薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
101 (7) 642-648 (1981)

蘇葉の薬理学的研究 (第 1 報) 水性エキスおよび
Perillaldehyde の神経系に対する作用¹⁾

菅谷愛子,* 津田 整, 小淵 忠

城西大学薬学部

Pharmacological Studies of Perillae Herba. I. Neuropharmacological
Action of Water Extract and Perillaldehyde

AIKO SUGAYA,* TADASHI TSUDA and TADASHI OBUCHI

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University, Keyakidai, Sakado, Saitama

(Received December 8, 1980)

Neuropharmacological actions of the water extract of Perillae Herba, and perillaldehyde which is one of the main components of the essential oil of this crude drug, were examined.

In ddY strain mice, a dose of 4 g/kg, *p.o.* of the water extract and 100 mg/kg, *p.o.* of perillaldehyde exerted a significant prolongation of sleeping time induced by the administration of hexobarbital Na but did not show any effects on the body temperature and the rotating rod performance.

On the laryngeal reflex in cats, the water extract and perillaldehyde exerted a clear inhibitory effect, and such inhibitory effects were also observed on the excitable membranes by using an isolated snail's neuron and frog's sciatic nerve fibers.

With the continuous administration of the water extract or perillaldehyde, only the water extract showed a depressive effect on the spontaneous locomotor activity in Fischer strain rats.

These results suggest that the water extract of Perillae Herba and perillaldehyde have a depressive action on the central nervous system.

Keywords—Perillae Herba; perillaldehyde; neuropharmacological action; laryngeal reflex in cats; excitable membrane; snail; spontaneous locomotor activity

蘇葉は名医別録、薬部中品に蘇の名で記載され古くから用いられている生薬で、半夏厚朴湯（金匱要略）、神秘湯（外台秘要）、香蘇散（和剂局方）、参蘇飲（和剂局方）等に配合される漢方の要薬の1つである。名医別録によれば「気を下し、寒を除き、中を温む」とあり、配合される方剂も、主として神経症状を伴う気管支炎や気の上衝による発熱、頭痛、咳などに用いられる。しかし、その薬理作用については、蘇葉の煎液が発熱ウサギに対して解熱作用を示す²⁾ことが報告されているにすぎない。著者らは、蘇葉が漢方的用法の上で、いわゆる気剂として用いられていることに着目し、その水性エキスおよび精油の芳香成分である perillaldehyde の神経系に対する作用を追求する目的で本研究をおこなった。

実 験 の 部

実験材料 1. 蘇葉水性エキスの作成——本研究に用いた蘇葉は、内田和漢薬より購入した生薬および、城西大学薬草園で栽培したシソ *Perilla frutescens* BRITTON var. *acuta* KUNO を採取乾燥して得た生薬を用いた。生薬 50 g に水 1 l を加え、還流冷却器をつけて 1 時間煮沸し、冷後濾過、濾液を減圧濃縮して乾燥し水性エキス約 10 g を得た。興奮性膜に対する実験では、水抽出物中の無機イオンによる影響が考えられるので、上記のようにして得た蘇葉の水抽出濾液を Amberlite CG 120 のカラムを通して無機イオンを除いた後、減圧濃縮してエキスを得た。

2. Perillaldehyde——生薬の精油成分としては市販の *d,l*-perillaldehyde（東京化成）を用いた。

3. 使用動物——本研究において使用した ddY 系雄性マウスおよび Fischer 系雄性ラットは埼玉実験動物供給所より購入し、空気調節装置の完備した飼育室（温度 23±1°C、湿度 50—60%）で市販の固型飼料（日本ク

レア、マウス・ラット用)と水の自由摂取のもとで飼育したものである。その他ネコ(雄、1週間以上空調下で飼育したもの)、食用ガエル、カタツムリを必要に応じて使用した。

4. 薬液調製法——水性エキ스는水(経口投与)または適用動物の Ringer 液(静注および興奮性膜)に溶解し, perillaldehyde は 0.5% アラビアゴムを含む水(経口投与)または適用動物の Ringer 液(静注および興奮性膜)に懸濁して用いた。原則としてカテーテルを使って経口投与し, 投与量はカテーテルで投与可能な濃度から 4 g/kg および 2 g/kg (水性エキス)を投与した。また perillaldehyde については生薬中の perillaldehyde 含量(約 0.2%)から水性エキスの有効量 4 g/kg に対応した投与量 50 mg/kg を算出し, 必要に応じて倍量 100 mg/kg を与えた。

