

明瞭なスポットを検出した。

薄層板 TLC と HPTLC での結果を比較すると、baicalin の検出に関しては両者とも明瞭なスポットが観察された。TLC 分析した試料溶液について、併せて逆相 HPLC を行った。TLC での結果と同様、全ての試料において標準品 baicalin が主ピークとして検出された。他のピークについて観察すると、baicalin のアグリコンである baicalein のピークが検出されたが、試料間でその含量にばらつきが認められた。

(7) 各種測定データの掲載方法の検討

今回は、生薬の起原植物に関する情報を生薬全体の「概要」と位置づけて情報を整理した。各生薬についてウィキ上に概要を掲載するページを作成し、このページを軸に植物の分類情報や生薬の学術情報をリンクした。さらに各生薬について①市場流通品と現状、②生産加工状況、③理化学的品質評価、④内部形態・鏡検を章として掲載するページを作成し、生薬の栽培情報データベースのプロトタイプとした。1600 枚の画像はすべて画面内にコンパクトに収まるように縮小し、クリックして拡大する形式にした。118 生薬の LC-MS クロマトグラムは JCAMP と呼ばれるフォーマットでウェブ上に掲載し、JCAMP 形式を閲覧するツールおよびそれをウィキ上に埋め込む仕組みを実現した。

【漢方薬に使用される薬用植物の遺伝子情報の整備に関する研究】

(1) ニンジン

これまでの研究結果に基づき、ニンジンの基原解析に有用である核 DNA の 18S rRNA 遺伝子の部分領域及び葉緑体 DNA の tmK 遺伝子のイントロンの部分領域に着目し、解析を行った。解析した 18S rRNA 遺伝子の 5'側 660 bp の塩基配列は、全検体において同一の配列を示し、

GenBank に登録された *Panax ginseng* C. A. Meyer の同領域の配列 (D83275) と完全に一致した。tmK 遺伝子のイントロン領域では、3'側の約 1600 bp の塩基配列を解析した結果、3 試料 (4 検体) 以外の全検体が同一配列を示し、GenBank に登録された *P. ginseng* の同領域の配列 (AB087999) と完全に一致した。一方、3 試料 (4 検体) では、AB087999 の配列において、1 箇所 M (Adenine/ Cytosine) の 2 重ピークが観察された。

(2) ショウキョウ

1) 核 rDNA ITS 領域

ダイレクトシーケンスの結果、得られたシーケンスデータは、複数の配列の混合物と思われる波形を示した。このような現象は、多コピー遺伝子である rDNA においては、度々観察されており、ショウキョウと同じショウガ科に属する *Curcuma* 属植物でも見出されている。このような場合、塩基配列解析を行うには、PCR 産物をプラスミド DNA へ組み込み、大腸菌へと形質転換し、個々の塩基配列に分離した後に、シーケンス解析を行う必要がある。このような手法は、ショウキョウの基原植物である *Zingiber officinale* の種としての進化、成立過程等を考察する際には、有用であると思われるが、種の鑑別を目的とした塩基配列情報の整備を指向する本研究の目的には適さない。以上のことから、ITS 領域については、これ以上の解析は行わなかった。

2) 葉緑体 DNA tmL-F 領域

ITS 領域と異なり、葉緑体 DNA tmL intron 領域及び tmL-F IGS 領域共に、配列解析は可能であった。ただし、tmL-F IGS 領域については、一塩基の挿入欠失に基づくと思われるマイナーなピークが認められた。この領域については、メインのピークを基に、塩基配列を決定した。

得られた塩基配列は、tmL intron 領域、tmL-FIGS 領域共に、全試料において同一の配列を示し、前者が、519 bp、後者が、328 bp だった。

(3) オウゴン

1) 遺伝子情報検索の結果

DDBJ において登録配列を検索し、遺伝子鑑別関連の登録データを抽出したものをまとめた。S. baicalensis の rpl16-rpl14 領域については 1 件 AB112068, また ITS 領域については 5 件 (AB557593, AY394851, FJ546846, FJ609732, FJ883534) の登録があった。

2) コガネバナの核 rDNAITS 領域の解析

コガネバナ筑波研究部保存系統 2 系統の ITS1 及び ITS 2 領域の塩基配列を検討した結果、ITS1 及び ITS2 領域の塩基配列は、植物系統の差異によって変異が認められることから、同一植物種内の系統識別に利用できる可能性が示唆された。しかしながら、同一植物から塩基の挿入を伴う複数種の塩基配列が見出されることから、ダイレクトシーケンシングによる塩基配列解析は適しておらず、本研究課題である生薬の基原植物種同定には適さないと判断した。

3) オウゴン市場品の葉緑体 rpl16-rpl14 領域の増幅及びダイレクトシーケンシング

PCR 産物が得られた 28 検体のうち、DNA の plus、minus 両鎖が解析でき、高品質な解析結果が得られたのは 12 検体であった。DNA 鎖の一方のみが解析できた検体は 11 検体であり、両鎖が解析できた結果と合わせると、生薬 15 市場品中 13 市場品については、なんらかの塩基配列データが得られた。

4) 葉緑体 rpl16-rpl14 領域の塩基配列における変異

高品質の塩基配列情報が得られた rpl16-rpl14 の遺伝子領域については、一部を除くほぼすべての試料由来の塩基配列は AB112068 と同一で

あった。ただし、AB112068 の塩基番号を基準とすると、174 番目の塩基が AB112068 では A に対し、NIB-036#1 では T であった。また、281 番目の塩基が AB112068 では T に対し、NIB-057#2 及び NIB-073#2 では C であった。

これらは GenBank に登録されている他の Scutellaria 属の同領域の配列 (S. falericulata: AB112069, S. lateriflora: AB112072, S. altissima: AB112067, S. incana: AB112070 及び AB112071) との変異点とは異なり、植物種内変異と考えられる。

(4) カンゾウ

今回入手した全てのサンプルから ITS 領域を増幅し、その遺伝子型を決定することができた。

(5) ソウジュツ

1) PCR-RFLP 法による鑑別

市場品 8 試料 (A-H) について電気泳動を行った。試料 C と E では、Fau I 消化により約 80 bp と 60 bp の 2 つの断片の生成を認め、Msp I による消化では切断を認めないことから A. lancea を基原とするものであると判定できた。試料のうち B、D、G、H では、Fau I による切断は認めず、Msp I 消化によって約 90 bp と 50 bp の 2 つの断片の生成を検出した。このことからこれらの試料は A. chinensis を基原とするものであると推定した。

2) 直接シーケンスによる鑑別

8 試料について、シーケンスを行った結果、試料 C と E では 5 つの鑑別サイトの全てで塩基が A. lancea のものと一致した。試料 G と H では同じく A. chinensis のものと一致した。また、試料 A と F では、5 つのサイトの全てで A. lancea と A. chinensis に由来する 2 つの塩基が検出された。一方、試料 B と D では 5 つのサイトのうち 4 つで A. chinensis のものと一致したが 1 つでは異なっていた。

【組織培養物及び効率的増殖法に関する情報に関する研究】

(1) 組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備のためのデータベース項目の設定

文献情報及び実際の実験で収集するデータの項目、データ内容及び各データの形式を設定した。また、図表及び文献等の名前付けのルールを設定した。

(2) 漢方薬原料植物の植物組織培養による増殖法に関する文献調査

第1 コア生薬基原植物のうち、*Scutellaria baicalensis* (黄芩)、*Glycyrrhiza uralensis* (甘草)、*Zingiber officinalis* (生姜)、*Atractylodes lancea* (蒼朮)、*Panax ginseng* (人參)、及び第2 コア生薬基原植物のうち、*Atractylodes japonica* (白朮)、*Atractylodes ovata* (白朮)、*Cinnamomum cassia* (桂皮)、*Gardenia jasminoides* (山梔子)、*Paeonia lactiflora* (芍薬)、*Perilla frutescens* (蘇葉)、*Angelica acutiloba* (当帰)、*Bupleurum falcatum* (柴胡)、*Rehmania glutiosa* (地黄)、*Cnidium officinale* (川芎)、*Rheum palmatum* (大黄)、*Ephedra intermedia* (麻黄) について、植物組織培養による効率的増殖に関する文献情報を収集した。

