

## エフェドリン系アルカロイドを含有しない葛根湯の開発研究

(申請代表者)	御影 雅幸 金沢大学・医薬保健研究域薬学系 (現 東京農業大学農学部バイオセラピー学科 教授)	教授
(所外共同研究者)	佐々木 陽平 金沢大学・医薬保健研究域薬学系	准教授
(所外共同研究者)	三宅 克典 金沢大学・医薬保健研究域薬学系	助教
(所内共同研究者)	柴原 直利 臨床科学研究部門漢方診断学分野	教授

### 【要 旨】

「葛根湯」は、傷寒(急性熱病)にも中風(慢性疾患)にも応用され、とくにインフルエンザなどカゼの初期(太陽病期)の治療薬として不可欠である。一方、構成生薬の「麻黄」*Ephedra herb*に含まれるアルカロイドのエフェドリンは西洋医学で喘息治療薬として利用されるが、覚せい剤(メタンフェタミン)の合成原料であり、さらにスポーツ選手が敏捷性を高めるために利用したりしてきたため、現在ではドーピング禁止薬物に指定され、米国では麻黄が処方された漢方薬の使用が制限されている。そこで、本研究ではエフェドリンを含有せずに同等の効果が期待できる葛根湯の開発を目的とした。

葛根湯に配合する麻黄の代替品開発研究として、(1)同属植物中でアルカロイドを含有しない種の探索、(2)他の代替植物の探索、を検討することにした。

(1)について:マオウ属植物の中にはアルカロイドを含有しない種があり、その中で*Ephedra przewalskii* Stapfはパキスタンのユナニー医学、中国新疆省のウイグル医学、またモンゴル医学でも薬用として利用されている。そこで、その実情を調査する目的で、新疆での本属植物の使用状況を調査した。その結果、マオウ属植物はウイグル医学でCHAKKANDAの名称で使用されており、熱性喘息、咳嗽、肺炎、湿性自汗、盗汗、下痢、ただれ等に応用されている。市場で入手した6検体のうち5検体は*E. przewalskii*由来でアルカロイドを含有せず、1検体は本種と*E. intermedia*の混合品で少量のアルカロイドを含有していた。一方、新疆の中医薬店で入手した9検体の麻黄のうち1検体は*E. przewalskii*で、他はアルカロイドを含む*E. sinica*であった。以上、多少の混乱はあるが、ウイグル医学では基本的にアルカロイドを含有しない*E. przewalskii*由来の薬物を使用しており、薬効的には鎮咳などは麻黄に類似し、自汗や盗汗など虚弱者に対して止汗的に使用する点が相違していると判断されたが、有害性に関する情報は得られなかった。

(2)について:中国明代に李時珍が著した『本草綱目』の木賊の項に、「與麻黄同形同性」と記され、清代の『得配本草』には木賊について「虚者可代麻黄」とあり、『植物名実図考』には「今江西南安亦有之、土人皆以為木賊與麻黄同形同性、故亦能發汗解肌」と記載されるなど、中国では古くから木賊(トクサ)の仲間が麻黄と同効生薬として使用されていたことが窺える。そこで、本学薬用植物園で生育させたイヌトクサについて、まずは毒性の有無を調査する目的でその含有化学成分を分析した。イヌトクサ地上部の熱水抽出物について分離を試みた結果、3種のフラボノール配糖体(kaempferol 3-sophoroside, kaempferol 3-sophoroside-7-glucoside, quercetin 3-sophoroside), 及び4-hydroxy-3-methoxycinnamic acidを単離し、文献等のスペクトルデータとの比較により同定した。その他、数種の化合物の構造を解析中で、今後は有毒性についても検討したい。

## 「背景・目的」

「葛根湯」は、漢方で最も著名な処方であり、傷寒(急性熱病)にも中風(慢性疾患)にも応用される。とくに、インフルエンザなどカゼの初期の治療薬として不可欠である。処方内容は桂枝湯に葛根と麻黄を加えたもので、その方意は、桂皮や生姜で身体を温め、辛温解表薬の麻黄で発汗させ、辛涼解表薬の葛根で解熱させる。

