薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
102 (6) 555-559 (1982)

副腎皮質ホルモン分泌に及ぼす数種生薬総サポニンの作用

横山弘臣,^a 日合 奨,^{*,a} 大浦彦吉,^a 林 輝明^b

富山医科薬科大学和漢薬研究所,^a (株)小城忠治商店研究所^b

Effects of Total Saponins extracted from Several Crude Drugs on Rat Adrenocortical Hormone Secretion

HIROOMI YOKOYAMA,^a SUSUMU HIAI^{*,a} HIKOKICHI OURA,^a and TERUAKI HAYASHI^b

Research Institute for WAKAN-YAKU, Toyama Medical and Pharmaceutical University,^a
2630, Sugitani, Toyama 930-01, Japan and Research Laboratory, C. Koshiro and
Co., Ltd.,^b No. 5, 3-chome, Dosho-machi, Higashi-ku, Osaka 541, Japan

(Received November 30, 1981)

Effects of total saponin preparations extracted from *panacis japonici* rhizoma, *saponariae radix alba*, *sapindus pericarpium*, *senegae radix*, *thea semen*, *bupleuri radix*, *hippocastani semen*, and *styrax pericarpium*, which contain oleanane-type aglycone on plasma levels of ACTH, corticosterone, and glucose in rat were determined by the radio-immunoassay method, the competitive protein binding method, and by the glucose oxidase method, respectively. All of saponins tested were found to increase plasma ACTH, corticosterone, and glucose at 30 minutes after the intraperitoneal administration. ED₅₀ Value for the corticosterone secretion-inducing activity of saponins was estimated. Among 8 saponins, *styrax* saponin was the most effective (0.7 mg/kg) and *panacis japonici* saponin was the least (54 mg/kg). The increase in plasma glucose by these saponins was similar to that of isolated saikosaponin a or d but not to that of ginseng saponin. Hemolytic activities of these saponins were also determined, and the order of the activity was almost parallel to the order of ED₅₀.

Keywords—saponin; plasma ACTH; plasma corticosterone; *panacis japonici* rhizoma; *saponariae radix alba*; *sapindus pericarpium*; *senegae radix*; *thea semen*; *bupleuri radix*; *hippocastani semen*; *styrax pericarpium*

緒 言

ダンマラン骨格のゲニンを含む薬用人参サポニンの腹腔内投与や経口投与はラットの血漿 ACTH, コルチコステロン値を増加させた。¹⁾ またオレアナン骨格のゲニンを含むセイヨウトチノキ種子サポニンのエスシン,²⁾ 柴胡のサイコサポニン a, d は強い抗炎症作用を示し, サイコサポニン c にはこの作用がないことはよく知られている。³⁾ このエスシン, サイコサポニン a, b₁, b₂, b₃, b₄, d について血漿 ACTH, コルチコステロン, 血糖に対する作用を検討したところ, いずれも増加させることが明らかとなった。^{4,5)} しかしながらサイコサポニン c^{4,5)} やグリチルリチン¹⁾ はいずれに対しても影響しなかった。またサイコサポニン a, d については強い代謝への作用と赤血球膜への作用が知られているが, サイコサポニン c にはこれらの作用はほとんどない。⁶⁾ これらの結果からサイコサポニンでは主として 23 位の CH₃ 基の修飾が種々の生物活性の有無・強弱に関与することが推論された。^{5,6)}

種々の生薬にトリテルペノイドサポニンが含まれており, それら生薬のエキスあるいはその粗サポニンに抗炎症作用が報告されているものもある。しかしいずれもコルチコイド分泌に対する作用は検討されていない。本研究ではオレアナン骨格をもつ各種総サポニン標品に ACTH, コルチコイド分泌促進作用があるかどうか, またそのコルチコイド分泌促進活性とサポニンの溶血活性との関係について検討した。さらにサイコサポニンやエスシンが示した血糖増加作用はダンマラン骨格を有する薬用人参サポニンでは認めがたかったので, 今回検討のサポニン標品はどのように血糖値に影響するかをも併せて検討した。

実験材料ならびに実験方法

竹節人参, 延命皮, セネガ根, 柴胡, エゴノキ果皮の各々の総サポニン (それぞれ, chikusetsu-saponin, sapindoside, senegin, saiko-saponin, jego-saponin, Table I) は MeOH 抽出, BuOH 転溶後 エーテル沈殿に

よって分画したものをを用いた. 茶実サポニン (thea seed-saponin) は居初油化工業株式会社から供与された. 標準サポニンとしてのサボナリア根のサポニン (gypsophila-saponin) とセイヨウトチノキ種子のサポニン (β -escin) は E. Merck 社製のものをを用いた (Table I).

