

## 沢瀉のテルペノイド成分 —構造, 薬理活性および加工調製における成分変動—

吉川 雅之,\* 松田 久司

京都薬科大学

### Terpenoid constituents of *Alismatis Rhizoma* -Structure, biological activity, and chemical change of terpenoids during processing-

Masayuki YOSHIKAWA,\* Hisashi MATSUDA

Kyoto Pharmaceutical University, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607-8412, Japan.

(Accepted June 19, 2002.)

#### Abstract

The dried rhizome of the aquatic plant *Alisma orientale* JUZEP. (Alismataceae) has been used as a Chinese natural medicine, *Alismatis Rhizoma*, which is prescribed for diuretic and anti-inflammatory purposes, and treatment of thirst in various Kampo medicinal preparations. In recent years, Chinese *Alismatis Rhizoma* has been imported and commonly used in Kampo medicine, due to the poor supply of Japanese *Alismatis Rhizoma*. In Japan, Chinese *Alismatis Rhizoma* is classified into two types named in Japanese as "Sentaku" (from Szechwan Province) and "Kentaku" (from Fukien Province) according to their regions of origin. This article deals with our recent chemical and pharmacological studies, which include the structures and biological activities on the sesquiterpene and triterpene constituents from Sentaku, Kentaku, and Japanese *Alismatis Rhizoma*. In addition, the changes of the terpenoid constituents during the drying process of the rhizome of *Alisma orientale* were investigated using quantitative method by HPLC and several bioactive sesquiterpenes and triterpenes were found to be artificially formed during the drying process.

**Key words** *Alismatis Rhizoma*, *Alisma orientale*, alismol, alismoxide, alisol, alismalactone.

#### 緒 言

沢瀉 (*Alismatis Rhizoma*) は、オモダカ科 (Alismataceae) 植物サジオモダカ [*Alisma orientale* JUZEP. (= *Alisma plantago-aquatica* L. var. *orientale* SAMUELSSON)] の塊茎から調製され、五苓散、沢瀉湯、猪苓湯、八味地黄丸などの主として利尿薬、尿路疾患用薬及び鎮暈薬とみなされる処方に配剤される漢方要薬である。サジオモダカは、サハリン、東シベリア、朝鮮半島、中国東北部、モンゴルなどの東アジア各地に分布する水生植物で、日本では北海道や本州北部の沼沢に自生している。沢瀉の

生産地として、日本ではかつて長野県や北海道の一部で栽培されていたが、生産量が少なく現在では市場性が無いため中国産沢瀉を中心に、台湾産沢瀉や韓国産沢瀉など外国産沢瀉が薬用に供されている。中国産沢瀉の主産地は、福建、四川、江西省で、このほか貴州、雲南省でも生産されている。福建や江西省で産するものは建沢瀉 (建沢) と称され、形が大きく円形で光沢がある。四川、雲南、貴州省で産する川沢瀉 (川沢) は、やや小形で皮があらく、一般には建沢瀉のほうが良質と言われている。最近、日本の生薬市場品はほとんどが川沢瀉などの中国産沢瀉で、年間約300トン程度輸入されている<sup>1)</sup>。

沢瀉の含有成分としては、これまでに日本産沢瀉から

\*To whom correspondence should be addressed. e-mail : shoyaku@mb.kyoto-phu.ac.jp

5種の protostane 型トリテルペン alisol A (1), alisol A monoacetate (2), alisol B (3), alisol B monoacetate (4) 及び alisol C monoacetate (5) が X 線結晶解析や化学誘導反応によって絶対配置を含めて全化学構造が明らかにされている<sup>2,3)</sup>。これらのトリテルペン成分の中で, 2, 3, 4 が高脂肪性飼料で飼育したラットの血漿及び肝臓コレステロール量の低下作用を有することが判明し, 特に 2 に最も強い作用が認められている<sup>2,4)</sup>。また, 2, 3 は尿中ナトリウム排泄量を増加させることが報告されている<sup>2,5)</sup>。一方, guaiane 型セスキテルペン alismol 及び alismoxide が沢瀉市場品から単離され, 構造式として 11' と 12' が提出されていた<sup>2,6)</sup>。筆者の一人である松田らは, alismol にはマグヌス法での angiotensin I による収縮や高濃度  $K^+$  収縮及び経壁電気刺激による血管収縮に対して抑制作用のあることなどを報告するとともに<sup>7)</sup>, HPLC を用いた alismol の定量法を開発して, 沢瀉中の含量を明らかにした<sup>8)</sup>。また, 広東産沢瀉からトリテルペン成分として 11-deoxyalisol C (6)<sup>9)</sup>, alisol D (7)<sup>9)</sup>, 16 $\beta$ -methoxyalisol B monoacetate (8)<sup>10)</sup>, 16 $\beta$ -hydroxyalisol B monoacetate (9)<sup>10)</sup> 及び sitosterol 3-O-6-stearoyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (10)<sup>11)</sup> が単離され, スペクトルデータの詳細な考察からそれらの化学構造が提出されている。このほか, 中国産沢瀉に myo-inositol hexaphosphate<sup>12)</sup> の存在が報告されていた (Figure 1)。

筆者らは日本における現今の医療に主として用いられている中国産沢瀉 (川沢瀉と建沢瀉) の含有成分を精査し, 種々の新規生物活性セスキテルペン成分やトリテルペン成分を見出した。また, 日本産, 中国産及び台湾産

サジオモダカ新鮮塊茎の含有成分を明らかにするとともに, 新鮮塊茎から沢瀉へ加工調製 (修治) する過程における含有成分の化学変化や含量の変動などの化学過程について解析した。本総説では, 筆者らの最近の研究を中心にこれまでに明らかにされた沢瀉のテルペノイド成分と生物活性及び加工調製における化学過程についてまとめて紹介する。

## I. 川沢瀉の成分

中国産沢瀉の化学的研究は, これまで十分には行われておらず, 特に川沢瀉については全く報告が認められなかった。筆者らは, 水生植物を基原とする天然薬物の生物活性成分解明研究の一環として<sup>13)</sup>, 日本で主として薬用に供されている中国四川省産沢瀉の含有成分研究に着手した。その結果, 川沢瀉のセスキテルペン成分については, 主成分として alismol 及び alismoxide を単離するとともに, 種々のスペクトルデータの考察や化学的知見からそれらの化学構造を 11'<sup>6)</sup>, 12'<sup>6)</sup> から 11, 12 にそれぞれ改訂した<sup>14)</sup>。そして, 川沢瀉中の alismol (11) や alismoxide (12) には旋光性がほとんど認められず, ラセミ体として存在していることも判明した。11 と 12 は, すでにオーストラリア産海綿 *Nephthea chabrolii* と *Lemnalia africana* 及び沖縄産 *Xenia* 属海綿からラセミ体で単離報告されていたセスキテルペン<sup>15)</sup> と同一化合物であることが確認された。水生植物サジオモダカの塊茎を基原とする生薬沢瀉から, 海洋生物である海綿の成分と共通する化合物が見出されたことは偶然とは言えそれぞれの生育環境を考えると興味もたれる。また, 川

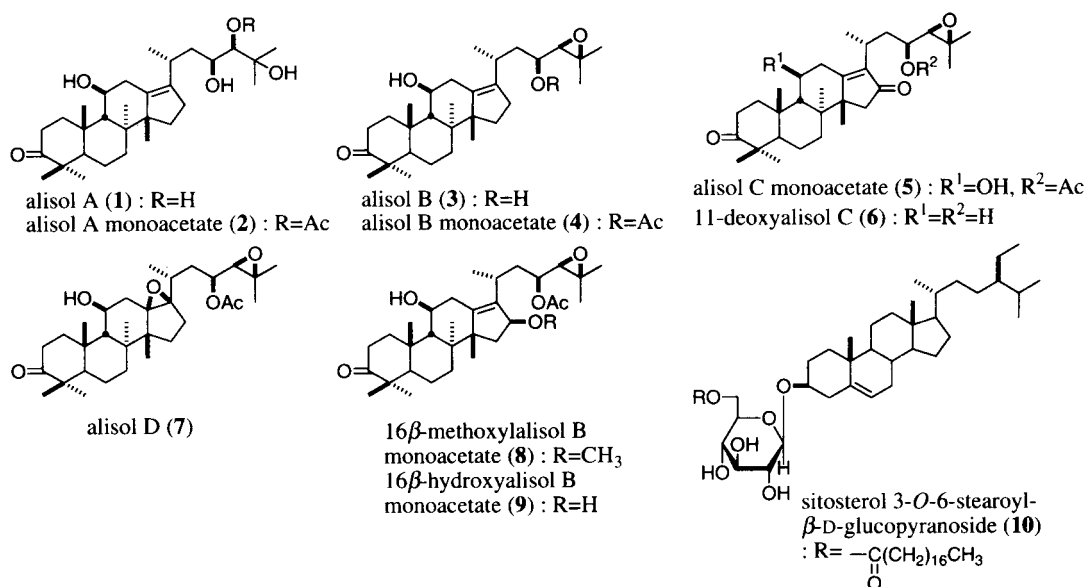


Figure 1.

