

吉草根の鎮静成分¹⁾ヒキノヒロシ, 曳野靖子, 小日向裕子,
相沢愛子, 今野長八, 大泉 康東北大学薬学部²⁾Sedative Principles of *Valeriana* Roots¹⁾HIROSHI HIKINO, YASUKO HIKINO, HIROKO KOBINATA, AIKO AIZAWA,
CHOHACHI KONNO and YASUSHI OH'IZUMIPharmaceutical Institute, Tohoku University²⁾

(Received August 28, 1979)

Compounds possessing sedative activity, isolated from valerian roots, have failed to fully account for the sedative activity exhibited by the roots per se. Recently iridoids named valepotriates were isolated as analgesic and sedative principles from Indian valerian roots.

In the present paper, a correlation between the contents of the valepotriates and the pharmacological activity of various valerian roots was examined. Nepalese and Chinese valerian roots containing an appreciable quantity of valepotriates showed no sedative activity, while Japanese valerian root containing less valepotriates inhibited stress-induced ulcer formation and prolonged hexobarbital-induced sleep in mice.

An extract of "Hokkai-kisso", i.e. roots of a Japanese valerian, was fractionated and the effect of each of the fractions on the enhancement of hexobarbital anesthesia was tested. Kessyl glycol diacetate, kessyl glycol 8-acetate and kessyl glycol 2-acetate were obtained as active principles therefrom. The enhancement of hexobarbital anesthesia by kessyl glycol diacetate is assumed to be due to its inhibitory effect on the central nervous system. However, kessyl glycol diacetate exhibited no inhibitory action on the stress-induced ulcer production.

吉草根はオミナエン科カノコソウ属 (*Valeriana*) 植物の根茎および根から得られる生薬で、鎮静、鎮座薬として用いられる。その有効成分を明らかにしようとする努力は古くからなされてきており、現在までにボルネオールのエステル、イソ吉草酸のエステル、アルカロイド (chatinine, valerianine)、セスキテルペノイド (valerenic acid) などに鎮静あるいは鎮座作用があると報告されているが^{3,4)}、いずれも生薬の薬効を代表する有効成分とは考えられていない。

最近インド産のワレリアナ根 (*V. wallichii* の地下部) に大量に含まれ、強い鎮痛、鎮静作用を持つという valepotriate と総称される一群のイリドイドが単離され、この valepotriate はいろいろな *Valeriana* および *Kenthranthus* 属植物に広く分布していることが明らかとなっている^{5,6)}。ここでもし valepotriate が吉草根類の薬効を代表する有効成分であるとする、日本産吉草根中のイリドイド含量およびその安定性、イリドイドを大量に含むヒマラヤ産ワレリアナ根と日本産吉草根の薬効の比較などが問題となる。今回われわれは吉草根の研究の一部として以上の問題を検

- 1) 東洋薬物の有効性に関する研究(第18報). セスキテルペノイドの研究(第56報).
前報: S. Funayama and H. Hikino, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **27**, 2865 (1979).
- 2) Location: *Aoba-yama, Sendai.*
- 3) 藤田路一, "生薬学", 南山堂, 東京, 1959, p. 129.
- 4) G. Büchi, T.L. Popper and D. Stauffacher, *J. Amer. Chem. Soc.*, **82**, 2962(1960).
- 5) P. W. Thies, *Tetrahedron*, **24**, 313(1966).
- 6) cf. K.-W. von Eicksted, S. Rahman, *Arzneimittel Forschung*, **19**, 316(1969).

TABLE I. Valepotriate Contents in Valerians

Sample	Collection		Content (%)	
	Location	Year	Valtrate	Acevaltrate
Determined in 1971				
Sugandha bal	Nepal	1971	1.5	0.17
Hokkai kisso	Hokkaido	1971	0.0068	—
	Sendai	1971	0.12	—
Kesso	Hokkaido	1971	0.063	—
	Sendai	1971	0.057	—
Determined in 1972				
Sugandha bal	Nepal	1972	1.9	0.30
		1971	0.48	0.13
Hokkai kisso	Hokkaido	1972	0.094	—
		1971	0.020	—
Kesso	Sendai	1972	0.22	—
		1971	0.11	—
	Sendai	1972	0.12	—
Determined in 1973				
Hokkai kisso	Sendai	1973	0.053	—
Kesso	Sendai	1973	0.066	—

