

マウスにおける独活葛根湯の抗侵害受容作用

柳瀬 晃子, 西沢 幸二, 山下 明*

鐘紡(株) 漢方研究所

Antinociceptive action of Dokkatsu-kakkon-to in mice

Teruko YANASE, Koji NISHIZAWA and Akira YAMASHITA*

Kampo (Traditional Chinese Medicine) Research Laboratory, Kanebo Ltd.

(Received December 11, 1995. Accepted April 2, 1996.)

Abstract

The antinociceptive effects of "Dokkatsu-kakkon-to" (DOK), a traditional Chinese medicine for treatment of shoulder stiffness, were examined in mice. DOK (125-2000 mg/kg, p.o.) and "Kakkon-to" (KAK, 500-2000 mg/kg, p.o.) depressed the acetic acid-induced writhing significantly. In the hot plate test, DOK (1000-2000 mg/kg, p.o.), but not KAK (2000 mg/kg, p.o.), prolonged the nociceptive latency. DOK (500-2000 mg/kg, p.o.) did not induce muscle relaxation. These findings suggest that DOK has an antinociceptive action and that its effect is stronger than that of KAK.

Key words Dokkatsu-kakkon-to (独活葛根湯), antinociceptive activity, acetic acid-induced writhing test, hot plate test, shoulder stiffness.

Abbreviations AFL, afloqualon; DOK, Dokkatsu-kakkon-to (Du-Huo-Ge-Gen-Tang), 独活葛根湯; ETZ, ethenzamide; KAK, Kakkon-to (Ge-Gen-Tang), 葛根湯; TOC, d- α -tocopherol acetate.

結 言

独活葛根湯は、感冒の初期症状や肩こりに有効とされる葛根湯¹⁾の配合生薬7種に、独活と地黄を加えたものである。本処方、唐の時代の「外台秘要」に「柔中風、身体疼痛、四肢緩弱、不随せんと欲するを癒す。産後の柔中風また此方を用う(軽い脳卒中で、身体が痛み、手足の動きが鈍く、あるいは麻痺するものを治す。産後の同様な症状にも用いる)」と記載されている²⁾。今日では、肩こり・五十肩等、広く肩背の症状に用いられ³⁾臨床においても、独活葛根湯の肩こりに対する有用性が報告されている⁴⁾。

現在、肩こりの治療には、鎮痛薬、筋弛緩薬および血行改善等を目的としてビタミン剤等が常用されている⁵⁾。綿野ら⁶⁾は、独活葛根湯のラット大腿骨格筋血流量増大作用を明らかにしたが、他に独活葛根湯の詳細な薬理作

用については検討されていない。そこで、今回、マウスを用いて、独活葛根湯の抗侵害受容作用および筋弛緩作用について検討した。抗侵害受容作用の対照薬として、独活葛根湯の原方である葛根湯と、一般用肩こり薬に配合され鎮痛抗炎症作用を有する ethenzamide⁷⁾ および末梢血行障害改善作用を有する d- α -tocopherol⁸⁾ を用いて同様の検討を行った。また、筋弛緩薬の対照薬としては、中枢性筋弛緩薬 afloqualone⁹⁾ を用いた。

材料と方法

(1) **実験動物**: ddY 系雄性マウス (体重 20-26 g, 日本エスエルシー) を用いた。購入後、温度 23±1°C, 湿度 55±10%, 12 時間照明/12 時間暗のサイクルの飼育室で、水および飼料 (CE-2, 日本クレア) を自由に摂取させ、6 日以上の子飼育の後、試験に用いた。

