

漢薬大棗の活性成分について

— 薬物宝庫の天然物 —

岡村 信幸, 八木 晟

**Biologically and Pharmacologically Active
Constituents in Zizyphus Fructus**

Nobuyuki OKAMURA and Akira YAGI

ABSTRACT A specific inhibitor of IgE-antibody formation, ethyl α -D-fructofuranoside was found from ethanol extract of *Zizyphus fructus*. This review presents the chemical and pharmacological characterization of IgE-antibody formation suppressor, and some biologically active substances.

I はじめに

天然起源の薬物は、古くから人類が生への執着から試行錯誤を繰り返しながら、次第に経験的に集約されてきた。これら天然起源の薬材は一般に「生薬」と呼ばれ、その歴史は紀元前にさかのぼり、人類の文明とその発展をともにしながら現代に伝承されてきた。古代エジプトでは、ケイヒ、アヘン、ヒヨス、センナ、ヒマシ油、アロエなどが、すでに今日と同じ目的で利用されていた。タバコ、キナ皮、クラーレ、コカ、トコンなどは、アメリカ大陸発見を発端にヨーロッパにもたらされ、現在でも重要な医薬品原料として用いられている。中国では本草学が体系立った薬物療法を論ずる学問として誕生し、中国および日本における自然科学の基礎を築いた。後漢(AD 200年)の時代に、張仲景や華佗のような名医の編著とされている中国最古の薬物書「神農本草経」が集大成された。

神農本草経の中に、筆者らが研究テーマに選んだ大棗(たいそう)が収載され、緩和、強壮、鎮静、利尿、補血、咳嗽治療などを目標に、多くの方剤に配合されている。漢名で大棗と呼ばれるこの果実は、日本では初夏に入ってようやく芽を出す特性をもってナツメと名付けられ、初秋には人家の庭先で小さな楕円形の果実を付ける落葉低木として知られている。日本薬局方(JP. X)によると、大棗はナツメ *Zizyphus jujuba* Miller var. *inermis* Rehder (*Zizyphus vul-*

garis Lamarck *var. inermis* Bunge) またはその他近縁植物 (クロウメモドキ科: Rhamnaceae) の果実と規定されている。1975年, 中国の生薬について集大成された「中薬大辞典」には, 大棗エキスが輸血に伴うアレルギー反応の予防や慢性肝炎, 肝硬化患者の治療などに有用であり, 過敏性紫斑病に大棗を主剤とした「紫棗煎湯」が効果を示すと書かれている。江田昭英教授 (岐阜薬大) らは, 漢方処方中アレルギー性疾患と考えられる症状に繁用される生薬20種について, 抗アレルギー活性を検討している。その結果, 大棗のアルコールエキスに100mg/kg/day (rat) の投与で azathiopurine [免疫抑制剤 imuran (商品名)] と同程度のアトピー性疾患の抗体産生を抑制する効果を見出した¹⁾。大棗の連続投与により, 催眠および睡眠延長効果などの鎮静作用が臨床治験として得られており²⁾, また抗腫瘍性が認められるという報告³⁾がある。さらに大棗には, 著明な cyclic AMP, cyclic GMP 活性が認められ, cyclic AMP⁴⁾, cyclic GMP⁵⁾ の高濃度の存在が明らかにされている。

筆者らは前述の江田教授との共同研究により, 大棗アルコールエキスの抗アレルギー活性成分を究明する目的で, 本研究を企画した。同時に, 大棗の漢方における各種臨床応用の意義を解明し, 新しい医薬品の開発を目標に, 大棗の種々の生理活性成分について多くの生物系のグループと共同研究を進めた。

本稿では大棗の生理活性成分に関する研究を中心に, ほとんど未解明であった構造化学的な研究成果を紹介するとともに, 生薬学の将来の展望についても触れてみたい。

II 抗アレルギー活性成分

1. 活性画分の検索

天然物から生理活性成分を精製, 単離する際, 1) 抽出, 精製条件に基づく活性成分の収率低下などの量的変動, 2) 分解などを伴う活性成分の化学的变化, 3) 複数成分による協同, 拮抗作用等の総合作用などが常に問題となる。1), 2) に関しては, 活性成分の単離と並行して生理活性を指標とした生物活性試験を行うことにより, 十分に防ぐことが可能である。3) については, 特に漢方方剤の研究を進める場合に重要な課題であると同時に, 大きな障害となりうる。

1920年に発見された Prausnitz-Küstner 反応⁶⁾ によって, アトピー性アレルギー患者の血清中にアナフィラキシー反応を起こす抗体の存在が確認された。その後, この抗体はレアギンと呼ばれ, 1966年に石坂らによってこの物質が新しい免疫グロブリン, IgE であると明らかにされた⁷⁾。本章では, 大棗のアルコールエキスがアトピー性疾患の IgE 産生抑制を示すことから, 数種の生物活性試験を指標として, 新たに調製した各種溶媒抽出エキスについて検討した。

抗アレルギー活性試験は, ラットの reaginic antibody と hemagglutinin (HA) のそれぞれ

の力価の測定, マウスの hemolytic plaque forming cell (HPFC) の産生ならびにラットの48時間 homologous passive cutaneous anaphylaxis (48h PCA) に対する影響について行った。抗原としては, ブタ回虫 (*Ascaris suum*) の蛋白を抽出し, dinitrophenyl 化し作成した dinitrophenylated ascaris extract (DNP-As) ならびにヒツジ赤血球 (SRBC) を用い, 百日咳菌 *Bordetella pertussis* (*B. pertussis*) をアジュバントとした。特に被血清中の reaginic antibody (Ig E 産生の指標) ならびに PHA (Ig G, M 産生の指標) の力価は, それぞれ passive cutaneous anaphylaxis (PCA) と passive hemagglutination test によって測定した。

その結果, アルコール熱浸エキスに活性が認められ, このエキスをさらに分画したところ, 活性成分は比較的極性の強い物質であると推察できた。そこで図1に示す分画操作により得た各画分を活性試験に供し, Fr. II および III に活性を認めた (図2)。

