

生薬の基原と品質評価

西部三省

The Plant Origins of Herbal Medicines and Their Quality Evaluation

Sansei NISHIBE

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido,
Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-0293, Japan

(Received February 18, 2002)

The caulis (stem and leaf) of *Trachelospermum jasminoides* (Lindl.) Lem. (Apocynaceae) is listed as the plant origin of Luoshiteng in the Chinese Pharmacopeia. However, preparations from the caulis of *Ficus pumila* L. (Moraceae) or *Psychotria serpens* L. (Rubiaceae) are distributed on the Chinese market. The fruit of *Forsythia suspensa* Vahl (Oleaceae) is listed as the plant origin of Forsythia Fruit in the Chinese Pharmacopeia, although the fruits of two *Forsythia* species, *F. suspensa* and *F. viridissima* Lindley, are listed as the plant origins in the Japanese Pharmacopeia, and fruits of three *Forsythia* species, *F. viridissima*, *F. koreana* Nakai, and *F. suspensa*, are listed in the Korean Pharmacopeia. The whole plant of *Plantago asiatica* L. (Plantaginaceae) is listed as the plant origin of Plantago Herb in the Japanese Pharmacopeia, but the whole plants of two *Plantago* species, *P. asiatica* and *P. depressa* Wild, are listed as the plant origins in the Chinese Pharmacopeia. The leaves of two *Plantago* species, *P. lanceolata* L. and *P. major* L., are distributed as Plantain on the European market. Each of these herbal medicines is reviewed based on the differences in plant origins and their quality evaluation from the viewpoints of the morphological properties, chemical components, and biological activities, respectively.

Key words—herbal medicine; difference in plant origin; quality evaluation; morphological property; chemical component; biological activity

はじめに

生薬には歴史的に長年月にわたり用いられ伝承されたものが多くある。これらの生薬は時代と共に変遷を受けついで現代に至っている。しかしその過程で用いられる地域や民族の違いにより、その生薬の基原に違いが生じ、同じ生薬名であってもその基原を異にする生薬が市場に流通する結果となっている。

生薬は医薬品であり、すべて品質の同一性が強く求められる。したがって生薬の基原及び品質を的確に評価することが重要となってくる。

著者は北海道医療大学薬学部在職 26 年間にわたり、生薬の品質評価という観点から、絡石藤、連翹、オリーブ（樹皮、葉）、秦皮、杜仲、車前草、

車前子、羅布麻、刺五加、日々草、山査子、ゲンノショウコ、金銀花などの基原、その性状（外部形態、内部形態）、含有成分の解明、生理活性試験、確認試験、成分含量の定量などの研究を行ってきた。

本稿では基原植物を全く異にする生薬が中国市場に流通している絡石藤、日本、中国、韓国の薬局方に収載され、漢方方剤に古くから用いられ、重要な生薬であるが、それぞれの国の薬局方により基原植物の規定が異なっている連翹、世界中で広く用いられ、多くの国の薬局方に収載されているが、国によって基原植物を異にする車前草（オオバコ）の 3 品目について研究の概要を記述してみたい。なおその詳細についてはそれぞれの原報をご覧いただきたい。

絡石藤 (Luoshiteng)

基原植物 絡石藤は祛風止痛、咽喉腫痛、行瘀止血、通経絡などに用いられ、祛風湿薬に分類され、神農本草経に収載される漢薬である。この効能は西洋医学での抗炎症、鎮痛、解熱、血液循環促

北海道医療大学薬学部 (〒061-0293 北海道石狩郡当別町金沢 1757)

e-mail: nishibe@hoku-iryu-u.ac.jp

*本総説は、平成 13 年度退官にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

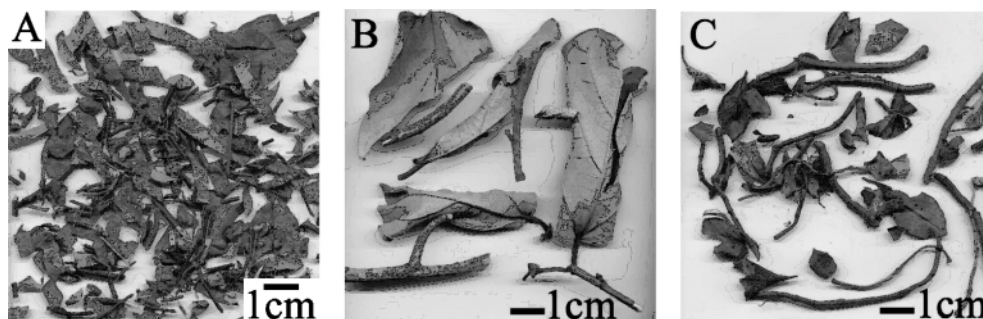


Fig. 1. Luoshiteng
A: *T. jasminoides*, B: *F. pumila*, C: *P. serpens*.

進, 免疫調整などの作用に相当するものと考えられる。¹⁾ その基原は中国薬典で台湾テイカズラ *Trachelospermum jasminoides* (Lindl.) Lem. (Apocynaceae) の茎葉と規定されている。²⁾ しかし中国市場には *T. jasminoides* の他にオオイタビ *Ficus pumila* L. (Moraceae) 又はシラタマカズラ *Psychotria serpens* L. (Rubiaceae) を基原とする絡石藤が流通するとされている (Fig. 1).³⁾

3種の絡石藤は外部形態から *T. jasminoides* を基原とするものと *F. pumila* を基原とするものについてはそれぞれの葉の特徴から鑑別が容易であるが, *T. jasminoides* と *P. serpens* を基原とするものは外部形態が類似し, その鑑別はかなり困難である。しかし内部形態の観察からは, *T. jasminoides* を基原とするものには長毛, 短毛, 異形細胞が, *F. pumila* を基原とするものには多くの長毛と短毛が, *P. serpens* を基原とするものには長毛, 短毛, 多くの針晶がそれぞれ観察され, 3種の鑑別は容易である (Fig. 2).⁴⁾

含有成分 *T. jasminoides* の葉部からはフラボノイド化合物の apigenin, luteolin, apigenin 7-*O*-glucoside, apigenin 7-*O*-neohesperidoside, apigenin 7-*O*-rutinoside, apigenin 7-*O*-gentiobioside, luteolin 7-*O*-glucoside, luteolin 4'-*O*-glucoside, luteolin 7-*O*-gentiobioside を単離し, その構造を決定した。⁵⁾

T. jasminoides の茎部からはリグナン化合物の arctigenin, matairesinol, trachelogenin, nor-trachelogenin, arctiin, matairesinoside, tracheloside, nortracheloside を単離し, その構造を決定した (Chart 1).^{6,7)}

これらのうち主成分は trachelogenin (含有量約

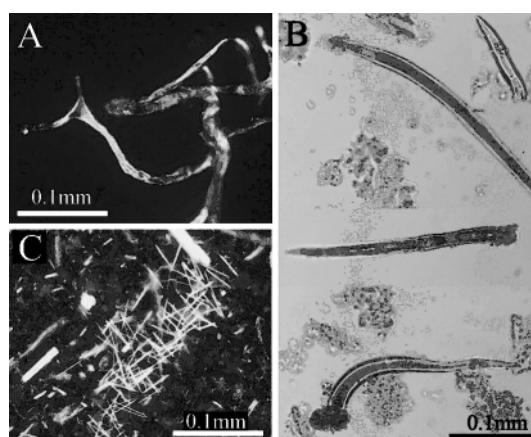


Fig. 2. Tissue Fragment of Luoshiteng
A: idioblast (*T. jasminoides*), B: hair (*F. pumila*), C: needle crystal (*P. serpens*), A, C: under polariscope, B: under microscope.

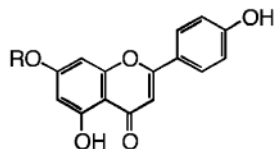
0.5%) と tracheloside (含有量 0.3—0.4%) である。⁸⁾

F. pumila の葉部からは rutin と chlorogenic acid を単離した。 *F. pumila* の茎部からは現在までのところリグナン化合物は単離されていない。⁴⁾

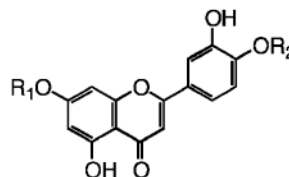
P. serpens の葉部からは rutin を単離した。 *P. serpens* の茎部からは現在までのところリグナン化合物は単離されていない。⁴⁾

3種の絡石藤の基原植物は含有成分に違いがみられ, HPLC による成分パターン分析からも鑑別が可能で, とくに外部形態の特徴がみられない粉末生薬やエキス剤の場合に有効である (Fig. 3).⁴⁾

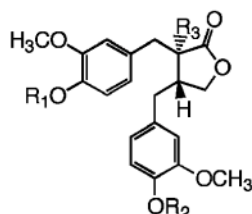
生理活性 中国市場に出回っている絡石藤のうち, *T. jasminoides* と *F. pumila* を基原とするものについて, いずれも葉部と茎部に分別し, それぞれの水抽出エキスを製した。水抽出エキス及び単離し



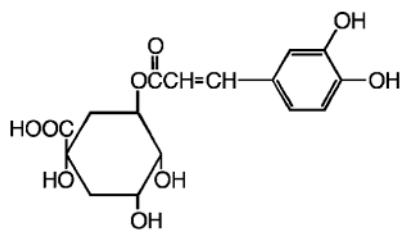
apigenin
 7-*O*-glucoside : R=glucosyl
 7-*O*-neohesperidoside : R=neohesperidosyl
 7-*O*-rutinoside : R=rutinosyl
 7-*O*-gentiobioside : R=gentiobiosyl



