

Table 1 Effect of Seedling Size on Growth of *Ephedra sinica* Cultivated in Nayoro, Hokkaido

Plots	Rooting %	Plant length cm	Plant height cm	Stems	
				Number mm	Diameter <sup>1)</sup>
On Sept 7, 1999 <sup>2)</sup>					
Large seedlings	61.8 ± 10.0 <sup>3)</sup>	31.4 ± 7.26	27.6 ± 6.69	46.5 ± 21.0	1.63 ± 0.38
Small seedlings	46.2 ± 19.4	26.6 ± 9.21	21.1 ± 5.80	12.7 ± 6.1	1.40 ± 0.26
<i>t</i> -test	ns	ns	ns	**	*
On Oct 5, 1999					
Large seedlings		36.9 ± 6.66	29.3 ± 5.12	52.4 ± 23.7	2.14 ± 0.35
Small seedlings		29.0 ± 8.22	23.1 ± 4.53	12.7 ± 7.2	1.60 ± 0.39
<i>t</i> -test		*	*	**	**
<i>t</i> -test between date					
Large seedlings		*	ns	ns	**
Small seedlings		ns	ns	ns	ns

<sup>1)</sup> In second nodes. <sup>2)</sup> Date of measurement. <sup>3)</sup> Values are the mean of 3 replications ± SD. Other values are the mean of 20 plants ± SD. \*, \*\* and ns represent significantly different each other at 5 %, 1 % level and not significant, respectively. Seedlings were prepared on April 30, 1999 in Tsukuba, Ibaraki, then stored in non-heated vinyl house and then set on June 2, 1999 in the field of Nayoro, Hokkaido.

Table 2 Contents of Five Major Mineral Nutrients (% DW) in *Ephedra sinica* Cultivated in Nayoro, Hokkaido

Parts	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO
Upper	2.41 ± 0.21	0.54 ± 0.16	1.66 ± 0.01	1.41 ± 0.06	0.31 ± 0.02
Subterranean	1.80 ± 0.13	0.40 ± 0.10	1.19 ± 0.07	0.83 ± 0.01	0.14 ± 0.02

Values are the mean of 3 plants ± SD. Samples were collected on Oct 14, 1999

Table 3 Amounts of Five Major Mineral Nutrients (mg/plant) in *Ephedra sinica* Cultivated in Nayoro, Hokkaido

Parts	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO
Upper	353.6 ± 16.2	78.0 ± 13.0	244.0 ± 33.4	207.7 ± 36.8	44.8 ± 2.8
Subterranean	59.4 ± 13.6	13.9 ± 7.3	40.0 ± 14.1	27.7 ± 8.6	4.7 ± 2.1

Values are the mean of 3 plants ± SD. Samples were collected on Oct 14, 1999

Dry weights (g) of upper and subterranean parts are 14.7 ± 2.0 and 3.3 ± 1.0, respectively

## 分担研究報告書

### 緊急に資源確保を要する生薬—麻黄に関する研究— (麻黄の栽培に関する研究)

分担研究者 香月 茂樹 国立医薬品食品衛生研究所種子島薬用植物栽培試験場場長

研究要旨 麻黄は漢方製剤の重要な構成生薬であるか、中国政府の輸出禁止措置により、緊急にその対策を迫られている。このため、国内での栽培の可否・既存導入種の種の同定や成分分析、海外における資源や流通の状況等、総合的に検討を実施するものである。

#### A 研究目的

薬用植物栽培試験場に導入されているもので、有効成分含量の高い個体を用い、気候・風土の異なる各地で栽培試験を実施し、形態・生理・生態等について調査・検討し、国内での栽培化への基礎資料とする。

#### B 研究方法

材 料 春日部試験場由来の筑波試験場の保存株

定 植 1999年5月11日

(大苗70株 1本植、小苗30株 2本植)

環 境 砂壤土で十分な日照のある場所  
施 肥(10a当たり、全面施肥)

基肥 堆肥100kg、油粕10kg、苦土石灰10kg

栽植密度 条間 70cm × 株間 40cm

供試面積 28.0m<sup>2</sup>(4.0m × 7.0m)

収 穫 8月～1月まで、毎月15日前後に生育中庸の2株を収穫。

乾燥 60℃で24時間の温風通風乾燥

調査項目 草丈、重量(生体、乾燥)、乾燥歩留

#### C 研究結果

1)欠株が多数生じた。

生存率 全体で56% (大苗 52.9%、  
小苗 63.3%)

2)サンプル数が少なく断定するには無理があるか、8月～11月の期間ほぼ順調に生体重は増加し、以後11月～1月は停止した。

乾物重についても同様であった。

3)乾燥歩留は8月～1月の期間、ほぼ30%で変化はほとんどなかった。

成分分析によれば、エフェトリンとブソイトエフェトリンの含量は8月の2株、10月の1株が0.7%以下であったか、それ以外では局方の基準値を越えるものであった。最高値は1月の1.67%であった。

10月と12月に前月を下回る傾向が見られたものの、全体的には右方上かりの成分増加現象が認められた。

#### D 考察

欠株の多い原因は、定植前に20日間一時的に仮植したことにより、定植時にはすでに活動しており、大きいタメーンを受けたものと思われる。また、やや深植え気味であり、5月～7月の降雨量が例年より128.1、178.2、162.1%と多く、土壌水分過多の状態が継続したこと等に起因するものと思われる。

