

て平成24年度から試験に着手した。

昨年度までに、採花を2回（1回／年）実施し、その株の根の収量調査を行った結果、「1株に8本の茎を残すように採花」する方法では、無採花と比較すると根の収量減少は避けられないものの、採花翌年の茎数はほとんど減少しないことが明らかとなった。

今回は、採花2年目の根の成分含量への影響について、また、採花3年目の茎数及び根の収量への影響について調査した結果を報告する。

## 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6月における茎数が少なく、地上部の生育が劣る7株を除いた36株を試験に供した。

別の圃場で栽培している同品種の株分け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）。同品種の開花盛期の写真を図1に示す。

また、栽培6年目の写真を図2に示す。

### 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  
（富山県中新川郡上市町広野2732）

土壌：黒ボク土  
土性：壤土

### 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、  
過リン酸石灰 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50cm、株間70cmでチドリ植えとした。

#### (4) 追肥（10 aあたり）

各年、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月中旬には乾燥鶏糞 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、各株にラベル付けした。（12株／群）

群分け当時の各群の茎数は表2のとおり。

### 5. 採花方法

一般的に、シャクヤクの蕾は株分け4年目以降には1株から出た数十本の茎のほぼ全てに頂生し、開花するが、材料の品種は着蕾の状態により3種の茎が観察された。すなわち、①開花が見込まれる正常な蕾が形成された茎、②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の茎は採花と同時に地際で切り取った。（結果における茎数についても①のみを掲載）

採花は、株分け栽培4年目から6年目まで（平成24～26年）各年1回、計3回実施した。

各群の採花方法を下記のとおりとし、採花する群ではこの規則に従って求めた採花茎数を地際で切り取った。この際に、採花せずに残した茎の蕾は切除した。

①無採花群：全く採花しない群

②8本温存採花群：

1株に8本の茎を残すように採花する群

③過剰採花群：

採花1年目及び2年目は「茎数の半数を採花」、採花3年目は「1株に6本の茎を残すように採花」とする群

### 6. 調査

#### (1) 茎数の調査（採花3年目）

5月19日に1株ごとに茎数を調査し、各群で設定した採花方法に従い採花した。

#### (2) 根の調査（採花3年目）

平成 26 年 12 月 1 日、各群から 3 株ずつ掘り上げ、根を取り外した。根は水洗後、「径 0.5 cm 以上 1.0 cm 未満」及び「径 1.0 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新鮮根重を測定するとともに、1 株ごとに径別の根の長さを測定した。その後、各サンプルについて「幅 3~5 cm に斜め切り」に加え、「特に切断せず」の 2 種類の形態にて、一定重量になるまで 30℃で送風乾燥した（乾燥期間：平成 26 年 11 月 17 日~平成 27 年 1 月 16 日）。

## 7. 定量分析

採花 2 年目（栽培 5 年目）の根の調査（掘り取り日：平成 25 年 10 月 29 日）で得た各サンプルについて、次の 8 成分の定量を行った。（サンプルの乾燥調製については平成 25 年度の報告書に記載）

① Paeoniflorin、② Albiflorin、③ 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- $\beta$ -D-glucose (PGG)、④ (+)-Catechin、⑤ Paeonol、⑥ Gallic acid、⑦ Methyl gallate、⑧ Benzoic acid

分析に関する試薬、装置及び条件については、「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—」に記載の方法と同じ。

## C. 研究結果

### 1. 茎数

各採花群の採花 3 年目の採花茎数及び採花前後の茎数を、1 株あたりの平均値として表 2 に示す（年による茎数の変動や前年の採花茎数の参照のため、採花 1 年目及び 2 年目についても併せて掲載）。

採花 3 年目の採花前の茎数は、無採花群、8 本温存採花群及び過剰採花群でそれぞれ 15.7 本、13.4 本及び 12.1 本となり、各群間に有意差は認められなかった。なお、前年（採花 2 年目）の採花後に残った茎数は、8 本温存採花群では 8.0 本、過剰採花群では 5.3 本であった。

採花 3 年目の採花を実施した後に残った茎数は、8 本温存採花群では 8.0 本、過剰採花群では 6.0 本であり、無採花群の 15.7 本に対して、それぞれ 51% 及び約 38% の茎数となった。

### 2. 根の収量、乾燥歩留まり、長さ等

採花 3 年目の地下部の形態を図 3、図 4 及び図 5 にそれぞれ示す。これらの収穫した根を 2 種類の径に分類し、それぞれの収量を調査した。その結果として、1 株あたりの新鮮根重及び乾燥根重を表 3 及び表 4 にそれぞれ示す。

乾燥根重については、いずれの径でも無採花群と 8 本温存採花群は同等で、合計値ではそれぞれ 635.1 g、665.0 g であった。一方、過剰採花群では合計値が 365.0 g で、有意に収量が減少した。

また、径 1.0 cm 以上の新鮮根の、合計の重量に対する比率を表 3 に併記した。過剰採花群については、79.6% で最も高かったが、無採花群に対する新鮮根重の減少が特に「径 0.5 cm 以上 1.0 cm 未満」で顕著であったことが影響し、相対的に「径 1.0 cm 以上」の重量比が上昇したものである。

乾燥歩留まり（表 5）については、どの採花群でも 49~51% で同等であった。

新鮮根の長さを測定し、1 株ごとの合計値として表 6 に示す。無採花群と 8 本温存採花群は、各径の合計値ではいずれも約 12 m でほぼ同じ値であったが、「径 1.0 cm 以上」の長さはそれぞれ 5.37 m 及び 6.12 m で、8 本温存採花群の方がやや長い傾向があった。これら 2 群に対して過剰採花群では、いずれの径でも短く、特に「径 0.5 cm 以上 1 cm 未満」では無採花群の約 37%（2.42 m）であり、減少が顕著であった。

また、新鮮根重と根の長さから単位長さあたりの新鮮根重を求めた（表 7）。「径 0.5 cm 以上 1.0 cm 未満」については、無採花群と 8 本温存採花群はほぼ同じ値（約 70 g/m）であったが、これらに対して過剰採花群（62.1 g/m）は有意に低かった。「径 1.0 cm 以上」については、有意差はないものの、無採花群

(158.8 g/m) と比較して 8 本温存採花群 (152.5 g/m) 及び過剰採花群 (150.5 g/m) でやや低くなる傾向があった。2 種類の径を合計した平均値については、無採花群の 110.0 g/m、8 本温存採花群の 112.6 g/m と比べて過剰採花群でやや高い値となった(有意差なし)が、これは、2 種類の径の合計重量のうち「径 1.0 cm 以上」の比率が他の 2 群より高かったことが影響したものである。

### 3. 成分含量

異なる採花方法を適用した採花 2 年目の各群 5 株の乾燥根を試料として、8 種の成分を定量分析した結果を図 6 に示す。

図 6 右側の採花群ごとの Paeoniflorin 含量については、47.7 mg/g から 58.5 mg/g の範囲で含有し、採花群によって大きな差は無かったが、過剰採花群が最も高く、次いで 8 本温存採花群であった。同様の含量順位となる成分は他に、Albiflorin 及び(+)-Catechin であった。また、PGG、Paeonol、Gallic acid 及び Benzoic acid はいずれも 8 本温存採花群で最も高く、次いで過剰採花群という結果であった。Methyl gallate は、8 本温存採花群の径 1.0 cm 以上のサンプルにのみ 0.03 mg/g で含有されていた。

8 本温存採花群では、他の採花群と比較して PGG 及び Paeonol が高い傾向があったが、特に含量が少ない成分は無かった。

図 6 の左側の径別の含量では、全体的に細かいサンプル(径 0.5~1.0 cm)の方が高含量となる傾向があった。

### D. 考察

切花生産は一般に、株分け4年目頃から毎年、5から7年間程度実施されるため、継続して採花し、その後の生育への影響を調査する必要がある。そのため、平成25年度までに2回(1回/年)の採花を実施し、その翌年である今年度(採花3年目)に茎数を調査したところ、8本温存採花群では採花前の茎数が13.4本で無採花群の85%の茎数が確保された。前年に1株あたり8本の茎(全茎数の半分の茎数)を採花したことを考えると、この85%は高い数

