

中薬・羅布麻の成分に関する研究（第1報）
Apocynum と *Poacynum* 属植物葉のフラボノイド配糖体と
 羅布麻製剤の基原植物鑑別への応用¹⁾

西部三省^{*,a}, 武村仁志^a, 藤本 啓^{a,b}, 笹原道子^a, 田中俊弘^c

^a 東日本学園大学薬学部, ^b 現 名古屋市立大学薬学部, ^c 岐阜薬科大学

Studies on the Constituents of Chinese Medicine “Luobumaye” (I)
 On Flavonoid Glycosides of Genera *Apocynum* and *Poacynum* Leaves and Their Application
 to Method for Identification of Origin of Luobumaye Products

SANSEI NISHIBE,^{*,a} HITOSHI TAKEMURA,^a TORU FUJIMOTO,^{a,b}

MICHIKO SASAHARA^a and TOSHIHIRO TANAKA^c

^a Faculty of Pharmaceutical Sciences, Higashi-Nippon-Gakuen-University,
 Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-02, Japan

^b Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University,
 Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya 467, Japan

^c Gifu Pharmaceutical University, 5-6-1, Mitahora-higashi, Gifu 502, Japan

(Received April 24, 1992)

From leaves of *Apocynum venetum* L., used as the origin of the Chinese medicine Luobumaye (Folium Apocini Veneti), were isolated four flavonoid glycosides (hyperoside, isoquercitrin, trifolin and astragalin) and from leaves of *Poacynum hendersonii* (HOOK f.) WOODSON, used recently in the name of Luobumaye, two flavonoid glycosides (isoquercitrin and quercetin 3-O-sophoroside). (–)-Bornesitol was isolated from both samples.

Flavonoid glycosides in the leaves of several species of the genus *Apocynum* and the genus *Poacynum* were compared by HPLC. The results showed that the HPLC profiles may be used for the identification of the origin of the Luobumaye products in the Chinese market as different species have different main flavonoid glycoside compositions.

Keywords—Luobumaye; *Apocynum venetum*; *Poacynum hendersonii*; flavonoid glycoside; HPLC; identification of origin

羅布麻は中国新疆自治区を中心に野生するキョウチクトウ科 (Apocynaceae) パシクルモン属 (*Apocynum*) の多年生草本である紅麻 *Apocynum venetum* L. の葉部を乾燥して製した生薬である²⁾。

羅布麻は中華人民共和国薬典にも収載され、心臓病、高血圧、不眠症、神経衰弱、腎炎、浮腫に用いるとされている^{3,4)}。

中国では生薬としてそのまま用いる他に、茶剤やエキス剤などに加工して広く用いられている⁵⁾。

最近、その羅布麻製剤の基原植物に *A. venetum* に代わり、元来薬用とされていない近縁植物の大葉白麻 *Poacynum hendersonii* (HOOK f.) WOODSON が用いられているといわれ、中国市場に混乱をきたしている。その主な理由の一つは、*A. venetum* の自生率が1に対して *P. hendersonii* の自生率が10とされ、*P. hendersonii* の方が採取が容易であること⁶⁾、またかつて *P. hendersonii* が *A. venetum* と同属とされていたことから⁷⁾、いずれを用いても同じと考えられたことによるものと推察される。

著者らはすでに *A. venetum* と *P. hendersonii* の葉の外部形態ならびに内部形態の研究からその形態学的な鑑別が可能なることを報告した⁸⁾。しかし基原植物の原形をもたないエキス剤などにおいては形態学的な鑑別は不可能で、含有成分に基づく化学的な鑑別法が必要となる。

