

杜仲葉の生理活性成分に関する調査

矢崎 廣久, 福島 悦子, 加瀬 信明, 竹田 敏晴¹⁾

Studies on the Iridoid Related Constituents in the Leaves of *Eucommia ulmoides*

Hirohisa YAZAKI, Etsuko FUKUSHIMA, Nobuaki KASE and Toshiharu TAKEDA¹⁾

I はじめに

杜仲 (*Eucommia ulmoides*) は植物分類上、一科一属一種、雌雄異株の落葉喬木であり、原産は中国南西部、長江の中流域といわれている。しかし、最近ではこれらの自生は少なく、生薬原料として、四川、雲南、湖北、広西等の地域で栽培が行われている¹⁾。

中国では古来より暗褐色の乾燥した樹皮部を不老長寿の秘薬として、人参、甘草、地黄と同様に、上品に分類、珍重を続けてきた。その主な効能効果は、強壯、強精、利尿降圧、鎮痛、抗腫瘍作用などが認められ、有効成分としてイリドイド配糖体、リグナン配糖体、オウコミオール及びグッタペルカ等が知られている²⁻⁴⁾。また、杜仲葉については、20年も前に中国で臨床的な有効性を見るための試験が行われ、その後日本でも難波らによる研究が進められ、利尿、血圧降下及び滋養強壮などの薬理作用が報告されている⁵⁻⁹⁾。

本県では、以前より南房総の丘陵地帯を中心に、増加の一途をたどる休耕田の有効活用を図る目的で、杜仲の栽培を手懸けてきた。しかし、杜仲の樹皮は植樹後、収穫までに約15~20年もかかり、また一度収穫すると皮の再生に何年も要することから、毎年収穫できて加工し易い特性を持つ杜仲葉が注目され、現在も利用されている。さらに、健康食品ブームも加わって、かなり以前より杜仲茶、ドリンク、杜仲そば・うどんなどの品目が製造され、さまざまな活用が図られている。

ところが、樹皮の成分に比べ葉の含有成分に関する詳しい報告は多く見られない^{2-4), 9-10)}。そこで著者らは、過去数年間に渡り葉に含まれる有効成分の検出、効率的抽出法、栽培環境による含量差、並びに季節的成分変動などに関する詳細な調査を行った¹¹⁾。

II 実験方法

1. 供試試料

試料の杜仲葉は、1992~1993年分については鴨川市東部沿岸丘陵地で栽培出荷されているものを、成分の検出及び抽出法の検討用として7~8月に採取、1994~1996年分については1992年に入手した苗木を、当研究所敷地内の栽培環境の異なる南北西位置3

箇所に植樹し、若葉が出る5月から落葉の11月まで、それぞれ各樹木より毎月10~20葉を無作為的に採取した。

2. 試験溶液の調製

採取葉は2つのグループに分け、採取後ただちに、蒸し器による3分間の加熱処理、並びに天日による自然乾燥という2種の方法で処理し、いずれも風乾した後にデシケーター中で恒量とした。ここで得られた葉約50gを精秤し、50%メタノール溶液を加えて30分間超音波抽出を行い、0.45 μ mメンブランフィルターでろ過したものを高速液体クロマトグラフ (HPLC) 用試験溶液として用いた。

3. HPLC装置及び測定条件

装置：日本分光LC800, PU880型ポンプ, MULTI-340, MD910 型検出器, 860-CO恒温槽

カラム：Pursil C₁₈, 5 μ m, 4.6 ϕ ×150mm

移動相：(a) アセトニトリル-水-酢酸 (6+93+2)

(b) アセトニトリル-水 (14+86)

流速：0.7ml/min

温度：40℃

測定波長：200-350nm (定量230nm)

注入量：10 μ l

III 結果及び考察

すでに杜仲樹皮中に含まれる生理活性成分として報告されているイリドイド配糖体のGeniposide (GP), Geniposidic acid (GA) 及びAsperuloside (AP) について、また、リグナン配糖体に類するPinoresinol diglucoside (PDG), Syringaresinol diglucoside (SDG) 及びMedioresinol diglucoside (MDG) について検索を行ったところ、葉部抽出物よりGA, APなどが検出された。さらに、これらの成分に関して以下に示すような検討結果が得られた。

