

マオウ属植物のアルカロイド含量の変異に関する研究

松 本 昌 士

平成 26 年 1 月

博 士 論 文

マオウ属植物のアルカロイド含量の変異に関する研究

金沢大学大学院自然科学研究科

生 命 科 学 専 攻

生理活性物質化学講座

学 籍 番 号 1123032323

氏 名 松本 昌士

主任指導教員名 御影 雅幸

目次

序 論	1
本 論	
第1章 中国国内市場品（薬局・集荷業者）の調査	5
第2章 中国（内蒙古・甘肅・新疆）の産地調査	9
第1節 資源について	15
第2節 内蒙古自治区・甘肅省産マオウのアルカロイド	21
第3節 新疆（2011, 2012年）産マオウのアルカロイド	26
第4節 新疆（2013年）産マオウのアルカロイド	30
第5節 特徴的な個体について	42
第3章 アルカロイド組成比に関する試験	
第1節 野生品及び栽培品のクローン株の比較	50
第2節 高含量種苗（株 No.533）のアルカロイド含量の推移	57
結論及び考察	58
実験方法	61
引用文献	65
謝辞	69

序論

漢方生薬「麻黄」の原植物である *Ephedra sinica* Stapf などのマオウ科 (*Ephedraceae*) マオウ属 (*Ephedra*属) 植物は、日本には自生していない¹⁾。そのため日本国内で消費する麻黄は全てが輸入品であり、近年は中国からの輸入に100%依存している²⁾が、中国では自生地の農地への転用、過放牧などによる資源枯渇がかねてより懸念されている³⁾。加えて、中国のWTO加盟に関連して、麻薬関係の取り締まりが強化されることとなり、覚せい剤原料となるエフェドリン系アルカロイドを含有する麻黄についても規制の対象となった。中国政府は1998年12月にエフェドリン及びその塩類、派生物及び単方製剤等12品目の輸出管理（「エフェドリン類製品輸出管理強化に関する問題についての通知」（1998）対外経済貿易管理局発第573号）を発し、1999年1月から種苗や全形の麻黄の輸出規制が実施された。この法令は2006年に施行された「エフェドリン類易制毒化学品輸出企業認定暫定弁法」により廃止となったが、第13条において依然として麻黄の輸出の禁止を明記している⁴⁾。これらの規制については、麻黄含有製剤又は麻黄の主成分であるエフェドリンを含む製剤がダイエットに効果があるとして、乱用による健康被害が多発し、アメリカで2002年頃から規制が行われていた⁵⁾ こととも関連している。これらの規制にも関わらず、中国での麻黄からの覚せい剤製造は減少しておらず⁶⁾、今後も取り締まりが強化されることはあっても、緩和される可能性は低いと予想される。

麻黄は葛根湯、小青竜湯、防風通聖散などの主要処方配合され、漢方エキス生産にとっても、極めて重要な原料生薬であるため、安定して入手する手段の確立が必要であるが、漢方生薬は医薬品であるため、量的確保のみならず、品質が安定したものを安定的に入手する必要がある。天産物である漢方生薬は合成の医薬品と比較して品質のばらつきが大きい。品質のばらつきは薬効の不確かさの原因となり、使用者への不利益に直結する重要な問題となるため、品質のばらつきに及ぼす要因の解明は重要である。ばらつきの主な要因として、種や個体に依存する先天的な要因（遺伝的要因）、後天的な要因（環境要因）が挙げられる。主な薬効成分が、遺伝的要因ではなく、環境要因に強く影響を受けるとすると、産地などの違いが、そのまま化学的品質の変動につながる可能性がある。漢方生薬の場合、資源減少や流通上の問題などにより、産地が別の地方にシフトするケースや、野生品から栽培品が中心に変わることがある。そのため環境要因による変動の影響を抑制する方法についても考えていく必要がある。

漢方生薬は『第16改正日本薬局方』（以下、日局16）⁷⁾に適合することが求められるが、この規格は最低限のものであり、より安全で効果的に漢方生薬を使用するためには、さらに多方面から評価を継続していくことが望ましい。例えば細辛は地上部に少量のアリストロキア酸を含む。アリストロキア酸には腎毒性があるため、本来はこの成分を含まないことが求められるが、第13改正（1996年）までは「地上部が10.0%未満」と記載されていた。

第14改正（2001年）からは安全性の問題が考慮され、「地上部を認めない」と変更され^{8-a)}、第15改正の解説書にその経緯も記載された⁹⁾。麻黄についても、第6改正（1951年）に収載されてから数回の変更があり、特に大きなものとして第14改正での原植物の変更が挙げられる。第13改正までは「*Ephedra sinica* Stapf及びその同属植物（*Ephedraceae*）」とされていたが、第14改正から同属植物という曖昧な記載を止めることが目的として、*E. sinica*, *E. intermedia* Schrenk et C.A. Meyer, *E. equisetina* Bungeの3種に限定された^{8-b)}。この3種に限定されたのは当時の中国薬典の記載に合わせたためで、中国ではこの3種以外の市場性がほとんど無かったことが原因と推察される。これ以外のマオウ属植物を生薬「麻黄」として使うためには、更なる研究が必要であるが、例えば雲南省などに分布する*E. likiangensis* Florin, 西蔵自治区などに分布する*E. gerardiana* Wall et C.A. Meyerなどについて、含有成分や薬効に顕著な相違があるとする報告は見当たらず、*E. likiangensis*は現地では麻黄と同じように使用されていたとされている¹⁰⁾。

本研究では、エフェドリン系アルカロイドに着目し、中国市場品、野生品、栽培品のマオウ属植物についての研究を行なった。

1. 中国市場品の現状について

日局16では含量規格として(-)-ephedrine（以下E）及び(+)-pseudoephedrine（以下PE）の含量合計（E+PE）を0.7%以上としている。一方、2010年版中国薬典（以下、薬典）¹¹⁾では0.8%以上とされており、日局16よりも含量規格がやや高く設定されている。しかも中国薬典ではアルカロイド含量規格の下限値が0.8%（2000年）¹²⁾、1.0%（2005年）¹³⁾、0.8%（2010年）と改訂ごとに変動している。推測であるが、2005年の改訂前は1.0%以上のものが多く流通していたが、2010年頃には含量規格を下回るものが増えてきた可能性がある。

第1章において、中国市場品の実態を把握する目的で、中国国内の生薬市場、薬局・薬店、集荷・加工業者からサンプルを入手し、評価を行なった。

2. 野生品のエフェドリン系アルカロイドについて

麻黄中のエフェドリン系アルカロイドは6種が見出されているが、E及びPE以外の(-)-norephedrine（以下NE）、(-)-methylephedrine（以下ME）、(+)-norpseudoephedrine（以下NPE）、(+)-methylnpseudoephedrine（以下MPE）は日局16には含量の規定が無い。市場に流通する麻黄のアルカロイド組成比（E、PE、NE及びMEの合計含量に対する各アルカロイド含量の占める割合）のうち、約8割はE及びPEで占められるが、まれにME、NEが高い市場品もあり、香港の市場品ではNE組成比が約48.0%のサンプル、吉林省の市場品ではME組成比が約71.0%と著しく高いサンプルがあったとのことである¹⁴⁾。しかし市場品は複数の個体が刻まれた状態で流通しているため、分析部位、収穫時期などを統一することは困難であ

る。梶村らにより、*E. distachya*の生育初期の茎先端など若い組織にNEが多く、MEは生育盛期の基部に近い部分に多いことが報告されており¹⁵⁾、例外的な傾向のサンプルは、分析した部位が極端に偏向していた可能性も考えられる。

第2章において、2010年から2013年に中国の麻黄の主要な産地である内蒙古自治区東部、甘肅省東部、新疆自治区東北部の野生資源調査を行ない、そこで得たサンプルのアルカロイド含量及び組成比の評価をした。

本研究の調査地は、主に内蒙古東部（赤峰市・通遼市）、甘肅省東部（環県）、新疆東北部の3箇所である。内蒙古東部は*E. sinica*が中心で、他の種はほとんど分布していないとされ¹⁶⁾、甘肅省東部は*E. intermedia*が主に分布しているが、*E. sinica*も分布するとされている¹⁷⁾。甘肅省では複数回の調査を行ない、時期、環境の違いによる資源及びアルカロイド含量の変動について評価をした。新疆はFig.1に示したように、モンゴル、カザフスタン、キルギスタン、パキスタンなど7カ国（パキスタン・インドの係争地帯、チベットを除く）と接している。新疆の国境沿いに分布するマオウについては、これらの国においても自生している可能性が高く、中国周辺国の資源についても考察をすることが可能と言える。金沢大学のLongらは2003年に新疆で調査を行ない、入手した*E. intermedia*, *E. przewalskii*などの成分含量測定とDNA解析を行なっている¹⁸⁾。今回調査を行なった新疆東北部は、ロシア、モンゴル、カザフスタンの3カ国と国境を隔てており、また和田市はパキスタンの国境に近い。新疆には10種のマオウが分布しているとされ¹⁹⁾、*E. intermedia*, *E. equisetina*の他、*E. przewalskii*が多く分布している。このうち*E. equisetina*は近年市場性を失い、ほとんど流通していないとされており²⁰⁾、本種の資源の現状について評価を行なった。また新疆では同所的に複数の種が自生していたため、種間差の比較を行なった。さらに生育環境の違いによるアルカロイド含量の変動について、日照時間及び量に影響する傾斜の向き、土壤環境（岩上、瓦礫質土壤）及び傾斜中の位置（傾斜上部から下部）との関係の評価をした。

3. (-)-ephedrine及び(+)-pseudoephedrineの組成比について

E及びPEについて、日局16の含量規格は合計値であり、それぞれの含量についての規定はない。しかし、この2つの化合物についてはそれぞれ異なる薬理作用が報告されており、例えば喘息抑制²¹⁾、²²⁾や血圧上昇²³⁾に関してはEの方がPEよりも強いと報告されている。一方でPEの抗炎症作用はEよりも強いと報告されている²⁴⁾。張らは発汗解表・宣肺平喘の処方（麻黄湯、麻杏甘石湯など）にはE組成比の高い麻黄、消炎止痛・減肥の処方（防風通聖散など）にはPE組成比の高い麻黄を使用することを推奨している²⁵⁾。同著者らはMEについても言及しており、哮喘及び皮膚疾患治療の処方（麻黄蝉退湯、陽和湯）にME組成比が高い麻黄を推奨している。また消炎止痛を主に期待し、肩こりに対して効果があったと報告される独活葛根湯²⁶⁾のような処方にも、PE組成比の高い麻黄を使用することが望ましいと考える。

野生品のアルカロイド組成比に影響する要因としては、種間差（遺伝的要因）、地域性（遺伝的要因）の両方が報告されている。種間差については、*E. intermedia*は*E. sinica*及び*E. equisetina*と比べてPE組成比が高い傾向があるとされている^{27,28}。しかし同じ*E. sinica*でも、降水量の少ない地方ではアルカロイド含量及びPE組成比が高い傾向にあった²⁹。またモンゴル産の*E. sinica*において、18SrRNA及び葉緑体のtrnK配列から遺伝子型を決定し、この遺伝子型が同じのものであっても産地が異なる個体間では、アルカロイド組成比が大きく異なっていた³⁰。これらのことから、アルカロイド組成比は、種間差（遺伝的要因）ではなく、地域性（環境要因）の影響を受けるとする見解が近年は一般的である。しかし、これらの報告は平均値での傾向であり、個体ごとに比較をすると、同じ産地内でもアルカロイド組成比の変動は大きく、EとPEの組成比が逆転しているケースも認められる。即ち地域性についてもアルカロイド組成比への影響は限定的であり、本当の要因ではない可能性が考えられる。野生では、環境要因と遺伝的要因が混在しているため、アルカロイド組成比に影響を及ぼしている要因については、現在まで明らかにされていない。

第3章において、同一個体と考えられる野生品から得た標本、クローン株の栽培品のアルカロイド含量について評価し、アルカロイド組成比に影響を及ぼしている要因の解明を行なった。

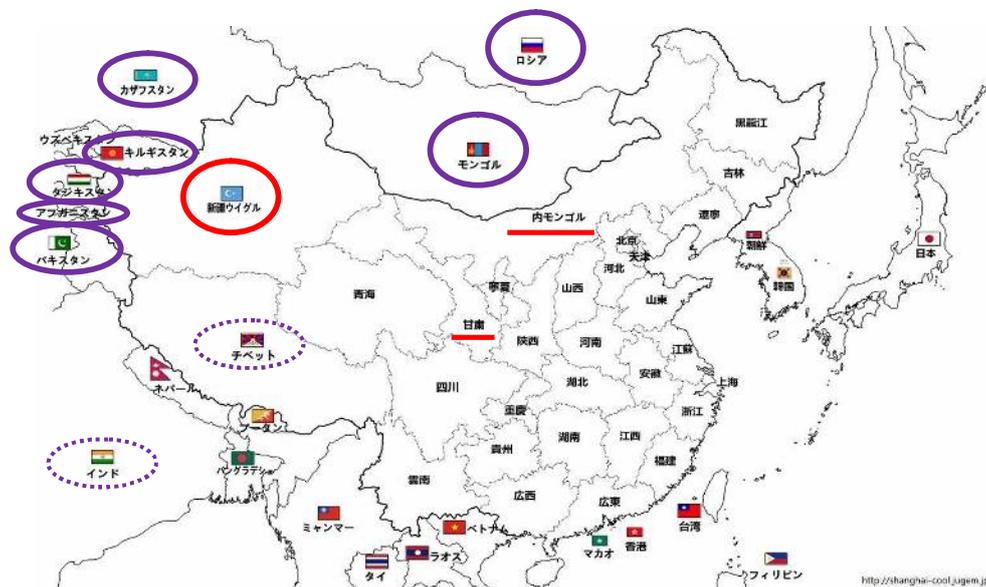


Fig.1 新疆ウイグル自治区の周辺国

第1章 中国国内市場品(薬局・集荷業者)の調査

中国の市場品については田中ら¹⁴⁾、台湾の市場品についてはLiuら²⁷⁾の報告があるが、これらはそれぞれ1995年、1992年に報告されたもので、近年の実情についての論文報告は見当たらない。実態を把握する目的で、中国国内の生薬市場、集荷・加工業者、薬局・薬店において調査を行った。

また今回、蜂蜜で修治した蜜麻黄（又は蜜炙麻黄）（Fig.2-1）も入手した。中国薬典には蜜麻黄として収載されており、以後は蜜麻黄で統一する。



Fig.2-1 蜜麻黄(H-Gx-G(S))

【実験材料】

中国各地の生薬市場、集荷・加工業者及び薬局・薬店から入手した合計 37 サンプルについて評価を行なった。

1. 市場 (Market) : 四川省成都市の荷花池市場の 4 店舗から 5 サンプル、河北省安国市場から 2 サンプルを入手した。
2. 集荷・加工業者 (Company) : 甘肅省、寧夏を中心に、8 件の業者から 13 サンプルを入手した。
3. 薬局 (Store) : 12 店舗から 12 サンプルを入手した。
4. 蜜麻黄 (Honey) : 2 業者 (Company) 及び 3 店舗 (Store) から 5 サンプルを入手した (蜜麻黄の修治¹²⁾ : 刻み麻黄 100kg に対し、20kg の蜂蜜 (薬典には煉蜜という記載。精製した蜂蜜) を加え、粘性が無くなり手に貼りつかなくなるまで炒める)。

蜂蜜の含水率は18-20%とされており³¹⁾、加熱により蜂蜜の水分が完全に無くなると仮定すると、未修治のものと比較して単位重量当りのアルカロイド含量が約15%減少する。そのため、未修治のものとは区別して比較を行った。

【方法】

栽培・野生の区別、産地などについて聞き取り調査をし、入手したサンプルのアルカロイド含量を定量した (定量方法は実験の部を参照)。

【結果及び考察】

結果をTable 1, Fig.2-2~2-3に示す

集荷・加工業者からは産地の情報を得ることができたが、薬局・薬店ではS-NU-A (NU), S-NC-K(N)の2店舗を除き、明確な回答を得ることができなかった。寧夏の薬店S-NiY-D, 内蒙古の薬店S-NU-Gの2店舗からは「少なくとも店舗周辺ではない」という回答があった。S-NC-K (N)は河北省安国市場から購入しており、多くの店舗では市場等から購入したものであると考えられる。なお集荷・加工業者のC-NU-F(NU)は、S-NU-A (NU)の主人から紹介された業者で、密接な繋がりがある薬局・薬店も認められた。

薬局・薬店では各20gを購入し、価格は蜜麻黄も含め4角~2元(日本円約6~30円)であった。S-NC-K (N)は「0.02×20克」(克:g)と印字されたレシートを発行しており、2元/100gの単位で取り扱っていたことが分かった。一方、この他の店舗ではレシートや領収書の発行が無く、価格の基準については不明である。集荷・加工業者、生薬市場ではサンプルとして無料で譲渡していただいたため、価格については未確認である。甘粛省の業者(C-GK-B)によると、納入時の価格は5~6元(約80円)/kgで、栽培品と野生品は、同じ価格で取引をしているとのことであった(2011年時点)。またアルカロイド含量及び異物(根・木質茎など)の多寡と価格の間に、傾向は特に認められなかった。

本研究で入手した3サンプルの栽培品について、いずれも木質茎が多く、根も混入していた。栽培品では通常、草質茎のみを採取するため、木質部が発達することは少ない³²⁾ことから、野生品の可能性も考えられる。

アルカロイド含量 (E+PE)

集荷・加工業者のサンプルは全て日局16の含量規格($E+PE \geq 0.7\%$)を満たしていた。一方、生薬市場、薬局・薬店のものは、店舗によりばらつきが認められ、日局16の含量規格未満のサンプル(M-SC-D, S-NiY-D, S-NC-K (N))もあった。蜜麻黄を除き、中国薬典(2010年版)の含量規格($E+PE \geq 0.8\%$)を満たすサンプルの割合は87.5%(28/32サンプル)であり、2005年版の含量規格($E+PE \geq 1.0\%$)を満たすサンプルの割合は68.8%(22/32サンプル)であった。2010年版の含量規格に適合するが、2005年版の含量規格を満たさないものが、今回のサンプルでも約20%認められたことから、中国ではアルカロイド含量が0.8~1.0%の麻黄も比較的多く流通しているものと推察される。中国薬典の規格値が変動した原因として、調査でのヒアリングから、主には政治的な問題が関係していると考えられた。マオウ属植物の野生資源が枯渇傾向にあることから、中国では補助金などによって栽培化を奨励し、大量の麻黄を原料としてエフェドリンの粗抽出を行う業者には自社栽培地の保有の義務付けを行っていた³³⁾。しかし麻黄から抽出したエフェドリン系アルカロイドは覚せい剤原料となることから、必要以上の麻黄が流通することは、覚せい剤の濫造につながる可能性がある。推測で

あるが、含量規格を高く設定することで、栽培技術のある業者の篩い分けを行い、かつ規格が高いことで野生品の採取についても抑制をしていた可能性が考えられる。また蜜麻黄は前述したように単位重量当りの含量が未修治のものと比較して低くなるが、本研究で分析した5サンプルはいずれも日局16の含量規格(E+PE \geq 0.7%)に適合するものであった。

アルカロイド組成比

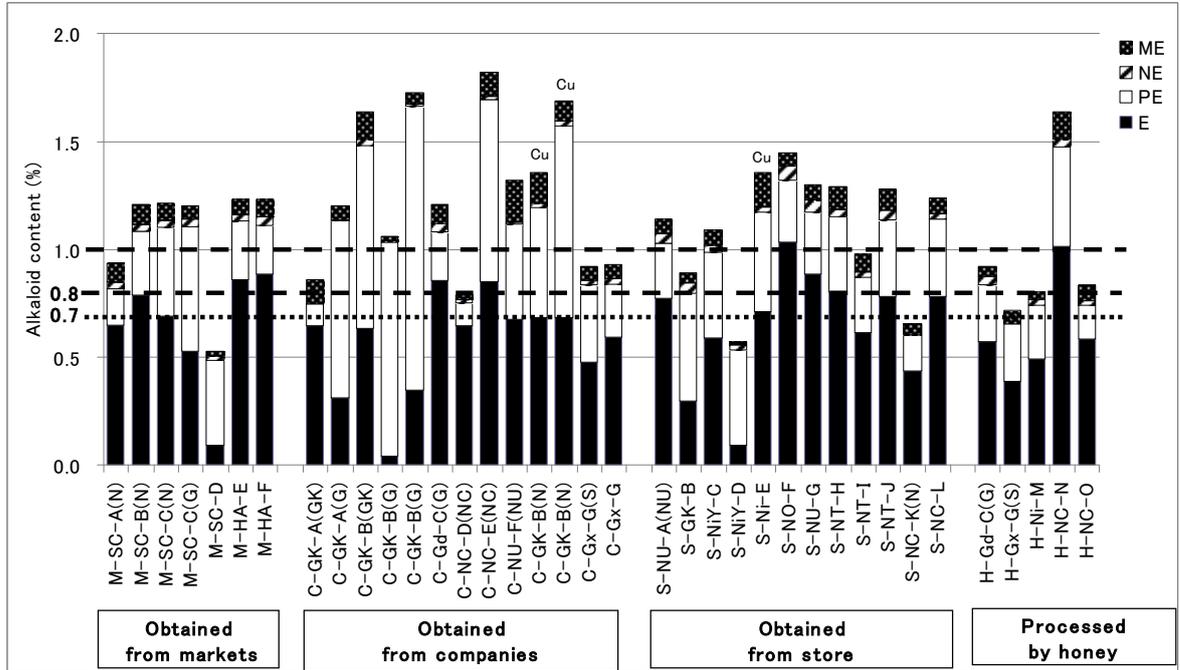
組成比のパターンについては23サンプル及び蜜麻黄5サンプルがE>PE型で、残りの9サンプルがPE>E型であった。内蒙古東部、安国市場などの地理的に中国の東側で入手したものは全てE>PE型で、PE>E型は甘肅省、寧夏、荷花池市場など地理的に中国の西側で入手したものである。NE及びMEの含量はわずかで、一部のサンプルではHPLC上でNEのピークが確認できなかった。

Table 1 アルカロイド含量(中国の市場品)

