

有用植物種を将来的に創薬原料として利用可能な体制を整えるために大変重要な手段である。

## B. 研究方法

当センターの各研究部において、2009年末に各研究部周辺で収集した野生植物種子、あるいは圃場や標本園などで栽培した栽培植物種子を採取し調整後、筑波研究部に収集した。その後リストを作成しIndex Seminum 2010を作成した。送付機関は62か国397機関であり、その後の種子請求に応じ種子を郵送した。また外国機関から送付されてきたIndexSeminumを当センターの請求希望種子品目に沿って請求し、種子を導入した。それらのほぼすべてをスチロール瓶に封入後、資源保存棟で-1℃条件（長期保存室）にて保存を行った。

## C. 研究結果

外国からの種子請求では、種子請求総数1184点（昨年度1616件）、種子送付総数1147点（昨年度1455件）、種子請求機関数81機関（昨年度102機関）であった。また種子リスト交換国数は62カ国、種子リスト交換機関数397機関（昨年度395機関）であった。

当センターからの外国機関に対する種子請求では、種子導入機関数124機関、種子等導入数1573点（昨年度696点）であった。導入した種子類の内訳は、オトギリソウ(Hypericum)属315点、ケシ(Papaver)属199点、ゲンゲ(Astragalus)属87点、ミシマサイコ(Bupleurum)属65点などを含む合計1573を導入した。そのうち種子は1534点、種子以外（栄養体など）は37点であった。さらに21年度に採取した野生種子55点を研究・保存用として資源保存棟の-1℃（長期保存室）に貯蔵した。

## D. 考察

今年度の外国への種子送付件数を国別にまとめたグラフを示した。もっとも送付件数が多いのはロシアであり、ついでドイツである。全体の8

割以上をヨーロッパが占めており、ヨーロッパ各国がハーブなどの薬用植物に関する先進国であり積極的に導入を図っていることが伺える。

昨年度に比較して導入した種子数は倍以上であった。これは今回の種子請求において、Hypericum属、Papaver属、Bupleurum属など属での収集を進めた結果であり、多くの機関において

IndexSeminumに記載があったためすべて請求を行った。独立行政法人医薬基盤研究所は平成21年度で第1期中期計画が終了し、22年度からは第2期に入ったことから今後は量から質への変換が求められる。次年度からは請求品目を大幅に変え、業界団体より保存要請がある有用種や絶滅の危惧があるような貴重種などに重点をおいた請求を行う予定である。

## E. 結論

昨年度に比較し今年度は多くの種子の導入が図られた。しかし問題点としては、Papaver属の導入の際に成田税関において*P. somniferum* および*P. setigerum*、*P. bracteatum*などの規制種が差し止めになってしまうことである。独立行政法人という現在の立場ではこれら規制植物の導入は困難になり、今後はこれらの導入はあきらめざるを得ない。また今後の方針としては、請求種子に関しては業界団体の保存要望の強い植物種の種子を積極的に導入する予定である。現在植物種は環境の変化に伴い急激に減少しているが、生薬の今後の安定供給を目指すためには植物種子を保存し定期的に生産し種子を更新していく必要がある。その基盤整備のための種子保存の体制構築が重要であることは言うまでもないことである。

