

生薬資源の研究 (第 13 報)¹⁾
 羊胆の乾燥調製と抱合胆汁酸および
 遊離アミノ酸組成の変動について

米田該典*, 前平由紀, 陳 昱宏

大阪大学薬学部

Studies on Resources of Crude Drugs (XIII)¹⁾
 Effects of Drying Conditions on the Constitutions of Conjugated Bile Acids
 and Free-Amino Acids in Sheep Gall

KAISUKE YONEDA*, YUKI MAYEHIRA, YU-HONG CHEN

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, 1-6, Yamadaoka, Suita, Osaka 565, Japan

(Received November 12, 1997)

In this study, we examined the effects of drying conditions on sheep gall without tissue and in fact gallbladder. Natural drying in the sun or in the shade, temperature control at 60°C or 90°C might decrease the total amount of conjugated bile acids with the increase of the free-amino acid contents produced by the decomposition of conjugated bile acids in sheep gall dried without its tissue membrane. But various natural drying conditions apparently had no significant effects on the chemical constituents in gallbladder.

In addition, sheep gall and ox gall were demonstrated to have qualitatively similar conjugated bile acid compositions.

Keywords: sheep gall; conjugated bile acids; free-amino acids; drying condition

動物胆汁 (または胆のう) は乾燥され、胆汁酸およびタウリン供給の用途で薬用とされる。基原動物は多岐にわたり、中薬大辞典には広く、齧歯類、鳥類、両生類、魚類にまで及ぶ動物胆が収載されている²⁾が、一般に普及したものとしては熊胆が著名である。

その他に胆汁資源として利用されてきたものに、牛、豚等の偶蹄類がある。また、これらは家畜化が進み、供給量が比較的容易に確保できることから高価な熊胆に混和され市場に出回ることもある。

これまで各種動物胆の品質は、基原動物種やその性差、生育年齢、摂食環境、捕獲時期、冬眠などに

より変動すると考えられてきた。しかし、野生動物については一定量の評価試料収集が困難で、また、前述のような偽品が市場に出ることも生薬の品質鑑定を困難にし、品質の多様さの理由付けを曖昧にしている要因であると思われる。これまで熊胆やそれに混じられたりする牛、豚胆乾燥品についての報告は多いが、生鮮試料を用いて調製方法を比較したもの、また羊胆についての報告はない。そこで、今回、生鮮な飼育羊の胆のうを入手する機会が得られたので、その乾燥品の調製に際し、成分組成にいかなる変動がみられるかを検証し、動物胆の品質管理の手がかりを検討した。

実験の部

〔実験試料〕札幌市にて飼育されたコルデル種系羊から得た胆のうは、1995年冬に屠殺後氷温輸送したもので、Table.1 に示す試料を実験に供した。

実験に供した試料は各々胆のう組織膜の大きさも多様であり、また、乾燥前の内容物の色調も暗褐色、紫褐色、黄褐色と様々であった。

胆汁は組織膜が許容しうる内容積に見合うほど多くはなかったが、流出した胆汁がかなりあったことから、当初胆のうがどの程度胆汁で充たされていたかは不明である。

また、牛、豚、猪、熊由来の生薬もあわせて比較した。

〔羊胆の乾燥条件〕乾燥条件は、自然乾燥（日照下および日陰乾燥）、器械乾燥（60°（LHV110;TABAI NFG Co.,LTD.）、90°（DS-63;Yamato））を設定した。

通常、生薬の乾燥温度は60°以下と規定されている³⁾が、今回は加温条件を厳しく設定することで成分組成への影響を観察することとした。尚、器械乾燥では、胆のう試料および流出胆汁とも一晩で乾燥を終了し、自然乾燥は胆のうの大きさにもよるが、10～14日、流出胆汁は3～5日を要した。

〔分析試料溶液の調製〕（1）抱合胆汁酸：各乾燥試料（胆のう乾燥試料の場合は内容胆汁のみを採取）30mgを精秤し、CH₃OH 5mlを添加して超音波抽出（1hr., 20min.）し、上澄を分取する。この抽出操作を二度繰り返す。得られた上澄液を合わせて減圧乾燥後、CH₃OH 4ml 定容とし、メンブランフィルター（0.45μm）で濾過し、分析試料とした。

