

四塩化炭素肝障害に対するグリチルリチン誘導体の抑制効果

樋口 哲也,^{a)}西田 圭志,^{b)}長村 洋一,^{c)}斎藤 節生,^{d)}伊藤 圓,^{a)}石黒伊三雄^{b)}^{a)}藤田保健衛生大学医学部消化器内科学教室, ^{b)}同・医学部生化学教室,^{c)}同・衛生学部臨床化学教室, ^{d)}城西大学薬学部生薬学教室

Preventive effects of glycyrrhizin and its derivatives on liver injury in mice treated with carbon tetrachloride

Tetsuya HIGUCHI,^{a)} Keiji NISHIDA,^{b)} Yoichi NAGAMURA,^{c)}
Setsuo SAITO,^{d)} Madoka ITO^{a)} and Isao ISHIGURO^{b)}^{a)}Departments of Internal Medicine and ^{b)}Biochemistry, School of Medicine and^{c)}Department of Clinical Chemistry, School of Health Sciences, Fujita Health University^{d)}Faculty of Pharmaceutical Science, Josai University

(Received November 18, 1991. Accepted March 31, 1992.)

Abstract

We prepared a variety of glycyrrhizin (Gly) derivatives with disaccharides as ligand by replacing one or two molecules of glucuronic acid (GlcUA) at the C3 position of Gly molecule with one or two molecules of glucose (Glc) and/or galactose (Gal). The preventive effect of these Gly derivatives on CCl₄-induced liver injury in mice was compared with that of Gly itself using serum alanine transaminase and aspartate transaminase activities as index of liver injury. Gly derivatives possessing at least one molecule of GlcUA as ligand at the C3 position prevented this injury more effectively than Gly derivatives without GlcUA in the position. Although Gly derivatives having GlcUA→3 αGlc, GlcUA→2 βGlc, GlcUA→6 βGal or GlcUA→3 βGlc had a preventive effect on CCl₄-induced liver injury, the derivative possessing GlcUA→2 βGlc showed the strongest preventive effect. In addition, the injection of some of Gly derivatives significantly prevented increases in serum and liver lipid peroxide levels and a decrease in liver tryptophan dioxygenase activity in CCl₄-treated mice. These results indicate that the preventive effect of Gly derivatives on CCl₄-induced liver injury is stronger than that of Gly itself.

Key words liver injury, carbon tetrachloride, glycyrrhizin, glycyrrhizin derivatives.**Abbreviations** gal, galactose; glc, glucose; glcUA, glucuronic acid; gly, glycyrrhizin.

緒 言

Glycyrrhizin (Gly) は生薬として古くから用いられてきた甘草の成分である。Gly はトリテルペン骨格からなるグリチルレチン酸のC3位に2分子のグルクロン酸 (glcUA) が結合した化合物であり、生体内ではβ-glucuronidaseでグリチルレチン酸と2分子のグルクロン酸に分解される。Glyの薬理

活性単位はグリチルレチン酸であると報告されているが¹⁾、その作用機構の詳細は不明である。また、グリチルレチン酸のC3位に結合する糖が2分子のglcUAであることとグリチルレチン酸の薬理活性の関係に関する報告はほとんど無い。そこで、著者らはGlyのC3位の結合糖をglcUA, グルコース (glc), ガラクトース (gal) で置換した誘導体を合成し²⁾、これらの誘導体の四塩化炭素 (CCl₄) 肝障害に対する抑制効果を調べた。

*〒470-11 愛知県豊明市杣掛町田楽ヶ窪1-98
Toyoake, Aichi 470-11, Japan

材料と方法

(1) **実験動物**：体重 25～30 g の 6 週令 ddy 系雄性マウスを中部科学資材 K.K. (名古屋) より購入し、オリエンタル酵母工業 K.K. (東京) 製の固形飼料 MF で 1 週間以上飼育したものを実験に用いた。

