

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

漢方薬医薬品全体の2%程度の市場規模ではあるものの、直近10年の市場の伸びで見ると、医薬品全体が7%程度であるのに対して、漢方薬は37%程度と大きい(注2)。今後さらに、少子高齢化による医療費の高騰、慢性疾患患者の増大などの影響も受け、漢方薬に対するニーズの増加が予想される。

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、その市場規模はこの10年で34%増加したとされている。一方、漢方薬に配合される生薬の約87.8%は国外からの輸入に依存している。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おり、漢方医学の持続性を担保する意味からも、日本国内で栽培可能な生薬は栽培化を図る必要がある。「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り、漢方方剤を構成する生薬として頻用されているが、その自給率は3.52%程度とされている。そのような状況下で、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

芍薬に付加価値を与えるためには、薬用及び園芸用の双方に用いることができること、薬用途に特徴があること、安定した品質であることなどが考えられる。特にブランド芍薬を富山県で生産するためには、シャクヤク品種の栽培拡充とともに、収穫した根の加工調製法の開発が不可欠である。

これまで富山県で広く栽培されてきた薬用品種の「梵天」は、富山県の多湿な気候が根の乾燥に不向きであったため、4年間栽培された後に新鮮なまま奈良県の生薬業者に出荷するという状況であった。それらは富山県産であっても「大和芍薬」の名称で国内に流通することから、いかに富山県で加工調製し、「富山芍薬」の名称を付すかが課題であった。そこで、優良品種の選抜と並行して、優れた品質を担保するための根の加工調製法の最適化を行う目的で、昨年度は「梵天」の根について15通りの加工調製法を行い、8成分の含量の変動を調べ、新鮮な根を約1ヶ月間低温貯蔵し、水洗後に

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すことを明らかにした。この結果に基づき、「富山ブランド芍薬」の候補品種として選抜した品種Aの新鮮根について、上記の方法に準じた方法で加工して局方試験並びに重金属試験を実施し、日本薬局方の規格に適合したものであることを示した。しかし、上記の加工調製法を実施する際に根の周皮を取り除くか否かが問題になったことから、今年度は周皮付きの根も材料に加え、品種Aの新鮮根を約1ヶ月間低温貯蔵した後に8通りの加工調製法を行い、成分含量の変動を検討した。

その結果、新鮮根の低温貯蔵により Paeoniflorin 含量が安定し、湯通し処理により 1,2,3,4,6-Penta-O-galloyl- β -D-glucose (PGG) 及び Gallic acid 含量が顕著に増加することが明らかになった。また、低温貯蔵した根を湯通し処理し、周皮を付けたまま乾燥した場合の方が PGG 含量は高く、乾燥法も室温での自然乾燥より30℃で乾燥した方が高含量であった。さらに、品種Aの加工調製品は「梵天」の加工調製品に比較して Paeoniflorin, Albiflorin, (+)-Catechin の含量が高く、本品種の特徴が加工調製法を整えて比較することにより明瞭になった。

2. 富山県産芍薬の品質評価に係る臨床研究

生薬である芍薬は医療用医薬品として用いられている漢方エキス製剤146方剤中の54方剤の構成生薬に含まれている非常に重要な生薬である。この芍薬の品質を臨床的に評価するには、漢方方剤を構成する生薬数がより少ない方剤を用いる必要があり、本研究では芍薬と甘草のみから構成される芍薬甘草湯を用いることとした。芍薬甘草湯は、古くから筋痙攣や痙攣性疼痛に対して用いられ、近年では腓返りや月経困難症などに頻用されている。本研究では、ボランティアを対象とした腓返りおよび月経困難症に対する「富山県ブランド芍薬」、あるいは「梵天芍薬」含有芍薬甘草湯による比較研究を計画しているが、安全性を考慮した使用薬剤量、服用期間、評価法などを決定する必要がある。そこで、富山大学附属病院和漢診療科に通院中で芍薬甘草湯服用歴があり、腓返りを有する患者を対象とした後方視的研究を実施した。

