

ドクダミ中のフラボノール配糖体に関する研究¹⁾

布施 淳一^{*,a}, 金森 久幸^a,
坂本 征則^b, 矢原 正治^c

^a広島県保健環境センター, ^b広島県福祉保健部薬務課,
^c熊本大学薬学部

Studies on Flavonol Glycosides in *Houttuynia cordata*

JUN-ICHI FUSE,^{*,a} HISAYUKI KANAMORI,^a
IKUNORI SAKAMOTO^b and SHOJI YAHARA^c

^aHiroshima Prefectural Institute for Health and Environment Sciences,
1-6-29, Minami-machi, Minami-ku, Hiroshima 734, Japan

^bPharmaceutical Affairs Division, Welfare and Health Department,
Hiroshima Prefecture, 10-52, Motomachi, Naka-ku, Hiroshima 730, Japan

^cFaculty of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University, 5-1,
Oe-honmachi, Kumamoto 862, Japan

(Received November 30, 1993)

Five flavonol glycosides, quercitrin (I), isoquercitrin (II), afzerin (III), hyperin (IV) and rutin (V) were isolated from the terrestrial part of *Houttuynia cordata* collected during the flowering season. The quantitative analysis of the five flavonol glycosides in *Houttuynia cordata* by high-performance liquid chromatography (HPLC) revealed the following results. (1) All the leaves, spikes and stems contained these five flavonol glycosides, and the content was the highest in leaves. (2) The main flavonol glycosides in spikes were I and IV. (3) The flavonol glycoside contents in leaves before and during the flowering season were about the same.

Keywords—*Houttuynia cordata*; HPLC analysis; quercitrin; isoquercitrin; afzerin; hyperin; rutin; spike

ドクダミ (*Houttuynia cordata* THUNBERG, Saururaceae) は、古くから、緩下薬及び利尿薬として多用されてきた薬草である。局方には第7局からドクダミの花期の地上部がジュウヤクの名で収載され、解説書には便通薬として、あるいは慢性皮膚疾患に利尿、消炎の目的で使用すると記載されている。また、漢方処方薬としては、皮膚疾患用薬とみなされる五物解毒湯に配合されている²⁾。

その主要成分は、中村ら³⁾によって報告された quercitrin (I) で、強力な利尿作用⁴⁾、強心作用、持続的血管収縮作用、抗菌作用⁵⁾、抗ウイルス作用⁶⁾、毛細血管脆弱性の強化作用⁷⁾、白血球遊走阻止作用⁸⁾、糖尿病性白内障阻止作用⁹⁾を有することが報告されている。

ドクダミの成分の化学的研究は、フラボノール配糖体に関するものが中心をなし、局方収載時の資料としてその採取期を決定するため、木村ら¹⁰⁾によって葉、花穂のフラボノール配糖体の研究が行われ、葉にのみ I が、花穂のみに isoquercitrin (II) が含まれることが報告された。さらにその報告では、II が I と同時に含まれることにより薬効の相乗効果が期待できるとされており、これらのことが

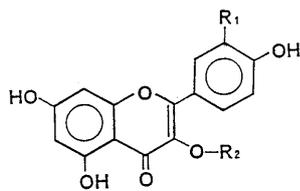
採取期は開花期の地上部と定められる根拠となっている。また、その他にも、開花期の地上部からは、高木ら¹¹⁾によって afzerin (III), hyperin (IV), rutin (V) の3種のフラボノール配糖体が単離されている (Chart 1)。

今回、著者らはドクダミの化学的品質評価を目的として、フラボノール配糖体を指標とした高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による同時分析法を検討するとともに、部位別のフラボノール配糖体の存在比について検索を試みた。

その結果、上記に述べた採取期の根拠を疑わせる事実を見出したので以下に報告する。

実験の部

種々のデータを得るため、次の機器を用いた。融点：柳本 MP 型微量融点測定装置未補正。UV：島津 UV-160。NMR：日本電子 GX-400 を使い、TMS を内部標準とし、 δ (ppm) 値で示した。FD-MS は日本電子 D-300 を用いた。HPLC は、東ソー CCPE (検出器：日本分光 JASCO UVIDEC-100-II, データ処理装置：CIC クロマトパック 11, フォトダイオードアレイ：Hewlett Packard 社製 HP



	R ₁	R ₂
I	OH	Rha
II	OH	Glc
III	H	Rha
IV	OH	Gal
V	OH	Glc ⁶ -Rha

Chart 1.