(2) **使用薬物**: 使用薬物は、独活葛根湯エキス末 (葛

*〒534 大阪市都島区友洲町 1-5-90
1-5-90 Tomobuchi-cho, Miyakojima-ku, Osaka 534, Japan

根 2.5, 桂皮 1.5, 芍薬 1.5, 麻黄 1.0, 独活 1.0, 生姜 0.5, 地黄 2.0, 大棗 0.5, 甘草 0.5 の割合で混合し, 重量比で 10 倍量の水を加え, 100°C で 1 時間抽出した後, 乾燥エキス粉末としたもの, 葛根湯エキス末 (葛根 8.0, 桂皮 3.0, 芍薬 3.0, 麻黄 4.0, 生姜 4.0, 大棗 4.0, 甘草 2.0 の割合で混合し, 同様に抽出した後, 乾燥エキス粉末としたもの), ethenzamide (和光純薬), d- α -tocopherol acetate (理研ビタミン) ならびに afloqualone (Arofuto®, 田辺製薬より抽出) である。独活葛根湯エキス末および葛根湯エキス末は蒸留水に懸濁し, ethenzamide および afloqualone はそれぞれ 0.25 および 0.5 % sodium carboxymethylcellulose (和光純薬) 溶液に懸濁し, d- α -tocopherol acetate は Tween 80 (和光純薬) を加え (最終濃度 0.5 %) よく混和した後, 蒸留水に懸濁して用いた。薬物はすべて投与容量が 10 ml/kg となるように調整し, 経口投与した。

(3) 酢酸 writhing¹⁰⁾ 法を用いた仮性疼痛試験: 一夜絶食したマウスに被検薬を経口投与し, 1 時間後に 0.7% 酢酸溶液 0.1 ml/10 g を腹腔内投与した。酢酸溶液投与 5 分後より 15 分間の writhing 数を測定した。

(4) hot plate 法を用いた仮性疼痛試験: 高木および亀山の方法¹¹⁾ に準じて行った。すなわち, 55.0±0.5°C に設定した熱板 (MODEL 7250, UGO BASILE) 上にマウスの四肢を着板させ, 後肢の足底をなめる (licking) または跳躍する (jumping) 等の仮性疼痛反応を示すまでの時間 (秒) を測定し, 反応潜時とした。マウスは予め前日に 2 回の訓練を行い, 一夜絶食して実験に供した。実験当日は被検薬投与前に 1 時間間隔で 3 回測定を行いその平均を投与前値とし, 反応潜時が 40 秒以内のマウスを選別し実験に用いた。被検薬経口投与 0.5, 1, 2 および 3 時間後に測定を行った。測定時に 90 秒経過しても反応を示さないマウスは火傷を避けるために速やかに取り出し, 測定値は 90 秒とした。

(5) 筋弛緩に関する試験

1. 回転棒法: 試験前日にマウスを 1 分間に 5 回転する水平な木製の直径 3.0 cm の回転棒上に 5 分間乗せて訓練し, 一夜絶食して実験に供した。試験当日, 回転棒上にマウスを乗せ 1 分間以上回転棒上に留まるマウスを選別し実験に用いた。被検薬経口投与 1, 3 および 5 時間後に回転棒上にマウスを乗せ, 2 分間に 2 回以上落下するものを筋弛緩作用陽性とした。

2. 懸垂法: 一夜絶食したマウスに被検薬経口投与 1, 3 および 5 時間後に懸垂試験を行った。すなわち, 30 cm の高さに水平に張り渡した直径 1.5 mm の針金にマウスの両前肢を掛け, 10 秒以内に落下するか, 少なくとも片方の後肢を針金にかけなかったものを筋弛緩作用陽

性とした。

3. 傾斜板法: 一夜絶食したマウスに被検薬経口投与 1, 3 および 5 時間後に, 床面と 30 度の傾斜角を持つ斜面上に下向きに置き 15 秒以上滞留できなかったものを筋弛緩作用陽性とした。

(6) 統計処理: 実験結果は平均値±標準誤差で表示し, 有意差検定は Dunnett 法または, non-parametric Dunnett 法を用いて行った。

