薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
94 (2) 157-162 (1974)

UDC 547.91.09 : 581.192 : 615.322.076.9

山梔子の薬理学的研究 (第 1 報) Geniposide および Genipin の胆汁分泌, 胃液分泌,¹⁾ 胃運動に対する作用, ならびにその他の作用

原田正敏,^{2a)} 天明直美, 油田正樹, 遠藤 徹^{2b)}

千葉大学薬学部,^{2a)} 津村研究所^{2b)}

Pharmacological Studies of Gardeniae Fructus. I. Effects of Geniposide and Genipin on the Biliary Excretion, the Gastric Juice Secretion,¹⁾ and the Gastric Contraction, and Other Pharmacological Actions

MASATOSHI HARADA,^{2a)} NAOMI TENMYO, MASAKI ABURADA
and TOHRU ENDO^{2b)}

Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Chiba^{2a)} and Tsumura Laboratory^{2b)}

(Received March, 29, 1973)

Pharmacological studies were made on geniposide, genipin, and gardenia fruit extract on the first general screening test and on their effect on digestive organs, especially on biliary excretion, gastric juice secretion, and gastric contraction. Geniposide is the main component of fruits of gardenia (*Gardenia jasminoides* ELLIS) and genipin is its aglucone. Gardenia fruit is an important crude drug which is used in prescriptions of Chinese medicine, Shishishi-to (梔子鼓湯), Shishikankyo-to (梔子乾姜湯), Inchinko-to (茵陳蒿湯), etc., and may be expected to show sedative, anti-inflammatory, choleric, antipyretic, and diuretic effects.

In the first general screening test, geniposide and genipin inhibited the writhing behavior in mice induced by acetic acid, and genipin showed a weak anti-acetylcholine action and a weak antihistamine action on the isolated mouse ileum and isolated guinea pig ileum, respectively. Genipin increased biliary excretion by either intravenous, intraduodenal, or oral administration in rats. The choleric activity of genipin was almost equal to that of sodium dehydrocholate. Genipin inhibited the gastric secretion in the pylorus-ligated rat, the potency being 1/10 to 1/5 of atropine sulfate. Geniposide and genipin inhibited both the spontaneous contraction and the pilocarpine-induced contraction of the rat stomach. Such an inhibition, however, was transient and geniposide was less potent.

山梔子はクチナシ (*Gardenia jasminoides* ELLIS) の果実で、漢方において梔子鼓湯 (梔子, 香鼓) (梔子配合率: 29%), 梔子乾姜湯 (梔子, 乾姜) (50%), 茵陳蒿湯 (梔子, 茵陳, 大黃) (20%), 梔子柏皮湯 (梔子, 甘草, 黃柏) (44%), 梔子厚朴湯 (梔子, 厚朴, 枳實) (20%), 黃連解毒湯 (丸) (梔子, 黃連, 黃芩, 黃柏) (25%) などに含まれ、重要な位置を占めている生薬である。

傷寒論や金匱略要などからこれらの処方に応用されている臨床応用例を例記してみると、梔子鼓湯では心中懊憹、煩熱、舌上苔、梔子乾姜湯では身熱、微煩、茵陳蒿湯では黄疸、小便不利、腹微滿、梔子柏皮湯では黄疸、発熱、梔子厚朴湯では心煩、腹滿、臥起不安、黃連解毒湯では煩悶、諸出血などであり、それらから鎮静、消炎、利胆、解熱、止血、利尿などが期待される。また民間において外用として消炎的に用いられることがある。

山梔子の薬理学的検討はこれまでも試みられており、李³⁾ は家兎胆汁分泌におよぼす作用ならびに総胆管結

1) 原田正敏, 芹沢直美, 油田正樹, 遠藤 徹, 日本生薬学会静岡大会で発表, 1971 年 11 日.

2) Location: a) Yayoi-cho Chiba; b) Izumi, Komae Tokyo.

3) 李希賢, 日薬理誌, 41, 207 (1944).