1040A) を用いた。各種クロマトグラフィーは次のように行った。カラムクロマトグラフィー担体: Sephadex LH-20 (Pharmacia), silica gel 60 (70~230 mesh, Merck) を用いた。

1. フラボノール配糖体の単離

ドクダミ (市販の徳島産 (花期の地上部の乾燥品)) 1 kg から高木ら¹¹⁾の方法により **I** 700 mg, **III** 21 mg, **IV** 120 mg, **V** 15 mg を得た。また、**IV** の画分を Sephadex LH-20 カラムクロマト (MeOH) にて分画し、さらに分取高速液体クロマトグラフィー (溶離液: 水-アセトニトリル (17:3), カラム: TSKgel ODS-120T (7.8 mm i.d. × 300 mm)) で分画し、メタノール-水による再結晶により **II** 8.7 mg を得た。

I, **III**, **V** は融点, TLC 及び UV の文献値^{11,12)} との比較及び FD-MS により同定した。

II と **IV** は FD-MS のデータが同一であるため、さらに ¹³C-NMR を測定し文献値¹³⁾ と比較し同定した。

HPLC 面積純度は実験の部の **3** に示した測定条件により求めた。

quercitrin (I) 黄色針状晶 (MeOH-H₂O), mp 176~178°C, FD-MS *m/z* 449 ([M+H]⁺), 471 ([M+Na]⁺), UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 350 (4.20), 258 (4.37), HPLC 面積純度 99%。

isoquercitrin (II) 黄色針状晶 (MeOH-H₂O), mp 222~227°C, FD-MS *m/z* 464 (M⁺), 487 ([M+Na]⁺), 503 ([M+K]⁺), UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 366 (4.14), 262 (4.32), ¹³C-NMR (TMS, DMSO-*d*₆) δ: 177.2 (C-4), 165.0 (C-7), 161.1 (C-5), 156.3 (C-9), 155.9 (C-2), 148.5 (C-4'), 144.8 (C-3'), 133.2 (C-3), 121.5 (C-1'), 121.0 (C-6'), 116.0 (C-5'), 115.1 (C-2'), 103.5 (C-10), 98.8 (C-6), 93.5 (C-8), sugar carbons: 100.8 (C-1''), 77.4 (C-5''), 76.4 (C-3''), 74.0 (C-2''), 69.8 (C-4''), 60.9 (C-6''), HPLC 面積純度 99%。

afzerin (III) 淡黄色針状晶 (benzene), mp 178~181°C, FD-MS *m/z* 471 ([M+K]⁺), UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 347 (4.10), 267 (4.25), HPLC 面積純度 99%。

hyperin (IV) 黄色針状晶 (MeOH-H₂O), mp 237~241°C, FD-MS *m/z* 464 (M⁺), 487 ([M+Na]⁺), 503 ([M+K]⁺), UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 362 (4.24), 260 (4.33), ¹³C-NMR (TMS, DMSO-*d*₆) δ: 177.5 (C-4),

164.1 (C-7), 161.2 (C-5), 156.3 (C-9), 156.2 (C-2), 148.5 (C-4'), 144.8 (C-3'), 133.5 (C-3), 122.0 (C-1'), 121.1 (C-6'), 115.9 (C-5'), 115.2 (C-2'), 103.9 (C-10), 98.7 (C-6), 93.5 (C-8), sugar carbons: 101.8 (C-1''), 75.8 (C-5''), 73.3 (C-3''), 71.2 (C-2''), 67.9 (C-4''), 60.1 (C-6''), HPLC 面積純度 99%。

rutin (V) 黄色針状晶 (MeOH-H₂O), mp 183~187°C, FD-MS *m/z* 649 ([M+K]⁺), UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 360 (4.19), 260 (4.27), HPLC 面積純度 99%。

