

地黄の生理活性成分に関する研究 (I) 乾地黄から得られたモルモット心機能抑制成分

瀬戸 隆子,*^{a)} 秋山 和幸,^{a)} 砂金 信義,^{b)} 久保田和彦^{b)}

^{a)}東京都立衛生研究所理化学部医薬品研究科, ^{b)}東京理科大学薬学部薬理学教室

Studies on the bioactive constituents in Jio (Di-huang) (I) Isolation of a suppressive component for the guinea pig heart function from Kan-jio (Gan-di-huang)

Takako SETO,*^{a)} Kazuyuki AKIYAMA,^{a)} Nobuyoshi SUNAGANE^{b)} and Kazuhiko KUBOTA^{b)}

^{a)}Department of Pharmaceutical Sciences, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

^{b)}Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Science University of Tokyo

(Received May 28, 1991. Accepted September 17, 1991.)

Abstract

Jio (Di-huang, 地黄) is the root of *Rehmannia glutinosa* in China. The roots are processed and divided into some classes of Jio having their own clinical uses; Sen-jio (Xian-di-huang, fresh material), Kan-jio (Gan-di-huang, sun-dried or heat-dried material of Sen-jio) and Juku-jio (Shu-di-huang, steamed with liquor and sun-dried material of Kan-jio).

We found the suppressive effect on the heart function of guinea pigs in methanolic extract of Kan-jio, and isolated the active component by chromatographic fractionations and identified it as adenosine by spectroscopic methods.

Adenosine contents of Sen-jio (sliced and air-dried), Kan-jio and Juku-jio were 0.11 mg/g, 0.15 mg/g and trace (0.005-0.05 mg/g), respectively. A decrease of adenosine content in processing was observed, and this result is thought to be a factor which corresponds to different applications of Kan-jio and Juku-jio in China.

We also measured adenosine amounts of crude drugs prescribed in Hozai applied to the circulatory system disease in addition to Jios. Adenosine content was almost fixed at the same kind of crude drugs. Adenosine was not a specific component but had a relatively limited distribution in crude drugs.

Key words 地黄, Jio (Di-huang), *Rehmannia*, adenosine, determination, crude drugs.

Abbreviations HPLC, high performance liquid chromatography; FAB, fast atom bombardment-mass spectrometry; NMR, nuclear magnetic resonance; TLC, thin layer chromatography; Jio (Di-huang), 地黄; Kan-jio (Gan-di-huang), 乾地黄.

緒 言

地黄は神農本草経に乾地黄として記載されて以来
常用される生薬¹⁾で、中国ではカイケイジオウ *Rehmannia glutinosa* LIBOSCH の根茎を用い、生のま
まのものを鮮地黄、鮮地黄を陽干したものを乾地黄

(生地黄)、酒を加えて蒸して仕上げたものを熟地黄
と称している。この修治法の異なる3種の地黄は効
能も鮮地黄は「清熱涼血」、乾地黄は「涼血滋陰」
そして熟地黄は「補血滋陰」と臨床上区別して使用
され、六味地黄丸、八味地黄丸、四物湯、炙甘草湯
には熟地黄を用いている²⁾。これに対し日本では古来
アカヤジオウ *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea*

*〒169 東京都新宿区百人町3-24-1
24-1, 3-chome, hyakunin-cho, shinjuku-ku, Tokyo
169, Japan

Journal of Medical and Pharmaceutical Society for
WAKAN-YAKU 8, 115-124, 1991

MAKINO を用いていたが、現在はほとんど使われておらず、大部分中国産あるいは韓国産の熟地黄または乾地黄両者が上記の処方中使用されている。

近年成分が明らかにされてきているが、生理活性としては、現在までに利尿・瀉下作用が catalpol³⁾ に、血糖降下作用が rehmannioside D⁴⁾、rehmannan A, B, C 及び D⁵⁾ に、連続ストレス負荷マウスの学習行動を改善する作用⁶⁾ が catalpol 及び aucubin に、膀胱及び尿道平滑筋収縮作用⁷⁾ が rehmannioside B に、免疫抑制作用⁸⁾ 及び 5-リボシゲナーゼ阻害作用⁹⁾ が phenethyl alcohol 配糖体に、アルドースリダクターゼ阻害作用が phenethyl alcohol 配糖体¹⁰⁾ 及び ajugol 誘導体¹¹⁾ に報告されている。一方、成分は確定されていないが、血行停滞改善作用の報告¹²⁾、テストステロン 5 α -リダクターゼ阻害作用の報告¹³⁾ が、また、古いものではあるが強心作用や血管に対する作用の報告¹⁴⁾ がある。中医学で乾地黄の効能とされる「清熱涼血」の中には血圧降下や血流減少などの作用が含まれ、また、熟地黄の効能とされる「補血」によって改善される「血虚」の病状には息切れ、動悸などがふくまれる²⁾ ので、地黄には心臓血管系に作用する成分の存在が予想された。今回、神経薬理学的なスクリーニング及びその後の検討の結果、モルモット摘出心耳（左心房）の心機能を抑制する作用が見出された。乾地黄からその活性成分の検索を行い、新たな活性成分として adenosine を明らかにしたので報告する。

材料と方法

(1) 実験材料：鮮地黄 A 1988 年韓国産カイケイジオウとして入手。鮮地黄 B 1988 年長野産カイケイジオウとして入手。鮮地黄 C 1989 年大和産カイケイジオウとして入手。乾地黄 A 1988 年東京市場品、中国産長身 2 等品と称される。径 15~30 mm、長さ 5~8 cm 程度の紡錘形でやや柔らかく、一部団子状に丸められている。外面は黒褐色で所々白みがかり切断面は暗黒紫色を呈する。本品を活性成分単離に用いた。乾地黄 B~E 1988 年中国産として輸入業者から入手。熟地黄 A 1988 年香港京市場品。中国産として入手。熟地黄 B 中国産 1988 年輸入業者から入手。熟地黄 C 中国華南産 1988 年輸入業者から入手。熟地黄 D~E 韓国産 1988 年輸入業者から入手。その他の生薬 市場品及び採集品各種。

(2) 生理活性スクリーニング用試料の調製：Fig.

