

トルコ産甘草の調査研究 (第2報)¹⁾自生植物の分布と成分比較について²⁾

林 宏 明^{*,a,b}, 本 多 義 昭^a, 田 端 守^a, 山 本 浩 文^c
ERDEM YEŞİLADA^d, EKREM SEZİK^d

^a京都大学薬学部, ^b現在:新潟薬科大学, ^c岐阜薬科大学, ^dガジ大学薬学部

A Survey of Distribution and Characteristics of *Glycyrrhiza glabra* L. in Turkey

HIROAKI HAYASHI,^{*,a,b} GISHO HONDA,^a MAMORU TABATA,^a
HIROBUMI YAMAMOTO,^c ERDEM YEŞİLADA^d and EKREM SEZİK^d

^aFaculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan

^bPresent address: Niigata College of Pharmacy, 5-13-2, Kamishinei-cho, Niigata 950-21, Japan

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

^dFaculty of Pharmacy, Gazi University, Hipodrum, Ankara, Turkey

(Received August 29, 1994)

Habitats of licorice (identified as *Glycyrrhiza glabra* L.) in ten regions of Turkey were in relatively moist soil regions such as river side and wheat field located 5 to 1,600 m above sea level. Glabridin, a flavonoid specific to the root and stolon of *G. glabra* L., was detected in all the collected samples by Photodiode-array-HPLC. HPLC analysis of leaves indicated a significant difference in the chemical composition between the licorice plants growing in the west and those in the other regions of Turkey. Glycyrrhizin contents of these roots and stolons were found to vary from 1.1 to 8.0% of dry wt., depending on individual plants.

Keywords—Turkish licorice; *Glycyrrhiza glabra* L.; glycyrrhizin; glabridin; pinocembrin; licoflavanone

甘草は漢方処方中最も使用頻度の高い生薬で、グリチルリチンの抽出原料やタバコの矯味料としても多量に消費される³⁾。その代表的な原植物としては、中国東北部からモンゴルにかけて分布する *Glycyrrhiza uralensis* FISCHER と、地中海沿岸から小アジア、イラン、ロシア、中国西部にかけて分布する *G. glabra* L. が知られている。わが国では、おもに漢方薬として *G. uralensis* 由来の東北甘草を中国から輸入し、グリチルリチン抽出原料として *G. uralensis*, *G. glabra*, *G. inflata* 等に由来すると思われる各種甘草を中国、ロシア、パキスタン、アフガニスタン、トルコ等から輸入している。しかしながらこれら原植物の分布や生態の現状に関しては十分には知られていない。ほとんど野生品の採集に頼ってきた事実を考えると、今後の甘草資源の確保・保全の上からこの点を明らかにすることは重要であると思われる。

トルコは甘草の一大輸出国として重要であるが、筆者らは1986年盛夏にアナトリア東部の甘草自生地を調査し、その分析結果を報告した¹⁾。今回は、1990年の春から初夏にかけてトルコ国内各地を現地調査し、10か所においてカンゾウを採集することが出来た。そこでこれらの生態や、

グリチルリチン、フラボノイド類の成分の比較検討を行ったので報告する。

実 験 の 部

1. 植 物 材 料

1990年、トルコで調査したカンゾウの採集月日、場所、状況等を以下に記す。

採集地 (1): 5月15日, Aydın 西方 20 km, 標高 50 m, 平野, 路肩, 畑, 放牧地, 開花期, 紫色花, 茎長 (地上茎の最大長) 60~70 cm.

採集地 (2): 5月18日, Denizli 北方 10 km, 標高 300 m, 盆地, 小川沿いの路肩, 開花期, 紫色花, 茎長 60~70 cm.

採集地 (3): 5月20日, Fethiye 市内, 標高 5 m, 市街地 (建設資材置き場), 開花期, 紫色花, 茎長 60~70 cm.

採集地 (4): 6月2日, Kahramanmaraş 西方 20 km, 標高 700 m, 川沿いの高台, 荒地, 開花期, 紫色花, 茎長 50~70 cm.

採集地 (5): 6月12日, Eskişehir 北方 40 km, 標高 300 m, 川沿いの高台, 麦畑, 開花期, 淡紫色花, 茎長 50~

70 cm.

