

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：36301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07144

研究課題名(和文)煎出で起こる生薬成分の化学変化の解明による薬効理解のための基礎的研究

研究課題名(英文)Understanding the changes of constituents in Kampo formula among the process of decoction related with the efficacy

研究代表者

好村 守生 (Yoshimura, Morio)

松山大学・薬学部・准教授

研究者番号：80454891

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：散剤や丸剤で頻用される生薬21種(カンゾウ、フクリョウ、トウキ、シャクヤク、センキュウ、ショウキョウ、ケイヒ、ソウジュツ、シオウ、タクシャ、キキョウ、ポタンピ、チョレイ、チョウトウコウ、サイコ、トウニン、サンシュユ、サンヤク、ブシ、サンシシ、ハッカ)について、熱水及びメタノール抽出物を調製し、それらの主含有成分を明らかにした。それらの情報を基に、散剤4種(当帰芍薬散、加味逍遙散、五苓散、抑肝散)、丸剤2種(桂枝茯苓丸、八味地黄丸)の熱水及びメタノール抽出物についてのHPLCを用いた成分分析を行い比較することで、散剤及び丸剤とエキス製剤の含有成分の差異を考察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

漢方処方のうち散剤や丸剤は、本来は粉碎した生薬をそのまま混合あるいは成形して用いるが、現在の医療用漢方製剤ではすべて熱水抽出されたエキスを製剤化したものが用いられている。生薬の熱水抽出物では生薬に含まれる高極性化合物のみが溶出していること、及び熱処理の過程で含有成分の分解が想定されるが、その詳細についての検討は乏しい現状がある。そのため、まず各生薬の熱水抽出物の成分分析を行い、そこで得られた情報を基に漢方処方の熱水抽出物とメタノール抽出物の成分分析及び成分比較を行うことで、漢方の薬効理解のための基礎的な資料とすることを目的とする。

研究成果の概要(英文)：To confirm the changes of constituents in Kampo formula among the process of decoction related with the efficacy, 21 crude drugs frequently employed for mixed powder or pills of Kampo formula were extracted with hot-water or methanol, respectively. The ingredients of each extract were analyzed by reversed-phase (RP) HPLC comparing with the authentic samples from each crude drug and identified the difference between hot-water and methanol extract. Based on the data, six Kampo formula (tokishakuyakusan, kamishoyosan, goreisan, yokukansan, keishibukuryogan, hachimijiogan) also extracted with hot-water or methanol and analyzed by RP-HPLC and compared the changes the ingredients of the extracts.

研究分野：天然物化学

キーワード：漢方 煎出 含有成分 化学変化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

天然物の成分精査は、冷浸で得られた抽出物を分離、精製、構造決定を行うことが基本であり、生薬の含有成分に関する知見の大多数は冷浸抽出物に関する検討の結果によるものである。一方、漢方処方における湯液は、複数の生薬を混ぜ合わせた後に水から煮出すため、含有成分の化学構造の変化や脂溶性成分が抽出されにくいなどの実態が考えられる。また、現在の医療制度では漢方処方における散剤や丸剤は全てエキス製剤として利用されているが、それらのエキスに含まれる主要成分等についての報告に乏しい。

### 2. 研究の目的

現在、臨床現場において様々な漢方処方が用いられているが、湯液は煎出に時間を要することや持ち運びに不便である等の理由から、専ら漢方エキス製剤が使用されている。一方、散剤や丸剤は煎出を要さないが、医薬品の規格基準として煎出されたエキス製剤が使用されているため、エキス製剤と本来の散剤、丸剤とでは摂取される成分が大きく異なることが予想される。加えて、煎出の過程で含有成分の加水分解等の化学変化が想定されるため、文献等で報告されている成分が煎液中に存在しているか等についての網羅的な検討は、一定以上の有用性を備えた資料となり得ると考えられる。

