生薬の水製エキス中の成分研究 (第1報) オウゴン (黄芩) について その1

滝戸道夫, 相見光郎, 高橋周七, 山内 盛, 鳥居 弘, 土肥 栗
日本大学理工学部薬学科¹⁾

Studies on the Constituents in the Water Extracts of Crude Drugs. I. On the Roots of *Scutellaria baicalensis* GEORGI (Wōgon) (I)

MICHIO TAKIDO, MITSUO AIMI, SHŪHICHI TAKAHASHI, SAKAE YAMANOUCHI,
HIROSHI TORII, and SHIORI DOHI

Department of Pharmacy, College of Science & Technology, Nihon University¹⁾

(Received July 13, 1974)

From the ether-soluble fraction of the water extracts of the roots of *Scutellaria baicalensis* GEORGI (Japanese name "Wōgon"), two new flavone derivatives, named skullcap-flavone-I and -II were isolated along with β -sitosterol, campesterol, stigmasterol, wōgonin, baicalein, and oroxylin-A (5,7-dihydroxy-6-methoxyflavone). The chemical structures of skullcapflavone-I (V) and -II (VI) were established as 2',5-dihydroxy-6,8-dimethoxyflavone and 2',5-dihydroxy-6,6',7,8-tetramethoxyflavone, respectively, by chemical and physical analyses.

生薬は古くから漢方, 民間療法ではそれを湯液として用いる場合が多い. そこでわれわれは種々の生薬や植物の水製エキスを作り, その中より抗炎症作用のあるもの²⁾を選び, その有効成分の検索を行っている. 今回はオウゴンの水製エキス中, エーテル可溶部の成分について報告する.

オウゴン (黄芩) はシソ科のコガネバナ *Scutellaria baicalensis* GEORGI の周皮を除いた根であり, 日本薬局方に収載されている「三黄散」をはじめ, 大柴胡湯, 小柴胡湯, 半夏瀉心湯など, 漢方を用いる医師が繁用する処方中に多くみられる漢薬の一つである. この生薬の化学的研究は古く高橋³⁾ および服部⁴⁾ によって行われ, フラボン誘導体 wōgonin (I) および baicalin (II) が抽出され, 後者は加水分解することにより等モルの baicalein (III) と glucuronic acid が得られ, Shah⁵⁾ や Rao 等⁶⁾ の合成研究と相俟ってその構造が決められた. 近年川崎⁷⁾ はガスクロマトグラフィー (GLC) を用いて β -sitosterol を少量の campesterol および stigmasterol とともにその存在を証明している.

われわれは漢方の湯液にならって, オウゴンの水製エキスを作り, エーテル, 酢酸エチルエステルおよび *n*-ブタノールで順次抽出し, 残渣の水層とともに各フラクションに移行する成分を研究しているが, この中エーテルに移行する部分 (水製エキスの約 7%) の薄層クロマトグラフィー (TLC) を行うとおおよそ Fig. 1 のごとく A—F に分離する. これらの物質をカラムクロマトグラフィー (CC) や分取薄層クロマトグラフィー (PLC) を用いて分離した.

A は mp 137—139° の無色針状晶で赤外線吸収スペクトル (IR) および GLC (Fig. 2) より campesterol, stigmasterol を少量ずつ含んだ β -sitosterol であることが判明した.

B は mp 201—202° の黄色針状晶でマグネシウム・塩酸反応 (Mg+HCl) は橙赤色, アルコール性塩化第二鉄 (FeCl₃) で緑色であり, その diacetate は FeCl₃ で呈色せず, また塩化ストロンチウム反応 (SrCl₂) は黄色を呈

1) Location: Kanda Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo.

2) 日本大学松戸歯科大学, 田村豊行教授と協同で実施しているものである.

3) 高橋順太郎, 東京帝国大学医学部紀要, I, 307 (1899).

4) S. Hattori, *Acta Phytochim* (Japan), 5, 99 (1930); *idem, ibid.*, 5, 219 (1931); *idem*, 薬誌 51, 15 (1931).