F. 健康危険情報

本研究において健康に危険を及ぼすような情報は無い。

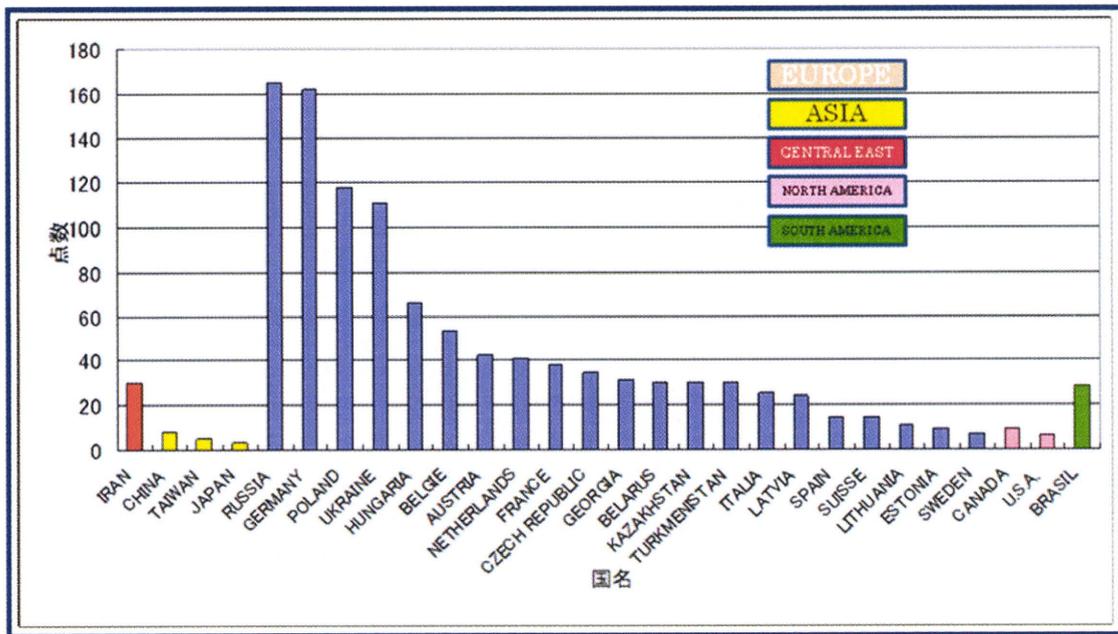
G. 研究発表

- 1. 論文発表
  - 2. 学会発表
- なし

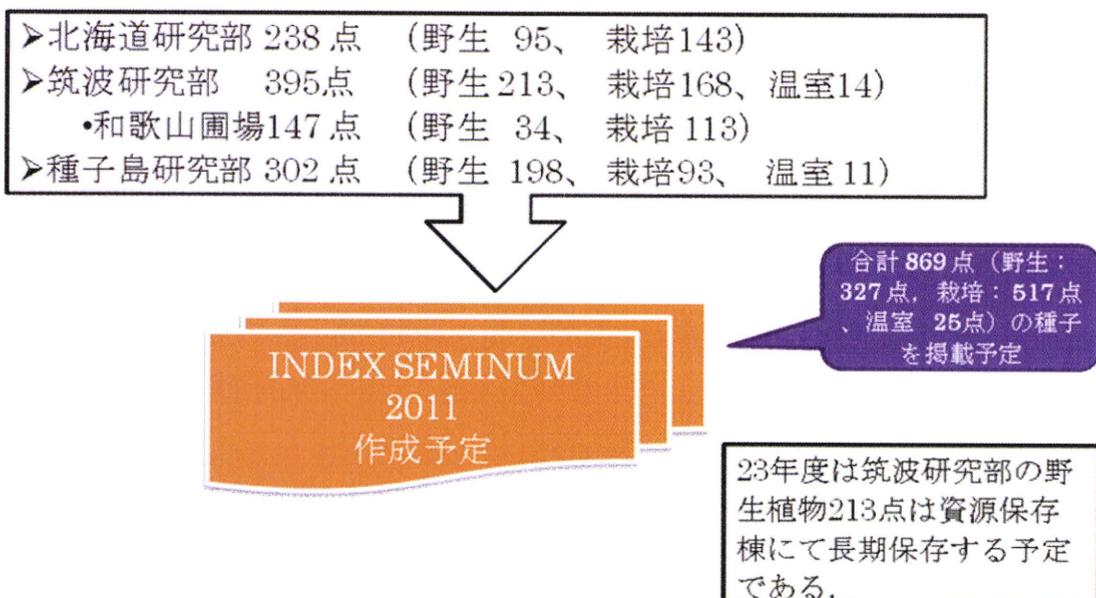
H. 知的所有権の取得状況

- なし
- 2. 実用新案登録
- なし
- 3. その他
- なし

種子交換国別送付点数 (2010)



2011年種子交換業務にむけた2010年の各研究部の採種状況



## 2010 種子交換実績について

種子請求総数	1184点 (昨年度1616件)
種子送付総数	1147点 (昨年度1455件)
種子請求機関数	81機関 (昨年度102機関)
種子リスト交換国数	62カ国
種子等導入数	1573点(仮集計) (昨年度696点)
種子リスト交換機関数	397機関 (昨年度395機関)
種子導入機関数	124機関

