薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
102 (3) 306-309 (1982)

実験的肝障害に対する生薬の活性成分 (第 1 報) ガジュツの活性成分について

山原條二*,^a 松田久司,^a 沢田徳之助,^a 櫛田秀雄,^b 渋谷博孝,^c 北川 勲^c

京都薬科大学,^a 医化学総合研究所,^b 大阪大学薬学部^c

Effect of Crude Drugs on Experimental Liver Damages I. The Active Principle of Zedoariae Rhizoma

JOHJI YAMAHARA*,^a HISASHI MATSUDA,^a TOKUNOSUKE SAWADA,^a HIDEO KUSHIDA,^b
HIROTAKA SHIBUYA,^b and ISAO KITAGAWA^c

Kyoto College of Pharmacy,^a Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto, General Medico-Chemical
Laboratory,^b Misasagi, Bessho-cho, Yamashina-ku, Kyoto and Faculty of Pharma-
ceutical Sciences, Osaka University, 133-1, Yamadaoka, Suita, Osaka

(Received May 12, 1981)

Measurement of thiopental sodium-induced sleeping time was carried out as a parameter for the determination of the effectiveness of antihepatotoxic substances on liver damage induced by carbon tetrachloride. New sesquiterpenoid "Furanogermanone" isolated from the hexane extractive of "Zedoariae Rhizoma (on the goods from China)" prevented the prolongation of the sleeping time in mice caused by the administration of CCl₄ and the increase in serum GOT, GPT and LDH levels.

Keywords—Zedoariae Rhizoma; sesquiterpenoids; furanogermanone; carbon tetrachloride-induced liver damage; antihepatotoxic substance

生薬の古来からいわれている薬効に限らず薬としての応用の可能性を試験するため, 今回は, その病態モデルとして, 四塩化炭素障害に対する有効性を試験した. その結果, 特に活性の認められた "ガジュツ (Zedoariae Rhizoma)" に関して報告する.

実験材料および方法

中国産, 台湾産ガジュツのいずれとも, 大阪市場品を購入し, 粗切後, 冷時 50% メタノール抽出あるいは, 温時メタノール抽出し, 減圧濃縮し, デシケーター中に保存して用いた. この場合の各々のエキスの薄層クロマトグラフィー (TLC) パターンは, Fig. 1 に示すように, 明らかに両者に差が見られた. 有効成分を明らかにする実験においては, すべて中国産のガジュツを用いて行った. また, その有効成分の分画は, Fig. 2 に示す方法により行った. この分画方法により, 最も明白な四塩化炭素肝障害発生予防効果を示した Fr. 3 を高速液体クロマト等を併用して精製し, 別にその立体構造式も含め報告¹⁾ する新規セスキテルペノイドを Fr. 3 から得た. 本物質はその化学構造式の特長に因んで "furanogermanone" と命名し用いた.

Fig. 1. Thin Layer Chromatogram of Zedoariae Rhizoma (on the goods from China and Taiwan)

有効成分の検定方法

まず, スクリーニング試験方法としては, 四塩化炭素によって惹起された肝障害のため, 正常動物に比較して thiopental-Na 睡眠時間の延長が観察されることから睡眠時間を判定する事により有効性を検定している G. Vogel²⁾ の方法を参考にして行った. すなわち, 体重 20 g 前後の dd 系雄性マウスを 1 群 10 匹として, 被検薬物は合計 7 回投与した, すなわち 1 日 2 回, 3 日間投与し, 3 日目の 2 回目投与の

Fig. 2. Flow Diagram of the Isolation of Furanogermenone from Zedoariae Rhizoma

1 時間後に、20% 四塩化炭素オリーブ油溶液を 2 ml/kg 皮下注射し、その 19 時間後に被検薬をもう 1 度投与、その 1 時間後に thiopental-Na (田辺製薬) 30 ml/kg を尾静脈より注射し、正向反射の消失している時間を睡眠時間として求めた。また、血清トランスアミナーゼ活性より被検薬物の効果を判定した実験においては、前記同様の方法により、被検薬および四塩化炭素を投与したが四塩化炭素は 1% オリーブ油溶液を用いた。採血は最終被検薬物投与後 1 時間目に、眼か静脈より行い、3000 r.p.m. で 15 分間遠心分離して血清を集め、ST-A および LDH-B-testwako (和光純薬) により GOT, GPT および LDH 値を求めた。比較対照薬としては四塩化炭素肝障

