

研究者としてスタートは、まず博士の学位取得を目指す事になるであろう。学位論文をまとめるという作業は大変な労力を要するものであるが、指導する側にもプレッシャーが伴う。研究テーマを見つけられて一人前と昔の先生は言われたが、なかなか難しい。まず発展性のある研究の種を探すことになるが、いくつか引出しを用意しておかないと行き詰ってしまう。思うような結果がでない事がままあるが、アイデアが当たった時には格別のものがある。生薬学の分野で難しいのは生薬の鑑別で、主に外見や根や根茎は折って切面などから判断するが、しばしば間違いを起こすことがある。DNA バーコーディングにより種を訂正したこともあったが、一般的にはそうはいかない。そこで生薬や使用した植物を鑑定して頂く事になる。このような生薬特有の難しさがあり、いろいろな方々やまた現地の市場での調査で珍しい生薬と出会うことができ進めてこられたと思う。収集した生薬や植物標本は、生薬学の歴代の先生方が集められた標本と共に、薬用植物園の標本室に保管している。これらの標本整理の中で改めて生薬に接すると、同じ種類の生薬でも調整法の違いから年代により形態が異なったり、偽品や異物混入の多いものなど市販品では見られないものがあり面白い。本稿では生薬学で博士の学位をまとめられた方々の研究を紹介する。

## 1. トウダイグサ科植物の研究

### 1.1 生薬研究のプロローグとなったトウダイグサ (燈台草) 学名 : *Euphorbia helioscopia* L.

生薬学研究の道に進むきっかけとなったのは、学生時代のサークル活動に始まった。そして卒業研究は滝戸道夫先生 (故人) が主宰されていた生薬学教室を選び先輩の勧めもあり「トウダイグサの成分研究」をテーマに頂いた。トウダイグサは春に生育する植物で、幾度となく三浦半島へ採集に出かけた。時には 10 kg も採集し、指がグローブのように腫れ上がったこともある。トウダイグサから出る乳液にはフォルボールエステル様の成分を含み炎症を起こしたためである。まず文献調査では、**Chemical Abstracts** を引くのに1ヶ月も要し現在のようにパソコンで調べるようにはいかない。卒業研究生は 29 名いて、エバポレーターなどの器具が足りない。実験の最終段階になり粗結晶を再結晶したところ、翌日にはシルク様光沢した黄金色の結晶が出ていた。この感動は忘れることができない。東京大学で NMR を測定 ( $^1\text{H-NMR}$  測定のみ) して頂いたが、構造解析には至らなかった。しかし後にこの化合物と再会することになる。



図 1. トウダイグサ

## 1.2 猫眼草 学名：*Euphorbia lunulata* Bunge 中のインスリン様リガンド化合物

エスエス製薬勤務の西村忠洋さんが学位をまとめる目的で研究生となり、低分子リガンド活性物質の探索が始まった。西村さんらは、マウス IL-3 依存性細胞株 BAF/B03 にヒトリリガンド遺伝子を導入することによりヒトリリガンドの存在下でのみ増殖可能なリガンド依存性増殖細胞株を作製しており、この細胞株を用いて生薬中のヒトリリガンドを代用するような低分子化合物の探索を試みた。対象となるリガンドは、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、エスロポエチン (EPO)、トロンボポエチン (TPO)、インターロイキン 10 (IL-10)、インスリン (Ins) である。スクリーニングの過程で、中国産トウダイグサ科植物猫眼草 *Euphorbia lunulata* Bunge (和名：ウスギタイゲキ) に Ins 様リガンド活性が認められた。猫眼草は先のトウダイグサに近い植物で、中国では気管支喘息や慢性気管支炎に用いられる。このバイオアッセイを併用しながら分画を進め、2 種のフラボノイド **1** 及び **2** を単離した。化合物 **2** は、まさに学生の時にトウダイグサから単離した化合物に違いなかった。数十年ぶりの思いがけない出会いである。なお **1** は新規化合物であった。この成果を加え西村さんは「免疫受容体遺伝子の転写制御とリガンド依存性細胞の応用に関する研究」(2005 年) というタイトルで学位論文をまとめられた。<sup>1-3)</sup>

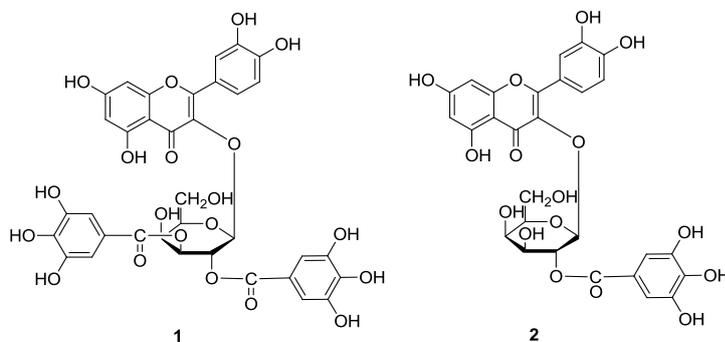


図 2. インスリンリガンド様活性物質として単離されたフラボノイド

### 1.3 抗がん生薬 甘遂（カンズイ）の研究

中国の暨南大学薬学院名誉院長の姚 新生教授は、現在 81 歳になられるが、本年新たに日本の研究所や製薬会社と国際研究チームを立ち上げられるなど、その研究意欲には驚かされる。1999 年 8 月に瀋陽薬科大学の姚教授を訪問した折、思いもかけずに同大学の客座教授に任命された。客座教授は授業や院生の指導ができる資格と後に知ったが、その後同教授と共に大学院生を指導することになった。我が学部には交換留学の制度がないために、博士課程の王 立岩さんには研究生としてきていただいた。研究テーマは、以前より興味をもっていた抗がん生薬として知られるトウダイグサ科植物の甘遂（カンズイ）の抗癌活性成分を行った。一方抗がんスクリーニングには、一緒に研究を進めていた文理学部の宮田昇平教授がアフリカツメガエルの受精卵発生に与える影響を指標に行った。最初は受精卵に直接サンプルを打ち込み細胞分裂に与える影響をみたが数がこなせない。動物極の細胞を分散してアニマルキャップ細胞は、30 分に一回細胞分裂をするのでこれを応用した。王さんは 18 種が新規化合物を含む 38 種の化合物を単離したが、その内訳は 21 種のインゲナン型ジテルペン、5 種のヤトロファン型ジテルペン、10 種のユーファン／チルカラン型トリテルペン、1 種クマリン、1 種脂肪酸である。インゲナン型ジテルペンに強い細胞分裂抑制作用が認められ、その後癌細胞の研究では特に乳がん細胞 MMT を選択的に抑制し、その機構は特に初期アポトーシスを誘導することが分かった。<sup>4,7)</sup> この研究は現在も継続されている。