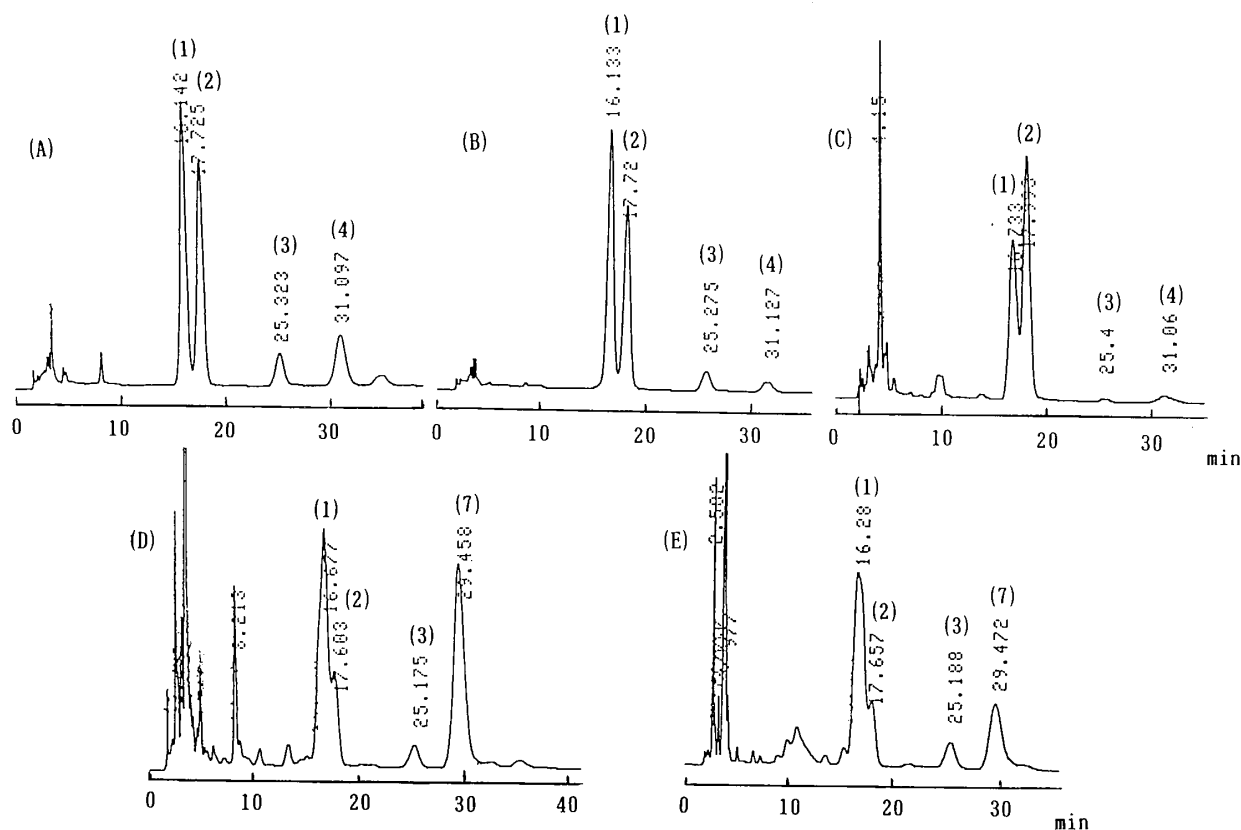


Fig. 1. HPLC Chromatograms of Methanol Extract of Genus *Apocynum* Leaves

(A) *A. venetum* (China), (B) *A. venetum* var. *basikurumon*, (C) *A. venetum* (Turkey), (D) *A. cannabinum*, (E) *A. androsaemifolium*.

Numerals in brackets indicates compound number.

Conditions: column, Nucleosil 5C18 (4.6×250 mm); mobile phase, MeOH-H₂O-AcOH (30:100:5); flow rate, 1.6 ml/min; column temp., 40°C; detector, UV 360 nm.

成分に関しては *A. venetum* に quercetin と isoquercitrin の報告があるが⁴⁾, *P. hendersonii* についてはその報告がみられない。

本報では *A. venetum* と *P. hendersonii* の成分の相違を明らかとし、さらに数種の同属植物との成分組成の比較を行い、その結果を中国市場品羅布麻製剤の基原植物の鑑別へ応用することを試みた。

結果及び考察

1. *A. venetum* 葉の成分

基原の明らかな細切した *A. venetum* 葉をメタノールで加温抽出し、実験の部記載の方法に従ってエーテル分画エキス、酢酸エチル分画エキスおよびブタノール分画エキスをそれぞれ得た。有機溶媒抽出後の水層は減圧下濃縮し、水層分画エキスを得た。

酢酸エチル分画エキスはシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、エタノール-クロロホルム系溶媒で溶出し、hyperoside (1), isoquercitrin (2), trifolin (3) および astragalin (4) をそれぞれ単離した。ブタノール分画エキスはシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、同様に化合物 1 と 2 を単離した。水層分画エキスは活性炭カラムクロマトグラフィーに付し、水で溶出し、(-)-bornesitol (5) を単離した。なお化合物 5 はサイクリトールの一つで、その (+) 体は数種のキョウチクトウ科植物にその存在が知られている⁹⁾。

