

ス中には、ドラーゲンドルフ試液による呈色の結果、アルカロイド類は検出されなかった（図1）。また、塩化鉄（III）による呈色の結果、ポリフェノール類が検出された（図2）。さらに各抽出分画のTLCを比較検討したところ、スポットは主として水抽出分画に認められた（図3）。一方、アカメガシワ樹皮とのTLC比較の結果、両者はほぼ同様のパターンを与えた（図4）。

各種有機溶媒による分配抽出の結果、ブタノール溶出画分が最も収量が大きかった。

D. 考察

種子島クスノハガシワ樹皮のアセトン抽出エキス中には、ポリフェノール類は検出されたが、アルカロイド類は検出されなかった。さらにアカメガシワ樹皮とのTLC比較の結果、その構成比は若干異なるように見受けられるものの、構成成分はほぼ変わらないことが明らかとなった。

これらの結果より、クスノハガシワ樹皮中に医薬品として取り扱うべき成分が含まれている可能性は低いと考えられ、現行の「専ら医薬品として使用される成分本質(原材料)リスト」の見直しを行うことも重要であると考えられた。

E. 結論

クスノハガシワ樹皮に「専ら医薬品」として取り

扱うべき成分が含まれているかどうか検討することを目的とし、種子島産クスノハガシワ樹皮の各種抽出分画についてTLCを用いた成分分析を行った。この結果、同植物樹皮にはアルカロイドが含まれる可能性が低いこと、ポリフェノール類が含まれることを明らかにした。また、同属植物のアカメガシワ樹皮の成分と比較した結果、構成成分はほぼ同一であることを確認した。

F. 健康危険情報

本研究において健康に危険を及ぼすような情報はない。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

図1 ドラーゲンドルフ試液によるアルカロイドの呈色

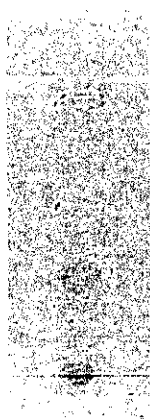
クスノハガシワ樹皮アセトン抽出エキス

TLC : Merck Silica gel 60 F₂₅₄

展開溶媒 : chloroform : methanol : water = 60 : 35 : 5

図2 塩化鉄(III)試液によるポリフェノール類の呈色

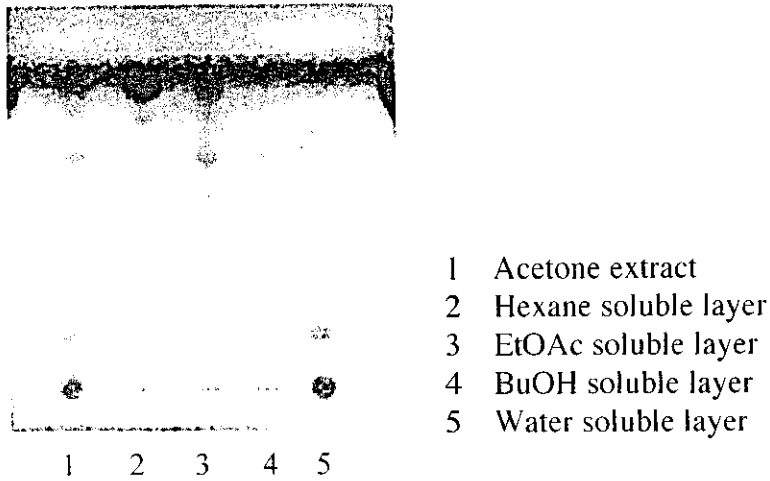
クスノハガシワ樹皮アセトン抽出エキス



TLC : Merck Silica gel 60 F₂₅₄

展開溶媒 : トルエン : ギ酸エチル : ギ酸 = 1 : 7 : 1

図3 各有機溶媒抽出画分のTLC像

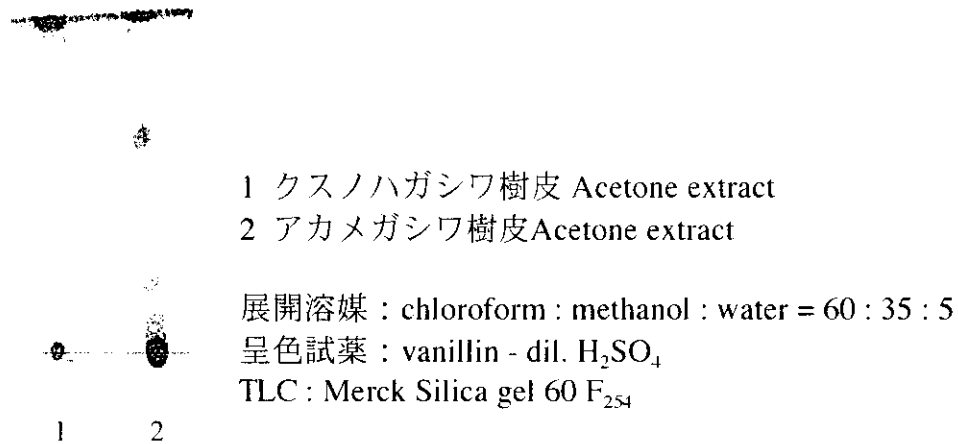


展開溶媒 : chloroform : methanol : water = 60 : 35 : 5

呈色試薬 : vanillin - dil. H₂SO₄

TLC : Merck Silica gel 60 F₂₅₄

図4 アカメガシワ樹皮とのTLC比較



厚生労働科学研究費補助金（医薬品等医療技術リスク評価研究事業）
「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）の有効性及び安全性等の
評価に関する研究」

分担研究課題 「専ら医薬品」の有効性、安全性等の評価に関する調査及び
実証的研究並びに医薬品として用いられる生薬の指標成分の検討
分担研究者 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部合田幸広

「専ら医薬品」カロライナジャスミンの成分について
研究協力者 千葉大学大学院薬学研究院教授 相見則郎

有毒植物として知られる一方、広く鑑賞用に栽培されているカロライナジャスミン (*Gelsemium sempervirens* Ait. f) 葉部を対象に含有成分の精密分離を行った。その結果オキシインドール系アルカロイド4種（内1種は新規アルカロイド）及びイリドイド系化合物2種（内1種は新規物質）を単離した。新規物質に関しては化学的、分光学的研究により構造を明らかにした。続いてカロライナジャスミンを上回る毒性を持つゲルセミウム・エレガンス (*Gelsemium elegans* Benth.) (鉤吻、胡滿強、治葛) の有毒成分分離研究を行った。その結果アルカロイド15種（内新規物質5種）を単離した。既知化合物である gelsemoxonine についてこれまで提出されていた構造の誤りを見出し新しい構造を推定し、その推定構造が正しいことをX線結晶構造解析で確認した。

A. 研究目的

カロライナジャスミンは北米大陸原産のマチン科ゲルセミウム属有毒植物で、古く米国薬局方に収載されていた記録がある。近縁種のゲルセミウム・エレガンス (*Gelsemium elegans* Benth.) が中国雲南省からタイ、ベトナムにかけての東アジア、東南アジアに自生していて中国で鉤吻、胡滿強、あるいは治葛の名で薬用に用いられてきた。極めて毒性の強い植物であるため医薬品としてですら飲用は厳禁とされ、使用は外用に限定された。現在の我が国にお

