

大分丸には両化合物が確認されたが、*Coryphantha macromeris*からはいずれの化合物も確認されなかった。また、本研究に用いた試料グリーンウッドイ(1)(2)、大祥冠、象牙丸からも両化合物は確認されなかった。

D. 考察

Coryphantha macromeris は、その学名が示すとおり、成分として macromerine を有するサボテンとして示されている³⁻⁷⁾。今回の研究結果では、*Coryphantha macromeris* から、macromeine および normacromerine は検出されなかったが、DNA 塩基配列分析の結果からは本種が *Coryphantha* 属サボテンであることは強く示唆された。

大分丸からは macromeine および normacromerine が検出されたが、上記、*Coryphantha macromeris* と DNA 分析の結果は一致せず、更に、大分丸は *Coryphantha macromeris* として一般に紹介されているが、DNA 分析の結果から、*Coryphantha* 属サボテンであること示す結果は得られなかった。

学名 *Coryphantha macromeris* (Engelmann) Lemaire, 1868 は、1848 年、George Engelmann によって、*Mammillaria macromeris* と命名されたのち、1868 年 Charles Antoine Lemaire により *Coryphantha* 属が提案され学名として一般化されている。また、1942 年、Curt Backberg によって、*Lepidocoryphantha macromeris* (Engelmann) Backberg, 1942 が提案され Synonym (同意語)として記載されている⁸⁾。

DNA 解析の結果、大分丸は *Coryphantha* 属にも、*Mammillaria* 属にも属さない結果となったが、大分丸が *Coryphantha macromeris* (Engelmann) Lemaire, 1868 と外観の形態的特徴が類似している点、成分として macromerine, normacromerine を有する点も考慮すると、本種は、Backberg の主張する *Lepidocoryphantha* 属という別属であること、つまり、大分丸 は、*Lepidocoryphantha macromeris* であることを支持

する結果であると示唆されるが、基原植物と考えられる *Lepidocoryphantha macromeris* の早急の確保と DNA 塩基配列データの蓄積が必要と考えられる。

E. 参考文献

- 1) 中島順一ら、サボテンを用いた植物系ドラッグに含まれるメスカリンの分析
東京都健康安全研究センター研究年報
2008, **59**, 91-95
- 2) Kikuchi, H., *et al.*, Chemical constituents and DNA sequence analysis of psychotropic herbal product, *Forensic Toxicology* 2010, **28**:1-7
- 3) Keller, W. J. Macromerine and normacromerine biosynthesis in *Coryphantha macromeris* var. *runyonii*. *J Pharm Sci.* 1979, **68**, 85-87
- 4) Keller, W. J., Yeary, R. A. Catecholamine metabolism in a psychoactive cactus. *Clin Toxicol.* 1980, **16**, 233-243.
- 5) Keller, W. J. *et al.* Cactus alkaloids. XX. The biosynthesis of catechol-O-methylated beta-hydroxyphenethylamines (normacromerine and macromerine) in *Coryphantha macromeris* var. *runyonii*. *Lloydia.* 1973, **36**, 397-409.
- 6) Keller, W. J., McLaughlin, J. L. Cactus alkaloids. 13. Isolation of (-)-normacromerine from *Coryphantha macromeris* var. *runyonii*. *J Pharm Sci.* 1972, **61**, 147-148.
- 7) Agurell, S. Cactaceae alkaloids. 8. N-methyl-4-methoxyphenethylamine from *Lepidocoryphantha runyonii* (Br = and R.) Backberg. *Experientia* 1969, **15**, 1132.
- 8) Dicht, R., Lüthy, A. *In Coryphantha Cacti of Mexico and Southern USA.* 2003, Germany, Springer.

F. 健康危険情報

なし.

G. 研究発表

なし.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし.

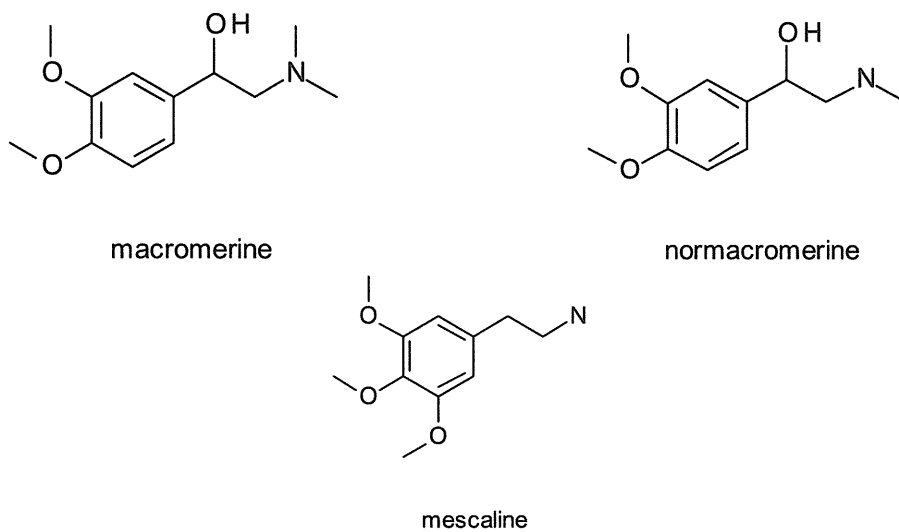


図 1. サボテンが含有するフェネチルアミン系アルカロイド

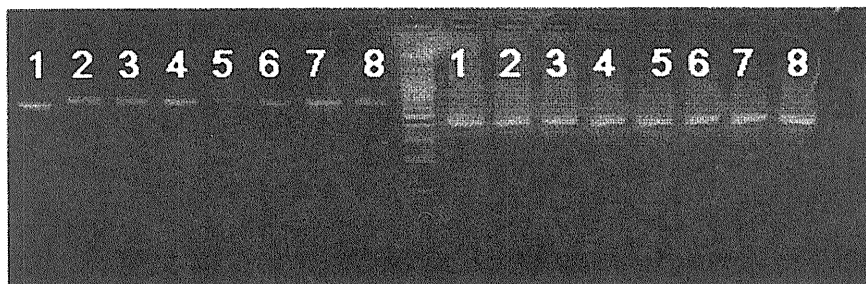


図 2. *rpl16* intron (左) および *matK* (右) 領域

1.大分丸, 2.大祥冠, 3.象牙丸, 4.グリーンウツディ(1), 5.グリーンウツディ(2), 6.*C.cornifera*, 7. *C. sheeri*, 8. *C. macromeris*

