和漢薬作用に関する薬学的基础研究 (第9報¹⁾) 民間薬方剂“六神丸”
構成生薬の抗炎症効果における複合作用について²⁾

木村正康, 長田永三朗, 松井竹史, 小林千代子

富山大学薬学部和漢薬研究施設³⁾

Fundamental Research for the Pharmacological Activity of Oriental Drugs.

IX. ¹⁾ On the Combined Action of Several Crude Drugs Consisting
in “Rokusingan” for the Anti-inflammatory Effect²⁾

MASAYASU KIMURA, EIZABURO OSADA, TAKESHI MATSUI,
and CHIYOKO KOBAYASHI

Research Institute for Oriental Drugs, University of Toyama³⁾

(Received May 18, 1967)

Anti-inflammatory action of the proprietary drug, Rokusingan (musk, bezoar, bufotalis, borneol, pearl, realgar=2:3:2:2:3:2), and its componental crude drugs was examined by the filter pellet method. Although the effect of Rokusingan was about 6% of that of hydrocortisone acetate in this action, the complex effect of the combined use of musk, bezoar and bufotalis in 2:3:2 ratio was found to be responsible for 50% of this action. ID₅₀ values of each of these crude drugs were 388 mg/kg (282—523) in musk, 433 mg/kg (246—767) in bezoar, and 159 mg/kg (114—223) in bufotalis. Based on these values, additive theoretical value was calculated as 284 mg/kg. Since the complex effect of the three drugs, 69.4 mg/kg, is smaller than the theoretical value, this complex effect is considered to be due to the concerted action of these three drugs. It was revealed that the concerted effect of musk and bezoar in 2:3 ratio was the principle one in this complex effect. Combined effect of borneol, pearl, and realgar in 2:3:2 ratio is extremely weak and these drugs probably inhibit the anti-inflammatory action of the foregoing three crude drugs.

六神丸は動物性生薬を中心として構成された民間薬方剂で、解毒、消炎、鎮痛作用を目的に利用すると紹介されている。⁴⁾ また、六神丸の循環動態に対する作用、⁵⁾ 心臓機能に対する作用⁶⁾ については、著者等が構成生薬の複合作用の立場から検討を加えてきた。一方、中共では六神丸を主として咽喉関係の炎症に利用しており、⁴⁾ さらに最近では、六神丸構成生薬の1つである麝香に抗炎症効果があると報告されている。⁷⁾ そこで、麝香の抗炎症作用を追試確認するとともに、六神丸構成生薬の抗炎症効果における複合作用を明らかにする目的で本研究に着手した。

抗炎症効果の測定法はかなり幅広く報告されているが、これらを炎症の症状過程に従って分類すると、Table Iに示すとおりまとめることができる。

したがって、抗炎症効果の測定には目的に対応した方法を選択しなければならない。本研究では炎症の末期過程に属する症状の肉芽形成を目標にした Bioassay を採用し、六神丸構成生薬単独効果およびこれら生薬の六神丸中に含有される量的構成比と効果との関係に基づいて、六神丸の複合作用を検討した。

1) 第8報：薬誌，88，130 (1968)。

2) 日本薬学会北陸支部会で発表 (1966年6月)。

3) Location: Gofuku 3190, Toyama.

4) 中医研編，“全国中薬成薬処方集”，人民衛生出版社，1962，p. 546。

5) 木村正康，長田永三朗，薬誌，88，119 (1968)。

6) 木村正康，長田永三朗，脇功巳，薬誌，88，125 (1968)。

7) R.K. Mishra, R.B. Arora, S.D. Seth, J. Pharm. Pharmacol., 14, 830 (1962)。

TABLE I. Methods for Anti-inflammatory Assay

Stage of inflammatory process	Symptom	Procedure
Noxa		
Vasodilatation	Erythema	Heat Arthus Reaction Ultra Violet Rays Croton Oil
Increased Capillary Permeability	Permeability	Histamine Acetic Acid
Plasma Exudation	Edema	Dextran Egg White Formalin Carrageenin
Cellular Migration		
Proliferation	Granuloma	Croton Oil Cotton Ball Filterpaper Pellet Sponge
Restitution		

実験の部

実験方法

実験操作 肉芽形成抑制効果を指標とし, Formalin-filterpaper pellet 法⁸⁾に準じた. すなわち, Wistar 系雄シロネズミの体重 180—200 g のものだけを用いた. 円型 (直径 5.9 mm, 厚さ 0.6 mm) の重量約 8.5 mg の濾紙に, 7% ホルマリン溶液を 0.04 ml ずつ正確に滴下し, 浸透させておく. この濾紙ペレットをシロネズミの両横腹皮下に, 1 個ずつ移植する. 移植後に, 懸濁水性プロカイン・ペニシリン G, 3000 I.U./Rat を皮下注射して, 細菌感染を防止した. 薬物は濾紙ペレットを移植した日から始めて, 1 日 1 回ずつ 6 日間臀部に皮下注射した. 移植 7 日後に撲殺し, 形成された肉芽腫を摘出し, その乾燥重量として測定した. 肉芽形成抑制率は抗炎症作用薬を投与した動物の肉芽形成重量からペレット重量を差引いた肉芽重量を対照値との比率で表わした.

