

原 著

Swertia Punicea の成分について

金森 久幸 坂本 征則*

Studies on the Components of *Swertia Punicea*

HISAYUKI KANAMORI and IKUNORI SAKAMOTO*

(Received Oct. 5, 1993)

One triterpenoid and two xanthenes were isolated from *Swertia punicea*. The structure of triterpenoid was proved to be oleanolic acid and those of two xanthenes were deccusatin and gentianacaulein on the basis of spectroscopic and chemical evidences. Swertiamarin, sweroside and gentiopicroside, bitter components of *Swertia japonica*, were found in the flowers of this plant, but amaroswerin and amarogentin, most bitter components of *Swertia japonica*, were not found by HPLC.

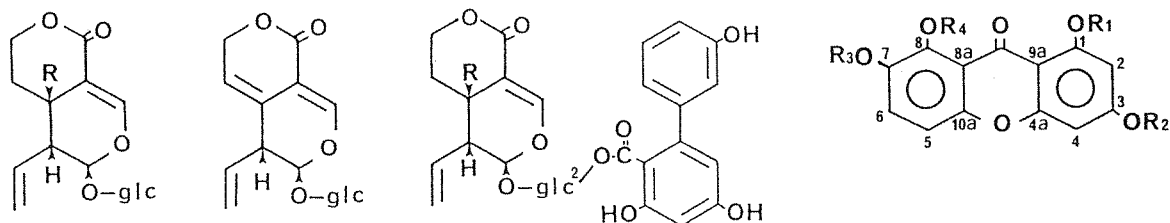
Key words: *Swertia punicea*, oleanolic acid, deccusatin, gentianacaulein

緒 言

我々は生薬の有効成分である配糖体の分析法の開発研究を行ってきた[1]. その一部にセンブリ (*Swertia japonica*) の有効苦味配糖体である swertiamarin (1), sweroside (2), gentiopicroside (3), amaroswerin (4), amarogentin (5) の5種の系統的分析法の開発もある[2]. その過程において新しいキサントン配糖体 isoswertianolin の単離, 構造決定を行ない, それに関連して既知の swertianolin, norswertianolin の構造を訂正した[3]. また, エーテル可溶画分より新

しいキサントン誘導体を得, この化合物が 5, 8-dimethylbellidifolin であることを明らかにした. さらに糖を結合しないキサントン誘導体は変異原性を示すが, その強さはメトキシル基の位置, 数によって異なることを明らかにした[4].

今回, タイの山中で採集し, センブリ属の *Swertia punicea* と同定された植物を広島市内で栽培したものについて成分検索を行い, センブリの代用種となりうるかどうかを検討したので報告する.



1 R=OH
2 R=H

3

4 R=OH
5 R=H

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
6	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH
II	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
III	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃
III-acetate	OH	OCH ₃	OAc	OCH ₃

Chart 1

*広島県福祉保健部業務課: Pharmaceutical Affairs Division, Welfare and Health Affairs Department, Hiroshima Prefectural Government

実験方法

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。NMR スペクトル：日本電子 GX-270 を用い、TMS を内部標準とし、 δ (ppm) 値で示した。MS は、日本電子 D-300 を用いた。HPLC は、東ソー CCPE (検出器 UV8000) を用いた。カラムクロマトグラフィー担体：silica gel 60 (70~230 mesh, Merck) を用いた。

1. 抽出, 分離

広島市内で栽培した全草 (花を除く) 32g のメタノールエキスに水を加えてエーテルで抽出し、エーテル画分 2.0g を得た。これをベンゼン-酢酸エチル (10:1) でシリカゲル 300g 用いてカラムクロマトグラフィーを行ない無色針状結晶 I 155mg 黄色針状結晶 II 60mg 及び III 86mg を得た。

I (oleanolic acid)

無色針状晶, mp > 300°C, EI-MS m/z 456 [M⁺], ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) δ : 14.8 (C-25), 15.6 (C-24), 16.6 (C-26), 17.8 (C-6), 22.5 (C-30), 22.7 (C-16), 23.1 (C-11), 25.3 (C-27), 26.7 (C-2), 27.0 (C-23), 28.0 (C-15), 30.1 (C-20), 31.9 (C-22), 32.3 (C-29), 32.5 (C-7), 33.2 (C-21), 36.5 (C-10), 37.8 (C-1), 38.2 (C-4), 38.6 (C-8), 40.8 (C-18), 41.2 (C-14), 45.3 (C-19), 45.6 (C-17), 46.9 (C-9), 54.7 (C-5), 76.7 (C-3), 121.3 (C-12), 143.6 (C-13), 178.1 (C-28)

