

和漢薬製剤開発部門

Department of Kampo-pharmaceutics

客員教授	佐竹 元吉	Professor	Motoyoshi Satake (Ph.D.)
客員准教授	紺野 勝弘	Associate Professor	Katsuhiko Konno (Ph.D.)
客員助教	数馬 恒平	Assistant Professor	Kohei Kazuma (Ph.D.)
研究員	宮 永 賢	Postdoctoral Fellow	Satoshi Miyanaga (Ph.D.)

◇研究目的

本寄附研究部門は、富山大学と地域との連携を深め、薬業の振興を図ることを目的として設置された。新たな富山オリジナルブランド和漢薬製剤の開発・支援を通じて県内薬業界の活性化を図るとともに、国際的協力・支援を通じて、世界各地の伝統医療の発展に貢献する。

◇研究概要

I) 富山県薬業界の発展に寄与する新和漢薬製剤の開発研究

1. 富山オリジナルブランド医薬品第2弾として新しいタイプの胃腸薬処方を産官学共同で検討し、「エッセン（越撰）」として承認され販売を開始した。新処方では、現在医療用漢方薬として最も繁用される大建中湯をベースにし、サンザシと烏梅を加えたものである。いずれも、消化吸収を促す働きのある生薬で、消化機能の弱った高齢者の消化吸収を穏やかに助ける効果が期待される。

II) 漢方医療情報に関する研究及び教育

1. 個別企業に赴き、講演会・会議を通じて情報提供（新210処方など）及び和漢薬処方（足湯、認知症など）に関する助言・指導を行った。
2. 厚生科研の支援の下、全国から植物の専門家を組織して研究会を行いながら、「日本の有毒植物」の編集を進めた（2012年4月学研より発刊予定）。

III) 国際的貢献・支援

1. ミャンマー伝統薬の薬局方作成を支援するため、現地研究者を受入れ、確認試験などの技術指導を行った。
2. 伝統医療の普及と配置薬実施を支援するため、モンゴル・タイ・ミャンマー・カンボジアを数度訪れ、現地での指導を続けている。
3. 厚生科研の支援の下、「薬用植物の保護に関するWHO会議」を開催、事務局を担当した。

◇原著論文

- 1) Sant'Anna C. L., de Carvalho L. R., Fiore M. F., Silva-Stenico M. E., Lorenzi A. S., Rios F. R., Konno K., Garcia C., Lagos N.: Highly toxic *Microcystis aeruginosa* strain, isolated from São Paulo-Brazil, produce hepatotoxins and paralytic shellfish poison neurotoxins, *Neurotox. Res.*, 19, 389-402 (2011).

Abstract: While evaluating several laboratory-cultured cyanobacteria strains for the presence of paralytic shellfish poison neurotoxins, the hydrophilic extract of *Microcystis aeruginosa* strain SPC777—isolated from Billings's reservoir, São Paulo, Brazil—was found to exhibit lethal neurotoxic effect in mouse

bioassay. The in vivo test showed symptoms that unambiguously were those produced by PSP. In order to identify the presence of neurotoxins, cells were lyophilized, and the extracts were analyzed by HPLC–FLD and HPLC–MS. HPLC–FLD analysis revealed four main Gonyautoxins: GTX4(47.6%), GTX2(29.5%), GTX1(21.9%), and GTX3(1.0%). HPLC–MS analysis, on other hand, confirmed both epimers, with positive Zwitterions M^+ 395.9 m/z for GTX3/GTX2 and M^+ 411 m/z for GTX4/GTX1 epimers. The hepatotoxins (Microcystins) were also evaluated by ELISA and HPLC–MS analyses. Positive immunoreaction was observed by ELISA assay. Alongside, the HPLC–MS analyses revealed the presence of [L-ser7] MCYST-RR. The N-methyltransferase (NMT) domain of the microcystin synthetase gene *mcyA* was chosen as the target sequence to detect the presence of the *mcy* gene cluster. PCR amplification of the NMT domain, using the genomic DNA of the SPC777 strain and the MSF/MSR primer set, resulted in the expected 1,369 bp product. The phylogenetic analyses grouped the NMT sequence with the NMT sequences of other known Microcystis with high bootstrap support. The taxonomical position of *M. aeruginosa* SPC777 was confirmed by a detailed morphological description and a phylogenetic analysis of 16S rRNA gene sequence. Therefore, co-production of PSP neurotoxins and microcystins by an isolated *M. aeruginosa* strain is hereby reported for the first time.

