附子の薬理作用¹⁾

ヒキノヒロシ, 佐藤 博, 山田千鶴子, 今野長八, 大泉 康, 遠藤勝也

東北大学薬学部²⁾Pharmacological Actions of *Aconitum* Roots¹⁾HIROSHI HIKINO, HIROSHI SATO, CHIZUKO YAMADA, CHOHACHI KONNO,
YASUSHI OHIZUMI and KATSUYA ENDOPharmaceutical Institute, Tohoku University²⁾

(Received July 14, 1978)

The pharmacological properties of raw *Aconitum* roots from Niigata (1), Hokkaido (2) and China (3) and their processed preparations (4, 5 and 6, respectively) were examined in comparison with their constituents, aconitine (AC) and benzoylaconine (BA) (doses expressed in per kg *p.o.* *in vivo*, unless otherwise stated, and per ml *in vitro*). On blood pressure in rats, 1, 3 (0.1 g *i.v.*) and AC (50 µg *i.v.*) exhibited a weak temporary hypotensive action, while 2 (0.1 g *i.v.*) elicited a diphasic reaction, a remarkable hypertension followed by hypotension. 4—6 (0.1 g *i.v.*) mediated marked temporary hypertensive action. In the isolated right atria of guinea pigs, 1—3 (10^{-6} — 10^{-5} g) showed positive inotropic and chronotropic action. Further, 1—3 (10^{-4} g) and AC (10^{-7} g) exhibited these actions followed by negative inotropic action and disorder of the heart rate. In the isolated ileum of guinea pigs, 1—3 (10^{-4} g) and AC (10^{-6} g) caused weak contraction which was antagonized by atropine. In the isolated vas deferens of guinea pigs, 1—6 (10^{-4} g), AC and BA (10^{-6} g) produced no contraction, and had no effect on contraction induced by norepinephrine or tyramine. In the isolated hypogastric nerve-vas deferens of guinea pigs, the isolated mesenteric nerve-jejunum of rabbits and the isolated phrenic nerve-diaphragm of rats, 1—3 (10^{-4} g) and AC (10^{-6} g) inhibited responses induced by electrical stimulation of the corresponding nerves. In mice, 1—2 (0.1—1.0 g) showed analgesic activity in the tail pressure method and 1—3 in the acetic acid-induced writhing method. In mice, 1—3 (0.1—1.0 g) potentiated hexobarbital anesthesia. In mice, 1—3 (0.1—1.0 g) and AC (1 mg) reduced revolution of the wheel cage. In mice, 3 (1.0 g) and AC (1 mg) showed hypothermic action by 1.5—2°. In mice, 1—3 (0.1—1.0 g) inhibited the stress-induced ulcer production.

Keywords—aconitine; *Aconitum carmichaeli*; *Aconitum japonicum*; autonomic nervous system; benzoylaconine; central nervous system; pharmacological actions; processed aconite roots; raw aconite roots

漢薬附子はトリカブト属 (*Aconitum*) 植物の塊根から得られる生薬で、古来漢方においては虚寒症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、痲痺、弛緩などの症候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、その量的変化が著しく、従って生薬の毒性にも大きな変動がある。しかも aconitine 系アルカロイドは薬用量と中毒量とが接近しているという特徴があるので、生附子をそのまま医療用に使うことには危険が伴う。そこで普通は生附子に種々の修治を施して減毒することにより事故を防ぐようにされてきている。

附子は漢方処方上不可欠の構成成分として広く用いられており、しかもそれが臨床上有効であるとすれば、附子の薬効およびその有効成分、さらには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が解明されていなければならない。しかし従来の数多くの研究にもかかわらず、これらの諸点はほとんど未解決のままであった。そこでさきにわれわれはこれらの諸問題の解明の第一歩として、各種附子について含有 aconitine 系ア

1) 附子の薬学的研究第3報。第2報：文献7。本報は東洋薬物の有効性に関する研究の第8報である。

2) Location: Aoba-yama, Sendai.

ルカロイドおよびそれらの加水分解産物の定性定量およびその毒性の測定ならびに修治によるそれらの変化について検討を行った。その結果現在日本で原料として広く用いられている生附子は aconitine 類を含み、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 類に変化しており、十分無毒化されていることが判った。さらに他の修治方法によっても同様の変化は受けるが、修治不足のために減毒が不十分でその毒性に問題があったり、修治過多のためにかなりの成分が損失してその有効性に問題があったりして、その品質が一定していないことも明らかとなった。³⁾ しかし附子の品質として本質的に重要なのはその薬効であり、その評価についてはそれぞれの薬理作用の検定の結果にまつところが大きかった。附子の薬理作用については、黒田、⁴⁾ 矢数⁵⁾ らの研究などがあるが、系統的な検討はなされておらず、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。また成分として有名な aconitine 類についても当然附子の薬理作用に大きく寄与しているであろうと推定されるに止まり、両者の薬理作用の関係づけについて詳しい検討はされていない。また aconitine 類が加水分解されて生ずる benzoylaconine 類についても、もとの aconitine 類に比べるとその毒性は著しく減弱されていることは認められていたが、その薬理作用についてはほとんど検討されていない。従って附子の修治に伴う aconitine 類から benzoylaconine 類への変換は、薬効を保持したまま毒性を減弱させるものという推論がなされていただけで、薬理学的根拠に欠けていた。そこでわれわれは附子の薬効を再評価する基礎研究の一部として前報³⁾ において検討の対照とした新潟県産(野生)ヤマトリカブト *Aconitum japonicum*, 北海道産および中国産(栽培)カラトリカブト *A. carmichaeli* の生附子ならびにそれらから製した加工附子の主として自律神経および中枢神経に対する薬理作用の検討を行った。また同時に生附子および加工附子の成分の代表としてそれぞれ aconitine および benzoylaconine を選び、それらの薬理作用の検討も併行して行い、附子の薬理作用におけるこれらのアルカロイドの役割を明らかにすることを試みた。なお強心作用の検定に当っては最近附子の強心成分として明らかとなった higenamine (demethylcoclaurine)⁶⁾ および coryneine chloride (dopamine methochloride)⁷⁾ についても併行実験を行った。

