

ボウフウ（防風）の中樞神経系ならびに実験潰瘍抑制に関する薬理学的研究

木下 剛*, 中村富美子, 古畑 保子

養命酒製造株式会社中央研究所

Inhibitory effects of *Saposhnikovia* root on CNS functions and peptic ulcers

Go KINOSHITA*, Fumiko NAKAMURA and Yasuko FURUHATA

Central Research Laboratories, Yomeishu Seizo Co., Ltd.

(Received May 27, 1987. Accepted July 29, 1987.)

Abstract

Pharmacological studies of Bohfuu (*Saposhnikovia* root, 防風) were performed using the saccharides-free fractions obtained from 30% ethanol extracts of Tohsuke-Bohfuu (藤助防風, TOB) and Shin-Bohfuu (真防風, SIB). TOB depressed dose-dependently the motor activity, the acetic acid-induced writhing syndromes and ulcer formation due to water immersion stress, and prolonged the hexobarbital-induced sleep in mice. These findings indicate that TOB depresses central nervous systems in mice. TOB prevented dose-dependently the formation of gastric lesions induced by absolute ethanol in rats. This protective effect was blocked by indomethacin (5 mg/kg) given before TOB dosing, but not affected after TOB dosing. It is suggested that TOB possesses a cytoprotective effect mediated by the increase in endogenous prostaglandins. Moreover TOB increased the amount of hexosamine of gastric mucosal membrane. But the anti-ulcer effects on the other experimental ulcers tested were not found in rats. SIB, much the same as TOB, depressed the central nervous systems in mice and prevented the formation of gastric lesions induced by absolute ethanol in rats.

Key words Tohsuke-Bohfuu, Shin-Bohfuu, central nervous system, gastric lesion, cytoprotective effect, hexosamine

Abbreviations TOB, Tohsuke-Bohfuu extract; SIB, Shin-Bohfuu extract

緒言

漢薬「防風」はセリ科 (Umbelliferae) のボウフウ, *Saposhnikovia divaricata* SCHISCHKIN [= *Ledebouriella seseloides* H. WOLFF, *L. divaricata* (TURCZ.) HIROE] の根である。神農本草経の上品に位置し、防風通聖散を初め多くの漢方処方に配合される漢薬であり、古くから日局にも収載されている。現在、市場品のボウフウはほとんど中国からの輸入品である。我が国では享保年間、中国より生苗が伝えられ、各地で栽培された。森野旧薬園（奈良県宇陀町）にはその系統が保存され、特にトウスケ

ボウフウ（藤助防風）の名を得ている。トウスケボウフウの栽培研究¹⁾及び成分研究^{2,3)}によれば、永年の継代栽培にもかかわらず形態的にも成分的にも中国産ボウフウと極めて近似した植物であるという。一方、防風の薬理研究に関しては漢方の要薬であるにもかかわらず、抗 adjuvant 関節炎作用⁴⁾が簡単に報告されているのみである。そこで、今回、栽培品であるトウスケボウフウについて中枢神経系、消化器系及び抗炎症作用を中心に検討した。さらに、トウスケボウフウで認められた顕著な作用については、中国産防風（真ボウフウ）についても検討したので併せて報告する。

*〒 399-46 長野県上伊那郡箕輪町中箕輪 2132-37
2132-37 Nakaninowa, Minowamachi, Kamiina-gun,
Nagano 399-46, Japan

Journal of Medical and Pharmaceutical Society for
WAKAN-YAKU 4, 130-137, 1987

材料と方法

(1) 使用生薬：長野県で栽培されたトウスケボウフウの乾燥根及び市場品の真ボウフウ（長野県生薬株式会社より購入）を使用した。

(2) 試料の調製：細切したトウスケボウフウを約10倍量の30%エタノールに1週間室温浸漬した後濾過し、減圧下エタノールを留去した。得られた水層部をエーテルで脂溶成分を抽出し除いた後ダイアイオン HP20 カラムクロマトに付し、水にて糖画分を充分流去後、メタノール溶出部を濃縮、凍結乾燥し、トウスケボウフウ除糖エキス (TOB) を得た。真ボウフウについても同様に処理を行い、真ボウフウ除糖エキス (SIB) を得た。エキス収率は TOB 及び SIB 共に約1%であった。このエキス末をデシケーター中で遮光保存し、用時蒸留水あるいは生理食塩液に溶解し実験に供した。なお、特別の記載がない場合、被検薬の投与経路は経口とした。

