

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24406005

研究課題名(和文) 薬用資源植物の多様性を利用した伝統薬の持続的利用プログラムの構築

研究課題名(英文) Construction of a program for sustainable use of traditional medicines, based on integrated study of genetic, chemical and pharmacological diversity of medicinal plants

研究代表者

小松 かつ子 (KOMATSU, Katsuko)

富山大学・和漢医薬学総合研究所・教授

研究者番号：50225570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 7,000,000円

研究成果の概要(和文)：生薬の持続的利用プログラムを作成する目的で、7生薬の資源調査を行い、収集品について遺伝的・成分的・薬理的な多様性を解析し、生薬を標準化するための指標を定めた。これに基づき関連植物又は栽培品種の有用性を評価、選抜し、栽培を進めた。赤芍に抗アレルギー作用を見出し、活性成分を同定すると同時に、赤芍と同様の成分組成でかつ同作用を示す品種を選抜した。大黃では日本で栽培可能な優良系統を選抜した。刺五加では養液栽培で得た葉の温湯浸漬エキスに神経突起再伸長作用を見出した。竜胆と秦艽では同定に必要なITS配列と特徴的な成分組成を見出し、同時に抗炎症作用成分を同定した。これにより代替植物の開発に指標を与えた。

研究成果の概要(英文)：To develop an active plan for sustainable use of herbal drug resources, field investigation on botanical sources and genetic, chemical and pharmacological analyses were performed to establish indices for standardization of 7 herbal drugs. Subsequently plants with superior or characteristic properties were selected upon integrated survey and analyses on medicinal resources related to each drug including horticultural cultivars, and their cultivation was initiated. Two cultivars were selected as candidate source for red peony root based on genetic, chemical and pharmacological characteristics. A superior strain of rhubarb with multi-components was selected. The hot water extract of leaves of hydroponic cultured siberian ginseng showed neurite outgrowth activity. In the study on 2 kinds of Gentiana drugs, genetic and chemical markers for identification besides compounds with anti-inflammatory activity were determined, which gave the information to select alternative source of these drugs.

研究分野：生薬学、薬用植物学、天然物化学

キーワード：薬用植物 品質評価 芍薬 刺五加 Gentiana属生薬 痴呆 アレルギー疾患 国際協力

1. 研究開始当初の背景

(1) 地球規模で起こる気候変動や人為的な自然環境破壊は天然資源の減少をもたらす。天然由来薬物に依存している伝統医学は将来の存続が危ぶまれる。これに対処するため、これまで「サステナブル伝統薬」を志向して、アジア各国で資源調査を行い、収集した植物または生薬の遺伝的・成分的多様性を明らかにして、代替資源を見出してきた。一方、生薬を永続的に利用する究極的な方法は薬用植物の栽培化であることから、その推進を図る目的で芍薬及び大黃について優良種または特徴のある種を見出すための基礎検討を行ってきた。芍薬では *Paeonia lactiflora* を基原とする白芍と赤芍を区別できる ITS 配列を見出し、且つ両者の成分的特徴を明らかにして指標を明確にした後、園芸用シャクヤク約 90 品種についても同様な検討を行い、白芍と赤芍それぞれの代替となり得る園芸品種を選択した。大黃では *Rheum* 属植物及び市場品の葉緑体 *matK* 遺伝子の解析と 30 成分の定量分析により、遺伝子多型から生薬の基原の鑑別のみならず産地まで推定できることを明らかにするとともに、遺伝系統の成分特性から大黃の用途別選択に示唆を与えた。また、大黃の優良系統を特定した。さらに刺五加においても、葉緑体 *trnK* 配列による基原の同定法を開発するとともに、*eleutherosides B, E* の定量結果から、黒竜江省北西部に産する *Eleutherococcus senticosus* の根茎が高品質であり、茎にも 2 成分が含有されることを明らかにした。生物多様性条約発効下では多種類の生薬について栽培化を目指す必要があり、日本の限定した地域に野生している薬用植物の栽培化または既に園芸用に栽培されている植物の薬用への転換についても検討する必要があると考えた。

