

II 研究活動と業績

資 源 開 発 部 門

教 授	難 波 恒 雄	(薬学博士) (3月31日まで)
助教授	小 松 かつ子	(薬学博士) (附属薬効解析センターと併任)
助 手	山 路 誠 一	(薬学博士)

本部門では中国医学をはじめとする世界各地の伝統医学や民間療法で使用される薬物の基源の究明、真偽鑑別、活性成分の解明、およびそれらの総合的判断による品質評価法の確立、ならびに天然薬物からの新薬の開発などを主要研究目的としている。これらに関連して、各種生薬の組織形態学的研究、本草学的考察、成分化学的研究、薬理学的研究、さらに新薬物資源開発の目的で世界各地の伝統医学の比較研究、民族薬物の調査などを行っている。本年度における主たる研究内容および成果は次の如くである。

- 1) 和漢薬の生薬学的研究：キク科 *Saussurea* 属 *Eriocoryne* 亜属及び *Amphilaena* 亜属に由来する「雪蓮花」類生薬の基源を生薬学的に解明した。また、薬効解析センターとの共同研究でキク科 *Serratula* 属及びキツネノマゴ科 *Stolobilanthes* 属に由来する漢薬「升麻」、シソ科 *Salvia* 属に由来する漢薬「丹参」、ミカン科 *Zanthoxylum* 属 *Fagara* 亜属由来の漢薬「花椒」、「椒目」の基源についても検討した。
- 2) 和漢薬の遺伝子解析：薬効解析センター、富山大学工学部化学生物工学科との共同研究で *Panax* 属由来の各種人参類生薬の同定を行う目的で 18S Ribosomal RNA の塩基配列の分析に PCR-RFLP 法および MASA 法を用いた検討を行った。
- 3) 和漢薬の品質評価に関する研究：薬効解析センターと共同研究で柑橘類果実由来する生薬の品質評価を目的として、*Citrus*, *Fortunella* 及び *Poncirus* 属 29 種の果皮中のポリメトキシフラボン類及びクマリン類計 34 成分の含有パターンを比較検討しそれらが 14 タイプに分けられることを明らかにした。この結果から、現在日本及び中国市場に流通している「陳皮」、「青皮」、「枳実」、「枳殼」、「橙皮」などの原植物を検討した。また同じミカン科の漢薬「花椒」についても精油成分及び辛味成分の含有量を比較した。
- 4) 和漢薬の生理活性成分の研究：化学応用部門との共同研究で青箱子 (*Celosia argentea* L. の種子) に含有される酸性多糖体、及び丹参 (*Salvia miltiorhiza* Bunge の根) に含まれる lithospermate B が免疫学的肝障害に対する保護作用を有することを見出した。また、せんぶり (センブリ *Swertia japonica* Makino の全草) に含まれる swertianolin が肝保護作用を有することを見出した。
- 5) 伝統医学からウイルス病治療薬の検索：医学部ウイルス学講座との共同研究でウイルス病治療に有効な伝統医薬を開発することを目的として単純ヘルペスウイルスに有効な抗ウイルス活性を示す治療薬を検索した。
- 6) 糖尿病とその合併症治療薬の開発：化学応用部門との共同研究で天然由来の抗糖尿病薬の開発の一環としてアルドース還元酵素阻害を有する伝統薬物を検索し、漢薬「丹参」に含まれる danshenol A 及び B に本酵素の阻害活性のあることが認められた。

以下、本部門で今年度中に発表した原報ならびに口頭発表の要旨を収録し、学界活動報告とする。また社会的活動として一般雑誌への発表及び一般講演の目録を付す。

原 報

A) 和漢薬の生薬学的研究

I) Pharmacognostical Studies on the Chinese Crude Drug "Ji-xue-teng (鷄血藤),"

Natural Medicines, 51 (1), 4-17, 1997

DAO-FENG CHEN, GUO-JUN XU, LUO-SHAN XU and TSUNEO NAMBA

In order to identify the botanical origin of "Ji-xue-teng" (鷄血藤), a traditional Chinese medicine with the functions of flourishing blood and activating blood circulation, we studied macroscopic and microscopic characters of 15 possible original plants of "Ji-xue-teng," *Spatholobus suberectus* Dunn, *Sp. harmandii* Gagnep., *Sp. sinensis* Chun et T. Chen, *Mucuna birdwoodiana* Tutcher, *Mu. sempervirens* Hemsl., *Mu. castanea* Merr., *Craspedolobium schochii* Harms, *Millettia dielsiana* Harms, *Mi. nitida* Benth. var. *hirsutissima* Z. Wei, *Mi. gentiliana* Lév., *Mi. speciosa* Champ. and *Mi. reticulata* Benth. of the family Leguminosae, *Kadsura interior* A. C. Smith, *K. heteroclita* (Roxb.) Craib and *Schisandra propinqua* (Wall.) Baill. var. *sinensis* Oliv. of the family Schisandraceae and compared with those of commercial samples of "Ji-xue-teng." The results showed that the major botanical origin of "Ji-xue-teng" in the Chinese market is *Sp. suberectus* Dunn. And that the stems of *Mi. dielsiana* Harms and *Mu. sempervirens* Hemsl., and the roots of *Mi. nitida* Benth. var. *hirsutissima* Z. Wei are also circulated in Jiangxi, Fujian and Sichuan Provinces. The diagnostic microscopic characters of these 15 original plants are summarized and a key to the botanical origins of "Ji-xue-teng" is given.