動物は体重 140 g 前後の Wistar 雄ラットを用い, 24°C の明暗サイクル (明期 0600—1800 h) 下で水と固型飼料を自由摂取させ約一週間飼育した後実験に供した. 血漿は既報¹⁾のごとく非特異的ストレスや日内リズムによるコルチコステロン値の変動をさけるためハンドリングで馴化させた動物から 0900—1000 h に断頭採血しヘパリンにより血漿とした. サポニンは生理食塩水に溶解または懸濁して断頭の 30 分前に腹腔内投与した. 血漿コルチコステロンは Murphy の結合蛋白拮抗法,²⁾ ACTH は Radiochemical Centre の kit をを用いた radioimmunoassay, 血糖は glucose oxidase 法によって測定した. サポニン標品の溶血活性は稀釈した血液を用いる藤田・西本の方法³⁾によって測定した.

実験結果

Fig. 1 は今回検討したサポニン 7 標品ならびに比較のため既に報告した薬用人参サポニ

Fig. 1. Effect of Graded Doses of Saponins on Rat Plasma Corticosterone and Plasma Glucose Concentrations

Plasma samples were taken at 30 min after intraperitoneal administration of each saponin. Each point represent the mean of 3—6 rats. Saline administered control values were 1.6 ± 1.0 μ g/100 ml ($n=5$) for plasma corticosterone and 147 ± 5 mg/100 ml ($n=5$) for plasma glucose. Jegosaponin $\square$ — $\square$, senegin $\bigcirc$ — $\bigcirc$, sapindoside $\triangle$ — $\triangle$, saiko-saponin, ∇ — ∇ gypsophila-saponin $\square$ — $\square$, thea seed-saponin $\triangle$ — $\triangle$, chikusetsusaponin $\bigcirc$ — $\bigcirc$. Data of escin $\blacksquare$ — $\blacksquare$, ginseng-saponin $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$, glycyrrhizin $\bullet$ — $\bullet$, and saikosaponin c $\blacktriangledown$ — $\blacktriangledown$ were taken from previous reports.^{1,4,5)}

TABLE I. Crude Drugs and Total Saponins

Crude Drug (Japanese name)	Species	District	Total saponin
Panax japonici rhizoma (Chikusetsuninjin)	<i>Panax japonicum</i> C.A. MEYER	Kyushu	Chikusetsu-saponin
Saponariae radix alba (Hakushokusaponariakon)	<i>Gypsophila paniculata</i> L.	(E. Merck)	Gypsophila-saponin
Sapindus pericarpium (Enmeihi)	<i>Sapindus mukorossi</i> GAERTN.	Shikoku	Sapindoside
Senegae radix (Senegakon)	<i>Polygala senega</i> L. var. <i>latifolia</i> TORREY et GRAY	Hyogo	Senegin
Thea semen (Chazitsu)	<i>Thea sinensis</i> L.	Shizuoka	Thea seed-saponin
Bupleuri radix (Saiko)	<i>Bupleurum chinense</i> DC.	China	Saiko-saponin
Hippocastani semen (Seiyotochinokisyushi)	<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	(E. Merck)	β -Escin
Styrax pericarpium (Egonokikahi)	<i>Styrax japonicus</i> SIEB. et ZUCC.	Tohoku	Jegosaponin

TABLE II. Effect of Intraperitoneal Administration of Each Saponin on Plasma ACTH in Rat

Treatment	Dose (mg/kg)	Number of rat	ACTH (pg/ml)
Control (saline)	(5 ml)	5	95±8
Chikusetsu-saponin	250	4	1128±50 ^{a)}
Gypsophila-saponin	25	5	1356±93 ^{a)}
Sapindoside	25	5	688±29 ^{a)}
Senegin	25	4	1128±138 ^{a)}
Thea seed-saponin	10	5	1071±131 ^{a)}
Jegosaponin	5	5	852±73 ^{b)}

Plasma samples were taken at 30 min after saponin treatment. Data are mean±S.E. a) significant $p<0.01$ vs. control, b) significant $p<0.001$ vs. control.