(2) 我が国では認知症やアレルギー疾患を改善する薬が求められている。研究分担者の東田との共同研究により、紅参と野三七、*protopanaxadiol* 系サポニンとその代謝物 M1 に軸索伸展、シナプス再形成、及び記憶障害改善作用を見出し、また刺五加と *eleutheroside B* に神経突起萎縮抑制作用、及び物体認知障害改善作用を見出した。一方、研究分担者の門脇は、芍薬及び *pentagalloyl-glucose* (PGG) に培養粘膜型マスト細胞系で抗原刺激脱顆粒反応抑制作用を見出した。

2. 研究の目的

伝統薬(生薬)の永続的利用プログラムのプロトタイプを作成する目的で、これまでに構築した生薬研究者の国際ネットワークを利用しながら、薬用植物の野生資源及び栽培状況の調査を行い、調査収集品並びに代替資源となり得る日本の園芸植物について、遺伝子型、成分、薬理作用に関する多様性解析研究を行う。この結果に基づき、生薬の効率的な使用法の提出、優良種または特有品質の植物種の特特定と、それらの栽培化を實踐し、栽培

植物の品質の持続性について検討する。対象生薬とそれに関する研究目的は次のとおり。

(1) 芍薬

① 赤芍の産地で野生資源の調査を行い、収集品の ITS 領域の遺伝子型と成分を明らかにしてこれまでの結果を検証し、優良系統の栽培への転換を図る。赤芍及び白芍の代替品として選択した園芸品種などについて栽培地の違いによる成分含量の変動を調べ、環境が与える影響を調べる。

② 抗原刺激脱顆粒抑制作用を指標とした抗アレルギー作用を芍薬及び園芸品種で調べ、薬理学的特徴を見出す。また、PGG 含量との関連性を明らかにする。

(2) 大黃

日本国内の *Rheum* 属栽培品について、成分の系統間差異を明らかにして、栽培を拡大すべき系統を選抜する。植物種・系統における抗アレルギー作用の多様性を明らかにする。ヨーロッパの植物園に系統保存されている植物の *matK* 遺伝子型を検討し、中国産同属植物の結果も加味して、ジェノタイプとフェノタイプの関連性を明らかにする。

(3) 刺五加

① *E. senticosus* の日本での栽培を實踐する目的で養液栽培～圃場栽培を検討し、同時に、栽培で得られた葉の含有成分から、その有用性を明らかにする。

② 葉のエキスなどについて神経突起伸展作用による評価を行い、活性成分を明らかにする。また、記憶障害改善作用をアルツハイマーモデルマウスで解明する。

(4) 竜胆・秦艽

中国東北地方、内蒙古自治区、甘肅省、四川省及び雲南省で *Gentiana* 属 13 種、日本で園芸用リンドウ、及び各地で生薬を収集して、遺伝子型、成分及び薬理学的多様性を明らかにする。この結果から、竜胆と秦艽の優良種を明らかにし、また日本の園芸品種の薬用価値を明らかにする。

(5) 野三七及び党参

① 雲南省で野三七 *Panax vietnamensis* var. *fuscidiscus* の資源調査を行うとともに栽培品を収集し、成分と神経突起伸展作用に関する野生品と栽培品の同等性を明らかにする。

② 中国で人参の代用とされる党参及び *Codonopsis* 属植物の遺伝的・成分的多様性を解析することにより、基原種の違いによる特徴を明確にするとともに、栽培品の品質確保に必要な基礎データを得る。

3. 研究の方法

(1) 学術調査

平成 24 年度は中国の黒竜江省、吉林省、内蒙古自治区及び雲南省、25 年度は甘肅省南部～四川省北部、26 年度はヨーロッパの植物

園及びフランス南部で、現地の研究協力者の同行のもと、関連する薬用植物の野生資源状況及び栽培状況を調査し、植物及び生薬を収集した。植物の採集地点は GPS により記録した。また、現地のハーバリウムで植物標本を閲覧し、植物の同定に役立てた。

