〔薬 学 雜 誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
85 (12) 1090 ~ 1092 (1965)

UDC 581.19 : 582.912.4 : 547.814.5

安江政一, 板谷元一, 貝谷トヨ, 和田 章: ネジキ *Lyonia ovalifolia* SIEB. et ZUCC.
var. *elliptica* HAND.-MAZZ. の成分研究 (第5報^{*1}) 葉の Flavonoid
の産地による相違と Isoengelitin の単離について^{*2}

Masaiti Yasue, Motoiti Itaya, Toyo Kaiya, and Akira Wada: Studies on
the Constituents of *Lyonia ovalifolia* var. *elliptica*. V. On the
Difference of Flavonoid Components of the Leaves
supplied from Various Districts and
Isolation of Isoengelitin.

(Pharmaceutical School, Nagoya City University^{*3})

The leaves of *Lyonia ovalifolia* var. *elliptica*, supplied from the eastern part of Japan, contain astilbin and quercitrin, and those supplied from the western part lack astilbin, but there are some exceptions.

Small amount of isoengelitin, which seems to be an isomerised product of engelitin, was detected from the methanol extract of the leaves.

(Received March 20, 1965)

木村等¹⁾ および池田等²⁾ はネジキ葉の成分として quercitrin (quercetin-3-rhamnoside) を報告しているが、著者等³⁾ は愛知県産ネジキ葉のエーテルエキスをから無色の flavonoid 配糖体を単離して astilbin (dihydro-quercetin-3-rhamnoside) と同定した。その後抽出法をかえ、ベンゼン抽出後メタノールで抽出し、黄色の quercitrin 様物質を得た。これをペーパークロマトグラフィー (PPC) にかけてほぼ同大の二つの spot を得、それぞれ astilbin, quercitrin に一致することを認めた。そこで関東地方のネジキ葉を抽出したところ、やはり astilbin と quercitrin の両者を含んでいることが判った。メタノールで抽出すると両者は混合し、再結晶では分離できず、黄色をしているため astilbin の存在は見落とされやすい。その後京都産のネジキ葉を検索したところ astilbin はまったく含まれていなかった。ここにおいて astilbin の存否に興味を持ち、全国にわたって試料を集めて検索し、

Table I および II に示す結果を得た。だいたいにおいて中部以東に産するものは astilbin を含み、西部のものはこれを欠いている。この差は絶対的ではないようで、中間地帯と思われる近畿南部には astilbin の少ない (PPC における spot が小さく、塩化第二鉄による呈色がきわめてうすい) ものがあり、また 100 g. の試料では astilbin が検出できなかったのに 1.6 kg. 用いた場合かすかにその反応の認められたもの (呉産) もあった。直江津および静岡産は、astilbin を含むと予想していたが、この考えは当たらなかった。これらの差は採集時期の相違によるのではないかと考え、名古屋市内産のネジキについて早春の新芽と晩秋の褐変葉を PPC で調べた。両者ともほぼ同大の二つの spot を与えるから astilbin の存在は採集時期には関係がない。また土地の肥沃

Fig. 1. Locality of *Lyonia ovalifolia* var. *elliptica* containing Astilbin and Quercitrin (●), or Quercitrin Only (▲)

Dotted circle: trace of astilbin

^{*1} 第4報: 名古屋市立大学薬学部紀要, No. 8, 35 (1960).

^{*2} 薬学会東海支部例会講演 (1964年12月).

^{*3} Hagiya-cho, Mizuho-ku, Nagoya.

1) 木村, 西川: 東京都衛生研究所年報, 3, 4 (1952).

2) 池田, 鈴木: 生薬学雑誌, 14, 45 (1960).

3) 安江, 加藤: 本誌, 79, 403 (1959).

度との関係であるが, 名古屋市内の荒地産でも岐阜県下の肥沃な山地のものでともに二者を含んでいるから肥沃度に関係のないことも明らかである。なお, quercitrin は産地にかかわりなく含まれていた。

TABLE I. Leaves extracted; 100 g.

Producing district	Prefecture	A.	Q.
仙 台	宮 城	+	+
穴 原 ^{a)}	福 島	+	+
宇奈月	富 山	+	+
東白川	岐 阜	+	+
中津川	"	+	+
静 岡	静 岡	—	+
名古屋	愛 知	+	+
藤原岳	三 重	±	+
京 都	京 都	—	+
本 山	兵 庫	—	+
篠 山	"	—	+
呉	広 島	—	+
徳 島	徳 島	—	+
熊 本	熊 本	—	+

TABLE II. Material; 500~600 g.