結 果

1. 酢酸 writhing 法における抗侵害受容作用

被検薬の酢酸 writhing 反応抑制作用を Fig. 1 に示した。独活葛根湯エキス末は 125, 250, 500, 1000 および 2000 mg/kg, p.o. で, 用量依存的に酢酸 writhing 反応を抑制し, 抑制率は 14, 23, 30, 37 および 46 % であった。葛根湯エキス末は 250, 500, 1000 および 2000 mg/kg, p.o. で, 用量依存的に酢酸 writhing 反応を抑制し, 抑制率は 7, 14, 27 および 33 % であった。ethenzamide は 100 mg/kg, p.o. で抑制率 31 % の作用を示した。d- α -tocopherol は 500 mg/kg, p.o. で酢酸 writhing 反応に対し影響を及ぼさなかった。

2. hot plate 法における抗侵害受容作用

hot plate 法における試験結果を Fig. 2 に示した。薬物投与前の licking または jumping の反応潜時は 29.0±1.5 秒 (N=15) であった。独活葛根湯エキス末は 1000 mg/kg, p.o. で, 投与 1 時間後における反応潜時を投与前の 1.7 倍に延長した ($p<0.01$)。また, 2000 mg/kg, p.o. で, 投与 0.5 および 1 時間後における反応潜時を投与前の 1.3 倍 ($p<0.05$) および 1.7 倍 ($p<0.01$) に延長した。葛根湯エキス末は 500-2000 mg/kg, p.o. で, 有意な反応潜時延長作用を示さなかった。ethenzamide は 100 mg/kg, p.o. で, 投与 0.5 時間後に反応潜時を投与前の 1.9 倍に延長した ($p<0.01$)。d- α -tocopherol は 500 mg/kg, p.o. で反応潜時に影響を及ぼさなかった。

3. 筋弛緩作用

回転棒法, 懸垂法および傾斜板法における筋弛緩判定の結果を Table I に示した。独活葛根湯エキス末は, 500, 1000 および 2000 mg/kg, p.o. で投与 1, 3 ならびに 5 時間後に回転棒法, 懸垂法および傾斜板法のいずれにおいても筋弛緩作用を示さなかった。陽性対照薬として用いた afloqualone は 40 mg/kg, p.o. で, 回転棒法, 懸垂法および傾斜板法において投与 5 時間後まで持続的な筋弛緩作用を示した。

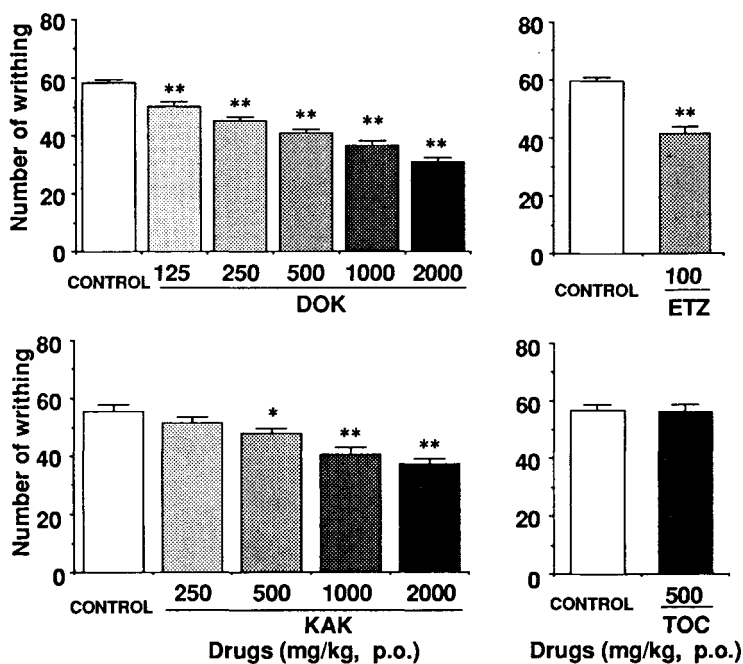


Fig. 1 Effects of Dokkatsu-kakkon-to (DOK, N=10-24), Kakkon-to (KAK, N=10), ethezamide (ETZ, N=10-17) and d- α -tocopherol acetate (TOC, N=6) on acetic acid-induced writhing in mice. Drugs were administered p.o. 1 hr before the i.p. injection of 0.7 % acetic acid. Each column represents the mean \pm S.E. * p < 0.05, ** p < 0.01, significantly different from the control (Dunnett's test).

