

胃疾患に繁用される漢方方剤及び構成生薬エキス、生薬含有成分の H,K-ATPase 活性に及ぼす影響

佐藤かな子,^{*,a} 長井二三子,^a 瀬戸隆子,^b 山内 浩^c

東京都立衛生研究所毒性部,^a 同理化学部,^b
東京都立大久保病院東洋医学科

The Effects of Kampo-Formulation and the Constituting Crude Drugs, Prescribed for the Treatment of Peptic Ulcer on H,K-ATPase Activity

Kanako SATOH,^{*,a} Fumiko NAGAI,^a Takako SETO,^b and Hiroshi YAMAUCHI^c

Department of Toxicology The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health,^a
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan, Department of
Pharmaceutical Science,^b Department of Oriental Medicine,
Tokyo Metropolitan Okubo Hospital

(Received August 9, 2000; Accepted November 2, 2000)

We studied the effects of 17 kinds of Kampo-formulations prescribed for the treatment of peptic ulcer on H,K-ATPase activity. The activity was strongly inhibited by *San-o-shashin-to* (三黄瀉心湯, $IC_{50}=82 \mu\text{g/ml}$), *Bukuryo-in* (茯苓飲, $IC_{50}=110 \mu\text{g/ml}$), *Shakuyaku-kanzo-to* (芍薬甘草湯, $IC_{50}=170 \mu\text{g/ml}$), *Hange-koboku-to* (半夏厚朴湯, $IC_{50}=290 \mu\text{g/ml}$), *Dai-saiko-to* (大柴胡湯, $IC_{50}=340 \mu\text{g/ml}$), *Irei-san* (胃苓散, $IC_{50}=380 \mu\text{g/ml}$) than other Kampo-formulations. Among the 17 kinds of crude drugs contained in these Kampo-formulation, Rhei Rhizoma, Coptidis Rhizoma, Glycyrrhiza Radix, Cinnamomi Cortex, and Poria have notable inhibitory effects ($IC_{50}=19\sim 57 \mu\text{g/ml}$). H,K-ATPase activity was inhibited by sennoside A (Rhei Rhizoma), sennoside B (Rhei Rhizoma), ergosterol (Poria), coptisine (Coptidis Rhizoma), glycyrrhizin (Glycyrrhiza Radix), glycyrrhetic acid (Glycyrrhiza Radix), gallic acid (Cinnamomi Cortex) in the 21 components of these crude drugs ($IC_{50}=1.6\sim 7.9\times 10^{-4} \text{ M}$). The inhibition of *San-o-shashin-to* and *Bukuryo-in* is considered to be mainly attributed to Rhei Rhizoma and Poria, respectively. The anti-gastric ulcer effects of *San-o-shashin-to* and *Bukuryo-in* may be ascribed to the inhibition of H,K-ATPase activity.

Key words—H,K-ATPase activity; inhibition; Kampo-formulation; Rhei Rhizoma; Coptidis Rhizoma; Poria

緒言

胃酸分泌酵素である H,K-ATPase (プロトンポンプ) は、胃粘膜の胃酸分泌細胞に局在し、細胞内の H^+ を胃管腔に、胃管腔の K^+ を細胞内へ ATP の加水分解と共役して能動輸送する。この酵素の特異的阻害剤は、 H^+ (胃酸) の分泌を抑制するため、消化性潰瘍の治療薬として用いられている。これらの薬剤と漢方方剤との併用による治癒促進や、再発予防効果を示す臨床成績が得られており、¹⁾漢方方剤の実験潰瘍動物に対する抗潰瘍作用も報告されている。²⁾今回、慢性胃炎や潰瘍の治療、潰瘍再発防止及び上腹部不定愁訴、食欲不振などを訴える患者に処方し、効果があったと考えられる漢方方剤¹⁾及び、胃疾患に繁用される漢方方剤 17 種類 (Table 1) について、H,K-ATPase 活性に対する影響を検討した。さらに H,K-ATPase 活性阻害作用の強かった漢方方剤の構成生薬と、その含有成分について作用を調べたので報告する。