ン、グリチルリチン、エスシン、サイコサポニン c の血漿コルチコステロン値と血糖値に及ぼす影響を示したものである。図から明らかなように生理食塩水を投与した対照群（コルチコステロン値： $1.6\pm 1.0\text{ }\mu\text{g}/100\text{ ml}$, $n=5$ ）と比べると、今回新たに検討した7種のサポニン標品は作用の強弱はあるがすべて血漿コルチコステロン値を増加させることが認められた。またこれらのサポニン標品は血漿 ACTH も有意に増加させることが確認された（Table II, 参考；サイコサポニン a, 5 mg/kg : $952\pm 58\text{ pg/ml}$, $p<0.001$ vs. control, サイコサポニン d, 2.5 mg/kg : $741\pm 89\text{ pg/ml}$, $p<0.001$ vs. control⁴⁾）。

次に各サポニン標品のコルチコステロン分泌促進活性を用量反応関係（Fig. 1）から、血漿コルチコステロン値が最大値の1/2になる用量（ED₅₀）として求めた。その結果を Table III に示した。Oleanolic acid をゲニンとするサポニンが主である竹節人參の ED₅₀ は 54 mg/kg で最も活性が弱かった。ゲニンの23位のCH₃がCHO, CH₂OH, COOH となった白色サボナリア根、延命皮、セネガ根のサポニンの ED₅₀ はそれぞれ、3.2, 2.4, 2.3 mg/kg であった。茶実、柴胡、セイヨウトチノキ種子のサポニンは23位あるいは24位のCH₃がCH₂OH あるいはCHO となったゲニンを主成分として含むが、それぞれ ED₅₀ は4.9, 2.7, 2.0 mg/kg であった。23位、24位のCH₃が修飾されていないエゴノキ果皮のサポニンでは予期に反し更に強い活性を示し ED₅₀ は 0.7 mg/kg であった。

各サポニンの溶血指数（H.I.）を測定し、対応する溶血濃度（hemolytic concentration）を Table III に示した。A 群内、B 群内それぞれにおいて、コルチコステロン分泌促進活性が強ければおおむね溶血活性が強かった。

血糖値に対しては竹節人參でその増加作用が比較的弱い他のサポニン標品はすべて著しい血糖増加作用を

TABLE III. ED₅₀ Value of Corticosterone Secretion-inducing Activities and Hemolytic Activities of Total Saponins containing Oleanane Skeleton

Group	Saponin	Main sapogenin	ED ₅₀ (mg/kg)	Hemolytic conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Hemolytic index
A	Chikusetsu-saponin	Oleanolic acid ⁹⁾	54	299	3350
	Gypsophila-saponin	Gypsogenin ¹⁰⁾	3.2	38.8	25800
	Sapindoside	Hederagenin ¹¹⁾	2.4	73.0	13700
	Senegin	Presenegin ¹²⁾	2.3	27.2	36700
B	Thea seed-saponin	Theasapogenol A,E ¹³⁾	4.9	30.6	32700
		Camelliagenin D			
	Saiko-saponin	Saikogenin G,F,E ¹⁴⁾	2.7	9.69	103000
	β -Escin	Protoescigenin ¹⁵⁾	2.0	10.8	92600
	Jegosaponin	Jegosapogenin ¹⁶⁾	0.7	3.46	289000

示した (Fig. 1). これは既に報告したエスシンやサイコサポニン a, d と同様な作用態度であった. これに反し, 薬用人参サポニンはコルチコステロンを増加させ血糖をほとんど増加させないが, この型のサポニンは今回見出しられなかった.

考 察

オレアナン骨格のゲニンをもつ 7 種の総サポニンにコルチコステロン分泌促進活性を認めた. これらはすべて血漿 ACTH も有意に増加させた. この結果はこれらのサポニンが薬用人参サポニンやエスシン, サイコサポニン a, d と同様に, 下垂体前葉からの ACTH の分泌を亢進させ, この ACTH を介してコルチコステロンの分泌を亢進させることを示している.