富山県ブランド芍薬を構成生薬とする芍薬甘草湯を用いて腓返りに対する効果を評価したところ、芍薬甘草湯により腓返り発生回数・持続時間が減少しており、有効と判断された。また、評価に用いた臨床症状日誌に記載洩れはみられなかった。以前に服用した一般流通芍薬を構成生薬とする芍薬甘草湯との比較では、2人が富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯の方がやや有用としたが、1人が一般流通芍薬含有芍薬甘草湯の方がやや有用としており、差はみられなかった。副作用については、肝機能及び腎機能に影響はみられなかったが、血圧が上昇傾向を示し、血清カリウムに有意な低下がみられた。高齢者においては甘草に起因する偽性アルドステロン症が発生しやすいとされており、ボランティアを用いた臨床研究では、より一層の注意が必要であると考えられた。また、服用回数及び服用時間については、腓返りはほとんどが就眠後に発生していたことから、1日1回の眠前投与でも評価

可能であると考えられた。また、服用期間については、14日間の服用では3人が規定通りに服薬できておらず、前方視的研究では脱落例と評価される状態であった。効果自体は服用開始1週間以内に発現しており、副作用も考え合わせると、1日1回(2.5g/日)を7日間とすべきであると考えられた。

Ⅲ－１ 腓返り（有痛性筋痙攣）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

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

漢方医学の治療において使用される漢方方剤は一定比率の複数生薬により構成されるものである。本邦で使用される漢方方剤に配合される生薬は約83%を中国に依存しており、中国の自然環境の変化や国家政策によっては生薬の供給が滞る事態も危惧されている。漢方医学の持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「芍薬」があり、医療用医薬品として用いられている漢方エキス製剤の146方剤中54方剤の構成生薬に含まれている。「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り、しかし、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、栽培化してきた。そこで本研究では、本県で栽培される芍薬について、「富山県ブランド芍薬」として確立するための科学基盤を与える目的で、富山県ブランド芍薬を配合した漢方方剤について臨床研究を実施している。

前述のように、生薬である芍薬は非常に多くの漢方方剤の構成生薬である。その中で、芍薬として日本薬局方に適合する「富山県ブランド芍薬」の効果を経験的に評価するには、芍薬のみの品質の相違が臨床効果に反映される必要があり、そのためには漢方方剤を構成する生薬数が出来るだけ少ないものとする必要がある。そこで、芍薬と甘草のみから構成される芍薬甘草湯を臨床研究に使用する漢方方剤とした。

芍薬甘草湯は傷寒論に記載される漢方方剤であり、「傷寒脈浮、自汗出で、小便数、心煩し、微悪寒し、脚攣急するに…若し厥癒えて足温なる者は、更に芍薬甘草湯を作り之を與うれば、其の脚即ち伸ぶ」とあり、古来、筋痙攣や痙攣性疼痛に対して用いられてきた。近年では、腓返り（＝有痛性筋痙攣）を中心に頻用されている。そこで本研究では、ボランティアを対象とした臨床研究における使用薬剂量、期間などを決定するため、富山大学附属病院和漢診療科に通院中で、芍薬甘草湯を服用中の有痛性筋痙攣患者を対象とした後方視的研究を実施した。

2. 目的

有痛性筋痙攣（腓返り）とは「単一筋または複数の筋群にみられる有痛性の不随意的筋収縮」であり、電気生理学的には300Hzの高頻度運動単位放電として表される。その発生機序には脊髄前角細胞の自发放電による運動単位の収縮、あるいは運動ニューロンの筋へ至る神経末梢の過剰興奮性などが関連するとされているが、明確な発生機序は不明であり、腓返りの発症機序は単一のものではなく、複数の病態が混在すると考えられている。腓返りに対する西洋医学的治療としては、キニジンやプロカインアミド、フェニトイン、カルバマゼピンといった抗痙攣薬、あるいは塩酸エペリゾンや塩酸トルペリゾンなどの中枢性筋弛緩剤、ダントロレンなどの末梢性筋弛緩剤などが用いられているが、その奏効率は高いものではない。

