

### 3. 小青竜湯構成生薬による甘草からの GL 抽出効率に与える影響

予備実験的に、小青竜湯の各構成生薬(半夏、麻黄、桂皮、五味子、芍薬、細辛、乾姜)と二味のエキスを作製し、GL 含量を測定したところ、五味子との組み合わせの場合に顕著な GL 含量の低下を認めた。

そこで、小青竜湯に配合される甘草 3g の単味エキスと甘草+五味子の二味エキス、小青竜湯から五味子を除いた小青竜湯去五味子エキスを調製して GL 含量を測定したところ、甘草単味エキスに比較し、二味エキスでは約 50%程度にまで GL 含量は低下し、小青竜湯に近い値を示した。また、小青竜湯から五味子を除いたエキスでは、GL 含量がかなり回復し、小青竜湯での GL 含量の低さは主に五味子によるものであることが判明した (Fig. 4)。

五味子は、マツブサ科のチョウセンゴミシ (*Schisandra chinensis*) の果実を用いる生薬で、成分として schizandrin や gomisin 類等のリグナン化合物を含有することが知られ、また citric acid や malic acid, tartalic acid などの有機酸を含有する。煎じ液中に多量の有機酸が存在すれば、煎じ液の pH は低下し、分子内にカルボキシル基を 3 つ有する酸性化合物である GL は抽出されてこないのではないかと推定した。

そこで、甘草単味エキス、五味子単味エキス、甘草+五味子の二味エキス、小青竜湯ならびに小青竜湯去五味子エキスの pH を測定したところ、甘草単味エキスの pH が 5.44 を示すのに対し、小青竜湯では pH=3.83 であり、甘草と五味子の二味エキスでは pH=3.31、さらには小青竜湯去五味子では pH=4.98 とそれぞれ GL 含量と相関した結

果となった (Fig. 5)。

先行研究において、麻黄湯、麻杏薏甘湯、麻杏甘石湯、薏苡仁湯、小青竜湯、桂麻各半湯、葛根湯及び葛根湯加川芎辛夷の 8 種の処方中の GL 含量を比較し、8 種の処方のうち小青竜湯で低い GL 含量を認めたとする報告がなされており<sup>16)</sup>、その報告によると、本研究と同様に五味子に含有される有機酸による煎じ液の pH の低下が GL の煎じ液への抽出効率を低下させたのではないかと考察されており、本研究の結果と一致するものであった。

今回検討した漢方方剤の中では、五味子配合処方として人参養栄湯が存在するが、小青竜湯では五味子が 3g 配合されるのに対して、人参養栄湯では 1g であるため、小青竜湯ほど煎じ液の pH を低下させず、同様に甘草を 1g 配合する六君子湯や加味逍遙散、釣藤散の GL 含量とは大きな差異はなかったのではないかと考えられる。

さらに、五味子のように有機酸を多く含む生薬は他にないかと検証したところ、ミズキ科のサンシュユ (*Cornus officinalis*) の偽果を用いる山茱萸が挙げられたが、山茱萸が配合される漢方方剤は八味地黄丸や六味丸、牛車腎気丸など構成生薬の中に甘草が入らない処方群であったため、今回は検討しなかった。

また、小青竜湯去五味子エキスにおいて、甘草単味エキスほどに GL 含量が到達していないのは、やはり他の構成生薬による影響、例えば半夏や生姜などの生薬残渣への再吸着が生じる可能性が考えられ、それらの要因については別途検証しなければならない。

4. GL の抽出効率に与える pH の影響につ

いて

つぎに、甘草からの GL の抽出液への移行率に関して、pH がどれほど影響するのかを検証した。すなわち、甘草粉末を用いて、pH=2.1 と pH=6.8 の 100 mM リン酸緩衝液を抽出溶媒とし、局方収載の定量法と同様の条件で抽出して溶液中の GL 含量を定量した。