II) Pharmacognostical Studies on the Sino-Japanese Crude Drugs "Huajiao (花椒)" and "San-sho (山椒)" (Part 4), Determination of Botanical Origin of Chinese Crude Drug "Jiaomu (椒目)" by Scanning Electron Microscopy

J. Jpn. Bot., 72 (2), 93-109, 1997

YUI-PING LIU, CHIKASHI ITO, KATSUKO KOMATSU, TADATO TANI, DA-WEN SHI and TSUNEO NAMBA

"Jiaomu," a traditional Chinese medicine used as a diuretic, is derived from the seeds of the genus

Zanthoxylum, the family Rutaceae, and of the same origin as "Huajiao." On the other hand, it is difficult to identify *Zanthoxylum* seeds because of their similar external morphology and the difficulty of sectioning them to observe the inner structure. In this paper, in order to develop a method for the identification of "Jiaomu," we report a new anatomical method using a scanning electron microscope and an image analysis system on the seeds of 16 species, three varieties and one form, collected from China, Japan and Nepal. The results showed that 16 species and varieties could be distinguished from each other by the following characteristics: number of layers of epidermal cell, ratio of radial diameter to tangential diameter of epidermal cell, shape of closed curve which was drawn in between epidermis and sclerenchyma tissue (its degree of roughness shown by SFC value) ratio of average thickness of outer mesophyll to inner mesophyll, ratio of occupation of epidermis to outer seed coat, ratio of thickness of outer seed coat to the radius of transection of seed, etc. The commercial samples of Shanghai and Datong (Shanxi) market were the seed of *Z. bungeanum* and that of Huhehaote (Inner Mongolia) market was a mixture of seeds and pericarps of *Z. schinifolium*.

III) 「花椒」及び「山椒」の生薬学的研究 (第3報), *Eagara* 亜属に由来する漢薬「花椒」について

生薬学雑誌, 51 (3), 194-204, 1997

伊藤 親, 小松かつ子, 劉 玉萍, 施 大文, 難波恒雄

→薬効解析センターの項参照

IV) 「雪蓮花」類薬物の生薬学的研究 (第2報) *Sausured* 属 *Eriocoryne* 亜属植物に由来する漢薬「雪蓮花」及びチベット薬物 "Bya-rgod sug-pa" の基源について

生薬学雑誌, 51 (2), 134-147, 1997

揚 瑞萍, 山路誠一, 小松かつ子, 難波恒雄

The Chinese crude drug "Xuelianhua," which is known as "Bya-rgod sug-pa" in the Tibetan Medicine and as "Tage leylishi" in the Uygur Medicine, is used for rheumatoid arthritis, menoxenia, etc. The botanical origins of these drugs are said to be flowering whole plants or aerial parts of about 18 species of the subgenus *Eriocoryne* with long woolly hair and of subgenus *Amphilaena* with large and

thin bract, of the genus *Saussurea* of the family Compositae. In most cases, it is almost impossible to identify their origins by their external morphologies, since the flowers and cypselae break easily during maturation after harvesting. In order to identify the botanical origins of about 50 commercial samples of “Xuelianhua” and its related ethnomedicines, a series of pharmacognostical studies were performed. In this paper, to identify 37 commercial samples of them, which are apparently derived from plants with long woolly hair, a comparative microscopical study was carried out on the leaves, stems and rhizomes of 12 species of Eriocoryne plants. These 12 species could be distinguished from each other by the differences in leaf [number of vascular bundles in the midrib, appearance of stomata on adaxial epidermis and glandular hairs on both epidermises, degree of roughness of anticlinal wall of epidermal cells], in stem [maximum diameter of vessels] and in rhizome [kind of tissue opposite to xylem, etc.]. On the basis of the results, all the 37 commercial samples examined were determined to be derived exclusively from one or two of the following species: *S. medusa*, *S. laniceps*, *S. tridactyla*, *S. namikawae*, and *S. gossypiphora*.

V) **Pharmacognostical Studies on the Chinese Crude Drug “Shengma” (Part II), “Shengma” Derived from Genus *Cimicifuga* Plants**

Natural Medicines, 51 (2), 148-161, 1997

XIAO-BO LI, KATSUKO KOMATSU, SEIICHI YAMAJI, AKIHITO TAKANO and TSUNEO NAMBA

Anatomical characteristics of 8 *Cimicifuga* species were studied, summarized in a keytable and compared with those of *C. simplex*. Rhizomes of the 9 taxa could be distinguished from each other by the growth rings and arrangement of big vessels in the secondary xylem, number and diameter of vessels, appearance of endodermis and interfascicular cambium, thickness of cortex and appearance of sclereids in cortex and the maximum number of sclereids over each vascular bundle in the rhizomes, and by the sclerification of ray parenchyma in the stem residues. By using the keytable, 67 commercial samples of “Shengma” were examined for their origins: those in the north Chinese market were determined to be derived mainly from the rhizomes

of *C. heracleifolia* and/or *C. dahurica* and those in the southwest and south Chinese market, of *C. foetida*. Some samples derived from rhizomes of *C. foetida* contained rhizomes of either *C. nanchuanensis* or *C. yunnanensis*. Japanese “Shoma” and South Korean “Sungma” were composed of one of or a mixture of two of *C. heracleifolia*, *C. dahurica* and *C. foetida*.