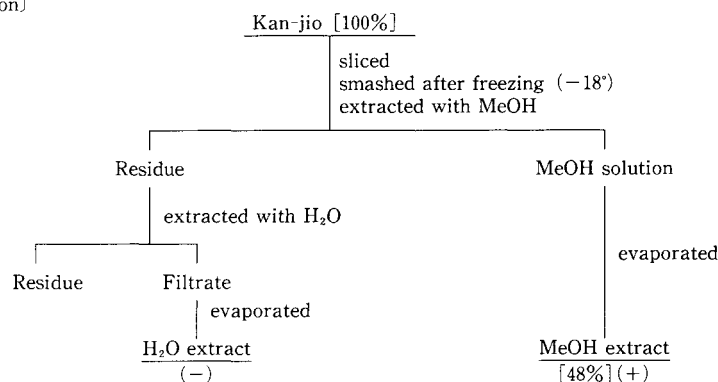
1 に示すように乾地黄 A の薄切りを冷凍（-18℃）して粉碎し 120 g をとり、4 倍量のメタノールを加え、40℃で超音波を 1 時間照射し、一夜放置後ろ過、減圧下溶媒除去後減圧下五酸化リンで乾燥しメタノールエキスとした。収率は 48%。残渣にさらに水 500 ml を加え、同様に抽出し、濃縮・乾燥して水エキスとした。更に、メタノールエキス 500 mg を水 10 ml に溶解し、酢酸エチル 20 ml で 3 回振とう抽出し、酢酸エチル層は合して水 5 ml で洗い、洗液は水層に合し、各々濃縮・乾燥し、酢酸エチル可溶画分及び酢酸エチル不溶画分とした。また、酢酸エチルを *n*-ブタノールに代え同様に操作して、ブタノール可溶画分及びブタノール不溶画分とした。catalpol 及び aucubin：和光純薬製、生薬試験用標準品。以上の試料はすべて水に溶解あるいは懸濁して被験試料とした。

(3) Irwin 法による生理活性スクリーニング：マウス（ddY 系雄性、体重 30~35 g）を用い地黄メタノールエキスを投与（200 g/kg、経口または腹腔内投与）し、Irwin 法¹⁵⁾ の変法に従い Table I の観察項目を採点した。スコア付けは偶数点のみで行い、正常マウスでも存在する症状は正常状態を 4 とし、興奮の度合により 6、8 とし、抑制の度合により、2、0 と採点する。正常状態では認められない症状は正常状態を 0 で表し、症状の強さの程度により 2、4、6、8 とする。

(4) 摘出組織における生理活性スクリーニング：雄性ラット（SD 系、体重 300~400 g）あるいはモルモット（Hartley 系、体重 350~600 g）を放血死させたのち、ラットからは胸部大動脈、腸管、輸精管、モルモットからは胸部大動脈、回腸、結腸紐、気管、胆嚢等を摘出し、常法に従いそれぞれの平滑筋標本を作成した。また、モルモットから心耳を摘出し、心筋標本を作成した。これらの標本は 32℃に保ち、混合ガス（95% O₂、5% CO₂）を通気した Locke-Ringer 液（NaCl, 154; KCl, 5.6; CaCl₂, 2.2; MgCl₂, 2.1; NaHCO₃, 5.9; glucose, 2.8 mM）中にそれぞれ適当な負荷をかけ懸垂した。これらの組織の収縮反応は変位トランデュサーあるいは張力トランデュサー（いずれも ME コマーシャル製）を介して記録した。反応の強度は投与前（無反応）の収縮を 100% として算出し、3 標本の平均値で示した。

(5) 生理活性物質の単離：分画、精製、単離の各段階でモルモット摘出心耳の心機能活性を前項に準じて測定し、その活性の有無を指標とした。Fig. 1 に示した生理活性スクリーニング用試料調製に準

[Extraction]



[Liquid-liquid partition fractionation]

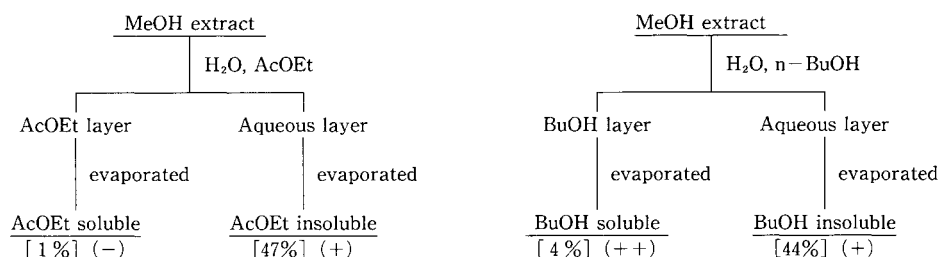


Fig. 1 Preparation of Kan-jio extracts for bioactivity screening tests.

