

平成 21 年 4 月 8 日現在

研究種目：若手研究 (B)  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18790102  
 研究課題名 (和文) 中国東北地区絶滅危惧種薬用植物の化学的研究  
 研究課題名 (英文) Chemical study on endangered medicinal plants in northeastern Region of China  
 研究代表者  
 李 巍 (Li Wei)  
 東邦大学・薬学部・准教授  
 研究者番号：90328633

## 研究成果の概要：

本研究は中国東北地区の絶滅危惧種薬用植物の生物多様性の保護と科学的利用を目的とし、絶滅緊急度の大きい、生薬利用量の多い、化学的研究の少ないことを考慮して、刺五加を選び、その化学成分の解明と生物活性について研究を行った。刺五加の葉および果実から各種クロマトグラフィーより新規化合物 4 種を含む計 31 種のトリテルペノイドサポニン成分を単離し、構造決定した。これら成分は臍リパーゼおよび $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を有することも明らかにした。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	700,000	0	700,000
2007 年度	300,000	0	300,000
2008 年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	1,300,000	90,000	1,390,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・環境系薬学

キーワード：薬用植物、絶滅危惧種、化学成分

## 1. 研究開始当初の背景

多くの医薬品が天然由来、または天然物の誘導体である。四千年以上の歴史をもつ中国の伝承医学には一万種以上の薬用植物が用いられ、その中から新規医薬品の創製が大きく期待される。これら薬用植物のうち、わずか 20% が栽培され、残りは野生資源に頼っている。しかしながら近年中国は経済の高速成長の反面、自然環境が大きく破壊され、多くの薬用植物種が減少しつつまたは絶滅に近い状態になっている。今は既に 168 種の薬用植

物が「中国植物レッドデータブック：絶滅危惧種植物」に記載されている。そのうち、46 種が 2005 年版「中国薬典」(薬局方) の収載品種でもある。これら絶滅危惧種薬用植物の保護または科学的利用は中国だけではなく、中国から多くの生薬を輸入する日本にとっても非常に重大な緊急課題である。遼寧省、吉林省と黒竜江省からなる中国東北地区には、長白、華北、モンゴル、大興安嶺植物区系が分布される。1200 種以上の薬用植物のうち、約 40 種類が絶滅危惧種である。

## 2. 研究の目的

本研究は中国東北地区の絶滅危惧種薬用植物の生物多様性の保護と科学的利用を目的とし、絶滅緊急度の大きい、生薬利用量の多い、化学的研究の少ないことを考慮して、刺五加 (*Acanthopanax senticosus*) を選び、その化学成分を解明し、さらに伝承治療効果に基づき単離成分の生物活性を明らかにする。

## 3. 研究の方法

1) 刺五加 (*A. senticosus*) 葉の成分単離 : 中国黒竜江省阿城にて採集した刺五加葉(乾燥重量 2.7Kg)を室温にて 70%EtOHで抽出を行い、得られたエキス(423g)を水と *n*-BuOHにて分配操作を行い、得られた *n*-BuOH画分(94g)をDiaion HP-20 に吸着後、30%, 60%, 80%, 100% MeOHにて順次溶出した。80%と 100% MeOH溶出画分を合わせて得られた画分 (36g) を CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(60:20:3, 60:29:6, 60:40:10)を溶出溶媒として順相silica gelオープンカラムクロマトグラフィーにて、60%-70%MeOHを溶出溶媒として逆相ODSオープンカラムクロマトグラフィーにて分離により、いくつかサポニン画分を得た。各サポニン画分を更に 30-37%CH<sub>3</sub>CNを溶出溶媒として、分取HPLCにより分離精製を行い、15種のトリテルペノイドサポニン成分を単離した。得られた成分をMS, NMRなど機器分析により構造解析を行った。

2) 刺五加 (*A. senticosus*) 果実の成分単離 : 中国黒竜江省牡丹江にて採集した刺五加果実(乾燥重量 1.4Kg)を室温にて 70%EtOHで抽出を行い、得られたエキス(500g)を水と EtOAc, *n*-BuOHにて分配操作を行い、得られた *n*-BuOH画分(62g)をDiaion HP-20 に吸着後、0%, 50%, 100%MeOHにて順次溶出した。100%MeOH溶出画分 (18g) を CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(60:20:3, 60:29:6, 60:40:10)を溶出溶媒として順相シリカゲルオープンカラムクロマトグラフィーにて分離し、画分 1 と 2 を得た。画分 1 は 3%AcOH を含まれた 60%-90%MeOHを溶出溶媒として、分取HPLCにより分離精製を行い、7種のトリテルペノイドサポニン成分を単離した。画分 2 は 3%AcOH を含まれた 33-40%CH<sub>3</sub>CNを溶出溶媒として、分取HPLCにより分離精製を行い、9種のトリテルペノイドサポニン成分を単離した。得られた計 16種の成分をMS, NMRなど機器分析により構造解析を行った。