採集地 (6) : 6 月 14 日, Ankara 西方 20 km, 標高 900 m, 高原, 路肩, 軍演習場, 開花期, 紫色花, 茎長 60~80 cm.

採集地 (7) : 6 月 20 日, Erzurum 東方 60 km, 標高 1,600 m, 川沿いの平原, 路肩, 畑, 開花期, 茎長 60~80 cm.

採集地 (8) : 6 月 21 日, Agri 南方 20 km, 標高 1,500 m, 渓谷, 路肩, 川岸, 開花期, 紫色花, 茎長 50~60 cm.

採集地 (9) : 6 月 23 日, Dogubeyazit 北方 50 km, 標高 900 m, 山麓, 路肩, 麦畑, 開花期, 紫色花, 茎長 70~90 cm.

採集地 (10) : 6 月 25 日, Kars 西方 60 km, 標高 1,200 m, 平原, 路肩, 畑, 開花期, 紫色花, 茎長 60~70 cm.

採集した植物標本は京都大学薬学部付属薬用植物園に保管している. 分析用の植物材料は現地で日陰で風乾したものを実験に用いた.

2. 標準化合物

Glycyrrhizin と glabridin は丸善製薬 (株) より贈呈されたものを使用した. Pinocembrin と licoflavanone は 1986 年にトルコで採集したカンゾウ地上部から単離したものを用いた.

3. 各化合物の HPLC 分析

三次元 HPLC 分析: 乾燥試料 100 mg をメタノール 10 ml で 2 時間加熱還流抽出し, 抽出液は冷後濾過し, メタノールで 10 ml とし試料溶液とした. その 20 μ l を取り以下の条件で SPD-M6A Photodiode array (島津) を用い三次元 HPLC 分析を行った. Glycyrrhizin, glabridin, pinocembrin, licoflavanone の同定は標品と溶出時間および UV スペクトルを比較して行った.

カラム: Capsellpak C18 AG120 (5 μ m, 4.6 $\times$ 250 mm, Shiseido), 移動相: アセトニトリル:1%酢酸水溶液 (直線濃度勾配)=20:80 (0 min)-80:20 (60 min), 流速: 0.9 ml/min, カラム温度: 40 $^{\circ}$ C.

Glabridin の定量: 上記の試料溶液 20 μ l を以下の条件で HPLC 分析を行い, ピークの高さから絶対検量線法により含量を測定した.

カラム: Unisil C18 (5 μ m, 4.6 $\times$ 150 mm, GL サイエンス), 移動相: アセトニトリル:1%酢酸水溶液=1:1, 流速: 1 ml/min, カラム温度: 60 $^{\circ}$ C, 測定: UV 280 nm.

Pinocembrin と licoflavanone の定量: 三次元 HPLC 分析におけるピークの高さ (測定波長 254 nm) から絶対検量線法により含量を測定した.

Glycyrrhizin の定量: 前報¹⁾と同様の方法により行った.

調査結果と考察

1. カンゾウの分布と生態

1990 年の 5 月から 6 月にかけてトルコ国内各地を調査し, 合計 10 か所においてカンゾウを採集した. Fig. 1 は今回の調査経路と採集地を示す. 採集地の標高は 5 m から 1,600 m に及び, いずれの採集地も畑の近くや川沿いのような, 乾燥地のなかでもやや土地に湿り気のある地域であった (実験の部参照). これらのうち西部地区の採集地 (1), (2), 東部地区の採集地 (7), (8), (9) ではカンゾウの群落が比較的広い範囲にわたり観察されたが, それ以外の地域では, ほぼ採集地付近に限定していた. また今回の調査では, 1986 年の調査でトルコ東部の Muş 東方 55 km の草原で見られたような広大な群落 (採集地 (A)) は見られなかった. このことからトルコ国内において大規模なカンゾウ自生地は限られてきていると推定され