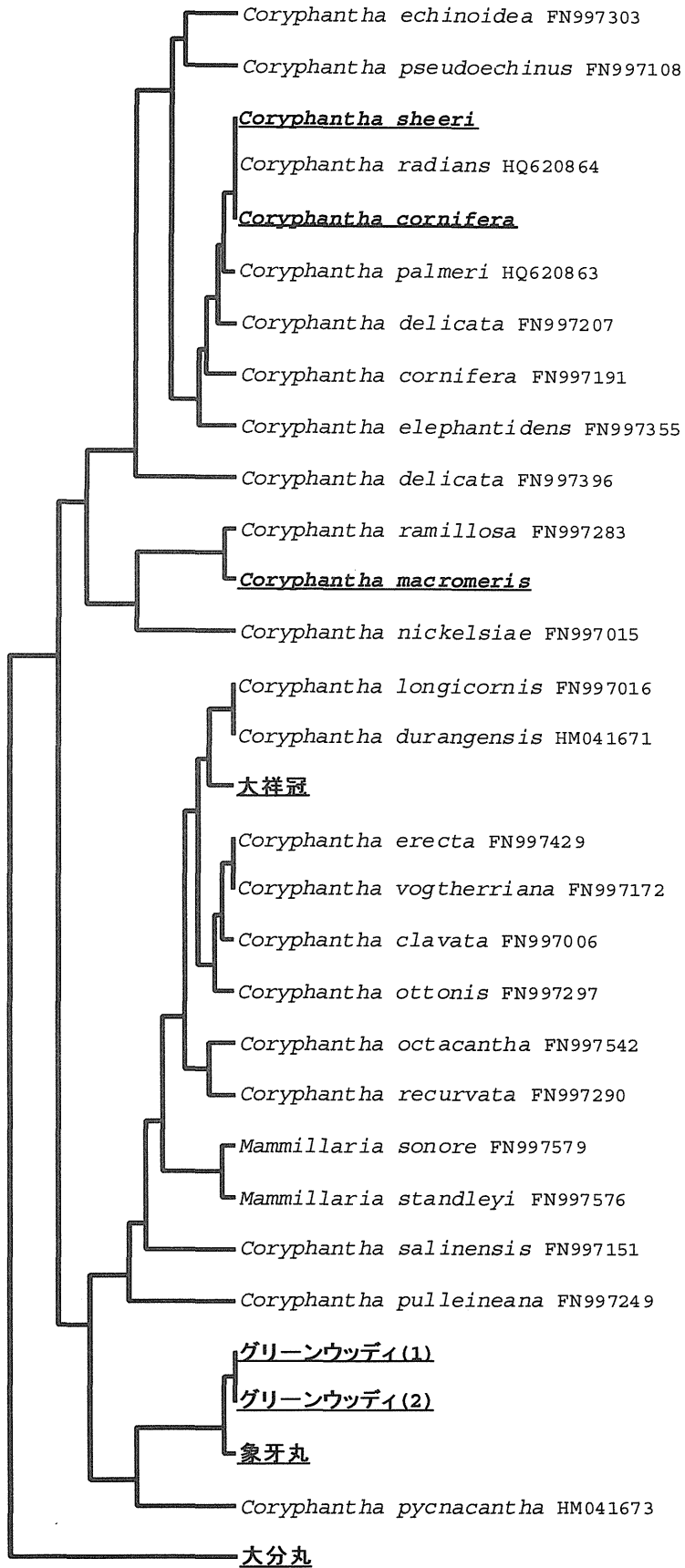


図 3. UPGMA 法による *matK* 領域の系統解析

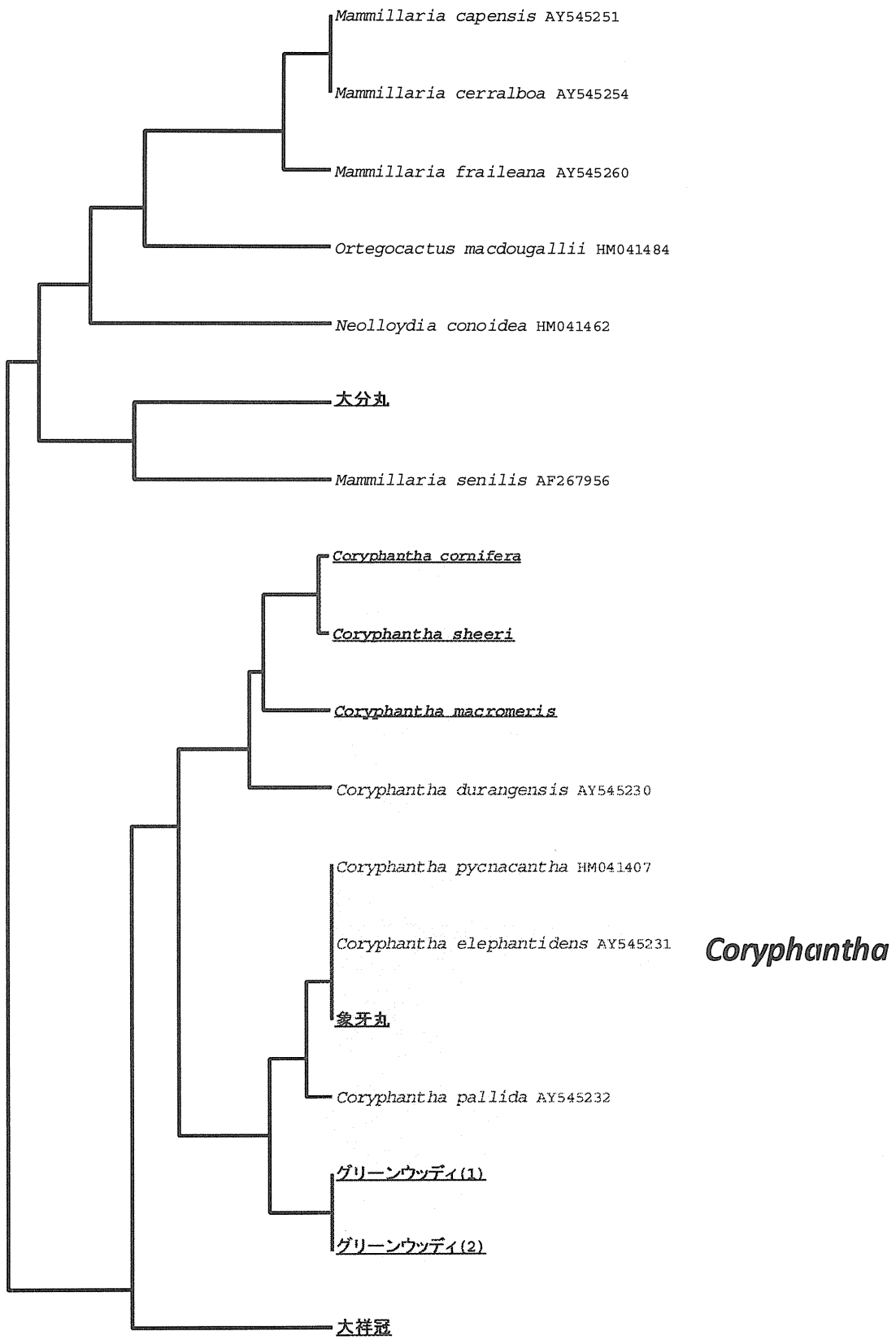


図 4. UPGMA 法による *rpl16* intron 領域を用いた系統解析

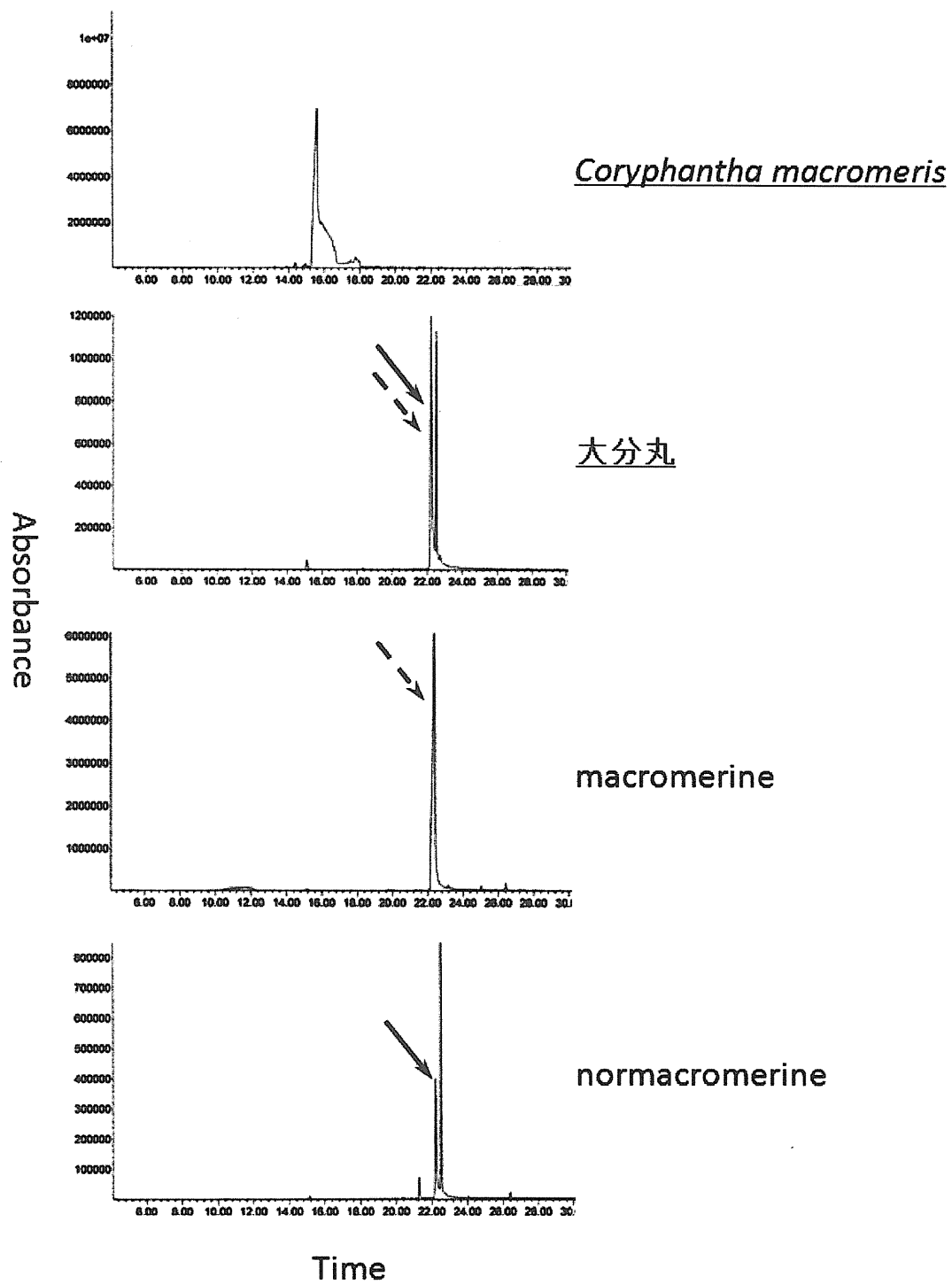


図 5. GC-MS による TIC クロマトグラム

分担研究課題:植物系違法ドラッグ製品の基原種の特
分担研究者:合田 幸広 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 部長

クサヨシ(*Phalaris arundinacea* L.)含有アルカロイド成分の季節変動調査

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:イネ科クサヨシ属クサヨシ(リードカナリーグラス)における葉中の *N,N*-dimethyltryptamine (DMT)および *N,N*-dimethyl-5-methoxytryptamine (5-MeO-DMT)の含量の季節変動調査をGC/MSを用いた。含有量に個体差はあるもの夏から秋にかけて、両成分は高濃度となり、平均で DMT 22.5 $\mu\text{g/g}$ dry weight, 5-MeO-DMT 204.7 $\mu\text{g/g}$ dry weight であり、その差は最も含有量の低い月の 3.3 倍, 10.7 倍であった。

研究協力者

飯田 修 医薬基盤研究所薬用植物資源研究
センター種子島研究部 研究リーダー
杉村康司 医薬基盤研究所薬用植物資源研究
センター種子島研究部 研究員
丸山卓郎 国立医薬品食品衛生研究所生薬部
室長

A. 研究目的

イネ科クサヨシ属クサヨシ(リードカナリーグラス) *Reed canary grass* (*Phalaris arundinacea* L.) はイネ科クサヨシ属植物の中では国内唯一の在来種で、湿地の植物としてほぼ全国に分布し¹⁾、トリプタミン系アルカロイドである *N,N*-dimethyltryptamine (DMT) および *N,N*-dimethyl-5-methoxytryptamine (5-MeO-DMT) (図 1)含有植物であると報告されている²⁾。DMT は国連の「向精神薬に関する条約(向精神薬条約)」(Convention on Psychotropic Substances, 1971)の Class I に指定されている薬物であり、世界的に厳しく規制されており、日本においても麻薬及び向精神薬取締

法により厳しく規制されている。また、現在、5-MeO-DMT は指定薬物として指定されている。一方、クサヨシ、英名リードカナリーグラスは牧草としての利用価値もあり、低アルカロイド含量品種の作出もされ^{3,4)}、国内においても栽培、家畜飼料として利用が行われている^{5,6)}。現在、クサヨシそのものは規制の対象ではない。

