

- 144 治頭瘡一方（ぢずそういっぽう）
- 144A 治頭瘡一方去大黃（ぢずそういっぽうきよだいおう）
- 145 中黄膏（ちゅうおうこう）
- 146 調胃承氣湯（ちょういじょうきとう）
- 147 丁香柿蒂湯（ちょうこうしていとう）
- 148 釣藤散（ちょうとうさん）
- 149 猪苓湯（ちよれいとう）
- 149A 猪苓湯合四物湯（ちよれいとうごうしもつとう）
- 150 通導散（つうどうさん）
- 151 天王補心丸（てんのうほしんがん）
- 152 桃核承氣湯（とうかくじょうきとう）
- 153 当帰散（とうきさん）
- 154 当帰四逆湯（とうきしぎやくとう）
- 154A 当帰四逆加呉茱萸生姜湯  
（とうきしぎやくかごしゆゆしょうきょうとう）
- 155 当帰芍薬散（とうきしゃくやくさん）
- 155A 当帰芍薬散加附子（とうきしゃくやくさんかぶし）
- 155B 当帰芍薬散加人参（とうきしゃくやくさんかにんじん）
- 155C 当帰芍薬散加黄耆釣藤（とうきしゃくやくさんかおうぎちょうとう）
- 156 当帰湯（とうきとう）
- 157 当帰貝母苦参丸料（とうきばいもくじんがんりょう）
- 158 独活寄生湯（どっかつきせいとう）
- 159 独活湯（どっかつとう）
- 160 二朮湯（にじゆつとう）
- 161 二陳湯（にちんとう）
- 161A 枳縮二陳湯（きしゆくにちんとう）
- 162 女神湯（安栄湯）（によしんとう／あんえいとう）
- 163 人参湯（理中丸）（にんじんとう／りちゅうがん）
- 163A 桂枝人参湯（けいしにんじんとう）
- 163B 附子理中湯（ぶしりちゅうとう）
- 164 人参養荣湯（にんじんようえいとう）
- 165 排膿散及湯（はいのうさんきゅうとう）
- 165A 排膿散（はいのうさん）
- 165B 排膿湯（はいのうとう）
- 166 麦門冬湯（ばくもんどうとう）
- 166A 竹葉石膏湯（ちくようせつこうとう）
- 167 八味地黄丸（はちみじおうがん）
- 167A 牛車腎気丸（ごしゃじんきがん）
- 167B 六味丸（六味地黄丸）（ろくみがん／ろくみじおうがん）
- 167C 杞菊地黄丸（こきくじおうがん）

- 167D 知柏地黄丸（ちばくじおうがん）
- 167E 味麦地黄丸（みばくじおうがん）
- 168 八味疝氣方（はちみせんきほう）
- 169 半夏厚朴湯（はんげこうぼくとう）
- 170 半夏散及湯（はんげさんきゅうとう）
- 171 半夏瀉心湯（はんげしゃしんとう）
- 171A 甘草瀉心湯（かんぞうしゃしんとう）
- 171B 生姜瀉心湯（しょうきょうしゃしんとう）
- 172 半夏白朮天麻湯（はんげびやくじゅつてんまとう）
- 173 白朮附子湯（びやくじゅつぶしとう）
- 174 白虎湯（びゃっことう）
- 174A 白虎加桂枝湯（びゃっこかけいしとう）
- 174B 白虎加人參湯（びゃっこかにんじんとう）
- 175 伏竜肝湯（ぶくりゅうかんとう）
- 176 茯苓飲（ぶくりょういん）
- 176A 茯苓飲加半夏（ぶくりょういんかはんげ）
- 176B 茯苓飲合半夏厚朴湯（ぶくりょういんごうはんげこうぼくとう）
- 177 茯苓杏仁甘草湯（ぶくりょうきょうにんかんぞうとう）
- 178 茯苓四逆湯（ぶくりょうしぎゃくとう）
- 179 茯苓沢瀉湯（ぶくりょうたくしゃとう）
- 180 附子粳米湯（ぶしこうべいとう）
- 181 扶脾生脈散（ふひしょうみやくさん）
- 182 分消湯（実脾飲）（ぶんしょうとう／じっぴいん）
- 183 平胃散（へいいさん）
- 183A 香砂平胃散（こうしゃへいいさん）
- 183B 加味平胃散（かみへいいさん）
- 183C 不换金正氣散（ふかんきんしょうきさん）
- 184 防已黃耆湯（ぼういおうぎとう）
- 185 防已茯苓湯（ぼういぶくりょうとう）
- 186 防風通聖散（ぼうふうつうしょうさん）
- 187 補氣健中湯（補氣建中湯）（ほきけんちゅうとう）
- 188 補中益氣湯（ほちゅうえっきとう）
- 189 補肺湯（ほはいとう）
- 190 補陽還五湯（ほようかんととう）
- 191 奔豚湯（金匱）（ほんとうとう・きんき）
- 191A 奔豚湯（肘後）（ほんとうとう・ちゅうご）
- 192 麻黄附子細辛湯（まおうぶしさいしんとう）
- 193 麻黄湯（まおうとう）
- 194 麻杏甘石湯（まきょうかんせきとう）
- 194A 五虎湯（ごことう）

- 195 麻杏薤甘湯（まきょうよくかんとう）  
196 麻子仁丸（ましにんがん）  
197 木防已湯（もくぼういとう）  
198 楊柏散（ようはくさん）  
199 薏苡仁湯（よくいにんとう）  
200 薏苡附子敗醬散（よくいぶしはいしょうさん）  
201 抑肝散（よくかんさん）  
201A 抑肝散加陳皮半夏（よくかんさんかちんぴはんげ）  
201B 抑肝散加芍藥黃連（よくかんさんかしゃくやくおうれん）  
202 六君子湯（りっくんしとう）  
202A 香砂六君子湯（こうしゃりっくんしとう）  
202B 柴芍六君子湯（さいしゃくりっくんしとう）  
202C 化食養脾湯（かしょくようひとう）  
202D 八解散（はちげさん）  
203 立効散（りっこうさん）  
204 竜胆瀉肝湯（りゅうたんしゃかんとう）  
205 芎藭姜味辛夏仁湯（りょうかんきょうみしんげにんとう）  
206 芎藭朮甘湯（りょうきょうじゅつかんとう）  
207 芎藭甘藷湯（りょうけいかんそうとう）  
208 芎藭朮甘湯（りょうけいじゅつかんとう）  
208A 明朗飲（めいろういん）  
208B 定悸飲（ていきいん）  
208C 連珠飲（れんじゅいん）  
209 芎藭味甘湯（りょうけいみかんとう）  
210 麗沢通氣湯（れいたくつうきとう）

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌等

発表者氏名	タイトル名	発表誌名	巻、号	ページ	出版年
Nose M. 他	Sho-saiko-to and Saiko-keisi-to, the traditional Chinese and Japanese herbal medicines, altered hepatic drug-metabolizing enzymes in mice and rats when administered orally for a long time	Journal of Pharmacy and Pharmacology	55	1419-1426	2003
合田幸広	生薬・漢方製剤に関する最近の話題	防菌・防黴	32(8)	387-391	2004
合田幸広	一般用漢方処方(210処方)に関する最近の話題	日本東洋医学雑誌	55(1)	14-21	2004
	ブシ・ブシ末	日本薬局方フォーラム	13(1)	37-42	2004
	クコシ・ジコッピ	日本薬局方フォーラム	13(1)	34	2004
	トウガシ	日本薬局方フォーラム	14(2)	398	2005
合田幸広 他	一般用漢方処方のパイロット使用実態調査研究 AUR及び一般用漢方処方の見直しを図るための調査研究について	防菌・防黴	33(11)	605-609	2005
合田幸広・糸数七重	一般用漢方処方の見直しに資するための有用性評価手法の検討	日本東洋医学雑誌	56(4)	530-534	2005
津谷喜一郎 他	漢方処方のATC分類とローマ字表記の標準化	日本東洋医学雑誌	56(4)	534-547	2005
Nose M. 他	Dermal mast cells play a central role in the incidence of scratching behavior in mice induced by multiple application of the haptens, 2,4,6-trinitrochlorobenzene	Experimental Dermatology	14	438-444	2005
川原信夫 他	西太平洋地区4カ国(日本、中国、韓国、ベトナム)の薬局方収載生薬の各種試験法並びに規格値の比較に関する研究	生薬学雑誌	60(1)	39-50	2006

その他

発表者氏名	タイトル名	発表誌名	巻、号	ページ	出版年
津谷喜一郎 他	漢方処方名ローマ字表記法	日本東洋医学雑誌	56(4)	609-22	2005
		和漢医薬学雑誌	22(2/3)	綴込別冊	2005
		Natural Medicines	59(3)	129-41	2006

## Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to, the traditional Chinese and Japanese herbal medicines, altered hepatic drug-metabolizing enzymes in mice and rats when administered orally for a long time

Mitsuhiko Nose, Masayo Tamura, Nobukazu Ryu, Hajime Mizukami and Yukio Ogihara

### Abstract

As the consumption of herbal remedies has increased, the opportunity that such herbal medicines are co-administered with other drugs has also risen gradually and we are, therefore, very much concerned about herb–drug interactions. We examined the effects of pre-administration of Kampo medicines (Sho-saiko-to, Saiko-keishi-to, Shigyaku-san and Dai-saiko-to) on the pentobarbital-induced sleeping time in mice and rats, to clarify the possibility that they could affect the drug-metabolizing enzymes. The administration of Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to for 4 weeks significantly shortened the pentobarbital-induced sleeping time in mice and the administration of Sho-saiko-to for 2 weeks significantly reduced the sleeping time in rats. Furthermore, we tried to identify the molecular species of rat cytochrome P450s (CYPs) affected by Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to by competitive RT-PCR. The oral administration of Sho-saiko-to for 2 weeks up-regulated the mRNA expression of CYP2B, CYP3A1, CYP2E1 and CYP4A1 in rats. The treatment with Saiko-keishi-to for 2 weeks also up-regulated the mRNA expression of CYP2B, CYP3A1 and CYP4A1. Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to may potentially influence the drug-metabolizing enzymes in man, and would thus require much attention when used in the clinical situation.