記号	入手先	標本No.	入手日	産地	備考	アルカロイド含量(%)						
						E	PE	NE	ME	E+PE	E/PE	
M-SC-A(N)	荷花池市場 A店	110712-01	2011.7.12	内蒙古	野生	0.65	0.17	0.03	0.09	0.82	3.79	
M-SC-B(N)	荷花池市場 B店	110712-05	2011.7.12	内蒙古	野生	0.79	0.30	0.03	0.09	1.09	2.64	
M-SC-C(N)	荷花池市場 C店	110712-03	2011.7.12	内蒙古	—	0.69	0.41	0.04	0.08	1.10	1.70	
M-SC-C(G)	生薬市場	荷花池市場 C店	110712-04	2011.7.12	甘肅	—	0.53	0.58	0.03	0.06	1.11	0.91
M-SC-D	(Market)	荷花池市場 D店	110712-02	2011.7.12	不明	—	0.09	0.39	0.02	0.02	0.48	0.23
M-HA-E		1N	—	不明	—	0.86	0.27	0.03	0.07	1.13	3.16	
M-HA-F		8004	—	不明	—	0.88	0.22	0.04	0.09	1.11	3.95	
C-GK-A(GK)	甘肅 業者A	110716A2-01	2011.7.16	甘肅(環県)	—	0.65	0.10	tr.	0.12	0.74	6.56	
C-GK-A(G)	甘肅 業者A	110906B-02	2011.9.6	甘肅	野生	0.35	1.32	0.01	0.05	1.66	0.26	
C-GK-B(GK)	甘肅 業者B	110716B2-04	2011.7.16	甘肅(環県)	野生	0.31	0.82	tr.	0.07	1.13	0.38	
C-GK-B(G)	甘肅 業者B	110716B2-01	2011.7.16	甘肅	野生	0.63	0.85	0.03	0.13	1.48	0.75	
C-GK-B(G)	甘肅 業者B	110906A-02	2011.9.6	甘肅	野生	0.04	0.99	0.00	0.02	1.03	0.04	
C-Gd-C(G)	広東 業者C	2N	—	甘肅	—	0.86	0.22	0.04	0.09	1.08	3.84	
C-NC-D(NC)	集荷・加工業者	内蒙古 業者D	100622-10	2010.6.22	内蒙古(赤峰市)	野生	0.64	0.11	0.02	0.02	0.75	6.04
C-NC-E(NC)	(Company)	内蒙古 業者E	110723C2-01	2011.7.23	内蒙古(赤峰市)	野生	0.85	0.85	0.02	0.11	1.69	1.00
C-NU-F(NU)		内蒙古 業者F	110721A1-01	2011.7.21	内蒙古(烏蘭察布市)	野生, 2010年秋採集	0.67	0.44	0.01	0.19	1.12	1.52
C-GK-B(N)	甘肅 業者B	110716B2-02	2011.7.16	内蒙古	栽培?	0.69	0.50	0.02	0.15	1.19	1.36	
C-GK-B(N)	甘肅 業者B	110716B2-03	2011.7.16	内蒙古	栽培?	0.69	0.89	0.02	0.09	1.57	0.77	
C-Gx-G(S)	広西 業者G	5N	—	陝西省	—	0.47	0.36	0.02	0.07	0.83	1.32	
C-Gx-G	広西 業者G	4N	—	不明	—	0.59	0.25	0.02	0.07	0.84	2.41	
S-NU-A(NU)	内蒙古 A店	110721C1-01	2011.7.21	内蒙古(烏蘭察布市)	価格6角/20g	0.77	0.26	0.04	0.07	1.03	2.99	
S-GK-B	甘肅 B店	110716C1-01	2011.7.16	不明	価格6角/20g	0.29	0.50	0.05	0.04	0.80	0.58	
S-Niy-C	寧夏 C店	110717F1-01	2011.7.17	不明	野生, 価格2元/20g	0.59	0.40	0.03	0.07	0.99	1.46	
S-Niy-D	寧夏 D店	110717G1-01	2011.7.17	(近隣では無い)	価格6角/20g	0.09	0.44	0.02	0.01	0.53	0.21	
S-Ni-E	寧夏 E店	110719A1-01	2011.7.19	不明	栽培?, 価格4角/20g	0.71	0.46	0.03	0.16	1.17	1.54	
S-NO-F	薬局・薬店	内蒙古 F店	110719C1-01	2011.7.19	不明	価格4角/20g	1.03	0.29	0.07	0.06	1.32	3.59
S-NU-G	(Store)	内蒙古 G店	110721D1-01	2011.7.21	(近隣では無い)	価格2元/20g	0.89	0.29	0.06	0.07	1.17	3.07
S-NT-H	内蒙古 H店	110724C1-01	2011.7.24	不明	価格6角/20g	0.80	0.35	0.03	0.10	1.15	2.30	
S-NT-I	内蒙古 I店	110724D1-01	2011.7.24	不明	価格6角/20g	0.61	0.26	0.02	0.09	0.87	2.40	
S-NT-J	内蒙古 J店	110724E1-01	2011.7.24	不明	価格1元2角/20g	0.78	0.36	0.04	0.10	1.14	2.20	
S-NC-K(N)	内蒙古 K店	110724F1-01	2011.7.24	内蒙古	安国市場から入手, 価格4角/20g	0.43	0.17	0.00	0.05	0.60	2.60	
S-NC-L	内蒙古 L店	110725C1-01	2011.7.25	不明	価格1元/20g	0.78	0.36	0.03	0.07	1.14	2.18	
H-Gd-C(G)	広東 業者C	3N	—	甘肅省	—	0.57	0.26	0.04	0.05	0.83	2.22	
H-Gx-G(S)	広西 業者G	6N	—	陝西省	—	0.39	0.26	tr.	0.06	0.66	1.47	
H-Ni-M	蜜麻黄	寧夏 M店	110717E1-01	2011.7.17	不明	価格2元/20g	0.49	0.25	0.02	0.04	0.74	1.96
H-NC-N	(Honey)	内蒙古 N店	110723D1-01	2011.7.23	不明	価格2元/20g	1.01	0.46	0.04	0.13	1.47	2.22
H-NC-O	内蒙古 O店	110723E1-01	2011.7.23	不明	市場品, 4角/20g	0.58	0.15	0.02	0.07	0.74	3.78	

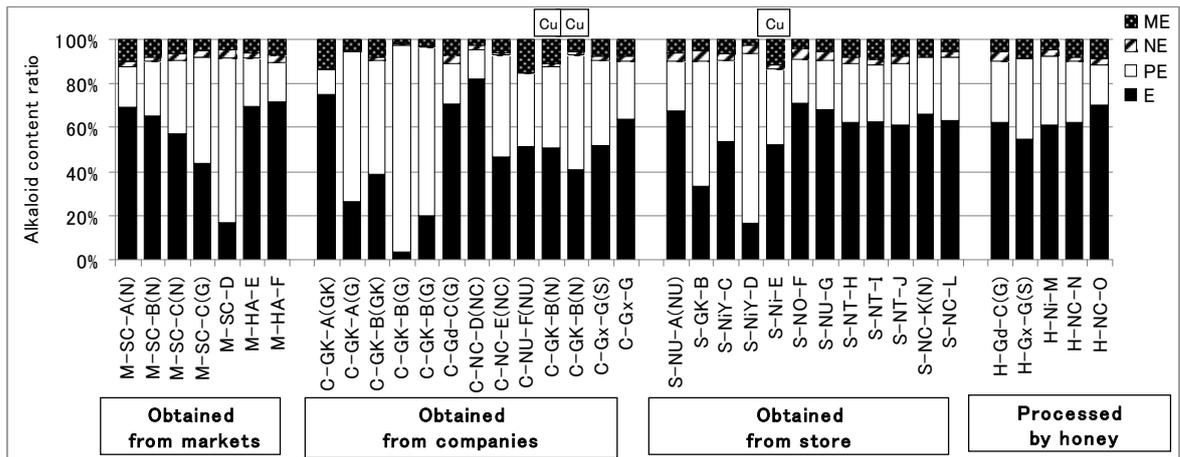
tr.:アルカロイド含量0.01%未満.

E+PEの赤字は局方規格(0.7%以上)に適合しない, E/PEの赤字は1.0%未満.



In Figure, Cu: samples cultivated *Ephedra* plants .

Fig.2-2 アルカロイド含量（中国の市場品）



In Figure, Cu: samples cultivated *Ephedra* plants .

Fig.2-3 アルカロイド組成比（中国の市場品）

第 2 章 中国の産地調査(内蒙古・甘肅省・新疆)

第 1 章で評価をした市場品は、複数の個体を混合したものであり、産地情報は入手した店舗・業者からの情報しか無く、正確な比較を行なうことが難しい。由来が明確な個体を評価するためには、自生地で産地調査を行なうことが必要である。

今回、主な麻黄の産地である中国内蒙古自治区（以下、内蒙古）、新疆ウイグル自治区（以下、新疆）及び甘肅省環県において産地調査を行なった。

【実験材料】

調査地点を Fig.3, 入手したサンプルの情報を Table 2-1~2-2 に示した。

調査 1. 2010 年 6 月 内蒙古・甘肅省調査

【場所】内蒙古（赤峰市，通遼市，烏蘭察布市），甘肅省環県（計 4 市県 7 地点）。

【調査日】2010.6.22~2010.7.7

【入手サンプル数】55

調査 2. 2011 年 7 月 内蒙古調査

【場所】内蒙古（赤峰市，通遼市，烏蘭察布市）（計 3 市 5 地点）

【調査日】2011.7.21~2011.7.27

【入手サンプル数】43

調査 3. 2011 年 7 月・9 月，2012 年 9 月 甘肅省調査

【場所】甘肅省環県（計 1 県 3 地点）

【調査日】2011.7.17, 2011.9.5, 2012.9.2

【入手サンプル数】46

調査 4. 2011 年 7 月 新疆調査

【場所】新疆（和田市，阜康市）（計 2 市 3 地点）

【調査日】2011.6.27~2011.7.2

【入手サンプル数】8

調査 5. 2012 年 7 月 新疆調査

【場所】新疆東北部（計 8 市県 12 地点）

【調査日】2012.7.9~7.17

【入手サンプル数】48

調査 6. 2013 年 6 月 新疆調査

【場所】 新疆東北部（計 6 市県 8 地点，1 市 2 地点は栽培地）

【調査日】 2013.6.23～7.3

【入手サンプル数】 155（うち新疆博楽市 XL1 の 9 サンプル，XL2 の 13 サンプルは栽培品）

【方法】

1. 資源調査

マオウ属植物の自生地とされる地方を中心に調査を行なった。一部の調査地は現地住人や加工・集荷業者の案内で調査を行なうことができた。

2. 種の鑑別

種の同定は『中国植物志』³⁴⁾を参考にして行なった。*E. distachya* と *E. lomatolepis* については中国植物志に記載が無く、『薬用動植物種養加工技術 麻黄』³⁵⁾を参考にした。本書籍及び『新疆植物志』¹⁹⁾では *E. glauca* は *E. intermedia* とは別種として記載されている。主に草質茎のざらつきが無く滑らかなものが *E. glauca*，ざらつきが有り粗いものが *E. intermedia* とされている。『中国植物志』では *E. glauca* は *E. intermedia* の変異の範囲内とされていることから，本研究では区別せずに *E. intermedia* と表記する。

形態による判断が困難なものについては，DNA 解析により同定を試みた。なお 2012 年に入手した新疆東北部の *E. equisetina* は，いずれも ITS 1 領域の一部で二重の配列となっており，種内変異した個体との交雑が予想されている³⁶⁾。

2012 年及び 2013 年の新疆の調査で入手したサンプルの一部は *E. przewalskii*，*E. distachya* 及び *E. regeliana* と同定した。この 3 種と同定した個体は，HPLC でアルカロイドのピークがほとんど認められなかったため，本章 第 3 節から第 4 節でのアルカロイド含量に関する研究での結果を省略する。なお *E. regeliana* については，Long らの調査でも同様にアルカロイドが認められなかった¹⁸⁾が，パキスタン産¹⁾，モンゴル³⁰⁾産はアルカロイドを含むと報告されており，産地による違いがある。*E. distachya* についてもフランス産，地中海産はアルカロイドを含んでいる³⁷⁾。新疆産の *E. distachya* については Gen Bank 上の *E. distachya* とは一致しなかったが、『薬用動植物種養加工技術 麻黄』³⁵⁾の記載に従い，新疆で入手した個体についても *E. distachya* と表記する。新疆の本種については *E. pseudodistachya*，*E. lomatolepis* の他，交雑種といった複数の可能性があり，検討中である（未報告）。

Table 3 書籍に記載された種に特徴的な組織(外部形態)

種	雌穂果・種子			草質茎		葉	
	形状	珠孔管	種子数	高さ(cm)	色	裂片数	切れ込みの深さ
<i>E. sinica</i>	肉質	真直 ~微湾曲	通常 2	20~40	—	2	下部 1/3 ~2/3 合生
<i>E. intermedia</i>	肉質	長く螺旋状	2~3	20~100	緑色 ~灰緑色	2~3	下部 2/3 合生
<i>E. intermedia</i> var. <i>tibetica</i>	肉質	—	—	100 以上	緑色 ~灰緑色	通常 2	短い
<i>E. equisetina</i>	肉質	短く湾曲	通常 1	100	藍緑色 ~灰緑色	2	大部分合生
<i>E. przewalskii</i>	膜質	—	—	50~240	緑色	通常 3	下部 1/3 ~2/3 合生
<i>E. regeliana</i>	肉質	短く真直ぐ	通常 2	5~15	—	2	下部 1/2 合生
<i>E. monosperma</i>	肉質	長く湾曲か 短く真直ぐ	1	3~8	緑色	2	下部 1/3 ~1/2 合生
<i>E. fedtschenkoae</i>	肉質	真直ぐ	1~2	3~10	緑色	2	1/3 合生
<i>E. distachya</i>	肉質	真直ぐか 微湾曲	2	10~25	淡緑色 ~淡黄緑色	2	—
<i>E. lomatolepis</i>	肉質 ~辺縁窄膜	微湾曲	2~3	20~45	—	2~3	—

E. distachya, *E. lomatolepis*については『薬用動植物種養加工技術 麻黄』を、それ以外の種は『中国植物志 第7巻』を参考にした。

3. アルカロイド含量の定量

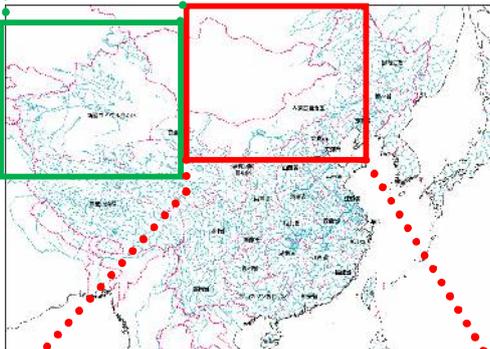
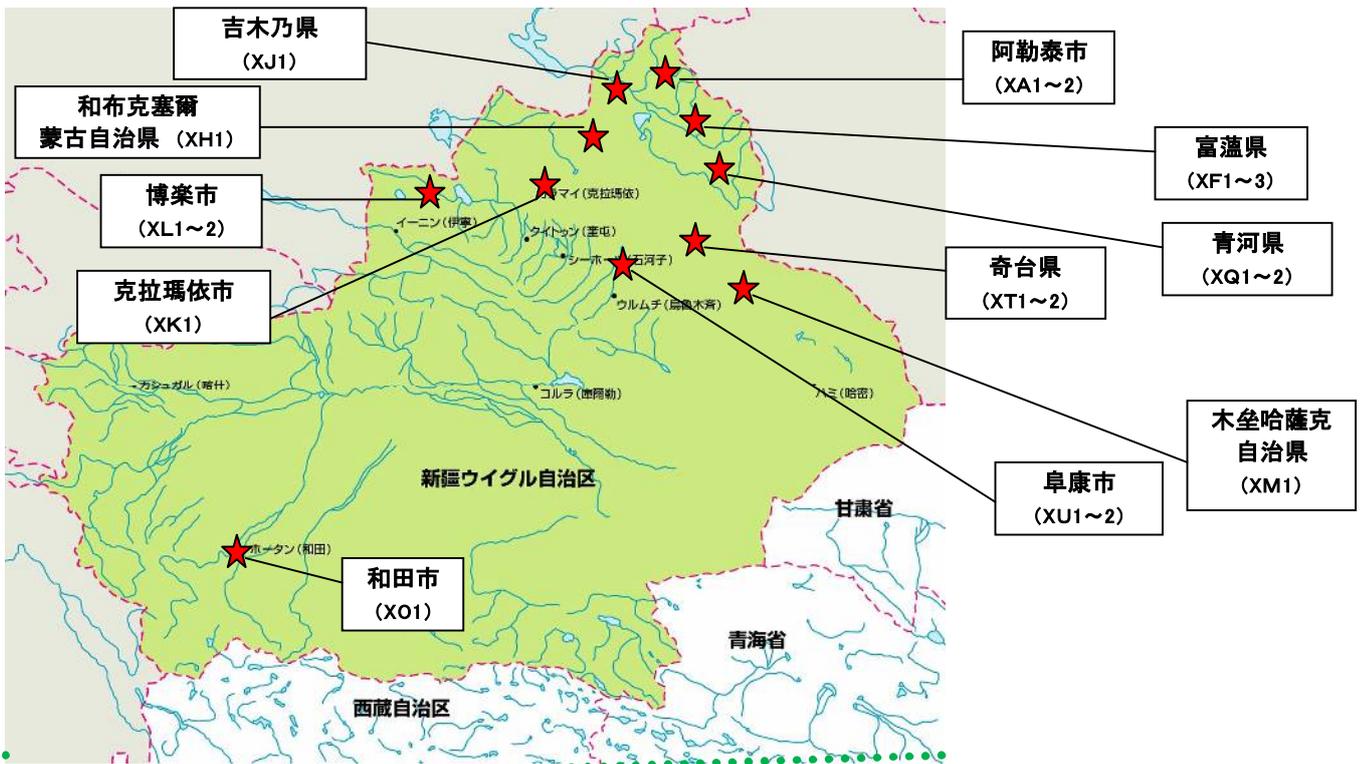
採取したサンプル(全 355 個体)のエフェドリン系アルカロイド含量を定量した(定量方法は実験の部を参照)。さらに定量したアルカロイド含量から、組成比(E, PE, NE, NPE 及び ME の合計含量(調査1のみ E, PE, NE 及び ME の合計含量)に対する各アルカロイド含量の占める割合)を算出した。

サンプル数が少なかった調査3(2011~2012年甘粛省)及び調査4(2011年新疆)以外は、産地ごとに、アルカロイド含量(E+PE)の平均値を算出し、Tukey-Kramer法によって比較を行なった。

また調査6(2013年新疆)において、青河県(XQ1-1, XQ1-2)、富蘊県(XF2-1, XF3)、阿勒泰市(XA2)の5地点では、サンプル採取時に自生している場所の傾斜の向き(東向き、西向き、平地、尾根など)、土壌環境(岩場、瓦礫質土壌)、傾斜の位置(上、中、下)を記録し、環境と含量の比較を行なった。

4. 組織形態学的評価

調査3~4及び6においてアルカロイドのパターン、外部形態が特徴的であった個体を対象に、草質茎横切面の内部形態を顕微鏡で観察した(観察方法は実験の部を参照)。



★ : 調査地(図中の記号は Table 2-1 及び 2-2 と対応)

地図画像は <http://abyss.co.jp/china-map/index.html> より取得.



Fig.3 調査地

Table 2-1 調査地の情報(内蒙古自治区, 甘肅省)

位置No.	調査地	高度(alt.) m	環境	資源*	調査日	標本NO.	分析サンプル数	種	状況
NC1	赤峰市	654	圃場脇	E	2010.6.22	100622-1 (同一群落の複数個体)	5	<i>E.sinica</i>	集荷・加工業者の案内
NC2		678	草原	C	2010.6.23	100623-1~2 (同一群落の複数個体)	5	<i>E.sinica</i>	—
NC3		330	草原	D	2010.6.23	100623-3~4 (同一群落の複数個体)	8	<i>E.sinica</i>	現地の人でもマオウを収穫をしない。
NC4		654	平原(砂地)	B	2011.7.23	110723A1-01~06 110723B1-01~03	9	<i>E.sinica</i>	集荷・加工業者の案内(交通の便が悪い)。 マオウ以外の植物(草高は同程度~高い)が豊富。
NC5		434	草原	D	2011.7.25	110725A1-01~04 110725B1-02~05	8	<i>E.sinica</i>	生育年数の長い個体(根が太い)があった。 1株当りの雌穂果が豊富な個体があった。
NC6		664	草原	B	2011.7.26	110726A1-01~04 110726B1-01~07	11	<i>E.sinica</i>	1株当りの雌穂果が豊富な個体が群落を形成。 この群落の個体は草質茎の色が周辺のものより薄かった。 草質茎の一部が黄変(生育不良?)した個体があった。
NT1	内蒙古自治区	375	砂漠地	A	2010.6.24	100624 -6.8,10.11~18.21~28	19	<i>E.sinica</i>	政府関係者の案内(交通の便が悪い)。 年間の産量300t(湿重量)。 但し2010年までの3年間は本格的な収集を禁止。
NT2		259	草原	D	2010.6.25	100625-3,4,10	3	<i>E.sinica</i>	乱獲により資源が減少。 マオウ以外の植物(草高は同程度~高い)が豊富。
NT3		325	砂漠地	B	2011.7.24	110724A1-01~05 110724B1-01~04	9	<i>E.sinica</i>	交通の便が悪い。 無毛の砂漠に隣接した場所。 マオウ以外の植物(草高は同程度~高い)が豊富。
NU1	烏蘭察布市	1499	丘陵地 (高速道路脇)	D	2010.6.28	100628-4,8,9,16	4	<i>E.sinica</i>	現地住人の案内。 道路工事の際に異なる地方から移入した 個体の可能性がある。 生育不良(根の腐敗, 草質茎上部が螺旋状) の個体があった。
UN2		1457	丘陵地 (風力発電所近隣)	C	2011.7.21	110721B1-01~06	6	<i>E.sinica</i>	集荷・加工業者の案内 マオウ以外の植物(草高は同程度)が豊富。 草質茎の一部が黄変(生育不良?)した個体があった。
—		1431	圃場	無し	2010.6.28	—	—	—	2002年の封育地 2005年以降に穀物の栽培地に開墾された。
GK1	甘肅省	1507	道路脇	E	2010.7.7	100707 -1~4,12,15,17~20	10	<i>E.sinica</i> , <i>E.intermedia</i> ?	集荷・加工業者の案内 地上部が小型。 珠孔管は直又はわずかに屈曲。
GK2-1		1447	道路脇	E	2011.7.17 2011.9.5 2012.9.2	崖:110717B1-01, 110905C-01~03 120902E-01 傾斜地:110717A1-01,02,04,05 110905C-04~06 120902E-02~03	崖:1, 3, 1(計5) 傾斜地:4, 3, 2(計9)	<i>E.intermedia</i>	崖:生育年数の長い個体(根が太い)があった。 1株当りの雌穂果が豊富な個体があった。 雌穂果は脇生(珠孔管は螺旋状)。
GK2-2		1357	圃場脇	D	2011.7.17 2011.9.5 2011.9.2	斜面上部:110717C1-01, 110905D-02,03,120902F-2,3 傾斜地:110717C1-05~07,110905D-04~07,110902F-4 傾斜途中:110717C1-03,04,110905D-08~10,120902F-5 傾斜下方:110905D-11,12,120902F-6	傾斜上部:1, 3, 2(計6) 傾斜地:3, 4, 1(計8) 傾斜途中:2, 3, 1(計6) 傾斜下方:2, 1(計3)	<i>E.intermedia</i>	傾斜地:2011~2012年の1年間で雑草(草高は高い)が繁茂。 開墾途中の圃場に隣接した急斜面及びタイヤ畑。 傾斜上部:地上部が小型 傾斜地:— 傾斜途中・台地:マオウ以外の植物 (草高は同程度~高い)が豊富。 傾斜下方・土手:雌穂果は頂生(珠孔管は螺旋状)。 2011~2012年の1年間で 雑草(草高は高い)が繁茂。
GK2-3		1550	圃場脇	D	2011.9.5 2012.9.2	110905E-02~07 120902D-02~04	6, 3(計9)	<i>E.intermedia</i>	地上部が小型
—		1407	圃場脇	E	2012.9.6	—	—	<i>E.intermedia</i>	資源はごくわずか。
—		1311	圃場脇	E	2013.9.2	—	—	<i>E.intermedia</i>	草質茎がやや長かった。
—		1175	圃場脇	E	2013.9.7	—	—	<i>E.intermedia</i>	地上部が小型
—	鎮原県	—	圃場脇	D	2013.9.7	—	—	<i>E.intermedia</i>	生育年数の長い個体(根が太い)があった。

* マオウ資源の量を、主観で A: 顕著に多い, B: 多い, C: やや多い, D: 少ない, E: わずか の5段階で表示。
標本について、新疆ウイグル自治区は金沢大学所蔵。内蒙古及び甘肅省はクラシエ製薬所蔵。

Table 2-2 調査地の情報(新疆ウイグル自治区)

