

| | | | | |
|---------|--------------|----|-----|----|
| 氏名(本籍) | おお | しま | よし | てる |
| | 大 | 島 | 吉 | 輝 |
| 学位の種類 | 薬 | 学 | 博 | 士 |
| 学位記番号 | 薬 | 第 | 211 | 号 |
| 学位授与年月日 | 昭和56年12月9日 | | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第2項該当 | | | |

学位論文題目 桑白皮に含まれるフラボノイドに関する研究

(主査)

論文審査委員 教授 曳野 宏 教授 野副 重男
教授 高野 誠一

論文内容要旨

桑白皮はクワ類植物の根皮から調製される生薬で、漢方では利尿、消炎、鎮咳薬として用いられている。これまで桑白皮の薬理作用に関してはいくつかの研究が行われており、特に血圧下降作用を有することはよく知られている。一方化学的研究としてはイソプレノイドフラボンを中心に数多くの成分が単離され、その構造が決定されている。しかしながら、数多くの成分が単離、構造決定されているにもかかわらず、血圧下降活性を有する成分に関する研究はほとんど行われていない。

そこで筆者は桑白皮のメタノールエキスについてラットを用いて生物試験を行ったところ、顕著な血圧下降活性を認めることができたので、生物活性を指標としてメタノールエキスの分画を進めた結果、血圧下降活性を有する4種類の新しいイソプレノイドフラボンである moracenin A (II), B (I), C (III), D (IV) を単離することができた。

一方、血圧下降成分の分画に際し、血圧下降活性は有していないが新フラボノイドである moracinol (V) を単離することができた。

Moracenin B の構造

Moracenin B は $[\alpha]_D - 466^\circ$ を有する黄色粉末であり、FD-MS で m/e 692 に分子イオンピークが認められたことおよび ^{13}C NMR で 40 コの炭素に相当するシグナル (うち脂肪族炭素 14 コ、芳香族炭素 24 コ、カルボニル炭素 2 コ) が認められたことより、その分子式は $\text{C}_{40}\text{H}_{38}\text{O}_{11}$ と決定された。さらに moracenin B は塩化第二鉄反応、マグネシウム-塩酸反応がともに陽性であり、UV が既に桑白皮から単離されているフラボノイドである kuwanon C の UV ときわめて良く似ていることからフラボノイド誘導体と推定された。一方、moracenin B の IR からは水酸基および水素結合をしたカルボニル基の存在が示唆され、UV で塩化アルミニウムを添加することによりフラボンの A 環由来の吸収が長波長シフトを示すことから 5 位に水酸基を有することが明らかとなった。また ^1H および ^{13}C NMR では 5, 7-dihydroxyflavone の 6 位の水素および炭素によるシグナルが認められ、さらに ^1H NMR では kuwanon C の 3', 5', 6' 位の水素シグナルと一致する ABC 型シグナルが認められた。一方 ^1H NMR ではフラボンの 3, 8 位の水素に相当するシグナルは見当たらず、以上の事から moracenin B は 5, 7, 2', 4'-tetrahydroxy-3, 8-disubstituted flavone と推定された。この推定は ^{13}C NMR において moracenin B のフラボン部分に帰属される炭素シグナルの化学シフトが、kuwanon C の相当するシグナルの化学シフトと良く一致することからも支持された。

その他 ^1H NMR の脂肪族領域には 3-メチル-2-ブテニル基由来のシグナルが認められ、この部分構造の存在は酸化白金触媒での接触還元により 3-メチルブチル基が生成していることから

も明らかとなった。さらに3-メチル-2-ブテニル基の結合位置の決定は、kuwanon C の ^1H および ^{13}C NMR との比較、およびフラボンのカルボニル炭素シグナルと3-メチル-2-ブテニル基のメチレン水素シグナルとの間に3 σ 結合を介した ^{13}C - ^1H 遠距離スピン結合が認められたことにより行われ、その結果3位に結合することが判明した。

残る $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{O}_5$ の組成式から成る8位の置換基を明らかにするために ^1H および ^{13}C NMRの詳細な解析を行った。その結果2,4-ジヒドロキシベンゾイル基、2,4-ジヒドロキシフェニル基およびシクロヘキセン環(A)の存在が明らかとなった。さらに高分解能MSではシクロヘキセン環でのretro Diels-Alder型開裂により生ずるフラグメントイオンピーク(B)が認められたことからシクロヘキセン環上でのフラボンの結合位置が明らかとなった。

