

図9 ゲルろ過クロマトグラフィーにより分画したフラクション処理5時間後の *L. reuteri* 増殖度 (n=6)

投与濃度 (mg/ml) : オリゴ糖画分 (5.7), Fr.1 (0.3), Fr.2 (1.1), Fr.3 (2.1), Fr.4 (2.2)

分担研究課題 生薬及び生薬製剤の品質確保と安全性・有効性等に関する研究

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

六君子湯の抗炎症性サイトカイン IL-10 発現増強活性に関する研究

我々は漢方処方の有効性・安全性に関する研究として腸内環境に対する漢方処方の影響について検討する中で、腸内免疫において重要な役割を果たすマクロファージを取り上げ、抗炎症性サイトカイン Interleukin-10 の誘導活性を指標としてスクリーニングを行い、六君子湯に活性を見出している。本研究では、六君子湯の構成生薬単味あるいは一味欠処方において活性を検討し、半夏に強い活性を確認した。また、半夏に含有される活性成分は、逆相固相抽出及び配位子交換クロマトグラムでの挙動から高分子量の糖鎖であると推定された。

A. 研究目的

一般用医薬品を利用したセルフメディケーションの考え方が国民の間に広く浸透しつつある昨今、一般用漢方製剤においても国民のニーズに合わせた見直しが進められている。現代の日本では、生活様式の欧米化と共に、人口分布の高齢化が進み、社会構造が大きく変化している。これに伴い、生活習慣病や痴呆の増加など疾病構造も変化し、既に市場で流通している一般用漢方処方の積極的利用に加え、現代社会の要求に対応し得る新しい処方の育成が待望されている。

厚生労働省は、平成 14 年に一般用医薬品承認審査合理化等検討会を開催し、その中間報告として、「セルフメディケーションにおける一般用医薬品のあり方について 提言-具体的な方策-」を公表し、その具体的な方策の一つとして、一般用漢方処方の見直しとその積極的な活用を提言している。我々は、これに対して厚生労働科学研究費補助金による研究班報告書として「新一般用漢方処方の手引き案（改訂版）」（平成 20 年 3 月）を公表したが、この報告書を基盤とした厚生労働省薬事・食品衛生審議会一般用医薬品部会の審議

において、昭和 40 年代末に公表された一般用漢方処方承認内規の約 30 年振りの見直しと新規処方の承認基準収載が検討され、その結果、平成 20 年 9 月 30 日薬食審査発第 0930001 号通知、平成 22 年薬食審査発 0401 第 2 号通知、平成 23 年 4 月 15 日薬食審査発 0415 第 1 号通知及び平成 24 年 8 月 30 日薬食審査発 0830 第 1 号通知として、一般用漢方製剤承認基準が発出されている。これらの通知は従来の 210 処方に加えて、「新一般用漢方処方の手引き案（改訂版）」において承認基準への追加収載を提案された 85 処方のうち 80 処方が収載されている。

一般用漢方製剤承認基準に収載された処方は、長年の臨床使用経験により有効性・安全性を担保されているが、この経験的な保証に加え、現代科学的視点による評価を付与することが必要と思われる。我々はこれに対して、漢方処方の腸内環境への関与という新たな視点で考察を進め、現在までに、腸内細菌の生育及び有機酸生産に対する漢方処方の影響について検討し、また、小腸上皮細胞におけるトランスポーター遺伝子の発現に対する影響についても検討を進めている。さらに、

小腸上皮細胞の周辺に局在し、腸内の炎症反応に深く関与するマクロファージ細胞に着目し、そのサイトカイン産生に対する影響について検討している。既に、「新一般用漢方処方の手引き案(改訂版)」に記載された 298 処方の中から、効能・効果として下部消化管への作用が謳われている処方を中心として、マクロファージ細胞が生産するサイトカインの発現に対する影響についてスクリーニングを行い、附子理中湯及び六君子湯を含むいくつかの処方に抗炎症性サイトカイン Interleukin-10 (IL-10) の発現を促進させる活性を見出している。本研究では、六君子湯が有する抗炎症性サイトカイン IL-10 の発現促進活性について、その活性成分の分離を進め、いくつかの知見を得たので報告する。

B. 研究方法

試薬及び器具

六君子湯の構成生薬である人参、白朮、茯苓、半夏、陳皮、大棗、甘草及び生姜は、ウチダ和漢薬より日本薬局方規格品を購入して用いた。DMEM 培地(GIBCO DMEM+GlutaMax™-1)、RPMI1640 培地(GIBCO RPMI+GlutaMax™-1)、Penicillin-Streptomycin 溶液は Invitrogen 製を用いた。ウシ胎児血清 (FBS) は、カナダ Cansera 社製の CCT-Fetal Bovine Serum を三光純薬より購入した。LPS (Lipopolysaccharides from *Escherichia coli* 0127:B8) は SIGMA-ALDRICH より購入した。糖鎖標品としてのマルトトリオース (BC-G3)、マルトペンタオース (BC-G5)、マルトヘプタオース (BC-G7) 及び G1~G10 mix (BC-GM) はセンシユ科学より購入した。水は MilliQ 水を用いた。

サイトカインの定量には、Meso Scale Discovery 社の 96-Well Mouse Cytokine Assays Tissue Culture Kit を用いた。0.45 μ m 孔のメンブランフィルターは MILLIPORE Ultrafree-CL Centrifugal Filter Units UFC40HV05 を用いた。24 穴マルチプレート (FALCON MULTIWELL™

24well) は BD バイオサイエンスより購入した。100mm シャーレ、96 穴プレート及びセルスクレーパーは旭テクノグラス製のものを用いた。

固相抽出カラムは Waters 社の Oasis HLB (30 mg/1cc) を用いた。HPLC による分析分離には、ODS カラムとして Inertsil ODS-4 (5 μ m, 4.6 \times 250 mm, GL サイエンス)、配位子交換カラムとして SUGAR KS-802 (8.0 \times 300 mm, Shodex) を用いた。

設備及び機器

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 (東京理化工機) を用いて行った。細胞は SANYO の CO₂ インキュベーター MCO-5AC で培養し、SANYO のクリーンベンチ MCV-91BNF 内で無菌操作を行った。電気化学発光法によるサイトカインの定量には、Meso Scale Discovery 社のプレートリーダー Sector Imager 2400 を用いた。溶媒の留去には、佐久間製作所の遠心エバポレーター EC-57CS を用いた。LC-CAD 分析における LC 部は、LC-20AD (ポンプ)、SPD-M20A (検出器)、DGU-20A₃ (デガッサー)、SIL-20AC (オートサンプラー) 及び CTO-20AC (カラムオープン) から構成される島津製作所の Prominence システムを用いた。検出器としてフォトダイオードアレイ検出器 SPD-M20A (島津製作所) 及び荷電化粒子検出器 Corona CAD (日本ダイオネクス) を用いた。

漢方処方及び構成生薬のエキス調製

六君子湯のエキス調製においては、人参 (4)、白朮 (4)、茯苓 (4)、半夏 (4)、陳皮 (2)、大棗 (2)、甘草 (1) 及び生姜 (0.5) の配合比で構成生薬をポット (らくらく煎) に取り、生薬総重量の 20 倍量の水を入れ、半量になるまで煎じた。熱いうちに茶漉しでろ過し、広口の三角フラスコに移して冷ました。冷めた煎出液を 50 mL チューブに分注し、遠心 (3000 rpm, 5 min, Kubota 6500) した後、デカントで上清をナスフラスコに移した。これを -45°C で 90 分冷やして予備凍結させ

た後、凍結乾燥機で2日間凍結乾燥させてエキスを調製した。生薬単味エキスは生薬20gに関して処方と同様の方法で調製した。

検体試料溶液の調製

凍結乾燥エキスを5mg/mLの濃度で血清抜き RPMI1640 培地 (100 units/mL penicillin、100 μ g/mL streptomycin) に溶解させ、孔径 0.45 μ m のメンブレンフィルターによりろ過し、検体試料原液を調製した。細胞に投与する際は、この原液を血清抜き RPMI1640 培地 (100 units/mL penicillin、100 μ g/mL streptomycin) にて適切な濃度へ希釈した後に用いた。

培養細胞

マウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 (ATCC: TIB-71) は、大日本住友製薬より購入した。RAW264.7 細胞の継代培養は、DMEM 培地 (10% FBS、100 units/mL penicillin、100 μ g/mL streptomycin) で、37°C、5% CO₂、暗黒下に行った。継代する際は、セルスクレーパーでシャーレより剥がし、新鮮培地に1/5~1/20の希釈倍率で播種した。サイトカイン発現量定量においては、24穴プレートに1.7×10⁵ cells/1mL/wellの濃度で細胞を播種し、24時間培養した後に用いた。

サイトカイン発現量の定量

24穴プレートからDMEM培地を吸引除去し、血清抜き RPMI1640 培地にて希釈した検体試料溶液 (最終濃度が50 μ g/ml) を950 μ Lで投与した。対照区には血清抜き RPMI1640 培地950 μ Lを投与した。この状態で30分間培養した後、血清抜き RPMI1640 培地に溶かしたLPSを50 μ g/well (最終濃度100ng/ml) で添加し、さらに6時間培養した後、培地を収穫した。収穫した培地中のサイトカイン量は、Meso Scale Discovery社の96-Well Mouse Cytokine Assays Tissue Culture Kitに従って測定した。サイトカイン濃度は、Kit添付のサイトカイン標準液より得た検量線を基準に算

定した。サイトカイン定量における細胞処理実験は独立に3回行った。

逆相カラムによるLC分析

種々の煎出エキスあるいは分画フラクションの水溶液を、逆相カラム Inertsil ODS-4 に供し、(A) 水/AcOH (1000/5) 及び (B) MeOH/AcOH (1000/5) を移動相として、以下の条件により溶出した。

カラム温度: 40°C

移動相: (A) 水/AcOH (1000/5) 及び (B) MeOH/AcOH (1000/5)

グラジエント (A)/(B) :

90/10 (0min) - 90/10 (5min) - 0/100 (45min) - 0/100 (60min) - 90/10 (65min) - 90/10 (80min)

