

黄連解毒湯及び各構成生薬における血管弛緩作用

日笠 久美,^{a)}羽竹 勝彦,^{a)}日笠 穰,^{b)}菱田 繁^{a)}^{a)}兵庫医科大学法医学教室, ^{b)}西武庫病院内科

Vasorelaxant effects of Oren-gedoku-to and its four constituent herbs

Kumi HIGASA^{a)}, Katsuhiko HATAKE^{a)}, Minoru HIGASA^{b)}, Shigeru HISHIDA^{a)}^{a)}Department of Legal Medicine, Hyogo College of Medicine, ^{b)}Nishimuko Hospital

(Received April 14, 1992. Accepted July 31, 1992.)

Abstract

We investigated the mode of the relaxation effect of Oren-gedoku-to and its four constituent herbs (oren, ogon, obaku and sanshishi) on vascular preparation isolated from rat thoracic aorta. All the agents except sanshishi caused dose-dependent relaxation of aortic strips precontracted with phenylephrine, prostaglandin $F_{2\alpha}$ or KCl. The relaxant response to ogon and oren was greater than that of obaku and Oren-gedoku-to. The relaxant response to the four constituent herbs did not show any significant difference between endothelium-intact and denuded strips. Neither indomethacin, methylene blue, propranolol nor theophylline affected these relaxations. Furthermore, the relaxant response to ogon or oren was not inhibited by glybenclamide, 4-aminopyridine or tetraethylammonium chloride. These results suggest that relaxation due to Oren-gedoku-to, oren, ogon and obaku is not mediated by prostacyclin, soluble guanylate cyclase, β -adrenoceptor or adenosine receptor and that the relaxant response to ogon and oren is not mediated by the K^+ channel.

Key words Scutellariae Radix, Coptidis Rhizoma, Phellodendri Cortex, Gardeniae Fructus, Oren-gedoku-to, rat, Thoracic aorta.

Abbreviations Oren-gedoku-to (Huang-Lian-Jie-Du-Tang), 黄連解毒湯; Scutellariae Radix (Ogon), 黄芩; Coptidis Rhizoma (Oren), 黄連; Phellodendri Cortex (Obaku), 黄柏; Gardeniae Fructus (Sanshishi), 山梔子; PE, phenylephrine; $PGF_{2\alpha}$, prostaglandin; 4AP, 4-aminopyridine; TEA, tetraethylammonium chloride.

緒 言

黄連解毒湯 (Huang-Lian-Jie-Du-Tang) は黄芩 (Scutellariae Radix), 黄連 (Coptidis Rhizoma), 黄柏 (Phellodendri Cortex), 山梔子 (Gardeniae Fructus) の4つの苦寒の生薬を構成成分とし, 唐代の外台秘要方に記された漢方方剤である。高血圧や脳循環障害に伴う頭痛, めまい, のぼせやアルコール性脳症やアルコール性胃炎などの諸症状を改善するとされ, 臨床面では繁用されてきた。^{1,2)} 最近黄連解毒湯の降圧作用³⁾ や脳血流改善作

用⁴⁾ が注目されるようになり, spontaneously hypertensive rat や stroke-prone spontaneously hypertensive rat, metyrapone heat rat などの高血圧発症ラットを用いての降圧実験が報告されている。^{5,6)} しかし黄連解毒湯の降圧および血流改善機序に関してはまだ明らかではない。そこで今回我々は血管の弛緩作用が降圧作用の一つの因子である可能性に着目し, ラット胸部大動脈の血管条片を用いて, 黄連解毒湯及び4つの構成生薬の血管反応性およびその機序につき検討した。

*〒663 兵庫県西宮市武庫川町1番1号
1-1, Mukogawa-cho, Nishinomiya, Hyogo 663, Japan.