() : suppressive activity on the heart function of guinea pigs

[] : yield

じ、乾地黄A 2 kg からメタノールエキス、次いで酢酸エチル不溶画分を調製し、Fig. 2 に示した通り順次オープンカラム分画を行った。TLC により試験し成分の類似している画分をまとめ、その各画分について活性を測定、活性を認めた画分を合して次のカラムに付した。デキストラン (Sephadex LH-20, ファルマシア製) カラムは水、次いで 50% メタノール、最後にメタノールで溶出し、カラムサイズ (カラム長 10 cm → 20 cm) 及び分画容量 (2 回目 500 ml) を変えて 2 回行ったところ、水から 50% メタノールにかけて溶出した画分 B, C に活性を認めた。そこで、次にカラムサイズ (カラム径 8 cm, カラム長 15 cm → 20 cm → 25 cm), 試料の付加法 (乾式 → 湿式 → 湿式), 溶離液の組成 (図 III-2 参照), 分画容量 (500 ml → 200 ml → 15 ml) を変えた 3 回のシリカゲル (Kieselgel 60, 230-400 mesh ATMS, メルク製) カラムクロマトグラフィー S1~S3 による分画の結果、各回共、クロロホルム・メタノール・水 (6 : 4 : 1) 混液で溶出した画分に活性が認められ、最終的に S (0.4 g), T (0.4 g), U (1.2 g) 及び V (2.7 g) の 4 画分を得た。

シリカゲルカラム画分 S ~ V の各々を溶離液に溶解、分取高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分取した。スタートから 60 分後溶離液をメタノールに切り替えてカラム中に残った物質を洗い出した。薄層クロマトグラフィー (TLC) 条件 プレート Kieselgel 60 F₂₅₄, メルク製; 展開溶媒 クロロホルム・メタノール・水 (65 : 35 : 10) 混液の下層; スポットの検出 UV 主波長 254 nm 照射及び *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒドの 10% 硫酸溶液 (1 → 20) 噴霧後ホットプレート上での加熱発色。定性分析 HPLC 条件 装置 880-PU システム, 日本分光製; カラム TSK gel ODS-80TM, 5 μm, 4.6 × 250 mm, 東ソー製; 溶離液 初期の 5 分間 2% アセトニトリル, その後 20 分まで 2% アセトニトリル ~ 10% アセトニトリル (直線グラジェント), 以後 40 分まで 10% アセトニトリル, 流速 1 ml/min; 検出波長 UV 210 nm。分取 HPLC 条件 装置 HLC-837 システム, 東ソー製; カラム TSK gel ODS-80TM, 10 μm, 2.15 × 30 cm, 東ソー製; 溶離液 初期の 60 分間 5% アセトニトリル, その後 80 分までメタノール, 流速 5 ml/min; 検出

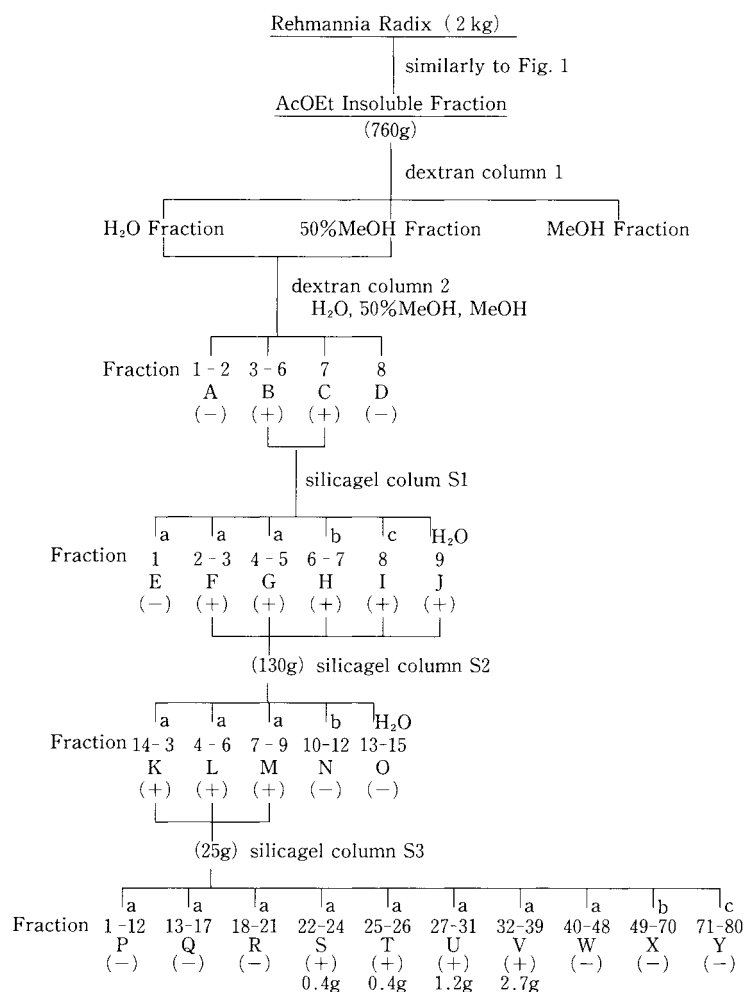


Fig. 2. Fractionations by column chromatography and activity of the Kan-jio fractions.

