

抑制活性を示したのは黄柏及び黄連であり、黄柏は *B. adolescentis* 及び *B. longum* に対して 0.5 mg/mL でも活性を有し、黄連は 0.1 mg/mL でも全 5 菌種について強い抑制活性を有していた。ただし、大黄の *C. perfringens* に対する抑制活性、及び黄柏の *C. difficile* に対する抑制活性は 10 mg/mL 以上でのみ観察され、選択性が見られた。桂皮に関しては、20 mg/mL のみ抑制活性が観察されたが、*B. catenulatum* に対する選択性が表 5 におけるものと矛盾しており、また、10 mg/mL において *C. perfringens* に対しては促進活性を示しており、この 2 面性についても検討が必要である。甘草については、*B. adolescentis* に対して作用が無く、*B. longum* に対して弱いという点で表 5 の傾向と一致した。また、厚朴についても、*B. adolescentis* に対して作用が無いという点で再現性を有するが、10 mg/mL においても活性を示すのは *B. catenulatum* に対してのみであった。

#### 腸内細菌の短鎖脂肪酸生産への漢方処方及び生薬エキスの影響

ここまでの検討で特に培地の pH の変化が著しかった漢方処方及び生薬を選択し、bifidobacteria と clostridia に投与し、培地中の短鎖脂肪酸の生産量と pH の降下が相関するかどうか検討した。短鎖脂肪酸はイオン排除型有機酸分析カラムとブロムチモールブルー (BTB) 指示薬を用い、ポストカラム反応型検出法により行った。bifidobacteria については乳酸を、clostridia については乳酸と酪酸を定量した。データは示さないが、桂皮、黄連、黄柏、大黄及び厚朴の各生薬エキス、及び大黄甘草湯のエキスを投与した場合、培地の pH 降下を強く抑制した菌種の培地においては、乳酸あるいは酪酸のピークが全く観察されなかった。

次に、培地の pH 降下を強く促進した生薬及び漢方処方エキスについて、短鎖脂肪酸 (有機酸) の生産量を定量したところ、表 8 に示す結

果となった。特に pH 降下の促進効果が顕著に観察された *C. perfringens* について見ると、大棗、芍薬、人参及び加工ブシにおいて乳酸及び酪酸の生産量が著しく増大しており、GAM 培地を対照とした場合、乳酸生産に関して加工ブシでは約 12 倍、大棗でも約 6 倍に達し、酪酸に関しては芍薬で約 5 倍、人参で約 4 倍に達していた。処方エキスについても同様に、桂枝加芍薬湯、大柴胡湯及び甘草瀉心湯において、乳酸生産が約 5 倍、酪酸生産が約 3 倍に達していた。bifidobacteria の 3 菌種及び *C. perfringens* において、pH 変化率が大きい生薬あるいは処方では例外なく短鎖脂肪酸の生産量が上昇していたが、*C. difficile* においては、pH 変化率が 133% と大きい大棗において、乳酸生産及び酪酸生産が減少していた。また、*C. perfringens* において、pH 変化率が対照試料と同程度の山梔子でも乳酸及び酪酸の生産量上昇が観察された。このように一部に例外は見つかったものの概ね短鎖脂肪酸の生産量と pH 変化率の大きさは正の相関を示した。

#### D. 考察

本研究では、腸内細菌の増殖生育及び短鎖脂肪酸生産に与える漢方処方及びその構成生薬の影響について検討した。本研究を始めるにあたり、腸内細菌の増殖生育を定量化する試験法として、培養液の濁度を紫外線吸収分光器 (660nm の吸光度) で測定する方法、あるいは、細胞内 ATP の増加をルシフェラーゼ反応の化学発光としてルミノメーターで測定する方法を想定していたが、いずれの場合も、漢方処方エキスあるいは生薬エキスの持つ紫外線吸収あるいは発光が非常に強く、増殖による測定値の変動幅と比較して測定バックグラウンドの方が著しく大きく、培養液の pH を測定する方法に切り替えた。培地の pH を測定する方法は簡便であり、一時スクリーニングとしては優れた測定法と思われる。ただし、活性を示した試

料についてさらに詳しく検討を進めるには、実際に顕微鏡下で細胞数の増加を観察したり、コロニー形成能を評価する等、直接細胞増殖を観測できるステップを導入する必要があるものと思われる。この場合、自動のセルカウンターを活用も考えられるが、腸内細菌のサイズは小さく、しかも形態が球形ではなく細長い桿菌の場合が多いため、画像認識ソフトに細胞として認識され辛いという難点がある。また、核を染色した上で FACS により細菌数を自動計測する方法が最も正確であり、多検体に対応できる優れた手法であるが、高価な機器を必要とすることが難点である。これらの問題を克服して簡便に多検体を処理できる試験法に仕上げるのが次の課題であろう。

今回試験に供した菌種は、*Lactobacillus* 属 (lactobacilli) 2 種、*Bifidobacterium* 属 (bifidobacteria) 3 種及び *Clostridium* 属 (clostridia) 2 種の合計 7 種である。*Lactobacillus* 属は乳酸菌の代表格であり、野外より容易に分離されるためヨーグルトの生産に古くより用いられ、発酵によって多量の乳酸を産生し、比較的低い pH 条件下でよく増殖する。*Bifidobacterium* 属も乳酸菌の一種であり、母乳栄養児の消化管内において最も数が多い消化管常在菌であり、*Lactobacillus* 属と共にいわゆる「腸内の善玉菌」として捉えられる場合が多い。一方、*Clostridium* 属には破傷風菌 (*C. tetani*) やボツリヌス菌 (*C. botulinum*) も属するため、いわゆる悪玉菌の代表格となっている。*C. perfringens* は旧来 *C. welchii* と呼ばれていたもので、すなわちウェルシュ菌のことであり、腹痛や下痢が主で一般に症状は軽微であるが、エンテロトキシンを生産する食中毒原因菌として知られている。*C. difficile* は多く種類の抗生物質に対して耐性であるため、抗生物質の投与によって他の菌が死滅するところの菌だけが生き残って異常増殖し、エンテロトキシン等の毒素を産生することもある。7 種は

いずれも偏性嫌気性菌であるが、*Lactobacillus* 属は比較的酸素の影響を受けにくいことで知られている。漢方処方の有効性について論じる場合、善玉菌だけを増殖促進し、悪玉菌だけを生育抑制するような作用があれば聞こえが良い。しかし、これに当てはまる処方あるいは生薬は今回の検討では得られなかった。ただし、前述したが、善玉菌及び悪玉菌と言う分類は科学的に適切と言えないところがあり、病原菌は明らかに悪玉であるが、状況によって善玉にも悪玉にもなる細菌が多いことも事実である。例えば、悪玉菌の代表格であるウェルシュ菌 (*C. perfringens*) も、毒素を生産する点では明らかに悪玉であるが、酪酸等の短鎖脂肪酸を生産するという機能面から言えば善玉でもある。また、善玉菌とは、悪玉菌の活動を抑え込む、腸内を酸性に保って体を悪玉菌から守る、便秘を防ぐ、ビタミン B 群等をつくり出す等、主に悪玉菌の対照として付与された分類であり、系統分類学的な根拠は無く、事実、系統的近縁な善玉菌と悪玉菌が多く存在している。従って、今回、善玉菌特異的あるいは悪玉菌特異的な作用を見出せなかったことも特に不思議はない。今後は、漢方処方の腸内細菌への影響について検討する場合も、宿主にとって有用な役割を持つ特定の菌種に対する影響に絞って検討するか、あるいは短鎖脂肪酸生産、抗酸化作用、免疫賦活作用等の特定の機能に絞って検討することが明確な結論に導けるものと思われる。腸内細菌叢全体を俯瞰し、腸内環境をマクロ的な視点で検討することももちろん重要であるが、個々の菌種の機能や宿主毎の分布・組成が不明である現状においては、本研究のような *in vitro* 培養系によるミクロ的視点の研究がもたらす知見は貴重と思われる。

