

釣藤鈎の研究（第二報） 中国産釣藤鈎の品質に関する研究

榊原巖、高橋宏之、寺林進、譲原光利、久保正良、
樋口正視、石毛敦、小松靖弘、丸野政雄、岡田稔
(株) ツムラ中央研究所

Chemical and Pharmacological Evaluations of Chinese Crude Drug "Gou-teng".

Iwao Sakakibara, Hiroyuki Takahashi, Susumu Terabayashi, Mitsutoshi Yuzurihara,
Masayoshi Kubo, Masashi Higuchi, Atsushi Ishige, Yasuhiro Komatsu, Masao Maruno
and Minoru Okada

Tsumura Central Research Laboratories

Amimachi Yoshiwara Inashikigun Ibaraki 300-1192, Japan

(Received April 16, 1998)

HPLC profiles of the principal, indole and oxindole alkaloids of a Chinese crude drug "Gou-teng" ("Cho-to-ko" in Japanese) in the Japanese markets showed that the crude drug consisted of three types (S-, R- and SR-Type). The original plant of the samples of R-Type was identified as *U. rhynchophylla*, and that of S- and SR-Types as *U. sinensis* by comparison with authentic specimens. A simple correlation analysis of the alkaloids in the SR-Type samples showed that the geissoschizine methylether content had no correlation with the hirsutine and hirsutine contents, but that it had negative-correlations with the four oxindole contents. In the SR-Type samples, the samples containing more oxindoles tended to have smaller the geissoschizine methylether content. Of the samples of the three types, only the R-Type samples significantly prolonged the thiopental-induced hypnotics.

Keywords --- Gou-teng ; *Uncaria sinensis* ; *U. rhynchophylla* ; indole alkaloid ; oxindole alkaloid ; principal analysis ; individual analysis ; prolongation of hypnotics.

我々はこれまでに釣藤鈎の原植物を収集し、それぞれの内部・外部形態の比較からそれぞれの特徴を把握し、その基原種を判別できることを見出し、この知見をもとに本邦市場で流通する釣藤鈎を鑑定した結果、その大部分は華鈎藤 (*U. sinensis*) および鈎藤 (*U. rhynchophylla*) であり、少数ではあるが大葉鈎藤 (*U. macrophylla*) も認められ、ほぼこの3種が本邦市場品の原植物であると結論してきた¹⁾。

また前報において華鈎藤 (*U. sinensis*) と同定された、中国広西自治区産釣藤鈎の科学的評価を行い、

マウスにおいてチオペンタール投与による睡眠時間の延長作用およびSHRに対する血圧降下作用を確認し、その作用は概ねアルカロイド成分で説明できることを見出した。そのうちガイソシジンメチルエーテルには顕著な睡眠延長作用が、ヒルスチンとヒルスチンには持続的な血圧降下作用が、いずれも経口投与で見出された²⁾。このように釣藤鈎の品質評価を行ううえで、アルカロイド成分の分析評価の重要性が確認された。