2) **Flores M. P. A., Furlin D., Ramos O. H. P., Balan A., Konno K., Chudzinski-Tavassi A. M.: LOSAC: the first hemolin that exhibits procogulant activity through selective factor X proteolytic activation, *J. Biol. Chem.*, 286, 6918-6928 (2011).**

Abstract: Envenoming by the contact of human skin with *Lonomia obliqua* caterpillars promotes a hemorrhagic syndrome characterized by a consumptive coagulopathy. Losac (*Lonomia obliqua* Stuart factor activator) is a component of the bristle of *L. obliqua* that is probably partially responsible for the observed syndrome because it activates factor X and is recognized by an effective antilonomic serum. Here we unveil the proteolytic activity of Losac and demonstrate the feasibility of its recombinant production. On the other hand, Losac has no homology to known proteases, but it can be inhibited by PMSF, a serine protease inhibitor. Instead, it shows closer homology to members of the hemolin family of proteins, a group of cell adhesion molecules. The recombinant protein (rLosac) shortened the coagulation time of normal and deficient plasmas, whereas it was ineffective in factor X-deficient plasma unless reconstituted with this protein. rLosac was able to activate factor X in a dose- and time-dependent manner but not γ -carboxyglutamic acid domainless factor X. Moreover, phospholipids and calcium ions increased rLosac activity. Also, rLosac had no effect on fibrin or fibrinogen, indicating its specificity for blood coagulation activation. Linear double reciprocal plots indicate that rLosac follows a Michaelis-Menten kinetics. Cleavage of factor X by rLosac resulted in fragments that are compatible with those generated by RVV-X (a well known factor X activator). Together, our results validate Losac as the first protein from the hemolin family exhibiting procoagulant activity through selective proteolysis on coagulation factor X.

3) **Zaharenko A. J., Picolo G., Ferreira Jr. W. A., Murakami T., Kazuma K., Hashimoto M., Cury Y., de Freitas J. C., Satake M., Konno K.: Bunodosine 391, an analgesic acylamino acid from the venom of the sea anemone *Bunodosoma cangicum*, *J. Nat. Prod.*, 74, 378-382 (2011).**

Abstract: A new acylamino acid, bunodosine 391 (BDS 391), was isolated from the venom of the sea anemone *Bunodosoma cangicum*. The structure was elucidated by spectroscopic analyses (2D NMR, ESIMS/ MS) and verified by its synthesis. Intraplantar injection of BDS 391 into the hind paw of a rat induced a potent analgesic effect. This effect was not altered by naloxone (an opioid receptor antagonist), but was completely reversed by methysergide (a serotonin receptor antagonist), indicating that the effect is mediated by activation of serotonin receptors

4) **Shirota O., Oriello J. M., Sekita S., Satake M.: Sesquiterpenes from *Blumea balsamifera*, *J. Nat. Prod.*, 74, 470-476 (2011).**

Abstract: Five new guaiane sesquiterpenes, blumeaenes E1 (1), E2 (2), K (3), L (4), and M (5), and one new eudesmane sesquiterpene, samboginone (6), along with three known compounds, cryptomeridiol, 3,30,5,7-tetrahydroxy-40-methoxyflavanone, and austroinulin, were isolated from the leaves of the Philippine medicinal herb sambong, *Blumea balsamifera*. The absolute configuration of the new guaiane core was determined as 1S,7S,9S,10R by employing the modified Mosher's method. In the structure of 1, the absolute configuration of the epoxyangelic acid moiety was identified as 2S,3S using (R)-PGME as a chiral anisotropic auxiliary.

