

Ⅲ. 「富山県ブランド芍薬」の基盤・臨床研究

富山大学・和漢医薬学総合研究所

漢方診断学分野 教授 柴原直利

生薬資源科学分野 教授 小松かつ子

高齢化や健康意識の高まりの影響もあり、漢方薬は医療用あるいは一般用医薬品として非常に幅広く用いられている。一方、漢方薬に配合される生薬の約90%は国外からの輸入に依存しており、自然環境の変化などによって生薬の供給が滞る事態も危惧されていることから、日本国内で栽培可能な生薬は栽培化を図る必要があると考えられてきている。頻用生薬の一つである「芍薬」はボタン科のシャクヤク *Paeonia lactiflora* の根を修治したものであるが、その自給率は3.52%程度とされている。富山県は付加価値の高い「富山県ブランド芍薬」を開発する目的で優良品種を選抜し、栽培化を進めてきた。そこで本研究では、富山において栽培可能な薬用植物の有用性を、基礎及び臨床研究の視点から明らかとすることを目的とした。

研究担当者の本年度研究成果の概要を以下にまとめる。

1. シャクヤク品種の選品と加工法の最適化に関する研究

富山県産シャクヤクの根の加工調製法を開発する目的で、富山県薬用植物指導センターで収穫された Paeonol を含有することを特徴とする品種の新鮮根を水洗せずにビニール袋に入れ、冷蔵室(4℃)に保管した35日後に直径1.5~2.0 cm の根を選別し、(1)水洗した後に室内乾燥して保存、(2)水洗した後に除皮し、室内乾燥して保存、(3)水洗・湯通しの後に除皮し、室内乾燥して保存、(4)水洗・湯通し後に室内乾燥して保存、(5)水洗した後に乾燥機で乾燥して保存、(6)水洗した後に除皮し、乾燥機で乾燥して保存、(7)水洗・湯通しの後に除皮し、乾燥機で乾燥して保存、(8)水洗・湯通し後に乾燥機で乾燥して保存、の8通りの加工調製法を行ない、成分含量の変動をHPLCにより検討した。すべての加工調製法において Paeoniflorin 含量は3.23~3.94%と安定して高値を示したが、Albiflorin 含量は0.97~1.26%であり、除皮したものでは低い傾向を示した。湯通し処理については、1,2,3,4,6-Penta-O-galloyl-β-D-glucose (PGG) 及び Gallic acid 含量については処理群は非処理群に比較して増加し、特に湯通し後に乾燥機により乾燥した群において非常に高い値を示した。一方、Paeonol については、処理群では室内乾燥、乾燥機乾燥のいずれにおいても Paeonol を検出しなかった。

これまでの研究と合わせ、加工調製法の最適化を目的とした成分研究では、Paeoniflorin, Albiflorin, PGG, Gallic acid, 及び Methyl gallate に着目すれば、新鮮根を1ヶ月以上低温貯蔵し、水洗後に湯通し

して、周皮を除かずに30℃で乾燥する方法が適していることが示された。本法は富山県においても実施可能であり、この結果は富山県産芍薬のブランド化に寄与するものと考えられる。

2. 富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯の臨床効果に関する研究

富山県ブランド芍薬の腓返り及び月経痛に対する効果を一般市場品芍薬と比較検討した。腓返りに対する効果を20名の被験者（M/F=8/12，平均年齢73.5±4.6歳）を対象に検討したところ、富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯（以下、富山芍甘）は服薬期間における腓返り平均発生回数を有意に減少させ、腓返り累計時間・腓返り1回当たりの平均持続時間を有意に短縮させたが、一般市場品芍薬含有芍薬甘草湯（以下、市場芍甘）との比較では両薬剤間に有意な差は認めなかった。しかし、自覚的有用度による評価では、8人が富山芍甘の方が有用と回答したのに対し、市場芍甘の方が有用と回答したのは5人であった。

月経痛に対する効果を20名（平均年齢28.6±5.5歳）の被験者を対象に、富山芍甘と市場芍甘を比較したところ、富山芍甘により月経痛自覚日数は有意に減少し、Visual Analog Scale（VAS）を用いた月経痛の程度の評価においても月経痛VAS値累計、疼痛日平均VAS値、月経期間平均VAS値のすべてが富山芍甘により有意に減少した。しかし、市場芍甘との比較では、これらの指標において両薬剤間に有意差は得られなかった。自覚的有用度による評価では、富山芍甘の方が有用と回答したのは6人であり、市場芍甘の方が有用とした3人であった。

腓返りおよび月経痛に対する効果の検討では富山芍甘と市場芍甘との間に明確な差は得られなかったが、自覚的有用度では富山芍甘が有用であるとする被験者が多くみられた。このことは、富山県産ブランド芍薬が臨床において有用である可能性を示唆するものと考えられる。

Ⅲ－１ 富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯の 臨床効果に関する研究

富山大学・和漢医薬学総合研究所 漢方診断学分野 教授 柴原直利

1. 緒言

超高齢化社会を迎えた今日において、漢方方剤は多種多様な愁訴に対して幅広く用いられている。漢方方剤は一定比率の複数生薬により構成されるが、本邦で使用される生薬の90%強は輸入されたものであり、生薬の供給が滞る事態も危惧されている。

漢方医学の永続性を担保するためには、日本国内で栽培可能な生薬は栽培化を促進する必要がある。本邦で使用される生薬の中でも非常に使用頻度が高い生薬としてボタン科のシャクヤク *Paeonia lactiflora* の根を修治した「芍薬」があるが、そのほとんどは中国から輸入されている。そのような状況の下で、富山県は付加価値の高い「富山県ブランド芍薬」を開発する目的で、園芸用シャクヤクの中から抗炎症、抗酸化作用が優れている優良品種を選抜し、栽培化している。