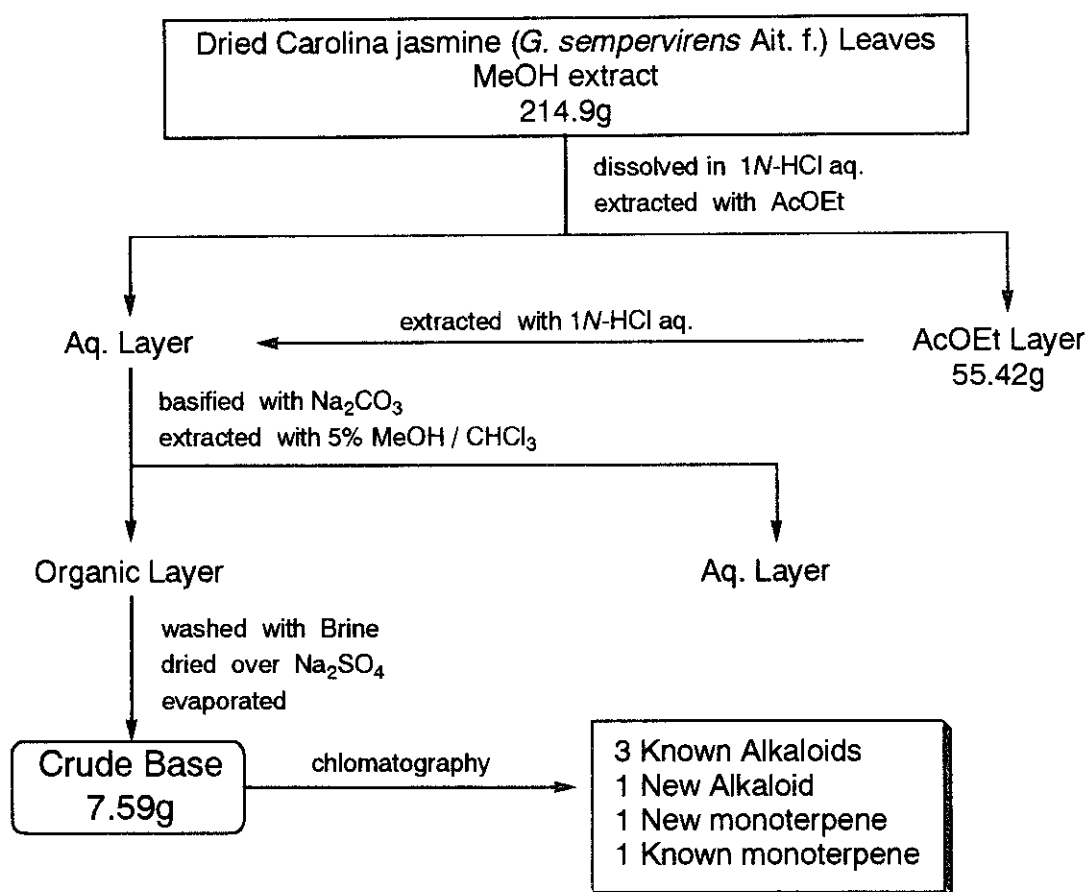
いて *Gelsemium* 属植物の生薬としての使用実体はほとんどないが、観賞用の植物としてのカロライナジャスミンは我々の身近にある。耐寒性に優れ栽培が容易であり、芳香のある美しい花をつけるため一般家庭で鉢植えで育てたり庭で栽培したりする他、町や市などの地方自治体が、道沿いの垣に仕立てて植栽することもある。キョウチクトウなど我々の身近なところに有毒植物があるケースは多々ありカロライナジャスミンの栽培が特に問題となることはないが、誤食、誤飲の危険は常にあり、安全確保の為の有毒成分の科学研究はきわめて重要で

ある。今年度はカロライナジャスミン及びゲルセミウム・エレガンスの葉部について、成分分離と化学構造の解明を行った。

B.研究方法・結果

千葉大学薬学部薬用植物園で栽培されているカロライナ・ジャスミン *Gelsemium sempervirens* Ait. f の新鮮葉 996グラ

ムを研究材料に用いた。8月に採取した新鮮葉を液体窒素を用いて凍結させ砕いて粉碎した後熱メタノールで抽出しエキス 214グラムを得た。続いて下のスキームで粗塩基画分 7.59グラムを得た後、各種クロマトグラフィーを繰り返してアルカロイドを単離した。



