

## 2種のブラジル産シソ科植物成分の生物活性作用について

磯部孝彦,<sup>\*,a</sup> 土江松美,<sup>b</sup> 森本芳樹,<sup>b</sup> 長田久美子,<sup>c</sup> 益岡典芳,<sup>d</sup> 大崎愛弓<sup>e</sup>

## Biological Activity Tests of Chemical Constituents from Two Brazilian Labiatae Plants

Takahiko ISOBE,<sup>\*,a</sup> Matsumi DOE,<sup>b</sup> Yoshiki MORIMOTO,<sup>b</sup> Kumiko NAGATA,<sup>c</sup>  
Noriyoshi MASUOKA,<sup>d</sup> and Ayumi OHSAKI<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Department of Chemistry and <sup>c</sup>Department of Microbiology, Hyogo College of Medicine, 1-1 Mukogawa-cho, Nishinomiya City 663-8501, Japan, <sup>b</sup>Department of Chemistry, Graduate School of Science, Osaka City University, 3-3 Sugimoto, Sumiyoshi-ku, Osaka 558-8585, Japan, <sup>d</sup>Department of Life Science, Okayama University of Science, 1-1 Ridai-cho, Okayama City 700-0005, Japan, and <sup>e</sup>Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University, 2-3-10 Kanda Surugadai, Kanda, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0062, Japan

(Received October 20, 2006; Accepted November 14, 2006)

We studied the bioactivities of constituents from two tropical medicinal plants, *Cunila spicata* and *Hyptis fasciculata*. These plants found in Brazil belong to the Labiatae family. Four known compounds obtained from these herbs were identified as 3 $\alpha$ , 24-dihydroxylurs-12-en-28-oic acid, betulinic acid, aurantiamide acetate, and aurantiamide benzoate by spectroscopic means. 3 $\alpha$ , 24-Dihydroxylurs-12-en-28-oic acid has potent inhibitory activity against *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, and *Porphyromonas gingivalis*. Aurantiamide benzoate exhibited moderate inhibitory activity against xanthine oxidase. It was clarified that herbs *Cunila spicata* and *Hyptis fasciculata* are effective against bronchitis and gout.

**Key words**—*Cunila spicata*; *Hyptis fasciculata*; Labiatae; anti-bacteria; anti-xanthine-oxidase; gout

## 緒 言

筆者は長年に渡りシソ科植物 (Labiatae) の成分研究を行ってきた。日本産のヤマハッカ属 (*Isodon* あるいは *Rabdosia*) を中心に主としてジテルペノイドの単離及び構造決定を行い、それらをまとめて化学分類を試みた。<sup>1)</sup> 筆者がこれまでにを行ったこの属のジテルペンの成分研究に関する研究はこの報文の参考文献に列挙している。最近では、ヤマハッカ属のヒキオコシ (*Rabdosia japonica*) の成分における抗酸化作用の研究を報告した。<sup>2)</sup> この抗酸化作用の研究に用いたフェノールについての成分研究も、この属のジテルペノイド以外の成分についての研究報告の1つである。<sup>3)</sup> さらに、日本産の

テンニンソウ属のミカエリソウ (*Leucoseptum stellipillum*),<sup>4)</sup> アキギリ属のアキノタムラソウ (*Salvia japonica*) とアキギリ (*S. glabrescens*),<sup>5)</sup> 及び漢方生薬としてナギナタコウジュ属のナギナタコウジュ (*Elsholtzia ciliata*)<sup>6)</sup> などのシソ科植物の成分について研究を行ってきた。これらの植物の主要な成分は triterpenoids と flavonoids であった。

今回、シソ科植物の成分研究の一環として、ブラジル産のシソ科植物の成分の研究を行った。Poejo と称されるクニラ属の生薬 *Cunila spicata* (Sprengel) Benth とイガニガクサ属の *Hyptis fasciculata* Benth を研究対象にした。*Cunila spicata* については成分研究の報告はあるものの、詳細な報告がされていないので、改めて成分検索を行った。その結果、2種の化合物 **1**, **2** を得たが、それらは既知の triterpenoids であった。また、*Hyptis fasciculata* の成分分離操作では、新規の diterpenoids を得てその化学構造を解明し、報告した。<sup>7)</sup> 同時に、既知の flavonoids を単離し、*Helicobacter pylori* 菌に対する抗

