

原 著

## 伝統薬の継承(3) 実母散

志村恭子, 佐藤 誠, 橋爪清, 中山治, 長谷川正樹<sup>1)</sup>

三重県内には古くから伝わる伝統薬を製造している中小零細企業が立地している。実母散は江戸時代に有名であった、婦人薬等に用いられる生薬製剤であり、県内北勢地区の零細企業でも細々と製造が続けられている。こういった零細企業が GMP やバリデーションに対応していくことは難しい。そこで、当部は、伝統薬を継承していくことを目的として、実母散に配合された甘草中のグリチルリチン酸の定量法を見直すとともに、零細企業のレベルに合ったバリデーションの指導を行った。その結果、定量法の精度は良好であり、また製造工程は十分管理されていた。

キーワード：伝統薬，実母散，グリチルリチン酸，バリデーション

### はじめに

歴史を持つ伝統薬の多くは姿を消し、辛うじて姿をとどめていても風前の灯である<sup>1)</sup>。ましてや、現代の科学的な GMP やバリデーションに対応していくのは至難の業であることから、当部は、県内の伝統薬を継承していくことを目的として、零細企業におけるバリデーションへの取り組みを支援している<sup>2),3)</sup>。今回は、県内の伝統薬の一つである実母散中甘草のグリチルリチン酸の定量法を見直すとともに、企業のレベルに応じたバリデーションについて助言したのでその概要を報告する。

### 実験方法

#### 1. 「実母散」に配合される甘草末中グリチルリチン酸のHPLC法による定量法

##### 1) 試薬

グリチルリチン酸標準品は和光純薬工業(株)製生薬分析用標準試薬を、アセトニトリルはナカライテスク(株)製液体クロマトグラフ用を用いた。その他の試薬は特級を用いた。

##### 2) 定量法

本品 20 包以上をとり、その重量を精密に量り、粉末にして均一にしたものを試料とする。カンゾウ末約 0.4g に対応する量を精密に量り、希エタノール 70mL を加え、水浴上で 1 時間還流する。冷後、遠心分離し、上澄液を分取する。残留物は更に希エタノール 25mL を加え、同様に操作する。全抽出液を合わせ、希エタノールを加えて正確に 100mL とした後、同液で 10 倍希釈し、メンブランフィルタを用いてろ過し、ろ液を試料溶液とする。

別に、成分含量測定用グリチルリチン酸約 0.01g を精

密に量り、希エタノールに溶かして正確に 100mL とし、同液で 10 倍希釈したものを標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 10  $\mu$ L ずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。それぞれの液のグリチルリチン酸のピーク高さ  $H_r$  及び  $H_s$  を測定する。

##### 操作条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：254nm)、カラム：Cosmosil 5C18AR (4.6mm  $\times$  150mm) (ナカライテスク(株)製)、カラム温度：40  $^{\circ}$ C、移動相：薄めた酢酸 (1:50) / アセトニトリル混液 (33:17)、流量：0.8mL/min.、装置：島津 LC-10A

#### 2. 「実母散」のバリデーションの実施計画

県下零細医薬品企業で製造されている「実母散」〔生薬製剤：1 日量 1 貼 (12g)、成分〔当帰、芍薬、川弓、牡丹皮、厚朴、白朮、陳皮、茯苓、紫蘇、川骨、桂皮、香附子、甘草、地黄、山梔子、木香、丁香、人参、ウイキョウ、サフラン〕をモデルとし、そのバリデーションについて以下のように助言、指導した。

##### バリデーション計画の概要

目的：既製造許可品目の「実母散」を製造する場合に、製造設備並びに手順・工程等の検証を行い、目的とする品質に適合した製品が恒常的に得られていることを確認する。この結果等を参考に、製造工程における管理項目と管理値を設定し、工程管理項目 (変動要因) が許容条件内にあることを実生産規模で確認する。

内容：現有製造設備である混合機の稼働性能を混合時間と総回転数が比例関係にあることにより確認するとともに、混合機のドラム内の洗浄方法が妥当であることを洗浄バリデーションを実施して確認する。その上で、「

