

中華人民共和国薬典 2005 年版に収載された体外培育牛黄の特徴

山口茂治^{*,a}, 岩井香澄^a, 大場幸次^a, 久田陽一^a, 酒井英二^b, 田中俊弘^b

^aアスゲン製薬株式会社, ^b岐阜薬科大学

Characteristics of CALCULUS BOVIS SATIVUS First Introduced in the Chinese Pharmacopoeia 2005 Edition

Shigeharu YAMAGUCHI,^{*,a} Kasumi IWAI,^a Koji OHBA,^a Youichi HISATA,^a
Eiji SAKAI^b and Toshihiro TANAKA^b

^aAsgen Pharmaceutical Co., Ltd., 2-28-8, Izumi, Higashi-ku, Nagoya 461-8531, Japan

^bGifu Pharmaceutical University, 5-6-1, Mitahora-higashi, Gifu 502-8531, Japan

(Received March 20, 2007)

CALCULUS BOVIS SATIVUS (CBS) was first introduced in the Chinese Pharmacopoeia 2005 edition. In China, CBS has been used as an alternative to BEZOAR BOVIS (BB). CBS consists of several ingredients derived from BB and is made *ex vivo*. This experiment has been carried out to enable the discrimination between CBS and BB. Comparison with BB revealed the following characteristics of CBS: the thick ring layers in the transverse plane forms a concentric circle; the crack entered from the surface to the center, rather than along the boundaries of the layers with BB; the surface color presented a more vivid yellow than that of BB. Furthermore, each sample was extracted with ethanol to examine the time course of the change in extract solution color. The maximum optical absorbance of both extract solutions originally showed 415nm in wavelength. However, 24 hours after the preparation, only the peak absorbance of BB was stable. This indicates that the fading speed of ethanol extract solution for CBS was faster. As a result, it was concluded that CBS can be distinguished from BB by the above characteristics.

Keywords : BEZOAR BOVIS, CALCULUS BOVIS SATIVUS, external form, $L^*a^*b^*$ color space, optical absorbance

体外培育牛黄(CALCULUS BOVIS SATIVUS)は牛黄に含まれる数種類の成分(新鮮な牛胆汁, デオキシコール酸, コール酸及びビリルビンカルシウム等)を牛体外で混合し人工的に製造される牛黄^{1,2)}である。中国で1980年頃から研究が始められ, 牛黄の代替品として使用することを目的とし, 1997年に国家一類中薬新薬として開発された。2004年には, 国家薬品標準処方中の牛黄含有臨床急重症用薬品と国家薬品監督管理部門が承認した牛黄含有新薬に対して, 培植牛黄及び体外培育牛黄が牛黄の代替品として等量使用することを認め(但し, 人工牛黄を代替品とすることは不可), その他の牛黄配合製剤に処方する牛黄は, 培植牛黄, 体外培育牛黄, 人工牛黄を牛黄の等量使用することを認めた通知³⁾が国家食品薬品监督管理局から出され

ており, 体外培育牛黄の薬理効果は牛黄と同等と評価されている。さらに2005年には中華人民共和国薬典2005年版(以下, 中国薬典)に新たに収載された。尚, 培植牛黄とは牛の胆嚢中に核となる物質を挿入し, 胆石の生成を促進させてできた牛黄⁴⁾であり, また人工牛黄とは牛胆粉, コール酸, ヒオデオキシコール酸, タウリン, ビリルビン, コレステロール等から作られた^{5,6)}牛黄である。

牛黄は1000頭に1頭の割合でしか見つからないといわれ, 中国国内でも高貴薬として珍重されているが, 体外培育牛黄は人工的に生産できることから量産化を見込むことができ, 原料としての価格を下げるのが可能となった。従って, 中国で製造される牛黄配合製剤に, 牛黄ではなく体外培育牛黄が使用されることや牛黄の配合量を減らし,

体外培育牛黄で増量される可能性があり、今後、牛黄と体外培育牛黄の識別は重要な意味を持つこととなる。今回、体外培育牛黄の市場品を入手したので、その性状や形態に関する特徴について精査した。

材料および方法

材 料

2005～2006年に中国市場で入手した体外培育牛黄5ロット、2001年及び2003年に入手したオーストラリア産及びブラジル産の日局ゴオウ(BEZOAR BOVIS)8ロット、各ロットから1検体ずつ使用した。