2. 試料

徳島産 (1991 年), 高地産 (1991 年), 中国産 (1991 年) の市販品 3 種 (花期の地上部の乾燥品) と広島産 (1991 年), ベトナム産 (1991 年, 開花期前の葉) の栽培品 2 種 (栽培品については一般的なジュウヤクの調製法に準じ処理した) を用いた。いずれの試料も日局の規格²⁾ に適合していた。

3. 高速液体クロマトグラフィー

(1) 測定条件: カラムは YMC 120A ODS (4.6 mm i.d. × 150 mm) を用いて、溶離液にアセトニトリル-水-リン酸 (17:83:0.1) を用い、流速 1.0 ml/min, 検出波長 350 nm, 40°C で測定した。

(2) 試料溶液の調製: 試料を Mesh No. 80 のふるいを通過するよう粉碎し、その 100 mg を共栓付試験管に精密に量り入れ、メタノール-水 (3:1) 10.0 ml を正確に加え、超音波で 1 時間抽出し、抽出液をメンブランフィルター (0.45 μm) に通し、その 10 μl を HPLC で測定した。定量値は 3 回の平均で表した。

(3) 検量線の作成: 各標品 5 mg を精密に秤量後、メタノールで希釈することにより 2 ng, 5 ng, 10 ng, 20 ng/μl の標準溶液を調製し、それぞれのピーク面積による絶対検量線 (4 点) を作成した。

各フラボノール配糖体の検量線は 20~200 ng の間で良好な直線性が得られた。回帰方程式及び相関係数は次のとおりであった。

$$\text{I}, y = 1448x - 190 \quad (r = 0.9999);$$

$$\text{II}, y = 1465x + 4791 \quad (r = 1.0000);$$

$$\text{III}, y = 1349x - 211 \quad (r = 0.9999);$$

$$\text{IV}, y = 1516x + 5469 \quad (r = 0.9999);$$

$$\text{V}, y = 1026x + 843 \quad (r = 1.0000).$$

実験結果

1. フラボノール配糖体の単離

高木ら¹¹⁾の方法に準じ、ドクダミのメタノールエキスを分画し (Chart 2), Fr. A から **III** を, Fr. B から **I** を, Fr. D から **V** を得た。Fr. C は HPLC により 2 種のフラボノール配糖体の存在を確認したため、Sephadex LH-20 を用いたカラムクロマトと分取 HPLC を用いて両者を単離

した。これらは、FD-MS で分子量が共に 464 と同一であったため、さらに、 ^{13}C -NMR による解析を行った。その結果、量の多い方が構成糖がガラクトースの IV で少量の方が構成糖がグルコースの II であることが判明した。

次に、これら 5 種を指標化合物とした HPLC による分析法について検討した。

2. 分析条件の検討

(1) 抽出条件：配糖体の抽出には、一般的に水及びメタノール系の溶媒が用いられている。そこで、抽出溶媒はメタノール-水系（水、25%メタノール、50%メタノール、75%メタノール、メタノール）とし、抽出法は超音波抽出、加熱還流抽出、ソックスレー抽出など比較的簡便な方法で、繰り返し抽出（1~3 回）及び抽出時間の比較検討を行った。その結果、抽出溶媒は 75%メタノールが最も効率良く抽出でき、抽出法、抽出回数には差があまり認められなかった。

このことから、最も簡便で効率の良かった 75%メタノールによる 1 回の超音波抽出法を採用し、抽出時間は安定したデータを得られた室温で 1 時間とした。

また、ドクダミを種々の大きさに粉碎し、抽出量の比較を行ったところ、Mesh No. 80 のふるいを通過するよう粉碎したものから効率良く抽出できることが判明した。