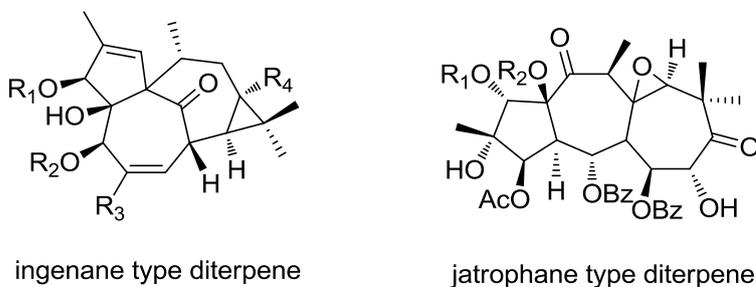


図 3. 甘遂より得られたジテルペン類の基本骨格

## 2. 植物組織培養を用いた薬用人参の研究

交配薬用人参の研究は、滝戸先生が在職されておられた時に始まった研究である。オタネニンジン（*Panax ginseng* C.A.Meyer）（Pg）は漢方処方などに滋養強壮などを目的に用いられる薬用植物である。一方北アメリカ東北部には Pg とよく似たアメリカニンジン（*P. quinquefolium* L.）（Pq）が自生し、近年 Pg と比べ興奮性がないとして重用されている。これらの薬用人参は共にジンセノイドサポニン類を含有するが、サポニン類の組成が異なる。Pg はジンセノイド Rg1 群のサポニンを多く含み中枢に対して興奮的に働くが、Pq はジンセノイド Rb1 群のサポニンを多く含んで中枢に対して鎮静的に働くことが知られる。当時

長野県の薬用植物試験場でこれらを交配した交配人参 (Pgq; 雑種第 1 代 F<sub>1</sub>) を作成していた。Pg と Pgq の 5 年根の重量を比較すると Pgq は Pg の 1.6 倍の重量を示し、総ジンセノシド含量は約 2 倍と優良な形質を示した。しかし Pgq は不稔性で種子繁殖が望めない。そこで組織培養による F<sub>1</sub> の増殖やジンセノシドサポニンの生産について研究を行った。カルス (脱分化した細胞塊) 培養にあたって、培地の検討や植物ホルモンであるオーキシンやサイトカイニンの検討をした。カルス培養の過程で不定胚を得ることができ、ホルモンや光の調製により Pg 及び Pgq のシュートを得た。更にオーキシンにより発根に成功し幼植物体 (F<sub>1</sub>) を得ることができ、F<sub>1</sub> ニンジンが増殖の道が開かれた。次に Pgq の毛状根の研究に発展させた。幼植物体であるシュートに土壌細菌で根頭癌腫病や毛根病を引き起す植物病原菌の一種 *Agrobacterium rhizogenes* (*Rhizobium rhizogenes*) を感染させ毛状根の誘導に成功した。毛状根は *A.rhizogenes* が持つ Ri プラスミド中の遺伝子の中にオーキシン産生遺伝子が植物ゲノム中に組み込まれ、植物ホルモン (植物生長調節物質) を添加せずに培養可能となり、二次代謝産物の生産研究によく用いられる。Pgq が本当に F<sub>1</sub> であるか、Pgq、Pg、Pq について Rapid 法を用いて明らかにした。これらの研究は國司 学さんが行ったものである。<sup>8)</sup> その後鷺田大輔さんが研究を引き継ぎ、毛状根培養によるジンセノサイド類及びポリアセチレン類の生産性向上を目指し培養条件の検討を行い発展させた。面白い事にオーキシン類のインドール酪酸 (IBA)、ナフトレン酢酸 (NAA)、及びインドール酢酸 (IAA) で毛状根の形態が異なる事が観察された。ホルモンフリーと比べて NAA は根の伸長が見られ、IBA と IAA は側根の数を増やすことを認めた。そこで Pgq の毛状根培養で複数のオーキシン類を組み合わせる事でジンセノシド類やポリアセチレン類の生産性について研究を進め、「交配ニンジン (*Panax ginseng* x *P. quinquefolium*) の毛状根培養に関する研究」(2004) の学位論文を完成された。<sup>9-12)</sup> 彼は勤務先の諏訪から定期的に通って研究をまとめられた努力の結果である。



図 4. *Agrobacterium rhizogenes* 感染により誘導されてきた毛状根



図 5. F<sub>1</sub> ニンジンから誘導された 6 系統の毛状根

### 3. アレルギー・炎症疾患を対象とした研究

1995 年に教授昇格を機にこれまで行ってきたマメ科 *Cassia* 属植物の研究を一段落させ、学生の教育、更に社会貢献につながるような研究はないかと考えた。当時は国民の三人に一人はアトピー性皮膚炎や花粉症などのアレルギー疾患が社会問題になっていた時代であった。自身の湿疹で病院での治療や漢方薬を使っていたが、症状が一新一体の状態であった。そのような時に南米原産の生薬シジュウムがアトピー性皮膚炎に効くということで持ち込まれ使用してみると、一週間も経たないうちに効果が実感された。後にシジュウムは野生のグアバ *Psidium guajava* L. であることが分かった。そこでアレルギー疾患に有効な生薬の研究をスタートさせた。幸いにも薬品分析学研究室の四宮一総先生からマスト細胞（肥満細胞）を用いたヒスタミン遊離抑制試験について教えて頂いた。急性炎症ととらえられる I 型アレルギー試験の *in vitro* 及び *in vivo* の試験法を確立した。次に慢性炎症が問題となるが、こちらはマクロファージに注目し、埼玉県衛生研究所の石井里枝さんの協力を得て研究をスタートさせた。

#### 3.1 エゾムラサキツツジ *Rhododendron dauricum*; 烈香杜鹃 *R. anthopogonoides*

エゾムラサキツツジは、北海道の東部と北部、朝鮮半島北部、中国東北部、ウスリー地方に自生するツツジ科植物である。中国では葉を「満山紅」といい、民間薬として慢性気管支炎に用いられる。材料の収集は、瀋陽薬科大学の先生方に遼寧省大黒山で枝の付いた葉を採集して頂いた。岩田直樹さんの修士のテーマとし、後に製薬会社に務められ研究生として続けた。本生薬はヒスタミン遊離抑制活性を指標にして 10 種が新規プレニルオルシノール誘導体を含む 28 種の化合物を、また烈香杜鹃は、中国四川、雲南、チベットの海拔 2500~4200 m に生育するツツジ科植物で、6 種の新規化合物を含む 14 種のプレニルオルシノール誘導体を単離した。

ヒスタミン遊離抑制活性は、プレニルオルシノール誘導体のうちクロメン環にゲラニル側鎖に水酸基を持つ化合物に認められ、**3, 4, 6** (いずれも新規化合物) は強い活性 IC<sub>50</sub> (μM)

が認められた。<sup>13-16)</sup> (図 6) これらの成分の生合成は、orcinol にテルペン鎖のゲラニル  
 或いはファルネシル基が縮合した後、一部は側鎖が酸化を受け、また分子内 Diels-Alder  
 型の付加反応などを起こして多環性化合物を生成したと考えられる。大麻成分にもよく似  
 た化合物が見られその共通性に興味もたれる。この中には新規骨格を有する化合物も見  
 つかった。これらの研究で岩田さんは、「中国産ツツジ科 Rhododendron 属植物のプレニル  
 オルシノール誘導体に関する研究」(2012) の学位論文をまとめられた。