Journal of Medical and Pharmaceutical Society for
WAKAN-YAKU 9, 169-174, 1992

材料と方法

(1) 等尺性張力の測定: Wistar 系雄性ラット (250–350 g) を脱血死させた後に胸部大動脈を摘出し、摘出大動脈をラセン状に切開し、 2×15 mm の血管条片を作成した。この条片を 95% O_2 –5% CO_2 を通気した Krebs-Ringer 液の入った 10 ml の tissue bath 内に固定し、pen-recorder に接続された isometric transducer (日本光電社製, TB-652T) を用い、1 g の張力を負荷して約 1.5 時間安定させた後、以下の手順で実験をおこなった。

一部の血管条片は filter paper で内膜面を軽く擦過して、内膜面をはく離した⁷⁾。内膜の除去の有無は haematoxylin-eosin 染色で形態学的に確認するとともに、 10^{-6} M phenylephrine (PE) で収縮後、 10^{-6} M acetylcholine の内皮依存性弛緩反応の消失により機能的にも確認した。

Krebs-Ringer 液の組成は NaCl 118.0, KCl 4.7, $NaHCO_3$ 25.0, KH_2PO_4 1.2, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.2, $CaCl_2$ 2.5, glucose 10.0 mmol/l, pH 7.4 である。

a) 各 agonist に対する弛緩作用

10^{-6} M PE, 10^{-5} M prostaglandin $F_2\alpha$ (PGF $_2\alpha$), 60 mM KCl にて前収縮させ、平衡に達したのち黄連解毒湯及び黄芩、黄連、黄柏、山梔子の 4 つの生薬を累積的に投与し、それぞれについて弛緩反応を比較した。

また内皮保存群及び内皮剝離群を、 10^{-6} M PE で収縮後、各薬物を累積的に投与し、それぞれについて両群間で弛緩反応を比較した。

b) 各阻害剤に対する検討

血管条片を 10^{-5} M indomethacin, 10^{-5} M methylene blue, 10^{-4} M theophylline をそれぞれ 60 分間、また 10^{-5} M propranolol は 10 分間前処置したあと、 10^{-6} M PE で収縮させた。結果にも示す様に PE, PGF $_2\alpha$, KCl 収縮に対して弛緩反応の弱かった山梔子は除外して、黄芩、黄連、黄柏を作用させた。使用した 10^{-5} M methylene blue, 10^{-4} M theophylline, 10^{-5} M propranolol はそれぞれ sodium nitroprusside, adenosine, isoproterenol による濃度依存性弛緩反応曲線を有意に右方へ偏位させ、さらに最大弛緩反応を抑制する濃度であった。また 10^{-5} M indomethacin は 10^{-6} M acetylcholine による prostacyclin (6-keto PGF $_1\alpha$) の増加をほぼ完全に抑制する濃度であった。(basal 54.7 ± 9.2 pg/ml, acetylcholine 234.6 ± 32.7 pg/ml, indomethacin 50.3 ± 10.2 pg/ml)

血管条片を K^+ channel blocker である 10^{-5} M glybenclamide, 10^{-4} M 4-aminopyridine (4AP) 及び 5×10^{-3} M tetraethylammonium chloride (TEA) を 60 分間前処置したのち、glybenclamide と 4AP は 10^{-6} M PE で収縮させ、TEA は収縮力が増強されるため、対照群と収縮高を合わせるため、 10^{-7} M PE で収縮させてからそれぞれに黄芩、黄連を累積的に投与した。

弛緩反応は各々の収縮 agonist によりもたらされた収縮高を 100% とし、弛緩率を求めた。

(2) 使用した薬物: L-Phenylephrine hydrochloride, prostaglandin $F_2\alpha$, acetylcholine chloride, indomethacin, methylene blue, theophylline, dl-propranolol hydrochloride, glybenclamide, 4-aminopyridine, tetraethylammonium chloride は Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) より得られた。

