

エルサメット配合錠の薬効薬理

－薬力学的試験－

緒言

オオウメガサソウエキス、ハコヤナギエキス、セイヨウオキナグサエキス、スギナエキス及び小麦胚芽油を配合（重量比 1 : 1 : 1 : 3 : 30）した植物エキス製剤は、前立腺肥大症における排尿障害に対する保存的療法剤として用いられる。また、上記植物エキスの混合物は動物実験において、抗炎症作用及び抗前立腺肥大作用¹⁾を有することが知られている。今回、オオウメガサソウエキス、ハコヤナギエキス、セイヨウオキナグサエキス、スギナエキス及び小麦胚芽油の調製物（重量比 1 : 1 : 1 : 3 : 30）のラットカラゲニン足浮腫に対する作用及び成長期ラット前立腺重量に対する作用を検討したので、その成績を報告する。

実験材料及び実験方法

1. 薬物

被験薬としてオオウメガサソウエキス、ハコヤナギエキス、セイヨウオキナグサエキス、スギナエキス及び小麦胚芽油（重量比 1 : 1 : 1 : 3 : 30 で配合）を用時 0.5%メチルセルロース溶液に懸濁し、用いた。カラゲニン足浮腫に対する実験では調製物として 180mg/2mL/ラット、前立腺重量に対する実験では調製物として 18mg/2mL/ラットを経口投与した。

2. 動物

5 週齢及び 3 週齢の Wistar 系雄性ラットを日本エスエルシーから購入し、室温 22±1℃、湿度 55±10℃、照明時間 8 : 00～20 : 00 の一定環境下の飼育室で、1 週間の予備飼育を行った後、カラゲニン足浮腫に対する実験では 6 週齢で、また、前立腺重量に対する実験では 4 週齢より使用した。

3. 実験方法

(1)ラットカラゲニン足浮腫に対する作用

前日より絶食したラットの右後肢容積を Plethysmometer（TK-101、ユニコム）で測定後、被験薬 180mg/2mL/ラットを強制経口投与した。被験薬投与 1 時間後に起炎剤として 1%カラゲニン（PicninA、逗子化学）溶液 0.1mL を右足蹠皮下に注射した。起炎剤注射 4 時間後に右後肢容積を測定し、浮腫率を算出した。なお、右後肢容積は差が 10%以内である 2 回の測定値の平均とした。

(2)成長期ラット前立腺重量に対する作用

被験薬 18mg/2mL/ラットを 1 日 1 回 14 日間強制経口投与した。最終投与の翌日、動物をエーテル麻酔下で放血致死せさせ、前立腺を摘出してその重量を測定後、相対重量を算出した。

実験結果

1. ラットカラゲニン足浮腫に対する作用

表1にラットのカラゲニン足浮腫に対する成績を示す。原薬調製物 180mg/2mL/ラット経口投与により、浮腫率は 50.9%を示し、コントロールに対して 24.1%の有意な浮腫抑制作用が認められた。

表1 ラットカラゲニン足浮腫に対する作用

薬物	投与量 mg/2mL/ラット	例数	浮腫率 (%) 平均±標準誤差	抑制率 (%)
コントロール	—	10	67.1±6.4	—
原薬調製物	180	10	50.9±2.7*	24.1

* ; P<0.05 対コントロール (Cochran-Cox test)

2. 成長期ラット前立腺重量に対する作用

表2に成長期ラットの前立腺相対重量に対する成績を示す。原薬調製物 18mg/2mL/ラットを1日1回14日間経口投与することにより、前立腺相対重量は $29.9 \times 10^{-3}\%$ を示し、コントロールに対して 21.5%の有意な重量増加抑制作用が認められた。

表2 成長期ラット前立腺重量に対する作用

薬物	投与量 mg/2mL/ラット	例数	前立腺相対重量 ($10^{-3}\%$) 平均±標準誤差	抑制率 (%)
コントロール	—	10	38.1±2.2	—
原薬調製物	18	10	29.9±1.7**	21.5

** ; P<0.01 対コントロール (student's test)

参考文献

- 1) 千葉 仲男, 日本医大誌, 34, 429 (1967)

