

- edn (2007).
- 18) Aleu J., Hanson J. R., Galán R. H., Collado I. G., *J. Nat. Prod.*, **62**, 437-440 (1999).
 - 19) Nakahara S., Kumatani K., Kameoka H., *Phytochemistry*, **14**, 2712-2713 (1975).
 - 20) Kobayashi H., Oguchi H., Takizawa N., Miyase T., Ueno A., Usmanhani K., Ahmad M., *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 3309-3314 (1987).
 - 21) Li L., Tsao R., Liu Z., Liu S., Yang R., Young J. C., Zhu H., Deng Z., Xie M., Fu Z., *J. Chromatogr. A*, **1063**, 161-169 (2005).
 - 22) Afifi M. S., Lahloub M. F., El-Khayaat S. A., Anklin C. G., *Planta Med.*, **59**, 359-362 (1993).
 - 23) Nishibe S., Noguchi Y., Yoshida A., Kawamura T., *Natural Medicines*, **55**, 272-275 (2001).

ハトムギの「日本薬局方」収載のための基原と生薬の性状の規格

寺林 進^a, 酒井英二^b, 山路弘樹^c, 近藤健児^d, 川原信夫^e, 合田幸広^f

^a横浜薬科大学漢方薬学科 245-0066 神奈川県横浜市戸塚区俣野町601

^b岐阜薬科大学薬草園研究室 502-8585 岐阜市三田洞東5-6-1

^c(株) ツムラ生薬研究部 300-1192 茨城県稲敷郡阿見町吉原3586

^d国立医薬品食品衛生研究所生薬部 158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1

Authentication and Standardization of Botanical Origin and Morphology of Coix Fruit in the Japanese Pharmacopoeia

Susumu TERABAYASHI^a, Eiji SAKAI^b, Hiroki YAMAJI^c, Kenji KONDO^d,
Nobuo KAWAHARA^e and Yukihiro GODA^f

^aLaboratory of Medicinal Resources, Department of Kampo Pharmacy, Yokohama College of Pharmacy,
601 Matano-cho, Totsuka, Yokohama, Kanagawa, 245-0066 JAPAN;
E-mail: s.terabayashi@hamayaku.ac.jp

^bLaboratory of Herbal Garden, Gifu Pharmaceutical University,
5-6-1, Mitahora-higashi, Gifu, 502-8585 JAPAN;

^cBotanical Raw Materials Research Department, Tsumura & Co.,
3586, Yoshiwara, Ami-machi, Inashiki-gun, Ibaraki, 300-1192 JAPAN;

^dDivision of Pharmacognosy and Phytochemistry, National Institute of Health Sciences
1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo, 158-8501 JAPAN

(Received on September 1, 2008)

Definition (botanical origin) and description (morphology etc.) of Coix fruit in the Japanese Pharmacopoeia were presented for authentication and standardization of crude drug. The crude drug, Coix fruit is defined as a fruit enveloped with an involucre of *Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* Stapf. The smell, taste, and external morphological and anatomical features of Coix fruit were described based mainly on market samples. The term of organ enveloping fruit is also discussed.

Key words: Coix fruit, *Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* Stapf, fruit, involucre, morphology.

ハトムギの苞鞘に包まれた果実は、消炎、排膿、利尿などの作用があり民間薬として疣取りなどに用いられてきた。またハトムギ茶など健康食品としての利用も多い。ハトムギの種子は薏苡仁(よくいんにん)と呼ばれ漢方では利尿、去風湿、清熱作用を目的に麻杏薏甘湯、薏苡仁湯などに配合される。

薏苡仁のほうは「日本薬局方」に収載されているが、ハトムギの苞鞘に包まれた果実は、

「日本薬局方」の下位に位置づけられる公定書規格である「日本薬局方外生薬規格1989」に「ハトムギ」の名で収載されている(日本薬局方解説書編集委員会 2006, 厚生省薬務局審査第二課監修 1989)。

「ハトムギ」も医薬品として重要とされる生薬の一つとして「日本薬局方」収載の候補となり、厚生労働省局方部会の下位に位置する局方原案審議委員会の一つである生薬等委

員会で規格案（基原、生薬の性状、確認試験、理化学試験など）が検討されてきた。ここでは、規格のうち基原（原植物と薬用部位）および生薬の性状（外観、内部形態、におい、味）について生薬等委員会として検討した結果を報告する。生薬の性状については市場流通品や薬草園栽培品ハトムギの観察結果を基に規格案を作成した。

材料と方法

本研究に用いたハトムギの国内市場流通品は表1に示すとおりである。それらについて外部形態、におい、味、内部形態を調べた。外部形態は肉眼で、内部形態は、凍結マイクロームで横切片、縦切片を作成し、光学顕微鏡で観察した。

結果と考察

1. 基原

生薬の基原は、原植物と薬用部位で定義される。生薬ハトムギの場合、原植物はハトムギで、薬用部位は通常「苞鞘」と呼ばれる苞が変形特殊化した葉の器官およびそれに包まれる穎果（イネ科の果実は数枚の穎に包まれ、穎果と呼ばれる）及びその他の器官である。

原植物のハトムギは、Romanetが1881年に *Coix Ma-Yuen* Romanet と命名し記載したが (Bull. Soc. Acclimat., Ser. II, 8: 442, 1881), その後 Stapf が1896年にジュズダマ *Coix lacryma-jobi* Linné の変種として組み替え、*Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* (Romanet) Stapf としたものである (Hook. f., Fl. Brit. Ind. 7: 100, 1896)。ジュズダマとは花序が垂れる、苞鞘がくだけやすいなどの点で区別される。ハトムギの学名は *Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* (Romanet) Stapf となるが、『日本薬局方』では慣習上 () でくくられた命名者は表記しないので『日本薬局方』には *Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* Stapf として記載する。また命名者は慣習上簡略化しないので Linné とする。

「苞鞘」と呼ばれる部分の用語については文献によって表記が異なる。『日本薬局方』では何を使用するのが適切か考察した。表2に示すとおり、日本の主要な植物分類学の図鑑では一般に「苞鞘」が用いられている。公

的な文書についてみると、文部科学省の『学術用語集』の中にはこの用語はないが、『日本薬局方外生薬規格1989』では「包しよう」、『農林水産省、種苗登録特性調査表』の中では「鞘状苞」、厚生省薬務局監修の『薬用植物栽培と品質評価2』では「苞鞘」と「苞穎果」が用いられている。

文部科学省の『学術用語集』になく、植物形態学会や植物分類学会での用語の統一がない状況では植物形態学、植物分類学の分野で慣用的に用いられているものを採用するのが良いと考える。この観点からは「苞鞘」とするのが適切で、本用語は藤田や佐竹らのハトムギに関する論文でも使われ、また公的出版物である『薬用植物、栽培と品質評価2』でも用いられており『日本薬局方』に使用する用語として問題はないと考える。

苞鞘の英文表記については国内外の文献において、spathe, involucre, involucral bract, sheathing bract, bract sheath などがあり統一されていない (表2)。これらの表記はいずれも間違いとは言えない。日本の主要な文献で用いられている英文表記即ち、『日本薬局外生薬規格1989』の英語版である『The Japanese Standards of Crude Drugs (Herbal Medicines) 1989』の bract sheath, 『農林水産省、種苗登録特性調査表』の sheathing bract, 大井の『日本植物誌』英文版の『Flora of Japan』にある involucral bract, 佐竹らの『ジュズダマ属生薬の研究、第1報 輸入「ハトムギ」の栽培特性について』の中で用いられた involucre のいずれかを採用するのが良いと考える (表2)。ここでは involucre を採用する。

2. 生薬の性状

生薬の性状とは、外観、内部形態、におい、味をさす。国内市場流通品のハトムギを入手しそれらの性状を調査した。

ハトムギ国内市場流通品の性状を調査した結果は以下に記すとおりである。ハトムギの苞鞘及び果実の外観、内部形態については既に藤田の詳細な報告があり (藤田 1937a, 1937b)、今回の市場品の調査では形態学的に新たな知見といえるものは得られなかった。