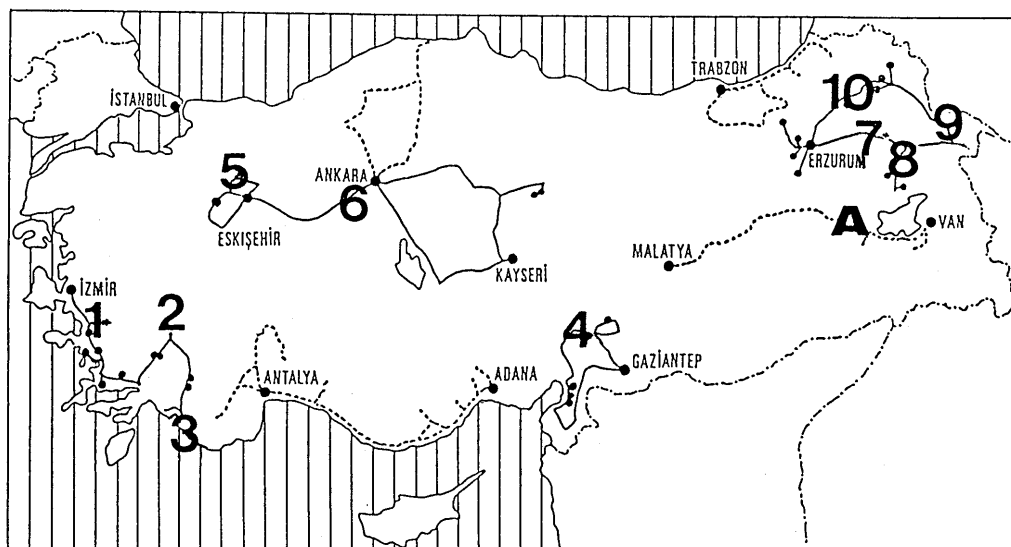


Fig. 1. Collection Sites of Turkish Licorice
....., 1986; —, 1990.

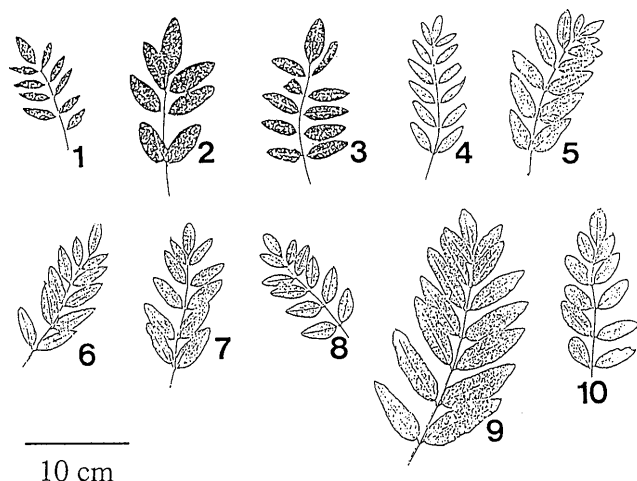


Fig. 2. Comparison of the Leaf of *G. glabra* Plants from Various Regions of Turkey

る。

上述の各採集地のカンゾウは植物の形態から *G. glabra* L. と同定した。また採集時には、採集地 (7) が開花前であることを除き多くの採集地では開花期にあたり、変種の同定に必要な果実がないため腺毛の有無が不明で、変種を特定できなかった。なお採集地 (6) においては前年に結実したと思われる果実に腺毛がみられ、var. *glandulifera* と同定された。花は採集地 (5) のものは淡紫色であったが、それ以外のものは紫色であった。葉の形態については、小葉の数、形、大きさにかなりの地域的変異が観察された (Fig. 2)。

2. フラボノイド成分の地域間差異

カンゾウ地下部の成分としては、glycyrrhizin 等のサポニン以外に、これまでに各種カンゾウ属植物から多様なフラボノイド成分が得られており⁵⁾、種々の薬理活性が報告されている。これらのなかには種特異的に存在するフラボノイドが知られており、*G. glabra* L. からは抗菌活性を持つ glabridin 等のフラボノイド成分が単離・報告されている^{6,7)}。トルコ各地で採集したカンゾウの根およびストロンを三次元 HPLC により分析した結果、すべてのカンゾウ地下部において乾燥重量の 0.15% から 0.7% の glabridin が検出、同定された (TABLE I)。この結果は今回検討に用いたカンゾウがすべて *G. glabra* L. であることを支持する。しかしながら、三次元 HPLC による glabridin を含む地下部成分のパターンを比較検討した結果、各試料間において含量の変異はみられたが、地域間で顕著な成分パターンの相違は見出されなかった。