1. 試料の前処理法による成分変化

採取葉の前処理にあたり、蒸し器等の加熱処理と天日等の自然乾燥を比較したところ、表1に示すようにGAで見ると、前者は後者より21.7~40.2%高い値となり、同様にAPでは20.3~76.1%も高い値となった。これは、収穫直後に迅速な加熱を加えると、葉中に存在する成分分解酵素の働きを停止させる効果がある為といわれる²⁾。なお、採取直後の葉を用いて加熱法の比較試験をしたところ、3分間熱湯で茹でた場合はGA21.0mg/g, AP5.1mg/gであったのに対し、3分蒸し器処理した値は、それぞれ

千葉県衛生研究所

1) 千葉市環境保健研究所

(1998年11月12日受理)

表1. 杜仲葉の前処理方法（加熱及び自然乾燥）の違いによる成分量比較

| 試料名 | 蒸し器による処理 | | 天日等の自然乾燥 | | 処理法間の成分差違* | |
|-----|----------|----------|----------|----------|------------|-------|
| | GA(mg/g) | AP(mg/g) | GA(mg/g) | AP(mg/g) | GA(%) | AP(%) |
| A | 41.9** | 21.1 | 28.7 | 6.6 | 31.5 | 68.7 |
| B | 31.6 | 10.9 | 22.6 | 2.6 | 28.5 | 76.1 |
| C | 18.9 | 9.5 | 14.8 | 4.6 | 21.7 | 51.6 |
| D | 11.7 | 8.4 | 7.0 | 5.4 | 40.2 | 35.7 |
| E | 5.7 | 6.9 | 3.5 | 5.5 | 38.6 | 20.3 |

* 処理法間の成分差違(%) = [1 - (天日等の自然乾燥mg/g / 蒸し器処理mg/g)] × 100

** n = 3

GA 32.6mg/g, AP 5.9mg/g となり、蒸し器を使用したほうが分解はより少ないことが分かった。

2. 分析条件の検討

杜仲葉の抽出については、溶媒による加熱還流法などの手法もあり、著者らも実際に数種類の有機溶媒で還流を試みたが、グッタペルカを初め葉中に含まれるゴム・樹脂状成分が多量に溶出するため、その後のクリーンアップ操作が極めて煩雑なものとなる。そこで、有効成分のイリドイド配糖体やリグナン配糖体等を中心に選択的な抽出が可能で、かつ操作性において迅速簡便な超音波抽出法の検討を行った。結果としては、乾燥葉を細末とし、水・メタノール溶液に浸して30分以上超音波にかけた後、0.45µmフィルター口過を行う操作により、HPLC分析用の溶液を得る方法が優れていた。

HPLCの条件は、ODSカラムに移動相としてメタノール・リン酸、又はアセトニトリル・リン酸などの組合せも試みたが、GAとAPの溶離性の差が大きいことから、HPLC測定条件の項に示したとおり、GAは移動相アセトニトリル-水-酢酸(6+93+2)で保持時間(RT)4.7分、同様にAPはアセトニトリル-水(14+86)で5.1分に、図1のような夾雑ピークの少ない良好なクロマトグラムが得られた。なお、大元らの報告⁹⁾によると杜仲葉よりGPを定量した旨の記載があり、また下山らは葉よりSDGが得られたとしているが¹⁰⁾、著者らがアセトニトリル-水(14+86)移動相でHPLC分析したところ、GPは皆無であり、SDGについてはRTは6.38分、SDGではないかとされる試料溶液中の近似ピークは6.03分と明らかな違いが見られ、今回の調査ではSDGも葉には含まれていないとの結論を得た。