検出器: PDA-CAD

流速: 0.8 mL/min

サンプル注入量: 10 μ L

逆相担体による固相抽出

Oasis HLB カラム (30 mg/1cc) に MeOH 1 mL を流してコンディショニングし、水 1 mL を流し平衡化させた。ここに適当な濃度に調製したエキス水溶液を 1 mL ロードし、水、50% MeOH 水溶液及び MeOH によりそれぞれ 1 mL で 2 回ずつ溶出させた。溶出溶媒を変える時には、遠心 (2000 rpm、5 分、Kubota6500) により残存溶媒を回収した。溶出画分は遠心エバポレーターにより溶媒を完全に飛ばし、適切な溶媒に溶解してから LC による分析及び分離を行い、また、サイトカイン発現促進活性を測定するため、培養細胞に投与した。

配位子交換カラムによる活性成分の分析及び分離

六君子湯及び半夏単味の煎出エキスにおける Oasis HLB カラム非吸着画分を、配位子交換カラム SUGAR KS-802 に供し、水を移動相として 0.4 mL/min で Isocratic に溶出させた。検出器は PDA-CAD を用い、カラムオーブンは 80°C に設定し

た。また、分離フラクションを分取する際は、CAD 検出器への接続を外し、1 分毎に溶出液を分取して溶媒を留去し、適切な溶媒に溶解してから、サイトカイン発現促進活性を測定するため、培養細胞に投与した。

倫理面への配慮

本研究で用いるマウス培養細胞はいずれも株化されて全世界で汎用される細胞であり、倫理面を考慮すべき研究材料ではない。

C. 研究結果

六君子湯構成生薬における IL-10 発現増強作用

マウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 における抗炎症性サイトカイン Interleukin-10 (IL-10) の発現を増強させる六君子湯の活性について、どの構成生薬が寄与するものであるか明らかにするため、構成生薬の単味煎出エキスの IL-10 発現に対する影響を観察した。それぞれの構成生薬の投与濃度は、単味で煎出した場合のエキス収率から六君子湯配合量当たりのエキス収量期待値を求め、そのエキス収量期待値の構成比に従って六君子湯煎出エキスの 50 μ g/mL を割り振ることにより決定した (表 1)。六君子湯構成生薬のうち、半夏に最も強い IL-10 発現増強活性を見出し、甘草及び白朮にも弱い活性を観察した (図 1)。

六君子湯及び構成生薬煎出エキスの逆相カラムによる成分分析

六君子湯及びその構成生薬の煎出エキスについて、荷電化粒子検出器 Corona CAD (図 2) 及びフォトダイオードアレイ検出器 PDA (254nm) (図 3) を検出器とする逆相 HPLC による成分分析を行った。半夏については CAD、PDA ともに目立ったピークが観察されなかった。

六君子湯去一味処方エキスにおける IL-10 発現増強作用及び逆相カラムによる成分分析

六君子湯の配合生薬からいずれか 1 つを抜いて

調製した一味欠処方エキスの IL-10 発現に対する影響を検討した。去半夏処方において六君子湯完全処方と比較してほとんど活性が消失していた (図 4)。また、去甘草及び去生姜においても活性抑制が見られた。一方、単味で IL-10 増強活性が見られた生薬のうち、白朮についてはそれを去しても活性にほとんど影響が無かった。それぞれのエキスについて逆相 HPLC により分離し、Corona CAD (図 5) 及び PDA (図 6) にて観察したが、クロマトグラム上で去半夏あるいは去甘草並びに去生姜における活性減弱を説明し得る変化は観察されなかった。

六君子湯及び半夏単味煎出エキスの逆相固相抽出カラムによる分画

六君子湯及び半夏に含まれる IL-10 発現増強活性成分の分離を進めるため、逆相充填剤による分画を試みた。水で平衡化させた固相抽出カラム (Waters 社、Oasis HLB) に六君子湯及び半夏単味煎出エキスの水溶液を添加し、水、50%MeOH 及び MeOH にて溶出させて、それぞれの画分における IL-10 発現増強活性を測定したところ、六君子湯及び半夏単味煎出エキス共に、非保持画分 (図 7 及び図 10 の画分番号 1) にほとんどの活性が局在していた。それぞれの画分について逆相カラムによる分析を行ったところ、活性の観察された画分では、CAD 検出においていずれも目立ったピークは保持時間 0~10 分の極めて極性の高い領域にのみ検出された (図 8 及び図 11)。また、この保持時間 0~10 分の領域は UV254nm の吸収は弱いものであった (図 9 及び図 12)。

半夏単味煎出エキスの活性画分の配位子交換カラムによる分離

極性が非常に高く、しかも UV 吸収が弱いことから、活性成分は糖鎖である可能性が高いと推測されたため、オリゴ糖分析用の配位子交換カラム SUGAR KS-802 による分離を試みた (図 13)。半夏単味煎出エキス水溶液の固相抽出カラム非保持

画分をカラムに掛け、1分毎にフラクションを取り、IL-10 発現増強活性を調べたところ、画分 9 及び 10 (保持時間 8~10 分) の画分に活性が見られた (図 14)。保持時間 8~10 分の画分は、G1~G10 のオリゴマルトース標品との比較から、糖鎖であれば G10 を遥かに超える高分子量に相当することが推測された (図 13)。

D. 考察

マウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 のサイトカイン生産に対する漢方処方煎出エキスの影響を検討し、六君子湯に見出したマウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 における抗炎症性サイトカイン IL-10 の発現増強活性に関して、その構成生薬のうち、半夏に強い IL-10 発現増強活性が観察された。さらに、活性成分の分離を進める中で、その成分本質が 10 糖以上の糖鎖である可能性を見出した。

近年患者数が増加しつつある炎症性腸疾患は発症の原因が未解明であり、遺伝的要因、腸内細菌の関与、食品あるいは医薬品により誘起される炎症、腸管細胞における血流障害、若しくは炎症性サイトカインの関与等が候補に挙げられている状況であり、根治的な治療法も見出されていない。本研究で半夏に見出された抗炎症性サイトカイン IL-10 の発現増強作用は、炎症性腸疾患の新しい治療法として貢献する可能性を秘めている。

一方、漢方処方及び生薬の有効成分として、アルカロイドやトリテルペン等の二次代謝産物はよく知られているが、糖鎖も重要な役割を果たすと指摘されつつ、活性成分として糖鎖化合物がその詳細な構造まで同定された研究はほとんどない。ある程度の分子量を持つ糖鎖が活性本体である場合、活性を有する糖鎖だけを他の糖鎖から単離することは容易ではないが、近年の天然物化学分野での分離技術及び分析手法の発展は目覚ましいものがあるため、半夏に含まれる活性本体の単離同定に向けてさらに検討を進める予定である。当面、高分子量多糖の分離に特化したカラム

による精製や糖加水分解酵素による部分分解の効果の検討を計画している。

また、六君子湯の去一味処方での検討から、去半夏処方において六君子湯の持つ IL-10 発現増強活性が失われることを確認すると共に、去甘草及び去生姜においても IL-10 発現増強活性が減弱されることを見出した。これは、甘草並びに生姜と半夏の間に相互作用があることを示すものと思われる。この相互作用には煎出時に共存することが必要であるのか、あるいは煎出された後で成分同士が相互作用するものであるのか、等の可能性を含めて今後検討する予定である。

E. 結論

一般用漢方処方の有効性及び安全性に関する研究の一環として、マウスマクロファージ様細胞をモデル系として用い、六君子湯に抗炎症性サイトカイン IL-10 の発現増強活性を見出し、その構成生薬のうち半夏に最も強い活性を検出した。その活性本体について検討を進めたところ、高分子量の糖鎖である可能性が示唆された。今後、活性本体の単離同定に向けてさらに検討を進める予定である。

F. 研究発表

1. 学会発表

坂上祐香、湯浅宗光、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(13) 六君子湯エキスによる抗炎症性サイトカインの発現増強、日本薬学会第 133 年会、平成 25 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

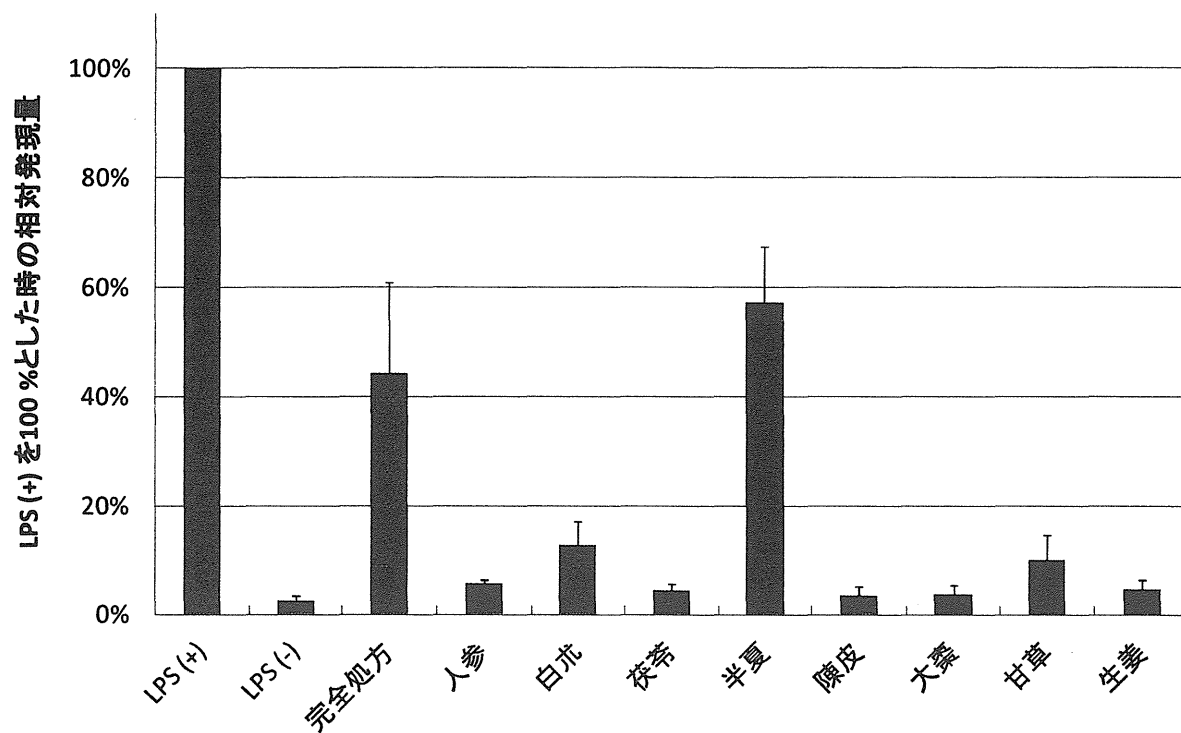
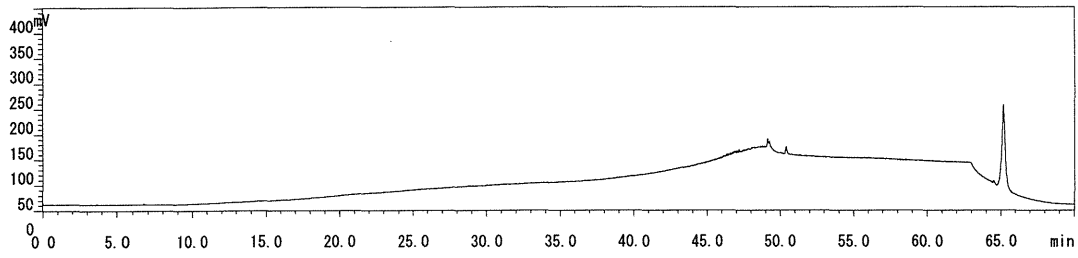