(2) **試薬**：Gly および 18 β グリチルレチン酸 (GA) は Sigma 社のものを用いた。また、Fig. 1 に示す Gly の誘導体は著者ら²⁾ が合成したものをを用いた。血清のアスパラギン酸トランスアミナーゼ (AST) とアラニントランスアミナーゼ (ALT) 活性およびグリセライド (TG) 測定に用いた COBASU-キットは、日本ロッシュ株式会社 (東京) より購入した。チオバルビツール酸 (TBA) は MERCK 社、津田試薬は第一化学薬品 K.K. (東京) のものを用いた。CCl₄ などその他の試薬は和光純薬 K.K. (大阪) の特級品を用いた。

(3) **実験的肝障害マウスの作製と Gly とその誘導体の投与方法**：実験的肝障害マウスは前述のマウスにオリーブ油で希釈した 10% CCl₄ を 4 ml/kg・体重 (BW) 腹腔内に投与し、その後 24 時間絶食し、作製した。このマウスは CCl₄ を投与した 3 時間後に、Fig. 1 に示した Gly, GA および Gly 誘導体を 10 mg/kg・BW 腹腔内に投与した。また、CCl₄ のみの投与群は同量の生食を腹腔内投与した。

(4) **実験的肝障害マウスからの飼料の採取およびその調製**：実験的肝障害マウスは、CCl₄ を投与した 24 時間後に体重を測定しネプタール (ペントバルビタール 40 mg/kg) 麻酔下で開腹、開胸し心臓より採血すると共に肝臓を摘出した。血液は直ちに 7,000×g (10,000 rpm, TOMY-MR15A) で 5 分間遠心し、得られた血清を採取し AST と ALT 活性および TG の測定に供した。さらに、残りの血清は凍結 (-80°C) 保存し、過酸化脂質 lipidperoxide (LPO) の定量に供した。また、摘出した肝臓の一部は 0.14M KCl を加え氷水中にてテフロンホモジナイザーを用い 10% ホモジネートとし、LPO, TG, トリプトファンジオキシゲナーゼ活性 (TDO) および総タンパク (TP) 測定に用いた。さらに、残りの肝臓は直ちに 3% スルフォサリチル酸を加え、同様の方法で 10% ホモジネートとし、このホモジネートを 7,000×g (10,000 rpm, TOMY-MC15A) で 5 分間遠心し、その上清を非タンパク性 SH (NP-SH) の定量に用いた。

(5) **血清の AST, ALT, TG および LPO の測**

定：AST, ALT³⁾ および TG⁴⁾ の測定は日本ロッシュ株式会社 (東京) の自動分析装置 COBAS MIRA で行った。また、血清の LPO の測定は、チオバルビツール酸法⁵⁾ で行った。

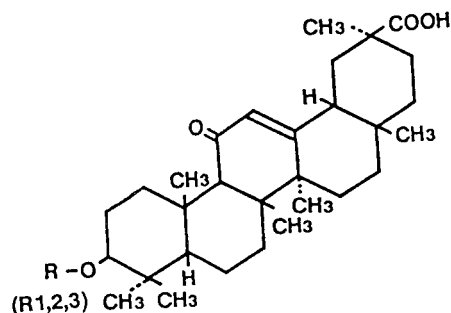
(6) **肝組織中の LPO, TG, TP, NP-SH および TDO の定量**：肝組織中の LPO の定量は大川ら⁶⁾ の方法で、TG の定量はアセチルアセトン法⁷⁾ で、TP の定量はビュレット法で、NP-SH の定量は Sedlak ら⁸⁾ の方法で行った。また、TDO 活性の測定はヘマチン存在下で、Metzler ら⁹⁾ の方法に準じて測定した。

