



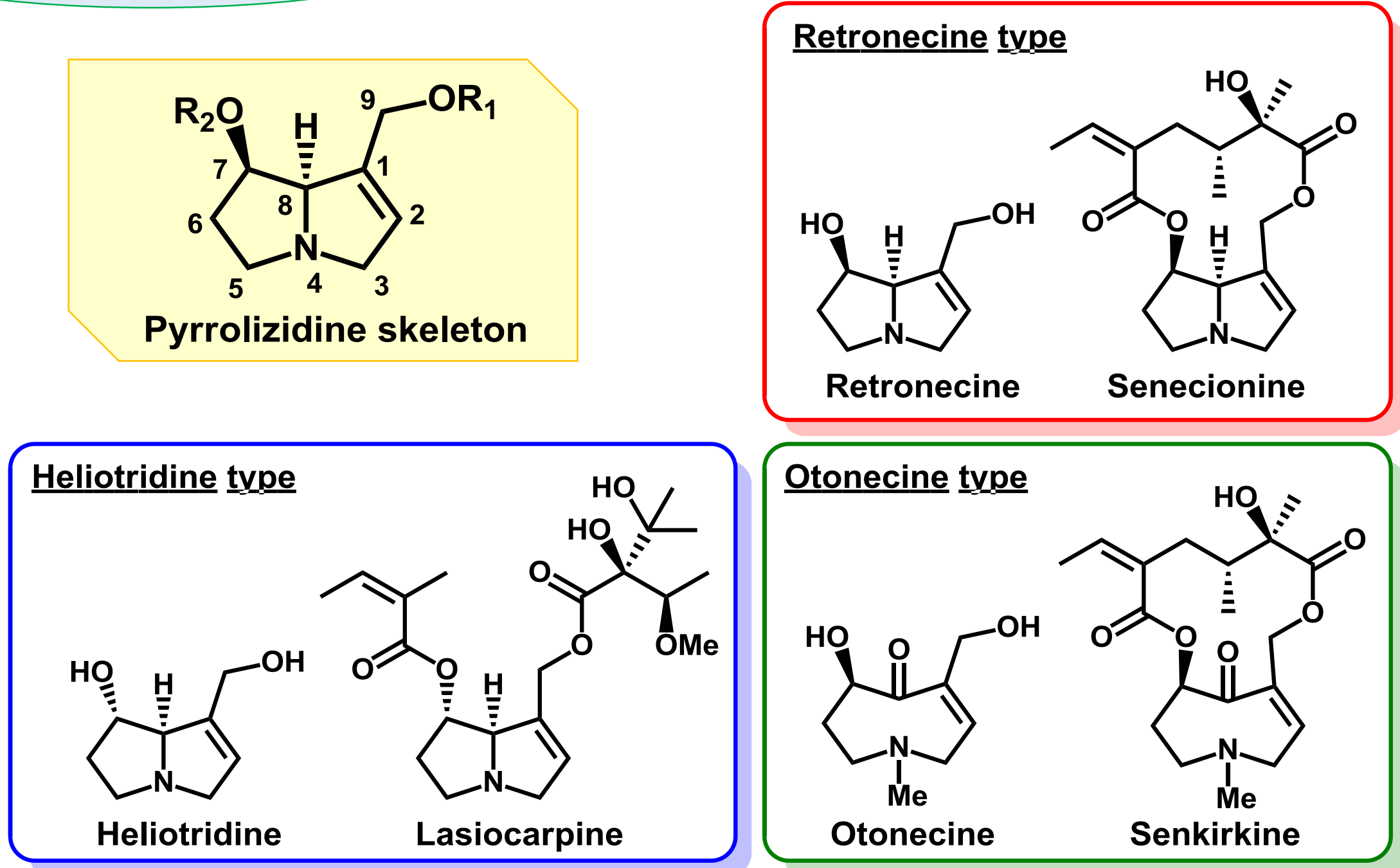
フキ (*Petasites japonicus*) に含有される ピロリジジナルカロイド類の検索研究

○岡部 慧, 小暮 紀行, 北島 満里子, 高山 廣光* (千葉大院薬)

Introduction

ピロリジジナルカロイド類 (PAS) は、キク科 (Asteraceae)、ムラサキ科 (Boraginaceae)、マメ科 (Fabaceae) 等の植物に含まれている天然毒素であり、約600種類が確認されている。PASには強い肝毒性が確認されており、WHOはPASを含む植物の摂取を控えるように勧告を行っている。日本においても一部含有植物の販売禁止や、それらの摂取を控えるように注意喚起がなされている。現在食用とされている山菜や野草類にも、PASの含有を確認されているものがあり、安全な食品の供給、健康被害の未然防止のためには、現在栽培・採取され、消費されている植物中のPASについて含有実態調査および分析を行う必要がある。

