

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 創薬基盤推進研究事業
(英語) Research on Development of New Drugs
- 研究開発課題名： (日本語) 安心・安全・高品質な漢方薬原料生薬の持続的利用を指向した薬用植物
バイオナーサリーの構築とブランド生薬の開発に関する研究
(英語) Research on establishment of medicinal plants bio-nursery system and
branded crude drugs toward sustainable use of safe, secure and high
quality crude drugs as raw materials for Kampo medicines
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター
筑波研究部育種生理研究室 室長 吉松 嘉代
- 所属 役職 氏名： (英語) Kayo Yoshimatsu, Head of Breeding and Physiology Laboratory, Tsukuba
Division, Research Center for Medicinal Plant Resources, National
Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 安心・安全・高品質な漢方薬原料生薬の持続的利用を指向した薬用植物
バイオナーサリーの構築とブランド生薬の開発に関する研究
- 開発課題名： (英語) Research on establishment of medicinal plant bio-nursery system
toward sustainable use of safe, secure and high quality crude drug
as a raw material for Kampo medicines and development of branded crude
drug
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター
筑波研究部育種生理研究室 室長 吉松 嘉代
- 所属 役職 氏名： (英語) Kayo Yoshimatsu, Head of Breeding and Physiology Laboratory, Tsukuba
Division, Research Center for Medicinal Plant Resources, National
Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition

分 担 研 究 (日本語) 新技術による生薬の生産基盤構築と品質評価に関する研究
開 発 課 題 名 : (英 語) Research on establishment of crude drug production infrastructure by
new cultivation technology and quality evaluation of the crude drugs

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター
センター長 川原 信夫
所属 役職 氏名 : (英 語) Nobuo Kawahara, Director, Research Center for Medicinal Plant Resources,
National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition

分 担 研 究 (日本語) 新旧技術で生産した生薬の化学的評価に関する研究
開 発 課 題 名 : (英 語) Research on chemical evaluation of crude drugs produced by new
and conventional cultivation technology

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター
筑波研究部栽培研究室 室長 渕野 裕之
所属 役職 氏名 : (英 語) Hiroyuki Fuchino, Head of Cultivation Laboratory, Tsukuba Division,
Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institutes
of Biomedical Innovation, Health and Nutrition

分 担 研 究 (日本語) 新技術による生薬の生産と遺伝的安定性に関する研究
開 発 課 題 名 : (英 語) Research on crude drug production by new cultivation technology and
its genetic stability

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター
筑波研究部 主任研究員 河野 徳昭
所属 役職 氏名 : (英 語) Noriaki Kawano, Senior Researcher, Tsukuba Division, Research Center
for Medicinal Plant Resources, National Institutes of Biomedical
Innovation, Health and Nutrition

分 担 研 究 (日本語) 植物由来機能性成分の安全性・有効性評価に関する研究
開 発 課 題 名 : (英 語) Research on safety and effectiveness evaluation of the functional
ingredients derived from plants

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所国立健康栄養研究所
食品保健機能研究部 部長 石見 佳子
所属 役職 氏名 : (英 語) Yoshiko Ishimi, Chief, Department of Food Function and Labeling,
National Institute of Health and Nutrition, National Institutes of
Biomedical Innovation, Health and Nutrition

分 担 研 究 (日本語) 地域産学官連携によるブランド生薬の開発に関する研究

開発課題名： (英語) Research on development of branded crude drugs based on collaboration between industry, academia and local government

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人富山大学和漢医薬学総合研究所
資源開発研究部門・生薬資源科学分野 教授 小松 かつ子

所属 役職 氏名： (英語) Katsuko Komatsu, Professor, Division of Pharmacognosy, Department of Medicinal Resources, Institute of Natural Medicine, University of Toyama

分担研究 (日本語) 薬用植物バイオナーサリー基盤の構築に関する研究

開発課題名： (英語) Research on establishment of bio-nursery infrastructure for medicinal plants

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人千葉大学大学院園芸学研究科 教授 高垣 美智子

所属 役職 氏名： (英語) Michiko Takagaki, Professor, Graduate School of Horticulture, Chiba University

分担研究 (日本語) 新技術による生薬の生産と臨床応用を指向した品質評価に関する研究

開発課題名： (英語) Research on crude drug production by new cultivation technology and the quality evaluation toward clinical application

研究開発分担者 (日本語) 北里大学薬学部生薬学教室 教授 小林 義典

所属 役職 氏名： (英語) Yoshinori Kobayashi, Professor, Laboratory of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Kitasato University

