

止血作用を持つ植物由来物質

Hemostatic natural substances from plants

帝京大学薬学部 病態生理学研究室 准教授 **大藏 直樹**

Naoki Ohkura (Associate professor)

Department of Molecular Physiology and Pathology, School of Pharma-Sciences, Teikyo University



キーワード

生薬、止血薬、血液凝固

1 はじめに

血液の全成分が血管外に出ることを出血という。皮膚の表面の小さな切り傷や擦り傷からの少量の出血を日常経験する機会も多いが、出血がいつまでも止まらなかったらどうなるのかなどと考えることはないかもしれない。しかし、出血は、生命に重大な危険を及ぼすこともあるため、それを止める止血は生体にとって非常に重要な生理機構である。また、止血は傷口からの体液流出を防ぐだけでなく微生物の体内への侵入を防ぐための生体防御機構でもある。傷口が修復されるためには止血機構が働いて止血血栓がつくられる必要もある。

人類の歴史は戦いの歴史であり、怪我や出血と戦った歴史であるともいえる。そのため、生体に備わった止血機構を手助けし、速やかに止血するために古くから様々な止血薬が用いられてきた。止血機構は血小板や血液凝固因子、血管の内側を覆う血管内皮細胞などによって構成されているが、我々はこれらを調節する機能を持つ植物由来の天然物の探索研究を行ってきた^{1)~7)}。このような天然物を使えば血液を固まりやすくしたり固まりにくくしたりできるからである。つまり、このような天然物の中には、出血時に血を止める止血薬となりそうなものや、止血機構が病的に働いて血液が固まってしまう血栓症の予防や治療に応用できそうなものがあるのである。本稿では、特に止血に注目し、まず止血機構と止血薬について述べ、そして我々がこれまでの研究で出会った植物由来の止血物質とその応用の可能性について概説したい。

2 止血機構と止血

健全な状態では、血液は血管内を滞ることなく血管内を流れているが、血管が傷つくと血液は血管外に流れ出る。こ

れを出血という。出血には、怪我や組織の損傷により血管が損傷して血液が漏れ出るものと、血小板や凝固因子が正常に働かないため正常な止血機構が働かずに起こる出血、すなわち、出血性素因が理由となる出血がある。出血性素因があると、打撲がなくても皮下出血や内臓出血がみられたり、傷口からの出血が止まりにくいなどの症状がみられたりする。いずれにしても、出血した時は適切な処置を行って速やかに止血する必要がある。

出血がいつまでも止まらなければ大切な体液が身体から失われるため、生体には出血を止める機構(止血機構)が備わっている(図1)。

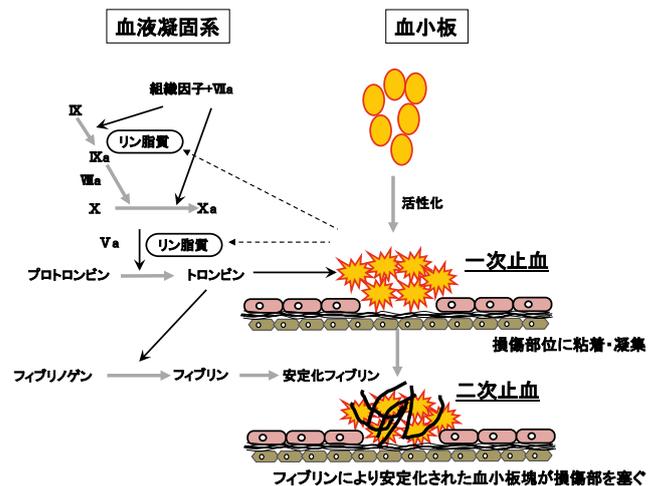


図1 血液凝固系と血小板による止血機構

止血には血液に含まれる細胞成分の一種である血小板、血漿中の凝固因子と線溶因子、および、血液が流れる血管とその内側を覆う内皮細胞などの止血関連因子が複雑に関係している。血管が損傷すると血小板が傷口に粘着し、粘着した血小板が活性化すると、さらに多くの血小板が集合して凝集し血小板による血栓が作られて傷口を塞ぐ。これを一次止血という。一次止血に引き続き、活性化された血小板のリン脂質膜上では凝固因子が段階的に増幅されて活性化さ