3) 蔞リパーゼ阻害活性の評価 : 蔞リパーゼ活性は triolein から oleic acid の放出速度により測定した。Triolein (80mg), lecithin (9mg) と taurocholic acid (5mg) を 0.1M NaCl を含まれた 0.1M *N*-tris(hydroxymethyl)

methyl-2-aminoethanesulfonic acid (TES) buffer (pH 7.0) に溶解し、超音波下 5 分間懸濁した。上記調製した懸濁液(0.05mL)に蔞リパーゼ(0.05mL)、各濃度のサンプル(0.1mL)を加え、最終反応体積を 0.2mL とした。上記反応液を 37°Cにて 30 分間反応させた。Oleic acid の放出量は Zapf 法に従い測定した。

## 4. 研究成果

1) 刺五加葉の化学成分および蔞リパーゼ阻害活性 : 刺五加葉の単離精製により、15種の化合物を単離した。これら化合物は各種スペクトル解析および化学変換により、図1の示すよう構造を決定した。そのうち、化合物 **17** と **13** は新規化合物であり、化学構造はそれぞれ 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranosyl-30-norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid 28-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-6-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl ester、3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranosyl-olean-12-en-28-oic acid 28-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-6-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl ester、3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranosyl-3β-hydroxyolean-12-ene-28,29-dioic acid であり、acanthopanaxoside A, B, C と命名した。既知化合物taurososide H<sub>1</sub> (**11**) と sessilside (**14**) はエゾウゴキより単離されたことは初めての報告である

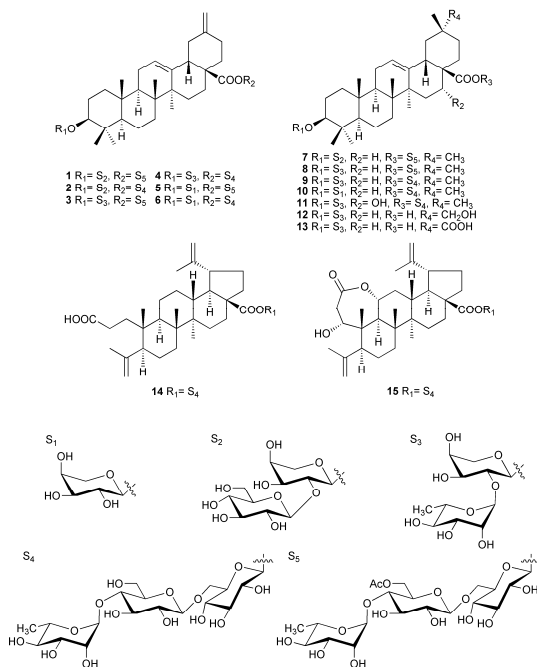


図1 刺五加葉の化学成分

単離した化合物は腓リパーゼに対する作用を評価したところ、図2に示す結果を得た。化合物**6,11,12,13,14,15**は腓リパーゼ阻害活性を示すことに対し、化合物**3,5,8,9,10**は腓リパーゼ活性を促進した。エゾウゴキの腓リパーゼに対する報告はこれが初めてである。

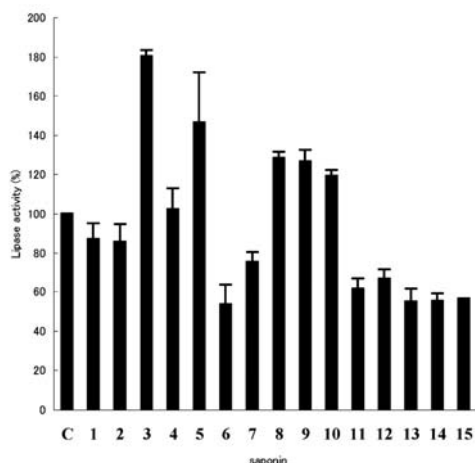
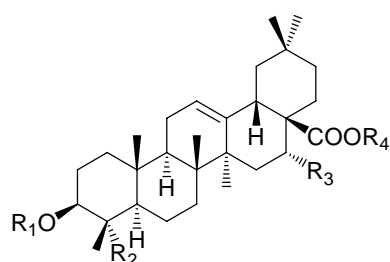


Figure 1. Effects of various saponins isolated from *A. senticosus* on pancreatic lipase activity. Results are expressed as means  $\pm$  SEM of three experiments. (C: control; 1–15: saponins 1–15; final concentration: 1 mg/mL).

