

201129014A

厚生労働科学研究費補助金

地域医療基盤開発推進研究事業

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  
(H22-医療-一般-016)

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 関田 節子

平成24(2012)年5月

## 目 次

### I. 総括研究報告

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 - 1

関田節子

- (資料) 伝統医療の国際標準化シンポジウム プログラム、発表 ppt. — 27
- WHO consultation on conservation of medicinal plants プログラム — 37
- WHO consultation on conservation of medicinal plants (仮の議題) — 40
- WHO consultation on conservation of medicinal plants 出席者リスト — 44
- WHO consultation on conservation of medicinal plants 出席者写真 — 51
- WHO consultation on conservation of medicinal plants 新聞報道記事 — 52
- WHO consultation on conservation of medicinal plants 一般公開講座 — 53

### II. 分担研究報告

- 1-1. ミャンマー産オウレンの現地調査および成分分析 — 54
- 1-2. *Curcuma* 属植物及び *Akebia* 属植物の含有成分に関する研究 — 63
- 1-3. パキスタン産 *Artemisia scoparia* の含有成分に関する化学的研究 — 69
- 1-4. 熱帯薬用植物の有効成分に関する研究 — 77
- 関田節子
- 2-1. アセアン諸オ国の伝統薬の薬用植物の企画基準と伝統医薬の利用システムとしての配置薬 — 85
- 2-2. 薬用植物の保護に関するガイドラインの作成と日本の数種の植物の話題 — 92
- 2-3. 生薬オオミサンザシ由来の新規エピカテキン誘導体 — 107
- 佐竹元吉
- 3. 鉱物生薬の科学的解析 — 109
- 伏見裕利
- 4. 漢方処方の薬効薬理解析 — 119
- 門脇 真
- 5. *Ephedra* 属植物の分子生物学的研究 — 122
- 小松かつ子
- 6. 動物生薬成分の化学解析 — 128
- 紺野勝弘
- 7-1. LCMS によるラン科植物 5 属における含有分子種の検出 — 131
- 7-2. ミャンマー産オウレンの成分分析 — 136
- 代田 修
- 8. 生薬の種子収集及び関係機関との種子交換状況について — 141
- 澁野裕之

9-1. 生薬「ボウコン」の成分に関する研究	—146
9-2. チレッタソウ ( <i>Swertia chirata</i> ) のトリテルペノイド成分に関する研究 中根孝久	—152
10-1. キク科タンポポ亜科植物のトリテルペノイドの探索	—157
10-2. 日本産オウレン属植物の分子系統学的検討 篠崎淳一	—160
11. 新潟県内におけるオウレン属植物の自生地調査 高野昭人	—162
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	—167
IV. 研究成果の刊行物・別刷	—169

厚生労働科学研究費補助金（地域医療基盤開発推進研究事業）  
総括研究報告書

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

研究代表者 関田 節子 徳島文理大学香川薬学部 教授

研究要旨 地球に生活する東西南北の国々は、依存度に差はあるものの何れの国も伝統薬の歴史を有していて薬用植物の重要さは全世界で認識されている。しかしながら、昨今、乱獲や環境要因により資源の枯渇が憂慮されており、資源保有国は輸出制限を行っている。また、生物多様性条約 COP10 で示唆されたように有用植物の所有権と利用開発は拮抗する問題も含んでいて人類の健康に必要な有用利用に弊りが起きていることも憂慮されている。漢方医療が健全に実施するためには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が必須である。これらの点の国際的啓発のために、平成 22 年度に関連諸国の専門家による国際シンポジウムを実施するとともに、基原植物の成分研究、分布解明、薬理作用、保存、利用状況について研究し、今後の方策を検討した。平成 23 年度は、国際シンポジウムを踏まえて、WHO conservation of medicinal plants ガイドライン作成のための富山会議開催に協力し採択を推進した。会議開催にあたり本研究班の分担研究者が実行委員会を組織し、海外の専門家の招聘、会議進行にあたった。また、研究期間を通じて、国内で用いる生薬の基原植物の成分研究、基原植物の分子生物学的解明、分布調査、薬理作用、保存、利用状況について研究し、今後の方策を検討した。

研究分担者

佐竹元吉	富山大学和漢医薬総合研究所 客員教授
紺野勝弘	富山大学和漢医薬総合研究所 客員准教授
門脇 真	富山大学和漢医薬総合研究所 教授
小松かつ子	富山大学和漢医薬総合研究所 教授
伏見裕利	富山大学和漢医薬総合研究所 特命准教授
代田 修	徳島文理大学香川薬学部 准教授
浏野裕之	(独) 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター 室長
中根孝久	昭和薬科大学 准教授
篠崎淳一	昭和薬科大学 助教
高野昭人	昭和薬科大学 准教授

第 15 改正日本薬局方に漢方処方エキスが収載されたことに象徴されるように漢方医学は国内外で注目度を増している。国内で使用している漢方処方配合生薬に関しては、薬局方改正時に収載品目の充実を目指し順次品質規格の整備が図られている。一方、国外では東洋医学の実践が世界的に広がりアジア圏のみならず欧・米・中近東諸国でも漢方医学が注目されている。漢字圏においては各国の薬局方生薬の正確な認識を高めるための国際会議（FHH）を設ける等により品質規格の整備が図られている。また、ヨーロッパでは植物療法の長い歴史があり、米では代替医療として植物資源が繁用され、天然医薬資源の使用量は増加を続けている。安全及び有効な生薬の品質を根底で支えるには、設けられた品質基準が持続的に維持されることが基本であり、そのためには必要とされる生薬資源が安定供給されることである。しかし、かつては豊富であった薬用植物も大幅に減少し、環境要因や乱獲により千種を越す植物の

A. 研究目的

絶滅が憂慮されており、資源保有国は輸出制限を行っている。供給国の中国が植物生育地の砂漠化防止を理由に甘草、麻黄の輸出制限を行い世界的な反響を呼んだが、同様に、伝統医療の継続的利用国（中国、韓国、インド、スリランカ）及び伝統医療が復活してきている各国（EU、ASEAN、モンゴル）は資源の確保を打ち出し始め、資源戦争が起っている。広く世界を見回すと、これらの本質に関わる問題として、薬用植物の生態についての知識の不足、薬用植物資源の用途および管理についての伝統的知識の喪失、等が挙げられている。本研究は、これらの問題の解決として(1)薬用資源量を明らかにし、野生生物の計画的採集及び収穫を行うことにより資源の枯渇を阻止し(2)汚染や残留農薬等に留意する適切な栽培方法および(3)薬用資源の保護に関するガイドラインを確立して世界に発信することを目的とする。しかしながら、これらの課題は我が国単独あるいは数カ国の相互認識で解決しえるものではない。そこで、1988年のチェンマイ宣言、1993年の「薬用植物の保護に関するガイドライン」作成とその後の生薬、伝統薬の品質確保に積極的なWHOの「conservation of medicinal plantsガイドライン」作成に協調することにより持続的な薬用植物の保全を世界に発信することを方策とした。本ガイドライン採択の富山会議では、20地域のWHO専門委員、臨時委員、IUCN（国際自然保護連合）、WWF（世界自然保護機関）、TRAFFIC（野生生物の取引に関する監視・調査NGO）の各担当者、オブザーバーとして国内の薬用植物・生薬企業団体の専門委員の参加により4日間の討議が行われた。また、日本における生薬の利用、栽培指導の理解を求めるために、富山大学和漢医薬総合研究所の伝統薬資料館、富山県薬用植物指導センターの見学会を企画した。また、国内の一般の方々に会議の趣意を周知するために、富山県周辺の方々を対象にした公開講座を行った。WHO専門委員の指定されていない国々・地域に対しては平成22年