(7) **各測定値のデータ処理と統計処理**：血清中 ALT 活性, AST 活性, TG 量および LPO 量, 肝組織中 LPO 量と TG 量の各測定値は (1-Gly, GA および Gly 誘導体投与群の各測定値の平均値/CCl₄ 単独投与群の各測定値の平均値)×100 (%) の式で % of inhibition (抑制率) を算出し、比較した。また、肝組織中 TDO 活性, NP-SH 量および TP 量の各測定値は (Gly, GA および Gly 誘導体投与群の各測定値の平均値/正常値の各測定値の平均値)×100 (%) の式で % of control (残存率) を算出し、比較した。なお、各測定値から求めた各平均値±各標準偏差の有意差検定は Student *t*-test で行った。

結 果

1. 実験的肝障害マウス血清の ALT, AST の変動に対する Gly 誘導体投与の影響

CCl₄ による実験的肝障害マウスに Fig. 1 に示す



R=glcUA→glcUA (Glycyrrhizin) R=H (Glycyrrhetic acid)

R1=glc→glcUA, gal→glcUA; glcUA→glc, glcUA→gal

R2=gal→gal, glc→gal, glc→glc

R3=glcUA→6 β gal, glcUA→3 β glc, glcUA→3 α glc, glcUA→2 β glc, glcUA, glucuronic acid; gal, galactose; glc, glucose.

Fig. 1 Chemical structures of glycyrrhizin and its derivatives with different sugar chains.

Gly, GA および 7 種の Gly 誘導体を投与した。その結果, Table I に示すように, 糖鎖構成が glc→glcUA, gal→glcUA, glcUA→glc, glcUA→gal 及び glc→gal である Gly 誘導体を投与したマウスの血清 AST 活性値は CCl₄ のみを投与したマウスの場合と比較して有意に低値であり, さらに, Gly あるいは GA を投与したマウスの場合と比較しても低値であった。さらに, Gly 誘導体を投与したマウスの血清 ALT 活性値は CCl₄ のみを投与したマウスの場合と比較して, いずれの誘導体を投与した場合も有意に低値であり, Gly あるいは GA を投与したマウスの場合と比較しても有意に低値であった。また, GA を投与したマウスの血清中 AST と ALT

活性値は Gly を投与したマウスの場合と差がなかった。

次に, グリチルレチン酸の C3 位に結合する糖鎖の糖の間の結合様式が glcUA→6β gal, glcUA→3β glc, glcUA→3α glc, glcUA→2β glc である 4 種の Gly 誘導体を CCl₄ 肝障害マウスに投与して同様の検討を行った。その結果, Table II に示すように, 血清 ALT 活性値の抑制率は Gly 投与群の場合が 0.1% であるのに対して, 各 Gly 誘導体投与群の場合で 27~44% であった。特に, この抑制率は glcUA→3α glc と glcUA→2β glc を投与した場合で高かった。また, Table II に示すように, 血清 AST の変動に対する Gly 誘導体投与の影響は, 血

Table I Effect of post-administration of glycyrrhizin or its derivatives on serum ALT and AST activities in mice treated with CCl₄.

	ALT (IU/ℓ)	% of inhibition	AST (IU/ℓ)	% of inhibition
Normal control	23.5± 10.3		71.2± 12.7	
CCl ₄	14454.0±1061.2	0	14420.3±1017.6	0
+Glycyrrhizin	14435.0± 362.9	0.1	13495.2±1110.2	6.4
+18β glycyrrhetic acid	13771.0±1030.6	4.7	12955.4± 834.9 ^a	10.2
(R ₁)				
+glc→glcUA	11502.1± 184.1 ^{c**}	20.4	11015.9±2073.0 ^{a*}	23.6
+gal→glcUA	7639.8±1092.4 ^{c**}	47.1	7634.5± 975.2 ^{c**}	47.1
+glcUA→glc	9273.4±1186.6 ^{c**}	35.8	7558.9±1098.5 ^{c**}	47.6
+glcUA→gal	7163.2±1209.9 ^{c**}	50.4	8453.5± 433.1 ^{c**}	41.4
(R ₂)				
+glc→gal	10361.4± 581.6 ^{c**}	28.3	11734.1± 877.1 ^{b*}	18.6
+glc→glc	8076.3±1668.9 ^{c**}	44.1	13320.8±1698.4	7.6
+gal→gal	11246.5± 560.3 ^{c**}	22.2	15520.0±1497.5	-7.6