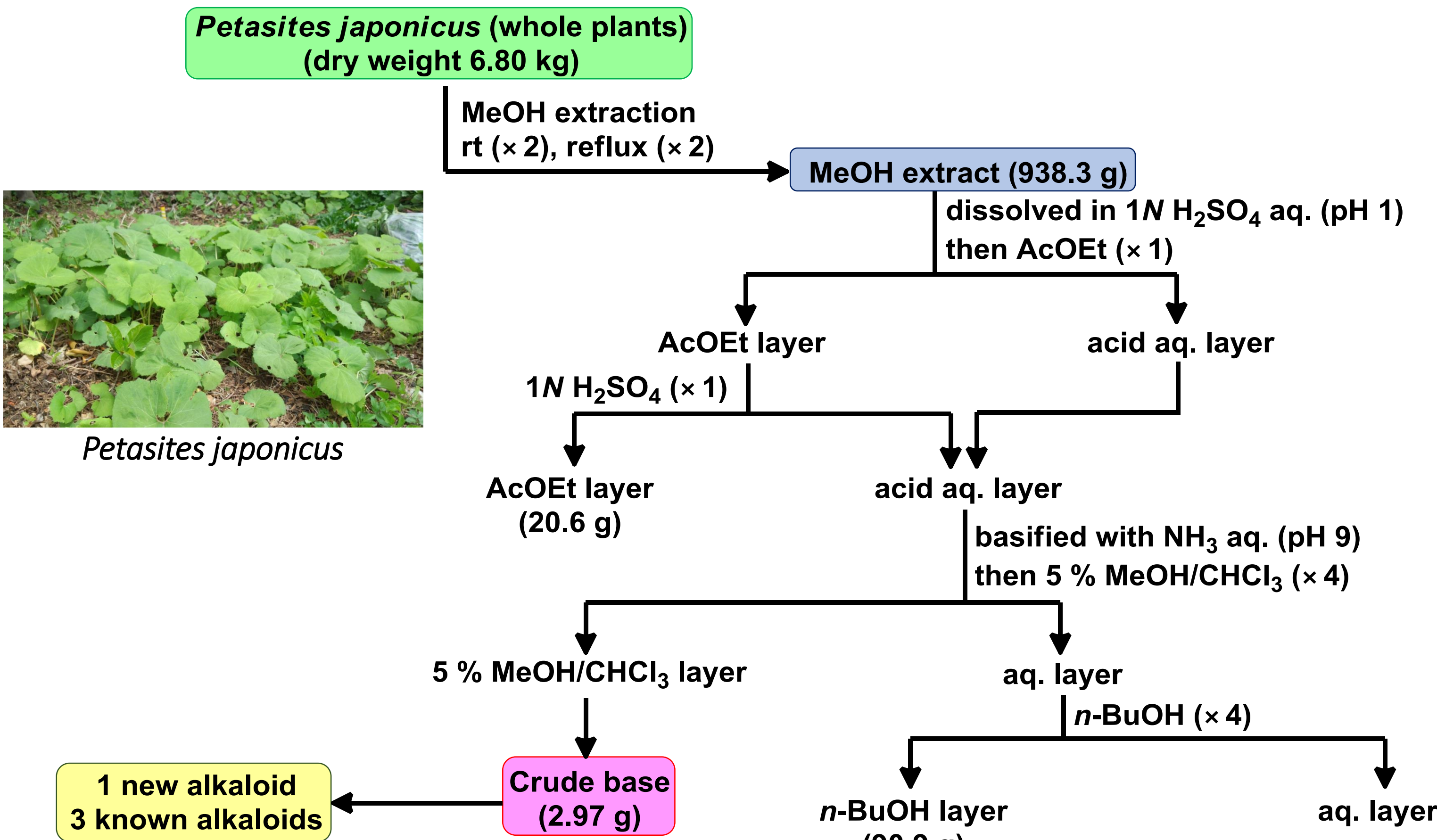
Major types of pyrrolizidine alkaloids



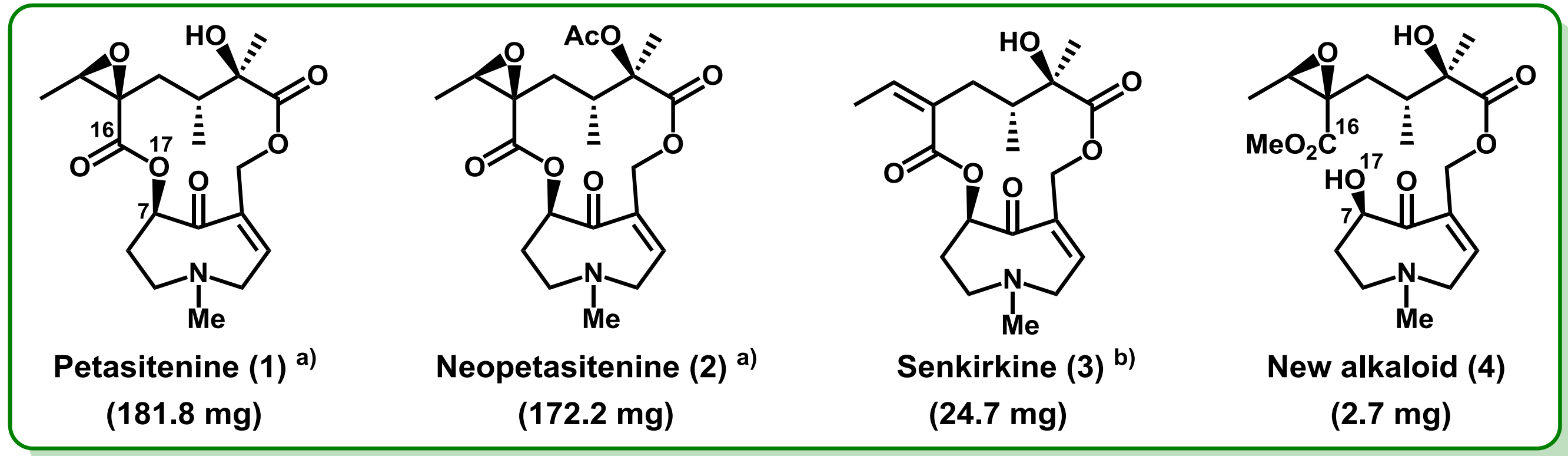
一方、フキ (*Petasites japonicus*) は、日本原産のキク科フキ属の多年草であり、日本国内や韓太、朝鮮半島、中国でも見られる。本植物は食用部位である花茎 (ふきのとう) や葉柄、葉等にPASを含有しており、灰汁抜き等の適切な処理を行わなければ健康被害につながる可能性がある。本植物のような日本特有の植物や野菜等については、含有されるPASの分析用標準試薬の入手が困難であり、規制のための科学的根拠が十分に整っていない。そのため、PASの分析用標準試薬を確保することを目的として、本植物のアルカロイド成分検索を行なった。

現在までに、既知アルカロイド3種 (1-3)、新規アルカロイド1種 (4) を単離、構造決定した。新規化合物については、各種スペクトルデータを解析することによりその構造を決定した。また、既知化合物についても、文献において詳細なスペクトルデータが存在しない1,2については、本研究にて詳細なデータを報告する。