本研究において指標とした培養液の pH 変化がどの程度正確に細菌の生育速度を反映しているかという点については今後の検討課題で

あるが、仮に培地の pH 降下と細菌生育が良く相関するとして以下の考察を行う。今回試験した7種の菌株について、全体的に生育抑制活性を示したものは大黄甘草湯であった(表2及び表3)。また、乳酸菌(lactobacilli)には作用せず、ビフィズス菌(bifidobacteria)及びクロストリジウム菌(clostridia)に抑制活性を示した処方の小承気湯、梔子柏皮湯及び葛根黄連黄芩湯であった。表1に示す通り、大黄甘草湯の構成生薬は大黄及び甘草であるが、大黄は生薬エキスとしても供試菌株全てに抑制活性を示し、甘草も *B. adolescentis* を除くビフィズス菌とクロストリジウム菌に抑制活性を示したので、構成生薬の面からも大黄甘草湯の強い抑制活性は納得できる。小承気湯にも大黄が構成生薬として配合されており、これに加えて厚朴に甘草と同様のスペクトルの生育抑制活性が見られ、合理的な結果と言える。一方、梔子柏皮湯の抑制活性の本体は黄柏と甘草であり、葛根黄連黄芩湯の活性本体は黄連であると想像される。これら強い活性を示した生薬については、希釈した濃度においても検討したが(表6及び表7)、黄柏および黄連については0.5 mg/mL という抗生物質にも匹敵するレベルの非常に強い生育抑制活性が観察され、それぞれの活性本体の同定が望まれるところである。また、黄柏は *L. reuteri* に対して全く活性を示さないことも大変興味深い現象である。

さらに、大柴胡湯が *C. difficile* 特異的に強い生育抑制活性を示したことは特筆に値する。前述のように、*C. difficile* は多くの抗生物質に耐性を持ち、抗生物質の投与により他の常在細菌が死滅したときに頭角を現すことが知られている。大黄甘草湯などの広いスペクトルのものは、抗生物質投与と同じ現象を引き起こしてしまう可能性もあるが、大柴胡湯のように特異性の高い抗菌活性は、状況によっては非常に有用な治療手段となるものと思われる。大柴胡湯の構成生薬のうち、*C. difficile* 特異的な生

育抑制活性の主役は、表5の結果より枳実及び黄芩であると考えられる。大柴胡湯には大黄も配合されているが、配合比が1/24と低いため、大柴胡湯は広いスペクトルを持たないものと想像される。逆に、枳実及び黄芩は配合比がそれぞれ2/24及び3/24であり、*C. difficile* に対する個々の活性が非常に強いのか、あるいは相乗効果が存在するかのどちらかであろう。いずれにしても、枳実及び黄芩に含まれる *C. difficile* 特異的な抗菌物質の特定が望まれるところである。

一方、生育抑制とは反対に、ウェルシュ菌(*C. perfringens*)に関しては、真武湯、附子理中湯、桂枝加芍薬湯、五苓散、大柴胡湯、甘草瀉心湯、柴胡桂枝湯、桂枝加芍薬大黄湯及び葛根黄連黄芩湯の9処方にpHの降下を加速する、すなわち生育促進作用と思われる現象が観察された。そして、表8に示した通り、pH低下の促進が起きていた処方及び生薬においては、乳酸及び酪酸の生産が著しく増大していた。乳酸菌やビフィズス菌は酸性条件を好むためpH4付近まで下がることは普通であるが、一般にクロストリジウム菌はpH5以下の酸性条件を苦手とするため、この自殺的な有機酸生産は非常に珍しい現象である。これまでの本研究での経緯から、pH下降の加速は生育促進と捉えざるを得ないが、実はこの状況においてクロストリジウム菌に対する生育抑制が起こっている可能性も否定できない。細胞数の測定等を通して、この点は将来的に明らかにしなければならない。ところで、pH下降を促進する処方の構成生薬について検討した結果(表4及び表5)から、芍薬、大棗、生姜及び加工ブシが極めて強いpH下降促進活性を示し、葛根、人参、乾姜、及び沢瀉も強い活性を示し、上記9処方にはこれらのいずれかが複数で配合されていることが分かった。これらの生薬に含まれる何らかの成分がウェルシュ菌の有機酸合成に影響を及ぼしたことになるが、プレバイオティクスとして有

用なオリゴ糖がこれらの生薬に高濃度で含有されている可能性もある。pHの変化には現れないものの、これらの処方及び生薬の多くはビフィズス菌の乳酸生産も促進しており、オリゴ糖の関与は有力な仮説と思われる。また、近年はビフィズス菌等の善玉菌は利用できるがウェルシュ菌などの悪玉菌は利用できないことを謳う分岐オリゴ糖などが注目を集めているが、逆にウェルシュ菌に選択性の高いオリゴ糖の存在も容易に予想されるため、本研究においてウェルシュ菌にのみ特に強く影響が出たことについては、漢方処方の安全性の観点からも、さらに詳細な検討が必要と思われる。また、ウェルシュ菌の乳酸及び酪酸生産を強力に促進した大棗及び芍薬が、同じクロストリジウム属の *C. difficile* においてはむしろ乳酸及び酪酸の生産を抑制していたことも興味深く、枳実及び黄芩に *C. difficile* 特異的な pH 降下抑制活性が見出されたように、*C. perfringens* と *C. difficile* の間には生化学的に大きな隔たりが存在する可能性が示唆された。

最後に、漢方処方の妙と言うべき生薬間の相互作用について言及する。漢方処方では、個々の生薬の腸内細菌に対する影響を検討した段階では明らかに強い活性を有する場合でも、処方として調製した場合、その活性が影を潜めることがある。本研究でも、大黄及び黄連に単独では強い pH 降下抑制活性が見られたにも関わらず、これらを 1/3 ずつ含む三黄瀉心湯においては活性が見出せなかった。また、桂皮及び甘草は単独ではビフィズス菌及びクロストリジウム菌に強い活性を示したが、これらを 1/3 ずつ含む半夏散及湯においては活性が見出せなかった。この 2 件はそれぞれ共存する黄芩及び半夏の影響を受けた可能性と、大黄と黄連の間、あるいは桂皮と甘草の間の相互作用の可能性が考えられる。これらはいずれも構成生薬数が少なく、理論上は 1/3 の効果が発揮されるはずであり、処方構成の中で希釈されるという指

摘は当てはまらない。これらの相互作用のメカニズムについても興味を持たれるところである。

## E. 結論

本研究では、漢方処方及び生薬エキスの腸内細菌の生育に対する影響について、*in vitro* 培養した腸内細菌の培地 pH を測定することにより間接的に観察するシステムを確立した。このシステムにより検出される pH 降下抑制活性は、有機酸生産量の減少と良い相関を示した。この pH 降下抑制活性が腸内細菌の生育阻害を反映しているかどうか別の直接的な手段で確認できれば、腸内細菌の生育に対する試験法として有用に機能するものと思われる。

