

厚朴中のマグノロールおよびホオノキオールの 高速液体クロマトグラフィーによる定量

Quantitative Determination of Magnolol and Hōnokiol in Magnoliae Cortex by High Performance Liquid Chromatography

桂 英二 山岸 喬 矢原 正治*
西岡 五夫**

Eiji Katsura, Takashi Yamagishi, Shoji Yahara* and Itsuo Nishioka**

緒 論

厚朴は鎮静、鎮痛作用があるとされ、神経性の消化器疾患その他の治療の目的で、半夏厚朴湯、大承気湯などの漢方処方に配合される生薬である。基源植物は、日本産はホオノキ *Magnolia obovata* THUNB.、中国産はカラホウ *M. officinalis* REND. et WILS. で、ともにモクレン科 (Magnoliaceae) の植物であり、その樹皮が用いられる。

厚朴の成分についてはすでに多くの報告があり、magnocurarine¹⁾、liriodenine²⁾ などのアルカロイドの他に、 β -eudesmol³⁾、magnolol⁴⁾、hōnokiol⁵⁾ などが報告されている。このうち magnolol および hōnokiol については種々の薬理作用が調べられており、筋弛緩作用⁶⁾、抗けいれん作用⁶⁾、拘束水浸ストレス潰瘍抑制作用⁷⁾などを有するところが報告されている。

magnolol および hōnokiol は樹皮から見い出された成分であるが、藤田ら⁸⁾はこれら 2 種の化合物が樹皮以外に花柄および根に存在することを報告している。しかし、樹皮の採取部位や産地の違う厚朴について、これらの成分を定量した報告はない。

今回、著者らは樹皮の採取部位や産地の違いにより、magnolol および hōnokiol 含量にどのような差違があるかに興味を持ち、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で厚朴中の magnolol および hōnokiol を定量したので報告する。

実験の部

1. 試料

部位別試料：(I) 北海道当別町において(1984.4月)、高

さ 13.5m、根元の直径 25cm、24 年生のホオノキを Fig.1-a に示すように、根元から 1 m おきに 5 cm ずつ樹皮を採取した。また、枝の樹皮も採取し乾燥して試料に用いた。(試料 No.1 ~ 19) (II) 道内 6ヶ所において(1984.3~4月)、Fig.1-b に示す根元(A)、枝元(B)、枝(C)より樹皮を採取し、乾燥して試料に用いた。(試料 No.20: 名寄産、No.21: 歌登産、No.22: 梶加内産、No.23: 新十津川産、No.24: 新得産、No.25: 津別産)

市販品：橋本天海堂(試料 No.26) および大阪大学米田該典博士(試料 No.27) より提供された 2 試料を用いた。

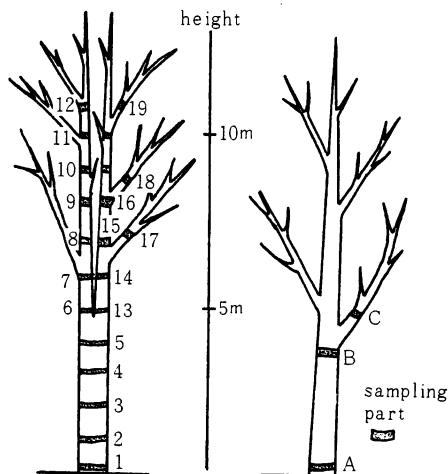


Fig. 1 Sampling Parts of Bark

a. sample 1-19

b. sample 20A-25C

* 熊本大学薬学部 ** 九州大学薬学部

2. 標準品の調製

magnololおよびhōnokiolは藤田ら⁵⁾の方法に従って厚朴から分離、同定し、定量の標準品に用いた。これらの標準品の物理恒数は次のとおりであった。

magnolol: mp 102~103°, Mass Spectrum m/e 266(M⁺)

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 294 nm (ϵ , 8×10^3)

hōnokiol: mp 87~88°, Mass Spectrum m/e 266(M⁺)

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 294 nm (ϵ , 8.2×10^3)

3. 厚朴中の magnolol および hōnokiol の定量

(1) 試料溶液の調製

各試料を48メッシュのふるいを通過する大きさに粉碎して、500mgを精密に秤量し、エーテル30mlを加えて30分間加熱還流した。抽出液はろ過し、残渣をエーテルで洗い、メスフラスコで50mlにメスアップして試料溶液とした。