(3) オリジナルデータ取得のための、植物組織培養物の育成

Scutellaria baicalensis 種子は常法による殺菌後、2%ショ糖含有 1/2 MS 培地に播種し、23℃、14 時間照明下で培養し、培養植物体を育成中であり、外植片(種子)から培養植物体までのデータを取得予定である。*Glycyrrhiza uralensis* 種子及び新芽から育成した培養植物体は、種々基本培地での植物体増殖を検討中であるが、系統により、増殖及び継代維持のための培地が大きく異なる結果が得られている。*Atractylodes lancea* 新芽及び *Atractylodes japonica* 新芽からは、常法による殺菌後、培養植物体の育成と増殖に成功し

た。*Paeonia lactiflora* 新芽からは常法による殺菌後、初代培養物が得られている。*Rheum palmatum* 種子は、無菌植物体の育成に成功した。*Ephedra sinica* 種子は、常法による殺菌後、2%ショ糖含有 1/2MS 培地に播種し、23℃、暗所又は14時間照明下で培養し、系統により発芽のための光要求性が異なる結果が得られている。

【植物体栽培及び効率的生産法に関する研究】

(1) 栽培技術に関連したデータ項目記入用テンプレートの作成と詳細データ情報ファイルの作成

データ項目として、栽培技術に関する品種、繁殖法、適性、繁殖、定植、肥料、管理、病害虫、収穫・調製、収量、特性分類表、栽培暦、参考情報等 22 項目を設定した。この 22 項目の内には、図表や画像での情報を提供するために、「栽培方法関連写真」及び「栽培方法関連データ」という項目を設定し、そこから図表や画像データにスライドしてゆく方法とした。このようにして設定されたテンプレートに、オタネニンジン、カンゾウ、ホソバオケラのデータを入力してファイルを作成した。農薬について、約 20 数種類の薬用植物が農薬取締法上の「野菜類」に分類されており、それらに共通して使用可能な農薬として、殺菌剤：20 品目、殺虫剤：9 品目、除草剤：2 品目、オタネニンジンに使用可能な農薬として、殺菌剤：6 品目、殺虫剤：5 品目、除草剤：1 品目がリストアップされた。

(2) センキュウ種イモの定植機械の検討

本実験における結果、完全に芽が上向きに定植された種イモの割合は 15%程度で、82%が横向きまたは斜め上向き、2~3%が完全に下向き、0.7%が欠株であった。また、植付け深度は平均で 4.3 cm であり、畝によっては 6 cm 以下に定植されている場合も見られ、目標値 (3 cm 以下)

に比べ深く植えられていた。

(3) 薬用植物の抗酸化活性について

合計 17 種類・48 サンプルの中ではダイオウの地下部 (519.53 $\mu\text{mol TE/g}$) が最も高い値を示し、エゾウコギ (415.53) 及びマンシュウウコギ (308.67) の葉がこれに次いで高い値を示した。

【薬用植物総合情報データベースに使用される薬用植物の資源管理情報に関する研究】

(1) データベース情報項目の検討

コガネバナ種子におけるデータベース情報を集積した。種子の大きさや重量は、採取地や採取条件で異なると思われるため、それらの情報を記録した。

(2) 入力データ情報の収集

コガネバナ、ダイオウ、オウレン、ヒナタイノコズチ、オケラ、チリメンアカジソ、ホッカイトウキ、ヤマトトウキ、ミシマサイコ、ムラサキ及びキバナオウギの 11 種類の種子 100 粒重を測定した。発芽温度や条件、貯蔵条件については、これまでの成績及び文献情報から入手した。上記にオタネニンジンを加えた 12 種類の種子の画像を収集した。

【漢方薬に用いられる薬用植物の内部及び外部形態情報に関する研究】

カンゾウ：今回入手した 16 検体のうち 10 検体が原形生薬であり、径は 4.2~14.9 mm、外面は赤褐色を呈していた。周皮を除いた物はなかった。横切面では放射構造が明らかで、裂け目が観察される場合もあった。生薬の断面については、糸鋸での横切断面および 1 昼夜蒸留水に浸した後、撮影した。

褐色のコルク層、放射組織が共通して観察された。NIB-038、NIB-168 では明瞭な柔細胞による随が確認された。

横切面では不明瞭であったが、縦切面の観察で。結晶細胞列が確認された。

ニンジン：今回入手した 16 検体のうち 12 検体が原形生薬であった。原形生薬のうち NIB-113 には紅参の記載があり、飴色で半透明を呈していた。NIB-012、NIB-112、と NIB-184 には湯通しの記載があり、外面は淡黄褐色を呈していたが、切面は飴色で半透明を呈しており形成層は不明瞭だった。他は外面、切面ともに淡黄褐色で、形成層付近が褐色を呈していた。

横切片の鏡検では、シュウ酸カルシウムのような大きな集晶が観察された。

ソウジュツ：今回、原形生薬を 8 検体入手した。1 昼夜蒸留水につけた物では、黄色の分泌物を確認できた。

最外層にはコルク層があり石細胞が確認できた。また皮部には大きな油室が確認され、内部に黄色の内容物が確認された。木部には発達した繊維束が観察された。

ショウキョウ：今回入手した 10 検体のうち 6 検体が原形生薬であり、灰白色~淡灰褐色で白く粉をふいたような物もあった。

切片の鏡検では、全てではないが最外層にコルク層が確認でき、皮層と中心柱が内皮によって区別できる。デンプン粒および油滴が確認できた。

オウゴン：今回入手した 15 検体のうち 10 検体が原形生薬で、そのうち NIB-002 が野生品を由来としていた。外面は黄褐色を呈し、折面は黄色だった。

今回の検体は、円錐状よりもむしろ円柱状を呈していた。

切断後 1 昼夜蒸留水につけていたものでは、切面が黄色から青色に変色していた。

切片の鏡検では、発達したコルク層が確認でき、皮部には石細胞が散在していた。道管は放

射状方向に配列しているのが確認できた。

【漢方薬に用いられる薬用植物の生物活性情報に関する研究】

(1) 薬物代謝酵素シトクローム P450 3A4 及び 2D6 に対する阻害活性

各生薬の示した阻害活性の強さを IC_{50} 値で求めた結果、オウゴンには CYP3A4 及び CYP2D6 の両者を阻害したが、CYP3A4 阻害活性は NIB-035 (原形, 中国河北省産) の $18.3 \mu\text{g/mL}$ から NIB-105 (刻み, 中国河北省産) の $97.3 \mu\text{g/mL}$ まで、CYP2D6 阻害活性も NIB-035 (原形, 中国河北省産) の $1.51 \mu\text{g/mL}$ から NIB-059 (刻み, 中国河北省産) の $96.1 \mu\text{g/mL}$ までと、試料ごとにバラツキが見られた。一方、カンゾウは主として CYP3A4 阻害活性を示した (IC_{50} : $3.00\text{--}34.8 \mu\text{g/mL}$)。その他の3生薬(ソウジュツ, ニンジン, ショウキョウ)は、CYP3A4 及び CYP2D6 の両者に対して IC_{50} 値が $100 \mu\text{g/mL}$ 以上であり、殆ど阻害活性を示さなかった。

(2) 3種のヒトがん細胞株の増殖に対する各生薬エキスの効果

3種のヒトがん細胞株の増殖に対する各生薬エキスの効果を検討した。その結果、オウゴンに強い増殖阻害活性が認められ、3種の細胞とも同じような傾向が認められた。また、オウゴンはロット間で活性のバラツキが大きく、これは含有成分との相関があることが示唆された。活性が強かったロットは、NIB-SC001, 002, 003, 009, 012であった。一方、NIB-SC006, 008, 010, 011は活性が非常に弱かった。また、ショウキョウについても若干の細胞増殖阻害活性が認められ、ロット差も認められた。一方、その他の生薬については3種の細胞とも阻害効果は弱いものであった。