### Introduction

During the last decade, an explosion in the consumption of herbal remedies has been witnessed in North America and Europe. These regions now lead the world in the sales of such remedies and the intake of herbal remedies (including dietary supplements) may eventually increase the intake of phytochemicals much more than is consumed through the diet. Consequently, physicians and pharmacists are very much concerned about their toxicity and also the drug–drug interactions when using herbal medicines with other medicines (Fugh-Berman 2000; Ioannides 2002).

Recently, several herbal medicines such as St John's wort and *Ginkgo biloba* have been reported to demonstrate such drug–drug interaction with medicinal drugs (Fugh-Berman & Ernst 2001; Izzo & Ernst 2001; Shinozuka et al 2002). St John's wort, an extract of the plant *Hypericum perforatum*, is extensively used as an anti-depressant to treat mild-to-moderate depression in Europe, North Africa and North America (Josey & Tackett 1999; Barnes et al 2001). Intake of St John's wort enhances the expression of intestinal P-glycoprotein and the expression of CYP3A4 in the liver and intestine (Durr et al 2000; Markowitz et al 2000; Roby et al 2000). This combined up-regulation in intestinal P-glycoprotein and hepatic and intestinal CYP3A4 impairs the absorption and stimulates the metabolism of an immunosuppressant drug, ciclosporin, resulting in its subtherapeutic plasma concentrations. Thus, in transplant patients, self-medication with St John's wort has led to a drop in plasma level of ciclosporin, causing tissue rejection (Mai et al 2000; Ruschitzka et al 2000; Barone et al 2001).

Graduate School of  
Pharmaceutical Sciences, Nagoya  
City University, 3-1 Tanabe-dori,  
Mizuho-ku, Nagoya 467-8603,  
Japan

Mitsuhiko Nose, Masayo Tamura,  
Nobukazu Ryu, Hajime Mizukami

Faculty of Pharmacy, Meijo  
University, 150 Yagotoyama,  
Tenpaku-ku, Nagoya 468-8503,  
Japan

Yukio Ogihara

**Correspondence:** M. Nose,  
Graduate School of  
Pharmaceutical Sciences, Nagoya  
City University, 3-1 Tanabe-dori,  
Mizuho-ku, Nagoya 467-8603,  
Japan. E-mail:  
nose@phar.nagoya-cu.ac.jp

In Japan, Kampo medicines, traditional Chinese and Japanese herbal medicinal mixtures, have been used clinically for the treatment of many chronic diseases. Such herbal medicines have been used in China for thousands of years and are now being manufactured in Japan as drugs with standardized qualities and quantities of ingredients. Sho-saiko-to is one of the major prescriptions most frequently used for the treatment of infectious diseases, such as chronic viral hepatitis (Oka et al 1985; Hirayama et al 1989; Gibo et al 1994), and it has been extensively demonstrated that Sho-saiko-to has various pharmacological actions, including immunomodulating, anti-inflammatory and antihepatitis activity (Iwama et al 1987; Amagaya et al 1988, 1989; Amayaga & Ogihara 1990; Nose et al 1997, 2002; Shimizu et al 1999; Shiota et al 2002). However, the experimental data in the field of drug-drug interactions are limited.

In general, Kampo medicine is prescribed for relatively long-term use (e.g., 2–4 weeks), and during that period some other medicines are occasionally co-administered. Moreover, there is a possibility that the patient will self-medicate and some Kampo medicines are prescribed with some other synthetic medicines. It is, therefore, necessary (highly desirable) to clarify what kinds of drug-metabolizing enzymes are influenced by intake of these herbal remedies and what kinds of drug-metabolizing enzymes are concerned in the metabolism of ingredients in these herbal medicines.

In this study, we demonstrated that so-called Saiko-agents (a general term of prescriptions containing Bupleuri Radix as a main crude drug in Japan), such as Sho-saiko-to, Saiko-keishi-to and Dai-saiko-to, reduced pentobarbital-induced sleeping time in mice or rats. Furthermore, we investigated the effects of these Kampo medicines on the expressions of rat cytochrome P450 (CYP) mRNAs by competitive RT-PCR and identified

the molecular species influenced by long-term administration of these Kampo medicines.

## Materials and Methods

### Preparation of Kampo medicines

Most of the medicinal herbs were authenticated and provided by Tsumura Co. Ltd (Tokyo, Japan). The crude drug composition of four kinds of Kampo medicines, Sho-saiko-to, Shigyaku-san, Saiko-keishi-to and Dai-saiko-to, is given in Table 1. The mixture of crude drugs was extracted with 600 mL of water at 100 °C for 1 h. The decoction was filtered and then lyophilized to obtain a powder extract. The yield of each extract was also noted in Table 1. The dose of each Kampo medicine was roughly equivalent to five times the daily human dose as follows: 0.55 g kg<sup>-1</sup> for Sho-saiko-to, 0.37 g kg<sup>-1</sup> for Shigyaku-san, 0.5 g kg<sup>-1</sup> for Saiko-keishi-to and 0.58 g kg<sup>-1</sup> for Dai-saiko-to, respectively.

### Animals

Female ICR mice, 6 weeks old, were purchased from Shizuoka Laboratory Animal Center (Hamamatsu, Japan) and female Sprague-Dawley rats, 6 weeks old, were purchased from Charles River Japan, Inc. (Tokyo, Japan). The animals were housed in standard plastic cages in a temperature- and humidity-controlled environment, with food (CE-2, Clea Co., Tokyo, Japan) and water freely available. A period of at least 7 days of acclimatization was allowed before experimentation. Experimental procedures were approved by the Animal Care Committee at Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, in accordance with the guidelines of the Japanese Council on Animal Care.

**Table 1** Crude drug composition and yield of Kampo medicine.

Crude drug	Dai-saiko-to	Shigyaku-san	Sho-saiko-to	Saiko-keishi-to
Bupleuri Radix	6.0 g	5.0 g	7.0 g	5.0 g
Pinelliae Tuber	4.0 g		5.0 g	4.0 g
Scutellariae Radix	3.0 g		3.0 g	2.0 g
Paeoniae Radix	3.0 g	4.0 g		2.0 g
Zizyphi Fructus	3.0 g		3.0 g	2.0 g
Aurantii Fructus Immaturus	2.0 g	2.0 g		
Zigiberis Rhizoma	1.0 g		1.0 g	1.0 g
Rhei Rhizoma	1.0 g			
Ginseng Radix			3.0 g	2.0 g
Glycyrrhizae Radix		1.5 g	2.0 g	2.0 g
Cinnamomi Cortex				2.0 g
Yield (g/day)	6.92 ± 0.18	4.39 ± 0.07	6.65 ± 0.14	6.00 ± 0.22

Crude drug was extracted with 600 mL of water at 100 °C for 1 h and then lyophilized to obtain a powder extract, which is the daily human dose (g). The yield (g/day) of each Kampo medicine was expressed as the mean ± s.e.m. of 5 preparations.

### Pentobarbital-induced sleeping time test

The animals were all given sodium pentobarbital (Nembutal Injection (50 mg mL<sup>-1</sup>); Abbot Laboratories, IL; 60 mg kg<sup>-1</sup> for mice and 30 mg kg<sup>-1</sup> for rats) intraperitoneally, 48 h after the final administration of each Kampo medicine. The time from the loss of righting reflex to recovery was recorded as the sleeping time.

### Total RNA extraction and competitive RT-PCR

Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to were orally administered for the indicated periods. Whole livers from four control rats, four Sho-saiko-to-treated rats and four Saiko-keishi-to-treated rats were collected after perfusion carefully with ice-cold phosphate-buffered saline (pH 7.4) to remove as much blood as possible, 24 h after the final administration. The collected organs were pulverized in liquid nitrogen and stored at -80°C until use. Each sample was pooled and used for extracting total RNA using the RNA Extraction Kit (Amersham Pharmacia Biotech Inc., NJ) according to the manufacturer's instruction. Each total RNA preparation was treated with deoxyribonuclease I (DNase I, Amplification Grade; Invitrogen Corp., Carlsbad, CA) to avoid the contamination of genomic DNA. First-strand cDNA synthesis and following competitive PCR were performed using a rat Cytochrome P450 Competitive RT-PCR Set (TaKaRa Bio Inc., Shiga, Japan) according to the manufacturer's instruction. The PCR products were viewed on a 2% agarose gel (Agarose S; Nippon Gene Co. Ltd, Tokyo, Japan) with ethidium bromide and analysed with an ImageQuant analysis software (Molecular Dynamics, Inc., Sunnyvale, CA) using a FluoroImager (Molecular Probes, Eugene, OR).

