

釣藤鈎の研究（第三報） 鈎藤の血圧降下作用成分と抽出過程での含量変化

榑原巖、寺林進、久保正良、樋口正視、佐々木博、岡田稔
(株) ツムラ中央研究所

Evaluation of Gou-teng (Hooks and Stems of Uncariae Plants) III. Hypotensive Principle from *Uncaria rhynchophylla* and Alteration of Its Content on Extraction Process.

Iwao Sakakibara, Susumu Terabayashi, Masayoshi Kubo, Masashi Higuchi,
Hiroshi Sasaki and Minoru Okada
Tsumura Central Research Laboratories
Amimachi Yoshiwara Inashikigun Ibaraki 300-1192, Japan

(Received July 23, 1999)

Four oxindole alkaloids, corynoxine, rhynchophylline, isocorynoxine and isorhynchophylline were isolated from the hooks of Gou-teng [Cho-to-kou in Japanese, the original plant *Uncaria rhynchophylla* (Miq.)], purchased in Jiang-xi province. Of the four alkaloids, only isorhynchophylline showed a hypotension activity in spontaneous hypertensive rats (SHR). In a water extract of the hooks, isorhynchophylline and isocorynoxine were shown to be converted to rhynchophylline and corynoxine within fifteen minutes, owing to the acidic condition of the extract. In one of the Cho-to-kou preparations, Diaotengsan (Cho-to-san in Japanese), the interconversion of isorhynchophylline is retarded by the buffering action of the co-existing Shi-gao (Sekkou in Japanese).

Keywords : *Uncaria rhynchophylla* ; hypotensive principle ; isorhynchophylline ;
water extraction ; alteration of alkaloid contents.

釣藤鈎の基原と品質に関する研究の一環として、我々はこれまでに9種のカギカズラ属植物の形態学的比較とHPLC分析からそれらを判別する方法を見だし¹⁾、この知見をもとに本邦市場に流通する釣藤鈎を鑑定した結果、その大部分は華鈎藤 (*Uncaria sinensis*) および鈎藤 (*U. rhynchophylla*) であり、少数ではあるが大葉鈎藤 (*U. macrophylla*) も存在していることを報告してきた²⁾。さらに華鈎藤 (*U. sinensis*) に含有されるアルカロイド成分に睡眠延

長作用と血圧降下作用を見いだしている³⁾。

今回、中国江西省産鈎藤 (*U. rhynchophylla*) から得られた4種のアルカロイド成分 [corynoxine (1), rhynchophylline (2), isorhynchophylline (3) よび isocorynoxine (4)] の血圧降下作用試験を実施したところ3のみに有意な降圧作用が見いだされた。

『鈎藤鈎は長く煎じると効果が減じる』と多くの成書で指摘されている。例えば、図註本草綱目求真⁴⁾

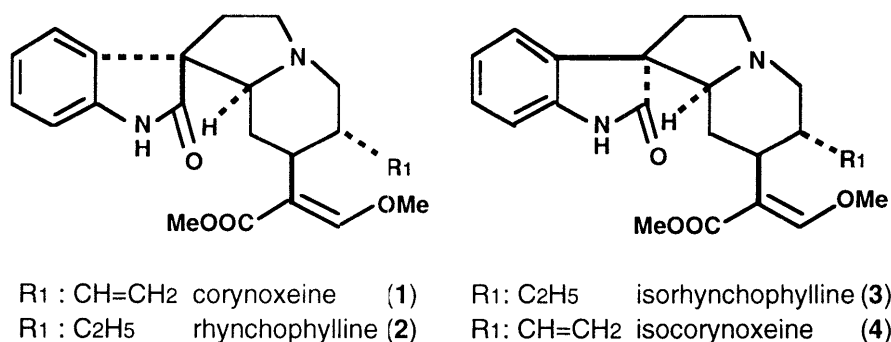


Fig.1 Structure of oxindole alkaloids (1-4) from the hooks of *Uncaria rhynchophylla*.