<sup>a</sup>兵庫医科大学化学教室, <sup>c</sup>兵庫医科大学病原微生物学講座, <sup>b</sup>大阪市立大学大学院理学研究科理学部化学科, <sup>d</sup>岡山理科大学理学部臨床生命科学科, <sup>e</sup>東京医科歯科大学生体材料工学研究所  
e-mail: isobekh@hyo-med.ac.jp

菌活性<sup>8)</sup>についても報告した。今回、*Hyptis fasciculata* には、さらに他の成分の存在が TLC によって予測されたので、分離操作を行い、2種の化合物 3, 4 を得た。それらは既知の dipeptide analogues であることが分かった。

これらの化合物 1—4 について、それぞれ、生薬として記載されている薬効<sup>9)</sup>を考慮して生物活性試験を行ったところ、2, 3 の有効な知見が得られ、含有成分と薬効の関係を実証することができたので報告する。特に、化合物 1, 4 における生物活性試験の報告は現在までなく、今回が最初の報告である。

### 実験の部

IR スペクトルは Horiba FT-720 型、EI-MS スペクトルは日本電子 HX-100 型 (20 eV)、NMR スペクトルは Bruker AVANCE 600 型 (tetramethylsilane を内部標準、<sup>1</sup>H は 600 MHz、<sup>13</sup>C は 150 MHz で測定) を用いて測定した。遠心液々分配クロマトグラフィー (CPC) はセンシュー科学 LLB-M 型、HPLC は日本分光 PU-2000Plus 型を用いた。旋光度は日本分光 DIP-370 型を用いて測定した。

**1. 抽出及び単離** サンパウロ市内にて購入した Poejo (*Cunila spicata*, Code B-192, 橋本梧郎博士によって同定された) 1.9 kg を粉碎後、メタノールで5回冷浸した後、溶媒を濃縮、除去した。抽出部は 250 g であった。水を加えクロロホルム、酢酸エチル、1-ブタノールと順次分配した。各溶解部の重量は、62.9 g, 22.2 g, 19.3 g であった。クロロホルム溶解部は (45×400 mm + 30×300 mm) のカラムを使って、シリカゲルの MPLC system によるクロマトグラフィーを行った。ヘキサン、ベンゼン、クロロホルム、酢酸エチル、アセトン、メタノールと順に溶出した。CHCl<sub>3</sub> 及び、CHCl<sub>3</sub>-EtOAc で溶出したフラクションは CPC を行った。(CHCl<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>OH-H<sub>2</sub>O; 4:4:3) の溶媒系で 800 rpm の回転速度、3.2 ml/min の流速で上昇法で行った。Triterpene を含むフラクションはさらに、HPLC (ODS column, solvent; CH<sub>3</sub>OH:H<sub>2</sub>O; 50→80%) で精製した。こうして、 $\beta$ -sitosterol 及びその配糖体と化合物 1, 2 が得られた。

*Hyptis fasciculata* からの抽出、分離の方法は先に発表した報文に詳しく記載している。<sup>8)</sup> その中のクロロホルム溶解部をさらに、MPLC, CPC で粗

く分離し、HPLC を用い上記と同様の条件で化合物 3, 4 を得た。

**1-1. 化合物 1.** 無色針状晶 (EtOH). mp 260—262°C. EI-MS  $m/z$ : 472 (M<sup>+</sup>), 436, 424, 248, 203, 133. IR (KBr) cm<sup>-1</sup>: 3460, 2933, 1691, 1456, 1020. <sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 0.91 (3H, d,  $J=6.4$  Hz, H-20), 0.94 (3H, s, H-25), 0.95 (3H, d,  $J=6.5$  Hz, H-19), 1.04 (3H, s, H-26), 1.11 (3H, s, H-27), 1.61 (3H, s, H-23), 2.29 (1H, br dd,  $J=13.5, 13.5$  Hz, H-18), 2.60 (1H, br d,  $J=11.3$  Hz, H-18), 4.06 and 3.80 (each 1H, d,  $J=10.8$  Hz, H-24), 4.42 (1H, s, H-3 $\beta$ ), 5.47 (1H, br s, H-12). <sup>13</sup>C-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 15.7 (q, C-25), 17.07 (q, C-29), 17.15 (q, C-26), 18.7 (t, C-6), 21.1 (q, C-30), 23.3 (q, C-23), 23.51 (t, C-16), 23.52 (q, C-27), 24.6 (t, C-11), 26.1 (t, C-2), 28.3 (t, C-15), 30.8 (t, C-21), 33.7 (t, C-7), 33.8 (t, C-1), 37.1 (s, C-10), 37.2 (t, C-22), 39.16 (d, C-20), 39.21 (d, C-19), 39.9 (s, C-8), 42.2 (s, C-14), 43.6 (s, C-4), 47.82 (d, C-9), 47.82 (s, C-17), 49.8 (d, C-5), 53.4 (d, C-18), 65.5 (t, C-24), 69.8 (d, C-3), 125.7 (d, C-12), 139.2 (s, C-13), 180.1 (s, C-28).