### Statistical analysis

With respect to the effects of Kampo medicines on pentobarbital-induced sleeping time, results were indicated as

the mean  $\pm$  s.e.m.; mean values were compared by analysis of variance and Bonferroni's multiple *t*-test.

## Results

### Effects of Sho-saiko-to, Shigyaku-san, Saiko-keishi-to and Dai-saiko-to on pentobarbital-induced sleeping time

To clarify whether drug-metabolizing enzymes are induced by oral administration of Kampo medicines such as Sho-saiko-to, Shigyaku-san, Saiko-keishi-to and Dai-saiko-to, we studied the effects of these Kampo medicines on pentobarbital-induced sleeping time, a classical behaviour pharmacological technique to detect the induction of drug-metabolizing enzymes. To avoid the direct suppressive actions of these Kampo medicines on the central nervous system, the sleeping-time test was performed 48 h after the final administration.

In female ICR mice, the consecutive administration of Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to for 4 weeks significantly shortened pentobarbital-induced sleeping time, whereas Dai-saiko-to and Shigyaku-san slightly reduced the sleeping time (Table 2). Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to slightly shortened the sleeping time even after a 1-week administration.

It is well known that the activity of drug-metabolizing enzymes differs by species, sex and age. Thus, we investigated the effects of Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to on the pentobarbital-induced sleeping time using female rats (Table 3). Sho-saiko-to significantly shortened the sleeping time when administered for 2 weeks and slightly reduced the sleeping time when administered for 4 weeks. Saiko-keishi-to also slightly reduced the sleeping time when administered for 2 weeks and for 4 weeks.

These results suggested that Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to might induce drug-metabolizing enzymes, although the extent of their effects differed depending on the animal species.

**Table 2** Effects of orally administered Dai-saiko-to, Shigyaku-san, Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to on pentobarbital-induced sleeping time in mice.

Treatment	Sleeping time (min)	
	1 week	4 weeks
Control	79.4 $\pm$ 3.7	100.3 $\pm$ 9.0
Sho-saiko-to	72.3 $\pm$ 5.3	65.6 $\pm$ 7.8*
Saiko-keishi-to	68.8 $\pm$ 4.3	63.6 $\pm$ 3.0**
Dai-saiko-to	80.0 $\pm$ 9.5	92.8 $\pm$ 10.9
Shigyaku-san	77.2 $\pm$ 4.1	83.4 $\pm$ 6.07

Each Kampo medicine was administered orally for the indicated period. Forty-eight hours after the final administration, mice were given pentobarbital (60 mg kg<sup>-1</sup>) intraperitoneally. The time from the loss of righting reflex to recovery was recorded as the sleeping time. The data were expressed as the mean  $\pm$  s.e.m. of 5 or 6 mice. \*\**P* < 0.01, \**P* < 0.05 vs the control group (analysis of variance and Bonferroni's multiple *t*-test).

**Table 3** Effects of orally administered Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to on pentobarbital-induced sleeping time in rats.

Treatment	Sleeping time (min)	
	2 week	4 week
Control	155.7 ± 4.3	155.0 ± 12.8
Sho-saiko-to	134.0 ± 8.7*	134.0 ± 10.3
Saiko-keishi-to	140.8 ± 7.1	143.6 ± 10.7

Each Kampo medicine was administered orally for the indicated period. Forty-eight hours after the final administration, rats were given pentobarbital (30 mg kg<sup>-1</sup>) intraperitoneally. The time from the loss of righting reflex to recovery was recorded as the sleeping time. The data were expressed as the mean ± s.e.m. of 5–7 rats. \**P* < 0.05 vs the control group (analysis of variance and Bonferoni's multiple *t*-test).

### Effects of Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to on the expression of cytochrome P450 mRNA in rat liver by competitive RT-PCR

We attempted to determine the molecular species of cytochrome P450 induced by Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to, using competitive RT-PCR methods.

As shown in Table 4, oral administration of Sho-saiko-to for 1 week up-regulated the expression of CYP2B1/2, CYP2E1, CYP3A1 and CYP4A1 mRNAs, whereas Saiko-keishi-to up-regulated the mRNA expression of CYP2B1/2 alone. Furthermore, the extent of up-regulated mRNA expression was about 2 times higher when Sho-saiko-to was administered for 2 weeks, compared with the 1-week administration (Table 5).

Saiko-keishi-to also up-regulated transcription of CYP2B1/2, CYP3A1 and CYP4A1, although CYP2B1/2 expression was decreased to the control level and CYP3A1 and CYP4A1 expression was down-regulated after 4-week administration. In contrast, the CYP2E1 transcription was increased only when Saiko-keishi-to was administered for 4 weeks (Table 6).

### Discussion

In classifying drug–drug interactions, it has been considered that the interaction in the process of drug metabolism is about 40% and most of them are based upon the modification of cytochrome P450 enzymes. Cytochrome P450 exists in the liver, kidney, lung and intestine of mammalian species as a superfamily of iso-enzymes and plays an important role in the metabolism of xenobiotics, including drugs and other chemicals. Metabolic processes catalysed by cytochrome P450 are the primary oxidative processes involved in the detoxication and bioactivation of a number of drugs and environmental pollutants, and this process is the rate-limiting process in the elimination of drugs and other chemicals from our body.

The safety of traditional herbal remedies such as Kampo medicines has been believed to be secured through the experience of their use over a long time. However, the case of co-administration with other synthetic medicines is excepted from this rule. Especially, drug–drug interactions

**Table 4** Analysis of cytochrome P450 mRNA expression by competitive RT-PCR in rats administered Kampo medicine for 1 week.

CYP isoenzyme	Estimated expression level of mRNA (copies/ng total RNA)			Induction rate by Kampo medicine	
	Control	Sho-saiko-to	Saiko-keishi-to	Sho-saiko-to	Saiko-keishi-to
CYP1A1	ND	ND	ND	±	±
CYP1A2	ND	ND	ND	±	±
CYP2B1/2	8.0 × 10 <sup>4</sup>	1.6 × 10 <sup>5</sup>	1.6 × 10 <sup>5</sup>	×2	×2
CYP2E1	2.6 × 10 <sup>6</sup>	7.4 × 10 <sup>6</sup>	2.6 × 10 <sup>6</sup>	×2.8	±
CYP3A1	6.4 × 10 <sup>5</sup>	1.3 × 10 <sup>6</sup>	6.4 × 10 <sup>5</sup>	×2	±
CYP3A2	ND	ND	ND	±	±
CYP4A1	1.6 × 10 <sup>5</sup>	6.4 × 10 <sup>5</sup>	1.6 × 10 <sup>5</sup>	×4	±

ND, not detected. Sho-saiko-to or Saiko-keishi-to was administered orally for 1 week. Livers from control (n = 4), Sho-saiko-to-treated (n = 4) and Saiko-keishi-to-treated (n = 4) rats were excised and then pulverized in liquid nitrogen, respectively. Each sample was pooled as each group and then used for extracting total RNA and consequent competitive RT-PCR.



**Table 5** Analysis of cytochrome P450 mRNA expression by competitive RT-PCR in rats administered Kampo medicine for 2 weeks.

CYP isoenzyme	Estimated expression level of mRNA (copies/ng total RNA)			Induction rate by Kampo medicine	
	Control	Sho-saiko-to	Saiko-keishi-to	Sho-saiko-to	Saiko-keishi-to
CYP1A1	ND	ND	ND	±	±
CYP1A2	ND	ND	ND	±	±
CYP2B1/2	$1.6 \times 10^5$	$6.4 \times 10^5$	$3.2 \times 10^5$	×4	×2
CYP2E1	$5.2 \times 10^6$	$1.1 \times 10^7$	$5.2 \times 10^6$	×2	±
CYP3A1	$6.4 \times 10^5$	$2.6 \times 10^6$	$2.6 \times 10^6$	×4	×4
CYP3A2	ND	ND	ND	±	±
CYP4A1	$1.6 \times 10^5$	$1.3 \times 10^6$	$6.4 \times 10^5$	×8	×4

ND, not detected. Sho-saiko-to or Saiko-keishi-to was administered orally for 2 weeks. Livers from control (n=4), Sho-saiko-to-treated (n=4) and Saiko-keishi-to-treated (n=4) rats were excised and then pulverized in liquid nitrogen, respectively. Each sample was pooled as each group and then used for extracting total RNA and consequent competitive RT-PCR.

**Table 6** Analysis of cytochrome P450 mRNA expression by competitive RT-PCR in rats administered Kampo medicine for 4 weeks.