そこで今回、中国の各省別に釣藤鈎を入手し、ア

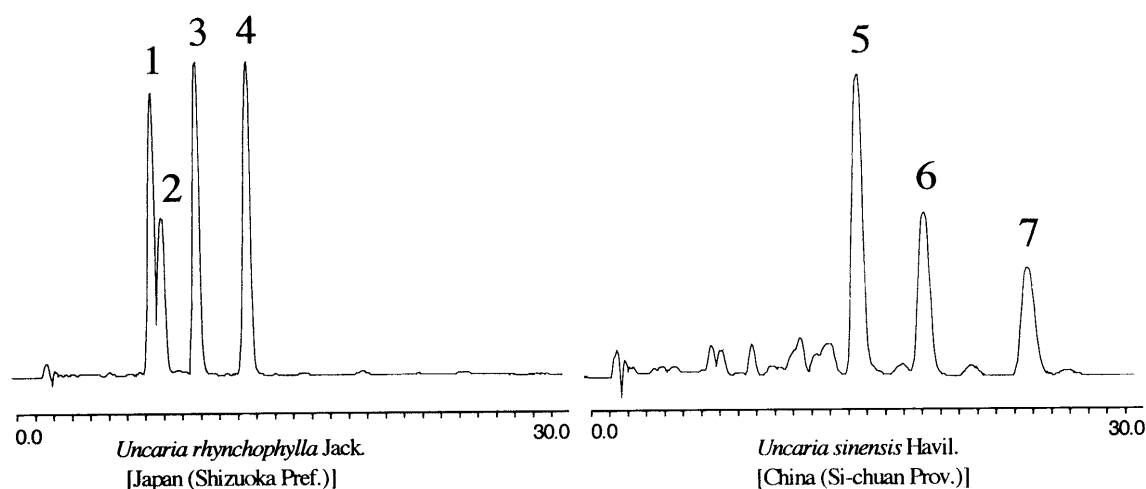


Fig. 1. HPLC Profiles of Authentic *U. rhynchophylla* and *U. sinensis*.

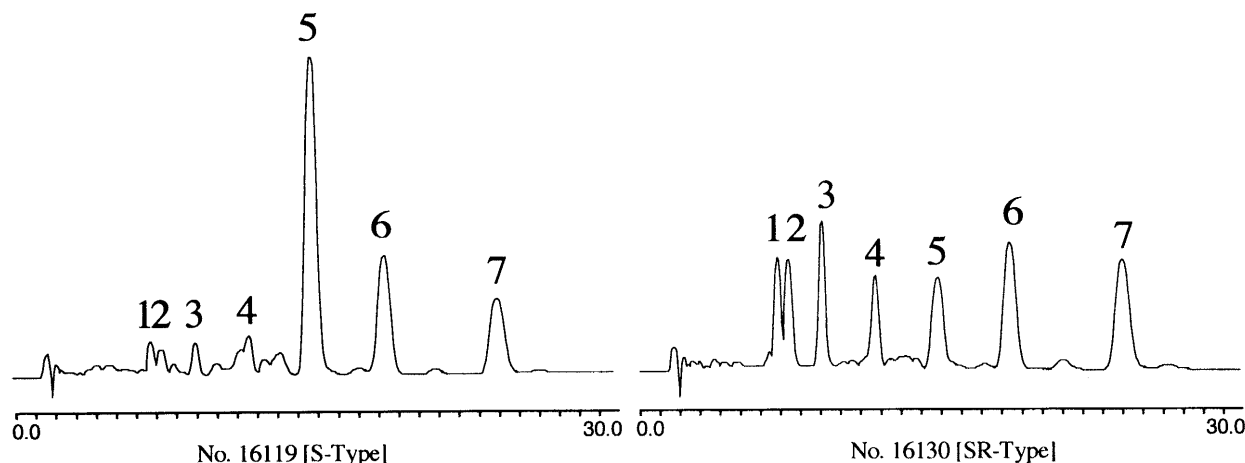


Fig. 2. HPLC Profiles of Typical S-Type (Gui-zhou Prov.) and SR-Type (Guang-xi Prov.).

ルカロイド成分の分析を行いいくつかの知見を得たので報告する。

結果および考察

生薬試料の内訳は表に示すように広西自治区産 15 検体、貴州省産 21 検体、四川省産 3 検体、広東省産 4 検体、湖北省産 3 検体、江西省産 6 検体を使用した。このうち湖北省産 2 検体 (14537 および 15241) と江西省産 6 検体はいずれも本邦に自生するカギカズラとアルカロイド組成が同様のプロフィールを呈し、オキシインドールアルカロイド成分である **1, 2, 3** および **4** のみが検出された (Fig. 1)。その他の検体のうち貴州省産および四川省産は HPLC パターンが北京中医研から分与された華鉤藤 (*U. sinensis*) の標

本と一致し、インドールアルカロイド成分を主に含有していた (Fig. 2)。一方、広西自治区産はインドールアルカロイド成分の他にオキシインドールアルカロイド成分を比較的多く含むものであった (Fig. 2)。このように釣藤鉤が産地ごとにより含有されるインドールアルカロイド成分とオキシインドールアルカロイド成分の比率が異なることは既に他研究機関から指摘されている^{3,4)}。