### 外国資源導入点数内訳

外国資源導入点数	1573点
種子	1534点
種子以外 (栄養体など)	37点

(\* 一部シダについては含めず)

分担研究報告書

漢方処方配合生薬の安定供給及び持続的品質保持における国際標準化に関する研究

分担研究課題；生薬「ボウコン」の成分に関する研究

研究分担者 中根 孝久 昭和薬科大学 講師

研究要旨 生薬「ボウコン」は日本薬局方第15改正に記載され、トリテルペノイド及びフィトステロールに基づく Lieberman-Burchard 反応が確認試験に適用されている。近年、日本市場に多くの中国産ボウコンが流通するようになり、確認試験の対象として考えられていた *cylindrin*, *arundoin* などトリテルペノイドメチルエーテルが検出されない場合があり、その基原に疑問が持たれた。そこで、入手可能な中国産ボウコンと日本産ボウコンについて成分検討を行った。

A 研究目的

チガヤ, *Imperata cylindrica* Beauv. はイネ科 (Gramineae) に属する多年生草本でアジア亜熱帯に分布している。根茎の細根及び鱗片葉をほとんど除いたものを「ボウコン」と呼び、第15改正日本薬局方に記載されている。本生薬の成分として, *cylindrin* (1), *arundoin* (2), *simiarenol* (3), *isoarborinol* (4), *fernenol* (5) などのトリテルペノイドが報告されており、これらトリテルペノイド及びフィトステロールに基づく Lieberman-Burchard 反応がボウコンの確認試験に適用されている。トリテルペノイド以外の成分としては, *cylindrene*, *cylindol A, B*, *graminone A, B*, *imperanene* などが報告されている。近年、日本市場に出回るボウコンは中国産に取って代わられた。中国産ボウコンは白茅根とされ, *I. cylindrica* var. *major* を基原とし, 1, 2 を含むとされる。しかし、日本に流通するボウコンは薄層クロマトグラフィー (TLC) で 1, 2 のスポットが検出されない場合があり、その基原に疑問が生じた。中国産ボウコンと日本産ボウコンの内部形態を検討した結果、明確な差異は認められなかった。中国産ボウコンの原植物を入手する事ができな

いため、トリテルペノイド成分を日本産ボウコンと比較する事により、日本市場に出回る生薬ボウコンを化学的に検証する事を目的に研究を行う。前述のようにトリテルペノイド、特にメチルエーテル体で含有される 1 や 2 に注目し、産地の判明している中国産ボウコンと原植物の入手可能な日本産ボウコンについて成分検討を行う。

B 研究方法

中国産ボウコンは既に生薬として調整されたものを産地別に四川省産、雲南省産、広西省産の3種類を入手し、試料とした。

日本のチガヤは、花期が早く(4~5月)、開花稈に節毛の無いケナシチガヤ *I. cylindrical* var. *koenigii* f. *pallida* と花期が遅く(5~6月)、開花稈に節毛のあるフシゲチガヤ *I. cylindrical* var. *koenigii* の2変種が自生していることが最近報告された。そこで両者を区別して採集し、生薬ボウコンを調整し、試料とした。

中国四川省産ボウコン (A; 2.0 kg), 中国雲南省産ボウコン (B; 800 g), 中国広西省産ボウコン (C; 5.0 kg) 及び日本産ケナシ型ボウコン (D; 1.0 kg, E; 5.8 kg),

フシゲ型ボウコン (F; 1.8 kg) を *n*-hexane で抽出してそれぞれのエキス A (8.3 g), B (4.6 g), C (30.6 g), D (2.7 g), E (11.9 g) 及び F (3.0 g) を得た。得られたエキスはそれぞれシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Silica gel CC) に付し, *n*-hexane — benzene — ether — methanol の溶媒系で順次極性をあげながら分離を行った。さらに硝酸銀シリカゲル CC, アルミナ CC, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) などの各種クロマトグラムを繰り返し行い, 単離精製を行った。得られた化合物は, 質量分析 (LR-MS, HR-MS) や核磁気共鳴 (NMR) スペクトル, 赤外吸収 (IR) スペクトルなどの分光機器の詳細な解析を行った。既知化合物は <sup>1</sup>H-NMR のデータを標品と比較することにより同定した。新規化合物については, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, LR-MS で構造を推定した後, 構造を確定するために HSQC, HMBC, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 及び NOESY など 2次元 NMR の詳細な解析を行った。

