

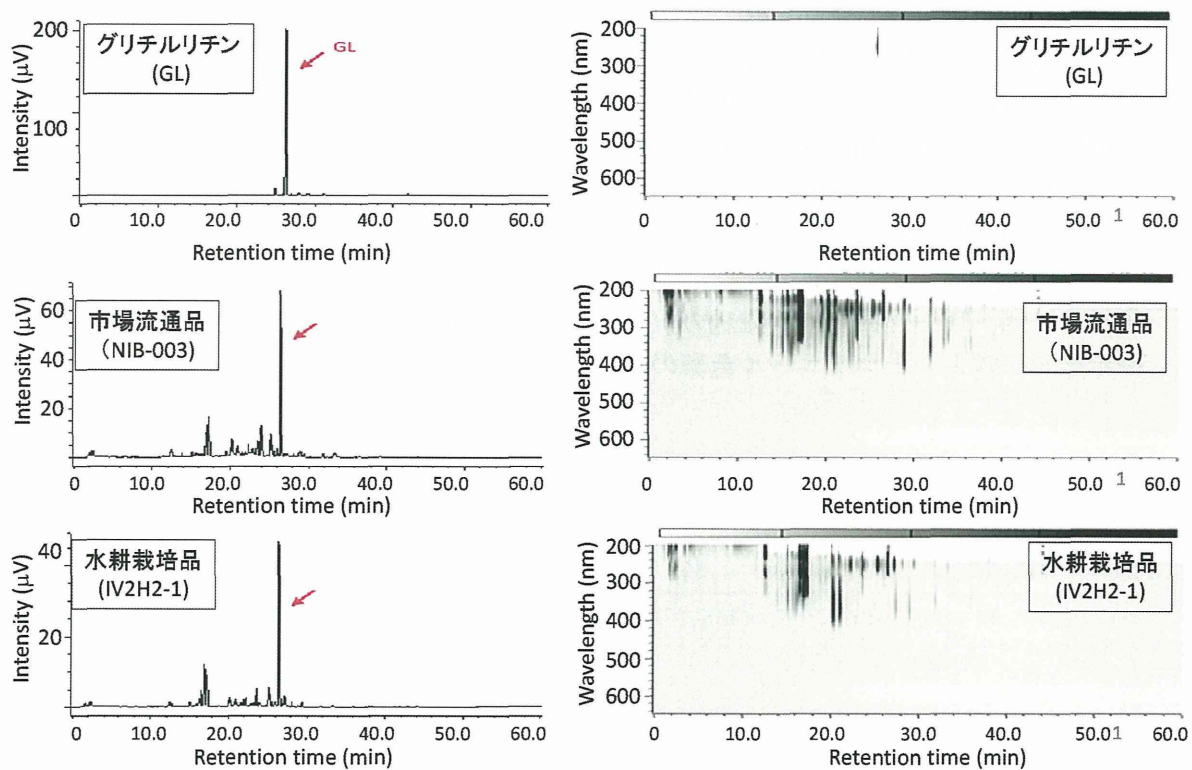
物細胞工学会(2013. 10)

- 3) 多田敦子、石附京子、末松孝子、有福和紀、伊藤裕才、大槻 崇、大月典子、吉松嘉代、川原信夫、山崎 壮、杉本直樹、穠山 浩：カンゾウ油性抽出物の成分組成に基づく解析、日本食品化学学会第 19 回総会・学術大会 (2013. 8)
- 4) 片山 茂、小俣洋奈、大月典子、穠山 浩、中村宗一郎：THP-1 由来樹状細胞の抗原提示能を指標としたコチニール色素のア

レルゲン性評価、日本食品化学学会第 19 回 総会・学術大会 (2013. 8)

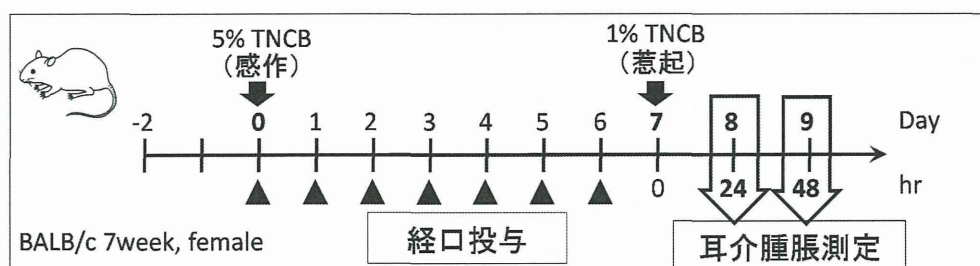
- 5) 大月典子、杉本直樹、伊藤裕才、建部千絵、佐藤恭子、梅本尚之、深溝 慶、穠山 浩：カルミン酸とタンパクの反応性に関する検討、第 106 回日本食品衛生学会学術講演会(2013. 11)
- G. 知的財産権の出願・登録状況なし。

〔図 1〕 市場流通品 NIB-003 と水耕栽培品 GuIV2H2-1 のカンゾウエキス成分の比較



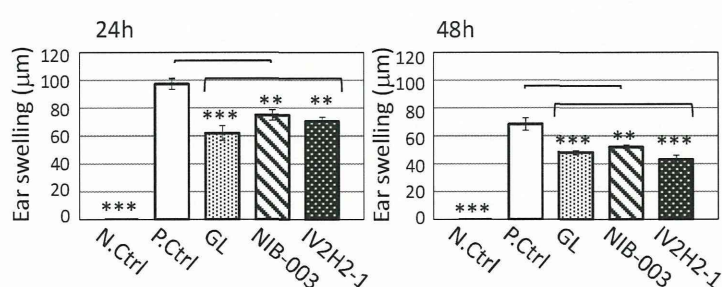
[図 2] T 細胞依存性炎症・接触性皮膚炎アレルギーモデルマウスによる評価

A. 実験スケジュール



B. 市場流通品 NIB-003 と水耕栽培品 GuIV2H2-1 経口投与による耳介の腫脹の抑制

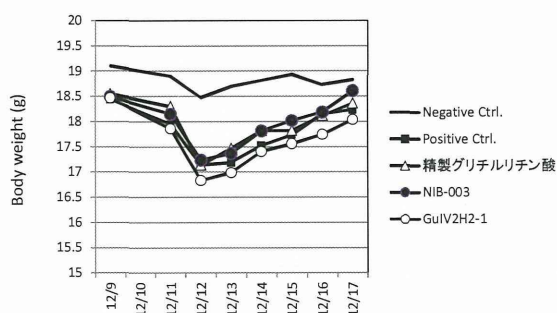
B-1 耳介腫脹の抑制



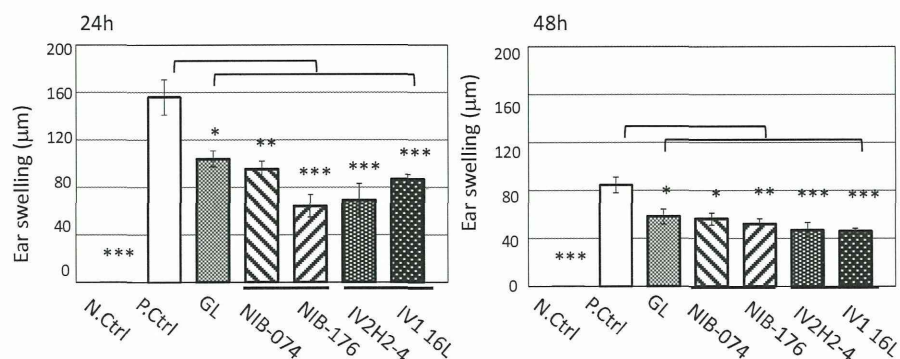
Each column represents the Mean±S.E.M. of 5 mice.