(3) 実験動物：ddY 系雄性マウス（体重22~30 g, 静岡実験動物農業協同組合）及び Wistar 系雄性ラット（体重180~250 g, 回生堂）を用いた。飼育は温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ の動物飼育室で行い、固形飼料（オリエンタル酵母, MF[®]）と水を自由に摂取させ、1週間予備飼育した後健康な動物を用いた。

(4) 実験方法

①自発運動に対する作用：体重22~25 g のマウスに被検薬を経口投与後30分に ambulator 自発運動計（小原医科産業, AMB-MI）に1匹入れ60分間の自発運動量を30分毎に測定した。陽性対照薬として caffeine (40 mg/kg, 経口) を用いた。

②睡眠に対する作用：体重22~25 g のマウスに被検薬を投与後60分に hexobarbital-Na（オウロパンソーダ, 塩野義製薬）を70 mg/kg あて腹腔内注射し、正向反射の消失している時間を測定した。

③鎮痛作用：体重22~25 g のマウスに被検薬を投与後60分に0.7%酢酸-生理食塩液を0.25 ml/animal あて腹腔内注射し、以後10分間に出現した writhing syndrome を数えた。陽性対照薬として aspirin (100 mg/kg, 腹腔内注射) を用いた。

④胃内排泄および腸管輸送能に対する作用：体重25~26 g のマウスを16時間絶食後、被検薬を投与し、その60分後に3%炭末-5%アラビアゴム液を0.5 ml/animal あて、経口投与した。20分後に胃の重量及び腸管内の炭末の移動距離を測定した。

⑤水浸拘束ストレス潰瘍に対する作用：体重

27~30 g のマウスに被検薬を投与、30分後に 23°C の水槽中に7時間拘束水浸した。その後は、常法に従い動物を処理し、発症した潰瘍の面積を実体顕微鏡下で測定した。

⑥エタノール胃粘膜損傷に対する作用：Robert ら⁴⁾の方法によった。すなわち、体重180~200 g のラットを24時間絶食、19時間絶水後無水エタノール (1 ml/animal) を経口投与し、60分後に発生した胃粘膜の損傷の面積を測定した。次いで、樋谷ら⁵⁾の方法により胃粘膜の hexosamine 量を測定した。被検薬の投与は特別の記載のない限り無水エタノール投与30分前に行った。

⑦ラットにおける各種実験潰瘍に対する作用：佐直ら⁶⁾の方法に従って reserpine 潰瘍, histamine 潰瘍, indomethacin 潰瘍及び水浸拘束潰瘍に対する作用を検討した。

⑧Adjuvant 関節炎に対する作用：体重250 g 前後のラットを使用した。Adjuvant は乾燥結核死菌 H37RH (Difco 社) を6 mg/ml の濃度で adjuvant incomplete (和光純薬) に懸濁し、その0.1 ml をラットの右後肢足蹠の皮内に注射した。足蹠の浮腫は藤平⁷⁾の方法によって測定した。被検薬の投与は adjuvant 注射前日より12日間連日投与した。陽性対照薬にはブレドニゾロン（半井化学）を20 mg/kg あて adjuvant 注射日より3日間皮下注射した。

⑨統計処理：各群間の比較には、Student's *t*-test を用いた。

結 果

1. TOB の作用

①自発運動に対する作用：TOB 100 mg/kg の経口投与では対照に比し変化は認められないが、500 mg/kg では自発運動の抑制が認められた (Fig. 1)。