8月～1月の短い期間ではあったか、経時的には成分の増加が認められ、一時期を除けば局方値を超え、生薬として十分使用可能と思われる。

#### E. 結論

今回の栽培試験において、品質としては国内生産が十分可能なことが確認できた。

#### F 研究発表

現段階では、時期尚早と考える。(サンプル数を増やし、数年間の経時変化を見る必要がある。また、諸環境要因についても検討の余地がある。)

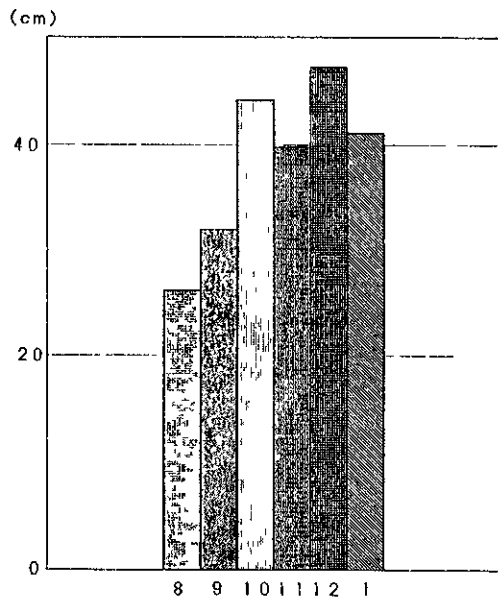


図1 草高の月別変移

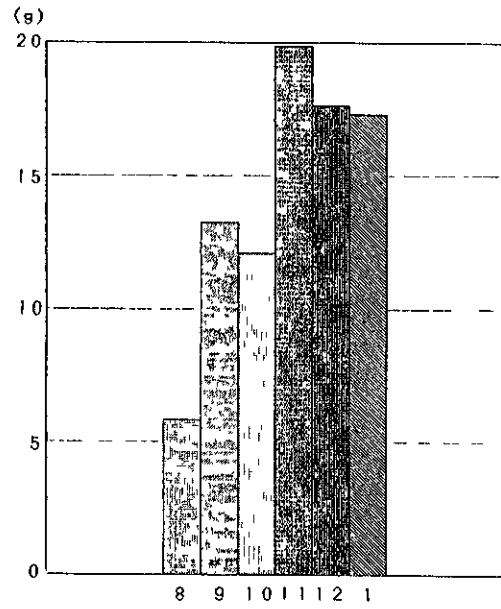


図2.生体重の月別変移

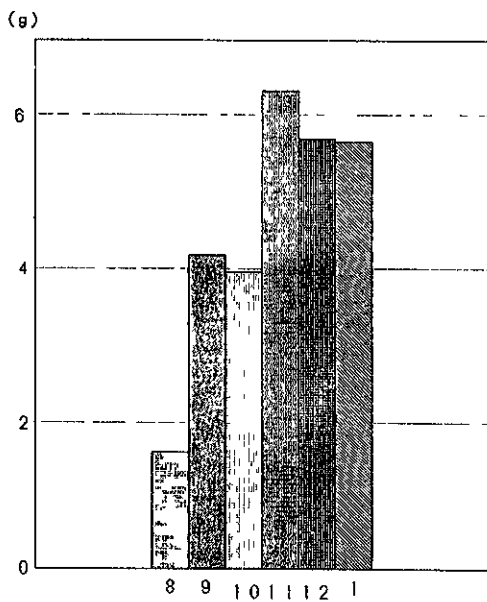


図3.乾物重の月別変移

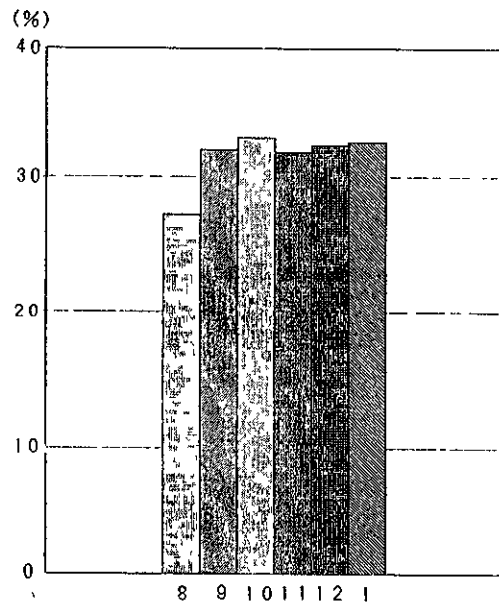


図4 乾燥歩留の月別変移





## 厚生科学研究費補助金（特別研究事業）

### 分担研究報告書

#### 麻黄属植物の系統選抜に関する研究

分担研究者 関田節子 国立医薬品食品衛生研究所生薬部室長

#### 研究要旨

麻黄は、多くの生薬同様に専ら海外からの輸入に頼っており、しかも野生品である。従って、1999年1月1日からの中国の輸出禁止政策のように輸出国の事情により供給源を断たれると、数年後には麻黄配合医薬品の使用が不可能な事態に陥る。麻黄の代替生薬は存在せず、輸入が断たれることは漢方薬の存続に関わるものとして影響が重大である。そこで、導入可能な資源を国外から収集する事を目的に南米アンデスの *Ephedra* 属植物の調査を行い、エフェドリン量の定量により品質の評価を行った。

#### A. 研究目的

麻黄は世界における天然薬物の研究上で日本が最も成果を上げた生薬で、その活性成分(-)-ephedrine の発見は、漢薬から有効成分が単離された最初の例である。従って成分の定量法に関しては多くの研究があり、日本薬局方では HPLC 法による総アルカロイド量の定量法が収載されている。一方、麻黄の栽培化に関しては、国内、国外共に全く検討されていない。我々は日本薬局方での基原植物である *Ephedra sinica* の大量栽培法を検討すると同時に、世界各地の同属植物を導入し、より高い品質の麻黄の栽培化について研究する。評価の指標としてエフェ

