

Ephedra属植物の内部形態的ならびに成分化学的多様度とその傾向

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/16073

氏 名	近 藤 直 子
生 年 月 日	
本 籍	愛知県
学 位 の 種 類	博士（薬学）
学 位 記 番 号	博甲第203号
学位授与の日付	平成9年3月25日
学位授与の要件	課程博士（学位規則第4条第1項）
学位授与の題目	Ephedra 属植物の内部形態的ならびに成分化学的多様度とその傾向
論文審査委員	（主査） 御 影 雅 幸 （副査） 清 水 建 美, 津 田 喜 典 早 川 和 一, 小 松 かつ子

学位論文要旨

The genus Ephedra is one of the most important group as the medicinal resources both in traditional medicines and western medicine. In this study, the herbal stems about 120 stocks of this genus collected in Nepal, Sikkim and Bhutan were studied histologically and chemically to make clear the individual variation and tendency.

The result showed that all of the specimen are classified in *E. gerardiana* and *E. pachyclada* or they are distinguished by the number of subepidermal fiber bundles in the cross-section of internode. The value in *E. gerardiana* tended to change the number with geographical change of the specimen. Both of the species were clarified as the botanical origin of Tibetan crude drug "TSHE" and "BALU", and they were newly reported as the botanical origin of Tibetan drugs.

The chemical study resulted that alkaloids and tannin contents were influenced by enviromental factors, especially by pH of the soil where the specimen had grown. The result suggest that the chemical components are greatly influenced by the quality of soil as well as the genetic factors.

【序論】マオウ科 (Ephedraceae) の Ephedra 属植物は重要な薬物資源であり、古来各地の伝統医学において薬用に供され、中国医学の「麻黄」は世界的に有名で、古来利水、発汗を目的とした多くの薬方に配合され、ユナニー医学やアーユルヴェーダ（インド医学）またヒマラヤ地域を中心とするチベット医学でも薬用とされている。また、近代医学における

喘息治療薬である ephedrine を含有する植物としても著名である。

一般に、植物性の生薬では、原植物、生育年数、採集時期、産地、生育環境、薬用部位の違い、その他により含有成分の量や組成比が異なり、生薬としての品質にばらつきが生じる。漢薬「麻黄」に関しては、日本薬局方で「本品は *Ephedra sinica* Stapf 又はその他同属植物

(*Ephedraceae*) の地上茎である」と基源を規定し、「本品を乾燥したものを定量するとき、総アルカロイド (エフェドリン及びプソイドエフェドリン) 0.7% 以上を含む」と化学成分含量を規定している。一方、*Ephedra* 属のアルカロイド含量および成分組成比はサンプルによって大きく異なることが報告されており、市場には原植物が局方に適してもアルカロイド含量で不適になる商品も多く認められる。しかし、「麻黄」を供給する際にいかなるものを採集するのが適当であるかは全く不明で、実際には市場に出回った後にアルカロイド含量のみを指標にして良否の判断をしているのが現状である。

ところで、近年「生物の種多様性」が注目されてきている。生物の種の情報伝達を担う遺伝子は多様であり、種内においても個体は多様化する。またクローンにおいても、内的あるいは外的要因により形態や生理機能が異なってくる。このような多様性が生薬の品質をも左右していると考えられ、実際、著者らがヒマラヤ地域で入手した原植物不明の *Ephedra* 属由来の生薬も、互いに外見は酷似するが内部形態や化学成分含量が大きく異なっていた。しかし、これまで生薬学の分野では生薬の原動植物の多様性を考慮した研究は皆無に等しく、こうした多様性の実態やまた多様性が生じる要因についても全く不明である。

一方、*Ephedra* 属植物は他の一般植物に比して外部形態的な分類形質が少なく、生育環境により外部形態が著しく変化することから、分類が困難な植物群とされている。ネパール、シッキムおよびブータンのヒマラヤ地域には *E.gerardiana* var. *gerardiana*, *E.gerardiana* var. *sikkimensis*, *E.pachyclada*, *E.intermedia* var. *tibetica* の4分類群が分布するとされているが、*E.gerardiana* var. *gerardiana*, *E.intermedia* var. *tibetica* の2種のみが分布するという説もあり、分類が混乱している。

そこで、本研究では *Ephedra* 属植物の種並びに薬物としての多様性を明確にする目的で、ネパール、シッキム、ブータンで採集された本属植物約120株を実験材料として、組織形態学および成分化学的に精査した。さらに多様性を生じると考えられる要因を探る目的で、植物種、雌雄、生育地の経度や標高、土壌の理化学的性質、などと含有化学成分との相関について検討した。また、その結果に基づき組織分類学的研究を行い、チベット薬物「TSHE」および「BALU」の基源ならびに採薬地の解明を行った。