②睡眠に対する作用：TOB 100 mg/kg では対照に比し変化は認められないが、500 mg/kg および2500 mg/kg と用量依存的に hexobarbital による睡眠を延長した (Fig. 2)。

③鎮痛作用：TOB 100 mg/kg 投与では対照に比し変化は認められないが、500 mg/kg および2500 mg/kg と用量依存的に酢酸 writhing を抑制した (Fig. 3)。

④胃内排泄および腸管輸送能に対する作用：胃内排泄能は TOB 500 mg/kg まで抑制傾向は認められるものの有意の差はなく、2500 mg/kg で有意な抑制が認められた。一方、腸管輸送能は2500 mg/kg で有意な抑制作用が認められた (Fig. 4)。

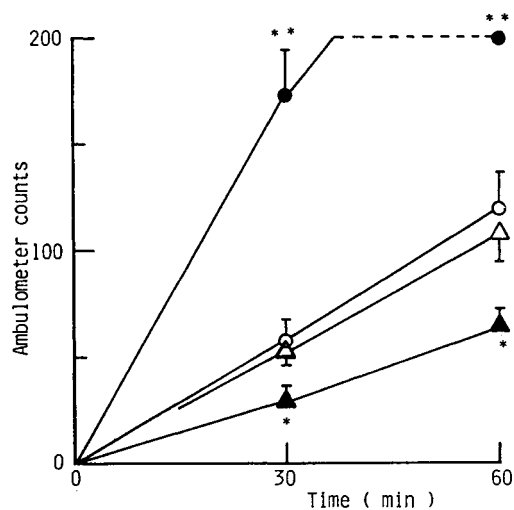


Fig. 1 Effect of TOB on motor activity by ambulometer in mice.

Results show the mean $\pm$ S.E. of 10 animals. Open circles represent control, open triangles represent TOB 100 mg/kg, closed triangles represent TOB 500 mg/kg and closed circles represent caffeine 40 mg/kg. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control.

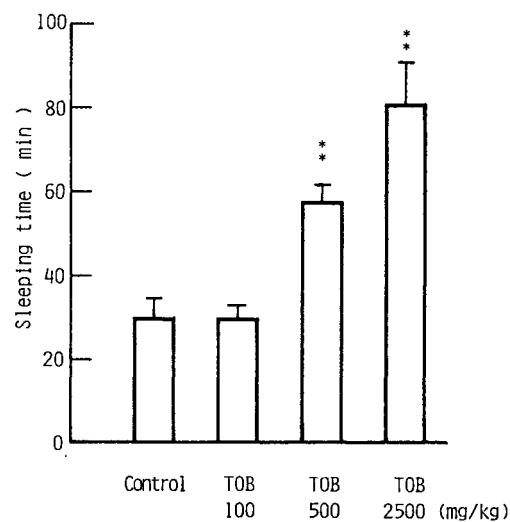


Fig. 2 Effect of TOB on sleeping time induced by sodium hexobarbital (70 mg/kg, *i.p.*) in mice.

Results show the mean $\pm$ S.E. of 10 animals. ** $p < 0.01$ compared with control.

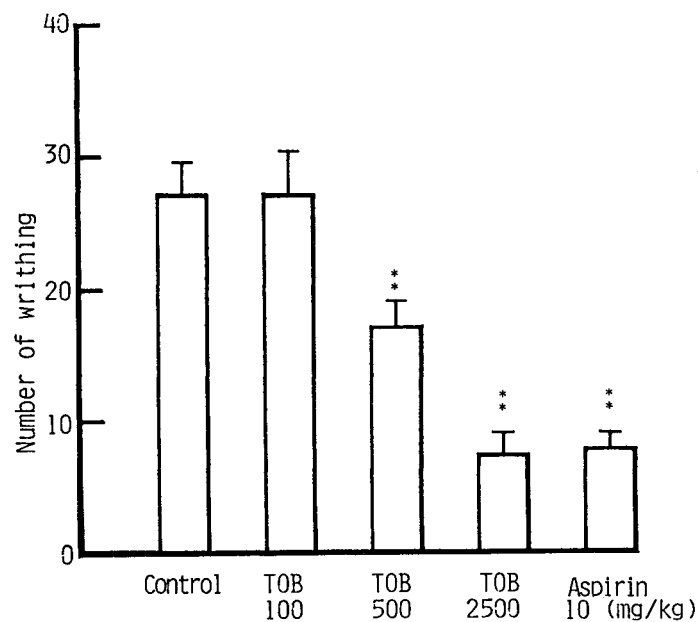


Fig. 3 Analgesic effect of TOB.