No.	調査地	高度(alt.)m	環境	資源*	調査日	標本NO.	分析サンプル数	種	状況
XO1	和田市	2020~2090	岩場	E	2011.6.29	110629A-01~02, 110629B-01~04	6	<i>E.intermedia</i>	日当たりが良くない。土壌pH8.6~8.2。
XU1	阜康市	1959	崖	E	2011.7.1	110701A-01~02	2	<i>E.intermedia</i>	崖上の岩の間。採取困難
XU2		1560	岩上	E	2012.7.9	120709A1,2,4~6	5	<i>E.intermedia</i>	現地住人の案内。 10年以上前には資源が豊富であったが、乱獲により死滅。 確認できた個体は崖の上などの採取困難な場所にあった。
XM1	木垒哈萨克自治県	1600	岩上	E	2012.7.9	120709B1,3~6	5	<i>E.intermedia</i>	現地住人の案内。 森林保護区内。10年以上前に資源が豊富であったが、乱獲により死滅。
XT1	奇台县	1160	瓦礫質斜面	E	2012.7.10	120710B2, 3	2	<i>E.intermedia (E.przewalskii)</i>	—
XT2		1300	岩の多い小さな谷	D	2012.7.10	120710G2~6	5	<i>E.intermedia</i>	緩やかな傾斜地にも自生していた。
—		790	砂漠地	D	2012.7.10	—	—	<i>E.przewalskii</i>	—
XQ1	青河県	1340	丘陵地	C	2012.7.10 2013.6.29	2012年 ① <i>E.intermedia</i> ...120710D5,9 <i>E.equisetina</i> ...120710D1~4,6~8 2013年 ① <i>E.equisetina</i> ...130629E-1~7 ② <i>E.intermedia</i> ...130629D1-6,12,18~ 22,26,27,35,36,130629D-23,29,32,Ando <i>E.equisetina</i> ...130629D-1~5,7~ 11,13~17,24,25,28,30,31,33,34	2012年 ① <i>E.equisetina</i> ...7 <i>E.intermedia</i> ...2 2013年 ① <i>E.equisetina</i> ...7 ② <i>E.intermedia</i> ...15 <i>E.equisetina</i> ...22	<i>E.intermedia, E.equisetina</i>	①東西に傾斜地がある浅い溪谷。 雌雄果が黄色いものと赤色のものが同所的に自生。 2013年は東向き斜面、西向き斜面、谷底と分けて調査を行った。 ②個体あたりの雌雄果数が顕著に多かった。 2013年は1つの小山を1周する形で、大きく分けて 東向き斜面、西向き斜面、北向き斜面、南向き斜面、尾根 で調査を行った。
XQ2	—	1440	岩山	E	2012.7.11	120711B2	1	<i>E.intermedia (E.equisetina)</i>	—
—		1450	瓦礫質丘陵地	E	2012.7.11	—	—	<i>Eregeliana</i>	—
XF1	富蘆県	1400	岩場	D	2012.7.11	120711C1~4	4	<i>E.equisetina</i>	草質茎が短く、 羊などの家畜による食害を受けた痕跡が認められた。
XF2		1240	谷	B	2012.7.12 2013.6.29	2012年 ①120712A1~4 2013年 ①130629B-1~18 ②130629C-1~3	2012年:①4 2013年:①18, ②3	<i>E.equisetina</i>	東西に傾斜地がある深い溪谷。 2013年の②では平地で家畜による食害を受けた痕跡が 認められない個体があった。
XF3		1375	瓦礫質丘陵地	A	2013.6.29	130629A-1~32	32	<i>E.equisetina</i>	XF2と同じ車道沿い。1つの小山を1周する形で、 大きく分けて東向き斜面、西向き斜面、北向き斜面、 南向き斜面、尾根で調査を行った。 西向き斜面は <i>Ephedra</i> 属以外の植物が少なかった。
XA1	新疆 ウイグル 自治区	1035	瓦礫質斜面	E	2012.7.13	120713A1~2	2	<i>E.equisetina</i>	—
XA2	阿勒泰市	875	岩山	B	2012.7.13 2013.6.28	2012年 <i>E.intermedia</i> ...120713B1,2,4 2013年 <i>E.intermedia</i> ...130628B-1~3,8,9,11 ~21,24,25,27,29 <i>E.equisetina</i> ...130628B-23,28	2012年:3 2013年 <i>E.intermedia</i> ...20 <i>E.equisetina</i> ...2	<i>E.intermedia, E.equisetina</i>	2012年: <i>E.intermedia</i> のみを採取。 個体あたりの雌雄果数が顕著に多い。 雌雄果が黄色いものと赤色のものが同所的に自生。 2012年に雌雄果が多かった個体は、 2013年の調査では雌雄果が認められなかった。 草質茎が短く、羊などの家畜による食害を受けた痕跡が認められた。
—	—	990	—	E	2012.7.12	—	—	<i>E.equisetina</i>	—
—	—	668	急峻な崖の上 (河川沿い)	C	2013.6.28	—	—	<i>E.equisetina</i> , 未同定	採取困難な崖の上に多く自生していた。
XJ1	吉木乃県	945	岩山	C	2013.6.27	130627A-1,4,9,10,12	5	<i>E.equisetina</i> (<i>E.regeliana, E.distachya</i>)	—
—	布爾津県	800	岩上	D	2013.6.27	—	—	<i>E.distachya</i>	—
—		490	平原	B	2012.7.13	—	—	<i>E.distachya, E.przewalskii</i>	草質茎が短く、50cm未満
—		870	瓦礫質丘陵地	C	2012.7.14	—	—	<i>E.distachya, E.przewalskii</i>	—
XH1	和布克賽爾 蒙古自治県	1280	瓦礫質丘陵地	C	2012.7.14	120714B1~5	5	<i>E.intermedia</i>	草質茎の一部が黄変(生育不良?)した個体が多かった。 草質茎が短く、羊などの家畜による 食害を受けた痕跡が認められた。
—	—	640	砂漠地	C	2012.7.14	—	—	<i>E.przewalskii</i>	草質茎の一部が黄変(生育不良?)した個体が多かった。 草質茎が短く、羊などの家畜による 食害を受けた痕跡が認められた。
XK1	克拉玛依市	620	瓦礫質斜面	C	2012.7.14 2013.6.26	2012年:120714E-2,4,5 2013年:130626A-1~5,7,9,13,14	2012年:3 2013年:9	<i>E.intermedia (E.przewalskii)</i>	2012年: <i>E.intermedia</i> は足場の悪い傾斜地にしか認められなかった。 2013年:平地にも <i>E.intermedia</i> が1個体認められた。
—		290	砂礫地	D	2012.7.14	—	—	<i>E.przewalskii</i>	虫嚙、変色が認められた。
—		563	瓦礫質丘陵地	D	2013.6.26	—	—	<i>E.intermedia</i> , 未同定	—
—		543	道路脇	D	2013.6.26	—	—	<i>E.intermedia</i> , 未同定	—
XL1	博楽市	460	道路脇(栽培地)	C	2013.6.24	130624B-1,3~9, 130625B-1	10	<i>E.sinica</i>	耕作放棄地。夕方の調査で、 日陰の個体は日向の個体よりもやや大型化していた。
XL2	精河県	948	圃場(栽培地)	D	2013.6.25	<i>E.sinica</i> ...130625A-3~7,12,13 <i>E.equisetina</i> ...130625A-1,2,8,9,10,11	<i>E.sinica</i> ...7 <i>E.equisetina</i> ...6	<i>E.sinica, E.equisetina</i>	現地住人の案内。 転作地
—		365	砂漠地	E	2013.6.24	—	—	<i>E.przewalskii</i>	—

* マオウ資源の量を、主観でA:顕著に多い, B:多い, C:やや多い, D:少ない, E:わずか の5段階で表示。
標本について、新疆ウイグル自治区は金沢大学所蔵。内蒙古及び甘肅省はクラシエ製薬所蔵。

第1節 資源について

【結果】

(1) 内 蒙 古（赤 峰 市，通 遼 市，烏 蘭 察 布 市）（調 査 1（2010 年 6 月），調 査 2（2011 年 7 月））

写真を Fig.4 に示す.

烏蘭察布市に柵で囲まれたマオウ属植物の封育地があるという情報があったが、2010年の調査では同じ場所は既に開墾されて穀物の圃場になっており、残存株も認められず、死滅していたことを確認した。

内 蒙 古 東 部（赤 峰 市，通 遼 市）は 資 源 が 比 較 的 豊 富 で，特 に 通 遼 市（NT1 及 び NT3）の 周 辺 は 広 大 な 自 生 地 が 散 在 し て い た（Fig.4）. 政 府 関 係 者 に よ る と，こ の 自 生 地 は 資 源 保 護 の 取 組 み を 行 な っ て お り，2010 年 ま だ の 3 年 間 は 本 格 的 な 採 取 を 禁 止 し て い た と の こ と で あ る.

(2) 甘 肅 省 環 県（調 査 3（2011 年 7 月・9 月，2012 年 9 月））

写真を Fig.5 に示す.

現地の集荷業者、住民（回族）から、マオウ属植物が豊富であるという情報を得たが、車道沿いのものは全て圃場脇の小規模な群生地であった。2011年7月から2012年9月の3回行い、この期間中での資源の大幅な増減は認められなかったが、GK2-1及びGK2-2では、2012年9月の調査で雑草（主にキク科 *Artemisia* 属植物）の繁茂が認められた（Fig.5C 及び 5E）。雌球果は、2011年は7月に認められ、9月には確認ができなかったが、2012年は9月に認められた。

その他、業者などから入手したマオウ属植物の自生地の情報を示す。

- ・ 甘 肅 省 環 県 の 主 な 産 地 は 甜 水 鎮，山 城 郷，洪 德 郷，小 南 溝 郷，木 鉢 鎮 等 で，洪 德 郷 が 最 も 多 い と さ れ る。環 県 以 南 に は 自 生 し て い な い と す る 業 者 も い た。寧 夏 に は 野 生 の も の は 無 い と の こ と で あ っ た。
- ・ 近 隣 に 在 住 す る 回 族 の 住 民 に よ る と，こ の 周 辺 で は マ オ ウ 属 植 物 の 栽 培 は し て い な い。野 生 の も の は 多 い が，彼 ら は 収 集 を し て い な い と の こ と で あ っ た。
- ・ 内 蒙 古 産 の 麻 黄 の アル カ ロ イ ド 含 量 は 比 較 的 高 く，甘 肅 産 は や や 低 い。収 穫 は 9 月 中 旬 か ら で，5~6 元/kg（約 90 円/kg）で 成 都 の 業 者 に 販 売 し て い る。麻 黄 は 規 制 が 厳 し く，販 売 ル ー ト も 限 ら れ て い る。
- ・ 2010 年 の 取 扱 量 が 300t だ っ た 業 者 で は，2011 年 は 110t と 収 集 量 が 減 少 し て い る。資 源 の 減 少 が 原 因 で は な く，2010 年 は 市 場 価 格 が 高 か っ た た め，取 扱 量 を 増 や し た と の こ と で あ っ た。2011 年 度 の 買 取 価 格 は，未 乾 燥 品 で 1.6 元/kg（約 30 円/kg）と の こ と で あ っ た。こ の 業 者 は 現 在 甘 肅 省 産 の 野 生 品 の み を 取 り 扱 っ て い る が，栽 培 品 に つ い て も 同 じ 価 格 で 取 り 扱 う と の こ と で あ る。一 般 的 に は 栽 培 品 は 種 子 か ら 3 年 目 よ り 採 取 可 能 と な り，以 降 毎 年 収 穫 が 可 能 と な る。収 量 は 1

亩(約 667 m²) 当り新鮮重 800kg で、収穫時期は中国の農曆で 8 月 15 日(中秋節)～25 日(2014 年の場合 9 月 8 日～9 月 18 日に相当)の間が良いとして、この時期に集中して地上部を収穫するとのことであった。

(3) 新疆(調査 4(2011 年 6 月), 調査 5(2012 年 7 月), 調査 6(2013 年 6 月))

写真を Fig.6-1～6-3 に示す。

調査地は 30 箇所、このうち 12 箇所は局方未収載品のみ或いは小規模な自生地で、2 箇所は栽培地(2013 年 6 月調査の博樂市、耕作放棄地及び転作地)であった。現地調査では、*E. equisetina*, *E. intermedia*, *E. przewalskii*, *E. distachya*, *E. regeliana* 及び *E. sinica* の 6 種と同定し、特に *E. equisetina*, *E. intermedia*, *E. przewalskii* の 3 種が豊富であった。*E. sinica* は 2 箇所の栽培地以外では確認できなかった。

E. intermedia 及び *E. equisetina* は主に崖や急峻な丘の上など採取が困難な場所に多く(Fig.6-1)、平地や砂地には少ない傾向があった。阜康市(XU2)の調査では、乱獲が行なわれていた当時の住民の話聞くことができた。乱獲が行なわれていたのは約 10 年前のことで、未乾燥品は 4 角/kg(約 5 円/kg)と著しく安価に取り引きされており、利益を出すためには大量に採取する必要があったことから、根茎も収穫していた。このような採取方法により、この付近の平地ではマオウ属植物がほとんど認められなかったが、マオウ属植物は根茎を残して収穫することで、次年度以降も地上部を収穫することが可能であり、残存した根茎由来と考えられる顕著に小型の個体もわずかに認められた。

また新疆東北部では、傾斜地でも多くの個体が草質茎に食害を受けており、家畜の放牧による影響が認められた(Fig.6-2)。

野生の *E. equisetina* は主に岩場、瓦礫質土壤に生育をしていた。野生の *E. equisetina* は瓦礫質土壤に自生している³⁸⁾とする報告の通りであった。一方で、博樂市(XL2)では *E. equisetina* も栽培されており、生育は良好であった(Fig.6-3)。

過去にマオウ属植物を栽培していた博樂市の 2 か所は、現在は管理をしておらず、XL1 は耕作放棄地、XL2 は転作地であった。どちらも耕作機械が入らなかった場所に残存した個体があり、これらを対象に調査を行なった。XL2 については圃場の管理者から話を聞くことができたため、情報を下記に示した。

- ・所有者は約 9 年前(2005 年)に栽培を開始し、2012 年までマオウを栽培していた。栽培に際して、圃場の状態に応じて年間 1 亩(約 667 m²) 当り 160 元(約 2700 円)～500 元(約 8000 円)の補助金が政府から支給されていたとのことである。この補助金は 3 年毎に更新の機会があり、2013 年まで支給されていたが、2014 年から廃止になる。そのため耕作を放棄し、トウモロコシに転作したとのことであった。

- ・ エフェドリン抽出用の工場が近隣に設立されたが、倒産し、マオウを買い取る業者が無かったことから、その後の8年間は栽培管理を行なっていなかった。この間は、常に草質茎が黄変しており、結実した個体も認められなかったとのことである。本調査での残存株の生育が良好であった原因として、転作後のトウモロコシ栽培のために灌水を始めた影響と考えられる。なお所有者から、年間2回以上地上茎を採取することでトウモロコシを上回る利益が出ると説明があったが、果実ができる6月以前に収穫した場合、年内に再び草質茎が伸長することは無く³⁹⁾、光合成ができないために枯死する懸念があり、年間2回以上採取することは困難と推察する。
- ・ 今回の調査では *E. sinica* と *E. equisetina* が認められたが、地上部の形態が類似した個体は連続して植栽されていた。
- ・ 栽培方法は、政府から支給された種子を1年間育苗して得た約4000株の苗を約5畝（約3330 m²）の土地に移植したとのことである。定植間隔は厳密には測定していないが約40cm とのことで、畝間を約50～55cm と考えると、苗の数量と圃場面積がほぼ一致する。

【考察】

- ・ 内蒙古東部（特に通遼市）は、資源保護の取組みを行なっており比較的資源が豊富で、数年内に資源が枯渇するというような危機的な状況ではないことが確認できた。
- ・ 甘粛省環県は、圃場脇の開墾できなかった場所に残存したマオウしか確認ができなかった。マオウ以外の植物が流入しており、今後の生育が阻害される兆候が認められた。
- ・ 新疆では、野生の *E. intermedia* 及び *E. equisetina* は主に崖や急峻な丘の上の岩場など採取が困難な場所に多く、平地や砂地には少ない傾向があった。博楽市で栽培されていた *E. equisetina* の生育が良好であったことから、*E. equisetina* は砂質土壌の平地でも十分に生育することが可能と考えられる。野生では地上部に食害を受けた個体が多く認められたことから、平地の資源が少なかった理由として、過放牧の影響と推察している。家畜などの食害によりマオウの生育が大きく阻害されることが分かっており³⁹⁾、崖や急峻な丘の上の岩場など採取が困難な場所に生育している個体は、根頭部が食害を受け難いことから、枯死せずに残存している可能性が考えられる。



E. sinica の群生地
(通遼市 NT1 地点, 2010 年)



E. sinica の群生地
(通遼市 NT3 地点, 2011 年)



E. sinica の群生地
(通遼市 NT3 地点, 2011 年)

Fig.4 2010～2011 年にマオウ属植物資源が豊富であった内蒙古自治区通遼市の自生地



E.intermedia の群生地
(GK2-地点 1, 2011 年 7 月)



E.intermedia の群生地
(GK2-1 地点, 2011 年 9 月)



E.intermedia の群生地
(GK2-1 地点, 2012 年 9 月)



E.intermedia の群生地 (GK2-2 地点, 2011 年 7 月)



E.intermedia の群生地 (GK2-2 地点, 2012 年 9 月)

Fig.5 2011~2012 年の甘肅省環県のマオウ属植物の自生地の経年変化

E.intermedia(130626A-3)
(克拉玛依市 XK1 地点, 2013 年)



E.intermedia(未採取)
(阜康市 XU2 地点, 2012 年)



Fig.6-1 崖や急峻な丘の上など採取が困難な場所(新疆東北部)



Fig.6-2 食害を受けた個体(*E.equisetina*)
(新疆富蘊县 XF1 地点, 2012 年)



Fig.6-3 穀物への転作地
(新疆博乐市 XL2 地点, 2013 年)

第2節 内蒙古自治区・甘肅省産マオウのアルカロイド

【結果】

(1) 内蒙古・甘肅省 (2010年調査) (*E. sinica* 及び *E. intermedia* が自生)

結果を Fig.7-1~7-3 に示す.

赤峰市 (NC1, NC2, NC3), 通遼市 (NT2) の個体は全体的にアルカロイド含量 (E+PE) が低く, NC2 の 1 個体を除き, 日局 16 の含量規格 (E+PE \geq 0.7%) 未満であった (Fig.7-1). 甘肅省 (GK1) 産は, いずれも日局 16 の含量規格以上であった. また GK1 の個体は PE>E のタイプと E>PE のタイプに分かれた. この 2 群は採取した地点が異なり, PE>E のタイプの個体は, 崖に懸垂し, E>PE のタイプの個体は車道脇の盛り上がった土手に自生していた. 車道脇の個体は雌毬果の珠孔管が短く真直ぐな個体があり, その特徴から *E. sinica* と同定した. 一方, 崖の個体については雌毬果が無かったが, それ以外の形態の特徴から *E. intermedia* と同定した.

アルカロイド組成比のパターンについて, NC2, NT1 は個体ごとの変動が大きかった (Fig.7-2). この 2 箇所は自生地規模が大きかった. また NT1 は PE をほとんど含まない個体が認められた. 一方で自生地規模が小さかった NC1, NT2 は, アルカロイド組成比のパターンが比較的安定していた.

各産地における総アルカロイド (E+PE) 含量について, GK1 は崖に懸垂した個体の GK1-1, 車道脇の土手の GK1-2 に分割した. GK1-1 は NC1, NC2, NC3 及び NT2 と比較してアルカロイド含量 (E+PE) が有意に高かった (P<0.01, NC2 のみ P<0.05). NT1 は NC3 と比較して有意にアルカロイド含量 (E+PE) が高かった (P<0.05). 平均値を比較すると, NC1 及び NT2 は明らかに GK1-2, NU1 及び NT1 よりもアルカロイド含量 (E+PE) が低かったが, サンプル数が少なく, 有意差は認められなかった.

(2) 内蒙古 (2011年7月調査) (*E. sinica* が自生)

結果を Fig.8-1~8-3 に示す.

赤峰市 (NC4) の 1 個体 (110723B1-03) を除いて日局 16 の含量規格に適合した (Fig.8-1). NC4 では含量が高かった上位 3 個体 (110723A1-01,-03,-06) では PE のピークが認められず, 上位 2 個体では NPE のピークも確認できなかった. 通遼市 (NT3) においてアルカロイド含量 (E+PE) が最も低かった個体 (110724B1-01) は, 草質茎の茎長が 50cm 以上で, 他の個体よりも顕著に長かった.

アルカロイド組成比のパターンは, 内蒙古中部の烏蘭察布市 (NU2) は PE>E の個体が多く, 内蒙古東部は E>PE の個体が多かった (Fig.8-2) が, 個体ごとの変動が顕著に大きく, 調査地の規模が比較的小さかった赤峰市 (NC5) を含む全ての自生地, アルカロイド組成比が PE>E の個体と E<PE の個体が認められた (Fig.8-2). また調査地点は異なるが, 全体的に 2010 年調査株よりも ME の組成比が高く, NE の組成比が低い傾向が認められた.

各産地におけるアルカロイド含量 (E+PE) について、いずれの産地も同程度で有意差も認められなかった。

(3) 甘肅省 (2011年7月, 2011年9月, 2012年9月) (*E. intermedia* が自生)

結果を Fig.9-1~9-2 に示す。

GK2-2 傾斜上部の個体を除き、アルカロイド含量 (E+PE) は日局 16 の含量規格に適合するものであった (Fig.9-1)。サンプル数が少ないが、調査日 2011年9月と比較して雑草が著しく繁茂していた調査日 2012年9月の GK2-1 傾斜地、GK2-2 傾斜下方ではアルカロイド含量 (E+PE) が低かった。

アルカロイド組成比のパターンについて、調査日によらずほぼ一定の傾向が認められた採取地と、パターンが異なる個体が認められた (Fig.9-2)。GK2-1 崖 (Fig.9-1 での①) は調査日 2011年7月のみアルカロイド組成比のパターンが異なり、PE 組成比が高かった。GK2-2 傾斜途中の台地 (Fig.9-1 での④) はマオウ属植物以外の植物も繁茂しており、隣接する GK2-2 傾斜地 (Fig.9-1 での②) とは生育環境が大きく異なるが、GK2-2 傾斜地の一部の個体と、GK2-2 傾斜途中の台地の個体は、アルカロイド組成比のパターンがほぼ同じであった。

GK2-2 傾斜上部 (Fig.9-1 での③) の個体は、調査日 2011年9月の 1 個体を除き、NPE 含量が高く、NPE 組成比が 60%以上の個体も認められた (Fig.9-2)。アルカロイド含量 (E+PE) は日局 16 の含量規格未満で、他の個体とは成分的に明らかに異なる特徴を示した (Fig.9-1)。GK2-2 斜面下方 (Fig.9-1 での⑤) の個体も NPE 含量がやや高かったが、E 及び PE の含量も高く、NPE 組成比は 30%未満であった。

【考察】

- ・ 内モンゴ調査 (2010年) の赤峰市 (NC1, NC2, NC3)、通遼市 (NT2) で入手した個体のアルカロイド含量 (E+PE) が全体的に低かったことについて、アルカロイド含量 (E+PE) は季節変動があり、内モンゴで 6月に採取した個体は 7月中旬に採取した個体と比較してアルカロイド含量が低い傾向があることが報告されている⁴⁰⁾。2010年は 6月下旬に採取したため、含量が低かった可能性が考えられる。
- ・ 内モンゴ調査 (2011年) では、アルカロイド組成比のパターンにある程度の地域性が認められたが、規模が大きな自生地だけではなく、規模が小さくても雌雄の両株が認められた自生地では、個体によって顕著な変動が認められた。
- ・ 甘肅省調査 (2011~2012年) では、異なる環境下でもアルカロイド組成比のパターンが同じ個体が認められた (Fig.9-2) ことから、アルカロイド組成比については環境以外の要因が強く関わっている可能性が示唆された。

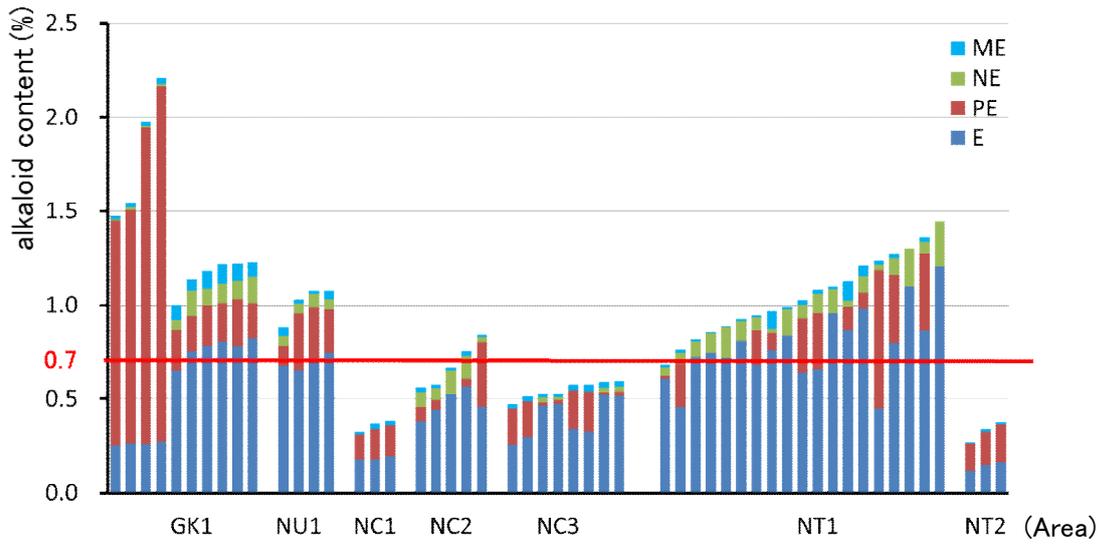


Fig.7-1 個体別のアルカロイド含量(2010年 内蒙古・甘肅省, 野生品)

