

糖分解酵素処理ガラナエキスの経口投与による肝傷害マウスに対する肝脂質過酸化阻止機能亢進, スカベンジング活性化能促進および肝トランスアミナーゼ活性上昇緩解作用

大槻 誠¹⁾, 鈴木 郁功¹⁾, 的崎 慶子²⁾,
渡邊 隆司²⁾, 柳本 行雄²⁾

¹⁾鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部 医療栄養学科

²⁾四天王寺国際仏教大学 生活科学科, 保健管理センター

キーワード: ガラナ, 経口投与, N-アセチルグルコサミン, マロンデアルデヒド

はじめに

ガラナ果実には, カフェインと類似の分子構造を有するグアラニン含有しており, 古来よりアマゾン川流域に先住している種族が興奮性飲料として, 愛用したのが始まりであると言われている¹⁾。その後, 近年の高齢化社会における生活習慣病や様々な疾患, 若年層の日常の不規則な食生活から生じる免疫機能の低下, 若年性痴呆症やアレルギー性疾患の発生率の上昇など社会問題²⁾³⁾を背景に対して, ガラナ果実は含有組成成分の分析⁴⁻⁷⁾と共に, カテキンやタンニン酸(ポリフェノール)等の薬理作用に関する報告が多数みられるようになった⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。しかしながら, これらの殆どは商業的なものであり, 学術的根拠あるいは詳細な実験結果に基づいた研究報告は極めて少ないのが現状である。しかも, 肝機能に関するガラナエキスの学術的研究報告は現在までのところ皆無である。

今回, ムクロジ科(Sapindaceae)に属するブラジル産ガラナ(Guarana: *Paullinia cupana*)の果実に由来

した成分を, 複数の糖加水分解酵素の性質を利用してガラナの果実種子(以下, 果実と記す)に含まれる繊維質やデンプン等を効率良く分解し, 残渣物を減らし, 収率を高める独特の方法で抽出したガラナ抽出液(ガラナエキス)を, 実験的肝臓機能低下あるいは傷害マウスに対して経口的に摂取させた場合における肝機能緩解・回復効果について①肝機能指標酵素である2種のアミノ基転移酵素(トランスアミナーゼ)即ち, GOT (AST)とGPT (ALT)活性抑制作用②肝脂肪の過酸化阻止作用および③肝内活性酸素消去能(フリーラジカル・スカベンジャー)について調べることにより, 各種肝炎や加齢に伴う肝機能の低下あるいは感染症や加齢に伴う免疫系の諸機能低下を抑制し, 且つ改善させることを目的とした検討を行った。

材料および方法

1. 糖分解酵素処理ガラナエキスの作製法

ブラジルのアマゾン川流域地に自生するガナラの果

実(種子)を粉砕機で粉末化した粉末 150 g(水分量: $7.5 \pm 0.5\%$)を 90°C に加温した滅菌蒸留水 1500 ml に加えた後 (pH 5.5), CaCO_3 にて pH を 6.5 に調整し, 得られた約 1500 ml の調製液に *Bacillus subtilis* 由来の α -アミラーゼ 90 mg を添加し, 90°C で 60 分間攪拌しながらガラナ果実粉末に含まれるデンプン質を液化した。得られた約 1500 ml の酵素液化溶液にシュウ酸を加えて pH を 4.5 に調整した後, *Aspergillus niger* 由来の α -グルコシターゼと *Aspergillus niger* 由来のセルラーゼを各々 90 mg ずつ添加し, 45°C で 48 時間, 酵素処理した。糖化された約 1500 ml の糖化处理液面に濾過剤が張り付けられたヒダ付き濾紙により吸引濾過を 2 回繰り返した。このようにして得られた濾液を回転式真空濃縮装置を用いて濃縮し, 固形分が 62.7%, 水分 37.3% のガラナエキス (約 350 ml) を得た。

2. 肝機能障害マウスの実験的作製法

肝機能の障害・低下マウスは各群 3 匹ずつの 5 週齢 ddY 系雌マウス (平均体重: 25 g) を用い, Conti らの方法¹¹⁾ に準じて作製した。即ち, 生理食塩水で 60 mg/ml の濃度になるように溶解した D-ガラクトサミン塩酸塩 (Gal-N) 0.2 ml (12 mg/マウス, 480 mg/kg) を腹腔内に投与した。

