[農化 第 39 卷, 第 4 号, p.168~170, 1965]

たけにぐさ成分の研究(第1報)*

殺線虫作用を有するアルカロイドについて

恩田政行**, 滝口和夫, 平倉 実, 福島 浩, 赤川真寿子, 直井房司
(田辺製薬東京研究所)

昭和 39 年 9 月 24 日 受 理

ほとんどの植物に線虫が寄生していることは広く知られている事実であるが, 2, 3 の植物には線虫が寄生しない例外がある. たけにぐさも線虫が寄生しない植物の 1 つである. 著者らはたけにぐさ中に殺線虫物質または忌避物質が含有されているのではないかと考え, たけにぐさの抽出物を線虫試験に供したところ殺線虫物質の存在することが判明した. たけにぐさのメタノールエキスを中性, 酸性, 塩基性フラクションに分別すると塩基性フラクションが有効である. すなわちたけにぐさアルカロイドが殺線虫作用を示すことが明かになった.

第 1 図

* Studies on the Constituents of *Bocconia cordata*. Part I. On Nematocidal Alkaloids. By Masayuki ONDA, Kazuo TAKIGUCHI, Minoru HIRAKURA, Hiroshi FUKUSHIMA, Masuko AKAGAWA and Fusaji NAOI (Tokyo Research Laboratories, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.)

** 現住所: 北里大学薬学部

たけにぐさアルカロイドの研究の歴史は古く, 最近では谷ら⁽¹⁾により報告されている. 著者らが分離した有効アルカロイドは谷らにより確認された sanguinarine, chelerythrine 及び塩基 B と仮称された構造未知の塩基に一致した.

Sanguinarine, chelerythrine の構造はすでに決定されており, その反応性等よりカルビノールアミンとして反応する benzo[c]phenanthridine 型 4 級塩基 (III) とされている. 塩基の酸水溶液をアンモニアアルカリ性とし酢酸エステル抽出して得られる結晶を単にクロロホルム・エタノールより再結晶して得られる結晶は元素分析, NMR (第 2 図) より明らかに II 型をとっている. 従って著者らが分離精製した塩基はすべて II 型のエトキシ体である. 構造未知の塩基は化学的性質, NMR より前者と同様 benzo[c]phenanthridine 骨格を持ち, 分析値よりその芳香環にメトキシ基 1 個, メチレンジオキシ基 2 個が置換された化合物であることが推定されるが, その構造については別に報告する. 著者らはこの物質に対して Bocconine と命名する***.

Sanguinarine, chelerythrine, bocconine は抗菌試験においてもグラム陽性菌, 稲白葉枯病菌, いもち病菌に有効であるのでその使用法によっては極めて興味ある物質である.

実 験 の 部

1. 有効アルカロイドの抽出分離 東京都北多摩郡東村山で 1963 年 10 月採集したたけにぐさ根の乾燥粉末 1 kg のメタノールエキスを酢酸エステルに転溶し, 1% 酢酸 500 ml で 2 回振盪して protopine, α -allocrypto-

*** 本化合物の命名は神戸女子薬科大学谷千秋教授の御了解のもとに行われたものである.

第2図 Sanguinarine (エトキシ体) の NMR スペクトル

pine を除く。次に5% 塩酸 50 ml と良く振盪すると着色塩が析出する。これを濾取して水に溶し、アンモニアアルカリ性とし、酢酸エステルで抽出すれば 0.85 g の固形物が得られる。これをクロロホルム 1 ml に溶しシリカゲル 30 g のカラムに吸着させクロロホルム・メタノール (99:1) 200 ml で溶出すると, sanguinarine, bocconine の混合物が得られる。次にクロロホルム・メタノール (99:2) 400 ml で溶出すると chelerythrine が得られる。

(i) **Chelerythrine** (エトキシ体) : 溶出液を5% アンモニア水と振盪し, 水洗乾燥後濃縮して得られる残渣をクロロホルム・エタノールより再結晶すれば, m. p. 200~202° の無色の結晶 0.12 g を得る。

分析値 $C_{23}H_{23}NO_5$ として,

計算値: C 70.21, H 5.85, N 3.50%.

実験値: C 70.26, H 5.41, N 3.70%.

TLC*; R_F 0.14 (黄色)

NMR**; 2.1~3.15 τ , cm (6 $\times$ arom-H); 4.0 τ , s (-O-CH₂-O-); 4.3 τ , s (-CH-O-); 6.0 τ , s, 6.09 τ , s (2 $\times$ CH₃O-); 6.29 τ , m (-O-CH₂-); 7.28 τ , s (N-CH₃); 8.83 τ , t (J=7.5 cps, -CH₃).

(ii) **Sanguinarine** (エトキシ体) : Sanguinarine, bocconine の混合フラクションを同様処理して得られる酢酸エステル残渣をクロロホルム・エタノールより再結

晶を繰返すと, m. p. 207~209° の無色結晶 0.16 g を得る。

分析値 $C_{22}H_{19}NO_5$ として,

計算値: C 70.02, H 5.07, N 3.71%.

実験値: C 70.20, H 4.79, N 4.15%.

TLC; R_F 0.49 (オレンジ色)

NMR; (第2図) 2.08~3.07 τ , cm (6 $\times$ arom-H); 3.88 τ , s (2 $\times$ -O-CH₂-O-); 4.42 τ , s (-CH-O-); 6.2 τ , m (-O-CH₂-); 7.22 τ , s (N-CH₃); 8.87 τ , t (J=7.5 cps, -CH₃).

