

---

# 優良和薬の確保・供給のための研究

---

平成27年度～平成29年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業  
研 究 成 果 報 告 書

平成30年5月

学校法人名 京都薬科大学  
大 学 名 京都薬科大学  
研究組織名 複合薬物解明研究グループ  
研究代表者 松田 久司  
(京都薬科大学大学院薬学研究科)



## 目次

(1) はしがき	1
(2) 研究成果報告書概要 (様式2)	2
(3) 外部 (第三者) 評価者による評価票	23
(4) 研究成果報告書	26
当帰に関する研究	26
・ 播種前処理の発芽に与える影響	
・ 当帰の促成栽培に関する研究	
・ 当帰の含有成分の単離・同定および <i>in vitro</i> スクリーニング試験	
・ <sup>1</sup> H-NMR と主成分分析による当帰の産地別パターン分析	
・ 当帰エキスの血圧・ストレス耐性に及ぼす効果の検討	
・ 当帰成分の合成研究	
・ 当帰に関する研究発表	
甘茶に関する研究	36
・ アマチャの核 DNA の ITS 領域における塩基配列解析	
・ 栽培土壌 pH 別, アマチャの生育及び葉の収量調査	
・ 定量 <sup>1</sup> H-NMR (qNMR) によるアマチャの主要成分の純度分析	
・ RBL-2H3 細胞を用いたアマチャの採取時期による脱顆粒抑制効果の差	
・ 甘茶 Thunberginol 類および誘導体のアルドースレダクターゼ阻害作用 および赤血球内ソルビトール蓄積抑制作用	
・ 甘茶成分 thunberginol A および B の血管平滑筋弛緩作用	
・ 甘茶に関する研究発表	
延命草に関する研究	44
・ ヒキオコシの挿し木条件 (挿し床の種類, 挿し穂の太さ, 時期) の検討	
・ ヒキオコシ地上部からのテルペノイド成分の単離, 構造解析および生物活性	
・ クロバナヒキオコシを基原とする延命草の含有成分の単離と胃粘膜保護作用	
・ 延命草に関する研究発表	
柴胡, 川芎に関する研究	50
・ 柴胡サポニンの含有サポニンライブラリーの構築とその機能性評価	
・ 川芎の含有成分の研究とその機能性評価	
・ 柴胡, 川芎に関する研究発表	
おわりに	55
謝辞	55

## は し が き

京都薬科大学における文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「優良和薬の確保・供給のための研究」は、平成27年度にスタートし、平成29年度に終了しました。ここに、3年間にわたる研究活動に関する成果報告書を公表いたします。

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（以下、戦略基盤事業と略す）は、各大学の経営戦略に基づいて行う研究基盤の形成を支援するため、研究プロジェクトに対して重点的かつ総合的に補助を行う事業であり、もってわが国の科学技術の進展に寄与することを目的としている。本プロジェクト「優良和薬の確保・供給のための研究」は、大学の特色を活かし、地域の産業への貢献を目指し、3年間の事業としてスタートした。

漢方薬の原料生薬は8割以上を中国に依存しているが、生産・供給不足と価格の急激な上昇によって、低品質のものが流通している。このような背景のもと、日本での優良品種の栽培、生産が急務となっているが、優良品種の現代科学的根拠が曖昧なままとなっている。本プロジェクトでは、漢方薬の重要な構成生薬である当帰や柴胡、日本民間薬の甘茶、延命草など日本産生薬（和薬）の基原植物の栽培、薬理作用、メタボローム解析、有効成分群の解明までをグループ内で連携をとり実施することによって、優良生薬の生産を目的とした優良品種の選別を目指して研究がスタートした。特に、本学薬用植物園の栽培技術を応用することによって、地域の生産地への優良品種に関する情報提供、育種の指導や種苗の提供を行うことを目指した。また、本学が保有する生薬標本は明治期まで遡ることができ、貴重な遺伝子資源となっている。現在の市場品と時系列で比較することによって、かつて流通していた生薬との同等性を明らかにする点で学術的な意義がある。

本研究プロジェクトを推進するにあたり、生薬学を専門とする研究者を研究代表者とし、天然物化学、合成化学、分析学、漢方医学、栽培の各領域のエキスパートから構成され、薬系大学では最大規模といえる本学薬用植物園施設や生薬標本を活用し、事業推進者、若手研究者、学外研究者、それに大学院生などからなるチームで研究を推進した。本研究プロジェクトでは、トウキ、アマチャ、ヒキオコシ、ミシマサイコなど栽培研究、これらから調製される生薬（当帰、甘茶、延命草、柴胡など）のメタボロミクス解析に必要な化合物ライブラリーの構築、薬効解明、多変量解析による有効成分群の解析を計画し、実施した。その結果、優良品種の選別までには至らなかったが、今後に関わる多数の成果を得ることができた。

平成29年度で本基盤形成事業は終了となったが、いずれも道半ばの状況である。今後、本事業で形成した取組やネットワークを継続発展させ、優良な生薬の生産につながる研究を継続することによって、地域社会に貢献したいと考えている。

本プロジェクトの遂行に際して、ご尽力いただいた関係各位に厚くお礼を申し上げますとともに、さらなる発展のために、ご指導ご鞭撻を賜りますよう、お願い申し上げます。

平成30年5月  
京都薬科大学 創薬科学系  
生薬学分野 教授  
(本事業代表者)  
松田 久司

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

## 平成 27 年度～平成 29 年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」 研究成果報告書概要

- 1 学校法人名 京都薬科大学                      2 大学名 京都薬科大学
- 3 研究組織名 京都薬科大学 複合薬物解明研究グループ
- 4 プロジェクト所在地 京都市山科区御陵中内町5番地
- 5 研究プロジェクト名 優良和薬の確保・供給のための研究
- 6 研究観点 大学の特色を活かした研究

### 7 研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
松田 久司	生薬学分野	教授

- 8 プロジェクト参加研究者数 10 名

- 9 該当審査区分 理工・情報      生物・医歯      人文・社会

### 10 研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
松田久司	生薬学分野・教授 (薬用植物園・園長兼任)	生薬有効成分の単離，構造解明	生薬成分の単離と供給，薬効評価
山下正行	薬品製造学分野・教授	生薬中の微量成分の合成	甘茶，当帰などに含まれる微量成分の合成と供給
渡辺徹志	公衆衛生学分野・教授	生薬成分のメタボロミクス解析	LC-MS/MS 等を用いた網羅的成分分析
北出達也	薬品分析学分野・教授	ケモトリックスによる有効成分群の解明	NMR 測定と多変量解析による生薬中の有効成分群の分析
中田徹男	臨床薬理学分野・教授	生薬の自律神経調整作用の検討	実験的更年期障害モデルの構築，当帰などの薬効評価
岩崎宏樹	薬品製造学分野・助教	当帰などの薬効成分の合成	不安定成分の合成と供給
月岡淳子	薬用植物園・助教	薬用植物の栽培と DNA 配列の解析	採種方法の検討，定植苗選抜の指標作り，土壌による含有成分の変化，栽培植物の DNA 配列の解析
(共同研究機関等) 森川敏生	近畿大学薬学総合研究所・教授	セリ科薬用植物の活性成分の単離と構造解明	柴胡などの成分単離と構造解明

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

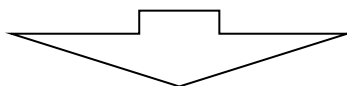
三谷和男	奈良県立医科大学大和漢方医学薬学センター・特任教授 三谷ファミリークリニック・院長	漢方処方の有効性に関する研究	当帰配合漢方薬等の有効性に関する研究
------	--	----------------	--------------------

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
生薬の DNA 配列の解析と薬効評価	生薬学分野・助教	伊藤 謙	各生薬および生薬標本の DNA 配列の解析と薬効評価

(変更の時期:平成 27 年 8 月 1 日)



新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
京都薬科大学 生薬学分野・助教	大阪大学総合博物館・特任講師	伊藤 謙	各生薬および生薬標本の DNA 配列の解析と薬効評価

## 11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

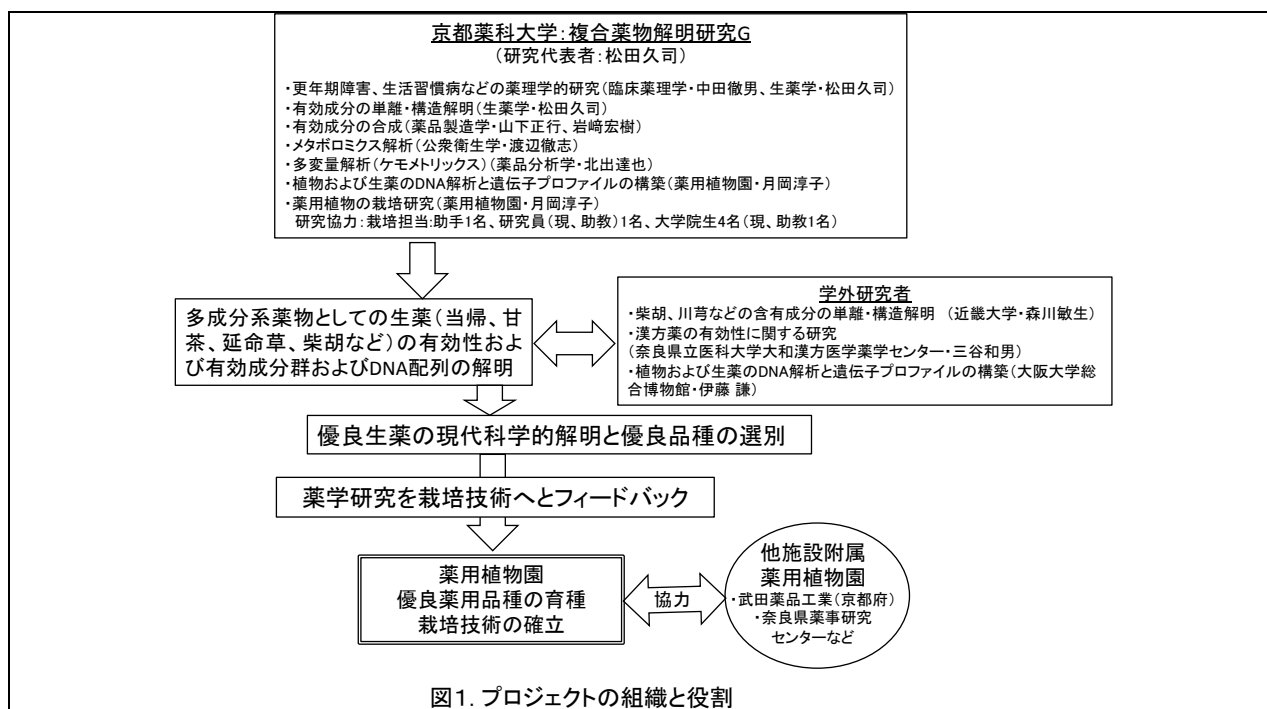
### (1) 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

古来、和漢生薬は医療に応用され、漢方薬の原料として重要であるにもかかわらず、生薬の良否は、経験や一部の指標成分の定量値で評価されているのみであって、必ずしも薬効との相関性が証明されていない。さらに、漢方薬の原料生薬の 8 割以上を中国に依存しており、中国での生産・供給不足と価格の急激な上昇によって、低品質のものが流通している。そのような背景のもと、本事業では、漢方薬の重要な構成生薬である当帰、柴胡などや日本民間薬の甘茶、延命草など日本産生薬(和薬)の基原植物の栽培、薬理作用、メタボローム解析、有効成分群の解明までをグループ内で連携をとり実施することによって、優良生薬の生産を目的とした優良品種の選別や栽培方法に関する知見を得る。さらに本学附属薬用植物園の栽培技術を応用することによって、地域の生産地への情報提供、育種の指導や種苗の提供を行うことを目的としている。また、本学が保有する生薬標本は、貴重な資源といえる。現在の市場品と時系列で比較することによって、かつて流通していた生薬との同等性を明らかにする点で学術的な意義がある。

### (2) 研究組織

本研究プロジェクトを推進するにあたり、生薬学を専門とする研究者を研究代表者とし、天然物化学、合成化学、分析学、漢方医学、栽培の各領域のエキスパートから成り、薬系大学では最大規模といえる本学薬用植物園施設や生薬標本を活用し、事業推進者、若手本研究者、学外研究者、そして大学院生などからなるチームで研究を推進した(図 1)。本研究プロジェクトでは、①各研究者の課題毎の独自研究の展開に加え、②研究代表者のリーダーシップのもと研究者同士が各専門の領域を超えて密に連携し、ひとつのチームとして一丸となって研究を推進した。

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L



### (3) 研究施設・設備等

#### <施設>

本事業で使用した主な施設と使用者数などは以下のとおりである。

1. 薬用植物園(13,016 m<sup>2</sup>) プロジェクトに関係する使用者数(2人)。
2. S棟(697 m<sup>2</sup>)、プロジェクトに関係する使用者数(6人)。
3. 創薬科学フロンティア研究センター(578 m<sup>2</sup>)、プロジェクトに関係する使用者数(17人)。

#### <主な装置、設備>

私学助成を受けたものは以下のとおりである。特に、下線の装置は、本プロジェクトに大きく関係しており、この装置の導入によって本研究の遂行が可能となった。

#### 設備

- ・ マルチ分取 HPLC システム(株式会社ワイエムシイ製)(2015年12月導入)(2200時間)

#### 装置

- ・ 核磁気共鳴分光装置(日本電子製 500 MHz NMR, JNM-LA 500)(4200時間)
- ・ 核磁気共鳴分光装置(パリアン製 400 MHz NMR, UNITY INOVA 400 HF)(225時間)
- ・ プロテオミクス分子リガンド微量分子構造解析システム(日本電子製 600 MHz NMR, JNM-ECA 600)(7475時間)
- ・ FT-NMR 装置(日本電子製, JNM-ECS 400)(200時間)
- ・ 円二色性分散計(日本分光製, J-1500)(120時間)

### (4) 研究成果の概要 ※下記、13及び14に対応する成果には下線及び\*を付すこと。

#### <3年間の進捗と達成度>

本テーマ「優良和薬の確保・供給のための研究」を以下のサブテーマ 1-1~1-4にわけて実施した。サブテーマ1-1~1-3については、栽培研究、メタボロミクス解析に必要な化合物ライブラリーの構築、薬効解明、多変量解析による有効成分群の解析を計画し、実施した。その結果、優良品種の選別ま

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

では至らなかったが、今後繋がる成果を得た。サブテーマ 1-4 については、外部研究者を中心に実施し、共同研究も含め、メタボロミクス解析に必要な化合物ライブラリーの構築と機能性解明を計画し、当初の計画を概ね達成した。一部の生薬標本について ITS 領域の遺伝子解析を実施したが、遺伝子プロファイルを構築するに至らなかった。

以下にこれまでに得られた成果の概要を記載する。

#### 【1-1: 当帰に関する研究】

第 17 改正日本薬局方収載のトウキ(当帰)は、トウキ (*Angelica actiloba*) またはホツカイトウキ (*A. acutiloba* var. *sugiyamae*) の根を、通例、湯通ししたものであり、補血や活血、強壯、鎮静などを目的に漢方薬に配合されている。特に、婦人科の疾患に川芎とともに配合される。トウキは 1700 年代初期に大和地方(奈良県)を中心に栽培されたとされ、現在でも“大和当帰”として良質品の生産が受け継がれている。ホツカイトウキは、トウキと北海道に野生する植物を掛け合わせたものとされている。一方、中国ではカラトウキ(唐当帰 (*S. sinensis*)) が用いられており、基原植物は異なっている。

トウキは種まきから収穫までに 2 年近くを要するため、収穫量が多い品種やより良い栽培方法を見出す必要が求められている。また、当帰は多くの漢方薬に配合されているにもかかわらず、当帰のみでの明確な薬理作用は十分に解明されていない。

本テーマでは、これらを解明する目的で、発芽率の改善、促成栽培、成分研究、メタボロミクス、*in vitro* 試験やラットへのエキスの反復投与による薬効解明などを検討した。

##### ① 当帰の促成栽培に関する研究<sup>\*1)</sup>(主担当: 月岡淳子, 松田久司)

トウキ (*Angelica acutiloba*) は、慣例法では、4~5 月に露地で播種して翌春まで育苗、その後、苗を本圃に定植して 11~12 月頃に収穫する。播種から収穫までの約 1 年 8 ヶ月間のうち約 1 年間で育苗に要することから、本研究では播種時期の検討により育苗期間の短縮を目指した。その結果、定植時の新鮮重量は播種が遅れるほど有意に軽くなった。収穫時の地下部の新鮮重は、9、10 月の播種では 4 月の播種(慣例法)と同程度であったが、11 月以降の播種では著しく軽くなった。一方、リグスチリドの定量分析の結果、9、10 月の播種のトウキに含有するリグスチリドの含量が、4 月の播種のものと比べ、同程度あるいは増加傾向であることが明らかになった。また、湯もみしたトウキにおいては、湯もみを行っていないものに比べリグスチリド含量が低下した。本研究では、9 または 10 月に播種して育苗した個体を栽培することで、収量、成分含量ともに慣例法と同等となった。このことから、従来の育苗期間を約半年間に短縮することが可能となった。また、併せてトウキおよびサイコの発芽率改善条件の検討を行った。

##### ② 当帰の含有成分の単離・同定および *in vitro* スクリーニング試験(主担当: 松田久司, 渡辺徹志, 三谷和男)

メタボロミクス解析を目的とし、当帰含有成分の単離・構造解析を行った。すなわち、奈良県産当帰メタノール抽出エキス(380.16 g)から、(Z)-ligustilide, senkyunolide C, senkyunolide E, (E)-senkyunolide E, senkyunolide H, senkyunolide I, (Z)-hydroxy-7-methoxydihydrodigustulide, isovanillin, xanthotoxin, isopimpinellin, および senkyunolide E と senkyunolide F の混合物を得た。(Z)-ligustilide は当帰の主要成分であることが知られているが、精製に伴い不安定な化合物であることが明らかとなった。今回、単離・同定した化合物は、いずれも低収率であった。

また、日本産および中国産当帰のメタノール抽出エキスの *in vitro* スクリーニング試験として、a) ラット摘出大動脈ラセン条片を用いた高濃度 kCl (60 mM) 収縮およびノルアドレナリン (1 μM) 収縮に対する弛緩作用、b) アルドース還元酵素阻害作用、c) 後期糖化産物(AGEs)産生抑制作用などについて検討したところ、弱い血管弛緩作用が認められる以外に有意な効果は認められなかった。

##### ③ <sup>1</sup>H-NMR と主成分分析による当帰の産地別パターン分析(主担当: 北出達也)

生薬の品質や成分含量は、産地や栽培環境などによって大きく影響を受ける。産地間での生薬中に含まれる成分含量の違いを評価できれば、有効成分を多く含む良質な生薬を供給するための足が



法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

かりとすることができる。本研究では、産地の異なる 5 種の当帰試料について、<sup>1</sup>H-NMR スペクトルを測定し、それらの解析に主成分分析(PCA)を適用して、産地ごとの成分に関する特徴の違いを評価できるかを検討した。

5 種の当帰試料の <sup>1</sup>H-NMR スペクトルを PCA 処理した結果、北海道産北海当帰試料は、主成分(PC)第 2 と 3 軸において、他の当帰試料よりも高い値を示す傾向が見られた。この要因は、北海道産北海当帰試料の <sup>1</sup>H-NMR スペクトルにおいて、5.2 ppm 付近に見られる ligustilide 由来の <sup>1</sup>H のピークが、他の当帰試料のそれよりも強く出ていることによるものであると考えられた。そこでこの考察が正しいかを実証するために、5 種の当帰試料中の ligustilide 含有率について HPLC を用いて定量した。その結果、北海道産北海当帰試料は、他の当帰試料と比較して、ligustilide 含有率が有意に高いことが示された。従って、PCA は各当帰試料の <sup>1</sup>H-NMR スペクトル中の ligustilide 含有率の違いを評価できていたということが示唆された。これらの結果から、<sup>1</sup>H-NMR と PCA を組み合わせることにより、生薬の産地間の成分含有率の違いを評価できる可能性が示された。上記 5 種のみならず、産地の明確な当帰 15 種を入手済みであり、個体差を含め、検証を継続中である。

#### ④当帰エキスの血圧・ストレス耐性に及ぼす効果(主担当:中田徹男)

当帰は鎮痛・鎮静薬として古くから婦人病に用いられているが、詳細な作用機序は不明である。精油成分として、ligustilide, *p*-cymene など多数の成分を含む。また、当帰には鎮静作用を持つとされる  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) を多く含有することが報告されている。今回、当帰の 30%エタノール抽出エキスを調製し、当帰エキスとエキスに含まれる同量の GABA をラットに投与して血圧・ストレス耐性に及ぼす効果を検討した。ストレス反応はウエーブレット解析を用いて自律神経活動の評価を行った。

実験方法としては、以下のように実施した。

- ・体重 200g の雄性 Wistar/ST 系ラットの右腎摘出後、1 週間の回復期を設けた。その後、1.5%食塩水を自由摂取させることで高血圧モデルラットを作成した。ラットを 3 群に分別した Angelica(当帰)群には当帰エキス 800 mg/kg/mL (Angelica 群, n=8), GABA 群には当帰エキスに含有されるのと同量量の GABA 2 mg/kg/mL (GABA 群, n=6), 対照群には溶媒水 (Control 群, n=4) を 4 週間 gavage 法で経口投与した。

- ・一週毎に Tail-cuff 法で収縮期血圧、心拍数を測定し、代謝ケージを用い飲水量、尿量を測定した。また 1M HCl 1 mL を含んだ遮光フラスコを用いて 24 時間尿中ノルアドレナリン排泄量を検討した。4 週間後に三種混合麻酔下でラットの大腿動脈にカニューレを挿入し、皮下トンネルを介して背部に固定した。翌日、覚醒下に攪拌機上にセットされたケージにラットを入れ、毎分 150 回、振幅 2 cm の頻度で 2 分間の shaker stress を負荷し、負荷前後の心行動態と、平均動脈圧並びに心拍の揺らぎ解析(Fluclet ソフト)を用いた交感神経、副交感神経活動の変化を検討した。

その結果、片腎摘出 1.5%食塩負荷高血圧モデルラットにおいて、当帰エキスの 1 日 1 回の経口投与により Tail-cuff 法による収縮期血圧上昇抑制効果を認めた。これは同量の GABA 投与に比べても有意な抑制であったことから、当帰の GABA 以外の成分の効果と考えられる。また降圧作用機序に関しては、交感神経活動の指標として検討した 24 時間尿中カテコラミン排泄量に有意な差を認めなかったことから、交感神経抑制効果以外の機序が想定された。

