

伝承的抗アレルギー性生薬抽出物による compound 48/80 刺激ラット腹腔由来肥満細胞でのヒスタミン遊離抑制作用

平沢 昌子,*^{a)} 東野 英明,^{b)} 駒井功一郎^{c)}

^{a)}近畿大学医学部耳鼻咽喉科学教室, ^{b)}同・薬理学教室, ^{c)}近畿大学農学部農芸化学科

Inhibitory effects of 17 traditional antiallergic crude drugs on histamine release stimulated with compound 48/80 in the rat intraperitoneal mast cells

Masako HIRAZAWA,*^{a)} Hideaki HIGASHINO,^{b)} Koichiro KOMAI^{c)}

Departments of ^{a)}Otolaryngology and ^{b)}Pharmacology, Kinki University School of Medicine,

^{c)}Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Kinki University

(Received October 13, 1995. Accepted November 29, 1995.)

Abstract

Inhibitory actions of 17 Japanese traditional crude drugs, such as Gaiyo, Ohgi, Zentai, Hishi, Biwayo, Sojutsu, Keigai, Kako, Sojishi, Saishin, Soyo, Shin-i, Senkyu, Shoma, Jashoshi, Momoyo, and Bohu popularly used for allergic diseases, on the histamine release stimulated with compound 48/80 in the rat intraperitoneal mast cells were investigated. All 50 % methanol extracts derived from these 17 crude drugs inhibited histamine release over 50 % at a concentration of 10 μ g/ml. Efficacy of Gaiyo extract was the highest of all that drugs, and that of other ones was found in descending order in the above listed crude drugs. Physicochemical analyses by use of a thin-layer chromatography, a ultraviolet and an infrared spectrographies and a gas chromatography/mass spectrometry revealed each main ingredient in further purified fractions of 5 most effective crude drugs of these 17 ones, as follows. The ethyl ether soluble fraction of Gaiyo contained monoterpenes and /or sesquiterpenes. The n-butanol soluble fraction of Ogi contained flavonoids and high molecular steroids with low polarity or triterpenes. The ethyl ether soluble fraction of Zentai contained paraffins containing 15-20 carbon atoms. The n-butanol-soluble fraction of Hishi contained steroids, sterols, organic acids or fatty acids. The n-butanol-soluble fraction of Biwayo contained amino acids such as phenylalanine, cyanoglucosides such as prunacin, and carbonic acids such as citric acid, malic acid and tartaric acid.

Therefore, further purification of these drugs in the future will provide us much more knowledge of each mechanism of action and technical knowledge regarding a clinical use than what was obtained in this study.

Key words antiallergic action, traditional crude drug, histamine, histamine release, compound 48/80, mast cell.

緒 言

最近, 生活環境の改善とは裏腹に鼻アレルギーをはじめ

めとする I 型のアレルギー性疾患が増加してきた¹⁾。アレルギー性疾患に対する新薬の開発やその臨床応用も精力的に為されているが, その治療の困難さから伝承的治療法や, 和漢製剤が用いられることも多い。和漢生薬にも

*〒589 大阪狭山市大野東 377-2
377-2 Ono-higashi, Osakasayama 589, Japan

優れた効果を示すものが少なくないが、その多くは有効成分や作用機序が未だ明らかにされていない。そこで我々は古来より、アレルギー性と思われる疾患に有効とされ^{2,3)} 民間で伝承的に使用されている植物性および動物性生薬 17 種類について、compound 48/80 で刺激した際の肥満細胞でのヒスタミン遊離抑制を指標としてそれらの抗アレルギー作用を検討した。17 生薬のうちヒスタミン遊離抑制作用の強かった 5 種類の生薬については、その抽出物からエチルエーテル、n-ブタノール、水易溶の各画分に分け、有効成分について可能な限りの分析を行い推定した。

材料と方法

(1) 被験生薬とその抽出液の調製：被験生薬として、市販の艾葉(Gaiyo, ガイヨウ) *Artemisia princeps* PAMP. (日本新潟県産)、枇杷葉(Biwayo, ビワヨウ) *Eriobotrya japonica* (THUNB.) LINDL. (中国広東省産)、菱(Hishi, ヒシ) *Trapa japonica* FLEROV (中国産)、蟬退(Zentai, ゼンタイ) *Cicada periostracum* (中国浙江省産)、黄耆(Ogi, オウギ) *Astragalus membranaceus* (FISCH.) BGE. (モンゴル産)、辛夷(Shin-i, シンイ) *Magnolia kobus* DC. (中国浙江省産)、蘇葉(Soyo, ソヨウ) *Perilla frutescens* (L.) BRITTON var. *acuta* KUDO (中国広東省産)、藿香(Kako, カコウ) *Agastache rugosa* (FISCH. et MEY.) O.KUNTZE. (インドネシア産)、升麻(Shoma, ショウマ) *Cimicifuga simplex* WORMSK. (中国遼寧省産)、細辛(Saishin, サイシン) *Asarum sieboldii* MIQ. (北朝鮮産)、蛇床子(Jashoshi, ジャショウシ) *Cnidium monnieri* (L.) CUSSON (香港産)、桃葉(Momoyo, モモヨウ) *Prunus persica* (L.) BATSCH (中国安徽省産)、防風(Bohu, ボウフウ) *Saposhnikovia divaricata* (TURCZ.) SHISCHK. (中国河北省産)、蒼朮(Sojutsu, ソウジュツ) *Atractylodes lanceae* (THUNB.) DC. (中国湖北省産)、川芎(Senkyu, センキュウ) *Cnidium officinale* MAKINO (日本北海道産)、荊芥(Keigai, ケイガイ) *Schizonepeta tenuifolia* (BENTH.) BRIQUET (中国河北省産)、蒼耳子(Sojishi, ソウジシ) *Xanthium strumarium* L. (中国広東省産) の 17 種類を用いた。乾燥した各生薬に 50 % メタノール-水液を加え、数日間浸漬して得た液のペーパーフィルター濾過液を粗抽出液とし、ロータリーエバポレーター(東京理科機械 K.K. 製)を用いて 30°C で乾固した。各試料は凍結乾燥した後、使用時まで -40°C にて保存し、使用時に 1.0 mg/ml になるよう 50 % メタノール-水液で溶解した。