度に国際会議を開催し、本ガイドライン作成の周知を図った。

分担研究として、アセアン諸国の伝統薬の薬用植物の規格基準と伝統医薬の利用システム、さらに、漢方処方配合植物生薬としてオウレンの国内外分布調査と分子系統学的研究を行った。

「オウレン：黄連」は漢方処方のみならずベルベリン製剤としても重要な生薬であるが、使用量の多さにも関わらず、国内では基原植物4種のうちのキクバオウレン（野生品種）が枯渇状態であり、またわずかに栽培しているセリバオウレンも、収穫量が激減している。黄連の野生品種が確認されていたのは、これまで日本と中国のみであったが、このような状況に対応すべく周辺諸国の「黄連」を調査したところ、ミャンマーに「ビルマオウレン」が存在するという情報と、その腊葉標本を入手することができ、形態的には日本産オウレンと相同性が認められた。そこで、栽培原種の探索のために、この機会を捉えて、現地で採取し、中国産および日本産「黄連」との品質の定性的、定量的比較を検討することとした。現在、国内の市場品の生薬黄連の多くは中国産のものであるが、かつては福井県、兵庫県、鳥取県などで盛んに栽培されていた歴史を有する。また、江戸時代に品質がよいとして知られていたのが加賀黄連で日本に自生するキクバオウレン *Coptis japonica* var. *japonica* の根茎に由来するとされる。御影らは、国産の薬用資源の重要性を考え、キクバオウレン（加賀黄連）と、かつて福井県や兵庫県で栽培されていたセリバオウレン *Coptis japonica* var. *dissecta* Nakai ex Satake について、成分含量や形態について比較し、その結果、両者の成分含量には差がなく、キクバオウレンの方が根茎は大型であることを報告している。キクバオウレンは、北海道の南西部と本州（日本海側）の温



帯から亜寒帯に分布するとされているが、その分布状態に関する詳細な調査報告はなく、資源としての潜在量は不明である。インターネット上でキクバオウレンを検索すると、新潟県の角田山や国上山など日本海側に近い低山が生育地として検索され、分担研究者・高野はかつて、弥彦山でその自生を確認している。

そこで今回、国内に自生する生薬資源として、新潟県内におけるオウレン属植物の分布状況を確認することを目的にフィールド調査を実施した。なお、日本の高山帯に分布するオウレン属植物であるミツバオウレン *Coptis trifolia* (L.) Salisb. とコシジオウレン *Coptis trifoliolata* Makino についても同時に調査することとした。

漢方処方に配合される「マオウ：麻黄」は、そのほとんどを中国産で賄ってきたが、現在中国では砂漠化防止政策の一環として、輸出制限を行うようになった。そこで、麻黄の新たな資源を開発する目的で、モンゴル国産 *Ephedra* 属植物の基原と品質に関する研究を行った。今年度は *Ephedra* 属 7 種と不明種 (*Ephedra* sp.) の核 ITS 領域の遺伝子解析を行い、局方適合種の分布域を明らかにするとともにモンゴル国南西部における同属植物の交雑の実態を明らかにした。

サンザシ属植物 (*Crataegus* spp.) はバラ科の木本で、主に偽果が食用、生薬として使用されている。日本薬局方外生薬規格におけるサンザシは、サンザシ (*Crataegus cuneata* Siebold et Zuccarini)、オオミサンザシ (*Crataegus pinnatifida* Bunge var. *major* N. E. Brown (*Rosaceae*)) で、原産国は中国である。サンザシは野生品で年間採取量が約 1 万トンであるのに対し、オオミサンザシは主に栽培品で年間 100 万トン以上採取されている。また、欧米ではセイヨウサンザシ

(*Crataegus oxyacantha*) の葉が強心作用を謳った健康補助食品に用いられている。これらサンザシ属植物の成分として、酸性成分や配糖体等が報告されており、これらが消化促進や心疾患に効果があるとされている。日本薬局方外生薬規格では hyperoside を指標に確認試験が規定されているが確認困難である。そこで、サンザシ特異成分を用いた検出感度の良い方法を検討した。

セッコクは中国文化圏を中心に 1000 年以上にわたり使われてきた生薬であり、日本薬局方では、新 210 処方 (2008) に漢方生薬セッコクを含む処方である甘露飲が記載された。セッコクの基原植物の *Dendrobium* 属植物は成長が遅いこと、大量栽培には設備や技術が必要なことから、薬用には現在まで野生資源が利用されてきた。そのため、最大の利用国であり、自生地を広く保有していた中国においても、今や資源が枯渇し、近隣諸国のベトナム、ラオス、カンボジア、ミャンマー、タイからの大量密輸が絶えず、これらの国でも近い将来枯渇するおそれがある。資源枯渇対策として生薬基原植物の栽培を行うにあたり、最適種を選択するためには、基原植物および生薬の同定が確実にできることが重要である。

伝統的に中国で流通しているセッコクの基原植物種は中国薬典にある数種 (2010 年版における、*D. fimbriatum*、*D. nobile*、*D. officinale*、*D. chrisotoxum*) を含めて 50 数種あり (Bao, Shun et al. 2001)、栽培化するにあたっては植物種の選出のために、類縁種の同定や分類を正しく行う事がまず重要である。しかし、伝統的な検鏡などの形態による同定には、熟練者が必要である。また形態からの同定の難しい植物について、遺伝子による同定は一定の成果があるが、修治過程を経たセッコク生薬の形になると、遺伝子の保存状態が悪く、遺伝子は万能とはいえない。同定に決め手がないため、販売表示

種に対して偽物も多く、流通現場ではより信頼性をもたせるため、他の情報が期待されている。

中国では伝統的に人気の高いセッコク生薬の基原植物である、中国名鉄皮石斛 (*D. officinale*) を中心にセッコクをとりあげ精力的に栽培推進を行い、また成分と薬効の解明に取り組んできたが、*dendrobine* とその類縁物質、およびいくつかの成分を除き、成分には未知な点が多く、さらに薬効については植物に普遍的に存在する bioflavonoid の抗酸化物質としての効果などを除き、いまだ不明な点が多い。*Dendrobium* 属以外にも中国文化圏でセッコクとして売られているラン科の別属の植物もあり、成分と属の関係も必ずしも解明されていない。一方、*Dendrobium* 属に広く分布すると考えられてきた *dendrobine* が、必ずしも当属植物において広域にみいだされるわけではないことがわかってきた (日本薬学会第57回年会発表)。このような背景を踏まえ、系統学的に *Dendrobium* 属から離れた他の属のランでは *dendrobine* や類似物質はどう分布しているのか、それらの有無が種の同定に利用でき得るデータなのかについて検討する目的で、*dendrobine* と *nobilonine* が *Dendrobium* 属以外のラン科植物5属においてどのように分布しているか明らかにすることにした。