実母散」について、仕込量、使用機器、操作条件等の日常的工程管理が製品標準書等の規定に基づき実施され

1) 工業研究部

ていることを確認する。また、品質に影響すると考えられる混合工程（重要工程）において、中間製品をサンプリングし、有効成分の含量均一性を検証する。

**含量均一性試験の概要**

重要工程：図1に示す製造工程の内、重要工程として混合工程を選定した。

サンプリング方法：あらかじめ、1ロットめにおいて、混合工程において、混合開始後2時間、3時間、4時間で混合

機の上、中、下の各層3点ずつ計27点でサンプリングする。混合時間及び各層で有意差が認められない場合は、次ロットめからのサンプリングは、単純ランダム3点で行うものとする。

評価項目：混合工程における目視による混合確認と甘草中グリチルリチン酸含有量

評価基準：承認規格、管理基準への適合状況による評価

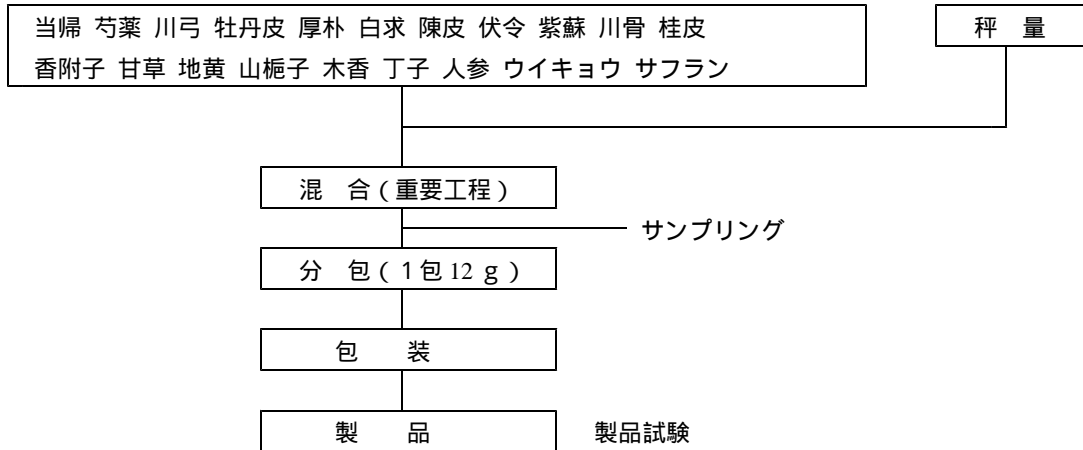


図1 「実母散」の製造工程

**実験結果**

**1. 「実母散」中甘草のグリチルリチン酸のHPLC法による定量法について**

「実母散」は生薬20種類を含む製剤で、この中で指標成分として定量できるのは甘草中グリチルリチン酸であり簡便なHPLC法について検討した。本法で分析を行ったところ、グリチルリチン酸は1~100(μg/mL)の範囲で原点を通る良好な直線性(r=0.999以上)を示した。添加回収実験(3濃度で各n=6)を行ったところ、平均回収率は92.6%でありCV%は1.52%であった。

図2にグリチルリチン酸、甘草抽出溶液、試料溶液及び甘草不含有試料溶液のHPLCクロマトグラムを示す。甘草不含有試料溶液のクロマトグラム上には、妨害となるようなピークは認められず、いずれのクロマトグラムも良好な分離を示した。

**2. 「実母散」のパリデーションの実施結果**

**1) 混合機の稼働性能の適格性**

混合機の稼働性能について、混合時間と総回転数が比例関係にあるかどうかを検証した。混合機において空運転時及び試料を120Kg負荷して、30分、60分及び90分

後の総回転数を計測した。その結果、負荷により混合機的能力はやや低下する傾向にあったが、いずれの場合も時間と総回転数は比例関係にあった。このことにより、混合機は混合するのに支障はなく、稼働性能適格性が確認された。

**2) 混合機の洗浄バリデーション**

混合機の洗浄バリデーションは、大きく分けて、混合機のドラム内チェックと部分洗浄及び拭き取り試験となり、その計画を以下の様に定めた。

- ・ドラム混合機を外して、ブラシでよく水洗して乾燥する。
- ・良く水ですすぎ、何度も洗い流して乾燥する。
- ・残留物の有無を調べるため、脱脂綿1個に水を浸しドラム内部6箇所を10cm<sup>2</sup>ずつ拭き取り検体を作る。
- ・各脱脂綿を80℃に煮沸した湯の中に入れ、着色の有無を精製水を対照として着色度を判定する。
- ・着色の有無を目視試験し、可否を定める。