### 3. 研究の方法

散剤や丸剤で頻用される生薬 21 種 (カンゾウ、ブクリョウ、トウキ、シャクヤク、センキュウ、ショウキョウ、ケイヒ、ソウジュツ、ジオウ、タクシャ、キキョウ、ボタンピ、チョレイ、チョウトウコウ、サイコ、トウニン、サンシュユ、サンヤク、ブシ、サンシシ、ハッカ) について、熱水及びメタノール抽出物を調製し、逆相 HPLC を用いて抽出方法の違いによる成分の差異を比較するとともに、入手可能な各生薬の含有成分を標準品として同様の分析を実施することで、各抽出物中の主構成成分の同定を行った。また、それらの情報を基に散剤 4 種 (当帰芍薬散、加味逍遙散、五苓散、抑肝散)、丸剤 2 種 (桂枝茯苓丸、牛車腎気丸) の熱水及びメタノール抽出物の HPLC 分析を行い、散剤及び丸剤とエキス製剤の含有成分を比較し、その差異を考察した。

### 4. 研究成果

(1) 生薬 21 種の熱水抽出物及びメタノール抽出物を調製し、HPLC 分析による含有成分の比較を行った結果、ケイヒ、シャクヤク、センキュウ、チョウトウコウ、ハッカ、ボタンピの 6 種において検出されたピークに顕著な差異を認めた。ケイヒでは、メタノール抽出物で主要成分として確認されたシンナムアルデヒドは熱水抽出物では痕跡程度に減少し、クマリン及びケイヒ酸が熱水抽出物の主要成分として確認された (図 1)。シャクヤクでは、メタノール抽出物の主要成分は熱水抽出物にも確認されたが、熱水抽出物では没食子酸及びメタノール抽出物に認めなかった未同定成分 1 種が主要成分として確認された (図 2)。センキュウでは、メタノール抽出物で主要成分として確認されたリグスチリドは熱水抽出物では痕跡程度に減少し、フェルラ酸及びクロロゲン酸を熱水抽出物の主要成分として認めた (図 3)。チョウトウコウでは、両抽出物ともにカフェー酸、エピカテキン、フラボノイド配糖体類を同定した一方、熱水抽出物ではメタノール抽出物に認めなかった 4-O-カフェオイルキナ酸、クロロゲン酸を主要成分の 1 つとして認めた (図 4)。ハッカでは、両抽出物ともにフラボノイド配糖体類を認めた一方、熱水抽出物ではメタノール抽出物 (UV 254 nm) で主要成分として観察されたリモネンを検出しなかった (図 5)。ボタンピでは、メタノール抽出物の主要成分はペオノールとペオニフロリンであったが、熱水抽出物では当該成分はマイナーピークとして認めた一方、メタノール抽出物ではマイナーピークであった没食子酸を熱水抽出物の主要成分として認めた (図 6)。

(2) (1) で得た各生薬抽出物の分析データを基に、散剤 4 種 (当帰芍薬散、加味逍遙散、五苓散、抑肝散)、丸剤 2 種 (桂枝茯苓丸、牛車腎気丸) の熱水及びメタノール抽出物を調製し、HPLC による主要成分解析を行うとともに、医療用エキス製剤との成分比較を実施した。

当帰芍薬散の熱水抽出物では、没食子酸 (シャクヤク由来)、ウリジン (タクシャ)、アデノシン (タクシャ、トウキ)、クロロゲン酸 (センキュウ) などを主要成分として認めた (図 7)。メタノール抽出物では前述の化合物は微量しか認めなかった一方、ペオニフロリン (シャクヤク) 及びリグスチリド (センキュウ) を主要成分として認めた。加味逍遙散の熱水抽出物では、ゲンボシド (サンシシ)、リクイリチン (カンゾウ)、ペオノール及び没食子酸 (ボタンピ) を主要成分として認めた (図 8)。一方、メタノール抽出物では熱水抽出物で認めたピークのうちリクイリチンとペオノールが他と比べて顕著に強く観察された。五苓散では、熱水抽出物においてケイヒ由来のシンナムアルデヒド、ケイヒ酸を主要成分として認めた一方、メタノール抽出物ではシンナムアルデヒドのみを主要成分として検出した (図 9)。抑肝散の熱水抽出物では、*trans*-カフェー酸 (チョウトウコウ)、リクイリチン (カンゾウ) を主要成分として認めた他、*trans*-フェルラ酸 (センキュウ)、アデノシン (トウキ) を認めた (図 10)。一方、メタノール抽出物では低分子化合物と推察される保持時間の早い領域に明瞭なピークを認めず、カンゾウ由来のリク

