

6-gingerol and 6-shogaol contents were markedly decreased and increased, respectively, after 60 minutes. As for the H100 ginger, its levels of 6-gingerol and 6-shogaol were hardly changed after heating for 180 minutes, although its 6-gingerol content was lower at 30 minutes and its 6-shogaol content was higher at 15 minutes than those of the other samples.

Then, we determined the differences between Soh ginger and St ginger, both of which are named *kankyo* in the Japanese Pharmacopoeia.<sup>1)</sup> The 6-gingerol and 6-shogaol contents of Soh ginger were lower than those of the St ginger processed for the same period of time. In addition, the 6-gingerol and 6-shogaol contents of St-AC ginger were equivalent to those of the St-P ginger processed for about 150 minutes.

### 3. The relationships between color values and pungent compound levels

We found that the color values of H180, Soh, and St (St-P and St-AC) ginger were correlated with their pungent compound levels. First, the  $a^*$  value was positively correlated with [S/G] ( $r = 0.79$ ) in St ginger, remained constant regardless of the [S/G] in Soh ginger, and correlated on a logarithmic curve with [S/G] ( $r = 0.99$ ) in H180 ginger (Fig. 4-B). In addition, the  $L^*$  and  $b^*$  value was negatively correlated on a logarithmic curve with [S/G] ( $r = -0.99$  and  $-0.97$ , respectively), while those values of Soh and St (St-P or St-AC) was not correlated with [S/G] (Fig. 4-A, C).

We also found that the  $b^*$  values of Soh, St, and H180 ginger were negatively correlated with their 6-shogaol levels ( $r = -0.61$ ,  $-0.85$ , and  $-0.96$ , respectively) (Fig. 5-C). In addition, the  $L^*$  values of St and H180 ginger were negatively correlated with their 6-shogaol levels ( $r = -0.58$  and  $-0.97$ , respectively) (Fig. 5-A). While, the relationship between  $a^*$  value and 6-shogaol content of processed ginger was similar to that between  $a^*$  value and [S/G] (Fig. 5-B).

## Discussion

We elucidated the relationships between the changes in the color values and pungent compound contents of ginger samples subjected to heating, soaking in hot water, or steaming, as follows:

1. The color values ( $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$ ) of ginger displayed changes that were correlated with each other after heating at 180°C (H180), soaking in hot water (Soh), or steaming (St-P and St-AC). After heating at 100°C (H100), the  $L^*$  and  $a^*$  values of the samples remained almost unchanged. Therefore, we found that the color of ginger was changed in a similar way by various heating processes, except for heating at 100°C.

2. Soh ginger and St ginger are referred to by the same name, *kankyo*, in the Japanese Pharmacopoeia.<sup>1)</sup> However, in this study, we found that the color values and pungent compound levels of these processed ginger samples differ from each other. The  $a^*$  value of Soh ginger remained approximately constant after 30 to 180 minutes heating while that of St-P ginger increased. In addition, the decrease in the 6-gingerol content of Soh ginger was greater than that of St-P ginger, while the increase in the 6-shogaol content of St-P ginger was greater than that of Soh ginger. During the process used to produce the Soh ginger, the main compounds; i.e., 6-gingerol and 6-shogaol, might have dissolved in the hot water, and thus, been eluted from the samples, which would have lowered their concentrations. Thus, we concluded that the process used to produce St ginger is the best way to produce ginger with a high 6-shogaol content and a small decrease in 6-gingerol, and such ginger can be identified according to its  $a^*$  value.

3. Mikage *et al.*<sup>3)</sup> previously reported that the  $a^*$  value of steamed ginseng was higher than that of unprocessed ginseng. In this study, we obtained the same result for ginger, and Soh ginger can be distinguished from St ginger according to its  $a^*$  value, as indicated above. In addition, the  $a^*$  value of the H180 ginger was markedly increased compared with those of the Soh and St ginger after 60 minutes. Therefore, we found that the  $a^*$  value is a useful factor for evaluating the heating method used to produce a ginger sample. As for ginseng, a previous study found that the  $b^*$  value of steamed ginseng was higher than that of unprocessed ginseng;<sup>3)</sup> however, we obtained the opposite result for ginger.

4. Although the change in the color of a ginger sample is not directly related to changes in its pungent compound contents, they are both induced by the heating process. In this study, we elucidated that the color and pungent compound contents of ginger are related to each other and found that the [S/G] value of ginger that

has been steamed or strongly heated can be estimated by analyzing its  $a^*$  value. Furthermore,  $L^*$  and  $b^*$  value of strongly heated ginger were also important factor to evaluate its [S/G] ratio.

In addition, we found that the  $b^*$  value of processed ginger was negatively correlated with its 6-shogaol content. Thus, the 6-shogaol content of processed ginger can be estimated by analyzing its  $b^*$  value, and the 6-gingerol and 6-shogaol contents of processed ginger can be obtained from the above two parameters ( $a^*$  and  $b^*$ ). In addition, we found that  $L^*$  value also can indicate 6-shogaol content of the ginger subjected to steaming or strongly heating.

5. As for H100, its 6-gingerol and 6-shogaol contents hardly changed except for in the samples heated for 15 or 30 minutes. The 6-gingerol content of the ginger samples was lower heated for 30 minutes and its 6-shogaol content was higher heated for 15 minutes than those of the other samples. Although it was reported that 6-gingerol is converted to 6-shogaol during heating,<sup>4,5)</sup> our results do not seem to agree with this finding. Yoshikawa *et al.*<sup>14)</sup> reported that the levels of 6-gingerol and 6-shogaol do not only depend on the conversion of gingerol to shogaol, but are also influenced by other chemical reactions. Therefore, we consider that the levels of 6-gingerol and 6-shogaol will not be changed when fresh ginger is heated at 100°C for 3 hours in normal conditions, but other reactions might occur, which requires further examination.

6. As for H180, the 6-gingerol and 6-shogaol contents of the ginger samples processed for 60 minutes, which were rich in water, were approximately equal to those of the unheated ginger, while the levels of these compounds changed markedly after 60 minutes. However, the color value of the H180 ginger began to change from the beginning of the heating process. Therefore, we consider that the large amount of water contained in fresh ginger might inhibit the dehydration reaction of 6-gingerol, although carbonizing occurs from the beginning of the heating process at 180°C.

7. We examined samples of Japanese ginger whereas commercial ginger products are mainly derived from Chinese ginger. However, the changes in the color values of Chinese ginger induced by the abovementioned processing techniques will be similar to those induced in Japanese ginger; therefore, we suggest that the color

value is a suitable index for estimating the quality of processed ginger. While, there are two types of *kanryo* products sold in Japanese market, i.e., the peel is stripped off or not, thus that may affect the color value and we need further examination.

## References

- 1) Nihon Yakkyokuho Kaisetsusho Henshu Iinkai ed.: 'Dai 16 Kaisei Nihon Yakkyokuho Kaisetsusho'. Hirokawa Publishing Co., Tokyo, D-156-158, D-413-417, 2011.
- 2) Chinese Pharmacopoeia Commission: 'Pharmacopoeia of the People's Republic of China' Vol.1, Chemical Industry Press, Beijing, 13-15, 93, 2010.
- 3) Mikage, M., Takeda, A., Tsuda, Y.: Evaluation of the crude drugs by means of colorimeter. I. -Studies on the measuring condition and evaluation of powdered Ginseng and its allies. *Shoyakugaku Zasshi*, **46** (1), 1- 8, 1992.
- 4) Kano, Y., Saito, K., Sakurai, T., Kanemaki, S., Tanabe, M., Yasuda, M.: On the evaluation of the preparation of Chinese medicinal prescriptions (1) -6-gingerol in "Zingiberis Rhizoma". *Shoyakugaku Zasshi*, **40** (3), 333-339, 1986.
- 5) Cheng, X.L., Liu, Q., Peng, Y.B., Qi, L.W., Li, P.: Steamed ginger (*Zingiber officinale*): Changed chemical profile and increased anticancer potential. *Food Chem.*, **129**, 1785-1792, 2011.
- 6) Suekawa, M., Ishige, A., Yuasa, K.: Pharmacological studies on ginger. I. Pharmacological actions of pungent constituents, (6)-gingerol and (6)-shogaol. *J. Pharm. Dyn.*, **7**, 836-848, 1984.
- 7) Dugasani, S., Pichika, M.R., Nadarajah, V.D., Balijepalli, M.K., Tandra, S., Korlakunta, J.N.: Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of 6-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. *J. Ethnopharmacol.*, **127** (2, 3), 515-520, 2010.
- 8) Yamahara, J., Matsuda, H., Yamaguchi, S., Shimoda, H., Murakami, N., Yoshikawa, M.: Pharmacological study on ginger processing. I. Antiallergic activity and cardio-tonic action of gingerols and shogaols. *Nat. Med.*, **49** (1), 76-83, 1995.
- 9) Mahady, G.B., Pendland, S.L., Yun, G.S., Lu, Z.Z., Stoia, A.: Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and the gingerols inhibit the growth of Cag A+ strains of

- ..... *Helicobacter pylori*. *Anticancer Res.*, **23** (5A), 3699-3702, 2003.
- 10) Shim, S., Kim, S., Choi, D.S., Kwon, Y. B., Kwon, J.: Anti-inflammatory effects of 6-shogaol: Potential roles of HDAC inhibition and HSP70 induction. *Food Chem. Toxicol.*, **49** (11), 2734-2740, 2011.
- 11) Govindarajan, V.S., Shanthi, N., Rajalakshmi, B., Rajalakshmi, D.: Evaluation of spices and oleoresins. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **170**, 200-203, 1980.
- 12) Smith, R.M.: Analysis of the pungent principles of ginger and grains of paradise by high-performance liquid chromatography using electrochemical detection. *Chromatographia*, **16** (1), 155-157, 1982.
- 13) Kano, Y., Saito, K., Tanabe, M., Yasuda, M.: On the evaluation of the preparation of Chinese medicinal prescriptions (2) [6]-shogaol in steam dried "Ginger". *Shoyakugaku Zasshi*, **41** (4), 277-281, 1987.
- 14) Yoshikawa, M., Hatakeyama, S., Chatani, N., Nishino, Y., Yamahara, J.: Qualitative and quantitative analysis of bioactive principals in Zingiberis Rhizoma by means of high performance liquid chromatography and gas liquid chromatography. On the evaluation of Zingiberis Rhizoma and chemical change of constituents during Zingiberis Rhizoma processing. *Yakugaku zassi*, **113** (4), 307-315, 1993.

# 生姜・乾姜の修治法に関する史的考察

堂井 美里<sup>ab</sup> 御影 雅幸<sup>a</sup>

a 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科資源生薬学研究室, 石川, 〒920-1192 金沢市角間町

b 株式会社ウチダ和漢薬, 東京, 〒116-8571 荒川区東日暮里4-4-10

## Herbological Study on the Processing of Ginger

Misato DOUI<sup>ab</sup> Masayuki MIKAGE<sup>a</sup>

a Herbal Medicine and Natural Resources, Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Medical Science and Technology, Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-1192, Japan

b Uchida Wakanyaku Co., Ltd., 4-4-10 Higashi-nippori, Arakawa, Tokyo 116-8571, Japan

### Abstract

Processing methods for the crude drugs *shokyo* (fresh ginger) and *kankyo* (dried ginger) have been different in China and Japan, although the reasons for this have not been clear. In this study, we revealed a historical transition in the processing methods for *shokyo* and *kankyo*.

We found that the name *shokyo* had been used for fresh ginger rhizome in China since the end of the Houhan dynasty. The name had also been used for *shokyo* in Japan, whereas the term *shokyo* was then applied to dried ginger in the Japanese pharmacopoeia during the Meiji era. With *kankyo*, on the other hand, several different processing methods existed in China. For example, ginger fermented in a ceramic pot after being soaked in running water and dried was called *kankyo*, and was strongly associated with the property 'hot'. However, we supposed that simply dried ginger, which has the property 'warm', came to be called as *kankyo* exclusively from the middle of the Qing dynasty. Meanwhile, only ginger dried with lime after being steamed was called *kankyo* in Japan. We also found that ginger whitened with lime was produced and sold in pharmacies because of a description by Shizhen Li, to the effect that "white ginger has higher quality". This controversial method has been changed to one without the use of lime since the Meiji era.

