺炎等の治療や, 駆虫の目的で使用されており, また, 根は芫花根と称され, 水腫, 痔疾, 乳腺炎, るいれき, 疥癬等の治療に用いられている. 本植物の成分に関しては, 芫花及び芫花根から β -sitosterol, benzoic acid の他, genkwanin, yuenkwanin 等のフラボノイド,⁵⁻⁹⁾ genkwadaphnin 等のジテルペン¹⁰⁻¹⁹⁾が単離報告されている.

芫花根のメタノールエキスを実験の部に記載するように, シリカゲル, セファデックス LH20, トヨパール HW-40, ダイアイオン MCI gel 等のカラムクロマトを用いて分離し, 既知化合物として daphnodorin B, umbelliferone, daphnoretin, daphnorin, syringin 及び yuenkwanin を得るとともに新ビフラボノイド genkwanol A (4) を得た.

Genkwanol A (4) は $C_{30}H_{22}O_{10}$ の淡黄色粘稠物質で, Gibb's 試薬により赤褐色, 塩化第二鉄試薬により暗紫色を呈する. 4 はアセチル化によりヘキサアセテートを, メチル化によりペンタメチルエーテルを生成する. 4 の紫外線 (UV) 吸収スペクトルは 216, 284 nm に吸収極大を示し, 旋光分散 (ORD) スペクトルは正の単純曲線を示す. 4 は 1H 核磁気共鳴吸収 (1H -NMR) スペクトル (Table I) において, 6.79 と 6.51 及び 7.03 と 6.67 (各 2H, m, $J_{AX}=8.8$ Hz) に2組の 4-oxyphenyl 基に帰属されるシグナル, 5.76 と 5.62 (各 1H, d, $J=1.5$ Hz) に互いにメタカップリングする芳香族プロトンシグナル, 6.09 (1H, s) に1個の芳香族プロトンによるシグナルを示

す。これらのシグナルは先にジンチョウゲより単離されている daphnodorin C (3) とよく類似している。しかしながら 3 の場合に観察される 3,4-dihydrobenzopyran 環のピラン環部分のシグナルである 4.78 (1H, d, $J=10.4$), 1.55 (1H, m) 2.27 (1H, m), 2.55 (2H, m) が見られず、代わりに、4.60 (1H, d, $J=7.0$ Hz), 3.68 (1H, m), 5.08 (1H, d, $J=4.9$ Hz, +D₂O 消失), 2.75 (1H, dd, $J=16.2, 4.7$ Hz), 2.56 (1H, dd, $J=16.2, 6.1$ Hz) に daphnodorin B (2) の場合と同様の 3-hydroxy-3,4-dihydrobenzopyran 環のピラン部分に帰属し得るシグナルが観察される。更に 10.46, 10.45, 9.87, 9.49, 9.21 に 5 個のフェノール性水酸基のシグナルが観察されるが、これは 4 がジアゾメタンによるメチル化によってペンタメチルエーテル体 (5) を生成することによっても確認された。4 の ¹³C-NMR スペクトル (Table I) は、3 の場合に 19.29 に見られたメチレン炭素に基づくシグナルが観察されず、代わりに 65.98 にメチン炭素によるシグナルが観察される点を除くと、3 のそれとよく似たシグナルパターンを示しており、特に 93.88 に 3 の場合 (93.91) と同様のスピロ炭素に帰属されるシグナルを示している。

以上の事実より、4 は 3 と同様のスピロ構造を持つビフラボノイドで、フラバン環の 3 位に水酸基を持つ構造と推定されるが、この推定は次のことから証明された。

TABLE I. NMR Data for Genkwanol A (4) and Daphnodorin C (3) (in DMSO-*d*₆)

