

201132021A

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

麻薬・向精神・指定薬物等の乱用防止に
関する研究 国際的調和を踏まえた麻薬
代替としての薬用植物等に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

平成 24 (2012) 年 3 月

研究代表者 佐竹 元吉

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

麻薬・向精神・指定薬物等の乱用防止に
関する研究 国際的調和を踏まえた麻薬
代替としての薬用植物等に関する研究

目 次

I. 総括研究報告	
「麻薬・向精神・指定薬物等の乱用防止に関する研究 国際的調和を踏まえた麻薬代替としての薬用植物等に関する研究」	1
佐竹 元吉	
II. 分担研究報告	
1. けし代替薬用植物の大量栽培指導と生産物の評価	7
佐竹 元吉	
2. 覚せい剤等 ATS の原料物質に関する研究	26
長野 哲雄	
3. ミャンマー薬用植物の有用性に関する研究	36
関田 節子	
4. 大麻の DNA 鑑定を目的としたゲノム多様性に関する研究	43
高上馬 希重	
III. 研究成果の刊行物・別刷	54

I. 総括研究報告書

麻薬・向精神・指定薬物等の乱用防止に関する研究 国際的調和を踏まえた麻薬代替としての薬用植物等に関する研究

研究代表者 佐竹 元吉 お茶の水女子大学 客員教授

研究要旨 本研究班は、薬物乱用防止対策で重要な課題である、密造用原料植物の不正栽培や原料物質の不正流通防止に役立つ下記4テーマで研究を6年間継続し、東南アジアを主な対象とした国際的な乱用薬物拡散防止の一翼を担う成果を得た。

1) けし代替植物の大量栽培指導と生産物の評価

国際的な代替植物栽培支援対策にもかかわらず、現在もケシ栽培とアヘン生産が継続されているインドシナ半島において、住民の収入源確保のための不正麻薬原料植物生産を防止し、薬用植物栽培の推進による伝統医療振興を目指した。現地で、日本向け薬用植物の栽培を漢方薬企業と共同で行った。ミャンマーの伝統生薬の品質確保に必須の生薬局方の作成を支援し、生薬20種類の規格作成し、保健省から研修生を受け入れ、局方づくりに必要な技術指導を行った。ミャンマーチン州で薬用ラン等の野生薬用植物の調査及び栽培指導を行った。

2) 覚せい剤等ATSの原料物質に関する研究

Emde法で密造された覚せい剤に、微量含まれると想定されるエフェドリン類のクロル中間体のLC/MSによる検出法を確立し、GC/MS及びHPLCによる密造法由来のキー不純物情報に、クロルプソイドエフェドリンを加え考察した。異なる3地域で生育していた麻黄の安定同位体比測定をし、プロファイリング用基礎データを得た。国際的な技術支援として、インドネシアBNNから3名の法化学者の安定同位体分析を主とした覚せい剤プロファイリング研修を11月末に2週間実施した。

3) ミャンマー薬用植物の有用性に関する研究

ミャンマーの森林資源であるチークノキ葉の熱帯リーシュマニア原虫に対する活性の検討で、新規ベンゾキノン化合物に活性を見出した。ミャンマーにて入手した3種の植物のエキスを作成し、抗リーシュマニア活性試験およびヒト骨肉腫オステオサルコーマMG63細胞に対する増殖抑制試験を行ったところ、*Bistorta sp.*の根に興味ある活性が見出された。

4) 大麻のDNA鑑定を目的としたゲノム多様性に関する研究

世界中に分布する大麻の多様性情報を、大麻の植物学的鑑定における効率化と精度向上に役立てることをめざし、形態的特徴、THC含有率、THCA生合成酵素遺伝子型の総合的情報のデータベース化を行った。THCA生合成酵素遺伝子型には非常に多くのタイプが存在することから、大麻の植物学的鑑定において有効な鑑定手段であることが再認識された。しかし、植物体の形態的特徴からはTHC含有率、THCA生合成酵素遺伝子型を推定することは困難であった。

研究分担者

長野 哲雄

東京大学大学院薬学系研究科教授

関田 節子

徳島文理大学香川薬学部教授

高上馬希重

北海道医療大学薬学部准教授

A. 研究目的

本研究は、薬物乱用防止対策で重要な課題である密造用原料植物の不正栽培や原料物質の不正流通防止をめざし、国際的な観点から、約 10 年間継続して代替植物栽培、伝統的生薬の成分、密造原料に関する化学情報、大麻に関する生物学的鑑定法等多面的な研究を行ってきた。最終年度に当たり、これまでの成果を発展させ、研究を進めた。不正取引を目的としたケシ栽培とアヘン生産が依然として継続されているインドシナ半島では、生育に適した野生薬用植物栽培を推進させ、伝統医療振興により、住民の正規の収入源を確保し、当地域における不正な麻薬原料植物生産を防止し、生活環境向上を目指した。覚せい剤等 ATS の密造所は世界の様々な国に拡散傾向にある。覚せい剤の密造阻止を目的に、化学情報の検討を 10 余年にわたり検討し、安定同位体比分析や対象を絞った有機不純物分析は国内の関係機関の実務をリードし、国際的に評価されるデータの獲得に寄与してきた。本年度は、LC/MS によるエフェドリン類のクロル中間体を加え、より信頼性の高いプロファイリングを目指した。麻黄由来のエフェドリン類を覚せい剤原料とした場合の詳細なプロファイリング