VI) 「雪蓮花」類薬物の生薬学的研究 (第3報), *Saussurea* 属 *Amphilaena* 亜属植物に由来する漢薬「雪蓮花」, ウイグル薬物「Tage leylishi」及びチベット薬物「gZa'-bdud」の基源について

生薬学雑誌, 51 (4), 347-357, 1997

揚 瑞萍, 山路誠一, 小松かつ子, 難波恒雄

In order to identify the botanical origins of “Xuelianhua” and its related ethnomedicines, “Xuelianhua” and the related ethnomedicines derived from *Amphilaena* plants of the genus *Saussurea* of the family Compositae, which are generally characterized by large thin bracts, were studied histologically, by comparing the bracts, foliage leaves and stems with those of 5 species of this subgenus. These 5 species could be distinguished from each other by the differences in the bract [thickness of the midrib, appearance of fibers opposite the phloem in the midrib, of palisade tissue in the mesophyll and of stomata on adaxial epidermis], foliage leaf [degree of roughness of anticlinal wall of adaxial epidermal cells and palisade ratio in surface view], and stem [number of vascular bundles] Twelve commercial samples of Chinese “Xuelianhua” and Uighur “Khar leylishi” were found to be derived from *Sa. involuocrata*, and two of Tibetan “gZa'-bdud,” from *Sa. obvallata*. On the basis of the present findings and those of our previous studies on the plants of the subgenus *Eriocoryne* of the genus *Saussurea* and of the genus *Sorosaris*, the key for identification of 17 species of *Saussurea* and 3 species 1 subspecies of *Sorosaris* was made.

VII) 漢薬「升麻」の生薬学的研究 (第3報), ユキノシタ科 *Astilbe* 属及びバラ科 *Aruncus* 属植物に由来する「升麻」について

生薬学雑誌, 51 (4), 333-346, 1997

李 曉波, 小松かつ子, 難波恒雄

→薬効解析センターの項参照

VIII) 漢薬「升麻」の生薬学的研究 (第4報), キク科

Serratula 属及びキツネノマゴ科 *Strobilanthes*
属植物に由来する「升麻」について

生薬学雑誌, 51 (5), 408-416, 1997

李 暁波, 小松かつ子, 周 光春, 難波恒雄

→薬効解析センターの項参照

B) 和漢薬の遺伝子解析

IX) Application of PCR-RFLP and MASA Analysis on 18S Ribosomal RNA Gene Sequence for the Identification of Three Ginseng Drugs

Biol. Pharm. Bull., 20 (7), 765-769, 1997

HIROTOSHI FUSHIMI, KATSUKO KOMATSU, MASAHARU ISOBE and TSUNEO NAMBA

→薬効解析センターの項参照

C) 和漢薬の品質評価に関する研究

X) Botanical Origins and Quality Evaluation of Crude Drugs Derived from *Citrus* and Related Genera (Part 2), Chemical and Anatomical Characters during Fruit Ripening Period of Cultivars of *Citrus unshiu* and *C. natsudaidai*

Natural Medicines, 51 (2), 84-91, 1997

TAKASHI TSUCHIDA, TOMOE YAMAMOTO, KEIICHI YAMAMOTO, NOBUYUKI HITOMI, NOBORU KOSAKA, MASAMICHI OKADA, KATSUKO KOMATSU and TSUNEO NAMBA

→薬効解析センターの項参照

XI) 柑橘類生薬の基源と品質に関する研究 (第3報), *Citrus*, *Fortunella* 及び *Poncirus* 属の果皮の成分について

生薬学雑誌, 51 (3), 205-223, 1997

土田貴志, 山本知枝, 山本恵一, 人見信之, 小坂 昇, 岡田正道, 小松かつ子, 難波恒雄

→薬効解析センターの項参照

XII) 柑橘類生薬の基源と品質に関する研究 (第4報), 日本及び中国産「陳皮」, 「青皮」, 「枳実」, 「枳殼」, 「橙皮」の基源について

生薬学雑誌, 51 (3), 231-243, 1997

土田貴志, 山本知枝, 山本恵一, 人見信之, 小坂 昇, 岡田正道, 小松かつ子, 難波恒雄

→薬効解析センターの項参照

XIII) 「花椒」及び「山椒」の生薬学的研究 (第5報), *Zanthoxylum* 亜属植物の果皮及び市場品の精油及び辛味成分

生薬学雑誌, 51 (3), 249-258, 1997

伊藤 親, 片桐仁史, 佐藤昭子, 施 大文, 門田重利,

小松かつ子, 難波恒雄

→薬効解析センターの項参照

XIV) A Comparative Study on *Swertiae Herba* from Japan, Nepal, and China and Their Hypoglycemic Activities in Streptozotocin (STZ)-induced Diabetic Rats

Natural Medicines, 51 (3), 265-268, 1997

KATSUKO KOMATSU, PURUSOTAM BASNET, SEIICHI YAMAJI, SHIGETOSHI KADOTA and TSUNEO NAMBA

Four commercial ethno-medicines, "Semburi" from Japan, "Chirayta" from Nepal, and "Zanyinchen" (two samples) from China were identified morphologically to be the whole plants in flowering season of *Swertia japonica*, *S. chirayta* mixed up with small amounts of *S. alata*, and *S. mussotii* (one sample contained a trace amount of *S. cincta*), respectively. These crude drugs were extracted with 70 % ethanol and these extracts were studied for the comparative hypoglycemic activities in the streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. "Semburi" and "Chirayta" significantly decreased the blood glucose level of STZ-induced diabetic rats, "Semburi" being the more active of the two.