葛根湯構成生薬の中の「麻黄」には生理活性物質としてエフェドリン系アルカロイドが含有され、『日本薬局方』では麻黄は総アルカロイド含量(エフェドリンとプソイドエフェドリンの和)を0.7%以上と規定している。これらのアルカロイドは西洋医学においても喘息治療薬として利用されている。

一方、エフェドリンは覚せい剤(メタンフェタミン)の合成原料であり、エフェドリンにも弱い類似の作用があり、市販のダイエット薬に配合されたり、スポーツ選手が敏捷性を高めるために利用したりしてきた。しかし、過度の服用は不整脈や心停止などの重篤な副作用を引き起こすことが報告されている。

以上の経緯から、現在ではエフェドリンはドーピング禁止薬物に指定され、また米国ではエフェドリン製剤の販売が禁止されている。よって、スポーツ選手は葛根湯を始めとする麻黄を含有する漢方薬の服用を制限されており、エフェドリンを含有しない葛根湯の開発は意義がある。

そこで、本研究ではエフェドリンを含有せず同等の効果が期待できる葛根湯の開発を目的とし、葛根湯に配合する麻黄の代替品開発研究として、(1)同属植物中でアルカロイドを含有しない種の探索、(2)他の代替植物の探索、を検討することにした。

## 「結果・考察」

### (1)マオウ属植物(*Ephedra* spp.)の中でアルカロイドを含有しない種の探索研究

マオウ属植物は世界中に約50種類が生育しており、その中にはアルカロイドを含有する種としない種があり、我々のこれまでの調査結果から、後者のグループ中では*Ephedra przewalskii* Stapfの地上茎がパキスタンのユナニー医学、中国新疆省のウイグル医学、またモンゴル医学などで薬用として利用されていることが明らかになっている。そこで、本種を漢方生薬「麻黄」の代替品として利用することが可能であるか否かを調査する目的で、今回新たに中国新疆回族自治区において、ウイグル医学でのマオウ属植物の使用状況を調査した。その結果、マオウ属植物はウイグル医学でCHAKKANDAの名称で使用されており、熱性喘息、咳嗽、感冒、肺炎、湿性自汗、盗汗、下痢、ただれ等に応用されていることが明らかになった。入手した6試料のうち5試料は*E. przewalskii*由来でアルカロイドを含有せず、1試料は本種と*E. intermedia*の混合品で少量のアルカロイドを含有していた。一方、新疆各地の中医薬店で入手した9試料の「麻黄」のうち1試料は*E. przewalskii*由来で、他は*E. sinical*に由来するもので、アルカロイドを含むものであった(図1)。以上、多少の混乱はあるが、ウイグル医学ではアルカロイドを含有しない*E. przewalskii*由来の薬物を使用しており、薬効的には鎮咳などは麻黄に類似するが、自汗や盗汗など虚弱者に対して止汗的に使用する点が相違していると判断されたが、有害性に関する情報は得られなかった。

以上の調査結果から、*E. przewalskii*の地上部草質茎が漢方生薬「麻黄」の代替品として安全に使用できる可能性が示唆され、漢方生薬「麻黄」の代替品への実用化に向けて、今後の薬理実験や臨床実験に期待したい。

### (2)マオウ属植物以外の代替植物の探索

中国明代に李時珍が著した『本草綱目』の「木賊」の項に、「與麻黄同形同性」と記され、また清代の『得配本草』には木賊について「虚者可代麻黄」とあり、中国初の植物図鑑である『植物名実図考』には麻黄として明らかにトクサ属植物が描かれ、また麻黄の使用について「今江西南安亦有之、土人皆以為木賊與麻黄同形同性、故亦能發汗解肌」と記載されるなど、中国では古くから木賊(トクサ)の仲間が麻黄と同効生薬として使用されていたことが窺える。また、代表者らの現地調査により、実際に現在中国の一部の地方ではイヌトクサを麻黄として利用していることを確認している。そこで、代表者らが管理する金沢大学医薬保健学域薬学類・創薬科学類附属薬用植物園で生育させたイヌトクサ*Equisetum ramosissimum* Desf.(トクサ科)について、まずは毒性の有無を調査する目的でその含有化学成分を調査した。