【組織学的研究】

草質茎の節間中央部の横切片を作成し、光学顕微鏡で内部形態を観察した。

Ephedra gerardiana および *E. pachyclada* は、外部形態的にも内部形態的にも多様に変化するが、組織分類学的に草質茎節間中央部の横切面における表皮下繊維群の数ならびにその1群を構成する繊維数の違いにより明確に区別された。なお、従来 *Ephedra* 属植物の組織学的な分類形質として報告されてきたクチクラ瘤、師部の形状、維管束の数など他の形質をも観察したが、種内変異幅が大きく、本研究で検討した分類群には適用できなかった。また、本研究で明らかにした上記の形質は本属植物の組織分類学的形質としては新発表であり、他の各形質の種内変異幅が大きいことから、今後本属の他の分類群を検討する際にも重要な形質になりうると判断される。

両種の内部形態的な種内変異の傾向を検討した結果、横切面の径、表皮下繊維群の数およびその1群を構成する繊維数、皮層部繊維群の数、髄内繊維群の数などの変異が、*E. gerardiana* では、概ね経度に対して連続的であり、*E. pachyclada* では高度に対して連続的であることが明らかになった。このことから、東西に広い分布域を有する

E. gerardiana に関しては、これらの形質を観察することにより産地の推定が可能となった。この結果は、これまで市場生薬の産地を特定することはほぼ不可能であったが、組織学的にそれが可能であることを初めて示唆したものである。なお、*E. gerardiana* の内部形態的な変異は連続的で、西部ネパールに分布する基準変種 *var. gerardiana* とシッキムやブータンに分布する変種 *var. sikkimensis* を明確に区別することはできなかった。

Ephedra 属植物は、他の一般植物に比して外部形態的な分類形質が少なく、かつ生育環境によって多様に変化するため、分類が困難な植物群とされてきたが、本研究により内部形態的な形質を加味することで分類群をより明確に把握できることが示唆された。

以上の結果、西部ネパール高山帯のジャルコットのチベット医院で入手したチベット薬物「TSHE」は *E. pachyclada*、首都カトマンズのチベット医院で入手した「TSHE」は *E. gerardiana*、ブータンの首都ティンブーの伝統医学病院で入手した「BALU」は *E. gerardiana var. sikkimensis* の地上部であることを確証し、かつそれぞれ最も近隣の地域で採薬されたものであることを明らかにした。なお、これら3分類群はいずれもチベット医学で使用される本属植物として初発表である。

【生態学的研究】

Ephedra 属植物の内部形態や化学成分含量に影響をおよぼす要因を探

る目的で、*E. gerardiana* と *E. pachyclada* の生育地の土壌の性質を検討した。

pH(H₂O), EC, 吸水量, 硝酸態窒素量, アンモニア態窒素量について分析を行った。

試料土壌に水を加え, 30分間浸とうし, pH は pH メーターで, EC は EC メーターで測定した。測定後試料液をろ過し, グリース・ロメン法およびインドフェノール法によりろ液を呈色させ, 液色を色彩計で測定し各窒素量を測定した。また, 土壌試料 4cm³に水10ml を加え, 上澄み液の量を測定し吸水量を算出した。

pH については, 前者では明酸性から微アルカリ性, 後者では中性から強アルカリ性であった。また吸水性は前者の方が高く, 硝酸態窒素量は後者に多く, アンモニア態窒素量は前者に多い傾向があった。

また, *E. pachyclada* について種子から栽培研究を行った結果, 発芽・生育ともに pH がより高い土壌で良好であった。

以上のことから, 両種は土壌の性質の違いとくに pH により棲み分けていると判断された。なお, 土壌 pH は降雨量に影響されるため, 降雨量による棲み分けも考えられたが, その可能性は乾燥地帯に生える *E. pachyclada* の栽培実験によりほぼ否定された。

【成分化学的研究】

E. gerardiana および *E. pachyclada* の草質茎に含有されるエフェドリン系アルカロイド4種, タンニン3種, フラボノイド2種についての定量を HPLC 法により行った結果, 含有する化学成分も, 種や株により多様に変化していた

変異の傾向を精査した結果, マオウ属に特徴的なエフェドリン系アルカロイドに関しては, *E. pachyclada* の方が *E. gerardiana* よりも各アルカロイド含量が高いことが明らかになった。また, *E. pachyclada* に関しては標高が低くかつ降雨量の少ない場所にアルカロイド含量の高い個体が多く認められた。また, タンニン含量に関しても *E. pachyclada* の方が多く, *E. gerardiana* と含量の最大値で比較すると catechin および M-31 では約6倍, M-41 では約2倍の違いが認められた。