芍薬甘草湯は、有痛性筋痙攣（＝腓返り）や月経困難症（＝月経痛）などに頻用されており、「富山県ブランド芍薬」の効果を実証的に評価することを目的として、甘草の一般市場品と富山県ブランド芍薬、あるいは芍薬の一般市場品との2生薬により構成される富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯（以下、富山芍甘）と一般市場品芍薬含有芍薬甘草湯（以下、市場芍甘）を用い、腓返り及び月経痛を対象として臨床効果を比較検討した。

2. 腓返りに対する富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯の効果に関する臨床研究

2-1. 対象と方法

(1) 対象

頻回に腓返りが生じることで生活に支障がみられており、少なくとも本研究参加前の3ヶ月間に西洋医学的治療の変更がなく、かつ漢方薬服用歴がない者の中で、本研究への参加について同意の得られた被験者を対象とした。

(2) 薬剤

富山芍甘には富山県ブランド芍薬、及び一般市場品甘草（1日量：富山県ブランド芍薬 2.5g、一般市場品甘草 2.5g）を、市場芍甘には一般市場品芍薬、及び一般市場品甘草（1日量：一般市場品芍薬 2.5g、一般市場品甘草 2.5g）を用いた。水100mLに1日量の生薬を入れて加熱し、75mLにな

るまで煎出したものを濾して煎液を作製し、1日分としてアルミパックに包装したものを作製した。

(3) 服用方法

作製した富山芍甘，あるいは市場芍甘を7日間，1日1回就寝前に服用することとした。投与については封筒法を用いたクロスオーバー方式とし，富山芍甘と市場芍甘服用には4週間の間隔を開けた。

(4) 臨床効果の評価

研究期間中，被検者は臨床症状日誌に1日における腓返り発生回数・持続時間を記載することとした。芍薬甘草湯服用前，服用期間，服用中止後の各7日間について各被験者の平均値を算出して代表値とし，腓返りに対する富山芍甘，及び市場芍甘の効果を比較検討した。また，7日間の服用後に，各被験者は腓返りに対する有用度を「有用」，「やや有用」，「有用ではない」のいずれかで評価した。さらに，全日程後に先に服用した芍薬甘草湯と後に服用した芍薬甘草湯の有用度の相違について，「明らかに先に服用した方が有用」，「どちらかと言えば先に服用した方が有用」，「どちらとも言えない」，「どちらかと言えば後に服用した方が有用」，「明らかに後に服用した方が有用」のいずれかで評価した。

2-2. 結果

(1) 対象者背景

対象者の性差はM/F=8/12であり，平均年齢は73.5±4.6歳であった。基礎疾患に対して西洋医学的薬剤を服用している被験者は18人であった。

(2) 芍薬甘草湯服薬状況

対象とした20人は規定通りに富山芍甘，市場芍甘を各7日間服薬したことが確認された。

(3) 腓返りに対する臨床効果

1) 腓返り発生回数

富山芍甘と市場芍甘はともに服薬期間における腓返り平均発生回数を有意に減少させた。富山芍甘と市場芍甘と比較では，発生回数は富山芍甘が市場芍甘よりも減少していたが，両薬剤間に有意な差は認めなかった（表1・図1-A）。

2) 腓返り持続時間

腓返り累計時間は，富山芍甘と市場芍甘により有意に短縮したが，両薬剤間に有意差は得られなかった。腓返り1回当たりの平均腓返り持続時間も両薬剤により有意な短縮を示したが，両薬剤間に有意な差を認めなかった（表1・図1-B,C）。

3) 自覚的有用度

富山芍甘，あるいは市場芍甘が腓返りに対して有用であったか否かについては，富山芍甘では

表1 富山県ブランド芍薬及び一般市場芍薬含有芍薬甘草湯の腓返りに対する臨床効果

腓返り平均発生回数 (回/日)		服用前	服用中	服用後
	富山芍甘	0.52±0.17	0.31±0.11	0.39±0.13
	市場芍甘	0.49±0.11	0.32±0.10	0.36±0.12

腓返り累計時間 (分/7日)		服用前	服用中	服用後
	富山芍甘	74.0±19.3	35.0±15.4	47.8±16.3
	市場芍甘	66.8±19.5	40.5±16.1	42.5±16.3

腓返り平均持続時間 (分/回)		服用前	服用中	服用後
	富山芍甘	22.83±4.78	16.92±5.26	17.96±2.96
	市場芍甘	19.51±2.70	17.42±3.49	16.90±2.48