(2) 栽培実験と試料の調製

- ① 芍薬：富山県薬用植物指導センターで育成した 3 品種の種苗を、長野県菅平薬草栽培試験地に定植し 3 年間栽培した。4 年生根を両栽培地で収穫し、室内で自然乾燥した。
- ② 大黄：菅平薬草栽培試験地で栽培した 5 年目の株 11 系統の根茎及び根を室内で自然乾燥し、最後に 30°C で温風乾燥した。
- ③ 刺五加：*E. senticosus* の種子に後熟促進処理及び休眠打破処理を施した後発芽させ、閉鎖環境下で養液栽培を行った。その後、屋内馴化、屋外馴化、圃場定植までを行った。閉鎖環境下及び屋外馴化の植物体から葉を採取し、自然乾燥した。

(3) 遺伝子解析

薬用植物の葉または生薬から DNeasy Plant Mini Kit を用いて全 DNA を抽出し、これを鋳型として核 rDNA の ITS 領域、または葉緑体 DNA の *matK* 遺伝子領域を PCR 法で増幅した。得られた PCR 産物を精製後、シーケンシング反応を行い、直接塩基配列を決定した。ITS 配列に多数の混合塩基が認められた秦ギョウについては、クローニングも行い、塩基配列を解析した。

(4) 活性成分の探索、成分分析

- ① 芍薬
1) 定量分析：根または生薬の粉末を 75% エタノールで抽出し、HPLC で分析した（カラム：YMC-Pack ODS-AQ、移動相：アセトニトリル/0.1% リン酸水溶液、グラジエント溶出）。8 成分（*paeoniflorin*、*PGG*、(+)-*catechin*、*paeonol*、他）の定量は絶対検量線法によった。
2) 抗アレルギー作用成分の探索：抗原刺激脱顆粒抑制作用を示した赤芍のメタノールエキスを Diaion HP 21 カラムに付し、各種濃度のメタノール水溶液で溶出して、各画分の活性を調べた。60% 及び 80% メタノール溶出画分をそれぞれ各種溶媒で分配し、カラムクロマトグラフィー及び分取 HPLC 法を行って、30 化合物を単離した。¹H 及び ¹³C NMR、MS などの機器分析により構造を決定した。
- ② 大黄
定量分析：根茎または根の粉末を 80% アセトンで抽出し、乾燥エキスを得た後、MeOH-H₂O (9:1) に溶解し、HPLC で分析した（カラム：YMC Hydrosphere C-18、移動相：アセトニトリル/0.1% リン酸水溶液、グラジエント）。18 成分〔アントラキノンとその配糖体各 5 成分、*sennosides A, B*、(+)-*catechin*、(-)-*epicatechin gallate*、*lindreyin*、*isolindleyin*、*resveratrol-4'*-

O-(6''-*O*-galloyl)-glucopyranoside、*gallic acid*] の定量は絶対検量線法によった。その他、青海省産大黄から 12 化合物を単離、同定した。

③ 刺五加

- 1) 成分分析：乾燥した葉の粉末を 50% メタノールで抽出し、乾燥エキスを得た後、50% メタノールに溶解し、LC/MS (Agilent 社製 HP1100 HPLC システムと Blucker 社製 Esquire3000 plus 質量分析計で構成) で分析した〔カラム：YMC-Pack ODS-AQ、移動相：0.1% ギ酸水溶液/アセトニトリル (0.1% ギ酸)、グラジエント〕。
- 2) 神経突起再伸長作用の評価：乾燥葉の粉末を 85°C の温湯に浸漬し、乾燥エキスを得た。これを水で溶解した後、ODS-SPE カラムに付し、水溶出画分と 99.5% メタノール溶出画分を得た。一方、乾燥葉の 50% メタノール抽出エキスを作製した。

