

アメリカトリパノソーマ症に有効な治療薬の開発を 目的とした和漢薬エキス及び含有成分の探索研究

申請代表者 中村 憲夫 同志社女子大学薬学部生薬学研究室

准教授

■背景・目的

アメリカトリパノソーマ症（シャーガス病）は鞭毛虫類キネトプラスト類トリパノソーマ属の原虫 *Trypanosoma cruzi* の感染が原因で起こる疾患である。中南米でよくみられ、感染者は4000万人以上と推定されている。*T. cruzi* は、吸血昆虫サシガメによって媒介されヒトに感染する。また、輸血による感染も問題となっている。*T. cruzi* に感染してもすぐに発症することは少ない。感染者の3～4割程度が有症化し、さらにその1割が重篤な慢性末期症状（巨大結腸、巨大食道、拡張型心筋症など）を呈するといわれている。特に拡張型心筋症へと病態が進展した場合には、突然死につながることもある。現在、極めて初期の感染時のみに効果を発揮する治療薬として Nifurtimox, Benznidazole が開発されているが、慢性期発症に至った患者に対する治療薬はまだ無い。

今回、アメリカトリパノソーマ症に有効な治療薬の開発を目的として、抗トリパノソーマ活性を指標に和漢薬エキス及び生薬成分について検討（スクリーニング）を行った。

■結果・考察

富山大学和漢医薬学総合研究所より提供していただいた120種の生薬熱水抽出エキス及び95種の生薬含有成分から4～8段階の濃度の試料溶液を調製した。96穴プレートにリン酸バッファー 185 μL 及び *T. cruzi* の増殖型 epimastigote 培養液 10 μL を加えた後、試料溶液 5 μL を添加し、27 $^{\circ}\text{C}$ でインキュベートした。24時間後、原虫を顕微鏡下観察し、最小致死濃度 (MLC) を求めた。

表1に生薬エキスの抗トリパノソーマ活性の結果を示す。生薬エキスの多くは200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で無効であり、ケイケツウ（鶏血藤）、チョウジ（丁子）、ボクソク（樸椒）の3種のみが弱いながら100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のMLCを示した。著者はこれまでにいくつかのショウガ科生薬のメタノール抽出エキスに抗トリパノソーマ活性があることを見出している。しかし、これらの熱水抽出エキスでは抗トリパノソーマ活性は見られず、効果を示す可能性のある物質の多くは水に難溶と考えられる。

また、表2には生薬含有成分の抗トリパノソーマ活性の結果を示す。最も強い活性を示したのはナフトキノンの類の Alkannin と Shikonin で、MLC はそれぞれ 0.195 μM 、0.39 μM であった。また Saikosaponin d と Timosaponin A-III にも効果が見られ、MLC は共に 6.25 μM であった。次いで強い活性を示したのは Glabridin (12.5 μM)、Atractylodin (25 μM)、Bisdemethoxycurcumin (25 μM)、Honokiol (25 μM) であった。

Alkannin と Shikonin はシコンに含まれるナフトキノンの類で鏡像異性体の関係にある。サイコサポニン類では Saikosaponin a と d に効果が見られたが、Saikosaponin b2 と c は無効であった。Saikosaponin a や d は b2 と糖部分が同じであるため13、20位のアリールエーテル部分が活性発現に大きく関与していると考えられる。また、Saikosaponin a と d では16位のヒドロキシ基の配置が異なっており、 β 体より α 体の方が強い効果を示した。多くのフラボノイド類は無効であったが、イソ

フラボノイド系イソフラバンである Glabridin のみに効果が見られたことは興味深い。また、コウボクに含まれるネオリグナン Honokiok, Magnolol には効果が見られたが、ゴミシのリグナン Gomisin A, N や Rosmarinic acid には効果が見られなかった。リグナンの立体構造もしくはフェノール性ヒドロキシ基が活性発現に関与しているのではないかと思われる。ウコンに含まれるジアリールヘプタノイド類では、Bisdemethoxycurcumin が Curcumin や Demethoxycurcumin より強い活性を示した。

■結論

120種の和漢薬熱水抽出エキス及び95種の生薬成分について抗トリパノソーマ活性を検討した。残念ながら和漢薬熱水抽出エキスでは効果を示すものを見出すことはできなかった。生薬成分ではナフトキノン類の Alkannin や Shikonin に強い効果が見られた。また、サポニン類では Saikosaponin d 及び Timosaponin A-III にも効果があることを見出した。

