薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
103 (6) 683-685 (1983)

コンブの強心成分

小菅卓夫,* 糠谷東雄, 山本藤輔, 辻 邦郎
静岡薬科大学

Isolation and Identification of Cardiac Principles from Laminaria

TAKUO KOSUGE,* HARUO NUKAYA, TOSUKE YAMAMOTO, and KUNIRO TSUJI
Shizuoka College of Pharmacy, 2-2-1, Oshika, Shizuoka, 422, Japan

(Received December 15, 1982)

Two cardiac principles were isolated from nekombu (the basal part of the blade of a laminariaceous seaweed). Fatty acids of C_{14} , C_{16} and C_{18} were found to stimulate the isolated frog heart, while histamine dihydroiodate to accelerate the isolated guinea pig atrium.

Histamine and iodine contents of nekombu were 501 mg/kg and 3200 mg/kg, respectively, indicating that 36% of the total iodine present in nekombu is in the salt form of histamine.

It was also found that a small amount of histamine improves the taste of glutamic acid.

Keywords—laminaria; cardiac principle; histamine dihydroiodate; iodine; fatty acid; frog heart; guinea pig atrium; taste

コンブは広く食用に供されている海藻であるが、民間薬、漢方薬としても諸種の疾患の治療に用いられている。コンブの生理活性作用としては血圧降下作用,¹⁾ 細菌発育阻止作用,²⁾ および強心作用³⁾ などが認められているが、これら生理活性を説明する成分研究としては血圧降下作用成分 laminine の単離研究⁴⁾ があるのみである。コンブの成分であるアルギン酸については消化管粘膜保護作用、止血作用が報告されている。⁵⁾

渡辺³⁾ はコンブの浸出液が摘出蛙心およびウサギ心臓に対して強心作用を示すことを報告しているが、その活性成分に関する報告はない。そこで著者は渡辺の報告に基づき、コンブ中の強心作用成分の解明を目的として研究を行い、その活性本体を明らかにしたので報告する。

実験方法および結果

実験試料 漢方生薬として市販されている根コンブを研究試料とした。

生物試験法 トノサマガエルの摘出心臓を用いる Yagi-Hartung 法⁶⁾ およびモルモット摘出心房を用いる Kottogoda 法⁷⁾ により実施した。

摘出蛙心に対する強心作用成分の分離および同定 渡辺³⁾ により摘出蛙心に対する強心作用成分はコンブの 95% エタノール抽出エキスのうちエーテル可溶部に存在することが報告されているので、根コンブ 40 g をエーテルで冷時抽出し、エーテル抽出エキス 240 mg (minimum active concentration, 以下 m.a.c. と略す, 3×10^{-5} g/ml) を得た。このエーテル抽出エキスをメタノール可溶部および不溶部に分け、各々について摘出蛙心に対する活性を検討したところメタノール可溶部 149 mg (m.a.c. 3×10^{-6} g/ml) に活性が認められた。メタノール可溶部を 2 度の Sephadex LH-20 ゲル濾過カラム (溶媒: MeOH) により精製し、活性を有する一部結晶性の油状物質 8 mg (m.a.c. 10^{-6} g/ml) を得た。

この活性物質は赤外吸収 (IR) スペクトル、核磁気共鳴 (NMR) スペクトルおよびその性状より脂肪酸の混合物と推定されたのでジアゾメタンによりメチル化しガスクロマトグラフィー (島津 GC-3AF, 1.5% Silicone GE SE-30 on Celite 545A, column temp. 180°C) により分析した。その結果、活性物質はミリスチン酸、パルミチン酸およびオレイン酸の 1:4:2 の混合物であることが判明した。これら脂肪酸を同様な混合比とした標品もコンブよりの脂肪酸混合物と同じ摘出蛙心巾増大活性を示した。

nekombu, 1.5 kg
 | extracted with 50% MeOH
 50% MeOH extract (204 g)[10^{-6} g/ml]
 | MeOH
 Sol. (active fract. I)(53 g)[3×10^{-7} g/ml]
 | counter current distribution
 | (*n*-BuOH-H₂O, *n*=5)
r=0, (active fract. II) (36 g)[2×10^{-7} g/ml]
 | Sephadex LH-20 (MeOH)
 active fract. III (3 g)[3×10^{-8} g/ml]
 | Sephadex G-15 (H₂O)
 histamine·2HI(140 mg)[3×10^{-9} g/ml]

Fig. 1. Isolation Procedure for Histamine·2HI
 () yield, [] minimum active concentration.

モルモット摘出心房に対する強心作用成分の分離および同定 高木⁹⁾は高級脂肪酸は摘出蛙心に対して強心作用を示すが、温血動物であるウサギの摘出および生体心臓に対しては活性を示さないと報告している。しかしながら渡辺⁹⁾はコンブの浸出液はウサギの心臓に対しても強心作用を示すと報告しており、われわれも根コンブのメタノール抽出エキスをモルモット摘出心房に対して強心作用を示すことを認めたので、次にモルモット摘出心房を用いた強心活性を分離の指標として分離を進めた。

分離の過程を Fig. 1 に示したが () 内に収量を、また [] 内にモルモット摘出心房の収縮を明らかに増強する m.a.c. を示した。

すなわち、根コンブ 1.5 kg を 50% メタノールで冷浸し、得たエキスをメタノール易溶部および難溶部に分離した。活性はメタノール易溶部に集中した (active fract. I)。次にこの active fract. I を *n*-ブタノール-H₂O の溶媒系で移行回数 5 回の向流分配法で分離した。活性は *r*=0—4 に認められたが、最も水溶性の高い分画 *r*=0 (active fract. II) を次の分離の対象とした。すなわち、茶褐色粘稠な active fract II を Sephadex LH-20 カラムにより分離したところ、活性物質は活性をもたない大量の物質の後に溶出してくることが認められた (active fract. III)。次にこの active fract. III を Sephadex G-15 カラムによりさらに精製し、活性を有する結晶 140 mg を得た。