XV) Amide Constituents on Pericarps of *Budozansho*, One of the Commercial *Zanthoxylum* Fruits in Japanese Market

Phytochemistry, 44, 1125-1127, 1997

YOSHIKI KASHIWADA, CHIKAKO ITO, HITOSHI KATAGIRI, IZUMI MASE, KATSUKO KOMATSU, TSUNEO NAMBA and YASUMASA IKESHIRO

→薬効解析センターの項参照

D) 和漢薬の薬理作用に関する研究

XVI) Preventive Effect of *Lithospermate B* from *Salvia miltiorhiza* on Experimental Hepatitis Induced by Carbon Tetrachloride or D-Galactosamine/Lipopolysaccharide

Planta Medica, 63 (1), 22-26, 1997

KOJI HASE, RENA KASIMU, PURUSOTAM BASNET, SHIGETOSHI KADOTA and TSUNEO NAMBA

The water extract from the root of *Salvia miltiorhiza* Bunge showed a protective effect on cultured rat hepatocytes against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced necrosis. A further study was carried out to isolate the active constituent. Activity guided fractionation of the extract and chemical analysis

gave us lithospermate B (a salt of lithospermic acid B), a tetramer of caffeic acid. Lithospermate B was also found to have a potent hepatoprotective activity in not only *in vitro* but also *in vivo* experimental liver injuries induced by CCl₄ or D-galactosamine (D-GalN)/lipopolysaccharide (LPS).

XVII) Hepato-protective Effect of *Hovenia dulcis* Thunb. on Experimental Liver Injuries Induced by Carbon Tetrachloride of D-Galactosamine/Lipopolysaccharide

Biol. Pharm. Bull., **20** (4), 381-385, 1997

KOJI HASE, MIZUE OHSUGI, QUAN-BO XIONG, PURUSOTAM BASNET, SHIGETOSHI KADOTA and TSUNEO NAMBA

The hepatoprotective effects of the fruits of *Hovenia dulcis* Thunb. on chemically or immunologically induced experimental liver injury models were examined. The methanol extract showed significant hepatoprotective activity against CCl₄-toxicity in rats and D-galactosamine (D-GalN)/lipopolysaccharide-induced liver injury in mice. The methanol extract also significantly protected against CCl₄-toxicity in primary cultured rat hepatocytes. Hepatoprotective activity-guided fractionation and chemical analysis led to the isolation of an active constituent, (+)-ampelopsin (1) from the methanol extract.

XVIII) Effect of *Hovenia dulcis* on Lipopolysaccharide-induced Liver Injury in Chronic Alcohol-fed Rats

J. of Traditional Medicines, **14** (1), 28-33, 1997

KOJI HASE, PURUSOTAM BASNET, SHIGETOSHI KADOTA and TSUNEO NAMBA

The hepatoprotective effect of the H₂O and MeOH extracts from the fruits of *Hovenia dulcis* Thunb. was examined on endotoxin (lipopolysaccharide; LPS)-induced hepatotoxicity in chronic ethanol-fed rat. Rats were injected with LPS after feeding ethanol (36 % of total calories) diet for 4 weeks. The H₂O extract of *H. dulcis* significantly inhibited the elevation of serum ALT and AST levels by LPS challenge after chronic ethanol consumption. In addition, the H₂O extract suppressed the accumulation of triglyceride (TG), total cholesterol (t-CHOL) and malondialdehyde (MDA) in rat liver.

XIX) In Vitro and in Vivo Studies on Anti-Lipid Peroxidation Effect of Extract from Luobuma Leaves

Natural Medicines, **51** (4), 325-330, 1997

TAKAKO YOKOZAWA, ER-BO DONG, HIROSHI KASHIWAGI, DONG-WOOK KIM, MASAO HATTORI, SHIGETOSHI KADOTA and TSUNEO NAMBA

Three Luobuma extracts prepared from *Apocynum venetum* L. were investigated for their antioxidant activities using non-enzymatic and enzymatic oxygen free radical generation systems *in vitro*, and an *in vivo* system using animals treated with carbon tetrachloride. The results demonstrated that Luobuma leaf extract I efficiently inhibited the lipid peroxidation reaction generated either non-enzymatically or enzymatically *in vitro*. Spin-trapping also revealed the same ability. In the *in vivo* experiment, a significant decrease in thiobarbituric acid-reactive substance in serum and liver was recognized after treatment with Luobuma leaf extract III. The activities of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase were also higher in rats given Luobuma leaf extract III.

E) 和漢薬の生理活性成分の研究

XX) Immunostimulating Activity of Celosian, an Antihepatotoxic Polysaccharide Isolated from *Celosia argentea*

Planta Medica, **63** (3), 216-219, 1997

KOJI HASE, PURUSOTAM BASNET, SHIGETOSHI KADOTA and TSUNEO NAMBA

Celosian, an acidic polysaccharide from the seeds of *Celosia argentea* (Amaranthaceae) was found to be a potent antihepatotoxic agent for chemical and immunological liver injury models in animals. The immunomodulating action of celosian was studied to clarify the preventive mechanism of celosian on liver injuries. Celosian induced tumor necrosis factor- α (TNF- α) production in mice. Celosian also induced the production of interleukin-1 β (IL-1 β) and nitric oxide (NO) in macrophage cell line J774.1 in a concentration-dependent manner (1 to 1000 μ g/ml). Moreover, celosian induced IL-1 β secretion in human mononuclear cells. In addition, celosian enhanced gamma interferon (IFN- γ) production activity of concanavalin A (Con A) in mice spleen cells, though celosian alone did not signifi-

cantly influence IFN- γ production. These results indicate that celosian is an immunostimulating agent in addition to antihepatotoxic effects.

