

漢薬・絡石藤に関する研究 (第2報)¹⁾*Trachelospermum jasminoides* を基原とする絡石藤の茎部の生理活性成分について藤本 啓^a, 能勢充彦^a, 竹田忠紘^a, 荻原幸夫^{*a},
西部三省^b, 南 勝^b^a 名古屋市立大学薬学部, ^b 東日本学園大学薬学部Studies on the Chinese Crude Drug "Luoshiteng" (II)¹⁾On the Biologically Active Components in the Stem Part of Luoshiteng
Originating from *Trachelospermum jasminoides*TORU FUJIMOTO,^a MITSUHIKO NOSE,^a TADAHIRO TAKEDA,^a
YUKIO OGIHARA,^{*a} SANSEI NISHIBE^b and MASARU MINAMI^b^a Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University,
Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya 467, Japan^b Faculty of Pharmaceutical Sciences, Higashi Nippon Gakuen University,
Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-02, Japan

(Received November 25, 1991)

Aqueous extracts from two kinds of the Chinese crude drug, "Luoshiteng," one prepared from leaves and stems of *Trachelospermum jasminoides* (LINDL.) LEM. (Apocynaceae) and the other prepared from the leaves and stems of *Ficus pumila* L. (Moraceae), were tested for their biological activities.

A relaxation effect on the histamine-induced contraction of tracheal muscles in guinea pig was observed in the aqueous extract from the stems of *T. jasminoides*, from which arctigenin, matairesinol, trachelogenin and nortrachelogenin were isolated as biologically active components.

In addition, arctigenin and nortrachelogenin strongly inhibited the superoxide production.

Keywords—Luoshiteng; *Trachelospermum jasminoides*; Apocynaceae; relaxation of tracheal muscles; inhibition of superoxide production; lignan; arctigenin

中国市場に出回っている漢薬・絡石藤は主として絡石 *Trachelospermum jasminoides* (LINDL.) LEM. (Apocynaceae) または薜荔 *Ficus pumila* L. (Moraceae) のいずれかを基原植物とし、その茎葉が薬用に用いられている²⁻⁴⁾。一方、中華人民共和国薬典は絡石藤の基原植物に *T. jasminoides* の一種のみを規定している⁵⁾。絡石藤の効能はいずれを基原とするものも同じとされ、祛風止痛、咽喉腫痛、行瘀止血、通経絡などに用いられ、祛風湿薬に分類されている⁶⁾。これは西洋医学での抗炎症、鎮痛、解熱、血液循環促進、免疫調整などの作用に相当するものと考えられている。

著者らは前報で痛風に関連する Xanthine oxidase 阻害活性を調べ、基原植物を異にする絡石藤にはその生理活性に相違があることを見いだした。すなわち *T. jasminoides* を基原とする絡石藤の葉部にとくに高い阻害活性が認められその活性はフラボノイド成分の apigenin, luteolin, luteolin-4'-O-β-D-glucoside に基づくことを報告した¹⁾。今回は絡石藤の効能に該当するスクリーニング試験として、抗炎症作用、活性酸素産生抑制作用、血小板凝集抑制作用および絡石藤を喘息型慢性気管支炎に用いるとの報告もあることから⁷⁾気管平滑筋弛緩作用についての検討を行った。

結果および考察

1. 生理活性試験

スクリーニング試験は前報と同様に中国上海市場品の *T. jasminoides* 基原および *F. pumila* 基原の絡石藤を用い、いずれも葉と茎に分別し、それぞれを水で加温抽出し製した水エキスについて検討を行った。

(1) 抗炎症作用

抗炎症作用についてはラットカラゲニン足浮腫法を用い Winter らの方法に準じて検討を行った⁸⁾。

Wistar 系雄性ラットを用い、250 mg/kg 体重の割合でエキスを腹腔内投与し、カラゲニンで惹起したラット足浮腫に対する抗炎症作用を検討した。その結果いずれのエキスにおいても抗炎症に有意な作用が認められた (TABLE I)。