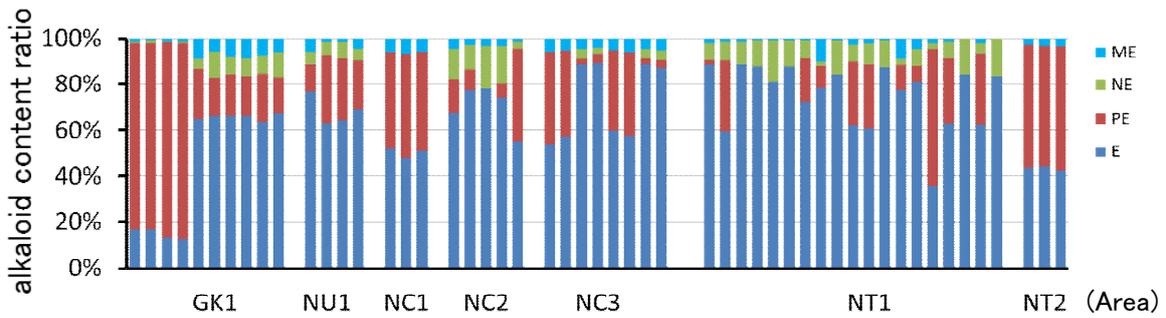
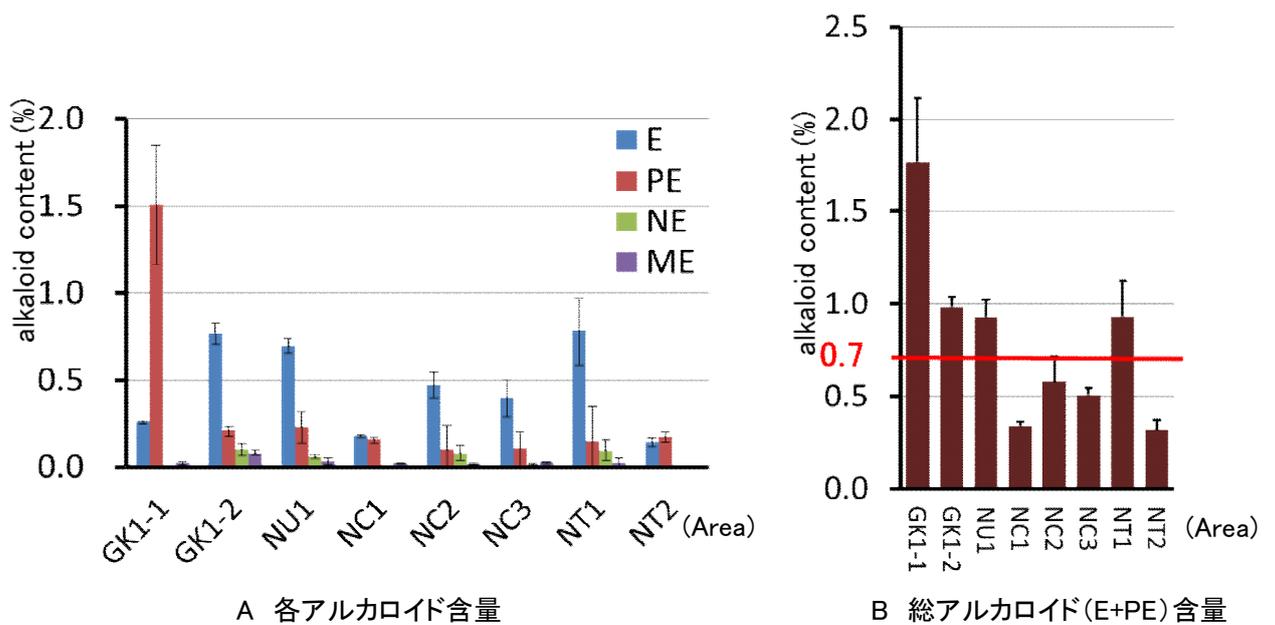


Fig.7-2 個体別のアルカロイド組成比(2010年 内蒙古・甘肅省, 野生品)



A 各アルカロイド含量

B 総アルカロイド(E+PE)含量

GK1 は崖(GK1-1), 車道脇の土手(GK1-2)に分けて平均値を算出した。

Fig.7-3 各産地におけるアルカロイド含量(2010年 内蒙古・甘肅省, 野生品)

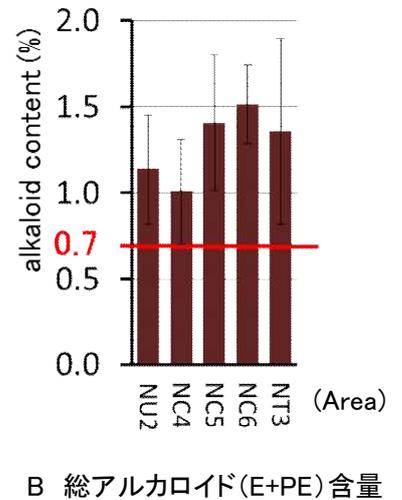
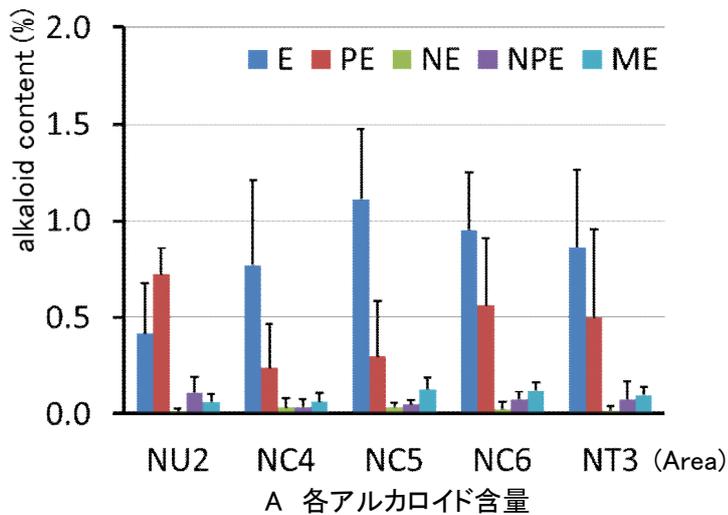
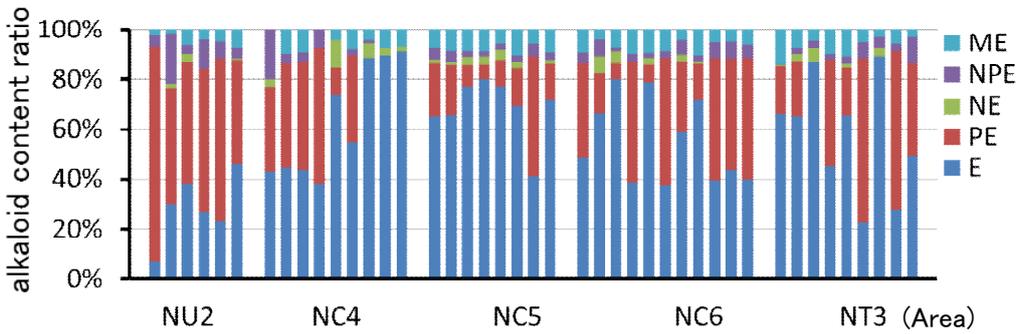
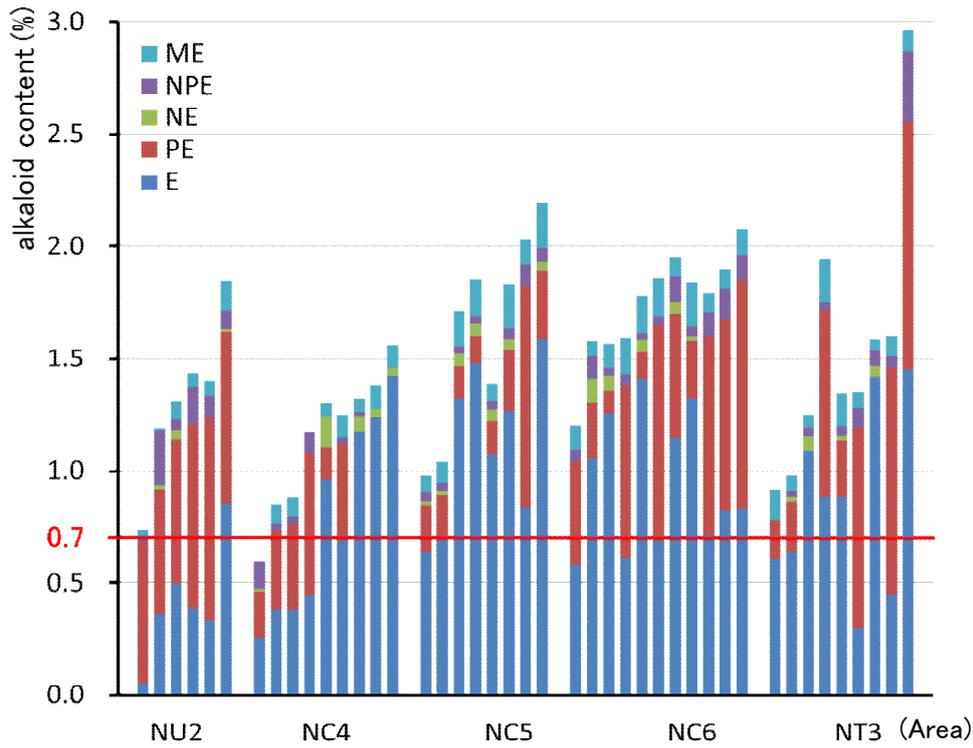


Fig.8-3 各産地におけるアルカロイド含量(2011年 内蒙古, 野生品)

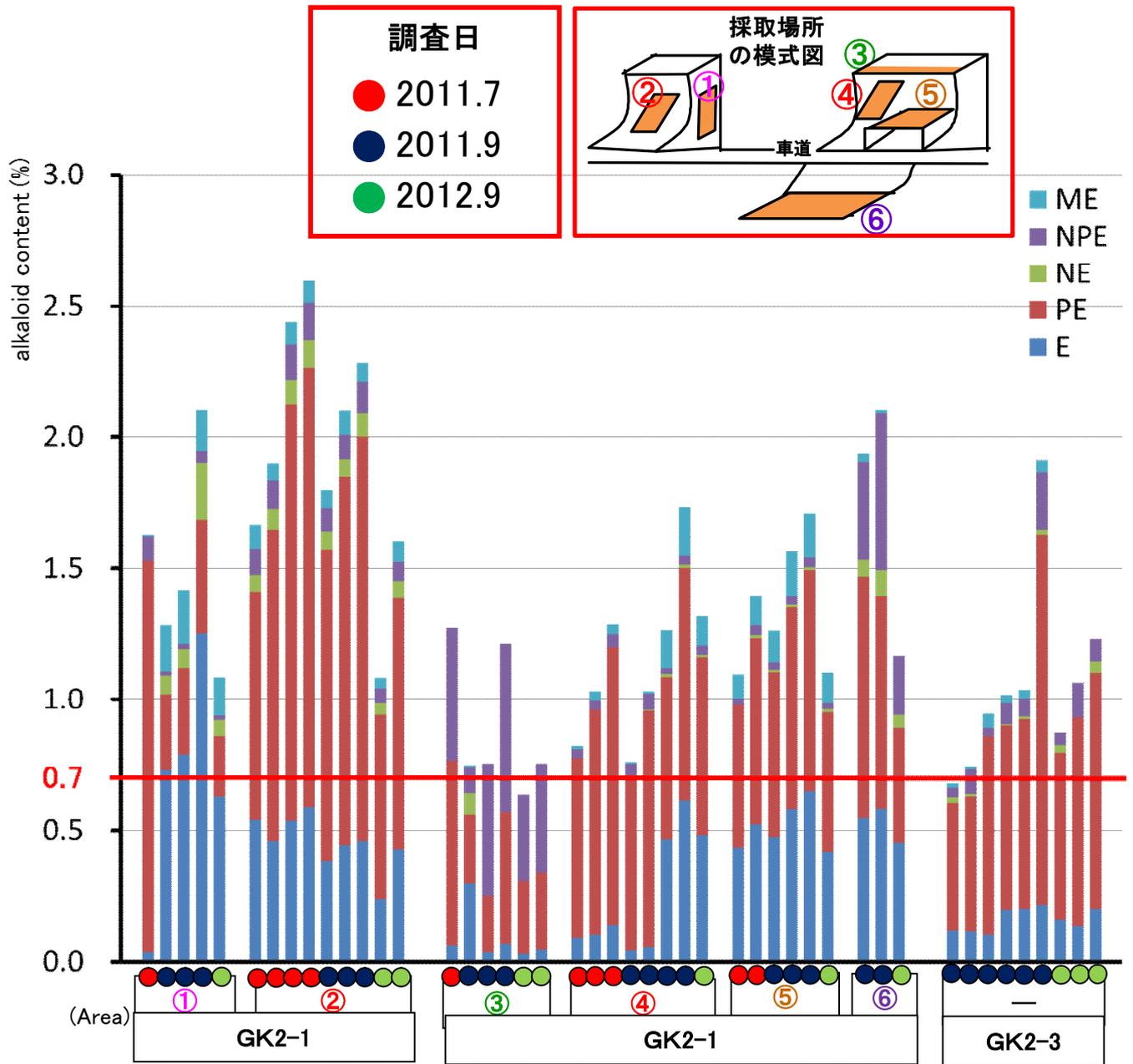


Fig.9-1 個体別のアルカロイド含量 (2011年7月・9月, 2012年9月 甘肅省, 野生品)

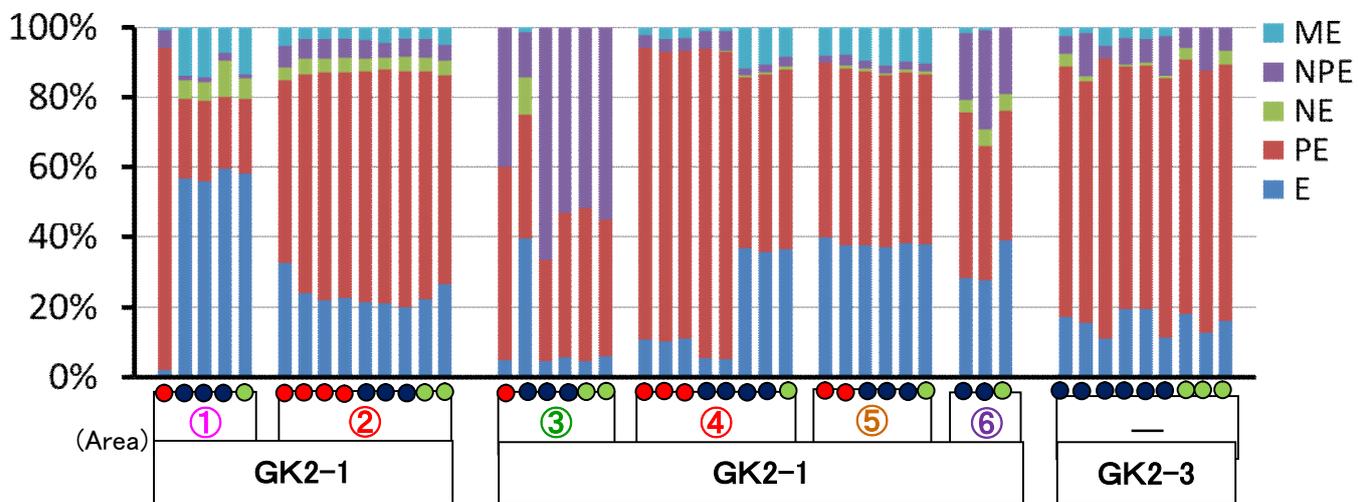


Fig.9-2 個体別のアルカロイド組成比 (2011年7月・9月, 2012年9月 甘肅省, 野生品)

第 3 節 新疆(2011, 2012 年)産マオウのアルカロイド

【結果】

(1) 新疆和田市及び阜康市 (2011 年 7 月) 産のマオウ (*E. intermedia* が自生)

結果を Fig.10-1~10-2 に示す.

全体的にアルカロイド含量 (E+PE) が低く, 8 個体中 3 個体が日局 16 の含量規格未満であった. また和田市 (XO1) で入手した個体はいずれも NPE 含量が高く, 110629A-01 については前述した甘肅省の個体 (第 2 節 Fig.9-2) と同様に E 及び PE 含量も低かった.

(2) 新疆東北部 (2012.7) 産のマオウ (*E. intermedia* 及び *E. equisetina* が自生)

結果を Fig.11-1~11-3 に示す.

アルカロイド含量 (E+PE) について, *E. intermedia* は 0.18~2.28%, *E. equisetina* は 0.66~2.38% で個体による変動が認められたが, *E. equisetina* は *E. intermedia* と比較して全体的に含量が高かった. *E. intermedia* のうち, 阿勒泰市 (XA2), 奇台县 (XT2), 克拉瑪依市 (XK1) 産の個体は含量が顕著に低かった.

アルカロイド組成比のパターンについて, *E. intermedia* は $E < PE$ の個体が多く, 31 個体中 21 個体がこのタイプであった. 一方 *E. equisetina* は全て $E > PE$ の個体であった. 木垒哈薩克自治県 (XM1) 産の 120709B-1 は, *E. intermedia* の中ではアルカロイド含量が顕著に高く ($E+PE$ 2.28%), アルカロイド組成比のパターンが $E > PE$ であり, 他の個体と比べると *E. equisetina* に近い成分パターンを示していた (Fig.11-1) が, DNA 解析により核 ITS-1 領域を調べた結果, *E. equisetina* に特有の配列や交雑の痕跡は認められなかった. また富蘊県 (XF2-1) において, NPE 含量が 0.5% 以上のものがあつた. *E. intermedia* は ME のピークがほとんど認められなかったが, *E. equisetina* では 0.1% 以下であるが含有する個体があつた.

各産地におけるアルカロイド含量 (E+PE) について, サンプル数が 1 個体の青河県 (XQ2) を除いて統計処理による比較を行なった結果, *E. equisetina* (青河県 (XQ1-1), XF2-1) は *E. intermedia* (XT2, XA2) と比較して有意に高かった ($P < 0.05$). XQ1-1 では *E. intermedia* と *E. equisetina* が同所的に自生しており, 平均値は明らかに *E. equisetina* の方が高かったが, 有意差は認められなかった.

また調査では, *E. intermedia* 及び *E. equisetina* において雌毬果の色が黄色の個体と赤色の個体が認められ, XQ1-1 では両者が同所的に自生しており, 黄色の個体 (12071010D-1,3,4) は赤色の個体 (12071010D-2,6,8) と比較して含量が高い傾向があつた (Fig.11-1). アルカロイド組成比のパター

ンについては一定の傾向は認められなかった (Fig,11-2).

【考察】

- ・ 新疆和田市調査 (2011 年) では, NPE 組成比が高く, アルカロイド含量 (E+PE) が著しく低い個体 (110629A-1) があった. 日照時間が顕著に短い条件で栽培した *E. sinica* のアルカロイド含量 (定量方法の記載が無く, 麻黄アルカロイド産量 (g) と表記されていた) が低い傾向にあることが報告されており⁴¹⁾, この自生地が, 日中もほとんど日光が当たらない溪谷にあったことが, アルカロイド含量 (E+PE) が低かった原因である可能性が考えられる.
- ・ 新疆東北部調査 (2012 年) において, 木垒哈萨克自治県(XM1)の 120709B-1 はアルカロイド含量 (E+PE) が著しく高く, パターンが PE<E であった. この調査で *E. intermedia* と同定した個体は, アルカロイド組成比のパターンが E<PE の個体が多く, 一方で *E. equisetina* は全て PE<E であった. 核 ITS-1 領域では *E. intermedia* の配列であったが, 他の領域では異なる種と判断される可能性があり, 種については更なる検討が必要と考えている.