法確立のため、麻黄の生育地検索を目指し、麻黄の安定同位体比分析を行った。ミャンマーに生育する植物を対象にした抗リーシュマニア活性等の検討では、昨年までにチークノキ葉中の構造を決定した成分について、抗リーシュマニア活性およびマウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 に対する増殖抑制試験を XTT アッセイにより検討することとした。ミャンマーチン州ディーティン及びマンダレー管区ピンウーリンにおいて入手した 4 種の植物について抗リーシュマニア活性試験及びヒト骨肉腫オステオサルコーマ MG63 細胞に対する増殖抑制試験を行うことを目指した。多様性の存在が知られている大麻については、形態的特徴や麻薬成分、DNA 情報などを総合的に関連付けた情報が大麻鑑定の効率化と精度向上に役立つと考え、アサ 30 系統の葉、茎、種子の形態的特徴や THC 含有率、THCA 生合成酵素遺伝子型を調べ、これらの情報を一つに関連させたデータベースの構築を行うことを目指した。

B. 研究方法

1) けし代替植物の大量栽培指導と生産物の評価

ミャンマー連邦山間地にあるチン州北部で、麻薬代替植物としての薬用植物の調査をし、可能なものはさく葉標本用に採種した。薬用ランについては、地元の業者から買い取ったランや日本から持ち込んだランをピンウーリンの植物園にて栽培を試みた。古くから動物性生薬として利用されているタケバチの成分研究を行った。ミャンマー国内での伝統医療の

普及に役立つ生薬薬局方作成のため、保健省伝統医薬局の研究者 2 名を日本に受け入れ、生薬薬局方の規格化に必要な検鏡や機器分析について研修を 3 か月実施した。ASEAN の伝統薬振興に関する技術支援のため、昨年引き続き第 3 回 ASEAN 伝統薬会議に出席し、伝統薬規格の重要性について講演した。

2) 覚せい剤等 ATS の原料物質に関する研究

本年度は、LC/MS によるエフェドリン及びクロルエフェドリン類の検出を試みた。GC/MS では、微量のクロルエフェドリン類は高温の注入口(250°C前後)で、*cis/trans*-1,2-dimethyl-3-phenyl-aziridine に環化するので、検出が難しい。そこで、押収品メタンフェタミン塩酸塩が Emde 法で密造された場合に、微量含まれると想定されるクロルエフェドリン類の LC/MS による検出法について検討した。カラムは ODS 系の Poroshell EC-C18MGII(2.1 I.D. x 150 mm)を用い、20 mM HCOONH₄ 水溶液 /CH₃CN (80/20)の溶液にイオンペア剤として trifluoroacetic acid を 0.05%加えた移動相を用いた。試料溶液は前年度報告同様に前処理操作なしで、覚せい剤結晶 20 mg を水 1 mL に溶かし、水溶液を直接注入した。更に、麻黄の水素、炭素及び窒素の安定同位体比測定を SI サイエンスの協力を得て行った。

3) ミャンマー薬用植物の有用性に関する研究

入手した植物は *Tectona grandis* の葉、*Bistorta* sp., の根および葉、*Cephalandra indica* の葉、*Acacia concinna* の地上部、*Tectona hamiltoniana* の枝である。Leishmania

原虫の培養は *Leishmania major* の前鞭毛体を培養し、アッセイに用いた。MG63 オステオサルコーマ細胞の培養では、ヒト骨肉腫 MG63 細胞は、100 mm セルカルチャーディッシュ中調整 DMEM 培地を用いて 37°C 5% CO₂ に設定した。抗リーシュマニア活性評価 (in vitro)は、96 穴マイクロタイタープレートに各濃度の試料溶液 50 μL で測定した。チーク葉は、メタノールにてホモジナイズ後、温浸抽出した。メタノールエキスは、水と酢酸エチルで分配し、活性を示した酢酸エチル抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付した。分画した各フラクションについて、リーシュマニア原虫を用いたバイオアッセイに従って、HPLC を繰り返し行った。その他の植物に関しても乾燥後グラインダーで粉碎した後、メタノールで温浸抽出(60°C)を 3 回行い、減圧濃縮後、エキスとした。

4) 大麻の DNA 鑑定を目的としたゲノム多様性に関する研究

植物は成育環境によって、形態的特徴や化学分量に変化をきたすことがある。そこで環境要因の違いによる影響排除するため、一定環境条件の人工気象条件下(25 °C、24 時間連続照明)で各系統のアサを育成した。各系統の植物体の外部形態的特徴、THC 含有率(HPLC 法)、THCA 生合成酵素遺伝子型(サンガー法)を調べた。それぞれのデータを用いてデータベースを構築した(ファイルメーカー)。