コルチコステロン分泌促進活性は oleanolic acid をゲニンとするサポニンが主である chikusetsu-saponin の ED_{50} が 54 mg/kg であった. このサポニンは先に報告したサイコサポニン a, d, c, b₁—b₄ の構造活性相関から類推すれば, ほとんど活性を示さないと予想されたものであった. Chikusetsu-saponin は oleanolic acid の他に薬用人参と同じくダンマラン骨格の 20(S)-protopanaxadiol をゲニンとする chikusetsu-saponin III 等を含み,⁹⁾ これが活性の出現に寄与し, 構成サポニンの主体である oleanolic acid 配糖体自体の ED_{50} は 54 mg/kg よりさらに低く, サイコサポニン c のように活性がないか, あっても極めて弱い可能性が高い. 次に oleanolic acid の 23 位の CH_3 が CHO , CH_2OH , $COOH$ に修飾されたゲニン部分をもつ gypsophila-saponin,¹⁰⁾ sapindoside,¹¹⁾ senegin¹²⁾ の ED_{50} は chikusetsu-saponin の 1/10 オーダーであった. この結果から 23 位の CH_3 が修飾されるとコルチコステロン分泌活性が強まるものと考えられる. Thea seed-saponin,¹³⁾ escin,¹⁵⁾ jegosaponin¹⁶⁾ は 28 位 CH_2OH をもつ β -amyrin の D 環, E 環に 16 α -OH, 21 β -OH, 22 α -OH の水酸基のあることが共通であり, これらのサボゲニンは tiglic acid または angelic acid とエステルを形成していることでも共通である. この群においては 23, 24 位 CH_3 が CH_2OH や CHO となった thea seed-saponin, escin にコルチコステロン分泌促進活性があり, gypsophila-saponin, senegin らとほぼ同じオーダーの ED_{50} を示した. しかし予期に反し 23, 24 位が CH_3 のままである jecho-saponin にはさらに強い活性, ED_{50} : 0.7 mg/kg, が認められた. このことから活性の上昇は chikusetsu-saponin などの A 群において考えた 23 位 CH_3 の修飾によるものではなく, D 環, E 環の多数の水酸基がかなり影響していると考えられ, 28 位 CH_3 が $COOH$ となっている A 群と 28 位 CH_3 が CH_2OH となった B 群と区別して扱うのが妥当と思われる. なおこの点に関連してトリテルペノイドサポニンの構造と溶血活性の関係で, サポニンの D, E 環にある極性基の極性の強弱,¹⁷⁾ カルボキシル基の有無¹⁸⁾ などが溶血活性に著しく影響すると報告されている.

今回検討したサポニンの溶血活性とコルチコステロン分泌促進活性の ED_{50} を比較すると A 群内, B 群内のそれぞれにおいて両者はおおむね平行することが明らかとなった. ただし A 群と B 群を比較すると, コルチコステロン分泌促進に対する活性がほぼ同じであっても A 群の溶血活性が弱いことがわかる. しかし今回の *in vivo* 実験ではどの用量でいずれのサポニンを投与しても溶血は全く認められなかった.

今回の実験結果を含めてこれまで報告したサポニンのコルチコステロン分泌に及ぼす影響^{1,4,5)} をまとめると次の 4 つの型に分類できる. I 型, コルチコステロンを増加させるが血糖の増加を伴わない (薬用人参サポニンの) 型. II 型, 血糖の増加を伴なってコルチコステロンを増加させる (サイコサポニン a, d の) 型. III 型, コルチコステロン, 血糖にほとんど影響しないかもしくはきわめて弱い (溶血活性もほとんどないサイコサポニン c の) 型. IV 型, コルチコステロン, 血糖を増加させないがコルチコイド様の作用を示す (グリチルリチンの) 型. なお I 型と II 型はそれぞれダンマラン骨格とオレアナン骨格のサポニンに対応するが, 血糖への作用はそれぞれに固有のものかどうかは作用機構とその他の骨格のサポニンでの検討の結果にまたねばならない. また今回試みたサポニンすべてにコルチコステロン分泌促進活性があったことから, この活性にはゲニンや糖部分を含めたサポニンの化学構造とはあまり関係がなくサポニンに共通する表面活性が関係するとも考えられるが, 竹節人参サポニン, サイコサポニン c, グリチルリチンにも十分起泡性があり表面活性のみが直接関係するとは考え難い. また検討した総サポニンはサポニン混合物としてすべてがサイコサポニン a, d の型 (II 型) であったが, 竹節人参の oleanolic acid 配糖体はサイコサポニン c の型 (III 型) である可能性がある.

