66.62; H, 5.28. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ $m\mu$ (log ϵ): 263 (4.70), 312 (4.12), 324 (4.17), 359 (3.49), 377 (3.56).

6-Ethoxy-3,4,8-trimethoxyphenanthrene (VI) 上記酸 0.07 g., quinoline 2.8 ml., Cu 粉末 0.14 g. から常法により脱炭酸して得た生成物を MeOH から再結晶, m.p. 106~107°. 淡赤色針状結晶 0.04 g. を得. $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4$. *Anal.* Calcd.: C, 73.06; H, 6.45. Found: C, 73.00; H, 6.52. 本物質は ethylhasubanol m.p. 105~106° と混融, 融点降下を認めず同一物質であることを確認した.

本研究にあたり終始御指導をいただいた京都大学教授 富田真雄博士, 御激励を賜った本学学長 藤田 穆博士, IR スペクトルを撮られた京都大学薬学部 町田勝之輔, 浜中郁子の両氏, IR スペクトル, UV スペクトルを撮られた本学 城戸嘉寿子, 是永純子の両学士, 元素分析を担当された京都大学元素分析センター 穂積啓一郎博士, 故岩田秀子氏ならびに協力者諸氏, 御助言を賜った東京理科大学薬学部 榎原仁作博士の諸氏に厚く御礼申し上げます.

第一薬科大学, 京都大学薬学部

〔薬 学 雑 誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
83 (10) 996 ~ 999

UDC 547.94 : 582.675.4

富田真雄, 井深俊郎: 防已科植物アルカロイド研究 (第203報^{*1}) 台湾産

ハスノハカズラ *Stephania japonica* MIERS のアルカロイド

その 1 第3級塩基の分離

Masao Tomita and Toshiro Ibuka: Studies on the Alkaloids of Menispermaceae Plants. CCIII. Alkaloids of Formosan

Stephania japonica MIERS. (1). The

Isolation of Tertiary Bases.

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University^{*2})

Basic components in the root and terrestrial portion of Formosan *Stephania japonica* MIERS (family Menispermaceae. Japanese name "Hasunohakazura") were systematically isolated. Metaphanine (IX), epistephanine (I), protostephanine (V), and stephanine (IV) were isolated as the non-phenolic tertiary bases, and hypoepestephanine (II) and bases tentatively designated as A, B, and C were isolated as the phenolic tertiary bases (cf. Table I). Hasubanonine (VII), contained in the Japanese *Stephania japonica*, was not isolated or detected in the Formosan plant.

(Received June 21, 1963)

日本産ハスノハカズラ *Stephania japonica* MIERS (Menispermaceae) のアルカロイドに関しては 1924 年以来近藤等, 富田等により研究され, 今日までに 10 数種の塩基が単離されている. 現在までに本植物のアルカロイドについて構造の解明されているものは biscoclaurine 型塩基に属する epistephanine¹⁾ (I), hypoepestephanine^{10,2)} (II) および insularine^{10,3)} (III), aporphine 型塩基の stephanine⁴⁾ (IV), dibenz(d,f)azonine 型塩基

*1 第 202 報: 本誌, 83, 991 (1963).

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

- 1) a) 近藤, 真田: 本誌, 514, 1034 (1924); 541, 177 (1927); 549, 930 (1927); 近藤, 田中: 本誌, 63, 267, 273 (1943); 田中: 本誌, 64, 28 (1944). b) 富田, 国友: 本誌, 82, 734, 741 (1962).
- 2) 近藤, 野副: 本誌, 63, 333 (1943).
- 3) 富田, 菊池: 本誌, 77, 997 (1957); 78, 576 (1958); 富田, 上尾: 日化, 64, 64, 70, 77, 142, 147 (1943); 犬伏: 本誌, 72, 1223 (1952).
- 4) 富田, 白井: 本誌, 62, 381 (1942); 白井: 本誌, 64B, 208 (1944); 白井, 織田: 本誌, 76, 1287 (1956); C. Djerassi, K. Mislow, M. Shamma: *Experientia*, 18, 56 (1962); M. Shamma: *Ibid.*, 18, 64 (1962).