沢瀉からは guaiane 型セスキテルペン orientalol A (13), B (14), C (15) を単離し, それらの構造を明らかにした<sup>14)</sup>。また, 沢瀉の水抽出エキスにもセスキテルペンが存在すると言われていたが, 川沢瀉から水溶性セスキテルペン sulfoorientalol a (16), b (17), c (18), d (19) が得られ, スルホン酸基の結合した特異な guaiane 型構造が判明した (Figure 2)<sup>16)</sup>。Orientalol 類や sulfoorientalol 類にもほとんど旋光性が認められず, 11 や 12 と同様にラセミ体で存在していることが判明した。川沢瀉から得られたセスキテルペン 11, 12, orientalol 類 (13-15) と sulfoorientalol 類 (16-19) 及び 11 や 12 から誘導した化合物 (20, 21, 22) に Table I に示すようにモルモット膀胱平滑筋の carbachol 収縮に対する抑制作用 (いずれも  $IC_{50}$  約  $10^{-4}$  M) が認められた。沢瀉を構成生薬とする八味地黄丸などに頻尿の改善効果が伝承されており, 川沢瀉のセスキテルペンの上記薬理作用はこの方剤の薬効を支持するものと考えられる。また, 沢瀉の伝承薬効である利尿効果について漢方医学的に考える上で, セスキテルペン類の膀胱平滑筋収縮抑制作用は興味もたれる知見と言える<sup>14,16)</sup>。

川沢瀉のトリテルペン成分としては, 既知成分 alisol A (1), alisol A monoacetate (2), alisol B (3), alisol B monoacetate (4) のほかに, alisol E 23-acetate (23), alisol F (24), alisol G (25), 13,17-epoxyalisol A (26) を単離した。これらの新規トリテルペン成分については, 1 と化学的に関連づけることによって絶対配置を含めて全化学構造を明らかにした<sup>17)</sup>。筆者らの研究とほぼ同時期

に昭和大学薬学部の伊田教授らも川沢瀉の成分について研究を進めており, 著者らと共通するトリテルペン成分 25 (25-anhydroalisol A) と 26 のほかに, 16,23-oxidoalisol B (34), 25-O-methylalisol A (35), 16-oxoalisol A (36) を単離し, 化学構造を報告している<sup>18)</sup>。また, 近畿大学薬学部の久保教授らは川沢瀉のメタノール抽出エキスに経口投与で I 型～IV 型アレルギーをいずれも抑制することを見出し, 筆者らとの共同研究の結果, ラットでの III 型アレルギーの抑制活性本体は, メタノール抽出エキスの主要成分である alisol A (1), alisol A monoacetate (2), alisol B (3), alisol B monoacetate (4) 及び alismol (11) と alismoxide (12) であることが判明した<sup>19)</sup>。さらに, 川沢瀉のメタノール抽出エキスには, 各種動物モデルでの抗補体作用が認められるとともに, *in vitro* 試験で補体溶血をも抑制した。一方, 低張性溶血についても抑制したが, 補体溶血に対する抑制活性に比べ弱いものであった。さらに含有成分について, 同様に *in vitro* 試験を実施したところ, 上記 4 種のトリテルペン成分 (1-4) は補体溶血を抑制したが, 2 種のセスキテルペン成分 (11, 12) は活性を示さなかったことから, 川沢瀉の抗補体活性にはトリテルペン成分が強く関与していると考えられた<sup>20)</sup>。これらの活性成分研究の過程で, Figure 3 に示す新規トリテルペン alisol H (27), alisol I (28), alisol J 23-acetate (29), alisol K 23-acetate (30), alisol L 23-acetate (31), alisol M 23-acetate (32), alisol N 23-acetate (33) を単離し, それらの化学構造を明らかにした<sup>21)</sup>。

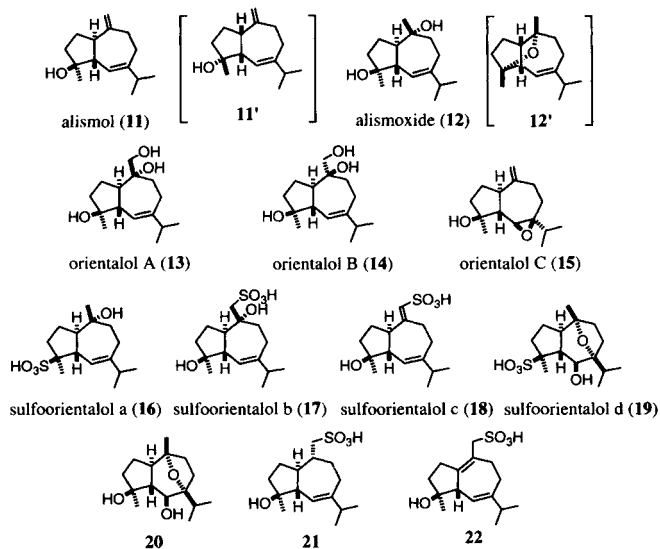


Figure 2.

Table I. Inhibitory effects of sesquiterpenes (11-19) from Chinese Alismatis Rhizoma and the synthetic congeners (20-22) on contractile response of guinea pig bladder induced by carbachol (CCh)

| Compound               | Conc.       | Contractile response (%)<br>CCh (0.3 $\mu$ M) |
|------------------------|-------------|-----------------------------------------------|
| Control                | 0.1% EtOH   | 100.0 $\pm$ 8.1                               |
| Alismol (11)           | $10^{-4}$ M | 24.6 $\pm$ 7.5**                              |
| Alismoxide (12)        | $10^{-4}$ M | 69.9 $\pm$ 8.0**                              |
| Orientalol A (13)      | $10^{-4}$ M | 44.3 $\pm$ 4.0**                              |
| Orientalol B (14)      | $10^{-4}$ M | 39.4 $\pm$ 0.9**                              |
| Orientalol C (15)      | $10^{-4}$ M | 52.1 $\pm$ 3.7**                              |
| Sulfoorientalol a (16) | $10^{-4}$ M | 52.0 $\pm$ 0.8**                              |
| Sulfoorientalol b (17) | $10^{-4}$ M | 51.3 $\pm$ 1.5**                              |
| Sulfoorientalol c (18) | $10^{-4}$ M | 56.5 $\pm$ 3.8**                              |
| Sulfoorientalol d (19) | $10^{-4}$ M | 46.2 $\pm$ 4.4**                              |
| 20                     | $10^{-4}$ M | 59.8 $\pm$ 1.6**                              |
| 21                     | $10^{-4}$ M | 53.3 $\pm$ 0.4**                              |
| 22                     | $10^{-4}$ M | 65.5 $\pm$ 5.6**                              |
| Atropine               | $10^{-7}$ M | 0.0 $\pm$ 0.0**                               |

Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 4-5 experiments.