Extraction and separation of alkaloids in *Petasites japonicus*



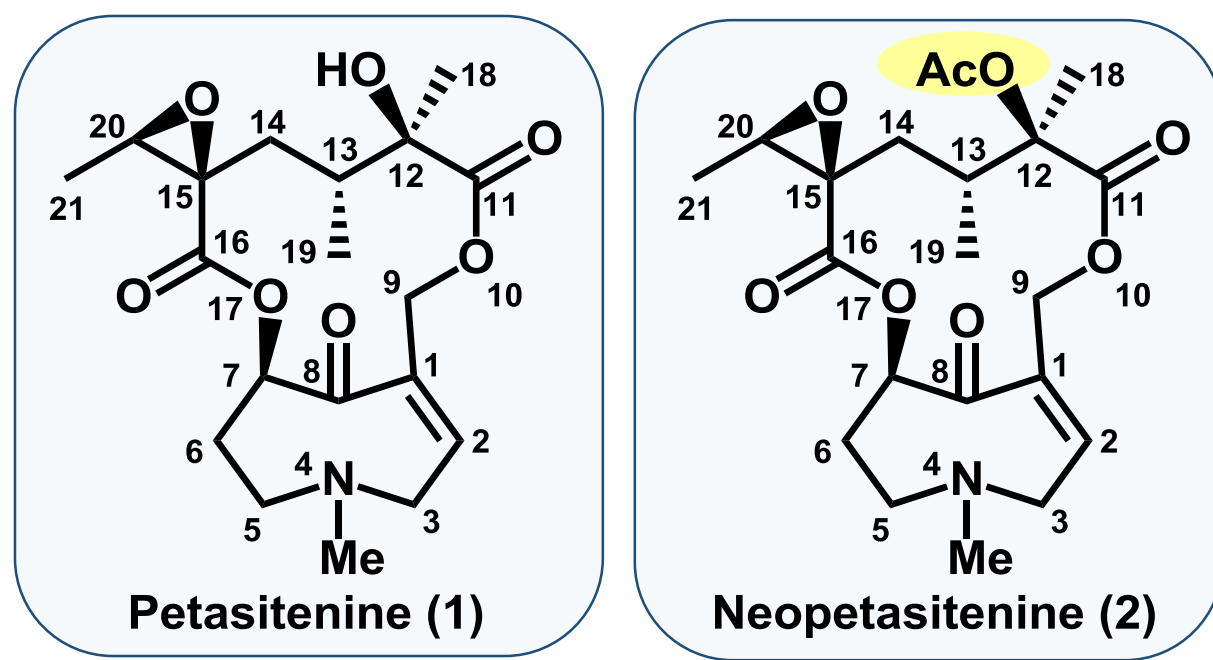
Isolated alkaloids from *P. japonicus*



a) Yamada K., et al., Chem. Lett., 1976, 461-464
b) Briggs H. L., et al., J. Chem. Soc., 1965, 2492-2498

Structure elucidation of isolated compounds

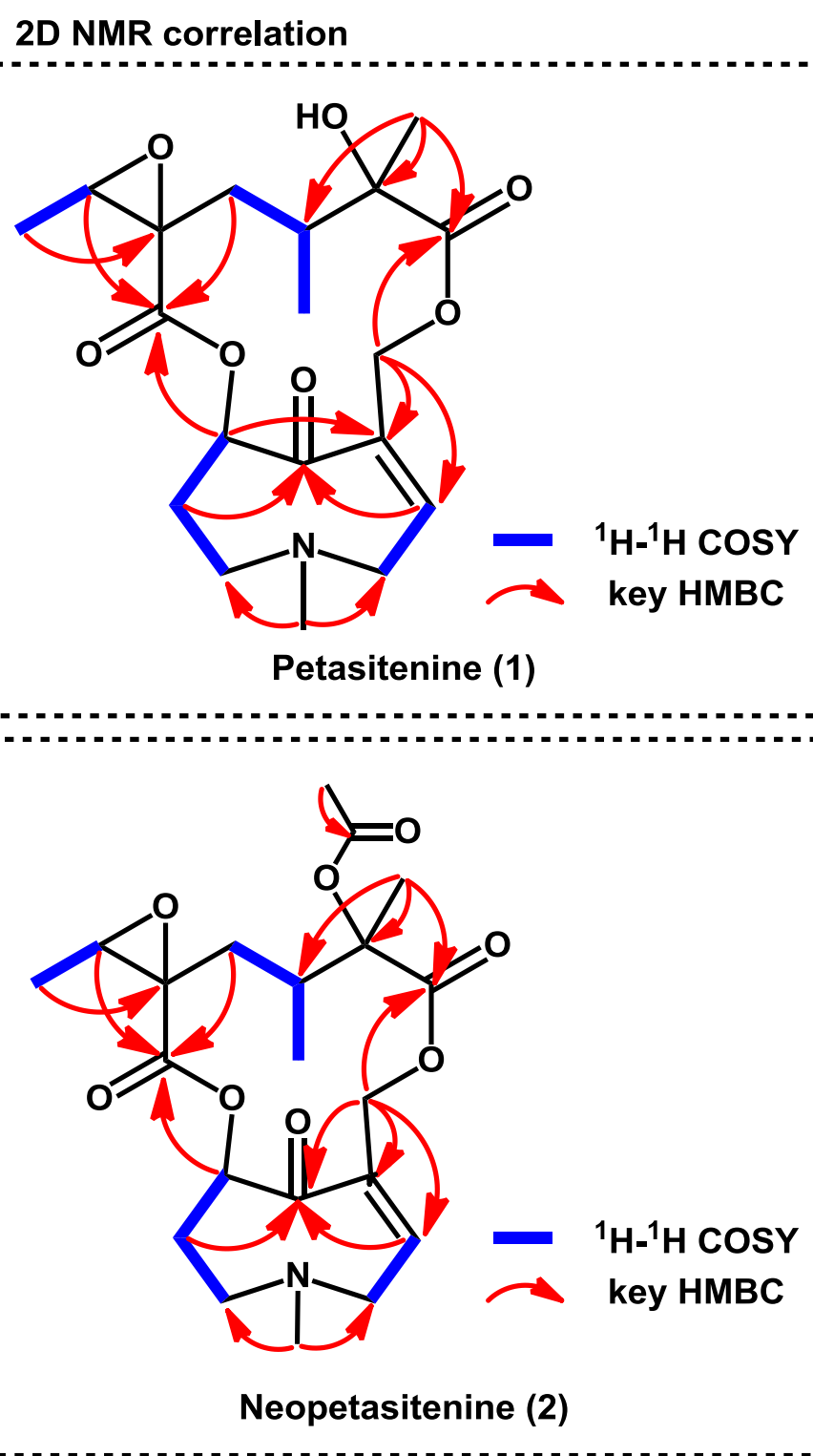
Petasitenine (1) and Neopetasitenine (2)



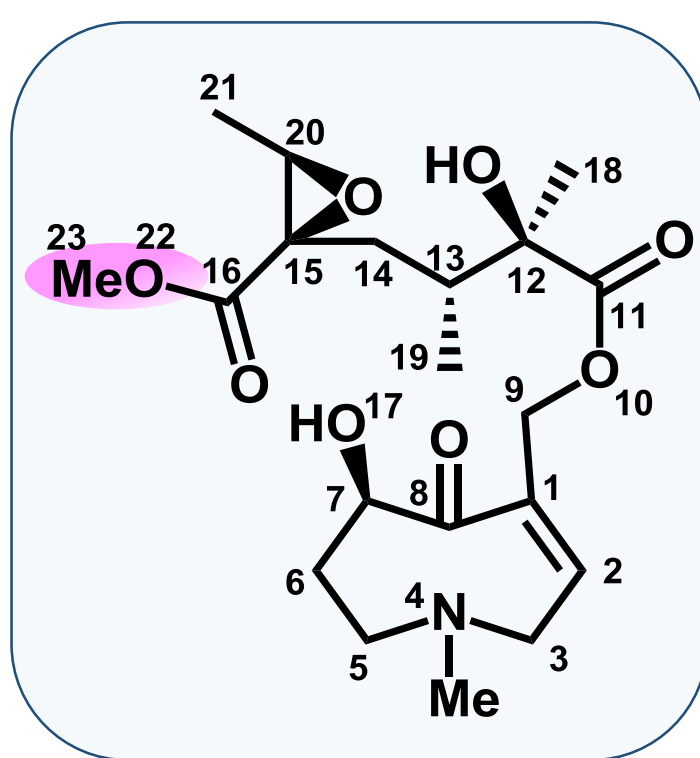
In CDCl ₃			
Petasitenine (1)		Neopetasitenine (2)	
δ_H , 600 MHz	δ_C , 100 MHz	position	δ_C , 150 MHz
/	133.9	1	133.3
6.15 (s)	137.6	2	138.7
3.54 (d, 17.9)	59.0	3	58.8
3.30 (ddd, 18.1, 2.8, 1.7)	53.4	5	53.1
2.90 (m)	37.2	6	37.0
2.88 (td, 13.1, 4.0)	77*	7	77.2
5.17 (t, 2.6)	189.6	8	189.9
/	177.6	11	170.4
5.47 (d, 11.3)	64.1	9	64.0
4.32 (d, 11.3)	77*	12	83.4
/	121.1	13	121.1
1.90 (m)	36.3	14	36.3
1.95 (d, 13.7)	37.2	15	36.4
1.21 (dd, 13.7, 10.6)	62.6	16	62.5
/	166.5	17	166.3
1.34 (3H, s)	24.3	18	21.4
1.05 (3H, d, 6.9)	12.9	19	12.9
3.03 (q, 5.5)	61.2	20	61.4
1.44 (3H, d, 5.5)	15.5	21	15.5
2.07 (3H, s)	40.1	N-Me	39.9
-	-	O-Ac	21.3