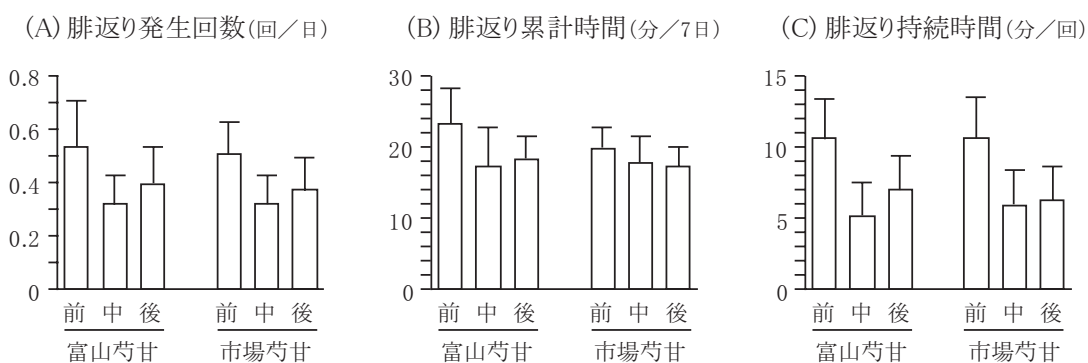


図1 富山県ブランド芍薬及び一般市場芍薬含有芍薬甘草湯の腓返りに対する臨床効果

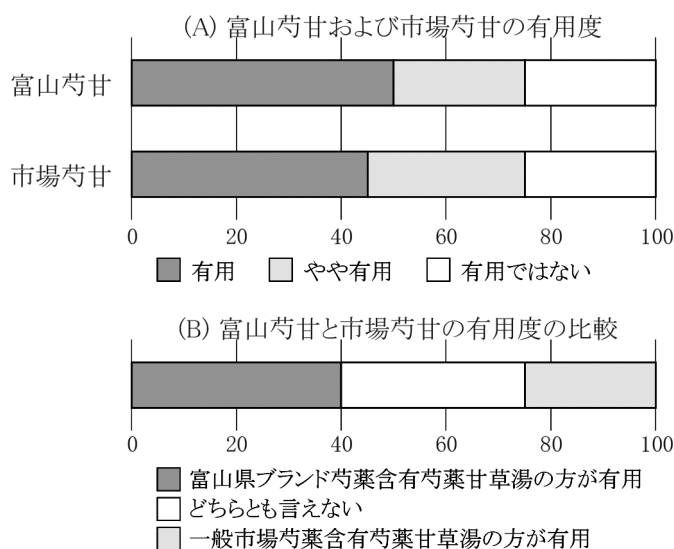


図2 腓返りに対する富山県ブランド芍薬及び一般市場芍薬含有芍薬甘草湯の有用度

20人中10人が「有用」、5人が「やや有用」と回答し、市場芍甘では20人中9人が「有用」、6人が「やや有用」と回答した。また、富山芍甘と市場芍甘との比較では、「明らかに富山芍甘の方が有用」、「明らかに市場芍甘の方が有用」はなく、「富山芍甘の方が有用」は8人、「両薬剤は変わらない」は7人、「市場芍甘の方が有用」が5人であった（図3-A,B）。

3. 月経痛に対する富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯の効果に関する臨床研究

3-1. 対象と方法

(1) 対象

月経周期は順調であるが月経痛が強く、生活に支障がみられている者で、本研究参加前の6ヶ月間に経口避妊薬の使用歴がなく、3ヶ月間に漢方薬服用歴がない者の中で、本研究への参加について同意の得られた被験者を対象とした。

(2) 薬剤作製

富山芍甘には富山県ブランド芍薬、及び一般市場品甘草（1日量：富山県ブランド芍薬 5.0g、一般市場品甘草 5.0g）を、市場芍甘には一般市場品芍薬、及び一般市場品甘草（1日量：一般市場品芍薬 5.0g、一般市場品甘草 5.0g）を用いた。水200mLに1日量の生薬を入れて加熱し、100mLになるまで煎出したものを濾して煎液を作製し、1日分としてアルミパックに包装したものを作製した。

作製した富山芍甘、あるいは市場芍甘を月経開始日から終了日まで、1日2回服用することとした（基本的には朝食前・夕食前に服用）。試験薬剤の服用順は封筒法を用いたクロスオーバー方式で決定した。

(3) プロトコール・薬剤服用方法

研究開始後の最初の月経時を無服薬の観察期とし、次の月経時より作製した富山芍甘、あるいは市場芍甘を月経開始日から終了日まで、1日2回服用とした（基本的には朝食前・夕食前に服用）。試験薬剤の服用順は封筒法を用いたクロスオーバー方式で決定した。尚、疼痛程度が非常に強い際にはサリチル酸系鎮痛剤（カロナール 200mg/日）を1日に1回のみ服用可とし、服用の有無を臨床症状日誌に記載することとした。

(4) 臨床効果の評価

研究期間中、被験者は1日における月経痛の程度を就寝前に評価し、臨床症状日誌の評価表にある Visual Analog Scale (VAS) を用い、最大疼痛程度を100として記載することとし、月経痛に対する富山芍甘、及び市場芍甘の効果と比較検討した。また、薬剤服用後に、月経痛に対する有用度を「有用」、「やや有用」、「有用ではない」のいずれかで評価した。さらに、全日程後、先に服用した芍薬甘草湯と後に服用した芍薬甘草湯の有用度の相違について、「明らかに先に服用した方が有用」、「どちらかと言えば先に服用した方が有用」、「どちらとも言えない」、「どちらかと言えば後に服用

した方が有用」,「明らかに後に服用した方が有用」のいずれかで評価した。

3-2. 結果

(1) 対象

対象は20人の女性（平均年齢は 28.6 ± 5.5 歳）であり，観察期において鎮痛薬の服用を要した被験者は5名であった。富山芍甘，あるいは市場芍甘の服用は規定通りに実施され，芍薬甘草湯服用期間に鎮痛剤の服用を要した被験者はいなかった。

(2) 月経痛に対する臨床効果

1) 月経痛自覚日数

月経日数は観察期・富山芍甘服用期・市場芍甘服用期において有意な差はみられなかったが，月経痛自覚日数は両薬剤とも服用により有意に減少していた。しかし，富山芍甘と市場芍甘の間に有意な差はみられなかった。（表2・図3-A）