れる血液凝固反応が進行する。血液凝固反応では、血液中の凝固因子と呼ばれる一群のタンパク質の働きでできた酵素であるトロンビンが、フィブリノーゲンをフィブリンという線維状の物質に変換する。そして、このフィブリンの網目構造が血小板血栓を強固に結び付けて、安定な血栓を作る。これを二次止血という。損傷した血管が修復され、止血していた血栓が不要になると線溶系が働いて血栓は溶かされて除去される。血液凝固反応は様々な機構で制御されているが、その制御機構に異常が生じたり、動脈硬化など血管が損傷を受けたりすると不必要な血栓が形成されて血管閉塞が起こり、末梢組織の壊死をきたす血栓症につながる。

ところで、近年、止血関連因子は、止血や血栓症の発症だけでなく、ガンの増殖や転移への関与^{8),9),10)}、血管への作用^{11),12)}、アレルギーへの関与¹³⁾、中枢神経系¹⁴⁾での作用などが明らかになってきた。また、血栓を溶かして血流を再開させる薬剤として使われる組織プラスミノゲン活性化因子(tPA)に組織再生効果が見つかったことや、血小板が創傷治療や組織再生作用を持つことも興味深い^{15),16),17)}。我々が注目している血液凝固系に作用する天然物は、出血や血栓症などに関連する止血機構の制御だけでなく、止血関連因子が持つ止血以外の生理機構を制御する物質である可能性もある。

3 医療で使われる止血薬

止血薬は、血管強化薬、凝固促進薬、抗線溶薬、局所止血薬などに分類される(表1)^{18),19),20)}。

表1 止血薬の分類

| | |
|-------|---|
| 血管強化薬 | カルバゾクロム、アドレノクロム |
| 凝固促進薬 | ヘモコアグラージェ |
| 抗線溶薬 | トラネキサム酸、イブシロンアミノカプロン酸 |
| 局所止血薬 | トロンビン製剤、コラーゲン使用吸収性局所止血剤、酸化セルロース、液体フィブリン製剤、液状フィブリン接着剤、アドレナリンなど |

血管強化薬とは、毛細血管の透過性を抑制し、脆弱性を改善することによって出血を防止する薬で、カルバゾクロムやアドレノクロムなどがこれに属す。血管透過性が高まると血液成分が血管外に漏出し出血も多くなるが、血管強化薬は血管透過性が高まるのを抑制して止血するもので、凝固系や線溶系とは関係なく止血作用を示すと考えられている。その効果は強いものではなく、作用機序については不明な点もあるが、紫斑病や皮膚や粘膜からの出血に対して用いられている。

凝固促進薬のレプチラーゼ(ヘモコアグラージェ)は蛇毒由来の酵素である。蛇毒に止血作用があることは、18世紀頃から知られていたが1950年代にKlobusitzkyらによって、ブラジル産の毒蛇*Bothrops jararaca*から血液凝固・止血作用を有する酵素が分離精製され、ヘモコアグラージェと命

名された²¹⁾。この酵素は血液凝固反応の最終段階で働くトロンビンと同様の作用を示すだけでなく、外因系凝固反応を活性化するトロンボプラスチン様作用、血小板凝集を促進する作用なども併せ持つとされ、肺出血、鼻出血、口腔内出血、性器出血、腎出血、創傷出血の治療に、筋肉内又は静脈内に投与して使われる。ヘビ毒からは血液凝固系に作用する物質が数多く見つかっており、古くから血液凝固系を制御する薬物としての利用が考えられてきたが、レプチラーゼは現在臨床の場で利用される唯一の蛇毒製剤のようである。

抗線溶薬とは、血栓が溶解されるときに働くプラスミンというプロテアーゼを阻害する抗プラスミン薬のことで、血栓の溶解を抑制して止血作用を示すものである。トラネキサム酸が内服薬や注射薬として使われており、線溶反応が亢進することによって起こる異常出血に極めて有効である。