黄連解毒湯は、黄芩 30 g, 黄連 15 g, 黄柏 15 g, 山梔子 20 g を 2 l の水で、また単味生薬はそれぞれ 100 g を 2.5 l の水で半量まで抽出した後、凍結乾燥粉末を作成した。それぞれの収率は黄芩 25.7%, 黄連 21.7%, 黄柏 22.9%, 山梔子 23%, 黄連解毒湯 23.8% で、これを蒸留水に溶解し、濾過して使用した。各エキスを 0.6 mg/ml 含む (濃度を生薬換算すると黄芩 2.33 mg/ml, 黄連 2.76 mg/ml, 黄柏 2.62 mg/ml, 山梔子 2.61 mg/ml, 黄連解毒湯 2.52 mg/ml) Krebs-Ringer 液の pH は 7.4 ± 0.05 で pH に影響は及ばなかった。各生薬は中国産で、栃本天海堂より購入した。

(3) 統計処理: 得られた結果は mean $\pm$ S.D. で表示し、有意差検定は Student's *t*-test を用いた。

結 果

1. 各 agonist に対する弛緩作用

PE, PGF $_2\alpha$ 収縮いずれに対しても、黄芩、黄連は 0.6 mg/ml で約 90% 以上の弛緩を示したが、黄連解毒湯及び黄柏は約 60%, 山梔子は約 15% の弛緩であった。(Fig. 1A, B)

また KCl 収縮に対しては、0.6 mg/ml の濃度で、黄連約 70%, 黄芩 60%, 黄連解毒湯、黄柏はともに約 40% の弛緩反応を示したが、山梔子は約 10% の弛緩しか認めなかった。(Fig. 1C)

黄連解毒湯、黄芩、黄連、黄柏、ともに血管内皮保存群及び剝離群の間において有意な差は認めなかった。(Fig. 2)

2. 各阻害剤に対する検討

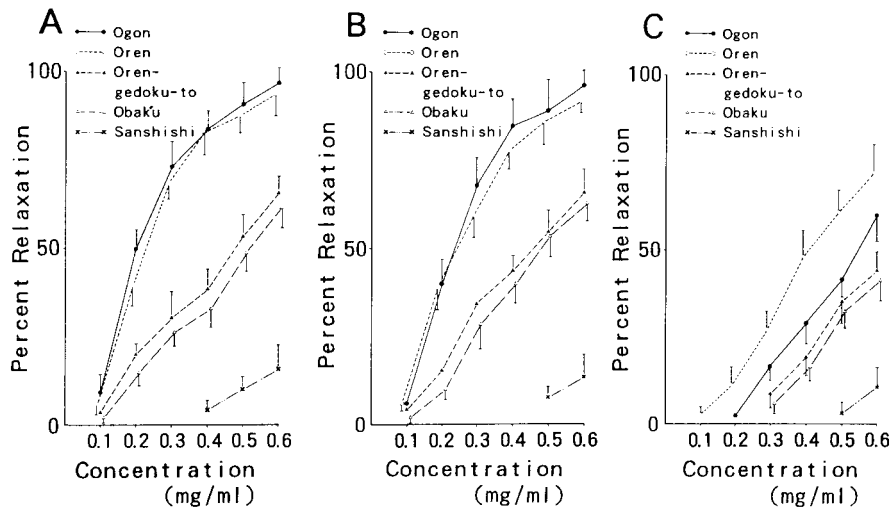


Fig. 1 Relaxation response induced by ogon (●), oren (○), Oren-gedoku-to (▲), obaku (△) or sanshishi (×) in rat thoracic aorta precontracted by 10^{-6} M phenylephrine (A), 10^{-6} M prostaglandin $F_2\alpha$ (B) or 60mM KCl (C). Vertical bar is mean $\pm$ S.D.. (n=5)

