

# 分取クロマトシステムを用いたスダチチン精製の検討に関する研究

## 1. 目的

スダチ果皮には特有のポリメトキシフラボン（スダチチン）が含まれており、スダチチンに抗肥満・抗糖尿病作用があることが見出されている。スダチチンを新規健康食品素材として市場に十分に供給するために、スダチ果皮からスダチチンを効率良く抽出、精製する技術をこれまで検討してきた。

本研究では、スダチチン標準品の製造を目標として、試料の塩酸による加水分解の有無によるスダチチン抽出量の差異を検討した。さらに、加水分解を行った試料については、分離に用いる分取クロマトシステムの移動相の組成についても検討した。

## 2. 方法と結果

### 2-1. 試料の加水分解を行う場合

前処理としてスダチ果皮をエタノールにて抽出し、スプレードライヤーにて粉末化したスダチ果皮エキス末を作成した。さらに、合成吸着剤（ダイヤイオン HP-20, 三菱化学）を用いて処理した「スダチ軟エキス」（スダチチンを1%含む）を作成した。この試料を同量ずつ分け、塩酸による加水分解の有無によるスダチチン抽出量の差異を検討した。

スダチ軟エキスを塩酸により加水分解することにより、配糖体の形で存在するスダチチン（スダチチン）もすべてアグリコンの形に変換され、総量のスダチチンが抽出される。

スダチ軟エキス 300mL に 12N 塩酸 200mL, エタノール 300mL を加えてマイクロ波処理 (87°C に到達してから 10 分間) を行った。冷却後、水酸化ナトリウムで中和 (pH6.8) した後、上清部を分液ろうとに移し、酢酸エチルにて抽出した。沈殿部も別途酢酸エチルで抽出し、上清部の抽出液と合わせた後、硫酸ナトリウムを入れ、脱水処理した。ろ過した後、この時点で、酢酸エチル抽出液に含まれるスダチチンを測定したところ、0.87mg/mL となった。液量は 1,170mL であり、スダチチン総量は 1,018mg と算出された。この液をエバポレーターにて濃縮し、全量をシリカゲルに吸着させたものを以下の実験に用いた。

シリカゲルに吸着させた試料をフラッシュカラムに詰め、分取クロマトシステム（日本ビュッヒ）に接続した。分離カラムはシリカゲルが予め充填されているパックドカラム（日本ビュッヒ）を用いた。

まず、移動相を酢酸エチル：ヘキサン：*t*-ブタノール=1.2:3:0.5 とし、流速 10mL/min に設定した。

経時的に分離液を 50mL ずつ三角フラスコに分取し、スダチチン量を HPLC にて分析した。この操作を 80 分間行った後、分離カラムに吸着したスダチチンを溶出させるため、酢酸エチルを 50 分間流し、10 分ごとに分取した。スダチチンが高濃度に含まれる画分をエバポレーターで濃縮し、結晶化した。次に、酢酸エチル：ヘキサンの比率をそれぞれ 1:1 および 1:2 に変えて同様に操作した。

この結果、いずれの条件下でもスダチチンは分離カラムに強く吸着しており、酢酸エチルで洗浄した際に溶出してきた。この画分を結晶化したところ、一度に 80% 程度の純度のスダチチンを回収できた。ここから再結晶を繰り返すことで、さらに高純度に精製できる。以上より、分取クロマトシステムを用いることにより、簡便な操作で、かつ短時間で高純度のスダチチンを分取できることが分かった。

### 2-2. 試料の加水分解を行わない場合

スダチ軟エキスを加水分解しない場合、配糖体の形で存在するスダチチンは抽出されず、アグリコンのスダチチンしか抽出されない。

スダチ軟エキス 300mL を分液ろうとに入れ、直接、酢酸エチル 500mL を加えて抽出した。酢酸エチル層に硫酸ナトリウムを入れてよく振り、ろ過した。この時点で、酢酸エチル抽出液に含まれるスダチチンを測定したところ、0.08mg/mL となった。液量は 840mL であり、スダチチン総量は 68.0mg と算出された。この液をエバポレーターにて濃縮し、全量をシリカゲルに吸着させた後、上記と同様に分取クロマトシステムを用いて、スダチチンを分離した。移動相は、酢酸エチル：ヘキサンの比率を 1:1 とした。

### 2-3. アグリコンと配糖体の存在比

スダチ軟エキスにはスダチチンが総量（アグリコン+配糖体）で 1,018mg, アグリコンとして 68.0mg 含まれていた。配糖体量は、総量からアグリコン量を差し引いた 950mg と推定した。この結果から、スダチチンのアグリコンと配糖体は、それぞれ 7%、93% の比率で存在することが分かった。

## 3. まとめ

分取クロマトシステムを用いることにより、純度 80% 以上のスダチチン標準品を量的に安定して生産できるようになった。さらに、純度 95% 以上の製品も生産できる態勢が整った。