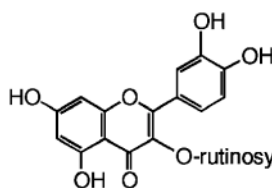
luteolin
 7-*O*-glucoside : R₁=glucosyl, R₂=H
 4'-*O*-glucoside : R₁=H, R₂=glucosyl
 7-*O*-gentiobioside : R₁=gentiobiosyl, R₂=H



arctigenin : R₁=R₃=H, R₂=CH₃
 matairesinol : R₁=R₂=R₃=H
 trachelogenin : R₁=H, R₂=CH₃, R₃=OH
 nortrachelogenin : R₁=R₂=H, R₃=OH
 arctiin : R₁=glucosyl, R₂=CH₃, R₃=H
 matairesinoid : R₁=glucosyl, R₂=R₃=H
 tracheloside : R₁=glucosyl, R₂=CH₃, R₃=OH
 nortracheloside : R₁=glucosyl, R₂=H, R₃=OH



chlorogenic acid



rutin

Chart 1

た成分について、その薬効との関連が考えられる生理活性の検討を行った。

フラボノイド成分の生理活性

Xanthine oxidase 阻害作用： 抗炎症、鎮痛の効果を目的に、痛風への作用を指標とした xanthine oxidase 阻害活性の検討を行った。⁹⁾

基質として xanthin を用い、290 nm での UV 吸収を用いた Kalckar 変法による xanthine oxidase 活性の測定を行った。その結果 *T. jasminoides* 葉部のエキスにのみ 1.5 mg/ml で 64.1%、1.0 mg/ml で 47.4% の阻害活性を認めた。*T. jasminoides* 葉部から単離したフラボノイド化合物のうち apigenin, luteolin, luteolin 4'-*O*-glucoside にそれぞれ IC₅₀ (μM) : 1.7, 2.4, 2.0 の阻害活性を認めた。

従来フラボノイド配糖体に阻害活性は認められないとされていた。本研究で B 環の 4'-位が配糖体化

されたものに aglycone とほぼ同等の阻害活性を認めたことは、今後の luteolin 誘導体の医薬品開発に際し、4'-位の修飾に関する有意義な情報を得ることができたものと考えられる。

β-Hexosaminidase 阻害作用： 抗アレルギー作用のスクリーニングにはラットの肥満細胞を用いるのが一般的であるが、最近 IgE-レセプターをもつ RBK-2H3 細胞を用いた β-hexosaminidase 阻害活性が知られるようになった。

Kitaoka らの方法に準じ、フラボノイド化合物について β-hexosaminidase 阻害活性を調べた結果、luteolin 4'-*O*-glucoside [IC₅₀: 17.1 μg/ml, 対照化合物 baicalein, IC₅₀: 10.8 μg/ml] に高い阻害活性を認めた。⁹⁾ なお luteolin 4'-*O*-glucoside には他に cAMP phosphodiesterase 阻害活性¹⁰⁾ や Interleukin-5 阻害活性が報告されており、¹¹⁾ 抗アレルギー作用との関

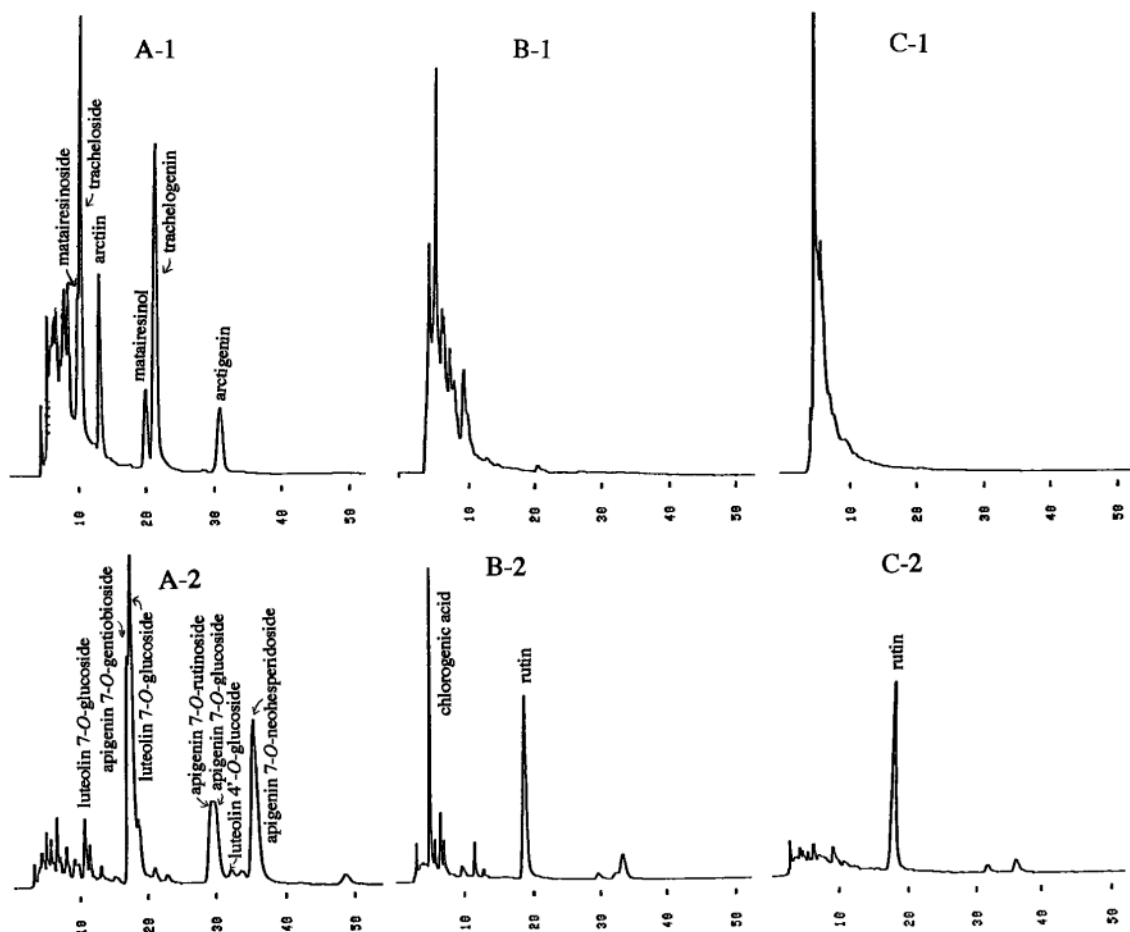


Fig. 3. HPLC Chromatograms of Methanol Extracts of Luoshiteng

Stem part: A-1: *T. jasminoides*, B-1: *F. pumila*, C-1: *P. serpens*. Conditions: column, Develosil ODS-5 (4.6×250 mm); mobil phase, MeOH : H₂O : AcOH (35 : 45 : 3); flow rate, 0.5 ml/min; column temp., 35°C; detector, UV 280 nm.

Leaf part: A-2: *T. jasminoides*, B-2: *F. pumila*, C-2: *P. serpens*. Conditions: column, Develosil ODS-5 (4.6×250 mm); mobil phase, MeOH : H₂O : AcOH (10 : 30 : 2); flow rate, 1.0 ml/min; column temp., 35°C; detector, UV 330 nm.

連が強く示唆された。

リゲナン成分の生理活性

気管平滑筋弛緩作用： 絡石藤を喘息型慢性気管支炎に用いるとの報告があり，気管平滑筋弛緩作用について検討を行った。⁶⁾

モルモットより気管を摘出し，高木らの方法に準じて気管鎖状標本を作製，ヒスタミンで気管平滑筋を収縮後，各エキスを投与し，その弛緩作用を調べた。その結果，*T. jasminoides* を基原とする絡石藤の茎部エキスのみならず 10⁻⁴ g/ml の濃度で弛緩作用を認め，他のエキスには認められなかった。

茎部エキスから単離した成分について活性本体の解明を行った。Arctigenin, matairesinol, trachelogenin 及び nortrachelogenin にいずれも 10⁻⁴ g/ml の濃度で顕著な気管支平滑筋弛緩作用を認めた。な

おこれらの配糖体には弛緩作用は認められなかった。

Ca²⁺ アンタゴニスト作用： 単離したリゲナン成分について Ca²⁺ アンタゴニスト作用を調べたところ，trachelogenin に顕著な作用が認められ，その活性は verapamil の 1/6 であった。¹²⁾ Trachelogenin は高血圧自然発症ラット (SHR) を用いた *in vivo* 実験でも明らかな降圧作用を示した。¹²⁾

活性酸素産生抑制作用： スーパーオキシド産生は自己免疫疾患のリウマチや炎症に大きく関与することから活性酸素産生抑制作用を検討した。⁶⁾

活性酸素産生抑制測定にはフェリチクロム C を用いた。Arctigenin [IC₅₀ (μM): 3] 及び nortrachelogenin [IC₅₀ (μM): 8] に活性を認め，とくに arctigenin に慢性関節リウマチ薬 auranofin [IC₅₀ (μM): 7.5] より高い活性が認められた。さらに ar-

ctigenin は炎症と関連する Interleukin-6 に活性阻害効果を示すことが報告されている。¹³⁾

血小板凝集抑制作用： 血小板凝集抑制作用 (抗 ADP 誘導血小板凝集作用) については Born の方法に準じて行った。⁶⁾ その結果, 試料 0.5 mg/ml で aspirin 24.8±6.6% に対し, trachelogenin に 35.4±7.6%, arctigenin に 34.2±7.6% の抑制がそれぞれ認められた。