上記計画に基づき試験したところ、いずれのサンプル

リング場所においても拭き取った検体は対照より濃くなく、残留物は認められず、混合機のドラム内の洗浄方法が妥当であることが確認された。

### 3) 含量均一性試験

含量均一性試験は、図1に示す製造工程中、重要工程である混合工程において、目視による混合確認と甘草中グリチルリチン酸含有量を測定することにより評価した。表1に示すように、混合開始後時間とともに、グリチルリチン酸定量値のCV値は小さくなる傾向にあった

が、混合開始後、2時間、3時間、4時間の定量値は各々有意差が認められなかったことから、混合時間は念のため中間の3時間とした。また、混合機の上、中、下の各層においても有意差が認められなかったことから、以後のサンプリングは、単純ランダム3点で行うこととした。

また、目視による混合確認は科学的な裏付けがあるかどうかを検討した。混合開始直後、20分後、40分後、60分後に各々1包分量(12g)ずつ6点サンプリングし

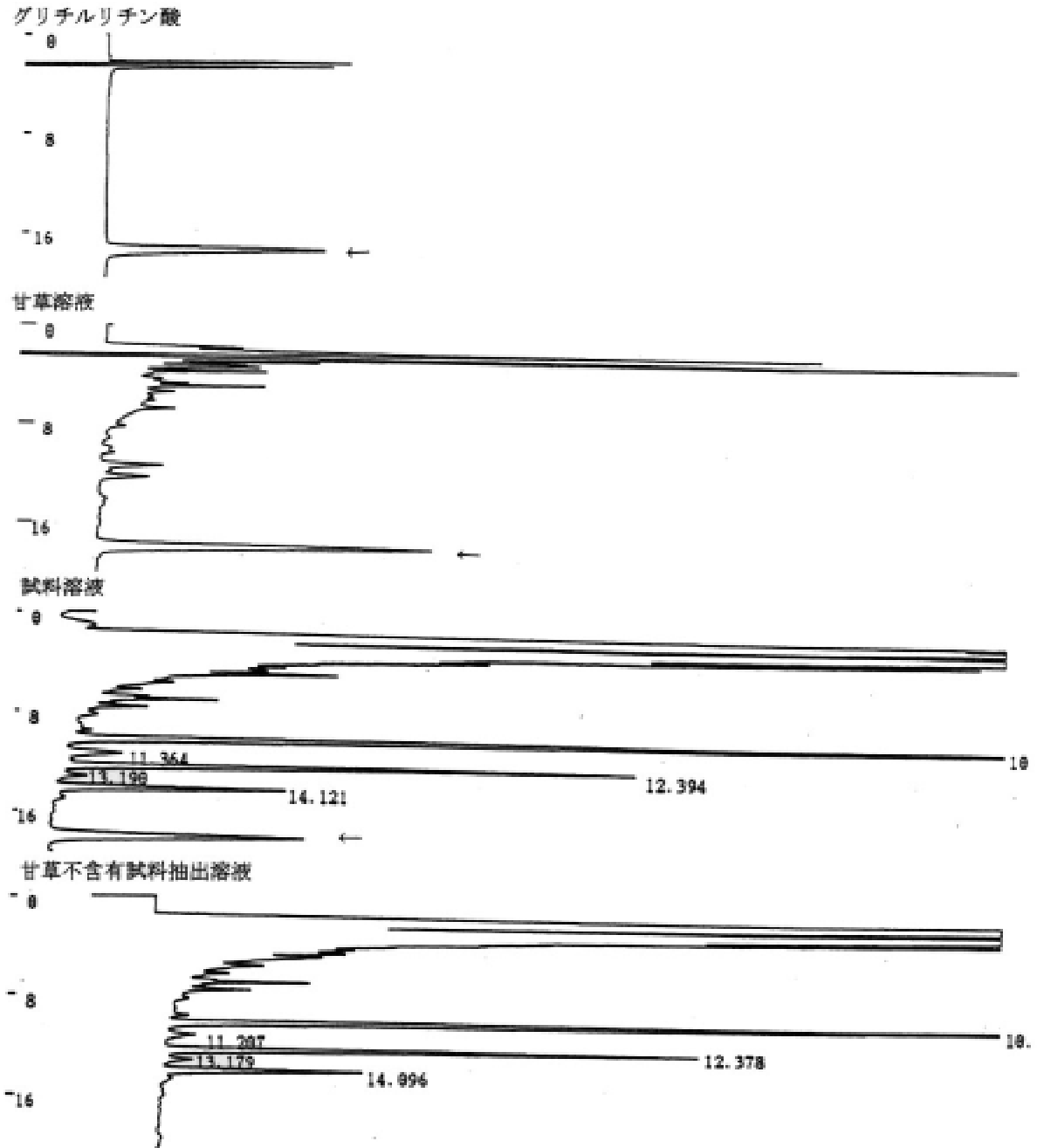


図2 グリチルリチン酸、甘草溶液、試料溶液及び甘草不含有試料溶液のHPLCクロマトグラム

表1 重要工程における含量均一性試験結果

ロット番号	混合時間	サブリング層	サブリング数(ランダム3点)	含量 mg/(1日量g)
				グリチルリチン酸
H J 0 0 1	2時間	上層	1	10.1
			2	11.0
			3	12.1
		中層	1	11.9
			2	11.4
			3	10.0
		下層	1	10.2
			2	10.6
			3	11.5
	3時間	上層	1	10.6
			2	11.0
			3	10.7
		中層	1	11.3
			2	10.8
			3	11.9
		下層	1	11.2
			2	11.9
			3	10.2
	4時間	上層	1	11.6
			2	11.0
			3	10.6
		中層	1	10.5
			2	10.1
			3	11.3
下層		1	10.2	
		2	11.2	
		3	10.4	

\* 含量は6試行の平均値である。

白い平面に広げて、目視試験を行い混合の可否を決めた。また、同試料についてグリチルリチン酸含有量を測定し、先の結果との関連をみた。その結果、20分、40分の目視試験では混合が十分ではなく、60分でほぼ混合されていると判断した。目視試験とは、経験上、製造業者が行ってきた判定法で、「実母散」の原料生薬の色が個々に違うことを利用するものである。混合直後