**1-2. 化合物 2.** 無色針状晶, mp 289—291°C. EI-MS  $m/z$ : 456 (M<sup>+</sup>), 438, 395, 248, 189. IR (KBr) cm<sup>-1</sup>: 3454, 2939, 1689, 1455, 1232, 1037. <sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 0.80 (3H, s, H-26), 0.99 (3H, s, H-24), 1.04 (3H, s, H-25), 1.05 (3H, s, H-27), 1.21 (3H, s, H-23), 1.74 (1H, t,  $J=11.4$  Hz, H-18), 1.77 (3H, s, H-30), 2.72 (1H, m, H-13), 3.44 (1H, t,  $J=8.0$  Hz, H-3 $\alpha$ ), 3.51 (1H, m, H-18), 4.93 and 4.75 (each 1H, s, H-29). <sup>13</sup>C-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 14.6 (q, C-27), 16.0 (q, C-24), 16.09 (q, C-25, 26), 18.5 (t, C-6), 19.2 (q, C-30), 20.9 (t, C-11), 25.8 (t, C-12), 28.0 (t, C-2), 28.4 (q, C-23), 30.0 (t, C-15), 30.9 (t, C-21), 32.6 (t, C-16), 34.5 (t, C-7), 37.2 (s, C-10), 37.3 (t, C-22), 38.3 (d, C-13), 39.0 (t, C-1), 39.2 (d, C-4), 40.9 (s, C-8), 42.6 (s, C-14), 47.5 (d, C-19), 49.5 (d, C-18), 50.7 (d, C-9), 55.7 (d, C-5), 56.4 (s, C-17), 78.0 (d, C-3), 109.9 (t, C-29), 151.4 (s, C-20), 179.0 (s, C-28).

**1-3. 化合物 3.** 無色針状晶 (EtOH-H<sub>2</sub>O). mp 183—185°C.  $[\alpha]_D^{25} -35.61$  (c 0.41, CHCl<sub>3</sub>). EI-MS  $m/z$ : 444 (M<sup>+</sup>), 384 (M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H), 353

(M<sup>+</sup>- Benzyl), 293 (384 - Ph-CONH), 252, 224, 146, 105 (Benzoyl), 77 (Phenyl). HR-EI-MS *m/z*: 444.2068 (Calcd for C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: 444.2049). IR (KBr) cm<sup>-1</sup>: 1726, 1660, 1631, 1533, 1261, 696. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 2.02 (3H, s, H-2''), 2.75 (2H, m, H-3'), 3.22 (1H, dd, *J*=6.0, 13.7 Hz, H-3), 3.08 (1H, dd, *J*=8.3, 13.7 Hz, H-3), 3.84 (1H, dd, *J*=4.2, 11.3 Hz, H-1'), 3.93 (1H, dd, *J*=5.0, 11.3 Hz, H-1'), 4.81 (1H, dd, *J*=7.8, 14.1 Hz, H-2), 7.06 (each 1H, d, *J*=7.4 Hz, H-5', 9'), 7.24 (each 1H, m, H-6', 8'), 7.13 (1H, m, H-7'), 7.43 (each 1H, d, *J*=7.6 Hz, H-4'', 6''), 7.52 (1H, d, *J*=7.4 Hz, H-5''), 7.71 (each 1H, d, *J*=7.4 Hz, H-3'', 7''), 6.16 (1H, d, *J*=8.5 Hz, NH-β), 6.83 (1H, d, *J*=7.6 Hz, NH-α). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 20.60 (q, C-2''), 37.30 (t, C-3'), 38.32 (t, C-3), 49.34 (d, C-2'), 54.88 (d, C-2), 64.54 (t, C-1'), 127.21 (d, C-7), 128.67 (d, C-5', 9'), 126.82 (d, C-7'), 127.17 (d, C-3'', 7''), 128.72 (d, C-6, 8), 128.82 (d, C-4'', 6''), 129.23 (d, C-6', 8'), 129.42 (d, C-5, 9), 132.01 (d, C-5''), 133.82 (s, C-2''), 136.75 (s, C-4), 136.86 (s, C-4'), 167.34 (s, C-1''), 170.55 (s, C-1), 170.98 (s, C-1'').

