

生 体 色 素 と ペ リ シ ン

寺嶋昌代 (自然科学)

1. 序論

生体が生理的に合成する色素 (pigment) については、メラニン、カロチン、クロロフィル、ポルフィリンなどがよく知られている。これらの色素の機能は実に様々である。例えば、メラニンは、動物の体色に関与するもので皮膚その他の組織内に存在する褐色ないし黒色の色素である。生体では過剰な太陽光線の吸収に役だっているといわれる。カロチンは動物体内において、レチノール、およびレチナールに変わるビタミンAの前駆体である。レチナールは蛋白質オプシンと結合して脊椎動物の視物質となり、光受容に重要な機能を持っている。植物においては光合成に関係し、カロチノイドの吸収した光エネルギーはクロロフィルを経由して反応中心へ伝えられ光化学的過程を進めている。また、カロチンは、生物の光失活、光破壊をもたらすO₂の一重項励起状態の失活剤として有効で、生物の光破壊を防ぐ機能を持っている。クロロフィルは生体内では蛋白質と結合し、集光性クロロフィル-蛋白質複合体や反応中心I、IIクロロフィルa-蛋白質複合体として存在し、植物の葉緑体や、シアノバクテリア (藍藻) の光合成に関与している。ポルフィリンはピロール環の4個のNにFe, Mgが配位して存在するものが生理的に重要で、たとえば、プロトポルフィリンIXのFe錯体は、赤血球に含まれる色素ヘモグロビンや、動物、植物、微生物を問わずすべての好気性細胞に存在する過酸化

水素を分解する酵素カタラーゼや、過酸化水素存在下でアミノ酸、アスコルビン酸、チトクロームc等を酸化触媒する植物界に広く存在する酵素であるペルオキシターゼなどの酵素の配位原子団として含まれている。また、先述のクロロフィルはMgが配位したポルフィリンの誘導体である。

この他にも多くの生体色素があるが、これらは外界からの紫外線、可視光線を吸収し、特異な生理反応、機械的応答を引き起こすものが多い。生物がこれらの色素を介して光を利用する仕方は、一つには光を外界の情報とする動物の光感覚(ロドプシン)、植物の光形態形成(フィトクロム)などであり、もう一つは、光をエネルギーとして利用するもので、光合成(クロロフィル、バクテリオロドプシン)がその代表である。生物は、これらの光利用を光受容色素の光励起を経て行っており、これらの機構の解明には、色素の励起状態の性質の研究が不可欠である。生体色素のまた別の働きとして、多すぎる紫外線や可視光線による生体の損傷を防御する働きをするものや、さらに、外敵に食されるのを防ぐ毒として存在するものもある。このような多機能性の生体色素の中で最近注目されている色素の一つにhypericin (7,14-dione-1,3,4,6,8,13-hexahydroxy-10,11-dimethyl-phenanthrol [1,10,9,8-opgra]perylene, C₃₀H₁₆O₈, Mol wt=504.43) (ヒペリシン)がある。この論文ではヒペリシンの興味深い性質について概観する。

2. ヒペリシンの生物界における分布^{1,2)}

ヒペリシンはHypericum (オトギリソウ) という植物から、名がつけられた。Hypericum は北半球では200種以上存在し、南半球でも数種類知られている。これらのうち、数種がヒペリシンという色素を持っている。アメリカ、オーストラリアに多いSt. John's Wortと呼ばれるHypericum. perforatumが一番多くヒペリシンを含み、ヨーロッパに多いHypericum. hirsutumも多く含む。これらの植物のくき、葉、がく、花びら、おしべ、めしべについている赤黒い色素が、ヒペリシンである。図1において黒い点々で示されているのが色素である。この色素は植物体に約0.05%含まれている。³⁾ PaceとMacKinneyによって1941年に抽出され、吸収スペクトルも報告され⁴⁾、1952年にBrockmannによって初めて純粋に抽出され⁵⁾、化学的構造が示され、有機的に合成された。⁶⁾ 光をあてたHypericum. montanumからヒペリシンとよく似たpseudohypericinがCameronとRaverty (1976) によって抽出され、同定された。⁷⁾ ヒペリシンのこれらの植物における機能は、のちに述べるhypericisumやその毒性から考えるとバクテリア等の感染や害虫を防ぐことかもしれない。

ヒペリシンおよびその誘導体はオーストラリアの虫 (Nipaecoccus aurilanus, Pseudococcus albizziae) の外皮にも存在することが発見された。⁸⁾ この虫における色素の機能が保護色以上のものであるかはわかっていない。

Fagopyrum (ソバ) の中に含まれるfagopyrin (ファゴフィリン) という色素もヒペリシン誘導体であることがわかった。⁹⁾ ファゴフィリンもヒペリシンと同様に光があたると細胞を光酸化して損傷する性質を持つ。

菌類のPenicillium clavariaeformisのもつオレンジ色の色素penicilliosin (ペニシリオプシン) はヒペリシンの生合成の前駆体であると言われている。⁹⁾ また、Cercospora fungi (コマタカビ) が作るcerosporin (セル

コスポリン) も構造的にヒペリシンと関係しており、¹⁰⁾ 光があたると植物の細胞膜を損傷する。¹¹⁾

原生生物界の織毛虫門異毛亜綱ラッパ虫目のBlepharisma (ブレファリスマ) の多くの種は赤い色素のblepharismine (ブレファリスミン) をもつ。¹²⁾ この色素は織毛列の間に数列に並んだ膜に結合した色素顆粒の中に存在する。色素顆粒の膜が細胞の形質膜と融合して分泌される方式であるエキソサイトーシスによって細胞外に放出されることもある。ブレファリスミンもヒペリシンに似た構造をしている。¹³⁾ ブレファリスマは強い光があたると死んでしまうが、これはブレファリスミンの光によって誘起された毒性による。この織毛虫におけるブレファリスミンの機能は議論のあるところで、紫外線による損傷からDNAを保護することとか¹²⁾、他の捕食性織毛虫に食べられるのを防ぐ防御機能を持つとか¹⁴⁾、光回避行動を起こす光感受性色素であるとか言われている¹⁵⁾。同じく、織毛虫のStentor coeruleus (ソライロラッパムシ) のもつ緑色の色素stentorin (ステントリン) はヒペリシンととてもよく似た構造をもち、光感受性色素として多くの研究がなされている。¹⁶⁾ Folliculinidsもステントリンをもつという。¹⁷⁾ 海水中に生息する織毛虫のFabrea salinaのもつ紫色の色素fabrein (ファブレイン) はヒペリシン様の色素が高度に重合したものであると言われているが¹⁸⁾、研究はほとんどなされていない。^{19,20)} 紫外線を遮蔽する機能をこの色素が持っているといわれている。しかし、光毒性は持っていないとされている。

以上見てきたように、ヒペリシンは原生生物界から菌類、植物界、動物界までかなり広く分布しているようである。ヒペリシンはこれらの生物の中であってなにか共通の機能を果たしているのであろうか。それとも、それぞれ、別の機能を持っているのであろうか。大変興味をそそられる。次に、ヒペリシンを摂取した生物に現われる作用のhypericisumについて述べる。