Scheme 1: カロライナジャスミン分離スキーム

単離された成分の構造を Chart 1 に示す。新規物質 GS-2 (C₂₀H₂₄N₂O₃)は、既にカロライナジャスミン茎部から得られている

14-hydroxygelsenicine の芳香環部 C-11 位にメトキシル基を持つ化合物であることを明らかにした。新規イリドイド系モノテル

ペノイド GSIR-1 の構造は、各種スペクトルデータの解析と既知化合物への化学的誘導によって解明した。

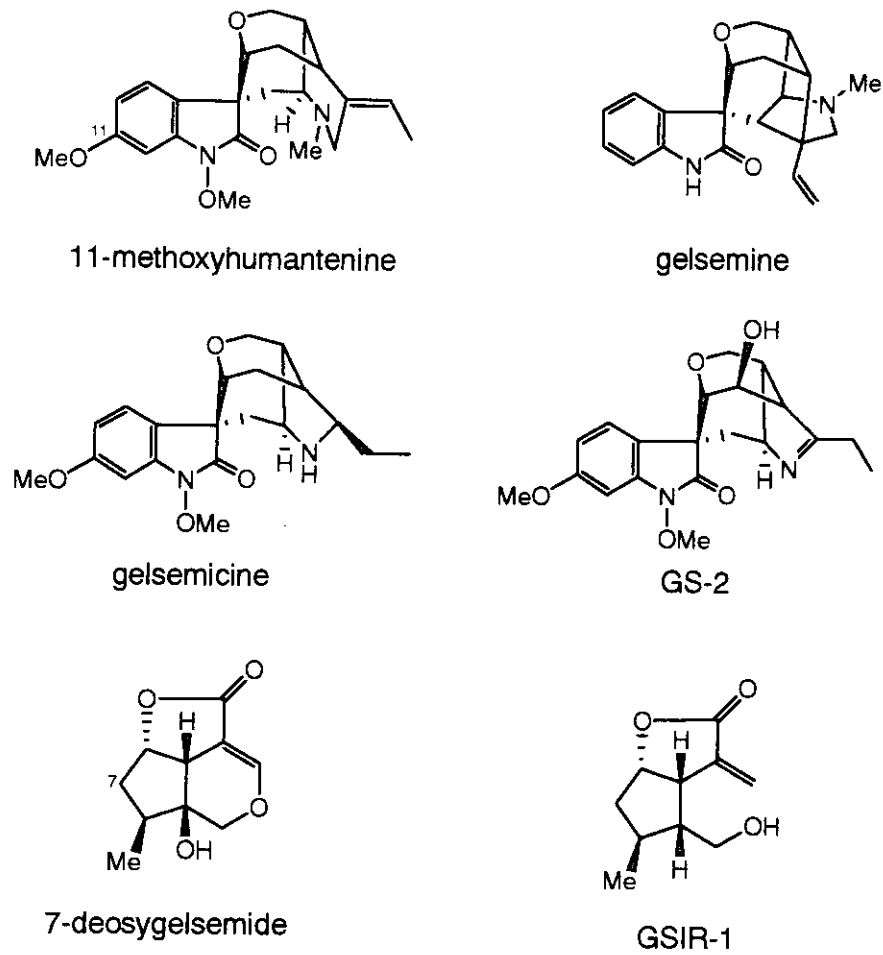


Figure 1: カロライナジャスミン葉部含有成分

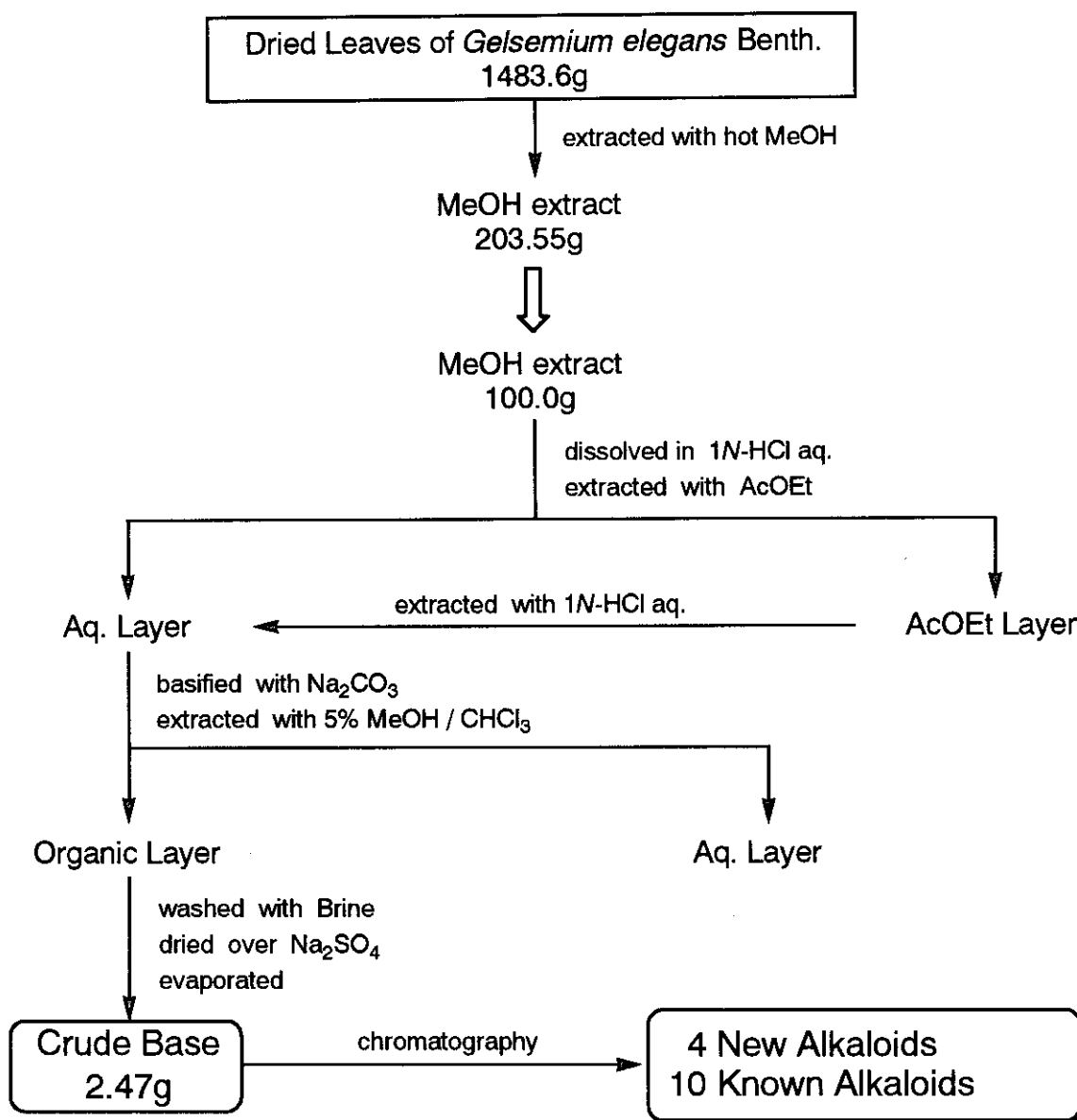
単離された成分の粗アルカロイド画分に 対する重量比を Table 1 に示す。

成分名	重量(mg)	重量比(%)
11-methoxyhumantenine	13.1	0.173
gelsemine	227.9	3.003
gelsemicine	13.1	0.173
GS-2	3.7	0.049
7-deoxygelsemide	55.8	0.735
GSIR-1	4.1	0.045

Table 1:含有成分の粗アルカロイド分画に対する重量比

同様な方法で熱川バナナワニ園清水秀男氏より分与されたゲルセミウム・エレガンス(*Gelsemium elegans* Benth.)葉部につい

ての成分検索を行った。Scheme 2 に分離方法の概略、Figure 2 に得られた化合物の構造を示す。



Scheme 2:ゲルセミウム・エレガンス葉部含有成分の検索スキーム

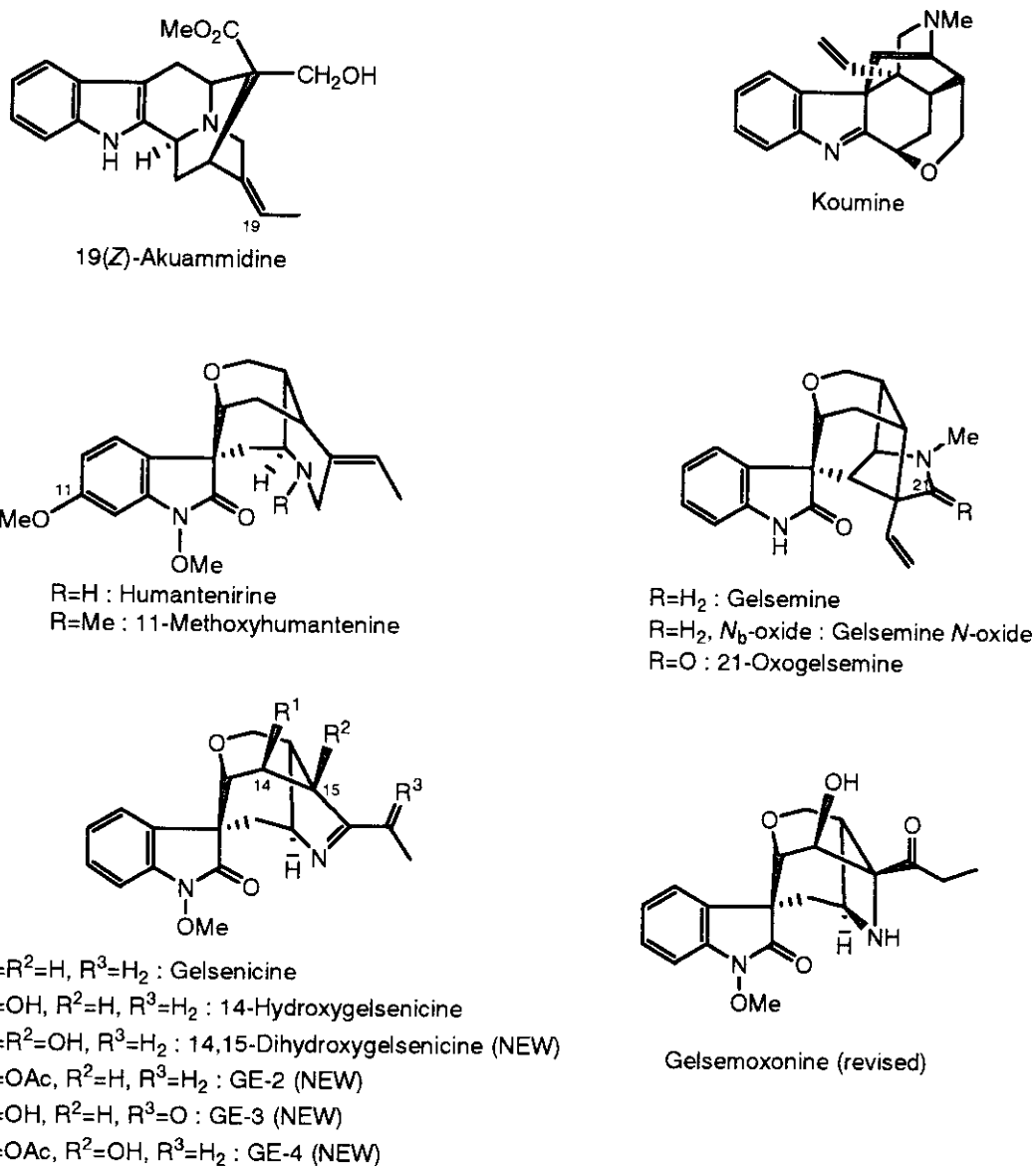


Figure 2:ゲルセミウム・エレガンス葉部含有成分

Figure 2 の中の 4 種、14,15-dihydrogelsenicine, GE-2, GE-3, GE-4 は新規物質であり、それぞれスペクトルデータの精密解析により化学構造の確認を行った。Table

2 にゲルセミウム・エレガンスの含有アルカロイドの含量とそれぞれの成分の粗塩基画分に対する含有パーセントを示す。

含有成分	重量(mg)	含量(%)
19Z-akuammidine	43	0.17
koumine	1.7	0.07
humantenirine	6.3	0.26
11-methoxyhumantenine	1.8	0.07
gelsemine	143.5	5.81
gelsemine-N-oxide	3.5	0.14
21-oxogelsemine	2	0.08
gelsenicine	75.9	3.07
14-hydroxygelsenicine	236.7	9.58
14,15-dihydroxygelsenicine	65.4	2.65
GE-2	108.5	4.39
GE-3	3.6	0.15
GE-4	10.5	0.43
gelsemoxonine	74.4	3.01

Table 2 含有成分の重量及び粗塩基画分に対する含量

上の表の最後の欄の化合物、gelsemoxonineはCordellらによって単離されたアルカロイドで下に示すエポキシアミノケトン構造(旧構造)が与えられていた。今回同化合物を得た機会に構造の再検