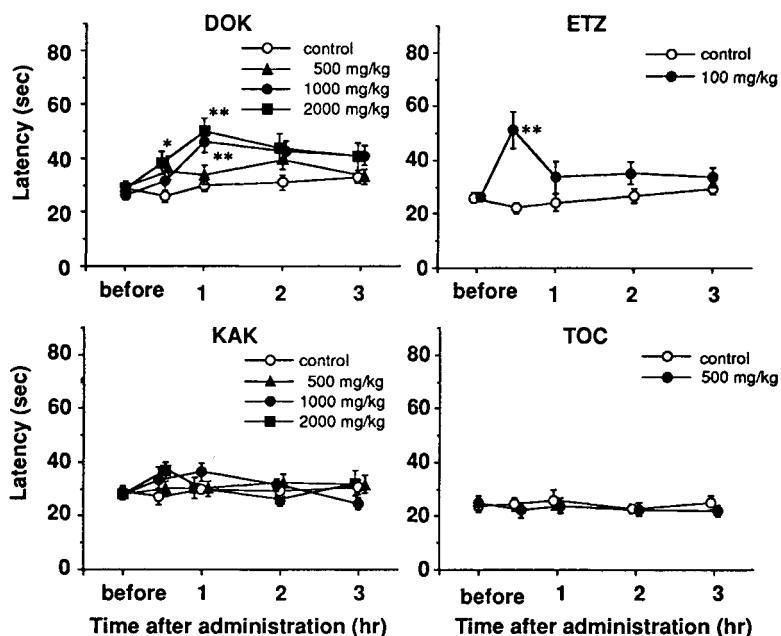


Fig. 2 Effects of Dokkatsu-kakkon-to (DOK, N=14-15), Kakkon-to (KAK, N=11-12), ethezamide (ETZ, N=11-14) and d- α -tocopherol acetate (TOC, N=8) in the hot plate test using mice. Drugs were administered p.o. Each point represents the mean \pm S.E. * p < 0.05, ** p < 0.01, significantly different from the control (Dunnett's test).

Table I Effects of Dokkatsu-kakkon-to (DOK) and afloqualon (AFL) on muscle relaxant activity in mice.

Drug	Dose (mg/kg)	No. of mice	RR-test			TR-test			IS-test			(hr)
			1	3	5	1	3	5	1	3	5	
DOK	500	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
AFL	40	10	10	10	8	9	5	3	9	5	2	

Each value represents the number of the unperforming mice.

RR : rotarod TR : traction IS : inclined screen

考 察

独活葛根湯の抗侵害受容作用を、化学的刺激法として酢酸 writhing 法を、熱刺激法として hot plate 法を用いて検討した。独活葛根湯エキス末は、酢酸 writhing 反応を 125-2000 mg/kg, p.o. で用量依存的に抑制し、hot plate 法による仮性疼痛反応潜時を 1000 および 2000 mg/kg, p.o. で有意に延長した。一方、葛根湯エキス末は、500-2000 mg/kg, p.o. で酢酸 writhing 反応を有意に抑制したが、hot plate 法の反応潜時を 2000 mg/kg, p.o. でも延長させなかった。独活葛根湯が葛根湯より強い酢酸 writhing 抑制作用を示したことや、hot plate 法の検出感度が酢酸 writhing 法と比較して低いこと¹²⁾から考えて、今回認められた hot plate 法における独活葛根湯と葛根湯の作用の有無は、抗侵害受容作用の強弱によるものと思われた。以上の結果から、独活葛根湯は、葛根湯に独活と地黄を加えることにより鎮痛作用を強めた処方であることが確認された。葛根湯の構成生薬の桂皮¹³⁾、芍薬¹⁴⁾、麻黄¹⁵⁾ および生姜¹⁶⁾ やそれらの成分が抗侵害受容作用を有することが報告され、さらに、独活とその成分についても抗侵害受容作用を有する報告がなされている。^{17) 19)} これらの構成生薬が葛根湯の鎮痛作用ならびに独活葛根湯のより強い鎮痛作用に寄与していると考えられる。