ドリン、プソイドエフェドリンの定量を行った。

#### B 研究方法

##### 1 調査地

1999年12月7日出発、ワシントン市のスミソニアン博物館学術部の標本室で、アメリカ大陸の *Ephedra* 属植物の標本を調査。形態と分布状態（採集地、採集日）を確認した。

12月10日リマ市着、厚生省伝統薬物研究所の Dr. F. Cabies 所長を訪問し、*Ephedra* 属植物の流通量を把握した。

12月11日～15日クスコ大学 Dr Alfredo Tupayachi 教授の案内で、

クスコ,ウルバンバ、プエンティ・ルイナス各地の市場の薬店で 1 試料を購入すると共におよび周辺の *Ephedra* 属植物自生地を調査し、試料として 24 株を採取した。

12 月 16 日~19 日サンマルコス大学 Dr.Pablo Bonilla 教授の案内で、カハマルカの市場の薬店で 1 試料を購入すると共に周辺の *Ephedra* 属植物自生地を調査し、試料として 2 株を採取した。

12 月 20 日リマ市で再度厚生省を訪問し、調査成果を報告すると共に、今後の研究協力体制について討議した。

12 月 22 日帰国

## 2. 植物の種の同定

ワシントン・スミソニアン博物館の標本の形態的特徴ならびに顕微鏡下の観察により、クスコ,ウルバンバ、プエンティ・ルイナス市場の 1 試料とその周辺の自生地で採取した 24 株ならびにカハマルカ市場の 1 試料は、*Ephedra americana* と、カハマルカ周辺で採取した 2 株は、*Ephedra andina* と同定した。

## 3. アルカロイドの定量

(試料)

クスコ (リマ市の東南 450Km、標高 3000m)、(うち市場品 1 試料) ウルバンバ、プエンティ・ルイナス (標高 2000m) およびカハマルカ (リマ市の北 650Km、標高 2800m) (うち市場品 1 試料) で採

集した 28 試料

(定量方法)

高速液体クロマトグラフィー法

検出器：GULLIVER (日本分光)

カラム：Inertsil ODS-2 (4.6×250 mm)

移動相：ラウリル硫酸ナトリウム溶液 (1→620) / アセトニトリル / リン酸混液 (620 : 380 : 1)

流速：2.0 mL / min

カラム温度：45°C

検出波長・UV 210 nm

サンプル注入量：10 μL

(標準品)

定量用塩酸エフェドリン

(試料溶液の調製)

材料を 60°C で 24 時間乾燥させた後中末にし、デシケーター (シリカゲル) 中で 24 時間放置した。その約 0.5g を精密に量り、2 倍に薄めた MeOH 20mL を加え、30 分攪拌した後、遠心分離 (3,600 rpm、20 分間) し、上澄み液を分取した。残留物は 2 倍に薄めた MeOH 20mL ずつを用いて、さらにこの操作を 2 回行った。全抽出液を合わせ、2 倍に薄めた MeOH を加えて正確に 100mL とし、試料溶液とした。

(定量)

塩酸エフェドリンを標準品として用い、第 13 改正日本薬局方の方法により定量値を求めた。

## C. 研究結果

### 1. アンデス地域の *Ephedra* 属植物の 同定

スミソニアン博物館のさく葉標本の形態的特徴との比較ならびに顕微鏡下での観察により、クスコ、ウルバンバ、プエンティ・ルイナスで採集した 26 試料は *Ephedra americana* と同定した。カハマルカで採集した 2 試料は *Ephedra andina* と推定した。

### 2. アンデス地域の *Ephedra* 属植物アルカロイド含量

クスコ、ウルバンバ、プエンティ・ルイナスで購入及び採集した *Ephedra americana* 26 試料、カハマルカで採集した *Ephedra andina* 2 試料のアルカロイド含量はいずれも検出限界以下であった。

## D. 考察

ペルーアンデス地方に自生している *Ephedra* 属植物の種類は豊富で、分布地域は、標高 5500m から 2100m までを確認した。標高 2000m のプエンティ・ルイナスはアマゾン川上流で、2000m から 2100m までの中間地帯で湿度の高い熱帯特有の気候の変化する。それに伴い植物相が乾燥地帯のものから熱帯林のものに変化し、ここが *Ephedra* 属植物自生地の限界地になっていると判断された。国境

を接しているチリ・アンデスからの標高の高い地域からは数種の新種の *Ephedra* 属植物の発見が報告されたばかりで、ペルー・アンデスにも未知の *Ephedra* 属植物の存在が予想される。

今回採取した 28 株の試料のアルカロイドは低含量であったが、採取時期や、生育度が影響しているものと考えられ、今後も継続した調査が必要である。ペルーは資源保有国として、植物の保護政策を取っている国であるが、今回の調査には友好的な対応を示し、今後の協力と共同研究とその中でのペルー国内の若い世代に対する教育の協力を強く希望された。同国は *Ephedra* 属植物のヨーロッパへの輸出経験や、現在国内の医薬品として汎用していることから、生薬の重要性への認識は高いと見受けられた。