Results show the mean $\pm$ S.E. of 10 animals. ** $p < 0.01$ compared with control.

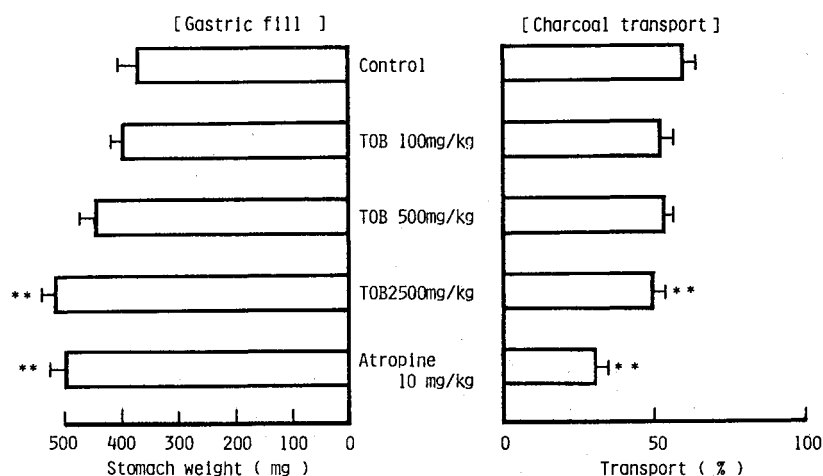


Fig. 4 Effect of TOB on gastric fill and charcoal transport in mice. Results show the mean $\pm$ S.E. of 9 animals. ** $p < 0.01$ compared with control.

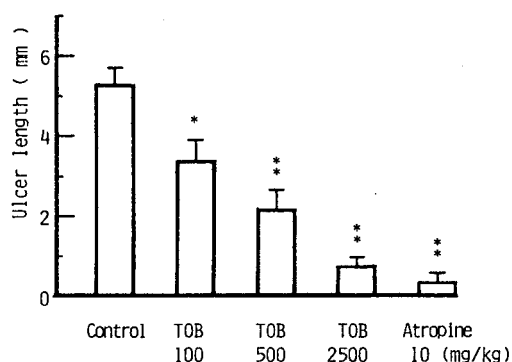


Fig. 5 Effect of TOB on water-immersion stress ulcer in mice. Results show the mean $\pm$ S.E. of 6–9 animals. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control.

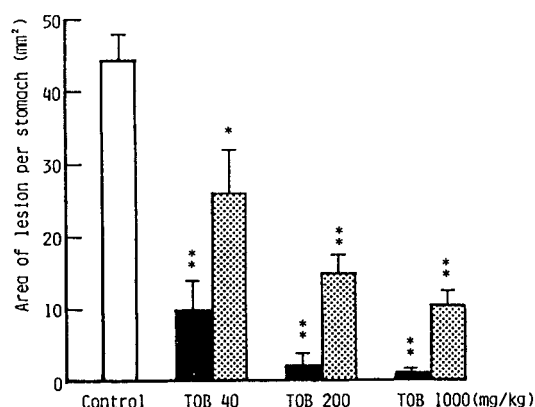


Fig. 6 Effect of *p.o.* and *i.p.* administration of TOB on ethanol-induced gastric lesions in rats. TOB was administrated 30 min before ethanol. Open column represents control, closed columns represent *p.o.* administration and dotted columns represent *i.p.* injection. Results show the mean $\pm$ S.E. of animals. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control.