独活葛根湯の適応症の一つに肩こりがあげられる。現在の肩こりの治療法は、マッサージ・体操・温熱・牽引等の理学的療法と内服・貼付・注射等の薬物療法に大別される⁵⁾。そのうち、薬物療法については、痛みをとることを目的とした鎮痛抗炎症薬、筋肉の緊張を緩和する筋弛緩剤および血行改善作用等を有しているビタミン類が用いられている。今回の実験では、内服の肩こり治療薬として現在用いられている鎮痛抗炎症薬の ethenzamide や、血流量増加作用を有する d- α -tocopherol に

ついて同様に抗侵害受容作用を検討した。その結果、ethenzamide は、100 mg/kg, p.o. で酢酸 writhing 法および hot plate 法において抗侵害受容作用を示した。一方、両試験において、d- α -tocopherol は 500 mg/kg, p.o. で、抗侵害受容作用を示さなかった。d- α -tocopherol は本来、微小循環改善作用⁸⁾により肩こりを軽減すると考えられており、今回の結果からも痛みに対して直接作用しないことが確認された。

肩こりの一症状として、骨格筋の緊張があげられる。今回、回転棒法、懸垂法および傾斜板法を用いて筋弛緩作用について検討した。本来、これらの評価系は正常状態での筋弛緩をみるものであり、肩こりにおける骨格筋緊張に対する作用を評価することは困難かもしれない。しかし、筋緊張性疾患の治療薬に用いられる afloqualone 等の薬効評価に本評価系が用いられており⁹⁾、今回の afloqualone の実験結果と考え合わせて、本評価系から薬物の骨格筋緊張緩和作用を見いだすことが可能と考えられた。独活葛根湯は肩背拘急（肩背が引きつって屈伸できない症状）に応用され³⁾、配合生薬のうち、葛根は神経刺激による骨格筋収縮に対し抑制作用を示すこと²⁰⁾、芍薬中の成分である paeoniflorigenone は神経筋接合部遮断作用を示すこと²¹⁾が報告されている。今回の実験では独活葛根湯の筋弛緩作用は認められず、独活葛根湯は骨格筋の緊張緩和に直接影響しないと考えられた。

既に、独活葛根湯エキス末が、100 および 1000 mg/kg 十二指腸内投与で骨格筋血流量増加作用を有することが報告されており⁶⁾、今回の結果と考えると、独活葛根湯の肩こりに対する臨床効果には、鎮痛作用と血流促進作用がともに関与していると考えられ、肩こりに対し有用な処方であると考えられた。

