Fig. 1. Effects of Pteridine Derivatives on Tyrosine Hydroxylase Activity

pteridine の pterine 構造が必須であり、かつ還元型でなければならない。著者らの行なった実験においても活性が認められたのはすべて還元型であった。また今まで最も活性が強いとされているものは、6 位に methyl 基をもつ U-5 であるが、今回の実験では、6 位に propyl 基をもつ U-8 が一番作用が強かった。U-8 は未検索の化合物であり、その作用の強さは U-8 > U-5 > U-4 であった。このことは 6 位の alkyl 基の構造が補酵素作用の強弱に大きく影響するものと思われる。

謝辞 Pteridine 誘導体を提供していただいたエーザイ株式会社研究部 岡崎寛蔵博士に感謝いたします。

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
91 (11) 1252-1254 (1971)

UDC 581.192 : 582.912.4

ホツツジ *Tripetaleia paniculata* Sieb. et Zucc. の成分研究 (第 2 報¹⁾)

葉の成分について その 2²⁾

安江政一, 榊原仁作, 伊奈郊二

名古屋市立大学薬学部³⁾

Studies on the Constituents of *Tripetaleia paniculata* Sieb. et Zucc. II.¹⁾

On the Constituents of the Leaves. (2)²⁾

MASAITI YASUE, JINSAKU SAKAKIBARA and HIROJI INA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University³⁾

(Received July 5, 1971)

From the leaves of *Tripetaleia paniculata* (Japanese name "Hotsutsuji"), a toxic substance, rhodojaponin III, was isolated along with epifriedelinol, β -sitosterol, β -sitosteryl β -D-glucoside, methyl *trans-p*-coumarate, loliolide, etc.

蜂蜜中毒とホツツジの関係を明らかにする目的で本研究を開始し、岐阜県産植物の葉を抽出して、薄層クロマトグラフィー (TLC) により grayanotoxin 系物質の存在を推定するとともに、数種の既知化合物を単離した¹⁾。今回犬山市で採集した葉から前報の物質のほか loliolide などとともに有毒物質 rhodojaponin III⁴⁾ を単離同定したので報告する。

抽出分離は Chart 1 に従った。メタノールエキス中水不溶、ベンゼンおよびヘキサン可溶部をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって分離し、ヘキサンで溶出する部分から炭化水素、ケトン体、アルコール体を得た。

1) 第 1 報: 安江政一, 榊原仁作, 伊奈郊二, 薬誌, 91, 138 (1971).

2) 日本薬学会, 第 91 年会, 1971 年 4 月, 講演 (福岡).

3) Location: Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya.

4) H. Hikino, K. Ito, T. Ohta, T. Takemoto, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 17, 1078 (1969).

さらにヘキサン、ベンゼン 1:1 混液で溶出する部分から epifriedelinol (I), ベンゼンで溶出する部分から β -sitosterol (II) を得た。水不溶、ベンゼン可溶、ヘキサン不溶部も同様に処理してベンゼン、酢酸エチル 10:1 混液で溶出する部分から ursolic acid を、1:1 混液で溶出する部分から 2 α -hydroxyursolic acid と maslinic acid の混合物を、さらに 1:5 混液で溶出する部分から β -sitosteryl β -D-glucoside (III) を得た。

水可溶部は塩基性酢酸鉛とアンモニア水で処理し、鉛沈殿部とアンモニア沈殿部を集め、それぞれ脱鉛濃縮後活性炭カラムクロマトグラフィーに付して monotropein を得た。

アンモニア沈殿部を除いた母液は脱鉛濃縮してクロロホルムで抽出し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離した。ベンゼン、酢酸エチル 50:1 混液で溶出する部分から methyl *trans*-*p*-coumarate (IV) を得た。本品はホツツジ葉に本来存在していたのか、メタノールによる抽出過程でメチル化された二次的生成物であるかは不明である。つづいて 20:1 混液で溶出する部分から mp 154.0—155.5° の物質を得、赤外線吸収スペクトル (IR), 核磁気共鳴スペクトル (NMR), および質量スペクトル (MS) により loliolide (V)⁵⁾ と推定、標品と比較して一致することを認めた。

