


財団法人日中医学協会
2007年度共同研究等助成金—調査・共同研究—報告書

2008年 3月 14日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った研究テーマについて報告いたします。

添付資料： 研究報告書

受給者氏名： 奥山 徹 

所属機関名： 明治薬科大学

所属部署： 天然薬物学教室 職名： 教授

〒 204-8588

所在地： 東京都清瀬市野塩2-522-1

電話： 042-495-8904 内線： _____

1. 助成金額： 950,000 円

2. 研究テーマ

慢性閉塞性肺疾患(COPD)に有効な新疆ウイグルで用いられる天然薬物の開発研究

3. 成果の概要 (100字程度)

新疆医科大学での講演を通じた相互理解と、共同研究の詳細な打ち合わせを行った。続いて、ホータン近郊で医療現場のウイグル伝承薬物実態調査、砂漠地帯での薬用植物の調査、甘草および蓍麻子の収集を行った。

※発表論文等

2度の講演会で新疆ウイグル薬物調査を通じての成果を報告した。(添付参照)

1. 2007年12月15日「うけら会」講演会(東京都薬用植物園)
2. 2008年2月24日「日本薬用植物友の会」講演会(仙台)

4. 研究組織

日本側研究者氏名： 奥山 徹 職名： 教授

所属機関： 明治薬科大学 部署： 天然薬物学教室

中国側研究者氏名： Halmurat Upur 職名： 副学長

所属機関： 新疆医科大学 部署： _____

慢性閉塞性肺疾患（COPD）に有効な新疆ウイグルで用いられる天然薬物の開発研究

日本側研究者氏名	教授 奥山 徹
所 属 機 関	明治薬科大学
中国側研究者氏名	副学長 Halmurat Upur
所 属 機 関	新疆医科大学

要旨

2007年5月末に新疆ウイグル自治区を訪問し、新疆医科大学で講演を通した一層の相互理解と、共同研究の今後の展開について詳細な打ち合わせを行った。続いて、タクラマカン砂漠のオアシスの町、和田（ホータン）近郊でウイグル病院・薬局の実態を見学し、ウイグル伝承薬物の調査、砂漠地帯での薬用植物の調査、特に甘草の採集と集荷地での収集を行った。

研究室では、入手した甘草の種の鑑定を行い、各種標品との形態学上の比較、およびDAD-HPLCを用いた指標化合物の検出により、栽培および自生していた甘草は *Glycyrrhiza inflata* と同定した。しかし、現地の病院で用いられていた甘草は鑑定の結果 *G. glabra* であり、その詳細については今後の検討課題である。現在、入手した *G. inflata* の成分検索を行うと共に慢性閉塞性肺疾患（COPD）に対する活性について検討を行っている。

また、現地で喘息等の呼吸器系疾患に用いられている方剤「寒喘祖帕顆粒」および、その構成生薬「蕁麻子」に関しても COPD に対する活性について成分検索を交えて検討している。これまでのところ、寒喘祖帕顆粒に強い誘導型一酸化窒素（inducible-NO）産生抑制効果を認めており、その構成生薬の中でも「蕁麻子」に強い抑制活性を明らかにしている。また、「蕁麻子」に関しては成分検索の報告がなく、現在その活性成分について詳細に検討している。

Key Words 新疆ウイグル自治区, 慢性閉塞性肺疾患（COPD）, 天然薬物, 蕁麻子, 甘草

緒言：

新疆ウイグル自治区は中国西北地方に位置し、海から離れているため典型的な大陸性気候で、季節はもとより昼夜の気温の変化が大きく、少雨で日照時間が長く、空気は乾燥し、砂漠が多い。このような厳しい自然環境により、呼吸器疾患の発病率が高く、大きな社会問題となっている。

呼吸器系疾患は新疆ウイグル自治区でのみならず、世界でも増加の一途をたどっており、1990年のWHOの統計によると世界の死亡原因の第3位に肺炎、第6位に慢性閉塞性肺疾患（COPD）があげられており、2020年の死亡原因予測では第3～5位がCOPD、肺炎、肺がんと予想されている。

しかし、新疆ウイグル自治区の平均寿命は約68歳と決して低い数字ではなく、伝統的に用いられている生薬がこれら呼吸器系疾患を抑制・治療してきたのではないかと考えた。

そこで、ウイグル伝統薬として呼吸器系疾患に用いられる方剤および構成生薬について、そのCOPDに対する効果を検討し、有効成分の解明を通してこれら呼吸器系疾患の予防および治療に資することを目的として本研究に着手した。