Values are mean±S.D. (n=5). A mixture of CCl₄ and olive oil (1:9) was intraperitoneally administrated at a dose of 4 ml/kg body weight. Glycyrrhizin, 18β glycyrrhetic acid and each of the glycyrrhizin derivatives were intraperitoneally injected at a dose of 10 mg/kg body weight 3 hours after CCl₄ administration. Vs CCl₄: a, *p*<0.05; b, *p*<0.01; c, *p*<0.001. Vs Glycyrrhizin: *, *p*<0.05; **, *p*<0.001.

Table II Effect of post-administration of glycyrrhizin or its derivatives on serum ALT and AST activities in mice treated with CCl₄.

	ALT (IU/ℓ)	% of inhibition	AST (IU/ℓ)	% of inhibition
Normal control	23.5± 10.3		71.2± 12.7	
CCl ₄	14454.0±1061.2	0	14420.3±1017.6	0
+Glycyrrhizin	14435.0± 362.9	0.1	13495.2±1110.2	6.4
+glcUA→6β gal	10355.0±1232.9 ^{a*}	28.4	7609.4±1718.5 ^{a*}	47.2
+glcUA→3β glc	10539.8±1569.5 ^{a*}	27.1	9600.0±1415.7 ^{a*}	33.7
+glcUA→3α glc	9310.3±3227.9 ^{a*}	35.5	6473.9±3236.3 ^{a*}	55.1
+glcUA→2β glc	7970.1±2322.2 ^{a*}	44.9	6603.0±1937.5 ^{a*}	54.2

Values are mean±S.D. (n=9). A mixture of CCl₄ and olive oil (1:9) was intraperitoneally administrated at a dose of 4 ml/kg body weight. Glycyrrhizin and each of the glycyrrhizin derivatives were intraperitoneally injected at a dose of 10 mg/kg body weight 3 hours after CCl₄ administration. a, *p*<0.001 (vs CCl₄); *, *p*<0.001 (vs Glycyrrhizin).

Table III Effect of post-administration of glycyrrhizin or its derivatives on serum TG and LPO levels in mice treated with CCl₄.

	TG (mg/100 ml)	% of inhibition	LPO (nmol/ml)	% of inhibition
Normal control	52.2±13.0		6.2±2.1	
CCl ₄	211.0±29.8	0	17.9±3.7	0
+Glycyrrhizin	211.2±67.8	0	13.1±3.0 ^b	26.7
+glcUA→6β gal	164.0±33.0 ^b	22.3	12.4±3.0 ^b	31.3
+glcUA→3β glc	159.3±37.8 ^b	24.5	13.8±3.7 ^a	22.9
+glcUA→3α glc	144.5±27.3 ^{c,*}	31.8	11.8±1.4 ^c	34.1
+glcUA→2β glc	131.7±33.3 ^{c,**}	37.6	12.7±2.8 ^b	29.6

Values are mean±S.D. (n=9). A mixture of CCl₄ and olive oil (1:9) was intraperitoneally administered at a dose of 4 ml/kg body weight. Glycyrrhizin and each of the glycyrrhizin derivatives were intraperitoneally injected at a dose of 10 mg/kg body weight 3 hours after CCl₄ administration. Vs CCl₄: a, $p < 0.05$; b, $p < 0.01$; c, $p < 0.001$. Vs Glycyrrhizin: *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$.

Table IV Effect of post-administration of glycyrrhizin or its derivatives on liver TG and LPO levels in mice treated with CCl₄.