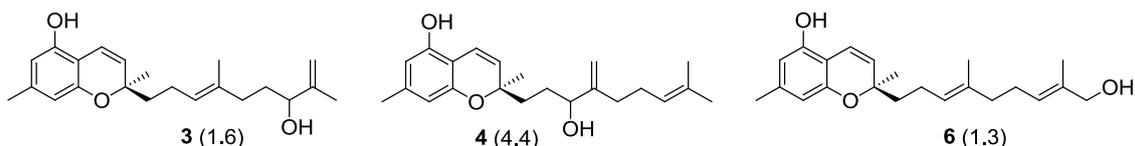


図 6. エゾムラサキツツジより得られたヒスタミン遊離抑制効果を示すプレニルオルシノール誘導体

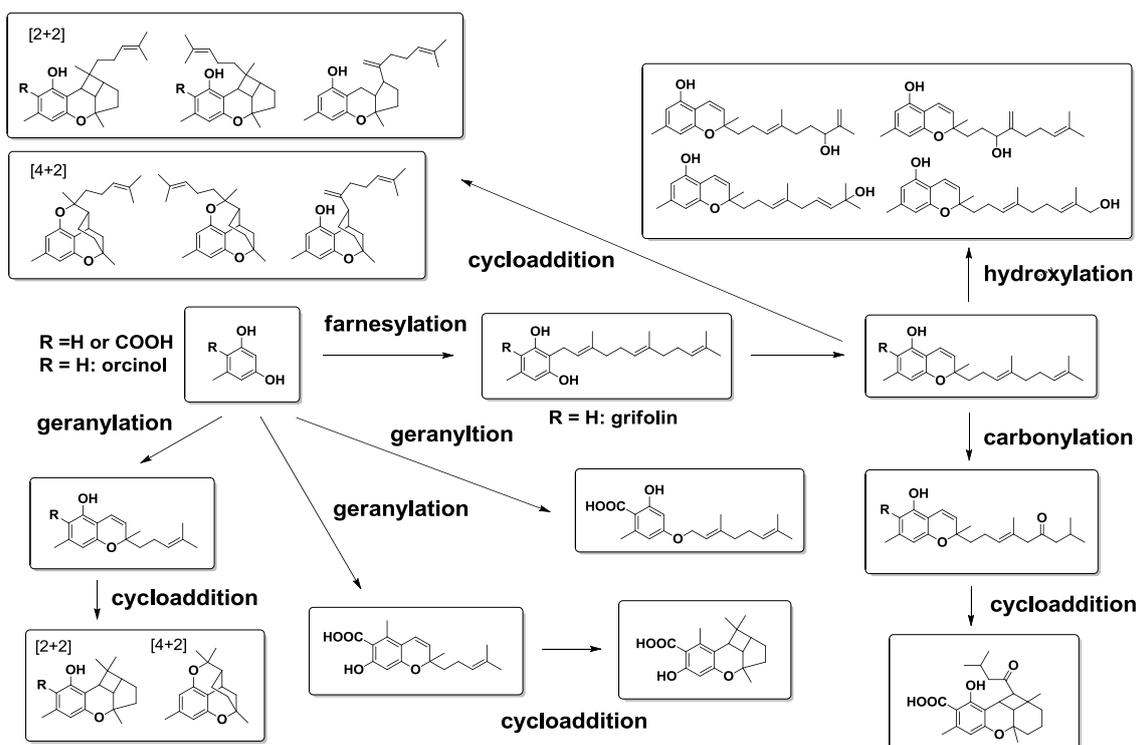


図 7. グリファリンを起源とした生合成の考察

### 3.2 アカメガシワ成分のマクロフェージ活性化抑制成分

石井さんらと RAW264.7 細胞を用いて薬用植物など 100 種についてスクリーニングを行い、  
 アカメガシワ果皮、シジュウム葉、チネン全草に強い抑制活性を認めた。アカメガシワ果  
 皮より得た isomallotochromanol などのフロログルシノール誘導体 10 種について、NO 産生  
 抑制作用、誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) の酵素活性に対する作用、プロスタグランジン (PG)

E<sub>2</sub>の産生抑制作用、炎症性サイトカイン産生に対する作用、NFκB 誘導阻害に関する作用について検討して「アカメガシワ果実成分 phloroglucinol 誘導体のマクロファージ活性化抑制作用に関する研究」(2002)のタイトルで学位論文をまとめられた。



図8. アカメガシワの果実

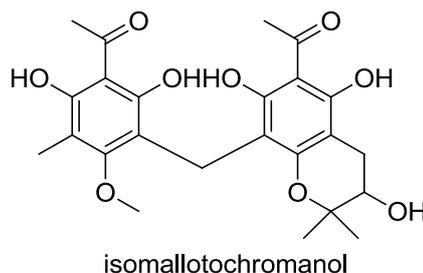


図9. Isomallotochromanolの構造

### 3. 3 クスノハガシワのマクロファージ活性化抑制成分

クスノハガシワ *Mallotus philippensis* (Lam.) Mull.-Arg. は、熱帯アジアからオーストラリアに分布する雌雄異株の小高木である。クスノハガシワの果実表面に褐色の腺毛が生えており、これをカマラと称して主に条虫駆除薬として用いられてきた。大根谷章浩さんは、クスノハガシワの果実、雲南海、茎地紅景天について研究し学位論文とした。ここではクスノハガシワの果実成分について紹介する。

種子島産クスノハガシワ果実のアセトン抽出エキスは、強い NO 産生抑制活性 (IC<sub>50</sub> 6.9 μg/mL) を示した。成分検索を行い、9種の新規フロログルシノールを単離しマクロファージ様細胞 RAW274.7 を用いて一酸化窒素 (NO) 産生抑制活性を評価した。これらの化合物には IC<sub>50</sub> 値が 3~40 μM と高い活性を認めた。これらは iNOS mRNA の発現を抑制すると共に、炎症性サイトカインである IL-1β、IL-6 及び COX-2 mRNA の発現に抑制が認められたことから、これらの共通の転写因子である NFκB の活性化過程を抑制していると推察した。大根谷さんは、3種の薬用植物について検討を行い「薬用植物からのマクロファージ活性化を抑制する成分に関する研究」(2012)をまとめた。

