

生 藥 学 雜 誌
Syôyakugaku Zasshi
23(2), 83~88 (1969)

***Scopolia* 属 植 物 の 生 藥 学 的 研 究 (II)¹⁾**
***S. japonica* および *S. parviflora* の染色体数とアルカロイド組成**

田端 守, 山本久子, 平岡 昇, 岡 穆, 川島和代, 木島正夫
京都大学薬学部^{*1}

Pharmacognostical Studies on *Scopolia*. (II).¹⁾
Chromosome Numbers and Alkaloid Compositions
of *S. japonica* and *S. parviflora*

MAMORU TABATA, HISAKO YAMAMOTO, NOBORU HIRAOKA, ATSUSHI OKA,
KAZUYO KAWASHIMA and MASAO KONOSHIMA
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University^{*1}

(Received October 7, 1969)

Summary

Both *Scopolia japonica* MAXIM. native of Japan and *Scopolia parviflora* NAKAI native of Korea produce tropane alkaloids and their rhizomes are important crude drugs in respective countries. They resemble morphologically each other, except for a few differences such as in corolla length and leaf shape. To know more about the relationship between these species, comparative studies were made on their chromosome numbers and alkaloid compositions.

Cytological observations revealed for the first time a marked difference in chromosome number, i. e., $2n=88$ for *S. japonica* and $2n=46$ for *S. parviflora*. Although the origin of *S. japonica* is unknown, it is not a true tetraploid of *S. parviflora* as far as the chromosome number is concerned. As for the amount of total alkaloids in rhizomes, *S. parviflora* showed significantly higher values (0.265—0.419%) than *S. japonica* (0.153—0.212% on dry weight basis). However, no qualitative difference in alkaloids could be detected by thin-layer chromatography and both species contained 7 or more alkaloids including hyoscyamine and scopolamine as main components and a small quantity of tropine. One of other minor alkaloids was identified as apotropine, which was isolated from "Chinese Scopolia roots" by celite-column chromatography. Although the original plant of this Chinese Scopolia is not clear, it resembles *S. parviflora* in the alkaloid composition.

It is chemotaxonically interesting that the Japanese and the Korean species have similar alkaloid components in spite of the marked difference in chromosome number.

日本産ロートコンと韓国産ロートコンの形態的ならびに品質的相違については前報¹⁾で報告したが、今回はこれら生薬の原植物である *Scopolia japonica* MAXIM. (ハシリドコロ) および *S. parviflora* NAKAI (チョウセンハシリドコロ) の染色体数ならびに根茎のアルカロイド組成の比較から得た知見を報告し、両種の植物学的ならびに成分的異同を中心に考察を加えた。

1. 染色体数

両種の染色体数は著者らの知る限り未報告であるので、今回の観察結果を TABLE I に示す。 *S. japonica* は供試

1) 前報(I)：木島正夫, 上裕和輔, 野淵 紘, 嶋田玄弥, 久田陽一, 生薬, 23, 1 (1969).

*1 Location : Yoshida-Shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto, Japan.

TABLE I. Chromosome Numbers of *Scopolia* Plants

Species	Habitat	No. of Plants	Chromosome No. <i>n</i>	Chromosome No. <i>2n</i>
<i>S. japonica</i>	Kagawa	4	44	88
"	Shiga	2	44	88
"	Toyama	4	44	88
<i>S. parviflora</i>	Korea*	5	23	46

* Umsoung-Gun, Chung-choung Buck-Do.

