終わりに臨み、本研究に際し、種々御教示下さいました北大触媒研究所 田部浩三先生、東大薬学部 田村善蔵教授、ならびに当試験所 大場琢磨氏、太幡利一氏に深謝いたします。

国立衛生試験所

〔薬 学 雑 誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
86 (12) 1132 ~ 1137 (1966)

UDC 615.89-011; 547.92.02

183. 柴田承二, 北川 勲,*¹ 高橋ルミ子, 藤本治宏: 東洋薬物の化学的研究
(第14報*²) ミシマサイコ属植物の成分について その 1

Shoji Shibata, Isao Kitagawa, Rumiko Takahashi, and Haruhiro Fujimoto :
The Chemical Studies on Oriental Plant Drugs. XV.
The Constituents of *Bupleurum* spp. (1).

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo)

A thin-layer and gas-liquid chromatographic study has been carried out on the chemical constituents of *Bupleurum* spp. Presence of three main saponins, named saikosides Ia, Ib (Ib'), and II, was found in the methanolic extracts of *Bupleurum* spp. The chemotaxonomical differentiation of *Bupleurum falcatum*, *B. longeradiatum*, *B. nipponicum* var. *yessoense*, and *B. triradiatum* var. *alpinum* was discussed.

(Received January 27, 1966)

柴胡は古来繁用される漢方処方、大柴胡湯、小柴胡湯、桂枝柴胡湯などの主薬としてよく知られているが、その薬効としては薬徴に、「主治胸脇苦満也、旁治寒熱往来、腹中痛脇下痞鞭」と記され、その他の古書にもほぼ同様に「除寒熱往来臍痞心下痞脇痛」などと述べられている。しかしこれまでにその近代薬理学的研究に乏しく、わずかに解熱作用¹⁻³⁾ および肝機能に対する作用^{3,4)} の検討が報告されているに止まり、有効成分は確認されていない。柴胡の原植物は時代により、また地方によって若干の差異があるが、いずれもセリ科 (*Umbelliferae*) ミシマサイコ属植物の根が用いられている。原⁵⁾ によれば、わが国に野生するミシマサイコ属植物は次の4群に大別される (Table I)。

TABLE I. *Bupleurum* spp. growing in Japan.

Group	Latin name	
I	<i>Bupleurum falcatum</i> L. (<i>B. scorzoneraefolium</i> WILLD var. <i>stenophyllum</i> NAKAI) f. <i>kiusianum</i> f. <i>obvallatum</i>	ミシマサイコ (カマクラサイコ) キウシウサイコ イキノサイコ

*¹ 現在大阪大学薬学部。

*² 第 13 報 S. Shibata, O. Tanaka, T. Ando, M. Sado, S. Tsushima, T. Ohsawa: Chem. Pharm. Bull (Tokyo), 14, 595 (1966).

1) 近藤: 日薬理誌, 7, 296 (1928).

2) 細野: 東薬医誌, 9, 45 (1959).

3) 萩庭, 原田: 本誌, 80, 617 (1960).

4) 小島, 肥後, 木下, 小川: 東洋医誌, 6, 5 (1956).

5) 原: “日本種子植物集覧” III, p. 300 岩波書店 1954).

II	<i>B. longeradiatum</i> TURCZ.	
	f. <i>longeradiatum</i>	オオホタルサイコ
	f. <i>elatus</i>	ホタルサイコ
	f. <i>sachalinense</i>	エゾホタルサイコ
	var. <i>shikotanense</i>	コガネサイコ
III	<i>B. nipponicum</i> KOSO-POLJANSKY	ハクサンサイコ
	var. <i>yesoense</i>	トウゴクサイコ
		ホソバノコガネサイコ
		エゾサイコ
IV	<i>B. triradiatum</i> ADAMS ex HOFFMANN	レブンサイコ
	var. <i>alpinum</i> RUPRECHT	チシマサイコ

薬用としてはわが国に産するミシマサイコを最良品としているが、現時は中国産の輸入品がかなり市場に出廻っている。わが国⁶⁻⁸⁾ならびに中国の文献⁹⁾による生薬「柴胡」の種類およびその原植物を要約すれば次のとおりである (Table II).

TABLE II.

Chaihu (Radix Bupleuri) 柴胡 (北柴胡)	<i>Bupleurum falcatum</i> L. (ミシマサイコ) <i>B. chinense</i> DC. (ヒロハミシマサイコ, マンシュウサイコ) <i>B. komarovianum</i> LINCZ <i>B. sibiricum</i> VEST <i>B. falcatum</i> L. subsp. <i>marginatum</i> (WALL) C. B. CLARKE <i>B. longicaule</i> WALL <i>B. longicaule</i> WALL var. <i>giraldii</i> WALL <i>B. tenue</i> BUCH et HAM <i>B. multinerve</i> DC.
Radix Bupleuri scorzoneraefolii 南柴胡	<i>B. longeradiatum</i> TURCZ (ホタルサイコ) <i>B. scorzoneraefolium</i> WILLD (ホソバミシマサイコ)
Herba Bupleuri 竹葉柴胡	The whole herbs of the original plants for Chaihu.