() : suppressive activity on the heart function of guinea pigs

a : CHCl₃ · MeOH · H₂O (6 : 4 : 1) b : CHCl₃ · MeOH · H₂O (5 : 4 : 1) c : MeOH · H₂O (4 : 1)

UV 波長 210 nm 及び RI。核磁気共鳴スペクトロメトリー (NMR) 装置 JEOL FX-270, 日本電子製。重水 (Uvasol, メルク製) を溶媒, 3-(trimethylsilyl)-propanesulfonic acid sodium salt (TSP, Uvasol, メルク製) を内標準物質として, ピーク A の ¹³C-NMR 及び ¹H-NMR スペクトルを測定。ケミカルシフト値は TSP からの δ 値 (ppm) で示した。高速原子衝突イオン化・質量スペクトロメトリー (FAB-MS) 装置 VG-70S, VG アナリティカル製; マトリックス チオグリセロール。

(6) **adenosine 定量**: 鮮地黄はスライスして風乾後粉碎, 乾地黄及び熟地黄はカットした後 -20℃ で凍結して粉碎し, 各々その 1 g に水 30 ml を加え沸騰水浴中で 30 分間加熱した後遠心分離し温時上澄

を 50 ml メスフラスコにとる。残渣に水を加え同様な操作を更に 2 回繰り返す, 上澄を合す。但し, 水量は 10 ml, 加熱時間は 10 分間とする。冷後メスアップしその 5 ml を取り, 試料前処理用小カラム Bond Elut C₁₈ (アナリティケム製) に負荷し水 2 ml で洗った後 10% アセトニトリルで 10 ml になるまで溶出させ HPLC 試料とする。ピーク高さから絶対検量線法により定量する。**HPLC 条件** カラム TSKgel ODS-80TM, 5 μm, 4.6 mm × 150 mm, 東ソー製; 溶離液 5% アセトニトリル, 流速 1 ml/min; 試料注入量 20 μl; 検出波長; UV 260 nm; 検量線 標準品 adenosine (和光特級, 和光純薬製) 22.8 mg を 10% アセトニトリルに溶解し 100 ml にメスアップしたものを標準原液とし, 本

液を希釈し標準液 A (11.4 $\mu\text{g/ml}$), B (2.28 $\mu\text{g/ml}$) の 2 標準液を調製する。標準液 A の 10, 20, 30 μl , B の 10, 15, 20, 25, 30 μl (0.0228 $\mu\text{g} \sim 0.342 \mu\text{g}$, x) を注入しピーク高さ (mV, y) から検量線を作成する。(検量線 $y=62.7x-0.2$, 相関係数 1.000)

結果及び考察

1. 生理活性スクリーニング

Irwin 法は神経薬理学的なスクリーニング法としてよく用いられる方法である。¹⁵⁾地黄メタノールエキスについて Irwin 法を用いてその神経薬理活性を検討した。地黄メタノールエキスは経口投与したとき、各測定時間で行動的、神経学的プロフィールに明確な効果を及ぼさなかったが、200 mg/kg を腹腔内投与したとき、Table 1 に示したように 30 分後行動プロフィールで警戒性、自発運動、疼痛反応が各々 2 点、神経学的プロフィールで異常歩行、握力、耳介反射、角膜反射がいずれも 2 点、自律神経系プロフィールで立毛、体温降下、呼吸数、眼裂が 2 点、皮膚色 6 点と採点された。また、100 mg/kg 腹腔内投与では 200 mg/kg 投与時と同様の傾向を示したが、その効果は小さかった。これらの測定結果から交感神経抑制傾向が予想されたので、次にラット及びモルモットの各種摘出組織における効果を検討し、その活性をスクリーニングした。

地黄メタノールエキスは、ノルエピネフリン 10^{-5} M で収縮させたラット胸部大動脈において、 5×10^{-4} g/ml でわずかであるが、さらに収縮させ、これより高濃度 (1.5×10^{-3} , 5×10^{-3} g/ml) では用量依存的な弛緩を発現させた。一方、モルモット胸部大動脈においてはノルエピネフリン収縮を、用いたいずれの濃度でも弛緩させた。この作用はブタノール可溶画分で強く認められた。KCl (40 mM) で収縮させたラット小腸においては 5×10^{-4} g/ml の濃度でさらに収縮させるなどの効果を示したが、用いたいずれの濃度でも明確な作用は見られなかった。モルモット気管において、メタノールエキスは 5×10^{-4} , 1.5×10^{-3} g/ml で用量依存的な弛緩を発現させたが、アセチルコリン (1×10^{-5} M) で収縮させた標本においては顕著な弛緩作用を示さなかった。ブタノール可溶画分はこの標本のヒスタミン (3×10^{-6} M) 収縮に対して一過性の弛緩を、また KCl (40 mM) 収縮に対しては 1×10^{-4} , 3×10^{-4} g/ml 濃度で用量依存的な弛緩を発現させた。モルモット心耳においては、メタノールエキスは自発収

縮を用量依存的に抑制し、自発運動の頻度も低下させた。この効果はノルエピネフリンで刺激した標本において顕著に認められた。また、ウバインによって亢進された反応も抑制した。Fig. 3 にこのモルモット心耳における反応を示したが、メタノールエキス (d) は用量依存的にノルエピネフリンで刺激した標本の収縮を抑制した。(a), (b) はメタノールエキスのブタノール可溶画分の実例で、無刺激の標本 (a) 及びノルエピネフリンで刺激した標本 (b) のいずれの収縮も抑制したが、(b) の方が判定しやすかった。また、両者で自発収縮の頻度の低下も観察されている。

以上のように各種平滑筋標本及び心筋標本に対して生理活性を示す物質の存在が示唆された。

上記の各種摘出組織の反応の中でモルモット摘出心耳の心機能抑制は反応が顕著で応答が速く短時間で多くの試料に対応できる。特にノルエピネフリン刺激後に投与したときに見られる反応は、無刺激で投与したときに比べ抑制率は下がるが変化量が大きくて見やすく、安定した反応が得られるため、心臓血管系に対する活性物質の検索を目標とする本研究において最も適当な指標であると考え、以下の実験ではノルエピネフリンで刺激した標本を用いた。また、心耳で見られる心機能は本来変力作用と変時作用を同時にみることができものであるため、実験例でも変時作用を認めているが、今回は、変化量の顕著な変力作用にのみ留意した。

