

題が生じることを現在までの研究において確認して来ている。その原因として、本装置は元来、測定対象試料に食品を想定して開発されており、食品と比較して部分的に強い味を有する漢方処方方を測定する場合において、このような現象が起こるものと考えられる。そこで本研究では、具体的な処方について、味認識装置を用いて味を定常的に測定するための、味の要素と至適濃度条件の検討を行うことにした。用いた処方としては、第十五改正日本薬局方第一追補⁴⁾に記載された半夏厚朴湯エキスを使用し、測定時の試料液の濃度を変化させ、繰り返し測定におけるセンサ出力値のばらつき並びに濃度と出力値の直線性について検討を行った。また、2種類の濃度範囲で試料液を作成し、試料液の測定順序を変え、測定順序によるセンサ出力への影響についても検討した。更に、製薬会社10社の半夏厚朴湯エキスの原末を入手し、各社のエキス原末が示すそれぞれの味強度について調査を行い、複数社の市場流通品に共通した一般性のある味の測定条件について検討した。

B. 研究方法

1. 実験材料

日本国内製薬会社10社の半夏厚朴湯エキス原末(A-J)ならびに内1社の別ロットの半夏厚朴湯エキス原末(K)を本研究の実験材料として用いた。これらのエキス原末はすべて日本薬局方適合品であり、日本漢方生薬製剤協会より恵与され、残余は国立医薬品食品衛生研究所生薬部に保管されている。

2. 装置

味の測定には、味認識装置 SA402B (株式会社インテリジェントセンサーテクノロジー) を用いた。各味要素の検出するための脂質膜センサは、AAE, CT0, CA0, C00, AE1 の5本のセンサを1組として、ロット No. 1 から No. 6 の6組のセンサ

セットを用いた。

3. 試薬・試液

水は EQS-10L システム (日本ミリポア株式会社) により精製した超純水を使用した。味の測定では、塩化カリウム (30 mM) と酒石酸 (0.3 mM) を溶解した水溶液を基準液とした。基準液は、無味に近く、かつ味認識装置で使用する脂質膜センサで安定した出力値が得られる溶液である。塩化カリウム及び酒石酸は和光純薬工業株式会社より入手した。尚、本研究において動物由来試料を用いた実験は行わず、倫理面で大きな支障となる問題は無いと考えられる。

4. 試料の調製

エキス濃度範囲 0.125 ~ 4 mg/mL の試料液 (試料液①) とエキス濃度範囲 0.5 ~ 16 mg/mL の試料液 (試料液②) でそれぞれ6段階に分けたエキスを以下のように調製した。

① エキス濃度範囲 0.125 ~ 4 mg/mL 試料液 (試料液①)

半夏厚朴湯エキス原末 (K) を水に 4 mg/mL の濃度で懸濁後、10 分間超音波処理し、3,000 rpm (1,710× g) で10分間遠心分離した上清を 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 及び 4 mg/mL にそれぞれ濃度調整し、塩化カリウムと酒石酸をそれぞれ 10 mM と 0.1 mM になるように添加した液を3セット作成し、味測定に供した。

② エキス濃度範囲 0.5 ~ 16 mg/mL 試料液 (試料液②)

半夏厚朴湯エキス原末 (K) を 0.5, 1, 2, 4, 8 及び 16 mg/mL の各濃度に水で懸濁して10分間超音波処理した後、3,000 rpm (1,710× g) で10分間遠心分離した。遠心分離した上清に塩化カリウムと酒石酸をそれぞれ 10 mM と 0.1 mM になるように添加し、味測定に供した。

③ 各製薬会社エキス原末試料液 (試料液③)

10社の半夏厚朴湯エキス原末 (A-J) について

それぞれ①と同様に調製した試料液を1セット作成し、味測定に供した。

5. 測定方法

味認識装置を用いて既報¹⁻³⁾と同様に味の測定を行った。基準液を水で3倍希釈した溶液(基準液(1→3))を出力値コントロールとした。試料液①及び③については、1回の測定時に、0.125, 0.25, 0.5, 1, 2及び4 mg/mLの試料液を濃度の低いものから順に装置に設置して測定した。試料液①については、No. 1, No. 2及びNo. 3の3ロットのセンサセットを用いてそれぞれ3セット分の試料液を測定した。試料液③については、ロットNo. 2のセンサセットを用いて1セット分の試料液を測定した。一方、試料液②については、まず最低濃度である0.5 mg/mLの試料液を5つ設置し(n=5)、これらについて連続測定した。次いで、次に低い濃度である1 mg/mLの試料液についてn=5で連続測定した。このようにして低濃度から順に6濃度分繰り返し測定した。さらにセンサを変え同様の測定を繰り返した。本測定で使用したセンサは、No. 4, No. 5及びNo. 6の3ロットである。

それぞれの味の要素別に得られた試料の出力値のうち、センサ出力の安定性を考慮して、基準液(1→3)との出力値の差が±2 mV未満の試料液のものは、応答が不十分として除き統計処理を行った。(なお、2mVの値は、味認識装置の販売元であるインセント社で、経験的に得られた値である。4mVの差があれば、通常人は味が違うと認識できる。味認識装置では、4mVちがうと、味強度が1違うという設定を行っている)今回、本装置を用いて推定した味の要素は、酸性苦味、酸性苦味後味、渋味、渋味後味、旨味、旨味後味、塩味、酸味である。ただし、酸味については全ての試料液において得られた味要素の数値がヒトでは無感覚であると考えられるマイナス値であったため、今回の評価の対象からは除外することとした。

C. 研究結果及び考察

1. 各試料液に対する各センサの応答性

まず、各濃度の半夏厚朴湯エキス試料液に対する各センサの応答性を調べた。試料液①(エキス濃度範囲0.125~4 mg/mL)と試料液②(エキス濃度範囲0.5~16 mg/mL)それぞれ3ロットずつのセンサセットを用いて同一ロットのセンサセットで複数回、味測定を行った。各測定のセンサ出力値について、基準液(1→3)の出力値を0 mVとしたとき、あるセンサがある試料に対して±2 mV以上の出力値を示した場合に、そのセンサはその試料に応答性を持つと判定した。その結果、酸性苦味及び旨味については、低いエキス濃度でも対応するセンサの応答性があることが示された。一方、渋味後味、旨味後味及び塩味については、対応するセンサの応答性を得るためには比較的高いエキス濃度が必要であることが示された。また、渋味後味及び塩味については、対応するセンサが応答性を示すエキス濃度が、試料液①と試料液②で異なっていた。試料液①について測定した3ロットの各センサ(No. 1-3)、試料液②について測定した3ロットの各センサ(No. 4-6)それぞれについて、用いた3ロットすべてのセンサで応答性を示した試料液の濃度範囲をTable 1に示す。

2. 同一ロットのセンサ内における味強度のばらつき

次に、繰り返し測定を行うことによる同一ロットのセンサ内での味強度のばらつきについて検討した。試料液①(エキス濃度範囲0.125~4 mg/mL)と試料液②(エキス濃度範囲0.5~16 mg/mL)それぞれについて、1.でセンサ応答性を持つと判定された濃度範囲の試料液に関して、各々の測定における各味要素の味強度平均値、標準偏差及び相対標準偏差(RSD)をTable 2及びTable 3に示す。検討の結果、試料液①では、エキス濃度0.5 mg/mLの酸性苦味後味、0.5 mg/mL

と 1 mg/mL の渋味, 4 mg/mL の旨味後味及び 2 mg/mL と 4 mg/mL の塩味において, RSD > 10 % と多少ばらつく傾向が認められ, 中でも塩味はセンサのロットによっては RSD > 30 % を示したものもあるなどばらつきが大きい傾向にあった (Table 2). 一方, 試料液②では, 10 % 以上の RSD を示したものはなく, 同一のセンサ内での味強度のばらつきは小さいことが判明した (Table 3).

3. センサのロット間における味強度のばらつき

次に, センサのロット間における味強度のばらつきについて検討した. 試料液① (エキス濃度範囲 0.125 ~ 4 mg/mL) と試料液② (エキス濃度範囲 0.5 ~ 16 mg/mL) それぞれについて, 1. でセンサ応答性を持つと判定された濃度範囲の試料液について, 3 ロットずつのセンサの各味要素の味強度の平均値, 標準偏差及び相対標準偏差 (RSD) を Table 4 及び Table 5 に示す. 試料液①では, エキス濃度 2 mg/mL と 4 mg/mL の渋味及び渋味後味と, 4 mg/mL の旨味後味において, RSD > 10 % と多少ばらつく傾向が認められたが, すべて RSD < 20 % であった (Table 4). 一方, 試料液②では, ほとんどの条件で RSD < 10 % であり, ①と同一の味要素及び濃度で比較すると, 21 条件中 18 条件でより小さい RSD を示し, 比較センサのロット間の味強度のばらつきが小さいことが判明した. ただし, 測定回数が試料液①では, 3 回であるのに対し, ②では 5 回であり, 測定回数の違いも①より②で RSD が小さいことの一因であるものと考えられる. なお, ①では, 応答不十分として統計処理を行わなかったエキス濃度 4 mg/mL の渋味後味と 0.5 mg/mL の塩味において RSD > 10 % であった. (Table 5).