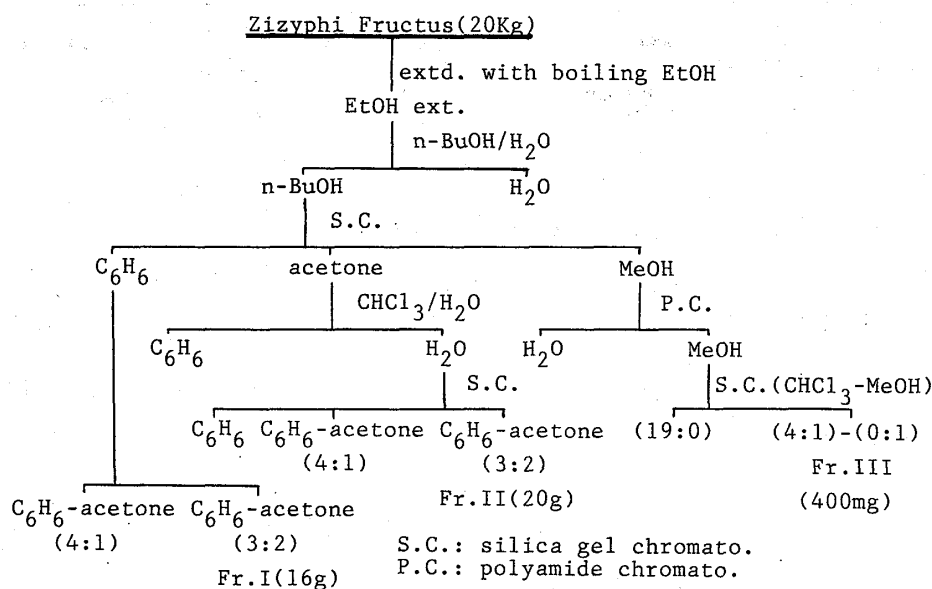


図1 抗アレルギー活性成分の分離

	PCA titer (\log_2)							
	3	4	5	6	7	8	9	10
Control								
EtOH ext.								
Fr. I								
Fr. II								
Fr. III								
Imuran 10mg/Kg								

図2 各フラクションの初期免疫後5日間腹腔内投与(100mg/kg/day)によるIg E産生抑制
被検血清を倍数希釈し, 陽性を示す最大希釈数を reaginic antibody 力価とし,
PCA titer とした。

2. Fr. II の活性成分³⁾

抗アレルギー活性を示すFr. II をエーテル脱脂後、シリカゲルクロマトに付し、ヘキサン-酢酸エチル(6:4), (1:1) および酢酸エチルで順次溶出し、それぞれFr. II-1, II-2 ならびにII-3 に分画した。各画分の活性試験の結果は図3 に示す通りで、Fr. II-2 にPCA titer の有意な減少が認められた。

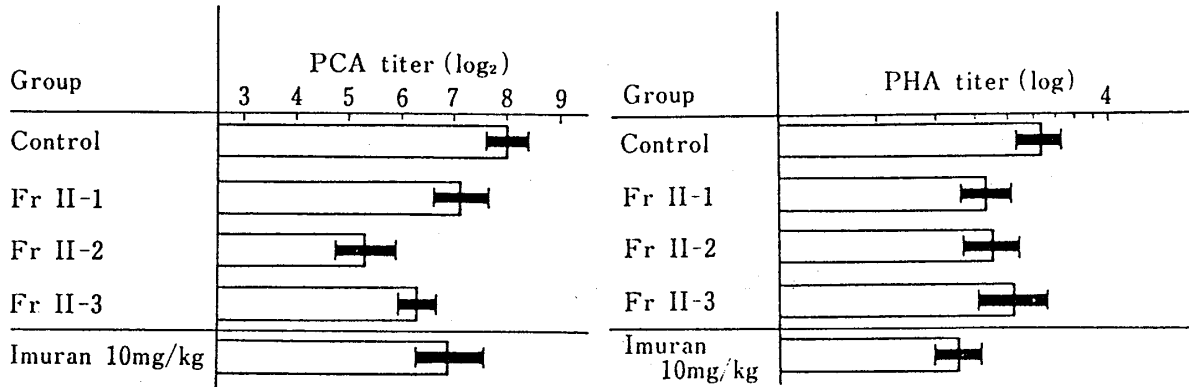


図3 各フラクションの初期免疫後、5日間腹腔内投与(100mg/kg/day)によるIgEならびにIgG, IgM産生に対する影響

そこでFr. II-2についてシリカゲルクロマトで精製を繰り返して、ethyl α-D-fructofuranoside (収率0.002%)を単離した。図4-1, 4-2, 4-3に示すように、本化合物は顕著な抗アレルギー活性を有している。

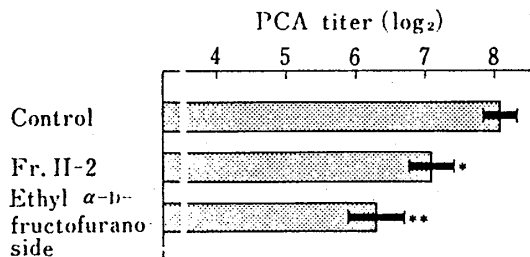


図4-1 Fr. II-2とEthyl α-D-Fructofuranoside (腹腔内投与)のIgE産生に対する影響

*, **: コントロールに対する有意差 (P<0.05, P<0.01), 以下同様に表現する。

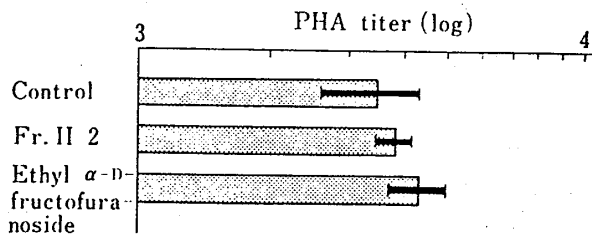


図4-2 Fr. II-2とEthyl α-D-Fructofuranoside (腹腔内投与)のHemagglutinin産生に対する影響

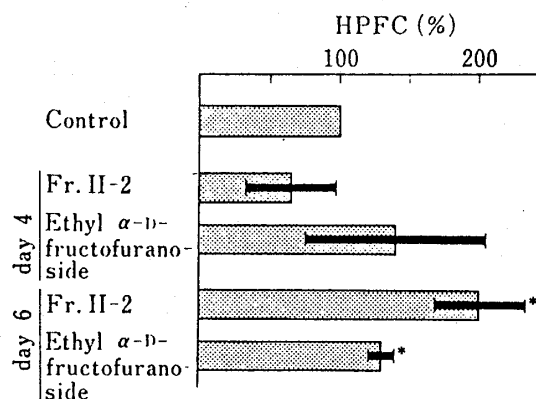


図4-3 Fr. II-2 と Ethyl α-D-Fructofuranoside (腹腔内投与) の HPFC 産生に対する影響

大棗にはすでに多量の D-fructose が含まれていることが報告されており⁹⁾, また未詳ではあるが多量の有機酸の存在の記載がある¹⁰⁾ (筆者らは succinic acid, citric acid, L-malic acid を確認した)。D-Fructose は酸の存在下のエタノール溶液中で加熱すると, ethylglycosidation により容易に ethyl D-fructoside 類を生成する。そこで ethyl D-fructoside が genuine product として大棗に存在するか否かが問題となる。このため大棗の水エキスとアルコールエキスについて, それぞれシリカゲルクロマトで精製し, TLC と GLC を用いて比較した。結局, アルコールエキスに存在する ethyl D-fructose 類は水エキスからは検出されず, 大棗の抗アレルギー活性成分である ethyl α-D-fructofuranoside はエタノール熱抽出の過程で生成した 2 次的産物であることが明らかになった。