**Key words** : ginger (*shokyo*), *kankyo*, preparation, historical transition

### 要旨

漢方生薬「生姜」および「乾姜」の修治（加工）法は中国と日本で異なっているが、その理由は明確ではない。本研究では、両生薬の修治法の歴史的変遷を調査した結果、中国では後漢末期からショウガの新鮮根茎を生姜としてきたことが明らかになった。一方、日本でも新鮮根茎を生姜としてきたが、明治時代に日本薬局方に収載する際に、乾燥根茎を充てたことが明らかになった。また、中国では、地域により乾姜の調製法が異なっており、古い時代には「流水に浸した後、一度乾燥させ、陶磁器内で醸したものを」熟性が強い乾姜としていたが、清代中期には温性の乾燥根茎のみを使用するようになったと考察した。さらに、日本では「蒸した後、石灰を用いて乾燥させたもの」を独自に乾姜としていたが、李時珍が白色のものが良品と記したことから、石灰をまぶして白くしたものを薬舗で売り出し、その是非から明治時代以降、石灰を使用しない方法に代わったと判断した。

**キーワード** : 生姜, 乾姜, 修治, 歴史的変遷

### 緒言

ショウガの根茎に由来する生薬は『第16改正日本薬局方』<sup>1)</sup>に修治の違いにより「生姜」「乾姜」の2種が収載されており、日本で修治品が利用される数少ない生薬である。しかし、日本と中国で両者の原材料であるショウガ根茎の加工方法や名称が異なっている。日本では、単に乾燥させた根茎を「生姜」、湯通しまたは蒸して乾燥させたものを「乾姜」とし

ているが、中国では新鮮根茎を「生姜」、乾燥根茎を「乾姜（簡体字では干姜）」<sup>2)</sup>としている（表1）。すなわち、日本の「生姜」は中国での「乾姜」と同様の調製法により得られたものであるが、両国で生薬名が異なる理由は不明である。また、一般に生姜は発表作用が強く、乾姜は温中作用が強いとされているが、如何に調製したものがそうした効果を示すのか明確ではなく、両生薬の薬効や来歴には不明な

表1 日本と中国における生姜・乾姜の相違

	日本 <sup>1)</sup>	中国 <sup>2)</sup>
生姜	シウガ <i>Zingiber officinale</i> Rosc.の乾燥根茎	シウガ <i>Zingiber officinale</i> Rosc.の新鮮根茎
乾姜	シウガ <i>Zingiber officinale</i> Rosc.の根茎を湯通し又は蒸して乾燥させたもの	シウガ <i>Zingiber officinale</i> Rosc.の乾燥根茎

表2 中国の本草書中の生姜・乾姜・炮姜・黒姜に関する記載内容

年代	文献名	生姜 性味	修治法	乾姜 性味	修治法	炮姜 性味	黒姜 性味
漢	神農本草經 <sup>4)</sup> 名医別録 <sup>1)</sup>	辛 微温		辛 温 大熱			
齊	500前 神農本草經集注 <sup>57)</sup>	辛 微温		辛 温・大熱	凡作乾姜法 水淹三日畢 去皮置流水中六日 更去皮 然後晒干 置盆缸中 謂之醃也		
宋	1062 図經本草 <sup>1)</sup>		生姜是常食物		漢州乾姜法: 以水淹姜三日, 去皮, 又置流水中六日, 更刮去皮, 然後暴之, 令乾, 醃於盆缸中, 三日乃成也 温州白乾姜一物漿水煮, 令透心潤濕, 取出焙乾		
蒙古	1248 湯液本草 <sup>6)</sup>	辛 温 辛・甘 微温		大辛 熱 辛 大熱 温	水洗, 慢火炮		
元	1295 本草歌括 <sup>51)</sup>	辛 微温		辛 温・大熱	八九月採根於長流水洗過當日晒乾		
明	1520 本草約言 <sup>52)</sup>	辛 温		辛 大熱		苦 大温	苦 温
	1565 本草蒙筌 <sup>7)</sup>	辛 微温	秋月採根。沙蔵常得新鮮	辛 温・大熱	去皮日曝, 又名乾姜。 漢州造乾姜法, 以水淹姜三日, 去皮, 又置流水中六日, 更刮去皮, 方曝乾, 醃於瓮中三日乃成	苦	
	1578 本草發明 <sup>53)</sup>	辛 温		辛 温・大熱	漢州乾姜温州乾姜色白亦好		
	1595 新饒業性會元 <sup>54)</sup>	辛 温		辛 温・大熱	取生薑汁淹三日去皮剝片晒乾置磁瓶中	苦	
	1596 本草綱目 <sup>8)</sup>	辛 微温		辛 温	乾薑以母薑造之。今江西婁均皆造, 以白淨結實者為良, 故人呼為白薑, 又曰均薑		
	1612 本草原始 <sup>55)</sup>	辛 微温		辛 温	漢州白乾薑。白淨結實。俗呼為均薑。入藥最良		
	1647 本草乘雅半偈 <sup>54)</sup>			辛 温	乾生薑乾薑者即所取薑種水淹三日去皮置流水中漂浸六日更刮去皮然後晒乾入瓷缸中醃三日乃成以白淨結實者為良故人呼為白薑入藥則宜炮用		
清	清初 本草崇原 <sup>56)</sup>			辛 温	乾薑用母薑晒乾以肉厚白淨結實明亮如天麻者為良故又名白薑		
	1664 本草述 <sup>57)</sup>	辛 微温		辛 温	造乾薑法取生者水淹三日去皮置流水中六日更刮去皮曬乾置磁甕中醃三日紫色乃成		
	1666 本草匯 <sup>52)</sup>	辛 温		苦辛 大熱	江西所造水浸三日去皮浸六日。更刮去皮。晒乾置瓷缸中。醃三日。始成薑皮作散		
	1681 本草詳節 <sup>58)</sup>	辛 微温		辛 温	以白淨結實母薑晒乾為之		
	1696 山居本草 <sup>59)</sup>	辛 温		苦辛 大熱	一名白薑。以母薑洗淨。晒乾置瓷缸中。醃三日乃成。以白淨結實者良		
	1753 長沙藥解 <sup>52)</sup>	辛 温		辛 温			
	1757 本草從新 <sup>52)</sup>	辛 温		辛 熱	母薑曬乾為乾薑白淨結實者良	辛苦 大熱	辛苦 温
	1758 医林纂要探源 <sup>59)</sup>	辛 温		辛 熱		辛苦 大熱	辛苦 温
	1769 本草求真 <sup>59)</sup>	辛 微温		辛 大熱	母薑晒乾為乾姜	苦 大熱	
	1773 要藥分劑 <sup>57)</sup>	辛 微温		辛 大熱			
	1789 羅氏會約医鏡 <sup>57)</sup>	辛 熱		辛 温		辛苦 大熱	
	1790 本草輯要 <sup>57)</sup>	辛 温		辛 温	母薑晒乾者為乾薑	辛苦 大熱	
	1812 藥籠小品 <sup>51)</sup>	辛 温		辛 熱		辛苦 大熱	
	1815 本草纂要 <sup>57)</sup>	辛 温		辛 熱		甘 温	
	1827 類經證治 <sup>52)</sup>	辛 温		苦辛 大温	取母薑晒干為干姜燒黒為黒姜		
	1828 本草正義 <sup>52)</sup>	辛 熱		辛 熱			
	1829 本草述録 <sup>54)</sup>	辛 微温		辛 温		苦 大熱	
	1837 本草 <sup>57)</sup>	辛 温		辛微 温熱 苦			
	1862 本草害利 <sup>54)</sup>	辛 温		大辛 温	晒乾, 姜白結實者良		
	1885 本草綱目易知録 <sup>51)</sup>	辛 温		辛 温			
	1887 本草簡明圖説 <sup>57)</sup>	辛 温		辛 温			
	1897 本草撮要類編 <sup>54)</sup>	辛 温		辛 熱	老薑晒乾為乾薑	辛苦 大熱	
	1904 本草思辨録 <sup>56)</sup>				乾薑以母薑去皮依法造之		

表3 日本の本草書中の生姜および乾生姜に関する記載内容

年代	文献名	生姜	乾生姜
1623	和名集并異名製劑記 <sup>57)</sup>		生ナルハシカミヲ其ノママ日ニホシタルヲ云フ
1631	新添修治纂要 <sup>58)</sup>		乾生姜トハナマ生姜ヲホシタル也
1669	新編靈宝薬性能毒 <sup>54)</sup>		乾生姜トハ唯干[タダホシ]タル姜[ハジカミ]也干姜ニ代用ス
1687	食用簡便 <sup>54)</sup>		干姜[ホシシヤウガ] 切片テ日ニ乾シ用ユ主治禁好生姜ト同シ
1698	広益本草大成 <sup>59)</sup>		生姜ヲ切片[キリヘギ]テ陰乾[カゲホシ]スル者也 薛巳ガ方書ニ謂所ノ乾姜ハ多ハ眞乾姜ニ非ズ。乾生姜ヲ以テ云
1715	合類広益靈宝薬性能毒大成 <sup>9)</sup>		乾生姜トハ只[タダ]干[ホシ]タル姜[ハジカミ]ナリ干姜ニ代[カヘ]テ用ユ
1723	六八本草 <sup>54)</sup>	生姜ハ常ニ用ル生[ナマ]ノ生姜ナリ	干生姜ハ生姜ヲ秋冬ノ内ニ其ママカハシタルモノナリ
1723	本草製譜 <sup>61)</sup>		乾生姜ハ母姜ヲ以テ皮去日乾用
1726-1776	用薬須知 <sup>10)</sup>		乾生姜ハ生姜ヲキザミノママ日乾シテ收メ用ルナリ俗医多ク此ヲ以乾姜ト為ルハ誤ナリ
1729-1810	本草綱目訳説 <sup>62)</sup>		法ノ如製ス只乾スモノハ生干ニテ乾生姜ト云流水ニ不浸只切テ乾生姜ト云日本ニテハ生干シト云
1818-1829	本草古義 <sup>57)</sup>		秋冬之際採老根以少洗過去皮切尾日乾即今云乾生薑
1893	和漢薬考 <sup>11)</sup>	漢医ガ方書中ニ生薑ト記スルモノハ生[ナマ]ノしやうがナレドモ、日本薬局方ニ掲載スル生薑ハしやうがノ日干シタルモノニシテ漢医ノ所謂乾生薑ナリ	薑ヲ採掘シ水洗シ皮ヲ剥去シ其儘乾燥シタルモノナリ
1918	和漢薬物学 <sup>12)</sup>	本品は多年生草本たる生薑[シヤウガ](Zin. officinale, Roscoe.)の根(根莖)なり	

点が多い。なお、単に乾燥させたショウガ根茎を「乾生姜」と呼ぶことがあり、本稿ではこの用語を使用した。

本研究では、中国および日本の本草書、医方書の記載内容から、生姜ならびに乾姜の歴代の調製法を調査し、両生薬の来歴を明らかにすると同時に、中国と日本で生薬名が異なる理由を考証した。

## 1 生姜の調製法の歴史的変遷

### (1) 中国

後漢代に書かれた医方書である『傷寒論』<sup>3)</sup>中の桂枝湯などの生姜配合処方には、生姜に「切」の加工を施すように規定されている。「切」は刃物で切ることを意味していると考えられ、新鮮品は刃物で切れることから、生姜として乾燥品ではなく新鮮品を用いたと推察できる。なお、同書では「切」を施すのは生姜のみであり、生姜は他の生薬とは異なり新鮮品を使用していたことが裏付けられる。時代が下り、『図経本草』<sup>4)</sup>(1062)に、「生姜是常食物」、『本草蒙筌』<sup>7)</sup>(1565)に「常得新鮮」とあり、後漢以降、新鮮根茎を生姜として用いたことがわかる(表2)。