- 5) Rangel M., Cabrera M. P. S., Kazuma K., Ando K., Wang X., Kato M., Nihei K., Hirata I. Y., Cross T., Garcia A. N., Lima-Mauro E. F., Franzolin M. R., Fuchino H., Mori-Yasumoto K., Sekita S., Kadowaki M., Satake M., Konno K.: Chemical and biological characterization of four new antimicrobial and α -helical peptides from the venoms of two solitary eumenine wasps, *Toxicon*, 57, 1081-1092 (2011).

Abstract: Four novel peptides were isolated from the venoms of the solitary eumenine wasps *Eumenes rubrofemoratus* and *Eumenes fraternulus*. Their sequences were determined by MALDI-TOF/TOF (matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry) analysis, Edman degradation and solid-phase synthesis. Two of them, eumenitin-R (LNLKGLIKKVASLLN) and eumenitin-F (LNLKGLFKKVASLLT), are highly homologous to eumenitin, an antimicrobial peptide from a solitary eumenine wasp, whereas the other two, EMP-ER (FDIMGLIKKVASAL-NH₂) and EMP-EF (FDVMGIIKKIAGAL-NH₂), are similar to eumenine mastoparan-AF (EMP-AF), a mast cell degranulating peptide from a solitary eumenine wasp. These sequences have the characteristic features of linear cationic cytolytic peptides; rich in hydrophobic and basic amino acids with no disulfide bond, and accordingly, they can be predicted to adopt an amphipathic α -helix secondary structure. In fact, the CD (circular dichroism) spectra of these peptides showed significant α -helical conformation content in the presence of TFE (trifluoroethanol), SDS (sodium dodecylsulfate) and azolectin vesicles. In the biological evaluation, all the peptides exhibited a significant broad-spectrum antimicrobial activity, and moderate mast cell degranulation and leishmanicidal activities, but showed virtually no hemolytic activity.

◇総説

- 1) 紺野勝弘：きのこの化学雑記帳 (1) —ドクササコ有毒成分の研究—。菌蕈, 57(6): 18-21, 2011.
- 2) 紺野勝弘：きのこの化学雑記帳 (2) —シイタケをめぐる化学—。菌蕈, 57(8): 23-25, 2011.
- 3) 紺野勝弘：きのこの化学雑記帳 (3) —きのこ中毒御三家—。菌蕈, 57(10): 14-17, 2011.
- 4) 紺野勝弘：きのこの化学雑記帳 (4) —生命科学に貢献するきのこ毒—。菌蕈, 57(12): xx-xx, 2011.
- 5) 佐竹元吉：日本のハーブ 7, ハトムギと筑波薬草園。Medical Herb, Vol. 15: 22-23, 2011.
- 6) 佐竹元吉：日本のハーブ 8, ウメとサンザシ (烏梅と山査子)。Medical Herb, Vol. 16: 20-21, 2011.
- 7) 佐竹元吉：遠志の思い出と将来の漢方薬。漢方研究, 2011(8): 39-41.

◇学会報告

- 1) Katsuhiko Konno: Neuropeptides in solitary wasp venom: Invertebrate Neuropeptide Conference 2011, 2011, 2, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia.
- 2) 宮永賢, 数馬恒平, 紺野勝弘, Ishikawa K. N., 長沢栄次, 佐竹元吉：アラゲカワキタケ由来の新規phenanthrene化合物の単離と構造決定：日本薬学会第131年会, 2011, 3, 静岡.
- 3) 紺野勝弘, 数馬恒平, 安藤賢司, 佐竹元吉：単独性カリバチ・アナバチ類毒囊より得られた新規ペプチド：日本薬学会第131年会, 2011, 3, 静岡.
- 4) 安元加奈未, 瀧野裕之, 我妻豊, 佐竹元吉, 関田節子：抗リーシュマニア活性を有する薬用植物の探索 (その 22) —ミャンマー産植物 *Kyun Tectona grandis* Linn. f. の成分について 3：日本薬学会第131年会, 2011, 3, 静岡.
- 5) 佐久間克也, 鈴木克誠, 作田圭亮, 佐竹元吉：四物湯を起源としたエキス剤の血流増加作用に関する研究 (5) 生姜を加えた処方の香粧品の有用性：日本薬学会第131年会, 2011, 3, 静岡.
- 6) 本間美保, 野口翔悟, 田中和明, 紺野勝弘, 橋本勝：抗菌性デプシペプチドの単離と構造決定：日本農芸化学会 2011 年度 (平成 23 年度) 大会, 2011, 3, 京都.
- 7) 磯部優佳, 宮永賢, 数馬恒平, 紺野勝弘, 佐竹元吉：オオミサンザシの成分解析とそのサン