表1. ハトムギ調査標本リストおよびその外観

標本番号*	産地、又は市場	入手ルート	入手年月日	外形	長さ (mm)**	幅 (mm)**	厚さ (mm)**	色
HA 050801	中国、遼寧	日本生薬連合会	2005	(狭卵球形~) 卵球形	9-12 (9.9)	5-7 (6.0)	4-6 (5.0)	(黒褐色~) 褐色~灰褐色
HA 050802	中国、貴州	日本生薬連合会	2005	卵球形	7-10.5 (9.2)	5-7 (6.1)	4.5-6 (5.0)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
HA 050803	中国、貴州	日本生薬連合会	2005	卵球形	8-10 (9.5)	5.2-7.5 (6.4)	4.5-7 (5.5)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
HA 050804	中国、遼寧	日本生薬連合会	2005	卵球形	8-12 (9.9)	5-7 (5.9)	4-6 (5.1)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
HA 050805	中国、広西	日本生薬連合会	2004	卵球形	8-12 (9.5)	5.2-7.5 (6.2)	4.5-6.5 (5.2)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
HA 050806	中国、広西	日本生薬連合会	2005	卵球形	7-11.5 (9.3)	5.8-7.5 (6.3)	4.5-6 (5.2)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
HA 050807	中国、遼寧	日本生薬連合会	2005	(狭卵球形~) 卵球形	8-12 (9.7)	5-7 (6.1)	4.5-6 (5.2)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
HA 050808	中国、湖南	日本生薬連合会	2001	卵球形	8-11 (9.4)	5-8.5 (6.5)	4-7 (5.4)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
HA 050809	中国、湖南	日本生薬連合会	2002	卵球形	8-11 (9.1)	5.5-7.5 (6.3)	4.5-6.5 (5.3)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
HA 050810	中国、湖南	日本生薬連合会	2003	卵球形	8-11 (9.6)	5-7 (6.2)	4.5-6 (5.3)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
HA 050811	ベトナム	日本生薬連合会	2004	卵球形	9-13 (10.9)	6-7.5 (6.6)	5-6.5 (5.6)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
HA 050812	中国、湖南	日本生薬連合会	2004	卵球形	8-11.5 (9.9)	6-8.5 (7.4)	5-7 (6.0)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
HA 050813	中国、湖南	日本生薬連合会	2005	卵球形	7-11 (9.3)	5-8 (6.2)	4-6 (5.0)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
HA 050814	タイ	日本生薬連合会	2002	卵球形	10-14 (11.7)	6-8.5 (7.6)	5.5-7.5 (6.3)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
THS 55549	ツムラ薬草園	ツムラ	不明	卵球形	8.5-10.5 (9.3)	5-6 (5.4)	4.5-5 (4.8)	褐色
THS 59960	中国	北京中薬研究所	1984. 4.13	卵球形	7-10 (8.8)	4.5-6.5 (5.7)	4-5 (4.9)	黒褐色~褐色 (~灰褐色)
THS 58500	アラジル	山本薬品	1983. 2.21	卵球形	9-12 (10.4)	5-6 (5.6)	4.5-5.5 (4.8)	褐色~灰褐色
THS 58710	中国、湖北	山本薬品	1983. 6.11	卵球形	8-10 (8.7)	5-6 (5.3)	4-5 (4.6)	褐色~灰褐色
THS 59093	北朝鮮	朝医薬基盤研究所	1983.11.19	卵球形	7-13 (10.0)	4.5-6 (5.6)	4-5 (4.9)	褐色~灰褐色
THS 59097	鳥取県	朝医薬基盤研究所	1983.11.19	卵球形	9-11 (9.7)	5-6 (5.4)	4-5 (4.6)	褐色~灰褐色
HYCP 360	中国、遼寧	柴田承二	2006.11.10	卵球形	9-12 (10.1)	5-6.5 (5.8)	5-5.5 (5.1)	褐色~灰褐色

*証葉標本。HA：国立医薬品食品衛生研究所生薬部，THS：朝医薬基盤研究所生薬部，HYCP：横浜薬科大学薬学薬用資源学研究室。
 **長さ、幅、厚さの()内は平均値。

表2. ハトムギの果実を包む器官についての表記

文献	著者	出版	発行年	用語和文表記	用語英文表記
原色日本植物図鑑 草本編下	小山藏夫	保育社	1973	苞鞘	
日本の野生植物 草本I 単子葉類	大井次三郎	平凡社	1982	苞鞘	
日本植物誌	大井次三郎	至文堂	1953	苞鞘 (ジュズダマ属の記載)	
				苞鞘 (ハトムギの記載)	
Flora of Japan (大井の日本植物誌の英語版)	J. Ohwi	Smithsonian Inst.	1965		involucral bract
新日本植物誌	大井次三郎	至文堂	1983	苞鞘 (ジュズダマ属の記載)	
農林水産省 種苗登録特性調査表	北川政夫		1996	苞鞘 (ハトムギの記載)	
日本薬局外生薬規格1989	農林水産省		1989	鞘状苞	sheathing bract
The Japanese Standards of Crude Drugs (Herbal Medicines) 1989	厚生省薬務局監修	薬事日報社	1989	包しよう	bract sheath
(日本薬局外生薬規格1989の英語版)	厚生省薬務局監修	国際厚生事業団			
薬用植物栽培と品質評価 2	厚生省薬務局監修	薬事日報社	1993	苞鞘, 苞鞘果	
漢薬薏苡仁の生薬学的知見 (其一) (其二)	藤田路一	植物研究雑誌 vol.13, 683, vol.13, 758	1937	苞鞘	
ジュズダマ属生薬の研究. 第1報	佐竹元吉 他	衛生試験所報告100号, 212	1982	苞鞘, 総苞	involucre
輸入「ハトムギ」の栽培特性について					
Flora of Okinawa and the southern Ryukyu Islands	E. H. Walker	Smithsonian Inst.	1976		spathe
Flora of Java	M. Froiderville	N. V. Noordhoff	1968		spathe
Flora of Taiwan	Lin W.-C.	現代関係出版社	1978		involucre
Flora Europaea	T. G. Tutin	Cambridge Univ. Press	1980		involucre

1) 外観 (表1, 図1, 2)

外形：苞鞘の外形は、丸みの程度、先の尖り具合などロット内及びロット間で多少変異は認められたが、(狭卵球形～)卵球形であった。

大きさ：調査したロットのうちタイ産は他のロットに比し大きかった。全サンプルは、

長さ7～14 mm, 幅5～9 mm, 厚さ4～8 mmの範囲におさまっていた。

色：外面は、暗いものから明るいものまでロット内及びロット間で変異が認められたが、全体的に見ると黒褐色～褐色～灰褐色を呈していた。

形状：外面にはつやがあり、細かい縦じま

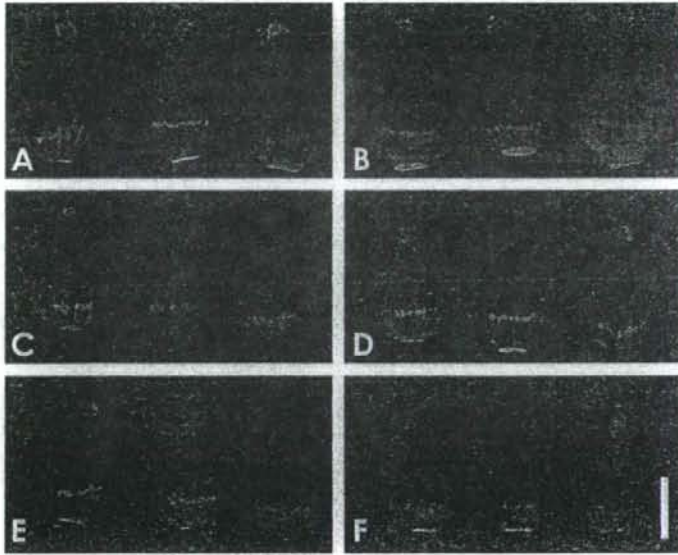


図1. ハトムギ, 国内流通品. A. ベトナム産 (HA 050811). B. タイ産 (HA 050814). C. 貴州産 (HA 050803). D. 湖南産 (HA 050812). E. 広西産 (HA 050806). F. 遼寧産 (HA 050804). スケールバー: 5 mm.

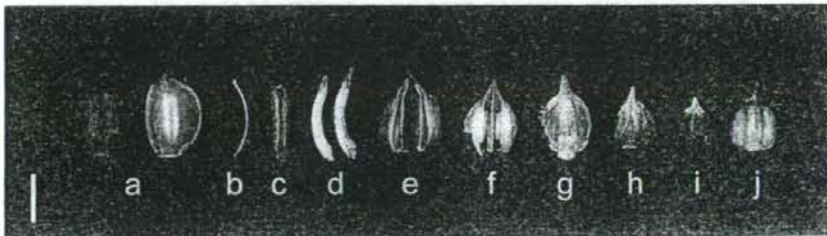


図2. ハトムギの苞鞘内部. a. 苞鞘. b. 雄性小穂をつける花柄. c. りん片 (苞葉の変形したもの). d. 退化した小穂. e. 第一苞穎. f. 第二苞穎. g, h, i. 内側の3枚の穎. j. 果実. スケールバー: 5 mm.