Producing district	Prefecture	A.	Q.
桐 生	群 馬	+	+
直江津	新 潟	—	+
伊 吹	岐 阜	+	+
吉野口	奈 良	+	+
尾 鷲	三 重	+	+
串 本	和歌山	±	+
南 部	"	±	+
呉 ^{b)}	広 島	±	+
福 岡	福 岡	—	+

a) material 60 g.

b) material 1600 g.

A.: astilbin

Q.: quercitrin

つぎに有毒物質抽出の過程で副産物として単離した isoengelitin について述べる。葉のメタノールエキスを濃縮, 水を加えて析出物を汙別した水溶液は著しく泡立つため減圧濃縮は不可能に近い。これを避けるため, 暗褐色不透明な液に飽和塩基性酢酸鉛液を, 上澄液が橙褐色透明になるまで加えて汙過, 汙液を脱鉛濃縮すると flavonoid 混合物が沈殿する。有毒物質は汙液に移行するからこれをクロロホルム抽出すると, 操作中水層から結晶を含む黄褐色粘着性物質が析出する。これを集めてメタノールで洗うと白色粉末となる。一般有機溶媒に難溶, メタノールから再結晶したものは m.p. 288°, 分析値 $C_{21}H_{22}O_{10}$, 塩化鉄反応紫褐色, 塩酸マグネシウム反応赤色, $[\alpha]_D^{25} -263^\circ$, 加水分解により dihydrokaempferol と rhamnose を与える。富永⁴⁾の isoengelitin と混融, IR において一致した。本品は富永も指摘しているように engelitin の異性化によって生成する。そこで粗製 flavonoid 混合物を 50% メタノール溶液として長時間加熱したところ isoengelitin が少量得られた。本品のみが他の物質に比べて著しく難溶のため容易に単離できるのである。ゆえに本来含まれているものは engelitin であって操作中異性化し, isoengelitin として単離されたものと思う。engelitin の含量は少なく, 異性化処理して得た分をも加えて逆算すると粗 flavonoid 配糖体の約 1% となるがまだ単離に成功していない。

実 験 の 部^{*4}

ペーパークロマトグラフィー用試料の調製 Table I の試料: 乾燥葉 100 g. を冷 MeOH で 3 回抽出, 抽出液を合わせて 50 ml. まで減圧濃縮, 水を加えて 500 ml. として汙過, 汙液を EtOAc で 5 回抽出, EtOAc を留去, 残留物を試料とする。

Table II の試料: 乾燥葉 500~600 g. を C_6H_6 抽出, つぎにアセトン抽出, アセトンを回収, 残渣に水を加えて汙過, 汙液を EtOAc 抽出, EtOAc を留去して試料とする。展開溶媒 15% AcOH, 検出, UV および $FeCl_3$ 0.5% MeOH 溶液噴霧。

呉産のものでは材料 100 g. のとき astilbin (—) であった (Table I) が, 1600 g. を抽出した場合かすかに $FeCl_3$ による発色がみられた (Table II)。

Isoengelitin 岐阜県産乾燥葉 19 kg. を 4 回に分けて C_6H_6 抽出後 MeOH 抽出, 濃縮, 約倍量の水を加えて析出するタール様物質を除去, 暗褐色不透明な液に $Pb(OH)Ac$ 飽和液を加えてかきまぜ, 上澄が橙褐色透明となるにおよんで汙過, 汙液を H_2S 脱鉛, 5 L. に減圧濃縮, 析出する黄色沈殿 (150 g., PPC により astilbin と quercitrin に微量の quercetin 混入) を汙別, 汙液を $CHCl_3$ 抽出, 操作中水溶液から結晶を含む黄褐色鉛状物析出, これを集めて MeOH で洗浄, 水母液を長く放置するとさらに黄白色沈殿が得られる。MeOH で洗って

*4 融点はすべて未補正。

4) 富永: 本誌, 80, 1337 (1960).

白色とする。合計風乾収量 6 g. MeOH その他の有機溶媒に難溶、ピリジンに易溶、ソクスレー抽出器に入れ MeOH 抽出、熱時白色針晶析出、m.p. 288°(decomp.), FeCl₃ 紫褐色、Mg-HCl 赤色、 $[\alpha]_D^{25}$ -263.3° (c=1.00, C₆H₅N), C₂₁H₂₂O₁₀ (isoengelitin) Anal. Calcd.: C, 58.06; H, 5.07. Found: C, 58.00; H, 5.11. 富永の isoengelitin 標品と混融、IR 一致。