- ザシエキス確認試験への応用：第 28 回和漢医薬学会学術大会，2011，8，富山。
- 8) 王曉華，久保山友晴，宮永賢，数馬恒平，紺野勝弘，佐竹元吉，東田千尋：Searching for natural medicines that improve spinal cord injury：第 28 回和漢医薬学会学術大会，2011，8，富山。
 - 9) 紺野勝弘，宮永賢，数馬恒平，佐竹元吉：地竜のペプチド成分：第 28 回和漢医薬学会学術大会，2011，8，富山。
 - 10) 安藤賢司，数馬恒平，紺野勝弘，佐竹元吉：タケバチ(竹蜂)のペプチド成分：第 28 回和漢医薬学会学術大会，2011，8，富山。
 - 11) 柴原直利，東田千尋，Zhu Shu，櫻井宏明，数馬恒平，山本武，小泉桂一，紺野勝弘，門脇真，小松かつ子：「伝統医薬データベース」の構築：第 28 回和漢医薬学会学術大会，2011，8，富山。
 - 12) 数馬恒平，紺野勝弘，佐竹元吉：ミャンマー生薬局法作成支援の現状：第 28 回和漢医薬学会学術大会：2011，8，富山。
 - 13) 篠崎淳一，高野昭人，中根孝久，増田和夫，代田修，関田節子，佐竹元吉：オウレン属植物の分子系統学的検討：日本生薬学会第 58 回年会，2010，9，東京。
 - 14) 安元加奈未，関田節子，淵野裕之，我妻豊，佐竹元吉：抗リーシュマニア活性を有する薬用植物のを探索(その 23)-ミャンマー産植物 *Kyun Tectona grandis* の成分について：日本生薬学会第 58 回年会，2010，9，東京。
 - 15) 代田修，豊田佳奈，我妻豊，関田節子，数馬恒平，佐竹元吉：ミャンマー産オウレンの現地調査および成分分析：日本生薬学会第 58 回年会，2010，9，東京。
 - 16) 紺野勝弘，数馬恒平，佐竹元吉，村上貴宣，橋本勝，André Zaharenko，Wilson Ferreira，Gisele Picolo，Yara Cury，José Freitas：南米産イソギンチャク *Bunodosoma cangicum* より得られた新規アシルアミノ酸 Bunodosine 391 の構造と生物活性：第 32 回天然物有機化合物討論会，2011，9，大阪。

◇共同研究

国内

- 1) 今中常雄教授：富山大学薬学部
「リーシュマニア症治療薬の開発研究」
- 2) 関田節子教授：徳島文理大学香川薬学部
「リーシュマニア症治療薬の開発研究」
- 3) 淵野裕之博士：医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター
「リーシュマニア症治療薬の開発研究」
- 4) 水村和枝教授：中京大学生命健康科学部
「南米産ヘビ毒鎮痛ペプチド crotalphine の作用機構に関する研究」
- 5) 久保泰博士：産業技術総合研究所
「ヘビおよびイソギンチャク由来の生理活性ペプチドの作用機構に関する研究」
- 6) 小山なつ教授：滋賀医科大学
「有毒きのこドクササコの中毒原因物質の解明」
- 7) 東田千尋准教授：富山大学和漢医薬学総合研究所
「和漢薬から開発する脊髄損傷改善薬」

海外

- 1) Dr. Yara Cury: Butantan Institute, São Paulo, Brazil
“Structure-activity relationship studies of crotalphine, an analgesic peptide from South American rattlesnake”
- 2) Dr. Andre Junqueira Zaharenko: Butantan Institute, São Paulo, Brazil
“Bioactive components in sea anemone venom”