Petasitenine (1)
ESI-MS m/z : 382 [M+H]⁺
[α]_D²² +59.6 (c 1.18, EtOH)
IR(ATR): 3401, 1734, 1715, 1615 (cm⁻¹)

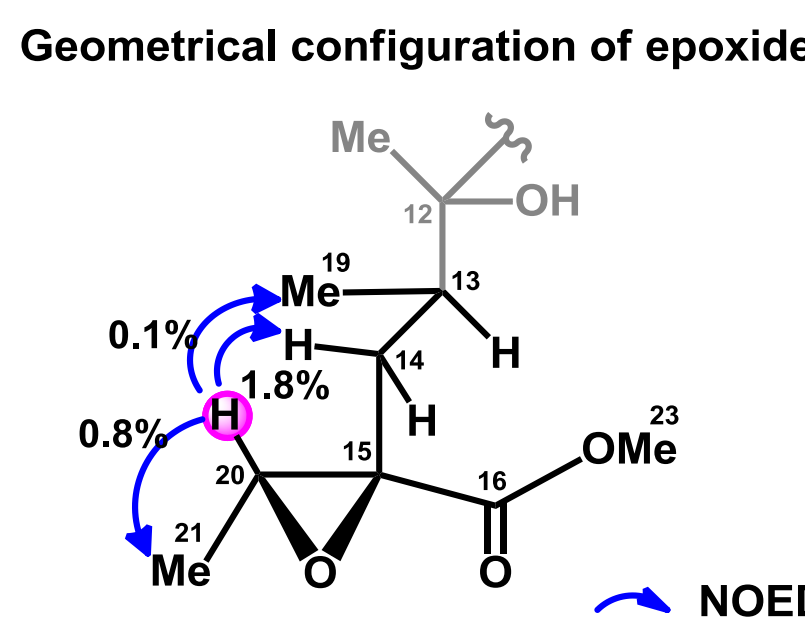
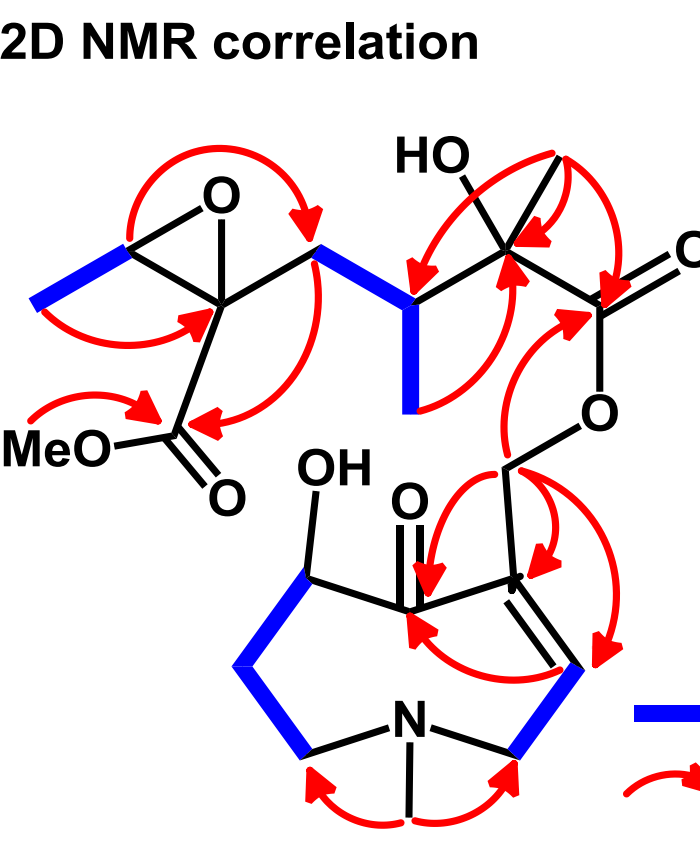
Neopetasitenine (2)
ESI-MS m/z : 424 [M+H]⁺
[α]_D²² +76.1 (c 1.00, EtOH)
IR(ATR): 1758, 1736, 1594 (cm⁻¹)
m.p. 162.5-163.1 (AcOEt/n-Hexane)



