薬 学 雑 誌
YAKUGAKU ZASSHI
86 (12) 1202 ~ 1204 (1966)

UDC 581.19 : 582.936 : 547.94.02

198. 井上博之, 上田伸一, 下川徳明: せんぶり *Swertia japonica*MAKINO より得られる人工塩基について*¹

Hiroyuki Inouye, Shinichi Ueda, and Noriaki Shimokawa:

Artificial Bases from *Swertia japonica* MAKINO.(Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University*²)

The detailed investigation on the bases of *Swertia japonica* MAKINO was carried out. Extraction of the plant with chloroform using ammonia as usual gave, gentianine and a base of m.p. 129.5~130°. The structure of the latter was now elucidated. On the other hand, however, the extraction with methanol in the absence of ammonia as well as the treatment with methylamine gave none of these compounds. Thus, an evidence that both substances must be the artifacts produced during the extraction process was presented.

(Received July 11, 1966)

さきに Proskurnina 等¹⁾ は, *Gentiana kirilowi* のアンモニアアルカリ性ジクロロエタン抽出液を処理して 1 種のアルカロイドを得. これを gentianine と命名した. ついで Govindachari 等²⁾ は, この塩基の構造が 4-(2-hydroxyethyl)-5-vinyl-3-pyridinecarboxylic acid の lactone (I) であることを明らかにした. 本塩基はその後, 種々のリンドウ科植物³⁾をはじめ, マツムソウ科の *Dipsacus azureus*,⁴⁾ フジウツギ科の *Anthocleista* 属の諸植物^{5~7)}からも単離報告されている. また本邦においては, 柴田等⁸⁾ が邦産のリンドウ科諸植物についてこの塩基が広く分布することを認め, リンドウ, センブリなどより単離したことを報告している. 本塩基は一方 swertiamarin (II), gentiopicroin (III) などの配糖体と, 構造上密接な関係にあり, 久保田等^{9,10)} は, II あるいは III より化学的変換により I を得ることに成功している. 今回著者等は, これら物質の生合成研究を行なう予備実験として, 本邦産のセンブリについて gentianine の単離を試みたが, その際, 本物質が他に新たに単離された 1 塩基とともに, 抽出過程でアンモニア処理により生ずる人工産物であるとの結論に達したので, ここに報告する.

まずセンブリを従来の方法にしたがって, アンモニア水-クロロフォルムを用いて抽出し, 記載どおりの処理を行なったところ, m.p. 83° の gentianine (I) を 0.77% の収率で得た他, 新たに微量の m.p. 129.5~130° の塩基 (base A) (IV) を単離することができた. しかし, この抽出過程でアンモニア水を用いない場合には, I, IV は得られず, 薄層クロマトグラフィー (TLC) においてもそれらを検出することはできなかった. またアンモニア水の代わりにメチルアミン水溶液を用いたときも, やはりこれらは単離できず, TLC においてもこれらのいずれとも R_f 値の異なる数個の Dragendorff 試薬陽性のスポットを検出するに止まった. したがって, これらの物質はいずれもそのままの形では, センブリの植物体中に存在せず抽出過程でアンモニアの作用によって生ずる人工産物であることが明らかになった.

つぎに, base A (IV) の構造についてであるが, 本塩基は組成 C₉H₉O₂N で, マススペクトルは m/e 163 に親

*¹ 日本薬学会第 85 年年会 (1965 年 10 月 28 日 徳島) 発表.

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

1) N. F. Proskurnina: J. Gen. Chem. U. S. S. R., **14**, 1148 (1944).

2) T. R. Govindachari, K. Nagarajan, S. Rajappa: J. Chem. Soc., **1957**, 551.

3) E. Steinegger, T. Weibel: Pharm. Acta Helv., **26**, 259 (1951).

4) M. S. Rabinowitsch, R. A. Konowalowa: J. Gen. Chem. U. S. S. R., **18**, 1510 (1948).

5) D. Lavie, R. Taylor-Smith: Chem. & Ind., **1963**, 781.

6) M. Plat, M. Koch, A. Bouquet, J. LeMen, M. M. Janot: Bull. Soc. chim. France, **1963**, 1302.

7) R. Pernet, M. Dupoil, G. Combes: Bull. Soc. chim. France, **1964**, 281.

8) 柴田, 藤田, 井下田: 本誌, **77**, 116 (1957).

9) T. Kubota, Y. Tomita: Tetrahedron Letters, **1961**, 453.

10) T. Kubota, T. Kamikawa: Bull. Chem. Soc. Japan, **35**, 1046 (1962).