局所止血薬は、小血管や毛細血管からの出血(外傷に伴う出血、手術中の出血、膀胱出血、抜歯後の出血、鼻出血、上部消化管からの出血など)が止血されにくいときに使用されるもので、トロンビン製剤、コラーゲン使用吸収性局所止血剤、酸化セルロース、液状フィブリン接着剤、アドレナリンなどがある。トロンビン製剤はヒトやウシの血液から精製した凝固因子で、出血部位に生理食塩液に溶かして噴霧するか、あるいは粉末のまま出血部位に撒布して出血部位にフィブリンを生成させて止血する。また胃潰瘍など上部消化管出血の場合には、適当な緩衝剤に溶かしたトロンビン製剤溶液を経口投与して止血することもある。コラーゲン使用吸収性局所止血剤は、ウシ真皮コラーゲンの三次元構造を保持したまま微結晶にした微線維性コラーゲンで、傷口へ強く付着して優れた血小板凝集作用を発揮する。酸化セルロースはヘモグロビンと結合し凝血塊を形成し密着するものである。液状フィブリン接着剤は、ヒトのフィブリノーゲンと第XIII因子を含有した第1液とトロンビンとカルシウムを含む第2液の2つを傷口に塗布し、創面で架橋化フィブリンを接着剤のように生成させて止血する。アドレナリンは、その血管収縮作用を利用し粘膜などからの出血に対する局所止血薬として用いられる。

4 止血作用を持つ植物由来物質

4.1 止血作用を持つ植物

古くからヨモギ、ドクダミ、イタドリなどの野草が切り傷や擦り傷の止血の治療に民間薬として使われてきた。これらの野草にどれくらいの止血効果があるのかについては不明な点も多いが、局所における止血効果は野草に含まれるタンニンの収斂作用による組織や血管の収縮が機序の1つであると考えられる。実際、これらの野草には多くのタンニンが含まれている²²⁾。

一方、漢方処方薬などの原料となる生薬の中には、止血作用があるとされてきたものがあるが、これらの中には現

代医療の中で新たな使い方が模索されているものもある。例えば、田七(でんひち)は、ウコギ科ニンジン属の田七人参 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. CHEN の根を乾燥させたもので、歯科領域で臨床応用の可能性が示唆されてきた²³⁾。抗凝固薬を使用している患者では血液凝固因子の活性が抑えられ、また、肝炎の患者では肝臓での産生が低下して血液凝固因子の量が減少する。このような患者では、抜歯後の止血が起こりにくいことが問題であるが、患者に田七エキスを用いて効果的に止血を行った例が報告されている²⁴⁾²⁵⁾。また、複数の生薬を組み合わせで作られた漢方薬が、鼻出血、子宮出血などの治療に有効性を示した例も報告されている²⁶⁾²⁷⁾。

止血に用いられる生薬については、小菅らのグループにより体系的な研究が本邦でおこなわれてきた。その結果、田七、地榆(ちゆ)、旱蓮草(かんれんそう)などの生薬の熱水エキスを腹腔内に投与したマウスで明らかな止血作用が確認されている²⁸⁾。これらの生薬の中の止血成分についても1980年代に小菅らにより単離され、一部は構造決定もなされているが^{29),30),31)}、作用点や作用機序に関する解明はその後も行われていないようである。国外のグループの報告もあるが、成分や作用機序の解明が行われているものは見当たらない。止血作用を持つと報告されている植物を表2に示した²⁹⁻⁴⁸⁾。