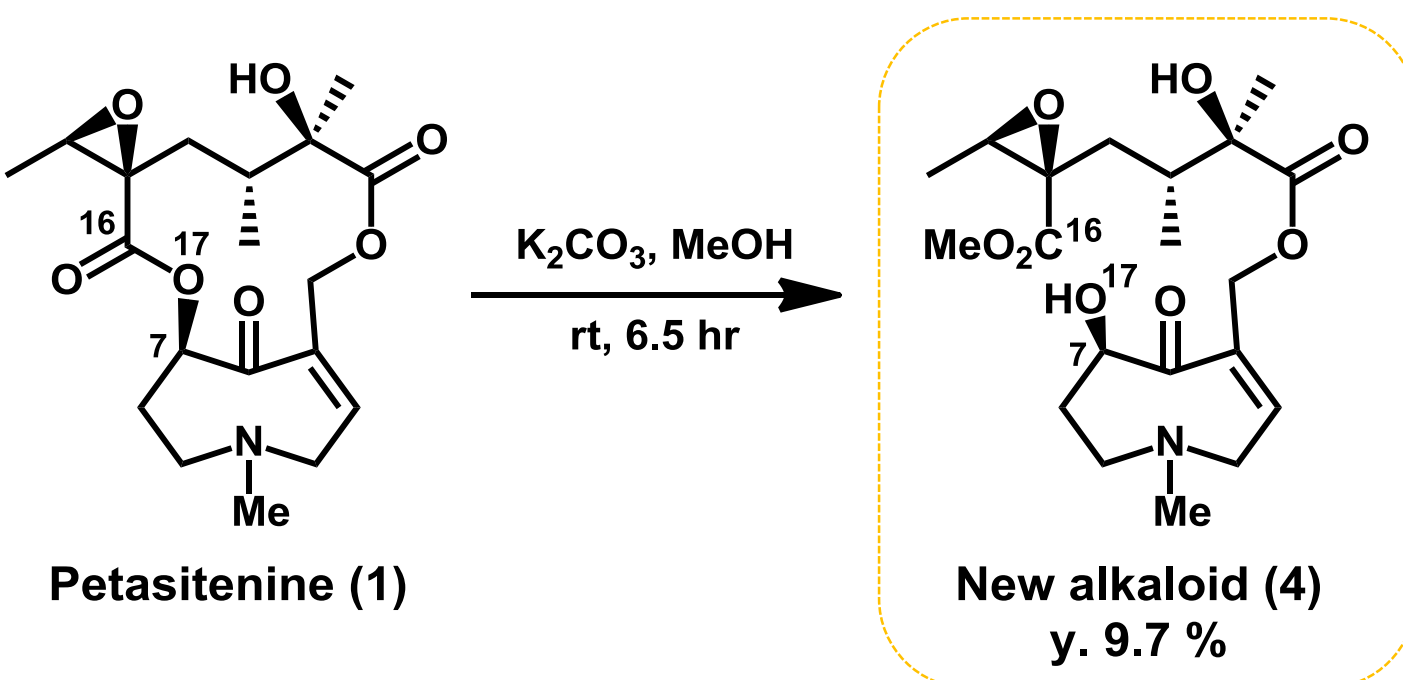
New alkaloid (4)



HR-ESI-MS
calcd. for C₂₀H₃₂NO₈ [M+H]⁺: 414.2110
found : 414.2128
[α]_D²² +5.25 (c 0.03, EtOH)



Chemical conversion from petasitenine (1) to new alkaloid (4)



In CDCl ₃		
position	δ_H , 600 MHz	δ_C , 150 MHz
1	/	134.9
2	5.89 (s)	132.2
3	3.31 (d, 18.6) 3.24 (d, 18.6)	58.2
5	2.82-2.77 (2H, overlapped)	52.9
6	2.15-2.10 (overlapped) 2.05 (ddd, 13.1, 6.2, 3.4)	33.3
7	3.93 (br-d)	72.0
8	/	186.9*
9	4.82 (d, 11.7) 4.69 (d, 11.7)	64.9
11	/	176.5
12	/	77**
13	2.15-2.10 (overlapped)	37.5
14	2.00 (dd, 14.4, 10.3) 1.58 (dd, 14.1, 3.8)	35.0
15	/	61.9
16	/	170.4
18	1.34 (3H, s)	23.1
19	0.98 (3H, d, 6.2)	13.6
20	3.06 (d, 5.5)	58.2
21	1.29 (3H, d, 5.5)	13.8
23	3.78 (3H, s)	52.3
N-Me	2.25 (3H, s)	44.1