インターネット上で「クサヨシ」、「DMT」を検索すると、その使用方法や抽出方法などが記載されたサイトを確認することができる。さらに、「*Phalaris staggers*」と呼ばれる、海外(オーストラリアなど)での、放牧した羊や牛が *Phalaris* を食べ、異常歩行や下痢などを起こし、最終的に死亡する事例などがネット上に記載されており、若者の興味を煽っている部分も見られる。

そこで本研究では国内在来種でもあるクサヨシ(*P. arundinacea* L.)の DMT および 5-MeO-DMT の含有量調査を行った。また、これらアルカロイド類の含量は環境要因に強く影響を受けることが知られており^{7,8)}、季節変動に関しても調査を行った。

B. 研究方法

1. 実験材料

種子交換により医薬基盤研・薬植セ・種子島研究部に導入された *P. arundinacea* 3 系統 6 個体 (S49-1, S49-3, S50-3, S50-4, Botanischer Garten, Universitat Oldenburg, GERMANY; S236-1, S236-10, Universität Tübingen Botanischer Garten, GERMANY), 高知県自生種 1 系統(Kochi), 神奈川県自生種 1 系統(Kanagawa), 北海道自生種 1 系統(Hokkaido), 飼料用種子 1 系統(Venture)の計 10 検体を用いた。下線は DNA 分析に用いた検体, 太字は成分分析に用いた検体を示す。また, 成分分析における季節変動調査試料は 2010 年から 2011 年の 2 年間, 種子島研究部の圃場にて栽培し, 偶数月に葉を採集し, 乾燥させたものを用いた。

2. 実験方法

2-1. DNA 分析

各試料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リボゾーマル DNA 上の ITS 領域を, 植物で保存性の高い配列を基にしたプライマー⁹⁾を用い, Ex Taq (Takara)を使用して PCR によって増幅を以下のプログラムで行った(95°C 180sec; 94°C 30sec, 54°C 30sec, 72°C 60sec, 30cycle)。ポリエチレングリコール沈殿後, 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。用いたプライマーを以下に示す。

ITS forward primer;

5'-CCTTATCATTAGAGGAAGGAG-3',

ITS reverse primer;

5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'.