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、国内にも自生している。根茎の細根及び鱗片葉をほとんど除いたものが生薬「ボウコン」で日本薬局方に収載されている。本生薬の成分として、*cylindrin* (1), *arundoin* (2), *simiarenol* (3), *isoarborinol* (4), *fernol* (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、日本市場の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。中国産白茅根の基原植物を入手することができなかったため、原植物の入手可能な日本産ボウコンと産地の判明している中国産ボウコンについて1や2のトリテルペノイドと比較することにより、日本市場のボウコンを科学的に検証した。

紫根を主要な薬効成分とする漢方薬紫雲膏は、江戸時代の医師・華岡青洲が創案した外用膏薬であり、ひび・あかぎれ・切り傷・火傷・かぶれ・褥瘡など、膿や滲出液の少ない皮膚症状や痔疾の治療にも用いられている。紫根の主成分であるシコニンには、抗炎症作用、肉芽促進作用などの創傷治癒促進作用、抗菌作用、抗腫瘍作用など幅広い薬理作用が近年報告されているが、シコニンの薬理作用の全貌や作用機序等の詳細な検討は未だ十分には行われていない。代表研究者らが 2005 年から 2009 年にかけて行った南米ペルーでの臨床試験により、紫雲膏は、全世

界に約 1200 万人の患者がいると推測されているリーシュマニア症に非常に有効な薬物であるということが報告された。これは、紫雲膏の肉芽形成促進作用と抗原虫作用によるものと考えられるが、詳しい作用機序は分かっていない。一方、漢方薬に多く用いられている 80 種類の生薬の抽出物及び 80 種類の生薬含有標準化合物質を用いて、ヒト単球系リンパ腫 U937 細胞における熱ショック・タンパク質 HSP70 の誘導能および粘膜型マスト細胞様 RBL 2H3 細胞における抗原刺激脱顆粒に対する抑制作用を評価した。その結果、いずれの評価系においてもシコニンに最も強い作用を見出した。本研究では、シコニンの薬理作用を分子および細胞レベルで詳細に検討することを目的とした。

「富山のくすり」としてよく知られている熊胆圓と六神丸は、それぞれ動物生薬である「熊胆」（クマの胆嚢）と「蟾酥」（ヒキガエルの毒腺抽出物）が主要な薬効生薬である。しかし、薬効成分が明確で、品質規格の定まった動物生薬は、これら以外にはほとんどない。本研究では、「地竜」の化学解析を行い、その結果を基礎とした薬効成分の解明、品質規格の設定を目的とする。

漢方医学で使用されている鉱物性生薬には、「カッセキ（滑石）」、「セッコウ（石膏）」、「リュウコツ（竜骨）」などがあり、それらのほとんどは中国等の海外からの輸入に依存しているのが現状である。鉱物性生薬は有限資源であるため、今後、継続して安定供給していくこと、並びに持続的に品質を保持していくためには、現在の輸入先以外にも新たな入手先を検討しておく必要がある。

そこで今回、世界各地の伝統医学で用いられている鉱物性生薬を実験材料

として X 線粉末回折法を用いて検討を行い、世界の伝統医学で使用されている鉱物性生薬としてどのような鉱物種が存在するかを明らかにした。あわせて、漢方医学で使用されている鉱物性生薬と同等の物が流通しているかを探索する目的で本研究に着手した。

現在、漢方製剤に使用されている以外にも欧州の植物療法、アユルベーダ療法などで用いられている多数の薬用植物がある。これらのうち、ミャンマー産ショウガ科、マメ科、クマツヅラ科、中国産アケビ科、キク科タンポポ亜科、ネパール産リンドウ科、パキスタン産キク科植物について化学的検証が不十分である植物について検証を行った。

また、生薬の種子収集及び関係機関との種子交換状況に関する研究、次いで資源の保存、利用状況、22 年度の国際シンポジウムに情報が得られなかったアルゼンチンの利用状況について検討した。

## B. 研究方法

### B-1. WHO 「conservation of medicinal plants 富山ガイドライン」

#### B-1-1. 実行委員会

2011年4月22日：第1回実行委員会

実行委員長に佐竹、副実行委員賞に関田、事務局に紺野、門脇、伝統薬資料館・富山薬用植物指導センター案内・説明に小松、伏見の代表・分担研究者が担当することを決定。会場確保、設営、宿泊先確保、等は富山県が担当することを決定。

2011年8月4日：第2回実行委員会

WHO丸山scientistとの連絡内容を確認、会場、招聘者との連絡開始。周辺県民を対象にした公開講演会を企画し、講師と



して佐竹、小松両分担研究者に依頼した。会場は、富山県民会館、講演時間は各自90分とした。

2011年10月4日：第3回実行委員会  
招聘者の出席を確認し、海外参加者の送迎担当者、会期中のバス送迎順路、添乗者の決定、富山県薬用植物指導センターの案内内用の確認、等を検討した。

B-1-2. これに先立ち、国際標準化の意義と必要性を敷衍する目的で、平成22年度研究として、2010年11月17、18日に富山県民会館において伝統医療の国際標準化シンポジウムを開催し、SESSION II (18日)において8題の講演を行った。

B-2. 国外における伝統薬利用の状況  
アセアン諸国及び、モンゴルの伝統薬に用いられる薬用植物の規格基準と伝統医薬の利用システムとしての配置薬制度の導入プロジェクトを概説した。

B-3. オウレンの国内外分布調査と分子系統学的研究

分析試料：現地調査で採集した生植物体および作成した腊葉標本は小さく、量的にも貴重なため、別途入手した生薬を分析試料とした。

分析試料には、以下の5種を用いた。

- (1) ビルマオウレン野生品 (Putao)
- (2) ビルマオウレン栽培品 (Putao)
- (3) 現地商品1 (Putao の市場にて購入)
- (4) 現地商品2 (Putao の空港にて購入)
- (5) 日本薬局方オウレン (紀伊国屋から購入)

サンプル (1) 及び (2) については、現地でビルマオウレンとされているものである。また、サンプル (3) 及び (4) については、購入品であるが、ビルマオ

ウレン (*Coptis teeta* Wall.) と思われる。何れもその種は同定されていない。定量分析はLC/PDA およびLC/MS、また、未同定化合物の分離は各種クロマトグラフィを用いて実施し、構造解析は主としてNMR [AVANCE 700 (Bruker, BioSpin) Unity INOVA 500 (Varian) ] により行った。

国内のオウレン分布地の文献情報等をもとに新潟県内の登山道の植物を観察、GPS データ(緯度, 経度)から標高を入手した。さらに、分子系統学的な検討がなされていない日本産オウレン属植物の塩基配列情報からみた類縁関係を検証した。

B-4. マオウの基原植物解明に関する分子生物学的研究

マオウ植物材料

- ・モンゴル国産 *E. sinica* 1検体 (Voucher No. M1455)
- ・中国甘粛省産 *E. intermedia* 1検体 (Voucher No. KANP02369)
- ・中国青海省産 *E. intermedia* 1検体 (Voucher No. KANP02309)
- ・日本市場品「マオウ」 (内モン古産 6検体、甘粛省産 1検体)
- ・中国市場品「麻黄」 (内モン古産 1検体、甘粛省産 3検体)

