使君子の成分研究 (第1報) アミノ酸成分の検索¹⁾竹本常松,^{2a)} 高木信也,^{2b)} 中島 正, 小池一弘^{2a)}東北大学薬学部,^{2a)} 白石製薬株式会社^{2b)}Studies on the Constituents of *Quisqualis Fructus*. I. On the Amino Acids¹⁾TSUNEMATSU TAKEMOTO,^{2a)} NOBUYA TAKAGI,^{2b)} TADASHI NAKAJIMA
and KAZUHIRO KOIKE^{2a)}Pharmaceutical Institute, Tohoku University^{2a)} and Shiraishi Pharmaceutical Co., Ltd.^{2b)}

(Received July 25, 1974)

Isolation and some properties of a new acidic amino acid, named quisqualic acid, along with arginine, trigonelline and γ -amino butyric acid from *Quisqualis Fructus* (Japanese name "Shikunshi") are described. Also, aspartic acid, glutamic acid, serine, glycine, proline, leucine, valine, alanine, threonine, asparagine, histidine, and lysine were detected by paper chromatography and paper electrophoresis.

使君子はシクンシ科 Combretaceae の植物シクンシ *Quisqualis indica* L. var. *villosa* CLARK およびインドシクンシ *Q. indica* L. の果実を基原とする生薬で、中国およびわが国では古くから回虫駆除剤として広く使用されている。

本生薬の成分研究は早くからなされており酒石酸,³⁾ クエン酸,^{3,4)} リンゴ酸,⁴⁾ コハク酸,⁴⁾ パルミチン酸,^{5,6)} オレイン酸,^{3,5)} アラキシン酸,⁶⁾ ステアリン酸,⁶⁾ 蔗糖,^{4,5)} トリゴネリン⁷⁾ などの存在が報告されているが、有効本体のきめてとなるような報告は見当たらない。ただ、使君子酸 $C_{10}H_{16}O_{10}N_6$ はカリウム塩として得られ、サントニンに匹敵する駆虫作用をもつと報告されている⁸⁾ が、その構造は不明である。著者らは使君子の有効本体を解明する目的で本研究に着手した。

さきに竹本らは顕著な駆虫作用をもつ海藻カイニンソウ *Digenea simplex* AGARDH およびハナヤナギ *Chondria armata* OKAMURA の駆虫有効本体を検索し、それぞれからプロリン系アミノ酸であるカイニン酸^{9,10)} およびドーモイ酸¹¹⁾ を分離報告している。使君子の場合も、そのアミノ酸成分にまず着目して検索を行なった結果、アスパラギン酸などの既知のアミノ酸のほか、一新酸性アミノ酸の存在を認め、これを単離し得たのでその経過について報告する。

使君子のアミノ酸成分をアミノ酸分析計、沔紙電気泳動法 (PEP)、沔紙クロマトグラフィー (PPC) などで検索し Fig. 1, Fig. 2 に示す結果を得、これらからアスパラギン酸、グルタミン酸、アラニン、グリシン、バリン、セリン、スレオニン、プロリン、ロイシン、イソロイシン、チロシン、フェニルアラニン、アルギニン、ヒスチジン、リジンのほかに 2, 3 の未同定アミノ酸およびニンヒドリン反応で経時的に橙色から紫色に変化する新しいスポットの存在を認め Chart 1 に掲げる行程でこれらの物質を単離した。

- 1) 第 10 回日本薬学会東北支部総会, 仙台, 1970 年 11 月; 第 16 回天然有機化合物討論会, 大阪, 1972 年 10 月で一部発表。
- 2) Location: a) Aobayama, Sendai; b) 2-5, Oyodo-cho-naka, Oyodo-ku, Osaka.
- 3) 猪子森明, 薬誌, 331, 1044 (1909).
- 4) 柳田昌一, 薬誌, 64, 38 (1944).
- 5) 於 達望, 薬誌, 420, 135 (1917).
- 6) 許 植方, 舍 葆菴, 中華薬誌, 2, 145 (1941).
- 7) 柳田昌一, 薬誌, 64, 199 (1944).
- 8) 陳 思又, 李 正化, 中華医誌, 38, 319 (1952).
- 9) 村上信三, 竹本常松, 清水然晶, 薬誌, 73, 1026 (1953).
- 10) 村上信三, 竹本常松, 鄭 然晶, 醍醐皓二, 高木信也, 薬誌, 75, 125 (1955).
- 11) 醍醐皓二, 薬誌, 79, 350, 353, 356, 360 (1959).