図 1 RAW264.7 細胞における抗炎症性サイトカイン IL-10 の発現に対する六君子湯及びその構成生薬の単味煎出エキスの影響

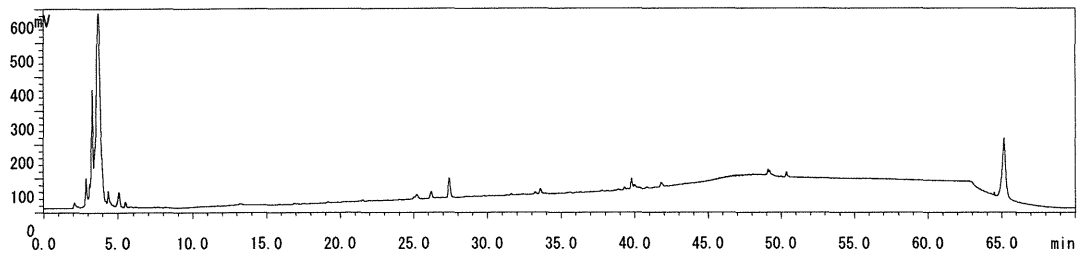
煎出エキスの投与濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) : 六君子湯 (完全処方) (50)、人蔘 (12.0)、白朮 (15.8)、茯苓 (0.22)、半夏 (3.2)、陳皮 (6.1)、大棗 (9.7)、甘草 (2.7) 及び生姜 (0.24)

値は平均 \pm S. D. (n=3)

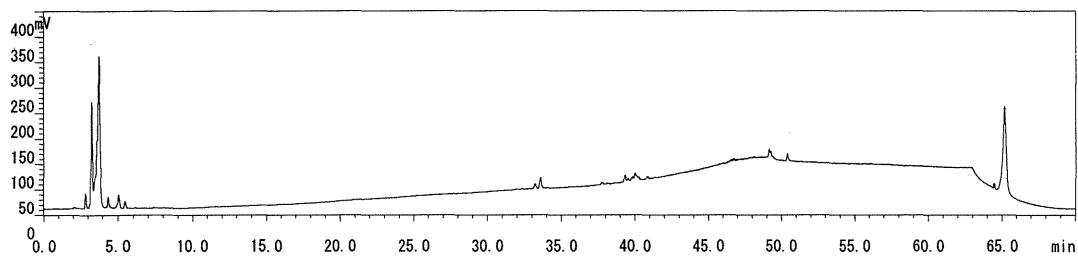
MeOH CAD



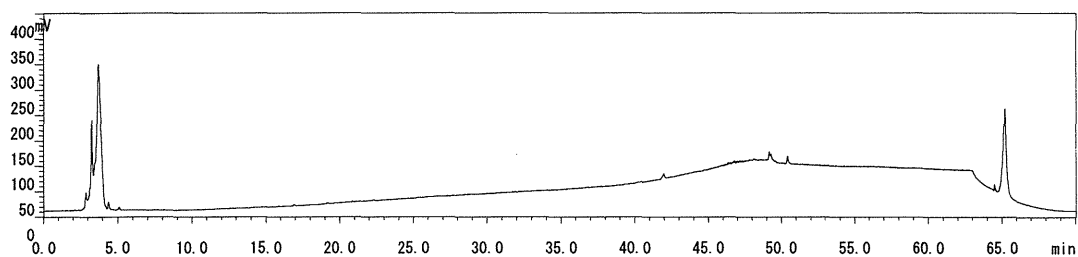
K37 六君子湯完全処方CAD



K37 S39 人参(六君子湯中含有量相当濃度) CAD



K37 S44 白朮(六君子湯中含有量相当濃度) CAD



K37 S45 茯苓(六君子湯中含有量相当濃度) CAD

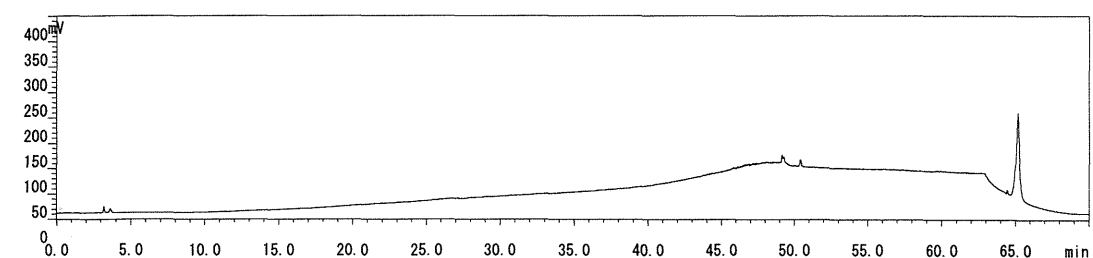
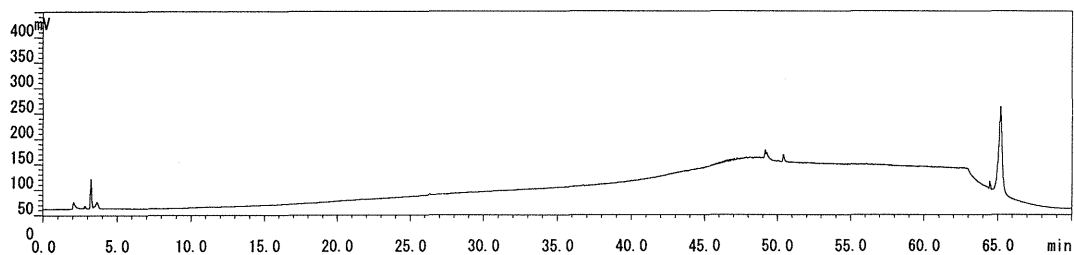
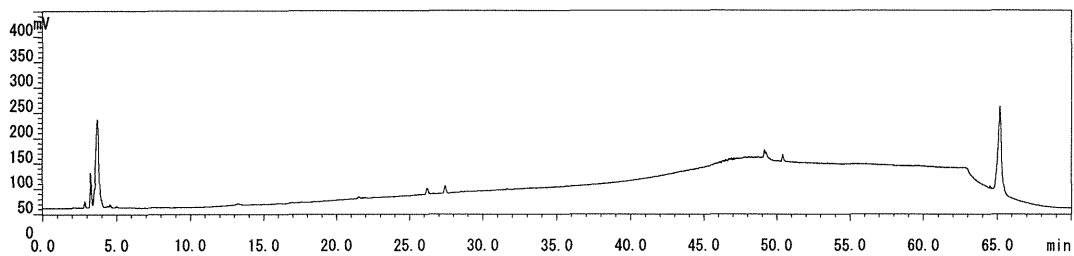


図2 逆相 HPLC カラムによる六君子湯及びその構成生薬単味煎出エキスの CAD 検出による LC 分析 (1/2)