上記システムを用い、処方においては大黄甘草湯、小承気湯、梔子柏皮湯及び葛根黄連黄芩湯に、個別の生薬では大黄、黄連及び黄柏に強い pH 降下抑制活性を見出した。

また、いわゆる悪玉菌のウェルシュ菌について、有機酸生産を著しく促進する処方及び生薬が多数見出された。この活性を示した成分の特定を進め、プレバイオティクスとしての応用について考えると共に、漢方処方の有効性・安全性を確保するという観点から、このウェルシュ菌に対する効果が腸内環境に与える影響について、ウェルシュ菌の生育速度や有害物質の生産量等を指標に検討を進める必要があると思われる。

さらに、抗生物質に対する耐性が問題となる食中毒原因菌である *C. difficile* に対して、特異的に生育阻害活性を示し得る処方として大柴胡湯を見出し、その活性の主役が枳実及び黄芩であることを明らかにした。これらの処方及び生薬の食中毒予防あるいは治療における応用が期待される。

## F. 研究発表

### 1. 学会発表

- 1) 遠藤明仁, 袴塚高志, 合田幸広: 新規漢方処方  
の品質規格に関する基礎的検討(7)  
嫌気性腸内細菌に与える漢方処方の影響,  
日本薬学会第128年会, 2008年3月(横浜).
2. 誌上発表  
該当無し
- G. 知的財産権の出願・登録状況  
該当無し

表1 腸内細菌生育に対する影響を検討した漢方処方

試料番号	処方名	処方構成 (エキスイ調製に用いたg数)	効能・効果	新・現行区分
1	真武湯	茯苓(5)、芍薬(3)、白朮(3)、生姜(1)、加工ブシ(1)	下痢、急・慢性胃腸炎、胃腸虚弱、目まい、動悸、感冒、むくみ、皮膚のかゆみ	新規
2	附子理中湯	人参(3)、加工ブシ(1)、乾姜(3)、甘草(3)、白朮(3)	胃腸虚弱、下痢、嘔吐、胃痛、腹痛、急・慢性胃炎	新規
3	桂枝加芍薬湯	桂皮(4)、芍薬(6)、大棗(4)、生姜(1.5)、甘草(2)	しぼり腹、腹痛、下痢、便秘	現行
4	五苓散	沢瀉(6)、猪苓(4.5)、茯苓(4.5)、白朮(4.5)、桂皮(3)	水様性下痢、急性胃腸炎(しぼり腹のものには使用しないこと)、暑気あたり、頭痛、むくみ、二日酔	現行
5	大柴胡湯	柴胡(6)、半夏(4)、生姜(2)、黄芩(3)、芍薬(3)、大棗(3)、枳実(2)、大黄(1)	胃炎、常習便秘、高血圧や肥満に伴う肩こり・頭痛・便秘、神経症、肥満症	現行
6	甘草瀉心湯	半夏(5)、黄芩(2.5)、乾姜(2.5)、人参(2.5)、甘草(3.5)、大棗(2.5)、黄连(1)	胃腸炎、口内炎、口臭、不眠症、神経症、下痢	現行
7	小承気湯	大黄(2)、枳実(2)、厚朴(3)	便秘	現行
8	柴胡桂枝湯	柴胡(5)、半夏(4)、桂皮(2.5)、芍薬(2.5)、黄芩(2)、人参(2)、大棗(2)、甘草(1.5)、生姜(1)	胃腸炎、かぜの中期から後期の症状	現行
9	桂枝加芍薬大黄湯	桂皮(4)、芍薬(6)、大棗(4)、生姜(1.5)、甘草(2)、大黄(1)	便秘、しぼり腹	現行
10	葛根黄連黄芩湯	葛根(6)、黄連(3)、黄芩(3)、甘草(2)	下痢、急性胃腸炎、口内炎、舌炎、肩こり、不眠	現行
11	三黄瀉心湯	大黄(1)、黄芩(1)、黄连(1)	高血圧の随伴症状(のぼせ、肩こり、耳なり、頭重、不眠、不安)、鼻血、痔出血、便秘、更年期障害、血の道症	現行
12	半夏散乃湯	半夏(3)、桂皮(3)、甘草(3)	のどの痛み、扁桃炎、のどの荒れ、声かれ	新規
13	大黄甘草湯	大黄(4)、甘草(1)	便秘、便秘に伴う頭重・のぼせ・肌あれ・ふきでももの・食欲不振(食欲減退)・腹部膨満・腸内異常発酵・痔などの症状の緩和	現行
14	梔子柏皮湯	山梔子(3)、甘草(1)、黄柏(2)	皮膚炎、皮膚のかゆみ、目の充血	新規

表2 菌培養液のpH測定による漢方処方エキス腸内細菌生育に及ぼす影響の評価 (MRS培地)

試料 番号	試料名	MRS negative control		A <i>L. acidophilus</i>			B <i>L. reuteri</i>		
		pH [NM]	pH [A]	[NM-A]	pH変化率 (%)	pH [B]	[NM-B]	pH変化率 (%)	
	MRS培地	5.5	4.2	1.3	100	4.2	1.3	100	
1	真武湯	5.6	4.1	1.5	115	4.1	1.5	115	
2	附子理中湯	5.5	4.1	1.4	108	4.2	1.3	100	
3	桂枝加芍薬湯	5.5	4.1	1.4	108	4	1.5	115	
4	五苓散	5.5	4.1	1.4	108	4.2	1.3	100	
5	大柴胡湯	5.5	4	1.5	115	4	1.5	115	
6	甘草瀉心湯	5.4	4	1.4	108	4	1.4	108	
7	小承気湯	5.4	4.4	1	77	4.2	1.2	92	
8	柴胡桂枝湯	5.5	4	1.5	115	4.1	1.4	108	
9	桂枝加芍薬大黄湯	5.5	4	1.5	115	4	1.5	115	
10	葛根黄連黄芩湯	5.5	4.2	1.3	100	4.2	1.3	100	
11	三黄瀉心湯	5.3	3.8	1.5	115	4.1	1.2	92	
12	半夏散及湯	-	-	-	-	-	-	-	
13	大黄甘草湯	5.3	5.2	0.1	8	5	0.3	23	
14	梔子柏皮湯	5.2	4.2	1	77	4	1.2	92	

表3 菌培養液のpH測定による漢方処方エキス腸内細菌生育に及ぼす影響の評価 (GAM培地)