を認めた。上端はややとがり、その付近に1個の斜めの孔があり、この孔からときに雄性小穂が脱落したあとの花柄がとびだしており、他端には果柄の跡がある。苞鞘は爪で破碎することができる。

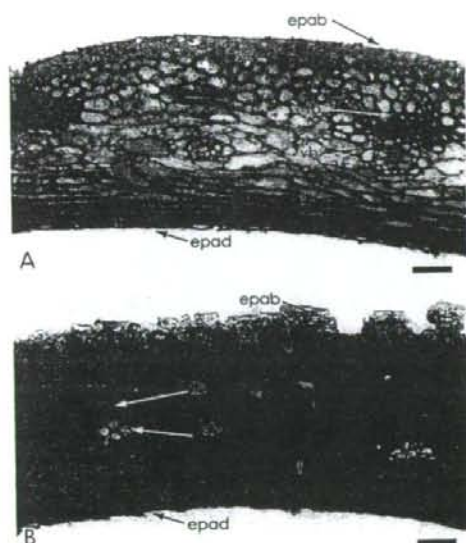


図3. ハトムギの苞鞘の横切片鏡検写真。A. 未成熟期。B. 成熟期。epab. 背軸側表皮。epad. 向軸側表皮。f. 繊維。fb. 繊維束。sc. 厚壁組織。vb. 維管束。スケールバー：100 μ m。

苞鞘内部(図2)：苞鞘の中を観察すると、苞鞘内の向軸面中央に雄性小穂が脱落したあとの花柄と線形～長楕円形で膜質のりん片(苞葉の変形したもの)があり、その内側に2個の退化した小穂がある。果実は5枚の顕に包まれている。外側の2枚はそれぞれ第一苞顕、第二苞顕とみなされ、淡灰褐色～淡黄色で紙質～やや膜質、第一苞顕は第二苞顕より硬い。第一苞顕、第二苞顕とも果実全体を包む。内側の3枚目の顕は淡灰褐色～淡黄色～黄白色、膜質で内側ほど小さく薄くなる、最内のものは半透明である。果実は卵球形、淡褐色～赤褐色で硬く、腹側たて方向に凹みがある。

2) におい、味

苞鞘、果実ともにほとんどにおいがなく、味については、苞鞘は味がなく、果実はわずかに甘く、かめば歯間に粘着する。

3) 内部形態(図3, 4)

苞鞘(図3)：苞鞘の横切片を鏡検すると以下のような特徴が観察された。苞鞘の外表面、内面を形態学的に正確に表現するためにそれぞれ背軸側、向軸側という表現を用いる。背軸側最外層は表皮からなる。表皮の内側に厚壁組織が認められる。表皮と厚壁組織の最外層は部分的に脱落している。未熟な段階では厚壁組織の内側に柔組織が認められるが、成熟した段階では中央部の組織まで厚壁化が進んでいる。厚壁組織は内側の細胞ほど大きい。

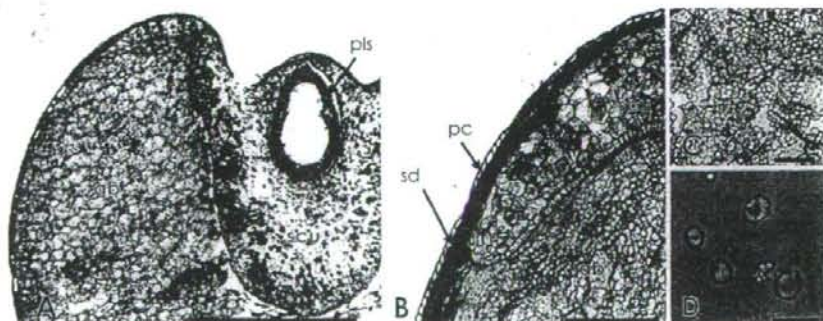


図4. ハトムギの果実。A. 果実横切片。B. 果実横切片拡大。C. でんぶん粒を含む胚乳柔組織。D. でんぶん粒。ab. 胚乳。pc. 果皮。pls. 幼芽鞘。scu. 胚盤。sd. 種皮。スケールバー：A, 1 mm, B, 100 μ m, C, 50 μ m, D, 20 μ m。

厚壁組織中の内側の部分には繊維束を伴う維管束が散在している。厚壁組織に続いて内側に横走する繊維が認められる。向軸側最外層は表皮からなる。

果実 (図4) : 果実中央部の横切片を鏡検した結果は以下のようであった。最外部には、薄壁性の果皮及び種皮が認められる。くぼみのある腹面に沿って胚盤があり、中央には横

切片の切る位置によって幼芽鞘または胚軸が見られる。背面側には胚盤を包む形で胚乳があり、胚乳の柔細胞にはでんぷん粒が含まれる。でんぷん粒は等径性で鈍多角形である。

3. 基原と生薬の性状規格案

以上の結果に基づいて、生薬ハトムギの基原と生薬の性状の規格案を表3に示す。〔日

表3. ハトムギの基原と生薬の性状の規格案

日本薬局方の規格案	日本薬局方外生薬規格1989の規格
<p>ハトムギ ラテン名: COICIS FRUCTUS CUM INVOLUCRUM 英名: Coix fruit with involucre 異名: 鳩麦</p> <p>本品はハトムギ <i>Coix lacryma-jobi</i> Linné var. <i>mayuen</i> Stapf (<i>Gramineae</i>) の果実及び苞鞘である。</p> <p>生薬の性状 本品はほぼ卵球形を呈し、長さ7~14 mm、幅5~9 mm、厚さ4~8 mmである。外面は黒褐色~灰褐色を呈し、つやがあり、細かい縦じまを認める。上端はややとがり、その付近に1個の斜めの孔があり、他端には果柄の跡がある。苞鞘は爪で破砕することができる。中に雄性小穂の花柄、膜質のりん片、2個の退化した小穂及び淡灰褐色~淡黄色でつやのある膜質の5枚の順に包まれた1個の果実がある。果実は淡褐色~赤褐色で、質は硬い。</p> <p>本品はほとんどにおいがなく、苞鞘は味が無いが、果実はわずかに甘く、かめば歯間に粘着する。</p> <p>本品の苞鞘の横切片を鏡検するとき、背軸側最外層は表皮からなり、その内側に厚壁組織が認められる。厚壁組織中の内側の部分には繊維束を伴う維管束が散在する。厚壁組織に続いて内側に横走する繊維が認められ、向軸側最外層は表皮からなる。果実中央部の横切片を鏡検するとき、表面最外部には、薄壁性の果皮及び種皮が認められる。くぼみのある腹面に沿って胚盤があり、中央に幼芽鞘または胚軸が見られる。背面側には胚盤を包む形で胚乳があり、胚乳の柔細胞にはでんぷん粒が含まれる。</p>	<p>ハトムギ ラテン名: COICIS FRUCTUS</p> <p>本品はハトムギ <i>Coix lacryma-jobi</i> Linné var. <i>ma-yuen</i> Stapf (<i>Gramineae</i>) の包しように包まれた果実である。</p> <p>性状 本品はほぼ卵球形を呈し、長さ7~14 mm、幅5~9 mm、厚さ4~8 mmである。外面は黒褐色~灰褐色を呈する。上端はややとがり、その付近に1個の斜めの孔があり、この孔にはしばしば雄性小穂の残基があり、他端には果柄の跡がある。包しようはややつやがあり、細かい縦じまがあり、爪で破砕することができる。中に淡灰褐色でつやのある膜質のえい及び淡褐色~赤褐色の種皮を付けた種子がある。</p> <p>本品はほとんどにおいがなく、包しようは味が無いが、果実はわずかに甘く、かめば歯間に粘着する。</p>

本薬局方外生薬規格1989』の規格と比較するといくつかの点で規格内容が加筆修正されている。

『日本薬局方外生薬規格1989』ではハトムギの学名の種形容語のつづりに誤りがあったので訂正した。また、『日本薬局方外生薬規格1989』では変種名はハイフンの入った *ma-yuen* だが、『第十五改正日本薬局方』既収載の薏苡仁ではハイフンのない *mayuen* となっている。*ma-yuen* とはハトムギを中国にもたらしたとされる馬援という人の名で、人名のハイフンは命名規約では削除してよいことになっており、今回の規格案では薏苡仁にあわせて *mayuen* とした。用語の訂正としては、「包しょう」は「苞鞘」にした。薬用部位の定義では「包しょうに包まれた果実」では果

実だけが薬用部位の印象をあたえるので「果実及び苞鞘」とした。ラテン名、英名もそれに合わせてある。『第十五改正日本薬局方』からは、生薬の「性状」は他の化学薬品の「性状」と区別して「生薬の性状」とされた。新たに内部形態の記載を追加した。

引用文献

- 藤田路一 1937a. 漢薬薏苡仁の生薬学的知見 (其一). 植物研究雑誌13: 683-694.
藤田路一 1937b. 漢薬薏苡仁の生薬学的知見 (其二). 植物研究雑誌13: 758-774.
厚生省薬務局審査第二課監修 1989. 日本薬局方外生薬規格 1989. 71 pp. 薬事日報社, 東京.
日本薬局方解説書編集委員会 2006. 第十五改正日本薬局方解説書 D662-663. 廣川書店, 東京.