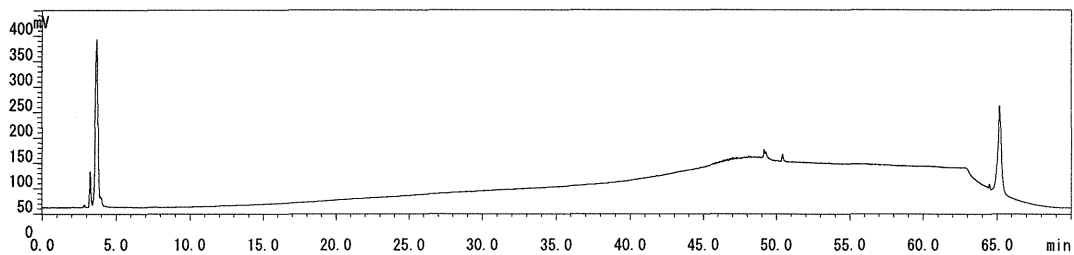
K37 S42 半夏(六君子湯中含有量相当濃度) CAD



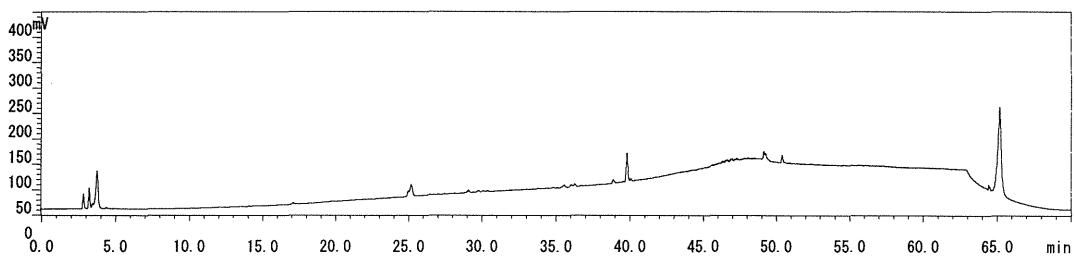
K37 S34 陳皮(六君子湯中含有量相当濃度) CAD



K37 S31 大棗(六君子湯中含有量相当濃度) CAD



K37 S08 甘草(六君子湯中含有量相当濃度) CAD



K37 S25 生姜(六君子湯中含有量相当濃度) CAD

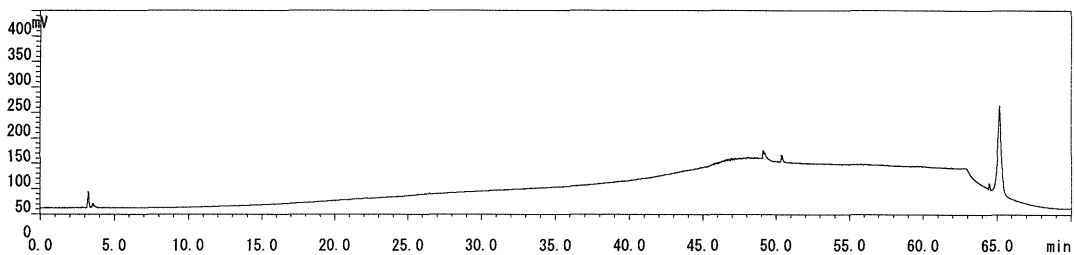
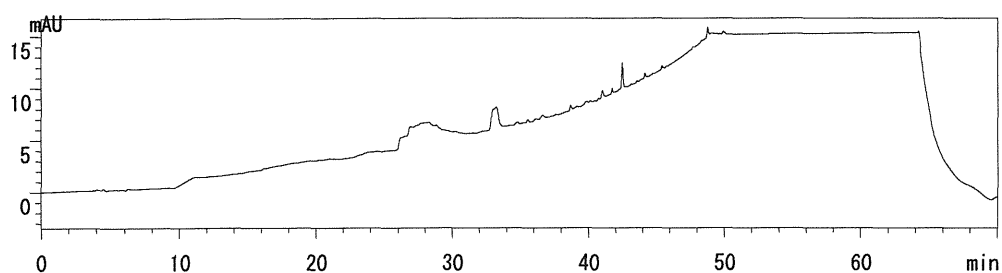
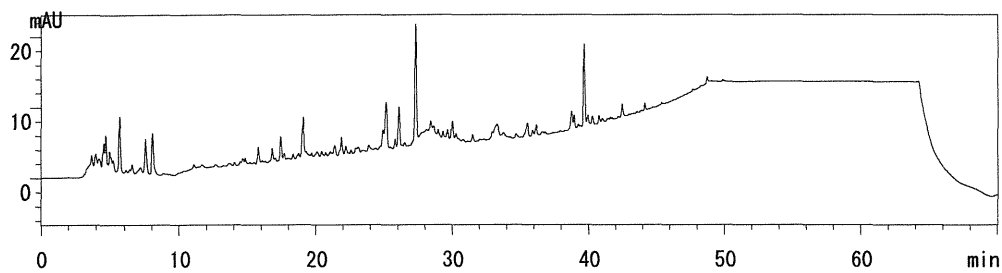


図2 逆相 HPLC カラムによる六君子湯及びその構成生薬単味煎出エキスのカド検出による LC 分析 (2/2)

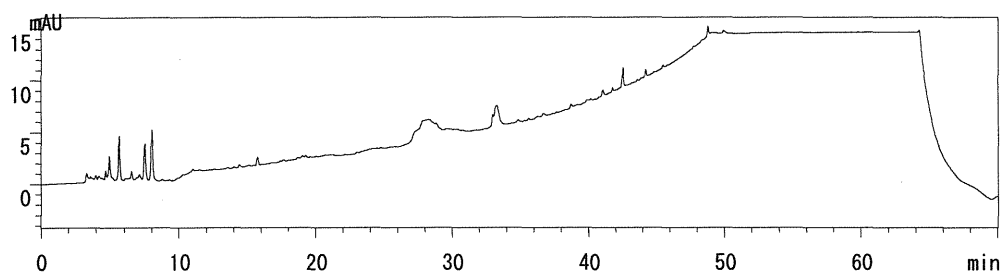
MeOH UV254



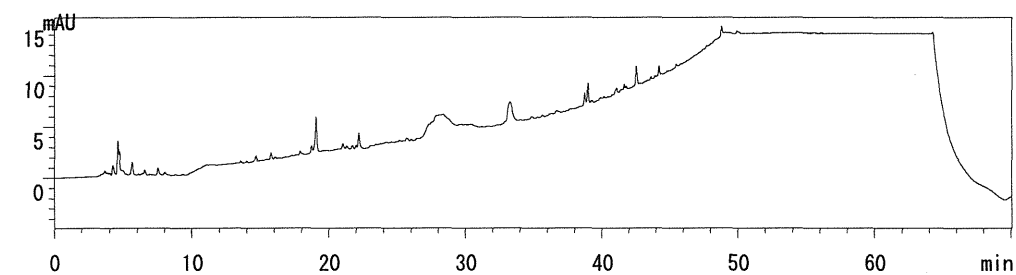
K37 六君子湯完全処方 UV254



K37 S39 人参(六君子湯中含有量相当濃度) UV254



K37 S44 白朮(六君子湯中含有量相当濃度) UV254



K37 S45 茯苓(六君子湯中含有量相当濃度) UV254

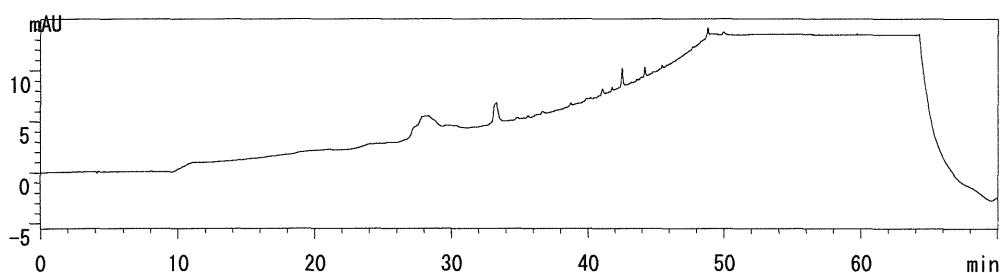
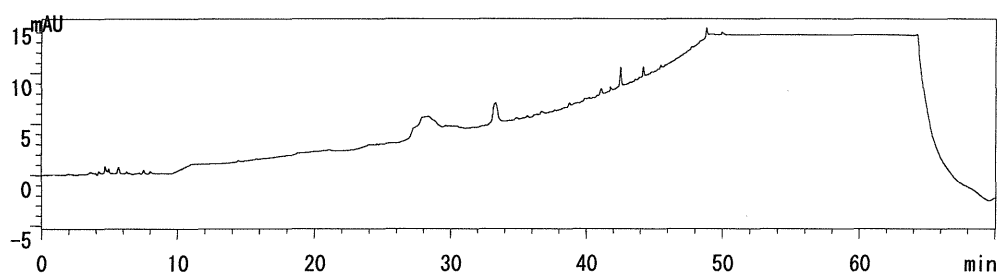
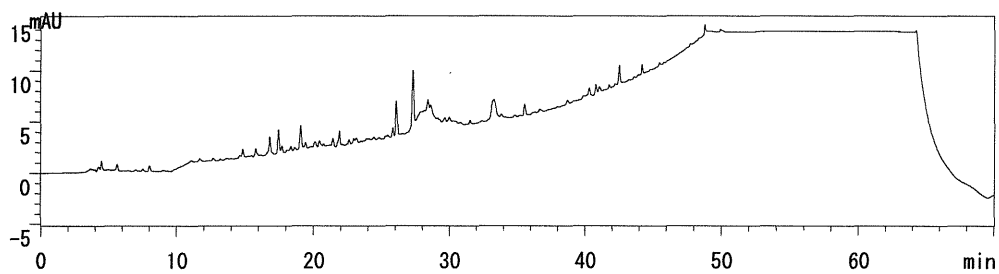


図3 逆相 HPLC カラムによる六君子湯及びその構成生薬単味煎出エキスの PDA 検出による LC 分析 (1/2)

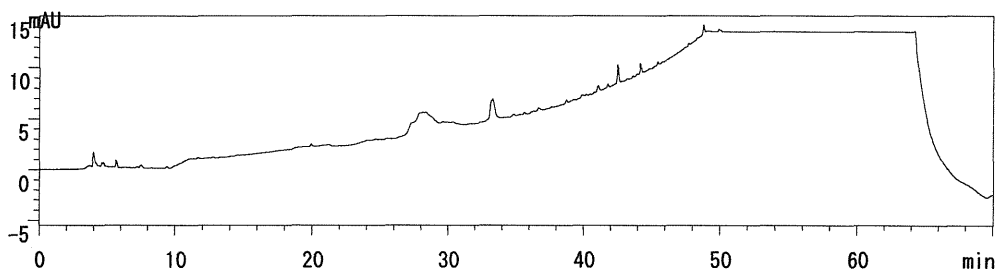
K37 S42 半夏(六君子湯中含有量相当濃度) UV254



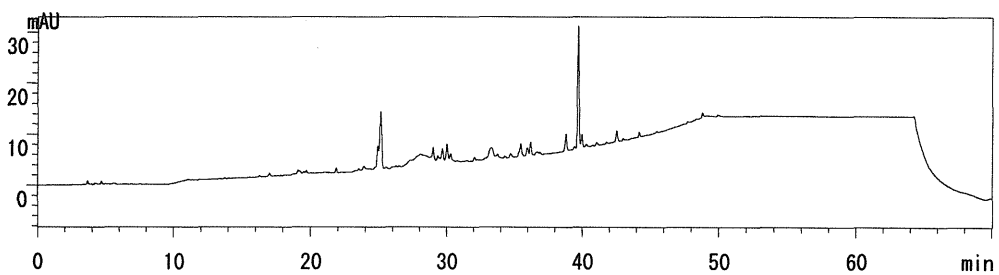
K37 S34 陳皮(六君子湯中含有量相当濃度) UV254



K37 S31 大棗(六君子湯中含有量相当濃度) UV254



K37 S08 甘草(六君子湯中含有量相当濃度) UV254



K37 S25 生姜(六君子湯中含有量相当濃度) UV254

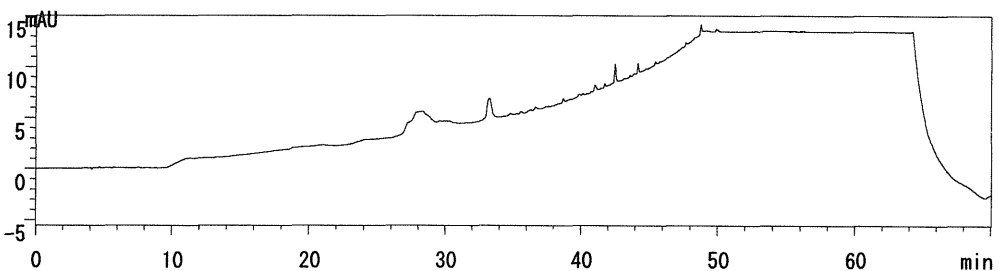


図3 逆相 HPLC カラムによる六君子湯及びその構成生薬単味煎出エキスの PDA 検出による LC 分析 (2/2)