さらに 1:1 混液で溶出する部分から mp 285—287° の物質を得た。本品は舌にのせると灼熱感を伴う刺激的苦味を有し、持続性の味覚麻痺を起こすこと、さらに TLC における *R_f* 値と呈色反応から grayanane 系化合物を推定した。NMR においては 3.23, 4.16 ppm に epoxide のつけ根のプロトンによると思われるシグナルが認められる。ツツジ科の有毒物質で epoxide を有するものは lyoniol 系と rhodojaponin 系があるが、本物質は lyoniol 系とは異なるので rhodojaponin 系のものと予想される。さらにアセチル基を有していないことから、rhodojaponin-III (IV) を推定し、標品と比較、混融および IR において完全に一致することを認めた。これによってホツツジが蜂蜜中毒の毒源である可能性はさらに増加した。

Fig. 1

Chart 1

実験の部

融点は微量融点測定装置 (三田村理研), によって測定した未補正值である。IR は IR-S および IR-E spectrometer (Jasco), MS は RMU-6E (Hitachi) によって測定した。また NMR は JNM-MH-60, JNM-C-60HL,

5) T. Wada, D. Sato, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 12, 752 (1964).

JNM-100 (Jeol) を用い tetramethylsilane を内部基準として測定した。NMR の記載は次の略号によった。s=singlet; d=doublet; t=triplet; q=quartet; m=multiplet; br=broad.

ホツツジ葉の抽出 1970 年 5 月中旬, 犬山市において採集したホツツジの乾燥葉 12.4 kg を MeOH で冷浸し, 浸液を 4 liter に濃縮, 同量の水を加えて可溶部と不溶部に分けた。不溶部は C_6H_6 を加えて可溶部と不溶部に分け, 可溶部を約 300 ml に濃縮したものに約 10 liter の *n*-hexane を加えて可溶部 65 g と不溶部 88 g を得た。水可溶部には $Pb(OH)(OAc)$ の 50% MeOH 懸濁液を沈殿が生じなくなるまで加えて濾過, 濾液に NH_4OH を沈殿が生じなくなるまで加えて濾過した。濾液は H_2S により脱鉛, 濃縮する。 $Pb(OH)(OAc)$ および NH_4OH で沈殿した部分はそれぞれ 50% MeOH に懸濁して脱鉛濃縮する。

Epifriedelinol (I) 水不溶, ベンゼン (以下 C_6H_6) *n*-ヘキサン (以下 C_6H_{14}) 可溶部 65 g を SiO_2 カラムクロマトグラフィーに付して C_6H_{14} で溶出する部分から炭化水素, ケトン体, アルコール体を得,¹⁾ つづいて $C_6H_{14} : C_6H_6$ (1:1) 混液で溶出する画分を C_6H_6 から再結晶, 無色プリズム状晶 120 mg. mp 279—282° (文献値⁶⁾ 279—283°) シヤンソポ葉から得た⁹⁾ epifriedelinol の標品と混融, IR を比較, 一致した。 C_5H_5N , Ac_2O と 15 min 還流してアセチル化, 常法に従って処理後 MeOH から再結晶。無色プリズム状晶。mp 290—293°。Anal. Calcd. $C_{32}H_{54}O_2$ (acetylepifriedelinol): C, 81.64; H, 11.56. Found: C, 81.58; H, 11.42. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 1750 (C=O), 1250 (C-O-C).

β -Sitosterol (II) 前項の SiO_2 カラムクロマトグラフィーにおいて, $C_6H_{14} : C_6H_6$ (1:1) 混液に続いて C_6H_6 で溶出する画分を MeOH から再結晶, 無色板状晶, 0.5 g. mp 140—141°. ガスクロマトグラフィー⁷⁾ (GLC). Retention time (t_R) min: 28.1. β -Sitosterol 標品と混融, IR, GLC を比較, 一致した。常法によりアセチル化, MeOH から再結晶, 無色板状晶。mp 123—125°. Anal. Calcd. $C_{31}H_{52}O_2$ (acetyl β -sitosterol): C, 81.52; H, 11.48. Found: C, 81.48; H, 11.62. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 1745 (C=O), 1230 (C-O-C).