最後にシクロヘキセン環上での2,4-ジヒドロキシベンゾイル基と2,4-ジヒドロキシフェニル基の結合位置を決定するためにmoracenin Bの7"位のカルボニル基の還元を試みた。すなわちmoracenin Bを重ジメチル硫酸にて重メチル化し、得られた重オクタメチルエーテルを水素化アルミニウムリチウムにて還元したところ7"位のカルボニル基がアルコールへと還元された生成物を得ることができた(Chart 1)。そこでこの還元生成物の ^1H NMRで詳細な二重共鳴実験を行った結果、2,4-ジヒドロキシベンゾイル基は8"位、2,4-ジヒドロキシフェニル基は14"位に結合することが判明した。

Moracenin A の構造

Moracenin AはFD-MSおよび ^{13}C NMRにより $\text{C}_{45}\text{H}_{44}\text{O}_{11}$ と決定された。Moracenin Aは塩化第二鉄反応、マグネシウム-塩酸反応が陽性で、 ^1H NMR、UV、IRはmoracenin Bのそれらに良く似ている。しかしながらmoracenin Aの分子式はmoracenin Bのそれよりも C_5H_8 だけ多く、さらに両化合物が同一植物中に共存していることから、moracenin Aはmoracenin Bに3-メチル-2-ブテニル基が結合した構造が推定された。そこでmoracenin A、Bの ^1H NMRを比較すると、moracenin Bでのベンゾイル基上の3コの水素によるABC型シグナルのかわりに、moracenin Aでは2コの水素によるAB型(δ 5.96 (1H, d, j 8Hz), 7.24 (1H, d, j 8Hz))シグナルが認められた。さらに高分解能MSで m/e 205.0802に $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{O}_3^+$ によるピークが認められたことからベンゾイル基上に3-メチル-2-ブテニル基が結合していることが確認された。ここでベンゾイル基上で、水酸基2コと3-メチル-2-ブテニル基1コの置換様式は6種類考えられるが、2コの水酸基が互いにオルトあるいはパラの関係では ^{13}C NMRでC-O型芳香族炭素は δ 140~150に現れることより、これらの可能性は除去された。さらにmoracenin Aでのベンゾイル基の炭素シグナルを2,4-ジヒドロキシ-3-(3-メチル-2-ブテニル)-ベンゾイル基、2,6-ジヒドロキシ-3-(3-メチル-2-ブテニル)-ベンゾイル基の各炭素に対す

る計算値と比較してみると、2,4-ジヒドロキシ-3-(3-メチル-2-ブテニル)-ベンゾイル基の値によく一致する。以上の事実より moracenin A は moracenin B の 3''-(3-メチル-2-ブテニル)誘導体と結論された。

Moracenin C の構造

Moracenin C は $C_{45}H_{44}O_{11}$ の分子式を有し、塩化第二鉄、マグネシウム-塩酸反応陽性、 1H NMR, UV, IR ともに moracenin A, B のそれらに似ている。しかし moracenin C の 1H NMR では、moracenin A での 3''-(3-メチル-2-ブテニル)基によるシグナルは消失し、そのかわりに 2,2-ジメチルジヒドロピラン環によるシグナルが認められた。この部分構造の存在は ^{13}C NMR においても確かめられた。さらに IR では 1650 cm^{-1} 以外にはカルボニル基による吸収が認められないこと、 1H NMR では 5 位以外にも水素結合をした水酸基が 1 コ認められることなどから moracenin C は III 式と結論された。

Moracenin D の構造

Moracenin D は $C_{40}H_{38}O_{12}$ の分子式を有する。Moracenin D は moracenin B よりも分子量で 18 (H_2O) 多く、 1H および ^{13}C NMR では 3 位の 3-メチル-2-ブテニル基によるシグナルのかわりに 3-ヒドロキシ-3-メチルブチル基によるシグナルが認められた。さらにフラボンのカルボニル炭素シグナルと 3-ヒドロキシ-3-メチルブチル基のメチレン水素シグナルとの間には ^{13}C - 1H 遠距離スピン結合が認められ、以上の事実より moracenin D は IV 式であると結論された。