⑤水浸拘束ストレス潰瘍に対する作用：TOB 100 mg/kg から著明に潰瘍の抑制が認められ、500 mg/kg および2500 mg/kg と用量依存的な抑制作用が認められた (Fig. 5)。

⑥エタノール胃粘膜損傷に対する作用：絶食・絶水ラットに無水エタノールを経口投与すると、幽門部より体部にかけての粘膜にきわめて広範な炎症が惹起した。TOBはこの胃粘膜損傷を40 mg/kg から1000 mg/kg まで用量依存的に抑制した。また、この作用は腹腔内投与でも認められるものの、経口投与に比べ弱かった (Fig. 6)。さらに、この作用

強度は TOB を投与してから無水アルコールを投与するまでの時間により変化がみられ、両者を投与する時間の間隔が長くなるほど作用は減弱した (Fig. 7)。また、予め indomethacin を注射しておくとも TOB の作用は減弱した (Table I)。TOB によって胃粘膜の hexosamine 量の増加が認められた。

⑦ラットにおける各種実験潰瘍に対する作用：Reserpine 潰瘍, histamine 潰瘍, indomethacin 潰瘍

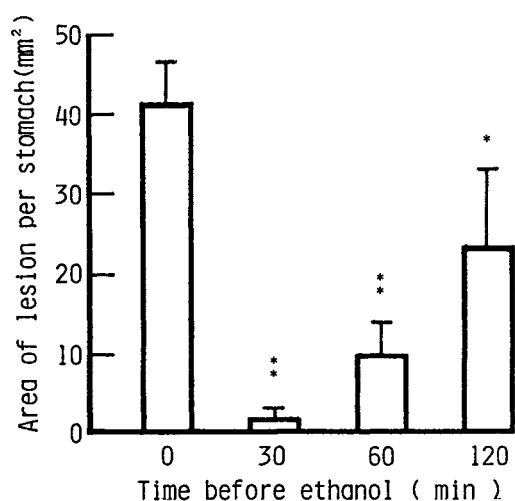


Fig. 7 Effect of TOB (200 mg/kg) pretreatment at various times before ethanol administration on ethanol-induced gastric lesions in rats.

Results show the mean $\pm$ S.E. of 5 animals. * p < 0.05, ** p < 0.01 compared with control.

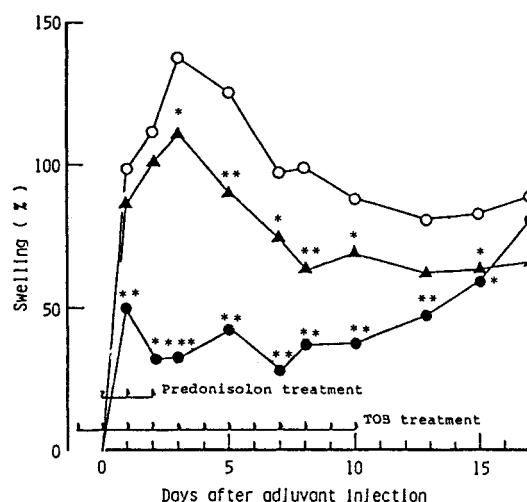


Fig. 8 Effect of TOB on adjuvant arthritis in rats.

Open circles represent control, closed triangles represent TOB (400 mg/kg) and closed circles represent prednisolone (20 mg/kg). Results show the mean of 7–10 animals. * p < 0.05, ** p < 0.01 compared with control.

Table I Effect of indomethacin treatment before and after the administration of TOB on ethanol-induced gastric lesions in rats.