実 験 の 部

実験材料

新潟県産(野生)ヤマトリカブト *Aconitum japonicum* THUNBERG, 北海道産(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(1, 2, 3)およびそれらを 120° で 40 分間湿熱処理して得た加工附子(4, 5, 6)(それぞれ前報³⁾ における標本番号 1, 7, 17, 2, 8, 18 に相当する)をそれぞれ粉碎し、デシケーター中で乾燥後、前報³⁾ と同様に抽出して MeOH エキスを製した。各附子エキ스는 2% アラビアゴムを含む水(経口投与)または生理食塩液に懸濁して試料液とし、附子の実用上の投与方法に合せて原則として経口投与を行った。投与量は乾燥生薬当りに換算した。なお各附子の LD₅₀ は 0.54 g(新潟県産), 1.61 g(北海道産), および 5.49 g(中国産)(いずれも生薬換算量)³⁾ であり、原則的にはその 1/5 量を目安として投与した。加工附子の投与量は原則として対応する生附子のそれと同一とした。

Aconitine (AC) および benzoylaconine (BA) は HBr 塩を用い、水(経口投与)または生理食塩液に溶解して試料液とし、投与量は遊離塩基に換算した。なお附子中に存在する aconitine 類または benzoylaconine 類の含量は最高 1% と見積って、これらのアルカロイドの投与量は附子の 1/100 とすることを原則とした。

実験方法

1. ラット血圧および心拍数の測定 Wistar 系雄性ラット(250—350 g)をウレタン(1.4 g/kg)皮下投与により麻酔し、常法により総頸動脈圧および心拍数は高圧トランスジューサーを介してペン書きオシログラフ上に記録した。各試料液は外頸静脈内に挿入したポリエチレン管より注入した。

2. モルモット摘出右心房の自動運動の測定 Hartley 系雄性モルモット(300—500 g)を撲殺後直ちに開胸し、右心房を摘出して Krebs-Henseleit 液を入れた容量 50 ml のマグヌス管中に懸垂した。栄養液は 35° に保ち、絶えず 95% O₂ + 5% CO₂ の混合ガスを通じた。標本にはあらかじめ 0.5 g の負荷を与え、少なくとも 30 分間放置した。右心房の収縮と心拍数はフォースディスプレイシステムトランスジューサーを介してペン書きオシログラフ上に同時記録した。各試料液は栄養液中に注入した。

3) 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, 薬誌, 97, 359 (1977).

4) 黒田朝太郎, 東医大誌, 9, 1 (1951).

5) 矢数四郎, 日薬理誌, 54, 880 (1958); 54, 895 (1958); 54, 906 (1958).

6) T. Kosuge, M. Yokota, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 24, 176 (1976).

7) C. Konno, M. Shirasaka, H. Hikino, *Planta medica*, 印刷中.

3. モルモット摘出回腸の収縮の測定 Hartley 系雄性モルモット (300—400 g) を 24 時間絶食した後撲殺し、直ちに回盲腸接合部から胃に至るまでの小腸を摘出後、常法に従って回腸標本を作製し、Tyrode 液を入れた容量 10 ml のマグヌス管中に懸垂した。栄養液は 28° に保ち、絶えず空気を通導した。標本にはあらかじめ 0.5 g の負荷を与え、少なくとも 30 分間放置した。各試料液は栄養液中に注入するか、acetylcholine (10^{-7} g/ml), histamine (10^{-6} g/ml) および BaCl_2 (3×10^{-4} g/ml) を注入してから 5 分後に注入した。また電気刺激による回腸の収縮に対する作用を調べる際には、Paton らの方法⁸⁾ にならってマグヌス管中に懸垂した回腸に管腔内電極を装着し、経壁的に 0.1 Hz, 1 msec, 最大反応電圧の電気刺激を与えた。回腸の収縮はフォースディスプレイメントトランスジューサーを介してペン書きオシログラフ上に等尺性に記録した。

4. モルモット摘出輸精管の収縮の測定 Hartley 系雄性モルモット (300—500 g) を撲殺した後、常法に従って輸精管を摘出し、Tyrode 液を入れた容量 10 ml のマグヌス管中に懸垂した。栄養液は 32° に保ち、絶えず空気を通導した。輸精管の収縮はフォースディスプレイメントトランスジューサーを介してペン書きオシログラフ上に等尺性に記録した。各試料液は栄養液中に注入したが、norepinephrine (10^{-6} g/ml) および tyramine (3×10^{-5} g/ml) は試料注入 5 分後に注入した。

5. モルモット下腹神経-輸精管標本の収縮の測定 Hartley 系雄性モルモット (300—500 g) を撲殺した後 Huković の方法⁹⁾ に従って輸精管を下腹神経をつけたまま摘出し、Tyrode 液を入れた容量 10 ml のマグヌス管中に懸垂した。栄養液は 32° に保ち、絶えず 95% O_2 +5% CO_2 の混合ガスを通じた。標本にはあらかじめ 0.8 g の負荷を与え、少なくとも 60 分間放置した。下腹神経節前線維に対しては 20 Hz, 0.1 msec, 3—5 V, 節後線維に対しては、経壁刺激で 20 Hz, 0.1 msec, 最大反応電圧の電気刺激を 4 秒間与えた。電気刺激による輸精管の収縮は前項と同様に記録した。各試料液は電気刺激による収縮高が一定になった後に栄養液中に注入した。

