The Japanese Society of Pharmacognosy

—総　説—　　Natural Medicines 57 (3), 77-88 (2003)

天然物化学から漢方へ

荻原幸夫
名城大学薬学部

Route to Kampo *via* Natural Product Chemistry

Yukio OGIHARA
Faculty of Pharmacy, Meijyo University, 150, Yagotoyama
Tempaku-ku, Nagoya 468-8503, JAPAN

(Received December 5, 2002)

Phytochemical topics which led me to research Kampo medicine in my career will be reported reminiscently as follows: 1) Ustilaginoidin, the first example of a natural product with atropisomerism; 2) Droplet counter chromatography, a unique separating method; 3) Monamycin, an interesting antibacterial depsipeptide group from banana compost; 4) Selective oxidation with Reagent A and Novel cleavage of glycosidic bond with alkaline metal in alcohol; 5) Structural transformation of natural products in the alimentary tract; 6) Sesquiterpenoid derivatives from Mongolian *Ferula ferulaeoides*.

Keywords: Ustilaginoidin, Droplet counter chromatography, Monamycin, structural, transformation, *Ferula ferulaeoides*

菌類代謝産物の化学

Ustilaginoidin：1995 年 10 月中旬，稲穂がたれる頃，私は霊渠のほとりで眼下に広がる水田を眺めていた．今を去る約 2250 年前，嶺南を平定した始皇帝が，長江から珠江へ水系を辿って往来を可能にすべく，それぞれの支流，湘江と漓江を 34 km の運河で結んだ．この運河を霊渠と呼ぶが，その結果水田地帯が広がった．たわわに実る稲穂に，私は *Ustilaginoidea virens* (COOKE) TAKAHASHI の感染を認めた．今を去る 41 年前，昭和 36 年の秋，修士課程一年の私は岐阜県各務原の田んぼで，稲麹菌代謝色素の構造研究の手伝いで材料集めをしていた．この菌の感染力はさほど強くなく，広い田んぼに点在する緑橙色から汚緑色に色づいた籾を一つ一つ摘んで採集するのは，たいへんに時間のかかる仕事で，2 日かけて数百グラム集めるのがやっとであった．採集した材料をアセトンで抽出し，赤色色素を単離・構造決定する仕事が修士論文となった．この色素はジオキサンからきれいな濃赤色のプリズム結晶を与えるため，単一化合物と考えられていた．当時，文献に登場し始めた TLC を，古谷先生の指導で，シリカゲルと石膏を目の細かい篩いでメッシュを合わせて，適当な割合で混ぜ合わせ 0.5 N シュウ酸水で練り，硝子盤の上に薄く引き延ばし作成した．自家製の TLC 上に，結晶のひとつを展開してみたところ，見事に 3 スポットを与えてしまった．そこで，シュウ酸処理をしたシリカゲルカラム (10×100 cm) を 3 本立て，ベンゼン：アセトン＝ 4：1 を湯水のごとく流し，ustilaginoidin A, B, C [1] を単離したが，気がついてみたら，体中に直径 1 mm 程度の赤黒色の斑点が現れていた．気持ち悪いので，医者に診て貰ったら，急性ベンゼン中毒で肝機能が侵されたとのことであった．仕方が無いので，実験室を離れ，数日間山歩きをして良い空気を吸って来たら，すっかりきれいに消えてしまった．さて，修士課程のスタートは，ustilaginoidin の基本骨格を明らかにするため，比較化合物としてフェニルナフタレンの誘導体を合成することであり，友人の根井君と合計 19 種類のフェニルナフタレンを合成 [2] したが，好ましい結果は得られなかった．沢山

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Pharmacognosy

のサンプルがもったいなく思われ，田中先生に紹介していただき，理化学研究所の池川先生のご指導で，導入されたばかりの GLC による分析[3]を行うことが出来，論文をものにした．TLC，GLC と新しい分析手段には目のない私であった．修士 2 年になると，本格的に色素の構造研究に取り組むことになり，単離した ustilaginoidin A を手に，庄司先生と，実用化され始めた NMR の装置を求めて，東海村の原研，東京工業試験所と渡り歩いた．構造決定の経緯については省略するが，^{1}H-NMR スペクトルの解析，分解成績体の元素分析等を総合して naphtho-γ-pyrone 誘導体の二量体[4,5]であることが明らかとなり，不斉炭素を持たない，回転障害に基づく光学活性化合物として自然界から得られた，最初の例となった．Absolute configuration については，合成ビナフタレンの ORD スペクトルの例から，最長波長のコットン効果がポジティブであったので *R* と類推した (Fig. 1)[6]．さて，霊渠の農民の笑顔に見守られながら採集した一握りの汚緑色の籾を定年直前，住木先生の論文に従い，ソックスレーを使用しエーテル抽出を行ってみたところ，コルベンの壁にきらきらと微細な結晶が現れた．畑野先生に X 線結晶解析を行っていただいたところ，異常分散法で *R* であると決定された (Fig. 2)．40 年ぶりに懸案が解決し，日本海を挟んで数千キロ，霊渠と各務原の稲に同じような菌が付着し，構造が同じで絶対配置が同じ回転異性体を作り出すとは，大自然の営みに脱帽である．この菌の感染力は，非常に弱い．

当時，生薬学教室のメインテーマのひとつに，*Penicillum islandicum* Sopp. の感染によって生じる黄変米色素の構造研究があり，主色素である emodin の二量体である skyrin については研究が終了していた．しかし，ustilaginoidin に分子不斉を認めたことから，anthraquinone の二量体にも回転障害が存在するのではないかと考え，菌体をストックしておられた農学部の丸茂先生に供与をお願いした．カラムクロマトで分離精製，主成分 skyrin のフラクションを分取し，文献に従い再結晶したところ柱状晶を与え旋光度はゼロであったが，母液は UV と対応してコットン効果を示す見事な ORD 曲線を描いた．偶然の夾雑物によるいたずらを否定するため，母液をアセチル化し TLC で分取，ORD を測定したところ同様な曲線を描いた．一方，emodin 以外に 3 種類のポリヒドロキシアントラキノンが単離されていたので，すべての組み合わせの二量体が存在すると予想された．クロマトと TLC を駆使し 8 種は単離できたが，chrysophanol と catenarin，islandicin と emodin の組み合わせは単離できず，混合物のまま sodium dithionite による C-C 結合の還元開裂を行い，4 種のアントラキノンを TLC でかきとり，UV で定量 (emodin : islandicin : chrysophanol : catenarin = 5 : 5 : 1 : 1) することにより存在を確認した．これら二量体はすべて同じコットン効果を示し，同じ絶対配置をもっていた (Fig. 3). TLC 上の色合いから，教授が楽しそうに命名してくださったのが，昨日のように思い出される．数種の主成分を単離同定した後，生合成を加味しながら構造を予測し，共存する他の類縁成分を TLC・HPLC 上で当てるのは，私のマイナーな楽しみとなった[7]．