Chart 1

Fig. 1. Two-dimensional Paper Chromatogram

Fig. 2. Chromatograms of Acidic, Neutral and Basic Amino Acids with Amino Acid Analyzer

column: 0.9×50 cm, resin: Amberlite CG-120 III, eluent: citrate buffer pH 3.25 (140 ml) pH 4.25 (acidic neutral amino acid), pH 5.28 (basic amino acid), temp. 50° , buffer sol. flow: 60 ml/hr, ninhydrinsol. flow: 80 ml/hr

—: absorbance at 570 nm
 ---: absorbance at 440 nm

大阪市場で入手した生薬の殻を除いて得た仁を細かく砕き、25% エタノールで冷時浸出した液をアンバーライト IR-120 [H⁺] カラムで処理してアミノ酸画分を製した。この画分を緩衝化したアンバーライト IR-120 [pH 5.7] カラムに通導して通過部と吸着部に分け、吸着部を最初に 0.6% アンモニアで溶出して得た画分を PPC, PEP にて検索しヒスチジン、リジンを同定した。続いて 2% アンモニアで溶出した画分からはフラビアン酸塩を経て、mp 220—225° の針状晶 (I) を得、PPC などの所見より I をアルギニン塩酸塩と推定し、標品との混融および赤外吸収 (IR) スペクトルの比較により同定した。

つぎに、アンバーライト IR-120 [pH 5.7] カラム通過部をアンバーライト IR-120 [H⁺] カラムに吸着させた後再びアンモニアで溶離して中酸性アミノ酸画分を製した。中酸性アミノ酸画分をアンバーライト IR-4B [OH⁻] カラムに通導して分画、通過部は濃縮後メタノールに溶かしアルミナクロマトグラフィーに付し、mp 224—226° の無色針状晶 (II) と mp 200—201° の無色針状晶 (III) を得た。II は mp 246—249° の塩酸塩、mp 200—203° のピクリン酸塩を与える。これらの性状性質ならびに II の核磁気共鳴 (NMR) スペクトル、元素分析値よりトリゴネリンと同定した。III はその PPC などの挙動、元素分析値より γ -アミノ酪酸と推定し、標品と比較同定した。

アンバーライト IR-4B カラム吸着部は 0.3N 酢酸、続いて 1N 酢酸で溶出し、それぞれ減圧濃縮した。0.3N 酢酸溶出部は PEP, PPC 所見よりアスパラギン酸、グルタミン酸の存在を推定した。1N 酢酸溶出部はその濃縮残留物にエタノールを加えて放置、析出した粗結晶を水から再結晶して無色針状晶 (IV), mp 187—188° (decomp.) を得た。IV はニンヒドリン反応で、はじめ橙色を呈すが時間の経過とともに紫色に変わり、エールリッヒ反応、塩化鉄反応はともに陰性である。その pK_a' 値は 2 付近、4.15, 8.80 であった。

これらの所見から本品を文献未記載の酸性アミノ酸と見なし、シクンシの属名 *Quisqualis* にちなんで *quisqualic acid* キスカル酸と命名することにした。キスカル酸の駆虫作用については別に述べる。¹²⁾

実験の部¹³⁾

総アミノ酸画分の製造 大阪市場で入手した生薬 1.5 kg の殻を除いて得た仁 770 g に 25% EtOH 7.7 liter を加えて冷時 1 夜浸出、EtOH を更新して浸出を 3 回繰返す。浸出液を合し、ろ過して得たる液をアンバーライト IR-120 [H⁺] 1 liter を充填したカラムに通導、アミノ酸部を吸着させ、次に 2% NH₄OH 10 liter で溶出、溶出液を減圧濃縮して総アミノ酸画分を製造。

アミノ酸の分画 総アミノ酸画分を 0.2M NH₄OAc 緩衝液 (pH 5.7) に溶かし、同じ緩衝液で処理したアンバーライト IR-120 1 liter を充填したカラムに通導、吸着部 (塩基性アミノ酸画分) と通過部にわけた。通過部はアンバーライト IR-120 [H⁺] カラム (1.3 liter) に通導し、吸着部を 2% NH₄OH で溶出し、溶出液を減圧濃縮、約 23 g の残留物 (中酸性アミノ酸画分) を得た。これを水 450 ml に溶解、アンバーライト IR-4B [OH⁻] 150 ml のカラムに通導、通過部 (中性アミノ酸画分) と吸着部 (酸性アミノ酸画分) に分けた。

