生薬の品質評価に関する基礎研究 (第 3 報¹⁾) 人参および類縁生薬の
化学的ならびに生化学的品質評価について²⁾

難波恒雄, 吉崎正雄, 富森 毅,^{3a)} 小橋恭一, 三井健一郎, 長谷純一^{3b)}
富山大学薬学部・和漢薬研究施設,^{3a)} 富山大学薬学部^{3b)}

Fundamental Studies on the Evaluation of the Crude Drugs. III.¹⁾ Chemical
and Biochemical Evaluation of Ginseng and Related Crude Drugs²⁾

TSUNEO NAMBA, MASAO YOSHIZAKI, TSUYOSHI TOMIMORI,^{3a)} KYOICHI KOBASHI,
KEN'ICHIRO MITSUI, and JUN'ICHI HASE^{3b)}

Research Institute for Wakan-Yaku, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University
of Toyama^{3a)} and Department of Biochemistry, Faculty of Pharma-
ceutical Sciences, University of Toyama^{3b)}

(Received August 17, 1973)

The saponin patterns of ginseng and related crude drugs were investigated by quantitative thin-layer chromatography using a new apparatus equipped with a flame ionization detector. Hemolytic and its protective activities of these saponins were also determined in comparison with the saponin patterns. These chemical and biochemical data are considered to be useful for the evaluation of these crude drugs.

人参は「神農本草経」の上品に収載されて以来その薬効が広く認められ、漢方臨床上の要薬として、また民間薬として、あるいは大衆保健薬の製造原料として繁用されてきた重要な漢薬の一つである。

現在人参として市場で取り扱われているものには周知のように、白参、紅参および雑参(ヒゲ人参、間引人参など)に大別されるが、さらに商品の外観、形状によって、また産地別、部位別、加工法別に多くの名称で区分されている。他に人参と類縁の生薬として、竹節人参、広東人参および三七人参などがあり、前記人参(真正人参)とともに広義の薬用人参と呼称されている。

人参については従来多くの研究が行なわれているが、ことに近年柴田らを中心とするサポニンの化学的研究⁴⁾、高木らによるその薬理学的研究⁵⁾、また Elyakov ら⁶⁾、Brekhnman ら⁷⁾ および Petkov⁸⁾ の報告を通じて、人参

1) 第 2 報: 吉崎正雄, 鈴木英世, 橋本竹二郎, 大城陽子, 木村康一, 難波恒雄, 生薬, 27, 110 (1973).

2) 日本生薬学会長崎大会, 1972 年 11 月発表.

3) Location: 3190 Gofuku, Toyama.

4) a) 藤田路一, 糸川秀治, 柴田承二, 薬誌, 82, 1634, 1638 (1962); S. Shibata, M. Fujita, H. Itokawa, O. Tanaka, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 11, 759 (1963); S. Shibata, O. Tanaka, M. Nagai, T. Ishii, *ibid.*, 11, 762 (1963); b) S. Shibata, O. Tanaka, T. Ando, M. Sado, S. Tsushima, T. Ohsawa, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 14, 595 (1966); c) O. Tanaka, M. Nagai, S. Shibata, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 14, 1150 (1966); S. Shibata, T. Ando, O. Tanaka, *ibid.*, 14, 1157 (1966); Y. Nagai, O. Tanaka, S. Shibata, *Tetrahedron*, 27, 881 (1971); O. Tanaka, M. Nagai, T. Ohsawa, N. Tanaka, K. Kawai, S. Shibata, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 20, 1204 (1972); M. Nagai, T. Ando, N. Tanaka, O. Tanaka, S. Shibata, *ibid.*, 20, 1212 (1972); 真田修一, 近藤紀子, 庄司順三, 田中 治, 柴田承二, 日本薬学会第 92 年会講演要旨集, II, 1972 年 p. 248; 真田修一, 近藤紀子, 庄司順三, 田中 治, 柴田承二, 日本生薬学会長崎大会講演要旨集, 1972, p. 47.