### (2) 日本

『六八本草』<sup>54)</sup>(1723)に「生姜ハ…生ノ生姜ナリ」とあり、日本でも新鮮根茎を生姜として用いていたことがわかる。一方、『和漢薬考』<sup>11)</sup>(1893)に「漢医ガ方書中ニ生薑ト記スルモノハ生ノしやうがナレドモ、日本薬局方ニ掲載スル生薑ハしやうがノ日干シタルモノニシテ漢医ノ所謂乾生薑ナリ」とある(表3)。また、『改正日本薬局方』<sup>13)</sup>(1891)には薑根の名で生姜が収載されており、「本品ハ通常長片ニ截リ乾燥ス」とある。すなわち、明治時代に生姜を日本薬局方に収載する時には、乾生姜を採用したが、漢方医は新鮮根茎を用いていたことがわかる。

## 2 乾姜の調製法の歴史的変遷

### (1) 中国(表2)

乾姜の名は馬王堆出土の前漢代の医書である『五十二病方』<sup>4)</sup>、『養生方』<sup>14)</sup>および『雜療方』<sup>14)</sup>に既に見られ、加えて『五十二病方』<sup>14)</sup>には「枯姜(原文は薑)」の名もあり、ショウガ根茎を加工して用いていたことが窺われる。一方、これらの文献には生姜の名は見られず、「姜(薑、薑などの文字を使用)」と記されている。これらのことから、「姜」は

表4 日本の本草書中の乾姜に関する記載内容

年代	文献名	流水に浸して調製	流水に浸した後、醗して調製	煮製(*は蒸製)	石灰を用いたもの
1562	本草異名記 <sup>59)</sup>	九月十月二生姜ヲツツ井花水ニ浸スコト三日シテ皮ヲケツリ去テ又流水ニ六日浸ス。毎日本水ヲカエテサテ日ニ乾シ焙リ用ユ			
1623	和名集并異名製劑記 <sup>60)</sup>	生姜ヲ九月十月二探テ井花水ニ三日浸シ上皮ヲ削リ去テ又二六日ヒタシ毎日本水ヲカエル也サテ日ニホシ			薬屋ニ売ハ蒸シ石灰ニマフシ置クナリ
1631	新添修治薬要 <sup>5)</sup>	生姜ヲ寒ノ中ノ水ニ浸事一七日シテ皮ヲ去リ日ニ乾シ剉ニ焙ル			
1579-1657	宣子製劑記 <sup>56)</sup>	入門私日取生者能皮ヲケツリ去寒ノ中流水ニ浸コト七日ニシテ取上ケ日乾セハ色白シキサミ焙ル	本草可見取生者水ニ滴スコト三日去皮置流水中六日更去皮晒干醗磁瓮中三日ニシテ紫色ニシテ乃成		石灰ヲスリ白クスルハ非ナリ
1669	新編靈宝薬性能毒 <sup>54)</sup>	生姜ヲ寒ノ中三七日水ニ浸シ皮ヲ去リ日ニ晒テ剉ニ焙ル			
1680	図解本草 <sup>16)</sup>		母薑ヲ以テ之ヲ造ル 水ニ淹[ヒタスコト]三日、去テ皮リ、流水ノ中ニ六日 更ニ皮ヲ刮[ケズリ]去リ 然シテ後チ曝シ乾シ瓷缸ノ中ニ置醗スルコト三日乃成ル 白淨結實ノ者ヲ以テ良ト為 故二人呼テ白薑ト為 又タ均薑ト曰		今ニ廣嶋ヨリ出ハ者ノ石灰ノ氣多シ
1689	炮炙全書 <sup>54)</sup>		造乾薑法 母薑ヲ以水ニ浸スコト三日皮ヲ去又流水ノ中ニ置コト六日更皮ヲ刮リ去テ然後晒乾シ瓷缸ノ中ニ置テ醗スルコト三日乃成ル也。	薬肆中母薑ヲ以テ略ク煮過シテ然後之ヲ暴シテ乾サ令之ヲ乾薑ト名テ售ル是非	
1698	広益本草大成 <sup>5)</sup>		母薑ノ腐不者ヲ擇水浸コト三日シテ薄皮ヲ去。又冷水ニ浸スコト六日或ハ三日モ亦タ可也。取出テ又外皮一片ヲ刮去テ日晒シ乾磁器ニ蔵置コト三日メ用ユ	今薬店ニ母薑ヲ煮過テ晒シ乾シ此ヲ號テ乾薑トス。甚ダ非也	
1723	六八本草 <sup>54)</sup>		乾薑ハ綱目時珍ガ製法ヨシ又寒ノ内ニ生姜ヲ三日ホド水ニツケ水ヨリアゲ籠ヲオホヒ一日ホド寐サセテ日ニ干シ晒シ用ル。		今薬肆ニ売ル所ノ乾薑ハ生姜ヲ蒸シ石灰ヲマズシタルモノナリ用ユ可不。
1723	本草製譜 <sup>52)</sup>		乾薑造法母薑ヲ以テ水ニ浸スコト三日取出シ皮ヲ去又流水ノ中ニ置コト六日晒テ壺中ニ入(蜜)ニ口封醗コト七日乃成	按業者之有者母薑ヲ以煮過	或蒸石灰ニ拌セ晒テ乾薑ト名ケ偽充用可不
1726-1776	用薬須知 <sup>10)</sup>		長流水ニヒタシ製ス		薬家多ク乾生姜其色ノ之白カラキヲ欲シテ石灰ヲ以テ纏[マブ]シ収メテ之ヲ売ル毒有り
1729	一本堂薬選 <sup>17)</sup>				薬輪作所、…沸湯ノ中ニ扱シ、煮過ステ霎時、日ニ乾シ、石灰ヲ用テ之ヲ粉シ
1734	薬籠本草 <sup>16)</sup>		弘景ノ日乾薑ヲ作ノ法水淹コト三日皮ヲ去流水ノ中ニ置コト六日晒乾瓷缸中ニ置醗スルコト三日乃成		本邦売薬家ノ製法…皮ヲ去不之ヲ蒸 而後石灰ニ拌晒乾其味辛裂不
1756	本草傳 <sup>50)</sup>		母薑ヲ以水ニ浸コト三日皮去又流水ノ中置六日更皮刮去リ然後晒シ乾瓷缸ノ中ニ置醗コト三日乃成也	薬肆中母薑ヲ以晷煮過然後之ヲ曝今乾名テ之ヲ乾薑ト售ル	或ハ其ノ色白ヲ欲シ石灰以纏収者有。毒有俱ニ是非
1778	千金方薬註 <sup>57)</sup>		綱目ニ流水ニ浸シ器ニ入レ薑ヒ宿ヲ経テ紫色ニ変ズ是レ一法ナリ		参河乾薑ハ石灰ヲ以テ製ス毒アリ
1729-1810	本草綱目訳説 <sup>5)</sup>	乾薑製法ハ生姜宿根ヲ採リ流水ノ中ニ七日許リ浸シテ製ス			薬舖ニ此ヲ偽リ生干ニ石灰ヲマブシ白メ售ル用ニ堪不
1803	本草綱目啓蒙 <sup>19)</sup>		乾薑ハ長流ニ数日浸シ醗シ晒スコト集解ニ詳ナリ自製ヲ良トス		其色ノ白カラシコトヲ欲シ石灰ヲ收雜ユル者アリ宜シ洗ヒ去テ用ユベシ
1818-1829	本草古義 <sup>57)</sup>				今薬肆…然欲色白石灰拌乾故不堪入薬宜自製
1841	古方藥品考 <sup>20)</sup>		造法秋冬ノ交[アイタ]老薑ノ肥タル者ヲ取テ水ニ淹シ洗ヒ過シ。晴ヲ待テ皮ヲ刮リ或ハ之ヲ片キ日ニ曝ス若クハ乾キ難キトキガ則チ磁器[ヤキモノ]内ニ燻[イル]亦可ニ		
1893	和漢薬考 <sup>11)</sup>	生姜ヲ寒中三七日間水中ニ浸漬シ皮ヲ除去シ日干シ		地下茎ヲ蒸シテ乾干スル <sup>*)</sup>	八九月頃ニ地下茎ヲ採掘シ水洗シテ水中ニ石灰ヲ混シシタル中ニ入レ煮沸シ日乾シ
1918	和漢薬物学 <sup>12)</sup>			本品の蒸熱したるものを乾薑と云ふ <sup>*)</sup>	

新鮮品と乾燥品の区別がないショウガ根茎を指し、特に「乾（乾燥）」や「枯（水が乾きひからびる状態）」に加工する必要がある場合は「乾姜」、「枯姜」と区別したと推察できる。

本草書では『神農本草経』（後漢）に初収載され、辛温の薬能をもつ薬物とされたが、『名医別録』（後漢）では性味が大熱と記載された<sup>4)</sup>。大熱は附子に代表される性味であり、乾姜は非常に熱性が強い薬物であることが窺われる。また、『神農本草経』には「生者尤良」とある。この記述は同書の乾地黄の項目にも見られ<sup>4)</sup>、乾燥品の中で特に新鮮品を指していると考えられる。すなわち、乾姜の中に新鮮なショウガも包括していたと推察できる。なお、同書の乾姜の薬能に関する記述は新鮮品と乾燥品の2種を指していると考えられている<sup>15)</sup>。一方、『神農本草経集注』<sup>57)</sup>（5世紀末）には「水淹に3日浸し、皮を去り、流水中に3日おき、更に皮をむき、日干しする。その後陶磁器内で醸して得る。（水淹三日畢 去皮置流水中六日 更去皮 然後晒干置瓮缸中 谓之醸也）」とあり、乾姜の調製法が初見した。本書には温と大熱の2種の性が記載されており、上記の調製法にて製した乾姜はいずれかの薬性をもつと考えられる。宋代の『図経本草』<sup>4)</sup>（1062）には「漢州乾姜法」と「温州白乾姜」の2種が記載された。前者は『神農本草経集注』<sup>57)</sup>に記載の方法と同様であるが、後者は「米のとぎ汁で煮る（一物漿水煮）」とあり、地域により調製法が全く異なっている。なお、漢州は四川成都府、温州は浙江永嘉県に位置する。

時代が下り、明代の『本草蒙筌』<sup>7)</sup>（1565）には、「去皮日曝、又名乾姜」とあり、乾生姜も乾姜の一種として扱われ始めたことがわかる。また、『本草崇原』<sup>52)</sup>（清初）には「乾薑用母薑晒乾」とあり、乾姜は乾生姜であると断定しており、本書では性は温としか記載されていない。清代初期には、流水に浸す調製法も記載されていたが、清代の中期には『本草從新』<sup>52)</sup>（1757）、『本草求真』<sup>52)</sup>（1769）などに「母薑曬乾為乾薑」とあり乾生姜の記載に代わった。清代の本草書では、薬性は『要薬分剂』<sup>57)</sup>（1773）を除き、温、大温、熱と記載され、大熱の記載はない。また、『本草從新』<sup>52)</sup>（1757）では黒姜、『医林纂要探源』<sup>52)</sup>（1758）では炮姜の性味が辛苦、大熱と示された。すなわち、清代中期の乾姜は温性の乾

生姜であり、修治により炮姜や黒姜とすることで大熱の薬性に変化するとされた。一方、齊代以後は地域により調製法が異なっており、流水に浸して製す乾姜は大熱の薬性を示したと考えられる。

良品に関する記載として、李時珍は『本草綱目』<sup>8)</sup>（1596）中で「白淨結実者為良」と述べ、白くきれいなものが良いとし、この記載が後世に伝承された。

## （2）日本（表3、表4）

日本では、『古事記』（712）に「垣もとに植えし薑」とあり、平安時代に既にショウガが栽培されていたとされる<sup>21)</sup>。また、『尺素往来』<sup>22)</sup>（1481）の薬種の項目に「人参…桂心、甘草、川芎、当帰などは新たに渡来した済物であるが、山薬、牛膝、牽牛子、…乾姜などは和薬であり、御所にあるので献ずるに及ばず（人参…桂心、甘草、川芎、当帰…皆新渡之済物候。山薬、牛膝、牽牛子、…乾姜…等之和薬者。御所持之間不及献之）」とあり、乾姜は中国からの輸入品に依存せず、古来、日本独自に調製してきたことが窺われる。