CYP isoenzyme	Estimated expression level of mRNA (copies/ng total RNA)			Induction rate by Kampo medicine	
	Control	Sho-saiko-to	Saiko-keishi-to	Sho-saiko-to	Saiko-keishi-to
CYP1A1	ND	ND	ND	±	±
CYP1A2	ND	ND	ND	±	±
CYP2B1/2	$1.6 \times 10^5$	$1.6 \times 10^5$	$1.6 \times 10^5$	±	±
CYP2E1	$2.6 \times 10^6$	$1.1 \times 10^7$	$5.2 \times 10^6$	×4	×2
CYP3A1	$1.3 \times 10^6$	$2.6 \times 10^6$	$3.2 \times 10^5$	×2	×0.25
CYP3A2	ND	ND	ND	±	±
CYP4A1	$6.4 \times 10^5$	$1.3 \times 10^6$	$3.2 \times 10^5$	×2	×0.5

ND, not detected. Sho-saiko-to or Saiko-keishi-to was administered orally for 4 weeks. Livers from control (n=4), Sho-saiko-to-treated (n=4) and Saiko-keishi-to-treated (n=4) rats were excised and then pulverized in liquid nitrogen, respectively. Each sample was pooled as each group and then used for extracting total RNA and consequent competitive RT-PCR.

may become more likely if the consumption of such traditional medicines is increased.

The interaction between dietary chemicals and drugs was first reported in the 1970s, showing that consumption of cruciferous vegetables resulted in lower plasma concentrations of an analgesic medicine phenacetin, and it was suggested that indole derivatives contained in the vegetables could be responsible for this interaction (Pantuck et al 1976, 1979). Since the drug-drug interaction between grapefruit juice and synthetic medicines has been reported (Ameer & Weintraub 1997; Bailey et al 1998a; Fuhr 1998), physicians and pharmacists pay much attention to the possibility of drug interaction with foods and the traditional herbal remedies. Furanocoumarins, such as bergamottin and its derivatives, are identified as promoting such drug-drug interactions with grapefruit constituents (Edwards et al 1996; Fukuda et al 1997; Schmiedlin-Ren et al 1997; Bailey et al 1998b; He et al 1998). Furanocoumarins occur in

medicinal plants belonging to the Umbelliferae, Rutaceae, Leguminosae and Compositae families and, therefore, we are concerned about the effects of Kampo medicines on the drug-metabolizing enzymes.

In this study, we demonstrated that the oral administration of Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to for 4 weeks significantly reduced pentobarbital-induced sleeping time in female mice and we could see the same tendency 1 week after administration. These results suggested that Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to could induce drug-metabolizing enzymes in the liver. We confirmed this inducing activity of Sho-saiko-to in rats and therefore we next tried to identify the molecular species of cytochrome (CYP) induced by Sho-saiko-to, compared with the effect of Saiko-keishi-to. It is well documented that the barbitals, such as sodium phenobarbital and sodium pentobarbital, induce drug-metabolizing enzymes, especially CYP2B1/2 and CYP3A1 in rats. We confirmed that the mRNA

expressions of CYP2B1/2 and CYP3A1 were increased 16-fold and 4-fold, respectively, when sodium phenobarbital (80 mg kg<sup>-1</sup>) was administered orally for 1 week, using the same experimental conditions (data were not shown). Oral administration of Sho-saiko-to resulted in up-regulation of CYP2B1/2 and CYP3A1 mRNA expression and these results gave us good agreement with the shortened effects of pentobarbital-induced sleeping time. Unexpectedly, Saiko-keishi-to did not significantly reduce the sleeping time in rats, which is consistent with the results that this Kampo medicine up-regulated neither CYP2B1/2 nor CYP3A1 expression. Furthermore, we found up-regulation of CYP2E1 and CYP4A1 mRNA expression by Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to.

We demonstrated the effects of Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to on the hepatic cytochrome P450 as described above, although we did not investigate their effects on intestinal cytochrome P450s. As it has been reported that grapefruit juice acts by inhibiting intestinal CYP3A4 activity and consequently elevates the serum concentration of co-administered drugs (Lown et al 1997), we should consider the possibility that Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to could affect intestinal CYP species.

Although there have been a few reports of Sho-saiko-to and other Kampo medicines describing their effects on the hepatic drug-metabolizing enzymes or the pharmacokinetics of co-administered drugs in-vivo, this is the first report concerning the effect of Kampo medicine on the mRNA expression of major hepatic CYP species, especially when administered orally long term.

Homma et al (1995) performed cross-over open trials in healthy subjects to clarify prednisolone pharmacokinetics with pre-administration of Sho-saiko-to, Saiboku-to and Sairei-to. These major Kampo medicines consist of similar herbal prescriptions containing almost equal amounts of glycyrrhizin, which is a strong inhibitor of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase. Unexpectedly, they found that Sho-saiko-to significantly decreased the AUC for prednisolone, while Saiboku-to increased the prednisolone AUC and Sairei-to had no influence. They suggested that some unknown metabolic enzyme modifiers might be in these prescriptions. It is well known that glucocorticoids are metabolized by CYP3A and also that CYP3A1 mRNA can be induced by glucocorticoids in rats. In this study, we found that Sho-saiko-to up-regulated CYP3A1 mRNA expression throughout the experiment, even in 1 week. Thus, we assumed that Sho-saiko-to might decrease prednisolone AUC by means of up-regulation of CYP3A in man.

Hosoya et al (1993) suggested that the decrease in serum phenytoin concentration induced by treatment with Sho-saiko-to for 1 week in rabbits might be mainly a result of the stimulation of hepatic phenytoin-oxidizing metabolic enzyme activity by Sho-saiko-to. In contrast, Nishimura et al (1998) reported that single co-administration of Sho-saiko-to slightly hastened the gastrointestinal absorption of tolbutamide but did not affect its hepatic drug-metabolizing enzyme. Both phenytoin and tolbutamide are metabolized by CYP2C9 in man. This discrepancy may be due to difference in experimental conditions

such as animals used and administration periods. Further studies are needed.

Ohnishi et al (1996) revealed that the administration of Sho-saiko-to for 2 weeks resulted in a 25% increase in the content of cytochrome P450 and the metabolic rates for substrates of CYP2E1 were significantly enhanced in female rat liver, while the content of cytochrome P450 and the metabolic activity towards various xenobiotics in male rats were unchanged. In general, the content of cytochrome P450 and the metabolic activity towards various xenobiotics in the male are much higher than those in the female and, therefore, we used females for this study. We confirmed that Sho-saiko-to increased CYP2E1 at the transcriptional level in female rats as well.

With respect to the crude drugs that compose Sho-saiko-to and other Kampo medicines we investigated here, there are several reports concerning the CYP-inducing activity of Glycyrrhizae Radix. Ethanolic or water extract of Glycyrrhizae Radix and glycyrrhizin, one of the important ingredients of this herb, were shown to affect the activity of CYP3A using in-vitro and in-vivo systems (Paolini et al 1998; Budzinski et al 2000). Furthermore, Paolini et al (1999) revealed that repeated administration of Glycyrrhizae Radix extract for 4 days doubled the CYP1A-mediated *O*-deethylation of ethoxyresorufin and also stimulated the *O*-demethylation of methoxyresorfin in rats, but in females only. They also reported that liquorice intake stimulated CYP3A-mediated 6 $\beta$ -hydroxylation of testosterone and CYP2B-mediated *O*-depropylation of pentoxyresorufin in the female rats. These observations may suggest the potential involvement of Glycyrrhizae Radix in the up-regulation of the CYP mRNA expression by Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to we demonstrated here. There are a few reports concerning Ginseng Radix (Kim et al 1997; Henderson et al 1999; Coon & Ernst 2002). However, we do not have enough information about the effects of these crude drugs and their ingredients on drug-metabolizing enzymes. Furthermore, we do not fully understand even the metabolism of the major constituents of these crude drugs and Kampo medicines. Thus, we also should pay attention to the pharmacokinetics of their ingredients to clarify the active principles in these modifications of CYP mRNA expression.

On the other hand, recent studies revealed the important roles of orphan nuclear receptor superfamily members, such as constitutive androstane receptor (CAR), pregnane X receptor (PXR) and peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR), in mediating the induction of hepatic CYPs belonging to the families of CYP2, CYP3 and CYP4, respectively (Waxman 1999). These nuclear receptors are thought to act as the sensors to xenochemicals and their ligands are thought to be low-molecular-weight and lipophilic compounds, and, therefore, we may isolate the active principles by screening whether ingredients interact with their nuclear receptors in the near future.

In conclusion, we found that Sho-saiko-to and Saiko-keishi-to could induce the drug-metabolizing enzymes in mice and rats, and, especially, Sho-saiko-to

up-regulated the mRNA expressions of CYP2B, CYP3A1, CYP2E1 and CYP4A1 in rats. Although we should further confirm the up-regulation of these CYPs at the protein level and at the point of their activity, these Kampo medicines may potentially influence drug-metabolizing enzymes in man, and indicate a special requirement to pay much attention to their use in clinical practice.

