The Japanese Society of Pharmacognosy

生 薬 学 雑 誌
Syôyakugaku Zasshi
24(2), 105～110(1970)

# *Scopolia parviflora* 根茎エキスおよび *Datura meteloides* 根エキスにおける毒性分画の比較について

木島正夫，田端 守，鹿野美弘，田中重雄[1)]
京都大学薬学部[1)]

# On the Difference of Toxic Components between the Rhizome Extract of *Scopolia parviflora* and the Root Extract of *Datura meteloides*

Masao Konoshima, Mamoru Tabata, Yoshihiro Kano and Shigeo Tanaka[1)]
*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University*[1)]

(Received September 3, 1970)

The root extract of *Datura meteloides* (DM), prepared by the method described in JP VII, was compared with the rhizome extract of *Scopolia parviflora* (SP) regarding alkaloid content, antispasmodic activity and acute toxicity. Although no difference was found in the yield of extract on the dry weight basis between DM roots and SP rhizomes, the total alkaloid content was higher in the former. A remarkable difference was found in the *l*-hyoscyamine/scopolamine ratio between the two extracts, i.e, 10/68 in DM in contrast to 65/10 in SP. Antispasmodic activity was nearly proportional to total alkaloid content in the both extracts, the specific activity (atropine=1.0) being 1.82 and 1.98 for DM and SP, respectively.

The results of acute toxicity tests indicated that DM extract was much more toxic for mice as compared with SP extract. This toxicity of DM extract is mainly due to a neutral, organic solvent insoluble, but water soluble fraction ; whereas the main toxic component of SP extract is present in the alkaloidal fraction. The pharmacological effects of scopoletin, contained in *Scopolia* rhizomes, were also discussed.

局方ロートエキス原料であるハシリドコロ (*Scopolia japonica* Maxim.) は，すでに著者らが報告したように，資源の枯渇，品質の劣化が著しく，ロートエキス原料生薬の開発が求められている．著者らはすでに *S. parviflora* Nakai, *S. carniolica* Jacq. に基く輸入ロートコンが，局方ロートエキス原料として製剤面からも，成分化学的にも，薬理的にも邦産ロートコンより優れた点のあることを報告した[2)]．しかし *Scopolia* 属植物は栽培条件上の制約が多く，また生育に数年を要するなど経済性にも欠けるため栽培化は容易でなく，現状では野生品の採取に頼らざるを得ない．そのために現在の高品質の輸入ロートコンにおいても邦産ロートコンと同様，資源の枯渇，品質の劣化が起ってくるものと推定される．

今回，著者らは以上の現状から，局方ロートエキス原料としての可能性を，他のトロパンアルカロイド含有植物について検討する目的で，アルカロイド含量，栽培の容易性，収量などを考慮して，*Datura* 属，とりわけ根部が短時日で著しく成長する *Datura meteloides* DC. を選び，局方に従って製した *D. meteloides* 根のエキス収量，アルカロイド含量，鎮痙作用，急性毒性などについて，*S. parviflora* 根茎エキスおよびそれらの主アルカロイド成分である *l*-hyoscyamine, scopolamine, atropine と比較検討した．その結果，これらエキスの $LD_{50}$ 値に著しい相異が認め

1) Location : *Yoshida-Shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto.*
2) 木島正夫，田端 守，鹿野美弘，田中重雄，生薬，**23**, 89 (1969).



NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Pharmacognosy

られ，その原因を，アルカロイド以外の毒性成分の存在およびアルカロイド組成の違いにあることを明らかにし，さらに *Datura meteloides* 根のロートエキス原料としての可能性にも言及した．

## 実　験　の　部

### 実験材料

本実験に用いた材料は Table I のごとくである．

*S. parviflora* 根茎は重質で，でんぷん質に富み，硬い．*D. meteloides* 根は乾燥により著しく減量し，繊維質に富み軽質である．乾燥生薬を 10～50 メッシュに粉砕後，JP VII に従い抽出，減圧濃縮後，生薬 2g がエキス 1ml に相当するように調製し冷暗所に保存した．

TABLE I.　Materials Used for the Experiments.