表1 生薬エキスの抗トリパノソーマ活性

No.	生薬名	最小致死濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	No.	生薬名	最小致死濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
1	イレイセン (威霊仙)	>200	61	シンイ (辛夷)	>200
2	インチンコウ (茵陳蒿)	>200	62	ジンギョウ (秦艽)	>200
3	ウコン (鬱金)	>200	63	セキシヤク (赤芍)	>200
4	ウヤク (烏薬)	>200	64	センキュウ (川芎)	>200
5	エンゴサク (延胡索)	>200	65	キボシニンジン (生干人参)	>200
6	オウギ (黄耆)	>200	66	ソウジュツ (蒼朮)	>200
7	オウゴン (黄芩)	200	67	ソウハクヒ (桑白皮)	>200
8	オウバク (黄柏)	>200	68	ソウヨウ (桑葉)	>200
9	オウヒ (桜皮)	>200	69	ゾクダン (続断)	>200
10	オウレン (黄连)	>200	70	ソヨウ (蘇葉)	>200
11	オンジ (遠志)	>200	71	ダイオウ (大黄)	>200
12	ガイヨウ (艾葉)	>200	72	タイソウ (大棗)	>200
13	カシュウ (何首烏)	>200	73	タクシャ (沢瀉)	>200
14	ガジュツ (菝葜)	>200	74	タンジン (丹参)	>200
15	カッコン (葛根)	>200	75	チクジョ (竹茹)	>200
16	カロコン (栝楼根)	>200	76	チクセツニンジン (竹節人参)	>200
17	カンキョウ (乾姜)	>200	77	チモ (知母)	>200
18	カンゾウ (甘草)	>200	78	チョウジ (丁子)	100
19	キキョウ (桔梗)	>200	79	チョウトウコウ (釣藤鈎)	>200
20	キクカ (菊花)	>200	80	チョレイ (猪苓)	>200
21	キジツ (枳実)	>200	81	チンピ (陳皮)	>200
22	キョウカツ (羌活)	>200	82	テンマ (天麻)	>200
23	キョウニン (杏仁)	>200	83	テンモンドウ (天門冬)	>200
24	クジン (苦参)	>200	84	トウガシ (冬瓜子)	>200
25	クマザサ (熊笹)	>200	85	トウキ (当帰)	>200
26	ケイガイ (荆芥)	>200	86	トウジン (党参)	>200
27	ケイケットウ (鶏血藤)	100	87	トウニン (桃仁)	>200
28	ケイヒ (桂皮)	>200	88	ドクカツ (独活)	>200
29	ゲンジン (玄参)	>200	89	トチュウ (杜仲)	>200
30	コウカ (紅花)	>200	90	ニクジュヨウ (肉蓯蓉)	>200
31	ゴウカンヒ (合歓皮)	>200	91	ニンジン (人参、湯通し)	>200
32	コウジン (紅参)	>200	92	バイモ (貝母)	>200
33	コウブシ (香附子)	>200	93	ハクセンビ (白鮮皮)	>200
34	コウボク (厚朴)	200	94	バクモンドウ (麦門冬)	>200
35	ゴシツ (牛膝)	>200	95	ハッカ (薄荷)	>200
36	ゴシュユ (呉茱萸)	200	96	ハンゲ (半夏)	>200
37	ゴボウシ (牛蒡子)	>200	97	ビヤクシ (白芷)	>200
38	ゴマ (胡麻)	>200	98	ビヤクジュツ (白朮)	>200
39	ゴミシ (五味子)	>200	99	ビワヨウ (枇杷葉)	>200
40	サイコ (柴胡)	>200	100	ビンロウジ (檳榔子)	>200
41	サイシン (細辛)	>200	101	ブクリョウ (茯苓)	>200
42	サフラン	>200	102	ボウイ (防已)	>200
43	サンキライ (山帰来)	>200	103	ボウコン (茅根)	>200
44	サンシシ (山梔子)	>200	104	ボウフウ (防風)	>200
45	サンシチニンジン (三七人参)	>200	105	ホウブシ (炮附子)	>200
46	サンシュユ (山茱萸)	>200	106	ボクソク (樸椒)	100
47	サンショウ (山椒)	>200	107	ホコツシ (補骨脂)	>200
48	サンソウニン (酸棗仁)	>200	108	ボタンビ (牡丹皮)	>200
49	サンヤク (山薬)	>200	109	マオウ (麻黄)	>200
50	サンリョウ (三稜)	>200	110	マシニン (麻子仁)	>200
51	ジオウ (地黄)	>200	111	マンケイシ (蔓荊子)	>200
52	シゴカ (刺五加)	>200	112	モッコウ (木香)	>200
53	ジコッピ (地骨皮)	200	113	モツヤク (没薬)	>200
54	シツリシ (蒺藜子)	>200	114	ヤクチ (益智)	>200
55	シャクヤク (芍薬)	>200	115	ヤクモソウ (益母草)	>200
56	シャゼンシ (車前子)	>200	116	ヨクイニン (薏苡仁)	>200
57	ジュクジオウ (熟地黄)	>200	117	リュウタン (龍胆)	>200
58	シュクシャ (縮砂)	>200	118	リョウキョウ (良姜)	>200
59	ショウキョウ (生姜)	>200	119	レイシ (靈芝)	>200
60	ショウマ (升麻)	>200	120	レンギョウ (連翹)	>200

