Summary

1) Testosterone and its esters show sensitive blue coloration with 0.1% ferric chloride in 70% sulfuric acid and 3% acetic acid, up to 0.2 mg.

2) This coloration is extremely stable compared to coloration reactions of steroids in general.

3) Testosterone and its esters, within a definite concentration range, show linearity and parallelism in their coloration, which are accurate and can be used for colorimetry.

4) Application of this colorimetry to commercial males hormone injections gave much more simple and accurate means of determination than the existing bioassay and the fiducial limit of error was found to be in 90~110% range.

(Received July 27, 1955)

363. 刈米達夫*, 内藤俊一**: ウマノスズクサ成分の研究 (第1報)

Tatsuo Kariyone and Shun-ichi Naito: Studies on the Components of *Aristolochia debilis*. I.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyoto*, and
Kyoto College of Pharmacy**)

ウマノスズクサ *Aristolochia debilis* Sieb. et Zucc. の根は青木香と称し木香に代用して芳香性健胃薬とし家庭薬に用いられる。その成分に就いては未だその報告を見ない。著者等はウマノスズクサ根から新結晶性物質を得、その性状の一部を知ることが出来た。

ウマノスズクサの根末を水蒸気蒸留すると微かに芳香を有する淡赤褐色精油約 1%を得るがその成分は研究しなかつた。その諸恒数は次の如くである。比重 d_{20}^{20} 0.9969, 酸数 2.955, 鹼化数 87.89, $[\alpha]_D^{25}$: +12.85° (エタノール), n_D^{25} 1.51184, メトオキシ数 0.

根末をベンゼンで温浸して得た油状物は放置すると鮮黄色結晶 mp 268°(decomp) を析出。分子式は $C_{15}H_{14}O_6$ に一致し、欧州産 *A. clematitis* L. の成分として記載されている *Aristolochiagelb*¹⁾ と同一物であると思われる。これを減圧蒸留に付し次の留分を得た (Table 1)。

Table I

No.	b.p. (°C)	Yield (%)	Color	C%	H%
1	85~100	2.4	yellow	—	—
2	100~120	4.9	"	85.07	11.37
3	120~140	1.5	yellow brown	—	—
4	140~155	8.6	"	78.04	11.27
5	155~175	11.8	red brown	—	—
6	175~190	8.9	"	75.07	10.20
7	residue				

bp₄ 155~175° の留分についてフェノール類及びアルデヒド類の検査を行つたが両者共存存在しない。bp₄ 140~175°, bp₈ 170~190° の留分を合し、寒剤で冷却すると結晶を析出する。石油エーテルから再結晶すると mp 101°

* Yoshida-konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto.

** Yamashina-misasagi, Higashiyama-ku, Kyoto.

1) C. Wehmer: "Die Pflanzenstoffe" I, 263.

無色針状結晶となる。本物質を著者等はアリストロン (aristolone) と命名した。

アリストロンは微かに樟脳様香気を有し、昇華性である。ベンゼンに易溶、アセトン、エタノール、メタノール、クロロホルム及び酢酸エチルに可溶である。元素分析並びに分子量測定の結果は $C_{15}H_{24}O$ に一致する。 $[\alpha]_D^{25}$: -339.4° (エタノール), $FeCl_3$ 反応及び Legal 反応共に陰性である。氷酢溶液に臭素或いは $KMnO_4$ 溶液を加えても即時には脱色せず、テトラニトロメタンにより呈色せず、故に二重結合を持たない。

アセチル体を与えない。オキシム mp $144\sim 146^\circ$, セミカルバゾン mp 226° , 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン mp $170\sim 171^\circ$ を与える。従つてアリストロンは飽和セスキテルペンケトンに属する。ヨードホルム反応は陰性、イソニトロゾ化合物及びベンチリデン化合物を与えない。1~2 倍量の Se と $260\sim 330^\circ$, 25~30 時間加熱しても、その反応成績体は picrate 及び styphnate を与えない。アリストロンが $C_{15}H_{24}O$ で飽和セスキテルペンケトンであるとするれば三環性でなければならない。三環性セスキテルペンは Se 脱水素で芳香化し難いのが普通である²⁾。アリストロンが若し A 型 (Fig. 1) 即ちシクロプロパン環を有すれば接触還元で容易に水素 1 分

