

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860077

研究課題名(和文) 日本産当帰の生産拡大を指向した新規品質評価法の確立

研究課題名(英文) Novel methods for the quality evaluation of Angelicae Radix aimed to expansion of Japanese production

研究代表者

佐々木 陽平 (Sasaki, Yohei)

金沢大学・薬学系・准教授

研究者番号：10366833

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：日本産当帰は一般に、ハサ掛け、湯もみという複数の工程を経て作製されるが、これらの条件は当帰の品質を変化させる要因でもある。しかし従来の品質評価法では加工条件の違いによる変化を評価することが難しかった。本研究では新たに根の径の違いによる部位別の検討を行い、品質の差を評価できるか調べることを目的とした。

各種試験の結果、希エタノールエキス含量は径が太い部分に多く湯もみにより増加することを明らかにした。また逆にリグスチリドは径が太い部分に少なく、70度の湯もみにより減少した。メタボローム解析の結果、根の最も太い部分が温度による成分変化が大きいことを示した。以上、当帰を部位別に評価する方法を確立した。

研究成果の概要(英文)：Angelicae Radix is produced via traditional processes like drying in outside and steeping in hot water after cultivation in some area in Japan. As those processes are thought to be the cause of quality differences, it is necessary to establish the method to make an analysis the Angelicae Radix. Here, I divided Angelicae Radix into five parts; root head, insides of main root, outside of main root, lateral-root and terminal lateral-root. I analyzed the contents of ethanol-extracts, the contents of Ligustilide, and the constituents and contents of sugars; glucose, fructose, sucrose. Using the Angelicae Radix produced by three kinds of condition; no steeping in hot water, steeping in 45 and 70 degree.

As a result, ethanol extract contents are superior in main root to other parts and increasing by warming at 45 or 70 degree. Ligustilide contents were revealed to be rich in head part of main roots. In this study we newly established the technique to check a quality by the different process.

研究分野：薬用植物学

キーワード：当帰 品質評価 メタボローム解析

1. 研究開始当初の背景

(1) 国産生薬の自給率が低い

現在、日本の漢方医療を支える原料生薬は、そのほとんどを中国からの輸入に依存している。平成 22 年度の日本の生薬自給率はわずか 12% である¹⁾。国産生薬の品質は安全面・有効面でも高い信頼があり、漢方医療従事者および生薬取扱企業でも国産の比率をあげるべく取り組みがなされている。漢方医療の継続・発展を考慮した場合、原料生薬の供給が中国への一極依存という現状は好ましくなく、一刻も早い改善が必須である。

一方、日本の生薬自給率が低い原因は明らかであり容易に改善しにくいのも事実である。安価な中国産生薬が流通する以上、価格面での対抗は難しいこと、医療用目的での使用は薬価の設定があることである。生薬生産農家にとって高い買い取りを提示できる余地はほとんどない。

(2) 品質が置き去りの栽培普及

国産生薬の自給率を挙げるべく、平成 25 年より国が主導する後押しが開始された。厚生労働省および農林水産省が、生薬メーカーと農家・農業組合と薬草契約栽培の後押しを進めるべく、全国でブロック会議を開催し、マッチングの場を設定し始めている。補助金制度などから薬草栽培面積は拡大するという一定の効果は期待できるものの、生薬生産に至るか否かは不透明である。

生薬と野菜の最も異なる点は収穫後の作業の有無である。野菜は収穫して出荷できるが、生薬は、原料を収穫してから生薬として製品化するまでに至る過程は非常に労力を伴うものが多い。加えて半年から 1 年を要する加工過程は、まだ技術が確立していないものが多い。薬草栽培の面積のみを拡大することは、加工できない収穫物を増やすことになりかねない。

(3) 当帰に適した品質評価法がない

当帰は、特に大和地方(奈良・和歌山)では伝統的なハサ掛け(自然乾燥)や湯もみ(成形)などの製法が受け継がれている。これは大和地方の気候、環境に合わせた栽培・加工技術およびスケジュールであり、他の地域では技術検証のもと、独自の加工条件を確立しなければならない。しかし前述のとおり栽培面積の拡大が先行された結果、各地で未検証の加工技術が乱立している現状にある。

一方、当帰の品質は第十六改正日本薬局方の生薬試験法の一つである希エタノールエキス含量試験や主成分であるリグスチリド含量の比較によりなされてきた。しかしこれらの試験結果は、ハサ掛けや湯もみの条件の違いを評価するには不十分である。

2. 研究の目的

(1) 当帰の新規品質評価法の確立

当帰の原植物であるトウキ *Angelica acutiloba* は種子から栽培されるため、栽培面積の拡大は比較的容易である。そのためトウキは薬草栽培で採用される品目の第一選択となっている。この結果、日本各地でトウキの栽培が行われているが、加工は条件が未確立なまま実施されている。現在、漢方医療の現場ではこのような様々な品質の当帰を区別なく使用している状況にある。

