

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 7 日現在

機関番号：34306  
 研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2009～2011  
 課題番号：21590031  
 研究課題名（和文） エジプト産天然薬物を素材としたメタボリックシンドローム予防物質の探索  
 研究課題名（英文） Search for protective compounds from Egyptian traditional medicines on metabolic syndrome  
 研究代表者  
 吉川 雅之（Yoshikawa Masayuki）  
 京都薬科大学・薬学部・教授  
 研究者番号：90116129

研究成果の概要（和文）：本研究では、世界最古と言われるエジプト天然薬物に着目し、糖尿病や肥満に対する新規医薬品シード化合物の探索研究を行うことを目的としている。この研究過程で、特にモロヘイヤ（*Corchorus olitorius*, 葉部）のエキスおよび含有成分に抗糖尿病（PPAR $\gamma$  アゴニスト様）作用を有することを見出した。また、エジプト伝承薬 *Anastatica hierochuntica*, *Citrullus colocynthis*, *Bryonia cretica*, *Cyperus longus* から多数の成分を単離した。

研究成果の概要（英文）：We focused Egyptian traditional medicine and have researched the active constituents for therapeutics of metabolic syndrome. As the results, the extract and the constituents from Egyptian moroheiya (the leaves of *Corchorus olitorius*) were found to show an anti-diabetic (PPAR $\gamma$  agonist-like) effect. In addition, many constituents were isolated from Egyptian traditional medicines, *Anastatica hierochuntica*, *Citrullus colocynthis*, *Bryonia cretica*, and *Cyperus longus*.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：エジプト天然薬物・メタボリックシンドローム・伝承薬物・抗肥満作用・

抗糖尿病作用・PPAR $\gamma$ アゴニスト様活性・3T3-L1細胞

## 1. 研究開始当初の背景

現代社会において豊かな食生活の中で動物性食品の摂取増加あるいは偏食や過剰栄養から、ここ数十年来欧米諸国のみならず全世界的に糖尿病や高脂血症などの生活習慣病が深刻さを増している。日本においても、生活習慣の変化に伴いこれら生活習慣病の

罹患者が急増しており、現在では糖尿病と診断された患者が200万人、糖尿病が強く疑われる人や、可能性を否定できない人を含めると2,100万人以上と推計されている。糖尿病をはじめとした生活習慣病のリスクファクターとして、最も認知されている疾病のひとつに肥満症があり、糖尿病および肥満症の治

療や予防に対する社会のニーズは高い。

一方、エジプト文明は 7,000 年におよぶ世界最古の歴史を有し、多数の伝承薬物の存在が知られている。古代エジプトにおいて、ファラオをはじめとする王侯貴族は現代人と同様の飽食の状態にあり、肥満となり糖尿病などの生活習慣病で苦しんでいたことが各種のパピルスなどに記録されている。その治療のために“王家の薬（ファラオ薬物）”と呼ばれる特別な薬が用いられたことが最近の発掘調査によって明らかとなっている。ファラオ薬物については、土俗医、生薬師、街角での薬売りによって現在まで伝えられているが、中医学をはじめとした世界各地の伝統医学とは異なり、体系づけられた医学書や記述などの情報に乏しく、また伝承薬物の薬理的証明や含有成分の化学的研究などの科学的調査研究は殆ど行われていない。すなわち、エジプト天然薬物は医薬品素材として現代においても依然繁用されているにも関わらず、その詳細は未解明な研究素材が多く、新たな医薬シード化合物の開拓が期待される。

## 2. 研究の目的

本研究においては世界最古と言われるエジプト天然薬物に着目し、新しいコンセプトによる糖尿病や肥満に対する新規医薬品シード化合物の開拓あるいは機能性素材の開発を志向した探索研究を実施する。未解明のエジプト天然薬物から糖尿病や肥満症予防に有効と判断される伝承薬物および薬用食物について、研究材料の確保を行う。活性成分に化学修飾を加えるなどした誘導体や関連化合物の活性を比較検討し、活性発現の必須構造など構造上の特徴と薬理活性との関連性を明らかにするのみならず、RT-PCR 法などによるメタボリックシンドローム関連遺伝子の解析などによって作用メカニズムの解析を行うことによって、肥満症や糖尿病予防に有効な医薬品リード化合物の開拓を行う。