分担研究 (日本語) 抗認知症作用の評価と薬理機序解明に関する研究

開発課題名： (英語) Research on evaluation of anti-dementia effects of the newly developed crude drugs in the current research project and elucidation of the underlying pharmacological mechanisms

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東北大学大学院薬学研究科薬理学分野 准教授 山國 徹

所属 役職 氏名： (英語) Tohru Yamakuni, Associate Professor, Department of Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University

分担研究 (日本語) 新技術による生薬の生産と品質評価に関する研究

開発課題名： (英語) Research on crude drug production by new cultivation technology and the quality evaluation

研究開発分担者 (日本語) 株式会社ツムラ 生薬本部 生薬研究所 所長 橋本 和則

所属 役職 氏名： (英語) Kazunori Hashimoto, General Manager, Head of Botanical Raw Materials

- 分 担 研 究 (日本語) 新技術による生薬の生産と生物活性に関する研究
- 開 発 課 題 名 : (英 語) Research on crude drug production by new cultivation technology and the bioactivity
- 研究開発分担者 (日本語) 丸善製薬株式会社 研究開発本部 基礎研究部基盤技術グループ
主任研究員 田村 幸吉
- 所属 役職 氏名 : (英 語) Yuki Yoshi Tamura, Senior Researcher, Fundamental Technology Research Group, Basic Research Department, Research and Development Division, Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd.

II. 成果の概要（総括研究報告）

1) バイオナーサリー基盤の構築（医薬健栄研、千葉大、新日本製薬）

シナマオウ（Es）及びキダチマオウ（Ee）培養シュートの植物組織培養での増殖と発根を検討し、植物組織培養での増殖に適したクローン及びサブクローンを選抜した。Es 培養シュートでは、一部のクローンにおいて、培養 2 ヶ月後の発根率 43%が得られた。また、Ee 培養シュートでは、酸化型グルタチオン施肥下でのグロースチャンバー室内での挿し木により、挿し木 42 日後の発根率 33%が得られた。Ee は植物組織培養例がなく、それからの挿し木苗の育成は世界初である。

1 1 種 2 3 系統の薬用植物について、無菌培養植物を対象に、その良好な生育、腋芽などからの増殖、シュートからの発根などに関する培養条件を検討した。その結果、ショウガ、センキュウ、アカヤジオウ、カイケイジオウ、オケラ、ホソバオケラ、コガネバナ、ハナトリカブトの 8 種 13 系統については、ある程度効率の良い増殖および発根条件を確立することができた。とくにジオウ 2 種については、炭素源としてマルトースが増殖に適していることが明らかとなった。

薬用植物優良株の選抜や育苗条件の最適化に利用可能な遺伝子マーカーの探索を行った。ジオウ属植物の根肥大化及び有用物質生産等に関わるマーカー遺伝子の探索のため、生育ステージ、部位の異なる 4 試料より取得したトランスクリプトームデータの解析を行い、マーカーとして有望な遺伝子群の取得に成功した。

2) バイオナーサリー実用化の基盤構築（医薬健栄研、北里大、ツムラ、丸善製薬、栃本天海堂、パナソニック、新日本製薬、片倉コープアグリ、岡山県）

より経済性・実用性の高いウラルカンゾウ優良株種苗増殖方法開発のため、人工水耕—圃場ハイブリッド栽培（ハイブリッド栽培）で得られたストロンを材料としたストロン挿し増殖方法を検討した。その結果、ストロン挿しの挿し床に、酸化型グルタチオン（GSSG）を施肥することにより、ストロン苗の生育促進、発根促進、圃場定植時の活着率向上、水耕栽培植物の地下部のグリチルリチン酸をはじめとする薬用成分の含量増加効果があることを明らかとした。また、地上茎挿し木苗を 2016 年 5 月中旬に圃場に定植し、グルタチオンを与えた場合と与えない場合で生育の比較を行った。処理濃度と資材を変えた 2 つの試験区で対照区よりも生育が良好であることを確認した。

スペインカンゾウ培養植物体 25 クローンを、20-30 日毎に 2-5 倍の割合で増殖させた後、馴化育成し、2016 年 5、6 月より、3 通りの方法（ハウス内筒栽培、ハウス内短筒栽培及び路地短筒栽培）での試験栽培を開始した。2016 年 10、11 月に各クローン 3 本を収穫し、根の収量、GL 含量およびグラブリジン（GB）含量を調査した結果、いずれもハウス内短筒栽培が高い値を示した。