試料番号	試料名	GAM negative control			C <i>B. adolescentis</i>			D <i>B. catenulatum</i>			E <i>B. longum</i>			F <i>C. perflingens</i>			G <i>C. difficile</i>		
		pH [NG]	pH [C]	[NG-C]	pH変化率 (%)	pH [D]	[NG-D]	pH変化率 (%)	pH [E]	[NG-E]	pH変化率 (%)	pH [F]	[NG-F]	pH変化率 (%)	pH [G]	[NG-G]	pH変化率 (%)		
	GAM培地	6.8	4.4	2.4	100	4.5	2.3	100	4.4	2.4	100	5.6	1.2	100	5.6	1.2	100		
1	真武湯	6.7	4.1	2.6	108	4.1	2.6	113	4	2.7	113	4.8	1.9	158	5.6	1.1	92		
2	附子理中湯	6.8	4.2	2.6	108	4.1	2.7	117	4	2.8	117	5	1.8	150	5.6	1.2	100		
3	桂枝加芍薬湯	6.7	4	2.7	113	4.1	2.6	113	4	2.7	113	4.7	2	167	5.2	1.5	125		
4	五苓散	6.6	4.1	2.5	104	4.1	2.5	109	4.1	2.5	104	5	1.6	133	5.3	1.3	108		
5	大柴胡湯	6.5	4.2	2.3	96	4.4	2.1	91	4.1	2.4	100	4.8	1.7	142	6.5	0	0		
6	甘草瀉心湯	6.6	4.2	2.4	100	4.4	2.2	96	4.2	2.4	100	4.7	1.9	158	5.4	1.2	100		
7	小承気湯	6.5	6.4	0.1	4	6.5	0	0	6.5	0	0	6.6	-0.1	-8	6.6	-0.1	-8		
8	柴胡桂枝湯	6.6	4.2	2.4	100	4.4	2.2	96	4.1	2.5	104	4.9	1.7	142	5.5	1.1	92		
9	桂枝加芍薬大黃湯	6.6	4.5	2.1	88	4.6	2	87	4.1	2.5	104	4.9	1.7	142	5.5	1.1	92		
10	葛根黄連黄芩湯	6.7	4.5	2.2	92	6.4	0.3	13	6.6	0.1	4	5.1	1.6	133	5.8	0.9	75		
11	三黄瀉心湯	6.4	4.3	2.1	88	4.4	2	87	4.4	2	83	5	1.4	117	5.6	0.8	67		
12	半夏散及湯	6.6	4.5	2.1	88	4.3	2.3	100	4.4	2.2	92	5.4	1.2	100	5.6	1	83		
13	大黃甘草湯	6.4	5.3	1.1	46	5.1	1.3	57	6	0.4	17	6.4	0	0	6.4	0	0		
14	梔子柏皮湯	6.5	6.4	0.1	4	6.5	0	0	6.5	0	0	6.3	0.2	17	5.4	1.1	92		



表4 菌培養液のpH測定による生薬エキスの腸内細菌生育に及ぼす影響の評価 (MRS培地)

試料名	MRS negative control		A <i>L. acidophilus</i>			B <i>L. reuteri</i>		
	pH [NM]	pH [A]	[NM-A]	pH変化率 (%)	pH [B]	[NM-B]	pH変化率 (%)	
MRS培地	5.5	4.2	1.3	100	4.2	1.3	100	
葛根	5.5	4	1.5	115	4.2	1.3	100	
大棗	5.4	3.9	1.5	115	3.7	1.7	131	
桂皮	5.5	4.5	1	77	4	1.5	115	
芍薬	5.5	4.4	1.1	85	3.9	1.6	123	
甘草	5.5	4.3	1.2	92	4	1.5	115	
生姜	5.5	4.6	0.9	69	4.2	1.3	100	
黄連	5.4	5.4	0	0	5.3	0.1	8	
黄芩	5.5	4.2	1.3	100	4.2	1.3	100	
黄柏	5.5	5.3	0.2	15	4.1	1.4	108	
半夏	5.4	4.1	1.3	100	4.2	1.2	92	
人參	5.4	3.9	1.5	115	3.9	1.5	115	
乾姜	5.5	4.6	0.9	69	4.3	1.2	92	
茯苓	x	x	x	x	x	x	x	
白朮	5.5	3.9	1.6	123	4.1	1.4	108	
大黃	5.5	4.7	0.8	62	5.2	0.3	23	
枳実	5.5	4.2	1.3	100	4.2	1.3	100	
柴胡	5.4	3.9	1.5	115	4	1.4	108	
加工ブシ	5.5	4	1.5	115	4	1.5	115	
厚朴	5.5	4.2	1.3	100	4.1	1.4	108	
猪苓	x	x	x	x	x	x	x	
沢瀉	5.5	4.1	1.4	108	4.2	1.3	100	
山梔子	5.1	4.1	1	77	4	1.1	85	

表5 菌培養液のpH測定による生薬エキス中の腸内細菌生育に及ぼす影響の評価 (GAM培地)

試料名	GAM negative control		C <i>B. adolescentis</i> JCM 1275			D <i>B. catenulatum</i> JCM 1194			E <i>B. longum</i> JCM 1217			F <i>C. perfliogens</i> JCM 1290			G <i>C. difficile</i> JCM 1296		
	pH [NG]		pH [C]	[NG-C]	pH変化率 (%)	pH [D]	[NG-D]	pH変化率 (%)	pH [E]	[NG-E]	pH変化率 (%)	pH [F]	[NG-F]	pH変化率 (%)	pH [G]	[NG-G]	pH変化率 (%)
GAM培地	6.8		4.4	2.4	100	4.5	2.3	100	4.4	2.4	100	5.6	1.2	100	5.6	1.2	100
葛根	6.7		4.4	2.3	96	4.2	2.5	109	4.3	2.4	100	5	1.7	142	6	0.7	58
大糞	6.7		3.9	2.8	117	3.9	2.8	122	3.9	2.8	117	4.4	2.3	192	5.1	1.6	133
桂皮	6.7		6.1	0.6	25	4.6	2.1	91	6.2	0.5	21	6.9	-0.2	-17	6.8	-0.1	-8
芍薬	6.8		4.1	2.7	113	3.9	2.9	126	4.1	2.7	113	4.7	2.1	175	5.7	1.1	92
甘草	6.7		4.4	2.3	96	6.5	0.2	9	5.6	1.1	46	6.7	0	0	6.7	0	0
生姜	6.9		4.2	2.7	113	4.1	2.8	122	4.2	2.7	113	5	1.9	158	5.3	1.6	133
黄連	6.3		6.3	0	0	6.3	0	0	6.3	0	0	6.3	0	0	6.3	0	0
黄芩	6.7		4.5	2.2	92	4.3	2.4	104	4.4	2.3	96	5.5	1.2	100	6.5	0.2	17
黄柏	6.7		6.7	0	0	6.8	-0.1	-4	6.8	-0.1	-4	6.8	-0.1	-8	6.5	0.2	17
半夏	-		4.4	-	-	4.4	-	-	4.3	-	-	5.2	-	-	5.3	-	-
人参	6.6		4.1	2.5	104	4	2.6	113	4.2	2.4	100	4.9	1.7	142	5.5	1.1	92
乾姜	6.6		4.4	2.2	92	4.3	2.3	100	4.3	2.3	96	5.1	1.5	125	5.6	1	83
茯苓	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
白朮	6.5		4	2.5	104	4	2.5	109	4	2.5	104	5	1.5	125	5.2	1.3	108
大黄	6.5		5.8	0.7	29	6.3	0.2	9	6.4	0.1	4	6.5	0	0	6.5	0	0
枳実	6.6		4.3	2.3	96	4.4	2.2	96	4.3	2.3	96	5.2	1.4	117	6.6	0	0
柴胡	6.5		4.3	2.2	92	4.2	2.3	100	4.3	2.2	92	5.1	1.4	117	5.7	0.8	67
加工ブシ	6.8		4.2	2.6	108	3.9	2.9	126	4.1	2.7	113	4.3	2.5	208	6	0.8	67
厚朴	6.7		4.5	2.2	92	6.6	0.1	4	6.7	0	0	6.6	0.1	8	6.7	0	0
猪苓	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
沢瀉	6.5		4.1	2.4	100	4	2.5	109	4	2.5	104	4.8	1.7	142	5.5	1	83
山梔子	6.4		4.2	2.2	92	4.2	2.2	96	5.1	1.3	54	5	1.4	117	5.4	1	83

表 6 生薬エキスの腸内細菌生育に及ぼす影響の濃度依存性 (MRS培地)