筆者は、まず、当帰の品質に最も大きな影響を与えるであろう、湯もみの条件に着目し、温水の温度による変化を評価する方法を見いだすことを目的とした。このような方法が確立されれば、使用者側は湯もみ条件の違いにより生産された生薬の品質を知ることができ、生産者側は適切な温度条件の設定が可能になる。なお本研究において採用した湯もみ条件は 45 度、5 分および 70 度、50 分である^{2,3)}。

(2) 根の径による、部位別の評価

当帰は、地上部に近い根頭部のように径が太い部分から、末端の細い部分まで、様々な径の根から構成される生薬である。湯もみにおける加温条件下、根の太い部分と細い部分では温度の伝導度が異なり、それに伴う成分変化も異なることが予想される。すなわち、2 種類の加温温度の場合、同一部位におけるそれぞれの成分含有組成を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

生薬検体は金沢大学医薬保健学類薬学類・創薬科学類附属薬用植物園において栽培され、加工された当帰を使用した。これは平成 25 年 11 月に収穫した後、約 3 ヶ月のハサ掛け(自然乾燥)後、平成 26 年 2 月に湯もみ、同年春に完成した生薬である。湯もみの条件はコントロール群(無処置)、45 度(5 分)群、70 度(50 分)群で実施した。

トウキは根頭部(a)、主根部内側(b)、主根頭部外側(c)、側根部(0.5~1.0 mm 以上;d)および側根部(0.5~1.0 mm 以下;e)の 5 部位に切り分けた。

(1) 希エタノールエキス

第十六改正日本薬局方生薬試験法の希エタノールエキス定量試験に従った⁴⁾。

(2) リグスチリドの定量

各検体からメタノール抽出物を調製し、HPLC 法によりリグスチリドの定量を実施した。HPLC の分析条件は次のとおりである; カラム YMC-Pack ODS-AQ (φ4.6 x 320 mm)、移動相;メタノール - 1%酢酸(7:3)、検出波長 320 nm、カラム温度: 40 度。

(3) 糖含量

各検体から調製した水抽出物について F-kit

(J.K.インターナショナル)を使用し、プロトコルに従って操作を行った。反応液の吸光度を測定し、グルコース、フルクトース、スクロースを算出した。

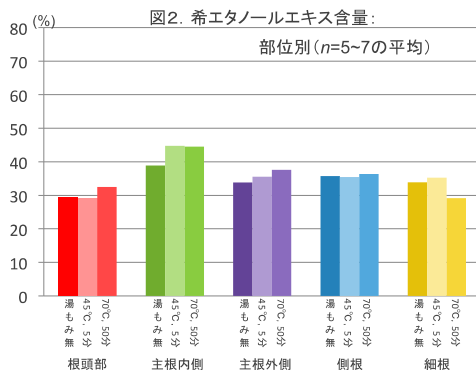
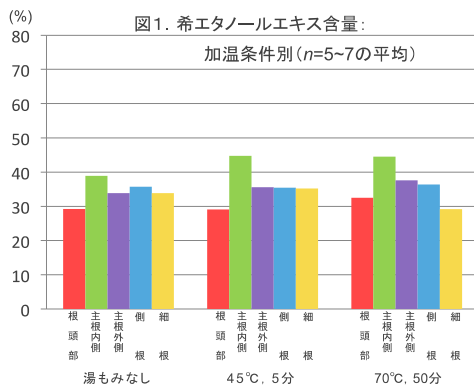
(4) メタボローム解析

全5部位のうち、側根部(0.5~1.0 mm以下; e)を除く4部位についてメタボローム解析を行った(Human Metabolome Technologies)。装置はAgilent CE-TOFMS system, Fused silica capillary i.d. 50 μm x 80 cm。

4. 研究成果

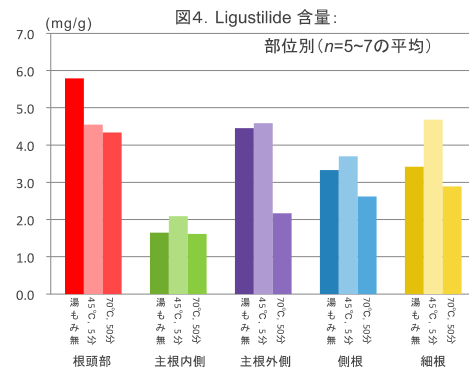
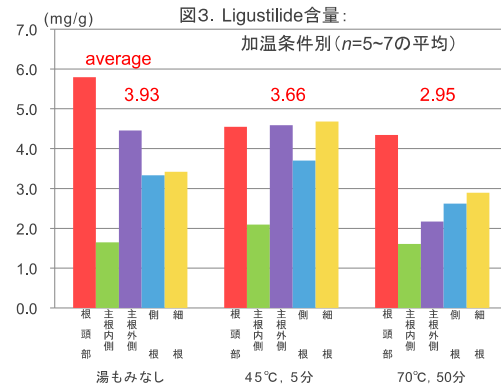
(1) 希エタノールエキス