4. エキス濃度と味強度との相関

続いて, 1. で応答性を持つと判定された濃度範囲に 4 点以上の濃度幅があった試料液について, エキス濃度と味強度の相関について検討した. そ

の結果, 試料液① (エキス濃度範囲 0.125 ~ 4 mg/mL) では, 酸性苦味が, エキス濃度 0.125 ~ 4 mg/mL 間においてエキス濃度と味強度との間の相関係数 $R > 0.95$ ($p < 0.01$) (Fig. 1(A)), 酸性苦味後味及び渋味が, 濃度 0.5 ~ 4 mg/mL 間において $R > 0.95$ ($p < 0.01$) (Fig. 1 (B), (C)), 旨味が, 濃度 0.125 ~ 1 mg/mL 間において $R > 0.95$ ($p < 0.05$) (Fig. 1(D)) と, それぞれ高い相関を示した. 一方, 試料液② (エキス濃度範囲 0.5 ~ 16 mg/mL) では, 酸性苦味及び渋味が, 濃度 0.5 ~ 4 mg/mL 間においてエキス濃度と味強度との間の相関係数 $R > 0.95$ ($p < 0.05$) (Fig. 2(a), (c)), 酸性苦味後味が, 濃度 0.5 ~ 16 mg/mL 間において $R > 0.95$ ($p < 0.01$) (Fig. 2(b)), 渋味後味が, 濃度 1 ~ 16 mg/mL 間において $R > 0.95$ ($p < 0.01$) (Fig. 2(d)) と, それぞれ高い相関を示した. 旨味については, $R > 0.95$ の濃度範囲は見られなかった.

上記 1 から 4 の検討より, 半夏厚朴湯エキス原末の味の評価に使用可能な味要素及びエキス濃度は以下のようにになると考えられる. 酸性苦味 (エキス濃度範囲 0.125 ~ 4 mg/mL), 酸性苦味後味 (同 0.5 ~ 16 mg/mL), 渋味 (同 0.5 ~ 4 mg/mL), 渋味後味 (同 1 ~ 16 mg/mL) 及び旨味 (同 0.125 ~ 1 mg/mL).

5. 試料液の測定順序による味強度の違い

今回, 試料液①では, 0.125 ~ 4 mg/mL の濃度範囲で, 試料液②では, 0.5 ~ 16 mg/mL の濃度範囲で測定した, このうち, 同濃度で測定したもので, どちらもすべてのセンサの出力の絶対値が 2mV 以上あるものについて, 3 つのセンサの味強度について平均値を出し, 試料液①と②で得られた値について比較を行った. それぞれの各味要素の, 試料液①の測定時に対する試料液②の測定時の味強度の比を Table 6 に示す. このような比較が可能な濃度と味要素の組み合わせは, Table 6 に示したように 19 件あったが, 相対比は最小で 0.81 最大で 1.29 (逆比では $1/1.29=0.78$) であり, 試

料液の測定順で、得られる味強度には大きな違いがないことが明らかとなった。

6. 製薬会社 10 社の半夏厚朴湯エキスの原末が示す各味強度

以上の結果をふまえ、製薬会社 10 社の半夏厚朴湯エキスについてエキス濃度範囲 0.125 ~ 4 mg/mL の液の味測定を行い、市場に流通している半夏厚朴湯エキスの味について検討した。その結果、0.125 ~ 4 mg/mL の濃度範囲において、各味要素について 10 社のエキス全てに応答性があると判定された濃度はそれぞれ、酸性苦味が 0.25 mg/mL 以上、酸性苦味後味及び渋味が 1 mg/mL 以上、渋味後味が 2 mg/mL 以上、旨味が 0.125 mg/mL 以上であった (Fig. 3)。

半夏厚朴湯エキスの味については、日本薬局方の性状の項に、「味は初め苦く、渋く、後に辛い」という記載がある。一方、今回の測定では旨味が検出された。半夏厚朴湯はハンゲ、ブクリョウ、コウボク、ソヨウ及びショウキョウの 5 種の生薬で構成されているが、これら構成生薬のうちハンゲ及びショウキョウはグルタミン酸などのアミノ酸を含有しているとの報告がある⁵⁾。既報²⁾においても、葛根湯に旨味が検出されており、引き続き今回も、ヒトによる味覚試験では表現されない漢方処方中の旨味を味認識装置による測定では検出可能であることが示された。なお、辛みは、局方上で表現されているが、痛覚の一種であるため本測定装置では測定できない。また、生薬の甘味の場合、グリチルリチン類に良く反応する再現性の良いセンサが未だ開発されていない。

本研究の検討結果は、センサによって測定試料液の至適濃度が異なることを示しているが、センサの耐久性を考慮すると、測定試料の濃度はなるべく低い方が望ましい。また、味センサで全ての味覚が測定できるわけでない。以上を考え合わせると、本研究により、市場に流通している半夏厚朴湯エキスについて、エキス濃度 1 mg/mL のエキ

ス液を味認識装置で測定したとき、味要素として酸性苦味、酸性苦味後味、渋味及び旨味において、味を再現性よく数値 (味強度 = taste intensity) として評価できる可能性があると考えられた。

D. 結論

本研究では、半夏厚朴湯エキスを例として、味認識装置を用いて漢方処方の味を定常的に測定するための至適濃度条件及び評価に用いる味要素の検討を行った。その結果、以下 1-3) の知見が得られた。

1) 1 ロットの半夏厚朴湯エキス原末について、複数ロットのセンサを用いて繰り返し測定を行い、センサの応答性、測定値のばらつき及びエキス濃度と味強度値の相関を検討した結果、以下の味要素及びエキス濃度が半夏厚朴湯エキス原末の味の評価に使用可能であることが示された。すなわち、酸性苦味 (エキス濃度範囲 0.125 ~ 4 mg/mL)、酸性苦味後味 (同 0.5 ~ 16 mg/mL)、渋味 (同 0.5 ~ 4 mg/mL)、渋味後味 (同 1 ~ 16 mg/mL) 及び旨味 (同 0.125 ~ 1 mg/mL) である。

2) 試料液の測定順序による測定値の違いを検討した結果、測定順序は、味の強度には大きな影響はないことが判明した。他方、データのばらつきには、若干の影響がある可能性が示唆された。

3) 市場に流通している半夏厚朴湯エキスの原末 10 社分について味を測定した。その結果、エキス濃度 1 mg/mL の半夏厚朴湯エキス液を味認識装置で測定したとき、酸性苦味、酸性苦味後味、渋味及び旨味において、センサ出力が 2mV 以上となり、適切な味の評価が可能であることが判明した。

以上、本研究により半夏厚朴湯エキスにおいて、味認識装置による味評価系として、複数社の市場流通品に共通した一般性のある測定条件を構築することが可能となった。本研究の結果をふまえ、今後半夏厚朴湯以外の漢方処方エキスに関しても、複数社の市場流通品に共通した味測定条件の

検討を行う予定である。

E. 引用文献

- 1) Anjiki, N., Kawahara, N., Goda, Y., *Natural Medicines*, **59**, 164-170 (2005).
- 2) Anjiki, N., Suzuki A., Kawahara, N., Goda, Y., *Shoyakugakuzasshi*, **60**, 21-27 (2006).
- 3) Anjiki, N., Yoshino, C., Kawahara, N., Goda, Y., *Shoyakugakuzasshi*, **61**, 6-13 (2007).
- 4) 厚生労働省告示第 316 号, 平成 19 年 9 月 28 日.
- 5) Akamatsu, K., "Shintei Wakanyaku", Ishiyaku Publish. Inc., Tokyo, 1970, (ISBN 4-263-73701-6), pp. 551-553, 601-602, and cited therein.