材料と方法

1. 材料 ウチダ和漢薬(株)より日本薬局方刻み生薬を購入し、漢方方剤は厚生省承認内規³⁾に従って配合した。漢方方剤、三黄瀉心湯及び茯苓飲から構成生薬を 1 つずつ除いたもの及び生薬のエキスは、重量に対して 15 倍量の精製水を加え、40 分間加熱還流し、ろ過後、抽出液を凍結乾燥して得た。Pachymic acid は茯苓より、magnoflorine は防己より単離精製した。Pachyman は ICN Pharmaceuticals Inc. より、その他の生薬含有成分はフナコシ薬品(株)又は和光純薬(株)より生薬標準品 (HPLC 純度 98% 以上) を購入した。H,K-ATPase 酵素標品は、ブタ胃粘膜より調製した。⁴⁾酵素活性は、 $18\sim 30 \mu\text{mol Pi/mg タンパク/h}$ であった。

2. H,K-ATPase 活性測定方法 種々の量のエキス及び構成成分を、 $1 \mu\text{l}$ のジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、 0.1 ml の酵素反応液 ($50 \mu\text{g}$ 酵素タンパク/ml, 1 mM ATP, 10 mM KCl, 2 mM MgCl_2 , 20 mM トリス塩酸緩衝液, pH 6.8) に加え、

Table 1. Effects of Extracts of Kampo-Formulation on H, K-ATPase Activity

Kampo-formulation		Yield of extracts (w/w %) ^{a)}	Inhibition IC ₅₀ value (μg/ml) ^{b)}	Crude drugs
San-o-shashin-to	(三黄瀉心湯)	23	82	Rhei Rhizoma, Coptidis Rhizoma, Scutellariae Radix
Bukuryo-in	(茯苓飲)	32	110	Poria, Aurantii Fructus Immaturus, Atractylodis Rhizoma, Ginseng Radix, Zingiberis Rhizoma, Aurantii Bobilis Pericarpium
Shakuyaku-kanzo-to	(芍薬甘草湯)	33	170	Paeaniae Radix, Glycyrrhiza Radix
Hange-koboku-to	(半夏厚朴湯)	14	290	Poria, Pinelliae Tuber, Magnoliae Cortex, Zingiberis Rhizoma, Perilliae Herba
Dai-saiko-to	(大柴胡湯)	34	340	Rhei Rhizoma, Cinnamomi Cortex, Scutellariae Radix, Paeaniae Radix, Aurantii Fructus Immaturus, Zingiberis Rhizoma, Bupleuri Radix, Pinelliae Tuber, Zizyphi Fructus
Irei-san	(胃苓散)	23	380	Coptidis Rhizoma, Glycyrrhiza Radix, Poria, Scutellariae Radix, Paeaniae Radix, Atractylodis Rhizoma, Magnoliae Cortex, Zingiberis Siccatum Rhizoma, Aurantii Bobilis Pericarpium, Zizyphi Fructus, Amomi Semen, Atractylodis Lanceae Rhizoma, Polyporus, Alismatis Rhizoma
Hange-shashin-to	(半夏瀉心湯)	32	>500	Coptidis Rhizoma, Glycyrrhiza Radix, Scutellariae Radix, Ginseng Radix, Pinelliae Tuber, Zingiberis Siccatum Rhizoma, Zizyphi Fructus
Oren-gedoku-to	(黄連解毒湯)	28	>500	Coptidis Rhizoma, Scutellariae Radix, Phellodendri Cortex, Gardeniae Fructus
Hei-san	(平胃散)	40	>500	Glycyrrhiza Radix, Atractylodis Rhizoma, Magnoliae Cortex, Zingiberis Siccatum Rhizoma, Aurantii Bobilis Pericarpium, Zizyphi Fructus
Shigyaku-san	(四逆散)	33	>500	Glycyrrhiza Radix, Paeaniae Radix, Aurantii Fructus Immaturus, Bupleuri Radix
Rikkunshi-to	(六君子湯)	48	N.D. ^{c)}	Glycyrrhiza Radix, Poria, Atractylodis Rhizoma, Ginseng Radix, Pinelliae Tuber, Zingiberis Rhizoma, Aurantii Bobilis Pericarpium, Zizyphi Fructus
Ninjin-to	(人參湯)	35	N.D. ^{c)}	Glycyrrhiza Radix, Atractylodis Rhizoma, Ginseng Radix, Zingiberis Siccatum Rhizoma
Hochu-ekki-to	(補中益氣湯)	42	N.D. ^{c)}	Glycyrrhiza Radix, Bupleuri Radix, Atractylodis Rhizoma, Ginseng Radix, Zingiberis Siccatum Rhizoma, Aurantii Bobilis Pericarpium, Zizyphi Fructus, Angelicae Radix, Astragali Radix, Cimicifugae Rhizoma
Saiko-keishi-to	(柴胡桂枝湯)	34	N.D. ^{c)}	Glycyrrhiza Radix, Cinnamomi Cortex, Scutellariae Radix, Paeaniae Radix, Bupleuri Radix, Ginseng Radix, Pinelliae Tuber, Zingiberis Siccatum Rhizoma, Zizyphi Fructus
Goshuyu-to	(呉茱萸湯)	37	N.D. ^{c)}	Ginseng Radix, Zingiberis Rhizoma, Zizyphi Fructus, Evodiae Fructus
Anchu-san	(安中散)	14	N.D. ^{c)}	Glycyrrhiza Radix, Cinnamomi Cortex, Amomi Semen, Alpiniae Officinarum Rhizoma, Corydalis Tuber, Ostreae Testa, Foeniculi Fructus
Shouken-chu-to	(小建中湯)	59	N.D. ^{c)}	Glycyrrhiza Radix, Cinnamomi Cortex, Paeaniae Radix, Atractylodis Rhizoma, Zingiberis Rhizoma, Zizyphi Fructus, Saccharum Granorum