*trnK* イントロン 5' 末側部分領域の増幅は、PCR 法で行い、PCR 産物は制限酵素 *Bsa*XI で切断した。

B-5. 日本薬局方外生薬規格収載オオミサンザシの成分解明

サンプルはオオミサンザシ (*Crataegus pinnatifida* var. *major*) を用いた。常法により、AcOEt、水分画につき各種クロマトグラフィにより分離を行い、

400MHz/NMR、HR-MS/MS測定等により新規化合物の構造決定を行った。

#### B-6. セッコク成分に関する研究

中南米原産*Laelia lobata*、*Maxilaria* sp.、*Epidendrum prismatocarpum*、東南アジア原産*Dendrochilum filiforme*、パプアニューギニア起源種*Bulbophyllum carunculatum*を対象に、dendrobine及びnobilonineの有無をUPLC/ Q-ToF MSにより検討した。

#### B-7. ボウコンのトリテルペノイド成分に関する研究

四川省産、雲南省産、広西省産ボウコン、日本産ケナシチガヤ *I. cylindrical* var. *koenigii* f. *pallida* 及びフシゲチガヤ *I. cylindrical* var. *koenigii*についてトリテルペノイド成分を分離し構造決定を行った。

#### B-8. 漢方処方の薬効薬理解析

培養リンパ球細胞における熱ショック蛋白質誘導能とマスト細胞の活性化抑制作用に強い活性を示したシコニンの薬効メカニズム解明にあたり siRNAを用いてNR4A(nuclear receptor, family 4A)をノックダウンした。また、シコニンのターゲット・タンパク質の同定の目的で、タンパク質構造情報に基づくバーチャルスクリーニングを活用したインシリコ・ターゲット・タンパク探索を行った。

#### B-9 動物生薬・ジリュウの研究

ジリュウ熱水抽出物のペプチド分画を用いて、LC-MSにより分離した低分子ペプチドの配列を決定した。

#### B10. 鉱物生薬の産地探索のための鉱物生薬種の解明

富山大学和漢医薬学総合研究所附属民族薬物研究センター民族薬物資料館で所蔵している鉱物性生薬の中で、日本市場品 6 点、中国市場品 19 点、韓国市場品 1 点、台湾市場品 3 点、ベトナム市場品 3 点、インド市場品 30 点、ネパール市場品 51 点、スリランカ市場品 3 点、インドネシア市場品 4 点、エジプト市場品 7 点、不明 1 点の合計 128 点を実験材料とした。試料はアルミナ乳鉢で粉末にし、サンプルに応じてシリコンホルダー及びガラスホルダーを使用した。X線粉末回折法は、XRD-6000 装置、X線管球 Cu を用い、管電圧 40 kV、管電流 30 mA、走査範囲 3~70 度、ステップ幅 0.02 度、計数時間 0.6 秒、スリット DS : 1 度、SS : 1 度、RS : 0.30 mm の条件を設定した。データ解析は、Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS)及び International Center for Diffraction Data (ICDD) を用いた。

#### B-11 ウコン類縁植物の成分に関する研究

日本薬局方ウコンの基原植物に類似したショウガ科植物をミャンマーで採取し分析を行った。

#### モクツウの研究

#### B-12. アケビ果実の成分に関する研究

日本薬局方モクツウはつる性の茎を薬用部位としているが、中国では果実も薬用として利用している。そこで果実のサポニン成分を各種クロマトグラフィーで分離し、精製した化合物について主としてNMRデータを基に構造解析を行

った。

#### B-13. キク科タンポポ属科植物のトリテルペノイドの探索

アキノノゲシ *Lactuca indica* L. のトリテルペノイド成分を各種クロマトグラフィーで分離し、精製した化合物について主としてNMRデータを基に構造解析を行った。

B-14. ネパール産リンドウ科植物の成分研究：ネパール、イラム地方で採集したチレッタソウ（リンドウ科）の根茎をMeOH抽出した。得られたエキスのヘキサン溶出部を用いた。各種クロマトグラフィーを用いて成分を単離し、得られた5化合物についてNMR、LR-MS、HR-MS、他の機器データにより構造を決定した。

B-15. パキスタン産キク科植物の成分研究：*A. scopalia*（キク科）をMeOH抽出し、各種クロマトグラフィーを用いて成分の分離、精製を行った。単一が確認された成分は、Varian Unity INOVA 500 MHz の NMR、HR-ESI-MS 等の各種光学機器の測定データにより構造を決定した。

B-16. 熱帯感染症リーシュマニア症に抗活性を示すマメ科、クマツヅラ科植物性成分解明：Leishmania 原虫は、10%FCS 入り Medium199 培地を用いて26.5 度 5% CO<sub>2</sub> に設定した CO<sub>2</sub> インキュベーター内で培養を行い、Medium 199 培地により濃度調整して用いた。RAW264.7 細胞（ATCC）は、調整 DMEM 培地（10% 非働化 FCS, 抗生物質混合）を用いて培養を行なった。

MG63 細胞は、調整 DMEM 培地（10% 非働化 FCS, 抗生物質混合）を用いて培養

し、サンプルのスクリーニング、アッセイに用いた。活性評価は、Tetracolor ONE 試薬を加え、OD 値（450-630nm）を測定した。Leishmania 原虫に対するポジティブコントロールはアムホテリシン B を、RAW264.7 細胞に対するポジティブコントロールはプロテアソーム阻害剤の MG132（10 μM）で確認した。植物試料として、ミャンマー産マメ科植物 *Dalbergia cultrata*、クマツヅラ科植物 *Tectona hamiltoniana* を用いた。

B-17. 生薬の種子収集及び関係機関との種子交換状況に関する研究：国内の野生薬用植物の種子を採取した後、作成した Index Seminum 2011を国内、国外の関連機関に配布し、海外の研究機関と交換を通じて減少しつつける植物種の保護や危険分散を行った。

B-18. アルゼンチンの薬用植物利用、保全に関する情報収集：アルゼンチンの薬用植物に関する国立研究所 Institute of Biological Resources, INTAのDr. Renée Hersilia Fortunatoを招聘し、お茶の水女子大学で情報交換会議し、富山、香川の薬用植物研究、栽培状況を案内した。

### C. 研究結果

C-1. WHO「conservation of medicinal plants 富山ガイドライン」 WHO「conservation of medicinal plants」専門家会議は、平成22年10月14日から18日の5日間に富山県で行われた。開催に先立ち、14日に伝統薬部門課長及び専門家、専門委員

代表が富山県知事を訪問した。同日、夕方に会議参加者全員出席のもと開会式が行われた（添付資料の新聞記事参照）。会議には、ヨルダン、モンゴル、ガーナ、イラン、オーストラリア、イタリア、南アフリカ、カナダ、ブラジル、ボリビア、マレーシア、インドネシア、ドイツ、日本（複数）、中国（複数）、アメリカ、ヴェトナム、インド、カンボジア、ミャンマーの専門委員、FAO代表（イタリア）、IUCN代表（カナダ、スイス）、WWF代表（日本）、TRAFFIC代表（ハンガリー）、FIP代表（日本）、日本財団代表、WSMI代表（日本）、WHO伝統薬部門課長及び専門家、厚労省医政局研究開発振興課長補佐、富山県薬務局課長、等が列席した。（一部の参加者はオブザーバー）