5) K. Takagi, H. Saito, H. Nabata, *Japan J. Pharmacol.*, 22, 245 (1972); K. Takagi, H. Saito, M. Tsuchiya, *ibid.*, 22, 339 (1972).

6) G.B. Elyakov, L.I. Strigina, N.I. Uvarova, V.E. Vaskovsky, A.K. Dzizenko, N.K. Kochetkov, *Tetrahedron Letters*, 1964, 3591; G.B. Elyakov, N.I. Uvarova, A.K. Dzizenko, R.P. Gorshkova, *ibid.*, 1965, 4669; G.B. Elyakov, A.K. Dzizenko, Yu. N. Elkin, *ibid.*, 1966, 141; G.B. Elyakov, L.I. Strigina, E.V. Shapkina, N.T. Aladyina, S.A. Kornilova, A.K. Dzizenko, *Tetrahedron*, 24, 5483 (1968).

7) I.I. Brekhman, I.V. Dardymov, *Ann. Rev. Pharmacol.*, 9, 419 (1968); I.I. Brekhman, The XIth Pacific Sci. Congress Tokyo, Abstr. Vol. 8, 1966.

8) W. Petkov, *Arzneimitt. Forsch.*, 9, 305 (1959); *idem, ibid.*, 14, 595 (1966).

Chart 1

の主要な有効成分の一つはサポニンであろうと考えられている。本サポニンは Ginsenosides Rx (x=o, a, b₁, b₂, c, d, e, f, g₁, g₂, g₃, h₁, h₂) と総称され,^{1b,9)} 現在までにこのうちの 9 種のものについてその構造 (Chart 1) が明らかにされている。⁴⁾ Ginsenoside Ro を除いては、いずれも特異な四環性ダニマラン系トリテルペンをゲニンとする配糖体であり、その存在は現在のところ *Panax* 属植物以外には未だ天然に知られていない。このような意味から、本サポニンは人参およびその類縁生薬の品質評価の上で重要な成分であると考えられる。

すでに柴田らは各種人参ならびに関連生薬について、サポニンおよびその酸加水分解により得られるサポゲニンを薄層クロマトグラフィー (TLC) で比較し、これが本生薬類の微量化学的品質評価に有用であることを報告している。¹⁰⁾

今回著者らも生薬の品質評価という観点から各地で栽培、調製された各種の人参ならびに類縁生薬について、それぞれの総サポニンを構成する個々のサポニンの相対含量を、薄層自動検出装置を用いて比較検討し若干の知見を得た。

一方著者らは先に人参サポニンの溶血性について検討し報告したが,¹¹⁾ これを要約すると、人参サポニンは溶血活性を示す画分と逆に溶血防禦活性を示す画分とから成り立っており、両者は互いに拮抗関係にあること、溶血活性の強い画分は ginsenoside Rh および Rg 群から成り、溶血防禦活性の強い画分は Rc および Rb 群か

9) 柴田承二, ファルマシア, 7, 392 (1971).

10) 柴田承二, 安藤利夫, 田中 治, 大森八重子, 相馬 清, 飯田由美子, 薬誌, 85, 753 (1965); 安藤利夫, 田中 治, 柴田承二, 生薬, 25, 28 (1971).

11) T. Namba, M. Yoshizaki, T. Tomimori, K. Kobashi, K. Mitsui, J. Hase, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 21, 459 (1973); *idem, Planta Medica*, 24, (1974) in press.

