

Fig. 5 薬物投与後ラットの各周波数での脳波のパワースペクトル変化

分担研究課題：植物系違法ドラッグの基原種の特定等に関する研究

研究分担者：合田 幸広 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 部長

－植物系違法ドラッグ製品いわゆる“ブレンドハーブ”の基原植物について－

研究協力者：緒方 潤 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

研究要旨：植物系違法ドラッグ製品(ブレンドハーブ)33製品についてDNA塩基配列を指標とした基原植物の特定を行った。得られた *trnL-F* および ITS 両 DNA 領域の塩基配列とデータベースとの同一性検索の結果、製品に記載されている植物とは多くの製品で異なることが明らかとなった。多くの製品で、マメ科スペインカンゾウ(*Glycyrrhiza glabra*)、ターネラ科ダミアナ(*Turnera diffusa*)、マメ科キバナオウギ(*Astragalus membranaceus*)およびゴマノハグサ科モウズイカ(*Verbascum sp.*)が用いられていた。33製品中、29製品で合成カンナビノイドの添加が認められており、これら植物片は、その基剤(賦形剤)として用いられている可能性が考えられた。一方で、大麻の混入された製品、マクロメリンを有するサボテンが混入された製品が存在した。

研究協力者

内山奈穂子

国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

徳本廣子

国立医薬品食品衛生研究所生薬部 協力研究員

#### A. 研究目的

平成19年4月から施行された指定薬物制度に伴い、違法ドラッグ製品の市場では、取扱われている製品の形態が大きく変化した。即ち、化学系違法ドラッグの取扱は、大幅に減少する一方、植物の樹脂片や乾燥物、粉砕物など、植物系違法ドラッグと呼ばれる製品が主流となった。さらに、植物系違法ドラッグにおいて、これまでは、ロータス、シニクイチ、ダミアナといった「1製品1植物(種)」という製品形態のものがほとんどであったが、「ブレンドハーブ」と称し、数種類の植物種を混合した形態のものが目立つようになった。

特に、後者の製品は最近になって「大麻様の

効果が得られる」などを標榜し、ヨーロッパ諸国やアメリカ、日本でも、広く流通が確認されている。我々はこれら植物系違法ドラッグ対策を目的として、継続的に化学的、分子生物学的手法を用いた製品分析を行っている。その結果、一昨年末には、複数の製品中から大麻の主活性成分である $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC)と類似の薬理作用を有する合成カンナビノイドを単離・同定し、昨年初頭に、論文報告を行った[1, 2]。本研究では、これらブレンドハーブと呼ばれる植物系違法ドラッグ製品中に含まれる植物組織片のDNA塩基配列の解析を行い、植物種の同定を試みたので報告する。また、1製品中から大麻が検出されたので、合わせて報告する。

#### B. 研究方法

##### 1. 実験材料

違法ドラッグ市場品としてインターネット上で販売されている「ブレンドハーブ系」製品33製品(植

物体乾燥(刻み)品)を使用した。

## 2. 実験方法

各試料 20mg を液体窒素で凍結させた後、MM-300 (Qiagen) により粉砕した。粉砕した各試料より DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用いて genomic DNA を抽出した。これを鋳型として核 rDNA に存在する ITS 領域、および葉緑体 DNA の *trnL-F* 領域を、各領域で保存性の高い配列を基にしたプライマー [3, 4] を用い、酵素には Ex Taq (Takara) を使用して PCR によって各領域の増幅を以下のプログラムで行った (94°C 180sec; 94°C 30sec、50°C 45sec、72°C 90sec、40cycle; 72°C、300sec)。ポリエチレングリコールを用い PCR 反応溶液から未反応のプライマーおよび dNTP を除いた後、Mighty TA-cloning Kit を用い、pMD20-T ベクターに PCR 増幅断片をライゲーションし、サブクローニングを行った。挿入 PCR 断片の有無をコロニー PCR で確認し、塩基配列を決定した。Cycle Sequence 反応には、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) を用い、解析は ABI Prism 3100-Avant Genetic Analyzer (ABI) を使用した。

## 3. 試料の検鏡観察

製品 No.26 を用い顕微鏡下で大麻特有の剛毛の確認を行った。植物組織片の表面を削りとり、そのままグリセリン・水で封鎖し鏡検を行った。

## C. 研究結果

### 1. 塩基配列解析

植物の鑑別・同定に使われる核ゲノム DNA 上の ribosomal RNA をコードしている領域の ITS (internal transcribed spacer)、および葉緑体 DNA 上のロイシン (Leu) を運搬する transfer RNA をコードする遺伝子 (*trnL*) のイントロン領域およびフェニルアラニン (Phe) の tRNA 遺伝子 (*trnF*) 間のスペーサー領域を PCR を用い増幅し(図 1)、これらの配列を国際塩基配列データベース (DDBJ/EMBL/GenBank) に登録されている配列と比較した。

これら 2 つの領域は、植物界において種を越えて保存されていることから共通プライマーが存在し、その結果、データベースに登録されている配列の植物種も豊富である。また、1990 年代頃からの Angiosperm Phylogeny Group (APG) を中心とする DNA 分類学の発達がデータの蓄積をより一層充実させている [5, 6]。そこで、この 2 箇所の領域を解析した。

予想される植物種としては製品の容器、包装に記載されている以下の種などが考えられた(製品記載は英名、俗称のみ。学名の記載はない)。

“**Baybean**” *Canavalia maritima*

(マメ科 ハマナタマメ)

“**Siberian motherwort**” *Leonurus sibiricus*

(シソ科 メハジキ)

“**Dwarf skullcap**” *Scutellaria nana*

(シソ科 タツナミソウ属 ?)

“**Indian warrior**” *Pedicularis densiflora*

(ゴマノハグサ科 シオガマキク属 ?)

“**Lion's tail**” *Leonotis leonurus*

(シソ科 カエンキセワタ)

“**Maconha brava**” *Zornia latifolia*

(マメ科 スナジマメ属 ?)

“**Damiana**” *Turnera diffusa*

(ターネラ科 ダミアナ)

“**Marshmallow**” *Althea officinalis*

(アオイ科 ウスベニタチアオイ)

“**Pink lotus**” *Nelumbo nucifera*

(ハス科 ハス)

“**Blue lotus**” *Nymphaea caerulea*

(スイレン科 スイレン)

“**Red clover**” *Trifolium pratense*

(マメ科 赤クローバー)

“**Rose**” *Rosa hybrida*

(バラ科 バラ)

上記の種、もしくは同属他種はいずれも塩基配列データベース上に *trnL-F* もしくは ITS 領域の塩基配列が報告されており同定もしくは推定は可能であると考えられた。

全 33 製品において本研究で用いた抽出キットで DNA の抽出は可能であり、植物組織片の主なものは、葉、茎、花卉であった。

両領域により同定された植物種を表 1 に示す。両領域で配列が検出された植物種、一方の領域ではあるが相同性が極めて高く、1もしくは 2 塩基の違いが見られるもののみを記載した(植物種により塩基の長さは異なるが *trnL-F* : 800~1,000 塩基対、ITS: 600~800 塩基対程度である)。データベースに存在する配列と相同性が低い(95%以下)ものは除外した。*Nymphaea*, *Thymus (Mentha)*, *Artemisia*, *Verbascum* は種を同定するには至らなかった。ただし、*Artemisia* 属は *Artemisia absinthium* ではなかった。

製品 No.26 から得られた ITS 領域の塩基配列を検索した結果、大麻 (*Cannabis sativa* L.) (Accession Number; FJ572045, Y12587) と 99% の高い相同性を示す DNA 断片が得られた(図 2)。このことから、本製品中に大麻の植物組織片の混入が示唆された。また、*trnL-F* 領域の増幅 DNA 断片からも、大麻(AF501598, AJ390367)と 99% の高い相同性を示す配列が得られた。これらの結果も、ITS 領域の塩基配列結果と同様に、本製品中に大麻の組織片が混入されていることを示唆した。また、製品 No.30 からは *Coryphantha macromeris* の塩基配列が検出された(図 3)。詳細は[7]に示す。

## 2. 試料の検鏡観察

製品 No.26 から大麻由来の DNA 断片が検出されることから、本製品の検鏡観察を行い、大麻特有の剛毛の有無に関して観察した[8, 9]。

まず、製品中の植物組織片を目視により形状、大きさ、質感により 8 種類に分類した(図 4)。これら 8 種類をそれぞれ本文実験方法 2 の方法を用い植物種の同定を行った。各々のサンプルから得られる DNA 断片から、1. *Turnera diffusa*, 2. *Trifolium pratense*, 3. *Cannabis sativa*, 4. *Trifolium pratense*, 5. *Cannabis sativa*, 6. *Turnera diffusa*, 7. *Verbascum* sp., 8. *Turnera diffusa* と推

定した。また、分類した 8 種類を LC/MS 分析した結果、3 および 5 から大麻成分である THC、カンナビジオール、カンナビノールがより顕著に検出されている(データ未掲載)。そこで、3 および 5 を用い、大麻特有の剛毛の確認を行った(図 5)。

図 5 に顕微鏡下での写真を示す。大麻特有の剛毛が観察された(図 5-上)。また、大麻の葉上面(図 5-中)および下面(図 5-下)に見られる剛毛が観察された。また、大麻以外の複数の植物片が混在していることも確認された。

## D. 考察

違法ドラッグ市場に流通する数種の植物細片を混合した、いわゆるブレンドハーブ製品に含まれる植物種の同定を行った。*trnL-F* および ITS 両領域を調査することによって未知の植物種をほぼ推定することが可能であった。つまり、今回の調査では、まったく未知の配列が検出されることはなかった。