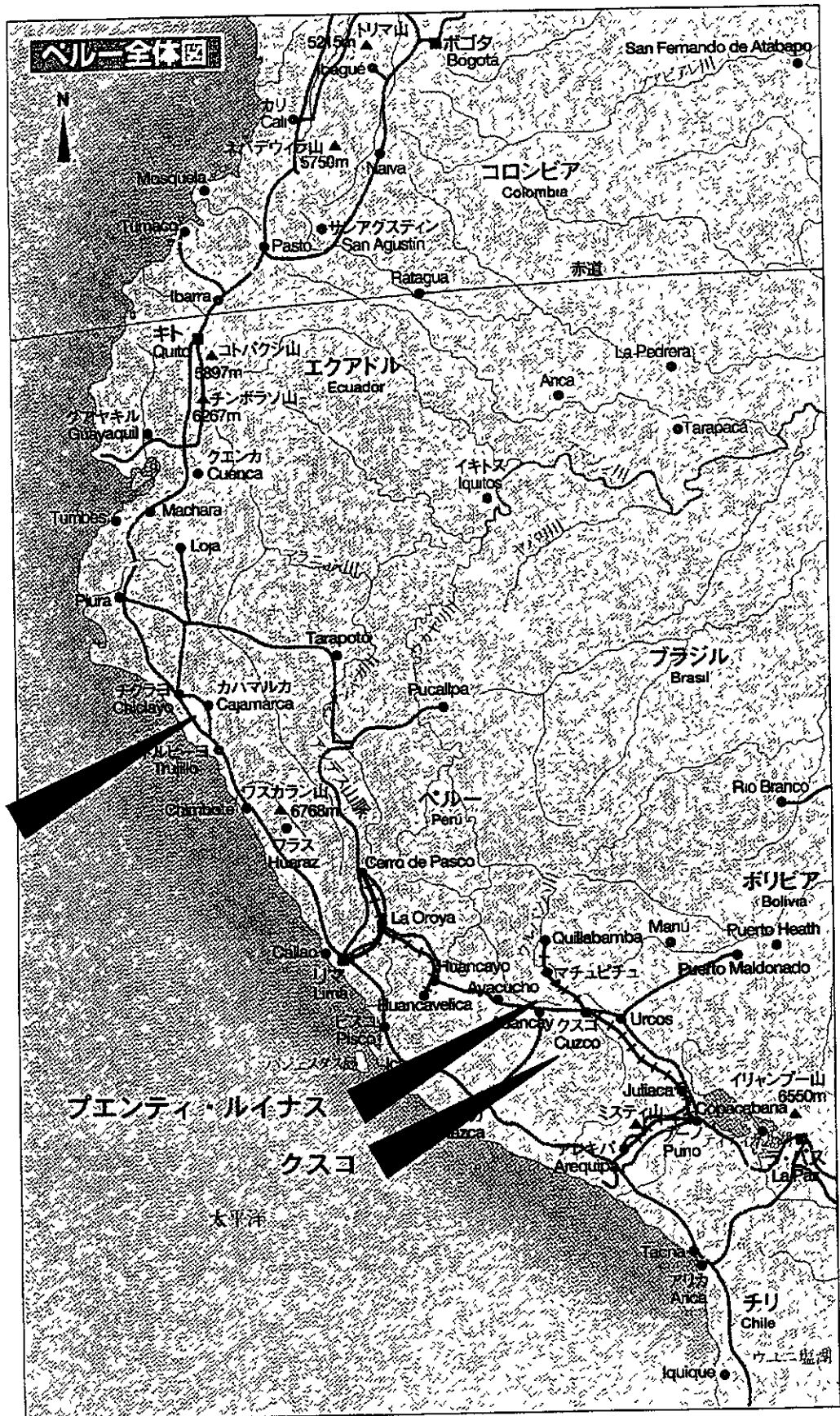
## F. 研究発表

なし。

## G. 知的所有権の取得状況

なし。





カハマルカ

調査研究実施地域（サンプル採種地域）

ペルー・アンデスに自生する *Ephedra americana*



厚生科学特別研究事業（緊急に資源確保を要する生薬－麻黄に関する研究）  
分担研究報告書

マオウの栽培に関する研究

分担研究者 酒井英二 国立医薬品食品衛生研究所  
和歌山薬用植物栽培試験場

生薬マオウの国内生産を目的に、標本植物として保存栽培している *Ephedra distachya* L.を用いて、株分けによる増殖を検討した。その結果、大きな株分け苗を用いれば十分繁殖が可能であることを明らかにした。また、根伏せによる大量増殖の可能性を示唆した。

A 研究目的

生薬マオウの基原は、*Ephedra sinica* stapf, *E intermedia* Schrenk et C A Meyer 又は *E equisetina* Bunge の地上茎であり、総アルカロイドを 0.7%以上含む、と日本薬局方第 13 改正第 1 追補に記載されている。いずれの基原植物も日本には自生しておらず、また、生産目的の国内栽培も行われていない。

従来より、消費の多くを中国からの輸入に依存してきたが、現在では、中国政府の輸出規制により流通に大きな変化が生じている。また、基原植物については、*E sinica* stapf と *E distachya* L との関係についても諸説があり混乱している。そのため、中国以外からの輸入マオウの基原を明らかにすることや、国内での栽培が急務と考えられている。

そこでまず、標本植物として導入保存している *E distachya* L の増殖について検討を行った。

B. 研究方法

地下部を付けた状態で親植物を分割し、地上部を数 cm 残して切除し定植苗とした。分割の大きさにより、大苗（30 株）、小苗（45 株）に分けて試験を行った。基肥として堆肥 100kg/a、苦土石灰 10 kg/a、油粕 10 kg/a を施した高畝（高さ 30cm、畝間隔 70cm）に 40cm 間隔で 4 月下旬に定植した。