Fig. 1

子を吸収する筈である。sabinene³⁾, sabinol⁴⁾, thujane⁵⁾, isocholesterol⁶⁾, hinokiic acid⁷⁾ 等その例は多い。B 型即ちシクロブタン環を有すれば脱水素触媒で開環する⁸⁾。

一方酸に対する態度は、シクロプロパン環は希硫酸 [例, サビナケトン (I) $\rightarrow$ 4-isopropyl-4⁵-cyclohexen-1-one (II)⁹⁾] または氷酢溶液で 50% 硫酸 [例, ヒノキ酸 (III) $\rightarrow$ ビシクロイソヒノキ酸 (IV)¹⁰⁾] と処理すると多くの場合開環する。シクロブタン環の時も開環は容易であつて pinene¹¹⁾ (V) $\rightarrow$ sobrerol (VI) 及び verbanone¹²⁾ (VII) $\rightarrow$ o-menthenone (VIII) 等は希硫酸で開環する。C 型 (Fig. 1) のシクロペンタン型であれば、Se 脱水素に対して抵抗が大である¹³⁾。また酸に対しても抵抗大で camphor (IX) は濃硫酸と $105\sim 110^\circ$ に加熱し

て始めて carrenone¹⁴⁾ (X) になる。また camphane (XI) も大なる安定性を有し、発煙硫酸と 180° に加熱しても侵されない。アリストロンは酸化白金を触媒として接触還元しても開環しない。Se 脱水素しても芳香化し難い点から分子中にシクロペンタン環を有する可能性が大となる。これを更に確かめるために硫酸に対する態度を検討した。アリストロンは既に述べたシクロプロパン或いはシクロブタン環を開く条件では原料を回収するのみで硫酸に対して極めて安定である。シクロペンタン環を開く条件即ち濃硫酸と共に $105\sim 110^\circ$ に加熱すると開環したと思われるイソアリストロン (XII) を得た。これは恐らく双環性であつて、これを $LiAlH_4$ でケト基を還元して後、Se 脱水素して炭化水素アリストリンを得た。mp $134\sim 135.5^\circ$ 橙黄色針状結晶性の picrate を生じ、その分析値は $C_{15}H_{18}$ の picrate に近い。 $C_{15}H_{18}$ のナフタリンで picrate mp $134\sim 135.5^\circ$ なるものは文献に記載がない。

3) Richter, Wolff, Presting: Ber. **64**, 871(1931).

4) Henderson, Robertson: J. Chem. Soc. **123**, 1715(1923).

5) Zelinski, Kasansky: Ber. **60**, 1098(1927).

6) Wellis: J. Am. Chem. Soc. **59**, 137(1937); Ford: Ibid. **60**, 413(1938).

7) 奥田: 本誌 **72**, 705(1952).

8) N. D. Zelinsky, R. J. Lewina: Ann. **476**, 60(1929).

9) O. Wallach: Ibid. **359**, 266(1908); F. W. Semmler: Ber. **35**, 2045(1902).

10) 奥田: 本誌 **72**, 703(1952).

11) N. Prileschajew: Ber. **42**, 4814(1909).

12) H. Wienhaus, P. Schumm: Ann. **439**, 23(1924).

13) Ruzicka: Helv. Chim. Acta **18**, 676(1935); **19**, 424(1936).

14) O. Wallach: Ann. **314**, 369(1900); Fr. Fichter, W. Langguth: Ibid. **314**, 371(1900).