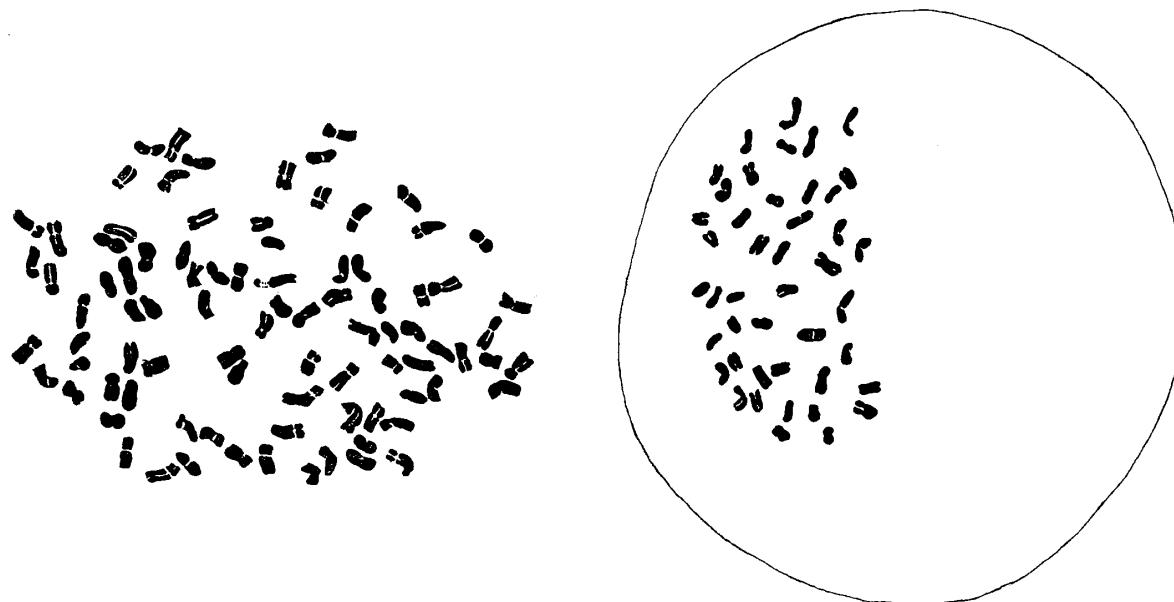


Fig. 1. The Chromosomes of *Scopolia japonica*. *Left* : Mitotic metaphase in the root-tip cell ($2n = 88$). *Right* : Mitotic metaphase in the microspore ($n=44$).

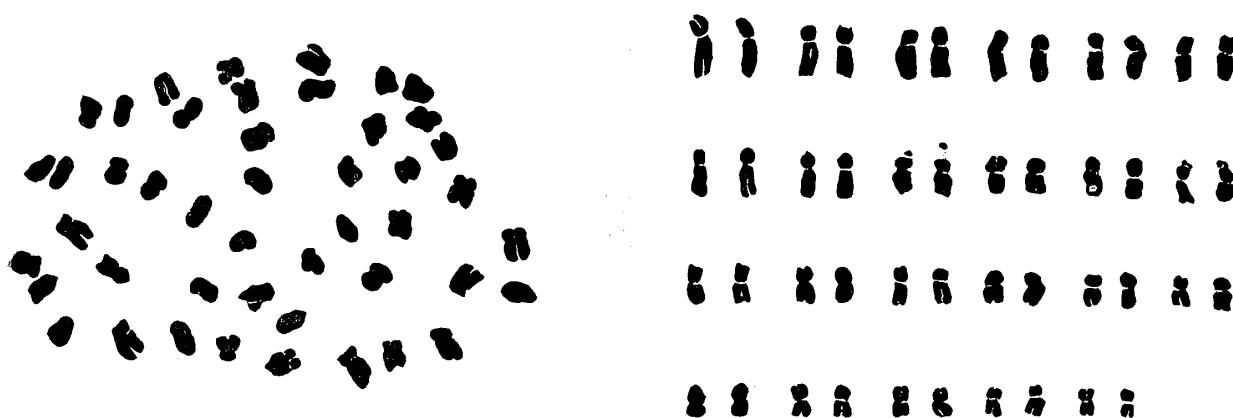


Fig. 2. The Chromosomes of *Scopolia parviflora*. *Left* : Mitotic metaphase in the root-tip cell ($2n=46$). *Right* : Karyotype of the somatic chromosomes ($2n=46$).

植物の产地によらず、すべて根端細胞分裂中期において $2n=88$ の染色体数を示した。また減数分裂も正常で、花粉の第1有糸分裂中期では期待通り $n=44$ を観察した (Fig. 1)。一方、*S. parviflora* の染色体数は予期に反して前者と異なり、根端細胞の染色体数は $2n=46$ であることが判明した (Fig. 2)。Fig. 2 にはその核型をも示すが、一般に染色体が *S. japonica* 同様小さいため各染色体の形態的特長を詳述できないが、submedian または median の位置に動原体をもつものが多く、SAT-chromosome は少なくとも 1 対認められる。

2. アルカロイド組成

日本産ならびに韓国産ロートコン市場品のアルカロイド含量については前報で述べたが、今回は野生品および同一環境下で育成した栽培品の根茎を含めて定量した。TABLE II に示すように、*S. japonica* の場合、野生品、栽培品、

