薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
110 (7) 504-508 (1990)

酵素阻害活性による漢方処方検討 (第3報¹⁻³⁾) Adenosine 3',5'-Cyclic
Monophosphate Phosphodiesterase による麻黄湯の研究

二階堂 保,^a 大本太一,^{*,a} 久家隆司,^a 柳沢晶子,^a
丁沢清美,^a 武田 元,^b 塚本博樹^b
東邦大学薬学部,^a 関東信越地区麻薬取締官事務所^b

The Study on Chinese Herbal Medicinal Prescription with Enzyme Inhibitory
Activity. III.¹⁻³⁾ The Study of Mao-to with Adenosine
3',5'-Cyclic Monophosphate Phosphodiesterase

Tamotsu NIKAIIDO,^a Taichi OHMOTO,^{*,a} Takashi KUGE,^a
Akiko YANAGISAWA,^a Kiyomi TEINOZAWA,^a
Hajime TAKEDA,^b and Hiroki TSUKAMOTO^b

Toho University,^a School of Pharmaceutical Sciences, Funabashi, Chiba,
274, Japan and Kanto Shin-etsu Regional Narcotics Control Office,^b
Nakameguro, Meguro-ku, Tokyo, 153, Japan

(Received March 26, 1990)

Mao-to, a Chinese herbal medicinal prescription was studied for the inhibitory activity of adenosine 3',5'-cyclic monophosphate (cAMP) phosphodiesterase.

The inhibitory activity for this enzyme depended mainly on Ephedra herb and Glycyrrhiza in this prescription. Apricot kernel acted as a mitigatory component for Ephedra herb in cAMP phosphodiesterase inhibitory test. In ephedrine and the related compounds the inhibitory activity of cAMP phosphodiesterase was not shown.

Keywords—Chinese herbal medicine; mao-to; cAMP phosphodiesterase; inhibition; Ephedra herb; Apricot kernel; mitigatory component; ephedrine; Cinnamon bark; Glycyrrhiza

我々はすでに漢方エキス製剤について adenosine 3',5'-cyclic monophosphate (cAMP) phosphodiesterase (PDE) に対する阻害活性を測定し、半夏瀉心湯、甘麦大棗湯について生薬の配合効果など *in vitro* での生物試験による解析の結果を報告した。^{2,3)}

この試験法は全動物を用いるものに比べると、感度が高く、したがって試料も 1 mg 以下と微量ですみ、また活性の測定に要する時間も短く、かつ操作も簡便であり、生理活性の検定に適した方法である。

麻黄湯は傷寒論を出典としており感冒、気管支炎、鼻炎などに適用される処方として知られている。本処方エキスについてはラット体温上昇作用⁴⁾や RS ウイルスに及ぼす影響⁵⁾が報告されているが、本処方の主薬とみなされる麻黄の気管支平滑筋に対する生化学的作用における cAMP や PDE との関連に興味をもち本処方を取りあげた。

本処方を構成する生薬は麻黄、杏仁、桂皮、甘草の 4 味で、これらの生薬の配合比率は文献により数種類知られているが、⁶⁾ 主として用いられている麻黄 5 g、杏仁 5 g、桂皮 4 g、甘草 1.5 g を 1 日量とする配合比率を基準として実験を行った。

実 験 方 法

測定装置 液体シンチレーションカウンタ; Aloka LSC-900 型, 遠心分離器; 佐久間 90S-22 型, インキュベーター; 大洋科学 M-100N 型。

阻害活性試験 Bovine serum albumine (Sigma) を酵素反応開始前に試料溶液に加えた (500 μg/ml) 後, pre-incubation を行い, 酵素はウシ心臓基源の cAMP PDE (EC 3.1.4.17, ベーリンガー・マンハイム山之内) を

TABLE I. cAMP PDE Inhibitory Activity of Constituents of Crude Drug and Chinese Herbal Medicinal Prescription Extract

Crude drug	Inh. % ^{a)} Mean±S.E. ^{b)}	Prescription					Inh. % ^{a)} Mean±S.E. ^{b)}	Dry weight extract (g)
		No.	Ep	Ap	Ci	Gl		
Ephedra (Mao)		Mao-to						
Aerial part	70.3±0.75	No. 1	5	5	4	1.5	64.3±0.33	1.91
Node	69.1±0.60	No. 1-a	5	5	4	1.5	63.4±1.16	1.89
Without node	63.9±1.30	No. 2	3	4	2	1	58.6±1.72	1.38
Apricot kernel (Kyonin)	48.5±0.64	No. 3	4	4	4	1	61.6±0.35	1.45
Cinnamon bark (Keihi)	80.7±3.60	No. 4	4	4	2	1	63.1±0.55	1.41
Glycyrrhiza (Kanzo)	83.6±1.28							

a) 1 mg/ml, b) n=3. Ep, Ephedra herb; Ap, Apricot kernel; Ci, Cinnamon bark; Gl, Glycyrrhiza.