値であると判断できる。一方、過剰採花群については、今年度の採花前の茎数が12.1本で無採花群の77%の茎数であったが、採花2年目の同茎数は無採花群の58%であったことから、年による茎数の変動が大きく、切花の生産量だけでなく、根の収量や品質も不安定になることが考えられる。

3回目の採花を実施した株の根の収量を調査した結果、8本温存採花群では、これまでの採花の合計で平均18.1本を切り取ったにも関わらず、無採花群と同等の収量であり、特に外観も問題なく、単位長さ当たりの重量でも同等であった。これに対し、過剰採花群では、これまでの3回の合計採花茎数が平均17.1本であり8本温存採花群より少なかったが、これは採花1年目に過剰に採花したことによって翌年の茎数が激減し、採花茎数が減ったためである。過剰採花群については、3年合計の採花茎数が8本温存採花群より少なかったが、採花3年目の根の収量が無採花群の57%に減少した(新鮮根における径が0.5 cm以上の根の長さ合計についても同様に53%に減少)。これに関しても、採花1年目(栽培4年目)の過剰な採花が影響したものと考えられる。

収量に関しては、8本温存採花群が有効であることが明らかになったが、生薬生産としては生薬中の成分への影響を検討する必要がある。今回は、採花2年目の10月に収穫した根をサンプルとして主要な8成分を定量したところ、日局の規格で2.0%以上の含量が要求されているペオニフロリン(Paeoniflorin)については、全ての採花群で規格を大きく上回った(4.8%~5.9%)。今回の8成分に関しては、採花の影響を受けて減少するといった成分は見られず、逆に8本温存採花群で上昇傾向が見られる成分として、PGG及びPaeonolの可能性が示唆された。本結果は1回の試験から得られたサンプルでの結果であるため、採花3年目、またそれ以降の根を収穫してさらに検討しなければならないが、採花によって上昇する成分が明らかになれば、その特徴をいかした商品への展開が期待できる。

なお、採花によって成分含量が上昇する原因としては、採花とともに葉が減少したことで光合成量が減ると、デンプンの合成及び根への転流が減少し、最終的に生薬の重量の大半を占めるデンプンや糖類が減ることによって、含量 (%) としては上昇して見えると考えられる。これは主にデンプン含量の影響を受ける乾燥歩留まりの値とペオニフロリン等の含量が今回の結果でも反比例していることから推測される。

今後は、まだ掘り上げていない株が各群に4株ずつ残っているため、翌年も継続して採花を実施し、茎数、根の収量及び成分含量への影響をさらに検討し、8本の茎を残す採花方法の有効性を検証する予定である。

#### 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」する方法で株分け栽培4年目から3年間採花した結果、3年間の合計で1株から約18本の切花生産が可能で、かつ採花3

年目の生薬の収量にも影響を及ぼさなかった。採花2年目の生薬の収量は減少したものの、ペオニフロリンの含量は日局の規格（2.0%）を上回る5.4%であり、その他の7成分の含量にも大きな影響は認められなかった。よって、この採花方法は、園芸と薬用の双方で安定した生産を可能にすることが期待できる。

#### F. 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）。

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### H. 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（株分け3年目）



図1 エジュリスパーバの開花盛期  
（試験材料とは別の株）

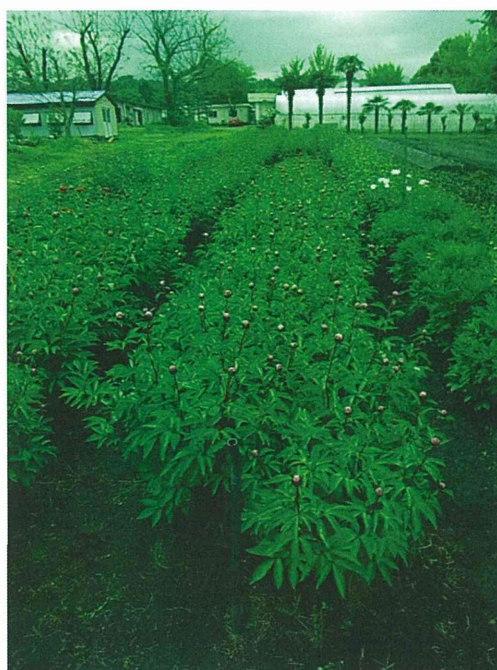


図2 栽培6年目の生育状況  
（平成26年5月19日）

表2 採花1年目から3年目までの採花茎数及び採花前後の茎数

| 採花<br>年数 | 栽培<br>年数※1 | 採花方法   | 例数 | 茎数(本/株)※2    |              |              |
|----------|------------|--------|----|--------------|--------------|--------------|
|          |            |        |    | 採花前          | 採花茎数         | 採花後          |
| 1年目      | 4年目        | 無採花    | 12 | 12.8 ± 2.3 a | 0 b          | 12.8 ± 2.3 a |
|          |            | 8本温存採花 | 12 | 12.7 ± 2.0 a | 4.7 ± 2.0 a  | 8.0 ± 0 b    |
|          |            | 過剰採花   | 12 | 12.4 ± 2.0 a | 6.0 ± 1.0 a  | 6.4 ± 1.0 c  |
| 2年目      | 5年目        | 無採花    | 12 | 17.8 ± 3.4 a | 0 c          | 17.8 ± 3.4 a |
|          |            | 8本温存採花 | 12 | 16.0 ± 1.2 a | 8.0 ± 1.2 a  | 8.0 ± 0 b    |
|          |            | 過剰採花   | 12 | 10.3 ± 2.4 b | 5.0 ± 1.0 b  | 5.3 ± 1.4 c  |
| 3年目      | 6年目        | 無採花    | 7  | 15.7 ± 8.5 a | 0 b          | 15.7 ± 8.5 a |
|          |            | 8本温存採花 | 7  | 13.4 ± 3.8 a | 5.4 ± 3.8 ab | 8.0 ± 0 ab   |
|          |            | 過剰採花   | 7  | 12.1 ± 3.4 a | 6.1 ± 3.4 a  | 6.0 ± 0 b    |

※1 栽培年数は、株を植付けた平成20年10月の翌年である平成21年を1年目として記載

※2 数値は平均値±標準偏差で、採花年数ごとに異なるアルファベット間では Tukey 多重比較検定により 5%水準で有意差があることを示す。

表3 径別の新鮮根の重量

| 採花<br>年数 | 栽培<br>年数※1 | 採花方法   | 例数 | 新鮮根重(g/株)※2    |                  |                  | 径1cm以上の<br>新鮮根の重量比(%) |
|----------|------------|--------|----|----------------|------------------|------------------|-----------------------|
|          |            |        |    | 径0.5~1.0cm未満   | 径1.0cm以上         | 合計               |                       |
| 3年目      | 6年目        | 無採花    | 3  | 452.3 ± 56.5 a | 845.7 ± 116.0 ac | 1298.0 ± 165.4 a | 65.1 ± 1.8 b          |
|          |            | 8本温存採花 | 3  | 402.5 ± 99.4 a | 941.0 ± 264.6 a  | 1343.5 ± 352.4 a | 69.7 ± 3.5 b          |
|          |            | 過剰採花   | 3  | 151.3 ± 67.4 b | 586.3 ± 87.6 bc  | 737.7 ± 79.5 b   | 79.6 ± 9.1 a          |

※1 栽培年数は、株を植付けた平成20年10月の翌年である平成21年を1年目として記載

※2 数値は平均値±標準偏差で、採花年数ごとに異なるアルファベット間では Tukey 多重比較検定により 5%水準で有意差があることを示す。

表4 径別の乾燥根の重量

| 採花<br>年数 | 栽培<br>年数※1 | 採花方法   | 例数 | 乾燥根重(g/株)※2                |                        |                 |
|----------|------------|--------|----|----------------------------|------------------------|-----------------|
|          |            |        |    | 径0.5~1.0cm未満<br>(新鮮根における径) | 径1.0cm以上<br>(新鮮根における径) | 合計              |
| 3年目      | 6年目        | 無採花    | 3  | 219.8 ± 25.7 a             | 415.3 ± 64.7 ac        | 635.1 ± 86.2 a  |
|          |            | 8本温存採花 | 3  | 199.5 ± 52.9 a             | 465.5 ± 135.3 a        | 665.0 ± 183.7 a |
|          |            | 過剰採花   | 3  | 77.3 ± 35.2 b              | 287.7 ± 46.0 bc        | 365.0 ± 42.6 b  |