XXI) Antibacterial Activity of Trichorabdal A from *Rabdosia trichocarpa* Against *Helicobacter pylori*

Zentralblatt für Bakteriologie, **286**, 63-67, 1997

SHIGETOSHI KADOTA, PURUSOTAM BASNET, EIJI ISHII, TOSHIHIDE TAMURA and TSUNEO NAMBA

Rabdosia trichocarpa is used in a popular home-made remedy for gastric and stomachic complaints in Japan. A diterpene, trichorabdal A from *R. trichocarpa*, showed a very strong *in vitro* antibacterial activity against *Helicobacter pylori*. With regard to the antibacterial activity of the extract and constituents of *R. trichocarpa* against *H. pylori*, the effect of traditional use of this plant for the treatment of gastritis is probably due to the suppression of *H. pylori* since the extract of *R. trichocarpa* particularly inhibits the growth of *H. pylori*. It could be a promising native herb treatment for patients with gastric complaints including gastric ulcer caused by *H. pylori*.

F) 伝統医薬からウイルス病治療薬の検索

XXII) Prophylactic Efficacy of Traditional Herbal Medicines against Recurrent Herpes Simplex Virus Type 1 Infection from Latently Infected Ganglia in Mice

J. of Dermatological Science **14**, 76-84, 1997

MASAHIKO KUROKAWA, MICHIO NAKANO, HARUO OHYAMA, TOYOHARU HOZUMI, SEIJI KAGEYAMA, TSUNEO NAMBA and KIMIYASU SHIRAKI

Traditional herbal medicines with anti-herpes simplex virus type 1 (HSV-1) activity *in vivo* were examined for their prophylactic effects on recurrent HSV-1 infection in mice. Mice were intradermally infected with HSV-1 in the pinna and recurrent HSV-1 disease was induced by ultraviolet irradiation. Herbal extracts arrested the progression of recurrent HSV-1 disease, reduced the incidence of severe erythema and/or vesicles in the pinna, and/or shortened the period of severe recurrent lesions compared with water-administered mice ($P < 0.01$ or 0.05). Similarly, the prophylactic treatment of herbal extracts limited the development of recurrent skin lesions induced by stripping with cello-

phane tape physically. The prophylactic efficacy on recurrence was confirmed by the absence of HSV DNA in the skin lesions. HSV-1 genome was revealed to exist in the trigeminal ganglia but not in pinna of latently infected mice before stimuli by a nested-polymerase chain reaction assay. After stimuli, HSV-1 genome was detected in both pinna and trigeminal ganglia of latently infected mice administered with water. However, prophylactic treatment decreased the rate of detection of HSV-1 genome in the stimulated pinna. Thus, the herbal extracts exhibited prophylactic efficacy against recurrent HSV-1 disease in mice and modulated the recurrent HSV-1 infection.

G) 抗糖尿病薬の開発

XXIII) Danshenols A and B, New Aldose Reductase Inhibitors from the Root of *Salvia miltiorhiza* Bunge

Chem. Pharm. Bull., **45** (3), 564-566, 1997

PURUSOTAM BASNET, RENA KASIMU, YASUHIRO TEZUKA, SHIGETOSHI KADOTA and TSUNEO NAMBA

Two new abietane-type diterpenoids, danshenols A (1) and B (2), were isolated from an MeOH extract of *Salvia miltiorhiza* Bunge, and their structures determined by chemical and spectroscopic methods including the 2D NMR technique. Danshenol A (1) showed strong inhibitory activity against aldose reductase isolated from the eye lens of rats.

XXIV) Tetrahydroswertianolin: A Potent Hepatoprotective Agent from *Swertia japonica* MAKINO

Chem. Pharm. Bull., **45** (3), 567-569, 1997

KOJI HASE, SHIGETOSHI KADOTA, PURUSOTAM BASNET, JIAN-XIN LI, SHUJI TAKAMURA and TSUNEO NAMBA

Tetrahydroswertianolin (1), a new tetrahydro-anthone glycoside, was isolated from the whole plant of *Swertia japonica* MAKINO (Gentianaceae). Its structure was determined by chemical and spectroscopic methods including 2D-NMR. This compound was found to be very effective in immunologically induced liver injury in mice.

学会発表及び講演等

1) 伏見裕利, 小松かつ子, 難波恒雄, 磯部正治:

Panax 属植物及びその関連生薬の遺伝子解析

(2) 18S rRNA 遺伝子に着目した MASA 法及び matK 遺伝子の塩基配列. 日本薬学会第117年会, 1997年3月26日, 於東京, 講演要旨集 2, p.119

→薬効解析センターの項参照

2) 小松かつ子, 佐藤利江, 李 曉波, 山路誠一, 難波恒雄: 「丹参」類の生薬学的研究. 日本薬学会第117年会, 1997年3月26日, 於東京, 講演要旨集 2, p.119

【目的】「丹参」は活血化瘀, 養血安神薬として婦人科系疾患, 不眠症, 狭心症に用いられ, また心疾患治療薬とされる「冠心二号方」などの主薬である。その基源は『中国薬典』にシソ科の *Salvia miltiorhiza* の根及び根茎であるとされるが, 他に *S. bowleyana*, *S. przewalskii* とその変種, *S. yunnanensis* なども報告されている。一方, 駆瘀血, 去風湿薬とされる「紅秦艽」も同属基源とされることから, 「丹参」の品質評価の一貫として両生薬の基源に関する研究を行った。