紫家兔の血中ビリルビン出現におよぼす影響などを報告し、また Miwa⁴⁻⁷⁾ も類似した報告をしている。

山梔子の成分には crocin が知られていたが、最近井上⁸⁾ によりイリドイド配糖体である geniposide の構造が報告された。その含有量は 6% で山梔子の主要成分とみなされる。イリドイド化合物は最近化学的に研究されており、山梔子からは geniposide のほか、genipin-1- β -gentiobioside,⁹⁾ gardenoside,⁸⁾ shanzhiside¹⁰⁾ 等も発見された。また、薬理学的には *Olea europaea* LINNE からの oleuropein の薬理作用¹¹⁾ も報告されている。

今回著者らは山梔子の主要成分とみなされる geniposide とその aglucone である genipin を中心に山梔子の治療効果と関連のある諸薬理作用について検討した。

なお genipin は geniposide の aglucone ではあるが山梔子中には存在せず *Genipa americana* L. に含有され 1961 年 Carl Djerassi¹²⁾ 等により分離構造決定されたものである。

実 験 の 部

実験材料

Geniposide, genipin (geniposide の aglucone) および山梔子水製エキス。投与にはすべて生理食塩水に溶解させ用いた。

geniposide

genipin

実験動物

すべて市販の雄性 ddys 系マウス, Wistar 系ラット, モルモットおよび家兎を用いた。

実験方法

1. 第一次一般薬理試験 a). 急性毒性——Genipin (以下 Gnp.) および geniposide (以下 Gnpd.) をマウスあるいはラットに静脈内 (*i.v.*), 腹腔内 (*i.p.*) および経口的 (*p.o.*) に投与し、

また水製エキスを腹腔内および経口的に投与し、48—72 hr 後の生死判定により LD₅₀ を算出した。計算には腹腔内および経口投与試験では Litchfield-Wilcoxon 法を、静脈内投与試験では Behrens-Kärber 法を用いた。

b). マウス自発運動に対する作用——露崎式マウス自発運動記録装置¹³⁾ を用い薬物投与直後にマウスを遮光した回転カゴに入れ 120 min 間にわたって経時的に回転数を測定し自発運動量を調べた。

c). 鎮痛作用——Whittle の酢酸法¹⁴⁾ に準じた。マウス腹腔内に 0.7% 酢酸を 10 ml/kg 宛投与し出現するよじり運動を痛覚の指標とし、それに対する薬物の作用を調べた。薬物は酢酸投与 30 min 前に皮下投与 (*s.c.*) と経口投与し、よじり運動の回数は酢酸投与後 10—20 min の 10 min 間計数した。

d). 体温降下作用——一定範囲の直腸温を示すマウスを用い、サーミスター温度計により 30—60 min 間隔で 4 hr 直腸温を測定した。実験は 23°±1, 60% の恒温恒湿下で行なった。薬物は腹腔内投与した。

e). Hexobarbital 睡眠におよぼす作用——マウスに薬物を腹腔内および経口投与し、30 min 後 hexobarbital-Na (70 mg/kg) を腹腔内投与した。正向反射の消失から再び正向反射が出現するまでを睡眠としその時間を測定した。

f). 抗痙攣作用——i. Pentetrazol 痙攣に対する作用：薬物を腹腔内投与し 1 hr 後、あるいは 9 日間連続投与し最終日投与の 1 hr 後に pentetrazol 100 mg/kg をマウス背部に皮下投与し、死亡の個体数と致死時間で薬物の作用を調べた。ii. Nicotine 痙攣に対する作用：薬物を腹腔内および経口投与し 30 min 後に nicotine 1.0 mg/kg を静脈内投与して起こる強直性伸展および死亡の個体数によって薬物の作用を調べた。

g). 摘出腸管に対する作用——マウスおよびモルモット小腸を用い、マグヌス累積法により前者では抗アセチルコリン作用を、後者では抗ヒスタミン作用を調べた。浴槽温は 27°±1 である。

h). 家兎血圧呼吸に対する作用——ウレタン麻酔下 (1 g/kg, *i.p.*) の家兎 (3—3.4 kg) を用い、頸動脈圧、呼

4) T. Miwa, *Japan. J. Pharmacol.*, **2**, 102 (1953).