一方、古来、筋痙攣や痙攣性疼痛に対して用いられる漢方方剤として芍薬甘草湯があり、近年では肝硬変や血液透析、整形外科疾患に伴う腓返りに芍薬甘草湯が有効であったと報告されている。芍薬甘草湯についても、その鎮痙作用の機序に関わる基礎的研究は少なく、モルモット回腸に対する実験における副交感神経末端における芍薬のアセチルコリン遊離抑制作用や甘草の抗アセチルコリン作用が関与すると報告されている。しかし、作用機序は不明であるが、芍薬甘草湯は臨床的には腓返りに対して第一選択薬として用いられている治療、あるいは予防漢方方剤である。そこで本研究では、芍薬甘草湯の構成生薬である芍薬には富山県ブランド芍薬を用い、甘草には一般に流通する甘草を用いた富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯を服用した有痛性筋痙攣を有する患者を抽出し、後方視的にその効果や副作用について検討した。

3. 対象と方法

(1) 対象

富山大学附属病院和漢診療科へ通院し、有痛性筋痙攣に対して芍薬甘草湯を服用中であり、腓返りの関する臨床症状について日誌で記録している患者の中で、富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯を服用した8症例を対象とした。

(2) 薬剤

富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯（1日量：富山県ブランド芍薬 5.0g、甘草 5.0g）を水300mLに入れて30分間加熱して煎出し、茶漉し、あるいはガーゼでろ過して煎液を作製した。

(3) 服用方法

作製した富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯を14日間、1日2回（午前10時、および就寝前）服用することとした。

(4) 臨床効果の評価

臨床症状日誌に記載された1日における腓返り発生回数・持続時間を用い、富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯服用前の7日間、服用期間の14日間、服用中止後の7日間について各対象者の平均値を算出して代表値とし、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を検討した。

(5) 副作用の評価

血圧は、臨床症状日誌に記載された朝食前に自己測定された測定値を検討した。浮腫・脱力の発現についても、臨床症状日誌に記載されたものを用いた。また、肝腎機能や結成カリウムなどの血液検査に与える影響については、富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯服用前後において施行した血液検査の結果を検討した。

4. 結果

(1) 対象患者背景

対象患者の性差はM/F=3/5であり、平均年齢は72.1±4.9歳であった。富山大学附属病院和漢診療科への通院を要する基礎疾患は、腰痛症2人、変形性膝関節症2人、高血圧症2人、高コレステロール血症1人、糖尿病1人であり、併用薬は、漢方方剤では八味地黄丸2人、牛車腎気丸2人、桂枝茯苓丸2人、七物降下湯2人であり、甘草含有漢方方剤を服用している者はいなかった。西洋薬としては、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬（カンデサルタン・ロサルタン）、高脂血症薬（アトルバスタチン・ロスバスタチン）、骨粗鬆症薬（アレンドロン酸ナトリウム水和物）、鎮痛薬（ロキソプロフェンナトリウム・セレコキシブ）が併用されていた。

(2) 芍薬甘草湯服薬状況

対象とした8人中5人は規定通りに14日間服薬していたが、10日目及び11日目で各々1人が服用を中止し、1人が8日目に服用していなかった。

(3) 腓返りに対する臨床効果

1) 腓返り発生回数

富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯を服用する前、服用中、服用中止後における腓返りの平均発生回数は、服用前が0.45±0.12回/日であったのに対し、服薬中は0.24±0.09回/日（1週間目：0.27±0.09回/日、2週間目：0.21±0.11回/日）と減少し、服薬中止により0.36±0.13回/日と増加していた（図1）。

