

平成 29 年度厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)
一般用医薬品における、化学合成品等のリスク区分の見直しと
生薬・漢方製剤の安全使用に関する研究
分担研究報告書

分担研究課題 漢方製剤の安全性確保に関する研究

分担研究者 名城大学薬学部 教授 能勢 充彦

研究要旨 前年度までの結果をもとに、本年度はまず五味子以外の果実生薬と甘草の組み合わせによるエキスの pH 変化ならびにグリチルリチン酸 (GL) の抽出効率について検討した。その結果、検討した 4 種の果実生薬 (大棗、山茱萸、山梔子、呉茱萸) では五味子ほどの影響が観察されず、GL の抽出効率に与える影響はほとんどないことが明らかとなった。つぎに、小青竜湯以外の処方における五味子による甘草配合漢方エキス中のグリチルリチン酸含量に及ぼす影響を検討した。その結果、294 処方に含まれる五味子・甘草共配合計 12 処方について pH 及び GL 含量を測定したところ、小青竜湯と同様に低い pH と GL 含量を示し、五味子が配合されることにより、当該処方の GL 含量は甘草配合量では予測できないことが明らかとなった。この場合、直接 GL 含量を測定し、医薬品の安全性情報を提供する必要があると考えられる。さらに、前年度に行った麻黄配合漢方処方での結果も踏まえ、一般用漢方エキス製剤の GL 含量や pH、またエフェドリン系アルカロイド含量 (エフェドリン含量及びプソイドエフェドリン含量) を測定し、市場品の甘草あるいは麻黄配合製剤の品質を確認した。その結果、メーカー間あるいはメーカー内においても用いた原料生薬の品質の差により、製剤のパラツキが左右されるのではないかと確認された。以上の結果は、漢方エキス製剤の安全性を考える上での重要な知見を含んでおり、今後の添付文書をはじめとする安全情報の在り方に資するものであると考えられる。

A. 研究目的

甘草および麻黄は、一般用漢方エキス製剤において、葛根湯や小青竜湯など消費者にとって馴染みのある処方に用いられ、感冒や鼻炎、花粉症などセルフメディケーションの中で使用頻度が高い生薬である。そ

の一方で、両生薬ともに、副作用や他の医薬品との相互作用が懸念される代表的な生薬としても知られている。

甘草は、マメ科ウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis*) あるいはスペインカンゾウ (*G. glabra*) の根およびストロ

ンを用いる生薬で、医療用・一般用漢方製剤の約 7 割に配合される。主成分であるグリチルリチン酸 (glycyrrhizin, GL) は、抗炎症作用や抗アレルギー作用など多彩な薬理作用を示す一方で、低カリウム血症、偽アルドステロン症などの副作用発現にも関わることが知られている。この副作用の発現頻度は、甘草の摂取過多、長期服用、高齢者、女性で高くなることが報告されており、甘草配合漢方処方においては甘草の配合量に応じた使用上の注意が細かく指示されている。生薬別記載内容基準によると、原料としての甘草量が 1 日 2.5 g 以上のエキス製剤と 2.5 g 未満のエキス製剤では使用上の注意に関する記載事項が異なっており、副作用の発症率は使用される甘草の配合量に相関すると考えられている。

一方、麻黄は、マオウ科 *Ephedra sinica* や *E. intermedia*, *E. equisetina* の地上茎を用いる生薬で、感冒など上気道炎や鼻炎、花粉症などに用いる処方に配合されている。主成分であるエフェドリン (ephedrine, E) やプソイドエフェドリン (pseudoephedrine, PE) は気管支拡張作用や抗炎症作用をもつ一方で、その交感神経興奮作用により不眠や動悸、興奮、排尿障害等の副作用が生じることがあるため、狭心症や心筋梗塞など循環器系に障害のある患者や既往歴のある患者、さらに高齢者などには慎重投与が望まれる。この麻黄の場合、生薬別記載内容基準によると、麻黄配合漢方エキス製剤の使用上の注意の項には、麻黄の配合量にかかわらず、含有処方すべてにおいて同じ内容の記載がなされている。

一般に、漢方処方は複数の生薬を配合して調製されるものであり、配合される生薬

の組み合わせが含有成分のエキス中への溶出挙動に影響することも十分考えられる。先述した甘草の注意事項など、各処方において含有成分の抽出率が一定であると仮定した上での記載であると考えられたため、その前提条件である抽出率を検証する必要があると考えた。

そこで、本研究では同一ロットの生薬を用い、構成生薬の組み合わせが特定の成分含量に影響するのかどうか検討することを目的に、平成 27 年度には甘草配合処方におけるグリチルリチン酸のエキスへの移行率を、また平成 28 年度には麻黄配合漢方処方におけるエフェドリン系アルカロイド (エフェドリンおよびプソイドエフェドリン) のエキスへの移行率を測定した。

これまでに、甘草配合漢方処方 25 種類を作製し、その GL 含量を定量したところ、ヒト一日服用量における GL 含量は概ね配合甘草量に相関することが明らかとなり、エキスの GL 含量は基本的に甘草配合量で考えてよいことが示唆された。しかしながら、例外も存在することが判明し、小青竜湯はその相関を大きく下回ることが明らかとなった。その要因として、有機酸を多く含有する五味子との配合が見出され、さらに甘草からの GL の抽出効率が pH に依存することを明らかにするに至った¹⁾。以上の結果は、各処方の GL 含量は基本的に甘草量に相関するものの、エキスの pH もまた大きな影響を与えていることを示している。そのため、有機酸を含有すると考えられる果実生薬との配合や五味子共配合処方における GL 含量に興味を持たれる。

ついで、麻黄配合漢方処方 17 種について、それぞれ E、PE 含量を定量したところ、ヒ

ト一日服用量における両アルカロイド含量は配合麻黄量によい相関を示し、この場合エキスの pH には影響されないことが明らかとなった²⁾。麻黄の場合、エキス製剤における E および PE 含量について、構成生薬の組合せによる影響を考える必要はなく、麻黄の配合量あるいは麻黄自体の品質による違いを考えればよいことが示唆された。

本年度は、まず、これまでの検討から新たに出た課題である甘草と果実生薬との配合によるエキスの液性や GL 含量に与える影響についての確認を行った。また、「新一般用漢方処方の手引き」に記載される五味子・甘草共配合漢方処方エキスを作製し、五味子との配合による pH ならびに GL 含量測定を行うことで、これまでの検討結果を検証した。さらに、最終年度の課題として、市場に出ている一般用漢方エキス製剤をいくつか集め、甘草配合エキス製剤については pH と GL 含量を、麻黄配合エキス製剤については E および PE 含量を測定した。によるエキスの液性や GL 含量に与える影響についての確認を行った。また、「新一般用漢方処方の手引き」に記載される五味子・甘草共配合漢方処方エキスを作製し、五味子との配合による pH ならびに GL 含量測定を行うことで、これまでの検討結果を検証した。さらに、最終年度の課題として、市場に出ている一般用漢方エキス製剤をいくつか集め、甘草配合エキス製剤については pH と GL 含量を、麻黄配合エキス製剤については E および PE 含量を測定した。

B. 研究方法

1. 生薬材料および漢方エキス製剤

本研究では、日本薬局方の規定を満たし

た刻み生薬を（株）ツムラおよび大晃生薬（有）より購入して用いた。本研究では、すべての実験を通して同一ロットの生薬を用いた。漢方エキス製剤は、2016 ～ 2017 年に愛知県および三重県内のドラッグストアで購入したものを実験に用いた。漢方エキス製剤は、それぞれ 1 包を 50mL あるいは 100mL の精製水に溶解し、pH 測定ならびに HPLC 分析に供した。