	TG (mg/100 ml)	% of inhibition	LPO (mmol/g liver)	% of inhibition
Normal control	15.1±6.5		8.4±1.1	
CCl ₄	57.7±3.3	0	37.0±11.8	0
+Glycyrrhizin	54.2±7.1	6.1	28.0±6.6 ^a	24.3
+glcUA→6β gal	51.5±4.2 ^b	10.7	17.2±6.3 ^{b,*}	53.5
+glcUA→3β glc	53.3±6.1	7.6	11.7±1.3 ^{b,*}	68.4
+glcUA→3α glc	40.5±5.7 ^{b,*}	29.8	13.9±8.0 ^{b,*}	63.5
+glcUA→2β glc	42.1±5.5 ^{b,*}	27.0	12.4±5.3 ^{b,*}	66.5

Values are mean±S.D. (n=9). A mixture of CCl₄ and olive oil (1:9) was intraperitoneally administered at a dose of 4 ml/kg body weight. Glycyrrhizin and each of the glycyrrhizin derivatives were intraperitoneally injected at a dose of 10 mg/kg body weight 3 hours after CCl₄ administration. Vs CCl₄: a, $p < 0.05$; b, $p < 0.001$. *, $p < 0.001$ (vs Glycyrrhizin).

清 ALT の場合とほぼ同様であった。

2. 実験的肝障害マウス血清の TG, LPO の変動に対する Gly 誘導体投与の影響

血清 TG と LPO の変動に対する Gly 誘導体投与の影響を検討した。その結果, Table III に示すように, 血清中の TG 量増加の抑制率は Gly 投与群の場合が 0 % であるのに対して, 各 Gly 誘導体投与群の場合で 22~37 % であった。特に, この抑制率は血清中 AST と ALT 活性の抑制率の場合と同様に, glcUA→3α glc と glcUA→2β glc を投与した場合で高かった。

次に, Table III に示すように, 血清 LPO 量の増加は Gly と Gly 誘導体の何れの投与群においても, CCl₄ 単独投与群の場合と比較して有意に抑制された。しかし, 血清 LPO 量は Gly 投与群と Gly 誘導体投与群の間には差がなく, その抑制率は両者とも 22~34 % の間であった。

3. 実験的肝障害マウスの肝組織中の TG, LPO

の変動に対する Gly 誘導体投与の影響

次に, 肝組織中の TG, LPO の変動に対する Gly 誘導体投与の影響を検討した。その結果, Table IV に示すように, 肝組織中の TG 量の増加の抑制率は Gly 投与群の場合が 6.1 % であるのに対して, 各 Gly 誘導体投与群の場合で 7~29 % であった。特に, この抑制率は glcUA→3α glc と glcUA→2β glc を投与した場合で高く, 血清中 AST と ALT 活性の抑制率の場合と同様であった。

次に, Table IV に示すように, 肝組織中の LPO 量の増加の抑制率は Gly 投与群の場合が 24.3 % であるのに対して, 各 Gly 誘導体投与群の場合で 53~68 % であった。特に, この抑制率は glcUA→3α glc と glcUA→2β glc を投与した場合で高く, 肝組織中 TG 量増加の抑制率の場合と同様であった。

4. 実験的肝障害マウスの肝組織中の TDO, TP の変動に対する Gly 誘導体投与の影響

肝組織中の TDO 活性の変動に対する Gly 誘導体

Table V Effect of post-administration of glycyrrhizin or its derivatives on liver TDO activity and TP levels in mice treated with CCl₄.

	TDO (nmol/min/g liver)	% of normal control	TP (g/g liver)	% of normal control
Normal control	11.8±3.3		0.91±0.02	
CCl ₄	2.9±1.3	24.3	0.60±0.07	65.9
+Glycyrrhizin	2.5±0.4	21.2	0.73±0.07 ^b	79.7
+glcUA→6β gal	4.7±1.6 ^{a,**}	39.8	0.78±0.07 ^c	85.4
+glcUA→3β glc	5.4±3.0 ^{a,*}	45.6	0.74±0.08 ^b	81.3
+glcUA→3α glc	5.9±6.2	49.6	0.72±0.06 ^b	78.7
+glcUA→2β glc	10.5±2.9 ^{c,*}	89.0	0.77±0.08 ^c	84.6

Values are mean±S.D. (n=9). A mixture of CCl₄ and olive oil (1:9) was intraperitoneally administered at a dose of 4 ml/kg body weight. Glycyrrhizin and each of the glycyrrhizin derivatives were intraperitoneally injected at a dose of 10 mg/kg body weight 3 hours after CCl₄ administration.