乾姜の調製法として、曲直瀬道三著の『本草異名記』<sup>59)</sup>（1562）に、「九月十月ニ生姜ヲトツテ井花水ニ浸スコト三日シテ皮ヲケヅリ去テ又流水ニ六日浸ス。毎日水ヲカエテサテ日ニ乾シ焙り用ユ」とあり、漢州乾姜の調製法に類似するが、陶磁器内で醸す過程がない。本法は、『和名集并異名製剂記』<sup>57)</sup>（1623）、『宣子製剂記』<sup>52)</sup>（1579-1657）など曲直瀬道三の門下による書物にも記載されている。また、『宣子製剂記』<sup>52)</sup>には、「本草可見取生者水ニ淹スコト三日去皮置流水中六日更去皮晒干醸磁瓮中三日ニシテ紫色ニシテ乃成蜀地ノ者佳」とあり、漢州乾姜の調製法も日本に取り入れられた。

一方、『和名集并異名製剂記』<sup>57)</sup>に「薬屋ニ売ハ蒸シ石灰ニマフシ置クナリ其ハ熱湯ニ浸シ上ノ皮ト石灰トヲ削リ去テ紙ニ包ミ水ニテヌラシ熱灰ニテ炮シキサミ炙テ使フ」とあり、薬屋には蒸した後に石灰をまぶして調製したものが売られていたようだ。また、『農業全書』<sup>23)</sup>（1697）の薬種（乾薑）の項目に「生姜のよく肥実したるを、十一月のころざつと湯煮して、石灰に和し、よくほしあげ、薬屋にうるべし」、薑（はじかみ）の項目に「淨く洗ひざつと湯煮して、かき灰にまぜ乾し上て籠などにもりをきて、薬屋にうるべし」とあり、かき灰（かまどの灰）および石灰を乾燥剤として利用していたことが窺われ



表5 三河乾姜に関する記載内容

年代	文献名	記載内容
1771	薬徴 <sup>57)</sup>	本邦之産、有二品。曰乾生姜、曰三河乾姜。所謂乾生姜者、余家用之。所謂三河乾姜者、余家不用之
1778	千金方薬註 <sup>57)</sup>	参河乾姜ハ石灰ヲ以テ製ス毒アリ
1729-1810	本草綱目訳説 <sup>53)</sup>	三河ニテ製スルモノ良シ。今薬肆ニ三河乾姜ト云モノハ真ノ三河ニ非ス偽物也
1803	本草綱目啓蒙 <sup>19)</sup>	薬舖ニテ三河ヨリ出ル者ヲ上トス形全キ者アリ片ナル者(ヘギ乾薑ト云)アリ三河乾薑ト呼ブ
1841	古方薬品考 <sup>20)</sup>	三河乾薑。形瘠小ニシテ外白ク肉赤ク餡ノ如ニシテ堅ク辛味厚カラ不者ヲ次ト為。三州遠州及ヒ東南州群之ヲ出ス

る。しかし、『用薬須知』<sup>10)</sup> (1726-1776) に「其色ノ之白カラキヲ欲シテ石灰ヲ以テ纏シ取メテ之ヲ売ル毒有リ灰ヲ洗去テ之用ユ可」とあり、石灰を用いる理由は色を白く見せるためだとされる。これは、『本草綱目』<sup>8)</sup> に白いものが良品であると李時珍が記したことに起因しているものと思われる。

さらに、『炮炙全書』<sup>54)</sup> (1689) に「母薑ヲ以テ略ク煮過シテ然後之ヲ暴シテ乾サ令之ヲ乾薑ト名テ售ル是ニ非」とあり、薬屋にはショウガを煮て調製したのも乾姜として売られていたことがわかる。

明治時代になると、『和漢薬考』<sup>11)</sup> (1893) に「地下茎ヲ蒸シテ乾干スル」とあり、現代の日本薬局方で規定されている方法が初めて記された。また、同書に「地下茎ヲ採掘シ水洗シテ水中ニ石灰ヲ混和シタル中ニ入レ煮沸シ日乾シ」ともあり、石灰を用いた調製も一部では行なわれていたと考えられる。一方、大正時代になり『和漢薬物学』<sup>12)</sup> には「本品の蒸熱したるものを乾薑と云ふ」とあり、蒸製法のみとなった。

以上、江戸時代には、乾姜には大きくわけて、漢州乾姜法、漢州乾姜法の醸す過程のないもの、蒸製後に石灰をまぶす、煮て調製の4種の調製法があったが、明治時代には現在と同様の蒸製法が規定され、大正時代にはそれに統一されたことが明らかになった。

### (3) 日本における「乾姜」と「干姜」の差異

江戸時代には「乾姜」と共に「干姜」の文字も存在しており、それぞれ異なるものを指すことが明らかになった。すなわち、「乾姜」は前述の4種の調製法にて得られたものであるが、『食用簡便』<sup>54)</sup> (1687) に「干姜 [ホシシヤウガ] 切片テ日ニ乾シ用ユ」、『合類広益靈宝薬性能毒大成』<sup>9)</sup> (1715) に「乾生姜トハ只干タル姜ナリ干姜ニ代テ用ユ」とあり、

「干姜」は乾燥ショウガすなわち乾生姜を意味する。このことから、中国での乾姜は乾生姜を指していたと判断できる。さらに、『用薬須知』<sup>10)</sup> に「乾生姜ハ生姜ヲキザミノママ日乾シテ收メ用ルナリ俗医多ク此ヲ以乾姜ト為ルハ誤ナリ」とあり、日本では乾生姜を乾姜として用いるのは間違っていると述べられ、両国での乾姜が異なるものと認識されていたことが窺える。

### (4) 三河乾姜に関する記載内容 (表5)

江戸時代には「三河乾姜」と呼ばれるものが存在し、『本草綱目訳説』<sup>53)</sup> (1729-1810) に「三河ニテ製スルモノ良シ」、『本草綱目啓蒙』<sup>19)</sup> (1803) に「薬舖ニテ三河ヨリ出ル者ヲ上トス」とあり、三河すなわち現在の愛知県の東部で製す乾姜は良品であるとされる。その性状は『古方薬品考』<sup>20)</sup> (1841) に「小さく、外面が白色で肉が赤く餡のように堅く、味は辛い (形瘠小ニシテ外白ク肉赤ク餡ノ如ニシテ堅ク辛味)」とある。『千金方薬註』(1778)<sup>57)</sup> には「参河乾姜ハ石灰ヲ以テ製ス毒アリ」とあるが、石灰を用いたとあるのは調査した中で本書のみであり、確証はない。一方、『本草綱目訳説』<sup>53)</sup> に「今薬肆ニ三河乾姜ト云モノハ真ノ三河ニ非ス偽物也」とあり、三河乾姜の偽物も出回っていたことがわかる。

### 考察および結論

1. 乾姜は本草書では『神農本草経』(後漢) に初収載され、辛温の薬性をもつ薬物とされたが、『名医別録』(後漢) では性が大熱と記載された<sup>4)</sup>。一方、生姜は『名医別録』に初収載され、辛微温の薬物とされた。すなわち、乾姜は生姜よりも温性が強い薬物だと判るが、『神農本草経』の温と『名医別録』の大熱では熱性が大きく異なり、別のものを示している可能性が考えられる。また、『神農本草経』では新鮮根茎も乾姜に包括していたと判断できる。乾

生姜は温性、梁代から調製法が明記された漢州乾姜は大熱であることが明らかになったことから、『神農本草経』では生姜と乾姜の区別がなく、単に乾燥した根茎または新鮮根茎を「乾姜」の名で収載し、『名医別録』では新鮮根茎を生姜、水に浸した後に陶磁器内で醸した漢州乾姜を乾姜として収載したと考えれば薬効の差も説明がつく。

2. 馬王堆出土の前漢の医書および『神農本草経』（後漢）では新鮮なショウガ根茎を乾燥品とは区別してなく、『傷寒論』（後漢）では新鮮根茎を生姜としていたことが明らかになった。また、前述の『名医別録』は医家の張仲景や華佗の所記があるとされるが<sup>24)</sup>、この書でも新鮮根茎を生姜としていたと考察できた。すなわち、後漢代の医家が「生姜」と「乾姜」を区別したと推察できる。

3. 中国では後漢末期以降、日本では少なくとも江戸時代以降、新鮮根茎を生姜としてきたことが明らかになった。しかし、日本では明治時代に日本薬局方に生姜を収載する際に、乾燥根茎を採用し、現在に至っていると考察された。日本薬局方はオランダ薬局方を主軸とした欧米の薬局方を参考しており、漢方医学ではなく西洋医学を重視している。そのため、漢方医学のようにショウガの新鮮品と乾燥品を区別する必要はなく、保存に適した乾燥品を一種の薬品として収載した可能性も考えられる。

4. 後漢から清代初期の本草書における乾姜の薬性は、「温」と「大熱」の2種が存在したが、この違いは修治法の違いによるものと考えられる。すなわち、温は乾生姜、大熱は水に浸した後に陶磁器内で醸した漢州乾姜を指すと判断できる。しかし、『神農本草経集注』<sup>57)</sup>、『本草蒙筌』<sup>7)</sup>などには修治法は1種類しか書かれていない。これは、正しい修治を行なうと「大熱」の乾姜が得られるが、実際には単に乾燥させただけのものもあったため「温」も併記したと推測できる。

清代中期には「温」のみとなり、乾姜は単に乾燥させた根茎に統一されたと判断できる。それに伴い、乾生姜を火熱して大熱性の炮姜、黒姜に修治し、漢州乾姜に代わるものとしていたと考察できる。

5. 日本では、ショウガ根茎を乾燥させるためにかき灰（かまどの灰）および石灰を利用していたと考えられるが、『用薬須知』<sup>10)</sup>には白く見せるために石灰を用いたとあり、矛盾が生じる。これは、乾姜

に石灰を用いた調製法が初めて『和名集并異名製劑記』<sup>27)</sup>に記載された1623年から、『用薬須知』<sup>10)</sup>が発行された1726—1776年までの時代背景が影響している可能性がある。これに関連する事例として、『本草辨疑』<sup>52)</sup>（1681）に「洛下の薬舗遠藤元理は、…遂に法製して、人の求めに应ず、世に成薬店の始めとす」とあり、本書発行前後で成薬店ができ、医師以外の人が生薬を修治するようになったことが挙げられる。その後、効能ではなく外見を重視した加工を施し、1700年頃には桔梗を煎茶で染め、人参と称して売りさばくなど、薬舗では偽薬が多く販売されていた<sup>25)</sup>。一方、乾姜の良品については、李時珍が『本草綱目』で「白色の乾姜が良い」と述べたが、これは1637年に発行された日本初の『本草綱目』の刊本<sup>24)</sup>で一般に広まったと考えられる。これを受けて、薬舗では石灰で白くした乾姜を販売し、本来乾燥剤として使用してきたものの使用目的が変化したと考察できる。

6. 生薬の真偽について書いた『本草辨疑』<sup>52)</sup>では乾姜には偽物がないととらえていたが、『本草綱目訳説』<sup>53)</sup>（1729—1810）には「薬舗ニ此ヲ偽り生干ニ石灰ヲマブシ白メ售ル用ニ堪不」とあり、石灰をまぶしたものは偽物としている。このことから、石灰を用いた乾姜の良否が変化したと推察できる。

7. 日本では、平安時代には既にショウガが栽培されており、室町時代には乾姜も独自に調製していたとされる。しかし、ショウガ根茎は乾燥し難いため、何らかの工夫が必要である。そこで、経験的にかまどの灰を用いて乾燥させ、後に石灰を用いたと考察できる。この石灰で乾燥させる方法は中国の本草書には見られない。一方、スリランカの市場には白い粉をまぶしたショウガ根茎が流通している<sup>26)</sup>。このことから、日本で石灰を用い始めたのは、中国医学ではなくインド伝統医学「アーユルヴェーダ」の影響を受けた可能性も考えられる。