II (deccusatin)

黄色針状晶, mp 149-152°C, EI-MS m/z 302 [M⁺], 287 [M-CH₃⁺], ¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ : 6.28 (d, J=2.3Hz, H-2), 6.44 (d, J=2.3Hz, H-4), 7.24 (d, J=9.3Hz, H-6), 7.57 (d, J=9.3Hz, H-5), ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) δ : 55.6 (q, 3-OCH₃), 56.6 (q, 7-OCH₃), 60.7 (q, 8-OCH₃), 91.7 (d, C-4), 96.5 (d, C-2), 103.0 (s, C-9a), 112.3 (d, C-5), 114.8 (s, C-8a), 121.2 (d, C-6), 147.8 (s, C-10a), 148.9 (s, C-7), 150.0 (s, C-8), 156.4 (s, C-4a), 162.6 (s, C-1), 165.9 (s, C-3), 180.1 (s, C-9)

III (gentianacaulin)

黄色針状晶, mp 197-199°C, EI-MS m/z 288 [M⁺], 270 [M-H₂O⁺], ¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ : 6.19 (d, J=2.3Hz, H-2), 6.33 (d, J=2.3Hz, H-4), 7.07 (d, J=9.3Hz, H-6), 7.33 (d, J=9.3Hz, H-5), ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) δ : 55.6 (q, 3-OCH₃), 60.7 (q, 8-OCH₃), 91.5 (d, C-4), 96.4 (d, C-2), 103.0 (s, C-9a), 112.6 (d, C-5), 114.8 (s, C-8a), 124.0 (d, C-6), 145.2 (s, C-

10a), 146.6 (s, C-7), 149.2 (s, C-8), 156.4 (s, C-4a), 162.6 (s, C-1), 165.7 (s, C-3), 180.1 (s, C-9)

III のアセチル化 III のピリジン溶液に無水酢酸を加え、120°C で 4 時間攪拌しながら反応させる。冷後、水を加えて反応を止めエーテルで抽出する。抽出物を 50% EtOH で再結晶する。

III-Acetate

無色針状晶, EI-MS m/z 330 [M⁺], 288 [M-COCH₃⁺], ¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ : 6.35 (d, J=2.3Hz, H-2), 6.55 (d, J=2.3Hz, H-4), 7.35 (d, J=9.2Hz, H-6), 7.55 (d, J=9.2Hz, H-7), ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) δ : 20.2 (q, Ac-CH₃), 56.0 (q, 3-OCH₃), 61.9 (q, 8-OCH₃), 92.4 (d, C-4), 97.2 (d, C-2), 103.3 (s, C-9a), 113.3 (d, C-5), 115.0 (s, C-8a), 130.3 (d, C-6), 151.1 (s, C-10a), 139.9 (s, C-7), 154.2 (s, C-8), 156.8 (s, C-4a), 162.8 (s, C-1), 166.4 (s, C-3), 168.8 (s, AC-CO), 179.8 (s, C-9).

2. HPLCによる花中の苦味物質の分析

Swertia punicea 及びセンブリの花のメタノールエキスを水に懸濁し、エーテル抽出後酢酸エチル、次いで1-ブタノールで抽出する。それぞれの画分 300mg をとり1-ブタノール画分は常法によりアセチル化後メタノール 10ml に溶解し高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分析する。

HPLC分析は、次の条件によった。カラム：TSK-GEL ODS 80T_M(4.6mm ID×15cm), 移動相：CH₃OH-H₂O = 45:55 (酢酸エチル画分), MeOH-H₂O = 1:1 (1-ブタノール画分), 流速：1ml/min (酢酸エチル画分), 0.8ml/min (1-ブタノール画分), カラム温度：30°C, 測定波長：UV 254 nm.