その結果、pH=6.8 の場合に比べて、pH=2.1 では著しくエキス中の GL 含量が低下しており (Fig. 6)、GL が酸性化合物であることから、pH の低い条件では抽出されることが確認された。また、pH=2.1 で抽出した残渣を pH=6.8 の条件で再度抽出したところ、生薬中に残存すると考えられる GL がほぼ定量的に回収できたことから、酸性条件下で GL が分解したとかの理由ではなく、単純に抽出されないことが明らかとなった。以上の結果から、生薬からの GL の抽出に際しては溶媒の液性が重要であることが判明した。

#### 5. 漢方方剤 25 種の pH ならびに GL 含量との相関性について

前項までに、生薬甘草から煎じ液中への GL の移行率は溶液の pH に依存する可能性が考えられたため、種々の pH を示す 100 mM リン酸緩衝液を用いて、甘草粉末を室温下で抽出し、抽出液中の GL 含量を測定した。

Fig.7 に示すように、抽出液中の GL 含量は pH=3~4 の間で急激に上昇するシグモイド曲線を示した。GL の pKa については、pKa1 = 3.98、pKa2 = 4.62、pKa3 = 5.17 であるという報告があり<sup>17)</sup>、今回観察された GL の生薬からの抽出効率は pKa で理解できる。

つぎに、今回検討した 25 種の漢方方剤を調製し、放冷後 pH を測定して、各処方 pH と GL 含量 (エキス一日量当たりの GL 含量 (mg) / 配合した甘草 (g)) との関係を検証した。その結果を、先ほどの pH による GL の抽出効率のグラフに加えた。多くの処方 pH=5 前後に分布し、pH だけで考えた場合よりは含量としては低い値を示すことが明らかとなった。

また、竜骨と牡蛎の配合により煎じ液の液性が中性域に留まること<sup>18)</sup>が推定された桂枝加竜骨牡蛎湯では、検討した処方でも高い pH を示し、エキス一日量に含有される GL 量を配合甘草量で除した結果でも最も高い値を示した。この結果は、GL の煎じ液への移行率には、まず煎じ液の pH が基本的な要因となっていることを示唆するものではないかと考えている。

#### 6. 被験漢方方剤 25 種の甘草関連副作用報告との比較

エキス一日量における GL 含量が低かった小青竜湯で、偽アルドステロン症など甘草に起因する副作用報告件数は低いのかどうかを確認するため、今回検討した甘草配合漢方処方の副作用報告件数を PMDA のデータベース (2004-2015 年) から拾い出した。それぞれの副作用全体の報告件数を左に、甘草に起因すると考えられる副作用 (偽アルドステロン症、低カリウム血症、ミオパチー、横紋筋融解症) を右に示す (Fig. 8)。今回検討した処方の中で、エキス一日量あたり最も多くの GL を含有する芍薬甘草湯では、副作用報告のほとんどが偽アルドステロン症関連副作用であり、その他では抑肝散が同様の傾向を示していた。小青竜湯については、偽アルドステロン症関連

副作用が特に少ないというわけではなく、今回の定量値とはあまり相関性は認められなかった。検討した 25 処方の中では、芍薬甘草湯、抑肝散について補中益気湯や十全大補湯に偽アルドステロン症関連副作用の報告件数が多く、その内容を検証してみると、長期間投与や高齢者への投与という実態を窺い知ることができた。

#### D. 結論

本研究では、臨床で汎用される漢方製剤を意識し、かつ使用上の注意に記載される甘草の配合量による記載事項の細をも念頭に置いて、甘草配合漢方方剤の GL 含量は処方によりどれだけの違いがあるのかについて検討した。その結果、各処方のヒト一日量に含まれる GL 量は甘草の配合量に対して概ね直線性を示したものの、芍薬甘草湯や小青竜湯のようにその相関から大きく外れるものも存在することが明らかとなった。甘草の配合量から予測される GL 含量と実際の処方エキス中の GL 含量に乖離がある場合、漢方製剤の安全な使用に影響を及ぼす可能性があり、その原因については個別に明らかにする必要がある。

#### 参考文献

- 1) 高木敬次郎、現代東洋医学、2、34-37 (1981).
- 2) 日合 奨、長澤哲郎、現代東洋医学、14、90-100 (1993).
- 3) K. Takahashi, S. Shibata, S. Yana, M. Harada, H. Saito, Y. Tamura, A. Kumagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 3449 - 3452 (1980).
- 4) J.W. Conn, D.R. Rover, E.L. Cohen,

*JAMA*, **205**, 492 - 496 (1968).