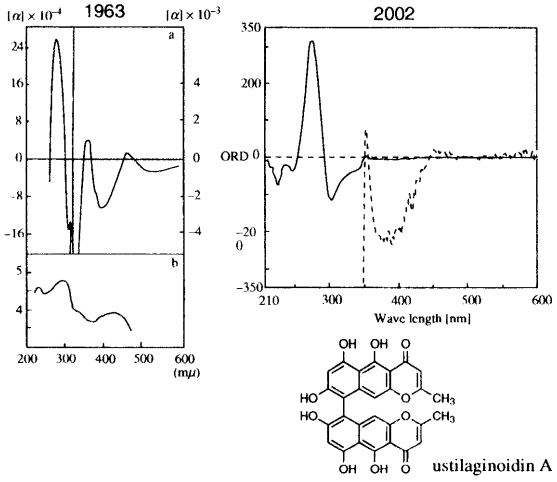


Fig. 1. ORD Spectra of Ustilaginoidin A, Measured at 1963 and 2002

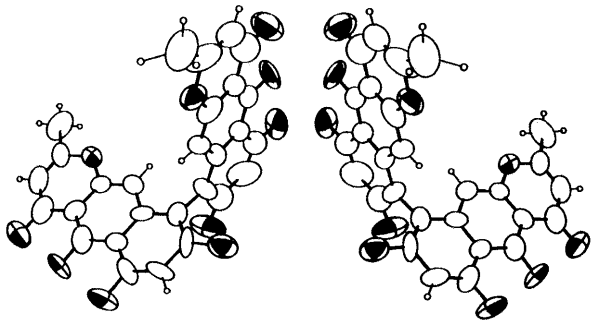


Fig. 2. X-ray Crystallography of Ustilaginoidin A

NII-Electronic Library Service

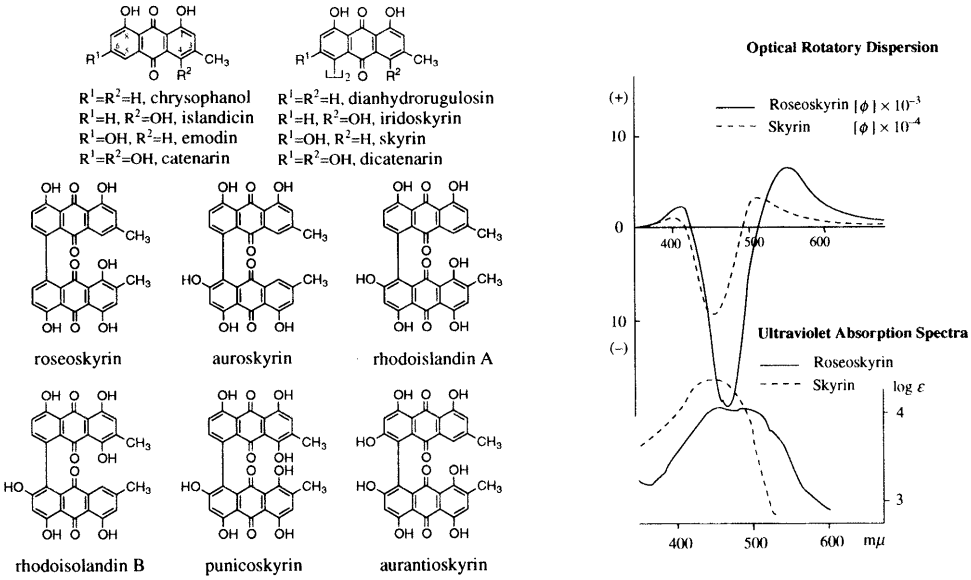


Fig. 3. List of Anthraquinones and ORD Spectra

Duclauxin：博士課程のテーマは『*Penicillum duclauxi* (DELACROIX) の代謝産物の化学』であった．主代謝産物 duclaxin は分子式 $C_{29}H_{22}O_{11}$ の酸素原子が異常に多いフェノール性化合物で，機器データから既知化合物と関連性を見出すことは困難であり，常法による各種分解反応も徒労に終わった．とくに，薬学部に導入され自由に使用できるようになった 60 メガの ^{1}H-NMR スペクトルで，22 個もあるプロトン間に相互の関連性がほとんど認められず，デカップリングによる部分構造の解析も不可能であった．この時点で，従来法による構造研究は放棄し，エタノール－アセトン溶媒からきれいな柱状結晶が得られるので，X 線結晶解析を行おうと考え始めていた．正にその時，田中先生から「友人の飯高君が工学部から薬学に来るよ．相談してごらん．」との言葉をいただき，結晶を持って飯高先生の研究室にとんでいった．X 線装置が薬学には無く，免許取り立ての私が運転するクラウンのダルマに同乗していただき，東京工業試験所まで結晶データを取りに行った結果，いけそうな結晶であることが判明した．時を経ずして薬学に導入された X 線回折装置を使用して，三次元データが独立した 1811 個の回折斑点について Weisenberg 写真法により集められ，理学部の計算センターに設置されていた，富士通の真空管型，大型計算機 PC-2 により繰り返し計算を行い，テーマが与えられてから三ヵ月後に，三次元に配置した硝子盤の上に duclauxin の原子配置が浮かび上がり，R-値 15.9%で終了した [8,9]．当時，日本で X-線結晶解析により決定された最大分子量の化合物であり，構造式を見ながら化学的方法とスペクトル解析の組み合わせでは恐らく泥沼に入っていただろうと，つくづく X-ray の威力に感じ入った次第である．なお，duclauxin は herquinone 系化合物の二量体であり，私の大学院生活は二量体に彩られていた．X-ray 終了後一年程度，マイナー成分の検索，生合成研究 [10] と duclauxin が一級アミンと反応して生成する赤橙色の色素の構造決定に没頭した (Fig. 4)[11]．Duclauxin が容易に一級アミンと反応する性質は，生物活性の上から非常に興味が持たれたが，大きく展開するチャンスを逃してしまい心残りである．学位論文の副査は，津田，岡本，水野，坪井の 4 教授にお世話になり，恐れ多いことであった．

液滴向流クロマトグラフィー (DCC) [12]

天然物化学研究の時間の 99%は，化合物の分離精製に費やされると言っても過言ではない．単離された化合物を再結晶，融点・旋光度を測定し,元素分析を依頼して分子式を知る．後は，酸化・還元・アセチル化・メチル化な

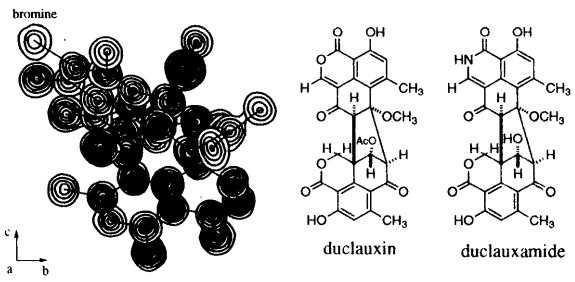


Fig. 4. Structures of Duclauxin and Duclauxamide

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Pharmacognosy

どの化学反応と各種スペクトルの解読により化学構造を明らかにし，学会発表・報文作成へと続く．私にとっては非常にマニュアル化された分野に思えてきたが，化合物を純粋に単離する操作だけは必須であり，自らの手で改良することが出来そうであった．博士課程修了後，英国留学までの2年弱，奨励研究生及び助手時代を通して，菌類代謝産物の微量成分の後始末と新たに始めた漢薬の配糖体成分の研究に取り組んだが，特に，分析化学の谷村先生により紹介された DCC は，配糖体成分の分離精製に強力な武器になると考え，先生の指導で作製・応用に力を入れた．我々が作製した最大の DCC は，1 m のガラス管 360 本をジュンフロンでつなぎ合わせた，全長約 750 m のもので，1～2 g の粗サポニンを展開，分離・精製するのに約 1 週間必要であった．本方法は，数百メートルに及ぶ距離を径 1.5～2 mm の液滴が固定相の中を液-液分配を繰り返しながら旅し，フラクションコレクターに分取されるだけの簡単な原理に基づくものであり，カラムと異なり物の分解・吸着は起こらず，ロスすることなく，安全に 2～5 糖程度のサポニン，単糖類，アミノ酸，フラボノイド配糖体，アルカロイド[13]等の分離精製に威力を発揮した．結晶しにくいと考えられていた 4～5 糖のサポニン[14-18]が，分配後の試験管の中で放置され，キラキラと結晶として落ちてきたのは忘れられない場面である．しかし，時間が掛かることが欠点で，各種カラムの担体の開発とともに忘れられていったが，昼間グランドで動き回っている間，夜寝ている間も，ゆっくりと実験は進み，私にとっては好きな実験であった．一方，私の実験室に DCC の見学に来て，色々質問していたスイスの化学者が総説を書いて有名になっていた．