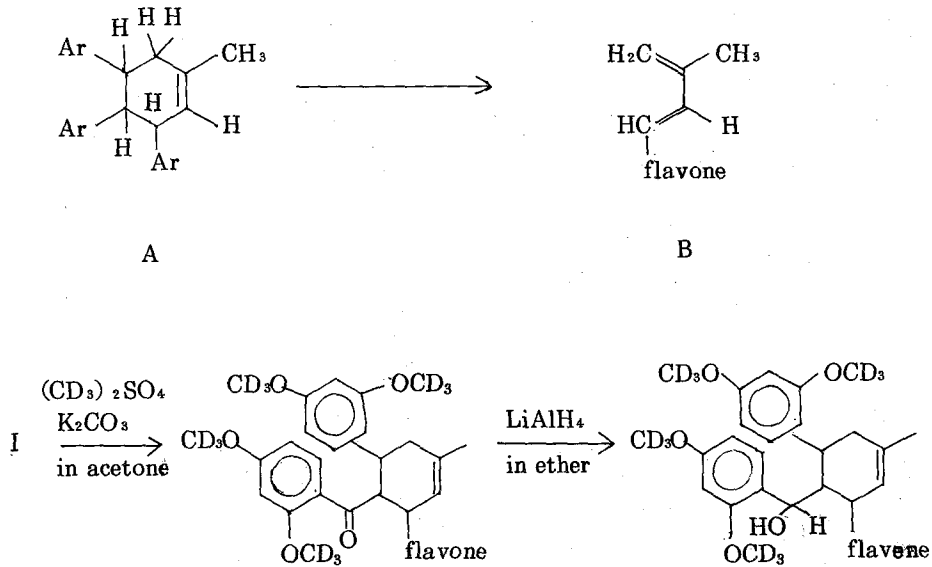
ところでこれら moracenin 類のシクロヘキセン環の 8'' 位と 14'' 位、8'' 位と 9'' 位の水素間のスピン結合定数はともに 10 Hz である。このことは 8'', 9'', 14'' 位の全ての水素は擬アクシャルに配向することを示唆しており、シクロヘキセン環での 3 コの置換基は互いにトランスの関係にあることになる。さらに moracenin 類の CD 曲線は互いに似ていることから moracenin 類は全て同一の絶対配位を有すると考えられた。ここで絶対配位を決定するに際し、どのような立体配座であるかが大きな問題となる。そこで moracenin 類の 1H NMR を kuwanon C, 2',4'-dihydro-xyacetophenone, 4-ethylresorcinol の各 1H NMR と比較したところ、6, 3'', 5'', 6'', 17'' 19'' 位の水素によるシグナルがかなり高磁場にシフトしていることが判明した。これらの高磁場シフトは互いに隣接するベンゼン環のアニソトロピーによると考えられ、そのことからフラボン、2,4-ジヒドロキシベンゾイル基および 2,4-ジヒドロキシフェニル基は互いにほぼ平行に位置するものと推定される。しかしながら以上の 1H NMR の結果のみでは立体配座を確定できず、したがって絶対配位に関しても確定することはできなかった。

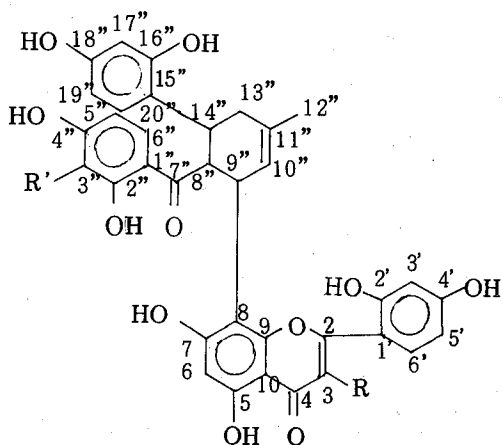
Morusinol の構造

Morusinol は mp 213~214° の黄色針状晶であり、元素分析およびMSより $C_{25}H_{26}O_7$ の分子式を有するものと考えられた。また、塩化第二鉄反応、マグネシウム-塩酸反応、亜鉛-塩酸反応が全て陽性であることからフラボノイドと推定された。¹H NMR では6もしくは8位の水素、B環の3', 5', 6'位の水素、3-ヒドロキシ-3-メチルブチル基、さらに2, 2-ジメチルクロメン環によるシグナルが認められた。これらの置換基の結合位置を明らかにするためにMSを検討したところ、 m/e 203にA環が2, 2-ジメチルクロメン環と成っているフラボンに特徴的なピークが認められ、このピークの存在から3-ヒドロキシ-3-メチルブチル基は3位に結合することが明らかとなった。

さらに morusinol をアセチル化し、ジアセチル体およびトリアセチル体を得、それらの ¹H NMR およびGibbs 反応を検討することにより morusinol はV式で示されるものと結論された。

一方、morusinol の構造を確認するとともに、このようなイソプレネ系置換基を有するフラボノイドの構造研究における ¹³C NMR の有用性を検討した結果、水酸基をはじめとする置換基の結合位置、フラボンとイソフラボンの識別などの点で ¹³C NMR はきわめて有効な手段であることを明らかにした。