(2) ラット腹腔肥満細胞の調製：Wistar 系雌性ラッ

ト(6-8 月齢, 300-400 g 体重)をペントバルビタールナトリウム(50 mg/kg *i.p.*)で麻酔後、頸動脈を切断して脱血死させ、直ちに腹腔内に溶液 A (150 mM NaCl, 3.7 mM KCl, 3.0 mM Na₂HPO₄, 3.5 mM KH₂PO₄, 0.9 mM CaCl₂, 5.6 mM D-グルコース, 0.1 % 牛血清アルブミン(フラクション V), 0.1 % ゼラチン, ヘパリン(500 単位/ml, 豚腸粘膜製), pH 6.8 の 20 ml を注入して、3 分間腹部を手マッサージした。シリコンチューブを腹腔内に挿入して腹腔内液を採取し、さらに 10 ml のヘパリンを含まない溶液 B (溶液 A よりヘパリンを除いたもの)にて腹腔を洗浄し、先に採取した腹腔内液と合わせて 200 g で 5 分間(4°C)遠心分離した。上清を除去した後、自動血球計数装置(Sysmex F-300, 東亜医用電子 K. K. 製)を用いて細胞数が 0.5-1.0 × 10⁶ 個/ml になるように溶液 B で希釈し、肥満細胞浮遊液としてヒスタミン遊離抑制活性の測定に用いた。

(3) ヒスタミン遊離量の測定：ラット腹腔より得られた肥満細胞浮遊液 930 μl に被験生薬抽出液 10 または 20 μl および compound 48/80 液(2 μg/ml)を 50 μl 加え、37°C で 15 分間インキュベートした。反応終了後、その上清 800 μl に 0.8 N 過塩素酸(PCA) 0.8 ml を加えて反応を停止させ、2,000 g で 10 分間(4°C)遠心分離を行い除蛋白した。ヒスタミン量の測定は Shore の変法⁴⁾に改良を加えた方法で行った(Fig. 1)。o-phthalaldehyde 液と反応させたヒスタミンは蛍光分光光度計(CAF-100, JASCO 製)を用いて励起波長 360 nm, 蛍光波長 450 nm で測定した。

(4) ヒスタミン遊離抑制効果の判定：肥満細胞浮遊液からのヒスタミン遊離抑制率は次式を用いて行った。

$$\text{ヒスタミン遊離抑制率 (\%)} = \frac{\text{Emission T} - \text{Emission I}}{\text{Emission T} - \text{Emission B}} \times 100$$

Emission T : 被験生薬抽出液を含まない場合の compound 48/80 で刺激した時の蛍光強度

Emission I : 被験生薬抽出液の添加により compound 48/80 によるヒスタミン遊離が抑制されたときの蛍光強度

Emission B : 肥満細胞を含まない液による蛍光強度(盲値)

なお、ヒスタミンの遊離抑制効果を被験生薬間で比較検討するため、肥満細胞からのヒスタミン遊離を 50 % 抑制できる活性を 1 単位として被験生薬 10 μg あたりの活性を算出し、ヒスタミン遊離抑制係数(inhibitory index)としてその値を各群間で比較した。

(5) 生薬の有効成分の分析：生薬の 50 % メタノール抽出物を供試して実施したヒスタミン遊離抑制試験で特

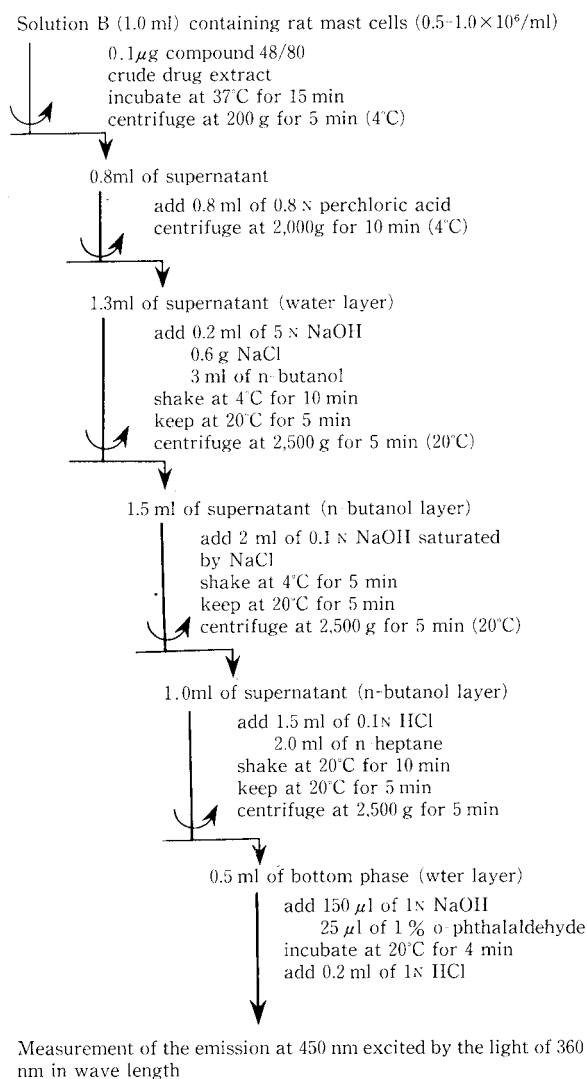


Fig. 1 Assay of histamine released from the rat mast cells by a modified Shore's method.