6. ウサギ空腸-腸間膜神経標本の自動運動の測定 雑種の雄性または雌性ウサギの頸動脈を切断し放血後、Finkleman の方法¹⁰⁾ に従って腸間膜神経を付けたまま空腸を摘出し約 3 cm に切断し、Tyrode 液を入れた容量 50 ml のマグヌス管中に懸垂した。栄養液は 37° に保ち、絶えず 95% O_2 +5% CO_2 の混合ガスを通導した。腸間膜神経に 50 Hz, 0.5 msec, 最大反応電圧の電気刺激を 5 分間隔で 20 秒間与えた。空腸の自動運動は等張性ヘーベルを介してキモグラフ上に描記した。電気刺激による収縮高が一定になった後、各試料液を栄養液中に注入した。

7. ラット横隔膜神経筋標本の収縮の測定 Wistar 系雄性ラット (300—500 g) を撲殺後、直ちに開胸し Bülbring の方法¹¹⁾ に準じて横隔膜神経を付けたまま横隔膜を摘出し、Tyrode 液を入れた容量 50 ml のマグヌス管中に懸垂した。栄養液は 37° に保ち、絶えず 95% O_2 +5% CO_2 の混合ガスを通導した。横隔膜神経に 0.1 Hz, 1—4 msec, 最大反応電圧の電気刺激を与えた。電気刺激によって生じた収縮は等張性ヘーベルを介してキモグラフ上に描記した。電気刺激による収縮高が一定になった後に、各試料液を栄養液中に注入した。

8. マウスでの鎮痛効果の測定 a) 尾根部加圧法——高木らの方法¹²⁾ に準じ、dd 系雄性マウス (18—22 g) を 1 群 5 匹として、実験前に正常閾値を 2 回測定し、閾値が 40—80 mmHg 内に入るマウスのみを選抜して使用した。各試料液の経口投与 90 分後まで 15 分間隔で仮性疼痛反応の閾値を測定し、正常閾値を 100 とした場合の相対反応閾値を算出した。

b) 酢酸スクエミング法——Koster の方法¹³⁾ に準じ、dd 系雄性マウス (18—22 g) を 1 群 5 匹として、各試料液を経口投与 30 分後に 0.6% AcOH (10 ml/kg) を腹腔内投与、その直後から 20 分間に示すスクエミング数を測定し、水を投与した対照との比較により、スクエミングの抑制率を算出した。

c) 熱板法——高木らの方法¹⁴⁾ に準じ、dd 系雄性マウス (18—22 g) で 60° の熱板上に置いた時跳躍するものだけを選択し、さらに 1 時間後 15 分間隔で跳躍するまでの時間を 2 回測定し (平常閾値)、5 秒前後を示すマウスを 1 群 8 匹として使用した。各試料の経口投与後 30 分間隔で 180—210 分間跳躍するまでの時間を測定し、連続した 2 回の測定値が正常閾値の 2 倍を超えた場合を有効とすることとした。

9. マウスのヘキソバルビタール睡眠に対する効果の測定 dd 系雄性マウス (18—22 g) を 1 群 5 匹とし、各試料液の皮下投与 30 分後にヘキソバルビタール (80 mg/10 ml/kg) を腹腔内投与した。室温 23—25° で、正向反射消失と回復を指標として、睡眠時間を測定し、対照のそれと比較した。

10. マウスの自発運動量の測定 高木らの方法¹⁵⁾ にならい dd 系雄性マウス (18—22 g) を 30 分間マウス回転運動量計内に入れて装置にならした後、30 分間に 500 回前後カゴを回転させたものを選択し 1 群 5 匹と

8) W.D. M. Paton, *Brit. J. Pharmacol.*, 12, 119 (1957).

9) S. Huković, *Brit. J. Pharmacol.*, 21, 2 (1963).

10) B. Finkleman, *J. Physiol.*, 70, 145 (1930).

11) E. Bülbring, *Brit. J. Pharmacol.*, 1, 38 (1946).

12) 高木敬次郎, 亀山 勉, 矢野剋二, 薬誌, 78, 553 (1958).

13) R. Koster, *Federation Proc.*, 22, 249 (1958).

14) 高木敬次郎, 亀山 勉, 薬誌, 77, 871 (1957).

15) 高木博司, 伴 隆志, 高島秀行, 高島俊行, 日薬理誌, 56, 1421 (1960).

した。各試料液の経口投与後 150 分間 30 分ごとに回転数を記録し、対照のそれと比較した。なお実験は室温 23—25° の暗室にて実施した。

11. マウスでの Strychnine 痙攣に対する効果の測定 dd 系雄性マウス (18—22 g) を 1 群 5 匹とし、各試料液を経口投与 30 分後に strychnine (1.38 mg/10 ml/kg) を腹腔内投与して、strychnine による痙攣発現を観察し、24 時間後の死亡率を測定した。

12. マウスの体温の測定 dd 系雄性マウス (18—22 g) につき、室温 23—25° においてサーミスター温度計を用いて肛門から 2.5 cm の箇所の体温を 10 分間隔で 2 回測定し、直腸温度が 37.5—38.5° に入るものを 1 群 5 匹とした。各試料液の経口投与から 15 分間隔で直腸温度の経時変化を測定した。

13. マウスでの抗ストレス潰瘍効果の測定 Yano らの方法¹⁶⁾ に準じ ddy 系雄性マウス (18—20 g) を 1 群 4 匹とし、これを 8 時間絶食後各試料液を経口投与し、30 分後にレストレイントケージに入れ、25° の恒温水槽に剣状突起まで水浸させた。18 時間後このマウスを頸部脱臼により殺し、直ちに胃を摘出し、これに 3% ホルマリン (1.5 ml) を注入して 10 分間固定した後、大彎に沿って切開し胃壁を水洗した後、胃壁の出血して損傷された度合を 0.5, 1, 2, 3 の潰瘍指数で評点し、それらを合計した。結果は対照における潰瘍指数の合計に対する抑制率で表わした。

14. マウスの血清中の酵素活性の測定 dd 系雄性マウス (20—23 g) を 1 群 5 匹とし、試料液を経口投与 1 時間後に採血し、血清を分離後、血清中のグルタミン酸・オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT) およびグルタミン酸・ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) 活性を Reitman-Frankel 法で、アルカリホスファターゼ (AlP) 活性を Kind-King 法で、乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性を Babson-Phillips 法で測定した。