試料名	濃度 mg/ml	MRS negative control		A <i>L. acidophilus</i>			B <i>L. reuteri</i>		
		pH [NM]	pH [A]	[NM-A]	pH変化率 (%)	pH [B]	[NM-B]	pH変化率 (%)	
MRS培地		5.5	4.2	1.3	100	4.2	1.3	100	
大黄	10	5.5	4.6	0.9	69	4.9	0.6	46	
	5	5.5	4.3	1.2	92	4.5	1	77	
	2.5	5.5	4.3	1.2	92	4.1	1.4	108	
黄柏	1	5.5	4.3	1.2	92	4.1	1.4	108	
	10	5.5	5.4	0.1	8	4.1	1.4	108	
	5	5.5	5.2	0.3	23	4.1	1.4	108	
	2.5	5.5	4.8	0.7	54	4.1	1.4	108	
黄连	1	5.5	4.6	0.9	69	4.1	1.4	108	
	10	5.4	5.3	0.1	8	5.3	0.1	8	
	5	5.4	5.3	0.1	8	4.1	1.3	100	
	2.5	5.4	5.2	0.2	15	4.1	1.3	100	
	1	5.4	4.9	0.5	38	4.1	1.3	100	

表7 生薬エキスの腸内細菌生育に及ぼす影響の濃度依存性 (GAM培地)

試料名	濃度 mg/ml	GAM negative control			C <i>B. adolescentis</i>			D <i>B. catenulatum</i>			E <i>B. longum</i>			F <i>C. perflingens</i>			G <i>C. difficile</i>		
		pH [NG]	pH [C]	pH変化率 (%)	pH [D]	[NG-D]	pH変化率 (%)	pH [E]	[NG-E]	pH変化率 (%)	pH [F]	[NG-F]	pH変化率 (%)	pH [G]	[NG-G]	pH変化率 (%)			
GAM培地		6.8	4.4	100	4.5	2.3	100	4.4	2.4	100	5.6	1.2	100	5.6	1.2	100			
	20	6.7	6.1	25	6.4	0.3	13	6.2	0.5	20	6.6	0.1	8	6.6	0.1	8			
	10	6.7	4.3	100	4.7	2	87	4.3	2.4	96	5	1.7	142	5.5	1.2	100			
桂皮	5	6.7	4.3	100	4.4	2.3	100	4.3	2.4	96	5.4	1.3	108	5.4	1.3	108			
	10	6.7	4.3	100	6.6	0.1	4	5	1.7	68	6.7	0	0	6.7	0	0			
	5	6.7	4.4	2.3	6	0.7	30	4.4	2.3	92	6.7	0	0	5.8	0.9	75			
甘草	2.5	6.7	4.3	2.4	4.4	2.3	100	4.4	2.3	92	5.3	1.4	117	5.7	1	83			
	20	6.5	6.5	0	6.5	0	0	6.5	0	0	6.8	-0.3	-25	6.5	0	0			
	10	6.5	6.4	0.1	6.6	-0.1	-4	6.6	-0.1	-4	5.1	1.4	117	6.7	-0.2	-17			
大黃	5	6.5	5.7	0.8	6.1	0.4	17	6.5	0	0	5.3	1.2	100	6.7	-0.2	-17			
	10	6.5	5.1	1.4	4.8	1.7	74	6.4	0.1	4	6.6	-0.1	-8	6.8	-0.3	-25			
	5	6.5	5	63	4.8	1.7	74	5.8	0.7	28	5.2	1.3	108	6.8	-0.3	-25			
大黃 (2)	2.5	6.5	4.9	1.6	4.7	1.8	78	4.6	1.9	76	5.5	1	83	6.9	-0.4	-33			
	1	6.5	4.6	1.9	4.6	1.9	83	4.6	1.9	76	5.6	0.9	75	5.5	1	83			
	20	6.7	6.7	0	6.7	0	0	6.8	-0.1	-4	6.6	0.1	8	6.7	0	0			
黄柏	10	6.7	6.9	-0.2	6.9	-0.2	-9	6.9	-0.2	-8	6.8	-0.1	-8	5.7	1	83			
	5	6.7	6.7	0	6.9	-0.2	-9	6.9	-0.2	-8	6.9	-0.2	-17	5.6	1.1	92			
	2.5	6.7	6.9	-0.2	6.9	-0.2	-9	6.9	-0.2	-8	6.9	-0.2	-17	5.8	0.9	75			
黄柏 (2)	2.5	6.7	6.8	-0.1	6.9	-0.2	-9	6.9	-0.2	-8	6.8	-0.1	-8	5.7	1	83			
	1	6.7	6.8	-0.1	6.4	0.3	13	6.8	-0.1	-4	6.8	-0.1	-8	5.7	1	83			
	0.5	6.7	6.8	-0.1	4.6	2.1	91	6.8	-0.1	-4	5.4	1.3	108	5.7	1	83			
厚朴	0.1	6.7	4.6	2.1	4.6	2.1	91	4.6	2.1	84	5.6	1.1	92	5.7	1	83			
	20	6.7	4.6	2.1	6.8	-0.1	-4	6.6	0.1	4	6.7	0	0	6.7	0	0			
	10	6.7	4.4	2.3	6.8	-0.1	-4	4.5	2.2	88	5.4	1.3	108	5.6	1.1	92			
黄連	5	6.7	4.6	2.1	4.7	2	87	4.4	2.3	92	5.5	1.2	100	5.7	1	83			
	2.5	6.7	4.6	2.1	4.5	2.2	96	4.6	2.1	84	5.7	1	83	5.7	1	83			
	10	6.3	6.6	-0.3	6.4	-0.1	-4	6.6	-0.3	-12	6.4	-0.1	-8	6.3	0	0			
黄連 (2)	5	6.3	6.7	-0.4	6.6	-0.3	-13	6.8	-0.5	-20	6.5	-0.2	-17	6.8	-0.5	-42			
	2.5	6.3	6.7	-0.4	6.6	-0.3	-13	6.8	-0.5	-20	6.5	-0.2	-17	5.8	0.5	42			
	1	6.3	6.8	-0.5	6.7	-0.4	-17	6.8	-0.5	-20	6.6	-0.3	-25	5.8	0.5	42			
黄連 (2)	1	6.3	6.7	-0.4	6.7	-0.4	-17	6.8	-0.5	-20	6.7	-0.4	-33	5.7	0.6	50			
	0.5	6.3	6.8	-0.5	6.8	-0.5	-22	6.8	-0.5	-20	6.8	-0.5	-42	5.7	0.6	50			
	0.1	6.3	4.7	1.6	4.5	1.8	78	6.7	-0.4	-16	5.7	0.6	50	5.7	0.6	50			

表8 漢方処方あるいは生薬エキスで処理した腸内細菌における菌培養液pHの変化と短鎖脂肪酸生産量の相関

試料名	C <i>B. adolescentis</i>		D <i>B. catenulatum</i>		E <i>B. longum</i>		F <i>C. perfliogens</i>			G <i>C. difficile</i>		
	pH変化率 (%)	乳酸生産量 相対値	pH変化率 (%)	乳酸生産量 相対値	pH変化率 (%)	乳酸生産量 相対値	pH変化率 (%)	乳酸生産量 相対値	酪酸生産量 相対値	pH変化率 (%)	乳酸生産量 相対値	酪酸生産量 相対値
GAM培地	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
大棗	117	191	122	160	117	231	192	616	212	133	64	66
芍薬	113	142	126	198	113	147	175	224	457	92	64	97
人參	104	190	113	188	100	214	142	289	371	92	180	81
加工ブシ	108	129	126	222	113	155	208	1232	232	67	-	87
山梔子	92	217	96	181	54	295	117	728	271	83	83	63
桂枝加芍薬湯	113	209	113	163	113	277	167	497	267	125	981	66
大柴胡湯	96	154	91	111	100	260	142	517	279	0	-	-
甘草瀉心湯	100	181	96	95	100	240	158	544	296	100	109	-