なお、この方法において地黄の既知イリドイド配糖体である catalpol (Fig. 3 f 参照) 及び aucubin は 1×10^{-4} M で作用を現わさず、モルモット摘出心耳の心機能抑制の活性成分ではなかった。

2. 生理活性物質の単離同定

Fig. 3 に示したようにメタノールエキスの抽出残渣から更に水抽出した水エキスに活性が認められず、活性成分はメタノールにより抽出されている。メタノールを *n*-ブタノールと水で分画したブタノール可溶画分とブタノール不溶画分を比較すると、用量の低い (1×10^{-4} g/ml) ブタノール不溶画分 (b) が用量の高い (1×10^{-3} g/ml) ブタノール可溶画分 (c) より高い抑制を示した。しかしながら、Fig. 1 に示したようにブタノール可溶画分の収率は 4 % で非常に低い。一方、ブタノール不溶画分は比活性は低いものの収率が 44 % と高く総量として無視できない。地黄特有の配糖体は水溶性が高いものが多く、本活性成分に対しても *n*-ブタノール液-液分配が適さない可能性が考えられた。そこで、活性の移行しない酢酸エチルにより脂溶性成分を除外

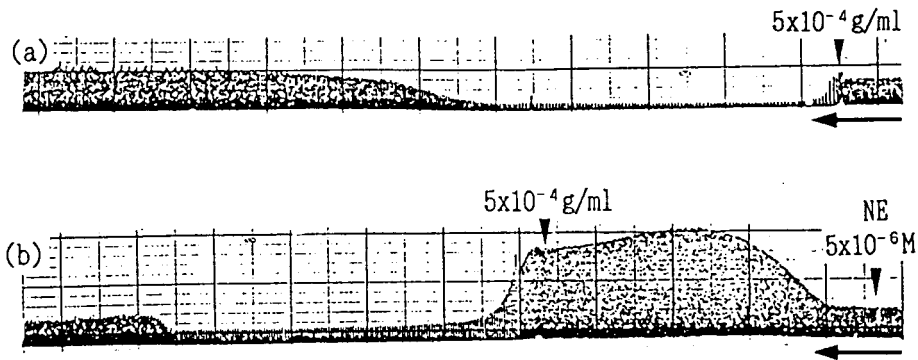
Table I Scores of methanol extract from Kan-jio on Irwin method.

Items of observation	Normal value	MeOH extract (200 mg/kg, <i>i.p.</i>)	
		after 15 min	30 min
I Behavioral profile			
i) Awareness			
Alertness	4	2	0
Stereotypy	0	0	0
ii) Mood			
Grooming	4	2	0
Vocalization	0	0	0
Irritability	0	0	0
iii) Motor activity			
Spontaneous activity	4	2	2
Pain response	4	4	4
II Neurological profile			
i) CNS excitation			
Startle response	0	0	0
Straub's tail reaction	0	0	0
Tremor	0	0	0 (2)
Convulsion	0	0	0
ii) Motor incoordination			
Abnormal gait	0	2	2
Righting reflex	0	—	—
iii) Muscle tone			
Grip strength	4	2	2
iv) Reflexes			
Pinna reflex	4	2	2
Corneal reflex	4	2	2
Ipsilateral flexor reflex	4	4	4
III Autonomic profile			
i) General signs			
Piloerection	0	2	2
Hypothermia	0	0	2
Writhing	0	0	0
Skin color	4	4	6
Respiratory rate	4	2	2
ii) Optical signs			
Palpebral size	4	2	2
Exophthalmos	0	0	0
iii) Secretory signs			
Salivation	0	0	0
Urination	0	0	0

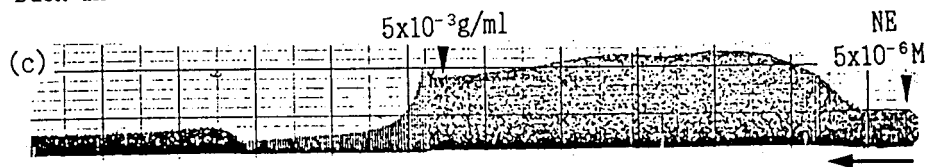
した酢酸エチル不溶画分を Fig. 2 に示すようにカラムクロマトグラフィーにより分画した結果、最終的に、クロロホルム・メタノール・水混液 (6 : 4 : 1) で溶出する画分 S, T, U 及び V に活性が認められた。この 4 画分と前後の画分 R 及び W を HPLC で分析しクロマトグラムを比較するとき、Fig. 4 に示すように、ピーク A は R, W に殆ど検出されず、S, T, U, V に共通のピークとして認め

られ、その中でも特に抑制作用の強い T では相対的に高いピークであった。そこで画分 S ~ V について各々分取 HPLC を行い、分取した各画分の活性を調べたところ、ピーク A の画分にのみ活性が認められ生理活性物質と推察された。ピーク A の画分は溶媒留去するとき無色結晶性の物質を与え、4 画分計 95 mg 得られた。メタノール次いで水より再結晶した。

