

高速液体クロマトグラフィーによる ゲンチアナ中のアマロゲンチンの定量

Quantitative Determination of Amarogentin in Gentianae
Radix by High Performance Liquid Chromatography

林 隆章 山岸 喬

Takaaki Hayashi and Takashi Yamagishi

ゲンチアナはリンドウ科 (Gentianaceae) の *Gentiana lutea* L. の根および根茎を乾燥したもので、苦味健胃薬として用いられている重要な生薬の一つである。現在、ゲンチアナはヨーロッパから輸入されているが、近年、北海道でも試験的に栽培されており、輸入品との品質の比較に興味が引かれる。

一般にゲンチアナは苦味の強いものが良品とされているが、その苦味成分は Gentiopicroside (Ge), Amarogentin (Am)などのセコイリドトイド配糖体^{1~3)}である。これらのうち Ge が主成分であるが、微量成分である Am は Ge の約4,800倍の苦味を有する⁴⁾。このことから、ゲンチアナの苦味のはほとんどは Am によると推察され、Am の定量によりゲンチアナの苦味を化学的に評価することができると考えられる。これまで我々は、北海道産ゲンチアナの化学的品質評価を目的として二波長薄層スキャナーによって Am を定量してきた⁵⁾。一方、ゲンチアナと同じリンドウ科のセンブリに含まれる Am 等のセコイリドトイド配糖体の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分析法が坂本らにより報告されている⁶⁾。HPLC では、試料溶液を前処理することなく分析でき、分離能が高く、分析時間が短かい利点があるので、今回、北海道産および輸入品のゲンチアナ中の Am を坂本らの方法に従って HPLC を用いて定量した。

北海道産のゲンチアナは北海道立北見農業試験場および札幌近郊で栽培された *Gentiana lutea* L. から調製したものと、また輸入品はフランス産 (1980, 1981年、三国株式会社) および西ドイツ産 (1973年、ミュンヘン市場品) を試料に用いた。48 メッシュ以下に粉碎した各試料 3.0 g を精密に秤量し、50 ml の共栓付遠沈管に入れ、メタノール 30 ml を加え、30 分間激しく振とうして抽出した。これを遠心分離後 (3,000 rpm, 10 分間)、上清を HPLC の試料溶液とした。

HPLC の測定条件は下記のとおりである。

機器：日立655型高速液体クロマトグラフ

カラム：Nucleosil 5C₁₈ (4 φ × 250 mm)

流速：1.0 ml/min

移動相：CH₃CN : H₂O = 23 : 77

測定波長：254 nm

注入量：5 μl

データ処理装置：日立 D-2000型データ処理装置

ゲンチアナより分離精製した Am 標準品約 2 mg を精密に量り、メタノール 10 ml に溶かし、その一部をさらにメタノールで希釈して、0.04~0.20 mg/ml 各種濃度の標準溶液を調製した。標準溶液の 5 μl をカラムに注入し、得られたクロマトグラムのピーク面積より検量線を作成した。Am の検量線は 0.20~1.00 μg の範囲で、原点を通る直線となった。

二波長薄層スキャナー法においては試料溶液の前処理が必要であるが、HPLC 法においてはメタノール抽出液を直接 HPLC で分析することが可能であり、Am は保持時間 14 分に他成分と良く分離したピークとして認められた。そこで、抽出溶媒および抽出回数について検討した。抽出溶媒の検討のため、試料約 3.00 g を精密に秤量し、酢酸エチル、メタノール、70% メタノール各々 30 ml を抽出溶媒とし 30 分間振とう抽出した。その結果、メタノールが他の溶媒に比べ高い定量値を示した (定量値、酢酸エチル 0.00 mg/g、メタノール 0.46 mg/g、70% メタノール 0.28 mg/g)。また、抽出回数を 1, 2 および 3 回と変えて定量値を比較したところ、抽出回数 1 回で定量値が一定となり、それ以上メタノール抽出を繰返しても定量値は変化しなかった (1 回抽出 0.46 mg/g, 2 回抽出 0.44 mg/g, 3 回抽出 0.45 mg/g)。

道産品の Am 定量値は表 1 に示すように、0.22~1.58 mg/g (平均 0.52 mg/g) であり、試料によりその含量に大きな差が認められた。輸入品の Am 定量値は 0.04~0.17 mg/g で

表1 ゲンチアナ中のAmarogentin含量

試 料	Amarogentin(mg/g)
北海道産(北 見, 5年生)	0.42
北海道産(北 見, 5年生)	0.35
北海道産(北 見, 5年生)	0.39
北海道産(北 見, 5年生)	0.23
北海道産(北 見, 8年生)	0.25
北海道産(北 見, 8年生)	0.28
北海道産(北 見, 8年生)	0.34
北海道産(北 見, 8年生)	0.22
北海道産(札 幌, 2年生)	0.55
北海道産(札 幌, 2年生)	1.58
北海道産(留 寿 都, 3年生)	1.01
北海道産(留 寿 都, 3年生)	0.56
輸 入 品(フランス, 1980年)	0.09
輸 入 品(フランス, 1981年)	0.04
輸 入 品(西ドイツ, 1973年)	0.17

あり、道産品に比較して低い定量値を示したが、これは原植物の違いによると思われる。

一方、Ge は不安定な化合物であり、すでに熱や日光により保存中に分解することが知られており⁷、Ge と類似構造の Am も同様に分解すると推定される。また、調製加工時に湯通ししたものは Am 含量の低いことが認められている⁵ことから、輸入品中の Am 含量が調製加工時あるいは保存中に低下した可能性もある。今後、Am 含量を指標として、道産品について調製加工、保存法について検討する必要がある。

本研究にあたりゲンチアナの試料を御提供いただいた北海道立北見農業試験場ならびに三国株式会社の関係各位に深謝いたします。

文 献

- 1) H. Inoue, Y. Nakamura : Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 18, 1856 (1970)
- 2) H. Inoue, S. Ueda, Y. Nakamura : Tetrahedron Letters, 1967, 3221
- 3) 井上博之、中村有伸：薬誌, 91, 755 (1971)
- 4) H. Wangner et al. : Deutsche Apotheker-Zeitung, 34, 1233 (1975)
- 5) 山岸喬、本間正一：道衛研所報, 24, 27 (1977)
- 6) 坂本征則他：日本薬学会第101年会講演要旨集, p466 (1981)
- 7) 林輝明：薬誌, 96, 356 (1976)