事前文献調査により、新疆ウイグル自治区で呼吸器系疾患の治療に用いられている中薬エキス製剤「寒喘祖帕顆粒」に着目し、その方剤および構成生薬の収集を行うこととした。また、本処方構成生薬の一つでもある甘草は、新疆ウイグル自治区には *Glycyrrhiza uralensis*、*G. glabra*、*G. inflata* の3種およびこの交配種が分布するとされており、現地に生育するカンゾウ属植物の採集・収集を行い、入手した試料の種の同定、な

らびに成分検索を行うこととした。

COPD に対する抑制効果を検討する有用且つ簡便なスクリーニング系は現在のところ報告されていない。しかし、90年代から、一酸化窒素(Nitric Oxide, NO)が気管支喘息、肺炎、慢性閉塞性肺病(Chronic Obstructive Pulmonary Disease, COPD)など多くの気道炎症性疾患の病態に深く関わっていることが明らかにされていることから、本研究では一次スクリーニングとして、培養細胞を用いた誘導型一酸化窒素産生に及ぼす影響を検討することとした。

研究方法：

新疆ウイグル自治区南部の都市・和田(ホータン)市近郊、墨玉県の乾燥地帯で、カンゾウの全草(地上部、花、果実、根およびストロン)を採集し、同時に現地集積地において市場品甘草を入手した。また、和田人民病院にて、ウイグル医療に用いられる甘草を分譲していただいた。さらに、和田および、烏魯木齊(ウルムチ)の生薬市場にて各種生薬を購入した。

帰国後、採集したカンゾウの標本を形態学的特徴を調べ、日本各地で試験栽培されている各種カンゾウの標本を入手し、総合的な観点からの同定を試みた。同時に、それぞれ入手したカンゾウを凍結乾燥させ、80%メタノールで60℃加熱抽出を6時間行い、得られたエキスについてDAD-HPLCシステムを用いて各種標品とのスペクトルパターンの比較や指標化合物の検出により種の同定を試みた。

同時に、これら全ての生薬について、中薬エキス製剤「寒喘祖帕顆粒」およびその生薬組成による自家製剤とあわせて、マクロファージ細胞による誘導型一酸化窒素産生に対する抑制効果を検討した。

さらに、この中で活性の認められた「葶麻子」について成分検索を行った。

結果：

採集・収集した研究材料は以下の通りである。

- | | |
|-------------------|--------------------------|
| 1. 新疆甘草市場品 18kg | 墨玉県甘草集積場にて烏魯木齊病院経由で購入(根) |
| 2. 医療用カンゾウ 100g | 和田人民病院薬剤部より譲与(根) |
| 3. カンゾウ(栽培品) 3株 | 和田市郊外にて採集(根および地上部) |
| 4. カンゾウ(栽培品) 5株 | 墨玉県甘草集積場近郊で採集(根および地上部) |
| 5. カンゾウ(栽培品) 5株 | 和田市郊外にて採集(地上部) |
| 6. カンゾウ(野生品) 2株 | 墨玉県甘草集積場近郊で採集(根および地上部) |
| 7. 葶麻子(シシリ?) 500g | 和田市生薬市場で購入 |
| 8. 寒喘祖帕顆粒 6箱 | 和田市生薬市場で購入 |
| 9. 寒喘祖帕顆粒 6箱 | 和田市生薬市場で購入 |
| 10. 葶麻子 5kg | 烏魯木齊市生薬市場で烏魯木齊病院経由で購入 |
| 11. 石榴花 500g | 烏魯木齊市生薬市場で購入 |
| 12. 石榴子 500g | 烏魯木齊市生薬市場で購入 |
| 13. 石榴皮 400g | 烏魯木齊市生薬市場で購入 |

まずはじめに、1~6のカンゾウについて、植物種の鑑定を行った。採集したカンゾウ(3, 4, 5)はほぼ同じ形態を有し、小葉が幅の広い楕円形で皺と光沢があり蜜状質に被われており、豆果は長円形でまっすぐであり、膨脹していた。医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター・北海道研究部より、*Glycyrrhiza uralensis*、*G. glabra*をご恵与いただき、その地上部の形態と比較したが、葉の形状や繊毛の有無などでいずれの種とも異なる形状を有していた。採集したカンゾウ6に関しては、地上部の形状は *G. glabra* と類似点を持つが、花の形状が異なる為、同一種とは判定できなかった。