方 法

試料(体外培育牛黄 n=5, 日局ゴオウ n=8)の表面及び断面の性状についてルーペ視し、ノギスにて層の厚さを測定した。さらに色彩色差計(ミノルタ CR-241)で試料の表面及び断面の各15ヶ所を無作為に測定し、 $L^*a^*b^*$ 表色系(CIE1976)⁷⁾で現した。また、試料のエタノール抽出時における溶液の呈色について、下記の条件で吸光度を測定した。試料溶液の調製は次のように行った。粉末にした各試料150mgにエタノール(95)5mLを加え、10分間超音波抽出を行った後、5分間遠心分離(3,500rpm)し、上澄液を試料溶液とした。また試料の採取量を1.5倍、2倍にしたものも同様に調整した。また、日局ゴオウは、必要に応じて吸光度が1.0付近になるようにエタノール(95)で希釈した。試験条件は次のとおりである。

紫外可視分光光度計; Shimadzu UV-160A, 測定波長; UV 415 nm 及び 200～800 nm, 光源; 蛍光灯(3波長形昼光色 25W), 照射時間; 連続

結 果

外部形態

体外培育牛黄はほぼ球形を呈し、直径15～20mm、表面は粉状で黄褐色～濃黄褐色または黄赤褐色を呈する。乾燥が進むと脆くなり、球の表面から中心へ亀裂(Fig. 1)が入りやすく小塊となりやすい。断面を観察すると同心円状の層は厚さがほぼ等しく5～6層をなし、淡赤褐色を呈する。層と層の接合面は濃赤褐色を呈する。層の厚さは0.1～0.2mmで、日局ゴオウの層より厚い。日局ゴオウは厚さが薄く不均一なため、ノギスでは計測できなかった。

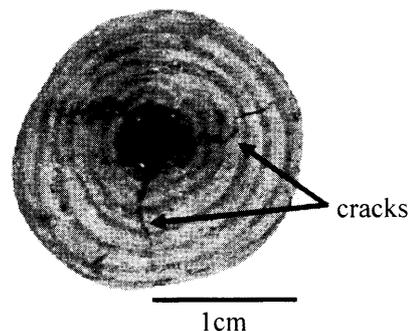


Fig. 1 Transverse Section of the CALCULUS BOVIS SATIVUS(CBS) Cracks go to a center.

$L^*a^*b^*$ 表色系

$L^*a^*b^*$ 表色系は明度(L^*)及び色相と彩度(C^*)を示す色度(a^* , b^*)で現され、 L^* 値が大きい程明度は高い。また、 a^* の(+)値が大きい程赤色、(-)値が大きい程緑色、 b^* の(+)値が大きい程黄色、(-)値が大きい程青色を示し、(+)値、(-)値ともに大きい程彩度は高くなる。^{8,9)}

試料表面の色相は両者とも黄色方向にあるが、日局ゴオウは a^* が $-1\sim 19(8.5\pm 4.7)$ 、個体内の15ヶ所の測定値が最も変動した検体の値(mean \pm SD, 以下同じ)、 b^* が $1\sim 50(29.3\pm 10.7)$ と淡黄色から濃黄色まで幅広く呈色しているのに対し、体外培育牛黄は a^* が $10\sim 16(12.7\pm 1.3)$ 、 b^* が $30\sim 55(44.9\pm 5.5)$ と黄色から濃黄色で纏まっていた。(Fig.2)

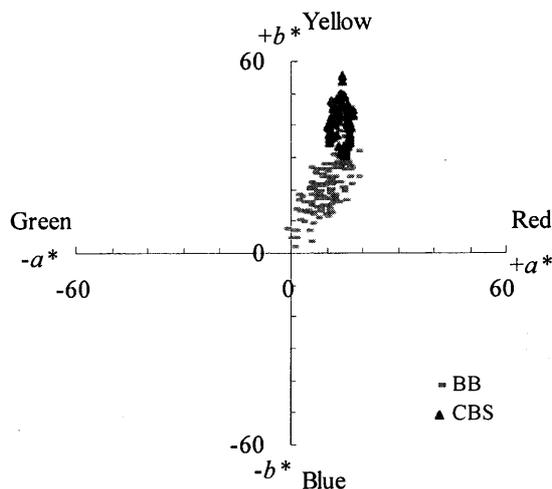


Fig. 2 a^* , b^* Chromaticity Diagram of the Surface of CBS and BEZOAR BOVIS (BB)

試料表面の彩度と明度は、日局ゴオウでは C^* が $1\sim 52(30.6\pm 11.5)$ 、 L^* が $20\sim 53(32.0\pm 5.2)$ 、体外培育牛黄は

C^* が 34~57(46.6±5.5), L^* が 31~46(40.8±2.7)で, 日局ゴオウはごく暗い~暗い~濃いと幅広い色調を呈するが, 体外培育牛黄は暗い~濃い~鮮やかな色調で纏まっている. (Fig.3)

尚, 試料断面の色相及び彩度と明度は, 体外培育牛黄と日局ゴオウの間に明らかな差はなかった.