に強い活性を示したガイヨウ、オウギ、ゼンタイ、ヒシおよびピワヨウについては、本抽出物中のメタノールを減圧下で留去後、エチルエーテル、次いでn-ブタノールで分配してエチルエーテル画分、n-ブタノール画分および水易溶画分に分画した。各画分は再度ヒスタミン遊離抑制試験に供試し、最も強い活性が確認された各生薬の画分、すなわちガイヨウ：エチルエーテル画分、オウギ：n-ブタノール画分、ゼンタイ：エチルエーテル画分、ヒシ：n-ブタノール画分、ピワヨウ：n-ブタノール画分について以下の方法を用いて画分中の活性成分の化学的諸特性を調査した。

a. 薄層クロマトグラフィー (TLC)；シリカゲル薄層：silica gel 60 plate, Merk,

展開剤：クロロホルム (6)－メタノール (4)－水 (1)，
検出試薬：ドラーゲンドルフ試薬－アルカロイド含窒素化合物，メチレンブルー試薬－有機酸，塩化アルミニウム－フラボノイド・タンニン類，リン酸水溶液－ステロイド・トリテルペン，50% 硫酸－糖類，パラニトロアニリンジアゾ試薬－フラボノイド・フェノール性酸

b. 紫外線吸収スペクトル (UV)；UV-240 spectrometer, Shimadzu

c. 赤外線吸収スペクトル (IR)；FTIR-8200 D spectrometer, Shimadzu

d. ガスクロマトグラフィー質量スペクトル (GC MS)；GC-14B Gas chromatography, Shimadzu と JMS-DX300 Mass spectrometer, JEOL

結 果

1. ヒスタミンの定量

Fig. 1 に示す操作 (Shoreの変法⁴⁾ に改良を加えた方法) により 3.0 ng-0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲においてヒスタミン量が正確に測定できた (Fig. 2)。得られた蛍光強度とヒスタミン濃度との相関係数は $r=0.95$ であった。

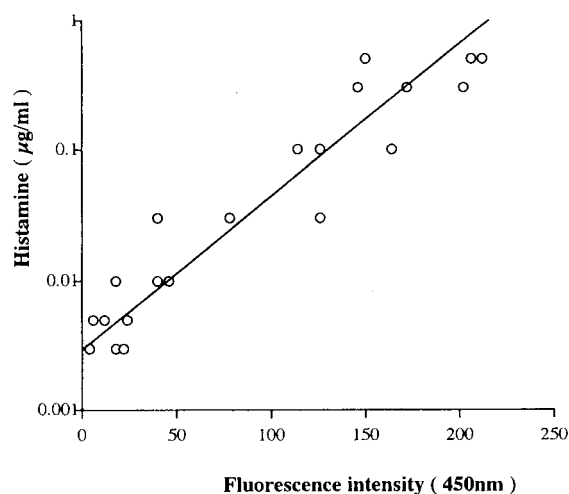


Fig. 2 Relationship between fluorescence intensity (X) and histamine content (Y).

An equation of regression line between X and Y was calculated as $Y=77.8 \log X + 209.1$ with a coefficient of correlation of $r=0.95$ at the range of 3.0 ng/ml-0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ histamine.

2. compound 48/80 刺激によるラット腹腔由来肥満細胞からのヒスタミン遊離に対する生薬粗抽出液の抑制作用の測定

Fig. 1 に示す操作により，compound 48/80 刺激ラッ

Table I An example of the measurement of inhibitory index on the histamine release from the rat mast cells.

Treatment	Quantities of histamine
Total (after sonication)	$0.126 \pm 0.002 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells}$
$0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ compound 48/80	0.074 ± 0.009
$0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ compound 48/80 + $2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ Gaiyo extract	0.034 ± 0.016
Inhibitory rate by Gaiyo extract	$56.9 \pm 4.6 \%$
Inhibitory index by Gaiyo extract	$4.55 \pm 0.43 \text{ units}$ ($1.14 \pm 0.11 \text{ units}/2.5 \mu\text{g}$)

Sample : $2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ Gaiyo (50 % methanol-water extract) (n=6)

The inhibitory index was determined as 1 unit, when $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ of the extract inhibited histamine release induced by $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ compound 48/80 by 50 % in the mast cells.

