キハダ内皮のベルベリン含量の個体および産地間差異

梶　勝　次*・佐藤孝夫*・山　岸　喬・中野道晴****

Differences for berberine alkaloids content of Phellodendri Cortex caused by stands and trees in Hokkaido

Katsuji KAJI*, Takao SATO*, Takasi YAMAGISHI**
and Michiharu NAKANO**

要　　旨

キハダの内皮を乾燥させたものは，日本薬局方に収載されている重要な医薬品である。そこで，生薬材料としての優良個体の選抜を目指し，道内の天然林から合計 136 個体のキハダを選び，高速液体クロマトグラフィーを用いて個体別に主成分含量を調べた。

主成分含量は，同一個体内の採取部位や採取時期には顕著な違いがなく，個体間により大きな差異が認められ，その範囲はberberineで0.4％～5.1％，palmatineで0.02％～2.0％であった。さらにberberine含量は，産地平均でも大きな差異がみられ（0.69％～3.73％），内皮の厚いものや樹冠の大きいものなどに高い傾向が認められた。

はじめに

キハダの内皮は，berberine や palmatine などのベルベリン型アルカロイドを含み，抗菌・抗炎症作用，中枢神経抑制作用などの薬理作用が知られている。そのためこの内皮は，苦味健胃整腸剤として古くから民間薬や漢方薬として利用されてきた。また，この内皮を乾燥させたものは，生薬名で黄柏（おうばく）と称し，日本薬局方に収載されている重要な医薬品である。ところが，その成分含量に大きな変異があるため，黄柏の品質はこれらベルベリン型アルカロイドの含量によって評価されており，局方でも berberine として１％以上含有することと規定されている。また，生薬材料としてのキハダ，あるいは黄柏の生産者価格も品質によって異なっている。

そこで筆者らは，近年とくに資源不足となってきているキハダの生薬材料としての優良個体の選抜とその育成技術の確立を目指し，道内に生育するキハダにはベルベリン型アルカロイドがどの程度含まれているのか，採取条件によってどの程度含量が異なるか，またそれらは産地や個体間に差異があるかどうかを明らかにする目的で，個体別，試料採取時期および採取部位別にアルカロイド含量を調べ，北海道産キハダの品質評価を行った。

なお，北海道にはヒロハノキハダ（*Phellodendron amurese* var. *sachalinense* Fr.　Schm.　）が広く分布するとされ，キハダ（P.　*amurense* Rupr.）の変種として区別することもあるが,，生薬材料として

* **北海道立林業試験場** Hokkaido Forestry Research Institute, Bibai, Hokkaido 079－01
****北海道立衛生研究所** Hokkaido Institute of Public Health, Sapporo, Hokkaido 062

〔**北海道林業試験場研究報告　第 27 号　平成元年 11 月**，Bulletin of the Hokkaido Forestry Research Institute, No.27. November, 1989〕

樹皮を対象とすること，両種を容易に区別することが困難であることから，本稿では両者をキハダとして取り扱った。

また，本稿の一部は第 99 回日本林学会大会において発表した

材料および方法

1 試料の採取地と採取方法

図－１に示す道内 29 産地の天然林から，各産地３個体（中川産は１個体）合計 85 個体を選び，生育地の斜面方位，海抜高，林分うっ閉率，ならびに単木ごとの樹高，胸高直径，枝下高，樹冠の大きさ，結実の有無，推定樹齢および内皮（以下，黄柏と称す）の厚さについて調べた。これらは，1985 年 10 月 23 日から 12 月 11 日にかけ，いずれも地上高 1.5mの位置で，横５cm×縦 10 cm の長方形に樹皮を剥ぎ，表皮を除いたものを黄柏試料として採取し，下記の方法によって成分の定量を行った。

なお，黄柏の採取部位による成分含量の違いを明らかにするため，興部産の３個体（胸高直径，No.1＝28 cm ， No.2＝22 cm ， No.3＝13 cm ）を伐採し，樹幹の採取高別ならびに採取方位別に成分含量を定量した。また，採取時期の違いによる含量の差異を調べるため，1986 年６月，前記 29 産地のうち南茅部産など６産地 18 個体について，1985 年と同様の方法でそれぞれ同一個体から試料を採取した。