また、ストレス耐性については、フラクレットを用いた覚醒下収縮期血圧ゆらぎ解析の低周波成分より交感神経活動を、心拍のゆらぎ解析の高周波成分の測定により副交感神経活動を検討した。安静時の自律神経活動には群間差を認めなかったが、当帰投与群で Shaker ストレス負荷時の交感神経活動の増大が GABA 群と同程度に抑制された。また、当帰投与群ではストレス負荷時の副交感神経活動の亢進も認められたことから、当帰にはストレス耐性に寄与する可能性が示され、その一部は含有成分の GABA による鎮静作用に関わる可能性が示唆された。しかし、これまで経口投与された GABA は血液脳関門(Blood-Brain barrier)を通過しないことが知られており、消化管の GABA 受容体を介する迷走神経経路による中枢作用が報告されている。今回のストレス負荷では、心血管活動の亢進が顕著ではなかったことより、ストレスの種類を変えての検討も必要であると考えられる。

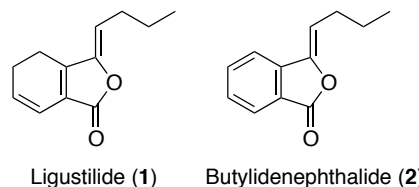
以上、大和当帰には食塩負荷高血圧抑制効果が認められる可能性及びストレス耐性増強作用が期待できる可能性が示唆された。また、その作用機序に GABA 以外の成分の関与が示唆された。今

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

回得られた結果は、今後、関与成分の解明や相乗効果の解析に有用と考えられる。また、本実験モデルはストレスによるイライラや自律神経の失調の改善に応用される柴胡や柴胡配合漢方薬の薬効評価にも有用と考えられる。

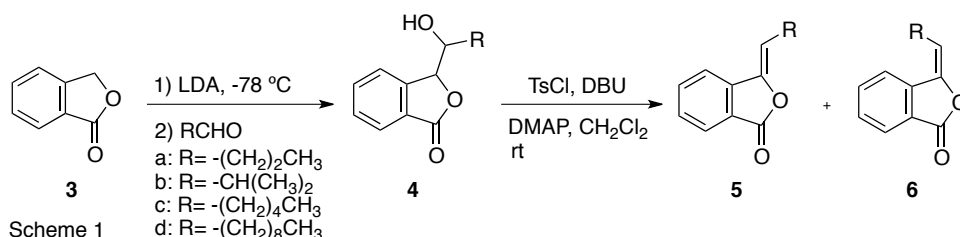
⑤当帰成分の合成研究(主担当:岩崎宏樹, 山下正行)

セリ科センキュウ, トウキに含まれる成分である ligustilide (1) および butylidenephthalide (2) は薬効成分と考えられているが、単離収率が低いため、これらの供給を目的として合成を検討した。



既に 1 の合成法は報告されており文献記載の方法(J. J. Beck, F. R. Stermitz, *J. Nat. Prod.*, **58**, 1047-1055 (1995))に従い合成を試みたが、1 が容易に酸化を受けるためか

1 を得るには至らなかった。そこで、まず 2 の誘導体を合成した (Scheme 1)。



種々のアルデヒド

ドを用い、先と同様の方法により種々の 4 を合成した。4 を脱離条件に付したところ、シス体 (5) -トランス体 (6) の混合物を得た。

【1-2: 甘茶に関する研究】

甘茶はユキノシタ科植物のアマチャ (*Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii*) の葉部から発酵などの加工処理して調製される日本特産の生薬である。甘茶は、アマチャ葉をよく揉んだ後、発酵させたものを乾燥して調製する。アマチャの葉には主に phyllodulcin 8-O-glucoside や hydrangenol 8-O-glucoside など配糖体を含み、発酵処理によって加水分解されて甘茶の甘味成分 phyllodulcin や hydrangenol になることが報告されている。

甘茶は、江戸時代に作り出された新しい日本民間薬であるため、薬用としての歴史は浅く、薬効が十分に伝承されていない。日本の江戸時代の薬物書「大和草本」にも甘味のほかには健康に益するなど記載されているにすぎない。私たちの研究グループは甘茶の薬効を明らかにする目的で、種々の薬理スクリーニングを行い、これまでに甘茶メタノール抽出エキスの抗アレルギー作用成分や抗糖尿病作用成分として thunberginol 類や hydrangenol などを報告した。

一方で、アマチャの栽培条件や収穫時期の検討は、これまで十分ではなかった。本テーマでは、アマチャ葉の ITS 領域における塩基配列解析、アマチャの栽培条件による収穫量の変化、定量 NMR の含有成分への応用、採取時期による成分変動などについて検討するとともに、*in vitro* における主要成分の脱顆粒抑制作用を指標とした抗アレルギー作用、アルドース還元酵素阻害作用および血管拡張作用などについて検討した。

①アマチャの核 DNA の ITS 領域における塩基配列解析(主担当:月岡淳子, 伊藤 謙)

アマチャの種内変異の有無、生薬アマチャ(発酵葉)からの解析の可否について検討するため、アマチャ乾燥葉及び発酵葉について、ダイレクトシーケンス法を用いて、核 DNA の ITS1 および 2 領域における塩基配列の解析を行った。なお、ITS 領域の増幅は PCR 法(Polymerase chain reaction)により行い、プライマーは DDBJ(DNA Data Bank of Japan)に登録されているヤマアジサイ *Hydrangea serrata* (Thunb.) Ser. var. *serrata* の塩基配列を基に作成した。その結果、アマチャ新鮮葉 2 サンプル、生薬アマチャ 2 サンプルについてダイレクトシーケンス法による解析を試みたが、目的とする ITS 領域の一部の塩基配列の読み取りにとどまり、アマチャの種内変異に関して検討するには、十分な結果が得られなかった。発酵処理を施した生薬アマチャに関しても ITS 領域の一部について、読み取り可能な結果が得られたことから、サンプルからの DNA 抽出条件、プライマーや PCR 条

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

件の再検討が必要であるが、発酵後のサンプルに関しても、新鮮葉と同様の手法で解析可能と考えられた。

②栽培土壌 pH 別, アマチャの生育及び葉の収量調査(主担当:月岡淳子)

試験には、薬用植物園植栽株から挿し木で得た 5 年目の株を使用した。赤玉土(小粒):硬質鹿沼土(小粒):腐葉土:発酵畜肥=3:3:2:2の配合土を基本とし、これに、ピートモス(pH未調整)を70%(pH5.3), 50%(pH5.7), 30%(pH6.2)の割合で混合したもの、苦土石灰を加えたもの(pH7.5)の5種類の土を用意し、それぞれ3株ずつ栽培した。1週間に1回、樹高を測定し、9月には葉の収量を比較した。その結果、樹高の伸び率および葉の増加量は、苦土石灰混合土(pH7.5)で低い値を示したが、ピートモス70%, 50%, 30%用土での栽培株に関してはコントロール株とほとんど差はないか、高い値を示した。アマチャの生育(樹高及び葉の増加量)は、土壌がやや塩基性になることで低下する傾向があると考えられた。

③定量<sup>1</sup>H-NMR (qNMR) によるアマチャの主要成分の純度分析<sup>\*2)</sup>(主担当:北出達也)

従来、生薬中の新規成分の純度分析は、分析対象物質と同一の標準品や試薬が入手できないことが多いため困難であった。定量<sup>1</sup>H-NMR (qNMR)は、純度既知の内標準物質と純度未知の分析対象物質を混合した溶液で測定した<sup>1</sup>H-NMR スペクトルから、各物質由来の<sup>1</sup>Hピークのシグナル面積強度を用いて純度を算出できる。

本研究では、アマチャの主要成分の純度分析をqNMRによりおこなうため、まず最適なqNMR測定条件を検討した。次いで、その条件下でアマチャの4種の主要成分の純度分析をおこなった。その結果、アマチャから単離した4つの主要成分(phyllodulcin, hydrangenol, thunberginol A, thunberginol F)について、qNMRを用いて各成分の純度を精度良く決定することができた。さらに、エキス中のhydrangenolおよびphyllodulcinのqNMRによる定量を試みた。

④RBL-2H3細胞を用いたアマチャの採取時期による脱顆粒抑制効果の差<sup>\*3)</sup>(主担当:松田久司, 北出達也)

今回、アマチャの主要成分phyllodulcin (1), hydrangenol (2), phyllodulcin 8-O-glucoside (3) およびhydrangenol 8-O-glucoside (4)の含有量の季節変動および抗アレルギー作用の相関性について検討した。

アマチャの葉部を4月から10月にかけて採集し、40℃で風乾した後、メタノール抽出エキスを作製し、HPLCにて化合物1~4の分析を行った。その結果、1および2の含量は5~6月に最も多く含まれ、10月が最も低値であった。一方、3および4は、4月が最も低値で、次第に増加し、8月が最も高値であり、10月まで高含量が維持された。得られたエキスについて、RBL-2H3細胞における抗原刺激による脱顆粒をβ-hexosaminidase遊離量を指標に検討した結果、6月頃に採取した葉部に最も強い抑制活性が見出され、10月に採取し、発酵処理したものと同等以上の強い効果であった。HPLCにおける1~4の含量や未同定ピークを含めて、脱顆粒抑制率の関連性について主成分(PCA)分析を行ったところ、脱顆粒抑制作用には1および2の寄与が最も大きいことが判明した。以上、6月収穫時にはアマチャ特有の成分phyllodulcin (1)およびhydrangenol (2)を多く含み、加工修治することなく薬効を示すことが示唆された。

また、アマチャ葉に青酸配糖体taxiphyllinが含まれていたが、3や4と同様に、taxiphyllin含量は4月から10月にかけて増加し、修治によって消失することを明らかにした。

⑤甘茶含有Thunberginol類および誘導体のアルドースレダクターゼ阻害作用および赤血球内ソルビトール蓄積抑制作用<sup>\*4)</sup>(担当:松田久司, 岩崎宏樹, 山下正行)

今回、糖尿病合併症の予防・改善作用について検討したところ、甘茶メタノール抽出エキスにアルドースレダクターゼ(AR)阻害作用を見出したことから、赤血球内ソルビトール蓄積への影響などへの検討を行った。

その結果、thunberginol A (IC<sub>50</sub>=4.2 μM), thunberginol B (IC<sub>50</sub>=2.9 μM), およびベンザルフタリド誘導体のthunberginol F (IC<sub>50</sub>=2.5 μM)に有意なAR阻害作用が認められた。なお、比較対照に

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

はエパルレスタット ( $IC_{50}=0.01 \mu\text{M}$ ) を用いた。次いで、抑制作用を示した成分について、AR が関与する赤血球内ソルビトール蓄積に及ぼす作用を検討した。その結果、thunberginol A ( $IC_{50}=66.6 \mu\text{M}$ ), thunberginol B ( $IC_{50}<25 \mu\text{M}$ ), および thunberginol F ( $IC_{50}=30.9 \mu\text{M}$ ) とともに有意なソルビトール蓄積抑制作用が認められた。

さらに、今回作用を示した化合物の構造の最適化を図るため、約 20 種のイソクマリン誘導体を合成した。すなわち、6-6 員環骨格を有するイソクマリン誘導体は、文献記載の方法 (Watanabe M., et al., *J. Org. Chem.*, **49**, 742–747 (1984)) を改良してアミド体のベンジル位の位置選択的リチオ化と続くアシル化反応により側鎖を伸長した。さらに酢酸中加熱することで閉環反応が進行し、目的のイソクマリン誘導体を合成した。R<sup>1</sup> または R<sup>2</sup> がメトキシ基の場合、 $\text{BBr}_3$  を用いた脱保護によりヒドロキシ基に変換した。また、6-5 員環骨格を有するイソベンゾフラン誘導体は、イソクマリン誘導体の合成と同様の手法を用いて合成した。得られた化合物について、AR 阻害活性について検討したところ、誘導体 T40 ( $IC_{50}=3.1 \mu\text{M}$ ) などに有意な阻害活性が認められ、活性発現の必須構造に関する知見が得られた。

#### ⑥甘茶成分 thunberginol A および B の血管平滑筋弛緩作用<sup>\*5,6)</sup>(主担当: 松田久司)

甘茶の循環器系への効果について調べる目的で、甘茶メタノール抽出エキスおよび主要な成分のラット摘出血管標本における高濃度 KCl およびノルアドレナリン収縮に対する効果を検討した。実験方法としては、Sprague-Dawley 系雄性ラット (6~8 週齢) の摘出胸部大動脈を 95%O<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub> 混合ガスで通気した Krebs-Henselite 溶液に浸し、幅約 2 mm, 長さ約 10~15 mm のラセン条標本を作製したマグヌス装置に懸垂し、約 1g の負荷をかけ、アイソメトリック・トランスジューサーを用いて張力をモニターした。収縮については高濃度 KCl (終濃度 60 mM) またはノルアドレナリン (終濃度 1  $\mu\text{M}$ ) を添加し収縮させた。収縮力が一定になった後、被験物質 (DMSO 溶液) を累積添加した。なお、血管内皮は剥離したものをを用いた。

その結果、メタノール抽出エキスに内皮非依存的な弛緩作用が認められたことから、主要な成分について検討したところ thunberginol A および B に抑制作用が認められた。この作用は比較対照物質として用いたフラボノイド (quercetin や luteolin) に類似した作用様式であることが判明した。

#### 【1-3: 延命草に関する研究】

延命草の基原は、シソ科ヒキオコシ (*Isodon japonicas*) またはクロバナヒキオコシ (*I. trichocarpus*) の地上部であり、これらの植物は日本全土に広く分布し、山道や丘陵のやや乾いた場所に群生する。古くから胃弱、食欲不振、腹痛、日射病などに効用がある民間薬として広く利用されてきたが、近年の研究で延命草の苦味成分であるジテルペンの enmein, oridonin などに抗菌作用やアポトーシス誘導作用が報告されている。一方で、ヒキオコシの栽培研究や延命草の胃弱、食欲不振、腹痛に対する効果については、検討が不十分である。

本テーマでは、栽培研究として、ヒキオコシの挿し木条件の検討、ヒキオコシを基原とする延命草の含有成分研究、含有成分の抗変異原性作用などについて検討した。また、クロバナヒキオコシの成分研究と薬効評価についても検討を進め、ヒキオコシを基原とする延命草との成分比較などについて検討した。

#### ①ヒキオコシの挿し木条件(挿し床の種類, 挿し穂の太さ, 時期)の検討(主担当: 月岡淳子)

栽培研究として、ヒキオコシの挿し木条件の検討を行った。すなわち、挿し床(用土)は、赤玉土(小粒)100%, 硬質鹿沼土(小粒)100%, 赤玉土:硬質鹿沼土=1:1 の混合土の 3 種類とした。挿し穂は 1 本当りりの節を 2 節に統一し、挿し穂中央部の太さ(垂直 2 方向の平均値)が、3.0 mm 未満, 3.0 mm 以上 5.0 mm 未満, 5.0 mm 以上の 3 種類に分けた。試験開始月を 7, 8, 9 月とし、発根率を調査した。

その結果、赤玉土(小粒)100%, 硬質鹿沼土(小粒)100%, 赤玉土:硬質鹿沼土=1:1 混合土でそれぞれの発根率は 55.9%, 69.7%, 49.3%であった。挿し穂の太さ別の発根率は、3.0 mm 未満で 62.2%, 3.0 mm 以上 5.0 mm 未満で 52.0%, 5.0 mm 以上で 66.7%であった。一般に、硬い茎より

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

も枝先のやわらかい茎を用いた方が発根率は良いとされるが、今回の結果から、挿し木時期、挿し床、鉢上げまでの期間によっては、枝先以外の茎でも発根し、挿し木繁殖に利用できることが分かった。

②ヒキオコシ (*I. japonicus*) 地上部からのテルペノイド成分の単離、構造解析および生物活性<sup>\*7-15</sup> (主担当: 渡辺徹志, 松田久司)

メタボロミクス解析に必要な主要成分の単離・精製を行った。徳島県産ヒキオコシ (*I. japonicus*) のメタノール抽出エキスを酢酸エチル、1-ブタノールおよび水にて溶媒分配し、酢酸エチル移行部を各種カラムクロマトグラフィーおよび HPLC を用いて繰り返し分離精製した。その結果、isodonerpenes I および II と命名した 2 種の新規 *ent*-kaurane 型ジテルペンを単離構造決定するとともに、10 種の既知成分を単離、同定した。得られた新規化合物 isodonerpene I については、良好な結晶を得ることができたため、単結晶 X 線構造解析を適応することで、絶対立体配置を含む化学構造を明らかとした。次に、1-ブタノール移行部を各種カラムクロマトグラフィーおよび HPLC を用いて繰り返し分離精製した。その結果、isodonosides I ~ VI と命名した 6 種の新規リグナン配糖体および isodonomegastigmane I と命名した 1 種の新規メガスチグマン配糖体を単離構造決定するとともに、15 種の既知成分を単離、同定した。得られた新規成分の絶対立体配置は各種誘導化、CD スペクトル、および改良モッシャー法により決定した。

さらに、*ent*-kaurane 型ジテルペンの抗発がん作用を明らかにすることを目的とし、Ames 試験の改良法であるプレインキュベーション法を用いた抗変異原性活性の検討を行った。酢酸エチル可溶分画より得られた化合物について抗変異原性活性の検討を行った結果、*ent*-kaurane 型ジテルペンは Trp-P-1 および PhIP に対し、濃度依存的な抗変異原性を示した。また、ベンゾ[a]ピレン誘発細胞障害に対する保護作用について検討した。すなわち、ヒト繊維肉腫 HT1080 細胞に被験サンプルとベンゾ[a]ピレン (50  $\mu$ M) を加え、20 時間培養し、MTT 法によって細胞生存率を算出した。その結果、数種のメガスチグマン配糖体およびリグナン配糖体に有意な抑制作用を認めた。

③クロバナヒキオコシを基原とする延命草の含有成分の単離と胃粘膜保護作用 (主担当: 松田久司)

クロバナヒキオコシを基原とする延命草の MeOH 抽出エキスの薬効成分についても研究を行った。すなわち、クロバナヒキオコシ (*I. trichocarpa*) の葉部のメタノール抽出エキスを各種カラムクロマトグラフィーおよび逆相 HPLC で繰り返し分離精製し、主要成分として 7 種のジテルペン oridonin, lasiokaurin, longikaurin B, effusanin, dihydroenmein, sculponeatin F, epinodosinol を単離・同定した。

含有成分において、高含量で含む oridonin を除き、ヒキオコシを基原とする延命草とは異なるジテルペンが得られた。また、延命草には健胃作用が伝承されていることからラットにおけるエタノール誘発胃粘膜損傷に対する効果を検討したところ、メタノール抽出や oridonin などに抑制効果を見出した。また、oridonin に 0.6M HCl およびインドメタシン誘発胃粘膜損傷に及ぼす効果を見出すとともに、活性発現に必須な部分構造を明らかにした。

【1-4: 柴胡, 川芎に関する研究】

柴胡と川芎に関しては、学外研究者を主担当に、一部共同研究を実施し、化合物ライブラリーの構築と機能性評価を実施した。

①柴胡サポニンの含有サポニンライブラリーの構築とその機能性評価<sup>\*16-23</sup> (主担当: 森川敏生, 松田久司)

柴胡の含有サポニンライブラリーの構築と、その機能性評価を目的に、現在最も市場性のある中国産 *B. farcatum* について含有成分を探索した。その結果、1 種の新規化合物を含む計 19 種のサポニンを単離した。また、我々はこれまでにミシマサイコの変種のひとつである *B. scorzonerifolium* から、saikosaponin 類など 16 種の既知サポニンを単離・同定するとともに、新規サポニンとして 13 種の bupleuroside 類およびアグリコン部に糖アルコールである adonitol がアグリコン部に結合した特異な構造を有する scorzoneroside A-C を単離・構造決定している。今回、これまで *B. scorzonerifolium* の特徴成分であったと考えられていた scorzoneroside A および B について、中国産 *B. farcatum* からはじめて見いだされるなどの知見を得た。また、含有サポニン成分について、

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

D-galactosamine (GalN) / lipopolysaccharide (LPS) 誘発マウス肝障害に対する作用を検討した結果、主要成分である saikosaponin a, c および d に 10 mg/kg の用量において有意な肝障害抑制活性が認められた。柴胡が配剤される漢方処方のひとつである小柴胡湯は、かつては慢性肝炎および肝機能障害の治療を目的に盛んに用いられたが、インターフェロン製剤との併用による間質性肺炎の副作用が報告されたことから併用禁忌となっている。そのため、肝障害抑制作用が認められたサポニン成分の分子レベルでの作用(あるいは副作用)発現に興味を持たれる。

#### ②川芎の含有成分の研究とその機能性評価\*<sup>24-37</sup>(主担当: 森川敏生)

北海道産川芎の MeOH 抽出エキスに、ddY 系雄性マウスを用いた肝臓中中性脂肪 (TG) 低減作用を見いだした。すなわち、MeOH 抽出エキス 250 mg/kg/day の用量において 3 日間連続投与したところ、有意な肝臓中 TG 量の減少が認められるとともに、連投後の耐糖能試験 (OGTT) における耐糖能改善作用が認められた。また、高濃度グルコース含有培地で培養して TG を蓄積させたヒト肝がん由来 Hep G2 細胞を用いた、細胞内 TG 低減活性を指標に活性寄与成分を探索したところ、これまでに 11 種のフタリド類など、計 20 種の化合物を単離した。これらのうち、senkyunolide G および H に活性を見いだした。

#### <優れた成果が上がった点>

トウキ、アマチャ、ヒキオコシの栽培条件の改善とそれらから調製される当帰、甘茶、延命草に関する成分研究の解明や成分変動、*in vitro* 試験および動物実験で薬効の一部を解明することができた。特に、これまで当帰エキスでは明確な薬理作用が明らかになっていなかったが、今回、有効成分の解明や複合作用に関する研究を継続する上で、有用な知見を得ることができた。柴胡と川芎についても化合物ライブラリーの構築と新規機能性の解明ができた。

#### <課題となった点>

当初の計画であった薬効評価に基づく優良品種の選別および遺伝子プロファイルの構築については達成できなかった。

この理由として、種々検討したにもかかわらず、伝承薬効に基づいた明確な薬理実験結果を得るのに日数がかかったため、採集場所や採集時期が明確な研究材料を数多く確保するのに手間取ったこと、および含有成分の量的な確保が不十分であったため、薬理試験の実施に遅れが生じたためである。遺伝子解析に関しては、専門家からアドバイスを受けながら実施したが、まとまった報告をするまでには至らなかった。

#### <自己評価の実施結果と対応状況>

- 平成 27 年 11 月に開催したキックオフシンポジウムの後に学内評価者から次の指摘があった。
- 品種の選別は重要であることは当然であるが、栽培条件の違いによる成分変動の方が大きい可能性がある。
  - トウキの研究は日本各地で研究されており、独創的な研究が困難でないか。  
そこで、トウキ、アマチャおよびヒキオコシに関しては栽培方法の改善と薬効解明に重点を置いた。特に、トウキの収穫には 2 年かかることから、報告例のない促成栽培の研究を実施した。

平成 30 年 3 月に実施した成果報告会後の内部評価者からの評価は以下のとおりである。

- 優良品種の選別や遺伝子プロファイルの構築については十分に達成されていないが、若手研究者の育成がされている。他の薬用植物園などとの交流や生薬標本の整備、拡充などの生薬研究環境の改善が認められる。
- 学内研究者間の共同研究についてはそれぞれの分野の特徴を生かした共同研究が行われ、多くの興味深い学際的な成果が得られている。しかし、学外研究者との共同研究は成果が乏しい。  
総合的な見解として、本研究は和薬の確保・供給に着目して、独創的研究を展開し、意義ある成果を得ている。

#### <外部(第三者)評価の実施結果と対応状況>

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

成果報告会に外部評価者 2 名を招待し、評価を依頼した。また、成果報告会の後の意見交換会においても同様のコメントがあった。

- a) 目的に優良生薬の生産を掲げているが、対象植物を生薬として仕上げるには数年を要するため、論文としての成果物には至っていない。しかしながら、基礎データは得られており、当初目的はほぼ達成されていると思われる。引き続きの検討に期待する。
- b) 本分野において成分分析、薬理作用の研究例は多数あるが、近年、栽培研究は珍しい。また異分野研究者による主成分の合成研究や遺伝子解析、定量 NMR など新しい科学技術を積極的に取り入れた研究体制は注目に値する。
- c) 学外研究者との共同研究が乏しい。

総合的な見解として、研究に時間を要し繰り返し実験が難しい栽培研究を含む研究体制でありながら、短期間で成果を上げている。成果個々については十分といえないものもあるが、概ね良好と判断する。

#### <研究期間終了後の展望>

当帰、甘茶、延命草などの成分研究や薬効解明とその基原植物の栽培に関してこれまでの取り組みをまとめて報告した。平成 29 年度で本基盤形成事業は終了であるが、いずれも道半ばの状況である。今後、本事業で形成した取組やネットワークを継続発展させ、優良な生薬の生産につながる研究を継続することによって、地域社会に貢献したいと考えている。

#### <研究成果の副次的効果>

本事業を遂行するにあたり、研究試料の入手に関して京都府内の薬用植物園や奈良県薬事研究センター等の協力を得ることができ、互いに交流を深めることができた。さらには異なる研究領域の研究者の垣根を越えて互いに交流し共同研究を遂行し、大学院生や若手研究者の育成に貢献することができた。例えば、初年度に研究協力者であった大学院生 2 名が、現在、本学および他大学の助教として、研究員 1 名が本学の助教として研究と教育で活躍している。

また、約 6,000 種の生薬標本の中から、伊藤 謙博士(大阪大学総合博物館)の協力により、貴重な標本の選別を行うことができ、新しく設置された標本室への移転が完了した。

12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- |                 |                  |                 |
|-----------------|------------------|-----------------|
| (1) <u>優良和薬</u> | (2) <u>薬用植物</u>  | (3) <u>栽培研究</u> |
| (4) <u>民間薬</u>  | (5) <u>国産化</u>   | (6) <u>トウキ</u>  |
| (7) <u>アマチャ</u> | (8) <u>ヒキオコシ</u> |                 |

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには\*を付すこと。

#### <雑誌論文>

##### 総説

- 1) 松田久司, 吉川雅之: 抗肥満活性を持つ天然物の探索と機能解析. *FOODS & FOOD INGREDIENTS JOURNAL OF JAPAN*, **221**(2), 100-110 (2016).
- 2) Hisashi Matsuda, Seikou Nakamura, Masayuki Yoshikawa: Degranulation inhibitors from medicinal plants in antigen-stimulated rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells. *Chem. Pharm. Bull.*, **64**, 96-103 (2016).