3. トランスアミナーゼ [GOT (AST) および GPT (ALT)] の活性測定法

2 種のトランスアミナーゼの測定は, GOT あるいは GPT 測定用キット試薬を使用した。マルチ自動分析機 (東芝マルチ 60 M 型) における UV-Rate 法 (主波長: 340 nm/副波長: 375 nm) で行った。即ち, 血清 10 μl に補酵素 (R 1) 300 μl を添加後, 37°C で 3 分間保温。その後, 基質液 (R 2) 75 μl を加え, 1~5 分間に 340 nm 付近での 1 分間当たりの吸光度の変化 ($\text{NADH} \rightarrow \text{NAD}^+$ への減少速度) を測定し, NADH 分子吸光係数から GOT あるいは GPT 酵素の活性値 (単位: IU/L) を算出した。

4. ホモジネートの作製法

マウスを Gal-N 処理し, その 60 分後にガラナエキス (400 mg/kg) を経口投与した。投与 6, 24 および 72 時間後にエーテル麻酔下のマウスを屠殺し, 肝臓を摘出・細断した。肝の細断片を 150 mM 塩化ナトリウム, 1.0 mM EDTA 添加 10 mM トリス塩酸緩衝液に入れ, ガラスホモジナイザーにて, 肝ホモジネートを作製した。肝ホモジネート中の蛋白質濃度はローリー法にて定量し, ホモジネート 1 ml 当たり 100 mg 以下の蛋白量に調整した。

5. 統計処理

実験結果は Mean $\pm$ SD で表し, Student の non-paired *t*-test を用い, 危険率 5 %未満で有意と判定した。

結果

1. ガラクトサミン (Gal-N) 処理マウスの GOT および GPT 酵素活性におよぼすガラナエキスの投与濃度

Gal-N 処理後, 4 時間目にガラナエキス 0.5 ml (2.5, 5.0, 10 あるいは 20 mg/マウス) を経口投与し, さらに 48 時間目にエーテル麻酔下マウスの眼球を摘出し, 血液を EDTA 添加した小試験管に採集した。この血液を遠心分離 (4°C 下, 5000 rpm, 10 分間) 後, 血清を分離 (200~300 μl) し, GOT および GPT 活性値を測定した。

表 1 に示すように, 非投与対照群の GOT (AST) 活性値は平均 92 IU/L であったが, Gal-N (12 mg/マウス; 480 mg/kg) での腹腔内接種処理によって, GOT 活性値は著しく上昇 (平均 3135 IU/L) した。この Gal-N 処理マウスに, ガラナエキス (100 mg~800 mg/kg) を経口投与した後, 48 時間目に GOT 活性値を測定したところ, 投与濃度に依存して, 活性値は低下した。ガラナエキスの 200 mg/kg 投与によって, 有意な低下が認められ ($p < 0.05$), 400 mg/kg 以上の投与で

表 1 実験的肝機能低下マウスの GOT および GPT 活性におよぼすガラナエキス投与量の影響

GOT 活性	活性値 (平均値±SD IU/L)	危険率
非投与対照群 (3 匹/群)	92± 10	
ガラクトサミン処理 (Gal-N) 単独群	3135±332	
Gal-N + ガラナエキス (100mg/kg)	2960±267	
+ ガラナエキス (200mg/kg)	2225±267	p<0.05
+ ガラナエキス (400mg/kg)	1562± 81	p<0.01
+ ガラナエキス (800mg/kg)	958± 73	p<0.01
GPT 活性	活性値 (平均値±SD IU/L)	危険率
非投与対照群	14± 5	
Gal-N 単独群	2182±191	
Gal-N + ガラナエキス (100mg/kg)	2052±140	
+ ガラナエキス (200mg/kg)	1510±205	p<0.05
+ ガラナエキス (400mg/kg)	660±101	p<0.01
+ ガラナエキス (800mg/kg)	465± 53	p<0.01