エルサメット配合錠の薬効薬理

－非臨床試験－

緒言

オオウメガサソウエキス、ハコヤナギエキス、セイヨウオキナグサエキス、スギナエキス及び小麦胚芽油を配合（重量比 1 : 1 : 1 : 3 : 30）した植物エキス製剤は、前立腺肥大症における排尿障害に対する保存的療法剤として用いられている。今回、オオウメガサソウエキス、ハコヤナギエキス、セイヨウオキナグサエキス、スギナエキス及び小麦胚芽油の調製物（重量比 1 : 1 : 1 : 3 : 30）の抗原性試験及び単回投与毒性試験を行ったので、その成績を報告する。なお、本試験は株式会社実医研に依頼して実施したものである。

実験材料及び実験方法

1. 薬物

被験薬としてオオウメガサソウエキス、ハコヤナギエキス、セイヨウオキナグサエキス、スギナエキス及び小麦胚芽油（重量比 1 : 1 : 1 : 3 : 30 で配合）の混合物を使用した。抗原性試験では所要用量を 1% Tween80 水溶液に懸濁した。また、単回投与毒性試験では、トウモロコシ油で 10 及び 20%（w/v%）溶液に調製した。

その他に使用した薬物は卵白アルブミン（OVA、SIGMA）、Freund's Complete Adjuvant（FCA、Difco）エバンスブルー（和光純薬）であった。

2. 動物

抗原性試験では、4 週齢の Hartley 系雄性モルモット（ハムリー）、8 週齢の Crj : BALB/c 系雄性マウス（日本チャールス・リバー）及び 6 週齢の Crj : CD（SD）系雄性ラット（日本チャールス・リバー）を、また、単回投与毒性試験では、4 週齢の Crj : CD-1（ICR）系雌雄マウス（日本チャールス・リバー）を購入し、室温 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、換気回数 12 回/時間、照明時間 6 : 00 ~ 18 : 00 の一定環境下の飼育室で、10-11 日間の検疫馴化後、健康で正常な発育を示した動物を選んで試験に供した。

3. 実験方法

i. 抗原性試験

(1)モルモットにおける試験

①感作方法

各感作抗原の 2mg または 1mg を 1mL の投与液量で 1 週間に 1 回、計 3 回、モルモットの背部に皮下投与した。

②ASA 反応試験

最終感作から 14 日後に各群 5 匹の感作動物を ASA 反応に用いた。誘発反応は、各誘発抗原の 2mg または 1mg を 1mL の投与液量で各感作動物に静脈内投与した。その後、30 分間にわたって観察し、次の 6 段階の基準に従ってアナフィラキシー症状発現の有無とその強さを判定した。

- 0：何ら異常を示さないもの
- I：立毛、掻鼻、不安感及び耳の充血を示すもの
- II：上記の症状に震え、くしゃみ、呼吸の促進を示すもの
- III：上記の症状に排尿、排便、呼吸困難、歩行不安定が加わったもの
- IV：上記の症状に痙攣が加わったもの
- V：死亡したもの

③4時間 PCA 反応試験

最終感作から 8 日後にエーテル麻酔下で各群 5 匹の感作動物から心臓採血し、凝固後、遠心分離 (3000rpm、20 分間) して得た血清を凍結保存し、解凍後 4 時間 PCA 反応に用いた。各群の血清を生理食塩液で 6 段階に 2 倍段階希釈 (被験物質感作群：2~64 倍、陽性対照群：100~3200 倍) し、前日に電気バリカンで除毛した受身感作用モルモット (レシピエント) の背部にその希釈血清を 0.1mL ずつ皮内投与した。同様に、正常モルモット血清の 10 倍希釈液を各レシピエントに皮内投与し、陰性対照部位とした。なお、1 血清につき 2 匹のレシピエントを使用する duplicate test とした。誘発方法は、受身感作 4 時間後に 1%エバンスブルー-Tween80 溶液またはエバンスブルー水溶液と混合した各誘発抗原の 2mg または 1mg を、1mL の投与液量で各レシピエントに静脈内投与した。投与 30 分後に放血致死させ、背部皮膚を剥離後、皮膚表面の色素斑形成の有無を観察した。色素斑が認められた場合には、長短径平均値を算出し、次の 5 段階の基準に従って反応の強さを判定した。さらに、陽性反応を示した血清の最大希釈倍数から PCA 抗体価を求めた。