デプシペプチド[19-22]

昭和 42 年の年末，連合王国ウエールズの片田舎，スワンジー大学の化学教室ハッサル教授の下へ 2 年の予定で留学した．当時すでに，天然物化学の分野は，日本は一流であり欧米に学ぶものは無かった．ヨーロッパの空気を肌で感じ，文化の面から今後の学者生活の参考になるものを得ようと思った．近代文明を築いたイギリス人の人間としての余裕と自信は，経済的には斜陽であったが，私に大きな影響を与えた．私のライフワークとなった漢方の基礎研究は，イギリスの片田舎の生活の賜物である．教授から与えられたテーマは，ペプチド系抗生物質，monamycin の構造研究であった．ペプチドの取り扱いは経験がなく，有機溶媒に溶解し難いのではないかとの固定観念があり，テーマに難色を示したところ，クイーンズイングリシュで，"soluble in petroleum ether"と一言，2 種類の白い結晶，monamycin II (MII) と MII に Cl が付加した monamycin I (MI) が渡された．この時点で，強酸による完全加水分解の結果，得られた既知アミノ酸の同定と新アミノ酸の平面構造が合成によって piperidazine-3-carboxylic acid と決定されていた．私のテーマは，二人の博士課程の院生を指導して，MI および MII の完全構造を明らかにすることであった．構造決定の要旨は Fig. 5 にまとめてあるが，加水分解の条件を色々と工夫して得られた部分水解成績体 (Mass の親イオンで命名), 244・240・255・274・256，を単離，再結晶，融点測定，元素分析，IR，NMR，MS と典型的なプロセスで平面構造が決定されたが，5 g の MI を 150 ml の ethanol に溶解し，35 ml の constant boiling HCl を加え，28 時間 reflux したところ，4% の収率で，偶然に得られた 406 が結合順序確定の決め手となった．

この仕事の過程で，3 種の塩基性新アミノ酸 (diazine) の絶対配置を含めた立体構造を決める際，教科書的な有機化学をエンジョイできたので簡単に説明してみたい．(Fig. 6-左) 3 種の diazine 化合物（H-diazine，Cl-diazine，OH-diazine）は，MI 及び MII の完全加水分解物を，イオン交換カラムで分離することにより容易に吸湿性の塩酸塩として単離出来る．まず，H-diazine を氷酢酸中，酸化白金を触媒として接触還元し N-N 結合を切断，成績体を DNFB で処理すると黄色 DNP 誘導体を与え，標品の L-DNP ornithine と旋光性 ($[\alpha]_D$ +67°) を除きすべて一致した．よ

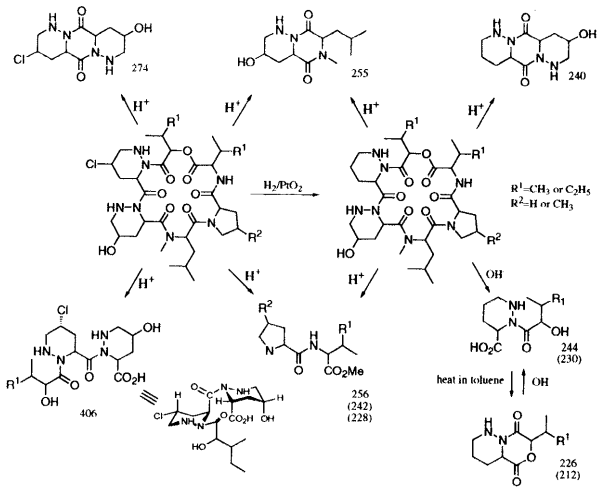


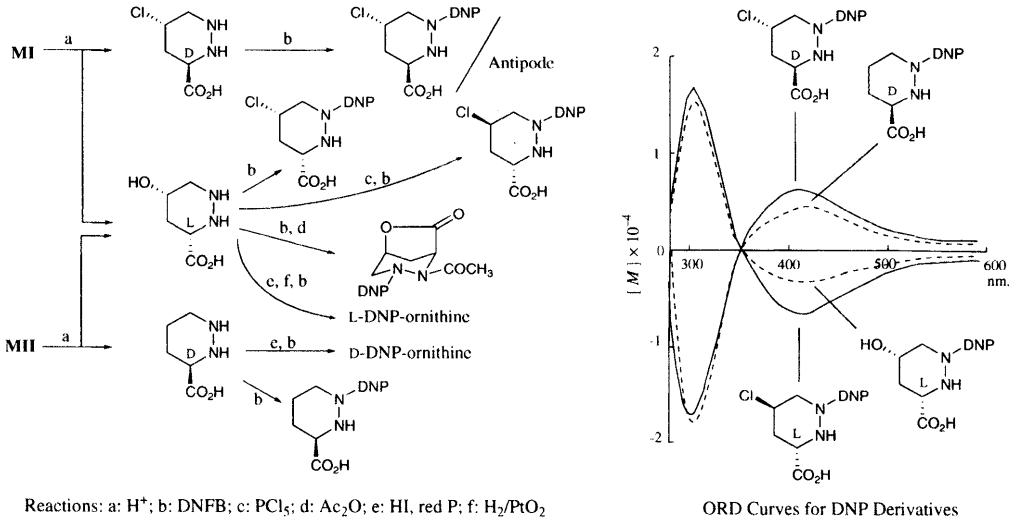
Fig. 5. Partial Hydrolysis of Monamycines

NII-Electronic Library Service

って，新アミノ酸 H-diazine は D 系であることが確定した．次に，OH-diazine を MeOH-HCl でメチル化した後，接触還元すると hydroxy ornithine metylester と 5 員環ラクトンの混合物を与える，精製することなしに HI と赤燐で処理することにより，ornithine が得られる．定法により，DNP 誘導体とし精製，旋光度を測定したところ，反応過程でラセミ化しやすい 5 員環ラクトンを形成する可能性もあり，旋光度保持率は約 40%であったが，左旋性 ($[\alpha]_D$ −25°) を示し OH-diazine は L 系であることが明らかとなった．OH と COOH の相対配置は，DNP OH-diazine を無水酢酸で処理すると容易に 5 員環ケトンを与えることから，同一方向すなわち *cis* であることが確定した．最後に，OH-diazine を acetylchloride 溶媒中，PCl_5 で処理すると，SN2 反応で OH が Cl で置換され，Cl と COOH が diazine の 6 員環上で逆方向を向く，*trans* 配置の Cl-diazine が得られたことになる．これを DNP 誘導体として精製し，真正の Cl-diazine のそれと比較したところ，旋光性を除いてすべてのデータが一致した．すなわち，Cl-diazine は H-diazine と同じ D 系の新アミノ酸であることが証明された．以上の新アミノ酸の DNP 誘導体を，日本に送り ORD を測定してもらったところ，Fig. 6-右に示すようなきれいな曲線が得られ，古典的化学実験の結果を裏付けてくれた．