表 2 GOT および GPT 活性におよぼすガラナエキスの投与回数の影響

GOT 活性	活性値 (平均値±SD IU/L)	危険率
非投与対照群 (3 匹/群)	78± 13	
ガラクトサミン処理 (Gal-N) 単独群	3010±227	
Gal-N + ガラナエキス (200mg/kg) 1 回	2580±175	
+ ガラナエキス (200mg/kg) 2 回	1550±305	p<0.05
+ ガラナエキス (200mg/kg) 3 回	963±103	p<0.01
GPT 活性	活性値 (平均値±SD IU/L)	危険率
非投与対照群	18± 4	
Gal-N 単独群	2160±214	
Gal-N + ガラナエキス (200mg/kg) 1 回	1810±158	
+ ガラナエキス (200mg/kg) 2 回	1110±225	p<0.05
+ ガラナエキス (200mg/kg) 3 回	655±150	p<0.01

更に顕著な有意差 (p<0.01) が得られた。一方，GPT (ALT) 活性値においても GOT と同様にガラナエキスの投与量に依存して酵素活性値の減少がみられた。

2. ガラナエキスの投与回数効果

Gal-N 処理後，2 時間目毎にガラナエキス (200 mg/kg) を経口投与 (計 3 回) した後，48 時間目に上記と同様の方法で血清を分離し，GOT および GPT 活性値を測定した。表 1 で示したように，GOT および GPT 活性に対して，経口投与量に依存してガラナエキスの効果が認められたので，次に，肝機能の低下したマウスに対するガラナエキスの経口投与回数による効果に

ついて調べた。

表 2 に示すように，Gal-N 処理によって，著しく上昇した GOT および GPT 酵素活性値は投与回数 (200 mg/kg/回) に伴って減少し，2 回投与によって危険率 5 %以下 (p<0.05) の，3 回投与によって危険率 1 %以下 (p<0.01) の有意差が GOT と GPT の両者において認められた。

3. ガラナエキスの持続効果

Gal-N 処理後，4 時間目にガラナエキス (400 mg/kg) を経口投与した後，24，48 および 72 時間目に上記と同様の方法で血清を分離し，GOT と GTP 活性値を

測定した。ガラナエキスの1回投与によるGal-N処理マウスのGOTとGPT活性値の推移を調べたところ、表3に示すように両酵素活性値は共にGal-N処理単独群におけるよりも著しく低値（24～48時間後：p<0.05；72時間後：p<0.01）であり、しかも時間の経過と共に徐々に減少した。

4. ガラナエキスの肝脂肪過酸化抑制作用（抗酸化作用）

肝脂肪の過酸化は、Camposらの方法¹²⁾に準して行った。即ち、ガラナエキスの経口投与(400 mg/kg)後、6, 24 および 72 時間目の肝ホモジネート（トリス緩衝液：肝ホモジネート＝4：1；終濃度 20 mg 蛋白質/ml）にマロンデアルデヒド (MDA)・チオバピタール酸複合体を添加し、産生される MDA 濃度をイムノアッセイ自動分析機（Behring ELISA P-II型）にて

535 nM で測定し、E＝1.56×10⁵ 1000 ml/mol/cm の条件係数を用いて計測した（単位：n mol/mg 蛋白質）。尚、本法での標識物は、NAD⁺－ATP 補酵素を用い、NADPH－Fe³⁺－ADP 産生現象を利用した測定方法である。

表4に示すように、非投与対照群の正常マウス肝内におけるMDA産生量は実験期間（72時間）を通じてほぼ一定（50～68 n mole/mg 蛋白質；平均＝56.8 n mole/mg）していたが、Gal-N処理によって、4倍量以上のMDA増加がみられ、肝脂肪の酸化が著しく亢進されていることが認められた。これに対して、ガラナエキスを経口投与することによって、MDA量の産生は時間と共に軽減され、投与24時間後では危険率1%以下の、また72時間後では危険率0.1%以下の著しい有意性がみられた。

表 3 GOT および GPT 活性におよぼすガラナエキスの持続効果

GOT 活性	ガラナエキス経口投与後			
	0	24	48	72 時間目
非投与対照群（3 匹/群）	89±11 (IU/L)			
ガラクトサミン処理 (Gal-N) 単独群		2917±283	2480±198	2150±165 (IU/L)
Gal-N+ガラナエキス (400mg/kg)		1980±408	1762±245	1165±170
(危険率)		(p<0.05)	(p<0.05)	(p<0.01)

GPT 活性	ガラナエキス経口投与後			
	0	24	48	72 時間目
非投与対照群（3 匹/群）	19±6 (IU/L)			
ガラクトサミン処理 (Gal-N) 単独群		2155±250	1942±293	1765±191 (IU/L)
Gal-N+ガラナエキス (400mg/kg)		1315±233	1170±185	875± 40
(危険率)		(p<0.05)	(p<0.05)	(p<0.01)

表 4 ガラナエキスの抑制持続効果に対する肝脂肪過酸化

	ガラナエキス経口投与後の産生マロンデアルデヒド量			
	0	6	24	72 時間目
	(平均値±SD nmol/mg 蛋白質)			
非投与対照群（3 匹/群）	50±8	68±14	53±12	56±16
ガラクトサミン処理 (Gal-N) 単独群		225±23	274±23	192±18
Gal-N+ガラナエキス (400mg/kg)		116±32	101±18	75±12
(危険率)			(p<0.01)	(p<0.01)

5. ガラナエキスの肝機能低下マウス肝内における活性酸素除去作用（フリーラジカル・スカベンジャー）

活性酸素(フリーラジカル酸素)の測定法は、Videlaらの方法¹³⁾ に準じて行った。即ち、ガラナエキスの経口投与(400 mg/kg)後、6 時間目の肝ホモジネート(トリス緩衝液：肝ホモジネート=200：1；終濃度 0.5 mg 蛋白質/ml) をバイアル瓶 (13×30 mm) に採取し、肝ホモジネート中に発生するケミルミニセンス(化学的発光量)を液体シンチレーション測定装置(Beckmann LS-3150 P 型)にて、1 分間当たりの発光数値(単位：cpm/mg 蛋白質)を測定した。尚、本法での化学発光標識物には、イソルミノール誘導体のひとつである N-(4-アミノブチル)-N-エチルイソルミノールを用いた。表 5 に示した通り、活性酸素量は、正常閾値(1280 cpm/mg 蛋白質)にまで低下した(p<0.01)。

考察

ガラナは従来人々の間では精神的疲労の回復，胃腸障害の緩和，心臓循環器障害の緩和等の効能を謳うものが多々あるが，その殆どが継承的なものであり薬理学的，生理学的作用に関する学術研究報告が極めて少数である。そこで，我々は薬理学的あるいは生理学的作用の研究を行ったが，第一に重要なことは，ガラナ果実からの有効組成成分の抽出法である。その抽出法は，大別すると(1)エタノールを主にした有機溶媒剤を使用する方法と(2)水に塩類を加えた高温水溶液を使用する方法であり，両者いずれかの抽出法で得られたガラナエキスをを用いての研究が大半を占めている¹⁴⁻¹⁷⁾。

しかしながら，上記両法による抽出方法には長所と短所がある。1) アルコール (60～50%) 抽出法での最大の長所は，有機化学分子構造から成る親油性 (疎水性) 組成物に複雑な操作を加えることなく，容易に抽出し，且つ効率よく抽出・分画できることであるが，一方，短所としてはエキスの溶媒体がアルコールであるために①非抽出性 (親水性) 残渣物が多いために，本法による収率が極めて低値 (30～50%) であること②生体にとって有益なガラナ果実由来デンプン質などが，アルコールによって，変性物質となり易いこと③ガラナ果実に含まれる親水性組成成分が，容易に抽出されにくいことである。これに対して 2) 水溶液 (温水) 抽出法の最大の長所はアルコール抽出法と異なり，ガラナ組成物成分にとって極めて温和な方法であり，しかも高度の技術が不要で容易に操作できることであるが，一方，短所としてはエキスの溶媒体に水溶液を使用するために①有機化学分子構造を有する疎水性組成物成分の抽出が不可能であること②組成成分の収率がアルコール抽出法と同様に極めて低値 (25～35%) であること③本抽出法では，親水性の低分子成分であるカテキン，カフェイン (グアラニン) やタンニン酸 (ポリフェノール) 等しか抽出されないのので，一般的に有効とされている植物由来のフラボン系やテルペン系等の複雑な複素環構造を有する成分の抽出は殆ど不可能である。そこで，今回我々の研究では，各種の糖分解酵素 (アミラーゼ，グルコシターゼ，セルラーゼ) を組み合わせた酵素法による抽出方法により，アルコール抽出方法と水溶液抽出方法の両方が有する長所を取り入れることにより，100 g ガラナ果実粉末から 60～70%の回収率を得た。本法では，上記 2 法 (アルコール抽出法収率：30～50%，高温水抽出法収率：

表 5 ガラナエキスの実験的肝機能低下マウスに対する肝内活性酸素（フリーラジカル酸素）除去効果

	活性酸素量 (cpm/mg蛋白質) (平均値±SD)	危険率
非投与対照群 (3 匹/群)	1178±202	
ガラクトサミン処理 (Gal-N) 単独群	2675±370	
Gal-N+ガラナエキス (400mg/kg)	1280±273	p<0.01

25～35%) に比べ薬理学的、生理学的に有効な成分を高収率で回収できるということが明らかとなった。これにより、加水分解酵素を用いての抽出法が今まで未回収であった様々な機能性食品の繊維質やデンプン等を効率よく分解し有効成分を高い回収率で回収できるであろうことが示唆された。

次に、上記で得られたガラナエキスを使用し、*in vivo* における実験的肝臓機能低下あるいは傷害マウスに対して経口的に摂取させた場合における肝機能緩解・回復効果を検討した。

Gal-N (12 mg/マウス；480 mg/kg) での腹腔内接種処理によって、GOT・GTP 活性値は著しく上昇させた Gal-N マウスが、ガラナエキスの投与により正常の酵素活性閾値まで近づく傾向を示したことから、ガラナエキスには低下した肝機能を緩解・回復させる組成物成分が含まれていることが示唆された。他方、興味があることに、Gal-N 処理によって、GOT 活性値は正常値の約 34 倍上昇したのに対して、GPT 活性値は 14 IU/L から 2182 IU/L まで上昇し、約 156 倍まで著しく上昇したことから、Gal-N は GOT に対するよりも GPT に対して、より強肝臓を傷害することも示唆された。

また、表 2, 3 の結果から投与回数に依存してガラナエキスの効果は増幅されることが明らかになったほか、ガラナエキス一回のみの経口投与によっても、低下した肝機能に対するガラナエキスの緩解・回復効果が体内でかなりの間、持続することが明らかとなった。

ところで、GPT (ALT) は GOT (AST) に比べて、正常な肝細胞に限局しており、しかも肝細胞の細胞質由来の GPT 活性値は GOT 活性値よりも高いことが知られており、ヒトが急性肝炎に罹った場合には、GPT 活性値の方が GOT のそれよりも急激に上昇することから、Gal-N 処理による影響は、GOT よりも GPT に対して著しかったことから、Gal-N 処理によって、ヒトにみられる急性肝炎と類似の肝機能障害が誘発されたものと考えられ、表 3 の結果からガラナエキスはヒトの急性肝炎に対して極めて有効であろうことが強く示唆された¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾。更に、Gal-N 処理によっ

て、4 倍量以上の MDA 増加が、表 4 よりガラナエキスを経口投与することによって、MDA 量の産生が時間の経過と共に軽減されたことから、肝機能の低下によって生じ易くなる脂肪（特に、中性脂肪、脂肪酸）の酸化や過酸化に対して、ガラナエキスは抑制的に作用することが示された。一方、ヒトの肝機能低下あるいは肝障害における肝内での過酸化脂肪の生成・蓄積は、肝癌発症の重要な要素であることから、ガラナエキスには発癌予防効果をも有するであろうことが十分考えられる。

また、表 5 の結果より Gal-N 処理によって損傷を受けたあるいは破壊された肝細胞や肝由来細胞を対外へ排除するために、クッパー細胞内に存在する活性酸素による細胞傷害作用システム²¹⁾²²⁾ が異常に亢進し、その結果、クッパー細胞からの活性酸素が多量に産生されたことに起因していることが立証された。このようなマウスにガラナエキスを経口投与することによって、活性酸素量は正常閾値 (1280 cpm/mg 蛋白質) にまで低下した。即ち、肝細胞等の損傷や障害も著しく軽減されたことが示されたことから、ガラナエキスにも、脂溶性ビタミン類、セルロプラスミンあるいはスーパーオキシド・デスムターゼ (SOD) 等と同様に強い活性酸素を消去する作用²³⁾²⁴⁾ を有することが示唆された。

以上の結果を総括すると、本実験で用いたブラジル産ガラナの果実中に含まれる組成成分を複数の糖加水分解酵素の性質を利用した酵素法による生化学的、抽出、濃縮操作課程を経て得られたガラナ果実由来抽出・濃縮液（ガラナエキス）中に多量に含まれるカテキン類、ポリフェノール類、カフェイン類には、Gal-N 処理後に急性肝炎様傷害を起こしたマウスの肝臓に対して肝由来脂質の過酸化阻止（抗酸化）作用および、フリーラジカル・スカベンジャーとしての機能を有する有効成分も含まれているであろうことが強く示唆された。

文献

- 1) Henman, A. R.: Guarana (*Paullinia cupana*

- var. sorbilis*) Ecological and social perspectives on an economic plant of the central Amazon basin. *J Ethnopharmacol.* **6**, 311-38 (1982).
- 2) Galduroz, J. C., Carlini, Ede. A.: Acute effects of the *Paulinia cupana*, "Guarana" on the cognition of normal volunteers. *Rev Paul Med* **112**, 607-11 (1994).
 - 3) Galduroz, J. C., Carlini, E. A.: The effects of long-term administration of guarana on the cognition of normal, elderly volunteers. *Rev Paul Med* **114**, 1073-8 (1996).
 - 4) Carlson, M., Tompson, R. D.: Liquid chromatographic determination of methylxanthines and catechins in herbal preparations containing guarana. *J AOAC int.* **81**, 691-701 (1998).
 - 5) Benoni, H., Dallakin P., Taraz, T.: Studies on the essential oil from guarana. *Z Lebensm Unters Forsch* **203**, 95-8 (1996).
 - 6) Salvadori, MC., Rieser, EM., Ribeiro, Neto, L. M., Nascimento, E. S.: Determination of xanthines by high-performance liquid chromatography and thin-layer chromatography in horse urine after ingestion of Guarana powder. *Analysis* **119**, 2701-3 (1994).
 - 7) Bempong, D. K., Houghton, P. J.: Dissolution and absorption of caffeine from guarana. *J Pharm Pharmacol* **44**, 769-71 (1992).
 - 8) Miura, T., Tatara, M., Nakamura, K., Suzuki, I.: Effect of guarana on exercise in normal and epinephrine-induced glycogenolytic mice. *Biol Pharm Bull* **21**, 646-8 (1998).
 - 9) Espinola, E. B., Dias, R. F., Mattei, R., Carlini, E. A.: Pharmacological activity of Guarana (*Paullinia cupana* Mart.) in laboratory animals. *J Ethnopharmacol* **55**, 223-9 (1997).
 - 10) Mattei, R., Dias, RF., Espinola, E. B., Carlini, E. A., Barros, S. B.: Guarana (*Paullinia cupana*): Toxic behavioral effects in laboratory animals and antioxidants activity in vitro. *J Ethnopharmacol* **60**, 111-6 (1998).
 - 11) Conti, M., Malan, Drino, S., Mgistetti, M. J.: Protective activity of silipide on liver damage in rodents. *Jpn J Pharmacol* **60**, 315-21 (1992).
 - 12) Campos, R., Garrido, A., Guerra, R., Valenzuela, A.: Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. *Planta Med* **55**, 417-9 (1989).
 - 13) Valenzuela, A., Lagos, C., Schmidt, K., Videla, L. A.: Silymarin protection against hepatic lipid peroxidation induced by acute ethanol intoxication in the rat. *Biochem Pharmacol* **34**, 2209-12 (1985).
 - 14) 中村和光, 三浦俊宏, 鈴木郁功, 他: ブラジル産 Guarana 水抽出の滋養強壮作用. 和漢医薬学雑誌 **15**, 356-357 (1999).
 - 15) Santa, Maria, A., Lopez, A., Diaz, MM., Munoz-Mingarro, D., Pozuelo, J. M.: Evaluation of the toxicity of guarana with in vitro bioassays. *Ecotoxicol Environ Saf* **39**, 164-7 (1998).
 - 16) Bydlowski, S. P., Yunkre, R. S., Subbiah, M. T.: A novel property of an aqueous guarana extract (*Paullinia cupana*): inhibition of platelet aggregation in vitro and in vivo. *Braz J Med Biol Res* **21**, 535-538 (1988).
 - 17) Bydlowski, S. P., D'Amico E. A., Chamone, D. A.: An aqueous extract of guarana (*Paullinia cupana*) decreases platelet thromboxane synthesis. *Braz J Med Biol Res* **24**, 421-424 (1991).
 - 18) 伊藤均, 伊藤浩子: ガラクトサミン負荷によるラットの肝障害に対するヒメマツタケ(岩出 101 株)細胞壁破砕抽出エキス (CWC-ABWE) の効果. 医学と生物学 **142**, 61-66 (2001).
 - 19) 久保恵子, 難波宏彰: 実験的自己免疫性肝炎マウスにおけるマイタケの細胞性免疫応答に関する研究. *Mycoscience* **39**, 351-360 (1998).