3. Hypericism

ヒペリシンを含むHypericumを食べた動物は光に対して皮膚が敏感になり、痛んだり、湿疹ができたり、体温が上昇し、時には死に至る。このようなヒペリシンの体内摂取により、皮膚等に症状がでることをhypericism(ヒペリシズム)という。³⁾ これは羊、牛、山羊、豚などの家畜にみられる。口、鼻、耳、ひづめなどにも光過敏症が現れる。イタリアではHypericumが自生しているため、白羊にヒペリシズムがひろがった。そのため黒羊が飼われるようになったという。おもしろいことに、ヒペリシンにより皮膚の色素をもっていないところが光に敏感になる。ぶちの牛などでは、白いところだけに症状がでる。文献では19世紀に初めてこのようなヒペリシンの光毒性が記載された。20世紀にはいって、Hypericum. perforatumを食べた羊が暗条件下では異常がないのに、光があたると光過敏症になることがわかった²¹⁾。この過敏症は食べてから2週間は継続する。実験室系ではうさぎやラットなどにもヒペリシズムを起こさせることができ、その際にO₂が必要であることがわかった。⁴⁾ そこで、PaceとMackinneyらによって、この現象がphotodynamic action(光力学作用)と呼ばれることになった。光照射によって励起された色素分子から励起エネルギーが移動することはphotosensitization(光増感作用)というが、それによって細胞成分が光酸化を起こし損傷がおこることを光力学作用という。

光があたることによって毒性を生じる色素は他にも色々知られている。例えば、furocoumalin(フロクマリン、別名psoralenソラーレン)は、有る種の高等生物に見い出されるヘテロ多環式化合物であるが、ウイルス、細菌、高等生物の培養細胞などに光増感作用を持つ。フロクマリンは暗所でDNAと可逆的に結合し、360nm付近の近紫外線の照射によりフロクマリンを介してDNAの相補鎖間架橋が

形成され、これが致死的作用をもたらす。しかし、フロクマリンの光毒性にはO₂は必要でなく、バクテリアを殺したり、ファージを不活性化したり、DNAとの反応においてはむしろO₂はこれを阻害する。¹⁾

また、エオシン、エリスロシン、ローズベンガルなどの合成光増感色素は静脈注射によりヒペリシンと同じ様な症状を呈するが、尿中に早く排泄される。経口ではこれらの合成色素は何の作用もせず、糞便中に排泄される。色素を注射することにより、ヒペリシンの光増感作用をおさえることもあるらしい。²²⁾

ヒペリシズムと似たような光過敏症として有名なのは、ポルフィリン症である。²³⁾ ポルフィリン症はポルフィリンの代謝異常症の総称であるが、多くは先天性疾患である。先天性骨髄性ポルフィリン症では、ウロポルフィリンogen III生成酵素の欠損により、ウロポルフィリン I が生成され尿中に多量に排泄され、しばしば皮膚にも蓄積する。赤色尿、皮膚の光線過敏症、貧血等の特徴を示す。

ヒペリシンの細胞レベルの作用の機構はまだ充分わかっていないが、多くの光増感色素は細胞膜に作用し、浸透性を害するので、ヒペリシンにおいても同様なことが起こっているかもしれない。ヒペリシンの細胞に対する様々な作用については後述する。

4. hypericinの毒性、薬理作用

Hypericumは“healing herbs”とも記され、何世紀にもわたり薬用とされてきた植物である。胃腸や子宮の出血に、また一時マラリアにも効くとして使われたことがあるし²⁴⁾、打ち傷のための軟膏の成分としてもよく使われ²⁵⁾、9世紀ごろからはガンに効くと使われたこともあった。²⁶⁾

Hypericumの抽出物も昔から民間薬として、利用されていた。16世紀にはうつ病に処方された。²⁷⁾ 今日でもドイツでは抗うつ剤として登録された薬である。(Psychotonin)²⁸⁾ヒペリシンはモノアミノオキシダーゼを阻害す

ることにより、脳中のノルアドレナリンやセロトニンなどのモノアミンの濃度を高め、行動の刺激をもたらし、うつ状態を改善し、抗うつ性を持つとされている。²⁹⁾ しかし、抗うつ性はヒペリシンによるのではなく、Hypericumに含まれているflavanoid aglyconsや1,3,6,7-tetrahydroxyxantoneによるものであるという報告もある。³⁰⁾

in vitroでは、ヒペリシンは脂質、アミノ酸、蛋白質³¹⁾に結合しこれを酸化したり、細胞膜の正常な機能の破壊する作用を持つ。ヒトの血清アルブミンと強く相互作用することが知られており⁵⁷⁾、ヒペリシンは血流に乗って組織へ運ばれ、細胞のリン脂質膜に結合して細胞に損傷を与えると考えられる。

現在、ヒペリシンの薬理作用として注目されているのは、抗ウイルス性、とくに抗レトロウイルス性である。^{32~41)} レトロウイルスは一本鎖RNA分子をゲノムに持つウイルスで、エイズを引き起こすとして有名なhuman immunodeficiency virus 1 (HIV-1) (1型ヒト免疫不全ウイルス)もこの一種である。このため、ヒペリシンはエイズに効く薬として期待されている。

また、様々な癌細胞に作用させることにより、抗腫瘍性があることも証明されつつある。^{42~45)} ヒペリシンの光力学作用を利用して、癌の光治療薬として、すでに細胞レベルでなく、ラットなどの生体に投与され研究され始めている。^{46,47)} 神経膠腫や脳下垂体腺腫の成長阻害とアポトーシス誘導性も報告されている。^{48,49)}

ヒペリシンには酵素の阻害作用もある。PKC (プロテインキナーゼC) は細胞内の機能性蛋白質、酵素などを燐酸化する酵素で、この活性が変化すると細胞外からの刺激に対する生理的応答が発現される。この酵素の活性発現にはカルシウムイオンとホスファチジルセリンが必要であり、ジアシルグリセロールはこの酵素のカルシウムイオンに対する親和性を上昇させる。このPKCの活性化は細胞を癌化に導くと考えられている。ヒペリシンはPKC

の活性を阻害する作用があり、抗癌作用も期待される。^{50,51)}

また、ヒペリシンはミトコンドリア膜において、コハク酸酸化酵素の活性を阻害する作用も持つ。⁵²⁾ コハク酸酸化酵素はコハク酸を酸化してフマル酸にする酵素で、チトクロームなどと密接に結合して、酵素への電子伝達に関与する複合酵素系を作っている。コハク酸酸化酵素を阻害することが、色々な抗癌剤で見出だされており、ヒペリシンがこの酵素を阻害することは、抗腫瘍性につながるものと考えられる。

細胞膜を貫通する上皮増殖因子受容体型のチロシンキナーゼは細胞分裂に至るシグナル伝達カスケードをひきおこす酵素であるが、ヒペリシンによって、光照射下でも暗条件でもその活性が阻害される。しかし、膜に結合していない細胞質型のp60^{src}チロシンキナーゼは、ヒペリシンによって、光照射下でも暗条件でもその活性が阻害されない。つまり、ヒペリシンは膜結合性の酵素には作用するが、膜結合性でない酵素には作用しないということである。⁷⁴⁾

このような薬理作用や生理作用はヒペリシンの化学的性質によるもので、とくに光力学作用については、活性酸素が関与していると言われている。しかし、ヒペリシンの毒性は、光照射下でも暗条件下でもあるという報告もあり、また、酸素存在下でも無酸素状態でもあるという報告もあるので、単一の機構ではないと思われる。