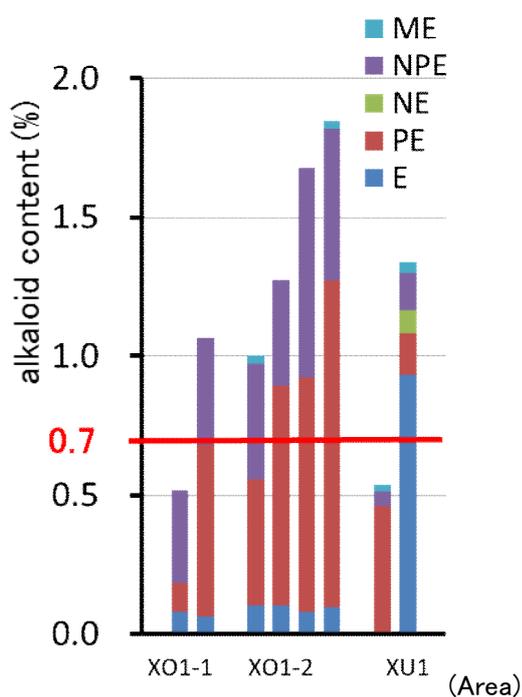


Fig.10-1 個体別のアルカロイド含量
(2011 年 新疆, 野生品)

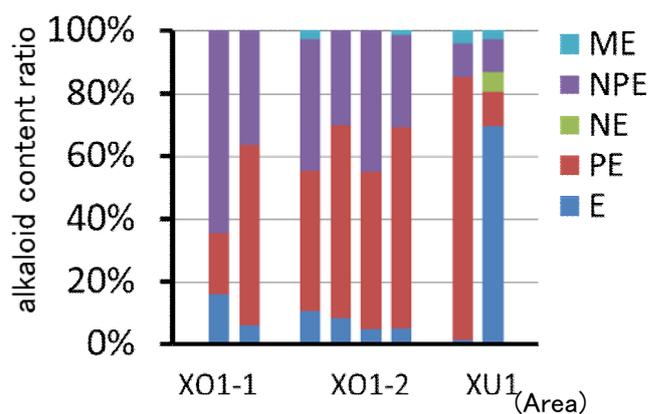


Fig.10-2 個体別のアルカロイド組成比
(2011 年 新疆, 野生品)

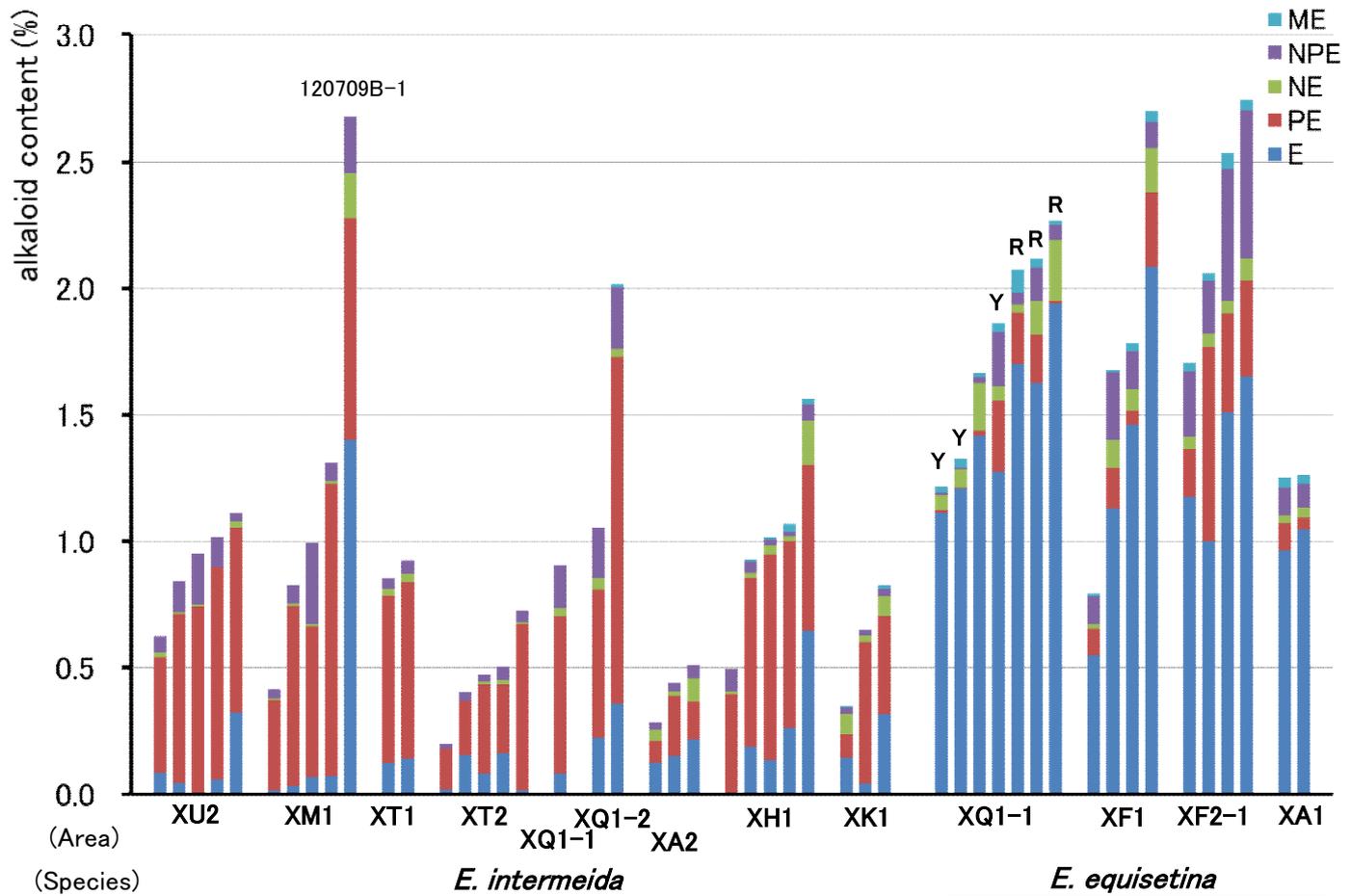


Fig.中の文字について. Y: 雌穂果の色が黄色, R: 雌穂果の色が赤色

Fig.11-1 個体別のアルカロイド含量(2012年 新疆東北部, 野生品)

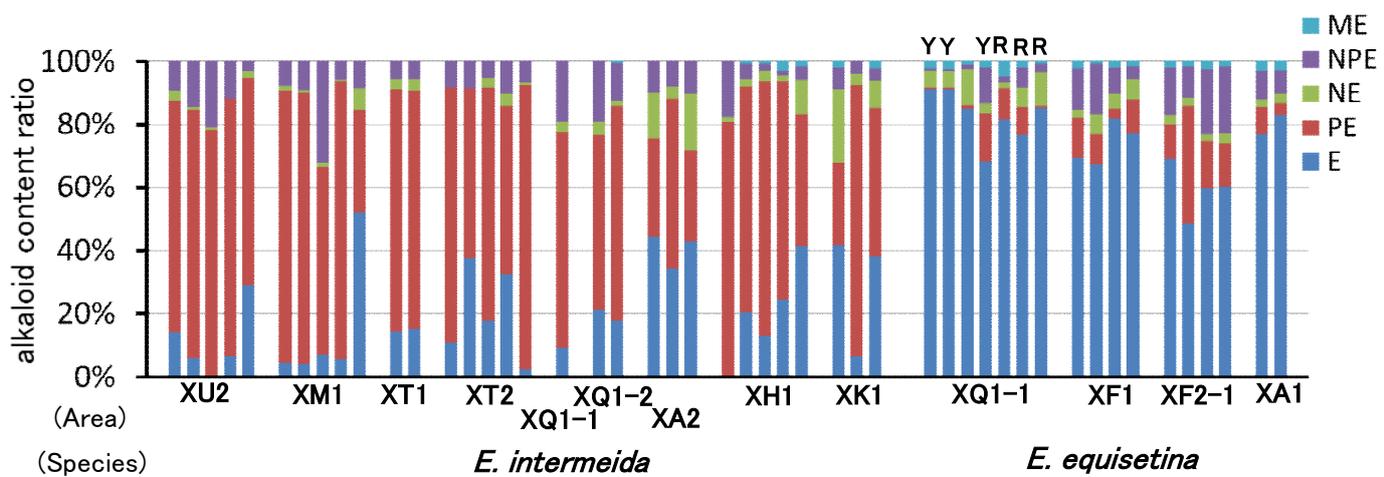
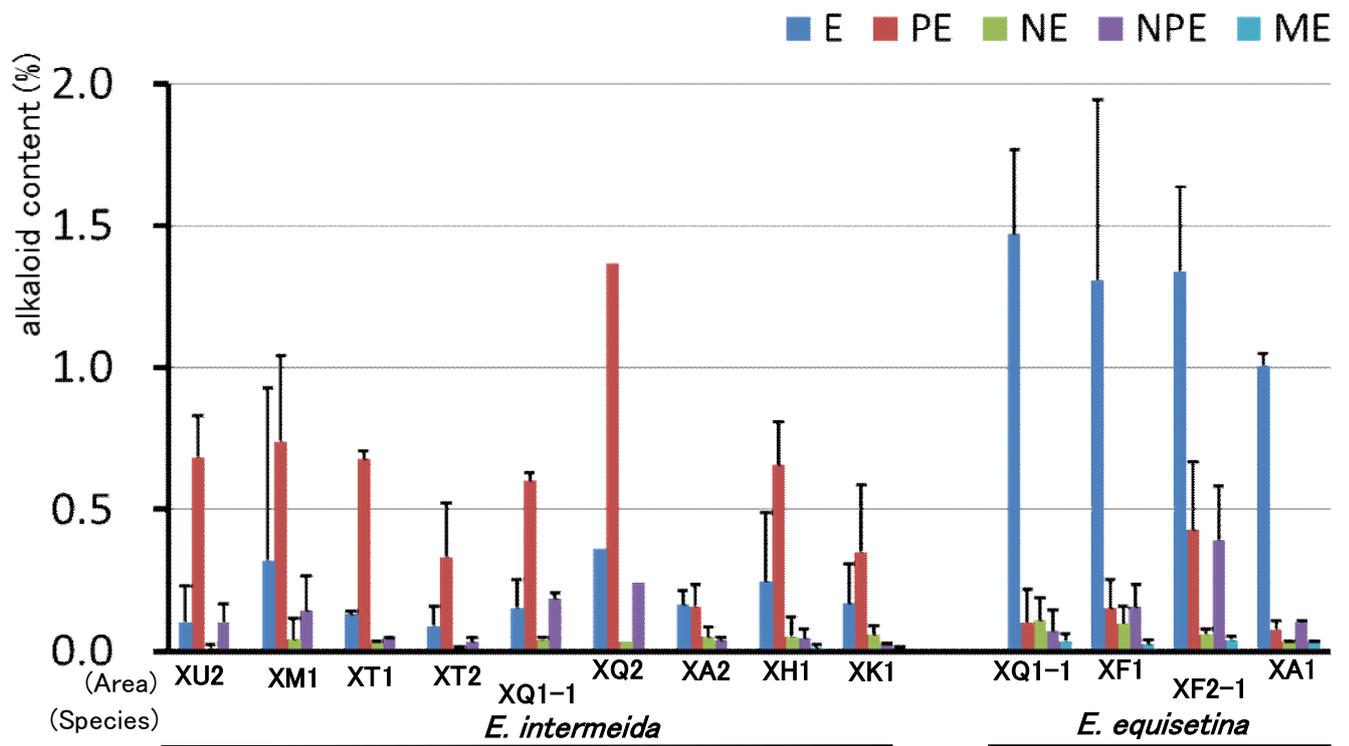
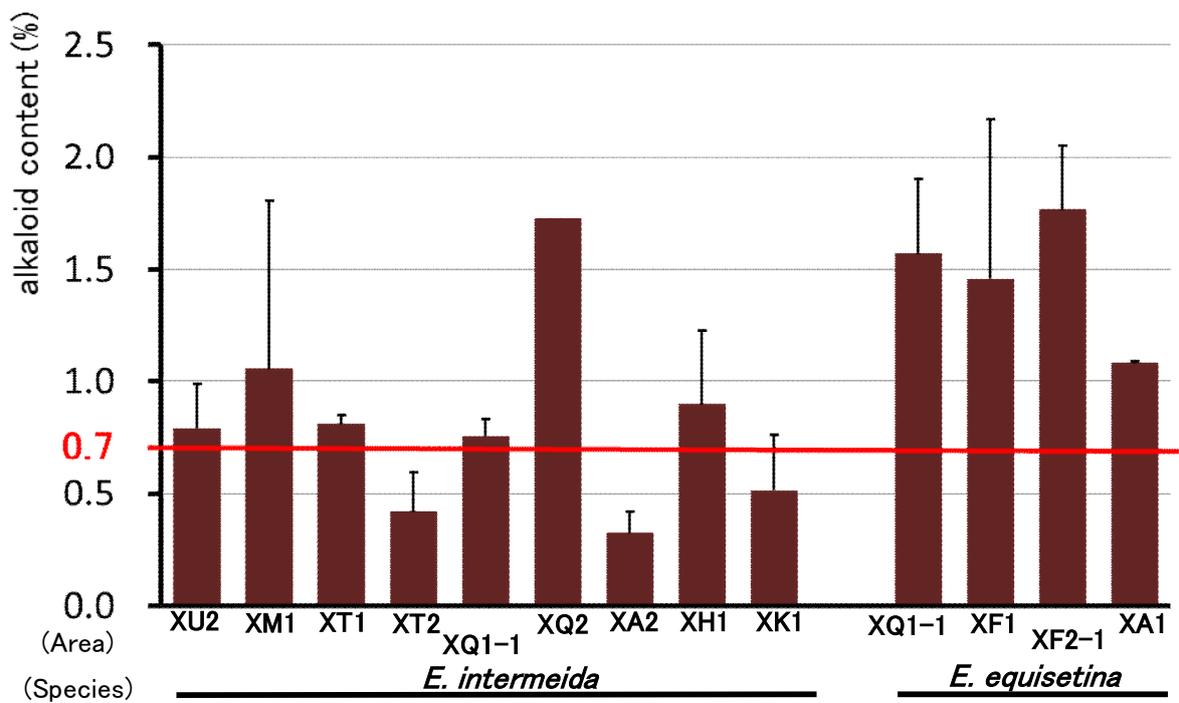


Fig.中の文字について. Y: 雌穂果の色が黄色, R: 雌穂果の色が赤色

Fig.11-2 個体別のアルカロイド組成比(2012年 新疆東北部, 野生品)



A 各アルカロイド含量



B 総アルカロイド(E+PE)含量

Fig.11-3 各産地におけるアルカロイド含量(2012年 新疆東北部, 野生品)

第4節 新疆(2013年)産マオウのアルカロイド

【結果】

(1) *E. sinica*, *E. intermedia*, *E. equisetina* 各種における産地間比較

種ごとに比較を行なった。博楽市 (XL1 及び XL2) の *E. sinica* 及び *E. equisetina* は栽培品である。結果を Fig.12-1~12-7 に示す。

1) *E. equisetina* (野生品及び栽培品)

全体的に高含量で、95 個体中 1 個体 (XF3, 130629A-6) を除き、いずれも日局 16 の含量規格以上であった。2012 年の *E. equisetina* のアルカロイド組成比のパターンは全て E>PE であった (第 3 節) が、今回の調査では、PE>E のタイプも認められた。全体的に栽培品である博楽市 (XL2) 産の個体は、やや PE 組成比が高い傾向が認められた。

2) *E. intermedia* (野生品)

アルカロイドの組成比については同じ産地でも個体ごとの数値変動が大きく、一定の傾向は認められなかった。阿勒泰市 (XA2) 産の個体はアルカロイド含量 (E+PE) が顕著に低く、全て日局 16 の含量規格未満であった。また含量が低い個体ほど ME 組成比が高い傾向が認められた。青河県 (XQ1-2) の 2 個体 (130629Di-21, 22) については NPE 組成比が顕著に高かった。

3) *E. sinica* (栽培品)

アルカロイドの含量及び組成比のパターンについては、野生の *E. intermedia*, *E. equisetina* と同様、個体による数値変動が大きかった。博楽市 (XL2) の個体は、農地の管理者によると、いずれも実生の 9 年生株であることが分かっているが、博楽市 (XL1) については栽培の開始時期、生育年数が不明であるが、遅くとも 2006 年には既に栽培が行なわれていた。また今回の調査では雌球果が確認できたことから、実生株も混在している可能性が高く、生育年数については一定ではないと考えられる。XL1 では 130624B-4, 9, 130625B-1 の 3 個体、XL2 では 130625A-4 が、日局 16 の含量規格未満であった。

4) 各産地におけるアルカロイド含量 (E+PE) の比較

E. intermedia は全体的に含量が低く、3 産地の平均値はいずれも日局 16 の含量規格未満であった。一方 *E. equisetina* についてはいずれの産地も日局 16 の含量規格以上であった。*E. sinica* (栽培品) において、XL2 は NPE 含量の平均値が XL1 よりもわずかに高かった。しかし大部分を占める E+PE 含量の平均値はほぼ同程度であった。

アルカロイド含量 (E+PE) について、*E. intermedia* と *E. equisetina* の 2 種が同所的に自生していた青河県 (XQ1-2) 及び阿勒泰市 (XA2) の 2 箇所では、いずれも *E. equisetina* の方が、有意

にアルカロイド含量 (E+PE) が高かった。異なる産地間でも、XQ1-2, XA2 の *E. equisetina* は *E. intermedia* と比較して有意にアルカロイド含量 (E+PE) が高く、富蘆県 (XF3) の *E. equisetina* は克拉瑪依市 (XK1) の *E. intermedia* と比較して有意にアルカロイド含量 (E+PE) が高かった。吉木乃県 (XJ1) はアルカロイド含量 (E+PE) の平均値が最も高かったが、サンプル数が少なく、他の産地との間に有意差は認められなかった。博楽市 (XL2) では、生育環境、生育年数が同じ実生の9年生株である *E. equisetina* が *E. sinica* が同所的に自生しており、*E. equisetina* の方が、有意にアルカロイド含量 (E+PE) が高かった。

(2) 産地内の環境とアルカロイド含量

結果を Fig.13-1~13-10 に示す。

1) 富蘆県 (XF2-1). 東西に傾斜がある深い溪谷 (*E. equisetina* が自生)

傾斜の向きについて、東向き (E) \leq 平地 (X) \leq 西向き (W) の順にアルカロイド含量 (E+PE) が高い傾向が認められた。

土壤環境、傾斜の位置については一定の傾向は認められなかった。

2) 青河県 (XQ1-1) 東西に傾斜がある浅い溪谷 (*E. equisetina* が自生)

傾斜の向きについては、西向き (W) \leq 平地 (X) \leq 東向き (E) の順にアルカロイド含量 (E+PE) が高い傾向があり、XF2-1 とは逆の傾向が認められた。また東向き斜面 (Fig.13-3B) は西向き斜面 (Fig.13-3C) よりもマオウ属植物以外の植物が多く繁茂していた。

土壤環境については、乾燥しやすいと考えられる岩場 (岩) よりも、瓦礫質土壤 (土) の方が、やや含量が高い個体が多い傾向が認められた。

3) 青河県 (XQ1-2) 丘陵地 (*E. equisetina* 及び *E. intermedia* が自生)

斜面の向きについては、南向き (S) 及び南西向き (Sw) 斜面は個体ごとの数値の差が顕著に大きく、生育環境とアルカロイド含量 (E+PE) には傾向が認められなかった。なお土壤については、*E. equisetina* は岩場 (岩) に自生していたものが 22 個体中 5 個体 (22.7%) で、*E. intermedia* (15 個体中 1 個体, 6.7%) よりも岩の上に自生していた個体の割合が多かった。

4) 富蘆県 (XF3) 瓦礫質丘陵地 (*E. equisetina* が自生)

岩場と瓦礫質土壤のサンプル全体を比較した場合には、両者には傾向が認められなかったが、日当りの良い尾根において、130629A-9 が瓦礫質土壤 (土) に、130629A-8 が岩場 (岩) に自生しており (Fig.13-7C), 両者を比較した。アルカロイド含量 (E+PE) は 130629A-9 が 0.82% , 130629A-8 が 1.01% で岩場の個体の方がわずか高かった。

5) 阿勒泰市 (XA2) 岩山 (*E. equisetina* 及び *E. intermedia* が自生)

前述したように他の産地と比較して *E. intermedia* のアルカロイド含量 (E+PE) が顕著に低かった。土壤環境について、総アルカロイド含量 (E+PE+NE+NPE+ME) が 0.20%未満であった個体は、岩場に集中していた。瓦礫質土壤の個体もアルカロイド含量 (E+PE) は低かったが、岩場と比較すると、含量が著しく低い個体は認められなかった。この産地の個体は全体的に虫瘤が多く、アルカロイド含量 (E+PE) が 0.01%と顕著に低かった個体 (130628B-24) については、特に虫瘤が著しい傾向があった。この個体については内部形態の観察を行なった (第 5 節)。一方で岩場の *E. equisetina* (130628B-23) (Fig.13-9B) のアルカロイド含量 (E+PE) は顕著に 1.53%と高かった。この個体は 2006 年にもあったことから、少なくとも 7 年生以上の個体であり、地上部が大きかった。また 2012 年に顕著に毬果が多かった個体 (*E. intermedia*) が、2013 年は毬果が全く認められなかった (Fig.13-9D 及び E)。

【考察】

- *E. equisetina* は *E. intermedia* 及び *E. sinica* と比較してアルカロイド含量 (E+PE) が高い傾向が認められた。本種は *E. intermedia* 及び *E. sinica* などと比較してアルカロイド含量 (E+PE) が高い傾向があることが報告されている^{30,42)}が、これらの報告では異なる産地で得たものを比較している。1959 年の研究であるが、圃場 (埼玉県 春日部市) で栽培した *E. equisetina* のアルカロイド含量 (E+PE) が、生育年数は異なるが、*E. distachya* (当時の状況から考察すると、*E. sinica* の可能性がある) 及び *E. gerardiana* と比較してやや低かったとされている⁴³⁾。そのため *E. equisetina* のアルカロイド含量が一般的に高いとされる原因については、環境の影響であることを否定できなかった。即ちアルカロイド含量が高くなりやすいと考えられる岩場や瓦礫質斜面などに *E. equisetina* は自生していることが、アルカロイド含量が高い個体が多い主な要因であった可能性が考えられた。しかし今回、岩場や瓦礫質土壤の個体が平地よりもアルカロイド含量が高いという傾向は認めることができず、同じ産地で、生育年数が同じ個体間でも含量が高い傾向があったことから、*E. equisetina* は *E. intermedia* や *E. sinica* と比較して高含量の傾向がある種である可能性が示唆された。
- アルカロイド含量との間に傾向が認められた環境要因としては、傾斜の向き (東向き, 西向き, 平地), 土壤環境 (岩場) の 2 点があった。Wang らにより、降水量の少ない産地の株はアルカロイド含量 (E+PE) が高い傾向があることが明らかとなった²⁹⁾ため、乾燥しやすい場所の個体が高含量の傾向になると予想をしていた。傾斜の向きの場合、西日が当り、乾燥しやすい西向き斜面では含量が高い個体が多いと考えられたが、青河県 (XQ1-1) では逆に東向きの方が、アルカロイド含量 (E+PE) が高い傾向があった。そのため、この産地では乾燥とは別の要因が影響していると推察される。XQ1-1,

富蘆県 (XF2-1) 共に、個体数は少ないが、東向き斜面と西向きV字斜面の中間にある平地の個体がアルカロイド含量 (E+PE) においても中間であった。光の当る時間帯、光線の波長などが影響していると推察される。また岩場は、瓦礫質土壌よりも乾燥しやすいと考えられたが、阿勒泰市 (XA2) では逆にアルカロイド含量 (E+PE) が顕著に低い個体が岩場に集中していた。またアルカロイド含量 (E+PE) が顕著に低かった個体 (130628B-24) については、虫瘤が著しい傾向があった。虫瘤とエフェドリン系アルカロイドの関係は報告されておらず、エフェドリンにはイエバエに対しての忌避作用は認められなかったとされている⁴⁴⁾。一方で他の植物アルカロイド (ニコチンなど) が昆虫に対しての毒性を示すことも報告されており⁴⁵⁾、エフェドリンが虫瘤を作る特定の昆虫に対して忌避作用を示す可能性もあると考える。

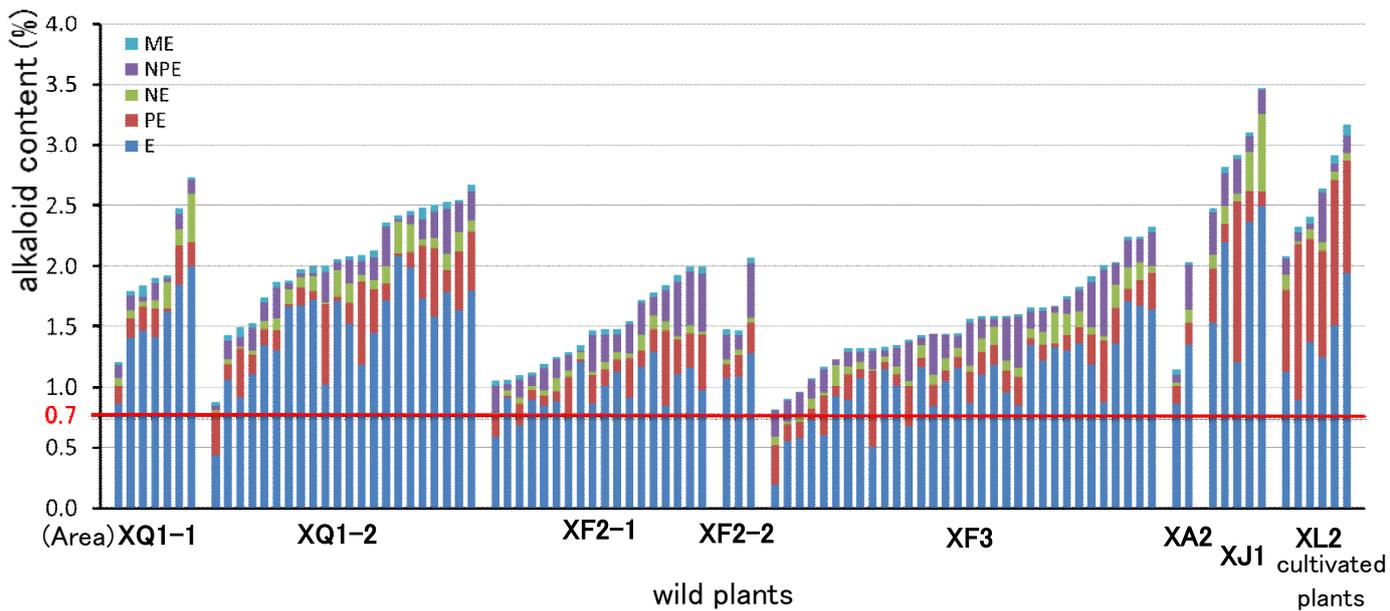


Fig.12-1 個体別のアルカロイド含量(2013年 新疆東北部 *E.equisetina*, 野生品及び栽培品)