- 0：無反応あるいは径が 5mm 未満の色素斑
- I：色素斑の径が 5mm 以上 10mm 未満
- II：色素斑の径が 10mm 以上 15mm 未満
- III：色素斑の径が 15mm 以上 20mm 未満
- IV：色素斑の径が 20mm 以上

(2)マウスにおける試験

①感作方法

各感作抗原の 0.02mg または 0.01mg を 0.4mL の投与液量で 2 週間に 1 回、計 2 回、マウスの背部に皮下投与した。

③48時間 PCA 反応試験

最終感作から 8 日後にエーテル麻酔下で感作動物から心臓採血し、凝固後、遠心分離 (3000rpm、20 分間) して得た血清を凍結保存し、解凍後 4 時間 PCA 反応に用いた。各群の血清を生理食塩液で 6 段階に 2 倍段階希釈 (被験物質感作群：2~64 倍、陽性対照群：32~1024 倍) し、前日に電気バリカンで除毛した受身感作用ラット (レシピエント) の背部にその希釈血清を 0.05mL ずつ皮内投与した。同様に、正常マウス血清の 10 倍希釈液を各レシピエントに皮内投与し、陰性対照部位とした。なお、1 血清につき 2 匹のレシピエントを使用する duplicate test とした。誘発方法は、受身感作 48 時間後に 1%エバンスブルー-Tween80 溶液またはエバンスブルー水溶液と混合した各誘発抗原の 2mg または 1mg を、1mL の投与液量で各レシピエントに尾静脈内投与した。投与 30 分後にレシピエントを放血致死させ、背部皮膚を剥離後、皮膚裏面の色素斑形成の有無を観察した。色素斑の判定方法、PCA 抗体価の求め方についてはモルモットの 48 時間 PCA 反応と同様の方法で実施した。

ii. 単回投与毒性試験

(1)経口

1群雌雄各5匹のマウスを約18時間絶食して使用した。被験物質の10及び20%溶液を投与液量が20mL/kg (2000mg/kg 及び 4000mg/kg) になるように算出し、1mLのディスポーザブルシリリングにマウス用胃ゾンデを取り付け、動物に単回強制経口投与した。なお、溶媒対照群の動物にはトウモロコシ油を同様に投与した。投与日を0日と起算し、以下の諸検査を各群全例について実施した。

①一般状態

投与日は投与後5、15、30分、1、3及び6時間、投与翌日から14日までは午前、午後の毎日2回、動物の生死と一般状態の変化を観察した。

②体重

投与0、1、2、3、7、10及び14日に電子天秤を用いて測定した。

③剖検

観察期間終了後、各動物をエーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈を切断して放血致死させ、各器官及び組織を肉眼的に観察した。

(2)腹腔内

1群雌雄各5匹のマウスを非絶食条件下で使用した。被験物質の10及び20%溶液を投与液量が20mL/kg (2000mg/kg 及び 4000mg/kg) になるように算出し、1mLのディスポーザブルシリリングに23ゲージの注射針を取り付け、動物の腹腔内に単回投与した。なお、溶媒対照群の動物にはトウモロコシ油を同様に投与した。投与日を0日と起算し、経口投与と同様に諸検査を各群全例について実施した。

実験結果

i. 抗原性試験

(1)モルモットにおける試験

①ASA反応

被験物質単独感作群及びFCAを加えたアジュバント併用感作群では、全例に一般状態の異常は認められなかった。一方、陽性対照群の動物には、全例に呼吸の促進、歩行不安定、呼吸困難、腹臥または横臥状態、痙攣などの顕著なアナフィラキシー症状が認められ、2/5例が死亡した(表1)。