そこで江西省産、貴州省産および広西自治区産の釣藤鉤の基原鑑定を北京中医研の謝宋万教授に依頼した結果、江西省産は鉤藤 (*U. rhynchophylla*) と同定され、貴州省産と広西自治区産は双方とも華鉤藤 (*U. sinensis*) と同定された。このように華鉤藤には貴州省産タイプと広西自治区産タイプの 2 つのタイプが

TABLE I. Compositions of the Indole and Oxindole Alkaloids of Gou-teng from Various Markets.*

Sample	Herbarium No.	OX				Total OX	IN			Total IN	Type
		1	2	3	4		5	6	7		
Gu-zhou Prov. (21 amples)	13622	24.9	44.3	11.6	18.0	98.8	369.2	306.8	177.7	853.7	S
	14038 ¹⁾	24.8	47.1	15.7	19.5	107.1	253.7	255.4	119.8	629.0	S
	14039	29.2	55.1	25.5	20.8	130.6	271.2	208.0	154.1	633.3	S
	14040	28.1	55.5	25.5	22.5	131.6	388.3	289.1	205.2	882.5	S
	14041	28.0	52.7	19.6	18.6	118.8	321.5	261.7	169.6	752.8	S
	16108	20.0	53.4	30.1	25.8	138.3	300.2	180.7	157.3	638.2	S
	16109	18.9	43.5	13.3	12.4	88.1	263.5	158.2	87.2	508.9	S
	16110	25.2	55.7	21.9	24.8	127.6	328.6	227.4	153.9	709.9	S
	16111	22.6	45.8	16.1	23.1	107.6	338.2	223.4	125.7	687.2	S
	16113	28.3	49.4	21.0	20.0	118.6	383.0	289.7	224.3	897.1	S
	16114	25.6	50.0	17.0	20.5	113.1	444.0	311.8	230.6	986.4	S
	16115	33.1	55.0	26.4	27.0	141.5	409.0	324.8	258.2	992.0	S
	16116	31.0	50.9	23.0	23.3	128.2	449.8	314.7	226.8	991.3	S
	16117	34.2	72.4	28.4	18.5	153.5	575.2	288.2	189.7	1053.2	S
	16118	26.3	53.9	23.9	21.8	125.9	375.7	270.5	206.0	852.1	S
	16119	28.3	49.1	21.9	18.9	118.2	503.7	264.7	182.3	950.6	S
	16120	26.5	48.5	18.0	16.5	109.5	445.4	316.0	229.0	990.4	S
	16121	38.0	58.5	27.6	25.1	149.1	476.3	384.6	325.4	1186.3	S
	16122	41.3	59.1	29.4	24.7	154.4	589.1	330.6	217.7	1137.3	S
	16123	29.1	135.5	10.9	9.7	185.1	496.9	331.4	196.8	1025.1	S
	16124	33.8	54.8	11.9	11.8	112.3	520.6	331.2	202.0	1053.7	S
Guang-xi Prov. (15 amples)	11787	74.2	99.3	48.4	46.6	268.5	81.5	216.8	177.1	475.3	SR
	12212	32.5	58.4	20.7	35.4	147.1	188.4	271.9	203.5	663.8	SR
	13621	45.0	70.2	56.2	43.9	215.3	120.7	574.5	581.4	1276.6	SR
	13623	32.0	56.7	27.2	31.2	147.0	162.2	305.6	286.9	754.6	SR
	13875 ²⁾	55.2	84.5	57.0	51.5	248.2	188.0	381.5	445.6	1015.1	SR
	14042	28.9	50.1	20.8	18.8	118.6	232.8	264.6	165.0	662.5	SR
	14043	27.8	49.4	23.7	23.0	123.7	175.3	290.6	150.1	616.0	SR
	16125	87.0	112.2	63.6	60.0	322.9	46.1	210.3	192.8	449.2	SR
	16126	45.6	65.9	25.0	29.0	165.4	89.4	179.8	146.7	415.9	SR
	16127	53.1	79.7	48.2	38.9	219.9	48.0	140.2	118.3	306.4	SR
	16128	31.6	52.4	26.2	17.4	127.5	258.3	290.4	266.1	814.8	SR
	16129	27.5	50.0	17.6	20.8	115.8	168.4	161.4	135.0	464.8	SR
	16130	65.1	93.2	71.4	49.7	279.4	98.1	198.3	187.1	483.5	SR
	16131	30.5	55.5	24.2	26.6	136.8	170.3	217.9	176.8	564.9	SR
	16132	46.1	70.3	39.4	34.0	189.8	228.4	220.8	181.4	630.7	SR
Si-chuan Prov. (3 amples)	14852	35.6	66.0	26.4	17.6	145.6	782.1	389.4	233.7	1405.2	S
	14977	13.2	36.3	8.2	5.9	63.7	476.0	304.1	254.5	1034.6	S
	15135	35.2	58.2	34.1	32.5	160.1	585.6	348.9	213.8	1148.3	S
Guang-tong Prov. (4 amples)	14535	23.6	45.5	12.1	16.5	97.6	158.2	204.6	134.6	497.4	SR
	14536	27.6	42.4	18.8	17.4	106.3	266.1	300.9	230.3	797.2	SR
	16133	21.6	43.4	16.3	13.6	94.9	338.0	175.2	106.5	619.6	S
	16134	17.7	39.8	13.1	13.7	84.3	182.5	135.8	91.0	409.3	SR
Hu-bei Prov. (3 amples)	14537	305.8	226.1	203.5	203.8	939.3	---	---	---	---	R
	15241	95.3	93.2	121.5	93.8	405.8	---	---	---	---	R
	15242	17.1	39.8	11.0	7.3	75.2	131.1	130.6	40.4	302.2	SR
Jiang-xi Prov. (6 amples)	11385 ³⁾	274.3	222.5	223.2	237.9	957.9	---	---	---	---	R
	11522	370.4	300.3	289.9	313.3	1273.9	---	---	---	---	R
	12690	192.0	138.5	104.5	100.3	535.2	---	---	---	---	R
	15858	371.5	277.3	319.1	416.1	1384.0	---	---	---	---	R
	15866	250.4	194.1	295.8	317.5	1057.9	---	---	---	---	R
	16135	163.1	152.1	109.7	117.4	542.4	---	---	---	---	R