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無い。

G. 研究発表

1. 誌上発表
 - 1) 安食菜穂子, 御影雅幸, 小林義和, 池崎秀

和, 川原信夫, 合田幸広: 味認識装置による漢方処方味の評価に関する研究 (第 4 報) 半夏厚朴湯エキスを例とした至適濃度の検討, *生薬学雑誌*, (投稿準備中)

2. 学会発表等

- 1) 安食菜穂子, 川原信夫, 合田幸広: 漢方処方味の味認識に関する研究 (第 6 報): 日本生薬学会第 54 年会 (2007 年 9 月 14-15 日, 名古屋)
- 2) 安食菜穂子, 小林義和, 池崎秀和, 御影雅幸, 川原信夫, 合田幸広: 漢方処方味の味認識に関する研究 (第 7 報): 日本薬学会第 128 年会 (2008 年 3 月 26-28 日, 横浜)

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

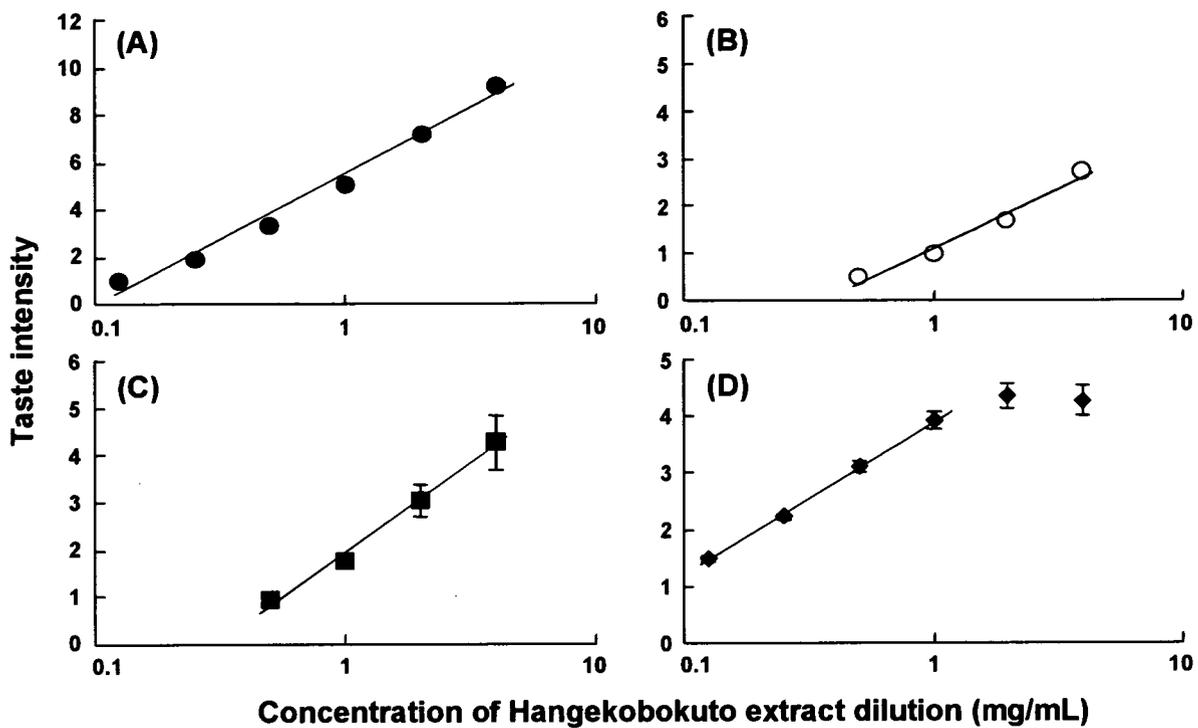


Fig. 1 Correlation between each taste intensity (A: Anionic bitterness, B: Aftertaste of anionic bitterness, C: Astringency, D: Umami) and the concentration of Hangekobokuto extract dilution. Correlative coefficient (R) of (A) in 0.125 - 4 mg/mL: 0.95 ($p < 0.01$), R of (B) in 0.5 - 4 mg/mL: 0.99 ($p < 0.01$), R of (C) in 0.5 - 4 mg/mL: 0.98 ($p < 0.05$) and R of (D) in 0.125 - 1 mg/mL: 0.96 ($p < 0.05$), respectively.

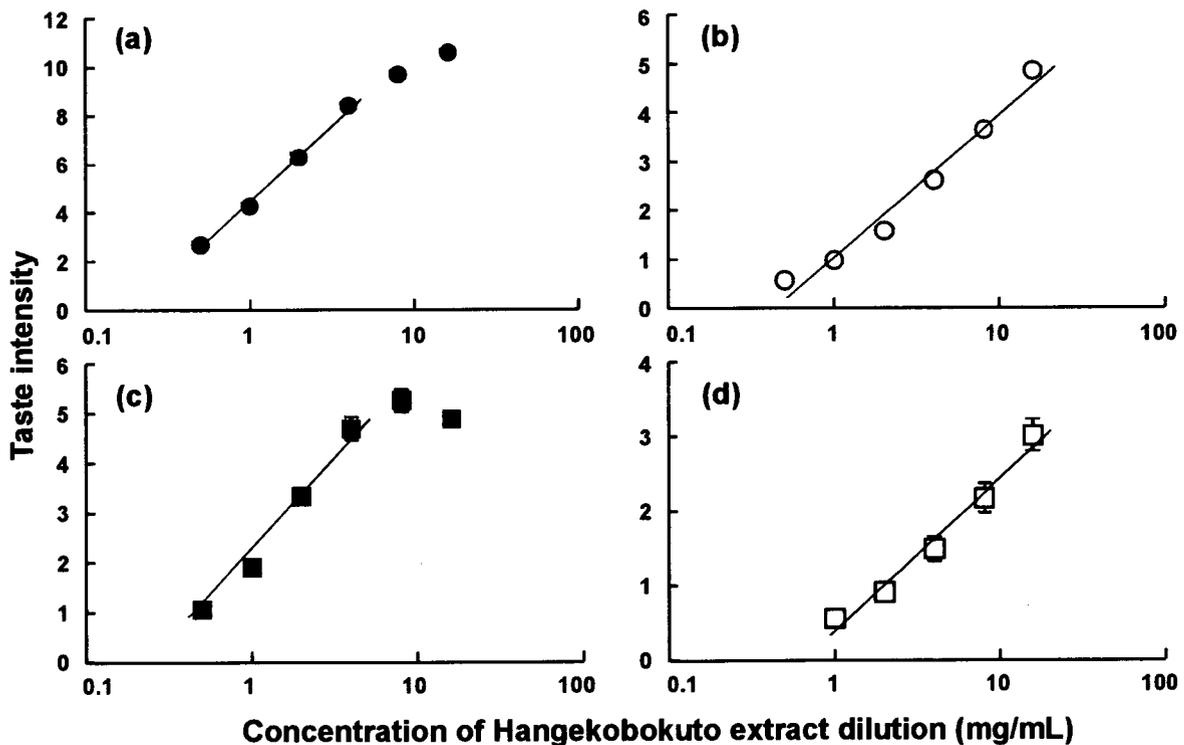


Fig. 2 Correlation between each taste intensity (a: Anionic bitterness, b: Aftertaste of anionic bitterness, c: Astringency, d: Aftertaste of Astringency) and the concentration of Hangekobokuto extract dilution. Correlative coefficient (R) of (a) in 0.5 - 4 mg/mL: 0.97 ($p < 0.05$), R of (b) in 0.5 - 16 mg/mL: 0.96 ($p < 0.01$); R of (c) in 0.5 - 4 mg/mL, 0.98 ($p < 0.05$) and R of (d) in 1 - 16 mg/mL: 0.97 ($p < 0.05$), respectively.