【漢方薬に用いられる薬用植物の官能評価に関する研究】

(1) 色彩計を利用した生薬の色に関する客観的評価

分析した各生薬は粉末色にも特徴が見られた。ニンジンとショウキョウの L^* 値は類似しているが、 b^* 値 25 を境にして区別された。ソウジュツの L^* 値は 70 未満で、 a^* 値が 5 以上であった。オウゴンの b^* 値は概ね 30 以上で特徴的であった。アルコール抽出液や熱水抽出液の透過光でもとくに b^* 値に特徴が見られ、カンゾウについては変異の幅が大きかった。熱水抽出液に塩化第二鉄試液を添加するとオウゴンの L^* 値が 0 近くとなり、カンゾウも測定値が 20~50 になった。水酸化ナトリウム試液では b^* 値がカンゾウで 110 を越え、オウゴンでは 80~100 に変化した。ヨウ素試液の反応ではニンジンとショウキョウの L^* 値が著しく小さくなったが、他の生薬ではほとんど変化がなかった。

(2) 味認識装置を用いた生薬エキスの味覚評価

5品目の生薬それぞれについて味要素の数値及びそれぞれの平均値から作製した各品目生薬の味のパターンを算出した。

品目それぞれの特徴としては、オウゴンでは、酸性及び塩基性の苦味に関する味の要素の値が大きく得られた。カンゾウは塩基性苦味後味が大きく得られるのと同時に、酸性苦味及び渋味の値も大きかった。ショウキョウは酸性苦味の値が大きく得られ、ソウジュツでは塩基性苦味後味が特徴的に大きかった。また、ニンジンは塩基性苦味後味に大きな値が得られた他、旨味の値がその他の味要素より大きく得られたところが特徴的であった。

【漢方薬に用いられる薬用植物の生物活性情報並びに副作用情報に関する研究】

(1) 黄芩

1) 臨床に応用が可能な生物活性

抗炎症、抗アレルギー作用が明らかになっている。また、アセトアミノフェンや四塩化炭素による肝障害改善作用、ジクロフェナクによる小腸粘膜障害促進作用、担癌マウスにおける生存率延長作用、インフルエンザ感染予防作用などが認められている。

2) 禁忌

脾胃陽虚証の下痢。中焦虚寒の者、血虚胎動不安の者、肺寒咳喘痰嗽の者。脾胃虚寒。

3) 副作用

薬剤疫学による解析方法により、生薬・漢方薬が引き起こす薬物性肝障害、間質性肺炎の原因として疑われている。また、欧米でハーブティーの原料として使用されている Skulcup には、肝機能障害の副作用が知られている。

4) 好ましくない薬物相互作用

特に報告はない。

(2) 甘草

1) 臨床に応用が可能な生物活性

さまざまな動物モデルにおける抗炎症作用、抗アレルギー作用が報告されている。なお、抗アレルギー作用は甘草を修治して炙甘草にすることにより増強する。

2) 禁忌

湿旺盛、吐き気また嘔吐。湿盛脹満の者、浮腫のある者。腹部膨満・嘔吐・浮腫のある湿盛の者。実証中満腹脹の者。

慢性肝障害、胆汁鬱滞型肝障害、肝硬変、重篤な腎不全、糖尿病、高血圧、筋緊張性亢進症、低カリウム血症の者。

3) 副作用

甘草含有化粧品により、接触性皮膚炎の症例

が報告されている。慢性的に摂取すると、高血圧、浮腫、高カリウム血症と低カリウム血症などの偽アルドステロン症を引き起こす。

4) 好ましくない薬物相互作用

理論的に降圧薬と拮抗することが指摘されている。低カリウム血症の副作用が重複するため、理論上、ループ利尿薬またはチアジド系利尿薬との併用は避けたほうがよい。

(3) 生姜

1) 臨床に応用が可能な生物活性

ラットにおける抗潰瘍作用、制吐作用、モルモットにおける胃内容物排出促進・消化管運動促進作用が知られており、健胃薬としての実験的な根拠が認められるほか、抗炎症作用、担癌ラットにおける抗ガン作用も認められている。

2) 禁忌

肺熱、胃熱、陰虚熱、暑証。陰虚火旺の者、温熱内盛の者。陰虚内熱・血熱妄行の者。出血傾向のある者。陰虚内熱・表虚自汗・胃陰虚の者。

3) 副作用

消化器症状（ガスの充満、腹部膨満感）をまれに起こすことがある。

4) 好ましくない薬物相互作用

理論的に生姜は血小板凝集抑制作用を起こす可能性があるため、具体的な症例があるわけではないが、抗凝固薬、抗血小板薬との併用は避けたほうがよい。

(4) 蒼朮

1) 臨床に応用が可能な生物活性

白朮と蒼朮には、利尿作用があるとされているが、結果には報告間で差異があり、詳細は不明である。酢酸ライジングによる抗炎症作用は、白朮は抗炎症作用を示すものの、蒼朮は弱いことが報告されている。また、白朮、蒼朮はともに抗潰瘍作用、利胆作用が認められ、健脾作用

との関連が推察される。

2) 禁忌

多尿の者。陰虚津少の者。陰虚で咯血・鼻出血のある者。陰虚内熱・気虚多汗の者。

3) 好ましくない薬物相互作用

特に報告はない。

(5) 人參

1) 臨床に応用が可能な生物活性

エタノールエキスには血流増大作用、血液凝固抑制作用と血栓形成抑制作用が認められている。人參エキスには、抗潰瘍作用、血糖降下作用、肝保護作用、抗炎症作用、抗リウマチ作用が認められている。

2) 禁忌

虚熱証、湿熱証、肝陽上亢による高血圧、表証。肝陽上亢の者、肺熱咳痰の者、陽虚内熱・陰不制陽の者、血熱上逆吐衄の者、脾胃実邪・熱邪停滞の者、外感初起表証の者。実証・熱証の者。肝陽上亢による高血圧、湿熱による浮腫。実証で不眠・煩躁のある者。陰虚陽亢の骨蒸潮熱、肺熱で痰の多い咳嗽、肝陽上亢の頭眩目赤、火鬱内熱の者。肝陽亢盛及び湿阻熱盛の者。

3) 副作用

不眠症、鼻血、頭痛、神経過敏症、嘔吐などが知られている。

4) 好ましくない薬物相互作用

人參に実験的な抗凝固作用があることから、ワルファリンとの併用時に活性化部分トロンボプラスチン時間とトロンビン時間を延長させることが予想され、併用は注意したほうがよいとされているが、ラットおよびヒトを用いた試験では、人參はワルファリンの薬物動態には影響しない。

【漢方処方構成生薬の水煎出エキス収量に関する研究】

1) 局方生薬のエキス収量

局方生薬として流通する黄芩、甘草、生姜、蒼朮及び人參に関して、それぞれの20gに相当するエキス収量を測定し、生薬重量あたりのエキス収率を算出した。また、5社の平均値を100とした場合の相対値も示した。

それぞれの生薬について会社間の変動係数(Cv)を算出したところ、黄芩、甘草及び蒼朮は10%以下に収まっていたが、生姜では26.5%、人參では26.7%と大きなばらつきを示した。一方、会社内変動係数はいずれも数パーセントであり、同じ会社の生薬に関する測定間のばらつきは小さいことが分かった。

2) オウゴン生薬原料のエキス収量

医薬基盤研究所薬用植物資源センターが収集したオウゴン生薬原料は、原形のものと同刻みのものがあつたため、抽出効率を揃える目的で、全サンプルについて粉末化した後に煎出した。それぞれの粉末20gに相当するエキス収量を測定し、生薬原料重量あたりのエキス収率を算出した。15種類の生薬原料におけるエキス収率の変動係数は、16.6%であつた。また、一方、同じサンプルを3回測定する中での変動係数はいずれも数パーセントであり、同じ生薬原料に関する測定間のばらつきは小さいことが分かった。