(2) 活性酸素産生抑制作用

スーパーオキシド (O_2^-) 産生は自己免疫疾患のリウマチや炎症に大きく関与することから活性酸素産生抑制作用を検討した。

活性酸素産生抑制測定にはフェリチクローム c を用いた。フェリチクローム c は O_2^- から一電子を受け取り還元型チクローム c となる。この還元型チクローム c は 550 nm に吸収極大をもつことから、この吸光度を測定し、

TABLE I. Antiinflammatory Effects of Aqueous Extract on the Swelling of Rat Hind Paw Induced by Carrageenan (1%, 0.1 ml, s.c.)

Origin	Swelling per cent					
	Time	1	2	3	4	5 (h)
<i>T. jasminoides</i>						
Leaves		17.0 ± 2.0	20.3 ± 3.5 ^{a)}	18.4 ± 6.2 ^{b)}	18.7 ± 9.2 ^{b)}	22.4 ± 10.3 ^{b)}
		(23.6 ± 3.1)	(39.1 ± 5.6)	(62.0 ± 5.9)	(70.0 ± 5.3)	(76.0 ± 5.6)
Stem		15.4 ± 4.5	13.9 ± 3.2 ^{b)}	15.7 ± 3.8 ^{b)}	10.4 ± 3.0 ^{b)}	9.5 ± 3.0 ^{b)}
		(18.6 ± 1.9)	(38.7 ± 4.0)	(54.0 ± 3.1)	(60.8 ± 3.7)	(71.0 ± 4.9)
<i>F. pumila</i>						
Leaves		15.1 ± 4.3	9.1 ± 4.1 ^{b)}	8.5 ± 4.1 ^{b)}	4.7 ± 3.7 ^{b)}	2.5 ± 2.3 ^{b)}
		(20.0 ± 4.5)	(29.6 ± 3.8)	(40.1 ± 3.9)	(47.8 ± 5.0)	(60.9 ± 3.8)
Stem		15.6 ± 1.5	9.3 ± 2.4 ^{b)}	6.6 ± 1.4 ^{b)}	3.5 ± 1.3 ^{b)}	5.4 ± 1.3 ^{b)}
		(32.6 ± 4.2)	(58.4 ± 8.3)	(77.0 ± 5.7)	(84.0 ± 5.9)	(90.7 ± 5.7)

Aqueous extract were given intraperitoneal at doses of 250 mg/kg.

(): Swelling per cent of control.

Each data indicates the mean ($n=5$) ± S. E.

Significantly different from the control. a) $p < 0.05$. b) $p < 0.01$.

TABLE II. Summary of Screening on Biological Activities of Aqueous Extracts of Luoshiteng

Effect	Part	Origin			
		<i>T. jasminoides</i>		<i>F. pumila</i>	
		Stem	Leaves	Stem	Leaves
Anti-inflammatory ^a		+	+	+	+
Inhibition of Superoxide Production (O_2^-)		+	+	+	+
Anti-platelet Aggregation		-	-	-	-
Relaxation of Tracheal Muscles ^b		+	-	-	-

^a On Swelling of rat hind paw induced by Carrageenan

^b On Histamine-induced contraction in guinea pig

+: Effective, -: Non effective.

生成した O_2^- を測定した⁹⁾. その結果, 0.05 mg/ml 濃度で, それぞれ *T. jasminoides* の茎部エキスでは 67%, 葉部エキスでは 73%, *F. pumila* の茎部エキスでは 31%, 葉部エキスでは 48% の活性酸素生産抑制作用を認めた.

(3) 血小板凝集抑制作用

血小板凝集抑制作用については Born の方法に準じて検討を行った¹⁰⁾.

凝集惹起物質にアラキドン酸, コラーゲンおよびアデノシン二リン酸をそれぞれ用いて行ったがいずれのエキスにも有意な抑制作用は認められなかった.