さて，244 をトルエン中，加熱すると脱水し定量的に 226 をあたえるが，マススペクトルを眺め開裂様式を考えていると，妙なことに気がついた．すなわち，親イオンを始めとして，すべての開裂ピークに，一定の比率で 14 mass unit 少ないピークが認められた．そこで，すべてのマスを見直したところ，256 に 14 及び 28 少ないピークが，MI 及び MII にそれぞれ 14，28，42 少ないピークが付随していることが読み取れた．全加水分解産物のアミノ酸分析の際，微量のアミノ酸の混在が認められていたことを考え合わせると，MI，MII は混合物であることは明らかである．その旨ボスに伝えると，あまりご機嫌良くなく，立体化学を進めなさいとのこと．それではとボスが実験室に現れる時間帯に合わせて子分たちと，リパブリック賛歌の節で，“Monamycin is a mixture, monamycin is a mixture・・・・・・”と斉唱，ドアが開くとピタッと止め，実験に熱中．一週間後，P 君は教授オフィスに呼ばれ，“君は，化学はしなくていい，monamycin を分けなさい．”それからの彼は，来る日も来る日も，有機溶媒の充満する向流分配室に籠り，counter-current distributer (ethyl acetate–cyclohexane–methanol–water = 41 : 35 : 35 : 10) をまわし続け，約十ヵ月後，16 個の同族体をほぼ純粋に単離，マススペクトルで構造を解析し，学位論文を作成した．このように，P 君の仕事は地味で論文内容が乏しかったが，副査制度が充実しているイギリス，数人の専門家が学外から招かれ，一対一の徹底的な試問の末，能力ありと判定され，無事に学位が授与された．一方，化学実験に専念した B 君は論文内容が充実しており，二人の副査の簡単な試問で OK であった．

化学科に一人のプロフェサーの権威は絶大で，年 1〜2 回の特別講義，大学院生及び PhD の研究指導，学会や会議に出席するために世界中を飛び回っていた．学生への講義は，専門のレクチャラーが興味を持たせるように教



Reactions: a: H^+; b: DNFB; c: PCl_5; d: Ac_2O; e: HI, red P; f: H_2/PtO_2

ORD Curves for DNP Derivatives

Fig. 6. Chemical Correlation of Diazine Compounds and Their ORD Spectra

NII-Electronic Library Service

育術を駆使しており，高給取りである．近年，わが国では当局の指導により，大学院おいても教育的講義の充実が期待され，教官に学部並みの教育義務が課せられてきた．教授は当然のことながら，研究に没頭すべき助教授，講師にいたるまで，講義と，その準備にかなりの時間を割かざるを得なくなり，何時じっくりと物を考えるのだろうかと心配で，イギリスの教授がうらやましく思い出される昨今である．さて，研究の合間，冬から春にかけて football, swimming と rugby 見物，夏から秋にかけては sun bathing, golf と cricket 見物．Football で一汗流した後，パブでの lager party が始まる．連中は，1 リットルの大ジョッキ 3〜4 杯を，春歌を歌いながら（女性が部屋に入ってくるとピタッと止む）グイグイ傾けて 1 時間，車を飛ばして帰ってゆく．欧米人と日本人は，酵素発現が本質的に異なる．抗生物質のような殺菌剤はいざ知らず，生理現象をコントロールするような薬物は，欧米人の体で評価されたデータを鵜呑みにして認可しては絶対にいけない．イギリスは白夜で，夏は 10 時頃まで明るい．夕方，6 時半頃仕事に一段落つけて，帰宅途中の牧場兼ゴルフ場でワンラウンド．一月券を 5000 円（一年券は 15000 円）で買っておくと，車をティーグランドの横に止め，トランクからカートを出し，受付なしで，そのまま打ち出してゆける．グリーン周りだけ薔薇線が張ってあり，牛や羊が入らないようにしてあり，時には牛の群れの中に打ち込んでゆくこともある．三番ティーの裏にあるベランダから，待ち人来たれと，おじさんがバッグを担いで降りてきて，"Let's play", "With pleasure"で，四方山話をしながら，ゆっくり牧場を 16 ホール回る．牧場主が，牧場を出し合って遊び場を作っているらしい．なお，ゴルフは，退屈した羊飼いが杖で，球を転がして遊んだのが始まりとか．奥方は，クラブハウスで bridge に興じ，戻ってきた亭主と sherry を傾けながら，沈みゆく夕日を眺めている．全ての雑用から開放され，好きな実験とスポーツ三昧の 2 年間は夢のまた夢であった．

選択的酸化反応とアルカリ分解

カミヤツデ葉から得られるトリテルペン配糖体の構造研究の際，興味ある allyl ether, allyl alcohol の選択的反応[15]を見出していた．この実験結果をヒントに，reagent A[23]なる酸化剤を創り，種々の反応を試みたところ，興味ある選択性を見出したので紹介する．Reagent A は，CrO_3-Pyridine を水飽和ブタノール中，一昼夜撹拌，得られた

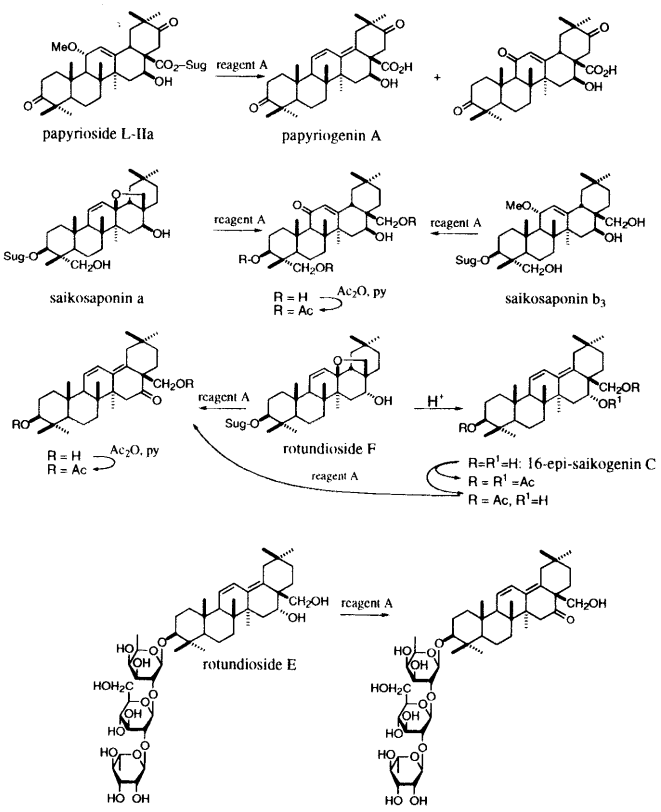
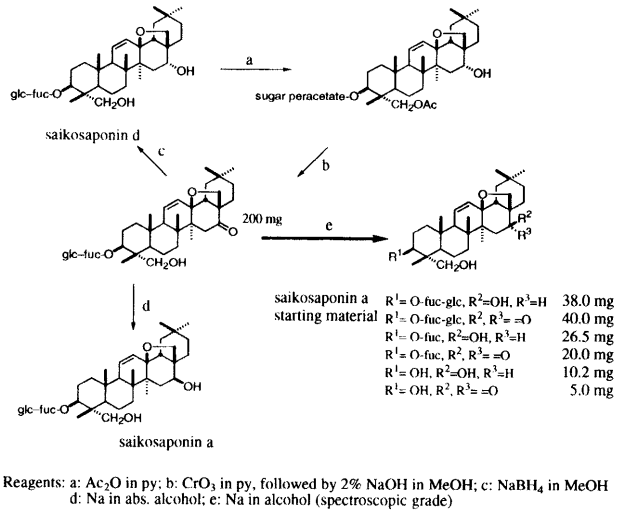