4-1 活性酸素とは

ヒペリシンの光力学作用で重要な役割を果たすと言われる活性酸素とはどのようなものであろうか。酸素分子は、安定な基底状態では三重項状態にあり、 $^3\text{O}_2$ と書かれる。この他に、反応性が大きく活性に富む種類があり、それを一括して、活性酸素 (active oxygen species) という。酸素分子が生体内で、電子受容体として作用し、段階的に還元されていく過程で生成する、スーパーオキシド

(O_2^-)、過酸化水素(H_2O_2)、ヒドロキシラジカル($HO\cdot$)、および一重項酸素(1O_2)の4種類を活性酸素と呼ぶことが多い。⁵³⁾

この中で、ヒドロキシラジカル($HO\cdot$)は最も反応性の高い攻撃種であり、過酸化水素が Fe^{2+} などの遷移金属の低原子価のイオンによって1電子還元されて生成する。いわゆるHaber-Weiss機構によるレドックス分解である。 Fe^{2+} による分解はFenton反応として有名である。

スーパーオキシド(O_2^-)は普通の酸素分子に電子が1つ取り込まれた1電子還元体であり、一個の不対電子をもつアニオンラジカルである。これは250nmに吸収をもち、特徴的なESRスペクトルを示す。スーパーオキシドはラジカルとしての反応性は小さいが、生体内にあっては重要な活性種として注目されている。そのため、スーパーオキシドを除去する蛋白質であるスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)は好気性生物にとり不可欠なものと考えられている。スーパーオキシド(O_2^-)発生系は、酵素を不活性化し、赤血球溶血の原因となり、DNAを分解する作用があるが、こういった生体にとって不利な面ばかりではない。生体は微生物の侵入に対し、多くの防御機構を備えているが、その一つに食細胞(多形核白血球、単球、またはマクロファージ)による食作用がある。食細胞は食作用時にスーパーオキシド(O_2^-)を生成し、これによって殺菌する。このような活性酸素を生成できない白血球を持つ慢性肉芽腫症患者では重篤な感染症を繰り返す。

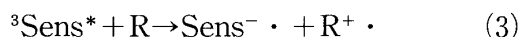
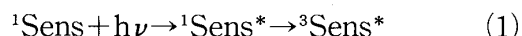
一重項酸素(1O_2)はデルタ型 $^1\Delta g$ (22.5kcal/mol)とシグマ型 $^1\Sigma g$ (37.5kcal/mol)があるが、シグマ型はすぐにデルタ型へ失活するため、反応に対する寄与は主にデルタ型である。寿命は水中で 10^{-6} 秒程度である。一重項酸素(1O_2)は二重結合と速やかに反応するので、生体膜を構成するリン脂質の二重結合と反応してヒドロペルオキシド(LOOH)を生じ、膜を破壊する可能性がある。膜の脂質の過酸化により膜の流動性が低下し、カルシウムイオ

ンの漏出、膜結合性の酵素の不活性化が起こる。ポルフィリン、ビリルビンの存在下で赤血球を光照射すると、膜の過酸化、膜蛋白の凝集、酵素や輸送担体の不活性化、溶血を引き起こす。これは 1O_2 によるものと考えられている。

過酸化水素(H_2O_2)は生体内の正常な営みで常に生成している活性酸素である。過酸化水素は酵素の失活やDNAを損傷することもあるが、ヒドロキシラジカル($HO\cdot$)やヒドロペルオキシラジカル($HO_2\cdot$)の発生源として重要である。過酸化水素は細胞膜を通過することができるので、金属イオンとの反応もおこりやすいという特徴がある。

4-2 hypericinの励起状態の性質

一般に光力学作用において、光は増感剤によって吸収され、増感剤の励起一重項状態を生じる。励起一重項は項間交差により励起三重項状態を生じる(反応1)。この励起三重項状態から基底三重項状態にある酸素に励起エネルギーが移動すると励起一重項酸素が生じる(反応2)。こうして生じた励起一重項酸素によって細胞損傷等が起こることをtype IIの機構と言ひ、酸素に依存する機構である。増感剤の励起三重項状態にまわりから電子が移動したり(反応3)、水素が移動すると(反応4)、ラジカルが生じることになる。こうしたラジカルにより細胞損傷等が起こることをtype Iの機構と言ひ、酸素に依存しない機構である。⁴²⁾



光によって励起した分子から励起エネルギーが移動するとき、 $^1O_2^*$ が生じ、光によって励起した分子へ水素が移動するとき、増感剤のラジカルを経て、 O_2^- が生じる。光増感作用で $^1O_2^*$ が生じやすい分子は、励起三重項状態が生じやすく、励起エネルギーが 3O_2 と $^1O_2^*$ のエネルギー差よりも大きくなければならない。 O_2^- が

生じやすい分子としては、オキシヘモグロビン、プロトポルフィリン、フラビン、メラニン、フルオレセイン、フロクマリン等がある。 $^1\text{O}_2^*$ が生じやすい分子としてはヘマトポルフィリン、クロロフィル、ビリルビン、 α -ターチエニル、セルコスポリン等がある。どちらの機構にも、励起三重項状態の量子収率や寿命など増感剤の励起状態の性質が重要になる。

ヒペリシンの励起状態の性質については十分な研究がされているとは言えないが、幾つか明らかになっている点がある。エタノール中では590nm、547nmに吸収のピークがあり、590nmでのモル吸光係数は $\epsilon = 46000$ である。⁵⁴⁾ 励起一重項状態から項間交差により励起三重項状態を生じる収率は 0.71 ± 0.04 で、⁵⁵⁾ 励起三重項状態のエネルギーレベルは 13190cm^{-1} 、1.2Kにおける励起三重項状態の減衰速度は2.79msである。⁵⁶⁾

アセトン中での蛍光の減衰速度は600nmで6.2nsである。⁵⁷⁾ 励起一重項状態においてOH基の酸性が増加し、 pK_a の低下の結果として、プロトンが解離される。励起一重項状態におけるプロトン解離はヒペリシンに類似の化合物ステントリンにおいても観測されているが、このことはステントリンが繊毛虫ソライロラップムシにおいて光受容機能を果たす上で重要な役割を持つ。⁵⁸⁾

ヒペリシンによる一重項酸素の生成の量子収率は0.74と非常に大きい。⁵⁹⁾ ヒペリシンによるチラミン、 β -カロテン、ヒアルロン酸の光増感酸化はtype IIの機構によることがわかっている。⁶¹⁾ ヒペリシンの光増感酸化能は可視光領域ではヘマトポルフィリン、クロロフィル、ローズベンガル、エリスロシンBと同程度であるが、紫外線領域(366nm)ではローズベンガルと同程度で、メチレンブルーやエリスロシンBよりも強いという⁵⁾。

ESR (電子スピン共鳴) による研究では、酸素条件下では $^1\text{O}_2^*$ が光励起によってヒペリシンから生成する主な物であることがわかった。一方、 $^1\text{O}_2^*$ の他にも活性反応種が生成する。ヒペリシンはキノン型のC=Oを二つ持つが、光