(4) 気管平滑筋弛緩作用

気管平滑筋弛緩作用についてはモルモットより気管を摘出し, 高木らの方法に準じて気管鎖状標本を作製, ヒスタミンで気管平滑筋を収縮後, 各エキスを投与し, その弛緩作用 (気管平滑筋弛緩作用と略す) を検討した¹¹⁾.

その結果 *T. jasminoides* を基原とする絡石藤の茎部のみに 10^{-4} g/ml の濃度で弛緩作用を認め, 他のエキスには認められなかった.

以上の生理活性試験の結果を TABLE II にまとめた.

基原を異にする 2 種類の絡石藤の効能は同じとされていたが, 今回 *T. jasminoides* を基原とする絡石藤の茎部エキスのみ気管平滑筋弛緩作用を認めた.

2. *T. jasminoides* 基原の絡石藤の茎部からの気管平滑筋弛緩作用成分の検索

気管平滑筋弛緩作用を示した *T. jasminoides* を基原とする絡石藤茎部エキスの活性本体を明らかにするため以下の実験を行った.

茎部を粉末とし, メタノールで加温抽出を行った. 抽出液は濃縮後水を加え, 析出した沈殿物を濾去し, 濾液はエーテル, クロロホルム, ブタノールにて順次抽出した. それぞれの抽出液は減圧下濃縮し, エーテル分画エキス, クロロホルム分画エキス, ブタノール分画エキス, 水層分画エキスとし, 各エキスの弛緩作用を検討した. その結果, エーテル分画エキスに顕著な, クロロホルム分画エキスにわずかな弛緩作用を認め, 他の分画エキスにはその作用を認めなかった. 水エキスの生理活性試験で示された弛緩作用の活性本体は主にエーテル分画エキスに移行していることが推察された (Chart 1).

3. *T. jasminoides* 基原の絡石藤の茎部から成分の単離

前項の方法に準じて製した. エーテル分画エキスはシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, クロロホルム-酢酸エチルを溶出溶媒として展開し, リグナン成分の arctigenin, matairesinol, trachelogenin, nortrachelogenin をそれぞれ単離した. クロロホルム分画エキスはシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, クロロホルム-エタノ

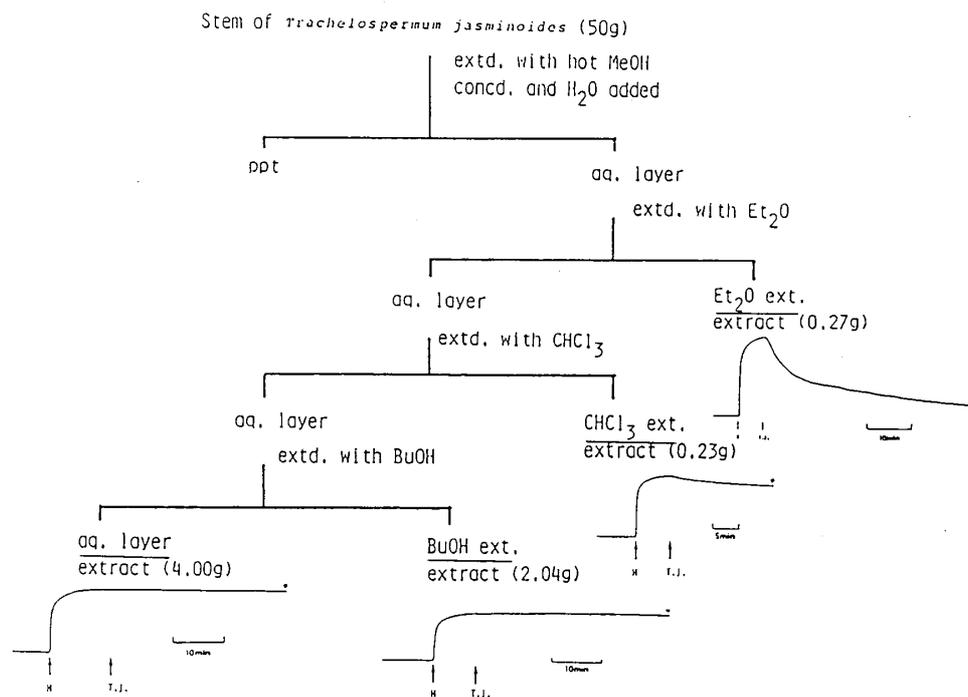
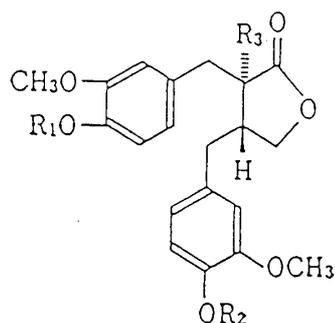