2) 月経痛の程度

富山芍甘，あるいは市場芍甘により月経痛VAS値累計，疼痛日平均VAS値，月経期間平均VAS値のすべてが有意に減少した。しかし，富山芍甘と市場芍甘の比較では，これらの指標において両薬剤間に有意差は得られなかった（表2・図3-B,C,D）。

3) 自覚的有用度

富山芍甘，あるいは市場芍甘が月経痛に対して有用であったか否かについては，富山芍甘では20人中8人が「有用」，4人が「やや有用」と回答し，市場芍甘では20人中7人が「有用」，5人が「やや有用」と回答した。また，富山芍甘と市場芍甘との比較では，「明らかに富山芍甘の方が有用」，「明らかに市場芍甘の方が有用」はなく，「富山芍甘の方が有用」は6人，「両薬剤は変わらない」は11人，「市場芍甘の方が有用」が3人であった（図4-A,B）。

表2 富山県ブランド芍薬及び一般市場芍薬含有芍薬甘草湯の月経痛に対する臨床効果

	観察期	富山芍甘	市場芍甘
月経日数（日）	6.00 ± 0.70	5.90 ± 0.79	6.00 ± 0.643
月経痛自覚日数（日）	5.30 ± 0.86	4.60 ± 0.50	4.75 ± 0.91

	服用前	服用中	服用後
月経痛VAS値累計	255.4 ± 49.9	153.9 ± 51.0	166.3 ± 34.6
疼痛日平均VAS値	48.5 ± 7.9	33.3 ± 10.0	35.1 ± 5.9
月経期間平均VAS値	42.5 ± 6.2	26.52 ± 9.8	28.0 ± 6.3

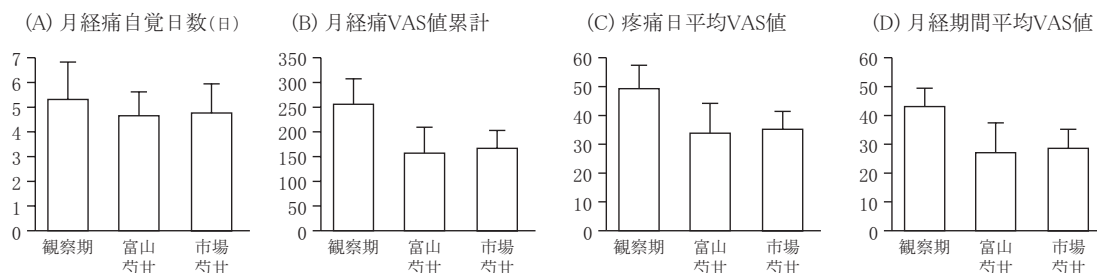


図3 富山県ブランド芍薬及び一般市場芍薬含有芍薬甘草湯の月経痛に対する臨床効果

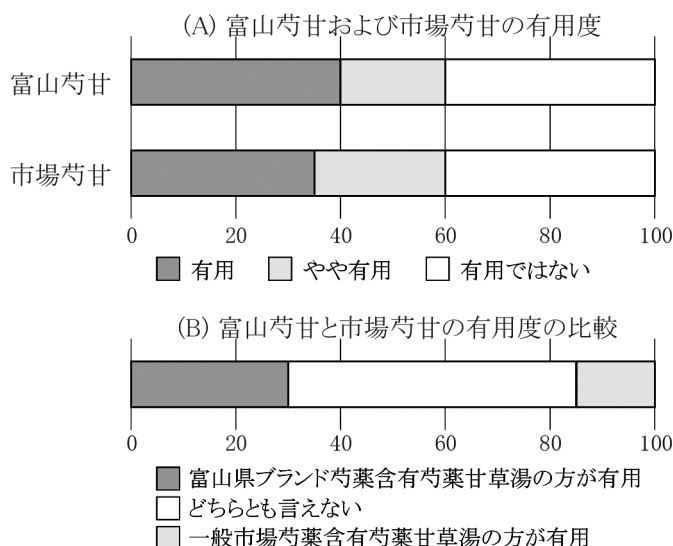


図4 月経痛に対する富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯の有用度

4. 考察・結論

富山県ブランド芍薬の薬効について、芍薬と甘草のみを構成生薬とする芍薬甘草湯を用いて評価した。腓返りに対する効果では、富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯により腓返り発生回数・持続時間が有意な減少を示し、腓返りに対して富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯は有効と判断された。一般市場芍薬との比較では、発生回数・持続時間ともに平均値は富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯の方がより減少していたが、有意差は認めなかった。しかし、自覚的な有用度では、富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯が有用とした被験者は8人であり、一般市場芍薬含有芍薬甘草湯が有用とした5人よりも多かった。

月経痛に対する効果については、富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯により月経痛自覚日数と月経痛VAS値に有意な改善が得られ、月経痛に対しても富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯は有効と判断された。しかし、月経痛においても、一般市場芍薬との間に有意差は得られなかった。自覚的な有用度では、富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯が有用とした被験者は6人で、一般市場芍薬含有芍薬甘草湯が有用とした3人よりも多かった。

以上のことから、腓返りおよび月経痛に対する富山県産ブランド芍薬の効果を検討したところ、明確な差は得られなかったが、自覚的な有用度では富山県産ブランド芍薬の方が一般市場芍薬よりも有用であるとする被験者が多くみられた。