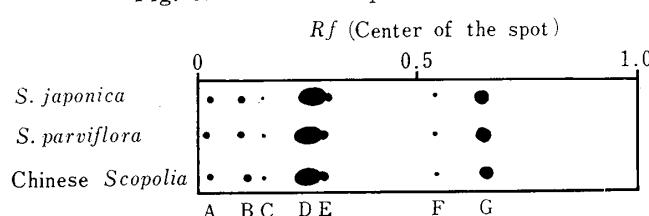
TABLE II. Alkaloid Contents of Various *Scopolia* Rhizomes

Species	Habitat	Kind	I	II	Alkaloid %*
<i>S. japonica</i>	Kagawa	A	1966-7	—	0.212
	"	B-1	1966-7	1969-7	0.205
	Kyoto	A	1969-6	—	0.188
	Shiga	A	1966-5	—	0.174
	"	A	1968-6	—	0.182
	"	B-1	1966-5	1969-5	0.153
	"	B-1	1966-5	1969-7	0.174
	Toyama	B-1	1967-5	1969-7	0.186
	Tokyo	B-2	1965-6	1969-7	0.206
	Gifu	C	1968	—	0.185
<i>S. parviflora</i>	Korea	A	1966	—	0.419
	"	A	1967-6	—	0.271
	"	B-1	1967-4	1969-7	0.265
	"	C	1967	—	0.329
<i>S. sp.</i>	(China)	C	1967	—	0.312
	"	C	1968	—	0.203

I : Time of collection or import ; II : Time of harvest.

* Determined by the modified Vitali-Morin method (Freeman 1955) and calculated as atropine on dry weight basis.

A : Collected in the native place ; B-1 : Cultivated under the tree shade at Kyoto ; B-2 : Cultivated under the tree shade at Tokyo ; C : Crude drug on the market.

Fig. 3. TLC of *Scopolia* Extracts

A : Tropine, D : Hyoscyamine, F : Apoatropine, G : Scopolamine, B, C, E : Unidentified. MeOH extracts. Silica gel G (Merck). Solvents : $\text{CHCl}_3 + \text{EtOH} + 28\% \text{ NH}_4\text{OH}$ (85 : 14 : 1). Detection: Dragendorff's reagent (J. P. VII).

市場品とともに総アルカロイド含量は0.2%前後の低い値を示した。同一産地の場合、栽培品は野生品よりわずかに低い値を示したが明らかな差は認められない。一方、*S. parviflora*は検体によりかなりの差はあっても、いずれも*S. japonica*より高い含量値を与えた。なお同表に比較のために中国より輸入されたロートコーン市場品（原植物不明）のアルカロイド含量も示したが、日本のものより高い値も得られている。

アルカロイド成分に関する種間の比較は薄層クロマトグラフィー (TLC) によって行なった。その結果、*S. japonica*, *S. parviflora* の各地野生品、栽培品、市場品、ならびに中国市場品の相互間にアルカロイドの質的差異は認められず、いずれも多量の hyoscyamine, scopolamine, 少量の tropine を含む少なくとも 7 種類の共通成分が検出された (Fig. 3)。

薄層クロマトグラムにおいて hyoscyamine と scopolamine の中間に現われる小スポットは日本、韓国、中国品に共通の未知アルカロイドであるため、これを材料の入手容易な中国品から抽出し、Chart. 1 に示すようにセライトカラムクロマトグラフィーによって分離、その picrate を得た。これは小板状結晶であり、元素分析、IR スペクトルと NMR スペクトルによる分析、および合成標品との混融試験の結果から apoatropine であることを確認した。