5) T. Miwa, *Japan. J. Pharmacol.*, **2**, 139 (1953).

6) T. Miwa, *Japan. J. Pharmacol.*, **3**, 1 (1953).

7) T. Miwa, *Japan. J. Pharmacol.*, **4**, 69 (1954).

8) H. Inouye, S. Saito, H. Taguchi, T. Endo, *Tetrahedron Letters*, **1969**, 2347.

9) T. Endo, H. Taguchi, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **18**, 1066 (1970).

10) H. Inouye, S. Saito, T. Shingu, *Tetrahedron Letters*, **1970**, 3581.

11) V. Petkov, P. Manolov, *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)*, **22**, 1476 (1972).

12) C. Djerassi, T. Nakano, A.N. James, L.H. Zalkow, E.J. Eisenbraun, J.N. Shoolery, *J. Org. Chem.*, **26**, 1192 (1961).

13) 露崎輝夫, 日薬理誌, **59**, 40 (1963).

14) B.A. Whittle, *Brit. J. Pharmacol.*, **22**, 246 (1964).

吸、心拍数、心電図に対する影響を調べた。薬物は大腿静脈より投与した。

2. ラット胆汁分泌に対する作用 体重 300 g 程度のラットをペントバルビタール麻酔下 (50 mg/kg, *i.p.*) で開腹し、総輸胆管に直径約 1.2 mm のポリエチレンカニューレを挿入し、1 hr 胆汁を採取したのち薬物を静脈内投与、経口投与、十二指腸内投与 (*i.d.*) して、その後の胆汁分泌量の変化を 1 hr ごとに 4 hr 測定した。静脈内投与では大腿静脈内に挿入したポリエチレンカニューレより 4 ml/40 min/rat の速度で持続注入した。標準薬物にはデヒドロコール酸ナトリウムを用いた。

3. ラット胃液分泌に対する作用 手術時の体重 200—230 g 程度のラットを用い Shay の幽門結紮法に準じて行なった。すなわち絶水絶食 18 hr 後、エーテル麻酔下で開腹し、幽門部を結紮し同時に薬物を十二指腸内投与して手術を終る。4 hr 後にそれぞれ胃液量、総酸度、pH を測定した。

4. ラット胃運動に対する作用 4 hr 絶水絶食後手術時の体重約 300 g 程度のラットをペントバルビタール麻酔下 (50 mg/kg, *i.p.*) で開腹し胃を露出させ、前胃部にバルーンが挿入できる程度の穴を開け、胃内容物を排出させたのち直径約 1.5 cm の水を満たしたバルーンを胃内に挿入し胃内圧をストレインゲージを介して記録した。薬物の自動運動と塩酸ピロカルピン (0.5 mg/kg, *i.v.*) により亢進された運動に対する作用を調べた。薬物はすべて大腿静脈内より投与した。

結 果

1. 第一次一般薬理試験

急性毒性 Gnp. の LD₅₀ を Table I に示す。Gnp. は致死量で鎮静様症状を呈するが、投与後 24 hr 程度では死亡に至らない。死亡例の出現するのは投与後 24 hr—72 hr が最も多くそれ以降はあまり死亡例をみない。一方 Gnpd. および水製エキスの急性毒性は弱く前者では 3 g/kg (*i.v.*, *i.p.*, *p.o.*)、後者では 5 g/kg (*i.p.*) という大量投与でも死亡例をみなかった。なお Gnpd. および水製エキスの大量投与後動物は下痢をおこし Gnpd. では糞および尿が青色を呈する。