Vs CCl₄: a, $p < 0.05$; b, $p < 0.01$; c, $p < 0.001$. Vs Glycyrrhizin: *, $p < 0.05$; **, $p < 0.001$

Table VI Effect of post-administration of glycyrrhizin or its derivatives on liver NP-SH levels in mice treated with CCl₄.

	NP-SH (mmol/g liver)	% of normal control
Normal control	1.91±0.13	
CCl ₄	1.83±0.04	95.8
+Glycyrrhizin	1.85±0.14	96.8
+glcUA→6β gal	1.86±0.12	99.1
+glcUA→3β glc	1.84±0.08	96.2
+glcUA→3α glc	1.82±0.06	95.1
+glcUA→2β glc	1.80±0.08	94.4

Values are mean±S.D. (n=9). A mixture of CCl₄ and olive oil (1:9) was intraperitoneally administered at a dose of 4 ml/kg body weight. Glycyrrhizin and each of the glycyrrhizin derivatives were intraperitoneally injected at a dose of 10 mg/kg body weight 3 hours after CCl₄ administration.

投与の影響を検討した。その結果、Table Vに示すように、肝組織中の TDO 活性の残存率は Gly 投与群の場合が 21.2% と CCl₄ 単独投与群とほぼ同じであるのに対して、各 Gly 誘導体投与群の場合で 39~87% であった。特に、この残存率は glcUA→2β glc を投与した場合で高かった。

次に、Table V に示すように、肝組織中の TP 量の残存率は Gly 投与群および Gly 誘導体投与群の場合で 78~85% であった。特に、この残存率は glcUA→2β glc と glcUA→3β glc を投与した場合で高かったが、Gly 投与群と比較して差がなかった。

5. 実験的肝障害マウスの肝組織中 NP-SH 値の変動に対する Gly 誘導体投与の影響

肝組織中の NP-SH の変動に対する Gly 誘導体

投与の影響を検討した。その結果、Table 6 に示すように、肝組織中の NP-SH 量は対照群、CCl₄ 単独投与群、Gly 投与群および Gly 誘導体投与群の間で差はなかった。

考 察

Gly の誘導体として、Fig. 1 に示すようなグリチルレチン酸の C3 位に結合する糖鎖に glcUA のある R1 およびその糖鎖に glcUA のない R2 の各化合物を合成し、CCl₄ 肝障害に対する抑制効果を Gly の場合と比較した。その結果、糖鎖に glcUA のある R1 の Gly 誘導体を投与したマウスの肝障害は、糖鎖に glcUA のない R2 の Gly 誘導体を投与した場合と比較して強く抑制された (Table I)。また、R1 の Gly 誘導体を投与したマウスの肝障害は、Gly を投与した場合と比較しても有意に抑制された (Table I)。ところで、Gly のアグリコンである GA として、18α-GA と 18β-GA の 2 種の化合物の肝障害抑制作用が報告されている¹⁰⁾。この報告では、特に、18β-GA が CCl₄ 肝障害に対して Gly とほぼ同程度の抑制効果を示すとしている。今回の我々の検討においても、18β-GA の CCl₄ 肝障害抑制の程度は Gly の場合とほぼ同じであった (Table I) ので、以降の Gly 誘導体による肝障害抑制効果は Gly そのものの場合と比較した。以上のことから、Gly 誘導体の糖鎖の構成糖と肝障害の抑制の程度に何等かの関連のあることが推測された。そこで、さらに Fig. 1 に示すような glcUA と gal あるいは glc の結合様式をもつ 4 種の Gly の誘導体 (R3) を合成し、CCl₄ 肝障害に対する抑制効果を