Chart 1. H: Histamine, 5×10^{-6} M, T.j.: Extract of *T. jasminoides*, 10^{-4} g/ml, ●: Wash



$R_1 = \text{glc}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}$	arctiin
$R_1 = R_3 = \text{H}, R_2 = \text{CH}_3$	arctigenin
$R_1 = \text{glc}, R_2 = R_3 = \text{H}$	matairesinoside
$R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$	matairesinol
$R_1 = \text{glc}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{OH}$	tracheloside
$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{OH}$	trachelogenin
$R_1 = \text{glc}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{OH}$	nortracheloside
$R_1 = R_2 = \text{H}, R_3 = \text{OH}$	nortrachelogenin

Chart 2.

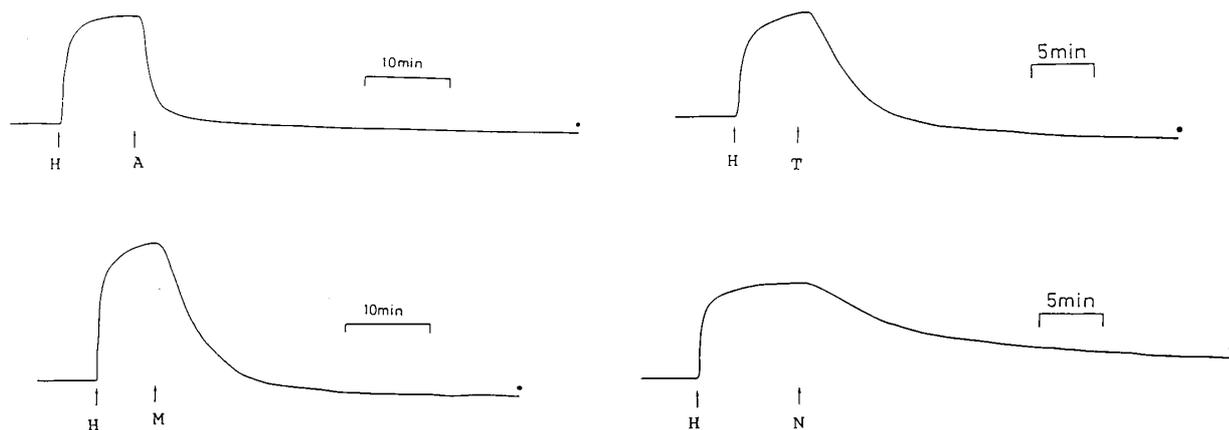


Fig. 1. Relaxation Effect of Lignans on the Histamine-induced Contraction of Tracheal Muscles in Guinea Pig

H: Histamine 5×10^{-6} M; A: Arctigenin; M: Matairesinol; T: Trachelogenin; N: Nortrachelogenin; Each sample were 10^{-4} g/ml; ●: Wash

TABLE III. Inhibitory Activity of Superoxide Production

Compound	IC ₅₀ (M)
Arctigenin	3×10^{-6}
Matairesinol	$> 1 \times 10^{-5}$
Trachelogenin	$> 1 \times 10^{-5}$
Nortrachelogenin	8×10^{-6}
Auranofin	7.5×10^{-6}

ールを溶出溶媒として展開し、リグナン配糖体の arctiin, matairesinoside, tracheloside, nortracheloside をそれぞれ単離した (Chart 2).