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

- 3) Hisashi Matsuda, Seikou Nakamura, Toshio Morikawa, Osamu Muraoka, Masayuki Yoshikawa: New biofunctional effects of the flower buds of *Camellia sinensis* and its bioactive acylated oleanane-type triterpene oligoglycosides. *J. Nat. Med.*, **70**, 689–701 (2016).
- 4) Hisashi Matsuda, Seikou Nakamura, Masayuki Yoshikawa: The chemical constituents and pharmacological / biofunctional effects of ginger. *JAS4QL*, **3**(2) 1: 1–12 (2017).

#### 原著論文

- 1) Kenji Suzuki, Hiroki Iwasaki, Reika Domasu, Naho Hitotsuyanagi, Yuka Wakizaka, Mao Tominaga, Naoto Kojima, Minoru Ozeki, Masayuki Yamashita: Construction of pyrrolophenanthridinone scaffolds mediated by samarium(II) diiodide and access to natural product synthesis. *Tetrahedron*, **71**, 5513–5519 (2015). (審査有)
- 2) Kenji Suzuki, Hiroki Iwasaki, Fumihito Ichiyoshi, Mao Tominaga, Naoto Kojima, Minoru Ozeki, Masayuki Yamashita: Synthesis of 3-ethenylindoles via intramolecular cyclization of aryl radical with allene generated by samarium(II) diiodide. *Heterocycles*, **91**, 1244–1255 (2015). (審査有)
- 3) Toru Tanaka, Takuya Miura, Shoki Inoue, Hiroki Iwasaki, Minoru Ozeki, Naoto Kojima, Masayuki Yamashita: Skeletal transformation of  $\alpha$ -pyrones having electron-withdrawing groups at 3,5-positions into ring-fused dihydrofurans. *Tetrahedron Lett.*, **56**, 6327–6331 (2015). (審査有)
- 4) Toru Tanaka, Masaki Nagahama, Navnath Dnyanoba Yadav, Hiroki Iwasaki, Minoru Ozeki, Naoto Kojima, Masayuki Yamashita: Reaction of 2a,8b-dihydrobenzo[b]cyclobute[d]pyran-3-ones with dimethylsulfoxonium methylide. *Chem. Pharm. Bull.*, **64**, 1056–1061 (2016). (審査有)
- 5) Toru Tanaka, Masaki Nagahama, Navnath Dnyanoba Yadav, Hiroki Iwasaki, Minoru Ozeki, Naoto Kojima, Masayuki Yamashita: Skeletal transformation of 2a,8b-dihydrobenzo[b]cyclobute[d]pyran-3-ones into dihydrodibenzofurans. *Heterocycles*, **92**, 1665–1673 (2016). (審査有)
- 6) Takahiro Matsumoto, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Tomoe Ohta, Keiko Ogawa, Masashi Fukaya, Junko Tsukioka, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe, Hisashi Matsuda: Neolignan and megastigmane glucosides from the aerial parts of *Isodon japonicus* with cell protective effects on BaP-induced cytotoxicity. *Phytochemistry*, **137**, 101–108 (2017). <sup>\*7)</sup> (審査有)
- 7) Takahiro Matsumoto, Seikou Nakamura, Naoto Kojima, Tomohiro Hasei, Masayuki Yamashita, Tetsushi Watanabe, Hisashi Matsuda: Antimutagenic activity of *ent*-kaurane diterpenoids from the aerial parts of *Isodon japonicas*. *Tetrahedron Lett.*, **58**, 3574–3578 (2017). <sup>\*8)</sup> (審査有)
- 8) Makoto Ohigashi, Miyuki Kobara, Tamotsu Takahashi, Hiroe Toba, Takehiko Wada, and Tetsuo Nakata: Pitavastatin suppresses hyperglycaemia-induced podocyte injury via bone morphogenetic protein-7 preservation. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **44**, 378–385 (2017). (審査有)
- 9) 矢作忠弘, 石内勘一郎, 渥美聡孝, 三宅克典, 森永 紀, 伏見裕利, 大山雅義, 森川敏生, 田中謙, 有田正規, 有田正規, 牧野利明: 歴代教科書・解説書に見られる生薬の効能に関する記載のデータベース化(1). *生薬学雑誌*, **71**, 1–19 (2017). (審査有)



法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

- 10) 矢作忠弘, 石内勘一郎, 渥美聡孝, 三宅克典, 森永 紀, 伏見裕利, 大山雅義, 森川敏生, 田中謙, 有田正規, 有田正規, 牧野利明: 歴代教科書・解説書に見られる生薬の効能に関する記載のデータベース化(2). *生薬学雑誌*, **71**, 20–36 (2017). (審査有)
- 11) Souichi Nakashima, Seikou Nakamura, Takuya Iwamoto, Yui Masukawa, Yuika Emi, Ayako Ohta, Nami Nomura, Hisashi Matsuda: Vasorelaxant Effects of Methanolic Extract and Principal Constituents of Sweet *Hydrangea* Leaf on Isolated Rat Aorta. *JAS4QoL*, **4**(1), 2:1–6 (2018).<sup>\*5)</sup> (審査有)
- 12) 中嶋聡一, 砥上宏子, 森浦俊次, 中村誠宏, 河村友惟, 富永杏子, 松田久司: ポタン (*Paeonia suffruticosa*) 花部に含まれる apigenin の HDF 細胞におけるコラーゲン生成促進作用. *Fragrance Journal*, **2018-1**, 49–51 (2018). (審査有)

#### 紀要

- 1) 伊藤 謙: 東方文化事業 “上海自然科学研究所”の漢方生薬研究 : 中尾萬三蒐集・満洲生薬標本, *東洋文化研究所紀要*, **171**, 349–372 (2017)(審査有)

#### <図書>

- 1) 松田久司 (分担執筆): スタンダード薬学シリーズII 3 化学系薬学 III. 自然が生み出す薬物, 日本薬学会(編), 東京化学同人, pp. 252–262, 280–287 (2016).
- 2) 松田久司, 吉川雅之: 第 13 章 ショウガの生体機能. *食品シリーズ 日本食およびその素材の健康機能性開発*, 矢澤一良監修, pp. 234–243 (2016).

#### <学会発表>

- 1) 杉木壮吉, 岩崎宏樹, 鈴木健司, 脇坂友香, 富永真央, 小関 稔, 小島直人, 山下正行: ヨウ化サマリウムを用いた pyrrolophenanthridinone 骨格形成反応の開発. 第 35 回有機合成若手セミナー 明日の有機合成を担う人のために (京都), 2015. 8.
- 2) 塩谷美幸, 二宮清文, 尾関快天, 松尾菜都子, 森川敏生. 川芎 (*Cnidium officinale*, 根茎) の機能性成分(3) -含有フタリド成分の一酸化窒素産生抑制活性-. 第 32 回和漢医薬学会大会 (富山), 2015. 8. <sup>\*24)</sup>
- 3) Kiyofumi Ninomiya, Miyuki Shiotani, Chie Sakai, Toshio Morikawa. Phtalide constituents from rhizomes of *Cnidium officinale* with triglycelide metabolism-promoting activity in high glucose-pretreated HepG2 cells. *Inaugural Symposium of the Phytochemical Society of Asia 2015 (ISPSA2015)(Tokushima, Japan)*, 2015. 8. <sup>\*25)</sup>
- 4) 富永真央, 岩崎宏樹, 鈴木健司, 市吉文仁, 小関 稔, 小島直人, 山下正行: ヨウ化サマリウムを用いた 3-ethenylindole 合成法の開発. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015. 10.
- 5) 北井佳奈子, 栗林英里, 安達未稀, 岩井佑未南, 田中 徹, 小関 稔, 岩崎宏樹, 小島直人, 山下正行: 5,6-二置換-3-アルコキシカルボニル- $\alpha$ -ピロン体とオレフィンの光[2+2]環化付加反応. 第65回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015. 10.
- 6) 岡本恭輔, 箆 由布子, 細井信造, 小島直人, 岩崎宏樹, 山下正行: ビナフチル型CD 発色試薬の改良合成法について. 第65回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015. 10.
- 7) Takuya Konno, Kiyofumi Ninomiya, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda, Toshio Morikawa:

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

- Hepatoprotective triterpene saponins from roots of *Bupleurum falcatum*. 7th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference (Taipei, Taiwan), 2015. 10. \*<sup>16)</sup>
- 8) Kiyofumi Ninomiya, Chie Sakai, Miyuki Shiotani, Toshio Morikawa. Phthalides from rhizomes of *Cnidium officinale* as new leads for fatty liver therapeutic candidates. 7th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference (Taipei, Taiwan), 2015. 10. \*<sup>26)</sup>
- 9) 二宮清文, 酒井千恵, 塩谷美幸, 森川敏生. センキュウ (*Cnidium officinale*, 根茎) の肝脂肪低減作用成分の探索. 第 36 回日本肥満学会 (名古屋), 2015. 10. \*<sup>27)</sup>
- 10) 今野拓哉, 二宮清文, 吉川雅之, 松田久司, 森川敏生. ミシマサイコ (*Bupleurum falcatum* L.) 根部の肝障害抑制活性成分. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015. 10. \*<sup>17)</sup>
- 11) 杉木壮吉, 岩崎宏樹, 鈴木健司, 脇阪友香, 富永真央, 小長井英恵, 小関 稔, 小島直人, 山下正行: Sml<sub>2</sub>を用いた新規 pyrrolophenanthridinone 骨格形成反応の開発. 第 45 回複素環化学討論会 (東京), 2015. 11.
- 12) 砥上宏子, 森浦俊次, 中嶋聡一, 中村誠宏, 河村友惟, 富永杏子, 吉川雅之, 松田久司: ボタン (*Paeonia suffruticosa*) 花部のコラーゲン生成促進作用. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016. 3.
- 13) 田中 徹, 井上将綺, 田邊佑季, 三浦拓也, Navnath Dnyanoba YADAV, 岩崎宏樹, 小島直人, 小関 稔, 山下正行: 3,5 位に電子吸引性基をもつ  $\alpha$ -ピロンの骨格変換反応. 日本薬学会 第 136 年会 (横浜), 2016. 3.
- 14) 堀 直人, 田中 徹, 白井那央子, 三浦拓也, 岩崎宏樹, 小島直人, 小関 稔, 山下正行: 分子内 Curtius 転位による 7 員環ラクタムの合成研究. 日本薬学会 第 136 年会 (横浜), 2016.3.
- 15) 中島智世, 岩崎宏樹, 富永真央, 小関 稔, 小島直人, 山下正行: Sml<sub>2</sub>を用いた pyrrolophenanthridinone 骨格形成反応の開発と誘導体合成. 日本薬学会 第 136 年会 (横浜), 2016.3.
- 16) 杉木壮吉, 岩崎宏樹, 鈴木健司, 脇阪友香, 小関 稔, 小島直人, 山下正行: Sml<sub>2</sub>を用いたラジカルイプソ置換型反応の検討と天然物合成への展開. 日本薬学会 第 136 年会 (横浜), 2016. 3.
- 17) 二宮清文, 塩谷美幸, 尾関快天, 松尾菜都子, 森川敏生. 川芎 (*Cnidium officinale*, 根茎) の抗炎症作用成分. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016. 3. \*<sup>28)</sup>
- 18) 矢作忠弘, 渥美聡孝, 三宅克典, 石内勘一郎, 森永 紀, 伏見裕利, 大山雅義, 森川敏生, 有田正規, 田中 謙, 牧野利明. 歴代成書にある生薬の効能に関する記載のデータベース化. 日本薬学会 第 136 年会 (横浜), 2016. 3.
- 19) Kiyofumi Ninomiya, Chie Sakai, Kumi Ninomiya, Miyuki Shiotani, Toshio Morikawa. Phthalides from rhizomes of *Cnidium officinale* accelerate metabolism of triglyceride in hepatocytes. 9th Joint Natural Products Conference 2016 (JNPC2016)(Copenhagen, Denmark), 2016. 7. \*<sup>29)</sup>
- 20) Takuya Konno, Kiyofumi Ninomiya, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda, Toshio Morikawa. Triterpene saponin constituents from roots of *Bupleurum falcatum*: Hepatoprotective effects on D-galactosamine-induced cell damage. 9th Joint Natural Products Conference 2016 (JNPC2016)(Copenhagen, Denmark), 2016. 7. \*<sup>18)</sup>
- 21) 岩崎宏樹, 井上暁斗, 小畑久美, 小関 稔, 小島直人, 山下正行: ヨウ化サマリウムを用いた新規 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体の合成検討. 第 36 回有機合成若手セミナー. 明日の有機合成を担う人のために (京都), 2016. 8.
- 22) 河村友惟, 中嶋聡一, 森浦俊次, 砥上宏子, 中村誠宏, 松田久司: ボタン花部成分アピゲニンのコラーゲン生成促進作用. 第 33 回和漢医薬学会学術大会 (東京), 2016. 8.

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

- 23) 二宮 与, 二宮清文, 酒井千恵, 塩谷美幸, 森川敏生. 川芎 (*Cnidium officinale*, 根茎) の耐糖能改善作用物質. 第 33 回和漢医薬学会学術大会 (東京), 2016. 8. \*<sup>30)</sup>
- 24) 今野拓哉, 二宮清文, 矢田佳凜, 森川敏生. 柴胡含有サポニン成分の肝細胞内中性脂肪低減活性成分. 第 33 回和漢医薬学会学術大会 (東京), 2016. 8. \*<sup>19)</sup>
- 25) Seikou Nakamura, Zhibin Wang, Souichi Nakashima, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Cyanogenetic Glycosides from the Leaves and Stems of *H. macrophylla* and the Flowers of *H. macrophylla* var. *thunbergii*. International Symposium on Natural Products for the Future 2016 Tokushima (Tokushima), 2016. 9.
- 26) Kiyofumi Ninomiya, Takuya Konno, Karin Yada, Toshio Morikawa. Triterpene saponins from roots of *Bupleurum falcatum* with triglyceride metabolism-promoting activity in high glucose-pretreated HepG2 cells. International Symposium on Natural Products for the Future 2016 Tokushima (Tokushima), 2016. 9. \*<sup>20)</sup>
- 27) 松本崇宏, 中村誠宏, 齋藤菜月, 川添智子, 長谷井友尋, 月岡淳子, 渡辺徹志, 松田久司: ヒキオコシ地上部からの抗変異原性成分探索研究. 日本生薬学会 第 63 回年会富山 2016 (富山), 2016. 9. \*<sup>9)</sup>
- 28) 中村誠宏, 岸本真里子, 中嶋聡一, 松本崇宏, 関家聡美, 松田久司: ベンゾ[a]ピレン誘発細胞障害に対する保護物質の探索② —ヒキオコシ含有成分の保護作用—. 日本生薬学会 第 63 回年会富山 2016 (富山), 2016. 9. \*<sup>10)</sup>
- 29) 二宮清文, 今野拓哉, 矢田佳凜, 森川敏生. サイコ (*Bupleurum falcatum* L.) の肝細胞内中性脂肪代謝作用. 日本生薬学会 第63回年会富山2016 (富山), 2016. 9. \*<sup>21)</sup>
- 30) 岩崎宏樹, 澤村隆志, 井上暁斗, 小畑久美, 小関 稔, 小島直人, 山下正行: ヨウ化サマリウムを用いた新規 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体合成法の開発. 第 46 回複素環化学討論会 (金沢), 2016. 9.
- 31) 古川香矢, 中嶋聡一, 中村誠宏, 松本崇宏, 関家聡美, 岸本真里子, 松田久司: ベンゾ[a]ピレン誘発細胞障害に対するヒキオコシの保護作用物質. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016. 10. \*<sup>11)</sup>
- 32) 岩本拓也, 中嶋聡一, 中村誠宏, 増川悠衣, 江見結花, 野村奈美. 松田久司: アマチャの血管平滑筋弛緩作用成分. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016. 10. \*<sup>6)</sup>
- 33) 岩崎宏樹, 井上暁斗, 小畑久美, 小関 稔, 小島直人, 山下正行: ヨウ化サマリウムを用いた 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体合成法の開発検討. 第 66 回日本薬学会近畿総会・大会 (大阪), 2016.10
- 34) 中嶋聡一, 中村誠宏, 松田久司: 老化によるアルツハイマー病治療を目指した神経細胞分化促進作用物質の探索. 第 21 回天然薬物の開発と応用シンポジウム (千葉), 2016. 10.
- 35) 二宮清文, 二宮 与, 酒井千恵, 塩谷美幸, 森川敏生. センキュウの肝臓中脂肪低減を介した耐糖能改善作用. 第 37 回日本肥満学会 (熊本), 2016. 10. \*<sup>31)</sup>
- 36) Takuya Konno, Kiyofumi Ninomiya, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda, Toshio Morikawa. Hepatoprotective triterpene saponin constituents from roots of *Bupleurum falcatum*. The 12th International Conference on Protein Phosphatase (ICPP12)(Osaka, Japan), 2016. 10. \*<sup>22)</sup>
- 37) 松田久司: 伝承薬物を素材としたメタボリックシンドローム予防物質の探索. 第 53 回 植物化学シンポジウム「ファイトケミカル植物分子科学」(千葉), 2016. 12.
- 38) 渡部裕介, 大畑佳織, 深野木文香, 藤本直人, 松本万瑠里, Naseratun Nessa, 鳥羽裕恵, 小原幸, 中田徹男: DOCA 食塩負荷高血圧モデルラットにおける flaxseed の降圧効果および作用機序の