2) 腓返り持続時間

芍薬甘草湯服用前・中・後における腓返り発生時の平均持続時間は、服用前が20.00±2.41分/回であったのに対し、服薬中は13.75±3.21分/回（1週間目：13.96±2.84分/回、2週間目：

13.54±5.15分/回)であり、服薬中止後は15.63±1.46分/回であり、芍薬甘草湯服用により腓返りの持続時間は短縮し、服薬中止により再度延長した。

腓返り発生回数と持続時間を合わせて評価するために、芍薬甘草湯服用前・中・後について、1日当たりの平均腓返り時間を算出したところ、服用前が8.84±2.19分/日であったのに対し、服薬中は3.30±1.52分/回(1週間目:3.75±1.70分/日, 2週間目:2.86±1.57分/日)であり、服薬中止後は5.80±2.04分/日であった(図1)。

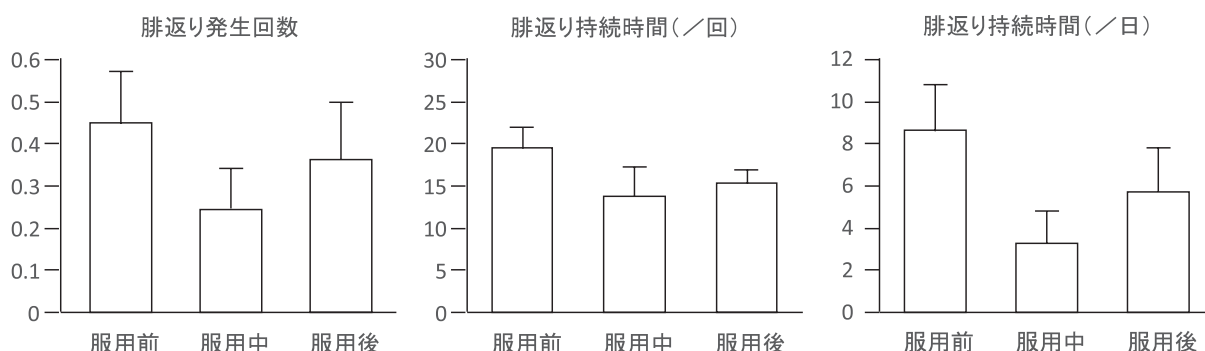


図1 富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯の腓返りに対する臨床効果

3) 自覚的有用度

富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯が腓返りに対して有用であったか否かについては、8人中7人より「有用」との回答が得られた。また、これまでに服用経験している一般に流通する芍薬を用いた芍薬甘草湯との比較では、「明らかに富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯の方が有用」はなく、「富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯の方がやや有用」は2人、「両者は変わらない」は5人、「一般流通芍薬含有芍薬甘草湯の方がやや有用」が1人であった(図2)。

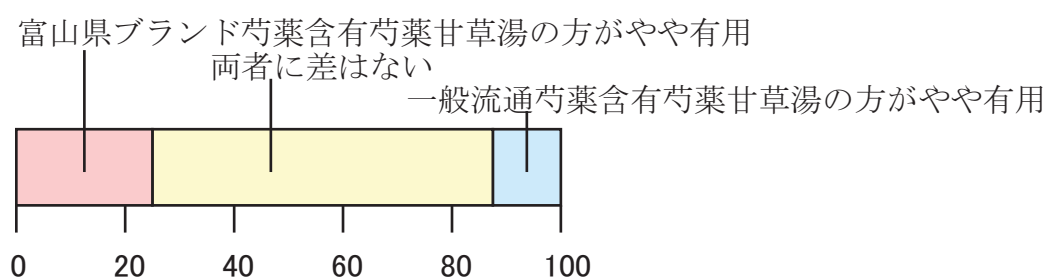


図2 腓返りに対する富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯の有用度

(4) 副作用に関する検討

1) 血圧

富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯を服用する前、服用中、服薬中止後における平均血圧は、服用前が132.4±8.2/74.7±6.5mmHgであったのに対し、服薬中は135.7±9.1/75.6±7.0mmHg(1週間目:134.4±9.7/75.1±7.1mmHg, 2週間目:137.0±9.0/76.1±7.1mmHg)であり、服薬