その他の作用 Gnp. については 60 mg/kg (*s.c.*) で酢酸による writhing を抑制し (Table II) 腸管に対しては 5×10^{-4} g/ml より塩化アセチルコリンによる収縮を、 1×10^{-4} g/ml より二塩酸ヒスタミンによる収縮をそれぞれ頭打ちに抑制した。ヒスタミンに対する結果を Fig. 1 に示す。さらに血圧に対しては 30 mg/kg (*i.v.*) でもほとんど作用を示さず、呼吸、心拍数、心電図に対しても同様であった。その他の項目については著変はみられず 60 mg/kg (*i.p.*: LD₅₀ の約 1/3 に相当する) でも自発運動、ヘキシバルビタール睡眠、体温、ペンテトラゾールおよびニコチン痙攣に対して変化を与えなかった。

TABLE I. Acute Toxicity of Genipin in Mice

Route	No. of animals	LD ₅₀ (mg/kg)		
		Value of 24 hr	48 hr	72 hr
<i>i.v.</i>	60	320 ^{a)}	220 ^{a)}	153 ^{a)}
<i>i.p.</i>	50	310 (261.1—367.0) ^{b)}	217 (170.9—275.6) ^{b)}	190 (150.2—240.4) ^{b)}
<i>p.o.</i>	60	>800	310 (213.1—451.1) ^{b)}	237 (195.1—288.0) ^{b)}

a) Behrens-Kärber method

b) Litchfield-Wilcoxon method Numbers in parentheses indicate the 95% fiducial limits.

TABLE II. Analgesic Activity of Geniposide, Genipin and Gardeniae Fructus Extract in Writhing Symptom of Mice

Compound	Dose (g/kg, <i>s.c.</i>)	No. of animals	No. of Writhing ± S.E. (for 10 min)
Control	—	10	26.0 ± 9.1
Geniposide	0.5	10	8.9 ± 2.9 ^{a)}
Genipin	0.06	10	7.9 ± 3.2 ^{a)}
Extract ^{b)}	1.0	10	27.3 ± 2.8

a) $p < 0.01$

b) aqueous extract

Gnpd. については 0.5 g/kg (s.c.) で酢酸による writhing を抑制した (Table II) が, 自発運動, ヘキソバルビタール睡眠に対しては 1 g/kg (i.p., p.o.) でも, また体温, ペンテトラゾールおよびニコチン痙攣に対しては 0.5 g/kg (i.p.) でも変化を与えなかった. 一方水製エキスも著明な作用を示さず, 2 g/kg (i.p., p.o.) で自発運動とヘキソバルビタール睡眠に対して, また 1 g/kg (i.p.) で体温, ペンテトラゾールおよびニコチン痙攣に対して何ら作用を示さなかった.

Fig. 1. Effect of Geniposide and Genipin on the Dose-Response Curve of the Contraction induced by Histamine Dihydrochloride in the Isolated Guinea Pig Ileum

●—●: control
 ×—×: geniposide 1×10⁻² g/ml (n=4)
 ○—○: genipin 1×10⁻⁴ g/ml (n=8)
 ○—○: genipin 5×10⁻⁴ g/ml (n=6)
 △—△: diphenhydramine 1×10⁻⁸ g/ml (n=6)
 ▲—▲: papaverine 5×10⁻⁶ g/ml (n=6)

Fig. 2. Facilitatory Effect of Geniposide, Genipin and Gardeniae Fructus Extract on Biliary Excretion in Rats

●—●: control
 ○—○: genipin 0.025
 ○—○: genipin 0.050
 ○—○: genipin 0.100
 ×—×: geniposide 1.000 (dose: g/kg)
 △—△: extract (aqueous extract)
 □—□: dehydrocholic acid-Na 0.020
 □—□: dehydrocholic acid-Na 0.050
 □—□: dehydrocholic acid-Na 0.100 (dose: g/kg)
 a): $p < 0.05$ b): $p < 0.01$

2. ラット胆汁分泌に対する作用

本結果を Fig. 2 に示す.