- 3) Dr. Marisa Rangel: Butantan Institute, São Paulo, Brazil
“Cytolytic peptides in solitary wasp venom”
- 4) Prof. Sirlei Daffre: University of São Paulo, São Paulo, Brazil
“Biological characterization of mygalin, a new polyamine from tarantula hemocyte”
- 5) Prof. Jan Tytgat: University of Leuven, Leuven, Belgium
“Electrophysiological studies of peptide neurotoxins from venomous animals”
- 6) Dr. Gerardo Corzo: National Autonomous University of Mexico, Cuernavaca, Mexico
“Polyamines and peptides from spider venoms”
- 7) Dr. Noemia Kazue Ishikawa: National Institute of Amazonia, Manaus, Brazil
“Functional molecules in edible mushrooms”
- 8) Prof. Ming-Yuen Lee: University of Macau, Macau, China
“Biological evaluation of traditional herbal medicine by using zebrafish”
- 9) Dr. Daniel Calvalho Pimenta: Butantan Institute, São Paulo, Brazil
“Chemical characterization of bioactive compounds from Brazilian venomous animals”

◇その他

招待講演

- 1) 佐竹元吉：薬局方に収載された漢方処方と新 210 処方：第 28 回和漢医薬学会学術大会ランチョンセミナー，2011, 8/28, 富山.
- 2) 紺野勝弘：ブラジル産イソギンチャクの毒成分-タンパクから小分子まで-：天然物分子科学研究の最前線，2011, 9/30, 大阪.
- 3) 紺野勝弘：単独性カリバチ毒中の膜作動性ペプチドおよび神経ペプチド：アレルギーと神経ペプチド，2011, 11/12, 東京.
- 4) 佐竹元吉：エッセンと配置薬，富山のくすり公開講座，2012, 1/11, 富山.

講演会

- 1) 佐竹元吉：オリジナルブランドエッセン(越撰)について，ニシイチドラッグ，2011, 6/15, 尼崎.
- 2) 紺野勝弘：The research situation of Kampo medicine, 2011, 6/16, Guangzhou, China.
- 3) 紺野勝弘：毒を持つ生き物と和漢薬，富山市民大学，2011, 10/7, 富山.
- 4) 佐竹元吉：身近な薬用植物：薬用植物の保護に関するWHO会議県民公開講座，2011, 10/15, 富山.
- 5) 紺野勝弘：Inside venom peptides from rattlesnakes, sea anemones and solitary wasps: Are they Potential Drugs?, 2011, 11/14, Cuernavaca, Mexico.
- 6) 紺野勝弘：Inside venom peptides from rattlesnakes, sea anemones and solitary wasps: Are they Potential Drugs?, 2011, 11/25, Puebla, Mexico.
- 7) 紺野勝弘：Drug discovery from natural products: plants and mushrooms, 2011, 12/2, Cuernavaca, Mexico.

研究会・セミナー・シンポジウム

- 1) オリジナルブランド医薬品「エッセン」に関する打合せ，2011, 7/7, 富山.
- 2) オリジナルブランド医薬品「エッセン II」に関する打合せ，2011, 8/23, 富山.
- 3) 第 1 回薬用植物の保護に関する WHO 会議実行委員会，2011, 4/22, 富山.
- 4) 第 2 回薬用植物の保護に関する WHO 会議実行委員会，2011, 8/4, 富山.
- 5) 第 3 回薬用植物の保護に関する WHO 会議実行委員会，2011, 10/4, 富山.
- 6) 植物毒中毒に関する研究会，2011, 7/11, 東京.
- 7) 薬用植物の保護に関する WHO 会議県民公開講座，2011, 10/15, 富山.
- 8) WHO consultation on conservation of medicinal plants, 2011, 10/15-18, 富山.