標準物質は前報[2]のものを用いた。1, 2, 3 はアセチル化体を用いた。

結果および考察

I は質量分析 (MS) スペクトルで m/z 456 に M⁺ を示すことから、広く植物界に存在するが、特にセンブリに多量に含有されるオレアノール酸と推定し、¹³C-NMR が標品と一致したことからオレアノール酸と同定した。

II は MS スペクトルで m/z 302 に M⁺, 287 に M-CH₃⁺ に帰属できるピークが観察されることから monohydroxy trimethoxy xanthone と考えられた。さらに、Table I に示した ¹H-NMR における 2, 4位および 5, 6位の芳香族プロトンの結合定数, ケミカルシフト, 及び Table II に示した ¹³C-NMR における各炭素のシグナルより 1-hydroxy 3, 7, 8-trimethoxy xanthone と推定した。この化合物はすでに我々[4]が swertianin

(6) のメチル化により誘導し、構造をそのアセチル化体の $^1\text{H-NMR}$ により明らかにした deccusatin (7) と各種スペクトルデータが一致した。II は *Swertia deccusata* 及び *Swertia chirata* から得られているとの報告がある[5,6].

III はMSスペクトルで m/z 288 に M^+ , 270 に $\text{M}-\text{H}_2\text{O}^+$ に帰属できるピークが認められ、II よりメチル基の一つ少ないキサントン誘導体と考えられる。また III をジアゾメタンでメチル化すると II が得られることからメトキシル基の結合位置は 3,7, 3,8 及び 7,8 位の三通りが考えられる。しかし, 3, 7-dimethoxy 体

はすでにセンブリより得られている 6 であり, この化合物とはスペクトルデータが一致せず, III は 3,8 あるいは 7, 8-dimethoxy 体のいずれかということになる。Table II は $^{13}\text{C-NMR}$ で 60.7 ppm とかなり低磁場にメトキシル基のシグナルが観察されるためこれを 8 位に結合したメトキシル基に帰属した。これらのことから III を 3, 8-dimethoxy 体と推定したが確証はなく, これを証明するため常法により無水酢酸-ピリジンでアセチル化を行ない, 得られた化合物の $^1\text{H-NMR}$ を測定した。Table I に示したようにアセチル化によりいずれのプロトンも期待したようなデシールドを受け

Table I $^1\text{H-NMR}$ Chemical Shifts in $\text{DMSO}-d_6$

Proton	II	III	III-Acetate
H-2	6.28 (d, $J=2.3\text{Hz}$)	6.19 (d, $J=2.3\text{Hz}$)	6.35 (d, $J=2.3\text{Hz}$)
H-4	6.44 (d, $J=2.3\text{Hz}$)	6.33 (d, $J=2.3\text{Hz}$)	6.55 (d, $J=2.3\text{Hz}$)
H-6	7.24 (d, $J=9.3\text{Hz}$)	7.07 (d, $J=9.3\text{Hz}$)	7.35 (d, $J=9.2\text{Hz}$)
H-7	7.57 (d, $J=9.3\text{Hz}$)	7.33 (d, $J=9.3\text{Hz}$)	7.55 (d, $J=9.2\text{Hz}$)

Table II $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts in $\text{DMSO}-d_6$

Carbon	II	III	III-Acetate
C-1	162.6	162.6	162.8
C-2	96.5	96.4	97.2
C-3	165.9	165.7	166.4
C-4	91.7	91.5	92.4
C-5	112.3	112.6	113.3
C-6	121.2	124.0	130.3
C-7	148.9	146.6	139.9
C-8	150.0	149.2	154.2
C-9	180.1	180.1	179.8
C-4a	156.4	156.4	156.8
C-8a	114.8	114.8	115.0
C-9a	103.0	103.0	103.3
C-10a	147.8	145.2	151.1
3-OCH ₃	55.6	55.6	56.0
7-OCH ₃	56.6		
8-OCH ₃	60.7	60.7	61.9
Ac-CH ₃			20.2
Ac-CO			168.8

アセチル基の導入された位置は明らかにできなかったが、Table II に示した ^{13}C -NMR では7位の炭素は大きく高磁場シフトし、逆に6, 8, 10a位は低磁場にシフトしていることからアセチル基は7位に導入されていることが明らかとなった。したがってIIIは1, 7-dihydroxy 3, 8-dimethoxyxanthone と結論された。IIIはリンドウ属から得られ gentianacaulein と命名されているが、[7] センブリ属からは初めて単離された例である。なお、先のエーテル抽出後の水層を酢酸エチル、次いで1-ブタノールで抽出した配糖体画分からは、苦味成分を含めて化合物は単離できていない。