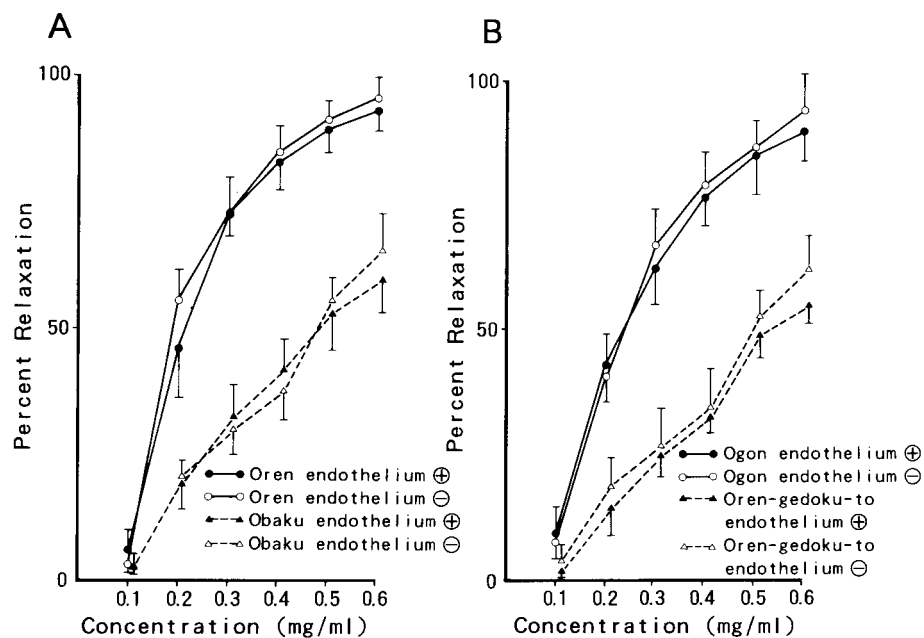


Fig. 2 Relaxant effect of oren, obaku (A), ogon or Oren-gedoku-to (B) on rat aorta with or without endothelium precontracted with phenylephrine. Vertical bar is mean $\pm$ S.D.. (n=3)