Chart 2. Extraction Procedure of Saponins

TABLE I. Ginseng and Related Crude Drugs

No.	Samples	Place harvested	Yield (%) of total saponins
(1)	lateral root of ginseng (ヒゲ人参)	Korea	12.0
(2)	lateral root of ginseng (ヒゲ人参)	Nagano	14.8
(3)	lateral root of ginseng (ヒゲ人参)	Fukushima	6.5
(4)	white ginseng (白 参)	Korea	2.1
(5)	white ginseng (白 参)	Nagano	3.1
(6)	white ginseng (白 参)	Fukushima	1.5
(7)	red ginseng (紅 参)	Korea	3.8
(8)	red ginseng (紅 参)	Nagano	3.9
(9)	red ginseng (紅 参)	Fukushima	4.9
(10)	1 year old ginseng root (1年生皮付人参)	Nagano	3.0
(11)	2 year old ginseng root (2年生皮付人参)	Nagano	3.0
(12)	3 year old ginseng root (3年生皮付人参)	Nagano	2.0
(13)	4 year old ginseng root (4年生皮付人参)	Nagano	3.5
(14)	5 year old ginseng root (5年生皮付人参)	Nagano	2.5
(15)	6 year old ginseng root (6年生皮付人参)	Nagano	2.5
(16)	root of the plantlet (間引人参)	Nagano	3.0
(17)	ginseng peelings (参 皮)	Nagano	8.0
(18)	ginseng peelings (参 皮)	Fukushima	8.8
(19)	leaves of <i>Panax ginseng</i> (オタネニンジン葉)	Korea	7.6
(20)	leaves of <i>Panax ginseng</i> (オタネニンジン葉)	Nagano	12.6
(21)	buds of <i>Panax ginseng</i> (オタネニンジン蕾)	Nagano	15.0
(22)	seeds of <i>Panax ginseng</i> (オタネニンジン種子)	Nagano	0.7
(23)	American ginseng (広東人参)	Commercial	4.9
(24)	San-chi ginseng (三七人参)	Commercial	8.2
(25)	San-chi ginseng (三七人参)	Commercial	6.3
(26)	root of hybrid F ₁ (<i>P. ginseng</i> × <i>P. quinquefolium</i>) (オタネニンジン × アメリカニンジン)	Nagano	1.9
(27)	root of hybrid F ₁ (<i>P. ginseng</i> × <i>P. japonicus</i>) (オタネニンジン × トチバニンジン)	Nagano	2.0
(28)	rhizome of <i>Panax japonicus</i> (竹節人参)	Commercial	20.6
(29)	root of <i>Panax japonicus</i> (直根人参)	Commercial	15.6
(30)	leaves and stems of <i>Panax japonicus</i> (トチバニンジン地上部)	Toyama	5.0

ら成ること, また両作用の発現にはサポゲニン部分よりもむしろこれに結合する糖部分の種類, 数, あるいはその結合位置がより重要な因子になっていると考えられること, などを明らかにした. 今回これらのデータを基とし, 溶血および溶血防禦両活性を指標とする各種人参ならびにその類縁生薬の品質評価についても基礎的検討を行なった. 同時にこれらの生化学的データと前記の薄層自動検出装置による各サポニンの TLC パターンとの相関々係についても二三考察を加えた. これらの知見につきあわせ報告する.

まず Table I に示した各種人参ならびに関連生薬 30 種を, Chart 2 および実験の部に記した方法で処理して得たものを本報ではそれぞれの総サポニンと称する. これにつき柴田らの報告している溶媒系^{4b,10)}で行なった薄層クロマトグラムを Fig. 1 に示した. 次に各サポニンを構成する個々のサポニンの相対含量を薄層自動検出装置を用いて測定した. 本装置は外径 0.9 mm, 長さ 15 cm の石英棒にシリカゲルをコーティングしたものを用い, 通常の TLC と同様検体をスポットし展開する. 薄層棒上に分離された成分は水素炎イオン化検出器 (FID) によりそのまま定量的に検出される. 測定結果は直接レコーダーに記録され, ピークとしてのクロマトグラムが得られるとともに各ピーク面積値も同時に測定, 記録される. 標品を用い検量線を作成すれば個々のサポニンの重量比の算出も可能であるが, 今回は各検体について総サポニンの示すピーク面積の合計を 100 とし, それに対する各ピーク面積の比をもって相対的な組成比となし, これを各クロマトグラムとともに示したのが Fig. 2 である. 各ピークの同定は標品と対比させて行なったものである.

