

201129014B

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 総合研究報告書

研究代表者 関田 節子

平成24(2012)年5月

## 目 次

### I. 総合研究報告

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) WHO consultation on conservation of medicinal plants 表紙	— 16
WHO consultation on conservation of medicinal plants プログラム	— 17
WHO consultation on conservation of medicinal plants 議題	— 19
WHO consultation on conservation of medicinal plants 出席者リスト	— 23
WHO consultation on conservation of medicinal plants 出席者写真	— 30
WHO consultation on conservation of medicinal plants 新聞報道記事	— 31
一般公開ポスター	— 32

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 — 33

III. 研究成果の刊行物・別刷 — 35

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）  
総合研究報告書

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。国内でも、注目度が高まっ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。昨年度開催した関連諸国の専門家による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に協力した。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、国内で用いる生薬の基原植物の成分研究、分布の調査、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
淵野裕之	(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

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超す植物の絶滅が憂慮されている。近年では資源保有国と利用国の間で資源戦争が起きている。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。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本年度の目的とした。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

A. 研究目的

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

一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。

さらに、品質評価に関わる研究として、  
1. オウレン

オウレンは漢方処方的重要な配合生薬であると同時に主成分のベルベリンが非麻薬性止瀉薬として繁用されている。現在、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、筆者はかつて、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。

また、基本原植物に一種である *Coptis teeta* の野生種をミャンマーで入手したことから、日本において流通している局方オウレンとの定性的、定量的比較をした。その結果、「ビルマオウレン」とされる4種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。しかし、そのHPLCクロマトグラムでは、局方品及びビルマオウレン栽培品においてベルベリン、コプチシン、パルマチンの他に二つのピークが現れた。一方、残る3種のビルマオウレンではその片方のピークのみが現れた。そこで、未同定であるこれらの成分の単離同定を行った。

2. マオウ

現在、麻黄は、葛根湯や麻杏甘石湯などの感冒の初期に用いられる漢方処方のほか、メタボリックシンドロームに応用される防風通聖散、関節リウマチに応用される越婢加朮湯、水鼻で冷えの伴う発熱に応用される麻黄附子細辛湯、気管支炎や鼻炎に応用される小青龍湯などにも配合されており、漢方ではなくてはならない重要な生薬である。日本で使用される「マオウ」は『第十六改正日本薬局方』に「*Ephedra sinica* Stapf, *E. intermedia* Schrenk et C. A. Meyer、又は *E. equisetina* Bunge の地上茎で、総アルカロイド（エフェドリン及びプソイドエフェドリン）0.7%以上を含む」と記されており、それらは専ら漢方薬に配合されて使用される。日本では年間約570トン

のマオウを使用し、すべて中国からの輸入品である。しかし、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* 属植物の基源と品質に関する研究を行ってきた。<sup>1)</sup> 昨年度はモンゴル国産 *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。<sup>2)</sup> 今年度は、日局マオウの基源種のひとつである *E. intermeida* の簡便な検出法として葉緑体 *trnK* イントロン領域の配列に基づく PCR-RFLP 法を開発し、麻黄市場品の同定に応用した。

### 3. サンザシ

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。佐竹らは、日本薬局方収載生薬サンザシを配合した新規胃腸薬「エッセン」(平成23年4月発売)を、富山県及び富山県薬業連合会と共同開発

した。その過程において、hyperosideを標準物質とする 現行の方法では、サンザシエキス成分の確認試験ができなかった。hyperosideは、他の多くの植物にも含まれており、サンザシ特異成分を用いた確認試験が望ましい。そこで、サンザシ末、エキス剤等広く適用できる確認法を開発するため、エッセンに用いたサンザシエキスの原料であり、また、生薬サンザシとして広く流通しているオオミサンザシの成分を広く探索し、特異成分の解明を試みた結果、新規エピカテキン誘導体2種を見出し、その構造を決定した。

### 4. シコン (シコニン)

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、粘膜型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、シコニンに最も強い作用を見出した。そこで、シコニンの薬理作用機序を解明するため、網羅的遺伝子発現解析などにより検討し、その結果、シコニンは核内オーファン受容体NR4Aの遺伝子発現を抑制すること明らかにした。本研究では、シコニンの作用発現におけるNR4Aの役割の解明およびシコニンのターゲット・タンパク質の探索を行った。