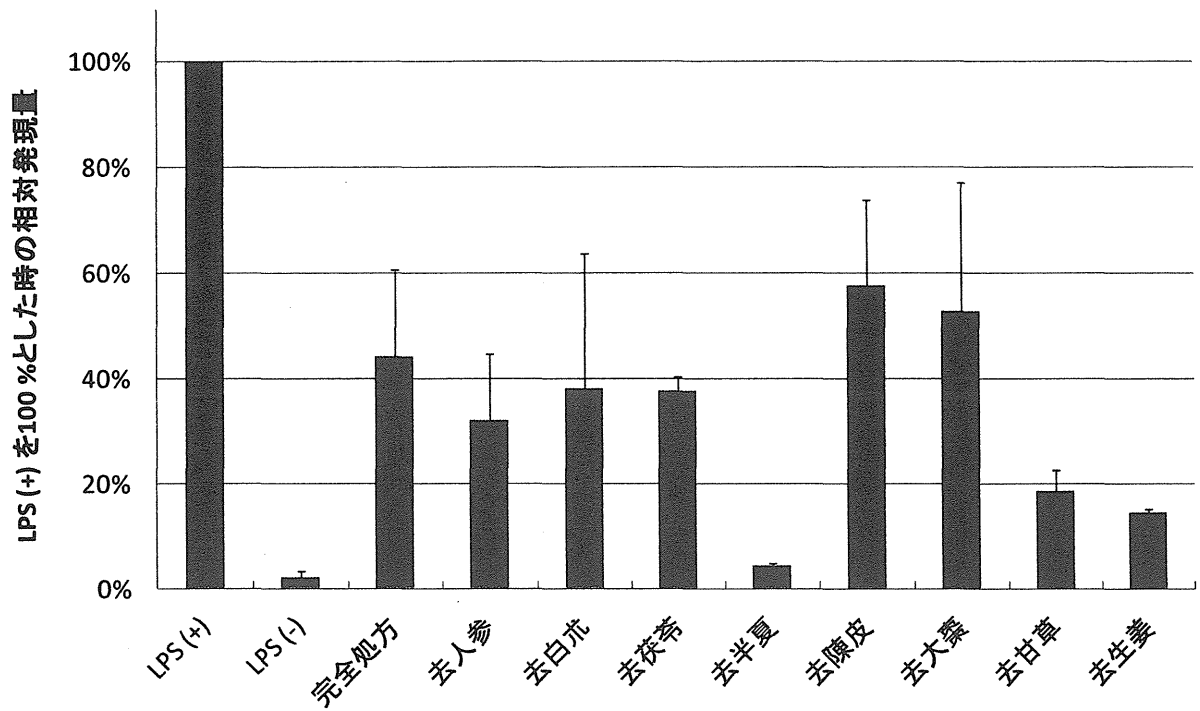
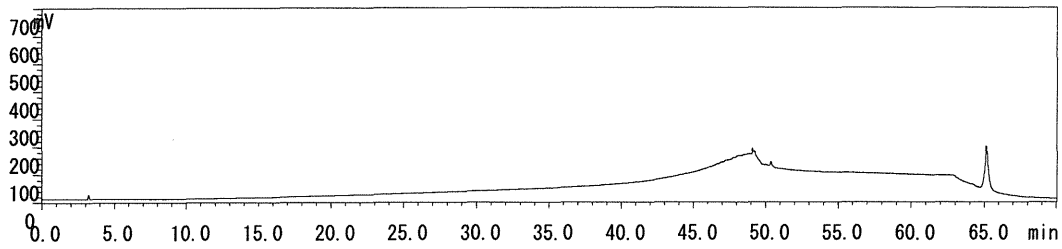
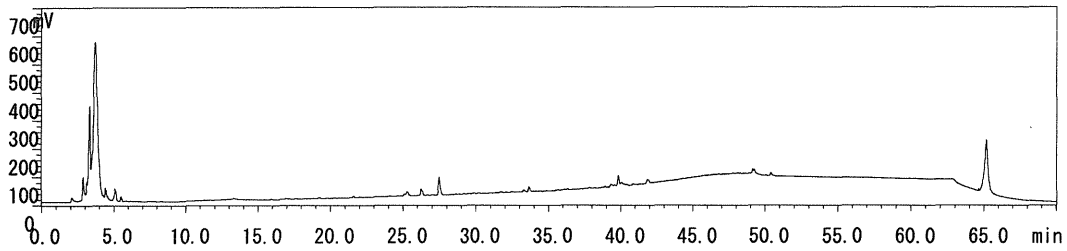


図4 RAW264.7細胞における抗炎症性サイトカインIL-10の発現に対する六君子湯去一味エキスの影響
 値は平均±S. D. (n=3)

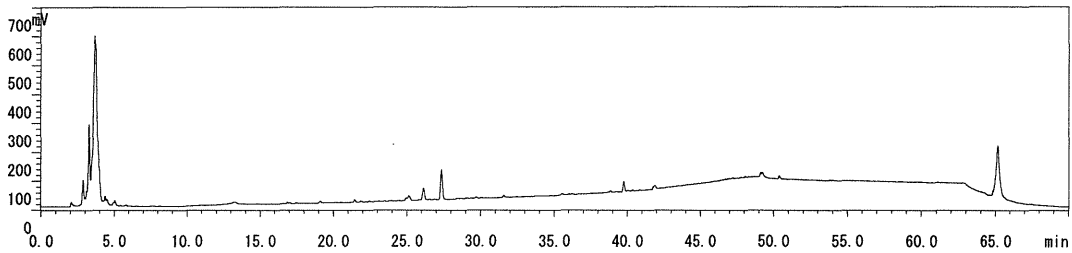
MeOH CAD



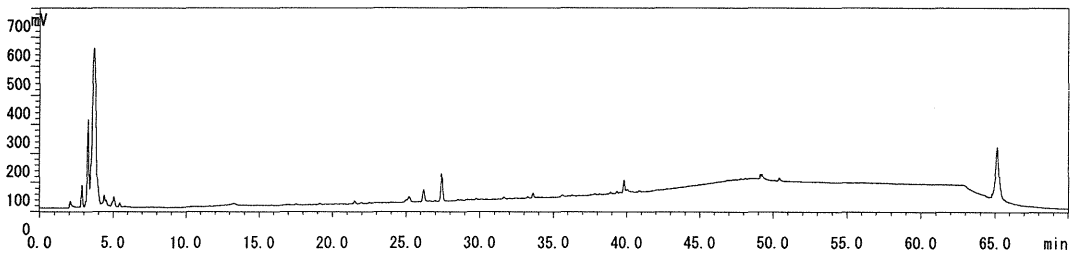
K37六君子湯完全処方 CAD



K37-S39 去人參 CAD



K37-S44 去白朮 CAD



K37-S45 去茯苓 CAD

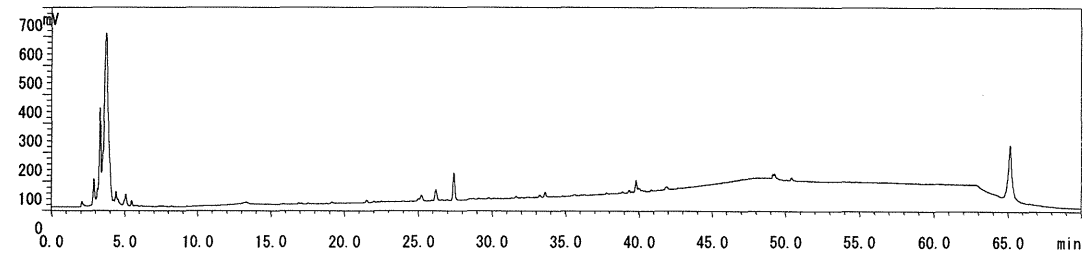
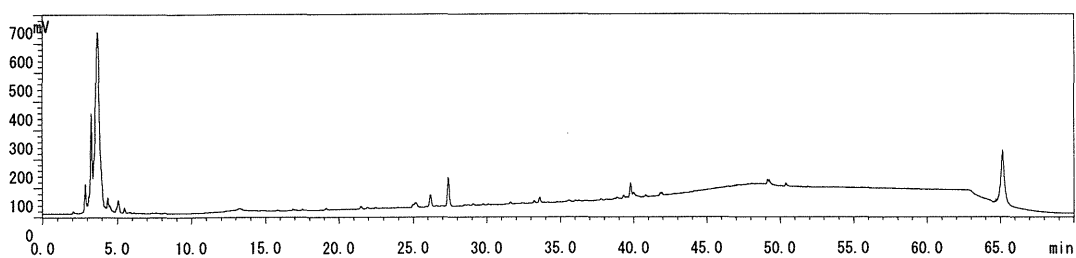
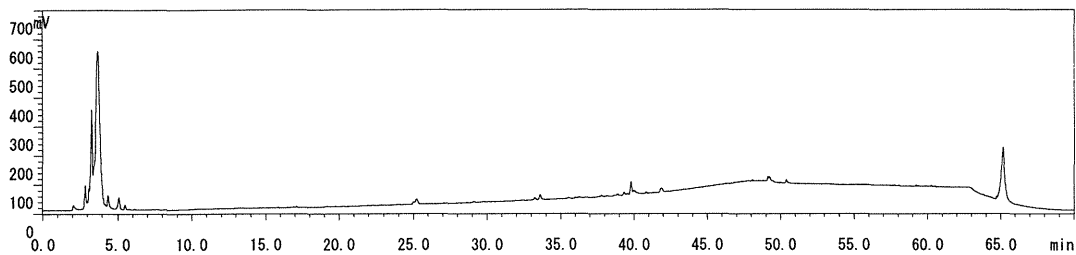