H, K-ATPase (50 μg/ml) was incubated with various amounts of extracts (from 1.0 to 500 μg/ml) of Kampo-formulation. a) Extract/crude drugs (w/w %). b) The amounts of extract giving 50% inhibition of the activity of H, K-ATPase. c) No inhibition was detectable with the highest concentration of extract (500 μg/ml) examined.

37°C, 15 分間反応した.⁴⁾ 反応液中に含まれる 1% 濃度の DMSO は, 酵素活性に影響しなかった. また, 漢方方剤, 生薬を含む酵素反応液中のマグネシウムとカリウム濃度をそれぞれクリニメイト MG 試薬 (第一化学薬品) 及び炎光光度 (日立 7150E) 分析法で, さらに pH 値を測定したがいずれも酵素活性に及ぼす変化はなかった.

3. 漢方方剤及び生薬エキス中の重金属測定方法
エキス中の重金属の測定は, エキス 2.25 mg に対して 1 ml の硝酸を加え, 140°C に加熱し, 湿式灰化後, 原子吸光 (Varian AA-975) 分析法により, 鉛, カドミウム, 銅, 亜鉛, マンガン, クロム, コバルト, 鉄, マグネシウム, カルシウムを定量した.

結果

1. 漢方方剤の H,K-ATPase 活性に対する影響
17 種類の漢方方剤エキスの H,K-ATPase 活性に対する影響を調べた. 比較的強い阻害作用を示した 6 種類の漢方方剤について阻害曲線 (Fig. 1) を示したが, それぞれの阻害曲線より 50% 活性阻害量 (IC₅₀ 値) を求めた (Table 1). 三黄瀉心湯, 茯苓飲, 芍薬甘草湯, 半夏厚朴湯, 大柴胡湯, 胃苓散の阻害作用は比較的強く, IC₅₀ 値は, 各々 82, 110, 170, 290, 340, 380 µg/ml だった. 一方, 半夏瀉心湯, 黄連解毒湯, 平胃散, 四逆散の阻害作用は弱く, 500 µg/ml まで調べたが IC₅₀ 値は求められず, 六君子湯, 人參湯, 補中益気湯, 柴胡桂枝湯, 呉茱萸湯, 安中散, 小建中湯には 500 µg/ml まで調べた限り阻害作用は認められなかった.