C. 研究結果及び考察

1) けし代替植物の大量栽培指導と生産物の評価

ミャンマーチン州ケネディーピークは、南東ヒマラヤに位置する山地の町で、野生植物の宝庫であった。野生薬用植物としては、ミシマサイコ、イワオウギ、センブリ、トリカブトなど日本の漢方薬で用いられている生薬植物が生育していた。シャクナゲは種類が多かった。林業省職員と桜の苗 100 本を植えた。一昨年のプタオでの栽培の失敗は灌水不足であったので、本年度は堆肥及び看守を十分行ったため、よい成育が得られた。ミャンマー産生姜を分析しところ、ギンゲロールの含有量が多いことが判明し、大量栽培を計画できた。メイミョウのピンウーリン植物園で昨年栽培を開始した 16 種類の漢方薬原料植物の生育及び根の状態を調査したところ、ボウフウ、サイコ、オウギは市場に出せる状態であった。薬用ランの自生地および流通について初踏査では、自生地で *Dendrobium longicornu* が観察された。タケバチの薬効成分については、ペプチド性成分の構造決定でき、今後薬効との関連付けを検討できるようになった。2009 年からミャンマー保健省を支援し進めてきた生薬薬局方作りでは、作成委員会にて、相互に記載内容を検討し、初版収載する生薬 20 品目のモノグラフを完成させた。ミャンマーの麻薬地域カイン州と中央政府が平和協定をむすび、テイン・セイン大統領は彼らの経済支援のために、日本に対して、山間部での農業支援を要望している。本プロジェクトの薬草栽培の成果が重要な役割を果たすことになる。

2) 覚せい剤等 ATS の原料物質に関する研究

Emde 法で密造がおこなわれた覚せい剤のキー不純物であるクロル中間体は、GC/MS による不純物分析で環化し、クロル中間体そのものの検出がむずかしく、対象とされていなかった。そこで、本年度は、LC/MS によるクロル中間体及びエフェドリン類の検出法を確立した。密造される覚せい剤に含まれる多数の微量不純物から、プロファイリング目的にそったキーとなる不純物情報が確実に得られることで、より正確な密造法推定が可能となった。医薬品として市販されていた「ヒロポン」注射液からクロル中間体を得られたことは、メーカーからの情報と一致する結果であった。麻黄由来のエフェドリン類を覚せい剤原料とした場合の覚せい剤の詳細なプロファイリングを進めるために、予備実験ではあるが、異なる 3 地域で生育していた麻黄について特徴的な炭素、窒素及び水素の安定同位体比の値を得ることができた、今後各試料からエフェドリンを抽出し、植物で得られた値がどの程度覚せい剤原料エフェドリンに反映されるか検討し、麻黄由来の原料の詳細なプロファイリングに生かしていく予定である。

3) ミャンマー薬用植物の有用性に関する研究

NMR及び高分解能HRESI-TOFMSで、チーク葉からの新規シズジオール構造を有するベンゾキノロン及びフラボノイド構造を有する化合物の構造を解明した。新規ベンゾキノロン化合物は抗リーシュマニア活性を有していた。新規のフラボノイド化合物の活性については検討中である。その他の植物(*Bistorta* sp., *Cephalandra indica*, *Acacia concinna*, *Tectona hamiltoniana*) についてエキスを作成し、抗リーシュマニア活性試験およびヒト骨肉腫オス

テオサルコーマMG63細胞に対する増殖抑制試験を行った。その結果、これらの化合物は抗リーシュマニア活性を示さなかった。一方、MG63に対しては、どのエキスも増殖抑制を示さなかったが、顕微鏡観察下において、*Bistorta sp.*の根のエキス50 µg/mL添加時に接着が緩くなり形態が丸くなる現象が観察された。

4) 大麻の DNA 鑑定を目的としたゲノム多様性に関する研究

THCA 生合成酵素遺伝子の DNA 配列は、THC の含有率によって2つのタイプに分かれた。(THC 高含有系統：D 型 (Drug-type)、THC 低含有系統：F 型 (Fiber-type))。D 型系統には D-1 型、D-2 型の2つのタイプが存在した。F 型には7つのタイプが存在した (F-1 型、F-2 型、F-3 型、F-4 型、F-5 型、F-6 型、F-7 型)。植物体の形態的特徴からは THC 含有率、THCA 生合成遺伝子型と関連する事項は認められなかった。

D. 結論

国際的調和を踏まえた麻薬代替植物の研究の最終年度報告にあたり、これまでの10年にわたる研究成果を振り返り今後の対策への提言としたい。

乱用薬物のインドシナ半島最大の生産国であるミャンマーでは、不正薬物による現金収入が、少数民族の独立の財源であった。しかし、昨年新政府によって、少数民族の経済支援が打出された。それに応え、ケシの代替に薬用植物を考えてきたが、不法麻薬生産地は貧困のため医療費がなく伝統薬を使っている現状も明らかになった。そこで、現地の伝統薬栽培と我が国で要望されている漢方原料植

物及び薬用果樹の栽培指導を並行して行ってきた。少数民族のカチン州とチン州で行った栽培試験と研修で、大量栽培できる候補となったのは、ショウガ、ベニバナ、ハトムギ、柑橘類、ブドウ及び薬用ランであった。テイン・セイン大統領の新政府は少数民族の経済振興に力を入れると表明している。大統領の外国との経済交流を積極的に行う方針を受け、日本の製薬会社や天然素材会社の協力を得て、大型栽培が始まったことは大きな前進である。伝統的な生薬からヒントを得て、経済的付加の高い新薬の開発に役立つことが期待されるのが、ミャンマーの経済植物チーク材の葉から、リュシュマニア治療薬開発を可能とする成分の発見である。この化合物の治療薬への発展研究は種の多様性条約の利益分配の面から重要な植物になると期待される。更に多くの素材や新しい活性試験法も開発されているので、より早い解明を期待する。覚せい剤については、近年、密造地がアフリカ、メキシコ、中近東とグローバルに拡散している。関係国の覚せい剤原料規制担当者による、覚せい剤原料の横流し規制対策に役立つ化学情報の重要性が徐々に認識されつつあり、国連の担当部局が、本研究で進めてきた日本の覚せい剤プロファイリングの化学情報について公式に情報を求めてきている。1998年から継続して検討してきた本研究班での多面的な覚せい剤の安定同位体分析や有機不純物分析によるプロファイリング手法は、国内の関係機関の実務をリードし、国際空港等の水際で押収される覚せい剤についての役立つデータが蓄積されつつ