8. 江戸時代の乾姜の調製法には「蒸して石灰をまぶしたもの」の他に曲直瀬道三門下が伝授した「漢州乾姜に類似するが醸す過程のないもの」、「漢州乾姜法にて調製したもの」および「煮て調製したもの」が存在したことが明らかになった。この内、漢州乾姜法に類似したものは中国の影響を受けているが、日本古来の蒸製法は明治時代まで継続したと考えられる。しかし、江戸中期の偽薬問題で石灰が有

毒だと判断され、石灰を用いなくなったと考察できる。

9. 江戸時代には、中国の「乾姜」であるショウガの乾燥根茎を、日本では「干姜」の名で呼び、日本の「乾姜」とは区別していたことから、両国における「乾姜」は全く異なるものと認識されていたと判断できる。

なお、中国では1964年に、「乾」は簡体字の「干」に代わったが、日本では、1600年代に既に「干姜」と呼ばれるものが存在していた。

10. 『古方薬品考』<sup>20)</sup> (1841)には良品とされた三河乾姜の性状として「小さく、外面が白色で肉が赤く鉛のように堅い」とあるが、内部が鉛のように堅いのは、加熱処理によるデンプンの糊化によるものと思われる。しかし、加熱処理を施すと外面も赤みを帯びるため、白色であるのは別の調製を施していると考えられる。石灰を用いた可能性もあるが、これについての記述は今回調査した文献の中で1種のみであるため、確証はできない。このように三河乾姜の調製法が不明確であるため薬舗では偽物も出回っていたと考える。

11. 中国および日本では、「乾姜」と呼ばれるものが数種存在し、特に大熱性の漢州乾姜と温性の乾生姜では薬効が異なることが予想できる。今後、これらの薬効の違いについて化学的に検討する必要がある。

#### 引用文献および注釈

- 1) 第16改正日本薬局方, 厚生労働省 HP, <http://jpd.b.nihs.go.jp/jp16/>
- 2) 国家薬典委員会編: 中華人民共和国薬典2005年版一部, 化学工業出版社, 北京, 17-18, 2005
- 3) 劉渡舟, 姜元安, 生島忍: 現代語訳宋本傷寒論, 東洋学術出版社, 千葉, 2000
- 4) 唐慎微: 經史証類大観本草 (1108), 木村康一編, 東京, 廣川書店, 205-206, 1970
- 5) 中国文化研究会編纂: 中国本草全書, 華夏出版社, 北京, 1999; ア) 陶弘景: 本草經集注 (500前後), 5, 148-149, イ) 胡仕可: 本草歌括 (1295), 83, 367, ウ) 薛己: 本草約言 (1520), 26, 214-216, エ) 皇甫嵩: 本草發明 (1578), 56, 447-449, オ) 梅得春: 新鍬薬性會元 (1595), 76, 481-482, カ) 李中立: 本草原始 (1612), 62, 282-284, キ) 盧之頤: 本草乘雅半偈 (1647), 75, 345, ク) 張志聰注釈: 本草崇原 (清初), 95, 429-430, ケ) 劉若金: 本草述 (1664), 91, 22-29, コ) 郭佩蘭: 本草匯 (1666), 86, 161-163, サ) 閔鉞: 本草詳節 (1681), 92, 396-398, シ) 程履新: 山居本草 (1696), 99, 178-183, ス) 黄元御: 長沙薬解 (1753), 102, 460-464, セ) 吳儀洛: 本草從新 (1757), 109, 197-199, ソ) 汪紱: 医林纂要探源 (1758), 103, 400-401, タ) 黄宮綉: 本草求真 (1769), 125, 163-164, 226-227, チ) 沈金鏞: 要薬分劑 (1773), 105, 408-409, ツ) 羅國綱: 羅氏會約医鏡 (1789), 109, 465-466, テ) 林玉友: 本草輯要 (1790), 113, 338-339, ト) 黄凱鈞: 藥籠小品 (1812), 118, 123, ナ) 王龍: 本草纂要, 119, 62-63, ニ) 吳綱: 類經證治 (1827), 119, 216, 267, ヌ) 張徳裕: 本草正義 (1828), 117, 498, 535, ネ) 張鈴録: 本草述録 (1829), 114, 518-519, ノ) 王世鍾: 本草 (1837), 120, 388-389, ハ) 凌奐: 本草害利 (1862), 144, 378-379, 383, 419, ヒ) 載葆元: 本草綱目易知録 (1885), 142, 199-202, フ) 高硯五: 本草簡明圖説 (1887), 143, 426, ヘ) 王象晋: 本草撮要類編 (1897), 147, 416-417, ホ) 周巖: 本草思辨録 (1904), 145, 459-465, マ) 梅寿: 和名集并異名製劑記 (1623), 312, 24, ミ) 梅寿: 新添修治纂要 (1631), 312, 119, ム) 撰者佚名: 新編靈宝薬性能毒 (1669), 312, 488-489, メ) 蘆川桂洲: 食用簡便 (1687), 316, 18, モ) 撰者佚名: 広益本草大成 (1701), 316, 506-507, ヤ) 加藤謙斎: 増補片玉六八本草 (1723), 320, 436-437, ヨ) 井上玄賦: 本草製譜 (1723), 321, 144-145, ヱ) 小野蘭山: 本草綱目訳説 (1729-1810), 336, 515, ラ) 岡村尚謙: 本草古義 (1818-1829), 341, 59-60, リ) 曲直瀬道三: 本草異名記 (1562), 355, 401, ル) 古林見宣: 増補宣子製劑記 (1579-1657), 353, 106, 119, レ) 稻生若水: 炮炙全書 (1689), 314, 515, ロ) 平住専庵: 本草雋 (1756), 321, 370-373, ワ) 松岡典: 千金方薬註 (1778), 329, 200, ヲ) 吉益東洞: 薬徴 (1771), 327, 503-506, シ) 遠藤元理撰: 本草辨疑 (1681), 313, 470
- 6) 王好古撰: 湯液本草 (1248), 人民衛生出版社, 北京, 161-163, 1987
- 7) 陳嘉謨: 本草蒙筌 (1565), 人民衛生出版社, 北京, 290-292, 1988
- 8) 李時珍: 本草綱目 (1596), 校点本, 人民衛生出版社, 北京, 第二冊, 849-852, 1977
- 9) 三村玄碩: 合類広益靈宝薬性能毒大成 (1715), ホノミ漢方薬学叢書, 巻15, 生姜, 119-120, 1987
- 10) 松岡玄達: 用薬須知 (1726), 難波恒雄編集, 漢方文献刊行会, 大阪, 54-56, 1972
- 11) 小泉栄次郎: 和漢薬考 (1893), 大耀社, 東京, 418-429, 1972
- 12) 日野五七郎, 一色直太郎: 和漢薬物学 (1918), ホノミ漢方薬学叢書, 巻15, 生姜, 175, 1987
- 13) 改正日本薬局方 (1891), 図書出版, 国立国会図書館近代デジタルライブラリー, <http://kindai.ndl.go.jp/>
- 14) 馬繼興: 馬王堆古医書考釈, 湖南科学技術出版社, 湖南, 1992
- 15) 玄振玉, 劉明嶺: 干姜, 生姜薬用源流考辨, 上海中医薬雜誌, 37(2), 48-50, 2003

- 16) 下津元知：図解本草 (1680)，難波恒雄編集，大阪漢方医学研究所，大阪，64-65，1981
- 17) 香川修庵：一本堂薬選 (1729)，難波恒雄編集，漢方文献刊行会，大阪，71-73，1976
- 18) 香月牛山：薬籠本草 (1734)，難波恒雄編集，漢方文献刊行会，大阪，401-408，1974
- 19) 小野蘭山：本草綱目啓蒙 (1803)，杉本つとむ編著，早稲田大学出版部，東京，348-349，1974
- 20) 内藤蕉園：古方薬品考 (1841)，燎原，東京，37-40，1974
- 21) 青葉高：野菜の日本史，八坂書房，東京，2000
- 22) 一条兼良撰と伝えられる：尺素往来 (1440-1464)，塙保己編纂，群書類従，続群書類従完成会，東京，9，512，1960
- 23) 宮崎安貞：農業全書 (1697)，山田龍雄編，日本農書全集，農山漁村文化協会，東京，12，291-295，13，289，1978
- 24) 岡西為人：本草概説，創元社，大阪，1977
- 25) 吉岡信：江戸の生薬屋，青蛙房，東京，1994
- 26) 筆者の御影らが2004年にスリランカに調査に行った時に確認した

## ショウキョウ国内市場品の一酸化窒素産生抑制活性と LC/MS メタボローム解析

大根谷章浩<sup>a</sup>, 瀧野裕之<sup>a</sup>, 高橋 豊<sup>b</sup>, 合田幸広<sup>c</sup>, 川原信夫\*<sup>a</sup>

<sup>a</sup> 独立行政法人医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

<sup>b</sup> エムエス・ソリューションズ株式会社

<sup>c</sup> 国立医薬品食品衛生研究所生薬部

### Inhibitory Effect of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) from the Japanese Market on Nitric Oxide Production, and Metabolome Analysis Based on LC/MS

Akihiro Daikonya<sup>a</sup>, Hiroyuki Fuchino<sup>a</sup>, Yutaka Takahashi<sup>b</sup>, Yukihiro Goda<sup>c</sup>  
and Nobuo Kawahara\*<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institute of Biomedical Innovation,*

*1-2, Hachimandai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0843, Japan*

<sup>b</sup> *MS-Solutions Co. Ltd.,*

*3-10-90 Fujimicho, Higashimurayama-shi, Tokyo 189-0024, Japan*

<sup>c</sup> *Division of Pharmacognosy, Phytochemistry and Narcotics, National Institute of Health Sciences,*

*1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan*

(Received May 7, 2012)

As a part of the development of profiling analysis for Kampo medicine, ginger rhizomes (*Zingiber officinale* Roscoe) were collected from the Japanese market, and extracted with hot water. We evaluated their inhibitory activity on nitric oxide (NO) production by LPS/IFN- $\gamma$  activated macrophages. The ginger extracts (GEs) showed weak inhibitory activity against NO production.

Furthermore, we measured the total ion chromatogram (TIC) of the GEs using LC/MS to perform metabolome analysis. The result of principal component analysis (PCA) revealed that the GEs were classified into two groups. Next, orthogonal partial least squares (OPLS) were performed on the basis of NO inhibitory activity. As a result, the GEs were divided into two groups according to the strength of activity. It was shown that [6]-gingerol, the main component of ginger, contributed to the distinction of the two groups. These results suggested that [6]-gingerol might be useful as a biomarker to evaluate an anti-inflammatory effect of ginger.