ウラルカンゾウの地上部挿し木時の発根率向上のため挿し床に使用する培地の素材について検討を行い、適当な素材を明らかにした。ウラルカンゾウ、ジオウ属植物、オケラ属植物の組織培養苗、挿し木苗の圃場栽培試験を開始した。

ミシマサイコ培養苗を圃場栽培し、根の収量及び品質を評価した結果、慣行栽培品と比較し、培養苗は根の収量が高かった。培養苗由来、慣行栽培品とも、概ね、第十七改正日本薬局方（JP17）規格に適合していたが、一部の培養苗由来の根は、土壌の除去が困難な形状であったため、灰分、酸不溶性灰分が JP17 規格を満たさなかった。培養苗は、根の形状を改善させる栽培方法が必要であると考えられた。

優良な薬用植物組織培養苗（セリバオウレン、ジオウ属植物、トリカブトおよびホソバオケラ）およびウラルカンゾウ挿し木苗を、圃場にて栽培することにより、優良株の生産拡大に取り組んでいる。ウラルカンゾウは、芽の保護により寒冷地における越冬率の向上が確認でき、セリバオウレンは照度と養液循環検討したが、十分な生育が得られなかった。トリカブトとホソバオケラは、馴化・定植後の生育不良のため十分な調査することができなかった。カイケイジオウの組織培養苗（RehN1、RehN2）に

ついて、昨年の組織培養苗の収穫物を定植し、2年目の生育調査（再現性）と薬用部位を凍結乾燥品し慣行苗との比較検討を行った。検討した内容（内部組織、成分のパターンおよび灰分と重金属の含量測定）においては慣行栽培品と差異がないことが判明した。

ウラルカンゾウ培養苗7クローンの福山市での圃場栽培試験の結果、2年目の収穫物は、根より根茎重量の方が多かった。グリチルリチン酸含量は、1.09～2.82%と変動があり、1クローンだけが2%以上であった。コガネバナ3クローンの培養苗の栽培試験を国内5カ所で行なった。福山市においての2年目の生育は順調で、系統間で形態の特徴が認められ、含有成分は、baicalinがクローン全て19%以上と、市場流通品の平均含量15%と比較して高かった。2年目の根の収量は、国内5カ所のうち、福山市が最も多く、栽培物の含有成分は、地域及び個体間の変動が大きかった。養液栽培カンゾウ葉に高含有されるフラボノイド化合物を単離し、強い抗酸化作用を有することを確認した。

3) 生薬等の評価（医薬健栄研、北里大、東北大、名城大、ツムラ、丸善製薬、栃本天海堂、小太郎漢方）

ハイブリッド栽培で生産した甘草および市場流通品甘草の熱水抽出エキスを作製してマウスに経口投与し、血中主代謝産物であるグリチルレチン酸濃度を市場品甘草エキスと比較検討した。その結果、ハイブリッド栽培品エキスは、市場流通品エキスとは若干異なる経時変化を示したものの、市場流通品エキスのバラツキの範囲内であり、栽培方法や栽培地が異なるにもかかわらず類似した結果を示した。

シャクヤクの市場流通品（モデル試料）を用いて、LC/MSによる分析条件の検討を行った。また、サンプリングの際の参考情報とするために、圃場で栽培していたシャクヤク（梵天）の地下部を、新、旧、細根に分けて分析した。標準品として入手可能であった albiflorin、paeoniflorin、paeonol を用いて、市場流通品における含量比較を行った。

マオウについて各節毎の ephedrine、pseudoephedrine 含量を LC/MS により求めた。

カンゾウ含有健康食品素材に関し、薬用成分であるグリチルリチン酸の JP17 に従った定量を行った。その結果、一部の健康食品中にグリチルリチン酸が高含量で含まれていることが判明した。また、カンゾウ属植物を含む健康食品6品及び食品原料6品について、その基原を明らかとするため、*G. uralensis*、*G. glabra*、*G. inflata* のそれぞれに特徴的な成分の有無を調べるとともに、植物片を含む5品に関しては、ITS、*matK* 領域の遺伝子型の解析を行った。その結果、健康食品1品及び食品原料4品の基原には *G. uralensis* が、健康食品4品及び食品原料2品の基原には *G. glabra* が含まれることを明らかとした。