は比較的多量に含まれる厚朴、当帰等の茶褐色が目立ち他の生薬の色は目立たないが、混合するとともに丁子や地黄の黒色、茯苓の白色、陳皮や山梔子の赤茶色が目に入るようになり、ほぼ混ざってくると今度は多種類の生薬が混じり合い一定の黄褐色の色調となった。グリチルリチン酸含有量は、混合が進むに連れ、CV値は小さくなる傾向にあり、経験上行われてきた目視の判断がほぼ

正しいと思われた。以上の検討後、実生産規模においても含量均一性を確認したところ、評価基準を満たし、製造工程は十分管理されていた。

## 考 察

### 1. 「実母散」中甘草のグリチルリチン酸の定量法及び含量均一性試験について

一般に生薬製剤中に配合される個々の生薬は定量することが難しいものが多く、本処方の中で定量する必要がある生薬としては甘草があり、その指標成分であるグリチルリチン酸の定量法を検討した。まず、抽出法として希エタノールを用いて超音波処理・振とう抽出法と還流法について比較したところ、還流法の方がやや回収率は良かった。また、実際に用いられる用法に従い、一包に水を加え漢方煎じ器を用いて湯液を得る方法についても検討した。その結果、得られた定量値は超音波処理・振とう法と同程度であったが、水抽出液は非常に過しく操作性に問題があった。以上のことから、希エタノールを用いて還流法により抽出することにした。

本処方1包 12 g中に 20 種類の生薬が含有されており、そのうち甘草は 0.4 gしか含まれておらず、含量均一性試験により含量が均一であることを検証することは、厳密には難しかった。したがって、多数の試料をとり均一化したうえで、なるべく採取量を多くするように採取して抽出し、抽出液を至適濃度になるように希釈することとした。含量均一性試験においては、混合時間やサンプリング場所による有意差がないことを検定した後、従来の管理図法を評価法としては採用せず、承認規格、管理基準への適合状況により判断し、参考として CV 値のばらつきをみることにした。実際に、甘草中グリチルリチン酸の定量と併せて目視試験法を検討したところ、経験的な目視試験もある程度科学的な裏づけがなされたので、今後は両法により含量均一性試験を行うこととした。