D. 考察

【薬用植物総合情報データベース構築に関する研究】

構築中の総合データベースは、テキスト、画像データだけではなく、LC-MS データ、NMR データ等多様なデータ形式に対応する必要があつたが、最も多様な形式を有するデータの収載が想定された成分分析情報についてデータベースの構築を今年度に完了しており、主要な問題

点は克服されたと考えている。

遺伝子鑑別情報、組織培養情報、栽培法に関する情報、生物活性情報などに対するデータベース構築及びデータの登録は次年度以降であるが、必要なデータ項目の抽出は各分野においてほぼ完了しており、今後とくに技術的な問題は生じないものと考えられる。

また、本データベースは開発言語として汎用性の高い MySQL を採用しているため、他のデータベースからの接続に柔軟な対応が可能であり、独立行政法人 医薬基盤研究所で進めている統合データベース開発においても、横断検索からダイレクトな検索結果の表示が可能になると考えられる。

【生薬の成分分析データの集積と成分データベースフォーマットの構築に関する研究】

生薬の熱水抽出において、コア 5 品目中、ニンジン、ショウキョウについては抽出後の吸引ろ過がまったくできなかつた。その理由としてニンジンはサポニン含量が特に高く、水を強く吸着しろ過を困難にすると考えられた。ショウキョウも同様に水を強く取り込みろ過ができず収量が極端に低い結果となった。これら 2 品目については遠心分離を試みることによりやや改善された。

データベース上での成分情報のフレーム構築に関しては、LC-MS 情報での LC 部分は TIC および UV 情報の両方を JCAMP 方式でダウンロード可能なようにすることで精細なチャートを開覧可能なようにしたが、JCAMP を閲覧するための Viewer を利用者はダウンロードせざるを得ず、ダウンロードのリンクをはるなどの措置が必要と考えられた。NMR 情報に関しては FID のダウンロードを可能とし、各 NMR 機器のシステムソフトウェアにて精細なチャートを開覧可能な

ようにしたが、これも同様にフリーの FID 変換ソフトウェアのダウンロード先にリンクするなどの措置が必要と考えられた。

LC-MS 分析については、オウゴンは MS 結果からの多変量解析に結果、一部の試料のみに $m/z461$ のピークが認められたが、この質量数は wogonoside に一致する。標準品がないため確定はできないが、本化合物がマーカーとなる可能性があり、現在さらに多くのオウゴン検討試料を追加収集している。

ソウジュツにおいては、Chemical Combined Dictionary にて検索したソウジュツの化合物検索結果に掲載されている化合物は、いずれも ESI より APCI でイオン化し易い構造であると考えられる。そのため APCI での再測定が必要であると考えられる。またソウジュツに関しては基原が 2 種類あることから(ホソバオケラ *Atractylodes lancea* De Candolle またはその変種シナオケラ *A. lancea* DC. var. *chinensis* Kitamura)、遺伝子検討班の検討結果を待ち、それらの結果を反映させた考察が必要である。ショウキョウはいずれも雲南省産のものであるが、[6]-Gingerol や shogaol などの成分も同様に APCI での測定が必要と考えられた。

カンゾウに関しては、性質の異なる 2 成分のスペクトル解析の結果から、本分析条件によってカンゾウに含まれる成分についての化学情報の集積が可能であると考えられた。しかしながら、ただデータを積み上げるのではなく、データを積み重ねた上で、その生薬を特徴づけるものに絞り込み、整理する必要があるものと考えられた。

ニンジンに関してはニンジンサポニン類 3 成分のスペクトル解析の結果から、本分析条件によってニンジンに特徴的に含まれる成分についての化学情報の集積が可能であると考えられた。

オウゴンの LC-NMR-MS を用いた成分解析研究において、MS をトリガーとした目的試料取得が困難であることが判明した。これは、化合物中の移動性プロトンが移動相に用いる重水素と交換することにより、分子量変動を生じることによると考えられた。

生薬の確認試験では、スポットの色も重要な情報となることから、画像データの公開に当たっては、色の再現性を確保する必要があるが、データの集積の段階では、色見本を添えて画像データを取得することにより、相対的に色の再現性を確保することとし、公開の段階でその方法に応じた補正を考えることとした。

一般に薄層クロマトグラフィー法は、Rf 値の再現性に乏しいとされているが、日本薬局方の一般試験法<2.03>薄層クロマトグラフィーの規定を厳密に守ってデータを集めたところ、Rf 値については、かなり良い室間再現性が得られた。これは、今回の研究に参加しているのが、生薬の確認試験を日常的に行っている生薬関連会社の担当者であることも大きな要因であると考えられるが、局方の規定によって、Rf 値の再現性がかなり担保されていることが確認された。

本研究に於いて、検討した総ての確認試験について現行の 10 cm の展開と 7 cm 展開を比較したが、Rf 値並びにクロマトグラムパターンに違いは見られなかったことから、現行では 10 cm となっている生薬の TLC による確認試験の展開距離を 7 cm に変更することが可能であるものと思われる。

今回測定した 5 生薬については、近赤外吸収スペクトル及びその 2 次微分スペクトルにおいて、各生薬に特徴的なスペクトルが示された。また、2 次微分スペクトルで生薬間の特徴が認められた波数領域に対して主成分分析を行ない、第 1～第 3 主成分をプロットすることで、生薬

の同定ができる可能性が示唆された。

生薬の栽培情報はウェブ上の読み物としては含蓄に富んだリソースだが、学術的な統計情報や比較検討とリンクさせることが難しい。現在は各ページの情報から自動的に一覧表を作る機能、TLC のような同一試験で品質評価を行うページへの自動リンク等の機能を付加しているが、将来これらの情報を半自動的に数値化して統計処理を可能とする機能が望まれる。

【漢方薬に使用される薬用植物の遺伝子情報の整備に関する研究】

(1) ニンジン

3 試料 (4 検体) の tmK イントロン領域の塩基配列において、1 箇所に 2 重ピーク Adenine/Cytosine が観察された。これまで解析してきた 100 検体以上の同属植物及び生薬試料において、この箇所はすべて Adenine であり、塩基置換は認められなかった。この原因については現在確認中である。

(2) ショウキョウ

塩基配列を決定出来た tmL intron 領域、tmL-F IGS 領域共に、全試料において同一の配列を示した事から、国内市場に流通するショウキョウは、上記の遺伝子領域において、遺伝的に均質である事が明らかになった。それぞれの領域について、Blast search program により国際塩基配列データベース (DDBJ/EMBL/GenBank; INSD) に登録されている配列と相同性検索を行った結果、tmL-F IGS 領域については、データベース上の 4 つの *Z. officinale* の配列 (Acc. No.: HM567394~HM567397) と完全に一致した。一方、tmL intron 領域は、上記 4 つの *Z. officinale* の配列と前半部の配列に大きな違いが認められた。試料の来歴については、マレーシア産の *Z. officinale* の内の Bentong、Bara, Muda 及び

Padi と呼ばれる系統であることが、データベース上に記載されている。従って、今回の結果からは、国内市場に流通するショウキョウは、*tml* intron 領域の塩基配列において、マレーシア産の *Z. officinale* の各系統と判別が可能であると推定された。また、同領域が *Z. officinale* の産地及び系統判別に有用である可能性が示された。

(3) オウゴン

今回、NIB-073 及び NIB-174 についてはクローニング&シーケンシングを予備実験で行い、*rpl16-rpl14* の塩基配列が NIB-174 ではクローン間で同一であることを確認した。NIB-073 より調製したゲノムDNA 試料NIB-073#1 については全クローンが同一配列を示したが、NIB-073#2 については、281T がC またはT のバリエーションがあることが判明した。本試料は「刻み」であり、2種の塩基配列が得られたことは、生薬試料片が異なる個体由来であったことに因るものと推察される。