生薬中の残留二酸化硫黄が味に与える影響について

川原 信夫*, 安食菜穂子***, 細江 潤子*, 金 益輝*,
池崎 秀和***, 御影 雅幸**, 合田 幸広*

(受付:平成20年12月4日, 受理:平成21年2月27日)

Studies on Relationship between Taste and Content of Sulfur Dioxide
in Crude Drugs Obtained from the Japanese MarketNobuo KAWAHARA*, Naoko ANJIKI***, Junko HOSOE*, Ik Hwi KIM*,
Hidekazu IKEZAKI***, Masayuki MIKAGE** and Yukihiro GODA*

Summary

Sulfur dioxide and sulfites are registered in "The Japan's Specifications and Standards for Food Additives", and are mainly used as bleaches and anti-oxidants. The Food Sanitation Law prohibits their use with sesame, legumes and vegetables. In China, sulfur fumigation is performed for the purpose of bleaching, drying, and as an insecticidal and antibacterial process, in the preparation of some crude drugs. Recently, it has been reported that large quantities of sulfur dioxide may be present in sulfur-fumigated crude drugs. In the course of our survey of impurities in herbal materials, we analyzed the content of sulfur dioxide in 31 kinds of crude drugs purchased from the Japanese market.

Furthermore, with the aim of developing a new, simple method for the measurement of sulfur dioxide, we investigated the correlation between the color value obtained by spectrophotometry and the sulfur dioxide content in 19 kinds of crude drugs. A good correlation between the color index L^* value and the sulfur dioxide content, and the good inverse correlation between the color index C^* value and the sulfur dioxide content were observed in 4 powdered crude drugs. However, other crude drugs did not show any correlation between color and sulfur dioxide content.

Seeking other new methodology for the measurement of sulfur dioxide, we examined the correlation between taste intensity and sulfur dioxide content in 5 kinds of crude drugs with the use of a taste-sensing system. High levels of sulfur dioxide (more than 80 mg/kg) influenced the

* 国立医薬品食品衛生研究所 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)

National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

** 金沢大学大学院自然科学研究科 石川県金沢市角間町 (〒920-1192)

Graduate School of Natural Science and Technology, Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa-shi, Ishikawa 920-1192, Japan

*** 株式会社インテリジェントセンサーテクノロジー 神奈川県厚木市恩名 5-1-1 (〒243-0032)

Intelligent Sensor Technology, Inc., 5-1-1 Onna, Atsugi-shi, Kanagawa 243-0032, Japan

taste intensity of umami, and the astringency and anionic bitterness of 4 crude drugs (Platycodon Root, Fritillaria Bulb, Ginger and Forsythia Fruit). Therefore, measurement of the taste intensity may be suitable as a screening procedure for sulfur dioxide content in these crude drugs.

Key words

Sulfur dioxide, Taste-sensing system, Taste, Crude drugs

1. 緒言

亜硫酸塩類（二酸化硫黄）は指定添加物として漂白剤、酸化防止剤等として用いられ、食品衛生法により使用基準が定められており、ごま、豆類及び野菜についてはその使用が禁じられている。それら以外の食品に使用する場合は、食品中の二酸化硫黄としての残留値の最低基準値が30 mg/kg未満と定められている他、例えば、かんぴょう、乾燥果実、コンニャク粉等では二酸化硫黄残留値がそれぞれ5.0 g/kg未満、2.0 g/kg未満、0.90 g/kg未満等と個別に規定されている¹⁾。一方、以前より中国では一部の生薬において漂白、乾燥、防虫防霉等を目的として、硫黄の加熱により生成する二酸化硫黄で薬材の薫蒸処理（硫黄薫蒸）が行われており、本処理を行ったと考えられる生薬より多量の二酸化硫黄が検出されている。また硫黄は石油や石炭にも含有されているため、乾燥の目的でこれらの燃料が使用された場合においても二酸化硫黄が検出される場合がある。我が国では国内市場で流通する生薬の80%以上を中国からの輸入に依存している現状であるが、生薬中の残留二酸化硫黄に関しては、生薬総則で包括的な規制を行っているのみである。

このような背景の下、我々は、食品や食品添加物としても流通する生薬類を中心に、残留二酸化硫黄の現状把握、安全性確保を目的として、硫黄薫蒸の疑いがある31種の生薬について国内流通品5社151品目を収集し、含有二酸化硫黄の測定を行った²⁾。この結果、ほぼすべての生薬より二酸化硫黄が検出された。特にサンヤク、テンマ及びパイモの3品目については1,000 mg/kgを超える二酸化硫黄が検出され、カッコン、ショウキョウ、テンモンドウ、キキョウ、ビャクゴウ、ソウハクヒ及びレンギョウの7品目においても検出量が500 mg/kgを超える製品が認められた。

更に生薬中の残留二酸化硫黄に関するより簡便な

測定法の確立を目的として、分光測色計による生薬の明度 (L^*) 及び彩度 (C^*) と残留二酸化硫黄濃度の関係について検討を行った³⁾。この結果、全般的に残留二酸化硫黄濃度の高い生薬ほど粉末色の L^* 値が高く、 C^* 値が低い傾向が認められた。特にカッコン、テンマ、ビャクゴウ及びボタンビでは残留二酸化硫黄濃度と L^* 及び C^* との間に一定の相関関係が認められ、一部の生薬については、残留二酸化硫黄濃度のより簡便な検出法として分光測色計が応用できる可能性が示唆された。しかし一方で、生薬粉末の色と残留二酸化硫黄との間に全く相関関係が認められない生薬も多く存在し、更なる検討が必要と考えられた。

食品分野における亜硫酸塩類の使用には、製品を漂白し、商品価値を高めるという目的が含まれており、漂白により製品の色、味及びにおいが変化することが予想される。したがって、生薬中の残留二酸化硫黄濃度がそれら生薬の味についても何らかの影響を与えている可能性が考えられる。一方、我々はこれまでに味認識装置による味の測定によって数種類の漢方処方について、処方ごとの味の特徴の数値化が可能であること⁴⁾、また、常用処方である葛根湯並びに荏苒朮甘湯について、処方独自の味に大きく寄与している構成生薬や味要素を明らかにしている^{5,6)}。そこで本研究では、サンヤク、パイモ、キキョウ、ショウキョウ及びレンギョウ等、生薬粉末の色と残留二酸化硫黄濃度との間に相関が認められなかった生薬について、味認識装置を用いた味測定を行い、残留二酸化硫黄濃度が生薬の味に与える影響について検討したので報告する。

2. 実験方法

2.1 研究試料

本研究では、既報²⁾において、一部の生薬に1,000 mg/kgを超える残留二酸化硫黄が検出され

たサンヤク 23 品目、パイモ 13 品目、500~1,000 mg/kg の残留二酸化硫黄が検出されたキキョウ 16 品目、ショウキョウ 6 品目及びレンギョウ 5 品目、合計 63 品目を収集し、試料とした。