ヒゲ人参のサポニンについては, 長野県産のものと福島県産のものは類似したパターンを示しているが, 韓国産のものは Rd および Re の相対含量が前二者のものより若干高くなっている. 白参のサポニンは邦産のものと韓国産のものとの間にはほとんど差は認められないが, ヒゲ人参と比較した場合, 総サポニンに対する Rg(f) 群, あるいは Rb,c 群に対する Rg(f) 群の含量が相対的に 2—3 倍増加しているとともに Ra+Ro の相対含量も高くなっていることが特徴的である. このことはサポニンおよびサポゲニンの TLC 所見¹⁰⁾とともに白参とヒゲ人参を鑑別する場合の重要な尺度になり得ると考えられる. 紅参のサポニンは邦産, 韓国産とも Rg 群より高 Rf 値

Fig. 1. Thin-Layer Chromatogram of Saponins plate: Kieselgel G

plate: Kieselgel G
 solvent: (A) n -BuOH: AcOEt: H_2O = 4: 1: 5 (upper layer)
 (B) $CHCl_3$: MeOH: H_2O = 65: 35: 10 (lower layer)
 color reagent: 10% H_2SO_4
 a) panasenoside
 b) chikusetsusaponin III
 c) chikusetsusaponin IV
 d) chikusetsusaponin V (= ginsenoside Ro)

を示す部分にやや特徴的なピークが認められる。また韓国産の場合、Rb,c 群に対する Rg(f) 群の相対含量が邦産のものよりかなり高いことも特徴的である。邦産の場合この相対含量はヒゲ人参と白参の中間的な値を示している。

Fig. 2. Quantitative Thin-Layer Chromatogram of Saponins Measured by TLC-Autodetector

condition: Apparatus, IATORON, THINCHROGRAPH TFG-10; Detector, H.F.I.D.; Flow rate, H_2 , 165 ml/min, air, 2000 ml/min; Scanning speed, 20.7 cm/min; TLC: $CHCl_3$: $MeOH$: H_2O (65:35:10, lower)/ SiO_2 rod ("Thin-chrod").

The values indicate the average percentage of ten experiments of peak-area given by individual saponins.

Each peak was identified by the comparison of R_f values with those of the authentic samples. The identifications were shown by the alphabets and the Roman numerals which represent ginsenoside Rx and chikusetsu saponin-x, respectively.

次に生育年数を異にする皮付人參（主根部）のサポニンの比較であるが、総サポニンにおける Rg(f) 群と Rb,c 群の相対含量は、いずれも 1 年生根から 6 年生根までほとんど変動を示さない。しかし生育が進むにつれ Rd および Re が減少し、Ra+Ro が増加する傾向が認められた。間引人參は 1—2 年生根に相当することから、これらと同様のパターンを示している。參皮は白參の調製過程で得られるものであるが、白參および前記皮付人參の 4—6 年生のものに比し、Re の相対含量が高いことが特徴である。

人參葉のサポニンは韓國産のもの、長野県産のものともに Rg(f) 群および Re の相対含量が高く、Rb,c 群の相対含量が低い。同様の傾向はオタネニンジンの蕾にも認められるが、この場合 Re の相対含量がさらに高くなっていることが特徴的である。なおこれら地上部のサポニン分画にはフラボノイドの panasenoside¹²⁾ が若干混入していることを TLC およびペーパークロマトグラフィー (PPC) で確認した。オタネニンジンの種子のサポニンは Rg(f) 群より高 R_f 値を示す部分に著明なピークが認められるが、この一部は β -sitosteryl-D-glucoside に一致することを TLC から確認した。他は人參葉あるいは蕾の場合と類似したパターンを示している。