中止後は $134.6 \pm 9.1/76.1 \pm 5.9$ mmHgであった。芍薬甘草湯服用による血圧の変化は有意な変化ではなかったが、中には収縮期血圧が28mmHg上昇した者もみられた。

2) 浮腫・脱力

芍薬甘草湯服薬後に浮腫の出現、あるいは増強を3人が自覚したが、体重増加を示した者はなかった。一方、脱力を自覚した者はみられなかった。

3) 血液学的検査

芍薬甘草湯服用前・後における血液学的検査の比較では、総蛋白及びアルブミン、肝機能、腎機能に変化はみられなかった。しかし、血清カリウムは服用前の 4.2 ± 0.1 mEq/Lに対し、服用後は 3.9 ± 0.2 mEq/Lと有意に低下し、中には 0.5 mEq/Lも低下した者がみられた(表1)。

表1 芍薬甘草湯服用前・中・後における血液学的検査の変化

	富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯服用前	富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯服用後
TP	7.1 ± 0.5	7.0 ± 0.5
Alb	4.2 ± 0.5	4.1 ± 0.5
AST	18.5 ± 4.6	19.0 ± 3.9
ALT	15.5 ± 5.7	14.6 ± 4.3
ALP	207.5 ± 33.7	211.0 ± 27.2
LDH	185.1 ± 33.4	179.6 ± 32.9
GGT	20.4 ± 10.5	20.4 ± 11.1
BUN	13.6 ± 1.5	13.5 ± 2.6
Crea	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.1
K	4.2 ± 0.1	3.9 ± 0.2
WBC	6013 ± 1734	5808 ± 2116
RBC	428.5 ± 35.2	417.9 ± 38.3
Hb	13.3 ± 0.9	12.9 ± 1.1
Ht	40.9 ± 2.7	40.4 ± 2.6
PLT	24.6 ± 5.5	24.7 ± 5.5

5. 考察

富山県ブランド芍薬を構成生薬とする芍薬甘草湯を用いて腓返り(有痛性筋痙攣)に対する効果を評価したところ、芍薬甘草湯により腓返り発生回数・持続時間が減少しており、有効と判断された。また、評価に用いた臨床症状日誌に記載洩れはみられなかった。以前に服用した一般流通芍薬を構成生薬とする芍薬甘草湯との比較では、2人が富山県ブランド芍薬含有芍薬甘草湯の方がやや有用としたが、1人が一般流通芍薬含有芍薬甘草湯の方がやや有用としており、差はみられなかった。

副作用については、肝機能及び腎機能に影響はみられなかったが、血圧が上昇傾向を示し、血清カリウムに有意な低下がみられた。高齢者においては甘草に起因する偽性アルドステロン症が発生しやすいとされており、ボランティアを用いた臨床研究では、より一層の注意が必要であると考えられた。

服用回数及び服用時間については、腓返りはほとんどが就眠後に発生していたことから、1日1回の眠前投与でも評価可能であると考えられた。また、服用期間については、14日間の服用では3人が規定通りに服薬できておらず、前方視的研究では脱落例と評価される状態であった。効果自体は服用開始1週間以内に発現しており、副作用も考え合わせると、1日1回(2.5g/日)を7日間とすべきであると考えられた。

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, 朱 姝

【緒言】

漢方方剤に配合される生薬は約81%を中国に依存している¹⁾。中国の自然環境の変化や国家政策によっては生薬の供給が滞る事態も危惧されており、漢方医学の持続性を担保する意味から、日本国内で栽培可能な生薬は栽培化を図る必要がある。