Ⅲ－２ シャクヤク品種の選品と加工法の最適化に関する研究

富山大学・和漢医薬学総合研究所 生薬資源科学分野 教授 小松かつ子, 助教 朱 妹

【緒言】

漢方方剤に配合される生薬は79%を中国に、11%をその他の外国に依存しており、日本産生薬は10%に過ぎない¹⁾。しかし近年、薬用人参など一部の生薬で価格が高騰し、生薬全体でも8年前に比べ約3倍の価格上昇が見られたことなどから、国内栽培の気運が高まり、厚生労働省、農林水産省の支援のもとに各地で薬用植物の栽培が行われるようになった。しかし、種苗の確保、栽培の機械化を含めた栽培方法の確立、品質面での有効性・安全性・安定性の確保など、解決すべき課題も多い。

富山県では、富山県薬用植物指導センターが中心になって、古来奈良県で開発され、栽培されてきた薬用シャクヤクの品種「梵天」が導入され、増殖に努められてきた。農家に対する栽培指導も行われ、現在多くの農家でこの品種が栽培され、4年後に掘り起こされて、それらの根が奈良県へ出荷されている。奈良県ではこれらの根を屋外で乾燥、調製した後、「大和芍薬」の名称で日本全国に出荷しており、この時点で富山産シャクヤクの名称は失われてしまう。

日本漢方生薬製剤協会による原料生薬使用量等調査報告書¹⁾によると、生薬「芍薬」の平成24, 25, 26年度の国内使用量は1,489,161 kg, 1,544,568 kg, 1,463,883 kgであり、そのほとんどにあたる1,407,825 kg, 1489,674 kg, 1,447,016 kgが中国からの輸入品で、日本産芍薬は81,336 kg, 54,894 kg, 16,867 kgと6%未満であり、平成26年度は1.2%に過ぎない。

芍薬はボタン科のシャクヤク *Paeonia lactiflora* Pallas の根を基原とし、鎮痛、鎮痙、収斂薬として使用される生薬で、漢方方剤の約1/3に配合されており、今後も需要が見込まれる。シャクヤクの国内生産が進めば中国産の芍薬に取って変わることも可能であろうが、現在価格面で劣位に立っており、中国産芍薬にない付加価値が望まれるところである。

中国から輸入される芍薬は『中華人民共和国薬典』²⁾で規定されている「白芍」に相当するものであり、*P. lactiflora* の根を湯通しした後外皮を除去するかあるいは外皮を取り除いて湯通しした後に乾燥されたものである。中国ではさらに根を白く見せるため、古来の調製法である硫黄による薫製が行われることがある。この証拠は Paeoniflorin タイプのモノテルペノイドの減少と、それらの Sulfonate 体の生成として現れることが知られており、我々の研究において中国で購入した白芍にこの現象が認められた^{3,4)}。一方、日本に流通する中国産芍薬には認められなかったことから、日本の生薬関連企業は中国南部の諸省に赴いてその地で栽培されている *P. lactiflora* に対して根の加工法を

指示して芍薬を仕上げ、それらを輸入しているものと推察される。

日本における医薬品のレギュレーションを担っている『日本薬局方』⁵⁾では芍薬の基原が *P. lactiflora* の根であることが規定されているとともに、Paeoniflorin 含量が2.0%以上とされている。これにより硫黄薫製品をある程度除外できるが、一部、硫黄薫製品であっても Paeoniflorin 含量2.0%以上を満足するものが存在する³⁾。硫黄薫製品の有害作用については報告がないが、安全性の面からはこれらの使用を避けたいところである。

一方、中国では白芍とは別に、駆瘀血薬（血液循環改善、抗炎症薬等）とされる赤芍がある。『中華人民共和国薬典』では「赤芍」は *P. lactiflora* または *P. veitchii* Lynch の根を乾燥したものであると規定されているが、近年は多くの赤芍が内蒙古自治区から産出される野生の *P. lactiflora* 由来である。日本では医師からの要望がない限り、赤芍を輸入することはほとんどないが、日本薬局方の基準を満たせば医薬品として使用できるものであり、白芍にない薬効を有するものであれば、芍薬の可能性を広げる意味で興味深い生薬である。

当研究室では *P. lactiflora* に由来する日本産芍薬、中国産白芍及び中国産赤芍について、遺伝子多型、成分組成及び薬理活性の面から同等性または相違性を明らかにする研究を行ってきた。これまでに、日本産芍薬と中国産白芍は同様の ITS 塩基配列タイプを示すグループに所属するが、中国産赤芍はこれらとは別のグループであることを明らかにした。また、主要な8成分の定量結果から、両者は成分的にも異なることを見出した³⁾。さらに、抗アレルギー作用（RBL-2H3 細胞における抗原刺激脱顆粒抑制作用）の検討から、中国産赤芍のみに活性を見出している⁶⁾。

以上で述べた芍薬に関する日本及び中国市場の状況と研究の結果を受けて、次に、富山県において、現在栽培されている薬用品種「梵天」のほかに、付加価値の高いブランド芍薬を開発する目的で、富山県薬用植物指導センターと共同で、同センターが保有する園芸用シャクヤク約70品種の根を材料にして、生薬と同様の検討を行った。遺伝子解析により各品種を白芍系と赤芍系に分類したのち、LC-MS によるモノテルペノイドのプロファイル解析と15成分の定量分析及び多変量解析⁴⁾を行い、その結果に基づいて日本産芍薬及び中国産赤芍に類似した成分組成を持つものをそれぞれ3品種選抜した。さらに17品種について抗アレルギー作用を検討したところ、赤芍系として選抜した3品種のうち2品種（A, B）に活性が見出された⁷⁾。

これら2品種を、「梵天」とともに富山県で栽培し、これらの根を「富山芍薬」としてブランド化するためには、富山県内で実施可能な加工調製法を開発することが不可欠である。そこで、本研究ではこれら3品種を材料にして、優れた品質を担保し、安定化させるための加工調製法の最適化を行う。