Swertia punicea の花を除いた部分には、ほとんど苦味は感じられなかったが、花にはかなりの苦味が感じられたのでその苦味物質の検索を行なった。我々の開発した苦味成分の分析法[3]はメタノールエキスを水に懸濁し、エーテル抽出後酢酸エチルで抽出して強苦味成分の4, 5を転溶させ、次いで1-ブタノールで抽出して苦味成分の1, 2, 3を転溶させて、それぞれの画分をHPLCで分析する方法である。1, 2, 3はそのままでは非常に不安定なため、安定なアセチル化体として分離精製し、必要に応じて脱アセチルして用いている。今回の *S. punicea* の花について酢酸エチル画分はこの方法を準用したが、1, 2, 3の分析には、試料をアセチル化し、安定なアセチル化体を標準物質と

する条件を新たに設定して分析した。酢酸エチル画分からは4, 5は検出されなかったが、1-ブタノール画分からはFig. 1(a)に示すように1, 2, 3が検出された。同様に処理したセンブリの花のクロマトグラムをFig. 1(b)に示したが、同じ花でも苦味成分の存在比に相違のあることが判明した。

センブリの類似植物としては、日本薬局方で5局までセンブリとともに生薬の基源植物であったムラサキセンブリ (*Swertia pseudochinensis*) の他、イヌセンブリ (*Swertia tosaensis Makino*) などがある。センブリの主要な遊離キサントンは bellidifolin (1,5,8-trihydroxy 3-methoxy xanthone 約0.5%) や6(約0.2%)[4]で、ムラサキセンブリやイヌセンブリでも同様である。しかし、*S. punicea* ではII及びIIIが主で全く異なっていた。また、苦味成分ではセンブリが1~5を含むのに対しムラサキセンブリやイヌセンブリは4や5の強苦味成分を含まず、苦味が弱く薬用に適さないとされていることから *S. punicea* もセンブリの代用種として用いるのは不適当と考える。

本研究を行うにあたり *Swertia punicea* を提供いただきました広島大学近藤勝彦教授に深謝致します。

文 献

- [1]坂本征則, 広島県衛生研究所研究報告, **33**, 1-13 (1986).
- [2]I. Sakamoto, K. Morimoto, O. Tanaka and H. Inouye, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 25-30 (1983).
- [3]I. Sakamoto, T. Tanaka, O. Tanaka and T. Tomimori, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4088-4091 (1982).
- [4]H. Kanamori, I. Sakamoto, M. Mizuta, K. Hashimoto and O. Tanaka, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 2290-2295 (1984).
- [5]R. K. Chaudhuri and S. Ghosal, *Phytochemistry*, **10**, 2425-2432 (1971).
- [6]富森毅 小松曼者, 薬学雑誌, **89**, 410-417 (1969).
- [7]M. H. Kaldas, K. Hostettmann and O. Sticher, *Phytochemistry*, **20**, 443-446 (1981).

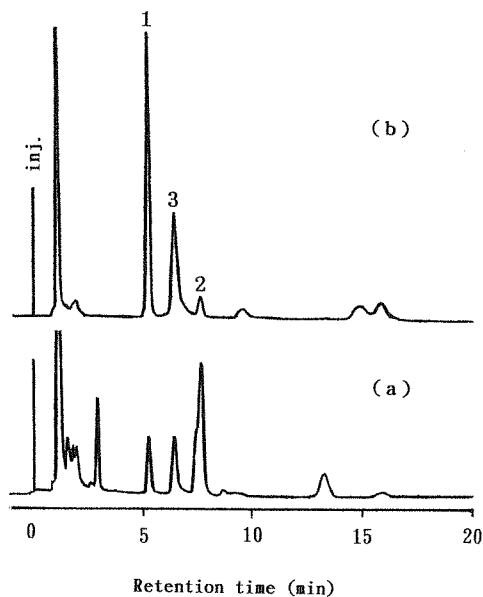


Fig.1 High Performance Liquid Chromatograms of Acetylated 1-Butanol Extracts of *Swertia punicea* (a) and *Swertia japonica* (b)
 Column: TSK-GEL ODS 80T_M. Mobile phase: MeOH-H₂O(1:1). Flow rate: 1ml/min. Temp.: room temperature. Detecor: UV 254nm.
 1;swertiamarin-4Ac, 2;sweroside-4Ac, 3;gentiopicroside-4Ac