Fig. 1. cAMP Phosphodiesterase Inhibitory Activity in Combination with Two Constituents of Mao-to

A, Apricot kernel: Ephedra herb; B, Ephedra herb: Apricot kernel; C, Cinnamon bark: Ephedra herb; D, Cinnamon bark: Apricot kernel; E, Glycyrrhiza: Ephedra herb; F, Glycyrrhiza: Apricot kernel; G, Glycyrrhiza: Cinnamon bark. Each plot is the mean of three measurement.

用いて、前報⁷⁾と同様の方法で行った。

配合生薬による阻害活性 麻黄湯に配合されている4種の生薬(麻黄、杏仁、桂皮、甘草—いずれも中国産、ウチダ和漢薬)についてそれらを細切し、単味並びに「一般用漢方処方の手引き⁸⁾」に記載された次の4種の処方例について1日分の処方量の水製エキスを作り、凍結乾燥して粉末とした後、1 mg/ml濃度でcAMP PDEに対する阻害活性試験を行った。また「臨床応用漢方処方解説⁹⁾」にみられる麻黄を先に抽出して後に、他の生薬を加えて再び抽出する再煎法(処方1-a)を処方1の配合比率により行い、水製エキスを作り、凍結乾燥して粉末

TABLE II. cAMP PDE Inhibitory Activity of Combination with Two Constituents of Mao-to

Crude drug	Ephedra herb			Apricot kernel Inh. % ^{a)}	Cinnamon bark Inh. % ^{a)}
	Aerial part	Node Inh. % ^{a)}	Without node		
Apricot kernel	71.1	31.7	48.0		
Cinnamon bark	82.1	62.4	79.3	70.1	
Glycyrrhiza	91.7	81.9	90.1	67.4	81.9

a) 1 mg/ml.

TABLE III. cAMP PDE Inhibitory Activity of Combination with Three Constituents of Mao-to

Prescription	Inh. % (1 mg/ml)			
	Ep-Gl-Ci	Ep-Gl-Ap	Ep-Ci-Ap	Gl-Ci-Ap
No. 1	68.4	58.2	56.5	46.0
No. 2	66.8	58.6	55.8	28.4
No. 3	68.5	65.4	63.2	43.1
No. 4	64.1	65.4	55.6	28.4

Ep, Ephedra herb; Gl, Glycyrrhiza; Ci, Cinnamon bark, Ap, Apricot kernel.

Fig. 2. cAMP Phosphodiesterase Inhibitory Activity of Combination with Ephedra Herb and Apricot Kernel

Ephedra herb only (○), combination with Ephedra herb and Apricot kernel (△). Each plot is the mean of three to four measurements.

とした後 (乾燥エキス量 1.89 g) 阻害活性試験を行い、それらの結果を Table I に示した。

生薬 2 種配合による阻害活性 構成生薬を 2 種類ずつ組みあわせた 7 種の配合処方的配合比率を 1:1—1:5 まで変化させて作製し、得られた水製エキスについて阻害活性試験を行い Fig. 1 の結果を得た。又麻黄については節、節間を分けて、他の生薬との 1:1 の配合比での組み合わせ処方を作り、得られた水製エキスについて阻害活性試験を行い Table II の結果を得た。

生薬 3 種配合処方の阻害活性 4 種の処方 1—4 の配合比率に従って、それらの処方を構成する生薬を 3 種

TABLE IV. cAMP PDE Inhibitory Activity of Ephedrine Analogous

Compound	IC ₅₀ (×10 ⁻⁵ M)
Ephedrine	460
Methylephedrine	>500
Pseudoephedrine	200
Ethylamphetamine	97
Metamphetamine	>500
d-Amphetamine	230
l-Amphetamine	330
dl-Amphetamine	>500

TABLE V. cAMP PDE Inhibitory Activity of the Constituents of Crude Drug Which Constitute Mao-to