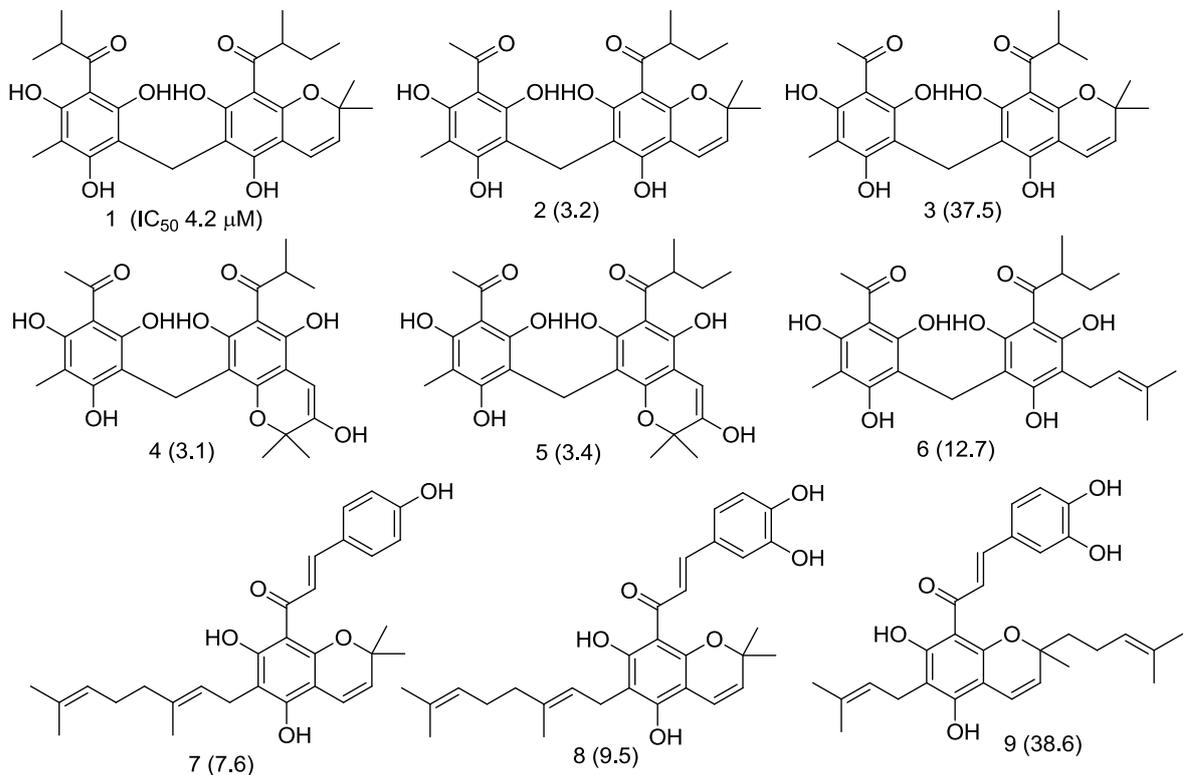


図 10. クスノハガシワ果皮より単離されたフロログルシノール誘導体と NO 抑制活性

### 3. 4 雲南石仙桃 *Pholidota yunnanensis* Rolfe.、中華石仙桃 *P. chinensis* Lindl.、金釵石斛 *Dendrobium nobile* Lindl.

日本では局方に天麻が収載されるがラン科基原の生薬は少ない。しかし中国では多くのラン科植物が薬用に用いられてきた。ラン科植物に興味を持ったのは、2003年にKT Howitzらが赤ワイン中のポリフェノールとして知られるレスベラトロールが、酵母のサーチュイン遺伝子 (Sir 2) を活性化させてヒストンの脱アセチル化を引き起こすことにより、酵母の寿命を 70%延長させるという論文に始まる。この効果はカロリー制限と類似したものとされ、老化と係りが深い各種難治疾患の改善に有効ではないかと考えた。レスベラトロールのようなスチルベン誘導体がラン科植物から報告されていたので、ラン科植物の成分研究に踏み切った。

中国南部の広西省チワン自治区は桂林が所在する地区であり、市場を廻るとラン科起源の生薬をしばしば目にする。生薬の石斛は清熱、滋陰、生津、強壮効果があるとされ、口渇、慢性胃炎、視力減退などに用いられるが、また高貴薬であることから代用として多くの *Dendrobium* 属植物や、別の属の *Pholidota* 属植物なども用いられている。広西省で収集した石斛の基原植物の金釵石斛及び 2 種の石仙桃 (*Pholidota* 属) について研究生として来日した王瑀が研究を行った。これら 3 種の生薬からスチルベン誘導体を中心に 42 種の化合物を単離し、8 種の新規スチルベン誘導体の構造を明らかにした。石斛の代用として使用さ

れる雲南石仙、中華石仙桃には、正品の金釵石斛と同様に多数のスチルベン誘導体を明らかにした。<sup>17-22)</sup> また構造活性相関を検討するため、15 種のスチルベン誘導体を合成して加え NO 産生抑制活性及び DPPH ラジカル消去活性を検討した。これらの中で中華石仙桃から単離した bulbophyllol は NO 産生を抑制すると共に iNOS mRNA の抑制が認められ、更に DPPH ラジカル消去意見においても高い活性を示した。(図 11) また同植物から得た hircinol には、軸異性体 (アトロプ異性体) があってもよいと考え、旋光度を測定すると  $[\alpha]_D +18.7$  を示した。そこでキラルカラムを用い 2 種の対掌体を分離して、エナントマー過剰率 (ee) を計算すると光学純度が 78.9%であった。多い方の CD スペクトルを解析すると、図 11 に見られるように (+) -体 (S-体) が主体であった。Hircinol の生合成はスチルベンの 2 つの芳香環のオルト位でカップリング反応を起こしビフェニル結合したものと考えられるが、酵素の制御により高いキラリティを有していることに驚かされる。王さんはこれらの研究を「ラン科薬用植物中のスチルベン誘導体に関する研究」(2008) という論文にまとめられた。

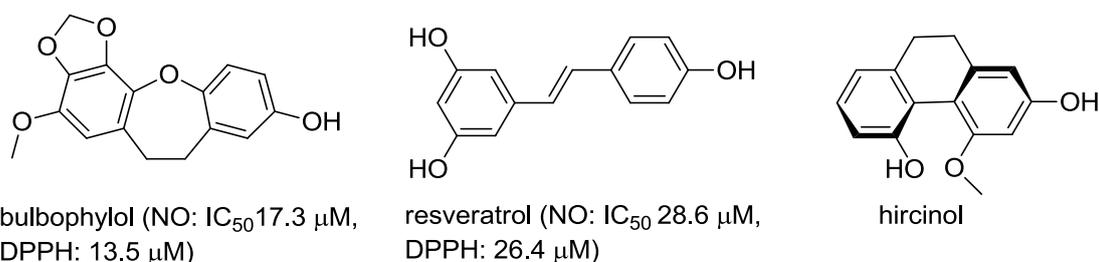


図 11. スチルベン誘導体

### 3.5 黒老虎 *Kadsura coccinea* Lemaire の成分と生物活性

中国の地方の野菜などを売っている市場や生薬市場に行くと中医学ではほとんど用いないその地方の民間薬に出会うことがしばしばある。中国江西チワン族自治区柳州の市場を回った時に見慣れない生薬が目にとまった。尋ねると黒老虎という生薬で、チョウセンゴミシに近縁のものである。調べると根を胃及び十二指腸潰瘍、リウマチ性骨痛などに用いられる。そこで中国からの留学生李 賀然さんの博士論文の研究テーマにした。成分研究では、10 種の新規トリテルペンと 10 新種のリグナン類を含む合計 47 種の化合物を単離した。彼は構造決定に際し、通常用いる NMR 測定の他に HSQC-TOCSY 測定を行って水素の接続性を解析してトリテルペン kadsuracoccinic acid A の構造を推定した後、単結晶 X 線構造解析により構造を確定した。この化合物はユニークな構造を持つラノスタン系トリテルペンで、A 環が開裂してカルボキシル基を持ち、17-20 位間に二重結合を持つという変わった構造であった。(図 12) 生物活性試験では、NO 産生抑制活性が、アリルテトラリンリグナンの kadsuralignan C (IC<sub>50</sub> 21.2 μM) 及び H (IC<sub>50</sub> 21.2 μM) に高い値が認められた。また抗炎症活性試験として知られるマウス皮下組織由来の L-929 細胞を用いて、TNF-α に対する保護作用について検討したところ、ジベンゾシクロオクタジエンリグナン類の