一方、福井らは、1986 年にトルコ東部の Muş 東方 55 km の草原で採集したカンゾウ (*G. glabra* L.) の地上部より 2 種の抗菌活性を持つフラボノイドとして、新規成分 licoflavanone と既知の pinocembrin を単離している⁴⁾。

TABLE I. Content of Glabridin in Underground Parts of Turkish Licorice, Collected in 1990

Collection site	Content (% of dry wt.) of glabridin
1	0.26
2	0.15
3	0.26
4	0.28
5	0.42
6	0.30
7	0.29
8	0.30
9	0.70
10	0.32

TABLE II. Contents of Pinocembrin and Licoflavanone in Leaves of Turkish Licorice, Collected in 1990

Collection site	Content (% of dry wt.)	
	Pinocembrin(1)	Licoflavanone(3)
1	0.33	0.56
2	0.26	0.61
3	0.49	0.79
4	0.32	0.19
5	1.55	0.23
6	1.50	0.17
7	0.29	0.08
8	0.61	0.26
9	0.19	0.07
10	0.18	0.12

そこで各地の採集した葉を三次元 HPLC で分析したところ、両者はすべての採集地において検出された。なおカンゾウ地下部の成分である glycyrrhizin と glabridin はこれらの葉からは全く検出されなかった。TABLE II に示すように licoflavanone と pinocembrin の含量にはかなりの地域間差異が観察された。この地域間の違いは未同定の他の成分も含めた HPLC パターンでより顕著に見られた。とくにトルコ西部の採集地 (1, 2, 3) のグループ (type A)

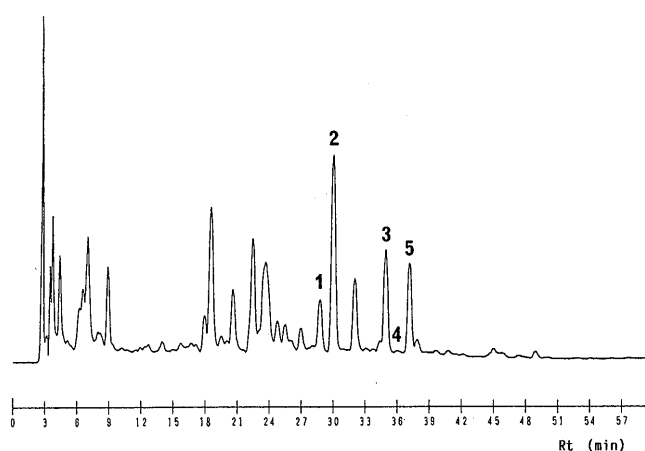


Fig. 3. HPLC Profile of MeOH Extract of Licorice Leaves in Collection Site 1

Detection: UV 275 nm, 1: pinocembrin, 3: licoflavanone, 2, 4, 5: unidentified.

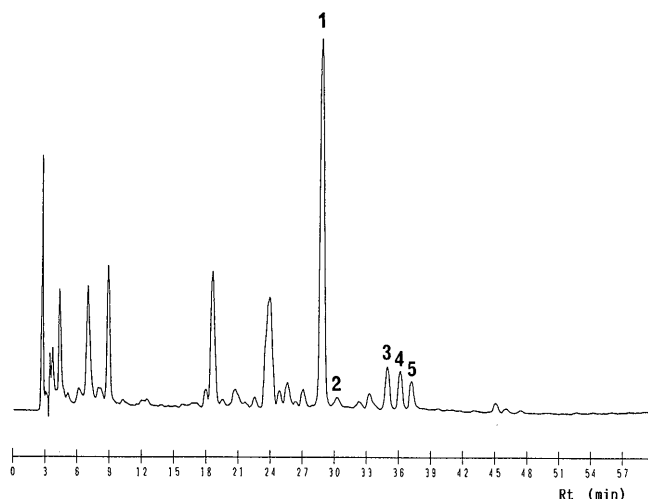


Fig. 4. HPLC Profile of MeOH Extract of Licorice Leaves in Collection Site 5

Detection: UV 275 nm, 1: pinocembrin, 3: licoflav-anone, 2, 4, 5: unidentified.

