

漢薬・黄耆の研究 (第1報)¹⁾紅耆 (*Hedysarum polybotrys* HAND.-MAZZ.) から抗菌性成分の単離久保道德^{2a)}, 小谷 功^{2a)}, 堀田修平^{2a)}, 有地 滋^{2b)}, 難波健輔^{2c)}近畿大学薬学部^{2a)}, 近畿大学東洋医学研究所^{2b)}, 株式会社大日本製薬中央研究所^{2c)}Studies on Chinese Crude Drug Haunggi. I.¹⁾Isolation of Antibacterial Compound from Honggi
(*Hedysarum polybotrys* HAND.-MAZZ.)MICHINORI KUBO,^{2a)} TSUTOMU ODANI,^{2a)} SHUHEI HOTTA,^{2a)}
SHIGERU ARICHI^{2b)} and KENSUKE NAMBA^{2c)}Faculty of Pharmacy, Kinki University^{2a)},
Institute of Oriental Medicine, Kinki University^{2b)},
Research Laboratories, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.^{2c)}

(Received December 23, 1976)

Haunggi (黄耆) is one of the most important Chinese crude drugs, and is used for the treatment of nutritional disorder, general weakness, weakness after disease, and tuberculosis.

The root of *Hedysarum polybotrys* HAND.-MAZZ. is a variety of Haunggi named Honggi (紅耆).

An antibacterial substance was isolated from Honggi and identified as 1-3-hydroxy-9-methoxypterocarpan (I).

黄耆は神農本草経³⁾ の上品に「主癰疽久敗瘡排膿止痛大風癩疾五痔鼠瘻……」と記載され、化膿性疾患、癩疾、痔疾などの治療薬として用いられる漢薬で、その後 TABLE I に示したように歴代本草書^{3,4)} にも、化膿性疾患に用いられた記載が見られる。黄耆はまた金匱要略⁵⁾、備急千金要方⁶⁾、千金翼方⁷⁾、外台秘要⁸⁾ などの医方書においても化膿性疾患の治療を目的とした処方中に配剤され、内服あるいは膏薬や貼り薬りとして外用されている。

その他、黄耆は強壯、利尿、止汗の目的で用いられることも多いが、神農本草経の条文などから、黄耆には抗菌作用が期待でき、すでに徐⁹⁾、張¹⁰⁾ も認めている。今回、再確認の目的で各種市販品について抗菌性を検討した結果、抗菌力に差異が認められた。この原因の一つは基源植物にあるものと思われる。

黄耆の原植物に関して中薬志¹¹⁾ には *Astragalus membranaceus* BUNGE, *A. mongholicus* BUNGE, *A. tongolensis*

1) 日本生薬学会千葉大会 (1975年10月) で発表。

2) Location: a) 3-4, Kowakae, Higashiosaka, Osaka; b) 380 Nishiyama, Sayama, Minamikawachi-gun, Osaka; c) 33-94, Enoki-cho, Suita, Osaka.

3) 唐慎微, “重修政和經史證類備用本草”, 7 卷, 草部上品之下, 人民衛生出版社影印本, 第1版, 北京, 1957, p. 178.

4) 王好古, “湯液本草”, 人民衛生出版社影印本, 北京, 1956, p. 32.

5) 張仲景, “金匱要略”, 明・兪子木刊本, 卷之中, 燎原影印本, 東京, 1968, p. 144.

6) 孫思邈, “備急千金要方”, 22 卷, 国立中国医薬研究所, 台北, 1954, pp. 393~399.

7) 孫思邈, “千金翼方”, 22 卷, 23 卷, 国立中国医薬研究所, 台北, 1954, pp. 269~277.

8) 王焘, “外台秘要”, 卷23, 国立中国医薬研究所版, 台北, 1964, p. 276 他.

9) 徐仲呂, 中华医学杂志, 33, 71 (1947).

10) W. Zhang, Chin. Med. J., 67, 648 (1949).

11) 中国医学科学院薬物研究所等編, “中薬志”, 第1冊, 人民衛生出版社, 北京, 1975, p. 854.