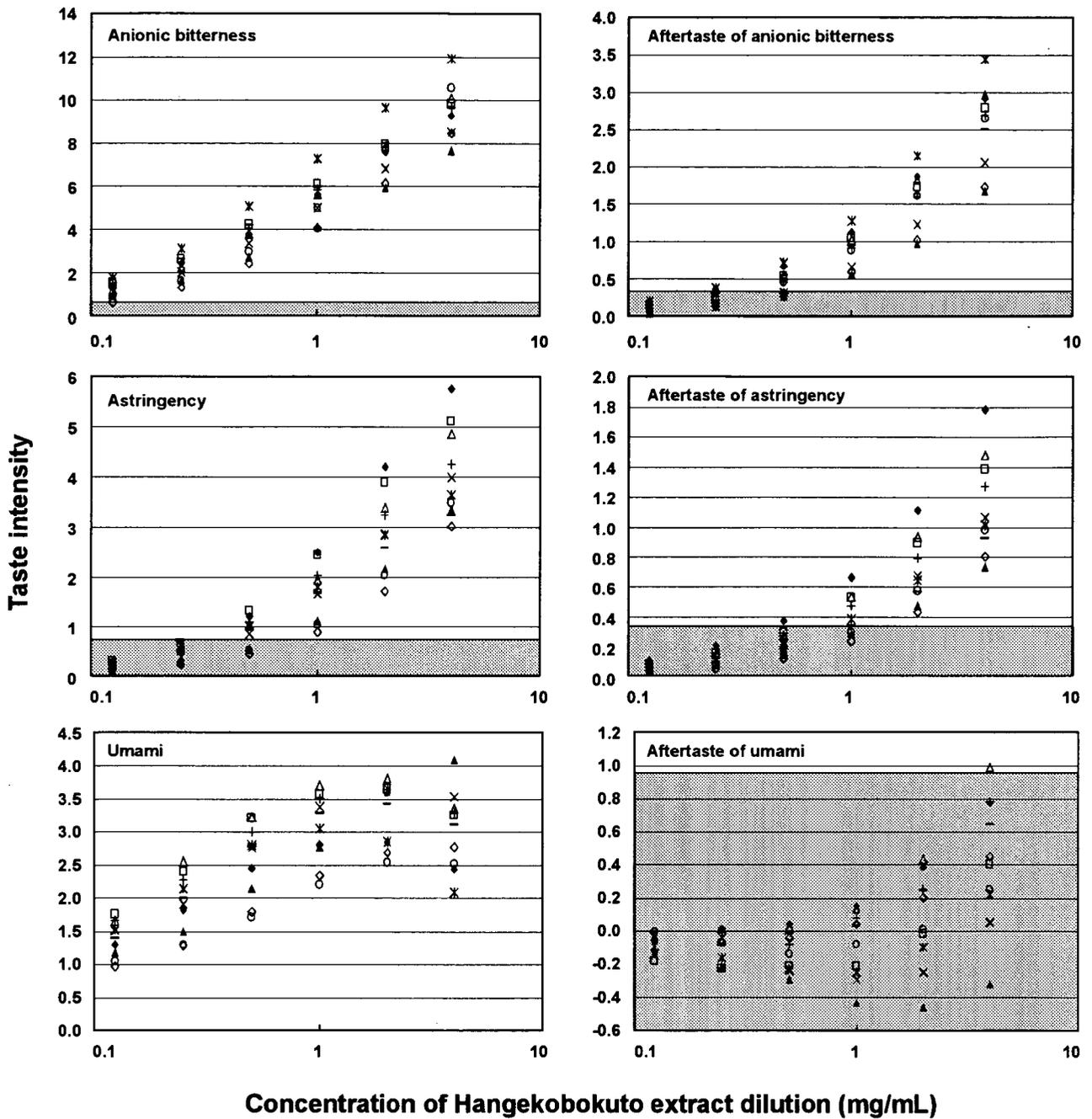


Fig. 3 Intensity of each taste factor in the concentration of 0.125 - 4 mg/mL Hangekobokuto extract dilutions obtained from ten pharmaceutical companies, A to J.
 Data points in the gray area indicate that the taste sensor showed less than 2 mV as the absolute value of the output voltage.

Table 1 Sensor-responsive concentration* of Hangekobokuto extract dilutions to each taste factor

Taste factors	Sample liquids ① (0.125 - 4 mg/mL)		Sample liquids ② (0.5 - 16 mg/mL)	
	Lower	Upper	Lower	Upper
Anionic bitterness	0.125	4	0.5	16
Aftertaste of anionic bitterness	0.5	4	0.5	16
Astringency	0.5	4	0.5	16
Aftertaste of astringency	2	4	1	16
Umami	0.125	4	0.5	16
Aftertaste of umami	4	4	4	16
Saitiness	2	4	0.5	16

*All of tested sensor indicated more than 2 mV as absolute value of the corresponding output volutage within the sensor-responsive concentration.

Table 2 Taste intensities of Hangekobokuto extract dilution, obtained with three sensor sets (1)

Concentrations of Hangekobokuto extraction dilution (mg/mL)	Taste factor							
	Anionic bitterness		Aftertaste of anionic bitterness		Astringency		Aftertaste of astringency	
	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)
Sensor set No.1								
0.125	1.02 ± 0.09	8.55	—	—	—	—	—	—
0.25	1.87 ± 0.08	4.33	—	—	—	—	—	—
0.5	3.14 ± 0.11	3.38	0.52 ± 0.08	15.56	0.87 ± 0.12	13.86	—	—
1	4.80 ± 0.09	1.77	1.01 ± 0.01	0.99	1.71 ± 0.23	13.53	—	—
2	6.78 ± 0.17	2.45	1.71 ± 0.05	3.04	3.00 ± 0.28	9.35	0.75 ± 0.03	4.31
4	8.65 ± 0.27	3.15	2.76 ± 0.10	3.46	4.25 ± 0.22	5.10	1.19 ± 0.02	1.74
Sensor set No.2								
0.125	1.08 ± 0.07	6.48	—	—	—	—	—	—
0.25	2.04 ± 0.08	3.83	—	—	—	—	—	—
0.5	3.48 ± 0.07	2.01	0.52 ± 0.06	11.03	0.94 ± 0.05	4.93	—	—
1	5.29 ± 0.07	1.39	0.98 ± 0.08	8.53	1.70 ± 0.06	3.23	—	—
2	7.36 ± 0.03	0.42	1.72 ± 0.16	9.40	2.71 ± 0.07	2.46	0.60 ± 0.03	4.41
4	9.46 ± 0.05	0.56	2.83 ± 0.24	8.47	3.69 ± 0.21	5.71	1.02 ± 0.03	2.99
Sensor set No.3								
0.125	0.94 ± 0.05	5.05	—	—	—	—	—	—
0.25	1.85 ± 0.05	2.86	—	—	—	—	—	—
0.5	3.26 ± 0.04	1.16	0.46 ± 0.04	7.69	0.96 ± 0.08	8.70	—	—
1	5.09 ± 0.02	0.34	0.89 ± 0.06	6.41	1.91 ± 0.14	7.54	—	—
2	7.27 ± 0.03	0.36	1.58 ± 0.11	7.13	3.37 ± 0.26	7.64	0.85 ± 0.04	4.24
4	9.43 ± 0.08	0.81	2.60 ± 0.17	6.57	4.86 ± 0.41	8.50	1.34 ± 0.04	3.25
Concentrations of Hangekobokuto extraction dilution (mg/mL)	Taste factor							
	Umami		Aftertaste of umami		Saltiness			
	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)		
Sensor set No.1								
0.125	1.32 ± 0.10	7.87	—	—	—	—		
0.25	2.11 ± 0.11	4.99	—	—	—	—		
0.5	2.97 ± 0.07	2.21	—	—	—	—		
1	3.73 ± 0.04	0.97	—	—	—	—		
2	4.15 ± 0.03	0.78	—	—	3.42 ± 0.26	7.62		
4	4.04 ± 0.06	1.51	1.04 ± 0.09	8.70	6.84 ± 0.30	4.42		
Sensor set No.2								
0.125	1.58 ± 0.11	6.67	—	—	—	—		
0.25	2.32 ± 0.02	0.66	—	—	—	—		
0.5	3.27 ± 0.04	1.27	—	—	—	—		
1	4.15 ± 0.01	0.28	—	—	—	—		
2	4.67 ± 0.07	1.39	—	—	3.06 ± 0.59	19.42		
4	4.63 ± 0.13	2.82	1.44 ± 0.17	11.87	6.55 ± 0.71	10.81		
Sensor set No.3								
0.125	1.53 ± 0.04	2.73	—	—	—	—		
0.25	2.24 ± 0.08	3.37	—	—	—	—		
0.5	3.11 ± 0.09	2.95	—	—	—	—		
1	3.86 ± 0.05	1.30	—	—	—	—		
2	4.25 ± 0.02	0.54	—	—	2.53 ± 0.77	30.43		
4	4.14 ± 0.02	0.37	1.14 ± 0.06	5.38	5.80 ± 0.94	16.13		

Table 3 Taste intensities of Hangekobokuto extract dilution, obtained with three sensor sets (2)