※1 栽培年数は、株を植付けた平成20年10月の翌年である平成21年を1年目として記載

※2 数値は平均値±標準偏差で、採花年数ごとに異なるアルファベット間では Tukey 多重比較検定により 5%水準で有意差があることを示す。

表5 径別の乾燥歩留まり

| 採花<br>年数 | 栽培<br>年数※1 | 採花方法   | 例数 | 乾燥歩留まり(%)※2  |              |              |
|----------|------------|--------|----|--------------|--------------|--------------|
|          |            |        |    | 径0.5~1.0cm未満 | 径1.0cm以上     | 合計           |
| 3年目      | 6年目        | 無採花    | 3  | 48.6 ± 0.7 a | 49.0 ± 1.3 a | 48.9 ± 1.1 a |
|          |            | 8本温存採花 | 3  | 49.4 ± 1.5 a | 49.4 ± 0.6 a | 49.4 ± 0.8 a |
|          |            | 過剰採花   | 3  | 50.7 ± 2.9 a | 49.0 ± 0.8 a | 49.4 ± 0.6 a |

※1 栽培年数は、株を植付けた平成20年10月の翌年である平成21年を1年目として記載

※2 数値は平均値±標準偏差で、採花年数ごとに異なるアルファベット間では Tukey 多重比較検定により 5%水準で有意差があることを示す。



表6 径別の根の長さの合計

| 採花<br>年数 | 栽培<br>年数※1 | 採花方法   | 例数 | 根の長さ(m/株)※2   |                |                |
|----------|------------|--------|----|---------------|----------------|----------------|
|          |            |        |    | 径0.5~1.0cm未満  | 径1.0cm以上       | 合計             |
| 3年目      | 6年目        | 無採花    | 3  | 6.47 ± 0.82 a | 5.37 ± 0.82 ac | 11.85 ± 1.60 a |
|          |            | 8本温存採花 | 3  | 5.76 ± 1.49 a | 6.12 ± 1.47 a  | 11.89 ± 2.85 a |
|          |            | 過剰採花   | 3  | 2.42 ± 0.96 b | 3.91 ± 0.72 bc | 6.33 ± 0.96 b  |

※1 栽培年数は、株を植付けた平成20年10月の翌年である平成21年を1年目として記載

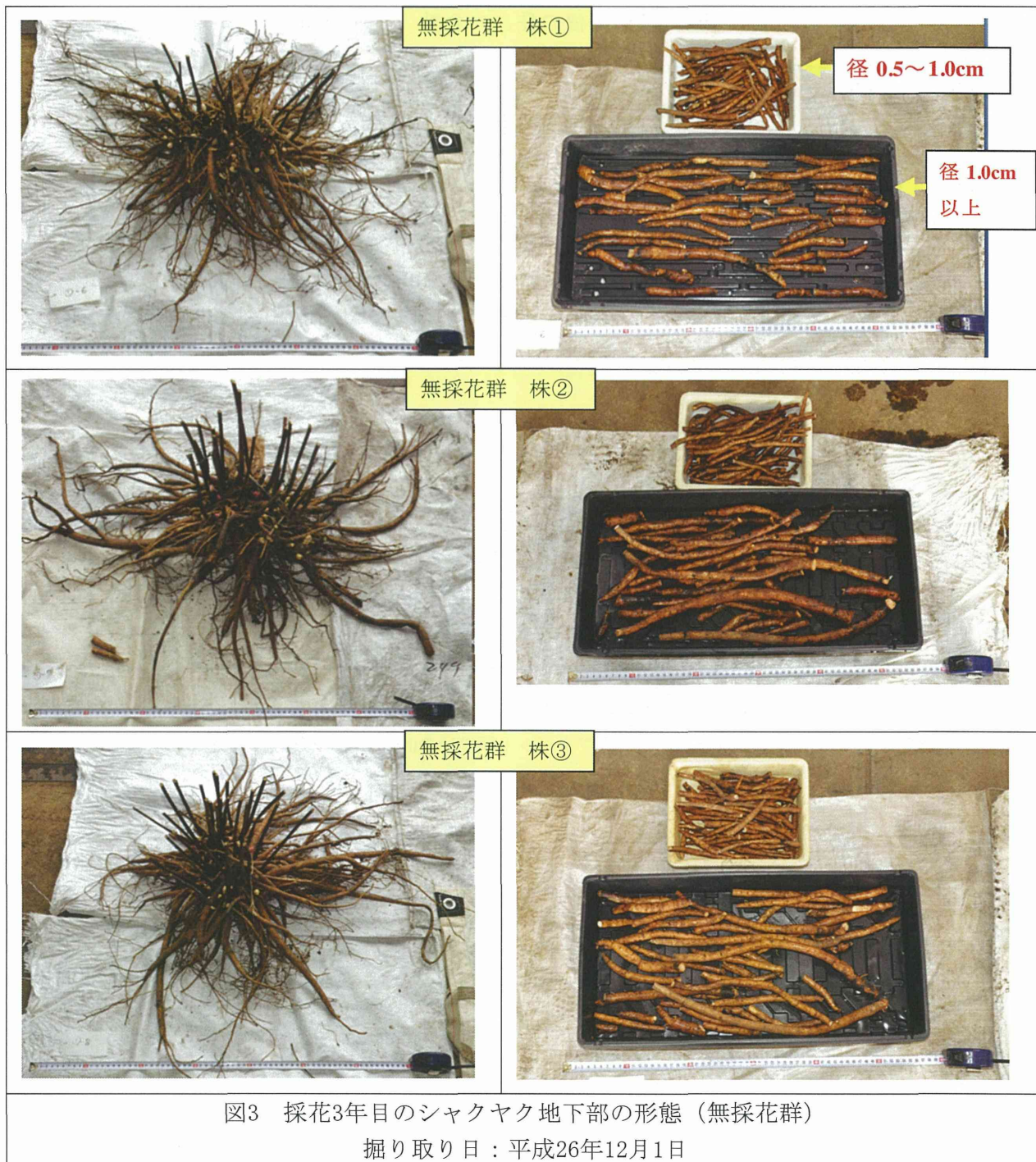
※2 数値は平均値±標準偏差で、異なるアルファベット間では Tukey 多重比較検定により 5%水準で有意差が

表7 径別の単位長さあたりの新鮮根重

| 採花<br>年数 | 栽培<br>年数※1 | 採花方法   | 例数 | 単位長さあたりの新鮮根重(g/m)※2 |                |               |
|----------|------------|--------|----|---------------------|----------------|---------------|
|          |            |        |    | 径0.5~1.0cm未満        | 径1.0cm以上       | 平均            |
| 3年目      | 6年目        | 無採花    | 3  | 69.9 ± 0.8 a        | 158.8 ± 22.9 a | 110.0 ± 9.6 a |
|          |            | 8本温存採花 | 3  | 70.0 ± 1.0 a        | 152.5 ± 7.4 a  | 112.6 ± 5.0 a |
|          |            | 過剰採花   | 3  | 62.1 ± 5.2 b        | 150.5 ± 5.6 a  | 117.1 ± 7.6 a |