討を行いCordellらの構造を右側の「新式」のように訂正されるべき事を見だし、最終的にX線結晶構造解析によってその改訂構造の正しいことを確認した。²⁾

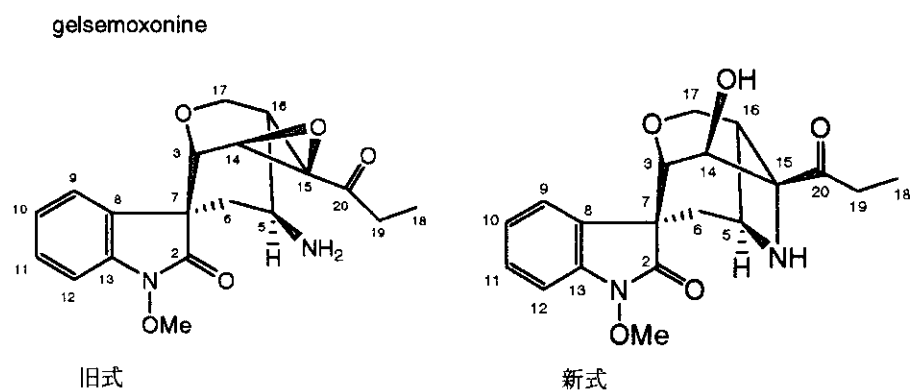


Figure 3

E. 研究報告

論文報告

- 1) New Oxindole Alkaloids and Iridoid from Carolina jasmine (*Gelsemium sempervirens* Ait. f.)
Kitajima, M., Urno, A., Kogure, N., Takayama, H., Aimi, N.
Chem. Pharm. Bull., 51 (10), 1211-1214 (2003)
- 2) Structure Reinvestigation of Gelsemoxonine, a Constituent of *Gelsemium elegans*, Reveals a Novel, Azetidine-Containing Indole Alkaloid
Kitajima, M., Kogure, K., Takayama, H., Aimi, N.
Organic Letters, 5 (12), 2075-78 (2003)

学会報告

- 1) マチン科植物 *Gelsemium elegans* 葉部含有成分に関する研究
北島満里子、小暮紀行、高山廣光、山口健太郎、相見則郎
日本薬学会第123年会講演要旨集、2、147ページ、2003年3月、長崎
- 2) カロライナジャスミン (*Gelsemium sempervirens*) 含有アルカロイドの化学的研究
北島満里子、西谷知香、高山廣光、相見則郎
日本薬学会第124年会講演要旨集、2、147ページ、2004年3月、大阪
- 3) マチン科植物 *Gelsemium elegans* 葉

部含有成分に関する研究 (2)

北島満里子、○小暮紀行、高山廣光、相見則郎

日本薬学会第124年会講演要旨集、2、148ページ、2004年3月、大阪

F. 文献

- 1) New Oxindole Alkaloids and Iridoid from Carolina jasmine (*Gelsemium sempervirens* Ait. f.)
Kitajima, M., Urno, A., Kogure, N., Takayama, H., Aimi, N.
Chem. Pharm. Bull., 51 (10), 1211-1214 (2003)
- 2) Structure Reinvestigation of Gelsemoxonine, a Constituent of *Gelsemium elegans*, Reveals a Novel, Azetidine-Containing Indole Alkaloid
Kitajima, M., Kogure, K., Takayama, H., Aimi, N.
Organic Letters, 5 (12), 2075-78 (2003)
- 3) Pharmacological effect and toxicity of alkaloids from *Gelsemium elegans* Benth.
Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D., Panthong, A.
Journal of Ethnopharmacology, 89, 91-95 (2003)

厚生労働科学研究費補助金（医薬品等医療技術リスク評価研究事業）

分担研究課題 「専ら医薬品」の有効性、安全性等の評価に関する調査及び実証的研究並びに医薬品として用いられる生薬の指標成分の検討

分担研究者 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長 合田幸広

医薬品として用いられる生薬の指標成分に関する研究

研究協力者 名古屋市立大学大学院薬学研究科 生薬学分野 教授 水上 元

医薬品規制の観点から、漢方方剤が正しく承認書どおりに抽出製造されているかどうかを確認するための手法を検討する目的で、漢方処方中の生薬の指標成分に関する検討を行った。葛根湯を対象にして、同時に煎じた場合の HPLC プロファイルと個々に構成生薬熱水抽出エキスを調製して混合した再構成葛根湯の HPLC プロファイルを定量的に比較したところ、再構成した葛根湯では含量の低下するピークをいくつか認められた。これらの含量が原料である生薬のロット差を超えるものであれば、新たな指標成分となるものと考えられる。

A. 研究目的

漢方は、古代中国に源を發し江戸時代に確立された漢方医学の理論に基づく医学体系である。漢方製剤とは、我が国で汎用されている漢方の成書に記載された漢方処方に基づいて調製された製剤で、特に漢方エキス製剤は、主に、煎じる手間を省く目的で煎じた液を濃縮、乾燥したエキスを使用した製剤である。従って、処方どおり一定の割合の生薬を一定のルールに基づき煎じて調製されなくてはならない。生薬を単味で抽出する場合と、漢方処方に従って、複数の生薬を混合抽出した場合では、抽出される成分の種類や含量が異なることが知られている。従って、漢方エキス製剤に用いられる漢方エキスは、必ず規定されたとおりの手法どおりに抽出する必要がある。例えば、サイコカリユウコツボレイトウでは、11 の生薬を同時に煎じるが、リュウコツが加わることで、一定の成分が抽出されないことが明らかにされており、11 の単味のエキスを加えたものとは明らかに成分組成が異なる。従って、あとから単味のエキスを加えることは、漢方の根幹をなす理論と

経験を無視するもので、漢方の考えかたに則って承認された薬とは、全く別物といえる。

平成 15 年、ある薬品メーカーで、漢方・生薬エキス（原薬）について、承認書と製造方法を変えて製造している事実が発覚した。違反事項は多々に渡るが、その際、上述のような、単味生薬エキスを後から加えて漢方処方となしている事例も存在した。このような背景の元、本研究では、医薬品規制の観点から、漢方方剤が正しく承認書どおりに抽出製造されているかどうかを確認するための手法を検討する目的で、漢方処方中の生薬の指標成分に関する検討を行った。

B. 研究方法

1. 葛根湯及び各構成生薬エキスの調製

葛根湯は、常法に則り、葛根 4.0g、大棗 3.0g、麻黄 3.0g、甘草 2.0g、桂皮 2.0g、芍薬 2.0g、生姜 2.0g に 600 mL の精製水を加え、1 時間加熱抽出した。残渣を取り除いた後に、凍結乾燥して、エキス末を得た。また、各構成生薬の熱

水抽出エキスは、それぞれ葛根湯に配合される量を計り、600 mL の精製水を加えて、同様に抽出、凍結乾燥してエキス末を得た。

2.HPLC サンプルの調製

各凍結乾燥エキス 10 mg を正確に秤量し、精製水 2.0 mL を加えて、30 分間超音波処理して溶解した。この溶液を、12000 x g、5 分間遠心処理して得られる上清を 0.45 μ m のメンブランフィルター処理して、その 10 μ L を HPLC 分析に供した。

再構成葛根湯は、各構成生薬エキスをそれぞれの収量の 10 分の 1 量を計りとり、混合した後全量 20mL となるように精製水を加え、同様に超音波、遠心ならびにフィルター処理を行った。このとき、葛根湯も収量の 10 分の 1 を同様に処理した。

3.HPLC 分析条件

カラム：TSK-GEL 80_{TS} (4.6 mm i.d. x 150 mm、TOSOH)。移動相：A 液 50mM AcOH - AcONH₄ buffer (pH 3.6)、B 液 CH₃CN。測定モード：リニアグラジエント A 液 90%、B 液 10% (60 min；リニアグラジエント) A 液 0%、B 液 100% (20 min 保持)。カラム温度：40℃。流速：1.0 mL/min。測定波長：200 - 400 nm (三次元フォトダイオードアレイ)。分析システム構成：送液ポンプ LC-10AD_{VP} (Shimadzu)；検出器 SPD-M10A_{VP} (Shimadzu)；解析ソフトウェア CLASS VP Ver. 5.03 (Shimadzu)。