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ vs. the control group by ANOVA and Bonferonni-type multiple t test.

B-2 各群マウスの平均体重



C. 市場流通品 NIB-074 および NIB-176 と水耕栽培品 GuIV2H2-41 および GuIV1 16L 経口投与による耳介の腫脹の抑制

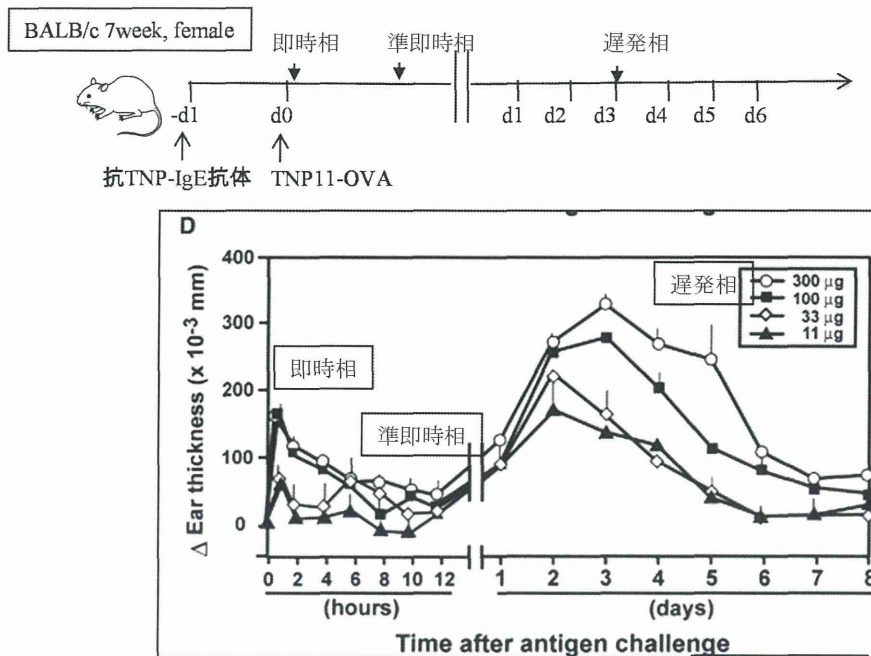


Each column represents the Mean±S.E.M. of 5 mice.

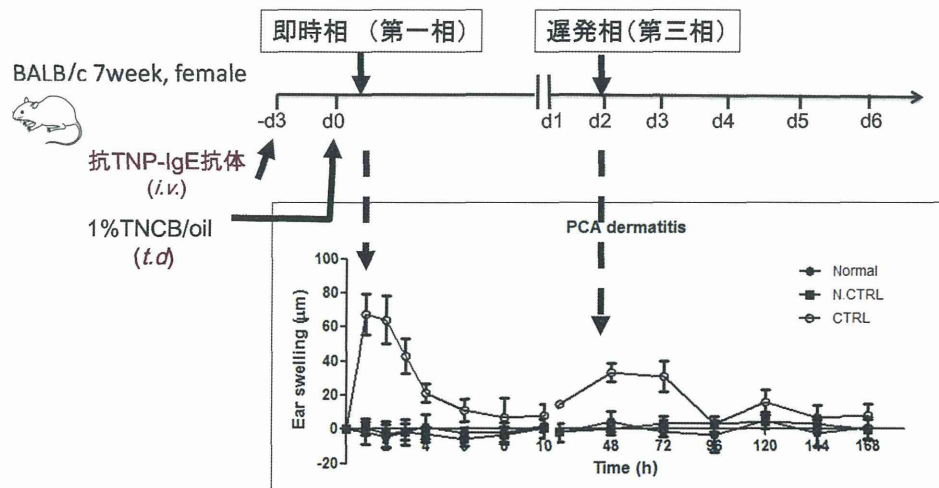
*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ vs. the control group by ANOVA and Bonferonni-type multiple t test.