これらの事実から, 2 次的産物である本化合物が IgG, IgM 産生抑制にほとんど影響せず, IgE 産生のみを選択的に抑制する特性を有することが証明された。近年, ethyl D-glucofuranoside 誘導体にセロトニンやヒスタミンに対する拮抗作用や抗アレルギー作用が報告されている¹¹⁾。今回, 大棗のアルコールエキスより抗アレルギー成分として, ethyl α-D-fructofuranoside が単離されたことは, ethyl D-glucofuranoside 誘導体との構造および薬理作用の類似性から, 極めて興味を示す知見である。

3. 新薬開発へのアプローチ¹²⁾

アレルギー性疾患の治療は, その原因の除去またはアレルギー反応による組織細胞の崩壊および化学的媒介物(ロイコトリエンなど)の遊離を抑制する本質的治療法と, 化学的媒介物によって引き起こされるアレルギー症状を生理的もしくは対症的に緩和する対症的治療法とに大別される。Ethyl α-D-fructofuranoside はアトピー型のアレルギー反応を引き起こす IgE の産生を抑制し, アレルギー反応によって誘導される化学的媒介物の遊離を抑制する本質的治療薬として,

臨床的には、特に喘息の治療薬への応用が期待できる。そこで、ethyl α -D-fructofuranoside の各種関連化合物を合成し、それらについて詳細な免疫薬理学的検討を行い、IgE の産生を選択的にかつ抗原非特異的に抑制するアトピー性アレルギー疾患の根本的治療薬の開発を試みた。

表1は合成化合物投与後のPCA, PHA testの結果である。これらの化合物の中で特に *n*-pentyl β -D-fructopyranosideが、IgGおよびIgM産生を指標としたPHA産生にほとんど影響することなく、IgE産生だけを選択的有意に抑制している。

表1 Alkyl (または Benzyl) D-Fructosideの物理恒数および腹腔内投与によるIgEならびに Hemagglutinin 産生に対する影響

no.	mp, °C	[α] _D , deg	yield, %	PCA (log ₂) ^b		PHA (log ₂) ^c	
				titer	control	titer	control
1	oil	+67.8	28.0	5.8 ± 0.70	7.3 ± 0.40		
2	oil	+62.8	9.0	6.5 ± 0.60	7.3 ± 0.40		
3	oil	+58.5	42.0	7.3 ± 0.25	7.3 ± 0.40		
4	oil	+53.8		6.7 ± 0.50	7.3 ± 0.40		
5	oil	-39.6	27.2				
6	oil	-15.5	28.0	6.1 ± 0.40	7.9 ± 0.47		
7	115-117	-142.0	42.4	7.9 ± 0.40	7.9 ± 0.47		
8	150-151	-136.0	10.0	7.1 ± 0.68	7.9 ± 0.47	7.9 ± 0.37	8.2 ± 0.45
9	157-158	-142.1	43.2	6.8 ± 0.67	7.9 ± 0.47	7.9 ± 0.53	8.2 ± 0.45
10	111-112	-134.1	10.8				
11	147-149	-138.1	42.4	7.2 ± 0.48	7.9 ± 0.47	8.1 ± 0.58	8.2 ± 0.45
12	157-158	-130.0	41.4	6.2 ± 0.50*	7.9 ± 0.47	8.0 ± 0.84	8.2 ± 0.45
13	129-130	-123.0	35.0	5.7 ± 0.50**	7.9 ± 0.47	8.1 ± 0.67	8.2 ± 0.45
14	120-122	-131.0	29.1				
15	130-132	-120.0	46.8	6.6 ± 0.65	7.9 ± 0.47	7.3 ± 0.75	8.2 ± 0.45
16	160-161	-124.0	15.0	7.0 ± 0.47	7.9 ± 0.47	9.0 ± 0.34	8.2 ± 0.45

1 ~ 4 ; alkyl α -D-fructofuranoside (CH₃, C₂H₅, *n*-C₃H₇, *n*-C₄H₉).

5, 6 ; alkyl β -D-fructofuranoside (CH₃, C₂H₅).

7 ~ 15 ; alkyl β -D-fructopyranoside (CH₃, C₂H₅, *n*-C₃H₇, *i*-C₃H₇, *n*-C₄H₉, *i*-C₄H₉, *n*-C₅H₁₁, *i*-C₅H₁₁, *n*-C₆H₁₃).

16 ; benzyl β -D-fructopyranoside.

しかしこれらの化合物の水溶液を経口投与した場合には、IgEの産生が抑制されない。したがって胃液による分解が推測されるため、これらの化合物の2% NaHCO₃溶液を調製して胃液の影響を押えた上で経口投与したところ、表2に見られるような有意なIgE産生抑制を示した。

表2 Alkyl β -D-Fructopyranosideの経口投与によるIgEならびに Hemagglutinin 産生に対する影響

compd	PCA titer (log ₂)	PHA titer (log ₂)
control	7.4 ± 0.45	9.3 ± 0.40
8	6.7 ± 0.44	8.5 ± 0.64
9	6.5 ± 0.64	8.3 ± 0.43
11	6.4 ± 0.65	8.4 ± 0.41
12	6.6 ± 0.47	9.1 ± 0.28
13	5.7 ± 0.49*	9.9 ± 0.33
14	6.5 ± 0.53	8.5 ± 0.35
15	6.3 ± 0.60	9.1 ± 0.33

次に最も良好な結果を示した *n*-pentyl β -D-fructopyranoside を用いて、投与量と抗体産生の関係について検討した。本物質は、50～200mg/kg で濃度依存性のある IgE 産生抑制が現われ、PHA 産生はいずれの用量でも促進傾向がみられる(表3)。毒性試験(ラット)は、LD₅₀>5g/kg と本物質にはほとんど毒性がないことが確認された。

表3 *n*-Pentyl β -D-Fructopyranoside(13)の投与量(腹腔内)と IgE 産生抑制の関係

compd	dose, mg/kg	PCA titer (log ₂)	PHA titer (log ₂)
control		6.6 ± 0.15	10.5 ± 0.27
13	10	6.0 ± 0.34	11.3 ± 0.42
	20	6.6 ± 0.32	11.0 ± 0.44
	50	6.5 ± 0.22	11.2 ± 0.37
	100	5.8 ± 0.26**	11.1 ± 0.14*
	200	5.6 ± 0.24**	11.3 ± 0.24*
CP	10	<2	1.3 ± 0.42*

さらにこの物質の投与時間とマウスの IgE 産生の関係について調べた。投与計画ならびに IgE 産生への影響は図5、表4に掲げる。1次免疫の際、本物質を投与した群はいずれの群においても無処置群(non-non)に比較し、IgE 産生の減少傾向がある。1次免疫後に投与した群では、20、30、43日後にはそれぞれ有意に IgE 産生を抑制している。IgG、IgM 産生に関する影響は、いずれの群にも20日後に減少傾向が見られるが、それ以外では無処置群と同程度の値を示す(表5)。以上の結果から、本物質は少なくとも1次免疫あるいは2次免疫後の投与により、強い IgE 産生抑制を起こすことが確認された。