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

- 検討. 第 26 回日本循環薬理学会 (長野), 2016. 12.
- 39) 中田葵, 中村誠宏, 中嶋聡一, 笠香織, 山添晶子, 松本朋子, 太田智絵, 小川慶子, 深谷匡, 月岡淳子, 松田久司: ショウガ (*Zingiber officinale*) の主要成分 [6]-gingerol の絶対立体配置の確認およびその誘導体の抗炎症作用. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017. 3.
- 40) 松本崇宏, 中村誠宏, 川添智子, 長谷井友尋, 松田久司, 渡辺徹志: ヒキオコシ (*Isodon japonicus*) 地上部からの抗変異原性成分の探索研究. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017. 3. \*12)
- 41) 平田優里, 田中 徹, 栗林英理, 武知理菜子, 安達未稀, 北井佳奈子, 岩井佑未南, 山田裕平, 山西涼菜, 小島直人, 岩崎宏樹, 山下正行: 2-oxo-2H-pyran-3-carboxylate 体とアルケンの[2+2]光環化付加反応による 2-oxo-3-oxabicyclo[4.2.0]oct-4-ene-1-carboxylate 体の合成. 日本薬学会 第 137 年会 (仙台), 2017. 3.
- 42) 井上暁斗, 岩崎宏樹, 畑中彩花, 謝 一成, 小畑久美, 小関 稔, 小島直人, 山下正行: アルキンをラジカル受容体とした新規 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体合成法の開発. 日本薬学会 第 137 年会 (仙台), 2017. 3.
- 43) 二宮清文, 二宮 与, 酒井千恵, 塩谷美幸, 森川敏生. センキュウ (*Cnidium officinale*, 根茎) の耐糖能改善作用成分の探索. 第 34 回和漢医薬学会大会 (福岡), 2017. 8. \*32)
- 44) 宮坂賢知, 二宮清文, 塩谷美幸, 森川敏生. センキュウ (*Cnidium officinale*, 根茎) の糖消費促進活性成分の探索. 第 34 回和漢医薬学会大会 (福岡), 2017. 8. \*33)
- 45) 二宮清文, 宮坂賢知, 塩谷美幸, 二宮 与, 酒井千恵, 森川敏生. 川芎の耐糖能改善作用成分. 日本生薬学会第 64 回年会 (千葉), 2017. 9. \*34)
- 46) 夏目若菜, 岩崎宏樹, 山中三佳, 小島直人, 山下正行: 酸化剤を用いない新規 isoquinoline N-oxide 合成法の開発. 第67回日本薬学会近畿支部 (兵庫), 2017. 10.
- 47) 二宮清文, 宮坂賢知, 塩谷美幸, 山本紗也, 森川敏生. センキュウ (*Cnidium officinale*, 根茎) の糖消費促進活性成分の探索. 第67回日本薬学会近畿支部 (兵庫), 2017. 10. \*35)
- 48) 二宮清文, 山本紗也, 塩谷美幸, 森川敏生. センキュウ (*Cnidium officinale*, 根茎) の新規芳香族化合物. 第67回日本薬学会近畿支部 (兵庫), 2017. 10. \*36)
- 49) 松本崇宏, 中村誠宏, 小島直人, 長谷井友尋, 山下正行, 松田久司, 渡辺徹志: テルペノイドに着目した抗遺伝毒性成分の探索研究. 第7回食品薬学シンポジウム (京都), 2017. 10. \*13)
- 50) 松本崇宏, 中村誠宏, 小島直人, 長谷井友尋, 山下正行, 松田久司, 渡辺徹志: テルペノイドに着目した抗変異原性成分の探索研究. 日本環境変異原学会第46回大会 (東京), 2017. 11. \*14)
- 51) 井上暁斗, 岩崎宏樹, 小畑久美, 内田 量, 小島直人, 山下正行: アルキンをラジカル受容体とした新規2-トリフルオロメチルインドリン誘導体合成法の開発. 第43回反応と合成の進歩シンポジウム (富山), 2017. 11.
- 52) 渡部裕介, 鳥羽裕恵, Naseratun Nessa, 小原 幸, 中田徹男: ADAMTS1 は DOCA 食塩負荷高血圧ラットの腎臓で線維化を促進させる. 第 27 回日本循環薬理学会 (名古屋), 2017. 12.
- 53) 宮坂賢知, 二宮清文, 二宮 与, 酒井千恵, 塩谷美幸, 森川敏生. 川芎 (*Cnidium officinale*, 根茎) の糖代謝改善作用成分. 日本農芸化学会 2018 年度大会 (名古屋), 2018. 3. \*37)
- 54) 酒井悠太, 深谷 匡, 月岡淳子, 中村誠宏, 松岡史郎, 菱田敦之, 川原信夫, 松田久司: 育苗期間を短縮したトウキ (*Angelica acutiloba*) の開発研究 -栽培研究およびリグスチリドの定量分析-. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3. \*1)
- 55) 松田久司, 月岡淳子, 中嶋聡一, 深谷 匡, 安達勇之介, 植村紗也, 村上穂波, 眞野みのり, 武上茂彦, 川田奈美, 北出達也, 中村誠宏: アマチャの採取時期による RBL-2H3 細胞を用いた脱顆粒抑制

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

<p>効果の差. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3. *<sup>3)</sup></p> <p>56) 中嶋聡一, 住田将也, 門 麻衣子, 島田あつみ, 井上 知紘, 中村誠宏, 中村早紀, 吉川佳那, 岩崎宏樹, 山下正行, 松田久司: 甘茶含有イソクマリン類および誘導体のアルドースレダクターゼ阻害作用および赤血球内ソルビトール蓄積抑制作用. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3. *<sup>4)</sup></p> <p>57) 笠香織, 中村誠宏, 中田 葵, 松本朋子, 中嶋聡一, 小川慶子, 深谷 匡, 月岡淳子, 松田久司: ショウガ (<i>Zingiber officinale</i>) 主要成分 [6]-Gingerol の絶対立体構造の違いによる活性評価. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3.</p> <p>58) 米田太一, 中村誠宏, 松本朋子, 田中 葵, 松村桐子, 村上穂波, 中嶋聡一, 松田久司: 3 位水酸基の立体配置に着目した天然薬物由来ポリヒドロキシトリテルペンの単離, 誘導体合成および活性比較研究. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3.</p> <p>59) 松本崇宏, 中村誠宏, 川添智子, 長谷井友尋, 松田久司, 渡辺徹志: ヒキオコシ (<i>Isodon japonicus</i>) 地上部含有成分の抗変異原性評価. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3. *<sup>15)</sup></p> <p>60) 二宮清文, 赤木 駿, 今野拓哉, 森川敏生. サイコ (<i>Bupleurum falcatum</i> L.) 含有サポニン成分の抗 TNF-<math>\alpha</math> 作用. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3. *<sup>23)</sup></p> <p>61) 川田奈実, 武上茂彦, 小西敦子, 中村誠宏, 松田久司, 北出達也. 定量 NMR を用いたアマチャの主要成分の純度分析. 第 78 回分析化学討論会 (山口), 2018. 5. *<sup>2)</sup></p>
--

#### <研究成果の公開状況>(上記以外)

<p>シンポジウム・学会等の実施状況, インターネットでの公開状況等</p> <p>&lt;既に実施しているもの&gt;</p> <p>1) 平成 27 年度～平成 29 年度文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「優良和薬の確保・供給のための研究」キックオフシンポジウム (京都), 平成 27 年 11 月</p> <p>2) 平成 27 年度～平成 29 年度 文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「優良和薬の確保・供給のための研究」成果報告会 (京都), 平成 30 年 3 月</p> <p>以下の URL にて研究成果の概要を公開中である.</p> <p><a href="http://labo.kyoto-phu.ac.jp/syoyaku/yuryowayaku/index.html">http://labo.kyoto-phu.ac.jp/syoyaku/yuryowayaku/index.html</a></p> <p>&lt;これから実施する予定のもの&gt;</p> <p>今後, シンポジウム・学会および学術論文で発表した内容を上記 URL にて随時公表の予定.</p> <p>学会発表予定:</p>
---

#### 14 その他の研究成果等

--

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項及び対応

<「選定時」に付された留意事項>

該当なし

<「選定時」に付された留意事項への対応>

<「中間評価時」に付された留意事項>

中間評価に該当するものなし

<「中間評価時」に付された留意事項への対応>

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

16

(千円)

年度・区分	支出額	内 訳						備考
		法人負担	私学助成	共同研究機関負担	受託研究等	寄付金	その他( )	
平成27年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	5,241	1,827	3,414				
	研究費	20,759	10,938	9,821				
平成28年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	20,612	11,731	8,881				
平成29年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	22,233	12,224	10,009				
総額	施設	0	0	0	0	0	0	
	装置	0	0	0	0	0	0	
	設備	5,241	1,827	3,414	0	0	0	
	研究費	63,604	34,893	28,711	0	0	0	
総計	68,845	36,720	32,125	0	0	0	0	

《施設》(私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。)(千円)

施設の名 称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体
薬用植物園 S棟 創業科学フロンティア研究センター	昭和42年度	13,016m <sup>2</sup>	7	2			
	昭和63年度	697m <sup>2</sup>	23	6			
	平成11年度	578m <sup>2</sup>	13	17			

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

17

※ 私学助成による補助事業として行った新增築により、整備前と比較して増加した面積

0 m<sup>2</sup>

《装置・設備》(私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。)(千円)

装置・設備の名称	整備年度	型番	台数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置)							
500MHZ NMR 分子構造設計システム	平成6年度	JNM-LA500	1	4,200 h			私学助成
多核種核磁気共鳴測定装置	平成14年度	INOVA 400HF型	1	225 h			私学助成
プロテオミクス分子リガンド微量分子構造解析システム	平成18年度	JNM-ECA600K型	1	7,475 h	46,777	23,388	私学助成
FT-NMR装置	平成25年度	JNM-ECS400	1	200 h	23,514	11,757	私学助成
円二色性分散計	平成26年度	J-1500-450STG	1	120 h	17,424	0	
(研究設備)							
マルチ分取HPLCシステム	平成27年度	LC-Forte	1	2,200 h	5,241	3,414	私学助成
				h			
				h			
				h			
				h			
(情報処理関係設備)				h			
				h			
				h			
				h			

## 18 研究費の支出状況

研究費の支出状況 テーマ1 (千円)

年度	平成 27 年度				
小科目	支出額	積算内訳			
		主な用途	金額	主な内容	
教育研究経費支出					
消耗品費					
光熱水費					
通信運搬費					
印刷製本費					
旅費交通費	212	学会及び研究会参加	212	日本薬学会近畿支部総会 他	
報酬・委託料 (研究費)	14,233	実験材料、実験器具、試薬	14,233	試薬(4,720)、実験用具(6,948)、その他(2,564)	
計	14,445		14,445		
アルバイト関係支出					
人件費支出 (兼務職員)	582		582	時給1,000円、年間時間数441時間	
教育研究経費支出				実人数1人	
計	582		582		
設備関係支出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)					
教育研究用機器備品	5,730	研究用機器	5,730	超低温槽他	
図書					
計	5,730		5,730		
研究スタッフ関係支出					
リサーチ・アシスタント					
ポスト・ドクター					
研究支援推進経費					
計	0				



法人番号	261006
プロジェクト番号	S1512003L

研究費の支出状況 テーマ1 (千円)

年度	平成 28 年度			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な用途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費				
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費	494	学会及び研究会参加	494	日本薬学会第137年会他
報酬・委託料 (研究費)	14,781	実験材料、実験器具、試薬	14,781	試薬(4,353)、実験用具(9,409)、その他(1,019)
計	15,275		15,275	
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	415		415	時給1,000円、年間時間数315時間
教育研究経費支出				実人数1人
計	415		415	
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	4,920	研究用機器	4,920	フーリエ変換赤外分光光度計他
図書				
計	4,920		4,920	
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

研究費の支出状況 テーマ1 (千円)

年度	平成 29 年度			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な用途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費				
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費	418	学会及び研究会参加	418	日本薬学会第138年会他
報酬・委託料 (研究費)	21,568	実験材料、実験器具、試薬	21,568	試薬(8,816)、実験用具(12,450)、その他(301)
計	21,986		21,986	
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)				
教育研究経費支出				
計	0		0	
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	247	研究用機器	247	真空ポンプ
図書				
計	247		247	
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

平成 27 年度～平成 29 年度文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業  
「優良和薬の確保・供給のための研究」成果報告に対する評価票（1）

（評価者）

所属・職名：奈良県薬事研究センター 所長

氏名：塩田 裕徳

評価及びコメント（各項目について、該当する評価（S, A, B, C）に○をつけてください。

評価の項目		評価		評価コメント
I	研究の進捗状況	S		当帰，甘茶，ヒキオコシの3和薬について，栽培条件の検討から，成分研究，薬理活性試験に至るまで，一貫した研究が，当初の計画どおり進んでいる． 伝統和薬は，天産物であり採取時期，場所，乾燥などの修治方法など，様々な影響要因があり，遺伝子プロファイルまでの構築は難しいと考えられることから，今後の課題とされたことはやむを得ない．
	当初の計画を達成できているか	A	○	
		B		
		C		
II	共同研究の取組状況	S		学外研究者との共同研究の取組が不充分である．
	異分野との共同研究のための取組がされたかどうか 学外研究者との連携	A		
		B	○	
		C		
III	副次的な効果	S		若手育成は，研究協力者として記載された栽培担当，研究員，大学院生の6名を対象にしていると思われるが，その者が，どの研究に携わったのか，報告書で明らかにすることが望ましい． 研究環境整備をされた，分析設備・装置は，本報告においても重要な役割を担っており，貢献されている． 得られた成果は，有益な成果であり，コミュニティへ積極的にフィードバックされることを期待する．
	若手育成や研究環境整備などへ貢献しているか 得られた成果が関連コミュニティへ貢献しているか	A	○	
		B		
		C		
総合評価	I～IIIの総合評価	S		3年と短期間にも関わらず，多種類の和薬について，栽培から薬理に至るまで幅広く結果を出されたことは高く評価する．特に，成分分析では，qNMRを用いた成分解析による産地決定や純度決定を行っており，今後の成果にも期待する．また，薬効に裏付けされた優良品種の選抜や遺伝子プロファイルの構築は，高品質でかつ優良な生薬
		A	○	
		B		
		C		

			の生産には欠かせない研究であることから、今後も継続的な研究が行われることを希望する。
--	--	--	--

(評価の区分)

- S 優れている
- A 良好である
- B 改善する余地がある
- C 改善する必要がある

平成 27 年度～平成 29 年度文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業  
「優良和薬の確保・供給のための研究」成果報告に対する評価票（2）

（評価者）

所属・職名：岐阜薬科大学 薬草園研究室・教授 （薬草園園長）

氏名：酒井 英二

評価及びコメント（各項目について、該当する評価（S, A, B, C）に○をつけてください。

評価の項目		評価		評価コメント
I	研究の進捗状況	S		目的に優良生薬の生産を掲げているが、対象植物を生薬として仕上げるには数年を要するため、論文としての成果物には至っていない。しかしながら、基礎データは得られており、当初目的はほぼ達成されていると思われる。引き続きの検討に期待する。
	当初の計画を達成できているか	A	○	
		B		
		C		
II	共同研究の取組状況	S	○	本分野において成分分析、薬理作用の研究例は多数あるが、近年、栽培研究は珍しい。また異分野研究者による主成分の合成研究や遺伝子解析、定量 NMR など新しい科学技術を積極的に取り入れた研究体制は注目に値する。
	異分野との共同研究のための取組がされたかどうか 学外研究者との連携	A		
		B		
		C		
III	副次的な効果	S		
	若手育成や研究環境整備などへ貢献しているか 得られた成果が関連コミュニティへ貢献しているか	A	○	
		B		
		C		
総合評価	I～III の総合評価	S		研究に時間を要し繰り返し実験が難しい栽培研究を含む研究体制でありながら、短期間で成果を上げる。成果個々については十分といえないものもあるが、概ね良好と判断する。
		A	○	
		B		
		C		

（評価の区分）

S 優れている

A 良好である

B 改善する余地がある

C 改善する必要がある

## 研究成果報告

本テーマ「優良和薬の確保・供給のための研究」を以下のサブテーマ 1-1～1-4 にわけて実施した。サブテーマ 1-1～1-3 については、栽培研究、メタボロミクス解析に必要な化合物ライブラリーの構築、薬効解明、多変量解析による有効成分群の解析を計画し、実施した。その結果、優良品種の選別までには至らなかったが、今後につながる成果を得た。サブテーマ 1-4 については、外部研究者を中心に実施し、共同研究も含め、メタボロミクス解析に必要な化合物ライブラリーの構築と機能性解明を計画し、当初の計画を概ね達成した。一部の生薬標本について ITS 領域の遺伝子解析を実施したが、遺伝子プロファイルを構築するに至らなかった。

1-1: 当帰に関する研究

1-2: 甘茶に関する研究

1-3: 延命草に関する研究

1-4: 柴胡, 川芎に関する研究

以下にこれまでに得られた成果の概要を記載する。

### 当帰に関する研究

第十七改正日本薬局方収載のトウキ（当帰）は、トウキ (*Angelica actiloba* Kitagawa) またはホッカイトウキ (*A. acutiloba* Kitagawa var. *sugiyamae* Hikino) の根を、通例、湯通ししたものであり、補血や活血、強壯、鎮静などを目的に漢方薬に配合されている。特に、婦人科の疾患に川芎とともに配合される。トウキは 1700 年代初期に大和地方（奈良県）を中心に栽培されたとされ、現在でも“大和当帰”として良質品の生産が受け継がれている。ホッカイトウキは、トウキと北海道に野生する植物を掛け合わせたものとされている。一方、中国ではカラトウキ（唐当帰 (*S. sinensis*) が用いられており、基原植物は異なっている。

トウキは種まきから収穫までに 2 年近くを要するため、収穫量が多い品種やより良い栽培方法を見出す必要が求められている。また、指標成分としてブチリデンフタリドの *ligustilide* が有名であるが、未だ有効成分は明らかとはいえない。一方で、当帰は多くの漢方薬に配合されているにもかかわらず、当帰のみでの明確な薬理作用は報告されていない。

本プロジェクトでは、これらを解明する目的で、発芽率の改善、促成栽培、成分研究、メタボロミクス、*in vitro* 試験やラットへのエキスの反復投与による薬効解明などを検討し、これまでに得られた結果について報告する。

#### 播種前処理の発芽に与える影響

(薬用植物園) 月岡淳子

トウキ (*A. acutiloba* Kitagawa) 種子を播種前に 72 時間吸水させ (5°C 冷蔵庫内)、人工気象器 (日本医化器械製作所 LH-80WLED-DT) 内で発芽試験を行った (20°C, 14 時間照

明). 観察期間は 30 日間とし, 30 粒 2 反復行った. その結果, 吸水処理無しの種子と 72 時間吸水種子で, 30 日後の発芽率は約 80% でほぼ同じであったが, 播種から最終的な発芽率までの到達に掛かった期間が短縮した. ミシマサイコ (*Bupleurum falcatum* L.) については, 24, 72, 120 時間吸水処理し, 発芽試験を行った (50 粒 2 反復). 吸水時間の長さと言芽率に特に関係は見られなかったが, 無処理種子に比べて発芽率が高くなった.

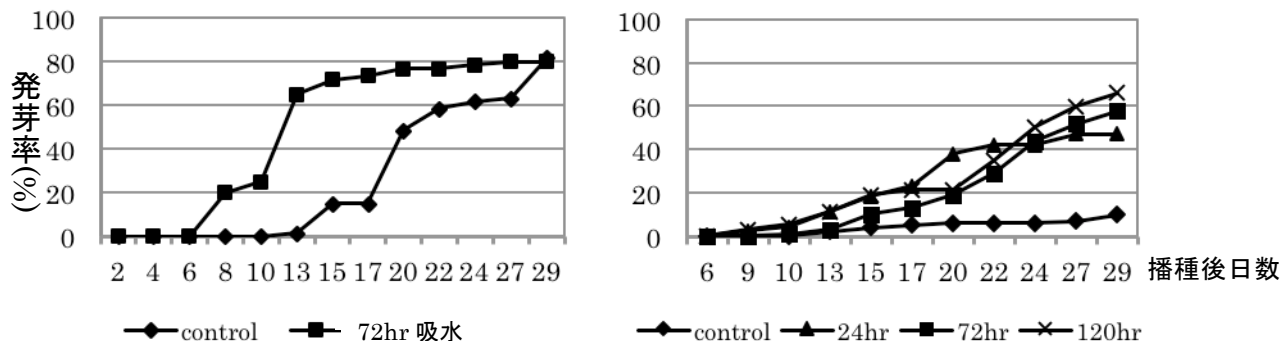


Fig. 1. トウキ, ミシマサイコの播種前処理が発芽に与える影響

### 当帰の促成栽培に関する研究

(薬用植物園) 月岡淳子, (生薬学分野) 松田久司

トウキ (*Angelica acutiloba* Kitagawa) は, 慣例法では, 4~5 月に露地で播種して翌春まで育苗, その後に苗を本圃に定植して 11~12 月頃に収穫する. 播種から収穫までの約 1 年 8 ヶ月間のうち約 1 年間を育苗に要することから, 本研究では播種時期の検討により育苗期間の短縮を目指した. なお, トウキは本学薬用植物園で栽培したのみならず, 武田薬品工業・京都薬用植物園で栽培したものを分析した. 今回は, 京都薬用植物園で栽培した試料の分析を行った結果を報告する.

#### (実験方法)

2015 年 4 月 16 日および 2015 年 9 月 18 日より 2016 年 2 月 18 日まで 1 ヶ月毎にトレイに播種を行い, 9, 10, 11, 12, 1 および 2 月播種区とした. 発芽後に 3.5 号ポリポットへ移植し 4 月まで最低 15℃ で加温育苗した.

4 月 26 日に苗を本圃に定植して 12 月 19 日まで栽培して収穫した. 1 区 10 個体とし, 定植時と収穫時に草丈, 新鮮重等の生育調査を行った. 地下部を自然乾燥させ, 各区一部の個体について湯もみを行い, 得られた各個体を素材として用いメタノール抽出エキスを作製し, HPLC によるトウキ主要成分リグスチリドの定量分析を行った.