Gnp. は 25 mg/kg (i.v., i.d.) より胆汁分泌量を増加させ, 十二指腸内投与ではそれが有意の増加である. 50 mg/kg (i.v., i.d.) では静脈内投与で有意の増加を示し,

十二指腸内投与ではデヒドロコール酸とほぼ等効力を示した. さらに経口投与では 100 mg/kg で同用量のデヒドロコール酸より強くかつ持続性の胆汁分泌促進作用がみられた. また Gnp. を投与した動物の胆汁中にいづれの投与方法においても血液と思われる異物の混入が若干みられ, 胆汁の色調は Gnp. 投与後約 1 hr 程度から青色に変化し時間とともに色調が濃くなることが認められた. 一方 Gnpd. および水製エキスについては 1 g/kg を前者では静脈内, 十二指腸内, 経口的に, 後者では静脈内および経口的にそれぞれ投与したがいづれも胆汁分泌量を増加させなかった. ただし Gnpd. 投与後 2 hr 程度から Gnp. 投与後と同様に胆汁が青色に変化することが認められた.

TABLE III. Inhibitory Effects of Geniposide, Genipin and Gardeniae Fructus Extract on Gastric Juice Secretion in Pylorus-ligated Rats

Compound	Dose (g/kg, i.d.)	No. of animals	Volume		pH	Total acid mEq/l
			ml/100 g	Inhibitory-ratio (%)		
Control	—	9	2.6±0.30	0	1.2	89±4.5
Extract ^{a)}	1.00	4	2.3±0.27	8	2.0	71±12.0
Geniposide	0.10	6	3.0±0.42	-15	1.1	98±2.6
Geniposide	0.50	3	2.6	-1	1.3	85
Genipin	0.025	6	2.0±0.24 ^{b)}	23	1.9	59±8.2 ^{c)}
Genipin	0.05	6	1.1±0.13 ^{c)}	57	2.6	62±10.5 ^{b)}
Genipin	0.10	6	1.3±0.19 ^{c)}	51	3.1	43±8.7 ^{c)}

a) aqueous extract

b) $p < 0.05$

c) $p < 0.01$

3. ラット胃液分泌に対する作用

本結果を Table III に示す。

Gnp. は 25 mg/kg (*i.d.*) より有意の胃液分泌抑制および総酸度の減少を示し、胃液 pH については上昇を示した。Gnpd. および水製エキスは同作用を示さなかった。

4. ラット胃運動に対する作用

本結果を Fig. 3 に示す。

Gnp は 25 mg/kg (*i.v.*) より、Gnpd. は 0.1 g/kg (*i.v.*) より胃の自動運動とトーンの減少を示した。さらに両者は塩酸ピロカルピン (0.5 mg/kg, *i.v.*) で亢進された運動をも抑制した。

Fig. 3. Inhibitory Effect of Genipin on Gastric Contraction in Rats

考察および結論

急性毒性試験においては Gnp. 投与で死亡が 24 hr 以降に漸次起こり始めるという特徴的な性質が得られた。この作用の遅延発現は静脈内投与でも現われた。これに反して Gnpd. と水製エキスではきわめて毒性が低く、試験範囲の濃度では毒性は見出せなかった。第一次一般スクリーニングにおいて、Gnp. と Gnpd. はともに実施した中枢作用のテストの中で酢酸 writhing の抑制を与えたのみであった。酢酸 writhing の抑制は必ずしも鎮痛作用を意味するとは限らない。ここで行なった中枢作用の実験では薬物が 30 min—1 hr 前にすべて投与されているので、あるいは毒性テストでみられた遅発性効果のために効果が未だ現れない状態であったのかも知れない。しかし抗ペントラゾール痙攣作用に関して Gnp. の 9 日間連続投与によっても抑制効果は得られなかった。胆汁分泌や胃液分泌試験においては Gnp. による即時の効果が得られているので本実験の範囲からではあるが実験薬理上の中枢作用の存在をいうのは少しく困難と思われる。