メタボリックシンドロームの予防や治療には長期連用に耐え副作用が少なく、QOL の低下することのない医薬品の開発が必要とされている。そこで、本研究では、研究対象とする薬用資源として、古代から医学体系が確立されているエジプト伝承薬において肥満、糖尿病、動脈硬化などに有効と解釈される薬効が伝承され、使用経験が長く、高い安全性が期待でき、かつ伝承薬効が確実な薬用植物に着目して、申請者らが構築したアッセイ系を応用して肥満や糖尿病に有効な物質を効率よく探索することに特色を有している。また、申請者らは、同じ研究室内で化学と薬理学の両面から密接に連携して研究を遂行しており、活性物質の探索、構造決定と

薬効解明、構造と活性相関、作用メカニズム解析、化学合成などの研究内容の全てを自前で行う点に特長があると言える。

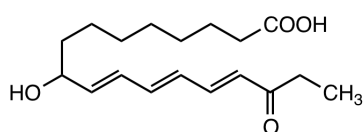
## 3. 研究の方法

これまでのエジプト現地調査ならびに現地協同研究者や協力者から入手した約 50 種の糖尿病や肥満症予防に有効と判断されるエジプト天然薬物の抽出エキスについて、他段階スクリーニングを実施し、候補素材を絞り込む。すなわち、抗糖尿病シーズの探索については、(1) 少数匹、少数群での *in vivo* における糖負荷ラットにおける血糖値上昇抑制作用試験を実施し、有望素材をピックアップする。(2) *in vitro* スクリーニング ( $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性、アルドース還元酵素阻害活性、後期糖化産物 (AGEs) 産生抑制活性、インスリン抵抗性形成抑制活性、PPAR $\gamma$  アゴニスト様活性) において有望な素材を見出す。同様に抗肥満症シーズの探索についても、(1) オリーブ油負荷ラットにおける血中中性脂質上昇抑制作用 (*in vivo* による絞り込み)、(2) 膵リパーゼ阻害活性、細胞脂肪分解作用、脂肪細胞分化抑制作用、PPAR $\alpha$  アゴニスト様活性スクリーニング (*in vitro*) による候補素材の探索を実施する。絞り込んだ薬用植物のうち 5 種類について活性成分の探索を実施する。すなわち、エキスレベルでの活性発現の寄与率の高い主要成分や活性を指標に溶媒分画、各種カラムクロマトグラフィーおよび HPLC による分離、精製を進め、微量活性成分を見出す。得られた化合物について、NMR を中心とした各種分析機器 [FT-IR、旋光度、UV 測定器、CD 測定器、EI-MS、FAB-MS、GC-MS、X 線結晶解析器] により構造解析を行う。さらに、発見した活性物質から化学修飾した誘導体や関連化合物の活性を比較検討して、活性発現の必須構造などの構造と活性相関を解析するとともに、顕著な活性を示す化合物についてその作用メカニズムを解明することによって新しい抗肥満・抗糖尿病薬開発のためのシード化合物あるいはリード化合物の開発をめざす。

## 4. 研究成果

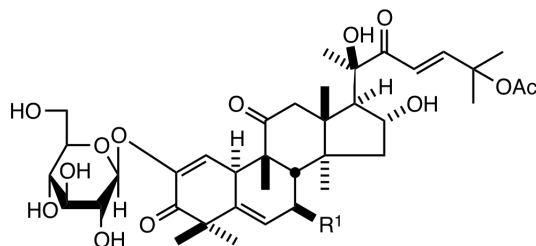
エジプト現地調査ならびに現地協同研究者や協力者から入手したエジプト産天然薬物のバイオアッセイを実施し、有効な抗糖尿病・抗肥満作用を探索した。この研究過程で、特にモロヘイヤ (*Corchorus olitorius*, 葉部) のエキスおよび含有成分に抗糖尿病 (PPAR $\gamma$  アゴニスト様) 作用を有することを見出した。また、エジプト伝承薬 *Anastatica hierochuntica*, *Citrullus colocynthis*, *Bryonia cretica*, *Cyperus longus* から多数の成分を単離した。