発がんプロモーター抑制作用： Arctigenin, arctiin, trachelogenin, tracheloside について発がんプロモーター抑制作用の一次スクリーニングとして知られる EB (Epstein-Barr) ウイルス活性化抑制試験を行った。^{14,15)} これはパーキットリンパ腫由来の EB ウイルス非産生培養細胞である Raji 細胞を指示細胞として用い, 強力な発がんプロモーターである 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) により誘発される EB ウイルス早期抗原 (EBV-EA) の誘発率を上咽頭がん患者の血清を用いて間接蛍光抗体法により測定するものである。

4 種のリグナン化合物はいずれも EBV-EA 発現に対してほぼ同程度の抑制効果を示した。さらに dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) をイニシエーター, TPA をプロモーターとするマウス皮膚二段階発がん実験において, 陽性コントロール群ではプロモーション開始 10 週間後にはすべてのマウスに腫瘍が発生するのに対し, arctiin 及び arctigenin, tracheloside 及び trachelogenin 塗布群では 15 週間後でも約 50% の発生率であった。また 1 匹あたりの平均腫瘍発生個数においてもコントロール群に比較し抑制効果が認められた。

さらに arctiin について Sprague-Dawley (SD) 系雌ラットを用い, 乳がん予防効果を検討した。¹⁶⁾ PhIP (2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4, 5-b] pyridine) により誘発される乳腺でのがん発症は arctiin の経口投与により用量依存的にプロモーションの段階で抑制されることが明らかとなった。

Arctiin 及び tracheloside の腸内細菌による代謝： リグナン化合物の secoisolariciresinol や matairesinol が腸内細菌により phytoestrogen の 1 つである enterolactone に代謝されることが知られている。Arctiin 及び tracheloside にがん予防効果が認められたことから, *in vitro* でのラットの腸内細菌による代謝を検討した。^{17,18)} *In vitro* 実験では arctiin から

enterolactone への変換は確認できなかったが, フィンランドの研究チームとの共同研究で SD 系雄ラットを用いた arctiin 25 mg/kg の経口投与による *in vivo* 実験では, 尿中に enterolactone が有意に増加していることを認め (第 1 日目の尿中に 107 µg/day, 第 2 日目の尿中に 91 µg/day), arctiin も enterolactone の前駆物質の 1 つになるものと推測できた。¹⁹⁾

リグナン化合物の腸内細菌による代謝についてはさらに連翹の項で記述する。

まとめ 絡石藤はこれまでの結果をふまえれば *T. jasminoides* に含有されるフラボノイドとリグナン成分が生理活性成分とみなすことができる。したがって中国薬典に規定される *T. jasminoides* を基原とするものを正品とするのが理にかなったものと考えられる。

連翹 (Forsythia Fruit)

基原植物 連翹は神農本草経に収載され, 清熱解毒薬に分類される漢薬で, 消炎, 利尿, 排膿, 解毒の効があるとされ, 種々の化膿症や皮膚病の治療薬として荊芥連翹湯, 柴胡清肝湯などの漢方方剤に配剤され, 古くから用いられている重要な生薬である。

連翹はモクセイ科 (Oleaceae) レンギョウ属植物の果実から調製され, 日本薬局方には第 9 改正から収載され, その基原植物に第 11 改正まではレンギョウ *Forsythia suspensa* Vahl, *F. viridissima* Lindley 又は *F. koreana* Nakai の 3 種をあてていた。第 12 改正からは日本の市場に流通がみられない *F. koreana* が削除され, *F. suspensa* 又は *F. viridissima* の 2 種があてられている。また連翹は韓国及び中国でも薬局方に収載されている。韓国薬局方ではその基原植物に *F. viridissima*, *F. koreana* 又は *F. suspensa* の 3 種をあてている。中国薬典では *F. suspensa* のみをあてている。

3 種の基原植物の果実は種により外部形態並びに内部形態にそれぞれの特徴があり, それぞれの連翹の鑑別は可能である。²⁰⁾ すなわち外部形態では *F. suspensa* は長卵形, *F. viridissima* は広卵形, *F. koreana* は長卵形で果柄の上部分がくぼみ, 果皮表面はいずれも発達した瘤状の皮目がみられる。内部形態では *F. suspensa* においては, 石細胞は維管束に接して観察される。いずれも果皮表面にはクチク

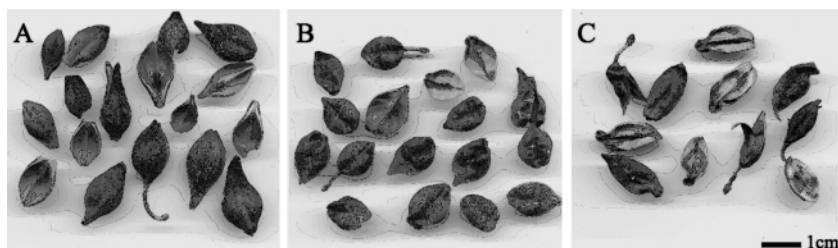


Fig. 4. Forsythia Fruit
A: *F. suspensa*, B: *F. viridissima*, C: *F. koreana*.

ラ層が発達しているが、*F. suspensa* と *F. koreana* は鋸状であり、*F. viridissima* は平滑である (Fig. 4).

含有成分 3種の連翹からはいずれも共通成分としてトリテルペノイド化合物の betulinic acid, ursolic acid, oleanolic acid 並びにフラボノイド化合物の rutin を単離した.²¹⁻²³⁾

F. suspensa を基原とする連翹からはリグナン化合物の phillygenin, (+)-pinoresinol, phillyrin, (+)-pinoresinol β -D-glucoside (いずれもフロフラン型リグナン), フェニルエタノイド配糖体の forsythiaside, suspensaside を単離し、その構造を決定した (Chart 2).^{21,22,24-26)}

F. viridissima を基原とする連翹からはリグナン化合物の arctigenin, matairesinol, arctiin, matairesinoside (いずれもジアリールプチロラクトン型リグナン), フラボノイド化合物の quercitrin, フェニルエタノイド配糖体の acteoside, β -hydroxyacteoside を単離し、その構造を決定した.^{22,27)} このように *F. suspensa* と *F. viridissima* を基原とする連翹には含有成分に違いがみられた。

F. koreana を基原とする連翹はリグナン化合物、フェニルエタノイド配糖体いずれも *F. suspensa* と *F. viridissima* の両化合物をすべて含有していた。^{23,28)}

3種の連翹はいずれもフェニルエタノイド配糖体が主成分 (含有量約 0.8%) をなしていた。^{29,30)}

現在の日本薬局方収載2種の連翹の基原には明らかな含有成分の違いがみられ、HPLCによる成分パターン分析からも鑑別が可能で、粉末生薬やエキス剤の基原の鑑別に有効である (Fig. 5)。

さらに連翹の基原植物 *F. viridissima* は DNA sequence 解析においても他の *Forsythia* 属とは明らかな相違が認められた (Fig. 6).³¹⁾

確認試験 現在の日本薬局方には確認試験にトリテルペノイドとフラボノイドによる呈色反応が記載されている。著者はあらたに連翹の特有成分の forsythiaside や acteoside の構造が有するフェネチルアルコール基を利用し、4-アミノアンチピリンとインドフェノール縮合反応を適用した呈色反応を提唱した。³²⁾ しかし本法ではフェニルエタノイド配糖体の存在は確認できても、*F. suspensa* と *F. viridissima* の基原の鑑別はできない。そこで2種の基原の鑑別を目的に TLC 法を検討した。³³⁾

連翹の粉末をメタノールにて加温抽出し、そのろ液を試料溶液とした。この液につき、薄層クロマトグラフ法により試験を行った。展開溶媒に酢酸エチルエステル/酢酸/水 (7:2:1) を用い、スポットの検出は塩化第二鉄試液の噴霧によって行ったが、*F. suspensa* を基原とする連翹の主成分 forsythiaside と *F. viridissima* を基原とする連翹の主成分 acteoside のスポットはほとんど同じ Rf 値を示し、フェニルエタノイド配糖体のみを指標成分とする TLC での両者の鑑別は困難であった。しかし *F. viridissima* は quercitrin を含有し、*F. suspensa* は含有しないことから、連翹の指標成分に forsythiaside と quercitrin を用い、quercitrin のスポットの有無を加味すれば、両者の鑑別は可能となった。なお forsythiaside の塩化第二鉄試液噴霧による検出は 0.25 mg/ml の濃度まで确实であり、連翹市場品の含量測定結果並びに中国薬典記載の forsythiaside 含量規定 0.15% 以上に十分対応できる検出限界であった。

生理活性 2種の連翹は日本薬局方では同じ連翹とされるが、両者には明らかな成分の相違が知られることとなった。このことから2種についていくつかの生理活性の比較検討を行った。