2. 果実生薬との配合エキスの調製

五味子以外の果実生薬として、大棗、山茱萸、山梔子、呉茱萸を選び、それぞれ甘草と 1 : 1 で配合したエキスを作製した。すなわち、甘草 3g と各果実生薬 3g を正確に量り取り、600mL の精製水を加え、マイコン煎じ器（ハリオ社製）を用いて 1 時間、約半量になるまで煎じた。煎じ液は、残渣をろ過し、室温まで放冷した後、pH 測定に供した。その後、凍結乾燥し、得られた乾燥エキスを HPLC 分析に供した。

3. 五味子・甘草共配合漢方エキスの調製

「新一般用漢方処方の手引き」に記載される漢方処方 294 処方の中から、五味子と甘草が配合される処方計 12 種を選び、測定対象とした。12 処方の内訳は、平成 27 年度の検討でも測定対象とした小青竜湯、人参養栄湯の他、小青竜湯加石膏、小青竜湯合麻杏甘石湯、苓桂味甘湯、苓甘姜味辛夏仁湯、清暑益気湯、扶脾生脈散、杏蘇散、清肺湯、加味温胆湯、清熱補気湯である。それぞれの処方については、「新一般用漢方処方の手引き」および「改訂 4 版漢方業務指針」に基づき、それぞれ構成生薬を計り取り、600mL の精製水を用いて、先と同様に 1 時間煎じた。残渣をろ過し、煎じ液を室温まで放冷した後 pH を測定して、凍結乾燥した。得ら

れた乾燥エキスを HPLC 分析に供した。

4. GL 含量の測定

各凍結乾燥エキスを 50mg 正確に秤量し、50mL の精製水に溶解し、0.45 μ m メンブランフィルター処理して HPLC サンプルとした。HPLC の測定条件は以下の通りである。HPLC の測定条件は以下の通りである。

カラム : Inertsil-ODS3 (5 μ m、4.6 mm I.D. x 150 mm)

移動相 : CH₃CN-2% acetic acid =40 : 60

検出波長 : 254 nm

カラム温度 : 40°C

検出波長 : 254 nm

カラム温度 : 40°C

C. 結果及び考察

1. 果実生薬との配合によるエキスの pH ならびに GL 含量の変化

甘草 3g を用いて作製した甘草単味エキスならびにそれぞれ検討した果実生薬と配合して作製した二味のエキスの pH ならびに GL 含量を配合甘草量で除した抽出効率 (mg/g 甘草) を Fig.1 および Fig.2 に示す。

Fig.1 に示すように、甘草単味での pH は 5.39 ± 0.04 (n=3) を示した。各果実系生薬との二味エキスの pH は、五味子との配合では 3.30 ± 0.02 と最も低値を示し、ついで山茱萸が 4.02 ± 0.04 と低い値を示した。果実生薬の中で、五味子や山茱萸には有機酸が多く含まれていることが知られるが、五味子においては citric acid、malic acid、tartaric acid の存在が報告されているのに対し、山茱萸では citric acid の代わりに gallic acid と pH の面では五味子の方が強く影響するのではないかと考えられた。一方、大棗や山梔子、呉茱萸では少し pH を

低下させることが明らかとなった。

Fig.2 に示すように、各果実生薬との二味エキスにおける GL 抽出効率を比較したところ、その傾向は pH と類似した結果を与え、バラツキが生じてしまったことから有意な抽出効率の低下を示したのは五味子との配合のみであった。山茱萸との配合は、GL の抽出効率を低下させる懸念はあるものの、現行の 294 処方の中には甘草との配合処方はなく、実際には問題とはならない。今回検討した果実生薬以外にもエキスの pH に影響を及ぼす可能性のある生薬については今後検討する必要があると考えられる。

2. 五味子・甘草共配合漢方エキスの pH ならびに GL 含量

五味子を含む甘草配合処方は、294 処方中 12 処方存在する。これまでに、小青竜湯および人参養栄湯の 2 処方についてはエキスを作製し、pH や GL 含量を測定済みであった。そこで、残りの 10 処方を作製し、それぞれ pH、GL 含量ならびに GL の抽出効率について検討した。

Fig.3 および Fig.4 に示すように、五味子・甘草共配合漢方エキスにおいて、エキス一日量における GL 含量やその値を配合甘草量で除した GL 抽出効率は配合甘草量とは相関しなかった。この結果は、エキスの pH が 5 よりも小さい場合、配合甘草量よりも pH による影響が大きいことを示唆している。五味子が配合された場合、Fig.5 に示すように、その配合量に比して pH は低下する傾向を示し、甘草からの GL 抽出効率を低下させることが推定された。しかしながら、Fig.6 や Fig.7 に示すように、甘草の配合量ではなく、エキスの pH を基にグ

ラフを並べ直すと、一部の処方甘草の配合量やエキスの pH だけでは説明できず、その他構成生薬による何らかの要因が存在する可能性が考えられる。例えば、加味温胆湯では、小青竜湯と同様に五味子を 3g 配合し、エキスの pH も約 3.8 程度を示す一方で、小青竜湯では甘草 3g 配合に対して加味温胆湯では甘草 1g 配合と甘草の配合量は 3 分の 1 にもかかわらず、GL の抽出効率は小青竜湯よりも大きい。さらに、苓甘姜味辛夏仁湯は、エキス pH は 3.61 を示し、かつ甘草の配合量が 2g であることを考えると、GL 抽出効率が小青竜湯よりも低値を示すと予想されたにもかかわらず、約 1.5 倍の抽出効率を示し、エキス一日量に含まれる GL 含量も小青竜湯と同等であった。これらの要因については、各構成生薬との二味エキスや一味抜き処方を作製して検証しているが、未だ明確な答えには到達していない。

以上の結果を、昨年度までの 25 処方の結果と併せてプロットしたものが Fig.8 と Fig.9 である。これらを見ると、やはり pH と GL の抽出効率はよい相関を示す。甘草配合処方の GL 含量は、基本的に配合甘草量である程度予測をすることは可能であると考えられるが、煎じる過程において抽出液の pH に影響するような構成生薬が存在する場合にはその限りではなく、エキスの pH に相関した GL 含量となると考えられる。

3. 漢方エキス製剤における GL 含量ならびに E、PE 含量

平成 27 年度の検討に加え、本年度検討した結果を踏まえて考えると、甘草配合漢方エキス製剤では、その GL 含量に関し、主に配合甘草の生薬量から推定できるが、小

青竜湯など一部の処方、とくに五味子配合処方では配合甘草量で推定するよりも低い GL 含量となると考えられる。一方、平成 28 年度の検討で明らかになったように、多くの麻黄配合漢方エキス製剤では、配合麻黄の生薬量で E および PE 含量を推定できると考えられた。

そこで、市販されている一般用漢方エキス製剤の中から、2016 年から 2017 年に愛知県ならびに三重県で 3 ロット入手できた製剤の各成分含量を測定し、流通している製剤の現状を調べることにした。

まず、甘草配合処方として、芍薬甘草湯、葛根湯、小青竜湯、麻黄湯を対象とし、3 社 3 ロットで比較した。Fig.10 にその結果を示す。製剤 1 包を 100mL の精製水に溶解して測定した pH は、小青竜湯で他の処方よりも小さい値を示した。高橋らは、甘草配合医療用医薬品 47 種を用いて同様の検討を行い、甘草の配合量と GL 含量が相関性を示すのは甘草湯エキス顆粒、芍薬甘草湯エキス顆粒など 8 種類に限定され、他の処方はいずれも正の相関より低い値を示すことを報告している。その中で、小青竜湯エキス顆粒や苓甘姜味辛夏仁湯エキス顆粒ではそれぞれ正の相関の 15%と 25%にしかならないことも示し、とくに小青竜湯の場合その要因として五味子の配合を挙げている³⁾。この報告では、エキスの pH にまでは言及していないが、同じ現象を報告したものとして興味深い。