(2) HPLCの条件

機器：日立638型高速液体クロマトグラフ

データ処理機：日立833形クロマトデータ

処理装置

カラム：Nucleosil 5C₁₈ (4×250mm)

移動相：CH₃CN-H₂O-AcOH (50:50:1)

流速：1.0ml/min

検出波長：294nm

注入量：5μl

(3) 検量線の作成

magnolol および hōnokiol を各々 5mgずつ精密に量り、10mlのメタノールに溶解した。この溶液をメタノールで希釈して各濃度の標準溶液を調製した。これらの標準溶液 5μl を上記の条件でHPLC に注入し、ピーク面積と標準品の濃度から検量線を作成した。

(4) magnolol および hōnokiol の添加回収率

試料500mgに magnolol 5.0mg および hōnokiol 1.0mgを添加して、上記の条件で magnolol および hōnokiol を抽出後定量し、その回収率を求めた。

実験結果および考察

1. 抽出条件の検討

抽出溶媒としてエーテル、メタノールおよびアセトンを用いて、時間による抽出効率を検討し、Fig. 2 に示す結果を得た。エーテルを抽出溶媒に用いた時が最も magnolol と hōnokiol の定量値が高く、30分以上抽出を続けてもその値は変らなかった。

また、同一試料について 1 回と 2 回抽出した場合について定量値を比較したが、両者の差は 1%以下であった。このことから、magnolol および hōnokiol の抽出条件は、エーテルで30分間加熱抽出し、抽出回数は 1 回とした。

この抽出条件で、magnolol および hōnokiol の添加回収率を求めたところ、3回の平均値は、magnolol は 96.4% hōnokiol は 98.6% と高い値を示した。

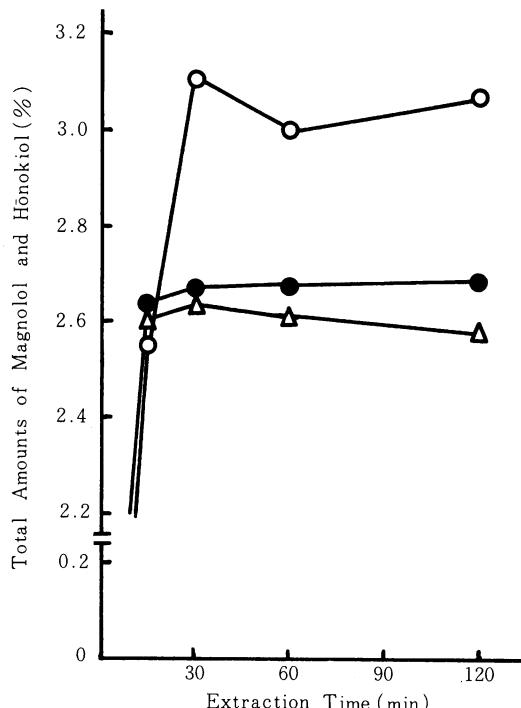


Fig. 2 Effects of Extraction Time on the Amounts of Magnolol and Honokiol Extracted from Magnolia cortex with Various Solvents
Sample : No.26
○ : Ether, ● : Methanol, △ : Acetone