の protostephanine⁵⁾ (V) および protoberberine 型第4級塩基 steponine⁶⁾ (VI) があり, その他ある程度構造式の推定されている morphinan 型塩基の hasubanonine⁷⁾ (VII), homostephanoline⁸⁾ (VIII) および metaphanline⁹⁾ (IX) があり残る stephanoline,^{8b)} VIII-base^{8b)} および最近渡辺等¹⁰⁾ により単離された XII-base は未だ構造未知である. 以上現在までに単離され, 構造の解明, または推定, あるいは未知のものを含め 12 種にのぼっている.

最近著者等は台湾産ハスノハカズラ *Stephania japonica* Miers の地上部および根茎部を入手したので, 本邦産ならびに台湾産の含有塩基の比較, あるいは新塩基の探索などの目的で系統的に塩基の分離精製を試みた. 今回はそれらのうち主として第3級塩基の分離について報告する.

まず生薬のメタノールエキスを原料として, 常法により中性および酸性物質を除去し, 塩基性部分を非フェノール性, フェノール性および水溶性第4級塩基に分別した.

本植物の第3級塩基の分離は従来塩酸塩, 臭化水素酸塩, 硝酸塩あるいは硫酸塩などの溶媒に対する溶解度の差をたくみに利用して分離していたが, 富田, 渡辺¹¹⁾ 等によりアルミナクロマトグラフィーを行えば比較的容易に単離されることが判明している, 今回も実験の部に詳述したようにアルミナクロマトグラフィーによる分離, さらに pH を異にする buffer による抽出分離などを行なって塩基を分別単離した.

その結果今回台湾産ハスノハカズラより8種類の結晶性第3級塩基を単離した. これを表示すれば Table I のとおりである.

なお本邦産ハスノハカズラに含有される hasubanonine,⁷⁾ insularine,^{1b,3)} VIII-base,^{8b)} homostephanoline,⁸⁾ stephanoline^{8b)} および XII-base¹⁰⁾ は単離できなかったが, 本邦産には比較的含有量の少ない metaphanline が台湾産では主塩基と考えられ, phenolic base として新塩基と考えられる m.p. 171~173° の base A の含有量も比較的多く, また本邦産には含有されず新塩基と思われる base B および base C が少量ながら含有されるこ

5) 近藤, 武田: 乙卯研年報, **9**, 33 (1958); 武田: 乙卯研年報, **9**, 24 (1958); 近藤, 武田: 乙卯研年報, **7**, 30 (1956); **6**, 4 (1955); **5**, 1 (1954); **4**, 6 (1953); 近藤, 渡辺, 武田: 乙卯研年報, **3**, 7 (1952); 近藤, 中村, 藤井, 加藤: 乙卯研年報, **1**, 5 (1950); 近藤, 渡辺: 乙卯研年報, **1**, 1, 12 (1950).

6) 富田, 渡辺, 布施: 本誌, **77**, 275 (1957); 渡辺: 本誌, **77**, 278 (1957).

7) 近藤, 里見, 小寺: 乙卯研年報, **2**, 1 (1951); 里見: 乙卯研年報, **3**, 1 (1952); 近藤, 里見, 小寺: 乙卯研年報, **4**, 1 (1953); K. W. Bentley: *Experientia*, **12**, 252 (1956); 近藤, 里見: 乙卯研年報, **8**, 6 (1957); 渡辺, 松村: 第14回日本薬学会大会講演要旨, p. 287 (1961).

8) a) 富田, 渡辺: 本誌, **76**, 856 (1956). b) 近藤, 真田: 本誌, **48**, 1141 (1928).

9) 武田: 乙卯研年報, **11**, 61 (1960).

10) 渡辺, 松井: 第16回日本薬学会大会講演要旨, p. 211 (1962).

11) 富田, 渡辺, 奥井, 布施: 本誌, **76**, 686 (1956).