によって励起され外から水素が移動すると一つのC=OがC-OH \cdot になったセミキノンラジカルになることが水中のESRによって確かめられた。⁶²⁾ このセミキノンラジカルが O_2 と反応し、 O_2^- を生成する。 O_2^- もESRによってその生成が確かめられた。 O_2^- 生成の割合は $^1\text{O}_2^*$ よりもわずかである。 O_2^- の割合は電子供与体の存在によって著しく増大する。酸素がなく、ヒペリシンの濃度が濃い条件下では、セミキノンラジカルが主な光生成物となる。また、細胞膜のモデル系として卵黄レクチンリポソーム膜においても、ヒペリシンの光照射により、 $^1\text{O}_2^*$ と O_2^- の生成が確かめられた。⁶³⁾

4-3 hypericinの抗ウイルス作用

ヒペリシンは様々な薬効があるとして古くから民間で用いられてきたが、最近になって、ヒペリシンおよび、pseudohypericinが抗ウイルス作用をもつことが明らかとなってきた。まず、Friendマウス白血病ウイルスやradiationマウス白血病ウイルスに感染したマウスの細胞において劇的な抗レトロウイルス活性があることが報告された。³²⁾ マウスの細胞自体に対しては $50\mu\text{g/ml}$ 以下で9日間培養しても毒性は現われなかった。しかし、ヒトの細胞に対しては $10\mu\text{g/ml}$ 以上で毒性があることがわかった。ヒペリシンは、血液脳関門という血行と脳の間には存在し物質の通過に対して特異性を持つ機能的障壁を通過することができる。それが、抗うつ作用の発現にも関係しているわけであるが、HIVが脳や中枢神経系へ感染した場合でもヒペリシンが有効である可能性を示している。

また、ヒペリシンは、ウイルスの逆転写酵素活性を阻害することもわかった。⁶⁴⁾ Tangらは、ヒペリシンの抗ウイルス作用を、様々なウイルスに対して実験し、ウイルスのゲノム核酸を包む蛋白質の外殻をさらに取り囲む脂質二重層を基本とする膜構造(エンベロープと呼ばれている)をもつマウス白血病ウイルスには有効であることがわかった。50%の細胞にたいして有効な濃度(IC_{50})は $6\mu\text{g/ml}$ で

あった。エンベロープを持つウイルス（ヘルペスシンプレックス、A型インフルエンザウイルス、マウス白血病ウイルス）を細胞に感染させる前にヒペリシンと共に培養しておく、ヒペリシンは $IC_{50}=1.5\sim 25\mu\text{g/ml}$ で殺ウイルス効果があった。³⁴⁾ところが、エンベロープのないアデノウイルスやポリオウイルス対してはヒペリシンの抗ウイルス作用はまったくなかった。これはヒペリシンのリン脂質に結合しやすい性質を物語っていて興味深い結果である。もっとも、エンベロープのあるウイルスに対してもヒペリシンの薬効はAZT（アジドチミジン）という米国FDAにより最初に承認された抗HIV剤や、ACV（アシクログアニン）の100分の1から1000分の1しかない。（AZTは $IC_{50}=0.006\mu\text{g/ml}$ 、ACVは $IC_{50}=0.15\mu\text{g/ml}$ ）

一方、ヒペリシンの光増感効果がDurangとSongにより、明らかとなり、ヒペリシンと細胞膜との相互作用が 1O_2 を介して起こりうるといふ示唆がえられた。²⁷⁾以降、ヒペリシンの光力学的な性質が、ウイルスにどう影響するかが研究されるようになった。

Lopez-Bazzocchi³⁵⁾やHudson³⁶⁾は光照射下および暗条件下において、ヒペリシンの抗ウイルス作用をマウスのサイトメガロウイルス、シンドビスウイルス、1型ヒト免疫不全ウイルス(HIV-1)に対してテストし、光照射により、ヒペリシンの抗ウイルス作用が100倍以上増大することを示した。これから一気にヒペリシンの実用化可能な抗ウイルス性が注目されることになった。一方、暗条件下でも濃度が濃ければ抗ウイルス性が存在することがわかり、ヒペリシンの毒性が光力学的なものだけでなくことも示唆されている。Takahasi(1989)らはin vitroでヒペリシンがプロテインキナーゼC(PKC)の活性を阻害することを見出した。⁶⁵⁾この際、光は考慮されていなかったが、抗HIV-1の活性に特定の酵素の不活性化がからんでいることが予想される。ヒペリシンの脂質に結合しやすい性質も、抗ウイルス性に関係があり、細胞膜に作用して、レトロ

ウイルスの感染を阻害したり、ウイルスの複製サイクルに影響するのであろう。実際、ヒペリシンを細胞に作用させると、ウイルスに感染されにくくなる。⁴¹⁾ヒペリシンはシンドビスウイルスに最も有効であるという結果が得られているが、このようなウイルスの種類によって有効性が大きく異なることは、膜に作用する他の光増感剤であるチオフェン等でも観測されている。これは膜の脂質や蛋白質の成分などの違いを反映し、哺乳類の細胞がヒペリシンに抵抗性があることもこのためであると考えられる。

ヒペリシンの抗ウイルス活性に酸素は必ずしも必要ではないという実験結果が報告されている。⁶⁶⁾ヒペリシンは大きな三重項量子収率0.70(エタノール中)を持ち⁵⁵⁾、一重項酸素の収率も高いとされているため、ヒペリシンの抗ウイルス作用はこの一重項酸素に因るものといわれている。しかし、酸素が関係しない過程も抗ウイルス作用に寄与している可能性がある。ヒペリシンは励起一重項において励起状態プロトン移動することがわかっている。⁶⁷⁾そこで、放出されたプロトンが媒質を酸性にし、ウイルスの複製サイクルに影響することが考えられる。

ヒペリシンに類似のhypocrellin A(ヒポクレリンA)という色素の抗ウイルス性をヒペリシンと比べることにより、光により誘起される抗ウイルス活性の機構の類似点と相異点がわかる。ヒポクレリンAは中国やスリランカに見られる寄生菌類に含まれる色素で、中国においては何世紀にもわたって皮膚疾患や癌の治療のための民間薬として経口で投与されてきた。⁶⁸⁾ヒポクレリンAもHIV-1やその他のウイルスに対して光に誘起される毒性を持っている。⁶⁹⁾ヒペリシンとヒポクレリンAの大きな違いはヒペリシンが抗ウイルス活性に酸素を必ずしも必要とせず、励起状態でプロトンを放出することができるのに対し、ヒポクレリンAは抗ウイルス活性に酸素を必要とし、励起状態でプロトンを放出することができないことである。ヒペリシンとヒポクレリンAに

において共通の性質は、構造もかなり似ており、酸素の励起一重項を高収率で生成し、同程度の抗ウイルス活性を持つことである。ヒポクレリンAの一重項酸素の収率はベンゼン中で0.83と報告されている。⁷⁰⁾ ここで明らかとなったことはヒペリシンの抗ウイルス活性には酸素を必要とする過程すなわち、ヒペリシンの励起三重項を経て一重項酸素を生じる過程だけではないということである。酸素のない条件下では励起一重項でプロトン移動により媒質を酸性化しウイルスを不活性する。