今回の調査から、製品記載の植物種が含まれていることは少ないこと、多くの製品に利用されている植物が、ハーブやサプリメントとして一般に流通しているなど、高い危険性を有する植物種ではないことが明らかとなった。また、これら製品に合成化合物が添加されていることが明らかとなり[1, 2]、これら植物片はその基材(賦形剤)として使用されていることが示唆された。

一方で、今回の基原種の同定において、大麻の混入や幻覚性フェネチルアミンを有する *Coryphantha macromeris* が検出されている[7]ことから、今後もこれらの基原種調査を行う必要があると思われた。

## E. 参考文献

- [1] N. Uchiyama *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.* 57: (2009) 439-441.
- [2] N. Uchiyama *et al.*, *Forensic Toxicol.* 27: (2009) 61-66.
- [3] P. Talbert *et al.*, *Plant Mol. Biol.* 14:

1105-1109 (1991)

- [4] T. White *et al.*, in *PCR protocols: A Guide to Methods and Applications* : 315-322 (1990)
- [5] Angiosperm Phylogeny Group (APG), *Ann. MO Bot. Gard.* **85**:531-553 (1998)
- [6] APG, *Bot. J. Linn. Soc.* **141**:399-436 (2003)
- [7] 厚生労働科学研究費補助金、医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「違法ドラッグの危害影響予測手法と分析に関する研究」平成 21 年度研究分担報告「植物系違法ドラッグ製品の成分分析及び含有植物細片の DNA 塩基配列解析」(菊地博之)
- [8] 下村裕子ら、*薬学雑誌*、**87**:1334-1341 (1967)
- [9] 朝比奈晴世、高橋一徳、*衛生試験所報告* **84**: 54-59 (1966)

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

学会発表

- 1) 緒方 潤、内山奈穂子、花尻(木倉)瑠理、合田幸広、「植物系違法ドラッグ製品に含まれる植物の基原種調査」(第46回全国衛生化学技術協議会 岩手 2009年11月)
- 2) 緒方 潤、内山奈穂子、菊地博之、徳本廣子、花尻(木倉)瑠理、合田幸広、「植物系違法ドラッグ製品いわゆる“ブレンドハーブ”の基原植物について」(日本薬学会第 130 年会発表予定 岡山 2010年3月)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

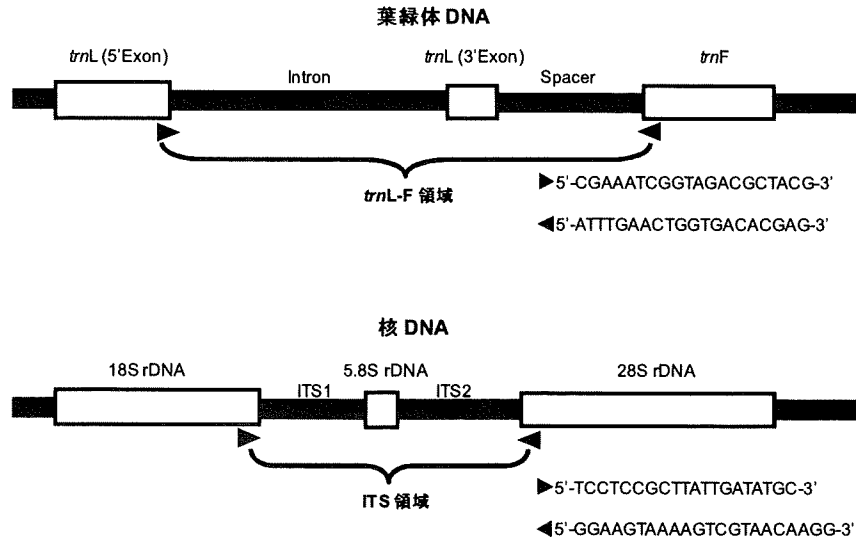


図 1. 植物種同定に用いた塩基配列領域とプライマー

<i>C. Sativa</i> (FJ572045)	1:TTTCCGTAGG TGAACCTGCG GAAGGATCAT TGTCGAAACC -TGCAACAGC AGAACGACCC GTGAACACGT	69
No.26 ITS-A	1:.....	69
No.26 ITS-B	1:.....	69
<i>H. lupulus</i> (EF136401)	1:.....T.....	69
<i>C. Sativa</i> (FJ572045)	70:TTTAAACAGC -TTGGGCGGG CGAGAGGAGC TTGCTCCTTG GACCCGCCCG CACCTGCTGG GAGAAATCTC	138
No.26 ITS-A	70:.....	138
No.26 ITS-B	70:.....	138
<i>H. lupulus</i> (EF136401)	70:.....A. C.....T.....T.....A.....CT	139
<i>C. Sativa</i> (FJ572045)	139:GGCGGGCTAA CGAACCCCGG CGCAATCTGC GCCAAGGAAC AATAAAAGAT TATCGCTGG CTCGTCCGGT	208
No.26 ITS-A	139:.....T.....	208
No.26 ITS-B	139:.....	208
<i>H. lupulus</i> (EF136401)	140:.....A.....G.....TT.....A	209
<i>C. Sativa</i> (FJ572045)	209:GGCCCGGAGA CGGTGTCGCG CAATCGAGAT GCGTGTATT CGAAATGCT AAACGACTCT CGGCAACGGA	278
No.26 ITS-A	209:.....	278
No.26 ITS-B	209:.....	278
<i>H. lupulus</i> (EF136401)	210:.....A.....CT.....GC.....T.....CT.....A.T.....	279
<i>C. Sativa</i> (FJ572045)	279:TATCTCGGCT CTCGCATCGA TGAAGAACGT AGCGAAATGC GATACTGGT GTGAATTGCA GAATCCCGTG	348
No.26 ITS-A	279:.....	348
No.26 ITS-B	279:.....	348
<i>H. lupulus</i> (EF136401)	280:.....	349
<i>C. Sativa</i> (FJ572045)	349:AACCATCGAG TCTTTGAACG CAAGTTCGCG CCGAAGCCAC TAGGCCGAGG GCACGCTGCG CTGGGCGTCA	418
No.26 ITS-A	349:.....	418
No.26 ITS-B	349:.....	418
<i>H. lupulus</i> (EF136401)	350:.....	419
<i>C. Sativa</i> (FJ572045)	419:CACGCCGTTG CCCCATGTG CACT-GTCAA -----AAG CGTG-----T TCAGAGGGG CGGAGACTGG	475
No.26 ITS-A	419:.....	475
No.26 ITS-B	419:.....	475
<i>H. lupulus</i> (EF136401)	420:.....A.....C.TGA AC.C.....TCCCTTA.T. G.A.AAGCA. ....A.T.....T.....	489
<i>C. Sativa</i> (FJ572045)	476:CTTCCCATGA GCAT-TGCCT TGTGGTTGGC CTAATTCGA GTCGTCGGCC GCAATCGCCT CGACATTCGG	544
No.26 ITS-A	476:.....	544
No.26 ITS-B	476:.....	544
<i>H. lupulus</i> (EF136401)	490:.....C.....G.....T.C..T.. C.....A.....T ..G.....G.....	559
<i>C. Sativa</i> (FJ572045)	545:TGGTTTTCGA TTATATCGGT GCCCCGTCGT GCGCGAATCC GTGACCGACT AGACCCGTAC GACCCCAATG	614
No.26 ITS-A	545:.....C.....	614
No.26 ITS-B	545:.....	614
<i>H. lupulus</i> (EF136401)	560:.....T.....T..T ..G.T..G. ....TA.G.....	629
<i>C. Sativa</i> (FJ572045)	615:TGCTGCGAAC GCAGTGCCTT CAACGCGAAT CCCGTACAGG CGGGATCACC CGCTGAATTT AA	676
No.26 ITS-A	615:.....A.GT.....	676
No.26 ITS-B	615:.....A.GT.....	676
<i>H. lupulus</i> (EF136401)	630:.....A.T.....A.GT.....T.....	691

図 2. 製品 (No. 26) から得られた 2 種類の ITS 領域の塩基配列とその比較  
アサ科アサ (上段)、アサ科ホップ (下段)、枠内は ITS1 および ITS2

表 1. 製品から得られた塩基配列に基づく含有植物種

Sample No.	Licorice	Damiana	Mullein	Mint Herbs	Astragalus	Others
1				<i>Melissa officinalis</i>		
2	<i>Glycyrrhiza glabra</i>					<i>Camellia sinensis</i>
3	<i>Glycyrrhiza glabra</i>					<i>Camellia sinensis</i>
4	<i>Glycyrrhiza glabra</i>					
5	<i>Glycyrrhiza glabra</i>			<i>Melissa officinalis</i>	<i>Astragalus membranaceus</i>	
6	<i>Glycyrrhiza glabra</i>					<i>Urtica dioica</i>
7						
8	<i>Glycyrrhiza glabra</i>	<i>Turnera diffusa</i>			<i>Astragalus membranaceus</i>	
9		<i>Turnera diffusa</i>	<i>Verbascum</i> sp.		<i>Astragalus membranaceus</i>	
10				<i>Melissa officinalis</i>		
11			<i>Verbascum</i> sp.	<i>Melissa officinalis</i>		<i>Galium mollugo</i>
12				<i>Melissa officinalis</i>		
13		<i>Turnera diffusa</i>			<i>Astragalus membranaceus</i>	
14		<i>Turnera diffusa</i>	<i>Verbascum</i> sp.	<i>Thymus</i> sp.		
15				<i>Thymus</i> sp.		
16	<i>Glycyrrhiza glabra</i>					<i>Althaea officinalis</i>
17	<i>Glycyrrhiza glabra</i>					<i>Phragmites australis</i>
18						<i>Passiflora speciosa</i>
19						<i>Calendula officinalis</i>
20		<i>Turnera diffusa</i>				<i>Nymphaea</i> sp.
21		<i>Turnera diffusa</i>				
22	<i>Glycyrrhiza glabra</i>				<i>Astragalus membranaceus</i>	
23			<i>Verbascum</i> sp.			<i>Trifolium pratense</i>
24			<i>Verbascum</i> sp.			
25			<i>Verbascum</i> sp.			
26		<i>Turnera diffusa</i>	<i>Verbascum</i> sp.			<i>Cannabis sativa</i>
27						<i>Althaea officinalis</i>
28						<i>Rosa hybrida</i>
29				<i>Thymus</i> sp.		<i>Artemisia</i> sp.
30		<i>Turnera diffusa</i>				<i>Teucrium pyrenaicum</i>
31		<i>Turnera diffusa</i>				<i>Pegnum harmala</i>
32						<i>Artemisia</i> sp.
33						<i>Artemisia</i> sp.