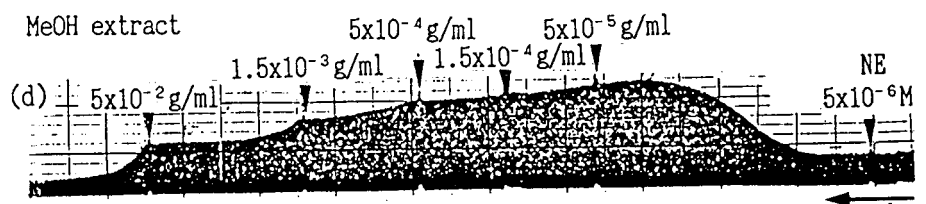
BuOH soluble fraction



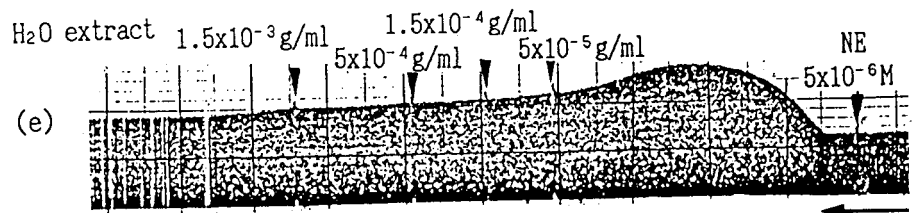
BuOH insoluble fraction



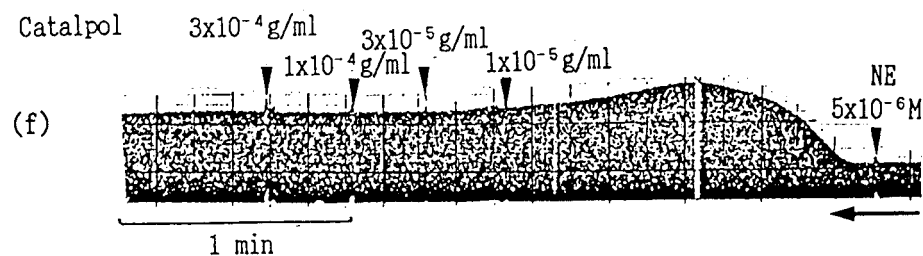
MeOH extract



H₂O extract



Catalpol



NE:norepinephrine

Fig. 3 Effects of extracts from Kan-jio and catalpol on guinea-pig auricle muscle.

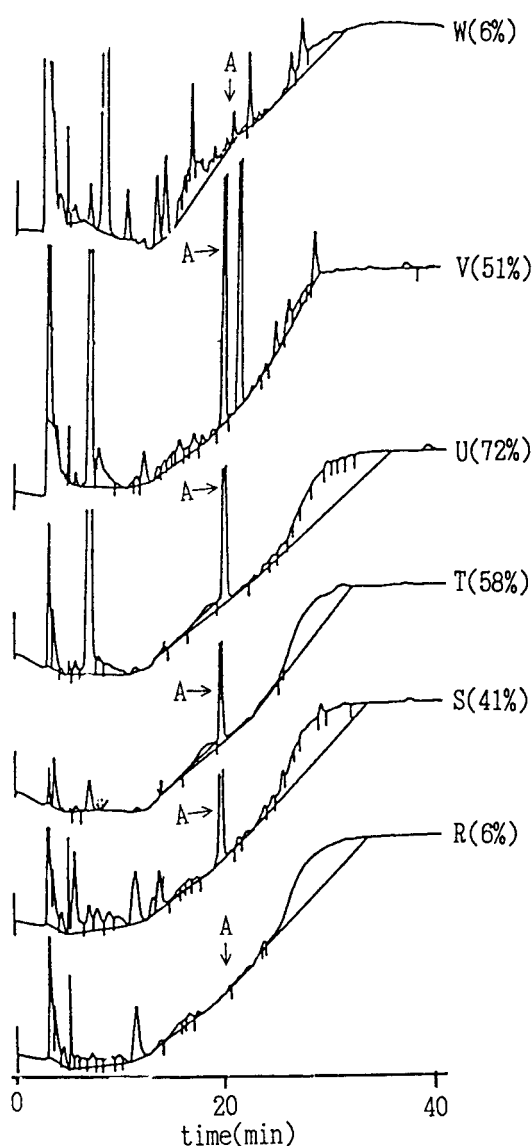


Fig. 4 HPLC chromatograms of Kan-jio fractions R~W.

(A): suppressive activity on the heart function of guinea pigs at 1×10^{-4} g/ml. Complete suppression was taken as 100%.

本物質は常温では水及びメタノールにはやや溶けにくい、熱水、熱メタノールには非常によく溶ける。本物質の FAB-MS 及び ^{13}C -NMR スペクトルデータは以下の通りであった。FAB-MS m/z (%) : 268 (30, $\text{M}^+ + 1$), 136 (100, $\text{M}^+ + 1 - \text{ribose}$)。 ^{13}C -NMR (D_2O) δ : 64.23 (t), 73.33 (d), 76.45 (d), 88.45 (d), 91.07 (d), 121.66

(d), 143.20 (d), 150.98 (d), 155.12 (d), 158.15 (d)。 ^1H -NMR (D_2O) δ : 3.84 (1H, dd, $J = 3.6, 12.9$ Hz), 3.91 (1H, dd, $J = 2.6, 12.9$ Hz, 5'-Hb), 4.29 (1H, m, 4'-H), 4.42 (1H, dd, $J = 3.1, 5.1$ Hz, 3'-H), 6.03 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, 1'-H), 8.16 (1H, d, $J = 1.6$ Hz), 8.29 (1H, s)。