**1-4. 化合物 4.** 無色針状晶 (EtOH-H<sub>2</sub>O). mp 210—211°C. [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -19.75 (*c* 1.62, CHCl<sub>3</sub>). EI-MS *m/z*: 506 [M]<sup>+</sup>, 415, 385 (M<sup>+</sup>- CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>), 294 (385 - Ph-CONH), 252, 224, 146, 105 (Benzoyl), 77 (Phenyl). HR-EI-MS *m/z*: 506.2215 (Calcd for C<sub>32</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: 506.2206). IR (KBr) cm<sup>-1</sup>: 1747, 1637, 1531, 1214, 696. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>+CD<sub>3</sub>OD) δ: 2.92 (2H, d, *J*=7.6 Hz, H-3'), 3.17 (1H, dd, *J*=8.5, 13.9 Hz, H-3), 3.30 (1H, dd, *J*=6.3, 13.9 Hz, H-3), 4.07 (1H, dd, *J*=5.6, 11.2 Hz, H-1'), 4.46 (1H, dd, *J*=4.0, 11.1 Hz, H-1'), 4.82 (1H, dd, *J*=6.2, 8.6 Hz, H-2), 7.22 (each 1H, m, H-5', 9'), 7.25 (each 1H, m, H-6', 7', 8'), 7.34 (each 1H, t, *J*=7.6 Hz, H-4'', 6''), 7.38 (each 1H, t, *J*=7.9 Hz, H-4'', 6''), 7.46 (1H, tt, *J*=1.2, 7.3 Hz, H-5''), 7.49 (1H, tt, *J*=1.2, 7.3 Hz, H-5''), 7.69 (each 1H, m, H-3'', 7'', 3'', 7''), 6.62\* (1H, d, *J*=5.9 Hz, NH-α), 6.68\* (1H, d, *J*=7.9 Hz, NH-β) [\*measured in CDCl<sub>3</sub>]. <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>+CD<sub>3</sub>OD): 37.66 (t, C-3'), 37.71 (t, C-3), 51.35 (d, C-2'), 55.80 (d, C-2), 66.28 (t, C-1'), 127.29 (d, C-7'), 127.62 (d, C-7), 127.94 (d,

C-3'', 7''), 128.04 (d, C-3'', 7''), 129.05 (d, C-4'', 6''), 129.15 (d, C-6, 8), 129.17 (d, C-6', 8'), 129.23 (d, C-4'', 6''), 129.82 (d, C-5', 9'), 129.89 (d, C-5, 9), 132.18 (d, C-7''), 132.56 (d, C-5''), 134.34 (s, C-2''), 135.04 (s, C-2''), 137.66 (s, C-4), 138.37 (s, C-4'), 169.69 (s, C-1''), 169.80 (s, C-1''), 172.79 (s, C-1).

**2. 抗菌試験** Table 1 に示す菌類に対する抗菌試験の培地, 菌の培養, 酸素濃度の調整などの詳細については文献記載の方法で行った.<sup>10,11)</sup> 菌株はそれぞれ表中に示している. 秤量した試料は DMSO に溶解し, ついで PBS (リン酸緩衝化生理食塩水) で希釈して 10 μg/ml より活性試験を行った. 対象として, 無試料のものと比較をした. 菌の増殖を阻害する最小濃度である MIC は 90% 以上の菌の増殖阻害でもって決定した.