ある。適切にこの化学情報がオープンされれば、今後の国際的な原料規制に役立つものと確信する。各国の法化学分析機関が可能なデータを取り、世界各国で流通している覚せい剤が、どのような化学情報をもっているか明らかにしていくことが必要である。同時に、関係各国の行政担当者に、覚せい剤の化学情報を収集し、有効に原料物質規制対策に役立てていく努力を期待し、最終報告とする。

II-1. 分担研究報告書

けし代替植物の大量栽培指導と生産物の評価

研究代表者 佐竹 元吉 お茶の水女子大学 客員教授

研究要旨 国際的な代替植物栽培支援対策にもかかわらず、現在もケシ栽培とアヘン生産が継続されているインドシナ半島において、薬用植物栽培の推進による伝統医療振興による住民の正規の収入源確保により、不正麻薬原料植物生産防止を目指した。ミャンマーでは、日本国内で漢方処方に利用される薬用植物の栽培を漢方薬企業と共同で行った。ミャンマーの医療現場で主流の伝統生薬の品質確保に必須の生薬局方の作成事業を支援し、生薬 20 種類について規格を作成でき、2 名のミャンマー保健省から研修生を受け入れ、局方づくりに必要な技術指導をした。ミャンマーチン州で薬用ラン等の野生薬用植物の調査及び栽培指導を行った。動物性生薬用のタケバチ毒の薬効成分探索をおこなった。

研究協力者

朝比奈はるか お茶の水女子大学 研究員
我妻 豊 同上大学 研究協力員
紺野 勝弘 富山大学和漢医学総合研究所 准教授
数馬恒平 同上研究所 助教
土田貴志 クラシエ製薬株式会社 漢方研究所

ミャンマー連邦山間地にあるチン州北部で、麻薬代替植物としての多様な薬用植物の調査をし、可能なものはさく葉標本用に採種した。薬用ランについては、地元の業者から買い取ったランや日本から持ち込んだランをピンウーリンの植物園にて栽培を試みた。古くから動物性生薬として利用されているタケバチの成分研究を行った。ミャンマー国内での伝統医療の普及に役立つ生薬薬局方作成のため、保健省伝統医薬局の研究者を日本に受け入れ、生薬局方の規格化において必要な検鏡や機器分析について研修を3か月実施した。ASEAN の伝統薬振興に関する技術支援のため、昨年引き続き第3回 ASEAN 伝統薬会議に出席し、伝統薬規格の重要性について講演した。

A. 研究目的

インドシナ半島では、長期にわたる国際的な代替植物栽培支援対策にもかかわらず、不正な取引を目的としたケシ栽培とアヘンの生産が依然として継続されている。当地域における不正な麻薬原料植物生産を防止し、住民の正規の収入源確保により保生活環境向上を支援するため、野生薬用植物栽培の推進による伝統医療振興を目指した。

B. 研究方法

C. 研究結果及び考察

ミャンマーチン州ケネディーピークは、

南東ヒマラヤに位置する山地の町で、野生植物の宝庫であった。野生薬用植物としては、ミシマサイコ、イワオウギ、センブリ、トリカブトなど日本の漢方薬で用いられている生薬植物が生育していた。シャクナゲは種類が多かった。林業省職員と桜の苗 100 本を植えた。ここは日本とイギリス軍との激戦地で、60 年前に亡くなった人のために祈りをささげた。このことを林業大臣とチン州知事に報告した（写真 1-4）。一昨年のプタオでの栽培の失敗は灌水不足であったので、本年度は堆肥及び看守を十分にしたため、よい成育が見られた。ミャンマー産生姜を分析したところ、GINGEROL の含有量が多いことが判明し、大量栽培を計画できるようになった。メイショウのピンウーリン植物園で昨年栽培を開始した 16 種類の漢方薬原料植物の生育及び根の状態を調査したところ、ボウフウ、サイコ、オウギは市場に出せる状態であった。薬用ランの自生地および流通について初踏査では、自生地で *Dendrobium longicornu* が観察されたが、その特長(黒い毛)から薬用ランとして使われていないのではないかと推測された。タケバチの薬効成分については、ペプチド性成分の構造決定をし、今後薬効との関連付けを検討する予定である。2009 年からミャンマー保健