「芍薬」はボタン科のシャクヤク *Paeonia lactiflora* Pallas の根を基原とする生薬であり、漢方方剤の約1/3に配合され、中国からの輸入量が甘草に次いで多い。日本でも古来、薬用品種「梵天」が開発され、奈良県を中心に栽培され「大和芍薬」と称して流通しているがその量は限られる。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、平成24年度の芍薬の国内使用量は1,489,161 kgで、その内訳は日本産が81,336 kg、中国産が1,407,825 kgであった。日本に輸入される中国産芍薬は『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、すなわち *P. lactiflora* の根を湯通しした後に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が、多くは日本の生薬関連企業が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仕上げられた芍薬である。当然のことながら、日本流通品はすべて『第十六改正日本薬局方』³⁾に規定されている Paconiflorin 含量（2.0%以上）とその他の規格を満足する。これらの中国産芍薬（白芍）及び日本産芍薬は鎮痛、鎮痙、収斂薬として使用される。一方、中国ではこれとは別に駆瘀血薬（血液循環改善、抗炎症薬等）とされる芍薬（赤芍）もある。『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おり、赤芍の多くが内蒙古自治区から産出される野生の *P. lactiflora* 由来である。

我々はこれまで、同一種に由来する日本産芍薬及び中国産の白芍と赤芍の違いを明らかにする目的で遺伝子解析及び成分研究を行い、白芍（日本産芍薬も同様）と赤芍を区別する遺伝子マーカーを明らかにするとともに、両者に特徴的な成分組成を見出した⁴⁾。さらに付加価値の高い芍薬を開発する目的で、富山県薬用植物指導センターで栽培されている園芸用シャクヤク約70品種について同様に検討し、各品種を白芍系と赤芍系に分類するとともに、日本及び中国に流通する芍薬、特に赤芍に類似した成分組成を持つものを3品種見出した。

一方、これまで富山県では「梵天」が広く栽培されてきたが、富山県の多湿な気候が根の乾燥に向きであったため、4年間栽培された後に掘り起こされた新鮮な根はすべて奈良県の生薬業者に出荷

するという状況であった。それらは「大和芍薬」の名称で国内に流通することから、いかに富山県で加工調製し、「富山芍薬」の名称を付すかが課題であった。そこで本研究では、優良品種の選抜と並行して、優れた品質を担保す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。昨年度、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、「富山ブランド芍薬」の候補品種として選抜した品種Aの新鮮根について、上記の方法に準じた方法での加工を某企業に依頼し、その後加工品について局方試験並びに重金属試験を行っていただいた。これらは日本薬局方の規格を満足したことから日本薬局方「シャクヤク」(富山芍薬)として、柴原直利先生による臨床研究に供した。企業に上記の加工調製法を依頼する際、根の周皮を除くか否かが問題になったことから、今年度は周皮付きの根も材料に加え、新鮮な根を1ヶ月以上低温貯蔵した後に8通りの加工調製法を行い、昨年度と同様に成分含量の変動を調べた。材料には品種Aを用いた。