Fig. 1. Inhibition Curve of Hydrocortisone Acetate as Standards of Anti-inflammatory Drug on Granuloma Formation by Filterpaper Pellet Method (mg/rat log scale)

検体薬物はすべて, 0.9% NaCl, 0.4% Tween 80, 0.5% carboxymethylcellulose, 0.9% benzyl alcohol からなる水懸濁溶液として投与し, 対照には同一懸濁液を薬物だけを除いて投与した. 投与量は 1 回 0.4 ml に統一し, 用量を 6 回に分注し, その合計用量で示した.

生薬材料 本実験に用いた材料は富山市場より購入したもので, 実験対象となった雷氏六神丸の処方配合比率はつぎのとおりである.

雷氏六神丸処方

牛黄	Bezoar (犀黄)	21.4%
鶏冠石	Realgar (腰黄)	14.3%
真珠粉	Pearl (珠粉)	21.4%
麝香	Musk (元寸香)	14.3%
竜腦	Borneol (冰片)	14.3%
蟾酥	Bufotalis	14.3%

実験結果

I. Hydrocortisone acetate および Sodium salicylate の肉芽形成抑制効果
代表的抗炎症薬で作用機序の異なると考

8) A. Tanaka, F. Kobayashi, T. Miyake, *Endocrinol. Japon.*, 7, 357 (1960).

えられる hydrocortisone acetate と sodium salicylate について、肉芽形成の抑制効果を検討した。その結果を Fig. 1, 2 に示す。

図中の縦線は標準偏差を表わしている。

Fig. 1 から、hydrocortisone acetate については肉芽抑制効果が明らかに認められた。対数用量と肉芽形成抑制率との間に直線関係が成立し、用量を増すにつれ、抗炎症効果が強くなっている。50% 抑制用量 (ID_{50}) は 35.7 mg/kg, 信頼限界が 31.5—40.4 mg/kg と算出された。

一方、sodium salicylate については、Fig. 2 が示すように、対数用量と肉芽形成抑制率との間に回帰直線の勾配がほとんど認められず、約 1 g/kg 以上の高用量を投与しても、肉芽形成抑制効果が現われなかった。

II. 六神丸構成生薬の肉芽形成抑制効果

雷氏処方六神丸構成生薬のうち、ことに循環器系に対して作用を示した蟾酥、麝香、牛黄について、肉芽形成抑制効果を検討した。それらの結果を Fig. 3 に一括し比較して示した。Fig. 3 から、いずれの 3 生薬にも肉芽形成抑制効果が認められ、それらの ID_{50} 値は、蟾酥が 159 mg/kg (信頼限界 114—223 mg/kg)、麝香が 388 mg/kg (信頼限界 282—533 mg/kg)、牛黄が 433 mg/kg (信頼限界 246—767 mg/kg) と算出された。

Fig. 3. Anti-inflammatory Action Curves of Crude Drugs: Bufotalis (—△—), Musk (---x---), and Bezoar (—●—) Contained in Rokushingan by Filterpaper Pellet Method (mg/rat log scale)

麝香と牛黄との配合比 2:3 の併用の場合の ID_{50} は 129 mg/kg (信頼限界 94.4—176 mg/kg) であった。さらに、3 生薬の麝香と牛黄と蟾酥との配合比 2:3:2 の併用の場合の ID_{50} は 69.4 mg/kg (信頼限界 52.7—91.7 mg/kg) であった。

以上の ID_{50} 値はそれぞれの配合比にしたがって併用した総用量を示しているもので、これらの実測値だけから、効力比を簡単に比較しても、併用作用を検討することはできない。その検討については考察の項で論ずる。

Fig. 2. Inhibition Curve of Sodium Salicylate as Standards of Anti-inflammatory Drug on Granuloma Formation by Filterpaper Pellet Method (mg/rat log scale)

つぎに六神丸の他の構成生薬について抗炎症効果を測定すると、竜腦、真珠粉、鶏冠石の効果は非常に弱い、そこで、一括した配合比 2:3:2 の併用効果を検討すると、830 mg/kg で 27.1% の肉芽形成抑制効果が認められるにすぎないことがわかった。

III. 六神丸構成生薬の併用による肉芽形成抑制効果 六神丸構成生薬のうち、蟾酥、麝香、牛黄に肉芽形成抑制効果が認められたので、六神丸中の配合比にしたがって、それらの 3 生薬について、2 生薬を併用した場合、および 3 生薬を併用した場合の肉芽形成抑制効果を測定して 3 生薬間の協力作用を検討した。これらの結果をまとめて比較したグラフを Fig. 4 に示す。