※1 栽培年数は、株を植付けた平成20年10月の翌年である平成21年を1年目として記載

※2 数値は平均値±標準偏差で、異なるアルファベット間では Tukey 多重比較検定により 5%水準で有意差があることを示す。





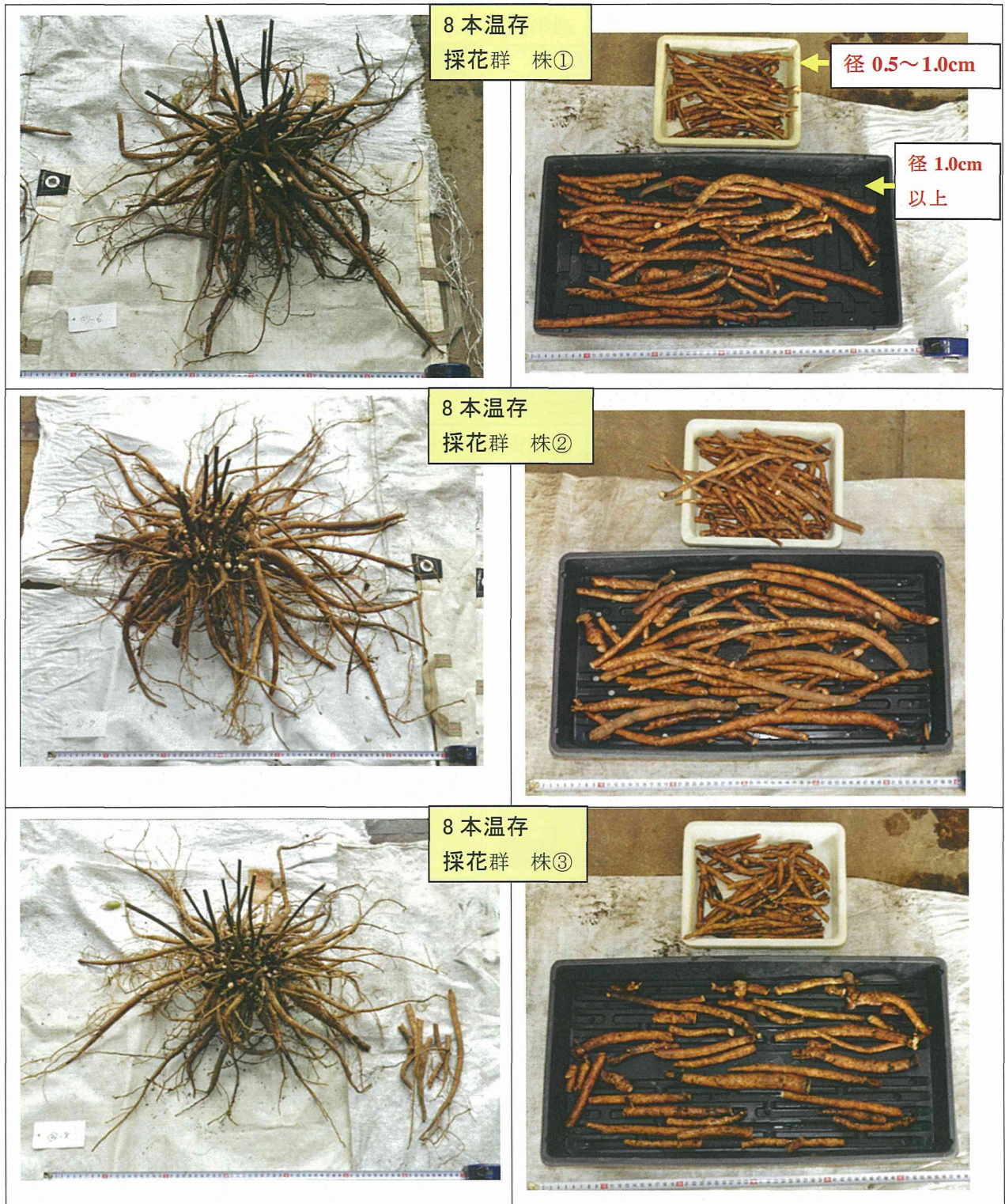


図4 採花3年目のシャクヤク地下部の形態 (8本温存採花群)  
掘り取り日：平成26年12月1日





図5 採花3年目のシャクヤク地下部の形態（過剰採花群）

掘り取り日：平成26年12月1日

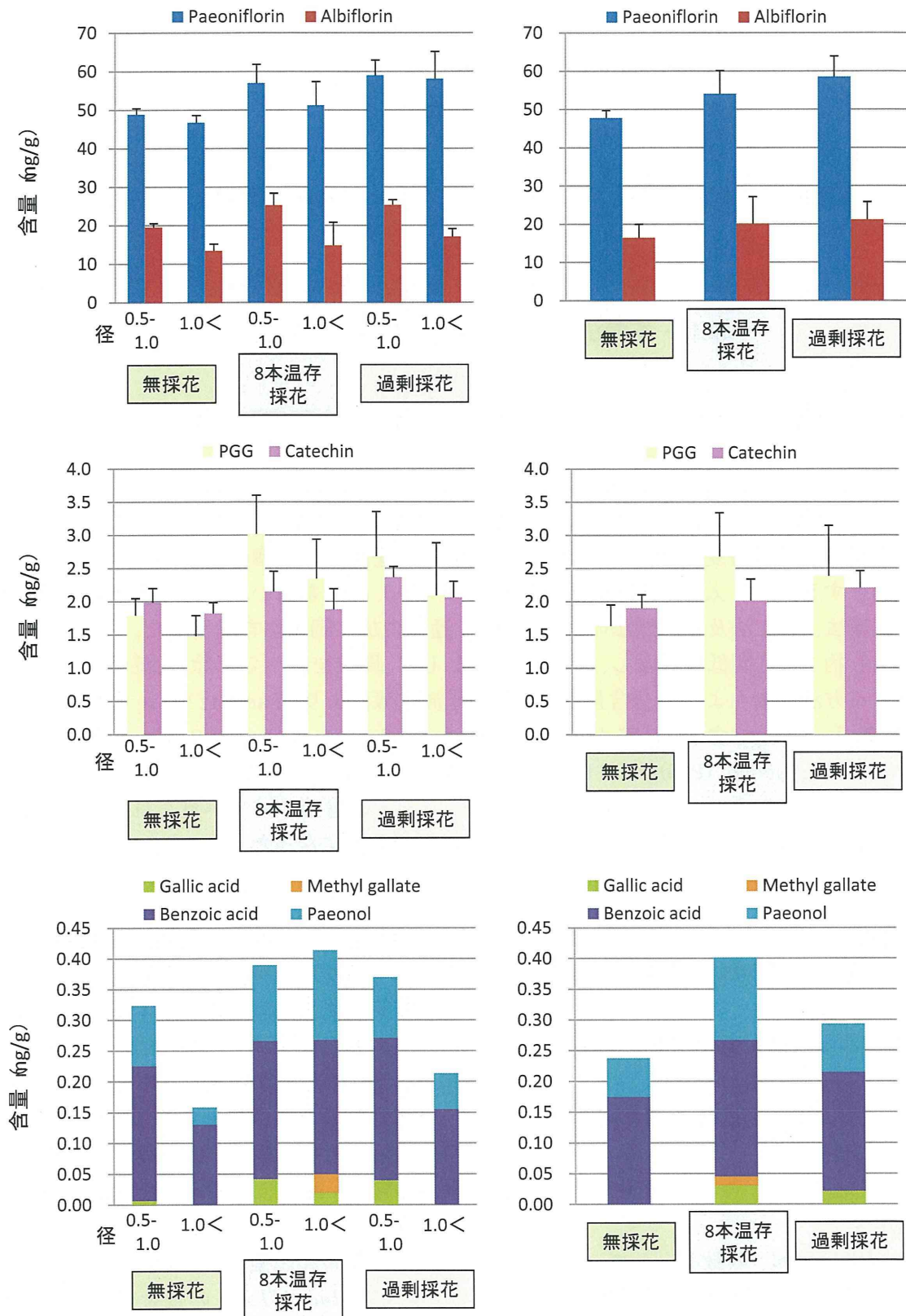


図6 異なる採花方法を適用した採花2年目の乾燥根の成分含量

左側グラフ 新鮮根における径で分類した径別の成分含量

各採花群の左のカラム 径0.5cm以上1.0cm未満、右のカラム 径1.0cm以上

右側グラフ 採花群ごとの成分含量



平成26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。昨年度の結果を踏まえ、個体間の成分含量のばらつきを補正するため、太さの揃った根（直径 1.5～2.0 cm）を用い、さらに個体数を増やして、貯蔵法、加工法及び乾燥法の異なる計 15 通りの加工調製法を検討した。その結果、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、乾燥機（30℃）で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、Paeoniflorin 含量が安定し、結果として高含量に繋がった。湯通し加工により、1,2,3,4,6-Penta-O-galloyl-β-D-glucose (PGG)、Gallic acid 及び Methyl gallate の含量が顕著に増加し、一方、皮去り加工により Albiflorin 及び (+)-Catechin の含量の減少が見られた。また、低温貯蔵を経て加工した根は、白く仕上がるようになった。

研究研究者

朱 姝 富山大学和漢医薬学総合研究所  
助教  
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 富山県薬用植物指導センター  
元所長