討した。

まずネパール産ワレリアナ根 (Sugandha bal, *V. wallichii* の地下部) および日本産の北海吉草根ならびに纈草根についてイリドイドの含量を測定した。方法としては生薬のジクロルメタンエキスの一定量をシリカゲル薄層上で展開し, valtrate と acevaltrate の部分をそれぞれ抽出し, 256 nm における吸光度を測定して定量を行なった (TABLE I)。この結果から明らかなようにネパール産のワレリアナ根では含量が1%以上あるのに反し, 日本産の吉草根では種, 採取した場所, 年により変動はあるが, 含量はほぼ0.05~0.2%の間であり, 北海吉草根と纈草根の間には特に差は認められなかった。1971年に採取し, 1年間放置したものではイリドイド含量は数分の一に減少しており, 生薬中でもこれらのイリドイドはかなり不安定であることが確認された。

以上の結果を総合すると, もしこれらのイリドイドが吉草根の鎮静作用の本体とすれば, 日本産吉草根の効力はネパール産ワレリアナ根のその数分の一から数十分の一しかないことになり, また吉草根はなるべく新鮮なものを用いなければならないということになって, 従来の通念を訂正しなければならないことになる。そこでこれを確かめるために以下の実験を行なった。

用いた生薬はネパール産ワレリアナ根, 北海吉草根, 纈草根で, 実験時のイリドイド含量はネパール産と日本産の間に約70~85倍の差があった (TABLE II)。まず腸管を用いマグヌス法で抗ヒスタミン様作用, 抗アセチルコリン様作用, 抗塩化バリウム様作用を検討したが, それらの作用はいずれも弱く, 特に生薬間に大差は認められなかった。またマウスを用いて抗ストレス潰瘍作用 (生薬換算 2g/kg 経口投与) を検討したが, いずれの生薬にも明らかな作用は認められず, ネパール産のワレリアナ根はストレス潰瘍をむしろ増悪させる傾向を示した (TABLE II)。さらにマウスに生薬換算 2g/kg 経口投与して回転カゴによる運動性ならびに投与後の挙動を観察したところ, いずれの試料にも鎮静作用は認められなかった。以上の実験ではいずれの生薬にも少量の投与量では明らかな鎮静, 鎮座作用が認められず, イリドイド含量に大差のあるネパール産ワレリアナ根と日本産吉草根の間の薬理効果の差を認めることができなかった。そこで以下投与量を増して実験を続けた。用いた生薬はネパール産, 中国産および日本産で両者の間にはイリドイド含量にやはり大差が認められた (TABLE III)。まず回転カゴによる運動性の検定では投与量を10g/kgに増してもやはりどの生薬にも顕著な鎮静作用は認められなかった。また圧刺激法による鎮痛作用の検定では, 10g/kgの投与量でいずれの生薬にも鎮痛作用は観察されなかった。つぎにマウスでの抗ストレス潰瘍作用の試験では10g/kg投与すると, ネパール産, 中国産はやはり潰瘍をむしろ増悪させる傾向を示したが, 日本産は明らかに潰瘍抑制作用を示した。また各生薬のヘキソバルビタール睡眠延長作用について検討したところ, 北海吉草根のみ

TABLE II. Pharmacological Actions of Valerians (1)

Sample	Valtrates content (%)	Contraction of ileum (%) ^{b)}						Stress ulcer (%) ^{c)} (po 2 g/kg)
		Hist(10 ⁻⁷)		ACh(10 ⁻⁷)		BaCl ₂ (10 ⁻⁴)		
		10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻³	
Nepalese valerian	1.9	14.5	90.5	11.0	79.5	- 2.3	81.4	133%
Hokkai kisso	0.027	- 7.2	113.0	6.3	61.9	- 4.3	62.1	84
Kesso	0.022	- 8.5	70.4	24.3	84.9	15.1	77.2	71
Nepalese valerian ^{a)}	—	5.0	57.2	9.4	88.4	-11.7~6.0	82.5	143
Hokkai kisso ^{a)}	—	30.5	130.1	17.9	93.4	12.8	67.9	84
Kesso ^{a)}	—	28.1	148.1	46.3	128.5	34.5	104.4	114

a) 50% Ethanol extract

b) Inhibition

c) Control: 100%

TABLE III. Pharmacological Actions of Valerians (2)

Sample ^{a)}	Valtrates content (%)	Motor activity (po 10 g/kg) ^{b)}	Pressure pain (po 10 g/kg) ^{b)}	Stress ulcer (po 10 g/kg) ^{b)}	Sleep. time by hexobarb. (po 3 g/kg) ^{b)}
Control		100 ± 13	100 ± 17	100 ± 11	100 ± 7
Nepalese valerian	1.7	131 ± 9	102 ± 22	111 ± 14	92 ± 7
Chinese valerian	1.4	86 ± 13	117 ± 18	126 ± 18	123 ± 9
Hokkai kisso	0.045	82 ± 5	107 ± 9	46 ± 13*	178 ± 13**
Kesso	0.046	123 ± 16	100 ± 15	27 ± 10**	99 ± 14

a) Methanol extract.

b) Mean ± SE (n=5).