省を支援し、進めてきた生薬薬局方作りでは、作成委員会にて、相互に記載内容を検討し、初版収載する生薬 20 品目のモノグラフを完成させた。

D. 結論

本年度、新たに調査したミャンマーのチン州北部山岳地域は標高1400 Mから2000 M台となっており、緯度は低いが12月には氷点下まで落ちる地点もあり、日本の気候と類似点が多い。日本の薬用植物の仲間が多く観察できたのはそのためと考えられるが、日照時間などには違いがあるため適応種の実性には多くの違いもあると推測される。この状況で今回、チン地域ですでに繁栄している日本で利用している薬用植物と同属植物が見つかったことは、もしそれらの植物が日本のものと同様な成分を産生しているならば、あえて日本の苗をつかって長期にわたって試験栽培しなくても、短期間で営農作物として候補に挙げることが可能になると考える。政情不安なミャンマーで、生薬薬局方完成を支援したことは、本研究の大きな成果であり、伝統医療振興に大きな寄与ができたものといえる。



写真 1 森林大臣
(U Win Htun)



写真 2 チン州知事
(U Hung Ngai)



写真 3 森林局役員
(Pum Za Gint)



写真 4 森林局担当者
(Dong Za Kim Lai)

研究協力報告書

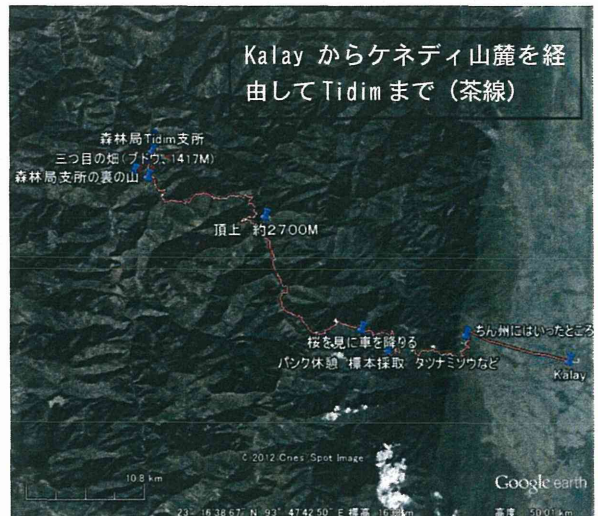
チン州薬用植物調査

研究協力者 朝比奈はるか お茶の水女子大学人間文化創成化学研究科 研究員

研究要旨 2011年12月ミャンマーチン州北部の薬用植物について調査した。日本薬局方に記載の薬用植物の同属異種をはじめとし、多様な薬用植物を観察・標本採取した。両国で類似の植物が多く存在することが確認され、麻薬代替え作物の候補として期待が持てると共に、ヒマラヤ原産とされる薬用植物が、ミャンマーを経て東へ伝搬したことを再確認した。

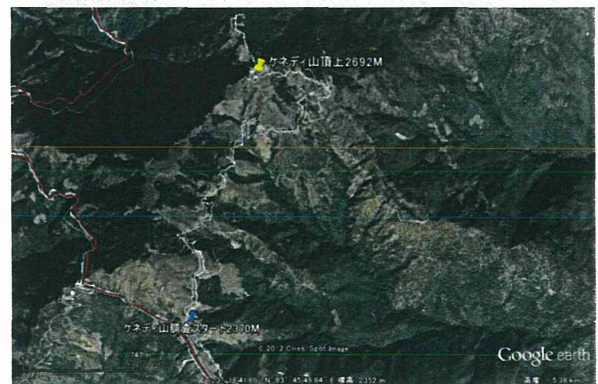
A. 研究目的

生薬の原料植物は換金価値が高い。しかも国境を越えた雲南省に近く、栽培した場合に流通させるルートも確保できる。日本からの植物の苗の持ち込みだけでなく、自生の薬用価値の高い植物を見つけて代替作物とすることも、麻薬栽培地域の少数民族の生活向上と麻薬離れには有効な手段である。栽培品選抜を最終目的とし、今回の調査は薬用植物の分布観察および標本採取を目的とした。



B. 研究方法

林業大臣の許可の元、2011年12月ミャンマーチン州北部山岳地域にはいり薬用植物調査を行い、採種可能なものはさく葉標本用に採種した。訪問地は Tidim の町中、その郊外、そしてケネディ山である。上図に飛行場のある Kalay から Tidim の町までの行程を、右図にケネディ山頂付近の調査域 (白線) を示す。



C. 結果及び考察

ケネディ山周辺 (標高 2600M~2700m) 及

び Tidim の町とその郊外で観察された薬用植物の写真及び名前を示す。

1) 標高 2600M~2700m のケネディ山周辺で観察した植物は 13 種類である。写真が

示すように、日本で薬用に使う植物と同属の植物が多属存在することが判明した。

Aconitum sp.



Bupleurum sp.



Geranium sp.



Swertia sp. b)



Rubia sp.



Swertia sp. a)



Polygonatum sp.



Gentiana sp.



Dendrobium longicornu



Edgeworthia sp.



Stauntonia sp.



Bistorta sp.



Astragaluz sp.



2) Tidim の町および郊外で観察した植物は 2 種類である。

Asparagus sp.



Polygala sp.