| |
|---|
| *Scopolia parviflora* NAKAI : Imported from Korea in 1968. |
| *Datura meteloides* DC.　: Cultivated in Kyoto Univ. during April, 1969～March, 1970. |

### 実験方法

#### A　総アルカロイドの定量

一定量のエキスを精確に取り，蒸留水で希釈，アンモニアアルカリ性とし，$CHCl_3$ で 3 回抽出，$CHCl_3$ 層を合わせ全量 100 ml としその 1 ml を取って水浴上蒸発乾固，発煙硝酸を加えニトロ化を行い，以下 Freeman 法[3] に準じ定量した．吸光度測定は SHIMADZU-BAUSCH & LOMB Spectronic 20 (1 cm セル) を用い，呈色試薬混和 90 秒後 545 mμ で測定した．検量線は atropine sulfate を用いて作成し含有アルカロイド量は atropine 換算値とした．

#### B　*l*-hyoscyamine, scopolamine の分離定量

一定量のエキスを精確に取り，蒸留水で希釈，アンモニアアルカリ性とし，$CHCl_3$ で 3 回抽出し，$CHCl_3$ 層を合わせ定容とする．その一定量 (25～50 μl) を Silica gel 薄層板にスポットし，$CHCl_3$ : EtOH : 28% $NH_4OH$ (85 : 14 : 1) の混合溶媒にて展開後，ヨウ素蒸気にさらして各アルカロイドを確認した．*l*-hyoscyamine, scopolamine に相当する部分を削り取り，アンモニア性メタノールで抽出，その全量を総アルカロイド定量法に準じ測定した．

#### C　鎮痙作用の検定

雌雄成熟モルモット (250～350g) の摘出回盲部を用い Magnus 法により効力比較を行った．浴槽容積 50 ml, 26°C, 空気を通じた Tyrode 溶液 ($Ca^{+2}$ ; ×1/2, $Mg^{+2}$ ; ×2) に懸垂し，Ach 次極大濃度の収縮が一定するのを確めた上，まず投与量を 0.5 ml に調製した検体を加え，60 秒後に Ach を加え，その収縮抑制を測定した (上昇法)．鎮痙効力の算出は atropine sulfate を対照とし，4 点法で行い，atropine の活性を 1.0 として，等量のアルカロイドの活性を比活性として示した．

#### D　急性毒性試験

健康な雄性マウス (14～18g) を各検体に対し 1 群 6 匹，4 群を用いた．検体は各用量間に等比級数が成立するように等張食塩水で希釈した．投与量は体重 10g 当り 0.2 ml とし，腹腔内投与により生死を 24 時間後に判定した．$LD_{50}$ 値の算出は Weil 法[4] に従った．

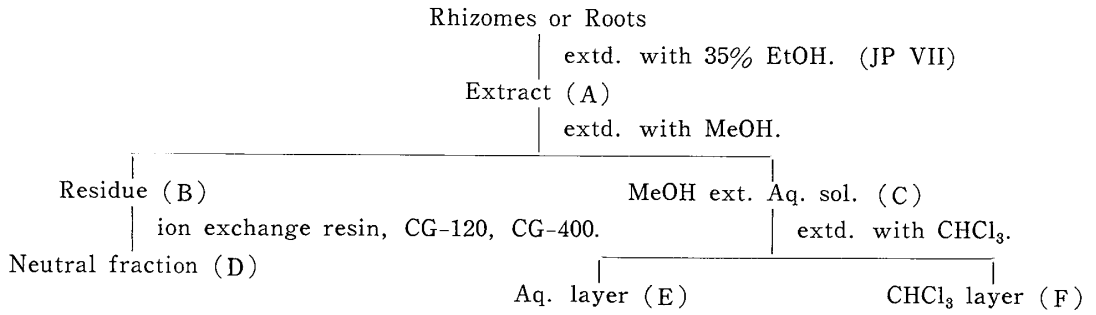



Chart 1.　Separation of Toxic Components from *S. parviflora* Rhizomes and *D. meteloides* Roots.

3)　F. M. Freeman, *Analyst* **80**, 520 (1955).



NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Pharmacognosy

### E 分画分離法

分画分離は CHART 1 に示す．酸，アルカリまたはその塩により，生理活性の測定値が影響を受けないように，分画に際し，酸，アルカリの添加は行わず，エキス自体の液性（弱酸性）を利用した．イオン交換樹脂は生薬重量換算 1g 当り，アンバーライト CG-120, CG-400 (TYPE-1) を各 5g 用いカラム法で流出部を取った．

## 結 果 と 考 察

### 総アルカロイド量および *l*-hyoscyamine/scopolamine 含量比

*S. parviflora* 根茎および *D. meteloides* 根の総アルカロイド量（乾燥生薬重量当りに換算）および，*l*-hyoscyamine, scopolamine の含量比を TABLE II に示す．

Freeman 法[3]によっているため，Vitali-Morin 反応[5]で呈色しないアルカロイドの存在は考慮されていない．特に *Datura* 属植物には Vitali-Morin 反応陰性の meteloidine がかなり含まれているため[6]，実際のアルカロイド

TABLE II. Alkaloid Contents of *Scopolia* Rhizomes and *Datura* Roots.

| Materials | Total alkaloids (%)[1] | *l*-hyoscyamine (%) | scopolamine (%) | hyoscyamine/ scopolamine |
|---|---|---|---|---|
| *Scopolia* rhizomes | 0.384±0.010 | 0.305 (78.6)[2] | 0.047 (12.1)[2] | 65/10 |
| *Datura* roots | 0.688±0.006 | 0.078 (11.3)[2] | 0.533 (77.5)[2] | 10/68 |

1) calculated as hyoscyamine.
2) ( ) ; percent to the total amount of alkaloids.

TABLE III. Chemical and Pharmacological Qualities of the Fractions from *Scopolia parviflora* Rhizomes and *Datura meteloides* Roots.

| Fraction | | FD[1] (mg) | Total alkaloids[2][3] (%) | $LD_{50}$ (mg)[4] | | | Specific activity[5] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Crude drug | FD | Alkaloid[2] | |
| A : | SP.[6] | 296.0 | 0.384±0.010 | 269.3±9.2 | 79.7 | 1.03 | 1.98 |
| | DM.[6] | 324.4 | 0.688±0.006 | 63.7±8.2 | 20.6 | 0.44 | 1.82 |
| B : | SP. | 102.1 | (−)[7] | ≧1000.0 | ≧102.0 | 0.00 | 0.00 |
| | DM. | 85.4 | (−) | 55.4±4.3 | 4.7 | 0.00 | 0.00 |
| C : | SP. | 184.2 | 0.382±0.005 | 269.3±9.2 | 49.6 | 1.03 | 2.00 |
| | DM. | 239.0 | 0.690±0.004 | 261.1±9.0 | 62.4 | 1.80 | 1.84 |
| D : | DM. | 21.8 | (−) | ≦130.0 | ≦2.8 | 0.00 | 0.00 |
| E : | SP. | 167.4 | 0.384±0.006 | 293.0±1.8 | 49.1 | 1.13 | 2.00 |
| | DM. | 221.7 | 0.710±0.004 | 261.4±9.4 | 57.9 | 1.86 | 1.80 |
| F : | SP. | 29.3 | (−) | — | — | — | —[8] |
| | DM. | 17.8 | (−) | — | — | — | — |

1) Freeze-dried extract prepared from 1g of crude drug
2) Calculated as hyoscyamine
3) Calculated on the dry weight basis of crude drug
4) Per g body weight (mouse)
5) Ratio of activity of extract containing equal amount of alkaloids calculated as atropine to the activity of standard atropine
6) SP. *Scopolia* ; DM. *Datura*
7) Undetected by the Dragendolff's reagent
8) A small activity due to scopoletin was detected (see text)

4) W.R. Thompson, C.S. Weil, *Biometrics* **8**, 51, 249 (1952).
5) C. Morin, *J. Pharm. Chem., Paris*, **23**, 245 (1936).
6) F.L. Pyman, J.E. Reynold, *J. Chem. Soc.* **93**, 2077 (1908).



NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Pharmacognosy

量は TABLE 値を上まわるはずである．しかし，Vitali-Morin 反応に必要なトロピン酸部分をもたない meteloidine などのアルカロイドには，構造活性相関の上からも atropine 様作用が無いか，あるいは非常に弱いと推定され[7]，鎮痙作用を主として考える場合は，Freeman 法による定量がむしろ適当であると考えられる．乾燥生薬当りの総アルカロイド量は *S. parviflora* 根茎に比べ，*D. meteloides* 根は著しく高いが，その組成は，*S. parviflora* 根茎に *l*-hyoscyamine が多いのに対し，*D. meteloides* 根では，全く逆に，scopolamine の含量が高い．しかし共に，*l*-hyoscyamine と scopolamine の和は総アルカロイドの 90% に相当する．以上から *D. meteloides* 根は scopolamine 原料として非常に優れているといえよう．また *l*-hyoscyamine と scopolamine の鎮痙効力は等しく，相加的に作用するため[8] アルカロイド定量値だけから考えると *D. meteloides* 根のロートエキス代用原料としての可能性は高い．

**エキス収量とアルカロイド含量の関係**

*S. parviflora* 根茎と *D. meteloides* 根は，その性状の違いにもかかわらず，乾燥生薬重量当りのエキス収量にほとんど差がなく，むしろ軽質の *D. meteloides* 根の方が，わずかに上まわる．単位エキス量当りのアルカロイド量において *S. parviflora* で 1.3%，*D. meteloides* で 2.1% となり，*D. meteloides* 根は優れた点をもっている．

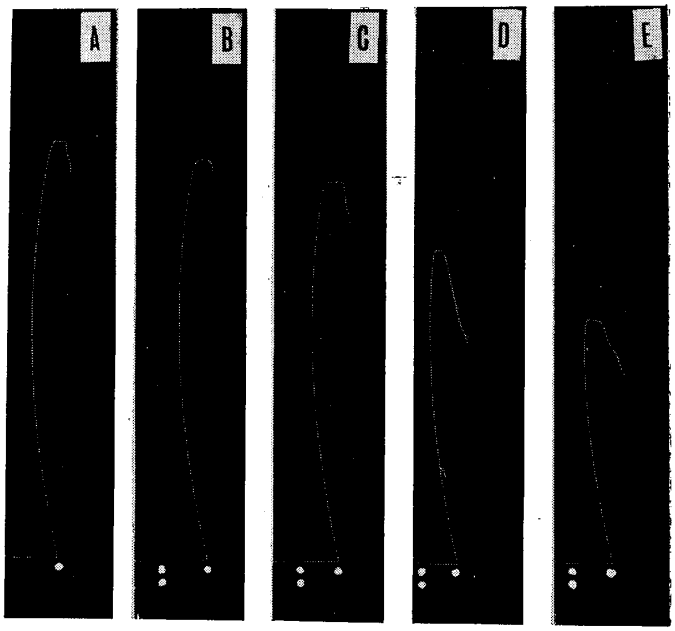
TABLE IV. Acute Lethal Doses of Various Alkaloids.

| | $LD_{50}$[1] (mg) |
|---|---|
| 1-Hyoscyamine | 2.40±0.18 |
| Scopolamine | 4.92±0.15 |
| Atropine | 2.83±0.18 |

1) per 10g body weight (mouse).

**鎮痙作用の検定**

*D. meteloides* 根エキスでは，含有アルカロイドの全てが *l*-hyoscyamine と同等の活性を持つ場合に予期される活性（比活性 2.0）に対して，その 91% の活性しか示さない．*l*-hyoscyamine と scopolamine はほぼ同等の活性を持つ[8] ため，主アルカロイドの組成の違いによるものではないが，その原因は未だ明らかでない．




A : control. B : scopoletin, $2\times10^{-5}$ a)
C : scopoletin, $3\times10^{-5}$ D : scopoletin, $5\times10^{-5}$
E : scopoletin, $6\times10^{-5}$ Tyrode solution, 34°C
a) g/ml

Fig. 1. The Kymographic Recording of Pharmacological Activity of Scopoletin Tested on the Isolated Ileum of Guinea-pig by Magnuse Method.