【目的】

富山県で栽培されるシャクヤクの品種の根について、高品質を保つための加工調製法を開発する目的で、様々な貯蔵・加工・乾燥法を行った根の成分分析を行う。平成26年度は、栽培4年目の薬用品種「梵天」の根を用いて15通りの貯蔵・加工・乾燥法を行い、加工調製法の違いによる主要8成分(図1)の含量の変化を検討した結果、新鮮な根を約1ヶ月間低温貯蔵し、水洗後、湯通しして、周皮を竹べらで除き、乾燥機(30℃)で乾燥する方法が最も良い成分含量を示した。すなわち、新鮮な根を低温貯蔵することにより、Paeoniflorin含量が安定し、結果として高含量に繋がった。また、湯通し加工により、1,2,3,4,6-Penta-O-galloyl-β-D-glucose (PGG), Gallic acid 及び Methyl gallate の含量が顕著に増加した。この結果を受けて平成27年度は、「富山芍薬」の候補品種として選抜した品種Aの栽培5年目の新鮮根について、約1ヶ月間低温貯蔵した後に8通りの加工調製法(図2:新たに、湯通しした後、周皮を付けたまま室内または乾燥機で乾燥する2通りの方法を増やした)を検討した。その結果、新たに加えた方法でPGG含量が増加する傾向が見られた。今年度は、Paeonolが含有されることに特徴のある品種Bの新鮮根を用いて、昨年度と同様に8通りの加工調製法を行い、成分含量の変動を調べた。

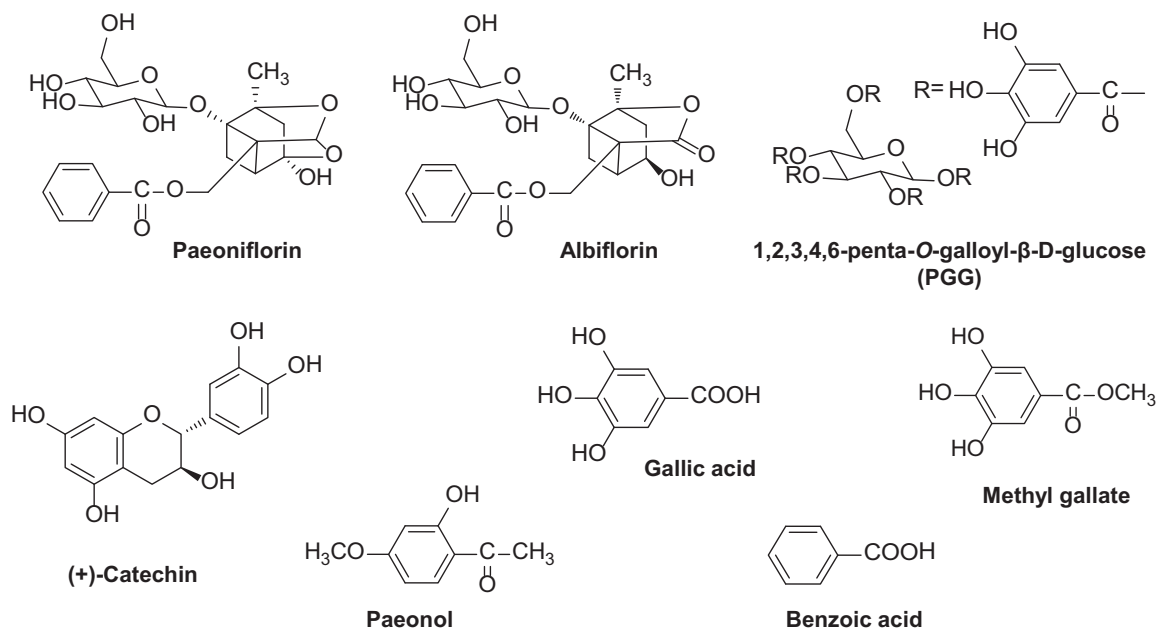


図1 定量分析に用いた成分の構造式

【実験材料及び加工調製法】

富山県薬用植物指導センターで収穫された栽培8年目の品種Bの根を材料とした(平成26年11月12日入手)。収穫後の根をビニール袋に入れ、冷蔵室(4℃)に保管した。35日後、冷蔵室から取り出し、直径1.5~2.0 cmの根を選別し、それらを均等に8グループに分けた(5個体/グループ)。8グ

ループの根に対してそれぞれ 8 通りの加工・乾燥法 (図 2) を行った。加工終了後、各グループ 5 個体の根についてそれぞれ 8 成分の含量を測定した。

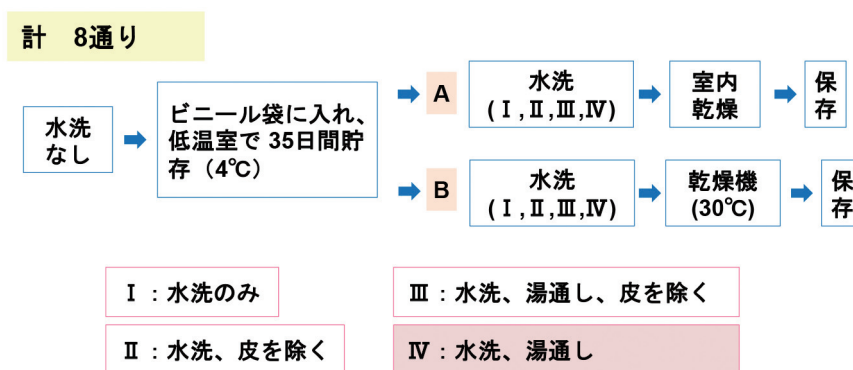


図 2 収穫した新鮮な根について行った加工・乾燥法

【定量分析】

標準品 : Paeoniflorin (Wako Pure Chem. Inc.), Albiflorin (Wako Pure Chem. Inc.), 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose (PGG) (Toronto Research Chem. Inc.), (+)-Catechin (Cayman Chem. Inc.), Paeonol (Wako Pure Chem. Inc.), Gallic acid (Nacalai Tesque Inc.), Methyl gallate (ChromaDex.), Benzoic acid (Nacalai Tesque Inc.) を用いた。

