

# プロポリスの組成と生理活性に関与する物質の構造と活性

Mario Sergio Palma and Osmar Malaspina

プロポリスはミツバチ自身が生産する天然ろうとミツバチが集めた植物樹脂の混合物で時には花粉粒が含まれていることもある。樹脂やバルサム（油や低分子量揮発物を含む樹脂）は巣箱から半径 5km 内の様々な植物から集められるが、たとえ同一の植物であっても、樹皮、葉、花、果実などから樹脂が集められるらしい。このためプロポリスの組成は、巣の近くの植物の種類に直接依存する。一般的にミツバチが混合する蜂ろうの量は、プロポリス原料採集時や巣箱内での加工時の平均気温に左右される。

こうした事情が、プロポリスを地域間の、あるいは同じ地域でも巣箱間でも、そのミツバチのプロポリス利用度に関わる遺伝的背景に応じて、非常に偏差の大きい生産物にしている。熱帯諸国では植物の種多様度が高いので、原料となる植物の選択肢も大変多く、したがってプロポリスは自然と多様なものになる傾向にある。そのため、表 1 に示すようにブラジル産プロポリスの組成は変動が大きい、これは他の地域でも同じことが報告されている (Ghisalberti, 1979; König and Dustman, 1989)。

## 化学的組成と生物活性

プロポリスに含まれる成分は、フラボノイ

表 1 ブラジル産プロポリスの一般的組成

化合物の種類	相対含有量 (%)
樹脂	40-50
ろう	20-40
揮発成分	> 10
花粉	> 10
その他 *	> 5

\* ミネラル、ビタミン、アミノ酸

ド、ポリフェノール、フェノール酸、エステル、脂肪酸、アミノ酸、炭水化物、ビタミン、ミネラルである。最も多量に含まれる成分について数例の物質名を挙げて表 2 に示した。現在までに最も多く研究されているのはフラボノイド類とフェノール酸類である。これらの成分には多種多様な物質が含まれる。例えば、フラボノイドだけでも 12 のサブタイプに分類され、さらに 4000 種の物質に細分される。前述した成分すべてが、それぞれ非常に多様度の高い物質であることを考えに入れると、プロポリスは極めて多種の物質を含んでいることになる。ブラジルだけでもプロポリスは 500 種類程のタイプに分けられるが、それぞれのタイプが 250 あまりの物質の混合物であると考えられる。したがってすべての物質を単離することは、ほとんど不可能である。

表 2 プロポリス中の主成分

成分	例
フェノール酸エステル類	カフェ酸フェネチルエステル (CAPE)
フェノール酸類	カフェ酸、フェラル酸
フラボノール酸	クエルセチン、ケンフェロール、ガラングイン
フラボン類	ピノセンブリン、イソサクラネチン
脂肪酸	パルミチン酸、オレイン酸
炭水化物	ショ糖、キシリトール

試料を分析して、その組成や、試料間の差異を検出するためにはガスクロマトグラフィーにマススペクトル（質量分析計）を併用するGC-MSが必要となる（Markham et al., 1996; Garcia-Viguera et al., 1993）。最近では通常の分析には高速液体クロマトグラフィー（HPLC）が用いられる。これらの手法は非常に応用範囲が広く、特定の物質を短時間で同定できる。つまり、GC-MSを使った分析で物質の存在を確かめ、その後でHPLCによる定量が行われるといった使い方が可能である。

プロポリスの生理活性は特定の物質の存在にはっきり結びついている。そのため採集された地域によって成分組成が異なりうるものが生理活性の異なるプロポリスが見つかる理由になる。そのためプロポリスの抽出物には以下のような広範囲な生理活性が見られる。抗ウイルス（Olinescu et al., 1991）、抗細菌（Aga et al., 1994）、抗真菌（Metzner et al., 1977）、免疫刺激（Moriyasu et al., 1993）、鎮痛（Paintz and Merzner, 1979）、抗潰瘍（伊藤ら, 1994）、抗高血圧（Scheller et al., 1988）、抗炎症（Olinescu et al., 1991）、腫瘍成長阻止（松野, 1992）、その他。