References

- 1) Nakayama igakuin hen (中山医学院編) : Chuui syohou kaisetsu

- (中医処方解説), Ishiyaku shuppan, Tokyo (医歯薬出版, 東京), pp. 334-337, 1982.
- 2) Harada, M.: Antipyretic and antiinflammatory analgesics- Drug group in the Chinese medicine formulation (7). *J. Tradit. Sino-Japan. Med.* **11** (2), 106-112, 1990.
 - 3) Kouseisho yakumukyoku kansyuu (厚生省薬務局監修): Ippan you kampo shohou no tebiki (一般用漢方処方の手引き), Yakuigyujihousha, Tokyo (薬業時報社, 東京), pp.199-200, 1975.
 - 4) Nagakura, Y., Hattori, M., Shishido, T., Fukawa, H., Kawagoe, M. and Yamabe, K.: Clinical evaluation of Dokkatsu-kakkon-to on stiff shoulder. *Clinical report* **28** (8), 161-169, 1994.
 - 5) Yamamoto, R.: Katakori (肩こり), *Clinician* **31** (335), 35-37, 1984.
 - 6) Watano, T., Hara, H., Yamashita, A., and Sukamoto, T.: Effects of Dokkatsu-kakkon-to on the blood flow in the femoral skeletal muscle in anesthetized rats. *J. Trad. Med.* **12** (2), 154-159, 1995.
 - 7) Kawano, O., Sawabe, T., Misaki, N. and Fukawa, K.: Studies on combination dosing (III) Aspirin and ethenzamide. *Japan. J. Pharmacol.* **28**, 829-835, 1978.
 - 8) O'hara, I.: Masshou jyunkan shougai ni taisuru dl- α -tocopheryl nicotinate no eikyou (末梢循環障害に対する dl- α -tocopheryl nicotinate の影響). *Clinical report* **15** (4), 309-320, 1981.
 - 9) Maeda, K., Ochiai, T. and Ishida, R.: Comparative study of several centrally acting muscle relaxants in mice and rats. *Clinical report* **22** (18), 35-39, 1988.
 - 10) Koster, R., Anderson, M. and De Beer, E. J.: Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.* **18**, 412, 1959.
 - 11) Takagi, K. and Kameyama, T.: Studies on analgesics. II. Hot-plate method for assaying analgesic activity. *J. Pharm. Soc. Japan* **77** (8), 871-875, 1957.
 - 12) Nabeshima, T., Yamada, S., Yamaguchi, K., Matsuno, K., Kameyama, T., Sakakibara, S. and Matsumoto, S.: Pharmacological action of eptazocine (1-1, 4-dimethyl-10-hydroxy-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1,6-methano-1H-4-benzazocine). (IV) Narcotic agonist and antagonist actions of eptazocine. *Folia pharmacol. Japon.* **81**, 411-420, 1983.
 - 13) Harada, M. and Ozaki, Y.: Pharmacological studies on Chinese cinnamon. I. Central effects of cinnamaldehyde. *J. Pharm. Soc. Japan* **92** (2), 135-140, 1972.
 - 14) Sugishita, E., Amagaya, S. and Ogihara, Y.: Studies on the combination of glycyrrhizae radix in Syakuyakukanzo-To. *J. Pharm. Dyn.* **7**, 427-435, 1984.
 - 15) Kasahara, Y. and Hikino, H.: Pharmacological actions of *Ephedra* internodes and nodes. *Japan. J. Pharmacogn.* **38** (2), 159-165, 1984.
 - 16) Suekawa, M., Ishige, A., Yuasa, K., Sudo, K., Aburada, M. and Hosoya, E.: Pharmacological studies on ginger. I. Pharmacological actions of pungent constituents, (6)-gingerol and (6)-shogaol. *J. Pharm. Dyn.* **7**, 836-848, 1984.
 - 17) Okuyama, E., Gao, L., Nishimura, S. and Yamazaki, M.: Analgesic principles from some traditional medicines. In "Dai 8 kai tennen-yakubutsu no kaihatu to ouyou shimpojiumu youshishuu (第8回天然薬物の開発と応用シンポジウム要旨集)", Nihon yakugakkai hakkou (日本薬学会発行), Soubunsha, Tokyo (創文社, 東京), pp.105-108, 1991.
 - 18) Kozawa, M. and Tanaka, O.: Chemical constituents of Du-huo and Qiang-huo. *J. Tradit. Sino-Japan. Med.* **8** (2), 69-73, 1987.
 - 19) Okuyama, E., Nishimura, S. and Yamazaki, M.: Analgesic Principles from *Aralia cordata* THUNB. *Chem. Pharm. Bull.* **39** (2), 405-407, 1991.
 - 20) Harada, M.: Pharmacology of pureaiae radix. *J. Tradit. Sino-Japan. Med.* **3** (4), 47-53, 1982.
 - 21) Kimura, M., Kimura, I., Nojima, H., Takahashi, K., Hayashi, T., Shimizu, M. and Morita, N.: Blocking effects of a new component, paeoniflorigenone, in paeony root on neuromuscular junctions of frogs and mice. *Japan. J. Pharmacol.* **35**, 61-66, 1984.