**エキスの急性毒性および毒性分画の検索**

急性毒性試験で，*D. meteloides* 根と *S. parviflora* 根茎は，最も著しい差異があった．

*S. parviflora* 根茎エキスの $LD_{50}$ は乾燥生薬換算で 269.3 mg であるのに対し，*D. meteloides* 根エキスでは 4.2 倍強い 63.7 mg の値をとる．しかしこの毒性の強さと発現時間は相関せず，*S. parviflora* 根茎エキスが *l*-hyoscyamine, atropine の毒性作用と同様の反応で死に至り，投与後2時間目にはほぼ各個体の生死が確定しているのに対して，*D. meteloides* 根エキスでは，致死量に近い投与量において，投与後の 1～2 時間は正常の個体との間にほとんど差が認められず，その後徐々に死に至るが，個々の個体の生死は12時間後も不確定である．当然高濃度では致死効果の発現は早まるが，アルカロイドによる反応はみられない．*D. meteloides* 根エキスによる致死効果の作用点は未だ明らかでないが，致死量に近い投与を受けて生き残った場合，しばしば視力を失う個体がみられた．しかしこの視力喪失も 48～72 時間後には正常に回復する傾向にある．又，解剖所見上，著明な変化はみられなかったが，身体各部に局所的な充血がみられるようであっ

7) R. B. Barlow, "Introduction to Chemical Pharmcology" 熊谷 洋，佐久間昭共訳，"化学薬理学"，医学書院，東京，1958, p. 188.
8) 山田 肇，日薬理 **16**, 22§ (1920).



NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Pharmacognosy

た．この *S. parviflora* 根茎エキスおよび *D. meteloides* 根エキスの分画の毒性については，*S. parviflora* 根茎エキスでは，その毒性が完全にメタノール可溶部（C）に移り，エキス収量の 34% に相当するメタノール不溶部（B）は毒性にも，鎮痙作用にも全く寄与していない．さらに分画（C）をクロロホルムにて分配した（E）および（F）では，その毒性は幾分弱まるが，アルカロイドを含む分画（E）に一致している．

一方，*D. meteloides* 根エキスでは，その主たる毒性は，アルカロイドを含まないメタノール不溶部（B）に移り，乾燥生薬換算値からみると，幾分作用は強まる傾向にあり，反応は全く *D. meteloides* 根エキスと同様であった．さらにこの分画（B）を，強酸性，強塩基性イオン交換樹脂に通じたところ，その流出した中性分画に毒性は保持され，$LD_{50}$ 値はマウス体重 10g 当り，凍結乾燥エキス重量で（B）の 4.7 mg から（D）の 2.8 mg へと強められた．またこの *D. meteloides* 根エキスのメタノール可溶部でも毒性を示すが $LD_{50}$ 値は生薬換算で 261.1 mg と大きく減弱する．また反応も，scopolamine 投与と同様の状態を示すが，このことは $LD_{50}$ 値におけるアルカロイド量が 1.80 mg と 4 倍に上昇したことと相関している．この分画（C）をさらにクロロホルムで抽出し（E），（F）に分画しても，（C）から（E）へのアルカロイドを含む分画の $LD_{50}$ 値は変化しない．以上のことから *D. meteloides* 根エキスの毒性は，メタノール不溶性の中性成分に主として代表され，アルカロイドは全く影響しないか，またはむしろ弱める傾向にある．

*D. meteloides* 根エキスと *S. parviflora* 根茎エキスは全く異った成分にその毒性を依存するが，*D. meteloides* 根エキスでは，その毒性成分と，鎮痙作用をもつアルカロイド分画との分離は非常に容易であり，この毒性分画を除い