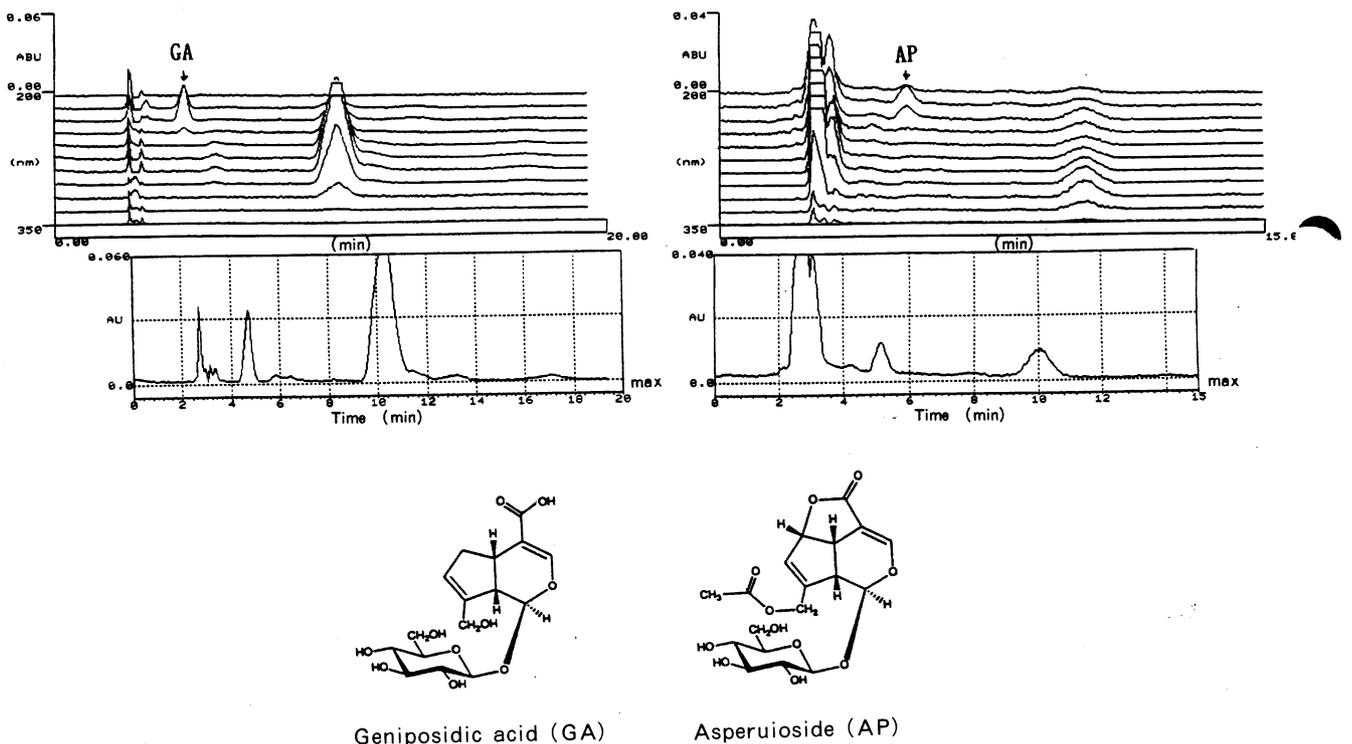


図1. 杜仲葉抽出液のHPLC三次元クロマトグラム
 GA用移動相: アセトニトリル-水-酢酸(6+93+2)
 AP用移動相: アセトニトリル-水(14+86)

3. 環境条件による杜仲葉成分の変動

1) 含有成分の経時的変動

1994～96年の3年間についてはGA, APともに含量は年によりバラツキがみられるが, 低い年には年間を通じて低値(図2)を示すので, 多分に気象条件によるものと推測される。特に94年の夏(6～8月)は観測史上最も暑く寡雨の年といわれ, 96年は逆に相当涼夏で多雨が続いたが, AP成分にとっては後者の条件が適するようで, 増減変動にその傾向が現れている。また, 95年のGAに見られるように, 他の年に較べかなり低い場合もあり, 原因が特定しにくい例もあった。

これらの成分の月別の変動を比較すると, 図2に見られるようにGA, APとも5～7月にかけて高く, 8月以降は次第に減少傾向を示し, GAに関しては10月になるとほぼ消失している。したがって, 杜仲葉の収穫時期は9月頃からといわれているが, 成分変動からみると若干遅い感がある。下山らもGAについて8～

11月までを調査し, 同様な傾向があると報告¹⁰⁾している。

2) 立地条件による含有成分の変動

1992年に入手した長野県産の苗木は, 購入条件も一定に揃えた上で敷地内の南, 西, 北位置の3箇所に植樹したものであるが, 日照時間, 土質, 肥料等の差異が複雑に影響を及ぼし合うためか, 3～4年後には木部の径, 樹高, 葉のサイズと枚数にかなりの差が生じた。特に日照条件は良いものの, 土質は硬く肥料の吸収が十分でない南面の樹木は外形と葉が小さく, 一方, 日当たりは良くないが比較的土質条件に恵まれた西面と北面の樹木は, 樹高, 樹径ともに2倍以上あり, 葉のサイズも大きなものになった。

