

猪苓湯における漢薬・沢瀉の配剤意義

松田 秀秋*, 友廣 教道, 久保 道德

近畿大学薬学部薬用資源学研究室

About prescription of Alismatis Rhizoma in Chorei-to

Hideaki MATSUDA*, Norimichi TOMOHIRO and Michinori KUBO

Department of Natural Drugs Resources Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kinki University

(Received October 21, 1998. Accepted November 18, 1998.)

Abstract

Hot water extract (TA-ext) from the mixture of Alismatis Rhizoma and Gelatinum significantly inhibited the paw edema induced by direct passive Arthus reaction (DPAR) in rats, but the water extracts (T-ext or A-ext) from Alismatis Rhizoma or Gelatinum alone and the mixture of these extracts (T+A-ext) were ineffective. In addition, TA-ext had the inhibitory effect on active Arthus reaction in mice, but A-ext and T-ext did not. These results suggest that Alismatis Rhizoma has the inhibitory effect on Type III allergic reaction and Gelatinum consisting of gelatinous substance plays some important role on the occurrence of efficacy of Alismatis Rhizoma.

Key words Chorei-to (Tyorei-to), Alismatis Rhizoma, Gelatinum, anti-allergic activity.

Abbreviations A-ext, hot water extract from Gelatinum; CFA, Freund's complete adjuvant, CMC·Na, carboxymethyl cellulose sodium salt; DPAR, direct passive Arthus reaction; EWA, egg albumin; IC, immune complex; SRBC, sheep red blood cell; TA-ext, hot water extract from the mixture of Alismatis Rhizoma and Gelatinum; T+A-ext, the mixture of A-ext and T-ext; T-ext, hot water extract from Alismatis Rhizoma.

緒 言

猪苓湯は猪苓、茯苓、沢瀉、阿膠、滑石の5味から構成される漢方処方であり、膀胱炎、腎臓結石、尿路疾患に利尿作用や排石作用を期待して用いられている漢方方剤である。著者らは前報^{1,2)}において配剤生薬5味を合して熱水抽出したエキ스가実験的免疫複合体(IC)腎炎ラットにおいて尿中蛋白排泄抑制作用を示すことを見出したが、『傷寒論³⁾』に記載された煎じ方(阿膠以外の4味を先に煎じ、その煎液に阿膠を溶かし込む)に従った抽出エキスではその活性が見出せなかった。さらに、猪苓湯去阿膠エキスでもその活性が見出せなかったことから、猪苓湯(5味を合せて)の熱水抽出エキスを調製する過程で、阿膠が他の4味生薬中の非水溶性で抗腎炎活性

を示す成分の抽出効率を高めていると推察した。

そこで本報では、猪苓湯に配剤されている生薬の中で、非水溶性の抗腎炎活性成分を含有する生薬を沢瀉と仮定し、慢性腎炎の主たる発生機序であるIII型アレルギー反応モデルを用いて、猪苓湯における沢瀉と阿膠の配剤意義を探索した。

材料と方法

(1) 被検体の調製：中国福建省産沢瀉(*Alisma orientale* JUZEPP.の根茎)及び日本産玉阿膠(Gelatinum)を用い、以下のエキスを作成した。①沢瀉単独熱水抽出エキス(以下、T-extと略記)；沢瀉細切後、10倍量の水で2時間2回抽出し、凍結乾燥して得たエキス(22.8%)、②阿膠単独熱水抽出エキス(以下、A-extと略記)；阿膠を①

*〒577-0818 東大阪市小若江3-4-1
3-4-1 Kowakae Higashiosaka, Osaka 577-0818, Japan

の方法で抽出して得たエキス(85.7%), ③沢瀉と阿膠の熱水抽出エキス(以下, TA-ext と略記); 沢瀉の細切物と阿膠を4:1の重量比で混合し, ①の方法で抽出して得たエキス(27.8%)及び④沢瀉エキスと阿膠エキスを合したエキス; ①と②のエキスを1:1で合したエキスを被検体に供した。なお, 各被検体の投与量はT-ext 50及び200 mg/kgを基本にエキスの抽出収量から算出した。また, 被検体及び陽性対照薬はラット体重100 g当たり0.4 mlあるいはマウス体重10 g当たり0.2 mlの0.5% carboxymethyl cellulose sodium salt (CMC·Na)に懸濁し経口投与した。