新聞

- 1) 産学官が共同開発 富山オリジナル胃腸薬 きょうから発売, 北日本新聞, 2011, 4/1
- 2) 「越撰」で富山ブランド推進 県で報告 胃腸薬きょうから販売, 富山新聞, 2011, 4/1
- 3) 胃腸に効く「越撰」 産学官連携第2弾 新薬お披露目, 朝日新聞, 2011, 4/1
- 4) 富山オリジナル医薬品 きょう胃腸薬発売, 中日新聞, 2011, 4/1
- 5) WHO 伝統薬部門担当者ら県庁表敬「知識共有を」, 朝日新聞, 2011, 10/15
- 6) 「薬用植物保護に力」WHO 担当者ら知事表敬訪問, 毎日新聞, 2011, 10/15
- 7) 薬用植物保護の指針改定へ-富山で WHO 専門家会議, 北日本新聞, 2011, 10/15
- 8) 薬用植物保護で結束-富山で WHO 専門家会議開会, 富山新聞, 2011, 10/15
- 9) 薬用植物の保護議論-富山 WHO 専門家会議開幕, 北陸中日新聞, 2011, 10/15
- 10) 県内で WHO 会議-公開講座も, 読売新聞, 2011, 10/16
- 11) 薬用植物を理解-県民公開講座, 北日本新聞, 2011, 10/16
- 12) 薬用植物の効能学ぶ-WHO 会議実行委 富山で開催, 富山新聞, 2011, 10/16
- 13) 被害者を元気づけたい-食欲取り戻す薬を開発, 毎日新聞, 2011, 11/17
- 14) 薬局方の作成学ぶ-ミャンマーの技術者2人, 北日本新聞, 2011, 12/24
- 15) ミャンマー技官, 富大で研修-女性2人 生薬の薬局方作り学ぶ, 読売新聞, 2011, 1/12

テレビ

- 1) 富山の胃腸薬 いっちゃんメディコ, KNB テレビ, 2011, 8/29
- 2) 富山産学「知の連携」 富山テレビ, 2011, 12/16
- 3) 富山産学「知の連携」 富山テレビ, 2011, 12/30

◇研究費取得状況

- 1) 平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金 (食品の安心・安全確保推進研究事業)
研究課題: 食品中の自然毒のリスク管理に関する研究 分担: 佐竹元吉
- 2) 平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金 (食品の安心・安全確保推進研究事業)
研究課題: 食品中の自然毒のリスク管理に関する研究 分担: 紺野勝弘
- 3) 平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金 (地域医療基盤開発推進研究事業)
研究課題: 漢方処方配合生薬の安定供給及び持続的品質保持における国際標準化に関する研究 分担: 佐竹元吉
- 4) 平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金 (地域医療基盤開発推進研究事業)
研究課題: 漢方処方配合生薬の安定供給及び持続的品質保持における国際標準化に関する研究 分担: 紺野勝弘
- 5) ほくりく健康創造クラスター (知的クラスター創成事業, 広域化プログラム)
研究課題: 天然薬物の遺伝子解析等に基づく標準化 分担: 紺野勝弘
- 6) 和漢薬・バイオテクノロジー研究
研究課題: 富山県産和漢薬から開発する脊髄損傷改善薬に関する研究 分担: 紺野勝弘

◇非常勤講師

- 1) 紺野勝弘: 富山県立大学生物工学科「天然物有機化学」, 2011, 4-9, 射水.
- 2) 佐竹元吉: 平成 23 年度 漢方薬・生薬研修会, 2011, 4-12, 東京.
- 3) 紺野勝弘: 平成 23 年度 漢方薬・生薬研修会, 2011, 7, 東京.

◇研究室在籍者

学部 6 年生：安藤賢司

大学院修士 2 年：磯部優佳

博士 研究員：宮永 賢

協力 研究員：関田節子

外国人客員研究員：王 曉華（桂林医学院，中国，2010, 11/1～2011, 10/31）

外国人客員研究員：キン サン リン（ミャンマー保健省，ミャンマー，2011, 12/1～2012, 2/21）

外国人客員研究員：ヌ ヌ ウイン（ミャンマー保健省，ミャンマー，2011, 12/1～2012, 2/21）