N-11

Oroxylum indicum (L.) Kurz 中の抗炎症成分の探索

Study on anti-inflammatory components isolated from stem bark of *Oroxylum indicum* (L.) Kurz

○清水加都江[1]，深津誠[2]，浮谷基彦[2]，仁科淳良[2]
Kazue Shimizu[1], Makoto Fukatsu[2], Motohiko Ukiya[2], Atsuyoshi Nishina[2]

Abstract: Inflammation is a reaction caused by infection or physical damage for homeostasis of the living body. Isolation and identification of anti-inflammatory components from natural products have been studied because of the tendency of their safety and no side effects. *Oroxylum indicum* (L.) Kurz is commonly used as a herbal medicinal plant in Myanmar, India, and Vietnam. In the present study, we tried to elucidate anti-inflammatory compounds from stem bark of *O. indicum*. As the results, Four flavonoids (baicalein, chrysin, oroxylin A, and scutellarein) were isolated. Among these four flavonoids, chrysin showed comparatively low cytotoxicity and down-regulated production of nitric oxide (NO). Additionally, mechanisms to down-regulate the inflammatory by flavonoids are going to be confirmed from the view point of intracellular signal transduction pathway.

１．目的

炎症は，感染や物理的な傷害を受けた時に生体が正常な状態を維持するために起こる反応であり，急性の炎症は，感染や物理的な傷害が起こった直後から始まり，脅威がなくなるとともに収束する．一方，慢性の感染症などに起因する慢性の炎症は，細菌やウイルス等の感染源以外に生体自身の傷害を誘導することが報告されている．これら急性および慢性の炎症を抑制する目的で，ステロイドまたは非ステロイド性抗炎症薬が用いられている．

ステロイド性抗炎症薬は非常に薬効が高く，炎症を急激に抑えるため，喘息などの第一選択薬となっているが，ホルモンであるステロイドは全身に作用するため副作用の種類が多くその程度も強い．大量のステロイド性抗炎症薬を長期にわたり投与すると，糖尿病の誘発や痙攣など全身または局所的に副作用が現れる．また，非ステロイド性抗炎症薬は薬効が穏やかであり長期投与が可能であるが，プロスタグランジン合成酵素である COX-2 を阻害することで血栓を誘発し，高血圧，腎障害などを引き起こす．現在使用されている抗炎症薬はいずれも副作用があるため，天然物由来の安全かつ有効性の高い抗炎症物質の探索が求められている．

本研究で用いる *Oroxylum indicum* (L.) Kurz はノウゼンカズラ科に属し，葉や果実，根など様々な部位がミャンマーやインド，ベトナムにおいて古くから伝承薬として用いられ，特に樹皮部は抗炎症薬，性欲促進剤，去痰剤として用いられている [1)]．一方，*O. indicum* 樹皮部の酢酸エチル画分には急性および慢性炎症など多くの生理現象に関わる NF-κB の活性化を抑制する化合物が報告されているが，化合物の化学構造は未解明である [2)]．

そこで本研究では，*O. indicum* 樹皮部に含まれる抗炎症物質の探索を行った．

２．方法

・ミャンマーのパセイン大学より供与された *O. indicum* 樹皮部のメタノール抽出物を用いて，*n*-ヘキサン抽出物，含水メタノール抽出物，*n*-ブタノール抽出物，水抽出物の 4 種を調製した．

・各抽出物について，マウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7 細胞を用いて細胞毒性試験，LPS 誘導 NO 産生抑制試験を行い，良好な結果が認められた含水メタノール抽出物，*n*-ブタノール抽出物を各種クロマトグラフィーにより分画した．単離化合物の構造解析は，^{1}H-NMR，^{13}C-NMR，MS スペクトルデータの解析と文献値との比較により行った．

・細胞毒性(IC_{50})は MTT 法で細胞の生存率を測定して算出した．

１：日大理工・院(前)・応化　２：日大理工・教員・応化

・各検体の LPS 誘導 NO 産生抑制作用は，次の方法で測定した．先ず細胞を 1×10^5 cells/100μL で 96-well plate に播種し，2 時間培養後，LPS および検体を作用させた．16 時間後，培地中の NO 濃度を Griess 法によって測定した．

３．結果及び考察

・使用する抽出物の選定

O. indicum 樹皮部から調製した 4 種の抽出物のうち良好な結果を得た含水メタノール抽出物，*n*-ブタノール抽出物の試験結果を Figure 1 に示した．どちらも他の抽出物より細胞毒性が低く，NO 産生抑制作用が高いという結果を得た．

・化合物の単離

当該抽出物を各種クロマトグラフィーで分画し，8 種の化合物を得た．このうち 4 種の化合物は各種 NMR の実測値と文献値とを比較し，4 種中 2 種は A 環にのみ水酸基，1 種は A 環に水酸基とメトキシ基，1 種は A 環と B 環とに水酸基を持つと判断した．さらに，ESI-MS の測定結果が文献値と一致したためそれぞれ Baicalein，Chrysin，Oroxylin A，Scutellarein であると判断した(Figure 2)．各化合物の構造は Figure 2 に示した通りである．残り 4 種は現在構造解析中であり，発表当日までに解析を終わらせる予定である．