- 5) R.M. Pinder, R.N. Brogden, P.R. Sawyer, T. Speoght, R. Spencer, G.A. Avery, *Drugs*, **11**, 245 - 307 (1976).
- 6) T. Takahashi, T. Mune, H. Morita, H. Takahashi, Y. Isomura, T. Suwa, H. Daido, C.E. Gomez-Sanchez, K. Yasuda, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **80**, 441 - 447 (2002).
- 7) H. kato, M. Kanaoka, S. Yano, M. Kobayashi, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **80**, 1929 - 1933 (1995).
- 8) N. Ohtake, A. Kido, K. Kubota, N. Tsuchiya, T. Morita, Y. Kase, S. Takeda, *Life Sci.*, **80**, 1545 - 1552 (2007).
- 9) T. Makino, N. Ohtake, A. Watanabe, N. Tsuchiya, S. Imamura, S. Iizuka, M. Inoue, H. Mizukami, *Drug Metab. Dispos.*, **36**, 1438 - 1443 (2008).
- 10) T. Makino, K. Okajima, R. Uebayashi, N. Ohtake, K. Inoue, H. Mizukami, *J. Pharm. Exp. Therap.*, **342**, 297 - 304 (2012).
- 11) 本間真人、石原三也、千 文、幸田幸直、薬学雑誌、**126**、973 - 978 (2006).
- 12) 塚本晶子、本間真人、神林康行、木津順子、幸田幸直、医療薬学、**33**、687 - 692 (2007).
- 13) 本間真人、第 31 回和漢医薬学術大会 (千葉) 要旨集、p61 (2014) .
- 14) 富森 毅、吉本摩智子、生薬学雑誌、**34**、138 - 144 (1980).
- 15) 根本幸夫、伊田善光監修、漢方薬常用処方実態調査、横浜薬科大学漢方と漢薬調査センター編 (2013).
- 16) N. Okamura, H. Miki, H. Orii, Y.

Masaoka, S. Yamashita, H. Kobayashi, A. Yagi, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **19**, 603 – 612 (1999).

17) C.X. Zeng, Q. Hu, *Indian J. Chem.*, **47A**, 71 – 74 (2008).

18) 有地 滋、谿 忠人、久保道德、近大医誌、**4**, 59 – 65 (1979).

E. 健康危機情報  
特になし

F. 研究発表等  
論文等

投稿準備中

学会等

多田百花、小島梨花、永田久美子、日坂真輔、政田さやか、袴塚高志、本間真人、能勢充彦  
漢方処方での科学的解析（第14報）各種甘草配合処方におけるグリチルリチン酸含有量ならびにその抽出効率について  
日本薬学会第136年会、横浜（2016.3）.

G. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

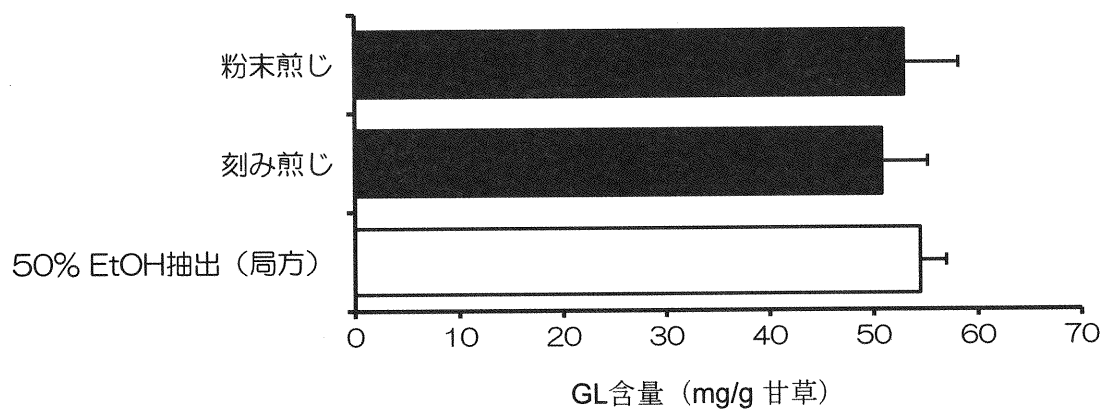


Fig. 1 実験に使用した甘草のグリチルリチン酸含量および  
刻み生薬と粉末生薬として煎じた際のエキス中のグリチルリチン酸量

Each column represents the Mean  $\pm$  S.E.M. of triplicate samples.

局方に準拠した定量は、JP16を参照した。

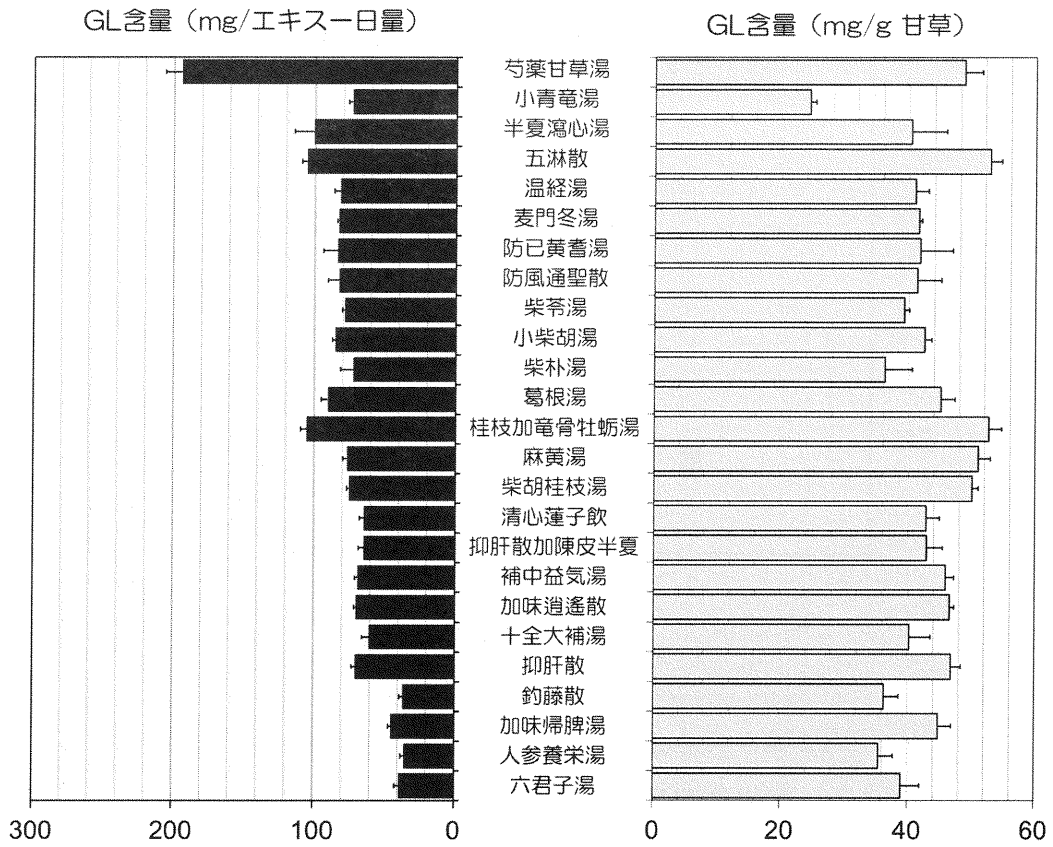


Fig. 2 被験漢方方剤 25 種のグリチルリチン酸含量  
 Each column represents the Mean  $\pm$  S.E.M. of triplicate samples.