生理活性の研究においては、どのような生物学的効果が現れるかが成分によって決められるので、まずプロポリスの組成を前もって明らかにする必要がある。いく種類かのプロポリスはそうした生理活性のほとんどを持ち合わせるようになるだろうし、またあるものはほとんど生理活性を示さないかも知れない。したがって、すべてのプロポリスの種類について普遍的に見られる生理活性というものはない。

### フラボノイド類

プロポリスに最も数多く含まれる物質は明らかにフラボノイドである。フラボノイドは、人間の食料になる多くの植物に普遍的に存在するジフェニルプロパンである。フラボノイドは通常C3位に糖が結合してO-グリコシド（配糖体）の形で存在する。単一植物内でも一つのフラボノイド骨格に対していくつかの糖鎖の組

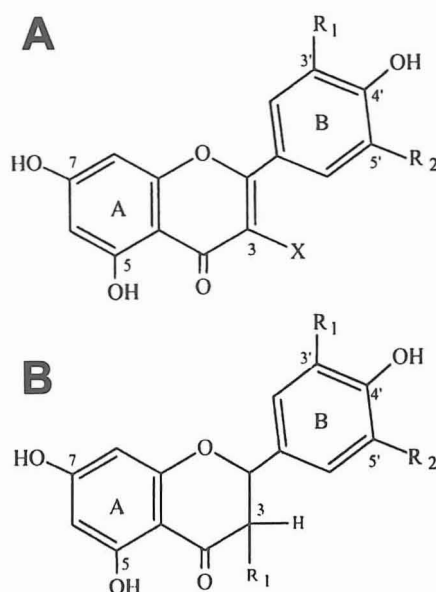


図1 プロポリス原塊中に普遍的なフラボノイド類  
A: フラボノール X=OH（ケンフェロール R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=H; ケルセチン R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=H; ミリセチン R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=OH), フラボン X=H（アピゲニン R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=H; ルテオリン R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=H）  
B: フラバノン R<sub>1</sub>=H, フラバノール R<sub>1</sub>=OH

合せがある。これらの物質は部分的に水溶性であるにもかかわらず、70%エタノールで効率よく抽出可能である。フラボノイドはフェノール化合物であり、そのため酸化して変色したり、芳香族環が結合しているため、紫外部および可視部に特異的な吸収帯があり、クロマトグラム上や溶液中において簡単に検出できる。

フラボノイドはすべての維管束植物に存在するが、いくつかの種類は他の成分より広範囲に見られる。フラボノール類やフラボン類が普遍的で、他のものはそれほど一般的ではない。プロポリスの原塊中に最も一般的に見られるのはフラボノール、フラボン、フラバノンおよびフラバノールである。これらの化学的な違いを図1に示した。フラボノールの化学構造は中央の環の3位の炭素に水酸基が結合しており（図中の“X”で示した位置）、そこに水素が結合しているフラボンと区別される。B環のR1およびR2位の置換基の違いによって、フラボノールはケンフェロール、ケルセチン、ミリセチンそ

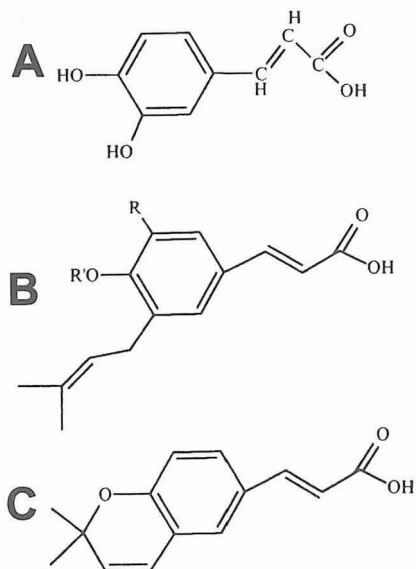


図2 A: カフェ酸, B: 3, 5-ジプレニル-4-ヒドロキシ桂皮酸 ( $R = \text{CH}_3\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ,  $R' = \text{H}$  の場合にはアルテピリン C), C: 2, 2-ジメチル-6-カルボキシエチル-2H-1-ベンゾピラン