④ 竜胆・秦ギョウ・ゲンチアナ

- 1) 竜胆の抗炎症作用成分の探索：竜胆 (*G. scabra*) の粉末をクロロホルムで抽出し、その残渣をメタノールで抽出してそれぞれエキスを得た後、RAW264 細胞系で LPS 誘導による IL-6 産生及び一酸化窒素 (NO) 産生の抑制作用を調べた。クロロホルムエキスについてカラムクロマトグラフィー及び分取 HPLC を行い、28 化合物を単離し、構造を決定した。
- 2) 秦ギョウの抗炎症作用成分の探索：秦ギョウ (*G. crassicaulis*) の粉末を竜胆と同様に処理してメタノールエキスを得た後、Diaion HP 21 カラムに付し各種濃度のメタノール水溶液で溶出して、各画分の IL-6 産生及び NO 産生の抑制作用を調べた。30% 及び 60% メタノール溶出画分についてさらに分画・分離を行い、32 化合物を単離し、構造を決定した。
- 3) *Gentiana* 属 3 生薬の成分比較：ゲンチアナ (*G. lutea*) のメタノール抽出エキスについてクロロホルム及びブタノールで分画し、両画分から 20 化合物を単離し、同定した。次に 3 生薬それぞれをメタノールで抽出し、乾燥エキスを得た後、メタノールに溶かし、HPLC で分析した〔カラム：YMC-Pack ODS-A、移動相：0.1% ギ酸水溶液/アセトニトリル (0.1% ギ酸)、グラジエント〕。17 化合物 (*gentiopicoside*、*loganin acid*、他) の定量は絶対検量線法によった。

⑤ 党参

党参 (*C. tangshen*) の粉末をメタノールに浸漬して抽出し、乾燥エキスを得た後、Diaion HP 21 カラムに付し、各種濃度のメタノール水溶液で溶出した。20%、40%、60% 及び 80% メタノール溶出画分についてカラムクロマトグラフィー及び分取 HPLC を行い、12 化合物を単離し、各種機器分析により同定した。次に、主要な 7 成分を同時に定量できる HPLC-UV 法 (カラム：YMC-Pack Pro-C₁₈、移動相：アセトニトリル/0.1% リン酸水溶液、

グラジエント溶出、測定波長：215 nm)を開発した後、*C. pilosula*、*C. pilosula* var. *modesta*及び*C. tangshen*の根と党参市場品についてメタノールエキスを調製し、定量した。

(5) 薬理作用の検討

① 抗認知症作用

1) 神経突起再伸長作用：マウス胎児より初代培養した大脳皮質神経細胞に、アミロイドβの活性部分配列Aβ(25-35) 10 μMを処置し、軸索と樹状突起の萎縮を誘発させた。その3日後に、刺五加葉の温湯浸漬エキス及び50%メタノール抽出エキス(1, 10 μg/mL)を処置した。さらに、温湯浸漬エキスの水抽出画分と99.5%メタノール溶出画分についても同様に試験した。神経突起再伸長活性は、マーカータンパク質(軸索：リン酸化型NF-H、樹状突起：MAP2)に対する免疫染色を行い、神経細胞1個あたりが伸展する突起の平均長を定量した。同様の検討は、党参エキス及び単離した4化合物についても行った。

2) Calpain 酵素活性への影響を、人参類生薬の70%エタノールエキスについて検討した。精製calpain(5 nM)に、1, 10, 100 μg/mlに調製したエキスを添加後、Calpain Glo 試薬によるcalpain 酵素活性を発光法で検出した。