また、検討したエキス製剤において、実験的に作製したエキスよりも若干 pH が中性側にシフトした原因は明らかではないが、製剤化されるときに原末の乾燥方法や添加物の影響かもしれないと考えている。今回

用いた 4 種の処方では、メーカーにより構成生薬の配合比が異なっており、小青竜湯だけが低い GL 含量を示すというわけではなかった。製剤一日服用量を見ると、甘草の配合量が多い芍薬甘草湯では GL 含量は高く、メーカーによっては小青竜湯が最も低い値を示したが、そうした原末での傾向も製品規格により異なってくるのではないかと考えられた。各エキス製剤における GL 含量を比較してみると、メーカー間のみならず、メーカー内でもその GL 含量にバラツキが認められ、各処方においては pH が比較的一定の値を示したことから、GL 量のバラツキの要因は pH ではなく、原料生薬の品質の差によるものと推定された。

つぎに、麻黄配合処方として、麻黄湯を例にとり、エフェドリン系アルカロイド含量について検証を行った。麻黄湯の場合、医療用エキス製剤も 1 社から 3 ロットで入手できたので、同時に E および PE 含量を測定した。なお、前年度の検討により、エフェドリン系アルカロイドの抽出効率にはエキスの pH はほとんど影響しないことがわかっているため、製剤の pH 測定は行っていない。

Fig.11 に示すように、医療用エキス製剤 1 社、一般用エキス製剤 5 社の麻黄湯製剤 3 ロットに含有される E および PE 量を測定した。一般用エキス製剤 5 社では、一日服用量中の含量は各メーカー間でいくつかのバリエーションが観察され、3 社は医療用エキス製剤と同等か、それ以上のエフェドリン系アルカロイド含量を示し、残りの 2 社はそれぞれ同等のアルカロイド含量であった。一般用エキス製剤では、メーカーにより構成生薬の配合比が異なるので、エフ

ェドリン系アルカロイド含量を麻黄の配合量で除した値を算出したところ、医療用、一般用にかかわらず、1 社を除き概ね同程度のエフェドリン系アルカロイドを含有することが明らかとなった。麻黄においても各メーカーが使用する生薬の品質がエキス製剤における成分含量の差として表れている。

ここで、麻黄の場合、甘草の場合ほど指標として成分含量のバラツキが少なかった理由についてはよくわからない。局方生薬として求められる成分含量規定が甘草では 2.0%以上の GL を含まなければならないのに対し、麻黄では E および PE を含む総アルカロイドとして 0.7%以上であり、絶対量に差がある。また、両生薬が野生品しか流通していないことや市場における流通量も甘草 1,267t に対して麻黄 556t と 2 倍以上差があること（2008 年調べ）を考え合わせると、実際の流通量に比して品質にも幅があることが考えられ、結果として甘草配合処方ではロット差が大きく認められたのではないかと想像される。いずれにしても、このような天然物医薬品の場合、いわゆる化合物ベースの合成医薬品とは異なり、製剤に関しては各メーカーにおける原料生薬の入手先や管理・保存方法、その後のエキス原末の製造、製剤化の工程による差も考えられるため、その点まで踏み込んだ実態調査が必要となってくるかもしれない。

D. 結論

本年度の検討により、五味子の配合により、甘草配合漢方処方の GL 含量は配合される甘草の生薬量で予測するよりも低くなることが実証され、その GL 含量はエキスの pH により強く相関した値となることが

明らかとなった。また、これまでの結果をもとに、市販されている一般用漢方エキス製剤の中から代表的な医薬品を3社3ロットで検証したところ、甘草あるいは麻黄配合漢方エキス製剤の成分含量は原料生薬の品質による影響を受けることが改めて確認された。今回確認された結果は、天然物医薬品には麻黄のように生薬の配合量表示で成分含量が予測できるものと甘草のように予測しにくいものがあることを示唆するものとなり、添付文書に記載する副作用情報の在り方について考える機会を与えるものである。

参考文献

- 1) 能勢充彦、厚生労働科学研究費補助金医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業「一般用医薬品における、化学合成品等のリスク区分の見直しと生薬・漢方製剤の安全使用に関する研究」(H27-医薬-指定 009) 平成 27 年度総括・分担研究報告書、73-86、2016.
- 2) 能勢充彦、厚生労働科学研究費補助金医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業「一般用医薬品における、化学合成品等のリスク区分の見直しと生薬・漢方製剤の安全使用に関する研究」(H27-医薬-指定 009) 平成 28 年度総括・分担研究報告書、79-97、2017.
- 3) 高橋永里子、榎沢格子、安田一郎、小野稔、西澤啓子、安部好弘、藤田義人、医療用漢方エキス中のグリチルリチン酸量と添付文書の副作用情報、第 49 回日本薬剤師会学術大会 (2016.10、名古屋)

E. 研究発表

1. 論文発表

Mitsuhiro Nose, Momoka Tada, Rika Kojima, Kumiko Nagata, Shinsuke Hisaka, Sayaka Masada, Masato Homma, Takashi Hakamatsuka, Comparison of glycyrrhizin content in 25 major kinds of Kampo extracts containing Glycyrrhizae Radix used clinically in Japan, *J. Nat. Med.*, **71**, 711-722(2017)

2. 学会発表

小林里沙、多田百花、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of科学的解析 (第 19 報) 麻黄配合処方におけるエフェドリン系アルカロイド含量及び抽出効率について、第 34 回和漢医薬学会学術大会 (2017.8、福岡)

加藤明日香、多田百花、日坂真輔、政田さやか、本間真人、袴塚高志、能勢充彦、漢方処方of科学的解析 (第 22 報) 甘草配合処方におけるグリチルリチン酸含量及びその抽出効率について (その 2)、日本薬学会第 138 年会 (2018.3、金沢)

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

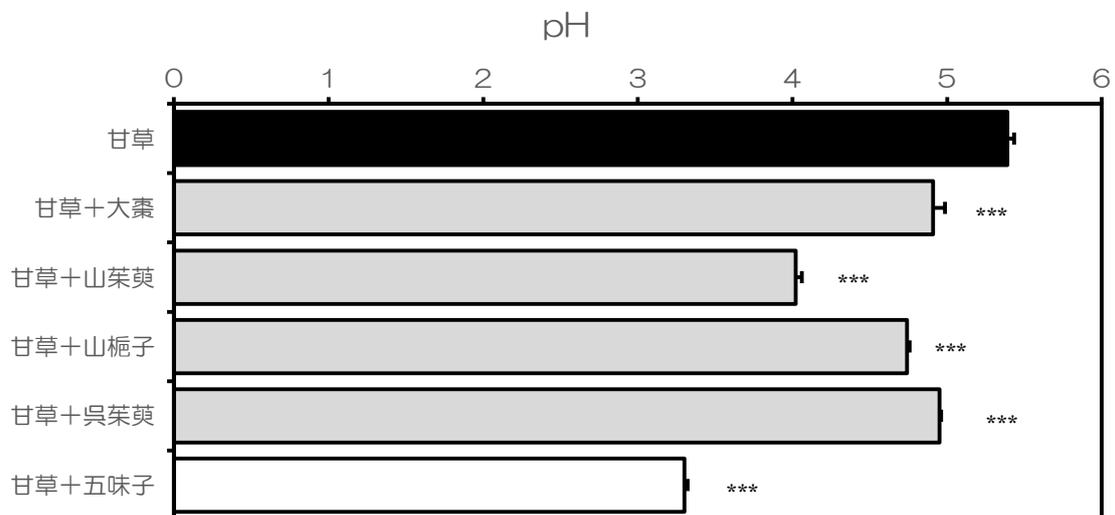


Fig.1 果実系生薬の配合によるエキスの pH に及ぼす影響

Each column represents the Mean \pm S.E.M. of 3 samples.