* $\mu\text{g/g}$ (crude drug) 1) identified as *U. sinensis* 2) identified as *U. sinensis* 3) identified as *U. rhynchophylla*

OX: oxindole alkaloids, IN: indole alkaloids, R: R-Type, S: S-Type, SR: SR-Type.

TABLE II. Eigenvectors from the Data of Compositions of Indole and Oxindole Alkaloids of Various Commercial Gou-teng.

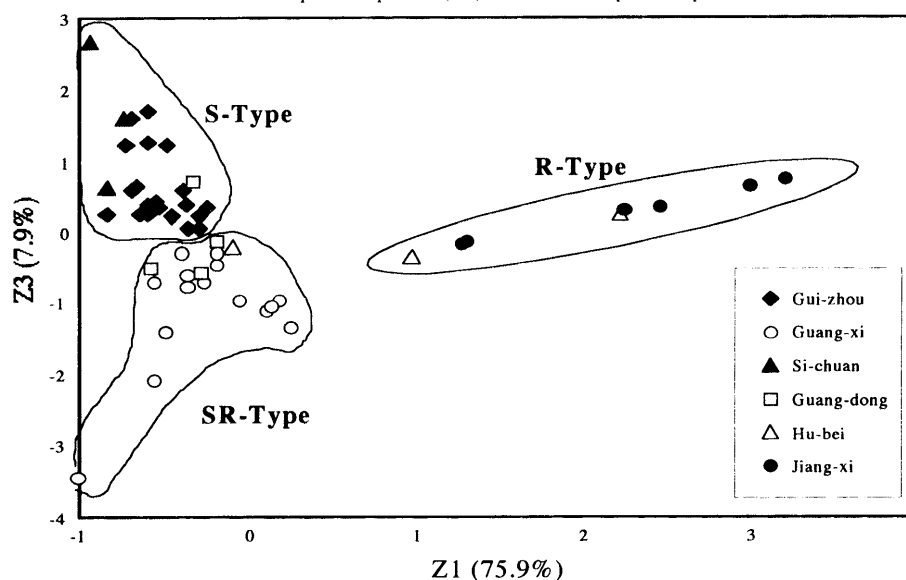
Variable	Z1	Z2	Z3
1 corynoxine	0.416	0.246	0.071
2 rhynchophylline	0.403	0.298	0.076
3 isorhynchophylline	0.412	0.280	0.033
4 isocorynoxine	0.408	0.292	0.067
5 geissoschizine methylether	-0.305	0.269	0.884
6 hirsutine	-0.371	0.501	-0.080
7 hirsutine	-0.313	0.604	-0.443
Cumulative contribution ratio	0.759	0.901	0.980