自己紹介の後、改訂した原案をもとに討議が行われ、富山ガイドライン案を作成した。

本ガイドラインは、「情報と研究」、「政策、法律および薬用植物保全の戦略」、「保全」、「持続可能な生産：野生収集と栽培」、「健康と伝統的利用」、「責任ある貿易と商慣習」、「公平性」、コミュニケーション、教育、公共意識」の8つのカテゴリーに分けられ、それぞれの項目についての記述に地域による情報が追記、修正が求められ、積極的な意見が交わされた。また、最終日には、伝統薬資料館および栽培指導センター見学に熱心な質問が続いた。佐竹、小松両分担研究者による公開講座は、富山県民会館でそれぞれ90分間の講演を行った。

## C-2. 国際シンポジウム

伝統医療の国際標準化シンポジウムを開催し、ISEAAION II（18日）において次の8題の講演を行った。

1. WHO'S Policy and Activities Relating to Sustainable Use of Medicinal Plants and Quality of Herbal Medicines, WHO(Switzerland), Yukiko Maruyama
2. European Situation: Overview of Regulatory Framework of Herbal Medicines and GACP Implementation :Werner Knöss(Germany)
3. Quality Control of Brazilian Phytoremedies:the Large Biomed Diversity and the high Demand Require Urgent and Effective Standardization of Plant Derived Products:Antonio Jose Lapa(Brazil)
4. Herbal Medicine Projects in Latin America and Peru:Diana Flores(Peru)
5. National policy and Regulation of Herbal Medicines in Cuba:Maritza Caridad Gonzalez Ramirez
6. Ideas and Methods of Modern Research on Traditional Chinese medicine:Xiao-bo Sun(China)
7. The Guidelines for Cultivation and Quality Control of Medicinal Plants in Japan:Osamu Iida(Japan)
8. Cultivation and Conservation of Medicinal Plant in ASEAN Countries and Japan:Motoyoshi Satake(Japan)

C-2. 国外における伝統薬利用の状況  
多民族により構成されているアセアン諸国のうちフィリピンは伝統医療は各少数民族の家庭薬として用いられてきたが、近年、重要な薬用植物製剤が国立工場で製薬されている。これに伴い

品質規格の整備が求められ、日本 JICA の支援で 2004 年にフィリピン薬局方を作成した。

ミャンマー保健省・伝統医薬局は薬草薬局方作成の必要性から日本に支援を依頼してきた。そこで、日本の産官学からなる国内委員会が設立され伝統薬病院で使用している薬用植物、ミャンマー国内で繁用されている薬用植物のモノグラフの作成指導・支援を行った。候補となった植物 20 種から開始した。20 Selected Herbal Drags

1. Kyaung-pan-lay *Vitex trifolia* Linn. (Leaves)
2. Kun ywet *Piper betle* Linn. (Leaves)
3. Kant gyoke ni *Plumbago rosea* Linn. (Stems)
4. Kunzah gamon *Kaempferia galanga* Linn. (Leaves)
5. Gyin *Zingiber officinale* Rose. (Rhizome)
6. Ngayok Kaung *Piper nigrum* Linn. (Fruits)
7. Hsin don ma new *Tinospora cordifolia* Miers (Stem)
8. Zee phyu *Emblica officinalis* Gaertn. (Fruits)
9. Hsay gah gyi *Andrographidis paniculata* Nees (Whole plant)
10. Zar deik pho *Myristica fragrans* Houtt. (Fruits)
11. Ta mar *Azadirachta indica* A. Juss (Leaves)
12. Mayagyi *Adhatoda vasica* Nees. (Leaves)
13. Sha zaung let pat *Aloe vera* Linn. (Leaves)
14. Shan hsay gah *Swertia*

*purpurseince* (Whole plant)

15. Linlay *Acorus calamus* Linn. (Rhizome)
16. Dant da luns ywet *Moringa oleifera* Lamk. (Whole plant)
17. Hsan nwin *Curcuma longa* Linn. (Rhisome)
18. Myin khwa *Centella asiatica* Linn. (Whole plant)
19. Yeyo *Morinda citrifolia* Linn. (Fruits)
20. Thet yin gynt *Croton oblongifolis* Roxb. (Leaves)

記載内容は下記の項目である

1. 生薬名 Myanmar Herbal Pharmacopoeia
2. 学名と地方名 Synonyms +Local common names
3. 使用部位 Part used
4. 性状記載 Definition
5. 成分 Constituents
6. 植物の特徴 Description of the plant
7. 利用部位の特徴 Description of the part used
  - (ア) 外部形態 Macroscopic
  - (イ) 内部形態 Microscopic
8. 確認試験 Identification
  - (ア) 色試験 Colour reaction
  - (イ) 薄層クロマトグラフィー TLC
  - (ウ) 乾燥減量 Moisture contents (Loss on drying)
9. 純度試験 Purity
  - (ア) 異物 Foreign matter
  - (イ) 農薬汚染 Chemical contamination

- (ウ) 微生物汚染 Microbial contamination
- (エ) 重金属 Heavy metal
10. 灰分 Total ash
11. 酸不溶性性灰分 Acid insoluble ash
12. エタノールエキス量 EtOH soluble extract
13. 水エキス量 Water soluble extract
14. 精油 Volatile oil content
15. 重要処方 Important formulations
16. 伝統的医療目標 Traditional therapeutic uses
17. 貯法 Dosage
- 5つの生薬の薄層クロマト条件

***Vitex trifolia***

Extraction: 1 g of powder was first extracted with 10 ml of petroleum ether and this extract was removed. The marc was then extracted with ethanol.

TLC: Silicagel, CHCl<sub>3</sub> /EtOH (5/1)

Detection: Iodine

***Piper betle***

Extraction : n-hexane, successively MeOH

TLC: Silicagel, Tolene:EtOAc (95/5)

Detection: Vaniline/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

***Myristica fragrans***

Extraction : petroleum ethe

TLC: Silicagel, n-Hexane/ EtOAc (19/1)

Detection: Vaniline/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

***Moringa oleifera***

Extraction: EtOH

TLC: Silicagel, Benzene/EtOH (9/1)

Detection: Iodine

***Centella asiatica***

Extraction: 70% ethanol

TLC: Silicagel, HCl<sub>3</sub>/EtOH (5/0.1)

Detection:

Anisealdehyde/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> or Rhodamine B

モンゴル伝統医療普及プロジェクト  
配置薬箱 Family Pharma kits に含まれる  
薬用植物は 24 の処方に 74 種類の生薬  
である。薬用植物と処方箋数は下記の  
通りである。

カシ (詞子) *Terminalia chebula*  
10 pre.

サンシシ (山梔子) *Gardenia  
jasminoides* 8 pre.

ドモッコウ (土木香) *Inula  
helenium* 8 pre.

コウカ (紅花) *Carthamus  
tinctorius* 7 pre.

モッコウ (木香) *Saussurea lappa*  
6 pre.

ゴレンシ五霊子 *Trogopterus  
xanthipes* 5 pre.

