附子の修治に伴うアルカロイド組成と急性毒性の変化¹⁾

ヒキノヒロシ, 山田千鶴子, 中村和子, 佐藤 博, 大泉 康, 遠藤勝也
東北大学薬学部²⁾

Change of Alkaloid Composition and Acute Toxicity of *Aconitum*
Roots during Processing¹⁾

HIROSHI HIKINO, CHIZUKO YAMADA, KAZUKO NAKAMURA, HIROSHI SATO,
YASUSHI OHIZUMI and KATSUYA ENDO
Pharmaceutical Institute, Tohoku University²⁾

(Received August 7, 1976)

Raw tubers of *Aconitum japonicum* and *A. carmichaeli*, which are the sources of processed aconite roots used widely as an Oriental medicine in Japan, have been assayed for the alkaloid content and composition. They have been found to contain mesaconitine or hypaconitine as the main poisonous principle and to be highly toxic. When they are processed at 120° for 40 min (to Kakō-bushi), a greater part of the poisonous aconitines is hydrolyzed into the much less poisonous benzoyleaconines and, together with the postulated co-occurrence of substances which reduce the toxicity of the aconitines, the tubers become essentially innocuous. It has been revealed that the processed aconite roots (Shirakawa-bushi), prepared by a variety of procedures (immersion into salt water, coating with lime or ash, and/or some heat treatment), show variation in the alkaloid content and composition, and still exhibit considerable toxicity. The processed aconite roots (Hō-bushi), prepared by immersion into salt water and heat treatment, have also been shown to be innocuous, since the poisonous alkaloids represented by hypaconitine have been largely converted into benzoyleaconines and further the alkaloid content has been significantly reduced. It is quite probable that, in the processed aconite roots (Hō-bushi), not only the poisonous alkaloids but also other active principles have been much decreased owing to chemical degradation by heat treatment as well as by physical loss due to extraction during processing, which is to be clarified by future pharmacological examinations. It has been shown that, when raw tubers are heated at 100° in the presence of water (conditions employed for decoction), the content of the aconitines is gradually diminished and the toxicity reduced rapidly, a fact which confirms that raw tubers become far less toxic by means of sufficient heating under these conditions.

Keywords—aconite roots (tubers); aconitines; *Aconitum carmichaeli*; *Aconitum japonicum*; alkaloid content and composition; benzoyleaconines; detoxication; processing; toxicity

漢薬附子は中国、日本産のキンボウゲ科トリカブト属 (*Aconitum*) 植物の塊根から得られる生薬で、古来漢方の薬物療法においては虚寒証の患者の衰えた新陳代謝機能を回復させる効があるとされ、疼痛、厥冷、麻痺、弛緩などの症候に選択的に用いられる重要な薬物である。

一般にトリカブト根は猛毒性の aconitine 系アルカロイドを含むが原植物の種類、産地、採集時期などによってその質的、量的変化が著しいため、生薬の毒性にも大きな変動がある。しかも附子は漢方の特徴である証にしたがって処方決定するという原則が最も厳しく要求される薬物であって、患者の体質、病態によって奏効が異なるばかりでなく、生附子を使用して適用を誤った場合には不測の急性中毒を起こすことが経験的に知られている。そこで中国および日本においては生附子に種々の修治を施して減毒することにより治療効果を発揮させる一方事故を防ぐようにされてきている。現在日本の生薬市場で最もふつうに取り引きされている中国製の修治附

1) 附子の薬学的研究第1報。本報文は東洋薬物の有効性に関する研究の第1報である。

2) Location: Aoba-yama, Sendai.

子は炮附子（卦片）であって、その調製には多くの工程と日数を要する。³⁾ 最近は卦片に類似の修治附子が香港において調製され日本に輸入されている。日本において古来有名な白河附子も一種の修治附子であるが品質が一定せず、薬物としての安全性に欠けていたといわれる。日本では最近特殊な加熱処理を施して調製したいわゆる加工附子（末）が広く用いられている。

トリカブト属植物の成分としては前世紀における aconitine の分離以来、現在までに数十種のアルカロイドが単離されている。日本産トリカブト根のアルカロイドについては真島、杉野目、田村、森尾らの研究に続く落合、岡本らの研究⁴⁾ によってその主要なものはほぼ明らかにされている。トリカブト属アルカロイドは aconitine を代表とする猛毒性アルカロイドと atisine を代表とする低毒性アルカロイドに大別される。附子を実用する場合に毒性の点で問題となる aconitine 類はジエステル型アルカロイドに属し、加水分解によりアシル基が段階的に脱離することによって著しく毒性を失うことはよく知られている。古来行われてきた附子のいろいろな修治も結果的にはこれらの猛毒性ジエステル型アルカロイドの浸漬による除去かあるいはその加水分解の促進によって減毒できることを経験的に知って行われるようになったものと考えられる。