### 5. ジリュウ

ミミズを基源とする動物生薬「地竜」は、もともと『神農本草経』に収載され、民間薬としてのミミズも、特に子供の風邪の熱冷ましとして、昔からよく使われてきた。「地竜」の薬効としては、解熱作用が最も定評があり、各種解熱鎮痛薬や感冒薬にも配合されている。しかし、その薬効成分は未だ不明で、品質規格も定まっていない。そこで、「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、品質規格の設定を試みた。

## 6. 鉱物生薬

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。

更に薬用資源の探索として、ネパール産リンドウ科植物の成分解明、パキスタン産キク科植物の成分解明、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を対象に研究した。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の「conservation of medicinal plants 富山ガイドライン」

2012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。

2010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。

2012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-2. オウレンの新潟県に置ける野生種の分布：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。

B-3. 日本産オウレンの分子生物系統学的検討：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. ビルマオウレンと日本薬局方オウレンの成分の検討：平成22年度の研究過程でミャンマーで入手した *Coptis teeta* 及び日本薬局方オウレンを用いた。定量分析は、LC/PDA および LC/MS を、未同定化合物の分離は各種クロマトグラフィーを、化学構造解析は主として NMR [AVANCE 700 (Bruker BioSpin), Unity INOVA 500 (Varian)] を用いた。

B-5. マオウ市場品の同定に適用可能な葉緑体 *trnK* イントロン領域の

配列に基づく PCR-RFLP 法の検討：  
マオウ植物材料

- ・ モンゴル国産 *E. sinica* 1 検体  
(Voucher No. M1455)
- ・ 中国甘肅省産 *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」(内蒙古産 6  
検体、甘肅省産 1 検体)
- ・ 中国市場品「麻黄」(内蒙古産 1 検  
体、甘肅省産 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-6.** 日本薬局方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  
クロマトグラフィーにより分離を行い、  
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-7.** シコニンの作用発現におけるNR4A  
の役割の解明およびターゲット・タンパ  
ク質の探索：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-8** 動物生薬；ジリュウの含有タンパク  
成分の解明：平成22年度の研究で行った  
ジリュウ抽出物に続く新たなペプチド分

画を用いて、LC-MSにより配列を決定し  
た。

**B-9.** 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-10.** 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-11. 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-12. 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-13. 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づける植物種の保護や危険分散を行った。

B-14. 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」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. オウレンの新潟県における野生種の分布：

#### C-2-1. 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-2-2. 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-2-3. 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を調査したところ、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-2-4. 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 付近の下の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. 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

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. ビルマオウレンと日本薬局方オウレンの成分の検討：**

**C-4-1. 1. オウレンの LC/PDA 及び LC/MS 分析**

- (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)

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。

**C-4-2. 未同定化合物の単離**

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。

**C-4-3. 未同定化合物の構造解析**

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と判明した。

**C-5. マオウ市場品の同定に適用可能な葉緑体 *trnK* イントロン領域の配列に基づく PCR-RFLP 法の検討：**モンゴル国 *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 *Bsa*XI 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 *Bsa*XI 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-6. 日本薬局方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-7. シコニンの作用発現におけるNR4Aの役割の解明およびターゲット・タンパク質の探索：**

**C-7-1. 粘膜型骨髄細胞由来マスト細胞に対する抑制作用**

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-7-2. 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-8. 動物生薬;ジリュウの含有タンパク成分の解明：**

**C-8-1. ペプチド成分分析**

平成 22 年度の研究でジリュウから得た 10 種のペプチドに続き新たに 11 種のペプチドを見だし、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-8-2. 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-9. 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、(NH<sub>4</sub>)Al(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 12H<sub>2</sub>O、S、KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 12H<sub>2</sub>O、CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O、BaSO<sub>4</sub>、(Mg, Al)<sub>6</sub>(Si, Al)<sub>4</sub>O<sub>10</sub>(OH)<sub>8</sub>、Fe<sub>3</sub>Al<sub>2</sub>(SiO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>、Mg<sub>3</sub>(Si, Al)<sub>4</sub>O<sub>10</sub>(OH)<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O、SiO<sub>2</sub>、CaCO<sub>3</sub>、Mg<sub>x</sub>(Mg, Fe)<sub>3</sub>(Si, Al)<sub>4</sub>O<sub>10</sub>(OH)<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O、HgS、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>、NH<sub>4</sub>Cl、

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)O<sub>10</sub>(OH, F)<sub>2</sub>、PbS、CaCO<sub>3</sub>、NaCl、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、ZnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O、(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>、CaZn(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、FeO(OH)、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、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、CaF<sub>2</sub>、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-10. ネパール産リンドウ科植物の成分研究：

