

Title	甘茶の新規抗アレルギー活性成分の研究.
Author(s)	下田, 博司
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/42777
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	しも だ ひろ し 下 田 博 司
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学位記番号	第 1 5 7 9 3 号
学位授与年月日	平成12年12月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	甘茶の新規抗アレルギー活性成分の研究
論文審査委員	(主査) 教授 小林 資正
	(副査) 教授 田中 徹明 教授 大森 秀信 教授 松田 敏夫

論 文 内 容 の 要 旨

今日、I型アレルギー疾患に適用される抗アレルギー剤は、その抗ヒスタミン作用の有無により塩基性と酸性抗アレルギー剤に分類される。後者に属するクロモグリク酸ナトリウム (DSCG)、トラニラスト、アンレキサノクスは、それぞれ天然物であるアンミ (果実)、ナンテン (葉)、オウゴン (根) から単離された成分をリード化合物として創製された医薬品で、アレルギー発症前の服用すなわち予防薬としての使用により、優れた抗アレルギー効果をあげている。

日本薬局方に収載されている甘茶 (*Hydrangeae Dulcis Folium*) は、ユキノシタ科の植物アマチャ (*Hydrangea macrophylla* SERINGE var. *thunbergii* MAKINO) の葉部を、発酵させて製される日本固有の生薬である。しかしながらその用途は、主成分である phyllo dulcin の甘味を利用した矯味剤、飲料としての使用が主で、特定の効能・効果は記載されていない。また、phyllo dulcin や hydrangenol 以外の微量成分あるいは生物活性に関する報告例も少ない。著者は、予防医学の観点より、局方収載医薬品でありながら食品的な使用に限定されていた甘茶に着目し、甘茶および加工調製前のアマチャ葉より得たメタノール抽出物 (H.D.F.および H.M.T.) について種々の生物活性評価を行った結果、I型アレルギーモデルのラット受身皮膚アナフィラキシー (PCA) 反応において抗アレルギー活性を有することを見出した。そこで、H.D.F.および H.M.T.の主成分についても同様の評価を行った結果、hydrangenol が H.D.F.の、また phyllo dulcin 8-O-glucoside および hydrangenol 8-O-glucoside が H.M.T.の主たる活性成分であることが明らかとなった。

次に H.D.F.中に hydrangenol より強い抗アレルギー活性成分を見出すため、含有成分の精査を行った。その結果、イソクマリンの thunberginols A-F、thunberginol G 3'-O-glucoside、(-)-および (+)-hydrangenol 4'-O-glucosides、ベンジリデンフタリドの thunberginol F、フタリドの hydramacrophyllols A、B を新規成分として単離構造決定した。一方、H.M.T.についても成分精査を行い、9種の新規ジヒドロイソクマリן配糖体および2種の新規セコイリド配糖体を単離構造決定するとともに、4'位水酸基あるいはメトキシル基を有するジヒドロイソクマリןが3位異性化を起こすことを見出した。

続いて H.D.F.より得られた成分について、ラット腹腔マスト細胞を用いたヒスタミン遊離試験を実施し、*in vitro* での抗アレルギー活性の評価を行った。その結果、ジヒドロイソクマリןの hydrangenol、thunberginols C、D、E、G、イソクマリןの thunberginols A、B、フタリドの thunberginol F、hydramacrophyllols A、B にヒスタミ

ン遊離抑制活性が認められた。比較的強い活性が認められたイソクマリン thunberginol A のヒスタミン遊離抑制活性の発現に必要な構造を検討したところ、8, 3'位の水酸基およびラクトン構造が活性発現に必須であり、3 位のオレフィンと6 位水酸基は活性を増強することが明らかとなった。また thunberginol A は、マイトジェンや抗原刺激によるリンパ球の活性化も抑制することが明らかになり、IV型アレルギーに対しても奏効する可能性が示唆された。