* based on HMBC correlation
** overlapped with CDCl₃

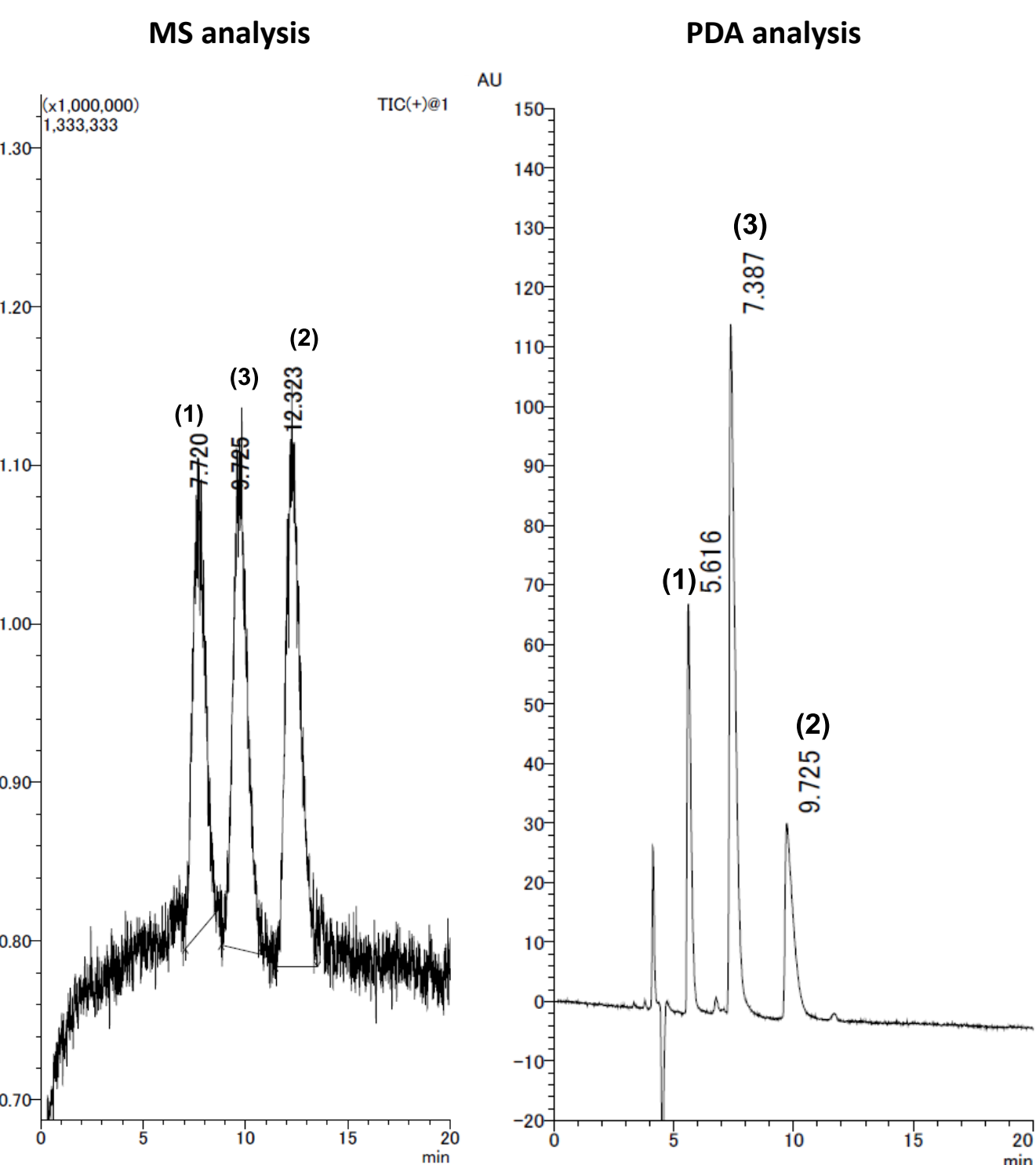
HPLC analysis

Analytical conditions

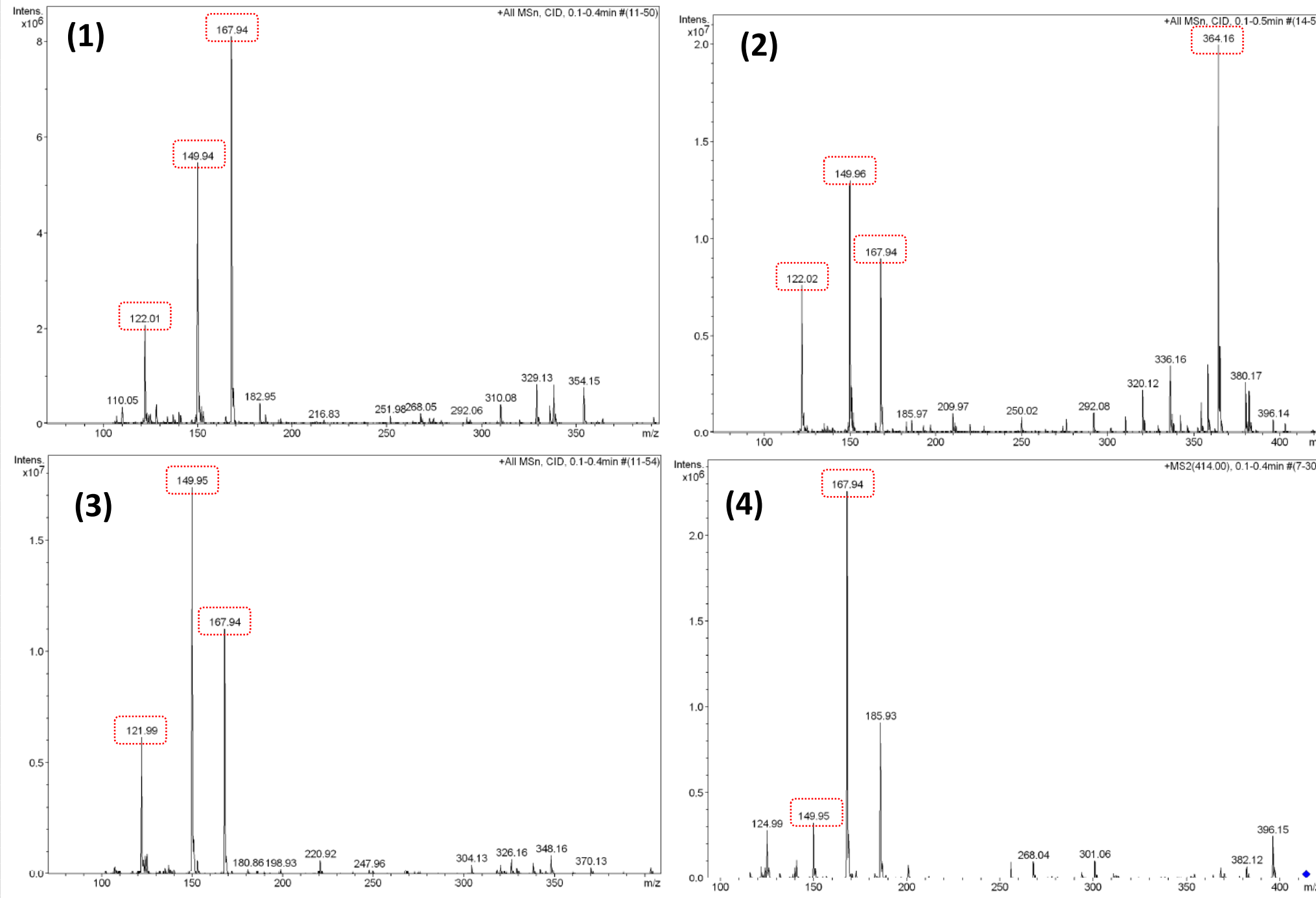
Column : Waters Atlantis dC18 5 μ m (250 $\times$ 4.6 mm I.D.)
Eluent : A 0.1 v/v% HCO₂H aq.
B MeOH
Ratio : A 55 %, B 45 % (0-20 min)
Flow : 0.8 mL/min
Column temp. : 30 $^{\circ}$ C
Detection : ESI-MS (positive mode, MS analysis)
UV (200 nm, PDA analysis)
Injection : 3 μ L (10 ng/mL, MS analysis)
2 μ L (10 mg/mL, PDA analysis)

Results

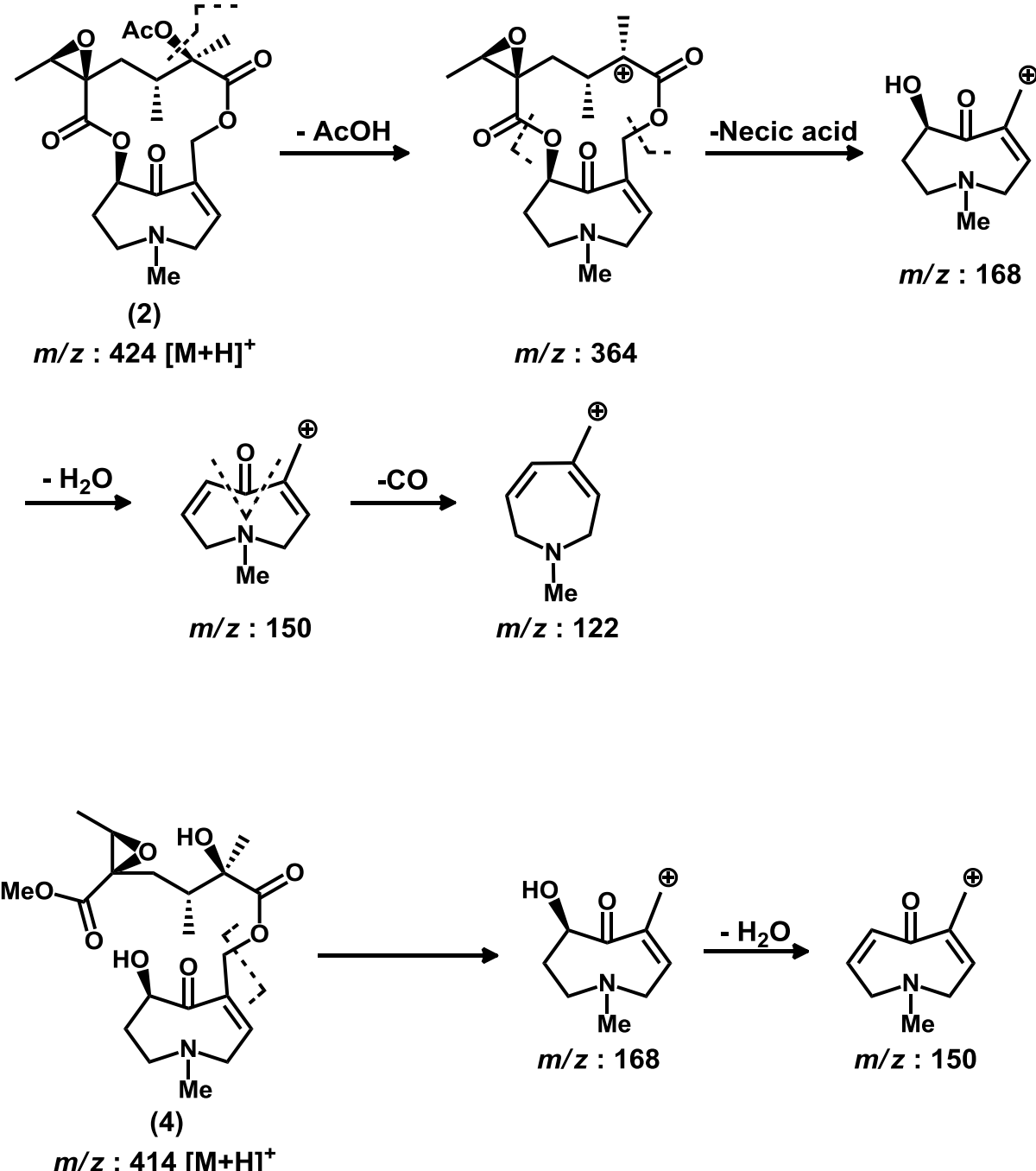
MS analysis		PDA analysis	
t _R (min)	Compound	t _R (min)	Compound
7.7	Petasitenine (1)	7.7	Petasitenine (1)
9.7	Senkirkine (3)	9.7	Senkirkine (3)
12.3	Neopetasitenine (2)	12.3	Neopetasitenine (2)