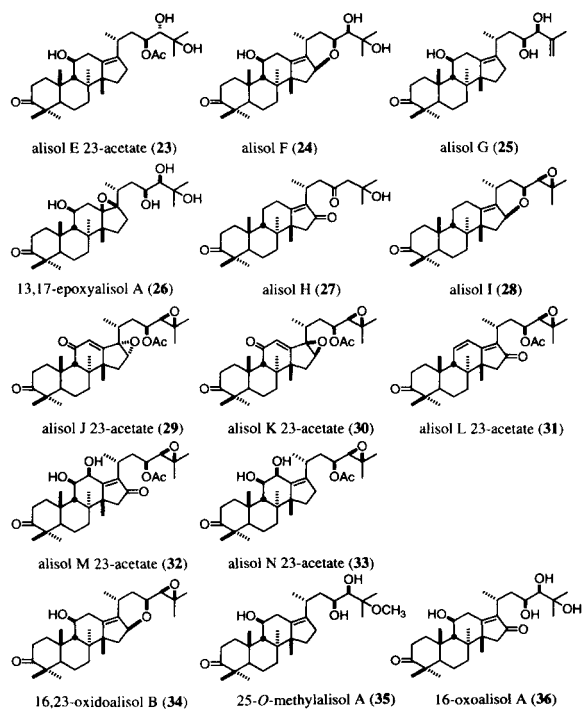


Figure 3.

## II. 建沢瀉の含有成分

建沢瀉の含有成分については、前述のように広東産沢瀉のトリテルペン成分について検討され、6, 7, 8, 9 が報告されている<sup>9,10</sup>。著者らは、建沢瀉から既知セスキテルペン alismol (11), alismoxide (12) 及び orientalol C (15) を単離同定した。また、トリテルペン成分として alisol A (1), alisol A monoacetate (2), alisol B (3), alisol B monoacetate (4), alisol C monoacetate (5), alisol D (7), alisol F (24), 11-deoxyalisol B (52), 11-deoxyalisol B 23-acetate (53) 及び 11-deoxyalisol A (58) を単離同定するとともに、新規成分として *seco*-protostane 型トリテルペン alismalactone 23-acetate (37)<sup>22</sup> や alismaketone C 23-acetate (40)<sup>23</sup> をはじめ、protostane 型トリテルペン 8 種 alismaketone A 23-acetate (38)<sup>22</sup>, alismaketone B 23-acetate (39)<sup>23</sup>, alismaketone D 23-acetate (41)<sup>24</sup>, alismaketone E 23-acetate (42)<sup>24</sup>, alismaketone F 23-acetate (43)<sup>24</sup>, alismaketone G (44)<sup>24</sup>, alismaketone H (45)<sup>24</sup>, alismaketone I (46)<sup>24</sup>, cycloartane 型トリテルペン alismaketone-J (47)<sup>24</sup> 及び植物成分としては珍しい lanostane 型トリテルペン alismaketone-K (48)<sup>24</sup> を単離し、既知成分への化学誘導や改良 Mosher 法の適用等によって絶対配置を含めた全化学構造を解明した (Figure 4)。また、陽極反応を用いた alisol 類 (1-4) の新しい化学変換について報告した<sup>25</sup>。

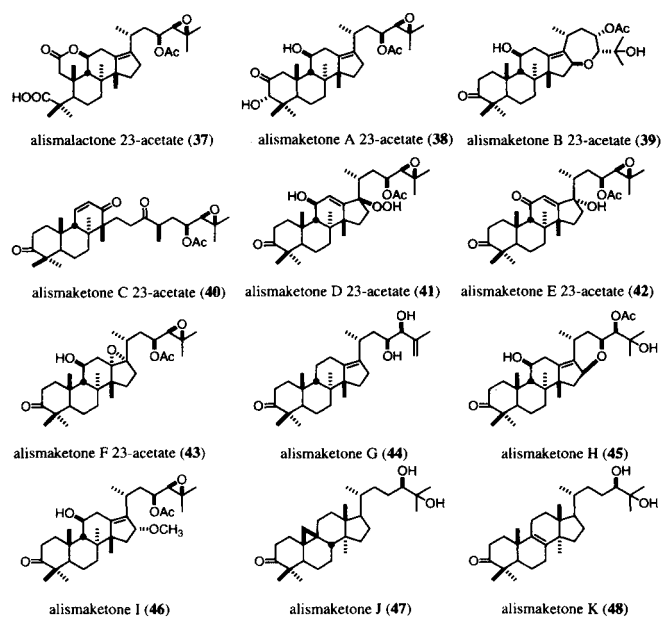


Figure 4.

主トリテルペン (1-4) をはじめ、建沢瀉から単離構造決定したトリテルペン類にもラット摘出動脈標本において高濃度  $K^+$  により惹起される収縮を抑制することが判明した (Table II)。先に我々はセスキテルペン成分の alismol (11) が血管収縮抑制作用を示すことを報告したが<sup>7</sup>、トリテルペン成分にも同様の活性があることが判明した<sup>22</sup>。また、沢瀉に抗炎症活性が伝承されていることから、これまでに川沢瀉や建沢瀉から得られている主要なトリテルペンおよびセスキテルペン成分について、リポ多糖により惹起されるマクロファージからの過剰な一酸化窒素 (NO) の産生に対する抑制作用を検討したところ、Table III に示すように alismol (11) などのセスキテルペン成分や alisol L 23-acetate (31) や alisol F (24) などのトリテルペン成分に強い活性が認められた<sup>22</sup>。さらに、alismol (11) や alisol F (24) には、誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) の誘導抑制が認められたことから、沢瀉のセスキテルペンやトリテルペン成分は iNOS の誘導を抑制することによって、マクロファージからの NO 産生を抑制する作用機序が判明した<sup>23</sup>。

## III. 沢瀉の加工調製における化学過程

沢瀉は、初冬にサジオモダガの地上部が枯れてから塊茎を掘り取り、茎部や夾雑物を除いた後、烘って乾燥ついでひげ根や粗皮を取るなどして調製される。このような生産地での新鮮材料から生薬を調製することを中国では制法 (粗加工) という。さらに、薬局や病院などの医療現場では、炮制 (修治) と呼ばれる加工調製が行われる。

Table II. Inhibitory effects of constituents from the rhizome of *A. orientale* on KCl-induced contraction in isolated rat thoracic aorta

|                                | N | Relaxation (%)           |                  |                  |                  |                   |
|--------------------------------|---|--------------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
|                                |   | Concentration ( $\mu$ M) |                  |                  |                  |                   |
|                                |   | 1                        | 3                | 10               | 30               | 100               |
| Vehicle (DMSO)                 | 9 | 0.5 $\pm$ 0.4            | 1.4 $\pm$ 0.6    | 2.7 $\pm$ 0.7    | 3.8 $\pm$ 0.8    | 4.4 $\pm$ 0.9     |
| Alismol (1)                    | 4 | 2.5 $\pm$ 0.5            | 8.5 $\pm$ 3.2*   | 17.3 $\pm$ 4.2*  | 44.4 $\pm$ 7.6** | 88.1 $\pm$ 5.6**  |
| Alisol A monoacetate (2)       | 5 | 5.8 $\pm$ 1.6            | 12.0 $\pm$ 1.9   | 26.9 $\pm$ 3.1** | 69.2 $\pm$ 5.8** | 96.9 $\pm$ 4.6**  |
| Alisol B (3)                   | 4 | 4.9 $\pm$ 1.0*           | 12.8 $\pm$ 3.0** | 46.5 $\pm$ 6.8** | 83.9 $\pm$ 1.5** | 92.9 $\pm$ 0.6**  |
| Alisol B monoacetate (4)       | 6 | 4.5 $\pm$ 0.5**          | 10.4 $\pm$ 2.5** | 35.7 $\pm$ 6.6** | 76.8 $\pm$ 4.8** | 92.1 $\pm$ 2.9**  |
| Alismalactone 23-acetate (37)  | 4 | 0.6 $\pm$ 0.4            | 6.3 $\pm$ 1.4    | 11.7 $\pm$ 2.1   | 34.4 $\pm$ 3.6** | 89.4 $\pm$ 6.6**  |
| Alismaketone A 23-acetate (38) | 5 | 2.6 $\pm$ 1.2            | 7.3 $\pm$ 1.1    | 21.4 $\pm$ 2.2** | 53.9 $\pm$ 5.6** | 99.6 $\pm$ 3.8**  |
| Alismaketone B 23-acetate (39) | 4 | 3.1 $\pm$ 1.1            | 12.4 $\pm$ 4.7** | 18.5 $\pm$ 5.3*  | 33.9 $\pm$ 8.2** | 71.4 $\pm$ 3.5**  |
| Alismaketone D 23-acetate (41) | 5 | 4.9 $\pm$ 2.2            | 7.8 $\pm$ 2.1    | 20.8 $\pm$ 1.8** | 55.4 $\pm$ 3.9** | 101.8 $\pm$ 5.0** |
| Alismaketone E 23-acetate (42) | 5 | 0.4 $\pm$ 0.3            | 1.9 $\pm$ 0.6    | 5.5 $\pm$ 1.3    | 16.8 $\pm$ 2.3   | 61.1 $\pm$ 3.6**  |
| Alismaketone F 23-acetate (43) | 4 | 0.3 $\pm$ 1.9            | 2.3 $\pm$ 1.2    | 8.1 $\pm$ 1.7    | 32.9 $\pm$ 7.0** | 85.0 $\pm$ 5.4**  |
| Alismaketone G (44)            | 5 | 2.9 $\pm$ 0.4            | 7.1 $\pm$ 0.6    | 17.7 $\pm$ 1.5** | 30.6 $\pm$ 2.0** | 46.9 $\pm$ 2.3**  |
| Alismaketone H (45)            | 4 | 1.6 $\pm$ 0.5            | 4.6 $\pm$ 1.8    | 9.8 $\pm$ 1.9    | 30.0 $\pm$ 6.8** | 74.6 $\pm$ 10.3** |
| Alismaketone I (46)            | 5 | 3.8 $\pm$ 1.3            | 7.9 $\pm$ 1.7    | 17.9 $\pm$ 2.9** | 53.0 $\pm$ 7.6** | 100.1 $\pm$ 6.7** |
| Alismaketone J (47)            | 5 | 1.8 $\pm$ 0.8            | 4.6 $\pm$ 1.0    | 13.4 $\pm$ 3.4   | 18.7 $\pm$ 3.9   | 30.7 $\pm$ 4.7**  |
| Alismaketone K (48)            | 5 | 3.4 $\pm$ 0.6            | 7.3 $\pm$ 0.3    | 11.9 $\pm$ 0.9   | 26.6 $\pm$ 5.9** | 40.0 $\pm$ 5.5**  |