TABLE III. Relative Ratio of Unidentified Peak 2, 4, 5 in Leaves of Turkish Licorice, Collected in 1990

Collection site	Relative ratio of peak height ^a in HPLC profile		
	2	4	5
1	100	<1	27
2	90	<1	32
3	89	<1	30
4	10	4	6
5	5	14	9
6	5	10	6
7	1	5	4
8	25	22	17
9	3	7	7
10	3	11	6

^a100%=peak 2 in collection site 1, detection: UV 254 nm.

と他の中部、東部の採集地のグループ (type B) には明らかなパターンの相違が見られた。Fig. 3 に採集地 (1) の、Fig. 4 に採集地 (5) のクロマトグラムを示す。クロマトグラム上の相違点としては、type A では溶出時間が 36.1 分のピーク 4 がほとんど検出されないのに対して、type B では溶出時間が 37.2 分のピーク 5 と同程度にピーク 4 が検出され、また溶出時間が 30.0 分のピーク 2 に関しても、両グループ間で顕著な量的な差が認められた (TABLE III)。以上の相違点は、トルコ国内の *G. glabra* L. の系統分類を考える上で一つの指標になると思われる。

3. カンゾウ地下部の glycyrrhizin 含量

トルコ各地で採集したカンゾウ地下部の glycyrrhizin 含量を HPLC で定量し比較した (TABLE IV)。含量は、

TABLE IV. Glycyrrhizin Content of Turkish Licorice Collected in 1990

Collection site	n	Glycyrrhizin content (% of dry wt.)	
		Range	Mean
1	5	2.4-4.9	3.4
2	5	2.4-6.6	4.2
3	5	3.0-4.4	3.7
4	2	1.1-3.0	2.0
5	5	2.9-7.1	5.9
6	4	3.4-5.6	4.4
7	5	2.3-8.0	5.0
8	4	1.8-4.1	3.1
9	4	1.4-2.4	1.8
10	5	2.7-4.4	3.7

南部の採集地 (4) と東部の採集地 (9) の地下部はやや低い値を示したが、その他の地域では比較的高く、採集地 (5), (7) では平均 5% を越えていた。なお西部、中央部、東部の地域間で顕著な含量差は見られなかった。1990 年の採集品の含量は、1986 年の採集品 (乾燥重量の 0.6~3.5%)¹⁾ に比べて比較的高く、日本に輸入されている各種市場品に匹敵するものも存在した。このような差異には、遺伝的変異のほか、収穫時期の違い、採集地の環境など、様々な要因が関与していると考えられる。今回の調査により、*G. glabra* L. はトルコ国内の広い地域に分布するものの、その大自生地は限られていることが明らかとなった。カンゾウ資源の今後を考えると、栽培化を考えるとともに、glycyrrhizin 高生産株の選抜と育種をすすめていく必要があるだろう。

謝 辞 : glycyrrhizin と glabridin の標品を提供頂いた丸善製薬 (株) 田村幸吉氏に深謝します。なお本研究は、平成 2 年度文部省科学研究費補助金 (海外学術調査) 課題番号 02041048 によって行ったものである。

引用文献および注

- 1) 第 1 報 : 田端 守, 本多義昭, 林 宏明, 後藤勝実, 生薬, **42**, 264 (1988).
- 2) 日本生薬学会第 38 年会 (神戸, 1991 年 9 月) で発表.
- 3) M. R. Gibson, *J. Nat. Prod.*, **41**, 348 (1978).
- 4) H. Fukui, K. Gotoh, M. Tabata, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 4174 (1988).
- 5) 柴田承二, 齊藤 保, 代謝, 臨時増刊 和漢薬, **10**, 619 (1973).
- 6) T. Saitoh, T. Kinoshita, S. Shibata, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 752 (1976).
- 7) L. A. Mitscher, Y. H. Park, D. Clark, J. L. Beal, *J. Nat. Prod.*, **43**, 259 (1980).