約 9 ヶ月後の生存株数から活着率を、草丈や乾物重量から生長の程度を考察した。また、木質茎から直接伸びた地上茎について、径及び節間長を親株と

比較した。

C 研究結果

活着率は、大苗で 83.3%、小苗で 75.6%と良い結果が得られた。

生育度合いの目安として、草丈を測定した結果、大苗で  $36.4 \pm 9.0$ cm、小苗で  $26.6 \pm 10.0$ cm だった。また、苗の乾燥重量を 1 とした場合に、生長増加した部分は、大苗で  $2.35 \pm 0.95$ 、小苗で  $1.11 \pm 0.90$  となり、大苗の方が生育が良いことが明確になった。株分け繁殖植物の茎の径及び節間長は、 $1.32 \pm 0.28$  mm 及び  $2.90 \pm 0.59$ cm で、親植物（ $1.92 \pm 0.44$  mm 及び  $3.71 \pm 0.49$ cm）よりも小さい値を示した。株によっては、地下部からも萌芽が確認された。

D 考察

*E distachya* L は、種子繁殖、株分け繁殖、挿し木繁殖のいずれも可能であるとの報告があり、今回の結果は、そのうちの株分け繁殖の可能性を裏付けることになった。ただし、今回の結果は、活着の点では良好といえるが、生育については個体差が大きく、問題も残っている。同一群落の親植物から株分けを行っているので、遺伝系統的には違いが無いものと考えられるが、増殖のためには植えつけ条件（株分け苗の大きさ、使用部位、植え方）、栽培管理条件（灌水、施肥）について検討を加える必要がある。また、株分け繁殖では、親植物から得られる苗数に

は限界があり、大量生産を目的とした増殖には問題が残っている

*E distachya* Lは雌雄異株であるため国内においての種子採取は困難であり、また、既報によれば挿し木繁殖の活着率は15%と低いため、大量生産には不向きと考えられる。ただし、今回地下部からの萌芽が確認できたため、根伏せ繁殖の可能性が示唆された。根伏せであれば、株分けよりも多くの苗を生産できるものと考えられる。

#### E 結論

株分け繁殖は可能であり、苗が大きい方が、生長も良好である。

株分け繁殖の場合、得られる苗数が限られるため、

大量繁殖を考える場合には、不向きである。

地下部からの萌芽が可能のため、株分けより効率良く苗の生産ができる根伏せ繁殖を今後検討する必要がある。

#### F 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### G. 知的所有権の取得状況

なし

## 麻黄の組織培養に関する研究

分担研究者 下村 講一郎 国立医薬品食品衛生研究所・筑波薬用植物栽培試験場・室長

研究要旨 植物バイオテクノロジーによるマオウのクローン増殖法を確立するため、添加する植物成長調節物質の種類、濃度および基本培地について検討を加えた。Murashige-Skoog培地に低濃度のkinetinを添加する事によりシュートの分枝が認められ、また、発根培地において、シュート基部にカルスが形成が観察された。

## A 研究目的

麻黄は、漢方薬に処方されるだけでなく、本植物が含有するエフェドリンが風邪薬等に配合されており、使用範囲の広い輸入に依存している生薬である。しかしながら、昨今の輸入規制の問題が生じ、代替生薬のない本植物の増殖は、急務を要するので、これまでかなりの薬用植物で増殖に成功を納めてきた植物バイオテクノロジーによる試験管内クローン増殖について検討した。

## B 研究方法

実験には筑波薬用植物栽培試験場の圃場にて栽培している *Ephedra distachya* L. (Ep-13) の新出茎の頂芽から第4節目までを常法(75% EtOH, 2% NaOCl)により殺菌した。培養には、頂芽を除く第2～4節を各々切断して、植え付け切片に用いた。但し、地下茎を植え付け切片とした時は、3% NaOClを使用し、15分間殺菌した。

Murashige-Skoog (MS) および Woody Plant (WP) 培地を基本培地として用い、kinetin および benzyladenine (BA) の添加濃度(0, 0.5, 1, 3 mg/L)を変えて、マルチプルシュート形成を検討した。発根培地は、IAA (10 mg/L)あるいは5,6-dichloro-IAA (1 mg/L)を添加した培地を用いた。

培地は、pH 5.7に調整し、固形化にはGelrite (0.2%濃度)を用い、オートクレーブ (121℃, 15分間)した。培養は、14時間照明、減光、暗黒下で6～8週間行い、シュートの形成、発根状態を観察した。

## C 研究結果

梅雨期(6月)に頂頭部を除いて植え付けたが、コンタミネーションは皆無であった。培養開始、約2週間後、節から側芽の伸長が観察され、3週間後には、BAを1, 3 mg/L添加したMS, WP培地で伸長したシュートのガラス化が観察された。8週間培養後、BAを3 mg/L添加したMS, WP両培地における新たに伸長したシュートは、非常に短く、重なりあった形態を示した。

シュートの形成および伸長は、kinetin, BAともに1 mg/L以下の濃度および植物ホルモン無添加(HF) MS培地で良好であった。EP-13を用いての各MS培地における平均シュート形成数は、HF MS培地においても約3本であった。その他の区においても2本～3本であった。しかし、WP培地では、一部良好なシュート形成を示す区もあったが、側芽を新しく形成した植え付け切片数は、MS培地の結果と比較してかなり悪かった。