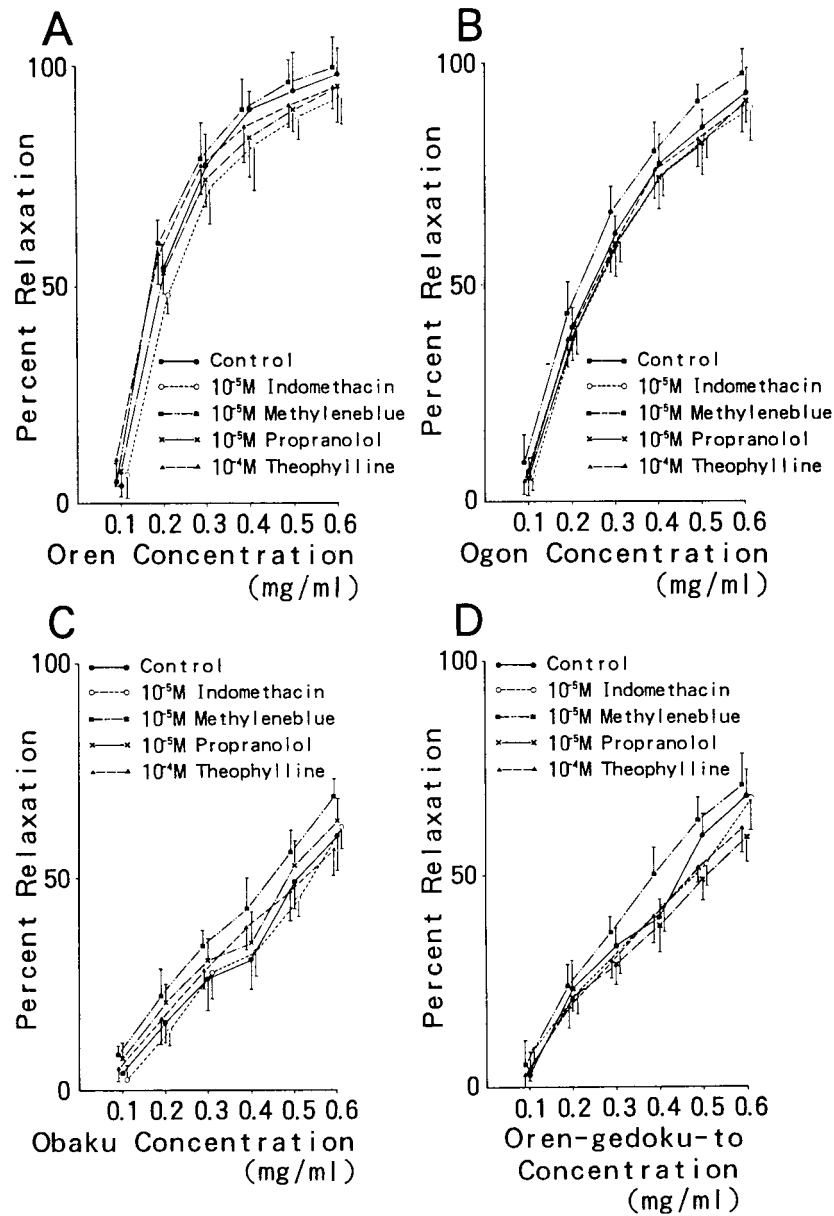


Fig. 3 Effects of 10^{-5} M indomethacin ($\circ$), 10^{-5} M methylene blue ($\blacksquare$), 10^{-5} M propranolol ($\times$), or 10^{-4} M theophylline ($\blacktriangle$) on the relaxation induced by ogon (A), oren (B), obaku (C) or Oren-gedoku-to (D) in rat thoracic aorta precontracted with phenylephrine. Vertical bar is mean $\pm$ S.D.. (n=4)

黄連解毒湯, 黄芩, 黄連, 黄柏ともに, 10^{-5} M indomethacin, 10^{-5} M methylene blue, 10^{-5} M propranolol, 10^{-4} M theophylline の前投与でも, 弛緩反応に影響は認めなかった。(Fig. 3)

また黄芩, 黄連は 10^{-5} M glybenclamide, 10^{-4} M 4AP, 5×10^{-3} M TEA の前投与で, 弛緩反応に影響は認めなかった。(Fig. 4)

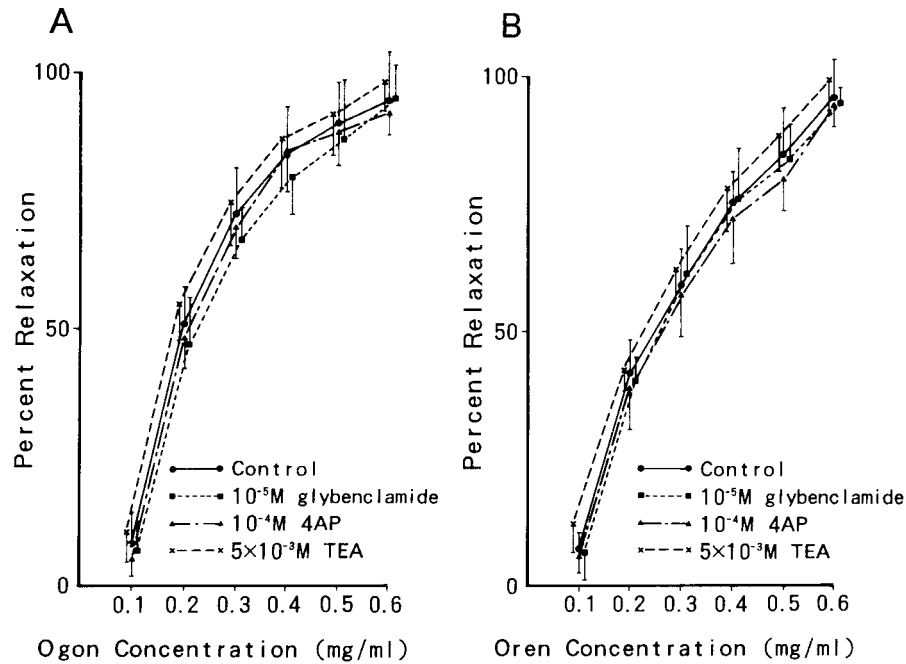


Fig. 4 Effects of 10^{-5} M glybenclamide, 10^{-4} M 4-aminopyridine (4AP) or 5×10^{-3} M tetraethylammonium chloride (TEA) on the relaxation induced by ogon (A) or oren (B) in rat thoracic aorta precontracted with phenylephrine. Vertical bar is mean $\pm$ S.D.. (n=4)