TABLE I. 中国の古文獻にみられる黄耆の化膿性疾患に用いられた例

本草書	
神農本草經	：主癰疽久敗瘡排膿癩疾五痔鼠瘻
名醫別錄	：腹痛洩痢癰腫疽瘡
陶隱居	：又有赤色者可作膏貼用消癰腫俗方多用
藥性論	：治癰背
日華子諸家本草	：破癰癰瘰癧瘻贅
本草備用	：外用排膿，內托，瘡癰聖藥
医方書	
金匱要略	：其身必甲錯……必生惡瘡：桂枝加黃耆湯
千金要方	：癰疽：黃耆竹葉湯，黃耆茯苓湯，內消散，乾地黃丸，松脂膏
千金翼方	：癰疽：甘菊膏，生肉膏，排膿散，黃耆散 癰背：竹葉湯，黃耆湯，生地黄湯，枳實湯
外台秘要	：癰疽：黃耆膏，卓氏白膏，八味黃耆薄
大平惠民和劑局方	：癰疽癰背：神効托里散，化毒排膿內補十宣散
萬病回春	：癰疽：托裏消毒散
外科正宗	：癰疽癰背：乳香黃耆散，神効內托散，透膿散，回陽三建湯

ULBR., *Hedysarum polybotrys* HAND.-MAZZ. があげられ、その他、地域的に *Melilotus* spp., *Medicago* spp., *Oxytoropis* spp. など多くのものが代用されると記されている。第九改正日本薬局方¹²⁾では *A. membranaceus* BUNGE またはその他同属植物の根であると規定し、*Hedysarum* spp. を基源とするものを局方不適としている。しかし *H. polybotrys* HAND.-MAZZ. を基源とする黄耆は紅耆、晋耆、東黄耆とも称され、わが国では古くから輸入され、漢方医家の間で繁用され、現在台湾ではほとんど本品を使用していることから¹³⁾、まったくの偽品とは断定しがたい。また趙ら¹⁴⁾が文献的考証をした結果、梁代の陶弘景³⁾が「赤色のものは膏にして癰腫に外用する」といったものは、*Hedysarum* spp. を基源とする生薬であろうと報告している。

そこで *A. membranaceus* BUNGE を基源とする綿黄耆¹⁵⁾と *H. polybotrys* HAND.-MAZZ. を基源とする紅耆¹⁵⁾の抗菌力を比較し、比較的抗菌力が強かった紅耆から抗菌性成分を単離し、その抗菌スペクトルを若干検討したので報告する。

なお、黄耆の成分に関しては溝淵ら¹⁶⁾が β -シトステロール、リノール酸、リノレン酸を報告し、倉林ら¹⁷⁾がイソフラボン誘導体について構造研究を行なっている。

薬理的には寺田ら¹⁸⁾が血圧に対する作用、血管に対する作用、アドレナリンに対する拮抗作用を報告し、岡安¹⁹⁾は黄耆の温保作用について報告している。また藤田²⁰⁾は各種黄耆の血圧、呼吸に対する作用、家兎耳殻血管灌流実験、蛙摘出心臓および家兎腸管に対する作用などによってその効力の比較を行なっている。さらに Hikino ら²¹⁾はラットを用いて *A. membranaceus* の降圧成分の追究を行ない、有効成分が γ -aminobutyric acid であることを明らかにし、各種黄耆について定量している。

12) 日本公定書協会，“第九改正日本薬局方”，廣川書店，東京，1975，P. 854.

13) 1972年8月われわれが中華民国台湾省台北市で行なった市場調査の結果（未発表）。

14) 趙燦黃，步毓芝，王孝濤，毛華訓，中国薬学会第二届全国会員代表大会論文摘要集，第1集，64（1956）。

15) 東 丈夫，名越規朗の鑑定によった。

16) 溝淵貫一，安淵弘吉，宮脇美那子，東 丈夫，生薬，18，73（1964）。

17) 倉林正明，小木曾彰，日本薬学会89年（名古屋，1969年4月）講演要旨，P. 320；嶋田寿男，斎藤保，柴田承二，小林曾彰，倉林正明，日本薬学会第96年会（名古屋，1976年4月）講演要旨，P. 289.