Isoengelitin の加水分解 試料 2.2 g., 10% H₂SO₄ 100 ml., EtOH 100 ml. 水浴上に 11 hr. 還流、黄色透明に溶解、減圧下で EtOH 除去、放冷、淡黄色物を含む無色針晶析出、汙別、汙液をエーテル抽出。エーテル残留物と結晶を合わせて 20% EtOH から再結晶、無色針状晶、m.p. 229~230°. C₁₅H₁₂O₆ (dihydrokaempferol) Anal. Calcd.: C, 62.50; H, 4.20. Found: C, 62.48; H, 4.23. エーテル抽出残液は、BaCO₃ で中和後 AcOH 酸性として減圧シロップ状とする。PPC Rf (rhamnose, 試料) 0.37, 0.38 (BuOH-AcOH-H₂O (4:1:1)) 0.64, 0.63 (水飽和フェノール)。発色剤フタル酸水素アニリン、残りの液に C₆H₅NHNH₂·HCl 2 g., NaOAc 3H₂O 3 g., 水 20 ml. の液を加え、1 hr. 煮沸、黄色結晶析出、希 MeOH から脱色再結晶、m.p. 180.5°. 市販の rhamnose から同様に作った rhamnosazone と混融、IR において一致。

粗製 flavonoid 配糖体混合物から加熱による isoengelitin の生成 85 g. の配糖体混合物に MeOH 400 ml. を加えたとだちに溶解する。水 400 ml. 加え (沈殿多量に析出) 水浴上に 18 hr. 沸騰、冷後析出するものなし。減圧で MeOH 除去、黄色沈殿析出、62 g., MeOH 200 ml. と処理、白粉が残る。3.5 g. 62 g. の回収混合物をさらに同様処理白粉 0.7 g. 白粉を合わせて MeOH から再結晶、無色針状晶、m.p. 288° isoengelitin と混融、IR において一致。水母液を減圧乾固すると泡立ったまま固化、粉末となり、吸水性強し、20 g., 水、MeOH に易溶、エーテルに不溶。

本研究において元素分析は本学 栗田美恵子氏、京都大学有機微量元素分析施設にお願いした。isoengelitin の標品は鳥取大学 富永敏夫博士に分与された。また各地産ネジキ葉はつぎの諸氏の御世話になった。仙台、東北大学 竹本常松教授、京都、武田薬品工業株式会社京都農園、兵庫県本山、同社研究所 富樫 誠氏、同県篠山、県立農科大学 佐々木豊作博士、徳島、徳島大学 東 丈夫、棚瀬弥一郎両教授、熊本、熊本大学 野々村 進教授、静岡、静岡薬科大学 上野 明氏、以上の諸氏に厚く感謝致します。

名古屋市立大学薬学部

薬 学 雜 誌
YAKUGAKU ZASSHI
85 (12) 1092 ~ 1094 (1965)

UDC 615.771.9-011 : 582.282.192.3.04

岡田正志, 蓮沼美恵子, 斎藤行生: *Gibberella saubinetii* による
Bufalin, Resibufogenin の 12β-水酸化

Masashi Okada, Mieko Hasunuma, and Yukio Saito: 12β-Hydroxylation
of Bufalin and Resibufogenin by *Gibberella saubinetii*.

(Tokyo Biochemical Research Institute^{*1})

Incubation of bufalin and resibufogenin with cultures of *Gibberella saubinetii* (MONT.)
Sacc. yielded 12β-hydroxybufalin and 12β-hydroxyresibufogenin, respectively.

(Received April 2, 1965)

Cardenolide に属する digitoxigenin, gitoxigenin などが *Gibberella saubinetii* (MONT.) Sacc. により 12β-水酸化を受けることはすでに報告した。¹⁾ bufadienolide に属する bufalin (I) および resibufogenin (III) についても *G. saubinetii* による変換を行なったのでその結果を報告する。

bufalin (I) の *G. saubinetii* による変換生成物はペーパークロマトグラフィー (以下 PC と略) により一種であることが示され、このものはアルミナクロマトグラフィーで結晶として分離された。本物質 (IIa) の元素分析値は monohydroxybufalin に合致し、アセチル化によりジアセタート (IIb) を与えた。 (IIa) および (IIb) の諸性状は、Tamm 等²⁾ が bufalin の *Fusarium lini* (BOLLEY) による変換で得、その構造を決定した 12β-hydroxy-

*1 2-593, Takadaminami-cho, Toshima-ku, Tokyo.

1) M. Okada, A. Yamada, M. Ishidate: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 8, 530 (1960).

2) Ch. Tamm, A. Gubler: Helv. Chim. Acta, 42, 473 (1959).