今回の試料 NIB-175#1 及び#2 のように、PCR による *rpl16-rpl14* 領域の増幅に問題がなかったにも関わらず、両鎖とも解析が不能であったものや、一方のDNA 鎖しか解析ができなかったものについては、シーケンシングに供するサンプル量の検討やPCR 産物の精製法などの検討による塩基配列の再精査を検討している。また、NIB-036#2 及びNIB-142#2 のようにPCR で増幅産物が得られなかった試料については、ゲノムDNA の再調製や再精製、試料の希釈によるPCR を阻害する夾雑物の影響の低減が必要と考えられる。

(4) カンゾウ

カンゾウ 16 市場品 18 検体の核rDNA ITS 領域の遺伝子型を決定したところ、16 検体は、文献記載の *G. uralensis* に高頻度に見られる ITS 領域の遺伝子型に一致した。しかしながら2検体は、

一部にヘテロな配列をもつ文献にはない遺伝子型であった。

日本国内の市場に流通する中国産カンゾウは、産地や等級の違いにかかわらず、ほとんどが *G. uralensis* と同定できるものであった。

(5) ソウジュツ

市場品 8 試料のうち試料 A と F では、いずれの制限酵素によっても切断産物が生じており、両種の交雑植物を基原とするものであることが推定された。

【組織培養物及び効率的増殖法に関する情報に関する研究】

組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備のため、文献情報及び実際の実験で収集するデータ項目、データ内容及び各データの形式の設定を行い、収集した文献情報のデータシートへの入力を行った。漢方薬原料生薬の基原植物に関する情報は、英語以外の言語、中国語や韓国語で書かれたものが数多く存在し、日本語あるいは英語への翻訳が困難である。また、文献検索により要約が得られても、入手が困難なものが多い。文献情報については、日本語又は英語への翻訳方法及び文献の入手方法について検討が必要であると考えられた。

【植物体栽培及び効率的生産法に関する研究】

(1) 栽培技術に関連したデータ項目記入用テンプレートの作成と詳細データ情報ファイルの作成

生薬の品質管理や生薬の生産栽培において、使用可能な農業情報は極めて重要なものであるが、データベースに盛り込むことで直ちに応用が可能となり、実用性の高い情報を提供できる。また、既存農業機械を活用した栽培法の情報や無機成分吸収量の情報も実用性の高いものであ

る。

(2) センキュウ種イモの定植機械の検討

本機によって定植された 600 個の種イモの定植状態を調査した結果、植え付けられた種イモの約 82%が斜上向き又は横向きとなっており、本移植機による定植ではソロバン根を着生した根茎の多発により収量の著しい低下が予想され、改良が必要と考えられた。今回検討した機械の場合、植付け用円筒部に人為的に投入された種イモは、向きが変わらず円筒部内を落下し、カラス口により土中へ植付けられるが、カラス口が引上げられ土が種イモを覆うわずかな時間に種イモの向きが変わって横向きや斜上向きになっていることなどから種イモ作成にも改良が必要であると考えられる。

(3) 薬用植物の抗酸化活性について

カンゾウ 2 種、ホソバオケラ、オケラ、センキュウ、ダイオウ、エゾウコギ、マンシュウウコギ及びケヤマウコギの非薬用部である地上部は、野菜に比べて抗酸化能が比較的高いことが判明した。

【薬用植物総合情報データベースに使用される薬用植物の資源管理情報に関する研究】

資源管理情報で最も重要な情報のひとつは、資源の導入や履歴に関することである。現在、種苗・種子の導入・保管は、薬用植物資源研究センターの各研究部で独自に行っているが、今後、導入記録を一元化し、情報の共有化を図る必要があると考えられた。

種子の寿命に関する情報は、保管種子の更新を図る上で極めて重要であるが、長期にわたる調査記録は少なく、継続した調査が必要であると考えられた。

【漢方薬に用いられる薬用植物の内部及び外部形態情報に関する研究】

5 品目の内、ニンジン、ショウキョウ、オウゴンについては日本薬局方に横切片の鏡検の記載がなく、新規に設定する必要が明らかになった。

カンゾウには結晶細胞列という特徴的な組織が確認できるが、結晶細胞列が観察される生薬は他にもある。また、ニンジンではシュウ酸カルシウムの大きな集晶が特徴と考えられるが、これについても他の生薬で観察される。データベース活用の立場から、このような特徴的な組織の観点から生薬を検索出来るシステムが必要と考えられた。ソウジュツには類似生薬としてビャクジュツがあり、データベースとする場合には、相違点を対応させる形で表示する必要性が考えられた。オウゴンについては、従来、野生品と栽培品では内部妃構造が異なることが報告されている。今回の観察においても、道管が放射状方向に配列するものと年輪状に配列しているものが観察され、データベース作成には両者を表示する必要が確認された。

【漢方薬に用いられる薬用植物の生物活性情報に関する研究】

(1) 薬物代謝酵素シトクローム P450 3A4 及び 2D6 に対する阻害活性

同じ生薬であっても各試料の活性は必ずしも同じではなくバラツキが見られた。特にオウゴンのバラツキが大きかった。これは CYP3A4 及び CYP2D6 阻害活性についてであるが、他の活性・薬効においても差が見られる可能性がある。この差が何に由来するのか明らかではないが、LC-MS 測定および近赤外スペクトル測定の結果においても生薬試料間の差が認められており、興味深い。なお、LC-MS スペクトルデータにおいて含有分量の差が認められており、そのこ

とがCYP阻害活性の差となって表れたと考えられる。

(2) 3種のヒトがん細胞株の増殖に対する各生薬エキスの効果

オウゴンエキスにおいて、活性が強いものとエキス溶液の色が相関していることから、細胞増殖阻害活性と含有成分との相関性が示唆された。実際、質量分析結果と照らし合わせると、バイカレインなどの含有量と相関していることがわかったことから、オウゴンエキスの活性面からの標準化に細胞増殖活性が有用であることが示唆された。

【漢方薬に用いられる薬用植物の官能評価に関する研究】

(1) 色彩計を利用した生薬の色に関する客観的評価

生薬の色を市販の色彩計を利用して客観的に数値で表現することにより、生薬の種類、等級、新旧、特徴的な含有化学成分の多寡などに関する情報が得られると考察した。粉末色に加え、とくに熱水抽出液に一定量の塩化第二鉄試液、水酸化ナトリウム試液を添加した際の色の変化を数値として知るとは生薬の化学的な品質評価にもつながると期待される。塩化第二鉄試液を加えた際の色の変化はフェノール性水酸基の量を反映しており、生薬の化学的品質の評価も可能であることを示唆している。また、表色系には種々あるが、生薬分析には今回利用した色差(Δ値)などを表現することができる $L^*a^*b^*$ 表色系が優れていると考えられる。

(2) 味認識装置を用いた生薬エキスの味覚評価

各品目の生薬はすべて、それぞれの味の要素について一定の範囲の数値を示し、突出して異なる数値を示したサンプルは無かったことから、

各品目の生薬それぞれの味のパターンを表していると考えられる。また、各生薬は品目毎に異なるパターンを示しており、今回実施した条件による測定で、それぞれの品目の生薬熱水抽出エキスが示す独自の味のパターンを表現可能と考えられる。

本研究に用いた各種生薬は、同一品目でも産地や加工法の異なるサンプルが混在していた。加工法が明記されていたニンジンのサンプルについて、生干しニンジンと湯通しニンジンを比較すると、生干しニンジンでは酸性苦味値が大きく、一方で湯通しニンジンでは塩基性苦味後味値が大きい傾向が認められたことから、加工法により、ニンジンが示す苦味の質が異なる可能性が示唆された。

【漢方薬に用いられる薬用植物の生物活性情報並びに副作用情報に関する研究】

「禁忌」、「副作用」については漢方医学的な内容も含めたが、日本漢方の立場での情報は多くはなく、『臨床中薬解説』(医歯薬出版、1996)や、中国で利用されている教科書『実用中医禁忌学』(人民衛生出版社、2009)など、中医学のほうがの情報収集が進んでいるものと考えられた。