Each value represents the mean  $\pm$  S.E. (\* $p$ <0.05, \*\* $p$ <0.01).

Table III. Inhibitory effects of constituents from the rhizome of *A. orientale* on NO production in LPS-activated mouse macrophages

| Compounds                        | Inhibition (%)   |                  |                  |                     |                     | IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) |
|----------------------------------|------------------|------------------|------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------|
|                                  | 1                | 3                | 10               | 30                  | 100                 |                             |
| Alisol A (1)                     | 0.2 $\pm$ 1.8    | 21.4 $\pm$ 2.2** | 26.2 $\pm$ 1.7** | 84.2 $\pm$ 0.3**,#  | 113.5 $\pm$ 0.2**,# | >10                         |
| Alisol A monoacetate (2)         | -2.9 $\pm$ 1.7   | 6.4 $\pm$ 0.7*   | 13.4 $\pm$ 0.6** | 71.0 $\pm$ 1.3**,#  | 111.5 $\pm$ 0.8**,# | >10                         |
| Alisol B (3)                     | 13.2 $\pm$ 1.4*  | 21.3 $\pm$ 6.3** | 36.3 $\pm$ 2.5** | 108.9 $\pm$ 0.2**,# | 108.2 $\pm$ 0.1**,# | >10                         |
| Alisol B monoacetate (4)         | 0.0 $\pm$ 4.2    | 13.4 $\pm$ 3.8   | 29.7 $\pm$ 3.6** | 105.8 $\pm$ 0.4**,# | 105.0 $\pm$ 0.5**,# | >10                         |
| Alisol C monoacetate (5)         | 2.9 $\pm$ 2.0    | 13.3 $\pm$ 1.4** | 21.1 $\pm$ 2.5** | 43.8 $\pm$ 2.8**    | 67.3 $\pm$ 1.8**    | 42                          |
| Alismol (11)                     | 3.4 $\pm$ 1.6    | 17.6 $\pm$ 2.7** | 27.0 $\pm$ 2.9** | 57.5 $\pm$ 1.2**    | 97.4 $\pm$ 1.4**    | 23                          |
| Alismoxide (12)                  | -2.5 $\pm$ 1.6   | -1.8 $\pm$ 1.6   | 0.4 $\pm$ 4.2    | 12.0 $\pm$ 2.6*     | 33.1 $\pm$ 4.1**    | >100                        |
| Orientalol A (13)                | -4.3 $\pm$ 1.8   | -3.1 $\pm$ 0.8   | 4.8 $\pm$ 3.2    | 21.2 $\pm$ 3.9**    | 64.1 $\pm$ 3.6**    | 68                          |
| Orientalol C (15)                | 0.9 $\pm$ 1.2    | 5.0 $\pm$ 2.9    | 14.1 $\pm$ 1.2** | 29.2 $\pm$ 2.1**    | 74.9 $\pm$ 0.9**    | 53                          |
| Sulfoorientalol b (17)           | 2.8 $\pm$ 1.9    | -2.2 $\pm$ 2.5   | 4.9 $\pm$ 2.4    | 16.3 $\pm$ 2.8**    | 21.3 $\pm$ 3.2**    | >100                        |
| Sulfoorientalol c (18)           | 8.4 $\pm$ 3.9    | 14.3 $\pm$ 2.5** | 11.0 $\pm$ 2.9*  | 21.5 $\pm$ 1.5**    | 27.1 $\pm$ 2.6**    | >100                        |
| Sulfoorientalol d (19)           | 3.3 $\pm$ 2.0    | -2.1 $\pm$ 3.0   | 4.3 $\pm$ 1.3    | 12.6 $\pm$ 1.2**    | 24.7 $\pm$ 2.4**    | >100                        |
| Alisol E                         | 5.8 $\pm$ 2.6*   | 21.4 $\pm$ 1.6** | 30.0 $\pm$ 0.9** | 112.7 $\pm$ 0.2**,# | 111.2 $\pm$ 0.2**,# | >10                         |
| Alisol E 23-acetate (23)         | 9.2 $\pm$ 9.7    | 10.0 $\pm$ 7.2   | 32.1 $\pm$ 5.1** | 81.0 $\pm$ 0.7**    | 103.7 $\pm$ 0.3**,# | 16                          |
| Alisol F (24)                    | 7.5 $\pm$ 1.6    | 14.8 $\pm$ 4.0** | 40.3 $\pm$ 1.5** | 69.6 $\pm$ 1.4**    | 99.5 $\pm$ 0.6**    | 15                          |
| Alisol G (25)                    | 8.8 $\pm$ 2.2*   | 21.4 $\pm$ 3.0** | 29.7 $\pm$ 1.7** | 104.2 $\pm$ 0.6**,# | 106.4 $\pm$ 0.5**,# | >10                         |
| Alisol H (27)                    | -5.1 $\pm$ 10.7  | 17.2 $\pm$ 1.5   | 26.7 $\pm$ 3.9** | 71.3 $\pm$ 0.5**    | 97.2 $\pm$ 1.4**    | 17                          |
| Alisol I (28)                    | -5.1 $\pm$ 3.8   | 21.7 $\pm$ 1.2** | 31.2 $\pm$ 1.7** | 84.2 $\pm$ 1.1**    | 100.4 $\pm$ 1.4**   | 12                          |
| Alisol K 23-acetate (30)         | 9.9 $\pm$ 2.2**  | 11.9 $\pm$ 1.4** | 31.1 $\pm$ 2.9** | 83.6 $\pm$ 0.7**,#  | 113.6 $\pm$ 0.2**,# | >10                         |
| Alisol L 23-acetate (31)         | 17.8 $\pm$ 3.9** | 27.9 $\pm$ 5.4** | 54.8 $\pm$ 2.1** | 86.5 $\pm$ 1.6**    | 104.0 $\pm$ 0.3**,# | 8.4                         |
| Alisol M 23-acetate (32)         | 19.0 $\pm$ 2.8*  | 29.7 $\pm$ 7.4** | 50.8 $\pm$ 3.1** | 86.3 $\pm$ 1.4**    | 104.1 $\pm$ 0.2**,# | 9.3                         |
| Alisol N 23-acetate (33)         | 5.9 $\pm$ 4.6    | 4.0 $\pm$ 2.2    | 32.3 $\pm$ 3.1** | 116.9 $\pm$ 0.1**,# | 115.7 $\pm$ 0.3**,# | >10                         |
| Alismalactone 23-acetate (37)    | 10.3 $\pm$ 2.0** | 23.2 $\pm$ 1.7** | 38.2 $\pm$ 1.6** | 65.6 $\pm$ 1.1**    | 90.7 $\pm$ 0.6**    | 16                          |
| Alismaketone B 23-acetate (39)   | -4.5 $\pm$ 5.9   | 7.5 $\pm$ 4.7    | 13.5 $\pm$ 3.6   | 42.9 $\pm$ 2.8**    | 90.8 $\pm$ 2.3**    | 36                          |
| Alismaketone C 23-acetate (40)   | 2.9 $\pm$ 2.5    | 10.2 $\pm$ 0.7   | 22.7 $\pm$ 2.5** | 61.0 $\pm$ 5.7**    | 113.8 $\pm$ 0.3**,# | 23                          |
| 3-Methylalismalactone 23-acetate | -2.6 $\pm$ 3.6   | 17.2 $\pm$ 5.5   | 49.2 $\pm$ 6.5** | 84.2 $\pm$ 3.5**    | 110.3 $\pm$ 0.6**,# | 10                          |
| Germacrene D (50)                | 7.5 $\pm$ 1.8*   | 1.6 $\pm$ 1.9    | 16.7 $\pm$ 1.6** | 29.0 $\pm$ 1.7**    | 68.5 $\pm$ 1.5**    | 58                          |
| 11-Deoxyalisol B (52)            | 3.9 $\pm$ 1.7    | 0.7 $\pm$ 2.8    | 38.7 $\pm$ 1.2** | 107.1 $\pm$ 0.0**,# | 106.5 $\pm$ 0.1**,# | >10                         |
| L-NMMA                           | 4.4 $\pm$ 2.0    | 2.0 $\pm$ 1.6    | 17.7 $\pm$ 2.8** | 52.3 $\pm$ 1.5**    | 79.2 $\pm$ 0.9**    | 28                          |