ト腹腔由来肥満細胞に生薬粗抽出液を添加してヒスタミンの遊離抑制作用活性を測定した。その一例（ガイヨウの50 % メタノール抽出液を用いた実験）をTable Iに示す。 10^6 個の肥満細胞当たりの全ヒスタミン量の平均値 (n=6) は $0.126 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells}$ で、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ compound 48/80 で刺激した場合、その58.7 % のヒスタミンが遊離され、それはガイヨウ粗抽出液の $2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度の添加で56.9 % が抑制された、したがって、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 当たりのガイヨウのヒスタミン遊離抑制係数として4.55を得た。

3. 17種の生薬粗抽出液のヒスタミン遊離抑制作用

17種の生薬粗抽出液のcompound 48/80刺激ラット腹腔由来肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制係数を測定

し、それらの結果の平均値を図示した (Fig. 3)。17種の生薬粗抽出液は全てそれぞれ、ラット腹腔由来肥満細胞におけるcompound 48/80によるヒスタミン遊離を抑制した。 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ compound 48/80による肥満細胞からのヒスタミン遊離を50 % 抑制する活性を抑制係数1としてそれぞれの抑制係数を整理すると、17種の生薬粗抽出液の強さはほぼ3群に分かれた。係数2.5以上にガイヨウ、オウギ、ゼンタイ、ヒシ、ビワヨウ、ソウジュツが位置し、1.5以上2.5までにケイガイ、カコウ、ソウジシ、サイシン、ソヨウが、1.0-1.5までに残りのシンイ、センキュウ、ショウマ、ジャシヨウシ、モモヨウ、ボウフウが位置した。なお各生薬粗抽出液の作用測定時の $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ compound 48/80 刺激による対照ヒスタミン遊離率はガイヨウ ($60.7 \pm 2.9 \%$)、オウギ ($63.7 \pm 5.9 \%$)、ゼンタイ ($62.7 \pm 7.1 \%$)、ヒシ ($61.8 \pm 3.3 \%$)、ビワヨウ ($62.7 \pm 8.3 \%$)、ソウジュツ ($65.3 \pm 5.7 \%$)、ケイガイ ($63.3 \pm 4.2 \%$)、カコウ ($61.5 \pm 3.3 \%$)、ソウジシ ($61.3 \pm 2.0 \%$)、サイシン ($59.9 \pm 3.0 \%$)、ソヨウ ($65.1 \pm 3.7 \%$)、シンイ ($61.5 \pm 2.5 \%$)、センキュウ ($68.6 \pm 2.7 \%$)、ショウマ ($61.1 \pm 2.5 \%$)、ジャシヨウシ ($63.1 \pm 1.5 \%$)、モモヨウ ($60.3 \pm 3.9 \%$)、ボウフウ ($62.9 \pm 3.0 \%$) でほぼ等しい遊離率を示した。

4. ヒスタミン遊離抑制作用を強く示した5生薬粗抽出液の再分画化とその活性

Compound 48/80によるラット腹腔由来肥満細胞からのヒスタミン遊離を強く抑制した5種の生薬粗抽出液について、その成分を推定するためメタノールを減圧して除去した後、更にエチルエーテル易溶画分、n-ブタノール易溶画分、水易溶画分の3分画に分け、その性状を推定した。Compound 48/80刺激によるラット肥満細胞からのヒスタミン遊離は、ガイヨウにおいてはエチルエーテル易溶画分に、オウギにおいてはn-ブタノール易溶画分に、ゼンタイにおいてはエチルエーテル易溶画分に、ヒシにおいてはn-ブタノール易溶画分に、ビワヨウにお

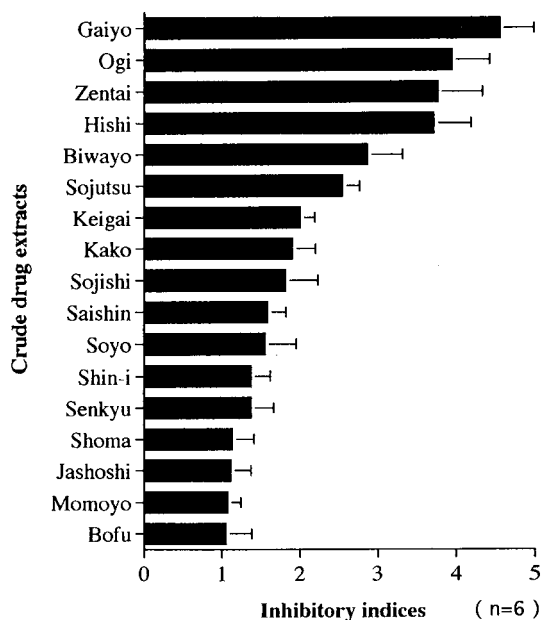


Fig. 3 Inhibitory indices of histamine release by 17 crude drugs.

The inhibitory index was determined as 1 unit, when $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ of the extract inhibited histamine release from the mast cells induced by $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ compound 48/80 by 50 %.

Table II Inhibitory indices of histamine release by 3 fractions (F.) obtained from 50 % methanol extracts of 5 most effective crude drugs out of in 17 crude drugs.

Crude drugs	50 % Methanol extract	Ethyl ether soluble F.	N butanol soluble F.	Water soluble F.
Gaiyo (n=6)	4.55±0.43	4.89±0.47	1.89±0.31	2.37±0.41
Ogi (n=6)	3.94±0.48	0.74±0.16	5.75±0.50	2.14±0.45
Zentai (n=6)	3.76±0.57	3.72±0.56	0.78±0.18	2.14±0.55
IIishi (n=6)	3.71±0.48	0.88±0.16	6.47±0.60	5.00±0.42
Biwayo (n=6)	2.86±0.45	0.53±0.32	2.70±0.30	0.65±0.18

The inhibitory index was determined as 1 unit, when 10 $\mu\text{g/ml}$ of the extract inhibited histamine released induced by 0.1 $\mu\text{g/ml}$ compound 48/80 by 50 % in the mast cells.