考 察 お よ び 結 論

S. parviflora (チョウセンハシリドコロ) は朝鮮北部 (京畿、江原、平南、咸南) の深山樹林下に分布する多年草

で、韓国では「萸菪」として薬用にされる²⁾。この植物は花冠が *S. japonica* より短小であるため最初 Dunn³⁾によって *Scopolia japonica* MAX. var. *parviflora* DUNN として分類されたが、後に中井⁴⁾が Royal Botanic Gardens, Kew に保存されている 2 葉の標本を観察して *S. parviflora* (DUNN) NAKAI と改名、新種に昇格されたものである。中井の記載から *S. parviflora* が *S. japonica* と異なると思われる主な形態的特徴を推察すると、(1) 葉は倒卵状橢円形 (*S. japonica* は卵状～狭長橢円形)、および (2) 花冠は長さ 1.2～1.3 cm^{*2} で濃堇色 (*S. japonica* は約 2 cm 長く、暗紅紫色～帶紫黃色) という 2 点であろう。著者らが観察した忠清北道および京畿道に自生する植物もこれらの特徴を備え、花冠は鄭の記述のように帶黒紫色であった。しかし他の点では両種を区別することは困難で、根茎の外部形態も非常に相似している。しかし内部形態的には根茎中の道管の走行にいちじるしい相違が認められる¹⁾。さらに今回、種間の遺伝的関係を知る上に重要な染色体数において両種の間に大きな相違が存在するという新知見が得られた。染色体数から見ると *S. japonica* ($2n=88$) と *S. parviflora* ($2n=46$) の間には真の倍数関係は成立しない。しかし両種が *Scopolia* 属の中で形態的に最も類似し、地理的にも近いことから、*S. parviflora* の倍数化によって生じた 4 倍体 ($2n=92$) が進化の過程で減数分裂時の 4 倍染色体の不分離現象などによって 2 対の染色体を失い、その結果 *S. japonica* が誘導されたという可能性も否定できない。両種が地理的に完全に隔離されている現在、それらの系統関係を研究することは困難であるが、もし人為的に種間雑種を得てその細胞遺伝学的研究を行なうことができれば両者の関係は一層明らかとなろう。

Scopolia 属の中、従来染色体数の報告されているのは *S. lurida* (ヒマラヤ、ネパール、シッキムに分布) のみであり、Vilmorin & Simonet⁵⁾によれば $2n=24$ であるという。したがってこの植物も *S. parviflora* または *S. japonica* と倍数関係を示さず、結局 *Scopolia* 属には少なくとも 3 種類 ($n=12, 23, 44$) の基本数が存在することになる。*Scopolia* の属するナス亜科 (*Solanaceae*)⁶⁾ には 12 を基本数とする属が多いが、それらの中ヒヨス族 (*Hyoscyamineae*) の *Hyoscyamus* ($n=14, 17$) と *Scopolia* は特異的な存在といえる。また、*S. japonica* がナス科植物中最大の染色体数をもつことは注目される。

根茎のアルカロイド含量については、種々の材料を検討した結果、*S. parviflora* は *S. japonica* より高い値を示し、両者の染色体数とは逆の関係になることが明らかとなった。しかし根茎中のアルカロイドの種類に関しては、TLC によって検知可能な限り、両種間に差異は見出されず、共通の成分を生成するように思われ、染色体数およびアルカロイド含量の異なる事実と考えあわせて興味深い。成分のひとつとして今回 *apoatropine* の存在が証明されたが、このアルカロイドは最近 Ivanov ら⁷⁾によって *Scopolia parvifolia* なる植物の根茎から分離されている。この植物に関する植物学的記載は不明であるが、本研究により同物質が *S. japonica*, *S. parviflora*, *S. sp.* (中国市場品)、および欧州産の *S. carniolica* の根茎からも検出されることが分った。このアルカロイドが *in vivo* に生成されたのか、あるいは抽出過程で生じたものは不明であるが、根茎のクロロホルムまたはメタノール冷浸エキス中に少量検出される。

以上の研究から *Scopolia* 属 2 種の相互関係はかなり明らかとなったが、中国品の原植物についてはなお不明であり、根茎の形態および成分の面からは *S. parviflora* に最も似るが、中国の湖北省、四川省に分布する *S. sinensis* である可能性も残っている。将来、中国種のみならず他の *Scopolia* 種をも含めた細胞遺伝学的ならびに生薬学的比較研究を進めることができれば、薬用資源上重要な *Scopolia* 属植物全般の総合的理解と利用に役立つものと思われる。

実験の部

1. 実験材料

a) *Scopolia japonica* MAXIM. : 香川、滋賀、富山各県および京都府に自生する植物、およびこれらを京都大学薬学部実験圃場において同一環境下で数年間栽培した植物を用いた。なお東京都のものは奥多摩で採集後、都立植物園で栽培された植物の根茎を使った。

2) 鄭台鉉，“韓國植物図鑑（草本部）”，1962, p. 522.

3) S. T. Dunn, *Kew Bull.*, No. 2, 108 (1912).

4) T. Nakai, *Bot. Mag. (Tokyo)*, 47, 235 (1933).

*2 Dunn によれば 1.5～1.7 cm.

5) R. de Vilmorin, M. Simonet, *Z.i.A.V. Suppl.*, 2, 1520 (1928).

6) A. Engler, “Syllabus der Pflanzenfamilien”, II, 1964, p. 444.