② 抗アレルギー作用

1) 粘膜型マスト細胞様RBL-2H3細胞を培養後、96ウェルプレートに植え継ぎ12時間培養した後、anti-DNP IgE(0.5 μg/mL)で24時間感作した。赤芍エキス、園芸品種の根のエキスまたは画分(0.1~2 mg/mL)、化合物(10.0-100.0 μM)をウェルに加え30分間培養した後、DNP-BSA(1.0 μg/mL)を加えて1時間アレルギー反応を惹起させた。培養上清液を取り、基質と1時間反応させ吸光度を測定して、各試料によるβ-hexosaminidase 遊離の抑制率を求めた。

2) BALB/cマウスの大腿骨の骨髓細胞から粘膜型マスト細胞を調製し、DNP 特異的抗体-DNP-BSA 抗原による脱顆粒反応に対する芍薬または園芸品種の根のエキスの脱顆粒抑制作用を評価した。

③ 抗炎症作用：マウスマクロファージ様細胞株RAW264を培養後、96ウェルプレートに植え継ぎ6時間培養した後、竜胆または秦艽のエキス(250.0 μg/mL以下)、化合物(12.5-100.0 μM)をDMSOに溶かして(終濃度0.1%以下)細胞に処置し、同時にLPS(0.1 μg/mL)を加えて、24時間培養した。培養上清液を取り、IL-6とTNF-αについてはELISAキットを用いて、NOについてはGriess試薬を用いて各試料による産生抑制率を求めた。

4. 研究成果

(1) 芍薬

① 内蒙古自治区と黒竜江省で収集した野生の*P. lactiflora*約60検体は、白芍と赤芍を区

別する指標となるITS領域の3箇所(上流から69、458、523番目)の塩基が混合塩基のY(C/T)、M(A/C)、Yであり、全検体が赤芍系であった。GenBankには2種類の純系の配列が登録されており、1種類は白芍が示すT、A、Tであり、もう1種類はC、C、Cである。今回後者の配列は見出せず、混合塩基の成因の解明には至らなかった。

② *P. lactiflora*の17品種の根及び生薬の熱水抽出エキスについて、骨髓由来粘膜型マスト細胞における抗原刺激脱顆粒抑制作用を検討した結果、2品種及び内蒙産赤芍に1 mg/mLの濃度で活性が認められた。RBL-2H3細胞では6品種と赤芍の熱水抽出エキスについて検討し、赤芍系2品種と赤芍2市場品に濃度依存的な活性が認められた。

③ 赤芍の抗原刺激脱顆粒抑制作用は熱水エキスよりメタノールエキスで強く、さらに60%及び80%メタノール溶出画分で強かったことから、これらの画分を検討し、30化合物を単離、同定した。これらの内、モノテルペンまたはその配糖体は16化合物で、3化合物が新規化合物であった。16化合物の抗原刺激脱顆粒抑制作用を調べた結果、9化合物に中程度の活性が認められ、その内8-benzoyl-1-O-β-D-glucopyranosyl-4-hydroxyl-paeonisuffroneが最も強い活性(IC₅₀: 41.2 μM)を示した。一方、PGGのIC₅₀値は62.0 μMであった。赤芍系2品種の根にも、活性を示した7化合物の含有を確認した。

④ 国内2箇所での4年間栽培した*P. lactiflora*の3品種の根は共通して、長野県菅平産でpaeoniflorinと(+)-catechinの含量が高く、一方富山県上市町産ではPGGの含量が高かった。従って、赤芍と白芍の成分的差異は遺伝要因のみならず、環境要因にも影響される可能性が示唆された。

以上、赤芍、及び赤芍の成分的特徴を有する園芸用シャクヤク2品種は抗アレルギー作用を有することが示唆された。また、活性成分も明らかになった。現在、1品種の根の製品化を検討中である。

(2) 大黄

① *Rheum*属11系統における18成分の定量結果から、sennoside Aの含量が日局の基準を満足し、且つ他の薬理作用成分の含量も高い系統として、同一のmatK遺伝子型を示す*R. palmatum*の3系統を選抜した。これらの内特に1系統には、アントラキノン配糖体、フェニルブタン類、スチルベン類、フラバン-3-オール類及びプロシアニジン類が比較的多く含まれており、優良であった。次に、同属6系統の熱水抽出エキスについて、粘膜型マスト細胞における抗原刺激脱顆粒抑制作用を検討したが、活性の有無が判断できず、また系統間差も検出できなかった。