LC-MS/MS analysis

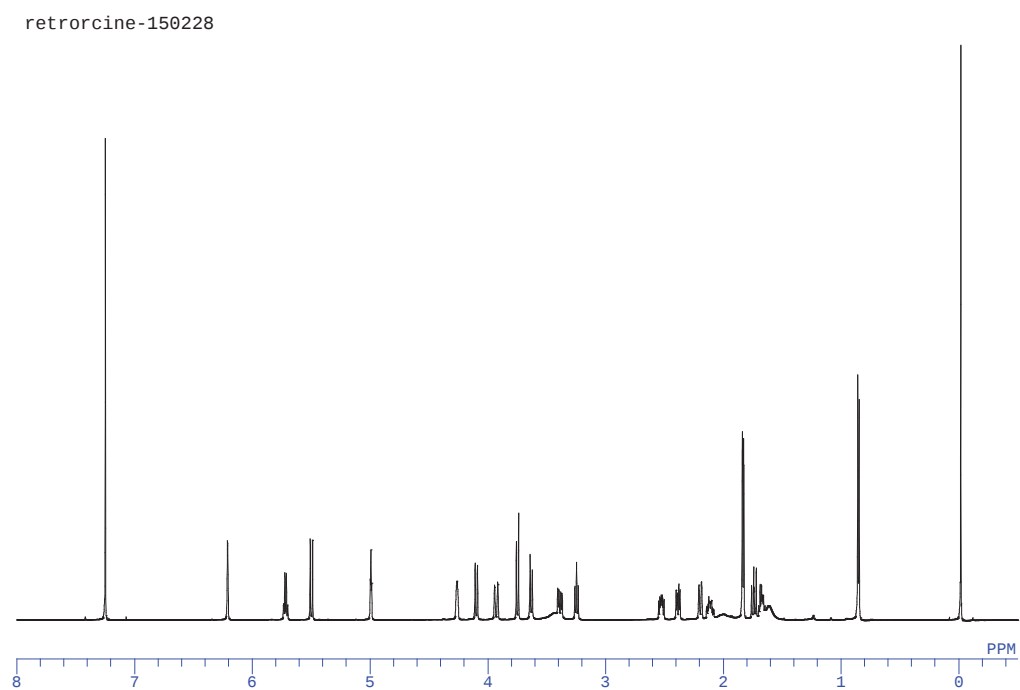
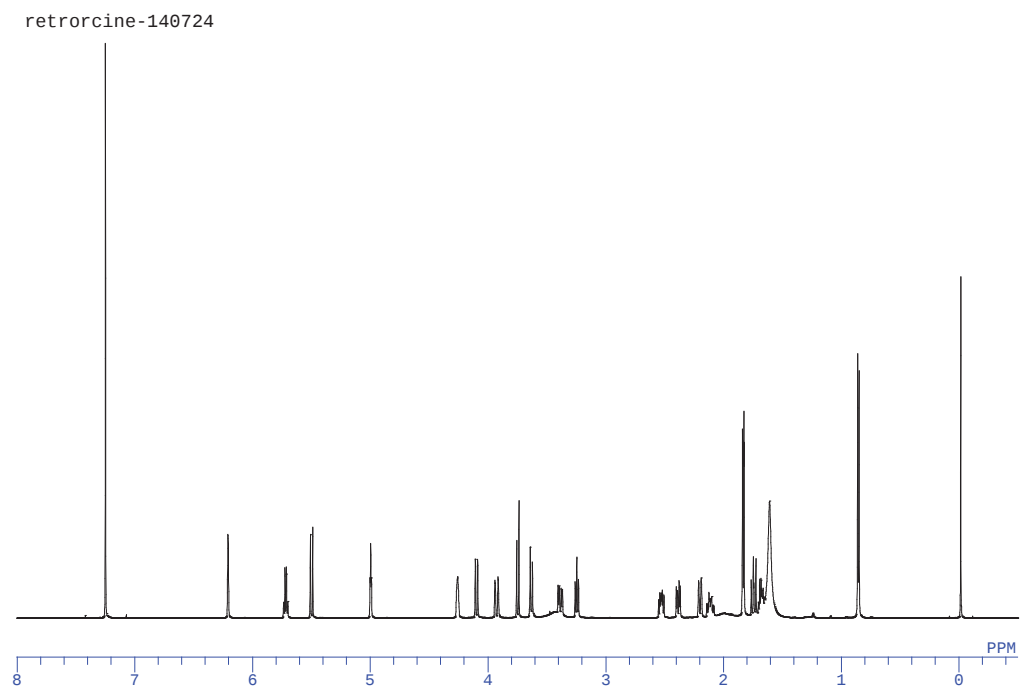