(2) 実験動物: 実験動物は市販のSD系雄性ラット(150-180 g), ICR系雄性マウス(18-20 g)及びJW系雄性白色ウサギ(2.0-2.5 kg)を用いた。なお, いずれの動物も日本SLCから購入した。また, 飼育環境は恒温恒湿の実験動物飼育室で, 市販の固形飼料(ラボMR-ストック, ラボR-ストック: 日本農産)を用い, 水を自由に摂取さ

せ, 購入後実験に供するまで1週間予備飼育した。

(3) 試薬及び陽性対照薬: 試薬には新鮮羊赤血球(SRBC, 阪大微研), prednisolone (ナカライ・テスク), egg albumin (EWA, type V) (Sigma) 及び Freund's complete adjuvant (CFA, Difco) を用いた。

(4) 直接受動アルサス反応(DPAR): SD系雄性ラットの尾静脈にラット体重150 g当たり抗EWAウサギ血清⁴⁾ 0.5 mlを注射して受動的に感作し, その30分後にEWA生理食塩液0.025 mg/0.1 mlを右後肢足蹠に皮内注射してDPARを惹起した⁵⁾。ラットの右後肢足蹠の体積を反応惹起直前及び反応惹起1~5時間後まで経時的に水容積置換法にて測定し浮腫率を求めた。なお, 被検体及び陽性対照薬であるprednisoloneは直接受動アルサス反応の反応惹起1時間前に経口投与した。

(5) 能動アルサス反応: ICR系雄性マウスを用いてTakahashiら⁶⁾の方法にて能動アルサス反応を惹起した。反応惹起直前及び反応惹起3時間後に dial thickness

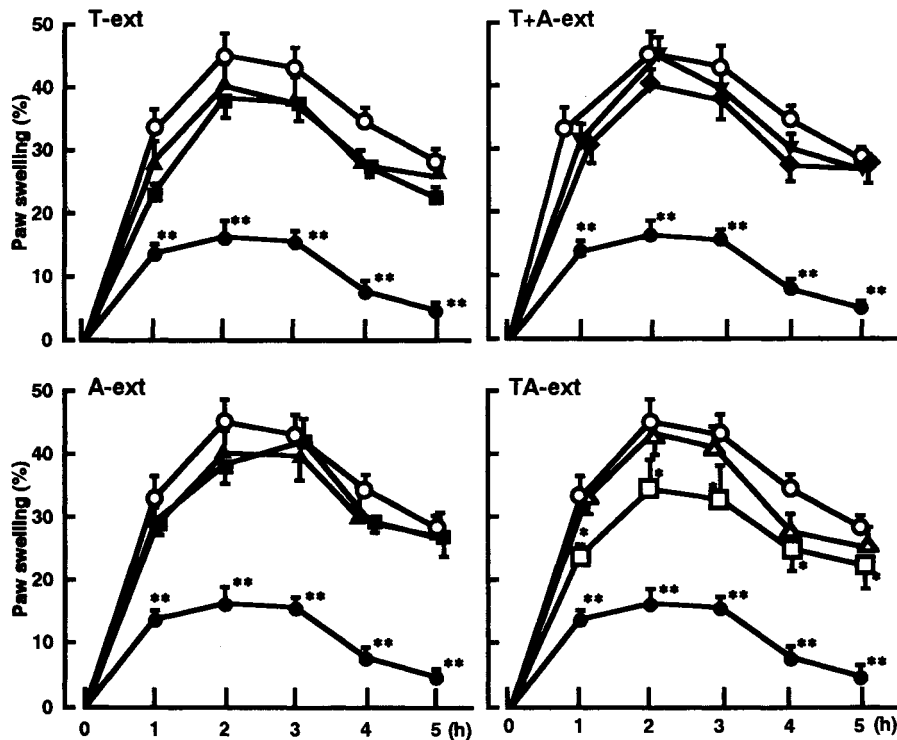


Fig. 1 Effects of T-ext, A-ext, T+A-ext, TA-ext and prednisolone on direct passive arthus reaction in rats.