Each value represents the mean  $\pm$  S.E. (N=4) and IC<sub>50</sub> was determined graphically (\* $p$ <0.05, \*\* $p$ <0.01).

#: Cytotoxic effect was observed.

例えば、沢瀉を水に浸し、8分通り水分をしみ込ませ、十分に湿り気を加えた後に切り、日干しして沢瀉片を調製する。沢瀉片に塩を吹きかけ、むらなくかき混ぜ、しばらくそのままに潤した後、鍋にいれてとろ火で炒る。表面が幾分黄色になったら取り出し、風通しのよい所で乾燥させるなどして塩沢瀉を調製する。制法や炮制の目的や効能については、古くからの臨床経験などから一応の説明がなされているが、制法や炮制の過程における成分の化学変化や含量の変動などの化学的解析や薬効の変化に関する薬理学的説明はこれまでほとんど行われていない。

本稿では、サジオモダカ新鮮塊茎の含有成分を明らかにするとともに、乾燥処理における成分変化の化学過程を解析した結果について述べる。

#### i) サジオモダカ新鮮塊茎の含有成分

日本産、台湾産、中国四川省産及びドイツ産サジオモダカの塊茎について含有成分を精査し、セスキテルペンの単離収率を Table IV に示した。セスキテルペン成分としては、日本産サジオモダカ塊茎には極微量の alismol (11) や alismoxide (12) の存在が認められるにすぎず、主成分は germacrane 型セスキテルペン germacrene D (50) であり、また少量の germacrene C (49) も得られた。一方、台湾産と四川省産サジオモダカのセスキテルペン成分は、日本産とは異なり主セスキテルペンは germacrene C (49) であり、alismol (11) や alismoxide (12) も少量得られた。ドイツ産サジオモダカ塊茎のセスキテルペンは、日本産と中国、台湾産の中間的であり、49 が多いものの 50 もかなり存在していた。Germacrene C (49) は非常に不安定な化合物で、熱時抽出やシリカゲルカラムクロマトグラフィーの過程で容易に 11 や 12 に変化した。沢瀉から得られた 11 や 12 がほとんど旋光性を示さなかったことを考え合せ、沢瀉の

11 と 12 はいずれも 49 から二次的に生成したと考えられた。しかし、台湾産及び四川省産サジオモダカ新鮮塊茎から室温以下の温度での抽出と迅速な分離処理で得られた 11 や 12 には旋光性が認められたことから、一部の 11 や 12 は生合成されている可能性が推定された。11 の絶対配置については、その誘導体 51 の CD スペクトルの解析から判明した<sup>14)</sup>。

一方、トリテルペン成分としては、日本産、台湾産、四川省産及びドイツ産はいずれのサジオモダカ塊茎も共通しており、alismol B (3), alismol B monoacetate (4) のほかに、新規トリテルペン 11-deoxyalismol B (52) 及び 11-deoxyalismol B 23-acetate (53) を含有していた。52 と 53 の絶対構造は 4 から 52 と 53 に化学誘導することによって決定した<sup>26)</sup>。昭和大学薬学部の伊田教授らも日本産サジオモダカ新鮮塊茎について研究を進めており、種々のトリテルペン (1, 2, 3, 4, 5, 25, 35, 52, 53) が単離されるとともに、セスキテルペン 10-O-methylalismsoxide (54), ジテルペン 16(R)-kaurane-2,12-dione (55) 及びトリテルペン 11-deoxy-13 $\beta$ ,17 $\beta$ -epoxyalismol B 23-acetate (56), 11-deoxyalismol C 23-acetate (57), 11-deoxyalismol A (58) 及び 11-deoxy-13 $\beta$ ,17 $\beta$ -epoxyalismol A (59) を報告している<sup>18)</sup>。

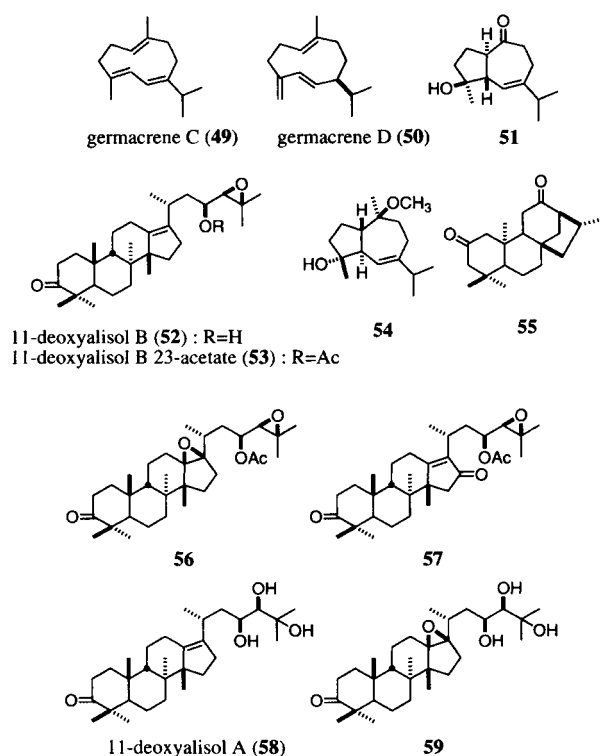


Table IV. Isolation yields (%) of sesquiterpenes from the fresh rhizome of *Alisma orientale*

|                              | Fresh rhizome of <i>Alisma orientale</i> originating from |        |       |         |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------|-------|---------|
|                              | China                                                     | Taiwan | Japan | Germany |
| Germacrene C (49)            | 0.03                                                      | 0.08   | 0.006 | 0.02    |
| Germacrene D (50)            | N.D.                                                      | N.D.   | 0.06  | 0.07    |
| Alismol (11)                 | 0.003                                                     | 0.005  | Trace | 0.001   |
| Alismoxide (12)              | 0.003                                                     | 0.004  | Trace | 0.001   |
| Orientalols A-C (13-15)      | N.D.                                                      | N.D.   | N.D.  | N.D.    |
| Sulfoorientalols a-d (16-19) | N.D.                                                      | N.D.   | N.D.  | N.D.    |

N.D. (No detectable amount)

Figure 5.