### C 研究結果

中国産ボウコン3種 (A, B, C) 及び日本産ボウコン3種 (D, E, F) より 14-epiarborane 骨格 3種, 14-epiarbor-7-en-3 $\beta$ -ol (**16**), 14-epiarbor-7-en-3-one (**17**), 14-epiarbor-7-en-3 $\beta$ -yl formate (**18**), impallidane 骨格 6種, impallidin (**19**), impallidin ozonide A, B (**20a**, **20b**), impallidol (**21**), trisnorimpallidin aldehyde (**22**), tetranorimpallidin aldehyde (**23**), adiantane 骨格 2種, simiarenyl formate (**24**), 3-episimiarenyl formate (**25**), 計 11 種の新規トリテルペノイド(図1) 及び既知化合物 16 種(図2) の構造決定または同定した。

新規化合物 **20a**, **20b** は **19** の ozonide であることを証明するために **19** をオゾンで処理したところ低収率ではあるが **20a**, **20b** を得たことで, 構造を確定した。

### D 考察

生薬ボウコンはチガヤの根茎から製せられるが, トリテルペノイド成分を研究した結果, 材料により含有トリテルペノイドに差違が認められた。この事はボウコンの基原植物が単一でない事を示している。そこでトリテルペノイド成分に注目して, チガヤのケモタキソノミー的考察を行なった。産地別に含まれるトリテルペノイドを Table 1 にまとめた。

Table 1 に示したように中国産ボウコン (A, B, C) は全て 14-epiarborane 骨格のトリテルペノイドを含んでいた。日本産ケナシ型ボウコン E においても痕跡量単離されたが, 中国産ボウコンにおいては, 14-epiarborane 骨格のトリテルペノイドがアルコール体, ケトン体として多量含まれており, これらのトリテルペノイドが中国産ボウコンの特徴成分であると言える。

一方, 日本産ケナシ型ボウコン (D, E) においては, 両者ともに impallidane 骨格のトリテルペノイドを含んでいた。Impallidane 骨格のトリテルペノイドは中国産および日本産フシゲ型ボウコンから検出されないことから, ケナシ型ボウコンの特徴成分である。また, arborane 骨格はケナシ型ボウコンから検出されなかった。日本産フシゲ型ボウコンからは glutinane 骨格, lupane 骨格のトリテルペノイドが検出された。日本産フシゲ型ボウコンからは, 本研究で構造決定された新規骨格 14-epiarborane および impallidane 骨格のトリテルペノイドは認められなかったが, 成分的に中国産ボウコン, 日本産ケナシ型ボウコンと異なっており, かつてチガヤから製したボウコンから報告されているトリテルペノイドと殆ど同一であったので, 従来日本のボウコンの基原植物はフシゲチガヤと結論できる。

1. 中国産ボウコンは 14-epiarborane 骨格のトリテルペノイド成分を有し, その基原は *I. cylindrica* var. *major* である。

2. 日本産ケナシ型ボウコンは **impallidane** 骨格のトリテルペノイド成分を有するが, **arborane** 骨格のトリテルペノイド成分は有さない. 基原植物はケナシチガヤ *I. cylindrica* var. *koenigii* f. *pallida* である.
3. 日本産フシゲ型ボウコンは **arborane** 骨格, **fernane** 骨格のトリテルペノイドを有するが, **14-epiarborane**, **impallidane** 骨格のトリテルペノイドは有さない. 基原植物はフシゲチガヤ *I. cylindrica* var. *koenigii* である.

#### E 結論

本研究の結果, 以下に示す事を明らかにした.