FAB-MS スペクトルで m/z 268 及び 136 に主要ピークが出現することから、分子量は 267 で分子内に質量 135 のユニットが存在すると考えられる。又、 ^{13}C -NMR スペクトルで検出された炭素シグナルが 10 本で、高磁場側の 5 本の炭素シグナルから 5 炭糖として 5-デオキシリボースが推定された。残り 5 本のシグナルから核酸塩基 adenine が示唆されたので、adenosine の標品と比較した。その結果、 ^1H -NMR, ^{13}C -NMR 及び FAB-MS の各スペクトル, HPLC 溶出時間, TLC R_f 値及び呈色, 溶状なども一致したところから、本物質を adenosine と同定した。adenosine の標品のモルモット摘出心耳における心機能抑制反応は本物質と一致した。

adenosine は、非アドレナリン、非アセチルコリン作動性の自律神経伝達物質と考えられており、広範な薬理作用を有することが知られている。また、adenosine は冠血管及び末梢血管拡張、腎血管収縮、血小板凝集阻害など血管系や、神経系、子宮筋などにも作用するが、動物種差、部位差が大きく、子宮筋ではホルモン優位性によって異なり、その作用は複雑である。¹⁶⁾ adenosine はモルモット摘出心耳に対し収縮を減少させるが、ヒキガエル心房筋では収縮を増大するとされている。地黄はカエルの摘出心臓で強心作用が見られ¹⁴⁾ ているが、地黄中のモルモット摘出心耳の心機能抑制成分が adenosine であれば、矛盾しない。今回 adenosine を分離した乾地黄の効能は清熱涼血と言われ、炎症性充血の軽減・血管透過性の減少、血圧下降・血液凝固促進などによる止血作用を有するとされる。¹⁷⁾ adenosine は末梢血管拡張・血圧降下作用などを有し、乾地黄の薬効に関与している可能性があると考えられる。

ところで、地黄は修治によって薬能が変わるとされ臨床上区別して用いられている。そこで、鮮地黄、乾地黄及び熟地黄中の adenosine 含量を測定し相互に比較を行った。また、adenosine は当帰から血小板凝集阻害作用成分として分離された報告¹⁸⁾ も見受けられるので、地黄以外の循環器系疾患用薬とされる処方構成する生薬中の含量も合わせて調査した。

3. 各種生薬中の adenosine の含量

定量結果を Table II 及びIIIに示した。

鮮地黄は新鮮な生の地黄をスライスして乾燥したもの(「風乾」地黄)を定量サンプルとしたが、乾地黄のように黒変していないものである。地黄のうち、今回生理活性物質の検索、分離に用いた中国産長身2等と称される乾地黄が1g中0.38mgのadenosineを含み、最高含量であった。熟地黄は鮮地黄(平均0.11mg)及び乾地黄(平均0.15mg)に比べadenosine含量が非常に低かった。鮮地黄は乾地黄と同じ清熱涼血の効能と共に体液滋潤の効能を有するとされるが、熟地黄の効能は補血と言われる。乾地黄と共通する効能を有する鮮地黄にadenosineが高含量で、乾地黄から更に修治を施され効能が変化した熟地黄では、adenosine含量が低下していることは興味深く、修治の化学的根拠の一つと言えるように思われる。

Table II Adenosine contents of processed Jios.

Processed Jio	average min.~max.
"Air-dried" Jio* A~C (n=3)	0.11 mg/g 0.09~0.13
Kan-jio A~E (n=5)	0.15 0.06~0.38
Juku-jio A~E (n=5)	t nd ~0.05

nd<0.005 0.005≤t<0.05

*Sliced and air-dried Sen-jio A~C

地黄以外の生薬で adenosine が特に高含量だったのは五味子であり、セリ科に由来する当帰、川芎、白芷、柴胡等はいずれも高い値を示した。他に人参、竜胆、菊花、陳皮なども高く、鮮地黄・乾地黄以上の含量であった。乾地黄と同程度の adenosine 含量の生薬は姜活、防風、山薬、細辛、天麻、麦芽、黄連、荊芥、蘇葉、枳実であった。一方、桂皮、桔梗、釣藤鈎、括藎根、地骨皮、蓮肉、木香にはほとんど含有されず、白朮、蒼朮、生姜、厚朴、山茱萸、半夏、連翹、桃仁等も低かった。各種生薬はできるだけ産地やロットの異なるものも2, 3種ずつ分析した。全てを結論付けるには分析生薬数が十分とは言えないながら、adenosine を含有するもの、しないものなど生薬の種類によって概ね同様な傾向を示し、adenosine 含量が大きく異なることから adenosine は地黄に特有でないにしても、生薬に不偏的な成分ではないことを示している。adenosine は前述のごとく自律神経系に作用し、広範で複雑な作用を有するためか、adenosine 含有生薬の薬能は限局されてはいなかったが、今回定量に供した生薬のなかでは白芷、防風、姜活、荊芥、蘇葉、柴胡、細辛、菊花など adenosine 含量の比較的高いものに解表薬に属するものが多く、活血薬の川芎、補血薬の当帰と adenosine の末梢血管拡張作用など adenosine 含量の高い生薬にはその薬能との関連が示唆されるものも見られた。

Table III Adenosine contents in 1 g of crude drugs.