5) R.C. Shah, T.S. Wheeler, *J. Chem. Soc.*, 1555 (1938).

6) K.V. Rao, T.R. Seshadri, *Proc. Indian Acad. Sci.*, 25A, 397 (1947).

7) 川崎敏男, 西岡五夫, 塚本起夫, 八木 晟, 池川信夫, 日本薬学会第 84 年会発表, 東京 1964年.

Chart 1

Fig. 1. The TLC of the Ether Extracts

1. baicalein
2. ether extracts
3. wogonin
absorbent: Silica gel G
solvent: CHCl_3 , MeOH=100:1

Fig. 2. Gas Chromatogram of (A)

absorbent: SE-30 (2.0%)
column temp.: 270°
inj. temp.: 305°
carrier gas: N_2 25 ml/min
column: 2.25 m × 4 mm glass tube
detector: H-FID

する。以上のことより、B は互いに隣接しない 2 個の水酸基 (OH) を有するフラボン誘導体と考えられる。またこの物質の核磁気共鳴スペクトル (NMR) および質量分析スペクトル (mass) は Fig. 3, 4 のごとくで、ともに wogonin (I) および baicalein (III) のそれによく似ており、mass では分子量 (M^+) 284 を、NMR では baicalein に 1 個のメトキシ基 (OCH_3) が加わったときシグナルを示す。両スペクトルより本物質はフラボン骨格の A 環に 2 個の OH と 1 個の OCH_3 があり、B 環には置換基のないものと推定された。そこで、この物質の dimethyl ether を baicalein の trimethyl ether と比較したところ全く同一物であることが IR および混融により確かめられた。以上の事実より、この物は baicalein の A 環の 3 個の OH のうち 1 個が OCH_3 で置換されたものと判明した。NMR の 12.88 ppm のシグナルはキレートした 5 位の OH のプロトンと考えられ、前述のごとく SrCl_2 反応が黄色であることは隣接した 6 位には OH はなく、したがって 6 位に OCH_3 、7 位に OH が存在することになる。

これはまた、この物質の紫外線吸収スペクトル (UV) において、これにアルコール性酢酸ナトリウムを加えると、317 nm の吸収極大が 50 nm ほど深色的に移動することからも証明された。

以上のことより B 物質は 5,7-dihydroxy-6-methoxyflavone (IV) であると決定された。この構造の物質は

Fig. 3. NMR Spectra of (B), Wogonin and Baicalein

Fig. 4. Mass Spectra of (B) and Wogonin

chamber voltage 70 eV
chamber temp. 220°

Fig. 5. NMR Spectrum of D

Fig. 6. NMR Spectrum of D Diacetate

30% 水酸化カリで処理して得られた酸性物質より, TLC でサリチル酸を推定できたことより, B 環の 2' 位に OH 1 個が存在することが推定された. これはまたこの物質の diacetate の NMR (Fig. 6) が示すようにベンゼ

oroxylin-A と称し, 既に *Oroxylum indicum* (ノウゼンカズラ科) の根皮から得られている⁸⁾ が他の植物からは検出されていない.

C 物質は wogonin (I), F 物質は baicalein (III) であり, これらは共に混融および IR の一致から確認した.

D 物質は mp 263—265° の黄色針状晶, E 物質は mp 180—181° の黄色針状晶であり共に新物質であるので D を skullcapflavone I (V), E を skullcapflavone II (VI) と命名した.

Skullcapflavone I は分子式 $C_{17}H_{14}O_6$, Mg+HCl で赤色, Gibbs 反応は緑色, $SrCl_2$ 反応は黄色, $FeCl_3$ で緑色である. また UV における吸収の極大値は酢酸ソーダアルコール溶液添加時に変化なく, その diacetate は $FeCl_3$ 反応陰性である. 以上のことより, この物質は 7 位に OH なく, また互いに隣接しない OH 2 個を有するフラボン誘導体と考えられる. NMR (Fig. 5) では 5 位の OH と他の 1 個の OH, OCH_3 2 個および 2 個の孤立プロトンを含む 6 個のベンゼン環上のプロトンが認められ, Mass では 314 に M^+ ピーク, B 環にも

とずく $(\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}\equiv\text{CH})^+$ と思われる m/e

118 のピークが認められる. またこの物質を

8) W.A.H. Naylor, C.S. Dyer, *J. Chem. Soc.*, 79, 954 (1901).