#### C-10-1. 新規 chiratane 型トリテルペノイドの構造

化合物 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 関連の測定により 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 関連の測定により methyl 3a-hydroxy-chirat-16-en-24-oate であると決定した。

#### C-10-2. 新規 hopane 型トリテルペノイドの構造

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  $M^+$   $m/z$  470.3751、**4** は  $M^+$   $m/z$  486.3701 で分子式はそれぞれ  $C_{31}H_{48}O_3$ 、 $C_{31}H_{48}O_3$  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  $H_3$ -26 ~  $H_3$ -30 までほぼ一致した。 $^{13}C$  NMR の DEPT 測定結果を組み合わせて、**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。

化合物 **5** は HR-MS で  $M^+$   $m/z$  502.3658 の値を示し分子式  $C_{31}H_{50}O_5$  であった。さらにフラグメントイオン、NMR 測定、以前に得られた 3b-hydroxy-17, 21-dioxo-17, 21-secohopan-24-oic acid との比較により 3a-Hydroxy-17, 21-dioxo-17(21)-seco-hopan-24-oate であると決定した。

C-11. パキスタン産キク科植物の成分研究：

#### C-11-1. パキスタン産 *Artemisia scopalia* の MeOH エキスから抗リウマチ活性物質の分離

パキスタン産 *A. scopalia* (キク科) の MeOH エキスに抗リウマチ活性が認められたので乾燥地上部の MeOH エキスを酢酸エチル (AcOEt) と水で分配し、水相はさらにブタノール (*n*-BuOH) と分配し AcOEt, *n*-BuOH,  $H_2O$  相を得た。このうち、AcOEt 相に

強い活性が認められたので、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行なった結果、40種余りの化合物を分離した。

#### C-11-2. 分離化合物の構造決定

得られた化合物は全て HR-ESI-MS および 1D-NMR ( $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR), 2D-NMR (H-H COSY, HMQC, HMBC, ROWSY) 測定を行い、データ等を検討することにより構造解析を行い、報告されているデータと比較することにより、30種を既知化合物と同定した。

新規化合物 (comp. **1** - **10**) については以下のようなスペクトルデータの解析により構造決定した。

Comp. **1** は HR-ESI-MS において  $m/z$  329.1373 に疑似分子イオン  $[M+H]^+$  (計算値 329.1389 for  $C_{19}H_{21}O_5$ ) を示すことから分子式は  $C_{19}H_{20}O_5$  と決定した。Comp. **2** は HR-ESI-MS において  $m/z$  289.1800 に疑似分子イオン  $[M+H]^+$  (計算値 289.1804 for  $C_{18}H_{25}O_3$ ) を示すことから分子式は  $C_{18}H_{24}O_3$  と決定した。Comp. **3** は HR-ESI-MS において  $m/z$  263.1276 に疑似分子イオン  $[M+H]^+$  (計算値 263.1283 for  $C_{15}H_{19}O_4$ ) を示すことから分子式は  $C_{15}H_{18}O_4$  と決定した。Comp. **4** は HR-ESI-MS ( $m/z$  263.1275  $[MH]^+$ ) から **3** と同じ分子式を有することが明らかとなり、 $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR スペクトルデータも、**3** のものとほとんど同じシグナルパターンであった。唯一明確な違いは、2', 5'-位の  $^1H$ -及び  $^{13}C$ -NMR のケミカルシフト値とカップリングパターンであった。

詳細に検討し、**3** と **4** は互いに 2' 或いは 3' -位における立体異性体であるものと推定した。Comp. **12** は HR-ESI-MS において  $m/z$  215.0715 に疑似分子イオン  $[M+H]^+$  (計算値 215.0708 for  $C_{13}H_{11}O_3$ ) を示すことから分子式は  $C_{13}H_{10}O_3$  と決定した。NMR 解析により、イソクマリン骨格にアセチレン構造を持つ側鎖が結合した capillarine の類縁体と構造決定した。その他の新規化合物 **5**~**11** 及び **13** についても、同様に HR-ESI-MS, 1D-NMR ( $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR), 2D-NMR (H-H COSY, HMQC, HMBC, ROESY) のデータを詳細に解析することにより構造を明らかにした。

**C-12.** 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：

**C-12-1.** ミャンマー産 *Dalbergia cultrata* の活性成分の単離，構造決定とその活性

MeOH エキスの酢酸エチル層と水層は同等の抗リーシュマニア活性を示した。酢酸エチルエキスから平成 22 年度に報告した 7 つの化合物 Dc-1~7 に加えて、今回、新たに得た 2 種 Dc-8~9 の化合物を得たので構造決定を行った。