得られた塩基配列データは, DDBJ/EMBL/GenBank 国際塩基配列データベ

ース内のデータと比較した。

2-2. 成分分析

GC-MS 用試料の調整は, 試料 (20 mg)を MM-300 (Qiagen) により粉砕後, 1 mL メタノール (0.5 µg 5MeO-DPT (内標準物質; IS) を含む) で, 10 分間超音波抽出を行い, Ultrafree-MC フィルター(0.45 µm, Millipore 社製)でろ過したものを用いた。GC-MS 条件は, 装置:Agilent 社製 6890N GC 及び 5975 MSD, カラム:HP-1MS(30 m x 0.25 mm i. d., 膜厚 0.25 µm, Agilent 社製), キャリアーガス:He, 0.7 mL/min, 注入法:スプリットレス, 注入量:1 µL, 注入口温度:200°C, カラム温度:80°C (1 min hold) - 10°C/min - 310°C (5min hold), イオン化法:EI法, 検出器温度:280°C. SIM 測定:DMT = 58, 130, 188; 5MeO-DMT = 58, 160, 218; 5MeO-DPT = 114, 160(下線のイオンを定量に用いた)。定量分析の検量線は, DMT 及び 5-MeO-DMT について, それぞれ 0.1-2.0 µg/mL, 0.25-10.0 µg/mL の範囲で, 内標準物質 5-MeO-DPT(0.5 µg/mL)に対するピーク面積から作成した。

C. 研究結果

ITS 領域の塩基配列解析

植物の鑑別・同定に用いられる DNA 領域内で, 特に種間, 系統間解析でよく利用される nrDNA 上の ITS 領域について解析を行った。国内自生種を含めいくつかの塩基置換がみられたが, データベース上の塩基配列データとの系統樹解析では *P. arundinacea* (Acc. No. FJ766174)を含む1つのカテゴリーに全検体が集約された(図 2)。

DMT および 5-MeO-DMT の季節変動調査

GC-MS を用いて定量分析を行った。各分析対象化合物の直線式は, 当該濃度範囲において良好な直線性を示した(表 1)。得られた検量線からクサヨシ 5 個体の偶数月(2月, 4月, 6月, 8月, 10月, 12月)の DMT および 5-MeO-DMT

含量を調査した。5 検体全てで、DMT および 5-MeO-DMT を検出した。以下、1 g 乾燥重量当たりで示す。5 個体の各月の平均値を取ると、DMT では 8 月が年間を通してもっとも蓄積しており 22.5 µg(最高値 41.2 µg(S49-3)同時期の S49-3 の 5-MeO-DMT 含量は 238.0 µg)であった。10 月には 12.5 µg に下がり、それ以外の月は 10 µg 以下で推移した。最低は 12 月の 6.7 µg であった。

5-MeO-DMT 含量は各月の平均値では 10 月が最も高く 204.7 µg(最高値 629.0 µg(S49-1)同時期の S49-1 の DMT 含量は 19.5 µg)であった。また、8 月も同様に高い値を示し、192.2 µg であった。12 月には 53.7 µg まで下がり、それ以外の月は 20 µg 前後で推移した。上記の数値でもわかるように 5 検体全てにおいて 5-MeO-DMT が DMT より高濃度で蓄積していた。また、夏から秋にかけて両化合物量は最大となった。一方で、含有量(最大生成量)に個体間差が大きく、年間を通して変動がない(DMT で 5 µg 前後、5-MeO-DMT で 10 µg 前後で推移)個体(S236-1)も見られた。図 3 に DMT, 5-MeO-DMT の季節変化の一例(S49-3)を示す。

D. 考察

Phalaris 属における DMT を含むアルカロイド含有の報告はいくつかあるものの系統間や環境因子による影響で、その成分のバラツキが多いこと、構成アルカロイド成分が異なることが示されている⁷⁾。今回は同一圃場にて栽培を行ったが、個体(系統)間の含有量に差が見られた。特にこれらアルカロイドが生産される夏から秋に顕著な差となって見られた。Gander らは *P. arundinacea* であっても、その系統によって構成アルカロイド成分が異なることを示している。ここでは DMT ではなく、Hordenine, Gramine と呼ばれるアルカロイドを含有するタイプが多いこと示している⁷⁾。また、牧草として利用されている低ア

ルカロイド *P. arundinacea* 品種は、DMT や 5-MeO-DMT による影響を考慮して育成された品種ではなく、総インドールアルカロイド含量(特に Hordenine)を抑え、家畜の嗜好性向上を目的として育成・栽培されたものである¹⁰⁾。さらに、“*Phalaris staggers*”と呼ばれる家畜の疾病・死亡事例であるが、その多くは同属の *P. aquatica* (syn. *tuberosa*) 和名オニクサヨシによるものとの報告であり^{11,12)}、DMT を含め *P. arundinacea* より総アルカロイド含量が多いと言われている。但し、疾病・死亡の直接的な原因が DMT, 5-MeO-DMT であるとの報告はない。

今回の結果は少なくとも全ての *P. arundinacea* 個体から DMT, 5-MeO-DMT が検出された。また、その含有量は夏から秋にかけて高濃度に蓄積されることが明らかとなった。今後は、国内にも帰化が確認されている *P. aquatica* についても検討する必要があると思われる。

E. 参考文献

- 1) 北村四郎, 村田源, 小山鐵夫, 原色日本植物図鑑・草本編Ⅲ. 保育社 (1964)
- 2) Simons, A. B., Marten, G. C. Relationship of Indole Alkaloids to Palatability of *Phalaris arundinacea* L. *Agronomy Journal* 63: 915-919 (1971)
- 3) 大谷忠ら, リードカナリーグラス品種, パラトンおよびベンチャーの生育経過と繊維成分の蓄積との関係, 日本草地学会誌, 39:19-20 (1993)
- 4) 大谷忠ら, リードカナリーグラス(*Phalaris arundinacea* L.)における低アルカロイド品種の生育特性と乾物生産との関係, 東京農大農学集報, 49: 47-52 (2004)
- 5) 米丸淳一, 松村哲夫, リードカナリーグラス(*Phalaris arundinacea* L.)個体における草型変異とその生育及び化学成分含量との関係, *Grassland Science* 49: 384-390 (2003)

- 6) 上山泰史, 秋山征夫, 東北地域におけるクサヨシ遺伝資源の収集 2009 年, 植探報 26: 1-6 (2010)
- 7) Gander, J. E. *et al.*, The occurrence of 2-methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline and variation in alkaloids in *Phalaris arundinacea*. *Phytochemistry* 15: 737-738 (1976)
- 8) Oram, R. N., Williams, J. D., Variation in concentration and composition of toxic alkaloids among strains of *Phalaris tuberosa* L. *Nature* 213: 946-947 (1967)
- 9) Stanford, A. M. *et al.*, Phylogeny and biogeography of *Juglans* (Juglandaceae) based on matK and ITS sequence data *American Journal of Botany* 87: (2000) 872-882
- 10) 藤井義晴, 橋爪健, 牧草・飼料作物および雑草に含まれる有毒物質と家畜中毒, 牧草と園芸 53: 9-13 (2005)
- 11) Bourke, C.A., Carrigan, M.J., Dixon, R.J. Experimental evidence that tryptamine alkaloids do not cause *Phalaris aquatica* sudden death syndrome in sheep. *Aust. Vet. J.* 65:218-220 (1988)
- 12) Bourke, C.A., Carrigan, M. J. Mechanisms underlying *Phalaris aquatica* "sudden death" syndrome in sheep. *Aust. Vet. J.* 69:165-167 (1992)

F. 健康危険情報

なし.

G. 研究発表

なし.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし.