さきにも述べたように附子は漢方の臨床上広く用いられている薬物であるから、附子の薬効およびその有効成分、修治による成分の変化ならびにその薬効の変化との関連性などの解明はいずれもその治療的応用に当たっての極めて重要な問題である。ところが附子の薬理作用については黒田⁵⁾、矢数⁶⁾ らが若干の研究を行なったにすぎず、附子の漢方上でいわれている薬効のうちで薬理学的に裏付けられているものはほとんどないといっても過言ではない。また aconitine 系アルカロイドの薬理学的、毒性学的研究は多くの研究者たちによって行なわれ、その薬理作用、毒性はかなり明らかとなっているが、⁷⁾ 現在までのところそれらが一般にいわれている附子の薬効にどのように寄与しているかはつまびらかでない。なお有効成分の一つと考えられるものとしては小菅ら⁸⁾ の単離した強心作用をもつ (±)-demethylcoclaurine (higenamine) が知られている。さらに生附子を修治することによって一部の含有アルカロイドが加水分解されることが推定されており、⁹⁾ また一部の薬理作用に変化のあることは認められているが、^{5-7, 10)} 両者の関連性は確立されていない。結局附子を実用とする場合に問題となる諸点はほとんど未解決のまま放置されているのが現状であった。本来生薬の品質は究極的にはその薬効によって評価すべきものではあるが、本報においてはまず附子についての上記の諸問題の解明の第一歩として、現在日本で広く用いられている各種の附子について含有 aconitine 系アルカロイドおよびそれらの加水分解物の定性定量ならびにその毒性の測定、さらには修治によるそれらの変化について検討したのでその結果を記録する。

まず新潟県産（野生）ヤマトリカブト *Aconitum japonicum*, 日本各地産（栽培）カラトリカブト *A. carmichaeli*, 中国産（栽培）カラトリカブト *A. carmichaeli* の生附子およびそれらを 120° で 40 分間湿熱処理して調製した加工附子、上記ヤマトリカブトの生附子を食塩水に浸漬後消石灰をまぶして調製した白河附子、産地、原植物、修治方法不明の白河附子、ならびに中国産および香港産の炮附子のそれぞれ乾燥粉末を試料とした。生附子はふつう 7—11% の水分を含み、加工附子の含水率はこれより若干小さかった。炮附子の含水率はかなり小さかった。これらの試料のうちいくつかのものについてそれぞれアンモニアルカリ性下エーテルで抽出後、塩酸で滴定して総アルカロイド含量を定量した (Table I; No. 1, 2, 7, 8, 17, 18)。なお benzoylaconine 類や aconine 類はエーテルに溶解難いという知見に基づき、クロロホルムを用いて同様の定量を試みたが、溶媒の違いによる定量値の相違は測定誤差の範囲を出ていない (Table I; No. 1, 2, 7, 8, 17, 18)。従って以後の試料の定量はエーテル抽出のみによって行なった (Table I)。

その結果から、1) 日本産のものは野生品、栽培品とも生附子の総アルカロイド含量の変動は比較的少なく、し

- 3) 朱 蔚華, 朱 兆儀, 中薬通報, 4, 314 (1958).
- 4) 岡本敏彦, 化学と工業, 14, 792 (1961); 落合英二, 日本東洋医学会誌, 19, 51 (1968).
- 5) 黒田朝太郎, 東医大誌, 9, 1 (1951).
- 6) 矢数四郎, 日薬理誌, 54, 880 (1958); *idem, ibid.*, 54, 895 (1958); *idem, ibid.*, 54, 906 (1958).
- 7) 後藤坦久, 東医大誌, 13, 296 (1955); *idem*, 日薬理誌, 52, 496 (1956); *idem, ibid.*, 52, 511 (1956).
- 8) T. Kosuge, M. Yokota, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 24, 176 (1976).
- 9) 高橋真太郎, 西野美都子, 日本東洋医学会誌, 12, 51 (1961).
- 10) 羽野 寿, 堀内正美, 高橋真太郎, 西野美都子, 日本薬学会近畿支部 2 月例会, 大阪, 1962 年 2 月〔薬学研究, 34, 499 (1962)〕.