[図 3] 抗 IgE 抗体依存性炎症・三相型アレルギーモデル

A. 典型的な病態の経過（参考文献 1 より）

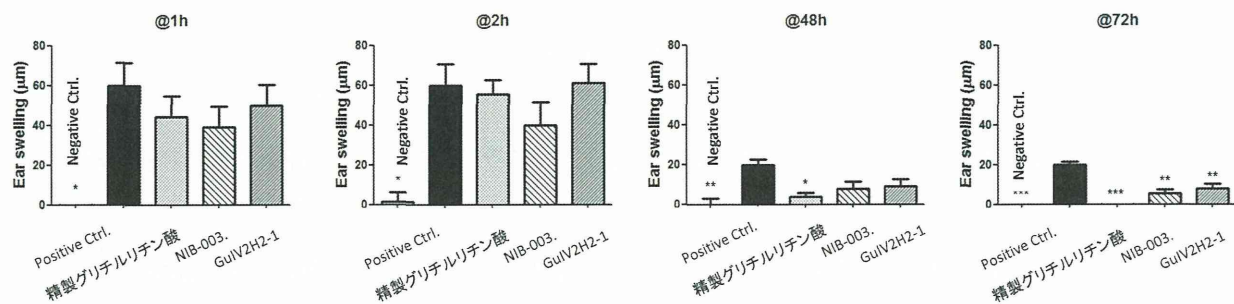


B. 本研究における病態の経過



C. 市場流通品 NIB-003 と水耕栽培品 GuIV2H2-1 経口投与による耳介の腫脹の抑制

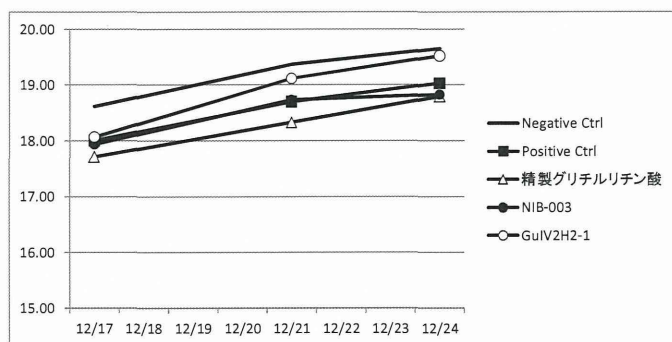
C-1 耳介腫脹の抑制



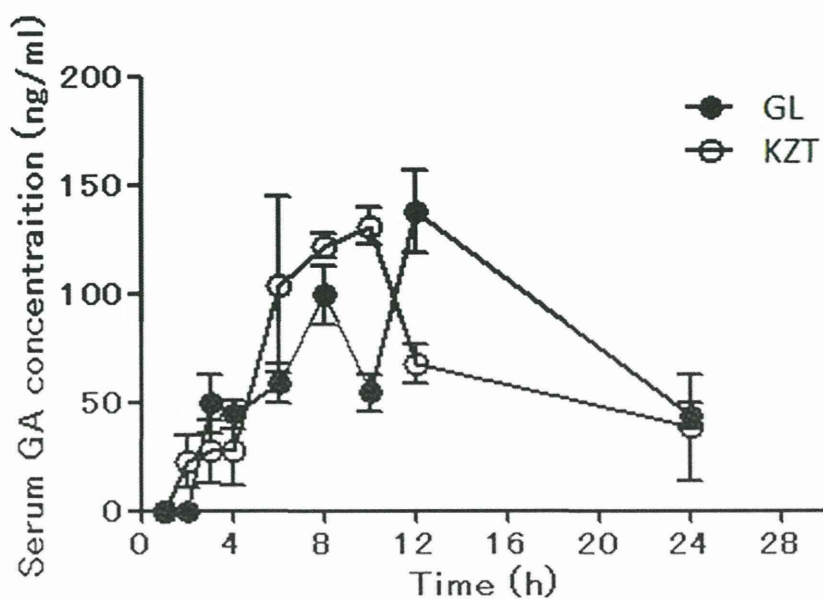
Each column represents the Mean±S.E.M. of 5 mice.

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ vs. the control group by ANOVA and Bonferonni-type multiple t test.

C-2 各群マウスの体重



[図 4] 血中グリチルレチン酸濃度の測定



平成25年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
 人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた
 実証的研究（H24-創薬総合一般-007）
 分担研究報告書

分担研究課題：地域企業との連携によるブランド生薬の開発に関する研究

研究分担者 小松かつ子 富山大学和漢医薬学総合研究所 教授

要旨 シャクヤク：「1株に8本の茎を残す採花」は、園芸と薬用の双方で安定した生産を実現するための採花方法となる可能性が示唆された。イメージングMSによる4成分の組織内分布、根の加工・乾燥法の違いによる成分含量の変化などを検討し、根の周皮にはAlbiflorinが局在し、またCatechinも多い傾向にあり、「皮去り」により2成分の含量が減少することが示された。また、根の低温貯蔵はPaeoniflorin含量を増加させる傾向が見られた。

ダイオウ：*Rheum palmatum*由来でRPII型Rp5タイプの系統29及びRPI型Rp4タイプの系統38は長野県菅平及び北海道北部の環境に適した系統であることが示された。栽培5年生の根（根茎）17検体について日本薬局方（日局）試験を行った結果、11検体は日局ダイオウとして使用可能であった。日局適の検体はRPII型Rp5タイプの系統17、18で多く、系統29では1検体のみであった。ただし、この検体では新たにProcyanidin類など6化合物が同定され、系統29は多様な成分を含有していることが明らかになった。

エゾウコギ：後熟処理及び休眠打破処理を行った種子を閉鎖環境下で養液栽培し、発根・発芽から育苗、屋内馴化までを行い、種子611粒中100個体の育苗に成功した（16.4%）。さらに、86個体を屋外に馴化させ、次年度の圃場への定植を可能にした。屋内馴化時に収穫した葉にカフェオイルキナ酸類の1,5-Dicaffeoylquinic acid及び1,5-Dicaffeoyl-3-methoxyoxaloylquinic acidなどが検出され、さらに屋外馴化により1-Caffeoylquinic acid及びHyperosideが増加することが明らかになった。

研究協力者

伏見裕利 富山大学和漢医薬学総合研究所
 准教授
 数馬恒平 同 助教
 朱 姝 同 助教
 葛 躍偉 同 研究員
 平 修 福井県立大学生物資源学部
 准教授
 川原信夫 （独）医薬基盤研究所薬用植物
 資源研究センター センター長
 菱田敦之 同 北海道研究部
 研究サブリーダー
 田村隆幸 富山県薬用植物指導センター

主任研究員

村上守一 同 元所長
 児玉 容 長野県健康福祉部薬事管理課
 主査薬剤師
 磯田 進 昭和大学薬用植物園 講師
 足立理絵子 （株）ウチダ和漢薬製造部
 品質管理課
 川本元裕 北陸機材株式会社 専務

A. 研究目的

漢方医学の科学的エビデンスが明らかに
 なるに従い、漢方方剤の需要が延びている。
 一方、方剤に配合される生薬は約83%を中国

に依存しており、今後、中国の自然環境の変化や国家政策によっては生薬の供給が滞る事態も危惧される。漢方医学の永続性を担保する意味から、日本で栽培可能な生薬は栽培化を図るべきである。

しかし、生薬の薬価の引き下げや栽培従事者の高齢化などから生薬を作り出す薬用植物の栽培面積は年々減少する傾向にある。一方、里山開発や休耕田の利用、中高齢者の副収入源として薬用植物の栽培を希望する地域も多い。矛盾する現象ではあるが、作出物の品質保証と一定量の作出物が安定供給できない限り、生薬関連企業は国産品を購入せず、栽培は広がらない。産学官が連携して薬用植物の栽培研究と品質保証を行い、地域住民に栽培・加工方法を指導して、最終的に作出物を産業界が利用するというサイクルを作り出すことが現在の緊急の課題である。

そこで本研究では、これまでの薬用植物の多様性解析研究を通じて優良系統または成分的に特徴を有する系統として明らかにしてきた3生薬（大黃、芍薬、刺五加）の基原植物について、1) 栽培法を確立すること、2) 作出物に含まれる成分の組成と含量及び組織内分布を明らかにして、栽培系統、栽培年数及び加工調製法を決定すること、3) さらに実際にブランド製品として開発することを目的とする。

シャクヤクについては、園芸用・薬用の双方に利用可能な品種を選択することにより収益率を向上させ、地域での栽培拡充を図る。また、鎮痙薬とされる芍薬（白芍）のみならず、婦人科疾患に有効な赤芍として使用可能な品種を栽培することで、芍薬の可能性を広げる。

ダイオウについては、瀉下活性のあるSennoside含量のみならず、他の成分をも広範に含有した新しい系統を選抜し、漢方的に虚証の患者様にも適応可能な大黃を作出する。また、質量顕微鏡で主要成分の組織内分布を明らかにすることにより、作出物の加工調製を科学的根拠に基づいて行う。

エゾウコギについては、養液栽培と圃場での栽培を組み合わせた方法を開発する。また、

生活習慣病や認知症の改善に効果が期待できることから、作出物から健康食品を開発し流通させることにより、中高年疾患の予防に貢献する。

以上の薬用植物から仕上げた加工品を、実際に生薬として流通させるためには、医薬品として国内規格を満たす品質である必要がある。そこで、最終産物について、第十六改正日本薬局方（日局）に記載されている試験を実施し、品質を評価する。

平成25年度は以下の内容の研究を行った。

シャクヤクでは、園芸と薬用の双方で安定した生産を実現するための採花方法の確立を目的として、採花後に残すべき茎数について検討した。また、根の加工調製法の違いによる成分変動を調べた。さらに根における主要4成分の組織内分布をイメージング質量分析で明らかにし、最適な加工法を考察した。また無機元素の分布様式も調べた。

ダイオウでは、圃場における栽培研究を長野県上田市菅平と北海道名寄市で実施し、ともに3年生株の一部を収穫した。昨年度長野県菅平で収穫した5年生株の地下部のうち、良質と考えられる系統の17検体について日局の試験を実施し、日局ダイオウとして使用可能であるかを検討した。さらに、これまで得られていなかったProcyanidin類の単離と同定、及びProcyanidin類の網羅的分析法を模索するため各種クロマトグラフィーにて分析を行った。

エゾウコギでは、後熟処理後、休眠打破処理を行った種子について閉鎖環境下で養液栽培を行い、その経過を観察した。さらに、得られた葉について成分分析を行った。

B. 研究方法

1. 実験材料

1) シャクヤク

1. 栽培－採花が植物体へ及ぼす影響について：植え付け5年目の薬用利用可能な園芸品種「エジュリスパーバ」

2. 加工・乾燥法の違いによる成分含量の変化：栽培4年目の薬用品種「梵天」の根

3. 有機化合物の組織内分布：栽培 6 年目の園芸品種「エジュリスパーバ」の根

4. 無機元素の組織内分布：栽培 4～9 年目の園芸品種「春の粧」と「エジュリスパーバ」、薬用品種「梵天」と「北宰相」及び中国産生薬の「白芍」と「赤芍」

（上記の園芸品種と薬用品種は、富山県薬用植物指導センターの栽培品）

2) ダイオウ

1. 栽培－長野県菅平薬草栽培試験地：富山大学で保有しているダイオウの種子から16系統（*matK*遺伝子の塩基配列において5遺伝子型7タイプ）を富山県薬用植物指導センターで育苗し、2011年6月12日に菅平の圃場に定植した。

2. 栽培－北海道（独）医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター北海道研究部：ダイオウ19系統の種子を北海道研究部で育苗するかまたは富山県薬用植物指導センターで育苗し、2011年6月28日に北海道研究部の圃場に定植した。

3. 日局試験：菅平薬草栽培試験地で2012年に収穫された栽培5年目のダイオウ6系統（系統15、17、18、29、43、45）の地下部17検体。成分の単離：青海省産大黄（TMPW No. 27830）

4. 網羅的成分分析：栽培5年目のダイオウの系統29と系統42、他。

3) エゾウコギ

2012 年に薬用植物資源研究センター北海道研究部より供与されたエゾウコギの 5 系統の種子を富山県薬用植物指導センター及び昭和大学薬学部薬用植物園で後熟処理し、その後休眠打破処理を行ったもの。

2. 研究方法

本研究では、学（富山大学和漢研、福井県

立大学）と官（医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター、富山県、長野県）が連携し、付加価値のある薬用植物の選抜、栽培方法の確立、作出物の加工調製方法の確立を行う。さらに、養液栽培については富山県内企業が参画する。各々の過程で各種機器分析を駆使して科学的根拠を得る。研究計画を図 1 に示す。

1) シャクヤク

1. 栽培：36 株を 3 群に分け、各群の採花方法を「無採花」、「1 株に 8 本の茎を残すように採花」及び「着蕾茎数の半数を採花」と設定した。2012 年は 6 月、2013 年は 5 月に茎を地際で切り取った。2013 年 5 月に茎数を計測、10 月 29 日に根を掘り取り、根の径により 2 群に分けてそれぞれ乾燥前・後の重量を測定した。

2. 加工・乾燥法の違いによる成分含量の変化：1 株から 24 本の根を得、これを全部で 36 個体になるように調整した。これらを 12 群に分け、12 通りの加工・乾燥法（低温処理の有無、周皮の有無、湯通し有無、自然乾燥または機械乾燥）を行った。終了後、36 個体の根について 8 成分の含量を測定した。

3. 有機化合物の組織内分布：根の切片の表面にイオン化支援剤（2, 5-Dihydroxybenzoic Acid: DHB）をスプレーし、マトリックス支援レーザー脱離イオン化型（MALDI）質量分析装置を用い、ポジティブモードでイメージング質量分析測定を行った。検討した化合物は、Albiflorin、Paeoniflorin、Paeonol 及び Catechin。

4. 無機元素の組織内分布：根の断面及び外皮についてエネルギー分散型蛍光 X 線分析装置を用い、12 元素のマッピングを行った。

2) ダイオウ

1. 栽培－菅平薬草栽培試験地：2011年6月12日定植後、2012年6月28日、2013年6月27日、8月8日及び9月11日に生育調査を実施し、11

月5日に一部の株を収穫して地下部の形態と重量を調べた。

2. 栽培—薬用植物資源研究センター北海道研究部：2011年6月28日定植後、2013年8月16日及び10月22日に生育調査を実施し、10月22日に収穫して、地下部の形態と重量を調べた。

3. 日局試験：性状、粉末の検鏡、確認試験、純度試験（重金属、ヒ素、ラポニン）、乾燥減量、灰分、エキス含量（希エタノールエキス）及び定量法の各試験を実施した。また、大黃から化合物を単離・同定した後、系統29の検体2の根の含有成分を検討した。

4. 網羅的成分分析：Procyanidin類に特化した分析法を開発するため、分子ふるいクロマトグラフィー（size exclusion chromatography, SEC）、及び親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC）、シリカゲルクロマトグラフィーで分析した。

3) エゾウコギ

1. 栽培：閉鎖環境下に養液栽培のための装置を組み、播種、緑化、育苗、屋内馴化までを行い、さらに屋外で植物体を馴化させた。

2. 葉の成分分析：養液栽培で得られた植物体の葉及び屋外馴化後の葉に含有される成分をLC/MSで分析した。対象として中国で収集した野生のエゾウコギの葉を用いた。

C. 研究結果

1) シャクヤク

1. 栽培：2013年5月の茎数は、「無採花」群が17.8本であったのに対し、「8本残して採花」群では16.0本とわずかな減少であったが、「着蕾茎数の半数採花」群では10.3本と約60%に減少した。10月29日に収穫した根の乾燥後の合計重量は、「無採花」群が647gであったのに対し、「8本残して採花」群では362.2g、「着蕾茎数の半数採花」群では317.3gであった。

2. 個体間におけるばらつきが大きいものの、新鮮な根を約1ヶ月間低温貯蔵し、水洗後、湯通しして、周皮を竹べらで除き、室内で自然乾燥する方法が最もよい成分含量を示した。新鮮な根を約1ヶ月間低温貯蔵することにより、顕著ではないもののPaeoniflorin含量が増加する傾向が認められた。また、皮去り加工によりAlbiflorin及び(+)-Catechinの含量が減少した。

3. 有機化合物の組織内分布：Albiflorinを検出するため、根の切片表面を m/z 481と m/z 197でそれぞれイメージングした結果、両者で見られるAlbiflorinの局在は一致し、周皮に局在し、皮層にも認められた。PaeonolまたはCatechinの検出では m/z 167または m/z 291でイメージングを行い、Paeonolは皮層と師部付近に局在し、一方Catechinは全体に見られるものの、周皮と皮層に多い傾向が見られた。

4. 無機元素の組織内分布：シャクヤクの根では、カリウムは皮層と木部の中心部またはほぼ全体に検出され、外皮にも存在した。一方、カルシウムは形成層のすぐ内側の木部に多く検出され、外皮にも存在した。硫黄は、栽培植物にはわずかに検出される程度であったが、白芍、特にPaeoniflorin sulphonateが検出された白芍でやや明らかであった。

2) ダイオウ

1. 栽培—菅平薬草栽培試験地：*Rheum palmatum*の系統29、38、41、42、A1、D5が良好な生育を示したが、特に過去の研究で高品質と結論付けた系統38が比較的高い生育率（55.6%）を示した。系統29（RPII型 Rp5タイプ）及び系統38（RPI型 Rp4タイプ）では根の断面が橙黄色を呈し、さらに二次皮層に粘液の分泌が見られた。

2. 栽培—夏期の生育期に雨天が続き、その結果土壌湿害によるダイオウの枯死が多く発生した。このような気象条件下で、他の系統と比較して富29系統の1株当たりの収量は

根茎が174.8g、根が509.5g、富38系統は根茎が29.2g、根が32.3gと多く、また生存率は前者が23.3%、後者が30.0%と高かった。

3. 日局試験：定量法以外の試験（性状、確認試験、純度試験、乾燥減量、灰分、エキス含量）において17検体すべてが日局の規格内であった。定量法では、17検体の内11検体でSennoside A含量が0.25%以上を示し、これらは日局ダイオウとして使用可能であることが明らかになった。RPII型Rp5タイプである系統17、18で日局の規定を満足する検体が多かったが、系統29では1検体のみであった。一方、この検体ではこれまで定量した17化合物以外にProcyanidin類など6化合物が同定され、系統29が多様な成分を含有していることが明らかになった。

4. 網羅的成分分析：LC-MSによる分析を考えた場合には、HILICカラム (Tosoh Amide-80) が分離パターン、使用溶媒とイオン化法との適切な組み合わせ等を鑑みたとき、最も優れた方法であり、縮合度が4までのProcyanidin類の検出は比較的容易であった。

3) エゾウコギ

1. 栽培：未熟種子の後熟処理－休眠打破処理を行った種子に対して、養液栽培を行い、発根、発芽、緑化、育苗及び屋内馴化までの一連の操作に成功した。播種した種子 611 粒の内、育苗まで至ったものは 100 個体であり、その割合は 16.4%であった。育苗まで至った植物体については、屋外馴化までを順調に行うことができた。今回は 86 個体を屋外で馴化させた。2013 年 12 月にすべての葉が落ちたが、2014 年 3 月現在、温室内で葉を展開させている。

2. 葉の成分：カフェオイルキナ酸類の 5 化合物、フラボノイドの Rutin と Hyperoside 及びオリゴ糖を検出した。屋内馴化時の植物体の葉では 1,5-Dicaffeoylquinic acid、1,5-Dicaffeoyl-3-methoxyoxaloylquinic acid 及びオリゴ糖が主で、フラボノイドは

少ないのに対し、屋外で約 2 ヶ月間馴化・栽培した植物体の葉では、1-Caffeoylquinic acid と Hyperoside が増加した。

D. 考察

1) シャクヤク

シャクヤクの採花方法として「1 株に 8 本の茎を残すように採花」は、「着蕾茎数の半数を採花」と比較して、園芸と薬用の双方で安定した生産を実現するための採花方法となる可能性が示唆された。ただし、根の収量の減少は避けられなかった。今後、採花なし及び採花方法の異なる 2 方法における根の成分含量を比較し、「1 株に 8 本の茎を残すように採花」で得られた根の薬用の可能性を明らかにする予定である。

根の加工調製法については、根を約 1 ヶ月間低温貯蔵することにより、顕著ではないものの Paeoniflorin 含量が増加傾向を示した。また、皮去り加工により Albiflorin 及び Catechin の含量の減少が見られた。個体間の成分含量のばらつきが大きかったため、再度個体数を増やし、最適な加工・乾燥法を決定する予定である。

根における 4 化合物の組織内分布をイメージング MS で検討した結果、Albiflorin は周皮に局在し、皮層にも存在し、Catechin は周皮と皮層に多い傾向が認められた。Paeonol は皮層と師部付近に局在が見られた。したがって、皮去り加工で Albiflorin 及び Catechin の含量の減少が見られた結果は、2 化合物の存在部位からも当然の結果であった。今回、Paeonol については定量結果がないが、材料が白芍系の「梵天」であったからである。赤芍において Paeonol の存在は薬効に係わるものと考えられることから、赤芍系の園芸品種については皮去り加工は行ふべきでないと考える。一方、デンプン質に富む栽培品種を白い芍薬として作り出すためには、酵素失活のための熱処理（湯通し）、乾燥を容易にするための皮去りが必要となる。「芍薬」では Paeoniflorin や Pentagalloylglucose が重要であるため、これらの組織内分布を調べる必要がある。

Paeoniflorinについては、MALDI-TOF-MSによる分析で、Albiflorinと異なり $[M+Na]^+$ (m/z 503) のみが検出された。さらに、ポストソース分解を行ったところ、 m/z 179のフラグメントイオンが観察された。今後、Paeoniflorinのフラグメントパターンなどを詳細に検討し、Paeoniflorinの検出を試みる予定である。

2) ダイオウ

長野県菅平の薬草栽培試験地においても、北海道名寄の薬用植物資源研究センター北海道研究部においても、*R. palmatum*の系統29と系統38が比較的良好な生育を示した。系統29は太い根が数本発達するという本来の形態を維持していたが、系統38は紡錘形の根茎ができず、本来の形態ではなかった。現在の栽培品の形態では、系統29が収量の点で優れている。一方、中国産の生薬「大黄」で品質評価を行った結果から、RPI型Rp4タイプに属する系統38の方が優れていると予想される。RPII型Rp5タイプ（系統29など）がこれに次ぐ。系統38については日本で育てた5年生株の地下部について未だ成分研究を行っていない。現在、3年生株の地下部について検討中であり、3～5年生の根茎及び根の成分研究の結果を見て、品質を判断したい。なお、系統38に関しては紡錘形の根茎を如何に作らせるかが課題である。

栽培5年目の*R. palmatum* 6系統（系統15、17、18、29、43、45）17検体は、昨年度の成分分析の結果において、根または根茎のSennoside A含量が0.23%以上を示した。そこで、これらについて局方試験を実施した結果、11検体が日局「ダイオウ」として使用可能であることが明らかになった。RPII型Rp5タイプである系統17、18で日局の規定を満足する検体が多かったが、系統29では1検体のみであった。

Sennoside A含量が昨年度に比べ低値を示した理由として、乾燥した根または根茎からのサンプリングの仕方が係わっていると考えられる。材料を少量取って粉末にするか、比較的多量を粉末にして、定量試験に供するか

どうかの違いであろう。少量を取る場合は、Sennoside A含量が0.40%以上でないと局方試験時には合格しないという結果であった。系統29では1検体だけがSennoside A含量が0.25%以上であったが、この検体をLC/MSで分析した結果、昨年度定量した17化合物以外に、Procyanidin類など6化合物が同定され、系統29が多様な成分を含有していることが明らかになった。HILICカラム（Tosoh Amide-80）を用いた分析でもProcyanidin類のdimerからtetramerまでが検出された。以上の結果から、昨年度の結論と同様に、系統29が優れたダイオウの系統であり、今後はSennoside A含量を高める方策を考える必要がある。

3) エゾウコギ

エゾウコギの種子に対し、後熟処理から育苗、馴化まで一連の栽培を行い、今回設定した方法で養液栽培が可能であることが明らかになった。ただし、育苗までの成功率は16.4%であった。低かった要因として、未熟種子の後熟処理及び休眠打破処理の期間の長さが考えられる。富山県薬用植物指導センターで後熟処理及び休眠打破処理を行った種子では、発根率や育苗まで至った個体数に系統間で差が見られ、No. 10が良好でNo. 1～No. 3は劣った。一方、昭和大学薬用植物園で同処理を行った種子では、No. 1とNo. 3で育苗まで至った個体数が多かった。両機関の方法を比べた場合、後熟処理の期間、休眠打破処理の期間がともに昭和大学薬用植物園の方が長かった。次期の栽培ではこの点を改善する計画である。

E. 結論

1) シャクヤク

シャクヤク園芸品種の切花収穫時に「1株に8本の茎を残すように採花」する方法の採用により、根の収量減少は避けられないものの、翌年の着蕾茎数にはほとんど影響せず、園芸と薬用の双方で安定した生産が期待できることが明らかになった。

収穫した根は新鮮な状態のまま約1ヶ月間

低温貯蔵し、水洗後、湯通しして、周皮を竹べらで除き、室内で自然乾燥する方法が最もよい成分含量を示したが、個体間の成分含量のばらつきも大きく、再検討が必要である。また、品種が白芍系か赤芍系か、「白芍」と「赤芍」のどちらの生薬を生産するのかにより、加工方法を変える必要もある。皮去り加工によりAlbiflorin及びCatechinの含量の減少が見られたが、イメージングMSによるこれら2化合物の組織内分布の結果もこれを指示した。すなわち、Albiflorinは周皮に局在し、皮層にも存在し、Catechinは周皮と皮層に多い傾向認められた。Paeonolは皮層と師部付近に局在していたことから、「赤芍」を生産する場合、皮去りを考慮する必要がある。中国産「白芍」では白く仕上げる目的で硫黄による燻蒸が行われることがあるが、この硫黄はPaeoniflorin sulphonateとして検出される。生薬に残留する硫黄の検出にはHPLC法の他、蛍光X線分析も有用な手法であった。

2) ダイオウ

R. palmatum の系統で RPII 型 Rp5 タイプの系統 29 と RPI 型 Rp4 タイプの系統 38 は、菅平薬草栽培試験地及び薬用植物資源研究センター北海道研究部の圃場において比較的良好な生育を示し、両系統が長野県菅平及び北海道北部の環境に適した系統であることが示唆された。

栽培5年目の根（根茎）17検体について局方試験を行った結果、11検体は日局ダイオウとして使用可能であったが、6検体はSennoside A含量が0.25%未満で、日局不適であった。日局適の検体はRPII型Rp5タイプの系統17及び系統18で多かったが、系統29では1検体のみであった。ただし、この検体では新たにProcyanidin類など6化合物が同定され、系統29は多様な成分を含有していることが明らかになった。今後、系統29においてSennoside A含量を増やす工夫が必要である。今回はProcyanidin類の単離同定とLC-MS分析法の検討を行い、HILICカラムが分離パターン、使用溶媒とイオン化法との適切な組み合わせ等を鑑み、最も優れた方法であり、

縮合度が4までのProcyanidin類の検出が比較的容易であることを示した。

3) エゾウコギ

後熟処理及び休眠打破処理を行った種子を閉鎖環境下で養液栽培し、発根・発芽から育苗、屋内馴化までを行い、種子 611 粒中 100 個体の育苗に成功した (16.4%)。さらに 86 個体を屋外に馴化させ、次年度の圃場への定植を可能にした。一方、屋内馴化時に収穫した葉を LC/MS 分析し、カフェオイルキナ酸類の 1,5-Dicaffeoylquinic acid 及び 1,5-Dicaffeoyl-3-methoxyoxaloylquinic acid が主要な化合物であることを明らかにした。さらに、養液栽培後、屋外で約 2 ヶ月間馴化させることにより、1-Caffeoylquinic acid 及びフラボノイドの Hyperoside が増加することも明らかにした。これらの化合物には各種生物活性が報告されていることから、葉を健康食品として利用することは可能であろう。

以上、平成 25 年度の目標をほぼ達成できた。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

- 1) 朱姝、于曉麗、白石史遠、小松かつ子、村上守一、田村隆幸：Genetic characterization of White/Red Peony roots and the horticultural cultivars of *Paeonia lactiflora* by nuclear rDNA ITS sequences. 日本薬学会第133年会 (2013.3. 28-30、横浜)
- 2) 于曉麗、朱姝、吳煜秋、小松かつ子、村上守一、田村隆幸：芍薬の成分的多様性の解析(2) —白芍・赤芍の成分的差異と園芸品種の薬用資源としての可能性. 日本薬学会第133年会 (2013.3. 28-30、横浜)
- 3) 平修、朱姝、小松かつ子、磯田進、吉松嘉代：イメージング質量分析を用いたダ

イオウの二次代謝産物の組織内分布. 第
30 回 和 漢 医 薬 学 会 学 術 大 会
(2013. 8. 31-9. 1、金沢).

- 4) 小松かつ子、冷正鵬、白焱晶、朱姝、葛
躍偉、伏見裕利、村上守一、田村隆幸、
中曽根亨、吉松嘉代：ダイオウの圃場栽

培と優良系統の選抜. 日本生薬学会第60
回 (2013年) 年会 (2013. 9. 7-8、北海道)

- G. 知的財産権の出願・登録状況
なし。

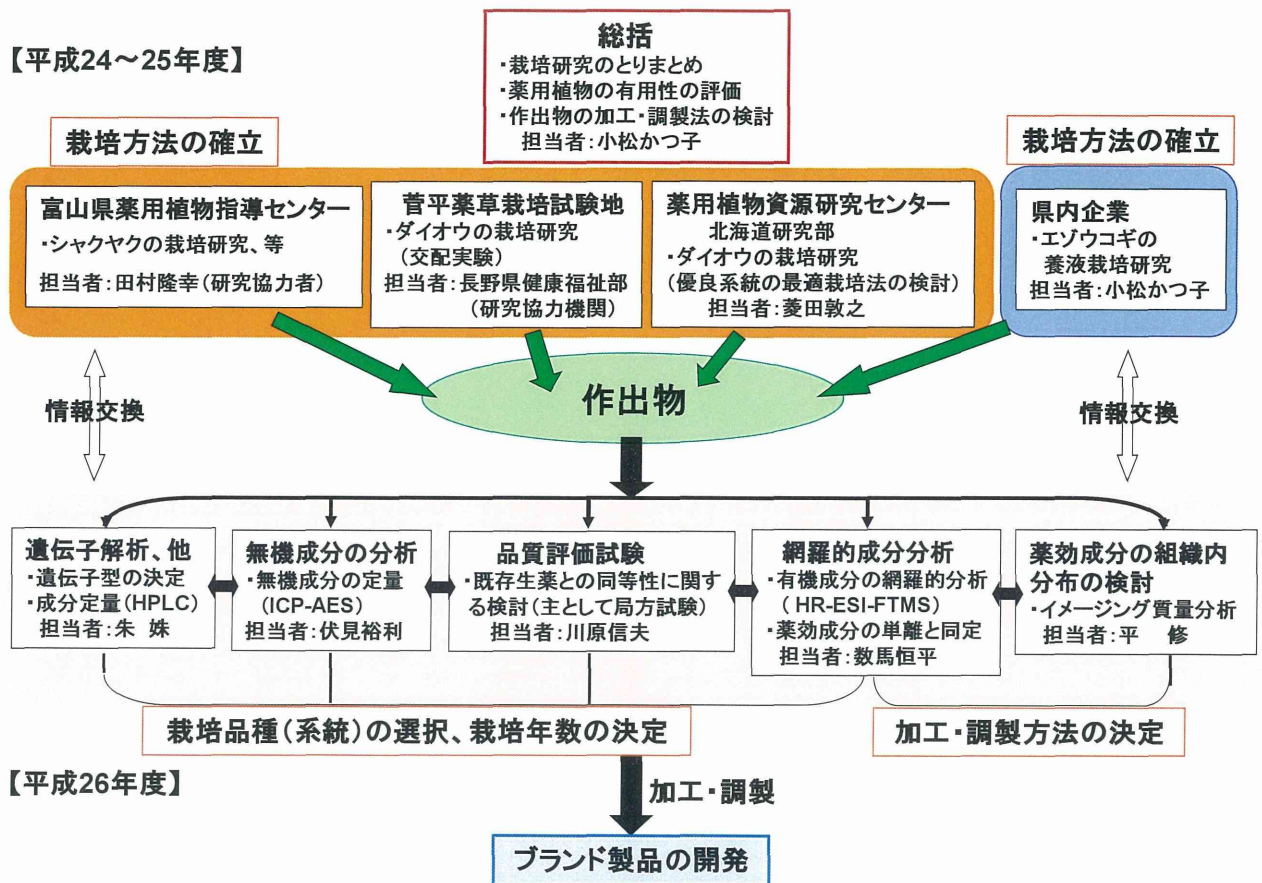


図1 「地域企業との連携によるブランド生薬の開発に関する研究」の研究計画

平成25年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた
実証的研究（H24-創薬総合—一般-007）
分担研究報告書

分担研究課題：地域企業との連携によるブランド生薬の開発に関する研究

—切花及び生薬の安定生産を目指したシャクヤク園芸品種の採花方法の検討—

研究分担者 小松かつ子 富山大学和漢医薬学総合研究所 教授

要旨 植付け5年目の薬用利用可能な園芸品種（品種名：エジュリスパーバ）を用い、切花生産のための採花（着蕾茎の採取）が植物体へ及ぼす影響について調査した。採花方法を「1株に8本の茎を残すよう採花」とした場合、根の収量減少は避けられないものの、採花の翌年の茎数はほとんど減少しなかった。この採花方法は、園芸と薬用の双方で安定した生産を実現するための方法として期待できる。

研究協力者

田村隆幸 富山県薬用植物指導センター
主任研究員

A. 研究目的

生薬「芍薬」は、第16改正日本薬局方において、「シャクヤク *Paeonia lactiflora* Pallas の根である」と規定され、鎮痛、鎮痙、活血等の作用を期待して漢方処方に配合されるほか、婦人薬や胃腸鎮痛痙薬等の製剤にも配合される。これまでの国内生産では奈良県を中心に薬用品種が栽培されてきたが、近年では薬用品種に加えて、園芸品種（*P. lactiflora*）の根も日本薬局方の規格に適合したものが薬用に出荷されている。園芸品種については、園芸と薬用の双方の生産ができることから、国内栽培の拡大が期待される。そのためには薬用として成分的に有用な品種の選定とともに、切花生産時の採花方法が重要となる。すなわち、採花の際には茎頂部に蕾が付いた茎を地際から切り取ることから、採花数が多くなると残された茎（葉）が少なくなり、その後、根の収量及び翌年の茎数が減少し、生薬の品質も不安定になる。よ

って、採花（5月中旬～下旬）では、蕾が付いた茎でも残す必要があるが、1株から出た数十本の茎のうち採花後に残すべき茎数については、情報が不足している。

そこで、シャクヤクの栽培拡大を図る一環として、園芸と薬用の双方で安定した生産を実現するための採花方法の確立を目的として、採花後に残すべき茎数について検討した。

これまで富山県薬用植物指導センターにおいて、採花方法を「着蕾茎数の半数を採花」として無採花区と比較した調査の結果、採花により残りの茎数が5本以下となった株において、その年以降の根の収量の減少が特に大きく、翌年の着蕾茎数も減少する傾向が見られた。

この結果を踏まえて、今回は採花方法を「1株に8本の茎を残すように採花」として採花し、根の収量及び翌年の着蕾茎数への影響を調査した。

B. 研究方法

1. 材料

平成20年10月に植付けたシャクヤク（品種名：エジュリスパーバ）43株のうち、栽

培4年目（平成24年）の生育が劣る7株を除いた36株を試験に供した。

別の圃場に植付けられた同品種の栽培3年目の品種特性は、表1のとおり（富山県薬用植物指導センター調べ）。

2. 栽培場所及び土壌

場所：富山県薬用植物指導センター圃場
（中新川郡上市町広野 2732）

土壌：黒ボク土

3. 栽培方法

(1) 基肥（10 aあたり）

牛糞堆肥 1,000 kg、苦土石灰 100 kg、
過磷酸石灰 60 kg

(2) 整畦

畦幅 100 cm、畦高 20 cm、黒マルチ（厚さ 0.03 mm）被覆

(3) 植付け

株分け法により1株の芽数を3～5個として作製した株を、平成20年10月に条間50 cm、株間70 cmでチドリ植えとした。

(4) 追肥（10 aあたり）

6月上旬（1年目は除く）には化成肥料（N:P:K=15:15:15）40 kgを、10月中には乾燥鶏糞 150 kgを施した。

(5) 黒マルチの取り外し

平成23年11月

4. 群分け

平成24年6月の茎数を基に、材料の36株を均等になるよう3群に分けて、各株にラベル付けした。（各群12株）

各群の採花方法を、「無採花」、「1株に8本の茎を残すように採花」及び「着蕾茎数の半数を採花」と設定した。

5. 調査

(1) 採花の調査

採花前に各株の茎数を調査し、各群に設定した採花方法に従って採花茎数を求めた。採花する群では、平成24年は6月、平成25年は5月に、茎を地際で切り取った。

着蕾の状態により3種の茎が観察された。

すなわち、①頂部に開花が見込まれる正常な蕾が形成された茎、②頂部の蕾が膨らまずに開花の見込みがなくなった茎、③蕾が形成されなかった茎、である。本研究では、採花及び調査の対象としては①のみとし、②及び③の茎は地際で切り取った。（結果における茎数についても①のみを掲載している。）

(2) 根の調査

平成25年10月29日、植付け5年目（採花は2回実施）の各群から5株ずつ掘り上げ、根を取り外した（図1）。水洗した根を、「径0.5 cm以上1 cm未満」及び「径1 cm以上」の2種類の径に分類し、表面の水分のみが乾いた状態で各径の生根重量を測定した。その後、径が異なる2種類についてそれぞれ、幅3～5 cmに斜め切りし、10月31日～11月8日の間30℃で通風乾燥した。