さらに，1985 年の成分定量結果から，産地別にみて相対的に含量の高かった上ノ国，黒松内および上川の３産地を中心に，合計 51 個体を新たに選び上記同様に試料を採取して成分を定量した。

図－1　　キハダ(黄柏) 試料の採取産地(1985 年採取)

2 成分定量方法および分析条件

含有成分は，ベルベリンを berberine （以下，Ｂで表す）と palmatine（以下，Ｐで表す）に分けて，高速液体クロマトグラフィー（以下，HPLC と表す）により定量した。定量のための試料調製方法，ならびに HPLC の分析条件は，姉帯ほか（1987）の方法に準じ，下記のとおりとした。

（1）試料溶液の調製

乾燥させた各試料を超遠心粉砕機を用いて粉砕し，48 メッシュのふるいを通したのち 60℃で 8 時間乾燥した。さらにこの試料を 50m㍑・のネジ栓付遠沈管に 100 mg 精秤し，１%の酢酸を含むメタノール 50m㍑を加え，55～60℃で 30 分間超音波（ブランソンＢ －42 超音波洗浄器）処理した。この混濁液を５分間，2000 rpm で遠心分離した後，上澄液を 0.45 μmのフィルターを用いて濾過し，濾液をＨＰＬＣの試料溶液とした。

（2）ＨＰＬＣの条件

ア 機　械：日立 655（Ａ－11 型）高速液体クロマトグラフ
イ カ ラ ム：東洋ソーダＴＳＫ ＯＤＳ－80ＴＭ（4×250 mm ）
ウ 移 動 相：４mMドデシル硫酸ナトリウムを含む 10mMリン酸二水素アンモニウム溶液／アセト

ニトリル（１：１）
エ 検 出 器：日立Ｌ － 3000 マルチ測光検出器
オ 流　　速：１ｍ・／分
カ 測定波長：340 nm
キ カラム温度：40℃
ク 試料注入量：10μ・
（3）定量方法
成分含量は，各試料について２回それぞれ抽出，定量を行いその平均値を求めた。なお，定量は塩化Ｂおよび塩化Ｐの標準品を用いた絶対検量線法で行い，検量線から得られた値をＢおよびＰ無水物に換算するため，それぞれ係数 0.866 および 0.853 を乗じて求めた。なおこれらの定量値は，日立－2000型クロマトデータ処理機により計算した。

結果および考察

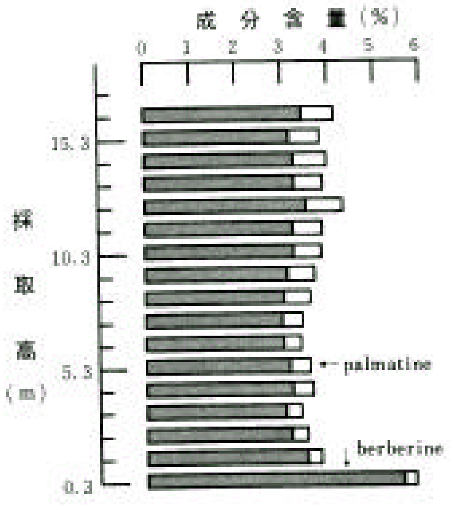
１黄柏の採取部位による成分含量

同一個体内におけるＢ含量のバラツキに関して，木村ほか（1952），堀越ほか（1973）は，根部において最も含量が高く，主幹部では下部より上部，枝部から小枝部に移行するにしたがって低くなる傾向を認めている。また渡辺ほか（1972）は，8 年生では前記木村らと同じ傾向を示すが，25 年生では幹の上部と下部では大きな差はないとしている。一方，久保田ほか（1979）は，主幹の中部位では上部の方が高くなる事例を確認し，分岐点はＢ含量が高く，特に生長の盛んな若い枝の分岐部では著しく高くなると報告している。

黄柏の採取部位によりＢ含量が大きく異なると仮定すると，特定の部位から採取した試料の成分定量結果によって，個体間差異を比較することはできない。しかし，同一個体内における成分含量の変動量を把握しておくことにより，個体間差異を明らかにすることができる。そこで，事業的に黄柏を採取する場合を想定し，主幹部について個体内含量のバラツキを調べた。