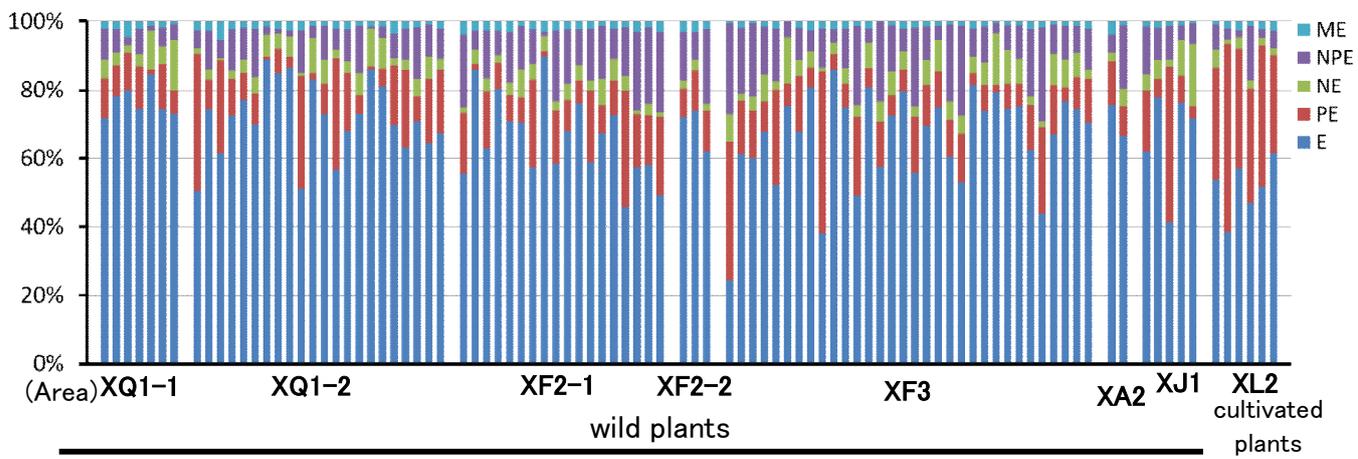


Fig.12-2 個体別のアルカロイド組成比(2013年 新疆東北部 *E.equisetina*, 野生品及び栽培品)

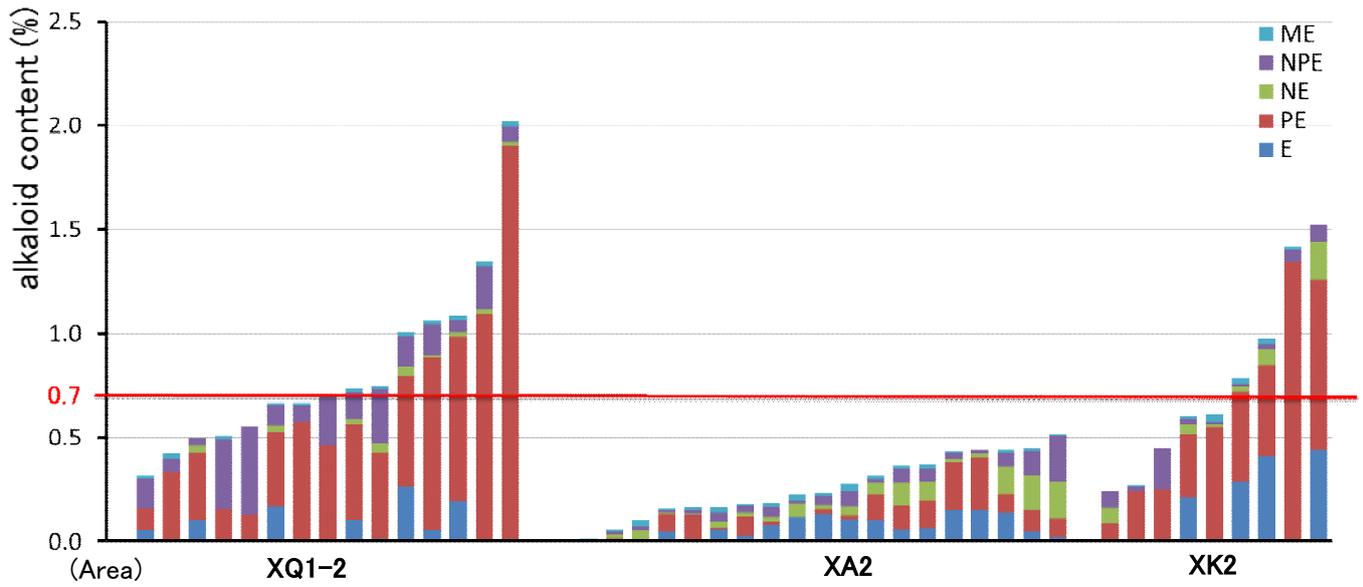


Fig.12-3 個体別のアルカロイド含量(2013年 新疆東北部 *E.intermedia*, 野生品)

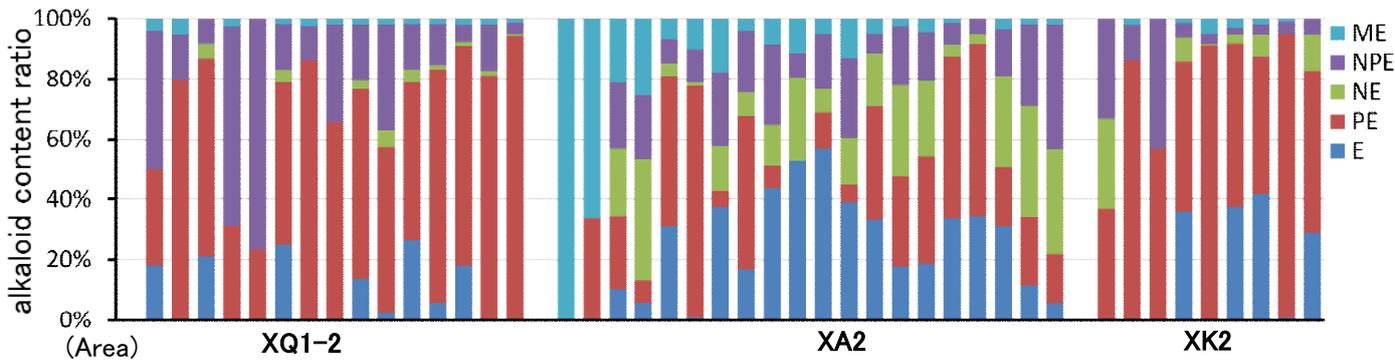


Fig.12-4 個体別のアルカロイド組成比(2013年 新疆東北部 *E.intermedia*, 野生品)

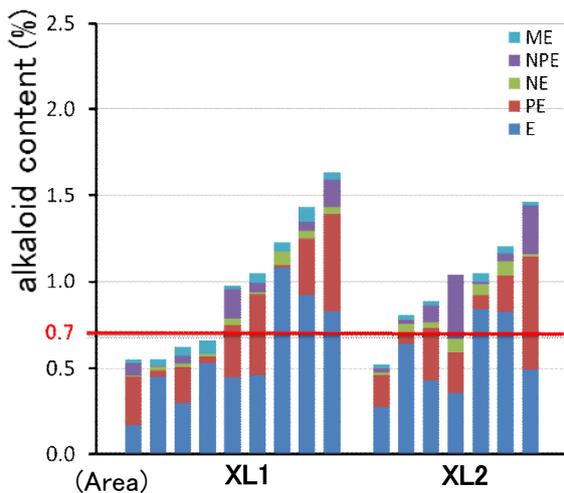


Fig.12-5 個体別のアルカロイド含量
(2013年 新疆東北部 *E.sinica*, 栽培品)

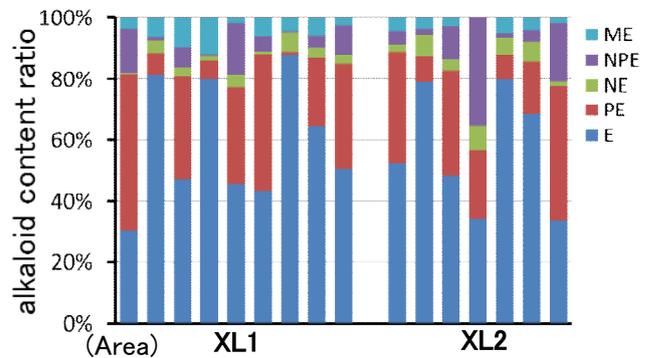
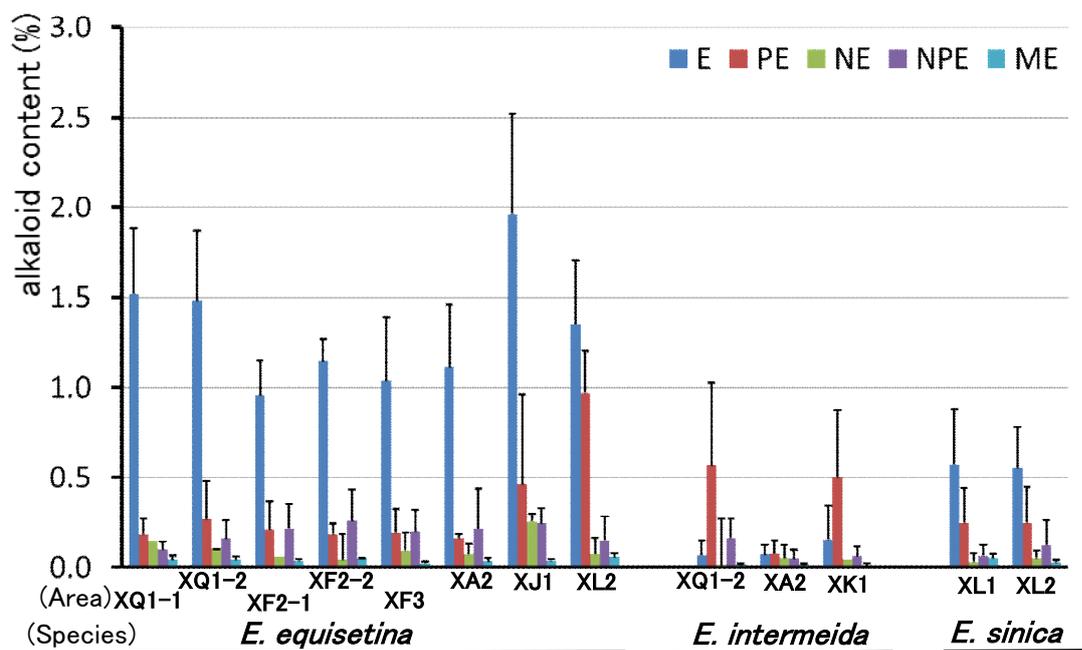
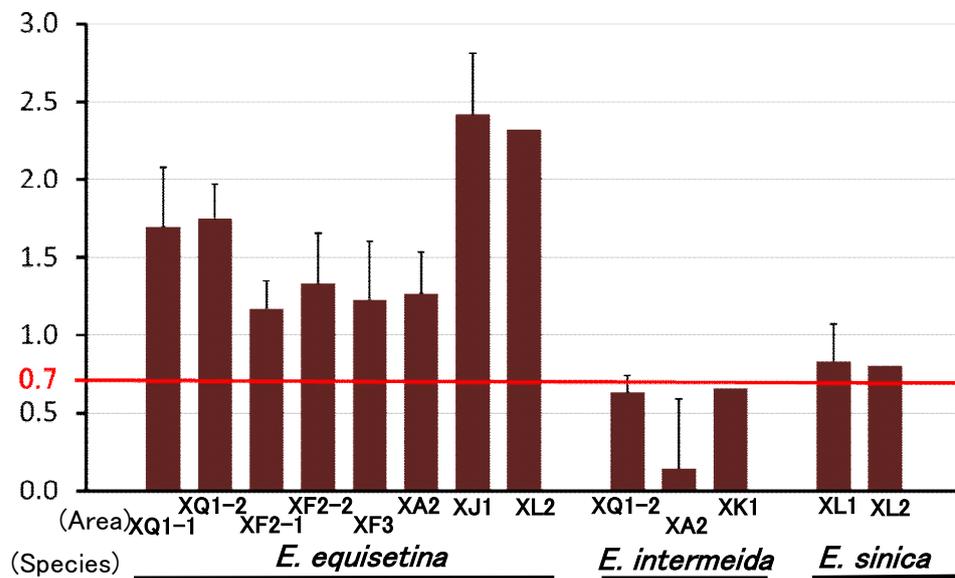


Fig.12-6 個体別のアルカロイド組成比
(2013年 新疆東北部 *E.sinica*, 栽培品)

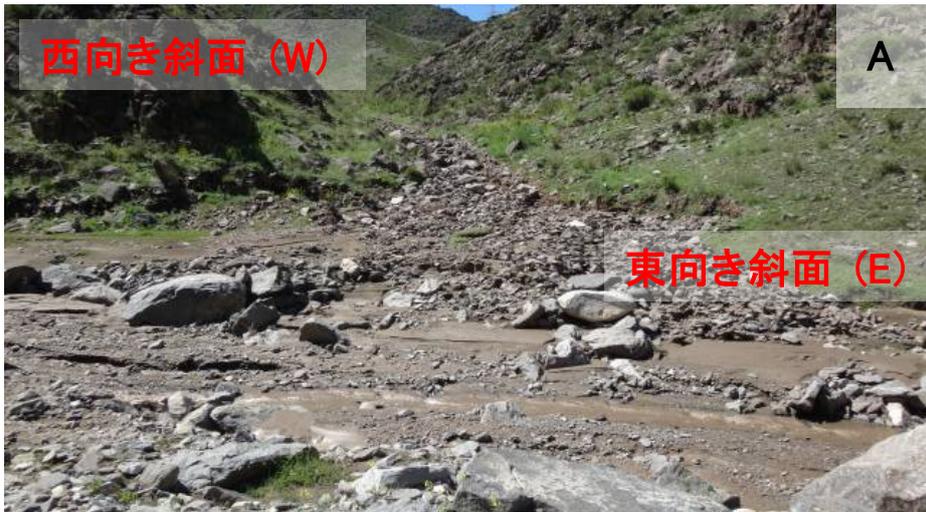


A 各アルカロイド含量



B 総アルカロイド(E+PE)含量

Fig.12-7 各産地におけるアルカロイド含量(2013年 新疆東北部, 野生品及び栽培品)



調査地(富蘆県 XF2-1, 2013 年)
(撮影時刻 北京時間 12:04)



平地・瓦礫質土壌 (*E. equisetina* 130629B-16 周辺)



西向き斜面・岩場 (*E. equisetina* 130629B-17 周辺)

Fig.13-1 調査地の状況(2013 年 新疆東北部 XF2-1 地点)

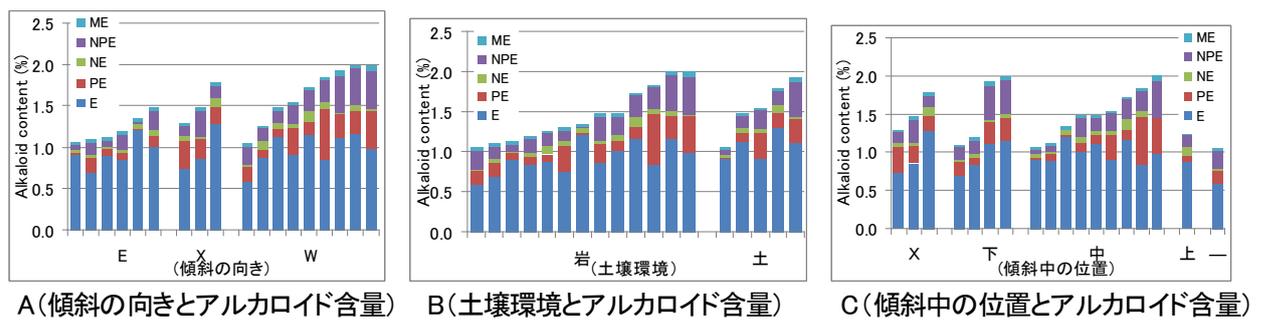


Fig.中のサンプル情報

E: 東向き斜面, X: 谷底・平地, W: 西向き斜面

岩: 岩場, 土: 瓦礫質土壌

—: 不明

Fig.13-2 生育環境とアルカロイド含量(2013 年 新疆 富蘆県 XF2-1 地点)



調査地(青河県XQ1-1, 2013年)
(撮影時刻 北京時間 18:40)



東向き斜面 (*E. equisetina* 130629E-2 周辺)

西向き斜面 (*E. equisetina* 130629E-5 周辺)

Fig.13-3 調査地の状況(2013年 新疆東北部 XQ1-1 地点)

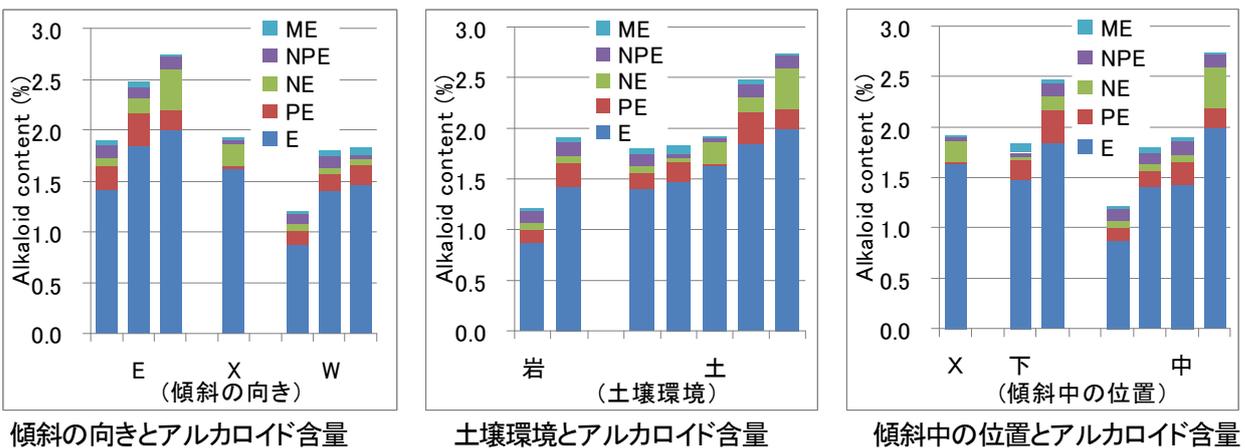


Fig.中のサンプル情報
E: 東向き斜面, X: 谷底・平地, W: 西向き斜面
岩: 岩場, 土: 瓦礫質土壤

Fig.13-4 生育環境とアルカロイド含量(2013年 新疆東北部 XQ1-1 地点)



調査地(青河县XQ1-2, 2013年)
(撮影時刻 北京時間 16:15)



北向き斜面 瓦礫質土壤
(*E. equisetina* 130629D-25 周辺)



南東向き斜面 瓦礫質土壤
(*E. equisetina* 130629D-30 周辺)



南向き斜面 瓦礫質土壤
(*E. intermedia* 130629Di-36 周辺)

Fig.13-5 調査地の状況(2013年 新疆 青河县 XQ1-2 地点)

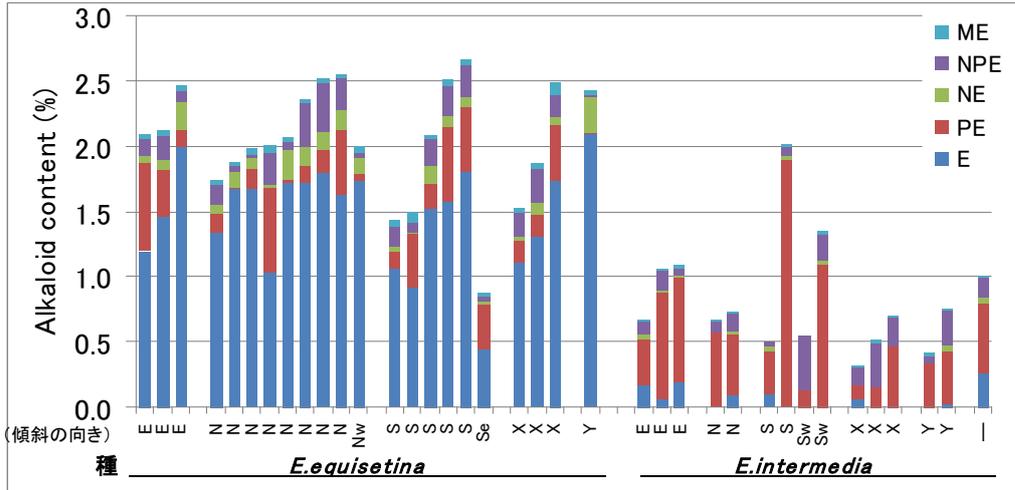
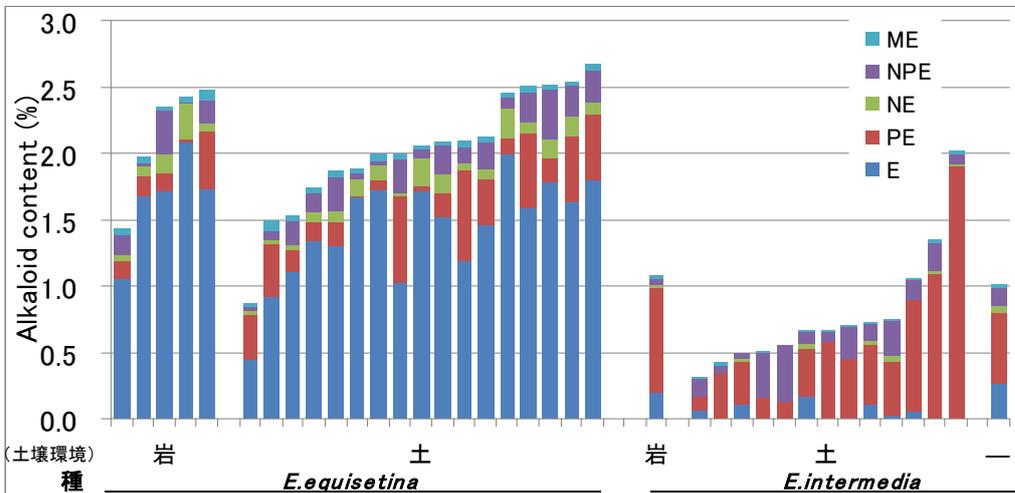


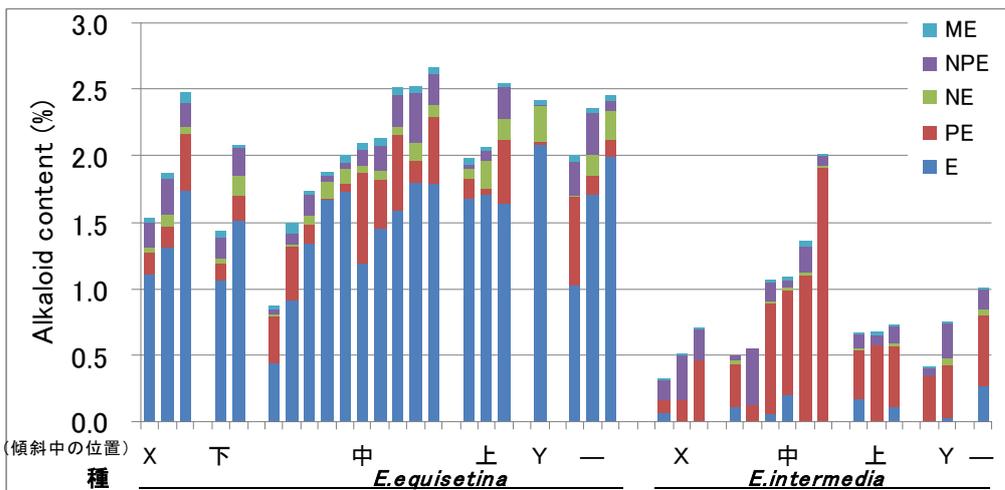
Fig.中のサンプル情報

E: 東向き斜面
 N: 北向き斜面
 (Nw: 北西向き斜面)
 S: 南向き斜面
 (Se: 南東向き斜面)
 (Sw: 南西向き斜面)
 X: 谷底・平地
 Y: 山頂・尾根
 —: 不明

A (傾斜の向きとアルカロイド含量)



B (土壌環境とアルカロイド含量)



C (傾斜中の位置とアルカロイド含量)

Fig.13-6 生育環境とアルカロイド含量(2013年 新疆 青河县 XQ1-2 地点)



調査地(XF3, 2013年)(撮影時刻 北京時間 11:38)