4-4 プロテインキナーゼCの活性の阻害作用とアポトーシス誘導

アポトーシス (apoptosis) とは細胞膜や細胞小器官などが正常な形態を保ちながら、まず核内のクロマチンが凝集し、細胞全体が萎縮しつつ断片化して、細胞死に至る場合をいい、核および核膜は正常な形態を保つような細胞死の形態である壊死 (ネクローシス) とは区別される。アポトーシスは個体発生における形態形成の過程や成長した個体の組織の恒常性の維持のために重要な役割を果たしている。哺乳類においては、マクロファージなどの貧食細胞によって貧食され、周囲の細胞に害を及ぼすこと無く消滅する死に方で、不必要な神経細胞や免疫細胞の大部分はこのアポトーシスにより除かれている。また、癌、自己免疫疾患、エイズ、アルツハイマー症などの疾患にも深く関わっているといわれる。レチノイン酸等の癌の化学療法剤の多くが、癌細胞にアポトーシスを誘導していることが報告されている。

プロテインキナーゼC (PKC) は、色々な組織において、細胞の成長や植物における貫性 (proliferation) や分化や遺伝子の転写を調節している酵素であり、脳下垂体細胞においてはホルモンの合成と分泌を調節していると言われている。脳下垂体腺腫細胞においてはPKC活性とその発現が正常細胞より高くなっていることがわかっている。⁷¹⁾ 侵襲性の強い腺腫細胞ほどPKC活性が高い。このようなPKCの

活性を阻害するという事は、癌の成長を阻害できる可能性がある。

Hamiltonらはラットの脳下垂体腺腫細胞のAtT-20において、暗条件下でヒペリシンを作用させ、そのPKCの活性の変化とアポトーシス誘導性を研究した。⁴⁸⁾ 10 μ Mのヒペリシンをさせると約2時間後にはPKCの活性の減少がみられ (40%)、24時間後には25%に達した。72時間作用させた細胞を集め、アガロースゲル電気泳動によってDNAの分析をすると、アポトーシスを示すオリゴヌクレオソームサイズのはしご状 (ladder pattern) のDNAの断片化が観測された。コントロールとしてヒトの繊維芽細胞に10 μ Mのヒペリシンを同様に作用させてもDNAの断片化はなかった。このようなヒペリシンによるPKCの活性の減少とアポトーシス誘導は悪性の神経膠腫においても観測されている。⁴⁹⁾ 古典的なPKC阻害剤であるスタウロスポリン、Ro31-8220、タモキシフェンはATPの触媒サイトを競争的にブロックするが、hypericinはPKCの調節ドメインに相互作用し、より選択的にPKCを阻害する。このようなPKC活性を阻害する作用を持つヒペリシンは癌の成長を阻害できる可能性がある。

4-5 hypericinの抗腫瘍作用

ミトコンドリアのサスペンションの中でヒペリシンに光を照射するとコハク酸酸化酵素の活性を阻害することが報告されている。⁵²⁾ ヒペリシンによるコハク酸酸化酵素の阻害は、0.1W/cm²の光照射下では、50%の影響が出る濃度は2.4 μ M、暗条件下では14 μ Mで、光照射下では暗条件下の6倍の阻害活性があることがわかった。暗条件下での阻害活性は膜の破壊によるものと考えられる。光照射下では、¹O₂*トラップ剤テトラメチルエチレンによって¹O₂*の生成が確かめられた。つまり、主に¹O₂*生成を経るtype II機構によりヒペリシンがコハク酸酸化酵素の活性を阻害していることがわかった。スーパーオキシドの生成は量子収率が0.03程度と見積もられているので⁶⁰⁾、寄与

は少ないと考えられている。抗腫瘍作用を持つ試薬はコハク酸酸化酵素の活性を阻害するので、ヒペリシンも抗腫瘍作用を持つことが予想される。また、4-3で述べたのPKC活性を阻害する作用によっても抗腫瘍性が予想される。

Thomas⁴²⁾はEMT6マウス乳腺癌細胞に対して、*in vitro*で酸素条件下と酸素欠乏条件下でヒペリシンの光力学的な効果を研究した。⁴²⁾酸素条件下でヒペリシンの光力学的な毒性は1~50 μ Mの範囲で濃度に依存した。酸素欠乏条件下では細胞はヒペリシンの光毒性に抵抗性を示した。暗条件下では酸素条件下でも酸素欠乏条件下でもヒペリシンはこの細胞に対して、毒性がなかった。これらから、ヒペリシンの毒性には光と酸素が必要であり、type IIの機構によると結論している。

さらに、ヒトの癌に対する光力学的治療の可能性を期待して、ヒトの繊維芽細胞MRC5にヒペリシンを作用させる実験が行われた。⁴³⁾5 \times 10⁻⁹Mの低濃度のヒペリシンにより、250 Wタングステン-ハロゲンランプ10mW/cm² 40分照射で、MRC5は15%の生存率となった。暗条件下では10⁻⁸Mでは毒性がないが、10⁻⁵Mでは0%の細胞生存率となり、暗黒下でも濃度が濃いと毒性があることがわかった。こうして、10⁻⁷~10⁻⁹Mの濃度でヒペリシンを投与し、光を目的の細胞に照射することにより、光を照射した箇所だけに光毒性を生じさせることが可能であることがわかってきた。また、type II機構に関与する¹O₂の失活剤として知られる1,4-diazabicyclo [2,2,2] octane (DABCO)やヒスチジンの添加により、MRC5に対するヒペリシンによる光力学作用が阻害された。また、重水の添加により、ヒペリシンによる光力学作用が増大した。重水素中では¹O₂の寿命が延びる。これらのことからヒペリシンによる光力学的作用は¹O₂を介するtype II機構によるものであることがわかる。フリーラジカルを介するtype I機構がヒペリシンによる光力学作用に寄与しているかを見るため、O₂⁻をH₂O₂に変えているスーパーオキシ

ドジムスターゼ (SOD) とH₂O₂を除去するカタラーゼを作用させ、ヒペリシンによる光力学作用に対する防御が調べられた。SODの添加により最大50%までヒペリシンによる光力学作用に対して防御できた。このことから、O₂⁻もヒペリシンの光毒性に寄与していることがわかった。カタラーゼによる防御は90%に達し、H₂O₂も生成していることがわかった。さらにヒペリシンの光毒性がFenton反応を経て起こっていることを確かめるため、鉄イオンキレート剤であるデスフェリオキサミンによる防御効果が調べられ、10⁻⁶M濃度で95%に達した。これらの結果からヒペリシンによる光力学作用に関しては、O₂⁻、H₂O₂、 \cdot OH等が生じるtype I機構も含まれていることがわかった。

Yu,H.らはヒペリシンのマウスの繊維芽細胞およびブタの赤血球および赤血球膜に対する光毒性を研究した。⁴⁵⁾ヒペリシン濃度1.2 μ M、可視光強度24J/cm² (10分) から、繊維芽細胞の生存率は減少しはじめた。しかし、膜の脂質の過酸化は15 μ Mと高濃度にならないと現われなかった。このことから、ヒペリシンの細胞毒性は膜のリン脂質よりも膜蛋白質の方に作用しているのではないかと示唆されている。そう考えると、ヒペリシンの作用が細胞の種類によってかなり異なる点も理解できる。この系でも主な作用種は¹O₂である。繊維芽細胞は皮膚のモデル系でもあるので、繊維芽細胞にヒペリシンが作用するという事は、皮膚癌の光治療に効果がある可能性がある。