C. 研究結果

本年度は、葛根湯を対象として、漢方方剤を常法に従って抽出した場合と単味で抽出して混合した場合について、その品質を二次代謝成分の定性的・定量的な違いとして検出できるかどうかの検討を行っている。

葛根湯は、常法に則り、葛根 4.0g、大棗 3.0g、麻黄 3.0g、甘草 2.0g、桂皮 2.0g、芍薬 2.0g、生姜 2.0g に 600mL の精製水を加え、1 時間加

熱抽出し、残渣を取り除いて凍結乾燥し、葛根湯エキスとして得た。エキス収量は、5.18 \pm 0.04 g (N=3) であり、構成生薬のロットが変わらない場合、収量にはあまり変動はない。

また、葛根湯を構成する各生薬の熱水抽出エキスを、それぞれ葛根湯への配合量を 600mL の精製水で同様に抽出し、残渣を取り除いて凍結乾燥して各エキスを調製した。例えば、葛根抽出エキスは、葛根 4.0g を計り取り、600mL の精製水を加え、1 時間加熱抽出した後残渣を取り除き、凍結乾燥した。収量は、それぞれ葛根：0.66g、大棗：2.26g、麻黄：0.62g、甘草：0.58g、桂皮：0.15g、芍薬：0.55g、生姜：0.33g であった。

それぞれのエキスの三次元高速液体クロマトグラフィーによる溶出プロファイルを作製し、また各単味エキスをそれぞれの収量に合わせて混合した再構成葛根湯の溶出プロファイルを作製した。

Fig.1 に葛根湯エキスの HPLC プロファイルを、MAX プロットとして示す。MAX プロットは、各溶出ピークの吸光度が最大となる波長位置でのクロマトグラムである。

グラジエントを用いた、この分析条件で、保持時間 30 分以降には、ほとんどピークは観察されておらず、さらに緩やかなグラジエント条件でも良いかと考えられるが、見かけ上良好な分離が得られているので、この条件で構成生薬の HPLC プロファイルを検討することとした。

Fig.2 から Fig.8 までに示すように、各構成生薬の熱水抽出エキスのクロマトグラムを比較した結果、この分析条件下では大棗や生姜、麻黄などではあまりピークを認めなかったが、すべてにおいて特にブロードなピークなどは認めず、良好な分離を示していた。しかしながら、このような構成生薬エキスの各クロマトグラムと葛根湯のクロマトグラムの比較は、すべての検体を同様の操作で分析したため、定性的な比較しかなかった。