Presumptive fragmentation route

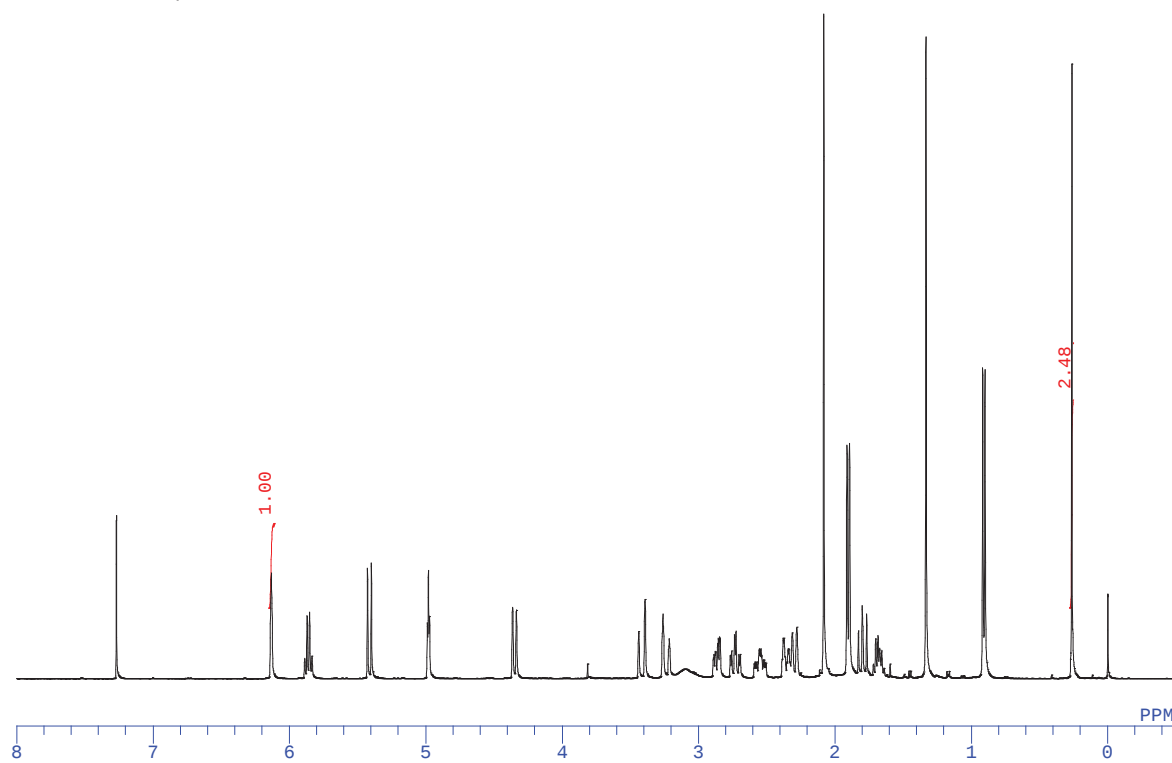


◆ 本研究は、農林水産省平成25年度レギュラトリーサイエンス新技術開発事業により行われた。

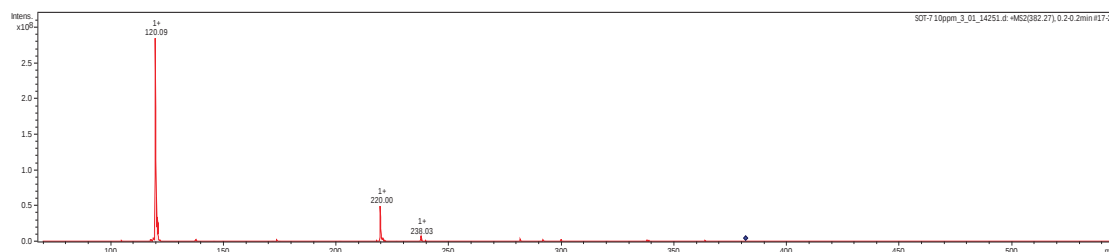
Retrorcine ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3)



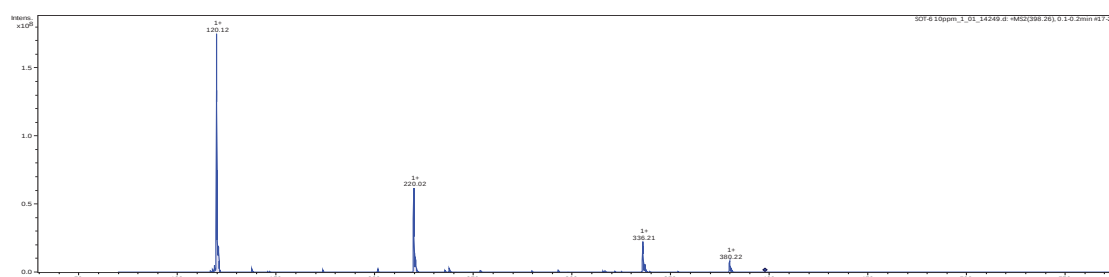
senkirkine-qNMR



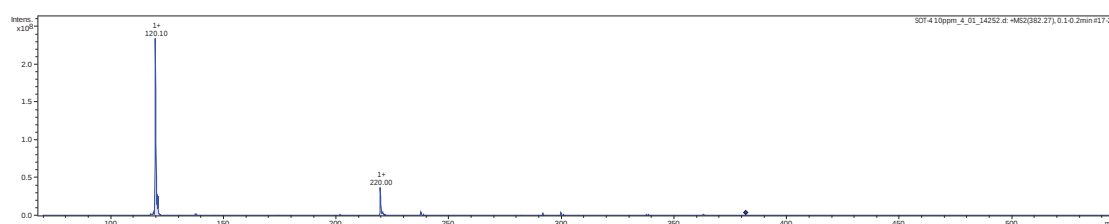
Symphytine (1)



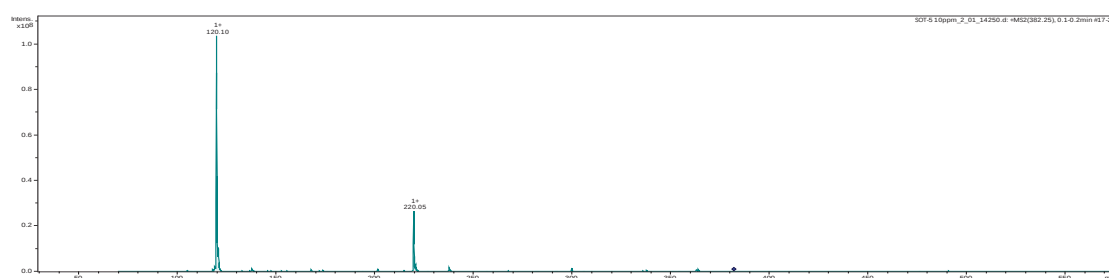
Echimidine (2)



Myoscorpine (10)



Symlandine (11)



7-Acetyllycopamine (12)