kadsuralignan J と K、及び neokadsuranin に抗 TNF- $\alpha$  作用が認められた。最近、ジベンゾシクロオクタジエンリグナンに DNA 修復或いはアポトーシスへの誘導に關与する損傷感知キナーゼ ATR の特異的阻害作用があることが見いだされており、更に抗がん治療増感剤としての候補化合物としてこれらの化合物の創薬への応用が期待される。<sup>23-26)</sup> これらの研究で李賀然さんは「黒老虎 (*Kadsura coccinea*) の成分に関する研究 ISOLATION AND STRUCYURE ELUCIDATION OF BIOACTIVE NATURAL PRODUCTS *KADSURS COCCINEA*」(2008)のタイトルで論文をまとめられた。

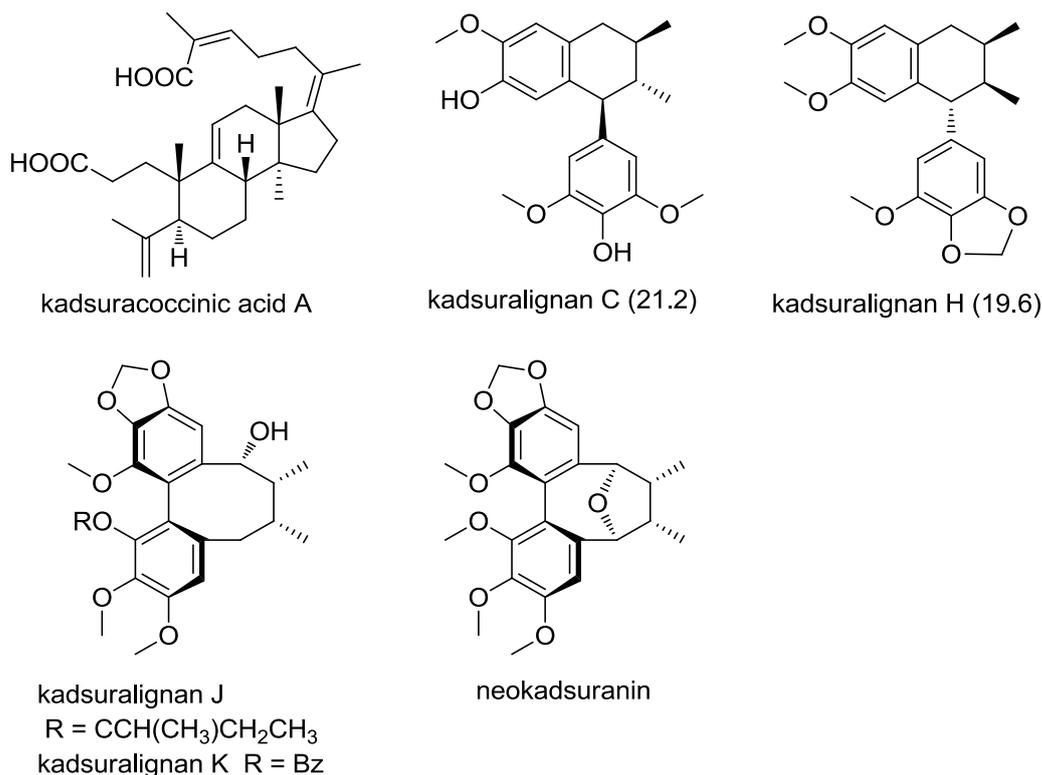


図 12. 黒老虎より得られた主要な化合物の構造

### 3.6 阜康阿魏 *Ferula fukanensis* K. M. Shen

阜康阿魏は、中国新疆、ロシアの中央アジア地区、イラン、アフガニスタンなどの砂漠地帯に分布するセリ科の多年生草本である。中国新疆ウルムチの市場で太い根の生薬を目にし、新疆大学アブダラ教授により阜康阿魏と同定して頂き研究を進めることにした。阜康阿魏は、解熱、鎮咳去痰、肺炎、気管支炎、喘息、健胃などに用いられる。甕常岳さんは修士の後、研究生として進めた。阜康阿魏は、NO 産生抑制試験を併用しながら成分分離を進め、29 種の新規化合物を含む 47 種の化合物を単離・構造決定した。(図 13) またフカネクトエステル A のような 2 種のジケトン化合物を単離したが、植物から単離例が見当たらず大変珍しいものである。

NO 産生抑制活性の検討では、基本骨格のウンベリフェロンや 7-ヒドロキシクロモンのよ

うな芳香環には認められなく、セスキテルペンのネロリドールに活性が認められることからセスキテルペン側鎖を有し、尚且つ側鎖中に共役ケトンの存在が重要と考えられる。これらの化合物について iNOS、TNF- $\alpha$ 、IL-1 及び COX-2 mRNA の発現に対して検討したところ、いずれの mRNA に対しても強い抑制が認められた。このことからこれらの化合物は、NF- $\kappa$ B の活性化を抑制しているものと考えられる。<sup>27-31)</sup> これらの研究で甕さんは「阜康阿魏 (*Ferula fukanensis*) の成分に関する研究」(2010) の論文をまとめられた。