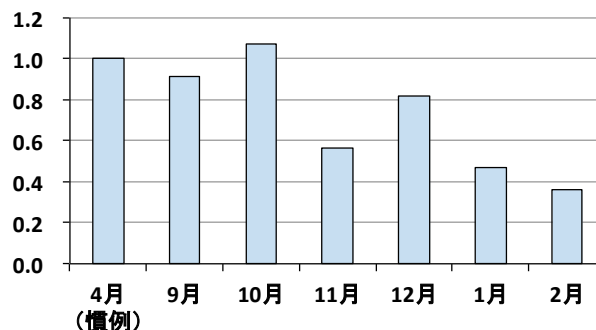


Fig. 2. HPLC 分析によるリグスチリドの含量比較 (相対値)

#### (結果および考察)

定植時の新鮮重は播種が遅れるほど有意に軽くなった. 収穫時の地下部の新鮮重は, 9,

10月の播種では4月の播種（慣例法）と同程度であったが、11月以降の播種では著しく軽くなった。一方、リグスチリドの定量分析の結果、9、10月の播種のトウキに含有するリグスチリドの含量が、4月の播種のものとは比べ、同程度あるいは増加傾向であることが明らかになった。また、湯もみしたトウキにおいては、湯もみを行っていないものに比べリグスチリド含量が低下した。本研究では、9または10月に播種して育苗した個体を栽培することで、収量、成分含量ともに慣例法と同等となった。このことから、従来の育苗期間を約半年間に短縮することが可能であると考られる。

### 当帰の含有成分の単離・同定および *in vitro* スクリーニング試験

（生薬学分野）松田久司，（公衆衛生学分野）渡辺徹志，  
（奈良県立医科大学大和漢方医学薬学センター）三谷和男

奈良県産当帰 (*Angelica acutiloba* 根, 1.69 kg) を素材とし、メタノールを用い還流下(80°C)、3時間抽出を行い抽出エキス (380.16 g, 収率 22.50%) を得た。得られたメタノール抽出エキスを酢酸エチル、1-ブタノールおよび水で溶媒分配し、酢酸エチル移行部を順相シリカゲル、ODS カラムクロマトグラフィーおよび逆相 HPLC を用いて繰り返し分離精製した。その結果、(Z)-ligustilide (83.2 mg, 0.0057%), senkyunolide C (3.2 mg, 0.00022%), senkyunolide E (0.8 mg, 0.000055%), (E)-senkyunolide E (2.5 mg, 0.00017%), senkyunolide H (4.6 mg, 0.00031%), senkyunolide I (31.5 mg, 0.0022%), (Z)-hydroxy-7-methoxydihydrologustulide (1.6 mg, 0.00011%), isovanillin (6.2 mg, 0.00042%), xanthotoxin (107.7 mg, 0.0074%), isopimpinellin (14.8 mg, 0.0010%), および senkyunolide E と senkyunolide F の混合物 (4.8 mg) を得た。

(Z)-ligustilide は当帰の主要成分であることが知られているが、不安定な成分として得られた。今回、単離・同定した化合物は、いずれも低収率であった。

さらに、日本産および中国産当帰のメタノール抽出エキスの *in vitro* スクリーニング試験として、a) ラット摘出大動脈ラセン条片を用いた高濃度 kCl (60 mM) 収縮およびノルアドレナリン (1 μM) 収縮に対する弛緩作用、b) アルドース還元酵素阻害作用、c) 後期糖化産物 (AGEs) 産生抑制作用などについて検討したところ、弱い血管弛緩作用が認められる以外に有意な効果は認められなかった。

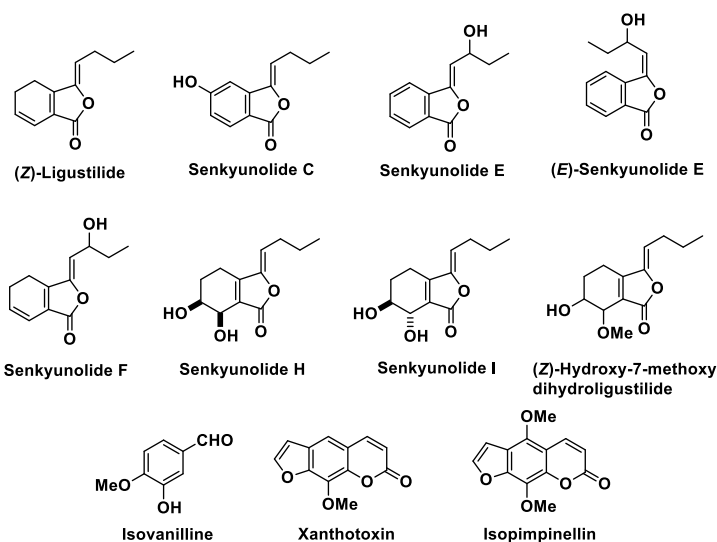


Fig. 3. 当帰 (*Angelica acutiloba* 根) の含有成分

## <sup>1</sup>H-NMR と主成分分析による当帰の産地別パターン分析 (薬品分析学分野) 北出達也

生薬の品質や成分含量は、産地や栽培環境などによって大きく影響を受ける。産地間での生薬中に含まれる成分含量の違いを評価できれば、有効成分を多く含む良質な生薬を供給するための足がかりとすることができる。本研究では、産地の異なる5種の当帰試料について、<sup>1</sup>H-NMR スペクトルを測定し、それらの解析に主成分分析(PCA)を適用して、産地ごとの成分に関する特徴の違いを評価できるかを検討した。

### (実験方法)

本研究で用いた5種の当帰試料は、奈良県産大和当帰、和歌山県産当帰、中国四川省産当帰、北海道産北海当帰、奈良県産大深当帰で、メタノールから抽出したエキスを使用した。各当帰試料を重ジメチルスルホキシド溶液に溶解し、3-(トリメチルシリル)-1-プロパン-1,1,2,2,3,3,3-d<sub>6</sub>-スルホン酸ナトリウム(DSS-d<sub>6</sub>)を内標準物質として、UNITY INOVA 400NB を用いて<sup>1</sup>H-NMR スペクトルを測定した。得られたスペクトルデータを多変量解析ソフトウェア The Unscrambler® X を用いて PCA 処理をおこなった。

### (結論および考察)

5種の当帰試料の<sup>1</sup>H-NMR スペクトルを PCA 処理した結果を Fig.4 に示す。北海道産北海当帰試料は、主成分(PC)第2と3軸において、他の当帰試料よりも高い値を示す傾向が見られた。この要因は、北海道産北海当帰試料の<sup>1</sup>H-NMR スペクトルにおいて、5.2 ppm 付近に見られる ligustilide 由来の<sup>1</sup>H のピーク(Fig.4 の構造式中の○印で囲んだHのピーク)が、他の当帰試料のそれよりも強く出ていることによるものと考えられた。そこでこの考察が正しいかを実証するために、5種の当帰試料中の ligustilide 含有率について HPLC を用いて定量した。その結果を Fig.5 に示す。北海道産北海当帰試料は、他の当帰試料と比較して、ligustilide 含有率が有意に高いことが示された。従って、PCA は各当帰試料の<sup>1</sup>H-NMR スペクトル中の ligustilide 含有率の違いを評価できていたということが示唆さ

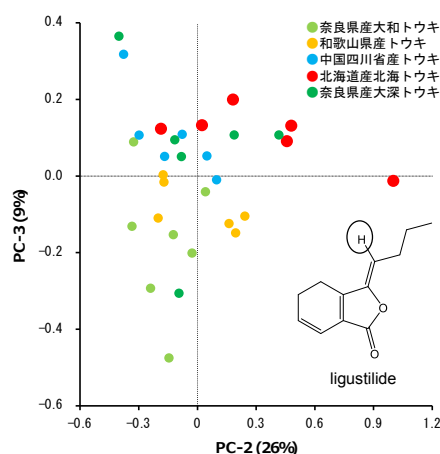


Fig. 4. 5種の当帰試料におけるPCAの結果

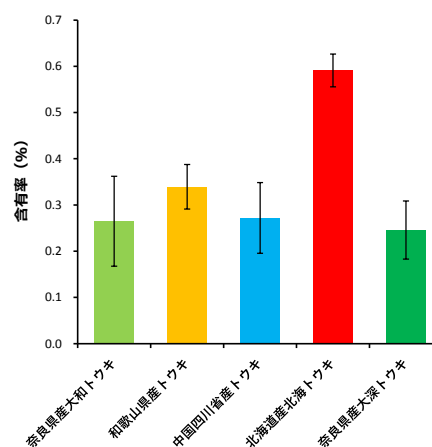


Fig. 5. 各当帰試料中のLigustilide含量の比較



れた。これらの結果から、<sup>1</sup>H-NMR と PCA を組み合わせることにより、生薬の産地間の成分含有率の違いを評価できる可能性が示された。上記5種のみならず、産地の明確な当帰15種を入手済みであり、個体差を含め、検証を継続中である。

## 当帰エキスの血圧・ストレス耐性に及ぼす効果の検討 (臨床薬理学分野) 中田徹男

わが国の奈良県で大和当帰が、北海道で北海当帰として栽培され、品質のよいものが生産されている。当帰は鎮痛・鎮静薬として古くから婦人病に用いられているが、詳細な作用機序は不明である。精油成分として、ligustilide, *p*-cymene などを含む他、bergaptene などのクマリン、アデニン、コリン、有機酸（フェルラ酸、ニコチン酸、コハク酸など）、アミノ酸などが含まれている。また、大和トウキには鎮静作用を持つとされる  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) を多く含有することが判明している。

今回、大和当帰の30%エタノール抽出エキスを調製し、当帰エキスとエキスに含まれる同量の GABA をラットに投与して血圧・ストレス耐性に及ぼす効果を検討した。ストレス反応はウェーブレット解析を用いて自律神経活動の評価を行った。

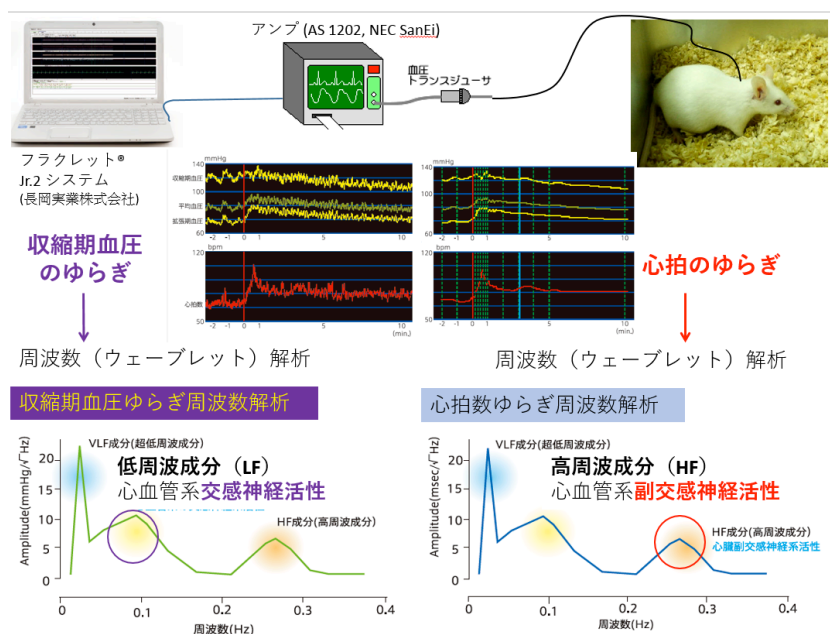


Fig. 6. 収縮期血圧および心拍数ゆらぎ解析

### (実験方法)

- 体重 200g の雄性 Wistar/ST 系ラットの右腎摘出後、1 週間の回復期を設けた。その後、1.5%食塩水を自由摂取させることで高血圧モデルラットを作成した。ラットを3群に分別した Angelica (当帰) 群には当帰エキス 800 mg/kg/mL (Angelica 群, n=8), GABA 群には当帰エキスに含有されるのと同量量の GABA 2 mg/kg/mL (GABA 群, n=6), 対照群には溶媒水 (Control 群, n=4) を4週間 gavage 法で経口投与した。
- 一週毎に Tail-cuff 法で収縮期血圧, 心拍数を測定し, 代謝ケージを用い飲水量, 尿量を測定した。また 1M HCl 1 mL を含んだ遮光フラスコを用いて 24 時間尿中ノルアドレナリン排泄量を検討した。4 週間後に三種混合麻酔下でラットの大腿動脈にカニューレを挿入し, 皮下トンネルを介して背部に固定した。翌日, 覚醒下に攪拌機上にセットされたケージにラットを入れ, 毎分 150 回, 振幅 2 cm の頻度で 2 分間の shaker stress を負荷し, 負荷前後の心行動態と, 平均動脈圧並びに心拍の揺らぎ解析 (Fluctet ソフト) を用いた交感神経, 副交感神経活動の変化を検討した。

(実験結果)

(1) 引水量, 尿量

3 群間で飲水量, 尿量ともに有意な差が見られなかった. この結果より食塩負荷量に差はなかったと考えられる.

(2) 収縮期血圧

Tail-cuff 法による収縮期血圧は Cont 群, GABA 群で有意な上昇を認め, Angelica 群ではこの上昇の有意な抑制を認めた. また Angelica 群では GABA 群に比べても有意な昇圧抑制を認めた.

(3) 心拍数

心拍数は Cont 群に対して Angelica 群で有意に増加した. この原因の詳細は不明であるが Cont 群が他 2 群より 0 week の時点で低い傾向があったためと考えられる.

但し, 3 週目の HR は 3 群間で有意差を認めなかったことおよび, カニューレ挿入後に測定した覚醒下 HR も 3 群間で差を認めなかったことから心拍数には大きな差はないと考えてよいと判断した.

(4) 24 時間尿中ノルアドレナリン排泄量

交感神経活動の指標として 24 時間尿中ノルアドレナリン排泄量を HPLC-ECD 法では 3 群間で有意な差は認められなかった.

また, アドレナリン, ドパミン排泄量も 3 群間で有意な差は見られなかった.

(5) フラクレット

安静時にて, 平均動脈圧, 心拍数, 自律神経活性を測定した.

(Shaker stress 前のラット静止時を安静時とした.)

①収縮期血圧

収縮期血圧は, Cont 群:  $153.0 \pm 8.25$ , Angelica 群:  $117.8 \pm 8.82$ , GABA 群  $128.7 \pm 6.85$  と Cont 群と比べて Angelica 群有意に低値であった.

②心拍数

拍数には有意な差は見られなかった.

③交感神経活性および副交感神経系活性

安静時の交感神経活性および副交感神経活性には有意な差は見られなかった.

(6) Shaker stress 時の変化

Shaker stress 時の平均動脈圧, 心拍数, 自律神経活性の変化について安静時との差をそれぞれ測定した.

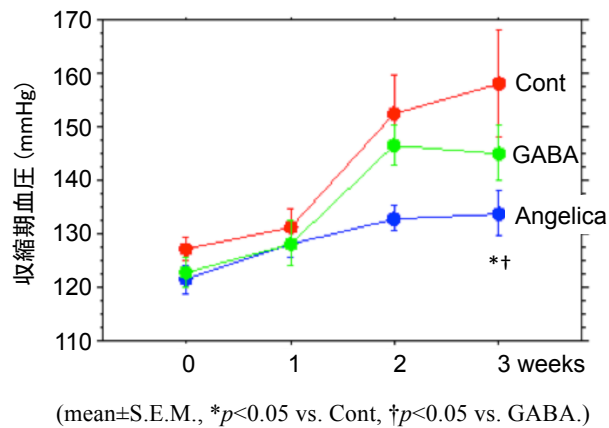


Fig. 7. 収縮期血圧に及ぼすトウキおよび GABA の効果

### ① ストレス負荷時の平均動脈圧

平均動脈圧には有意な差は見られなかった。

### ② ストレス負荷時の心拍数の変化

心拍数は、Cont 群に対し Angelica 群で有意に減少した。これより Angelica には GABA 以外の作用によるストレス負荷での心拍数を減少させる効果の存在が示唆された。

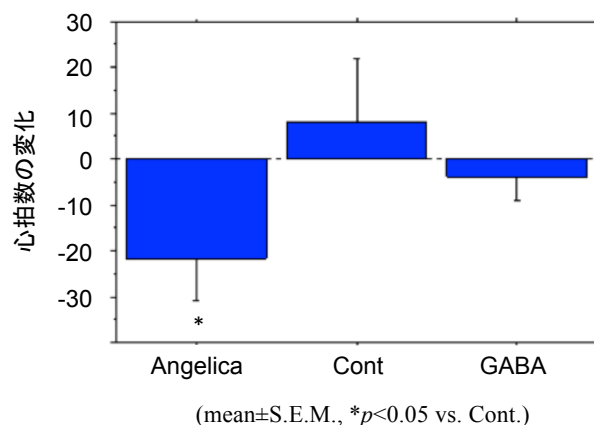


Fig. 8. ストレス負荷時の心拍数に及ぼすトウキおよび GABA の効果

### ③ ストレス負荷時の交感神経活性および副交感神経活性の変化

#### 交感神経活性の変化

交感神経は Cont 群と比較し Angelica 群, GABA 群の両群で有意に上昇を抑制した。一方, ストレス負荷によって減少すると考えられている副交感神経活動は Cont 群, GABA 群の両群で減少したが Angelica 群で有意にこの現象の抑制が認められた。これらの結果より, Angelica と GABA にはストレス負荷時の交感神経の上昇を抑制し, 副交感神経の活性化効果する効果があると考えられる。

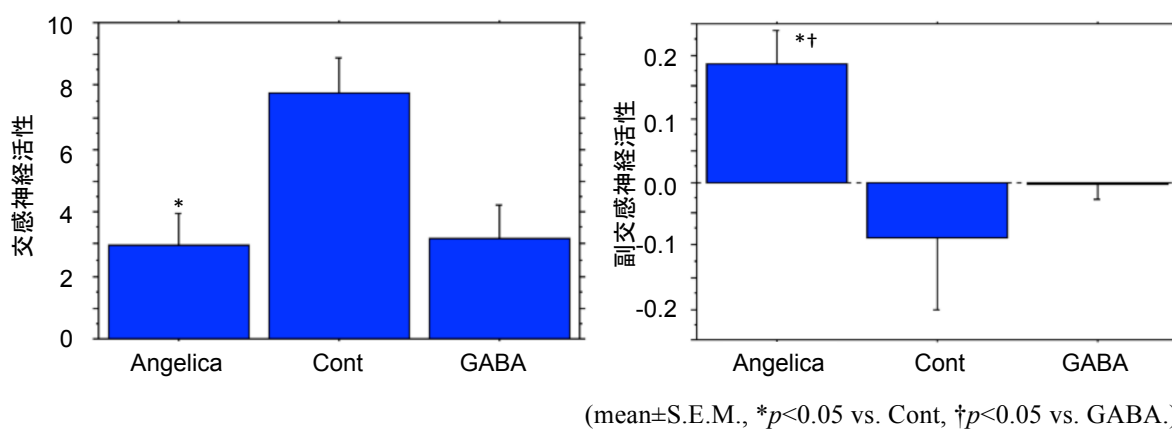


Fig. 9. ストレス負荷時の交感神経活性および副交感神経活性に及ぼすトウキおよび GABA の効果

#### (考察)

以上, 片腎摘出 1.5%食塩負荷高血圧モデルラットにおいて, 当帰エキスの 1 日 1 回の経口投与により Tail-cuff 法による収縮期血圧上昇抑制効果を認めた。これは同量の GABA 投与に比べても有意な抑制であったことから, 当帰の GABA 以外の成分の効果と考えられる。また降圧作用機序に関しては, 交感神経活動の指標として検討した 24 時間尿中カテコラミン排泄量に有意な差を認めなかったことから, 交感神経抑制効果以外の機序が想定される。自然由来の降圧効果を示すものにはアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 活性抑制作用やレニン阻害作用など, レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系 (Renin-Angiotensin-Aldosterone system; RAAS) 抑制作用を介するものが多いことから, 今

後、血中及び組織（腎臓、血管壁など）ACE 活性の検討を行う必要があると考える。また、当帰には血管拡張作用，血小板凝集抑制作用，抗炎症作用，鎮痛作用，抗菌作用等，多くの薬理的効果があるとの報告がある。林は麻酔下動物を用い，当帰水エキスは摘出心房に対しては抑制的で拍動振幅を減少させ，末梢血管に対しては拡張作用を示し，ウサギに静注した場合は明らかな血圧下降と血流量の減少を生じたことから，当帰エキスは循環系に対して抑制的に作用すると報告している<sup>1)</sup>。当帰の成分はフタライドと呼ばれるグループの *ligustilide* と，二重結合が一つ多いだけの違いしかない *butylidenephthalide* の二つが血管拡張，鎮痛，鎮静，鎮痙などの主要な作用を示すと考えられている。また，ポリアセチレン類の *falcalinol*（人参の *panaxinol* に同じ），*falcalinediol*，*falcarinolone* などが抗炎症，鎮痛の作用を示すことが報告されている<sup>2-4)</sup>。

またストレス耐性については，フラクレットを用いた覚醒下収縮期血圧ゆらぎ解析の低周波成分より交感神経活動を，心拍のゆらぎ解析の高周波成分の測定により副交感神経活動を検討した。安静時の自律神経活動には群間差を認めなかったが，当帰投与群で *Shaker* ストレス負荷時の交感神経活動の増大が GABA 群と同程度に抑制された。また，当帰投与群ではストレス負荷時の副交感神経活動の亢進も認められたことから，大和当帰にはストレス耐性に寄与する可能性が示され，その一部は含有成分の GABA による鎮静作用に関わる可能性が示唆された。ただ，これまで経口投与された GABA は血液脳関門（Blood-Brain barrier）を通過しないことが知られており，消化管の GABA 受容体を介する迷走神経経路による中枢作用が報告されている。今回のストレス負荷では，心血管活動の亢進が顕著ではなかったことより，ストレスの種類を変えての検討も必要であると考えられる。

以上，大和当帰には食塩負荷高血圧抑制効果が認められる可能性及びストレス耐性増強作用が期待できる可能性が示唆された。また，その作用機序に GABA 以外の成分の関与が示唆された。

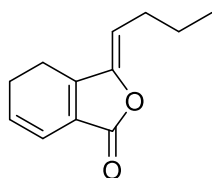
#### （参考文献）

- 1) 林 元英，紫根および当帰の薬理学的研究(第1報) - エーテルならびに水抽出エキスの薬理作用 -。 *日薬理誌 (Folia Pharmacol. Japon.)* **73**, 177-191 (1977).
- 2) 北野文理，永澤 健，大和当帰茶のフタライド類及びフロクマリン類の含有量。 *Trace Nutrients Research*, **34**, 43-46 (2017).
- 3) Chan S.S., Cheng T.Y., Lin G., Relaxation effects of ligustilide and senkyunolide A, two main constituents of *Ligusticum chuanxiong*, in rat isolated aorta. *J. Ethnopharmacol.*, **111**, 677-680 (2007).
- 4) Yorozu H., Sato H., Komoto Y., The Effect of Crude Drug Extracts Bathing (III) -The effect of phthalides from *Cnidii rhizome*. *The Journal of The Japanese Society of Balneology, Climatology and Physical Medicine*, **57**, 123-128 (1994).

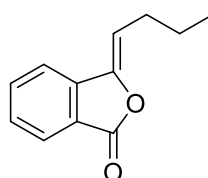
## 当帰成分の合成研究

(薬品製造学分野) 岩崎宏樹, 山下正行

セリ科センキュウ, トウキに含まれる成分である **ligustilide (1)** および **butylidenephthalide (2)** は薬効成分と考えられているが, 単離収率が低いため, これらの供給を目的として合成を検討した.

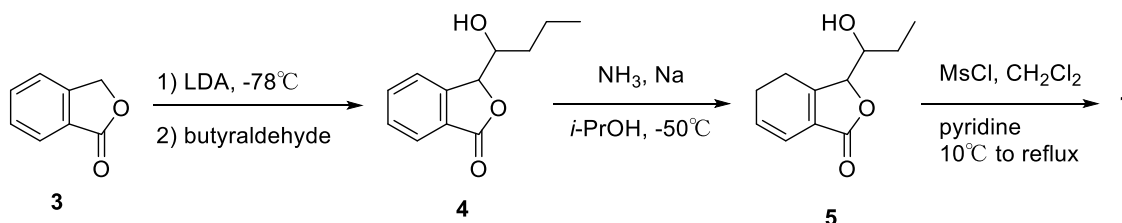


Ligustilide (1)



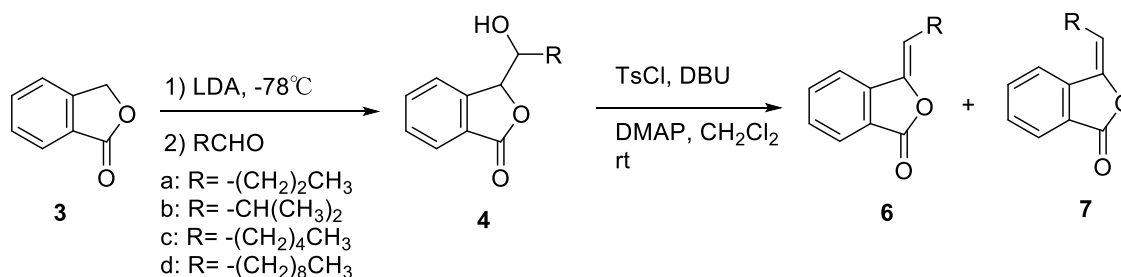
Butylidenephthalide (2)

既に **1** の合成法は知られており, 文献 1)の方法に従い合成を試みたが, **1** を得るには至らなかった (Scheme 1).



Scheme 1

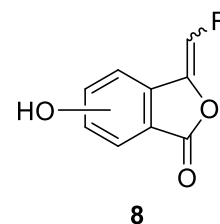
**5** は容易に酸化され芳香環化しやすいと考えられる. そのため **5** の後処理中に酸化され **4** あるいは他の化合物へと変換したためであると考えられる. そこで, まず **2** の誘導体を合成することにした (Scheme 2).



Scheme 2

種々のアルデヒドを用い, 先と同様の方法により種々の **4** を合成した. **4** を脱離条件に付したところ, シス体 (**6**) -トランス体 (**7**) の混合物を得た.