人參と類縁の生薬である広東人參と三七人參のサポニンは、定性的には人參のそれと類似したパターンを示している。前者は Rb₁ に相当する部分の相対含量が著しく高く、Rb_{2,c} に相当する部分は僅少である。後者はその原植物についてなお検討の余地が残されているが、今回用いた加工法を異にすると考えられる 2 種の三七人參はいずれも白參に比し、Rg 群および Rb₁ に相当する部分の相対含量が著しく高く、Rb₂ に相当する部分はきわめてわずかである。また TLC の結果 Rc に相当するスポットは認められなかった。

オタネニンジンとアメリカニンジンの変種 (F₁) の根のサポニンは R_f 値の小なる部分に白參と広東人參の

12) 小松曼著, 富森 毅, 牧口裕貴子, 薬誌, 89, 122 (1969).

TABLE II. Hemolytic and Protective Activity of Saponins

Samples	Hemolytic dose (HD ₅₀ : µg/ml)	Protective dose (P ₅₀ : µg/ml) against Saponaria saponin
Saponaria saponin	10	—
(1)	no activity ^{a)}	2600
(2)	no activity ^{a)}	700
(3)	no activity ^{a)}	830
(4)	no activity ^{a)}	3500
(5)	no activity ^{a)}	no activity ^{a)}
(6)	no activity ^{a)}	1250
(7)	no activity ^{a)}	no activity ^{a)}
(8)	no activity ^{a)}	1570
(9)	no activity ^{a)}	1040
(10)	no activity ^{a)}	1200
(11)	no activity ^{a)}	750
(12)	no activity ^{a)}	1250
(13)	no activity ^{a)}	750
(14)	no activity ^{a)}	750
(15)	no activity ^{a)}	750
(16)	no activity ^{a)}	1350
(17)	no activity ^{a)}	no activity ^{a)}
(18)	no activity ^{a)}	no activity (3000) ^{b)}
(19)	165	—
(20)	1120	no activity (1000) ^{b)}
(21)	1300	no activity (1000) ^{b)}
(22)	no activity ^{a)}	600
(23)	no activity ^{a)}	no activity ^{a)}
(24)	no activity ^{a)}	2000
(25)	no activity ^{a)}	no activity ^{a)}
(26)	95	—
(27)	47	—
(28)	120	—
(29)	2150	no activity (2000) ^{b)}
(30)	290	—
Ginsenoside Rg ₂	no activity (116) ^{b)}	—
Ginsenoside Rg ₁	no activity (316) ^{b)}	no activity (316) ^{b)}
Ginsenoside Rf	no activity (147) ^{b)}	—
Ginsenoside Re	no activity (560) ^{b)}	1680
Ginsenoside Rd	340	280
Ginsenoside Rc	no activity (1770) ^{b)}	345
Ginsenoside Rb ₂	no activity (1210) ^{b)}	480
Ginsenoside Rb ₁	no activity (670) ^{b)}	550
Ginsenoside Ro	950	no activity (1000) ^{b)}
Chikusetsu saponin III	33	—
Chikusetsu saponin IV	1400	470

hemolytic dose (HD₅₀): The final concentration of the sample which gives 50% hemolysis, based on the absorbance at 550 mµ when complete hemolysis was caused by the addition of distilled water.

protective dose (P₅₀): To the sample solution of various concentration was added the solution of saponaria saponin (Merck, 10 µg/ml) whose amount was HD₅₀ in a final concentration and its hemolytic activity was measured under the condition as that of HD₅₀ measurement. Based on the absorbance at 550 mµ when the sample was omitted as a control, the protective activity of the sample was estimated by measuring the final concentration (P₅₀) which gives 50 % protection of the control hemolysis.

a) Hemolytic and protective activity of total saponin was not detected in a final concentration of more than 4000 µg/ml.

b) "no activity ()" indicates that hemolytic and protective activity of the sample was not detected in a final concentration (µg/ml) which was shown in parentheses.