イリチンを主要成分として認めた。桂枝茯苓丸では、熱水抽出物及びメタノール抽出物ともにシナムアルデヒド(ケイヒ)とペオノール(ボタンピ)を主要なピークとして認めたが、熱水抽出物ではそれらに加えてケイヒ酸及び没食子酸(ケイヒ)を主要なピークとして認めた(図11)。また、メタノール抽出物ではケイヒ酸をマイナーピークとして検出したのみであった。ケイヒの熱水抽出物ではシナムアルデヒドは極微量しか検出されないが、桂枝茯苓丸の熱水抽出物では主要なピークとして認めたことから、複数の生薬が混合されている状況において液性が変化し、水への溶出が増加したと考えられる。牛車腎気丸の熱水抽出物及びメタノール抽出物では、ペオノール(ボタンピ)が主要なピークとして観察された他、ゴシツ及びビャゼンシに由来すると考えられるマイナーピークを認めた(図12)。また、熱水抽出物では保持時間の早い領域に複数のブロードなピークを認めたことから、低分子化合物と推察される成分が複数存在していると考えられた。

今回分析を行ったいずれの漢方処方においても、熱水抽出物とメタノール抽出物とは HPLC における検出成分またはそれらの含有比率が異なり、特にケイヒを含む処方の熱水抽出物では、ケイヒのメタノール抽出物で約 80%の主成分として観察されたシナムアルデヒドが微量のみ検出されるなど、差異は顕著であった。また、熱水抽出物では没食子酸などの低分子フェノール類、ウリジンやアデノシンなどの核酸類、クロロゲン酸などのカフェオイルキナ酸類が多く、一方のメタノール抽出物ではペオノールやリグスチリドの存在比率が多いことが明らかになった。このことは、熱水とメタノールとは化合物の溶解性が異なること及び加熱抽出による化合物の分解に起因すると考えられる。また、熱水抽出物と医療用エキス製剤では、若干の成分組成の差異を認めたが、このことは「朮」にソウジュツとビャクジュツのどちらを用いるかによる差異や、使用した生薬の産地や季節変動によるものと推察された。

本来の散剤や丸剤では生薬の粉末(又はそれを成形したもの)を摂取するため、実際にはメタノール抽出物で確認された化合物に加えて多くの水溶性成分が体内に吸収されていると考えられるが、熱水抽出物やエキス製剤では水溶性成分のみが抽出されているとともに、例えばシャクヤクに含まれる加水分解性タンニンが分解されて生じる没食子酸のような、加熱処理によって生成した低分子化合物が多く検出されるなどの変化を認めた。本来の散剤を摂取した場合においても、消化管内で代謝等を含む分解が起こり、最終的に熱水抽出物と同様の成分が吸収されている可能性は否定できないが、熱水抽出物には認められずメタノール抽出物のみを確認された化合物については、エキス製剤を利用した場合には摂取されないことになる。現在の臨床ではその利便性から専らエキス製剤が用いられているが、期待された効能が認められないなどの報告に乏しいことから、比較検証には成分の吸収、代謝、排泄を含めたより詳細な検討が必要であると考えられる。