Gly の場合と比較した。その結果、これらの4種の Gly の誘導体を投与したマウスの血清中 ALT と AST の上昇および TG と LPO の上昇は、 CCl_4 のみを投与したマウスの場合と比較して抑制され (Table II, III), 特に, glcUA と結合する糖の種類およびその様式が $\text{glcUA} \rightarrow 3 \alpha \text{glc}$ あるいは $\text{glcUA} \rightarrow 2 \beta \text{glc}$ であるものにその抑制傾向が強く認められた。また, CCl_4 投与により惹起される肝組織中の TG と LPO の上昇および TDO 活性と TP の低下は $\text{glcUA} \rightarrow 3 \alpha \text{glc}$ あるいは $\text{glcUA} \rightarrow 2 \beta \text{glc}$ の糖鎖構成の Gly 誘導体の投与によって抑制された (Table III, IV)。これらの結果より, 少なくとも $\text{glcUA} \rightarrow \text{glc}$ の糖鎖構成をもつ Gly 誘導体は $\text{glcUA} \rightarrow \text{gal}$ あるいは $\text{glcUA} \rightarrow \text{glcUA}$ (Gly) の糖鎖構成の場合よりも強く CCl_4 肝障害を抑制することが明かとなった。今後, glcUA と結合する糖の種類あるいはその結合様式の違いと肝障害抑制効果との関連について詳細に検索する予定である。

CCl_4 は肝ミクロソームに局在する NADPH-cytochrome C reductase (P-450系) によって代謝され, $\cdot \text{CCl}_3$, $\cdot \text{OCCl}_3$ および $\cdot \text{Cl}$ などのラジカルに変換され, 不飽和脂肪酸と反応して過酸化脂質を産生し, 肝細胞障害を惹起するとされている。¹¹⁾したがって, これらの Gly 誘導体は肝細胞内における NADPH-cytochrome C reductase の活性を抑制し, CCl_4 からのラジカルの生成を抑制しているか, あるいは, CCl_4 から生成したラジカルを直接消去し, その結果として, 肝細胞組織中の LPO の上昇を抑制している (Table IV) ことが推測された。そこで, 肝細胞内でのラジカルおよび過酸化脂質の生成に伴って消費されると考えられるグルタチオンを中心とする肝組織中の NP-SH の変動に対する Gly 誘導体投与の影響を検討した。その結果, CCl_4 のみを投与したマウスの肝組織中の NP-SH 濃度は対照群のマウスのその濃度と比較して有意な変動はなく, また, Gly あるいはその誘導体を投与したマウスの場合でもその濃度に変化はなかった (Table VI)。この原因は現在検索中であるが, 酸化型グルタチオンは肝細胞内ではかなり速やかに還元型グルタチオンに変換されること, あるいは, グルタチオンペルオキシダーゼを介するラジカル消去系が強く作用していることなどにより, 結果的に肝組織中の NP-SH 濃度に変化がなかったことが推測される。

次に, 肝機能としての肝でのタンパク質合成の指標として, 肝組織中の TDO 活性を測定した。その結果, 血清中へのトランスアミナーゼの逸脱を最も強く抑制した (Table II) $\text{glcUA} \rightarrow 2 \beta \text{glc}$ の糖鎖構

成の Gly 誘導体を投与したマウスの肝組織中の TDO 活性は, 対照群のマウスのその活性の 87% にまで回復し, さらに, 肝組織中のタンパク質濃度も高い傾向であった (Table V)。この結果より, $\text{glcUA} \rightarrow 2 \beta \text{glc}$ の糖鎖構成の Gly 誘導体を投与したマウスは肝細胞の破壊が抑制されていると共に, 肝機能障害も抑制されていることが推察された。また, このように, $\text{glcUA} \rightarrow 2 \beta \text{glc}$ の糖鎖構成の Gly 誘導体を投与したマウスでは肝でのタンパク質合成能力が温存されており, 肝でのリポタンパク質の合成も行われていることが示された。このことは $\text{glcUA} \rightarrow 2 \beta \text{glc}$ の糖鎖構成の Gly 誘導体を投与したマウスの肝組織中の TG の蓄積が抑制されている (Table IV) ことと関連があると推測された。