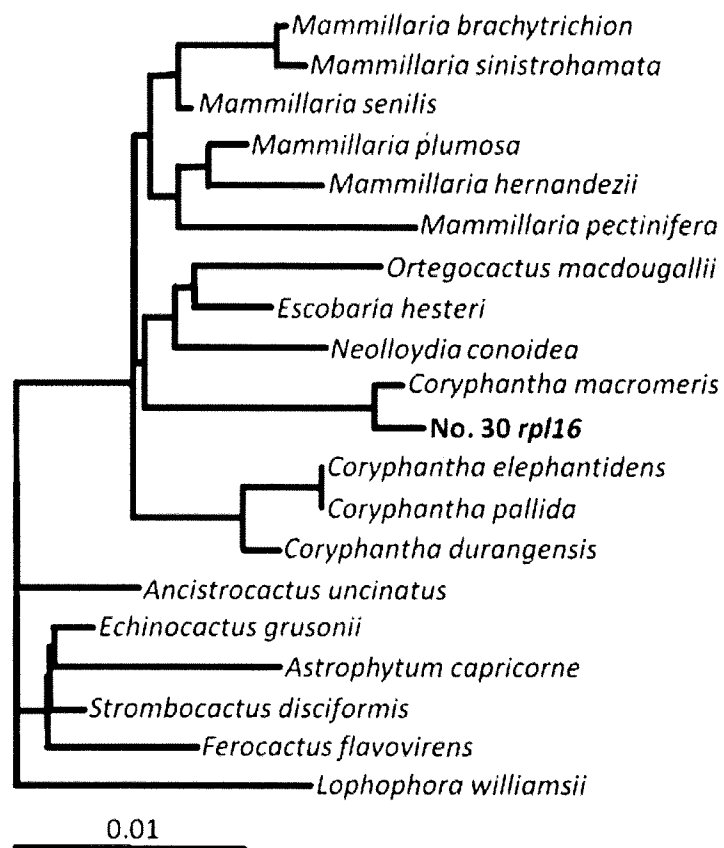


図 3. 製品 (No. 30) から得られた *rpl16* 領域の近縁サボテン属植物との系統樹解析

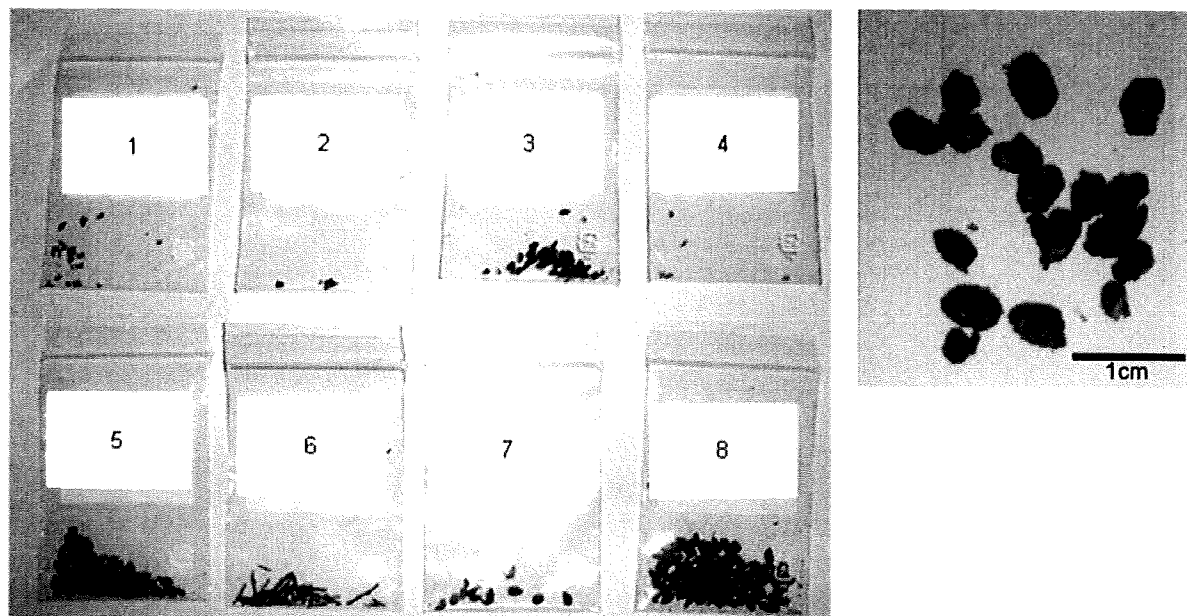
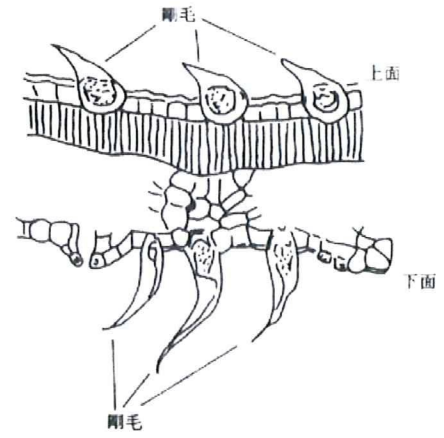
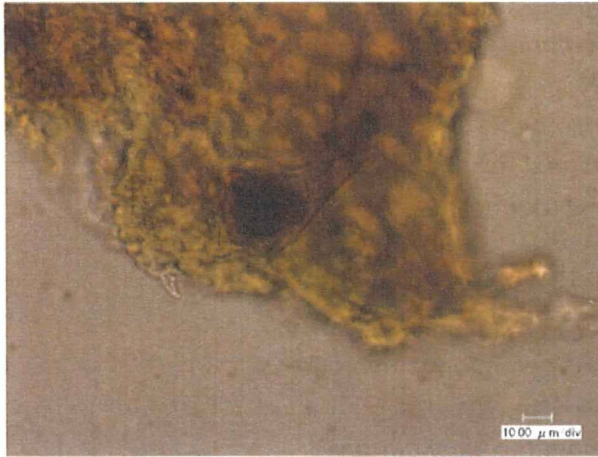


図 4. 製品 No. 26 中に含まれる植物組織片  
右図は 5 の拡大写真





大麻葉横断図



図 5. 製品 No. 26 から検出された大麻の剛毛

分担研究課題:植物系違法ドラッグの活性成分の探索  
研究分担者:高山 廣光 千葉大学大学院薬学研究院 教授

—植物系違法ドラッグ市場品「シニクイチ」(基原植物 *Heimia salicifolia*) 中に  
含有されているアルカロイドの調査—

研究要旨:植物系違法ドラッグ市場品「シニクイチ」(基原植物:*Heimia salicifolia* 葉部)の含有アルカロイドの検索を行った。その結果、主塩基の biphenyl quinolizidine lactone アルカロイド lyfoline (1), dehydrodecodine (6)を含む既知アルカロイド 10 種 [biphenyl quinolizidine lactone 8 種, phenyl quinolizidine 2 種], 新規アルカロイド 11 種 [biphenyl quinolizidine lactone 9 種, biphenyl ether quinolizidine lactone 1 種, phenyl quinolizidine 1 種]を単離・構造決定した。

#### A. 研究目的

植物系違法ドラッグ市場品としてインターネット上違法ドラッグサイトで流通している「シニクイチ (sinicuichi)」の基原植物は、中南米に自生し、抗梅毒、解熱、止血などの民間療法薬として用いられているミソハギ科 *Heimia salicifolia*<sup>1)</sup>である。本植物の葉を発酵させ服用することで快い眠気や全身筋肉の弛緩などの向精神作用がもたらされるが、その活性本体や作用発現のメカニズムは解明されていない。ミソハギ科植物は quinolizidine 系アルカロイドを含有していることが知られており、*Heimia salicifolia* からは lythrine (1)や vertine (2) のような biphenyl quinolizidine lactone 類などが単離されている。動物実験による生物活性評価において Vertine (2)に精神安定作用があることが報告されているが詳細な研究はなされていない。そこで本年度の研究では、市場品「シニクイチ」のメタノール抽出エキスの詳細な成分検索により含有アルカロイドを明らかにした。