酸性アミノ酸の分画、キスカル酸 (IV) の単離 前述のアンバーライト IR-4B カラムから樹脂をとり出し、ビーカー中で 0.3N AcOH 500 ml を加えてかきまぜアスパラギン酸、グルタミン酸を溶出 (PPC, PEP にて同定) 後、樹脂を再びカラムに充填、1N AcOH 2 liter で溶出、溶出液をシロップ状まで減圧濃縮、EtOH を加えて放置、約 2 g の粗結晶を得、これを 20 倍量の水から再結晶、無色針状晶、得量 1.5 g (0.195%), mp 187—188° (decomp.). $[\alpha]_D^{25} -5.0^\circ$ ($c=2.0$, H₂O), $[\alpha]_D^{25} +17.3^\circ$ ($c=2.0$, 6N HCl). Anal. Calcd. C₅H₇O₅N₃: C, 31.75; H, 3.73; N, 22.21. Found: C, 31.64; H, 3.64; N, 22.14. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400—2750, 1830, 1775, 1740, 1605. pK_a' : near 2, 4.15, 8.80. ニンヒドリン反応は橙色から紫色に変わる。エールリッヒ反応, FeCl₃ 反応ともに陰性。Rf 0.20 (東洋ろ紙 No. 50, BuOH-AcOH-H₂O (60:15:25)); Rf 0.17 (東洋ろ紙 No. 50, C₆H₅OH-H₂O (8:2)); Rf 0.35 (東洋ろ紙 No. 50, BuOH-pyridine-H₂O (1:1:1)). Migrate distance (mm) +89 (東洋ろ紙 No. 50, pyridine-AcOH-H₂O (pH 6.5), 30 V/cm, 1 hr).

塩基性アミノ酸の分画、アルギニン (I) の単離 上述のアミノ酸の分画の際、得られた緩衝化アンバーライト IR-120 カラムの吸着部 (塩基性アミノ酸画分) を 0.6% NH₄OH で溶出し、溶出部と残留部に分け、残留部をさらに 2% NH₄OH で溶出。0.6% NH₄OH 溶出部からは PPC, PEP にてヒスチジン、リジンを同定。2% NH₄OH 溶出部を減圧濃縮して得られる残留物 3 g に 20% フラビアン酸溶液を加え 7.7 g のフラビアン酸塩を得た。これを常法により酸分解、得られたアルギニン塩酸塩を H₂O-EtOH から再結晶、無色針状晶、mp

12) 石崎 達, 加藤桂子, 熊田三由, 竹本常松, 中島 正, 高木信也, 小池一弘, 寄生虫学雑誌, 22, 181 (1973).

13) 融点は未補正, NMR スペクトルは DSS を内部標準として測定.

220—225° (decomp.), 2 g を得, アルギニン塩酸塩の標品と混融し融点降下を認めず. IR スペクトルも標品のそれと一致.

中性アミノ酸の分画 a) トリゴネリン (II) の分離——前述の中酸性アミノ酸画分をアンバーライト IR-4B カラムに通導した際の通過液を減圧濃縮, 残留物約 15 g を得. これを 90% MeOH 1 liter にとかし不溶物をろ別したろ液をアルミナ (和光製, 300 mesh 500 g) カラムに通導, 90% MeOH で溶出, 500 ml 宛分画. Fraction 1—4 を減圧濃縮, 残留物に EtOH を加え粗結晶 1.5 g を得る. EtOH から再結晶, 無色針状晶, mp 224—226° (decomp.) [文献値,¹⁴⁾ mp 230—233°]. *Anal.* Calcd. $C_7H_7O_2N \cdot H_2O$: N, 9.03. Found: N, 8.97. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3400—3220, 3040, 1660—1570. NMR (D_2O) ppm: 4.46 (3H, singlet, $N-CH_3$), 7.95—8.20 (1H, broad triplet, ring proton), 8.75—8.90 (2H, broad doublet, ring proton), 9.10 (1H, singlet, ring proton). 塩酸塩: mp 224—226° の結晶 20 mg を希塩酸に溶かし減圧濃縮, 残留物を EtOH から再結晶, 無色板状晶, mp 246—249° (decomp.) [文献値,⁷⁾ mp 250° (decomp.)]. *Anal.* Calcd. $C_7H_7O_2N \cdot HCl$: N, 8.07; Cl, 20.42. Found: N, 8.12; Cl, 20.66. ピクリン酸塩: mp 224—226° の結晶 0.1 g を AcOH に溶かし 20% ピクリン酸. AcOH 溶液を加え黄色板状晶, mp 200—203° [文献値,¹⁴⁾ mp 204—205°] を得. これらの性状性質はすべてトリゴネリンのそれに一致.

b) γ -アミノ酪酸 (III) の分離——前記アルミナカラムの溶出を続け, 得られた fraction 9—13 を減圧濃縮, 残留物に EtOH を加えて放置, 粗結晶 0.5 g を得. H_2O -EtOH-ether から再結晶, 無色針状晶 mp 200—201° (decomp.). *Anal.* Calcd. $C_4H_9O_2N$: N, 13.58. Found: N, 13.63. IR スペクトルは γ -アミノ酪酸標品のそれに一致.

謝辞 本研究に際し, 元素分析ならびに NMR の測定をお願いした本学部中央分析室の方々に感謝します!

14) E.M. Kosower, J.W. Patton, *J. Org. Chem.*, **26**, 1318 (1961).