や本草備要増訂版⁵⁾では『久煎則無力』と記載されている。また本草述鉤元⁶⁾では『久煎便無力俟他藥煎就投鉤藤一二沸即起頗得力也』と記載され、水煎抽出の際に鉤藤を最後に投入することを指示している。また中藥大辞典⁷⁾では、『20分以上煮沸すると降圧成分の減少により効果が減じる』と記載されている。今回、鉤藤の降圧作用成分である $\mathbf{3}$ の水煎抽出過程における挙動を追跡し、いくつかの知見を得た。

実験の部

I. 生薬材料

実験に使用した鉤藤は、江西省樟樹市の市場で1997年7月に入手した(voucher No. 15858)。本品は内・外部形態ならびにHPLC分析のパターンから鉤藤(*Uncaria rhynchophylla*)と同定された¹⁾。

II. HPLC 分析

前報のHPLC分析の項に準じ、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²⁾。

III. 血圧降下作用試験

1. 実験動物: SHR (Wistar-Okamoto系, 雄性)、体重 $250 \pm 20\text{g}$ 、収縮期平均血圧 $200 \pm 20\text{ mmHg}$ 、平均心拍数 $450 \pm 30\text{ beats/min}$. を使用した。
2. 被検薬物: 各アルカロイド成分を1% CMCに懸濁し 100 mg/kg の濃度を経口投与した。なおコントロールとして1% CMC 溶液を、ポジティブコントロールとして 0.1 mg/kg の濃度の clonidine hydrochloride (RBI 社) を経口投与した。
3. 血圧測定: 実験動物は無麻酔下で被検薬物投与後、1, 2 および4時間後の収縮期血圧を非観血的に測定した。血圧測定装置; Autoflate cuff pump #20NW

(IITC社製)、Blood pressure & heart rate meter / amplifier #59 (IITC社製)、Indirect blood pressure sensors #B60 (IITC 社製)。

4. 統計処理: 有意差検定は全て Dunnett の多重比較検定を行い、危険率 5% 未満をもって有意とした。

IV. 水煎抽出実験

1. pH 測定: 各生薬の粉碎品 (3 g) を水 (100 mL) で超音波抽出 (15 分間) したのち、加熱還流抽出 (30 分間) し、上清部の pH をデジタル式 pH 計 (新電元工業社) で測定し、各3ロットをそれぞれ3回ずつ測定した。なお、水は脱イオン水 (pH 6.3 ± 0.1) を使用した。鉤藤散構成生薬の pH を Table 2 に示した。

2. 鉤藤の単味水煎抽出実験: 鉤藤試料 (3 g) に水 (100 mL) を加え、室温で超音波抽出 (15 分間) したものを0時間とした。その検体を加熱抽出し、15 分後、30 分後、45 分後、60 分後、90 分後、120 分後にそれぞれ抽出液を採取し、フィルターろ過 ($0.45\text{ }\mu\text{m}$) したものを pH 測定し、一部を定量分析に供した。

3. 鉤藤散の水煎抽出実験: 各構成生薬 [鉤藤 (3.0 g)、半夏 (3.0 g)、麦門冬 (3.0 g)、生姜 (1.0 g)、茯苓 (3.0 g)、防風 (2.0 g)、菊花 (2.0 g)、陳皮 (3.0 g)、甘草 (1.0 g)、人參 (2.0 g)、石膏 (5.0 g)] を使用し、水 (280 mL, 10 倍量) で抽出した。なお、石膏抜きの場合は、石膏のみを除き、同様に抽出操作した。

A 法: 石膏を先に 10 分間煎じた後、他の生薬を投入し、さらに 27 分間煎じ、最後に鉤藤を入れて 2~3 回沸騰させる (約 3 分程度)。

B 法: 全生薬を同時に水煎抽出する (30 分間)。

C 法: 石膏を抜いた生薬を同時に水煎抽出する (30 分間)。

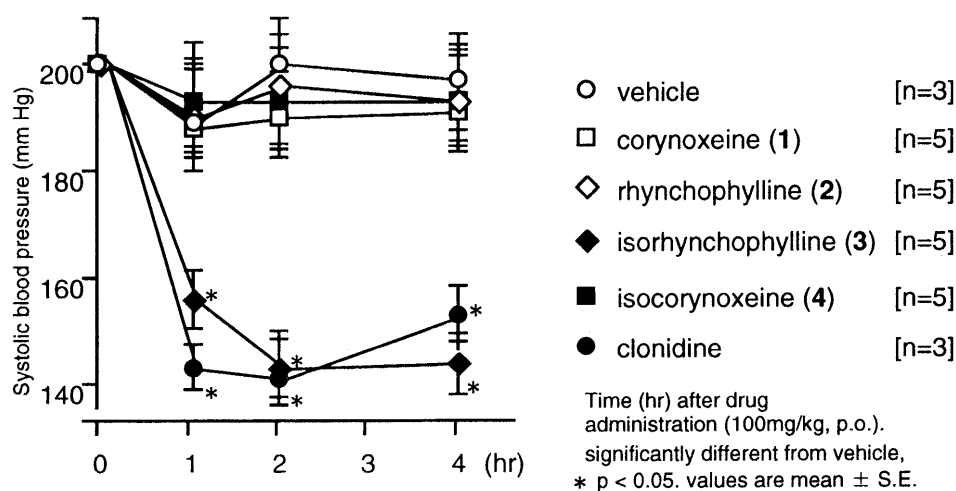


Fig. 3 Hypotensive reaction of oxindole alkaloids on SHR.