18) 寺田文次郎，高橋富雄，日本医学及び健康保険，322，500（1941）。

19) 岡安敬三郎，体質医学研究所報告，1，184（1951）。

20) 藤田正躬，四国医学雑誌，14，1，9，24（1959）。

21) H. Hikino, S. Funayama and K. Endo, *Planta Med.*, 30, 297（1976）。

実験結果

1) 各種黄耆の抗菌性の検討

各種黄耆のメタノール、水による各抽出液の抗菌性を検討した。その結果、いずれの黄耆もメタノール抽出液は抗菌性が認められ、なかでも紅耆は比較的強い抗菌性が認められた。しかし、水抽出液はいずれも無効であった (TABLE II)。

TABLE II. Antibacterial Test of the Methanol Extracts of Haunggi

Organisms	<i>A. membranaceus</i>			<i>H. polybotrys</i>
	I	II	III	I'
<i>S. aureus</i> 209P	+	-	-	-
<i>S. aureus</i> 248 β H-Pc ^R	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> 248 β H-Pc ^S	+	+	+	-
<i>S. lutea</i> 3232	+	+	-	-
<i>E. coli</i> 3301	+	+	+	+

I : from Hong Kong market, II : from Republic of Korea, III : from North Korea, I' : from China, - : no growth, + : growth.

2) 紅耆から抗菌性成分の単離

Staphyrococcus aureus 209P を被検菌とし、抗菌性を検討しながら分画を行なった。

予試験として粗切した紅耆をメタノールで抽出し、そのエキスをエーテル可溶部と不溶部に分画し、可溶部はさらにベンゼン可溶部と不溶部に分画した結果、ベンゼン可溶部のみに抗菌性が認められた。

そこで粗切した紅耆をベンゼンで熱抽出し、ベンゼンエキスをエーテル処理し、エーテル可溶部をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画し、抗菌性を有する無色柱状晶 (I) を得た。

(I) は $C_{16}H_{14}O_4$, mp 131-132°, $[\alpha]_D^{20} -220^\circ$, マススペクトルで m/e 270 に親イオンピーク, UV 吸収スペクトルで 282 nm ($\log \epsilon = 3.87$), 2.87 ($\log \epsilon = 3.92$) に吸収極大, IR で 3400, 1615, 1595, 1493 cm^{-1} に特異吸収を示している。また NMR スペクトルで δ 3.75 に $-OCH_3$, 5.14 に $-OH$ のプロトンが認められる。

これらの物理恒数は文献上の 1-3-hydroxy-9-methoxypterocarpan²²⁾ に一致している。

本品のピリジン、無水酢酸によるアセチル体 (II) は $C_{18}H_{16}O_5$, mp 128° (lit. 123°) で、その NMR スペクトルは 1-3-hydroxy-9-methoxypterocarpan のアセチル体のそれに一致している²³⁾。

そこで標品²⁴⁾と IR スペクトルの比較を行なった結果、まったく一致したので、(I) は 1-3-hydroxy-9-methoxypterocarpan であると同定した (Chart 1)。

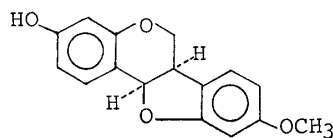


Chart 1.

3) (I) の抗菌性

(I) の各種微生物に対する抗菌性の最低有効濃度を TABLE III に示した。

結論および考察

Hedysarum polybotrys HAND.-MAZZ. を基源とする紅耆から抗菌性成分として 1-3-hydroxy-9-methoxypterocarpan

22) D.G. Smith, A.G. McInnes, V.J. Higgins and R.L. Miller, *Physiol. Plant. Pathol.*, 1, 41 (1971).

23) K.G.R. Pachler, W.G.E. Underwood, *Tetrahedron*, 23, 1817 (1967).

24) C.H.S. Andrade 氏から分与された (+)-3-hydroxy-9-methoxypterocarpan をクロロホルム溶液として測定した。

TABLE III. Antimicrobial Activities of (I) MIC ($\mu\text{g/ml}$) *in vitro*

Antibacterial Activities	
<i>Staphyrococcus aureus</i> TERAJIMA	>100
<i>S. aureus</i> 209P	100
<i>S. aureus</i> 248 β H-Pc ^R	50
<i>S. aureus</i> 248 β H-Pc ^S	50
<i>Escherichia coli</i> K-12	>100
<i>Shigella flexneri</i> 2aEW 10	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> TSUCHIJIMA	>100
Antimycotis Activities	
<i>Candida albicans</i> ATSS 10257	>100
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	30
Antituberculous Activity	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ Rv	10