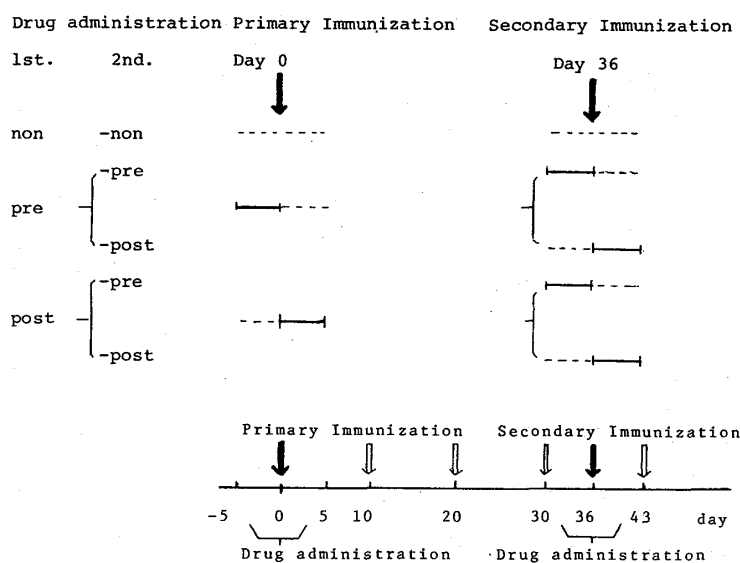


図5 *n*-Pentyl β -D-Fructofuranoside の投与計画(腹腔内)

表4 *n*-Pentyl β -D-Fructofuranoside の投与時期（腹腔内）と IgE 産生抑制の
関係

drug administration		PCA titer (\log_2)			
1st	2nd	day 10	day 20	day 30	day 43
non	-non	5.8 \pm 0.36	6.6 \pm 0.29	7.2 \pm 0.30	10.8 \pm 0.29
pre	-pre	5.7 \pm 0.21	6.0 \pm 0.22	6.5 \pm 0.32	10.2 \pm 0.23
	-post				10.4 \pm 0.33
post	-pre	5.1 \pm 0.25	5.1 \pm 0.26**	5.5 \pm 0.31**	9.8 \pm 0.24*
	-post				

表5 *n*-Pentyl β -D-Fructofuranoside の投与時期（腹腔内）と IgG, IgM 産
生に対する影響の関係

drug administration		PHA titer (\log_2)			
1st	2nd	day 10	day 20	day 30	day 43
non	-non	4	6	6	10
pre	-pre	4.5	4	5	10
	-post				9
post	-pre	4.5	3.5	5.5	10
	-post				

IgE が関与するアトピー性アレルギー疾患は、遺伝的背景をもつ慢性疾患であり、一般に患者の血中 IgE 抗体価は正常人に比べて高い。したがって、IgE 産生の抑制を可能とする薬物が開発されれば、アトピー性アレルギー疾患の根本的治療に大きく寄与しうるものと思われる。この目的のために、免疫抑制剤のような非特異的な抗体産生抑制剤を用いることは、生体が備えている免疫機能までも減弱させる重大な副作用のために不適當である。そこで IgE の産生のみを選択的にかつ抗原非特異的に抑制し得る薬物の開発が望まれている。大棗のアルコールエキスの抗アレルギー活性物質の発見を端緒に合成された *n*-pentyl β -D-fructopyranoside は、IgM や IgG 産生に影響することなく、IgE 産生のみを選択的に抑制する。また本物質が抗原性を持つ可能性はほとんど考えられず、さらに構造的に関連性のない DNP-As に対し抗体産生を抑制することから、抗原非特異的な IgE 産生の抑制作用が期待できる。

アトピー性アレルギー患者は、感作状態が成立するとともに IgE 産生が継続している。抗原にさらされると、アレルギー症状を呈すると同時に 2 次免疫応答を起こし、さらに IgE 産生が亢進する。このことから、IgE 産生の選択的抑制剤は IgE 産生が継続している状態において、これを抑制するとともに 2 次免疫応答も防ぐ必要がある。石坂ら^{13, 14)} ならびに Lee ら¹⁵⁻¹⁷⁾ は継続的に産生する IgE の抑制を報告しているが、一般的には継続中の抗体産生を抑制することは困

難とされている。本研究では、現在のところ、この問題についての検討を行っていないが、*n*-pentyl β -D-fructopyranosideは1次免疫後の投与あるいは2次免疫後の投与によって、IgE産生が減少することから、継続的なIgE産生に対しても効果を示す可能性が望める。さらに本物質は、胃内での分解を防止すれば経口投与も可能で、薬剤学的にも大きな利点と思われる。

4. 活性成分周辺の化合物

Ⅰ-1で述べたように、Fr.Ⅲは抗アレルギー活性を示すことから主含有成分である化合物Ⅰ(Ⅰ)，Ⅱ(Ⅱ)を単離した。図1に示す方法ではⅠ，Ⅱの収率が極めて低く、これらを単離するために新しい分離手法が必要となった。このためのアンバーライトXAD-2をアルコールエキスの初期分画に用いることによって、大棗の成分検索の隘路であった糖質(水エキス中85%)⁹⁾の除去が非常に容易となり、Ⅰ，Ⅱならびにこれらの関連化合物Ⅲ(Ⅲ)，Ⅳ(Ⅳ)を収率よく分画することができた。

抗アレルギー作用を調べる場合、*in vivo*の生物検定を指標として活性成分の追跡を行う方法がもっとも確実である。しかしながら、天然資源を用いる実験系では活性試験に供する検体の収量が問題となる。現に、大棗から単離したⅠ(0.0001%)，Ⅱ(0.0002%)の量では全動物を用いて活性試験を行うことは困難である。このため日本産のナツメの各部位についてこれらの成分含量を比較し、花に割合豊富に含まれる同一化合物群を利用して、活性試験ならびに構造研究を行った。

化合物Ⅰ～Ⅳは種々のデータからトリテルペンサポニンと考えられた。酸加水分解により、同じクロウモドキ科の酸棗仁やケンポナシ根皮¹⁸⁾より単離されたトリテルペンサポニンの酸加水分解産物である ebelin lactone (Ⅳ')¹⁹⁾を得た。Ⅳ'は真正サポゲニン(jujubogenin, Ⅳ)が酸加水分解の際に脱水して2次的に生成したもので、化合物Ⅰ～Ⅳの真正サポゲニンもⅣと推定した。この推定は、Smith-de Mayo分解により得た最終産物をⅣと同定することにより証明した(図6)。