図5 逆相HPLCカラムによる六君子湯去一味処方エキスのCAD検出によるLC分析 (1/2)

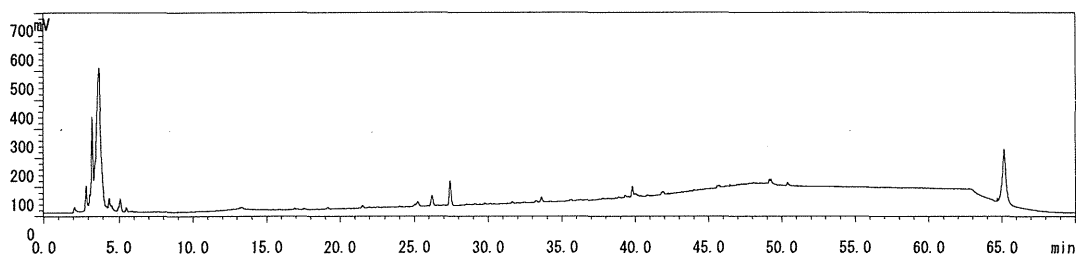
K37-S42 去半夏 CAD



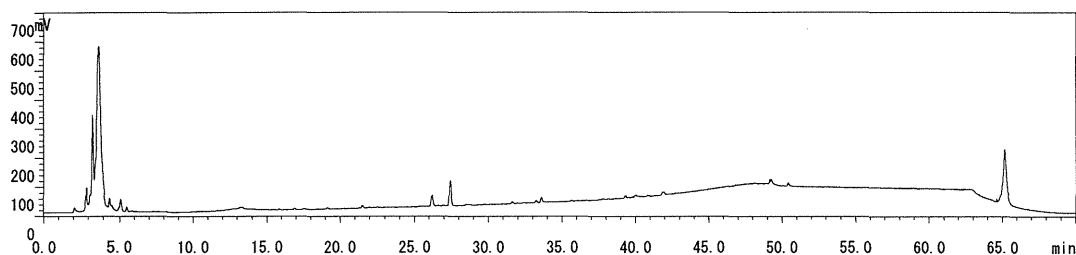
K37-S34 去陳皮CAD



K37-S31 去大棗 CAD



K37-S08 去甘草 CAD



K37-S25 去半夏 CAD

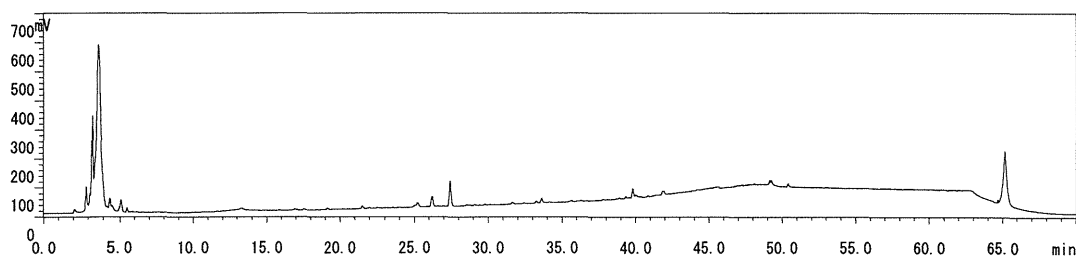
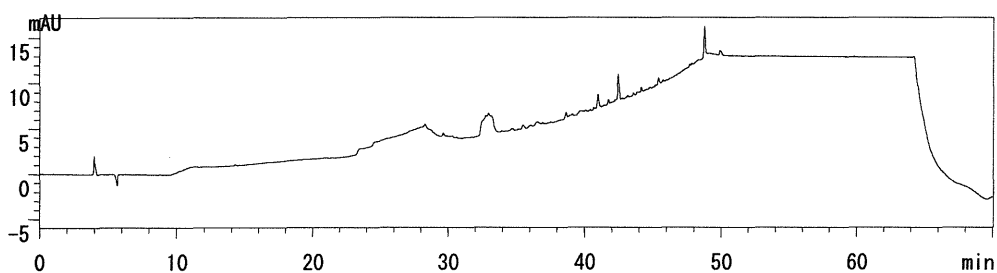
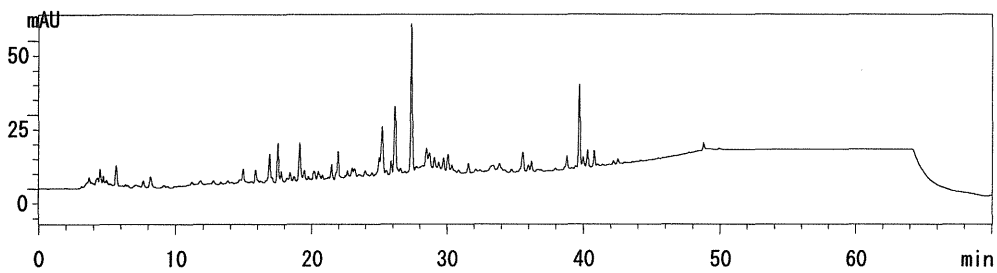


図5 逆相HPLCカラムによる六君子湯去一味処方エキスのCAD検出によるLC分析 (2/2)

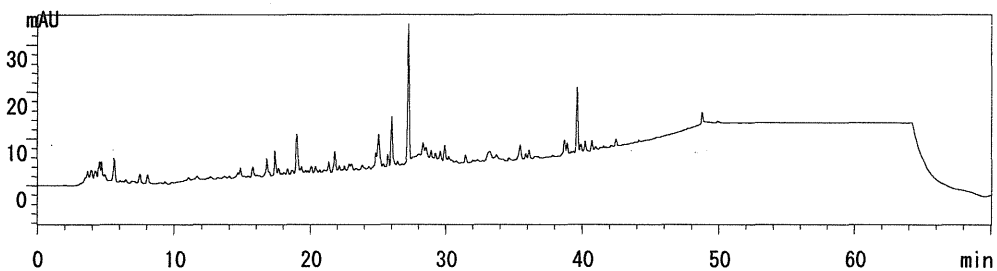
MeOH UV254



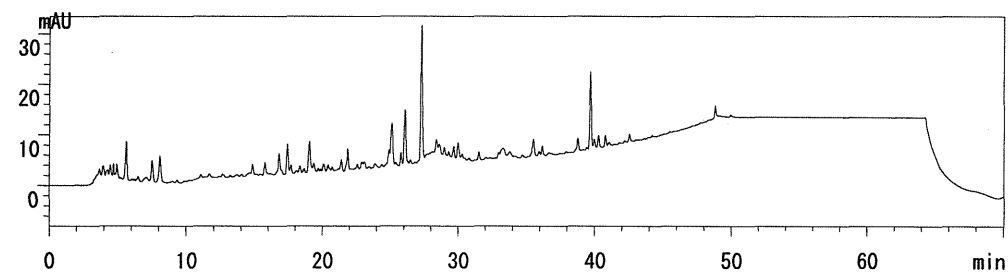
K37 六君子湯完全処方 UV254



K37-S39 去人參 UV254



K37-S44 去白朮 UV254



K37-S45 去茯苓 UV254

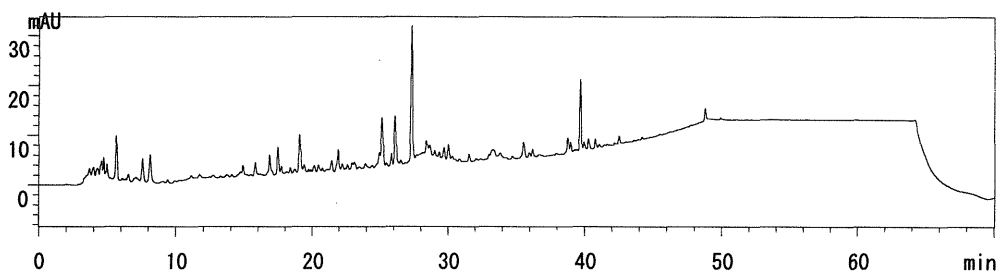
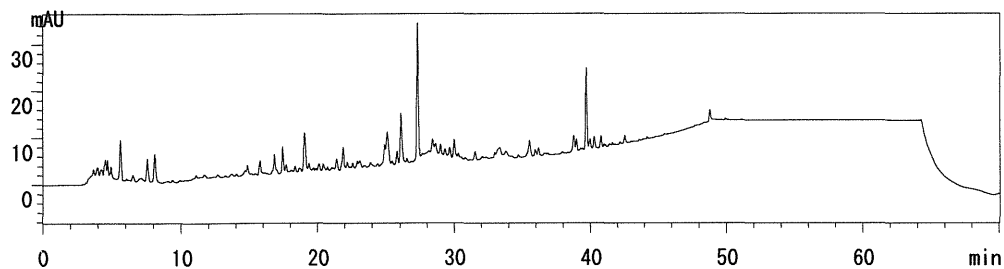
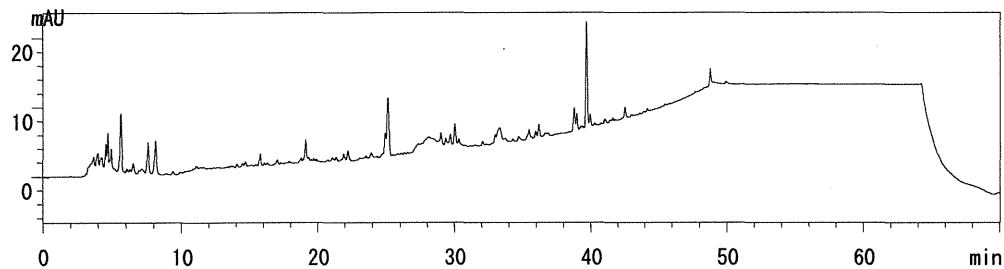


図6 逆相HPLCカラムによる六君子湯去一味処方エキスのPDA検出によるLC分析 (1/2)