(I) を単離した。(I) は phytoalexin²⁵⁾ の一つであるとされているが、その抗菌性に関する詳細な報告はなかった。本研究で数種の微生物に対する抗菌性を検討した結果、細菌では *S. aureus* 248 β H-Pc^R, *S. aureus* 248 β H-Pc^S, 対しとも 50 $\mu\text{g/ml}$, *S. aureus* 209P に 100 $\mu\text{g/ml}$, *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv に 10 $\mu\text{g/ml}$ で有効であり、真菌の *Trichophyton mentagrophytes* に対し 30 $\mu\text{g/ml}$ で有効であることを明らかにした。

黄耆が皮膚の水分代謝に関与する生薬であるといわれている点と *T. mentagrophytes* に対し 30 $\mu\text{g/ml}$ で有効であることとあわせると、白癬菌による疾病の治療薬への応用が期待できる。

また朝鮮産の綿黄耆から抗菌性成分の単離を行なっているが、(I) とは異なる物質であり、薄層クロマトグラフィーによる検討の結果、中国産、北朝鮮産の黄耆も (I) を含有せず、各種黄耆の抗菌力の相違は (I) によるものと考えられる。

実験の部

実験材料

1. *A. membranaceus* BUNGE を基源とする綿黄耆

- a) 中国産香港市場品 (1974年 8月 永大行)
- b) 韓国産大阪市場品 (1974年 5月 栃本天海堂)
- c) 北朝鮮産大阪市場品 (1974年 5月 栃本天海堂)

2. *H. polybotrys* HAND.-MAZZ. を基源とする紅耆

- a) 中国産大阪市場品 (1974年 5月 栃本天海堂)

紅耆から抗菌性成分の単離²⁵⁾

紅耆 4 kg を粗切し、熱時 10 l のベンゼンで 3 回抽出し、抽出液を合せ、減圧濃縮して、ベンゼンエキス 52 g を得、ついでエーテル 1.5 l で 2 回還流抽出し、得られたエーテルエキス 43 g を、クロロホルム：ベンゼン(1:1) を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ベッドの直径 17 cm, 高さ 75 cm) にかけて、フラクション No. 9~19 (1 フラクション=1,000 ml) に抗菌性を認めた。この画分をクロロホルムを溶媒として再度シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ベッドの直径 10 cm, 高さ 46 cm) にかけて、No. 13~26 (1 フラクション=200 ml) に抗菌性を認めた。このフラクションをベンゼン：アセトン (99:1) の溶媒でさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ベッドの直径 4 cm, 高さ 39 cm) にかけて、抗菌性を示す No. 46~68 のフラクション (1 フラクション=25 ml) を 60° で減圧濃縮し、粗結晶 700 mg を得た。この物質をベンゼンで再結晶し、無色柱状晶 (I) を

25) 融点は柳本微量融点測定装置で測定し、未補正である。NMR は Varian HA-100D で測定し、内部基準物質として Si(CH₃)₄ を使用した。Mass, IR, UV の各スペクトルの測定は、それぞれ日立 RMU-6, 日立 EPI-S2, 日立 ESP2U 型を用いた。カラムクロマトグラフィーには Kiesergel 60 (70~230 メッシュ) を用いた。

420 mg 得た。

(I) : mp 131-132°, $[\alpha]_D^{25}$ -220° ($c=1.4$ CHCl₃), IR_{max}^{KBR} cm⁻¹ : 3400, 1615, 1595, 1493. UV_{max}^{EtOH} nm (log ε) : 282(3.87), 287(3.92). NMR (CDCl₃) δ : OCH₃ 3.75, OH 5.14, H₁ 7.38, H₇ 7.38, arom. (4H) 6.40-6.53. Mass : m/e M⁺ 270. クロロホルム溶液として得られた IR のスペクトラムは, (+)-3-hydroxy-9-methoxypterocarpan のそれに一致した。

(I) のアセチル化

(I) 50 mg をピリジン 0.5 ml に溶解し, 無水酢酸 0.5 ml を加えて室温に一夜放置後, 反応液を氷水中に注ぎ, 析出する結晶を濾取し, 十分氷洗した後, エーテルから再結晶し, 無色針状晶 (II) を 52 mg 得た。