2. *P. hendersonii* 葉の成分

基原の明らかな細切した *P. hendersonii* 葉をメタノールで加温抽出し、*A. venetum* の抽出法に準じて処理し、エーテル分画エキス、酢酸エチル分画エキス、ブタノール分画エキスおよび水層分画エキスをそれぞれ得た。

酢酸エチル分画エキスはシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、エタノール-クロロホルム系溶媒で溶出し、化合物 2 を単離した。ブタノール分画エキスはシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、同様に quercetin 3-O-sophoroside (6) を単離した。水層分画エキスは活性炭カラムクロマトグラフィーに付し、水で溶出し、化合物

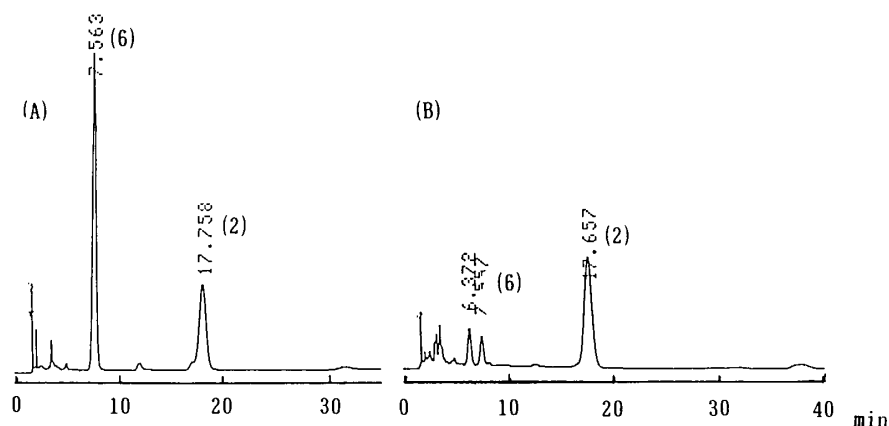


Fig. 2. HPLC Chromatograms of Methanol Extract of Genus Poacynum Leaves

(A) *P. hendersonii*, (B) *P. pictum*.

Numeral in brackets as in Fig. 1. Conditions, see Fig. 1.

5を単離した。

3. *A. cannabinum* 葉の成分

Apocynum 属植物については北米およびヨーロッパで *Apocynum cannabinum* L. と *A. androsaemifolium* L. の根茎および根が薬用とされているが¹⁰⁾, 葉が薬用とされるのは中国での *A. venetum* のみである。

今回基原の明らかな *A. cannabinum* 葉が量的に入手可能であったことから *A. venetum* との成分比較を目的に *A. cannabinum* 葉からの成分の単離を行った。

細切した葉部を *A. venetum* の抽出法に準じて処理し、エーテル分画エキス, 酢酸エチル分画エキス, ブタノール分画エキスおよび水層分画エキスをそれぞれ得た。酢酸エチル分画エキスはシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, エタノール-クロロホルム系溶媒で溶出し, 化合物1, 2, 3および quercitrin (7) をそれぞれ単離した。ブタノール分画エキスはシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 同様に化合物1および2を単離した。水層分画エキスは活性炭カラムクロマトグラフィーに付し, 水で溶出し, 化合物5を単離した。

以上から *A. cannabinum* は化合物1と2を主フラボノイド配糖体とすることに加えて *A. venetum* から見いだされなかった化合物7が含有されることを明らかとした。

4. *Apocynum* と *Poacynum* 属植物葉のフラボノイド配糖体組成の HPLC による成分パターン分析

Apocynum 属の *A. venetum* と *A. cannabinum* の主フラボノイド配糖体組成が *Poacynum* 属の *P. hendersonii* のそれらと明らかな相違を示したことから, フラボノイド配糖体に基づく HPLC の成分パターン分析から羅布麻の基原植物の化学的な鑑別が可能ではないかと考えられた。そこで *A. venetum* が他の同属ないし近縁植物と比較して成分パターンにどのような相違がみられるかを調べるため *Apocynum* 属植物4種 (*A. venetum* L., *A. venetum* L. var. *basikurumon* HARA, *A. cannabinum* L., *A. androsaemifolium* L.) と *Poacynum* 属植物2種 (*P. hendersonii* (HOOK f.) WOODSON, *P. pictum* (SCHRENK) BAILL) のそれぞれ葉部のメタノール抽出液を用いて, HPLC による成分パターン分析を行った。