1. 中国産ボウコンより, 新規骨格 **14-epiarborane** 骨格誘導体 **14-epiarbor-7-en-3 $\beta$ -ol (16)**, **14-epiarbor-7-en-3-one (17)**, **14-epiarbor-7-en-3 $\beta$ -yl formate (18)** を単離し, その構造を決定した.
2. 日本産ケナシ型ボウコンから, 新規骨格 **impallidane** 骨格誘導体 **impallidin (19)**, **impallidin ozonide A, B (20a, 20b)**, **impallidol (21)**, **trisorimpallidin aldehyde (22)**, **tetra-norimpallidin aldehyde (23)** を単離し, その構造を決定した. また, 同ボウコンより新規化合

物 **simiarenyl formate (24)**, **3-episimiarenyl formate (25)** を単離し, その構造を決定した.

中国産ボウコン (A, B, C), 日本産ケナシ型ボウコン (D, E), 日本産フシゲ型ボウコン (F) のトリテルペノイド成分の違いを明らかにし, その基原植物との関係を明らかにした. その結果, 生薬ボウコンは少なくとも 3 種あるいは変種の *Imperata* 属植物を基原としている事を明らかにした.

#### F 健康危機情報

なし

#### G 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### H 知的所有権の取得情報

なし

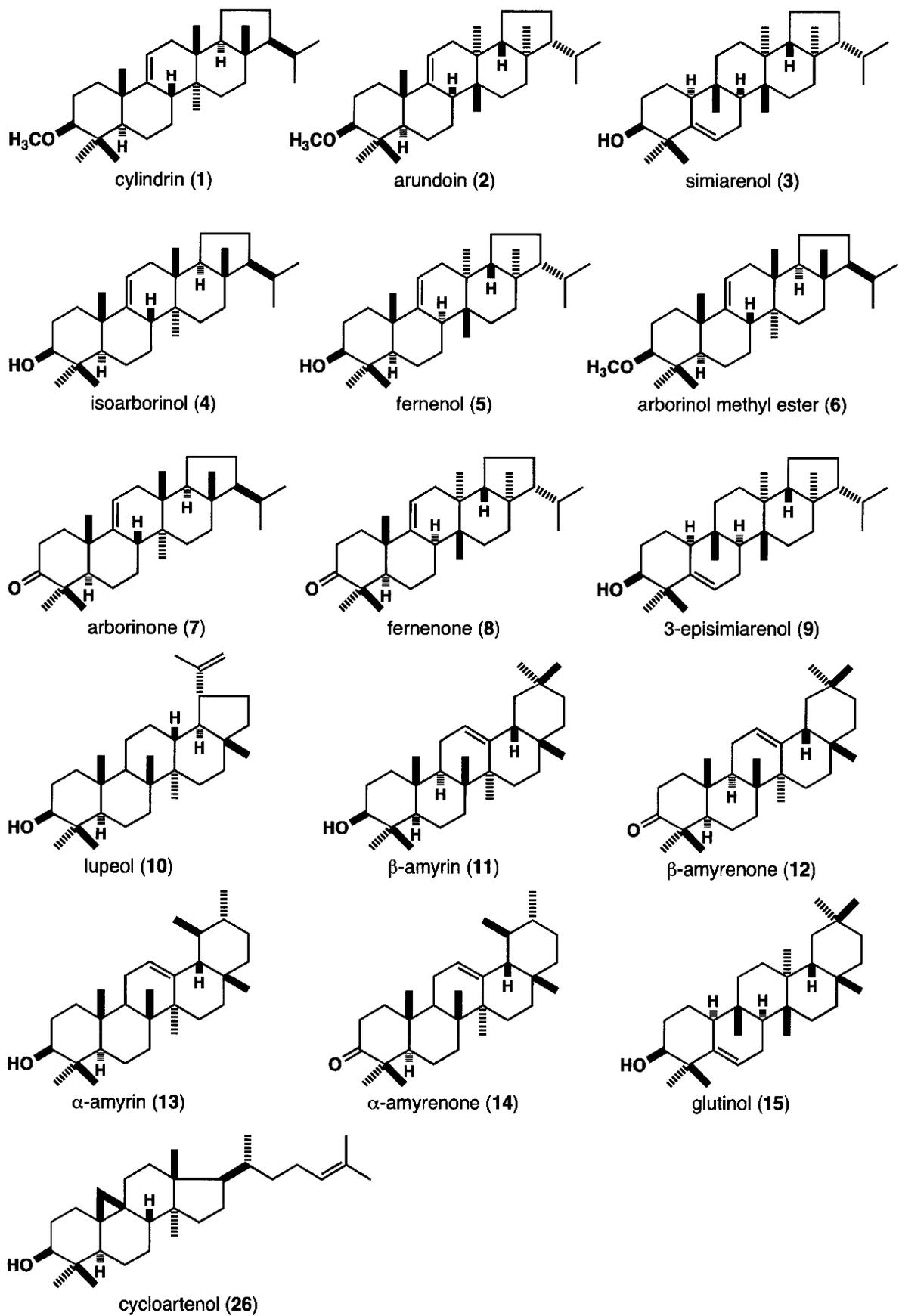


図1 ボウコンから単離された既知トリテルペノイド

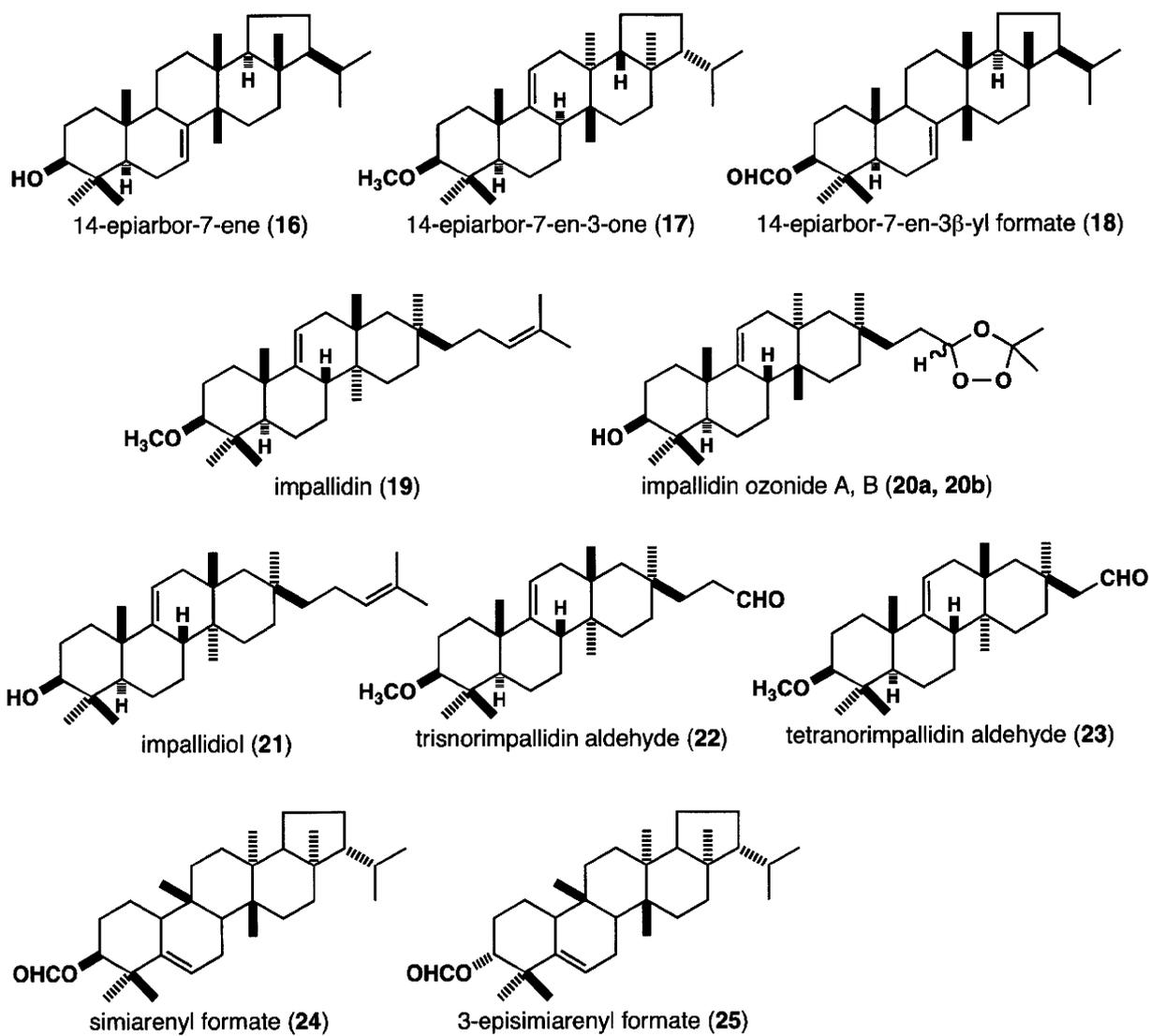


図2 ボウコンから単離された新規トリテルペノイド

Table 1. Triterpenoids detected in *Imperata* rhizome

	A	B	C	D	E	F