**3. Xanthine Oxidase の阻害活性試験** Xanthine oxidase は Sigma 社製の商品 (Grade IV) を購入し, 使用した. 反応溶液は, 10 mmol/l xanthine 溶液 0.06 ml, DMSO に溶解した試料溶液 0.06 ml, と 0.1 mmol/l EDTA を含む 40 mmol/l の炭酸ナトリウム緩衝溶液 (pH 10.0) 2.76 ml からなっている. 反応溶液に 25°C で 0.12 ml の xanthine oxidase (0.04 units) を加え 90 秒間 293 nm の波長で吸光度を観測した. 実験におけるコントロールは試料溶液と同量の DMSO で置き換えて行った. 尿酸の生成速度は吸光度の比例している増加分から計算した.<sup>12,13)</sup>

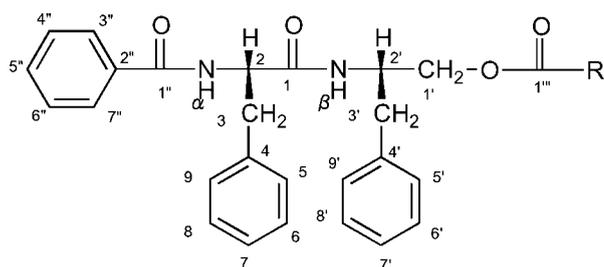
## 結 果

**1. 化合物の単離と同定** *Cunila spicata* (Sprengel) Benth から調製される生薬は Poejo と呼ばれる生薬で, 「煎じて咳止め, 発汗, 気管支炎に用いる」と用途が記されている.<sup>9)</sup> この生薬については抗ウイルス活性<sup>14)</sup>や, monoterpene glycosides の成分研究<sup>15)</sup>が報告されている. 既に報告している南米産生薬の分離操作<sup>8)</sup>とほぼ同じ方法で, この植物から化合物の分離操作を行った. 抽出, 分離, 精製の操作は, silica gel を使用した MPLC (中圧液体クロマトグラフィー), 液相間の分配による CPC (centrifugal liquid-liquid partition chromatography, 遠心液々分配クロマトグラフィー), 逆相の ODS カラムを用いた HPLC を繰り返し使用して, ステ

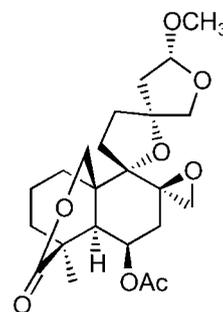
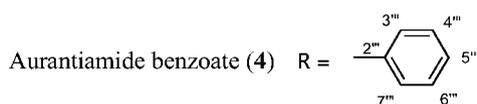
ロイド類とともに化合物 **1**, **2** を得た.

化合物 **1** は NMR スペクトルによって 1 つの二重結合 ( $^{13}\text{C}$ :  $\delta$  139.2, 125.7,  $^1\text{H}$ :  $\delta$  5.47 d), 2 つの 2 級メチル基 ( $^1\text{H}$ :  $\delta$  0.95, 0.91) を持ち, 全体の NMR スペクトルのチャートより triterpenoid の ursane type の化合物と推定した. C, D, E 環の NMR スペクトルは ursolic acid とよく似ている.<sup>16)</sup> A, B 環については, 2D-NMR スペクトルの測定によって詳

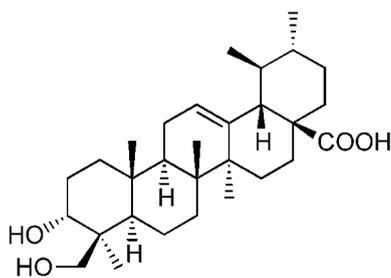
細に検討した. 2 つの hydroxy groups ( $^1\text{H}$ :  $\delta$  3.80 (doublet), 4.42 (singlet)) は,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY や HMBC スペクトルからそれぞれ, C-3 と C-24 に結合していることを示唆している. NOESY cross peaks (H-3 $\beta$ /H-23, H-3 $\beta$ /H-24, H-24/H-25, H-25/H-26) から, 化合物 **1** は 3 $\alpha$ , 24-dihydroxylurs-12-en-28-oic acid と決定した. 文献値とよく一致したが, 文献ではこのように 3 $\alpha$ -hydroxy を持つ ur-