ン環上の4個のプロトン (7.16—7.81 ppm) 中には孤立プロトンは存在しないこと、および monomethyl ether には NMR より5位に OH の存在が認められ、しかも Gibbs 反応は陰性である事実からも支持される。したがってこの物質の孤立プロトンの1個は3位に、他の1個はA環の6,7,8位のいずれかに存在することとなる。そこで diacetate の NOE (nuclear overhauser effect) を測定した。すなわち、2個の OCH_3 のシグナル (3.82 ppm および 3.91 ppm) の位置にそれぞれ照射し、2個の孤立プロトンのシグナル (6.50 および 6.69 ppm) への影響を観察すると、6.69 ppm のシグナルに

はそれぞれ 13% および 14% の積分値の増加を示したが、6.50 ppm のシグナルには全く影響を与えなかった。このことは、6.69 ppm のシグナルが示すプロトンは両方の OCH_3 に影響される7位に存在し、6.50 ppm のシグナルは3位のプロトンのものであることが判明した。したがって skullcapflavone I の構造は 2',5-dihydroxy-6,8-dimethoxyflavone (V) と決定された。

Skullcapflavone II は分子式 $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$, $\text{Mg}+\text{HCl}$ で橙黄色, Gibbs 反応は青色, FeCl_3 で緑色である。SrCl₂ 反応は黄色であり, UV における吸収の極大値は酢酸ソーダアルコール溶液添加時に変化なく, その diacetate は FeCl_3 で呈色しない。これらのことより本物質はフラボン誘導体で7位に OH なく, 互いに隣接しない OH 2個を有するものと推定される。NMR (Fig. 7) より5位の OH と他の1個の OH, OCH_3 4個, 1個の孤立プロトンおよびオルト・カップリングした AB_2 型の3個のプロトンが確認され, B環の2'および6'位に置換基を有するものと思われるが, これは 2,6-dihydroxybenzoic acid の NMR (Fig. 8) が酷似することからも証明される。またこの物質の monomethyl ether は NMR (Fig. 9) より5位の OH の存在⁹⁾が認められるが, Gibbs 反応は陰性となる。これは本物質には2'位に OH が存在し, それが Gibbs 反応陽性の原因であると推定される。またこの monomethyl ether の NOE は次の様な結果を示した。すなわち4本の OCH_3 シグナルの位置に順次照射した場合, OCH_3 2個分を示すシグナル (3.87 ppm) では 6.60 ppm 付近の 2H 分のシグナルには効果 (18% の積分値の増加) を与えるが, 孤立プロトン (6.32 ppm) および他のシグナルには効果を示さない。また他の3本の OCH_3 のシグナルの位置への照射ではいずれのシグナルにも効果を示さない。このことより, 6.60 ppm 付近の2個のプロトンのシグナルは3'および5'位のものであり, 孤立プロトンは3位のものであ

Fig. 7. NMR Spectrum of E

Fig. 8. NMR Spectrum of 2,6-Dihydroxy Benzoic Acid

Fig. 9. NMR Spectrum of E Monomethyl Ether

9) Fig. 9 のごとく溶媒が CDCl_3 の時は判然としないが, δ_6 -DMSO (12.55 ppm) では明瞭である。

ると推定された。したがって skullcapflavone II の構造は 2',5-dihydroxy-6,6',7,8-tetramethoxyflavone (VI) と判明した。

実 験 の 部

材料 市販の黄芩および本学薬用植物園で栽培したコガネバナ (*Scutellaria baicalensis* GEORGI) の根。

各エキスの製造 生薬 50 g に水 250 ml を加え、水浴中で 2 時間温浸し、エバポレーターを用い 50° 以下で水を留去し、水製エキスとする。得量 18.1 g (36.2%)。