・単離化合物の細胞毒性と NO 産生抑制作用

Figure 3 に各化合物の細胞毒性試験と NO 産生抑制試験の結果を示した．細胞毒性は Chrysin＜Baicalein＜Oroxylin A＜Scutellarein であった．このことから，A 環にメトキシ基もしくは B 環の 4’位に水酸基を有すると細胞毒性が顕著になることが示唆された．また，NO 産生抑制試験において NO 産生率は Chrysin が最も低いという結果を得た．これより，今回単離した 4 化合物のうち Chrysin は抗炎症薬の創薬シーズ候補になり得ると考えた．

以上の結果から，*O. indicum* 樹皮部の高極成分には比較的強い抗炎症物質が含まれており，その大部分がフラボノイドであるということが明らかになった．今後，更なる成分探索および作用機序の解明により，*O. indicum* 樹皮部の抗炎症薬としての可能性の判断を行う．

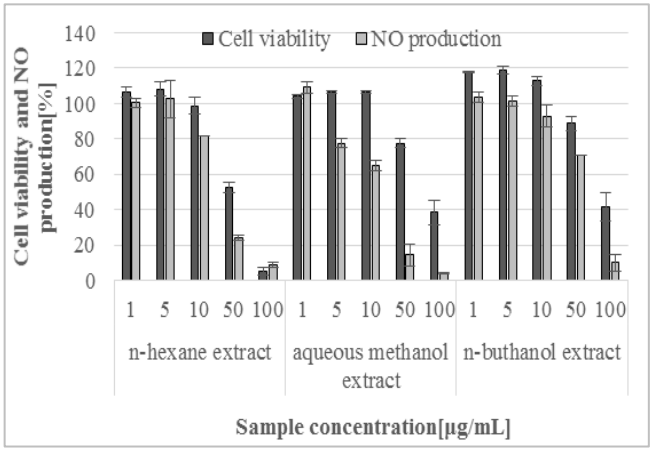

Figure 1. Cell viability and inhibition of NO production of extracts

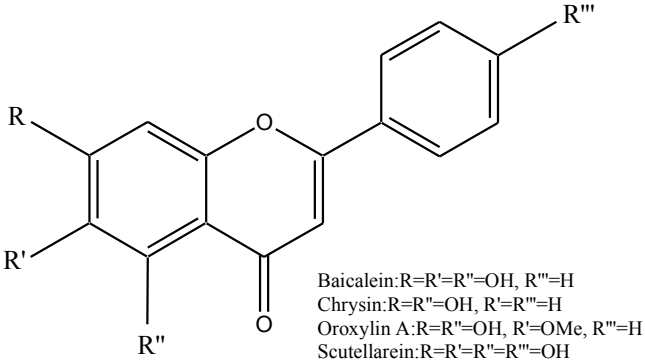

Figure 2. Structure of compounds isolated from stem bark of *O.indicum*

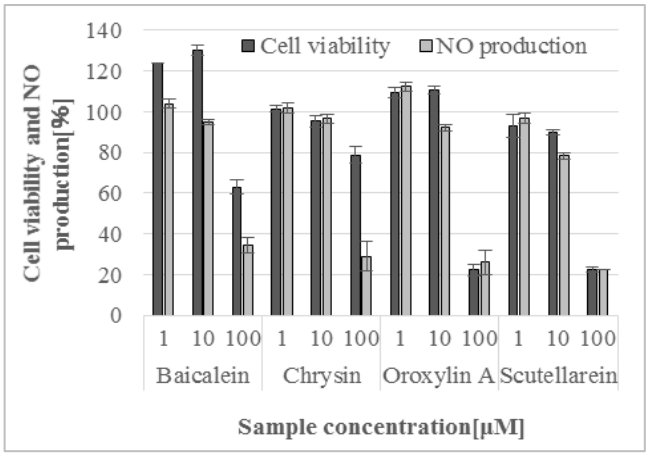

Figure 3. Cell viability and inhibition of NO production of compounds isolated from stem bark of *O.indicum*

４．参考文献

[1]M. D. Singh, *et al.*: “Differential effects of *Oroxylum indicum* bark extracts:antioxidant, antimicrobial, cytoxic and apoptotic study”, *Cytotechnology*, Vol.65, pp83-95, 2013.

[2]T. T. V. Anh, *et al.*: ”Screening of Vietnamese medicinal plants for NF-κB singnaling inhibitors:Assessing the activity of flavonoids from the stem bark of *Oroxylum indicum”, J. Ethnopharmacol*., Vol. 159, pp36-42, 2015.