## References

- Amagaya, S., Hayakawa, M., Ogihara, Y., Fujiwara, K. (1988) Effect of Syo-saiko-to and Dai-saiko-to on experimental hepatic fibrosis in rats. *J. Med. Pharm. Soc. for WAKAN-YAKU* **5**: 137-145
- Amagaya, S., Hayakawa, M., Ogihara, Y., Ohta, Y., Fujiwara, K., Oka, H., Oshio, H., Kishi, T. (1989) Treatment of chronic liver injury in mice by oral administration of Xiao-Chai-Hu-Tang. *J. Ethnopharmacol.* **25**: 181-187
- Amagaya, S., Ogihara, Y. (1990) effects of Shosaikoto, an oriental herbal medicinal mixture, on restraint-stressed mice. *J. Ethnopharmacol.* **28**: 357-363
- Ameer, B., Weintraub, R. A. (1997) Drug interactions with grapefruit juice. *Clin. Pharmacokinet.* **33**: 103-121
- Bailey, D. G., Arnold, M. O. Spence, J. D. (1998a) Grapefruit juice-drug interactions. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **46**: 101-110
- Bailey, D. G., Kreeft, J. H., Munoz, C., Freeman, D. J., Bend, J. R. (1998b) Grapefruit juice-felodipine interaction; effect of naringin and 6',7'-dihydrobergamottin in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* **64**: 248-256
- Barnes, J., Anderson, L. A., Phillipson, J. D. (2001) St. Johns' wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *J. Pharm. Pharmacol.* **53**: 583-600
- Barone, G. W., Cyrley, B. J., Ketel, B. L., Abul-Ezz, S. R. (2001) Herbal supplements: a potential for drug interactions in transplant recipients. *Transplantation* **71**: 239-241
- Budzinski, J. W., Foster, B. C., Vandenhoek, S., Arnason, J. T. (2000) An in vitro evaluation of human cytochrome P450 3A4 inhibition by selected commercial herbal extracts and tinctures. *Phytomedicine* **7**: 273-282
- Coon, J. T., Ernst, E. (2002) Panax ginseng: a systematic review of adverse effects and drug interactions. *Drug Saf.*, **25**: 323-344
- Durr, D., Stieger, B., Kullak-Ublick, G. A., Rentsch, K. M., Steinert, H. C., Meier, P. J., Fattinger, K. (2000) St John's wort induces intestinal P-glycoprotein/MDR1 and intestinal and hepatic CYP3A4. *Clin. Pharmacol. Ther.* **68**: 598-604
- Edwards, D. J., Bellevue, I. F. H., Woster, P. M. (1996) Identification of 6',7'-dihydroxybergamottin, a cytochrome P450 inhibitor, in grapefruit juice. *Drug Metab. Dispos.* **24**: 1287-1290
- Fugh-Berman, A. (2000) Herb-drug interactions. *Lancet* **355**: 134-138
- Fugh-Berman, A., Ernst, E. (2001) Herb-drug interaction: review and assessment of report reliability. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **52**: 587-595
- Fuhr, U. (1998) Drug interactions with grapefruit juice. Extent, probable mechanism and clinical relevance. *Drug Saf.* **18**: 251-272
- Fukuda, K., Ohta, T., Oshima, Y., Ohashi, N., Yoshikawa, M., Yamazoe Y. (1997) Specific CYP3A4 inhibitors in grapefruit juice: furocoumarin dimmers as components of drug interaction. *Pharmacogenetics* **7**: 391-396
- Gibo, Y., Nakamura, Y., Takahashi, N., Inada, H., Nakagawa, M., Usuda, S., Naano, Y. (1994) Clinical study of Sho-saiko-to therapy to the Japanese patients with chronic hepatitis type C (CH-C). *Prog. Med.* **14**: 217-219
- He, K., Iyer, K. R., Haves, R. N., Sinz, M. W., Woolf, T. F., Hollenberg, P. F. (1998) Inactivation of cytochrome P450 3A4 by bergamottin, a component of grapefruit juice. *Chem. Res. Toxicol.* **11**: 252-259
- Henderson, C. L., Harkey, M. R., Gershwin, M. E., Hackman, R. M., Stern, J. S., Stresser, D. M. (1999) Effects of ginseng components on c-DNA expressed cytochrome P450 enzyme catalytic activity. *Life Sci.* **65**: 209-214
- Hirayama, C., Okuyama, M., Tanikawa, K., Yano, M., Mizuta, M., Ogawa, N. (1989) A multicenter randomized controlled clinical trial of Shosaiko-to in chronic active hepatitis. *Gastroenterol. Jpn.* **24**: 715-719
- Homma, M., Oka, K., Ikeshima, K., Takahashi, N., Niitsuma, T., Fukuda, T., Itoh, H. (1995) Different effects of traditional Chinese medicines containing similar herbal constituents on prednisolone pharmacokinetics. *J. Pharm. Pharmacol.* **47**: 687-692
- Hosoya, J., Hagaoka, H., Nakagawa, Y. (1993) Effect of Shousaiko-to, Keishikashakyaku-to and its simultaneous use on the pharmacokinetics of phenytoin in rabbit. *Jpn. J. Hosp. Pharm.* **19**: 203-208
- Ioannides, C. (2002) Pharmacokinetic interactions between herbal remedies and medicinal drugs. *Xenobiotica* **32**: 451-478
- Izzo, A. A., Ernst, E. (2001) Interactions between herbal medicines and prescribed drugs: a systematic review. *Drugs* **61**: 2163-2175
- Iwama, H., Amagaya, S., Ogihara, Y. (1987) Effects of Kampo medicine (traditional Chinese medicine) on immune response. *In vivo* studies of Syo-saiko-to and Dai-saiko-to on antibody response to sheep red blood cell and lipopolysaccharide. *J. Med. Pharm. Soc. for WAKAN-YAKU* **4**: 8-19
- Josey, E. S., Tackett, R. L. (1999) St Johns' wort: a new alternative for depression? *Int. J. Clin. Pharm. Ther.* **37**: 111-119
- Kim, H. J., Chum, Y. J., Park, J. D., Kim, S. I., Roh, J. K., Jeong, T. C. (1997) Protection of rat liver microsomes against carbonyl tetrachloride-induced lipid peroxidation by red ginseng saponin through cytochrome P450 inhibition. *Planta Med.* **63**: 415-418
- Lown, K. S., Bailey, D. G., Fontana, R. J., Janardan, S. K., Adair, C. H., Fortlage, L. A., Brown, M. B., Guo, W., Watkins, P. B. (1997) Grapefruit juice increases felodipine oral bioavailability in humans by decreasing intestinal CYP3A protein expression. *J. Clin. Invest.* **99**: 2545-2553
- Mai, I., Krunger, H., Budde, K., Aohne, A., Brockmoller, J., Neumayer, H. H., Roots, I. (2000) Hazardous pharmacokinetic interaction of St. Johns' wort (*Hypericum perforatum*) with immunosuppressant cyclosporine. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **38**: 500-502
- Markowitz, J. S., De Vane, C. L., Boulton, D. W., Carson, S. W., Nahas, Z., Risch, S. C. (2000) Effect of St John's wort (*Hypericum perforatum*) on cytochrome P-450 2D6 and 3A4 activity in healthy volunteers. *Life Sci.* **66**: PL133-PL139
- Nishimura, N., Naora, K., Hirano, H., Iwamoto, K. (1998) Effects of Sho-saiko-to on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of tolbutamide in rats. *J. Pharm. Pharmacol.* **50**: 231-236
- Nose, M., Terawaki, K., Ogihara, Y. (1997) The role of a crude polysaccharide fraction in the macrophage activation by Shosaikoto. *Phytomedicine* **4**: 23-26