TABLE 1. Alteration of alkaloid (1-4) contents in the hooks of *U. rhynchophylla* on the extraction process *.

min	corynoxene (1)	rhynchophylline (2)	isorhynchophylline (3)	isocorynoxene (4)	total alkaloids
0	154.1 ± 13.8	136.0 ± 11.9	270.8 ± 5.7	328.3 ± 8.6	885.8 ± 6.9
15	470.2 ± 11.4	391.9 ± 8.9	152.8 ± 7.5	205.6 ± 8.3	1220.4 ± 15.3
30	522.1 ± 13.0	412.6 ± 10.0	146.4 ± 7.2	198.0 ± 8.6	1279.0 ± 25.2
45	515.2 ± 11.3	407.2 ± 8.3	145.5 ± 6.6	194.8 ± 7.9	1262.7 ± 11.8
60	518.7 ± 13.9	407.2 ± 9.7	145.5 ± 7.7	192.5 ± 7.7	1260.2 ± 11.3
90	488.3 ± 8.9	389.1 ± 10.3	141.3 ± 8.1	184.7 ± 7.5	1203.4 ± 17.0
120	473.9 ± 11.5	381.6 ± 10.8	140.7 ± 8.4	186.7 ± 8.1	1182.9 ± 17.1

* mg/ml, values are mean ± S.D.

それぞれの方法で各3回ずつ煎じ、得られた3回の煎液のpHとアルカロイド含量をTable 3に示す。

結果および考察

本品に含有される4種のアルカロイド成分 (Fig. 1) のSHRに対する血圧降下作用試験を実施した結果、**3**のみに有意な降圧作用が認められた (Fig. 3)。

そこでまず、単味での水煎抽出におけるアルカロイド成分含量およびその総量の挙動を確かめてみた (Table 1)。**3**と**4**の含量は加熱抽出を開始した時点から減少し、それ以降も継続的に減少した。一方、**1**と**2**は開始後30分間は増加し、その後、徐々に減少した。総アルカロイド量は抽出開始後30分間で最高値に達し、それ以降、徐々に成分量は減少した。2時間後の総アルカロイド量は最高値 (30分後) の7.5%程度の減少にとどまっており、全体の成分総量としての損失は少なかった。注目すべき点は、**3**と**4**

の挙動が、**1**と**2**の挙動と相反していることである。伴うは**2**と**3**が酸性あるいはアルカリ性において、互いに変換しうること、そして酸性条件下では**3**が**2**に変化することを報告している⁸⁾。我々もすでに本知見を実験的に確認している⁹⁾。そこで煎液のpHを測定したところ、0～2時間でpH 5.0～5.1と酸性を示した。つまり**3**から**2**への変換が本機構で説明できた。このように抽出液のpHが成分含量に影響すること、降圧作用成分である**3**が15分程度の煎出時間で降圧作用の弱い**2**に変換することが明らかとなった。

次に処方の水煎抽出過程での成分挙動を検討した。中医処方解説¹⁰⁾に、釣藤鉤配合処方として5つの処方が収載されているが、このうち、天麻鉤藤飲 (石決明)、釣藤散 (石膏)、羚羊角鉤藤湯 (羚羊角) のように、主に無機塩類を含有する生薬を配合する処方では、まずそれらを先に煎じてから他薬を後に入れる、

TABLE 2. Each pH value of water extract of components in Diaotengsan (Cho-to-san) *.

crude drug	pH
Gypsum Fibrosum	6.7 ± 0.2
Aurantii Nobilis Pericarpium	5.1 ± 0.2
Ophiopogonis Tuber	4.4 ± 0.3
Pinelliae Tuber	4.3 ± 0.3
Hoelen	4.7 ± 0.3
Ginseng Radix	5.7 ± 0.2
Ledebouriellae Radix	4.9 ± 0.2
Glycyrrhizae Radix	5.5 ± 0.2
Zingiberis Rhizoma	4.5 ± 0.2
Uncariae Uncis cum Ramulus	5.0 ± 0.2
Chrysanthemi Flos	5.0 ± 0.2

* pH value of water : 6.3 ± 0.1, values are mean ± S.D.