和名なし *Odontites rubra*, 4 pre.

ヒハツ (卑撥) *Piper longum*,  
4 pre.

カンモクツウ (関木通) *Aristolochia manshuriensis* 3  
pre.

ケイヒ (桂皮) *Cinnamomum  
cassia*, *Tribulus terrestris* 2  
pre.

トリカブト類 *Aconitum naviculare*  
1 pre.

タイは、国立チュラロンコン大学、国立マ  
ヒドン大学の協力のもとに配置薬システム  
を設置し、タイ薬草薬局方で品質規格を管



理している。

ミャンマーでは14州に3年計画で7,000の配置を計画した。

その他、ラオス、カンボジア、ベトナムからも配置薬導入希望がある。

### C-3. オウレンの国内外分布調査と分子系統学的研究

#### C-3-1. ミャンマーの野生地調査と成分分析

今回の現地調査は以下の日程で行った。

[全日程：2月12日～23日；9泊12日]

12日：羽田空港から出発。Bangkok 経由で Myanmar の Yangon に到着。

13日：Yangon から国内線で Kachin 州 Putao へ移動。ミャンマー山地案内人が同行。

14日：Putao から Ziya Dum (海拔 1,100 m) へ移動。当初、この行程は車での移動予定だったが、季節外れの大雨により道が崩落していたため、途中から徒歩により辿り着いた。現地案内人、通訳 (日英語/ミャンマー語) (ミャンマー語/現地語)

15日：Ziya Dum から Thit Pin Gyi Sakan (Big Tree Camp；海拔 1,900 m) へ移動。季節外れの大雨となる。

16日：Thit Pin Gyi Sakan を出発し Mt. Phon Gan Razi の中腹にあるビルマオウレン野生地の Khan Tauk Myit (海拔 2,500 m) に到着。採取を行う。その後、天候状態を鑑みて、当初の予定を変更して Ziya Dum まで戻る。

17日：Ziya Dum から Wa Sam Dum まで徒歩で移動。

18日：Wa Sam Dam から Putao へ移動。計画していた迎えの車との交信がとれない状況であったが、天候が悪化する可能性が高いので

あてもなく徒歩で移動を開始したところ運良く途中で迎えの車に遭遇した。

19日：Putao にて有用植物栽培地、市場などを見学。

20日：Putao から国内線で首都 Mandalay へ、そこから車にて Pin Oo Lwin (May Myo) へ移動。

21日：Kandawgyi Botanical Gardens を見学。Pin Oo Lwin から車にて Mandalay へ、そこから国内線にて Yangon へ移動。

22日：Yangon にて市場、薬局などを見学。Yangon から Bangkok 経由で帰国へ。

23日：成田空港到着。

今回調査したビルマオウレン自生地は、ミャンマー最北部カチン州プタオ郡のインド国境となっている Mt. Phon Gan Razi にある。同地区への外国人の立入は制限されているが、今回は予め許可を申請していた。また、ビルマオウレンの採集についても許可書を得ている。

- (1) ビルマオウレン野生品
- (2) ビルマオウレン栽培品
- (3) 現地商品 1 (Putao の市場で購入)
- (4) 現地商品 2 (Putao の空港で購入)
- (5) 日本薬局方オウレン (紀伊国屋から購入)

成分の TLC による比較では、標準化合物としてベルベリン、コプチシン、パルマチンを用いた。はじめに局方の展開溶媒条件で成分を確認した。ベルベリンのスポットがどのサンプルにも確認することができた。しかし、コプチシンとパルマチンのスポットが同じ位置に現れ、分離できなかった。また、サンプル 1 のビルマオウレン野生品とサンプル 3 および 4 の現地商品では、ベルベリンを含めて二つのスポットしか確認できなかったが、サンプル 2 のビルマオウレン栽培品とサンプル 5 の局方品においてはさらにもう一つスポットが確認できた。次に、展開溶媒条件を変更して成分を確認した。

HPLC による簡易定量では、展開溶媒にギ酸/メタノール系を用いたところ5種のサンプルともベルベリンの含量は概ね5%以上であり、これは局方で示されている4.2%以上という基準を満たしていた。また、5サンプルの LC/PDA 分析のクロマトグラムは、標品との比較により、コプチシンが 4.3 min、ベルベリンが 5.9 min、パルマチンが 6.8 min に溶出ピークとして現れた。その他のピークとして、全ての分析試料において 5.5 min に、また、試料(2)と(5)には、4.8 min と 3.9 min にピークが確認できた。これらの未同定化合物の分子量情報を得る目的で、LC/MS 分析を行った。その結果、4.8 min のピークは、 $m/z$  336 を示しエピベルベリンであると、また、5.5 min のピークは、 $m/z$  338 を示すことからコロンバミン若しくはジャトロリジンと推測された。さらに、3.9 min の小さなピークは、 $m/z$  322 を示し、コプチシン構造中に二つあるメチレンジオキシ基の片方が開裂した化合物であることが示唆された。

LC/PDA 及び LC/MS 分析で確認された 4.8 min と 5.5 min に溶出される化合物を同定するために局方オウレンを用いて化合物の単離を試みた。メタノール抽出物を HP20 カラムに付し水溶性画分を得た。次いでシリカゲルカラム、ODS-HPLC により2つの化合物(1:LC 4.8 min、2:LC 5.5 min)を得た。

化合物1は、MS 及び NMR よりその分子式に  $C_{20}H_{18}NO_4^+$  が推定された。H-H COSY、HSQC、HMBC、 $^1H$ - $^{15}N$  HMBC 及び ROESY スペクトルの解析により化合物1はエピベルベリンであることが判明した。同様に、化合物2は、ジャトロリジンであることを明らかにした。

### C-3-2. 新潟県における野生種の分布 国上山

国上山は弥彦山脈の南端に位置する。良寛和尚が滞在したとされる国上寺がある。『国上山の植物』(西蒲・燕科

学教育センター, 2000) に紹介されているように、コシノカンアオイやコシノコバイモなどとともに、キクバオウレンの存在も記録されている。今回の調査では、散策路の入り口から頂上まで、散策路沿いのほとんどすべてでキクバオウレンを確認し、山全体がキクバオウレンで覆われていると思われるほどの量が確認された。

### C-3-3. 新潟県における野生種の分布 守門岳(大岳)

守門岳は新潟県魚沼市、三条市、長岡市にまたがる山群で、大岳、青雲岳、袴岳の3つのピークを総称して守門岳という。保久礼コース登山道を大岳頂上まで調査したところ、標高 1200m 前後でキクバオウレンが出現し、次いで、1280m ほどでミツバオウレンが出現した。両種は登山道沿いに分布し、標高 1426m の大岳頂上付近まで間隔をおきながら分布していた。

### C-3-4. 新潟県における野生種の分布 浅草岳

浅草岳は、新潟県魚沼市、福島県南会津郡只見町にまたがる山で、標高は 1585m。コシジオウレンが分布することが知られている。ネズミモチ平登山口から前岳を経て浅草岳頂上へ向かうルート进行调查したところ、キクバオウレンが標高 1389 m 付近で出現した。その後、1424m 付近から標高 1538m 付近までミツバオウレンが確認された。また、コシジオウレンは、残雪が残る 1520m 付近に分布していた。