	4			3		
	Carbon	Proton J (Hz)		Carbon	Proton J (Hz)	
2	79.63	4.60d	7.0	75.89	4.78d	10.4
3	65.98	3.68m		19.29	2.27m	
(OH or H)		5.08d	4.9		1.55m	
4	27.31	2.75dd	4.7, 16.2	28.25	2.55m	
		2.56dd	6.1, 16.2			
4a	102.15 ^{a)}			102.66 ^{a)}		
5	160.79			160.80		
6	89.42	6.09s		89.42	6.10s	
7	172.11			172.42		
8	101.10 ^{a)}			102.57 ^{a)}		
8a	151.12			152.40		
1'	128.95			131.14		
2', 6'	126.75	6.79m	8.8 ^{d)}	126.06	6.85m	8.8 ^{d)}
3', 5'	114.31	6.51m	8.8 ^{d)}	114.84	6.59m	8.8 ^{d)}
4'	157.46 ^{b)}			157.65 ^{b)}		
2''	90.76	5.47s		90.87	5.47s	
3''	93.88			93.91		
4''	192.73			193.30		
4a''	102.52 ^{a)}			102.78 ^{a)}		
5''	158.96 ^{c)}			159.10 ^{c)}		
6''	95.98	5.76d	1.5	96.10	5.83d	1.7
7''	157.19 ^{c)}			157.71 ^{c)}		
8''	89.05	5.62d	1.5	89.37	5.52d	1.7
8a''	167.83			168.00		
9''	123.13			123.42		
10'', 14''	128.72	7.03m	8.8 ^{d)}	129.00	7.04m	8.8 ^{d)}
11'', 13''	114.67	6.67m	8.8 ^{d)}	114.84	6.68m	8.8 ^{d)}
12''	156.22 ^{b)}			156.26 ^{b)}		
PH-OH		10.46s			10.63s	
		10.45s			10.42s	
		9.87s			9.88s	
		9.49s			9.50s	
		9.21s			9.25s	

a—c) Assignments may be reversed. d) J_{AX} .

Daphnodorin C pentamethyl ether (**6**) は電子衝撃 (EI-MS) において Fig. 1 に見られる開裂をして m/z 462, m/z 416, m/z 282, m/z 181, m/z 134 のフラグメントイオンを示すが, **4** のメチルエーテル体 (**5**) も同様の開裂を示唆する m/z 462, m/z 432, m/z 282, m/z 181, m/z 150 のフラグメントイオンを生成する. また, **3** はエタノール中少量の硫酸あるいは塩酸と加熱することにより daphnodorin A (**1**) を生成することが判明しているが^{3,4)} **4** も同様の酸処理において容易に daphnodorin B (**2**) を生成する. したがって, **4** は Chart 1 に示す構造であると決定された.

次に, **4** の 2, 3, 2'', 3'' 位の絶対配置であるが, 2 及び 3 位は, **4** が酸処理において **2** を生成することから 2*R*, 3*S* と決定される. また, 2'', 3'' 位は, **4** が 3'' 位においてスピロ構造を持つため, 2''*S*(*R*), 3''*S*(*R*) の場合と 2''*S*(*R*), 3''*R*(*S*) の場合とでは, その ¹H-NMR スペクトルにおいて 2'', 10'', 14'' 位のプロトンシグナルのシフトがカルボニル基の磁気異方性のために大きく異なると考えられる. **4** の 2'',

10'', 14'' プロトンシグナルデータは Table I に見られるように, **3** (2''*S*, 3''*S*) の場合と極めて良く一致する. したがって **4** の 2'', 3'' の相対配置は 2''*S*(*R*), 3''*S*(*R*) となるが, **4** の円二色性 (CD) スペクトル [$\Delta\epsilon$ (nm)] が +7.5 (333), -5.5 (303), +9.7 (278), -11.5 (242) と, **3** のそれ [-11.3 (333), +4.1 (303), -14.9 (280), +1.9 (243)] と良い対称性を示すことより, その絶対配置は 2''*R*, 3''*R* と決定された.

我々はジンチョウゲ科植物におけるフェノール成分の検討を進めているが, 先に, ジンチョウゲ *Daphne odora* THUNB. よりスピロフラバン骨格, フラノフラバン骨格を持つ新規ビフラボノイド (daphnodorin A, B, C) を単離しそれらの構造を明らかにした.¹⁻⁴⁾ 今回, 同じ *Daphne* 属のフジモドキ *D. genkwa* SIEB. et ZUCC. から類似のスピロフラバン骨格を持つ genkwanol A 及びフラノフラバン骨格の daphnodorin B が単離されたが, こ

Fig. 1

Chart 1

のことはジンチョウゲ科植物の chemotaxonomy を考える上で興味あることである。

実験の部

融点は Büchi 融点測定装置で測定 (未補正)。IR は日立 EPI-G2 型, UV は島津 UV-200S 型, ORD は日本分光 ORD/UV-5 型, CD は JASCO J-500 型により測定した。 $^1\text{H-NMR}$ は Varian XL-300 (300 MHz), $^{13}\text{C-NMR}$ は Varian XL-300 (75 MHz) で測定し, 化学シフトは tetramethylsilane (TMS) を内部標準とし, δ ppm 値で表示した。MS スペクトルは Hitachi M-80 で測定した。TLC 用シリカゲルには Merck plate silica gel 60 F₂₅₄ (0.25 mm) を用い, スポットは UV lamp (253.7 nm, 365.0 nm) により検出した。カラムクロマトグラフィーには Merck silica gel 60 (70—230 mesh), Sephadex LH-20, Toyopearl HW-40, MCI-gel CHP 20P を使用した。