* Significantly different from the control, $p < 0.05$.** Significantly different from the control, $p < 0.01$.

が対照と比較して約 1.8 倍の睡眠延長効果を示し、他の吉草根では著しい効果は認められなかった。以上の結果を総合すると、イリドイド含量の高いネパール産のワレリアナ根では明らかな作用がなく、かえってイリドイド含量の低い日本産の二種の吉草根に明らかな抗ストレス潰瘍作用があり、さらに北海吉草根には明らかなヘキソバルビタール睡眠延長作用が認められるという結果が得られたことになる。したがって以上の実験結果から考察する限りにおいては、吉草根の生理活性とイリドイド含量の間には直接の関連性はないと結論せざるをえない。

そこでヘキソバルビタール睡眠延長作用を示した北海吉草根の有効成分の分画を行なった。生薬を水蒸気蒸留すると活性は残渣に残り、これを水とエーテルで分配すると活性はエーテル画分に移った。つぎにエーテル画分を水と石油ベンジンで分配すると活性は石油ベンジン画分に認められた。そこで石油ベンジン画分についてシリカゲルクロマトグラフィーによる分画を行ない、kessyl glycol diacetate より極性の低い画分 (画分 I), kessyl glycol diacetate 画分 (画分 II), kessyl glycol diacetate より極性の高い画分 (画分 III) に分け、活性を測定したところ画分 II, III に睡眠延長作用が観察された。Kessyl glycol diacetate (I) に睡眠延長作用のあることはすでに知られている⁷⁾。そこで画分 III に存在する活性成分を明らかにすべく、画分 III をさらにシリカゲルクロマトグラフィーに付し、二種の物質を得、それらのスペクトルデータから kessyl glycol 8-acetate (II) および kessyl glycol 2-acetate (III) と推定し、同定した。この両物質の活性を測定したところいずれにも明らかな睡眠延長効果が認められた (TABLE IV)。

最近 kessyl glycol から誘導された kessyl glycol 8-acetate および kessyl glycol 2-acetate にヘキソバルビタール睡眠延長作用があることは報告されている⁸⁾。そこでこれら二種の kessyl glycol monoacetate と kessyl glycol diacetate の間の薬物間相互作用に興味を持たれたので、これら三成分を等量ずつ混合して投与したところ、三成分

7) 高村圭一, 柿本守夫, 川口万里子, 岩崎康男, 薬誌, **93**, 599(1973).8) 高村圭一, 川口万里子, 名畑博之, 薬誌, **95**, 1198(1975); 高村圭一, 名畑博之, 川口万里子, 薬誌, **95**, 1205(1975).

TABLE IV. Effect of Kessyl Glycol Acetates on Sleeping Time Induced by Hexobarbital in Mice

Substance	Dose (mg/kg p.o.)	No. of mice	Prolongation ^{a)}
Control		5	100 ± 12
Kessyl glycol diacetate (I)	100	5	118 ± 15
	150	5	145 ± 10*
Kessyl glycol 8-acetate (II)	100	5	140 ± 18
Kessyl glycol 2-acetate (III)	100	5	157 ± 21*
I+II+III	100	5	172 ± 32

^{a)} Mean ± SE.

* Significantly different from the control, $p < 0.05$.

TABLE V. Effect of Kessyl Glycol Diacetate on Serum Enzyme Activity in Mice

Substance	Dose (mg/kg p.o.)	No. of mice	GOT ^{a)}	GPT ^{a)}	ALP ^{a)}	LDH ^{a)}
Control		4	100 ± 16.9 ^{b)}	100 ± 17.4 ^{c)}	100 ± 24.8 ^{d)}	100 ± 23.7 ^{e)}
Kessyl glycol diacetate	150	4	117 ± 9.5	109 ± 24.6	85 ± 6.6	119 ± 23.9

^{a)} Mean ± SE.

^{b)} 78 ± 13 IU/l.

^{c)} 27 ± 5 IU/l.