カンゾウ生薬、カンゾウ由来健康食品原料（以下健食原料）及びカンゾウ含有健康食品（以下健食）について、機能性成分グラブリジン及び薬効成分グリチルリチン酸の成分分析を実施した。グラブリジンは、生薬ではスペインおよび新疆カンゾウから検出され、ウラルカンゾウからは検出されなかった。健食原料及び健食には *in vitro* でのエストロゲン活性が検出された。生薬、健食材料及び健食の抗酸化能を測定したところ、グラブリジン以外にも抗酸化活性を有する成分が含まれることが示唆された。マウスにおける高用量のカンゾウ摂取は、肝臓 CYP に関する安全性を評価するモデル系として有用である可能性を示した。

多数の甘草試料を対象として 1H-NMR によるメタボリックプロファイリングを行った結果、高品質な「東北甘草」と類似したプロファイルを有するいくつかの有望な試料を見出すことができた。日本薬局方で規定されているグリチルリチン酸含量（2.0%以上）や性状（径 0.5～3 cm）を満たすだけでは、いわゆる「高品質甘草」とは全く異なる品質を有することが確認できた。また、甘草の品質には、一次代謝産物としてスクロース及び二次代謝産物として各種フラボノイドおよびその配糖体の含有量が大きく関与していることが示唆された。以上の結果から、メタボリックプロファイリングによる品質評価の重要性が再確認できた。

オンジ（遠志）の熱水抽出エキスは、海馬神経培養系で長期記憶に不可欠な CRE 依存的転写促進活性を示した。非選択的 NMDA 受容体遮断薬誘発性記憶障害の発生を抑制する活性をもつタチバナ優良品種の果皮エキスに、海馬可溶性 A β オリゴマー防御システムとして働くソマトスタチン-ネプリライシン・システムやニューロトロフィン遺伝子を賦活する活性を見出した。

4) ブランド生薬の開発（富山大、富山県、長野県、富山県内企業、昭和大、医薬健栄研）

エゾウコギとオケラの水耕栽培～圃場栽培は順調に進行した。エゾウコギ葉の水エキスに含まれるトリテルペンサポニン 106 化合物を同定した。この内、脳内移行する成分として 5 化合物を確認し、そのうち 3 化合物が大脳皮質神経細胞において有意な神経突起伸展作用を示した。オケラの地上部の特徴的成分を明らかにした。

シャクヤクの 1 園芸品種の根が抗原刺激脱顆粒抑制作用を示し、その活性成分を明らかにした。菅平で系統保存されている *R. coreanum* の交雑種について ITS 領域における遺伝子多型の解析と成分分析を行った結果、複数の系統が交配に係わっていること、及び sennoside 類と resveratrol 類を多く含有することが明らかになった。

1) Establishment of bio-nursery system

Elite shoot culture clones of *Ephedra sinica* (Es) and *E. equiseitina* (Ee) have been selected by their propagation capability in vitro. The Es shoot clone performed maximum 43% rooting in the tissue culture studies, though the Ee shoot clones failed. On the other hand, 33% of the Ee shoot clone cuttings rooted when being planted on the vermiculite supplemented with oxidized glutathione (GSSG). This is the first example of Ee plantlet regeneration in vitro.

In vitro aseptic culture of plantlets were subjected to establish suitable culture conditions for enhancing favorable growth, shoot proliferation from axillary buds, rooting from shoots, etc. in 23 strains of 11 medicinal plant species. As the results, appropriate culture conditions were successfully established in 13 strains of 8 species. In 2 kinds of *Rehmania glutinosa* (Reh), the use of maltose as a carbon source was favorable for the in vitro propagation of plantlets.

For a development of new cultivation technology and to evaluate its genetic stability, we have performed a developmental research on genetic markers for important medicinal plant species. By the data mining of transcriptome dataset derived from two different growth stage and two organs of *Rehmannia* plants, several genes were highly expressed in the leaves of plants with enlarged root. Presumably these genes are promising candidates for genetic markers.

2) Establishment of bio-nursery infrastructure

Efficient propagation of *Glycyrrhiza uralensis* (Gu) elite clones has been investigated by using stolon cuttings derived from the plants cultivated by artificial hydroponic-field hybrid cultivation system for the improvement of economics and feasibility. The results demonstrated that addition of oxidized glutathione into nursery bed of the stolon cuttings enhanced plant growth, rooting and establishment in field. It is also effective to increase secondary metabolite accumulation, including glycyrrhizic acid (GL), in roots of the regenerated plants that being hydroponically cultivated. Gu plantlets propagated by aerial stem cuttings of hydroponically cultivated plants were planted in the field in Okayama Prefecture in the middle of May, 2016 and cultivation trial has been performed to investigate plant growth, roots harvest and secondary

metabolites productivity including GL whether with or without periodical dressing using 2 types of GSSG concentration and material. The growth was better in the plants with 2 types of the GSSG dressing than ones without GSSG dressing.