**Keywords:** *Zingiber officinale* Roscoe; SIMCA; crude drug; nitric oxide; LC/MS; metabolomics

## 1. 緒 言

「生薬」とは、その基原を植物、動物および鉱物など天然に由来する医薬品であり、通常、乾燥を施し保存に耐える形で使用されている医薬品である。しかしながら、天然物由来であるという特性からその品質は基原や産地、栽培環境、野生品と栽培品、等級、加工条件などにより、大きく変化すると考えられる。それゆえ、形態、成分、遺伝子、生物活性などの情報は、品質を評価する上でたいへん重要である。

メタボローム解析は、メタボライトを網羅的に解析する方法であり、診断マーカーの探索や病因解析の強力なツールとして用いられているが、近年、食品や生薬の品質評価にメタボローム解析が適用されている。雪茶やマツタケの品質評価に<sup>1</sup>H NMRを用いたメタボローム解析が用いられている他<sup>1,2)</sup>、生薬においてもトウキの品質評価にメタボローム解析が用いられている<sup>3-5)</sup>。

生薬「ショウキョウ」は、第十六改正日本薬局方 (JP16) においてショウガ科 (*Zingiberaceae*) のショウガ *Zingiber officinale* Roscoe の根茎と規定されている<sup>6)</sup>。また、漢方処方では、胃苓湯、温経湯、補中益気湯、黄耆建中湯などに配合されている。カンゾウに次いで、非常に多くの漢方処方に配合されており、重要な生薬の一つとなっている。

今回、ショウキョウ国内市場品の抗炎症効果について比較検討するため、熱水抽出エキスを作製し、NO産生抑制試験を検討した。その結果、各ロットのNO産生抑制効果に差異が認められた。そこで、熱水抽出エキスのLC/MSを測定し、得られた成分情報と生物活性情報を基に多変量解析を試みることにし、ショウキョウ国内市場品中の抗炎症効果のロット間の差に大きく影響していると考えられる成分の探索および同定を試みたので報告する。

## 2. 材料および方法

### 2.1 材 料

10種のショウキョウ国内市場品は、業界団体を通じて収集した。なお、残余品は独立行政法人医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター筑波研究部に保管されている。

### 2.2 試 薬

[6]-ギンゲロールは、和光純薬工業社製生薬試験用[6]-ギンゲロール標準品を用いた。lipopolysaccharide (LPS)、

F-12 Ham 培地および L-glutamine はシグマ社製を用いた。mouse recombinant interferon (IFN)- $\gamma$ 、生化学用ジメチルスルホキシド、スルファニルアミド、*N*-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩およびリン酸は和光純薬工業社製を使用した。3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) および  $N^G$ -monomethyl-L-arginine acetate (L-NMMA) は同仁化学研究所社製を用いた。マウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7 は European Collection of Cell Cultures (ECCC) より購入した。非働化ウシ胎児血清 (FBS) はライフテクノロジー社製を用いた。96 ウェルプレートは住友ベークライト社製 MS-8096R を用いた。

### 2.3 細胞培養

培地は F-12 Ham 培地に FBS を 10%、L-glutamine を 2 mM になるように加えた。細胞は 37°C、5%CO<sub>2</sub> の条件下で培養し、コンフルエントになり次第継代した。継代はおおよそ週 2 回行ない必要に応じてアッセイに用いた。

### 2.4 機 器

生薬の粉碎は協立理工製 SK-M10 を用いた。抽出器用マントルヒーターは東京技術研究所製 HKI-B-4 を用いた。遠心分離器はコクサン製 H-201FR を用いた。凍結乾燥器は東京理化学器械製 FDU-1200 を用いた。インキュベーターはアステック製 SCA-165DRS を用いた。マイクロプレートリーダーは Bio-Rad 社製 xMark を用いた。HPLC は Agilent Technology 社製 Agilent 1100 シリーズ、MS は AB Sciex 社製 QSTAR XL を用いた。

### 2.5 試料調製

生薬 20 g を粉碎機にて粉末状にしてフラスコにとり、水 200 mL を加え、還流冷却器を取り付け、マントルヒーター上で 2 時間加熱還流を行なった。抽出物が一部ゲル化したため、遠沈管に取り遠心分離 (2000 rpm, 15 分間) を行なった。上澄液をとり -30°C にて凍結後、凍結乾燥を行ない試料とした。

### 2.6 LC/MS によるショウキョウ市場品の成分分析

LC/MS は以下の条件で行なった。

(HPLC 条件)

カラム : TSKgel ODS-80TM (4.6 mm ID × 150 mm)  
移動相 : A : 0.1% 酢酸/水, B : 0.1% 酢酸/アセトニトリル ; B = 5% (0 min) → 70% (30 min) →

100% (38 min)

流量 : 0.8 mL/min

カラム温度 : 40°C

(MS 条件)

イオン化法 : APCI (negative mode)

脱溶媒温度 : 450°C

取込質量 (m/z) : 100 to 2000

CID エネルギー : -35 V

Declustering Potential : -65 V

## 2.7 一酸化窒素 (NO) 産生抑制試験<sup>7,8)</sup>

マウスマクロファージ様細胞株RAW264.7細胞を96ウェルプレートに播種 ( $2.4 \times 10^5$  cells/200  $\mu$ L/well) し, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> の条件下で2時間培養し, 接着させた. mouse recombinant interferon (IFN)- $\gamma$ およびlipopolysaccharide (LPS) をそれぞれ最終濃度が0.3 ng/mL, 100 ng/mLになるように加え, さらにDMSOに溶解した試料を最終濃度が100  $\mu$ g/mLになるように添加した. 37°C, 5%CO<sub>2</sub>の条件下で16時間培養した. ポジティブコントロールとしてiNOS 阻害剤であるN<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine acetate (100  $\mu$ M) を用いた. 本試験を3回行ない, 平均値±標準誤差をグラフに示した.

(NO 産生抑制率)

培養後の上清 100  $\mu$ L を回収し, 1% sulfanilamide in 5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 0.1% N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride をそれぞれ 50  $\mu$ L 加え, 室温, 遮光下で 15 分間反応させた. マイクロプレートリーダーにて 550 nm での吸光度を測定し, 対照とした 655 nm の吸光度を除いた値を使用した.

NO 産生抑制率は以下の式を用いた.

$$\text{NO 産生抑制率 (\%)} = (1 - (A_S - A_N) / (A_D - A_N)) \times 100$$

A<sub>N</sub>: Untreated

A<sub>S</sub>: Sample/LPS/IFN treated

A<sub>D</sub>: DMSO/LPS/IFN treated

(細胞生存率)

上清を回収した残り細胞に, MTT 試薬を最終濃度が 0.1 mg/mL になるように加え, 37°C, 5%CO<sub>2</sub> の条件下で 4 時間培養した. 培地を除去し, 150  $\mu$ L の DMSO に溶解した. マイクロプレートリーダーにて 550 nm での吸光度を測定し, 対照とした 655 nm の吸光度を除いた値を使用した.

細胞生存率は以下の式を用いた.

$$\text{細胞生存率 (\%)} = A_S / A_D \times 100$$

A<sub>S</sub>: Sample/LPS/IFN treated

A<sub>D</sub>: DMSO/LPS/IFN treated

## 2.8 プロファイル分析

LC/MSによる成分情報およびNO産生抑制活性に基づくプロファイル分析は多変量解析ソフトウェアSIMCA-P+ Ver. 12.0.1 (Umetrics社) を用いた.

## 3. 結 果

### 3.1 ショウキョウ熱水抽出エキスの作製

漢方薬を構成する生薬のほとんどが煎剤で使用されるため, 抽出は熱水で行なった. 抽出液の採取について, 当初, 熱水抽出後にろ過を試みたが, 抽出液がゲル状になりろ過が困難であった. そのため, 抽出液の採取は遠心分離により行ない上澄液を回収した. 凍結乾燥後の平均のエキス収率は 4.2% と低収率であり, また, ロット間の変動幅も 1.6~8.0% と大きいことが認められた (Table. 1).

Table 1 List of hot water extracts of *Zingiber officinale*.

Voucher No.	Part	Locality	Freeze dry (days)	Yield (%)
NIB-8	Whole Rhizome	Yunnan, China	5	8.0
NIB-39	Whole Rhizome	Yunnan, China	6	3.8
NIB-55	Whole Rhizome	Yunnan, China	6	3.3
NIB-60-2	Cut Rhizome	Yunnan, China	6	1.6
NIB-75	Cut Rhizome	Yunnan, China	7	1.9
NIB-91	Sliced Rhizome	Yunnan, China	6	6.1
NIB-110	Cut Rhizome	Yunnan, China	6	3.4
NIB-147	Whole Rhizome	Yunnan, China	7	6.2
NIB-169	Whole Rhizome	Yunnan, China	7	3.9
NIB-179	Whole Rhizome	Yunnan, China	7	3.7

Table 2 Nitric oxide inhibitory effect of hot water extracts of *Zingiber officinale* against activated macrophages, RAW264.7.

Voucher No.	Conc.	NO Inhibitory Effect (%) <sup>1)</sup>	Cell Viability (%) <sup>2)</sup>
NIB-8	100 $\mu$ g/mL	13.7±4.1	96.9±2.0
NIB-39	100 $\mu$ g/mL	6.5±1.7	95.0±6.8
NIB-55	100 $\mu$ g/mL	6.0±0.7	90.2±3.9
NIB-60-2	100 $\mu$ g/mL	20.5±0.8	93.8±7.1
NIB-75	100 $\mu$ g/mL	21.0±0.7	95.2±6.7
NIB-91	100 $\mu$ g/mL	7.7±3.1	90.5±6.1
NIB-110	100 $\mu$ g/mL	2.0±1.4	84.4±3.7
NIB-147	100 $\mu$ g/mL	6.7±1.2	95.0±7.1
NIB-169	100 $\mu$ g/mL	4.2±1.8	88.3±6.9
NIB-179	100 $\mu$ g/mL	19.1±5.4	89.6±4.6
L-NMMA <sup>3)</sup>	100 $\mu$ M	28.8±1.2	108.9±6.5

<sup>1)</sup>, <sup>2)</sup>: Each value represents mean±S.E. of 3 experiments.

<sup>3)</sup>: N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine acetate

### 3.2 ショウキョウエキスの NO 産生抑制活性

ショウキョウ市場品の熱水抽出エキスの NO 産生抑制率を Table. 2 に示した. 平均 NO 産生抑制率は 10.7% と低活性であった. また, ロット毎の活性を比較すると, 2.0~21.0% とロット差が認められた. 細胞毒性について検討するため MTT 試験を行なったところ, いずれも 80% 以上の細胞生存率を示し顕著な細胞毒性は認められなかった.

### 3.3 ショウキョウエキスの LC/MS による網羅的成分分析

ショウキョウ市場品の熱水抽出エキスの成分について網羅的に比較検討するため, LC/MS 測定を行なった. 最初に, ESI を検討したが, 検出される成分数が少なかった. ショウキョウには, 多くの揮発性成分が含まれていると推定されるため, それらの検出に有効なイオン源である APCI を用いた. その結果, エキス中の多くの成分が検出されることが確認された (Fig. 1). 各ロットの TIC クロマトグラムを比較すると, ロット間で成分数や成分含量に違いが認められた.

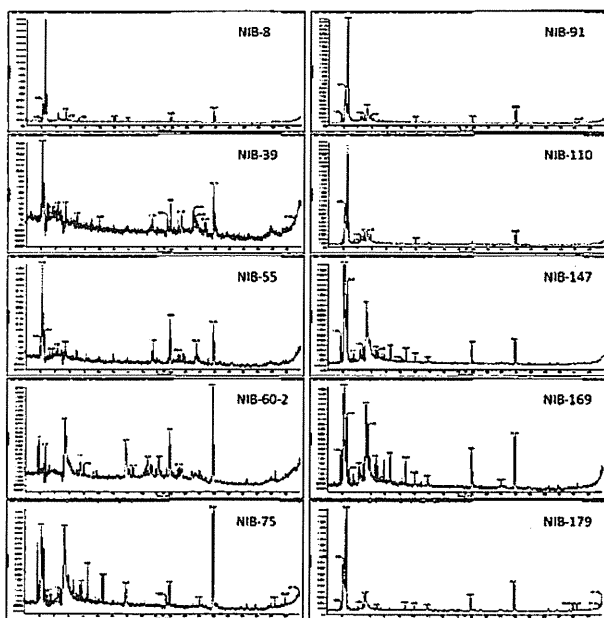


Fig. 1 Total ion current chromatogram (APCI negative mode) of ginger extract

### 3.4 ショウキョウ市場品の主成分分析

熱水抽出エキスの LC/MS 測定によって得られた保持時間および質量情報に基づいて多変量解析ソフト SIMCA にて主成分分析 (PCA) を行ない, ショウキョウ市場品のグループ分けを試みた. その結果, おおよそ 2 つのグループに分類された (Fig. 2). R2 と Q2 はそれぞれ 0.639 と 0.255

であった. 各グループは, TIC クロマトグラム (Fig. 1) のパターンが比較的類似しており, LC/MS の測定データを反映していることが確認された.

