

## P-45 ★

## 漢方方剤中のアコニチン系アルカロイドの定量

○条美智子<sup>1</sup>、中川孝子<sup>1</sup>、酒井伸也<sup>1</sup>、引網宏彰<sup>2</sup>、後藤博三<sup>2</sup>、嶋田 豊<sup>2,3</sup>、柴原直利<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>富山大学 和漢医薬学総合研究所 漢方診断学部門、<sup>2</sup>富山大学大学院医学薬学研究部和漢診療学講座、<sup>3</sup>富山大学21世紀 COE プログラム

【目的】附子(烏頭)はキンポウゲ科(Ranunculaceae)の植物で毒性が強く使用するのが難しい生薬で母根をそのまま風乾したものを烏頭、子根を附子と称している。その作用は、鎮痛、強心、利尿、新陳代謝の機能亢進など多岐にわたっており、疼痛、厥冷、麻痺などの症候に用いられ漢方薬には欠かせない生薬である。一方、その主成分であるアコニチン系アルカロイドであるアコニチン、メサコニンなどは自然毒の中でもフグ毒に次いで強いとされている。附子中毒では、舌と口の麻痺感、悪心、嘔吐、冷汗、呼吸困難、不整脈がおこり、最終的には呼吸麻痺、死に至る。附子は漢方の臨床に広く用いられている薬物であるため、薬効及びその他の有効成分、煎じる過程や修治による成分の変化はいずれもその治療的応用にあたっては極めて重要な問題である。また、古来より烏頭を煎じる際には蜂蜜を用いているが、その成分変化については検討されていない。本研究では附子(烏頭)および附子(烏頭)含有漢方方剤中のアコニチン系アルカロイドの定量を行った。【方法】各エキスを作成し、前処理後、得られた試料をHPLC分析に供した。HPLC装置はPD-8020(TOSOH)システムを使用、分析カラムにはXBridge Shield RP18(4.6×250 mm i.d, Waters)を用いた。移動相はアセトニトリル(A)-10mM炭酸水素アンモニウム(pH10±0.2, B)を用い、グラジエント条件として20-25% (A, 0-10 min), 25-34% (A, 10-30 min), 34-45% (A, 30-67 min), 45-60% (A, 67-75 min)、流速は1.0 mL/minとした。【結果・考察】4種の附子(烏頭)及び20種の附子(烏頭)含有漢方方剤について分析を行った。すべてにおいて毒性の強いとされるアコニチン系アルカロイドは検出限界以下であり、その大部分は毒性の低いモノエステルアルカロイドに加水分解されていた。それらのモノエステルアルカロイドの定量の結果、附子(烏頭)含有漢方方剤中の含量より生薬単味の方が高かった。しかし、針蜜を用いた大烏頭煎は烏頭単味とあまり差は見られなかった。

## P-46

High through-put identification of cytotoxic chikusetsusaponin IVa from heat-processed *Achyranthes fauriei* roots

○Yoo Hye Hyun<sup>1,2</sup>, Kang Ki Sung<sup>3</sup>, Park Jeong Hill<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bioanalysis and Biotransformation Research Center, Korea Institute of Science and Technology, <sup>2</sup>College of Pharmacy, Seoul National University., <sup>3</sup>Institute of Natural Medicine, University of Toyama.

【Objective】From our on-going project to find out novel plant-derived anticancer agents, the methanol extract of heat-processed *Achyranthes fauriei* was screened out with potential cytotoxic activity against human hepatoma cell line (SK-Hep-1). To identify the cytotoxic active component which was increased by heat-processing, bioassay-guided high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detector (HPLC-ELSD)-fraction collector system was employed. 【Methods】The change in components of achyranthes extract by heat-processing was compared by HPLC-ELSD. Through micro splitter valve, the eluent from the column was introduced to two ways, ELSD and 96 well plate by fraction collector. The eluent collected in a 96 well plate was dried to be test for cytotoxic activity with SK-Hep-1 cell. MTT assay was employed to evaluate the cytotoxic potential. 【Results】Heat-processed achyranthes extract showed more potent cytotoxic activity than crude achyranthes extract. From the activity profile, the retention time of exhibiting strong cytotoxic activity was 8.8 min. This component was elucidated as chikusetsusaponin IVa, and its content was definitely increased by heat-processing. The generation of chikusetsusaponin IVa was reached its highest amount at 120 °C from the various temperature conditions. 【Discussion】Chikusetsusaponin IVa is contributive to the increased cytotoxic activity of the heat-processed achyranthes extract. Further study on changes of other components of achyranthes extract by heat-processing is in progress.