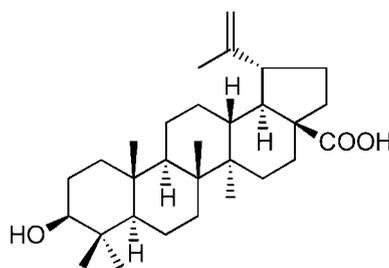
Aurantiamide acetate (**3**) R = CH<sub>3</sub> (C-No 2'')



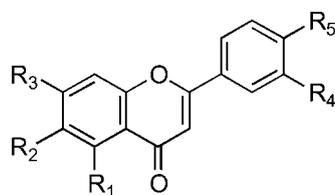
Methoxynepetaefolin (**7**)



(1)



(2)



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
Cirsilineol ( <b>5</b> )	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH
Cirsimaritin ( <b>6</b> )	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OH
Pedalitin ( <b>8</b> )	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OH
Baicalein ( <b>9</b> )	OH	OH	OH	H	H

sane type の化合物は珍しいと報告されている。<sup>17)</sup> 化合物 **2** も <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR, 2D-NMR スペクトルの解析と文献のデータによって, betulinic acid と同定した。<sup>18)</sup> この生薬から化合物 **1**, **2** が得られたのは初めてである。

また, 同じく南米に分布するシソ科の *Hyptis fasciculata* Benth は「煎じて痛風, 痰とり, 発汗, さしこみに用いる」と記載されている。<sup>9)</sup> この文中の「痛風」に注目し活性成分を調べることにした。この生薬からは既に, 3 種の diterpene<sup>7)</sup> と 2 種の anti-*Helicobacter pylori* 活性を持つ flavonoid を得ている。<sup>8)</sup> 今回, さらに残渣を HPLC (ODS カラム) によって, 分離, 精製して, 2 種の化合物 **3**, **4** を得た。

化合物 **3** の分子式は C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> で IR スペクトルから, ester と amide の groups の存在 (1726, 1660, 1631 cm<sup>-1</sup>) を, また <sup>13</sup>C-NMR より 3 つの carbonyl groups ( $\delta$ 170.98, 170.55, 167.34) の存在を示唆している。この 1 つは acetyl group で, 残りは amide bonds である。Amide group 近辺の炭素骨格の一部は <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY スペクトルから—N( $\alpha$ )—C(2)—C(3)—, —N( $\beta$ )—C(2')—C(1')—, C(2')—C(3')—と表される。さらに HMBC スペクトルによって, H-2/C-1, NH- $\beta$ /C-1, H-2'/C-1, H-2/C-1'', NH- $\alpha$ /C-1'', H-3''/C-1'', H-1'ab/C-1''', H-2'''/C-1''', H-2/C-4, H-3ab/C-4, H-2'/C-4', H-3'ab/C-4' が観測された。また, NOESY cross peaks により, NH- $\alpha$ /H-2, H-2/H-3ab, NH- $\beta$ /H-2', H-2'/H-3'ab が観測された。以上の結果, 化合物 **3** は aurantiamide acetate (*N*-benzoyl-1-phenylalanyl-1-phenylalaninol acetate) と決定した。施光度は文献値と一致したので, 絶対立体構造も確定した。<sup>19,20)</sup>

化合物 **4** の分子式は C<sub>32</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> で NMR スペクトルは化合物 **3** とよく似ている。<sup>1)</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 及び HMBC スペクトルから化合物 **3** の acetyl group が benzoyl group に代わったものと考えられる。Benzoyl group において H-3'''/C-1''' の HMBC スペクトルが観測されている。したがって化合物 **4** は aurantiamide benzoate と決定した。<sup>21)</sup> Aurantiamide の acetate と benzoate が共存するのは 2 例目である。<sup>22)</sup>

**2. 抗菌活性と酵素阻害活性** 化合物 **1—4** について, 生薬として記載された薬効に対する試験を

Table 1. Inhibitory Activity of Compounds **1** and **2** against Bacteria

Bacteria tested	IC <sub>90</sub> ( $\mu$ g/ml)*	
	<b>1</b>	<b>2</b>
Gram positive		
<i>Staphylococcus aureus</i> DMSO 346	>100	>100
<i>Streptococcus mutans</i> RIMD 3125001	25—50	>100
<i>Streptococcus salivarius</i> GIFU 8326	10	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type-I	5	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> E-14	5	>100
Gram negative		
<i>Escherichia coli</i> K-12	>100	>100
<i>Helicobacter pylori</i> NCTC 11637	50	50
<i>Porphyromonas gingivalis</i> GAI 7802	5	>100

\* IC<sub>90</sub> were defined as the inhibitor concentrations which produced 90% growth inhibition.