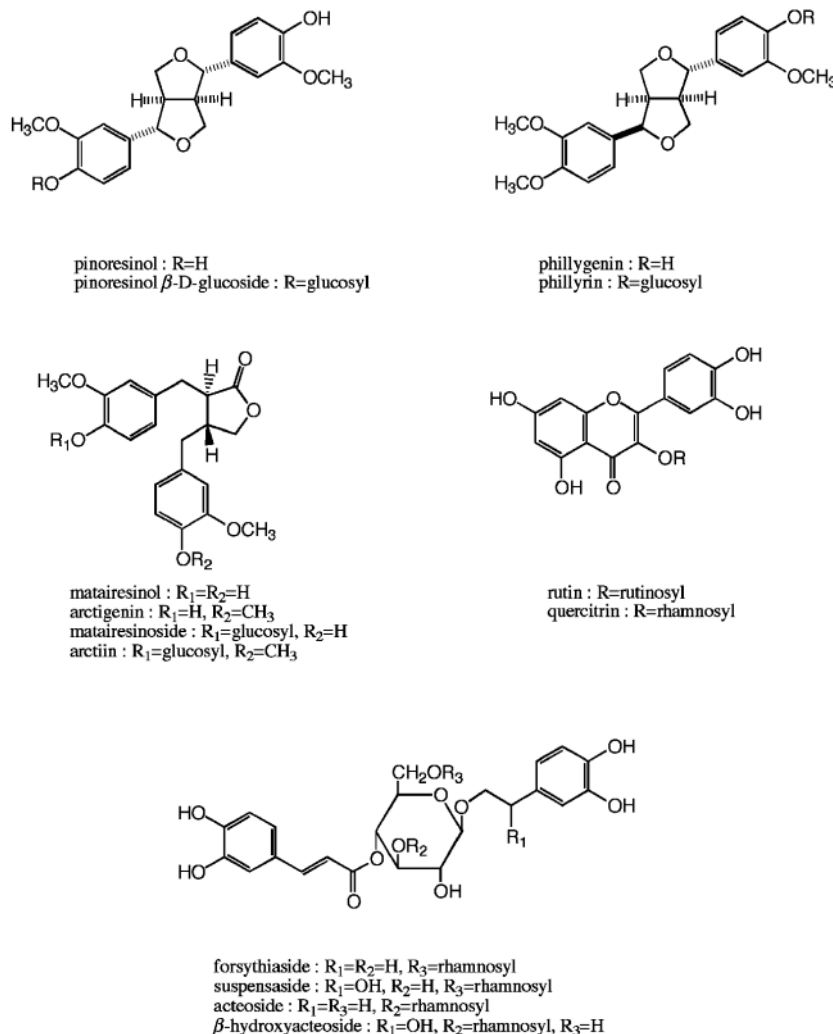


Chart 2

抗菌作用： 適応症の1つが細菌感染症とみなされることから、抗菌性のあることが考えられる。黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* 寺島株を用い、希釈法により抗菌作用を調べた。^{26,34)} *F. suspensa* を基原とした連翹の水抽出エキスは、その最低阻止濃度 (MIC) が生薬に対して 6 w/v% であるのに対し、*F. viridissima* を基原とした連翹は 14 w/v% という結果を得た。その抗菌成分は forsythiaside (MIC 3.2 mM), suspensaside (4.1 mM), acteoside (3.2 mM), β -hydroxyacteoside (2.0 mM) であった。*F. suspensa* を基原とした連翹は、*F. viridissima* を基原とした連翹に比べて、これらの抗菌成分の含量が約 5 倍高く、両者の抗菌活性の差は、その抗菌成分の違いよりも、むしろ含量の差に基づくものと考えられる。

酵素阻害作用： 連翹は配合されている漢方方剤の薬効から抗アレルギー、抗炎症作用が考えられる。抗アレルギー作用の第一次スクリーニングとして cAMP-phosphodiesterase 阻害活性と 5-lipoxygenase 阻害活性を検討した。³⁵⁻³⁷⁾ 牛の心臓からの cAMP-phosphodiesterase の阻害活性は *F. suspensa* を基原とした連翹のほうが高い阻害活性を示した。フェニルエタノイド配糖体、とりわけ forsythiaside と suspensaside が比較的高い阻害活性を示した。一方 acteoside と β -hydroxyacteoside は弱い活性を示したにすぎない。両者の化学構造は rhamnose の glucose への結合位置が 1→6 か 1→3 の違いのみであるにもかかわらず阻害活性に明らかな差が認められたことは興味あることである (Table 1)。

連翹の薬効の発現の1つにはフェニルエタノイド

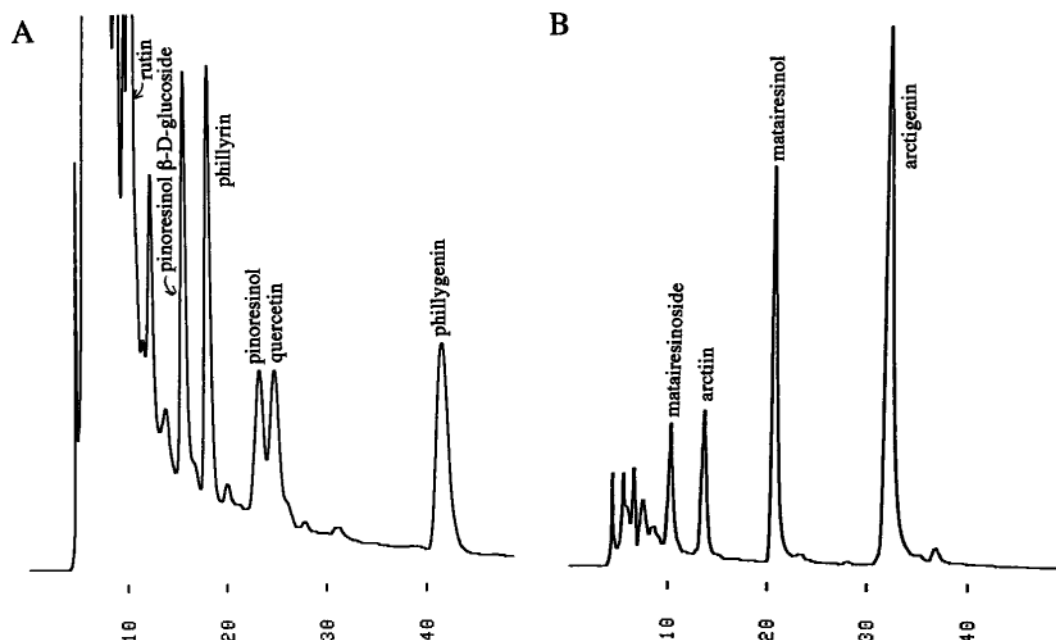


Fig. 5. HPLC Chromatograms of Methanol Extracts of Forsythia Fruit

A: *F. suspensa*, B: *F. viridissima*, Conditions: column, Develosil ODS-5 (4.6×250 mm); Mobil phase, MeOH : H₂O : AcOH (35 : 45 : 3); flow rate, 0.5 ml/min; column temp., 35°C; detector, UV 280 nm.

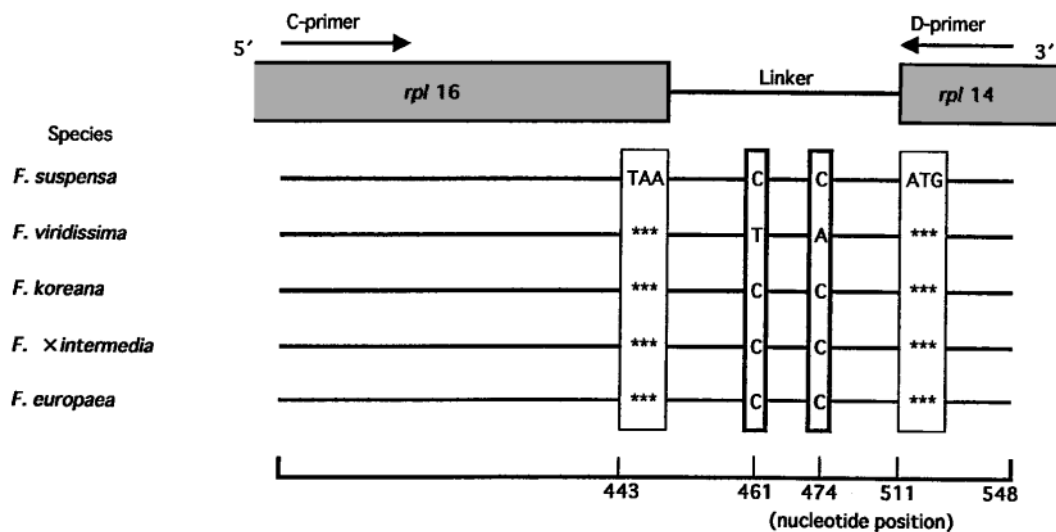


Fig. 6. Comparison of *rpl 16-rpl 14* Sequences among *Forsythia* Species

Table 1. Enzyme Inhibitory Activity

	cAMP phosphodiesterase*	5-lipoxygenase**
	IC ₅₀ (×10 ⁻⁵ M)	IC ₅₀ (×10 ⁻⁶ M)
Forsythiaside	11.0	2.50
Suspensaside	18.3	7.97
Acteoside	>50	5.27
β-hydroxyacteoside	>50	19.3

* From beef heart. ** From rat peritoneal cells.