考 察

黄連解毒湯及び各構成生薬のうち、黄連解毒湯、黄芩、黄連、黄柏に血管弛緩作用が認められ、山梔子にはほとんどその作用が認められなかった。また弛緩の強さは構成生薬のうち、黄芩、黄連が最も強いと考えられた。個々の生薬から凍結乾燥末への収率において、大差がないにもかかわらず各生薬で弛緩反応の強さが違うという事から、各生薬の効果は漢方製剤の非特異的作用によっているとは考え難いと思われる。そこで山梔子を除く各生薬において、弛緩作用のメカニズムを検討した。各々の血管弛緩反応は、内皮保存群と非保存群との間で差がなかったことから血管内皮非依存性であった。このことはFurchgottらの発見した⁷⁾ endothelium-derived relaxing factorなどの内皮由来の弛緩性物質を介していないことを示している。

次に黄連解毒湯、黄芩、黄連、黄柏の弛緩反応はsoluble guanylate cyclaseの阻害剤であるmethylen blueやcyclooxygenaseの阻害剤であるindomethacinでも抑制されなかったことから、sol-

uble guanylate cyclaseの活性作用やprostacyclinのようなcyclooxygenase産物を介した弛緩物質によるものでもないことが示唆された。また β -adrenoceptorの阻害剤であるpropranololで抑制されなかったので、 β -adrenoceptorを介した弛緩反応でもないと考えられた。一方adenosine receptorの阻害剤であり、かつphosphodiesterase阻害剤でもあるtheophyllineで抑制も増強も認めなかったことから、adenosine receptorを介した作用でなく、またphosphodiesterase阻害作用による血管弛緩反応でもないと考えられた。最近 cromakalim, nicorandilのような K^+ channelを介した弛緩作用を有する薬物が報告されており、^{8,9)} 従ってこれらの生薬が K^+ channelを介して弛緩させる可能性も考えられた。そこで最も弛緩反応のつよかった黄芩、黄連に対して、ATP-sensitive K^+ channel blockerであるglybenclamideや、transient K^+ channel blockerである4AP, delayed rectifier K^+ channel blockerのTEAを前処置して弛緩反応への影響をみたところ、いずれの薬剤でも抑制されなかったことから、 K^+ channelを介するものでもないと考えられた。以上のことからこれらの生薬の弛緩反応は

Ca⁺ channel blocker 様作用などを介している可能性が考えられ、我々は黄芩においてその作用のあることを報告した¹⁰⁾。しかしこれらの生薬の弛緩反応の機序は nifedipine の様な voltage operated Ca⁺ channel 阻害剤と全く同様なものと考えにくい。なぜなら KCl 収縮の方が PE の様な receptor を介する収縮よりも強い弛緩反応が見られるはずである。しかし本研究においては、KCl 収縮より PE 収縮の方で弛緩が強く認められた。この相違に対する理由として、voltage operated Ca⁺ channel を抑制する作用に加えて、receptor 刺激により賦活される non-voltage operated Ca⁺ channel や Ca⁺ の passive diffusion をも抑制している可能性が示唆されるが、今後の検討課題である。荒川らは黄連解毒湯及びその各成分でのラットを使った降圧実験から、黄連、黄柏に降圧作用が強い事¹¹⁾、また黄柏における降圧効果や心拍数増強効果は propranolol で抑制される事から、黄柏には β 作用を有する物質が含まれる事やまた黄柏には生体内 dopamine 代謝へ関与する作用のあることなどを示唆している^{12, 13)}。しかし本研究での摘出血管への直接作用では、黄連、黄芩で弛緩作用が強く、また黄連、黄芩、黄柏ともに、弛緩作用は β -adrenoceptor を介するものではないと考えられた。in vivo における降圧効果のメカニズムは、血管の弛緩作用以外にも renin, angiotensin, aldosterone などの様々なホルモンや Na, Cl, K などの電解質の関与や、中枢神経系の交感神経 α_2 受容体を刺激したり、脳内カテコラミン合成酵素阻害作用や末梢神経節遮断作用を介する因子など複雑な要素が考えられ、様々な機序を介して降圧作用を示すものと考えられる。また生体内での吸収の問題もある。そのためか本研究のような in vitro の血管への直接作用の結果と有効生薬の種類や機序において荒川らの報告^{11, 12)}と必ずしも一致しなかった。しかし黄連解毒湯の4つの構成生薬の内、黄芩、黄連、黄柏に血管の弛緩作用が認められたことから、黄連解毒湯の降圧作用に対して、血管弛緩反応が関与している可能性が示唆される。今後臨床症例も検討しながら、これらの生薬の作用を明らかにしてゆきたい。