Group#	Area of lesion per stomach (mm ²)	% change	Mucous membrane (dry mg/stomach)	% change	Hexosamine (μ g/mg)	% change
A	54 $\pm$ 13.9		19 $\pm$ 2.4		37 $\pm$ 4.6	
B	6 $\pm$ 3.3**	–89	23 $\pm$ 1.2*	+21	45 $\pm$ 4.5**	+22
C	45 $\pm$ 13.4	–17	20 $\pm$ 2.6	+5	43 $\pm$ 2.0	+16

: Drug administration schedule

Group	30 min	30 min	60 min	
A	CMC	saline	EtOH (1 ml)	killing
B	TOB (200 mg/kg)	indomethacin (5 mg/kg)	EtOH (1 ml)	killing
C	indomethacin (5 mg/kg)	TOB (200 mg/kg)	EtOH (1 ml)	killing

Results show the mean $\pm$ S.D. of 6 animals. * : Significantly different from control p < 0.05, ** : p < 0.01.

瘍及び水浸拘束ストレス潰瘍に対しては、いずれも TOB 500 mg/kg まで抗潰瘍作用は認められなかった (Table II)。

⑧ Adjuvant 関節炎に対する作用 : Adjuvant を注射するとすべての動物に激しい浮腫が認められ

た。この浮腫に対して TOB 400 mg/kg は 3 日目より抑制が認められ、この抑制状態は TOB 投与中止後もしばらく持続した。一方、プレドニゾロンは顕著な足浮腫の抑制と共に著しい体重減少を示した (Fig. 8)。

Table II Effect of TOB on 4 kinds of experimental ulcers in rats.

Treatment	Dose (mg/kg)	No. of animals	Ulcer index mean $\pm$ S.D. (mm ²)
1. Reserpine-induced ulcer			
Control	—	7	5.7 $\pm$ 4.32
TOB	200	7	4.6 $\pm$ 3.00
TOB	500	7	5.5 $\pm$ 5.20
Atropine	10	7	1.6 $\pm$ 1.50*
2. Histamine-induced ulcer			
Control	—	8	2.1 $\pm$ 2.09
TOB	200	7	1.5 $\pm$ 0.70
TOB	500	8	3.5 $\pm$ 2.15
Atropine	10	6	0.4 $\pm$ 0.96
3. Indomethacin-induced ulcer			
Control	—	8	17.8 $\pm$ 3.86
TOB	200	6	49.5 $\pm$ 20.68
TOB	500	6	9.1 $\pm$ 2.38
4. Water-immersion stress ulcer			
Control	—	6	18.3 $\pm$ 7.07
TOB	200	6	11.1 $\pm$ 5.29
TOB	500	6	19.1 $\pm$ 10.26
Atropine	10	6	1.8 $\pm$ 3.08**

*: Significantly different from control $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

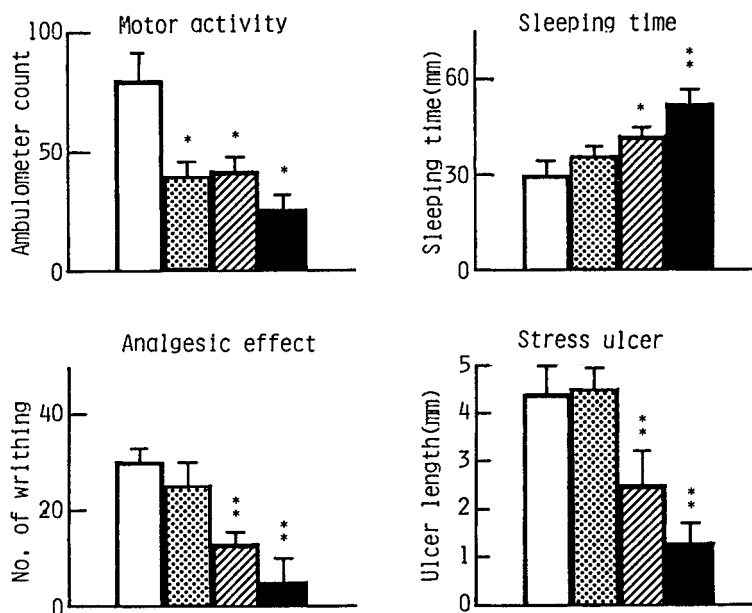


Fig. 9 Effect of SIB on motor activity, sleeping time, analgesic effect and water immersion stress ulcer in mice.