いずれにも認められない顕著なスポットを示し、量的にもこれがかなりの部分を占めている。それ以外は広東人参のサポニンに近いパターンを示している。なお本品は酸加水分解により panaxadiol, panaxatriol および著量の oleanolic acid を与えることを TLC で確認した。オタネニンジンとトチバニンジンの交配種 (F_1) の根のサポニンは R_f 値大なる部分に著明なピークを与える。他は白参と比較した場合、量的には異なるが定性的には両者とも類似したパターンを示し、竹節人参および直根人参に存在する chikusetzu saponin III および IV は TLC から検出されなかった。また本品は酸加水分解により panaxadiol, panaxatriol および oleanolic acid を与えた。

次にトチバニンジンの根茎部(竹節人参)、直根部(直根人参、玉人参)および地上部についてであるが、前二者のパターンは定性的に類似し、ともに chikusetzu saponin III, IV および V (=ginsenoside Ro) が総サポニンのほとんどを占めている。後者は前二者に比しかなりパターンを異にし、共通成分と考えられる chikusetzu saponin V も僅少である。なお本地上部のサポニン分画にもオタネニンジン地上部にみられる panasenoside が若干混在していることを PPC および TLC で確認した。

以上の知見は各種人参ならびに類縁生薬のサポニンおよびサポゲニンの TLC 所見とともに、これら生薬の鑑別あるいは品質評価に有用と考えられる。

次に Table I に示した各種人参および類縁生薬のサポニン、ならびに現在までにこれらから単離され構造が明らかにされている個々のサポニンについて、溶血活性および溶血防禦活性を測定し Table II に示す結果を得た。

前記の如く人参の総サポニンは溶血活性を示す画分と逆に溶血防禦活性を示す画分から成り立っており、両者の間には拮抗関係が認められる。¹¹⁾ 従って各種人参の総サポニンの示す両活性は、これらサポニンを構成する溶血性画分と溶血防禦性画分の相対的な量関係を反映しているものと思われる。この意味でこれら両活性の測定は各種人参類の生化学的品質評価の一指標になり得ると考えられる。

先に人参サポニンのうち溶血防禦活性の強い画分は主として Rb_1, b_2 および Rc から成り、溶血活性の強いそれは主として Rh および Rg 群から成ることを明らかにしたが、¹¹⁾ 後者のうち最も溶血活性の強い画分(第1報¹¹⁾で Fr. 1 としたもの)はサボナリア根のサポニン(Merck 社製サポニン, $HD_{50}=10 \mu\text{g/ml}$)に匹敵する50% 溶血値($HD_{50}=25 \mu\text{g/ml}$)を有している。¹¹⁾ 本画分は TLC でほぼ等量の3個のスポットを示し、このうちの1個は Rg_2 に一致する。他の2個は Rg_1, g_2 以外の Rg 群の1つと Rh 群の1つに相当するものと考えられるが、現在まだそれらの単離には到っていない。 Rg_1 および Rg_2 がそれぞれ単独では溶血活性を示さないことは、上記 Rg 群および Rh 群中の未知物質が溶血活性に大きく関与していることを示唆しており、溶血防禦活性を示す Rc および Rb 群の存在量との関連において人参の総サポニンの溶血性を支配しているものと思われる。ただし厳密に言えば、本報で「総サポニン」と称するものは、前記のごとく人参を Chart 2 のように処理して得た分画を指しており、ほとんどがサポニンであるが、なお TLC において硫酸で呈色し難い成分が若干混在している可能性も考えられる。その場合この混在微量成分の両活性に及ぼす影響について考慮されるべきであるが、この点については今後の検討を必要とする。