TABLE I. Alkaloid Content and Composition of *Aconitum* Roots

Sample No.	Material				Total alkaloid ^{a)} (%)		Main alkaloids ^{b)} (%)			
	Original plant	Location	Year	Preparation	Ext. with ether	Ext. with chloroform	HA	MA + AC	BH	BM + BA
1	<i>A. japonicum</i>	Niigata	1973	raw	1.17	1.29	0.09	0.26	0.01	0.11
2	<i>A. japonicum</i>	Niigata	1973	processed ^{c)}	0.90	0.90	0.01	0.03	0.04	0.23
3	<i>A. japonicum</i>	Niigata	1973	processed ^{d)}	0.82		0.04	0.26	<0.01	0.11
4	<i>A. japonicum</i>	Niigata	1974	raw	0.97		0.04	0.22	0.02	0.11
5	<i>A. japonicum</i>	Niigata	1974	processed ^{e)}	0.80		<0.01	0.03	0.04	0.17
6	<i>A. sp.</i>			processed ^{d)}	0.39		0.02	0.04	0.02	0.07
7	<i>A. carmichaeli</i>	Hokkaido	1973	raw	1.10	1.07	0.05	0.14	0.02	0.04
8	<i>A. carmichaeli</i>	Hokkaido	1973	processed ^{e)}	0.87	0.88	0.01	0.03	0.03	0.15
9	<i>A. carmichaeli</i>	Hokkaido	1975	raw	1.04		0.07	0.16	0.01	0.01
10	<i>A. carmichaeli</i>	Hokkaido	1975	processed ^{e)}	0.65		0.01	0.03	0.04	0.12
11	<i>A. carmichaeli</i>	Fukushima	1974	raw	1.09		0.03	0.17	0.01	0.03
12	<i>A. carmichaeli</i>	Fukushima	1974	processed ^{e)}	0.88		0.02	0.04	0.04	0.07
13	<i>A. carmichaeli</i>	Gumma	1974	raw	1.32		0.04	0.13	0.02	0.05
14	<i>A. carmichaeli</i>	Gumma	1974	processed ^{e)}	0.90		0.02	0.02	0.07	0.10
15	<i>A. carmichaeli</i>	Hyogo	1974	raw	1.21		0.06	0.23	0.03	0.05
16	<i>A. carmichaeli</i>	Hyogo	1974	processed ^{e)}	0.88		0.01	0.06	0.05	0.20
17	<i>A. carmichaeli</i>	China		raw	1.56	1.43	0.11	0.06	0.02	0.04
18	<i>A. carmichaeli</i>	China		processed ^{e)}	1.29	1.34	0.04	<0.01	0.09	0.08
19	<i>A. carmichaeli</i>	China		raw	0.82		0.05	0.02	0.01	0.02
20	<i>A. carmichaeli</i>	China		raw	1.06		0.11	0.05	0.05	0.03
21	<i>A. carmichaeli</i>	China		processed ^{e)}	0.14		0.01	0.01	0.01	0.03
22	<i>A. carmichaeli</i>	China		processed ^{e)}	0.16		0.01	<0.01	0.01	0.02
23	<i>A. carmichaeli</i>	China		processed ^{e)}	0.12		0.01	<0.01	0.01	0.03
24	<i>A. carmichaeli</i>	China		processed ^{f)}	0.21		0.02	0.01	0.02	0.02
25	<i>A. carmichaeli</i>	China		processed ^{f)}	0.22		0.02	0.01	0.02	0.03
26	<i>A. carmichaeli</i>	China		processed ^{g)}	0.29		0.02	0.02	<0.01	0.01

a) calculated as aconitine b) HA: hypaconitine, MA: mesaconitine, AC: aconitine, BH: benzoylhypaconine, BM: benzoylmesaconine, BA: benzoylaconine c) Kakō-bushi (Japan) d) Shirakawa-bushi (Japan)
e) Hō-bushi (China) f) Hō-bushi (Hong Kong) g) En-bushi (China)

たがって加工附子の総アルカロイド含量の変動も少ない。2) 中国産のものは生附子の総アルカロイド含量の変動は比較的大きい。3) 生附子を 120° で 40 分の湿熱処理を施し、加工附子とすることによっても総アルカロイド含量で 1/5—1/3 程度の損失がみられる。4) 生附子を食塩水に浸漬後消石灰で処理して白河附子に修治することによって総アルカロイド含量は若干減少している。5) 中国、香港で調製される炮附子、塩附子については、調製に用いた生附子と直接比較したわけではないが中国産の生附子の定量値から推定して、総アルカロイド含量からみるとかなりの成分が損失されていることがわかった。

つぎに附子中のアルカロイド成分の組成を調べ、生乾品と修治品の比較を行なった。従来附子中のアルカロイド特に aconitine とその分解産物である benzoylaconine, aconine との分離定量法としては生物学的定量法,¹¹⁾ 薄層クロマトグラフィー,¹²⁾ マルチバッファーパーパークロマトグラフィー,¹³⁾ ガスクロマトグラフィー^{14,15)} など

11) "The National Formulary," 10 th ed., Washington, 1955, p. 24.