4. 単離成分の気管平滑筋弛緩および活性酸素産生抑制作用

Arctigenin, matairesinol, trachelogenin および nortrachelogenin はいずれも 10^{-4} g/ml の濃度で顕著な気管平滑筋弛緩作用を示した (Fig. 1).

活性酸素産生抑制作用については arctigenin, および nortrachelogenin に活性を認め、とくに arctigenin に慢性関節リュウマチ薬 auranofin より高い活性が認められた (TABLE III).

活性酸素産生抑制値が比較的高い値を示した arctigenin (30mg/kg 体重の割合で腹腔内投与) について抗炎症作用 (カラゲニン足浮腫) を検討したが有意な作用は認められなかった。

血小板凝集抑制 (抗 ADP 誘導血小板凝集作用) については試料 0.5 mg/ml で aspirin $24.8 \pm 6.6\%$ に対し、trachelogenin に $35.4 \pm 7.6\%$, arctigenin に $34.2 \pm 7.6\%$ の抑制がおのおの認められた。

リグナン配糖体の arctiin, matairesinoside, tracheloside および nortracheloside にはいずれに生理活性作用も認められなかった。したがって生理活性試験でクロロホルム分画エキスに認められたわずかな気管平滑筋弛緩作用は

エキスの懸濁液媒（エタノールとプロピレングリコール（1：9）の混液）の影響によるものと考えられる。なお、気管平滑筋弛緩作用の認められなかった *T. jasminoides* の葉部エキスや *F. pumila* の葉部・茎部エキスについて TLC ならびに HPLC にてこれら arctigenin, matairesinol, trachelogenin, nortrachelogenin の有無を検討したが、これらのエキス中にはその存在を認めなかった。

しかし *T. jasminoides* 基原の絡石藤茎部水エキスにはリグナン配糖体が主成分として含有されている。経口での服用を主とする漢薬では、服用後それに含まれる配糖体が腸内細菌叢により代謝を受けて活性を発現する例が近年数多く報告されている¹²⁻¹⁴⁾。

T. jasminoides を基原とする絡石藤においても服用すれば主成分のリグナン配糖体は腸内細菌叢により糖部の加水分解を受け、活性型の真性ゲニンとなり薬効を発現している可能性が十分考えられる。

以上の結果から、今回われわれが用いた *T. jasminoides*, *F. pumila* の二種の絡石藤はカラゲニン炎症モデルに対する抑制作用、活性酸素産生抑制作用など共通する活性をもつが、気管平滑筋弛緩作用については *T. jasminoides* の茎部にのみリグナン化合物の存在が認められた。これらの事実は、生薬の基原、さらには品質を管理する上で重要な知見であり、今後、種々の生薬についても化学的評価と生物学的評価を合わせ、いくつかの側面から検討することが必要だと考えられる。

結 論

同効能とされる2種の基原の異なる絡石藤 (*T. jasminoides* および *F. pumila*) は気管平滑筋弛緩作用においてその茎部に明らかな相違が認められた。

T. jasminoides を基原とする絡石藤の茎部水エキスの気管平滑筋弛緩作用の一部は、それに含有されるリグナン成分の arctigenin, および nortrachelogenin に基づくものと推察された。

実 験 の 部

水エキスの調製 中国上海市場品の絡石藤 (*T. jasminoides* および *F. pumila*) をそれぞれ葉と茎に分別し、粉碎後、蒸留水にて3回加温抽出。抽出液は減圧下で濃縮、減圧デシケーター内で完全に乾燥させたものを調製。