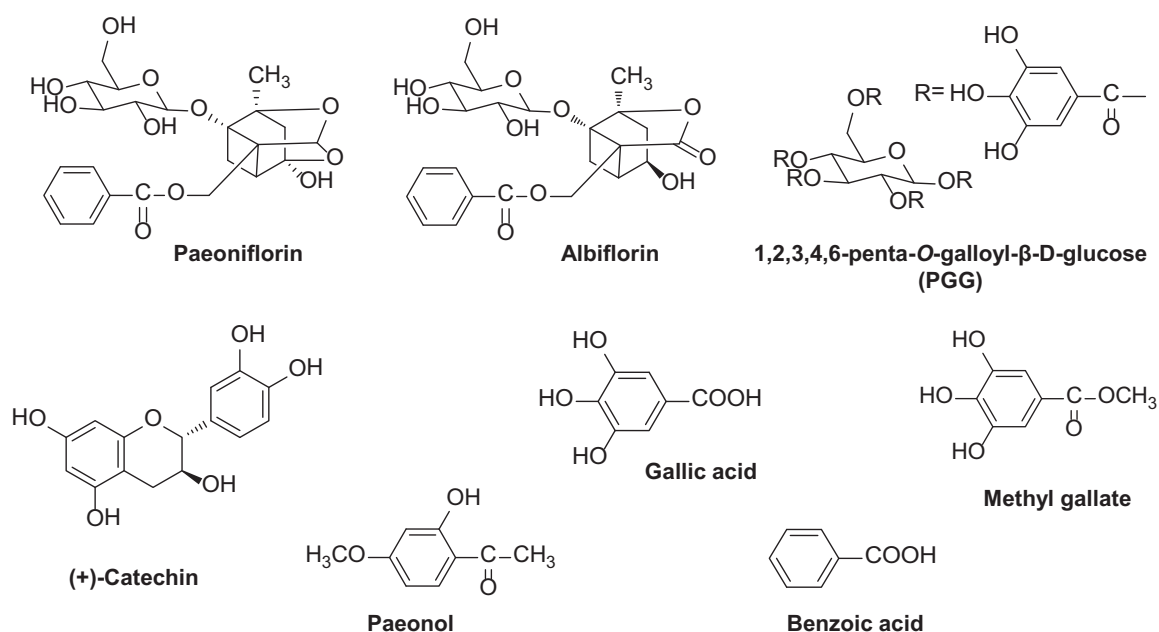


図1 定量分析に用いた成分の構造式

【実験材料及び加工調製法】

富山市八尾町で収穫された栽培5年目の栽培品種Aの根を材料とした(平成26年10月21日入手)。収穫後の根をビニール袋に入れ、冷蔵庫(4℃)に保管した。58日後、冷蔵庫から取り出し、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、図2に示す8通りの加工・乾燥法を行った。昨年度より新たに、水洗後湯通しして周皮を除去せずにそのまま乾燥するA-IV, B-IVの2通りの方法を増やした。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。さらに、臨床研究に供した局方「シャクヤク」(富山芍薬)についても同様に定量した。