芍の輸入も多い。日本漢方生薬製剤協会による原料生薬使用量等調査報告書によると、国内の芍薬の使用量は平成 22 年度 1,226,311 kg で 2 番目に多く、その内訳は日本産が 38,017 kg、中国産が 1,188,294 kg であった。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

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（日局）』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



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- $\beta$ -D-glucose (PGG)、(+)-Catechin、Paeonol、Gallic acid、Methyl gallate、Benzoic acid]

(図 1) の定量分析を行い、中国産の白芍と赤芍、日本産芍薬、洋種芍薬の系統関係並びに成分的な差異を明らかにしてきた。また、富山県薬用植物指導センターで栽培されているシャクヤク 99 品種について、ITS 配列により白芍系と赤芍系に分けた上で 8 成分の含量を測定し、中国産赤芍と白芍及び日本産芍薬の各市場品の成分含量と比較した。以上の定量値を用いて主成分分析を行い、生薬との類似性から赤芍または白芍（芍薬）として薬用に供することができる園芸品種を各 3 品種選び出した。

富山県で栽培可能な園芸品種から、薬用の赤芍または白芍として新たな生薬を作り出していくためには、収穫した新鮮な根の加工・調製法の検討が必要である。そこで、富山県薬用植物指導センターで栽培されている薬用品種の「梵天」の根を用いて、様々な加工・調製を行い、その加工品について 8 成分の含量を測定し、加工調製法の違いによる成分含量の変動を調べた。昨年度は、同一株の根を用いて検討を行ったが、個体間で成分含量のばらつきが大きかったため、加工調製法の違いによる成分変化を比較することは難しかった。今年度は、個体間のばらつきを補正できるように、太さの揃った根 (1.5~2.0 cm) を使用し、さらに個体数を増やして、貯蔵法、加工法及び乾燥法の異なる計 15 通りの加工調製法を行い、成分含量を比較、検討した。

さらに、芍薬（白芍）は内部が粉状で充実し、白く仕上がった製品が上品とされることから、加工調製した根の色合いについて評価した。

## B. 研究方法

### 1. 実験材料及び加工・調製法

富山県薬用植物指導センターで収穫された栽培 4 年目の薬用品種「梵天」の根から、直径 2.0 cm 前後の根を選別し（平成 25 年 10 月 8 日入手）、材料とした。それらを均等に 15 グループに分けた (8 個体/グループ、その内 7 個体が直径 1.5~2.0 cm、1 個体のみ直径 2.0~2.7 cm)。15 グループの根に対してそれぞれ、図 2 に示した 15 通りの加工・乾燥法を行った。昨年度より新たに、室外で自然乾燥する A-I、A-II、A-III の 3 通りの方法を増やし、検討した。終了後、各グループ中 5 個体の根 (4 個体が直径 1.5~2.0 cm、1 個体が直径 2.0~2.7 cm) についてそれぞれ 8 成分の含量を測定した。

### 2. 定量分析

#### 1) 標準品、試薬

標準品：Paeoniflorin (Wako Pure Chem. Inc.)、Albiflorin (Wako Pure Chem. Inc.)、1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- $\beta$ -D-glucose (PGG) (Toronto Research Chem. Inc.)、(+)-Catechin (Cayman Chem. Inc.)、Paeonol (Wako Pure Chem. Inc.)、Gallic acid (Nacalai Tesque Inc.)、Methyl gallate (ChromaDex.)、Benzoic acid (Nacalai Tesque Inc.) を用いた。

試薬：HPLC用移動相は、LC/MSグレードのアセトニトリル及び超純水 (Wako Pure Chem. Inc.)、LCグレードのリン酸 (Wako Pure Chem. Inc.) を用いた。

#### 2) 測定条件

装置：Jasco HPLC システム (Pump: PU-1580, Gradient unit: LC1580-02 ternary gradient unit, Auto sampler: AS-2057 Plus, Detector: MD-1510 Multiwavelength Detector) ; カラム：YMC-Pack ODS-AQ, 250×4.6 mm, i. d., s-5  $\mu$ m ; 移動相：A : アセトニトリル、B : 0.1%リン酸水溶液。

HPLC 条件：0-5 min, 10-15% A、5-40 min, 15-30% A、40-45 min, 30-70% A、45-46 min, 70-80% A、46-50 min, 80% A; for wash、50-55

min, 80-10% A、55-65 min, 10% A; for initial stabilization. 注入量: 20  $\mu$ L; 流速: 1 ml/min; カラム温度: 27°C; 検出波長: 232 nm.

データ処理プログラム: ChromNAV.

### 3) 検量線の作成

8 化合物の標準品 [Paeoniflorin、Albiflorin、1, 2, 3, 4, 6-penta-*O*-galloyl- $\beta$ -D-glucose (PGG)、(+)-Catechin、Paeonol、Gallic acid、Methyl gallate、Benzoic acid] を各々正確に量り取り、分析用メタノールに溶解して 1.0 mg/ml の標準溶液を調製した。この溶液を 5、10、50、100、500 倍と段階的に希釈して調製した 1.0 mg/ml、0.2 mg/ml、0.1 mg/ml、0.02 mg/ml、0.01 mg/ml、0.002 mg/ml の溶液を HPLC で分析し、得られたピーク面積から検量線を作成した。

### 4) 試料溶液の調製

乾燥した根を粉砕し、300  $\mu$ m の篩を通した。得られた粉末 300 mg を正確に量り取り、遠心チューブに入れ、75% エタノール 9 ml を加えて、30 分間超音波抽出を行った。遠心分離した (10 min、4000 rpm) 後、上澄み液を分取した。以上の抽出操作をさらに 2 回 (8 ml、8 ml) 繰り返した後、全上澄み液を合せて 25 mL にメスアップした。そのうち約 2 ml を DISMIC-13HP disposable syringe filter 0.2  $\mu$ m (東洋濾紙) でろ過して HPLC 用バイアルに入れ、分析用の試料とした。これらについて、前述した HPLC 条件で 8 成分の定量を行った。

## 3. 根の横断面の色の評価

乾燥した根をノコギリなどで切断し、その断面の色合いを、日本電色工業 (株) 携帯型分光色差計 NF-333 を用いて測定した。色の表示方法については日本工業規格 (JISZ8729) が規定する  $L^*a^*b^*$  の表色系を用いた。林ら<sup>1)</sup>は、シャクヤクの根の横断面の変色程度を評価するには、分光色差計を用いた  $L^*$  値 (明度) による評価が妥当であると提唱しており、

本研究はそれに従った。なお、 $L^*$  値は、見た目の変色程度が小さいほど数値が高い傾向にあり、 $a^*$  値 (彩度)、 $b^*$  値 (色相) については、変色程度が小さいほど絶対値が小さい。各グループにおいて、成分分析に用いた 5 個体をそれぞれ測定し、それらの平均値を算出した。

## C. 研究結果

乾燥した根について、各グループ 5 個体ずつ 8 成分の定量分析を行った。個体ごとの成分含量 (図 3) を比較すると、個体間である程度のばらつきがあったものの、太さを揃えたことにより、そのばらつきが補正されており、同じ調製法で乾燥・加工した同一グループの 5 個体においては、成分含量が同じ傾向を示した。同一グループの 5 個体の成分含量の平均値を求め、標準偏差とともに図 4 に示した。約 1 ヶ月間の低温貯蔵を経た D-I、II、III 及び E-I、II、III の 6 グループでは、低温貯蔵をしていない各グループに比べて、Paeoniflorin 含量が安定しており、高い値を示した。一方、低温貯蔵をしていない A-I ~ C-III の 9 グループの内、A-II、B-II、C-II 及び C-I の 4 グループでは、Benzoic acid 含量が著しく高く、それとは対照的に Paeoniflorin 含量が低くなっていた。特に、B-II 及び C-II の 2 グループでは、Paeoniflorin 含量が日局規定の 2.0% を下回った。また、湯通しした A-III ~ E-III の 5 グループでは、それら以外の各グループに比べて、PGG、Gallic acid 及び Methyl gallate の含量が顕著に増加していた。