試薬 : HPLC 用移動相は、LC/MS グレードのアセトニトリル及び超純水 (Wako Pure Chem. Inc.), LC グレードのリン酸 (Wako Pure Chem. Inc.) を用いた。

測定装置 : Jasco HPLC システム (Pump: PU-1580, Gradient unit: LC1580-02 ternary gradient unit, Auto sampler: AS-2057 Plus, Dectector: MD-1510 Multiwavelength Detector) ; カラム: YMC-Pack ODS-AQ, 250×4.6 mm, i.d., s-5 μ m ; 移動相: A : アセトニトリル, B : 0.1%リン酸水溶液。

HPLC 条件 : 0-5 min, 10-15% A, 5-40 min, 15-30% A, 40-45 min, 30-70% A, 45-46 min, 70-80% A, 46-50 min, 80% A; for wash, 50-55 min, 80-10% A , 55-65 min, 10% A; for initial stabilization。注入量: 20 μ L ; 流速: 1 ml/min ; カラム温度: 27°C ; 検出波長: 232 nm。データ処理プログラム: ChromNAV。

検量線の作成 : 8 化合物の標準品 [Paeoniflorin, Albiflorin, 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose (PGG), (+)-Catechin, Paeonol, Gallic acid, Methyl gallate, Benzoic acid] を各々正確に量り取り, 分析用メタノールに溶解して 1.0 mg/ml の標準溶液を調製した。この溶液を 5, 10, 50, 100, 500 倍と段階的に希釈して調製した 1.0 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.02 mg/ml, 0.01 mg/ml, 0.002 mg/ml の溶液を HPLC で分析し, 得られたピーク面積から検量線を作成した。

試料溶液の調製 : 乾燥した根を粉碎し, 300 μ m の篩を通した。得られた粉末 300 mg を正確に量り取り, 遠心チューブに入れ, 75% エタノール 9 ml を加えて, 30 分間超音波抽出を行った。遠心分離した (10 min, 4000 rpm) 後, 上澄み液を分取した。以上の抽出操作をさらに 2 回 (8 ml, 8 ml) 繰り返した

後、全上澄み液を合せて25 mL にメスアップした。そのうち約 2 ml を DISMIC-13HP disposable syringe filter 0.2 μm (東洋濾紙) でろ過して HPLC 用バイアルに入れ、分析用の試料とした。これらについて、前述した HPLC 条件で 8 成分の定量を行った。

【結果】

各グループ 5 個体のそれぞれについて 8 成分の定量分析を行った。個体間である程度の成分含量のばらつきがあったものの、太さを揃えたことによりばらつきが補正されており、同じ調製法を行った同一グループの 5 個体においては同じ傾向を示した。Paeoniflorin の含量は3.23~3.94%で、異なる加工調製法を行った全てのグループが安定して高い値を示した。Albiflorin 含量は0.97~1.26%で、周皮を去ったグループでわずかに低い傾向が見られた。湯通し処理を行った A-IV, -III 及び B-IV, -III では、処理を行わなかった A-I, -II 及び B-I, -II に比べて、PGG 及び Gallic acid の含量がそれぞれ約 2.5倍及び約 4 倍増加しており、皮付き品の IV はともに皮去り品の III よりわずかに高い値を示した。特に乾燥機において30°Cで乾燥を行った B-IV で 2 成分の含量が高く、0.35%と0.08%であった。一方、微量存在した Paeonol は湯通し処理を行った III, IV では A, B のいずれの乾燥法においても検出できなかった。以上、Paeonol 以外の結果は、品種 A を用いて行った昨年度の結果と同様であった。

【考察】

平成26年度から 3 年間にわたり、材料として「梵天」、品種 A 及び品種 B の根を用いて、15通りまたは 8 通りの加工調製法を行い、薬効に関与する成分を含む 8 成分の含量の変動を調べた。その結果、新鮮な根を 1 ヶ月以上低温貯蔵することにより Paeoniflorin 含量が安定すること、加えて湯通し処理を行うことにより PGG 及び Gallic acid (Methyl gallate が存在する「梵天」ではこれを含めて) の含量が顕著に増加することを明らかにした。さらに PGG の含量は、低温貯蔵した根を湯通し処理したものである、周皮を付けたまま乾燥した方が周皮を除いてから乾燥したものより、また室温での自然乾燥より30°Cで乾燥した方がやや高い傾向を示した。一方、品種 B に存在した Paeonol は湯通し処理により消失した。Albiflorin 含量は周皮を除くことによりわずかに減少する傾向があった。(+) -Catechin については低温貯蔵したものでは加工調製法による含量の変化がほとんど認められなかった。以上の結果から、Paeoniflorin, Albiflorin, PGG, Gallic acid 及び Methyl gallate に着目するのであれば、新鮮な根を 1 ヶ月以上低温貯蔵し、水洗後湯通しして、周皮を除かずにそのまま30°Cで乾燥する方法が適している。ただし、PGG ではなく精油成分の Paeonol に着目するのであれば、湯通し処理は避けた方がよい。中国産赤芍は、加工の過程で湯通し処理をする白芍とは異なり根をそのまま乾燥するが、その理由として駆瘀血薬としての薬効発現にはこの加工法が適しており、それは赤芍 (中国北方産 *P. lactiflora*) に含有される Paeonol と関連する可能性が考えられる。なお、Paeonol は牡丹皮に多く、