これまでにミシマサイコの含有成分として明らかにされたものには、次のようなものがある。

脂 肪 酸: Palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic, lignoceric acids (以上根から)^{10,11)}
Petroselic, petroselidic acids (以上果実から)¹²⁾

炭水化物: Adonitol^{13,14)}

中性成分^{10,11,15)}: 特にフィトステロール類については武田等^{16,17)} が α -spinasterol, Δ^7 -stigmastenol, Δ^{22} -stigmastenol, stigmasterol を得ている。サポニンについては、恵沢¹⁵⁾ がその存在を報告しているが精査されていない。

6) 刈米, 木村(雄): “和漢薬用植物” p. 135 (広川書店 1959).

7) 藤田(路): “生薬学” p. 402 (南山堂 1962).

8) 木村(康), 秦, 佐野: 日本薬学会 第 82 年会講演要旨 p. 195 (1962).

9) “中薬志” I, p. 366~374 (人民衛生出版社 (北京 1959)).

10) 荒木, 宮下: 台湾医誌, No. 296, 1 (1929).

11) 紅 馬: J. Chinese Chem., 3, 78 (1953).

12) 星野: 本誌, 73, 1209 (1953).

13) Wessely Wang: Monatsch., 72, 168 (1938).

14) 佐藤: 本誌, 61, 188 (1941).

15) 恵沢: 台湾総督府中央研究所報告, 5, 179 (1916).

16) 武田, 浜本, 久保田: 本誌, 73, 272 (1953).

17) 武田, 久保田: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 6, 536 (1958).

著者等は柴胡の有効成分研究の第1段階としてまず本邦産ミシマサイコ属植物ならびに生薬「柴胡」市場品の成分について分画し、薄層クロマトグラフ、ガスクロマトグラフ法によって比較検討を行ない、特にサポニンの分離を試み、化学的植物分類学上の若干の知見を得たのでここに報告する。

実 験 の 部

研究材料 本研究には次の材料を用いた。

TABLE III.

Group ^{a)}	Material
I	<i>Bupleurum falcatum</i> L. (root, fruits), cultivated in Kyoto prefecture. ^{b)} ミシマサイコ (A, B) Radix Bupleuri (growing wild in Shizuoka prefecture, available at Tokyo market.) ^{c)} (C) <i>B. falcatum</i> L. (root), growing wild in Chiba prefecture. ^{d)} (D) Radix Bupleuri (growing wild in China, available at Tokyo market.) ^{e)} (E) Radix Bupleuri (growing wild in China, available at Singapore market.) 北柴胡 (F)
II	<i>Bupleurum longeradiatum</i> TURCZ (root) growing wild in Nagano prefecture. ホタルサイコ (G) Radix Bupleuri longeradiati (available at Tokyo market.) ^{e)} (H)
III	<i>Bupleurum nipponicum</i> KOSO-POLJANSKY var. <i>yessoense</i> (root, rhizome) ^{e)} ハクサンサイコ (I)
IV	<i>B. triradiatum</i> ADAMS ex HOFFMANN var. <i>alpinum</i> RUPRECHT (root) ^{f)} レブンサイコ (J)

a) Ref. H. Hara¹⁸⁾: The original plant of Radix Bupleuri, growing wild in China, has not yet been decided.

b) By the courtesy of Takeda Chemical Industries.

c) Provided by Mr. M. Asano.

d) Collected at Daitohmisaki in Chiba Prefecture by the courtesy of Prof. T. Furuya, Kitasato Univ.

e) Provided by Dr. K. Kimura, Kanazawa Univ.

f) Provided by Prof. J. Haginiwa, Chiba Univ.

抽出、分画 地下部ならびに果実について chart 1 のような方法で抽出、分画を行なったが、炭水化物画分、精油画分¹⁸⁾については精査していない。果実については、まずエーテル可溶部分をソックスレー抽出し、それ以下の操作は地下部と同じである。

結果および考察

サポニン分 材料の新鮮度、乾燥度に相異があるので正確を期し難いが、根のサポニン含量については、次のような傾向がみられる (Table IV)。

サポニル分の薄層クロマトグラフ (Silica Gel G., Merck; 展開溶媒: CHCl_3 -MeOH (3:1) 10% H_2SO_4 噴霧加熱) を行なうと3個の主スポットを示す。これを Rf の大なる方から順に Saikoside Ia, Ib (Ib') および II と命名する (Fig. 1)。このときの加熱で, Ia, Ib は明褐色→緑色→赤紫色に, II は, 明褐色→淡青色→赤紫色に変色する。

前記各種の研究材料について比較すると Fig. 2 のように A, B 2つの型に分けられる。これはまたミシマサイコ属の分類学上の4群の相異にはば一致する (Table V)。

Saikoside 類の硫酸加水分解によって数種のサボゲニンが得られるが, Saikoside Ia より得られる主サボゲニン Saikogenin A の化学構造については次報¹⁹⁾に詳述する。

18) 高橋: 東洋医誌, 8, 12 (1957). 和柴胡の精油含量は唐柴胡 (中国産) の約2倍であるという。

19) S. Shibata, I. Kitagawa, H. Fujimoto: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 14, 1025 (1966) 予報 Tetrahedron Letters, No. 42, 3783 (1965).