Fig. 7. Oxidation with Reagent A



Reagents: a: Ac_2O in py; b: CrO_3 in py, followed by 2% NaOH in MeOH; c: $NaBH_4$ in MeOH
d: Na in abs. alcohol; e: Na in alcohol (spectroscopic grade)

Fig. 8. Conversion from Sa to Sd and New Findings

沈殿物をろ取，よく水洗後，乾燥した茶色の粉末である．手元にある天然物を reagent A で処理した結果の一部を Fig. 7 に示してあるが，11, 13 位の allyl ether は酸化され，α,β-不飽和ケトンを与えるが，16 位に axial-OH がある場合の

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Pharmacognosy

み OH が優先して酸化され，糖の OH を含め，他の OH は酸化されない．Reagent A の物性を始め，色々な酸化に応用して見るべきだったかもしれないが，興味の対象が生体反応に移り，漢方薬の科学的評価を強く意識し始めていた．独立して5年，天然物有機化学をベースにして，薬学本来の医療科学に取り組む時期に来ていた．

同じ頃，大学院生の化学実験のトレーニングとして，saikosaponin a (sa)と saikosaponin d (sd)を化学的に結びつけるテーマを出したところ，図 8 に示すように correlation は教科書的に成功した．すなわち，16-keto を 16-OH に還元する際，試薬としてのアプローチが立体制御を受ける sodium borohydride を用いると，定量的に 16-axial-OH，sd への還元が進行し，成績体の安定性が優先される古典的な Bouveault-Blanc reduction では，16-equatrial-OH，sa が高収率で得られた[24]．

さて，後者の予備実験段階で，反応条件，sodium metal と absolute alcohol の組み合わせを，手抜きして absolute n-butanol の代わりに spectroscopic grade n-butanol を使用して反応を行ったところ，出発原料と sa 以外に 4 つのスポットが TLC 上認められた．「反応が不十分だ，やり直せ」と言っていたが，「何回やっても同じです．6 スポットが 3 ペアーに成っているようですから，単離して構造を決めます」と学生が言う．200 mg の原料から Fig. 8 (太線部)に示すような好収率で，思わぬ誘導体が得られた．早速，16-OH の sa 及び sd を同条件で処理したところ，それぞれ，糖結合が開裂した prosaikogenin と saikogenin へと変化していた．新しい糖結合開裂法の発見であった[24-26]．一般に，saponin の構造研究は糖部を，酸，酵素，Smith 分解等により真性アグリコンあるいは，prosapogenin を採り，全構造を組み立ててゆくが，酸によるアグリコンの変化，回収率が悪い等の欠点がある．私の取り扱った，カミヤツデサポニン，サイコサポニン，ニンジンサポニン，サンソウニンサポニン，ケンポナシサポニン等は何れもアグリコンが酸に不安定で，この方法が早く分っていたら，研究時間の配分がずいぶんと異なったものとなっていただろうとおもわれる．構造研究だけに限れば，HPLC による新物質の単離，NMR を始めとする分析機器の進歩で，格段とスピードアップされ，容易になった．しかし，あのキラキラとした純白の結晶が，コルベンの底に現れる興奮と幸せを感じる研究者が，少なくなったのではないか．また，化合物を純粋に，ある程度の量を集めることは，生物活性の検討など，次のステップに必須である．反応時間，反応温度，アルコールの種類，アルカリ金属の種類，アルコール中の水の量等，色々と条件を検討してみたが，これといった秩序だった結果は得られなかった．NaOH ペレットをアルコールに入れて処理してみたが，収量は良くないが糖鎖結合の開裂は進んだ．経験上，サポニンの加水分解に関しては，spectroscopic grade n-butanol，saponin : Na metal＝1 : 10，温度 50～60°C，4～5 時間でアットランダムに切れた成績体が，効率よく取れた．なお，アルカリ分解後の水層を樹脂処理し，TMS 化後，GLC で分析したところ，該当する糖は検出されず，グリセロールのピークが認められたのみであった．また，箱守法で糖部の OH をメチル化した，permethyl-saikosaponin a は全く反応しない．

90 年代の中頃，台湾でのシンポジウムの際，よくあることだが，ヨーロッパの先進国の化学者が，サポニンのアルカリ分解について，堂々と特別講演をし，賞金を貰っていた．懇親会のとき，紹介されたので名刺を交換したが，二度と私と目を合わせようとしなかった．

生薬成分の構造変換

天然化合物の構造を知り，それらの化学を経験し，第三の臓器といわれる腸内細菌叢の役割等を知るにつけ，生薬成分が，そのままの構造を保ったまま血流に乗り活性部位に到達，反応し，生理現象を招来するとは考えられなくなった．食物は口から入り，食道，胃，小腸，大腸と消化管を旅し，エネルギー源として利用され，残渣は排泄される．食物を構成する各種成分は，当然のことながら，消化管内の各種酵素，酸，腸内細菌等に遭遇しながら反応し構造変換を受け，腸管で吸収される．生薬・漢方方剤成分も例外ではない．以上の観点から，次の研究に進んだ．

Saikosaponin a が消化管内で胃酸，腸内細菌により，変換され生成すると予測 (Fig. 9) された 8 種の誘導体の標品は，sa のアリルエーテル環を緩和な酸性条件で開き，得られたホモジエン及びヘテロジエン化合物を，新発見のアルカリ分解法で処理し，容易に効率良く得ることが出来た[27]．そこで，sa を 20 mg/kg の用量で絶食及び非絶食下，経口投与，排出された糞を 24 時間に渡り 4 回集め試料を調製し，標品と同定しながら，代謝物を HPLC で定量したところ，Table 1 のような結果が得られた[28]．絶食下では，糖があまり代謝を受けず，早い時間に排泄され，非絶食下では，糖が代謝を受けたアグリコンの形で

NII-Electronic Library Service

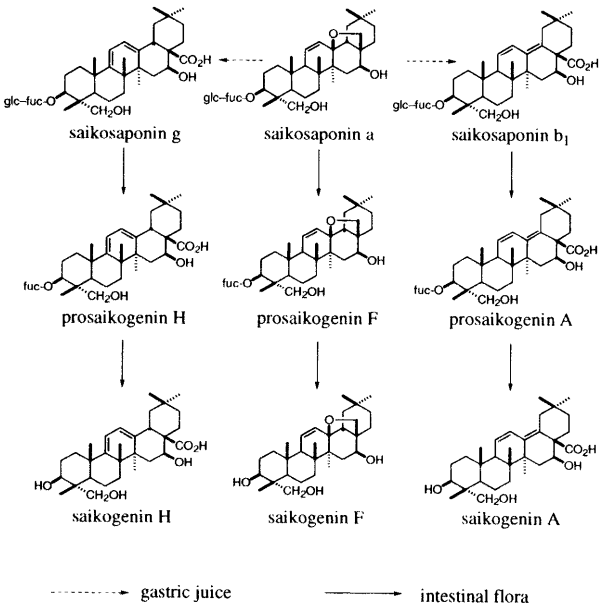


Fig. 9. Metabolites of Saikosaponin a Formed in the Alimentary Tract

ゆっくり排泄される傾向にあり，方剤を服用する時間に意味があることを示唆している．さらに，胃酸の pH により，アリルエーテル環の開裂速度の大きな違いが観測されており，糖鎖の開裂速度も腸内細菌フローラの調子により異なると考えられる[28]．このように，sa は少なくとも 8 種類以上の薬物となって血中に取り込まれる可能性が示唆され，消化管内代謝を想定しない実験系で sa の活性評価を行っても意味がない．特に，*in vitro* の実験で薬効評価を行うことは大変に勇気の要ることである．

