332. 上農義雄：イヌサフラン—品種の含有塩基について (報1報)

Colchicine 及び Substance F の分離

Yoshio Ueno: Alkaloids of Meadow Saffron. I. Isolation of Colchicine and Substance F.

(Research Laboratory, Takeda Pharmaceutical Industries, Ltd.*)

イヌサフラン (*Colchicum autumnale* L.) の有毒アルカロイド colchicine は 1820 年 Pellitier¹⁾ により本植物の球茎から無晶形で分離され、1884 年 Houdé²⁾, 続いて Zeisel³⁾, Merck⁴⁾ によつて結晶性に得られた。その後この植物の種子、球茎等の各部分の colchicine 含量、同属植物中の存否、抽出方法、精製法更に colchicine の化学構造等の諸問題について永年にわたつて多数の研究が報告された。1944 年 Ashley⁵⁾ は市販の colchicine をアルミナを用いる液体クロマトグラフィで容易に精製し得ることを発表し、1950 年 Santavy, Reichstein^{6,7)}, Santavy⁸⁾ は更に精密な液体クロマトグラフィを使用してそれまで研究されていなかった微量の副アルカロイドの分離を行い、種子からは colchicine の他に 4 種、球茎からは 9 種の副アルカロイドを分離した。

著者は武田薬工研究所、京都試験農園で栽培した白色花、園芸品種のイヌサフランの球茎を 9 月上旬採集、乾燥し材料とした。乾燥材料の粗末をメタノールで 5 回温浸し、抽出液を約 1/3 容量に濃縮放冷すると無色結晶が多量に析出するのでこれを濾取し、メタノールで洗い乾燥する。収量 2.5%。水・メタノールから再結晶すると mp 186~188° を示し、sucrose mp 184~186° と混融しても融点は降下しない。先の濾液、洗液を合せて濃縮し、メタノールを完全に除去して水製エキスをつくり、これを石油エーテルでふり、これに可溶性物質を除去した後、残留液をアンモニアアルカリ性としクロロホルムでふり、クロロホルム層を濃縮して得られる褐色シロップを水に溶かし、再び石油エーテルでふり可溶物を除去する。この水溶液をクロロホルムでふり、クロロホルムを濃縮するに褐色飴状の粗アルカロイドが得られる。収量 0.2%。

Santavy, Reichstein⁷⁾ が colchicine 系アルカロイドの分離に用いた方法に準じて上記粗製アルカロイドを約 10 倍の水に溶かし (pH 8.0 以上)、これに 0.1N 塩酸を注意して加え pH 2.5~3.5 とし、クロロホルムと共にふり、クロロホルム層を脱水し、適当に濃縮し Ashley 法⁵⁾ に従い、予めクロロホルムで充填した活性アルミナ塔に注ぎ、クロロホルム・メタノール (98:2) で展開し、液体クロマトグラムをつくつた。目的物は初めの約 200 cc の流出液中に殆んど展出される。ここに得たクロロホルムを減圧下に留去し、褐色のシロップを酢酸エチル又は酢酸エチル、エーテル混液で再結晶すると mp 152~154° の無色針状結晶となる。収量 0.034%。分析値は $C_{20}H_{25}O_6N$ に一致し Merck の colchicine を精製⁵⁾ して得た mp 153~155° の標品と混融するも融点降下しない。又この結晶を希塩酸で加水分解して得た mp 175~176° の黄色針状結晶は $C_{21}H_{23}O_6N$ に一致し、真正の colchicine から同様にして造つた mp 175~176° の colchicine と混融するも融点降下しない。

上記の酸性溶液をアンモニアアルカリ性となし、クロロホルムでふり、クロロホルム層を留去して得られる淡黄色シロップを酢酸エチル又はアセトンから再結晶すると mp 183~185° の淡黄色プリズム結晶が得られる。収量 0.114%。

これ等のアルカロイドを再結晶した母液ならびにアルミナに吸着された部分に他の微量副アルカロイドの存在が予想されるが、この検討はこれを他の機会にゆずる。

この mp 183~185° の物質は、1950 年 Santavy⁸⁾ によつて初めて球茎中に発見され、その後果皮、葉⁹⁾ から

* Juso-nishino-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka.

1) P. J. Pelletier, J. Caventou: Ann. Chim. et Phys. **14**, 69 (1820).

2) A. Houdé: Compt. rend. **98**, 1442 (1884). 3) S. Zeisel: Monatsh. **7**, 557 (1886).