Ⅰの糖部については、L-arabinoseとD-glucoseの他に希少なもう一種の糖を単離し、合成した標品との比較から6-deoxy-L-taloseと同定した^{20, 21)}。糖鎖に関しては、Ⅰとその部分加水分解産物であるプロサポゲニン(Ⅳ)を箱守法²²⁾により完全メチル体に誘導し、ⅠaおよびⅣaの各種スペクトルとそれぞれのメタノリシス成績体のGLCデータを解析し、図6に示す構造と考えた。Ⅰの部分加水分解の際に生じる、アグリコンの脱水ならびに6-deoxy-taloseのグリコシド結合の優先的な加水分解は、ⅠのFD-MSにおけるフラグメント様式とよく一致し、サポニンに関する化学的分解とFD-MSのフラグメント様式との相関性が推測された²³⁾。オリゴ糖とⅣの結合位置については、CMRから化合物Ⅰ～ⅣはいずれもⅣの3位の水酸基にオリゴ糖が結合していると結論した。さらに各糖の炭素と水素のアノメリック位のCMR，PMRのカップリング定数と分子旋光度

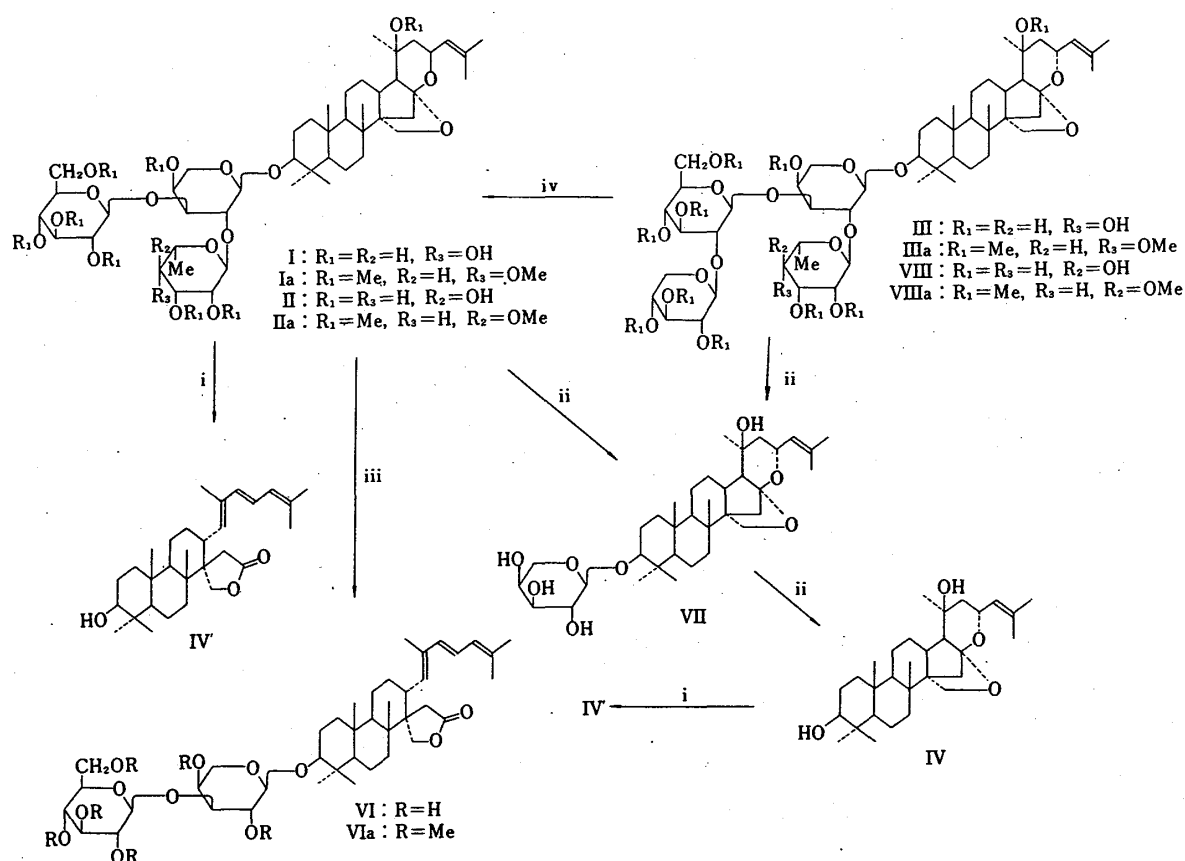


図6 大棗中のトリテルペンサポニンの構造

i ; 酸加水分解, ii ; Smith-de Mayo 分解, iii ; 部分加水分解,
iv ; 酵素分解。

の比較から, I は jujubogenin 3-O-6-deoxy- α -L-talopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosideと決定し, zizyphus saponin I²⁴⁾と命名した。

II は I と同様の方法で検討し, 糖部が 6-deoxy-L-talose の代わりに rhamnose が結合した構造と決定し, zizyphus saponin II²⁴⁾と命名した(図6)。II は酸棗仁から単離された jujuboside A, B の酵素分解産物, prosapogenin III¹⁹⁾と一致する。

III, VIII については, 酵素分解によりそれぞれ I, II を与え, 各種スペクトルデータの解析から, I, II にさらに xylose が 1 分子結合した構造と推定した。そこで I, II と同様の方法で検討を加え, III は新規の化合物 zizyphus saponin III, IV は酸棗仁から見出された jujuboside B¹⁹⁾と確認した(図6)。

抗アレルギー活性が認められる Fr. III から, 主成分として I, II, III, VIII, さらに植物界に一般的に存在し毛細血管強化作用のある rutin を単離した。しかしながら, いずれも顕著な抗アレルギー活性を示さなかった。Fr. III に含有される他の成分に関しては, 極めて含有量が低く, 未

だ解明に至っていない。

化学的な成分研究面から考察を加えると、大囊中に確認されたⅣの配糖体は主としてクロウメモドキ科に含有されている他は^{18, 25)}、これまでにゴマノハグサ科の *Bacopa monniera* に含まれていることが報告されている²⁶⁾。Ⅰ、Ⅲの構成糖である 6-deoxy-L-talose は、強心配糖体²⁷⁾ならびに *Mycobacterium avium*²⁸⁾、*Mycobacterium marianum*²⁹⁾ の代謝産物の糖脂質などの構成糖として知られているにすぎず、その分布は狭く、サポニンの構成糖としては初めての例として注目される。

Ⅲ 抗腫瘍性成分

年々高まりつつある癌の問題は、広範囲の分野から研究されているが、依然死亡率の高い難病としてその予防や治療法の開発が社会的な要請となっている。制癌剤の研究は天然物の領域でも模索され、アメリカの National Cancer Institute (NCI) を初めとして世界の多くの研究機関で、天然物から制癌剤を開発する試みが進められてきた。特に NCI の中心的存在であった Kupchan のグループは、すでに多くの抗腫瘍性物質の開発に成果を上げている。日本では、キョウチクトウ科のツルニチニチ草から単離されたインドールアルカロイド中の vinblastine と vincristine が、悪性リンパ腫に有効であることから、臨床応用されている。これらの植物由来の抗腫瘍性成分は、本来制癌目的に使用されていたのではなく、個々に単離された後に、スクリーニングにかけられて新たに抗腫瘍作用が明らかになったものが多い。今日では、海洋生物へも目が向けられ、多種の抗腫瘍性成分が報告されている。さらに内因性の物質として、免疫応答へ関与し、癌細胞の標識物質と考えられているガングリオシドなどの糖脂質が注目を集めている。