*** $p < 0.001$ vs. 甘草エキス by ANOVA with Bonferroni multiple correction.

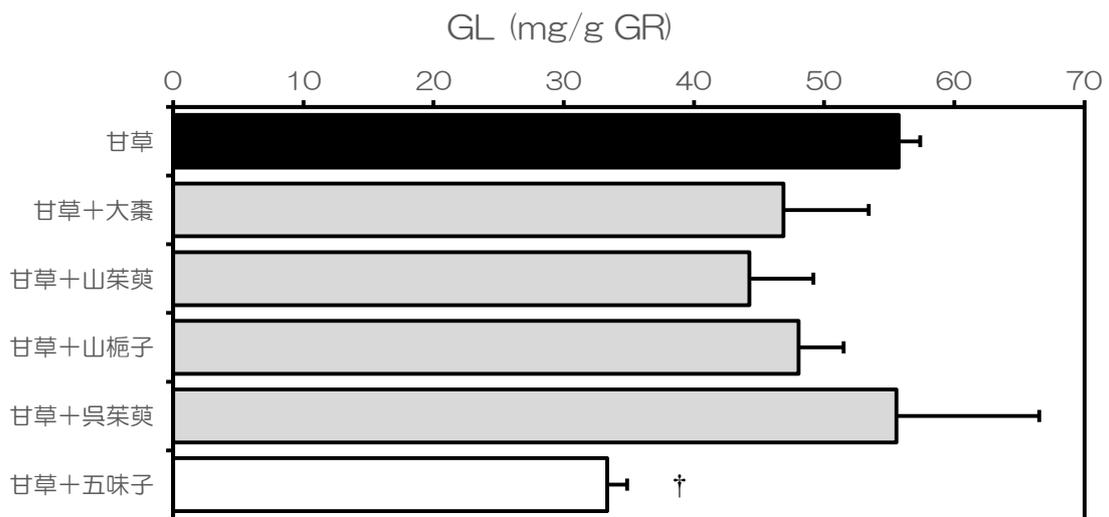
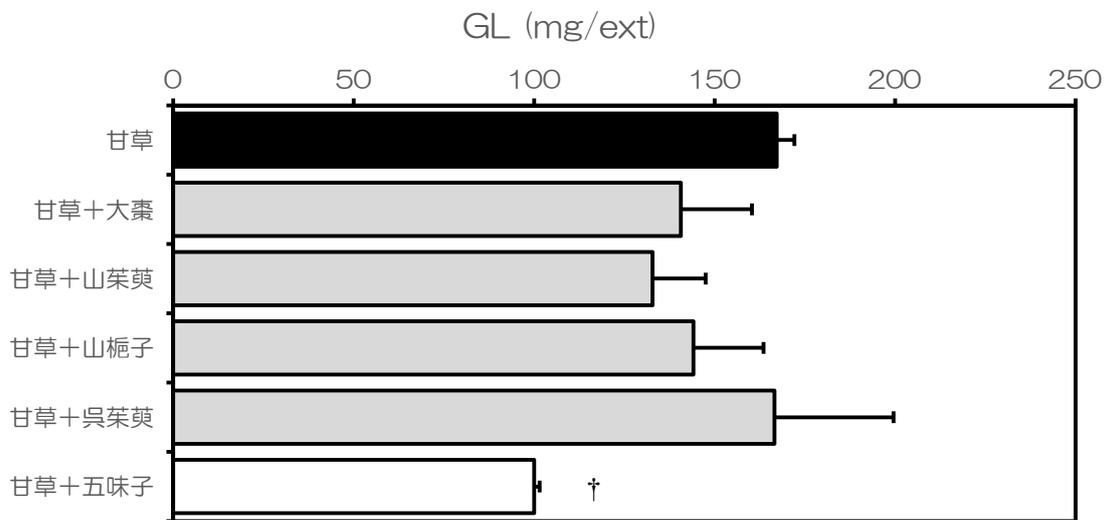


Fig.2 果実系生薬の配合によるエキスのグリチルリチン酸含量及びその抽出効率に及ぼす影響

Each column represents the Mean \pm S.E.M. of 3 samples.

† $p < 0.05$ vs. 甘草エキス by ANOVA with Bonferroni multiple correction for selected two groups.

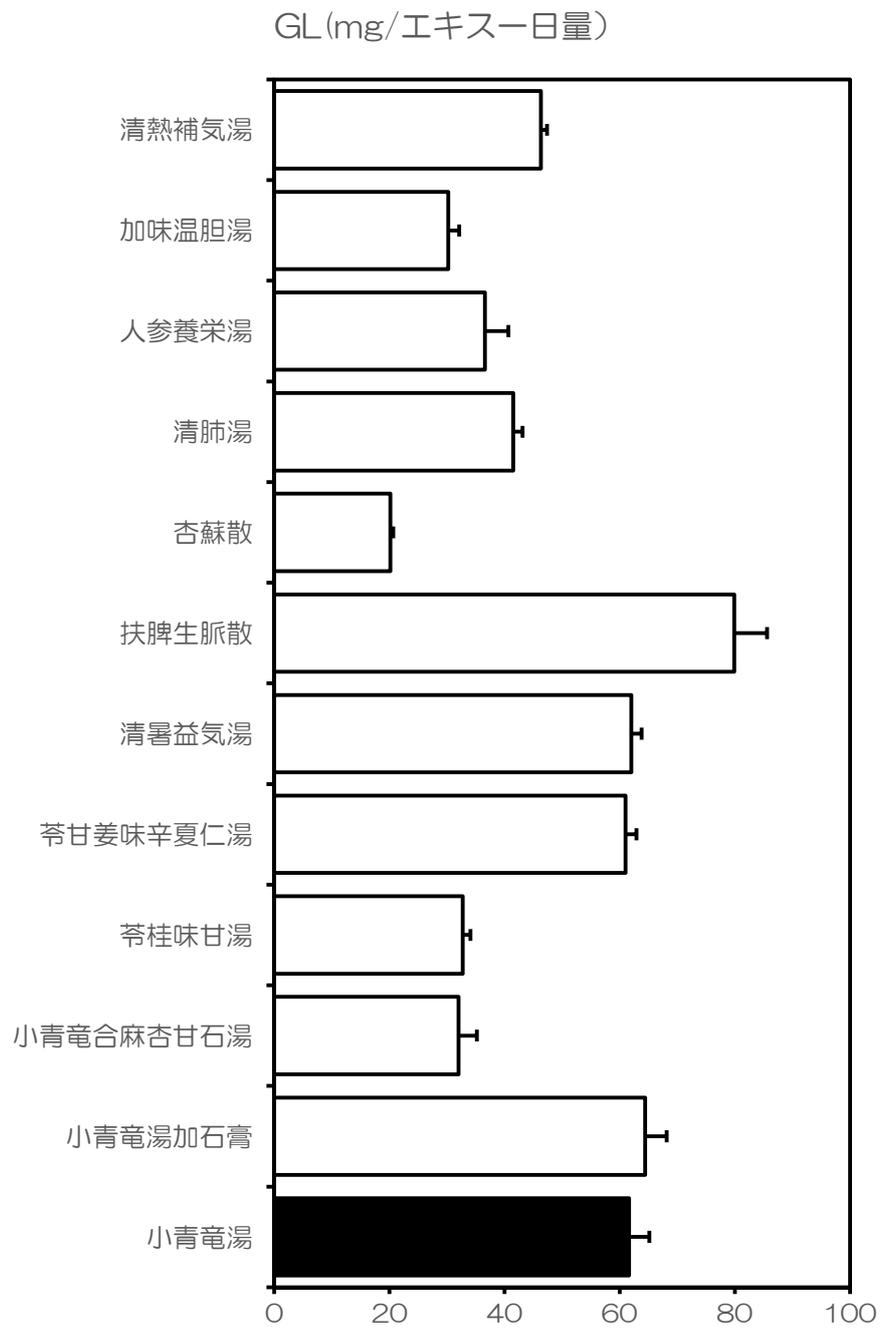


Fig.3 五味子・甘草共配合漢方エキスのグリチルリチン酸含量
 Each column represents the Mean \pm S.E.M. of 3 samples.