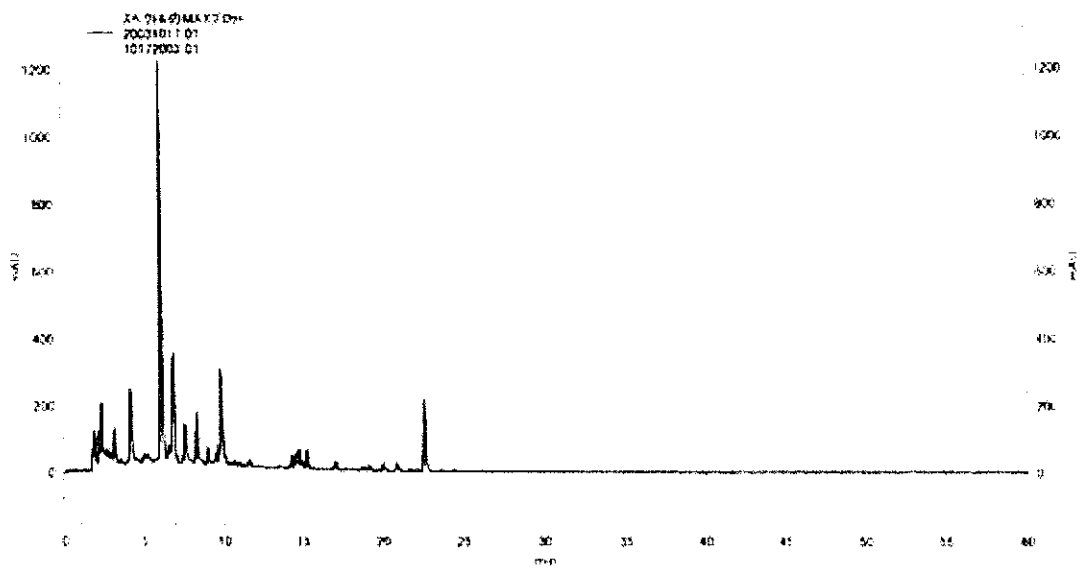


Fig.1 葛根湯の HPLC プロファイル

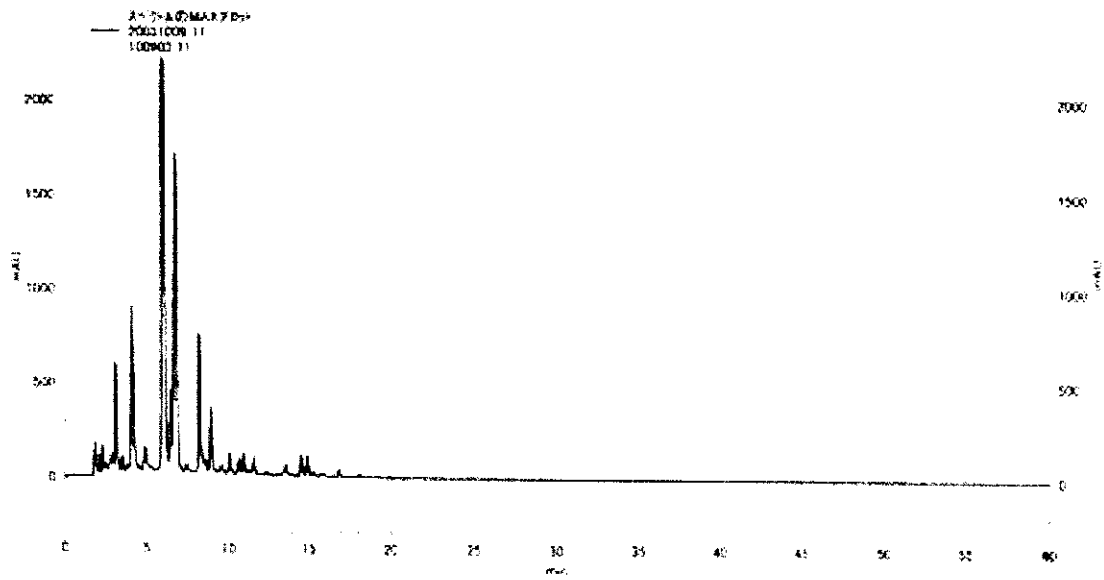


Fig.2 葛根熱水抽出エキスの HPLC プロファイル

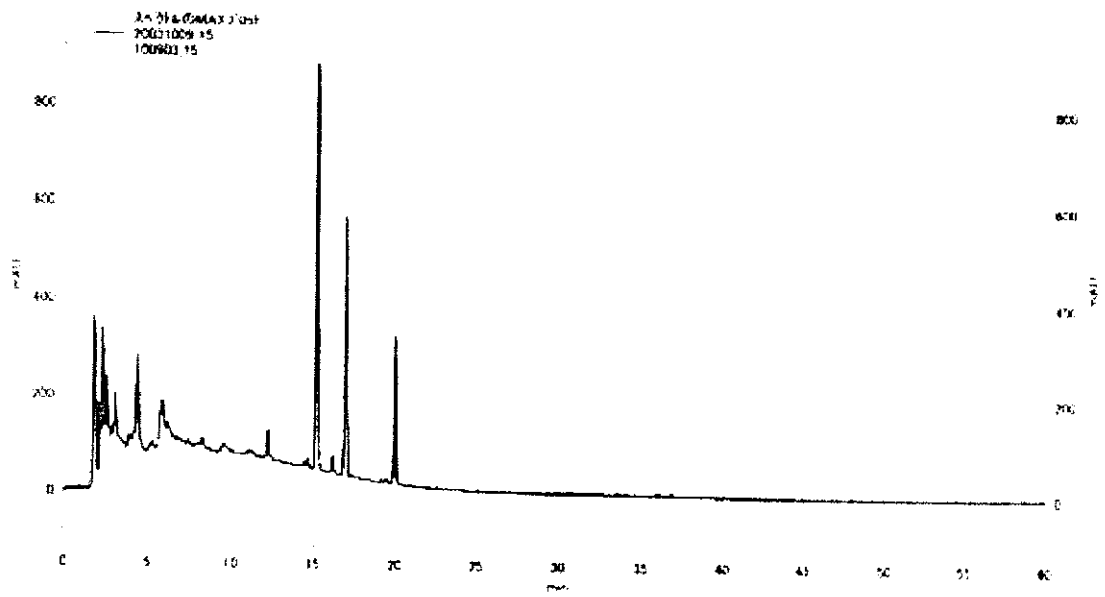


Fig.3 桂皮熱水抽出エキスの HPLC プロファイル

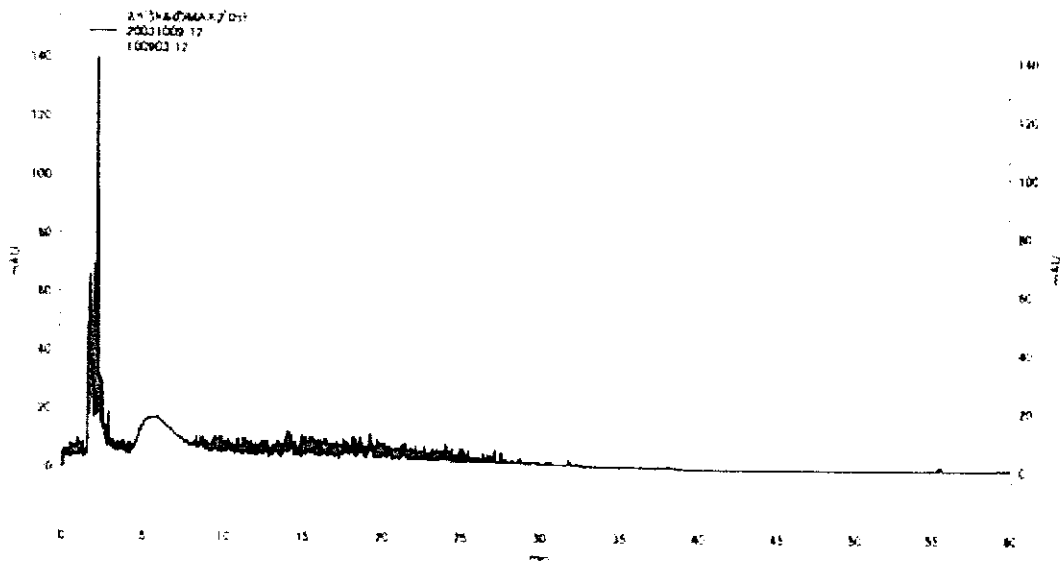


Fig.4 大棗熱水抽出エキスの HPLC プロファイル

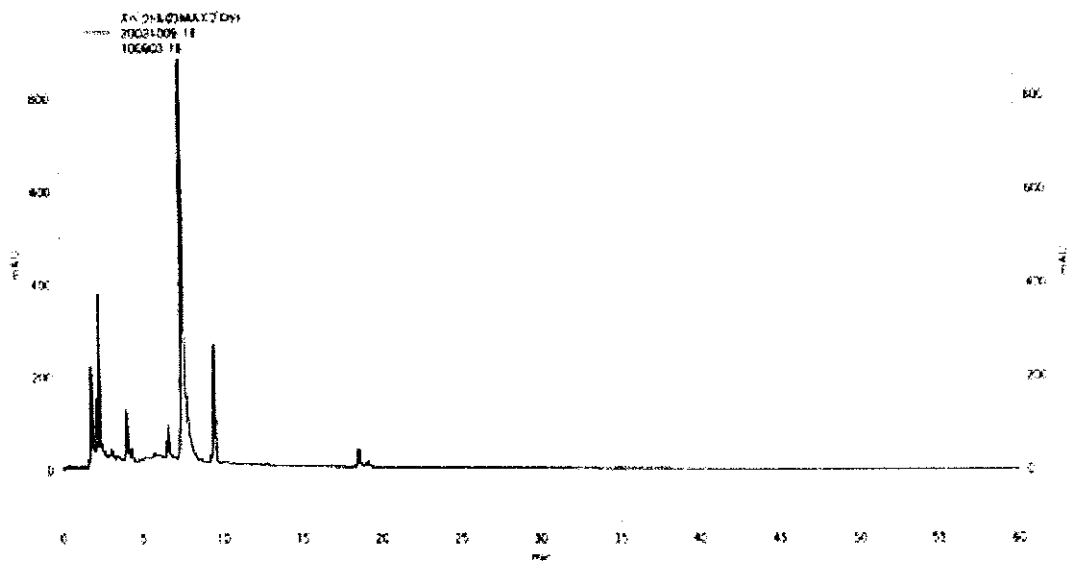


Fig.5 芍薬熱水抽出エキスの HPLC プロファイル

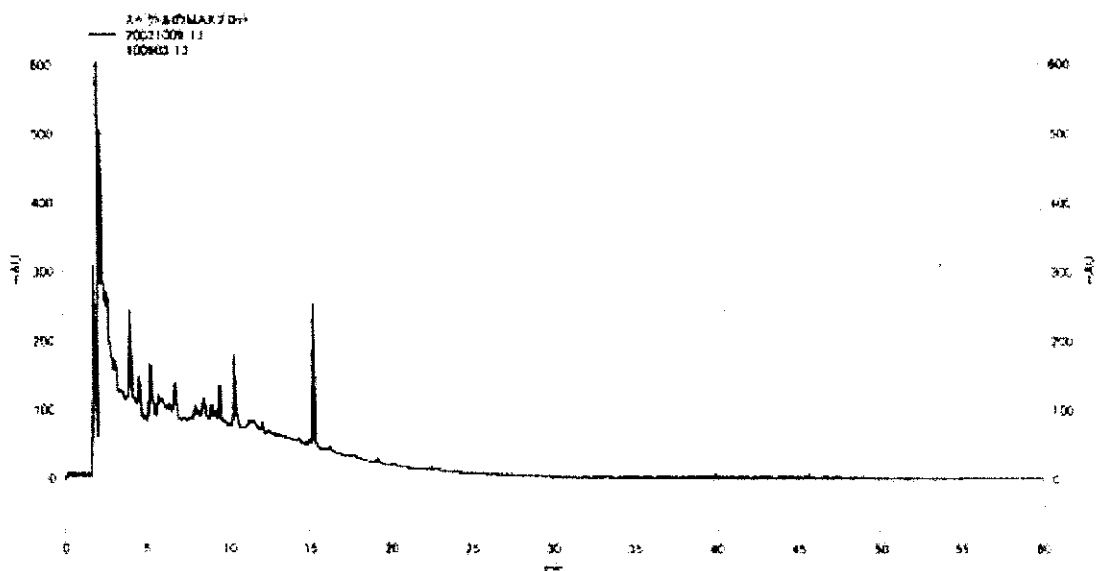


Fig.6 麻黄熱水抽出エキスの HPLC プロファイル

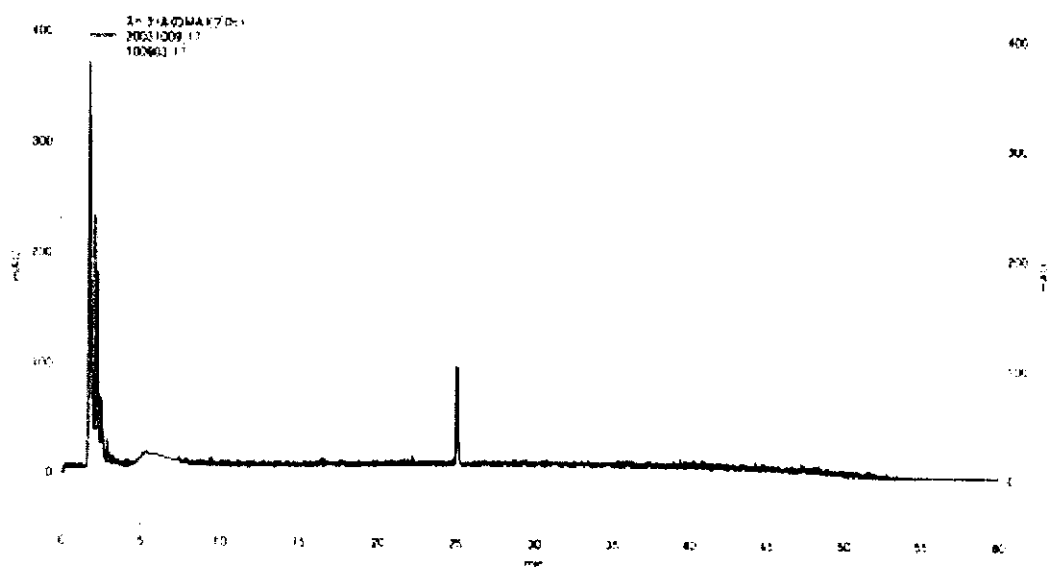


Fig.7 生姜熱水抽出エキスの HPLC プロファイル

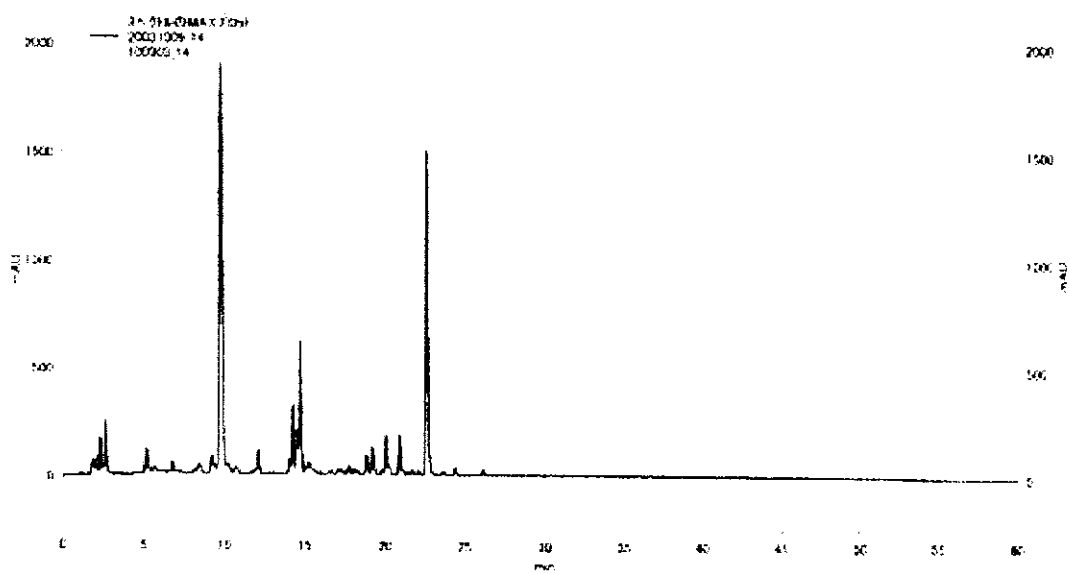


Fig.8 甘草熱水抽出エキスの HPLC プロファイル

そこで、各構成生薬の熱水抽出エキスの 1/10 量を混合してサンプルとし、また葛根湯もその 1/10 量を計りとして検体として、定量的に HPLC クロマトグラムを比較することにした。

Fig. 9 から Fig.12 示すように、両サンプル間で出現したピークの数や強度に差異が観察された。保持時間 4 分から 10 分までのピークに関しては、再構成した葛根湯で、主要ピーク面積が小さく、また 16 分から 22 分の間においても再構成葛根湯では葛根湯にあるべきピークが痕跡程度しか認められていない。

特に、保持時間 16 分から 20 分までのピーク群は、構成生薬別の熱水抽出エキスのクロマトグラムと比較すると桂皮由来のピークと推定さ

れ、すべての生薬を配合して煎じたほうが、これらの化合物の抽出効率がよいのではないかと推察される。

しかしながら、以上のような当該ピークの化合物含量の差異が葛根湯のバッチ間での差異や各構成生薬のロット差を超えるものとは、残念ながら考え難い。幾つかのバッチでの、さらには幾つかの構成生薬のロットを変えたサンプルを調製し、検証する必要があると考えている。