婦人科疾患に応用される漢方方剤ではしばしば芍薬と同時に配合される。

次に、新鮮な根を1ヶ月以上低温貯蔵し、水洗後湯通しして、周皮を除くまたはそのまま30℃で乾燥する方法で調製した「梵天」、品種 A、品種 B を比較した。その結果、Paeoniflorin 及び Albiflorin 含量については、品種 B > 品種 A > 梵天の順であり、(+)-Catechin 含量については品種 A > 品種 B > 梵天の順であった。PGG 含量についてはほぼ同様であったが、梵天には Methyl gallate も存在する。また、品種 B には Paeonol が存在する。

我々は RBL-2H3 細胞を用いた実験で中国産赤芍、品種 A 及び品種 B の熱水抽出エキスに抗原刺激脱顆粒抑制作用を見出しており、中国産赤芍及び品種 B については活性成分の探索研究を行った^{6,7)}。その結果、Paeoniflorol, Paeoniflorin タイプのモノテルペノイドの salicylpaeoniflorin と galloylpaeoniflorin 及び mudanpioside E, フラボノイドの quercetin, 及びフェノール類の Methyl gallate と PGG に中程度の脱顆粒抑制作用を見出している。この抗アレルギー作用が「富山芍薬」の特徴となる可能性を想定して、今後、PGG, Methyl gallate 以外の成分について、加工調製法による変動を LC/MS 分析により調べ、今回最適とした方法がこれらの成分に与える影響を検討する予定である。

「梵天」は薬用に特化した品種であり、栽培のし易さ、根の収穫量と乾燥歩留まりなどの点で優れているとされる。一方、品種 A と品種 B は切り花用の園芸品種であり、今後切り花用と薬用の両方に使用できる可能性がある。本研究において、加工調製法による8成分の含量変化が明らかになり、最適化に示唆を与え、さらに個々の成分特性が明らかになったことから、今後は品種 A のほか品種 B についても日本薬局方の試験を行い、芍薬としての規格を満足することを証明した後、臨床試験に供して、品種 A 及び品種 B 由来の芍薬について、梵天由来の芍薬と比較しながら臨床知見が蓄積されることが望まれる。

【正誤】 平成27年度の報告書で、臨床研究に用いられた品種 A を基原とする「富山芍薬」の定量分析結果を報告したが、誤りがあったのでここで訂正する。結果は次のとおり；Paeoniflorin: 3.08%, Albiflorin: 1.15%, PGG: 0.31%, (+)-Catechin: 0.35%, Gallic acid: 0.07%, Benzoic acid: 0.01% (平均値)。

【結論】

富山県で広く栽培されている薬用品種の「梵天」、及び富山ブランド芍薬の候補として選抜した園芸品種 A と園芸品種 B の根を用いて、加工調製法の最適化を目的とした成分研究を行った。その結果、新鮮な根を1ヶ月以上低温貯蔵し、水洗後湯通しして、周皮を除かずにそのまま30℃で乾燥する方法が、Paeoniflorin, Albiflorin, PGG, Gallic acid 及び Methyl gallate 含量において最適であった。また、(+)-Catechin 含量についてもこの方法で問題がなかった。ただし、品種 B に存在する Paeonol は湯通し処理で消失した。以上から、Paeonol に着目しない限りは、今回設定した加工調製法が、芍薬とし

て有効で安定的な品質を得るために最適な方法である。本法は富山県においても実行できることから、今後はスケールを拡大した研究を産官学で協力して行い、「富山芍薬」の実現を図りたいと考えている。

引用文献

1. 日本漢方生薬製剤協会生薬委員会編, 原料生薬使用量等調査報告書(4) —平成25年度および26年度の使用量, 2017, p.6.
2. 国家薬典委員会編, 『中華人民共和国薬典』, 2015年版, 第一部, 中国医薬科技出版社, 北京, 2015, p.105 (白芍), 158-159 (赤芍).
3. Zhu S., Yu X. L., Wu Y. Q., Shiraishi F., Kawahara N., Komatsu K.: Genetic and chemical characterization of white and red peony root derived from *Paeonia lactiflora*, J. Nat. Med., 69: 35-45, 2015.
4. Shi Y. H., Zhu S., Toume K., Wang Z., Batkhui J., Komatsu K.: Characterization and quantification of monoterpenoids in different types of peony root and the related *Paeonia* species by liquid chromatography coupled with ion trap and time-of-flight mass spectrometry. J. Pharm. Biomed. Anal., 129 : 581-592, 2016.
5. 厚生労働省編, 『第十七改正日本薬局方』, 東京, 2016, p.1817-1818.
6. Shi Y. H., Zhu S., Ge Y. W., He Y. M., Kazuma K., Wang Z. T., Yoshimatsu K., Komatsu K.: Monoterpene derivatives with anti-allergic activity from red peony root, the root of *Paeonia lactiflora*. Fitoterapia, 108: 55-61, 2016.
7. Shi Y. H., Zhu S., Tamura T., Kadowaki M., Wang Z. T., Yoshimatsu K., Komatsu K.: Chemical constituents with anti-allergic activity from the root of *Edulis Superba*, a horticultural cultivar of *Paeonia lactiflora*. J. Nat. Med., 70: 234-240, 2016.