Content	Crude drugs
1.00 mg<	五味子 (1.44 mg)
0.20~0.40 mg	白芷 陳皮 当帰 川芎 柴胡 人参 竜胆 菊花
0.10~0.20 mg	乾地黄 姜活 防風 山薬 細辛 天麻 麦芽 黄連 荊芥 蘇葉 枳実
0.05~0.10 mg	黄柏 牡丹皮 附子 香附子 竜眼肉 蒲黄 杏仁 升麻 阿膠 遠志 甘草 麻子仁 防己 沢瀉 炙甘草 括藎仁 芍薬 茯苓 吳茱萸 黄耆 山梔子
0.005~0.05 mg*	熟地黄 威靈仙 桃仁 大棗 白朮 蒼朮 橘皮 山椒 麦門冬 生姜 乾姜 細茶 半夏 連翹 麻黄 神麴 車前子 木通 厚朴 山茱萸
<0.005 mg**	地骨皮 大黄 桂皮 括藎根 釣藤鈎 桔梗 蓮肉 木香

*out of calibration **no detected

結 論

地黄中の心臓血管系に作用する成分の存在を予想し検討した結果、乾地黄にモルモット摘出心耳の心機能抑制活性が顕著に認められたため、本活性を指標として活性成分を検索し、adenosine を単離同定した。

adenosine は、非アドレナリン、非アセチルコリン作動性の自律神経伝達物質と考えられており、冠血管及び末梢血管拡張、腎血管収縮など血管系や、神経系、子宮筋などにも作用し、広範な薬理作用を有することが知られている。乾地黄の効能である清熱涼血に adenosine の血圧降下作用などが関与している可能性はあると考えられる。

修治法が異なり、臨床上也に区別して用いられる3種の地黄のうち効能の大きく変化した熟地黄で低含量を示したことは、adenosine が薬効成分であれば、修治の化学的根拠の一つといえる。

地黄以外の循環器系疾患用薬とされる方剤に使われる生薬中の adenosine 含量を測定した結果、adenosine は五味子、白芷、陳皮、当帰、川芎、柴胡、人參、竜胆、菊花などでは高く、地骨皮、大黃、桂皮、括藎根、釣藤鈎、桔梗、蓮肉、木香には検出されなかった。adenosine は地黄に特有の成分ではないが、多くの生薬に普遍的な成分とも言えなかった。

文 献

- 1) 日本公定書協会編：“第11改正日本薬局方”，廣川書店，東京，pp. D-407-D-409, 1986.
- 2) 神戸中医学研究会編：“中医臨床のための常用漢薬ハンドブック”，医歯薬出版，東京，pp. 142-147, 1987.
- 3) 北川 勲，西村 正，古林安見子，吉岡一郎：懷慶地黄根茎の成分。薬誌 **91**, 593-596, 1971.
- 4) Oshio, H. and Inouye, H.: Iridoid glycosides of *Rehmannia glutinosa*. *Phytochemistry* **21**, 133-138, 1982.
- 5) 遠藤勝也，松浦昭宏，金沢和夫，小野里敦雄，今野長八，ヒキノヒロシ：地黄の血糖降下成分 *Rehmannan* A, B, C 及び D. 日本薬学会104年会講演要旨集，pp. 165, 1984.
- 6) 今井孝司，貴志豊和，井上博之，西山信好，斎藤 洋：連続ストレス負荷マウスの性行動及び学習行動に対するイリドイドの影響。薬誌 **108**, 572-585, 1988.
- 7) Yoshikawa, M., Fukuda, Y. and Taniyama, T.: Chemical and pharmacological studies on the constituents of differently processed *rehmanniae* radix. *J. Pharm. Dyn.* **10**, s53, 1987.
- 8) Sasaki, H., Nishimura, H., Morota, T., Chin, M. (Chen Zheng-xiong), Mistuhashi, H., Komatsu, Y., Maruyama, H., Tu Guorui and Xiong Yu-lang: Immunosuppressive principals of *Rehmannia glutinosa* var. *hueichingensis*. *Planta Medica* **55**, 458-462, 1989.
- 9) 西村浩昭，諸田 隆，柳沢利彦，陳 政雄：5-リボキシゲナーゼ阻害剤。日本国特許庁公開特許広報，平2-40394, 1990.
- 10) 西村浩昭，諸田 隆，山口琢児，陳 政雄：新規フェネチルアルコール誘導体及びフェネチルアルコール誘導体を有効成分とするアルドスリグクターゼ阻害剤。日本国特許庁公開特許広報，2-36189, 1990.
- 11) 西村浩昭，諸田 隆，山口琢児，陳 政雄：新規イリドイド類及び該イリドイド類を有効成分とするアルドスリグクターゼ阻害剤。日本国特許庁公開特許広報，平2-96587, 1990.
- 12) 松田秀秋，福田誠也，中西準治，福田真三，久保道徳：漢薬，地黄の抗DIC作用。生薬 **40**, 182-187, 1986.
- 13) 坪井 誠，安藤 裕，松井建次：テストステロン5 α -リグクターゼ阻害剤。日本国特許庁公開特許広報，昭62-116520, 1987.
- 14) 寿山編：“中薬研究文献摘要”，科学出版社，北京，p. 207, 1975.
- 15) Irwin, S. Drug screening and evaluation of new compound in animals. In “Animal and clinical pharmacologic techniques in drug evaluation” (Ed. by Nobin, J. H. and Siegler, P. E.) Year Book Med. Pub., Chicago, pp. 36-54, 1964.
- 16) 西章伍郎，竹内 昭編：“新生理科学大系 No. 2 シナプスの生理学”，医学書院，東京，pp. 216-275, 1986.
- 17) 中山医学院編，神戸中医学研究会次編：“漢薬の臨床応用”，医歯薬出版，東京，pp. 87, 344, 357, 1979.
- 18) Toriizuka, K., Nishiyama, P., Adachi, I., Kawashiri, N., Ueno, M., Terasawa, K. and Horikoshi, I.: Isolation of platelet aggregation inhibitor from *angelicae* radix. *Chem. Pharm. Bull.* **34**, 5011-5015, 1986.