図－２は，興部産 No.1（樹高 17m，樹幹解析による樹齢 78 年）の試料採取高別にみた B および P 含量を示したものである。図から明らかなように，総ベルベリン（Ｂ＋Ｐ）の大部分はＢであり，Ｐの占める割合は相対的に小さい。また，採取高別にみなＢ含量は，今回調べた３個体ともに地際の根株付近で極端に高い値を示し，他の採取高では若干のバラツキがみられるものの，大きな差は認められなかった。さらに，同一個体の樹幹の採取方位別にみた含量にも大きな差異は認められなかった。一方Ｐ含量は，採取部位が地際から高くなるにしたがって多くなる傾向を示した。しかし，その絶対量がＢに比べて少ないため，総ベルベリン含量に及ぼす影響は少ない。

以上から，個体内の採取部位による成分含量のバラツキは，根株付近など特殊な部位を除くと，大きな違いがないといえる。なお，個体内のバラツキの大きさを表す変動係数は，ＢおよびＰ含量ともに 15%前後であり，後記の個体間差異に比べて相対的に小さいといえる。



図－2　　試料採取高別の berberine および palmatine 含量

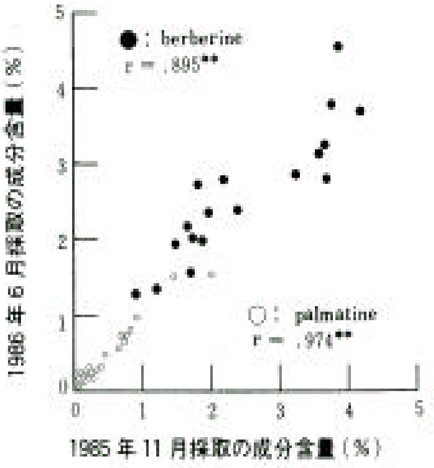
2 採取時期による成分含量

図－3は，黄柏の採取時期による含量の違いを示したものである。個体別にみな6月と 11 月との定量値の間には密接な関係があり，18 個体の相関係数は，B（r＝．895**）およびP（r＝．974**）の両含量とも極めて高く，1％水準で統計的に有意な関係を示した。つまり，採取時期が異なっても個体別にみな相対的な含量は大きく変わらず，個体による変異が大きいといえる。この結果はまた，標準個体を測定することにより，時期を問わずに別の個体の相対的な評価が可能であることを示している。

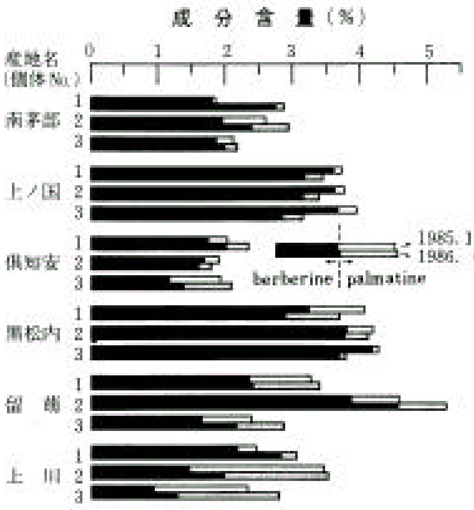
図－4は，採取時期による成分含量の違いを個体ごとに示したものである。6月と 11 月の含量を比較するため，11 月（6～28 日）に採取した各試料の定量値をそれぞれ 100 とすると，6 月に採取した試料のB含量の平均指数は 111 であり，個体別に 77～152 の範囲を示した。さらにP含量も平均 119（78～280）という指数を示し，BおよびP含量の平均はいずれも6月に採取した方がやや高かった。

しかし，両月の平均指数および個体別のバラツキから，採取時期別にみた成分含量は，事業的な生産を考えた場合，大きな違いがないといえる。なお，上ノ国および黒松内産では，いずれの個体も 6 月より 11 月が高く，産地あるいは個体により成分含量の最大値を示す時期が若干異なることも考えられる。

なお，試料採取に当たり，11 月には内皮（黄柏）が木部から離れず外皮（コルク層）も剥がすことができなかったが，6月ではいずれも容易に分離することができた。したがって，事業的に黄柏を生産する場合，その時期は剥皮の容易な期間に限られ，剥皮の困難な期間は採取不可能といえる。つまり，樹液が盛んに流動している夏から初秋にかけての一定期間のみが，剥皮および黄柏の調製が容易であり，また上記の結果から推察できるように剥皮の容易な時期は一般にB含量も高いとされている。