(II) : mp 182°, NMR (CDCl₃) δ : OCH₃ 3.74 (lit. 3.70), OCOCH₃ 2.26(2.25), H₁ 7.53(7.49), H₂ 6.80(6.76), H₄ 6.75(6.68), H₇ 7.12(7.08), H₈ 6.45(6.40), H₁₀ 6.45(6.41), H₁₁ 5.48(5.43)。

抗細菌試験

被検菌 : *Staphyrococcus aureus* 209P, *S. aureus* TERAJIMA, *S. aureus* 248₅H-Pc^R, *S. aureus* 248₅H-Pc^S, *Salicina lutea* 3232, *Escherichia coli* K-12, *Shigella flexneri* 2aEW 10, *Pseudomonas aeruginosa* TSUCHIJIMA.

方法 : 固体培地希釈法

菌液の調製 : 被検菌を肉エキスブイヨン (肉エキス 10 g, ペプトン 10 g, NaCl 2.0 g を蒸留水 1,000 ml に溶解させ, pH 7.2~7.4 としたもの) に 1 白金耳ずつ接種し, 37°, 18 時間培養したものから滅菌蒸留水 4 ml に 2 白金耳とり菌液とする。

培地 : 普通寒天培地 (pH 7.2~7.4)。

検液の調製

1) 黄耆の濃縮液 : 水濃縮液は黄耆を粗切し, その 5 g を 300 ml のマイヤーフラスコに入れ, 水 100 ml を加えて電気コンロにより, アスベスト上で抽出し, 水が約 20 ml になった時ろ過し, ろ液を 5 ml に濃縮したものを検液とした。メタノール濃縮液は黄耆を粗末とし, その 5 g を, メタノールで 4 時間抽出し, そのろ液を 2.5 ml に濃縮したものを検液とした。

2) (I) の検液の調製 : (I) を 1,000 μg/ml, 500 μg/ml, 100 μg/ml の 50%-MeOH 溶液とした。

検定操作 : 20 ml の滅菌した試験管に普通寒天培地 9 ml を入れ, オートクレーブで 121°, 20 分滅菌する。滅菌後培地が固まる前に各検液 1 ml を入れよく攪拌したのち, 直径 9 cm の滅菌シャーレに入れて平板とする。培地が固まったのち, 各菌液から 1 白金耳ずつとり画線し, 37° の恒温器で 24 時間培養後, 菌の発育の有無を肉眼的に判定する。なお, 対照は培地のみと, 検液のかわりに 50% メタノールを添加したものとした。

抗真菌試験

被検菌 : *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans* ATCC 10257.

方法 : 液体培地希釈法

検液の調製 : (I) を 1,000 μg/ml, 500 μg/ml, 300 μg/ml, 150 μg/ml の 50% メタノール溶液とする。

菌液の調製 :

T. mentagrophytes : 斜面培地で 10 日間培養した菌を 2 白金耳とり, 滅菌蒸留水 4 ml を入れた試験管中に入れ, しんとう攪拌し, 静置した後, その上澄を菌液とした。

C. albicans : 斜面培地で 2 日間培養した菌を 1 白金耳とり, 滅菌蒸留水 4 ml 入った試験管中に入れ, しんとう攪拌して菌液とした。

検定操作 : 滅菌試験管に滅菌した液体サプロウ培地 9 ml を入れ, それに各菌液を 1 白金耳ずつ接種し, *T. mentagrophytes* は 10 日間培養後, *C. albicans* は 48 時間培養後 MIC を求める。

抗結核菌作用

被検菌 : *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv.

方法 : 培地は 0.2% bovine albumine を含む Kirchner を用いる。小試験管に培地 2.7 ml を入れ, これに 0.3 ml の検液と 1 滴の菌液 (0.03% の Tween 80 を含む Modified Kirchner 中で 37°, 10 日間培養した菌を OD 0.3 に調製し 10⁻² に希釈したもの) を加え, 37° で 3 週間培養して MIC を求める。

謝辞 : 終りに生薬材料の鑑定をしていただきました鐘紡株式会社 東 丈夫博士, 徳島大学薬学部 故名越規朗先生および貴重な標品を分与くださいました Carlos Humberto Souza Andrade 氏に深謝する。