

職員の受賞記録

学会名：第17回和漢医薬学会大会・奨励賞（2000年9月2-3日）

受賞課題名：LC-MS を用いる和漢薬の同等性評価の試み

－ “漢薬”丹参” の基源植物の成分比較－

化学応用部門 手塚 康弘

研究内容：

天然物である和漢薬は、種、採集時期、産地、個体等、種々の要因の違いによる成分含量や活性の変化が生じ易い。この変化を検出する事が、品質の均一化を図る第一歩と考えられ、そのための研究も従来から行われている。しかし、その多くは少数の代表的な活性や成分による比較であり、多成分、多活性を有する和漢薬に有効な方法とは言い難い。この点は、多活性や多成分の同時測定を行う事で克服できると考えられるが、我々は種々のタイプの化合物に適応容易な LC-MS 分析を用いる手法を検討している。今回は、漢薬“丹参”の基源植物間の比較を LC-MS 分析を用いて行った結果について報告する。

漢薬“丹参”は『神農本草経』に上品として収載され、中国薬典にも収載されている漢薬であり、活血、調経、消腫等を目的として婦人病、循環器病等に使われてきた。基源植物は『シソ科サルビア属植物丹参 (*Salvia miltiorhiza* BUNGE; Lamiaceae) の根又は根茎』と中国薬典に規定されているが、他の *Salvia* 属植物も漢薬“丹参”中に混入しているとの報告がある。我々は、丹参 (*S. miltiorhiza*) と新疆丹参 (*S. deserta*) の成分が全く異なっていた事から、他の *Salvia* 属植物の同等性に興味を持ち、中国産 *Salvia* 属植物15種を入手し LC-MS による成分比較を行った。

水エキスについてカフエ酸誘導体4種を指標とする LC-ESI-MS 分析を行い、内3種について定量を行った結果、lithospermic acid B の含量、含有率に関して複数のタイプが存在した。また、同一種の植物は同一タイプに属したが、各化合物の含量は様々であった。一方、メタノールエキス酢酸エチル可溶画分についてジテルペン13種を標品として LC-APCI-MS 分析を行い、各化合物のピーク強度に対して主成分分析を適用した結果、同一種においても必ずしもまとまらずバラツキを示した。これらの結果は、同じ *Salvia* 属植物であっても成分の組成や含量が様々である事を示していた。

この様に、特別な注意を払わずに天然物を使用すると、均質性が保たれない可能性がある。均質な和漢薬を用いるには、その使用（購入）時に同等性を評価した上で用いる必要があるが、その様な同等性評価の手法として LC-MS 分析による成分比較は簡便で有用な手法となると思われた。

職員の受賞記録

学会名 平成12年度日本生薬学会学術奨励賞（2000年9月7日）

受賞題目名 「和漢薬の基源に関する研究—組織形態学，ケモタキソノミー，遺伝子解析の応用」

薬効解析センター 小松 かつ子

研究内容：

生薬の品質は多様であり，このことが確実性を求められる医療の現場において，生薬を扱い難くする原因になっている。したがって，多様で流動的な生薬を効かせるためにはいつの時代も生薬の品質評価が不可欠である。品質評価法には基源の解明，成分化学的検討，生化学的・薬理的検討などが行われるが，受賞者らは一貫して基源に関する研究を行ってきた。この研究では従来，比較組織学的研究（1）やケモタキソノミーを応用した研究（2）が主流であったが，近年の分子生物学の発展により，生薬・薬用植物の遺伝子情報に基づく解析（3）も可能になった。以下に要約するように，それぞれの長所を生かした研究方法により和漢薬の基源が明らかになり，また品質上の問題点が明確になった。さらに，基源を解明する研究に新たな道を示すことができた。

1. 升麻の生薬学的研究

発疹性，化膿性疾患に応用される升麻は，中華人民共和国薬典にキンポウゲ科の *Cimicifuga heracleifolia*，*C. dahurica* 及び *C. foetida* の根茎が規定され，また日本では13局第1追補から *C. simplex* の他に中国と同じ3種が規定された。古来異物同名品が多い薬物で，現在でも5科5属の植物に由来するものが流通するとされるが，市場品を同定する手段がなかった。そこで，5属に属する18種3変種の植物を広く採集して各々の地下部の組織形態を精査し，画像解析法により数値化して各種の特徴を明らかにし，組織形態による分類法を確立した。本法により中国，日本及び韓国に流通する102点の市場品の基源が明らかになった。