アリストロンはアセトンまたは氷酢溶液で温時 KMnO_4 及びクロム酸に対し安定である。この事実は fenchone¹⁵⁾ (XIII), camphenilone¹⁶⁾ (XIV) 等が KMnO_4 に安定で HNO_3 に不安定であるのに類似する。アリストロンを硝酸と 65° に加温すると結晶性の分解酸を得た。既にアリストロンのケト基に隣する活性メチレンは存在しないことを述べた。fenchone (XIII) の如き位置にあるケト基は NaNH_2 を作用すると酸アミド, fencholamide¹⁷⁾ (XV) を得る。この反応をアリストロンに應用すると酸アミドに相当する物質を得たので、この物質をエタノール性カリ液で鹼化して遊離の酸に導いた。石油エーテルから再結晶すると mp $62\sim 63^\circ$ の鱗片状結晶 aristolonic acid (XVI) を得る。アリストロンはヨードホルム反応陰性であるから環状ケトンであり而も赤外線吸収スペクトル (Fig. 2) のケト基吸収が 6.00μ にあるので 6 員環状ケトンである。

以上の事実を総合し、イソプレン法則に適合するアリストロン (XVII) の構造式を考えると 3 式 (A, B 及び C) が予想される。

Fig. 2

実験の部

ウマノスズクサ根の水蒸気蒸留 根末 (風乾) を同量の粗穀と混じて均一に分布し、水蒸気蒸留すると 10 時間で淡褐色精油を得。収量 $1\sim 1.1\%$ 。

ウマノスズクサ根のベンゼン抽出 根末をベンゼンで 40~50 分間水浴上で温浸する。温時にベンゼン層を分離、3~4 回抽出をくり返してベンゼン層を集めベンゼンを留去。

a) Aristolochiagelb 残渣は放置すると黄色結晶析出。氷酢より再結晶すると鮮黄色結晶 mp 268° (decomp) を得。収量 (根末に対して) 0.0005%, $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ 計算値 C 62.07, H 4.83, 実験値 C 62.34, H 4.69。

b) Aristolone 残渣から上記結晶を濾去した母液は減圧蒸留すると精油を得。収量 (根末に対し) 3.4%, bp₄ $140\sim 175^\circ$ 及び bp₅ $170\sim 190^\circ$ の留分を強冷すると結晶を析出。石油エーテルから再結晶 aristolone mp 101° (無色針状結晶) を得。粗結晶の収量は原料根末に対し約 0.05% である。 $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ 計算値 C 81.81, H 10.90, 実験値 C 82.10, H 10.62。分子量, 計算値 216, 実験値 208。(氷点降下法, 溶媒石炭酸)。

Aristolone oxime アリストロン 1 g, エタノール 20 cc 塩酸ヒドロキシルアミン 2 g, 酢酸ソーダ 2 g を水浴上加温, 冷後水を加えて析出する結晶を 50% エタノールから再結晶。mp $144\sim 146^\circ$ 無色柱状晶 0.6 g を得。 $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{ON}$ 計算値 N 5.95, 実験値 N 6.28。

Aristolone semicarbazone アリストロン 0.5 g をエタノール 3 cc に溶解し塩酸セミカルバジド 0.6 g, 酢酸ソーダ 0.6 g 及び水 3 cc の溶液を加え一夜放置し析出する結晶を分離。50% エタノールから再結晶。mp 226° 。 $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{ON}_3$ 計算値 N 15.16, 実験値 N 15.32。

Aristolone 2,4-dinitrophenylhydrazone アリストロン 0.3 g をエタノール 6 cc に溶解し, 2,4-dinitrophenylhydrazine 0.3 g, 50% H_2SO_4 10 cc 及びエタノール 5 cc を加え水浴上で僅かに加温, 一夜放置後希硫酸を加え析出する結晶を充分水洗後希アセトンから再結晶, 深赤色針状結晶 mp $170\sim 171^\circ$ を得。 $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{N}_4$ 計算値 C 63.00, H 7.00, N 14.00, 実験値 C 62.82, H 6.62, N 14.33。

Isoaristolone アリストロン 20 g を 98% H_2SO_4 80 g と油浴上強く攪拌しながら $105\sim 110^\circ$ 50 分反応。