② ヨーロッパの植物園から提供された*Rheum*属の葉のmatK遺伝子の解析結果から、相同の塩基配列をもつ*R. tanguticum*がライデ

ン、ミュンスター及びウプサラの植物園の系統保存種に見出された。さらに、ライデン、ミュンスター等には *R. palmatum* の異なる遺伝子型のものが存在した。

以上、日本において栽培可能な優良系統を選抜した。このものと同じ遺伝子型がライデンの系統保存種にも認められた。

(3) 刺五加

① 養液栽培で育てた *E. senticosus* の葉、及び中国・日本で採集した同種の葉の50%メタノールエキスについてLC/MS分析を行い、カフェオイルキナ酸類8化合物、フラボノイド2化合物を同定した。さらに、オリゴ糖やサポニン成分の含有を確認した。

② 大脳皮質神経細胞において Amyloid β (25-35)処置により萎縮させた軸索を、葉の温湯浸漬エキスが有意に再伸長させた。さらにこのエキスのメタノール溶出画分に活性が見られた。現在、温湯浸漬エキスを糖質、カフェオイルキナ酸類、フラボノイド及びサポニンの各画分に分け、活性を検討している。また、このエキスをアルツハイマー病モデルマウス5XFADに連続経口投与した実験も行い、良好な結果を得ている。

(4) 竜胆・秦艽・ゲンチアナ

① 竜胆と秦艽の ITS 配列：中国東北地方産竜胆は *Pneumonanthe* 節植物、雲南省産竜胆は *Monopodiae* 節植物に由来し、秦艽は *Cruciata* 節植物に由来する。*Pneumonanthe* 節3種において、*G. scabra* は *G. manshurica* と相同の ITS 配列を示し、*G. triflora* とは9箇所の塩基で違いが認められた。日本のササリンドウ系園芸種 (*G. scabra* var. *buergeri*) の配列は母種と一致したが、エゾリンドウ系園芸種 (*G. triflora* var. *japonica*) は母種と3箇所の塩基が異なった。*Monopodiae* 節の *G. rigescens* は *Pneumonanthe* 節3種と30箇所以上で塩基の違いがあった。*Cruciata* 節9種における同定には、18箇所の塩基の種類と1箇所(118-120番目)の挿入欠失が重要であった。これらのマーカー配列に着目することにより、竜胆と秦艽の市場品の多くを同定できた。

② 竜胆の成分と活性：LPS誘導による IL-6 産生及び NO 産生の抑制作用を示した竜胆のクロロホルムエキスから、新規7化合物を含むセコイリド配糖体19化合物、リグナン2化合物、トリテルペノイド3化合物及びその他4化合物を単離し、構造決定した。セコイリド配糖体についてリウマチ性関節炎と関連性のある IL-6、TNF- α の産生抑制作用及び NO 産生抑制作用を調べた結果、8-*epi*-kingiside の類縁体3化合物と kingiside の類縁体3化合物、及び sweroside の類縁体1化合物が、中程度の IL-6 産生抑制作用 (IC₅₀: 51.7-63.8 μ M) を示した。また、sweroside の類縁体6化合物と swertiamarin の類縁体1化合物は中程度の IL-6 産生抑制作用と NO 産生