各エキス収量は、*T. jasminoides* 基原の絡石藤葉部 10 g からエキス 2.66 g, 茎部 10 g からエキス 2.19 g, *F. pumila* 基原の絡石藤葉部 10 g からエキス 1.07 g, 茎部 10 g からエキス 0.76 g。

実験動物飼育環境 それぞれ使用した実験動物はすべて静岡県実験動物農業共同組合より購入し、温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $65 \pm 5\%$ に常時維持した部屋で飼育した。

抗炎症作用 体重 100~140 g の Wistar 系雄性ラットを一群 5 匹として用いた。各水エキスを生理食塩水に溶解し、250 mg/kg 体重の割合に調製した被検試料 1 ml を腹腔内投与し、その 30 分後に、実験日前日に生理食塩水で懸濁調製し冷蔵保管した 1%カラゲニン (λ -Carrageenan, 和光純薬) 0.1 ml を右後肢足蹠に皮下注射し、浮腫を惹起させた。カラゲニンの投与後、1時間ごとに5時間まで右後肢足蹠の容積を容積測定装置 (Plethysmometer, Ugo Basile Co.) で測定し、カラゲニンの投与前の右後肢足蹠に対する浮腫の増加率を求めた。なお、対照群では被検試料の代りに生理食塩水を用いた。

実験結果は Student's *t*-test により統計処理した。

活性酸素産生抑制作用 ミクロセル中に 37°C に保温した modified-KRP 100 μl , カタラーゼ (2,600 U/ml) 5 μl , フェリチンクローム c (800 μM) 30 μl および細胞 (好中球, $5 \times 10^6/\text{ml}$) を入れよく攪拌した後、550 nm での吸光度を1分間測定した。次に測定サンプル 5 μl , サイトカラジン B (1 mg/ml) 5 μl , f MLP (2×10^{-5} M) 5 μl を加えてよく攪拌後、550 nm の吸光度をプラトーになるまで測定した。

T. jasminoides 基原の絡石藤茎部の水エキスは D_2O (重水)、それ以外のエキスは CD_3SOCD_3 (重 DMSO) に溶解し、0.05 mg/ml 濃度で行った。単離した成分は重 DMSO に溶解し行った。

血小板凝集抑制作用 体重 2.5~3.0 kg の日本白色種雄ウサギの頸動脈より 1/10 容の 3.8% クエン酸添加の血液を採取した。血液を 1,300 rpm で 10 分間遠心し、その上清を多血小板血漿 (PRP) とし、さらに下層を 3,500 rpm で 10 分間遠心することによって乏血小板血漿 (PPP) とした。

凝集の惹起にはアラキドン酸 (Sigma) 5.06 mM, コラーゲン (Hormon-chemie) 8.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ADP 8.3 μM を用いた。血小板凝集はヘマトレーサー VI (二光バイオサイエンス) を用いて凝集能を測定した。

気管平滑筋弛緩作用 体重 400~900 g のハートレー系雌性モルモットを用いた。モルモットの気管鎖状標本を 37

°C の modified-krebs 液をいれた Magnus 管内に懸垂し、95%酸素-5%二酸化炭素混合ガスを通気した。標本の反応は生体変位トランスジューサー (Sanei-Instrument Co. Ltd.) により測定し、アンプ (Sanei Bridge Box 5354 A) を介し、レコーダ (Hitachi 056 または Rikadenki R-10 Series) にて記録した。初期張力は 0.5~0.8 g とし、すべての標本は約 1 時間放置して安定化させ、ヒスタミン (Histamine dihydrochloride, 和光純薬) 5×10^{-6} M にて収縮後、その反応に対する各被検試料の影響を観察した。

被検試料は水エキス、ブタノールおよび水層分画エキスについては注射用蒸留水に溶解し、エーテルおよびクロロホルム分画エキス、単離した各成分についてはエタノールとプロピレングリコール (1:9) の混合液に懸濁し、いずれも 10^{-2} g/ml とし、Magnus 管内で最終濃度 10^{-4} g/ml となるように調製した。