この結晶はそのメタノール溶液に硝酸銀を加えると黄色の沈殿を生ずる融点 230°C (分解) の水に易溶な淡黄色針状晶である。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3070, 3000, 1615, 1550, 1495, 1470, 1415, 1218, 1095, 950, 832, 780, 615. NMR (D₂O) δ : 8.74 (1H, s), 7.52 (1H, s), 3.2—3.6 (4H, m). MS *m/e*: 254, 127, 111, 81, 63.5, 55, 54. これらのスペクトルデータの解析および元素分析 Anal. Calcd C₈H₉N₃·2HI: C, 16.35; H, 3.00; I, 69.21; N, 11.44. Found: C, 16.31; H, 2.93; I, 69.39; N, 11.37 の結果よりこのものを 2 ヨウ素酸ヒスタミンと推定し、標品との比較によりそれと決定した。

コンブ中のヒスタミンおよびヨウ素の定量 Taylor⁹⁾の方法に準じ、コンブよりヒスタミンを抽出し、*o*-phthalaldehyde による蛍光法により定量した。すなわち、根コンブの 50% メタノール抽出エキスを精製水にて一定量に溶解し、ヒスタミンを定量した。その結果、実験に用いた根コンブは 501 mg/kg と大量のヒスタミンが含有されていることが認められた。市販の 7 種のコンブについても同様な方法でヒスタミンを定量したところ 2—280 mg/kg とその含量に大きな差があるが、いずれにもヒスタミンが含有されていることが認められた。

ヨウ素の定量は銀電位差滴定法により行った。すなわち、根コンブの 50% メタノール抽出エキスの適量を精製水 10 ml に溶解し、イソプロパノール 10 ml, 50% 硫酸 1 ml を加えた後、0.01 N 硝酸銀 (50% イソプロパノール) にて電位差滴定を行った。その結果、根コンブ中には 3200 mg/kg の無機ヨウ素が存在することが明らかとなった。なお、市販の 7 種のコンブ中のヨウ素含量は 240—3100 mg/kg と原料により大きな差が認められた。

考

察

渡辺の指摘したコンブの強心作用を成分的に立証することを目的として研究を行い、摘出蛙心の心巾増大活性を有する成分として高級脂肪酸を、またモルモット摘出心房に対する強心作用成分としては 2 ヨウ素酸ヒスタミンを単離した。

これらのうち、高級脂肪酸の摘出蛙心に対する作用は高木により検討されており、オレイン酸は特に強い活性を有すると報告されている。

ヒスタミンのモルモット摘出心房興奮作用についてはよく知られているところであるが、Black¹⁰⁾らは Histamine H₂-receptor を介した興奮作用を発現すると報告している。

また、本研究に用いた根コンブ中のヒスタミンおよび無機ヨウ素を定量したところ、根コンブ中の無機ヨウ素

の約 36% がヒスタミン塩として存在していることが明らかとなった。コンブ中のヨウ素の存在形態についてはチロシン様物質としてその一部が明らかにされているが、無機ヨウ素の存在形態については全く不明であった。今回、その約 1/3 がヒスタミン塩として存在することを明らかにした意義は大きい。

なお、グルタミン酸はコンブの呈味成分の本態とされてきたが、グルタミン酸にその約 1% に相当する量のヒスタミンを添加すればコンブだしに近い重厚な味を呈する。特に、グルタミン酸の持つ特有の悪味を除くことができ、ヒスタミンもコンブ呈味の重要な部分を占めると考えられるが、詳細については検討中である。

引用文献および注

- 1) 亀田次郎, 福島医学雑誌, **10**, 251 (1960).
- 2) 斉藤 要, 鮫島宗雄, 農化, **29**, 427 (1955).
- 3) 渡辺正雄, 東北医誌, **7**, 1 (1923).
- 4) 竹本常松, 醍醐皓二, 高木信也, 薬誌, **84**, 1176 (1964).
- 5) 醍醐皓二, 和田 豊, 山田千秋, 山地 学, 奥田誠治, 岡田昌之, 宮里 昂, 薬誌, **101**, 452 (1981); 醍醐皓二, 山田千秋, 和田 豊, 山地 学, 奥田誠治, 岡田昌之, 宮里 昂, 薬誌, **101**, 458 (1981); 醍醐皓二, 山地 学, 山田千秋, 和田 豊, 奥田誠治, 岡田昌之, 宮里 昂, 薬誌, **101**, 464 (1981).
- 6) 津田恭介, 野上 寿, 編集代表, “医薬品開発基礎講座,” V, 薬効の評価 (I) 薬理試験法 (中), 地人書館, 東京, 1971, p. 530.
- 7) 津田恭介, 野上 寿, 編集代表, “医薬品開発基礎講座,” V, 薬効の評価 (I) 薬理試験法 (中), 地人書館, 東京, 1971, p. 534.
- 8) 高木徳明, 大阪医大誌, **20**, 1562 (1960).
- 9) S.L. Taylor, E.R. Lieber, M. Leatherwood, *J. Food Sci.*, **43**, 247 (1978).
- 10) J.W. Black, W.A.M. Duncan, C.J. Durant, C.R. Ganellin, E.M. Parsons, *Nature* (London), **236**, 385 (1972).