実験方法

以下の実験は室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ でおこなった。

1. **Barbiturate 睡眠作用におよぼす影響** 体重約 20 g の ddY 系雄性マウスを 1 群 10 匹として 5 群用いた。対照群は蒸留水を, 実験群は水性エキス 2 g/kg, 4 g/kg および perillaldehyde 50 mg/kg, 100 mg/kg をそれぞれカテーテルを用いて経口投与し, 1 時間後に hexobarbital Na 100 mg/kg を腹腔内投与して, 正向反射の消失を指標にして睡眠時間を測定した。

2. **体温におよぼす影響** 体重約 20 g の ddY 系雄性マウスを 1 群 10 匹として 5 群を用いた。対照群および実験群は, 蒸留水および被検薬を 1. と同様に経口投与し, 投与前 30 分, 投与後 30 分, 60 分, 90 分, 120 分, 150 分の合計 6 回, サーミスター温度計(芝浦エレクトロニクス)を用いて直腸温を測定した。

3. **Rotating Rod 法による筋弛緩作用** 毎分 10 回の割合で回転する直径 22 mm の木製棒上にマウス(ddY 系, 雄性, 体重約 20 g)をのせ, 2 分間連続して回転棒上に留まることの出来たマウスのみを選び出したのち, 1 群 10 匹として 5 群を用いた。対照群, 実験群はそれぞれ 1. と同様に被検薬を投与し, 投与 45 分後に再び回転棒上にのせて, 2 分間以内に落下するマウスの数を調べた。

4. **ラットの運動量におよぼす影響** 体重約 150 g の Fischer 系雄性ラット 1 群あたり 4 匹を用い, 運動量に対する作用を検討した。運動量測定装置は, 動物の位置移動をマイクロスイッチを用いて数量的にあらわすように製作したものである。ラットをこの装置に入れ, 摂食と飲水は自由におこなえるようにして, 照明は午前 6 時に点灯, 午後 6 時に消灯するようにした。あらかじめ 48 時間運動量を記録したのち, 対照群では蒸留水を 2 ml/kg, 実験群では水性エキス 4 g/kg, perillaldehyde 100 mg/kg を 1 日 1 回カテーテルを用いて連続 6 日間投与した。投与期間中の 6 日間と更に投与中止後 3 日間の運動量を記録した。

5. **ネコ自律神経反射に対する作用** 体重 700—3000 g のネコ 7 例(本研究では雄のみを用いた)について, 上喉頭神経の刺激に対する喉頭の反射についての影響を検討した。ネコは nembuthal 麻酔下に上喉頭神経を露出し, 喉頭側で切断して求心性回路のみを残した。このようにした上喉頭神経を電気的に刺激すると, 刺激は延髄を主とした中枢に達し, 次に中枢を介した信号による反射として反回神経で記録される。³⁾ 被検薬の投与前に刺激による反射を記録したのち, 大腿静脈より被検薬を投与して反射の消失を指標に効果を検討した。なお, この反射は被検薬の溶媒の静注によって変化しないことを確かめた。

6. **興奮性膜に対する作用** a. カエルの坐骨神経線維に対する作用——食用ガエルの坐骨神経を用いた。摘出した神経線維は中央に麻酔箱をおき, その両端で刺激と誘導が出来るようにして, 複合活動電位の消長を指標として麻酔効果を検討した。麻酔箱中のカエル Ringer solution を 0.5% procain でおきかえた時の活動時位の消失時間を測定したのち, 線維を Ringer 液で十分に洗滌して活動電位が正常にあらわれるようになってから, 2% 水性エキス Ringer 溶液, または 0.2% perillaldehyde Ringer 溶液でおきかえて活動電位の変化を観察した。その効果は 0.5% procain での活動電位消失時間を 1 とした効力比で示した。

b. カタツムリ神経細胞に対する作用——ミスジマイマイ *Euhadra peliomphala* の食道下神経節の神経細胞は, 温血動物の神経系に対するモデルとして用いられるものであり, ACh により興奮性を示す細胞, 抑制性を示す細胞, 何ら変化を示さない細胞の 3 つのタイプにわけられる。このうち ACh-sensitive で興奮性を示す細胞(RC-1)⁴⁾を選択的に用いた。RC-1 にガラス微小電極を挿入し自発放電を記録したのち, 被検薬におきかえてその膜電位および自発放電の変化を観察した。この実験では 2% 水性エキス Ringer 溶液, 無機イオンを除いたエキスの 4% Ringer 溶液および 0.1% perillaldehyde Ringer 溶液についてそれぞれ検討した。

結 果

1. Barbiturate 睡眠作用におよぼす影響

水性エキス, perillaldehyde 共に各投与量について投与後 1 時間まで一般状態の観察をおこなったが, 自発活動に変化がみられなかった. 被検薬の 1 回経口投与 1 時間後に hexobarbital Na を腹腔内投与して睡眠時間を測定した結果, 水性エキス 4 g/kg および perillaldehyde 100 mg/kg 投与群に有意な睡眠延長作用がみとめられた (Fig. 1).