Table II から明らかなように、各種人参についてはヒゲ人参、白参、紅参、1—6年生皮付人参、間引人参および参皮の各サポニンはいずれも溶血活性を示さず、一般に弱いながら溶血防禦活性を示す傾向が認められた。これに対し人参葉と蕾のサポニンはともに溶血活性を示した。これら根部と地上部のサポニンは前記の如く薄層自動検出装置によるパターンにも差がみられ、特に後者の場合 Rc および Rb 群の相対含量が著るしく低いという事実はこの理由を説明するものとして興味深い。オタネニンジンの種子のサポニンは溶血防禦活性を示すが、この一部は本品に含まれる β -sitosteroyl-D-glucoside の溶血防禦性¹¹⁾に基因するものと推定される。

人参類縁生薬である広東人参と三七人参はいずれも溶血活性を示さなかった。オタネニンジンとアメリカ人参の交配種 (F_1) の根のサポニンは、それぞれの母種の根(人参と広東人参)のそれとは異なり強い溶血活性を示した。このことは、これら三者間の TLC パターンの相異とともに品種改良上の問題点を提起するものとして興味深い。またオタネニンジンとトチバニンジンの交配種 (F_1) についても同様のことが認められた。前述したように本品種の根にはトチバニンジンの根(直根人参)に存在する chikusetzu saponin III および IV が認められず、また直根人参に比し強い溶血活性が認められた。

次に竹節人参と直根人参のサポニンはいずれも溶血活性を示すが、活性は前者が大であり、後者は微弱である。

なお両者に存在する chikusetsu saponin III はサボナリア根のサポニンに匹敵する溶血活性を示す。本物質は 20-(S)-protopanaxadiol をゲニンとするサポニンで、庄司らによりすでにその構造が明らかにされているが¹³⁾、これと同一のゲニンを有する ginsenoside Rb₁, b₂ および Rc がいずれも溶血防禦活性を有することからも、前記したごとく両作用の発現にはサポゲニン部分よりもこれに結合する糖部分の種類、数あるいはその結合位置がより重要な因子になっているものと考えられる。

このように各種人参ならびに類縁生薬のサポニンの示す溶血活性と溶血防禦活性は、サポニンおよびサポゲニンの TLC 所見、あるいは薄層自動検出装置によるサポニンのパターンと比較などと併用することにより、これら生薬の生化学的品質評価の一手段になり得るものと考えられる。

人参の総サポニンの溶血性が、ダンマラン系サポニン間の拮抗関係を反映しているものとすれば、サボナリア根のサポニン以外の溶血活性を有するダンマラン系サポニンを溶血剤とした場合の各溶血防禦活性についても検討の必要がある。

サポニンの溶血性と溶血防禦性およびそれらの化学構造との関係については、サポニンによる血球膜破壊の作用機構の解明とともに今後検討の予定である。

実験の部

総サポニンの抽出、分離 各種人参およびその関連生薬 30 種について、それぞれ 10 倍量の MeOH で 3 hr ずつ 3 回還流抽出、溶媒留去し MeOH エキスを得。本エキスを 10 倍量の水に溶解し、ether で 5 回洗浄後水層を半量の水飽和 *n*-BuOH で 4 回振盪抽出する。*n*-BuOH 層を合し、その 1/3 量の水で 3 回洗浄後 *n*-BuOH 層より溶媒留去、減圧乾燥したものを総サポニンとした。

総サポニンの酸加水分解 サポニンを 5% HCl 含有 MeOH で 4 hr 加熱還流。冷後反応液に水を加え ether で 3 回抽出。Ether 層を水洗後、無水 Na₂SO₄ で脱水、溶媒を留去しサポゲニン混合物を得。TLC [plate, kieselgel G; solv. A (CHCl₃:ether=1:1), solv. B (acetone:*n*-hexane=3:7)] にて標品との比較により panaxadiol [R_f 0.42 (solv. A), 0.47 (solv. B)], panaxatriol [R_f 0.22 (solv. A), 0.20 (solv. B)], oleanolic acid [R_f 0.55 (solv. A), 0.40 (solv. B)] を証明した。