### C-3-5. 新潟県における野生種の分布 苗場山

苗場山は、新潟県南部、長野県北東部の県境に位置し、標高は 2145m. でミツバオウレンが分布することが知られている。新潟県側のかぐらスキー場から神楽ヶ峰を越えて山頂へ至るコースを調査した。標高 1563m 付近でキクバオウレンが出現した。標高 1594m 付近でミツバオウレンが出現し、標高 1685m 付近の下芝付近までほぼ連続して観察された。キクバオウレンも標高 1682m 付近でミツバオウレンとともに観察された。

#### C-3-6. 日本産オウレンの分子生物系統学的検討

*matK* 遺伝子配列の比較から *C. japonica* の 3 変種とウスギオウレンは一つのグループを形成し、このグループはさらに 4 つのサブグループに細分化できることが明らかとなった。サブグループ 2~4 は鳥取県産およびタンバオウレン、サブグループ 1 は鳥取県以外のオウレンで構成されていた。

ITS 領域の塩基配列の比較から、*C. japonica* の 3 変種とウスギオウレンは、617bp の ITS 領域をもつグループと、617bp と 618bp の ITS 領域をもつ 2 つに大別できることが明らかとなった。すなわち、後者は鳥取県産およびタンバオウレン、前者は鳥取県以外のオウレンで構成されていた。

#### C-4. マオウの基原植物解明に関する分子生物学的研究

モンゴル産 *Ephedra* 属 8 種は、ITS1 領域の 3'末端側の領域は長さ 323-337 bp で、部分領域の上流から 40 番目、151 番目、178 番目及び 272 番目の塩基の

配列に着目することで、5 タイプ (I - V) に分類された。一方、18S rRNA 遺伝子に 5 タイプ (i - v)、*trnK* 遺伝子に 5 タイプ (1 - 5) の塩基配列を見出した。さらに、モンゴル産 *E. sinica* 1 検体及び中国産 *E. intermedia* 2 検体の *trnK* イントロン領域の 5' 末側の部分配列を増幅し、制限酵素 *BsaXI* を反応させたところ、*E. sinica* では切断が認められず、*E. intermedia* では予想通り 92 bp と 224 bp の断片が確認された。次に日本市場の生薬マオウ及び中国市場品の生薬マオウ 11 検体に同様の実験を行ったところ、甘粛省産の 4 検体由来の PCR 産物で制限酵素 *BsaXI* による切断が認められたことから、これら 4 検体は *E. intermedia* であると判断した。残りの 7 検体は、*trnK* イントロン領域の塩基配列を直接解析することにより *E. sinica* であると確認された。

#### C-5. 日本薬局方外生薬規格収載オオミサンザシの成分解明

生薬オオミサンザシの MeOH エキスの酢酸エチル抽出画分をセルロースカラムクロマトグラフィーで分離した後、逆相 HPLC で 2 種の化合物を単離した。HSQC 及び HMBC、高分解能 MS、MS/MS、UV、各スペクトルから化合物 1 はエピカテキンの 7-8 位にピロン環が結合し、フラボノイド A 環部と共にクマリン骨格を形成したものと考えられた。化合物 2 は、1 のピロン環の水酸基が消失し隣接する炭素にカルボン酸が導入した構造であると決定した。両化合物の構造は、IR スペクト

ルは、ピロン環（或いはクマリン骨格）の存在を支持している。

#### C-6. セッコク成分に関する研究

サンプルに用いた 5 種のラン科植物は、沖縄海洋博記念公園植物研究部唐澤耕司博士に同定を依頼した。トータルイオンクロマトグラム、5~8 min の領域を積算したマススペクトルの解析により、今回分析した 5 種のサンプルでは、いずれにも dendrobine (5.6 min;  $m/z$  264) および nobilonine (6.5 min;  $m/z$  294) は検出されな伊ことが明らかになった。今回成分を検討した 5 属（5 種）の植物のなかから、DNA データベース（DNA Data Bank of Japan）に登録済みである三属と同じ属の *matK* 遺伝子、すなわち、*Laelia* (*gouldiana*)、*Dendrochilum* (*scriptum*)、*Epidendrum* (*rigidum*) について、dendrobin あるいは/それに加え nobilonine を含有する *Dendrobium* 属植物と合わせて Neighbor-joining (NJ) method (Saitou and Nei 1987) を用いて MEGA 4 で系統樹を構築したところ、これら三属は明らかに *Dendrobium* 属グループとは離れたところに位置することが確認された。

#### C-7. ボウコンのトリテルペノイド成分に関する研究

産地の異なる中国産ボウコン 3 種と日本産の変種 2 種のトリテルペノイド成分について検討し、14-epiarborane 骨格 3 種、14-epiarbor-7-en-3b-ol、14-epiarbor-7-en-3-one、14-epiarbor-7-en-3b-yl formate、impallidane 骨格 6 種、impallidin、impallidin ozonide A、B、impallidol、trisorimpallidin aldehyde、tetranorimpallidin aldehyde、adiantane 骨格 2 種、

simiarenyl formate、3-episimiarenyl formate 計 11 種の新規トリテルペノイド及び既知化合物 16 種の構造決定または同定した。

#### C-8. 漢方処方薬の薬効薬理解析

##### C-8-1. 粘膜型骨髄細胞由来マスト細胞に対する抑制作用

漢方薬に多く用いられている 80 種類の生薬の抽出物及び 80 種類の生薬含有標準化合物質を用いて、培養リンパ球細胞における熱ショック蛋白質誘導能とマスト細胞の活性化抑制作用についてのスクリーニングを行い、いずれもシコニンに最も強い作用を見出した。核内オーファン受容体の NR4A サブファミリー NR4A1、NR4A2、NR4A3 は DNP-BSA による抗原刺激およびカルシウム・イオノフォア A23187 による刺激により非常に強く発現亢進するが、シコニンはいずれの刺激に対しても、この発現亢進をほぼ完全に抑制した。さらに、NR4A1 に対する siRNA (small interfering RNA) の細胞内移入による遺伝子発現抑制を行ったところ、DNP-BSA 抗原刺激による腫瘍壊死因子 TNF  $\alpha$  の遺伝子発現が抑制された。従って、シコニンは核内オーファン受容体の NR4A サブファミリーの発現を抑制することにより、マスト細胞の活性化を抑制することが示唆された。

##### C-8-2. ターゲット・タンパク探索

シコニンの作用機序を解明するため、タンパク質構造情報に基づくバーチャルスクリーニングを活用したインシリコ・ターゲット・タンパク探索を行った。カルモジュリンと、カルシニュー

リンに結合する FKBP との結合シミュレーションを行ったところ、シコニンのカルモジュリンへの結合部位はカルモジュリン阻害剤である W-7 とは全く違う部位であった。一方、FKBP への結合部位は、FKBP の阻害剤である FK506 の結合部位と類似性が高いことがわかった。

## C-9. 動物生薬・ジリュウの研究

### C-9-1. ペプチド成分分析

ジリュウ熱水抽出エキスから得た10成分のペプチドのアミノ酸残基数5-14個の配列を決定した。FASTAで相同性検索したところ、このうちの5種は、アカミミズ *Lumbricus rubellus* のアクチンの配列と完全に一致した。既報により、これらはアクチンの分解産物と考えられた。さらにペプチド 11 成分を見だし、その配列を Table 1 のように決定した。