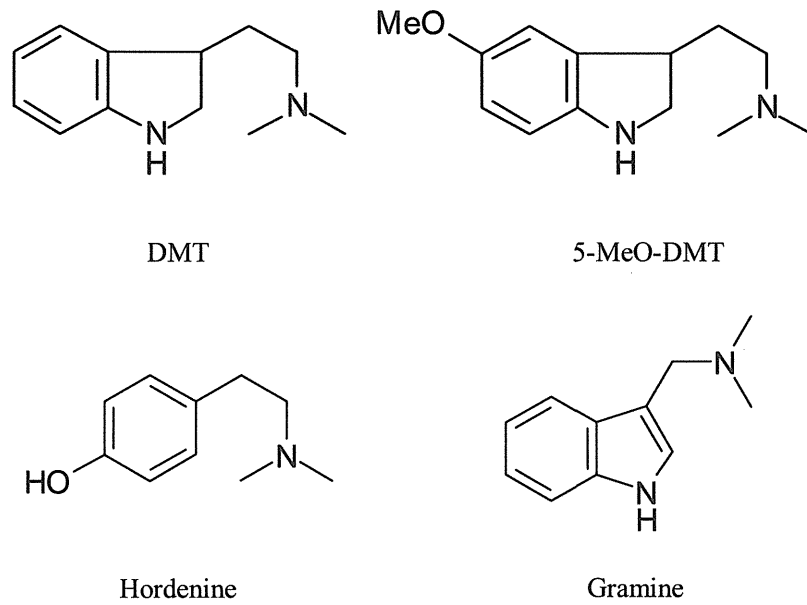


図 1. アルカロイド類の構造

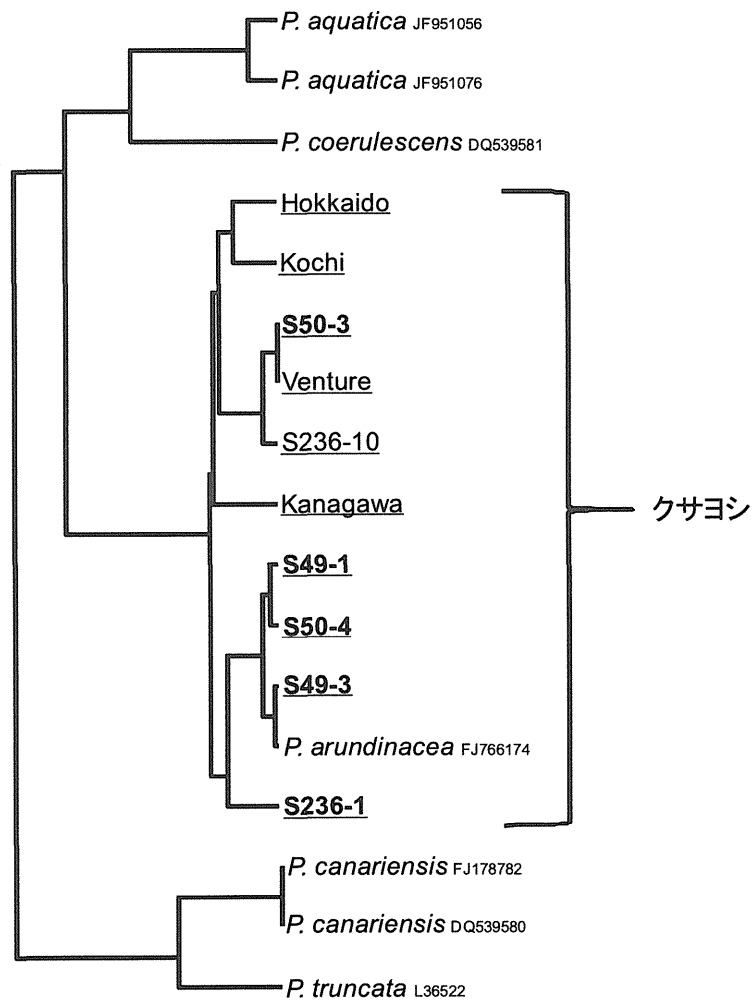


図 2. UPGMA 法による ITS 領域を用いた *Phalaris* 属植物の系統解析

表 1. GC/MS による DMT および 5-MeO-DMT の検定曲線

Substance	Calibration range (mg/mL)	Linear equation	Linearity (R^2)
DMT	0.1-2.0	$y = 3.1077x - 0.1632$	0.9994
5-MeO-DMT	0.25-10.0	$y = 4.0815x - 0.8357$	0.9995

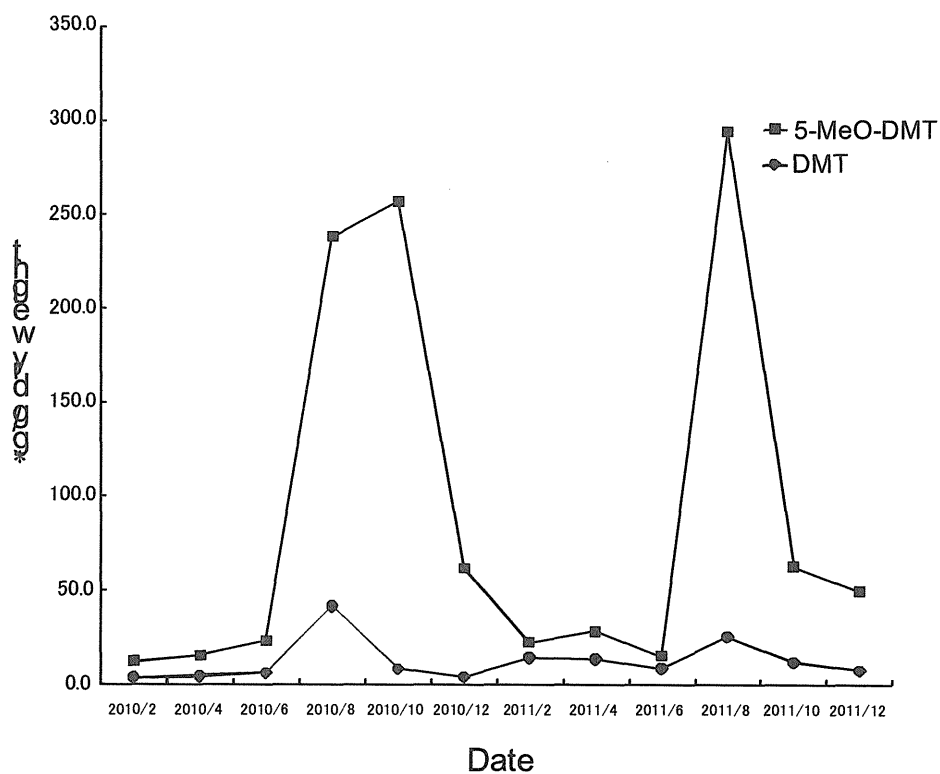


図 3. *P. arundinacea* (S49-3) 個体における DMT, 5-MeO-DMT の季節変動

分担研究課題:植物系違法ドラッグの活性成分の探索

分担研究者: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「シニクイチ」栽培品 *Heimia salicifolia* 中に含有されている
アルカロイドの調査

研究要旨:*Heimia salicifolia* を基原植物とする「シニクイチ」は、植物系違法ドラッグとして市場に流通している。今回は *Heimia salicifolia* と正式に鑑別され、種子島にて栽培された試料の含有アルカロイドの検索を行った。現在までの結果、主塩基の biphenyl quinolizidine lactone アルカロイド lythrine (1), vertine (2), lyfoline (3)を含む既知アルカロイド 12 種 [biphenyl quinolizidine lactone 11 種, biphenyl ether quinolizidine lactone 1 種]、新規アルカロイド 2 種 [biphenyl quinolizidine lactone 1 種 (7), biphenyl ether quinolizidine lactone 1 種 (13)] を単離・構造決定した。

研究協力者

花尻(木倉)瑠理 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部 室長

飯田 修 独立行政法人医薬基盤研究所
薬用植物資源研究センター
種子島研究部 研究リーダー

杉村 康司 独立行政法人医薬基盤研究所
薬用植物資源研究センター
種子島研究部 研究員

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。前年度までの研究では市場品のシニクイチの成分検索を行い、多数のアルカロイドを単離するとともに、その中の数種が中枢神経系に関与する作用をもつことが明らかとなった。そこで本年度の研究では *Heimia salicifolia* と正式に鑑別され、種子島にて栽培された試料を用いて市場品との含有化合物の差を調査することとした。

A. 研究目的

植物系違法ドラッグ「シニクイチ」の基原植物は *Heimia salicifolia* であり、中南米に自生し、抗梅毒薬、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の植物である。本植物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