(1) モロヘイヤは、一年生草本のタイワソナソ (学名 *Corchorus olerarius*) という植物の葉や幼茎などの食用部位を指す日本における通称 (一般名) であるが、最近ではタイワソナソに代わって植物の和名 (日本名) になっている。現在、エジプトを中心に、中東、アフリカ地域、インド、東南アジアなどで野菜として広く栽培されている。古代エジプトで重病の王を治癒したとか、クレオパトラも賞味したなどと伝承されているが、一般には強壮効果が伝承されている。また、栄養面でもβ-カロチンやビタミン B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>をはじめ、カルシウム、鉄、カリウムといったミネラル (無機栄養素) を多量に含んでいるため、優れた健康野菜であると言われている。モロヘイヤなどの緑黄色野菜に抗糖尿病や肥満の改善効果があると言われているが、その活性成分や作用メカニズムの解明など科学研究は十分とは言えない。合成糖尿病治療薬のうち、インスリン抵抗性改善薬として知られている pioglitazone などのチアゾリジン誘導体は核内受容体 PPAR $\gamma$  の強力なアゴニストで、主に脂肪細胞における PPAR $\gamma$  に作用することによってインスリン抵抗性を改善すると考えられており、特に、血中アジポネクチン濃度を上昇させ、これが糖代謝異常の改善に繋がっていることが明らかとなっている。私たちは PPAR $\gamma$  アゴニストが脂肪前駆細胞 3T3-L1 の脂肪細胞への分化を促進し、細胞中の中性脂質 (TG) の蓄積やアジポネクチンの産生を増加させることに着目し、天然薬物を素材とした抗糖尿病物質の探索を進めてきた。この研究過程でモロヘイヤ抽出エキスに TG の蓄積を指標とした PPAR $\gamma$  アゴニスト様活性を見出した。そこで、モロヘイヤのメタノール抽出エキスから酢酸エチル可溶性分画、ブタノール可溶性分画および水可溶性分画を調製し、同様の試験を行った。その結果、酢酸エチル可溶性分画に活性の集約が認められた。活性分画である酢酸エチル可溶性分画について糖の取込促進活性について検討する目的で <sup>3</sup>H-2-deoxyglucose の細胞内への取込能を検討した結果、10  $\mu$ g/mL で有意な促進活性が認められた。同様に培養液中のアジポネクチン濃度についても有意な増加が認められた。次に、酢酸エチル移行部について順相シリカゲル、逆相 ODS クロマトグラフィー、HPLC を用いて繰り返し分離精製したところ、不飽和脂肪酸 corchorifatty acid A-F やヨノン配糖体などを単離することができた。



Corchorifatty Acids A

(2) ウリ科植物 *Bryonia cretica* および *Citrullus colocynthis* はエジプトなどの中近東地域に広く分布しており、抗糖尿病などを目的に用いられている。そこで、*C. colocynthis* 果実および *B. cretica* 根部の含有成分の探索を行ったところ、ククルビタン型トリテルペン配糖体 cucurbitacin E 2-O- $\beta$ -D-glucopyranoside など数種のククルビタン型トリテルペン類を見出した。また、本研究過程において、cucurbitacin E が強力な細胞増殖抑制活性を示すことを明らかにすることができた。



Cucurbitacin E 2-O- $\beta$ -D-glucopyranoside

(3) アブラナ科 (Cruciferae) 植物 *Anastatica hierochuntica* は、一年生植物で主にサハラ砂漠などに分布し、エジプト民間薬としてその全草は難産や子宮出血などの婦人病の治療に有効であると言われている。その含有成分の探索を行ったところ、isosilybin A など数十種の化合物を単離することができた。また、本研究過程において、isosilybin A などシリピン類、フラボノイド類およびリグナン類の強いメラニン生成抑制作用、チロシナーゼ酵素阻害作用が認められた。

(4) その他、その他、エジプト産天然薬物であるシペルス (*Cyperus longus*) 全草および乳香 (*Boswellia carterii*) 樹脂からスチルベンダイマー、テルペン類を単離するとともに、それらの成分に抗アレルギー作用、一酸化窒素産生抑制作用があることを見出した。