配糖体成分が phosphodiesterase を阻害し、cAMP の分解を防ぎ、体内に cAMP を大量に作り出し、肥満細胞から化学伝達物質の放出を防ぐ効果に関与しているのではないかと考えられる。

5-lipoxygenase はアラキドン酸代謝系でのロイコトリエン生成に関与する酵素である。ラット腹腔内多核白血球アラキドン酸代謝系における 5-lipoxygenase 阻害活性では、それぞれのフェニルエタノ

イド配糖体に強い阻害活性を認めた。連翹の薬効の発現にはフェニルエタノイド配糖体成分の 5-lipoxygenase 阻害活性も関与しているのではないかと推察される。このようにいずれの酵素阻害活性においても *F. suspensa* の主成分は *F. viridissima* の主成分に比して高い阻害活性を示した。

さらに最近リグナン成分の pinoresinol にサイトカインの 1 つである TNF- α (Tumor Necrosis Factor) の産生抑制効果が報告され,³⁸⁾ リグナン成分も抗炎症、抗アレルギー作用に関与している可能性が示唆された。

降圧作用： 連翹には降圧作用があるとの報告がある。³⁹⁾ *In vivo* でのウレタン麻酔、高血圧自然発症ラット (SHR) での降圧作用を調べた。³⁶⁾

F. suspensa を基原とした連翹の水抽出エキスは体重 10 mg/kg 後肢静脈内投与で 35 mmHg の持続性の降圧作用を認めたのに対し、*F. viridissima* を基原とした連翹の水抽出エキスは一過性の降圧作用を認めたに過ぎず、両者の作用に明らかな違いが認められた。その持続性降圧成分の 1 つは cAMP-phosphodiesterase に高い阻害活性の認められている suspensaside であった。

リグナン化合物の腸内細菌による代謝： 疫学調査から血中あるいは尿中の phytoestrogen の含量の多いヒトほどホルモン依存性の乳がんや虚血性心疾患に罹る危険性が低いことが報告されている。⁴⁰⁾ さらに更年期障害のほてり、のぼせ、動悸、異常な発汗をはじめとする諸症状を改善することも報告されている。⁴¹⁾ これは phytoestrogen の化学構造が女性ホルモンの構造に類似しており、エストロゲンレセプターに結合することにより生理的にホルモン活性を生じさせることによるものである。

ヒトリグナン (mammalian lignan) といわれる phytoestrogen の enterolactone や enterodiol はライ麦をはじめとする穀類に含まれるリグナン成分の matairesinol や secoisolariciresinol からヒトの腸内細菌によって代謝され、つくられることはすでに知られている。⁴²⁾

著者とフィンランドの研究チームは enterolactone のあらたなる前駆物質を求めて連翹から得られたリグナン化合物についてヒトの腸内細菌を用いた *in vitro* での代謝実験を行った。⁴³⁾ その結果 pinoresinol は 55%、matairesinol は 62%、arctigenin

は 4% がそれぞれ enterolactone に代謝されることを見出した。この実験で pinoresinol の腸内細菌による代謝経路が Lewis らによって報告されているレンギョウ葉中のリグナン生合成経路⁴⁴⁾ と全く同じであったことは大変興味あることである (Fig. 7)。

主要リグナン成分に pinoresinol 及びその配糖体を含有する連翹は enterolactone 前駆物質の供給源となるのが期待できる。事実 SD 系雄ラットを用いた連翹水抽出エキス 100 mg/kg の経口投与による *in vivo* での実験で、尿中に enterolactone が有意に増加していることを認めている (第 1 日目の尿中に 55 μ g/day, 第 2 日目の尿中に 60 μ g/day)。¹⁹⁾

まとめ 日本薬局方では同属植物とは「通例、同様の成分、薬効を有する生薬として用いられている原植物」と規定されている。これまでの結果をふまえば、日本薬局方収載連翹の基原植物 *F. suspensa* と *F. viridissima* の同一性には疑問があり、基原の再考が必要と思われる。

車前草 (Plantago Herb)

基原植物 オオバコは西洋においても東洋においても身近な植物としてよく知られている。日本では干して煎じたものは咳止め、消炎、利尿などの民間薬として用いられてきた。

日本ではオオバコ *Plantago asiatica* L. (Plantaginaceae) の花期の全草がシャゼンソウ (車前草) として第 7 改正日本薬局方から収載され、重要な生薬の 1 つとなっている。ヨーロッパではハーブとして茶剤、シロップ剤をはじめとする多くの製品が市場に出回っている。

日本ではオオバコ全草が生薬の車前草として用いられる他に、エキス製剤が医療用医薬品として認められ、鎮咳、去痰などを目的に病院で用いられている。

ヨーロッパでもハーブ・オオバコ (Plantain, Plantago Herb) を薬局方に収載している国がいくつかあるが基原植物がそれぞれの国により異なっている。⁴⁵⁾ 日本ではオオバコ *P. asiatica* のみであるが、中国では *P. asiatica* の他にムジナオオバコ *P. depressa* Wild があてられている。ヨーロッパではほとんどがヘラオオバコ *P. lanceolata* L. である。フランスではセイヨウオオバコ *P. major* L. や *P. media* L. もあてられている。一方富山医科薬科大学の森田、吉崎らはパラグアイの薬草調査で *P.*

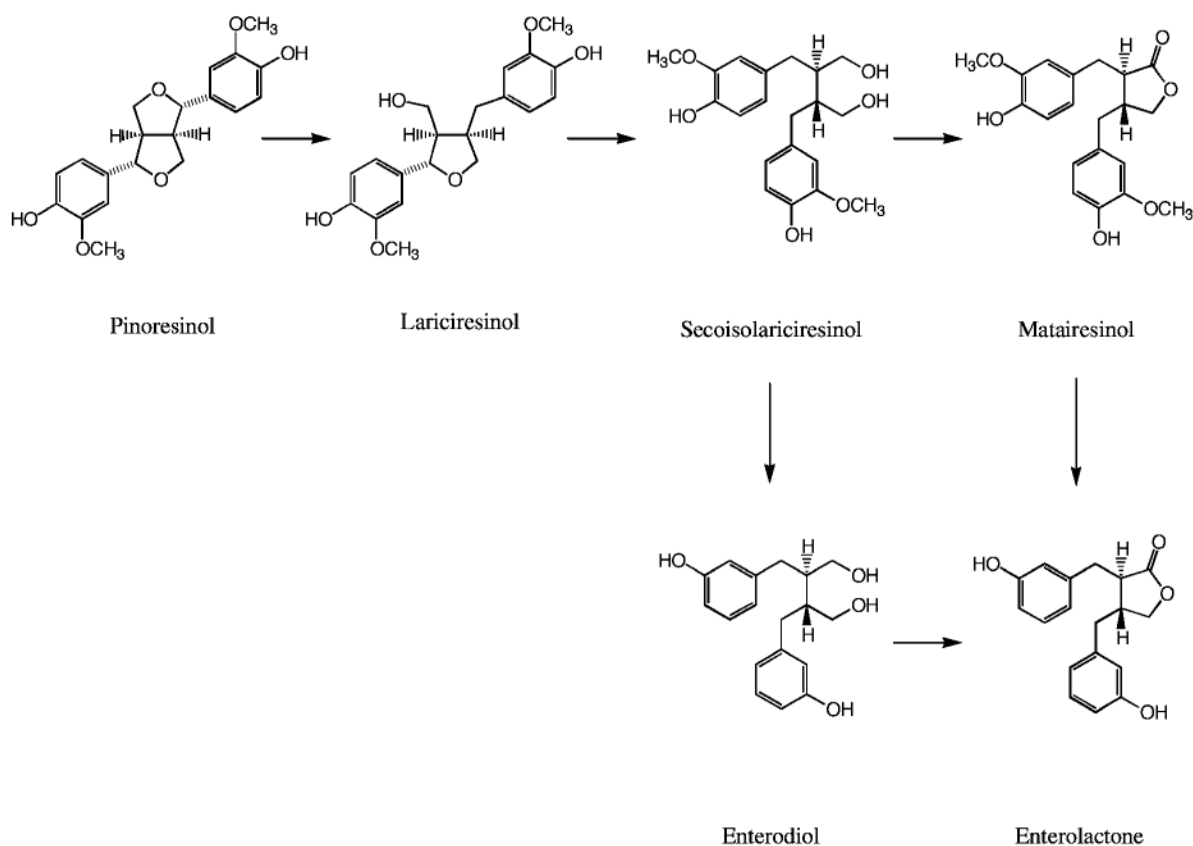


Fig. 7. Proposed Metabolic Pathway of Pinoresinol to Enterodiol and Enterolactone

tomentosa Lam. の全草がバラグアイ市場に出回っており、その用途は鎮痙、抗炎症、こしけ、膣炎と従来の車前草とは異なる使い方を報告している。⁴⁶⁾

車前草の基原植物の外部形態には根の形態に特徴があり、*P. asiatica*, *P. major* はひげ根を持つ種であり、*P. depressa*, *P. lanceolata* は主根を持つ種である (Fig. 8).⁴⁷⁾

含有成分 日本での *P. asiatica*, 中国での *P. depressa*, ヨーロッパでの *P. major* と *P. lanceolata* の4種の基原植物についてその成分研究を行った。13種のフェニルエタノイド配糖体, 9種のフラボノイド化合物及び5種のイリドイド配糖体を単離し、その構造を決定した (Table 2), (Chart 3, 4, 5).⁴⁸⁻⁵⁶⁾

フェニルエタノイド配糖体からは基原植物に *plantamajoside* を主成分とする種 (含有量2—4%) と *acteoside* を主成分とする種 (含有量3—8%) の2群に分けられた。⁴⁷⁾ なお根の形態からは前者がひげ根をもつ種であり、後者が主根を持つ種と興味ある結果を得た。

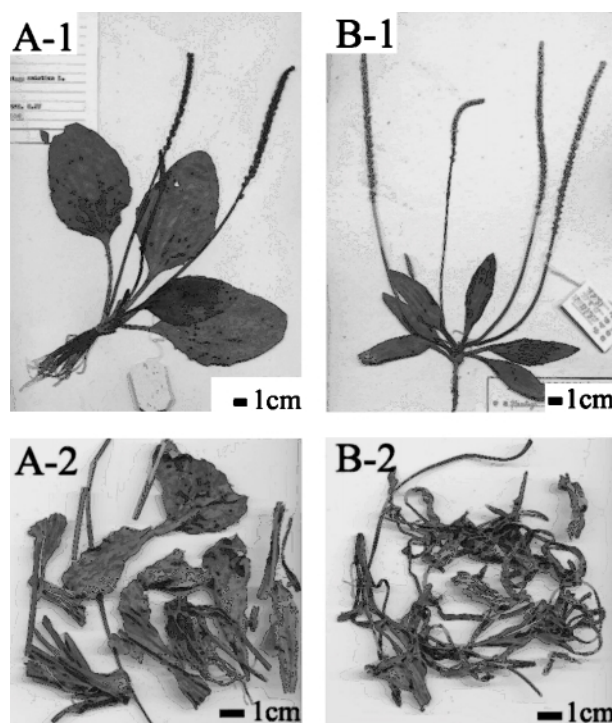


Fig. 8. Plantago Herb

A: *P. asiatica*, B: *P. depressa*, 1: herbarium specimen, 2: herbal medicine, ■: 1 cm.