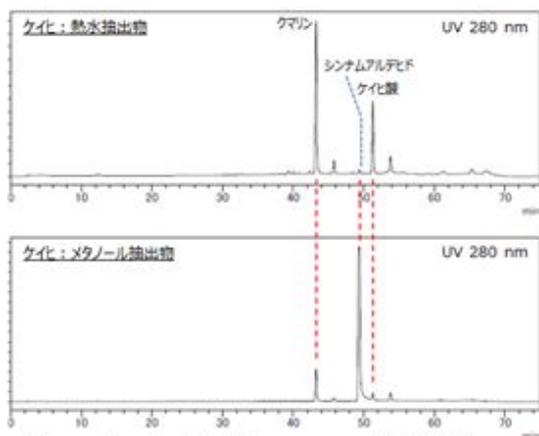


図1. ケイヒ抽出物のHPLC分析結果

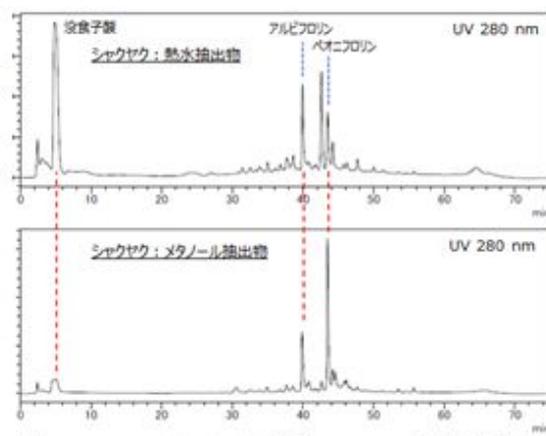


図2. シャクヤク抽出物のHPLC分析結果

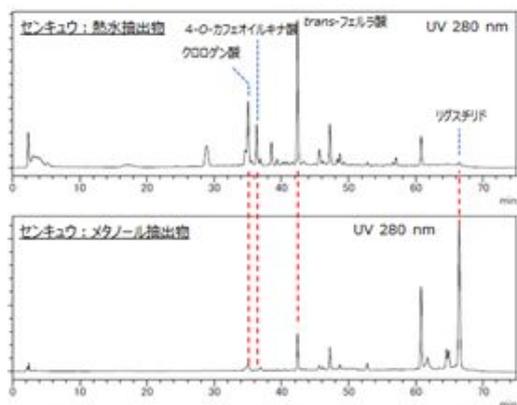


図3. センキュウ抽出物のHPLC分析結果

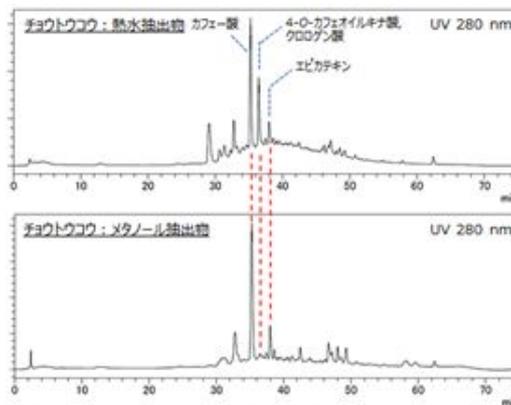


図4. チョウトクク抽出物のHPLC分析結果

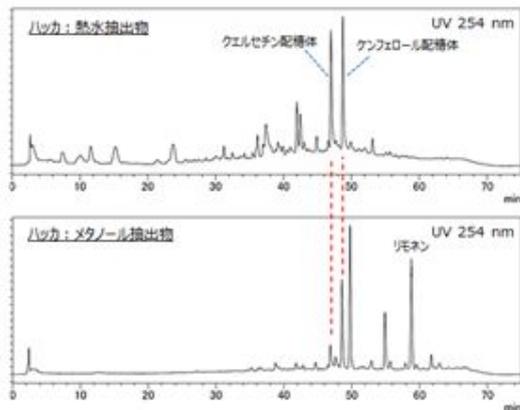


図 5. ハッカ抽出物の HPLC 分析結果 (254 nm)