B. 研究方法

Heimia salicifolia と正式に鑑別され、種子島にて栽培された試料の葉部について、以下のように抽出、アルカロイド成分の分離を行った。

Leaves of *Heimia salicifolia* (800 g dry weight) were extracted with MeOH (34.5 L, twice at room temperature and two times under reflux) to give a MeOH extract (238.1 g). The portion of the extract (199.8 g) was dissolved in 1N HCl aq (1.5 L) and extracted with AcOEt (2.8 L) to give the AcOEt extract (54.4 g). The aqueous layer was made basic

(pH 9) by addition of Na₂CO₃ and then extracted with CHCl₃ (6.3 L) and then with *n*-BuOH (2.2 L) to give the CHCl₃ extract (8.86 g) and the *n*-BuOH extract (14.1 g), respectively. The CHCl₃ extract (8.8 g) was separated by amino-silica gel open column chromatography with a MeOH/CHCl₃ gradient to give 10 fractions: fr. A 1% MeOH/CHCl₃ (2.0 mg), fr. B 1% MeOH/CHCl₃ (806.5 mg), fr. C 1% MeOH/CHCl₃ (1.32 g), fr. D 3% MeOH/CHCl₃ (738.2 mg), fr. E 3% MeOH/CHCl₃ (1.72 mg), fr. F 3-5% MeOH/CHCl₃ (1.80 g), fr. G 5-10% MeOH/CHCl₃ (154.1 mg), fr. H 10% MeOH/CHCl₃ (64.4 mg), fr. I MeOH (480.1 mg), and fr. J 10% conc. NH₃/MeOH (423.8 mg).

Fractions were purified by repeated chromatography to afford 2 new alkaloids and 12 known alkaloids as follows.

From fraction C, lythrine (**1**, 73.5 mg) was isolated. vertine (**2**, 929.2 mg) was obtained from fractions C, E, and H. From fraction C, nesodine (**9**, 2.3 mg) was also isolated. Lyfoline (**3**, 782.7 mg), lythridine (**4**, 33.4 mg), HS10 (**6**, 82.2 mg), HS20 (**8**, 0.9 mg), 9β-hydroxyvertine (**12**, 65.5 mg), HT-6 (**13**, 1.4 mg), and HS11 (**14**, 1.0 mg) were isolated from fraction E. HT-5 (**7**, 23.2 mg) and HS-L (**11**, 2.3 mg) were obtained from fractions C and E. From fraction H, HS6 (**5**, 5.3 mg) and HS19 (**10**, 1.3 mg) were isolated. HS6 (**5**) was also isolated from fraction E.

単離した化合物については各種スペクトルデータの解析により構造を決定した。

C. 研究結果・考察

植物系違法ドラッグ栽培品 *Heimia salicifolia* の粗塩基分画 (CHCl₃ 抽出分画, 8.8 g) より, 現在までに biphenyl quinolizidine lactone アルカロイドの lythrine (**1**), vertine (**2**), lyfoline (**3**), lythridine (**4**), HS6 (**5**), HS10 (**6**), HT-5 (**7**), HS20 (**8**), nesodine (**9**), HS19 (**10**), HS-L (**11**),

9β-hydroxyvertine (**12**), biphenyl ether quinolizidine lactone アルカロイドの HT-6 (**13**), HS11 (**14**) を得た。このうち, biphenyl lactone **7**, biphenyl ether lactone **13** が新規アルカロイドである。主なアルカロイドは biphenyl lactone の vertine (**2**, 粗塩基の 10.6%), lyfoline (**3**, 粗塩基の 8.9%) であり, 次いで HS10 (**6**, 粗塩基の 0.94%), lythrine (**1**, 粗塩基の 0.84%) の含有量が高いことがわかった。

新規アルカロイド HT-5 (**7**) は *trans*-quinolizidine (10H-α) を有し, 14 位水酸基は β 配置をとる。これは既知化合物である lythridine (**4**) の 14 位水酸基の立体異性体である。また, HT-6 (**13**) は *cis*-quinolizidine (10H-β) を有する biphenyl ether lactone HS11 (**14**) の立体異性体であり, *trans*-quinolizidine (10H-α) を有することがわかった。各化合物は, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, UV, Mass, 旋光度, CD スペクトルを測定することにより絶対立体配置まで確認した。

以下に新規アルカロイド **7**, **13** の各種スペクトルデータを記載する。

HT-5 (**7**)

UV (MeOH) λ_{max} nm (log ε) : 292.0 (3.82), 206.5 (4.58).

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ [ppm] : 7.16 (1H, s, H-3''), 7.07 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, H-4'), 7.00 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6'), 6.92 (1H, s, H-6''), 6.87 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-3'), 5.03 (1H, br-s, H-2), 5.00 (1H, dd, *J* = 5.7, 2.1, H-14), 3.88 (3H, s, 4''-OMe), 3.82 (3H, s, 5''-OMe), 3.33 (1H, overlapped with CD₂HOD signal, H-4), 2.89 (1H, dd, *J* = 12.7, 5.7, H-13β), 2.73 (1H, br-d, *J* = 11.0, H-6), 2.49 (1H, dd, *J* = 12.7, 2.3, H-13α), 2.32 (1H, d, *J* = 15.6, H-3), 2.03 (1H, br-s, H-10), 1.93 (1H, br-dd, *J* = 13.4, 13.4, H-3), 1.72-1.70 (2H, overlapped, H₂-1), 1.66 (1H, br-d, *J* = 12.8, H-8), 1.53-1.45 (3H, overlapped, H₂-7, H-9), 1.40-1.28 (2H, overlapped, H-6, H-9), 1.19 (1H, m, H-8).

^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ [ppm] : 172.1 (C-12), 155.3 (C-2'), 150.6 (C-4''), 148.6 (C-5''), 134.8 (C-5'), 133.5 (C-2''), 131.9 (C-1''), 130.4 (C-6'), 128.3 (C-1'), 128.1 (C-4'), 116.6 (C-3'), 114.7 (C-6''), 110.7 (C-3''), 72.2 (C-14), 71.2 (C-2), 62.0 (C-10), 61.5 (C-4), 56.5 (C-4''-OMe), 56.4 (C-5''-OMe), 54.0 (C-6), 44.3 (C-13), 39.1 (C-3), 37.7 (C-1), 33.5 (C-9), 26.4 (C-7), 25.3 (C-8).

HR-ESI-MS m/z : 454.22365 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{NO}_6$ 454.22296).

$[\alpha]_{\text{D}}^{23}$ -64.2 (c 0.022, MeOH).

CD (MeOH, 24 °C, c = 0.095 mmol/L) $\Delta\varepsilon$ (λ_{max}) : +74.1 (202), 0 (211), -41.3 (219), 0 (229), +19.8 (234), 0 (242), -6.8 (248), -2.8 (263), -8.5 (283), 0 (316).

HT-6 (13)

UV (MeOH) λ_{max} nm (log ε) : 293.5 (3.69), 226.0 (sh, 4.06), 204.0 (4.49).

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm] : 7.67 (1H, dd, J = 8.5, 2.1, H-4'), 7.27 (1H, dd, J = 8.2, 2.7, H-3'), 6.96 (1H, s, H-3''), 6.90 (1H, dd, J = 8.4, 2.0, H-6'), 6.73 (1H, s, H-6''), 6.46 (1H, dd, J = 8.4, 2.6, H-1'), 5.05 (1H, dd, J = 10.7, 5.2, H-14), 4.84 (1H, m, H-2), 3.91 (3H, s, -OMe), 2.90 (1H, dd, J = 11.2, 5.4, H-13 β), 2.55 (1H, br-d, J = 11.3, H-6), 2.50 (1H, dd, J = 12.1, 2.3, H-4), 2.40 (1H, dd, J = 10.9, 10.9, H-13 α), 1.89 (1H, br-dd, J = 10.7, 10.7, H-10), 1.62-1.38 (7H, overlapped, H-1, H₂-3, H-6, H-7, H-8, H-9), 1.30-1.13 (4H, overlapped, H-1, H-7, H-8, H-9).