#### B. 研究方法

インターネット上で流通している植物系違法ドラッグ市場品「シニクイチ」(基原植物:*Heimia*

*salicifolia* 葉部)について、以下のように抽出、アルカロイド成分の分離を行った。

Sinicuichi (oigin: leaves of *Heimia salicifolia* (862 g dry weight) was extracted with 5% H<sub>2</sub>O/MeOH (18.2 l, twice at room temperature and two times under reflux) to give a MeOH extract (203.9 g). The portion of the extract (91.59 g) was dissolved in AcOEt (1.4 l) and extracted with 1N HCl aq (2.1 l) to give the AcOEt extract (13.58 g). The aqueous layer was made basic (pH 9) by addition of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and then extracted with 5% MeOH/CHCl<sub>3</sub> (3.2 l) and then with *n*-BuOH (2.6 l) to give the 5% MeOH/CHCl<sub>3</sub> extract (12.56 g) and the *n*-BuOH extract (51.45 g), respectively. the 5% MeOH/CHCl<sub>3</sub> extract (11.56 g) was separated by silica gel flash column chromatography with a MeOH/CHCl<sub>3</sub> gradient to give 10 fractions: fr. A 5-10% MeOH/CHCl<sub>3</sub> (36.3 mg); fr. B 10% MeOH/CHCl<sub>3</sub> (1.02 g); fr. C 10% MeOH/CHCl<sub>3</sub> (2.97 g); fr. D 10% MeOH/CHCl<sub>3</sub> (1.53 g); fr. E 10-20% MeOH/CHCl<sub>3</sub> (570 mg); fr. F 20-30% MeOH/CHCl<sub>3</sub> (629 mg); fr. G 30% MeOH/CHCl<sub>3</sub> (653 mg), fr. H 30-40% MeOH/CHCl<sub>3</sub> (637 mg), fr.

I 40% MeOH/CHCl<sub>3</sub> (665 mg), and fr. J MeOH and 10% conc. NH<sub>3</sub>/MeOH (2.20 mg). Fractions were purified by repeated chromatography to afford 11 new alkaloids and 10 known alkaloids as follows. From fraction B, lythrine (**1**, 110.4 mg) was isolated. HS15 (**21**, 71.2 mg) was obtained from fraction B and C. From fraction C, HS20 (**19**, 5.1 mg) was also isolated. Lyfoline (**3**, 1239.5 mg) and dehydrodecodine (**6**, 1150.3 mg) were separated from fractions C-F. Fraction E also contained HS19 (**16**, 4.5 mg). Lythridine (**8**, 48.6 mg) was obtained from fractions C-E. Vertine (**2**, 455.9 mg) was isolated from fractions C, D, and F-I. HS6 (**12**, 77.1 mg) and 9 $\beta$ -hydroxyvertine (**5**, 5.5 mg) were isolated from fractions G and H. From fraction G, HS7 (**15**, 20.1 mg), HS10 (**13**, 7.8 mg), HS11 (**20**, 1.8 mg), and HS12 (**14**, 9.5 mg) were also isolated. HS17 (**17**, 6.3 mg) was obtained from fractions G-I. From fraction I, demethylasubine II (**9**, 7.3 mg), HS18 (**11**, 31.9 mg), and HS22 (**18**, 2.4 mg) were obtained. 10-Epilyfoline (**4**, 498.1 mg) and demethylasubine I (**10**, 167.5 mg) were isolated from fractions I and J. Fraction J also contained verticilatine (**7**, 12.5 mg). 単離した化合物については各種スペクトルデータの測定により構造を決定した。

### C. 研究結果・考察

インターネット上で流通している植物系違法ドラッグ市場品「シニクイチ」(基原: *Heimia salicifolia* 葉部)の粗塩基分画(5% MeOH/CHCl<sub>3</sub>抽出分画, 11.56 g)より, biphenyl quinolizidine lactone アルカロイドの lythrine (**1**), vertine (**2**), lyfoline (**3**), 10-epilyfoline (**4**), 9 $\beta$ -hydroxyvertine (**5**), dehydrodecodine (**6**), verticilatine (**7**), lythridine (**8**), HS18 (**11**), HS6 (**12**), HS10 (**13**), HS12 (**14**), HS7 (**15**), HS19 (**16**), HS17 (**17**), HS22 (**18**), HS20 (**19**), biphenyl ether quinolizidine lactone アルカロイドの HS11 (**20**), phenyl quinolizidine アル

カロイドの demethylasubine II (**9**), demethylasubine I (**10**), HS15 (**21**)を得た。このうち, biphenyl lactone **11-19**, biphenyl ether lactone **20**, phenyl quinolizidine **21** が新規アルカロイドである。これまでの分離結果から, 主な塩基は biphenyl lactone の lyfoline (**3**, 粗塩基の 10.7%), dehydrodecodine (**6**, 粗塩基の 10.0%)であり, 次いで 10-epilyfoline (**4**, 粗塩基の 4.3%), vertine (**2**, 粗塩基の 3.9%)の含有量が高いことがわかった。Lyfoline (**3**)と dehydrodecodine (**6**)は, とともに *cis*-quinolizidine 環(10H- $\alpha$ )を有し, C 環部の酸素官能基の位置異性体である。10-Epilyfoline (**4**), vertine (**2**)は, *trans*-quinolizidine 環(10H- $\beta$ )を有し, **2** は **4** の 4''位メチルエーテル誘導体である。各化合物は, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, UV, Mass, 旋光度, CD スペクトルを測定することにより構造を確認した。

以下に新規アルカロイド **11-21** の各種スペクトルデータを記載する。

#### HS18 (**11**)

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\Sigma$ ): 283.5 (4.04), 205.0 (4.44)

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  [ppm]: 7.15 (1H, br-d,  $J=8.6$  Hz, H-4'), 7.08 (1H, s, H-6''), 7.00 (1H, d,  $J=1.9$  Hz, H-6'), 6.93 (1H, d,  $J=8.6$  Hz, H-3''), 6.92 (1H, s, H-3''), 6.80 (1H, d,  $J=12.6$  Hz, H-14), 5.82 (1H, d,  $J=12.6$  Hz, H-13), 5.35 (1H, br-s, H-2), 4.58 (1H, br-d,  $J=12.5$  Hz, H-4), 3.87 (3H, s, OMe), 3.55 (1H, ddd,  $J=11.5, 10.5, 3.5$  Hz, H-9 $\alpha$ ), 2.84 (1H, br-d,  $J=13.7$  Hz, H-6 $\alpha$ ), 2.66 (1H, dd,  $J=10.5, 6.5$  Hz, H-10), 2.47 (1H, br-d,  $J=15.4$  Hz, H-1 $\alpha$ ), 2.32 (1H, dd,  $J=13.7, 13.7$  Hz, H-6 $\beta$ ), 2.23 (1H, br-d,  $J=14.0$  Hz, H-3a), 1.98 (1H, br-dd,  $J=14.0, 12.5$  Hz, H-3 $\beta$ ), 1.91 (1H, ddd,  $J=15.4, 6.5, 2.5$  Hz, H-1 $\beta$ ), 1.65 (1H, br-dd,  $J=12.4, 3.0$  Hz, H-8 $\alpha$ ), 1.05 (1H, dddd,  $J=13.0, 12.4, 11.5, 3.5$  Hz, H-8 $\beta$ ), 0.99 (1H, br-d,  $J=13.7$  Hz, H-7 $\beta$ ), 0.85 (1H, dddd,  $J=13.7, 13.7, 13.0, 3.5, 3.5$  Hz, H-7 $\alpha$ ).

<sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  [ppm]: 168.7

(C-12), 155.7 (C-2'), 146.6 (C-4''), 146.1 (C-5''), 135.6 (C-14), 131.2 (C-6, 2''), 130.0 (C-4'), 128.1 (C-1''), 125.3 (C-1'), 125.0 (C-5'), 118.0 (C-13), 115.9 (C-3'), 113.9 (C-6''), 112.8 (C-3''), 71.6 (C-2), 64.4 (C-9), 63.1 (C-10), 55.0 (-OMe), 49.2 (C-6), 49.1 (C-4), 38.9 (C-3), 34.3 (C-8), 27.6 (C-1), 19.9 (C-7).

HR-ESI-MS  $m/z$ : 438.1898 [M+H]<sup>+</sup> (calcd. for C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>6</sub> 438.1911).

[ $\chi$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> +26.0 (*c* 0.24, MeOH).

CD (MeOH, 24 °C, *c* = 0.17 mmol/l)  $\Theta \Sigma$  ( $\lambda$  nm): +31.6 (202), 0.3 (214), -21.1 (223), -1.3 (251), 0 (258), +4.6 (282), 0 (301), -2.7 (313), 0 (334).

#### HS6 (12)

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\Sigma$ ): 293.5 (3.91), 204.0 (4.74).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  [ppm]: 7.40 (1H, dd, *J*=9.8, 2.0 Hz, H-4'), 6.97 (1H, s, H-3''), 6.95 (1H, d, *J*=9.8 Hz, H-3'), 6.87 (1H, s, H-6''), 6.56 (1H, br-s, H-6'), 5.02 (1H, dd, *J*=11.2, 3.2 Hz, H-14 $\beta$ ), 4.90 (1H, br-s, H-2), 3.83 (3H, s, OMe), 3.05 (1H, d, *J*=11.6 Hz, H-4), 2.79 (1H, dd, *J*=11.2, 3.2 Hz, H-13 $\beta$ ), 2.71 (1H, d, *J*=11.6 Hz, H-6), 2.39 (1H, dd, *J*=11.2, 11.2 Hz, H-13 $\alpha$ ), 2.25 (1H, d, *J*=13.4 Hz, H-3 $\alpha$ ), 1.94 (1H, m, H-10), 1.81 (1H, dd, *J*=13.4, 12.0 Hz, H-3 $\beta$ ), 1.67-1.65 (2H, overlapped, H<sub>2</sub>-1), 1.62 (2H, overlapped, H<sub>2</sub>-7), 1.50-1.40 (2H, overlapped, H<sub>2</sub>-8), 1.50-1.40 (1H, overlapped, H-9), 1.34-1.22 (2H, overlapped, H-6, H-9).

<sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  [ppm]: 172.7 (C-12), 155.0 (C-2'), 147.7 (C-4''), 147.3 (C-5''), 135.9 (C-5'), 134.4 (C-2''), 130.2 (C-1''), 129.8 (C-6'), 127.8 (C-1'), 124.8 (C-4'), 117.6 (C-3'), 114.3 (C-6''), 114.2 (C-3''), 72.6 (C-14), 71.9 (C-2), 61.5 (C-10), 61.0 (C-4), 56.4 (-OMe), 53.9 (C-6), 48.3 (C-13), 38.8 (C-3), 37.7 (C-1), 33.6 (C-9), 26.5 (C-8), 25.5 (C-7).

HR-ESI-MS  $m/z$ : 440.2050 [M+H]<sup>+</sup> (calcd. for

C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>6</sub> 440.2068).

[ $\chi$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup> -146.7 (*c* 0.08, MeOH).

CD (MeOH, 24 °C, *c* = 0.26 mmol/l)  $\Theta \Sigma$  ( $\lambda$  nm): +90.5 (203), 0 (211), -44.3 (219), 0 (231), +7.6 (235), 0 (240), -8.3 (249), -4.2 (264), -11.1 (282), 0 (315).

#### HS10 (13)

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 293.5 (4.01), 203.0 (4.84).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  [ppm]: 7.05 (1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-4'), 7.00 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6'), 6.98 (1H, s, H-3''), 6.88 (1H, s, H-6''), 6.86 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-3'), 5.00-4.98 (2H, overlapped, H-2, 14 $\alpha$ ), 3.84 (3H, s, OMe), 3.22 (1H, d, *J*=12.0 Hz, H-4), 2.87 (1H, dd, *J*=12.5, 4.0 Hz, H-13 $\beta$ ), 2.74 (1H, br-d, *J*=11.5 Hz, H-6), 2.48 (1H, dd, *J*=12.5, 2.5 Hz, H-13 $\alpha$ ), 2.29 (1H, d, *J*=14.5 Hz, H-3 $\alpha$ ), 1.96 (1H, m, H-10), 1.87 (1H, ddd, *J*=14.5, 12.0, 1.2 Hz, H-3 $\beta$ ), 1.68-1.63 (4H, overlapped, H<sub>2</sub>-1, H-7), 1.45-1.42 (2H, overlapped, H<sub>2</sub>-8), 1.45-1.42 (1H, overlapped, H-9), 1.33-1.28 (2H, overlapped, H-6, H-9).

<sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  [ppm]: 172.2 (C-12), 155.3(C-2'), 147.7 (C-4''), 147.3 (C-5''), 134.7 (C-5'), 134.1 (C-1'')\*, 134.0 (C-2'')\*, 130.5 (C-6'), 128.7 (C-1'), 127.9 (C-4'), 116.5 (C-3'), 114.3 (C-6''), 114.2 (C-3''), 72.2 (C-14), 71.4 (C-2), 61.9 (C-10), 61.3 (C-4), 56.4 (-OMe), 53.9 (C-6), 44.3 (C-13), 39.2 (C-3), 37.8 (C-1), 33.5 (C-9), 26.4 (C-8), 25.5 (C-7) (\*interchangeable).

HR-ESI-MS  $m/z$ : 440.2052 [M+H]<sup>+</sup> (calcd. for C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>6</sub> 440.2068).

[ $\chi$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup> -174.0 (*c* 0.01, MeOH)

CD (MeOH, 24 °C, *c* = 0.19 mmol/l)  $\Theta \Sigma$  ( $\lambda$  nm): +108.7 (203), 0 (212), -47.7 (219), 0 (230), +17.6 (235), 0 (241), -9.8 (250), -5.3 (265), -12.9 (282), 0 (314).

#### HS12 (14)

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\Sigma$ ): 286.0 (3.75), 204.5

(4.54).

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  [ppm]: 7.49 (1H, dd,  $J=8.0, 2.0$  Hz, H-4'), 6.99 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-3'), 6.96 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-4''), 6.92 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-3''), 6.62 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6'), 5.07 (1H, dd,  $J=11.3, 2.5$  Hz, H-14 $\beta$ ), 4.84 (1H, dd,  $J=2.5, 2.5$  Hz, H-2), 3.86 (3H, s, OMe), 2.87 (1H, d,  $J=12.0$  Hz, H-4), 2.81 (1H, dd,  $J=11.8, 2.5$  Hz, H-13 $\beta$ ), 2.70 (1H, br-d,  $J=12.0$  Hz, H-6), 2.37 (1H, dd,  $J=11.8, 11.3$  Hz, H-13 $\alpha$ ), 2.20 (1H, br-d,  $J=14.0$  Hz, H-3 $\alpha$ ), 1.86 (1H, m, H-10), 1.70 (1H, ddd,  $J=14.0, 12.0, 2.0$  Hz, H-3 $\beta$ ), 1.62-1.56 (4H, overlapped, H<sub>2</sub>-1, H-8), 1.43 (1H, m, H-9), 1.36-1.28 (2H, overlapped, H<sub>2</sub>-7), 1.23-1.14 (2H, overlapped, H-6, H-9).

$^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  [ppm]: 171.5 (C-12), 154.8 (C-2'), 146.5 (C-5''), 144.7 (C-6''), 136.4 (C-5')\*, 136.3 (C-2'')\*, 129.2 (C-6'), 125.0 (C-1'), 125.0 (C-1''), 123.8 (C-4'), 118.3 (C-3''), 117.4 (C-3'), 112.1 (C-4''), 72.2 (C-14), 71.0 (C-2), 60.4 (C-10), 59.8 (C-4), 56.3 (-OMe), 53.4 (C-6), 48.3 (C-13), 39.7 (C-3), 37.8 (C-1), 34.1 (C-9), 26.6 (C-7), 25.4 (C-8) (\*interchangeable).

HR-ESI-MS  $m/z$ : 440.2054 [ $\text{M}+\text{H}$ ]<sup>+</sup> (calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{NO}_6$  440.2068).

$[\alpha]_{\text{D}}^{24}$  -102.7 ( $c$  0.05, MeOH).

CD (MeOH, 24 °C,  $c$  = 0.16 mmol/l)  $\otimes \Sigma$  ( $\lambda$  nm): +85.6 (200), 0 (213), -26.3 (222), -18.4 (230), -0.9 (284), -3.8 (289), 0 (311).

#### HS7 (15)

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 285.5 (3.73), 204.5 (4.54).

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  [ppm]: 7.08 (1H, dd,  $J=8.5, 2.0$  Hz, H-4'), 7.02 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6'), 6.97 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-4''), 6.92 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-3''), 6.88 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-3'), 5.01 (1H, dd,  $J=6.0, 2.0$  Hz, H-14a), 4.93 (1H, dd,  $J=2.5, 2.5$  Hz, H-2), 3.83 (3H, s, -OMe),

2.92 (1H, d,  $J=11.5$  Hz, H-4), 2.87 (1H, dd,  $J=12.5, 6.0$  Hz, H-13b), 2.72 (1H, br-d,  $J=11.0$  Hz, H-6), 2.47 (1H, dd,  $J=12.5, 2.0$  Hz, H-13a), 2.27 (1H, br-d,  $J=13.5$  Hz, H-3a), 1.85 (1H, m, H-10), 1.74 (1H, br-dd,  $J=13.5, 13.0$  Hz, H-3b), 1.62-1.56 (4H, overlapped, H<sub>2</sub>-1, 8), 1.43 (1H, br-d,  $J=12.5$  Hz, H-9), 1.36-1.28 (2H, overlapped, H<sub>2</sub>-7), 1.22-1.10 (2H, overlapped, H-6, 9)

$^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  [ppm]: 172.3 (C-12), 155.1 (C-2'), 146.6 (C-5''), 144.8 (C-6''), 136.3 (C-2''), 135.4 (C-5'), 129.6 (C-6'), 127.4 (C-4'), 125.3 (C-1''), 124.9 (C-1'), 118.3 (C-3''), 116.4 (C-3'), 112.2 (C-4''), 71.6 (C-14), 71.3 (C-2), 60.5 (C-10), 59.8 (C-4), 56.3 (-OMe), 53.4 (C-6), 44.0 (C-13), 40.1 (C-3), 37.8 (C-1), 34.2 (C-9), 26.7 (C-7), 25.5 (C-8)

HR-ESI-MS  $m/z$ : 440.2054 [ $\text{M}+\text{H}$ ]<sup>+</sup> (calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{NO}_6$  440.2068).

$[\alpha]_{\text{D}}^{24}$  -64.0 ( $c$  0.015, MeOH).

CD (MeOH, 24 °C,  $c$  = 0.14 mmol/l)  $\otimes \Sigma$  ( $\lambda$  nm): +65.2 (201), 0 (213), -14.2 (223), -9.8 (229), -4.8 (245), -0.6 (270), -2.8 (291), 0 (304).

m.p.: 169.5- 171.0 °C (Acetone).

#### HS19 (16)

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\Sigma$ ): 284 (4.03), 204 (4.51).