の他に分類され、またフラボンでは同様にアピゲニン、ルテオリンその他に分類される。

図1ではさらに中央環に二重結合がある酸化型（フラボノールおよびフラボン）と還元型（フラバノンおよびフラバノール）フラボノイドの構造の差を示している。還元型フラボノイドの中でフラバノン類は、中央環のR1で示した3位の置換基によって区別している。この位置に水素があるとフラバノンであり、水酸基があればフラバノールである。

### フラボノイドの臨床

フラボノイドは化学構造的には非常に多岐にわたり、生理活性に関してそれが明確な差を与えている。フラボノイドは、時には緩慢なストロジェン様の抗酸化作用を示す（低濃度において）が、時には染色体異常あるいは細胞腺腫（ごく高濃度において）を引き起こす。フラボノイドのそれぞれの効果は多くの場合に有益であるが、この物質の化学構造とその薬理作用の多様さを考えるとその生理活性の有益性が過大評

価されているということはないであろう。

特定のフラボノイドが持つ最も重要な生理活性は以下のように要約される。

- ケルセチンとケンフェロールは強力で持続性のリボキシゲナーゼ活性阻害作用に基づく抗炎症作用を有する (Della Loggia et al., 1988).
- ケルセチンはIgEを介する肥満細胞と好塩球からの化学伝達物質の遊離を阻害し、さらにアラキドン酸代謝物の生合成を選択的に阻害する (Welton et al., 1986). このためケルセチンは新規抗アレルギー剤あるいは抗炎症薬開発における骨格分子として関心が持たれている.
- ケルセチンは数系統のガン細胞の成長をシスプラチン受容体との協働作用によるいわゆるタイプIIストロジェン結合部位との相互作用によって阻害する (Scambia et al., 1990).
- ケルセチンは正常な造血細胞を抑制することなく白血病細胞成長を阻害する (Larocca et al., 1991).
- プロアントシアニジンは冠不全（血栓症など）の原因になる低密度リボタンパクの酸化を抑止する強力な抗酸化剤である (Miura et al., 1995).
- ゲニステインとダイゼインは前立腺および胸部ガンの危険を減少させる (Akagi et al., 1995).
- クリシン、アカセチン、アピゲニンはそれぞれHIV-1プロテアーゼ、インテグラーゼ、逆転写酵素を阻害する (Critchfield et al., 1996).
- タンゲリチンは白血病細胞のアポトーシス（細胞死）を誘導するが、正常細胞に対しては影響を与えない (Hirano et al., 1995).

• 水酸基を多く持つフラボン類は一般にサイクリン依存性キナーゼ (CDK) の特異的阻害剤であり、細胞周期の進行をつかさどるCDKの役割を考えると、これらのフラボン類の構造は抗真菌剤開発においてモデルとして利用されると考えられる (Azeveth et al., 1996).

フラボノイドの構造 (図1) とその抗生物活性との関連性では、Apple et al. (1975) は、3位に水酸基のあるフラボノイド類（すなわちフラボノール類）はレトロウイルスの逆転写酵

素および RNA 依存ポリメラーゼ双方に特異的な阻害剤であることを示している。しかし、Metzner et al. (1979) によると、3 位に水酸基を導入するとフラボノイドの抗真菌作用が抑制され、よって抗細菌および抗真菌剤として有効な 5,7-ジヒドロキシフラボンは、7 位がメチル化されることによってその効果を失う。

Beladi et al. (1977) は、3 位と 4 位に水酸基があることは抗ウイルス作用の「表面反応」、つまり、寄主細胞へのウイルスの付着を防ぐのに必須なことを示した。3, 5, 6 位にこの水酸基とその他の置換基の組合せを持つフラボノイドは強力な殺虫作用（幼虫成長阻害効果）を示す。