2. 三黄瀉心湯の H,K-ATPase 活性阻害作用
酵素活性を最も強く阻害した三黄瀉心湯の構成生薬, 及び処方中からそれぞれの構成生薬を 1 つずつ除いたエキスの H,K-ATPase 活性に対する作用について検討した (Table 2). 三黄瀉心湯は大黃, 黄連, 黄芩が, 2:1:1 で処方されている. 各々エキスの IC₅₀ 値は, 大黃 19, 黄連 25, 黄芩 180 µg/ml であった. 黄芩除去エキス (大黃+黄連) の IC₅₀ 値は 20, 黄連除去エキス (大黃+黄芩) は 30, 大黃除去エキス (黄連+黄芩) は 135 µg/ml だった.

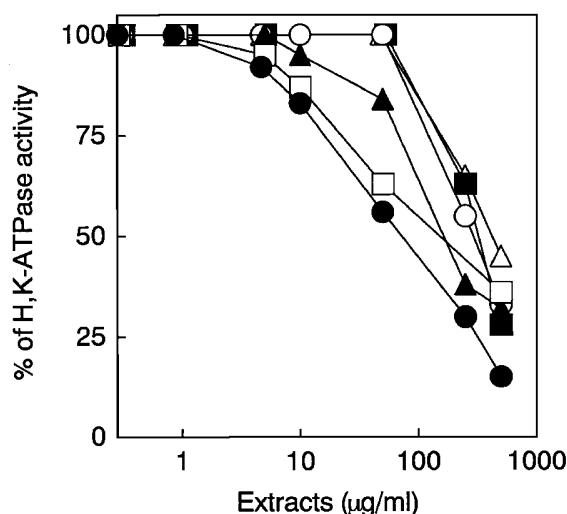


Fig. 1. Effects of Various Kinds of Kampo-Formulation on H,K-ATPase Activity

The enzyme activity was determined in the presence of various amounts of the extracts. The activity without extracts was taken as 100%, which was 2.11 µmol Pi/mg/min. The SD was less than 2.5% (n=6). ●: San-o-shashin-to (三黄瀉心湯), □: Bukuryo-in (茯苓飲), ▲: Shakyaku-kanzo-to (芍薬甘草湯), ○: Hange-koboku-to (半夏厚朴湯), ■: Dai-saiko-to (大柴胡湯), △: Irei-san (胃苓散).

3. 茯苓飲の H, K-ATPase 活性阻害作用
茯苓飲の構成生薬, 及び処方中からそれぞれの構成生薬を 1 つずつ除いたエキスの H,K-ATPase 活性に対する作用について検討した (Table 3). 茯苓飲は茯苓, 枳実, 生姜, 白朮, 人參, 陳皮が, 5:2:3:4:3:3 で処方されている. 構成生薬エキスの IC₅₀ 値は, 茯苓 57, 枳実 320, 生姜 >500 µg/ml であり, 白朮, 人參, 陳皮は 500 µg/ml まで調べた限り IC₅₀ 値は求められなかった. これらの構成生薬のうち茯苓を除いて調整したエキスの阻害作用は非常に弱くなり, 500 µg/ml まで調べた限り阻害作用はなかった. また, 枳実, 生姜をそれぞれ除いたエキスの IC₅₀ 値は, 共に 210 µg/ml であり, 白朮, 人參, 陳皮をそれぞれ除いた場合, いずれも 120 µg/ml だった.

Table 2. Effects of Extracts of San-o-shashin-to on H, K-ATPase

		Yield of extracts (w/w%) ^{a)}	Inhibition IC ₅₀ value (µg/ml) ^{b)}
San-o-shashin-to (=S)	(三黄瀉心湯)	23	82
Rhei Rhizoma	(大黃)	19	19
Coptidis Rhizoma	(黄連)	22	25
Scutellariae Radix	(黄芩)	33	180

(S)-Scutellariae Radix ^{c)}		20	20
(S)-Coptidis Rhizoma ^{c)}		24	30
(S)-Rhei Rhizoma ^{c)}		23	135

H, K-ATPase (50 µg/ml) was incubated with various amounts of extracts (from 1.0 to 500 µg/ml) of Kampo-formulation or crude drug. a) Extract/crude drugs (w/w%). b) The amounts of extract giving 50% inhibition of the activity of H, K-ATPase. c) Each crude drug was eliminated from San-o-shashin-to (=S).