(2) HPLC 測定条件

① 溶離液：配糖体分析は一般に ODS 系カラムを用いた逆相分配による HPLC 分析が多く行われている。そこで ODS 系カラムを用いて逆相系の溶媒を種々検討した結果、アセトニトリル-水系溶媒が良好な分離を示した。さらに分離条件を検討し、アセトニトリル-水-リン酸（17 :

83 : 0.1) の条件で Fig. 1 に示すように最も良い分離を示すことが判明した。

② 検出波長：検出波長は、各フラボノール配糖体の極大吸収のある 260 nm と 350 nm 付近の波長をフォトダイオードアレイを使用して検討したところ、350 nm の条件で Fig. 1 に示すように妨害ピークの影響が最も少ないことが判明した。

3. フラボノール配糖体の含有量

上記方法を使った分析結果を TABLE I に示した。

徳島産、高地産、中国産、広島産のドクダミにはいずれも I~V が含有されており顕著な差異は認められず品質的

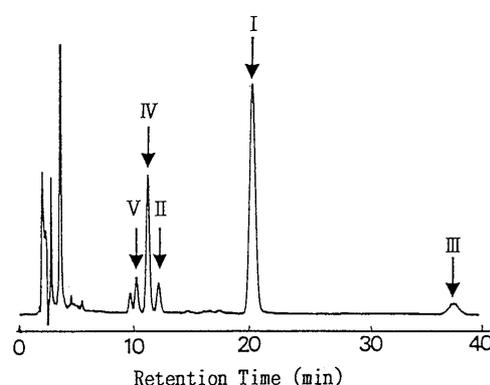


Fig. 1. HPLC Profile

Column, YMC-120A-ODS (4.6 mm i.d.×150 mm); column temperature, 40°C; mobile phase, $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} : \text{H}_3\text{PO}_4$ (17 : 83 : 0.1); flow rate, 1.0 ml/min; detector, UV 350 nm.

I, quercitrin; II, isoquercitrin; III, afzerin; IV, hyperin; V, rutin.

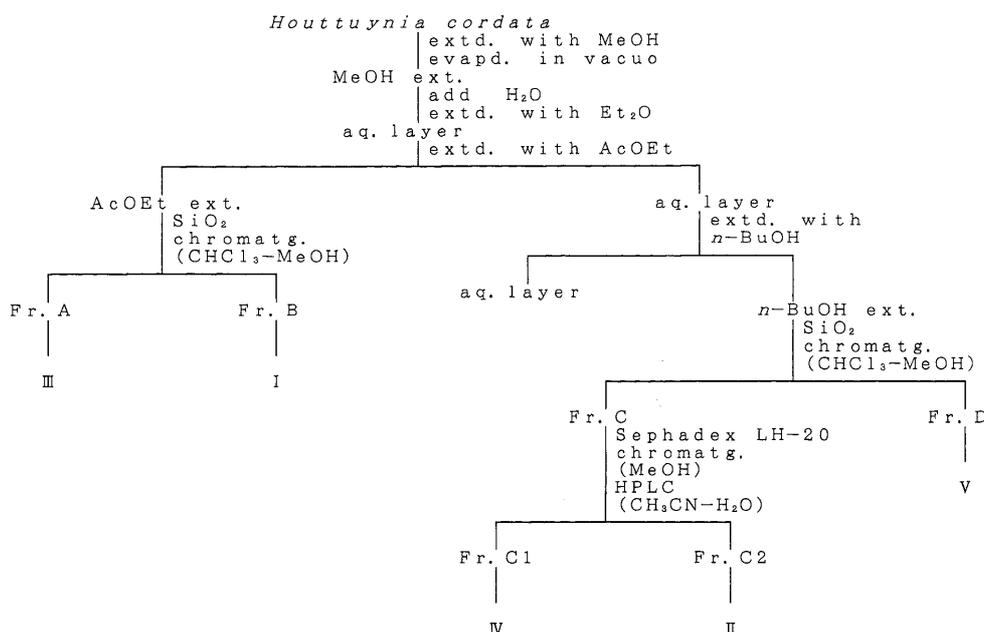


Chart 2.