Twenty-five clones of *Glycyrrhiza glabra* (Gg) were propagated through tissue culture in the ratio of 2-5 times every 20-30 days and acclimatized to soil in a greenhouse. Greenhouse-hardened plants were transplanted into 3 types of cultivation apparatus (long cultivation cylinder in a vinyl house, vinyl pot in a vinyl house and vinyl pot in a field) in May or June, 2016. One-year old plants (3 individuals each) were harvested in October or November, 2016 and roots harvests and contents of GL and glabridin (GB) in the roots were analyzed. Cultivation in vinyl pot in a vinyl house demonstrated all the best results.

Several cutting bed materials for Gu were compared in order to improve cuttings rooting and field-cultivation tests of medicinal plants including Gu and Reh has been started using the plants propagated through tissue culture or rooted cuttings.

Field-cultivation of *Bupleurum falcatum* (Bf) has been carried out using plantlets propagated by tissue culture or conventional seedlings to develop and evaluate novel technologies for production of crude drugs. As a result, root yield of the plants derived from tissue culture was markedly higher than that of ones derived from conventional seedlings. The both roots were almost conformable to the standards of the Japanese Pharmacopoeia Seventeenth Edition (JP 17), though ash and acid insoluble ash of the roots derived from tissue culture did not satisfy the JP17 standards because of its difficulties to remove soil from the intertwined roots. This indicates that improvement of field-cultivation methods for tissue-cultured plantlets is necessary to harvest roots with proper shape in a further study.

Production of excellent medicinal plant clones is being enlarged by acclimatization and cultivation of excellent medicinal plants seedlings derived from plant tissue culture. *Glycyrrhiza uralensis* can be confirmed to improve the overwintering rate in cold climates by protection of buds. Sufficient growth was not observed in the *Coptis japonica* hydroponics though the illuminance and nutrient solution circulation were examined. Field-cultivation studies of *Aconitum carmichaelii* and *Atractylodes lancea* derived from tissue cultures have not been done because of insufficient growth after acclimatization and planting to the field. Growth reproducibility of field-cultivated *Rehmannia glutinosa* (RehN 1 and RehN 2) was confirmed using the seedling of one-year field-cultivated plants derived from tissue culture. Comparable studies on internal structure, pattern of ingredients, ash and heavy metals contents were performed between the RehN1 and RehN2, and the conventional plants using the freeze-dried roots. It was confirmed that there was no difference between the both roots.

Seven clones of *Glycyrrhiza uralensis* plantlets derived from tissue culture were field-cultivated in Fukuyama City for 2 years. The weight of the roots was lower than that of the stolons. Glycyrrhizin content in 7 clones varied 1.09 to 2.82 % and that in GuIVS4⑤ was more than 2%. Three *Scutellaria baicalensis* clones (Sb, SbT1 and SbT5) derived from tissue culture were field-cultivated for 2 years in five districts in Japan. The Sb, SbT1 and SbT5 plants in Fukuyama City showed good growth and the morphological features of aerial parts among 3 clones. Baicalin content (19%) in the 3 clones there was higher than that (15%) in the commercial *Scutellaria* roots. Growth and flavonoid contents in 3 clones *Scutellaria* roots cultivated in 5 districts

varied among area and individual. Polyphenol compound isolated from the leaves of hydroponically cultivated *G. uralensis* showed a strong antioxidative activity.

3) Evaluation of crude drugs and plant products

Glycyrrhiza uralensis roots

In order to prove bioequivalence between commercial glycyrrhiza and *Glycyrrhiza uralensis* roots produced by artificial hydroponic-field hybrid cultivation (hybrid cultivation), the serum concentration of glycyrrhetic acid (GA), the major metabolite of glycyrrhizic acid (GL), was determined in mice after oral administration of hot water extracts of them. Slight differences in time course of GA serum concentration were observed between the extracts of commercial glycyrrhiza and of the roots from hybrid cultivation. However, the bioavailability, such as AUC, C_{max} and T_{max} , of the extracts from hybrid cultivation, fell within that from commercial glycyrrhiza. There are no differences in bioavailabilities within the extracts from hybrid cultivation regardless of cultivation methods and districts.