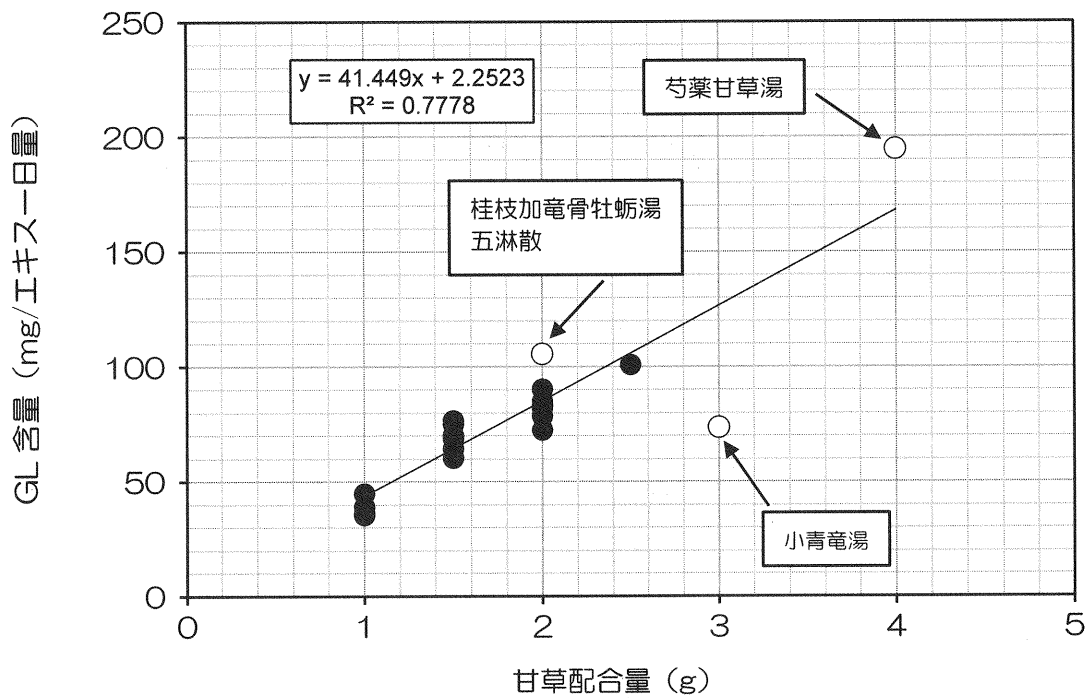


Fig. 3 被験漢方方剤 25 種のグリチルリチン酸含量と甘草配合量の相関

Each point represents the Mean of triplicate samples.

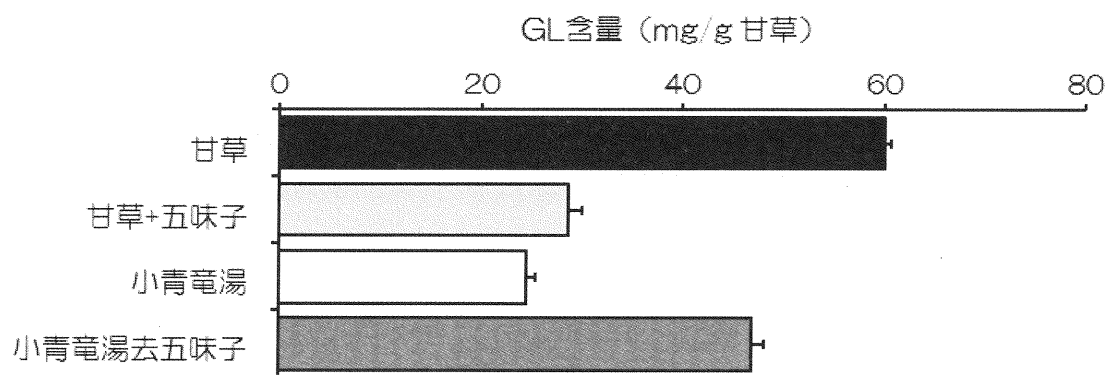


Fig. 4 五味子の配合によるグリチルリチン酸含量の変化  
Each column represents the Mean  $\pm$  S.E.M. of triplicate samples.