Concentrations of Hangekobokuto extraction dilution (mg/mL)	Taste factor							
	Anionic bitterness		Aftertaste of anionic bitterness		Astringency		Aftertaste of astringency	
	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)
Sensor set No.4								
0.5	2.63 ± 0.05	2.00	0.57 ± 0.01	0.95	0.88 ± 0.06	7.09	—	—
1	4.25 ± 0.06	1.32	1.00 ± 0.02	1.87	1.73 ± 0.06	3.36	0.55 ± 0.01	1.00
2	6.13 ± 0.06	0.97	1.57 ± 0.03	1.98	3.25 ± 0.07	2.04	0.91 ± 0.01	0.99
4	8.42 ± 0.08	1.00	2.75 ± 0.04	1.44	4.57 ± 0.10	2.11	1.58 ± 0.03	2.10
8	9.62 ± 0.07	0.73	3.70 ± 0.07	1.76	5.11 ± 0.09	1.75	2.25 ± 0.04	1.84
16	10.61 ± 0.15	1.44	4.93 ± 0.11	2.16	4.69 ± 0.12	2.64	3.12 ± 0.04	1.37
Sensor set No.5								
0.5	2.62 ± 0.01	0.50	0.58 ± 0.02	3.33	1.05 ± 0.01	0.80	—	—
1	4.22 ± 0.01	0.27	0.95 ± 0.01	1.20	1.97 ± 0.03	1.70	0.60 ± 0.01	1.40
2	6.14 ± 0.03	0.47	1.58 ± 0.03	1.81	3.35 ± 0.07	2.16	0.97 ± 0.01	1.13
4	8.25 ± 0.08	0.95	2.57 ± 0.05	1.98	4.95 ± 0.08	1.61	1.58 ± 0.02	1.31
8	9.64 ± 0.13	1.32	3.63 ± 0.06	1.64	5.54 ± 0.14	2.55	2.31 ± 0.02	1.06
16	10.63 ± 0.17	1.62	4.85 ± 0.05	1.03	5.02 ± 0.16	3.28	3.16 ± 0.05	1.68
Sensor set No.6								
0.5	2.76 ± 0.03	0.94	0.56 ± 0.01	2.32	1.21 ± 0.03	2.30	—	—
1	4.35 ± 0.02	0.38	0.97 ± 0.01	1.13	1.97 ± 0.02	0.77	0.52 ± 0.01	1.06
2	6.47 ± 0.03	0.42	1.59 ± 0.02	1.26	3.36 ± 0.03	0.88	0.84 ± 0.01	1.19
4	8.48 ± 0.08	0.89	2.54 ± 0.04	1.71	4.52 ± 0.06	1.37	1.28 ± 0.01	1.04
8	9.79 ± 0.13	1.35	3.63 ± 0.10	2.67	5.13 ± 0.06	1.23	1.92 ± 0.02	0.97
16	10.50 ± 0.22	2.05	4.77 ± 0.11	2.25	4.93 ± 0.13	2.55	2.73 ± 0.03	1.08
Concentrations of Hangekobokuto extraction dilution (mg/mL)	Taste factor							
	Umami		Aftertaste of umami		Saltiness			
	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)		
Sensor set No.4								
0.5	2.54 ± 0.02	0.60	—	—	1.94 ± 0.06	3.07		
1	3.64 ± 0.02	0.60	—	—	1.98 ± 0.03	1.70		
2	4.13 ± 0.01	0.22	—	—	3.41 ± 0.01	0.41		
4	4.22 ± 0.01	0.31	1.72 ± 0.06	3.22	7.96 ± 0.20	2.54		
8	4.10 ± 0.03	0.83	2.81 ± 0.05	1.83	11.84 ± 0.13	1.10		
16	4.19 ± 0.08	1.86	4.22 ± 0.05	1.12	18.11 ± 0.15	0.83		
Sensor set No.5								
0.5	2.63 ± 0.03	1.16	—	—	1.86 ± 0.02	1.05		
1	3.70 ± 0.01	0.19	—	—	1.86 ± 0.04	2.36		
2	4.23 ± 0.01	0.35	—	—	3.44 ± 0.07	2.11		
4	4.29 ± 0.03	0.63	1.44 ± 0.06	3.81	6.54 ± 0.13	2.02		
8	3.91 ± 0.07	1.80	2.60 ± 0.04	1.51	11.29 ± 0.12	1.05		
16	3.79 ± 0.08	2.23	3.63 ± 0.05	1.33	17.46 ± 0.14	0.81		
Sensor set No.6								
0.5	2.76 ± 0.01	0.32	—	—	0.87 ± 0.01	1.63		
1	3.64 ± 0.00	0.12	—	—	1.65 ± 0.02	1.40		
2	4.17 ± 0.01	0.26	—	—	3.05 ± 0.04	1.33		
4	4.28 ± 0.02	0.51	1.49 ± 0.04	2.48	5.74 ± 0.11	1.89		
8	4.02 ± 0.03	0.69	2.75 ± 0.06	2.14	10.61 ± 0.15	1.37		
16	3.86 ± 0.06	1.62	3.92 ± 0.04	1.12	16.56 ± 0.20	1.21		

Table 4 Taste intensities* of Hangekobokuto extract dilution, obtained with three sensor sets (No.1-3)

Concentrations of Hangekobokuto extract dilution (mg/mL)	Taste factor							
	Anionic bitterness		Aftertaste of anionic bitterness		Astringency		Aftertaste of astringency	
	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)
0.125	1.01 ± 0.07	7.08	—	—	—	—	—	—
0.25	1.92 ± 0.10	5.01	—	—	—	—	—	—
0.5	3.29 ± 0.12	3.65	0.50 ± 0.03	6.77	0.92 ± 0.02	2.00	—	—
1	5.06 ± 0.12	2.45	0.96 ± 0.05	5.25	1.78 ± 0.11	6.00	—	—
2	7.14 ± 0.11	1.56	1.67 ± 0.07	4.34	3.03 ± 0.33	11.02	0.73 ± 0.13	17.08
4	9.18 ± 0.15	1.68	2.73 ± 0.12	4.22	4.27 ± 0.58	13.67	1.19 ± 0.16	13.36

Concentrations of Hangekobokuto extract dilution (mg/mL)	Taste factor					
	Umami		Aftertaste of umami		Saltiness	
	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)
0.125	1.48 ± 0.05	3.50	—	—	—	—
0.25	2.22 ± 0.05	2.39	—	—	—	—
0.5	3.12 ± 0.09	2.85	—	—	—	—
1	3.92 ± 0.15	3.95	—	—	—	—
2	4.35 ± 0.22	5.01	—	—	3.00 ± 0.29	9.65
4	4.27 ± 0.26	6.02	1.21 ± 0.16	13.16	6.40 ± 0.40	6.19

*Data were indicated the average of the corresponding data in Table 2

Table 5 Taste intensities* of Hangekobokuto extract dilution, obtained with three sensor sets (No.4-6)

Concentrations of Hangekobokuto extract dilution (mg/mL)	Taste factor							
	Anionic bitterness		Aftertaste of anionic bitterness		Astringency		Aftertaste of astringency	
	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)
0.5	2.67 ± 0.07	2.66	0.57 ± 0.01	1.41	1.05 ± 0.09	8.86	—	—
1	4.28 ± 0.06	1.51	0.98 ± 0.01	1.18	1.89 ± 0.05	2.48	0.55 ± 0.04	7.42
2	6.25 ± 0.17	2.72	1.58 ± 0.00	0.30	3.32 ± 0.02	0.60	0.90 ± 0.06	7.07
4	8.38 ± 0.12	1.40	2.62 ± 0.04	1.60	4.68 ± 0.22	4.62	1.48 ± 0.15	10.29
8	9.68 ± 0.08	0.80	3.65 ± 0.01	0.35	5.26 ± 0.21	4.04	2.16 ± 0.20	9.11
16	10.58 ± 0.07	0.62	4.85 ± 0.05	0.95	4.88 ± 0.07	1.44	3.00 ± 0.22	7.18

Concentrations of Hangekobokuto extract dilution (mg/mL)	Taste factor					
	Umami		Aftertaste of umami		Saltiness	
	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)
0.5	2.65 ± 0.07	2.70	—	—	1.55 ± 0.51	32.51
1	3.66 ± 0.03	0.86	—	—	1.83 ± 0.12	6.40
2	4.18 ± 0.03	0.75	—	—	3.30 ± 0.20	6.11
4	4.26 ± 0.01	0.31	1.55 ± 0.05	3.51	6.75 ± 0.53	7.86
8	4.01 ± 0.06	1.59	2.72 ± 0.08	2.96	11.25 ± 0.38	3.38
16	3.95 ± 0.08	1.98	3.92 ± 0.16	4.20	17.38 ± 0.50	2.86

*Data were indicated the average of the corresponding data in Table 3

Table 6 Ratio of the mean value of taste intensity obtained with the sensor sets of No. 4-6 to that of No. 1-3

Concentrations of Hangekobokuto extract dilution (mg/mL)	Anionic bitterness		Aftertaste of anionic bitterness		Astringency	
	Relative mean	Relative RSD	Relative mean	Relative RSD	Relative mean	Relative RSD
0.5	0.81	0.73	1.14	0.21	1.14	4.44
1	0.85	0.61	1.02	0.22	1.06	0.41
2	0.88	1.75	0.95	0.07	1.10	0.05
4	0.91	0.84	0.96	0.38	1.10	0.34

Concentrations of Hangekobokuto extract dilution (mg/mL)	Aftertaste of astringency		Umami		Aftertaste of umami	
	Relative mean	Relative RSD	Relative mean	Relative RSD	Relative mean	Relative RSD
0.5	—	—	0.85	0.95	—	—
1	—	—	0.93	0.22	—	—
2	1.24	0.41	0.96	0.15	—	—
4	1.25	0.77	1.00	0.05	1.29	0.27