β -Sitosteryl β -D-Glucoside (III) 水不溶, ベンゼン可溶, ヘキサン不溶部 80 g を SiO_2 カラムクロマトグラフィーに付して $C_6H_6 : EtOAc$ (10:1) 混液で ursolic acid を, (1:1) 混液で 2 α -hydroxyursolic acid と maslinic acid のほぼ等量混合物を溶出させてから,²⁾ さらに (1:5) 混液で溶出する画分を集めて MeOH から再結晶, 無色板状晶 0.5 g を得る。mp 278—281°. β -Sitosteryl β -D-glucoside の標品と混融, IR を比較, 一致した。常法によりアセチル化, MeOH から再結晶。無色板状晶。mp 168—169°. Anal. Calcd. $C_{43}H_{68}O_{10}$ (β -sitosteryl β -D-glucoside tetraacetate): C, 69.30; H, 9.20. Found: C, 69.03; H, 9.24. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 1760 (C=O), 1220 (C-O-C).

鉛沈殿部および NH_4OH 沈殿部のクロマトグラフィーによる分離 鉛沈殿部の脱鉛濃縮液 1 liter と NH_4OH 沈殿部の脱鉛濃縮液 1.5 liter をおのおの, 活性炭カラムクロマトグラフィーで分離しておのおの 40% MeOH で溶出する部分から monotropein, mp 157—159°, 3.5 g を得た。²⁾

Methyl trans-*p*-Coumarate (IV) アンモニア沈殿部を除いた濾液を脱鉛濃縮して $CHCl_3$ で抽出したエキスを SiO_2 カラムクロマトグラフィーで分離し, $C_6H_6 : EtOAc$ (50:1) 混液で溶出する画分を $C_6H_{14} : C_6H_6$ 混液から再結晶。無色針状晶。38 mg. mp 137—138° (文献値⁸⁾ mp 136—137°). Methyl trans-*p*-coumarate の標品と混融, IR を比較, 一致した。

Loliolide (V) 前項の SiO_2 カラムクロマトグラフィーにおいて続いて $C_6H_6 : EtOAc$ (20:1) 混液で溶出する画分を $C_6H_{14} : C_6H_6$ から再結晶。無色針状晶。20 mg. mp 154—155.5° (文献値⁵⁾ mp 149—151°). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3440 (OH), 1735 (C=O), 1620 (C=C). NMR $\delta_{ppm}^{CDCl_3}$: 5.69 (1H, s, $>C=CH-$), 1.78 (3H, s, $>C-CH_3$), 1.47 (3H, s, $>C-CH_3$), 1.27 (3H, s, $>C-CH_3$). Mass Spectrum m/e : 196 (M^+), 178 (M^+-18). Loliolide の標品と混融, IR を比較, 一致した。

Rhodojaponin-III (VI) 前項の SiO_2 カラムクロマトグラフィーにおいてさらに $C_6H_6 : EtOAc$ (1:1) 混液で溶出する画分を集め, $EtOAc$ から再結晶。無色針状晶。12 mg. mp 285—287° (文献値⁴⁾ mp 285—287°). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3460 (OH). NMR $\delta_{ppm}^{CDCl_3}$: 4.16 (1H, d, $J=3.0$ Hz, C^2-H), 3.23 (1H, d, $J=3.0$ Hz, C^3-H), 1.80, 1.48, 1.42, 1.17 (each 3H, s, $>C-CH_3$). Mass Spectrum m/e : 350 (M^+-18), 332 (M^+-36), 314 (M^+-54). Rhodojaponin-III の標品と混融, IR を比較して完全に一致した。

謝辞 本研究において元素分析は本学総合機器分析施設 坂 民枝, 伊藤節子阿氏に施行していただいた。NMR 測定の一部は東京理科大学薬学部 梅澤文輔博士, 名古屋大学工学部 兼松 顕博士の, また MS 測定は千葉大学薬学部 石井 永博士の御厚意によった。東北大学薬学科 竹本常松博士に rhodojaponin-III の標品を, 塩野義製薬研究所 佐藤大助博士に loliolide の標品を分与していただいた。

以上の諸氏に対して厚く感謝いたします。

6) 安江政一, 板谷元一, 大島秀之, 舟橋正一, 薬誌, **85**, 553 (1965).

7) Model GC-1100 (Jeol). Column: 3% SE-52 on 60—80 mesh ChromosorbW, 0.3×200 cm. 215°. Carrier gas: N_2 , 25 ml/min. Detector: FID.

8) Heilbron, "Dictionary of Organic Compounds," Vol. I, Oxford Univ. Press, New York, p. 611.