TABLE III. Correlations with Each Component of Gou-teng in Guang-xi Prov.

	1	2	3	4	5	6	7
1	1.0000						
2	0.9933 **	1.0000					
3	0.8448 **	0.8773 **	1.0000				
4	0.8894 **	0.9269 **	0.8975 **	1.0000			
5	-0.7123 **	-0.7051 **	-0.5713 *	-0.6863 **	1.0000		
6	-0.1391	-0.1085	0.1877	0.0078	0.2358	1.0000	
7	0.0367	0.0805	0.3696	0.3268	0.1149	0.9370 **	1.0000

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

Fig. 3. Distribution of Various Commercial Gou-teng on the Basis of the 1st Principal Component (Z1) and 3rd Principal Component (Z3).



存在していることが明らかとなった。

そこで釣藤鈎検体に含まれるアルカロイド成分と、産地との間の相関関係を把握する目的で、多変量解析の一つである主成分分析を行った⁹⁾。統計解析の結果、第一主成分 (Z1) は寄与率が 75.9% を示し、それぞれインドールアルカロイド含量 (5, 6 および 7) とオキシインドールアルカロイド含量 (1, 2, 3 および 4) を意味する総合特性と判断され、インドールアルカロイド成分を含まない釣藤と含まれる華釣藤が識別された。第二主成分 (Z2) はそれぞれの成分の含量を意味する総合特性であった。さらに注目されたのは第三主成分 (Z3) である。即ち、インドールアルカロイド成分のうち 5, 6 および 7 の係数が それぞ

れ 0.884, -0.080, -0.443 であり 6, 7 の符号が負であるのに対し、5 はオキシインドールアルカロイド成分と同じ正であることである (Table II)。この特性を考慮し、第一主成分 (Z1) と第三主成分 (Z3) に関して各検体の主成分得点の分布を Fig. 3 に示した。図のように江西省産のすべての検体と湖北省産 2 検体 (14537, 15241) は同一のグループに認識された [釣藤 (*U. rhynchophylla*) と同定された検体を含む集団として R-Type と仮称する]。貴州省産および四川省産のすべての検体および広東省産 (16133) は同一の集団として認識された [華釣藤 (*U. sinensis*) と同定された検体の集団として S-Type と仮称する]。広西自治区産のすべての検体、広東省産 (14535, 14536,