Table I.

		m.p. (°C)	Yield (g.) from 13 kg. of material
Non-phenolic base	metaphanin (IX) ⁹⁾	232~234	11.80
	protostephanine (V) ⁵⁾	73~74	5.00
	epistephanine (I) ¹⁾	203~204	1.40
	stephanine (IV) ⁴⁾	155~156	0.15
Phenolic base	hypoeipistephanine (II) ^{1b, 2)}	256~257	11.40
	Base A	171~173	8.00
	Base B	244~245	1.40
	Base C	227~228	0.10

とは興味深い。

なお上述の結晶性塩基以外にもなおまだ相当量の塩基性物質も含有するが、これらについては第4級塩基の検索とともに目下研究続行中である。

実 験 の 部^{*3}

塩基の抽出および分離 原料ハスノハカズラは中華民国台湾省高雄県旗山鎮で1962年初夏に採集されたもので、その地上部および根茎部を使用した。乾燥生薬 13 kg. を細切、MeOH エキスとし、褐色の MeOH エキス 5.47 kg. を得。このエキスを 3% AcOH を加え 50~55° で温浸、冷後濾過、残渣は 3% AcOH で反復抽出。濾液は合併 (約 10 L)。AcOH 酸性水溶液は 4~5 回 Et₂O 抽出し、Et₂O 可溶物を除去。ついで AcOH 水溶液を氷冷下に NH₃ アルカリ性とし Et₂O 抽出 (10~12 回)、ついで Et₂O 抽出後念のため CHCl₃ で抽出 (4~5 回) する (総第3級塩基)。第3級塩基を Et₂O および CHCl₃ 抽出した残りの NH₃ アルカリ性水層は AcOH および HCl で congo red 酸性とし、NH₄-reineckate 飽和水溶液 (60°) をもはや沈殿の生じなくなるまで加え、ここに生成する紫色の沈殿を濾取、水洗、風乾すれば粗第4級塩基-reineckate 約 300 g. を得。

第3級塩基の分離 総第3級塩基の Et₂O 溶液は 3% NaOH で数回抽出し、フェノール性塩基を NaOH 水層に転溶させる。3% NaOH 水溶液は合併、NH₄Cl を加えて NH₃ アルカリ性とし、ここに析出するフェノール性塩基を多量の Et₂O で反復抽出。Et₂O 抽出液は合併、無水 Na₂SO₄ で手早く乾燥し、Et₂O を留去すれば赤褐色油状粗製塩基 38.5 g. を得 (フェノール性塩基)。

一方フェノール性塩基を 3% NaOH で振り除去した非フェノール性塩基の Et₂O 液は水洗、無水 K₂CO₃ で乾燥後、Et₂O 留去すれば褐色油状粗製塩基 45.8 g. を得 (非フェノール性塩基)。

フェノール性塩基の分離 粗第3級フェノール性塩基は Me₂CO-Et₂O 混液を加えて放置すれば結晶析出。MeOH より再結晶。m.p. 256~257° の無色プリズム状結晶を得 (hypoeipistephanine (II))。ついで hypoeipistephanine を除去した母液は減圧下に溶媒を留去。残渣を CHCl₃ 800 ml. に溶解 pH 5.55 の buffer 液^{12, 13)} で反復抽出^{*4} (180 ml. × 12), buffer 層は合併 NH₃ アルカリ性とし CHCl₃ 抽出、無水 Na₂SO₄ 乾燥, CHCl₃ 留去, 残渣にベンゼンを加えれば結晶析出。ベンゼン-EtOH (10:1) 混液より再結晶。m.p. 171~173° の base A (仮称) を得。ついで CHCl₃ 層は pH 5.3 の buffer^{*4} 抽出し, buffer 層を常法処理。m.p. 171~173° の base A およびその母液より m.p. 253~254° の hypoeipistephanine (II) を得。つぎに CHCl₃ 層は pH 5.0 の buffer^{*4} で抽出, buffer 層を処理し, hypoeipistephanine (II) およびその母液より m.p. 227~228° の base C を少量得。ついで CHCl₃ 層は pH 4.6 の buffer^{*4} 抽出, buffer 層より hypoeipistephanine (II) および base C を少量得。ついで CHCl₃ 層は pH 2.8 の buffer^{*4} 抽出, buffer 層を処理し m.p. 244~245° の base B (仮称) およびその母液より m.p. 226° の base C 少量を得。以上 pH 5.55, 5.3, 5.0, 4.6 および 2.8 の buffer 抽出し, 各 buffer 層より結晶を除いた母液は同様な buffer extraction system を行ない, さらに hypoeipistephanine (II), base A, B および C を少量ずつ得た。