Table 1. 地竜エキス中のペプチド配列

No.	MH <sup>+</sup> <sub>obs</sub>	MH <sup>+</sup> <sub>calc</sub>	sequence
1	531.323	531.325	LSGVR
2	561.286	561.299	DSALR
3	592.312	592.312	NSLMK
4	564.252	564.251	EVSTE
5	877.442		877.441
6	<u>PEEHPVLG</u>		
7	617.324	617.325	DVDLR
8	819.418		819.421
9	SEETVVR		
10	594.325	594.325	<u>EHPVL</u>
11	1104.572		1194.572
	PSNTMDALKK		
	520.277	520.277	VAFPS
	745.410		745.409
	<u>VLTLGNE</u>		

アクチンの分解産物と考えられるのは 3 種のみで、8 種は FASTA による相同

性検索でも、既存のタンパク質との明確な一致は見られず、新規ペプチドあるいは、未知タンパク質の一部と考えられる。そのうち 6 種はアミノ酸残基数 5 個と、非常に小さなペプチドであることが特徴である。

### C-9-2. TLC 分析

地竜および地竜配合製剤は、数社から販売され流通している。しかしながら、日本薬局方未収載である。そこで、薬局方収載に必要な確認試験法として、TLC 法を検討した。

地竜熱水抽出物は各種の薄相プレートを用いて、種々の展開溶媒で約 5 cm 展開した。検出法は、UV 254 nm で検出後、さらにニンヒドリンで呈色した。シリカゲル・HILIC を用いた場合は、いずれも良い分離が得られなかったが、セルロース・アルミナを用い、*n*-BuOH/AcOH/H<sub>2</sub>O (4/1/5) で展開した時最も分離がよく、特にニンヒドリンによる呈色では、数個の明瞭な分離スポットが検出された。

## C-10. 鉱物生薬の産地探索のための鉱物生薬種の解明

富山大学和漢医薬学総合研究所附属民族薬物研究センター民族薬物資料館で所蔵している鉱物性生薬 128 点について X 線粉末回折法を用いた結果、 $(\text{NH}_4)\text{Al}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、S、 $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{BaSO}_4$ 、 $(\text{Mg}, \text{Al})_6(\text{Si}, \text{Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$ 、 $\text{SiO}_2$ 、 $\text{Fe}_3\text{Al}_2(\text{SiO}_4)_3$ 、 $\text{CaCO}_3$ 、 $\text{HgS}$ 、 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 、 $\text{Mg}_3(\text{Si}, \text{Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Mg}_3(\text{Si}, \text{Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CaZn}(\text{CO}_3)_2$ 、 $\text{Mg}_x(\text{Mg}, \text{Fe})_3(\text{Si}, \text{Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、

Mg<sub>3</sub>Si<sub>4</sub>O<sub>10</sub>(OH)<sub>2</sub>、(Ca, Na)(Si, Al)<sub>4</sub>O<sub>8</sub>、  
Mg<sub>3</sub>Si<sub>2</sub>O<sub>5</sub>(OH)<sub>4</sub>、KAl<sub>2</sub>(Si<sub>3</sub>Al)<sub>10</sub>(OH, F)<sub>2</sub>、  
PbS、CaCO<sub>3</sub>、NaCl、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、  
(K, H<sub>3</sub>O)Al<sub>2</sub>Si<sub>3</sub>AlO<sub>10</sub>(OH)<sub>2</sub>、KCl、KNO<sub>3</sub>、  
(Na, Ca)Al(Si, Al)<sub>3</sub>O<sub>8</sub>、FeO(OH)、CaF<sub>2</sub>、  
C<sub>2</sub>CaO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O、Al<sub>2</sub>Si<sub>2</sub>O<sub>5</sub>(OH)<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O、  
FeSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O、NaCl、Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·5H<sub>2</sub>O、  
(Ca, Mg)CO<sub>3</sub>、PbO、K<sub>2</sub>Ca(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O、  
Ca(OH)<sub>2</sub>、KHSO<sub>4</sub>、CaMg(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、  
Zn<sub>5</sub>(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH)<sub>6</sub>、NaAlSi<sub>3</sub>O<sub>8</sub>、NaHCO<sub>3</sub>  
の化学構造式が明らかになった。

#### C-11. ウコン類縁植物の成分に関する研究

ミャンマー産 *Curcuma* 属植物 2 種のクルクミノイド含量は生薬ウコンとは大きく異なっていた。分取 TLC で得られた 8 種の化合物について HR-ESI-MS スペクトルおよび 2 次元 NMR (H-H COSY, HMQC, HMBC, ROESY) を含む NMR (<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR) の測定を行い、データを詳細に解析した結果、セスキテルペン 4 化合物、ジテルペン 2 化合物の構造を明らかにした。

#### C-12. モクツウの研究

中国ではアケビ果実も生薬八月札として利用している。そこで八月札の成分を各種クロマトグラフィーで分離・精製し 13 化合物を得た。これらは構造解析により新規 1 化合物を含む全てがトリテルペンサポニンであった。

#### C-13. キク科タンポポ亜科植物のトリテルペノイドの探索

アキノノゲシ *Lactuca indica* L. のトリテルペノイド成分を精査し、新規化合物の 1 種を含む 7 種の化合物の構造を決定した。

#### C-14. ネパール産リンドウ科植物の成分研究

##### C-14-1. 新規 chiratanone 型トリテルペノイドの構造

得られた 4 化合物のうち 1 は、IR でカルボニル基の吸収が認められ、HR-MS の M<sup>+</sup> m/z 410.3549 から分子式は C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>O である。LR-MS で、chiratenol [chirat-16-en-3b-ol] の CDE 環に由来するフラグメントイオンが観測された。各種の NMR 相関の測定により 24-norchirat-16-en-3-one であると決定した。また、立体構造は NOESY スペクトルの検討により決定した。2 も同様に IR でカルボニル基の吸収が認められ、HR-MS の M<sup>+</sup> m/z 410.3549 から分子式は C<sub>31</sub>H<sub>50</sub>O<sub>3</sub> であった。各種の NMR 相関の測定により methyl 3a-hydroxy-chirat-16-en-24-oate であると決定した。

##### C-14-2. 新規 hopane 型トリテルペノイド

化合物 3 及び 4 は、何れも、IR でカルボニル基、水酸基の吸収が認められ、HR-MS では、3 は M<sup>+</sup> m/z 470.3751、4 は M<sup>+</sup> m/z 486.3701 で分子式はそれぞれ C<sub>31</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>、C<sub>31</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub> であった。各種の NMR 相関の測定により、3 の CDE 環部分は hop-17(21)-ene と 4 は 17b, 21b-epoxyhopane と H<sub>3</sub>-26~H<sub>3</sub>-30 までほぼ一致した。<sup>13</sup>C NMR の DEPT 測定結果を組み合わせ、3 は methyl-3a-hydroxyhop-17(21)-en-24-oate、4 は、methyl 17b, 21b-epoxy-3a-hydroxy-hopan-24-oate であると決定した。