次に，sa，sd，sc 及びそれらの消化管内代謝産物について，活性試験を行った．真性の sa，sd，sc をマウスの腹腔内に注入し，1 時間後に断頭，採血し，血中の corticosterone を HPLC で定量したところ，すでに，ステロイド作用が認められている sa，sd には，強い corticosterone 分泌促進作用があることが明らかとなり，作用が認められていない 3 糖サポニン sc には，全く促進作用が認められなかった[31]．私の学生時代，大手の製薬会社がサイコサポニンを抗炎症剤として開発のターゲットとしていた時期があったが，頷ける結果であった．一方，sd のアグリコン，saikogenin G (16-α OH) には，弱いながら活性が認められるものの，sa のアグリコン及びアリルエーテル環が開いたジエン化合物には活性は認められない．然し，他の評価系により，或いは，異なった薬理作用を目的に，研究を行なえば，それなりのレスポンスは期待できる[32]．この様に，柴胡の主成分，サイコサポニンひとつをとっても，天然化合物は，経口投与の原則を守ると構造は相手に応じて変化し，作用も多彩，言うなれば「一剤多義」の薬物である．このような観点から，生薬成分であるイリドイド[30]およびリグナン[33,34]についても消化管内代謝を検討し，興味ある結果を得た．さて，生薬が何種類か配合されて構成する漢方方剤は，天然化合物のカオスであり，まさに「多剤多義」，その物である．一方，対症療法の手段として合目的的に創薬された合成医薬品は，物質として安定で多くの場合，構造は大きな変化無くレセプターに到達し，生理現象を招来する．然し，*in vitro* の基礎研究の段階から，現代科学の理論で解明された作用機序で説明しつつ「一剤一義」の思想で開発するので，臨床適用してみたら，思いもかけ

Table 1. Excretion of the Metabolites of Saikosaponin a, 20 mg/kg *p.o.*

Time after Administration	sa (μg)	sg (μg)	sb_1 (μg)	psF (μg)	psH (μg)	psA (μg)	sF (μg)	sH (μg)	sA (μg)
(Fasted rats)									
0–4 h	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4–8 h	856.8±77.2	1.9±0.5	5.4±1.2	203.2±42.4	2.4±0.7	7.2±2.1	48.9±12.8	1.2±0.4	3.1±0.8
8–12 h	87.0±60.6	1.1±0.4	3.1±1.6	62.8±31.3	0.7±0.5	1.7±1.3	47.5± 7.2	1.2±0.5	2.8±1.6
12–24 h	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
(Non-fasted rats)									
0–4 h	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4–8 h	55.6±25.6	0.6±0.6	1.4±0.5	48.6±24.3	0.0	0.1±0.1	62.5±43.9	0.2±0.2	0.7±0.4
8–12 h	40.9±20.0	0.0	0.8±0.2	38.7±20.3	0.1±0.1	0.3±0.2	145.6±56.0	1.3±0.5	2.9±1.1
12–24 h	86.1±24.4	0.7±0.4	1.8±0.9	72.3±19.0	0.1±0.1	0.8±0.2	319.0±68.4	1.7±0.3	5.2±0.6
24–36 h	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Each value represents the mean ± S.E.M. of 5 rats.
sa: saikosaponin a; sb: saikosaponin b; sb_1: saikosaponin b_1; psF: prosaikogenin F; psH: prosaikogenin H; psA; prosaikogenin A; sF: saikogenin F; sH: saikogenin H; sA: saikogenin A

NII-Electronic Library Service

ず毛が生えてきたり，不幸にも奇形児が生まれたりする現象は，至極当然である．わずか200年足らずの間に発展した自然科学の教科書に載っていなかったに過ぎない．以上，この様な成分化学的側面から見ても，薬としての漢方方剤の薬効を一つ一つの含有成分の解析から評価することは不可能である．無論，新薬のシーズを求める研究なら，植物が存在する限り，永遠に意味がある．蛇足であるが，saikosaponin c に関する実験事実を付け加えておく．sc は，サイコに sa 及び sd と同程度の含量でふくまれているが，2 糖サポニンである sa，sd と比較して，3 糖サポニン sc は，活性物質としてほとんど注目されていない．然し，小柴胡湯への移行率は sa，sd グループが 20%弱なのに対し，sc グループは，ほぼ 100%移行している．Sc を酸処理とアルカリ分解することにより 14 種類の誘導体を得たが，その中でも真性アグリコンの 2 糖体は，sa と同程度の強い corticosterone 分泌促進作用を示した．この様に，植物成分の中にはたくさんのプロドラッグがある．既存の *in vitro* 評価系でテストしてネガティブに出ても諦めてはいけない．

最後の天然物：*Ferula ferulaeoides* [35~40]

平成の御世に入ると研究の軸足は，漢方方剤の科学的評価に移っていたが，自分がイニシアチブを握れる天然物化学も 2 割程度残していた．その中で，モンゴル産セリ科植物 *Ferula ferulaeoides* の成分研究は，印象に残るものであった．本シリーズの 5 報目までは，植物名を *Ferula ferulioides* としていたが，誤りの指摘を受け *ferulaeoides* に訂正した．

根茎部が直径 10 cm にもなるセリの根を乾燥後，メタノール抽出，酢エスと水で分配，酢エス可溶部をシリカゲル及び Lober column で分離したところ，28 種類の化合物がオイル状で，収率 0.01～0.8%で単離された．これら