2600M から 2700M を網羅するケネディ山周辺を調査し、後者は信州あたりの高原 (1100-1400M) 植物も含み、日本で標高 1400M 台 から 1600M 台の Tidim の町周辺にもイトヒメハギやテンモンドウの仲間が観察された。日本と同様な植物が生育していることについては、多くのヒマラヤ原産といわれる植物が中国南西部を経て日本に伝わっているという考察を裏付けるものである。

またチン州に特有な生薬の基原植物についても調査したが、チン州ではキリスト教の布教が進んでおり、またインドに近いこともあり、西洋薬が輸入されている。Tidim の町の薬局にもそれらが並ん

で、伝統薬は現在使っていないという説明があった。しかし林業署員の話では、例えば *Asparagus* の仲間は薬用に使うとのことだった。また、農業に熱心な若者が、薬草をもってきてくれた。ウコギ科の植物であることしかわからなかったが、今後交流を継続するうちチン民族の伝統薬に使う植物も明らかになると考えられた。現地で生育している同属植物により有効成分が含有されていることが判明すれば、より栽培容易で好ましい代替え作物となることが推測された。

D. 結論

ミャンマーチン州北部山岳地域は標高 1400M から 2000M 台となっており、緯度は低いが 12 月には氷点下まで落ちる地点もあり、日本の気候と類似点が多い。日本の薬用植物の仲間が多く観察できたのはそのためと考えられるが、日照時間などには違いがあるため適応種の特性には多くの違いもあると考える。チン地域で、日本で利用されている薬用植物と同属植物が見つかったことは、もしそれらの植物が日本のものと同様な成分を産生しているならば、あえて日本の苗をつかって長期にわたって試験栽培しなくても、短期間で営農作物とすることが可能になると考える。

研究協力報告書

薬用ラン自生地調査と無菌培養苗の栽培検討

研究協力員 朝比奈はるか お茶の水女子大学 人間文化創成化学研究科 研究員

研究要旨 2011年12月ミャンマーチン州北部にて薬用ランの自生地および流通について初踏査した。自生地で *Dendrobium longicornu* が観察されたが、その特長（黒い毛）から薬用ランとして使われていないのではないかと考えられた。町ではラン密輸出業者からランを一部買い取り、その後保存のために Pyin Oo Lwin の植物園に植栽した。また Pyin Oo Lwin にて日本から *D. nobile* を持ち込み移植した。

A. 研究目的

中国で大量に流通する生薬セッコクは栽培品を除いてミャンマーからの密輸品であるといわれている。ベトナム、ラオスなども同様に中国への密輸出国の一つであるが、ベトナムはすでに資源が枯渇してきている。特に雲南省と国境を接するミャンマーは、少数民族は国境に関係なく行き来して生活しており、現在までに生活レベルが押さえられてきたこれら少数民族が中心となって生活の糧のためにラン密輸に携わっているといわれる。2011年末あたりから急速に自由化が始まったミャンマーであるが、今までの鎖国的政策の影響も手伝いまだ未開の地も多く、多くの野生ランが残っており、2001年に始まった佐竹らを中心としたミャンマープロジェクトの初期にトラックで大量に持ち出す現場を目撃している。しかしミャンマーでは表向き栽培が盛んになりつつあり、報告者が2006年の11月からミャンマーに調査に入って以来、プタオの市場での土地住民への販売など

を除き、その密輸現場を見たことはなかった。多くの *Dendrobium* 属植物は、開花は3月から5月に集中するが、商品としての価値が高いのは花芽が出る前、12月から2月である。また、中国における生薬への加工もこの時期を中心に行う。今回乾期の初期から中期にかけての12月にチン州北部に入り、Tidim および Kennedy peak (2700M) 周辺の生態や種類を調査することを目的とした。また、可能な限りラン密輸現場を見ることを目的とした。さらに、栽培化の具体例として、日本からもちこんだ無菌大量培養苗が Pyin Oo Lwin の気候などに適応できるか試験栽培を試みた。

B. 研究方法

林業大臣の許可の元、2011年12月ミャンマーチン州北部山岳地域にはいり自生状況の調査を行った。訪問地は Tidim の町中、その郊外、そして Kennedy Peak (ケネディ山) である。また日本から無菌培養した *D. nobile* の苗を8月と12月に

マンダレー管区の Pyin Oo Lwin の植物園に持ち込み馴化させ試験栽培を行った。

C. 研究結果及び考察

まずミャンマーチン州 Tidim の町（標高 1600M 強）にある林業署の敷地内に植栽のラン科植物をチェックした。*Coelogyne*, *Bulbophyllum* と考えられるランがマメ科の樹木に植栽されていたが、*Dendrobium* 属植物はなかった。滞在中佐竹らが郊外（標高約 1450M から 1650M 付近）を調査した際、同行的林業署の職員が密輸業者をみつけ、ランを買い取った。これらは、いずれも *Dendrobium* 属植物であり、中国へ密輸される前のものと考えられた。特に長い丈のモノ（写真 1）は後日 Pyin Oo Lwin の植物園に移植した（写真 2）。一種ではなく、複数の種がまとめて束ねられているようであった。中国の市場では、一つの加工所からまとめられて市場に運ばれる生薬セッコクは、学名はつけられていなくとも一つのバルク袋の中身は 1 種で販売され、実際にミックスされたものが中国で一緒に加工されているのか、中国で加工前に分別しているのかは不明である。なお、入手および移植かなわなかった丈の短いものは形状が中国でもっとも高価な値のつくといわれている文山産の *D. officinale* と大きさが似ており（小型デンドロビウムについては、三種あるという説明を密輸業者が