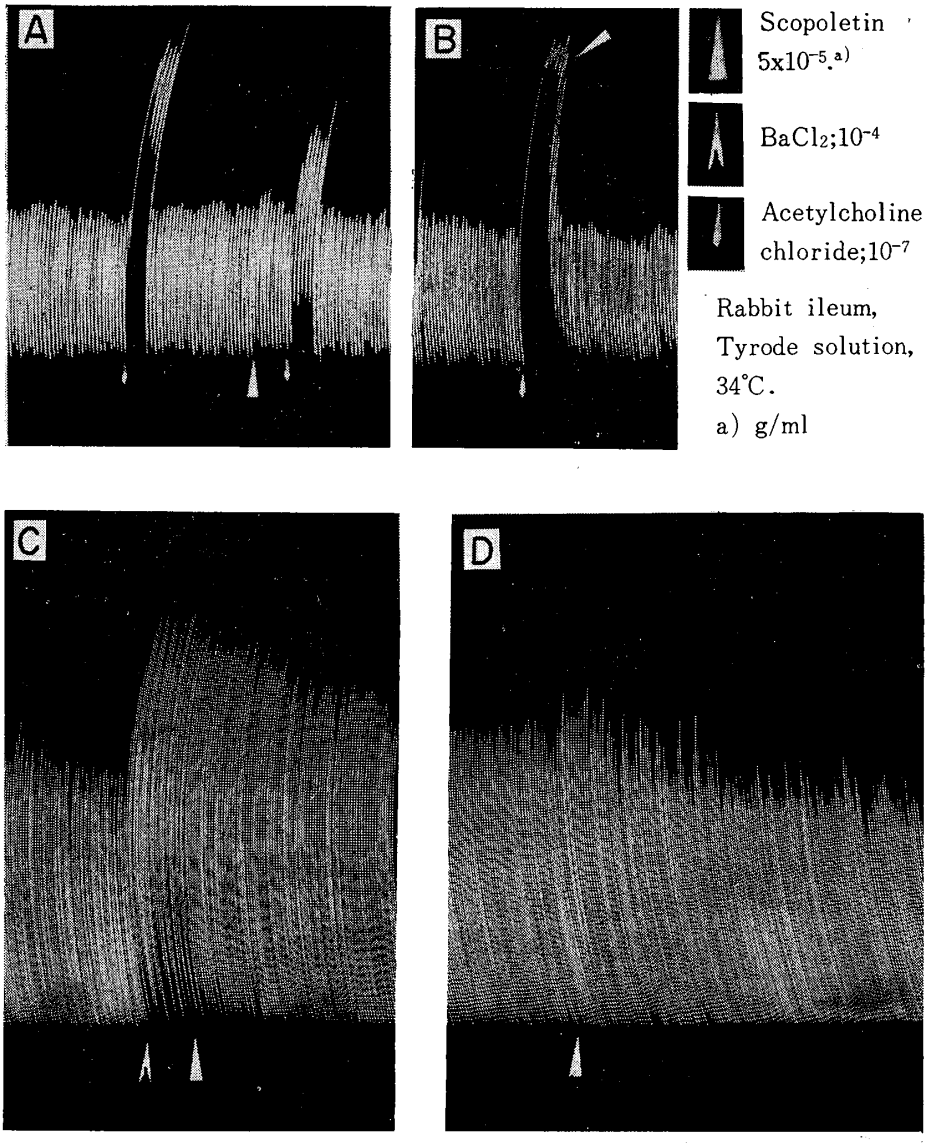



Fig. 2. The Kymographic Recording of Pharmacological Effect of Scopoletin Tested on the Isolated Ileum of Rabbit by Magnus Method.



NII-Electronic Library Service

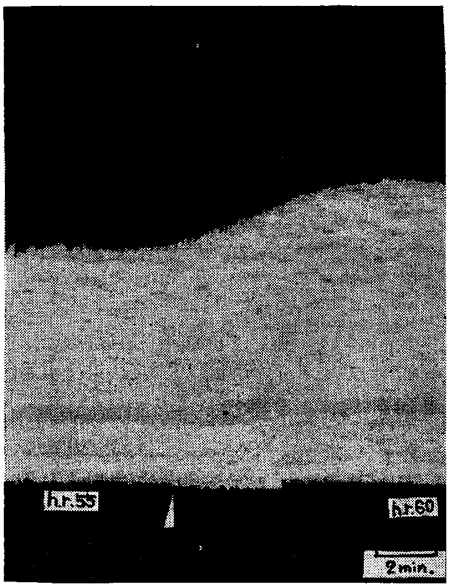
The Japanese Society of Pharmacognosy

た残りのアルカロイド分画は，毒性の点からも，鎮痙作用の点からも *S. parviflora* 根茎エキスより優れていると考えられる．

一方，*S. parviflora* 根茎および *D. meteloides* 根のいずれに基く分画（E）でも，$LD_{50}$ の乾燥生薬換算値，凍結乾燥エキス量の値は各々近似しているが，含有アルカロイド量では大きな差が認められる．このことは，*l*-hyoscyamine および scopolamine 純物質の急性致死量から考え（TABLE IV），アルカロイド組成の違いに依るものと推定されるが，その絶対量の差からアルカロイド以外の毒性成分の存在も推定される．