15) 加藤 “テルペン” 下巻 573 頁。

16) S. Nametkin: Ann. 438, 193(1924)。

17) F. W. Semmler: Ber. 39, 2578(1906)。

冷後反応液に氷水を加えて希釈し水蒸気蒸留を行うと未反応のアリストロンと同時に帯赤色油状物質が留出。両者の分離は camphor と carwenone の分離¹⁴⁾ が困難であるのと同様減圧蒸留では分離困難である。留液はエーテル抽出しエーテルを留去。エーテルによりアルミナクロマトを行うとアリストロンとイソアリストロンを分離出来る。収量 9 g。減圧蒸留すると bp₅ 120~122° 微黄色液体を得。C₁₅H₂₄O 計算値 C 81.81, H 10.91, 実験値 C 82.04, H 10.58。

Aristolin LiAlH₄ 2 g を無水エーテル 250 cc に溶解し、イソアリストロン 4 g の無水エーテル溶液を滴下、一夜放置後 30 分加温して反応を完了させ、希硫酸で分解、エーテルで抽出。エーテル留去して還元成績体 4 g を得。本物質を Se 4 g と共に 280° で 5 時間、300~310° 13 時間、320~335° 10 時間加熱。冷後エーテルで抽出。エーテル層は希アルカリで洗い、水洗してエーテル留去。残渣は一旦減圧蒸留 (18 mmHg) して、留液を常圧で更に蒸留する。bp 220~240° のナフタリン臭のする留分 (無色液体) 0.6 g を得る。picrate は無水エタノールから再結晶、橙黄色針状結晶 mp 134~135.5° を得。C₂₁H₂₁O₇N₃ 計算値 N 9.83, 実験値 N 9.98。styphnate は無水エタノールから再結晶、mp 128~130° 黄色針状結晶を得。僅少につき更に精査することは出来なかつた。

Aristolone のオゾン分解 アリストロン 10 g を CHCl₃ 100 cc に溶解し、3.2~3.5% オゾン含有の酸素を 20 時間導入。CHCl₃ を減圧留去後水で分解して水蒸気蒸留。留液には揮発性酸及びジメドンと作用する物質は存在しない。留液に 2,4-dinitrophenylhydrazine の希硫酸溶液を加えると黄沈を生ず。アセトンから再結晶、mp 123.5~124.5° C₉H₁₀O₄N₄ 計算値 C 45.37, H 4.20, N 23.53, 実験値 C 45.68, H 4.47, N 23.96。本物質はアセトン-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン mp 124.5° と混融するも融点降下せず。水蒸気蒸留残渣から未反応アリストロン mp 101° 2 g を回収。

Aristolonic acid アリストロン 10 g を無水ベンゼン 20 cc に溶解し、NaNH₂ 末 2 g を加え水浴上で攪拌しつつ 4 時間加温。冷後水を加え析出するアミドを苛性カリ 4 g 及びエタノール 50 cc と共に 5 時間加温鹼化。エタノール留去、水を加えてエーテル抽出して非酸性物質を除去、水層は塩酸性となし析出する結晶を石油エーテルから再結晶、mp 62~63° の鱗片状結晶を得。この元素分析値については検討中である。

京都大学医学部薬学科, 京都薬科大学

Summary

Root powder of *Aristolochia debilis* was extracted with benzene and the crystalline component thereby separated was designated aristolone. Aristolone, m.p. 101°, C₁₅H₂₄O, is a saturated sesquiterpene ketone, gives negative iodoform reaction, and does not form isonitroso or benzylidene compound. From its analytical data, aristolone must be tricyclic. Aristolone does not give naphthalene derivative when heated with selenium. Isoaristolone, obtained by treating aristolone with sulfuric tricyclic acid, was reduced with lithium aluminum hydride and then heated with selenium, by which a hydrocarbon, aristolin, C₁₅H₁₈, was obtained. Its picrate, m.p. 135.5°, is a new naphthalene derivative. From its behavior to selenium, sulfuric acid, and sodium amide, and the fact that it is a six-membered cyclic ketone, its structural formula was assumed to be either A, B, or C (XVII).

(Received July 29, 1955)