Table III Physicochemically analyzed data of the ethyl ether soluble fraction of Gaiyo (*Artemisia princeps* PAMP.).

Analytical methods	Reactions	Existing groups or materials
Thin layer chromatography	methylene blue(positive) aluminium chloride (positive)	COOH aromatic compounds
Ultraviolet spectrography absorption	no detection	no aromatic compound
Infrared spectrography (nujol mull method) absorption (ν)	3387.0 cm^{-1} 2935.5 cm^{-1} 1703.0 cm^{-1} 1604.0 cm^{-1}	-OH CH ₃ , -CH ₂ -C=O -C C-
Gas chromatography/mass spectrometry		monoterpenes (α , β pinene, camphor, camphene, thujone, borneol) sesquiterpenes (caryophyllene, caryophyllene oxide, thantunin)
Summary : Estimated materials		monoterpenes and/or sesquiterpenes

Table IV Physicochemically analyzed data of the n butanol soluble fraction of Ogi (*Astragalus membranaceus* (FISCH.) BGE.).

Analytical methods	Reactions	Existing groups or materials
Thin layer chromatography	50 % sulfuric acid (positive) phosphoric acid (positive) Dragendorff (positive)	sugars, steroids with low polarity triterpenes steroids, triterpenes, high molecular compounds containing nitrogen atom
Ultraviolet spectrography absorption (λ)	270, 330 nm	isoflavonoids
Infrared spectrography (nujol mull method) absorption (ν)	3348.0 cm^{-1} 2933.5 cm^{-1} 1868.5 cm^{-1} 1622.0 cm^{-1}	OH -CH ₃ , -CH ₂ O C-C-
Gas chromatography/mass spectrometry		no detection
Summary : Estimated materials		flavonoids, high-molecular steroids with low polarity or triterpenes

いてはn-ブタノール易溶画分にそれぞれ最大活性があった (Table II)。なお各測定項目ごとの $0.1 \mu\text{g/ml}$ compound 48/80 刺激による対照群のヒスタミン遊離率はガイヨウ ($60.0 \pm 4.3 \%$)、オウギ ($60.8 \pm 4.1 \%$)、ゼンタイ ($60.3 \pm 4.8 \%$)、ヒシ ($59.7 \pm 3.7 \%$)、ピワヨウ ($55.8 \pm 7.4 \%$) ではほぼ等しい反応性を示していた。

5. ヒスタミン遊離抑制作用係数を高く示した5種の生薬分画の物理化学的分析結果

Table III にガイヨウ粗抽出物のエチルエーテル易溶画分に存在する物質の、Table IV にオウギ粗抽出物のn-ブタノール易溶画分に存在する物質の、Table V にゼンタイ粗抽出物のエチルエーテル易溶画分に存在する物質の、Table VI にヒシ粗抽出物のn-ブタノール易溶画分に存在する物質の、Table VII にピワヨウ粗抽出物のn-ブタノール易溶画分に存在する物質の物理化学的分析結果をそれぞれ示した。薄層クロマトグラフィーで展開後の

各種の呈色反応、紫外線吸収スペクトルの結果、赤外線吸収スペクトルの結果、ガスクロマトグラフィー質量スペクトル分析結果を総合して以下の結果を得た。ガイヨウ粗抽出物のエチルエーテル易溶画分に存在する物質としては、精油成分が主体と考えられ、その多くはモノテルペンまたはセスキテルペンからなっていた。オウギ粗抽出物のn-ブタノール易溶画分に存在する物質としては、マメ科特有のイソフラボノイドの存在が強く示唆され、さらにブドウ糖やショ糖ならびに低極性で高分子量のステロイド化合物あるいはトリテルペン化合物が確認された。ゼンタイ粗抽出物のエチルエーテル易溶画分に存在する物質としては、15-20の炭素数からなるパラフィンが主成分と思われた。ヒシ粗抽出物のn-ブタノール易溶画分に存在する物質としては、その主成分がステロイドやステロール類で有機酸または脂肪酸が推定された。ピワヨウ粗抽出物のn-ブタノール易溶画分に存在す

Table V Physicochemically analyzed data of the ethyl ether soluble fraction of Zentai (*Cicada periostracum*).

Analytical methods	Reactions	Existing groups or materials
Thin-layer chromatography	no detection	
Ultraviolet spectrography absorption	no detection	
Infrared spectrography (nujol mull method) absorption (ν)	3400.0 cm^{-1} 1670.2 cm^{-1}	-OH C=C-
Gas chromatography/mass spectrometry		paraffins
Summary : Estimated materials		paraffins containing 15-20 carbon atoms

Table VI Physicochemically analyzed data of the n-butanol soluble fraction of Hishi (*Trapa japonica* FLEROV).

Analytical methods	Reactions	Existing groups or materials
Thin-layer chromatography	50 % sulfuric acid (positive) phosphoric acid (positive) methylene blue (positive) aluminium chloride (positive)	sugars steroids -COOH flavonoids or aromatic compounds
Ultraviolet spectrography absorption	no detection	no aromatic compound
Infrared spectrography (nujol mull method) absorption (ν)	3342.0 cm^{-1} 2952.0 cm^{-1} 1705.0 cm^{-1} 1612.0 cm^{-1}	OH -CH ₃ , -CH ₂ -C=O -C=C-
Gas chromatography/mass spectrometry		unknown high-molecular compounds
Summary : Estimated materials		steroids, sterol, organic acids or fatty acids

Table VII Physicochemically analyzed data of the n butanol soluble fraction of Biwayo (*Eriobotrya japonica* (THUNB.) LINDL.).