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ [ppm] : 169.5 (C-12), 161.8 (C-2'), 148.8 (C-1''), 145.9 (C-5''), 142.8 (C-4''), 135.7 (C-5'), 127.7 (C-6'), 126.8 (C-4'), 125.7 (C-2''), 120.1 (C-3'), 115.7 (C-1'), 114.9 (C-3''), 104.9 (C-6''), 72.2 (C-14), 68.1 (C-2), 57.9 (C-10), 56.04* (C-4), 56.00* (C-OMe), 52.4 (C-6), 47.6 (C-13), 37.3 (C-3), 35.8 (C-1), 33.4 (C-9), 25.9 (C-7), 24.6 (C-8). *: interchangeable

HR-ESI-MS m/z : 440.20718 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd. for $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{NO}_6$ 440.20731).

$[\alpha]_{\text{D}}^{24}$ -116.2 (c 0.063, MeOH)

CD (MeOH, 23 °C, c = 0.29 mmol/L) $\Delta\varepsilon$ (λ_{max}) : -52.3 (204), -10.2 (217), -15.8 (229), -1.0 (250), -11.7 (277), 0 (283), +11.9 (295), 0 (316).

D. 結論

植物系違法ドラッグ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*)の栽培品のアルカロイド成分の検索を行った。その結果, biphenyl quinolizidine lactone アルカロイド 12 種 (1-12), biphenyl ether quinolizidine lactone アルカロイド 2 種 (13, 14)を単離・構造決定した。このうち、HT-5 (7), HT-6 (13)を今回の調査で新たに新規化合物として見出した。栽培品の成分検索はまだ中途段階であり、今後さらなる化合物の発見が期待できる。また市場品との成分の比較に関しては、栽培品から新たに見出された化合物もあるが、ミソハギ科に特徴的な biphenyl quinolizidine lactone アルカロイドが主な成分であり、現段階では市場品と栽培品との間に含有化合物の差があるとは言えない。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

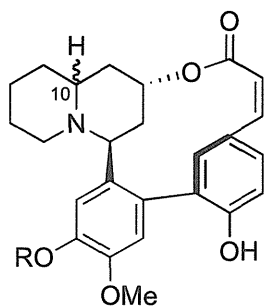
学会発表

1. 柳沢朋美, 山口恭加, 小暮紀行, 北島満里子, 花尻瑠璃, 緒方潤, 合田幸広, 高山廣光: ミソハギ科 *Heimia salicifolia* 含有新規アルカロイドの探索, 日本生薬学会第 58 回年会, 東京 (2011. 9).

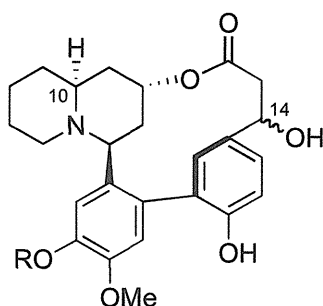
G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

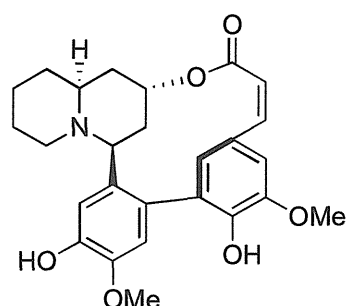
biphenyl quinolizidine lactone



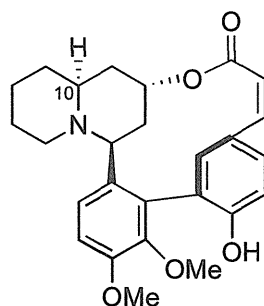
10H- α , R=Me : Lythrine (1)
 10H- β , R=Me : Vertine (2)
 10H- α , R=H : Lyfoline (3)



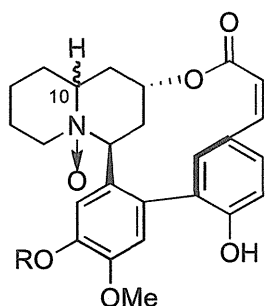
14 α -OH, R = Me : Lythridine (4)
 14 α -OH, R = H : HS6 (5)
 14 β -OH, R = H : HS10 (6)
 14 β -OH, R = Me : HT-5 (7, New)



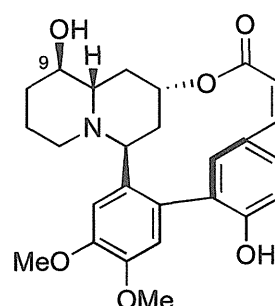
HS20 (8)



Nesodine (9)

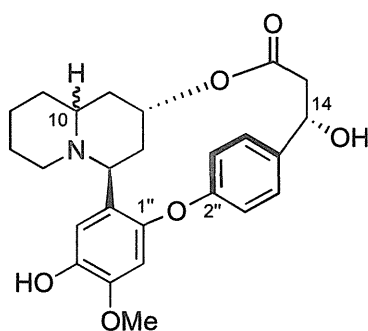


10H- α , R=H : HS19 (10)
 10H- β , R=Me : HS-L (11)



9 β -Hydroxyvertine (12)

biphenyl ether quinolizidine lactone



10H- α : HT-6 (13, New)
 10H- β : HS11 (14)

Fig. 1. Isolated Alkaloids from *Heimia salicifolia* Leaves.

研究分担課題:植物系違法ドラッグの主活性成分の検索及び分析標準品の調製

分担研究者: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「ホワイトロータス」を標榜する製品の含有成分探索

研究要旨:植物系違法ドラッグ市場品「ホワイトロータス」(基原植物 : *Nymphaea caerulea* 花部)の含有アルカロイドの検索を行った. 現在までにアルカロイドは単離できていない.

研究協力者

花尻(木倉)瑠理 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部 室長

A. 研究目的

近年、「ロータス」という名称でスイレン(*Nymphaea*)やハス(*Nelumbo*)の乾燥花卉や抽出エキスなどが違法ドラッグ市場で流通しており、「ホワイトロータス」、「ブルーロータス」、「ピンクロータス」など、花卉の色により商品が分類されている。「ロータス」をお香として焚いたり、アルコールに浸したりして使用することで、多幸感や快感を高めるなどと称して販売されている。これまでに複数のロータス系製品の DNA 塩基配列解析が行われ、これらの基原植物は原種や純系種を原料とするものではなく、熱帯性スイレンまたは、ハスの交雑種を用いていることが明らかとなった¹⁾。今回使用した市場品「ホワイトロータス」の基原植物は *Nymphaea caerulea* (スイレン科)を含む亜属の交雑種であることが明らかとなっている²⁾。

これまでに *Nymphaea caerulea* には、中枢神経系に作用するアポモルフィン類が含有されていることが報告されている³⁾が、詳細なデータが示されおらず、本植物の向精神作用をもつ活性本体はいまだ解明されてはいない。そこで本研究では、違法ドラッグ市場に流通する「ホワイトロータス」を標榜する製品について、活性本体解明を目的と

した含有成分検索を行った。

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「ホワイトロータス」(基原植物 : *Nymphaea caerulea* を含む亜属の交雑種)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。

“White rotus” (origin : flowers of hybrids between *Nymphaea* subgenus plants) (745 g dry weight) was extracted with MeOH (37.9 L, twice at room temperature and two times under reflux) to give a MeOH extract (220.5 g). The portion of the extract (217.5 g) was dissolved in 1N HCl aq (0.7 L) and extracted with AcOEt (1.6 L) to give the AcOEt extract (54.4 g). The aqueous layer was made basic (pH 10) by addition of Na₂CO₃ and then extracted with CHCl₃ (2.8 L) and then with *n*-BuOH (2.1 L) to give the CHCl₃ extract (7.33 g) and the *n*-BuOH extract (14.1 g), respectively.

