

ロートコン中のトロパンアルカロイドの定量法

Quantitative Determination of Tropane Alkaloids in Scopoliae Rhizoma

姉帯 正樹 山岸 喬

Masaki Anetai and Takashi Yamagishi

目 的

ロートコンはハシリドコロ *Scopolia japonica* MAXIM.の根茎を乾燥したもので、scopolamine (1), *l*-hyoscyamine (2)等のトロパンアルカロイドを含み、鎮痛、鎮痙薬として重要なロートエキス¹⁾の他、臭化水素酸スコポラミン、硫酸アトロピン (2のラセミ体)の原料とされる。²⁾

ロートコンの品質はこれらトロパンアルカロイドの含量により評価され、第十一改正日本薬局方 (J.P.XI)には、中和滴定による総アルカロイドの定量法が記載されている。³⁾しかし、この方法は操作が複雑なうえ、薬理作用⁴⁾を異にする個々のアルカロイドを分離定量できないという欠点を有している。トロパンアルカロイドを個々に定量する方法として、既に、薄層クロマトグラフ法⁵⁾、ガスクロマトグラフ法⁶⁾、高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法^{6,7)}等が報告されているが、いずれの方法も妨害物質除去のための前処理操作を必要としている。

そこで我々は、HPLCを用い、ロートコン抽出物中の各々のアルカロイドを前処理することなく分離定量する方法を検討し、既に報告した⁸⁾しかし、同一試料を HPLC 法と J.P. XI法で定量した場合、各々の値にどの程度の差違を生ずるのか検討されていないので、今回、ロートコン10試料中のトロパンアルカロイドを両法で定量し、各々の定量値を比較したので報告する。

方 法

1. Scopolamine (1)および hyoscyamine (2)の標準品

臭化水素酸スコポラミン (和光純薬 KK, 元素分析値: C₁₇H₂₁NO₄·HBr·H₂O, 理論値: C50.76, H6.01, N3.48, Br 19.86; 分析値: C50.78, H6.19, N3.65, Br20.00) および *l*-ヒヨスチアミン (東京化成 KK, 元素分析値 C₁₇H₂₃NO₃, 理論値: C70.56, H8.01, N4.84; 分析値: C70.52, H8.10,

N 4.93) を用いた。

2. 試料

下記の10種の市販および北海道産ロートコンを各々48メッシュの篩を通る大きさに粉碎した後、60℃で8時間乾燥し、デシケーター中に保存した。

試料1: 東道生薬共伸社より、1984年に入手した。試料2: 国立衛生試験所北海道薬用植物栽培試験場より、1984年に入手した。試料3: 栃本天海堂より、1981年に入手した。試料4~9: 小城製薬より、1985~1986年に入手した。試料10: 栃本天海堂より、1986年に入手した。

3. 定量法

(1) 試料溶液の調製

前報⁸⁾に準じ、試料 200 mg を 10 ml のネジ栓付遠沈管に精密に秤取し、メタノール-水 (7: 3) の混合溶媒 2.0 ml を加え、室温で20分間超音波処理後、遠心分離した。上澄液を 0.45 μm のフィルターを用いてろ過し、ろ液を HPLC の試料溶液とした。

(2) HPLC の条件

機器: 日立655A-11型高速液体クロマトグラフ

カラム: Nucleosil 5C₁₈ (Nagel 社, 4.6 mm ID×25 cm)

移動相: 1% Triethylamine phosphate を含む 50 mM

KH₂PO₄ (pH 3.5)-アセトニトリル (85: 15)

流速: 1.5 ml/分

カラム温度: 35℃

検出波長: 210 nm (ウォーターズ490型超高感度多機能検出器)

注人量: 5 μl (日立655A-40型オートサンブラ使用)

データ処理機: 日立 D-2000型クロマトデータ処理装置

(3) 検量線の作成

臭化水素酸スコポラミン 4.3 mg (1に換算して 3.2 mg) および *l*-ヒヨスチアミン 5.0 mg を精秤し、それぞれ70%含水メタノール 10 ml に溶解した。各々の溶液を希釈して種々

の濃度の標準液を調製し、上記の条件で HPLC に注入し、ピーク面積と濃度から検量線を作成した。

(4) J.P.XI による定量

試料各 10 g を J.P.XI 法に従い定量した⁹⁾

結果および考察

1. 検量線

1 および 2 の検量線は、それぞれ 0.032~0.32, 0.050~0.50 mg/ml の濃度範囲で、いずれも原点を通る直線を示した。

2. HPLC による scopolamine (1) および hyoscyamine (2) の分析と定量結果

試料 6 の抽出物を HPLC で分析した結果、図 1 に示すクロマトグラムが得られ、ピーク 1 (保持時間 5.6 分) およびピーク 2 (9.5 分) はそれぞれ 1 および 2 の標品の保持時間に一致した。

前報⁹⁾で報告した HPLC の条件では、1 のピークは他のピークと十分に分離できなかつたが、今回の条件ではよく分離でき、2 と共に定量が可能であった。1 および 2 を各試料について 3 回ずつ、絶対検量線法により定量し、その平均値を表 1 に示した。