非フェノール性塩基の分離 粗製非フェノール性塩基に Et₂O を加え放置すれば結晶析出。m.p. 232~234° (再結晶溶媒 CHCl₃, CHCl₃-MeOH または CHCl₃-Me₂CO) の methaphanin (IX) を得。この母液は減圧下に Et₂O を留去, 残渣をベンゼンに溶解し, Brockmann Al₂O₃ 900 g. を湿式法でつめたカラム (6×40 cm.) で分離。展開溶媒としベンゼン, ベンゼン-Et₂O, ベンゼン-EtOAc, EtOAc, CHCl₃, CHCl₃-EtOH および MeOH の順に

^{*3} 融点はすべて未補正。測定は微量融点測定器 (柳本製作所) による。P.P.C. は東洋濾紙 No. 50 を使用し、展開溶媒は BuOH-AcOH-H₂O (63:10:27) を振盪後、3日間静置したものの上澄液を使用し、上昇法 spot の検出は Dragendorff 試薬。

^{*4} 文献¹³⁾ に準じて製した McIlvaine buffer¹²⁾ (double strength)。

12) T.C. McIlvaine: J. Biol. Chem., 49, 183 (1921)。

13) 渡辺, 内山, 安田: 本誌, 77, 807 (1957)。

使用. まずベンゼン展開部 fr. 1~33 より m.p. 73~74° (MeOH) の protostephanine (V) を得. protostephanine を除去した母液は常法により HCl 塩とし m.p. 272~273°(decomp.) の stephanine・HCl 塩を得. 本 HCl 塩を遊離塩基に導き m.p. 155~156° (Me₂CO) の stephanine (IV) を得. ついでベンゼンで展開される fr. 34~74 およびベンゼン-Et₂O 混液で展開される fr. 75~86 はいずれも少量ずつ結晶を得るが融点が明確でなく, いまだ混合物と思われる. ついでベンゼン-Et₂O で展開される fr. 87~102 は Multi-buffered paper chromatogram^{12,13)} (以後 MbPC と略) で pH 3.6 と 2.2 を通り抜ける 2 spots を与える. CHCl₃ に溶解 pH 3.6 の buffer*4 抽出, buffer 層を常法処理して m.p. 203~204° (MeOH) の epistephanine (I) を得. 一方 CHCl₃ 層はいかに処理しても結晶化しない. fr. 103~114 から同様に少量の epistephanine (I) を得. つぎにベンゼン-Et₂O で展開される fr. 115~128 も MbPC で pH 4.4, 3.8~3.6, 3.4 および 2.8~2.6 に spots を示す. これら各 spots に対応する buffer 抽出を行ない pH 3.8 の buffer 層より少量の epistephanine (I) を得たが他の buffer 層ならびに CHCl₃ 層よりの遊離塩基は目下結晶化しない. ついでベンゼン-AcOEt 混液で展開される fr. 129~148 は MbPC で pH 4.4, 3.8~3.6, 3.4, 2.8~2.6 およびそれ以上に spots を示し, 種々分離, 結晶化を試みても目下単一物質を得ず. ついでベンゼン-AcOEt で展開される fr. 149~180, AcOEt で展開される fr. 181~185, CHCl₃ で展開される fr. 186~187, CHCl₃-EtOH で展開される fr. 186 は常法により HBr 酸塩とし m.p. 235°(decomp.) (MeOH-Me₂CO) の metaphanin (IX) HBr 塩を得. ついで CHCl₃-EtOH および MeOH で展開される fr. 189~192, 193~198 はいずれもタール状で結晶化しない.

塩基の証明 Metaphanin (IX) 無色針状結晶 (CHCl₃, CHCl₃-MeOH または CHCl₃-Me₂CO). MbPC pH 2.8~2.6, P.P.C. Rf 0.40. m.p. 232~234°. $[\alpha]_D^{25} -41.1^\circ$ (c=1.32, CHCl₃). IR (CHCl₃) cm⁻¹: ν_{OH} 3480, $\nu_{C=O}$ 1730. C₁₉H₂₃O₅N Anal. Calcd.: C, 66.07; H, 6.71; N, 4.06; OCH₃, 17.95; NCH₃, 4.35. Found: C, 65.78; H, 6.99; N, 3.95; OCH₃, 18.34; NCH₃, 4.27. HBr 塩: m.p. 235°(decomp.) (Me₂CO-MeOH). 無色針状結晶. C₁₉H₂₃O₅N・HBr・ $\frac{1}{2}$ H₂O Anal. Calcd.: C, 52.42; H, 5.79; N, 3.22. Found: C, 52.26, 52.55; H, 5.49, 5.76; N, 3.00, 2.99. 標品の metaphanin⁹⁾ (IX) と IR (CHCl₃, KBr) を比較の結果同定確認. 得量 11.80 g.