2.2 残留二酸化硫黄の測定

残留二酸化硫黄の測定は、厚生労働省監修食品衛生検査指針食品添加物編に二酸化硫黄及び亜硫酸塩類の試験法⁷⁾として記載される、改良ランキン装置を用いるアルカリ滴定法を適用した。すなわち、改良ランキン装置のフラスコ (A) に 0.3% 過酸化水素溶液 10 mL を入れ、メチルレッド・メチレンブルー試液 3 滴を加える。次に 0.01 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 1~2 滴を加え、装置に取り付ける。フラスコ (B) には粉碎した生薬試料 (約 2 g を正確に精秤した) を加え、エタノール 2 mL、蒸留水 20 mL、消泡用シリコン油 2 滴及びリン酸溶液 (1→4) 10 mL を加え、速やかに装置に取り付ける。窒素ガスを 0.5~0.6 L/分の速度で通気しながら、マイクロバーナーの炎の高さを 4~5 cm とし、フラスコ (B) を約 10 分間加熱後、フラスコ (A) をはずし、試料液とする (n=3)。試料液の調製における試料の代わりに水 20 mL を用い、同様に操作して空試料液とする。試料液及び空試料液を 0.01 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で液の色がオリーブグリーンになるまで滴定し、次式によって検体中の二酸化硫黄量 (mg/kg) を計算する。

二酸化硫黄含量 (mg/kg)

$$= (a-b) \times F \times 0.32 \times 1/W \times 1,000$$

a: 試料液の滴定量 (mL); b: 空試料液の滴定量 (mL); W: 試料の採取量 (g); F: 0.01 mol/L 水酸化ナトリウムのファクター; 0.32: 0.01 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 1 mL は SO₂ 0.32 mg に相当する。

2.3 味認識装置による味測定

1) 測定機器及び測定方法

味測定は、味認識装置 SA402B (㈱インテリジェントセンサーテクノロジー, 神奈川) を用いて行った。

2) 試薬・試液

塩化カリウム (10 mM) と酒石酸 (0.1 mM) を溶解した水溶液を基準液とした。塩化カリウム及び酒石酸は和光純薬工業㈱ (大阪) より入手した。また、水は EQS-10L システム (日本ミリポア㈱, 東

京) により精製した超純水を使用した。

3) 試料の調製

細末とした各種生薬 0.75 g に超純水 150 mL を加え、室温で 10 分間、超音波抽出後、塩化カリウムが 10 mM、酒石酸が 0.1 mM となるようにそれぞれ添加したものを試料溶液とした。また、ショウキョウ及びレンギョウでは超音波抽出後、1,700×g で 10 分間、遠心分離を行い、同様に試料溶液を調製した。

4) 測定方法

味認識装置を用いて、既報⁴⁾と同様に各試料溶液について味の測定を行い、ウェーバーの法則に基づいてヒトが感じる味強度の違いを推定し、得られた推定値を各味要素の数値とした。今回、本装置を用いて検討した味の要素は、酸味、塩味、酸性苦味、酸性苦味後味、旨味、旨味後味、洗味及び洗味後味である。

3. 実験結果

各種生薬中の残留二酸化硫黄濃度について測定した結果並びに各種生薬の塩味、酸性苦味、酸性苦味後味、旨味、旨味後味、洗味及び洗味後味の味強度を Table 1 に示す。なお、酸味については、ほぼすべての生薬において、味を認識していない領域とされるマイナスの数値が得られたため、今回の評価対象から除外した。この結果、残留二酸化硫黄濃度 80 mg/kg を境界線として、残留二酸化硫黄濃度が高い生薬 (80 mg/kg 以上) と低い生薬 (80 mg/kg 未満) との間に味強度の差が認められた。キキョウ、パイモ、ショウキョウ、レンギョウの各生薬において、残留二酸化硫黄濃度が高い生薬は、低い生薬と比較して、旨味、旨味後味、洗味、洗味後味、酸性苦味及び酸性苦味後味の各味要素に関して以下の傾向が認められた。すなわちキキョウでは、旨味の味強度が低く、洗味の味強度が高い (Fig. 1)。パイモでは、旨味及び旨味後味の味強度が低く、洗味の味強度が高い (Fig. 2)。ショウキョウでは、酸性苦味、酸性苦味後味、洗味及び洗味後味の味強度が高い (Fig. 3)。レンギョウでは旨味の味強度が低い (Fig. 4)。また、塩味については、両者の間に顕著な差は認められなかった。一方、サンヤクについては、残留二酸化硫黄濃度と各味要素の味強度との間に関連性は認められなかった。

Table 1 Content of Sulfur Dioxides and Taste Intensities of Crude Drugs

Crude drugs	No.	Content of sulfur dioxides (mg/kg)	Saltiness	Anionic bitterness	Aftertaste of anionic bitterness	Umami	Aftertaste of umami	Astringency	Aftertaste of astringency
Dioscorea Rhizome	1	32.0	1.03	2.97	0.23	-1.26	0.00	1.45	0.21
	2	5.3	1.02	3.21	0.17	1.47	0.03	1.24	0.17
	3	24.0	1.05	3.23	0.14	1.56	0.02	1.28	0.18
	4	135.3 *	0.92	2.81	0.08	0.83	-0.01	1.22	0.17
	5	34.7	3.80	5.89	0.28	6.06	-0.02	3.42	0.41
	6	24.0	1.03	3.08	0.17	-0.30	0.07	1.43	0.20
	7	26.7	3.62	5.52	0.11	6.73	-0.07	3.04	0.36
	8	26.7	2.60	4.77	0.13	5.20	0.04	2.50	0.31
	9	94.7 *	1.09	3.14	0.07	1.51	0.06	1.42	0.19
	10	8.0	1.00	3.18	0.21	1.15	0.00	1.51	0.20
	11	32.0	1.13	3.29	0.22	-0.25	0.06	1.63	0.24
	12	16.0	2.33	4.41	0.11	4.97	0.13	2.12	0.28
	13	84.3 *	1.28	3.48	0.15	-0.25	0.15	1.84	0.23
	14	24.0	3.89	5.69	0.18	6.05	-0.05	3.36	0.37
	15	64.0	1.00	2.76	0.06	0.73	0.03	1.32	0.20
	16	8.0	2.50	4.57	0.09	6.24	-0.05	1.87	0.30
	17	221.0 *	1.09	3.18	0.19	0.19	0.03	1.52	0.23
	18	40.0	0.96	3.13	0.36	-0.75	0.03	1.31	0.21
	19	146.0 *	2.59	5.17	0.06	5.24	0.02	2.80	0.35
	20	1836.0 *	2.62	4.75	0.03	5.65	-0.03	2.38	0.32
	21	991.0 *	2.38	4.50	0.02	5.68	-0.04	2.12	0.30
	22	ND	2.09	3.72	-0.04	6.62	-0.09	1.26	0.23
	23	ND	4.14	5.48	0.13	6.90	-0.06	3.30	0.40
Platycodon Root	1	85.3 *	0.87	3.26	0.50	2.55	0.21	0.75	0.18
	2	80.0 *	0.85	3.31	0.54	2.38	0.22	0.75	0.19
	3	1938.7 *	1.12	3.23	0.70	2.22	0.29	0.87	0.23
	4	5.3	0.82	1.82	0.13	3.96	0.40	0.17	0.06
	5	ND	0.85	1.73	0.05	4.33	0.40	0.10	0.04
	6	2.7	0.88	1.89	0.09	4.44	0.40	0.07	0.05
	7	8.0	0.86	1.62	0.09	4.21	0.26	0.08	0.05
	8	8.0	0.99	2.46	0.17	4.38	0.29	0.32	0.09
	9	ND	0.85	1.67	0.05	4.29	0.32	0.15	0.07
	10	32.0	1.00	2.46	0.12	4.57	0.24	0.26	0.08
	11	ND	1.03	2.54	0.09	4.65	0.31	0.34	0.10
	12	ND	0.98	1.73	-0.03	5.00	0.26	0.02	0.05
	13	ND	0.94	1.75	-0.03	4.94	0.30	0.01	0.04
	14	56.0	1.01	2.19	0.14	4.46	0.32	0.22	0.09
	15	130.0 *	1.00	2.51	0.45	2.00	0.29	0.63	0.17
	16	ND	0.84	1.89	0.15	4.02	0.29	0.08	0.05
Fritillaria Bulb	1	138.3 *	0.83	5.20	0.96	0.70	0.03	1.64	0.51
	2	212.7 *	0.81	4.39	0.75	1.71	0.07	1.39	0.42
	3	252.7 *	0.90	4.48	0.74	1.60	0.04	1.26	0.40
	4	305.0 *	0.97	4.73	0.81	1.43	-0.01	1.44	0.44
	5	ND	3.26	4.83	-0.10	6.18	0.86	0.15	0.09
	6	623.0 *	0.92	2.77	0.30	2.13	-0.02	1.20	0.35
	7	269.0 *	0.97	4.56	0.75	1.71	0.03	1.43	0.42
	8	1227.0 *	1.06	4.06	0.60	1.67	-0.04	1.54	0.44
	9	868.0 *	0.97	4.05	0.64	0.83	0.04	1.64	0.47
	10	917.0 *	0.88	3.57	0.54	1.47	0.01	1.11	0.34
	11	ND	5.58	7.02	0.00	6.80	1.74	-1.55	0.10
	12	ND	4.40	5.49	-0.04	7.04	1.16	-0.90	0.10
	13	151.0 *	1.16	3.25	0.34	2.14	-0.04	1.41	0.36
Ginger	1	ND	0.54	5.46	1.46	1.92	0.08	0.64	0.33
	2	280.0 *	1.40	11.15	3.21	2.48	0.18	2.27	0.62
	3	827.0 *	2.10	11.56	3.37	2.80	0.05	3.07	0.70
	4	315.0 *	1.70	9.39	2.43	3.15	-0.04	2.40	0.59
	5	239.0 *	2.26	11.61	3.45	2.98	-0.06	3.30	0.76
	6	11.0	1.20	6.33	1.05	5.29	0.02	0.73	0.28
Forsythia Fruit	1	ND	1.25	5.59	1.28	3.49	0.37	1.10	0.45
	2	ND	1.35	4.95	1.04	3.90	0.43	0.99	0.39
	3	ND	1.56	5.58	1.20	4.60	0.45	0.85	0.38
	4	690.0 *	1.29	6.52	2.01	-0.12	0.40	1.98	0.77
	5	8.0	1.39	7.19	1.95	1.89	0.42	1.68	0.66