Analytical methods	Reactions	Existing groups or materials
Thin-layer chromatography	Dragendorff (positive) merhylene blue (positive) aluminium chloride (positive)	alkaloids, high-molecular compounds containing nitrogen atom or CN organic acids flavonoids, tannin
Ultraviolet spectrography absorption (λ)	282, 340 nm	aromatic compounds
Infrared spectrography (nujol mull method) absorption (ν)	3352.1 cm^{-1} 2927.7 cm^{-1} 1606.6 cm^{-1} 1120.6 cm^{-1}	-OH CH ₃ , -CH ₂ -C=C- -O-
Gas chromatography/mass spectrometry		no detection
Summary : Estimated materials		amino acids (phenylalanine), cyanoglucosides (prunasin), carbonic acids (citric acid, malic acid, tartaric acid)

る物質としては、フェニルアラニンのようなアミノ酸やプルナシンのような青酸配糖体と、クエン酸やリンゴ酸や酒石酸のようなカルボン酸が多量存在することが推定された。

考 察

民間の伝承的治療法の中には、アレルギー性疾患に効果をあげている多くの植物性あるいは動物性生薬がある。これらの物質の臨床的治験に関する報告は数多くあるものの、薬理学的に抗アレルギー作用が明確に証明されたものは数多くはない。そこで我々は伝承的治療薬の中で特にアレルギー性疾患に多用されている生薬について、肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用を指標にしてその抗アレルギー作用を検した。その結果、検したガイヨウ、ビワヨウ、ヒシ、ゼンタイ、オウギ、シンイ、ソヨウ、カコウ、ショウマ、サイシン、ジャシヨウシ、モモヨウ、ボウフウ、ソウジュツ、センキュウ、ケイガイ、ソウジシの17種全ての生薬メタノール粗抽出物は、compound 48/80 刺激によるラット腹腔由来肥満細胞からのヒスタミン遊離を、10 $\mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で50%以上抑制した。特にガイヨウ、オウギ、ゼンタイ、ヒシ、ビワヨウの粗抽出物は、3 $\mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で50%以上ヒスタミン遊離を抑制した。

ガイヨウはヒスタミン遊離抑制係数が17種類の被験生薬のうち最も高く、特にエチルエーテル易溶画分で高い抑制効果を示した。エチルエーテル易溶画分の分析結果からガイヨウの精油成分が主要有効成分と考えられ、その多くはモノテルペンとセスキテルペンから構成され

ていることがわかった。精油は各種の油性化合物の混合物であり芳香を発するものが多く、アレルゲンに対する気道面での感受性の低下(膜安定化作用)をひき起こし、ヒスタミンによる毛細血管透過性を抑制することによって作用すると考えられる。熱水抽出エキスではインターフェロン誘起作用が認められ⁵⁾、そのインターフェロンがインターロイキン4に拮抗して、I型アレルギーの予防に効果を持つことも考えられる。昨今ではガイヨウを利用してアトピー性皮膚炎などのI型アレルギー性疾患患者の搔痒軽減に有効な結果を得たとの報告⁶⁾もされている。

オウギはガイヨウに次いで強いヒスタミン遊離抑制作用を示した。マメ科に属し、中国の東北、華北地方、朝鮮半島に分布し、草地に生える多年草で根部分を実験に供した。n-ブタノール画分で高い抑制効果を示し、精油やマメ科特有のイソフラボノイドによる作用が考えられた。フラボノイドにはマメ科でバイカリン、バイカレイン、血管強化作用の強力なルチンやケルセチンなどが含まれ、そのうちかなりのものがIgEおよび他の刺激薬による好塩基細胞よりのヒスタミン遊離をサイクリックAMP産生を伴わずに抑制したと報告されている⁷⁾。したがって、多くのフラボノイドを含む植物には肥満細胞などからのヒスタミン遊離抑制作用があるものと考えられており^{8, 11)}今回の実験によっても強力なヒスタミン遊離抑制作用が認められた。

ゼンタイはセミの幼虫の脱皮で、エチルエーテル易溶画分で、抑制率が高かった。分析結果から炭素数15-20程度のパラフィンが主成分と考えられた。メタノール粗抽出物よりエチルエーテル、n-ブタノール、水易溶の各分

画に細分画すると、エチルエーテル易溶画分以外にもかなりのヒスタミン遊離抑制作用が認められたことから、今回は分析しなかったものの、水易溶性のキチンキトサン類にもヒスタミン遊離抑制作用があるのではないかと思えた。

ヒシはヒシ科に属し、北海道から九州、朝鮮半島、中国、台湾に分布し、沼の中に生える水生1年草で、果実部分を実験に供した。n-ブタノール易溶画分と水易溶画分で強いヒスタミン遊離抑制効果を示し、とくにn-ブタノール易溶画分が最も高い抑制効果を示した。分析結果から主成分はステロイドあるいはステロイドアルコールで、有機酸や脂肪酸の存在も推定された。ヒシではメタノール粗抽出液試料に比べn-ブタノール易溶画分に細分画した試料においてヒスタミン遊離抑制効果がより強く認められたことから、n-ブタノールや水易溶画分より精製を進めると、更に強い作用を持つ画分が得られる可能性も考えられた。