サポニンの示す抗炎症作用で特にステロイドホルモンが著効するような型の肉芽増殖期の炎症に対する作用の

一部はこの下垂体副腎系の機能亢進作用によって説明することも可能である。また逆に抗炎症作用が検討されていないサポニンで、今回下垂体副腎系を刺激することが判明したサポニン標品にはグルココルチコイド様の抗炎症作用や、さらにコルチコイド様の代謝作用を示しうることが十分に予期される。以上の結果から、今回検討したトリテルペノイドサポニン標品のコルチコステロン分泌促進活性は抗炎症作用とともにトリテルペノイドサポニンの生物学的有用性の1つとして今後さらに精製した単離サポニンについても詳細な検討を行う必要があるものと思われる。

引用文献

- 1) S. Hiai, H. Yokoyama, H. Oura, S. Yano, *Endocrinol. Jpn.*, **26**, 661 (1979); S. Hiai, H. Yokoyama, H. Oura, *Endocrinol. Jpn.*, **26**, 737 (1979).
- 2) H. Hampel, G. Hofrichter, H.D. Liehn, W. Schlemmer, *Arzneim.-Forsch.*, **20**, 209 (1970); 相澤義雄, 福井時子, 山田健二, 向後博司, 応用薬理, **8**, 211 (1974); 向後博司, 山田健二, 荒井裕一郎, 秋田順子, 福井時子, 相澤義雄, 応用薬理, **9**, 895 (1975); 小倉 豊, 鈴木和男, 玉田輝己, 藤本康夫, 応用薬理, **9**, 883 (1975).
- 3) M. Yamamoto, A. Kumagai, Y. Yamamura, *Arzneim.-Forsch.*, **25**, 1021 (1975).
- 4) S. Hiai, H. Yokoyama, H. Oura, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 490 (1981); S. Hiai, H. Yokoyama, T. Nagasawa, H. Oura, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 495 (1981).
- 5) H. Yokoyama, S. Hiai, H. Oura, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 500 (1981).
- 6) M. Yamamoto, A. Kumagai, Y. Yamamura, *Arzneim.-Forsch.*, **25**, 1024 (1975); H. Abe, M. Sakaguchi, H. Konishi, T. Tani, S. Arichi, *Planta Medica*, **34**, 160 (1978).
- 7) B.E.P. Murphy, *J. Clin. Endocrinol.*, **27**, 973 (1967).
- 8) 藤田路一, 西本和光, 薬誌, **72**, 1645 (1952).
- 9) N. Kondo, Y. Marumoto, J. Shoji, *Chem. Pharm. Bull.*, **19**, 1103 (1971); 近藤紀子, 庄司順三, 薬誌, **88**, 325 (1968); 近藤紀子, 庄司順三, 南雲 昇, 小松信彦, 薬誌, **89**, 846 (1969); N. Kondo, K. Aoki, H. Ogawa, R. Kasai, J. Shoji, *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 1558 (1970).
- 10) N.K. Kochetkov, A.J. Khorlin, Ju. S. Ovodov, *Tetrahedron Lett.*, **1963**, 477.
- 11) V.J. Chirva, P.K. Kintya, V.A. Sosnovskii, *Khim. Prin. Soedin*, **6**, 316, 318, 374, 431 (1971) [*C.A.*, **73**, 77544 v, 110071 p (1970), *C.A.*, **74**, 13384 f (1971)].
- 12) 庄司順三, 川西幸子, 築谷康桓, 薬誌, **91**, 198 (1971); Y. Tsukitani, S. Kawanishi, J. Shoji, *Chem. Pharm. Bull.*, **21**, 791 (1973); Y. Tsukitani, J. Shoji, *Chem. Pharm. Bull.*, **21**, 1564 (1973).
- 13) I. Yosioka, T. Nishimura, A. Matsuda, I. Kitagawa, *Tetrahedron Lett.*, **1966**, 5979; I. Yosioka, A. Matsuda, T. Nishimura, I. Kitagawa, *Chem. Ind.*, **1966**, 2202; S. Ito, T. Ogino, *Tetrahedron Lett.*, **1967**, 1127.
- 14) N. Aimi, S. Shibata, *Tetrahedron Lett.*, **1966**, 4721; T. Kubota, H. Hinoh, *Tetrahedron Lett.*, **1960**, 5045; N. Aimi, H. Fujimoto, S. Shibata, *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 641 (1968).
- 15) G. Wulff, R. Tshesche, *Tetrahedron*, **25**, 415 (1969).
- 16) I. Kitagawa, Y. Imakura, T. Hayashi, I. Yosioka, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 1520 (1975).
- 17) E. Schlosser, G. Wulff, *Z. Naturforsch.*, **24 b**, 1284 (1969).
- 18) R. Tshesche, G. Wulff, *Chem. Org. Naturstoffe*, **30**, 461 (1973).