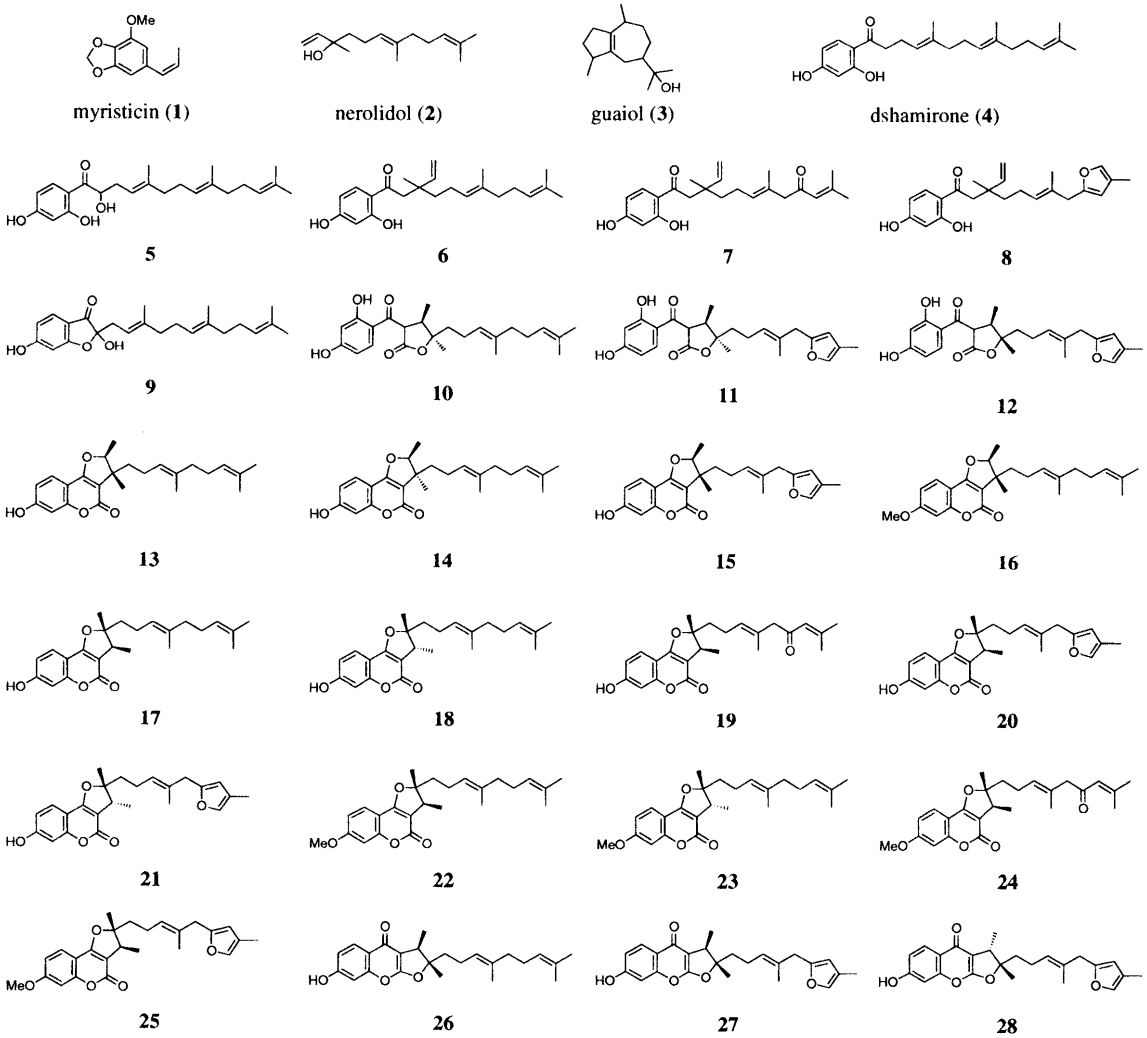


Fig. 10. List of Identifiled Compounds, from *Ferula ferulaeoides*

NII-Electronic Library Service

は，C6—C3 の myristicin (**1**)，sesquiterpene の nerolidol (**2**) と guaiol (**3**)，および，C6—C3 のヘッドにファルネソールが縮合し，①脱炭酸，②酸化，③水和，④転移，⑤脱水，⑥メチル化 と言う基本的な生命化学反応が組み合わさり，生合成された，構造的にも興味ある 25 種類の炭素 24 個の化合物群よりなる．24 種 (Fig. 10：**5**～**28**) は新規化合物で，一人の修士課程の学生が数多くの報告を書く幸運に恵まれた．本植物は，モンゴルの乾燥地帯原野に分布するオオウイキョウ属の多年草で，古くから鎮痙薬として用いられてきたが，この度の研究では，成分と薬理作用の関係については追及できなかった．しかし，C-24 の化合物は，有機合成のターゲットとしては手ごろで，大量合成も可能と思われ，今後の宿題を残した．モンゴルの過酷な自然環境に耐え，生き延びている本植物は，進化の遅れか，生合成の教科書のような化合物群を提供してくれた．HPLC 上に数多く認められる未単離の微量成分まで精査すれば Fig. 11 の不足分は，すべて埋まるであろう．24 種の新規化合物はすべて不斉中心を持つが，光学活性を示したのは化合物 **10**～**12** のみで，残りの旋光度は全てゼロであった．化合物 **5** を，キラルカラムにより分析したところ，1：1 の強度で分かれラセミ体であることが明らかとなった．結局，絶対配置に関する知見は得られず，NMR の解析による，相対配置の解明に止まったのは残念である．

短い期間ではあったが，日本，中国，ペルー，メキシコ，モンゴル，ケニヤ，トルコなどの伝統薬物を取り扱ってきたが，結局，医薬品のシーズには遭遇しなかった．特に，メキシコ産薬用植物は，企業の研究所と共同研究でスクリーニングを頼み，我々が 100 種類くらいの植物の抽出・分画を行い，システィマティックに活性物質を追及したが，分画が進むにつれ活性が消えるのが常であった．この中で，ヒガンバナ科の *Zephyranthes carinata* の鱗茎部より単離された hamayne には conformational isomer が存在し，文献上のデータのバラツキを納得させた [41]．常識では考えられない面白いことがある．

私にとっての天然物化学は，自然の摂理に従い，単純

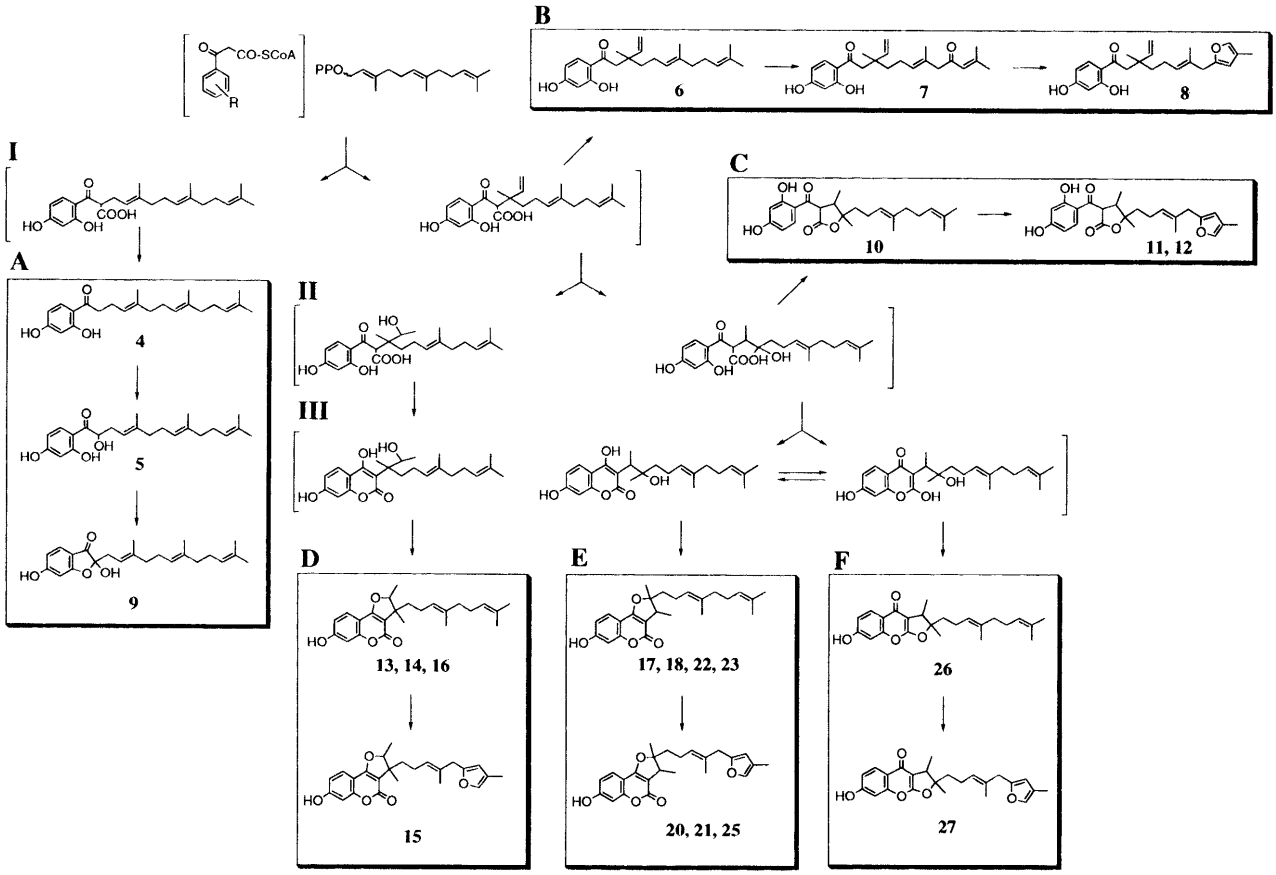


Fig. 11. Proposed Biosynthesis Pathway of Compounds **4**–**28**

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Pharmacognosy

明快であり，楽しいものであった．それに引き換え，生命現象は複雑怪奇であり，特に，単純な *in vitro* の実験結果からは何とでも言え，生命現象の解明するのに役立つか疑問である．