2. 体温におよぼす影響

対照群の各時間における体温と, 被検薬投与群の各平均体温との差を比較したが, 水性エキス, perillaldehyde 共にその投与量においていちじるしい差がみとめられなかった (Fig. 2).

3. Rotating Rod 法による筋弛緩作用

水性エキス 2 g/kg, 4 g/kg および perillaldehyde 100 mg/kg, 200 mg/kg のそれぞれ 1 回経口投与によって, 対照群に比べて著明な効果をみとめることが出来なかった.

4. ラット運動量におよぼす影響

ラットに蒸留水 2 ml/kg を 1 日 1 回の割合で 6 日間連続して投与し, 投与前, 投与中, 投与中止後 3 日間について 1 時間毎の運動量を記録すると, 夜行性の動物であるため, 点灯期間に運動量が少く, 消灯期間中に増

Fig. 1. Effect of Water Extract of Perillae Herba and Perillaldehyde on Hexobarbital-induced Sleep in Mice

Each column shows the mean sleeping time of ten mice and the horizontal bar indicates S. E.

Fig. 2. Effect of Water Extract of Perillae Herba and Perillaldehyde on Rectal Temperature in Mice

The ordinate represents the temperature difference between drug-treated and control animals. Each point indicates the mean value $\pm$ S. E. Ten mice were used for each group.

加するというほぼ規則正しいリズムが観察される. このような運動に対して, 水性エキス 4 g/kg の連続投与では投与期間中の運動量の減少がみとめられた. この減少傾向は特に消灯期間中においていちじるしい. また, 投与を中止すると中止 24 時間後には投与前の状態に回復することがみとめられた (Fig. 3).

Perillaldehyde 100 mg/kg 1 日 1 回の連続経口投与によっては, 著しい変化をみとめることができなかった (Fig. 4).

5. ネコ自律神経反射に対する作用

a. 水性エキスの作用 遠心性回路側を切断した上喉頭神経に, 1 秒間 1 回の電気刺激を与え, 反回神経で導出される反射を連続的に記録した図を Fig. 5 に示す. 正常反射の記録

Fig. 3. Effect of Water Extract of Perillae Herba (4 g/kg) on Spontaneous Locomotor Activity in Rats

Activity was counted for each hour.

In lower horizontal bars, the white part means lights on and the dark part, lights off.

Fig. 4. Effect of Perillaldehyde (100 mg/kg) on Spontaneous Locomotor Activity in Rats

For expression, see Fig. 3.

(Fig. 5A) 後, 水性エキス 400 mg/kg を大腿静脈より投与すると, 3 分後に反射の消失がみられ (Fig. 5B), 5 分後には完全に消失した (Fig. 5C). 更に刺激と記録とを継続した結果, 約 30 分後には投与前と同様の強さの反射が記録され, 抑制効果の回復がみとめられた (Fig. 5D).

Fig. 5. Effect of Water Extract of Prillae Herba on the Reflex Response in the Recurrent Laryngeal Nerves

A; before injection, B; 3 min after injection of water extract (400 mg/kg *i.v.*) C; 5 min after injection D; 30 min after injection.

Fig. 6. Effect of Perillaldehyde on the Reflex Response in the Recurrent Laryngeal Nerves

A; before injection B; 30 min after injection of perillaldehyde (50 mg/kg *i.v.*) C; 85 min after injection D; 150 min after injection.

b. Perillaldehyde の作用 a と同様に正常時の反射を記録 (Fig. 6A) した後, perillaldehyde 50 mg/kg を静注すると, 約 30 分で抑制傾向がみられ (Fig. 6B), 約 80 分で完全に消失する (Fig. 6C). この抑制効果は, 更に刺激と記録とを続けると 150 分前後で正常時の状態に回復することがみとめられた.