ND: Not Detected, *: Content of sulfur dioxides \geq 80 mg/kg

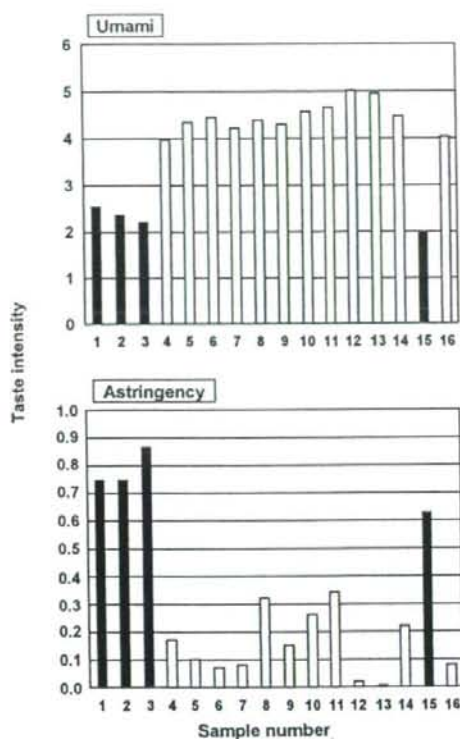


Fig. 1 Taste Intensities of Umami and Astringency of Platycodon Root

■: Content of sulfur dioxides ≥ 80 mg/kg
□: Content of sulfur dioxides < 80 mg/kg

4. 考 察

食品衛生法において、個別に二酸化硫黄残留値が規定されている品目のうち、最も残留基準値が低いのは甘納豆、煮豆、えび及び冷凍生かきの 100 mg/kg である。今回、検討した5種の生薬のうち、キキョウ、バイモ、ショウキョウ、レンギョウの4種の生薬において、二酸化硫黄残留値個別規定の最低値である 100 mg/kg に近い 80 mg/kg を境界として残留二酸化硫黄濃度が高い生薬と低い生薬との間に味強度の差が認められた。これら4種の生薬では、全般的に生薬中の残留二酸化硫黄濃度が高いものは渋味及び酸性苦味の味強度が高く、旨味の味強度が低い傾向を示した。すなわち、生薬中の残留二酸化

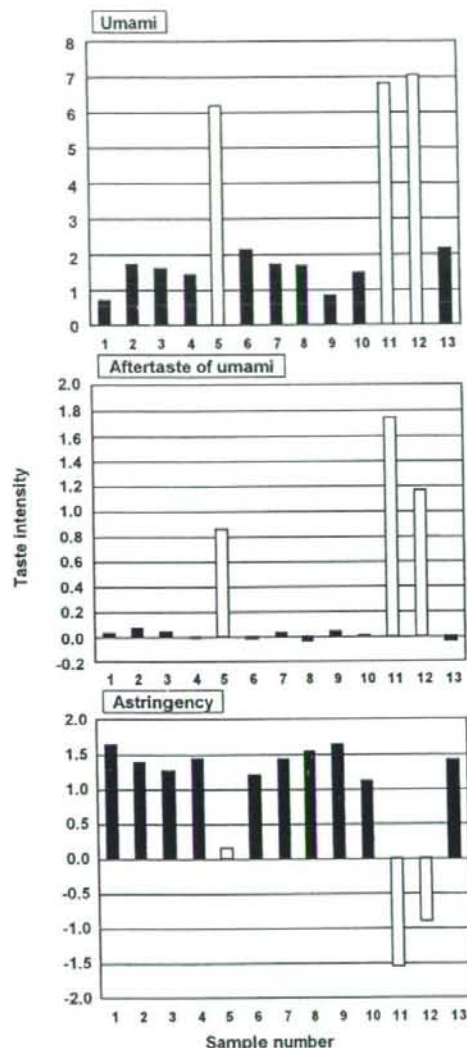


Fig. 2 Taste Intensities of Umami, Aftertaste of Umami and Astringency of Fritillaria Bulb

■: Content of sulfur dioxides ≥ 80 mg/kg
□: Content of sulfur dioxides < 80 mg/kg

硫黄濃度が高い生薬は、二酸化硫黄の影響により、生薬本来の旨味が損なわれると同時に、渋味や苦味等が増強され、ヒトが煎液を服用する場合、硫黄燻

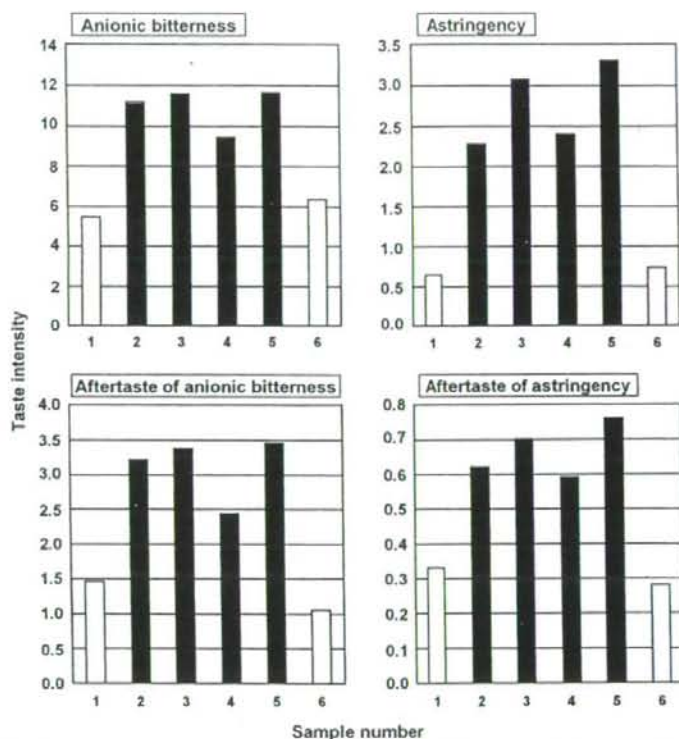


Fig. 3. Taste Intensities of Anionic Bitterness, Aftertaste of Anionic Bitterness, Astringency and Aftertaste of Astringency of Ginger

■: Content of sulfur dioxides ≥ 80 mg/kg
 □: Content of sulfur dioxides < 80 mg/kg

蒸等がなされていない生薬と比較して服用しにくい味を呈していると考えられる。一方、サンヤクについては、前回の色測定と同様、味測定においても明確な差は認められず、味に関しても産地や収穫時期等による生薬本来の個体差が大きいものと考えられる。また、今回の味測定において明確な差が認められた生薬に関しても、生薬本来の個体差があるため、味強度の差がすべて残留二酸化硫黄の影響によるものであるとの確証は得られてはいない。しかし本結果が示すように、味の差に関して残留二酸化硫黄の影響が最も大きいことは明らかである。したがって、生薬の品質評価の観点から、キキョウ、バイモ、ショウキョウ、レンギョウの4種生薬については、残留二酸化硫黄濃度のより簡便な検出法として味認識