動物胆に含まれる胆汁酸はFig.1に示すように非常に多様である。今回、分析対象とした成分はタウロウルソデオキコール酸、タウロコール酸、グリコデオキシコール酸、グリコケノデオキシコール酸、グリココール酸（以上Nacal Tesque製品）、タウロケノ

Table.1. 動物胆実験試料

市場品	熊胆	2 検体		
			(大阪市場品、1992年入手 長白山特製「熊胆粉」)	
	牛胆	4 検体		
			(コロンビア、フランス、および入手経路不明のもの、いずれも入手時期も不明)	
	豚胆	2 検体		
			(大阪市場品、入手時期不明)	
	猪胆	1 検体		
			(大阪市場品、入手時期不明)	
調製品	羊胆	(北海道札幌市にて飼育)		
	自然乾燥	日陰	2 検体	
		日光	3 "	
	器械乾燥	60°	2 "	
		90°	2 "	
	流出羊胆汁*)			
	自然乾燥	日陰	1 検体	
		日光	1 "	
	器械乾燥	60°	1 "	
		90°	1 "	

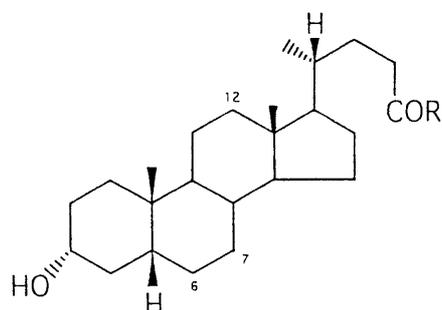
*) 羊胆のう9検体から搬送中に流出した胆汁を合わせ、各乾燥条件で調製した。

デオキシコール酸、タウロデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸（SIGMA製品）、（TUDC,TC,GDC,GCDC,GC,TCDC,TDC,GUDCと略す）の8成分を定量した。また、各抱合胆汁酸は標準品と比較し、定量は絶対検量線法を用いた。

（2）遊離アミノ酸：各乾燥試料 50mgを精秤し、脱塩蒸留水 2mlを加えて振とう抽出（3hr., r. l.）を行った。水層を分取し、1N HClを1滴添加してpHを調整後、再び脱塩蒸留水を加えて2ml定容とし、限外濾過膜（N.M.W.L.30,000）で濾過し、分析試料溶液とした。

乾燥条件により、抱合胆汁酸の分解が予想されたことから、分析対象とした遊離アミノ酸はタウリン（和光純薬製品）およびグリシン（Amino Acid

Fig. 1, Structure of Bile Acids



Free bile acid : R = OH
 Taurine Conjugated : R = NHCH₂CH₂SO₃H
 Glycine Conjugated : R = NHCH₂COOH

< Free Bile Acid >

		-OH
Cholic acid	(C)	7(α),12(α)
Deoxycholic acid	(DC)	12(α)
Chenodeoxycholic acid	(CDC)	7(α)
Ursodeoxycholic acid	(UDC)	7(β)
Hyodeoxycholic acid	(HDC)	6(α)

< Conjugated Bile Acid >

<< Taurine Conjugated >>

Tauro-ursodeoxycholic acid	(TUDC)
Tauro-chenodeoxycholic acid	(TCDC)
Tauro-deoxycholic acid	(TDC)
Tauro-cholic acid	(TC)

<< Glycine Conjugated >>

Glyco-ursodeoxycholic acid	(GUDC)
Glyco-chenodeoxycholic acid	(GCDC)
Glyco-deoxycholic acid	(GDC)
Glyco-cholic acid	(GC)
Glyco-hyodeoxycholic acid	(GHDC)

Calibration Mixture を利用; TAKARA KOSAN Co.,LTD.) とし、各々標準品により同定、定量を行った。

[分析条件] (1) 抱合胆汁酸については逆相系カラムによる HPLC 法、(2) 遊離アミノ酸については OPA 試薬を用いたポストカラム呈色反応の検出による HPLC 法を用いた。各々の分析条件は以下のとおりである。

(1) 抱合胆汁酸

pump: MODEL576(GLscience)

detector: SPECTRO DETECTOR 502U
(GLscience)

detect.: uv 207nm.

column: Licrosorb RP-18(250×4.6mm.i.d.)

column temp.: 45°

〈羊胆、牛胆、熊胆〉

mobile phase: 10mM K₂PO₄: MeOH(40 : 60)
(pH 5.5)

flow rate: 900 μ l/min.