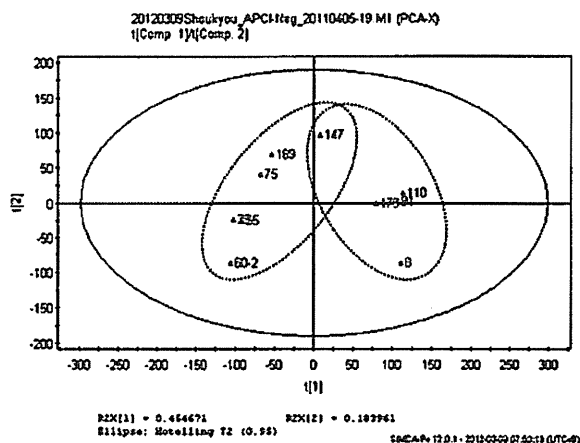


Fig. 2 Score plot result of PCA

### 3.5 ショウキョウ市場品の判別分析

次に, ショウキョウ市場品の各ロット間の NO 産生抑制率の差異に寄与しているマーカー成分の探索を行なうため, SIMCA による判別解析 (OPLS) を試みた. 判別解析の結果を Fig. 3 に示した. 市場品は, 平均 NO 産生抑制率より高い A 群 (NIB-8, 75, 60-2, 179) と低い B 群 (NIB-39, 55, 91, 110, 147, 169) に明確に分類された. また, R2 と Q2 はそれぞれ 0.984 と 0.837 と良好であった. この 2 群間の判別に寄与している成分について検討するため S プロットを解析した. S プロットを詳細に解析したところ, 2 群間の判別に寄与している成分として矢印で示した成分 (保持時間 25.8 分,  $m/z$  293, 191, 176) が見出された (Fig. 4). 保持時間 25.8 分におけるマススペクトル (NIB-60-2) を Fig. 5 に示すが, 擬分子イオンピーク  $m/z$  293 [M-H]<sup>-</sup> およびプロダクトイオン ( $m/z$  191, 176) が観測された.

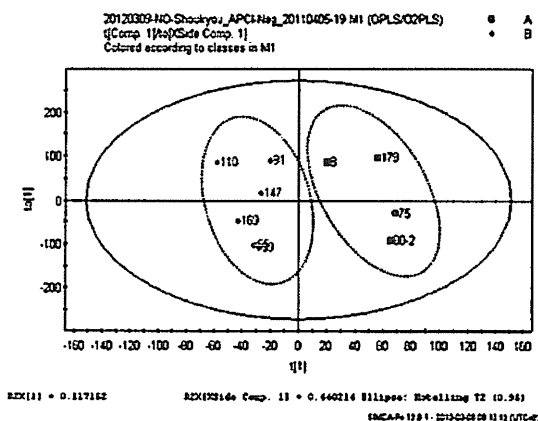


Fig. 3 Score plot result of OPLS



[6]-gingerol の標準品と保持時間およびマススペクトルを比較した結果、ほぼ一致したことから、本成分をショウキョウの辛味成分である [6]-gingerol と同定した。

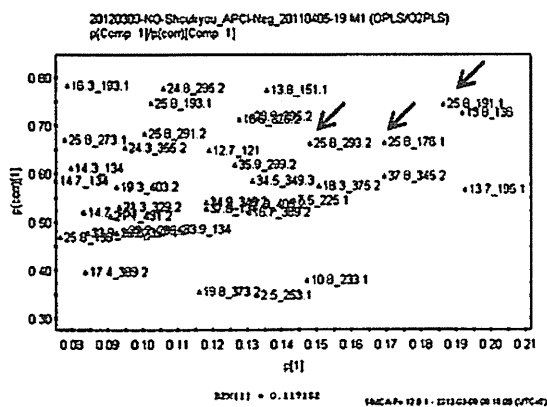


Fig. 4 S plot result of OPLS

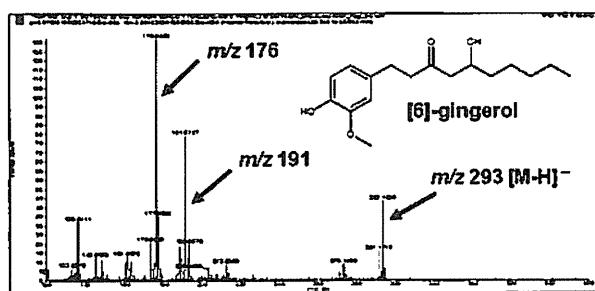


Fig. 5 Mass spectrum (APCI-neg.) of  $t_R$  25.8 min. (NIB-60-2)

### 3.5 [6]-gingerol の NO 産生抑制活性

最後に、[6]-gingerol の NO 産生抑制作用について検討した。その結果、[6]-gingerol は濃度依存的に NO 産生抑制作用を示した (Fig. 6)。また、MTT 試験においても顕著な細胞毒性は認められなかった。[6]-gingerol の  $IC_{50}$  値は 65.9  $\mu M$  であった。これらの結果より、多変量解析で見出された [6]-gingerol が、実際に NO 産生抑制作用を示すことが示された。

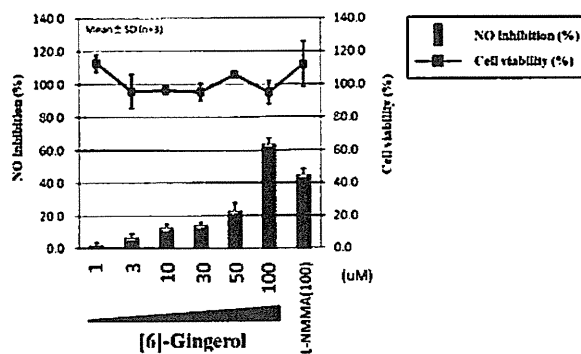


Fig. 6 Inhibitory effect of [6]-gingerol on NO production, and cell viability

## 4. 考察および結論

今回、ショウキョウ国内市場品の熱水抽出エキスを作製し、LC/MS による網羅的成分解析と NO 産生抑制試験を行った。まず、ショウキョウ熱水エキスの作製において 3.1 に示したように、熱水抽出後エキスのゲル化が観察された。このため、ろ紙を用いたろ過は出来ず、遠心分離による方法を用いた。しかしながら、遠心分離を行ない上澄液を回収したもののエキスの回収率は悪く、エキス含量のパラッキも大きかった。

ショウキョウ熱水抽出エキスの NO 産生抑制試験において、各ロットの平均 NO 産生抑制活性は 10% 程度と弱かったが、各ロット間において NO 産生抑制率に差異が認められた。この NO 産生抑制率の差異の要因となる成分について検討するため LC/MS によるショウキョウエキスの網羅的成分分析を行なった。Fig. 1 に示すように、イオン源として APCI を用いることで効率よく成分を検出することが可能であった。APCI は加熱後にイオン化するため、低沸点の化合物の検出に有利である。そのため、揮発性成分を多く含有するショウキョウの検出に適していたと考えられた。今回用いたショウキョウ市場品は、すべての産地が中国雲南省であったが、各ロットの TIC パターンに差異が観察された。原因としては、入手年、保管状況、抽出条件などによるショウキョウ中の成分の分解や揮発が主な原因ではないかと考えられた。

次に、LC/MS の情報を用いて SIMCA による主成分分析を行ない、グループ分けを行なった。その結果、ショウキョウ国内流通品はおおよそ 2 つのグループに分類された。しかしながら、NO 産生抑制率の強さを反映したグループ分けはなされなかった。続いて、LC/MS 情報に NO 産生抑制率を加えて、SIMCA による判別分析 (OPLS) を行なった結果、平均 NO 産生抑制率より強いグループと弱いグループに明確に判別された。S プロットから、2 群間の判別に寄与している成分の一つとして辛味成分である [6]-gingerol が見出された。[6]-gingerol は NO 産生抑制効果を示し、SIMCA の予測が正しいことが確認された。これら結果より、[6]-gingerol がショウキョウの抗炎症効果を評価するバイオマーカーの一つとなりうる可能性が示唆された。最近、Hong らはショウガ中のフェニルプロパノイドやジンゲロール類に LPS 活性化マクロファージからの NO 産生抑制作用があることを報告している<sup>9)</sup>。同様に、Koh らもショウガ中の NO 産生抑制物質について報告して

いる<sup>10)</sup>。しかしながら、漢方薬は一般的には煎じて使用されるため、様々な成分が抽出される。実際にどのような成分が生物活性に大きく影響を与えているのかを示した報告は少ない。今回我々は、LC/MS メタボローム解析と NO 産生抑制活性を多変量解析により分析することで [6]-gingerol がショウキョウ市場品のロット間の抗炎症作用に大きく影響していることを明らかにした。本方法を用いることで活性本体を抽出することなく、簡便・迅速に品質に影響を与えうるマーカー成分を同定することが可能であることが示された。今後、生薬や生物活性試験の組み合わせを変えることで生薬の品質、特に生物活性に影響を与える成分について明らかとし、新しい生薬の品質評価の手法として応用していきたい。

## 5. 謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費「漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベース構築のための基盤整備に関する研究」における援助を受けて行なった。ショウキョウの国内市場品を収集して頂きました日本漢方生薬製剤協会、日本生薬連合会、東京生薬協会に深謝いたします。エキスの作製をして頂いた同筑波研究部 藤田 愛氏に感謝いたします。

## 6. 参考文献

- 1) Matsumoto T., Anjiki N., Arifuku K., Kawahara N., Goda Y., *Jpn. J. Food Chem. Safety*, **18**, 43-47 (2011).
- 2) Cho I. H., Kim Y. S., Choi H. K., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **43**, 900-904 (2007).
- 3) Tianniam S., Tarachiwin L., Bamba T., Kobayashi A., Fukusaki E., *J. Biosci. Bioeng.*, **105**, 655-659 (2008).
- 4) Tianniam S., Bamba T., Fukusaki E., *J. Sep. Sci.*, **32**, 2233-2244 (2009).
- 5) Tianniam S., Bamba T., Fukusaki E., *J. Biosci. Bioeng.*, **109**, 89-93 (2010).
- 6) The Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan, "The Japanese Pharmacopoeia 16<sup>th</sup> Edition", 1521 (2011).
- 7) Green L. C., Wagner D. A., Glogowski J., Skipper P. L., Winshnok J. S., Tannenbaum S. R., *Anal. Biochem.*, **126**, 131-138 (1982).
- 8) Daikonya A., Katsuki S., Kitanaka S., *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 1326-1329 (2004).
- 9) Hong S. S., Oh J. S., *Arch. Pharm. Res.*, **35**, 315-320 (2012).
- 10) Koh E. M., Kim H. J., Kim S., Choi W. H., Choi Y. H., Ryu S. Y., Kim Y. S., Koh W.S., Park S. Y., *Planta Med.*, **75**, 148-151 (2009).

## Evaluation of the Quality of Chinese and Vietnamese Cassia Using LC-MS and Multivariate Analysis

Ken Tanaka<sup>a\*</sup>, Feng Li<sup>a</sup>, Yasuhiro Tezuka<sup>a</sup>, Shiro Watanabe<sup>a</sup>, Nobuo Kawahara<sup>b</sup> and Hiroaki Kida<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Institute of Natural Medicine, University of Toyama, 2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan

<sup>b</sup>Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institute of Biomedical Innovation, 1-2 Yahata-dai, Tsukuba, Ibaragi 305-0843, Japan

<sup>c</sup>Alps Pharmaceutical Ind. Co. Ltd., 2-10-50 Furukawa-cho Mukai-machi, Hida-shi, Gifu 509-4241 Japan

ktanaka@inm.u-toyama.ac.jp

Received: October 22<sup>nd</sup>, 2012; Accepted: November 27<sup>th</sup>, 2012

In the present study, the chemical composition of water extracts of Chinese and Vietnamese cassia (*Cinnamomum cassia*) were compared using multivariate analysis of LC-MS data. By principal component analysis of the LC-MS data, 6 compounds, cinnzeylanine (1), cinnzeylanol (2), anhydrocinnzeylanol (3), cinncasinol A (4), epicatechin (5) and procyanidin B2 (6), were identified as the marker compounds to characterize Chinese and Vietnamese cassia. It was clarified that Chinese cassia contains relatively larger amounts of epicatechin and procyanidin B2. On the other hand, Vietnamese cassia is characterized by a relatively larger amount of diterpenes. As catechin derivatives and diterpenes have different types of activity, it is important to choose the cassia that best suits the product for which it is to be used, whether in food or in herbal medicine.