実験結果

1. ラット血圧および心拍数に対する作用

新潟県産および中国産生附子 (0.1 g/kg) は一過性の降圧作用を、北海道産生附子 (0.1 g/kg) は顕著な一過性の昇圧の後降圧に移行する二相性の作用を示した。また加工附子 (0.1 g/kg) はいずれも一過性の昇圧作用を示し、特に北海道産の加工附子の作用が最も顕著であった。Aconitine (1 mg/kg) の投与によっては直ちに血圧が乱れ死亡した。その 1/20 量の aconitine (50 μ g/kg) は一過性の降圧作用を示した。Benzoylaconine (1 mg/kg) は血圧に対して何ら作用を示さなかった。各生附子 (0.1/kg) および aconitine (50 μ g/kg) による降圧作用は propranolol (3 mg/kg) の前投与により抑制されなかった。北海道産生附子および各加工附子 (0.1 g/kg) による一過性の昇圧作用は hexamethonium (5 mg/kg) により 50% 以上抑制され、また phentolamine (3 mg/kg) により完全に抑制された (Fig. 1)。

また各生附子 (0.1 g/kg) および aconitine (50 μ g/kg) は心拍数をやや抑制する傾向を示したが、各加工附子 (0.1 g/kg) および benzoylaconine (1 mg/kg) は心拍数にほとんど影響をおよぼさなかった。

2. モルモット摘出右心房の自動運動に対する作用

新潟県産、北海道産および中国産生附子はそれぞれ 3×10^{-6} g/ml, 10^{-6} g/ml, 10^{-5} g/ml で陽性変力作用を示

Fig. 1. Effect of *Aconitum* Roots on Blood Pressure and Heart Rate in Rats

Drugs dosed at dots. B.P.: blood pressure, H.R.: heart rate, E: epinephrine 3 μ g/kg, 5: processed aconite (Hokkaido) 0.1 g/kg. a) control of 5 and E. b) after hexamethonium (C₆) 5 mg/kg. c) after phentolamine (Phen) 3 mg/kg.

16) S. Yano, M. Harada, *Jap. J. Pharmacol.*, 23, 57 (1973).

した。さらに大量の生附子 (10^{-4} g/ml) は一過性の陽性変力作用を示した後、陰性変力作用に移行する二相性の反応を与えた。Aconitine は 10^{-7} g/ml では上述の二相性の反応を示したが、 10^{-6} g/ml では陰性変力作用を示した。また各加工附子 (10^{-4} g/ml) および benzoyleaconine (10^{-6} g/ml) は影響をおよぼさなかった。Higenamine および coryneine chloride が陽性変力作用を表わす最小濃度はそれぞれ 10^{-8} g/ml および 10^{-6} g/ml であった (Fig. 2, Table I).

Fig. 2. Effect of *Aconitum* Roots on Contractions and Heart Rate in the Isolated Guinea Pig Atria

Drugs dosed at dots. H.R.: heart rate. a) 2: raw aconite (Hokkaido) 10^{-4} g/ml. b) 5: processed aconite (Hokkaido) 10^{-4} g/ml.

TABLE I. Effect of *Aconitum* Roots and *Aconitum* Alkaloids on Contractions and Heart Rate in the Isolated Guinea Pig Right Atria

Sample ^{a)}	Dose (g/ml) ^{b)}	Contraction force ^{c)}	Heart rate ^{c)}
1	10^{-6}	—	—
	3×10^{-6}	Potentiation	Increase
	10^{-4}	Potentiation→inhibition	Increase→disorder
2	3×10^{-7}	—	—
	10^{-6}	Potentiation	Increase
	10^{-4}	Potentiation→inhibition	Increase→disorder
3	3×10^{-6}	—	—
	10^{-5}	Potentiation	Increase
	10^{-4}	Potentiation→inhibition	Increase→disorder
4, 5, 6	10^{-4}	—	—
AC	3×10^{-8}	—	—
	10^{-7}	Potentiation→inhibition	Increase→disorder
	10^{-6}	Inhibition	Disorder
BA	10^{-6}	—	—
HG	3×10^{-9}	—	—
	10^{-8}	Potentiation	Increase
CN	3×10^{-7}	—	—
	10^{-6}	Potentiation	Increase

a) In Table I—V, the raw *Aconitum* roots from Niigata, Hokkaido and China, and their processed preparations designated as 1—6, respectively. AC: aconitine, BA: benzoyleaconine, HG: higenamine, CN: coryneine (chloride).

b) In Table I—V, doses calculated as the dried crude drugs.

c) —: no change.

3. モルモット摘出回腸の収縮に対する作用

各生附子 (10^{-4} g/ml) および aconitine (10^{-6} g/ml) はモルモット回腸をわずかに収縮させ、この収縮は atropine (10^{-8} g/ml) によってほぼ抑制された。また各加工附子 (10^{-4} g/ml) および benzoyleaconine (10^{-6} g/ml) は影響を与えなかった。Acetylcholine (10^{-7} g/ml), histamine (10^{-6} g/ml) および BaCl_2 (3×10^{-4} g/ml) による収縮に対して、すべての試料は影響をおよぼさなかった。

また電気刺激による収縮を各生附子 (10^{-4} g/ml) および aconitine (10^{-6} g/ml) は顕著に抑制したが、各加工附子 (10^{-4} g/ml) および benzoyleaconine (10^{-6} g/ml) は影響をおよぼさなかった (Fig. 3)。

Fig. 3. Effect of *Aconitum* Roots and Aconitine on Contraction in the Isolated Guinea Pig Ileum

Drugs dosed at dots. ACh: acetylcholine 10^{-7} g/ml, 1: raw aconite (Niigata) 10^{-4} g/ml, AC: aconitine 10^{-6} g/ml. a) control of ACh and 1. c) control of ACh and AC. b), d) after atropine (Atr) 10^{-8} g/ml. e) electrical stimulation to the cholinergic nerve applied at 0.1 Hz, 1 msec, supramaximal voltage.