Table 2. Compounds from Plantago Herb

Origin	Phenylethanoid	Flavonoid	Iridoid
<i>P. asiatica</i>	Plantamajoside Hellicoside Acteoside Isoplantamajoside 3,4-dihydroxyphenethylalcohol-6- <i>O</i> -caffeoyl- β -D-glucoside Plantasioside	Apigenin Luteolin Cosmosiin Luteolin 7- <i>O</i> -glucoside Scutellarein 6-hydroxyluteolin Plantagin 6-hydroxyluteolin 7- <i>O</i> -glucoside	Aucubin
<i>P. depressa</i>	Acteoside β -hydroxyacteoside Campenoside β -oxoacteoside Orobanchoside Cistanoside F		Aucubin
<i>P. major</i>	Plantamajoside Acteoside Isoplantamajoside	Plantagin Homoplantagin 6-hydroxyluteolin 7- <i>O</i> -glucoside	Aucubin Geniposidic acid Gardoside Melittoside Catalpol
<i>P. lanceolata</i>	Plantamajoside Acteoside Lavandulifolioside Isoacteoside Cistanoside F		Aucubin Catalpol

Compounds in bold indicate the major components.

Plantamajoside を主成分とする *P. asiatica* と *P. major* にはフラボノイド成分が共存し、主フラボノイド成分は plantagin (含有量約 0.2%) で、その一方 acteoside を主成分とする種からはフラボノイド成分の共存は見出されていない。⁵³⁾ このように基原植物はフラボノイド成分からもそれらを含むものとし、異なるものの 2 群に分けられた。これらは HPLC による成分パターン分析からも確認できる (Fig. 9)。

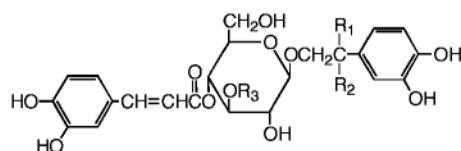
4 種の基原植物いずれも aucubin を共通成分として多量 (含有量 1—4%) に含有している。特にその中でも *P. lanceolata* は aucubin の他に、利尿作用が知られている catalpol を多量 (約 2%) 含有することで他と異なった特徴をもっている。

確認試験 車前草は日本薬局方に第 10 改正までは確認試験が記載されていなかった。著者は車前草の特有成分である plantamajorside を指標とした TLC 法による確認試験を提唱し、³²⁾ 第 11 改正から

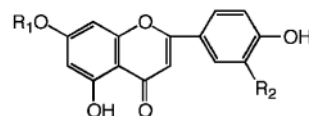
本法 [本品の粉末 2.0 g にメタノール 10 ml を加え、水浴上で 3 分間加温し、冷後、ろ過し、ろ液を試料溶液とする。この液につき、薄層クロマトグラフ法により試験を行う。試料溶液 10 μ l を薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に *n*-ブタノール/水/氷酢酸 (7:2:1) を展開溶媒として約 10 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに塩化第二鉄試液を噴霧するとき、*Rf* 値 0.5 付近に暗青色のスポットを認める。] が記載されることとなった。Plantamajoside と acteoside では *Rf* 値に明らかな差が認められ、本法により中国薬典に記載の *P. asiatica* と *P. depressa* の基原の鑑別は容易となった。

生理活性 車前草の薬効と何らかの関連が考えられるいくつかの生理活性について検討を行った。

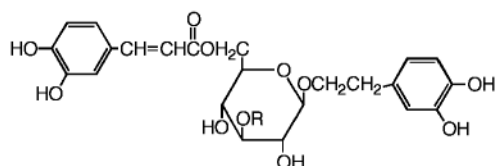
抗菌作用: 主フェニルエタノイド配糖体について黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* 寺島株を用い、希釈法による試験で、plantamajoside と ac-



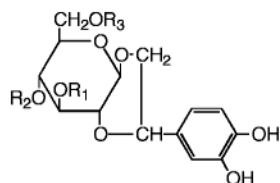
plantamajoside : $R_1=R_2=H$, $R_3=glucosyl$
 hellicoside : $R_1=H$, $R_2=OH$, $R_3=glucosyl$
 acteoside : $R_1=R_2=H$, $R_3=rhamnosyl$
 β -hydroxyacteoside : $R_1=H$, $R_2=OH$, $R_3=rhamnosyl$
 campenoside : $R_1=H$, $R_2=OCH_3$, $R_3=rhamnosyl$
 β -oxoacteoside : $R_1=R_2=O$, $R_3=rhamnosyl$
 lavandulifolioside : $R_1=R_2=H$, $R_3=rhamnosyl \xrightarrow{2\rightarrow1} arabinosyl$



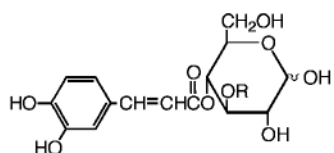
apigenin : $R_1=R_2=H$
 luteolin : $R_1=H$, $R_2=OH$
 cosmosiin : $R_1=glucosyl$, $R_2=H$
 luteolin 7-O-glucoside : $R_1=glucosyl$, $R_2=OH$



isoplantamajoside : $R=glucosyl$
 isoacteoside : $R=rhamnosyl$
 3,4-dihydroxyphenethylalcohol-6-O-caffeoyl- β -D-glucoside : $R=H$

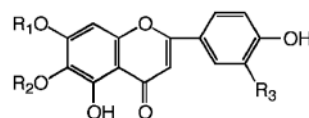


orobanchoside : $R_1=rhamnosyl$, $R_2=caffeoyl$, $R_3=H$
 plantasioside : $R_1=R_2=H$, $R_3=caffeoyl$



cistanoside F : $R=rhamnosyl$

Chart 3



scutellarein : $R_1=R_2=R_3=H$
 6-hydroxyluteolin : $R_1=R_2=H$, $R_3=OH$
 plantagin : $R_1=glucosyl$, $R_2=R_3=H$
 homoplantagin : $R_1=glucosyl$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$
 6-hydroxyluteolin 7-O-glucoside : $R_1=glucosyl$, $R_2=H$, $R_3=OH$

Chart 4

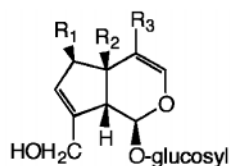
teoside にそれぞれ最低阻止濃度 (MIC) が 4.1 mM (2.7 mg/ml) と 3.2 mM (2.0 mg/ml) の抗菌活性を認めた。⁴⁸⁾

酵素阻害作用 : 牛の心臓からの cAMP-phosphodiesterase を用いた phosphodiesterase 阻害活性試験では *P. asiatica* と *P. major* の主成分に阻害活性を認めた。⁴⁸⁾

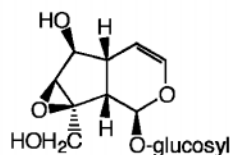
RBL-1 細胞からの 5-lipoxygenase を用いた試験ではやはり *P. asiatica* と *P. major* の主成分に阻害活性を認めた (Table 3)。⁴⁸⁾

P. asiatica 中の plantamajoside は車前草を水で煎じる過程で isoplantamajoside に転位することを見出した。⁴⁹⁾ ここで生成した isoplantamajoside は plantamajoside に比し, cAMP-phosphodiesterase 阻害活性において約 2 倍 [$IC_{50} (\times 10^{-5}M) : 8.4$], 5-lipoxygenase 阻害活性においては約 10 倍 [$IC_{50} (\times 10^{-7}M) : 0.41$] の高い阻害活性を示した。このことは車前草を煎液として利用する時の効果を考えた場合に注目すべき点である。

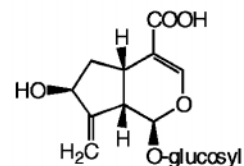
肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用 : Compound 48/80 によるラット腹腔肥満細胞からのヒスタミン遊離の抑制試験ではフェニルエタノイド



aucubin : $R_1=OH, R_2=R_3=H$
 geniposidic acid : $R_1=R_2=H, R_3=COOH$
 melittoside : $R_1=OH, R_2=O\text{-glucosyl}, R_3=H$



catalpol



gardsoside

Chart 5

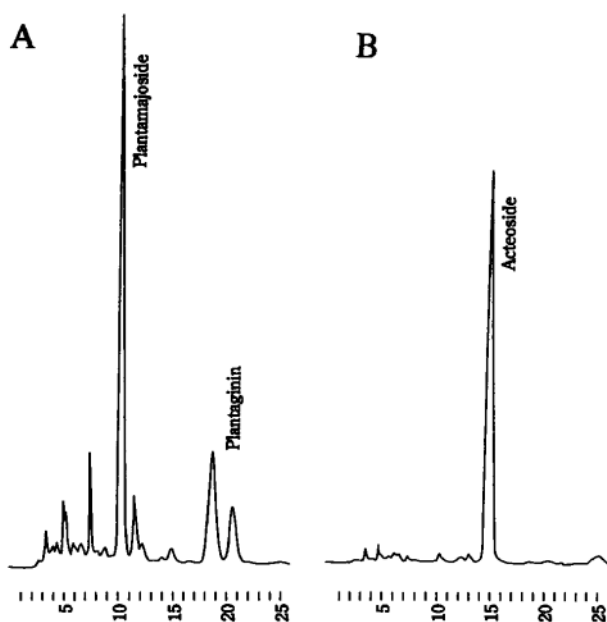


Fig. 9. HPLC Chromatograms of Methanol Extracts of *Plantago* Herb

A: *P. asiatica*, B: *P. lanceolata*, Conditions; column, Develosil ODS-5 (4.6×250 mm); mobil phase, MeOH : H₂O : AcOH (9 : 29 : 2); flow rate, 1.0 ml/min; column temp., 35°C; detector, UV 330 nm.