抑制作用を示した。TNF- α 産生抑制作用はすべての化合物で弱かった。

③ 秦艽の成分と活性：IL-6 産生及び NO 産生の抑制作用が認められた秦艽のクロロホルム抽出残渣のメタノールエキスの30%及び60%メタノール溶出画分から、新規5化合物を含むセコイリド20化合物、リグナン4化合物、フラボノイドC-配糖体1化合物、loganic acid、その他7化合物を単離し、構造決定した。新規化合物の gentiananoside A、gentiananoside B は糖部の C-2位とアグリコンの C-3 位がエーテル結合した新型のセコイリド配糖体であった。セコイリドの内、gentiananoside C、gentiananoside D、6'-O- β -D-xylopyranosylgentiopicoside、olivioside C、6'-O- β -D-glucopyranosylgentiopicoside、swertiamarin、8-hydroxy-10-hydrosweroside、swerimilegenin H、swerimilegenin I は中程度の IL-6 産生抑制作用と NO 産生抑制作用を示し、一方、sweroside と gentiananoside A、及び loganic acid (IC₅₀: 51.3 μ M) は IL-6 産生抑制作用のみを示した。

④ *Gentiana* 属3生薬の成分比較：ゲンチアナのメタノールエキスから、セコイリド11化合物、キサントン6化合物及びフラボノイドC-配糖体、リグナン、メチルベンゾエート類縁体各1化合物を単離、同定した。

3生薬は共通して gentiopicoside、6'-O- β -D-glucopyranosylgentiopicoside、swertiamarin、sweroside 及び loganic acid を含有し、秦艽が gentiopicoside 及び 6'-O- β -D-glucopyranosylgentiopicoside 及び loganic acid の含量が高かった。竜胆は糖部がアセチル化またはベンゾイル化したセコイリド配糖体、秦艽はクロメン、ゲンチアナはキサントンを含有することにより明らかに区別された。

日本の園芸用リンドウの成分分析から、ササリンドウ系及びエゾリンドウ系の変種は1検体を除いて3%以上の gentiopicoside を含有し、竜胆として利用可能であると考えられた。特にササリンドウ系リンドウは *G. scabra* と同様の成分プロファイルを示した。

以上、3生薬から単離したセコイリド42化合物の内25化合物に中程度の IL-6 産生抑制作用を見出し、その内16化合物は NO 産生抑制作用も示すことを明らかにして、竜胆と秦艽の抗炎症作用を裏付けた。一方、3生薬の特徴的な成分組成を明らかにしたことにより、これを指標にして各生薬の標準化と代替植物の開発が行えることを示唆した。

(5) 党参及び野三七

① 党参 (*C. tangshen*) から codonopyrrolidium A、codonopyrrolidium B、tangshenoside I、lobetyolin など7化合物を単離、同定した。ITS 配列により基原を同定した同属2種1変種の根及び市場品の定量結果から、*C. pilosula* 及び *C. pilosula* var. *modesta* の主な成分は codonopyrrolidium B であり、一方 *C. tangshen* は tangshenoside I 及び codonopyrrolidium A の

含量が他種に比べて有意に高く、この特徴は野生品で明らかであった。Lobetyolin は両種に共通して含まれていたが、市場品で含量が低く、生薬の保存状態の影響が考えられた。党参は人参の代用にされることから、軸索再伸長作用を検討したが、党参の熱水及びメタノール抽出エキス、単離した上記4化合物にはこの作用が認められなかった。

② 神経変性疾患や心疾患の悪化に関与する calpain の酵素活性に対する人参類 8 種の 70% エタノールエキスの影響を cell-free 系で検討した。三七人参と野三七野生品は 100 µg/ml の濃度で有意に calpain 活性を阻害したが、野三七栽培品と白参は無効であり、紅参、竹節人参、アメリカ人参、ベトナム人参では calpain 活性を高めた。野三七の野生品と栽培品では活性に差があり、同等ではなかった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 15 件)