しかし, 成分的には図3に見られるように, GA, AP含量とも日照, 土質等の環境条件及び樹木の大きさに相関するような顕著な傾向は表われなかった。従来, GAに関して, 産地による差があると報告は見当たらないが, 著者らの結果もそのことを裏付けるものとなった。

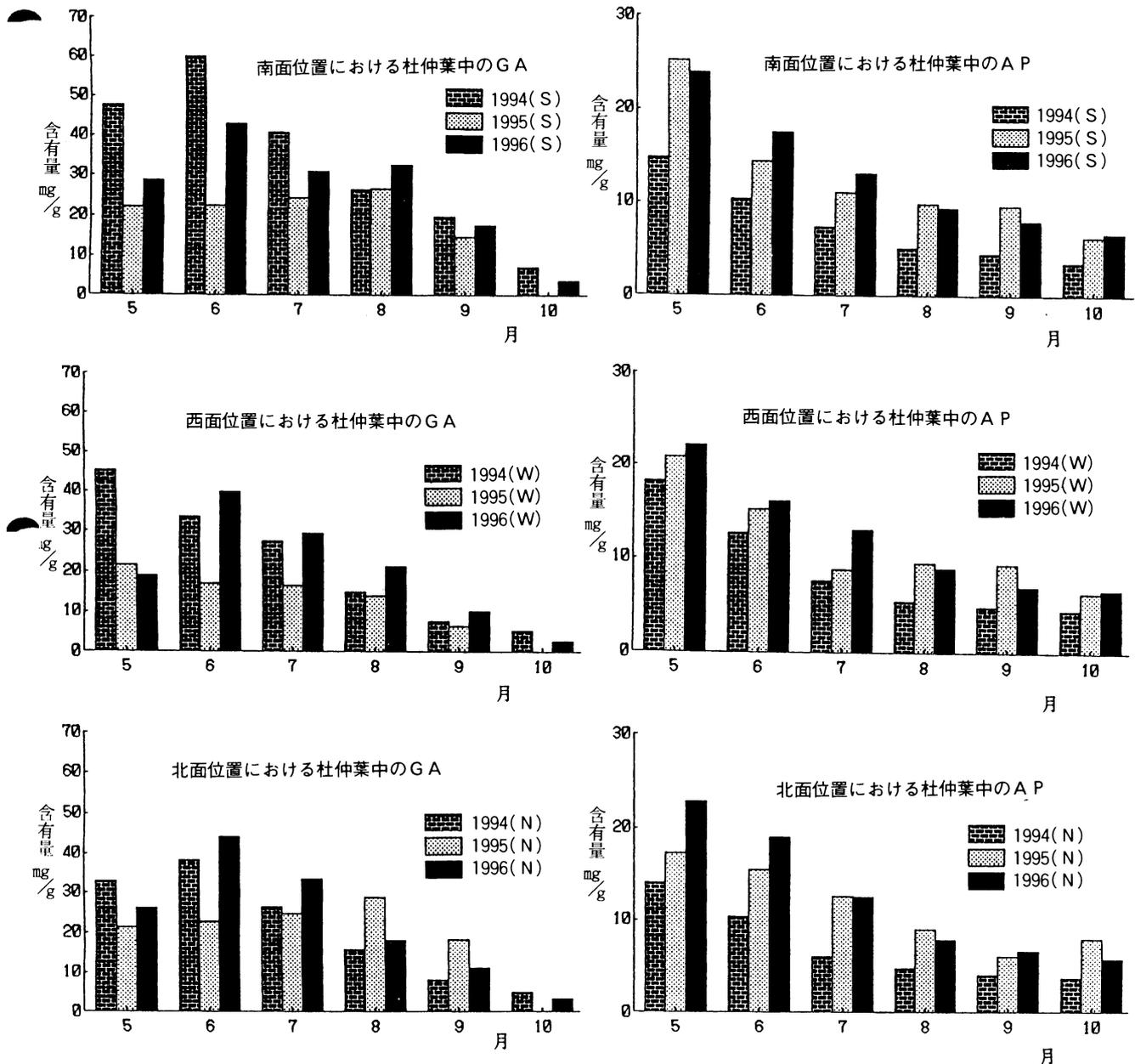


図2. 杜仲葉中の年度別GA及びAP含量の月変動(1994～96年)