これらの大変興味深く有益な特性が、そのままプロポリス抽出物の特性だとして当てはめることは、常識的には勧められない。というのもここに揚げたような活性は個々の成分の活性をとりまとめたものであるからである。この点について米国の食品薬品局 (FDA) はプロポリス製品あるいはケリセチン主成分とする製品の消費者に対して、サルモネラ菌 (TA100 および TA98) での変異原性、あるいは高濃度のケルセチンがチャイニーズハムスターの卵巣細胞の染色体異常を引き起こし、F344/N ラットの雄で発ガン誘導の形跡があった (CAS Bulletin 11-39-5) ことから、ある程度の危険があると警告している。これらの結果は、高濃度のフラボノイドが長期的に投与されるなど非常に特殊な条件下のものであり、ケルセチンが問題を引き起こすということの意味するものではない。

### フェノール類と有機酸類

フラボノイド類に加えてプロポリス原塊からは他にも重要な一群の物質があり、大変興味深い生理活性をもたらす。フェノール類はミツバチが集めた植物渗出物中に豊富にあり、その中では、カフェ酸 (図 2)、桂皮酸、フェラル酸が最も一般的なもののいえる。

カフェ酸は多数のヘルペスウイルスに対する抗ウイルス活性を有しており、この性質は芳香環の二つの水酸基の存在によるものと考えられる (図 2) (König and Dustmann, 1989)。

カフェ酸とフラボノール類の分子構造の一部は類似しているので、すべてのカフェ酸誘導体が抗ウイルス活性を有している。

日本でのプロポリス抽出物の使用がブームになり、それに比例してブラジルでの生産量が増加したため、日本で生産されるプロポリス製品に用いるのに最適な原料を探し出す目的で、ブラジル産プロポリス原塊の組成と生理活性を課題としてブラジルの社会性昆虫研究センター (CEIS) および日本のいくつかの研究機関で研究が行われるようになった。これが契機となり、最近のブラジル産プロポリスから一連の新物質が発見され、以下に要約するような興味深い所見が得られた。

- ブラジル産プロポリスのエタノール抽出物はいわゆる虫歯菌に対して強い阻害活性を示した。この活性は桂皮酸化合物によるものだと考えられた (西野ら, 1996)。

- ブラジル産プロポリス試料中に新規抗微生物化合物として 3,5-ジプレニル-4-ヒドロキシ桂皮酸と 2,2-ジメチル-6-カルボキシエチル-2-H-1-ベンゾピラン (図 2) が発見された。両物質は皮膚真菌 (例として *Microsporum* や *Art-hroderma*) や細菌 (*Corynebacterium* や *Pseudomonas*) に効果を示した (Aga et al., 1994)。

- 3, 5-ジプレニル-4-ヒドロキシ桂皮酸 (図 2) の置換基「R」に H が、そして「R'」に  $\text{CH}_3\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$  が結合して得られる化合物はアルテピリン C と呼ばれ、非常に強い抗菌、抗炎症、抗ガン活性を示す (木本ら, 1995)。

- 林原生物化学研究所の中野ら (1995) は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 MRSA に対するブラジル産プロポリスの活性を研究し、3-プレニル-4-デヒドロシナモキシ桂皮酸 (図 3) を主生成物として単離同定した。

- ブラジル産プロポリスのヒト肝細胞ガン HuH13 に対する細胞傷害性の研究によってアルコール抽出分画からカフェ酸と新規化合物カフェ酸フェニルエチルエステル (CAPE) (図 3) が発見された (Matsuno, 1991)。プロポリスの原塊中にこの物質が含まれるかどうかは疑わ

しい。というのは、この種のエステルは植物抽出物には通常みられないからである。フェニルエチルアルコールはプロポリス原塊には含まれており（表4）、これが酸性の条件下、水（あるいは70%エタノール（醸造アルコール））の存在下でカフェ酸と反応し、結果としてエステルができる。このようにCAPEはプロポリスの抽出過程で生成される物質であって天然物ではない。とにかくもしそうであればプロポリスの抽出過程はこの特異的なエステル化反応が促進されるように最適化されるべきであろう。