輸入品 8 試料 (試料番号 3~10) 中の 1 および 2 の合計含量はいずれも局方値 (ヒオスチアミンとして 0.3% 以上) を越えていたが、試験的に栽培された北海道産 2 試料 (試料番号 1, 2) 中の含量はいずれも低く局方値以下であった。1 および 2 各々の含量を比較すると、試料 4 (韓国産) および 5 (中国産) は他の試料に比べ、いずれも 1 の量が多く、試料により 1 と 2 の比に差が認められた。

3. J.P.XI 法および HPLC 法による定量値の比較

ロートコン 10 試料について、J.P.XI 法および HPLC 法で定量したトロパンアルカロイド含量を表 1 に示した。

輸入品 8 試料中の J.P.XI 法および HPLC 法による総アルカロイド含量の平均値はそれぞれ 0.41 および 0.52% であり、HPLC 法の方が 2~3 割高い値を示した。含量の少ない北海道産試料でも、同様の傾向にあった。両法により得られた定量値には差が認められたが、各々の定量値間の相関係数は 0.928 であった。定量法の違いによりこのような差違を生じた理由は、抽出法の違いによると推定され、J.P.XI 法には改良の余地があると考えられる。

薬理作用の異なる 1 と 2 は、ロートエキスとして混合物のまま使用されることもあるが、各々塩として分離され、それぞれ異なった目的で使用されることも多い⁹⁾。試料により異なる各々のアルカロイド含量をあらかじめ知るには、J.P.XI 法よりも HPLC 法の方が適している。

以上の結果から、今回我々の用いた HPLC 法は操作が簡便であり、短時間でしかも信頼性の高い定量結果が得られ、

ロートコンの化学的品質評価法として、J.P.XI 法に代わりうる方法であると考えられた。

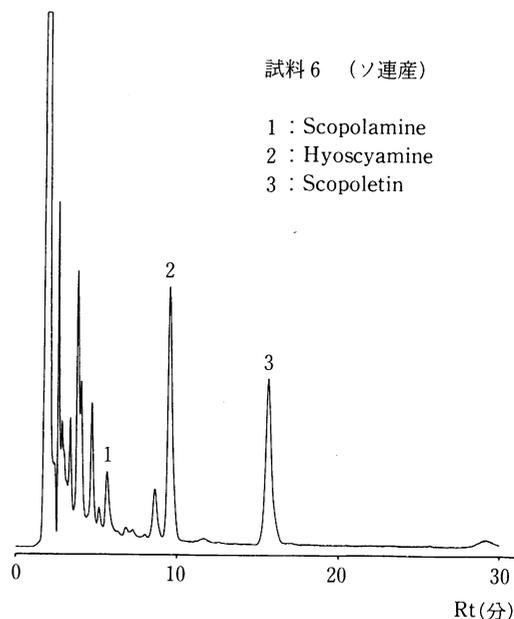


図 1 ロートコン抽出物の高速液体クロマトグラム

表 1 ロートコン中のトロパンアルカロイドの定量結果

試料番号	産地	J.P.XI 法	HPLC法		
			Scopolamine(1)	Hyoscyamine(2)	計
1	湧別町(栽培品)	0.12%	0.01%	0.18%	0.19%
2	名寄市(〃)	0.14	0.02	0.16	0.18
3	北朝鮮(市場品)	0.42	0.01	0.44	0.45
4	韓国(〃)	0.43	0.22	0.38	0.60
5	中国(〃)	0.52	0.19	0.47	0.66
6	ソ連(〃)	0.35	0.09	0.49	0.58
7	北朝鮮(〃)	0.50	0.03	0.53	0.56
8	中国(〃)	0.44	0.05	0.47	0.52
9	ソ連(〃)	0.28	0.05	0.34	0.39
10	〃(〃)	0.36	0.08	0.42	0.50

要 約

1. ロートコン 10 試料について、そのトロパンアルカロイド含量を J.P.XI 法および HPLC 法で定量し、比較した。
2. 両法によって得られた定量値の間には相関関係 ($r = 0.928$) が認められたが、HPLC 法による定量値の方が 2~3 割高い値が得られた。

3. ロートコン中のトロパンアルカロイドの定量法として、J.P.XI法よりも操作が簡単で、各成分の分離定量が可能なHPLC法が適当と考えられた。

終りに臨み、貴重な試料を御恵与下さった小城製薬㈱、
㈱栃本天海堂、㈱東道生薬共伸社および国立衛生試験所北海道薬用植物栽培試験場および元素分析をしていただいた北海道大学機器分析センター松本弘子技官に深謝いたします。

文 献

- 1) 第十改正日本薬局方解説書，D-979，広川書店，東京（1981）
- 2) 木島正夫他編：広川薬用植物大事典，281，広川書店，東京（1977）
- 3) 第十一改正日本薬局方，1455，広川書店，東京（1986）
- 4) 布浦由樹他：昭和49年度厚生科学研究報告，116（1975）
- 5) 西本喜重他：薬誌，100，396（1980）
- 6) L. J. Pennington et al. : J. Pharm. Sci., 71, 951（1982）
- 7) U. Lund et al. : J. Chromatog., 161, 371（1978）
- 8) 姉帯正樹他：道衛研所報，35，52（1985）
- 9) 第十改正日本薬局方解説書，C-895，1570，広川書店，東京（1981）