#### 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 5 件)

① Toshio Morikawa, Hideo Oominami, Hisashi Matsuda, Masayuki Yoshikawa: New terpenoids, olibanumols D-G, from traditional Egyptian medicine olibanum, the gum-resin of *Boswellia carterii*. *J. Nat. Med.*, 査読有, **65**, 129-134 (2011). DOI 10.1007/s11418-010-0472-z

② Toshio Morikawa, Hideo Oominami,

Hisashi Matsuda, Masayuki Yoshikawa: Four new ursane-type triterpenes, olibanumols K, L, M, and N, from traditional Egyptian medicine olibanum, the gum-resin of *Boswellia carterii*. *Chem. Pharm. Bull.*, 査読有, **58**, 1541-1544 (2010).

DOI:10.1248/cpb.58.1541

- ③ Toshio Morikawa, Fengming Xu, Hisashi Matsuda, Masayuki Yoshikawa: Structures of novel norstilbene dimer, longusone A, and three new stilbene dimers, longusols A, B, and C, with antiallergic and radical scavenging activities from Egyptian natural medicine *Cyperus longus*. *Chem. Pharm. Bull.*, 査読有, **58**, 1379-1385 (2010).

DOI:10.1248/cpb.58.1379

- ④ Hisashi Matsuda, Souichi Nakashima, Osama Bashir Abdel-Halim, Toshio Morikawa, Masayuki Yoshikawa: Cucurbitane-type triterpenes with anti-proliferative effects on U937 cells from an Egyptian natural medicine, *Bryonia cretica*: structures of new triterpene glycosides, bryoniaosides A and B. *Chem. Pharm. Bull.*, 査読有, **58**, 747-751 (2010).

DOI: 10.1248/cpb.58.747

- ⑤ Souichi Nakashima, Hisashi Matsuda, Yoshimi Oda, Seikou Nakamura, Fengming Xu, Masayuki Yoshikawa: Melanogenesis inhibitors from the desert plant *Anastatica hierochuntica* in B16 melanoma cells. *Bioorg. Med. Chem.*, 査読有, **18**, 2337-2345 (2010).

DOI:10.1016/j.bmc.2010.01.046

[学会発表] (計6件)

- ① 吉川雅之: 薬食同源の視点から薬用食品の生体機能成分の探索 - エジプトニガウリの細胞増殖抑制活性成分と標的分子の解明. 第 61 回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2011 年 10 月 22 日, 神戸学院大学 (兵庫県).
- ② 吉川雅之: 新規抗がん剤の開発を目指して - ククルビタン型トリテルペンの細胞増殖抑制活性と標的分子の解明 - . 日本生薬学会第 58 回年会, 2011 年 9 月 24 日, 昭和大学 (東京都).
- ③ 吉川雅之: アンザンジュ (*Anastatica hierochuntica*) のメラニン産生抑制活性成分. 第 27 回和漢医薬学会大会, 2010 年 8 月 29 日, 京都薬科大学 (京都府).

- ④ 吉川雅之: ファラオ天然薬物マリアハンド (*Anastatica hierochuntica*) のメラニン産生抑制活性成分. 第 28 回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2009 年 11 月 25 日, 東京大学 (東京都).

- ⑤ 吉川雅之: エジプト産モロヘイヤの脂肪細胞分化促進活性. 第 3 回食品薬学シンポジウム, 近畿大学 (大阪府), 2009 年 11 月 13 日, 近畿大学 (大阪府).

- ⑥ 吉川雅之: ファラオ天然薬物マリアハンド (*Anastatica hierochuntica*) のメラニン産生抑制活性成分と作用様式. 第 3 回食品薬学シンポジウム, 2009 年 11 月 12 日, 近畿大学 (大阪府).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

吉川 雅之 (YOSHIKAWA MASAYUKI)

京都薬科大学・薬学部・教授

研究者番号: 90116129

### (2) 研究分担者

松田 久司 (MATSUDA HISASHI)

京都薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号: 40288593

中村 誠宏 (NAKAMURA SEIKOU)

京都薬科大学・薬学部・助教

研究者番号: 20411035