## 図2 刺五加葉の化学成分の腓リパーゼに対する作用

2) 刺五加果実の化学成分および腓リパーゼ阻害活性：刺五加果実の単離精製により、16種の化合物を単離した。これら化合物は各種スペクトル解析および化学変換により、図3の示すよう構造を決定した。そのうち、化合物**1**は新規化合物であり、その化学構造は3-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl echinocystic acid 28-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosideであり、acanthopanaxoside Eと命名した。既知化合物silphioside F (**2**)、hederagenin 3-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside 6'-*O*-methyl ester (**4**)、gypsogenin 3-*O*- $\beta$ -D-glucuronide (**5**)、silphioside G (**6**)、ilexoside XLVIII (**7**)、hederagenin 3-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl methyl ester-28-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**8**)、3-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl gypsogenin 28-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**9**)、hederagenin 28-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**10**)、hemsgiganoside B (**11**)、anhuienside C (**12**)の単離は*Acanthopanax*属より初めての報告である。一方、単離した化合物の腓リパーゼに対する作用を評価し、図4に示す結果を得た。化合物**2-5**は腓リパーゼ阻害活性を示し、IC<sub>50</sub>値は表1に示した。単離したトリテルペノイドのアグリコン28位の遊離カルボン酸は阻害活性に重要であることを示唆した。



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
1	GlcA	CH <sub>3</sub>	OH	Glc
2	GlcA	CH <sub>2</sub> OH	H	H
3	6-O-methyl-GlcA	CH <sub>2</sub> OH	H	H
4	GlcA	CH <sub>3</sub>	H	H
5	GlcA	CHO	H	H
6	GlcA	CH <sub>2</sub> OH	H	Glc
7	6-O-methyl-GlcA	CH <sub>2</sub> OH	H	Glc
8	GlcA	CHO	H	Glc
9	GlcA	CH <sub>3</sub>	H	Glc
10	H	CH <sub>2</sub> OH	H	Glc
11	GlcA	CH <sub>3</sub>	H	Glc-(1→6)-Glc
12	Rha-(1→2)-Ara	CH <sub>3</sub>	H	Glc-(1→6)-Glc
13	Ara	CH <sub>3</sub>	H	Rha-(1→4)-Glc-(1→6)-Glc
14	Rha-(1→2)-Ara	CH <sub>3</sub>	H	Rha-(1→4)-Glc-(1→6)-Glc
15	Rha-(1→4)-Ara	CH <sub>3</sub>	H	Rha-(1→4)-Glc-(1→6)-Glc
16	Glc-(1→2)-Ara	CH <sub>3</sub>	H	Rha-(1→4)-Glc-(1→6)-Glc

図3 刺五加果実の化学成分

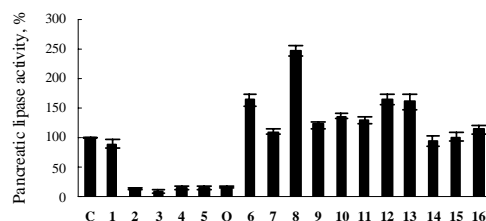


図4 刺五加葉の化学成分の腓リパーゼに対する作用

Substance	IC <sub>50</sub> (mM)
<b>2</b>	0.22
<b>3</b>	0.25
<b>4</b>	0.26
<b>5</b>	0.29
Orlistat	0.04

The results are expressed as mean  $\pm$  S.E.M., *n* = 4.

表1 刺五加葉の化学成分の腓リパーゼに対する作用

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① Fang Li, Wei Li, Hongwei Fu, Qingbo Zhang, Kazuo Koike, Pancreatic lipase-inhibiting triterpenoid saponins from fruits of *Acanthopanax senticosus*, *Chemical*

& *Pharmaceutical Bulletin*, 55,  
1087-1089 (2007). 査読有

- ② Wenhong Jiang, Wei Li, Likun Han,  
Lijuan Liu, Qingbo Zhang, Shujie  
Zhang, Tamotsu Nikaido, Kazuo  
Koike, Biologically active  
triterpenoid saponins from  
*Acanthopanax senticosus*, *Journal of  
Natural Products*, 69, 1577-1581  
(2006). 査読有

6. 研究組織

(1) 研究代表者

李 巍 (LI WEI)

東邦大学・薬学部・准教授

研究者番号：90328633

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし