

黄連解毒湯およびその構成生薬の心・血管系に対する作用： ほてり・顔面紅潮に対する有効性の検討

脇田 広美,^{*a)} 宮本 謙一^{b)}

^{a)}(株) ツムラ・開発本部

^{b)}金沢大学医学部附属病院・薬剤部

Effects of Oren-gedoku-to and its constituents on the cardiovascular system : Investigation of its efficacy in hotflush

Hiromi WAKITA,^{*a)} Ken-ichi MIYAMOTO^{b)}

^{a)}Development Division, Tsumura & Co., 12-7, Nibancho, Chiyoda-ku, Tokyo 102-8422, Japan.

^{b)}Department of Hospital Pharmacy, Kanazawa University School of Medicine, 13-1, Takara-machi, Kanazawa 920-8641, Japan.

(Received October 29, 2002. Accepted November 29, 2002.)

Abstract

The auricular blood flow in intact rats decreased maximally at 15min after administration of Oren-gedoku-to extract (1.0g/kg, intraduodenal (i.d.)), although the heart rates and the blood pressure scarcely changed. In rats pretreated intravenously with theophylline (5mg/kg), the auricular blood flow also decreased similarly after its administration, while the heart rate and the blood pressure decreased. The extract (0.35g/kg, i.d.) of *Scutellariae Radix* which is the main constituent of Oren-gedoku-to decreased the auricular blood flow, the heart rate, and the blood pressure. On the other hand, In rats pretreated with reserpine (5mg/kg, i.v.) 24hrs before the administration, the blood flow, heart rate and blood pressure were not hardly affected after administration of both Oren-gedoku-to and *Scutellariae Radix*. In the isolated right and left atria, and papillary muscle of rats, the frequency and the strength of contraction was not influenced with Oren-gedoku-to extract and its constituent plant extracts. In the isolated Langendorff's heart of rats, the left ventricular systolic maximum pressure and heart rate were not influenced with Oren-gedoku-to, although the coronary flow was slightly increased. The above results suggest that Oren-gedoku-to is useful in hotflush, because of its decreasing effects on auricular blood flow without cardiac function, and among the constituent plants of Oren-gedoku-to, *Scutellariae Radix* plays a main part.

Key words Oren-gedoku-to, *Scutellariae Radix*, hotflush, auricular blood flow, blood pressure, cardiac function.

緒 言

黄連解毒湯 (Oren-gedoku-to) は、中国・唐代の古典医学書である『外台秘要』を出典とする漢方薬で、オウゴン (*Scutellariae Radix*)、オウレン (*Coptidis Rhizoma*)、サンシシ (*Gardeniae Fructus*) およびオウバク (*Phellodendri Cortex*) の4種類の生薬からなるとされる。今日では、それらの構成生薬を3:2:2:1.5の割合で混合し、熱水抽出したエキス製剤が広く一般

に用いられるようになっている。効能については、漢方医学的には、「熱性病の『実熱』の治療に使用し、全身の熱を取り除く効果がある」とされており、臨床的には古くから「顔面紅潮、ほてり感、頭痛、興奮、不安焦燥」などの治療に用いられてきた。今日では、高血圧患者の動悸、興奮、のぼせ、顔面紅潮、神経症等に用いられている¹⁾が、その作用機序は不明である。われわれは、黄連解毒湯の「効能」のなかで、特に、ほてり・顔面紅潮に注目し、それに対する作用機序を解明することを目的として、黄連解毒湯およびその構成生薬の心血管系に

*To whom correspondence should be addressed. e-mail: wakita_hiromi@mail.tsumura.co.jp

対する影響を次の4点について検討した。1) ラットの血圧, 心拍数, 耳介血流量への影響, 2) 摘出心臓の収縮および冠状動脈血流量への影響, 3) 血管平滑筋の収縮への影響⁴⁾さらにはほてり, 顔面紅潮を交感神経系の亢進による可能性と考え, theophylline あるいは reserpine 前処置ラットへの影響, を検討した。

材料と方法

(1) 実験動物と標本の摘出

Wistar 系雄ラット (日本 SLC, 浜松) を用いた (*in vivo* 実験では, 体重 200~300g, *in vitro* 実験では体重 300~400g)。室温 25±1℃, 湿度 55%±5% にて一週間予備飼育の後, 実験に供した。なお, 冠状動脈灌流量・左心室収縮期圧の測定実験のみ Sprague-Dawley 系雄ラット (300~350g) を用いた。摘出標本 (心臓および胸部大動脈) は, pentobarbital sodium (50mg/kg, i.p.) 麻酔下に放血致死させ, 速やかに摘出した。

(2) 使用薬物

黄連解毒湯 (オウゴン: オウレン: サンシシ: オウバク=3:2:2:1.5) およびその構成生薬であるオウゴン, オウレン, オウバク, サンシシそれぞれの熱水抽出エキス (いずれも株式会社ツムラ製), オウゴンの含有成分である baicalin, baicalein, wogonin, サンシシの含有成分である geniposide, オウレンの含有成分である ferulic acid, オウレンおよびオウバクの含有成分である berberine, palmatine, それ以外に theophylline, pentobarbital sodium, acetylcholine (以上, 和光純薬), reserpine (第一製薬), phenylephrine (東京化成工業) を用いた。

黄連解毒湯 (ヒト常用量 1.5g/day) および構成生薬エキスは, *in vivo* 実験においては 0.5% carboxymethyl cellulose 溶液に溶解または懸濁し, *in vitro* 実験において, baicalin, baicalein, wogonin 以外は蒸留水に溶解した。Baicalin, baicalein, wogonin は, DMSO に溶解し, 100 倍以上に希釈して用いた。Theophylline は, 生理食塩液で溶解した。

(3) 測定方法および薬物の投与方法

a) 血圧, 心拍数および耳介血流量の測定: 18~24 時間絶食したラットを urethane (800mg/kg, i.p.) および α -chloralose (800mg/kg, i.p.) で麻酔し, 保温マット (37℃) に固定した。血圧は, 左総頸動脈より挿入したカニューレより圧トランスデューサー (MP 5200, Baxter) を介して平均血圧を測定した。心拍数は脈圧により心拍数計 (AT601G, NihonKohden) を介して観血的に測定した。また, 耳介血流量はラット耳背面に固定したプローブを半導体レーザー式組織血流計 (LBF-221,

Biomedical Science) に接続し, レーザー・ドップラー法により測定した。これら血圧, 心拍数, 血流をポリグラフ (Linearcorder CR 3310, Graphtec) 上に記録した。黄連解毒湯および構成生薬エキスは, 胃幽門部より挿入・固定したカニューレより十二指腸内に直接投与した。モデル動物の作成には theophylline (5mg/kg) を頸静脈に挿入したカニューレより投与し, 15 分後に被験物質を十二指腸内に投与した。また, reserpine (5mg/kg) は 24 時間前に腹腔内に投与した。

b) 摘出右心房の自発収縮頻度の測定: 摘出した右心房を, 混合ガス (95%O₂, 5%CO₂) で飽和した 25℃ の Krebs-Henseleit 液 (NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 2.55, MgSO₄ 1.18, NaHCO₃ 24.88, KH₂PO₄ 1.18, glucose 11.1 mM, pH 7.4) の入った organ bath 内に 0.5 g の負荷をかけて懸垂した。右心房の自発収縮運動は, 等尺性トランスデューサー (UL-10GR, Shimadzu) を介して張力を, 心拍数計 (AT601G, NihonKohden) を介して律動数を, それぞれポリグラフ (WR3701, Graphtec) 上に記録した。右心房自発的収縮頻度および張力が安定したところで被験薬を累積的に適用した。

c) 摘出左心房および摘出右心室乳頭筋の収縮力測定:

摘出右心房標本と同様の混合ガス飽和 Krebs-Henseleit 液中で左心房標本および右心室乳頭筋標本を作製した。標本の一端を双極白金電極に固定し, 混合ガス飽和 Krebs-Henseleit 液 (30℃) の入った organ bath に入れ, 他端を等尺性トランスデューサー (T7-30-240, Orientec JAPAN) に装着し, 0.5 g の静止張力をかけた。標本を電気刺激装置 (SEN-7203, NihonKohden) で矩形波 (1Hz, 1msec, 閾値の 1.5 倍の電圧) により経壁刺激した。発生した張力は, トランスデューサーから増幅器 (AP-621G, NihonKohden) を介してポリグラフ (SR6211, Graphtec) 上に記録した。左心房標本では約 1 時間後, 乳頭筋標本では約 2 時間後, 発生収縮力が安定したところで被験薬を累積的に適用した。

d) 冠状動脈灌流量および左心室収縮期圧の測定: 摘出した心臓を, あらかじめ冷却しておいた Krebs-Henseleit 液に移し, 心臓の拍動を停止させた。大動脈にカニューレを挿入し, 一定圧 (80 cmH₂O) で Langendorff 法²⁾により心臓を灌流した。灌流液は混合ガス飽和 Krebs-Henseleit 液とし, 32℃ に維持した。電磁血流計で灌流液の大動脈灌流量を測定し, 冠状動脈灌流量とした。左心室収縮期圧は, 先端にバルーンの付いたカニューレを左心室内に挿入して測定した。心拍数は, 左心室内圧波をトリガーとして測定した。灌流開始から各パラメータが安定した後, 被験薬を大動脈に挿入したカニューレ中に注入した。

e) 血管平滑筋(摘出胸部大動脈標本)の張力測定: 大動脈弓から横隔膜接点までの大動脈を摘出し, 結合組織と脂肪を除去した後, らせん標本(幅約2mm, 長さ約20mm)とした。血管内皮は, ろ紙を2~3回押し当てることで除去した。混合ガス飽和 Krebs-Henseleit 液 (37℃) の入った organ bath 内に1gの負荷をかけて懸垂し, その張力の変化を等尺性トランスデューサー (T7-30-240, OrientecJAPAN) を介して記録計 (MC6621, Graphtec) 上に記録した。標本の張力が安定したのち, phenylephrine (1 μ M) 収縮が acetylcholine (10⁻⁷M) により弛緩しないことにより血管内皮が除去されていることを確認した。その後, phenylephrine により最大収縮の得られる1 μ M による一定の収縮張力を確認した後, 被検薬を累積的に適用した。

(4) 統計解析

測定結果は平均 $\pm$ 標準誤差で表した。また, F 検定の後, $p \geq 0.05$ の場合は Student's t-検定法により, $p < 0.05$ の場合は Aspin-Welch's t-検定法により, $p < 0.05$ を有意とした。

結 果

1. 平均血圧・心拍数・耳介血流量に及ぼす影響 (Fig. 1)

a. 無処置ラット

無処置ラットの血圧は 86 ± 2.9 mmHg, 心拍数は 348 ± 13 beats/min であった。黄連解毒湯の十二指腸内投与量は1.0g/kg, また, 各生薬の投与量はその構成比から, オウゴン0.35g/kg, オウレン0.25g/kg, サンシシ0.25g/kg, オウバク0.18g/kgとした。

血圧に対しては, 黄連解毒湯は, 投与60分後のみ有意に上昇させた。構成生薬では, オウゴンは, 投与後速やかに血圧を低下させ, 15分後では有意な下降がみられたが, 投与60分後には対照群と差はなかった。また, サンシシは最初血圧下降傾向を示し60分後には上昇傾向が見られたが, いずれも有意ではなかった。オウレン, オウバクは血圧に影響を示さなかった。

心拍数に対しては, 黄連解毒湯およびいずれの構成生薬も有意な変化を生じさせなかった。

耳介血流量に対しては, 黄連解毒湯は投与後速やかに有意に減少させ, 15分後には最大に達した。その後, 徐々に回復し, 60分後には, 投与前のレベルに回復した。構成生薬では, オウゴンのみ投与後速やかに耳介血流量が有意に減少し, 15分後に最大に達し, 60分後には投与前の約80%まで回復し, その経過は黄連解毒湯と同等であった。

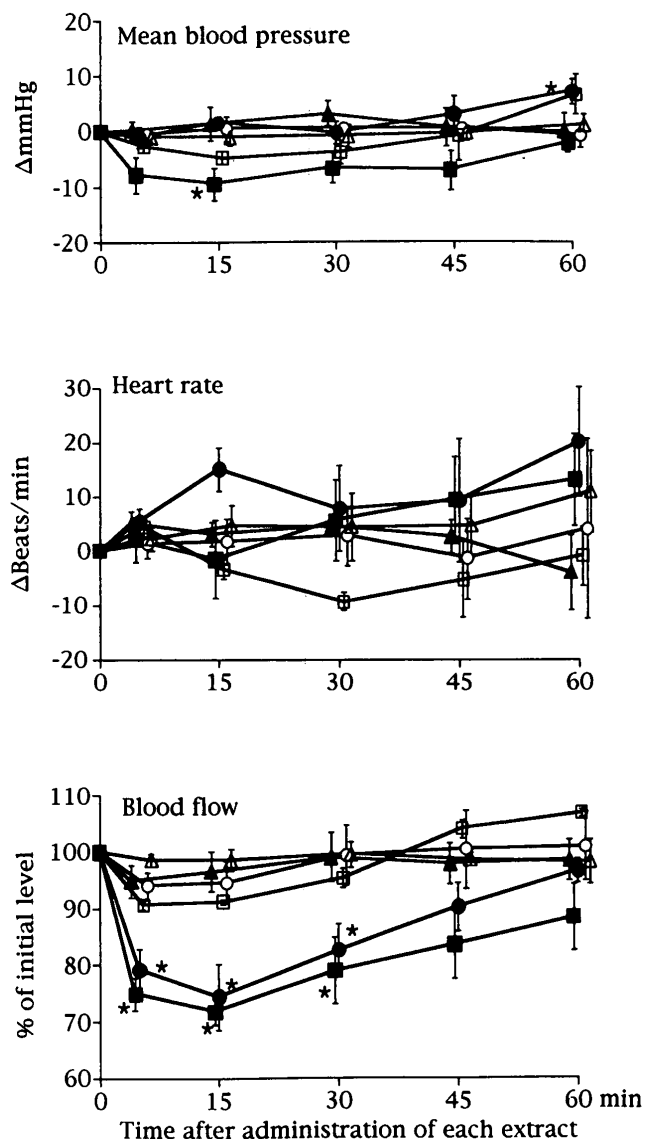


Fig. 1 Effects of Oren-gedoku-to and its constituents on the blood pressure, heart rates and auricular blood flow in rats. Oren-gedoku-to (closed circle; 1.0g/kg, n=5), Scutellariae Radix (closed square; 0.35g/kg, n=5), Gardeniae Fructus (open square; 0.25g/kg, n=3), Coptidis Rhizoma (closed triangle; 0.25g/kg, n=5), Phellodendri Cortex (open triangle; 0.18g/kg, n=5) and vehicle (0.5% carboxymethyl cellulose solution, open circle; n=4). Data are means $\pm$ S.E. of change after an extract application. *Significantly different from the vehicle control ($p < 0.05$).

b. Theophylline 投与ラット (Fig. 2)

Theophylline 投与 (5mg/kg, i.v.) により, ラットの血圧, 心拍数, 耳介血流量はともに速やかに上昇し, 投与後 15分には血圧 ($\Delta 21.1 \pm 2.9$ mmHg, n=18), 心拍数 ($\Delta 68.7 \pm 24.8$ beats/min, n=18), 耳介血流量 ($\Delta 30.3 \pm 6.1\%$, n=18) はほぼ安定し, この上昇したレベルは少なくとも60分間はほぼ安定に維持された。そこで, 単独で, 測定項目に影響を示した黄連解毒湯 (1.0g/kg), オウゴン (0.35g/kg), サンシシ (0.25g/kg) を theophylline 投与15分後に十二指腸内投与し, その作用を検討した。

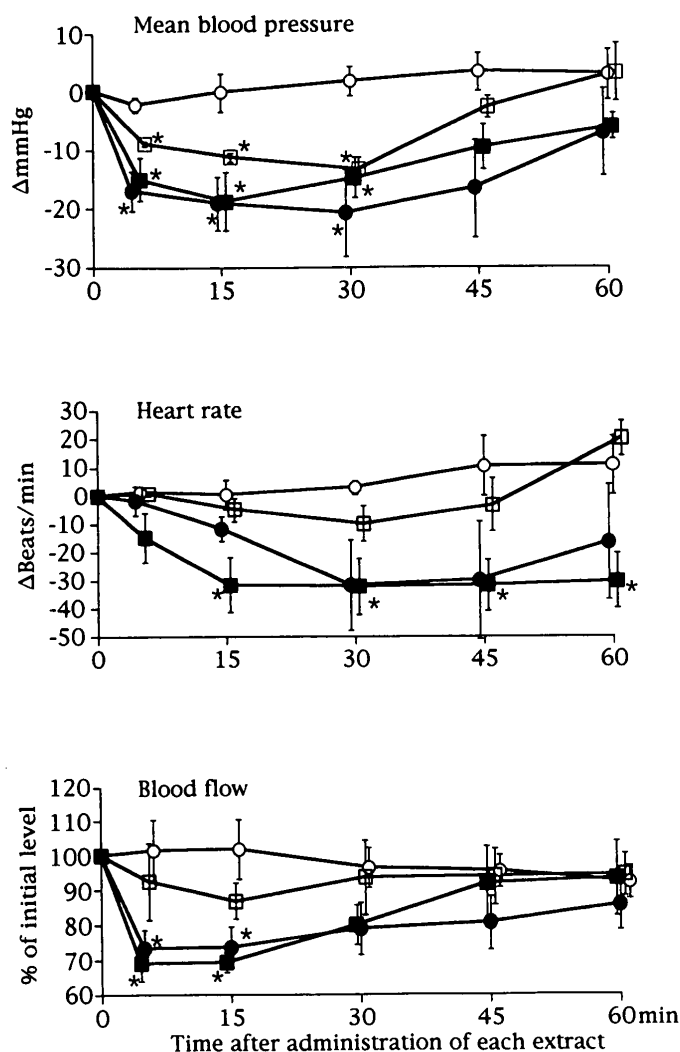


Fig. 2 Effects of Oren-gedoku-to, Scutellariae Radix and Gardeniae Fructus on the blood pressure, heart rates and auricular blood flow in rats 15min. after an i.v. injection of theophylline (5mg/kg). Oren-gedoku-to (closed circle; 1.0g/kg, n=5), Scutellariae Radix (closed square; 0.35g/kg, n=5), Gardeniae Fructus (open square; 0.25g/kg, n=3) and vehicle (open circle; n=4). Data are means $\pm$ S.E. of change after an extract application. *Significantly different from the vehicle control ($p < 0.05$).

血圧に対しては、黄連解毒湯は投与後速やかに低下させ、30分後に最大となり、その後、徐々に回復した。黄連解毒湯と比較するとオウゴンも同様の、およびサンシシは若干弱いが黄連解毒湯と同様の作用を示した。

心拍数に対しては、黄連解毒湯投与後減少傾向を示し、30分後に最大となったが有意ではなかった。オウゴン投与後も減少し、15分後に最大に達し、60分後まで作用が持続した。また、サンシシは最初減少傾向をみせたのち、投与60分後には増加傾向が見られたが、有意ではなかった。

耳介血流量に対しては、黄連解毒湯は投与後速やかに耳介血流量を低下させ、5分後に有意に最大に達し、その後徐々に回復したが、60分後は85.7%までの回復であっ

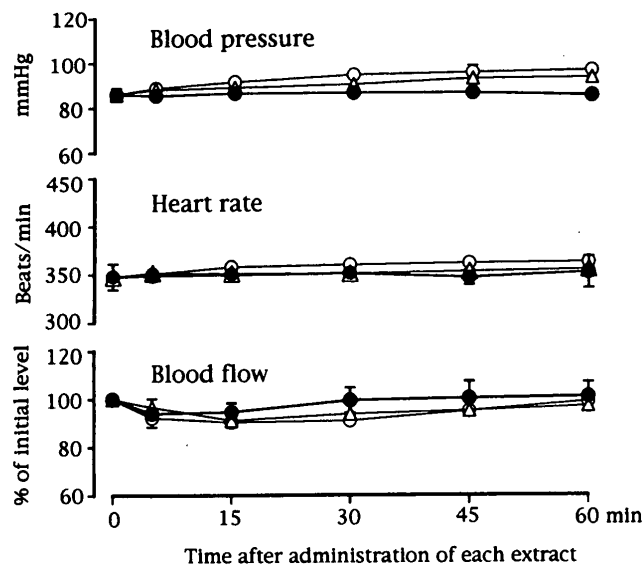


Fig. 3 Effects of Oren-gedoku-to and Scutellariae Radix on the blood pressure, heart rate and auricular blood flow in rats pretreated with reserpine. Rats were pretreated with reserpine (5mg/kg i.p.) a day before the experiment. Oren-gedoku-to (open circle; 1.0g/kg), Scutellariae Radix (open triangle; 0.35g/kg) and vehicle (closed circle). Data are means $\pm$ S.E. (n=5)

た。オウゴンも黄連解毒湯と同様の作用を示した。また、サンシシは最初、若干の血圧下降傾向をみせたのちに回復したが、有意ではなかった。

c. Reserpine 投与ラット (Fig. 3)

Reserpine 投与 (5mg/kgを実験24時間前に腹腔内処置) によっては、ラットの血圧はほとんど影響を受けなかった ($\Delta 2 \pm 1.2$ mmHg)。一方、心拍数は有意に低下した ($\Delta 38 \pm 8$ beats/min)。耳介血流量は処置前と比べて変化がなかった。

この reserpine 投与ラットにおいて、黄連解毒湯は、血圧に若干の上昇傾向を示したが、心拍数、耳介血流量にはほとんど影響を与えなかった。一方、オウゴンも、血圧、心拍数、耳介血流量のいずれにもほとんど影響を与えなかった。サンシシもまた、これらの循環動態には何ら影響を及ぼさなかった (データは示さない)。

2. 摘出心の筋収縮頻度および収縮力に及ぼす影響 (Table I)

黄連解毒湯 (1~100 μ g/ml) および構成生薬のオウゴン、サンシシ (1~100 μ g/ml) は、右心房自発収縮頻度、左心房および右心室乳頭筋収縮力のいずれもほとんど変化させなかった。

3. 摘出心の冠灌流量、左心室収縮期圧および心拍数に及ぼす影響

摘出心臓標本は灌流開始から約7時間まで安定した状態が続いた (冠灌流量 13 ± 1 ml/min, 左心室収縮期圧 98 ± 18 mmHg, 心拍数 184 ± 11 beats/min)。

黄連解毒湯 (1mg) は冠灌流量を若干増加させた (変化

Table I Influences of Oren-gedoku-to and its constituents on rat right atrium, left atrium and papillary muscle. Data are means $\pm$ S.E. (n=5) (% of untreated control)

Right atrium: chronotropic action

$\mu\text{g/ml}$	1	10	100
	% of untreated control		
Oren-gedoku-to	100	99.8	100
Scutellariae Radix	100	100.6	106
Gardeniae Fructus	100	99.1	98.1

Left atrium: inotropic action

$\mu\text{g/ml}$	1	10	100
	% of untreated control		
Oren-gedoku-to	100	101	102.2
Scutellariae Radix	100	99.9	108.8
Gardeniae Fructus	100	100	99.4

Papillary muscle: inotropic action

$\mu\text{g/ml}$	1	10	100
	% of untreated control		
Oren-gedoku-to	100	101	100.9
Scutellariae Radix	100	100	99.2
Gardeniae Fructus	100	100	100

率として9%)のもの、左心室収縮期圧および心拍数に有意な影響を示さなかった。

4. 血管平滑筋に及ぼす影響

a. 血管張力に及ぼす影響 (Fig. 4)

黄連解毒湯は、濃度依存的に血管を収縮させ、100 $\mu\text{g/ml}$ では phenylephrine による最大収縮の約30%の収縮を示した。構成生薬では、オウゴンのみ、濃度依存的に血管を収縮させ、100 $\mu\text{g/ml}$ では、phenylephrine による最大収縮の約70%の収縮を引き起こした。

次に、オウゴン中の作用本体を検討するため、その主要含有成分である baicalin について検討したところ、オウゴンと同様に濃度依存的に血管を収縮させ、10 $\mu\text{g/ml}$ で phenylephrine の最大収縮の約60%の収縮を示した。また、baicalin の aglycone である baicalein も血管収縮作用を示したが、その作用は、baicalin に比して弱かった。一方、wogonin は血管平滑筋の自然張力にはほとんど影響を示さなかった。

b. Phenylephrine による収縮血管に及ぼす影響 (Fig. 5)

Phenylephrine 0.3 μM は、最大収縮の約80%を起こす濃度であるが、これによる血管収縮が安定したところで、黄連解毒湯およびその構成生薬を累積的に投与した。黄連解毒湯は、phenylephrine 収縮血管を濃度依存的に弛緩し、100 $\mu\text{g/ml}$ では約80%の弛緩を示した。構成生薬では、オウレン、オウバクが、ともに phenylephrine 収縮血管を用量依存的に弛緩し、その抑制作用は黄連解

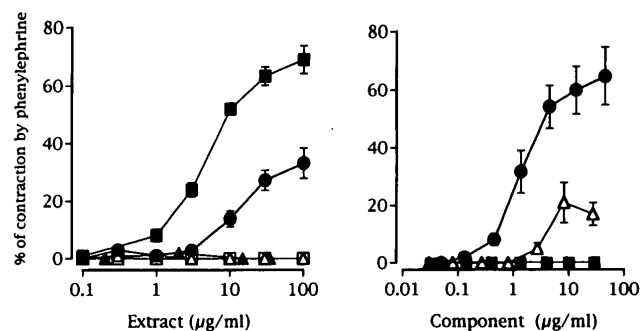


Fig. 4 Concentration-response curves of Oren-gedoku-to and its constituents (left), baicalin and baicalein (right) in rat aorta.

(Left)

Oren-gedoku-to (closed circle), Scutellariae Radix (closed square), Gardeniae Fructus (open square), Coptidis Rhizoma (closed triangle) and Phellodendri Cortex (open triangle).

(Right)

Baicalin (closed circle), baicalein (open triangle) and wogonin (closed square).

Data are means $\pm$ S.E. (n=4) (% of contract by 1 μM phenylephrine)

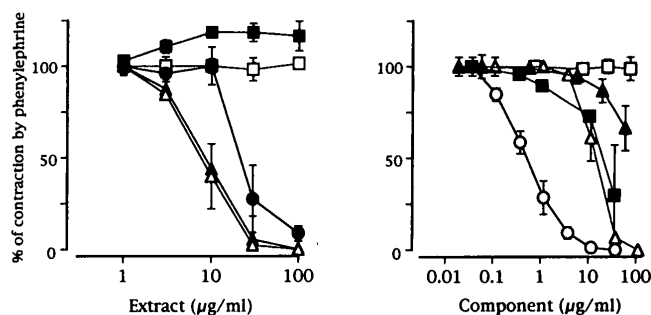


Fig. 5 Effects of Oren-gedoku-to and its constituents (left), major components (right) on phenylephrine-induced contraction in rat aorta.

(Left)

Oren-gedoku-to (closed circle), Scutellariae Radix (closed square), Gardeniae Fructus (open square), Coptidis Rhizoma (closed triangle) and Phellodendri Cortex (open triangle).

(Right)

Palmatine (open circle), wogonin (closed square), geniposide (open square), berberine (closed triangle) and ferulic acid (open triangle).

Data are means $\pm$ S.E. (n=4) (% of contract by 1 μM phenylephrine)

毒湯より強いものであった。オウレン、オウバクの主要含有成分である palmatine と berberine は、phenylephrine 収縮血管を弛緩し、100 $\mu\text{g/ml}$ では完全弛緩を示した。Palmatine の作用は berberine に比べ強く、palmatine 10 $\mu\text{g/ml}$ はほぼ完全に弛緩したのに対し、berberine 10 $\mu\text{g/ml}$ は約40%弛緩する程度であった。また、オウレン含有成分である ferulic acid も、若干弛緩した。一方、オウゴンは phenylephrine 収縮血管をさらに収縮させたが、phenylephrine 1 μM による最大収縮を越えることはなかった。同様に baicalin, baicalein も phenylephrine 収縮を増大させた(データは示さない)。しかし、wogonin は血管弛緩作用を示した。また、サンシシは phenylephrine 収縮血管に影響を与えなかった。サンシシの主要含有成分である geniposide はサンシシと同様に影響

を与えなかった。

考 察

1. 正常動物に対する作用 (*in vivo*)

ほてり・顔面紅潮に対する効果を検討しようとした場合、それを「動物」で実験することはたやすいことではない。そこで、本実験では、「顔面紅潮」の代替的指標として、ラットの耳介血流量を選択し、黄連解毒湯の作用を検討することとした。人間が、いわゆる「ほてり」を感じる時、耳に熱感を感じることは多く、このようなアプローチは、ヒトの臨床的事実とそれほどかけ離れていないと考え、検討を行った。

黄連解毒湯は、血圧、心拍数に比較して耳介血流量を非常に速やかに低下させた (Fig.1)。漢方薬についての漠然としたイメージの一つに「長期間服用しないと効かない」あるいは「効果は緩徐である」というものがあるが、本研究結果は、それが必ずしも事実とそぐわないという証左の一つといえる。耳介血流量の低下は、血管拡張、心拍数の低下などにより生じると考えられる。そこで、耳介血流量と同時に測定した血圧、心拍数に対しては黄連解毒湯は顕著な変化を示さなかった。なぜ耳介血流量のみが低下するのかが検討課題となり、モデル動物での検討の対象とした。

2. モデル動物に対する作用 (*in vivo*)

漢方薬には、避けて通れない概念として「証」というものがある。漢方医学に興味を持たない研究者に対してこの「概念」を説明することは非常な困難を要し、また、興味がある研究者にとっても理解しがたいものである。「証」とは非常に乱暴な説明を試みると、その漢方薬に合った「体質」と表現することができるかもしれない。この体質は、例えば「虚証と実証」というような対比で表現されることが多く、ちなみに「虚証」とは「体力・気力が衰えているもの」、「実証」とはその逆に「体力・気力が充実しているもの」、と言うことが出来る。この「証」が合っていないと、漢方薬を投与しても、薬の効果が現れにくい、あるいは不都合な作用が現れることがあると言われている。黄連解毒湯は中間証から実証の人に用いられる薬として区分されている。黄連解毒湯の作用を、より「適切」に発現させようとするなら、その「証」にあった状況で実験できないかと考え、何らかの薬物をラットに投与することによって、疑似的に実証 (体力・気力が充実した状態) をモデル動物を作製することを試みた。実証モデル動物であるか否かを評価することの困難さが残るが、西洋医学の見地から、ほてり、顔面紅潮を血管拡張として捉えることから考察を加える

こととし、モデル作製の薬物として、theophylline を選択した。

Theophylline は xanthine の methyl 誘導体であり、大脳皮質および延髄の興奮により、中枢機能および循環機能の亢進を起すことが知られている³⁾。Methylxanthine は phosphodiesterase を阻害し、cyclic AMP を増加させる。その結果、cyclic AMP をセカンドメッセンジャーとするホルモン受容体や、 β アドレナリン受容体の機能が亢進する。心筋においては、cyclic AMP を増加して遊離 Ca^{2+} 量を増やし、結果として収縮力を増強する^{4,5)}。この theophylline をラットに投与したところ、心拍数と血圧は上昇し、耳介血流量も持続的に増大した。このモデルを「実証モデル」と呼称するには、余りに未検討な部分が多いが、耳介血流量増加を、ほてり・顔面紅潮のモデルとして黄連解毒湯の作用を検討した。

Theophylline 処置ラットでは、黄連解毒湯は、正常ラット同様に耳介血流量を低下させた。また、正常ラットでは変化が見られなかった血圧および心拍数に対しても、theophylline 処置ラットにおいては、黄連解毒湯により低下が観察された。既述の通り、漢方薬は、その「証」が合致したとき、より効果が発現しやすいと言われている。正常ラットで確認されなかった作用が、theophylline 処置ラットで確認されたということは、theophylline 処置ラットが黄連解毒湯の「証」、すなわち実証の状態であるといえるかもしれない。また、theophylline 処置ラットでは、血圧、心拍数とも、正常ラットに比較して亢進していたが、黄連解毒湯による血圧および心拍数低下作用は、ともに theophylline 処置前のレベルを超えるものではなかった。このことは、漢方薬によるホメオスタシスの維持という観点からも興味深い結果といえる。

黄連解毒湯は、オウゴン (Scutellariae Radix)、オウレン (Coptidis Rhizoma)、サンシシ (Gardeniae Fructus) およびオウバク (Phellodendri Cortex) の4種類の生薬で構成されている。そこで、黄連解毒湯の構成生薬のなかで、中心的役割を担っている生薬を特定するため、4種類の生薬それぞれについて、正常ラットおよび theophylline 処置ラットの耳介血流量、血圧および心拍数に対する作用を検討した。その結果、黄連解毒湯の作用プロフィールに最も類似していたのはオウゴンであり、黄連解毒湯の循環動態に影響をおよぼす主たる構成生薬はオウゴンであることが明らかとなった。

3. 心臓機能に対する作用

正常ラットにおいては、耳介血流量が低下したにも拘らず、血圧および心拍数に変化はなかった。そこで、一つの仮説として、「心拍数を減少させることはなくとも、

例えば心拍出量が低下することによって、耳介血流量が低下することはあり得るのではないかと考えた。黄連解毒湯を一つの「医薬品」として捉えるとき、「ほてり・顔面紅潮に有効だが、心拍出量が低下する」というのでは、不都合な点が多い。そこで、黄連解毒湯の、摘出心房筋収縮頻度と収縮力、および Langendorff 法による冠血流量と左心室収縮期圧ならびに心拍数に対する作用を検討したところ、いずれに対しても顕著な作用は見られなかった。よって、黄連解毒湯の耳介血流量低下作用は、心臓に対する作用を介したのではないことが推測される。

4. 血管平滑筋に対する作用

黄連解毒湯の耳介血流量低下作用が、心臓に対する作用を介したのではないことが推測されたため、次の仮説として、黄連解毒湯が血管平滑筋に対する直接作用が想定された。

そこで、内皮細胞を除去した血管平滑筋(摘出胸部大動脈標本)に対する黄連解毒湯の作用を検討したところ、黄連解毒湯は、濃度依存的に血管を収縮させ、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では phenylephrine による最大収縮の約 30% の収縮を起こした (Fig. 4)。このことから、黄連解毒湯の耳介血流量低下作用は、血管平滑筋の収縮によるものであることが考えられた。この血管平滑筋収縮作用は、通常、血圧の上昇と結び付けられる。一方、すでに述べた通り、黄連解毒湯は theophylline 処置ラットにおいて、その血圧を低下させ、オウゴンと正常ラットと theophylline 処置ラットの両方において血圧を低下させた。加えて、心機能にはなんら影響を与えていない。林は、黄連解毒湯を24名の患者に投与し、その血圧と共に、眼球結膜細静脈血管内径および血液レオロジー因子の検討をおこなった。その結果では、患者の血圧は低下する一方、眼球結膜細静脈血管内径は減少、その時の全血粘度は有意に低下している⁶⁾。したがって、黄連解毒湯は血液レオロジーを改善することにより末梢血管平滑筋収縮するにもかかわらず血圧低下を惹起したと考えることが出来るかもしれない。

一方、4種類の構成生薬についても、それぞれ末梢血管平滑筋に対する作用に検討したところ、オウゴンに黄連解毒湯と同様の作用が確認され (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で phenylephrine による最大収縮の約 70%)、それ以外の生薬については、作用が見られなかった (Fig. 4)。そこで、さらにオウゴンの作用を詳細に検討するべく、オウゴン中に含まれる主要成分である baicalin (オウゴン中の含有量は約 4.3% と言われている) および baicalin (これは baicalin の aglycone である) について、同様に検討した。その結果、baicalin は、オウゴンと同様、濃度依存的に血管を収縮させ、100 μM で phenylephrine の最大収縮の約 60% の収縮を示した。また、baicalin も血管収縮作用を示したが、その作用は、baicalin に比して弱かった。このことから、オウゴンの作用本体 (=黄連解毒湯の作用本体) は baicalin であると推測された。

次に、phenylephrine により収縮したラット血管平滑筋に対する作用を検討した。 α_1 受容体を選択的に作用することが知られている phenylephrine 0.3 μM (最大収縮の約 80% を起こす濃度) による血管収縮が安定したところで、黄連解毒湯およびその構成生薬を投与したところ、黄連解毒湯は、phenylephrine 収縮張力を濃度依存的に抑制し、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、ほぼ基線まで抑制した。(Fig. 5)

一方、これまで黄連解毒湯と非常に類似した作用プロフィールを示し、黄連解毒湯の主薬と考えられたオウゴンは、全く逆の反応を示した。すなわち、オウゴンは phenylephrine により発生した収縮張力をさらに増強させた (ただし、phenylephrine による最大収縮を越えることはなかった)。それとは逆に、オウレンおよびオウバクが黄連解毒湯と同様な作用を示した。すなわち、オウレン、オウバク共に phenylephrine によって収縮した血管張力を用量依存的に抑制し、その抑制作用は黄連解毒湯より強いものであった。サンシシはなんら反応を示さなかった (Fig. 5)。さらに、オウレンおよびオウバクの代表的含有成分である berberine および palmatine を用いて、phenylephrine 収縮に対する作用を検討したが、berberine, palmatine 共に phenylephrine 収縮血管張力を用量依存的に抑制した。なお、オウレンは ferulic acid も含有し、それにも同様の作用が見られたものの、その強度は弱かったことから、オウレンおよびオウバクの作用本体は berberine および palmatine と考えられた。Berberine および palmatine は同一の基本骨格を持った四級塩アルカロイドである。オウバク中には約 1.2% あるいはそれ以上の berberine が含有されるとされ、その平滑筋収縮抑制作用は、よく知られており⁷⁾、本研究結果を支持している。しかし、*in vivo*での正常ラットおよび theophylline 処置ラットにおいて、オウレンおよびオウバクがなんら作用を示さず、黄連解毒湯の作用との類似性を見出せなかった。これは、四級塩アルカロイドである berberine および palmatine は、その親水性が非常に高く、腸管からほとんど吸収されないことから、*in vivo*ではこれらの成分の作用が表れなかったものと考えられる。

Wogonin は、baicalin と同様に、オウゴンに含有される主要なフラボン誘導体の一つである。しかし、wogonin はオウゴンと正反対の作用を示した。これは、

wogonin のオウゴン中の含有率は約0.5%であり、一方 baicalin の含有率が約4.3% (すなわちオウゴン中の wogonin の含有量は baicalin の約1/9) であることから、その低含量ゆえに wogonin の作用が baicalin の作用に覆い隠されているのかもしれないと考えられた。

5. 平滑筋収縮のメカニズム

オウゴンは血管収縮作用を示し、ここにはデータを示していないが、 α 受容体拮抗薬である phentolamine (10^{-5} M), 5-HT₂ 受容体拮抗薬である ketanserin (10^{-6} M) 存在下でも影響を受けなかった。このことから、オウゴンの血管収縮作用は α 受容体および5-HT₂ 受容体を介したものではないと考えられた。一方、Fig. 3 に示す通り、reserpine 処理ラットにおいて、黄連解毒湯およびオウゴンの耳介血流量低下作用は消失した。

ここにはデータを示していないが、tyramine (10^{-4} M) を反復適用することにより収縮作用が失われた血管においては、オウゴンの血管収縮作用は失われていた。Tyramine は、アドレナリン作用性神経終末において、貯蔵顆粒内 norepinephrine と置換することにより norepinephrine を遊離させ、間接的にアドレナリン受容体に作用する⁸⁾。Tyramine 投与により血管は収縮するが、反復投与すると、貯蔵顆粒内の norepinephrine は tyramine との置換によって、やがて枯渇し、いわゆるタキフィラキシーを起すことによって収縮作用が消失する。したがって、reserpine や tyramine によって神経伝達物質を枯渇させた血管において、オウゴンの血管収縮作用が表れないことは、その作用が何らかの神経伝達物質を介しているのではないかと考えられる。

Tyramine によって放出される神経伝達物質としては、catecholamine と 5-HT がよく知られているが、すでに述べた通り、オウゴンの血管収縮作用は phentolamine あるいは ketanserin 存在下でも影響を受けなかったことから、オウゴンの作用が catecholamine および 5-HT の放出を介したものとは考えにくい。また、本実験で用いた血管標本は、内皮細胞が除去されていることを確認しており、endothelin などの内皮依存性の血管収縮因子が関与しているとは考えられない。今後、オウゴンの作用を担っている成分と考えられる baicalin を用いての、さらなる検討をする必要がある。

結 論

黄連解毒湯は、ラットの耳介血流量を有意に低下させた。また、疑似的に実証状態を再現することを意図して theophylline 処置したラットにおいては、黄連解毒湯は、その耳介血流量と共に、血圧および心拍数も有意に低下

させた。また、黄連解毒湯は心機能に影響を与えなかった。以上のことから、黄連解毒湯は、ヒトのはてり・顔面紅潮 (hotflash) に有用である可能性が示唆される。

また、黄連解毒湯を構成する4種類の生薬のうち、その作用が最も類似していたのはオウゴンであったことから、オウゴンが黄連解毒湯の作用の中心的役割を担っていることが示唆された。

黄連解毒湯およびオウゴンは血管平滑筋を収縮させた。このことから、耳介血流量の低下は血管収縮により発現することが示唆された。黄連解毒湯およびオウゴンの耳介血流量低下作用は、reserpine 処理ラットにおいて消失した。また、オウゴンの血管収縮作用は、phentolamine あるいは ketanserin 存在下で変化せず、一方、tyramine 反復適用により収縮作用が失われた血管においては失われていた。以上のことから、オウゴンの血管平滑筋収縮作用は、catecholamine および 5-HT 以外の何らかの神経伝達物質の放出が関与していることが示唆される。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、懇篤なる御指導と御校閲を賜りました東邦大学医学部薬理学教室 内山利満教授に深甚なる謝意を表します。

*〒102-8422 東京都千代田区二番町 12-7

株式会社ツムラ開発本部 脇田広美

References

- 1) Otsuka, K., Yakazu, D., Shimizu, T.: Standard Practice of Kampo Medicine. Nanzando, Tokyo, pp.86, 1986.
- 2) Takagi, K., Ozawa, H.: Yakubutsugakujikken. Nanzando, Tokyo, pp.121-124, 1972.
- 3) Ishibashi, T., Suzuki, H.: Theophylline (aminophylline) no rinshoyakui (sonol), *Chiryō*, **61**, 99-105, 1979.
- 4) Rall, T. W., West, T. C.: The potentiation of cardiac inotropic responses to norepinephrine by theophylline. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **139**, 269-274, 1963.
- 5) Marukawa, S., Hatake, K., Wakabayashi, I., Hishida, S.: Vasorelaxant effects of oxpentifylline and theophylline on rat isolated aorta. *J. Pharm. Pharmacol.* **46**, 342-345, 1994.
- 6) Hayashi, T.: Modern medical research to "OKETSU" state - Study in microcirculation and Hemorhology - *J. Kansai. Med. Univ.* **43**, 421-443, 1991.
- 7) Chiou, W. F., Yen, M. H.: Mechanism of vasodilatory effect of berberine in rat mesenteric artery. *Eur. J. Pharmacol.* **204**, 35-40, 1991.
- 8) Burn, J. H., Rand, M. S.: The action of sympathomimetic amines in animals treated with reserpine. *J. Physiol (London)* **14**, 314-336, 1958.