12) 岡本敏彦, 夏目充隆, 全田 浩, 小泉 徹, 鳥越泰義, 梶沢正子, 第 6 回日本薬学会関東支部大会要旨, 1962, p. 57.

13) 吉田初代, 桑野重昭, 田村多喜子, 松永善子, 高木修造, 薬誌, 85, 709 (1965).

14) K.D. Parker, C.R. Fontan, P.L. Kirk, *Annal. Chem.*, 35, 356 (1963).

15) 高木修造, 加多木豊之, 竹林圭子, 薬誌, 88, 1242 (1968).

が報告されている。本研究では高木ら¹⁵⁾ のガスクロマトグラフィーによる方法を改良して分析を行なった。すなわち標品のアルカロイドおよび各種附子の塩基性画分はすべてトリメチルシリル誘導体とした。液相としては 3% OV-1, 1% XE-61, 1.5% SE-30 などを検討し、最も分離能の良い 3% OV-1 を採用した。この場合も aconitine と mesaconitine および benzoylaconine と benzoylmesaconine が共存する場合両者によるピークが事実上分離しないので、ガスクロマトグラフィー-質量分析法および薄層クロマトグラフィーを併用して両者の含量比を検討した。各種附子の塩基性画分のガスクロマトグラム上のピーク面積から算出した各アルカロイドの含量を Table I に示す。その結果以下のことが結論される。すなわち 1) 新潟県産 (野生) 生附子は mesaconitine を主成分とし、^{4,16)} aconitine, hypaconitine ならびにそれらの脱アセチル体が共存する。2) 日本各地産 (栽培) 生附子と中国産 (栽培) 生附子は同一の原植物を基源とするにもかかわらず前者の組成はむしろ新潟県産 (野生) のそれに酷似して mesaconitine が主成分であり、後者では hypaconitine が主成分で、¹⁷⁾ mesaconitine, aconitine ならびにそれらの脱アセチル体が共存する。3) 生附子中の aconitine 類は 120° で 40 分間湿熱処理して加工附子に修治されることによってその大部分が benzoylaconine 類に加水分解されるが、aconine 類にまではほとんど移行しない。しかしなお若干の aconitine 類は未変化のまま残存している。このことは加工附子の毒性に関連して重要な問題と考えられる。しかし加工附子の急性毒性の結果 (後述) から判断すると加工附子の中にこれだけの量の aconitine 類が残存しているとは考えられなかったため、これらのピークについてガスクロマトグラフィー-質量分析法による結果を詳しく検討したところ、やはりこれらのピークは aconitine 系アルカロイドによるものであることが明らかとなり、それ以外の物質にも起因しているという証拠は得られなかった。従って 120° で 40 分間湿熱処理するという条件下でも aconitine 類の加水分解は完全ではなく、なお若干の aconitine 類が残存することが確認された。このことは aconitine 類を同様の条件下で処理するとほとんど (90% 以上) benzoylaconine 類にまで加水分解されるという事実と比べて興味深い。Aconitine 類が生薬中に存在する場合は何らかの原因によって安定化され、その加水分解が抑制されるものと考えられる。4) 生附子を食塩水の浸漬後消石灰で処理して白河附子に調製することによってアルカロイド組成は変化していない。産地、原植物、修治方法不明の白河附子では、総アルカロイド含量が比較的低いことおよび aconitine 類の含量に比して benzoylaconine 類の含量の方が高いことから推定して、浸漬処理 (成分の損失) および何らかの加熱処理 (aconitine 類の加水分解) が施されていると判断される。5) 中国および香港製の炮附子の組成はいずれも酷似しており、benzoylhypaconine および benzoylmesaconine の含量が大きい hypaconitine が benzoylhypaconine に匹敵するほどなお含まれていることが注目される。このことは 100° での加熱の条件下では hypaconitine は mesaconitine と比較して加水分解されにくいという事実 (後述) と密接な関係があると思われる。供試した炮附子類の原料生薬を入手できなかったため直接比較することはできないが、これらの炮子類のアルカロイドの含量、組成から判断して、炮附子を調製する条件下では加熱による aconitine 類の化学的分解はより不完全であり、一方浸漬による物理的な成分損失はかなり著しいと推定される。5) 塩附子の成分組成は中国産の生附子のそれに極めてよく似ており、ただ各成分の含量は全体にかなり小さくなっている。このことは塩附子調製の条件下では aconitine 類の化学的分解は起こっておらず、塩水浸漬による成分の物理的損失のみが起きていることを示している。