ヒペリシンはすでにヒトの癌細胞に適用されている。⁴⁶⁾ヒトのP3扁平上皮癌に対して、ヒペリシンを作用させ、そこへ、アルゴンレーザー (514nm, 5 W)、KTP-532レーザー (532nm, 5 W) を照射させると、細胞の生存率が95%減少した。その他のM26メラノーマ、SW620およびHT29結腸腺癌、CAL33口腔扁平上皮癌、231乳腺癌、TE671繊維肉腫にヒペリシンを作用させ、90%以上生存率が減少することがわかった。ヒペリシンは投与後4時間において皮膚や筋肉よりも扁平上皮癌

に2倍吸収されるという結果もでていて⁶⁸⁾外科的な処置が困難な頭部、頸部の癌にも光ファイバーを用いてレーザー光を照射することにより、治療可能になることが期待される。

フロオレセン、アクリジンオレンジ、ヘマトポルフィリンがすでに癌の光線療法や、蛍光を発することを利用して癌の診断に用いられているが、癌細胞に到達しうる長波長(600~700nm)で励起され、癌細胞に選択的に集まり、しかも副作用のすくない色素が望まれている。

ヒペリシンの癌治療薬としての有用性は、癌組織に局在する傾向があること、一重項酸素を高い収率で生成すること、長波長の赤い光で励起されること(表面の癌細胞に作用させても、内部組織の損傷が少ないことが有利である)、しかも大きなモル吸光係数をもつこと、暗条件では毒性が小さいこと⁷²⁾、自分自身を光酸化する傾向が小さいこと⁷³⁾、酵素阻害活性を持つこと等にある。

5. まとめ

Hypericum (オトギリソウ) という植物に代表されて存在するヒペリシンという色素は最近その抗HIV-1性、抗腫瘍性などの薬理作用が大変興味を持たれている。ヒペリシンの毒性は条件(光照射、濃度、酸素)によっても、作用させる細胞によっても異なり、毒性の作用機構には色々な経路がある。暗条件下では、モノアミノキシダーゼ阻害作用、プロテインキナーゼC阻害作用などの酵素作用活性を持ち、またリン脂質と結合することにより細胞膜を損傷する。特に膜の蛋白質と特異的に結合することにより、細胞の種類によって作用の程度が異なってくる。

光照射下では、酸素がある条件下では、ヒペリシンの励起三重項状態からのエネルギー移動で一重項酸素が生成し、ミトコンドリアでのコハク酸酸化酵素の活性の阻害や抗ウイルス性、抗腫瘍性を持つ。スーパーオキシドの生成も系や条件によってヒペリシンの光毒

性に寄与する場合がある。

光照射下で、酸素が無い条件でも、セミンノンラジカルの生成や、励起一重項における酸性増大により、 H^+ を放出し、それによってウイルス等を不活性化する。酸素に依存しない毒性を持つことは、酸素濃度の低い生体深部の細胞に対してもヒペリシンが有効であることを示している。

毒性の作用機構はかなり複雑であるが、抗ウイルス性、抗腫瘍性はこれからますます注目されていくと思われる。とくに癌の光治療薬としての可能性は大いに期待される。

一方、このような毒性をもつヒペリシンおよびその誘導体が生物界に広く分布していることは非常な驚きである。ヒペリシンがそれらの生体のなかでどのような機能を果たしているのか、また、その生物がどのようにヒペリシンを生合成するに至ったかについては、まだ多くの謎が残されている。防御のために毒性のあるものを持つことは生物においてしばしば見られることであるが、そういった点からも、この色素の機能と性質を研究していくことは興味深いことである。

引用文献

- 1) Giese, A.C., (1971) *Photophysiology*, 6:77-129.
- 2) Giese, A.C., (1980) *Photochemical and photobiological reviews*, 5:229-255.
- 3) Netien, G., and Lebreton, P., (1964) *Ann. Pharm. Frnc.*, 22:69-79.
- 4) Pace, N., and Mackinney, G., (1941) *J. Am. Chem. Soc.*, 63:2570-2574.
- 5) Brockmann, H., (1952) *Prog. Org. Chem.*, :64-82.
- 6) Brockmann, H., (1957) *Proc. Chem. Soc.*, 1947: 304-313.
- 7) Cameron, D.W., and Raverty, W.D., (1976) *Austral. J. Chem.*, 29:1523-1534.
- 8) Banks, H.J., Cameron, D.W., and Raverty, W.D., (1976) *Aust. J. Chem.*, 29:1507-1521.
- 9) Brockmann, H., and Eggers, H., (1958) *Chem. Ber.*, 91:81-100.