TABLE I. Effect of Zedoariae Rhizoma (50% MeOH ext.) on the Prolongation of the Sleeping Time produced by Thiopental-Na following poisoning with CCl₄

Compounds	Dose(mg/kg) <i>p.o.</i>	Body weight (g, gain)	Sleeping time(s) mean ± S.E.
Untreated control	—	4.1 ± 0.3	165 ± 17
Treated control (CCl ₄)	—	3.4 ± 0.3	324 ± 19
50% MeOH ext.	1000	3.1 ± 0.4	147 ± 12
50% MeOH ext. + CCl ₄	1000	3.4 ± 0.3	212 ± 17 ^{a)}

Ten male mice were used for each compound.

Significantly different from CCl₄-treated control, ^{a)} $p < 0.01$ .TABLE II. Effect of Zedoariae on the Serum GOT and GPT Levels 20 h after Administration of CCl₄

Compounds	Dose (mg/kg) <i>p.o.</i>	GOT Karmen Unit mean ± S.E.	GPT Karmen Unit mean ± S.E.
Untreated control	—	71 ± 4	25 ± 2
Treated control (CCl ₄)	—	4160 ± 940	4350 ± 1080
α-Mercaptopropionylglycine + CCl ₄	100	4030 ± 670	4690 ± 820
Hexane ext. + CCl ₄	500	560 ± 90 ^{a)}	1090 ± 170 ^{a)}
MeOH ext. + CCl ₄	1000	3610 ± 870	3880 ± 920
Untreated control	—	63 ± 4	24 ± 4
Treated control (CCl ₄)	—	4060 ± 870	5550 ± 880
Fr. 1 + CCl ₄	100	5250 ± 530	4530 ± 510
Fr. 2 + CCl ₄	100	4540 ± 610	5090 ± 600
Fr. 3 + CCl ₄	100	2250 ± 270	1860 ± 120 ^{a)}
Fr. 4 + CCl ₄	100	3750 ± 870	4690 ± 840
Fr. 5 + CCl ₄	100	2180 ± 220	3130 ± 290

Eight male mice were used for each group.

Significantly different from CCl₄-treated control, ^{a)} $p < 0.01$.

TABLE III. Effect of Furanogermenone on the Serum GOT, GPT and LDH 20 h after Administration of CCl₄

Compounds	Dose mg/kg, p.o.	Body weight (g, gain)	GOT Karmen Unit mean $\pm$ S.E.	GPT Karmen Unit mean $\pm$ S.E.	LDH Wróblewsky Unit mean $\pm$ S.E.
Untreated control	—	3.9 $\pm$ 0.3	78 $\pm$ 7	28 $\pm$ 2	1847 $\pm$ 234
Treated control (CCl ₄)	—	3.0 $\pm$ 0.3	4190 $\pm$ 696	4950 $\pm$ 811	25219 $\pm$ 3856
α -Mercaptopropionylglycine + CCl ₄	500	3.2 $\pm$ 0.2	3980 $\pm$ 720	4530 $\pm$ 805	24200 $\pm$ 3650
Furanogermenone + CCl ₄	25	3.9 $\pm$ 0.3	3464 $\pm$ 690	4480 $\pm$ 914	19908 $\pm$ 3720
	50	3.0 $\pm$ 0.3	2089 $\pm$ 481 ^{a)}	1709 $\pm$ 562 ^{a)}	12539 $\pm$ 3666 ^{a)}
	100	2.9 $\pm$ 0.3	1138 $\pm$ 168 ^{b)}	1556 $\pm$ 280 ^{b)}	7954 $\pm$ 1498 ^{b)}

Ten male mice were used for each group.

Significantly different from CCl₄-treated control, a) $p < 0.05$, b) $p < 0.001$.