以上附子の修治によるアルカロイドの含量および組成の変化を検討したが、つぎにその変化が附子の毒性の減弱にどのような関連をもつかを検討するために、各種附子のマウスにおける急性毒性を測定した。投与に当たっては、附子の毒性の主体をなす aconitine 類やその加水分解産物はメタノールで抽出されるので、メタノールエキスをを用いた。各附子のマウスにおける急性毒性は Table II に示す。

Aconitine の中毒症状としては黒田⁵⁾ の名付けたいわゆる「あ症状」すなわち、呼吸促進、口泡をきたすほどの激しい唾液分泌促進、四肢とくに後肢失調、咀嚼ないし開口運動、および嘔吐様運動などが著明に観察される。さらに眼球突出、下痢便、排尿がみられ、泣鳴、間代性けいれんを経て跳躍転倒して死亡する。腹腔内注射では投与直後によりり運動も観察される。このような中毒症状は mesaconitine, hypaconitine においても認められ、各種生附子においても同様に発現した。しかし加工附子では「あ症状」、眼球突出、間代性けいれんなどの諸症状

16) R. Majima, S. Morio, *Ann. Chem.*, **476**, 203 (1929).

17) 岩佐準三, 成戸俊介, 薬誌, **86**, 585 (1966).

TABLE II. Acute Toxicity of *Aconitum* Roots in Mice

Sample No.	Material				LD ₅₀ (g crude drug/kg) ^{a)}			
	Original plant	Location	Year	Preparation	<i>p.o.</i>	<i>s.c.</i>	<i>i.p.</i>	<i>i.v.</i>
1	<i>A. japonicum</i>	Niigata	1973	raw	0.54	0.12	0.11	0.06*
2	<i>A. japonicum</i>	Niigata	1973	processed ^{b)}	195*	23.1	13.9	4.9*
3	<i>A. japonicum</i>	Niigata	1973	processed ^{c)}	1.8*		1.1*	
6	<i>A. sp.</i>			processed ^{c)}	13*		2.2*	
7	<i>A. carmichaeli</i>	Hokkaido	1973	raw	1.61	0.20	0.19	0.14*
8	<i>A. carmichaeli</i>	Hokkaido	1973	processed ^{b)}	116*	10.9	9.17	1.3*
17	<i>A. carmichaeli</i>	China		raw	5.49	0.57	0.71	0.49*
18	<i>A. carmichaeli</i>	China		processed ^{b)}	161*	11.9	11.5	2.8*
24	<i>A. carmichaeli</i>	China		processed ^{d)}	>290*	146	61.3	16*

a) LD₅₀ values were determined by the Litchfield-Wilcoxon method except for the asterisked values which were calculated by the up-and-down method.

b) Kakō-bushi (Japan) c) Shirakawa-bushi (Japan) d) Hō-bushi (Hong Kong)

が軽減し、逆に後肢失調は増強される。炮附子では「あ症状」はほとんど消失し、代りに運動失調が強まり、後肢のみならず前肢も麻痺する。さらに下痢は強まるが、眼球突出、けいれんなどはかなり弱まる。しかし眼に対する障害（眼瞼の塞がり、目やにの出現）が他の附子にくらべて極めて強い。また他の附子に比して作用発現が遅く、回復するまでの時間も長いのが特徴であった。さて Table II から明らかなように生附子には強い毒性がある。生附子に 120° で 40 分の湿熱処理を施して加工附子とすることによって急性毒性は 1/5—1/360、経口投与のみに限定すると 1/30—1/360 に減少し、生薬の毒性は極めて低くなることが認められ、減毒という点からすると目的は十分達成されている。各種附子の急性毒性に関して最も顕著な事実、加工附子がおお若干の aconitine 類を含むにもかかわらず、それらの各アルカロイドの含量と急性毒性（例えば *i.p.* LD₅₀ は mesaconitine 0.213 mg/kg, aconitine 0.308 mg/kg, hyaconitine 1.10 mg/kg¹⁸⁾）から算出される生薬の急性毒性の計算値より実際の加工附子の急性毒性の方がはるかに低いことである。これは附子の中に aconitine 類に対してその毒性を減弱させる作用をもつ物質が存在することを示すものと考えられる。生薬ではしばしば反対の薬理作用をもつ成分が共存することが指摘されているが、附子もその一例の可能性があり、興味深い。生附子を食塩水に浸漬後消石灰で処理して調製した白河附子では、もとの生附子よりも毒性は若干減少しているが、なお強い毒性を有しており、このような処理では十分な減毒化を行なうことはできないことを示している。またたまたま入手した白河附子は浸漬処理以外に何らかの加熱処理が施されていると推定されるが、なおかなり強い毒性を有している。一方炮附子の毒性は極めて低いことが認められ、無毒化という点にのみ着目すればこれも目的は達成されていると考えられる。