- 10) Yamazaki,S.; Kube,A.; Akiyama,Y., and Fuwa, K.,(1975) *Agricul.Biol.Chem.*, 39:287-288.
- 11) Macri,F., and Vianello,A.,(1979) *Plant,Cell Environment*, 3:267-271.
- 12) Giese,A.C.,(1973) *Blepharisma,the Biology of a Light-sensitive Protozoan*, Stanford University Press,Stanford,California.
- 13) Checcucci,G.; Shoemaker,R.S.; Bini,E.; Cerny. R.; Tao,N.; Hyon,J.S.; Gioffre,D.; Ghetti,F.; Lenci,F., and Song,P.S.,(1997) *J.Am.Chem.Soc.*, 119:5762-5763.
- 14) Miyake,A.; Harumoto,T.; Salvi,B., and Rivola, V.,(1990) *Europ.J.Protistol.*, 25:310-315.
- 15) Scevoli,P.; Bisi,F.; Colombetti,G.; Ghetti,F.; Lenci,F., and Passarelli,V.,(1987) *J.Photochem. Photobiol. (B)*, 1:75-84.
- 16) Wood,D.C.,(1976) *Photochem.Photobiol.*, 24: 261-266.
- 17) Sjogren,L.,(1964) *Acta Zoologica*,Bd XLVI: 293-297.
- 18) Moller,K.M.,(1962) *Comp.Rend.Lab.Carlsberg*, 32:471-498.
- 19) Faure-Fremiet,E.,(1911) *Compte rendus hebdomodaires des se ances de l'academie des sciences.*, 71:419-420.
- 20) Donnasson,J., and Faure-Fremiet.E.,(1911) *C. R.Soc.Sio.*, 71:515 517.
- 21) Blum,H.F.,(1941) *Photodynamic Action and Diseases Caused by Light*,Reinhold,New York.
- 22) Quin,J.I.,(1993) *J.Vet.Sci.Animal Ind.*, 1:459-468.
- 23) Halliwell,B., and Gutteridge,J.M.C.,著 松尾光 芳他訳 フリーラジカルと生体、学会出版センター (1988)
- 24) Perry,L.M.,(1980) *Medicinal Plants of East and Southeast Asia*. The MIT Press: Cambridge/London 176.
- 25) Crellin,J.K.; Philpott,J., (1990) *Herbal Medicine Past and Present. Vol.II. A Reference Guide to Medicinal Plants*. Duke University Press: Durham/London :376-378.
- 26) Hartwell,J.L.,(1982) *Guttiferae*.In: *Plants Used Against Cancer: A Survey*.Hartwell,J.L. (Ed). Quartermain Publications :239-41.
- 27) Duran, N., and Song,P.S.,(1986) *Photochemistry and Photobiology*, 43:677-680.
- 28) Daniel,K.,(1949) *Hypocrates*, 19:526.
- 29) Suzuki,O.; Katsumata,Y.; Oya,M.; Blat,S., and Wagner,H.,(1984) *Planta-Med.*,50:272-274.
- 30) Demisch,L.; Hoelzel,J.; Gollnik,B., and Kaczmarczyk,P.,(1989) *Pharmacopsychiatrie*, 22:194.
- 31) Fornasari,E., and Rodighiero,G.,(1958) *Il Farmaco Ed.Sci.* 13:379-384.
- 32) Meruelo,D.; Lavie,G., and Lavie,D.,(1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85:5230-5234.
- 33) Lavie,G.; Valentine,F.; Levin,B.; Mazur,Y.; Gallo,G.; Lavie,D.; Weiner,D., and Meruelo,D., (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:5963-5967.
- 34) Tang,J.; Colacino,J.M.; Larsen,S.H.; Spitzer, W.,(1990) *Antiviral Research*, 13:313-326.
- 35) Lopez-Bazzocchi,I.; Hudson, J.B., and Towers, G.H.N.,(1991) *Photochemistry and Photobiology*, 54:95-98.
- 36) Hudson,J.B.; Lopez-Bazzocchi,I.; Towers,g.h.n.,(1991) *Antiviral Res.*, 15:101-112.
- 37) Hudson,J.B.; Harris,L., and Towers,G.H.N, (1993) *Antiviral Res.*, 20:173-178.
- 38) Lenard,J.; Rabson,A., and Vanderoef,R.,(1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:158-162.
- 39) Carpenter,S.; Fehr,M.J.; Kraus,G.A., and Perich,J.W.,(1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 12273-12277.
- 40) Fehr,M.J.; Carpenter,L.; Wannemuehler,Y., and Petrich,J.W.,(1995) *Biochemistry*,34:15845-15848.
- 41) Lavie,G.; Mazur,Y.; Lavie,D., and Meruelo,D., (1995) *Medicinal reserch reviews*, 15:111-119.
- 42) Thomas,C.,(1992) *Photochemistry and Photobiology*, 55:831 837.
- 43) Hadjur,C.; Richard,M.J.; Parat,M.O.; Favier, A., and Jardon,P.,(1995) *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 27:139-146.
- 44) Hadjur,C.; Richer,M.-J.; Parat,M.-O.; Jardon, P., and Favier,A.,(1996) *Photochemistry and Photobiology*, 64:375-381.
- 45) Yu,H.; Wolford,S.T.; Kegode,R.; Zhao,W., and Osweiler,G.D.,(1996) *Photochemistry and Photobiology*, 64:168-173.
- 46) Quinten,M.; Werf,V.; Saxton,R.E.; Chngq,A.; Horton,D.; Paiva,M.B.; Anderson,J.; Foote,C.; Soudant,J.; Mathey,A., and Castro,D.J.,(1996) *Laryngoscope*, 106:479-83.

- 47) Vandenberg, A.L.; Geboes, K.R.; Cuveele, J. G.; Agostinis, P.M.; Merlevede, W.J., and Dewitte, P.A., (1996) *Anticancer Research*, 16:1619-1626.
- 48) Hamilton, H.B., et al. (1996) *J. Neurosurg*, 85, 329-334.
- 49) Couldwell, W.T.; Hinton, D.R.; He, S., et al., (1994) *FEBS Lett* 345:43-4655
- 50) Alvaro, V.; Touraine, P.; Raisman Vozari R., et al., (1992) *J. Clin Endocrinol Metab*, 77:1125-1129.
- 51) Tamaoki, T.; Takahashi, I.; Kobayashi, E.; Nakano, H.; Akinaga, S., and Suzuki, K., (1990) *The biology and medicine of signal transduction*, edited by Yasutomi Nishizuka et al., Raven Press, New York, 497-501.
- 52) Thomas, C., et al., (1992) *Photochem. Photobiol.*, 55, 47-53.
- 53) 八木国夫、中野稔監修：活性酸素、医薬出版株式会社
- 54) Liebes, L.; Mazur, Y.; Freeman, D.; Lavie, D.; Lavie, G.; Kudler, N.; Mendoza, S.; Levin, B.; Hochster, H., and Meruelo, D., (1991) *Analytical Biochemistry*, 195:77-85.
- 55) Angerhofer, A.; Falk, H.; Meyer, J., and Schoppel, G., (1993) *J. Photochem. Photobiol. B: Biol*, 20:133-137.
- 56) Jardon, P.; Lazorchak, N., and Gautron, R., (1986) *J. Chim. Phys.*, 83:311-315.
- 57) Senthil, V.; Longworth, J.M.; Ghiron, C.A., (1992) *Biochimica et Biophysica Acta*, 115:192-200.
- 58) Song, P.S.; Walker, E.B.; Auerbach, R.A., and Robinson, G.W., (1981) *Biophys. J.*, 35:551-555.
- 59) Jardon, P.; Lazorchak, N., and Gautron, R., (1987) *Journal de chimie physique et de physico-chimie biologique/Societe de chimie-physique*, 84:1143-1145.
- 60) Racinet, H.P., et al., (1988) *Journal de chimie physique et de physico-chimie biologique/Societe de chimie-physique*, 85:971-977
- 61) Seely, G.R., (1977) *Photochem. Photobiol.*, 26: 115-123.
- 62) Diwu, Z., and Lown, J.W., (1993) *Free Rad. Biol. Med.*, 14:209-215.
- 63) Hadjur, C.; Jeunet, A., and Jardon, P., (1994) *J. Photochem. Photobiol.: Biology*, 26:67-74.
- 64) Schimazi, R.F.; Chu, C.K.; Babu, J.R., et al., (1990) *Antiviral Res.*, 13:265-272.
- 65) Takahashi, I.; Nakanishi, S.; Kobayashi, E.; Nakano, H.; Suzuki, K.; Tamaoki, T., (1989) *Biochem Biophys Res Commun*, 165:1207-1202.
- 66) Fehr, M.J.; Carpenter, S.L.; Wannemuehler, Y., and Petrich, J.W., (1995) *Biochemistry*, 34:15845-15848.
- 67) Gai, F., et al., (1993) *J. Am. Chem. Soc.*, 115:3384.
- 68) Diwu, Z.J., et al., (1989) *Sci. Sin. (B)*, 33:113.
- 69) Hudson, J.B.; Zhou, J.; Chen, J.; Harris, L.; Yip, L., and Towers, G.H.N., (1994) *Photochem. Photobiol.*, 60:253-255.
- 70) Diwu, Z., and Lown, J.W., (1992) *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 64:273.
- 71) Alvaro, V.; Touraine, P.; Raisman Vozari, R., et al. (1992) *Int. J. Cancer*, 50:724-730.
- 72) Chung, P.S.; Saxton, R.E.; Paiva, M.B.; Rhee, C.K.; Soudant, J.; Mathey, A.; Foote, C.; Castro, D.J., (1994) *Laryngoscope*, 104:1471-1476.
- 73) Yang, K.-C.; Prusti, R.K.; Walkar, E.B.; Song, P.-S.; Watanabe, M., and Furuya, M., (1986) *Photochem. Photobiol.*, 43:305-310.
- 74) Nishiuchi, T.; Utsumi, T.; Kanno, T.; Takehara, Y.; Kobuchi, H.; Yoshioka, T.; Horon, A.A.; Yasuda, T., and Utsumi, K., (1995) *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 323:335-342.