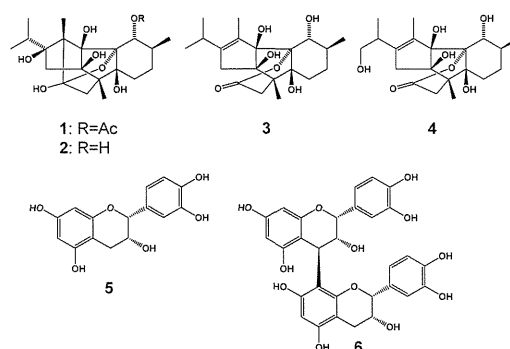
**Keywords:** *Cinnamomum cassia*, Chinese cassia, Vietnamese cassia, Procyanidin, Diterpenes.

Cinnamomi Cortex is used as a popular natural spice in many parts of the world. It is also used in traditional medicine in many Asian countries for treating dyspepsia, gastritis, blood circulation disturbances, and inflammatory diseases [1]. The major *Cinnamomum* species of international importance are *C. zeylanicum* or true cinnamon; *C. cassia* or Chinese cassia; and *C. burmannii* or Indonesian cassia or cinnamon stick [2–4]. In the Japanese and Chinese Pharmacopeias [5,6], only *C. cassia* is registered as the source of Cinnamomi Cortex. *C. cassia* is an evergreen tree native to Southeast Asia, especially southern China (Chinese cassia) and northern Vietnam (Vietnamese cassia) [7]. Vietnamese cassia or Saigon cassia was, in earlier literature, identified as *C. loureirii*, but according to Ravindran *et al.* [7], Vietnamese cassia is nothing other than Chinese cassia. However, in each country, different types of harvesting techniques are utilized and it is considered that these affect the appearance and quality of the cassia [8].

Various chemical constituents, phenylpropanoids, diterpenes, and polyphenols, have been identified in cassia bark [9–11]. Chinese and Vietnamese cassia is rich in essential oils [12,13] and it has been reported that the concentration of cinnamaldehyde in Vietnamese cassia (4.63 ± 1.23 %, average of 193 samples collected in 1985–2009) is higher than that in Chinese cassia (2.83 ± 0.74 %, average of 191 samples collected in 1985–2009) [8,13].

In contrast to the essential oils, little is known about the nonvolatile components, such as condensed tannins and diterpenes, in Chinese and Vietnamese cassia. In this study, we investigated the chemical profiles of water extracts of Chinese and Vietnamese cassia using multivariate statistical analysis of the data obtained from a LC-IT-TOF-MS analysis, in order to clarify the differences in nonvolatile components between Chinese and Vietnamese cassia.

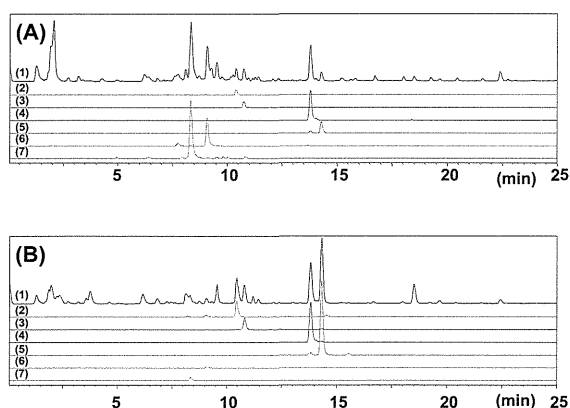
In Figure 2, the total ion chromatograms and mass chromatograms monitored by the deprotonated molecular ions (M-H)<sup>-</sup> of the 4 diterpenes (1–4), as well as those of 5 and 6 in the water extracts of



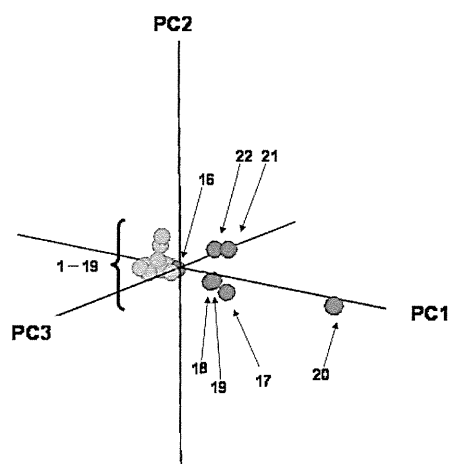
**Figure 1:** Structure of the marker compounds identified. 1, cinnzeylanine; 2, cinnzeylanol; 3, anhydrocinnzeylanol; 4, cinncasinol A; 5, epicatechin; 6, procyanidin B2

the Chinese and Vietnamese cassia are shown. Some differences can be seen between the chromatograms of the Chinese and Vietnamese samples. Relatively large amounts of diterpenes were detected in the Vietnamese samples, whilst larger amounts of catechin derivatives were detected in the Chinese samples. Although there are clear visual differences between the chromatograms of the Chinese and Vietnamese samples, for an easier and non-biased interpretation of the results and to reduce the dimensionality of the multivariate data obtained from the LC-MS results, we analyzed the LC-MS data using principal component analysis (PCA).

In Figure 3, the PCA scores plot is shown, where each cassia sample is represented by a marker. The first three PCs account for 96.2% of the total variance (PC1, 86.9%; PC2, 5.2%; PC3, 4.1%). The scores plot clearly indicates that the chemical constituents in the extracts from Chinese and Vietnamese cassia are different. Ravindran *et al.* [7] has stated that Chinese cassia and Vietnamese cassia are derived from the same species, *C. cassia*, and Tochimoto-Tenkaido [8] has reported that the harvesting techniques prevalent



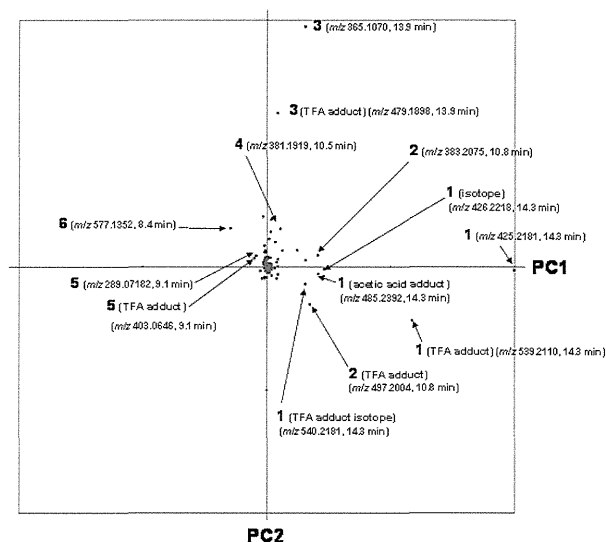
**Figure 2:** Total ion chromatograms and mass chromatograms of (A) sample 6 (Chinese cassia) and (B) sample 22 (Vietnamese cassia) measured in the negative ion scan mode. (1) Total ion chromatogram (TIC); (2)  $m/z$  381.1919 ( $[M-H]^-$  of 4); (3)  $m/z$  382.2075 ( $[M-H]^-$  of 2); (4)  $m/z$  365.1970 ( $[M-H]^-$  of 3); (5)  $m/z$  425.2181 ( $[M-H]^-$  of 1); (6)  $m/z$  289.0706 ( $[M-H]^-$  of 5); (7)  $m/z$  577.1340 ( $[M-H]^-$  of 6).



**Figure 3:** PCA scores plot of the Chinese and Vietnamese cassia samples. blue ●, Chinese cassia; red ●, Vietnamese cassia. The numbers indicate the sample number in Table 1.

in China and Vietnam affect the difference in quality between cassia products; Chinese products are collected from four- to five-year old shoots, whereas Vietnamese products are collected from trees almost 15 years older. In Figure 3, one Vietnamese sample (sample No. 16) is located in the group of Chinese products. This sample was produced in Yen Bai province and derives from relatively younger trees (8 years old) than the other Vietnamese products. It is considered that the number of years of cultivation of the tree correlates with the difference in chemical constituents.

In the chemometric analysis, the ions detected with large loading values can be considered to be markers that strongly contribute to the classification of the samples by PCA (Figure 4). In the present study, 6 compounds, cinnzeylanine (**1**), cinnzeylanol (**2**), anhydrocinnzeylanol (**3**), cinncasinol A (**4**), epicatechin (**5**) and procyanidin B2 (**6**), were distinguished as marker compounds and these were identified in the negative ion mass spectrometric analysis of the elemental composition information, as well as in the MS/MS data. In addition, the loading plot (Figure 4) indicates that Vietnamese cassia contains larger amounts of diterpenes; in particular the amount of compound **1** is higher than in Chinese samples, while Chinese cassia is characterized by relatively higher amounts of epicatechin and procyanidin B2. Compounds **1** and **2**



**Figure 4:** PCA loading plot of the Chinese and Vietnamese cassia samples. The numbers in the figure indicate the compounds in Figure 1.

have pentacyclic skeletons, the structures of which are the same as the diterpene moiety of ryanodine, an insecticidal constituent from *Ryania speciosa*, which is well known as a ryanodine receptor antagonist [14,15]. Isogai *et al.* [16] reported the insecticidal activity of the compounds. Cassia is an important ingredient in Japanese and Chinese traditional medicine for the treatment of influenza. Recently, Orihara *et al.* [17] have reported the antiviral activity of **1**. It is very interesting that Vietnamese cassia contains high concentrations of these bioactive diterpenes, which are the source of its medicinal qualities.

Recently, much research on the bioactivity of procyanidins in cinnamon and cassia has been carried out [18,19]. Lu *et al.* [18] reported that procyanidin B2 is the major constituent of *C. cassia* and A-type procyanidins of *C. japonica*. In the present study, procyanidin B2 was detected predominantly in all the Chinese samples and it was clarified that a high content of this compound characterizes Chinese cassia.

In Figure 5, the negative ESI-MS and MS<sup>2</sup> spectra of the detected marker compounds **1–4** are shown. In the MS<sup>2</sup> spectrum, from the  $[M-H]^-$  ( $m/z$  425.2157, (C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>O<sub>8</sub>-H)<sup>-</sup>) of **1**, characteristic ions attributable to the loss of ketene (CH<sub>2</sub>CO) and acetic acid (CH<sub>3</sub>COOH) were observed at  $m/z$  383.2054 and  $m/z$  365.1948, respectively. From the MS<sup>3</sup> analysis, a major product ion at  $m/z$  261.1123 (C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>O<sub>4</sub>)<sup>-</sup> was confirmed as being generated from the ion at  $m/z$  365.1943, and this fragmentation is attributable to the cleavage of C<sub>5</sub>H<sub>8</sub> and 2H<sub>2</sub>O at the acetylated six membered ring.

Isogai *et al.* [16] have identified the detailed structure using x-ray crystallography, which indicates a steric strain at the acetylated six-membered ring of **1**. It is considered that the major fragmentation process of **1** is due to strain in the chair form of the six-membered ring, leading to its cleavage after the loss of the acetic acid moiety.

In the MS<sup>2</sup> spectra, from the  $[M-H]^-$  ions of **2**, **3** and **4**, a series of products due to the successive cleavage of water or carbon dioxide were detected, as shown in Figure 5. In addition, in the MS<sup>2</sup> spectrum of **4**, a significant product was detected at  $m/z$  407.3304, attributable to the loss of CH<sub>2</sub>O at C19. The structures of **5** and **6** were confirmed as epicatechin and procyanidin B2, respectively, by comparison of their HPLC retention times, and the  $[M-H]^-$  ions of their MS/MS spectra with those of reference standards.