TABLE I. Quantitative Determination in Various *Houttuynia cordata*

Sample	Flavonol glycosides (wt% of dry sample)				
	I (C.V.%)	II (C.V.%)	III (C.V.%)	IV (C.V.%)	V (C.V.%)
Hiroshima	0.41 (2.4)	0.022 (7.9)	0.030 (8.8)	0.068 (4.4)	0.066 (5.5)
Tokushima	0.35 (1.6)	0.035 (7.6)	0.032 (5.4)	0.075 (5.8)	0.035 (7.6)
Kouchi	0.25 (2.3)	0.027 (9.8)	0.023 (8.7)	0.064 (6.3)	0.033 (9.1)
China	0.34 (0.0)	0.042 (6.3)	0.019 (9.1)	0.12 (4.8)	0.042 (7.1)
Vietnam	0.86 (0.7)	0.072 (4.2)	0.083 (3.2)	0.29 (2.0)	0.12 (4.8)

I: quercitrin, II: isoquercitrin, III: afzerin, IV: hyperin, V: rutin ($n=3$).

TABLE II. Quantitative Determination in Various Part of *Houttuynia cordata*

Sample	Flavonol glycosides (wt% of dry sample)					
	I (C.V.%)	II (C.V.%)	III (C.V.%)	IV (C.V.%)	V (C.V.%)	
Leaf	Vietnam	0.86 (0.7)	0.072 (4.2)	0.083 (3.2)	0.29 (2.0)	0.12 (4.8)
	Tokushima	0.78 (0.7)	0.042 (9.5)	0.072 (4.2)	0.14 (0.0)	0.064 (4.1)
	Kouchi	0.56 (1.0)	0.043 (8.1)	0.043 (6.2)	0.13 (2.0)	0.061 (2.8)
	China	0.74 (1.4)	0.088 (3.5)	0.034 (7.8)	0.24 (0.0)	0.079 (4.4)
Spike	Tokushima	0.20 (2.9)	0.022 (9.1)	0.015 (6.7)	0.16 (3.6)	0.037 (9.4)
	Kouchi	0.34 (1.7)	0.030 (5.8)	0.020 (8.7)	0.16 (3.6)	0.032 (8.3)
	China	0.25 (2.3)	0.051 (5.2)	0.018 (5.6)	0.32 (1.8)	0.042 (4.1)
Stem	Tokushima	0.037 (7.2)	0.011 (5.2)	0.004 (0.0)	0.013 (7.7)	0.011 (5.2)
	Kouchi	0.015 (6.7)	0.004 (0.0)	ND	0.006 (9.6)	0.003 (0.0)
	China	0.032 (5.4)	0.009 (6.4)	0.004 (0.0)	0.018 (5.6)	0.011 (5.2)

I, II, III, IV and V: see TABLE I; ND: less than 0.002% ($n=3$).

に一定していた。

一方、開花期前の葉のみを試料としたベトナム産のドクダミにも I~V が含有されており、しかもその含量は上記の開花期の地上部を試料としたドクダミに比べ 2 倍強と顕著な差異が認められた。

そこで、市販のドクダミ 3 品目を葉、花穂、茎の部位毎に分け、分析を行った。

その結果を TABLE II に示した。

部位毎の重量比はどの試料も顕著な差異はなく、いずれも、葉は約 40%、花穂は約 2%、茎は約 60% であった。

フラボノール配糖体はいずれの部位にも I~V が含有されており、その含量は、いずれも葉に最も多く、市販のドクダミもベトナム産のドクダミと顕著な差異が認められなかった。

花穂中のフラボノール配糖体は葉の半量程度であり、主成分といわれていた II は、少量しか含まれておらず、葉の含量より少量であった。一方、IV の占める割合は高く、徳島産では I とほぼ同量含まれており、中国産では I より多く含まれていた。