・ブラジル産プロポリスの抗腫瘍活性の研究の結果、クロレンジテルペンの発見にいたった（図3）。これは活性が大変強く、HuH13に加えてヒト頸部ガン（HeLa細胞）やバーキットリンパ腫に選択的に作用する（Matsuno, 1991）。プロポリス中には有益な物質だけが含まれて

いるわけではなく、Hausen（1988）は接触皮膚炎を誘発するアルコール抽出物中のカフェ酸ジメチルアリルエステル（図3）について報告している。通常抽出に用いられる醸造アルコール以外の溶媒で抽出した場合には決して検出されないで、プロポリス原塊中にこの化合物が含まれているかどうかは疑わしい。CEISの養蜂生産物分析室でプロポリス製品の処理を行う際に通常用いる醸造アルコールからメチルアリルアルコールが検出された。このことはアレルギー誘発性の化合物カフェ酸ジメチルアリルエステルはCAPE同様、プロポリス原塊に含まれる天然物ではないことを意味している。

### 脂肪酸

脂肪酸もすべてのプロポリス原塊やアルコール抽出物中に見られる。ミツバチが産油植物の

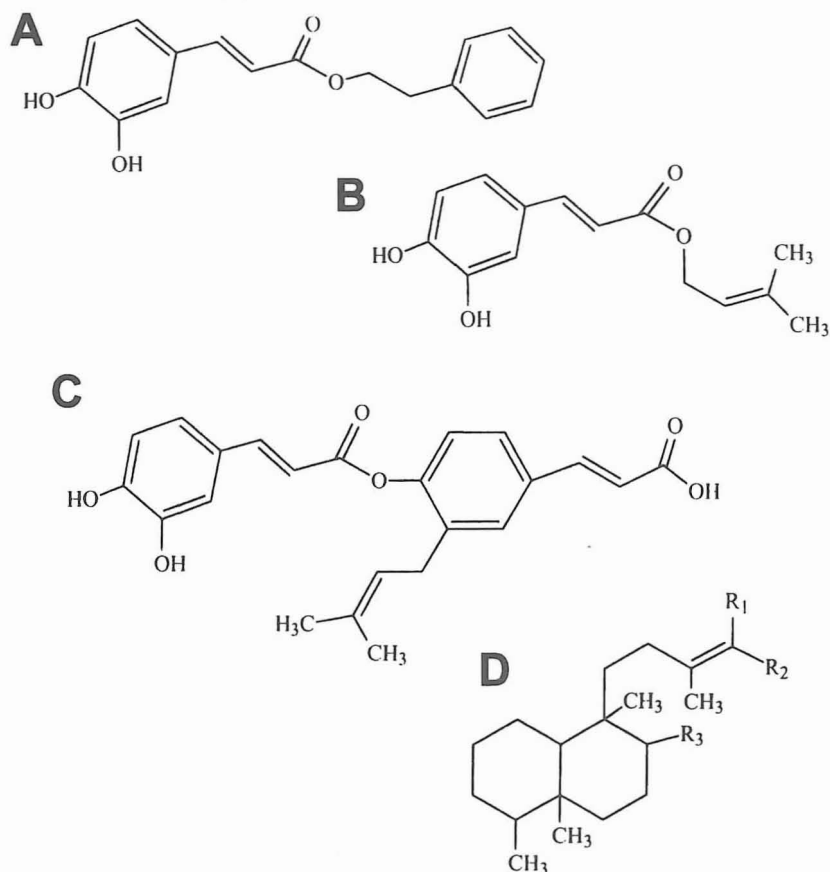


図3 プロポリス原塊中から細菌発見された天然物質

A: カフェ酸フェニルエチルエステル, B: カフェ酸ジメチルアリルエステル,  
C: 3-フェニル-4-デヒドロシンナモキシ桂皮酸, D: クレンジテルペン

葉のように滲出物中に脂肪酸を含むような特定の植物を好んでいるのかどうか、あるいはほとんどの植物滲出物に普遍的に含まれていて集められる樹脂と一緒に巣に持ち込まれるものなのかはわからない。いずれにせよ、脂肪酸のうちのいくつかは効果的なアリの忌避剤であり、ミツバチの巣に対するアリの攻撃を防御する役割があるとも推論される。またこれも推論に過ぎないが、ミツバチが植物との関係を通じて学習して、脂肪酸にプロポリスが含まれるのを防ぐ絶縁体のような働きをさせるとも考えられる。