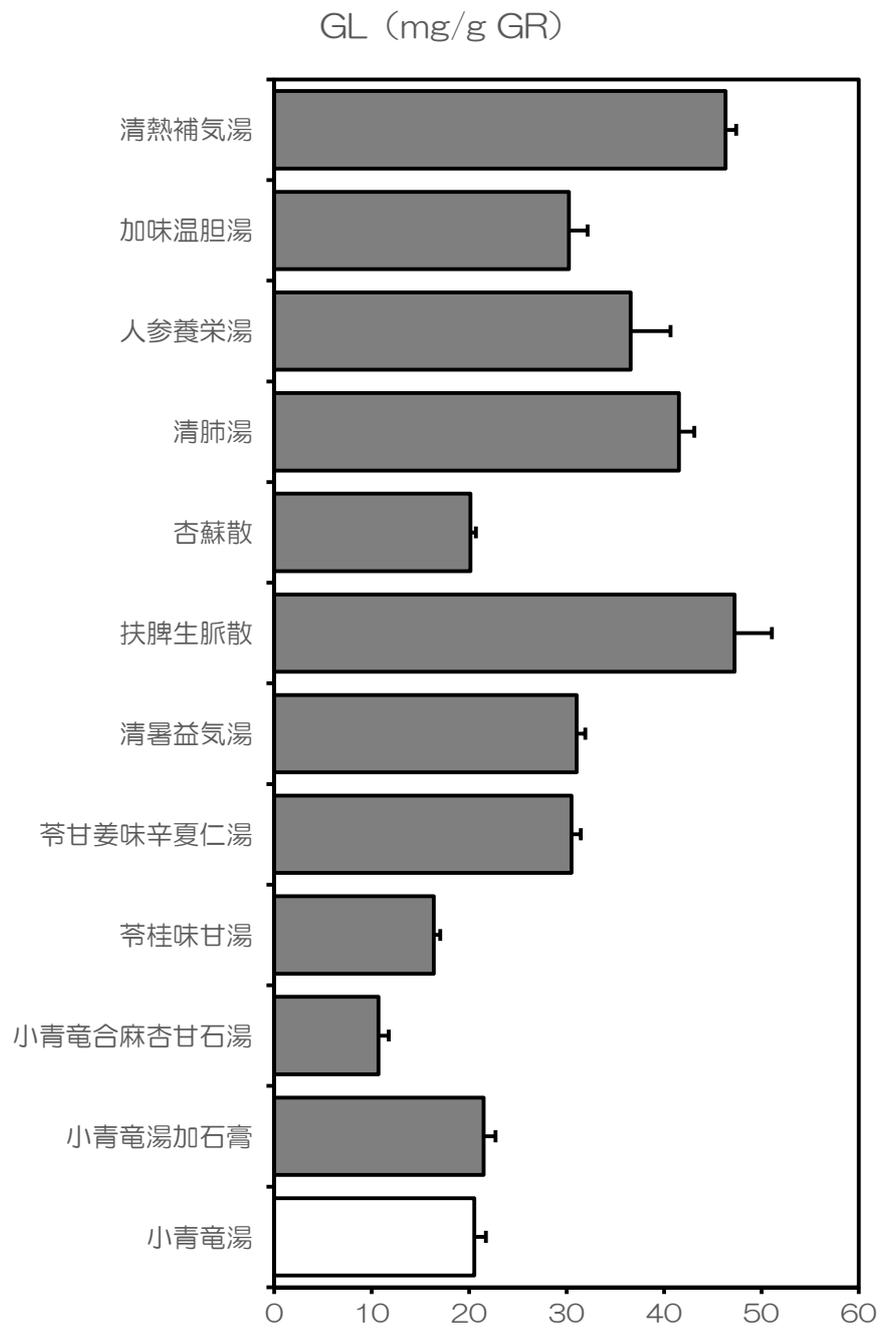


Fig.4 五味子・甘草共配合漢方エキスのグリチルリチン酸抽出効率
 Each column represents the Mean ± S.E.M. of 3 samples.

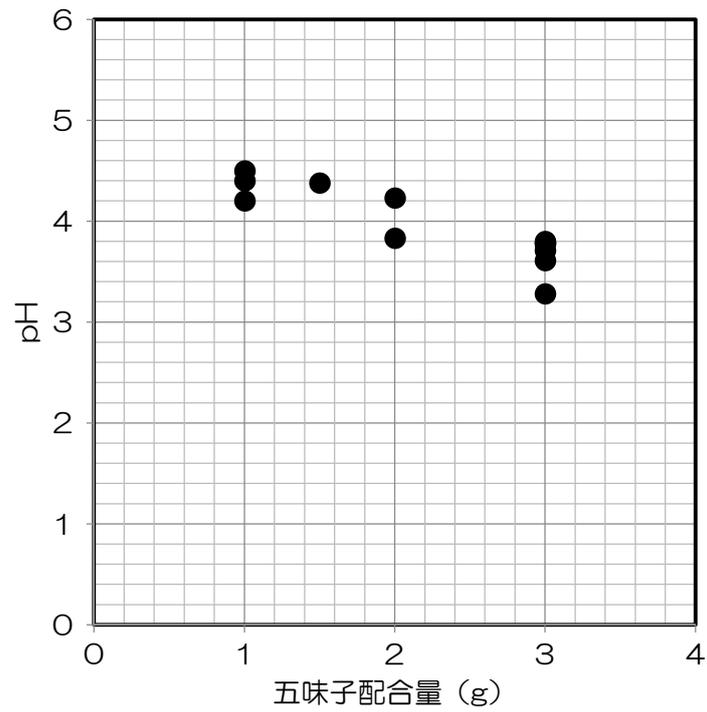


Fig.5 五味子配合量によるエキスの pH に及ぼす影響
 Each point represents the Mean of 12 kinds of Kampo extracts containing Schisandrae Fructus and Glycyrrhizae Radix.