TABLE 3. Alkaloid (1-4) contents and pH values observed with various extraction methods *.

method	pH	corynoxine (1)	rhynchophylline (2)	isorhynchophylline (3)	isocorynoxine (4)
A	5.0±0.2	117.5±15.6	91.8±10.3	43.3±11.3	53.7±10.2
B	4.8±0.2	113.6±14.2	94.1±11.7	31.4±11.0	37.6±10.1
C	4.5±0.3	79.4±16.3	72.6±12.8	22.2±7.7	28.5±7.4

* Each alkaloid content [μg / mL (extract)], values are mean ± S.D.

という煎出方法を示している。このことは田代らが指摘する¹¹⁾、無機塩類の緩衝作用による pH の極端な低下の防止とも理解できる。

そこでまず、各構成生薬の pH を測定した (Table 2)。半夏、麦門冬、生姜は pH が 4.3 ~ 4.5 であり、釣藤鈎を含めたその他の生薬も pH は 5 ~ 6 付近であった。唯一、石膏は pH 6.7 前後であり、抽出に使用した水の pH を考慮すると弱アルカリ性と考えられた。そこで実験の部に示す A ~ C 法の 3 通りでの水煎抽出を行い、それぞれの煎液の pH とアルカロイド成分含量を測定した (Table 3)。A、B および C 法により得られた煎液の pH は、それぞれ 5.0、4.8 および 4.5 であり、石膏を抜いた C 法が pH が最も低かった。アルカロイド成分含量は、A 法および B 法と C 法の比較において、C 法の場合は A 法、B 法に

比べ、4 成分ともに含量が少なかった。一方、A 法と B 法の比較では、**1** と **2** の含量には差が認められなかったが、**3** と **4** の含量が B 法の場合は A 法の場合の 70 ~ 73 % 程度であった。石膏を除いた C 法が A および B 法に比べて 4 成分の含量が少なかったことから、石膏がアルカロイド成分の抽出効率を上げていることが示唆された。さらに A 法と B 法の **3** と **4** の含量の差と、単味抽出の実験結果を考慮すれば、煎液の pH が酸性であることに起因するアルカロイド成分の変化を石膏が抑えることが示唆された。

謝辞：本研究にあたり、貴重な御助言を頂きました富山医科薬科大学寺沢捷年教授に深謝いたします。

引用文献

- 1) 榑原巖, 高橋宏之, 寺林進, 久保正良, 樋口正視, 岡田稔, 程必強, 赤小江, 舒光明, 黃衡, 植研誌, **74** (1), 42 (1999).
- 2) 榑原巖, 高橋宏之, 寺林進, 讓原光利, 久保正良, 樋口正視, 石毛敦, 小松靖弘, 丸野政雄, 岡田稔, *Nat. Med.*, **52** (4) 353 (1998).
- 3) 榑原巖, 高橋宏之, 讓原光利, 加藤孝之, 久保正良, 林紘司, 石毛敦, 雨谷榮, 岡田稔, 丸野政雄, *Nat. Med.*, **51**, 79 (1997).
- 4) 江秦著, "図註本草綱目求真", 7 卷, 4.
- 5) 江昂著, "本草備要増訂版", 日本漢方振興会, p.126 (1986).
- 6) 汪訊著, "本草述鉤元", 卷十一, 蔓草部, 212.
- 7) 小学館編, "中藥大事典", 上海化学技術出版社, 第 2 卷, p.737 (1983).
- 8) Y. Ban, M. Seto and T. Oishi, *Chem. Pharm. Bull.*, **23** (11), 2605 (1975).
- 9) I. Sakakibara, H. Takahashi, S. Terabayashi, M. Yuzurihara, M. Kubo, A. Ishige, M. Higuchi, Y. Komatsu, M. Okada, M. Maruno, C. Biqiang and H. X. Jiang, *Phytomedicine*, **5** (2), 83 (1998).
- 10) 神戸中医学研究会編著, "中医処方解説", 医歯薬出版, p. 394 (1994).
- 11) 日本病薬剤師会監修, "漢方製剤の知識 (XIII)", 薬事新報社, p. 167 (1996).