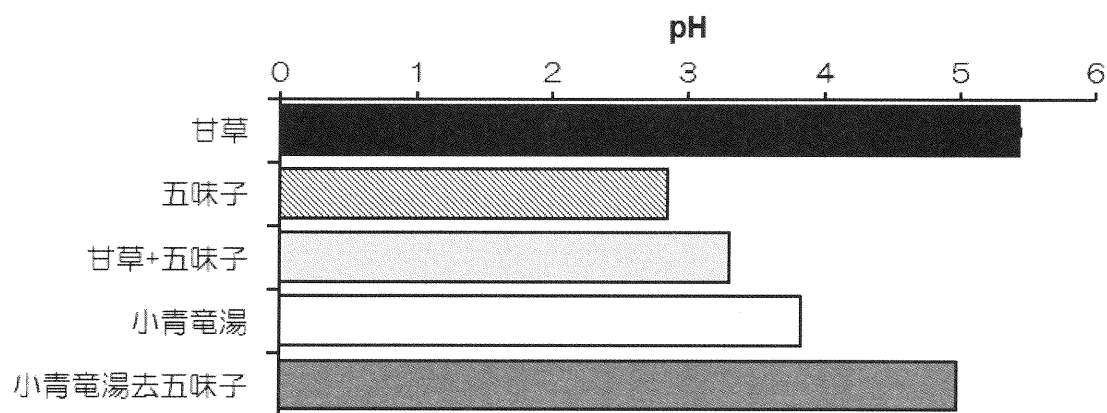


Fig. 5 五味子の配合による煎じ液の pH 変化  
Each column represents the Mean  $\pm$  S.E.M. of triplicate samples.



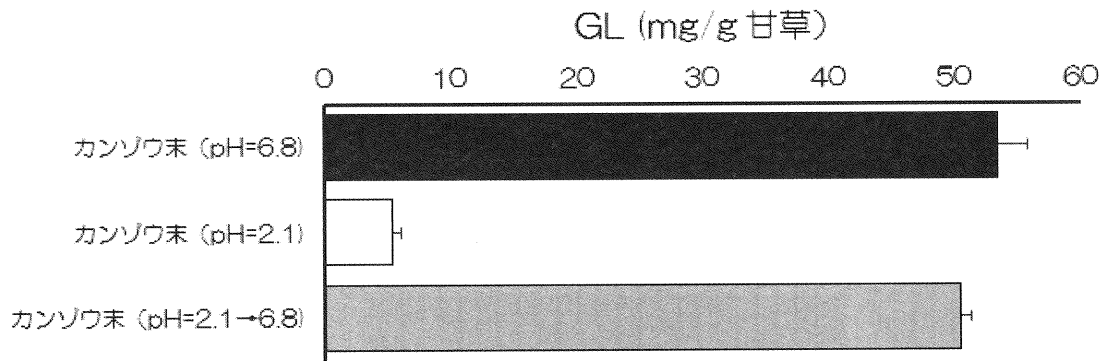


Fig. 6 甘草末からのグリチルリチン酸抽出率に与える pH の影響  
 Each column represents the Mean  $\pm$  S.E.M. of triplicate samples.