生薬・漢方製剤は原料である生薬が天然産物であり、産地や気候等の様々な要因により変動することにより、従来から合成医薬品と異なる製造管理と品質管理が行われてきた。バリデーション導入に際しても合成医薬品と異なる対応が必要かどうかの検討がなされた<sup>4)</sup>。その中では、漢方製剤のバリデーションの統計的評価として、一般合成医薬品に比べて承認規格幅が広いことから分散分析を採用せず、t検定で混合時間による含量の母平均の差を検定することとし、管理図法は原料品質の影響が大きく、承認規格の上付き、下付き傾向がみられる等最良の方法とはいえず、最良の統計的評価を検討すべきだと述べられている。この知見は、先に述べた当部の結論と同様のものであり、今後も生薬製剤の品質評価のあり方を検討していく必要がある。

### 2 「実母散」の歴史<sup>1)5),6)</sup>

「実母散」は、江戸時代に広く知られた婦人薬で、現

在でも同名で各地で製造されており、効能に、血の道、月経不順等をうたっている。細かく刻んで配合した生薬を袋に包んだもので、用法用量として、大人1日1貼を3回に服用、初めの2回は1貼に1合の熱湯を加え振り出し、3回目は水1合5勺を加え約半量に煎じ食間に温服するとある。

この方式の起源は、戦国時代から始まった、「振り出し薬」と呼ばれるいわゆるティーバック方式といわれている。14世紀の南北朝のころ、戦場での刀傷の手当を専門とする「金創医」と呼ばれる戦陣外科医が登場するようになり、野外で手負いの患者を手早く治療するために、応急の治療が必要で、この携帯に便利ですぐ使用できる「振り出し薬」が多用されるようになった。薬缶に湯を煮えたぎらせておき、細切して配合した生薬を包んだ絹か麻の袋に熱湯を注ぎ、いつでも治療に必要な薬湯を得るといものである。漢方の古典では、この方式は「湯泡」または「泡剤」と呼ばれるもので、生薬の中の特殊な薬効成分だけを迅速に湯にしみ出させ、他の成分の混入による副作用を避けようとする目的があったようだが、実際に用いられた例は少なかった。日本の「金創医」たちは、この「泡剤」の簡便さと即時性に注目し、使用、保存などの面から日本独特の工夫をした結果、湯を注いで揺らしながら薬を出すことから「振り出し薬」と呼ばれる方式が生まれた。

「金創医」がよく使用したのが安永湯という処方であり、これが婦人病に効果があると後に認められるようになり、泰平の世になって「金創医」から婦人医に転身するものが増え、「振り出し薬」は婦人薬にも用いられるようになった。当時用いられた婦人薬としては、「安永湯」の他に「実母散」、「婦王湯」、「清心湯」、「女神散」等があり、いずれもよく似た処方であったと幕末から明治にかけての漢方の大家で明治天皇の侍医であった浅田宗伯は家伝の「女神散」で述べている。

江戸時代、日本橋から京橋へ抜ける目抜き通りの中橋の近くに、「実母散」の名家を名乗る薬舗が数店あった。このことは江戸時代の川柳に「中橋に嘘の実母も二、三人」と皮肉られているが、そのころの江戸一の商業地で大店が張れるほど「実母散」は評判の婦人薬であり、同名の薬を売るところが各地に出現した。その中で由緒がはっきりしているのは、ともに江戸中橋を発祥地とする「千葉実母散」と「喜谷実母散」であり、いずれも興味深い由来が語られ続けている。15年ほど前の調査によれば、「実母散」は50数社あったが、今では相次いで製造をやめ、10銘柄程度といわれている。

女性は一生を通じ、ホルモンの状態が常に変動する。特に月経時、妊娠期、更年期にはホルモンのバランスがくずれやすく、それが自律神経にも影響を及ぼし、様々な変動が起こるといわれている。特に母性とかかわりの深い婦人薬は、安心して常用できるものや、長い世代にわたって受け継がれて試されてきた薬が望まれる。和漢薬のおだやかで、確かな効き目が見直されるようになり、