分担研究課題 漢方処方同等性並びに品質確保等に関する研究

分担研究者 袴塚 高志 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

医療用漢方製剤後発品の同等性評価に関する研究

漢方製剤後発品の承認にあたっては、さまざまな観点から先発品との同等性を評価しなければならない。本研究では、処方及び構成生薬のエキス収量を比較検討することが同等性評価の指標となり得るかどうか、例として葛根湯エキス及び半夏厚朴湯エキスを取り上げて検討した。5社の生薬メーカーより生薬を購入し、それぞれのメーカーの生薬を用いて処方の水煎出液及び個々の構成生薬の水煎出液を調製し、その凍結乾燥エキスの収量を測定したところ、構成生薬配合比に従って個々の生薬エキス収量から算出される処方全体のエキス収量の理論値と、処方のエキス収量の実測値は概ね近い値を示した。一方、個々の生薬のエキス収量をメーカー間で比較してみると、メーカー間のばらつきが大きい生薬も散見され、生姜及び蘇葉において顕著であった。

研究協力者

竹田忠紘 共立薬科大学 教授

羽田紀康 共立薬科大学 准教授

遠藤明仁 国立医薬品食品衛生研究所生薬部

A. 研究目的

現在、我が国の薬価基準には148処方の医療用漢方エキス製剤が収載されている。漢方エキス製剤の品質基準と言うべき薬審二第120号通知「医療用漢方エキス製剤の取扱いについて」は、従来の医療用漢方製剤の抱える品質上の問題点を解決するために昭和60年に発出されたものであり、古典成書の記載に従って調製した標準湯剤との同等性を確保することが基本骨格となり、漢方エキス製剤の基本的な考え方と承認内容等について記載している。しかしながら、薬審二第120号通知における基準は、昭和57～59年に厚生科学研究として行われた「漢方エキス製剤の規格基準作成に関する研究」に基づき設定されたものであり、言わば20年前の科学水準を反映した基準で

ある。また、薬審二第120号通知の後1年余りの間に新規申請及び従来製剤の代替申請が完了し、現行148処方の体制に移行したが、これ以降現在まで新規な医療用後発品の承認は無い。この要因の一つは、先発品との同等性確保において必要となる条件及び手順が明示されていないことであると考えられる。そこで、本研究では、医療用漢方製剤後発品を承認する際の同等性の基準を科学的に示すことを目的とし、現代の科学水準を反映させながら、どのように有効性や安全性を担保し、どのように品質を保証するか検討を行う。本年度は、日本薬局方第15改正及びその第一追補に収載された葛根湯エキス及び半夏厚朴湯エキスを検討処方として選択し、処方及び構成生薬のエキス収量を比較することが同等性評価の指標となり得るかどうか検討を行った。

B. 研究方法

生薬

葛根湯及び半夏厚朴湯の構成生薬である葛根、

麻黄、大棗、桂皮、芍薬、甘草、生姜、厚朴、蘇葉、半夏及び茯苓は、国内主要生薬メーカー5社（A社、B社、C社、D社及びE社と仮称）より日本薬局方規格品で漢方処方調剤用のものを購入して用いた。煎出用の水は、Milli-Q Synthesis（Milipore）により調製した超純水を用いた。

## 機器

生薬を煎じる際には、ウチダ和漢薬製のらくらく煎を用い、煎出液の凍結乾燥はFREEZE DRYER FDU-830（東京理化工器）を用いて行った。煎出液の遠心分離はKUBOTA高速冷却遠心機6500で行った。

## 生薬煎出エキスの調製

生薬を20gをポット（らくらく煎）に取り、400mLの水で半量になるまで煎じた。得られた煎出液を1000xgで10分間遠心し、上澄液をあらかじめ重量を計ったナス型フラスコに入れ、-20℃で予備凍結させた後、凍結乾燥させてエキスを調製した。エキス収量は、凍結乾燥後のフラスコの重量からフラスコ自体の重量を差し引くことで算出した。葛根湯構成生薬と半夏厚朴湯構成生薬のエキス調製はそれぞれ別の研究機関で行い、重複する生姜に関しては双方の研究機関でエキス調製を行った。また、半夏厚朴湯構成生薬（厚朴、生姜、蘇葉、半夏及び茯苓）のエキスは3回調製したが、これは3人の個人が別の機会に行った。

## 処方煎出エキスの調製

葛根湯構成生薬の一日量（葛根8g、麻黄4g、大棗4g、桂皮3g、芍薬3g、甘草2g及び生姜1g）をポット（らくらく煎）に取り、500mLの水で半量になるまで煎じた。また、半夏厚朴湯構成生薬の一日量（厚朴3g、生姜1g、蘇葉2g、半夏6g及び茯苓5g）をポット（らくらく煎）に取り、340mLの水で半量になるまで煎じた。得られた煎出液は生薬煎出エキス調製と同様の操

作に供して処方煎出エキスを調製した。半夏厚朴湯エキスは3回調製したが、これは3人の個人が別の機会に行った。

## 倫理面への配慮

本研究はいずれも人試料、動物等の倫理面を考慮すべき研究材料は使用しない。

## C. 研究結果

### 葛根湯構成生薬のエキス収量

葛根湯構成生薬の煎出液より凍結乾燥エキスを調製し、それぞれの生薬20gに相当するエキス収量測定値と生薬1gあたりに換算した単位収量を表1に示した。また、それぞれの平均値を100とした場合の相対値も示した。それぞれの変動係数(Cv)を算出したところ、概ね10%前後に収まっていたが、大棗及び生姜では18.6及び35.3%であった。大棗はE社製が相対値で135.7を示しており、この1品目によるばらつきの影響が出た。生姜については相対値140前後（B社及びD社）と60前後（C社及びE社）に分かれ、メーカー間のばらつきが大きな生薬であることが明らかとなった。

### 葛根湯処方エキス収量及び構成生薬エキス収量の総和との比較

表2の下段に葛根湯処方エキス収量の測定値を示した。ここでは変動係数は6.1%であり、大棗と生姜が示したメーカー間のばらつきは、7つの構成生薬との配合の中で目立たなくなっていた。変動係数が特に大きかった生姜は、配合量が1/25と小さいため、処方全体としては影響が小さく、エキス収量のばらつきとしては反映されなかった。ここで、表1に示した各構成生薬の単位エキス収量をもとにして、葛根湯の一日量中の分量に相当するエキス収量理論値を算出し、その総和をもって葛根湯処方エキス収量理論値とした。この理論値と実測値（測定値）は良い相関を示し、理論値と測定値の比は概ね1前後であり、そのメ