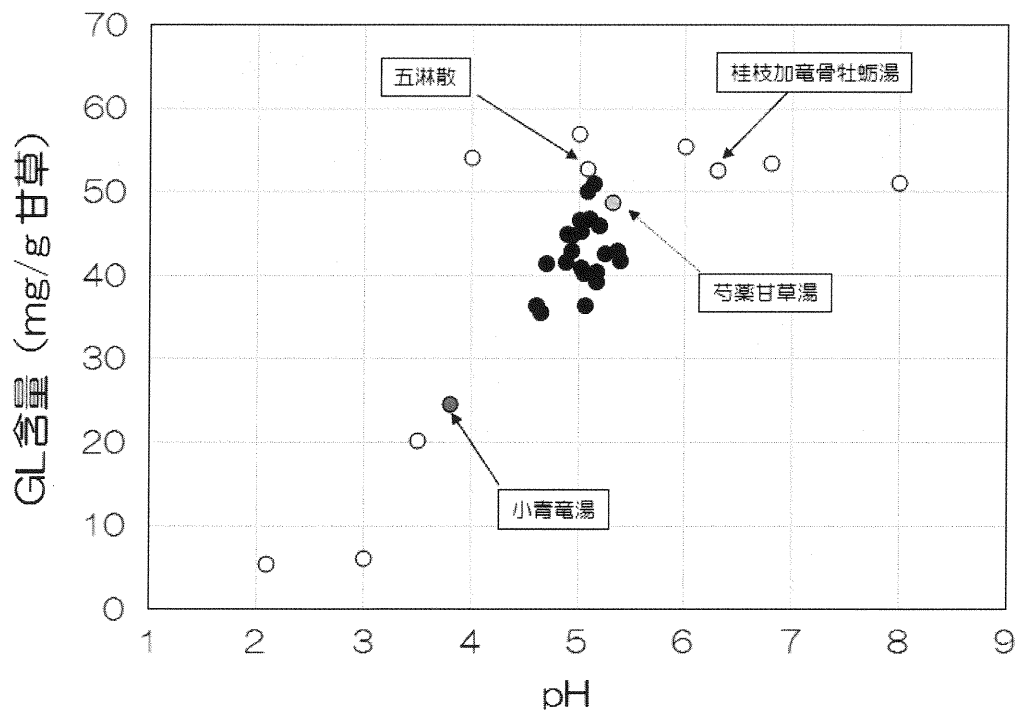
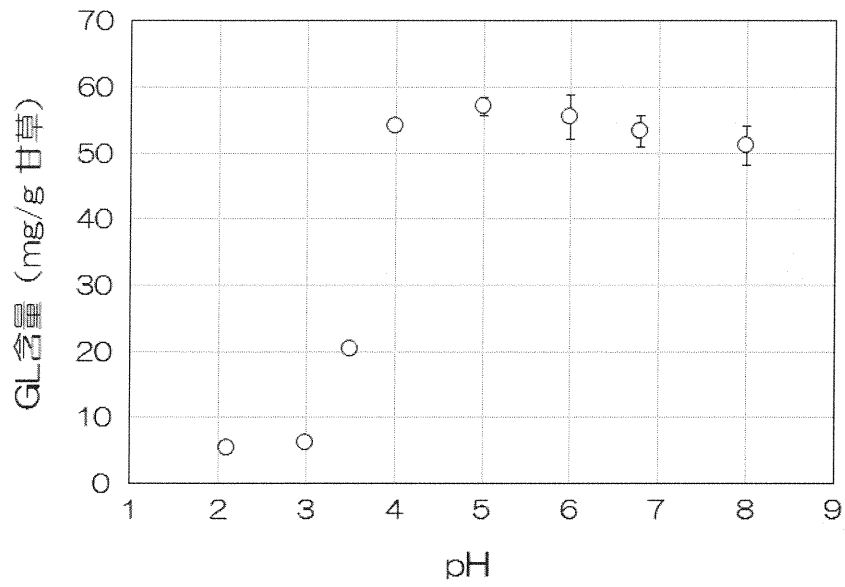


Fig. 7 甘草末からのグリチルリチン酸抽出率に与える pH の影響  
 ならびに被験漢方処方 25 種のグリチルリチン酸含量と pH の相関性

Each point represents the Mean of triplicate samples.

