釣藤鈎煎出に関する基礎的研究

——煎出エキスのTLCパターン——

吉崎 文彦*, 寺沢 則子*, 久道 周次*

Studies on the Decocting of
Uncariae Ramulus et Uncus

——TLC-Profiles of Decocted Extracts——

Fumihiko YOSHIKAZAKI, Noriko TERASAWA
and Shuji HISAMICHI

Summary The decocted extract of *Uncariae Ramulus et Uncus*, for which prolonged boiling is presumed to reduce its activities, was extracted with *n*-hexane-chloroform (5 : 1) and methanol consecutively. The patterns of each organic solvent extract were analysed with thin-layer chromatography (TLC) by several solvent systems using the Dual-wavelength TLC Scanner. No clear difference in the patterns was evident in any of the 10—120 min decocted extracts.

The comparison of patterns of the chromatograms however revealed some new informations.

要旨 長時間煎じていると活性が失われるといわれている釣藤鈎の煎出エキスを、*n*-ヘキサノンクロロホルム (5 : 1)、メタノールで順次抽出した。それぞれの抽出エキスについて数種類の展開溶媒を用いた薄層クロマトグラフィーを行い、二波長クロマトスキャナによるパターンを比較検討したが、10分から120分の煎出エキスについてははっきりした変化は確認できなかった。

そのほか2, 3の新しい知見が、クロマトグラムのパターンを比較することにより、得られた。

漢方薬中の成分の煎出の過程における変化の有無を追求することは興味深いことである。煎じすぎると効力がなくなる場合もなにかが変化していると考えられ、これにはよく知られているものとして大黃があり、有効成分の *sennoside* 類が50℃以上で変化する¹⁾ため、3時間の煎出で失活するとされている²⁾。そのほか試みに、中国広東省立中山医学院の編による『中薬臨床応用』³⁾をみると、経験的に長時間煎じると効力がなくなるものとして穀芽、釣藤鈎、白芥子、番瀉葉および雷丸などがあげられ、杏

仁などもこれに近い。このうち、番瀉葉も *senno-side* 類の変化⁴⁾が、白芥子は *sinalbin* が、杏仁については *amygdarin* がそれぞれ関係しているとされるが、その他のものの原因については不明である。そこで今回、日本でも使用量が多く、臨床経験的にも不安が指摘されている釣藤鈎をとりあげ、基礎的検索として薄層クロマトグラフィー (以下TLC) による二波長クロマトスキャナを用いたパターン分析を試みることにした。

釣藤鈎については降圧作用の本体としてアルカロ

*薬, 東北薬科大学, 宮城。*Pharmacist, Tohoku College of Pharmacy, Miyagi.

イドがあげられているが⁵⁾⁶⁾、『中薬臨床応用』によると20分以上の煮沸でその作用が低下するという。有効成分が煎出の過程で変化した場合、それがTLC上のパターンの変化になってあらわれるかどうか検討してみた。

実験方法

生薬材料 釣藤鈎は中井広進堂(神戸)より購入した中国産刻みのものを用いた。

試料の調整 釣藤鈎3gに精製水60mlを加え、マントルヒーターで加熱して10分から120分までの各時間還流する。生薬をガーゼで温時濾別し、濾液はただちに凍結乾燥する。エキ스는n-ヘキサン-クロロホルム(5:1)、次いでメタノール各60mlで順に室温にて18時間攪拌して抽出、抽出液を濃縮乾燥する。それぞれに重量の30倍のクロロホルムあるいはメタノールを加えて溶かし、TLCに供した。

薄層クロマトグラフィーの条件 TLCプレートはMerck製のシリカゲル60F₂₅₄(20×20cm, 層厚0.25mm)。展開溶媒をクロロホルム-n-ヘキサン-

ジエチルアミン(10:10:1)、酢酸エチル、クロロホルム-メタノール(9:1)~(1:1)とし、調整した試料20μlを3cm間隔でスポットして12cm展開。風乾後、島津製の二波長クロマトスキャナCS-910を用いて測定、得られたクロマトグラムのパターンを観察比較した。反射法、二波長ジグザグスキャン(λ_R :370nm, λ_S :255nm)、スリット幅1.25×1.25mm、ジグザグ幅3cm、ジグザグスピード10mm/min、チャートスピード10mm/min。

結果および考察

パターン分析の意義についてはすでに平賀らによって述べられている⁷⁾ところであるが、今回はそのパターンの変化から含有成分の変化を推察できるか検討した。

生薬の煎出は一般に20~30倍の分量の水で行われるが、ここでは単味であることも考慮して20倍とした。冷却器をつけた抽出の場合、溶出量は水量にあまり左右されないといわれており⁸⁾、本実験においても60mlの水で還流することで充分と思われる。各