4. モルモット摘出輸精管に対する作用

各生附子 (10^{-4} g/ml), 各加工附子 (10^{-4} g/ml), aconitine (10^{-6} g/ml) および benzoyleaconine (10^{-6} g/ml) は輸精管に対し収縮あるいは弛緩作用を示さなかった。Norepinephrine (10^{-6} g/ml) および tyramine (3×10^{-5} g/ml) による輸精管の収縮作用に対し、各附子 (10^{-4} g/ml) および各アルカロイド (10^{-6} g/ml) はほとんど影響をおよぼさなかった。

5. モルモット下腹神経-輸精管標本に対する作用

下腹神経の節前ならびに節後線維への電気刺激による輸精管の収縮作用に対し、各生附子 (10^{-4} g/ml) および aconitine (10^{-6} g/ml) は顕著な抑制作用を示し、また benzoyleaconine (10^{-6} g/ml) はやや弱い抑制作用を示したが、各加工附子 (10^{-4} g/ml) はほとんど影響をおよぼさなかった (Fig. 4)。

Fig. 4. Effect of *Aconitum* Roots and Aconitine on Contraction in the Isolated Guinea Pig Hypogastric Nerve-Vas Deferens

Drugs dosed at dots. Electrical stimulation to the preganglionic fiber applied at 20 Hz, 0.1 msec, supramaximal voltage. a) 3: raw aconite (China) 10^{-4} g/ml. b) 6: processed aconite (China) 10^{-4} g/ml. c) AC: aconitine 10^{-6} g/ml.

6. ウサギ空腸-腸間膜神経標本に対する作用

各生附子 (10^{-4} g/ml) および aconitine (10^{-6} g/ml) は空腸の自動運動を増大させる作用を示したが、各加工附子 (10^{-4} g/ml) および benzoylaconine (10^{-6} g/ml) は作用を示さなかった。

各生附子 (10^{-4} g/ml) および aconitine (10^{-6} g/ml) は腸間膜神経の電気刺激による空腸の自動運動抑制作用を顕著に抑制したが、各加工附子 (10^{-4} g/ml) および benzoylaconine (10^{-6} g/ml) は影響をおよぼさなかった (Fig. 5)。

Fig. 5. Effect of *Aconitum* Roots and Aconitine on Motility in the Isolated Rabbit Mesenteric Nerve-Jejunum

Drugs dosed at dots. Electrical stimulation to the mesenteric nerve applied at 50 Hz, 0.5 msec, supramaximal voltage. a) 2: raw aconite (Hokkaido) 10^{-4} g/ml. b) 5: processed aconite (Hokkaido) 10^{-4} g/ml. c) AC: aconitine 10^{-6} g/ml.

Fig. 6. Effect of *Aconitum* Roots and Aconitine on Contraction in the Isolated Rat Phrenic Nerve-Diaphragm

Drugs dosed at dots. a), b), c) electrical stimulation to the phrenic nerve applied at 0.1 Hz, 1—4 msec, supramaximal voltage. d) electrical stimulation to the diaphragm muscle applied at 0.1 Hz, 5—10 msec, supramaximal voltage. a), d) 1: raw aconite (Niigata) 10^{-4} g/ml. b) 4: processed aconite (Niigata) 10^{-4} p/ml. c) AC: aconitine 10^{-6} g/ml.

7. ラット横隔膜神経筋標本に対する作用

各生附子 (10^{-4} g/ml) および aconitine (10^{-6} g/ml) は横隔膜神経の電気刺激による横隔膜筋の収縮を顕著に抑制したが、各加工附子 (10^{-4} g/ml) および benzoylaconine (10^{-6} g/ml) は影響をおよぼさなかった。筋直接の

電気刺激による収縮は全試料によって影響を受けなかった (Fig. 6).

8. マウスでの鎮痛作用

a) 尾根部加圧法 新潟県産生附子 (0.1 g/kg) および北海道産生附子 (0.3 g/kg) は対照との有意差は認められなかったが、仮性疼痛閾値を 30—40% 上昇させた. 中国産生附子 (1 g/kg), 各加工附子 (0.1—1 g/kg), aconitine (1 mg/kg) および benzoylaconine (1 mg/kg) は仮性疼痛閾値に著しい変化を与えなかった (Table II).

b) 酢酸スケーミング法 各検体のうち、対照との有意差は認められなかったが、北海道産生附子 (0.3 g/kg) がスケーミングを約 40% 抑制し、また新潟県産生附子 (0.1 g/kg) および中国産生附子 (1 g/kg) は抑制の傾向を示した. 各加工附子 (0.1—1 g/kg), aconitine (1 mg/kg) および benzoylaconine (1 mg/kg) は有意な結果を与えなかった (Table II).

c) 熱板法 新潟県産生附子 (0.1 g/kg), 北海道産生附子 (0.3 g/kg), 中国産生附子 (1 g/kg), 各加工附子 (0.1—1 g/kg), aconitine (1 mg/kg) および benzoylaconine (1 mg/kg) はいずれも有効でなかった (Table II).

TABLE II. Analgesic Activity of *Aconitum* Roots and *Aconitum* Alkaloids in Mice

Sample ^{a)}	Dose (mg/kg <i>p.o.</i>)	Relative response ^{b)} (%)	Inhibition ^{c)} (%)	Response ^{d)}
1	100	129 ± 14	18 ± 18	—
2	100	112 ± 6		
	300	138 ± 10	39 ± 13	—
3	300	108 ± 2		
	1000	111 ± 9	21 ± 5	—
4	100	110 ± 3	0.3 ± 15	—
5	300	96 ± 4	-0.3 ± 13	—
6	1000	114 ± 10	9 ± 19	—
AC	0.1	104 ± 3		
	0.3	97 ± 5		
	1	103 ± 6	7 ± 9	—
BA	0.1	103 ± 2		
	0.3	100 ± 2		
	1	107 ± 18	4 ± 11	—
AM	150		100 ± 0**	
	200	145 ± 7*		

a) for abbreviations, see Table I. AM: aminopyrine.

b) Tail pressure method, *n*=5.

c) Acetic acid-induced writhing method, *n*=5.

d) Hot plate method, *n*=8. —: no positive response.