Samples suspended in 0.5% CMC·Na were orally administered 30 min before intravenous injection of an antibody. Thirty min after the injection of the antibody, an antigen was intracutaneously injected into the right hind paw of the rats. The paw volume was measured, and the swelling percentage was calculated. Control was orally administered 0.5% CMC·Na alone. Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 9 rats. Significantly different from the control group, *; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$. ○, control; ▲, T-ext or A-ext 50 mg/kg; ■, T-ext or A-ext 200 mg/kg; ▼, T+A-ext 100 mg/kg; ◆, T+A-ext 400 mg/kg; △, TA-ext 90 mg/kg; □, TA-ext 360 mg/kg; ●, prednisolone 25 mg/kg.

gauge を用いて測定し、浮腫率を算出した。なお、被検体及び陽性対照薬である prednisolone は反応惹起1時間前に経口投与した。

(6) 統計処理：実験結果は平均値±標準誤差で表し、有意検定には Bonferroni/Dunn の多重比較検定を用いた。

実験結果

1. DPAR に及ぼす影響

その結果は Fig. 1 に示したごとく、対照群では反応惹起1時間後から浮腫が認められ、その浮腫は反応惹起2時間後で最大となり、以後その浮腫は徐々に消滅した。TA-ext 360 mg/kg 群には反応惹起1～5時間後までの浮腫を有意に抑制する作用が認められた。T-ext 投与群には反応惹起1時間後の浮腫を抑制する傾向が認められた。しかし、A-ext 及び T+A-ext には抑制作用が認められなかった。

2. 能動アルサス反応に及ぼす影響

その結果は Fig. 2 に示したごとく、マウスに能動アルサス反応を惹起させると、対照群では $30.7 \pm 1.6\%$ の足趾浮腫が認められた。TA-ext は 360 mg/kg の経口用量でその浮腫を有意に抑制した。しかし、T-ext と A-ext 投与群にはその浮腫を抑制する作用が認められなかった。

考 察

猪苓湯の慢性腎炎モデルにおける尿中蛋白排泄抑制作用を担う生薬を探索する研究の一環として本報では、沢

瀉と阿膠に着目し、以下の研究を行った。

慢性腎炎の主たる発症機序は III 型アレルギー反応⁷⁾であることから、その反応モデルを用いて、沢瀉単独熱水抽出エキス (T-ext)、阿膠単独熱水抽出エキス (A-ext)、沢瀉と阿膠を合して熱水抽出したエキス (TA-ext) 及び T-ext と A-ext の 1:1 混合エキスの抗 III 型アレルギー作用を検討した。

まず、IC を定量的に局所で産生させ、その産生された IC によって惹起される受動型の DPAR⁸⁾ を III 型アレルギーモデルに用いた結果、4 種エキス中で TA-ext のみが IC によって惹起されるアレルギー性の浮腫を抑制した。

次に、IC によって惹起される反応で、IC 腎炎モデルの発症に近い病態として能動アルサス反応⁸⁾を用い、抗 III 型アレルギー作用を検討した。その結果、このモデルにおいても TA-ext のみがその反応を有意に抑制した。

以上の結果から、A-ext あるいは T+A-ext には抗 III 型アレルギー作用を認めなかったが、TA-ext にその抑制作用が認められたことから、沢瀉には水で抽出されにくい抗 III 型アレルギー成分が含有され、その成分は阿膠によってその抽出効率が高められていることが強く示唆された。

従って、沢瀉が抗 III 型アレルギー作用を示したことから、慢性腎炎ラットにおける猪苓湯の尿中蛋白排泄抑制作用は沢瀉が担っていると推察され、さらに、その抗 III 型アレルギー作用は阿膠と同時に抽出されることにより、その有効成分が効率よく抽出され、抗腎炎作用を発揮していると思われる。その作用成分は既に抗 III 型アレルギー作用⁹⁾を明らかにしている水不溶性成分でトリ