〈豚胆、猪胆〉

mobile phase: 10mM K₂PO₄: MeOH(41 : 59)
(pH 4.3)

flow rate: 1.0 ml/min.

(2) 遊離アミノ酸

apparatus: Shimadzu RF-535

column: Shim Pack AMINO-Na

column temp.: 60°

detect.: EX wavelength 348nm

EM wavelength 450nm

mobile phase;

Na-type Amino Acids Mobile-phase kit

(Shimadzu)

flow rate:0.5ml/min. total

結果および考察

[乾燥羊胆の性状]

乾燥された羊胆は性状も多様で、同一種由来の生薬でもその性差、生育年齢等による変動も考えられたが、本実験ではこれらの点については残念ながら追跡できなかった。

新鮮な羊胆のうは褐色または紫褐色を呈し、大きさも若干異なっていたが、乾燥により内容物はより黒みを帯びたものに仕上がった。試料個々により仕上がりに変異がみられたが、乾燥条件による特徴は認められなかった。また、搬送中に内容胆汁が若干流

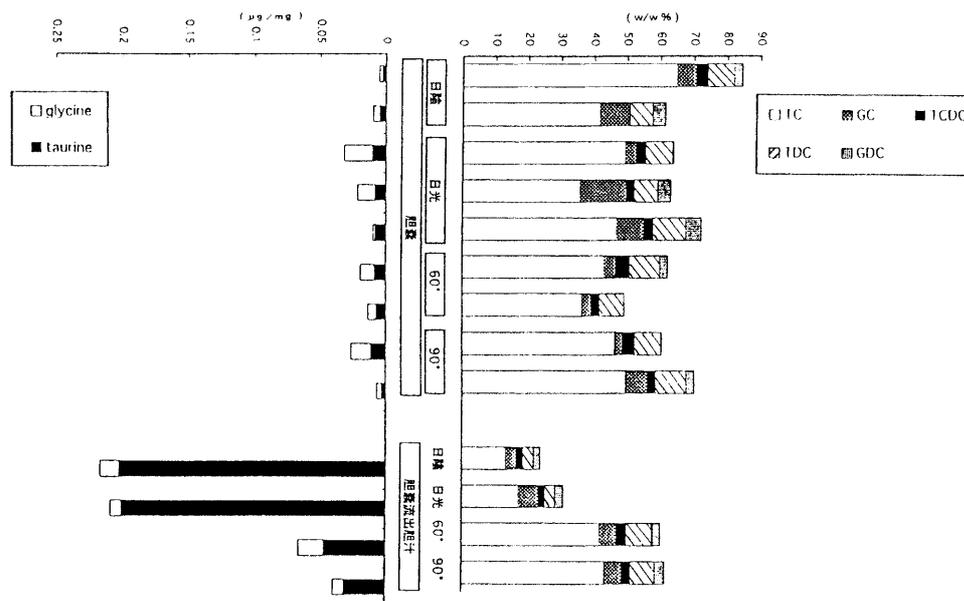


Fig.2, Constituent of Conjugated Bile Acids and Free-Amino Acids in Sheep Gall

出したこともあって、仕上がりは幾分貧弱であった搬送中に胆のうから流出した羊胆汁を乾燥した場合は乾燥条件により色調が異なるものに仕上がり、乾燥温度が高くなるほど黒色が強調される傾向がみられた。

なお、流出胆汁は同一容器に梱包された複数の胆のうからのものを混合したものである。

[抱合胆汁酸]

抱合胆汁酸の分析試料調製にはCH₃OHあるいはC₂H₅OHを用いた抽出法が検討されている^{4) 5)}。ここでは両溶媒を比較したところ特に著しい抽出誤差は認められなかったことからCH₃OHを用いた調製を行うこととした。