プロポリス原塊中に最も一般的な脂肪酸を表3に示した。これには、植物由来の化合物だけでなく、三種の動物由来の物質、エイコサン酸、テトラコサン酸およびドコサノン酸も含まれている。これは働き蜂自身がこれらの酸を混入させたことを証明するにこれ以上はないといえる証拠であり、非常に興味深いことである。したがって、プロポリスはミツバチが植物から集めて巣の中に蓄えただけの生産物ではなく、ミツバチ自身の生産物をも含んだものということになる。これらの脂肪酸が含まれている意味づけは今のところはっきりしないが、巣仲間を認識するとき用いている物質でプロポリスを標識していることとは何かしら関係があるだろう。これによって巣の内部にプロポリスの材料を持ち帰った蜂が巣仲間には追い出されずに済んでいるのかも知れない。

### 揮発性成分

プロポリス原塊中に最も多く見られる揮発性物質を表4に示した。これら化合物が“プロポ

表3 プロポリス原塊に含まれる脂肪酸

植物起源	動物起源
ミリスチン酸	エイコサン酸
パルミチン酸	テトラコサン酸
オレイン酸	ドコサノン酸
リノレン酸	
ステアリコ酸	

リスの匂い（ブーケ）”を形作っている。原塊中に含まれる酸は細菌の発育を阻止しているが、オクタン酸のような長鎖の酸はプロポリス特有の強い刺激臭がする。70%エタノール下で酢酸ベンジルと酢酸イソブチルというエステルが検出されるが、これは酢酸とベンジルアルコールおよびイソブチルアルコールとのエステル化反応の結果であると思われる。プロポリスのアルコール抽出物がほのかに甘い香りを出すのはこのエステルのためである。働き蜂のナサノフ腺中に含まれると考えられ、プロポリスに取り込まれる酢酸イソペンチルは、ミツバチの毒腺にあって警報フェロモンとして利用されている点には興味をそそられる。この点については今のところどんな説明もされていない。

### 特定の物質との関係が不明な生理活性

近年プロポリス研究に多くの関心が払われるようになり、ヒトの悪性腫瘍やガン細胞の阻害に関するプロポリスの免疫活性効果について大量の文献が出ている。研究者の一人の Matsuno (1991) は効果のあった特定の物質を特定しているが、その一方で多くの研究が非常に有効な結果を得ているにもかかわらず、生理活

表4 プロポリスエタノール抽出物中の揮発成分\*

酸	アルコール	エステル
酢酸	—	—
安息香酸	ベンジルアルコール	酢酸ベンジル **
—	イソブチルアルコール	酢酸イソブチル **
オクタン酸	—	—
—	—	酢酸イソペンチル ***
—	フェニルエチルアルコール	—

\* 70%エタノール中

\*\* 酸性水の存在下でプロポリス抽出物から生成されたと考えられるもの

\*\*\* ミツバチがナサノフ腺で生産すると考えられるもの

性を示す物質の特定がまだできていない。有効な結果を得ているものには次のものがある。

・新井・栗本(1994)は水に分散させたプロポリスの粉末がサイトカイン産生免疫細胞を活性化し、それによってBALB/cマウスの肺におけるガンの転移を阻害したことを示した。

・鈴木ら(1996)はブラジル産プロポリスの水抽出分画に漢方薬より得られた分画を加えてEhrlichガンの治療に用い、制ガン剤の副作用を減衰させ、治療効果を改善した。

すでにプロポリス原塊がヒトの健康を害する物質を含むことは述べた。プロポリスの毒性やアレルギー性について評価を試みた佐藤・藤本(1996)は中国産プロポリスよりブラジル産プロポリスの方が副作用が少ないことを報告した。プロポリスには由来の異なるものがあることを考えると、二人によって開発された実験方法は、毒性物質を含むプロポリスを排除し、最良の原料を選択する上で重要である。