また, 含有化学成分と生育土壌環境との相関を検討した結果, アルカロイドおよびタンニン含量に関しては, 両種ともに土壌 pH が高い場所の株に多く, また *E. gerardiana* においては土壌の吸水性が高い場所で低くなる傾向が認められるなど, 含有化学成分の多寡は生育土壌の性質と密接な関係のあることが示唆された。

一方, 上述のごとくアルカロイド含量には種間差が認められたが, 両種のデータを統合すると変異は連続し, かつ土壌 pH と高い相関のあることが明らかになった。すなわち, 全体として pH が高い場所に生える

株ほどアルカロイド含量が高いことが判明した。このことから、アルカロイド含量の種間差は遺伝的要因ではなく、生育地の土壌 pH の相違に依拠している可能性が示唆された。このことは両種が植物分類学的に近縁であることにも関係していると考えられるが、これまでにこうした研究結果の発表はなく、今後さらなる検討が待たれる。

従来、雌雄株の違いによるアルカロイド、タンニンおよびフラボノイド含量の差異については諸説があったが、本研究で性差とは無関係であることを明らかにし、さらに草質茎における結実とも無関係であることを明らかにした。これら成分の含有量は同所的に生える雌雄株においても大きな差異を示すものがあったことから、含有量の個体差は環境要因ではなく遺伝的要素によるものと考えられるが、現時点では詳細は不明である。

以上の結果から、両種におけるアルカロイドやタンニン含量の多寡、すなわちマオウ属の生薬としての品質の多様性は、これまで一般的に考えられてきたような遺伝的要因のみならず、生育地の土壌環境とくに pH の違いに大きく依拠している可能性が示唆され、本属植物を薬用に採集する際には降雨量の少ない地域で、かつ周辺に他の植物が少ない荒地に生える株を選択するのが適していると結論できる。

チベット医学では *Ephedra* 属植物を多く皮膚病に外用することから、薬用利用は *ephedrine* を期待したものではないことは明らかで、かえってタンニンの関与が推測される。また漢薬「麻黄」の薬効もエフェドリン系アルカロイドの薬理作用だけでは説明することが困難であるとされ、古来「麻黄」は渋味の強いものが良質であるとされてきたことから、今後本属植物の薬効的品質評価にはタンニンをも指標とすべきであろう。

本研究結果から、*E. pachyclada* については検討したほぼ全試料がアルカロイド含量で「日局適」であったが、*E. gerardiana* では「日局不適」の株が多く認められ、漢薬「麻黄」の資源植物としてはタンニン含量を考慮しても *E. pachyclada* の方が優れており、本種は漢薬「麻黄」の原植物として十分通用することが明らかになった。

学位論文の審査結果の要旨

本論文は、天然薬物資源の多様性の実態を解明するために、ヒマラヤ産のマオウ科 *Ephedra* 属植物を実験材料として、内部形態的ならびに成分化学的多様度を調査研究し、さらにその多様性の地理的傾向や生育環境との相関を調査したものである。

組織分類学的研究では、草質茎の節間中央部の横切面における表皮直下の繊維群の形態を新形質として見出し、試料全体を *E. gerardiana* と *E. pachyclada* の2群であると同定した。次いで、各形質の種内変異が概ね経度や高度に対して連続的であることを見出し、その結果内部形態的特徴により採集地不明株の産地推定を可能とした。以上の成果とチベット病院の調査結果から、検討した両種をチベット薬物の新資源植物として発表した。

成分化学的研究では、エフェドリン系アルカロイド、タンニン、その他を定量分析し、アルカロイドについては、種レベルでは *E. pachyclada* の方が *E. gerardiana* よりも含量が高いこと、*E. pachyclada* に関しては標高が高い場所には含量の高い個体が生育しないことなどを明らかにした。さらに、生育地の土壌分析を行い、土壌 pH が高い場所に生える株ほどアルカロイド含量が高いことを見出し、アルカロイド含量の両種間差は遺伝的要因のみならず、生育地の土壌条件の相違にも依拠している可能性を示した。

以上の成果は、研究内容のみならず今後の生薬研究に新たな方向を示した点でも高く評価でき、審査員の個人的な面談ならびに平成9年2月6日の口頭発表の審査を経て、同日行われた審査委員会にて博士論文（薬学）に値するものと判定した。