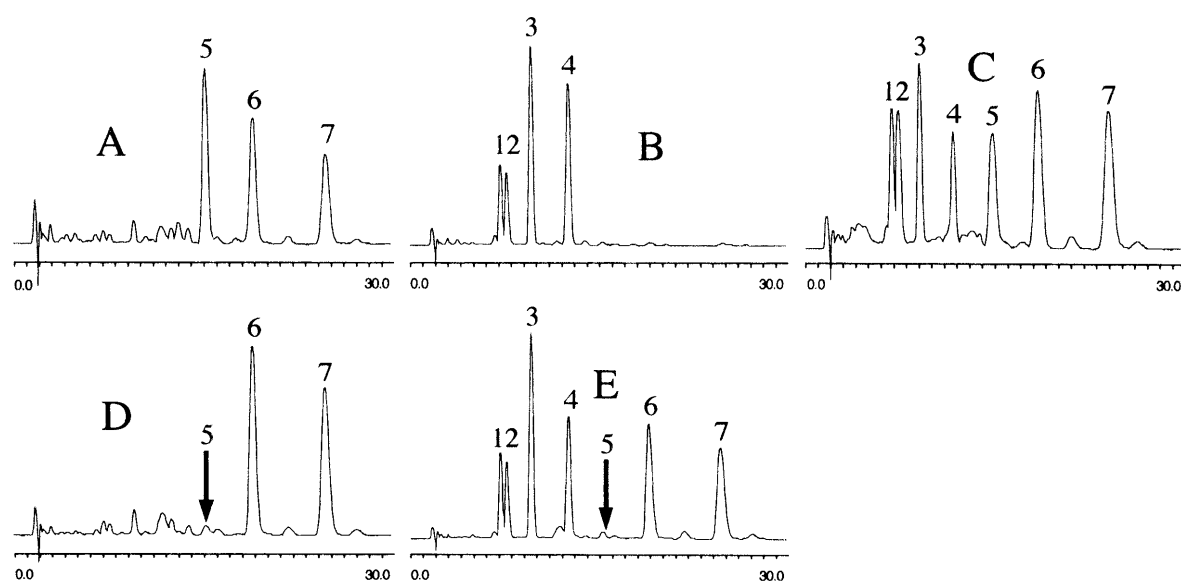


Fig. 4. Five Individual Types of Gou-teng in Guang-xi.

16134)、湖北省産(15242)は同一の集団に分類された[インドールアルカロイド成分とオキシインドールアルカロイド成分を含む華鉤藤(*U. sinensis*)のタイプであるためSR-Typeと仮称する](Table I)。なおこのSR-TypeとS-Typeは同じ華鉤藤(*U. sinensis*)の集団に分類されているため、形態学的な鑑定結果を良く支持していた。

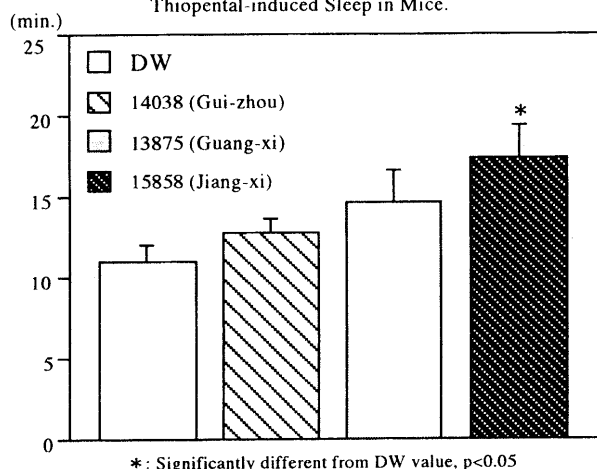
さらに第三主成分の総合特性である5, 6および7の挙動に注目した。Table Iに示すように貴州省産では5が6より高含量であるのに対し、広西自治区産ではその省関係が概ね逆転しており、この現象はオキシインドールアルカロイド成分量が多い検体ほど顕著であることが指摘された。そこで各成分の単相関を解析した。Table IIIに示すように広西自治区産において5は6, 7とは相関が認められず、一方オキシインドールアルカロイド成分との間に負の相関が認められた。貴州省産ではこのような相関は認められなかった。そこでこの現象が何に起因するかを確かめるため個体別変動を実施した。その結果、貴州省産(14038)では個体ごとに著しい変動は認められなかったが、広西自治区産3ロット(13621, 13623および13875)ではFig. 4に示すように概ね5つの個体別タイプが存在していることが分かった。即ち、華鉤藤型(A)と鉤藤型(B)の他にインドールアルカロイドとオキシインドールアルカロイドの双方を含む個体(C)が存在していたこと、さらに興味深いこと

に、Dのように華鉤藤型であるにもかかわらず、5が欠損しているもの、EのようにタイプCで5だけが欠損しているものが確認された。もしB, DあるいはEに分類される個体が多い場合、全体としてオキシインドールアルカロイド含量が多くなるとともに5の含量が少なくなり6との逆転が起こる。広西自治区産(SR-Type)におけるオキシインドールアルカロイド高含量検体での5と6の含量の逆転現象はこのことで説明できる。