Significantly different from the control, *p*<0.05* or *p*<0.01.**

9. マウスのヘキソバルビタール睡眠に対する作用

各生附子 (0.1—1 g/kg) はヘキソバルビタールによる睡眠時間を延長したが、最も顕著であったのは新潟県産生附子 (0.3 g/kg) であった. 各加工附子 (0.1—1 g/kg), aconitine (60 μg/kg) および benzoylaconine (3 mg/kg) は著しい影響を与えなかった (Table III).

10. マウスの自発運動に対する作用

各生附子および aconitine はマウスの自発運動を抑制する傾向がみられ、とくに新潟県産生附子 (0.1 g/kg) および aconitine (1 mg/kg) は約 40% の抑制を示した. 各加工附子 (0.1—1 g/kg) および benzoylaconine (3 mg/kg) は作用を示さなかった (Table IV).

11. マウスでの Strychnine 痙攣に対する作用

各生附子 (0.1—1 g/kg), 各加工附子 (0.1—1 g/kg), aconitine (1 mg/kg) および benzoylaconine (1 mg/kg) はいずれも strychnine による特有な痙攣発現に拮抗しなかった. 各生附子 (0.1—1 g/kg) および aconitine (1 mg/

TABLE III. Effect of *Aconitum* Roots and *Aconitum* Alkaloids on Sleeping Time induced by Hexobarbital in Mice

Sample ^{a)}	Dose (mg/kg p.o.) ^{b)}	Potentiation (%)	Sample ^{a)}	Dose (mg/kg p.o.) ^{b)}	Potentiation (%)
(Control)	—	100 ± 8	4	300	117 ± 4
1	100	156 ± 25*	5	300	117 ± 4
	300	213 ± 26**	6	1000	92 ± 10
2	100	121 ± 8	AC	0.03	100 ± 17
	300	140 ± 9		0.06	101 ± 15
3	300	122 ± 17	BA	3	110 ± 21
	1000	195 ± 25**	CP	1	705 ± 11**
4	100	96 ± 5			

a) for abbreviations, see Table I. CP: chlorpromazine.

b) n=5. Significantly different from the control, $p < 0.05^*$ or $p < 0.01^{**}$ TABLE IV. Effect of *Aconitum* Roots and *Aconitum* Alkaloids on Revolution Activity in Mice

Sample ^{a)}	Dose (mg/kg p.o.) ^{b)}	Inhibition (%) ^{c)}	Sample ^{a)}	Dose (mg/kg p.o.) ^{b)}	Inhibition (%) ^{c)}
(Control)	—	0 ± 9	5	300	-0.4 ± 21
1	30	-0.6 ± 6	6	1000	0 ± 16
	100	42 ± 17*	AC	1	41 ± 11*
2	300	24 ± 5	BA	3	3 ± 6
3	1000	16 ± 14	CP	5	87 ± 5**
4	100	-13 ± 26			

a) For abbreviations, see Table I. CP: chlorpromazine.

b) n=5.

c) Inhibitory percentage calculated from the mean of a treated group compared with that of the control. Significantly different from the control, $p < 0.05^*$ or $p < 0.01^{**}$

kg) を投与した場合、死亡率をやや上昇させる傾向は示したが、加工附子 (0.1—1 g/kg) および benzoylaconine (1 mg/kg) はとくに影響を与えなかった。

Fig. 7. Hypothermic Effect of *Aconitum* Roots and *Aconitum* Alkaloids in Mice

Each point represents mean value for 5 animals. ●—●, raw aconite (Niigata) 0.1 g/kg; ○—○, raw aconite (Hokkaido) 0.3 g/kg; △—△, raw aconite (China) 1.0 g/kg; ●—●, processed aconite (Niigata) 0.1 g/kg; ○—○, processed aconite (Hokkaido) 0.3 g/kg; △—△, processed aconite (China) 1.0 g/kg; ▲—▲, aconitine 1.0 mg/kg; ▲—▲, benzoylaconine 1.0 mg/kg.

12. マウスの正常体温降下作用

中国産生附子 (1 g/kg) および aconitine (1 mg/kg) は投与 1.5 時間後に体温を 1.5—2° 降下させた。その他の生附子 (0.1—0.3 g/kg), 加工附子 (0.1—1 g/kg) および benzoylaconine (1 mg/kg) は体温にとくに著しい影響を与えなかった (Fig. 7)。

13. マウスでの抗ストレス潰瘍作用

新潟県産生附子 (0.1 g/kg), 北海道産生附子 (0.3 g/kg) および中国産生附子 (1 g/kg) が胃におけるストレス潰瘍形成を対照と比較してそれぞれ 27%, 41% および 54% 抑制した。加工附子の中で新潟県産 (0.1 g/kg), 北海道産 (0.3 g/kg) は潰瘍抑制作用を示さず、中国産 (1 g/kg) がやや弱い抑制作用を示した (23% 抑制)。また aconitine (1 mg/kg) および benzoylaconine (1 mg/kg) は作用を示さなかった。

14. マウスの血清中の酵素活性に対する作用

新潟県産生附子 (0.3 g/kg) はマウスの GOT, GPT,

AIP および LDH 活性に対しとくに影響を与えなかった (Table V).