Protostephanine (V) 無色柱状結晶 (MeOH). m.p. 73~74° (MeOH 付加体). P.P.C. Rf 0.63. $[\alpha]_D^{25} 0^\circ$ (c=1.18, CHCl₃). C₂₁H₂₇O₄N・ $1\frac{1}{2}$ CH₃OH Anal. Calcd.: C, 66.64; H, 8.21; N, 3.46. Found: C, 66.78; H, 7.94; N, 3.18. 本品を標品の protostephanine⁵⁾ (V) と IR (Nujol, KBr) を比較, 同定確認. 得量 5.0 g.

Epistephanine (I) 無色砂状結晶 (MeOH). m.p. 203~204°. $[\alpha]_D^{10} +183.5^\circ$ (c=0.706, CHCl₃). C₃₇H₃₈O₆N₂ Anal. Calcd.: C, 73.24; H, 6.31; OCH₃, 20.46. Found: C, 73.19; H, 6.57; OCH₃, 20.16. 本品を標品の epistephanine (I) と混融しても融点降下なく, IR (CHCl₃) も両者完全に一致し, 同定確認. 得量 1.4 g.

Stephanine (IV) 無色プリズム状結晶 (Me₂CO) m.p. 155~156° $[\alpha]_D^{15} -88.3^\circ$ (c=0.70, CHCl₃). C₁₉H₁₉O₃N Anal. Calcd.: C, 73.76; H, 6.19; N, 4.53. Found: C, 73.71; H, 6.38; N, 4.43. 本品と標品の stephanine⁴⁾ (IV) と混融しても融点降下なく, かつ IR (CHCl₃) も完全に一致. 得量 0.15 g.

Hypoepistephanine (II) 無色プリズム状結晶 (MeOH). m.p. 256~257°. $[\alpha]_D^{15} +183.8^\circ$ (c=1.41, CHCl₃). MbPC pH 4.6. C₃₆H₃₈O₆N₂ Anal. Calcd.: C, 72.95; H, 6.12; OCH₃, 15.71; NCH₃, 5.24. Found: C, 72.72; H, 6.08; OCH₃, 15.48; NCH₃, 5.16. 本品を標品の hypoepistephanine^{16,2)} の IR (CHCl₃) を比較の結果同定確認. 得量 11.40 g.

Base A (新塩基) 無色針状結晶 (ベンゼン-EtOH). m.p. 171~173° (ベンゼン付加体). MbPC, pH 5.0. P.P.C., Rf 0.305. 得量 8.0 g.

Base B 淡黄色砂状結晶 (Me₂CO-MeOH). MbPC, pH 3.0~2.8. P.P.C., Rf 0.54. m.p. 244~245°. $[\alpha]_D^{17} 0^\circ$ (c=1.28, CHCl₃). IR (CHCl₃) cm⁻¹: ν_{OH} 3540, $\nu_{C=C}$ 1651. 得量 1.40 g.

Base C 無色針状結晶 (MeOH). MbPC, pH 4.2~4.0. P.P.C., Rf 0.37. m.p. 227~228°. 得量 0.1 g.

終わりに臨み本研究にあたり終始御指導を賜った大阪大学薬学部 犬伏康夫教授に厚くお礼申し上げます. 原料植物ハスノハカズラの採集の労をとられた台湾省高雄医学院薬学系 盧 盛徳教授およびその協力者の方々に深謝いたします. また種々有益な助言を与えられ, 貴重な protostephanine のサンプルを分与された第一薬科大学 渡辺恭男教授, metaphanin のサンプルを分与された乙卯研究所 武田強二博士に感謝いたします. またエキス製造の労をとられた塩野義製薬株式会社 井川健二博士ならびに協力者諸氏, 元素分析を施行された本学元素分析センター 穂積啓一郎助教授, 故岩田秀子氏ならびに協力者諸氏, IR スペクトル測定を賜った本学 町田勝之輔博士, 花井一彦, 宮島美江の諸氏にあわせてお礼申し上げます.