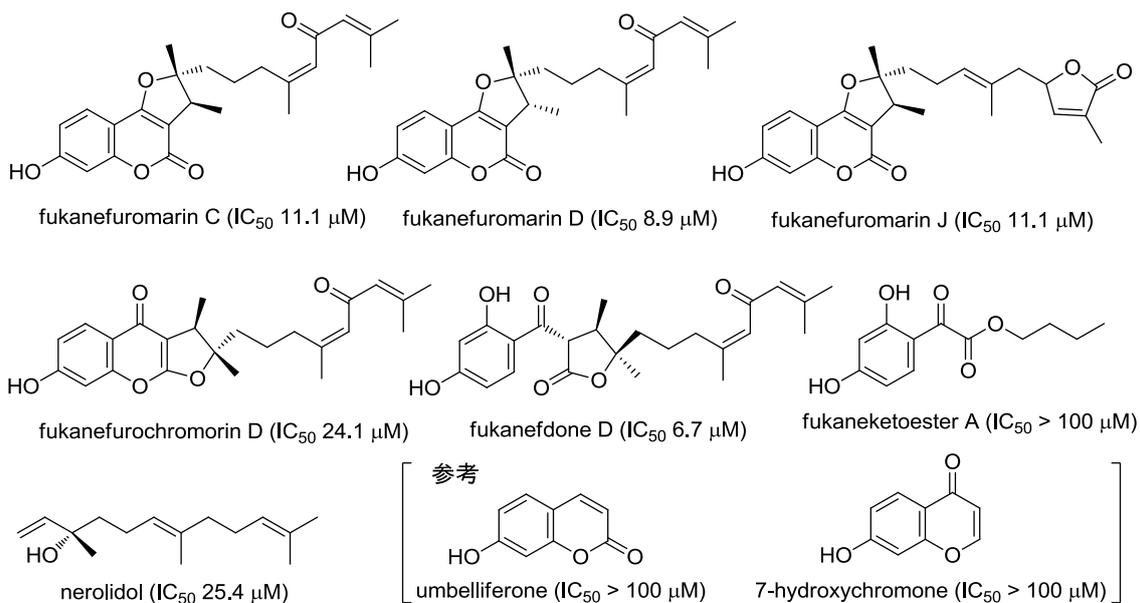


図 13. 阜康阿魏から単離された各種骨格を持つ化合物の NO 産生抑制活性

#### 4. メタボリックシンドロームの予防・改善を目指した生薬研究

薬学部において研究のプロジェクトが立ちあげられた。生活習慣の欧米化に伴い、メタボリックシンドロームが注目され、肥満に伴い糖尿病、高血圧、高脂血症などの生活習慣病が問題となっている。そこでこれまで炎症疾患に関するスクリーニングに加え、脂肪前駆細胞 3T3-L1 を用いて脂肪細胞への分化などに影響を与える天然薬物の研究をスタートさせた。

##### 4.1 合歓花及び白桃花

合歓花、九股藤、白桃花の 3 種の生薬について、3T3-L1 を用いた評価を併用して博士課程の矢作忠弘さんが研究を進めた。<sup>32-33)</sup> 合歓花から 5 種、九股藤から 3 種の新規化合物を含む合計 50 種の化合物を単離して生物活性評価を行った。

合歓花はネムノキ *Albizia julibrissin* Durazz. の花を基原とする生薬で、不眠、鬱症状などに用いられる。本生薬から 6 種の新規化合物を含む 35 種の化合物を単離し生物活性を評価した。これらの中で 3''-(*E*)-*p*-coumaroylquercitrin (IC<sub>50</sub> 18.8  $\mu$ M) 及び 3''-(*E*)-feruloylquercitrin (IC<sub>50</sub> 16.7  $\mu$ M) に中性脂肪蓄積抑制作用が認められた。これらはエステル結合するケイヒ酸誘導体のパラ位に水酸基を有するもので、この存在が活性

発現に重要であることが明らかになった。また合歓花エキス及びこれらの化合物は、糖の脂肪細胞吸収抑制作用が認められた。更に合歓花エキス及びこれらの化合物には、脂肪細胞中に蓄えられた中性脂肪の分解を促進する活性が認められた。NO 酸性抑制活性においても高い抑制活性が認められたことから、合歓花及びその含有成分は肥満を改善したり肥満による慢性炎症疾患を改善する可能性が考えられる。

白桃花はモモ *Prunus persica* L. の花を基原とするもので、利水、活血、通便の効能がある。白桃花エキスは脂肪前駆細胞 3T3-L1 を脂肪細胞への分化促進活性が認められ、PPAR $\gamma$  の発現も観察された。活性が認められた酢エチ画運を分画すると 6 種の化合物が得られ、その内アロマデンドリンに分化促進活性が認められ、ポジティブコントロールとして用いたチアゾリジン系糖尿病薬のピオグリタゾン (10  $\mu$ M) と比較すると、アロマデンドリン (30  $\mu$ M) は分化促進活性及びアディポネクチンの分泌量において同程度の活性が認められた。これらの研究は「脂肪細胞に影響を与える薬用植物の成分研究」(2012) として論文を作成した。

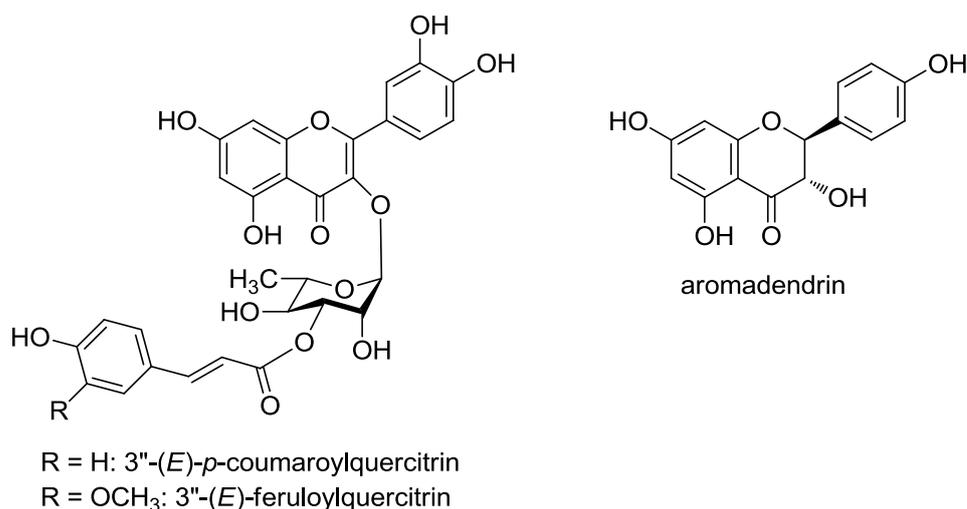


図 14. 合歓花及び白桃花から得られた生物活性フラボノイド

## 4.2 沙棘葉

桑根皮、沙棘葉、決明子について楊志剛さんが、学位論文をまとめた。ここでは沙棘葉について紹介する。<sup>34-36)</sup>

沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. (スナチグミ) は、グミ科の雌雄異株の低木～高木で中国、ロシア、西・北ヨーロッパなどに分布する。茎はとげを持ち、根にフランキア属の放線菌が共生して窒素固定能を有する。中国では、干ばつ地など厳しい自然環境に耐える緑化植物として、また果実の利用に力を入れている。果実は喘息、瘀血、消化不良、消炎に用いられ、中国薬典(局方)に記載される。また葉は健康茶として用いられている。

沙棘葉エキスは脂肪細胞分化抑制活性、NO 産生抑制活性を認め、成分分離を進めて 3 種の新規フラボノイドを含む 50 種の化合物を単離した。

脂肪細胞分化抑制活性は、ursolic acid, pomolic acid, 2 $\alpha$ -hydroxy ursolic acidの酸性トリテルペン、kaemferol, quercetin, isorhamnetin のフラボノイドに強い活性が認められた。一方、NO 産生抑制活性は、加水分解型タンニン類に 10~20  $\mu$ M と高い活性が認められ、また糖部に coumaroyl 基 (tiliroside) や linaloyl 基が結合するフラボノール配糖体にも 20~70  $\mu$ M の活性が認められた。(図 15) 沙棘葉の主要フラボノイドとして単離された tiliroside はメルク社がアオギリ科植物から抽出している成分で、抗酸化効果と抗炎症効果を持つバイオフィラボノイドとして発表している。その効果はヒドロコーチゾンと同程度の赤斑軽減作用が認められるとしている。tiliroside について RAW264.7 細胞を用いて評価を行った。iNOS, IL-6, IL-1 $\beta$ , COXX-2, 及び TNF- $\alpha$  mRNA 発現の影響を検討したところ、特に IL-6 mRNA 発現の抑制が認められ、tiliroside の抗炎症作用の作用機序に興味を持たれる。内臓肥満の脂肪組織では、脂肪細胞とマクロファージが相互作用して軽い炎症状態を引き起してインスリン感受性を低下させるといわれている事から、脂肪細胞とマクロファージ細胞を共培養して CP-1, TNF- $\alpha$ 及び IL-6 の産生量について検討した。IL-6 のみに 10  $\mu$ M で顕著な抑制効果が認められた。Tiliroside には、肥満に伴う脂肪組織の炎症性変化を改善しインスリン抵抗性を改善する可能性が考えられる。これらの研究成果を加え、楊さんは「脂肪細胞機能を調節する生薬に関する研究」(2012) の学位論文をまとめた。