そこで、8月下旬に前回良好なホルモン区 [(MS培地 HF, kinetin-0.5, 1, 3 mg/L, BA-1 mg/L) (WP培地 HF)] を用いて再度、シュートを植え付けて試験した。各試験培地における側芽形成数は、3本以上であった。特に、kinetin 3 mg/L添加MS培地では、平均7本と最高であった。

マオウの増殖は、一般に株分け法により行われているので、地下茎部分を殺菌後、発根を目的にHFおよ

びIBA 10 mg/L添加MS培地に植え付けた。しかし、総ての切片でコンタミネーションが発生した。

一方、増殖、伸長したシュートが、継代培養可能かどうかを調べた結果、伸長した頂芽より分枝した節の部分を植え付けた方が、新茎が良好に形成した。14時間照明下(60  $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ )でHFおよびkinetin 3 mg/L添加培地で培養したシュートは、ほとんど枯死したが、減光下(7  $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ )では、シュートの緑色は保持され、生育は良好であった。

得られたシュートからの発根は認められず、現在のところIBA 10 mg/L添加培地および5, 6-dichloro IAA 1 mg/L添加MS培地でシュート基部に少量のカルスを形成した。

## D 考察

これまで、*Ephedra distachya*以外の種のカルスの増殖、そのアミノ酸組成等に関して幾つかの報告があるが、まだ、試験管内増殖に関しては、*E. fragilis*, *E. gerardiana*の成功があるのみで、*E. distachya*に関しては、報告されていない。*E. distachya*の増殖は、一般的な方法として、株分け法が行われているが、挿木法による成功率は、非常に悪く、3%程度と報告されている。それ故、若いシュートからの発根は、増殖系においてもかなり困難な事が推察される。

## E. 結論

今回の試験の結果、*E. distachya*の培養系におけるシュートの増殖、継代培養はHF-MS培地を用いるか kinetin 3 mg/Lを添加する事により可能な事が判明した。発根に関しては、今後、更に検討する必要がある。

## F 研究発表

1 論文発表  
なし

2 学会発表  
なし

## G 知的所有権の取得状況

1 特許取得  
なし

2 実用新案登録  
なし

3 その他  
なし

厚生科学研究費補助金（厚生科学特別研究事業）  
（分担）研究報告書

緊急に資源確保を要する生薬—麻黄に関する研究

（分担）研究者 細川 敬三  
国立医薬品食品衛生研究所 筑波薬用植物栽培試験場 室長

研究要旨：麻黄の国内での栽培技術の確立にあたり種苗の確保が重要であることから、種子及び株分けによる種苗の調製について検討した。つぎに、収穫後の株からの植物体の再生能について調査し、永年栽培の可能性について検討した。また、製品調製時の収穫物の乾燥条件について検討をくわえた。

A. 研究目的

中国からの輸出が禁止となった麻黄を日本国内で栽培化するための技術を確認する目的で本研究を実施した。

B. 研究方法

（1）種子の発芽条件

7月に採取した種子を用い、発芽の至適温度を知るため15～30℃の範囲で発芽試験を実施した。また、各種処理（低温処理、GA<sub>3</sub>処理）等による発芽条件について検討した。

（2）活着率

圃場にて生育中のものから苗を調製し、栽培試験に供した。この苗は、サイズの大きい苗は1本植え、小さい苗は2本植えとし、活着率を定植後3ヶ月目に調査した。

（3）植物体の再生能

定植（4月27日）後約4ヶ月目（8月16日）から1ヶ月毎に地際から地上部を刈り取った後の株からの植物体の再生状況を刈り取り後1ヶ月目に調査した。

（4）乾燥方法

栽培中のものから任意に地上部約50gを刈り取り4種類の乾燥方法（①ビニールハウス内にて天日乾燥、②送風乾燥機にて

40℃で乾燥、③送風乾燥機にて60℃で乾燥、④凍結乾燥）にて乾燥後、日本薬局方に従いアルカロイド含有量を分析した。

（倫理面への配慮）

特になし。

C. 研究結果

（1）種子の発芽条件

発芽の至適温度は15℃であった。また、低温処理（10℃、48時間とGA<sub>3</sub>処理）により種子の発芽が促進された。この結果から種子は弱い休眠状態にあることを見いだした。

（2）活着率

定植後の活着率はサイズの大きい苗で71%、小さい苗では88%であった。

（3）植物体の再生能

8、9、10月に刈り取った株からは地上部の再生が観察されたが、11、12月に刈り取った株からは地上部の再生が観察されなかった。

（4）乾燥方法

アルカロイド含有量は乾燥方法の違いによる有意な差は見られなかった（アルカロイ

ド含有量は平均で8.3mg/g dry weight)。また乾燥状況は60℃と凍結乾燥が短時間(24時間)で完了した。天日乾燥では天候に左右された。

#### D. 考察

##### (1) 種子の発芽条件

麻黄の種子は弱い休眠状態にあると考えられる。従って、種子に処理をほどこすことによって発芽時期を揃えることができ、育苗された苗の均一化を計れると考える。

##### (2) 活着率

大きめの苗を調製した方が活着率が向上するものと思われる。また、小苗の場合は数本まとめて定植することにより欠株率を低くできると考えられる。

##### (3) 植物体の再生能

8~10月にかけて収穫した場合には翌年以降も継続して栽培可能であるが、11月中旬以降に収穫した場合は翌年以降は新たに苗を定植する必要がある。ただし、11月中旬以降に刈り取った株からの再生は翌春の再生状況を調査する必要があると思われる。