抽出及び物質の単離 1986 年大阪市場で入手した *Daphne genkwa* SIEB. et ZUCC. の根 (3.4 kg) を細切し, メタノール (15 l) で 4 回還流抽出 (各 7 時間), 抽出液を濃縮し, メタノールエキスを (410 g) を得た。メタノールエキスを (410 g) をシリカゲル (2.5 kg) [hexane-EtOAc (3 : 1→1 : 1)]→[CHCl₃-MeOH (50 : 1→5 : 1)] のカラムクロマトグラフィーに付し, 各フラクション 400 ml ずつ分取し, TLC 上類似のフラクションをまとめ, Fr. 1—5 に分画した。Fr. 2 をシリカゲル [hexane-EtOAc (2 : 1)], Sephadex LH-20 (MeOH) のクロマトグラフィーに付し, umbelliferone (30 mg), daphnoretin (25 mg), daphnodorin B (2) (1.2 g) を得た。Fr. 3 を Sephadex LH-20 (80% MeOH), MCI-gel CHP 20P (80% MeOH) に付し, genkwanol A (4) (800 mg) を得た。さらに Fr. 4 を Toyopearl HW-40 (MeOH), Sephadex LH-20 (80% MeOH) に付し, syringin (85 mg), daphnorin (25 mg), yuenkwanin (322 mg) を得た。

Genkwanol A (4) 淡黄色粘稠物質, FeCl₃ 試薬で暗紫色, Gibb's 試薬で赤褐色を呈する。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 216 (4.76), 284 (4.20)。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{dioxane}}$ nm (log ϵ): 216 (4.22), 294 (3.94)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3300—2600, 1675, 1625, 1520, 1475。ORD ($c=0.53$, MeOH) [α] (nm): -30.2° (589), -30.2° (500), -17.0° (450), 0° (430), +611.3° (357)。ORD ($c=0.57$, dioxane) [α] (nm): -21.1° (589), -21.1° (500), -14.0° (450), 0° (424), +196.5° (370)。CD ($c=2.2 \times 10^{-5}$, dioxane) $\Delta\epsilon$ (nm): +7.5 (333), 0 (318), -5.5 (303), 0 (287), +9.7 (278), 0 (253), -11.5 (242)。MS m/z (%): 542 (M⁺, 57), 390 (15), 136 (26), 126 (14)。 $^1\text{H-NMR}$ 及び $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルは Table I を参照。

4 のメチル化 (5 の生成) 4 (500 mg) をメタノール (5 ml) に溶かし, ジアゾメタンのエーテル溶液を加え, 10 日間室温に放置。反応液から溶媒を留去した後, 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [hexane-EtOAc (3 : 1)] に付し, 5 (145 mg) を得た。

5: UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{dioxane}}$ nm (log ϵ): 219 (4.73), 283 (4.17), 320 sh (3.56)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1715, 1620, 1600, 1515。EI-MS m/z (%): 612 (M⁺, 100), 462 (19), 282 (21), 181 (62), 150 (45), 121 (71)。EI-MS m/z : Calcd C₃₅H₃₂O₁₀: 612.1995; Found: 612.1989 (M⁺)。 $^1\text{H-NMR}$ (δ , CDCl₃): 7.27, 6.81 (each 2H, m, $J_{\text{AX}}=9.0$ Hz), 6.90, 6.66 (each 2H, m, $J_{\text{AX}}=8.6$ Hz), 5.88, 5.74 (each 1H, d, $J=2.1$ Hz), 6.22 (1H, s), 5.86 (1H, s), 4.61 (1H, d, $J=8.3$ Hz), 3.80 (1H, m), 2.96 (1H, dd, $J=5.2, 16.1$ Hz), 2.52 (1H, dd, $J=8.9, 16.1$ Hz), 3.77 (1H, br s), 3.83, 3.79, 3.77, 3.77, 3.64 (each 3H, s)。