6. 興奮性膜に対する作用

a. カエル坐骨神経線維に対する作用 摘出した坐骨神経線維の束は, 麻醉箱にカエル Ringer 液を入れた時刺激によって明瞭な活動電位を示し, この活動電位は麻醉薬である procain のカエル Ringer 溶液によって完全に消失する. 同じ線維を Ringer で洗滌して回復させた後, 2% 水性エキス Ringer 溶液を麻醉箱に入れると, 約 4 分で活動電位が消失した. またこの抑制効果は再び Ringer で洗滌することにより回復する. 同様に 0.2% perillaldehyde Ringer 溶液では約 7 分で活動電位が抑制された. この結果から, 0.5% procain 溶液に

Fig. 7. Effect on Spontaneous Discharges in Snail's Neurons

A; 2% water extract of *Perillae Herba* Ringer solution.

a; normal state b; 2 min after application c; 3 min after application d; recovery after washing with snail Ringer solution.

B; 4% water extract of *Perillae Herba* without cations (4% Ringer solution).

a; normal state b; 4 min after application c; 6 min after application d; recovery after wash with snail Ringer.

C; 0.1% Perillaldehyde Ringer solution.

a; normal state b; 2 min after application c; 3 min after application d; recovery after washing with snail Ringer.

Broken lines indicate the initial membrane potential levels.

対する効力比は 2% 水性エキス溶液は 1.8 ($N=4$, $SD=\pm 0.23$), 0.2% perillaldehyde 溶液は 0.7 ($N=4$, $SD=\pm 0.04$) であった。

b. カタツムリ神経細胞に対する作用 ミスジマイマイの食道下神経節の RC-1 細胞は正常時にはほぼ 1 秒間 1 回の割合で 80 mV 前後の自発活動電位をあらわす (Fig. 7 Aa, Ba, Ca). 2% 水性エキス溶液の投与により, 明らかな脱分極をおこして活動電位が消失することがみとめられた (Fig. 7 Ab, c). 脱分極の状態から水性エキス中の無機イオン (主として K イオン) の影響が考えられるので, 無機イオンを除いて調製した水性エキスについても検討をおこなった. その結果, 4% 溶液でわずかな脱分極を伴って活動電位が抑制されることがみとめられた (Fig. 7 Bb, c). さらに 0.1% perillaldehyde 溶液によっては, 全く脱分極することなしに活動電位の消失のみが観察された (Fig. 7 Cb, c). 以上の結果は, 水性エキスおよび perillaldehyde の間に作用機序の相異があることが考えられるが, 共に興奮性膜に対しては抑制効果をもつことを示すものである。

考 察

蘇葉は漢方で頻用される生薬であると共に, その同属植物は日本はじめ東洋諸国で食品香料としても広く用いられている。漢方では, 精神安定剤のないいわゆる気剤としての用い方が主で, 時には軽い興奮剤としての薬能が示されている。⁵⁾ このような臨床的用法をもつ生薬であるのかにかかわらず, その薬理作用, 生理作用については, 蘇葉の煎液が温刺発熱ウサギに対して解熱作用をもつこと,²⁾ 精油には血糖上昇作用があること,⁹⁾ 精油成分のうち perilla ketone に肺水腫誘発性があること⁷⁾ 等が報告されているにすぎない。蘇葉はその基原植物の種類も多く, 古来より葉の色と芳香性が品質の評価に考慮されている。^{5,8)} 最近では, 田部ら⁹⁾ により perillaldehyde の含量による品質評価法の試みが報告されているが, この perillaldehyde についての薬理作用は明らかでなく, また蘇葉の臨床的用い方に比例するものであるか否かも明確ではない。

著者らは, このような蘇葉について, その薬理作用を明らかにしたいと考え, まず古くからの用い方である気剤としての作用を調べる目的で, 水性エキスおよび精油の主成分の 1 つと考えられる perillaldehyde について, 神経系に対する作用を検討した。

その結果、水性エキスを、perillaldehyde 共に barbiturate による睡眠延長作用がみとめられ、またネコの上喉頭神経反射の抑制、カタツムリ神経細胞、カエル坐骨神経線維等の興奮性膜の抑制作用がみとめられた。ラットの運動量におよぼす影響の観察では、水性エキスを抑制がみとめられたが、perillaldehyde には明瞭な抑制効果をみとめることが出来なかった。