表2 止血作用を持つとされる植物

| 植物名(生薬名) | 試験方法 | 活性成分 | 参考文献 |
|---|----------------------------|--|-----------|
| <i>Annona senegalensis</i> | coagulation | tannins, mucilages | 33) |
| <i>Artemisia annua</i> L. | coagulation | unknown | 35) |
| <i>Artemisia montana</i> (艾葉) | tannin activity | chlorogenic acid, dicaffeoylquinic acid | 36) |
| <i>Biota orientalis</i> (側柏葉) | tail bleeding | quercitrin | 37) |
| <i>Cassytha filiformis</i> | coagulation | alkaloids, tannins, mucilage | 33) |
| <i>Cirsium japonicum</i> (大薊) | tail bleeding | pectolarin | 34) |
| <i>Cissampelos mucronata</i> | coagulation | alkaloids, tannins | 33) |
| <i>Crocus sativus</i> L. | coagulation | unknown | 38) |
| <i>Gastrodia elata</i> (天麻) | coagulation | unknown | 38) |
| <i>Hypericum erectum</i> (旱蓮草) | tail bleeding | wedelolactone, desmethylwedelolactone | 39) |
| <i>Impatiens balsamina</i> L. (鳳仙花) | coagulation | unknown | 38) |
| <i>Jatropha multifida</i> | coagulation | unknown | 40) |
| <i>Lamiophlomis rotata</i> | tail bleeding | unknown | 41) |
| <i>Musa sapientum</i> | coagulation | unknown | 42) |
| <i>Nelumbinis receptaculum</i> (蓮房) | tail bleeding | quercetin | 43) |
| <i>Newbouldia laevis</i> | coagulation | tannins, triterpenoids, mucilages | 33) |
| <i>Panax pseudoginseng</i> (田七) | tail bleeding | denticine (β -N-oxalo-L- α,β -diaminopropionic acid) | 29) |
| <i>Pelargonium zonale</i> | tail bleeding | unknown | 44) |
| <i>Prunus armeniaca</i> (杏仁) | coagulation | unknown | 38) |
| <i>Prunus persica</i> (桃仁) | coagulation | unknown | 38) |
| <i>sanguisorba officinalis</i> L. (地榆) | tail bleeding | 3,3',4-tri-O-methylgallic acid | 45) |
| <i>Schizonepeta tenuifolia</i> (荊芥) | coagulation | unknown | 46) |
| <i>Sophora japonica</i> (槐花) | tail bleeding | quercetin | 47) |
| <i>Trillium kamtschaticum</i> | platelet aggregation | spirostanol glycosides | 48) |
| <i>Typha latifolia</i> (蒲黄) | tail bleeding, coagulation | isorhamnetin, acidic polysaccharide | 1) 2) 31) |

4.2 ガマの止血作用

蒲黄(ほうおう)は日本全土の川辺、湿地に自生するガマ科の多年草のガマやヒメガマなどの成熟花粉で、古くから止血に使われてきた(図2)。



図2 ガマとガマ花粉(蒲黄)

ガマ花粉は、外用で擦り傷、切り傷などの止血効果があるほか、内服で吐血、子宮出血、血尿などの出血を止める作用があるとされている。また、打ち身や打撲などで内出血がある場合に患部に塗布するとうっ血をとる効果があるともされている。つまり、様々な出血に対して、塗って効くこともあれば飲んで効くこともあるというのである。しかし、ガマ花粉の止血作用に関する研究はほとんど行われていない。止血作用があると誤解されたまま長年使われてきただけで、実際には止血作用など持たない可能性もある。そこで、我々は、血液やマウスを使った実験で、ガマ花粉の止血作用についての検討を行った。

ガマ花粉に蒸留水を400mL加えて煎じ、約200mLになるまで煮詰めたものを遠心・濾過して微粉末を除いたものを実験に使用した。図3はガマ花粉抽出液の血液凝固時間への影響を示したものである¹⁾。

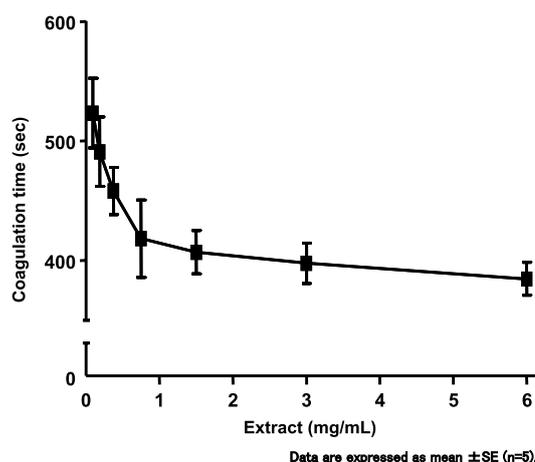


図3 ガマ花粉抽出液による血漿の血液凝固反応時間の短縮 (Ohkura et al. 2011より)

血漿に塩化カルシウムを加えると血漿は凝固するが、これにガマ花粉抽出液を加えると添加量依存的に凝固時間は短縮され、ガマ花粉抽出液は血漿の凝固反応を促進する作用があることがわかった。さらに検討した結果、凝固時間を短