4 のアセチル化 4 (100 mg) を無水酢酸 (5 ml) ピリジン (5 ml) を用い常法によりアセチル化した。生成物をプレパラティブ TLC (hexane-EtOAc=2 : 1) により精製し, 淡黄色粉末状物質 (95 mg) を得た。CI-MS: M⁺ 794, UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{dioxane}}$ nm (log ϵ): 216 (5.11), 265 sh (4.26), 325 (3.68)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1765, 1620, 1510。 $^1\text{H-NMR}$ (δ , CDCl₃): 7.29, 7.04 (each 2H, d, $J=8.6$ Hz), 6.97, 6.91 (each 2H, d, $J=8.6$ Hz), 6.49 (1H, s), 6.47, 6.42 (each 1H, d, $J=1.9$ Hz), 5.87 (1H, s), 5.14 (1H, m), 5.03 (1H, d, $J=6.2$ Hz), 2.75 (1H, dd, $J=16.2, 6.1$ Hz), 2.56 (1H, dd, $J=16.2, 4.7$ Hz), 2.30, 2.29, 2.27, 2.26, 2.24, 1.96 (each 3H, s)。

4 の希塩酸による反応 (2 の生成) 4 (50 mg) をメタノール (5 ml) に溶かし, 8% HCl-MeOH (5 ml) を加え水浴中で 2 分間加熱した後, 反応液に氷水 (40 ml) を加え酢酸エチルエステルで抽出。抽出液を 5% NaHCO₃ 水で洗った後, 減圧濃縮。残留物をプレパラティブ TLC (CHCl₃-MeOH=5 : 1) で精製し, 2 (15 mg) を得た。

謝辞 本研究に際し NMR スペクトル, MS スペクトルを測定して下さった本学 難波江倫子氏, 団上美穂代氏に深謝致します。

引用文献

- 1) K. Baba, K. Takeuchi, F. Hamasaki, M. Kozawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 595 (1986).

- 2) K. Baba, K. Takeuchi, M. Doi, M. Inoue, M. Kozawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 1540 (1986).
- 3) K. Baba, K. Takeuchi, M. Doi, M. Kozawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2680 (1986).
- 4) K. Baba, K. Takeuchi, M. Doi, M. Kozawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 1853 (1987).
- 5) C. L. Chen, K. F. Tseng, *Yao Hsueh Hseuh Pao* (药学报), **12**, 119 (1965).
- 6) X. G. He, F. X. Jiang, Q. R. Zhou, *Chih Wu Hsueh Pao*, (植物学报), **20**, 76 (1978).
- 7) S. F. Li, Z. X. Wang, *Zhong Cao Yao* (中草药), **14**, 392 (1983).
- 8) T. Noro, Y. Oda, T. Miyase, A. Ueno, S. Fukushima, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 3984 (1983).
- 9) M. T. Wang, T. Z. Zhao, Z. W. Zhong, C. R. Ji, *Zhong Cao Yao* (中草药), **16**, 98 (1985).
- 10) R. Kasai, K. H. Lee, H. C. Huang, *Phytochemistry*, **20**, 2592 (1981).
- 11) Y. Nikaido, T. Ohmoto, H. Noguchi, T. Kinoshita, H. Saitoh, U. Sankawa, *Planta Med.*, **43**, 18 (1981).
- 12) B. P. Ying, C. S. Wang, P. N. Chou, P. C. Pan, J. S. Liu, *Hua Hsueh Hsueh Pao* (化学学报), **35**, 103 (1977).
- 13) C. R. Wang, T. Y. Chu, C. H. Chen, *Zhong Cao Yao* (中草药), **11**, 142 (1980).
- 14) C. J. Wang, C. H. Chen, P. P. Yin, P. C. Pan, *Yao Hsueh Jing Pao* (药学简报), **12**, 39 (1980).
- 15) C. R. Wang, H. Z. Huang, R. S. Xu, Y. Y. Dou, X. C. Wu, Y. Li, *Yao Hsueh Tong Pao* (药学通报), **17**, 174 (1982).
- 16) C. R. Wang, H. Z. Huang, R. S. Xu, Y. Y. Dou, X. C. Wu, Y. Li, S. H. Ouyang, *Hua Hsueh Hsueh Pao* (化学学报), **40**, 835 (1982).
- 17) L. W. Lin, G. T. Mi, Z. Y. Hau, R. Q. Shao, *Shandong Yi Hsueh Yuan Hsueh Pao* (山东医学院学报), **1**, 46 (1985).
- 18) B. H. Hu, H. Sha, C. R. Wang, D. F. Yu, X. C. Wu, X. U. Yu, *Hua Hsueh Hsueh Pao* (化学学报), **43**, 460 (1985).
- 19) C. J. Wang, C. H. Chen, P. P. Yin, P. C. Pan, *Yao Hsueh Jing Pao* (药学简报), **15**, 39 (1980).