Fig. 4 の結果から算出すると、六神丸の肉芽形成抑制効果の ID_{50} は 569 mg/kg (信頼限界 332—977 mg/kg) で、麝香と蟾酥との配合比 1:1 の併用の場合の ID_{50} は 176 mg/kg (信頼限界 132—236 mg/kg)、また、

考 察 と 結 論

併用作用における薬物間の協力効果の有無は、原理的にはおのおのの薬物効果を加算した値より、併用した

Fig. 4. Anti-inflammatory Action Curves of Effects Combined with Crude Drugs Contained in Rokushingan by Filterpaper Pellet Method (mg/rat log scale)

—△—: combination of musk and bezoar (2:3); ---x---: combination of musk and bufotalis (1:1); ---●---: combination of musk, bezoar and bufotalis (2:3:2); —●—: rokushingan, consisting of six crude drugs: musk, bezoar, bufotalis, borneol, pearl and realger (2:3:2:3:2).

上述の併用理論値誘導式に従って、六神丸構成生薬による肉芽形成抑制効果の併用効力を算出し、比較するために一括して次表を得る。

TABLE II. Anti-inflammatory Potency of Drugs and Their Combined Effect

Drugs	Found ID ₅₀ (mg/kg)	Confidence limits (95%)	Calculated as addition ID ₅₀ (mg/kg)	Potentative index
Hydrocortisone acetate	35.7	31.5-40.4		
Sodium salicylate	weaker			
Rokushingan	569	332-977		
Bezoar	433	246-767		
Musk	388	282-533		
Bufotalis	159	114-223		
Musk:Bufotalis (2:2)	176	132-236	226	
Musk:Bezoar (2:3)	129	94.4-176	414	3.2
Musk:Bezoar:Bufotalis (2:3:2)	69.4	52.7-91.7	284	4.1
Borneol:Pearl:Realger (2:3:2)	weaker			

この表において、理論値を実測値とその信頼限界を考慮して比較すると、麝香と牛黄との併用、および麝香と牛黄と蟾酥との併用の場合にそれぞれ相乗効果の存在が証明された。これら併用効果における協力効果度を実測値と理論値との比から算出し比較すると、3者併用の場合の方が大きい。

この3者による複合作用を2生薬と1生薬との併用によるとみなして、麝香と牛黄との組合わせに蟾酥を併用した場合を算出すると理論値は136となり、協力効果度は2.0となる。この協力効果度は、蟾酥と麝香の併用効果が相加的であると実験的に証明されたので、蟾酥と牛黄の併用作用を実測していなくとも、その協力効果によるものと推定できる。したがって、抗炎症作用における麝香、牛黄、蟾酥の3生薬による併用比2:3:2の複合作用は、各2生薬の併用効果のうち、麝香と牛黄、牛黄と蟾酥、麝香と蟾酥の組合わせによる協力効果順に依存していると結論できる。

六神丸中の共存比による麝香、牛黄、蟾酥の3生薬の複合効果は、hydrocortisone acetateの約 $\frac{1}{2}$ という予想以上の効力をもち、六神丸の方剤に対しては約8.2倍の効力となる。したがって、六神丸中の竜腦、真珠粉、

場合の効果の方が大きいかな否かで判定される。さらに、厳密には一定効果を惹起する薬物用量、たとえばED₅₀値を規準にして、併用効果におけるED₅₀値の実測値が、おのおのの薬物が相加的に作用すると考えた場合に算出される理論値より小さいと相乗効果の判定ができる、この理論値の算出は次式から導びかれる。

$$\frac{m}{ED_{50} A} + \frac{n}{ED_{50} B} = \frac{m+n}{ED_{50} A \cdot B}$$

したがって、

$$ED_{50} A \cdot B = \frac{(m+n)ED_{50} A \cdot ED_{50} B}{mED_{50} B + nED_{50} A}$$

ここで、ED₅₀ A および ED₅₀ B は薬物 A および薬物 B の50%効果用量で、ED₅₀ A・B がおのおのの薬物を m:n の割合で併用したときの相加作用の50%効果用量をあらわす。

鶏冠石の併用作用はきわめて微弱であることが実験的に確認し得たので、これら 3 生薬が上記 3 生薬に拮抗的に関与して、六神丸方剤の抗炎症作用に協調していると推論できる。

以上、六神丸中の麝香、牛黄、蟾酥の複合作用の意義が明らかになったが、特に麝香と牛黄との併用効果は 3 生薬のうち最強の蟾酥単独よりも強力であるので、抗炎症作用の複合効果において中心的な役割を果しているものと推測でき、その両者の協力作用機序に興味を残す。

謝辞 本研究の一部は文部省科学研究・機関研究費（志甫薬学部長代表）によったもので感謝する。また、研究推進に便宜を計られた和漢薬研究施設長 木村康一教授に感謝する。