装置が応用できる可能性が示唆された。

残留二酸化硫黄が生薬の味に影響を与えている可能性が認められた生薬のうち、キキョウ、ショウキョウは食品としても流通している。今回使用した生薬は、すべて医薬品として市販されているもの入手したため、これらの生薬に 30 mg/kg 以上の二酸化硫黄が残留したとしても、直接食品衛生法違反にはならないが、食薬区分上では、専ら医薬品ではなく、食品としても販売可能である。したがって、食品として流通する可能性もあり、食品衛生学的な観点からも色測定同様、本法を用いた残留二酸化硫黄濃度の簡易的な検出法が有効であると考えられる。

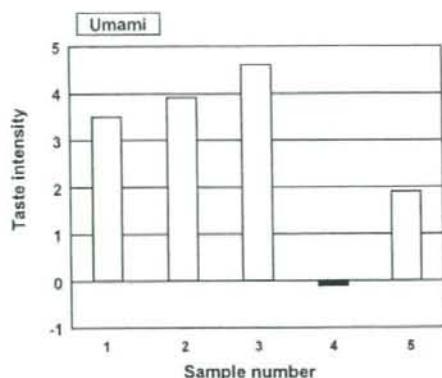


Fig. 4. Taste Intensity of Umami of Forsythia Fruit

■: Content of sulfur dioxides ≥ 80 mg/kg
 □: Content of sulfur dioxides < 80 mg/kg

5. 結論

本研究では、前報に引き続き生薬中の残留二酸化硫黄に関するより簡便な測定法の確立を目的として、サンヤク、パイモ、キキョウ、ショウキョウ、レンギョウ等、生薬粉末の色と残留二酸化硫黄濃度との間に相関が認められなかった生薬類について、味認識装置を用いた味測定を行い、残留二酸化硫黄濃度が生薬の味に与える影響について検討した。この結果、キキョウ、パイモ、ショウキョウ、レンギョウの各生薬では、80 mg/kgを境界として、残留二酸化硫黄濃度の高い生薬は、全般的に旨味の味強度が低く酸性苦味及び渋味の味強度が高い傾向が認めら

れた。したがって、硫黄燻蒸等による残留二酸化硫黄が、上記生薬の酸性苦味、渋味及び旨味等の味要素に影響を与えていることが推測され、味認識装置による味測定が分光測色計による色測定と同様、残留二酸化硫黄の検出法として応用できる可能性が示唆された。

謝 辞

一部の生薬を御恵与いただきました㈱ウチダ和漢薬並びに㈱橋本天海堂に深謝いたします。

文 献

- 1) 食品・食品添加物等規格基準 (抄), *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, 46 (1), J-105 (2005).
- 2) Kawahara, N., Kim, I-H., Goda, Y.: *Jpn. J. Food Chem.*, 13(3), 105-108 (2006).
- 3) Kawahara, N., Anjiki, N., Kim, I-H., Mikage, M., Goda, Y.: *Jpn. J. Food Chem.*, 14(3), 140-144 (2007).
- 4) Anjiki, N., Kawahara, N., Goda, Y.: *Natural Medicines*, 59, 164-170 (2005).
- 5) Anjiki, N., Suzuki, A., Kawahara, N., Goda, Y.: *Shoyakugaku Zasshi (Japan. J. Pharmacol.)*, 60, 21-27 (2006).
- 6) Anjiki, N., Yoshino, C., Kawahara, N., Goda, Y.: *Shoyakugaku Zasshi (Japan. J. Pharmacol.)*, 61, 6-13 (2007).
- 7) 厚生労働省生活衛生局食品化学課長通知“第2版 食品中の食品添加物分析法”平成12年3月30日, 衛化第15号 (2000).

- of the saponin lancemaside A from *Codonopsis lanceolata* by centrifugal partition chromatography. *Phytochem Anal* (in press). doi:10.1002/pca.1065
5. Yamaguchi H, Kasai R, Matsuura H, Tanaka O, Fuwa T (1988) High-performance liquid chromatographic analysis of acidic saponins of ginseng and related plants. *Chem Pharm Bull* 36:3468–3473
 6. Yamaguchi H, Matsuura H, Kasai R, Tanaka O, Satake M, Kohda H, Izumi H, Nuno M, Katsuki S, Isoda S, Shoji J, Goto K (1988) Analysis of saponins of wild *Panax ginseng*. *Chem Pharm Bull* 36:4177–4181
 7. Saeki T, Nikaido T (2003) Evaluations of saponin properties of HPLC analysis of *Platycodon grandiflorum* A.DC. *Yakugaku zasshi* 123:431–441
 8. Bao Y, Li C, Shen H, Nan F (2004) Determination of saikosaponin derivatives in *Radix bupleuri* and in pharmaceuticals of the Chinese multiherb remedy Xiaochaihu-tang using liquid chromatographic tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 76:4208–4216
 9. Kapusta I, Janda B, Stochmal A, Oleszek W (2005) Determination of saponins in aerial part of Barrel medic (*Medicago truncatula*) by liquid chromatography–electrospray ionization/mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 53:7654–7660
 10. Ahn MJ, Kim J (2005) Identification and quantification of steroidal saponins in *Polygonatum* species by HPLC/ESI/MS. *Arch Pharm Res* 28:592–597
 11. Hattori M, Sakamoto T, Kobashi K, Namba T (1983) Metabolism of glycyrrhizin by human intestinal flora. *Planta Med* 48:38–42
 12. Kobashi K (1998) Glycosides are natural prodrugs. *J Trad Med* 15:1–13
 13. Ichikawa M, Ohta S, Komoto N, Ushijima M, Kodera Y, Hayama M, Shirota O, Sekita S, Kuroyanagi M (2008) Rapid identification of triterpenoid saponins in the roots of *Codonopsis lanceolata* by liquid chromatography–mass spectrometry. *J Nat Med* (in press). doi:10.1007/s11418-008-0270-z

A guanidine derivative from seeds of *Plantago asiatica*

Yukihiro Goda · Nobuo Kawahara · Fumiya Kiuchi ·
Kazuhiro Hirakura · Yuichi Kikuchi · Hiroaki Nishimura ·
Masaki Takao · Masahiko Marumoto · Hironori Kitazaki

Received: 8 April 2008 / Accepted: 5 June 2008 / Published online: 31 July 2008
© The Japanese Society of Pharmacognosy and Springer 2008

Abstracts A new guanidine derivative named plantago-guanidinic acid was isolated from the seeds of *Plantago asiatica*. The structure was elucidated by two-dimensional (2D) nuclear magnetic resonance (NMR) spectral and other spectral methods.

Keywords *Plantago asiatica* · Plantaginaceae · Guanidine derivative · NMR · Plantagoguanidinic acid

Introduction

The seeds of *Plantago asiatica* are used as a crude drug for diuretic, antitussive, expectorant, and antiphlogistic purposes. Fatty acids [1, 2], polysaccharides [3, 4], aucubin [5], geniposidic acid [6], and acteoside [6] were reported as the components of the seeds. In our study of the seeds, we detected a specific spot that was not identified as the above mentioned compounds by thin-layer chromatography (TLC) experiments. Therefore, we isolated the component corresponding to the spot from the seeds. This paper deals

with the structural elucidation of a new guanidine derivative named plantagoguanidinic acid (**1**).

Results and discussion

An aqueous extract of the seeds of *Plantago asiatica* was extracted with *n*-butanol (*n*-BuOH). The *n*-BuOH extract was washed with hexane to remove fat, then chromatographed on silica gel, Sephadex LH-20, and NH-silica gel, successively to give **1** (Fig. 1).

Compound **1** was obtained as a white amorphous powder and its molecular formula was determined to be $C_{11}H_{19}N_3O_2$ by high-resolution electrospray-ionization mass spectrometry (HRESI-MS). The infrared (IR) spectrum of **1** indicated the presence of a hydroxyl group ($3,192\text{ cm}^{-1}$) and a carboxylic group ($1,691\text{ cm}^{-1}$).