図1 Recovery of Extract from Uncariae Ramulus et Uncus

○=weight of decocted extract

●=weight of methanol extract of decocted extract

* : mg/3g of crude drug

時間における煎出エキスの量は図1に示すとおりで、120分後ではほぼ一定になる、このエキスをさらに有機溶媒で順次抽出した場合、メタノールでの溶出量は図1に示されているごとく時間とともに増加するが、*n*-ヘキサン-クロロホルム (5:1) では3gあたり平均1.6mgから2.7mgの間でバラつきがあった。

n-ヘキサン-クロロホルムエキスのTLCパターンを図2に示す。*n*-ヘキサン-クロロホルム-ジエチルアミン (10:10:1) で展開した場合、煎出エキスのパターンは10分から120分までの加熱時間で常に一定で、aからkの各ピークがすべて認められた。原料生薬を同様に抽出して得たエキスのパターンはかなり異なった様相を示しており、特に煎出エキスで顕著だったa, b, cの各ピークがほとんど消失している。また、酢酸エチルで展開したもので、煎出エキスでは相対的な高さにバラつきがみられるもののl~qの各ピークが常にみられた

のに対し、原料生薬ではlとmのピークのみがみられ、他には顕著なピークがほとんどなく、大きな違いが認められた。

メタノールエキスのTLCパターンの一部は図3に示すとおりである。煎出エキスと原料生薬とでは各展開条件において、微細な違いはあるものの似かよったパターンを示している。*n*-ヘキサン-クロロホルム-ジエチルアミン (10:10:1) にて展開したものではa~d 4つのピークが特徴的であるが、すでに釣藤鈎のメタノールエキスをクロロホルム-ジエチルアミン (9:1) で展開するとアルカロイドのスポットが4つ認められるといわれており⁹⁾、ここでも標品と比較したところaはgeissoshizine methyl ether, bはhirsuteineとhirsutine, cはisorhynchophylline, dはrhynchophyllineとcorynoxineの各アルカロイドにそれぞれ対応した。これらアルカロイドの組成パターンは10分~120分の煎出で変化が認められなかった。またクロロホル

図2 TLC-Profiles of *n*-Hexane-Chloroform Extracts

A: 20min decocted extract of *Uncariae Ramulus et Uncus*

B: direct extraction from crude drug

図3 TLC-Profiles of Methanol Extracts

A: 20 min decocted extract of *Uncariae Ramulus et Uncus*

B: direct extraction from crude drug

ムーメタノールを(9:1)から(1:1)まで変化させてそれぞれ展開し、各時間煎出エキスのパターンに違いが生じるか検討したが、著しい違いは認められず、わずかに(8:2)においてeのピークが120分後に認めにくくなるのみであった。

展開溶媒 *n*-ヘキサン-クロロホルム-ジエチルアミン(10:10:1)のクロマトグラムにおいてメタノールエキ스로確認されたa, b, cの各アルカロイドは、*n*-ヘキサン-クロロホルムエキスにおけるa, b, cの各ピークに対応しており、これらは原料生薬ではほとんど抽出されないことがわかる。また、展開溶媒酢酸エチルにおいてはアルカロイド以外の成分に基づくと思われるlとmの2つのピークが煎出エキスであるか否かにかかわらず常に認められ、この2つの点に着目してパターンを比較すれば、釣藤鈎の確認とそれが煎出エキスであるか生薬そのものであるかを推定するのに利用できるのではないと思われる。

今回は、煎出時間による特定ピークの消長を期待したわけであるがその変化は明瞭でなく、釣藤鈎の主アルカロイドなど20分以上煎出しても組成パターンは同じであることがわかった。さらに量的な面も

含めさまざまな条件による検討が必要であり、今後ともデータの蓄積が望まれるところである。

謝辞 貴重な釣藤鈎含有各種アルカロイドを恵与下さった、東北大学薬学部曳野宏教授および遠藤勝也助教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 大島由喜夫, 他: 生薬学雑誌, 37, 217 (1983)
- 2) 山内和子, 他: 生薬学雑誌, 22, 147 (1968)
- 3) 神戸中医研訳: 漢薬の臨床応用, 医歯薬出版社 (1979)
- 4) J. W. Fairbairn: *J. Pharm. Pharmacol.*, 1, 683 (1949)
- 5) 薄井克介: 信州医学雑誌, 8, 1458 (1959)
- 6) M. Harada, et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, 22, 1372 (1974); *ibid.*, 27, 1069 (1979)
- 7) 平賀敬夫, 他: 生薬学雑誌, 33, 38 (1979)
- 8) 高石清和, 他: 生薬学雑誌, 36, 245 (1982)
- 9) 中原道明, 他: 第10回生薬分析討論会講演要旨集, p. 31 (1981)

(1984年4月17日受付)