2. 検量線の作成

magnolol および hōnokiol いずれも 25~500μg/ml の濃度範囲で、原点を通る直線となった。

3. magnolol および hōnokiol の HPLC

試料No.1のHPLCのクロマトグラムはFig. 3 に示すとお

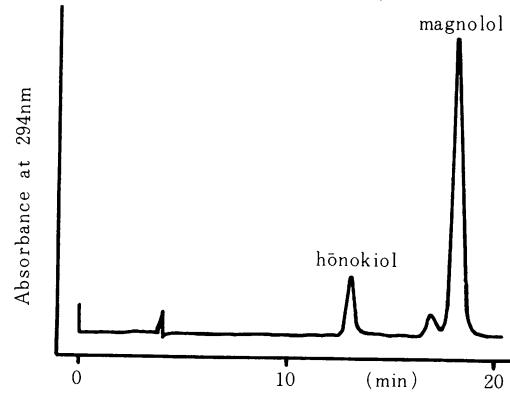


Fig. 3 HPLC Chromatogram of Ether Extract of Magnolia cortex Sample : No. 1

りで、逆相系の担体 Nucleosil 5C₁₈とアセトニトリル-水-酢酸の溶媒系の組合せにより良好な分離を示し、20分以内にそれを分離定量できることを認めた。

4. 厚朴中の magnolol および hōnokiol 含量

ホオノキの各部位の樹皮および市販品厚朴について、magnolol および hōnokiol を定量した結果 Table 1 に示す

Table 1 Contents of Magnolol and Hōnokiol in Various Parts of Magnoliae Cortex

Sample No	Habitat	Magnolol (%)	Hōnokiol (%)
1	Tohetsu	4.82	0.74
2		3.91	0.54
3		2.59	0.35
4		2.41	0.31
5		2.68	0.38
6		1.89	0.26
7		2.34	0.35
8		1.90	0.30
9		1.98	0.32
10		2.23	0.33
11		1.76	0.26
12		2.03	0.31
13		2.92	0.41
14		1.95	0.29
15		2.10	0.33
16		1.84	0.30
17		1.96	0.28
18		2.36	0.36
19		1.69	0.24
20-A	Nayoro	2.60	0.96
A		0.93	0.31
A		1.97	0.63
21-A	Utanobori	2.72	0.77
B		2.28	0.54
C		1.84	0.44
22-A	Horokanai	2.62	0.64
B		2.25	0.49
C		1.94	0.46
23-A	Shintotsukawa	3.76	0.82
B		2.62	0.52
C		2.42	0.54
24-A	Shintoku	1.98	0.72
B		1.58	0.48
C		1.06	0.44
25-A	Tsubetsu	2.52	0.40
B		1.22	0.16
C		1.02	0.16
26	C.A.	2.60	0.51
27	C.A.	0.69	0.23

C.A. : commercial article

ように、magnolol および hōnokiol 含量は全試料平均それぞれ 2.20 (0.69~4.82)、0.43 (0.16~0.96) % であった。北海道産厚朴は magnolol および hōnokiol を平均 2.23、0.43% 含み、産地により有意な差は認められなかった。また北海道産厚朴は市販品厚朴と比べても、magnolol と hōnokiol の含量に顕著な差は認められなかった。しかし、市販品の試料数が少ないため、今後さらに多くの試料についても分析する必要があると思われる。

部位別試験では、magnolol および hōnokiol 含量はいずれも根元で一番高い値を示し、高さ 2 m 以上の部位では両者ともほぼ一定量が含まれ、根元と比べると約 1/2 の含量であった。(試料 No. 1 ~ 19) 試料 No. 20 ~ 25 についても、magnolol および hōnokiol 含量は根元で一番高い値を示し、試料 No. 1 ~ 19 と同様の傾向であった。

結 語

1) HPLCによる定量の結果、北海道産厚朴の magnolol および hōnokiol 含量はそれぞれ 0.93~4.82% (平均 2.23 %), 0.16~0.96% (平均 0.43%) で、産地により有意な差違は認められなかった。

2) 部位別試験では、magnolol および hōnokiol は根元に一番多く含まれ、高さ 2 m 以上の部位では両者ともほぼ一定量が含まれ、その含量は根元の約 1/2 であった。

本研究にあたり、貴重な試料を御恵与いただいた、北海道生薬公社、柄本天海堂ならびに大阪大学 米田該典博士に深謝いたします。

文 献

- 富田真雄他：薬誌、71, 1069 (1951)
- 伊藤一男他：薬誌、86, 124 (1966)
- 藤田路一他：薬誌、93, 415 (1973)
- 杉井善雄：薬誌、50, 183 (1930)
- 藤田路一他：薬誌、93, 422 (1973)
- K. Watanabe, et al. : Chem. Pharm. Bull., 21, 1700 (1973)
- 渡辺和夫他：和漢薬シンポジウム、14, 1 (1981)
- 藤田路一他：薬誌、93, 429 (1973)

英 文 要 約

Quantitative Determination of Magnolol and Hōnokiol in Magnoliae Cortex by High Performance Liquid Chromatography

Eiji Katsura, Takashi Yamagishi, Shoji Yahara*
and Itsuo Nishioka**

Magnolol and hōnokiol in Magnoliae Cortex collected in Hokkaido were determined by high performance liquid chromatography. The contents of magnolol and honokiol were found to be 0.69–4.82% (average 2.20%), 0.16–0.96% (average 0.43%), respectively. There was no significant difference in the contents of magnolol and hōnokiol in Magnoliae Cortex collected in Hokkaido.

Furthermore, the distribution of these two compounds in barks of *Magnolia obovata* was examined. The contents of magnolol and hōnokiol in the lowest part of the main stem were found to be twice compared with them in other parts.

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University

** Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University