**Scopoletin の単離と薬理作用**

*S. parviflora* 根茎エキスの（C）から（E）への分画によって，その毒性はわずかに減少した．その原因は（F）分画に求められるが，この分画（F）は TLC (Silica gel, $CHCl_3$ : MeOH＝9 : 1) でほぼ単一のスポットを示す．これをさらに活性炭カラムを通し，濃縮して粗結晶を得た．この結晶をメタノールから再結晶し，融点 203℃，白色針状晶を単離し，元素分析値 (*Anal.* Calcd: C, 62.28, H, 4.20, Found : C, 62.50, H, 4.20)，IR スペクトル，UV スペクトルから scopoletin と同定した．




Scopoletin, $5x10^{-5}$. a)

Ringer-Lock solution, 31℃.
a) g/ml

Fig. 3. The Kymographic Recording of Pharmacological Effect of Scopoletin Tested on the Isolated Auricles of the Guinea-pig Heart by Magnus Method.

Scopoletin は Magnus 法による摘出モルモット回盲部における Ach. の収縮に拮抗し (Fig. 1)，また家兎摘出回盲部の自動運動能を抑制すると同時に，Ach. および $Ba^{+2}$ イオンによる収縮に対しても拮抗する (Fig. 2)．また Linger-Lock 液 (31℃. $O_2$) 中のモルモット心房標本に対して収縮幅の増強と心拍数の増加を起した (Fig. 3)．しかしながらこの鎮痙作用は弱く，エキス中では作用を発現するに至らないと考えられる．また *D. meteloides* 根の分画（F）には scopoletin の存在は確認されず他の蛍光成分が確認された．

## 結　　論

1) *S. parviflora* の乾燥根茎と *D. meteloides* の乾燥根とは，その性状が著しく異なるがそのエキス収量は近似する．

2) *S. parviflora* 根茎に比べて *D. meteloides* 根は非常に高いアルカロイド含量を持つが，それらの主アルカロイド組成は全く異なり *S. parviflora* 根茎ではその総アルカロイドの 79% が，*l*-hyoscyamine であり，*D. meteloides* 根では 78% が scopolamine であった．このことから *D. meteloides* 根は scopolamine 原料生薬として優れている．

3) *S. parviflora* 根茎エキスと *D. meteloides* 根エキスの鎮痙作用は，ほぼその含有アルカロイドに相関するが *D. meteloides* では幾分弱い傾向がみられる．

4) *S. parviflora* 根茎エキスと *D. meteloides* 根エキスの毒性では，後者が前者の 4 倍強い．その違いとして *S. parviflora* 根茎がその毒性を主としてアルカロイド分画によっているのに対して，*D. meteloides* 根では *S. parviflora* 根茎には含まれない有機溶媒不溶，水易溶の中性成分が毒性の主成分であることが明らかとなった．

5) *D. meteloides* 根に含まれるアルカロイド以外の有毒成分は，溶媒処理によって容易に除去できる．この毒性成分を除いたアルカロイドを含む分画は，成分的にも，薬理的にも *S. parviflora* 根茎エキスより優れた点をもつ．

6) *D. meteloides* 根の毒性成分の化学構造および一般生理作用は未だ明らかでないため，その作用点は不明である．

7) *S. parviflora* 根茎エキスの急性毒性にわずかに寄与する分画から scopoletin を単離し，その生理作用を験したところ，抗 Ach 作用，抗 $Ba^{+2}$ 作用，心房標本に対する作用がみられたが，エキス中では著しい作用は示さないものと考えられる．



NII-Electronic Library Service