TABLE V. Effect of *Aconitum* Roots on Serum Enzyme Activity in Mice

Sample ^{a)}	Dose (mg/kg <i>p.o.</i>) ^{b)}	GOT	GPT	AIP	LDH
(Control)	—	100 ± 17 ^{c)}	100 ± 17 ^{d)}	100 ± 25 ^{e)}	100 ± 24 ^{f)}
1	300	83 ± 7	91 ± 17	92 ± 3	84 ± 10

a) for abbreviation, see Table I. b) $n=5$. c) 78 ± 13 IU. d) 27 ± 5 IU. e) 116 ± 29 IU. f) 1170 ± 265 IU.

考 察

生附子とそれから調製した加工附子の薬効を解明する基礎研究の一部として、新潟県産、北海道産および中国産の生薬を選び、それらの生理活性成分の代表として選択した aconitine および benzoylaconine と共に、主として自律神経および中枢神経に対する作用の検定を行い、附子の薬理作用を明らかにすると同時に、それらに対する含有アルカロイドの寄与を知る目的で検討を行った。

まず生附子はいずれも強い薬理活性を示した。産地の違いによる各生附子間の薬理効果の相違に関して、自律神経系（ラット血圧および心拍数、モルモット摘出右心房、モルモット摘出回腸、モルモット摘出輸精管およびウサギ摘出空腸）に対する作用においては顕著な差は認められなかったが、中枢神経系（鎮痛、睡眠延長、自発運動量および体温）に対する作用においては、投与量の差（北海道産および中国産生附子の投与量は新潟県産生附子のそれぞれのそれぞれ 3, 10 倍量）を考慮すると、新潟県産生附子の薬理効果が最も強く、北海道産がこれにつき、中国産は最も弱いことが認められた。一方生附子に多く含まれる aconitine は附子中の aconitine 系アルカロイドの含量にほぼ相当する投与量でラットでの血圧上昇作用、モルモット右心房収縮力増強作用、マウスでの鎮痛作用および抗ストレス潰瘍作用を除いて、生附子のそれに極めて類似した薬理活性を示した。また加工附子に多く含まれる benzoylaconine は対応する投与量では薬理活性を示さなかった。従って各生附子によるラットでの血圧下降作用、心拍数減少作用、モルモット右心房における陰性変力作用、モルモット回腸における収縮作用、またモルモット下腹神経-輸精管、ウサギ空腸-腸間膜神経筋、ラット横隔膜神経筋などの神経筋標本における神経の電気刺激による収縮の抑制作用、さらに自発運動量の抑制作用、体温降下作用などは、生附子に含有されている相当量の aconitine 系アルカロイドに基づくものと結論できる。さきにも述べたように中枢神経に対する作用たとえばマウスのヘキソバルビタール睡眠の延長作用とか自発運動量の抑制作用においては、その薬理作用の効力は新潟県産 > 北海道産 > 中国産生附子の順であった。これらの生附子について前報³⁾においてそのアルカロイド含量および組成を測定した結果によると、各附子間に総アルカロイド含量には著しい差はないが、その成分組成には明らかな差があることが判る。すなわち新潟県産生附子は他の2種の生附子と比較すると aconitine 系アルカロイドの総含量が最も多く、特に aconitine と mesaconitine の合計についていえば、北海道産のその約 2 倍、中国産のその約 4 倍含んでいる。一方生附子中で最も活性の弱い中国産生附子は、北海道産生附子と比較すると aconitine 系アルカロイドの総含量はほぼ同じであるが、hypoconitine が aconitine と mesaconitine の合計の約 2 倍含まれており、hypoconitine の占める割合が大きいという特徴がある。われわれは別に、aconitine 系アルカロイドはその薬理活性に質的差異はないが、効力についていえば mesaconitine が最も強く、aconitine がこれに次ぎ、hypoconitine はかなり劣ることを認めている。¹⁷⁾ 従って上述の生附子の薬理効力の差は各生附子中の各 aconitine 系アルカロイドの含量の差ならびに薬理効力の差によって説明することができる。なお生附子の自発運動量に対する作用については、aconitine に骨格筋弛緩作用のあることが知られているので、生附子による抑制効果の一部はその筋弛緩作用による運動失調に起因するものと思われる。また生附子のヘキソバルビタール睡眠の延長作用が、生附子による肝障害による可能性を検討するために、活性の最も強かった新潟県産生附子について投与 1 時間後の血清中の酵素活性に対する影響を調べたところ、肝臓に対してとくに影響を与えないことが明らかとなった。従って生附子によるヘキソバルビタール睡眠の延長作用は肝障害によってヘキソバルビタールの代謝が抑制されたために現われるのではなく、何らか中枢性の原因によるものと推定される。

17) H. Sato, C. Yamada, C. Konno, Y. Ohizumi, K. Endo, H. Hikino, *Tohoku J. exp. Med.*, 印刷中.

つぎに神経-筋標本に対する各検体の作用について、まずモルモット摘出回腸において各生附子および aconitine は共に単独で回腸収縮作用を示し、この収縮作用は atropine で顕著に抑制されることから副交感神経興奮作用に基づくものと推定される。また各生附子および aconitine は回腸において acetylcholine, histamine および BaCl_2 による収縮にほとんど影響を与えず、副交感神経の電気刺激による収縮に対して顕著な抑制作用を示した。これらのことから各生附子および aconitine は副交感神経興奮作用を示した後、速かに神経遮断作用を示すものと考えられる。また各生附子および aconitine はモルモット摘出下腹神経-輸精管において下腹神経の節前および節後線維の電気刺激による収縮を顕著に抑制したことおよびウサギ摘出空腸-腸間膜神経において腸間膜神経の電気刺激による自動運動抑制反応を顕著に抑制したことを考え併せると、生附子と aconitine は共に交感神経遮断作用を有するものと考えられる。さらにラット摘出横隔膜神経筋において、各生附子および aconitine が共に横隔膜神経の電気刺激による筋の収縮を顕著に抑制し、筋直接刺激による筋の収縮を抑制しないことから、その作用部位として運動神経もしくは運動神経末端が考えられる。これらに関連したものとして、Ellis ら¹⁸⁾ はラット縫工筋を用いた実験から aconitine がナトリウムチャンネルの活性化および不活性化作用を持つことを示唆し、さらに aconitine による脱分極の持続が活動電位の発生を阻害するとしている。また Graham ら¹⁹⁾ はプルキンエ繊維を用いた実験から aconitine が連続的な陰性後電位の発生を促し、そのことが正常な活動電位の伝導を阻害する可能性を示している。以上のことから、各生附子および aconitine は共に神経-筋標本に対して筋側ではなく神経を特異的に遮断する作用を有するものと推定される。このように生附子と aconitine が神経-筋標本において同一の作用機構を示すことも、生附子のそれらの活性が aconitine 系アルカロイドによるものであることを示している。