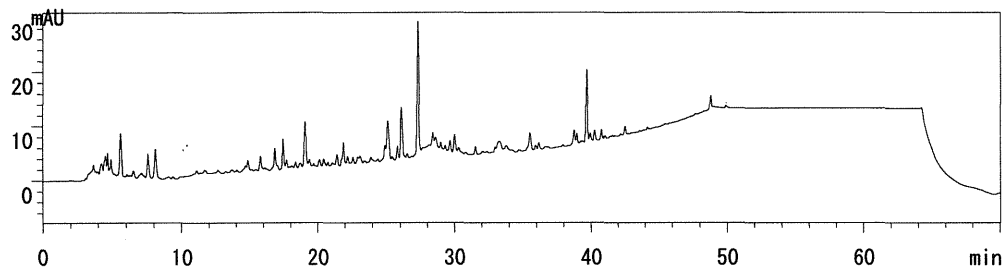
K37-S42 去半夏 UV254



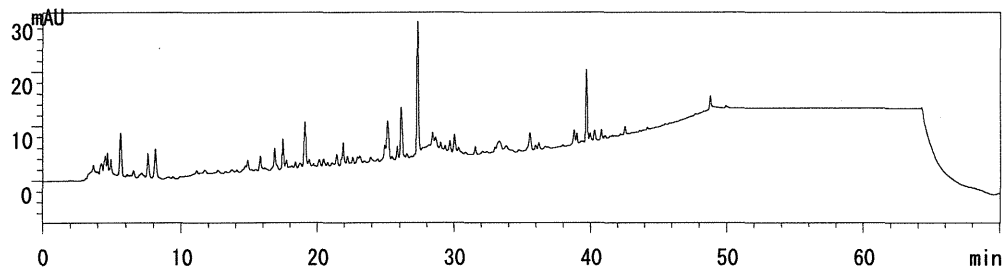
K37-S34 去陳皮 UV254



K37-S31 去大棗 UV254



K37-S08 去甘草 UV254



K37-S25 去生姜 UV254

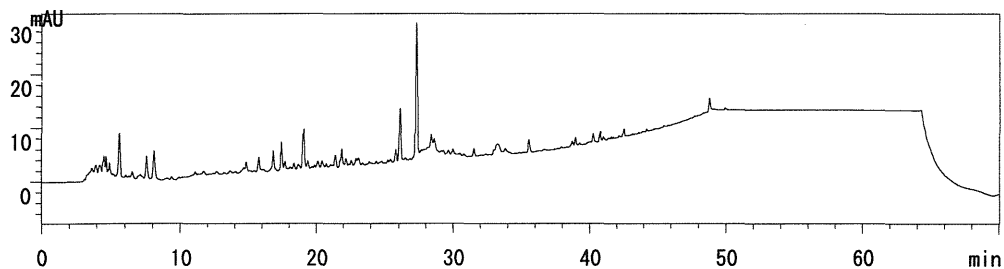
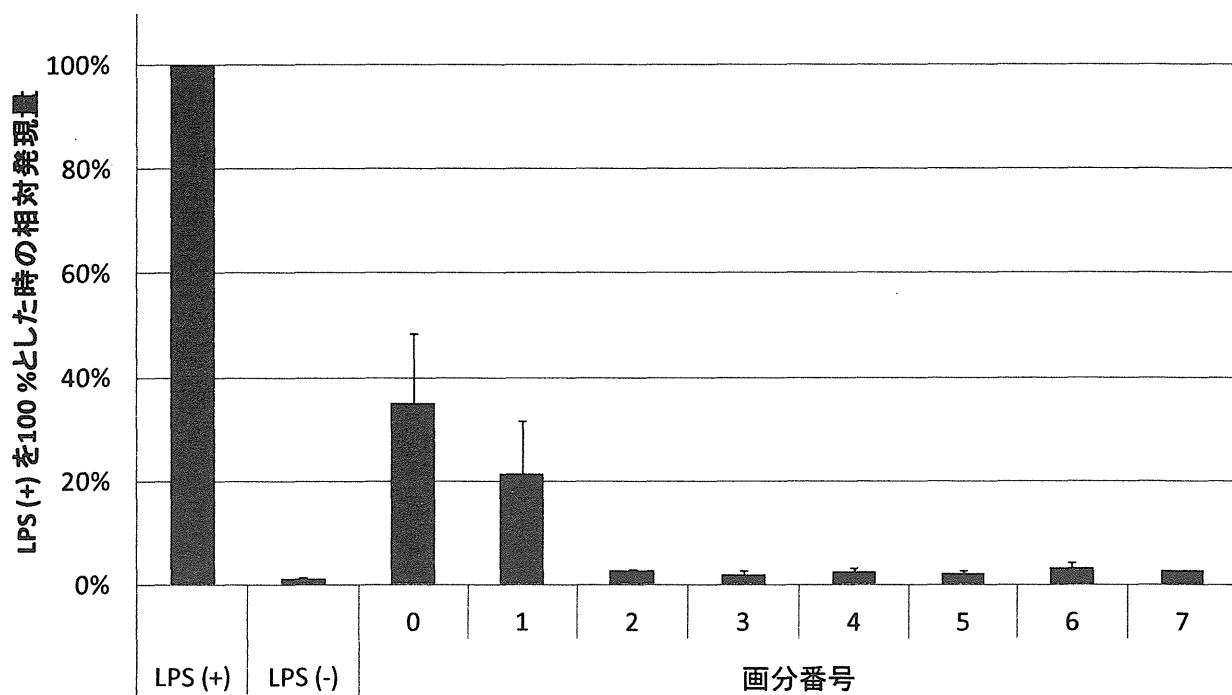


図6 逆相HPLCカラムによる六君子湯去一味処方エキスのPDA検出によるLC分析 (2/2)



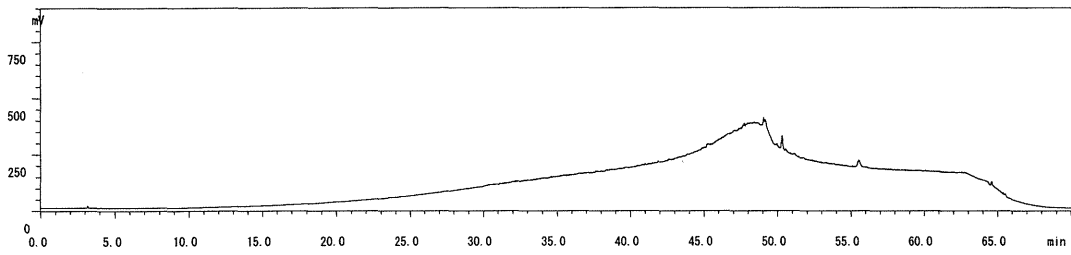
画分番号(溶出順)	0	1	2	3	4	5	6	7
溶出溶媒	分画前 サンプル	ロード 非保持	milliQ 水		50% MeOH		100% MeOH	

図7 六君子湯エキス の Oasis HLB による固相抽出画分の IL-10 誘導活性

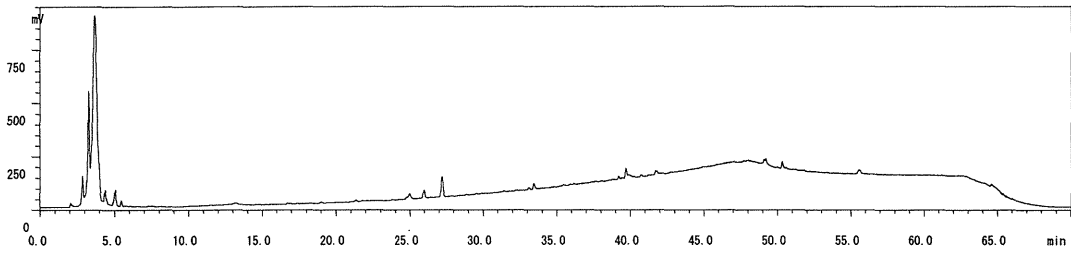
画分番号 0 : 六君子湯煎出エキス (分画前)、画分番号 1 : 六君子湯煎出エキス (非保持画分)、画分番号 2 : 六君子湯煎出エキス (水溶出画分-1)、画分番号 3 : 六君子湯煎出エキス (水溶出画分-2)、画分番号 4 : 六君子湯煎出エキス (50%MeOH 溶出画分-1)、画分番号 5 : 六君子湯煎出エキス (50%MeOH 溶出画分-2)、画分番号 6 : 六君子湯煎出エキス (MeOH 溶出画分-1)、画分番号 7 : 六君子湯煎出エキス (MeOH 溶出画分-2)

値は平均±S. D. (n=3)