Table 3. Effects of Extracts of Bukuryo-in on H, K-ATPase

		Yield of extracts (w/w%) ^{a)}	Inhibition IC ₅₀ value (μg/ml) ^{b)}
Bukuryo-in (=B)	(茯苓飲)	32	110
Poria	(茯苓)	1.0	57
Aurantii Fructus Immaturus	(枳実)	36	320
Zingiberis Rhizoma	(生姜)	16	>500
Atractylodis Rhizoma	(白朮)	37	N.D. ^{c)}
Ginseng Radix	(人參)	28	N.D. ^{c)}
Aurantii Bobilis Pericarpium	(陳皮)	34	N.D. ^{c)}

(B)-Poria ^{d)}		30	>500
(B)-Aurantii Fructus Immaturus ^{d)}		28	210
(B)-Zingiberis Rhizoma ^{d)}		25	210
(B)-Atractylodis Rhizoma ^{d)}		28	120
(B)-Ginseng Radix ^{d)}		28	120
(B)-Aurantii Bobilis Pericarpium ^{d)}		26	120

H, K-ATPase (50 μg/ml) was incubated with various amounts of extracts (from 1.0 to 500 μg/ml) of Kampo-formulation or crude drug. a) Extract/crude drugs (w/w%). b) The amounts of extract giving 50% inhibition of the activity of H, K-ATPase. c) No inhibition was detectable with the highest concentration of extract (500 μg/ml) examined. d) Each crude drug was eliminated from Bukuryo-in (=B).

Table 4. Effects of Extracts of Crude Drugs on H, K-ATPase Activity

Crude drugs		Yield of extracts (w/w%) ^{a)}	Inhibition IC ₅₀ value (μg/ml) ^{b)}
Glycyrrhiza Radix	(甘草)	15	45
Cinnamomi Cortex	(桂皮)	5.7	50
Paeaniae Radix	(芍薬)	21	180
Bupuleuri Radix	(柴胡)	23	320
Periliae Folium	(蘇葉)	16	360
Pinelliae Tuber	(半夏)	22	N.D. ^{c)}
Magnoliae Cortex	(厚朴)	12	N.D. ^{c)}
Zizyphi Fructus	(大棗)	52	N.D. ^{c)}

H, K-ATPase (50 μg/ml) was incubated with various amounts of extracts (from 1.0 to 500 μg/ml) of crude drugs. a) Extract/crude drugs (w/w%). b) The amounts of extract giving 50% inhibition of the activity of H, K-ATPase. c) No inhibition was detectable with the highest concentration of extract (500 μg/ml) examined.

4. 構成生薬のH,K-ATPase活性に対する作用
芍薬甘草湯, 半夏厚朴湯, 大柴胡湯の構成生薬 (Table 4) の中では, 甘草 (IC₅₀: 45 μg/ml), 桂皮 (IC₅₀: 50 μg/ml) が比較的強く活性を阻害した. その他の生薬のIC₅₀値は, 芍薬 180, 柴胡 320, 蘇葉 360 μg/mlであり, 半夏, 厚朴, 大棗では 500 μg/mlまで調べたが, 阻害作用を示さなかった.

5. 生薬含有成分のH,K-ATPase活性に対する作用
大黄 (Fig. 2), 黄連, 茯苓 (Fig. 2), 甘草, 桂皮の含有成分についてもH,K-ATPase活性に対する作用を調べ, それぞれの阻害曲線よりIC₅₀値を求めた (Table 5). 大黄含有成分 sennoside A のIC₅₀値は 6.8×10^{-4} M, sennoside B 6.5×10^{-4} Mであ

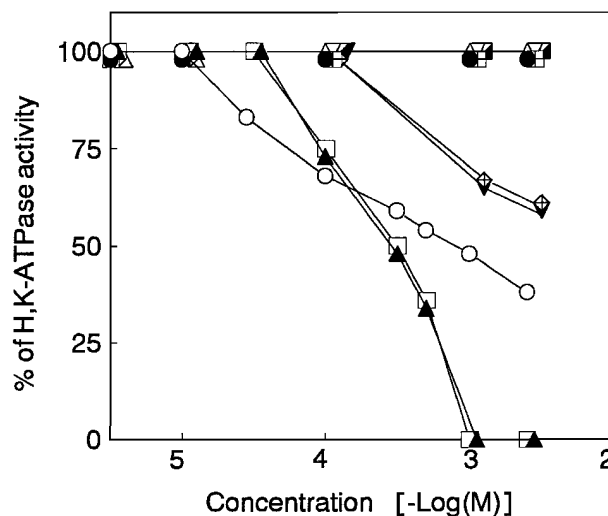


Fig. 2. Inhibition of H,K-ATPase Activity by the Components of Rhei Rhizoma and Poria

