

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 NGUYEN THI THANH HA

題 目 : Pharmacological characteristics of medicinal plant extracts on porcine basilar artery

### 論文要旨 :

The present thesis was designed to study the effects of extracts from medicinal plants, including *Artemisia vulgaris* L. leaf (AVL), *Gingko biloba* leaf (GB) and *Sophora japonica* L. flower bud (SJ), on the responsiveness of porcine basilar artery (PBA), in order to explain the therapeutic applications of them in Vietnamese traditional medicine.

The first study characterized the responsiveness of AVL on isolated PBA. In Vietnamese herbalism, there are conflicting opinions about the effect of AVL (English name: mugwort) on hypertension. Some ethnic doctors recommend the use of AVL for treatment of hypertension, whereas others advise against it. The purpose of the first study was to clarify the pharmacological characteristics of AVL in isolated arteries to explain the conflicts surrounding the use of AVL for treatment of hypertension. The effects of the AVL extract on PBA was examined in the two different conditions, including the resting tension and the pre-contracted tension. We observed that depending on arterial conditions, AVL had the two opposite effects, as it induced contraction on artery of resting tension, but induced relaxation on artery of KCl pre-contraction. AVL-induced contraction was inhibited by methiothepin (a 5-HT<sub>1</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonist) in the absence of ketanserin (a 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonist) and was competitively inhibited by the mixture of these two antagonists, which was similar to the contraction induced by agonist 5-HT on PBA. HPLC analysis revealed that the retention time of the first peak in the AVL profile was similar to that of the 5-HT standard, and that addition of 5-HT to the AVL sample enhanced this peak. On the other hand, AVL induced endothelium-independent relaxation under precontracted conditions with 60 mM KCl. In Ca<sup>2+</sup>-free 60 mM KCl-containing solution, pretreatment with AVL significantly inhibited CaCl<sub>2</sub>-induced contraction. This study, for the first time, demonstrated that AVL has two opposite effects, contraction and relaxation, on isolated artery, which may help to explain the conflicting indications for AVL in traditional herbalism. In addition, the results identified that 5-HT is a significant factor affecting artery contraction in the presence of AVL.

The second study characterized the responsiveness of SJ and GB on isolated PBA. In Vietnamese herbalism, GB and SJ are described as plants used for the treatment of many cerebral disorders, including those are associated with cerebral vasospasm. The aim of the second study was to evaluate, for the first time, the antagonistic effects of GB and SJ extracts on cerebral vasoconstriction in response to KCl, extracellular Ca<sup>2+</sup>, histamine, 5-hydroxytryptamine (5-HT), 9,11-dideoxy-9 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -methanoepoxy prostaglandin (PG) F<sub>2 $\alpha$</sub>  (U46619) and bradykinin (BK), with the view of explaining their traditional application for diseases that associated by cerebral vasospasm. Isolated PBA and endothelial cells from them were used as the study materials. Neither SJ nor GB had any effect on the contractions induced by KCl and extracellular Ca<sup>2+</sup>. SJ significantly inhibited the contraction induced by histamine, 5-HT, U46619 and BK, whereas GB inhibited histamine-induced contraction, but had no effects on the contractions induced by 5-HT, U46619 and BK. In the presence of diphenhydramine (a H<sub>1</sub> receptor antagonist), ketanserin (a 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonist) and

ONO-3708 (a thromboxane (TX) A<sub>2</sub>/PG receptor antagonist), the inhibitory effects of these extracts on the contractions induced by histamine, 5-HT and U46619 were abolished. SJ significantly inhibited the contractions induced by BK and PGF<sub>2α</sub>, but in the presence of ONO-3708 (10<sup>-5</sup> M) had no effect on them. BK enhanced the production of PGF<sub>2α</sub> from cultured PBA endothelium cells, and SJ significantly attenuated this enhancement. These results suggest that SJ and GB have H<sub>1</sub>-antagonistic effect, and that SJ also attenuate cerebral vasoconstriction mediated via 5-HT<sub>2</sub> and TXA<sub>2</sub>/PG receptors, and therefor partly explain their traditional therapeutic used for diseases related to cerebral spasm. In addition, these findings appear to explain why SJ has been recorded as a reputed therapeutic medication applied for the cerebral hemorrhages.

In conclusions, the present thesis verified the effects of AVL, SJ and GB on PBA, and from that give pharmacological basis to explain the contraindications of AVL in hypertension, and the therapeutic uses of SJ and GB in cerebral hemorrhage and other diseases associated with cerebral vasospasm in traditional medicine. The results demonstrated pharmacological characteristics of those plants and partly explained their treatment effects, but further researches are necessary to support their potentials and propose the safe applications. In addition, our data have not address the *in vivo* results, so it remained to be determined with future researches. We expect that our next studies, which investigate the effects of those plants *in vivo* and in different pathological states would provide more evidences to exploit their therapeutic uses.