図−3　採取時期別に見た成分量の相関々係



図−4　個体別，採取時期別の berberine および palmatine 含量

3 産地および個体による成分含量の差異

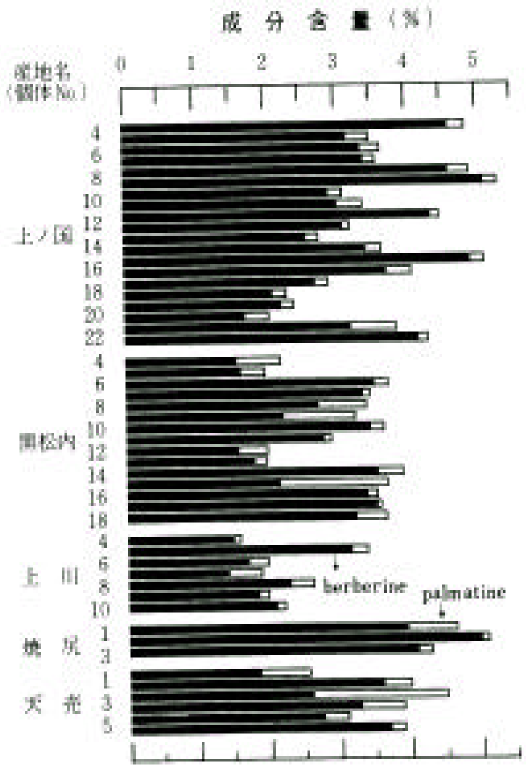
道内 29 産地，85 個体について，個体別にBおよびP含量を示したのが図－5である。図から明らかなように，BおよびP含量のいずれも個体による違いが大きく，B含量では最低 0.4%から最高 4.0%，P含量では 0.02%～2.0%と大きな差異を示した。これら 85 個体の平均は，B含量が 2.0%，P含量が 0.4%であった。すなわち，BとPを合わせた総ベルベリンの平均含量は 2.4%であり，その 83%をBが占めていた。

図−5　　産地別，個体別にみたberberine およびpalmatine 含量(1985 年 10 月〜12 月採取)

表−1　　黄柏試料のberberine およびpalmatine 含量についての分散分析表

要因	自由度	分散	
		berberine	palmatine
産地	27	179.7**	39.6**
誤差	56	35.9	16.0
全体	83		

**は 1%水準の統計的有意性を表す.



図−6　　産地別，個体別のberberine および palmatine 含量（1986 年〜1988 年採取）

この総ベルベリン含量の最も高かったのは，留萌産No.2 の 4.7%であり，次いで上ノ国産No.3 の 4.3%，黒松内産No.1 の 4.2%の順であった。なお，日本薬局方ではBとして１%以上含むことと規定しているが，津別産の２個体（No.1,2）および本別産No.１はいずれも１%以下であり，その規格に満たないものが３個体みられた。

さらに，黒松内産は３個体のいずれも４%以上，津別産は３個体とも１%前後であり，産地による違いもみられた。そこで，BおよびP含量について分散分析を行った結果，表−１に示すように統計的にも産地間差異が認められた。また，山岸ほか（1976）が指摘しているようにPが予想以上含まれ，上川産

No. 2,3 および清水産No. 3 の３個体は，Ｂ含量よりＰの含量が高かった。すなわち，総ベルベリンの中に占めるＰ含量は平均 17%であるが，上川産の一部では 60〜62%を占めていた。

以上の結果から，本道産のキハダの中に含量の高い優良個体の存在が示唆された。そこで，これまでの調査結果から相対的にＢ含量の高かった上ノ国，黒松内地域ならびにＰ含量が高かった上川地域などで新たに合計 51 個体を選び，成分の定量を行った。その結果，最高 5.1%のＢを含有する個体（上ノ国 No.9）が確認され，前記の優良個体の存在を検証できた（図－６）。一方Ｐ含量については，これまでのところ２%以上を含有する個体はみられなかったが，黒松内産 No.15，天売産No. ３では２%に近い含量を示した。