Constituent	IC ₅₀ (×10 ⁻⁵ M)
Ephedrine	460
Amygdalin	>500
Benzaldehyde	13.7 ¹⁴⁾
Cinnamaldehyde	55.3 ¹⁴⁾
Cinnamic acid	92.6 ¹⁴⁾
Glycyrrhizin	19.3 ²⁾
cf. Papaverine	3.0

ずつ組み合わせ、同様に水製エキスを作り、阻害活性を測定して Table III の結果を得た。

麻黄-杏仁配合による阻害活性 麻黄 1 に対し、これに杏仁を 1, 2, 3, 4, 5 の割合で配合し、阻害活性試験を行って得た Fig. 1, B に、麻黄単味 (100—500 $\mu\text{g/ml}$) の阻害活性試験を併せて行い、阻害活性 (Inh.%) を縦軸に、麻黄と杏仁の配合比率と麻黄濃度 ($\mu\text{g/ml}$) を横軸にとり Δ 印は麻黄に杏仁を配合した際の、 $\circ$ 印はそれに対応する麻黄単味の阻害活性を表し Fig. 2 の結果を得た。

Ephedrine 関連化合物の阻害活性 本処方の主薬と考えられる麻黄の有効成分である ephedrine 及びその関連化合物について阻害活性試験を行い、その 50% 阻害濃度 (IC_{50}) を求め Table IV の結果を得た。別に麻黄 (10 g) の水製エキスを NH_4OH アルカリ性にてエーテル抽出、得られたアルカロイド画分 (82 mg) について阻害活性試験を行った。

配合生薬含有成分の阻害活性 本処方に配合される生薬の有効成分並びに関連化合物について阻害活性試験を行い、その IC_{50} を求め Table V の結果を得た。

結 果 と 考 察

配合生薬による阻害活性

4 種の構成生薬単味の阻害活性は 1 mg/ml の濃度で杏仁は低い阻害率であったが、他の 3 種の生薬には高い阻害率が認められた。これら 4 種の生薬の配合比率の異なる処方例 (1—4) については、処方 1 が乾燥エキス量も多く、阻害率が高い。一方麻黄と桂皮の配合比率の少ない処方 2 が乾燥エキス量も少なく、最も低い阻害率であった。以上のことから「経験漢方処方分量集」,⁹⁾「実用漢方療法」¹⁰⁾など多くの文献で取り上げられている処方 1 が最も適当な処方構成とみなされることから以下の実験では処方 1 を基準として用いた。また麻黄だけを先に抽出する再煎法 (1—a) では乾燥エキス量、阻害率とも処方 1 との差は認められなかった。

生薬 2 種配合による阻害活性

麻黄と他の配合生薬との組み合わせでは杏仁、桂皮の場合には麻黄の配合比率を増すに従って阻害率は上昇し、甘草では麻黄の配合比率を増しても明らかな上昇はみられなかった。単味では阻害活性の高くない杏仁と他の配合生薬との組み合わせではいずれの場合にも杏仁の配合比率を増すと阻害率の減少がみられるが、特に、桂皮、甘草との組み合わせにおいては著しい減少傾向を示した。

麻黄はその使用する部位によって治療効果が異なるとされている。節間と節とでは正反対の薬効を示すといわれている。¹¹⁾ 一方、数種の薬理活性を用いて比較検討し、本質的に差はないとする報告¹²⁾もみられる。現在、日本では麻黄として使う際に節を除くことはしていないが、台湾では節間のみを薬用として用いている。¹²⁾ このような使用部位による作用の違いに興味をもち、PDE に対する阻害活性を指標とした検討を行った。

節間と節単味での阻害率は両者とも節を含む地上茎のそれと比較してみると、ほとんど変わりがなかった。しかし、他の生薬との組み合わせ処方において節と桂皮、甘草との組み合わせでは阻害率の低下が認められ、杏仁との組み合わせでは節間、節とも約 1/2 という大幅な阻害率の減少がみられた。

生薬 3 種配合による阻害活性

4 種の組み合わせ処方の内、麻黄を抜いた処方の阻害率が最も低く、次いで甘草、桂皮の順であった。杏仁を抜いた場合には麻黄湯より阻害率が逆にやや高くなった。このことから本処方の PDE 阻害活性は主として麻黄、甘草に由来することが考えられ、杏仁は他の生薬に対して緩和的に働いていることが示された。