表1 モルモットにおけるASA反応試験結果

感作		誘発		動物数	アナフィラキシー症状発現動物数					
感作抗原	用量 ^{a)}	誘発抗原	用量 ^{a)}		0	I	II	III	IV	V
被験物質	2	被験物質	2	5	5					
被験物質+FCA	2	被験物質	2	5	5					
OVA+FCA	1	OVA	1	5				1	2	2

^{a)} : mg/1匹

②4時間 PCA 反応試験

被験物質単独感作群及び FCA を加えたアジュバント併用感作群の血清を受身感作したレシピエントでは、いずれの感作血清投与群部位にも色素斑は認められなかった。一方、陽性対照群のレシピエントには、全例に色素斑が観察され、4時間 PCA 抗体価はいずれも 3200 倍以上であった。また、各群全例の陰性対照部位に色素斑は認められなかった (表 2)。

表 2 モルモットにおける 4 時間 PCA 反応試験結果

感作		誘発		個体番号	4 時間 PCA 抗体価
感作抗原	用量 ^{a)}	誘発抗原	用量 ^{a)}		
被験物質	2	被験物質	2	1101	—
				1102	—
				1103	—
				1104	—
				1105	—
被験物質+FCA	2	被験物質	2	1301	—
				1302	—
				1303	—
				1304	—
				1305	—
OVA+FCA	1	OVA	1	1501	≧ 3200
				1502	≧ 3200
				1503	≧ 3200
				1504	≧ 3200
				1505	≧ 3200

^{a)} : mg/1 匹

(2)マウスにおける試験

①48時間 PCA 反応

被験物質単独感作群及び FCA を加えたアジュバント併用感作群の血清を受身感作したレシピエントでは、全例に色素斑は認められなかった。一方、陽性対照群では、全例のレシピエントに色素斑が観察され、48時間 PCA 反応抗体価は 32～256 倍を示した。なお、各群の陰性対照部位に色素斑は認められなかった (表 3)。

表 3 マウスにおける 48 時間 PCA 反応試験結果

感作		誘発		個体番号	48 時間 PCA 抗体価
感作抗原	用量 a)	誘発抗原	用量 a)		
被験物質	0.02	被験物質	2	1101	—
				1102	—
				1103	—
				1104	—
				1105	—
被験物質+FCA	0.02	被験物質	2	1301	—
				1302	—
				1303	—
				1304	—
				1305	—
OVA+FCA	0.01	OVA	1	1501	32
				1502	128
				1503	64
				1504	256
				1505	64

a) : mg/1 匹

以上の結果より、オオウメガサソウエキス、ハコヤナギエキス、セイヨウオキナグサエキス、スギナエキス及び小麦胚芽油の調製物は抗原性を示さなかった。

ii. 単回投与毒性試験

(1)経口

観察期間中、被験物質の各群雌雄全例に死亡の発現はなく、概略の致死量は求められなかった。溶媒対照群を含めて、各群雌雄全例で投与後 15 分～6 時間に活動性の低下と立毛がみられたが、投与後 1 日から観察終了日まで異常は認められなかった。体重に関しては、溶媒投与群と比較していずれの投与群にも異常は認められなかった。溶媒対照群を含めて、各群雌雄全例の体表、頭蓋内、胸腔内及び腹腔内諸臓器に異常は観察されなかった。

(2)腹腔内

観察期間中、被験物質の各群雌雄全例に死亡の発現はなく、概略の致死量は求められなかった。溶媒対照群を含めて、投与後 3 時間～1 日に各群雌雄の 2～全例に立毛がみられたが、2 日以降観察終了日まで各群全例に異常は認められなかった。体重に関しては、溶媒対照群と比較していずれの投与群にも異常は認められなかった。溶媒対照群を含めて、各群全例の体表、頭蓋内、腹腔内及び腹腔内諸臓器に異常は観察されなかった。

以上の結果より、オオウメガサソウエキス、ハコヤナギエキス、セイヨウオキナグサエキス、スギナエキス及び小麦胚芽油の調製物をマウスに単回経口投与及び単回腹腔内投与した場合、概略の致死量はいずれも 4000mg/kg であった。