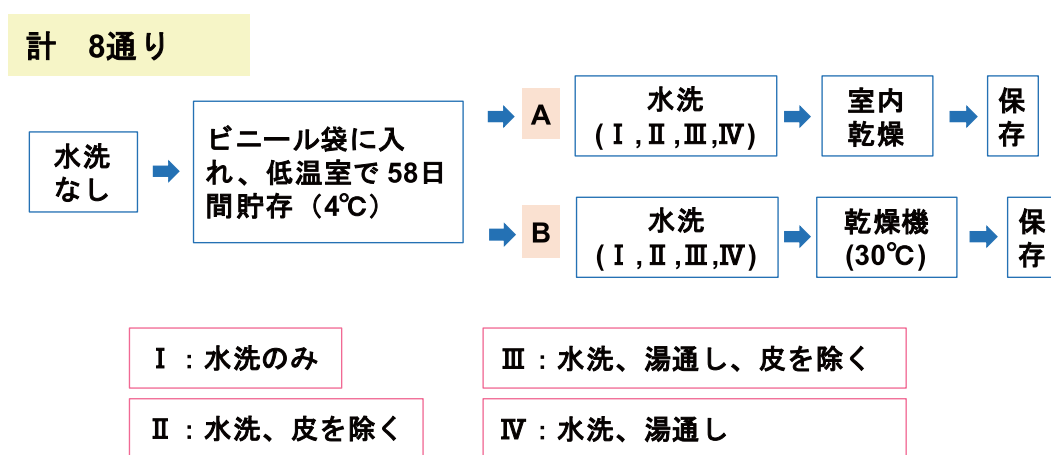


図2 収穫した新鮮な根について行った加工・乾燥法

【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, Detector: 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℃ ; 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 μm 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。すべてのグループで、Paeoniflorin の含量は3.4~4.5%と高い値を示した。Albiflorin 含量は Paeoniflorin 含量の1/3程度であり、周皮を除いたグループの A-II, -III と B-II, -III でわずかに低い傾向が見られた。湯通し処理を行った A-III, -IV 及び B-III, -IV 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 の含量が増加しており、A-IV と B-IV で明瞭であった。特に乾燥機において30°Cで乾燥を行った B-IV で顕著に2成分の含量が高かった。一方、(+)-Catechin の含量は、湯通し処理を行った後、周皮を付けたまま室内で自然乾燥を行った A-IV で比較的高い値を示した。臨床研究に供した日局「シャクヤク」(富山芍薬)は、B-IV と同様な加工調製法で作製されたものであり、成分分析の結果も(+)-Catechin 含量が若干高いこと以外は、B-IV の結果とほぼ同様であった。富山芍薬の成分分析結果は次のとおり；Paeoniflorin: 4.11%, Albiflorin: 1.35%, PGG: 0.38%, (+)-Catechin: 0.36%, Gallic acid: 0.04%, Benzoic acid: 0.01% (平均値)。

【考察】

富山県で栽培可能な品種から、薬用のブランド芍薬を作出するためには、収穫した新鮮な根を富山県で加工調製する最適な方法を見出すことが不可欠である。昨年度は、栽培4年目の薬用品種「梵天」の根を15通りの方法で加工調製し、成分含量の差異を検討した結果、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°C)で乾燥する方法が最も良い成分含量を示すことを明らかにした。今年度は、ブランド芍薬の候補として選抜した品種Aの新鮮な根を58日

間低温貯蔵したものについて、周皮を除かずそのまま乾燥するという方法を加えて計8通りの加工調製法を行い、成分含量の変動を検討した。その結果、昨年と同様に、新鮮な根を低温貯蔵することにより Paeoniflorin 含量が安定すること、及び湯通し処理を行うことにより PGG 及び Gallic acid の含量が顕著に増加することが明らかになり、これらの方法が品種の別に依らず有効であることを確かめることができた。さらに、低温貯蔵した根を湯通し処理し、周皮を付けたまま乾燥した場合の方が、周皮を除いてから乾燥したものより PGG の含量が高く、乾燥法も室温での自然乾燥より30℃で乾燥した方が高含量を示した。「梵天」と品種 A を比べると、品種 A で Paeoniflorin 含量が1%程度高く、また Albiflorin 含量は約2倍、(+)-Catechin 含量は約5~6倍という結果であり、本品種の特徴が加工調製法を整えて比較することにより明瞭になった。これまで、栽培環境により Paeoniflorin, (+)-Catechin 及び PGG の含量が変動すること、周皮の有無で Albiflorin 含量が変動することを見出してきたが、品種を選抜し加工調製法を最適化することによりこの変動を補うことができると考えられる。

【結論】

富山ブランド芍薬の候補として選抜した品種 A の加工調製法として、新鮮な根を1ヶ月以上低温貯蔵し、水洗後湯通しして、周皮を取らずにそのまま30℃で乾燥する方法が、高品質を担保する上で最適であることを明らかにした。さらにこの方法は、品種の違いに依らず高品質の芍薬を作出するために有効であった。本法は湿度が高く、シャクヤクの乾燥には不向きとされる富山県においても実行できる。今後は、実験室レベルから企業レベルに拡大した方法を確立する必要がある。

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(3)—平成23年度および24年度の使用量，2015，pp.2-9.
2. 国家薬典委員会編，『中華人民共和国薬典』，2010年版，第一部，中国医薬科技出版社，北京，2010，pp.96-97(白芍)，147-148(赤芍).
3. 厚生労働省編，『第十六改正日本薬局方』，東京，2011，p.1514.
4. 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(1), 35-45 (2015).