話していたとのこと。バルブの長さはいずれも 5～8 CM）、これを偽物として加工すれば市場では見分けが難しいと考えられたが、実情は現在不明である。

Kennedy Peak では標高 2650M 前後にあるウバメガシの仲間と考えられるカシの古木にぎっしりと *Dendrobium longicornu* が開花期を迎えていた。このランの特長は黒い毛がバルブ（茎）表面に密集していることである。この特長より、薬用とされるラン群と異なるため、生薬として（その偽物として）使われることが少ないあるいは無いことが推測された。またそれだからこそ、焼き畑の行われている（写真 3 の矢印）、また車道と呼び得るような道のある、人が簡単に入り込めるこの地で採り尽くされずに大量に残っていることが推測された。Kennedy Peak の周辺は、シャクナゲとウバメガシの仲間の古木が点在し、よってその他は樹木が採り尽くされている所であった（写真 3, 4）。なぜシャクナゲとウバメガシの仲間が残されているかは不明であるが、高橋らの報告¹⁾ から推測するに、村での焼き畑のルールなどが適用されている可能性もある。マンダレー管区の Pyin Oo Lwin では日本から持ち込んだプラスチックから出したばかりの *D. nobile* を馴化させた。8 月に約 3000 本、12 月に 300 本ほどの苗を持ち込んだ。8 月は雨季で





あり、あまり保水しなくても水は足りるのではないかと考えて職員に託したが、12月の時点で8月の3000本はすべて枯れたとラン園の責任者が報告した。この原因は、たとえ15年の経験のあるラン園の現場スタッフであっても、ここでは野生ランをとってきて植えているのみのため、プラスチック培養の苗を馴化させる作業は未経験なためと考える。馴化後しばらくして水が足りないか、日差しが強すぎたか、あるいはまだ枯れていないものを枯れたと捨てたかであろう（馴化直後の *Dendrobium* の苗は、いったん枯れたように葉を落とす。しかし暫くして新芽が出てくるため、枯れてはいないのだがこの時点で枯れたと判断されて捨てられた可能性が高い）。さらに8月は彼らのやりかたで植えて良いと託したので、どのような植え方をしたか不明であるが、園内の木に直接つけた可能性もある。プラスチックだし直後の苗は非常に乾燥と日光に弱いため、日本では水ごけに植えるだけでなく、日光を半分ほどに遮った環境で馴化させる。よって水が不足し日光が強すぎて本当に枯れていた可能性もある。そこでこの失敗を踏まえ、12月には水苔の代わりにまずココナッツ皮を金槌でた

たき、小さくはカチンでは手にはいるが、このあたりでは簡単には手に入らないのか見かけない。) また、ミャンマーではまず水苔にランを植えているのを見たことはない。たいていココナッツの繊維と炭を使っている。今回は、潰して得られたココナッツの殻の繊維で苗の根を取り巻くように播いて、それをプラスチックあるいは素焼きの植木鉢に植え込んだ(写真5)。さらにそれを、半日陰のところに設置した(写真6)。薄暗く、*Paphio* 属の鉢があるような環境である。これで、水を切らしさえしなければ、成長度はともかく、まず枯れないはずである。今後の様子を追跡する予定である。

なお10月末の中国雲南省での聞き取りでは *D. officinale* の栽培は前回調査の2008年に比して益々盛んであり大手の製薬会社がそれに関与し、近代的設備のある思茅あたりの農園(写真7)ではGAP(GACP)の問題に積極的に取り組んでいるとのことであった。それが実現すれ



ばセッコクの偽物の問題はトレーサビリティで解決できる可能性が考えられる。

D. 結論

ミャンマーチン州では、セッコクの中
国への密輸出業者が横行していることが
今回確認できた。同時に、サイクルの短
い焼き畑による森林破壊が進んでおり、
希少種の確保は緊急の課題であると考え
られた。また Pyin Oo Lwin にて日本から
D. nobile を持ち込み移植したが、この試
みでフラスコ無菌培養株馴化後の栽培方

法はミャンマーでは浸透していないこと
があらためて確認された。

E. 参考文献

1. 高橋昭雄 焼畑、棚田、マレー・コネ
クション-ミャンマー・チン丘陵における
資源利用と経済階層- 東南アジア研究
(2007) 45 (3) 404-427

研究協力報告書

動物性生薬タケバチのハチ毒のペプチド成分研究

研究協力者 紺野勝弘 富山大学和漢医薬学総合研究所 准教授
安藤賢司 富山大学薬学部 6 年生

研究要旨 ハナバチを基源とする動物性生薬「竹蜂」の熱水抽出物について、LC-MS を用いて成分分析を行った。特に、ペプチド成分に着目し、MS/MS (tandem mass) スペクトルの解析により、そのアミノ酸配列を決定した。得られた 4 種のペプチドのうち、1 種はアクチン、他の 1 種は transposase に由来する分解産物と推定された。

A. 研究目的

タケバチは台湾、香港、広州などで古くから使用されている動物性生薬でミツバチ科クマバチ属の昆虫、竹蜂 (*Xylocopa dissimilis*) の乾燥物又は塩漬けにしたものである。現在でも咽喉炎、口内炎などの治療に用いられている。