4) E. Merck: Pharm. Ztg. **61**, 509 (1916). 5) J. N. Ashley, J. O. Harris: J. Chem. Soc. **1944**, 677.

6) F. Santavy, T. Reichstein: Helv. chim. Acta **33**, 1606 (1950).

7) F. Santavy, T. Reichstein: Pharm. Acta Helv. **27**, 71 (1952).

8) F. Santavy: Ibid. **25**, 248 (1950).

9) F. Santavy: C. A. **46**, 10545 (1952); Ceskslov. farm. **1**, 239 (1952).

も分離され、substance F と命名された新アルカロイドと Table I に示すように諸性状、呈色反応など良く一致するから同一物質と推定される。なお colchicine も表示する。

Santavy, Reichstein⁷⁾ はイヌサフラン球茎中の colchicine と副アルカロイド特に substance F との含量の季節的变化を詳細に研究し、4 月には colchicine の約 2 倍の含量であるが、他の季節では colchicine が主アルカロイドであることを明らかにしている。著者の場合秋期にもかかわらず F が colchicine の約 3 倍量取得されたことは品種によるのか、生育地の自然的条件によるものか興味深い。

Table I

	Author : Substance F	Santavy : Substance F	Colchicine
m.p.	183~185°	184~186°	154~156°
Formula	C ₂₁ H ₂₅ O ₅ N	C ₂₁ H ₂₅ O ₅ N	C ₂₂ H ₂₅ O ₆ N
OCH ₃	4	4	4
Mol. wt. (Rast)	373	361±12	—
[α] _D (in CHCl ₃)	-125°	-127°	-119°
Appearance	pale yellow prisms	pale yellow prisms	colorless needles
$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (log E)	245 mμ (4.22) 350 mμ (4.08)	244 mμ (4.56) 352 mμ (4.28)	245 mμ (4.21) 350 mμ (4.08)*
Color reactions			
H ₂ SO ₄	yellow	yellow	yellow
H ₂ SO ₄ +HNO ₃	violet	—	violet
FeCl ₃	yellow	yellow	yellow
FeCl ₃ after warming with dil. HCl	yellowish green	yellowish green	yellowish green

* 著者の測定。

本研究に当り終始御指導と御鞭撻を賜った朝比奈泰彦博士、研究所長桑田 智博士に謹んでお禮を申し上げる。材料について御援助を賜った京都試験農園八田氏、沔紙イオン泳動を実施された増田氏、光学的測定を担当された神尾氏、伊藤氏、分析を実施された菅、鈴木、小林、中田の諸氏にお禮を申し上げる。

実 験 の 部

粗製アルカロイドの製法 当研究所京都試験農園で栽培された白色花、園芸品種のイヌサフラン *Colchicum autumnale* L.) の球茎を9月上旬採集し、薄く切り 50° 以下で迅速に乾燥。この粗末 5 kg をメタノール 4 L で 2 時間温浸し、更に 20 時間室温で時々ふりまぜて抽出。この操作を 5 回反覆し、メタノール抽出液を合併し混圧下で約 1/3 容量に濃縮し、数日間放冷すると器壁に無色結晶が多量に析出。これを沔取しメタノールで洗い乾燥すると 125 g (2.5%) になる。この結晶を水・メタノールから再結晶し mp 186~188°, sucrose, mp 184~186° と混融し融点降下せず。

沔液と洗液を合わせて更に濃縮し、これに水 500 cc を加え混圧下に濃縮。この操作を 3 回反覆しメタノールを完全に除去し、得られるエキスを水に溶解して約 600 cc とし、石油エーテル 100 cc ずつで 5 回ふり、可溶物を除く。水溶液に残存する石油エーテルを減圧下に留去し、アンモニア水 40 cc でアルカリ性となし、クロロホルム (酸性物質を含有しない精製品、以下の実験も同様) 100 cc ずつで 10 回ふる。クロロホルム層を濃縮して得た褐色シロップに水 150 cc を加え、沸騰水浴上僅かに減圧にして濃縮し、クロロホルムを除き、この水溶液を 30 cc ずつの石油エーテルで 3 回ふり、再び可溶物を除き、水溶液中の石油エーテルを減圧下に留去。水溶液を 30 cc ずつのクロロホルムで 5 回ふり、クロロホルム層を少量の水で洗った後濃縮して褐色のエキスを得。このエキスを 10 cc のアルコールに溶かし減圧下に濃縮しクロロホルムを除く。この操作を更に 2 回行い完全にクロロホルムを留去して褐色シロップ状の粗製アルカロイド約 9 g を得。