著者らは、抗腫瘍作用があるといわれる大囊に、比較的多量のトリテルペンの存在を見出した。そこで種々のトリテルペンに抗腫瘍作用が確認されていることに着目し^{30, 31)}、大囊からトリテルペンを単離した。図 1 のベンゼン-アセトン (4 : 1)、(3 : 2) 溶出部から得た Liebermann-Burchard 反応陽性の 13 種の化合物は、植物ステロールを除き、oleanane, lupane 型のトリテルペンならびにその *p*-coumaric acid の cis と trans のエステルである (図 7)^{32, 33)}

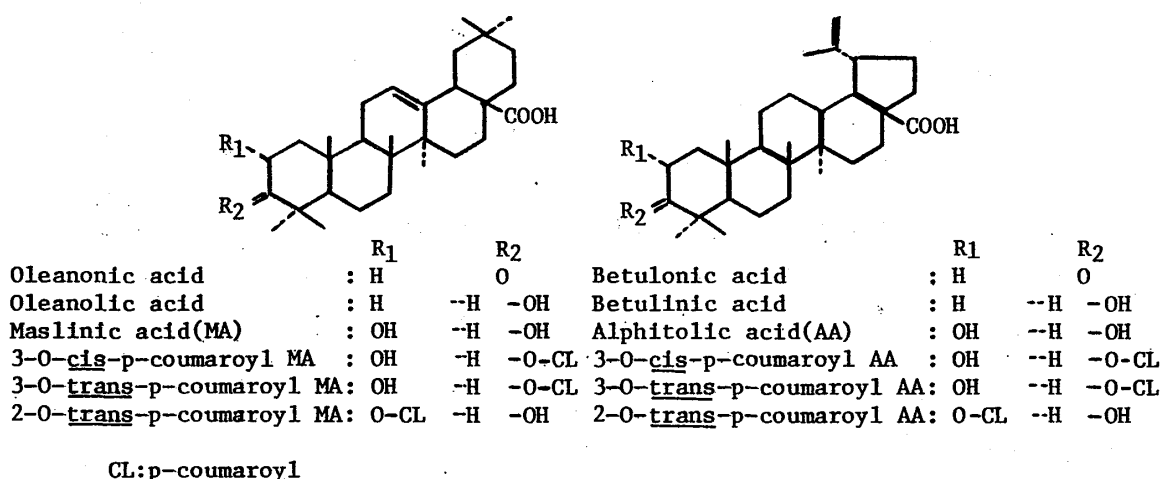


図7 大葉中のトリテルペンの構造

比較的高収量の maslinic acid , betulinic acid および alphitolic acid について, leukemia P388 と sarcoma 180 に対する影響を指標に抗腫瘍活性を調べた。leukemia P388 に関しては, 対照群に対する投与群の平均生存日数を比較し, sarcoma 180 については, 対照群 (C) と薬物投与群の腫瘍重量 (T) を比較 (T/C) することにより効力を算出した。その結果, leukemia P388 に対する効果はいずれも有意差を示すほどではなかった。sarcoma 180 を用いた試験では, 継代移植後 7 日目に採取した sarcoma 180 腹水腫瘍 (5×10^6 個 0.1 ml) を雄性 ICR マウスの皮下に移植し固型化させたものを用いた。このマウスに 3 種のトリテルペンと 5-fluorouracil (5-FU) をそれぞれ腫瘍移植の 24 時間後から, 1 日 1 回連続 14 回投与した。その結果表 6 に示すように, 7 日間の連続投与でそれぞれ 5~35% の腫瘍増殖を抑制し, 14 日間連続投与では, 特に maslinic acid は 5-FU よりも良好な 61% の有意な抑制が認められた。

表6 Betulinic Acid, Alphitolic Acid ならびに Maslinic Acid の Sarcoma 180 に対する抗腫瘍作用

Drug	Dose (mg/Kg/day)	Number of Mice	Tumor Weight (g)	T/C	Body Weight Change (g)
Control	-	20	1.20 ± 0.22	-	+5.1
Betulinic Acid	25	10	1.38 ± 0.29	1.15	+3.1
Alphitolic Acid	25	10	1.30 ± 0.41	1.08	+4.5
Maslinic Acid	25	10	0.47 ± 0.15*	0.39	+4.5
5-FU	40	10	0.67 ± 0.12*	0.56	+0.1

この事実は、大棗の抗腫瘍作用を裏付ける根拠となり、これらトリテルペンについてさらに詳細な薬理学的な検討が待たれる。

Ⅳ 中枢神経作用成分

新薬の源として、古くから多くの中枢神経系作用を有する生薬が利用されてきた。西洋医学の歴史の中で、アヘン、ペラドンナ、ラウオルフィアなどの植物に由来するアルカロイドのみならず、その他多数の生薬成分が重要な地位を占めている。日本の生薬有効成分の草分けとなった、長井長義による麻黄からのエフェドリンの単離は、1924年に西洋医学に紹介され、1927年に合成されて以来、その交感神経作動薬としての末梢ならびに中枢作用が広く臨床応用されている。また中央アジア、バイカル地方が原産地といわれるアサは、本来の繊維という用途から世界各地で栽培されているが、近年その幻覚発現作用を求めた乱用が社会問題となっている。

大棗は、漢方において鎮静を目標として配合され、連続的経口投与により、催眠および睡眠延長効果などの鎮静効果が臨床的に実証されている。本章では、大棗の鎮静作用に関連する成分の検索を目的に、睡眠延長ならびに血圧に及ぼす活性を指標として分画を試みた。

大棗のアルコールエキスをアンバーライトXAD-2で分画し、その50%エタノール-水溶出部に、有意の睡眠延長作用(400mg/kg, i. p. マウス)と著明な血圧下降作用(5~10mg/kg, i. v. マウス)を認めた。そこでこの画分の主成分として7種類の化合物を単離し、図8に示す構造であると提示した³⁴⁾。

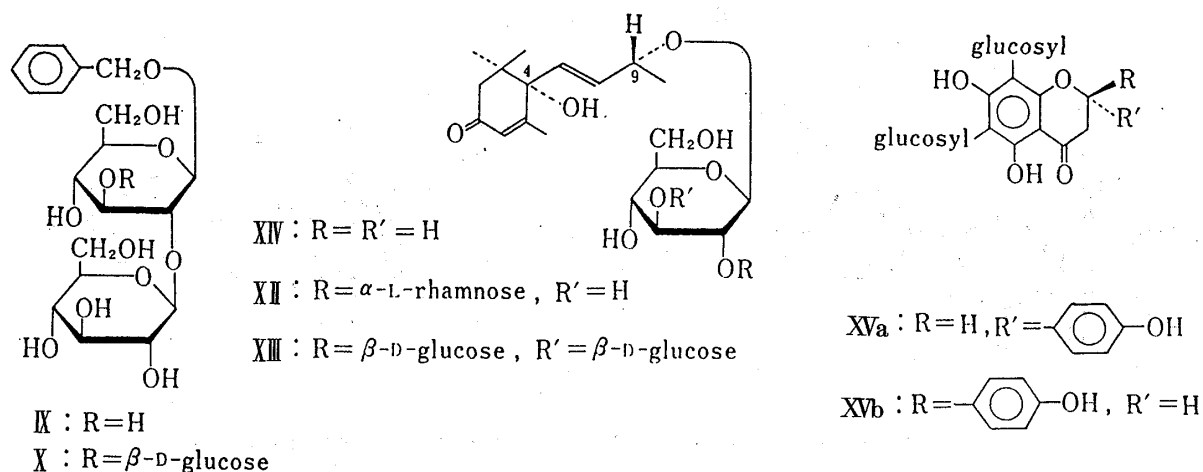


図8 中枢神経作用画分中の成分

Zizybeoside I (IX) と II (X) は天然から単離された最初の benzyl alcohol 配糖体である。Vomifoliol (XI) は、落葉、落果、落花をつかさどる“abscission現象”に関与する、abscisic