Table V. Triterpene contents (%) in various *Alismatis Rhizoma* and the fresh and dried rhizome of *Alisma orientale*

|                                  | Alismatis Rhizoma |        | Fresh rhizome of <i>Alisma orientale</i> |        |        | Dried rhizome of <i>Alisma orientale</i> originating in Taiwan |                |                |
|----------------------------------|-------------------|--------|------------------------------------------|--------|--------|----------------------------------------------------------------|----------------|----------------|
|                                  | China             | Taiwan | China                                    | Taiwan | Japan  | Air-drying                                                     | Hot-air (45°C) | Hot-air (60°C) |
| Aisol A (1)                      | 0.0270            | 0.0165 | -                                        | 0.0139 | 0.0004 | 0.0049                                                         | 0.0004         | 0.0004         |
| Aisol A monoacetate (2)          | 0.0101            | 0.0071 | 0.0069                                   | 0.0122 | -      | 0.0215                                                         | 0.0250         | 0.0015         |
| Alisol B (3)                     | 0.0331            | 0.0247 | 0.8829                                   | 0.8506 | 0.1138 | 0.1290                                                         | 0.1540         | 0.0810         |
| Alisol B monoacetate (4)         | 0.0593            | 0.0200 | 0.9152                                   | 0.4031 | 0.0298 | 0.0815                                                         | 0.0737         | 0.0585         |
| Alisol E 23-acetate (23)         | 0.0038            | 0.0013 | -                                        | -      | -      | -                                                              | -              | -              |
| Alisol F (24)                    | 0.0076            | 0.0043 | -                                        | 0.0015 | -      | 0.0011                                                         | 0.0070         | 0.0004         |
| Alisol G (25)                    | 0.0033            | 0.0084 | -                                        | -      | -      | -                                                              | 0.0006         | -              |
| 13,17-epoxyalisol A (26)         | -                 | 0.0043 | -                                        | 0.0940 | -      | 0.1300                                                         | 0.1500         | 0.0560         |
| 11-Deoxyalisol B (52)            | -                 | -      | 0.0801                                   | 0.0764 | 0.0026 | 0.0319                                                         | 0.0238         | 0.0340         |
| 11-Deoxyalisol B 23-acetate (53) | 0.0031            | -      | 1.2683                                   | 0.9141 | 0.1742 | 0.0423                                                         | 0.0669         | 0.0453         |
| Total Triterpene                 | 0.1517            | 0.0866 | 3.1534                                   | 2.2718 | 0.3206 | 0.4422                                                         | 0.5019         | 0.2771         |

## ii) 沢瀉及びサジオモダカ新鮮塊茎のトリテルペン成分のHPLC定量<sup>27)</sup>

サジオモダカ新鮮塊茎から沢瀉への乾燥過程でのトリテルペン成分の変化を解析するため、HPLCを用いた alisol A (1), alisol A monoacetate (2), alisol B (3), alisol B monoacetate (4), alisol E 23-acetate (23), alisol F (24), alisol G (25), 13,17-epoxyalisol A (26), 11-deoxyalisol B (52) 及び 11-deoxyalisol B 23-acetate (53) の分離定量法を開発した。この定量法を応用して、沢瀉市場品2種（川沢瀉、台湾産沢瀉）及びサジオモダカ新鮮塊茎3種（四川省産、台湾産、日本産）のトリテルペン成分を定量比較した。

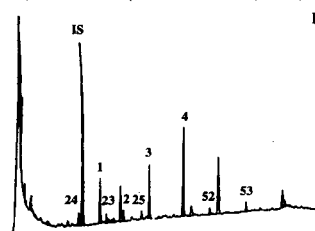
さらに、台湾産サジオモダカ塊茎を用いて室温通風及び温風（45°C、60°C）での乾燥処理を行い、各乾燥品のトリテルペン成分を定量比較することによって、乾燥処理における化学過程を解析した。その結果を Table V に示した。

沢瀉市場品2種（川沢瀉と台湾産沢瀉）のトリテルペン成分を比較すると、いずれも共通して1, 2, 3, 4, 23, 24, 25 を含有しており、総トリテルペン含量は川沢瀉の方が台湾産に比べて高いことが判明した。

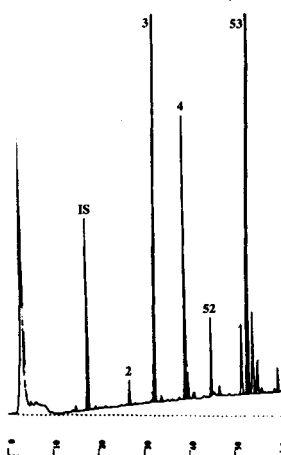
3種のサジオモダカ新鮮塊茎のトリテルペン成分を比較すると、四川省産サジオモダカ新鮮塊茎の主トリテルペンは、3, 4, 53 であり、52 がそれらのトリテルペンの約 1/10 程度含有されており、また少量の2の存在が認められた。台湾産サジオモダカ新鮮塊茎には、四川省産サジオモダカ塊茎と共通するトリテルペン（2, 3, 4, 52, 53）がほぼ同様の含量で含まれているほかに、26 及び微量の1, 24 が認められた。各トリテルペンの総含量は、台湾産よりも四川省産サジオモダカ新鮮塊茎の方が高いことが判明した。日本産サジオモダカ塊茎には、四

川省産と同じトリテルペン（3, 4, 52, 53）が含有されているほかに微量の1が認められた、しかし、各トリテルペン含量は四川省産、台湾産より低く、総トリテルペン含量は四川省産の約 1/10 にすぎなかった。日本産サジオモダカ塊茎はセスキテルペン成分も四川省産や台湾

### i) Alismatis Rhizoma (Szechwan Province, China)



### ii) Fresh Rhizome of *Alisma orientale* (Szechwan Province, China)



1: alisol A, 2: alisol A monoacetate, 3: alisol B, 4: alisol B monoacetate, 23: alisol E 23-acetate, 24: alisol F, 25: alisol G, 26: 13,17-epoxyalisol A, 52: 11-deoxyalisol B, 53: 11-deoxyalisol B 23-acetate  
IS: terephthalic acid diethyl ester (internal standard)

Figure 6. HPLC chromatograms of *Alismatis Rhizoma* and fresh rhizome of *Alisma orientale*

