薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
106 (5) 425-426 (1986)

治癌中薬に関する研究 (第4報¹⁾) 莪朮, 蟬退, 藤櫛, 玉簪根中の抗腫瘍成分について

横田正実,^{*,a} 杉山 清,^a 山本藤輔,^b 俵 慕雲,^c 巖 述常,^c 小菅卓夫^c

静岡薬科大学,^a 株式会社津村順天堂,^b 中医研究院中薬研究所^c

Studies on Chinese Medicines Used for Cancer. IV.¹⁾ Antitumor Constituents in Rhizoma Zedoariae, Periostracum Cicadae, Galla Wisteriae, and Radix Hostae

MASAMI YOKOTA,^{*,a} KIYOSHI SUGIYAMA,^b TOSUKE YAMAMOTO,^c

MU YUN NI,^c SHU CHANG YAN,^c and TAKUO KOSUGE^a

Shizuoka College of Pharmacy,^a 2-2-1, Oshika, Shizuoka, 422, Japan,

Tsumura Juntendo Co., Ltd.,^b 2-1-1 Nihonbashi-honcho, Chuo-ku,

Tokyo, 103, Japan, and Academy of Traditional Chinese Medica,

Institute of Chinese Materia Medica,^c Beijing, China

(Received January 16, 1986)

The water extracts of Rhizoma Zedoariae, Periostracum Cicadae, Galla Wisteriae, and Radix Hostae showed high antitumor activity against Ehrlich ascites carcinoma cells *in vivo*. The antitumor constituents in these crude drugs were purified and found as high molecular compounds in all these cases.

Keywords—antitumor constituents; Ehrlich ascites carcinoma; Chinese medicine; Rhizoma Zedoariae; Periostracum Cicadae; Galla Wisteriae; Radix Hostae

中国でまとめられている治癌中薬について, *in vivo* 試験法及び *in vitro* 試験法による制癌スクリーニングを行い, 有効な中薬を選別し, これらのうち **HeLa** 細胞を用いる *in vitro* 法に対し強い活性の認められた側柏葉, 山奈, 菱寒中の細胞毒性成分を同定したことについてはすでに報告した.¹⁾

今回は, エールリッヒ腹水担癌マウスを用いる *in vivo* 法に対し, 強い活性の認められた中薬中の抗腫瘍成分について報告する. *In vivo* 試験法に対し強い活性の認められた中薬は, 五霊脂, 蟬退, 露蜂房, 莪朮, 葎, 玉簪根, 瞿麦, 草河車, 藤櫛, 番杏, 木別子, 靈芝の12種であったが, これらのうち, 先ず水エキスを活性の認められた, 莪朮, 蟬退, 藤櫛, 玉簪根の4種中薬の抗腫瘍成分の分離精製を行った. これらの中薬より活性成分を分離するに際し, 中薬のスクリーニングに用いた検定法を指標とした.

上記4種の中薬のうち, 玉簪根以外のものは熱水抽出エキスを, 玉簪根は熱メタノール抽出エキスをを用い, アセトン沈澱法, ゲル汙過法, 限外汙過法, ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) などを効果的に組み合わせることにより分離精製した. 分離法の詳細は実験の部に記すが, 各中薬から製した熱水抽出エキスの活性及び最終活性画分の抗腫瘍活性, 収率, 分子量分布を **Table I** にまとめて示した.

Table I 中, 最終活性画分の収率は熱水抽出エキスから算出した値であり, 分子量分布は GPC の主ピークの保持容積を分子量既知のデキストランのそれと比較して推定した値である.

Table I に示したように, 最終活性画分はいずれの場合も熱水抽出エキスの抗腫瘍活性を保持し, しかも高分子化合物と推定されるものであった.

また前述した4種以外で水抽出エキスを活性の認められた梅寄生, 瞿麦, 斑蝥についても, 限外汙過法により分子量を推定したところ, これらの活性成分も同様に高分子化合物と考えられた.

以上の結果より, エールリッヒ腹水担癌マウスを用いる本試験法に対し, 特に強い活性を示す中薬中の抗腫瘍成分は, 高分子化合物である可能性が高いことが示唆された.