^{d)} 116 ± 29 IU/l.

^{e)} 1170 ± 265 IU/l.

TABLE VI. Effect of Kessyl Glycol Diacetate on Stress Ulcer in Mice

Substance	Dose (mg/kg p.o.)	No. of mice	Stress ulcer ^{a)}
Control		10	100 ± 14
Kessyl glycol diacetate	300	5	113 ± 38
	500	10	74 ± 23

^{a)} Mean ± SE.

の活性には相加作用が認められた (TABLE IV). つぎにこの睡眠延長作用が肝障害によるヘキソバルビタール分解系の抑制によっておこる可能性も考えられたので, kessyl glycol diacetate の肝臓に対する影響を血清中の酵素活性を用いて検討したところ, kessyl glycol diacetate は肝臓に障害を起さないものと考えられた (TABLE V). このことからこれらの睡眠延長作用は中枢性のものである可能性が考えられる.

最後に日本産吉草根で認められた抗ストレス潰瘍作用が kessyl glycol diacetate によるものかどうかを検討したところ, kessyl glycol diacetate には 300 mg/kg, 500 mg/kg の投与量では抗ストレス潰瘍作用は認められず (TABLE VI), その含量を考え合せると, 吉草根の抗ストレス潰瘍作用は kessyl glycol diacetate 以外の成分によるものと考えられた.

実験の部

融点は未補正. NMR スペクトルは 60 MHz で測定した. 化学シフトは内部基準の TMS からの ppm 値で表わし, 結合定数(J)は Hz で表わした.

Valtrate の定量

生薬を細断し, CH_2Cl_2 で 1 日冷浸, これを 3 回くり返す. 溶媒を留去後エキス一定量を CH_2Cl_2 溶液として 20 × 10 cm のシリカゲル薄層プレート上につけ, 石油ベンジン-メチルエチルケトン (4:1) で 2 回展開する. 強く UV を吸収する 2 つの部分それぞれエーテルで抽出し, MeOH に溶かして一定容の溶液とした後, 256 nm における吸

光度を測定し、別に作成した検量線から valtrate および acevaltrate の含量を求めた。

生物試験用検液の作成

各種吉草根の抽出物および画分, kessyl glycol の acetate 類は 3% アラビアゴムを含む水に懸濁させた。濃度は *in vivo* の実験ではマウス体重 10 g 当たり 0.1 ml の投与量になるように調整した。対照動物には 3% アラビアゴム溶液を体重 10 g 当たり 0.1 ml 投与した。

ウズラ摘出腸管の収縮の測定

松岡ら⁹⁾の方法に準じ雄性日本ウズラ(約 100 g)を放血致死させ、結腸末端部から約 5 mm の位置から盲腸部までの約 35 mm を摘出した腸管を Tyrode 液で洗浄後、約 20 mm を切り取り、37° の Tyrode 液を満した容量 50 ml のマグヌス管中に懸垂し、通気しながら約 10 分間放置した。腸管の収縮および弛緩はヘーベルを介して 11 倍に拡大し、キモグラフィオン煤紙上に記録した。腸管はヒスタミン、アセチルコリン、BaCl₂ を用いて予め収縮させた後、検液を添加してその反応を測定するか、腸管に検液のみを添加してその反応を測定した。

マウスでの抗ストレス潰瘍効果の測定

Yano らの方法¹⁰⁾に準じ ddy 系雄性マウス(18~20 g)を 1 群 4 匹とし、これを 8 時間絶食後、各試料液を経口投与し、30 分後にレストレインケージに入れ、25° の恒温水槽に剣状突起まで水浸させた。18 時間後このマウスを頸部脱臼により殺し、直ちに胃を摘出し、これに 10% ホルマリン(1.5 ml)を注入して 10 分間固定した後、大弯に沿って切開し胃壁を水洗した後、胃壁の出血して損傷された度合を 0.5, 1, 2, 3 の潰瘍指数で評点し、それらを合計した。結果は対照における潰瘍指数の合計を 100 とした場合の相対潰瘍指数を算出した。

マウスの自発運動量の測定

高木らの方法¹¹⁾にならい dd 系雄性マウス(20~23 g)を 30 分間マウス運動量計内に入れて装置にならした後、30 分間に 500 回前後カゴを回転させたものを選択し、1 群 5 匹とした。各試料液の経口投与後 150 分間、30 分ごとに回転数を記録し、対照のそれと比較した。なお実験は室温 23~25° の暗室中で実施した。