エーテルエキス——水製エキスを液体抽出器を用いてエーテルで 30 分間浸出し、エーテルを留去する。得量 1.3 g (2.6%)。

酢酸エチルエキス——エーテル抽出残渣に酢酸エチルエステルを加え、液体抽出器を用いて 30 分間浸出して得る。得量 0.3 g (0.6%)。

n-ブタノールエキス——酢酸エチルエステルでの抽出残渣に水飽和 n-ブタノールを加え、振盪器を用いて 30 分間、5 回繰返し抽出し、n-ブタノール層を分離し、エバポレーターで 50° 以下で n-ブタノールを留去する。得量 3.8 g (7.6%)。

抽出残渣水製エキスの量。12.9 g (25.8%)。

エーテルエキス中の成分分離 担体としてシュウ酸処理のシリカゲルを用い、溶媒にクロロホルム、メタノール (100:1) を用いて CC を行なうと TLC (Fig. 1) で示した ABC の順に流出してくる。D および E の分離は不能なので CC と同一溶媒で PLC を用いて分離した。得量。A, 微量。B, 34 mg (ca. 2.6%), C, 196 mg (ca. 15.1%)。D, 2 mg (ca. 0.15%), E, 14 mg (ca. 1.1%), F, 893 mg (ca. 68.7%)。

β -Sitosterol, Campesterol および Stigmasterol の確認 A をメタノールから再結晶すると mp 137—139° の無色針状晶。TLC および IR より β -sitosterol と推定出来たが、GLC (担体: Gas chromQ, 60—80 mesh, SE-30(2.0%)) により campesterol (retention time 7.2 分) および stigmasterol (retention time 7.7 分) を少量混在する β -sitosterol (retention time 8.8 分) であることが判明した。

Oroxylin A の確認 B は mp 201—202°, 黄色針状晶 (ベンゼンより再結晶) *Anal.* Calcd. $C_{16}H_{12}O_5$: C, 67.60; H, 4.26. Found: C, 67.56; H, 4.39. Mass Spectrum m/e : 284 (M^+), 269 ($M-CH_3$), 256 ($M-CO$), 242 ($M-(CH_2+CO)$). NMR (d_6 -DMSO) δ : 3.75 (3H, s, OCH_3), 6.62 (1H, s, C_3-H), 6.92 (1H, s, C_8-H), 7.5—8.2 (5H, m, $C_2'-C_6'-H$), 12.88 (1H, s, C_5-OH)。

UV λ_{max}^{EtOH} nm (log ϵ): 271 (4.40), 317 (4.11). $\lambda_{max}^{EtOH+NaOAc}$ nm (log ϵ): 269 (4.45), 366 (4.00). $\lambda_{max}^{EtOH+AlCl_3}$ nm (log ϵ): 286 (4.40), 333 (4.16)。常法のアセチル化により mp 145—146° の無色針状晶の diacetate を得。 *Anal.* Calcd. $C_{18}H_{16}O_7$: C, 65.22; H, 4.37. Found: C, 65.02; H, 4.34。また常法によりジアゾメタンで無色針状の dimethyl ether (mp 165—166°) を得。 *Anal.* Calcd. $C_{16}H_{16}O_5$: C, 69.24; H, 5.16. Found: C, 69.37; H, 5.19。この物質は baicalein の trimethyl ether (mp 165—166°) と IR, 混融により同定。