TABLE V.

	Saikosides			
	Ia	Ib	Ib'	II
(A)	++	+		+++
(B)	+++	±		++
(C)	++	±		+++
(D)	++	+		+++
(E)	++	+		+++
(F)	++	±		+++
(G)	++		++	++
(H)	++		± ^{a)}	++
(I)	+		+++	++
(J)	±		± ^{a)}	±

The signs +, ±, ++ indicate only the apparent relative intensities of spots on the thin layer chromatograms given by the individual material.

a) On account of the vague spots, it was impossible to decide whether they belong to Ib or Ib'.

Fig. 3. Gas Liquid Chromatogram of Neutral Fractions

column: 1.5% SE 30 on Chromosorb W
column temp.: 240°

中性画分 材料のメタノールエキスのブタノール可溶分をケン化に付した際の中性画分の薄層クロマトグラフ (Silica Gel G; 展開溶媒: EtOAc-cyclohexane- H_2O (70:30:0.2)) では、あまりよい分離を示さなかった。しかしガスクロマトグラフによってかなりよい分離が示された (Fig. 3)。

標品を同条件で展開し、a, b, c, ピークは、それぞれ stigmasterol, α -spinasterol, Δ^7 -stigmasterol に相当する。 Δ^{22} -stigmasterol は stigmasterol と同じ、保持時間で a はこの両者の混合ピークである。中国産「柴胡」「北柴胡」は原の分類による group I と類似のピークを与える。group I と II では主ピークには大きな差異はみられないが、group II では短い保持時間のところに別の 1 つのピークが現われる。group I, II, III, IV のガスクロマトグラムにおいて、いずれにもピーク b すなわち α -spinasterol の存在がみら

れる。

酸性画分 上記ケン化の際の酸性画分は、ジアゾメタンにより、メチルエステルとし、ガスクロマトにかけらる。展開条件 Column: 12%-Diethyleneglycol succinate on Chromosorb W (80~100 mesh) I.D. 4 mm. L. 2.25 m.; Column temp.: 160°, 200°C Carrier gas: N_2 .

次に中国産柴胡より得た酸性画分メチルエステルのガスクロマトグラムを示す (Fig. 4)。

標品と比較して各ピークを次のように同定した。(C₁₆ 以上の脂肪酸メチルエステル)

ガスクロマトグラフに付した全試料について脂肪酸の種類には著しい差異は認められなかったが、各ピークの面積比から計算した各脂肪酸の量比を比較したところ、group I, II および中国産柴胡の間に著しい差異はないが、group I, III, IV の間には、かなりの差異が認められた。特にレブンサイコの脂肪酸には unknown I のピー

クが顕著である。直鎖脂肪酸のメチルエステルでは、その相対保持時間の対数と炭素数の間には直線関係のあることが知られているが、²⁰⁾ unknown I のピークは C_{17} とは明らかに区別され、その直線の上に乗らない。PtO₂ を触媒として接触還元したときにも保持時間は変わらないから、unknown I は飽和脂肪酸と推定されるので、枝鎖脂肪酸であるかもしれない。

結 論 ミシマサイコ属植物の形態的分類 (group I, II, III, IV) とそれらの化学成分の種類と量との間にはかなり明らかな関連性が認められる。現在、薬用として用いられる group I, II と薬用に用いられていない group III, IV の間には、成分的にかなりの差が認められる。もっとも、ハクサンサイコ、レブンサイコは形も小さく、その点からも実用性に乏しい。ミシマサイコの果

Fig. 4. Gas Liquid Chromatogram of acid fraction methyl ester

Example: (E)
column: 12% DEGS on chromosorb W
column temp.: 160°

TABLE VI.

Relative Retention Time		
Column temp.	160°	200°
$C_{16}F_0^a)$	1.00 ^{b)}	1.00 ^{c)}
$C_{16}F_1^a)$	1.15	1.12
unknown I	1.26	1.27
$C_{17}F_0$	1.41	1.43
$C_{18}F_0$	2.01	1.59
$C_{18}F_1$	2.24	1.80
$C_{18}F_2$	2.76	2.14
$C_{20}F_0$	4.16	2.69
unknown II		4.63
unknown III		6.15
unknown IV		8.15

a) $C_{16}F_0$ indicates a saturated long chain fatty acid methyl ester with sixteen carbon atoms, while $C_{16}F_1$ means a C-16 fatty acid methyl ester having one double bond.

b) The retention time was 8.2 min.

c) The retention time was 2.5 min.

実については、これまでに脂肪酸が検討されていたに過ぎなかったが、今回サポニンの存在が明らかとなった。柴胡の薬効とサポニン分の薬理作用の関係については、近く協同研究者から発表されるであろう。

本研究に際して研究材料を提供された方々に深く謝意を表する。

東京大学薬学部

20) 白浜, 桜木: 日化, 84, 267 (1963).