Table 2. Inhibition of Xanthine Oxidase Activity by Compounds

Compound	Inhibition % in 50 $\mu$ mol/l	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ mol/l)
From <i>Hyptis fasciculata</i>		
Methoxynepetaefolin ( <b>7</b> )	0.0 $\pm$ 0.0	100<
Aurantiamide acetate ( <b>3</b> )	9.8 $\pm$ 2.8	100<
Cirsimaritin ( <b>6</b> )	20.6 $\pm$ 2.6	100<
Aurantiamide benzoate ( <b>4</b> )	34.4 $\pm$ 12.5	70.0 $\pm$ 18.0
Cirsilineol ( <b>5</b> )	45.6 $\pm$ 1.4	57.1 $\pm$ 3.0
Other positive compounds		
Pedalitin ( <b>8</b> )	66.0 $\pm$ 5.0	18.2 $\pm$ 4.2
Baicalin ( <b>9</b> )	82.0 $\pm$ 2.5	7.7 $\pm$ 0.5

行った。化合物 **1**, **2** については抗菌活性試験を行い, Table 1 に示すような結果を得た。また, 化合物 **3**, **4** については酵素阻害活性試験を行い, Table 2 に示すような結果を得た。

## 考 察

生薬 *Cunila spicata* が咳止めや気管支炎に用いると記されていることより, Table 1 のように口腔や咽喉に常在する細菌類に対する抗菌を調べてみた。化合物 **2** には活性はなかったが, 化合物 **1** には虫歯の原因となる *Streptococcus mutans* に弱い活性があり, さらに, 連鎖球菌の *S. salivarius* (口腔感染菌), *S. pneumoniae* (上気道炎や肺炎を引き起こす菌), *S. pyogenes* (化膿性炎症菌), グラム陰性桿菌の *Porphyromonas gingivalis* (歯周病に関連す

る菌) に対して, 有効な抗菌活性を示した. *S. mutans* に対する抗菌活性については, ursolic acid や pomolic acid (19-hydroxylursolic acid) に有効な活性があり,<sup>1)</sup> 化合物 **1** には活性がないことは化学構造との関係上興味深い. 以上の細菌に対して化合物 **1** が有効な抗菌活性を持つことが証明されたのは今回が初めてである. 化合物 **2** の betulinic acid にはこれらの活性はなかったが, その誘導体では HIV-1 virus に高選択的な阻害活性を持っていると報告されている.<sup>23)</sup> また, 化合物 **1, 2** は *Helicobacter pylori* に関しては弱い抗菌作用しか示さなかった.

一方, 生薬 *Hyptis fasciculata* の薬効の 1 つに「痛風」に効果があると記されている. これに, 注目して得られた化合物に対して, 尿酸産生を阻害する, すなわち, xanthine oxidase の阻害活性を調べた. 化合物 **3, 4** 以外に先に得られた, flavonoids や diterpenoids についても実験をした. Diterpenoids の主成分の化合物 **7** について調べたが, 全く活性はなかった. しかし, 化合物 **3, 4** と flavonoids は Table 2 のように活性があった. 化合物 **3** と **4** では **4** の阻害活性が強く, これは acetate と benzoate の違いによるもので, 疎水性が大きく影響していると考えられる. Aurantiamide acetate の生理活性試験の報告については, anti-inflammatory, anti-allergic properties,<sup>24)</sup> cysteine proteinases<sup>25)</sup> の阻害活性, superoxide radical 産生阻害<sup>26)</sup> などがあるが, aurantiamide benzoate の生理活性について調べたのは今回が初めてであった. しかし, 活性が強いのは flavonoids **5, 6** であり, anti-oxidant の研究において報告された pedalin<sup>2)</sup> や baicalein<sup>27)</sup> に比べれば活性は低い. だが, 生薬の中に xanthine-oxidase の阻害活性を持つ化合物が複数含まれれば, 全体として痛風に効果のあるものとして考えられる.