Dc-8 は、 $^1H$ -NMR の解析によりネオフラボノイドである dalbergin の文献値と良い一致を示した。Dc-9 は、 $^1H$ -NMR (700 MHz,  $C_5D_5N$ ) において Dc-8 と同様に一置換ベンゼン環の存在が示唆された。更に詳細に検討し、フェナンスレン 1,4-キノン構造を有する

latinone であると推定し、文献値との比較検討を行った結果、良い一致を示した。得られた化合物 Dc-1~9 について、リーシュマニア原虫プロマスチゴート体、マウスマクロファージ様細胞 RAW264.7, 骨肉腫オステオサルコーマ細胞 MG63 に対する影響を改良 MTT 試験および XTT 試験で行った。ポジティブコントロールとして amphotericin B を用い、*L. major* に対する活性を検討したところ、Dc-1 が最も強く、Dc-3、7、4、6 に中程度の活性を認めた。RAW264.7 に対しては Dc-1、4 に、Dc-2、3 に中程度の活性があった。MG63 に対しては Dc-1、5 に活性を認めた。

**C-12-2.** ミャンマー産 *Tectona hamiltoniana* の抗リーシュマニア活性成分の探索：予備試験で活性の認められた (MIC 1.56  $\mu g/mL$ ) 酢酸エチルエキスから、分離精製の結果 4 種 (Th-1~4) の化合物を単離した。これらについて NMR ( $^1H$ ,  $^{13}C$ , COSY, HSQC, HMBC, NOESY) および HRESITOFMS を測定し構造を検討したところ、全て既知のフラボノイド類縁体であることが明らかになった。文献値比較の結果、Th-1 は genkwanin (11)、Th-2 は kumatakenin (12)、Th-3 は pachypodol (13)、Th-4 は acacetin (14) であると同定した。これらのうち、収量の得られた Th-1~4 について抗リーシュマニア活性試験及び RAW264.7 細胞に対する増殖抑制試験を行ったが活性は認められなかった。

**C-13.** 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：平成

23年度においては、外国からの種子請求では、種子請求総数1430点（昨年度1184件）、種子送付総数1351点（昨年度1147件）、種子請求機関数90機関（昨年度81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397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 94機関、種子等導入数217点（昨年度1573点）であった。各研究部毎の導入種子点数は、北海道研究部 35点、筑波研究部 133点、種子島研究部 33点、全量保存用 16点、合計217点であった。導入した種子類の内訳は、*Alisma plantago-aquatica* L. (Alismataceae) (サジオモダカ) 15点、*Coix lacryma-jobi* L. (Geramineae) (ジュズダマ) 16点、*Scutellaria baicalensis* Georgi (Labiatae) (コガネバナ) 10点などであり、種子は214点、種子以外の苗1点、シダ植物2点であった。

さらに今年度は、22年度に種子島研究部が採取した野生種子193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。野生種子の保存は毎年各研究部の採種した野生種子をローテーションを組んで行なっている。昨年度は筑波研究部だったため、今年度は種子島研究部の野生種子を保存した。

**B-14.** アルゼンチンの薬用植物利用、保全に関する情報収集：Dr. Renée Hersilia Fortunato から同国の野生有

用植物の分布、過去にUSA、韓国それぞれと薬用植物の医薬品開発研究の実態が報告され質疑応答を行った。その後、日本の状況、WHO「conservation of medicinal plantsガイドライン」を解説し理解を得た。さらに、富山、香川の薬用植物研究、栽培状況を案内することにより薬用植物保全の重要性の理解を得た。

#### **D. 健康危険情報**

なし

#### **E. 研究発表**

##### **1. 論文発表**

1) Zhu S., Kitani Y., Komatsu K. Exploration of *Ephedra* resource in Mongolia: From field investigation to molecular identification and chemical evaluation. *J. Trad. Med.*, **29**: 35-40 (2012).

2) Chemical inducers of heat shock proteins derived from medicinal plants and cytoprotective genes response.

Ahmed K, Furusawa Y, Tabuchi Y, Emam HF, Piao JL, Hassan MA, Yamamoto T, Kondo T, Kadowaki M. *Int J Hyperthermia*. 2012; 28, 1-8.