A. venetum は中国の西北, 華北, 華東, 東北およびヨーロッパ, アジアの温帯に分布し, 河岸, 谷川, 山地斜面の砂質地に生える多年草である¹¹⁾。その変種のバシクルモン *A. venetum* var. *basikurumon* は北海道と青森県の一部に分布することが知られている¹²⁾。

一方, *A. cannabinum* と *A. androsaemifolium* はアメリカのコネチカット州からウイスコンシン, アラバマ, テネシー, ミズーリ, カンサス各州にかけて分布し, 原野, 牧草地, 低木林内などに生える落葉低木である¹³⁾。

P. hendersonii と *P. pictum* は内モンゴル, 甘粛, 新疆などに分布する多年草である¹¹⁾。

本研究での *A. venetum* は中国新疆ならびにトルコ・アンタルヤ採集品, *A. venetum* var. *basikurumon* は東日本学園大学薬草園栽培品¹⁴⁾, *A. cannabinum* は武田薬品薬用植物園栽培品, *A. androsaemifolium* はアメリカ・バージニア州採集品, *P. hendersonii* と *P. pictum* は中国新疆採集品をそれぞれ用いた。なお試料はいずれも羅布麻の採集時期の7月に合わせて同時期に採集したものを用いた。

ここで得られた HPLC による成分パターンを Fig. 1 と 2 に示した。

今回の結果から HPLC において化合物1と2を主ピークとするものは *Apocynum* 属植物4種であり, 化合物2

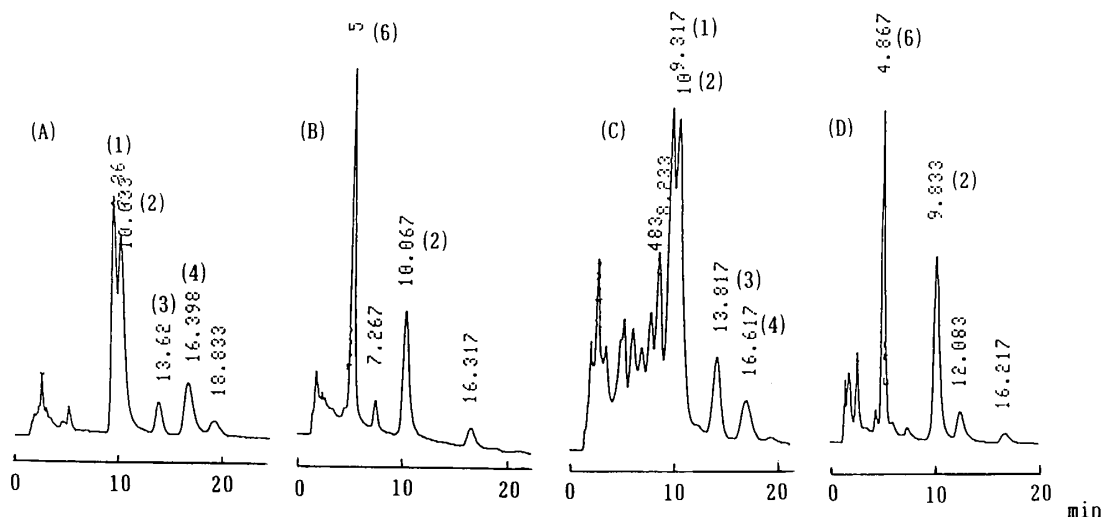


Fig. 3. HPLC Chromatograms of Luobumaye Products on Chinese Market

(A) and (B) tea products, (C) and (D) extract products.

Numerals in brackets indicates compound number.

Conditions: column, Nucleosil 5C18 (4.6×150 mm); mobile phase, MeOH-H₂O-AcOH (30:100:5); flow rate, 1.6 ml/min; column temp., 40°C; detector, UV 360 nm.