分担研究課題 理化学試験用標準生薬に関する研究

分担研究者 （独）医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター・センター長
木内 文之

生薬は天産品であるが故に、基原植物、生育地、気温、日照、降雨等の気象条件等の様々な要因がその成分に影響を及ぼす可能性があり、一定の薬効を期待するためには、その品質の評価が非常に重要である。本研究では、標準的な生薬を標品とすることにより、生薬等の品質を評価する方向性を実現するために、生薬シャゼンシ並びにゴシツについて、日本薬局方医薬品各条生薬等で規定する理化学試験の分析標品として用いるための標準生薬が満たすべき要件を検討し、標準試薬「シャゼンシ」並びに標準試薬「ゴシツ」の規格並びにその認定手続きを作成した。今回作成した標準試薬「シャゼンシ」並びに「ゴシツ」の規格は、日本薬局方への収載が予定されているシャゼンシ、ゴシツを含む処方エキス（牛車腎気丸）の確認試験に利用される予定である。

協力研究者

浅間宏志 日本漢方生薬製剤協会・生薬委員会
菊地祐一 東京生薬協会
川原信夫 国立医薬品食品衛生研究所生薬部
合田幸広 国立医薬品食品衛生研究所生薬部長
近藤誠三 日本漢方生薬製剤協会・技術委員会
酒井英二 岐阜薬科大学准教授
関田節子 徳島文理大学香川薬学部教授
七浦光雄 日本試薬協会
菱田敦之 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター
淵野裕之 同上
山本 豊 日本生薬連合会・技術委員会

A. 研究目的

本格的な高齢化社会を迎えつつある現在、国民の健康に対する漢方の役割に大きな期待が寄せられている。漢方薬の有効性・安全性を担保するためには、そこで用いられる原料薬物である生薬の品質の確保が必須であるが、生薬は天産品であ

るため、その品質の確保のための様々な努力が必要である。

日本薬局方では、生薬の含有成分に関する規定として、確認試験、定量法、精油含量等を定めている。これらのうち確認試験は、その生薬に特徴的な成分（群）或は類似生薬との判別に有効な成分（群）を検出する方法を主として採用しており、15局では指標成分をTLC或はHPLCで検出する方法が67の生薬で採用されている。しかし、起泡沫試験や呈色反応といった特異性の低い方法が54の生薬で採用されている他、適当な指標成分が見いだせない等の理由から、確認試験が設定されていない生薬も25存在しており、適切な確認試験法の設定が課題となっている。また、TLCが採用されている生薬についても、生薬の品質を確保するためには、指標とされる成分のみを確認するだけでは不十分ではないかとの指摘もある。更に、15局から漢方処方エキスが収載されるようになり、漢方処方中の構成生薬の確認試験が必要になっているが、ここでも特定の指標成分を用いたTLCによる確認試験が困難なケースが見られる。このような問題点を解決する方法の一つとし

て、特定の成分ではなく生薬自体の標準品を利用して確認試験を行うことが考えられる。

生薬の標準品については、WHO 等においてもその必要性が指摘されており、中国では既に標準生薬を利用している。我が国に於いても、生薬の品質評価に際しての課題として、「生薬全体の品質を評価する方法として、より多成分を対象とした試験法が求められていて、色調、香り、味などの感覚を利用した方法が検討されてはいるが、客観的な評価基準を設定することが困難である。そこで、生薬そのものを比較の対象標準とする『理化学試験用生薬標準品』の設定を考案し、日本公定書協会の研究班で標準品の品質規格と試験法並びに標準品の純度試験を検討する」（平成 11 年度理化学試験用生薬標準品研究班）総括研究報告書^{1b}より）こととなり、平成 10 年度から生薬標準品に関する検討が佐竹等によって開始された¹。

本研究では、これまで行われてきた理化学試験用生薬標準品に関する検討を基にして、日本薬局方の生薬並びに漢方処方の確認試験等に用いるための標品としての「理化学試験用標準生薬」を実用化することを目的とした検討をおこなっており、昨年度はシャゼンシについてその規格並びに認定に関する手続きの検討を行った。今年度は、シャゼンシについて引き続き検討を行うと共に、ゴシツについても検討を行った。

B. 研究方法

日本薬局方原案審議委員会生薬等委員会の委員を中心とする研究班を組織し、以下の点について検討を行った。

1. 理化学試験用標準試薬「シャゼンシ」の認定手続きの検証

昨年度理化学試験用標準生薬「シャゼンシ」の規格を作成する際に標準生薬候補として検討してきたシャゼンシ (TEST-0001) について、認定手続きに沿って基原植物の確認を行い、認定手続き並びに候補生薬の標準生薬としての妥当性を検討した。

2. 理化学試験用標準試薬「ゴシツ」の規格並びに更新手続きの検討

市場流通品の生薬ゴシツを比較対象として東京生薬協会、日本生薬連合会、日本漢方生薬製剤協会に加盟する各社が扱う市場品の TLC パターンを比較し、どのようなパターンの生薬を標準生薬とするのが適当かを検討するとともに、標準生薬として認定する際の手続きについても検討した。

3. その他の候補品目の検討

昨年度標準生薬候補品目として選定したトウキと日本薬局方への収載が検討されているものの、確認試験に利用できる適当な成分が見つからないガイヨウについて、標準生薬を設定することの妥当性を含めて検討した。

C. 研究結果

1. 理化学試験用標準試薬「シャゼンシ」の認定手続きの検証

昨年度理化学試験用標準生薬「シャゼンシ」の規格を作成する際に標準生薬候補として検討してきたシャゼンシ (TEST-0001) について、認定手続きに沿って基原植物の確認を行った。早春に温室に播種したのものの中には、葉柄が紫色を帯び根に髓が観察されない等、*Plantago asiatica* より *P. hostifolia* に近い特徴²を示す個体が見られた。しかし、認定手続きに沿って「栽培指針」に準じて栽培したものでは、葉柄全体が紫色を帯びるものは無く、葉柄の長さも *P. hostifolia* の特徴とは逆に短いものであった。また、*P. asiatica* について更に調べたところ、矮性の系統の株では根に髓が観察されないことから、根の髓については、*P. asiatica* を区別する特徴にはならないことが判明した。なお、分類学上 *P. hostifolia* は広く認知されている種ではなく、中国では *P. asiatica* として扱っていると思われる。以上の結果より、今回テストしたシャゼンシ (TEST-0001) の基原植物は、*P. asiatica* であるものと結論した。また、根の髓の有無は、*P. asiatica* を区別する特徴として適当でないことが明らかとなったことから、確認手続きの判定基準から「根に明瞭な髓が見られる」を削除し、「明確な主根を持たず、多数のひげ根を有する」を加えることとした。また、種子の形状についても記載を整え、資料 1 に示す規格並びに最終的な確認

手順を作成した。

なお、この規格に適合するものを、理化学試験用標準試薬「シャゼンシ」として、日本薬局方に新たに収載される予定の牛車腎気丸エキスの確認試験に用いることが、日本薬局方原案審議委員会生薬等(B)委員会です承された。

2. 標準生薬「ゴシツ」の規格並びに更新手続きの検討

(1) 市場品の調査と検討用試料の作成

まず、市場流通品の生薬ゴシツを比較対象として東京生薬協会、日本生薬連合会、日本漢方生薬製剤協会に加盟する各社が取り扱う市場品のTLCパターンを比較した。その結果、市場品には成分パターンが異なり、粉末にしたときの性状も異なるものが存在することが明らかとなった (Fig. 1)。そこで、水/ブタノールで抽出される成分について、更に検討を加えた。

保存されていた生薬を用い、過去からの品質の変化を検討したところ、以前の市場品 (1993年、1995年、1998年) はスポットの数も多く全体的に濃度も濃いのにに対し、近年の市場品は全体的にスポットの数も少なく濃度も薄い結果となった (Fig. 2)。しかし、内部形態にこれらの結果と関連するような差は認められなかった。また、中国の産地 (河南省) の情報 (十数年前と現在の現地での差) を得たが、近年のものは成長が良く収量も多くなったこと以外に乾燥条件、収穫時期等には変化がないとのことであった。ゴシツは長期保存すると茶色に変色してくるが、今回見られた成分パターンの差が、経時変化によるものかどうかは不明である。

次に、全形の市場品に刻み加工 (生切り、水浸切り) を施し、35℃、60℃、105℃で乾燥し、スポットの変化を確認した。その結果、105℃で乾燥したものについては、時間とともにスポットが濃くなる傾向が認められたが、その他は未処理の場合と差が認められなかった (Fig. 3)。また、抽出時のpHが低くなるほどスポットは濃くなる傾向が認められたが、スポットの数には変化が認められなかった (Fig. 4)。

更に、生薬ゴシツの成分パターンの差が、生薬に加工するまでの工程に起因する可能性を調べ

るために、薬用植物資源研究センターにおいて栽培している *Achyranthes fauriei* と *A. bidentata* を用い、収穫した根から側根を除去し、主根のみを4条件 (15℃、30℃、50℃、70℃) で乾燥して比較した。その結果、低温 (15℃、30℃) で乾燥したものと比較的高い温度 (50℃、70℃) で乾燥したものでは成分パターンに顕著な違いが認められた (Fig. 5)。同じ材料を同様に収穫後、乾燥せずに速やかにアルコールで抽出すると、その成分パターンは高温で乾燥した場合とよく似たものになる (Fig. 6) ことから、この変化は主に根に内在する酵素による成分の変化によるものと推定された。また、70℃で乾燥した場合、直接メタノール抽出した場合には見られない、比較的極性の低いスポットが見られることから、高温で乾燥した場合には、熱による成分変化も伴うことが推定された。なお、*A. fauriei* と *A. bidentata* の間には、成分パターンの差は認められなかった。