LC/MS analytical condition of Peony root using standard crude drugs distributed in the markets was examined. Peony root (Bonten) cultivated in the agricultural field of NIBIOHN was separated into 3 parts, new, old and rootlet, and then subjected to LC/MS analysis. LC/MS quantitative analysis of albiflorin, paeoniflorin and paeonol on standard crude drugs was examined. Ephedrine and Pseudoephedrine contents in each node of branch in Ephedra herb were investigated using LCMS. Glycyrrhizic acid (GL) contents in the licorice-containing health food (hereinafter referred to as "health food") were examined using Japanese Pharmacopoeia protocol. In some health foods, high content of GL was detected. To confirm original plant source of the health foods, the presence or absence of species-specific constituents in health foods and licorice origin health food ingredient (hereinafter referred to as "health food ingredient") was examined. Furthermore, genotypes of samples that contained plant pieces were investigated based on polymorphism in the internal transcribed spacer regions of the nuclear ribosomal DNA and the chloroplast *matK* gene. As a result, the original plant source of one health food and four ingredients was *G. uralensis* and that of four health foods and two ingredients was *G. glabra*.

Contents of glabridin as a functional component and glycyrrhizic acid as a medicinal component were determined for licorice herbal medicine, licorice origin health food ingredient (hereinafter referred to as "health food ingredient") and licorice-containing health food (hereinafter referred to as "health food"). Glabridin was detected in Spanish and Xinjiang licorice in herbal medicine and was not detected in Ural licorice. Estrogen activity in vitro was detected in health food ingredients and health foods. Antioxidant capacities of herbal medicines, health food ingredients and health foods suggested that some antioxidant other than glabridin were contained. High dose of licorice intake in mice showed the possibility of being useful as a model system for evaluating safety on liver CYP.

The $^1\text{H-NMR}$ metabolic profiling of the crude drugs of Licorice root showed completely different pattern from the classification by the glycyrrhizin content and root thickness those are described in the Japanese Pharmacopoeia. Thus, the qualification by Japanese Pharmacopoeia alone could not predict the clinically required quality at the highly specialized Kampo medical center, such as Kitasato University Oriental Medicine Research Center. The $^1\text{H-NMR}$ metabolic profiling of the crude

drugs of Licorice root also suggested that the contents of sucrose, flavonoids and their glycosides are important factors determining the quality of Licorice root. A few samples obtained by the bio-nursery system showed rather promising quality.

Polygala root is a component of Kampo formula for treatment of dementia including kihito and kamiuntanito. The effect of hot-water extract of polygala roots was evaluated on CRE-mediated transcription associated with long-term memory formation in the hippocampus. It was found that the polygala root extracts could facilitate the transcriptional activity in rat hippocampal neurons in culture. The peel extract of an excellent variety of *Citrus tachibana*, which showed the ability to prevent non-selective NMDA receptors-impaired memory formation in animal, was able to facilitate somatostatin-neprilysin system known as a brain defense system against neurotoxic soluble Ab oligomers and neurotrophin genes expression in the hippocampus.

4) Development of branded crude drugs

A series of hydroponic and field cultivation of *Eleutherococcus senticosus* and *Atractylodes japonica* has proceeded smoothly. 106 triterpene saponins were identified from the water extract of *E. senticosus* leaves. Five saponins were detected in mice cerebral cortex after oral administration of the water extract, and 3 of them showed significant neurite outgrowth activity in cerebrocortical neurons. Aerial parts of *A. japonica* had characteristic constituents, comparing with the rhizome. The active constituents were identified from the root of a *Paeonia lactiflora* cultivar that showed inhibitory effect on the release of β -hexosaminidase from RBL-2H3 cells. Genetic and chemical analyses of the interspecific hybrids between *Rheum coreanum* and *R. palmatum* preserved in Sugadaira suggested that several strains were involved in the hybrid formation and they had chemical property possessing high contents of sennosides and resveratrols.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 2 件、国際誌 4 件)

1. 吉松嘉代、河野徳昭、乾貴幸. 薬用植物資源研究センターの取り組み (その 2) -薬用植物の水耕栽培について-. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 2016, 47, 712-723.
2. 吉松嘉代. 新技術による薬用植物の生産. ハイドロポニックス. 2017, 30, 38-39.