3) Rangel, M; Cabrera, M. P. S.; Kazuma K.; Ando, K.; Wang, X.; Kato, M.; Nihei, K.; Hirata, I. Y.; Cross, T. J.; Garcia, A. N.; Mauro, E. L. F.; Franzolin, M. R.; Fuchino, H.; Mori-Yasumoto, K.; Sekita, S.; Kadowaki, M.; Satake,

M.; Konno, K. *Toxicon*, 2011, 57, 1081-1092.

4) Mori-Yasumoto, K., Izumoto, R., Fuchino, H., Ooi, T., Agatsuma, Y., Kusumi, T., Satake, M., and Sekita, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, submitted.

## 2. 学会発表

1) 篠崎淳一, 高野昭人, 増田和夫, 佐竹元吉, 関田節子: , 日本生薬学会第58回年会(東京), 2011, 9, 24-25

2) 代田 修、豊田佳奈、我妻 豊、関田節子、数馬恒平、佐竹元吉: ミャンマー産オウレンの現地調査および成分分析, 日本生薬学会第58回年会(東京), 2011, 9, 24-25

3) 朱 姝, 木谷友紀, 小松かつ子: 漢薬「麻黄」の資源探索: モンゴル国産 *Ephedra* 属植物の遺伝子多型とアルカロイド成分に関する研究. 第28回和漢医薬学会学術大会, 2011, 8/27-28, 富山.

4) 木谷友紀, 朱 姝, 田中 謙, 小松かつ子, 辰尾良秋, Batkhuu J.: 生薬「マオウ」の簡易同定法の開発とモンゴル国栽培品 *E. sinica* の品質評価及び栽培条件の検討. 日本生薬学会第58回年会, 2011, 9/24-25, 東京.

5) 磯部優佳, 宮永 賢, 数馬恒平, 紺野勝弘, 佐竹元吉: オオミサンザシの成分解析とそのサンザシエキス確認試験への応用: 第28回和漢医薬学会学術大会, 2011, 8, 富山.

6) 磯部優佳, 数馬恒平, 紺野勝弘, 佐竹元吉: 生薬オオミサンザシ由来の

2種のエピカテキン誘導体の構造: 日本薬学会第132年会, 2012, 3, 札幌

7) 紺野勝弘, 宮永 賢, 数馬恒平, 佐竹元吉: 地竜のペプチド成分: 第28回和漢医薬学会学術大会, 2011, 8, 富山.

8) 紺野勝弘, 数馬恒平, 宮永 賢, 佐竹元吉: 地竜エキス中のペプチド成分分析: 日本生薬学会第58回年会, 2011, 10, 東京

9) 伏見直子、伏見裕利、小松かつ子: アーユルヴェーダで使用される鉱物性生薬に関する研究. 第33回日本アーユルヴェーダ学会, 2011, 10/28-30、金沢.

10) 伏見裕利、伏見直子、小松かつ子: アーユルヴェーダで使用される鉛化合物に由来する鉱物性生薬に関する研究. 第33回日本アーユルヴェーダ学会, 2011, 10/28-30、金沢.

11) 中根孝久, 上田達也, 埴田明彦, 高野昭人, 増田和夫, 関田節子: *Swertia chirata* のトリテルペノイド, 日本生薬学会第58回年会(東京), 2011, 9, 24-25

12) 安元(森)加奈未, 湊野裕之, 我妻豊, 佐竹元吉, 関田節子: 抗リーシュマニア活性を有する薬用植物の探索(その22) -ミャンマー産植物 *Kyun Tectona grandis* Linn. の成分について3-, 日本薬学会第131年会(静岡), 2011. 3.

13) 安元(森)加奈未, 湊野裕之, 我妻豊, 佐竹元吉, 関田節子, 「抗リーシュマニア活性を有する有用植物の探索(その23) -ミャンマー産植物 *Kyun Tectona grandis* の成分について-」 日本生薬学会第58回年会(東京), 2011,

9, 24-25

14) 安元加奈未、日本薬学会生薬天然物部会奨励研究受賞講演「熱帯植物からの抗リーシュマニア活性物質の探索」第4回食品薬学シンポジウム（東京）, 2011, 11, 28-29

15) 安元（森）加奈未, 瀧野裕之, 我妻豊, 佐竹元吉, 関田節子: 抗リーシュマニア活性を有する薬用植物の探索（その 24）-ミャンマー産植物 *Kyun Tectona grandis* Linn. の