マスト細胞からのヒスタミン遊離に対して強い抑制活性が認められた thunberginols A, F について、*in vivo* での抗アレルギー作用を検討するため、phyllodulcin を出発物質としてラクトン開裂体を得た後、2-カルボキシステルベンの位置選択的ラクトン化反応により thunberginols A や F を合成した。得られた thunberginols A, F の *in vivo* での抗 I 型アレルギー作用をラット PCA 反応を用いて検討したところ、thunberginol A はトラニラストと同等の活性を有することが判明したが、thunberginol F の活性は非常に弱いものであった。そこで、thunberginol A について、他の I 型アレルギーモデルに対する作用を検討したところ、マウス耳介 PCA 反応やラット気道アナフィラキ시스反応に対しても抑制作用を示すことが明らかになった。続いて、thunberginol A の作用特性を調べる目的で、II~IV型アレルギーに対する作用を検討した結果、II型やIII型アレルギーモデルにおいては有効性が認められなかったが、IV型アレルギーモデルのマウス緬羊赤血球 (SRBC) 誘発足趾浮腫反応および耳介接触性皮膚炎に対してそれぞれ抑制作用が認められた。以上の結果より、thunberginol A は I 型およびIV型アレルギー反応に対して有効性を示し、特に I 型アレルギーに対しては、トラニラストと同等の作用を有することが明らかになった。

最後に thunberginol A のマスト細胞情報伝達系に及ぼす作用を検討した結果、タンパク質チロシンリン酸化の非特異的な抑制、細胞外からの Ca^{2+} の流入阻害、さらに細胞骨格や細胞膜の安定化作用が、マスト細胞脱顆粒抑制メカニズムに関与していることが明らかになった。

以上著者は、生薬甘茶に新たに抗アレルギー活性を見出し、主たる活性成分やイソクマリンの活性発現に必須な構造を明らかにするとともに、新規抗アレルギー活性成分 thunberginol A の抗アレルギー作用特性ならびに脱顆粒抑制メカニズムを解明し、本化合物がイソクマリン型の抗アレルギー薬のリード化合物になりうる可能性を示した。

論文審査の結果の要旨

天然薬物資源から新しい生物活性物質を探索する研究は、創薬科学における先導的な役割を果たしている。また、花粉症、アレルギー性喘息や鼻炎など I 型アレルギーに対する治療薬が開発されてはいるが、依然、我が国では罹患率が増加傾向にある。一方、日本薬局方に収載されている甘茶は我が国固有の生薬でありながら、主成分の phyllodulcin の甘味を利用した矯味剤、飲料としての使用が主であった。申請者は、甘茶のエキスに抗 I 型アレルギー活性があることを見出し、主成分の phyllodulcin には活性がないことから、抗アレルギー活性成分の検索を行っている。

本論文では、まず、甘茶の含有成分を詳細に検討している。その結果、種々の既知物質の他に、イソクマリン関連化合物 8 種とフトライド 3 種の新規物質を単離して、それらの化学構造を明らかにしている。また、アマチャ葉からも 10 種の新規物質を見出している。そして、これらの化合物について、ヒスタミン遊離抑制試験を行ったところ、イソクマリン thunberginol A および B とフトライド thunberginol F に強い活性が認められることを明らかにしている。さらに、主成分 phyllodulcin から化学誘導により活性成分の thunberginol A と thunberginol F に選択的に変換する方法も確立している。

さらに、thunberginol A および B と thunberginol F を用いて、作用メカニズムを詳細に解析したところ、thunberginol A が *in vivo* でも I 型及びIV型アレルギーモデルに対して有効であることを明らかにしている。また、thunberginol A のマスト細胞脱顆粒抑制作用機序として、蛋白質リン酸化の非特異的な抑制、細胞外からのカルシウムイオンの流入阻害や細胞膜の安定化作用が関与していることを明らかにしている。

以上の成果は博士 (薬学) の学位論文として充分価値あるものと認められる。