TABLE I. Purification of the Antitumor Constituents in the Crude Drugs

Crude drug	H ₂ O ext.	Active fraction		
	ED ₅₀ (mg/kg/d)	Yield (%)	ED ₅₀ (mg/kg/d)	Molecular weight ($\times 10^4$)
Rhizoma Zedoariae	24.8	3.4	1.0	50—200
Periostracum Cicadae	5.0	6.0	5.0×10^{-1}	100—300
Galla Wisteriae	1.0	0.3	5.1×10^{-3}	200—400
Radix Hostae	10.7	2.7	6.7×10^{-1}	>5

なお、今回得られた4種の高分子画分には、エールリッヒ及び HeLa 細胞に対する直接細胞毒性は認められなかった。

実 験 の 部

生物試験 エールリッヒ腹水担癌マウスを用いる総細胞容積法により、第1報に示したと同様に実施し、活性は ED₅₀ で表示した。

莪朮の抗腫瘍成分の分離精製 莪朮(中医研究院中薬研究所より提供) 20 g を粉碎し、10 倍量の水で沸騰水浴上、1 h、3 回抽出し、抽出液を合し、減圧下濃縮した後、凍結乾燥し、水抽出エキス 2 g を得た。水エキス 2 g を 50 ml の水に溶し、150 ml のアセトンを加え生ずる沈澱を遠心し、沈澱物を凍結乾燥し、乾燥体 1 g を得た。乾燥体 1 g を水 20 ml に溶し、 -20°C で凍結し一夜放置後、解凍し、生じた沈澱を遠心で除き、上清を凍結乾燥し乾燥体 320 mg を得た。本分画 320 mg を水で調製した Sephadex G-100® (3 cm $\times$ 50 cm) のカラムにセットし、水で溶出した。流出量 100—200 ml ($K_d=0-0.3$) の分画より最終精製物、無色粉末、67 mg を得た。

蟬退の抗腫瘍成分の分離精製 蟬退(市場品) 100 g を用い、莪朮の項と同様にして水抽出エキス 4.2 g を得た。水エキス 4.2 g を 210 ml の水に溶し、630 ml のアセトンを加え生ずる沈澱を遠心し、沈澱物を凍結乾燥し、乾燥体 2.2 g を得た。乾燥体 2.2 g を水 10 ml に溶かし、水で調製した Sephadex® G-200 のカラム (2.5 cm $\times$ 43 cm) にセットし水で溶出し、溶出量 75—135 ml ($K_d=0-0.4$) の分画より蟬退最終精製物、淡黄色粉末 250 mg を得た。

藤櫨の抗腫瘍成分の分離精製 藤櫨(市場品) 粉末 100 g を用い、莪朮の項と同様にして水抽出エキス 10 g を得た。エキス 10 g を 200 ml の水に溶かし、分子量分画 30 万の限外濾過膜 (Amicon XM-300®) を用い限外濾過、内液を凍結乾燥し乾燥体 1 g を得た。乾燥体 1 g をフェノール-水 (1:1) 各層 20 ml で分配し、水層にアセトン 60 ml を加え生じる沈澱を遠心し、沈澱物を凍結乾燥し、乾燥体 0.1 g を得た。乾燥体 0.1 g を水 3 ml に溶かし、水で調製した Toyo pearl Hw-65® (2.2 cm $\times$ 16 cm) のカラムにセットし水で溶出した。溶出量 25—40 ml の分画より、藤櫨最終精製物、無色粉末 28 mg を得た。

玉簪根の抗腫瘍成分の分離精製 玉簪根(採集品) 粉末 100 g を 500 ml の MeOH で還流下 1 時間、3 回抽出。抽出液を減圧濃縮しメタノール抽出エキス 25.7 g を得た。本エキス 27.5 g を水 200 ml, EtOAc 200 ml で分配し、水層を分子量分画 50000 の限外濾過膜 (Amicon XM-50®) を用い限外濾過し、内液を凍結乾燥し、玉簪根最終精製物、無色粉末、0.7 g を得た。

引 用 文 献

- 1) 第3報：小菅卓夫，横田正実，杉山 清，岡本 厚，斎藤正志，山本藤輔，薬誌，106, 183 (1986)。