The enzyme activity was determined in the presence of various amounts of the components. The activity without extracts was taken as 100%, which was 2.68 μmol Pi/mg/min. The SD was less than 2.3% (n=6). ▲: sennoside A, □: sennoside B, ⊞: chrysophanol, ⊠: emodin, △: physcion, ▽: aloemodin, ■: rhein, ▼: dantron, ○: ergosterol, ◇: pachymic acid, ●: pachyman.

った. Emodin と dantron の IC₅₀ 値は, 1.0×10^{-3} Mまで調べたが求められなかった. Chrysophanol, aloemodin, rhein, physcion は 1.0×10^{-3} Mまで調べた限り阻害作用を示さなかった. 黄連含有成分 coptisine の IC₅₀ 値は 2.5×10^{-4} Mであったが, berberine と magnoflorine は 1.0×10^{-3} Mまで調べたが求められなかった. 茯苓含有成分では, ergosterol の IC₅₀ 値は 7.9×10^{-4} M, pachymic acid と pachyman は調べた限り阻害作用を示さなかった. 甘草

Table 5. Effects of Components of Crude Drugs on H, K-ATPase Activity

Components	(Crude drugs)	Inhibition IC ₅₀ value (M) ^{a)}
senno-side A	(Rhei Rhizoma)	6.8 × 10 ⁻⁴
senno-side B		6.5 × 10 ⁻⁴
emodin		> 1.0 × 10 ⁻³
dantron		> 1.0 × 10 ⁻³
chrysophanol		N.D. ^{b)}
aloe-emodin		N.D. ^{b)}
rhein		N.D. ^{b)}
physcion		N.D. ^{b)}
coptisine	(Coptidis Rhizoma)	2.5 × 10 ⁻⁴
berberine		> 1.0 × 10 ⁻³
magnoflorine		> 1.0 × 10 ⁻³
ergosterol	(Poria)	7.9 × 10 ⁻⁴
pachymic acid		N.D. ^{b)}
pachyman		N.D. ^{b)}
glycyrrhizin	(Glycyrrhiza Radix)	2.0 × 10 ⁻⁴
glycyrrhizic acid		1.8 × 10 ⁻⁴
gallic acid	(Cinnamomi Cortex)	1.6 × 10 ⁻⁴
cinnamaldehyde		> 1.0 × 10 ⁻³
cinnamic acid		> 1.0 × 10 ⁻³
cinnamyl acetate		> 1.0 × 10 ⁻³
cinnamyl alcohol		> 1.0 × 10 ⁻³

H, K-ATPase (50 μg/ml) was incubated with various amounts of components (from 1.0 × 10⁻⁵ to 1.0 × 10⁻³ M) of crude drugs. a) The amounts of component giving 50% inhibition of the activity of H, K-ATPase. N.D. means that no inhibition was detectable with the highest concentration of component (1.0 × 10⁻³ M)^{b)} or (500 μg/ml)^{c)} examined.

含有成分の glycyrrhizin 及び glycyrrhizic acid の IC₅₀ 値は、それぞれ 2.0 × 10⁻⁴ M, 1.8 × 10⁻⁴ M だった。桂皮の含有成分 gallic acid の IC₅₀ 値は、1.6 × 10⁻⁴ M であったが、cinnamaldehyde, cinnamic acid, cinnamyl acetate, cinnamyl alcohol の作用は弱かった。