【漢方処方構成生薬の水煎出エキス収量に関する研究】

漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベースに実測データを付加する目的で、黄芩、甘草、生姜、蒼朮及び人參に関して、5つの主要生薬メーカーの同規格製品についてエキス収量を比較した。生姜及び人參に関してはメーカー間のばらつきが無視できないほど大きいことが分かった。生姜については、エキス自体の収率が小さく(5社平均8.8%)、しかも揮発性成分

が多いため、わずかなばらつきが大きな数字に反映された可能性も考えられる。一方で、エキスの重量も充分であり、揮発性成分が多いわけでもない人参においてメーカー間のばらつきが大きかったことは、生薬の種類によっては、エキス収量においても、採集と栽培の違い、天候、産地、収穫時期等の違いが反映されるものと思われる。

また、規格化されていない黄芩の生薬原料について、15種類のサンプルのエキス収量を測定したところ、サンプル間の変動係数は16.6%であり、5社の局方規格黄芩における14.1%と比較してほぼ同等な値であった。

E. 結論

漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベースの構築のため、集積された情報を適切に収納し、効率的な検索及び結果表示が可能なデータベースシステムの構築を目的とし、データベースを構成するデータ項目、データベース構造について検討し、システムの構築を行った。現行の薬用植物データベースの構造及びデータを基本骨格とし、新たに大項目として、1) 成分分析データ情報、2) 官能データ情報、3) 内部形態及びさく葉標本情報、4) 資源管理情報、5) 遺伝子の鑑別部位及び基原鑑別に関する情報、6) 植物組織培養物及び効率的増殖法に関する情報、7) 植物体栽培及び植物の効率的生産法に関する情報、8) 生物活性及び副作用情報、9) 漢方処方関連情報を付加した、薬用植物総合データベースのシステム構築を開始した。本年度は特に、成分分析データ情報及び日本薬局方情報について重点的なシステム構築及び重点品目を対象としたデータ入力を行い、総合データベースシステムの基本構造が完成した。また、資源管理情報に特化した資源管理システムについても構築

を行い、資源管理及び、モデル試料管理の体制が整った。

今回コア生薬5品目についてはすべての熱水抽出エキスの作成を終了した。それらサンプルについては成分研究や生物活性などの評価のため関係各所に送付した

LC-MSの検討においては、オウゴンに関しては一部のサンプルにのみみられるピークがあり、それらが今後の産地などの差異を考察するマーカーとなる可能性が示唆されたが、産地情報などにさらなる詳細な情報の提供を各メーカーに要望しているところである。ソウジュツ、ショウキョウについては文献検索ではこれら二品目の成分は主に揮発性成分が多く含まれており、ESIモードでのLC-MS測定ではイオン化が困難な化合物が多いと考えられた。そのためAPCIなどの低極性、揮発性成分を効率よくイオン化ができるイオン化法を採用し再検討する予定である。また精油成分を多く含むショウキョウやソウジュツに関しては熱水抽出以外のアルコール抽出などを次年度以降検討する。

LC-MS-NMRでは、データベースに登録予定である生薬約75種類のデータ取得方法の基本的方向性が確認できた。UV吸収による試料分画が可能である場合には、重水移動相を用いたLC-NMR法でスペクトルを取得可能である。しかし、UV吸収による分画が困難な場合には、分析には軽水移動相を採用し、SPEを用いてNMR測定を行う必要がある。

日本薬局方に規定されている薄層クロマトグラフィーによる生薬の確認試験について、代表的なクロマトグラムを画像データとして集積し、一般に公開するために、生薬の確認試験を日常的に行っている生薬関連会社の担当者を中心とする研究班を組織し、データ収集に際してクロマトグラムの再現性等に関する検討を行った。

クロマトグラムの色の再現性については、色見本を添えてデータを収集することにより、相対的に色の再現性を確保することとしたが、データ公開に際して、その方法に適した補正の方法等を今後更に検討する必要がある。

生薬エキスの近赤外スペクトルは生薬に特徴的な吸収を示し、2次微分スペクトルに主成分分析を適応することで、生薬の確認の可能性が示唆された。

ウィキを用いた協働のための情報基盤のプロトタイプとして、27生薬に関する1600の画像と各種情報からなるデータベースを作成した。また118生薬のLC-MSデータを掲載し、クロマトグラムを自由に閲覧できる仕組みを整えた。

5種類の繁用生薬の遺伝子鑑別に関する情報を整備することを目的にして、現在の日本市場に流通している生薬市場品の遺伝子解析を行い、各生薬の基原種の同定に適する遺伝子領域を次のように明らかにした；ニンジン：18S rRNA 遺伝子及び *tmK* 遺伝子、ショウキョウ：*tmL-F* IGS 領域、オウゴン：*rpl16-rpl14* 領域、カンゾウ：ITS 領域、ソウジュツ：*ITS1* 領域。また、当該領域の解析結果から、5生薬各市場品の基原を明らかにした。

組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備のため、文献情報及び実際の実験で収集するデータ項目、データ内容及び各データの形式の設定を行い、収集した第1コア及び第2コア生薬基原植物に関する文献情報のデータシートへの入力を行った。また、オリジナルデータ取得のための材料が入手できた植物については、組織培養系の誘導を開始した。

栽培技術に関連したデータ項目記入用テンプレートの作成と、カンゾウ、オタネニンジン、ホソバオケラに関する詳細なデータ情報ファイルの作成を行ない、これまでの栽培指針には記

載されていなかった、使用可能な農薬や農業機械、無機成分吸収量、及び部位別の抗酸化活性情報を盛り込んだ。

資源管理情報として、特に種子の発芽と貯蔵条件について、データベース情報のための項目を選定し、各項目におけるデータ情報を収集した。今年度はコガネバナ、ダイオウ、オウレン、ヒナタイノコズチ、オケラ、チリメンアカジソ、ホソバオウギ、ヤマトウキ、ミシマサイコ、ムラサキ及びキバナオウギの11種類について、種子100粒重を測定し、それらにオタネニンジンを加えた12種類の種子の画像を収集した。

外部形態及び内部形態の観察を行った生薬5品目の市場品について、日本薬局方の生薬の性状の記載と大きな相違は見られなかったが、栽培品が多用されることにより従来の野生品だけを対象とした記載を修正する必要がある品目も見られた。従って、写真データベースは、出来るだけ幅広くサンプルを収集し、変異を含んだ形で公開する必要があることが明らかになった。

薬物代謝酵素シトクロームP450 3A4及び2D6に対する阻害活性は、検討した5生薬中、オウゴンがCYP3A4およびCYP2D6阻害活性を示し、カンゾウがCYP3A4阻害活性を示した。また、3種のヒトがん細胞株の増殖試験を行った結果、オウゴンに強い増殖阻害活性が認められ、3種の細胞とも同じような傾向が認められた。

市販の色彩計を利用し、生薬の粉末色、熱水抽出液や各種呈色試液を加えた時の色の変化を、 $L^*a^*b^*$ 表色系にて数値で表現することにより、生薬の品質評価が可能であると判断した。即ち、生薬の基源鑑別、新旧の把握、含有成分の多寡などの情報が得られることが明らかになった。

各品目の生薬エキスサンプルはすべて、それぞれの味の要素について一定の範囲の数値を示

し、突出して異なる数値を示したサンプルは無く、平均値を用いて各品目の生薬それぞれの味のパターンを示すことが可能であった。また、各生薬は品目毎に異なるパターンを示し、今回実施した条件測定で、それぞれの品目の生薬熱水抽出エキスが示す独自の味のパターンを表現可能と考えられた。

コア生薬として選択されているオウゴン、カンゾウ、ショウキョウ、ソウジュツ、ニンジンと、それらが配合される漢方処方として小柴胡湯、芍薬甘草湯、六君子湯、補中益気湯について、「臨床に応用出来る生物活性」、「禁忌」、「副作用」、「好ましくない薬物相互作用」について、190の書籍または文献を引用して取りまとめを行った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