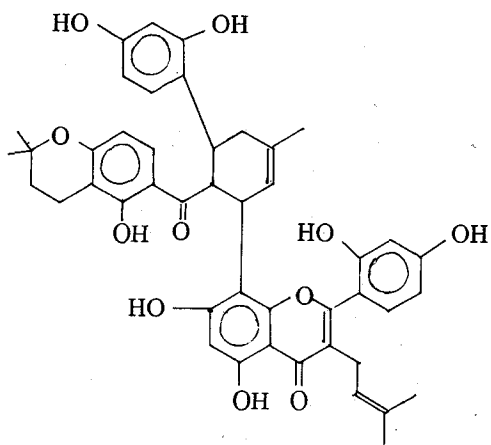




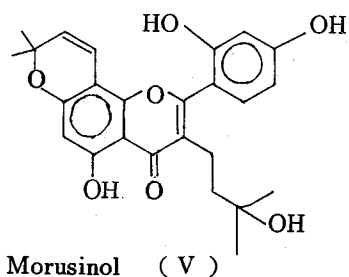
Moracenin A (II) : R = R' = 3-methyl-2-butenyl

Moracenin B (I) : R = 3-methyl-2-butenyl, R' = H

Moracenin D (IV) : R = 3-hydroxy-3-methylbutyl, R' = H



Moracenin C (III)



Morusinol (V)

審査結果の要旨

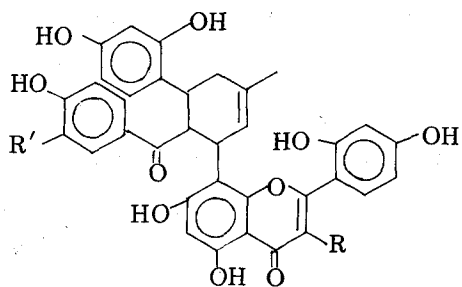
桑白皮の薬理作用についてはこれまで幾つかの研究が見られ、特に血圧下降作用を有することは知られていた。一方桑白皮の化学的研究によりフェノール性成分を中心として数多くの成分が単離されている。しかし血圧下降作用を有する活性成分に関する研究はほとんど行われていなかった。そこで桑白皮のメタノールエキスについて生物試験を行ったところ顕著な血圧下降作用を認めただので、このメタノールエキスを生物試験を指標として分画した結果、血圧下降活性を有する moracenin A, B, C, D と命名した4種の新イソプレノイドフラボンを単離した。一方血圧下降成分の分画において、血圧下降活性は示さないが morusinol と命名した新フラボノイドを単離した。

Moracenin B, $C_{40}H_{36}O_{11}$, はマグネシウム-塩酸反応, IR, UV, 1H および ^{13}C NMR の各スペクトルの検討により 5, 7, 2', 4'-tetrahydroxy-3-prenyl-8-substituted flavone を部分構造として有することが判明した。また 1HNMR の二重共鳴実験からは 2, 4-dihydroxy-phenyl 基, 2, 4-dihydroxybenzoyl 基および 1-methylcyclohexene 環の存在が示唆された。さらに moracenin B の重オクタメチルエーテルを水素化アルミニウムリチウムで還元して得た生成物の 1HNMR を検討することにより各部分構造の結合様式が明らかとなり、その結果 moracenin B の構造は I と決定された。

また moracenin A, C, D の各スペクトルデータは moracenin B のスペクトルデータときわめて良く似ている。そこで 1H および ^{13}C NMR を中心に検討し、moracenin A, C, D をそれぞれ II, III, IV と決定した。

一方 morusinol, $C_{25}H_{26}O_7$, は Gibbs 反応などの呈色反応および IR, UV, 1HNMR さらにアセチル化体の各スペクトルより V と決定された。なお ^{13}C NMR のイソプレノイドフラボンの構造研究での有用性を検討した結果、 ^{13}C NMR は水酸基の位置の決定やフラボンとイソフラボンの識別などの点できわめて有用な手段であることを明らかとした。

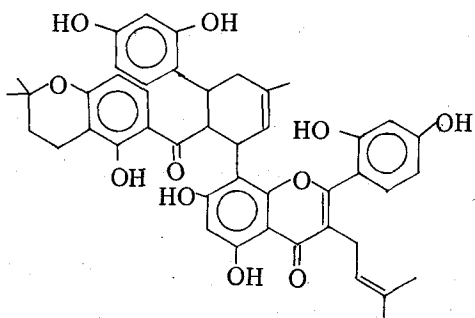
以上の如く本論文は主として桑白皮の血圧下降成分であるフラボノイドの構造に新知見を加えたもので、学位論文として価値あるものと認める。



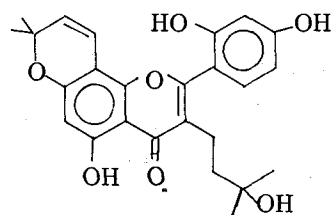
I : R = prenyl, R'=H

II : R = R' = prenyl

IV : R = 3-hydroxy - 3-methylbutyl, R'=H



III



V