根頭部、主根部内側、主根頭部外側、側根部(0.5~1.0 mm以上)および側根部(0.5~1.0 mm以下)の5部位について測定した結果、主根内部が最も希エタノールエキスが高かった(図1)。また、湯もみ温度で比較すると、主根内部では温度が高い方が希エタノールエキス含量が増加した(図2)。エキス含量が増加するという傾向は主根外側でも観察された。一方、側根(0.5~1.0 mm以下)では逆に温度上昇とともに減少した。このことは、湯もみ段階で希エタノールエキス含量が増加する反応が進行していることを示している。70度による加温の場合、根頭部、主根内部は根が太く温度伝達に時間を要し、このことが反応時間を長くしていることが示唆された。同じく、70度の場合には末端の細い根は即座に温度変化が起こり、エキスがお湯に流出してしまうことが考えられた。



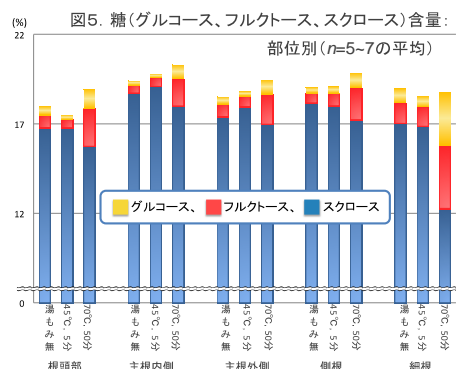
(2) リグスリチドの定量

同じく5部位について測定した結果、主根内部が約 1.8 mg/g と最も低い結果となった。一方、根頭部には最も多く含まれていた(図3)。温度別に比較すると、興味深いことに根頭部以外は45度の湯もみ条件でリグスチリド含量の極大値を認めた。これは加温によりリグスチリド含量は増加するが、70度では流出してしまうことが示唆された。



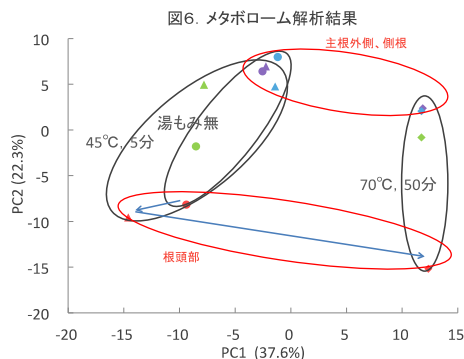
(3) 糖含量

グルコース、フルクトース、スクロースを分析した結果、総量自体に大きな変化は認めなかった。一方で、70度加温群ではいずれの部位でもグルコースおよびフルクトースの含量が増加し、スクロースの含量が減少している。これは加温の影響でスクロースの加水分解反応が進行したと考えられる。しかしスクロースよりもフルクトースの方が甘いことを考慮すると、70度の加温工程を経た当帰の方が甘味が強いことになるが、これは事実と一致する。



(4) メタボローム解析

解析結果より PC1 と PC2 を抽出し、散布図を作成した。その結果、45 度群と 70 度群は左右に大きく分かれた。このことは両群の含有成分が大きく異なることを意味している。さらに根頭部について、コントロールと比較して、45 度群は横軸で観察するとマイナス方向側に移動しているが、70 度群では大きく左側に移動している。このことは 45 度群は、コントロール群と 70 度群の中間点に位置するのではなく、全く別の反応が進行していることが明らかになった。



当帰の湯もみ温度について 45 度と 70 度では生産される生薬の品質が大きく異なることを明らかにした。この品質の差は、根の径による部位別に試験を行うことで評価できる。また、根の太さにより湯もみ温度を変える必要があるなど条件設定についても有益な情報を提供できる。

以上、これまで湯もみの温度条件による違いを評価する方法がなかったが、部位別に切り分けることで明確な違いを見いだすことに成功した。この新規評価法は、生薬の使用者に品質情報を提供するばかりではなく、生産者側にも加工条件設定のための情報を提供するための評価手段にできる。

引用文献

- (1) 日本漢方生薬製剤協会生薬委員会編、原料生薬使用量等調査報告書(2) ; <http://www.nikkankyo.org/aboutus/investigation/investigation03.html>
- (2) 富山県薬用植物栽培指導センター、薬用植物の栽培方法・トウキ、<http://www.toyama-yakuji.com/center/files/method002.pdf>
- (3) 福田浩三ら、薬史学雑誌、44、10-17 (2009)。
- (4) 日本薬局方解説書編集委員会編、『第十六改正日本薬局方解説書』、廣川書店、東京、2011、B-525。

5 . 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 2 件)

上野睦美、三宅克典、佐々木陽平；当帰の品質評価に関する研究。日本生薬学会第 61 回年会(福岡) 2014 年 9 月 13-14 日。

佐々木陽平、三宅克典、御影雅幸；当帰原植物の栽培特性に関する研究。日本薬学会第 134 年会(熊本) 2014 年 3 月 28-30 日。

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 陽平 (SASAKI Yohei)
金沢大学薬学系・准教授
研究者番号：10366833

(2) 研究協力者

金沢大学大学院医薬保健学総合研究科
上野 睦美 (UENO Mutsumi)