鉤藤は主に中国の揚子江以南、いわゆる江南地域に自生している⁹⁾。今回の結果から華鉤藤(S-Type)は貴州省あるいは四川省に分布し、鉤藤(R-Type)は江西省および湖北省に分布していること、そしてSR-Typeが双方の中間地域である広西自治区、広東省あるいは湖北省に分布することを考慮すると両種の交雑により発生した可能性も考えられる。今後は遺伝子解析等を通してこれらの関係を明らかにしたい。

次に今回の分析により分類された3つのタイプ(R-Type, S-TypeおよびSR-Type)の薬理学的品質評価を試みた。試験項目としてチオペンタールに対する睡眠延長作用試験を行った。その結果、いずれのタイプともコントロールに比べて睡眠延長傾向を示したが、作用の強さには差が認められ、江西省産(R-Type)のみに有意な延長作用が認められた(Fig. 5)。前報において華鉤藤から睡眠延長作用物質としてガ

Fig. 5. Effects of Various Gou-teng on the Duration of Thiopental-induced Sleep in Mice.



イソシジンメチルエーテル (5) を特定しているが、今回の結果では本化合物を含む貴州省産 (S-Type)、広西自治区産 (SR-Type) よりもオキシインドールアルカロイド成分を含有する江西省産が強かった。我々は既にオキシインドールアルカロイド成分にも睡眠延長作用を見出していることから、水抽出エキス中に移行するアルカロイド成分量の総和に起因している可能性がある。なお本試験結果だけから釣藤鈎の品質の優劣を言及するのは早計であるが、釣藤鈎の産地の違いが薬効に影響することは明らかであり、今後は品質を良く吟味して用いていく必要がある。

実験の部

I. 生薬材料

1. 標本検体：カギカズラは1996年8月に静岡県伊東市八幡野において採集した。華鈎藤の標本是北京中医研究所の謝宋万教授より1995年に分与された。今回の中国市場品に関しては1990年から1997年の間に中国の各省から入手した。

2. 市場品の外部形態的特徴：貴州省産釣藤鈎；枝や鈎の表面は黄緑色～黄褐色を呈し、鈎の基部は比較的幅広い。茎や枝は概ね方柱状を呈する。托葉の宿存が認められ、その形状は全縁である。江西省産釣藤鈎；枝や鈎の表面は紫紅色～紅褐色を呈し、鈎の基部は貴州省産に比べ幅が狭い。茎や枝の多くは円柱状を呈する。托葉は脱落している。広西自治区産釣藤鈎；枝や鈎の表面は灰黄色～暗赤色を呈し、貴州産に比べやや赤みがかっている。茎や枝は概ね

方柱状を呈するが円柱状のものも存在している。托葉が宿存しているものが認められる。江西省産釣藤鈎 (11385)、貴州省産釣藤鈎 (14038) および広西自治区産釣藤鈎 (13875) の基原鑑定を依頼した結果、江西省産は鈎藤 (*U. rhynchophylla*)、貴州省産と広西自治区産はいずれも華鈎藤 (*U. sinensis*) と同定された。

II. HPLC 分析

前報のHPLC分析の項と同様の操作を行った。ただし今回、移動相は0.05M 酢酸アンモニウム (pH 3.6) - アセトニトリル - メタノール (60:15:25) を使用した。

標準試料：広西自治区産釣藤鈎 (13875) より分離した7成分 [corynoxine (1), rhynchophylline (2), isorhynchophylline (3), isocorynoxine (4), geissoschizine methylether (5), hirsutein (6) および hirsutine (7)] を用いた。