つぎに加工附子においては、生附子に対応する投与量では、ラットでの血圧上昇作用を除けば生附子で認められたすべての薬理活性が減弱してしまっていることが観察された。生附子から加工附子への修治の過程は aconitine 系アルカロイドから benzoylaconine 系アルカロイド系への加水分解ということで理解できるが、benzoylaconine は aconitine に対応する投与量では薬理活性を示さなかったことから、生附子に含有されていた aconitine 系アルカロイドの大部分が修治に伴って加水分解されたために、その含量が活性を示す閾値以下になってしまい、従って加工附子では薬理活性を示さなくなったものと考えられる。

さて生附子の示す薬理活性のうちにはその組成成分である aconitine 系アルカロイドのそれとしては説明できないものがいくつかある。たとえばラットの血圧に対する作用において、生附子の示す降圧作用は含有する aconitine 系アルカロイドによるものとしてよく解釈できるが、北海道産生附子の示す降圧作用に先立つ昇圧作用は aconitine または benzoylaconine によっては起らない。さらに修治によって aconitine 系アルカロイドの含量が減少した加工附子においても昇圧作用のみはなお観察された。これらのことは附子中に aconitine 系アルカロイド以外に他の生理活性成分の存在することを示唆するものであり、新潟県産および中国産の生附子において昇圧作用が認められなかったのは、aconitine 系アルカロイドによってそれが遮蔽されたためと考えられる。さらに附子による顕著な昇圧作用は、phenolamine で完全に抑制され、また hexamethonium によって著しく抑制されることから、その主な作用部位は α -受容体と神経節であると考えられた。そこでわれわれは附子中の血圧上昇成分に興味を抱き、活性の顕著な北海道産生附子を材料として別に活性物質の検索を行った結果、有効成分として coryneine chloride (dopamine methochloride) を得ている。⁷⁾

またモルモット右心房標本において認められた生附子による陽性変力作用についてであるが、mesaconitine は 3×10^{-8} g/ml の濃度でこの作用を現わし、また最近小管らによってトリカブト根から単離された higenamine (demethylcoclaurine)⁶⁾ も 10^{-8} g/ml の濃度で、さらに前述の coryneine chloride も 10^{-6} g/ml の濃度で同様の作用を示すので、これらの成分が生附子の薬理活性に寄与しているものと考えられる。しかし反応時間を長くしたり、生附子の投与量を増すと、aconitine 系アルカロイドによる陰性変力作用が顕著に現われることとなる。なお加工附子では、生附子で認められたこれらの作用が観察されなかったことから、修治によってこれらの有効成分が多かれ少なかれ変化を受けて、全体として閾値以下になってしまったものと考えられる。

マウスでの鎮痛作用を検定した結果、加圧法と酢酸スクエアミング法においては、前者における中国産生附子を

18) K.O. Ellis, S.H. Bryant, *Life Sci.*, **13**, 1607 (1973).

19) H. Graham, H.S. Gasser, *J. Pharmacol. Exptl. Ther.*, **43**, 163 (1931).

除いて、生附子にかなりの鎮痛効果があることが認められた。しかし熱板法では明らかな効果が認められず、検定法によって反応性が異なることが判った。この鎮痛効果は、加工附子では観察されなかったことから、その有効成分は加熱処理によって変化を受けることが推定されたが、aconitine や benzoylaconine が明らかな活性を示さなかったことから、以上の実験によっては有効成分を特定することができなかった。附子の鎮痛成分については後報の予定である。

またマウスでのヘキソバルビタール睡眠の延長作用および抗ストレス潰瘍作用を検定した結果、各生附子に活性が認められ、後者では中国産は加工附子にもある程度の活性があったが、aconitine や benzoylaconine は作用を示さなかったことなどから、これらの作用の有効物質として、aconitine 系アルカロイド以外の成分の存在が示唆されたが、この点についてはさらに検討の要がある。

なおこの研究においては、加工附子は原則として生附子に対応する投与量で検討を行った。その結果生附子で観察された大部分の薬理活性が加工附子では減弱されてしまっていることが認められた。このことは、附子の修治は薬効を保持したまま毒性を減弱させる過程であるという従来言い伝えられてきた見解に疑問を投げかけるものである。しかし加工附子は事実上無毒化されているにもかかわらず、その中にはなおある程度の aconitine 系アルカロイドが残存している³⁾ ことから、その投与量を増せばこれらのアルカロイドの示す薬理活性を現わすようになることは、当然期待されることである。

以上の検討で附子が種々の薬理活性を示すことが明らかとなったが、鎮痛作用などを除けば、それらが附子の薬効にどのように寄与しているかは明らかではなく、この点については今後なお検討を加える必要がある。またこの研究では附子の対照物質として薬理学的に最も著名な aconitine および benzoylaconine を選んだが、現在日本で実用されている附子に含まれる aconitine 系アルカロイドの主構成成分は mesaconitine および hypaconitine であることが知られている。³⁾ しかし従来これら 3 種の aconitine 類およびその脱アセチル誘導体である benzoylaconine 類の薬理活性についての系統的な検索はなされていない。そこでわれわれはそれについても検討を行ったが、その結果については別に報告する。¹⁷⁾

謝辞 本研究にあたり実験の一部を担当して頂いた本学部 山田陽子氏に感謝します。