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  [ppm]: 7.50 (1H, s, H-3''), 7.19 (1H, dd,  $J=8.5, 2.0$  Hz, H-4'), 7.10 (1H, s, H-6''), 6.98 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-3'), 6.92 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6'), 6.87 (1H, d,  $J=12.5$  Hz, H-14), 5.83 (1H, d,  $J=12.5$  Hz, H-13), 5.26 (1H, br-s, H-2), 4.93 (1H, d,  $J=11.0$  Hz, H-4), 3.86 (3H, s, OMe), 3.04-2.99 (2H, overlapped, H-3, H-10), 2.86 (1H, d,  $J=10.5$  Hz, H-6), 2.22 (1H, ddd,  $J=15.5, 12.5, 3.5$  Hz, H-1), 2.18-2.09 (3H, overlapped, H-3, H-6, H-7), 1.88 (1H, dddd,  $J=13.0, 13.0, 13.0, 3.5$  Hz, H-9 $\beta$ ), 1.64 (1H, m, H-1), 1.61 (1H, m, H-8), 1.36 (1H, d,  $J=15.2$  Hz, H-7), 1.29-1.23 (2H, overlapped, H-8, H-9 $\alpha$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  [ppm]: 169.5 (C-12), 157.4 (C-2), 148.8 (C-5''), 147.6 (C-4''), 137.7 (C-14), 132.7 (C-6'), 131.5 (C-4'), 131.2 (C-1''), 127.3 (C-2''), 127.0 (C-5'), 126.5 (C-1'), 119.5 (C-13), 117.8 (C-3'), 115.8 (C-3''), 114.7 (C-6''), 72.3 (C-10), 70.4 (C-2), 70.2 (C-4), 65.5 (C-6), 56.3 (-OMe), 33.3 (C-3), 32.6 (C-1), 27.4 (C-9), 23.7 (C-8), 21.3 (C-7).

HR-ESI-MS  $m/z$ : 438.1898  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{NO}_6$  438.1911).

$[\text{I}]_{\text{D}}^{22} +106.2$  ( $c$  0.17, MeOH).

CD (MeOH, 24 °C,  $c$  = 0.15 mmol/l)  $\otimes\sum$  ( $\lambda$  nm): +54.3 (206), 0 (214), -52.3 (223), 0 (242), -1.2 (247), 0 (253), +7.2 (281), 0 (300), -5.8 (312), 0 (339).

#### HS17 (17)

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  [ppm]: 7.70 (1H, s, H-3''), 7.21 (1H, dd,  $J=8.0, 2.0$  Hz, H-4'), 7.10 (1H, s, H-6''), 7.01 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6'), 6.96 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-3'), 6.86 (1H, d,  $J=12.5$  Hz, H-14), 5.82 (1H, d,  $J=12.5$  Hz, H-13), 5.31 (1H, br-s, H-2), 5.14 (1H, d,  $J=11.8$  Hz, H-4), 3.86 (3H, s, OMe), 3.34 (1H, d,  $J=12.5$  Hz, H-6), 3.23 (1H, m, H-10), 3.20 (1H, d,  $J=15.0, 11.8, 2.0$  Hz, H-3), 2.88 (1H, m, H-1), 2.86 (1H, m, H-6), 2.12 (1H, d,  $J=15.0$  Hz, H-3), 1.65-1.57 (1H, overlapped, H-1), 1.65-1.57 (2H, overlapped, H<sub>2</sub>-9), 1.26-1.24 (1H, overlapped, H-7), 1.26-1.24 (2H, overlapped, H<sub>2</sub>-8), 0.92 (1H, m, H-7).

$^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  [ppm]: 169.2 (C-12), 157.3 (C-2'), 148.7 (C-5''), 147.7 (C-4''), 137.8 (C-14), 132.3 (C-6'), 131.9 (C-4'), 130.2 (C-1''), 127.1 (C-2''), 126.8 (C-5'), 126.5 (C-1'), 119.2 (C-13), 117.6 (C-3'), 115.9 (C-3''), 115.3 (C-6''), 76.1 (C-10), 70.8 (C-2), 68.1 (C-6), 59.3 (C-4), 56.3 (-OMe), 34.5 (C-3), 31.5 (C-9), 31.2 (C-1), 23.7 (C-8), 22.6 (C-7).

HR-ESI-MS  $m/z$ : 438.1895  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{NO}_6$  438.1911).

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\Sigma$ ): 284.5 (3.81), 203.5 (4.29).

$[\text{I}]_{\text{D}}^{22} +71.0$  ( $c$  0.07, MeOH).

CD (MeOH, 24 °C,  $c$  = 0.18 mmol/l)  $\otimes\sum$  ( $\lambda$  nm): +24.1 (206), 0 (215), -25.7 (224), 0 (240), +0.5 (242), 0 (244), -0.9 (250), 0 (257), +3.0 (281), 0 (301), -2.2 (314), 0 (333).

#### HS22 (18)

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\Sigma$ ): 284.5 (4.31), 203.0 (4.72).

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  [ppm]: 7.66 (1H, s, H-3''), 7.22 (1H, dd,  $J=8.2, 2.0$  Hz, H-4'), 7.10 (1H, s, H-6''), 6.99 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6'), 6.97 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, H-3'), 6.86 (1H, d,  $J=12.5$  Hz, H-14), 5.85 (1H, d,  $J=12.5$  Hz, H-13), 5.36 (1H, br-s, H-2), 4.92 (1H, m, H-4), 3.86 (3H, s, OMe), 3.48 (1H, ddd,  $J=12.2, 11.0, 5.0$  Hz, H-9 $\alpha$ ), 3.33 (1H, br-d,  $J=10.0$  Hz, H-6), 3.22 (1H, ddd,  $J=15.5, 12.0, 2.5$  Hz, H-3), 2.91-2.84 (2H, overlapped, H-6, H-10), 2.65 (1H, ddd,  $J=16.0, 6.5, 4.0$  Hz, H-1), 2.40 (1H, d,  $J=16.0$  Hz, H-1), 2.14 (1H, d,  $J=15.5$  Hz, H-3), 1.57 (1H, br-d,  $J=11.5$  Hz, H-8 $\alpha$ ), 1.32 (1H, br-d,  $J=14.5$  Hz, H-7 $\beta$ ), 1.16 (1H, dddd,  $J=13.5, 12.2, 11.5, 4.0$  Hz, H-8 $\beta$ ), 0.91 (1H, m, H-7 $\alpha$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  [ppm]: 169.2 (C-12), 157.2 (C-2'), 148.8 (C-5''), 147.8 (C-4''), 137.6 (C-14), 132.3 (C-6'), 132.0 (C-4'), 130.2 (C-1''), 126.9 (C-5')\*, 126.8 (C-2'')\*, 126.3 (C-1'), 119.5 (C-13), 117.5 (C-3'), 115.9 (C-3''), 115.2 (C-6''), 80.8 (C-10), 71.0 (C-2), 68.5 (C-9), 67.4 (C-6), 61.9 (C-4), 56.3 (-OMe), 34.3 (C-3), 33.2 (C-8), 25.2 (C-1), 19.1 (C-7) (\*interchangeable).

HR-ESI-MS  $m/z$ : 454.1859  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{NO}_7$  454.1860).

$[\text{I}]_{\text{D}}^{16} +46.6$  ( $c$  0.06, MeOH)

CD (MeOH, 24 °C,  $c$  = 0.26 mmol/l)  $\otimes\sum$  ( $\lambda$  nm): +92.8 (204), +1.2 (215), -81.4 (223), -0.1 (239), +1.9 (243), -0.6 (246), -3.0 (248), 0 (252), +8.8

(293), 0 (303), -7.1 (313), 0 (330).

### HS20 (19)

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\Sigma$ ): 288.5 (3.76), 202.5 (4.39).

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  [ppm]: 7.09 (1H, s, H-3''), 7.03 (1H, s, H-6''), 6.80 (1H, d,  $J=1.5$  Hz, H-6'), 6.77 (1H, d,  $J=1.5$  Hz, H-4'), 6.73 (1H, d,  $J=12.5$  Hz, H-14), 5.88 (1H, d,  $J=12.5$  Hz, H-13), 5.34 (1H, br-s, H-2), 3.97 (3H, s, 3'-OMe), 3.89 (3H, s, 5''-OMe), 3.67 (1H, d,  $J=11.5$  Hz, H-4), 2.72 (1H, d,  $J=11.5$  Hz, H-6), 2.28 (1H, d,  $J=14.0$  Hz, H-3), 2.06 (1H, m, H-3), 1.97 (1H, m, H-10), 1.76-1.75 (2H, overlapped, H<sub>2</sub>-1), 1.59 (1H, m, H-8), 1.45-1.40 (2H, overlapped, H<sub>2</sub>-7), 1.45-1.40 (1H, overlapped, H-9), 1.30 (1H, m, H-9), 1.18-1.11 (2H, overlapped, H-6, H-8).

$^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  [ppm]: 168.2 (C-12), 146.9 (C-3'), 146.0 (C-4''), 144.7 (C-5''), 143.8 (C-2'), 135.3 (C-14), 134.0 (C-2''), 126.9 (C-1''), 125.1 (C-1'), 124.9 (C-5'), 124.1 (C-6'), 119.6 (C-13), 112.8 (C-3''), 112.1 (C-6''), 110.5 (C-4'), 71.4 (C-2), 61.2 (C-10), 59.9 (C-4), 56.1 (3'-OMe), 55.9 (5''-OMe), 52.6 (C-6), 39.4 (C-3), 36.8 (C-1), 33.0 (C-9), 25.7 (C-7), 24.7 (C-8).

HR-ESI-MS  $m/z$ : 452.2049  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (calcd. for  $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{NO}_6$  452.2068).

$[\text{J}]_{\text{D}}^{16} +66.7$  ( $c$  0.09, MeOH).