今後, **1** およびその誘導体, ベンゼン環上に水酸基をもつ誘導体 (**8**) の合成を検討の予定である.



**8**

(参考文献)

1) Beck J.J., Stermitz F.R., *J. Nat. Prod.*, **58**, 1047–1055 (1995).

## 当帰に関する研究発表

### 学会発表

酒井悠太, 深谷 匡, 月岡淳子, 中村誠宏, 松岡史郎, 菱田敦之, 川原信夫, 松田久司:  
育苗期間を短縮したトウキ (*Angelica acutiloba*) の開発研究 -栽培研究およびリグスチリドの定量分析-. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3.

## 甘茶に関する研究

甘茶はユキノシタ科植物のアマチャ (*Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii*) の葉部から発酵などの加工処理して調製される日本特産の生薬で、その学名からわかるように園芸植物のアジサイ (*H. macrophylla* var. *macrophylla*) と近縁の植物であって、江戸時代にヤマアジサイ (*H. macrophylla* var. *acuminata*) などの *Hydrangea* 属植物の中から甘味のある成分変異株が民間で発見されて作り出されたと言われている。甘茶は、アマチャ葉をよく揉んだ後、発酵させたものを乾燥して調製する。アマチャの葉には主に *phyllodulcin 8-O-glucoside* や *hydrangenol 8-O-glucoside* など配糖体を含み、発酵処理によって加水分解されて甘茶の甘味成分 *phyllodulcin* や *hydrangenol* になることが報告されている。

甘茶は、江戸時代に作り出された新しい日本民間薬であるため、薬用としての歴史は浅く、薬効が十分に伝承されておらず、日本の江戸時代の薬物書「大和草本」にも甘味のほかに健康に益するなど記載されているにすぎない。私たちの研究グループは甘茶の薬効を明らかにする目的で、種々の薬理スクリーニングを行い、これまでに甘茶メタノール抽出エキスに抗アレルギー作用、抗糖尿病作用成分などを見出し、報告した。

一方で、アマチャの栽培条件や収穫時期の検討は、これまで十分ではなかった。本テーマでは、アマチャ葉の ITS 領域における塩基配列解析、アマチャの栽培条件による収穫量の変化、定量 NMR の含有成分への応用、採取時期による成分変動などについて検討するとともに、*in vitro* における主要成分の脱顆粒抑制作用を指標とした抗アレルギー作用、アルドース還元酵素阻害作用および血管拡張作用などについて検討した。

### アマチャの核 DNA の ITS 領域における塩基配列解析 (薬用植物園)月岡淳子, (大阪大学総合博物館)伊藤 謙

アマチャの種内変異の有無、生薬アマチャ(発酵葉)からの解析の可否について検討するため、アマチャ乾燥葉及び発酵葉について、ダイレクトシーケンシング法を用いて、核 DNA の ITS1 および 2 領域における塩基配列の解析を行った。

#### (方法)

植物体の葉身(葉柄は含まない)約 80~90mg を乳鉢・乳棒で粉末状にし、DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Venlo, Netherlands) を用いて DNA を抽出した。ITS 領域の増幅は PCR 法 (Polymerase chain reaction) により行った。試料溶液は、10×PCR buffer for KOD-Plus 2.5 μL, dNTP 0.2 mM (2.5 μL), MgSO<sub>4</sub> 1.0mM (1.0 μL), primerF<sup>\*1</sup> 20 μM (0.5 μL), primerR<sup>\*2</sup> 20 μM (0.5μL), 全 DNA 試料 100 ng/μL (1 μL), 0.5 units of KOD-Plus DNA polymerase (TOYOBO, Osaka, Japan) 0.5 μL, H<sub>2</sub>O で全量 25 μL とした。また PCR プログラムは Hot start 94°C 2 min, Number cycles 30, Denaturation 94°C 15 sec, Annealing 55°C 30 sec, Extension 68°C 45 sec, Final extension 68°C 5 min, Fin Hold 8°C で行った。次に QIA quick PCR Purification Kit (QIAGEN) を用いて PCR 産物を精製した。

※プライマー

DDBJ (日本 DNA データバンク, DNA Data Bank of Japan) に登録されているヤマアジサイ

*Hydrangea serrata* (Thunb.) Ser. var. *serrata* の塩基配列を基に作成した.

\*1 primer F aji-f TTGGACGTTGTCGTCCTTGC

\*2 primer R aji-r TCATAGCTTCGCCCGACAATG

(結果)

アマチャ新鮮葉 2 サンプル, 生葉アマチャ 2 サンプルについてダイレクトシーケンス法による解析を試みたが, 目的とする ITS 領域の一部の塩基配列の読み取りにとどまり, アマチャの種内変異に関して検討するには, 十分な結果が得られなかった. 発酵処理を施した生葉アマチャに関しても ITS 領域の一部について, 読み取り可能な結果が得られたことから, サンプルからの DNA 抽出条件, プライマーや PCR 条件の再検討が必要であるが, 発酵後のサンプルに関しても, 新鮮葉と同様の手法で解析可能と考えられた.

### 栽培土壌 pH 別, アマチャの生育及び葉の収量調査

(主担当: 月岡淳子)

試験には, 薬用植物園植栽株から挿し木で得た 5 年目の株を使用した. 赤玉土 (小粒): 硬質鹿沼土 (小粒): 腐葉土: 発酵畜肥 = 3 : 3 : 2 : 2 の配合土を基本とし, これに, ピートモス (pH 未調整) を 70% (pH5.3), 50% (pH5.7), 30% (pH6.2) の割合で混合したもの, 苦土石灰を加えたもの (pH7.5) の 5 種類の土を用意し, それぞれ 3 株ずつ栽培した. 1 週間に 1 回, 樹高を測定し, 9 月には葉の収量を比較した. その結果, 樹高の伸び率および葉の増加量は, 苦土石灰混合土 (pH7.5) で低い値を示したが, ピートモス 70%, 50%, 30% 用土での栽培株に関してはコントロール株とほとんど差はないか, 高い値を示した. アマチャの生育 (樹高及び葉の増加量) は, 土壌がやや塩基性になることで低下する傾向があると考えられる.

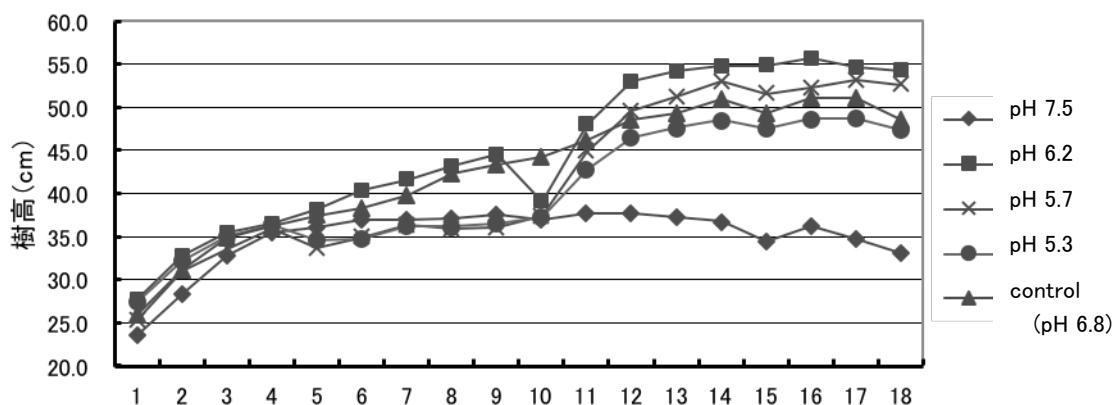


Fig.1. 土壌条件がアマチャの生長(樹高)に与える影響

- ①赤玉土 (小粒): 硬質鹿沼土 (小粒): 腐葉土: 発酵畜肥 (牛糞堆肥) = 3 : 3 : 2 : 2 (pH 6.8)
- ②基本用土 30 L + 苦土石灰 (pH 7.5)
- ③基本用土 21 L + ピートモス 9 L (基本用土の 30%, pH 6.2)
- ④基本用土 15 L + ピートモス 15 L (基本用土の 50%, pH 5.7)
- ⑤基本用土 9 L + ピートモス 21 L (基本用土の 70%, pH 5.3)



## 定量 $^1\text{H-NMR}$ (qNMR) によるアマチャの主要成分の純度分析 (薬品分析学) 北出達也

従来、生薬中の新規成分の純度分析は、分析対象物質と同一の標準品や試薬が入手できないことが多いため困難であった。定量  $^1\text{H-NMR}$ (qNMR)は、純度既知の内標準物質と純度未知の分析対象物質を混合した溶液で測定した  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルから、各物質由来の  $^1\text{H}$  ピークのシグナル面積強度を用いて純度を算出できる。本研究では、アマチャの主要成分の純度分析を qNMR によりおこなうため、まず最適な qNMR 測定条件を検討した。次いで、その条件下でアマチャの4種の主要成分の純度分析をおこなった。

最適な qNMR 条件を設定するため、純度既知である、テレフタル酸ジメチル(DMT：純度 99.99%)について、3-(トリメチルシリル)-1-プロパン-1,1,2,2,3,3-d6-スルホン酸ナトリウム(DSS-d6：純度 92.3%)を基準物質とした内標準法を用いて検討をおこなった。その結果、 $^1\text{H-NMR}$  スペクトル測定条件 [測定溶媒：重メタノール，測定装置：UNITYINOVA400NB (Agilent Technologies, Inc.)，観測幅：20 ppm，パルス角： $90^\circ$ ，パルス遅延時間：60 秒，積算回数：8 回] において、DMT の純度(%)は  $102.9 \pm 1.5$  であり、DMT の純度を精度良く測定することができた。

同測定条件下で、Fig. 1 に示す、アマチャから単離した4つの主要成分(phyllodulcin, hydrangenol, thunberginol A, thunberginol F)の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルを測定し、Fig. 1 中の下線で示した  $^1\text{H}$  ピークのシグナル面積強度を用いて、各成分の純度分析をおこなった。その結果、各成分の純度(%)はそれぞれ、 $87.1 \pm 0.8$  (phyllodulcin)， $90.0 \pm 1.2$  (hydrangenol)， $90.8 \pm 0.6$  (thunberginol A)， $79.7 \pm 1.4$  (thunberginol F)であり、qNMR を用いて各成分の純度を精度良く決定することができた。さらに、エキス中の hydrangenol および phyllodulcin の qNMR による定量を試みた。

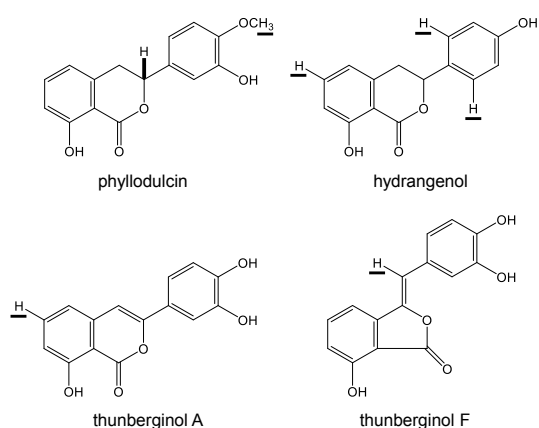


Fig. 2. 本研究で用いたアマチャの主要成分

### 薬効評価

私たちは、本事業に先だって、ラット腹腔マスト細胞の compound 48/80 刺激によるヒスタミン遊離やラット受身皮膚アナフィラキシー (PCA) 反応、ラット好塩基球白血病 (Rat Basophilic Leukemia : RBL-2H3) 細胞からの  $\beta$ -hexosaminidase 遊離量を脱顆粒の指標として抗 I 型アレルギー作用を検討し、甘茶から thunberginol 類などの抗アレルギー成分を見出した。また、3T3-L1 細胞を用いた PPAR- $\gamma$ アゴニスト様作用を見出し、2 型糖尿病マウスにおける血糖降下作用を報告した。本事業では、甘茶の採取時期の違いによる RBL-2H3 細胞を用いた脱顆粒抑制作用の変化について検討するとともに、新たに *in vitro* における血管弛緩作用およびアルドース還元酵素阻害作用について検討した。ここでは脱顆粒抑制作用およびアルドース還元酵素阻害作用結果を報告する。

RBL-2H3 細胞を用いたアマチャの採取時期による脱顆粒抑制効果の差  
(生薬学分野) 松田久司, (薬用植物園) 月岡淳子, (薬品分析学分野) 北出達也,

日本薬局方収載の甘茶 (アマチャ) は、アマチャ (*Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii*, ユキノシタ科) の葉部を 10 月頃に採集し、発酵などの加工処理をして調製される日本民間薬で、甘味剤、矯味剤、口腔清涼剤などに用いられてきた。我々はこれまでに甘茶の伝統薬効の解明および新規機能性の開拓を目的とし、thunberginol 類の抗アレルギー作用について報告してきたが、これらは微量成分であり、甘茶の効果への寄与率については明らかとなっていない。今回、優良和薬の確保・供給のための研究の一環として、アマチャの主要成分 phyllodulcin (1), hydrangenol (2), phyllodulcin 8-O-glucoside (3) および hydrangenol 8-O-glucoside (4) の含有量の季節変動および抗アレルギー作用の相関性について検討した。

(方法および結果)

京都薬科大学薬用植物園で栽培したアマチャの葉部を4月から10月にかけて採集し、40°Cで風乾した後、メタノール抽出エキスを作製し、

HPLCにて化合物1~4の分析を行った。その結果、1および2の含量は5~6月に最も多

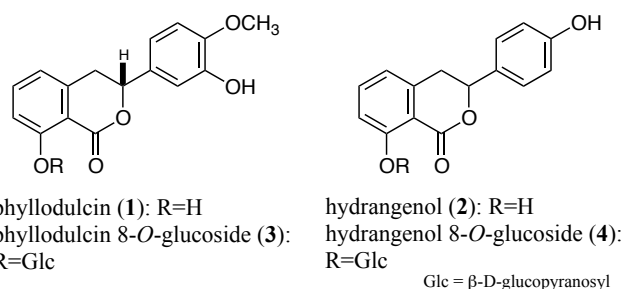
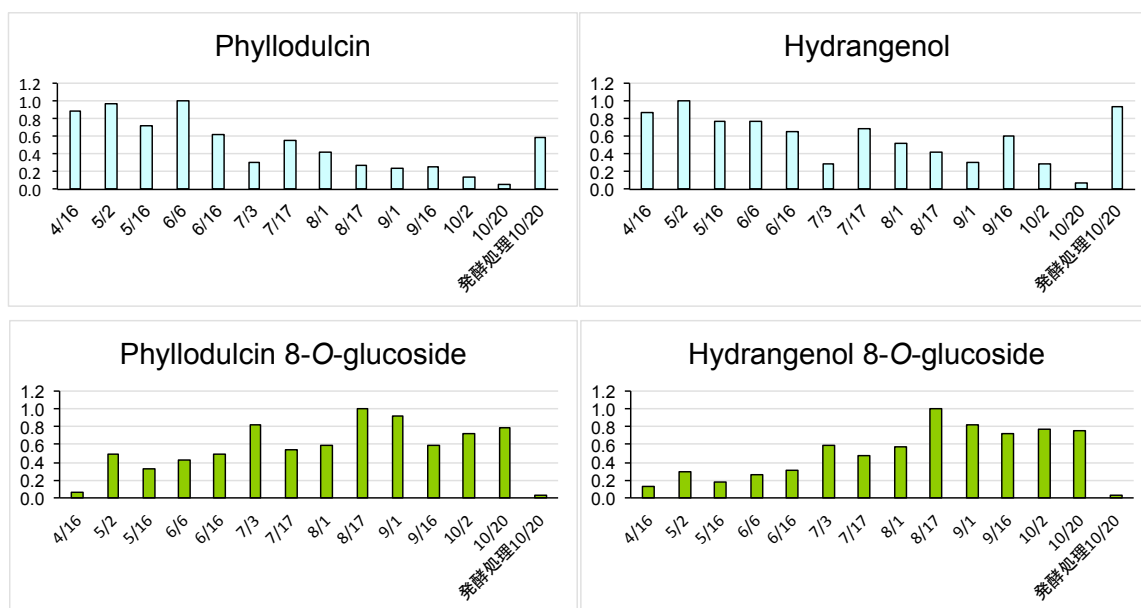


Fig. 3. 甘茶の主要成分 (1~4) の化学構造



注) エキス中の各成分の含有量が最大値のものを1とした場合の相対値

採集日 (2015)	4/16	5/2	5/16	6/2	6/16	7/3	7/17	8/1	8/17	9/1	9/16	10/2	10/20	10/20 発酵処理
100 μg/mL における阻害率 (%)	93.2 ±01.9 **	95.2 ±1.3 **	96.8 ±1.0 **	96.1 ±1.6 **	91.2 ±1.9 **	65.9 ±2.2 **	85.8 ±1.3 **	46.4 ±2.3 **	69.8 ±4.4 **	-7.3 ±3.8	-6.8 ±1.8	1.2 ±5.4	27.2 ±2.3	80.7 ±2.0 **

(mean±S.E.M. n=4, \*\*p<0.01.)

Fig. 4. 主要成分(1~4)の採集時期による変動(相対値)と各抽出エキスの脱顆粒抑制作用

く含まれ、10月が最も低値であった。一方、**3** および **4** は、4月が最も低値で、次第に増加し、8月が最も高値であり、10月まで高含量が維持された (Fig.4)。得られたエキスについて、RBL-2H3 細胞における抗原刺激による脱顆粒を $\beta$ -hexosaminidase 遊離量を指標に検討した結果、6月頃に採取した葉部に最も強い抑制活性が見出され、10月に採取し、発酵処理したものよりも強い効果であった。HPLCにおける**1**~**4**の含量や未同定ピークを含めて、脱顆粒抑制率の関連性について主成分 (PCA) 分析を行ったところ、脱顆粒抑制作用には**1** および **2** の寄与が最も大きいことが判明した。

以上、6月収穫時にはアマチャ特有の成分 phyllodulcin (**1**) および hydrangenol (**2**) を多く含み、加工修治することなく薬効を示すことが示唆された。

また、アマチャ葉に青酸配糖体 taxiphyllin が含まれていたが、**3** や **4** と同様に、taxiphyllin 含量は4月から10月にかけて増加し、修治によって消失することを明らかにした。

### 甘茶 Thunberginol 類および誘導体のアルドースレダクターゼ阻害作用 および赤血球内ソルビトール蓄積抑制作用 (生薬学分野) 松田久司, (薬品製造学分野) 岩崎宏樹, 山下正行

我々の研究グループではこれまでに甘茶の伝統薬効の解明および新規機能性の開拓を目的とし、抗アレルギー作用および抗糖尿病作用などを報告してきた。今回、優良和薬の確保・供給のための研究の一環として、甘茶のメタノール抽出エキスにアルドースレダクターゼ (AR) 阻害作用を見出したことから、赤血球内ソルビトール蓄積への影響などへの検討を行った。

(結果・考察) 甘茶のメタノール抽出エキスに  $IC_{50}=15.3 \mu\text{g/mL}$  と有意な AR 阻害作用が認められた。甘茶の含有成分について検討したところ、イソクマリン類である thunberginol A ( $IC_{50}=4.2 \mu\text{M}$ ), thunberginol B ( $IC_{50}=2.9 \mu\text{M}$ ), およびベンザルフタリド誘導体の thunberginol F ( $IC_{50}=2.5 \mu\text{M}$ ) に有意な AR 阻害作用が認められた。なお、陽性対照にはエパルレストアット ( $IC_{50}=0.01 \mu\text{M}$ ) を用いた。

次いで、抑制作用を示した成分について、AR が関与する赤血球内ソルビトール蓄積に及ぼす作用を検討した。その結果、thunberginol A ( $IC_{50}=66.6 \mu\text{M}$ ), thunberginol B ( $IC_{50}<25 \mu\text{M}$ ), および thunberginol F ( $IC_{50}=30.9 \mu\text{M}$ ) とともに有意なソルビトール蓄積抑制作用が認められた。

さらに、今回作用を示した化合物の構造の最適化を図るため、以下の手順で約 20 種のイソクマリン誘導体を合成し、それらの抑制作用を検討したところ、誘導体 T40 ( $IC_{50}=3.1 \mu\text{M}$ ) などに有意な阻害活性が認められ、活性発現の必須構造に関する知見が得られた。

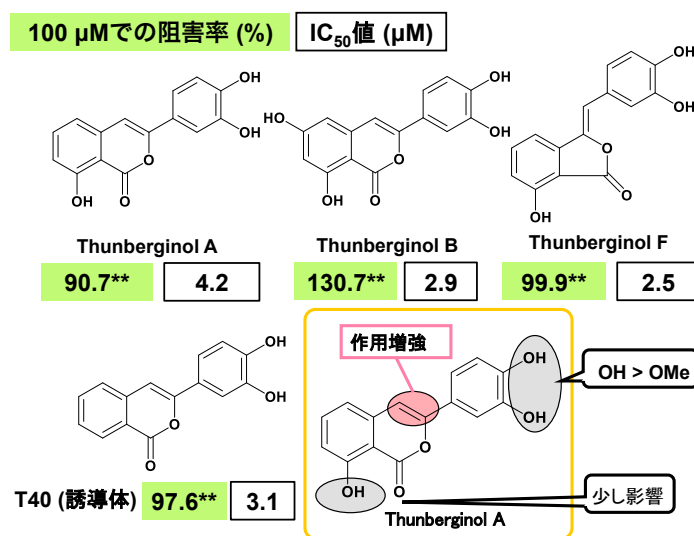
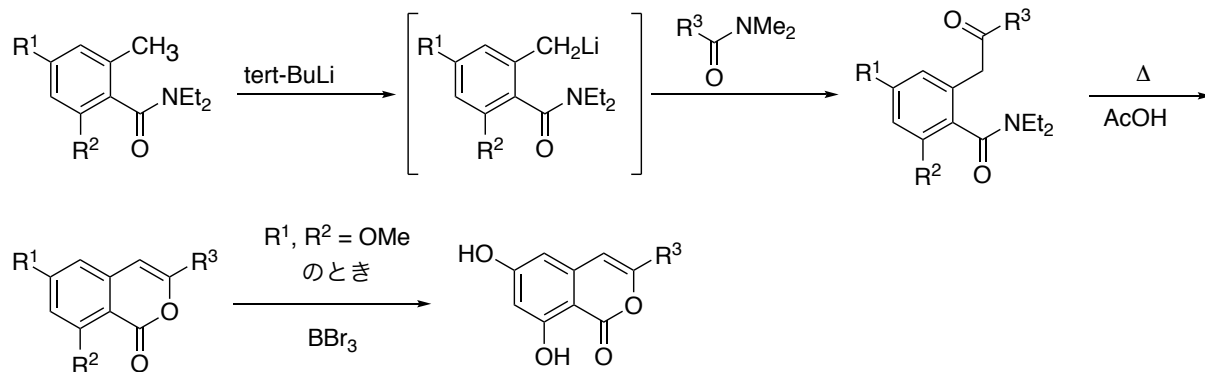


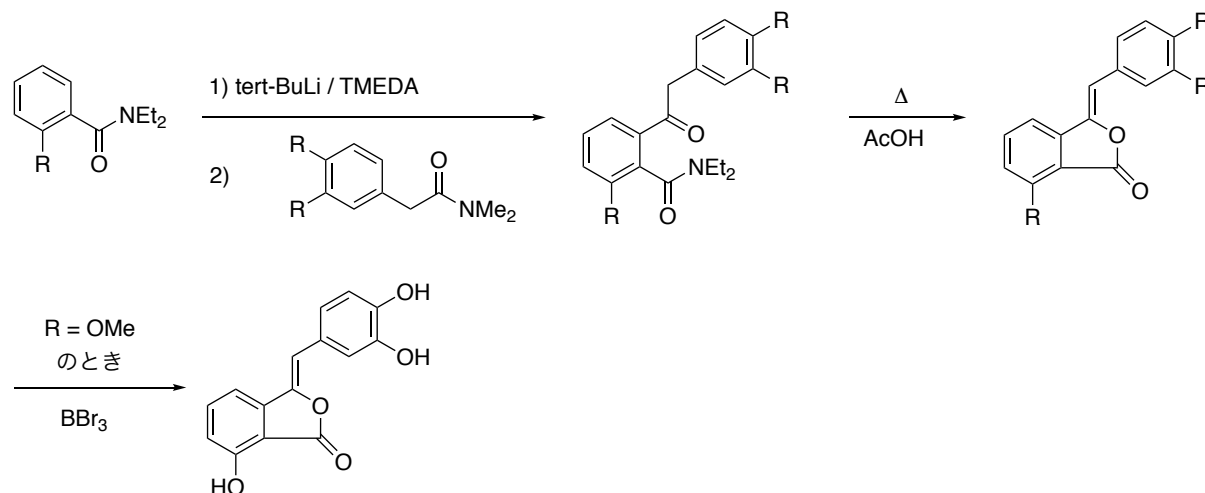
Fig. 5. 甘茶成分および誘導体とAR阻害作用

## 合成

まず、6-6員環骨格を有するイソクマリン誘導体は、Snieckus らの手法<sup>2)</sup>を改良してアミド体のベンジル位の位置選択的リチオ化と続くアシル化反応により側鎖を伸長した。さらに酢酸中加熱することで閉環反応が進行し、目的のイソクマリン誘導体を合成した。R<sup>1</sup>またはR<sup>2</sup>がメトキシ基の場合、BBr<sub>3</sub>を用いた脱保護によりヒドロキシ基に変換した。



また、6-5員環骨格を有するイソベンゾフラノン誘導体は、イソクマリン誘導体の合成と同様の手法を用いて合成した。



## 参考文献

- 1) Ohta S., Kamata Y., Inagaki T., Masuda Y., Yamamoto S., Yamashita M., Kawasaki I., *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 1188–1190 (1993).
- 2) Watanabe M., Sahara M., Kubo M., Furukawa S., Billedeau R. J., Snieckus V., *J. Org. Chem.*, **49**, 742–747 (1984).