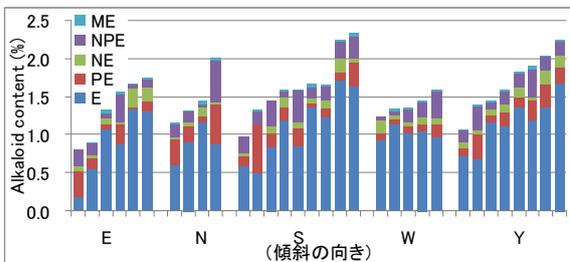


130629A-3(西向き斜面・岩場)

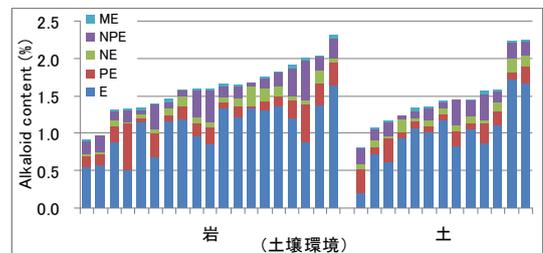


130629A-8 及び 9 周辺

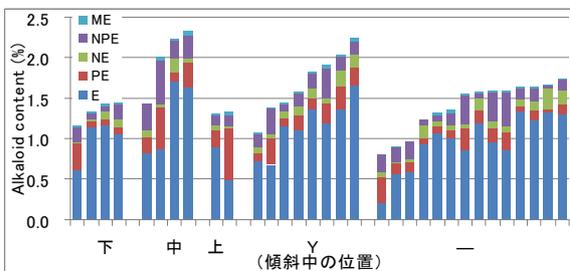
Fig.13-7 調査地の状況(2013年 新疆東北部 XF3 地点)



A (傾斜の向きとアルカロイド含量)



B (土壌環境とアルカロイド含量)



C (傾斜中の位置とアルカロイド含量)

Fig.中のサンプル情報

- E: 東向き斜面
- N: 北向き斜面
- S: 南向き斜面
- W: 西向き斜面
- Y: 山頂・尾根
- : 不明

Fig.13-8 生育環境とアルカロイド含量(2013年 新疆東北部 XF3 地点)



調査地(XA2, 2012 年度) (撮影時刻 北京時間 16:23)



E.quisetina(130628B-23) 周辺(XA2, 2012 年度)



E.intermedia (130628B-11) 周辺 (XA2, 2012 年度)

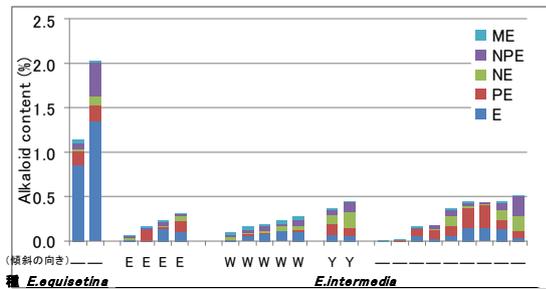


E.intermedia(130628B-18)(XA2, 2012 年度)

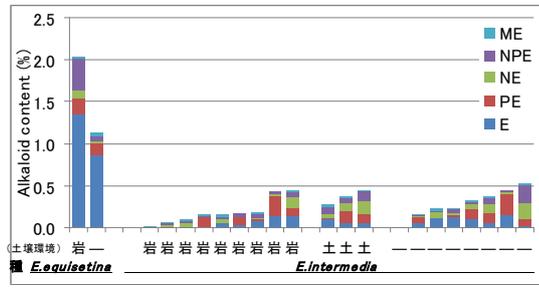


E.intermedia (130628B-18)(XA2, 2013 年度)

Fig.13-9 調査地の状況(2013 年 新疆東北部 XA2 地点)



A (斜面の向きとアルカロイド含量)



B (土壌環境とアルカロイド含量)

Fig中のサンプル情報
 E: 東向き斜面
 W: 西向き斜面
 Y: 山頂・尾根
 —: 不明

Fig.13-10 生育環境とアルカロイド含量(2013 年 新疆東北部 XA2 地点)

第 5 節 特徴的な個体について

【試験材料】

試験材料を Table 4-1 に示す.

種はいずれも現地では *E. intermedia* と同定したものである. 本章第 2~4 節で, NPE 含量が高かった個体, 雌毬果の形態が特徴的であった個体を試験材料とした. また, 新疆東北部の調査 (2013 年) において, アルカロイドをほとんど含んでいなかった個体についても考察を行なった.

【方法】

内部形態の観察を行なった (方法は実験の部を参照).

【結果】

(1) NPE 含有比が高かった個体 (NPE 高含量)

結果を Fig.14-1~14-2, Table 4-2 に示す.

生育環境は, 甘肅省 GK2-2 は圃場脇の傾斜地, 新疆和田市 XO1 は 1 日の日照時間が短い溪谷の岩場, 新疆青河県 XQ1 は瓦礫質土壌の平地と多様で, 一定の傾向は認められなかった (Fig.14-1).

外部形態については, GK2-2 において同所的に自生していた NPE 含量が低かった個体 (110905D-2) とほぼ同様であった (Fig.14-2A 及び C). 内部形態に関しては個体差や, 同じ個体内でも観察したサンプルによって違いがあり, 3 産地の個体間で共通する傾向は確認できなかった. 同じ個体内での違いについて, 皮層部繊維群数が 10 個未満の観察サンプルを挙げると, 甘肅省で採取した 110905D-3 のうちの 2 サンプル, 110905D-13 のうちの 2 サンプル, 新疆青河県 XO1 で採取した 130629Di-21 のうちの 1 サンプル及び 130629Di-22 のうちの 2 サンプルである. このうちの 130629Di-21 のうちの 1 サンプルは, 皮層部の繊維群を確認することができなかった (Table 4-2).

甘肅省の 110905D-2, 110905D-3 の 1 サンプルは内部形態も *E. intermedia* の特徴を示していたが, 110905D-3 の 2 サンプル, 110905D-13, 110717C-01 は新疆南部, 西藏自治区に分布しているとされる *E. intermedia* var. *tibetica* の特徴⁴⁶⁾とほぼ同じであった. 110905D-13 については ITS-1 領域の DNA 解析において *E. intermedia* (Gene bank における登録 No.AY394070) と配列が一致し, この領域では, 他の種との交雑した痕跡は確認できなかった.

新疆和田市 XO1 の 110629A-01, 110629B-01 及び 110629B-04 は, いずれもクチクラ瘤が認められなかった (Fig.14-3C). このうちの 110629A-01 及び 110629B-04 は皮層部繊維群数が 30 個以上と比較的多い個体で, 楼ら⁴⁶⁾の報告する *E. przewalskii* に近い特徴が認められた. 110629B-01 は記載

に合致する種を確認することができなかった。

新疆青河県 XQ1 の 130629Di-21 及び 130629Di-22 は珠孔管が螺旋状で (Fig.14-4A), 外部形態からは明らかに *E. intermedia* である。内部形態は観察したサンプルによって特徴が異なり, 皮層部と髄内の繊維群数が顕著に少ないサンプルもあった (Fig.14-4B)。このような特徴は, 楼らの報告する *E. lomatolepis*, *E. sinica*, *E. distachya* と合致した⁴⁶⁾が, *E. lomatolepis* の外部形態については, 珠孔管が 1.5mm と短く, 膜果ではないが, 明瞭な膜質の縁ができるという点で明らかに異なり, 種についてはさらなる検討が必要である。

(2) 雌毬果の形態が特徴的な個体

結果を Fig.15, Table 4-3 に示す。

新疆青河県 (XQ1-2, 2013 年) では *E. equisetina* と *E. intermedia* が同所的に自生しており, 交雑の可能性がある。この産地では, *E. equisetina* と *E. intermedia* で雌毬果の特徴が異なっており, *E. intermedia* は一節に多数が輪生しており, 雌毬果に繋がる軸は短く (Fig.15A), 一方 *E. equisetina* は草質茎の脇から雌毬果を頂生し, *E. intermedia* のものと比較してやや長い軸が認められた (Fig.15B)。この軸に関する特徴は中薬大辞典⁴⁷⁾に記載があるが, 中国植物志には *E. equisetina* に軸がほとんど無いものもあるとされている³⁴⁾。そのため種を判別する形質ではないが, 130629Di-6 のように両者の特徴が共に発現していた個体が認められた (Fig.15D)。どちらの雌球果中の種子数は 2 個であったが, 珠孔管が真直ぐな雌毬果中の種子は 2 粒のうち的一方が不稔種子であった (Fig.15F)。

内部形態について, 皮層部繊維群数は顕著に多かったが, 髄内繊維群がほとんど認められず, シュウ酸カルシウムも少なかった。クチクラ瘤も認められたが, 同所的に自生する 130629Di-21 及び 130629Di-22 と比較すると, やや小型の傾向があった。この特徴は, 外部形態的には明らかに異なるが, 楼ら⁴⁶⁾の報告する *E. lomatolepis* の特徴と合致した。同じ産地の *E. equisetina* (130629D-33) の内部形態も確認した。*E. equisetina* は髄内及び皮層部の繊維群数が少なく, シュウ酸カルシウムが多いとされている⁴⁶⁾が, 本研究で観察したサンプルのシュウ酸カルシウムは少なかった。

(3) アルカロイドをほとんど含んでいなかった *Ephedra intermedia*

写真を Fig.16-1~16-2 に示す。

本研究では, アルカロイド含量 (E+PE) が 0.01%未満の *E. intermedia* は内蒙古・甘肅省では確認できず, 新疆阿勒泰市 (XA2, 2013 年) の 130628B-8, 130628B-24, 130628B-29 の 3 個体だけであった。特に 130628B-24 は虫瘤が顕著に多いだけでなく, 外部形態も特異的であった (Fig.16-1A)。XA2 では虫瘤のある個体が多く, 同じ産地で 2006 年に採取した *E. intermedia* (本学自然科学研究科所蔵標本, 標本 No.06C3055) についても虫瘤が散在しており (Fig.16-1B), E+PE 含量が 0.01%で

あった。

新疆克拉玛依市 (XK1, 2013 年) の 130626A-13 は, E+PE 含量が 0.09% とやや低かった。珠孔管が長く螺旋状であったことから, *E. intermedia* であることは明らかである (Fig.16-2B)。1 サンプルのみ内部形態を観察したところ, *E. intermedia* の特徴 (繊維群数が比較的多く, クチクラ瘤が認められた) を示していた。この個体は同じ自生地への他の *E. intermedia* (0.24~1.26%) と比べて含量が低く, 他の *E. intermedia* は傾斜地や崖に自生していたのに対し, この個体は平地に自生していた。

【考察】

- ・ 本研究において特徴的であった個体は, いずれも外部形態から *E. intermedia* と同定したものである。本種は皮層部又は髄内の繊維群数が多いという特徴があり⁴⁶⁾, これらの数量を比較することで *E. sinica* との区別ができることが報告されている⁴⁸⁾。しかし, 本研究で観察した一部の個体の横切面は繊維群数が顕著に少なく, 内部形態だけでは *E. intermedia* ではなく他の種と判定できる個体もあった。これらのうちには雌球果の珠孔管が螺旋状で, 外部形態から明らかに *E. intermedia* と同定できた個体もあり, 内部形態だけが変異した可能性が考えられる。本種は *E. sinica*, *E. equisetina* などと比較して分布域が広い¹⁶⁾, 環境によって変異しやすく, 場合によっては他の種と交雑している可能性も考えられる。核 DNA の ITS-1 領域の配列についても, これまでに 3 つの異型が報告されており⁴⁹⁾, 本種の分類についてはさらなる研究が必要と考える。
- ・ NPE 高含量個体は複数の産地で確認できたが, 生育環境, 内部形態からは一定の特徴が認められなかった。また甘粛省調査 (2011 年) で得た個体の中に, NPE が高含量ではない個体 (110905D-2) も同所的に自生していた。このため, NPE 高含量の要因については, 環境要因や生育年数ではなく個体の特徴である可能性が示唆された。
- ・ 新疆の阿勒泰市で採取した *E. intermedia* においてアルカロイドをほとんど含まない個体が認められた。アルカロイドをほとんど含まない個体については *E. likiangensis* でも報告されており⁵⁰⁾, 種の特徴というよりはむしろ生育状態などに影響するものと考えられる。第 4 節の考察で述べたように, 虫瘤との関係を予想しているが, 虫瘤の原因となる昆虫⁵¹⁾による食害が原因でアルカロイドの合成が阻害されたのか, 或いはアルカロイド含量が低かったことにより虫瘤が発生したのかの因果関係が明確ではなく, これらの原因解明には興味を持たれるところである。

Table 4-1 試験材料 (特徴的な個体, 2013.12)

標本 No.	種(現地同定)	産地	入手日	特徴
110905D-2	<i>E.intermedia</i>	甘肅省 環県 GK2-2	2011.9.5	(参考)NPE 低含量
110905D-3	<i>E.intermedia</i>	甘肅省 環県 GK2-2	2011.9.5	
110905D-13	<i>E.intermedia</i>	甘肅省 環県 GK2-2	2011.9.5	
110629A-01	<i>E.intermedia</i>	新疆 和田市 XO1	2011.6.29	NPE 含有割合が高かった (NPE 高含量)
110629B-01	<i>E.intermedia</i>	新疆 和田市 XO1	2011.6.29	
110629B-04	<i>E.intermedia</i>	新疆 和田市 XO1	2011.6.29	
130629Di-21	<i>E.intermedia</i>	新疆 青河県 XQ1	2013.6.29	
130629Di-22	<i>E.intermedia</i>	新疆 青河県 XQ1	2013.6.29	
130629Di-6	<i>E.intermedia</i>	新疆 青河県	2013.6.29	長く螺旋状 及び短い珠孔管 が混在 (Fig.1-1)
130629D-33	<i>E.equisetina</i>	新疆 青河県	2013.6.29	(参考)

標本について、新疆ウイグル自治区は金沢大学所蔵、内蒙古及び甘肅省はクラシエ製薬所蔵。

Table 4-2 内部形態

標本No.	種(現地同定)	産地	特徴	横断面(mm)		クチクラ 有	表皮直下 繊維群数	繊維群数		シュウ酸 カルシウム	内部形態から 鑑定した種	
				長径	短径			皮層	髓内			
110905D-2	<i>E.intermedia</i>	甘肅省 環県	(参考)NPE低含量	①	2.2	1.8	有	31<X<40	9<X<20	32	多	<i>E.intermedia</i> ?
				②	1.6	1.1	有	26<X<40	14<X<20	25	多	
				③	1.5	1.4	有	17<X<20	10<X<20	23	多	
110905D-3	<i>E.intermedia</i>	甘肅省 環県		①	1.2	1.2	有	18<X<30	1	20	少~中	<i>E.intermedia</i> <i>var.tibetica</i> ?
				②	1.2	1.2	有	12<X<30	2<X<10	12	少	
				③	1.4	1.3	有	15<X<30	18	13	多	
110905D-13	<i>E.intermedia</i>	甘肅省 環県		①	1.7	1.4	有	31	11	24	多	<i>E.intermedia</i> <i>var.tibetica</i> ?
				②	1.5	1.2	有	13<X<20	1<X<10	12	多	
				③	1.9	1.7	有	16<X<30	6<X<10	10	多	
110629A-01	<i>E.intermedia</i>	新疆 和田市		①	1.7	1.5	無	31<X<40	27<X<40	10	中	<i>E.przewalskii</i> ?
				②	1.2	1.0	無	27<X<30	26	12	中	
				③	1.4	1.2	無	30	41	15	中	
110629B-01	<i>E.intermedia</i>	新疆 和田市	NPE含有割合が高かった (NPE高含量)	①	1.5	1.4	無	—	—	—	中	不明
				②	1.9	1.5	無	32	19	10	多	
				③	1.5	1.4	無	25	17	2	多	
110629B-04	<i>E.intermedia</i>	新疆 和田市		①	1.8	1.6	無	32	45	13	中	<i>E.przewalskii</i> ?
				②	1.2	1.1	無	25	35	13	中	
				③	1.6	1.4	無	21<X<30	36<X<50	17	中	
130629Di-21	<i>E.intermedia</i>	新疆 青河県		①	1.5	1.3	有	28	16	4	少	<i>E.lomatolepis</i> <i>E.sinica</i> ?
				②	1.2	1.2	有	21	0	0	少	
				③	1.5	1.2	有	22	12	4	中	
130629Di-22	<i>E.intermedia</i>	新疆 青河県		①	1.3	1.3	有	23	16	0	中	<i>E.lomatolepis</i> <i>E.distachya</i> ?
				②	1.2	1.2	有	24	6	1	中	
				③	1.9	1.8	有	25	1	0	中	
130629Di-6	<i>E.intermedia</i>	新疆 青河県	長く螺旋状 及び短い珠孔管 が混在	①	1.6	1.3	有	37	60	5	少	<i>E.lomatolepis</i>
				②	1.5	1.0	有	22<X<30	46<X<60	0	少	
				③	1.6	1.3	有	26	72	0	少	
130629D-33	<i>E.equisetina</i>	新疆 青河県	(参考)	①	1.4	1.3	無	33	2	0	少	不明
				②	1.3	1.2	無	29	7	0	少	
				③	1.4	1.2	無	32	8	0	少	

横断面の項目及び繊維群数の項目の赤字: 一部が欠損したフレバートのため、形状からの推定値
シュウ酸カルシウムの多寡については、偏光下の観察で皮層繊維群の観察が困難なものを多、観察可能なものを中、観察が容易であるものを少とした。
内部形態から鑑定した種については、『常用中薬材品種整理と質量研究』⁴⁵⁾を参考にした。



圃場脇・傾斜地上方 (甘肅省 GK2-2, 2011 年)



日当りの悪い岩場(新疆和田市 X01, 2011 年)

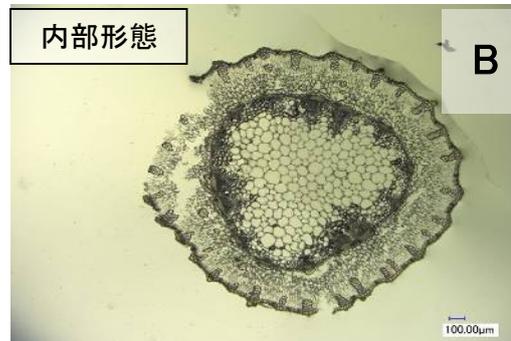


瓦礫質土壤の平地(新疆青河県 XQ1, 2013 年)

Fig.14-1 NPE 高含量の個体の生育環境



外部形態

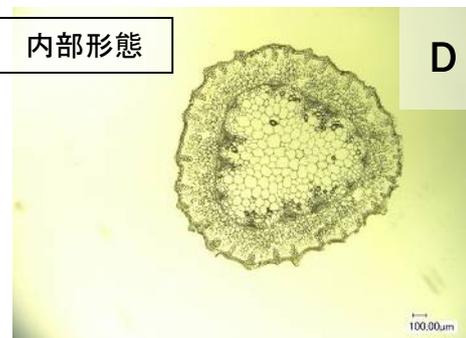


内部形態

NPE 高含量ではなかった個体 (No.110905D-2)



外部形態



内部形態

NPE 高含量の個体(110905D-13)

Fig.14-2 甘肅省環県(GK2-2)で2011年9月に採取した norpseudoephedrine 含量が低かった個体及び高かった個体の形態



Fig.14-3 新疆和田市(XO1)で
2011年6月に採取した
norpseudoephedrine 含量が
顕著に高かった個体
(110629A-01)の形態

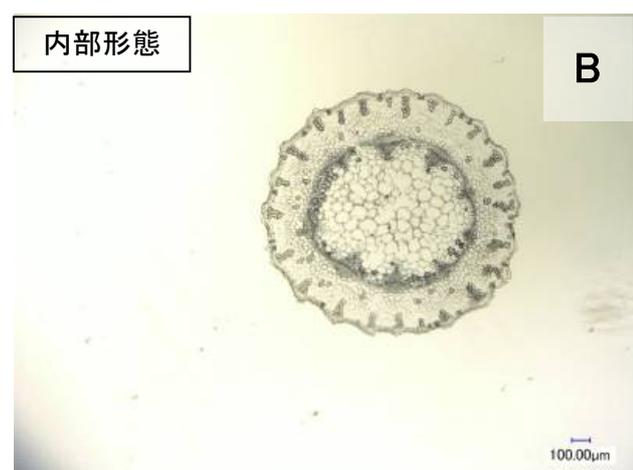


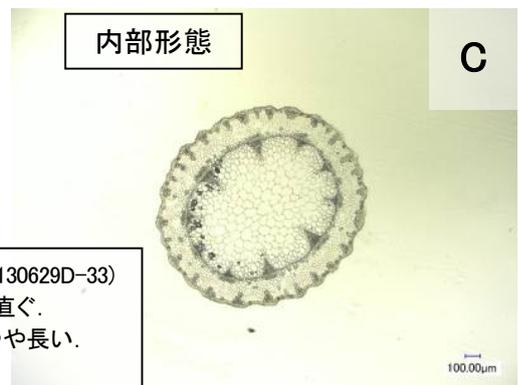
Fig.14-4 新疆青河县(XQ1)で2013年6月に採取した
norpseudoephedrine 含量が顕著に高かった個体 (130629Di-22)の形態



E. intermedia (No.130629Di-18)
 ・珠孔管が長く螺旋状.
 ・雌毬果の軸が短い.



E. equisetina (No.130629D-33)
 ・珠孔管が短く真直ぐ.
 ・雌毬果の軸がやや長い.
 ・種子が1個.



E. intermedia (130629Di-6)
 ・珠孔管が長く、屈曲のものと真直ぐのものが混在.
 ・雌毬果に繋がる軸が長いものと短いものが混在.



E. intermedia (130629Di-6)の珠孔管が真直ぐな雌球果内の種子
 右側は不稔種子

Fig.15 新疆青河県(XQ1-2)で2013年6月に採取した雌毬果が特徴的な *E. intermedia*(130629Di-6)の形態



E. intermedia (No.130628B-24)
2013年採取
アルカロイド含量(E+PE) 0.01%



E. intermedia (No.06C3055)
2006年採取(本学自然科学研究所蔵標本)
アルカロイド含量(E+PE) 0.01%

Fig.16-1
新疆阿勒泰市(XA2)で採取した
アルカロイド含量が顕著に低かった
*E. intermedia*の形態

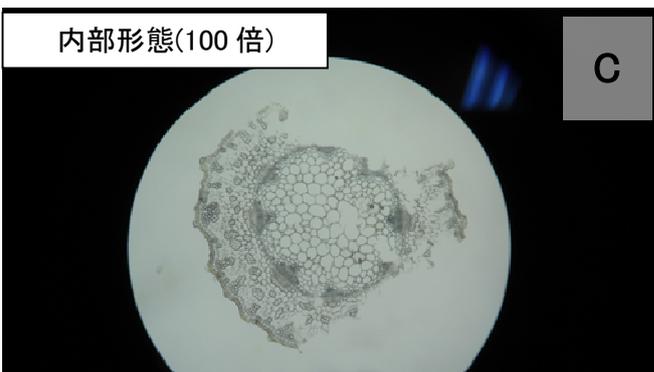


Fig.16-2 新疆克拉玛依市(XK1)で
2013年に採取した
アルカロイド含量が顕著に低かった
*E. intermedia*の生育環境と形態

第3章 アルカロイド組成比に関する試験

第1節 野生品及び栽培品のクローン株の比較

第2章で示したように、アルカロイド組成比のパターンには個体差が大きかった。パターンが安定した自生地も認められたが、このような場所は比較的小規模の自生地であった。マオウ属植物のうち、特に *E. sinica* は *E. intermedia* などと比べて根茎を地下に長くまた広く伸長しやすい傾向があるため、地上からは複数個体に見えても、地下において根茎でつながった同一個体で構成された群生地を形成しやすい³⁸⁾。第2章の調査では、自生地の個体の地下部を掘り返し、根茎がつながった同じ個体であるのか、それとも別個体であるのかという確認はしていない。そのため、パターンが安定していた主な原因が遺伝的要因であるのか、それとも環境要因であるのかは明らかになっていない。そこで本学所蔵標本から、中国の河北省で発見した雄株のみの自生地 (Fig.17-1~17-2) から得たサンプルについて評価をした。この自生地は、雄花を付けた株のみが広範囲に自生しており、雌花を付けた個体が確認できなかったため、根茎を伸長させて増殖したただ1つの個体を由来とする可能性が考えられる。また内蒙古で入手した根茎まで掘り上げた標本から、複数の部位をサンプリングし、アルカロイド含量と組成比の比較を行なった。

次に生育環境が及ぼすアルカロイド組成比への影響を調査するため、遺伝的に安定したクローン株を挿木又は株分けによって増殖し、異なる調査地、栽培条件で栽培し、比較を行なった。

また生薬「麻黄」は地上部を使用することから、地下部を残すことにより毎年継続して収穫し続けることが可能である^{52),53)}。本学の平山の研究により、遺伝的に異なる複数の株について、灌水の条件、栽培土壌の種類について比較をしており、3~6年生までの追跡調査を行なっている。その結果、アルカロイド組成 (E/E+PE) が4年間ほぼ一定であった⁵⁴⁾。このときの報告では灌水の条件によりデータを分割して提示していた。アルカロイドの組成比については栽培環境ではなく、個体による影響がより強いということを提示するため、これらのデータを統合して評価を行なった。



Fig.17-1 雄株のみの自生地
(河北省, 2002年)



Fig.17-2 *E. sinica* の根茎
(河北省, 2002年)

【実験材料】

1. 野生品 (本学自然科学研究科所蔵標本)

Ephedra sinica Stapf

採取地点:河北省承德市(ほぼ全ての草質茎で雄花があり,雌花は確認できなかった自生地(Fig.17-1), alt.1345m), 標本 No. 02139, 採取日:2002.6.10, サンプル数:9.