メーカー間の変動係数も 5.9%を示し、ばらつきが極めて小さかった。

#### 半夏厚朴湯構成生薬のエキス収量

半夏厚朴湯構成生薬の煎出液より凍結乾燥エキスを調製し、それぞれの生薬 20 g に相当するエキス収量測定値と生薬 1 g あたりに換算した単位収量を表 3 に示した。半夏厚朴湯の場合は測定を 3 回行ったため、その平均値と 3 回の測定に対する変動係数、及び生薬 1 g あたりに換算した単位収量を示した。3 回の測定に関して、厚朴、生姜及び半夏に関する変動係数はいくつかの例外を除いて 10%前後に収まっていたが、蘇葉ではやや大きく、茯苓では最大 43%とばらつきが大きかった。また、3 回の測定の平均値に対するメーカー間の変動係数を見ると、厚朴では 10%前後であったが、他は軒並み 20%を超えており、メーカー間のばらつきが大きい生薬であることが分かった。生姜においてメーカー間のばらつきが大きいことは葛根湯のパートでも観察されたが、B 社及び D 社の収量が多く、C 社及び E 社の収量が少ないことは一致していた。ただし、メーカー間のばらつきについて、特定のメーカーの製品の収量が常に少ない、あるいは常に多いという状況ではなかった。

#### 半夏厚朴湯処方エキス収量及び構成生薬エキス収量の総和との比較

表 2 の下段に半夏厚朴湯処方のエキス収量の 3 回の測定値とその平均値を示した。ここではメーカー間の変動係数は 13.9%であり、厚朴以外の生薬で見られたメーカー間のばらつきは、5 つの構成生薬の配合の中で吸収されたかたちとなった。葛根湯の場合と同様に、表 3 に示した各構成生薬の単位エキス収量をもとにして、半夏厚朴湯の一日量中の分量に相当するエキス収量理論値を算出し、その総和をもって半夏厚朴湯処方のエキス収量理論値とした。この理論値と実測値（測定値）の平均値は良い相関を示し、理論値と測定値の比

は概ね 1 前後であり、メーカー間の変動係数も 4.6%を示し、ばらつきが極めて小さかった。

#### D. 考察

漢方製剤は天然物の生薬を原料とするため、その品質確保を考える場合に合成医薬品では該当しない以下の問題点をはらんでいる。すなわち、1) 採集と栽培の違い、天候、産地、収穫時期等により生薬の成分含量がばらつきやすく、2) 乾燥や貯蔵の方法が適切でないとカビや虫の被害を受けることがあり、3) 不安定な成分や揮発性の成分を含有する場合もあり、4) 指定部位以外の部位やその他の異物等が混入しやすく、また、5) その有効成分が明らかになっていない生薬も多く、それぞれの成分に対する定量法が整っていない場合が多い。このうち本研究に深く関係する項目は 1) 及び 3) と思われる。本研究において 5 つの生薬メーカーについてエキス収量を比較したが、特定の生薬に関してはメーカー間のばらつきが無視できないほど大きいことが分かった。特に、生姜、半夏、蘇葉及び茯苓については変動係数 20~30%前後の大きなばらつきが観察された。茯苓については、エキス自体の重量が少なく、3 回の測定に対する変動係数も極めて大きい値がでる場合があるため、それがメーカー間のばらつきにも影響を与えていると思われた。生姜及び蘇葉は精油含量が高いため、煎出及び凍結乾燥の双方で影響が出た可能性も考えられる。ただし、同様に精油含量の高い桂皮においてはメーカー間のばらつきが小さいことを考慮すると、精油含量の問題はそれほど大きくメーカー間のばらつきに寄与していないかもしれない。エキスの重量も充分であり、精油含量が高いわけではない半夏においてもメーカー間のばらつきが大きいことを考えると、前述の 1) の問題、すなわち各メーカーの生薬における採集と栽培の違い、天候、産地、収穫時期等の違いにより、成分含量（二次代謝産物）のばらつきだけでなく、エキス収量（一次代謝産物）にもばらつきが生じていると解釈した方が妥当と思



われる。

ところで、漢方処方エキス収量の実測値が、個々の構成生薬のエキス収量から想定される理論値と極めて良い一致を示したことは特筆に価する。これは、エキス収量が明確に保証された生薬を原料として用いる限り、得られる漢方処方エキスエキス収量は予測可能であることを意味している。現在、医療用漢方製剤の承認申請には標準湯剤との比較試験が必要であり、ここでは原料生薬、標準湯剤及びエキスまたは最終製品の3つの試料に対して指標成分の定量比較が求められている。これに加えて、1日量分の生薬から採れるエキス量を記載することも求められているが、原料となる生薬のエキス収量を明らかにすることは求められていない。つまり、現在の承認制度では、指標成分の移行率をもって標準湯剤との同等性を保証しており、エキス収量は一定品質の製品であることのみを目安にしかならない。一方、本研究の結果、指標成分の比較に加えて原料生薬、標準湯剤及び漢方処方エキスエキス収量を比較することで、一部の二次代謝産物だけでなく、一次代謝物も含めた処方エキス全体について同等性をある程度評価することが可能となるものと考えられた。

現在のところ、葛根湯と半夏厚朴湯の2つの処方に関するデータのみであるため、今後さらに例数を増やして、エキス収量の同等性評価指標としての妥当性を検討する必要がある。また、後発医薬品の承認に際しては、何を先発品と見なすかという問題も残っている。これらが一つ一つ解決され、合成医薬品あるいは生物由来製品と同様に、漢方製剤の分野においても医療費削減政策に資する後発品市場の開発が進むことを望むものである。

#### E. 結論

- ・ 葛根湯及び半夏厚朴湯の構成生薬について5社の生薬メーカー由来の漢方処方調剤用製品を入手し、そのエキス収量を測定したとこ

ろ、葛根、麻黄、桂皮、芍薬、甘草及び厚朴については変動係数10%前後以下に収まっていたが、大棗、生姜、蘇葉、半夏及び茯苓はメーカー間のばらつきが大きかった。

- ・ 半夏厚朴湯については同じ生薬の測定を3回繰り返したが、蘇葉及び茯苓において大きな測定間のばらつきが観察された。茯苓のばらつきはエキス収量の絶対的な少なさが原因と推測された。
- ・ 葛根湯処方および半夏厚朴湯処方についてエキス収量を測定したところ、メーカー間のばらつきは小さく、構成生薬のエキス収量で観察されたメーカー間の大きなばらつきは軽減されていた。
- ・ 葛根湯処方および半夏厚朴湯処方のエキス収量の実測値について、構成生薬それぞれのエキス収量の単純な加算として算出した理論値と比較したところ、いずれのメーカーの製品でも実測値と理論値は良い一致を見せた。
- ・ まだ検討例数は少ないが、個々の生薬のエキス収量から、配合される処方のエキス収量を予測可能であることが示された。