3. SHI YH, ZHU S, TAMURA T, KADOWAKI M, WANG Z, YOSHIMATSU K, KOMATSU K. Chemical constituents with anti-allergic activity from the root of *Edulis Superba*, a horticultural cultivar of *Paeonia lactiflora*. *J. Nat. Med.* 2016, 70, 234-40.
4. GE YW, ZHU S, KAZUMA K, WEI SL, YOSHIMATSU K, KOMATSU K. Molecular ion index assisted comprehensive profiling of B-type oligomeric proanthocyanidins in rhubarb by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2016, 408, 3555-70.
5. GE YW, TOHDA C, ZHU S, HE YM, YOSHIMATSU K, KOMATSU K. Effects of Oleanane-Type Triterpene Saponins from the Leaves of *Eleutherococcus senticosus* in an Axonal Outgrowth Assay. *J. Nat. Prod.* 2016, 79, 1834-41.
6. GE YW, ZHU S, YOSHIMATSU K, KOMATSU K. MS/MS similarity networking accelerated target profiling of triterpene saponins in *Eleutherococcus senticosus* leaves. *Food Chemistry*. 2017, 227, 444-52.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. マオウ属植物のシュート培養系の確立, 口頭, 吉松嘉代, 河野徳昭, 瀧野裕之, 乾貴幸, 飯田修, 御影雅幸, 川原信夫, 第 34 回日本植物細胞分子生物学会(上田)大会, 2016/9/1-3, 国内.
2. 閉鎖温室におけるスペインカンゾウ優良クローンの選抜, ポスター, 乾貴幸, 河野徳昭, 川原信夫, 吉松嘉代, 第 34 回日本植物細胞分子生物学会(上田)大会, 2016/9/1-3, 国内.
3. スペインカンゾウ優良クローンの選抜及び CYP88D6 相同遺伝子の部分配列の比較, ポスター, 乾貴幸, 河野徳昭, 川原信夫, 吉松嘉代, 日本生薬学会第 63 回年会(富山), 2016/9/24-25, 国内.
4. 薬用植物バイオナーサリーの構築に関する研究(1)マオウ属植物培養苗の育成, 口頭, 吉松嘉代, 瀧野裕之, 河野徳昭, 乾貴幸, 飯田修, 御影雅幸, 川原信夫, 日本生薬学会第 63 回年会(富山), 2016/9/24-25, 国内.
5. 植物工場による薬用植物の生産, 口頭, 吉松嘉代, 日本農業工学会第 32 回シンポジウム-医薬品原料等の有用物質生産への植物工場を用いたアプローチ, 2016/10/25, 国内.
6. 新技術による薬用植物の生産と評価, 口頭, 吉松嘉代, 第 45 回生薬分析シンポジウム, 2016/11/18, 国内.
7. 薬用植物バイオナーサリーの構築に関する研究(3)ジオウ属植物培養苗の圃場栽培, 口頭, 吉松嘉代, 河野徳昭, 乾貴幸, 北澤尚, 飯田修, 熊澤広明, 牧野文昌, 橋本和則, 川原信夫, 日本薬学会第 137 年会(仙台), 2017/3/24-27, 国内.
8. ミシマサイコ組織培養クローン苗の圃場栽培, ポスター, 乾貴幸, 山本豊, 中川綾子, 川西史明, 河野徳昭, 川原信夫, 吉松嘉代, 日本薬学会第 137 年会(仙台), 2017/3/24-27, 国内.
9. 遺伝子情報を利用した薬用植物資源の高度利用化, 口頭, 河野徳昭, 富山大学・和漢医薬学総合研究所(富山大学・和漢研セミナー兼東西医薬学交流セミナー), 2016/5/10, 国内.
10. ジオウの根肥大化に関わる遺伝子の探索, ポスター, 河野徳昭, 乾貴幸, 鈴木秀幸, 斉藤和季, 川原信夫, 吉松嘉代, 第 34 回日本植物細胞分子生物学会(上田)大会・シンポジウム, 2016/9/1-3, 国内.
11. 薬用植物バイオナーサリーの構築に関する研究(2)マオウ属植物の品質評価法の検討について, ポスター, 瀧野裕之, 飯田修, 河野徳昭, 川原信夫, 吉松嘉代, 日本生薬学会第 63 回年