* (S)は南面に, (W)は西面に, (N)は北面に植樹した

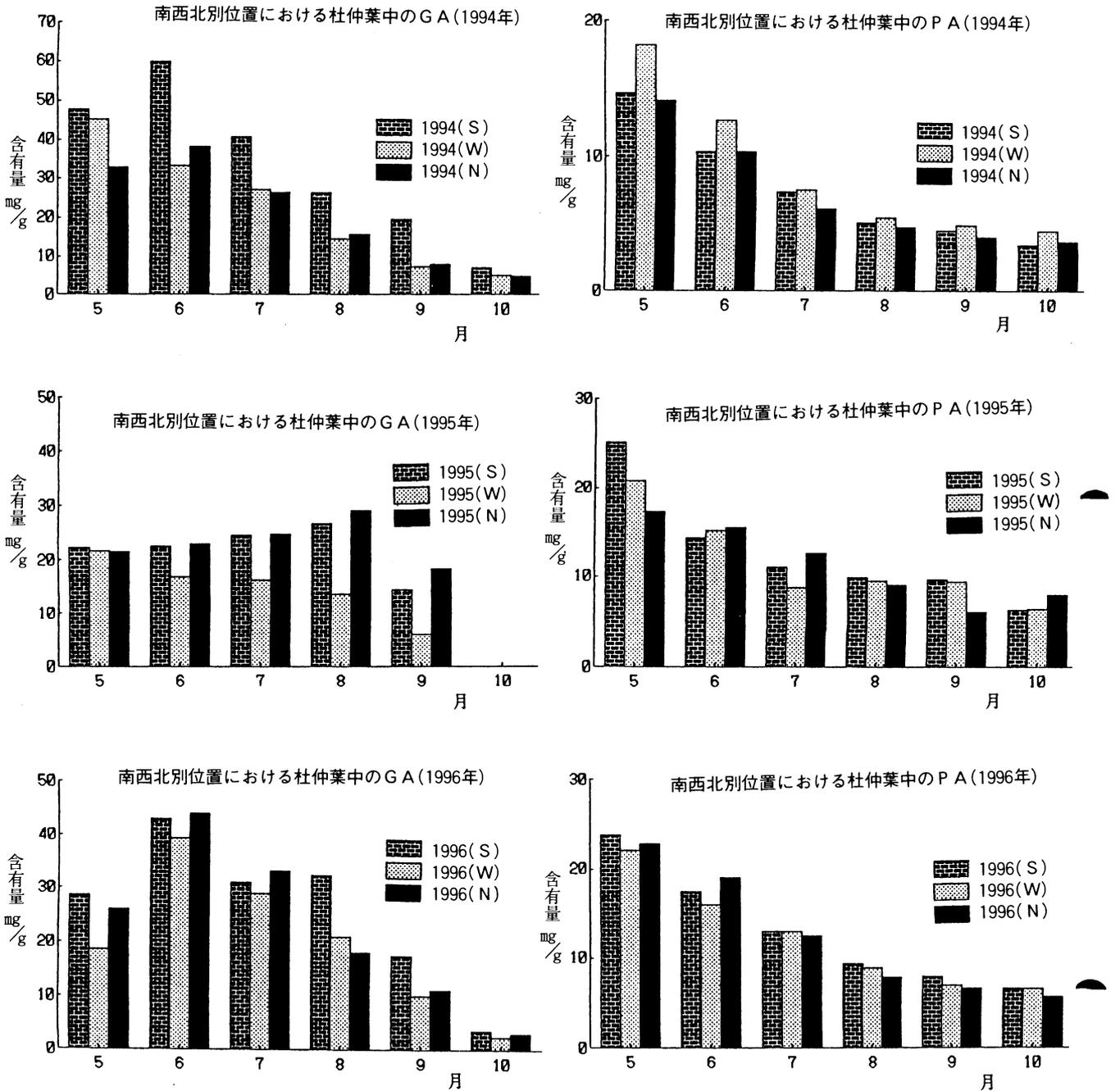


図3. 杜仲葉中の植樹位置別GA及びAP含量の月変動(1994~96年)