表2 生薬含有成分の抗トリパノソーマ活性

No.	生薬成分名	最小致死濃度 (μ M)	No.	生薬成分名	最小致死濃度 (μ M)
1	Aconitine	>100	49	Ginsenoside-Rb1	>100
2	Albiflorine	>100	50	Ginsenoside-Rc	>100
3	Alisol A	100	51	Ginsenoside-Rd	>100
4	Alisol B	50	52	Ginsenoside-Re	>100
5	Alkannin	0.195	53	Ginsenoside-Rg1	>100
6	Amygalin	>100	54	Glabridin	12.5
7	Arbutin	>100	55	Glycyrrhizic Acid	>100
8	Astragaloside IV	>100	56	Gomisin A	>100
9	Atractylenoside III	>100	57	Gomisin N	>100
10	Atractylodin	25	58	Hesperidin	>100
11	Atropine Sulfate	>100	59	Hirsutine	100
12	Aucubin	>100	60	Honokiol	25
13	Baicalein	100	61	Hypaconitine	>100
14	Baicalin	>100	62	Icariin	>100
15	Barbaloin	>100	63	Isosfraxidine	>100
16	Benzoylmesaconine Hydrochloride	>100	64	Isorhynchopylline	>100
17	Berberine Chloride	>100	65	(<i>Z</i>)-Ligustilide	>100
18	Bergenin	>100	66	Limonin	>100
19	Bisdemethoxycurcumin	25	67	Liquiritin	>100
20	Bufalin	>100	68	Loganin	>100
21	Bufotalin	>100	69	Luteolin	>100
22	Capillarsin	サンプル無	70	Magnolol	50
23	(<i>E</i>)-Capsaicin	>100	71	Mesaconitine	>100
24	Catalpol	>100	72	Naringin	>100
25	(<i>E</i>)-Chlorogenic Acid	>100	73	Nodakenin	>100
26	(<i>E</i>)-Cinnamic Acid	>100	74	Osthole	>100
27	Cinobufagin	>100	75	Oxymatrine	>100
28	Cinobufotalin	>100	76	Paeoniflorin	>100
29	Coptisine Chloride	>100	77	Paeonol	>100
30	Corydaline	>100	78	Palmatine Chloride	>100
31	Costunolide	50	79	Perillaldehyde	50
32	Curucummin	50	80	Praeruptorin A	>100
33	Dehydrocorydaline Nitrate	>100	81	Puerarin	>100
34	Dehydrocostuslactone	50	82	Rhynchophylline	>100
35	demethoxycurucummine	50	83	Rosmarinic Acid	>100
36	Dihydrocapsaicin	100	84	Saikosaponin a	50
37	Dimethylesculetin	>100	85	Saikosaponin b2	>100
38	Eleutheroside B	>100	86	Saikosaponin c	>100
39	(-)-Epigallocatechin Gallate	50	87	Saikosaponin d	6.25
40	Epihesperidin	>100	88	Schizandrin	>100
41	Ergosrterol	>100	89	Sennoside A	>100
42	β -Eudesmol	>100	90	Sennoside B	>100
43	Evodiamine	>100	91	Shikonin	0.39
44	(<i>E</i>)-Ferulic Acid	>100	92	[6]-Shogaol	100
45	Geniposide	>100	93	Sinomenine	>100
46	Geniposidic Acid	>100	94	Swertiamarin	>100
47	Gentiopicroside	>100	95	Timosaponin A-III	6.25
48	[6]-Gingerol	>100	96	Wogonin	>100