Gnp. は摘出小腸において、抗 Ach 作用、抗 Hist 作用を示したが、これは非特異的平滑筋弛緩作用である。一方 Gnpd. では摘出小腸に対して何ら作用を示さなかった。

循環呼吸器系に対する作用は Gnp. の 30 mg/kg でほとんど血圧、呼吸、心拍数および心電図に対して著変を与えなかった。

胆汁分泌に関しては Gnp. は静脈内投与、十二指腸内投与、経口投与のいずれの場合でも顕著な胆汁量増加を与え、その効果は十二指腸内投与および経口投与ではデヒドロコール酸と同等かあるいはそれ以上の強さである。一方 Gnpd. は Gnp. の有効量より遙かに大きいモル数 (約 20 倍) を投与しても作用はなく、水製エキスも同様であった。Gnp. による胆汁分泌増加の際みられる血液様物質の混入については現在検討中である。

Gnp. は 25 mg/kg (*i.d.*) で Shay ラットにおいて胃液分泌量抑制、総酸度減少、胃液 pH 値上昇を与えた。この効果はアトロピンに比べて 1/10—1/5 程度という強いものであるがアトロピンのような副交感神経遮断による効果ではない。一方 Gnpd. と水製エキスはそれぞれ 0.5 g/kg, 1 g/kg (*i.d.*) という大量でも何の作用も示さなかった。

生体位胃運動に対しては Gnp. と Gnpd. ともに運動抑制、トーン減少を与えたが、前者は一段強い。この前者の抑制には平滑筋弛緩作用が与っている。一方後者の抑制は 100 mg/kg (*i.v.*) で始めて得られる弱いものであった。本成分にはマグヌス法で浴槽濃度 1×10^{-2} g/ml でも鎮痙作用を認めていないので、その胃運動抑制は平滑筋直接弛緩作用の関与は考えにくい。他の要因、例えば中枢性や反射性の作用によることも考えられるが現在のところ詳かではない。この意味では Gnp. の抑制にもこの他の要因に関する推測は共通する。

Gnp. と Gnpd. および本エキスの薬理作用の特徴については、実施試験項目の中では、ほとんど Gnp. に作用があり、Gnpd. とエキスにはその作用が認められなかったということである。逆に Gnpd. とエキスの与える下痢は Gnp. では見られなかった。生薬中には Gnp. は含有されないの、生薬に元来存在する成分だけを試験したとすれば、Gnp. が持つ作用は発見できなかったであろう。Gnp. は Gnpd. の aglucone であるので体内で Gnpd. が加水分解して Gnp. を生ずる可能性がある。著者らはラットに大量の Gnpd. を経口投与した際、尿中に Gnp. が排泄されることを確認しているが (未発表)、その際薬理的に有効なほどの Gnp. が生成されたとは考えられない。山梔子含有成分が本研究の範囲で下痢以外に顕著な薬理作用を与えるという事実は得られなかつ

た。したがってそれら成分が直接に山梔子の治療効果と関連をもつと推定されるデータは乏しかった。もちろん本研究での Gnpd. の薬理作用は限られた一部であり、また Gnpd. 以外は総エキスとして用いたのでエキス中の他の有効成分が量的に、または薬理活性的に別の成分に陰蔽されて効果を表わさないという可能性は十分ある。事実 Miwa⁴⁻⁷⁾ は家兎を用いて山梔子エキスとクロチンの胆汁分泌作用を認めている。

ここで Gnp. を介しての可能性を考えた場合、人体において Gnpd. が Gnp. に分解され、その量が薬理活性を発現するのに十分な量であると仮定すれば、Gnp. の胆汁分泌作用や胃液分泌抑制作用などが人体でも働くことが推定される。しかしただ今のところこれは可能性の範囲に止まる。

謝辞 本研究にあたり御助言をいただいた津村研究所 刈米達夫所長ならびに田口平八郎氏、実験に協力された大島ちづ子、桜井美津子両氏に厚く感謝いたします。