- Nose, M., Terwaki, K., Iwahashi, N., Oguri, K., Ogihara, Y. (2002) Comparative study of the high molecular mass fraction and low molecular mass fraction of Sho-saiko-to in a mouse immunologically induced liver injury model. *Biol. Pharm. Bull.* **25**: 64–67
- Ohnishi, T., Yoneyama, H., Hamamoto, T., Ishida, T., Takahara, J., Ichikawa, Y. (1996) Induction of cytochrome P-450-linked monooxygenase system in rat liver microsome by Xiao-Chaihu-Tang. *Am. J. Chin. Med.* **24**: 143–151
- Oka, H., Fujiwara, K., Oda, T. (1985) Xiao-Chai-Hu-Tang and Gui-Zhi-Fu-Ling-Wan for treatment of chronic hepatitis. In: Oda, T. (ed.) *Recent advances in traditional medicine in East Asia*. Excerpta Medica, Amsterdam, pp 232–237
- Pantuck, E. J., Hsiao, K. C., Loub, W. D., Wattenberg, L. W., Kuntzman, R., Conney, A. H. (1976) Effects of brussel sprouts and cabbage on drug conjugation. *Clin. Pharmacol. Ther.* **35**: 161–169
- Pantuck, E. J., Pantuck, E. B., Garland, W. A., Min, B. H., Wattenberg, L. W., Anderson, K. E., Kappas, A., Conney, A. H. (1979) Stimulatory effect of Brussel sprouts and cabbage on human drug metabolism. *Clin. Pharmacol. Ther.* **25**: 88–95
- Paolini, M., Pozzetti, L., Sapone, A., Cantelli-Forti, G. (1998) Effect of liquorice and glycyrrhizin on murine liver CYP-dependent monooxygenases. *Life Sci.* **62**: 571–582
- Paolini, M., Barillari, J., Broccoli, M., Pozzetti, L., Perocco, P., Cantelli-Forti, G. (1999) Effect of liquorice and glycyrrhizin on rat liver carcinogen metabolizing enzymes. *Cancer Lett.* **145**: 35042
- Roby, C. A., Anderson, G. D., Kantor, E., Dryer, D. A., Burstein, A. H. (2000) St John's wort: effect on CYP3A4 activity. *Clin. Pharmacol. Ther.* **67**: 451–457
- Ruschitzka, F., Meier, P. J., Turina, M., Luscher, T. F., Noll, G. (2000) Acute heart transplant rejection due to St John's wort. *Lancet* **355**: 548–549
- Schmiedlin-Ren, P., Edwards, D. J., Fitzsimmons, M. E., He, K., Lown, K. S., Woster, P. M., Rahman, A., Thummel, K. E., Fisher, J. M., Holleneberg, P. F., Watkins, P. B. (1997) Mechanisms of enhanced oral availability of CYP3A4 substrates by grapefruit constituents. *Drug Metab. Dispos.* **25**: 1228–1233
- Shimizu, I., Ma, Y.-R., Mizobuchi, Y., Liu, F., Miura, T., Nakai, Y., Yasuda, M., Shiba, M., Horie, T., Amagaya, S., Kawada, N., Hori, H., Ito, S. (1999) Effects of Sho-saiko-to, a Japanese herbal medicine, on hepatic fibrosis in rats. *Hepatology* **29**: 149–160
- Shinozuka, K., Umegaki, K., Kubota, Y., Tanaka, N., Mizuno, H., Yamauchi, J., Nakamura, K., Kunimoto, M. (2002) Feeding of *Ginkgo biloba* extract (GBE) enhances gene expression of hepatic cytochrome P-450 and attenuates the hypotensive effect of nicardipine in rats. *Life Sci.* **70**: 2783–2792
- Shiota, G., Maeta, Y., Mukoyama, T., Yanagidai, A., Udagawa, A., Oyama, K., Yashima, K., Kishimoto, Y., Nakai, Y., Miura, T., Ito, H., Murawaki, Y., Kawasaki, H. (2002) Effects of Sho-saiko-to on hepatocarcinogenesis and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine formation. *Hepatology* **35**: 1125–1133
- Waxman, D. J. (1999) P450 gene induction by structurally diverse xenochemicals: central role of nuclear receptors CAR, PXR, and PPAR. *Arch. Biochem. Biophys.* **369**: 11–23

生薬・漢方製剤に関する最近の話題

合田 幸広

ISSN 0385-5201

防 菌 防 黴 誌

Bokin Bobai

Shinkousan Bldg., 13-38, Nishi-Hon-machi 1-chome, Nishi-ku, Osaka, 550-0005, JAPAN.

THE SOCIETY FOR ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL AGENTS, JAPAN.

## 解 説

## 生薬・漢方製剤に関する最近の話題

合田 幸広

本項では、著者らにより平成15年度から厚生労働科学研究（医薬品等医療技術リスク評価研究事業）の研究班「一般用漢方処方の見直しに資するための有用性評価（EBM 確保）手法及び安全性確保等に関する研究」の主要な研究テーマとしてスタートした、2つの分担研究「一般用漢方処方のパイロット使用実態調査研究 AUR（Actual Use Research）」及び、「一般用漢方処方の見直しを図るための調査研究」について紹介する。

前者は、筆者（と国立衛研生薬部のメンバー）及び以下の諸先生方〔荻原幸夫（名城大学薬学部臨床漢方治療学教授）、佐竹元吉（お茶の水女子大学生生活環境研究センター教授）、花輪壽彦（北里研究所東洋医学研究所所長）、平井俊樹（日本薬剤師研修センター専務理事）、三上正利（日本薬剤師会薬局製剤・漢方委員会副委員長）、西川徹（日本大衆薬工業協会薬制委員会副委員長、薬制常任委員、スイッチ OTC 検討部会長）、北山日出男（日本大衆薬工業協会スイッチ OTC 検討部会 副部会長）、大窪敏樹（日本漢方生薬製剤協会一般用製剤委員会委員長）、松本良三（日本漢方生薬製剤協会一般用製剤委員会副委員長）〕との協力でスタートしたもので、次のような研究目的で行われている。

近年、急速な高齢化の進展や生活習慣病の増加などの疾病構造の変化、生活の質（QOL）の追求等に伴い、自分の健康に強い関心を持つ国民が増えるとともに、薬局や薬店の薬剤師等による適切なアドバイスの下で、身近にある一般用医薬品を利用するセルフメディケーションの考え方が広

がりつつある。一般用医薬品のあり方等に関しては、これまでも様々な場で検討されてきた。しかしながら、以前に比べて高齢者の全人口に占める割合がさらに増加し、国民の健康ニーズも多様化している中で、今後、保健・医療資源としての一般用医薬品の有効活用を進めていくためには、国民の新たなニーズに対応し得る一般用医薬品を育成していく必要がある。この様な背景から、厚生労働省では国民の新たなニーズに対応し得る一般用医薬品の育成を考え、平成14年の6月から一般用医薬品承認審査合理化等検討会を開催し、11月にその中間報告として、「セルフメディケーションにおける一般用医薬品のあり方について 提言—具体的な方策—」を発表している。

一般用漢方処方においては、昭和40年代末に当時の厚生省より210の処方について承認審査の内規が公表され、そのまま現在に至っているため、生活環境の変化や急激な人口の高齢化に伴う疾病構造の変化等に伴い国民のニーズに合致しなくなってきた面が指摘され、具体的に、一般用漢方処方「210処方」の見直しが提言されている。一般用漢方処方を見直す為には、先ず一般用漢方処方の有用性評価と、その安全性確保が重要となる。

漢方処方（方剤）は、西洋薬と比較して、効能効果が比較的穏やかであること、慢性疾患への長期的な使用を目的とするなど、実際の使用において有用性の評価が困難であることがこれまで指摘されており、長年の使用経験に基づいて承認されている。医療用製剤の場合、平成3年の漢方8処方について再評価指定以来、それらの処方につい

て臨床評価試験が行われている。他方、一般用漢方製剤の場合、これまでその有用性を評価する手法は示されていない。本研究は上記提言に即し、薬剤師研修センター、日本漢方生薬製剤協会一般用製剤委員会、日本大衆薬工業協会薬制委員会、大学関係者、薬局薬剤師の協力を得、一般用漢方処方への有用性評価の手法の確立のために遂行されるもので、新しい評価方法として一般用漢方薬の使用実態調査を提案し、その確立に向けてのパイロット的な調査研究（Actual Use Research: AUR）（図1）を行うものである。

研究方法は、研究班設立以前から、協力研究者間で討議を重ね、一般用漢方製剤の有用性評価に相応しい手法について検討を行った。その結果、清水らによってインドメタシンハップ剤で行われた、ランダム割付の二重盲検による使用実態試験<sup>1)</sup>と同様の研究は、プラセボ等の使用、評価方法、協力機関の体制等に無理があり不可能と結論し、以下のような研究方法で、研究を遂行している。

漢方処方を通常取り扱っている薬局と契約を結び、調査実施薬局と定める。調査実施薬局において、実際に調査に携わる薬剤師である調査薬剤師が、購入目的で来店した消費者に対して『一般用

漢方処方〇〇〇のパイロット使用実態調査参加についての説明書および同意書』を用いて本調査研究に関する説明を行い、同意が得られた消費者を調査協力者とする。調査使用薬としては、既に一般用漢方処方として販売されている商品を用い、通常の販売形態にて販売した上で、漢方処方服用に対する使用実態についてアンケート方式にて調査する。既に一般用医薬品として承認されている製品であることから、重篤な有害作用の出現の可能性は低いと考えられるが、有害作用が出現したときに備え、調査協力医師を定め、万が一有害作用が出現した際に、調査薬剤師が調査協力医師より適切な助言が得られるように取り計らう。

アンケートは、①調査使用薬の服薬開始前と服薬終了後に調査薬剤師が調査協力者に質問して作成する調査記録表および②調査協力者が服用中および服用終了後に体調の変化および調査使用薬や調査に対する満足度を総合評価する調査協力者日誌より構成される。この2点を回収して統計処理を行い、これらのアンケート調査が一般用漢方処方の有用性評価手法として有効であるかどうかについて判断する。