以上のように生薬の薬効について, 単離した化合物を用いて, 化合物と 1 つの薬効との関係をどのような方法で証明できるかという試みをまとめた. さらに有効な手段が応用されればもっと, これらの化合物が持つ性質が明らかとなると考える.

## REFERENCES

- 1) Isobe T., Noda Y., Ohsaki A., Sakanaka S., Kim M., Taniguchi M., *Yakugaku Zasshi*, **109**, 175–178 (1989).
- 2) Masuoka N., Isobe T., Kubo I., *Phyther. Res.*, **20**, 206–213 (2006).
- 3) Isobe T., Noda Y., Kubota T., *Nippon Kagaku Kaishi*, 1513–1515 (1985).
- 4) Isobe T., *Yakugaku Zasshi*, **118**, 529–538 (1998).
- 5) Isobe T., Noda Y., *Nippon Kagaku Kaishi*, 244–246 (1998).
- 6) Isobe T., Noda Y., *Nippon Kagaku Kaishi*, 423–425 (1992).
- 7) Ohsaki A., Kishimoto Y., Isobe T., Fukuyama Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **53**, 1577–1579 (2005).
- 8) Isobe T., Doe M., Morimoto Y., Nagata K., Ohsaki A., *Biol. Pharm. Bull.*, **53**, 1039–1041 (2006).
- 9) Hashimoto G. “Burazil-san Yakuyo Shokubutu Jiten,” Abokku-sha, Kamakura, Japan, 1996, p. 570.
- 10) Nagata K., Sone N., Tamura T., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**, 1522–1527 (2001).
- 11) Nagata K., Wada Y., Tamura T., Koyama J., Hirai K., *Nippon Kagaku Ryoho-gakkai Zasshi*, **47**, 9–14 (1999).
- 12) Schaefer O., Bohlmann R., Schleuning W.-D., Schulze-Forster K., Humpel M., *Agric. Food Chem.*, **53**, 2881–2889 (2005).
- 13) Ibrahim A.-R. S., Galal A. M., Ahmed M. S., Mossa G. S., *Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 203–206 (2003).
- 14) Simoes C. M., Falkenberg M., Mentz L. A., Schenkel E. P., Amoros M., Girre L., *Phytomedicine*, **6**, 205–214 (1999).
- 15) Manns D., *Phytochemistry*, **39**, 1115–1118 (1995).
- 16) Isobe T., Noda Y., Kubota T., *Nippon Kagaku Kaishi*, 799–801 (1985).
- 17) Deepak M., Handa S. S., *Phytochemistry*, **49**, 269–271 (1998).
- 18) Macias F. A., Simonet A. M., Esteban M. D., *Phytochemistry*, **36**, 1369–1379 (1994).
- 19) Ducki S., Hadfield J. A., Zhang X., Lawrence N. J., McGown A. T., *Planta Med.*, **62**, 277–278 (1996).
- 20) Ishiguro K., Nagata S., Fukumoto H., Yamaki M., Takagi S., Isoi K., *Phytochemistry*, **30**, 3639–3641 (1991).
- 21) Banerji A., Bandyopadhyay R. R. D., Basu S., Maiti S., Bose A., Majumder P. L., *Indian*

- J. Chem.*, **32B**, 776–778 (1993).
- 22) Zhang C., Zhang M., Wang Z., *Zhong Yao Cai*, **28**, 102–104 (2005).
- 23) Aiken C., Chen C. H., *Trends Mol. Med.*, **11**, 31–36 (2005).
- 24) Tsai P.-L., Wang J.-P., Chang C.-W., Kuo S.-C., Chao P.-D. L., *Phytochemistry*, **49**, 1663–1666 (1998).
- 25) Isshiki K., Asai Y., Tanaka S., Nishio M., Uchida T., Okuda T., Komatsubara S., Sakurai N., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**, 1195–1197 (2001).
- 26) Ng T.-B., Liu F., Lu Y., Cheng C.-H., Wang Z., *Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.*, **136**, 109–115 (2003).
- 27) Masuoka N. (Unpublished data).