多くの研究者は、プロポリスを現実に医薬品のように取り扱っているが、この養蜂生産物に含まれる成分と生理活性機構についてはまだわからないことが多い。プロポリスの示す特徴的な活性でさえどの成分と関係があるのか結びつけられないままである。これらの研究は、新しい物質がプロポリス中に見つかれば、それが新薬開発におけるモデルになるにちがいないということをはっきりと示している。

(著者の住所は下記参照)(翻訳 宮高透喜・佐藤利夫)

#### 引用文献

- Aga, H. 1994. Biosch. Biotech. Biochem. 58: 945-946.
- Akagi, K. et al. 1995. Cancer Lett. 94: 113-121.
- Apple, M.A. et al. 1975. Proc. AARC and ASCO 16: 198.
- 新井成行・栗本雅司. 1994. ミツバチ科学 15 (4): 155-162.
- Azevedo, W. F. Jr., et al. 1996. PNAS 63: 2735-2740.
- Beladi, R. et al. 1977. Ann. N.Y. Acad. Sci. 284: 358-364.
- Critchfield, J.W. et al. 1996. AIDS Res. Hum. Retroviruses 1: 39-46.
- Delia Loggia, R. et al. 1988. Pharmacol. Res.

- Commun. 20: S91-S94
- Garcia-Viguera C. et al. 1993. Z. Naturforsch. 48 c: 731-735.
- Ghisalberti, E. L. 1979. Bee World 60: 59-84.
- Hausen, B.M. et al. 1987. Contact Dermat. 17 (3): 171-177.
- Hirano, T. 1995. Br. J. Cancer 72: 1380-1388.
- 伊藤紀久夫ら. 1994. ミツバチ科学 15: 171-173.
- 木本哲夫ら. 日本医事新報 3726: 43
- König, B. and J. H. Dustman. 1989. Anim. Res. and Develop. 29 (1): 21-42.
- Larocca, L. M. et al. 1991. Br. J. Haematol. 79: 562-566.
- Markham K. R. et al. 1996. Phytochemistry 42 (1): 205-211.
- Matsuno, T. 1991. Hammingbird 1: 14.
- 松野哲也. 1992. ミツバチ科学 13: 49-54.
- Metzner, J. et al. 1977. Pharmazie 32: 730.
- Miura, S. 1995. Biol. Pharm. Bull. 18: 1-4.
- Moriyasu, J. et al. 1993. Biotherapy 3: 346.
- 中野真之ら. 1995. ミツバチ科学 16 (4): 175-177.
- 西尾美緒ら. 1996. ミツバチ科学 17 (4): 151-154.
- Olinescu, R. et al. 1991. St Cerc. Biochem. 34: 19-25.
- Paintz, M. and J. Merzner. 1979. Pharmazie 34: 839-841.
- 佐藤利夫・藤本琢憲. 1996. ミツバチ科学 17 (1): 7-13.
- Scambia, G. et al. 1990. Anticancer Drugs 1: 45-48.
- Scheller S. et al. 1988. J. Pharmacol. Res. Commun. Apr. 20: 323-328.
- 鈴木郁功ら. 1996. ミツバチ科学 17 (1): 1-6.
- Welton, A.F. et al. 1986. Prog. Clin. Biol. Res. 213: 231-242.

PALMA, MARIO SERGIO and OSMAR MALASPINA. Propolis: its composition and the relationship structure/activity concerning its biological properties. *Honeybee Science* (1998) 19 (2): 61-67. Department of Biology, CEIS/CEVAP, Institute of Biosciences of Rio Claro, San Paulo UNESP, P. O. 199, 13506-900, Brazil.

Propolis is very complex mixture of different substances brought by bees from plant sources. Because of diversity of plant it is very heterogeneous hive products. Every biological property can not be common to all raw propolis and their products. Even though, there are many beneficial substances in raw propolis and some are found to be produced throughout of the process of alcohol extraction. A new substance from propolis will be a model for developing new medicines.