結 語

ラット胸部大動脈を用いて、黄連解毒湯及び各構成生薬の弛緩作用のメカニズムにつき検討した。

(1)黄連解毒湯及び各構成生薬のうち、黄芩、黄連、黄柏で PE, PGF₂ α , KCl いずれの収縮に対して

も、濃度依存性で内皮非依存性の弛緩作用を認め、黄芩、黄連で弛緩作用が強かった。

(2)黄連解毒湯、黄芩、黄連、黄柏による弛緩反応は soluble guanylate cyclase や prostacyclin, β -adrenoceptor, adenosine receptor や phosphodiesterase 阻害作用を介するものでもないと考えられた。また黄芩、黄連の弛緩反応は K⁺ channel を介するものでもないと考えられた。

この論文の一部は第8回和漢医薬学会で発表した。

文 献

- 1) 神戸中医学研究会：中医処方解説。第1版 pp. 257-259, 今田喬士, 東京, 1982.
- 2) 大塚敬節：症候による漢方治療の実際。第9版, 鈴木正二, 東京, 1983.
- 3) 矢部兆作：軽症高血圧と思われる症例に対する黄連解毒湯使用経験。漢方診療 5 (1), 18-21, 1986.
- 4) 川島孝一郎, 長沢治夫, 小暮久也：脳血管障害に対する黄連解毒湯の効果—基礎および臨床研究。Pharma Medica. 33-37, 1988.
- 5) 尾崎正若, 太田 尚, 関根一郎：釣藤散, 黄連解毒湯の脳卒中易発症ラット (SHRSP) の血圧に対する作用。Pharma Medica. 187-192, 1986.
- 6) 荒川和夫, 丁 宗鉄, 大塚恭男：黄連解毒湯の薬理作用成分 IV -MH 高血圧ラットに対する黄連解毒湯の作用。和漢医薬学会誌 2 (3), 554-555, 1985.
- 7) Furchgott, R.F. and Zawadzki, J.V. : The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature. 288, 373-376, 1980.
- 8) A.D. Wickenden, S. Grimwood, T.L. Grant & M.H. Todd : Comparison of the effects of the K⁺ Channel openers cromakalim and minoxidil sulphate on vascular smooth muscle. Br. J. pharmacol. 103, 1148-1152, 1991.
- 9) Campbell Wilson, Martin C. Coldwell, David R. Howlett, Susan M. Cooper and Thomas C. Hamilton : Comparative effects of K⁺ channel blockade on the vasorelaxant activity of cromakalim, pinacidil and nicorandil. Eur. J. Pharmacol. 152, 331-339, 1988.
- 10) 日笠久美：ラット胸部大動脈における黄芩および Wogonin (黄芩フラボノイド) の血管弛緩作用。脈管学 32 (4), 349-356, 1992.
- 11) 荒川和夫, 藤生るり子, 大塚恭男：黄連解毒湯の血圧下降作用。Proc. symp. WAKAN-YAKU. 14, 67-75, 1981.
- 12) 荒川和夫, 大塚恭男, 丁 宗鉄：黄柏に含まれるアドレナリン作動性物質。Proc. symp. WAKAN-YAKU. 15, 134-140, 1982.
- 13) 荒川和夫, 樋口 郁, 丁 宗鉄, 大塚恭男：メチラボンと加熱ストレス処置によるラットの血圧上昇を抑制する黄柏の効果。和漢医薬学会誌 2 (1), 228-229, 1985.