Open columns represent control, dotted columns represent SIB 40 mg/kg, hatched columns represent SIB 200 mg/kg and closed columns represent SIB 1000 mg/kg. Results show the mean $\pm$ S.E. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control.

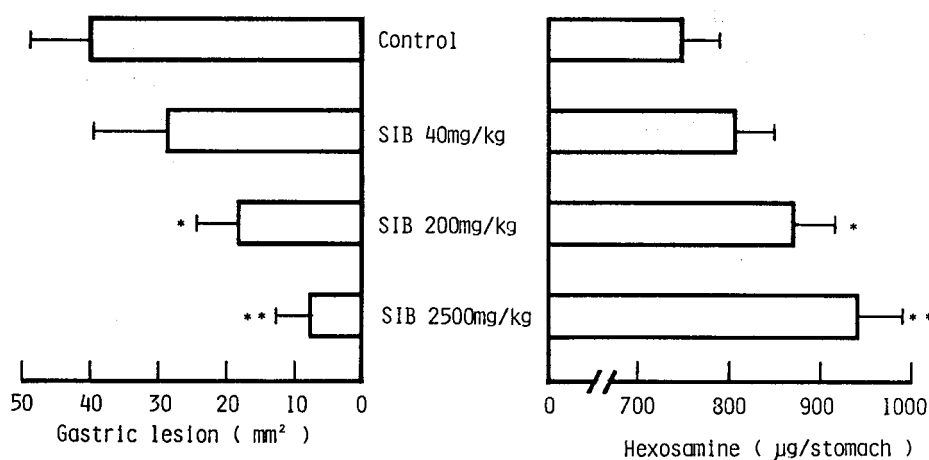


Fig. 10 Effect of SIB on ethanol-induced gastric lesions and hexosamine content of the gastric mucous membrane in rats.

Results show the mean $\pm$ S.E. of 7–10 animals. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control.

2. SIBの作用

①中枢神経系に対する作用：SIBはマウスの自発運動に対しては抑制作用，hexobarbital睡眠に対しては延長作用，酢酸writhingおよび水浸拘束ストレス潰瘍に対しては抑制作用が認められた (Fig. 9)。

②エタノール胃粘膜損傷に対する作用：SIBは無水エタノールによる胃粘膜損傷を抑制し，その抑制と平衡して胃粘膜のhexosamine量を増加させた (Fig. 10)。

考察と結論

ボウフウのエキス収率は日局の規格でも20%以上とある。ボウフウエキスには糖分含量が多くこのままでは薬理作用を引き出すことが困難であると考えられたので，今回は30%エタノールエキスから糖画分を除いた画分を試料とした。栽培されたトウスケボウフウから得た試料 (TOB) も輸入された真ボウフウから得た試料 (SIB) も共にほぼ同じ収率で約1%であり，味は苦かった。

TOBの薬理作用としては自発運動の抑制，hexobarbital睡眠の延長および鎮痛作用など軽度の中枢抑制作用が認められた。さらに消化管に対しては，マウスにおいて水浸拘束ストレス潰瘍に対する抑制が100 mg/kgから認められた。この抗潰瘍作用の機作として，中枢抑制の他，マウス摘出腸管で

のacetylcholine (10^{-8} g/ml) および BaCl_2 (10^{-4} g/ml) による収縮をTOBが $10^{-4} \sim 10^{-3}$ g/mlで強く抑制したことから，副交感神経系節後線維と腸管平滑筋シナプス伝達遮断および腸管平滑筋への直接作用なども考えられる。しかし，ラットにおいてはTOBは水浸拘束ストレス潰瘍の抑制作用を示さず，種差が認められた。