#### F. 研究発表

1. 学会発表  
該当無し
2. 誌上発表  
該当無し

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

表1 葛根湯構成生薬のエキス収量

		A社	B社	C社	D社	E社	平均	変動係数 [%]
葛根	<sup>a</sup> 測定値 [g]	3.38	4.40	3.72	3.97	4.59	4.01	11.0
	<sup>b</sup> 単位収量 [g]	0.169	0.220	0.186	0.199	0.230	0.201	
	相対値	84.2	109.7	92.7	99.0	114.4	100.0	
麻黄	<sup>a</sup> 測定値 [g]	2.65	2.25	2.87	2.76	3.03	2.71	9.7
	<sup>b</sup> 単位収量 [g]	0.133	0.113	0.144	0.138	0.152	0.136	
	相対値	97.7	83.0	105.8	101.8	111.7	100.0	
大棗	<sup>a</sup> 測定値 [g]	7.34	7.23	7.30	8.42	11.28	8.31	18.6
	<sup>b</sup> 単位収量 [g]	0.367	0.362	0.365	0.421	0.564	0.416	
	相対値	88.3	87.0	87.8	101.3	135.7	100.0	
桂皮	<sup>a</sup> 測定値 [g]	1.44	1.24	1.34	1.08	1.28	1.28	9.3
	<sup>b</sup> 単位収量 [g]	0.072	0.062	0.067	0.054	0.064	0.064	
	相対値	112.9	97.2	105.0	84.6	100.3	100.0	
芍薬	<sup>a</sup> 測定値 [g]	6.00	5.94	6.40	6.27	6.76	6.27	4.7
	<sup>b</sup> 単位収量 [g]	0.300	0.297	0.320	0.314	0.338	0.314	
	相対値	95.6	94.7	102.0	99.9	107.7	100.0	
甘草	<sup>a</sup> 測定値 [g]	4.23	4.82	4.40	4.80	5.34	4.72	8.2
	<sup>b</sup> 単位収量 [g]	0.212	0.241	0.220	0.240	0.267	0.236	
	相対値	89.7	102.2	93.3	101.7	113.2	100.0	
生姜	<sup>a</sup> 測定値 [g]	1.53	2.22	0.97	2.21	0.97	1.58	35.3
	<sup>b</sup> 単位収量 [g]	0.077	0.111	0.049	0.111	0.049	0.079	
	相対値	96.8	140.5	61.4	139.9	61.4	100.0	

a 生薬20 gを400 mLの水で半量まで煎じ、凍結乾燥させたエキスの重量

b 生薬1 gあたりに換算したエキス収量

表2 葛根湯処方エキス収量と構成生薬エキス収量の総和の比較

	葛根湯 一日量中 の分量 [g]	A社	B社	C社	D社	E社	平均	変動係数 [%]
葛根	8	1.352	1.760	1.488	1.588	1.836	1.605	11.0
麻黄	4	0.530	0.450	0.574	0.552	0.606	0.542	9.7
大棗	4	1.468	1.446	1.460	1.684	2.256	1.663	18.6
桂皮	3	0.216	0.186	0.201	0.162	0.192	0.191	9.3
芍薬	3	0.900	0.891	0.960	0.941	1.014	0.941	4.7
甘草	2	0.423	0.482	0.440	0.480	0.534	0.472	8.2
生姜	1	0.077	0.111	0.049	0.111	0.049	0.079	35.3
葛根湯処方		4.966	5.326	5.172	5.517	6.487	5.493	9.6
		5.25	6.08	5.52	5.66	6.18	5.738	6.1
	理論値/測定値	0.95	0.88	0.94	0.97	1.05	0.96	5.9

a それぞれの生薬の単位エキス収量(表1)に、葛根湯一日量中の分量を乗じて算出した、一日量中のエキス量の理論値

b それぞれの構成生薬の一日量中のエキス量理論値の総和

c 葛根湯一日量(葛根8 g、麻黄4 g、大棗4 g、桂皮3 g、芍薬3 g、甘草2 g、生姜1 g)を400 mLの水で半量まで煎じ、凍結乾燥させたエキス重量

表3 半夏厚朴湯構成生薬のエキス収量

		A社	B社	C社	D社	E社	5社の平均	<sup>f</sup> 変動係数 [%]
厚朴	<sup>a</sup> 測定値(1回目) [g]	2.14	2.14	1.80	1.88	2.31	2.05	9.1
	<sup>a</sup> 測定値(2回目) [g]	2.88	2.12	1.81	1.86	2.15	2.16	17.7
	<sup>a</sup> 測定値(3回目) [g]	2.30	2.05	1.90	1.94	2.34	2.11	8.6
	<sup>b</sup> 平均値 [g]	2.44	2.10	1.84	1.89	2.27	2.11	10.7
	<sup>c</sup> 変動係数 [%]	13.03	1.83	2.45	1.80	3.68	2.13	-
	<sup>d</sup> 単位収量 [g]	0.122	0.105	0.092	0.095	0.113	0.105	-
	<sup>e</sup> 相対値	115.7	99.8	87.1	89.8	107.5	100.0	-
生姜	<sup>a</sup> 測定値(1回目) [g]	2.21	2.12	0.88	2.08	1.49	1.76	28.8
	<sup>a</sup> 測定値(2回目) [g]	2.04	2.25	0.99	2.64	1.61	1.91	29.7
	<sup>a</sup> 測定値(3回目) [g]	1.97	1.63	1.01	2.00	1.44	1.61	22.8
	<sup>b</sup> 平均値 [g]	2.07	2.00	0.96	2.24	1.51	1.76	26.5
	<sup>c</sup> 変動係数 [%]	4.86	13.35	5.95	12.71	4.71	6.88	-
	<sup>d</sup> 単位収量 [g]	0.104	0.100	0.048	0.112	0.076	0.088	-
	<sup>e</sup> 相対値	118.0	113.8	54.6	127.5	86.1	100.0	-
蘇葉	<sup>a</sup> 測定値(1回目) [g]	2.08	3.15	2.35	2.02	4.23	2.77	30.2
	<sup>a</sup> 測定値(2回目) [g]	3.18	3.38	3.29	2.76	5.47	3.62	26.3
	<sup>a</sup> 測定値(3回目) [g]	3.51	3.41	3.49	2.74	4.13	3.46	12.8
	<sup>b</sup> 平均値 [g]	2.92	3.31	3.04	2.51	4.61	3.28	21.8
	<sup>c</sup> 変動係数 [%]	20.91	3.51	16.33	13.73	13.22	11.25	-
	<sup>d</sup> 単位収量 [g]	0.146	0.166	0.152	0.125	0.231	0.164	-
	<sup>e</sup> 相対値	89.1	101.0	92.8	76.4	140.6	100.0	-
半夏	<sup>a</sup> 測定値(1回目) [g]	1.98	2.56	2.01	1.38	1.36	1.86	24.2
	<sup>a</sup> 測定値(2回目) [g]	1.91	2.87	1.75	1.18	1.64	1.87	29.7
	<sup>a</sup> 測定値(3回目) [g]	1.86	2.60	1.89	1.28	1.15	1.76	29.4
	<sup>b</sup> 平均値 [g]	1.92	2.68	1.88	1.28	1.38	1.83	27.1
	<sup>c</sup> 変動係数 [%]	2.57	5.14	5.64	6.38	14.51	2.80	-
	<sup>d</sup> 単位収量 [g]	0.096	0.134	0.094	0.064	0.069	0.091	-
	<sup>e</sup> 相対値	104.9	146.4	103.0	70.0	75.7	100.0	-
茯苓	<sup>a</sup> 測定値(1回目) [g]	0.32	0.30	0.19	0.19	0.28	0.26	21.6
	<sup>a</sup> 測定値(2回目) [g]	0.23	0.25	0.07	0.18	0.12	0.17	39.5
	<sup>a</sup> 測定値(3回目) [g]	0.25	0.28	0.13	0.16	0.12	0.19	34.5
	<sup>b</sup> 平均値 [g]	0.27	0.28	0.13	0.18	0.17	0.20	28.0
	<sup>c</sup> 変動係数 [%]	14.47	7.43	37.68	7.06	43.51	18.10	-
	<sup>d</sup> 単位収量 [g]	0.013	0.014	0.007	0.009	0.009	0.010	-
	<sup>e</sup> 相対値	130.3	135.2	63.5	86.3	84.7	100.0	-

a 生薬20 gを400 mLの水で半量まで煎じ、凍結乾燥させたエキスの重量(3回独立に煎出して測定)

b 3回の測定値の平均

c 3回の測定値の変動係数

d エキス収量の平均値を生薬1 gあたりに換算したエキス収量

e 5社の平均を100とした場合の相対値

f 5社の測定値あるいは平均値の変動係数