Colchicine 上記 9 g の粗製品を 100 cc の水に溶解し (pH 8.0 以上) 氷冷しながら注意して 0.1 N 塩酸を滴加すると約 200 cc で pH 2.5 となる。この溶液を直ちにクロロホルム 50 cc ずつで 7 回ふる。クロロホルム層を少量の水で洗い乾燥、濃縮し、アルコール少量に溶かし減圧下に濃縮。この操作を 3 回繰返しクロロホルムを完全に除く (以下クロロホルムで取扱った時は常にこの方法でクロロホルムを除去したので、爾後この操作を記載しない)。かくして褐色シロップ状の中性部分 2.5 g 得。これをクロロホルム 50 cc に溶かし、予じめクロロホルムで充填したアルミナ塔 (2 cm×20 cm) に注ぎ、クロロホルム・メタノール (98:2) で展開すると初期の展液約 200 cc 中に目的物が含まれ、アルミナの上部には褐色と黄色の吸着層が残存する。

展出液を減圧下に濃縮し残留物をアルコールに溶かし濃縮してクロロホルムを除くと褐色のシロップ 2.0 g を得。これを酢酸エチル・エーテル (1:1) から再結晶し, mp 147~150° の無色針状結晶。収量 1.7 g (0.034%)。更に酢酸エチルから再結晶し mp 152~154°, 真正の colchicine, mp 152~154° と混融し融点降下せず。C₂₂H₂₅O₆N 計算値 C 66.15, H 6.31, N 3.52, 実験値 C 65.85, H 6.38, N 3.38。

Colchicine 上記の colchicine 0.3 g を 0.7% 塩酸 6 cc と水浴上 1 時間加温すると淡黄色結晶が析出。氷冷後これを濾取, 水洗, 乾燥し収量 0.18 g。酢酸エチル・エーテルから再結晶し mp 175~176° の黄色針状結晶, 真正の colchicine mp 176~177° と混融し融点降下せず。C₂₁H₂₅O₆N 計算値 C 65.42, H 6.02, N 3.64, 実験値 C 65.74, H 6.05, N 3.43。

Substance F さきの pH 2.5 の酸性溶液およびクロロホルム層の水洗液を合し, アンモニア水 5 cc でアルカリ性となし, 50 cc ずつのクロロホルムで 7 回ふり, クロロホルム層を少量の水で洗い, 無水硫酸ナトリウムで乾燥 (以下乾燥には無水硫酸ナトリウムを使用), 濃縮しアルコールでクロロホルムを除去し黄色のシロップ 6.3 g を得。これに酢酸エチル 10 cc を加えて加温すると結晶化。エーテル 10 cc を加え, 濾取すると mp 181~182° の淡黄色プリズム結晶 5.7 g (0.114%) が得られ, 酢酸エチル又はアセトンから再結晶すると mp 183~185° となる。

本物質は酢酸エチル, アルコール, メタノール, 水, アセトン, クロロホルムに可溶, 石油エーテル, エーテルに不溶。

呈色反応 1) 物質 1 mg に硫酸 5 滴を滴加すると橙黄色, これに微量の硝酸を滴加すると数秒間に緑青色→紫色→赤色→黄色に変化。colchicine も同様に呈色) 2) 水溶液は 2% 塩化鉄溶液 1 滴で黄色を呈する。3) 物質 1 mg を 4% 塩酸 3 cc に溶かし, 30 分間沸騰水浴上に加温し, 冷後塩化鉄 1 滴を加えると黄緑色を呈する。[α]_D²⁰: -124.6° ± 0.5° (c=1.065 in CHCl₃)。C₂₁H₂₅O₅N 計算値 C 67.90, H 6.78, N 3.77, -OCH₃ (4) 33.41, 分子量 371.42。実験値 C 68.13, 68.22, H 6.89, 7.03, N 3.72, 3.78, -OCH₃* 33.08, 33.12, 33.05, 分子量 (Rast 法) 373。

武田薬品工業株式会社研究所

Summary

The corm of a garden variety meadow saffron, *Colchicum autumnale* L.; of white flower, was harvested during the early part of September. From the dried corm were extracted 0.114% of an alkaloid of colchicine series which Santavy⁸⁾ designated as Substance F, 0.034% of colchicine, and 2.5% of sucrose.

(Received September 1, 1953)

* メトキシ基の測定は加熱を徐々に始めないと 3 個と 4 個の中間の数値が出る。