害³⁾に有効といわれている α -mercaptopropionylglycine (参天製薬) を用いた。なお薬物はいずれも 5% アラビアゴム末と懸濁して投与した。

1. スクリーニング試験でのガジュツの効果

Table I に示したように、ガジュツ 50% メタノールには明らかに四塩化炭素単独投与群に対し、睡眠時間の短縮がみられ、より正常動物に近くなった。

2. 中国産ガジュツの有効分画の検索

Table II に示したように、中国産ガジュツの *n*-ヘキサン抽出乾燥エキスをシリカゲルカラムクロマトにより Fr. 1—5 に分画し、血清 GOT および GPT への影響をみたところ、Fr. 3 投与群に GPT の上昇に対する抑制効果がみられた。

3. 新規セスキテルペノイド化合物“Furanogermenone”の血清 GOT, GPT および LDH への影響

Table III に示したように、“furanogermenone”は、50 mg/kg の経口投与において、明らかな血清 GOT, GPT および LDH の上昇に対して抑制効果を示した。またその場合の実験期間 4 日間のマウスの体重の推移は正常動物とほぼ等しいものであった。

結 論 お よ び 考 察

従来から、ガジュツが生薬として肝障害に利用されていることはない。しかし、天然薬物を開発するという観点からまったく新しい薬としての応用を試みることも必要と考えられる。今回は、病態モデルとして四塩化炭素による肝障害について有効な生薬のスクリーニング試験を行った。その結果、中国産ガジュツの 50% メタノール乾燥エキス投与群には thiopental-Na 睡眠を指標とする実験において有意に睡眠時間の短縮がみられた。本法に準じた肝障害に有効な天然薬物の開発を目的としたスクリーニング試験の結果、特に知られているものとして *Silybum marianum* 種子成分のシリマリニン²⁾がある。さらに、中国産ガジュツの主セスキテルペノイド成分である新規化合物“furanogermenone”が、50 mg/kg の経口投与により、血清の生化学的検査の結果および第 2 報にのべるように組織学的な試験からも、四塩化炭素肝障害発症抑制効果を示したことは、大変興味深い。従来、実験的肝障害に有効といわれている化合物としては、cysteamine,⁴⁾ cystamine,⁵⁾ glutathione,⁶⁾ cysteine,⁷⁾ および今回の実験で比較対照薬として用いた α -mercaptopropionylglycine³⁾などの SH 化合物が知られている。しかし著者らの行った実験条件と堀内³⁾らの実験方法が異なるためか今回報告する四塩化炭素肝障害に対しては、 α -mercaptopropionylglycine には有意な効果は認められなかった。これらのほかに、diisopropyl 1,3-di-thiol-2-ylidenemalonate⁸⁾などが知られ、植物由来の成分としてはフラボノールリグナンに属するシリマリニン²⁾などが報告されている。これらの化合物とはまったく異なった化学構造を有していることから、種々のセスキテルペノイドに関しても実験的肝障害に対する効果について、目下研究中である。また、原植物の基源として、ガジュツはただ 1 種“*Curcuma zedoaria*”のみ引用されている。しかし含有成分からみると明らかに中国産は、台湾産および日本産のものとは異なり、生薬としてこの点についても検討を加えたい。

引用文献および注

- 1) H. Shibuya, Y. Yamamoto, I. Miura, I. Kitagawa, *Heterocycles*, **17**, 215 (1982).
- 2) H. Wagner, P. Wolff, "New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological Biological or Therapeutical Activity," Springer-Verlag., Berlin, Heidelberg, New York, 1977, p.249.
- 3) 堀内正人, 高瀬謙二, 野村正行, 千葉剛久, 日薬理誌, **75**, 433 (1979).
- 4) E.F. Slater, *Nature*, **209**, 36 (1966).
- 5) J.A. Castro, E.V. Cignoli, C.R. Castro, O.M. Fenos, *Biochem. Pharmacol.*, **21**, 49 (1972).
- 6) 塚田 裕, 最新医学, **26**, 813 (1970).
- 7) E.C. Ferreyra, J.A. Castro, M.I. Diaz Gomez, N.D. Acosta, C.R. Castro, O.M. Fenos, *Toxicol. appl. Pharmacol.*, **27**, 55 (1974).
- 8) 中山貞男, 岡崎雅子, 酒井節代, 中村幸雄, 坂本浩二, 昭医誌, **39**, 19 (1979).