最後に附子の減毒という点に関して、附子を水と煮沸すると減毒されるということが一般にいわれている。この減毒過程を明らかにするために生附子（乾燥品）をそのまま、または水の共存下で 100° に加熱した際のアルカロイド組成と急性毒性の変化を検討した (Table III)。生附子をそのまま、または 20% 量の水の共存下で加熱すると aconitine 類は徐々に加水分解されて 4 時間の加熱後ではその含量は数分の一に減少し、それに対応して benzoylaconine 類の含量は増加する（なおこの際 mesaconitine に比して hyaconitine の方が加水分解され難いことが注目される）。これと並行して急性毒性も徐々に低下し、4 時間後には約十数分の一となる。生附子を充分量の水の共存下で加熱すると、aconitine 類の減少と benzoylaconine 類の増加はさきの条件下での加熱の結果と本質的な差は認められなかったが、急性毒性の減少は著しく 4 時間後には数十分の一以下となった。このことは附子を煎じる場合のように大量の水と沸騰加熱することを十分長時間行なえば、実用上問題とならない程度に無毒化しうることを示している。なおこれらの実験結果からもさきに指摘したように生薬中に残存する aconitine 類の量から算出した急性毒性よりも、生薬の実際の急性毒性の方が小さいことが認められる。とくに生附子を大量の水と 100° に加熱した場合の化学的定量と生物学的定量の結果の相違が著しい。この点の解明は

18) 未発表。

TABLE III. Change of Alkaloid Composition and Acute Toxicity of *Aconitum* Roots during Heating at 100°

	Original plant	Heating period (hr)	Main alkaloids ^{a)} (%)				LD ₅₀ <i>i.p.</i> (g crude drug/kg) ^{b)}
			HA	MA+AC	BH	BM+BA	
Expt. 1 ^{c)}	<i>A. japonicum</i>	0	0.11	0.22	0.03	0.06	0.09
		1	0.12	0.16	0.04	0.08	0.18
		2	0.11	0.13	0.05	0.10	0.51
		4	0.10	0.07	0.09	0.16	0.99
Expt. 2 ^{d)}	<i>A. japonicum</i>	0	0.11	0.22	0.03	0.06	0.09
		1	0.11	0.13	0.04	0.07	0.21
		2	0.11	0.11	0.06	0.15	0.68
		4	0.10	0.09	0.08	0.16	1.3
Expt. 3 ^{e)}	<i>A. japonicum</i>	0	0.12	0.19	0.04	0.06	0.11
		0.5	0.10	0.10	0.04	0.15	1.1
		1	0.09	0.10	0.06	0.20	1.6
		2	0.07	0.08	0.07	0.24	>10
		4	0.06	0.05	0.08	0.25	>10
Expt. 4 ^{e)}	<i>A. carmichaeli</i>	0	0.09	0.12	0.04	0.04	0.18
		0.5	0.09	0.11	0.04	0.08	1.4
		1	0.10	0.11	0.05	0.08	4.2
		2	0.10	0.09	0.04	0.09	7.9
		4	0.06	0.05	0.06	0.11	9.5

a) For the abbreviations of the alkaloids, see Table I.

b) LD₅₀ values were calculated by the up-and-down method.

c) Dried raw roots were heated alone.

d) Dried raw roots were heated with 20% amount of water.

e) Dried raw roots were heated with 4-fold amount of water.