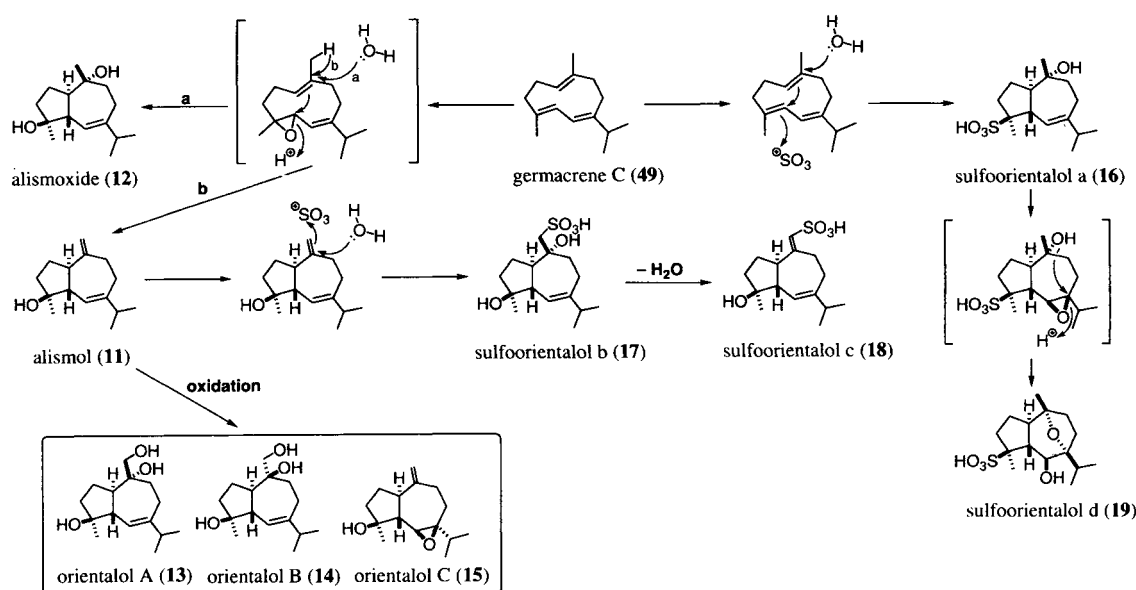


Figure 7. Chemical change of sesquiterpene constituents during processing

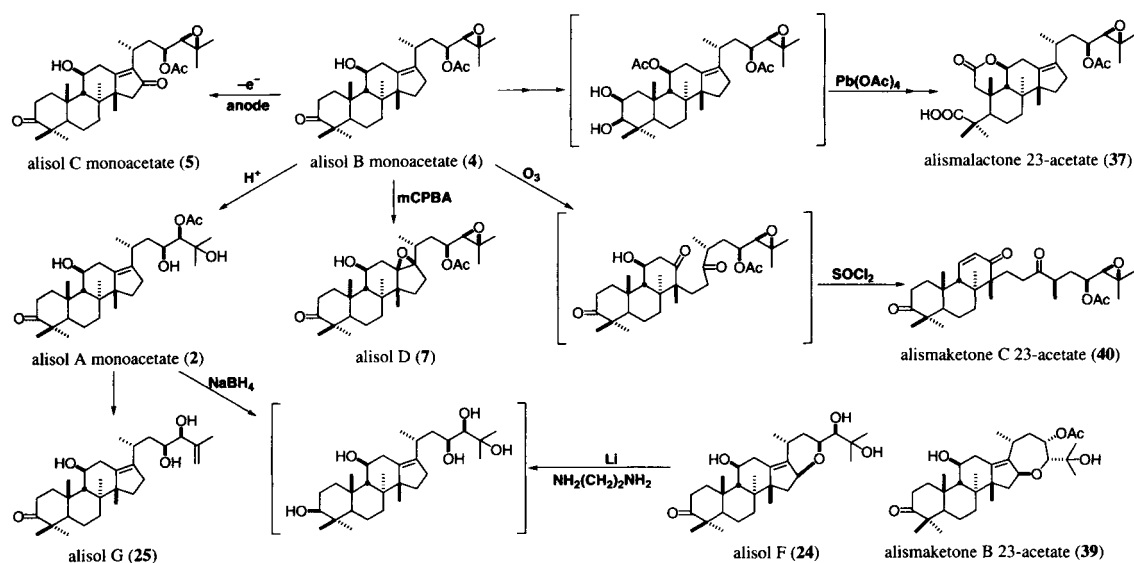


Figure 8. Chemical correlations of alisol B monoacetate

産と異なることから、トリテルペン含量の著しく低いことと考え合わせ、基原植物の違いなど植物形態学的な面から更に詳細な検討が必要と考えられる。

川沢瀉と四川省産サジオモダカ新鮮塊茎を比較した HPLC 図を Figure 6 に示した。新鮮塊茎中に主成分として認められた 53 が川沢瀉では微量にすぎず、また、川沢瀉における 3, 4 及び 52 の含量も新鮮塊茎に比べて著しく少ないことが判明した。一方、新鮮塊茎中には認められなかった 1, 23, 24, 25 が川沢瀉にはかなり含まれていることや、新鮮塊茎中の微量成分である 2 の含量が

増加していることが判明した。台湾産の沢瀉とサジオモダカ新鮮塊茎のトリテルペン成分を比較した場合においても四川省産の場合と同様の傾向が認められた。3 及び 4 から 1, 2, 23-26 への化学誘導可能なことを考え合わせ、加工調製過程で 3, 4 の 24,25 位エポキシ環の開裂などの化学過程によって 1, 2, 23-26 が生成したと推定された。

台湾産サジオモダカ新鮮塊茎と 3 種の乾燥品のトリテルペン含量を比較するといずれの乾燥品においても 3, 4, 52, 53 の含量が著しく減少し、また、2, 23, 24 含量

が増加する傾向にあることが確認され、乾燥行程での上記トリテルペンの化学過程が支持される結果となった。

以上の検討の結果、サジオモダカ新鮮塊茎から生葉沢瀉への乾燥処理によって、セスキテルペンについては、中国産や台湾産では Figure 7 に示したように新鮮塊茎の主成分 germacrene C (49) から alismol (11) や alismoxide (12) が生成し、ついで orientalol 類 (13-15) や sulfoorientalol 類 (16-19) が生成すると考えられる。日本産では、新鮮塊茎の主成分 germacrene D (50) は安定であり変化することなく存在する。一方、トリテルペン成分では Figure 8 に示す alisol B monoacetate (4) からの化学変換の結果をもとに考察した結果、alisol B (3), alisol B monoacetate (4) から alisol A (1), alisol A monoacetate (2), alisol E 23-acetate (23), alisol F (24), alisol G (25), 13,17-epoxyalisol A (26) などが生成する化学過程の存在が推察された。2 には尿中のナトリウム排泄量の増加やコレステロール下降作用などが認められ、沢瀉の利尿及び抗脂肪肝作用成分と考えられており、また 1 にも抗脂血症抑制作用が報告されている。サジオモダカ新鮮塊茎中にはほとんど認められない 1 や 2 が沢瀉への加工調製によって生成することは沢瀉の伝統的加工調製の意義を考えるうえで興味深い知見と思われる。

\*〒607-8412 京都市山科区御陵四丁野町 1

京都薬科大学生薬学教室 吉川雅之

## References

- 1) a) Shanghai Scientific Technologic Publisher and Shogakukan ed., "Dictionary of Chinese Natural Medicines". Shogakukan, Tokyo, 1985, pp. 1709-1712 (in Japanese); b) Nishimoto, K.: The quality of Hoelen, and of *Alisma Rhizome*. *J. Traditional Sino-Japanese Medicine (Gendai Toyo Igaku)*, **7**, 77-83, 1986 (in Japanese); c) The Editing Committee of Japanese Pharmacopeia Comment Book ed., "The Comment Book of the Japanese Pharmacopeia XIV". Hirokawa Publishing Co., Tokyo, 2001, pp. D-705-707 (in Japanese).
- 2) Hikino, H.: Constituents and physiological actions of *Alisma*. *J. Traditional Sino-Japanese Medicine (Gendai Toyo Igaku)*, **7**, 71-76, 1986 (in Japanese).
- 3) a) Murata, T., Imai, Y., Hirata, T., Miyamoto, M.: Biological-active triterpenes of *Alismatis Rhizoma*. I. Isolation of the alisol. *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 1347-1353, 1970; b) Murata, T., Miyamoto, M.: Biological-active triterpenes of *Alismatis Rhizoma*. II. The structures of alisol A and alisol A monoacetate. *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 1354-1361, 1970; c) Kamiya, K., Murata, T., Nishikawa, M.: Biological-active triterpenes of *Alismatis Rhizoma*. III. The X-ray crystallography of alisol A (23,24)-acetone 11-monobromoacetate. *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 1362-1368, 1970; d) Murata, T., Shinohara, M., Miyamoto, M.: Biological-active triterpenes of *Alismatis Rhizoma*. IV. The structures of alisol B, alisol B monoacetate, and alisol C monoacetate-Some reactions of the  $\alpha$ -hydroxy epoxide of the alisol B derivatives. *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 1369-1384, 1970.
- 4) Imai, Y., Matsumura, H., Aramaki, Y.: Hypocholesterolemic effect of alisol A-24-monoacetate and its related compounds in rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, **20**, 222-228, 1970.
- 5) Hikino, H., Iwakawa, T., Oshima, Y., Nishikawa, K., Murata, T.: Diuretic principles of *Alisma plantago-aquatica* var. *orientale* Rhizomes. *Natural Medicines (Shoyakugaku Zasshi)*, **36**, 150-153, 1982 (in Japanese).
- 6) Oshima, Y., Iwakawa, T., Hikino, H.: Alismol and alismoxide, sesquiterpenoids of *Alisma Rhizomes*. *Phytochemistry*, **22**, 183-185, 1983.
- 7) a) Yamahara, J., Matsuda, H., Murakami, H., Fujimura, H.: The active principle of *Alismatis Rhizoma* which inhibits contractile responses in aorta. *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 4422-4424, 1986; b) Matsuda, H., Kobayashi, G., Yamahara, J., Fujimura, H., Kurahashi, K., Fujiwara, M.: Effects of alismol isolated from *Alismatis Rhizoma* on calcium-induced contraction in the rabbit thoracic aorta. *Life Sci.*, **41**, 1845-1852, 1987; c) Matsuda, H., Yamahara, J., Kobayashi, G., Fujimura, H., Kurahashi, K., Fujiwara, M.: Effect of alismol on adrenergic mechanism in isolated rabbit ear artery. *Jpn. J. Pharmacol.*, **46**, 331-335, 1988; d) Yamahara, J., Kobayashi, G., Iwamoto, M., Matsuda, H., Fujimura, H.: The effect of alismol isolated from *Alismatis Rhizoma* on experimental hypertensive models in rats. *Phytother. Res.*, **3**, 57-60, 1989; e) Yamahara, J., Matsuda, H., Kobayashi, G., Katayama, T., Fujimura, H.: Effect of alismol isolated from *Alismatis Rhizoma* on working heart perfusion in rat. *Phytother. Res.*, **3**, 72-74, 1989.
- 8) Matsuda, H., Kobayashi, G., Yamahara, J., Fujimura, H.: Quantitative analysis of alismol in *Alismatis Rhizoma*. *Natural Medicines (Shoyakugaku Zasshi)*, **42**, 147-150, 1988 (in Japanese).
- 9) Fukuyama, Y., Geng, P. W., Wang, R., Yamada, T., Nakagawa, K.: 11-Deoxyalisol C and alisol D. New protostane-type triterpenoids from *Alisma plantago-aquatica*. *Planta Med.*, **54**, 445-447, 1988.
- 10) Geng, P. W., Fukuyama, Y., Yamada, T., Wang, R., Bao, J., Nakagawa, K.: Triterpenoids from the rhizome of *Alisma plantago-aquatica*. *Phytochemistry*, **27**, 1161-1164, 1988.
- 11) Geng, P. W., Fukuyama, Y., Wang, R., Bao, J., Nakagawa, K.: An acylated sitosterol glucoside from *Alisma plantago-aquatica*. *Phytochemistry*, **27**, 1895-1896, 1988.
- 12) Shimizu, N., Tomoda, M.: Salts of myo-inositol hexaphosphate in *Alismatis Rhizoma* and *Angelicae Radix* as an indicator for identification. *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 3918-3921, 1987.
- 13) Matsuda, H., Shimoda, H., Yoshikawa, M.: Dimeric sesquiterpene thioalkaloids with potent immunosuppressive activity from the rhizome of *Nuphar pumilum*: Structure requirements of Nuphar alkaloids for immunosuppressive activity. *Bioorg. Med. Chem.*, **9**, 1031-1035, 2001 and literatures cited therein.
- 14) a) Yoshikawa, M., Hatakeyama, S., Tanaka, N., Fukuda, Y., Murakami, N., Yamahara, J.: Orientalols A, B, and C, Sesquiterpene constituents from Chinese *Alismatis Rhizoma*, and revised structures of alismol and alismoxide. *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 2582-2584, 1992; b) Yoshikawa, M., Yamaguchi, S., Matsuda, H., Kohda, Y., Ishikawa, H., Tanaka, N., Yamahara, J., Murakami, N.: Crude drugs from aquatic plants. IV. On the constituents of *Alismatis Rhizoma*. (2). Stereostructures of bioactive sesquiterpenes,