調査協力者に対しては、調査協力に対する謝礼を支払う。また、本研究は、すべて国立医薬品食

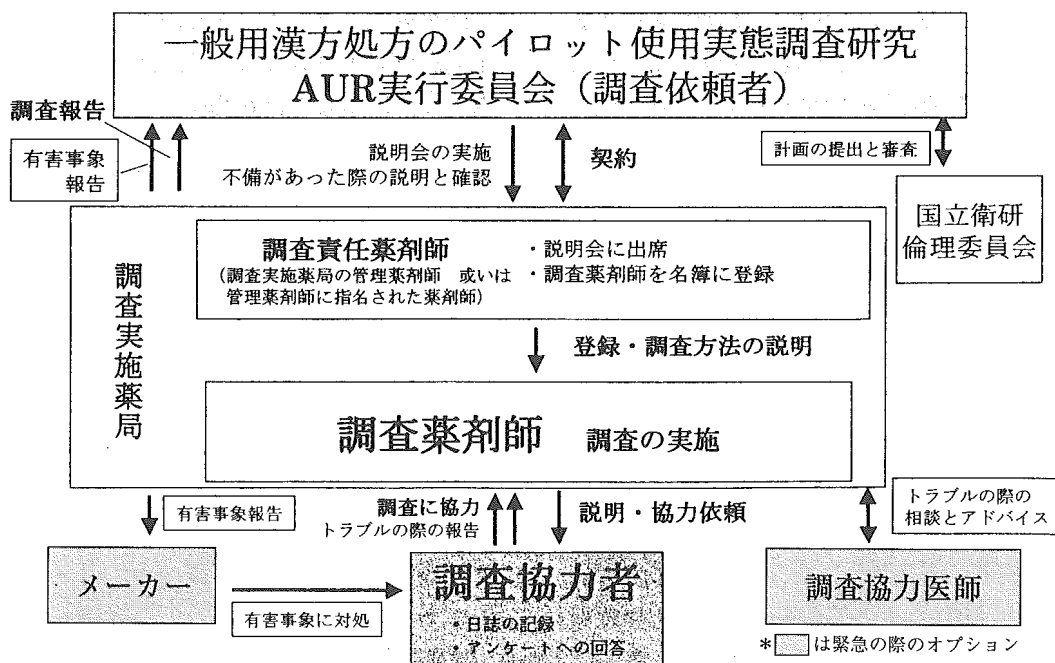


図1. AUR (Actual Use Research) 概略図 (イメージ)

品衛生研究所の倫理委員会の承認を得て後実行に移すものである。

平成15年度は、研究方法の詳細について決定し、決定した内容についてまとめた『一般用漢方処方のパイロット使用実態調査研究 AUR (Actual Use Research) 調査計画書』の作成を行った。また、調査説明書及び同意書を完成させ、調査記録表及び調査協力者日誌については原案が完成している。使用する一般用漢方処方は、一般用漢方製剤の中で売り上げ上位10位以内の方剤から、加味逍遙散と葛根湯を対象処方として選択した。具体的には、『カミセヌ「コタロー」(小太郎漢方製薬株式会社製加味逍遙散エキス製剤)』及び葛根湯エキス顆粒Sカネボウ(『カネボウ株式会社製葛根湯エキス製剤』)である。次いで調査実施薬局の候補の決定、調査実施薬局との契約の締結、調査薬剤師に対する説明会等の開催を経て、平成16年度に、薬局での実際の調査を遂行する予定である。現在、調査実施薬局候補の選定を行っているが、連絡の利便性等を考慮して、第1回のAURは東京地区で行うことを内定している。また、調査協力者に対しては、図書カードあるいはパスネットにて調査協力に対する謝礼を支払うこと、調査実施薬局に対しては、別に謝礼を支払うことが決定している。なお、調査実施薬局に対する最初の説明会は、平成16年5月30日に行うことになっている。

これまで、このような使用実態調査が漢方分野でなされたことは全くない。従って、一度の検討では、AUR実施上の問題点等が明らかにならないことも考えられる。また、漢方製剤も短期的に用いられるものと、長期的な慢性疾患に用いられるもの等バラエティーに富んでいることから、今後、AURを数回に分けて実施し、パイロット調査として、情報を蓄積する予定である。

次に、「一般用漢方処方の見直しを図るための調査研究」について紹介する。本研究は、本研究は、一般用医薬品承認審査合理化等検討会の中間報告書での提言(別紙参照)を受け、一般用漢方処方210処方の具体的な見直しを最終目的として、研究サイドからの知見を集める目的で行われている。

現在、一般用医薬品として承認審査の内規が公表されている漢方処方210種類存在し、一般的に「210処方」と称されている。このいわゆる210処方は昭和45年から46年にかけて、大塚敬節、浅野正義、菊谷豊彦、西本和光の諸先生方を委員とする「漢方打合せ会」により選定され、昭和47年から日薬連薬制委員会漢方専門委員会で原案を作成を開始し、20数回に渡る審議の後、一般用医薬品として承認される漢方210処方について、昭和49年に、その成分、用法、用量、効能効果など具体的な基準が公表され、昭和50年に「一般用漢方処方の手引き」として刊行されたものである。しかし、近年、急速に高齢化が進行し、また生活習慣病やアレルギー性疾患等が一般化し、一方では衛生施設の充実化が進んだために駆虫薬等の使用頻度が低下するなど、旧来の210処方制定時とは疾病構造が大きく変化している。このため、旧来の210処方では、一般用医薬品としての国民のニーズに答えられなくなっている面もあり、見直しが中間報告として提言された。

本見直しは、漢方医学、生薬学全体に影響を与えるものと考えられる。従って本研究では、国民のニーズに答えるため、東洋医学会、和漢医薬学会、生薬学会、薬剤師会等の関係の深い研究者により、疾病構造の変化等に対応した追加・削除処方の選定に関して十分な議論を行い、新210処方案を作成する。さらに、しぼり、効能効果についても、研究者により今後の議論の基礎になるものを作成する。ついで、効能効果、用法用量等、具体的な基準設定について、業界団体のメンバーを加え最終的な見直し案を作成する。同時に、従来の処方について、中間報告書の趣旨に従い、成分分量、用法用量、効能効果の変更を検討する。

平成15年度に行った作業は、以下の通りである。

中間報告書の趣旨に従い、一般用漢方処方について新規収載品目候補と削除候補の検討を各班員で行った。まず、基本方針について、一般用漢方処方であることを念頭に優先順位付けを行う。疾病構造の変化等に対応した追加候補を選定する。また、安全性等について問題があるものについては、削除候補とする。基本的に、局方、局外生規



に収載されている生薬が構成生薬である処方を選定する、を条件とした。

追加候補については、まず研究班員が最重要処方、重要処方に分けてそれぞれ20処方づつ推薦した。その際、出典、成分分量を明確にした。次いで、最重要処方を2点、重要処方を1点とし、各班員からの推薦処方について主任研究者がまとめ点を合計した。その結果、3点以上のものをAグループ、2点のものをBグループ、1点のものをCグループとして便宜的にまとめ、班員間で討議をおこなった。その結果、2点であった温脾湯・玉屏風散・柴蘇飲・竹葉石膏湯・定悸飲については、一般用として重要な処方であるとの同意が得られ、BグループではなくAグループと判断した。

次に、推薦された処方と現行の210処方を合わせ、各処方間の関連性を検討し、基本処方と、基本となる処方に一部の生薬を加減して構成するいわゆる「類方」に分類した。基本処方、類方の分類は、処方内容（構成生薬）、効能効果（使用方法）、処方の著名度に基づいて行った。

新規収載すべき候補として新たに83処方（Aグループ処方44、Bグループ処方20、Cグループ処方19）が提案された。これらの処方の構成生薬のうちカ楼実、蜀椒等、局方や局外生規の未収載で読み替えが可能なものについては、提言の方針に従い、栝楼仁、山椒で読み替えることとされた。

削除候補についても検討したが、どの候補も安全性の面で特に問題があるという処方ではなく、削除候補は選定しなかった。

次に、研究方法に記載した方法に従い、現行210処方および新規収載候補処方について整理を行ったところ、基本処方210処方、類方83処方とすることができた。これまでの210処方では、一部で類方の記載があるものの、類方の採用についての基準が明らかにされていない。本研究では、上記の基準で、基本処方と類方との関係を明確にできた。類方の考えを持ち込んだ場合、A・B・Cのグループ分けは、重要ではないと判断し、グループ分けを解除した上で、基本処方の下にその類方を併記する形で「新一般用漢方処方案」を作成した。また、新規収載候補についても、「新一

般用漢方処方・新規収載候補処方のしぼり及び効能効果案」を作成した。

なお、新規収載候補処方は、以下のとおりである。

1. 烏薬順気散（うやくじゅんきさん）
2. 烏苓通気散（うれいつうきさん）
3. 温脾湯（千金方）（うんぴとう）
4. 越婢加朮湯（えっぴかじゅつとう）
5. 越婢加朮附湯（えっぴかじゅつぶとう）
6. 桂枝越婢湯（けいしえっぴとう）
7. 桂枝二越婢一湯（けいしにえっぴいちとう）
8. 桂枝二越婢一湯加朮附（けいしにえっぴいちとうかじゅつぶ）
9. 解急蜀椒湯（かいきゅうしやくしゅうとう）
10. 加減涼膈散（かげんりょうかくさん）
11. 栝楼薤白白酒湯（かろうがいはいはくしゅうとう）
12. 栝呂薤白湯（かろうがいはいはくとう）
13. 甘草附子湯（かんぞうぶしとう）
14. 甘露飲（かんろいん）
15. 玉屏風散（ぎょくへいふうさん）
16. 銀翹散（ぎんぎょうさん）
17. 九味楝榔湯（くみびんろうとう）
18. 桂姜棗草黄辛附湯（けいきょうそうそうおうしんぶとう）
19. 黄耆桂枝五物湯（おうぎけいしごもつとう）
20. 桂枝芍薬知母湯（けいししゃくやくちもとう）
21. 外台四物湯（げだいしもつとう）
22. 沢瀉湯（たくしゃとう）
23. 柴葛解肌湯（浅田家方）（さいかつげきとう）
24. 柴葛湯加川芎辛夷（さいかつとうかせんきゅうしんい）
25. 柴梗半夏湯（さいきょうはんげとう）
26. 柴胡枳桔湯加五味（さいこききつとうかごみ）
27. 解劳湯（散）（かいろうとう／かいろうさん）
28. 柴胡疎肝湯（さいこそかんとう）
29. 四逆湯（しぎゃくとう）
30. 四逆加人参湯（しぎゃくかにんじんとう）
31. 甘草乾姜湯（かんぞうかんきょうとう）
32. 紫根牡蛎湯（しこんぼれいとう）
33. 梔子豉湯（しししとう）
34. 梔子柏皮湯（ししはくひとう）
35. 滋腎通耳湯（じじんつうじとう）
36. 滋腎明目湯（じじんめいもくとう）