加工・乾燥法の違いによる成分含量の変化を明確に見るため、加工・乾燥法 A-I を行った時の平均含量を 1 とし、それぞれの加工・乾燥法を行った時の各成分の平均含量をそれらと比較した。図 5 に示したように、A-II、B-II、C-II 及び C-I の 4 グループでは、Benzoic acid の含量が 5 倍から 18 倍まで著しく高くなっていた。湯通しした A-III ~ E-III の 5 グループでは、PGG、Gallic acid 及び Methyl gallate の 3 成分の

含量が顕著に増加していた。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。

低温貯蔵を行った場合、室内での自然乾燥か、乾燥機による30℃での熱風乾燥かの違いは現れなかったが、低温貯蔵を行わず、かつ湯通しを行わなかった場合、熱風乾燥によりPaeoniflorin含量の低下とBenzoic acid含量の増加をもたらした。特に周皮を除いたもので顕著であった (C-II)。

乾燥した根の横断面の色について、分光色差計によりL\*、a\*及びb\*値を測定した。図6に示したように、約1ヶ月間の低温貯蔵を経た D-I、II 及び E-I、II の4グループは、最も高いL\*値 (79.8~90.0) を示した。一方、低温貯蔵をしていない各グループでは、程度の異なる変色が認められた。特に、皮去り加工をした A-II、B-II、C-II 及び乾燥機で熱風乾燥した C-I の4グループは、顕著な変色が認められ、L\*値が50.7~86.6と低く、変動幅も大きかった。また、湯通し加工した A-III~E-III の5グループは、貯蔵法や乾燥方法の違いにも関わらず、安定したL\*値 (62.8~74.9) を示した。これらでは、湯通し加工により、シャクヤクに含まれる澱粉が糊化され、内部が淡黄色になったため、b\*値が比較的高い傾向にあった。

#### D. 考察

富山県では薬用品種の「梵天」が広く栽培されているが、富山県の気候風土がシャクヤクの根の調製に向かないため、掘り起こされた根はすべて新鮮な状態で奈良県に出荷される。富山県で栽培可能な品種から、薬用の赤芍または白芍として新たなブランド生薬を作り出していくためには、収穫した新鮮な根を富山県で加工・調製する最適な方法を見出すことが不可欠である。

今年度は昨年度の結果を踏まえ、太さの揃った根を用い、さらに個体数を増やすことにより、個体間の成分含量のばらつきが補正され、加工・乾燥法の違いによる成分含量の変化が明確に現れるようになった。

林ら<sup>1)</sup>は、乾燥を防いで20℃以下で22日間以上根を貯蔵してから周皮を除去し、その後速やかに乾燥すれば内部が白く仕上がり、またPaeoniflorinやGallotanninの向上にも繋がることを報告している。本研究でも加工・乾燥法DとEの各グループにおいて、収穫した根をビニール袋に入れ、低温室 (4℃) で約1ヶ月間貯蔵した後に、BとCの各グループと同様な方法で加工・乾燥した。低温貯蔵していないA~Cの各グループに比べて、低温貯蔵したDとEの各グループでは、Paeoniflorin含量が非常に安定しており、結果として顕著ではないものの、高含量を示した。

さらに、湯通し加工を行うことにより、特にPGG含量が増加した。その後の乾燥の便を図るため、今回は湯通しした後、周皮を除いて乾燥したが、低温貯蔵を行っていればPaeoniflorin含量に影響は無かった。また、根を低温貯蔵し、湯通し加工を行い、周皮を除いて乾燥した場合、乾燥機による30℃での熱風乾燥でも自然乾燥とほぼ同様の成分含量が得られた。ただし、周皮を去ることにより、Albiflorin含量と(+)-Catechin含量が減少していたことから、今後、低温貯蔵し、湯通し加工をした根をそのまま熱風乾燥した場合の成分含量を検討する必要がある。

根の色調については、低温貯蔵し、湯通ししていないグループの D-I、II と E-I、II が変色も少なく、最も白く仕上がった。湯通しをした D-III と E-III は低温貯蔵していない湯通し品と同様に断面が淡黄色になった。この時のL\*値は日本市場の芍薬と同等であり、外見上問題にはならないと考える。一方、低温貯蔵も湯通しもししておらず、根の周皮を除いて乾燥した A-II、B-II、C-II 及び周皮をつけたまま熱風乾燥した C-I では顕著な変色を示しており、それらはPaeoniflorin含量の低下とBenzoic acid含量の増加に連動していた。外見から品質を類推するための指標となり得ると考える。

新鮮なシャクヤクの根にはポリフェノールオキシダーゼが存在し、根を傷つけることにより酵素が働き、褐変することが知られている<sup>1)</sup>。低温貯蔵及び湯通し処理はこの酵素

の失活と関連があるものと思われる。

#### E. 結論

栽培4年目の薬用品種「梵天」の根（直径1.5~2.0 cm）を用いて、加工調製法の違いによる成分含量の変化を検討した。太さの揃った根を8個体ずつ均等にグループ分けしてから、15通りの加工・乾燥法を行い、各グループ内5個体について8成分の含量を測定し、比較した。その結果、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、乾燥機（30℃）で乾燥する方法（E-III）が最もよい成分含量を示した。新鮮な根を低温貯蔵することにより、Paeoniflorin含量が安定し、結果として高含量に繋がった。また、湯通し加工により、PGG、Gallic acid及びMethyl gallateの含量が顕著に増加することが明らかになった。

以上のように、品質の良い芍薬を生産する加工調製法が設定できた。この方法は、湿度が高く、シャクヤクの根の乾燥には不向きとされる富山県においても実行できる。優良品種の確定、栽培普及、収穫時の機械化とともに、今回設定した方法で芍薬を製品化することにより、付加価値を有する富山県産ブランド芍薬の生産が実現できることが期待される。

#### F. 参考文献

1) 林茂樹、姉帯正樹、佐藤正幸、柴田敏郎：北海道北部地域におけるシャクヤク収穫後の調製方法が生薬の品質に及ぼす影響、生薬学雑誌、64(2)、68-75（2010）。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Zhu, S., Yu, X. L., Wu, Y. Q., Shiraishi, F., Kawahara, N., Komatsu, K.: Genetic and chemical characterization of white and red peony root derived from *Paeonia lactiflora*, J. Nat. Med., 69(1), 35-45 (2015).

##### 2. 学会発表

1) Zhu, S., Shirakawa, A., Shi, Y. H., Yu, X. L., Tamura, T., Yoshimatsu, K., Komatsu, K.: Comparing the contents of main components in the roots of Bonten, a medicinal cultivar of *Paeonia lactiflora* after different post-harvest processing. The 8th JSP-CCTCNM-KSP Joint Symposium on Pharmacognosy (2014, 9.13, Fukuoka, Japan).

2) Zhu, S., Yu, X. L., Komatsu, K.: Genetic and chemical characterization of white and red peony root derived from *Paeonia lactiflora*. The 28th International Symposium on the Chemistry of Natural Products and the 8th International Conference on Biodiversity (ISCNP28 & ICOB8) (2014, 10.19-24, Shanghai, China).