続いて、これらカンゾウの根と地上部をそれぞれ凍結乾燥し、80%メタノールで60℃加熱抽出を6時間行い、得られたエキスについて多波長紫外線検出装置(DAD-HPLC)を用いて、定法¹に従い成分の分析を試みた。こ

の結果、採集したカンゾウ（3，4，5）はいずれも地上部の成分組成が類似していること、根（3，4）および購入した新疆甘草（1）は *G. inflata* に特徴的な指標化合物 Licochalcone A のピークが観測されたことから、1，3，4，5は *G. inflata* と同定した。一方、和田人民病院で使用されている甘草は、特徴的な指標化合物 glabridin が観測されたことから *G. glabra* と同定した。² なお、本方法では採集したカンゾウ6については目立ったピークが観測されず、これまでのところ種は不明である。現在、大量入手した *G. inflata*（新疆甘草市場品1）の成分検索を行うと共に慢性閉塞性肺疾患（COPD）に対する活性について検討を行っている。

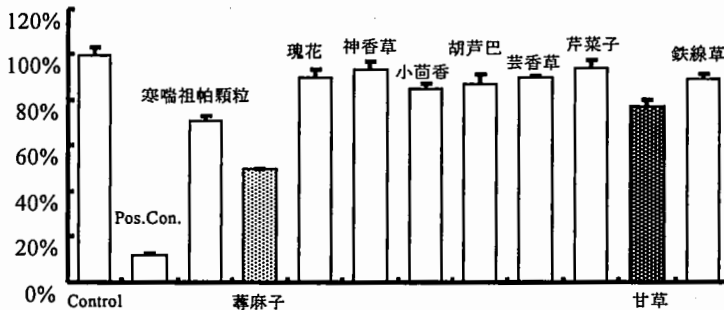
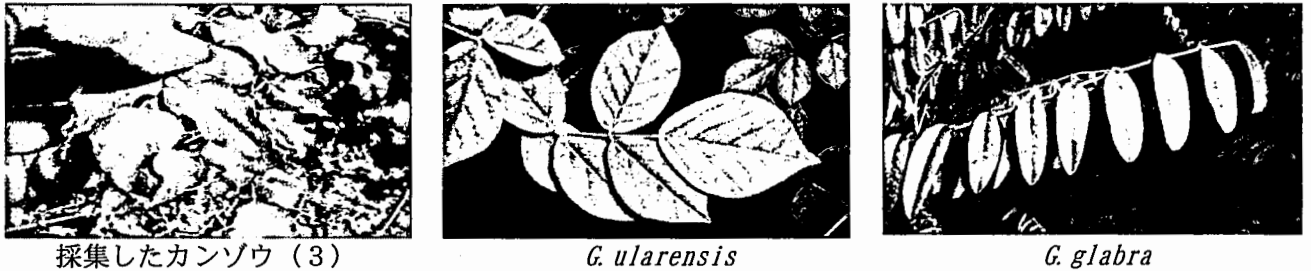


Fig. 1. Inhibitory Activities of the Extracts of “Han Chuan Zu Pa Ke Li” and Each Component on NO Production RAW264 was cultured with test samples (50 μ g/mL) or positive control (Pos. Con. Aminoguanidine 250 \cdot M) for 24 hr, and NO content in the culture supernatants were measured. Each value represents the mean \pm S. D.

* ; $p < 0.05$, ** ; $p < 0.01$, *** ; $p < 0.001$, by t-test.

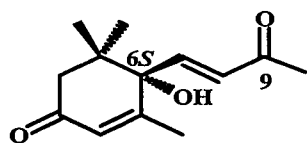
次に、中薬エキス製剤「寒喘祖帕顆粒」およびその生薬組成による自家製剤とあわせて、マクロファージ細胞による誘導型一酸化窒素産生に対する抑制効果を検討した。