配糖体やフラボノイド配糖体には活性を認めなかったが apigenin, luteolin, scutellarein, 6-hydroxyluteolin にそれぞれ [$IC_{50}(\times 10^{-4}M)$: 1.5, 0.54, 1.4, 0.49] を認めた.⁵⁷⁾ 国立衛研の川崎らは TNF-IgE と DNP-BSA によるラット RBL-2H3 細胞からのヒスタミン遊離の抑制試験で、フラボノイドに関し、同様の結果を報告するとともに、scutellarein の細胞毒性が最も低いことを見出している。⁵⁸⁾

抗アレルギー作用： *P. asiatica* の主成分 plantamajoside と *P. lanceolata* の主成分 acteoside についてアラキドン酸により誘発されるマウスの耳急性炎症モデルを用いた抗アレルギー試験を検討した。⁵⁵⁾ その結果 plantamajoside に高い炎症抑制作用

Table 3. Enzyme Inhibitory Activity

	cAMP phosphodiesterase*	5-lipoxygenase**
	IC ₅₀ (× 10 ⁻⁵ M)	IC ₅₀ (× 10 ⁻⁷ M)
Plantamajoside	16.0	3.73
Hellicoside	16.9	3.16
Plantagin	1.4	1.20
Acteoside	> 50	13.6
β-hydroxyacteoside	> 50	49.8

* From beef heart. ** From RBL-1 cells.

Table 4. Inhibitory Effect on Arachidonic Acid-Induced Mouse Ear Edema

	Dose (mg/ear)	Increase of ear thickness (× 10 ⁻² mm)		Inhibition (%)
		Control	Treated	
Acteoside	1	31.1 ± 1.6	29.2 ± 1.2	(n=6) 6
	3	29.4 ± 1.5	25.2 ± 0.5 ^{a)}	(n=7) 14
Plantamajoside	1	29.0 ± 1.5	24.4 ± 1.5	(n=6) 12
	3	30.3 ± 1.1	22.6 ± 0.7 ^{b)}	(n=7) 25
Phenidone*	0.1	31.1 ± 1.0	19.2 ± 0.5 ^{b)}	(n=7) 38

Each value represents the mean ± S.E. Significantly different from the control, a) $p < 0.05$, b) $p < 0.01$. * As reference compound.

が認められ、酵素阻害活性の結果とよく一致した (Table 4).

次に plantagin がアナフラキシー反応に対して防御作用を示すかどうかを検討した。⁵⁷⁾ モルモットを卵白アルブミンで感作し、3週間後に卵白アルブミンのエアゾルを吸入させるとアナフィラキシーの前駆症状として頸部及び腹部に痙攣がみられる。さらに吸入を続けると強いショック症状を引き起こし死亡する。この前駆症状の発現時間を測定し、ついで1週間 plantagin を投与し、投与終了翌日に再

Table 5. Anti-Allergic Effect of Plantaginins on Preconvulsion Time Caused by Spraying Antigen-Aerosol to Sensitized Guinea Pig with Egg Albumin

Days after beginning of experiment	Nomal (n=2)	Treated (50 mg/kg/day, i.p.) (n=2)
0	114.19 ± 9.19	105.92 ± 0.92 (second)
7	143.54 ± 4.10	239.57 ± 45.2
Protection ratio	1.26 ± 0.065	2.26 ± 0.41

(mean ± S.E.)

び卵白アルブミンの吸入を行い、前駆症状の発現時間を測定し、投与前の前駆症状の発現時間に対する比を防御比として示した。その結果、投与群では防御比は対照群に比べて約2倍に増加し、明らかなアナフィラキシー反応に対する防御作用を示した (Table 5)。

抗炎症作用： 車前草の水抽出エキスはラットのカラゲニン浮腫に対し、抗炎症作用を示した。

主成分の plantamajoside についても同様に抗炎症作用の試験を行ったが活性は認められなかった。M. C. Recio らは aucubin がカラゲニン浮腫に対して抗炎症作用のあることを報告しており、⁵⁹⁾ 車前草エキスのカラゲニン浮腫に対する抗炎症作用は aucubin によることが考えられる。

抗酸化作用： 最近、抗酸化成分が老化予防をはじめとする種々の疾患予防と関連することが知られてきた。

主成分の plantamajoside と acteoside について α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) を用いるラジカル捕捉作用を検討した。⁶⁰⁾ その結果、いずれも同程度の活性 [IC_{0.200} (μ M): plantamajoside, 3.9, acteoside 3.9] を認め、 α -tocopherol [IC_{0.200} (μ M): 8.9] より高い活性を示した。一方ラット肝ミトコンドリアにおける ADP- 鉄によって誘導される過酸化脂質生成反応の抑制効果では acteoside [IC₅₀ (μ M): 26.7] の方が plantamajoside [IC₅₀ (μ M): 44.3] より高い抑制効果を示した。

鎮痛作用： 千葉大学の山崎、奥山らの研究グループは acteoside に酢酸ライジング抑制活性を認めている。その後 *P. asiatica* をはじめ、各種植物から単離されたフェニルエタノイド配糖体について抑制活性の検討が行われたが acteoside より活性の強いものは見出されなかった。⁶¹⁾

Table 6. IC₅₀ of Flavonoids on HIV-Reverse Transcriptase

Compound	IC ₅₀ (μ M)
Baicalein	5.6
Apigenin	— ^{a)}
Luteolin	17.5
Scutellarein	2.5
6-hydroxyluteolin	0.7
Baicalin	30.1
Apigenin 7-O-glucoside	— ^{b)}
Luteolin 7-O-glucoside	40.2
Plantaginins	8.9
Homoplantaginins	43.3
6-hydroxyluteolin 7-O-glucoside	4.3

—: no appreciable inhibition at concentrations up to a) 20 μ M and b) 50 μ M.

Acteoside に関してはその他、抗腎炎効果が報告され、その効果は抗原提示細胞の活性化とそれに続く白血球の接着の抑制による糸球体内白血球浸潤の抑制によるものと考えられている。

抗 HIV 作用： オウゴンからの baicalein に HIV 逆転写酵素阻害効果が報告されている。⁶²⁾ Baicalein の構造と類似した *P. asiatica* からのフラボノイドにも HIV 逆転写酵素阻害効果が期待された。そこで HIV 逆転写酵素阻害効果を HIV-1 の逆転写酵素の鋳型 RNA ((rA)_n·(dt)_{12·18}) への [³H] dTTP の取り込みに基づく放射活性により検討を行った。⁶³⁾ その結果、6-hydroxyluteolin に最も強い阻害効果を認め、次に scutellarein, baicalein, luteolin の順で、配糖体にはかなりの効果の低下がみられた。フラボノイドが高い阻害効果を示すためには芳香環に互いに隣接した2個ないし3個の水酸基の存在とそれと共役した芳香環の存在が必要ではないかと思われる (Table 6)。

まとめ 車前草の薬効には、傷薬としては抗菌作用と鎮痛作用が、鎮咳 (慢性気管支炎) には抗アレルギー作用が、利尿と消炎には抗炎症作用が、老化予防 (強壮) には抗酸化作用がそれぞれ関与し、これらの作用は主成分の plantamajoside, acteoside, plantaginins, aucubin, catalpol などのもつ生理活性に基づくものと思われる。従来いずれの基原による車前草も同じ鎮咳、利尿、消炎などの薬効がうたわれている。これまでの結果をふまえば、車前草は基原植物の違いにより、例えば、plantamajoside を

主とする *P. asiatica* と acteoside, catalpol を主とする *P. lanceolata* とは用途の使い分けが必要であろう。

おわりに

絡石藤, 連翹, 車前草の研究にあたり, 北海道医療大学薬学部生薬学教室員 蒲原 (千葉) 真理子, 岡部和子, 菅原 (北川) 静香, 村井 (笹原) 道子, 竹中孝子, 野口由香里, 佐久嶋明世博士, 大学院生 (故) 塚本博樹博士, 藤本啓博士, 藤川隆彦博士, 玉山靖彦, 歯学部 馬場久衛教授, 遼寧中医学院焦宝博士, Royal Danish School of Pharmacy Dr. Helle Ravn, Montpellier University Prof. Claude Andary, 岐阜薬科大学 田中俊弘教授, 酒井英二博士, 名城大学薬学部 野呂征男教授, 川村智子博士, 東邦大学薬学部 二階堂保教授, 名古屋市立大学薬学部 荻原幸夫教授, 能勢充彦博士, 静岡県立大学薬学部 野呂忠敬教授の各氏をはじめ, 多くの国内並びに海外の大学及び研究所の方々にご協力を頂きました。ここに厚くお礼申し上げます。