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし



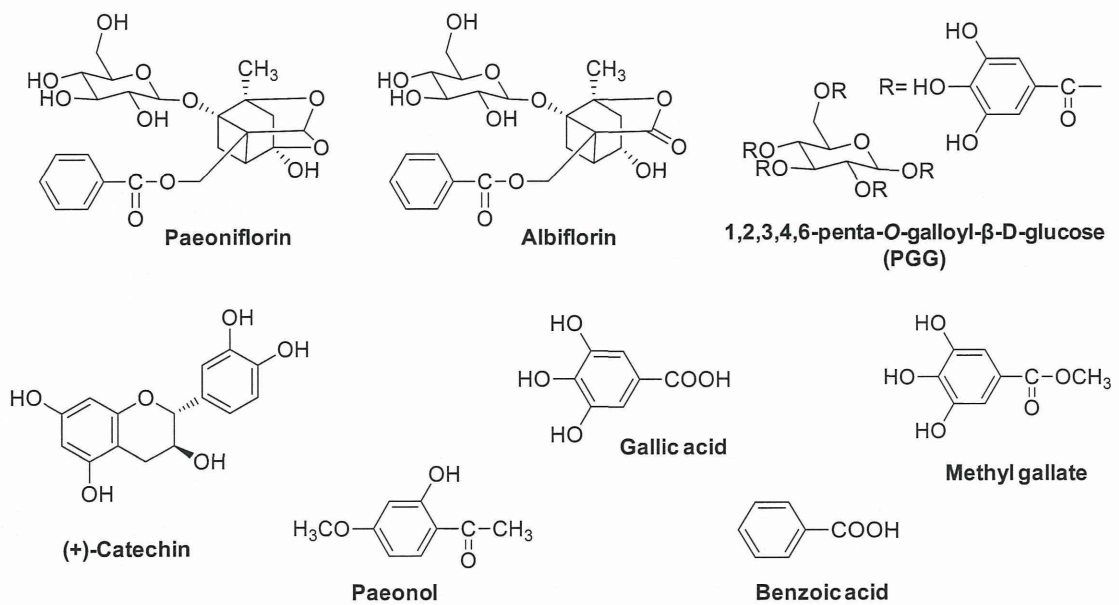


図1 定量分析に用いた成分の構造式

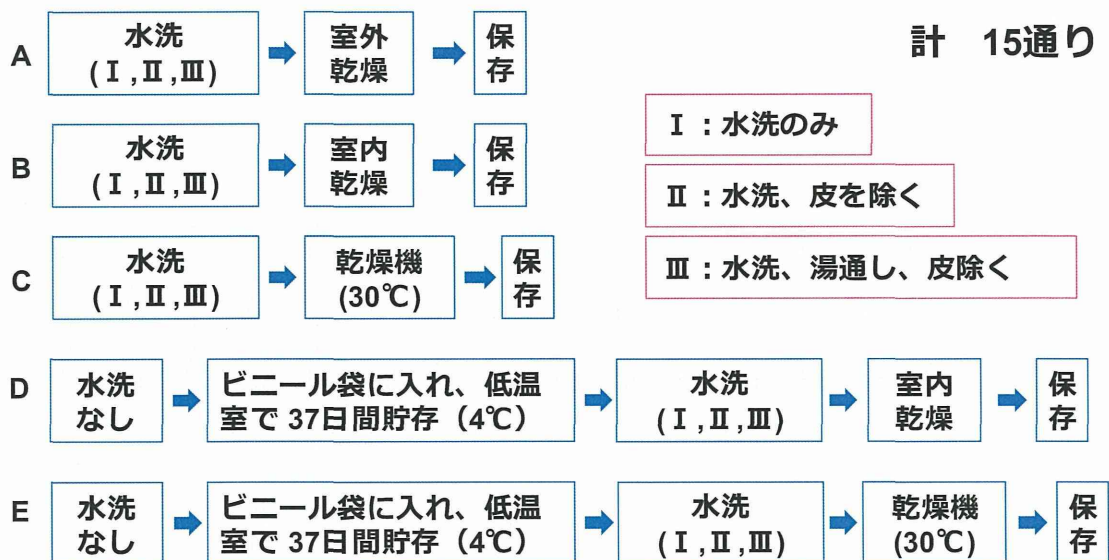


図2 収穫した新鮮な根について行った加工・乾燥法

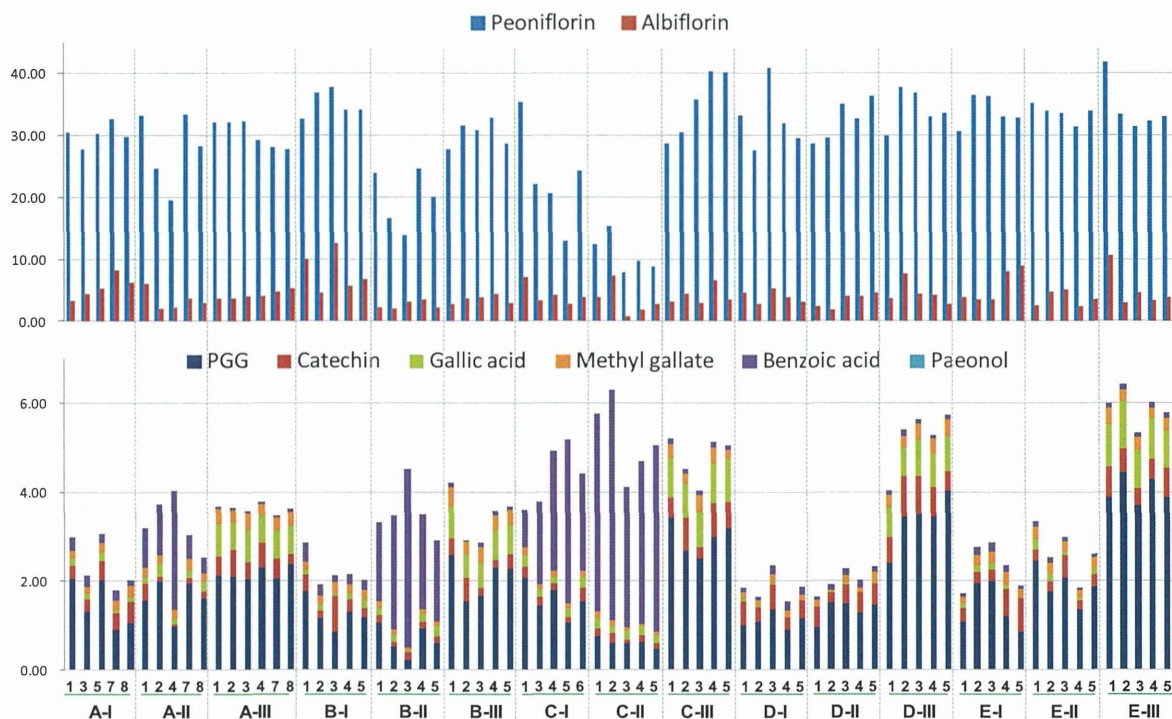


図3 15通りの加工・乾燥法で処理した根（個体ごと）の成分含量  
 I：水洗のみ、II：水洗後、周皮を竹べらで除く、III：水洗後、湯通しし、周皮を竹べらで除く  
 A：室外で自然乾燥、B：室内で自然乾燥、C：乾燥機による乾燥、D：低温貯蔵後、室内で自然乾燥、  
 E：低温貯蔵後、乾燥機で乾燥

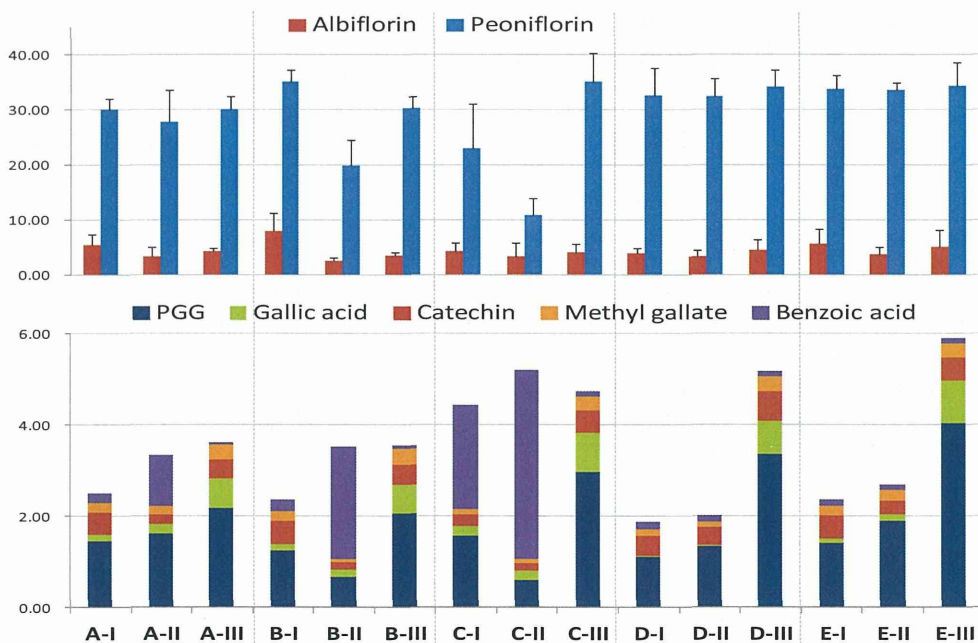


図4 15通りの加工・乾燥法で処理した根の成分含量（平均値）  
 I：水洗のみ、II：水洗後、周皮を竹べらで除く、III：水洗後、湯通しし、周皮を竹べらで除く  
 A：室外で自然乾燥、B：室内で自然乾燥、C：乾燥機による乾燥、D：低温貯蔵後、室内で自然乾燥、  
 E：低温貯蔵後、乾燥機で乾燥