生薬としての性質は、味は甘酸、性は寒、無毒で、胃、大腸の 2 経に入る。清熱し、痰を化す、驚を定める効能があり、小児驚風 (ひきつけ)、咽痛を治す。陸川本草には、「風を去り痰を化す、気を行らし腫れを消す。風痰、閉竅、气喘、腹脹、風水浮腫、小児急驚を治す。」と記されている。広西中薬誌には、「清熱し、火を瀉ぎだす。虫歯、口瘡、咽痛、小児驚風を治す。」と記されている。本草綱目拾遺には、「歯痛、口瘡にはいずれも含むがよし。」とある。服用方法は 2-4 個をあぶって乾燥し、研って粉末にし、服用する[1]。

これまでの研究で日本に生息しているクマバチ属の昆虫キムネクマバチ (*Xylocopa appendiculata circumvolans*) は非常に多くの毒液を蓄えており、そのペプチド性毒成分である Xylocopin が抗菌活

性等の生理活性を示すことが分かってきている。また、ミツバチの毒は抗炎症作用などが報告されており、古くからミツバチの針、毒液を用いた治療は関節リウマチなど様々な疾患の治療に用いられている [2]。竹蜂もキムネクマバチと同様多くの毒液を毒囊に蓄えており、これが炎症部位に働き抗炎症作用を示している可能性がある。そこで、薬効成分探索の一環として、タケバチ抽出物のペプチド成分を探索した。

B. 研究方法

1. タケバチの抽出

広東薬学院教授 李書淵先生によると、タケバチの服用方法は 1 回 2、3 匹のタケバチの翅を除去し、粉碎後一つまみの塩を加えて少量のお湯に懸濁してタケバチの粉末ごと服用する。本研究においてもこの方法を模倣し、抽出した。塩の有無による抽出物の変化を調べるために、塩化ナトリウムを加えて抽出したもの (XDES) と、加えないもの (XDEN) を作った。

タケバチは中国広州市の清平生薬市場に

て購入した。タケバチ 100g の翅を除去し、粉碎する。熱湯 500mL で 3 回抽出し、ろ過後ろ液を凍結乾燥した。これを XDEN とする。収量は 17.20g であった。これとは別にタケバチ 100g の翅を除去し、粉碎後、塩化ナトリウム 6g (20mg/匹) を加え熱湯 500mL で 3 回抽出し、ろ過後ろ液を凍結乾燥した。これを XDES とする。収量は 22.36g であった。

2. 精製

XDEN、XDES はペプチド以外に多くの成分が混合しているため、それらを取り除くために HLP-C カラム又は Sep Pak C₁₈ でペプチド成分を分離した。

少量の水に溶かした 1.0g の XDEN を HLP-C をオープンカラムに MeCN/MeOH(9:1) で吸着させ、MeCN/MeOH/H₂O (2:4:4)で抽出した。XDEN は熱湯抽出物であるので、MeCN にはあまり解けず、沈殿してしまつたため、XDES は HLP-C で分離しなかつた。MeCN:MeCN (9:1) で抽出された画分を XDEN-H1、MeCN/MeOH/H₂O (2:4:4) に抽出されたものを XDEN-H2 とした。

Sep-Pak C₁₈ Vac 10g/35cc を H₂O で満たし、水に溶かした XDEN 1.0g を吸着させた。十分量の H₂O を流した後、MeCN で吸着した成分を抽出した。H₂O で抽出された画分を MDEN-W、MeCN で抽出された画分を XEDN-A とした。XDES1.0g でも同様に抽出し、H₂O で抽出された画分を XDES-W、MeCN で抽出された画分を XDES-A とした。

3. HPLC 分析

塩の有無による抽出物の変化を調べるために、XDEN-W、XDEN-A、XDES-W、

XDES-A の HPLC 分析を行った。HPLC に使用したカラムは CAPCELL PAK C₁₈, 2.0 × 150mm, 溶媒は 5-65% MeCN/H₂O/0.1% TFA (30min), 流速 0.2 mL/min である。

4. 構造決定

LC-MS 分析によりペプチド成分を選択し、それぞれの MS/MS (タンデム・マス)スペクトルを解析して、アミノ酸配列を決定した。LC-MS として、HPLC と ESIプローブ付 LTQ Orbitrap XLをタンデムにつないだシステム (Thermo LTQ Orbitrap XL ETD) で分析を行い XDEN-H1、XDEN-H2、XDEN-W、XDEN-A、XDES-W、XDES-A に含まれるペプチド成分の構造決定をした。HPLC の使用カラムは Capcell Pak C₁₈ 1.5 × 150 mm、溶媒は 5 - 65% MeCN/H₂O/ 0.1 %Formic acid (20 min)、流速 0.1mL/min とした。

C. 結果及び考察

1. HPLC

HPLC 分析の結果、塩の有無では抽出物には大きな差は見られなかつた(Fig 1)。

2. 構造決定

MS/MS 分析により、タケバチ抽出物中のペプチド成分の構造決定を行った (Fig2)。

XDEN-H2 から Leu-Ala-Tyr-Leu-Glu-Lys-Ala-Asn-Thr(LAYLEKANT、[M+2H]²⁺ 511.78) 、 Phe-Thr-Phe-Gln-Asp-Pro-Val-Val-Glu-Lys (FTFQDPVVEK、[M+2H]²⁺ 605.31) 、 Ala-Gly-Phe-Ala-Gly-Asp-Asp-Ala-Arg-Pro(AGFAGDDARP、[M+2H]²⁺ 488.73)の 3 ペプチドが見つかった。また、XDEN-A から Pro-Ser-Leu-Arg(PSLR、