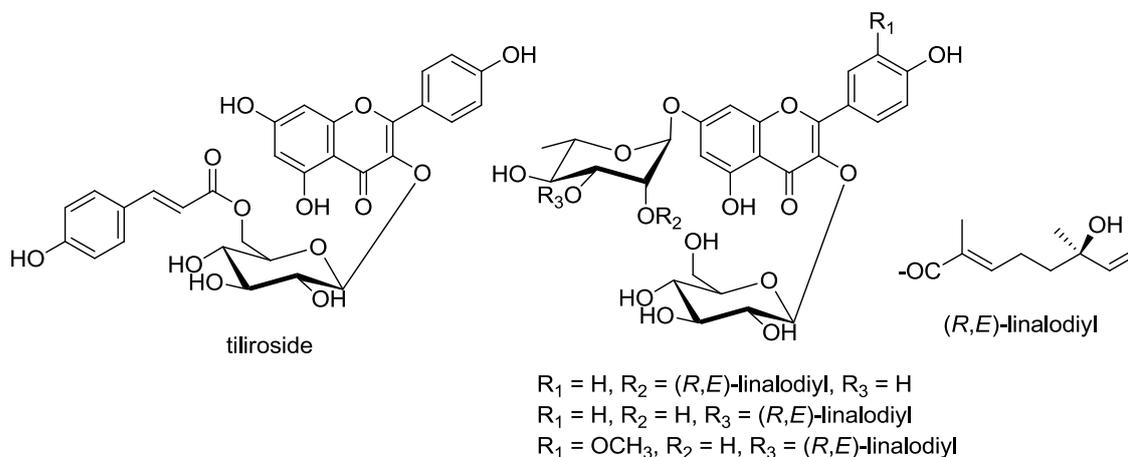


図 15. 沙棘葉から得られた生物活性フラボノイド

#### 学位論文に寄与した論文

1. Tadahiro Nishimura, Tadashi Narita, Emi Miyazaki, Tohru Ito, Norihiro Nishimoto, Kazuyuki Yoshizaki, Joseph A. Martial, Eric J. Bellfoid, Henrik Vissing, Tadayoshi Taniyama, Characterization of the Human FcgRIIB Gene Promoter: Human Zinc-Finger Proteins (ZNF140 and ZNF91) that Bind to Different Regions Function as Transcription Repressors, *International Immunology*, **13**(8), 1075-1084 (2001).
2. Kouji Kusano, Shinji Ebara, Koichi Tachibana, Tadahiro Nishimura, Susumu Sato, Tomoaki Kuwaki, Tadayoshi Taniyama, A potential therapeutic role for small

- nonpeptidyl compounds that mimic Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor, Blood, **103**(3), 836-842 (2004).
3. Tadahiro Nishimura, Li-Yan Wang, Kouji Kusano, Susumu Kitanaka, Flavonoids that Mimic Human Ligands from the Whole Plants of *Euphorbia lunulata*, Chem.Pharm. Bull., **53**(3), 305-308 (2005).
  4. Li-Yan Wang, Nai-Li Wang, Xin-Sheng Yao, Syohei Miyata, Susumu Kitanaka, Diterpenes from the roots of *Euphorbia kansui* and their *In Vitro* effects on the cell division of *Xenopus*, J. Nat. Prod., **65**(9), 1246-1251 (2002).
  5. Li-Yan Wang, Nai-Li Wang, Xin-Sheng Yao, Syohei Miyata, Susumu Kitanaka, Euphane and Tirucallane Triterpenes from the Roots of *Euphorbia kansui* and Their in Vitro Effects on the Cell Division of *Xenopus*, J. Nat. Prod., **66**(5), 630-633 (2003).
  6. Li-Yan Wang, Nai-Li Wang, Xin-Sheng Yao, Syohei Miyata, Susumu Kitanaka, Diterpenes from the Roots of *Euphorbia kansui* and Their in Vitro Effects on the Cell Division of *Xenopus* (2), Chem. Pharm. Bull., **51**(8), 935-941 (2003).
  7. Shohei Miyata, Li-Yan Wang, Nai-Li Wang, Xin-Sheng Yao, Susumu Kitanaka, Selective inhibition of the growth of cancer cells by diterpenes selected with embryonic cells of *Xenopus*, Cell Biology International, **28**, 179-184 (2004).
  8. Manabu Kunishi, Koichiro Shimomura, Michio Takido, Susumu Kitanaka, Growth and ginsenoside production of adventitious and Hairy root cultures in an interspecific hybrid ginseng(*Panax ginseng* x *P. quinquefolium*), Natural Medicines, **52**(1), 1-4(1998).
  9. Daisuke Washida, Koichiro Shimomura, Yoshio Nakajima, Micio Takido, Susumu Kitanaka, Ginsenosides in Hairy root of *Panax* hybrid, Phytochemistry, **49**(8), 2331-2335 (1998).
  10. Daisuke Washida, Susumu Kitanaka, Determination of Polyacetylenes and Ginsenosides in *Panax* Species Using High Performance Liquid Chromatography, Chem. Pharm. Bull., **51**(11), 1314-1317 (2003).
  11. Daisuke Washida, Koichiro Shimomura, Susumu Kitanaka, Polyacetylenes in Hairy Roots of a *Panax* Hybrid, Planta Medica, **69**(12), 1163-1165 (2003).
  12. Daisuke Washida, Koichiro Shimomura, Michio Takido, Susumu Kitanaka, Auxins Affected Ginsenoside Production and Growth of Hairy Roots in *Panax* Hybrid, Biol. Pharm. Bull., **27**(5), 657-660 (2004).
  13. Naoki Iwata, Naili Wang, Xinsheng Yao, and Susumu Kitanaka, Structures and Histamine Release Inhibitory Effects of Prenylated Orcinol Derivatives from *Rhododendron dauricum*, J. Nat. Prod., **67**(7), 1106-1109 (2004).
  14. Naoki Iwata, Susumu Kitanaka, Tetracyclic Chromane Derivatives from