成分について-, 日本薬学会第 132 年会（札幌）, 2012. 3. 28-30

#### F. 知的財産の出願・登録状況

（予定を含む）

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

**Revised Draft  
September 2011  
RESTRICTED**

**Revised Draft**

**Updated edition:  
WHO, IUCN, WWF and TRAFFIC**

**GUIDELINES  
ON  
THE CONSERVATION  
OF  
MEDICINAL PLANTS**

**September 2011**

**THE WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO)  
INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE (IUCN)  
WORLD WIDE FUND FOR NATURE (WWF)  
TRAFFIC**

10 October 2011

### Provisional Programme of Work

Arrival of participants in Toyama

#### **Friday, 14 October 2011 (Venue: ANA Crowne Plaza Toyama, 3<sup>rd</sup> floor)**

- 17:30 - 18:30 Registration of participants (*Foyer in front of Banquet room "Asuka"*)
- 18:30 - 19:00 Opening of the meeting (*Banquet room "Asuka"*)
- Opening remarks: Dr Zhang Qi, World Health Organization  
Welcome remarks: Mr Takakazu Ishii, Governor, Toyama Prefecture  
Welcome address: Mr Ken-ichi Tamiya, Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan  
Welcome address: Professor Shunro Endo, President, University of Toyama
- 19:00 - 20:00 Welcome cocktail (*Banquet room "Ho-ou"*)

#### **Saturday, 15 October 2011 (Venue: Room 304, Toyama Ken-min Kaikan)**

- 09:00 - 10:30 Nomination of Chairperson and Rapporteur
- Adoption of the Provisional Agenda
- General briefing on the working method of meeting  
Dr Zhang Qi, Coordinator, Traditional Medicine, WHO
- Briefing on the background and the preparation of the updated edition of the WHO/IUCN/WWF guidelines on conservation of medicinal plants (1993)  
Dr Danna Leaman, Inter-agency coordinating group
- 10:30 - 10:45 *Coffee/Tea Break*
- 10:45 - 12:30 Introduction and perspectives of international organizations taking part in the update of the guidelines
- International Union for Conservation of Nature (IUCN)  
Dr Andrew Rodoriguez
  - The World Wide Fund for Nature (WWF)  
Ms Kahori Kanari
  - TRAFFIC INTERNATIONAL  
Dr Anastasia Tymosyna
  - Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO)  
Dr Paul Ventomme
- Review and discussion of the outline of the draft guidelines
- 12:30 - 14:15 *Lunch*
- 14:15 - 15:45 Review and discussion of the outline of the draft guidelines (continued)
- 15:45 - 16:00 *Coffee/Tea Break*
- 16:00 - 17:30 Review and discussion of the content of the draft guidelines
- Group photograph

*WHO consultation on conservation of medicinal plants, Toyama, Japan, 15-18 October 2011*

**Sunday, 16 October 2011 (Venue: Room 304, Toyama Ken-min Kaikan)**

- 09:00 - 10:30     Review and discussion of the content of the draft guidelines (continued)
- 10:30 - 10:45     *Coffee/Tea Break*
- 10:45 - 12:30     Review and discussion of the content of the draft guidelines (continued)
- 12:30 - 14:00     *Lunch*
- 14:00 - 15:30     Review and discussion of the content of the draft guidelines (continued)
- 15:30 - 15:45     *Coffee/Tea Break*
- 15:45 - 17:30     Review and discussion of the content of the draft guidelines (continued)

**Monday, 17 October 2011 (Venue: Room 304, Toyama Ken-min Kaikan)**

- 09:00 - 10:30     Review and discussion of the content of the draft guidelines (continued)
- 10:30 - 10:45     *Coffee/Tea Break*
- 10:45 - 12:30     Review and discussion of the content of the draft guidelines (continued)
- 12:30 - 14:00     *Lunch*
- 14:00 - 15:30     General discussion on the future process
- Discussion on recommendations
- 15:30 - 15:45     *Coffee/Tea Break*
- 15:45 - 17:30     Discussion on recommendations (continued)
- Briefing on site visit  
                         Organizing Committee

**Tuesday, 18 October 2011: One full day complementary site visit**

- 09:00 - 09:30     Departure from Hotel (pick up by bus)
- Visit to the University of Toyama (Sugitani Campus)  
    Research, higher education (both the medical and the pharmaceutical faculty at both under and post graduate schools) and provision of traditional medicine (Kampo) based medical care at the University Hospital
- Lunch
- Visit to the Toyama Prefectural Medicinal Plants Centre  
    Research and training on cultivation of medicinal plants
- 17:00             Summary and concluding remarks  
                         Closure of the meeting