Skullcapflavone I D 物質はベンゼンより再結晶して mp 263—265° の黄色針状晶。 *Anal.* Calcd. $C_{17}H_{14}O_6$: C, 64.97; H, 4.49. Found: C, 65.16; H, 4.41. Mass Spectrum m/e : 314 (M^+). NMR (d_6 -DMSO) δ : 3.82, 3.91 (各 3H, s, $-OCH_3$), 6.55—7.90 (6H, m, うち 2H は孤立 H), 10.79 (1H, s, $C_2'-OH$), 12.64 (1H, s, C_5-OH)。UV λ_{max}^{EtOH} nm (log ϵ): 271 (4.40), 340 (4.05)。 $\lambda_{max}^{EtOH+AlCl_3}$ nm (log ϵ): 280 (4.34), 342 (4.05), 4.00 (3.84)。Mg+HCl; 赤色。FeCl₃; 緑色。Gibbs 反応; 緑色。SrCl₂; 黄色。常法のアセチル化により無色針状晶の diacetate mp 143—144° を生ずる。 *Anal.* Calcd. $C_{21}H_{18}O_8$: C, 63.32; H, 4.54. Found: C, 62.95; H, 4.50. NMR ($CDCl_3$) δ : 2.28, 2.40 (各 3H, s, $-OCO-CH_3$), 3.82, 3.91 (各 3H, s, $-OCH_3$), 6.50 (1H, s, C_8-H), 6.69 (1H, s, C_7-H), 7.16—7.81 (4H, m, $C_3'-C_6'-H$)。常法によりジアゾメタンでメチル化すると淡黄色針状晶の monomethyl ether を得。 mp 193—194°。 *Anal.* Calcd. $C_{18}H_{16}O_6$: 65.84; H, 4.90. Found: C, 65.49; H, 4.88. FeCl₃ で緑色。Gibbs 反応陰性。NMR ($CDCl_3$) δ : 12.50 (1H, s, C_5-OH)。また本物質 5 mg を 30% KOH 20 ml に溶かし、130°, 3 時間熱した後、分解物中酸性物質を TLC (担体: Silica gel G, 溶媒: ジオキサン, 酢酸, ベンゼン (25:4:90)), を行なうとサリチル酸と同一の R_f 値 $R_f=0.58$ を示し、FeCl₃ による呈色も同色の青色を呈した。

Skullcapflavone II E をベンゼンから再結晶すると mp 180—181° の微細な黄色柱状晶を得。 *Anal.* Calcd. $C_{10}H_{18}O_8$: C, 60.97; H, 4.84. Found: C, 61.29; H, 4.75. Mass Spectrum m/e : 374 (M^+). NMR (d_6 -DMSO) δ : 3.73, 3.77, 3.80, 3.98 ($4 \times 3H$, s, $(OCH_3)_4$), 6.32 (1H, s, C_3-H), 6.60 (2H, d, $J=8.5$ Hz, C_3' および $C_5'-H$), 7.30 (1H, t, $J=8.5$ Hz, $C_4'-H$), 10.10 (1H, s, $C_2'-OH$), 12.50 (1H, s, C_5-OH)。UV λ_{max}^{EtOH} nm (log ϵ): 267 (4.31), 312 (3.86), 350 (3.63)。 $\lambda_{max}^{EtOH+AlCl_3}$ nm (log ϵ): 277 (4.28), 325 (3.89), 394 (3.60)。Mg+HCl; 橙黄色。FeCl₃; 緑色。Gibbs 反応; 青色。SrCl₂; 黄色。diacetate (常法により製す.); 無色柱状晶。 mp 135—136.5°。 *Anal.* Calcd. $C_{23}H_{22}O_{10}$: C, 60.27; H, 4.84. Found: C, 60.27; H, 4.87. monomethyl ether (常法によりジアゾメタンでメチル化して製す.): 淡黄色柱状晶。 mp 157—158°。 *Anal.* Calcd. $C_{20}H_{20}O_8$: C, 61.87; H, 5.20. Found: C, 61.74; H, 5.20. Gibbs 反応陰性, FeCl₃; 青緑色。

2,6-Dihydroxy Benzoic Acid の NMR NMR (d_6 -DMSO) δ : 6.68 (2H, d, $J=8.4$ Hz, C_3 および C_5 -H), 7.32(1H, t, $J=8.4$ Hz, C_4 -H).

謝辞 本研究にあたり、貴重な材料の一部を提供された元本学教授 木村雄四郎博士に深謝します。また GLC を実施された道祖士勝彦氏、NMR を測定された木村由美子嬢、元素分析、IR, NOE, mass 等の測定をされた東京大学薬学部、日立製作所那珂工場応用開発課、日製産業精機部および本学薬学科分析学教室の諸氏に感謝します。