縮する物質は、ガン花粉から抽出された酸性多糖類であり、これが内因系凝固反応の開始段階で働く凝固第Ⅻ因子の活性化を促進したことが明らかとなった¹⁾。酸性多糖類によるこの反応は、ガン花粉の外用による止血効果の一部を担っていると思われる。次にマウスを使った実験により止血効果を調べた。ガン抽出液(乾燥重量1.2mgの成分を含む)を1日1回マウスに7日間経口投与し、最終経口投与の3時間後に麻酔を投与した。完全に麻酔が効いたことを確認後に尻尾の先端を2mm切断し、濾紙に血液が付かなくなるまでの時間を測定して、これを止血時間とした。蒸留水を投与したコントロールマウスでは、止血するまでに550秒ほどかかったが、ガン花粉抽出液を投与したマウスでは、300秒ほどで止血された¹⁾。止血薬としては投与後速やかに効果が現れることが望まれるため、投与後どれくらいの時間で止血効果が見られるかについても検討した。その結果、経口投与による止血効果はガン抽出液投与1時間後には認められた²⁾(図4)。

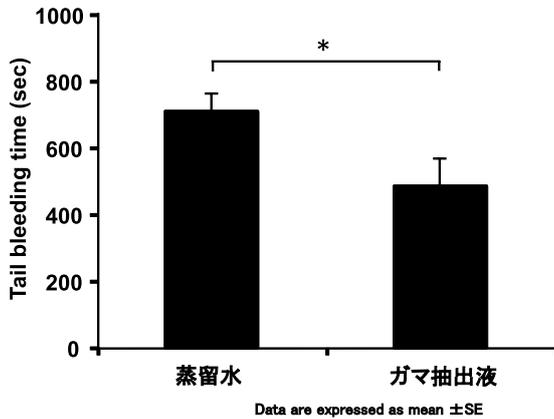


図4 ガン花粉抽出液による止血時間の短縮 (Ohkura et al. 2012より) (* P<0.05, n=6)

また、酸性多糖類による凝固第Ⅻ因子の活性化もガン花粉抽出液との反応開始後分単位で起こり、止血効果は短時間で現れることがわかった²⁾(図5)。

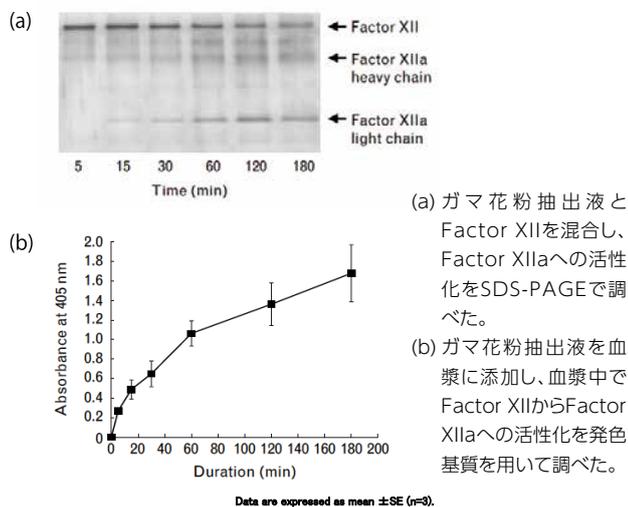


図5 ガン花粉抽出液による凝固第Ⅻ因子の活性化 (Ohkura et al. 2012より)

経口投与による作用に酸性多糖類が関与するかどうか調べるため、酸性多糖類を除去したガン花粉抽出液を経口投与したが止血効果に変化はなかった。このことは、内服による止血作用には酸性多糖類以外の物質が関与することを示す。ガン花粉中には、酸性多糖類以外にもフラボノイドなど多種のポリフェノールが含まれている。ガン花粉から抽出したフラボノイドの一種であるイソラムネチンのみを腹腔内に注入するとマウスの止血時間が短くなることが既にIshidaらによって示されていることから³¹⁾、ガン花粉を経口投与した時の止血時間短縮に関わる物質もイソラムネチンである可能性が高い(図6)。