6. エキス中の重金属イオンの影響 Table 1 の漢方方剤総てと、Table 2~4 に示した生薬エキス中の重金属量を測定した。各種漢方方剤及び生薬エキス 500 μg 中の鉛は 0.0018 μg 未満、カドミウムは 0.0001 μg 未満、銅は 0.0050 μg 未満、亜鉛は 0.2100 μg 未満、マンガンは 0.0550 μg 未満、クロムは 0.0004 μg 未満、コバルトは 0.0003 μg 未満、鉄は 0.0750 μg 未満、マグネシウムは 3.150 μg 未満、カルシウムは 1.700 μg 未満だった。

考察

検討した 17 種類の漢方方剤エキスのうち、最も強く H, K-ATPase 活性を阻害したのは、三黄瀉心湯 (IC₅₀: 82 μg/ml) であった。三黄瀉心湯の構成生薬の中で、最も強い作用を示したのが緩下、消炎、解毒を目的として配合されている大黄 (IC₅₀: 19 μg/ml) であり、苦味健胃薬として処方される黄

連 (IC₅₀: 25 μg/ml) が次に強く、黄芩の作用は弱かった。また、三黄瀉心湯より生薬を 1 つずつ除いて調整したエキスの検討より、大黄は、黄連又は黄芩のいずれと処方されても強い阻害作用を示すが、黄連は単独エキスでは強い活性阻害作用を示すにも係わらず、黄連 + 黄芩のエキスでは、作用が弱くなることが明らかになった。生薬間の相互作用によるものと考えられる。これらのことから、三黄瀉心湯による H, K-ATPase 活性阻害には、大黄の関与が大きいと考えられた。三黄瀉心湯は吐血を伴う急性胃出血などストレス性潰瘍に対して処方されている。また病態モデル実験において本剤及び構成生薬の黄連に抗潰瘍作用を有することが報告されている⁵⁾。H, K-ATPase 活性阻害が抗潰瘍作用の 1 つの原因である可能性が示唆された。

茯苓飲 (IC₅₀: 110 μg/ml) は胃術後合併症に対する予防並びに治療効果⁶⁾があると報告されているが、三黄瀉心湯に次いで活性を強く阻害した。各構成生薬については「茯苓、白朮が胃内の水分の吸収を強め、枳実は幽門痙攣を緩解し逆蠕動を正常化して胃内容の通過を順調にする。陳皮、生姜、人参が蠕動を促進し枳実を補助する。」といわれている⁷⁾。これらの構成生薬の中では茯苓 (IC₅₀: 57 μg/ml) のみが H, K-ATPase 活性を強く阻害した。また、茯苓飲より 1 つずつ生薬を除いたエキスを調べた結果も、茯苓を除くと阻害作用は弱くなること、その他の生薬を除いた場合には、いずれも茯苓飲の阻害作用と変わらないことを示していた。これらのことから、茯苓飲の H, K-ATPase 活性阻害のためには、茯苓の存在が重要であると考えられた。しかし、茯苓エキスの抽出率は 1% と他の構成生薬に比べて非常に低く、茯苓飲の作用が茯苓の作用をそのまま反映しているとは単純に言えない。茯苓と他の構成生薬との相互作用が、茯苓飲としての阻害作用を強くしているのではないかと考えられた。動物実験において抗潰瘍作用⁸⁾が報告されているが、この作用の原因として H, K-ATPase 活性阻害の可能性も考えられる。

芍薬甘草湯、半夏厚朴湯、大柴胡湯構成生薬においては、甘草 (IC₅₀: 45 μg/ml) と桂皮 (IC₅₀: 50 μg/ml) に茯苓と同程度の阻害作用が認められた。しかし、その他の生薬には強い作用を有するものは見い出せなかった。

阻害作用が認められた構成生薬の含有成分について調べた。大黄では、ジアントロン誘導体の senno-side A (IC₅₀: 6.8 × 10⁻⁴ M) と senno-side B (IC₅₀: 6.5 × 10⁻⁴ M) が活性を比較的強く阻害したが、その他の成分については顕著な活性阻害作用は見られなかった。大黄の H, K-ATPase 活性阻害はジアントロン誘導体によることが示唆された。黄連の含有成分では、coptisine (IC₅₀: 2.5 × 10⁻⁴ M) に阻害作用が認められたが、berberine と magnoflorine には