以上のように, 著者らが合成した Gly 誘導体はマウスの CCl_4 肝障害に対して Gly より強く抑制効果を示した。Gly は先に述べたラジカル生成の関与によって肝障害を惹起する CCl_4 肝障害に対して抑制作用を示す¹¹⁾と報告されている。しかし, Gly は D-galactosamine による肝障害などのラジカルの生成が直接関与しないとされる肝障害に対しても抑制作用を示す¹³⁾と報告されている。このことは Gly の肝障害抑制作用の機序が抗酸化作用以外の機序による抑制作用もあることを示している。このことから, 著者らが合成した Gly 誘導体についても同様な肝障害抑制機序が考えられ, その点に関して現在検索中である。

文 献

- 1) 熊谷 朗: 甘草, 特にグリチルリチンの薬理作用と臨床応用への問題点. *Minophagen Med. Rev.* **25**, 185-194, 1980.
- 2) Saito, S., Kuroda, K., Hayashi, Y., Sasaki, Y., Nagamura, Y., Nishida, K. and Ishiguro, I.: Preparation of Glycyrrhetic Acid Glycosides Having Various β (1 $\rightarrow$ 2)-Linked Disaccharides and Their Cytoprotective Effects on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Injury. *Chem. Pharm. Bull.* **39**, 2333-2339, 1991.
- 3) 鈴木一幸: トランスアミナーゼ. 日本臨床 (秋季増刊) **43**, 156-158, 1985.
- 4) 金井 泉, 金井正光: 臨床検査法提要. 金原出版, 東京, pp. 458-463, 1983.
- 5) Slater, T. F. and Sowyer, B. C.: The Stimulatory Effects of Carbon Tetrachloride on Peroxidative Reactions in Rat Liver Fractions in vitro. *Biochem. J.* **123**, 823-828, 1971.
- 6) 大川 博, 大石誠子, 八木國夫: 組織内過酸化脂質の測定について. 生化学 **49**, 829, 1977.
- 7) 茂手木皓喜, 正路喜代美, 豊田幸子: 血清トリグリセリ

- イドの蛍光自動分析に対する研究 (第2報)。臨床病理 **16**, 696-700, 1968.
- 8) Sedlak, J. and Raymond H. L. : Estimation of total, protein-bound, and Nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's Reagent. *Anal. Biochem.* **25**, 192-205, 1968.
- 9) Metzler, H., Gebhardt, R., Oberrauch, W. and Mecke, D. : A Convenient and Highly Sensitive Spectrophotometric Assay for Tryptophan 2, 3 -Dioxygenase. *Anal. Biochem.* **121**, 10-16, 1982.
- 10) Kiso, I., Tohkin, M., Hikino, H., Hattori, M., Sakamoto, T. and Namba T. : Mechanism of antihepatic activity of glycyrrhizin, I: Effect on radical generation and lipid peroxidation. *Planta Med.* **52**, 298-302, 1984.
- 11) 奥田拓男, 吉川敏一: フリーラジカルと和漢薬. 国際医書出版, 東京, 138-140, 1990.
- 12) ヒキノヒロシ: 生薬の肝障害抑制作用. 薬学雑誌 **105**, 109-118, 1985.
- 13) 沖田 極, 野田健一, 近藤信夫, 水田 実: 肝疾患治療薬の作用に関する基礎研究(I) Glycyrrhizine の D-galactosamine 肝障害に対する作用. 肝臓 **16**, 620-627, 1975.