REFERENCES

- 1) Kosuge T., Yokota M., Sugiyama K., Yamamoto T., Mure T., Kuroki Y., Kose T., Yamazawa H., *Yakugaku Zasshi*, **105**, 845–847 (1985).
- 2) Chinese Pharmacopeia Committee of Ministry of Public Health of the People's Republic of China, "The Chinese Pharmacopeia (中華人民共和国薬典)," Chemical and Technical Press, Beijing, 2000, pp. 221–222.
- 3) Beijing Municipal Institute for Drug Control and Chinese Academy of Plant Sciences (北京薬品生物製品検定所, 中国科学院植物研究所), "Zhongyao-jianbieshou Vol. 1 (Handbook for Identification of Traditional Chinese Medicines Vol. 1) (中薬鑑別手冊 第一冊)," Science Press, Beijing, 1981, pp. 379–384.
- 4) Nishibe S., Han Y., Noguchi Y., Sakai E., Tanaka T., *Natural Medicines*, **56**, 40–46 (2002).
- 5) Nishibe S., Sakushima A., Noro T., Fukushima S., *Shoyakugaku Zasshi*, **41**, 116–120 (1987).
- 6) Fujimoto T., Nose M., Takeda T., Ogihara Y., Nishibe S., Minami M., *Shoyakugaku Zasshi*, **46**, 224–229 (1992).
- 7) Nishibe S., Hisada S., Inagaki I., *Phytochemistry*, **10**, 3296–3297 (1971).
- 8) Fujimoto T., Nose M., Takeda T., Ogihara Y., Nishibe S., *Shoyakugaku Zasshi*, **47**, 218–221 (1993).
- 9) Nishibe S., Han Y., Noguchi Y., Ueda H., Yamazaki M., Mizutani K., Kambara T., Kishida N., *Natural Medicines*, **55**, 205–208 (2001).
- 10) Nikaido T., Ohmoto T., Sankawa U., Tomimori T., Miyaichi Y., Imoto Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 654–661 (1988).
- 11) Park K. Y., Lee S. H., Min B. K., Lee K. S., Choi J. S., Chung S. R., Min K. R., Kim Y. S., *Planta Med.*, **65**, 457–459 (1999).
- 12) Ichikawa K., Kinoshita T., Nishibe S., Sankawa U., *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 3514–3517 (1986).
- 13) Matsumoto T., Kiyohara H., Nishiyama K., Yamada H., *J. Trad. Med.*, **18**, 108 (2001).
- 14) Takasaki M., Konoshima T., Komatsu K., Tokuda H., Nishino H., *Cancer Lett.*, **158**, 53–59 (2000).
- 15) Takasaki M., Konoshima T., Nishibe S., Tsuchida T., Tokuda H., Abstract of papers, The 48th Annual Meeting of the Japanese Society of Pharmacognosy, Kanazawa, September 2001, p. 91.
- 16) Hirose M., Yamaguchi T., Lin C., Kimoto N., Futakuchi M., Kono T., Nishibe S., Shirai T., *Cancer Lett.*, **155**, 79–88 (2000).
- 17) Nose M., Fujimoto T., Takeda T., Nishibe S., Ogihara Y., *Planta Med.*, **58**, 520–523 (1992).
- 18) Nose M., Fujimoto T., Nishibe S., Ogihara Y., *Planta Med.*, **59**, 131–134 (1993).
- 19) Private letters from Dr. Niina Saarinen of University of Turku, Finland.
- 20) Tanaka T., Sakai E., Mitsui N., Yoshida M., Nishibe S., *Shoyakugaku Zasshi*, **43**, 300–304 (1989).
- 21) Nishibe S., Chiba M., Hisada S., *Yakugaku Zasshi*, **97**, 1134–1137 (1977).
- 22) Chiba M., Hisada S., Nishibe S., *Shoyakugaku Zasshi*, **32**, 194–197 (1978).
- 23) Chiba M., Tsukamoto H., Hisada S., Nishibe S., *Shoyakugaku Zasshi*, **33**, 150–154 (1979).
- 24) Nishibe S., Chiba M., Hisada S., *Shoyakugaku Zasshi*, **31**, 131–135 (1977).
- 25) Nishibe S., Okabe K., Tsukamoto H.,

- Sakushima A., Hisada S., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 1048–1050 (1982).
- 26) Nishibe S., Okabe K., Tsukamoto H., Sakushima A., Hisada S., Baba H., Akisada T., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4548–4553 (1982).
- 27) Kitagawa S., Tsukamoto H., Hisada S., Nishibe S., *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 1209–1213 (1984).
- 28) Kitagawa S., Hisada S., Nishibe S., *Phytochemistry*, **23**, 1635–1636 (1984).
- 29) Noro Y., Hisata Y., Okuda K., Kawamura T., Tanaka T., Nishibe S., *Shoyakugaku Zasshi*, **45**, 327–332 (1991).
- 30) Nishibe S., Kawamura T., Tanaka T., Adlercreutz H., *Natural Medicines*, **55**, 300–303 (2001).
- 31) Unpublished data.
- 32) Nishibe S., Sasahara M., Miyageta M., Noro Y., Kawamura T., Tanaka T., *Yakugaku Zasshi*, **110**, 453–456 (1990).
- 33) Nishibe S., Noguchi Y., Yoshida A., Kawamura T., *Natural Medicines*, **55**, 272–275 (2001).
- 34) Kitagawa S., Nishibe S., Baba H., *Yakugaku Zasshi*, **107**, 274–278 (1987).
- 35) Nikaido T., Ohmoto T., Kinoshita T., Sankawa U., Nishibe S., Hisada S., *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 3586–3592 (1981).
- 36) Nishibe S., Kitagawa S., Hisada S., Baba H., Yasui S., Narita T., Yoshioka K., *J. Pharmacobio-Dyn.*, **10**, s-48 (1987).
- 37) Kimura Y., Okuda H., Nishibe S., Arichi S., *Planta Med.*, **2**, 148–153 (1987).
- 38) Cho J. Y., Kim A. R., Park M. H., *Planta Med.*, **67**, 312–316 (2001).
- 39) Jiangsu New Medical College, ed., “Chinese Materia Medica Dictionary (中藥大辭典),” Shanghai Sci. and Tech. House, Shanghai, 1978, p. 1114.
- 40) Adlercreutz H., Fotsis T., Heikkinen R., Dwyer J. T., Woods M., Goldin B. R., Gorbach S. L., *Lancet*, **2**, 1295–1299 (1982).
- 41) Ohigashi H., Osawa T., Terao J., Watanabe S., Yoshikawa T., eds., “Food Factors for Cancer Prevention,” Springer-Verlag, Tokyo, 1997, pp. 587–592.
- 42) Borriello S. P., Setchell K. D. R., Axelson M., Lawson A. M., *J. Appl. Bacteriol.*, **58**, 37–43 (1985).
- 43) Heinonen S., Nurmi T., Liukkonen K., Poutanen K., Rafaelli B., Wahala K., Deyama T., Nishibe S., Adlercreutz H., *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 3133–3139 (2001).
- 44) Dinkova-Kostova A. T., Gang D. R., Davin L. B., Bedgar D. L., Chu A., Lewis N. G., *J. Biol. Chem.*, **271**, 29473–29482 (1996).
- 45) Hansel R., Keller K., Rimpler H., Schneider G., “Handbuch der Pharmazeutischen Praxis”, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1994, p. 221.
- 46) Morita N., Yoshizaki M., “Photographs of Medicinal Plants in Paraguay,” JICA, 1991, p. 44.
- 47) Noro Y., Hisata Y., Okuda K., Kawamura T., Kasahara Y., Tanaka T., Sakai E., Nishibe S., Sasahara M., *Shoyakugaku Zasshi*, **45**, 24–28 (1991).
- 48) Ravn H., Nishibe S., Sasahara M., Li X., *Phytochemistry*, **29**, 3627–3631 (1990).
- 49) Sasahara M., Tamayama Y., Fujimoto T., Nishibe S., Tanaka T., *Shoyakugaku Zasshi*, **46**, 268–272 (1992).
- 50) Nishibe S., Sasahara M., Jiao Y., Yuan C. L., Tanaka T., *Phytochemistry*, **32**, 975–977 (1993).
- 51) Jiao Y., Sasahara M., Nishibe S., Yuan C. L., Tanaka T., *Shoyakugaku Zasshi*, **47**, 330–333 (1993).
- 52) Andary C., Wylde R., Maury L., Heitz A., Dubourg A., Nishibe S., *Phytochemistry*, **37**, 855–857 (1994).
- 53) Nishibe S., Murai M., Tamayama Y., *Natural Medicines*, **49**, 340–342 (1995).
- 54) Nishibe S., Tamayama Y., Sasahara M., Andary C., *Phytochemistry*, **38**, 741–743 (1995).
- 55) Murai M., Tamayama Y., Nishibe S., *Planta Med.*, **61**, 479–480 (1995).
- 56) Murai M., Takenaka T., Nishibe S., *Natural Medicines*, **50**, 306 (1996).
- 57) Tamayama Y., MS Thesis, Health Sciences University of Hokkaido, 1992.
- 58) Kawasaki M., Toyoda M., Teshima R., Sawada J., Hayashi T., Arisawa M., Shimizu M., Morita N., Inoue S., Saito Y., *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **35**, 497 (1994).
- 59) Recio M. C., Giner R. M., Manez S., Rios J. I., *Planta Med.*, **60**, 232–234 (1994).

-
- 60) Hori H., Ishibashi M., Mohamad S. B., Nagasawa H., Uto Y., Sakamaki H., Pan N., Ohkura K., Nishibe S., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **471**, 395–401 (1999).
- 61) Nakamura T., Okuyama E., Tsukada A., Yamazaki M., Satake M., Nishibe S., Deyama T., Moriya A., Maruno M., Nishimura H., *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 499–504 (1997).
- 62) Ono K., Nakane H., Fukushima M., Chermann J. C., Barre-Sinoussi F., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **160**, 982 (1989).
- 63) Nishibe S., Ono K., Nakane H., Kawamura T., Noro Y., Tanaka T., *Natural Medicines*, **51**, 547–549 (1997).