ピークを示し、IR スペクトルは 1725 cm^{-1} にラク톤の吸収を示す。また UV スペクトルは $234\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon$ 3.96) および $263\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon$ 3.39) に極大吸収を示し、methyl nicotinate (V), $264\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon$ 3.49), methyl isonicotinate (VI), $275\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon$ 3.49) の中、前者の吸収スペクトルによく一致する。また、base A の NMR スペ

Fig. 1. Nuclear Magnetic Resonance Spectra of IV, V, VI, and VII in CDCl_3

クトルは、Fig. 1 に示すように 7.38τ に aromatic methyl 基による singlet, 6.95τ と 5.43τ に互いに coupling する 2 個の methylene 基による triplet を有し、さらに 2.90τ と 0.87τ におのおの aromatic proton による singlet を有する。これを methyl nicotinate (V), methyl isonicotinate (VI), および dihydrogentianine (VII) の NMR スペクトルと比較すると、base A の aromatic proton の中 1 個の signal は強く低磁場シフトして、(V) および (VII) の 2 位 proton と、ほぼ同じ位置にあり、他の 1 個の signal は (V) の 5 位 proton よりやや高磁場、(VI) の 3 位 proton より遙かに高磁場にあることがわかる。また両 proton の signal はともに鋭い singlet をなしている。以上のことより、base A は、nicotinic acid 型の塩基で、その 2 位と 5 位とには、置換基がないことがわかる。つぎに base A の両 methylene 基の signal は位置形状ともに (VII) の methylene 基の signal と全く一致している。以上すべてのスペクトルのデータに基づき、base A は 4-(2-hydroxyethyl)-6-methyl-3-pyridinecarboxylic acid の lactone であることが推定される。本塩基は Fu 等¹¹⁾ が、*Gentiana macrophylla* から単離したと報告している塩基の 1 つと融点、組成が一致するので、おそらく同一物と考えられる。前記久保田等の実験から

らみても、センブリにおいては、gentianine は、swertiamarin (II) が抽出過程で化学変換をうけて生成するものと推定されるが、本塩基もその構造からみて、II と近縁の原物質から二次的に生成するものと思われる。

最近 Floss 等¹²⁾ は、*Gentiana lutea* を $^{15}\text{NH}_4\text{OH}$ と処理して得られる gentianine (I) の窒素を定量し、その 91% はアンモニアより由来するものであると述べている。また彼等は多数の Lindou 科植物のエキスについて、ペーパークロマトグラフィー (展開溶媒 $\text{BuOH-MeOH-H}_2\text{O}$ (45:5:50) 上層) を行ない、I に相当するスポッ

11) F.-Y. Fu, N.-C. Sun: Acta Pharm. Sinica, **6**, 198 (1958); C. A., **1959**, 8310.

12) H.-G. Floss, U. Mothes, A. Rettig: Z. d. Naturforsch., **19b**, 1106 (1964).

トが植物をアンモニア処理したときに増大する事実を認めた。^{*3} この結果はセンブリにおけるわれわれの実験結果ともよく一致する。ただ彼等は、gentianine が少量ながら植物体内に本来存在するという可能性を否定はしていないが、われわれは上記の結果より I, IV ともに完全な artefact であると考えている。^{*4}

実 験 の 部

NMR スペクトルはすべて Varian A-60 High Resolution Spectrometer を用い、 CDCl_3 溶液中で測定した。chemical shift は tetramethylsilane を内部規準とし、 τ 値で表わした。マススペクトルは日立 RMU-6D 型質量分析計を用いて測定した。TLC はすべて Kieselgel G nach Stahl (Merck) を用いて行なった。融点は未補正。

アンモニアを用いる抽出および塩基の分離 市販センブリ（栃木県産，1964 年秋採集）の乾燥品 1500 g. に CHCl_3 4 L., conc. NH_4OH 300 ml. を加え 4 日間放置後ろ過，植物体になお CHCl_3 8 L., conc. NH_4OH 300 ml. を加え 1 夜放置後ろ過，さらに MeOH 10 L., conc. NH_4OH 300 ml. を加え，還流下加熱後ろ過，TLC（展開溶媒： CHCl_3 -MeOH (7:3)）で検索する時， CHCl_3 , MeOH 両抽出液とも同種の塩基を含有する。両抽出液を減圧濃縮後，10% H_2SO_4 で塩基を抽出ろ過。ろ液は Mayer 試薬により白色沈殿を生じ，Dragendorff 試薬にも陽性である。これを conc. NH_4OH でアルカリ性とし，塩基を CHCl_3 に転溶，水洗し無水 K_2CO_3 で乾燥，溶媒留去，淡褐色針状晶を得。これをベンゼン溶液とし， Al_2O_3 (Brockmann, 50 g.) カラムに流し込み，まずベンゼンで溶出，ついでベンゼン-アセトン (9:1) の混合溶媒で溶出，両溶出部は TLC（上記と同一条件）で Rf 値 0.75 (I), 0.65 (IV) および 0.40 に Dragendorff 試薬陽性のスポットを示す。これら溶出液は，溶媒留去後ベンゼン-ヘキサン混合溶媒より再結晶。m.p. 83° の無色針晶 (I) 11.5 g. を得る。gentianine, $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_2\text{N}$ Anal. Calcd.: C, 68.56; H, 5.18. Found: C, 68.53; H, 5.23.