fernane <b>(2, 5, 8)</b>	×	○	○	○	○	○
arborane <b>(1, 4, 6, 7)</b>	○	○	○	×	×	○
14-epiareborane <b>(16, 17, 18)</b>	×	×	×	○	△	×
impallidine <b>(19, 20a, 20b, 21, 22, 23)</b>	×	×	○	×	○	×
oleanane <b>(1, 4, 6, 7)</b>	×	×	○	×	○	×
ursane <b>(13, 14)</b>	×	×	○	×	○	×
glutinane <b>(15)</b>	×	×	×	×	×	○
lupane <b>(10)</b>	×	×	×	×	×	○
adianane <b>(3, 9, 24, 25)</b>	×	○	×	×	○	×
cycloartane <b>(26)</b>	×	×	×	×	○	×

○ : Detect, △ : Trace (&lt;0.1 mg), × : Not Detect

分担研究報告書

漢方処方配合生薬の安定供給及び持続的品質保持における国際標準化に関する研究

分担研究課題：キク科タンポポ亜科植物のトリテルペノイドの探索

研究分担者 篠崎 淳一 昭和薬科大学 助教

研究要旨 アキノノゲシ新鮮根のヘキサンエキスから分離したトリテルペノイドアセテート分画の成分を精査し、新規転位型ルパン系トリテルペノイド 1 種 (lactucenyl acetate), 既知化合物 6 種の計 7 種を単離同定あるいは構造決定した。

A 研究目的

特定の植物成分の生合成を明らかにするには含有される成分の詳細について認識することが前提とされる。

キク科タンポポ亜科植物の植物化学的研究から、本植物群が構造多様性に富むトリテルペノイド化合物群を生産することが明らかとなっている。タンポポ亜科植物にはルパン、オレアナン、ウルサン系トリテルペノイドが共通に含まれているが、カンサイタンポポの転位型ルパン、コウゾリナのガンマセラン骨格など種特異的なトリテルペノイドも多く報告されている。

新規骨格を含む多様なトリテルペノイドを含有するタンポポ亜科植物はトリテルペノイドライブラリーを構築する上で有用な植物群であり、その後の生理活性スクリーニングの基盤研究に位置づけられる。また、これまで成分研究が行われてきたタンポポ