Compound **1** was positive to Dragendorff's reagent [7], sodium nitroprusside reagent [8], and pentacyanoaquoferriate reagent [9], but negative to Ninhydrin and Sakaguchi reagent [9]. The ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra of **1** showed the presence of a prenyl group (C-4 to C-8), a guanidine carbon (C-2') [10], a carboxylic carbon (C-1), two methine carbons (C-2 and C-4'), and two methylene carbons (C-3 and C-5'). The connections of these carbons were clarified by double quantum filter (DQF), ^{13}C - ^1H , and heteronuclear multiple-bond connectivity (HMBC) spectra (Fig. 2). The DQF correlation spectroscopy (COSY) spectrum of **1** indicated ^1H - ^1H connections from H-5 to H-5' to establish the carbon skeleton. The HMBC correlations of H-2, H-3, and H-4' to C-1 showed that a carboxylic group was attached to C-2. H-4' and H-5' showed HMBC correlations to C-2' guanidine carbon, indicating that the guanidine group together with the C-4' and C-5' form an imidazoline ring. In the nuclear Overhauser effect

Y. Goda · N. Kawahara
National Institute of Health Sciences (NIHS),
1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

F. Kiuchi
Research Center for Medicinal Plant Resources National
Institute of Biomedical Innovation, 1-2 Hachimandai,
Tsukuba, Ibaraki 305-0843, Japan

K. Hirakura (✉) · Y. Kikuchi · H. Nishimura · M. Takao ·
M. Marumoto · H. Kitazaki
Tsumura & Co, 3586 Yoshiwara, Ami-Machi,
Inashiki-gun, Ibaraki 300-1192, Japan
e-mail: hirakura_kazuhiro@mail.tsumura.co.jp

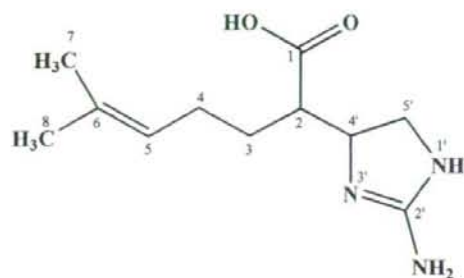


Fig. 1 Structure of compound 1

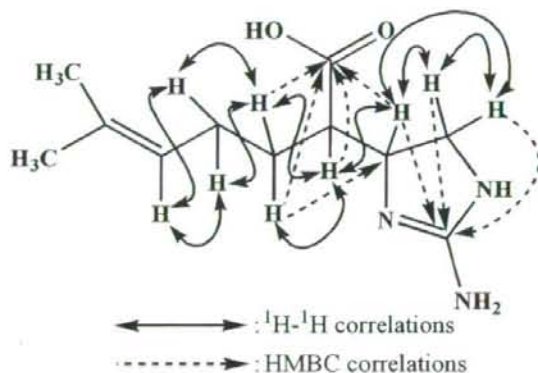


Fig. 2 Significant 2D NMR correlations of 1

spectroscopy (NOESY) spectrum of **1**, H-4' showed correlations to both of H-5' protons, so the relative configuration of H-4' and H-5' could not be determined, and X-ray crystallographic analysis could not be performed because compound **1** gave an amorphous powder. Based on these results, the planar structure of compound **1** was identified as 2-(2-amino-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-yl)-6-methylhept-5-enoic acid (Fig. 1). Although similar compounds that have an imidazole skeleton in the molecule have been isolated from some plants [11, 12], compound **1** has not been reported. Considering the plant source and the guanidinic group, we proposed the name of compound **1** as plantagoganidinic acid (**1**).

Experiment

General

IR spectrum was measured using a JASCO FT/IR-4200 Fourier-transform infrared spectrometer. Specific rotation was recorded on a JASCO DIP-1000 digital polarimeter. NMR spectra were recorded on a JEOL JNM AL-400 FT NMR spectrometer. ESI mass spectrum was obtained using

on a MICROMASS Q-ToF micromass spectrometer. For the NMR data, chemical shifts are expressed in δ ppm from tetramethylsilane (TMS) as an internal standard and coupling constants (J) are given in Hz. Silica gel 60 (70–230 mesh, Merck), Chromatorex NH DM1020 (NH-silica gel, 100–200 mesh, FUJI SILYSIA CHEMICAL Ltd.) and Sephadex LH-20 (Pharmacia) were used for column chromatography. Silica gel 60 F₂₅₄ (0.25 mm, Merck) was used for TLC.

Extraction and isolation

Crushed seeds (1.7 kg) of *Plantago asiatica* (Jiangsu province, China) were extracted twice by stirring with water (5 L) at room temperature for 2 days. The aqueous solution was extracted three times with *n*-BuOH (3 L), and then concentrated under reduced pressure to give the *n*-BuOH extract (121.7 g). The *n*-BuOH extract was dissolved in 90% MeOH, and then partitioned with hexane (1 L) three times to give 90% MeOH extract (58.7 g). The 90% MeOH extract was chromatographed on silica gel (8.5 cm i.d. \times 46 cm) eluted with CHCl₃-MeOH-H₂O (7:4:0.5) to give fraction A (2.6 g), which contained compound **1**. Fraction A was rechromatographed on Sephadex LH-20 (7.0 cm i.d. \times 70 cm) eluted with MeOH, and Chromatorex NH 20 (7.5 cm i.d. \times 62 cm) eluted with EtOAc-MeOH-H₂O (14:5:2), successively to give compound **1** (1.2 g).

Plantagoganidinic acid (**1**)

White amorphous powder. $[\alpha]_D^{20} +53.0^\circ$ (c 1.1, MeOH), IR (KBr) cm^{-1} : 3,192(br), 2,968, 1,691, 1,585, 1,397. HR ESI-MS m/z : 226.1553 (Calcd. for C₁₁H₂₀N₂O₂: 226.1556). ¹H NMR (CD₃OD) δ : 1.51 (1H, m, H-3), 1.60 (1H, m, H-3), 1.61(3H, brs, H-7), 1.67(3H, brs, H-8), 2.01 (1H, m, H-4), 2.11 (1H, m, H-4), 2.33 (1H, ddd, $J = 4, 8, 10$, H-2), 3.53 (1H, dd, $J = 6, 9$, H-5'), 3.74 (1H, t, $J = 9$, H-5'), 4.09 (1H, ddd, $J = 6, 8, 9$, H-4'), 5.11 (1H, brt, $J = 7$, H-5). ¹³C NMR (CD₃OD) δ : 17.9 (C-7), 25.9 (C-8), 27.1 (C-4), 30.6 (C-3), 48.4 (C-5'), 59.1 (C-4'), 59.4 (C-2), 125.3 (C-5), 132.8 (C-6), 161.2 (C-2'), 180.4 (C-1).

Acknowledgements We are grateful to Mr. K. Kano for mass spectrum measurement. This work was supported in part by a Health and Labour Sciences Research Grant.

References

- Kashimoto T (1955) Studies of Vegetable Oils and Fats. III. Nippon Kagaku Zasshi 76:664–667
- Ogata A, Nishioji R (1924) Über die Samen von Japanischen Wegerich. Yakugaku Zasshi 44:1040–1049

3. Tomoda M, Uno M (1971) Plant mucilages. I. Isolation and property of a mucous polysaccharide, "plantasan", from *Plantago major* L. var. *asiatica* seeds. *Chem Pharm Bull* 19:1214–1217
4. Tomoda M, Yokoi M, Ishikawa K (1981) Plant mucilages. XXIX. Isolation and characterization of a mucous polysaccharide, "Plantago-mucilage A", from the seeds of *Plantago major* var. *asiatica*. *Chem Pharm Bull* 21:2877–2884
5. Syukuya S (1922) *Yakugaku Zasshi* 42:1163
6. Taguchi H, Aburada M (1983) Chemistry and pharmacological actions on Chuling, *Plantago* seed and *Gentiana*. *Gendai Toyo Igaku* 4:47–55
7. Wagner H, Bladt S, Zgainski EM (1984) *Plant drug analysis*. Springer-Verlag, Berlin
8. Hofmann ED, Wünsch A (1958) Verwendung von Nitro-prussidreagenz in der Papierchromatographie. *Naturwiss* 45:338
9. Smith I (1960) *Chromatographic and electrophoretic techniques*. Heinemann-Interscience, London
10. Charles JP, Jacquelyn B (1993) *The Aldrich library of ¹³C and ¹H FT NMR spectra*, vol. 1, 1st edn. Aldrich Chemical Company, Milwaukee, USA, pp 1280–1281, 1329
11. Fellows LE, Hider RC, Bell EA (1977) 3-[2-Amino-2-imidazolin-4(5)-yl]alanine (Enduracididine) and 2-[2-amino-2-imidazolin-4(5)-yl]acetic acid in seeds of *Lonchocarpus sericeus*. *Phytochemistry* 16:1957–1959
12. Evans SV, Fellows LE, Bell EA (1985) Distribution and systematic significance of basic non-protein amino acids and amines in the Tephrosiaceae. *Biochem Syst Ecol* 13:271–302