ビワヨウはバラ科に属し、中国中南部原産で、日本では関東以西の石灰岩地帯の暖地に生え、また広く栽培される常緑高木である。n-ブタノール易溶画分で抑制率が高く、その分析結果より本画分中にはアミノ酸（フェニルアラニン）や青酸配糖体の prunasin およびタンニンの存在が示唆された。ビワヨウ抽出液はラット後肢カラゲニン誘発浮腫に対する抑制効果が報告されており、炎症、抗ヒスタミン作用が知られている。¹²⁾ ビワヨウの主成分であるタンニンにはタンパク質やアルカロイドと結合してそれらを難溶化させる作用があり、蛋白質との結合は収斂作用や抗菌、抗ウイルス活性などをもたらす。^{13, 14)} また *in vivo* でヒスチジンデカルボキシラーゼ抑制作用が常用のフラボノイドより強いアレルギー性ショックに抵抗する作用を持つ。¹⁵⁾ 主作用物質が特定できなかったが、タンニンによる作用も抗アレルギー作用として現れているものと考えられた。

ソウジュツは H_2 レセプターにのみ拮抗作用を示す hinesol の含有量が高く、幅広い抗潰瘍作用をもつことが知られている¹⁵⁾ が、今回の実験ではビワに次ぐ高いヒスタミン遊離抑制効果が観察された。

ケイガイについてもヒスタミン遊離抑制係数が2.2を越える比較的強い作用を認めた。メタノールエキスの経口投与が炎症初期を抑制したとされ、その作用は精油成分の l-pulegone によると考えられている。¹⁶⁾ ケイガイはボウフウ、ソウジュツ、ゼンタイとともに消風散として分泌物の多い痒みの強い慢性の皮膚病に使用されることが多いので、抗アレルギー作用は今回のヒスタミン遊離抑制作用と関連しているものと思えた。

サイシンはそのアルコールエキ스가、卵白アルブミン

感作モルモット肺切片でアナフィラキシー反応によるケミカルメディエーターの遊離を抑制し、水製エキスではモルモット回腸で抗ヒスタミン作用を示したという報告がされている。¹⁷⁾ サイシンは小青竜湯の構成生薬の一つで、今回の実験においても50%メタノール粗抽出液でヒスタミン遊離抑制作用を示した。

ソヨウは免疫賦活作用があることがわかっており、その水製エキスはラット尾静脈へのインク注入実験で食食能の亢進が認められ、¹⁷⁾ またインターフェロン誘起作用も認められている⁵⁾ ので、ヒスタミン遊離抑制作用の実証からもI型アレルギーの予防に役立つと考えられる。

シンイからは抗ヒスタミン作用成分が単離されており、¹⁸⁾ ラットの48時間後のPCA反応においてEvans blueの漏出を抑制した¹⁹⁾ という報告もある。今回の実験においても肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用が認められた。

センキュウにはインターフェロン誘起能が認められており、⁵⁾ マクロファージやリンパ球に作用して免疫調節機構にも関与していることが考えられる。

ショウマは発汗、解熱、解毒薬として用いられ、その成分分析から桂皮酸誘導体やトリテルペンおよびその配糖体などが含有されていることが知られている。²⁰⁾ これらの物質がヒスタミン遊離抑制機構に関連したと考えられる。

ジャショウシは抗炎症作用を持ち、 Ca^{2+} blocker 作用を有する²¹⁾ ことから、肥満細胞内への Ca^{2+} の流入を阻害することによりヒスタミンの遊離抑制作用を示したものと考えられた。

モモヨウにもヒスタミン遊離抑制作用が認められた。果実の桃仁には抗アレルギー作用があることが知られており、水抽出エキスで48時間後のPCA反応を抑制したと報告されている。²²⁾

ボウフウの成分のクマリン誘導体は、ラットのコンカナバリンAによる肥満細胞からのメディエーター遊離を抑制し、カルシウムの取り込みを阻害したと報告²³⁾ されている。今回の実験では compound 48/80 を用いたヒスタミン遊離を抑制した。

カコウやソウジシも比較的強いヒスタミン遊離抑制作用を示したが、今回の実験からはその作用成分を推定することが出来なかった。

以上の結果から、民間で抗アレルギー作用薬として汎用されている薬物は、それぞれ作用を有していることが明らかとなった。その中には作用の強いものもあることが示された。今回の実験からは、ヒスタミン遊離抑制を示す有効作用物質まで特定できなかったが、多くの有効可能性物質を推定できた。この結果を基にして更に精製

を進め、作用物質を特定して作用機序の解明と、臨床へのさらなる利用を計りたい。また、compound 48/80 刺激によるラット腹腔由来肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用は、抗アレルギー作用検定の一つの過程であるが全てではないので、他の刺激薬を用いた実験と *in vivo* での実験を続け、より完全な知識を得るよう努力したい。

謝 辞

この研究を始めるに当り、豊富な民間抗アレルギー療法知識と多くの試料を快く提供して下さい(株)せいき取締役の北波利雄氏に心より感謝申し上げます。また、近畿大学医学部薬理学教室の鈴木有朋教授と耳鼻咽喉科学教室の村田清高教授の研究指導に深謝します。