亜科植物はフィールドから採集されたものであり、栽培、育種が確立していない状況を鑑みると現在の生育場所を現状のまま維持することが重要である。植物化学的研究により、研究対象植物が医薬品シード化合物としての可能性を有する二次代謝産物の供給源であることを示すことは、これら植物を取り巻く環境の保全を喚起するためのアプローチのひとつであると思われる。

今年度はキク科タンポポ亜科植物トリテルペノイド成分探索の一環として、アキノノゲシ *Lactuca indica* L. のトリテルペノイド成分の精査を行った。

B 研究方法

アキノノゲシの新鮮根 (2.0 kg) から調製したヘキサンエキス (8.0 g) をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付した。ヘキサン、ヘキサン-ベンゼン (8:2)、ベンゼン、

ベンゼン-ジエチルエーテル (9:1), ジエチルエーテルと順次極性を上げて分取し, 8分画 (L1~L8) を得た. トリテルペノイドアセテート分画 (L3, 3.1 g) を 20%硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, ヘキサン-ベンゼン (8:2) で溶出し 3分画 (L3-1~L3-3) を得た. 分画 L3-1 (1.3 g) をアセトンで再結晶をくり返すことにより,  $\beta$ -amyrin acetate (425 mg),  $\alpha$ -amyrin acetate (418 mg), bauerenyl acetate (95 mg), germanicyl acetate (46 mg) を得た. ろ液に残った成分を逆相 HPLC により分離し, lactucenyl acetate (19 mg) を得た. 分画 L3-2 および L3-3 をアセトンあるいはメタノールで再結晶を行い, 各々の分画から taraxasteryl acetate (135 mg) および lupenyl acetate (141 mg) を得た.