長年にわたって愛用者を得てきた伝統薬が細々と生き続けているのも肯ける。

### 3 伝統薬の継承<sup>7),8)</sup>

伝統医学への世界的な着目がされたのは、プライマリ・ヘルスケア (Primary Health Care) コンテキストの中である。1970 年代初期に、途上国を中心として各国で伝統薬がどう医療制度に取り込まれているかの調査がなされた。WHO と Unicef は 1978 年にアルマータ宣言で、プライマリ・ヘルスケアは国際保健分野の基本戦略となり、各国の医薬品行政に有用性が証明された伝統薬を取り入れようと提唱した。2000 年 4 月香港で、“伝統医療の評価及び研究のための方法に関する指針” が世界 31 カ国の参加の下に承認された。この指針はこれまで WHO が薬用植物、生薬に関して行ってきた成果の集大成ともいべきものであり、この中で、医薬品としての生薬の位置づけを明確にし、伝統医療をいかに科学的根拠に基づく治療に持っていかかが検討されている。アメリカでは先端医療の発展とは別に相補代替医療 (Complementary and Alternative Medicine) を積極的に推進する動きがみられる。従来の西洋医学一辺倒を反省し、ハーブ医学、鍼灸、ヨガ、マッサージ、食事療法などを病気の治療や予防に取り入れようとする動きである。日本の医学は古くから中国の影響を受け、漢方薬や民間薬等が定着し、現在でも多くの支持を集めている。このように、各国において伝統薬を見直そうという動きが顕著になってきている。

日本の伝統薬は、材料を身近な生薬 (薬草) に求め、製法は代々伝承され、日本人の日々の暮らしに根付き健康に寄与してきた。これら伝統薬は古くからの歴史を持ち、その開発に至る経過や人物エピソードが豊富で、一種の祖先の知恵ともいえる。しかし、これら伝統薬は主に零細企業で製造されており、現在の薬務行政における

GMP 及びバリデーションへの対応に苦慮しているところが多い。

当部はこういった伝統薬を継承することを目的として、零細企業におけるバリデーションへの取り組みを支援してきた。今回、「実母散」に配合された甘草中グリチルリチン酸の定量法を見直したところ、良好な結果が得られた。また、零細企業のレベルに合ったバリデーションの助言を行ったところ、製造工程は十分管理されていることが明らかとなった。当部では、今後もこのような取り組みを通じて、県内で製造されている伝統薬の継承に努めていきたいと考えている。

### 文 献

- 1) 鈴木 : 伝承薬の辞典, 初版, 東京, 東京堂出版 (1999) .
- 2) 志村恭子, 佐藤誠, 大熊和行, 阪本晶子, 小川正彦 : 伝承薬の継承(1)無二膏, 三重衛研年報, No.44, 43-48 (1999) .
- 3) 志村恭子, 佐藤誠, 大熊和行, 小川正彦 : 伝承薬の継承(2)萬金丹, 三重保環研年報, No.45, 48-54 (2000) .
- 4) 泉博子 : バリデーション作業の実際, 漢方エキス製剤のバリデーション, PHARM TECH JAPAN, Vol.13, No.3, 25(341)-29(345) (1997) .
- 5) 山崎光夫 : 日本の名薬, 初版, 東京, 東洋経済出版社 (2000) .
- 6) 石川晴彦 : 日本の伝統薬, 初版, 東京, 主婦の友社 (1989) .
- 7) 津谷喜一郎 : ハーブとエビデンス - 健康食品から漢方薬, 第 49 回日本生薬学会年会講演要旨集 (2002) .
- 8) 佐竹元吉 : 生薬の品質と生薬行政を取り巻く情勢, 第 37 回全国衛生化学技術協議会年会資料 (2000)

## Inheritance of traditional medicins (3) Jitsubosan

Kyoko SHIMURA, Makoto SATO, Kiyoshi HASHIZUME, Osamu NAKAYAMA  
and Masaki HASEGAWA

Key words: traditional medicins, Jitsubosan, glycyrrhizic acid, validation

There are a few small companies which manufacture traditional medicins in Mie prefecture. “Jitsubosan”, which was a famous herbal drug for gynecology in Edo era, has been manufactured on a small scale by a small company in northern part of Mie prefecture.

It is probably difficult for a small company to match with criteria of GMP and validation. For the purpose of inheritance of traditional medicines, we improved the analytical method of glycyrrhizic acid in “Jitsubosan”, and gave an advise of process validation to this company. Then the precision of determination was found to be adequate, and the manufacturing process was in control.