漢方へ

私は子供の頃から歴史が好きで，特に，あの広大な大地をあまたの英雄達が駆け回る中国は憧れであった．私にとって植物化学が一段落し，あと四半世紀，新たなチャレンジをと考えた時，民族の伝統的文化，漢方医学の現代医学への科学的導入を研究テーマにしようと決心した．当時，北里東医研で処方する漢方方剤のナンバーワンは小柴胡湯であった．小柴胡湯を構成する生薬は，サイコ，カンゾウ，ニンジン，オウゴン，タイソウ，ショウキョウ，ハンゲと馴染み深いもので，扱い易いと判断し，対照方剤として，大柴胡湯を選び多面的なアプローチを開始した．薬効評価としては，プロスタグランディン全盛期のこともあり，cyclooxygenase に及ぼす影響を，方剤及び構成生薬について，振りかけ薬理で検討してみた．結果は，両柴胡剤，ショウキョウ，オウゴン，ダイオウに強い，cyclooxygenase 抑制効果が認められたが，ある院生が路傍の枯れ草と落ち葉を集め煎じたエキスをテストしたところ，ダイオウと同程度の活性が見られた．この時点で，*in vitro* の実験系は放棄，漢方方剤をひとつの薬物と考え，個体動物に経口投与した結果を解析する，integrative な基礎研究に専念する事にした．結論は生薬成分の薬理は，漢方方剤の薬理を反映しないであった．

その後の漢方方剤の薬効評価に関する総説は，ファルマシア，日本東洋医学雑誌等にゆずる[42,43]．

（文献）

1) Shibata S., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 1576–1578 (1963).
2) Ohta A., Ogihara Y., Nei K.,Shibata S., *Chem. Pharm. Bull.*,**11**, 754–758 (1963).
3) Ohta A., Ogihara Y., Nei K., Ikekawa N., Shibata S., *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 1078–1080 (1963).
4) Shibata S., Ogihara Y., Ohta A., *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 1174–1178 (1963).
5) Shibata S., Ogihara Y., Ohta A., *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 1179–1182 (1963).
6) Shibata S., Ogihara Y., *Tetrahedron Lett.*, 1777–1780 (1963).
7) Ogihara Y., Kobayashi N., Shibata., *Tetrahedron Lett.*, 1881–1886 (1968).
8) Shibata S., Ogihara Y., Tokutaka N., Tanaka O., *Tetrahedron Lett.*, 1287–1288 (1965).
9) OgiharaY.,JitakaY.,ShibataS.,*Tetrahedron Lett.*, 1289–1290 (1965).
10) Sankawa U., Taguchi H., Ogihara Y., Shibata S., *Tetrahedron Lett.*, 2883–2886 (1966).
11) Ogihara Y., Tanaka O., Shibata S., *Tetrahedron Lett.*, 2867–2873 (1966).
12) Tanimura T., Pisano J.J., Ito Y., Bownan R.L., *Science*, **169**, 54 (1970).
13) Otsuka H., Ogihara Y., Shibata S., *Phytochemistry*, **13**, 2016 (1974).
14) Ogihara Y., Inoue O., Otsuka H., Kawai K., Tanimura T., Shibata S., *J. Chromatogr.*, 218–223 (1976).
15) Takai M., Amagaya S., Ogihara Y., *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1801–1806 (1977).
16) Otsuka H., Morita Y., Ogihara Y., Shibata S., *Planta Med.*, **32**, 9–17 (1977).
17) Inoue O., Takeda T., Ogihara Y., J. *Chem. Soc. Perkin I*, 1289–1293 (1978).
18) Otsuka H., Akiyama T., Kawai K., Shibata S., Inoue O., Ogihara Y., *Phytochemistry*, **17**, 1349–1352 (1978).
19) Hassall C.H., Morton R.B., Ogihara Y., Thomas W.A., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.(D)*, 1079–1078 (1969).
20) Bevan K., Davies J.S., Halls M.J., Hassall C.H., Morton R.B., Phillips D.A.S., Ogihara Y., Thomas W.A., *Experientia*, **26**, 122–123 (1970).
21) Hassall C.H., Ogihara Y., Thomas W.A., *J. Chem. Soc. (C)*, 522–526 (1971).
22) Hassall C.H., Morton R.B., Ogihara Y., Pillips D.A.S., *J. Chem. Soc. (C)*, 526–532 (1971).
23) Kobayashi Y., Ogawa M., Ogihara Y., *J. Chem. Soc. Perkin I*, 2227–2228 (1981).
24) Ogihara Y., Nose M., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1417 (1986).
25) Chen Y., Nose M., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 1654–1655 (1987).
26) Ogihara Y., Chen Y., Kobayashi Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 2574–2575 (1987).

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Pharmacognosy

27) Shimizu k., Amagaya S., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 3349–3355 (1985).
28) Shimizu K., Amagaya S., Ogihara Y., *J. Chromatogr.*, **307**, 488–492 (1984).
29) Amagaya S., Shimizu K., Ogihara Y., *J. Pharmacobio-Dyn.*, **8**, 52–53 (1985).
30) Miyagoshi M., Amagaya S., Ogihara Y., *Planta Med.*, **53**, 462–464 (1987).
31) Nose M., Amagaya S., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 2736–2740 (1989).
32) Nose M., Amagaya S., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 3306–3310 (1989).
33) Fujimoto T., Nose M., Takeda T., Nishibe S., Ogihara., *Planta Med.*, **58**, 520–523 (1992).
34) Nose M., Fujimoto T., Nishibe S., Ogihara Y., *Planta Med.*, **59**, 131–134 (1993).
35) Kojima K., Isaka K., Ondognii P., Jargalsaikhan G., Suran D., Mizikami H., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 1781–1784 (1998).
36) Kojima K., Isaka K., Ondognii P., Jargalsaikhan G., Suran D., Mizukami H., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 690–691 (1999).
37) Kojima K., Isaka K., Ondognii P., Zevgeegiin O., Davgiin K., Mizukami H., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 1145–1147 (1999).
38) Kojima K., Isaka K., Ondognii P., Zevgeegiin O., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 353–356 (2000).
39) Isaka K., Nagatsu A., Ondognii P., Kojima K., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 1072–1076 (2001).
40) Nagatsu A., Isaka K., Kojima K., Ondognii P., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 675–677 (2002).
41) 永津明人, 六鹿元雄, 小島啓介, 畑野研一郎, 水上元, 大和田智彦, 荻原幸夫, 第 42 回　天然有機化合物討論会　講演要旨集, 433–438 (2000).
42) 荻原幸夫, ファルマシア, **38**, 835–840 (2002).
43) 荻原幸夫, 日本東洋医学雑誌, **54**, 1–25 (2003).

NII-Electronic Library Service