TOBは無水エタノールによる胃粘膜の損傷を40 mg/kgという低濃度から用量依存的に強く抑制した。Robert⁴⁾らは絶食絶水ラットに無水エタノールを初め，強酸，強アルカリあるいは高張食塩液等の“irritants”による胃粘膜の損傷が胃酸分泌を抑制できないようなきわめて微量のprostaglandin (PG) によって抑制されることを発見し，PGのcytoprotection作用であるとしている。さらに，irritantの投与によって惹起する胃粘膜損傷が，予め20%エタノールのような“mild irritant”を投与することによって抑制される現象を“adaptive cytoprotection”と呼んで内因性PGが関与するとしている。TOBのアルコール胃粘膜損傷に対する作用は，indomethacinの前投与によって減弱することから内因性PGの関与が推察され，Robertらの提唱するmild irritant的な作用とも考えられるが，TOBはcytoprotection様の作用を有するといえる。エタノール胃粘膜損傷に対する抑制作用はタンニン及び関連化合物⁵⁾においても知られているが，TOBを皮粉〔和光純薬工業(株)タンニン測定

用) 処理しても全く作用は変わらないことを確認している(未発表)ことから、TOBのこの作用はタンニン関連化合物によるものではないと考えられる。さらに、TOB投与により胃粘膜のhexosamine量が増加したことから胃粘膜損傷の抑制に関与していることも考えられる。一方、ラットにおいて抗潰瘍作用が認められなかった等の相違は、TOBの作用が一過性のためとも考えられる。

TOBにadjuvant関節炎抑制作用が認められ、このことは長ら⁹⁾のボウフウ粗エキスの成績と一致するものと考えられる。

TOBに認められた薬理作用のうち、マウスの自発運動の抑制、hexobarbital睡眠の延長、鎮痛作用、水浸拘束潰瘍の抑制およびラットのエタノール胃粘膜損傷に対する抑制作用はSIBにもほとんど同程度に認められた。以上の成績よりTOBにない作用がSIBにある可能性は否定できないものの市場品である真ボウフウと栽培品であるトウスケボウフウは、化学成分的に差がないことが知られており³⁾、今回の薬理的な研究においても両者間に特に差がないことが明らかとなった。

文 献

- 1) 卯之原慶助, 小林弘美, 米田該典: ボウフウ(防風)の栽培研究(第1報). 生薬 **37**, 281-284, 1983
- 2) Sasaki, H., Taguchi, H., Endo, T. and Yoshioka, I.: The constituents of *Ledebouriella seseloides* WOLFF I. Structures of three new chromones. *Chem. Pharm. Bull.* **30**, 3555-3562, 1982
- 3) 小林弘美, 出山 武, 小松順子, 米田該典: トウスケボウフウの成分研究(第1報). 生薬 **37**, 276-280, 1983
- 4) Robert, A., Nezamis, J.E., Lancaster, C. and Hanchar, A.J.: Cytoprotection by prostaglandins in rats: Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology* **77**, 433-443, 1979
- 5) 桶谷 清, 村上 学, 藤崎秀明, 若林庸夫, 鶴井光治, 勝亦重弘, 花城清史, 原田容治, 荻原奉祐: ヘキソサミンを指標とした粘液糖蛋白質の簡易比色定量法. 医学のあゆみ **131**, 745-749, 1984
- 6) 佐直隆一, 新井 巖, 小林典子, 武藤恵子, 笹島道忠, 大関正弘: 2'-Carboxymethoxy-4,4'-bis (3-methyl-2-butenyloxy) chalconeの実験潰瘍および胃液分泌に対する作用. 応用薬理 **18**, 579-586, 1979
- 7) 藤平栄一: Screeningの方法と問題点—Adjuvant関節炎による抗炎症薬の検定法. 応用薬理 **5**, 196-183, 1971
- 8) 谷 覚, 桜井裕二, 近藤嘉和: タンニン及び数種の関連化合物のラットのエタノール胃損傷に対する効果. 薬誌 **106**, 347-349, 1986
- 9) 長 紹元, 高橋 誠, 戸井田貞子, 丁 宗鉄: 生薬によるアジュバンド関節炎の抑制(第1報). 生薬 **36**, 78-81, 1982

1) 卯之原慶助, 小林弘美, 米田該典: ボウフウ(防風)の