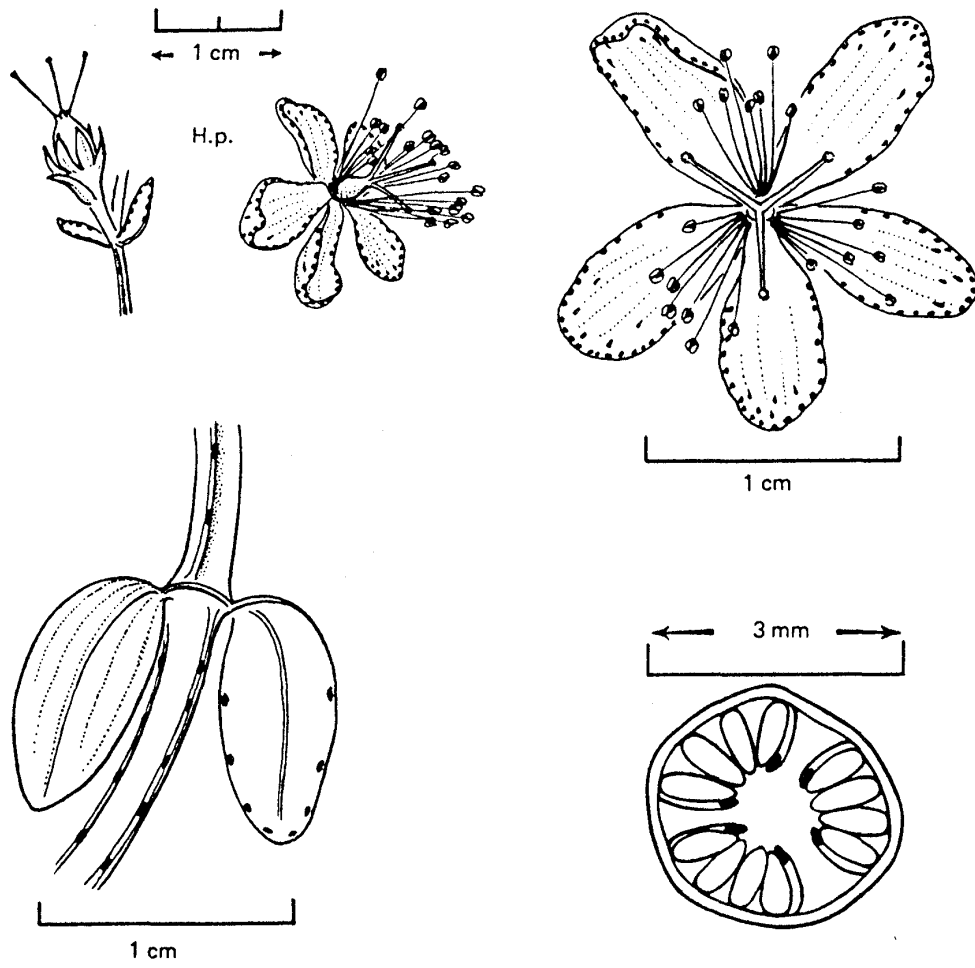
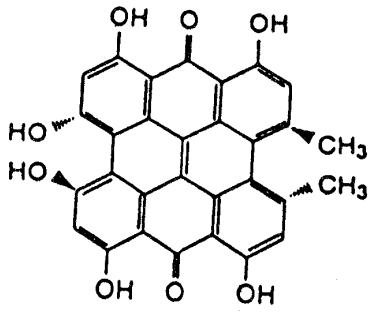
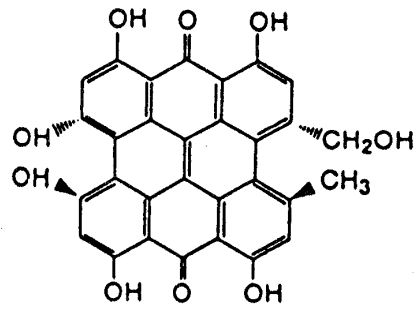


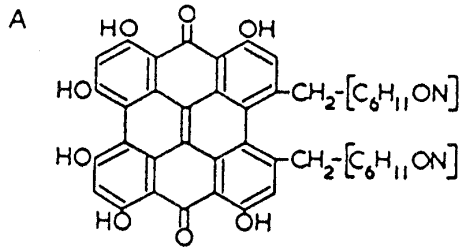
図1. *Hypericum. perforatum*におけるヒペリシン色素の所在



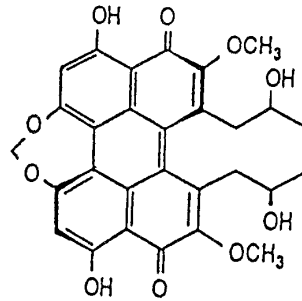
hypericin



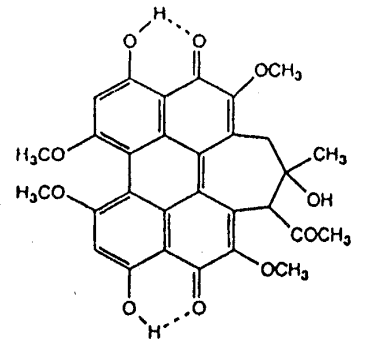
pseudohypericin



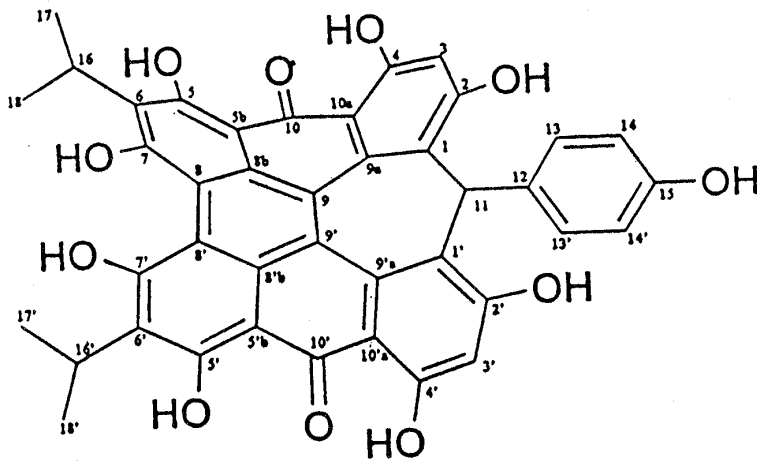
fagopyrin



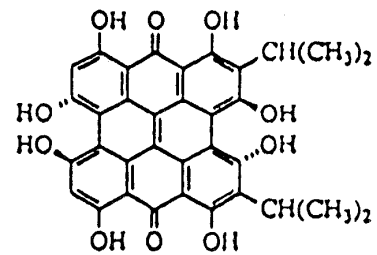
Cercosporin



hypocrellin A



blepharismine



stentorin

ヒペリシン関連化合物