## 学位論文審査の結果の要旨

氏 名	Nguyen Thi Thanh Ha
審査委員	主 査： 鹿児島大学 教授 宮本 篤
	副 査： 山口大学 教授 佐藤 晃一
	副 査： 鹿児島大学 教授 川崎 安亮
	副 査： 鹿児島大学 准教授 白石 光也
	副 査： 鹿児島大学 准教授 小尾 岳士
題 目	Pharmacological characteristics of medicinal plant extracts on porcine basilar artery (薬用植物抽出液のブタ脳底動脈における薬理学的研究)
審査結果の要旨：	
<p>本研究は、薬用植物である <i>Artemisia vulgaris</i> L. leaf (AVL、日本名：ヨモギ)、 <i>Gingko biloba</i> leaf (GB、日本名：銀杏) and <i>Sophora japonica</i> L. flower bud (SJ、日本名：エンジュ) の脳血管での反応性や特徴を検証し、ベトナムでこれらの薬用植物が高血圧や脳血管攣縮の治療として用いられている理由を明らかにしようとするものである。</p> <p>第 1 章では、摘出したブタ脳底動脈に対する AVL の血管反応性を調べた。ベトナムでは、AVL を高血圧症の治療に勧める薬草学者もいれば、それに反対する薬草学者もいる。そのため、摘出ブタ脳底動脈のリング標本における AVL の薬理学的特徴を、静止張力および予め収縮した張力下の異なる条件下で調べた。AVL 適用は、静止張力下では収縮を引き起こすが、KCl で予め収縮させた状態では、弛緩させ、AVL は 2 つの相反する効果を示すことを明らかにした。AVL で引き起こされた収縮は、ケタンセリン (5-HT (セロトニン)<sub>2</sub> 受容体拮抗薬) 存在下でメチオテピン (5-HT<sub>1</sub> および 5-HT<sub>2</sub> 受容体拮抗薬) により競合的に拮抗された。HPLC 分析により、AVL における第 1 ピークの持続時間が 5-HT のそれと同様であり、AVL サンプルへの 5-HT の添加がこのピークを増強することを明らかにした。以上の結果は、5-HT が AVL の脳血管収縮に影響を及ぼす重要な因子であることを示唆している。</p> <p>一方、60mM-KCl で前収縮させた条件下で AVL は内皮非依存性の弛緩反応を起こした。また、Ca<sup>2+</sup> を含まない 60mM-KCl 存在下の栄養液で満たされたリング標本では、CaCl<sub>2</sub> 適用により収縮するが、AVL の前処理によりその収縮は有意に抑制された。</p> <p>以上の研究は、初めて AVL が摘出脳底動脈において収縮と弛緩という 2 つの逆効果を示すことを明らかにした。今回の研究成果は、ベトナムの伝統的薬草療法において、AVL を高血圧</p>	

治療に効める意見と、反対する意見があることの矛盾を説明するのに役立つものと思われる。

第 2 章では、摘出ブタ脳底動脈に対する SJ および GB の反応性や特徴を検証した。ベトナムの薬草学では、この 2 つの薬用植物は、脳血管攣縮に関連する脳障害の治療に使用されると記載されている。従って、第 2 章での研究目的は、脳血管攣縮に関連する疾患に対する適用を説明する観点から、KCl、細胞外  $Ca^{2+}$ 、ヒスタミン、5-HT、U46619 およびブラジキニンにより引き起こされる脳血管収縮に対する GB および SJ 抽出物の拮抗作用を評価することである。

摘出ブタ脳底動脈およびそれらから分離した血管内皮細胞を実験に使用した。SJ および GB は、KCl および細胞外  $Ca^{2+}$  によって引き起こされた収縮には何ら影響を及ぼさなかった。SJ はヒスタミン、5-HT、U46619 およびブラジキニンによって引き起こされた収縮を有意に抑制したが、GB はヒスタミンによる収縮を抑制したが、5-HT、U46619 およびブラジキニンによって引き起こされた収縮には影響しなかった。

ジフェンヒドラミン ( $H_1$  受容体拮抗薬)、ケタンセリン ( $5-HT_2$  受容体拮抗薬) および ONO-3708 (トロンボキサン ( $TXA_2$  / PG 受容体拮抗薬) の存在下で、ヒスタミン、5-HT および U46619 によって引き起こされる収縮に対する抑制効果は消失した。SJ は BK および  $PGF_{2\alpha}$  によって引き起こされた収縮を有意に抑制したが、ONO-3708 ( $10^{-5} M$ ) の存在下ではそれらの抑制効果はみられなかった。ブラジキニンは、培養ブタ脳底動脈内皮細胞から遊離される  $PGF_{2\alpha}$  の産生を増強し、SJ はこの増強を有意に減弱させた。これらの結果は、SJ および GB が  $H_1$  受容体拮抗作用を有し、SJ が  $5-HT_2$  受容体および  $TXA_2$  / PG 受容体を介した脳血管収縮を減弱させることを示唆しており、そのために脳攣縮に関連する疾患に対して用いられる伝統的治療法としての説明が出来る。さらにこれらの知見は、SJ が脳出血に対して適用される評判の高い治療薬であることを説明可能とした。

以上、本研究は AVL、SJ および GB の脳血管に対する効果を明らか検証し、これら薬用植物の薬理学的特徴および関連する薬物受容体を明らかにした。それにより、ベトナムでこれらの薬用植物が高血圧および脳血管疾患の治療へ応用されている理由を明らかにした。

以上により、本論文は博士 (獣医学) の学位論文として十分に値する内容であることを認める。