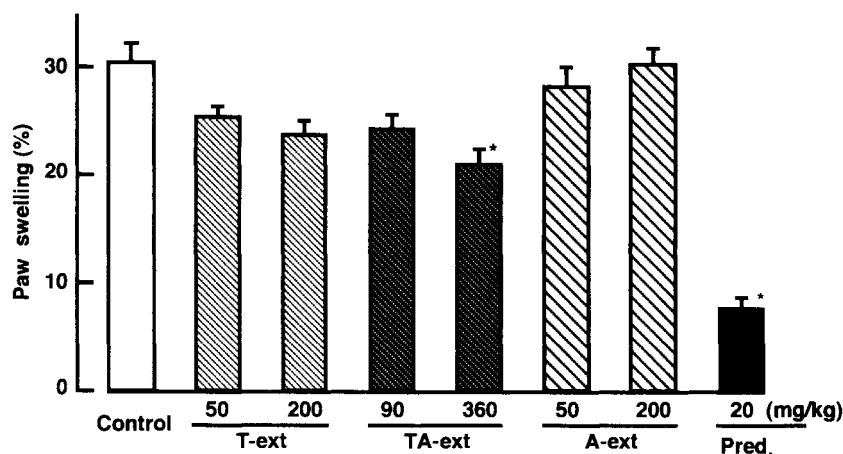


Fig. 2 Effects of T-ext, TA-ext, A-ext and prednisolone (Pred.) on active arthus reaction in mice. T-ext, TA-ext, A-ext and prednisolone suspended in 0.5 % CMC·Na were orally administered 1 h before the challenge with an antigen. Control was orally administered 0.5 % CMC·Na alone. Each column represents the mean±S.E. of 13 mice. Significantly different from the control group, *; $p < 0.01$.

テルペン化合物の alisol 類であろう。

References

- 1) Matsuda, H., Tomohiro, N., Moriura, T., Kubo, M.: Pharmacological study on Kampo-hozai. IV. About prescription of Gelatinum in Chorei-to. *J. Trad. Med.* **12**, 89-92, 1995.
- 2) Kubo, M., Yoshikawa, M., Moriura, T. and Matsuda, H.: Pharmacological study on Chinese medicinal prescription (1). Inhibitory effects of Chorei-to on urinary excretion of experimental nephritis. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKU* **6**, 115-121, 1989.
- 3) Cho Chuhei (張 仲景): "Shou Kan Ron (傷寒論)", Chokaibihon, Horikawabon (趙開美本, 堀川本), Kan (巻) 6, p.12, 1856.
- 4) Koda, A., Nagai, H., Wada, K.: Baicalin oyobi baicalein no yakuri sayo (2) jyudo-teki anafirakishi hanno ni oyobosu eikyo (Baicalin 及び Baicalein の薬理作用 (第2報) 受動的アナフィラキシー反応におよぼす影響). *Folia pharmacol. japon* **66**, 237-247, 1970.
- 5) Denk, H., Förster, O., Kovac, W., Kraft, D.: On the occurrence of the third complement component (C3) in the paw of the rat during the Arthus-reaction. An immunofluorescence study. *Z. Immunitätsforsch.* **138**, 169-177, 1969.
- 6) Takahashi, K., Endoh, K., Yamada, N., Kadowaki, S., Arai, Y., Sugawara, K.: Effects of MY-5116 on experimental animal models of type I ~ type IV allergic reactions and the formation of IgE antibody. *Folia pharmacol. japon* **88**, 245-255, 1986.
- 7) Yamamura, Y., Kishimoto, C.: "Iwanami kouza menekikagaku I Menekigaku nyu-mon", Iwanami shoten, Tokyo, pp. 189-230, 1985.
山村雄一, 岸本忠三: "岩波講座免疫科学 I 免疫学入門", 岩波書店, 東京, pp. 189-230, 1985.
- 8) Yasuhira, K., Susumi, T. and Yutaka, M.: "Enshou gaku susho 4 Enshoudoubutsu jikkenhou", Igakushoin, Tokyo, pp. 186-212, 1975.
安平公夫, 鶴藤 丞, 水島 裕: "炎症学双書 4 炎症動物実験法", 医学書院, 東京, pp. 186-212, 1975.
- 9) Kubo, M., Matsuda, H., Tomohiro, N., Yoshikawa, M.: Studies on Alismatis Rhizoma. I. Anti-allergic effects of methanol extract and six terpene components from Alismatis Rhizoma (dried rhizome of *Alisma orientale*). *Biol. Pharm. Bull.* **20**, 511-516, 1997.