**甘茶成分 thunberginol A および B の血管平滑筋弛緩作用**  
(生薬学分野) 松田久司

甘茶の循環器系への効果について調べる目的で、甘茶メタノール抽出エキスおよび主要な成分のラット摘出血管標本における高濃度 KCl およびノルアドレナリン収縮に対する効果を検討した。実験方法としては、Sprague-Dawley 系雄性ラット (6~8 週齢) の摘出胸部大動脈を 95%O<sub>2</sub>- 5%CO<sub>2</sub> 混合ガスで通気した Krebs-Henselite 溶液に浸し、幅約 2 mm, 長さ約 10~15 mm のラセン条標本を作製したマグナス装置に懸垂し、約 1g の負荷をかけ、アイソメトリック・トランスジューサーを用いて張力をモニターした。収縮については高濃度 KCl (終濃度 60 mM) またはノルアドレナリン (終濃度 1 μM) を添加し収縮させた。収縮力が一定になった後、被験物質 (DMSO 溶液) を累積添加した。なお、血管内皮は剥離したものをを用いた。

その結果、メタノール抽出エキスに内皮非依存的な弛緩作用が認められたことから、主要な成分について検討したところ thunberginol A および B などに抑制作用が認められた (Table 1)。この作用は比較対照物質として用いたフラボノイド (quercetin や luteolin) に類似した作用様式であることが判明した。

**Table 1.** Vasorelaxant effects of the MeOH extract, isocoumarins (phylloduclin, hydrangenol, thunberginols A and B), flavonoids (luteolin, quercetin), and a calmodulin inhibitor (W-7) on sustained contractions induced by High K<sup>+</sup> and noradrenaline in isolated rat thoracic aorta

	Relaxation (%)					
	High K <sup>+</sup>			Noradrenaline (1 μM)		
	10 μg/mL	30 μg/mL	100 μg/mL	10 μg/mL	30 μg/mL	100 μg/mL
Control (vehicle)	2.4±1.1	3.6±1.1	14.7±1.7	0.7±1.1	3.8±1.3	3.3±1.7
MeOH ext.	10.7±3.5	20.9±4.1	63.2±4.7**	2.6±3.2	6.5±3.8	82.9±7.0**
	High K <sup>+</sup>			Noradrenaline (1 μM)		
	10 μM	30 μM	100 μM	10 μM	30 μM	100 μM
	10 μM	30 μM	100 μM	10 μM	30 μM	100 μM
Phyllodulcin	4.9±2.1	16.0±5.4	69.8±12.0**	4.7±1.9	19.0±5.9	38.1±4.3**
Hydrangenol	5.3±0.9	10.1±1.8	31.5±4.1**	0.3±0.2	0.5±0.5	18.7±3.7
Thunberginol A	9.4±0.9	58.8±3.8**	88.1±1.4**	38.4±18.5*	100.0±0.0**	100.0±0.0**
Thunberginol B	8.9±1.7	42.2±5.6**	100.0±0.0**	16.5±3.1	88.2±7.5**	100.0±0.0**
Luteolin	9.8±2.9**	38.9±3.2**	96.7±3.0**	49.7±10.4**	85.5±8.7**	94.4±5.1**
Quercetin	19.1±3.1**	50.8±6.2**	88.8±3.4**	47.7±12.7**	87.2±8.2**	100.0±0.0**
W-7	0.0±0.0	12.6±0.6	78.3±6.4**	5.8±2.9	32.5±9.1**	80.7±7.2**

Each value represents mean±S.E.M (n=4-8). Statistically significant from the control, \* p<0.05, \*\*p<0.01.

## 甘茶に関する研究発表

### 論文発表

- 1) Souichi Nakashima, Seikou Nakamura, Takuya Iwamoto, Yui Masukawa, Yuika Emi, Ayako Ohta, Nami Nomura, Hisashi Matsuda: Vasorelaxant Effects of Methanolic Extract and Principal Constituents of Sweet Hydrangea Leaf on Isolated Rat Aorta, *JAS4QoL*, **4**(1), 2:1–6 (2018).

### 学会発表

- 1) 岩本拓也, 中嶋聡一, 中村誠宏, 増川悠衣, 江見結花, 野村奈美. 松田久司: アマチャの血管平滑筋弛緩作用成分. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016. 10.
- 2) 松田久司, 月岡淳子, 中嶋聡一, 深谷 匡, 安達勇之介, 植村紗也, 村上穂波, 眞野みのり, 武上茂彦, 川田奈美, 北出達也, 中村誠宏: アマチャの採取時期による RBL-2H3 細胞を用いた脱顆粒抑制効果の差. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3.
- 3) 中嶋聡一, 住田将也, 門 麻衣子, 島田あつみ, 井上 知紘, 中村誠宏, 中村早紀, 吉川佳那, 岩崎宏樹, 山下正行, 松田久司: 甘茶含有イソクマリン類および誘導体のアルドースレダクターゼ阻害作用および赤血球内ソルビトール蓄積抑制作用. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3.
- 4) 川田奈実, 武上茂彦, 小西敦子, 中村誠宏, 松田久司, 北出達也. 定量 NMR を用いたアマチャの主要成分の純度分析. 第 78 回分析化学討論会 (山口), 2018. 5.

## 延命草に関する研究

日本薬局方外生薬規格 2015 記載の延命草の基原は、シソ科ヒキオコシ (*Isodon japonicas*) またはクロバナヒキオコシ (*I. trichocarpus*) の地上部であり、これらの植物は日本全土に広く分布し、山道や丘陵のやや乾いた場所に群生する。1~1.5 m の高さに育って秋には薄紫色の小花をつける。また、延命草は、開花前に茎と葉を刈り取り、青さを残すように天日干しされる。古くから胃弱、食欲不振、腹痛、日射病などに効用がある民間薬として広く利用されてきたが、近年の研究で延命草の苦味成分であるジテルペンの enmein, oridonin などに抗菌作用やアポトーシス誘導作用が報告されている。一方で、ヒキオコシの栽培研究や延命草の胃弱、食欲不振、腹痛に対する効果については、検討が不十分である。

本プロジェクトでは、栽培研究として、ヒキオコシの挿し木条件の検討、含有成分研究、含有成分の抗変異原性作用、ラットにおける胃粘膜保護作用などについて検討した結果を報告する。

### ヒキオコシの挿し木条件(挿し床の種類, 挿し穂の太さ, 時期)の検討

(薬用植物園) 月岡淳子

挿し床(用土)は、赤玉土(小粒) 100%, 硬質鹿沼土(小粒) 100%, 赤玉土:硬質鹿沼土=1:1の混合土の3種類とした。挿し穂は1本当たりの節を2節に統一し、挿し穂中央部の太さ(垂直2方向の平均値)が、3.0 mm 未満, 3.0 mm 以上 5.0 mm 未満, 5.0 mm 以上の3種類に分けた。試験開始月を7, 8, 9月とし、発根率を調査した。

その結果、赤玉土(小粒) 100%, 硬質鹿沼土(小粒) 100%, 赤玉土:硬質鹿沼土=1:1混合土でそれぞれの発根率は 55.9%, 69.7%, 49.3%であった。挿し穂の太さ別の発根率は、3.0 mm 未満で 62.2%, 3.0 mm 以上 5.0 mm 未満で 52.0%, 5.0 mm 以上で 66.7%であった。一般に、硬い茎よりも枝先のやわらかい茎を用いた方が発根率は良いとされるが、今回の結果から、挿し木時期、挿し床、鉢上げまでの期間によっては、枝先以外の茎でも発根し、挿し木繁殖に利用できることが分かった。一方で、挿し木苗は屋外で越冬させると枯死する株が多いことが分かり、現在、挿し木苗の越冬方法や挿し木以外の栄養繁殖方法について継続して検討している。

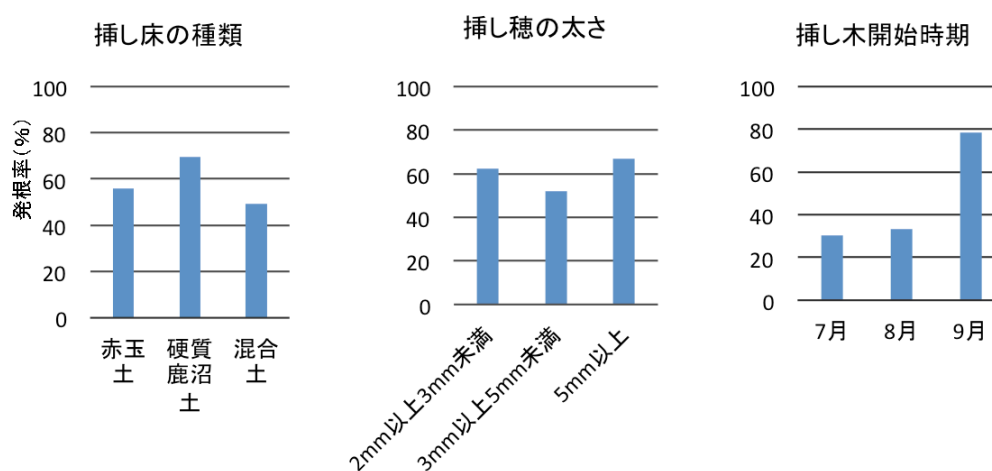


Fig. 1. ヒキオコシの挿し木条件と発根率

ヒキオコシ地上部からのテルペノイド成分の単離，構造解析および生物活性  
(公衆衛生学分野) 渡辺徹志, (生薬学分野) 松田久司

シソ科植物ヒキオコシ (*Isodon japonicus*) 地上部は延命草とも呼ばれ，日本においては食欲不振および消化不良をはじめとする様々な胃障害に対する治療薬として用いられている。徳島県産ヒキオコシ (*I. japonicus*) のメタノール抽出エキスを酢酸エチル，1-ブタノールおよび水にて溶媒分配し，酢酸エチル移行部を各種カラムクロマトグラフィーおよび HPLC を用いて繰り返し分離精製した。その結果，isodonterpenes I および II (1 および 2) と命名した 2 種の新規 *ent*-kaurane 型ジテルペンを単離構造決定するとともに，10 種の既知成分を単離，同定した (Fig. 2)。得られた新規化合物 isodonterpene I (1) については，良好な結晶を得ることができたため，単結晶 X 線構造解析を適応することで，絶対立体配置を明らかとした。

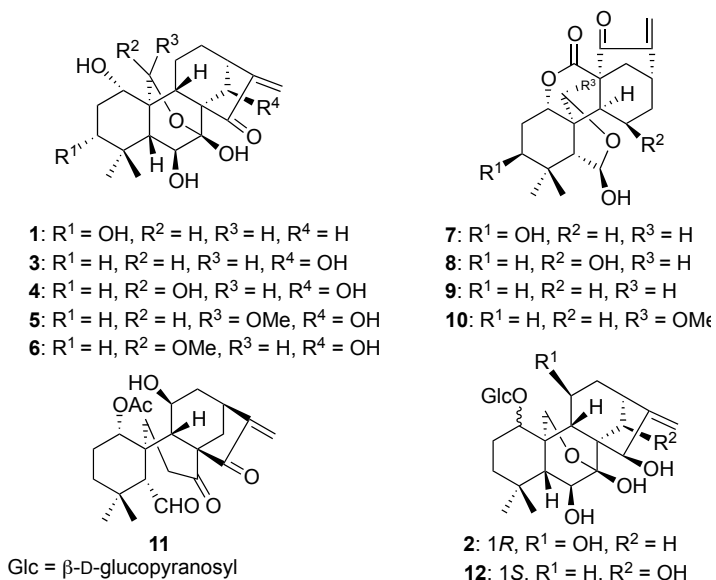


Fig. 2. ヒキオコシ (*I. japonicus*) 地上部より得られたテルペノイド成分の化学構造

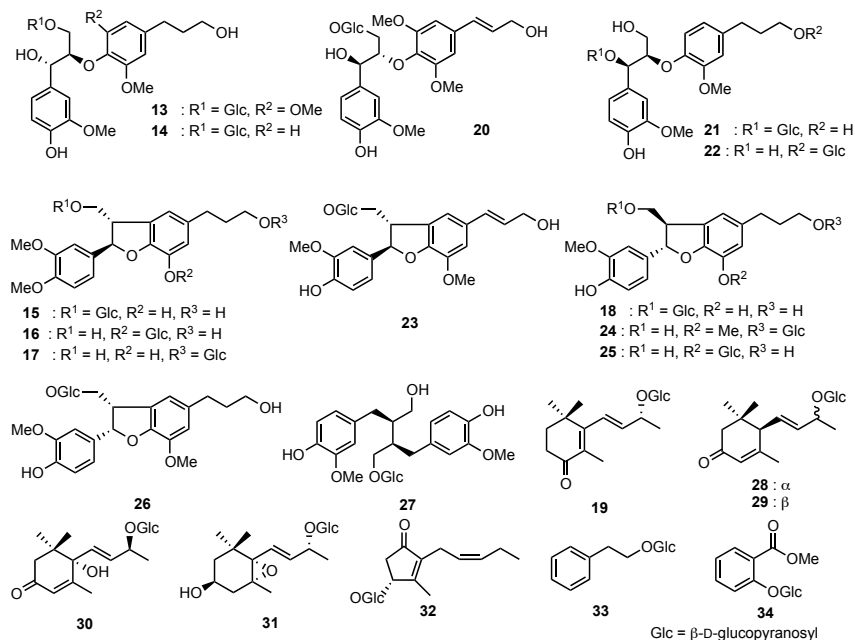


Fig. 3. ヒキオコシ (*I. japonicus*) 地上部より得られた配糖体の化学構造

次に，配糖体の単離を目的とし，1-ブタノール移行部を各種カラムクロマトグラフィーおよび HPLC を用いて繰り返し分離精製した。その結果，isodonosides I (13), II (14), III (15),



IV (16), V (17), および VI (18) と命名した 6 種の新規リグナン配糖体および isodonmegastigmane I (19) と命名した 1 種の新規メガスチグマン配糖体を単離構造決定するとともに, 15 種の既知成分を単離, 同定した (Fig. 3). 得られた新規成分の絶対立体配置は各種誘導化, CD スペクトル, および改良モッシャー法により決定した.

ヒキオコシ (*I. japonicus*) 地上部より得られた *ent-kaurane* 型ジテルペンの抗発がん作用を明らかにすることを目的とし, Ames 試験の改良法であるプレインキュベーション法を用いた抗変異原性活性の検討を行った. フレームシフト型突然変異を検出する *Salmonella typhimurium* TA98 株を試験菌として用い, S9 mix 存在下において 3-amino-1,4-dimethyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (Trp-P-1) および 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) を変異原性物質として用いた. Trp-P-1 および PhIP は変異原性を有するヘテロサイクリックアミンであり, 過熱した食品中に含まれていることが知られている. 酢酸エチル可溶分画より得られた化合物について抗変異原性活性の検討を行った結果, *ent-kaurane* 型ジテルペンは Trp-P-1 および PhIP に対し, 濃度依存的な抗変異原性を示した. 一方で, 構造による明確な活性の差はみられなかった (Table 1). また, 1-ブタノール可溶分画より得られた配糖体成分はほとんど抗変異原性を示さなかった.

**Table 1.** Antimutagenic activity of major constituents against Trp-P-1 (0.04  $\mu$ g/plate)

Dose (nmol/plate)	Revertants / plate (Inhibition %)					
	control	25	50	100	200	400
3	210±21	206±33	137±2	90±3.5	97±7	73±9
	(0.0%)	(0.7%)	(34.6%)	(57.3%)	(53.7%)	(65.2%)
4	210±21	156±5	141±1	96±16	82±1	68±4
	(0.0%)	(25.5%)	(32.9%)	(54.4%)	(60.9%)	(67.8%)
7	210±21	144±13	165±1	110±9	101±5	84±8
	(0.0%)	(31.5%)	(21.0%)	(47.5%)	(52.0%)	(59.9%)
8	210±21	139±17	114±5	91±5	57±4	56±6
	(0.0%)	(33.9%)	(46.0%)	(56.8%)	(72.8%)	(73.3%)
11	210±21	149±18	124±2	95±6	67±11	
	(0.0%)	(28.9%)	(41.0%)	(54.9%)	(68.3%)	
Nobiletin	control	10	20	40	80	
	(0%)	(4%)	(39%)	(52%)	(56%)	

また, ベンゾ[*a*]ピレン誘発細胞障害に対する保護作用について検討した. すなわち, ヒト繊維肉腫 HT1080 細胞に被験サンプルとベンゾ[*a*]ピレン (50  $\mu$ M) を加え, 20 時間培養し, MTT 法によって細胞生存率を算出した. その結果, 数種のメガスチグマン配糖体およびリグナン配糖体に有意な抑制作用を認めた.

## クロバナヒキオコシを基原とする延命草の含有成分の単離と胃粘膜保護作用 (生薬学分野) 松田久司

クロバナヒキオコシ (*I. trichocarpa*) を基原とする延命草の MeOH 抽出エキスの薬効成分についても研究を行った。すなわち、延命草を MeOH で熱時抽出後、溶媒を減圧留去し、MeOH 抽出エキスを得た。MeOH 抽出エキスを EtOAc と H<sub>2</sub>O で分配抽出し、EtOAc 移行部および H<sub>2</sub>O 移行部を得た。次いで、H<sub>2</sub>O 移行部を HP-20 カラムクロマトグラフィーに付し、H<sub>2</sub>O, MeOH, acetone で順次溶出し、H<sub>2</sub>O 溶出部 (収率 3.6%), MeOH 溶出部 (0.9%) および acetone 溶出部 (0.1%) を得た。EtOAc 移行部のを順相シリカゲル、逆相 ODS カラムクロマトグラフィーおよび逆相 HPLC で繰り返し分離精製し、主要成分として 7 種のジテルペン oridonin (**3**, 0.16%), lasiokaurin (**35**, 0.0078%), longikaurin B (**36**, 0.0012%), effusanin (**37**, 0.0023%), dihydroenmein (**38**, 0.0007%), sculponeatin F (**39**, 0.0013%), epinodosinol (**40**, 0.0020%) を単離・同定した (Fig. 4)。含有成分において、高含量で含む oridonin (**3**) を除き、ヒキオコシを基原とする延命草とは異なるジテルペンが得られた。

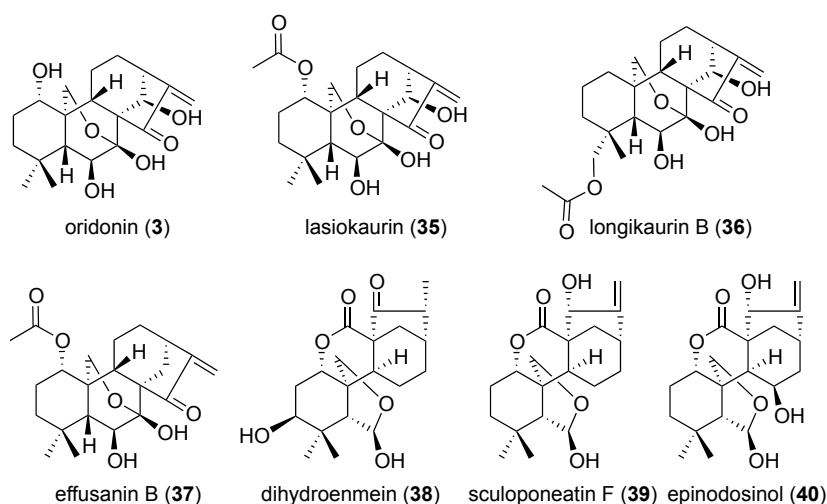


Fig. 4. クロバナヒキオコシを基原とする延命草から単離した主要なジテルペン類

また、延命草には健胃作用が伝承されていることからラットにおけるエタノール誘発胃粘膜損傷に対する効果を検討した。すなわち、絶食させた Sprague-Dawley 系雄性ラット (体重 240~260 g) に被験物質を経口投与 (5 mL/kg) し、1 時間後に 99.5 %エタノールを 1.5 mL/rat の割合で経口投与した。1 時間後に胃を摘出し、胃内に 1.5 %ホルマリン溶液 (10 mL) を注入して固定した後、胃を大彎に沿って切り開き、胃体部粘膜に発生した線状出血性病変の長さ (mm) を測定し、損傷係数とした。

その結果、oridonin (**3**), lasiokaurin (**35**), longikaurin B (**36**), effusanin (**37**) は 10 mg/kg の用量で有意な抑制作用が認められたが、dihydroenmein (**38**), sculponeatin F (**39**), epinodosinol (**40**) には有意な抑制作用は認められなかった。これらの結果より、顕著な胃粘膜損傷抑制作用を示した **3**, **35**, **36** および **37** は、共通する部分構造として、カルボニル基とその  $\alpha$ ,  $\beta$  位の二重結合とが共役した部位、すなわち  $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和カルボニル構造を有している。一方で、カルボニル基もしくは  $\alpha$ ,  $\beta$  位の二重結合を持たず、水酸基もしくはメチル基に還元された形を持つ **38**, **39**, **40** は、いずれも有意な抑制作用を示さなかった。したがって、 $\alpha$ ,  $\beta$ -カルボ

ニル部位が作用発現に必須であることが推察された。

収量の多かった oridonin (3, 5 および 10 mg/kg, *p.o.*) について, 0.6 M HCl 誘発胃粘膜損傷, インドメタシン誘発胃粘膜損傷に及ぼす作用についてもあわせて検討したところ, いずれの損傷モデルにおいても有意な作用を示したことから, PG 産生または胃運動抑制などを介した胃粘膜損傷抑制作用が推察された。

## 延命草に関する研究発表

### 論文発表

- 1) Takahiro Matsumoto, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Tomoe Ohta, Keiko Ogawa, Masashi Fukaya, Junko Tsukioka, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe, Hisashi Matsuda: Neolignan and megastigmane glucosides from the aerial parts of *Isodon japonicus* with cell protective effects on BaP-induced cytotoxicity. *Phytochemistry*, **137**, 101–108 (2017).
- 2) Takahiro Matsumoto, Seikou Nakamura, Naoto Kojima, Tomohiro Hasei, Masayuki Yamashita, Tetsushi Watanabe, Hisashi Matsuda: Antimutagenic activity of *ent*-kaurane diterpenoids from the aerial parts of *Isodon japonicas*. *Tetrahedron Lett.*, **58**, 3574–3578 (2017).