その結果、Fig. 1 に示すように方剤および葶麻子、甘草に比較的強い抑制活性を認めた。

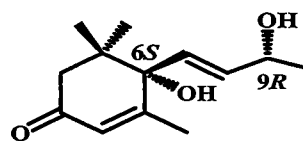
葶麻子は新疆でのみ用いられている伝統的な生薬であり、その成分に関しては研究されていない。そこで、その成分に関して検討を行った。葶麻子 8.5 kg を MeOH で抽出し、そのエキスを減圧下濃縮後、朝比奈式連続抽出器にて水に懸濁させて *n*-hexane で分配抽出し、*n*-hexane 可溶部を得た。以下、AcOEt、*n*-BuOH で同様の操作を行い、それぞれの可溶部を得た。葶麻子の AcOEt 可溶部からメガスティグマン系化合物 1, 2 を単離し、化合物 2 については CD helicity 則、改良モッシャー法を用い、立体を含めた構造研究を行った。その結果、立体を含めて化合物 1 を (+) dehydrovomifoliol、化合物 2 を (+) blumenol A と同定した。また、フラボノイド配糖体 3-7 を単離し、それぞれを同定した。(Fig. 2) 葶麻子からこれらの化合物の単離は初めてである。

考察：

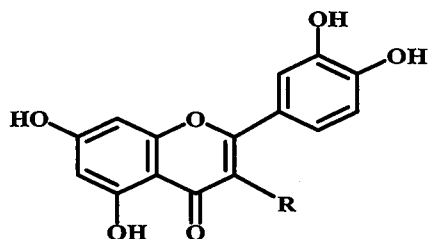
和田で甘草 *G. inflata* の幅の広い生息地を確認したことは、必要に応じて安定確保に貢献できるものと思われる。現地での *G. inflata* および *G. glabra*、*G. ularensis* の用いられ方の違いは確認できなかったが、医療の現場では近隣で収穫される *G. inflata* でなく *G. glabra* が用いられていたことは興味深い。新疆甘草の成分検索に関しては数多くの報告があるが、この慢性閉塞性肺疾患への効果に関する報告は未だにされておらず、



(+)-dehydrovomifoliol (1)

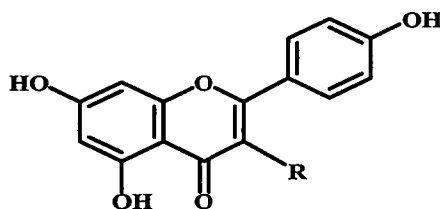


(+)-blumenol A (2)



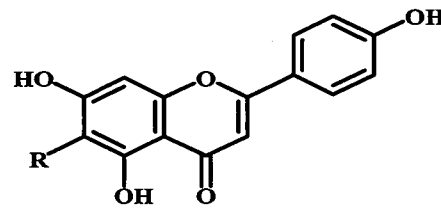
isoquercetin (3): R=O-Glc

quercitrin (4): R=O-Rha



astragalol (5): R=O-Glc

afzelin (6): R=O-Rha



isovitexin (7): R=C-Glc

今後の成分検索から有用な化合物の単離が期待される。

中薬エキス製剤「寒喘祖帕顆粒」ならびにこれに含まれる葶麻子、甘草に強い NO 産生抑制効果を認めたことは、新疆ウイグル自治区で多発している慢性閉塞性肺疾患に有効な手助けができてると考えている。なお、*G. glabra* と *G. inflata* の活性の相違については現在検討中である。

活性の認められた葶麻子から今回はじめて成分検索を行い、7種の化合物を単離・同定した。イラクサ科に属する葶麻は根や地上部の成分の報告があるのみで果実についての報告はない。今後、これらの化合物の詳細な活性もあわせて、二次スクリーニングによる活性評価等を検討する予定である。

参考文献：

1. H. Hayashi *et al*: Phylogenetic Relationship of Six *Glycyrrhiza* Species Based on *rbcL* Sequences and Chemical Constituents, *Biol. Pharm. Bull.*, 23 (5), 602-606 (2000).
2. 岩崎典明ら：日本薬学会第128年会(横浜)要旨集 第2巻 pp63 (2008).

注：本研究は、2007年12月15日「うけら会」講演会（東京都薬用植物園）にて「シルクロードにロマンを求め新疆ウイグルの恵を味わう」と題した講演、および、2008年2月24日日本薬用植物友の会講演会（仙台）にて「シルクロードにロマンを求めて甘草属植物の現地調査を中心に」と題した講演で成果を報告した。また、甘草の種の同定に関しては、2008年3月26-28日日本薬学会第128年会（横浜）で26PE-am039「新疆ウイグル伝承薬物の研究—新疆ウイグル自治区に生育する甘草属植物の種の同定—」と題して発表予定である。

作成日：2008年3月14日