CD (MeOH, 24 °C,  $c$  = 0.23 mmol/l)  $\Theta\Sigma$  ( $\lambda$  nm): +17.9 (209), 0 (218), -13.6 (226), 0 (235), +5.7 (241), 0 (252), -3.0 (264), 0 (279), +0.5 (283), 0 (288), -0.7 (297), 0 (307), +0.5 (324), 0 (348).

### HS11 (20)

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\Sigma$ ): 292.5 (3.70), 227.5 (4.12), 204.0 (4.63).

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  [ppm]: 7.69 (1H, dd,  $J=8.5$ , 2.0 Hz, H-4'), 7.34 (1H, dd,  $J=8.5$ , 2.2 Hz, H-3'), 6.97 (1H, s, H-3''), 6.94 (1H, dd,  $J=8.5$ , 2.0 Hz, H-6'), 6.75 (1H, s, H-6''), 6.51 (1H, dd,  $J=8.5$ , 2.2 Hz, H-1'), 5.05 (1H, dd,  $J=10.8$ , 5.0 Hz,

H-14 $\beta$ ), 4.85 (1H, br-s, H-2), 3.92 (3H, s, OMe), 3.36 (1H, br-d,  $J=10.5$  Hz, H-4), 3.04 (1H, m, H-10), 2.92 (1H, dd,  $J=11.0$ , 5.0 Hz, H-13b), 2.56 (1H, br-d,  $J=12.5$  Hz, H-6 $\alpha$ ), 2.44 (1H, br-dd,  $J=12.5$ , 11.0 Hz, H-6 $\beta$ ), 2.37 (1H, dd,  $J=11.0$ , 10.8 Hz, H-13 $\alpha$ ), 1.99 (1H, m, H-1), 1.87 (1H, br-d,  $J=12.5$  Hz, H-8 $\alpha$ ), 1.73 (1H, dddd,  $J=13.5$ , 13.5, 13.5, 4.0 Hz, H-9 $\alpha$ ), 1.65 (1H, m, H-7 $\alpha$ ), 1.53 (1H, ddd,  $J=14.0$ , 11.0, 3.0 Hz, H-3 $\beta$ ), 1.42 (1H, m, H-1), 1.37 (1H, m, H-8 $\beta$ ), 1.25 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 1.13-1.06 (2H, overlapped, H-7 $\beta$ , H-9 $\beta$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  [ppm]: 169.4 (C-12), 161.9 (C-2'), 148.7 (C-1''), 146.3 (C-5''), 143.2 (C-4''), 135.9 (C-5'), 128.0 (C-6'), 126.8 (C-4'), 124.5 (C-2''), 118.4 (C-3'), 115.5 (C-1'), 115.1 (C-3''), 105.1 (C-6''), 72.1 (C-14), 68.2 (C-2), 56.7 (C-10), 56.0 (-OMe), 50.4 (C-6), 47.8 (C-13), 44.8 (C-4), 35.9 (C-3), 34.4 (C-1), 25.9 (C-8), 25.2 (C-9), 19.4 (C-7).

HR-ESI-MS  $m/z$ : 440.2068  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{NO}_6$  440.2068).

CD (MeOH, 24 °C,  $c$  = 0.23 mmol/l)  $\Theta\Sigma$  ( $\lambda$  nm): -35.3 (200), -1.0 (212), -20.6 (227), -1.3 (251), -8.4 (277), 0 (283), +8.6 (294), 0 (311), -0.4 (316), 0 (330).

### HS15 (21)

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\Sigma$ ): 280.5 (3.56), 232.5 (3.79), 203.5 (4.41).

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  [ppm]: 6.95 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-2'), 6.83 (1H, dd,  $J=8.0$ , 2.0 Hz, H-6'), 6.79 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-5'), 5.21 (1H, m, H-2), 4.03 (1H, dd,  $J=4.8$ , 4.8 Hz, H-4), 3.87 (3H, s, OMe), 2.99 (1H, m, H-10), 2.70 (1H, ddd,  $J=12.2$ , 2.8, 2.8 Hz, H-6 $\alpha$ ), 2.24 (1H, ddd,  $J=12.2$ , 12.0, 3.2 Hz, H-6 $\beta$ ), 2.05-2.02 (2H, overlapped, H<sub>2</sub>-3), 2.03 (3H, s, OCOMe), 1.67 (1H, m, H-8), 1.59-1.49 (2H, overlapped, H<sub>2</sub>-1), 1.59-1.49 (2H, overlapped, H-7, H-9), 1.48 (1H, m, H-9), 1.41 (1H, m, H-7), 1.26 (1H, m, H-8).

$^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  [ppm]: 170.5 (OCOMe), 145.5 (C-4'), 145.4 (C-3'), 135.7 (C-1'), 119.9 (C-6'), 114.9 (C-2'), 110.3 (C-5'), 68.4 (C-2), 61.4 (C-4), 55.9 (-OMe), 53.5 (C-10), 51.1 (C-6), 36.5 (C-1), 36.2 (C-3), 31.9 (C-9), 24.4 (C-7), 24.0 (C-8), 21.4 (OCOMe).

HR-ESI-MS  $m/z$ : 320.1845  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{NO}_4$  320.1856).

$[\alpha]_{\text{D}}^{24} +14.7$  ( $c$  0.17, MeOH)

CD (MeOH, 24 °C,  $c$  = 0.21 mmol/l)  $\otimes \Sigma$  ( $\lambda$  nm): -3.0 (200), -1.4 (204), 0 (207), +1.1 (210), +0.1 (221), +0.6 (228), 0 (242).

#### E. 結論

植物系違法ドラッグ市場品としてインターネット上違法ドラッグサイトで流通している「シニクイチ」(基原植物:*Heimia salicifolia* 葉部)のアルカロイド成分の検索を行った。その結果、既知アルカロイド 10 種 [biphenyl quinolizidine lactone 8 種, phenyl quinolizidine 2 種], 新規アルカロイド 11 種 [biphenyl quinolizidine lactone 9 種, biphenyl ether quinolizidine lactone 1 種, phenyl quinolizidine 1 種]を単離・構造決定した。これまでの分離結果から、主な塩基は biphenyl quinolizidine lactone アルカロイドの lyfoline (**2**, 粗塩基の 10.7%), dehydrodecodine (**6**, 粗塩基の 10.0%)であった。

#### G. 参考文献

1. Malone, M. H., Rother A., *J. Ethnopharmacol.*, **42**, 135-159 (1994).

#### H. 研究発表

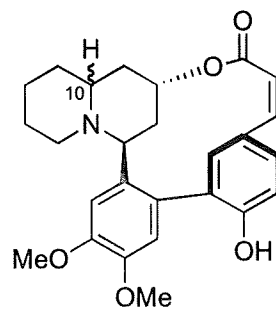
学会発表

1. 山口恭加, 小暮紀行, 北島満里子, 花尻瑠理, 緒方潤, 合田幸広, 高山廣光: ミソハギ科 *Heimia salicifolia* 含有成分探索, 日本薬学会第 130 年会, 岡山 (2010. 3).

#### I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし



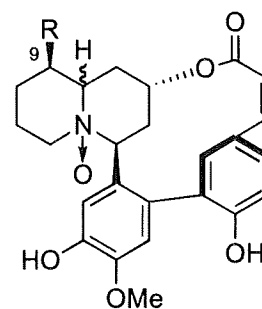
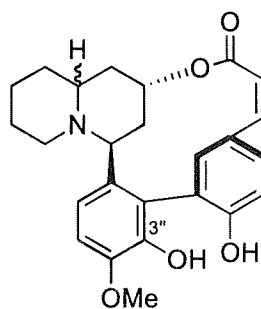
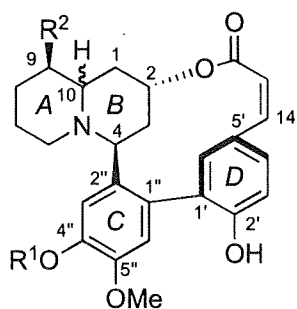


10H- $\alpha$  : Lythrine (1)

10H- $\beta$  : Vertine (2)

**Fig. 1.** Structure of Lythrine (1) and Vertine (2).

### Biphenyl Quinolizidine Lactones



10H- $\alpha$ , R<sup>1</sup>=Me, R<sup>2</sup>=H : Lythrine (1)

10H- $\alpha$ , R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=H: Lyfoline (3)

10H- $\beta$ , R<sup>1</sup>=Me, R<sup>2</sup>=H : Vertine (2)

10H- $\beta$ , R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=H : 10-Epilyfoline (4)

10H- $\beta$ , R<sup>1</sup>=Me, R<sup>2</sup>=OH : 9 $\beta$ -Hydroxyvertine (5)

10H- $\beta$ , R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=OH : HS18 (11, New)

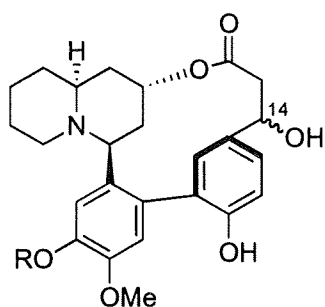
10H- $\alpha$  : Dehydrodecodine (6)

10H- $\beta$  : Verticillatine (7)

10H- $\alpha$ , R=H : HS19 (16, New)

10H- $\beta$ , R=H : HS17 (17, New)

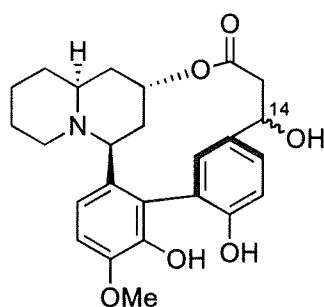
10H- $\beta$ , R=OH : HS22 (18, New)