マウスのヘキソバルビタール睡眠に対する効果の測定

dd 系雄性マウス(20~23 g)を 1 群 5 匹とし、各試料液の経口投与 30 分後にヘキソバルビタール(80 mg/10 ml/kg)を腹腔内投与した。室温 23~25° で、正向反射消失と回復を指標として、睡眠時間を測定し、対照のそれと比較した。

マウスでの鎮痛効果の測定

高木らの方法¹²⁾に準じ、dd 系雄性マウス(20~23 g)を実験前に正常閾値を 2 回測定し、閾値が 40~80 mmHg 内に入るマウスのみを選択し、1 群 5 匹とした。各試料液の経口投与 90 分後まで 15 分間隔で仮性疼痛反応の閾値を測定し、正常閾値を 100 とした場合の相対反応閾値を算出した。

マウスの血清中の酵素活性の測定

dd 系雄性マウス(20~23 g)を 1 群 4 匹とし、試料液を経口投与 1 時間後に採血し、血清を分離後、血清中のグルタミン酸・オギザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)およびグルタミン酸・ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)活性を Reitman-Frankel 法で、アルカリホスファターゼ(ALP)活性を Kind-King 法で、乳酸脱水素酵素(LDH)活性を Babson-Phillips 法で測定した。

北海吉草根エキスの分画

北海吉草根(885 g)を MeOH(4 l)で 3 回温浸し、MeOH エキス(185 g)を得た。これを水とエーテルで分配し、エーテル可溶部(51 g)を得た。このエーテル可溶部を水と石油ベンジンで分配し、石油ベンジン画分(38 g)を得た。この石油ベンジン画分(36 g)をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、ベンゼンで溶出する画分(画分 I, 22.3 g)、ベンゼン-AcOEt(9:1)で溶出する画分(画分 II, 5.5 g)、AcOEt, MeOH で溶出する画分(画分 III, 3.2 g)を得た。

画分 II からは結晶が析出したので石油ベンジンから再結晶をくりかえして Kessyl glycol diacetate (I) の無色ブリズム晶(3.2 g)を得た。mp 113~114°, IR $\nu_{\max}^{\text{CCl}_4}$ cm⁻¹: 1730, NMR(CCl₄) δ : 0.85(3 H, d, J=6), 1.11(3 H, s), 1.25(3 H, s), 1.32(3 H, s), 2.00(6 H, s), 4.88(1 H, t, J=4), 5.16(1 H, t, J=8)。本品は標品と混融しても融点降下せず、IR, NMR スペクトルも一致した。

9) 松岡敏郎, 津久井誠, 永島節子, 村田行夫, 武田研究所報, **38**, 187 (1979).

10) S. Yano and M. Harada, *Jpn. J. Pharmacol.*, **23**, 57(1973).

11) 高木博司, 伴 隆志, 高島秀行, 高島俊行, 日薬理, **56**, 1421(1960).

12) 高木敬次郎, 亀山 勉, 矢野剋二, 薬誌, **78**, 553(1958).

画分 III(2.2 g) をシリカゲルクロマトグラフィーにくりかえして付し、ベンゼン-AcOEt(9:1) 溶出画分 (38 mg) を得た。この画分を石油ベンジンから再結晶を行ない、Kessyl glycol 8-acetate の無色プリズム晶 (II) (16 mg) を得た。mp 68~69.5°, IR $\nu_{\max}^{\text{CCl}_4}$ cm⁻¹: 3500, 2950, 1730, NMR (CCl₄) δ : 0.80(3 H, d, $J=6$), 1.22(3 H, s), 1.30(6 H, s), 1.98(3 H, s), 4.00(1 H, t, $J=4$), 5.13(1 H, t, $J=8$)。本品は標品と混融して融点降下せず, IR, NMR スペクトルも一致した。続いて溶出する画分から析出した結晶を石油ベンジンから再結晶して kessyl glycol 2-acetate の無色羽状晶 (III) (8 mg) を得た。mp 49~50.5°, IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3400, 1709, NMR (CCl₄) δ : 0.86(3 H, d, $J=6$), 1.08(3 H, s), 1.15(3 H, s), 1.30(3 H, s), 2.00(3 H, s), 4.29(1 H, t, $J=8$), 4.90(1 H, t, $J=4$)。本品は標品と混融して融点降下せず, IR, NMR スペクトルも一致した。

謝 辞：生物試験の一部をしていただいた武田薬工株式会社後藤實博士に感謝いたします。