と6を主ピークとするものは *Poacynum* 属植物2種であった。したがって現在中国市場で混乱をきたしている羅布麻の基原植物が *A. venetum* 葉からなるか、*P. hendersonii* 葉からなるかのいずれか2者の鑑別に限定すれば、その化学的鑑別は化合物1, 2, 6を指標成分とし、化合物1と2を主ピークとするか、化合物2と6を主ピークとするかのHPLCによる成分パターンから可能と考える。

5. 羅布麻製剤の基原植物の化学的鑑別

A. venetum と *P. hendersonii* の指標成分を基に中国市場に流通している羅布麻製剤6品目についてその基原植物の化学的鑑別を試みた。

製剤(茶剤およびエキス剤)それぞれを粉末とし、メタノールで抽出し、その抽出液を直接HPLCに注入し、そのクロマトグラムの成分パターンを比較する方法にてその基原植物の鑑別を行った。

製剤より指標成分の化合物1と2のピークが明瞭に検出されれば *A. venetum* を基原植物とするものであり、指標成分の化合物2と6のピークが明瞭に検出されれば *P. hendersonii* を基原植物とするものと判定した¹⁵⁾。またいずれの製剤からも化合物5をガスクロマトグラフィー(GC)で検出することができた。

以上から現実には羅布麻製剤の基原植物には *A. venetum* の他に *P. hendersonii* も用いられていることが明らかとなった。

結 論

A. venetum 葉はフラボノイド配糖体の化合物1および2を、*P. hendersonii* 葉は化合物2と6を主成分として含有し、かつこれらの成分はそれぞれ両者を鑑別する指標成分とみなしうることを明らかとした。

サイクルトールの化合物5はいずれにも共通成分として存在し、*Apocynum* と *Poacynum* 属植物の特徴成分と考えられる。

羅布麻製剤のメタノール抽出液のHPLCによる成分パターンをそれぞれの指標成分を目標に比較することでその基原植物が *A. venetum* 葉からなるのか *P. hendersonii* 葉からなるのかの化学的鑑別が可能であった。

実 験 の 部

融点は柳本微量融点測定器で測定し、未補正である。旋光度は日本分光 DIP-360, IR スペクトルは Hitachi 270-30, UV スペクトルは Shimadzu UV 210, FAB-MS は Shimadzu GCMS9100-MK, NMR は JEOL JNM-EX 270/EX 400 でそれぞれ測定した。

¹H-NMR の記載は次の略号によった。

d=doublet, dd=double doublet.

カラム用シリカゲル (SiO₂) は Wakogel C-200 (和光) およびカラム用活性炭は和光製活性炭素をそれぞれ用いた。

A. venetum 葉から成分の抽出と単離

細切した *A. venetum* 葉 (中国新疆自治区産) 650 g を MeOH で 3 回加温抽出した。抽出液は濃縮後水を加えて析出した沈殿物をろ去し、ろ液は Et₂O (1000 ml×3), AcOEt (1000 ml×3) および *n*-BuOH (1000 ml×3) にて順次抽出した。それぞれの抽出液は減圧下濃縮し、Et₂O 分画エキスを (2.7 g), AcOEt 分画エキスを (3.9 g) および *n*-BuOH 分画エキスを (3.5 g) をそれぞれ得た。有機溶媒抽出後の水層は減圧下濃縮し、水層分画エキスを (50.9 g) を得た。

AcOEt 分画エキスを (2.0 g) は SiO₂ クロマトに付し、EtOH-CHCl₃ 系溶媒で EtOH 濃度を 5%, 10% の順に高めつつ溶出し、各 100 ml 宛て分取し、Frs. 23~29 から astragalin (4) (10 mg), Frs. 34~37 から trifolin (3) (3 mg), Frs. 45~55 から isoquercitrin (2) (223 mg), Frs. 65~85 から hyperoside (1) (116 mg) を単離した。*n*-BuOH 分画エキスを (2.0 g) は SiO₂ クロマトに付し、EtOH-CHCl₃ 系溶媒で EtOH 濃度を 10%, 15% の順に高めつつ溶出し、各 100 ml 宛て分取し、Frs. 38~49 から 2 (86 mg), Frs. 60~75 から 1 (56 mg) を単離した。水層分画エキスを (15.0 g) は活性炭カラムクロマトに付し、水で溶出し、各 100 ml 宛て分取し、Frs. 11~13 から (–)-bornesitol (5) (85 mg) を単離した。

単離した化合物はそれぞれ標品と直接比較同定した。

P. hendersonii 葉から成分の抽出と単離

細切した *P. hendersonii* 葉 (中国新疆自治区産) 500 g を *A. venetum* の抽出法に準じて処理し、Et₂O 分画エキスを (1.7 g), AcOEt 分画エキスを (9.1 g), *n*-BuOH 分画エキスを (18.4 g) をそれぞれ得た。有機溶媒抽出後の水層は減圧下濃縮し、水層分画エキスを (41.1 g) を得た。