C. 研究結果

採花及び根の調査結果を1株の平均値として表2に示す。

採花1年目（植付け4年目）の着蕾茎数が均等になるよう群分けしたところ、各群で12.5本前後となり、ほぼ同じ茎数となった。この茎数から各群の採花方法に従って採花茎数を算出すると、「8本残して採花」群では4.7本、「着蕾茎数の半数採花」群では6.0本となった。翌年の採花前の茎数については、「無採花」群が17.8本であったのに対し、「8本残して採花」群では16.0本とわずかな減少であったが、「着蕾茎数の半数採花」群では10.3本と約60%に減少した。このため、2年間の合計採花数は、「8本残して採花」群では12.7本、「着蕾茎数の半数採花」群では11.0本で、「8本残して採花」群の方が切花生産には有利であった。

乾燥後の根の合計重量を比較すると、「無採花」群が647gであったのに対し、「8本残して採花」群では362.2g、「着蕾茎数の半数採花」群では317.3gであり、2年間の合計採花数が多い「8本残して採花」群の方が、「着蕾茎数の半数採花」群よりも根の収量が多く、生薬生産の面でも有利であった。

D. 考察

今回検討したシャクヤクの採花方法として「1 株に 8 本の茎を残すように採花」は、「着蕾茎数の半数を採花」と比較して、園芸と薬用の双方で安定した生産を実現するための採花方法となる可能性が示唆された。採花 1 年目（植付け 4 年目）の採花茎数のわずかに 1.3 本の違いが、翌年の茎数や根の収量の結果の違いとなって現れたとすれば、安定した生育のためには、採花後の茎数が 6、7 本では少なく、8 本以上が必要と考えられる。この採花後の茎数については、採花による生育への影響は品種によっても異なる¹⁾ことから、品種ごとに最適な採花方法を設定することが望ましいが、今後の課題である。今回はまだ採花 2 年目であるため、採花 3 年目以降の生育調査も実施し、この採花方法で問題ないか確認する予定である。

E. 結論

シャクヤク園芸品種（品種名：エジュリスパーバ）の切花収穫時に「1 株に 8 本の茎を残すように採花」する方法の採用により、根の収量減少は避けられないものの、翌年の着蕾茎数にはほとんど影響せず、園芸と薬用の双方で安定した生産が期待できる。

参考文献

- 1) 村上守一：富山の薬草栽培—シャクヤク 4—、和漢薬、No. 658、7-11（2008）.

F. 研究発表

1. 論文発表
なし。
2. 学会発表
なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

表 1 エジュリスパーバの品種特性

項目	結果
開花日	5 月 26 日
花色	やや濃い桃色
花形	冠咲き
花径	直径 10cm、厚み 4cm
茎数	20 本
草丈	75cm

調査年月：平成 22 年 5 月

表 2 採花及び根の調査結果

調査項目		採花方法		
		無採花	1 株に 8 本の茎を 残すように採花	着蕾茎数 の 半数を採花
採花 1 年目(平成 24 年 6 月) $n = 12$				
採花前の茎数		12.8	12.7	12.4
採花茎数		0	4.7	6.0
採花後に残った茎数		12.8	8.0	6.4
採花 2 年目(平成 25 年 5 月) $n = 12$				
採花前の茎数		17.8	16.0	10.3
採花茎数		0	8.0	5.0
採花後に残った茎数		17.8	8.0	5.3
合計採花数		0.0	12.7	11.0
根の重量(堀取り日:平成 25 年 10 月 29 日) $n = 5$				
径 0.5cm 以上 1cm 未満	乾燥前(g)	825	483.2	468.7
	乾燥後(g)	441.4	230.1	229.9
	乾燥歩留まり	53.5%	47.6%	49.1%
径 1 cm 以上	乾燥前(g)	378.4	253.1	180.4
	乾燥後(g)	205.6	132.1	87.4
	乾燥歩留まり	54.3%	52.2%	48.4%
合計	乾燥前(g)	1203.4	736.3	649.1
	乾燥後(g)	647	362.2	317.3
	乾燥歩留まり	53.8%	49.2%	48.9%

試験区:①無採花
②「8本の茎を残す」採花
③「着蕾茎数の半数」採花

掘り取り日:平成25年10月29日

試験区①-株1



試験区②-株1



試験区③-株1



試験区①-株1(根の径 0.5 cm以上)

図1 エジュリスパーバの地下部の形態

平成25年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた
実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）
分担研究報告書

分担研究課題：地域企業との連携によるブランド生薬の開発に関する研究

—遺伝的・成分的評価に基づくシャクヤク園芸品種の薬用資源としての可能性：
加工・乾燥法の違いによる成分含量の変化—

研究分担者 小松かつ子 富山大学和漢医薬学総合研究所 教授

要旨 富山県薬用植物指導センターで栽培された薬用品種「梵天」の根を用いて、加工調製法の違いによる成分変化を検討した。貯蔵法、加工法及び乾燥法の異なる計12通りの加工調製法を検討した結果、新鮮な根を約1ヶ月間低温貯蔵し、水洗後、湯通しして、周皮を竹べらで除き、室内で自然乾燥する方法が最もよい成分含量を示した。低温貯蔵により、顕著ではないもののPaeoniflorin含量が増加傾向を示した。また、皮去り加工によりAlbiflorin及び(+)-Catechinの含量の減少が見られた。今回、同一株の根を用いて検討を行ったが、個体間の成分含量のばらつきが大きかったため、今後はばらつきを補正できるように個体数を増やして検討する予定である。

研究協力者

朱 姝 富山大学和漢医薬学総合研究所
助教
村上守一 富山県薬用植物指導センター
元所長
田村隆幸 富山県薬用植物指導センター
主任研究員

A. 研究目的

芍薬は鎮痛、鎮痙、収斂薬として、一般用漢方処方約1/3に配合される重要な生薬である。『第十六改正日本薬局方』に、芍薬は*Paeonia lactiflora* Pallasの根を基原とし、Paeoniflorinを2.0%以上含むことが規定されている。近年、日本で栽培されてきた薬用種（和芍）のほか、園芸品種も薬用に供されるようになった。さらに中国産白芍の輸入も多い。芍薬は中国では白芍と赤芍に区別され、白芍は養血、斂陰、柔肝、止痛薬と

して筋肉の攣急の緩和、腹痛、下痢等に、また赤芍は活血化瘀薬として婦人科疾患等に用いられる。『中華人民共和国薬典』（2010年版）では、白芍は*P. lactiflora*の根を湯通しした後に外皮を除去したもの、あるいは外皮を取り除いて湯通ししたものであり、赤芍は*P. lactiflora*または*P. veitchii* Lynchの根であると規定している。赤芍の基原種には*P. veitchii*も含まれるが、多くは*P. lactiflora*であり、同種を基原とする白芍との区別が難しい。

これまでに、中国産白芍と赤芍、日本産芍薬（和芍、洋種芍薬）について、核DNAのITS領域の塩基配列を解析し、また薬理活性が報告されている8成分[Paeoniflorin、Albiflorin、1,2,3,4,6-Penta-O-galloyl-β-D-glucose (PGG)、(+)-Catechin、Paeonol、Gallic acid、Methyl gallate、Benzoic acid]（図1）の定量分析を行い、中国産の白芍と