上記の結果から、理化学試験用標準生薬検討用試料としてのゴシツは、薬用植物資源研究センターにおいて栽培されたものを70℃で乾燥して製することとし、これを用いて以下の検討をおこなった。

(2) 標準生薬の規格並びに認定手続きの作成

薬用植物資源研究センターにおいて栽培された *A. fauriei* と *A. bidentata* の根を収穫後、70℃で乾燥したサンプル (*A. bidentata* : TEST-0010, *A. fauriei* : TEST-0011) を用い、標準生薬の規格並びに認定手続きの検討を行った。生薬のゴシツを利用することを前提とした牛車腎気丸エキス中のゴシツの確認試験法の案が、既に漢方処方の原案作成WGで作られていたことから、ここで採用されているTLC条件を参考に、規格を検討した。また、基原植物の確認手続きについては、薬用植物資源研究センターで栽培している *A. fauriei* の形態を基にして判定基準を作成した。最終的な規格並びに確認手続きを資料2に示す。なお、この規格に適合するものを、理化学試験用標準試薬「ゴシツ」として、日本薬局方に新たに収載される予定の牛車腎気丸エキスの確認試験に用いることが、日本薬局方原案審議委員会生薬等(B)委員会です承された。

3. その他の候補品目の検討

1) トウキ

市場流通品のトウキ（大和当帰、北海当帰）と唐当帰、韓国産辛当帰（*Angelica gigas*）などを比較した結果、メタノール抽出物をシリカゲルTLCを用いヘキサン/アセトン/酢酸（30：25：1）等の溶媒で展開し、紫外線（主波長 365nm）を照射することにより、その差が明確になることが明らかとなった。トウキと唐当帰の差の成分は、7-ヒドロキシクマリンとそのすぐ下に見られるスポットであることから、7-ヒドロキシクマリンを指標として確認方法（表現）を工夫することで、確認試験の設定が可能との結論になり、トウキは理化学試験用標準生薬研究の対象から外すこととなった。

2) ガイヨウ

ガイヨウは、日本薬局方への収載が検討されている生薬であるが、特徴的な成分が見当たらないために、確認試験の設定が出来ない状態であり、標準生薬の設定が有効と思われる。しかし、前出のシャゼンシやゴシツと異なり、生薬自体の確認試験に用いることになるため、まずこれまでに行われた検討結果をまとめて、問題点を考察した。その結果、ガイヨウについては、これまで特徴的な成分が見出されていないが、数個のTLCスポットを組み合わせることで、確認試験の設定が可能と思われた。また、これまでの検討で市場品の中には成分パターンがかなり異なるものが見出されているが、性状や基原植物の確認を行うことにより、考慮の対象から外せるものがあるように思われた。このような点を踏まえ、委員の間で市場品の再検討を行うこととし、その結果を基に、標準生薬の設定について次年度に改めて議論することとした。

D. 考察

今年度は、昨年度に引き続きシャゼンシについて標準生薬の規格並びに認定手続きの検討を行うとともに、ゴシツについても規格と認定手続きの検討を行った。シャゼンシについては、規格設定に際して用いたサンプルの基原植物の確認において、寒い時期に温室に播種して得た植物の中に、外観等の特徴が判定基準とした特徴とやや異

なる個体が見られたが、「栽培指針」に従って栽培した個体については、その外観は判定基準の中に収まっていた。また、当初 *Plantago asiatica* と *P. hostifolia* を区別する判断基準とした根の髓の有無については、矮性の *P. asiatica* の中に髓が観察されない個体があることが判明したため、これを削除し、根の形態的特徴を加えることとした。

ゴシツについては、市場品の成分パターンのばらつきが大きく、その原因も十分解明できなかったため、市場品を用いるのではなく、薬用植物資源研究センターで栽培している *A. fauriei* の根を70℃で乾燥したものをを用いることとした。生薬の乾燥温度は通例 60℃以下であることから、これを生薬として用いることは適当でないが、安定したTLCパターンを示す試薬を作るためには必要な工程と考えられる。

本研究では、理化学試験に用いる標準品としての生薬の実用化を目指し、その名称を「理化学試験用標準生薬」としてきたが、上記のゴシツのように、生薬としては適当でない加工を施す必要がある場合があり、名称に「生薬」を用いるのは好ましくないと考えられる。また、「標準生薬」という名称からは、「標準的な品質の生薬」が連想され、生薬としての標準品と混同される危険性がある。こうしたことから、今回規格を作成したシャゼンシとゴシツについては、その名称を「理化学試験用試薬」とすることとした。これにより、理化学試験に用いる試薬としての性格がはっきりし、無用な誤解を招く心配がなくなるものと思われる。

E. 結論

生薬シャゼンシ並びにゴシツについて、日本薬局方医薬品各条生薬等で規定する理化学試験の分析標品として用いるための標準生薬の規格並びにその認定手続きを検討し、理化学試験用標準試薬「シャゼンシ」並びに「ゴシツ」の規格並びに認定手続きを作成した。今回作成した標準試薬の規格に適合する生薬は、日本薬局方への収載が検討されているシャゼンシ並びにゴシツを含む処方エキス（牛車腎気丸）の確認試験に利用される予定である。

(参考文献)

1. a) 「平成 10 年度 理化学試験用生薬標準品研究班」総括研究報告書, *医薬品研究*, **31**(11), 836 (2000); b) 「平成 11 年度 理化学試験用生薬標準品研究班」総括研究報告書, *医薬品研究*, **31**(11), 837-841 (2000); c) 「平成 12 年度 理化学試験用生薬標準品研究班」総括研究報告書, *医薬品研究*, **35**(9), 461-465 (2004); d) 「平成 13 年度 理化学試験用生薬標準品研究班」総括研究報告書, *医薬品研究*, **35**(9), 466-468 (2004).
2. 鄭太坤ら, 車前草の生薬学的研究 (第 8 報) 『中国産オオバコ属植物の根の形態について』, *生薬学雑誌*, **45**, 93-98 (1991).

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 木内文之, 「理化学試験用標準生薬 (仮称) について」, 第24回和漢医薬学会大会, シンポジウム「和漢薬標準化の内と外」(富山, 2008年9月).
- 2) 木内文之, 淵野裕之, 菱田敦之, 合田幸広, 川原信夫, 関田節子, 酒井英二, 浅間宏志, 近藤誠三, 山本 豊, 菊地祐一, 七浦光雄, 「理化学試験用試薬シャゼンシ」について, 日本薬学会第128年会 (横浜, 2008年3月発表予定)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Fig. 2 入手年度による差

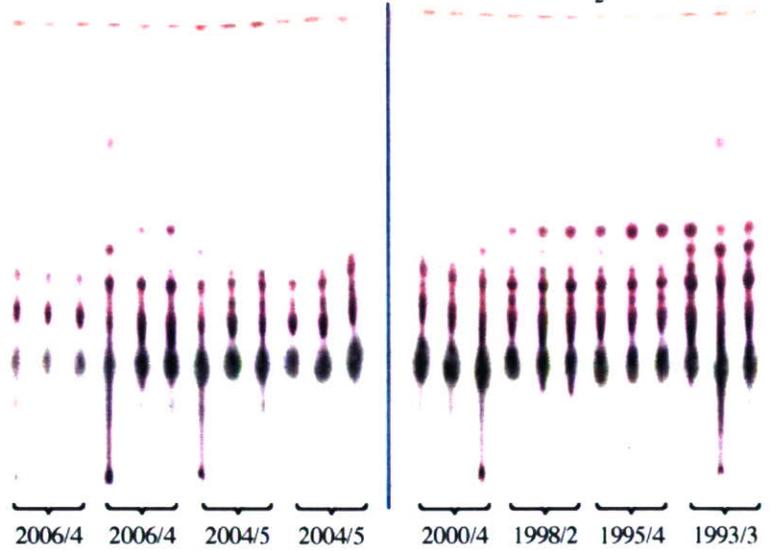
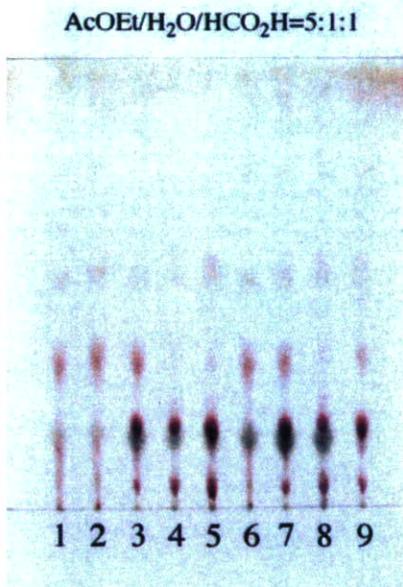