原著論文

- 1) Tanaka K., Ina A., Hayashi K., Komatsu K.: Comparison of Glycyrrhizae Radix from various sources using a multivariate statistical approach. *J. Trad. Med.* 27 210-216 (2010).
- 2) Tanaka K., Hayashi K., Fahad A., Arita M.: Multi-stage mass spectrometric analysis of saponins in Glycyrrhiza radix. *Nat. Prod. Comm.*, 6, 7-10 (2011).
- 3) Horai H, Arita M, Kanaya S, Nihei Y, Ikeda T, Suwa K, Ojima Y, Tanaka K, Tanaka S, Aoshima K, Oda Y, Kakazu Y, Kusano M, Tohge T, Matsuda F, Sawada Y, Hirai MY, Nakanishi H, Ikeda K, Akimoto N, Maoka T, Takahashi H, Ara T, Sakurai N, Suzuki H, Shibata D, Neumann S, Iida T,

Tanaka K, Funatsu K, Matsuura F, Soga T, Taguchi R, Saito K, Nishioka T "MassBank: a public repository for sharing mass spectral data for life sciences" *Journal of Mass Spectrometry* 45(7), 703-714 (2010).

4) Mareshige Kojoma, Shigeki Hayashi, Toshiro Shibata, Yutaka Yamamoto, Haruo Sekizaki: Variation of glycyrrhizin and liquiritin contents within a population of 5-year-old licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) plants cultivated under the same conditions. *Biol. Pharm. Bull.*, (submitted).

単行本

- 1) 柴田敏郎：“センキュウ、シャクヤク、トウキ、作物学大系 第7巻”、朝倉書店 (印刷中).
- 2) 菱田敦之、柴田敏郎：“オタネニンジン、作物学大系 第7巻”、朝倉書店 (印刷中).
- 3) 林茂樹、柴田敏郎：“カンゾウ、作物学大系 第7巻”、朝倉書店 (印刷中).

2. 学会発表

- 1) 洵野裕之、高橋 豊、赤木謙一、合田幸広、川原信夫：薬用植物総合データベース構築のための基盤整備に関する研究 —オウゴン国内流通品の成分比較について (その1). 日本薬学会 131 年会 (2011, 3, 28-31, 静岡)
- 2) 天倉吉章、洵野裕之、好村守生、合田幸広、吉田隆志、川原信夫：薬用植物総合データベース構築のための基盤整備に関する研究 —オウゴン国内流通品の成分比較について (その2). 日本薬学会 131 年会 (2011, 3, 28-31, 静岡)
- 3) 田中謙、有田正規、「和漢薬 Wiki データベースの構築とその応用」、MS インフォマテイクスワークショップ、2011.3. 富山
- 4) Arita M, Tanaka K, Shibahara N, Yoshimoto M, Kanaya S “Database for crude drugs and Kampo

medicines” Proceedings of JSBi 2010, Fukuoka.

5) 袴塚高志、漢方製剤の品質確保と標準化～安心できる医療と質の高い基礎研究のために～、第13回天然薬物研究方法論アカデミー 覚王山シンポジウム、2010年8月22日(名古屋)

6) 堂井美里、御影雅幸：生姜の修治に関する研究(1)－加熱処理による色彩の変化－(日本薬学会、2011.3.31、静岡)。

7) Toshiro Shibata, Shigeki Hayashi, Atsuyuki Hishida: Cultivation Studies and Breeding For Sustainable Supply of Crude Drugs with Stable Quality, International Symposium on Standardization of Traditional Medicine, (2010, 11. 17, Toyama).

8) Nobuo Kawahara: Research on Construction of Integrated Information Database of Medicinal Plants Using for Kampo Medicines. International Symposium on Standardization of Traditional

Medicine, (2010, 11. 17, Toyama).

9) Nobuo Kawahara: Project of Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institute of Biomedical Innovation, Japan. Tokyo Forum on International Standardization of Natural Medicines (2011, 1. 18, Tokyo)

10) 菱田敦之、柴田敏郎：生薬「半夏」の加工調製法に関する研究、日本生薬学会第57回年会、講演要旨集 p 292 (2010年9月24日、徳島)。

11) 柴田敏郎：北海道研究部における薬用植物栽培研究について、薬用植物フォーラム 2010、講演要旨集 pp 25-30 (2010年7月13日、つくば)。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1) 菱田敦之、柴田敏郎：生薬およびその製造法、特願 2010-114052 (2010年5月18日)。

平成22年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベース構築のための
基盤整備に関する研究（H22-創薬総合-一般-013）
分担研究報告書

分担研究課題：データベース構築及び遺伝子鑑別情報に関する研究

総合情報データベース構築に関する研究

研究分担者（独）医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 筑波研究部
研究員 河野 徳昭

漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベースの構築のため、集積された情報を適切に収納し、効率的な検索及び結果表示が可能なデータベースシステムの構築を目的とし、データベースを構成するデータ項目、データベース構造について検討し、システムの構築を行った。本年度は、現行の薬用植物データベース収載の情報を移行するとともに、成分分析データ情報及び日本薬局方情報について重点的にデータベース構築、データ登録を行い、総合情報データベースの骨格構築が完了した。

A. 研究目的

独立行政法人 医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター（以下、センター）は、筑波（茨城県つくば市）、北海道（北海道名寄市）、種子島（鹿児島県熊毛郡中種子町）の3研究部を擁し、植物体約4,000点、種子約13,000点に加え、生薬標本、さく葉標本、無菌培養物、遺伝子クローンなど様々な形態の種々の薬用植物資源を収集、保存している。また、優良な種苗の提供や、諸外国の研究機関との種子交換業務をはじめとする、保有資源の提供も積極的に行っている。

センターでは、希少資源を数多く含むこれらの膨大な資産のより積極的な活用並びに高度利用化を進めるため、保有資源に情報を付加し活用する基盤整備の一手法として、第一期5カ年の中期目標のひとつに「薬用植物等の積極的な収集、保存、確実な情報整備及

び行政的要請への正確な対応を行う」という目標を掲げ、これを実現するため、「センター保有の重要な薬用植物等100種につき、その特性、成分、生物活性等の情報をデータベース化し公開する」という中期計画を設定した。2005年より重要薬用植物約100種について、テキストデータ、写真データの収集ならびにデータベースシステムの構築を行い、2010年3月31日よりインターネット上で一般公開を開始した。本データベースには、重要な薬用植物及び生薬の基本情報に加え、栽培指針に収載された情報をベースとした栽培法に関する情報、そして種子から植物の成長・収穫、生薬の調製に至る、のべ約1,300点の豊富な写真データが収載されている。これは、薬用植物、生薬、そして栽培に関する情報が相互参照可能な形式で収載された、初のデータベースであり、公開開始から10カ月

でのべ4,000件のアクセスがあり、検索サイトでも検索結果のトップに表示されるなど、薬用植物に関するデータベースとして一般へも広く認知されるようになっている。

近年、代替医療としての漢方薬あるいは生薬への関心はさらなる高まりを見せているが、一方で、生薬の国内自給率は低く、最近では、生薬資源は“第二のレアアース”とまで言われるようになっている。このような情勢のなか、生薬の品質の確保、漢方製剤原料となる貴重な遺伝資源の確保及び維持のためには、漢方薬の品質、有効性に関する詳細な情報の収集及び、原料植物の効率的増殖法の確立及び普及が危急の課題であり、これらを具現化するために、現行の薬用植物データベースをさらに発展させ、文献データに加え、生薬市場流通品に関する実測データを収載した、薬用植物の総合情報データベースとして整備することとした。