37. 加味四物湯 (医学正伝) (かみしもつとう)
38. 芍薬甘草附子湯 (しゃくやくかんぞうぶしとう)
39. 柴蘇飲 (さいそいん)
40. 神仙太乙膏 (しんせんたいいつこう)
41. 真武湯 (しんぶとう)
42. 喘四君子湯 (ぜんしくんしとう)
43. 清熱補氣湯 (せいねつほきとう)
44. 清熱補血湯 (せいねつほけつとう)
45. 洗肝明目湯 (せんかんめいもくとう)
46. 千金内托散 (せんきんないたくさん)
47. 続命湯 (ぞくめいとう)
48. 小続命湯 (しょうぞくめいとう)
49. 大黄附子湯 (だいおうぶしとう)
50. 中建中湯 (ちゅうけんちゅうとう)
51. 大防風湯 (だいぼうふうとう)
52. 天王補心丸 (てんのうほしんがん)
53. 当帰芍薬散加附子 (とうきしゃくやくさんかぶし)
54. 当帰芍薬散加人参 (とうきしゃくやくさんかにんじん)
55. 当帰芍薬散加黄耆釣藤 (とうきしゃくやくさんかおうぎちょうとう)
56. 独活寄生湯 (どくかつきせいとう)
57. 枳縮二陳湯 (きしゅくにちんとう)
58. 附子理中湯 (ぶしりちゅうとう)
59. 排膿散及湯 (はいのうさんきゅうとう)
60. 竹葉石膏湯 (ちくようせつこうとう)
61. 杞菊地黄丸 (こきくじおうがん)
62. 知柏地黄丸 (ちはくじおうがん)
63. 味麦地黄丸 (みばくじおうがん)
64. 八味疝氣方 (はちみせんきほう)
65. 半夏散及湯 (はんげさんきゅうとう)
66. 白朮散 (びやくじゅつさん)
67. 白朮附子湯 (びやくじゅつぶしとう)
68. 茯苓杏仁甘草湯 (ぶくりょうきょうにんかんぞうとう)
69. 茯苓四逆湯 (ぶくりょうしぎゃくとう)
70. 附子粳米湯 (ぶしこうべいとう)
71. 扶脾生脈湯 (ふひせいみゃくとう)
72. 補陽環五湯 (ほようかんどとう)
73. 奔豚湯 (肘後方) (ほんとうとう)
74. 麻黄附子細辛湯 (まおうぶしさいしんとう)
75. 木防已湯 (もくぼういとう)
76. 薏苡附子敗醬散 (よくいぶしはいしょうさん)

77. 抑肝散加芍薬黄連 (よくかんさんかしゃくやくおうれん)
78. 八解散 (はちげさん)
79. 苓甘姜味辛夏仁湯 (りょうかんきょうみしんげにんとう)
80. 明朗飲加菊花 (めいろういんかきくか)
81. 定悸飲 (ていきいん)
82. 連珠飲 (れんじゅいん)
83. 苓桂味甘湯 (りょうけいみかんとう)

今回、現行の210処方の構成方法を根本的に見直し、各処方の処方内容(構成生薬)、効能効果(使用方法)、処方の著名度を根拠として基本処方と類方に分類した。今回の「新一般用漢方処方集」の構成方法はより実用に即したものであり、実際に運用するにはより有効に活用され得るものと考えられる。今後、しほり、効能効果についても、「新一般用漢方処方・新規収載候補処方のしほり及び効能効果案」を元に、日本漢方生薬製剤協会のメンバーを加えより良い見直し案を作成する予定である。また、同時に、従来の処方について、中間報告書の趣旨に従い、成分分量、用法用量、効能効果の変更案の作成も検討する。

以上、生薬・漢方製剤に関する最近の話題として、筆者が主任研究者をつとめる研究班の中から、2つの分担研究について紹介した。本研究班には、上記の2つの研究課題以外に、一般用漢方処方の有用性評価(EBM確保)のための実証的研究、一般用漢方処方の品質及び安全性確保のための研究、一般用漢方処方のATC分類に関する研究、漢方処方の国際調和に関する研究の4つの分担研究課題がある。すべての研究課題は、有機的につながっており、最終的に、上記で述べた中間報告の提言にそったかたちで、平成18年度までの3年計画で研究が遂行されている。

## 文 献

- 1) 新一般用医薬品の使用実態試験の実施に関するパイロット的研究 清水直容 p41-67, 一般用医薬品と伝統薬の臨床評価 清水直容・津谷喜一郎編 デジタルプレスISBN4-925066-04-8.

第54回日本東洋医学会学術総会

漢薬原料調査委員会セミナー

## 漢方処方薬の薬種について

座長：米田 該典・山本 廣史

1. 一般的漢方処方（210処方）に関する最近の話題 合田 幸広
2. 生薬の資源確保と品質評価 正山 征洋
3. 天然薬物を自給化し、新たな日本独自の治療学をつくり上げよう  
山本 廣史

**キーワード**：一般的漢方処方，漢方薬の ATC 分類，生薬の評価法，生化学的生薬評価

## On the Idea of Selections of Crude Drugs Used in Kampo Medicine

Chairperson : Kaisuke YONEDA, Hiroshi YAMAMOTO

1. Recent Topics on “the 210 Kampo Formulations” for OTC Drugs Yukihiro GODA
2. Maintenance of Resources and Qualitative Evaluation of Crude Drugs Yukihiro SHOYAMA
3. Self-Supporting and Self-Sufficient Policy for Oriental Medical Herb & for Oriental Medical Theory and Practice Hiroshi YAMAMOTO

**Key words** : ATC Analysis of Kampo preparations, Evaluations of Crude Drugs, Biochemical Evaluation of Crude Drugs

日本東洋医学雑誌第55巻第1号別刷

そうすると、実際に臨床を行っている立場の先生から見たらどのような問題があるでしょう。いろいろな立場もあるでしょうが、その立場からコメントをいただけるようなことはないかということです。そして、地元の小倉においでの方の山本先生にお願いをしまして、本日はコメンテーターの一方で座長でいらっしゃいます。今度は、座長という立場でこの会の中で好きにおしゃべりくださいということに会の運営を少し変わったかたちになりました。要するに、地元というかたちの中でいろいろなことをお考えいただくということにさせていただきました。

本日の座長として、米田と山本の2人で進めさせていただきます。挨拶はこの程度にして、早速講演を始めていただきたいと思います。委員会でお作りになっているプログラムどおりにさせていただきます。最初は、「一般用漢方処方(210処方)に関する最近の話題」ということで、国立医薬品食品衛生研究所の合田先生にお願いします。合田先生については私どもがいちいち申し上げますよりも、プログラムのS86に詳しく書いてありますので、これをご覧いただければそのお立場はよくわかりいただけるだろうということで、時間的にも限りがありますので、早速お願いいたしますと思います。

## 1. 一般用漢方処方(210処方)に関する最近の話題

合田 幸広  
国立医薬品食品衛生研究所

**合田** 米田先生、それから山本先生、あと、東洋医学会の漢薬原料調査委員会の皆様方、この会にお呼びいただきましてありがとうございます。私自身は臨床系の学会に出るのは初めてですので、どうい話をすれば皆様方が聞いたかがあったという話ができるのかわかりませんでした。それで最初は私はその話を持っておりませんと断ったのです。しかし、結局、口説き落とされて、このような話ならばできるのではないかとということでやってきました。この会の趣旨と何とかリンクさせなければいけないと思い、最後に少しだけそれに関係する部分がありますが、実際にはタイトルはここにありますように「一般用漢方処方(210処方)に関する最近の話題」という話をさせていただきます。

私自身はもともと出身は生薬学教室ですが、15年間、食品関係の仕事をしており、生薬の世界に戻りましたのが2年前です。生薬学という意味でも、皆様に比べたら素人の存在です。それからまた、漢方という意味でもこの2年間でやっと勉強させていただいている状態ですので、あまり深い知識はありません。ただ、厚生労働省本省に近い研究機関にいる関係上、色々な橋渡しをせざるをえない立場におりますので、そういう意味で今日の話題を選ばせて頂きました。

私が生薬部長を引き受ける前の部長が佐竹先生でしたが、佐竹先生が言われたのが、世界的にはハーバル・メディスンといいますが、植物薬というのは今非常に風が吹いているということでした。しかし日本では「漢方薬」という意味からいいますと、あまり動きがなかったように思います。ただ最近、その漢方の中でも一般用の処方という部分だけは、やや動きが出てきたように思います。最近、セルフメディケーションという考え方が広まり、厚生労働省でもそういうことを率先してやっていく方が、医療費がある程度抑えられる方向につながるのではな