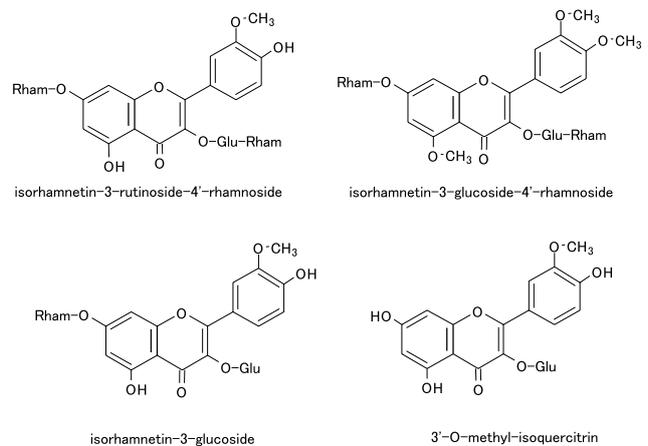


図6 ガンに含まれるイソラムネチン

我々は、外用による止血作用についてもマウスを用いた実験で調べた。マウスに麻酔を投与し完全に麻酔が効いたことを確認後、先端2mmを切断した尻尾をチューブに入れたガン花粉抽出液に浸した。その5分後にチューブの赤血球数を測定して出血量を測定したところ、ガン花粉抽出液は、出血量を有意に減少させた¹⁾。詳細な機序については今後解明する必要があるが、ガン花粉は経口投与でも外用でも止血作用を示すことが動物実験で示された。

4.3 土方家の家伝薬、石田散薬

石田散薬は新選組の副長、土方歳三の生家が製造、販売していた家伝薬で、切り傷、骨折、打ち身、捻挫等に効用があるとされていた。服用法はユニークで、水ではなく熱燗にした日本酒で服用するというものであった。製造法は、河川の水辺に生えるタデ科多年草ミソソバを天日で乾燥させた後に黒焼きにして鉄鍋に入れ、日本酒を散布して再び乾燥させた後に、薬研にかけて粉末にするというものである。石田散薬は、1948年(昭和23年)の薬事法改正まで約250年間製造・販売されていた家伝薬であるが、現在は薬として使われることはない。しかし、伝説の秘薬ともいえる石田散薬に興味を抱く人もおり、石田散薬の成分についての研究がなされている⁴⁹⁾。再現した石田散薬の成分を解析したところ、興味深いことに上記のガン花粉の止血成分と同じイソラムネ

チンが含まれていたと報告されている⁴⁹⁾。石田散薬は切り傷や内出血に対し一定の効果があつたのかもしれない。

4.4 種々の生薬の止血作用の可能性

これまで述べてきたように、多くの植物や生薬由来物質には止血作用が見られる。一般的な生薬114種の抽出液ライブラリーを対象に、血液凝固反応と凝固第Ⅻ因子の活性化を指標にスクリーニングを行い、止血作用を示す可能性のある生薬の探索を行った⁵⁾。その結果、赤芍(せきしゃく)檳榔子(びんろうじ)などをはじめとした17種類の生薬抽出物に血液凝固反応を促進する作用がみられた⁵⁾。これらの中の牛蒡子(ごぼうし)や艾葉(がいよう)、には、凝固第Ⅻ因子を活性化する作用もみられた⁵⁾。*in vitro*の凝固促進作用を指標にしたものであるため実際の止血効果は明らかでないし、他の評価系を使えば同ライブラリーから別の生薬が候補に上がるかもしれないが、これまで止血薬として使われなかった生薬の中に止血薬としての可能性を持つものが存在するのかもしれない。

5 終わりに

植物由来物質の中には優れた止血作用を持つ物質も存在する。民間薬や生薬として古くから利用されているものもあるが、上述のように作用機序や有効な成分など明らかになっていない点が多い。これらが解明されれば止血薬として臨床の場で応用できるものとなる可能性も考えられる。20年ほど前までは、植物由来の物質の止血作用についての研究が本邦でも幾つか見られたが、近年ではその存在が忘れられている感もある。植物由来の止血物質は、時代遅れで忘れ去られる運命にあるものかもしれないが、その有用性が見落とされているだけならば、完全に忘れ去られてしまう前に今一度、再開発の可能性を探ってみてもよいかもしれない。