- 会, 2016/9/24, 国内.
12. ¹H-NMR メタボリックプロファイリングを利用した甘草における品質評価標準化プロットの作成. ポスター発表. 白畑辰弥, 寺田拓人, 吉松嘉代, 瀧野裕之, 河野徳昭, 乾貴幸, 田村幸吉, 福田達男, 川原信夫, 小林義典. 日本生薬学会第 63 回年会, 2016/9/25, 国内.
 13. ¹H-NMR メタボリックプロファイリングを利用したハイブリッド栽培甘草の化学的評価. ポスター発表. 白畑辰弥, 寺田拓人, 吉松嘉代, 瀧野裕之, 河野徳昭, 乾貴幸, 林茂樹, 菱田敦之, 杉村康司, 田村幸吉, 渡辺信, 福田達男, 川原信夫, 小林義典. 第 21 回天然薬物の開発と応用シンポジウム, 2016/10/28, 国内.
 14. エゾウコギを含む健康食品・食品原料の実態調査及び機能性成分分析. 口頭発表. 竹林純, 西出依子, 瀧野裕之, 山内淳, 東泉裕子, 川原信夫, 石見佳子. 日本栄養改善学会(青森), 2016/9/9, 国内
 15. 国産柑橘種 *Citrus tachibana* における抗認知症作用の分子薬理学的特性, 口頭発表, 川畑伊知郎, 徐慧楠, 大根谷章浩, 安藤英広, 吉田雅昭, 杉村康司, 安食菜穂子, 飯田修, 河野徳昭, 吉松嘉代, 川原信夫, 山國徹, 日本薬学会第 137 年会(仙台), 2017/3/25, 国内.
 16. 種子島島内におけるタチバナのポリメトキシフラボノイド成分の地域特性について, ポスター発表, 大根谷章浩, 安藤英広, 吉田雅昭, 杉村康司, 飯田修, 河野徳昭, 安食菜穂子, 吉松嘉代, 川畑伊知郎, 山國徹, 川原信夫, 日本薬学会第 137 年会(仙台), 2017/3/26, 国内.
 17. Molecular ion index assisted comprehensive profiling of B-type oligomeric proanthocyanidins in rhubarb by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, ポスター, GE YW, ZHU S, KAZUMA K, YOSHIMATSU K, KOMATSU K, The 1st Toyama-Asia-Africa Pharmaceutical Network Symposium, Toyama, 2016/9/12-13, 国際.
 18. 遺伝子解析を活用した薬用植物・生薬の資源探索と品質評価について, 口頭, 朱 姝, 薬用植物フォーラム 2016, つくば, 2016/7/12, 国内.
 19. Effects of Oleanane-type Saponins from the Leaves of *Eleutherococcus senticosus* on Axonal Outgrowth, 葛 躍偉, 東田千尋, 朱 姝, 吉松嘉代, 小松かつ子, ポスター, 第 33 回和漢医薬学会学術大会, 東京, 2016/8/27-28, 国内.
 20. ダイオウの栽培研究(2) — 系統選抜と栽培年数について, ポスター, 堀田健一郎, 葛 躍偉, 浅沼 舞, 村上守一, 田村隆幸, 當銘一文, 朱 姝, 児玉 容, 清水秀樹, 菱田敦之, 吉松嘉代, 小松かつ子, 日本生薬学会第 63 回年会, 富山, 2016/9/24-25, 国内.
 21. 大黃の縮合タンニンの重合度, ポスター, 数馬恒平, 葛 躍偉, 紺野勝弘, 吉松嘉代, 小松かつ子, 日本生薬学会第 63 回年会, 富山, 2016/9/24-25, 国内.
 22. 生薬及び切花の安定生産を目指したシャクヤク園芸品種の採花方法の検討, ポスター, 田村隆幸, 朱 姝, 白川愛扇, 小松かつ子, 吉松嘉代. 日本生薬学会第 63 回年会, 富山, 2016/9/24-25, 国内.
 23. LC-MS drives targeted discovery of natural products from *Morinda morindoides* (Kongobololo) and *Eleutherococcus senticosus* (Ezoukogi), 口頭, GE YW, 長崎大学熱帯医学研究所・富山大学和漢医薬学総合研究所第 6 回交流セミナー「熱帯医学と和漢薬研究の新展開 -新しい医療体系の構築を目指して-」, 富山, 2017/2/13, 国内.
 24. 長野県で系統保存されているダイオウの系統解析 —ITS 塩基配列の有用性の検討—. ポスター,

浅沼 舞, 朱 姝, 清水秀樹, 吉松嘉代, 小松かつ子, 日本薬学会第 137 年会, 仙台, 2017/3/24-27,
国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし。

(4) 特許出願

特願 2016-233421 号 (特願 2015-234124 号の国内優先権主張出願)

特願 2017-045217 号