【実験及び結果】*S. miltiorhiza* (SM), *S. przewalskii* (SP), *S. yunnanensis* (SY), *S. deserta* (SD) の根を比較材料とした。「丹参」市場品には円柱状で赤茶色のものとやや円錐状で暗褐色, 空隙が目立つものの2タイプがあったことから, これらと同様な外形の SM と SP の根の各部位について内部形態の変化を検討した。SM の根の先端部 1/5 は一次組織のみで道管は放射状に配列し繊維がよく発達し, 内皮は環状をなす。中央部に向って二次木部が見られ, 内鞘にコルク層が現われ, 内皮は部分的に残り, さらに基部に向って一次木部は 2~3 部分に分かれ, 二次木部の道管周囲の繊維が増える。SP では通常形成層の外側に不定期な形成層が形成されるため, 二次木部の道管は接線方向に並んで観察され, さらに木部柔組織及び放射柔組織中にコルク形成層 (kix) が次々と新生されこれらが個々に環を形成するため木部は数部分に分断される。この構造は基部側ほど顕著である。根の中央部において, SY は SM に類似するが, 二次皮層中に厚壁細胞が散在し道管は小型, SD では二次木部の道管及び繊維が多く, kix が放射組織中に発達して各維管束が分離する傾向がある。市場品は SM が多く, 甘肅産「丹参」, 雲南産「紫丹参」及び四川産「紅秦艽」は SP, 「雲南丹参」は SY に由来していた。

3) 白 鋼, 藤原邦雄, 北川常広, 難波恒雄: 動物生薬牛黄, 地竜に対する抗血清の作成. 日本薬学会第117年会, 1997年3月, 於東京, 講演要旨集 2, p.120

【目的】動物生薬は数少ないが, その中に貴重な動物由来の生薬が使われているものもある。特に絶滅の恐

れのある野生動物の取引が規制されている現在, 複雑な漢方薬から特定な動物生薬の検出定量法は非常に重要である。我々は既に植物生薬に対する特異抗血清の作製を成功しており, それを応用して漢方薬に含まれる特定な生薬成分の定量ができています^{1,2)}。今回, 我々は動物生薬である牛黄, 地竜を用いて, それぞれに対する抗血清の作製を行った。

【実験】超音波破碎した牛黄及び地竜の粉末を用いて, 等量な Freund complete adjuvant と共にウサギの背部皮下に感作した。追加免疫を 2 週間毎に行い, 経時的に採血して, 抗原として使用した牛黄, 地竜で作製した固相抗原の ELISA を用いて力価検定を行った。最高力価に達した血清は抗牛黄及び抗地黄抗血清として, 今回使用した。

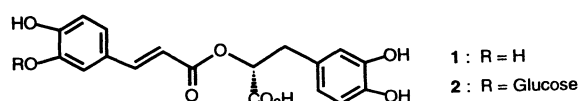
【結果及び考察】感作した 10 週間後に牛黄, 地竜それぞれに対する高い力価を示す抗血清が得られた。作製した二つの抗血清は他の 10 種類動物生薬に交差反応性を示さず, 特異的に感作した生薬のみに認識することが分かった。Western blot 及びゲルクロマトグラフィーを用いて精製を行った結果, 動物生薬に存在する抗原成分は高分子の蛋白成分と糖成分であることが確認された。これらの特異な抗原成分に対する抗血清を用いた免疫測定法は, 漢方薬から特定な動物生薬を検出して定量ができることを示唆するものとする。

【文献】1) T. Kitagawa et al., *Biol. Pharm. Bull.*, **19** (3), 355-340 (1996)

2) T. Kitagawa et al., *Biol. Pharm. Bull.*, **19** (6), 783-790 (1996)

4) 卡斯木熱娜, Basnet Purusotam, 手塚康弘, 門田重利, 難波恒雄: 新疆丹参 (*Salvia deserta* Schang. の根) の生理活性成分の研究. 日本薬学会第117年会, 1997年3月26日, 於東京, 講演要旨集 2, p.130

【目的】糖尿病合併症の発症, 進展には糖尿病によって引き起こされる高血糖状態の長期的持続が関与している。また, これらの合併症の一因としてポリオール代謝の関与が重要視されている。我々は, このポリオール代謝の律速酵素であるアルドース還元酵素に対する阻害活性を指標として和漢薬中の生理活性成分の検索を行っている。今回, 新疆丹参 (*Salvia deserta* Schang. の根) が強いアルドース還元酵素阻害活性を示したことから, その成分の検索を行った。



【実験及び結果】 新疆丹参 (*Salvia deserta* Schang. の根) のメタノールエキスを水に懸濁後酢酸エチルで抽出して、酢酸エチル可溶部と酢酸エチル不溶部に分けた。さらに酢酸エチル可溶部を MCI gel, Sephadex LH-20 等を用いて分離精製を行い、4種のポリフェノール類 (1-4) を単離した。化合物 1, 2 の構造は、各種スペクトルデータから、既知化合物の rosmarinic acid (1) 及び新化合物の rosmarinic acid 3'-O- β -glucopyranoside (2) と決定した。化合物 3, 4 の構造は、現在、検討中である。これら化合物の構造及びラット水晶体由来のアルドース還元酵素に対する阻害活性について報告する予定である。

5) 黒川昌彦, 中野道夫, 白木公康, 穂積豊治, 門田重利, 難波恒雄, 川名 尚: 伝統医薬エキスによるヘルペスウイルス (HSV) 自然回帰発症予防効果と抗 HSV 作用機序. 日本薬学会第117年会, 1997年3月27日, 於東京, 講演要旨集 2, p.144