４試料採取木の諸形質および生育環境と成分含量との関係

試料採取木の一部（６産地 18 個体）を抜粋して，個体ごとに形質および生育環境について示したのが表－２である。表から明らかなように，試料採取木の諸形質は個体により極めてさまざまであり，また生育環境も異なっている。 85 個体の試料採取木の諸形質についてみると，樹高は最低が根室産 No.3 の 6m，最高は上ノ国産No.3，留萌産 No.3，津別産 No.1 および本別産No.2 の各 21mであり，平均は 15mであった。また胸高直径は，太いものから上ノ国産 No.3 の 45cm，黒松内産 No.3 の 42cm，留萌産 No.1 の 41cm の順で，最も細いものは常呂産No.1 の 12cm であった。さらに樹冠の大きさも最大は留萌産No.2 の 140 ㎡，最小は大樹産No. １の３㎡であった。また，黄柏（内皮）の厚さも 10mmから 3mmまで個体により顕著な違いがあった。

表－2　試料採取木の形質と生育環境

（調査木の一部を抜粋，1985 年調査）

産地	個体番号 (No.)	樹高 (m)	胸高直径 (cm)	枝下高 (m)	樹冠面積 (㎡)	推定樹齢 (年)	林分うっ閉率 (%)	海抜高 (m)	結実有無 (○×)	黄柏厚さ (mm)
南茅部	1	16	30	10	48	70	40	190	○	4
〃	2	10	27	5	79	50	0	200	○	5
〃	3	13	39	3	99	90	0	30	○	5
上ノ国	1	8	21	2	80	40	20	60	○	4
〃	2	10	18	3	24	40	30	60	×	4
〃	3	21	45	2	135	100	10	440	○	10
倶知安	1	16	28	11	35	50	60	230	○	6
〃	2	13	23	9	40	40	40	220	×	4
〃	3	10	22	4	20	40	40	220	○	4
黒松内	1	17	36	5	30	70	50	180	×	7
〃	2	16	30	4	24	50	40	220	×	5
〃	3	18	42	4	24	80	40	180	×	8
留萌	1	15	41	4	130	80	20	230	×	9
〃	2	17	35	8	140	70	10	230	○	7
〃	3	21	37	10	54	70	0	90	○	8
上川	1	18	39	7	24	50	50	300	×	4
〃	2	15	32	8	14	40	30	480	×	4
〃	3	16	25	10	8	30	50	690	×	4

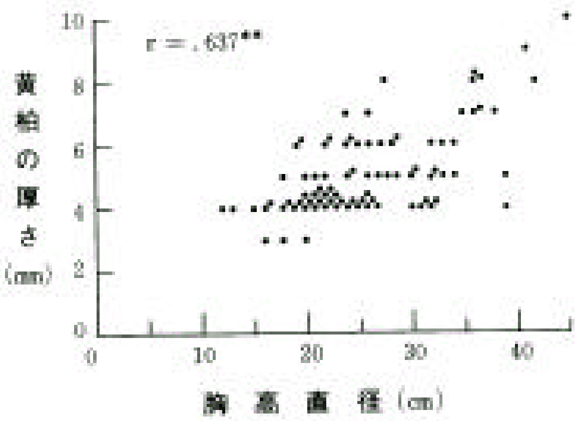
表－3　berberie およびpalmatine 含量と調査項目相互の相関係数(85 試料)

	P 含量	樹高	胸高直径	枝下高	樹冠面積	推定樹齢	林分うっ閉率	海抜高	黄柏の厚さ
B 含量	.016	－.105	.302**	－.417**	.299**	.116	－.394**	－.067	.319**
P 含量	－	－.204	.047	－.225*	.066	－.177	－.167	.200	.141
樹高		－	.535**	.626**	.061	.432**	.107	.203	.204
胸高直径			－	.122	.508**	.530**	－.390**	.019	.637**
枝下高				－	－.234*	－.043	.284**	.297**	－.156
樹冠面積					－	.319**	－.237*	.304**	.558**
推定面積						－	－.469**	－.165	.343**
林分うっ閉率							－	－.043	－.290**
海抜高								－	－.054
黄柏の厚さ									－