### 学会発表

- 1) 松本崇宏, 中村誠宏, 齋藤菜月, 川添智子, 長谷井友尋, 月岡淳子, 渡辺徹志, 松田久司: ヒキオコシ地上部からの抗変異原性成分探索研究. 日本生薬学会 第 63 回年会富山 2016 (富山), 2016. 9.
- 2) 中村誠宏, 岸本真里子, 中嶋聡一, 松本崇宏, 関家聡美, 松田久司: ベンゾ[a]ピレン誘発細胞障害に対する保護物質の探索② —ヒキオコシ含有成分の保護作用—. 日本生薬学会 第 63 回年会富山 2016 (富山), 2016. 9.
- 3) 古川香矢, 中嶋聡一, 中村誠宏, 松本崇宏, 関家聡美, 岸本真里子, 松田久司: ベンゾ[a]ピレン誘発細胞障害に対するヒキオコシの保護作用物質. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016. 10.
- 4) 松本崇宏, 中村誠宏, 川添智子, 長谷井友尋, 松田久司, 渡辺徹志: ヒキオコシ (*Isodon japonicus*) 地上部からの抗変異原性成分の探索研究. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017. 3.
- 5) 松本崇宏, 中村誠宏, 小島直人, 長谷井友尋, 山下正行, 松田久司, 渡辺徹志: テルペノイドに着目した抗遺伝毒性成分の探索研究. 第 7 回食品薬学シンポジウム (京都), 2017.10.
- 6) 松本崇宏, 中村誠宏, 小島直人, 長谷井友尋, 山下正行, 松田久司, 渡辺徹志: テルペノイドに着目した抗変異原性成分の探索研究. 日本環境変異原学会第 46 回大会 (東京), 2017. 11.
- 7) 松本崇宏, 中村誠宏, 川添智子, 長谷井友尋, 松田久司, 渡辺徹志: ヒキオコシ (*Isodon japonicus*) 地上部含有成分の抗変異原性評価. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3.

## 柴胡, 川芎に関する研究

多成分系薬物である生薬の品質評価において、日本薬局方に収載される指標成分のみならず含有される機能性成分の網羅的解析は、その優良品種の選別や栽培方法の確立などにおいて重要な指標となりうる。本研究プロジェクトにおいて我々は、医療用漢方製剤や一般用漢方処方において頻用され、かつ、国内栽培が可能な生薬（優良和薬）について、品質の担保された安全で安定な供給をめざすことを目的に、数種の頻用生薬の含有成分ライブラリーの構築およびその伝承薬効に基づいた生物活性評価に着手した。ここでは、柴胡および川芎について得られた成果を報告する。

### 柴胡サポニンの含有サポニンライブラリーの構築とその機能性評価

(近畿大学薬学総合研究所) 森川敏生, (生薬学分野) 松田久司

柴胡は日本薬局方(日局)には第7改正より収載され、第17改正においてその基原はセリ科植物ミシマサイコ (*Bupleurim farcatum* Linné) の根とされている。<sup>1)</sup> 本州から四国・九州の日当たりのよい山野に自生する在来種で、江戸時代に静岡県三島の三島が良質な柴胡の集積地であったため、ミシマサイコと呼ばれるようになった。おもに、精神神経用薬、消炎排膿薬、痔疾用薬、保健強壯薬とみなされる漢方処方などに配合され、日局収載漢方処方エキス製剤34品目のうち10品目に使用されている(第17改正第1追補まで)。平成26年度における使用量は約600 t (601,076 kg, 生薬品目別で第12位)で、その90%以上を中国産が占め(585,258 kg)、日本での生産は5%以下(15,410 kg)である。<sup>2)</sup> 中華人民共和国薬典(薬典)において柴胡は、*B. farcatum* の地域変種と考えられる *B. chinense* DC. (ヒロハミシマサイコあるいはマンシュウミシマサイコ) および *B. scorzonerifolium* Wild. (ホソバミシマサイコあるいはオクシマミシマサイコ) の干乾した根と収載されており、その基原は日本と異なっている。しかしながら、第8~13改正版までは、「ミシマサイコまたはその変種」との記載であったことから、これらの同属植物が局方品としても利用されていた時期があった。第13改正第1追補以降は再びミシマサイコに基原を限定されたが、<sup>3)</sup> その背景には、自生品(現在は絶滅危惧第2種種苗を用いた中国でのミシマサイコの栽培生産による日局適合品[総サポニン(saikosaponin a および d) 0.35%以上、第15改正以降に記載された含量規定]の供給量にあった。

今回、柴胡の含有サポニンライブラリーの構築と、その機能性評価を目的に、現在最も市場性のある中国産 *B. farcatum* について含有成分を探索した。その結果、1種の新規化合物を含む計19種のサポニン(1-19)を単離した(Fig. 1)。また、我々はこれまでにミシマサイコの変種のひとつである *B. scorzonerifolium* から、saikosaponin 類(2-7)など16種の既知サポニンを単離・同定するとともに、新規サポニンとして13種の bupleuroside 類(12-15) およびアグリコン部に糖アルコールである adonitol がアグリコン部に結合した特異な構造を有する scorzonerose A-C(18-20)を単離・構造決定している。<sup>4,5)</sup> 今回、これまで *B. scorzonerifolium* の特徴成分であったと考えられていた scorzonerose A(18) および B(19) について、中国産 *B. farcatum* からはじめて見いだされるなどの知見を得た。また、含有サポニン成分について、D-galactosamine (GalN) / lipopolysaccharide (LPS) 誘発マウス肝障害に対する作用を検討した結果、主要成分である saikosaponin a(2), c(7) および d(8) に10 mg/kg の用量において有意な肝障害抑制活性が認められた。柴胡が配剤される漢方処方のひとつである小柴胡湯は、かつては慢性肝炎および肝機能障害の治療を目的に

盛んに用いられたが、インターフェロン製剤との併用による間質性肺炎の副作用が報告されたことから併用禁忌となっている。そのため、肝障害抑制作用が認められたサポニン成分の分子レベルでの作用（あるいは副作用）発現に興味を持たれる。

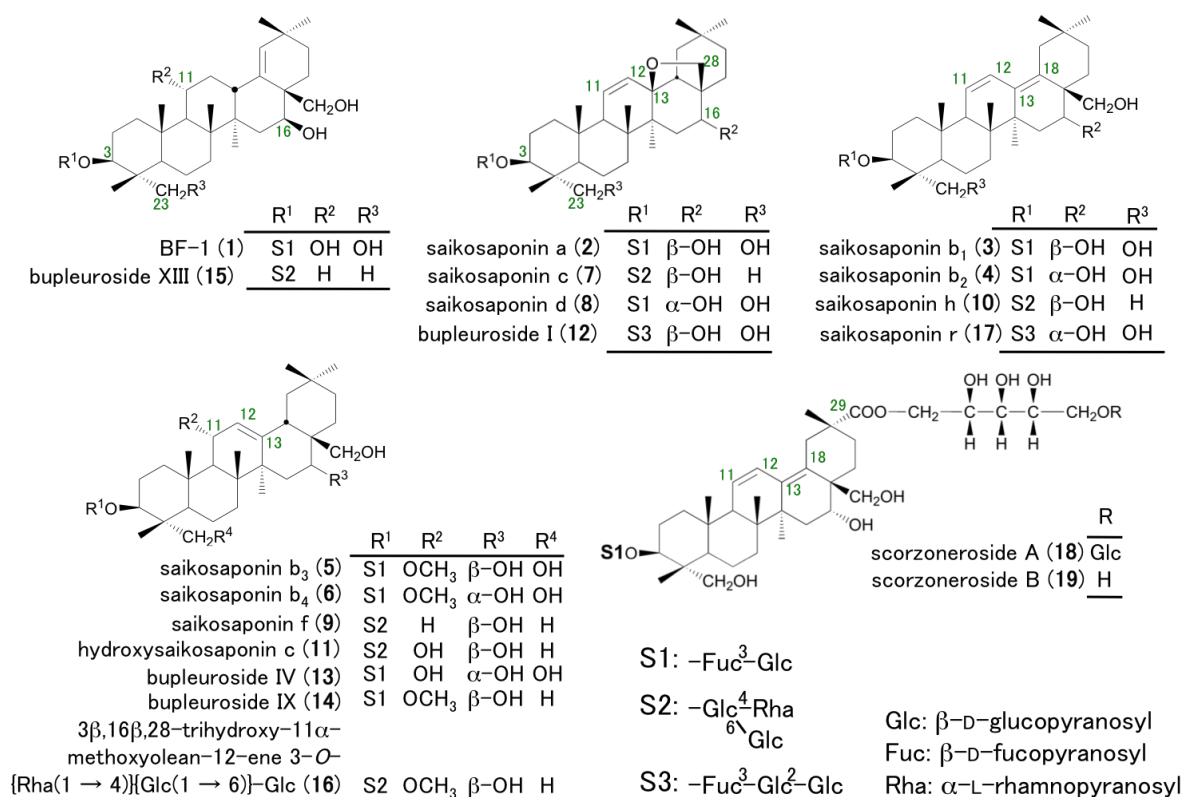
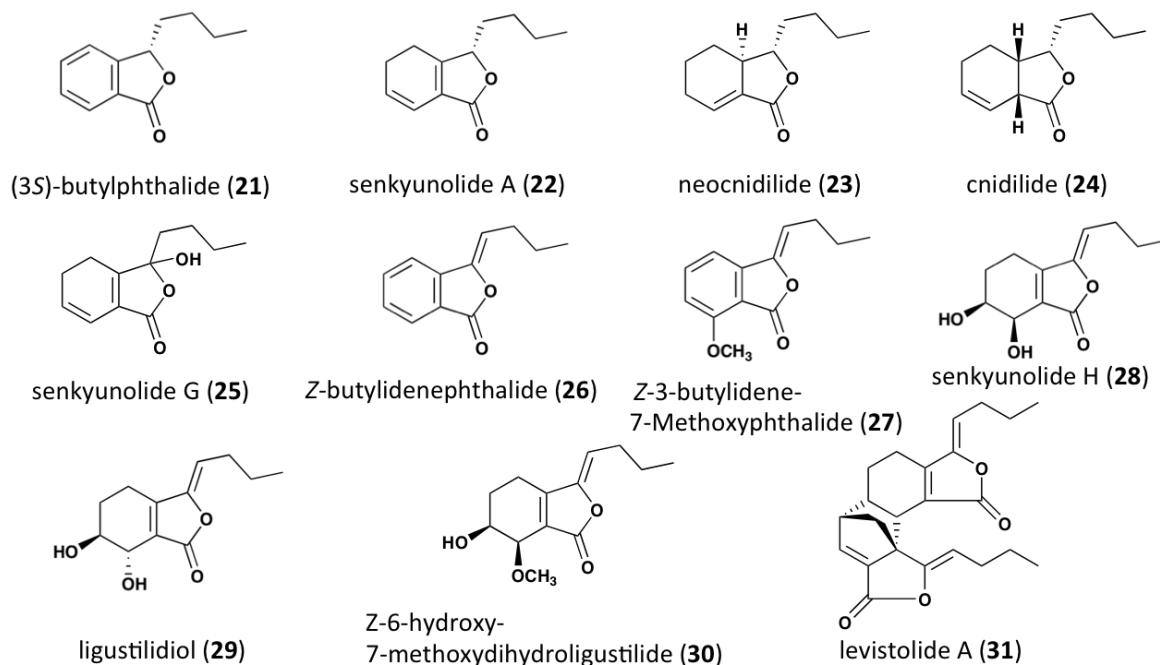


Fig. 1. Isolated saponins (1–19) from roots of *B. farcatum* cultivated in Sichuan, China

### 川芎の含有成分の研究とその機能性評価 (近畿大学薬学総合研究所) 森川敏生

日局には第7改正より収載され、その基原は在来種であるセリ科ハマゼリ属のセンキュウ *Cnidium officinale* Makino の根茎を、通例、湯通ししたものである。おもに、婦人薬、冷え症用薬、皮膚疾患用薬、消炎排膿薬とみなされる漢方処方などに配合されている。<sup>1)</sup> 平成26年度における使用量は約540 t (540,827 kg, 生薬品目別で第14位) で、その80%以上が北海道や岩手県などで国内生産されており(404,431 kg), 中国産は20%弱(136,395 kg)である。<sup>2)</sup> 薬典に収載される川芎は、セリ科マルバトウキ属の *Ligusticum chuanxiong* Hortrum の根茎であり、日本において唐川芎と称される基原の異なるものであるため、日本では生薬として流通しない。そのため、柴胡と同様に中国でのセンキュウの栽培は、日本から持ち出された株によるものである。<sup>3)</sup> 我々は、北海道産センキュウの MeOH 抽出エキスに、ddY 系雄性マウスを用いた肝臓中中性脂肪 (TG) 低減作用を見いだした。すなわち、MeOH 抽出エキス 250 mg/kg/day の用量において3日間連続投与したところ、有意な肝臓中 TG 量の減少が認められるとともに、連投後の耐糖能試験 (OGTT) における耐糖能改善作用が認められた。また、高濃度グルコース含有培地で培養して TG を蓄積させたヒト肝がん由

来 Hep G2 細胞を用いた，細胞内 TG 低減活性を指標に活性寄与成分を探索したところ，これまでに 11 種のフタリド類 (21–31) など，計 20 種の化合物を単離した (Fig. 2). これらのうち，senkyunolide G (25) および H (28) に活性を見いだした。



**Fig. 2.** Isolated phthalides (21–31) from rhizomes of *C. officinale* cultivated in Hokkaido, Japan

(文献)

- 1) 日本薬局方解説書編集委員会 編 (2016), “第十七改正日本薬局方解説書”, 廣川書店, 東京.
- 2) 日本漢方生薬製剤協会生薬委員会 編 (2017), “原料生薬使用量等調査報告書 (4) –平成 25 年度および 26 年度の使用量–”, 日本漢方生薬製剤協会, 東京.
- 3) 木下武司 (2015), “歴代日本薬局方収載 生薬大事典”, ガイアブックス, 東京.
- 4) Matsuda H., Murakami T., Ninomiya K., Inadzuki M., Yoshikawa M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **7**, 2193–2198 (1997).
- 5) Yoshikawa M., Murakami T., Hirano K., Inadzuki M., Ninomiya K., Matsuda H., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 7395–7398 (1997).

## 柴胡, 川芎に関する研究発表

### 学会発表

- 1) 塩谷美幸, 二宮清文, 尾関快天, 松尾菜都子, 森川敏生. 川芎 (*Cnidium officinale*, 根茎) の機能性成分(3) –含有フタリド成分の一酸化窒素産生抑制活性–. 第 32 回和漢医薬学会大会 (富山), 2015. 8.
- 2) Kiyofumi Ninomiya, Miyuki Shiotani, Chie Sakai, Toshio Morikawa. Phthalide constituents from rhizomes of *Cnidium officinale* with triglycelide metabolism-promoting activity in high glucose-pretreated HepG2 cells. Inaugural Symposium of the Phytochemical Society of Asia 2015 (ISPSA2015)(Tokushima, Japan), 2015. 8.
- 3) Takuya Konno, Kiyofumi Ninomiya, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda, Toshio Morikawa: Hepatoprotective triterpene saponins from roots of *Bupleurum falcatum*. 7th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference (Taipei, Taiwan), 2015. 10.
- 4) Kiyofumi Ninomiya, Chie Sakai, Miyuki Shiotani, Toshio Morikawa. Phthalides from rhizomes of *Cnidium officinale* as new leads for fatty liver therapeutic candidates. 7th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference (Taipei, Taiwan), 2015. 10.
- 5) 二宮清文, 酒井千恵, 塩谷美幸, 森川敏生. センキュウ (*Cnidium officinale*, 根茎) の肝脂肪低減作用成分の探索. 第 36 回日本肥満学会 (名古屋), 2015. 10.
- 6) 今野拓哉, 二宮清文, 吉川雅之, 松田久司, 森川敏生. ミシマサイコ (*Bupleurum falcatum* L.) 根部の肝障害抑制活性成分. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015. 10.
- 7) 二宮清文, 塩谷美幸, 尾関快天, 松尾菜都子, 森川敏生. 川芎 (*Cnidium officinale*, 根茎)の抗炎症作用成分. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016. 3.
- 8) Kiyofumi Ninomiya, Chie Sakai, Kumi Ninomiya, Miyuki Shiotani, Toshio Morikawa. Phthalides from rhizomes of *Cnidium officinale* accelerate metabolism of triglyceride in hepatocytes. 9th Joint Natural Products Conference 2016 (JNPC2016)(Copenhagen, Denmark), 2016. 7.
- 9) Takuya Konno, Kiyofumi Ninomiya, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda, Toshio Morikawa. Triterpene saponin constituents from roots of *Bupleurum falcatum*: Hepatoprotective effects on D-galactosamine-induced cell damage. 9th Joint Natural Products Conference 2016 (JNPC2016)(Copenhagen, Denmark), 2016. 7.
- 10) 二宮 与, 二宮清文, 酒井千恵, 塩谷美幸, 森川敏生. 川芎 (*Cnidium officinale*, 根茎) の耐糖能改善作用物質. 第 33 回和漢医薬学会学術大会 (東京), 2016. 8.
- 11) 今野拓哉, 二宮清文, 矢田佳凜, 森川敏生. 柴胡含有サポニン成分の肝細胞内中性脂肪低減活性成分. 第 33 回和漢医薬学会学術大会 (東京), 2016. 8.
- 12) Kiyofumi Ninomiya, Takuya Konno, Karin Yada, Toshio Morikawa. Triterpene saponins from roots of *Bupleurum falcatum* with triglyceride metabolism-promoting activity in high glucose-pretreated HepG2 cells. International Symposium on Natural Products for the Future 2016 Tokushima (Tokushima), 2016. 9.
- 13) 二宮清文, 今野拓哉, 矢田佳凜, 森川敏生. サイコ (*Bupleurum falcatum* L.) の肝細胞内中性脂肪代謝作用. 日本生薬学会 第 63 回年会富山 2016 (富山), 2016. 9.
- 14) 二宮清文, 二宮 与, 酒井千恵, 塩谷美幸, 森川敏生. センキュウの肝臓中脂肪低減を介した耐糖能改善作用. 第 37 回日本肥満学会 (熊本), 2016. 10.



- 15) Takuya Konno, Kiyofumi Ninomiya, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda, Toshio Morikawa. Hepatoprotective triterpene saponin constituents from roots of *Bupleurum falcatum*. The 12th International Conference on Protein Phosphatase (ICPP12)(Osaka, Japan), 2016. 10.
- 16) 二宮清文, 二宮 与, 酒井千恵, 塩谷美幸, 森川敏生. センキュウ (*Cnidium officinale*, 根茎) の耐糖能改善作用成分の探索. 第 34 回和漢医薬学会大会 (福岡), 2017. 8.
- 17) 宮坂賢知, 二宮清文, 塩谷美幸, 森川敏生. センキュウ (*Cnidium officinale*, 根茎) の糖消費促進活性成分の探索. 第 34 回和漢医薬学会大会 (福岡), 2017. 8.
- 18) 二宮清文, 宮坂賢知, 塩谷美幸, 二宮 与, 酒井千恵, 森川敏生. 川芎の耐糖能改善作用成分. 日本生薬学会第 64 回年会 (千葉), 2017. 9.
- 19) 二宮清文, 宮坂賢知, 塩谷美幸, 山本紗也, 森川敏生. センキュウ (*Cnidium officinale*, 根茎) の糖消費促進活性成分の探索. 第 67 回日本薬学会近畿支部 (兵庫), 2017.10. \*<sup>35)</sup>
- 20) 二宮清文, 山本紗也, 塩谷美幸, 森川敏生. センキュウ (*Cnidium officinale*, 根茎) の新規芳香族化合物. 第 67 回日本薬学会近畿支部 (兵庫), 2017.10.
- 21) 宮坂賢知, 二宮清文, 二宮 与, 酒井千恵, 塩谷美幸, 森川敏生. 川芎 (*Cnidium officinale*, 根茎) の糖代謝改善作用成分. 日本農芸化学会 2018 年度大会 (名古屋), 2018. 3.
- 22) 二宮清文, 赤木 駿, 今野拓哉, 森川敏生. サイコ (*Bupleurum falcatum* L.) 含有サポニン成分の抗 TNF- $\alpha$  作用. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3.

## おわりに

以上、当帰、甘茶、延命草の成分研究や薬効解明とその基原植物の栽培に関してこれまでの取り組みをまとめて報告した。平成 29 年度で本基盤形成事業は終了となるが、いずれも道半ばの状況である。今後、本事業で形成した基盤を継続発展させ、優良な生薬の生産につながる研究を継続することによって、地域社会に貢献したいと考えている。

## 謝辞

ここまで本プロジェクトを支えていただいた関係諸氏、研究試料をご提供いただいた、武田薬品工業・京都薬用植物園、奈良県薬事研究センター、株式会社九戸村ふるさと振興公社にお礼申し上げます。