本研究においては、前述の現行薬用植物データベースの構造を基本骨格とし、図1に示すように、1) 成分分析データ情報 (TLC写真, HPLCチャート及び主要成分NMRデータ等)、2) 官能データ情報 (味、におい、色)、3) 内部形態及びさく葉標本情報、4) 資源管理情報、5) 遺伝子の鑑別部位及び基原鑑別に関する情報、6) 植物組織培養物及び効率的増殖法に関する情報、7) 植物体栽培及び植物の効率的生産法に関する情報、8) 生物活性及び副作用情報、9) 漢方処方関連情報 (エキス情報、食薬区分情報) のデータを付加した、総合的薬用植物データベースの構築を行った。

B. 研究方法

漢方薬に使用される薬用植物の総合データ

ベースの構築

現行データベースは、植物情報、生薬情報、植物特性、成育に関する特性、文献情報、写真ライブラリーから成る。薬用植物総合データベース (以下、総合データベース) の構築においては、現行のFilemakerで構築されたデータベースの構造を骨格とし、これに以下の大項目を加える。1) 成分分析データ情報 (TLC写真, HPLCチャート及び主要成分NMRデータ等)、2) 官能データ情報 (味、におい、色)、3) 内部形態及びさく葉標本情報、4) 資源管理情報、5) 遺伝子の鑑別部位及び基原鑑別に関する情報、6) 植物組織培養物及び効率的増殖法に関する情報、7) 植物体栽培及び植物の効率的生産法に関する情報、8) 生物活性及び副作用情報、9) 漢方処方関連情報 (エキス情報、食薬区分情報)。

上記各大項目の担当者に必要と考えられるデータ項目の設定を依頼し、これを取りまとめ、テーブルとテーブルの関連をあらわすER図 (Entity Relationship Diagram) を作製し、これに基づいてデータベース構築を行った。

なお、食薬区分情報は薬用植物基本情報に、追加し、また、薬局方情報を生薬基本情報に追加することとした。

また、総合データベースでは、既存の薬用植物データベースに含まれる生薬や植物の学術情報に加え、国内流通生薬のモデル試料の成分分析データ、遺伝子情報、官能データ、生物活性および副作用情報等を扱うため、これらを登録可能なシステムの設計を行った。

上記大項目のうち、成分分析データについては本データベースにおける最重要データと位置付け、本年度よりTLCの写真、HPLCのチャート、NMRによる主要成分の構造情報や、質量分析データ (MS) の閲覧・検索シ

システムを構築した。また、日本薬局方情報の確認試験法、定量法等の情報の登録も本年度行った。資源管理情報については後述のとおり別途開発を行った。

プロジェクト全体の年次計画を図2に示す。

重点データ収集生薬の選定及び市場流通モデル生薬の収集

漢方処方へ配合される頻度の高い重要度の高い生薬[漢方製剤生産量（平成16年）の90%以上を占める漢方処方44処方に配合される重要生薬75種]を中心に重要生薬を選定し、国内の生薬取り扱い企業より市場流通品の提供を受け、モデル生薬とした。

薬用植物資源管理システムの構築

総合データベースの大項目「資源管理情報」については、①センターの保有する種子、植物体等の薬用植物資源全般の資源管理、②種子交換業務の管理、③総合データベースで使用する生薬モデル試料の管理、を行うための、センター内部での使用を主としたデータベース・在庫管理システムとして、薬用植物資源管理システム（以下、資源管理システム）の構築を行った。

①については、保存種子約13,000点、植物体約4,000点について、現行の導入番号管理システムの機能及びデータを移植し、新たにバーコード管理システムを導入した。②については、現行の種子交換業務システム（Filemaker）の機能及びデータを移植した。③については、生薬モデル試料の各社からの提供情報、各研究拠点への払い出し情報、モデル試料より調製したエキスに関する在庫情報を管理するシステムを構築した。

本資源管理システムについては、総合デー

タベースで使用する各社より提供を受けたモデル試料の効率的な管理のため、総合データベースシステムに先駆けて運用を開始する必要があったため、別途、開発を開始し、Access (Microsoft)で構築を行った。

データベースシステム・セキュリティ

現行の薬用植物データベースに含まれる内容に加え、新たに成分分析データ、遺伝子情報、生物活性、官能データ等、幅広い情報を網羅した、高度なデータベースシステムに拡張していくこと、さらには、データ間の関連性保持や定期的なデータメンテナンスに耐えうる持久性等を考慮し、MySQL リレーショナルデータベースでデータを管理する方針とした。

また、近い将来、研究者のみならず漢方に関心を持つ多くの一般ユーザがインターネット上で使用するシステムを構築することを考慮し、SQLインジェクションやクロスサイト・スクリプティング等の攻撃にあわないようなセキュリティ面を考慮したシステム開発を進めている。

サーバ構成についてはWebサーバとデータベースサーバをわけ、データを管理するデータベースサーバは医薬基盤研究所のFireWall の中に配置することで、インターネットから直接攻撃を受けないような構成とした。

本データベースの構築は高度な専門性が要求されるため、開発は株式会社富士通九州システムズ（福岡県福岡市）に委託した。

C. 研究結果

重点データ収集生薬の選定及び市場流通モデル生薬の収集

漢方処方へ配合される頻度の高い重要度の高い生薬を中心に、計75品目を重要生薬として選定した(表1)。このうち、とくに、重要度が高いと考えられる重点品目として、最優先データ収集品目5品目(オウゴン、カンゾウ、ショウキョウ、ソウジュツ、ニンジン)、優先データ収集品目15品目(オウレン、ゴシツ、ビャクジュツ、ブクリョウ、マオウ、ダイオウ、シャクヤク、トウキ、センキュウ、サイコ、ケイヒ、サンシシ、ジオウ、ソヨウ)の合計20品目を選定した。

上記の重点品目について、国内製薬企業より市場流通品の提供を受け、モデル生薬として資源管理システムのモデル試料管理システムに順次登録を行った。

本年度は重点品目20種の生薬について、のべ203検体が収集された。

総合データベースの設計及び構築

現行の薬用植物データベースよりデータを移行する、薬用植物基本情報、形態的特徴、生態的特徴、成育特性、生薬基本情報、写真ライブラリー、文献情報の各大項目については、現行データベースより移植が完了した。

新規に追加する、1) 成分分析データ情報、2) 官能データ情報、3) 内部形態及びさく葉標本情報、4) 資源管理情報、5) 遺伝子の鑑別部位及び基原鑑別に関する情報、6) 植物組織培養物及び効率的増殖法に関する情報、7) 植物体栽培及び植物の効率的生産法に関する情報、8) 生物活性及び副作用情報、9) 漢方処方関連情報の各大項目については、各項目の担当者によりデータ項目の設定がほぼ完了した。

また、モデル試料の実測データを登録する項目についても設計が完了した。これらを反

映したデータベースの遷移図を図3に示す。

今年度はとくに、成分分析データ情報について重点的にシステム構築を行い、TLC写真、HPLCチャート、NMRによる主要成分の構造情報や、質量分析データ(MS)の閲覧・検索システム構築が完了した。また、重要生薬20種について、日本薬局方情報の確認試験法、定量法に関する情報の登録が完了した。

以下に、構築した総合データベースシステムの概要を述べる。なお、資源管理情報に特化した管理システムについては、後述する。

薬用植物データベースシステム概要

今年度開発したシステムの主な機能は以下のとおり。

- ① ログイン機能：ユーザ認証を行う。今年度開発したデータベースシステムは、研究拠点からのみ閲覧可能であるため、ログイン認証によるアクセス制限をかけることにより、セキュリティを考慮した。
- ② 生薬データの検索：生薬名、基原植物、漢方処方、化合物データを対象に部分一致のキーワード検索ができる。
- ③ 生薬データの参照：生薬名、基原植物、使用部位、写真等の情報を参照することができる。また、日本薬局方の確認試験法、定量法に関する情報を参照することができる。
- ④ モデル試料データの参照：モデル試料生薬の実測データを参照することができる。
- ⑤ 成分分析データの参照：モデル試料で行ったLC-MS, GC-MS等の成分分析データや、モデル生薬について測定したNMRデータを参照することができる。また、基原・産地の異なるモデル試料の