- Rhododendron anthopogonoides*, J. Nat. Prod., **73**(7), 1203-1206 (2010).
15. Manami Watanabe, Yuta Kamada, Khosuku Miyazaki, Shoko Mizoguchi, Keiichi Matsuzaki, Susumu Kitanaka, Shohei Miyata, 20-*O*-Ingenol EZ, a catalytic topoisomerase II inhibitor, specically inhibits cell proliferation and induces double-strand DNA breaks in BLM-1 cells, Medicinal Chemistry Communication, **2**(9), 824-827 (2011).
  16. Naoki Iwata, Susumu Kitanaka, New Cannabinoid-Type Chromane Derivatives from *Rhododendron anthopogonoides*, Chem. Pharm. Bull., **59**(11), 1409-1412 (2011).
  17. Jue Wang, NaiLi Wang, Xinsheng Yao, Rie Ishii, Susumu Kitanaka, Inhibitory activity of Chinese Herbal Medicines toward Histamine release from Mast Cells and Nitric Oxide Production by Macrophage-like Cell Line, RAW 264.7, J. Nat. Med , **60**(1), 73-77 (2006).
  18. Wiao-Yu Guo, Jue Wang, Nai-Li Wang, Susumu Kitanaka, Houg-Wei Liu, and Xin-Sheng Yao, New Stilbenoids from *Pholidota yunnanensis* and Their Inhibitory Effects on Nitric Oxide Production, Chem. Pharm. Bull, **54**(1), 21-25 (2006).
  19. Xiao-Yu Guo, Jue Wang, Nai-Li Wang, Susumu Kitanaka, and Xin-Sheng Yao, Constituents from *Pholidota yunnanensis* and Their Inhibitory Effects on Nitric Oxide Production, Chinese Traditional and Herbal Drugs, **37**(4), Chinese Traditional and Herbal Drugs, **37**(4), 492-496 (2006).
  20. Jue Wang, Keiichi Matsuzaki, Susumu Kitanaka, Stilbene Derivatives from *Pholidota chinensis* and Their Antinflammatory Activity, Chem. Pharm. Bull, **54**(8), 1216-1218 (2006).
  21. Xue Zhang, Jie-Kun Xu, Jue Wang, Nai-Li Ang, Hiroshi Kurihara, Susumu Kitanaka, Xin-Sheng Yao, Bioactive Bibenzyl Derivatives and Fluorenones from *Dendrobium nobile*, J. Nat. Prod., **70**(1), 24-28 (2007).
  22. Jue. Wang, Liyan Wang, Susumu Kitanaka, Stilbene and dihydrophenanthrene derivatives from *Pholidota chinensis* and their nitric oxide inhibitory and radical-scavenging activities, J. Nat. Med, **61**, 381-386(2007).
  23. Heran Li, Yulin Feng, Zhigang Yang, Zhongmei Zhou, Lizhen Xu, Akihiro Daikonya, Jue Wang, Susumu Kitanaka, and Shilin Yang, New Lignans from *Kadsura coccinea* and Their Nitric Oxide Inhibitory Activities, Heterocycles, **68** (6), 1259-1265 (2006).
  24. He-Ran Li, Yu-Lin Feng, Zhi-Gang Yang, Jue Wang, Akihiro Daikonya, Susumu Kitanaka, Li-Zhen Xu, Shi-lin Yang, New Lignans frpm *Kadsura coccinea* and Their Nitric Oxide Inhibitory Activities, Chem. Pharm. Bull., **54**(7), 1022-1025 (2006).
  25. Heran Li, Liyan Wang, Zhigang Yang, Susumu Kitanaka, Kadsuralignans H-K from

- Kadsura coccinea* and Their Nitric Oxide Production Inhibitory Effects, J. Nat. Products, **70**(12), 1999-2002 (2007).
26. Heran Li,†Liyan Wang, Syohei Miyata, Susumu Kitanaka, Kadsuracoccinic Acids A-C, Ring-A seco-Lanostane Triterpenes from *Kadsura coccinea* and Their Effects on Embryonic Cell Division of *Xenopus laevis*, J. Nat. Prod, **71**(4), 739-741(2008).
  27. Tsunetake Motai, Akihiro Daikonnya, Susumu Kitanaka, Sesquiterpene Coumarins from *Ferula fukanensis* and Nitric Oxide Production Inhibitory Effects, J. Nat. Prod., **67**(3), 432-436 (2004).
  28. Tsunetake Motai, Susumu Kitanaka, Sesquiterpene Coumarins from *Ferula fukanensis* and Nitric Oxide Production Inhibitory Effects (2), Chem. Pharm. Bull., **52**(10), 1215-1218 (2004).
  29. Tsunetake Motai, Susumu Kitanaka, Sesquiterpene Phenylpropanoids from *Ferula fukanensis* and Their Nitric Oxide Production Inhibitory Effects, J. Nat. Prod., **68**(3), 365-368 (2005).
  30. Tsunetake Motai, Susumu Kitanaka, Sesquiterpene Chromones from *Ferula fukaensis* and Their Nitric Oxide Production Inhibitory Effects, J. Nat. Prod., **68**(12), 1732-1735 (2005).
  31. Tsunetake Motai, Susumu Kitanaka, Sesquiterpenoids from *Ferula fukanensis* and Their Inhibitory Effects on Nitric Oxide Production, J. Nat. Med., **60** (1), 54-57 (2006).
  32. Tadahiro Yahagi, Yumiko Yamashita, Akihiro Daikonya, Jun-bin Wu and Susumu Kitanaka, New Fureruloyl Tyramine Glycosides from *Stephania hispidula* Yamamoto, Chem. Pharm. Bull., **58**(3), 415-417 (2010).
  33. Tadahiro Yahagi, Akihiro Daikonnya and Susumu Kitanaka, Flavonol Acylglycosides from Flower of *Albizia julibrissin* and Their Inhibitory Effects on Lipid Accumulation in 3T3-L1 Cells, Chem. Pharm. Bull., **60**(1), 127-136 (2012).
  34. Zhi-Gang Yang, He-Ran Li, Li-Yan Wang, Yong-Hai Li, Shun-Guang Lu, Xiu-Feng Wen, Jue Wang, Akihiro Daikonya, Susumu Kitanaka, Triterpenoids from *Hippophae rhamnoides* L. and Their Nitric Oxide Production-Inhibitory and DPPH Radical-Scavenging Activities, Chem. Pharm. Bull., **55**(1), 15-18 (2007).
  35. Zhi-Gang Yang, Keiichi Matsuzaki, Satoshi Takamatsu, Susumu Kitanaka, Inhibitory Effects of Constituents from *Morus alba* var. *multicaulis* on Differentiation of 3T3-L1 Cells and Nitric Oxide Production in RAW264.7 Cells, Molecules, **16**, 6010-6022 (2011).
  36. Zhi-Gang Yang, Xiu-Feng Wen, Yu-Kai Gu, Yong-Hai Li, Keiichi Matsuzaki, Satoshi Takamatsu, Susumu Kitanaka, Inhibitory Effects of Constituents from *Hippophae*

*rhamnoides* L. on Differentiation of 3T3-L1 Cells and Nitric Oxide Production in RAW264.7 Cells, Chem.Pharm.Bull., **61**(3), 279-285 (2013).