Panasenoside の証明 オタネニンジンの葉、蕾およびトチバニンジンの地上部の各サポニンを水に溶解し、ポリアミドカラムにかけ、十分水洗する。次いで MeOH で溶出、溶媒留去し PPC および TLC にて標品との比較により証明した。PPC: 東洋濾紙 No. 50 使用、上昇法, R_f 0.63 (15% AcOH), 0.77 (60% AcOH), 0.38 (*n*-BuOH:AcOH:H₂O=4:1:5, 上層)。TLC: R_f 0.42 (AcOEt:MeCOEt:HCO₂H:H₂O=5:3:1:1)。

1% ヒト血球懸濁液の調製¹⁴⁾ 3.8% クエン酸ナトリウム存在下で採血したヒト血液より遠心分離 (3000 rpm, 10 min) にて赤血球部を集めた後、等量の生理食塩水にて 3 回、続いて 0.2M ホウ酸緩衝液 (0.008M NaCl 含有, pH 7.6) で 3 回洗浄をくり返した。洗浄後の血球を同緩衝液に適宜懸濁し、その希釈液 1.5 ml を蒸留水 4.5 ml にて完全溶血させたときの上清の 550 mμ における吸光度が 0.48±0.005 になるような希釈懸濁液を 1% 懸濁液とした。

50% 溶血値 (HD₅₀) の測定¹⁴⁾ 0.2M ホウ酸緩衝液 (0.008 M NaCl 含有, pH 7.6) にて適宜希釈した検体に 1M CaCl₂ 0.1 ml を加え、全量を 3.0 ml とした後、1% ヒト血球懸濁液 3.0 ml を加え 37°, 30 分間反応させた。反応終了後 3000 rpm, 10 min 遠心分離し、その上清の 550 mμ における吸光度を日立分光光度計 101 型にて測定した。血球懸濁液 1.5 ml を蒸留水 4.5 ml で完全溶血させ、上記同様処理して得た上清の吸光度を 50% 溶血とし、この吸光度を示す検体濃度をもって 50% 溶血値 (HD₅₀) を求めた。

50% 溶血防禦値 (P₅₀) の測定 HD₅₀ を与えるサボナリア根のサポニン (Merck 社製) 60 μg を含む上記緩衝液 0.1 ml に、同緩衝液にて適宜希釈した検体と 1M CaCl₂ 0.1 ml を加え、緩衝液にて 3.0 ml とし 5 分間保温した後、1% 血球懸濁液 3.0 ml を加え、37°, 30 分間反応させた。反応終了後遠心分離しその上清の吸光度を測定した。サボナリア根のサポニンによる溶血を 50% 防禦する検体終濃度をもってその検体の 50% 溶血防禦値 (P₅₀) とした。

謝辞 本研究に当り貴重な標品を恵与された東京大学薬学部 柴田承二教授ならびに昭和大学薬学部 庄司順三教授に深謝する。また薄層自動検出装置 (シンクログラフ) を使用させていただいたヤマトン株式会社の吉岡成美氏、各種人参の入手に御便宜を与えられたロッテ物産株式会社、山之内製薬中央研究所の三浦三郎氏、長野県園芸試験場の宮沢洋一氏および福島県薬務課の川上氏に深謝する。また本研究に協力いただいた本学部の末吉久枝氏にあわせて感謝する。

13) 近藤紀子, 庄司順三, 薬誌, **88**, 325 (1968); 近藤紀子, 庄司順三, 南雲 昇, 小松信彦, 薬誌, **89**, 846 (1969); N. Kondo, K. Aoki, H. Ogawa, R. Kasai, J. Shoji, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **18**, 1558 (1970).

14) F.B. Roth, L. Pillemer, *J. Immunol.*, **70**, 533 (1953).