14 $\alpha$ -OH, R = Me : Lythridine (8)

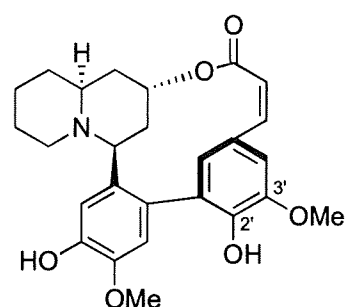
14 $\alpha$ -OH, R = H : HS6 (12, New)

14 $\beta$ -OH, R = H : HS10 (13, New)



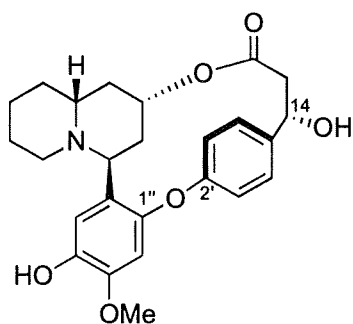
14 $\alpha$ -OH : HS12 (14, New)

14 $\beta$ -OH : HS7 (15, New)



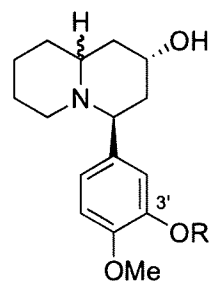
HS20 (19, New)

### Biphenyl Ether Quinolizidine Lactones



HS11 (20, New)

### Phenylquinolizidine Alkaloids



10H- $\alpha$ , R= H : Demethylasubine II (9)

10H- $\beta$ , R= H : Demethylasubine I (10)

10H- $\beta$ , R= COMe : HS15 (21, New)

Fig. 2. Isolated Alkaloids from Sinicuichi (*Heimia salicifolia* Leaves).

分担研究課題:植物系違法ドラッグの活性成分の探索

研究分担者:高山 廣光 千葉大学大学院薬学研究院 教授

—植物系違法ドラッグとして流通している植物 *Voacanga africana* の種子並びに根皮中に含有されるアルカロイドの中樞神経系に対する生物活性評価—

研究協力者:飯田 満 大塚製薬株式会社診断事業部 室長

藪下 尚智 大塚製薬株式会社診断事業部 研究員

花尻(木倉)瑠理 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

研究要旨:違法ドラッグ市場で流通している植物 *Voacanga africana* の種子並びに根皮のメタノール抽出物, また, これらより単離したアルカロイド成分について, 中樞神経系に対する生物活性評価としてカンナビノイドレセプター (CB1R) に対する活性 (アゴニスト作用及びアンタゴニスト作用) を評価した. その結果, CB1R アゴニスト活性を示す化合物は認められなかったが, 根皮のメタノール抽出物及び Iboga type モノマーアルカロイドの 3,6-Oxidovoacangine (2) と VAR4 (3), Iboga-Vobasine-type ビスインドールアルカロイドの Voacamine (4) に比較的強い CB1R アンタゴニスト作用を確認した.

#### A. 研究目的

違法ドラッグ市場で「イボガ」として流通している製品の原植物は, キョウチクトウ科に属する *Tabernanthe iboga* とされ, アフリカの赤道地帯に生育する灌木である. この植物の樹皮や根の抽出物は「イボガ」と称され, 先住民により催淫剤あるいは幻覚剤として長い間用いられてきた. *Tabernanthe iboga* の主成分はインドールアルカロイドの Ibogaine (1) (Fig.1) で, 本物質には中樞神経賦活作用と向精神性がある<sup>1)</sup>. 大量に投与すると麻痺と呼吸停止を引き起こすことが報告されている. これまでにインターネット上で流通している植物 *Voacanga africana* の種子並びに根皮の含有アルカロイドの探索を行った結果, 幻覚性物質の Ibogaine (1) が根皮に存在することが確認され, *Voacanga africana* の根皮は *Tabernanthe iboga* のような向精神活性を示す可能性があると推察された. 本年度は本植物の種子並びに根皮のメタノール抽出物, また, これらより単離した Ibogaine (1)

以外のアルカロイドについて中樞神経系に対する生物活性評価を行った.

#### B. 研究方法

*Voacanga africana* の種子及び根皮のメタノール抽出物と共に, 前年度に厚生労働科学研究において, 種子より単離した Tabersonine type 8 種 (Tabersonine, 3-Oxotabersonine, 5-Oxotabersonine, 5 $\beta$ -Hydroxy-3-oxotabersonine, Lochnericine, Pachysiphine, 3-Oxopachysiphine, 15 $\beta$ -Hydroxy-3-oxotabersonine), Tabersonine-Tabersonine-type bisindole 1 種 (3-Oxovoafrine B), Vincamine type 2 種 (14,15-Dehydrovincamine, 14,15-Dehydro-16-*epi*-vincamine), 根皮より単離した Iboga type 9 種 (Voacangine, 3-Oxovoacangine, Voacristine, 7 $\alpha$ -Voacangine hydroxyndolenine, Voacristine hydroxyndolenine, Ibogaine hydroxyndolenine, Obovamine,

3,6-Oxidovoacangine (2), VAR4 (3)), Sarpagine type 1 種 (Vobasine), Yohimbine type 1 種 (Tetrahydroalstonine), Iboga-Vobasine-type bisindole 2 種 (Voacamine (4), Voacamidine), Aspidosperma-Aspidosperma-type bisindole 4 種 (Vobtusine, VAR8, Subsessiline, Voacinol, VAR11) の計 28 種のアルカロイド<sup>2)</sup>について, Gタンパク質結合受容体 (G protein coupled receptors, GPCRs) と Ca<sup>2+</sup>感受性発光蛋白イクオリンを安定に共発現する組換え細胞を用いた Aequorin/GPCRs cell-based Ca<sup>2+</sup> functional assay<sup>3)</sup>により, カンナビノイド受容体 (CB1R) を中心とした中枢性の GPCRs に対するアゴニスト作用及びアンタゴニスト作用を評価した。

各試料をメタノールに溶解し, メタノール溶液 (メタノール抽出物については 10 mg/mL, 化合物については 10 mM) を作成した。次にこの溶液を DMEM/F12 培地で 100 倍に希釈し, 試料溶液を 7 つの濃度に調整し, マイクロプレートに各濃度の試料溶液 10  $\mu$ L を分注した。そこに 90  $\mu$ L の CB1R と発光タンパク質であるイクオリンおよび Ga16 を安定的に発現させた細胞を加えた。その後, 代表的な CB1R アゴニストである CP55940 (Tocris 社製: CAS No.83002-04-4, 最終濃度が  $2 \times 10^{-6}$  M) を添加し, その発光強度 (RLU) を FDSS7000 (浜松フォトニクス) を用いて測定し評価した。測定は各試料, 各濃度について 3 ウェルずつ行い, 平均値を求め, IC<sub>50</sub> 値をグラフより求めた。

### C. 研究結果・考察

*Voacanga africana* の種子並びに根皮のメタノール抽出物について, セロトニン受容体(5HT2A), オピオイド受容体 ( $\mu$ ,  $\kappa$ OPR), ドパミン受容体 (D2R), CB1R に対するアゴニスト及びアンタゴニスト活性を測定した結果, 根皮の抽出物に, CB1R に対する比較的強いアンタゴニスト活性が認められた (Data not shown)。

一方, *Voacanga africana* の種子並びに根皮か

ら単離された 28 種のアルカロイドについて, さらに CB1R に対する活性を検討した結果, 根皮から単離された Iboga type のモノマーアルカロイドである 3,6-Oxidovoacangine (2) と VAR4 (3), (新規化合物), Iboga-Vobasine-type のビスインドールアルカロイド Voacamine (4) に特異的なアンタゴニスト作用があることが明らかとなった。これら化合物について IC<sub>50</sub> を求めたところ, それぞれ 29, 76, 56  $\mu$ g/L であった (Fig.2)。これはカンナビノイド受容体阻害薬として知られる医薬品リモナバン (Rimonabant) の IC<sub>50</sub> (2  $\mu$ g/L) と比較しても遜色がない活性であった。

なお, CB1R アンタゴニスト活性が認められた 3 種のアルカロイドは, Ibogaine (1) と同様の骨格を持つ化合物 (Fig.3) であったが, Ibogaine (1) そのものについては, CB1R に対する活性は認められなかった。

### D. 結論

*Voacanga africana* の種子並びに根皮のメタノール抽出物, また, これらより単離したアルカロイドについてカンナビノイドレセプター (CB1R) に対する活性を評価した結果, アゴニスト活性を示す化合物は認められなかったが, 根皮のメタノール抽出物及び Iboga-type モノマーアルカロイドの 3,6-Oxidovoacangine (2) と VAR4 (3), Iboga-Vobasine-type ビスインドールアルカロイドの Voacamine (4) に比較的強いアンタゴニスト作用を確認した。

これら成分と同様に CB1R アンタゴニスト活性を有し, 食欲減退薬として主に EU 諸国で販売されていたリモナバン (商品名 Acomplia) は, 約 10% の確率でうつ, 約 1% の確率で自殺企図を発現することが製造販売元のサノフィ・アベンティス社による市販後調査で明らかになり, 2008 年 10 月より販売が停止されている。今回, 同定されたアルカロイド成分は, CB1R の CP55940 に対する IC<sub>50</sub> 値がリモナバンの 1/15~1/36 であるが, 根皮中には複数の CB1R アンタゴニスト活性を有する化合物