今後に残された問題である。

以上の結果を総合すると現在日本で広く用いられている加工附子の基源植物であるヤマトリカブト *A. japonicum* およびカラトリカブト *A. carmichaeli* の塊根(生附子)は主たる有毒成分として mesaconitine または hypaconitine を含み、極めて有毒であるが、これを 120° で 40 分間湿熱処理して得た加工附子においては、aconitine 類はかなり加水分解されて benzoylaconine 類に変化し、aconitine 類の毒性を減弱すると推定される物質の共存もあって、十分無毒化されていることが明らかとなつた。この加熱処理方法では成分の物理的損失はかなり防がれているが、他の有効成分のうち熱に不安定なものがあれば分解をうけている可能性はある。また一般に白河附子の調製法といわれている生附子の塩水浸漬および消石灰処理では若干の減毒が行なわれるに過ぎないこと、市販の白河附子の一種も、さらに加熱処理が施されているようであるがなおかなり毒性の強いものであったことなどから判断すると、いわゆる白河附子は通説のとおり品質の一定しないものであって、その実用に当たっては十分な配慮が必要と考えられる。炮附子では修治中の加熱処理により有毒成分である hypaconitine などの部分加水分解は同様に起こっているが、別に浸漬処理も行なわれているためアルカロイドとともに他の有効成分もそのかなりの部分が損失されていると考えられる。従って炮附子は確かに無毒化はされているがその有効性には疑問が残る。塩附子は aconitine 類の化学的減毒は施されておらず単に浸漬によって調製されたものであるから、有毒成分の除去と同時に他の有効成分も減少している可能性が強く、有効性に問題があると考えられる。以上各種修治附子の品質についてアルカロイド含量、組成および毒性の面から検討を加えたが、本質的に重要なのはこれら修治附子の薬効であり、これについてはそれぞれの薬理作用の検定の結果にまづところが大い。

実 験 の 部

実験材料 新潟県(野生)ヤマトリカブト *Aconitum japonicum* THUNBERG, 北海道産(栽培), 福島県産(栽培), 群馬県産(栽培), 兵庫県産(栽培) カラトリカブト *A. carmichaeli* DEBEAUX, 中国産(栽培) カラトリカブト *A. carmichaeli* DEBEAUX の生附子およびそれらをオートクレーブ中 120° で 40 分間加熱処理して得た

加工附子, 上記ヤマトリカブト根を飽和食塩水に室温で一週間浸漬後消石灰をまぶして乾燥した白河附子, 産地, 原植物, 修治方法の不明の白河附子, 中国産川附子を中国で修治を施して製した炮附子(卦片)および香港で修治を施して製した炮附子を用いた。いずれの生薬も粉碎し, デシケーター中で乾燥した。

生附子を 100° に加熱する実験では, 1) 乾燥生附子をそのまま, 2) 乾燥生附子に 20% 量の水を加え, または 3) 乾燥生附子末に 4 倍量の水を加え, フラスコ中冷却器をつけてそれぞれ 100° で所定の時間ずつ加熱後冷却, 必要なものは粉碎し, デシケーター中で乾燥した(なおこの場合は少量の試料を別個に採取して処理したため各データ中には当然試料の不均一性による誤差が含まれることが予想される)。以下すべてのデータは乾燥生薬を基準として算出した。

総アルカロイドの定量 乾燥試料約 6 g を精秤し, 100 ml 共栓フラスコに入れ, エーテル 60 ml, 局方アンモニア試液 2.5 ml を加えて 30 分間攪拌した。これに水 2.5 ml を加え強く振り混ぜた後綿栓ろ過し, エーテルを留去, 減圧乾固した。以上の操作を 3 回繰り返した。ただし 2 回目以降は水を加えなかった。また一部の試料についてはエーテルの代りに CHCl_3 を用いて同様の抽出操作を行なった。こうして得られた抽出物に EtOH 5 ml を加え, しばしば振り混ぜながら水浴上で 5 分間加温した。これに新たに煮沸して冷却した水 30 ml を加え, 局方メチルレッド試液 8 滴, 0.1 W/V% EtOH 製メチレンブルー試液 1 滴を加えた後, 無水 Na_2CO_3 で標定した 0.01N HCl で紅紫色を呈するまで滴定した。総アルカロイド含量は aconitine として計算し, 3 回の定量値を平均した。