I の再結晶母液を合し溶媒留去後，残渣を CHCl_3 に溶かし，シリカゲルカラム (Mallinckrodt, 15 g.) に流し込み，最初に CHCl_3 ，ついで CHCl_3 -MeOH (99:1), (95:5) と，順次 MeOH 含量を増した混合溶媒で溶出。 CHCl_3 -MeOH (95:5) で溶出する部分より base A を得る。粗製品収量 49 mg. これを EtOH より再結晶。m.p. $129.5 \sim 130^\circ$ の無色柱状晶 (IV) 20 mg. を得る。 $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_2\text{N}$ Anal. Calcd.: C, 66.24; H, 5.56; N, 8.58. Found: C, 66.40; H, 5.51; N, 8.56.

MeOH のみによる抽出 センブリ（上記と同時採集品）300 g. を MeOH で 4 回温浸，抽出液を合して減圧濃縮，本エキ스는，TLC（前記と同一条件）で Rf 値 0.60 ならびに原点付近に Dragendorff 試薬に陽性のスポットを示す。これを 5% クエン酸，ついで，5% HCl で抽出する。クエン酸層には Dragendorff 試薬陽性物質はほとんど転溶しない。 HCl 抽出液はエーテルと充分振盪し，中，酸性物を除いて後，5% NaOH で弱アルカリ性とし。^{*5} CHCl_3 と振盪する。 CHCl_3 層は水洗，無水 K_2CO_3 で乾燥後溶媒留去，Mayer 試薬陽性の油状物少量を得。TLC では原点付近に強いスポットを示すが，I に相当する部分には塩基の存在は認められない。

なお，もとの MeOH エキスの 1 部に conc. NH_4OH 少量を加え放置後，TLC を行なったところ I のスポットが検出された。

メチルアミンを用いる抽出 センブリ 50 g. を MeOH で 3 回温浸，抽出液を合し約 50 ml. まで減圧濃縮。これに CH_3NH_2 の飽和水溶液 10 ml. を加え 3 日間放置。減圧濃縮後 10% H_2SO_4 で塩基を抽出。再び CH_3NH_2 アルカリ性とし塩基を CHCl_3 に転溶。水洗後無水 K_2CO_3 で乾燥，溶媒留去，Dragendorff 試薬，ならびに Mayer 試薬に陽性の油状物約 200 mg. を得。TLC（展開溶媒： CHCl_3 -MeOH (9:1)）では I (Rf 値 0.55) とは明らかに異なる Rf 値 0.68 ならびに 0.39 の Dragendorff 試薬に陽性のスポットを示した。これらのスポットは，天然の Dragendorff 試薬陽性物質のスポットとも明らかに異なる。

本研究において，元素分析を担当された本学元素分析センターの小延鑑一博士，および協力者，NMR スペクトル測定の労をとられた本学部 新宮徹朗博士，マススペクトルを測定された本学部 加藤旭氏に深謝する。

京都大学薬学部

^{*3} Janot 等も *Anthocleistra procera* から単離される gentianine が抽出過程で配糖体から変換して生ずる人工産物であると報告している 脚註 6) 参照。

^{*4} 実験の部に記載するように，アンモニアを用いずメタノールだけで抽出したセンブリエキス中にも若干の Dragendorff 試薬陽性物質が存在するが，Floss 等の溶媒系を用いて PPC を行なう時これら物質のスポットは I のスポットとほぼ重なる。*Gentiana*, *Swertia*, と植物は異なるがこれらの物質の存在が Floss 等をして I の存在を完全に否定させ得なかった一因になったとも考えられる。

^{*5} I を 5% NaOH - CHCl_3 の溶媒系で分液ロート中で振盪すると 90% 以上がそのままの形で CHCl_3 層から回収されるから，もし I が植物体中に本来あるものと仮定しても，この操作でラクトン環が開裂して NaOH 層にすべての I が残るということは考えられない。