Fig.2に示すとおり、抱合胆汁酸組成については胆のう胆汁と流出胆汁で乾燥条件による影響が異なって現れることが分かった。

乾燥試料個々でエキス収率に変動がみられ、胆のう胆汁で76~85%、流出胆汁で87~97%と胆のう胆汁は内部組織を分析試料として含んでいることも推察された。

しかし、乾燥条件により有意義な差が認められなかった胆のう胆汁とは異なり、流出胆汁は主要胆汁酸TCをはじめ、含有される抱合胆汁酸が自然乾燥条件(日陰および日光乾燥)で減少する傾向が認められた。また今回分析対象とした8成分のうち、GCDCおよびGUDCは羊胆には検出されなかった。

比較試料とした動物胆はこれまでの報告例と同

様の抱合胆汁酸組成を示し、豚、猪胆にはグリコヒヨデオキシコール酸が多く検出された。熊胆については、これまで多様な抱合胆汁酸組成を示すことが報告されている^{4) 6) 7)}。

比較した各種動物胆のうち、羊胆の抱合胆汁酸組成は牛胆のそれに類似し、TCを主要成分とすることがわかった。試料によりエキス収量に差があることから、Table.2は本実験結果およびこれまでの報告例から導かれた各種動物胆の抱合胆汁酸組成をHPLC面積比率を基準に相対的に表示した。

[遊離アミノ酸] Fig.2のように、抱合胆汁酸組成の変動に対応して遊離アミノ酸はタウリンの含有量に変動が認められた。グリシンは、胆のう胆汁と比較しても著しい変動が認められず、含量は小さいものであり、羊胆においてもタウリン抱合型の胆汁酸が主成分であることがわかった。

抱合胆汁酸	TUDC	IDC	TCDC	TC	GC	GDC	GUDC	GCDC
熊胆	+++	+	++	++	±	±		
牛胆		+	+	+++	++			
豚胆、猪胆			±				+++	++
羊胆		+	+	+++	++	+		

Table.2, 各種動物胆 抱合胆汁酸組成

以上のように、羊胆流出胆汁についてはある程度加熱して迅速に乾燥を施すことで胆のう胆汁に近い生薬を調製することができるかと推察された。

熊胆については比較的調査がなされ、これまでもその生薬の性状や胆汁酸、主要アミノ酸組成から様々な分類がなされてきた。一般には、その特徴的な胆汁酸であるタウロウルソデオキシコール酸 (TUDC) の含有量を指標として他と区別されてきた。しかし、本成分を含有しない熊胆が市場にみられることや、熊以外の動物胆汁を混入した偽物が多く出回っている現状など、非常に曖昧な品質管理を余儀なくされている。

医薬品としての胆汁酸供給形態は、抱合胆汁酸でなくとも再び肝で抱合反応を受けて同様の利胆作用を発現するといわれている²⁾。胆汁酸の薬理作用については、その利用目的を議論するにしても未だ解明されていない点も多いことから、現状でどのような生薬を調製すべきであるかは判断できない。しかし、生薬の品質評価上、胆管胆汁、肝胆汁の乾燥利用⁸⁾も考えられることから、その乾燥調製方法により成分組成が変動することも考慮すべきである。

引用文献

- 1) K. Yoneda, Y. Mayehira, A. H. M. Mawjood, *Natural Medicines*, **51** (4), 304-309, (1997).
- 2) 奥山 隆編、動物成分利用集成、陸産動物篇、450-461, R&Dプランニング、東京 (1987) .
- 3) 日本公定書協会編、第十三改正日本薬局方解説書、生薬総則、D-ii、廣川書店、東京 (1996) .
- 4) T. Namba, S. Nunome, M. Hattori, S. Higashidate, T. Maekubo, *Yakugakuzasshi*, **102**(8), 760-767 (1982).
- 5) 横田洋一、津野敏紀、斉藤春夫、第21回生薬分析討論会、講演要旨 p81-86, (1992).
- 6) A. Uji, K. Takiura, *Yakugakuzasshi*, **95**(1), 114-119 (1975).
- 7) A. Uji, *Yakugakuzasshi*, **95**(2), 214-218 (1975).
- 8) 川原一仁、木谷千穂、吉村千明、田中俊弘、*Natural Medicines*, **49**(2), 158-163 (1995).