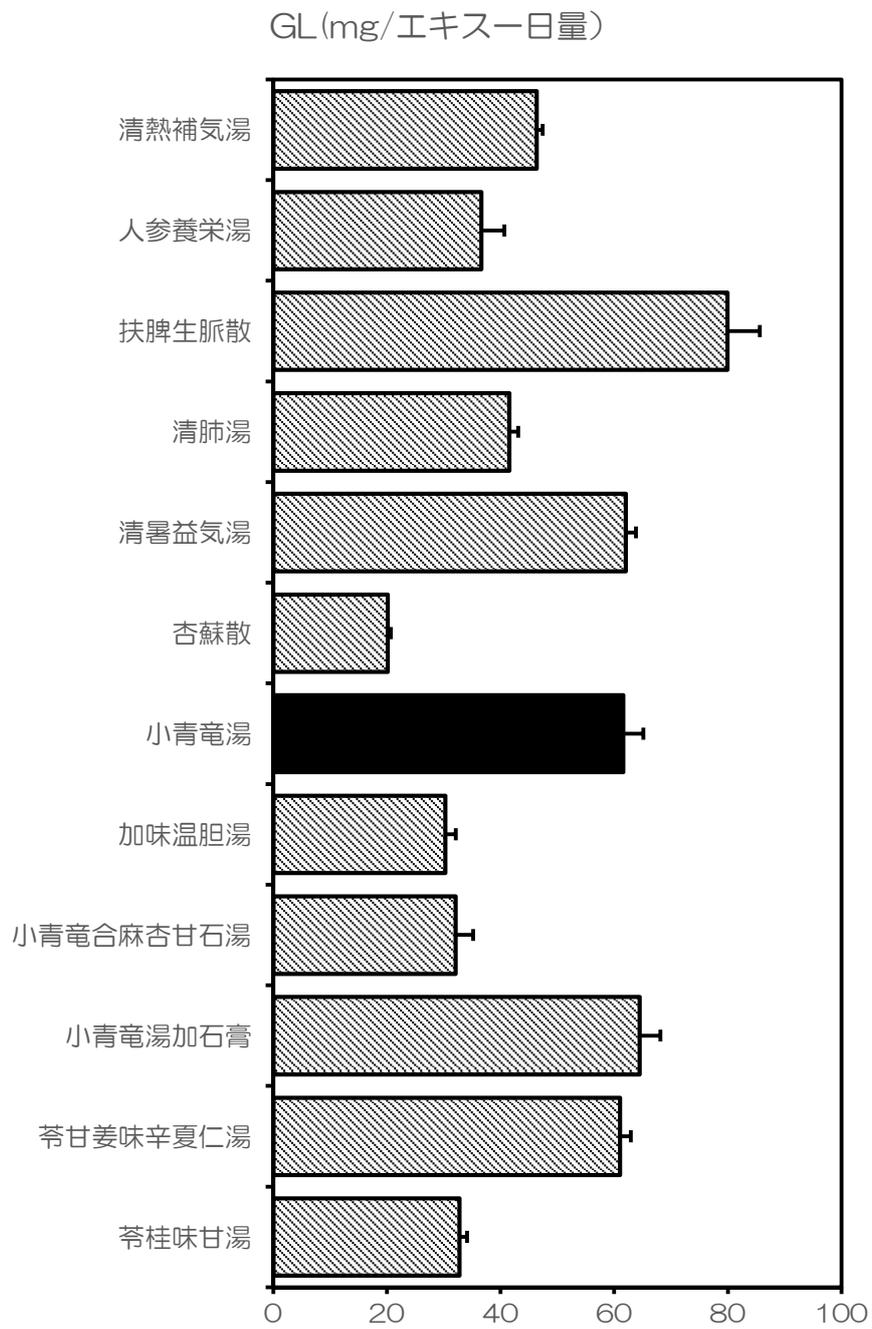


Fig.6 五味子・甘草共配合漢方エキスのグリチルリチン酸含量
(pH 順に並べ替えて)

Each column represents the Mean \pm S.E.M. of 3 samples.

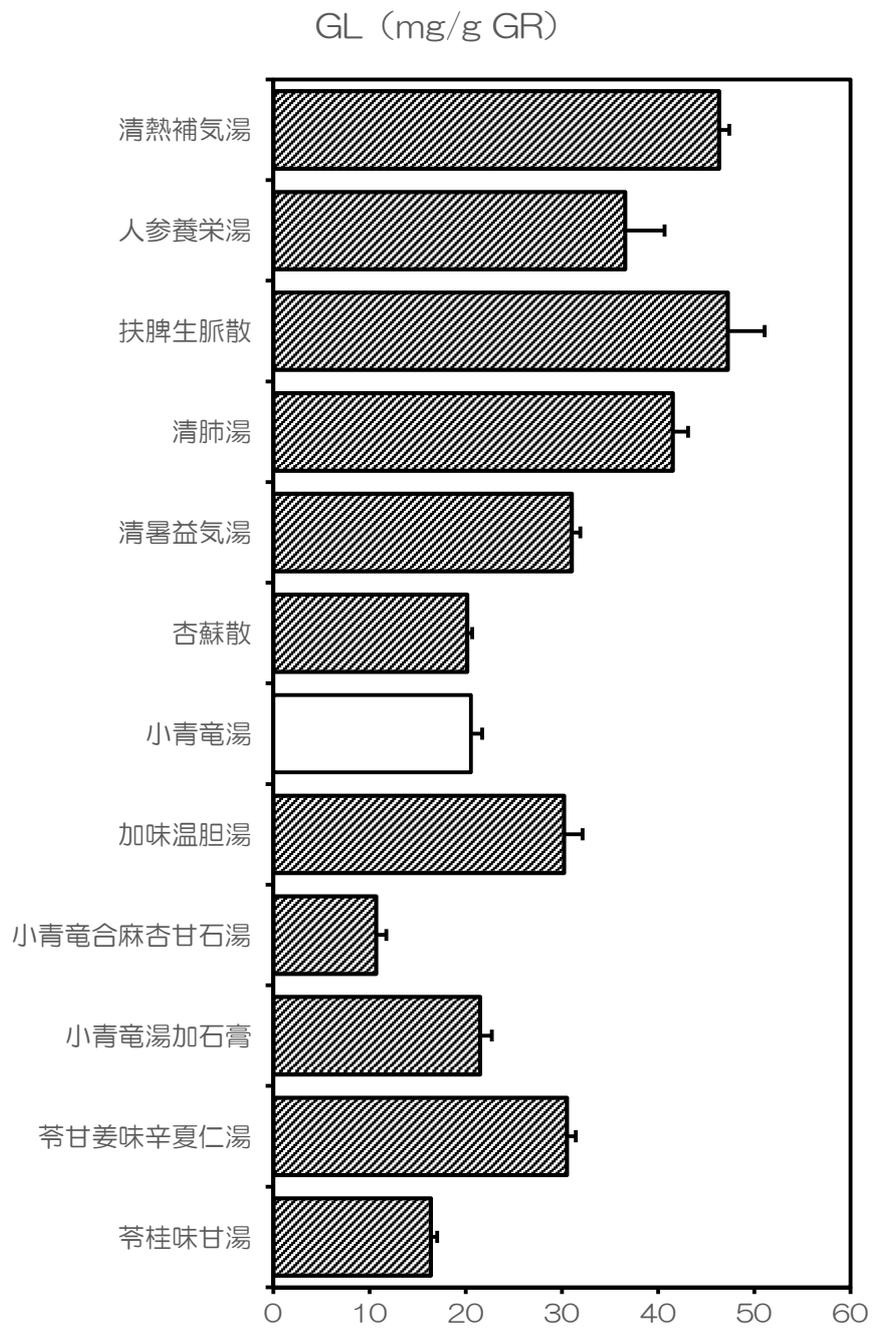


Fig.7 五味子・甘草共配合漢方エキスのグリチルリチン酸抽出効率
(pH 順に並べ替えて)

Each column represents the Mean ± S.E.M. of 3 samples.