* (S)は南面に、(W)は西面に、(N)は北面に植樹した

IV まとめ

杜仲葉の生理活性成分を調査するため、鴨川市で栽培されている葉、及び当所敷地内で土質・日照時間などが異なる3ヶ所に植樹した葉を試料として、数年に渡り有効成分を調べ、以下の結果を得た。

葉の抽出物について、年間を通じてイリドイド及びリグナン配糖体などを検索したところ、イリドイド配糖体のGA及びAPがほぼオールシーズンで検出された。

分析方法を検討した結果、葉を乾燥して50%メタノール溶液中で超音波抽出し、メンブランフィルター過後、ODSカラム及びアセトニトリル-水系の2系統の移動相を用いるHPLC分析により、良好なピークが得られることが分かった。

収穫直後の葉の前処理法で、蒸し器等の加熱と天日等の自然乾

燥を比較したところ、加熱処理したほうがGAで21.7~40.2%程度、またAPでは20.3~76.1%も高い値が得られているが、これは樹皮についてすでに報告されているように、葉中の成分分解酵素の働きを停止させるためと思われる。

GA、AP成分の経時的変動を3年間に渡って毎月調べたところ、年次によりバラツキがあるが、低値を示す年は年間を通じて低い傾向が見られるので、気象条件が影響を与えている可能性が考えられる。また、月別変動の比較では、GA、APとも5~7月が高く、8月以降は漸減傾向を示した。

樹木の立地条件による成分変動を見るため、日照、土質、肥料等、環境の異なる3ヶ所で苗木を育てたが、3~4年後に樹高、樹径などに2倍以上の差が生じたものの、成分量については環境及び樹木の大きさに相関する傾向は表れなかった。

謝 辞

今回の調査研究にあたり、貴重な試料及び文献をお送りいただいた(株)養命酒製造中央研究所の出山 武氏に、また、助言いただいた北海道医療大学の西部三省教授、北見工業大学の山岸 喬教授に、深謝いたします。

文 献

- 1) 水野瑞夫監修：日本薬草全書，438-440，新日本法規，東京，1995.
- 2) Takahashi T., Matsumoto N., Oshio H., : The Stability of Bioactive Components in the Bark of *Eucommia ulmoides*:*Eucommia Cortex*, *Shoyakugaku Zasshi*, 42(2), 111-115 (1998).
- 3) Deyama T. : The Constituents of *Eucommia ulmoides* OLIV. I. Isolation of (+)-Medioresinol Di-O- β -D-glucopyranoside, *Chem. Pharm. Bull.*, 31(9)2993-2997 (1983).
- 4) Deyama T., Ikawa T., Kitagawa S., Nishibe S. : The Constituents of *Eucommia ulmoides* OLIV. IV. Isolation of a New Sesquiglycan Glycoside and Iridoids, *Chem. Pharm. Bull.*, 34(12)4933-4938 (1986).
- 5) 難波恒雄，服部征雄，葉 加南，馬 永華，野村靖幸，金子周司，北村佳久，小泉 保，片山和憲，慮 偉：杜仲葉の研究 (I) -水抽出画分の一般薬理作用，和漢医薬学会誌，3(3)，89-97，1986.
- 6) 野村靖幸，金子周司，北村佳久，東田道久，難波恒雄，服部征雄，葉 加南：杜仲葉水抽出画分のラット脳および心臓レセプター・アデニル酸シクラーゼ系への作用，和漢医薬学会誌，3(2)，328-329，1986.
- 7) 奥田拓男編：天然薬物事典，299，廣川書店，東京，1986.
- 8) 中沢慶久，小田切則夫，今井玲子，吉井利朗，田頭栄治郎，中田千登世，中村隆典，浅海正吉，鬼塚重則，矢原正治，野原稔弘：杜仲葉エキスの血圧降下に関する研究 (第1報)，*Natural Medicines*, 51(5), 392-398 (1997).
- 9) 大元一郎，田中俊弘，西部三省：杜仲葉の生薬学的研究(2)成分の季節的変動について，日本生薬学会第41回年会講演要旨，248，札幌，1994.
- 10) 下山明美，山抱基純，中沢慶久，矢原正治，野原稔弘：杜仲葉成分の研究，*生薬学雑誌*, 47(1), 56-59, 1993.
- 11) 矢崎廣久，福島悦子，加瀬信明：杜仲葉の生理活性成分に関する調査，地方衛生研究所全国協議会関東甲信静第10回理化学研究部会要旨，86-89，横浜，1998.