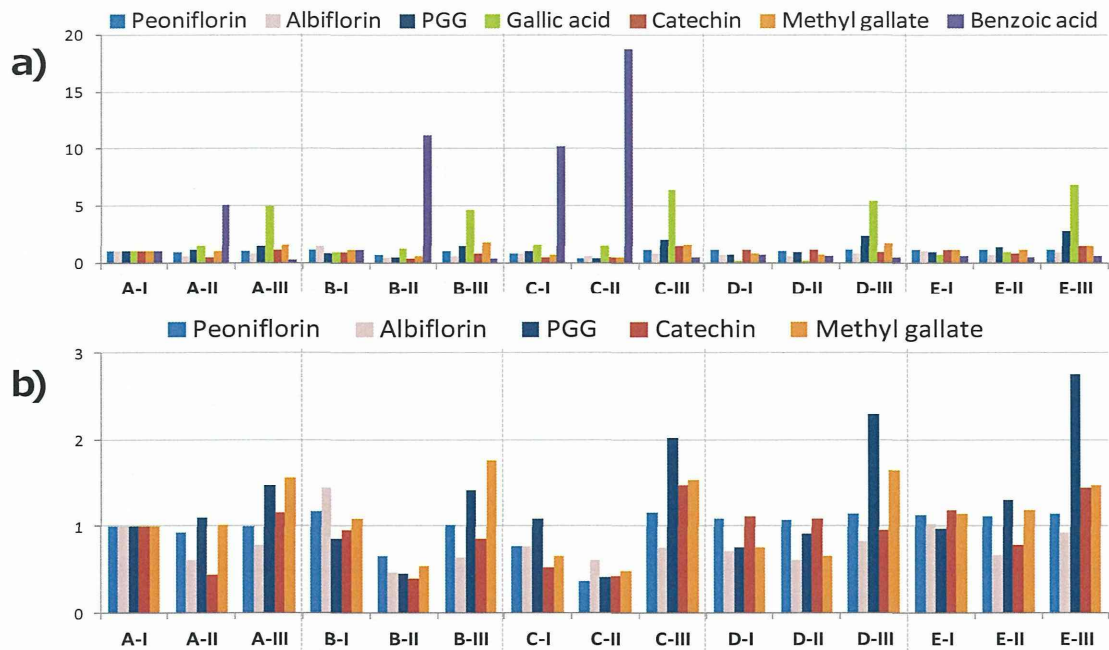


図5 異なる加工・乾燥法による根の成分含量の変化

a) 7成分の比較; b) Bezoic acid, gallic acid 以外の5成分の比較

A-Iの調製法を行った時の成分含量を1として、他の調製法で行った時の成分含量を換算した。

I: 水洗のみ、II: 水洗後、周皮を竹べらで除く、III: 水洗後、湯通しし、周皮を竹べらで除く

A: 室外で自然乾燥、B: 室内で自然乾燥、C: 乾燥機による乾燥、D: 低温貯蔵後、室内で自然乾燥、

E: 低温貯蔵後、乾燥機で乾燥

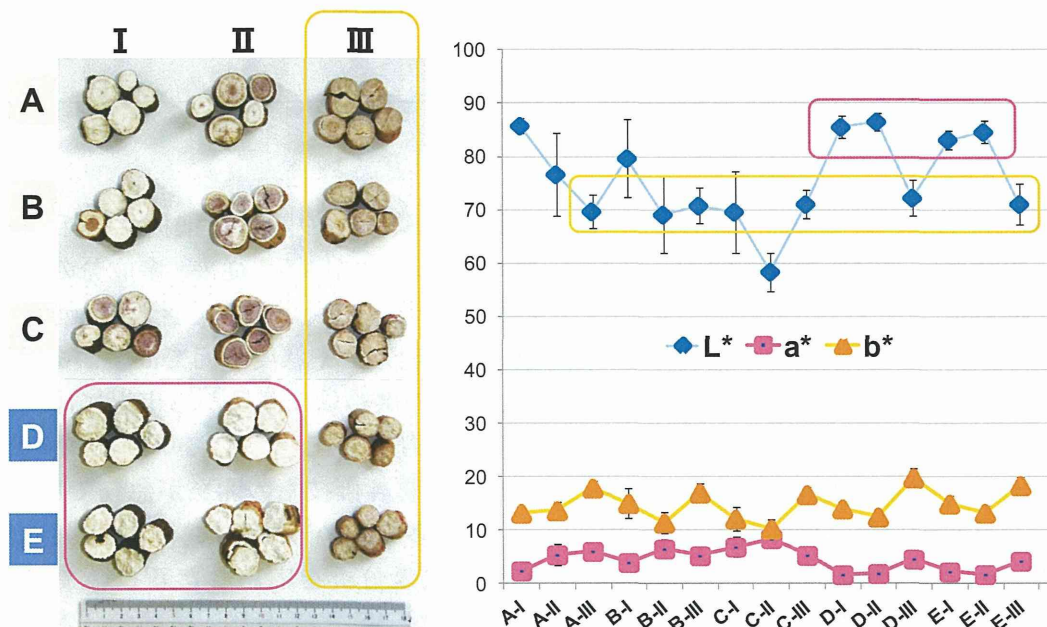


図6 15通りの加工・乾燥法で処理した根の横断面色の比較

I: 水洗のみ、II: 水洗後、周皮を竹べらで除く、III: 水洗後、湯通しし、周皮を竹べらで除く

A: 室外で自然乾燥、B: 室内で自然乾燥、C: 乾燥機による乾燥、D: 低温貯蔵後、室内で自然乾燥、

E: 低温貯蔵後、乾燥機で乾燥

平成26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

—イメージングMSを用いたダイオウ及びシャクヤクの主要成分の局在解析—

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 イメージング質量分析（MS）は二次元的に MS を行うことにより、生薬及び薬用植物に含まれる薬効成分の組織内分布を視覚的に明らかにできる。今年度は、ダイオウの根茎及び根におけるセンノシド類と、シャクヤクの根におけるアルビフロリン、ペオノール、カテキン及びペンタガロイルグルコースの組織内分布を検討した。ダイオウの根茎におけるセンノシド類のイメージング MS データを2値化し、強度比を算出、液体クロマトグラフィーによる定量結果と比較したところ、維管束部位と髄（異常維管束部位）では両測定法ともに髄の方が約2倍多く存在しているという結果であった。センノシド類は根茎では異常維管束部位に局在し、根では皮層付近に存在した。シャクヤクについては、4化合物に最適な質量シグナルを決定し、品種の「梵天」と「エジュリスパーバ」についてイメージング MS を行った結果、アルビフロリン、ペオノール及びカテキンはシャクヤクの根の皮層周辺に豊富に存在し、ペンタガロイルグルコースは全体に分布するが、特に木部に多いことが明らかになった。

#### 研究協力者

平 修 福井県立大学生物資源学部  
准教授

#### A. 研究目的

二次元的に質量分析（MS）を行うことにより種々の化合物の分布状態を明らかにできるイメージング質量分析（MS）（図1）を用いて、多成分からなる生薬における各成分の分布を明らかにし、生薬の品質を視覚的に評価する。

漢方薬は天然物由来の生薬から構成されるため、生薬の品質が漢方薬の薬効を左右することになる。そのため、漢方薬の品質保証には、広範囲な成分の複合体の網羅的解析と、

それらと薬効との関係を把握する手法の開発が求められている。従来、多成分の分析にはLC/MSなどが用いられてきたが、サンプル量、前処理方法や感度の面で問題がある。また、生薬の供給量の不足から市場には低品質のものや偽品も出回っており、生薬の簡便、迅速な品質評価技術の開発が急務である。

今回、多成分からなる試料を感度良く分析できる質量分析を応用した新技術であるイメージング MS 法により、生薬の「大黄」と「芍薬」の原料であるダイオウ（*Rheum palmatum* L.）の根茎及び根とシャクヤク（*Paeonia lactiflora* Pallas）の根における主要成分の組織内分布を明らかにすることを目的とする。大黄では、瀉下効果の主要