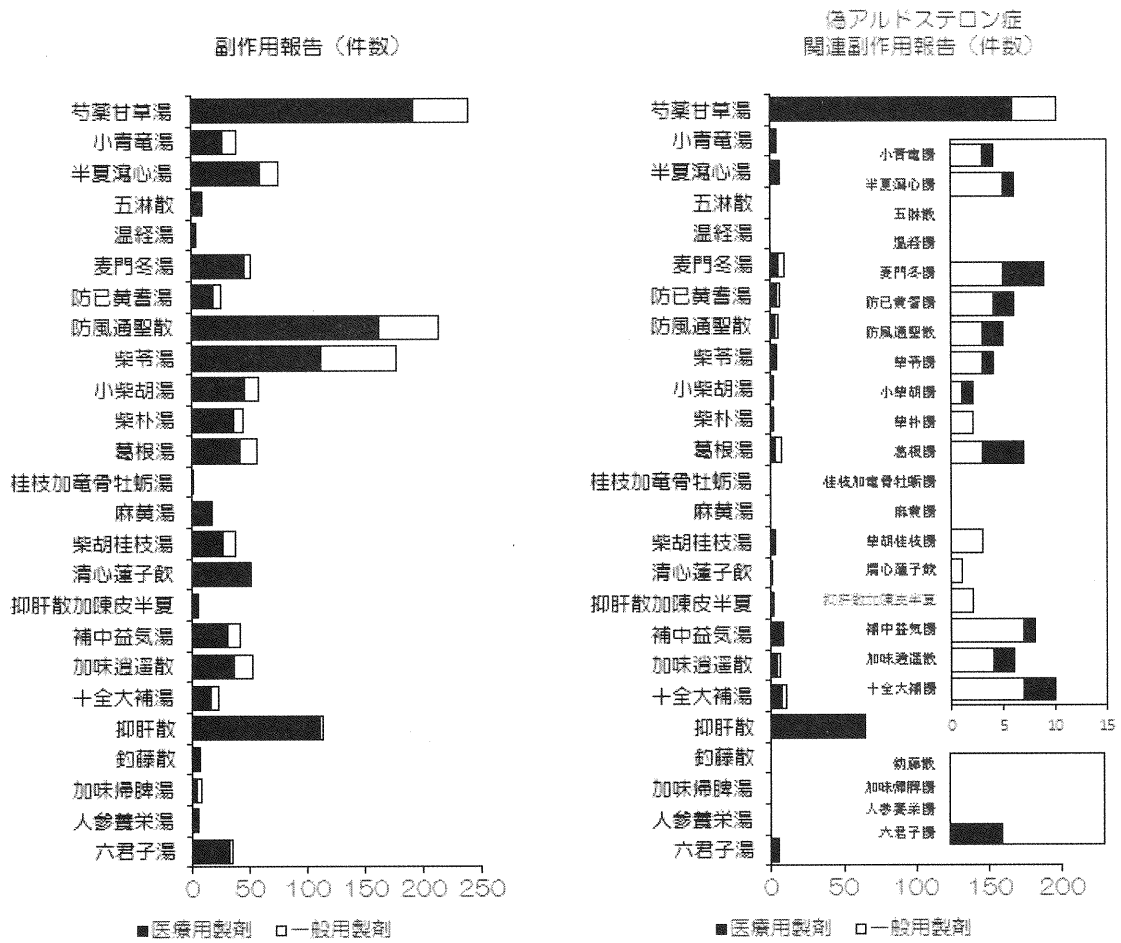


Fig. 8 被験漢方処方 25 種の副作用報告件数 (2004 - 2015)

データは、PMDA の副作用報告データベースから抜粋した。偽アルドステロン症関連副作用報告は、偽アルドステロン症、低カリウム血症、ミオパチー、横紋筋融解症を含む件数である。



研究成果の刊行に関する一覧表

その他 新聞報道

発表者氏名	タイトル名	発表紙名	巻、号	ページ	出版年
政田 さやか	一般用漢方製剤の安全性確保に関する研究	薬事日報	11595	17	2015

その他 ダウンロードサイト

タイトル名	URL	発表年
一般用漢方製剤の安全性確保に関する研究	<a href="http://www.nihs.go.jp/dpp/kampo-anzen/index.html">http://www.nihs.go.jp/dpp/kampo-anzen/index.html</a>	2015
一般用漢方処方の確認票	<a href="http://www.nikkankyo.org/publication/confirmation_list.html">http://www.nikkankyo.org/publication/confirmation_list.html</a>	2015