参考文献

- 1) N. Ohkura, K. Tamura, A. Tanaka, J. Matsuda, G. Atsumi, *Blood Coagul. Fibrinolysis* **22**(8), 631-636 (2011).
- 2) N. Ohkura, C. Tauchi, A. Nakayama, G. Atsumi, *Blood Coagul. Fibrinolysis* **23**(3), 254-255 (2012).
- 3) N. Ohkura, Y. Nakakuki, M. Taniguchi, S. Kanai, A. Nakayama, K. Ohnishi, T. Sakata, T. Nohira, J. Matsuda, K. Baba, G. Atsumi, *Biofactors* **37**(6), 455-461 (2011).
- 4) N. Ohkura, H. Oiwa, K. Ohnishi, M. Taniguchi, K. Baba, G. Atsumi, *J Intercult Ethnopharmacol* **4**(4), 355-357 (2015).
- 5) N. Ohkura, H. Yokouchi, M. Mimura, R. Nakamura, G. Atsumi, *J Intercult Ethnopharmacol* **4**(1), 19-23 (2015).
- 6) N. Ohkura, K. Oishi, F. Kihara-Negishi, G. Atsumi, T. Tatefuji, *J Intercult Ethnopharmacol* **5**(4), 439-443 (2016).
- 7) N. Ohkura, K. Ohnishi, M. Taniguchi, A. Nakayama, Y. Usuba, M. Fujita, A. Fujii, K. Ishibashi, K. Baba, G. Atsumi, *Pharmazie* **71**(11), 651-654 (2016).
- 8) A. M. Hanly, D. C. Winter, *Semin. Thromb. Hemost.* **33**(7), 673-679 (2007).
- 9) 竹本愛, 藤田直也, 日本血栓止血学会誌 **27**(1), 11-17 (2016).
- 10) U. Leppert, A. Eisenreich, *Int. J. Cancer* **137**(3), 497-503 (2015).
- 11) 内場光浩, 日本血栓止血学会誌 **19**(3), 378-383 (2008).
- 12) 永井信夫, 日本血栓止血学会誌 **22**(1), 41-48 (2011).
- 13) 瀬嶋尊之, 日本血栓止血学会誌 **18**(4), 302-308 (2007).
- 14) 永井信夫, 日本血栓止血学会誌 **20**(1), 18-22 (2009).
- 15) M. Ohki, Y. Ohki, M. Ishihara, C. Nishida, Y. Tashiro, H. Akiyama, H. Komiyama, L. R. Lund, A. Nitta, K. Yamada, Z. Zhu, H. Ogawa, H. Yagita, K. Okumura, H. Nakauchi, Z. Werb, B. Heissig, K. Hattori, *Blood* **115**(21), 4302-4312 (2010).
- 16) 高橋一広, 村田聡一郎, 大河内信弘, *Organ Biology* **20**(1), 19-28 (2013).
- 17) 岡田清孝, 松尾理, 日本血栓止血学会誌 **19**(2), 216-225 (2008).
- 18) 早川峰司, 丸藤哲, 日本血栓止血学会誌 **20**(3), 278-280 (2009).
- 19) 森美貴, 和田英夫, 日本血栓止血学会誌 **20**(3), 281-284 (2009).
- 20) 朝倉英策, 林朋恵, 日本血栓止血学会誌 **20**(3), 285-288 (2009).
- 21) D. Klobusitzky, *Am. J. Med. Sci.* **242**, 107-123 (1961).
- 22) 奥田拓男, 日本醸造協会雑誌 **78**(10), 728-732 (1983).
- 23) 王宝禮, 日本歯科東洋医学会誌 **31**(1-2), 1-6 (2012).
- 24) 角田宗弘, 藤原春奈, 齋藤道雄, 永山正人, 日本歯科東洋医学会誌 **26**(1-2), 23-27 (2007).
- 25) 齋藤道雄, 永山正人, 岩崎嘉代, 木村明美, 平井由香里, 秦光潤, 佐々木康弘, 梶 純也, 山下満, 須藤孝秀, 市川徹, 雨宮淳, 田村直樹, 日本歯科東洋医学会誌 **33**(1-2), 47-49 (2014).
- 26) 勝田正泰, 日本東洋医学会誌 **29**(4), 183-185 (1978).
- 27) 岩淵慎助, *Pharma Medica* **25**(10), 47-51 (2007).
- 28) 小菅卓夫, 横田正実, 吉田昌史, 落合明男, 薬学雑誌 **101**(6), 501-503 (1981).
- 29) 小菅卓夫, 横田正実, 落合明男, 薬学雑誌 **101**(7), 629-632 (1981).
- 30) T. Kosuge, H. Ishida, M. Ishii, *Chem. Pharm. Bull.* **33**(4), 1496-1498 (1985).
- 31) H. Ishida, T. Umino, K. Tsuji, T. Kosuge, *Chem. Pharm. Bull.* **37**(6), 1616-1618 (1989).
- 32) H. Ishida, T. Umino, K. Tsuji, T. Kosuge, *Chem. Pharm. Bull.* **36**(11), 4414-4420 (1988).
- 33) C. Dandjesso, J. R. Klotoa, T. V. Dougnon, J. Segbo, J-M. Ategbro, F. Gbaguidi, L. Fah, B. Fanou, F. Loko, K. Dramane, *Indian J Sci Technol* **5**(8), 3105-3109 (2012).
- 34) H. Ishida, T. Umino, K. Tsuji, T. Kosuge, *Chem. Pharm. Bull.* **35**(2), 861-864 (1987).
- 35) B. Wang, J. Sui, Z. Yu, L. Zhu, *Iran J Pharm Res* **10**(1), 57-62 (2011).
- 36) 縣功, 薬学雑誌 **119**(4), 237-248 (1999).
- 37) T. Kosuge, H. Ishida, T. Satoh, *Chem. Pharm. Bull.* **33**(1), 206-209 (1985).