茎には微量しか含有されていなかった。

考 察

局方収載時にドクダミの採取部位及び採取時期を決める資料とされた木村らの報告では「ドクダミは、葉にのみ I が、花穂にのみ II が含まれる植物生理学上興味深い植物であり、薬効においても II が I の利尿効果を相乗させる

ことが期待できるということから、ドクダミの採取時期を両フラボノール配糖体の含まれる開花期の地上部にするのが適切である。」¹⁰⁾とされている。

しかしながら、今回の分析結果では、葉及び花穂は両方とも I~V のすべてのフラボノール配糖体を含有していた。その含量は I 及び II とともに花穂より葉の方が多く、存在比についても、葉には確かに I が多い (約 65%) が、花穂には I (約 47%) 若しくは IV (約 37%) が多く、II は約 6% と少なかった。

これらのことから、木村らが単離した isoquercitrin (II) は、構成糖の分析を十分行っていないことから、hyperin (IV) と間違えたものと考えられる。このことは、高木ら¹¹⁾の報告で isoquercitrin (II) が単離されていないことから推察され、ドクダミから isoquercitrin (II) を単離したのは、著者らが初めてであると思われる。

また、ドクダミの部位別の構成比は茎が約 60% と最も多く、次いで葉は約 40% で、花穂はわずか約 2% しかなかった。茎にはフラボノール配糖体は微量しか含まれておらず、ドクダミ全草に含有されるフラボノール配糖体の含量は葉に依存し、花穂中のフラボノール配糖体の寄与はごくわずかであった。さらに、葉の含量のみを比較した場合、開花期前 (ベトナム産) と開花期 (市販品 3 品目) とで明確な差は認められず、採取時期を開花期にする必要性は認められなかった。

以上のことから、ドクダミの採取部位及び採取時期について再考の必要性があると考えられ、I~V の含量の季節

変動について検討中である。

謝 辞：本研究にあたりベトナム産ドクダミを供与していただいた、Nguyen Minh Duc 氏及び供与に際し、お骨折り頂いた鈴が峰女子大学 田中 治先生に深謝します。

引用文献及び注

- 1) 本報告は日本薬学会第 112 年会（福岡，1992 年 3 月）で発表した。講演要旨集 2, p. 188.
 - 2) 日本公定書協会編，“第 11 改正日本薬局方解説書”，廣川書店，東京，1986, D-441.
 - 3) 中村晴吉，太田達男，福地言一郎，薬誌，**56**, 441 (1936).
 - 4) 福田得志，治療新報，**28**, 10 (1929).
 - 5) 赤松金芳，千葉医学会誌，**11**, 1009 (1933).
 - 6) A. Wacker, H. G. Filmes, *Arzneim. Forsh.*, **28**, 347 (1978); I. Mucsi, B. M. Pragai, *Experientia*, **4**, 1930 (1985).
 - 7) 小沢 光，奥田朝春，松本 滋，薬誌，**71**, 1173 (1951).
 - 8) N. Mascolo, A. Pinto, F. Capasso, *J. Pharm. Pharmacol.*, **40**, 293 (1988).
 - 9) S. D. Varma, A. Mizuno, J. H. Kinoshita, *Science*, **195**, 205 (1977).
 - 10) 木村雄四郎，西川洋一，薬誌，**73**, 196 (1953).
 - 11) 高木修造，山木正枝，増田京子，窪田真理子，生薬，**32**, 123 (1978).
 - 12) K. R. Markham, “Techniques of Flavonoid Identification,” Academic Press, London, 1982.
 - 13) J. B. Harborne, T. J. Mabry, “The Flavonoids: Advances in Research,” Chapman and Hall, New York, 1982.
- 注) 本論文に関連して，川村らにより次の報告が出されている。川村智子，久田陽一，奥田和代，野呂征男，田中俊弘，吉田将士，酒井英二：ジュウヤクの生薬学的研究 (1) ドクダミ中のフラボノイド配糖体含量について，*Nat. Med.*, **48**(3), 208-212 (1994).