- 20) Matsuda, H., Ninomiya, K., Morikawa, T., Yoshikawa, M.: Inhibitory effect and action mechanism of sesquiterpenes from *Zedoariae Rhizoma* on D-garactsamine/lipopolysaccharide-induced liver injury. *Bioorg Med Chem Lett* **17**, 339-44 (1998).
- 21) 岡村幸重, 横山祐一, 水上健, 他: 【アルコール性臓器障害の基礎と臨床】微小循環 クッパー細胞から肝類洞に放出される活性酸素の産生機序の検討. *アルコールと医学生物学* **18**, 70-74 (1998).
- 22) 真田宏夫, 横山麗子, ChenHui Chen, 江頭祐嘉合: L-グルタミンのD-ガラクトサミン肝障害発症抑制作用と免疫系. *必須アミノ酸研究* **160**, 21-25 (2001).
- 23) 池田幸穂, 松本清, 佐藤和恵, 他: 新規水溶性 vitamin E 誘導体の活性酸素消去能. *磁気共鳴と医学* **12**, 103-106 (2001).
- 24) Gyamfi, M. A., Yonamine, M., Aniya, Y.: Free-radical scavenging action of medicinal herb from Ghana *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. *Gen pharmacol* **32**, 661-7 (1999).

Suppressive effects of guarana extract on the peroxidation of hepatic fat and production of free radicals in dysfunctioned murine livers induced by N-acetyl galactosamine

Makoto OHTSUKI¹⁾, Ikukatsu SUZUKI¹⁾, Keiko MATOZAKI²⁾,
Takashi WATANABE²⁾, Yukio YANAGIMOTO²⁾

¹⁾Department of Clinical Nutrition, Faculty of Health Science, Suzuka University of Medical Science.

²⁾Center of Health Control, Department of Health Science, Shitennoji International Buddhist University.

Key Words: Guarana, Oral administration, N-acetyl galactosamine, malondealdehyde

Abstract

This study focused on the restorative and improvable actions of the extract from Brazilian Guarana (*Paullinia cupana*) treated with glycohydrolized enzymes against the hepatic functions of dysfunctioned livers induced by the treatment with N-acetyl galactosamine (Gal-N) in 5-week-old female ddY mice.

The values of GOT and GPT activities in serum were markedly increased by the treatment with Gal-N. In contrast, these enzyme activities were significantly reduced depending on the concentration of the guarana extract administered orally (>200 mg/kg).

The amount of malondealdehyde (MDA) in the liver homogenate from the Gal-N treated group was 4-fold or more, as compared with that of untreated control group. However, the amount of MDA in the experimental group was markedly decreased by the oral administration of Guarana extract (400 mg/kg), that is, the peroxidation of the hepatic fat was strongly suppressed by this agent. On the other hand, the values of free radicals in liver homogenate which had been elevated by the treatment with Gal-N were decreased gradually, and thereafter reached at the normal level by the oral administration of the guarana extract.

These results suggest the possibility that the guarana extract may indicate the fatty oxidation-inhibitory action and the free radical scavenging action against the dysfunctioned livers in mice.