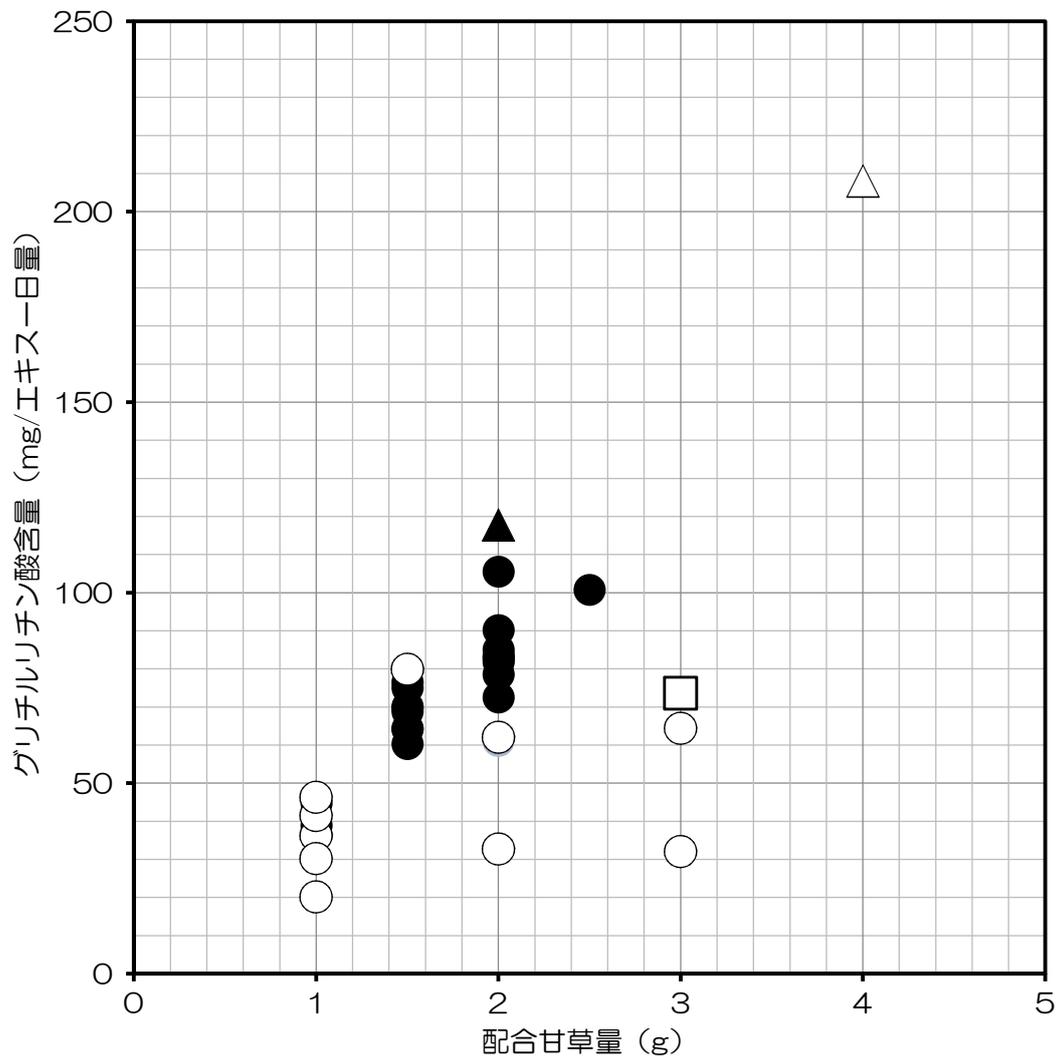


Fig. 8 甘草配合量とエキス一日量中のグリチルリチン酸含量

Each point represents the Mean of 3 samples.

△、芍薬甘草湯；▲、桂枝加竜骨牡蛎湯、□、小青龙湯；

●、その他 23 処方；○、五味子・甘草共配合処方

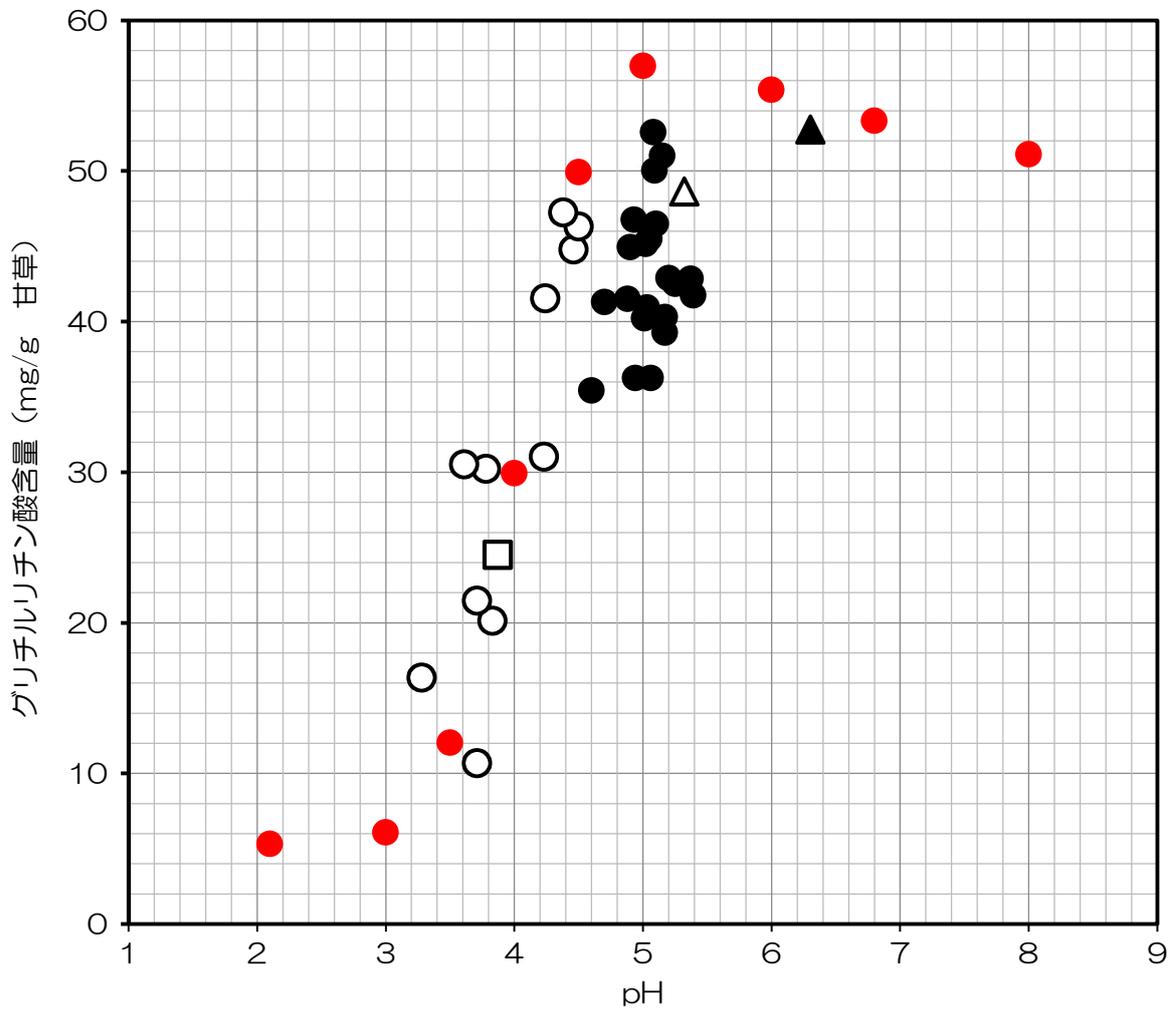


Fig. 9 エキスの pH とグリチルリチン酸抽出効率

Each point represents the Mean of 3 samples.