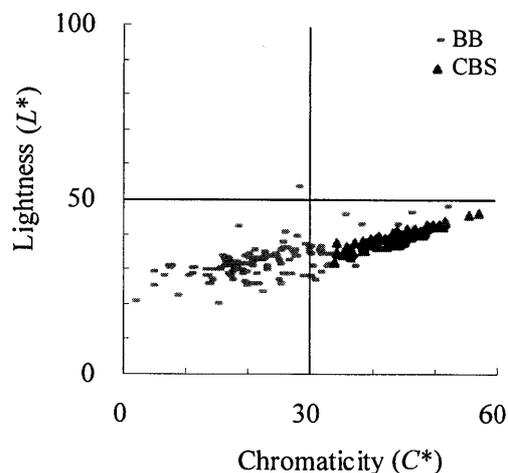


Fig. 3 Chromaticity and Lightness of the Surface of CBS and BB

吸光度

試料溶液の吸光度を測定したところ, 体外培育牛黄と日局ゴオウとも波長 301 nm と 415 nm 付近にピークが認

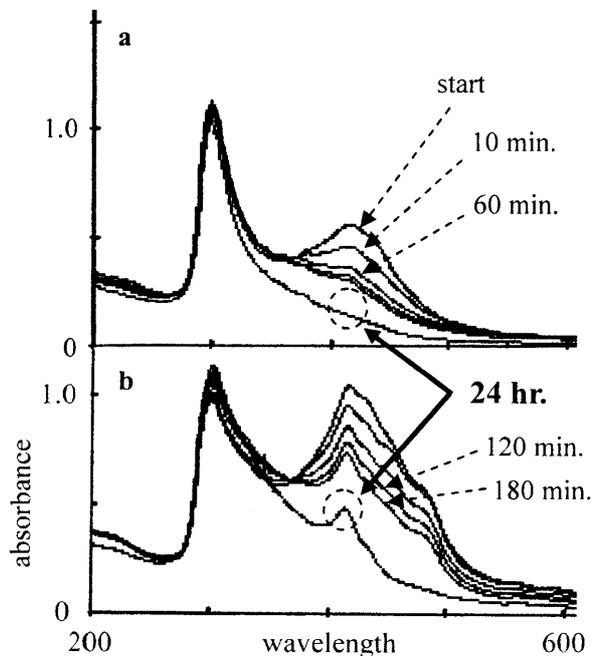


Fig. 4 Change of Absorption Spectra with Leaving Time in Ethanol Extract Solution. a: CBS. b: BB (whole, Australian prod.)

められ吸光度は経時的に低下した. しかし, 波長 415 nm において日局ゴオウでは 24 時間後にもピークは認められたが, 体外培育牛黄ではピークは認められなかった. (Fig.4) また試料の採取量を増加してもこの変化に差は認められなかった.

次に, 波長 415 nm で測定した吸光度について, 開始時の吸光度に対する割合を求めたところ, 開始時の吸光度を 100 とすると, 日局ゴオウでは 5 分後に 92%, 10 分後に 89.6%, 30 分後に 85.7%, 60 分後に 81.9%, 120 分後に 76%, 180 分後に 72.2%となった. 一方, 体外培育牛黄では 5 分後に 85.1%, 10 分後に 81.3%, 30 分後に 72.5%, 60 分後に 63.7%, 120 分後に 56.9%, 180 分後に 54.2%となり, 日局ゴオウでは 5~10 分後までに急に退色するものの, その後の退色変化は緩慢であった. 一方, 体外培育牛黄は 60 分後まで日局ゴオウよりさらに急激に退色した. (Fig.5)

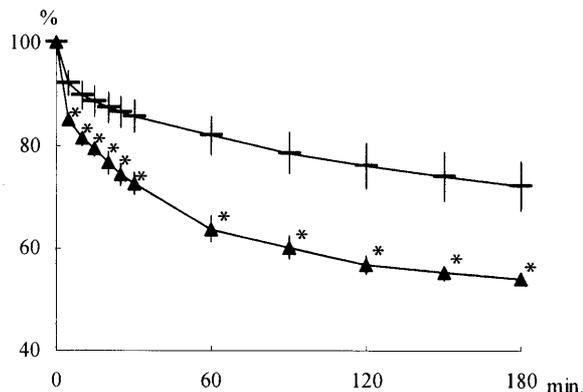


Fig. 5 Time Course of Optical Absorbance at 415 nm. Each point indicates the ratio to the initial value. —: BB (whole, Australian prod., n=8), ▲: CBS (n=5). Values are means±SD. *: $p < 0.05$ (student t test).