【目的】我々は、これまで *in vitro* 抗ウイルス試験, マウス経皮感染系を用いて、約250種の伝統医薬エキスから単純ヘルペスウイルス (HSV) 感染症に治療効果を示す4種を選択した¹⁾。この4種は、マウス感染系において人の投与量に換算した投与量でアシクロビル (ACV) に相当する治療効果, ACV との併用効果, ACV 耐性株に対する抗 HSV 作用を示した²⁾。また、マウス, モルモットで紫外線誘発 HSV 回帰発症再発予防効果も示した。今回, モルモットの HSV 自然回帰発症系を用いて、エキスと水投与の交換 (crossover) 実験によりエキスの予防効果を確認し、さらに、エキスの抗 HSV 活性成分を同定し、その作用機序を検討した。

【実験, 結果及び考察】 HSV 自然回帰発症モルモットへのエキスの経口投与は、水投与に比べ病変の増悪回数, その期間を有意に減少した。また, crossover 試験では、水投与をエキス投与に換えることにより再発病変が軽減し、エキス投与を水投与にすることにより再発病変出現頻度が上昇した。エキスの抗 HSV 活性成分として同定した eugenin は、宿主蛋白合成に影響せずウイルス DNA 合成, 後期蛋白合成を阻害し, ACV-ホスホ酢酸 (PAA) 抵抗性 HSV 株の増殖も抑制した。この物質は、非拮抗的に精製 HSV DNA ポリメラーゼを阻害し、その阻害は宿主 DNA ポリメラーゼに対する阻害効果より強かった。したがって、人の投与量から換算したエキス量の経口投与により、HSV の再活性化の予防的治療が可能であることが確認できた。また、エキスには ACV, PAA とは異なる HSV DNA ポリメラーゼ阻害作用を示す物質が含まれている

ことが明らかとなった。これより、HSV 感染症に対する予防的治療薬としてエキスが臨床応用できる可能性が示唆された。

【文献】 1, 2) *Antiviral Res.*, **22**, 175 (1993); **27**, 19 (1995).

6) 熊 泉波, 長谷耕二, 門田重利, 難波恒雄: 肉蓯蓉 (*Cistanche Herba*) の生理活性成分の研究 (2) Phenylethanoid 配糖体の肝障害抑制作用について. 日本薬学会第117年会, 1997年3月27日, 於東京, 講演要旨集 2, p.148

【目的】我々は肉蓯蓉 (*Cistanche deserticola* の茎) から単離した配糖体の抗酸化作用を報告してきた¹⁾。今回, 最も強い抗酸化作用を示した4種の化合物 Acteoside, 2'-Acetylacteoside, Isoacteoside 及び Tubuloside B について、肝臓保護作用を検討した。

【方法】 (1) *In vitro* CCl₄ モデル: ラットの初代培養肝細胞は CCl₄ によって肝細胞障害を惹起した。細胞の脂質過酸化反応, 培地中 AST 濃度並びに細胞の生存率を測定した。 (2) *In vitro* D-Galactosamine (D-GalN)/lipopolysaccharide (LPS) モデル: マウスに D-GalN (700 mg/kg)/LPS (20 μ g/kg) を腹腔内注射し、肝障害を惹起した。D-GalN/LPS の注射した8時間後に血中 ALT 値を測定すると共にマウスの生存率も観察した。

【結果】4種の化合物はいずれも、ラット初代培養肝細胞における CCl₄ で誘発した脂質過酸化反応及び細胞壊死に対して、10-200 μ M の濃度で用量依存的な抑制作用を示した。これらの効果は Glycyrrhizin より強いものであった。Silymarin との比較で、これらの化合物は細胞の脂質過酸化反応を同程度抑制し、培地中 AST 上昇並びに細胞壊死についてはより強い抑制効果を示した。次に D-GalN/LPS モデルを用いて *in vivo* における効果を検討したところ、Acteoside は 10 mg/kg の皮下投与で血中 ALT の上昇を有意に抑制しマウスの生存率も著しく改善した。この作用は 100 mg/kg の Glycyrrhizin とほぼ同等であった。現在 4種の化合物の肝臓保護作用を詳細に検討中である。

【文献】 1) Q. B. Xiong et al, *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 1580-1585 (1996).

7) 金 東郁, 横澤隆子, 服部征雄, 門田重利, 難波恒雄: LDL の酸化における羅布麻葉 (*Apocynum venetum* L.) の関与. 日本薬学会第117年会, 1997年3月27日, 於東京, 講演要旨集 2, p.148

【目的】動脈硬化症の重要な因子として、酸化低密度リポタンパク (酸化 LDL) が注目されている。筆者らは昨年の本大会において、羅布麻葉水エキスに高コレ

ステロール血症低下作用を有することを報告したが¹⁾、本研究ではLDLの酸化における関与を検討した。

【方法】 Wistar系雄性ラット(体重約170g)を用い、高コレステロール食(1.0% cholesterol, 0.5% cholic acid)で20日間飼育した。その間、中国山東省で採取した羅布麻葉の未焙煎ならびに2回焙煎した水エキス(投与量, 70 mg/rat/day)を経口投与した。各種コレステロールは比色法で定量した。LDLは超遠心分離法にて分離し、0.15 M NaCl溶液(pH 7.4, 4°C)で透析した。LDLの酸化はKuzuyaらの方法に従い、透析したLDLに10 mM CuSO₄を添加して、37°Cで4時間インキュベーション後、生成したチオバルビツール酸反応物質(TBARS)をNaitoらの方法で測定した。

【結果】 羅布麻水エキスはLDLの酸化を著しく抑制し、この作用は焙煎したエキスで強力であった。また、血清遊離コレステロールとLDL-コレステロール、TBARSレベルの有意な低下と焙煎エキスにおいて肝組織中の総コレステロール量が有意に低下していた。

【結論】 羅布麻水エキスがLDLの酸化を抑制し、動脈硬化進展の予防に有意である可能性が示唆された。

【文献】 1) 金 東郁ら。羅布麻葉 (*Apocynum venetum* L.)に関する研究。—高コレステロール食投与ラットを用いての検討—。日本薬学会, 第116年会, 講演要旨集 2, p.192. 1996.