AcOEt 分画エキスを (2.0 g) は SiO₂ クロマトに付し、EtOH-CHCl₃ 系溶媒で EtOH 濃度を 5%, 10% の順に高めつつ溶出し、各 100 ml 宛て分取し、Frs. 34~36 から 2 (51 mg) を単離した。*n*-BuOH 分画エキスを (2.0 g) は SiO₂ クロマトに付し、EtOH-CHCl₃ 系溶媒で EtOH 濃度を 5%, 10% の順に高めつつ溶出し、各 100 ml 宛て分取し、Frs. 42~43 から quercetin 3-*O*-sophoroside (6) (60 mg) を単離した。水層分画エキスを (15.0 g) は活性炭カラムに付し、水で溶出し、各 100 ml 宛て分取し、Frs. 12~15 から 5 (94 mg) を単離した。

Quercetin 3-*O*-sophoroside (6): 黄色針状結晶 (H₂O), mp>300°C. FeCl₃ 反応+. Mg-HCl 反応+. FAB-MS; *m/z* 627 [M+H]⁺. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹; 3388 (OH), 1656 (CO), 1610, 1506 (C=C). ¹H-NMR (CD₃OD) δ ; 4.55 (1H, d, *J*=7 Hz, H-1'''), 5.32 (1H, d, *J*=7 Hz, H-1''), 6.19 (1H, d, *J*=2 Hz, H-6), 6.37 (1H, d, *J*=2 Hz, H-8), 6.87 (1H, d, *J*=8 Hz, H-5'), 7.52 (1H, dd, *J*=2, 8 Hz, H-6'), 7.67 (1H, d, *J*=2 Hz, H-2'). UV ならびに ¹³C-NMR スペクトルデータは文献記載値に一致¹⁶⁾。

A. cannabinum 葉から成分の抽出の単離

細切した *A. cannabinum* 葉 (武田薬品薬用植物園産) 500 g を *A. venetum* の抽出法に準じて処理し、Et₂O 分画エキスを (0.6 g), AcOEt 分画エキスを (3.1 g) および *n*-BuOH 分画エキスを (10.0 g) をそれぞれ得た。有機溶媒抽出後の水層は減圧下濃縮し、水層分画エキスを (16.1 g) を得た。

AcOEt 分画エキスを (3.0 g) は SiO₂ カラムに付し、EtOH-CHCl₃ 系溶媒で EtOH 濃度を 5%, 10% の順に高めつつ溶出し、各 100 ml 宛て分取し、Frs. 34~37 から quercitrin (7) (139 mg), Frs. 38~40 から 3 (5 mg), Frs. 41~52 から 2 (175 mg) および Frs. 63~74 から 1 (210 mg) を単離した。

単離した化合物はそれぞれ標品と直接比較同定した。

Apocynum と *Poacynum* 属植物葉の HPLC 成分パターン分析

実験材料: *A. venetum* 中国新疆採集品, トルコ・アンタルヤ採集品; *A. venetum* var. *basikurumon* 東日本学園大学薬草園栽培品; *A. cannabinum* 武田薬品薬用植物園栽培品; *A. androsaemifolium* アメリカ・バージニア州採集品; *P. hendersonii* 中国新疆採集品; *P. pictum* 中国新疆採集品。

試料はいずれも羅布麻の採集時期の 7 月に合わせて、同時期に採集したものをを用いた。

測定方法: 乾燥葉を粉末とし、その 1 g を MeOH 10 ml で加温抽出。抽出液を columngard-LCR₁₃ で濾過後、その 5 μ l を HPLC に注入。

測定機器: ポンプ Shimadzu LC-3A; 検出器 Shimadzu SPD-6AV; データ処理装置 Shimadzu C-R6A Chromatopac。

測定条件：カラム Nucleosil 5 C18(4.6×250 mm); 移動相 MeOH : H₂O : AcOH(30 : 100 : 5); 温度 40℃; 流速 1.6 ml/min; 検出波長 UV 360 nm.