Fig. 1 市場品の比較



- 1, 2, 6, 9: 粉状になる
- 3, 7: 粘性があり粉状になりにくい
- 4, 5, 8: わずかに粘性があるが、粉状になる

Fig. 3 乾燥並びに加工による変化

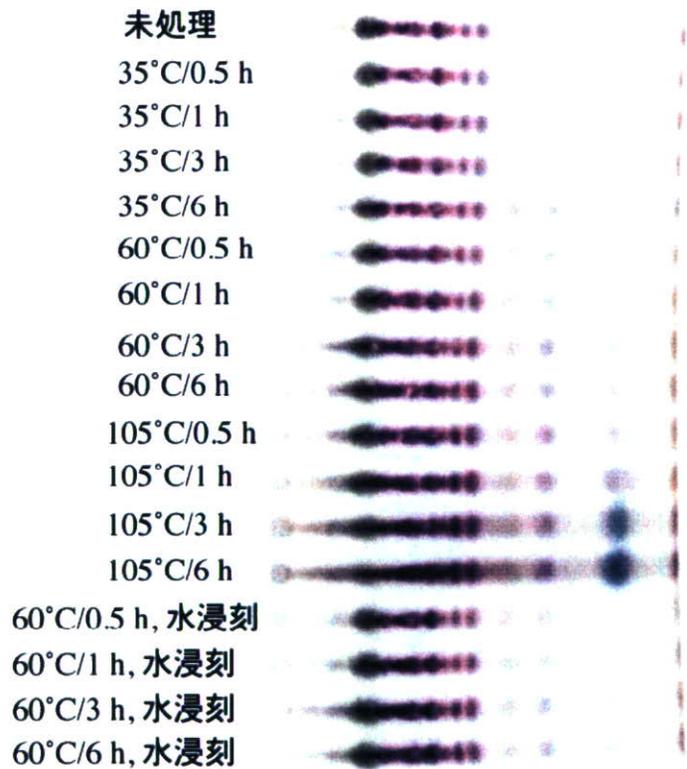
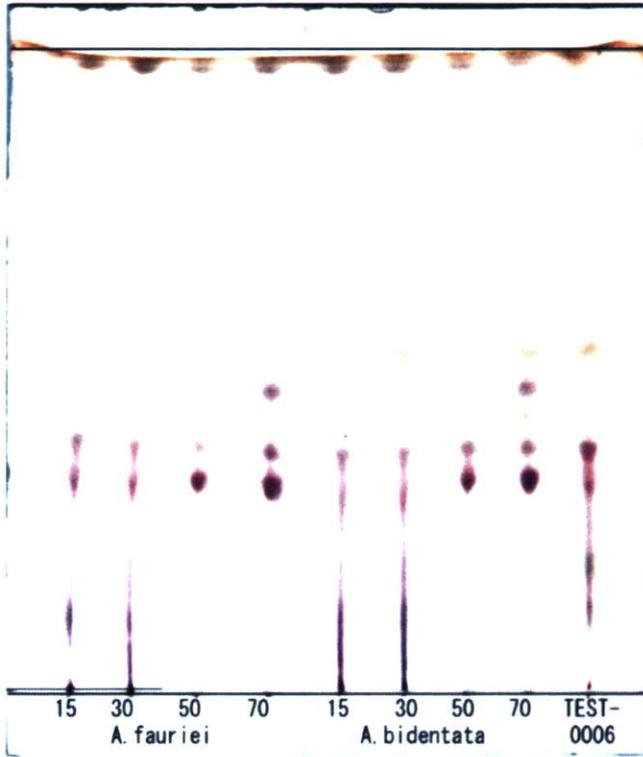


Fig. 4 抽出時のpHの影響



Fig. 5 収穫後の乾燥温度の影響

酢酸エチル/水/酢酸混液 (=5:2:2)



左から *A. fauriei* 15°C, 30°C, 50°C, 70°C 3日間乾燥、
A. bidentata 15°C, 30°C, 50°C, 70°C 3日間乾燥、
理化学試験用標準生薬検討用試料TEST-0006

Fig. 6 直接抽出との比較

酢酸エチル/水/ギ酸混液 (=5:1:1)



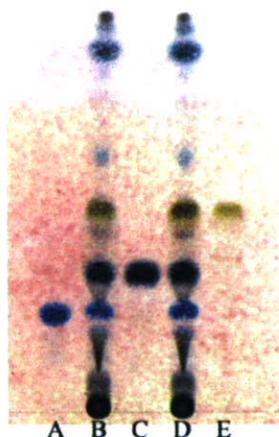
左から *A. fauriei* 生抽出、*A. bidentata* 生抽出、
A. fauriei 15°C 3日間乾燥、*A. fauriei* 70°C 3日間、
理化学試験用標準生薬検討用試料TEST-0006

理化学試験用試薬シャゼンシ規格 (案)

理化学試験用試薬シャゼンシは、理化学試験に用いる試薬であり、オオバコ *Plantago asiatica* L. (Plantaginaceae) の種子を基原とし、以下に示す薄層クロマトグラフィーにおいて、添付図 1 (展開溶媒: アセトン/酢酸エチル/水/酢酸 (100) 混液 (10:10:3:1)) 並びに添付図 2 (展開溶媒: 酢酸エチル/水/ギ酸混液 (6:1:1)) のパターンを示すものである。

薄層クロマトグラフィー

本品の細末 (100号ふるいを通過する粉末) 1 g をとり、メタノール 3 mL を加え、水浴上で 3 分間加温する。冷後、遠心分離し、上澄液を試料溶液とする。別途、アクテオシド、ゲニポシド酸、プラントゴグアニジン酸各々 1 mg をメタノール 1 mL に溶解して標準溶液とする。これらの液につき、日本薬局方の薄層クロマトグラフィー <2.03> により試験を行う。試料溶液及び標準溶液 10 μ L ずつを薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次にアセトン/酢酸エチル/水/酢酸 (100) 混液 (10:10:3:1) 並びに酢酸エチル/水/ギ酸混液 (6:1:1) を展開溶媒として約 10 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに 4-メトキシベンズアルデヒド・硫酸試液を均等に噴霧し、105°C で 10 分間加熱する。



添付図 1

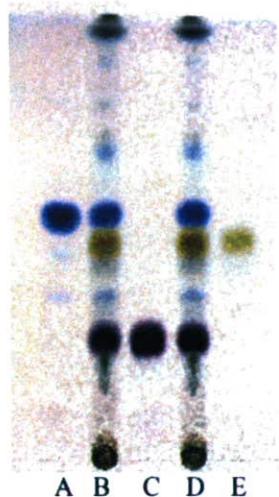
展開溶媒: アセトン/酢酸エチル/水/酢酸(100) (10:10:3:1)

A: プランタゴグアニジン酸

B, D: 理化学試験用試薬シャゼンシ (TEST-0001)

C: ゲニポシド酸

E: アクテオシド



添付図 2

展開溶媒: 酢酸エチル/水/ギ酸 (6:1:1)

A: プランタゴグアニジン酸

B, D: 理化学試験用試薬シャゼンシ (TEST-0001)

C: ゲニポシド酸

E: アクテオシド

理化学試験用試薬シャゼンシの認定手続き

1. 基原植物の確認

以下に示す a～h の特徴を総て満たすシャゼンシを、その基原植物がオオバコ *Plantago asiatica* L. (Plantaginaceae) であるものとする。

1) 種子が次の a～d の特徴を有する。

a : 大きさが均一であり、その形状は、楕円形、類三角形で、長さ約 2 mm、幅約 1 mm である。

b : 長さ 1 mm 程度の種子を含まない。

c : 中央部に凹みはなく舟形を呈さない。

d : 100 粒重は 50 mg 以上である。

2) 種子数十粒を播種し、「薬用植物-栽培と品質評価-」Part 10 (オオバコ) に準じて栽培して得た植物体 10 個体が、総て e～h の特徴を有する。

e : 葉身は長さ 4～15 cm、幅 3～8 cm で、葉柄は葉身よりやや長い。

f : 葉身には両面ともに頭部が 2 細胞から成る腺毛と、希に多細胞の非腺毛を認める。

g : 明確な主根を持たず、多数のひげ根を有する。

h : 1 果実あたりの種子数が 5～9 である。

2. 成分パターンの確認

上記 1. によって基原植物が確認された生薬について、理化学試験用試薬シャゼンシ規格に示す薄層クロマトグラフィーを行い、その TLC パターンが添付図 1、添付図 2 と同等であると認めたものを、理化学試験用試薬シャゼンシと認定する。