#### (4) 乾燥方法

乾燥方法をコストの面からみると天日乾燥の方が優位であるように思われる。

#### E. 結論

- (1) 種子及び株分けによる種苗供給の可能性を見いだした。
- (2) 収穫時期は8~10月が適していると考えられる。
- (3) 収穫物の乾燥方法は天日乾燥法が有利であると考えられる。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし。
2. 学会発表  
なし。

#### G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし。
2. 実用新案登録  
なし。
3. その他  
なし。

厚生科学研究費補助金（特別研究事業）

分担研究報告書

麻黄属植物の系統選抜に関する研究

分担研究者 高野昭人 昭和薬科大学 講師

研究要旨

麻黄属植物の系統選抜を行うにあたり、本属植物の特性を把握し、選抜する際の判断基準とする目的で、同一産地で採種し、発芽成長した *Ephedra gerardiana* を材料として、各種栽培条件下で栽培し、アルカロイド含量および収量などの変化を検討した。その結果、*E. gerardiana* では、栽培年数、栽培土壌、栽培地などの栽培条件の違いにより、アルカロイド含量に差異を生じることを確認した。また、同時に、同一条件群内でのアルカロイド含量の個体差も著しいことを確認した。これは、アルカロイド含量の違いを生じる要因として、生育環境的要因と遺伝的要因がともに関与していることを示唆している。

本研究の結果、系統選抜にあたっては、収穫時期および採取する枝を吟味し、かつ、今回検討したさまざまな栽培条件の影響などを加味して総合的に系統を選抜していく必要のあることが明らかとなった。

A. 研究目的

生薬供給用薬用植物を系統選抜する場合、選抜の指標（視点）として、形態的特性、繁殖力、生長速度、環境適応性、さらに成分含量などが考えられる。今回、麻黄属植物の系統選抜を行うにあたり、麻黄属植物の特性を把握し、選抜する際の判断材料の一つとするため、*Ephedra gerardiana* を用いて、下記の項目について、アルカロイド含量および収量などを検討した。

検討項目

1. 収穫時期の違いによるアルカロイド含量の変化
2. アルカロイド含量の個体差
3. 栽培年数の違いによる収量およびアルカロイド含量の変化
4. 栽培土壌の違いによる収量およびアルカロイド含量の変化
5. 地上部を切断することの収量および



アルカロイド含量への影響

6 栽培地の違いによる収量およびアルカロイド含量の変化

## B. 研究方法

### 1 材料

使用した材料はすべて、1994年7月2日に Nepal, Central region, Bagmati zone, Chhogdu において同一群落より採種し、1994年8月6日に播種し、1995年6月に定植したものをを用いた。特に記したものの以外、鉢植え用培養土は、赤玉土(小粒)、桐生砂、バーク堆肥をそれぞれ、3:3:2の比率で混合したものである

[実験群と材料]

(1) 収穫時期による差: '95.6.26に昭和薬科大学町田キャンパス内薬用植物園第1圃場に定植し、'98.4.15, 5.15, 6.15, 7.15, 8.20に収穫した

以下については鉢植えの材料を用いた

(2) 栽培年数の違いによる差

2年栽培群は'96.7.15に、3年栽培群は'97.7.16に、4年栽培群は、'98.7.16にそれぞれ収穫した。

(3) 土壌の違いによる差

コントロール群は、'98.7.16, 7.29, 8.20に収穫した

川砂群は、培養土として、川砂:バーク堆肥=3:1の混合土を用い、'98.8.20に収穫した

桐生砂(レキ)群は、培養土として、桐

生砂(径6-8mm前後のものを抽出):バーク堆肥=3:1の混合土を用い、'98.8.20に収穫した。

(4) 地上部切断の影響(基部から2cmを残して地上部を切り取ることの影響)

コントロール群は(3)と同じ。

1 回切断群は、'95.7.7に切断し、'98.8.20に収穫した。

2 回切断群は、'95.7.7, '96.6.28に切断し、'98.8.20に収穫した

3 回切断群は、'95.7.7, '96.6.28, '97.7.16に切断し、'98.8.20に収穫した。

(5) 栽培地の違いによる差

町田キャンパス栽培群は(3)と同じ。

諏訪キャンパス栽培群は、'95.6.10に鉢植えし、'95.6.11に昭和薬科大学諏訪キャンパス(長野県白樺湖畔)内に鉢ごと埋め、'98.7.29に収穫した。

### 2. アルカロイドの定量

(1) 装置と測定条件

高速液体クロマトグラフ, 検出器:日本分光(製), GULLIVER シリーズ

カラム: Crestpak C18T-5 (4.6×250 mm)

移動相: ラウリル硫酸 Na (1→128): アセトニトリル: リン酸=640:360:1

流速: 2.0 mL / min

カラム温度: 45°C

検出波長: UV 210 nm

サンプル注入量: 10 μL

## (2) 標準品

標準品 定量用塩酸エフェドリン.富士薬品工業より譲受したもの.

## (3) 試料溶液の調製

材料を 60℃で 24 時間乾燥させた後, 中末にし, デシケーター (シリカゲル) 中で 24 時間放置した. その約 0.5g を精密に量り, 2 倍に薄めた MeOH 20mL を加え, 1 時間攪拌した後, 遠心分離 (2,000 rpm, 10 分間) し, 上澄み液を分取した. 残留物は 2 倍に薄めた MeOH 20mL ずつを用いて, さらにこの操作を 2 回行った. 全抽出液を合わせ, 2 倍に薄めた MeOH を加えて正確に 100mL とし, 試料溶液とした

## (4) 定量

塩酸エフェドリンを標準品として用い, ピーク高さによる絶対検量線を作成して定量した. 第 13 改正日本薬局方および相良らの報告を参照し, 相対的保持時間によって, (-)-ephedrine (Eph), (+)-pseudoephedrine (pEph), (-)-norephedrine (nEph), (-)-methylephedrine (mEph) の 4 種のアлкаロイドを決定した.