- 38) 奥山徹, 成井孝雄, 倉田英明, 王正徳, 橋本孝雄, 竹内幸一, 大村弥生, 大野雪子, 和漢医薬学会誌 **5**, 167-178 (1988).
- 39) T. Kosuge, H. Ishida, T. Satoh, *Chem. Pharm. Bull.* **33**(1), 202-205 (1985).
- 40) T. V. Dougnon, J. R. Klotoe, P. A. Etorh, J. Segbo, J. M. Ategbo, O. A. Sodipo, T. J. Dougnon, C. Dandjesso, F. Loko, K. Dramane, *J. Phys. Pharm. Adv.* **2**(6), 227-234 (2012).
- 41) M. Li, Z. Jia, Z. Hu, R. Zhang, T. Shen, *Phytother Res* **22**(6), 759-765 (2008).
- 42) J. R. Klotoe, T. V. Dougnon, T. I. Sacramento, C. Dandjesso, A. P. Etorh, H. Koudokpon, V. B. A. Fanou, L. Fah, J.M. Ategbo, F. Loko, K. Dramane, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **2**(7), 65-69 (2012).
- 43) H. Ishida, T. Umino, K. Tsuji, T. Kosuge, *Chem. Pharm. Bull.* **36**(11), 4585-4587 (1988).
- 44) X. Paez, L. Hernandez, *J Clin Pharmacol* **43**(3), 291-295 (2003).
- 45) T. Kosuge, H. Ishida, M. Yokota, M. Yoshida, *Chem. Pharm. Bull.* **32**(11), 4478-4481 (1984).
- 46) A. W. Ding, H. Wu, L. D. Kong, S. L. Wang, Z. Z. Gao, M. X. Zhao, M. Tan, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **18**(10), 598-600 (1993).
- 47) H. Ishida, T. Umino, K. Tsuji, T. Kosuge, *Chem. Pharm. Bull.* **35**(2), 857-860 (1987).
- 48) Y. Chen, W. Ni, H. Yan, X-J. Qin, A. Khan, H. Liu, T. Shu, L-Y. Jin, H-Y. Liu, *Phytochemistry* **131**(1), 165-173 (2016).
- 49) 山田健二, 寺澤雅治, 上村直樹, 椿孝治, 松岡寛, 志田保夫, 伊奈郊二, 東京薬科大学研究紀要 **8**, 57-62 (2005).