acid などの一連の植物ホルモンと生合成および構造的に類縁である。さらにその配糖体として、新規化合物である zizyvoside I (XII), II (XIII) ならびに roseoside (XIV) が存在する。XV については, naringenin の 6, 8 位が C-glycosidation した flavanone の C 配糖体で, 異性体の混合物と推測した。XV はアセチル化により 2 つの純粋な化合物に分離されるが, 脱アセチル化 (0.1N HCl -MeOH) 後, 再び異性化して混合物の状態に戻る。この現象は, 脱アセチル化の過程で flavanone の chalcone を介した特異的な interconversion³⁵⁾ に起因すると考えた。そこで XV の構造上の可能性として, 図 9 の 4 種の異性体を提起した。すなわち, XV の構成糖が異なる場合 ($S_1 \neq S_2$) は a, b, c, d の 4 種, 同一の糖で構成される場合 ($S_1 = S_2$) は a(b), c(d) の 2 種の異性体が予想される。

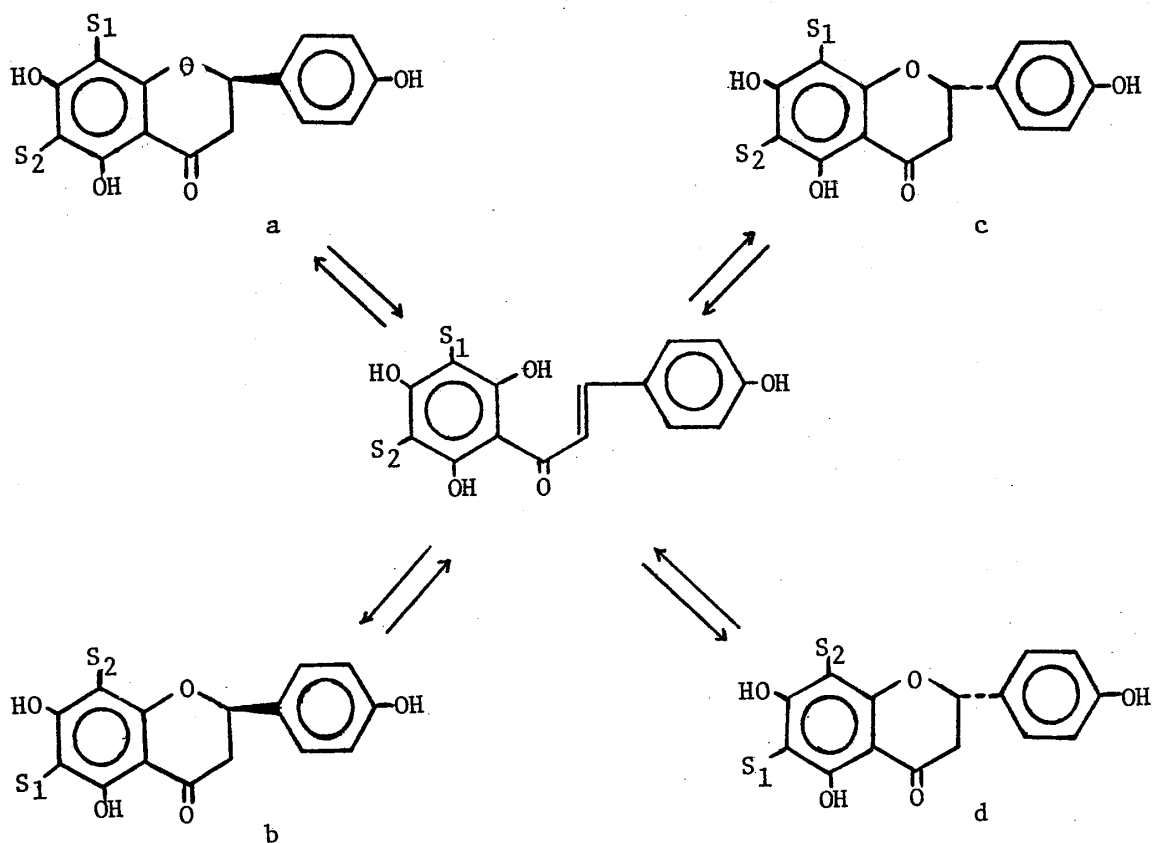


図 9 chalcone を介する Flavanone の Interconversion

FeCl_3 の酸化分解³⁶⁾ により, XV は glucose のみで構成されていることを確認し, CD の cotton 効果の比較 (アセチル体) から, 6, 8-di-C-glucosyl-2(S)-naringenin (XVa) と 6, 8-di-C-glucosyl-2(R)-naringenin (XVb) の混合物と決定した (図 8)。Flavanone の C 配糖体は, これまでに 2 種の mono-C 配糖体³⁷⁾ が知られているのみで, XV は flavanone の di-C 配糖体に関する

る最初の例である。また XV が naringenin の 2 位の立体配位による異性体という事実は、非常に興味を有する知見である。

睡眠延長ならびに血圧下降作用を示した画分から得られた 7 種の化合物の内、収量が比較的良い X, XII と XV について、マウスの行動ならびに刺激に対する反射を観察した。その結果、XV は僅かではあるが運動量や刺激反射の低下ならびに catalepsy を発現させたが、X, XII は 200mg/kg の投与でも全く効果を示さなかった。また X, XII について血圧下降作用を検討したが、いずれも顕著な作用は認められなかった。以上の結果から、XV に中枢神経系に対する抑制傾向が示唆されたことは、緩和な鎮静作用を有する flavone の C 配糖体³⁸⁾ との構造活性相関の点で興味を持たれる。4-Hydroxy benzyl alcohol に中枢抑制作用があることから³⁹⁾、X に同様の活性が期待されたが、筆者らの活性試験の方法では確かめられなかった。本来、漢方薬治療は体質改善に主眼がおかれ、連続投与により効果を期待する方法がとられる。XV の緩和な中枢抑制傾向と、大棗の連続投与による催眠および睡眠延長効果の発現という臨床知見は、大棗の漢方における鎮静を目標とした使用法との関連性の観点から注目される。