The CHCl₃ extract (823 mg) was separated by amino-silica gel open column chromatography with a MeOH/CHCl₃ gradient to give 9 fractions: fr. A 5% MeOH/CHCl₃ (0.8 mg), fr. B 5% MeOH/CHCl₃ (131.8 mg), fr. C 5-10% MeOH/CHCl₃ (20.5 g), fr. D 10-20% MeOH/CHCl₃ (25.9 mg), fr. E 20% MeOH/CHCl₃

(8.2 mg), fr. F 30% MeOH/CHCl₃ (51.7 g), fr. G MeOH (143.2 mg), fr. H 10% conc. NH₃/MeOH (131.6 mg), and fr. I sonication of amino-silica gel in 10% conc. NH₃/MeOH (45.4 mg).

極性が高く、回収率が低かったため逆相カラムを用いた分離を行った。

The CHCl₃ extract (489.9 mg) was separated by RP18 open column chromatography with a H₂O/MeOH gradient to give 5 fractions: fr. A' 80% H₂O/MeOH (169.6 mg), fr. B' 70-30% H₂O/MeOH (62.4 mg), fr. C' 30% H₂O/MeOH (38.7 g), fr. D' 10% H₂O/MeOH (65.5 mg), and fr. E' 20% MeOH (96.7 mg).

現在、各フラクションの分離を検討中である。

C. 研究結果

植物系違法ドラッグ市場品「ホワイトロータス」(745 g)より、粗塩基分画(CHCl₃抽出分画)を7.33 g (原料の 0.98%)を得た。各分画フラクションについて TLC 分析を行い、Schlittler 発色試薬によりアルカロイドの存在を確認した。しかし化合物の極性が非常に高く、分離が困難であり、現在までにアルカロイドの単離には至っていない。

D. 参考文献

1. 厚生労働科学研究補助金(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)「違法ドラッグの依存性等に基づいた乱用防止対策に関する研究」平成20年度研究分担報告「ロータス系製品の遺伝学的手法を用いた流通実態調査」(緒方 潤).
2. 厚生労働科学研究補助金(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)「違法ドラッグの依存性等に基づいた乱用防止対策に関する研究」平成19年度研究分担報告「ロータス系植物の遺伝学的手法による流通実態調査」(緒方 潤).
3. Elisabetta, B., Vittorio, F., Steven, B. K.,

Francesco, M., Irene, R., *J. R. Soc. Med.*, **97**, 84-85 (2004).

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

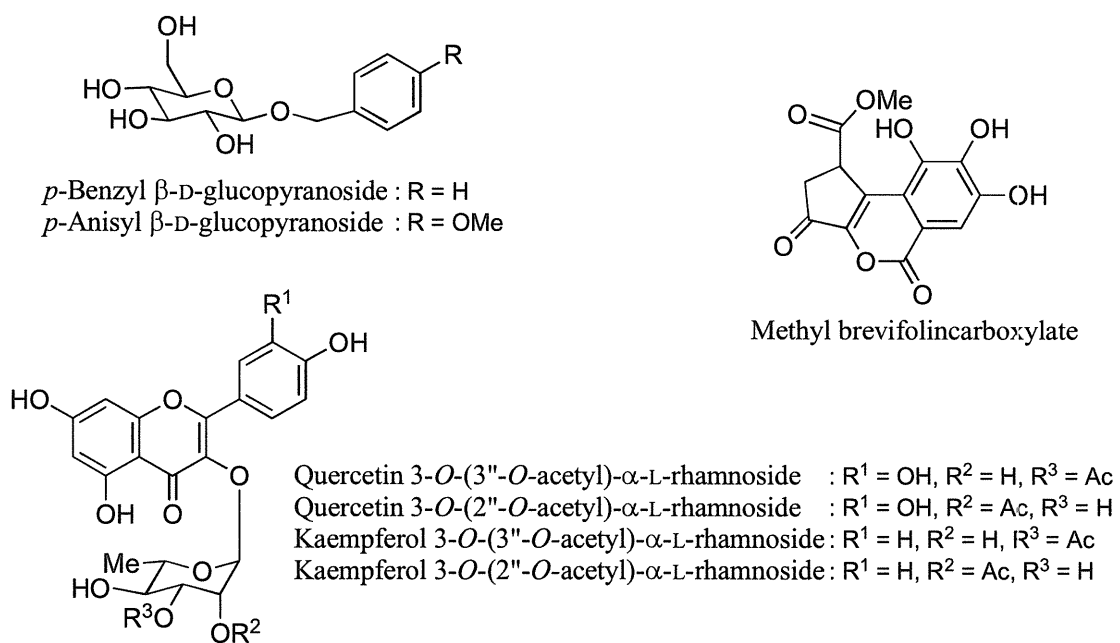


Fig. 1. *Nymphaea caerulea* より単離された化合物の例.

分担研究課題:違法ドラッグ関連植物の収集及び栽培

研究分担者:飯田 修 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部
研究リーダー

— 基原植物の収集と形態特性による識別分類に関する研究 —

研究協力者:杉村康司 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部
研究員

研究協力者:香月茂樹 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部
客員研究員

研究要旨:外国の植物研究機関との種子交換により4属23種34系統の違法ドラッグ関連植物(以下、違法性植物)の種子を導入した。これらの導入植物の中から、緊急性の高い4属21種2変種29系統を選定し栽培育成を行った。2年生のキバナミソハギと同属他種のシニクイチの形態特性の比較を行った結果、草丈、主茎の分枝数については大きな違いは見られないものの、キバナミソハギのほうがシニクイチよりも最大葉の長さが明らかに長く葉が大きいこと、葉の耐寒性が強く晩秋まで落とさずに多数の葉をつけていることが明らかになった。これらの葉の特性の違いから、キバナミソハギのほうがシニクイチよりも1株当たりの葉の乾燥重量が重くなり、さらに、1a換算の葉の収量が多くなったと考えられる。以上のことから、違法性植物の形態特性ならびに葉の生産性まで把握するためには、同属他種を栽培育成し、比較検討することが重要であると考えられる。

A. 研究目的

厚生労働省では、近年ますます深刻になってきた違法ドラッグの問題に対して、法的規制の強化を行っている。特に、我が国で保健衛生上危害を与える可能性が高い違法性植物については、基原となる植物を正確に同定することが求められている。これらの違法性植物の乱用の監視ならびに行政指導を推進するためには、各種における形態変異の幅を正確に把握しておく必要がある。

本研究班では、近い将来違法ドラッグとして指定される可能性が高い植物を収集し、実際に栽培した植物を基に各種における形態特性を把握し、基原植物の正確な同定を行った。さらに、キバナミソハギの外部形態の変異幅を明らかにし、本

種の特性を明らかにするとともに、同属他種であるシニクイチの特性と詳細な比較を行った。

B. 研究方法

1. 材料

外国の植物研究機関との種子交換により導入した違法性植物の種子。キバナミソハギについては、2010年から栽培育成を継続している2年生株の2系統(T19, U86)各5個体、計10個体。シニクイチについては、2007年から栽培育成した2年生株の2系統(S19-1, 15)各5個体、計10個体。

T19: Dept.de Botanica Rua do Campo Alegre,
PORTUGAL.