イヌドクサは、アフリカ、ヨーロッパ、中央アメリカ、南アメリカ、ミクロネシア、アジアに広く分布するトクサ科 (*Equisetaceae*)の多年生草本で、日本では温暖な湿潤地に分布するほか、栽植されたものがしばしば野生化している。本植物の含有成分に関する研究は、過去にいくつかのグループにより行なわれている。Salehら(1980)は、アフリカ産*Eq. ramosissimum*及びイタリア・スイス産のそれらの変種・亜種のフラボノイドについて分析を行ない、すべての検体が2種のフラボノイドを含有することを明らかにした。加えて、Řezanka(1998)はチェコ産の*Eq. ramosissimum*の脂肪酸含量と、ジカルボキシル酸の含量を報告した。また、Wangら(2005)は、中国産*Eq. ramosissimum*の全草から2種のシクロアルタン型トリテルペンを含む計17種の化合物を単離した。一方、Yuら(2011)は、*Eq. ramosissimum*の地上部から7種のフラボノイドを含む計13種の化合物を単離し報告した。しかしながら、これらの*Eq. ramosissimum*は日本産ではなく、野生あるいは栽培に関しても言及されていない。麻黄代替品という点で供給面から考えると、国産で栽培したものが最も安定供給可能であると考えられるため、*Eq. ramosissimum*国内栽培品について含有成分の解析を行なった。

金沢大学医薬保健学域薬学類創薬科学類附属薬用植物園内において栽植されたイヌドクサ*Eq. ramosissimum*を採集後乾燥し、約5 mmの長さに裁断した後、試料50 gに対し純水1000 mLの割合で沸騰後30分間煎出した。煎液をDiaion HP-20(三菱化学)を用いて製したカラムに通じ、50%MeOH/H<sub>2</sub>O, MeOH, EtOAcで順次溶出した。収率はそれぞれ5.0%, 1.6%, 0.10%であった。次いで、MeOH画分を50%MeOH/H<sub>2</sub>Oに溶解させ、CHCl<sub>3</sub>と分液を行なった。CHCl<sub>3</sub>層を減圧濃縮した後、2%MeOH/CHCl<sub>3</sub>に溶解させ、可溶部をシリカゲル中圧液体クロマトグラフィー(MPLC; MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>系, 0%, 4%, 10%, 30%, 100%)により22画分に分画した。Fr.2からFr.11までを合わせた後、分取TLC, 逆相分取TLCにより分離を試みた結果、化合物**1** (0.00040%), **2** (0.00011%)を得た。また、Fr.13からFr.16までを合わせた後、MPLC及び逆相分取TLCにより分離し、化合物**3** (0.00073%), **4**を得た。一方、Fr.18とFr.19を合わせた後、逆相MPLC, 逆相分取TLCによって分離した結果、化合物**5** (0.0061%)を得た。加えて、Fr.20からFr.22までを合わせた後、逆相MPLC, 逆相分取TLC, ポリアミドカラムクロマトグラフィー, セファデックスLH-20カラムクロマトグラフィーにより分離を試みた結果、化合物 **6** (0.00054%), **7** (0.00025%)を単離した。NMR等による解析の結果、これらの化合物をそれぞれ4-hydroxyl-3-methoxycinnamic acid (**1**), 3-oxo- $\alpha$ -ionol  $\beta$ -D-glucopyranoside (**3**), kaempferol 3-sophoroside (**5**), kaempferol 3-sophoroside-7 $\beta$ -glucoside (**6**), quercetin 3-sophoroside (**7**)と同定した(図2)。なお、化合物 **2**及び化合物**4** (0.00076%)は同定に至っていないが、NMR等のデータからそれぞれphenylpropanoid及び megastigmanoidであると推測しており、現在構造を解析している。これらの化合物のうち、化合物**3**及び化合物 **7**の*Eq. ramosissimum*からの単離は初めてであった。