△、芍薬甘草湯；▲、桂枝加竜骨牡蛎湯、□、小青竜湯；

●、その他 23 処方；○、五味子・甘草共配合処方；

●、100mM 各種 pH 緩衝液

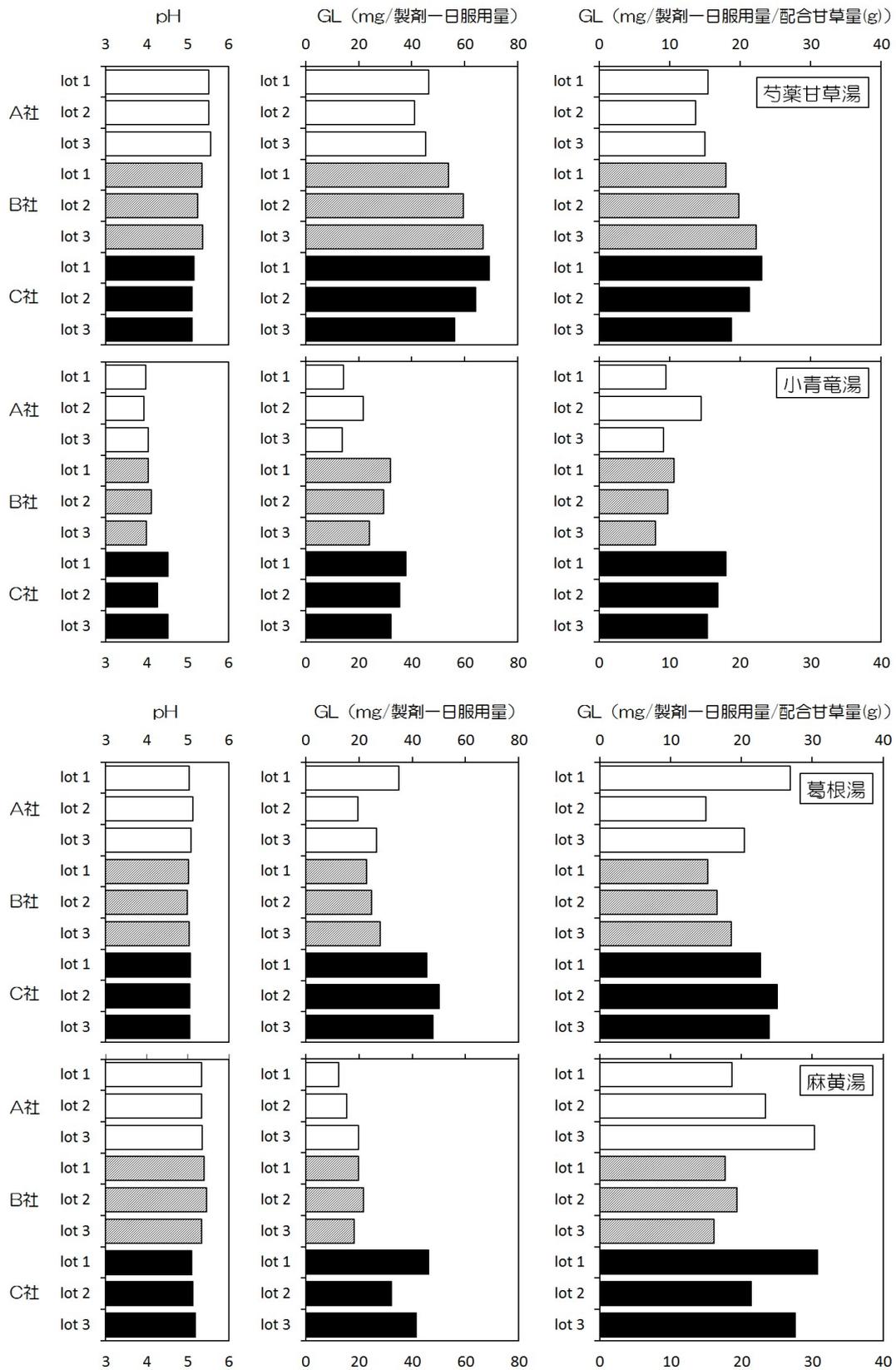


Fig.10 一般用漢方エキス製剤4処方のpHおよびグリチルリチン酸含量

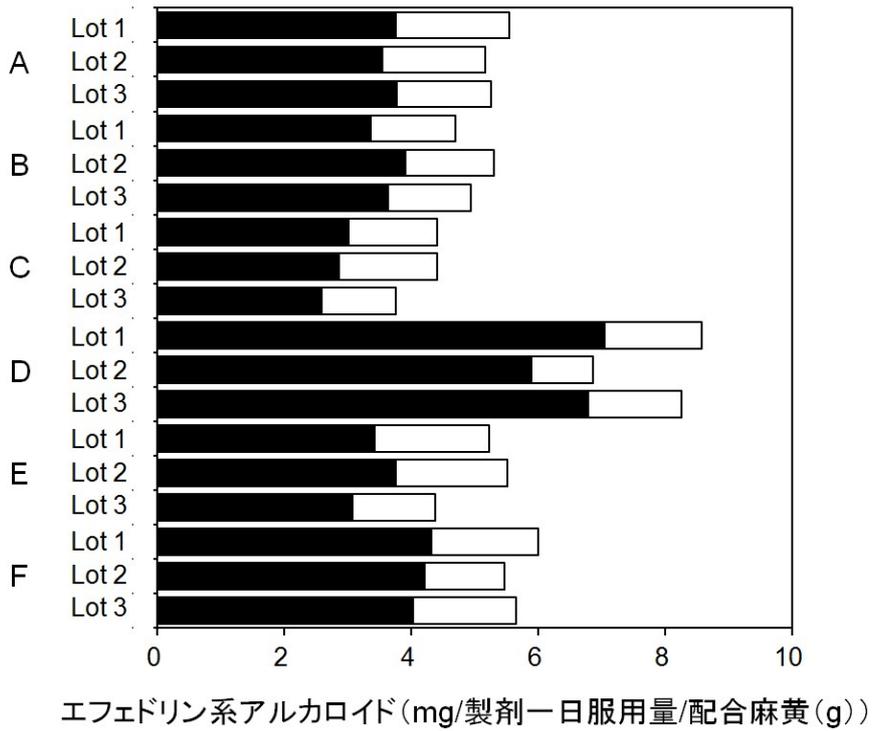
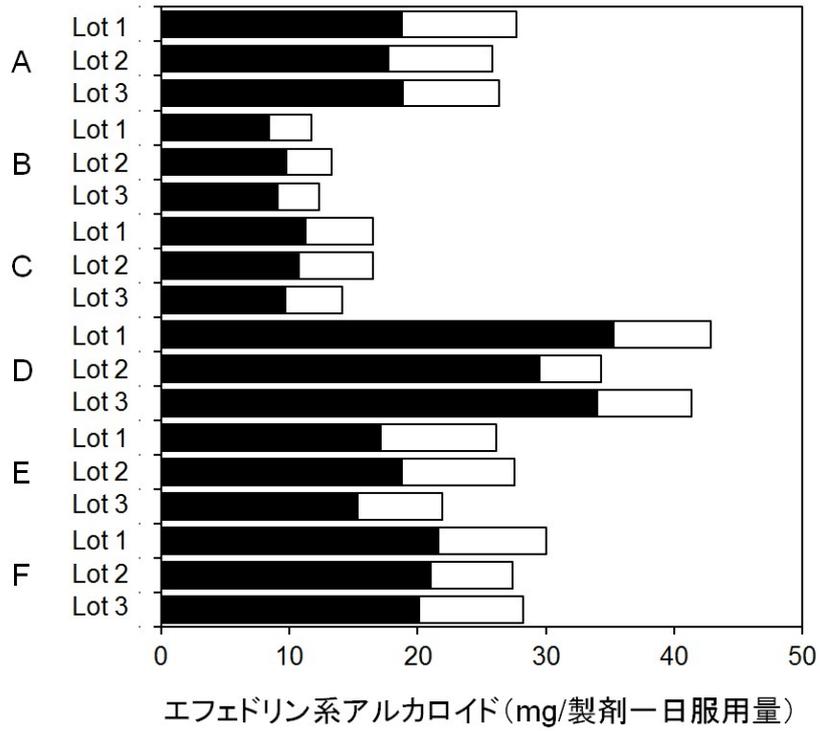


Fig.11 麻黄湯製剤のエフェドリン系アルカロイド含量
 (A : 医療用エキス製剤、B ~ F : 一般用エキス製剤)
 ■、エフェドリン含量 ; □ pseudoephedrine含量