- alismol, alismoxide, orientalols A, B, and C, from Chinese *Alismatis Rhizoma*. *Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 1813-1816, 1994.
- 15) Kitagawa, I., Kobayashi, M., Cui, Z., Kiyota, Y., Ohnishi, M.: Marine natural products. XV. Chemical constituents of an Okinawan soft coral of *Xenia* sp. (Xeniidae). *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 4590-4596, 1986.
- 16) a) Yoshikawa, M., Fukuda, Y., Hatakeyama, S., Tanaka, N., Matsuda, H., Yamahara, J., Murakami, N.: Sulfoorientalols a, b, c, and d, four new biologically active sesquiterpenes, from *Alismatis Rhizoma*. *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 1194-1196, 1993; b) Yoshikawa, M., Yamaguchi, S., Matsuda, H., Tanaka, N., Yamahara, J., Murakami, N.: Crude drugs from aquatic plants. V. On the constituents of *Alismatis Rhizoma*. (3), Stereostructures of water-soluble bioactive sesquiterpenes, sulfoorientalols a, b, c, and d, from Chinese *Alismatis Rhizoma*. *Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 2430-2435, 1994.
- 17) Yoshikawa, M., Hatakeyama, S., Tanaka, N., Fukuda, Y., Yamahara, J., Murakami, N.: Crude drugs from aquatic plants. I. On the constituents of *Alismatis Rhizoma*. (1). Absolute stereostructures of alisol E 23-acetate, F, and G, Three new protostane-type triterpenes from Chinese *Alismatis Rhizoma*. *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 1948-1954, 1993.
- 18) Nakajima, Y., Satoh, Y., Katsumata, M., Tsujiyama, K., Ida, Y., Shoji, J.: Terpenoids of *Alisma orientale* Rhizome and the crude drug *Alismatis Rhizoma*. *Phytochemistry*, **36**, 119-127, 1994.
- 19) Kubo, M., Matsuda, H., Tomohiro, N., Yoshikawa, M.: Studies on *Alismatis Rhizoma*. I. Anti-allergic effects of methanol extract and six terpene components from *Alismatis Rhizoma* (dried rhizome of *Alisma orientale*). *Biol. Pharm. Bull.*, **20**, 511-516, 1997.
- 20) Matsuda, H., Tomohiro, N., Yoshikawa, M., Kubo, M.: Studies on *Alismatis Rhizoma*. II. Anti-complementary activities of methanol extract and terpene components from *Alismatis Rhizoma* (dried rhizome of *Alisma orientale*). *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 1317-1321, 1998.
- 21) Yoshikawa, M., Tomohiro, N., Murakami, T., Ikebata, A., Matsuda, H., Matsuda, H., Kubo, M.: Studies on *Alismatis Rhizoma*. III. Stereostructures of new protostane-type triterpenes, alisol H, I, J 23-acetate, K 23-acetate, L 23-acetate, M 23-acetate, and N 23-acetate, from the dried rhizome of *Alisma orientale*. *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 524-528, 1999.
- 22) Yoshikawa, M., Murakami, T., Ikebata, A., Ishikado, A., Murakami, N., Yamahara, J., Matsuda, H.: Absolute stereostructures of alismalactone 23-acetate and alismaketone-A 23-acetate, new *seco*-protostane and protostane-type triterpenes with vasorelaxant effects from Chinese *Alismatis Rhizoma*. *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 756-758, 1997.
- 23) Matsuda, H., Kageura, T., Toguchida, I., Murakami, T., Kishi, A., Yoshikawa, M.: Effects of sesquiterpenes and triterpenes from rhizome of *Alisma orientale* on nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated macrophages: Absolute stereostructures of alismaketones B 23-acetate and C 23-acetate. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **9**, 3081-3086, 1999.
- 24) Yoshikawa, M., Murakami, T., Ishikado, A., Ikebata, A., Murakami, N., Yamahara, J., Matsuda, H.: Stereostructures and vasorelaxant effect of protostane, *seco*-protostane, lanostane, and cycloartane type triterpenes isolated from Chinese *Alismatis Rhizoma*. *The 40th Symposium on the Chemistry of Terpenes, Essential Oils, and Aromatics*, Abstract of Papers, Saga, October 26-28, 1996, pp. 196-198 (in Japanese).
- 25) Murakami, N., Yagi, N., Murakami, T., Yoshikawa, M.: Electrochemical transformation of protostane type triterpenes. *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 633-635, 1996.
- 26) Yoshikawa, M., Hatakeyama, S., Tanaka, N., Matsuoka, T., Yamahara, J., Murakami, N.: Crude drugs from aquatic plants. II. On the constituents of the rhizoma of *Alisma orientale* JUZEP. originating from Japan, Taiwan, and China. Absolute stereostructures of 11-deoxyalisol B and B 23-acetate. *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 2109-2112, 1993.
- 27) Yoshikawa, M., Yamaguchi, S., Chatani, N., Nishino, Y., Matsuoka, T., Yamahara, J., Murakami, N., Matsuda, H., Kubo, M.: Crude drugs from aquatic plants. III. Quantitative analysis of triterpene constituents in *Alismatis Rhizoma* by means of high performance liquid chromatography on the chemical change of the constituents during *Alismatis Rhizoma* processing. *Yakugaku Zasshi*, **114**, 241-247, 1994 (in Japanese).