#### 「結論」

『日本薬局方』に「麻黄」の原植物として収載され、アルカロイドを含有する*Ephedra sinica* Stapf, *E. intermedia* Schrenk et C.A.Meyer, *E. equisetina* Bungeなどの代替品として、同属植物でアルカロイドを含有しない*E. przewalskii* Stapfが使用可能である可能性を示した。*E. przewalskii* はユナニー医学、ウイグル医学、モンゴル医学などで現在実際に薬用に供されており、安全性については高いものとする。また、*Ephedra*属植物以外の植物種としてトクサ科のイヌドクサ*Equisetum ramosissimum* Desf. が利用できる可能性を示した。イヌドクサは中国で少なくとも明代から麻黄の代替植物として利用されてきており、今回、過去の報告などを含めて化学成分を調査した結果、とくに有害と思われる成分は検出されなかった。

以上、今後は*Ephedra przewalskii*とイヌドクサについて、漢方生薬「麻黄」の代替品として利用可能か否かを判断するための薬理実験や臨床研究が望まれる。

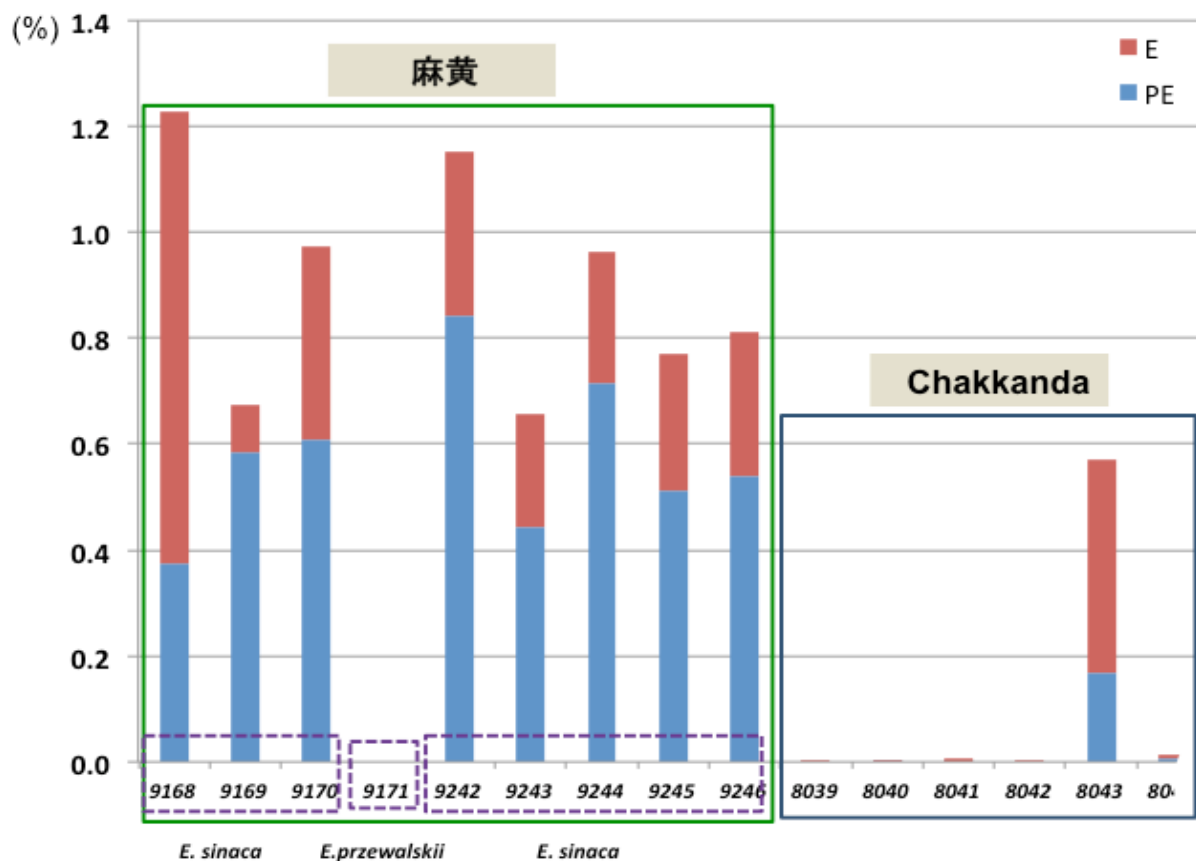


図1:新疆の市場で入手した麻黄およびChakkandaのアルカロイド含量

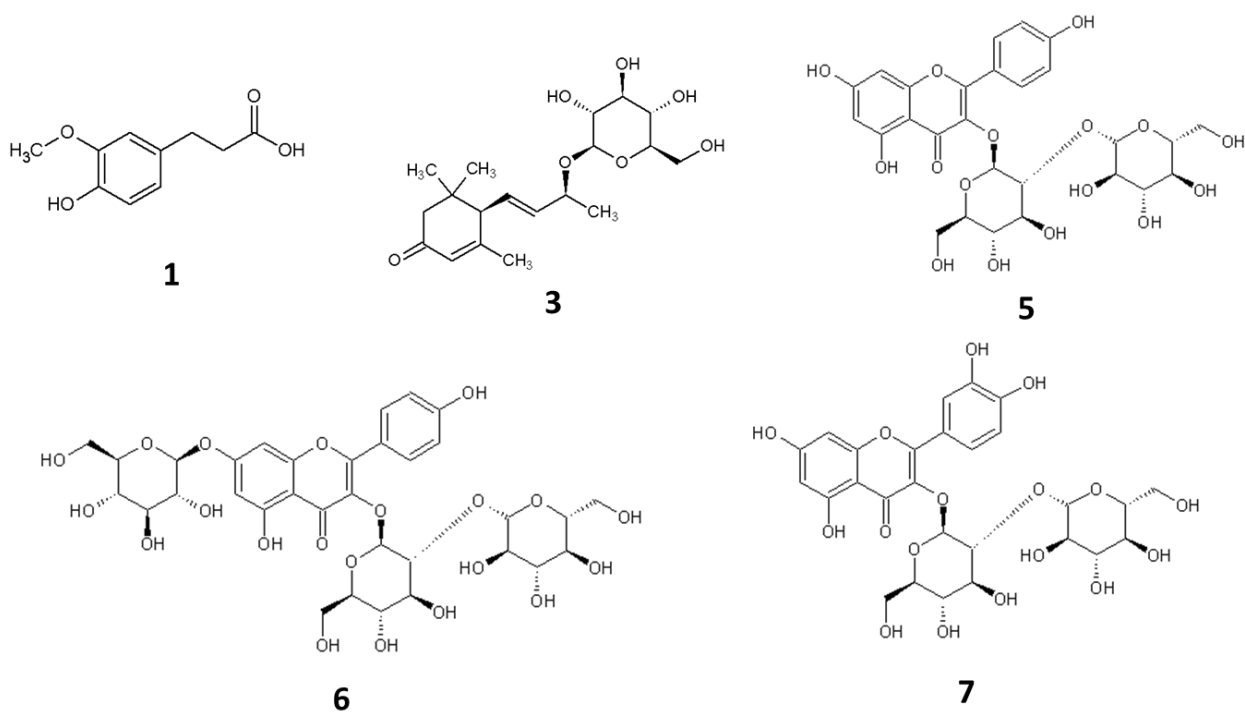


図2:イソドクサから単離した化合物の構造

(1) 4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid, (3) 3-oxo- $\alpha$ -ionol  $\beta$ -D-glucopyranoside, (5) kaempferol 3-sophoroside,

(6) kaempferol 3-sophoroside-7 $\beta$ -glucoside, (7) quercetin 3- sophoroside (以上, 同定できたもののみ記載)