2. 柑橘類生薬の基源と品質に関する研究

柑橘類生薬は同類の生薬が多い上，食用の栽培品種も存在して，基源が非常に複雑である。成分化学的及び組織学的に基源を解明し，同時に品質を評価する目的で，柑橘類3属29種2変種の未熟及び成熟果実の新鮮果皮について，フラボノイド配糖体，ポリメトキシフラボン類及びクマリン類34成分の含有パターンをHPLC法により調べた。各種の新鮮果皮は成分組成と含量比率により14タイプに分類でき，乾燥果皮においても各々は区別可能であった。これを市場品127点に適用して，陳皮は日本産が *Citrus unshiu*，中国産が主に *C. unshiu* と *C. reticulata* 系，枳実及び枳殻は主に日本産が *C. hassaku*，中国産が *C. aurantium* に由来することを明らかにした。日本では食用種が流用される傾向が強く，これらは各々の正品と考えられる *C. reticulata* 系及び *C. aurantium* より成分面で劣っていることを明らかにした。

3. 遺伝子解析による人参類生薬の同定法開発に関する研究

Panax 属植物及び人参類生薬の18S ribosomal RNA 遺伝子及び *matK* 遺伝子の塩基配列を調べ，その異同から生薬を同定する方法を検討した。新鮮な材料と異なり，生薬のDNAは種々の長さで切断されていたが，これを鋳型としてPCR法で当該遺伝子領域を増幅することが可能であった。*P. ginseng*，*P. japonicus* 及び *P. quinquefolius* の塩基配列を決定したところ4箇所塩基置換が認められた。人参，竹節人参，広東人参の塩基配列も対応する原植物と完全に一致した。この配列の違いに基づいてPCR-RFLP分析及びARMS分析を検討し，3種の簡便な鑑別法を開発した。葉緑体 *matK* 遺伝子においても *P. quinquefolius* 及び広東人参で1箇所の置換があった。アジアに分布する他の同属植物について両遺伝子領域の解析を進め，植物分類学上の新知見を得た。以上，生薬の遺伝子解析が種の同定に有力な手段となり得ることを始めて示唆できた。

職員の受賞記録

学会名：日本東洋医学会北陸支部・奨励賞（2000年11月12日）

受賞課題名：不定愁訴患者の臨床像—柴胡加竜骨牡蛎湯と加味逍遙散との比較—

漢方診断学部門 喜多敏明

研究内容：

柴胡加竜骨牡蛎湯（柴竜湯）と加味逍遙散（加味逍）は、西洋医学的な適応疾患については類似する部分が多く、多彩な精神的ならびに身体的な不定愁訴を有する神経症傾向のある患者に広く応用されている。しかし、それぞれが適応となる漢方医学的な病態はかなり異なっており、例えば、柴竜湯は実証の患者に適応となることが多く、加味逍は虚証の患者に適応となることが多い。そこで、神経症傾向のある不定愁訴患者について、柴竜湯が有効な症例と加味逍が有効な症例とで、愁訴の内容に特徴的な違いがあるのかどうかを検討した。

不定愁訴患者に随証的漢方治療を行う前に、Cornell Medical Index (CMI) の精神的愁訴51問（6カテゴリー）と阿部の自律神経失調症の問診票の身体的愁訴43問（7カテゴリー）を施行した。CMIの領域がⅢあるいはⅣで、柴竜湯または加味逍が有効であった18例を本研究の対象とした。内訳は、柴竜湯有効例が9例（柴竜湯群）、加味逍有効例が9例（加味逍群）であった。両群の臨床像を比較するために、精神的ならびに身体的愁訴の各カテゴリーに対する平均訴え率を群別に検討した。

精神的には、抑うつと緊張に関する平均訴え率が柴竜湯群で高く、過敏と怒りに関する平均訴え率は加味逍群で高かった。判別分析の結果、緊張・過敏・抑うつ3カテゴリーが両群の判別に寄与することが明らかとなった。身体的には、7つのカテゴリー全ての平均訴え率において群間に大きな差がなかった。

漢方医学的な診断とは証の違いを判別することであるが、精神的愁訴の内容によって柴竜湯の証と加味逍の証とを判別できる可能性が示唆された。そして、漢方医学的な診断の精度を向上させるためには、証の判別において身体的な側面だけでなく、精神的な側面も考慮することが重要であると考えられた。