中国の伝承医学によれば、蘇葉は「気を下し、寒を除き、中を温む」とあり、気鬱内傷の病、気の上衝による頭痛、霍乱の嘔吐、咳逆、喘息を治すといわれている。^{5,10)} Barbiturate 睡眠延長作用や興奮性膜に対する効果は、水性エキスを perillaldehyde がこのような気を下すという作用に何らかの役割を果していると思われる。水性エキスをラットの運動量の抑制効果として気剤を裏付ける様な作用が示されたが、perillaldehyde ではみとめることが出来なかった。この点については、興奮性膜への作用にもあらわれたように、水性エキスを成分と perillaldehyde では作用機構あるいは作用点が異なるためと考えられる。また水性エキスをいくつかの成分の混合物であるので、それ自体で相加的もしくは相乗的に作用を発揮しているものであり、おそらく蘇葉の気剤としての作用は水性エキスを深く関与し、これに perillaldehyde の作用が加わって効果を示していると思われる。更に、ネコの上喉頭神経反射は、和漢薬考に「喘息に用ゆ、肺気の喘息を治す、是れ気を下す故なり」¹⁰⁾ とあるので、中枢的な作用により咳を止めると考えて試みた実験である。上喉頭神経は喉頭の知覚に関する神経であり、反回神経は喉頭の運動、すなわち嚥下、嘔吐、特に咳嗽反射に主役を演ずる反射回路である。喉頭側で切断した上喉頭神経への刺激による信号は中枢に達し、中枢からのあらたな信号として反回神経に伝わる。⁴⁾ この反射は Ringer や 0.5% アラビアゴムを溶かした Ringer の静注によって抑制されないが、蘇葉の水性エキスをおよび perillaldehyde で抑制された。このような結果は、蘇葉の鎮咳作用が気を下すためによるという漢方的な使い方に基づいたものであろうと思われるが、鎮咳作用については更に検討してゆきたい。水性エキスを perillaldehyde にみられた反射抑制効果の作用時間の相異については、水性エキスを成分は直接に中枢に作用し、その結果あらわれた抑制効果と考えられ、perillaldehyde はそのものが直接中枢に働くのではなく、体内で変化した物質が作用するか、または perillaldehyde の作用が二次的に中枢へ働いた結果と思われる。いずれにしても、気剤としての作用と共に、上喉頭神経反射の抑制作用も水性エキスを主体をなし、perillaldehyde が相加的または相乗的に効果を示していると考えられる。

以上の結果から、水性エキスをについては有効成分を検出する上にも、もっと詳細な検討を進めてゆきたい。蘇葉はまた、名医別録に「裏表皆紫色で其気芳発のもの用うべし」⁵⁾ と記されており、芳香性の良否が品質の評価に用いられているが、芳香性の主成分である perillaldehyde にも以上のべたような作用のあることがわかり、単に嗜好的なものではないことが判明した。水性エキスの詳細な有効成分が明らかではない現在では、perillaldehyde を品質評価の手段として用いていることは、漢方的な気剤としての用法の上からは一応妥当性があると思われる。

引用文献および注

- 1) 日本薬学会第100年々会，東京，1980年4月。
- 2) 近藤東一郎，日薬物誌，7，296，(1928)。
- 3) J.A. Kirchner, M. Suzuki, *Ann. N.Y. Acad. Ci.*, 155, 98 (1968); M. Suzuki, J.A. Kirchner, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 77, 1059 (1968)。
- 4) A. Sugaya, E. Sugaya, M. Tsujitani, *Jpn. J. Physiol.*, 23, 261 (1973)。
- 5) 内田蕉園，“古方薬品考”，燎原，東京，1973，pp.256—258；鈴木眞海訳，木村康一監修，“新注校定国訳本草綱目”，春陽堂，東京，1973，pp.634—641；岡本一抱，“和語本草綱目”，春陽堂，東京，1975，pp.290—296；曲直瀬道三（栗島行春注），“薬性能毒”，土と文化社，大阪，1975，pp.83—85。
- 6) 洪哲英，大阪医，20，742 (1960)。
- 7) B.J. Wilson, J.E. Garst, *Science*, 197, 573 (1978)。
- 8) 伊藤 宏，薬誌，90，883 (1970)；84，1123 (1964)；生薬，18，24，58 (1964)。
- 9) 田部昌弘，有本恵子，宇治 明，応田洋子，谷口サチ子，永井 治，布浦由樹，野口 衛，林 輝明，久田陽一，森 清茂，第8回生薬分析討論会，神戸，1979年7月。
- 10) 小泉栄次郎，“和漢薬考”，生生舎，東京，1972，pp.506—511。