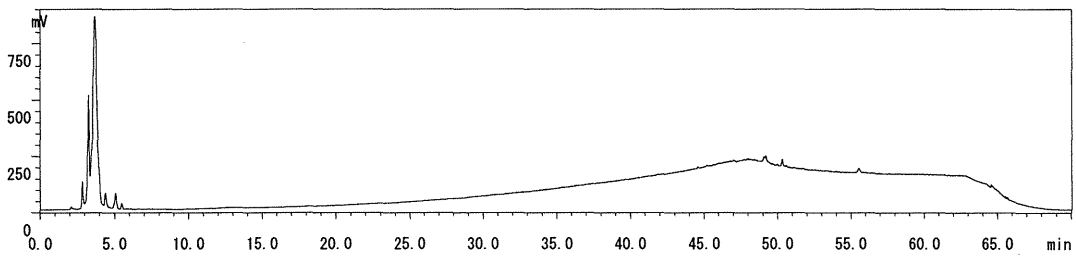
MeOH ブランク CAD



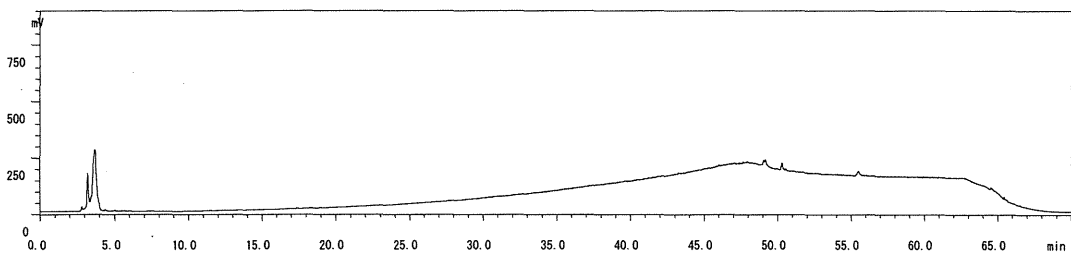
K37-0 六君子湯煎出エキス (分画前) CAD



K37-1 六君子湯煎出エキス (非保持画分) CAD



K37-2 六君子湯煎出エキス (水溶出画分-1) CAD



K37-3 六君子湯煎出エキス (水溶出画分-2) CAD

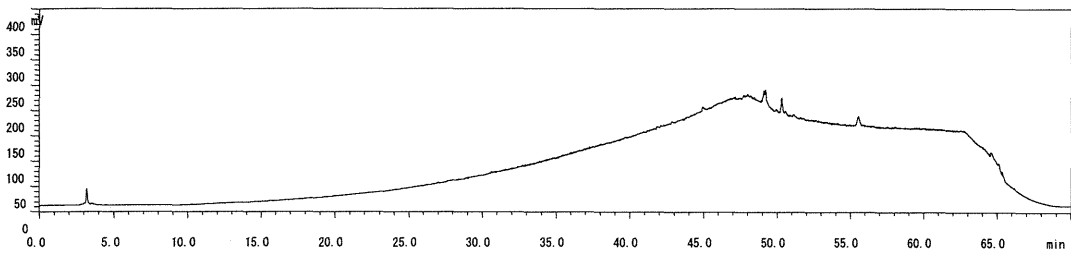
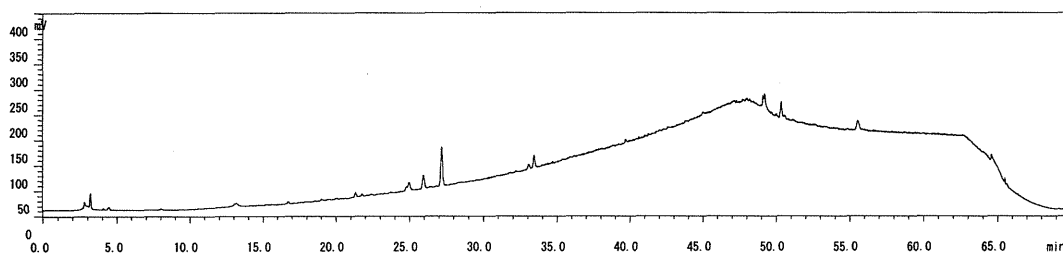
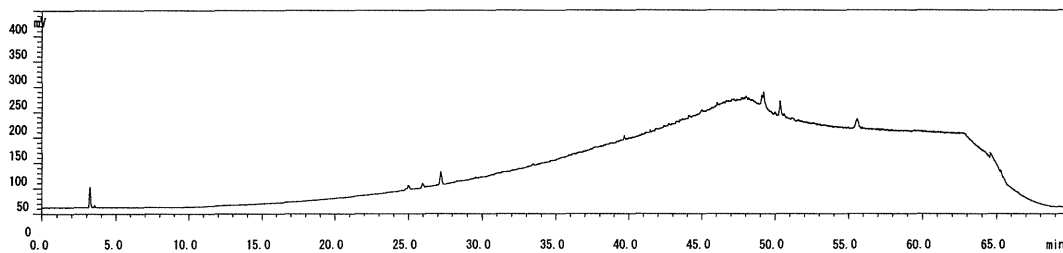


図 8 逆相 HPLC カラムによる六君子湯煎出エキスの Oasis HLB による固相抽出画分の LC-CAD 分析 (1/2)

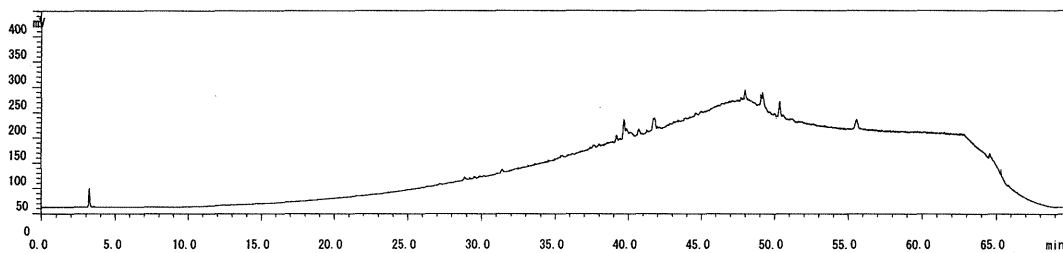
K37-4 六君子湯煎出エキス (50%MeOH溶出画分-1) CAD



K37-5 六君子湯煎出エキス (50%MeOH溶出画分-2) CAD



K37-6 六君子湯煎出エキス (MeOH溶出画分-1) CAD



K37-7 六君子湯煎出エキス (MeOH溶出画分-2) CAD

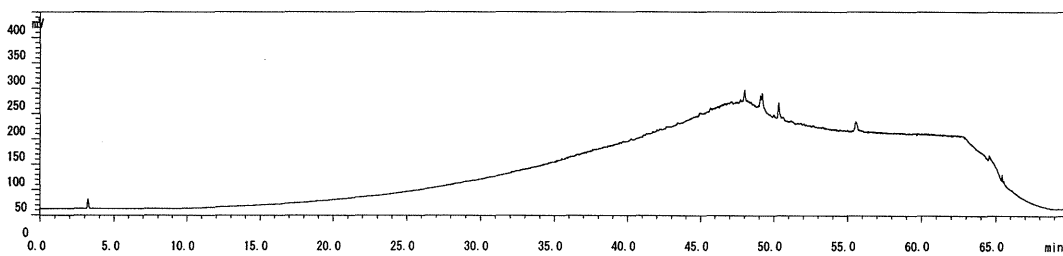
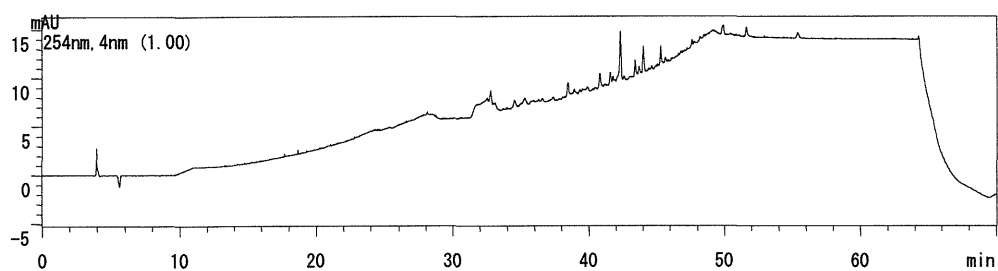
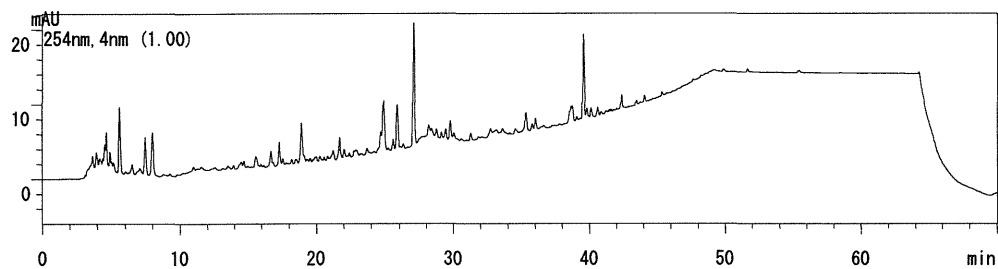


図 8 逆相 HPLC カラムによる六君子湯煎出エキスの Oasis HLB による固相抽出画分の LC-CAD 分析 (2/2)

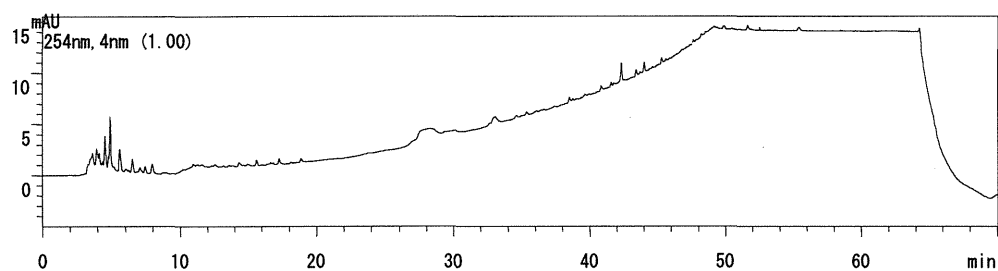
MeOH ブランク UV254



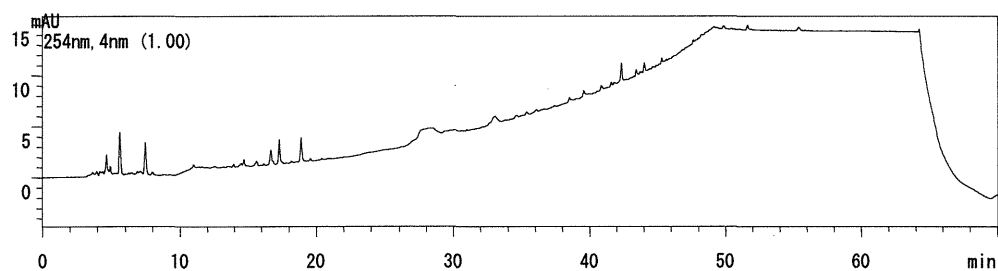
K37-0 六君子湯煎出エキス (分画前) UV254



K37-1 六君子湯煎出エキス (非保持画分) UV254



K37-2 六君子湯煎出エキス (水溶出画分-1) UV254



K37-3 六君子湯煎出エキス (水溶出画分-2) UV254

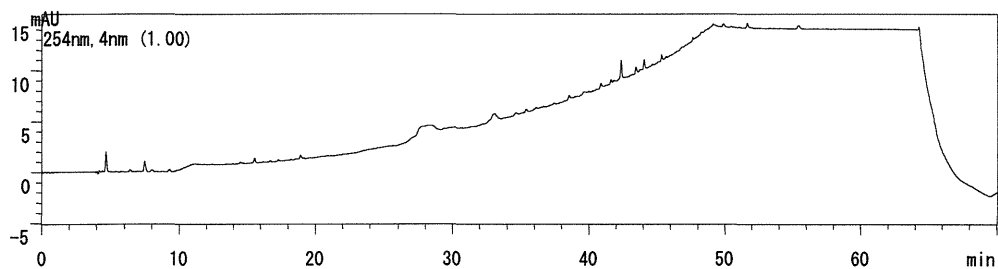


図 9 逆相 HPLC カラムによる六君子湯煎出エキスの Oasis HLB による固相抽出画分の LC-PDS 分析 (1/2)