References

- 1) Usagami, A.: Survey of pollinosis in the whole country. *JOHNS* **10**, 279-283, 1994 (in Japanese).
- 2) Nanjing Chinese Medical Academy : Internal medicine. In "A survey of Chinese medicine". 347-348, 1973 (in Japanese).
- 3) Mistuzuka, H. : Illustrated medicinal plants of the world in colour. Hokuryukan. 1988 (in Japanese).
- 4) Shore, P. H., Burkhalter, A. and Cohn, V. H. : A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **127**, 182-186, 1959.
- 5) Kojima, Y., Kumazawa, Y., Sibukawa, N., Otsuka, K. and Mizunoe, K. : Screening for interferon inducers and mitogens among various medical plants used in traditional Sino-Japanese medicine. *Proc. Symp. WAKAN-YAKU*, **13**, 101, 1980 (in Japanese).
- 6) Kubo, K., Ide, M. and Fukuya, S. : A trial for reduction of an itchiness by use of Gaiyo. *J. Japanese Farm. Med.* **37**, 102, 1988 (in Japanese).
- 7) Koda, A. : Anti-allergic effects of baicalein and baicalin. In "Development of medicine II" (Ed. by Harada, M.). Hirokawa Publishing Co., pp.466-480, 1988 (in Japanese).
- 8) Middleton, E., Jr. and Drzewiecki, G. : Naturally occurring flavonoids and human basophil histamine release. *Int. Archs. Allergy Appl. Immun.* **77**, 155-157, 1985.
- 9) Middleton, E., Jr. and Drzewiecki, G. : Effects of flavonoids and transitional metal cations on antigen induced histamine release from human basophils. *Biochem. Pharmacol.* **31**, 1449-1453, 1982 (in Japanese).
- 10) Fewtrell, C.M.S. and Gomperts, B.D. : Effect of flavone inhibitors of transport ATPase on histamine secretion from rat mast cells. *Nature* **265**, 635-636, 1977.
- 11) Fewtrell, C.M.S. and Gomperts, B.D. : Quercetin : A model inhibitor of Ca^{2+} influx and exocytosis in rat peritoneal mast cells. *Biochim. Biophys. Acta* **469**, 52-60, 1977.
- 12) Shimizu, M., Fukumura, H., Tsuji, H., Tanaami, S., Hayashi, T. and Morita, N. : Anti-inflammatory constituents of topically applied crude drugs. I. Constituents and anti-inflammatory effect of *Eriobotrya japonica* LINDL. *Chem. Pharm. Bull.* **34**, 2614-2617, 1986 (in Japanese).
- 13) De Tommest, N. and De Simone, C.F. : Constituents of *Eriobotrya japonica*. A study of their antiviral properties. *J. Nat. Prod.* **55**, 1062-1073, 1992.
- 14) Mitsuhashi, H., Tanaka, O., Nohuku, S. and Nagai, M. : Chemistry of natural products II. Nankodo, Tokyo, 1986 (in Japanese).
- 15) Nogami, M., Moriura, T., Kubo, M. and Tani, T. : Studies on the origin, processing and quality of crude drugs. II. Pharmacological evaluation of the Chinese crude drug "Zhu" in experimental stomach ulcer (2). Inhibitory effect of extract of *Atractylodes lancea* on gastric secretion. *Chem. Pharm. Bull.* **34**, 3854-3860, 1986 (in Japanese).
- 16) Yamahara, J., Matsuda, H., Watanabe, A., Sawada, T. and Fujimura, H. : Biologically active principles of crude drugs. Analgesics and anti-inflammatory effects of "Keigai (*Shizone-peta tenuifolia* BRIQ.) *Yakugaku Zasshi* **100**, 713-717, 1980 (in Japanese).
- 17) Koda, A., Nishiyori, T., Nagai, H., Matsuura, N. and Tsuchiya, H. : Antiallergic actions of crude drugs and blended Chinese traditional medicines. Effects on type I and type IV allergic reactions. *Folia pharmacol. japon.* **80**, 31-41, 1982 (in Japanese).
- 18) Nagashima, S., Komiya, T., Murata, Y. and Matsuoka, T. : Isolation of substances with anti-histamine like activity from "Shin-i". *J. Takeda Res. Lab.* **40**, 27-36, 1981 (in Japanese).
- 19) Nakajima, J., Ebizuka, Y., Go, K., Shin, R. and Mikawa, K. : Antiallergic components of Shin-i. *Abstract of the 29th Meeting of Japanese Crude Drug Society* p.32, 1982 (in Japanese).
- 20) Kimura, O., Sakurai, N. and Inoue, T. : Studies on the Chinese crude drug "Shoma". VII. Isolation and determination of genuine natural products, acetylshengmanol xyloside, 24-O-acetylhydroshengmanol xyloside, and shengmanol xyloside, in *Cimicifuga dahurica* and the *Cimicifuga* plants. *Yakugaku Zasshi* **103**, 293-299, 1983 (in Japanese).
- 21) Yamahara, J., Miki, S., Murakami, H., Sawada, T. and Fujimura, H. : Screening test for calcium antagonists in natural products and the active principles of *Cnidii monnieri*. *Yakugaku Zasshi* **105**, 449-458, 1985 (in Japanese).
- 22) Arichi, S., Kubo, M., Tani, T., Nakamura, H., Motoyoshi, S., Ishii, K., Imazu, C., Seto, Y., Kadokawa, T., Nagamoto, N., Nanba, K. and Nishimura, H. : Studies on *Percicae Semen*. II. Pharmacological activity of water soluble compositions of *Percicae Semen*. *Yakugaku Zasshi* **105**, 886-894, 1985 (in Japanese).