7) V. Ivanov, N. Nikolov, A. Yaneva, *Farmacija*, 17, 20 (1967).

b) *Scopolia parviflora* NAKAI: 韓国忠清北道において採集した植物およびこれを上記の圃場で栽培したものを利用した。

日本各地で採集したものはいずれも *S. japonica* MAXIM. の原記載⁸⁾あるいはその後の形態的記載⁹⁾と一致し、種を同定した。産地による顕著な差は認められなかったが、富山県産の植物は他府県産のものにくらべて葉がやや幅広い橢円形を呈した。韓国忠清北道で採集したチョウセンハシリドコロもその原記載⁴⁾あるいは他の記載²⁾とよく一致し、*S. parviflora* NAKAI であると同定した。種子については原記載にないが、著者らの観察では両種とも相似し、ともに腎形、淡褐色で表面に隆起ある網紋を備えている。両種を京都で栽培すると開花期はいずれも4月上旬～下旬であった。

c) 日本産ロートコン: 名古屋市場品(岐阜県産)

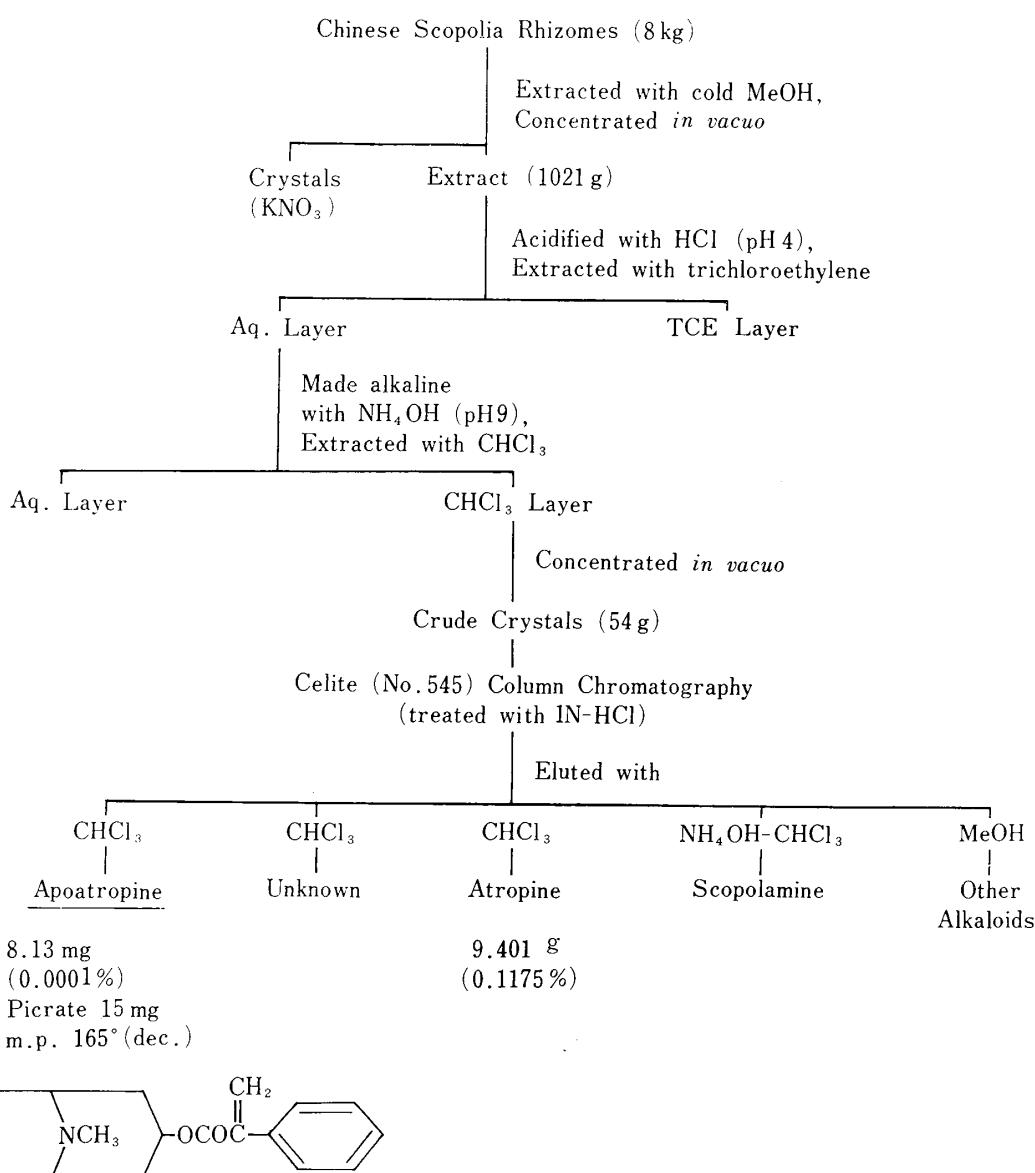
d) 韓国産ロートコン: 大阪市場品

e) 中国産ロートコン: 大阪市場品

2. 染色体の観察法

3月下旬、開花前の植物から新鮮な根端を採取、8-hydroxyquinoline 飽和水溶液中 18° で4時間浸漬、水洗後

Chart 1. The Procedure Used for the Isolation of Apoatropine from "Chinese Scopolia Roots"



8) C. J. Maximowicz, *Bull. Acad. Imp. Sci. (St.-Pétersbourg)*, **18**, 57 (1873).

9) 牧野富太郎, “新日本植物図鑑”, 1961, p. 543; 北村四郎, 村田源, 堀勝, “原色日本植物図鑑”, I, 1957, p. 155; 大井次三郎, “日本植物志”, 1961, p. 1024.

Carnoy 液中で 24 時間固定, 70% EtOH に移して冷所に保存した。顕微標本の作成には Feulgen squash 法¹⁰⁾を応用した。

花粉第 1 分裂の観察には適当な時期の薬を Carnoy 液で固定, 酢酸カーミンで染色, Smear 法で顕微標本を作成した。

3. アルカロイドの検出

乾燥根茎の粉末 2.5g を EtOH 7.5ml : 28% NH₄OH 0.75ml の混液に一夜冷浸, CHCl₃ で 6 時間 Soxhlet 抽出, CHCl₃ を減圧下 45° で蒸発乾固, 残渣に CHCl₃ 10ml と EtOH 5%, AcOH 6% を含む水溶液 20ml を加えて振とう, 一夜放置後水層の一定量をとり Vitali-Morin 改良法¹¹⁾によって発色, 吸光度を島津 Spectronic 20 で測定, 総アルカロイド量を試料乾燥重量当りのアトロピン % として算出した。