阻害作用は認められなかった。病態モデル動物において berberine の抗潰瘍作用⁹⁾が報告されているが、この作用機構は、H,K-ATPase 活性阻害とは異なると考えた。茯苓の含有成分の中では、ergosterol (IC₅₀: 7.9 × 10⁻⁴ M) の作用が比較的強かった。甘草の含有成分では、glycyrrhizin (IC₅₀: 2.0 × 10⁻⁴ M) と glycyrrhizic acid (IC₅₀: 1.8 × 10⁻⁴ M) の阻害作用が強かった。甘草については、動物において抗潰瘍^{5,10)}や胃酸分泌抑制作用⁹⁾が報告されているが、有効成分は明らかになっていない。桂皮では、cinnamaldehyde, cinnamic acid, cinnamyl acetate, cinnamyl alcohol の阻害作用は弱かったが、gallic acid (IC₅₀: 1.6 × 10⁻⁴ M) の作用が強かった。桂皮のタンニン類を多く含む熱水抽出エキスがマウスの潰瘍を抑制するとの報告^{11,12)}がある。また H,K-ATPase 活性に対してもタンニン類の 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose に非常に強い阻害作用があると報告¹³⁾されている。タンニン類の作用については、詳しい検討が必要であると考えられる。

以上の結果より、胃疾患に繁用され抗潰瘍作用を有するとされている漢方方剤、構成生薬、含有成分の中には、H,K-ATPase 活性を阻害することによりその作用を現すものが存在することが示唆された。さらに、生薬に含まれる酵素活性阻害物質を同定すると共に、生薬含有成分間の相互作用を検討する必要性を示唆している。活性に影響しなかった漢方方剤は、他のメカニズムで作用していると考えられる。また、漢方方剤及び生薬エキス中に含まれる重金属 (鉛, カドミウム, 銅, 亜鉛, マンガン, クロム, コバルト, 鉄, マグネシウム, カルシウム) は、いずれも H,K-ATPase 活性に影響を与えない量であり、エキスの活性阻害は、これらの重金属イオンによるものではないと考えられた。

謝辞 エキス中の重金属を分析していただいた、東京都立衛生研究所 中里光男, 立石恭也, 及

び反応液中のカリウムイオン濃度を測定していただいた、大石向江各主任研究員に感謝致します。

REFERENCES

- 1) Yamauchi H., Ishii H., "Bessatsu Igaku-no-ayumi, Shoukaki-shikkan-state of arts," Ishiyaku-shuppan Co., Ltd., 1993, Tokyo, pp.202-209.
- 2) Watanabe K., Watanabe Y., Goto Y., *Wakan-yaku sinpozium*, **9**, 51-57 (1975).
- 3) "Nippon-yakkyoku-hogai-shoyaku-kikaku 1989," ed. by Kosei-sho Yakumu-kyoku Shin-sa-dai-ni-ka, Yakuji-nippou-sha Co., Ltd., Tokyo, 1989, pp. 106-142.
- 4) Satoh K., Nagai F., Kano I., *Biochem. Pharmacol.*, **59**, 881-886 (2000).
- 5) Watanabe K., *Taisha*, **29**, 236-244 (1992).
- 6) Shiramizu T., Koga T., Oka N., Ezaki T., Yonemura T., Hayashida H., Kano T., Abe Y., Inokuchi K., *Geka-shinryo*, **6**, 883-836 (1962).
- 7) Ito R., "Chui-shoho kaisetsu," Ishiyaku-shuppan Co. Ltd., Tokyo, 1982, pp.148-152.
- 8) Tomizawa S., *Nippon-toyo-igakukaishi*, **13**, 5-12 (1962).
- 9) Yamahara J., *Nippon Yakurigaku Zasshi (J. Pharm. Soc. Japan)*, **72**, 899-908 (1976).
- 10) Watanabe K., *Taisha*, **10**, 626-631 (1973).
- 11) Tanaka S., Akira T., Tabata M., *Yakugaku Zasshi (J. Pharm. Soc. Japan)*, **104**, 601-606 (1984).
- 12) Akira T., Tanaka S., Tabata M., *Planta Med.*, **50**, 440-443 (1986).
- 13) Ono K., Arakawa M., Hashimoto Y., *Gendai-toyoigaku (J. Trad. Sino-Jap. Med.)*, **16**, 624-628 (1995).