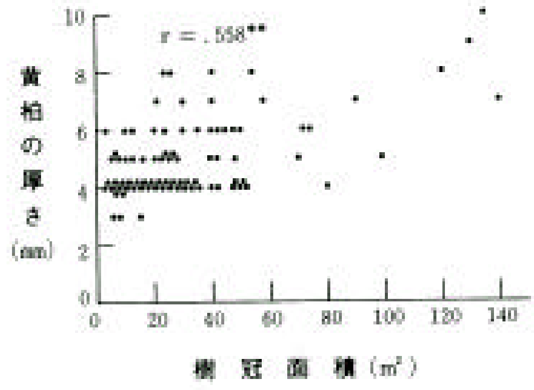
*,**はそれぞれ 5%，1%水準の統計的有意性を表す。

表－3は，試料採取木の諸形質，BおよびP含量，ならびに生育環境について，相互の関係を表したものである。表から，B含量とP含量との間には何ら関係がないといえ，さらにB含量は，直径の大きいもの，枝下高の低いもの，樹冠が大きいもの，うっ閉率が低いもの（孤立木）および黄柏の厚いものに高い傾向がみられた。一方，P含量とこれら諸形質との間には関係がみられなかった。

また，B含量は黄柏の厚さと統計的に有意な正の相関関係があり，黄柏の厚さは，胸高直径，樹冠の大きさおよびうっ閉率との間にもそれぞれ有意な関係が認められた（図－7，8）。　これらの結果から，黄柏の生産を目的とした優良個体の選抜に当たっては，その含量とともに生長量および内皮の厚さを選抜因子として検討し，生産性の向上を図る必要があると考えられる。またこれらの結果は，キハダを生薬材料として育成する場合，過密林分にあっては適正本数に仕立てるなど，技術上の改善点も示唆された。



図－7　　胸高直径と黄柏の厚さとの関係



図－8　　樹冠の大きさと黄柏の厚さとの関係

お　わ　り　に

道内の広い地域を対象に，キハダ（黄柏）の成分定量を行った結果，BおよびP含量の高い個体がそれぞれ確認された。生薬生産振興のためには，本結果をもとにさらに含量の高い個体を選び，それらの生長量，黄柏の厚さ，環境適応性などを検定して再選抜を行い，優良個体を増殖，育成して行く必要がある。なおこの研究は，当場と北海道立衛生研究所，同中央農業試験場，同北見農業試験場の４機関による共同研究「道産生薬の品質向上と栽培・育成に関する研究」の成果の一部であることを記し，筆者らと共同研究を分担した衛生研究所の金島弘恭薬学部長，同部生薬製薬科の姉帯正樹，林 隆 章，桂 英二の各氏に心からお礼を申し上げる。また，この研究を進めるに当たり試料採取など多くの便宜を計っていただいた道林務部，林務署，市町村の関係各位に深く謝意を表します。

文　　献

姉帯正樹・林 隆 章・山 岸 喬 1987 黄柏中のベルベリン型アルカロイドの定量．道衛研所報 37 ：18－21

第11改正日本薬局方解説書 1987 オウバク：D117－121 広川書店 東京

堀 越 司・田 辺 猛・武良哲雄・富永敏夫 1973 キハダの栽培に関する研究（第１報）特に，キハダ Phellodendron amurense と交雑種 P. amurense×P. japonicum 樹皮の部位別，性別ベルベリン含量について．生薬学雑誌 27（1）：44－47

木村雄四郎・小泉清太郎・明翫澄江 1952 生薬の規格設定に関する研究（第２報）生薬の生産条件と成分について その１，オウバクの生産条件とベルベリンの含量について．薬学雑誌 73 ： 194－195

久保田昌利・浅川一幸・松沢克典 1979 キハダの各部位におけるベルベリン含量について．長野県衛公研報 1：20－26

渡辺四男也・上原真一・西川洋一・伊吹直澄・小林正夫・田中孝治 1972 生薬の品質評価に関する研究（Ⅱ）オウバウ（黄柏）中のベルベリン含量と灰分の通年変化について．東京都衛研研究年報 24 ： 109－116

山 岸 喬・森三佐雄 1976 道産生薬の規格設定に関する研究（第 10 報）黄柏中のベルベリン型アルカロイドの定量．道衛研所報 26 ： 26－31