麻黄に対する杏仁の緩和作用

麻黄に対し杏仁を増量することにより、対応する麻黄単味の際の阻害活性よりそれぞれの濃度において活性の低下が認められ、杏仁が麻黄に対して拮抗的に作用し、緩和作用を示した。杏仁は麻黄による体温上昇作用に対し、抑制する傾向を示すことが知られ、麻黄の持つ諸作用に対して軽減あるいは増強などの調節的な働きを持つことが知られている。¹³⁾ これらのことと関連して PDE に対する阻害活性において杏仁が麻黄に対して抑制的に働いていることが確認され、漢方処方において強い作用を持った薬味に対し杏仁の配合量の加減によって緩和の程度を調節することも可能である。

Ephedrine 関連化合物の阻害活性

Ephedrine をはじめ阻害活性試験を行ったすべての化合物について阻害活性は認められなかった。また麻黄の水製エキスを含有されるアルカロイド画分の阻害活性は 100 $\mu\text{g/ml}$ 濃度で 14.1% と、水製エキスの阻害活性

(54.7%, 100 μ g/ml) と比べて極めて低かった。

麻黄は β -receptor を介して adenylyl cyclase を活性化させ、cAMP を増量させて気管支平滑筋を弛緩させる。このような作用を ephedrine や pseudoephedrine などのアルカロイドも有していることはよく知られている。一方 PDE 活性を阻害することによっても、細胞内 cAMP レベルの上昇がみられる。麻黄水製エキ스가示した PDE 阻害活性が ephedrine をはじめとするアルカロイドによるものでなく、他の成分によることが示唆されたことから、今後それらの成分の検索と共に、cAMP や PDE などの麻黄との関連について生化学的、薬理学的な面からの検討を行うことが望まれる。

配合生薬含有成分の阻害活性

本処方に配合されている麻黄を除く 3 種 (杏仁、桂皮、甘草) の生薬の有効成分の中ではすでに報告した benzaldehyde¹⁴⁾ と glycyrrhizin²⁾ とが阻害活性を示した。

以上のように cAMP PDE 阻害活性を用いた方法により麻黄の使用部位による活性への影響、杏仁の他の配合生薬への緩和作用などが認められた。しかし、今回の検討に用いられた試料濃度 (1 mg/ml) はヒトが服用する場合に比べて高用量であり、これらの結果がそのまま適用されるとは必ずしもいえないが、漢方処方における生薬の配合効果の一端が見られたと考える。

引用文献及び注

- 1) 二階堂保, 大本太一, 柳澤晶子, 丁沢清美, 武田 元, 塚本博樹, 日本生薬学会第 35 回年会, 新潟, 1988 年 9 月, p. 143.
- 2) 大本太一, 二階堂保, 久家隆司, 松島藤絵, 石島早百合, 薬誌, **108**, 427 (1988).
- 3) 二階堂保, 大本太一, 久家隆司, 池田恵二, 薬誌, **110**, 498 (1990).
- 4) 山原條二, 高木 昭, 木全基樹, 沢田徳之助, 宮川秀樹, 神田博史, 山崎和男, 平松正巳, 徳岡康雄, 和漢医薬学会誌, **2**, 303 (1985).
- 5) 岡部信彦, 立澤 宰, 和漢医薬学会誌, **3**, 364 (1986).
- 6) 厚生省薬務局監修, 「一般用漢方処方の手引き」, 薬業時報社, 東京, 1980 年, p. 238.
- 7) T. Nikaido, T. Ohmoto, H. Noguchi, T. Kinoshita, H. Saitoh, U. Sankawa, *Planta Medica*, **43**, 18 (1981).
- 8) 矢数道明, 「臨床応用漢方処方解説」, 初版, 創元社, 東京, 1966 年.
- 9) 大塚敬節, 矢数道明監修, 「経験漢方処方分量集」, 初版, 医道の日本社, 東京, 1966 年, p. 164.
- 10) 藤平 健, 「実用漢方療法—現代医学の盲点をつく」, 初版, 保健同人社, 東京, 1972 年.
- 11) a) 鈴木真海, 訳, 「国訳本草綱目」, 第 5 冊, 春陽堂, 1973, p. 211; b) 藤井美和男, 満州医学雑誌, **4**, 56 (1952).
- 12) 笠原義正, ヒキノヒロシ, 生薬学, **38**, 159 (1984).
- 13) 油田正樹, 現代東洋医学, **6**(3), 60 (1985).
- 14) T. Nikaido, Y. I. Sung, T. Ohmoto, U. Sankawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 578 (1984).