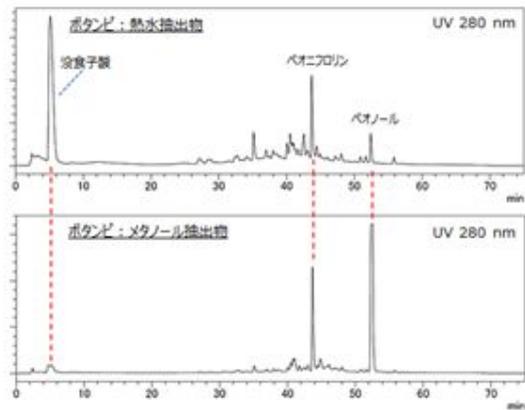


図 6. ボタンピ抽出物の HPLC 分析結果

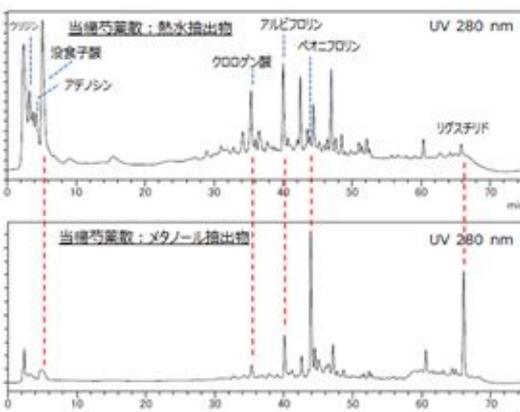


図 7. 当帰芍薬散抽出物の HPLC 分析結果

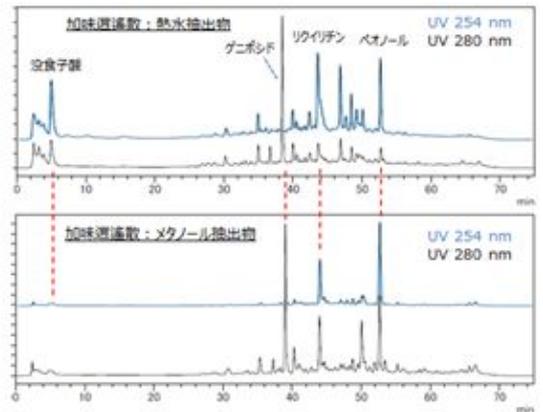


図 8. 加味逍遙散抽出物の HPLC 分析結果

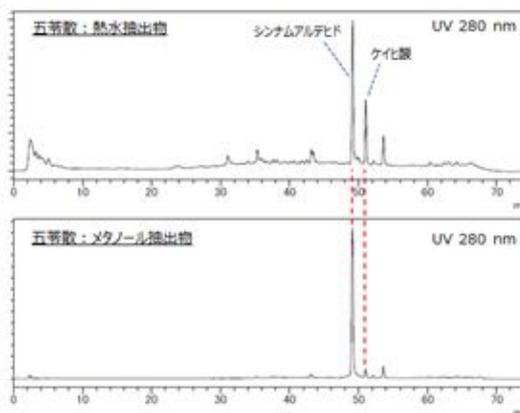


図 9. 五苓散抽出物の HPLC 分析結果

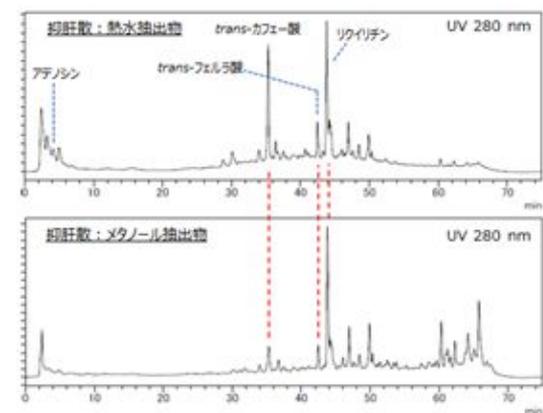


図 10. 抑肝散抽出物の HPLC 分析結果

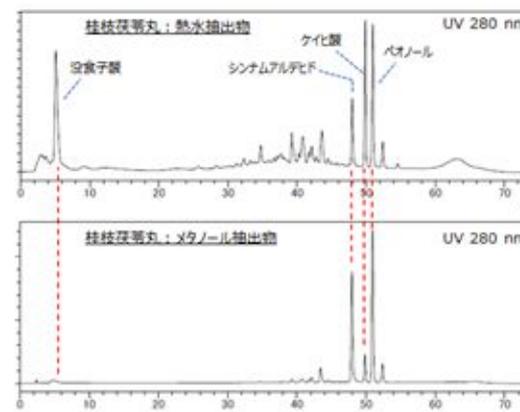


図 11. 桂枝茯苓丸抽出物の HPLC 分析結果

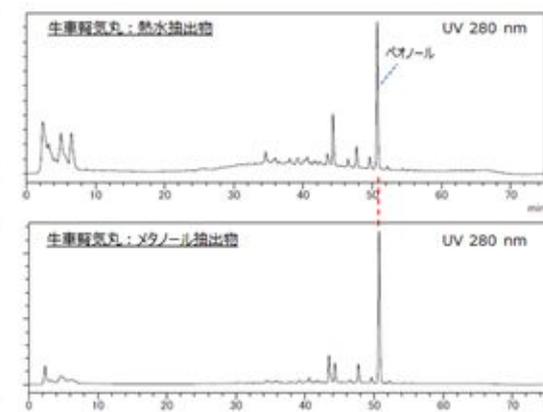


図 12. 生車腎気丸抽出物の HPLC 分析結果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------