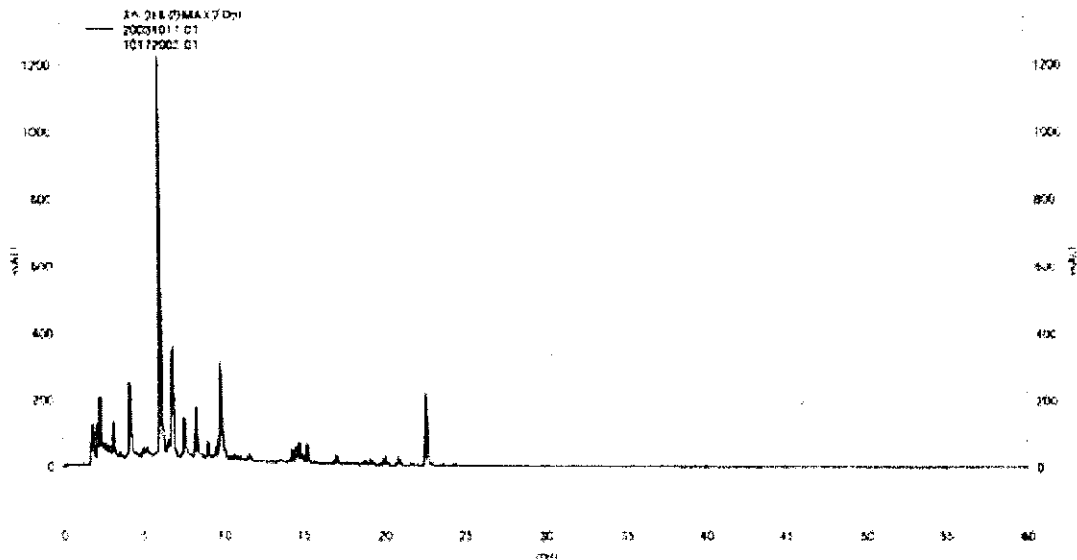


Fig.9 葛根湯の HPLC プロファイル

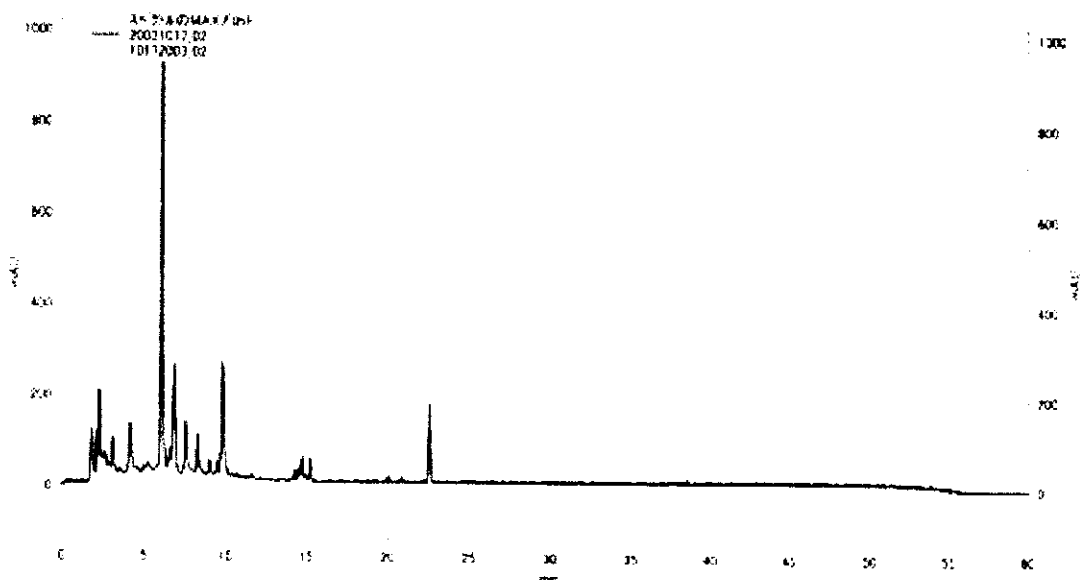


Fig.10 再構成葛根湯の HPLC プロファイル

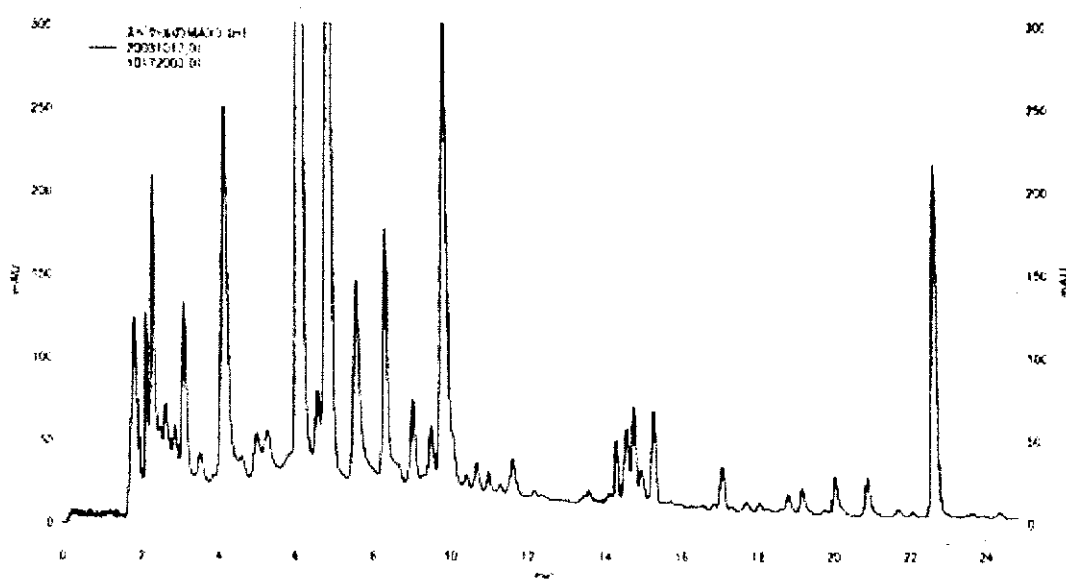


Fig.11 葛根湯の HPLC プロファイル (拡大)

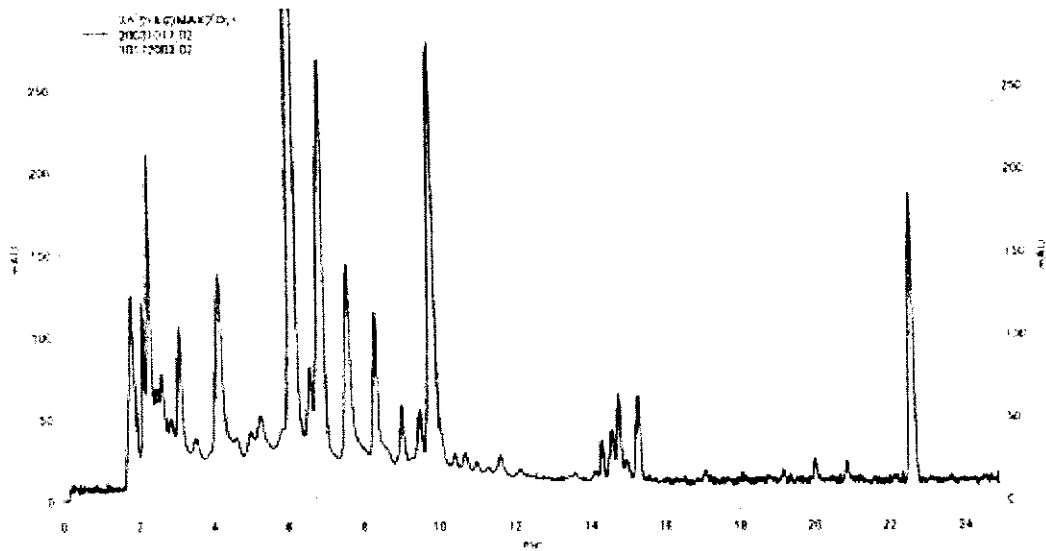


Fig.12 再構成葛根湯の HPLC プロファイル (拡大)

D. 考察

現在、これらの三次元 HPLC プロファイルを比較検討し、いくつかのピークに強度の違いなどを見出してはいるが、これらの違いが原材料である生薬のバラツキを超える差であるのかなどの検討を必要とし、それらを凌駕するような差であれば、目的のための指標成分となるのではないかと考えている。そのためには、入手し得るロットをすべて揃えて分析しなければならないとも考えられるが、すべての組み合わせをも考慮しなければならないなど、現実的ではないところもある。新たな指標成分、さらに同時に煎じることで出現する化合物をその対象とするためには、大量に方剤を作製し、今回得られたすべてのピークを天然物化学的手法を駆使して単離同定する必要もあると思われる。

また、現実問題として、いくつかの代表的な成分に関しては、標準品、あるいは単味エキスの添加により、HPLC プロファイル上調整することが可能である。今回、葛根湯ならびに単味抽出エキスを混合することにより調製した再構成葛根湯の味を確かめたところ、かなりの確率で判定可能であった。今後、標準的な分析手段

である三次元高速液体クロマトグラフィーを用いるだけでなく、官能試験や味覚センサーなどの新たな分析手段を導入して検討する必要があるのではないかと考えている。

E. 結論

葛根湯を対象にして、同時に煎じた場合の HPLC プロファイルと個々に構成生薬熱水抽出エキスを調製して混合した再構成葛根湯の HPLC プロファイルを定量的に比較したところ、再構成した葛根湯では含量の低下するピークをいくつか認めた。これらの含量が原料である生薬のロット差を超えるものであれば、新たな指標成分となると期待している。

F. 健康危機情報

特になし。

G. 研究発表

特になし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

厚生労働科学研究補助金（医薬品等医療技術リスク評価研究事業）
分担研究報告書

専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）の有効性
及び安全性等の評価に関する研究

分担研究課題 専ら医薬品の有効性、安全性等の評価に関する調査及び
実証的研究並びに医薬品として用いられている生薬の指標成分の検討
—名称不明中国製漢方製剤の成分分析に関する研究—

分担研究者 合田 幸広 国立医薬品食品衛生研究所生薬部部長

山口県において発生した名称不明中国製漢方製剤による健康障害の原因解明を目的として、本製剤の成分分析を行った結果、生薬としてシャクヤク、トウキ、ジオウが配合されている可能性が高いことが明らかとなった。しかしバイカリン、グリチルリチン酸は検出されなかったことから、小柴胡湯並びに大柴胡湯製剤等の柴胡剤とは異なる処方であることが確認された。

協力研究者

荻原 幸夫 名城大学薬学部教授
川原 信夫 国立医薬品食品衛生研究所生薬
部室長

障害の原因解明を目的として、本製剤の三次元液体クロマトグラフィ並びに薄層クロマトグラフィを用い成分分析に着手し、含有成分並びに配合処方構成生薬の確認・同定を試みた。

A. 研究目的

本年1月に山口県内の医療機関において、50才代の男性が中国で購入した漢方製剤を服用し、当該漢方製剤が原因と疑われる健康被害により死亡したとの情報が厚生労働省に報告された。山口県による分析結果ではN-ニトロソフェンフルラミン等、意図的に添加された可能性がある医薬品成分は検出されず、配合されている生薬は不明であった。当該漢方製剤の健康障害では、肝機能障害及び腎機能障害等の症状が認められ、その症状から小柴胡湯製剤による副作用の可能性も示唆された。さらに本製剤は中国において糖尿病薬として使用されている中成薬の五號秘方と呼称される処方の可能性があるとの情報も得られた。

そこで今回、名称不明中国製漢方製剤の健康

B. 研究方法

試料 名称不明中国製漢方製剤は山口県より分与されたものを用いた。三次元液体クロマトグラフィ用対照品としてA社小柴胡湯液、B社小柴胡湯エキス顆粒及びB社大柴胡湯エキス顆粒を用いた。また薄層クロマトグラフィ用対照品として五號秘方に配合される生薬オウギ、トウキ、ジオウ、カロコンを用いた。しかし上記処方に配合されている鼈甲は入手できなかった。

試料調製

1) 三次元液体クロマトグラフィ 名称不明中国製漢方製剤(0.5g)はメタノール5mLを加え、A社小柴胡湯液(3mL)、B社小柴胡湯エキス顆粒(0.2g)及びB社大柴胡湯エキス顆粒(0.2g)はメタノール20mLを加えそれぞれ40℃、20分間超音波抽出を行い、メンブラン