- ① Zhu S., Yu X. L., Wu Y. Q., Shiraiishi F., Kawahara N., Komatsu K., Genetic and chemical characterization of white and red peony root derived from *Paeonia lactiflora*, J. Nat. Med., 査読有, 69: 35-45, 2015.
DOI: 10.1007/s11418-014-0857-5
- ② He Y. M., Zhu S., Ge Y. W., Kazuma K., Zou K., Cai S. Q., Komatsu K., The anti-inflammatory secoiridoid glycosides from *Gentiana Scabrae Radix*, the root and rhizome of *Gentiana scabra*, J. Nat. Med., 査読有, 69: 303-312, 2015.
DOI: 10.1007/s11418-015-0894-8
- ③ He Y. M., Zhu S., Ge Y. W., Cai S. Q., Komatsu K., Secoiridoid glycosides from the root of *Gentiana crassicaulis* with inhibitory effects against LPS-induced NO and IL-6 production in RAW264 macrophages, J. Nat. Med., 査読有, 69: 366-374, 2015.
DOI: 10.1007/s11418-015-0903-y
- ④ He J. Y., Zhu S., Goda Y., Cai S. Q., Komatsu K., Quality evaluation of medicinally-used *Codonopsis* species and *Codonopsis Radix* based on the contents of pyrrolidine alkaloids, phenylpropanoid and polyacetylenes, J. Nat. Med., 査読有, 68: 326-339, 2014.
DOI: 10.1007/s11418-013-0801-0
- ⑤ He J. Y., Zhu S., Komatsu K., HPLC/UV analysis of polyacetylenes, phenylpropanoid and pyrrolidine alkaloids in medicinally used *Codonopsis* species, *Phytochemical Analysis*, 査読有, 25: 213-219, 2014.
DOI: 10.1002/pca.2494

[学会発表] (計 23 件)

- ① 石 燕紅、朱 シュウ、数馬 恒平、小松 かつ子 他: Chemical constituents with anti-allergic activity from red peony root. 日本薬学会第 135 年会、2015、3.25-28、デザイン・クリエイティブセンター神戸 (神戸).

- ② Ge Y. W., Kazuma K., Zhu S., Yoshimatsu K., Komatsu K.: Comprehensive analysis of sequencing proanthocyanidin oligomers in rhubarb by HPLC-ESI-MSⁿ. The 8th JSP-CCTCNM-KSP Joint Symposium on Pharmacognosy, 2014, 9.13, Fukuoka (Japan).
- ③ 葛 躍偉、小松 かつ子、朱 シュウ、吉松 嘉代 他: Chemical constituents analysis of the leaf of *Eleutherococcus senticosus* cultivated in different environment. 第 31 回和漢医薬学会学術大会、2014、8.30-31、幕張メッセ国際会議場 (千葉).
- ④ 小松 かつ子: サステイナブル伝統薬を志向した薬用資源植物の多様性の解析. (財) 染色体学会第 64 回年会、2013、11.8-10、富山大学 (富山).
- ⑤ 小松 かつ子、冷 正鵬、朱 シュウ、葛 躍偉、村上 守一、吉松 嘉代 他: 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 回年会、2013、9.7-8、北海道医療大学 (北海道).

[図書] (計 2 件)

- ① 川原信夫監修、小松 かつ子、朱 シュウ 他共著、シーエムシー出版、薬用植物・生薬の最前線—国内栽培技術から品質評価、製品開発まで— (第 4 編第 1 章生薬の多様性解析と標準化)、2014、269 (157-165).

[その他]

ホームページ等

<http://www.inm.u-toyama.ac.jp/pharmacognosy/index-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小松 かつ子 (KOMATSU, Katsuko)
富山大学・和漢医薬学総合研究所・教授
研究者番号: 50225570

(2) 研究分担者

東田 千尋 (TOHDA, Chihiro)
富山大学・和漢医薬学総合研究所・准教授
研究者番号: 10272931

門脇 真 (KADOWAKI, Makoto)
富山大学・和漢医薬学総合研究所・教授
研究者番号: 20305709

朱 シュウ (ZHU, Shu)
富山大学・和漢医薬学総合研究所・助教
研究者番号: 20377360

(3) 連携研究者

数馬 恒平 (KAZUMA, Kohei)
富山大学・和漢医薬学総合研究所・その他
研究者番号: 70552446