成分の検出には上記水層残部を NH₄OH アルカリ性 (pH=9) とし, CHCl₃ で抽出, CHCl₃ 層を減圧濃縮して TLC の試料とした。TLC には Silica gel G (Merck) を用い, CHCl₃ : EtOH : 28% NH₄OH = 85 : 14 : 1 の混液で展開した。薄層板上のアルカロイドの検出には Dragendorff 試薬 (J. P. VII) を噴霧した。

Apoatropine の分離は Chart 1 に示す方法¹²⁾で行なった。単離された結晶の性状は下記の通りである。

Apoatropine picrate : EtOH から再結晶。黄色小板状結晶。mp 168.5~170° (decomp., corr.). *Anal.* Calcd. C₁₇H₂₁NO₂·C₆H₃N₃O₇ : C, 55.20; H, 4.83; N, 11.20. Found : C, 54.96; H, 4.66; N, 10.94. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3350, 1705, 1615, 1560, 1335, 1310, 1270, 1200, 1160, 1075, 1025, 970, 955, 940, 910, 815, 780, 740. NMR¹³⁾ (pyridine-d₅, D₂O 处理) τ : 1.22 (2H, singlet, aromatic H of picric acid), 2.50 (5H, singlet, aromatic H), 3.58, 3.97 (2H, singlet, =CH₂), 4.68 (1H, multiplet, C_{1,5}-H), 6.97 (3H, singlet, N-CH₃), 7.20~8.10 (8H, multiplet, C_{2,4,6,7}-H).

謝辞 研究の植物材料について御協力いただいた富山大学和漢薬研究施設資源開発部門, 名城大学生薬学教室, 韓国忠北大学池亭浚助教授, 三国商店, 都立薬用植物園, ならびに apoatropine の標品を御恵贈いただいた東京大学薬学部山田俊一教授に深謝します。

10) C. D. Darlington, L. F. La Cour, "The handling of chromosomes", 1950, p. 128.
11) F. M. Freeman, *Analyst*, **80**, 520 (1955).

12) E. Leete, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 612 (1960).

13) Varian associates recording spectrometer A-60, 内部標準として TMS 使用.