### C 研究結果

アキノノゲシ新鮮根のヘキサンエキスから分離したトリテルペノイドアセテート分画の成分を精査し, 新規化合物 1 種 (lactucenyl acetate, 図), 既知化合物 6 種 ( $\beta$ -amyrin acetate,  $\alpha$ -amyrin acetate, bauerenyl acetate, germanicyl acetate, taraxasteryl acetate, lupenyl acetate) の計 7 種を単離同定あるいは構造決定した. 新規化合物の構造は各種 NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT135, HSQC, HMBC,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, NOESY), EI-MS, IR を解析することにより決定した.

新規化合物の構造解析を行っている際に, 我々が 1981 年にカンサイタンポポから新規化合物として単離, 構造決定した

tarolupenyl acetate の構造式が誤っていることに気がついた. そこで, tarolupenyl acetate の構造を詳細に再解析し, その構造を lup-19(21)-en-3 $\beta$ -yl acetate (図 1) であることを明らかにした.

### D 考察

アキノノゲシ新鮮根のトリテルペノイドアセテート分画にはルパン, オレアナン, ウルサン系化合物が含有されることが明らかとなった. ルパン系トリテルペノイドは比較的分布が限られており, 植物界に広く分布するオレアナン系トリテルペノイドとは対照的である. 特に, 転位型ルパンは報告例が少なくキク科の 2 属 (*Lactuca* 属 (本研究), *Taraxacum* 属) 以外に 3 科 4 属に分布するのみである. キク科タンポポ科植物の中には転位型ルパン系トリテルペノイド生産能を有する植物が存在することが明らかとなったが, *Ixeris* 属や *Picris* 属からは検出されていない. 今後, 研究を継続することにより, 系統分類と二次代謝産物生産能の関係を明らかにしていく必要があると思われる.

### E 結論

キク科タンポポ科植物トリテルペノイド成分探索の一環として, アキノノゲシ *Lactuca indica* L. のトリテルペノイド成分の精査を行い, 新規転位型ルパン系トリテルペノイド lactucenyl acetate を単離, 同定した.

キク科タンポポ科植物から転位型ルパ

ン系化合物が単離されたのは *Taraxacum* 属植物につづき 2 例目である。分布が非常に限られている転位型ルパン系化合物が複数のタンポポ亜科植物から検出されたことは、本植物群の顕著な特徴であり、当該骨格を有する化合物群の貴重な供給源になることが期待される。

F 健康危機情報  
なし

G 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

H 知的所有権の取得情報  
なし

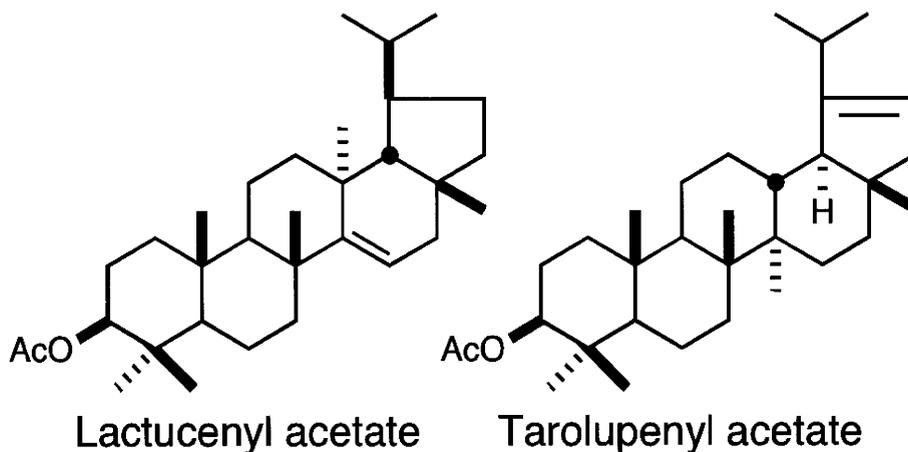


図 1 新規化合物 Lactucenyl acetate の構造式及び Tarolupenyl acetate の改訂構造式