羅布麻製剤の鑑別

実験材料

茶剤：羅布麻袋泡茶（1985年上海製），羅布麻袋泡茶（1991年上海製），羅布麻茶（新疆製），羅布麻保健茶（江蘇製）。

エキス剤：羅布麻花茶型袋泡茶（上海製），羅布麻葉沖劑（新疆製）。

フラボノイド配糖体の HPLC

測定方法：製剤を粉末とし，その 1 g を MeOH 10 ml で加温抽出．抽出液を columngard-LCR₁₃ で濾過後，その 5 μl を HPLC に注入．

測定機器：植物葉の分析の場合と同じ．

測定条件：カラム Nucleosil 5C 18(4.6×150 mm); 移動相 MeOH : H₂O : AcOH (30 : 100 : 5); 温度 40℃; 流速 1.6 ml/min; 検出波長 UV 360 nm.

結 果

A. venetum を基原とするもの：羅布麻袋泡茶（1985年）（A），羅布麻花茶型袋泡茶（C），羅布麻保健茶．

P. hendersonii を基原とするもの：羅布麻茶（B），羅布麻葉沖劑（D），羅布麻袋泡茶（1991年）。

(-)Bornsitol の GC

測定方法：製剤を粉末とし，その 1 g を MeOH 10 ml で加温抽出．抽出液を蒸発乾固し，TMS 化後 [T692 TMS-PZ キット（東京化成）] GC に注入．

測定機器：Shimadzu GC-6AM, 検出器 FID.

測定条件：

GC-1

カラム 3 mm×2 m glass column packed with 1.5% SE-30 on Shimalite W (80~100 mesh); 温度 180℃ (isothermal); キャリヤーガス N₂(30 ml/min).

GC-2

カラム 3 mm×2 m glass column packed with 1.5% OV-1 on Shimalite W (80~100 mesh); 温度 180℃ (isothermal); キャリヤーガス N₂ (35 ml/min).

謝 辞：本研究にあたり実験材料の収集に御協力頂きました武田薬品工業^(株)高橋 勉氏，アルプス薬品^(株)太田慶隆氏，上海医薬工業研究院羅 恩齊先生，Washington State University N.G.Lewis 博士，Ankara University M. Coşkun 博士に深謝致します。

引用文献及び注

- 1) 日本生薬学会第37回年会（千葉，1990年11月）および国際老年薬学会（中国瀋陽，1991年7月）にて一部発表．
- 2) 三橋博監修，“原色牧野和漢薬草大図鑑”，北隆館，東京，1988，p. 415.
- 3) 中華人民共和国衛生部薬典委員会編，“中華人民共和国薬典1990年版”，一部，人民衛生出版社，北京，1990，pp. 183-184.
- 4) 江蘇新医学院編，“中薬大辞典”，上冊，上海科学技術出版社，上海，1978，pp. 1355-1356.
- 5) 羅布麻の綜合利用編輯組編，“羅布麻の綜合利用”，科学出版社，北京，1978，pp. 57-92.
- 6) アルプス薬品^(株)，太田慶隆氏よりの私信．
- 7) 江 佩芬，余 亞網，丹羽正武，中薬通報，**10**，222 (1985).
- 8) 田中俊弘，酒井英二，西部三省，武村仁志，日本生薬学会第37回年会（千葉，1990年11月）講演要旨集，p. 76.
- 9) S. Nishibe, S. Hisada, I. Inagaki, *Phytochemistry*, **10**, 896 (1971); *ibid.*, *idem.*, **10**, 2543 (1971).
- 10) Edward P. Claus, "Pharmacognosy," Lea & Febiger, Philadelphia, 1961, p. 111.
- 11) 中国科学院北京植物研究所主編，“中国高等植物図鑑”，第三冊，科学出版社，北京，1974，pp. 443-444.
- 12) 牧野富太郎，“牧野新日本植物図鑑”，北隆館，東京，1974，p. 498.
- 13) Charles F. Millspaugh, "American Medicinal Plants," Dover Publications, Inc., New York, 1974, pp. 527-

533.

- 14) 著者らはすでにバシクルモンの成分の抽出と単離について報告した。佐久嶋明世，西部三省，久田末雄，薬学雑誌，**98**，1395 (1978)。
- 15) 形態学的な鑑別が可能な茶剤においては，今回の化学的な鑑別結果と形態学的な鑑別結果はよく一致した。
- 16) H. Wagner, L. Hörhammer, R. Dirscherl, L. Farkas, M. Nógrádi, *Chem. Ber.*, **101**, 1186 (1968); K. R. Markham, B. Ternai, R. Stanley, H. Geiger, T. J. Mabry, *Tetrahedron*, **34**, 1389 (1978)。