回帰直線：各標準試料 (3mg) をメタノール (20mL) で希釈 [A液]、A液を2倍希釈 [B液]、B液を2倍希釈 [C液] した。各濃度の試料液 (25μL) を3回ずつHPLCに注入し、得られた面積値から回帰直線を算出した。

corynoxine (1): $Y \text{ (mg)} = [X \text{ (area)} + 34350.43] \div 2956.87$ (相関係数) 0.9999

rhynchophylline (2): $Y \text{ (mg)} = [X \text{ (area)} + 99887.18] \div 2966.76$ (相関係数) 0.9997

isorhynchophylline (3): $Y \text{ (mg)} = [X \text{ (area)} + 13526.52] \div 2772.12$ (相関係数) 0.9999

isocorynoxine (4): $Y \text{ (mg)} = [X \text{ (area)} + 8963.17] \div 2877.28$ (相関係数) 0.9999

geissoschizine methylether (5):

$Y \text{ (mg)} = [X \text{ (area)} - 19022.53] \div 1981.86$
(相関係数) 0.9996

hirsutein (6): $Y \text{ (mg)} = [X \text{ (area)} + 16505.17] \div 1748.13$
(相関係数) 0.9999

hirsutine (7): $Y \text{ (mg)} = [X \text{ (area)} - 18900.51] \div 1710.14$
(相関係数) 0.9999

III. 統計解析

多変量解析法の一つである相関行列からの主成分分析ならびに単相関を行った。プログラムは市販ソフト[®]を使用した。

IV. 個体別変動

個体別変動試料：貴州省産 (14038) を40個体 [平

均 293mg, 最大 949mg, 最小 81mg], 広西自治区産 3 ロット (13621) [平均 182mg, 最大 689mg, 最小 85mg], (13623) [平均 262mg, 最大 1072mg, 最小 100mg], (13875) [平均 259mg, 最大 752mg, 最小 105mg] 各 40 個体、合計 120 個体。試料調製：各個体を粉碎しメタノール (2mL) で 30 分間室温超音波抽出し、アルミナ前処理カラム (Bondelute NH) に通導し、得られた溶出液 (25 μ L) を HPLC に注入した。分類内訳：貴州省産 (40 個体中) 37 個体 (A)、3 個体 (判定不能)。広西自治区産 (120 個体中) 69 個体 (A)、3 個体 (B)、13 個体 (C)、14 個体 (D)、14 個体 (E)、7 個体 (判定不能)。

V. 睡眠延長作用試験

前報の睡眠延長作用試験法と同様に行った。

被検薬物：貴州省産 (14038)、広西自治区産 (13875)、江西省産 (15858) の熱水還流抽出エキスおよびコントロールとして生理食塩水を用いた。いずれの薬物とも Tween 80 溶液に懸濁し 2.0g/kg の濃度を経口投与した。

謝辞：本研究にあたり、華鈎藤標本の分与ならびに市場品鈎藤鈎の鑑定をして頂きました中医研究院中

薬研究所謝宗万教授に深謝いたします。またカギカズラの採集を行って頂きましたツムラ栽培圃場の川口静雄氏に感謝いたします。

引用文献

- 1) 高橋宏之, 榊原巖, 寺林進, 岡田稔, 日本薬学会 116 年回 要旨, p.159 (1996).
- 2) 榊原巖, 高橋宏之, 譲原光利, 加藤孝之, 久保正良, 林紘司, 石毛敦, 雨谷栄, 岡田稔, 丸野政雄, *Nat. Med.*, **51**, 79 (1997).
- 3) 西村正, 先名淳, 中島久美子, 弓岡栄三郎, 日本薬学会 102 年回 要旨, p.580 (1982).
- 4) 横田洋一, 上野美穂, 松原利行, 村上守一, 津野敏紀, 斎藤晴夫, 富山薬研年報, **19**, 101 (1992).
- 5) 武田修己, 三木英二, 寺林進, 岡田稔, 呂曄, 賀慧生, 賀善安, 薬学雑誌, **115**, 543 (1995).
- 6) 中国薬材公司, 中国測絵科学研究院編著, "中国薬材資源地 図集", 科学出版社, p. 10 (1996).
- 7) I. Sakakibara, H. Takahashi, S. Terabayashi, M. Yuzurihara, M. Kubo, A. Ishige, M. Higuchi, Y. Komatsu, M. Okada, M. Maruno, *Phytomedicine*, **5**, 83 (1998).
- 8) エクセル統計, (株) 社会情報サービス.