T. jasminoides 基原の絡石藤茎部の分画エキスの調製と成分の単離 *T. jasminoides* 基原の絡石藤の茎部を粉末とし、その 50 g をメタノールで 3 回加温抽出した。メタノール抽出液を減圧下で濃縮後、濃縮液に水を加えて析出した沈殿物を濾去、濾液はエーテル、クロロホルム、ブタノールで順次抽出し、各分画液を濃縮し、エーテル分画エキス (0.27 g)、クロロホルム分画エキス (0.23 g)、ブタノール分画エキス (2.04 g)、水層分画エキス (4.0 g) を得た。

エーテル分画エキス (1.0 g) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 100 mesh, Mallinckrodt) に付し、クロロホルム-酢酸エチルを溶出溶媒とし、酢酸エチルの濃度を徐々にあげて展開し、arctigenin (18 mg), trachelogenin (25 mg), matairesinol (8 mg), nortrachelogenin (12 mg) を順次単離した。各単離した化合物はそれぞれの標品¹⁵⁾と直接比較、同定した。

クロロホルム分画エキス (1.0 g) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 100 mesh, Mallinckrodt) に付し、クロロホルム-エタノールを溶出溶媒とし、エタノールの濃度を徐々にあげて展開し、arctiin (68 mg), tracheloside (122 mg), matairesinoside (45 mg), nortracheloside (80 mg) を順次単離した。各単離した化合物はそれぞれの標品¹⁵⁾と直接比較同定した。

謝 辞 活性酸素産生抑制作用および血小板凝集抑制作用の測定に際し、種々のご配慮をいただきましたテルモ株式会社技術開発部 高井 誠博士に深謝いたします。

引用文献および注

- 1) 第 1 報: S. Nishibe, A. Sakushima, T. Noro, S. Fukushima, *Shoyakugaku Zasshi*, **41**, 116 (1987).
- 2) 難波恒雄, “原色和漢薬図鑑”, 下巻, 保育社, 東京, 1980, p. 188.
- 3) 北京薬品生物制品検定所, 中国科学院植物研究所 (編), “中薬鑒別手冊”, 第一冊, 科学出版社, 北京, 1981, p. 379.
- 4) 原色中国本草図鑑編集委員会編, “原色中国本草図鑑”, 8 巻, 雄渾社, 東京, 1986. p. 112.
- 5) 中华人民共和国衛生部薬典委員会 (編), “中华人民共和国薬典 1985 年版”, 1 部, 新華書店, 北京, 1985, p. 234.
- 6) 小管卓夫, 横田正美, 杉山 清, 山本藤輔, 牟礼考貴, 黒木由香, 小瀬智子, 山沢裕代, *薬学雑誌*, **105**, 845 (1985).
- 7) 洪 庚辛, 韓 宝偉, 覃 文才, 勝 忠, *中草药*, **14**, 320 (1983).
- 8) C. A. Winter, E. A. Risley, G. W. Nuss, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **111**, 544 (1962).
- 9) 千葉 司, 柿沼カツ子, *呼吸*, **5**, 425 (1986).
- 10) G. V. R. Born, *M. J. Physiol.*, **168**, 178 (1963).
- 11) K. Takagi, I. Takayanagi, K. Fujie, *Chem. Pharm. Bull.*, **6**, 716 (1958).
- 12) M. Miyagoshi, S. Amagaya, Y. Ogihara, *Planta Med.*, **54**, 556 (1988).
- 13) A. I. El-Sedwy, Y. Z. Shu, M. Hattori, K. Kobashi, T. Namba, *Planta Med.*, **55**, 147 (1989).
- 14) M. Hattori, G. Kim, S. Motoike, K. Kobashi, T. Namba, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 1388 (1982).
- 15) それぞれの標品には共著者の西部がテイカカズラ (*Trachelospermum asiatica* NAKAI) から単離し、構造決定したものをを用いた。