著書ならびに訳書等

- 1) 難波恒雄監修, 葉 橘泉原著, 澤田 正訳, 難波恒雄補訳, 矢数道明序:『医食同源の処方箋』, 中国漢方, 東京, 1997, pp.436
- 2) 難波恒雄編:『大地からの贈り物・生きている薬—ある大学研究室の軌跡』, 東方出版, 大阪, 1997, pp.257
- 3) 富山医科薬科大学和漢薬研究所難波恒雄教授退官記念事業会編:『フィールドとラボラトリーの狭間で—難波恒雄教授研究業績目録集—』, 富山医科薬科大学和漢薬研究所難波恒雄教授退官記念事業会, 富山, 1997, pp.435

総説その他雑報

- 1) 難波恒雄:病院薬剤師のための漢方製剤の知識, 黄連湯 重要構成生薬解説・乾姜, 日本病院薬剤師会雑誌, 33 (1), 101~102, 1997.
- 2) 難波恒雄:グラビア 天山山脈の薬物資源とウイグル医学 (3), 東洋医学, 25 (1), 4~5, 1997.
- 3) 難波恒雄:平成九年新年のことは, 医道の日本, 56 (1), 53, 1997.
- 4) 難波恒雄:平成9年新年のことは, 漢方の臨床,

44 (1), 50, 1997.

- 5) 難波恒雄:グラビア 天山山脈の薬物資源とウイグル医学 (4), 東洋医学, 25 (2), 4~5, 1997.
- 6) 難波恒雄:チベット医学を考える, 「立山のこころ」シンポジウム③, 「山が癒す—山の生命力と医学(富山県「立山博物館」報告書)」, 6-25, 46-59, 1997.
- 7) 難波恒雄:グラビア 天山山脈の薬物資源とウイグル医学 (5), 東洋医学, 25 (3), 4~5, 1997.
- 8) 難波恒雄:グラビア 天山山脈の薬物資源とウイグル医学 (6), 東洋医学, 25 (4), 4~6, 1997.
- 9) 難波恒雄:匂を食べる春の七種(七草), 和漢薬, 526, 1-11, 1997.
- 10) 難波恒雄:地球からの贈り物〔生きている薬・生薬〕その1, 大学での研究・教育を終えるにあたって, 漢方研究, 3, 4-8, 1997.
- 11) 山路誠一:第14回和漢医薬学会大会・見どころ聞きどころ, 薬事日報, 第8871号, 6-7, 1997.

講演等

- 1) 難波恒雄:風邪に用いる漢方薬あれこれ; 富山漢方会平成8年度第5回講演会, 1997, 1, 富山
- 2) 難波恒雄:健やかに生きるための食文化, 平成8年度上市町ふるさと町民学園, 1997, 2, 上市
- 3) 難波恒雄:フィールドとラボラトリーの狭間で, 退官記念最終講演, 1997, 2, 富山
- 4) 難波恒雄:健やかに生きるための食の知恵—未病医学の薬膳, 富山市池田地区食改善講座, 1997, 3, 富山
- 5) 小松かつ子:体験実習(1)~和漢薬鑑定に挑戦; 第2回和漢薬研究所夏期セミナー「和漢薬に触れる」, 1997, 7, 大山
- 6) 山路誠一:体験実習(2)~漢方薬作りを体験; 第2回和漢薬研究所夏期セミナー「和漢薬に触れる」, 1997, 7, 大山
- 7) 小松かつ子:野外で薬草を勉強する会; 富山県薬事研究所, 1997, 7, 立山
- 8) 山路誠一:チベット薬物と中薬について, 富山漢方会平成9年度第3回講演会, 1997, 10, 富山
- 9) S. YAMAJI: Coffee—An Overview from the Site of Asian Traditional Medicine, Nov., 1997, Faculty of Mathematics and Sciences, Padjadjaran Univ., Sumedang, INDONESIA
- 10) 小松かつ子:中国の仏教医学について—青海と敦煌を中心に—; アーユルヴェーダ研究会東京月例会, 1997, 12, 東京

国際会議及び調査活動に関連した海外出張

- 1) 小松かつ子：インド，インド産黄連の調査，1997年4月26日～5月7日
- 2) 小松かつ子：ベトナム・タイ・ミャンマー，「ベトナム・タイ・ミャンマーにおける伝統医学ならびに天然薬物資源の調査研究」，1997年9月6日～10月31日（科学研究費・国際学術，分担）

- 3) 山路誠一：インドネシア，「インドネシア伝統医学におけるアーユルヴェーダの影響について」，1997年11月3日～11月25日（日本学術振興会，拠点大学方式学術交流事業）

学会等

- 「第14回和漢医薬学会大会（大阪）」主催，1997年8月29日～31日（於大阪国際交流センター）