(iii) **Bocconine** (エトキシ体) : 上記 sanguinarine の再結晶母液を再び濃縮後, 水飽和ベンゼン・酢酸 (99:1) 20 ml に溶し, 塩酸処理したアルミナ 80 g のカラムに吸着させ, 前記溶媒に5% になるようメタノールを加えた混合溶媒で溶出すると, bocconine は赤色帯となって流下する。このフラクションを同様処理すると, m. p. 224~226° の無色結晶 0.04 g を得る。

分析値 $C_{23}H_{21}NO_6$ として,

計算値: C 67.80, H 5.20, N 5.44%.

実験値: C 67.74, H 5.05, N 5.75%.

TLC; R_F 0.64 (赤色)

NMR; 1.7~3.4 τ , cm (5 $\times$ arom-H); 4.07 τ , s (2 $\times$ -O-CH₂-O-); 4.67 τ , s (-CH-O-); 6.15 τ , s (-OCH₃); 6.3 τ , m (-O-CH₂-); 7.36 τ , s (N-CH₃); 8.97 τ , t (J=7.5 cps, -CH₃).

2. 線虫試験 供試線虫は *Rhabditis* 及び *Panagrolaimus* 属でオートミル: 粉末酵母: 水=8:1:30 の培地で室温1週間繁殖させ後 27° の井水中に移す。絹篩で濾過し, 濾液を静置して上層を捨てる。新しい水で数回この操作を繰返して後ピペットで吸上げその1滴 (約500匹) を各濃度の薬物 2 ml の入ったシャーレ (内径4cm) に加え, 27°, 24時間後の死亡率をとった。死亡率は簡易顕微鏡下1視野中の数を回転計で数え, 総数で全く動かない線虫の数を割ったものの百分率である。

3. 抗菌試験: 抗菌力の測定は2段階に分けて行った。まず各成分の 400 r/ml を被検菌の流しこまれた寒天平板上のカップに注入後生じた阻止円の直径を測定して, 抗菌力のあるものにはさらに液体培地による稀釈試験で最低発育阻止濃度を調べた。培地組成は寒天平板, 液体培地共に細菌にあっては bouillon, 酵母では yeast 培地 (グルコース 1%, 酵母エキス 0.5%), 黴では potatosucrose 培地を使用し, 細菌では 37°, 24時間,

* シリカゲル G (0.25 mm); ベンゼン・酢酸エステル=2:1; 発色試薬なしでプレート上で着色する。

** JNM C-60 (60 Mc) を使用し, TMS を内部基準として重クロロホルム中で測定した。
s; singlet, t; triplet, m; multiplet, cm; complex multiplet.

第 1 表 *Rhabditis* 属に対する死虫率 (%)

試 料	50	100	150	200	250	300
	(r/ml)					
Chelerythrine	90	97	100	100	100	100
Sanguinarine	18	27	95	94	94	100
Bocconine	19	18	96	100	100	100

対照死虫率 1.6%

第 2 表 *Panaglolaimus* 属に対する死虫率 (%)

試 料	50	100	200	225	250
	(r/ml)				
Chelerythrine	36	60	98	100	100
Sanguinarine	21	20	100	100	100
Bocconine	20	75	83	100	100

対照死虫率 16%

酵母では 27°, 20 時間, 黴では 27°, 48 時間 incubate 後判定した.

要 約

(1) たけにぐさより抽出された sanguinarine, chelerythrine 及び新たに命名された bocconine は殺線虫作用を有し, これがたけにぐさに線虫の寄生しない原因のように考えられる.

(2) これら塩基は同時にある種菌に対して抗菌力を示した.

終りに御鞭撻をいただいた阿部所長, NMR を測定された大阪研究所小寺博士及び元素分析を担当された分析室の方々に感謝します.

(1) 谷 千秋, 高尾橋雄: 薬誌, 82, 755 (1962).

第 3 表 Cylinder plate 法による抗菌阻止円像の直径 (mm)

	Chelerythrine	Sanguinarine	Bocconine
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P	(13.0)	(11.6)	(10.0)
<i>Staphylococcus aureus</i> terashima	14.0	14.5	12.3
<i>Bacillus subtilis</i>	13.0	14.0	12.5
<i>Micrococcus flavus</i>	11.8	14.6	12.1
<i>Sarcina lutea</i>	12.6	12.1	12.0
<i>Escherichia coli</i>	10.7	10.4	8.9
<i>Proteus vulgaris</i>	(9.0)	(10.0)	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(11.6)	(8.5)	0
<i>Candida albicans</i> 3147	(11.0)	(10.0)	(10.0)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 607	11.5	9.4 (11.5)	(10.0)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Rv	(13.0)	(12.3)	(10.1)
<i>Trichophyton asteroides</i>	8.2	9.5	8.5
<i>Aspergillus niger</i>	8.2	8.2	0
<i>Xanthomonas oryzae</i>	(19.0)	(20.0)	(12.2)
<i>Piricularia oryzae</i>	(8.2)	13.0	12.0
<i>Guignardia larcina</i>	0	0	0
<i>Glomerella cingulata</i>	(8.2)	10.0	0

1) 試料濃度は 400 γ /ml

2) カッコ内の数字は静菌的阻止円の直径 (mm)

3) カップ (ステンレス製) の直径は 8.0 mm

第 4 表 希釈法による最低阻止濃度 (r/ml)

	Chelerythrine	Sanguinarine	Bocconine
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P	25	10	15
<i>Sarcina lutea</i>	10	5	7.5
<i>Bacillus subtilis</i>	10	<5	<5
<i>Piricularia oryzae</i>	75	50	50
<i>Xanthomonas oryzae</i>	>40	1.25	2.5