## C 研究結果

### 1. 収穫時期の違いによるアルカロイド含量の変化:

定量結果を Fig. 1 に示す. 検討した個体により変化の様子が異なった

### 2. アルカロイド含量の個体差:

実験群(2)以下の定量結果および収量を Table 1 に示す.

各群 5 個体として実験を行ったが, 栽培条件の違いによる差と同様, あるいは, それ以上に各実験群内個体差が大きかった. 3 年以上栽培した 39 個体についてみると, アルカロイドを検出しなかったものが 2 個体, また, 含量比として,  $Eph > pEph$  のものが 5 個体, 逆の  $Eph < pEph$  のものが 26 個体であった

### 3. 栽培年数の違いによる収量およびアルカロイド含量の変化 (Fig. 2):

アルカロイド含量は 2 年生から 4 年生へと栽培年数の増加に伴い高くなる傾向を示し, 総アルカロイド含量は約 0.05% / 年の増加率であった

### 4. 栽培土壌の違いによる収量およびアルカロイド含量の変化 (Fig. 3):

平均値で比較した場合, 総アルカロイド含量と pEph 含量で, 川砂栽培群は桐生砂 (レキ) 栽培群の約 2 倍の含量であった.

### 5. 地上部を切断することの収量およびアルカロイド含量への影響 (Fig. 4):

総アルカロイド含量, pEph 含量は, 切断回数の増加によって減少する傾向が確認された.

### 6. 栽培地の違いによる収量およびアルカロイド含量の変化 (Figs. 5, 6):

諏訪キャンパス (長野県白樺湖畔) と町田キャンパス (東京都町田市) の 2 地点で同じ期間栽培した結果, 諏訪キャンパス栽培群のアルカロイド含量 (%) が, Eph,

pEph とともに高い値を示した。しかし、個体あたりの草質茎の乾燥総重量 (mg) を比較すると、町田キャンパス群の方が諏訪キャンパス群より著しく大きく、株中の総アルカロイド量で比較した場合、町田キャンパス群の方が高い結果となった

#### D. 考察

##### 1. 収穫時期の違いによるアルカロイド含量の変化：

検討した個体により異なる変化を示し、明確な特徴を把握できなかった。なお、過去には、生長9週目までアルカロイド含量が増加し、以降はほぼ一定になるとの報告がある

##### 2. アルカロイド含量の個体差：

各実験群内でアルカロイド含量に大きな個体差（バラツキ）が観察された。従来、*E. gerardiana* では、Eph と pEph の含量比は Eph < pEph であるといわれていたが、今回の結果では、逆に Eph > pEph である個体を約1割、またアルカロイドを全く検出しない個体を2個体認め、個体差の大きいことが示唆された。

なお、この結果から、以下の栽培条件の違いによるアルカロイド含量の差異については、平均値などを指標として相対的な評価を行った

##### 3. 栽培年数の違いによる収量およびアルカロイド含量の変化：

アルカロイド含量は栽培年数の増加に伴い高くなる傾向を示した。したがって、

さらに栽培年数を延ばして、アルカロイド含量が一定になる栽培年数を把握する必要がある

##### 4. 栽培土壌の違いによる収量およびアルカロイド含量の変化：

栽培土壌の性質の違いが、*Ephedra* 属植物のアルカロイド含量に強く影響することを示唆した。なお、今回検討した栽培土壌の中では川砂群が最もアルカロイド含量が高かった。

##### 5. 地上部を切断することの収量およびアルカロイド含量への影響：

栽培年数とアルカロイド含量の関係〔結果3〕に相応した結果であった。このことから、アルカロイド含量を高くするには、収穫間隔を適切に設定することと、動物による食害や強風による風害などによる地上部の物理的切断を受けないような条件下で栽培するのが望ましいと考えられる。

##### 6. 栽培地の違いによる収量およびアルカロイド含量の変化：

栽培した2地点を比較すると、株中アルカロイド含量 (%) と株中総アルカロイド量で、高低が逆転した。今回比較した2地点は環境的に著しく異なり、どのような環境要因がアルカロイド含量に影響を与えたか結論づけることは難しいが、栽培地を検討する際には、できるだけ多くの地域を選択して検討する必要があるだろう

#### E. 結論

*Ephedra gerardiana* では、栽培年数、

栽培土壌，栽培地などの栽培条件の違いにより，生産物のアルカロイド含量に差異を生じる可能性があることを確認した．今後，さらに栽培試験を継続し，アルカロイド含量が最大となる栽培年数を確認し，収穫間隔の検討をする必要がある．また，アルカロイドの含量%と株収量（重量）の両指標から総合的に判断した栽培適地の条件を検討する必要がある．

今回，栽培条件の違いと同様，アルカロイド含量の個体差の著しいことが確認された．これは，アルカロイド含量の違いを生じる要因として，生育環境とともに遺伝的要因が大きいことを示唆している．系統選抜にあたっては，収穫時期および採取する枝を吟味し，かつ，今回検討したさまざま栽培条件の影響などを加味して，総合的に系統を選抜していく必要がある．

#### F. 研究発表

日本生薬学会第46回年会（大阪），講演要旨集，p. 208（1999）．

#### G. 知的所有権の取得状況

なし．