V おわりに

本稿では、大棗のアルコールエキスの抗アレルギー活性成分の検索を中心に、抗腫瘍や中枢神経作用に関する成分研究について紹介した。その中で、大棗の漢方方剤における役割を科学的に解明したが、特に免疫薬理学的な試験法を指標として単離した活性成分、ethyl α -D-fructofuranoside が喘息などの本質的治療薬の開発に手がかりを与えた意義は筆者らの自負するところである。

今日では生薬学は、1) 西欧流の解析指向型を基調とした天然物化学、2) 生薬資源確保や品質管理を目指した栽培ならびに組織培養法などのバイオテクノロジーを駆使した研究、3) 生薬の生物活性の解明を指向する方向に展開している。これまでの生薬学は、その歴史的背景から純粋科学的な研究が主流となり、漢薬治療などを含めた応用研究が軽視されていた。この原因の一つに生薬の生物活性の検定の難しさがあげられよう。西欧医学においては、生薬がその含有成分の薬効によって論じられ、純粋な単一物質を用いて種々の研究がなされた。それに対して、漢薬治療では多種の成分を含む生薬が 2 種以上で構成される複合方剤として用いられ、協同、拮抗作用を含んだ総合的な効果を期待する方向で使用し、かつ伝承されてきた。また体質改善薬の要素を持つ漢方薬は、当然その用途から急性かつ強力な生理活性を示さない成分も含まれているであろう。最近、医薬品開発という薬学の原点に戻って、生薬の生物活性成分の研究が盛んに進められている。その研究対象も、微生物起源の生理活性物質や哺乳動物あるいはその他の動物の内

因性の生理活性物質など，従来の生薬の範疇を脱した天然物起源の薬物に広く新しい研究課題を求めているグループもある。何れにせよ薬物の宝庫である天然物から新薬を開発するには，生化学や薬理学の分野の研究者と協力して，さらに簡便で確実なスクリーニング法が確立されることが望まれる。

本研究は九州大学薬学部西岡五夫教授と筆者らを中心に，生物学的研究を岐阜薬科大学江田昭英教授を初めとして多くの生物系グループ，医薬品開発面を久光製薬(株)野口寛治博士，原口康氏の協力によって行われたものである。

文 献

- 1) 江田昭英，柳原行義，永井博弼，坂本憲市；日薬理誌，**69**，88 (1973)。
- 2) 細野史郎氏私信。
- 3) J. L. Hartwell, *Lloydia*, **34**, 103 (1971)。
- 4) J. Cyong, K. Hanabusa and Y. Otsuka, *Proc. Symp. Wakan-yaku*, **12**, 1 (1979)。
- 5) J. Cyong and M. Takahashi, *Proc. Symp. Wakan-yaku*, **15**, 150 (1982)。
- 6) 山村雄一，石坂公成，北川正保，尾上 薫編，石坂公成，多田富雄著，『免疫化学』P.780。
(1973)朝倉書店
- 7) K. Ishizaka, T. Ishizaka and M.M. Hornbrook, *J. Immunol.*, **97**, 75 (1966)。
- 8) A. Yagi, A. Koda, N. Inagaki, Y. Haraguchi, K. Noda, N. Okamura and I. Nishioka, *Yakugaku Zasshi*, **101**, 700 (1981)。
- 9) M. Tomoda, M. Takahashi and S. Nakatsuka, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **1**, 707 (1973)。
- 10) 刈米達夫，木村雄四郎共著，『最新和漢薬用植物』P.178。広川書店。
- 11) アルベルト・ロッシ，特許公報，昭和52-6982。
- 12) Y. Haraguchi, A. Yagi, A. Koda, N. Inagaki, K. Noda and I. Nishioka, *J. Med. Chem.* **25**, 1495 (1982)。
- 13) K. Takatsu, K. Ishizaka and T.P. King, *J. Immunol.*, **115**, 1469 (1975)。
- 14) K. Takatsu and K. Ishizaka, *J. Immunol.*, **117**, 1211 (1976)。
- 15) W.Y. Lee and A.H. Schon, *J. Immunol.*, **114**, (1975)。
- 16) W.Y. Lee and A.H. Schon, *J. Immunol.*, **117**, (1976)。
- 17) W.Y. Lee and A.H. Schon, *Nature*, **267**, 618 (1977)。
- 18) K. Kawai, T. Akiyama, Y. Ogihara and S. Shibata, *Phytochemistry*, **13**, 2829 (1974)。

- 19) R.A. Eada, L.P. Rossler, H.V. Simes and J.J.H. Simes, *Aust. J. Chem.*, **18**, 1451 (1965).
- 20) J. Schmut, *Helv. Chim. Acta*, **31**, 1719 (1948).
- 21) P.M. Collins and W.G. Overend, *J. Chem. Soc.*, 1912 (1965).
- 22) S. Hakomori, *J. Biochem.* (Tokyo), **55**, 205 (1964).
- 23) T. Komori, I. Maetani, N. Okamura, T. Kuwasaki, T. Nohara and H. Schulten, *Liebigs Ann. Chem.*, **1981**, 683.
- 24) N. Okamura, T. Nohara, A. Yagi and I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **29**, 676 (1981).
- 25) H. Wagner, S. Ott, K. Jurcic, J. Morton and A. Neszmelyi, *Planta Med.*, **48**, 136 (1983).
- 26) K. Kawai and S. Shibata, *Phytochemistry*, **17**, 287 (1978).
- 27) J. Schmutz, *Helv. Chim. Acta*, **31**, 1719 (1948).
- 28) P. Joller, F. Bigler, T. Gendre and E. Lederer, *Bull. Soc. Chem. Biol.*, **43**, 177 (1961).
- 29) M. Chaput, G. Michel and E. Lederer, *Experientia*, **17**, 107 (1961).
- 30) J. Bhattacharyya, U. Kokpol and D.H. Miles, *Phytochemistry*, **15**, 432 (1976).
- 31) G.A. Cordell and N.R. Farnsworth, *Lloydia*, **40**, 1 (1977).
- 32) A. Yagi, N. Okamura, Y. Haraguchi, K. Noda and I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **26**, 1798 (1978).
- 33) A. Yagi, N. Okamura, Y. Haraguchi, K. Noda and I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **26**, 3075 (1978).
- 34) N. Okamura, A. Yagi and I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **29**, 3507 (1981).
- 35) T.R. Seshadri, *Tetrahedron*, **6**, 169 (1959).
- 36) J.E. Hay and L.H. Haynes, *J. Chem. Soc.*, 3141 (1956).
- 37) W.E. Hillis, D.H.S. Horn, *Aust. J. Chem.*, **18**, 531 (1965).
- 38) S.K. Garg, S.R. Gupta and N.D. Sharma, *Phytochemistry*, **18**, 353 (1979).
- 39) 石毛, 油田正樹, 田口平八郎, 日本生薬学会第27回年会, 名古屋, 1980年9月.