考 察

牛黄の形態の特徴の一つに幾層にもなる断面の層があるが, 日局ゴオウの場合, 層の厚さは不揃いで中には非常に薄いものもある. 一方, 体外培育牛黄では層の厚さは揃い, 層数も今回の試料では 5~6 層と限定されている. これは体外培育牛黄が工業的に製造されることに起因するものである. 他の特徴として, 亀裂が入る場合, 日局ゴオウでは層に沿って亀裂が入り剥がれやすい. 一方, 体外培育牛黄では球の表面から中心部に向かって亀裂が生じ, 多くは中心部を伴った小塊となる. 表面及び断面の色を測定した結果, 両者とも黄色方向の色相であるが, 特に表面で

は体外培育牛黄が日局ゴオウより濃黄色を呈する傾向が強いことが認められた。また表面の色調は、体外培育牛黄は日局ゴオウより鮮やかな色調が特徴であることが認められた。これは体外培育牛黄が規格化された方法により製造・調製されたため、ある範囲の色調を呈したと考えられる。エタノール抽出溶液の吸光度を測定した結果、体外培育牛黄は日局ゴオウより退色の速いことが認められた。

これらの結果より、体外培育牛黄は日局ゴオウと同様の成分から作られるとしても、生体内で生成されるものと生体外で製造されるものでは、牛黄としての特徴が少しずつ違っていることが今回明らかとなった。

生薬の品質を保証するために、これまで生薬の鑑定や性状の確認など形態学的な手法が中心に行われてきたが、分析機器が発達した現代においては指標成分の分析という方法に重点が置かれている。しかし今回、中国で開発された体外培育牛黄は、牛黄と同成分を使用し人工的に製造されることから、これまでのような特定成分の確認や定量という化学分析だけに頼った方法では、対象とする試料が果たして天産物由来なのかあるいは人工的に製造されたものなのかの判断ができず、生薬の品質を保証できなくなることを示唆している。

今回試料とした体外培育牛黄は球状を呈するものであったため性状を中心に観察することができ、日局ゴオウと体外培育牛黄の鑑別が可能であった。また、体外培育牛黄を使用しながら牛黄と表示されているような不正医薬品は未だ発見されてはいないが、体外培育牛黄の価格は牛黄の $1/2 \sim 1/4$ とされることから、体外培育牛黄と牛黄を混合したものが出てくる可能性がある。さらには、体外培育牛黄を粉末にし、様々な生薬と組み合わせて処方された場合の牛黄との鑑別を検討する必要性が出てくるであろう。

動物生薬の野生品はワシントン条約等で流通が困難となる中、飼育・家畜化することで問題の解決を図ってきたが、量産化という問題が残されていた。この点について中国政府は、野生品の動物生薬と同成分を用い人工的に製造された薬物を中国薬典に収載し、さらに従来の生薬の代替品として等量使用を可能とする通知により、従来の野生品動物生薬と同等とみなした。日本ではこのまま使用するこ

とができないという問題があるものの、この中国政府の政策は生薬に対するこれまでにない新しい考え方を提示しているといえる。

結 論

枯渇してゆく動物生薬の野生品に対して、原料の安定供給という観点から体外培育牛黄が開発された。さらに中国政府は体外培育牛黄を牛黄の代替品として等量使用することを認め、中華人民共和国薬典 2005 年版に新たに収載した。

中国で開発された体外培育牛黄の市場品を入手し、市場品日局ゴオウと比較し、その特徴を精査した。その結果、断面の輪層の状態及び層の厚さ、亀裂の入り方、試料表面の色度と彩度、エタノール抽出溶液の吸光度 415 nm における退色速度の低下において相違点を明らかにすることにより、市場品の鑑別を可能にした。但し、体外培育牛黄の粉末及び体外培育牛黄と日局ゴオウを混合した場合の鑑別は今後の検討を要する。

References

- 1) Chinese Pharmacopoeia Committee of People's Republic of China. "Pharmacopoeia of the People's Republic of China," Vol. I, Chemical Industry Press, Beijing, 2005, pp.120-122.
- 2) Tongji Hospital, Tongji Medical Univ., CN patent 89100505 (1989)
- 3) No.21 [2001] of the SFAD(State Food and Drug Administration)
- 4) Lin Ruzhong, *Zhong yao cai ke ji*, 3, 19-23 (1980)
- 5) Chinese Pharmacopoeia Committee of People's Republic of China, op. cit., pp.4-7.
- 6) Chengdu zhong-yi xue-yuan chief (ed.), "Zhong yao jian ding xue," Shanghai Sci. & Tech. Pub., Shanghai, 1980, pp.502-503.
- 7) Specification of color of materials according to the CIE 1976, CIE = Commission Internationale de l'Eclairage.
- 8) Japanese Standards Association, JIS Z 8729, 2004.
- 9) Japanese Standards Association, JIS Z 8105, 2000.