ガスクロマトグラフィー 乾燥試料約 1 g を精秤し, CHCl_3 10 ml と共に 30 ml 共栓フラスコに入れ, 局方アンモニア試液を数滴加え, 30 分間攪拌後, 綿栓ろ過した。この操作を 8 回行なった後, ろ液を合し減圧乾固した。得られた抽出物約 3 mg を試料管に精秤してとり, 東京化成工業 KK 製 TMS-HT (hexamethyldisilazane, trimethylchlorosilane/anhydr. pyridine) 50 μl を加えて 2 分間振盪後 1—2 時間室温に放置して検液とした。ガスクロマトグラフィーは内径 3 mm, 長さ 1 m のガラスカラムを用い, 充填剤としては西尾工業 KK 製 3% OV-1/chromosorb w Aw-DMCS (80—100 メッシュ) を使用した。カラム温度は 200° から 1 分間につき 2° 昇温させ, 250° で一定とした。検液は 1—2 μl 注入し, 得られたクロマトグラム上の各ピークの面積から各アルカロイドを定量した。

薄層クロマトグラフィー 薄層板は Merck 社製 Aluminium oxid GF_{254} (Typ E) と Kieselgel GF_{254} (Typ 60) をガラス板に 0.25 mm の厚さに塗布し調製した。展開溶媒は AcOEt, CHCl_3 -(CH_3)₂CO (3:2), AcOEt-EtOH (4:1) または CHCl_3 -EtOH-NHET₂ (19:1:1) を用いた。アルカロイドの検出にはドラージェンドルフ試液を噴霧して行なった。

TABLE IV. TLC Behavior of *Aconitum* Alkaloids^{a)}

Absorbent/developing solvent	R _f value ^{b)}									
	AC	DA	MA	HA	BA	BM	BH	AN	MN	HN
Alumina/AcOEt	0.54	0.83	0.43	0.69	0.03	0.03	0.03	~0	~0	~0
Alumina/ CHCl_3 -(CH_3) ₂ CO (3:2)	0.68	0.83	0.61	0.77	0.10 ^{c)}	0.05 ^{c)}	0.04 ^{c)}	~0	~0	~0
Alumina/AcOEt-EtOH (4:1)	0.96	0.98	0.94	0.98	0.64	0.62	0.42	0.02	0.02	0.02
Silica gel/ CHCl_3 -EtOH-NHET ₂ (19:1:1)	~0.99	~0.99	~0.99	~0.99	0.70	0.71	0.73	0.37	0.33	0.38

a) DA: deoxyaconitine, AN: aconine, MN: mesaconine, HN: hyaconine. For the abbreviations of the other alkaloids, see Table I.

b) revealed by Dragendorff reagent c) tailing

急性毒性の測定 乾燥試料に 3 倍量の MeOH を加え, 室温で 1—11 日抽出した。この操作を生附子では 7 回, 加工附子, 白河附子および炮附子では 5 回繰り返した。抽出液は減圧下室温で溶媒を留去し, 生附子および白河附子ではそのまま, 加工附子および炮附子では溶媒が少量となったときに適量のセライトを加え均一化させた後減圧濃縮乾固し, 乾燥した。毒性試験に当たっては加工附子および中国産炮附子については抽出物とセライトの混合物を 70° で最初 EtOH つぎに水で抽出し, 抽出液を約 40° で減圧濃縮後乾燥した。香港産炮附子についても抽出物のセライトとの混合物を同様に抽出, 処理したが得られた抽出物中に大量の NaCl が共存したので 40—50° の EtOH で 3 回, さらに MeOH で 3 回浸出し, 抽出液を約 40° で減圧濃縮後乾燥した。

体重 20 g 前後の dd 系雄性マウスを使用した。各エキ스는経口投与の場合は精製水を, 皮下投与, 腹腔内投与, 静脈内投与の場合は生理食塩液を用いて 3% アラビアゴム懸濁液とし, マウスの体重 10 g 当り 0.1 ml を投与するように調製した。ただし加工附子, 炮附子の経口投与の場合にはエキス 1 g 当り精製水 1 ml の割合で懸濁させ, 体重 10 g 当り 0.1—0.4 ml を投与した。実験中室温は 24±1° に保った。生死の判定は投与 72 時

間後に行ない, Litchfield-Wilcoxon 法¹⁹⁾ (1 群 10 匹, 6 群, 公比 1.05—1.33) または up-and-down 法で LD₅₀ を算出した。

謝辞 本研究にあたり多数の試料を提供された他種々御便宜をはかって下さった三和生薬株式会社, 一部の試料を提供頂いた株式会社栃本天海堂および小太郎漢方製薬株式会社, aconitine 類の標品を御恵与下さった本学理学部 伊東 徹教授, ガスクロマトグラフィー—マススペクトルを測定して頂いた島津製作所に深謝します。

19) J.T. Litchfield, Jr., F. Wilcoxon, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **95**, 131 (1949).