採取地点:内蒙古自治区包頭市(雌雄不明,根茎まで掘り上げた個体, alt.1380), 標本 No.100720-10, 採取日:2010.7.20, サンプル数:5.

採取地点:内蒙古自治区錫林郭勒盟(雌雄不明,根茎まで掘り上げた個体, alt.1060), 標本 No.7081801, 採取日:2007.8.1, サンプル数:5.

2. 日本国内栽培品

① 詳細不明種 (株分け, 露地栽培)

種苗の由来: *Ephedra distachya* として導入されたが, 詳細については不明である種苗⁵⁵⁾Ep-13 (もとは1個体).

栽培地: 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター 和歌山及び種子島,

採取日: 和歌山 2011.12.15, 種子島 2011.12.13~12.14

サンプル数: 和歌山 9, 種子島 26.

② *E.sinica* の栽培品 (挿し木, ポット栽培)

種苗の由来: 由来不明, 金沢大学医薬保健学域薬学類・創薬科学類附属薬用植物園 (以下, 本学薬草園) のロックガーデンで栽培した *E. sinica* (1個体).

栽培地: 本学薬草園

栽培方法: 挿し木により繁殖したものをワグネルポットで2年間栽培 (年1回植替え), 栽培土壌として川砂, 山砂, 赤玉 (硬質) 小粒, 鹿沼土 (小粒), 桐生土, 市販土 (「プランターの土」, 秋本天産物 (株)) のいずれかを使用.

採取日: ①2011.11.22, ②2012.9.18

サンプル数: ①12, ②11.

③ *E.sinica* の栽培品 (複数の実生株, ポット栽培, 平山の学位論文⁵⁴⁾ より)

種子の由来: 金沢大学で過去に入手した複数個の種子.

栽培地: 本学薬草園

栽培方法: 1/5000a 又 1/2000a のワグネルポットで2004年秋に得た実生苗から2010年まで栽培.

栽培土壌として川砂 (土壌下層は化成肥料 (普通化成8号 (フジカワエッグ, N:P:K=8:8:8)) 10g/pot を混合) 又は以下の5種類. ①市販土 (「プランターの土」, 秋本天産物 (株)), ②赤玉土, ③市販土+赤玉土 (28:18, 体積比), ④市販土+土壌アルカリ化剤, ⑤赤玉土+土壌アルカリ化剤 * : 土壌アルカリ化剤 (炭酸苦土石灰 10g/pot, または石灰窒素 10g/pot), 灌水条件: 人工海水又はその希釈液を週に1回, 地下水を1回ずつ (人工海水の組成: NaCl (特級) 86.8g, MgSO₄·7H₂O (一級) 20.8g, MgCl₂·6H₂O (特級) 15.7g, CaCl₂·2H₂O (一級) 4.5g 及び KCl (特級) 2.2g を地下水に溶解して3Lとしたもの).

採取日: 2007年~2010年の9月

サンプル数: 103 サンプル (栽培中に枯死した個体があり, 2008年は99サンプル, 2009年は95サンプル, 2010年には89サンプル)

【方法】

アルカロイド含量 (E+PE) を定量し (定量方法は実験の部を参照), E 及び PE 含量の関係について調べた. またアルカロイド含量の経年変動⁵⁴⁾については, 各個体のアルカロイド組成 (E/E+PE) について比較を行なった.

【結果】

結果を Fig.18~20 に示した.

1. 野生品 (本学自然科学研究科所蔵標本)

アルカロイド含量 (E+PE) については, 個体ごとに数値の変動が認められ, 同一個体② (内蒙・錫林郭勒) の 1 サンプルだけ顕著に低い個体があった (Fig.18A). E 及び PE 含量については, 以下の回帰式の通りで, 産地ごとに E 及び PE 含量の間に強い正の直線性が認められた (Fig.18B). 同一個体① (内蒙・包頭) [回帰式 $y=2.2874x-0.0703$ (相関係数 $r=0.9544$)], 同一個体② (内蒙・錫林郭勒) [回帰式 $y=0.0707x-0.0007$ (相関係数 $r=0.9597$)], 雄株のみの群生地 (河北省) [回帰式 $y=0.9931x-0.084$ (相関係数 $r=0.8603$)]. 根茎でつながった同一個体の草質茎同士では相関係数 0.95 以上で, また, 雄株のみの群生地の個体間は, 相関係数が約 0.86 で, 同一個体と比較するとやや低かった (Fig.18B).

2. 日本国内栽培品

アルカロイド含量 (E+PE) については, 個体ごとの数値の変動が顕著に大きく, 和歌山県産の Ep-13 ではアルカロイド含量 (E+PE) 0.11~1.16% と 10 倍以上, 本学薬草園の *E. sinica* (挿し木・鉢植え, 2011.11.22 採取) では 0.04~0.85% と約 20 倍の差が認められた (Fig.19A). E 及び PE 含量については, 以下の回帰式の通りで, 栽培地, 栽培条件が異なっても, 株分け又は挿し木のような栄養繁殖で増殖した個体間ではアルカロイド組成比のパターンがほぼ同じで, E 及び PE 含量の間に強い正の直線性が認められた (Fig.19B). Ep-13 (種子島及び和歌山) [回帰式 $y=0.1318x+0.0002$ (相関係数 $r=0.9707$)], *E. sinica* (本学薬草園, 2011 年及び 2012 年採取) [回帰式 $y=0.9837x-0.0233$ (相関係数 $r=0.9799$)].

実生苗の個々のアルカロイド組成 (E/E+PE) について, 3 年生から 6 年生までの 4 年間追跡調査を行っており, 土壌及び灌水する水の組成が異なる条件下でありながら, 個々のアルカロイド組成

(E/E+PE) は、以下の回帰式の通りで、強い正の直線性 (相関係数 $r > 0.95$) が認められた (Fig.20). 3年生と4年生の間 [回帰式 $y=0.9519x+0.0666$ (相関係数 $r=0.9534$)], 4年生と5年生の間 [回帰式 $y=0.9284x+0.0687$ ($r=0.9719$)], 5年生と6年生の間 [回帰式 $y=0.9565x+0.0373$ ($r=0.9835$)], 3年生と6年生の間 [回帰式 $y=0.8786x+0.1421$ ($r=0.9564$)]. 相関係数については、3~4年生の間よりも4~5年生、5~6年生の間の方がわずかに高かった.

【考察】

第2章で示したように、マオウ属植物の自生地では、個体ごとのアルカロイド組成比の変動が大きかった. このような自生地では、雌株と雄株が混在しており、有性繁殖によって遺伝情報が異なる複数の個体が混在していると考えられ、この個体差がアルカロイド組成比のばらつきにも影響をしている可能性が考えられる. このことは栽培品の経年変化を調べた試験⁵⁴からも言える. 供試株は同じ栽培地で栽培したものであるが、アルカロイド組成 (E/E+PE) は 0.2~1.0 と数値の変動が顕著に大きかった (Fig20). 一方、野生でも根茎でつながった同一個体、雄株のみの群生地のように、栄養繁殖で増殖したもの同士では、E 及び PE 含量の間に強い正の直線性が認められた (Fig.18). また日本国内での栽培試験から、栽培環境、栽培条件によらず E 及び PE 含量の間に強い正の直線性が認められた (Fig.19). つまりアルカロイドのうち、E 及び PE の組成比は、環境や生育年数ではなく遺伝的な要因に支配されていることが明らかとなった.

また河北省の雄株のみの自生地の E 及び PE の間の相関係数がやや低かった原因として、複数株の可能性と同一個体でも生育年数によってアルカロイド組成比が増減する 2 つの可能性が考えられる. 後者については、平山が報告しているように、栽培品の 4 年間の追跡調査でアルカロイド組成 (E/E+PE) が前年よりも微増する傾向が認められた (E/E+PE の数値について、3年生は 0.72, 4年生は 0.75, 5年生は 0.76, 6年生は 0.77)⁵⁴. 生育年数に 10 年以上の隔たりがある個体間では、アルカロイド組成 (E/E+PE) が大きく変動している可能性がある. この原因について後述する第2節において考察した.

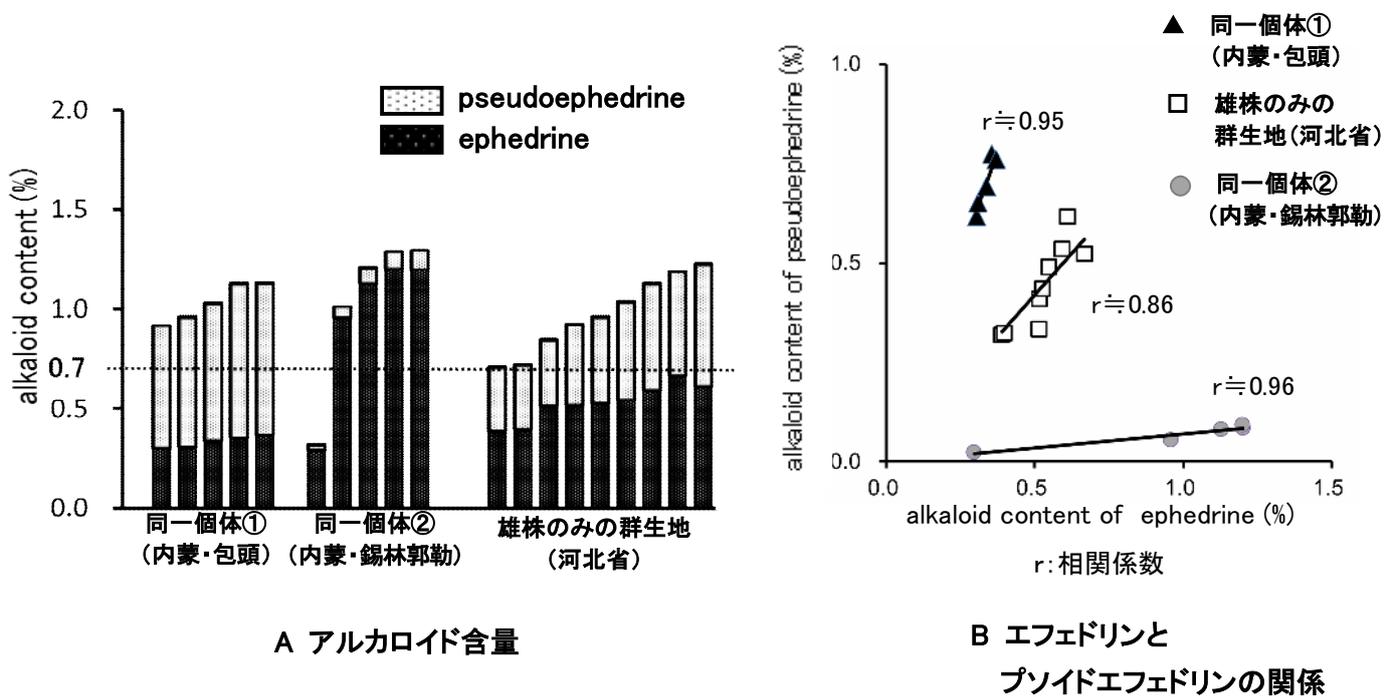


Fig.18 同一個体または雄株のみの群生地から入手した *Ephedra sinica* のアルカロイド含量 (ephedrine 及び pseudoephedrine) 及びその組成の比較

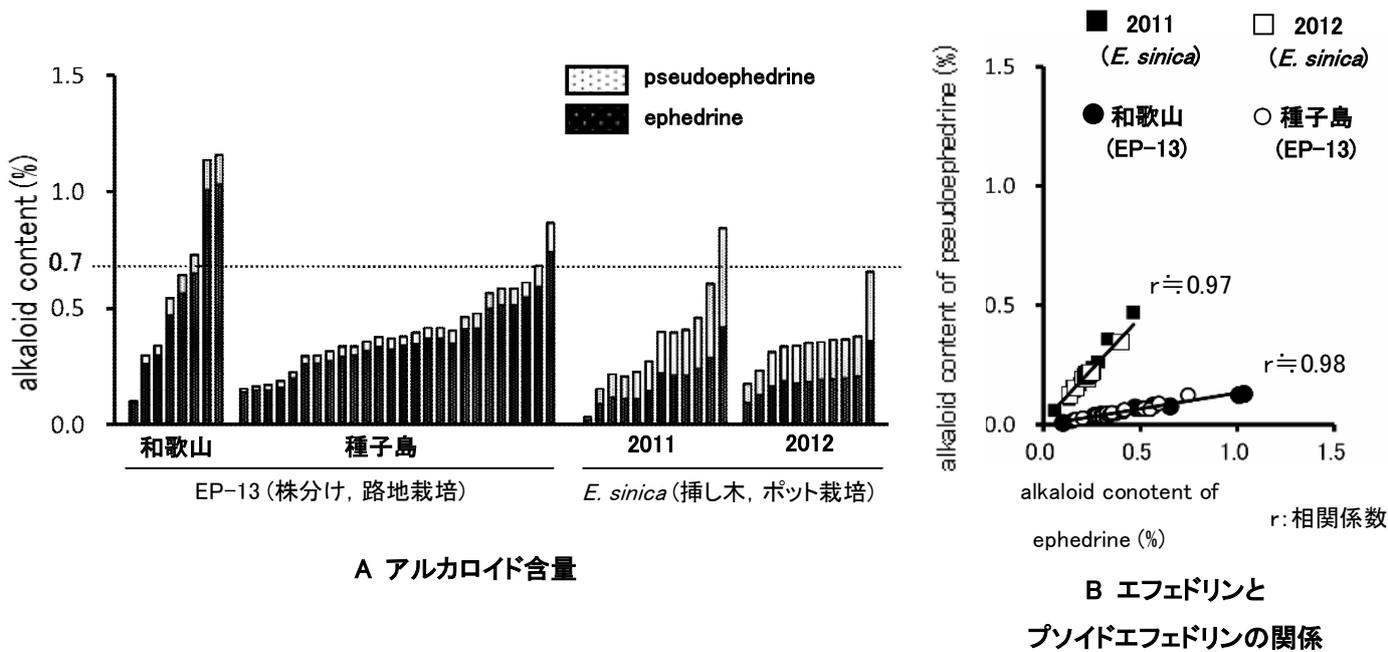
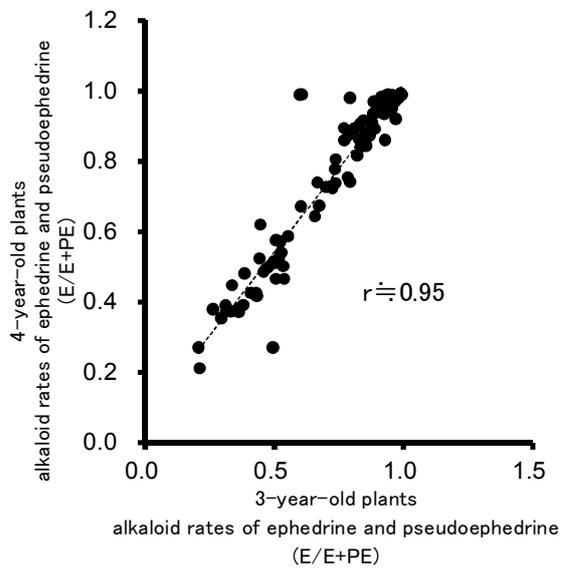
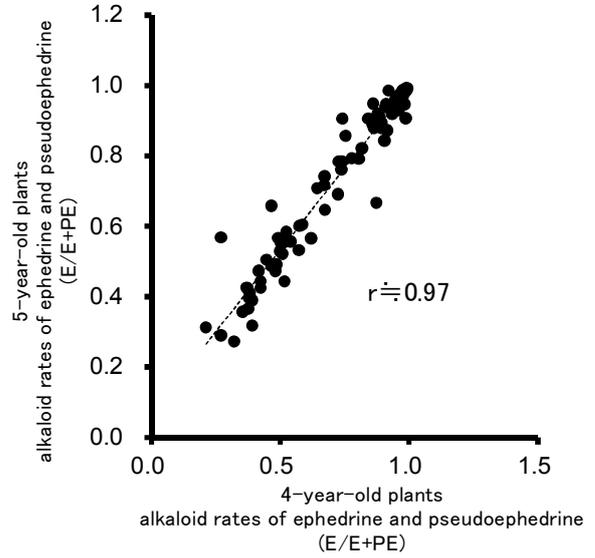


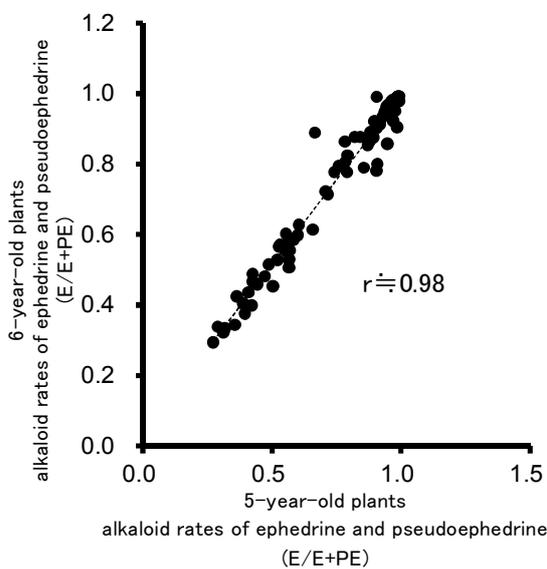
Fig.19 1 個体から増殖した栽培品のアルカロイド含量 (ephedrine 及び pseudoephedrine) 及びその組成 (Ep-13 及び *Ephedra sinica*)



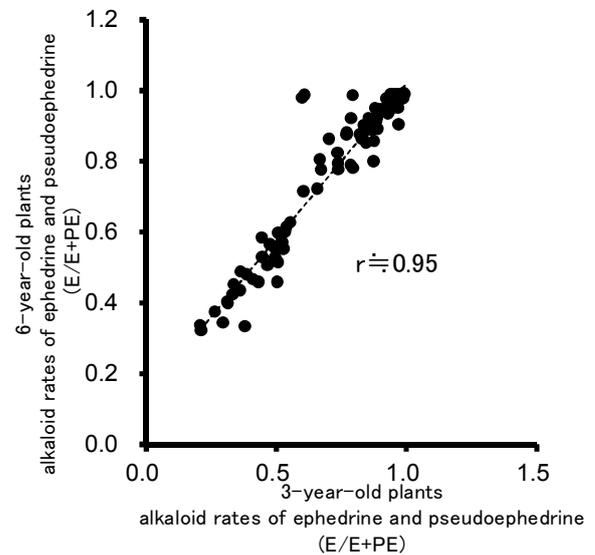
A (3年生と4年生)



B (4年生と5年生)



C (5年生と6年生)



D (3年生と6年生)

Fig.20 金沢大学薬草園で4年間栽培した *Ephedra sinica* のアルカロイド組成 (ephedrine 及び pseudoephedrine) の経年変化

第2節 高含量種苗(株 No.533)のアルカロイド含量の推移

平山らが行なった希釈人工海水の試験⁵⁴⁾に用いた株は継続して栽培をしており、この試験でアルカロイド含量が高かった個体は、高含量種苗として保存・育成を行っている。しかし、第1節の考察に記述したように、経年変化で年々E組成比が増加する傾向があった。データ数は少ないが、前述の試験結果を補足する結果を得たため、参考として述べる。

【試験材料】

株 No.533 (希釈人工海水の試験で、生育4年目(2008年)に最も含量が高かった個体)

【結果及び考察】

結果を Table 5 に示した。

アルカロイド含量 (E+PE) は、2008年の1.48%をピークに減少し、2011年には0.25%にまで低下した。アルカロイド組成 (E/E+PE) が年々上昇する現象も2011年まで認められ、0.67から0.82まで変動した。試験では定期的(1年間に4月と7月の2回)に置肥(プロミックス遅効きタイプ中粒(ハイポネックスジャパン, N:P:K=8:8:8)を施用していたが⁵⁴⁾、土壌中の栄養が不足していた可能性が考えられ、2012年には夏期に草質茎の黄変が認められた。2013年3月に植替えを行なった後のアルカロイド含量 (E+PE) は0.87%、アルカロイド組成 (E/E+PE) は0.69で2007年度の水準に戻った。つまりアルカロイド組成比はどのような場合でも一定ということではなく、生育状態に影響を及ぼすほど生育環境や栄養条件が極端な場合では大きく変動をする可能性が示唆された。

Table 5 アルカロイド含量及び組成の経年変化(株 No.533)

生育年数	年度	アルカロイド含量(%)			アルカロイド組成	アルカロイド組成比
		E	PE	E+PE	E/E+PE	E/PE
3	2007	0.93	0.46	1.40	0.67	2.01
4	2008	1.09	0.39	1.48	0.74	2.83
5	2009	0.56	0.15	0.71	0.78	3.64
6	2010	0.39	0.09	0.49	0.81	4.15
7	2011	0.21	0.05	0.25	0.82	4.49
8	2012	—	—	—	—	—
9(1)	2013	0.60	0.27	0.87	0.69	2.25

2013年度の株は3月に鉢を植替え。

結論及び考察

- 中国の市場品（薬局・集荷業者）37サンプルのうち蜜麻黄5サンプルを除き、2010年版の中国薬典の含量規格（E+PE \geq 0.8%）を満たすサンプルの割合は87.5%（28/32サンプル）であり、2005年版の含量規格（E+PE \geq 1.0%）を満たすサンプルの割合は68.8%（22/32サンプル）であった。市場中には0.8~1.0%のものが比較的多く流通しているものと推察される（第1章）。
- 中国内蒙古東部（特に通遼市）は、資源保護の取組みを行なっており、比較的資源が豊富な産地もあった。一方甘肅省環県では開墾できなかった場所に残存したマオウ属植物しか確認することができなかった。新疆の*E. equisetina*は野生では主に瓦礫質土壤に自生していたが、博楽市の圃場で*E. equisetina*が栽培されており、生育も良好であった（第2章 第1節）。野生では崖や急峻な丘の上の岩場など採取が困難な場所に生育している個体が多かった原因として、根頭部が家畜などによる食害を受け難いことから、枯死せずに残存している可能性が高いものと考えられる。
- アルカロイド組成比については、同じ産地で採取した個体であっても個体ごとの差が大きく、一方甘肅省環県では明らかに異なる環境下（雑草がほとんど無い傾斜地、傾斜地に隣接し雑草が多い台地）において、パターンが同じ個体が認められた（第2章 第2節）。このことから、環境以外の要因が強く関わっている可能性が示唆され、単一個体の野生品（過去に採取した本学所蔵標本）、単一個体をクローンで増殖した栽培品のE及びPEについてアルカロイド組成比の比較を行った。その結果、栽培地、栽培条件が異なってもE及びPE含量の間に強い正の直線性が認められた（第3章 第1節）。即ちアルカロイド組成比は、環境や生育年数ではなく遺伝的要因に強く影響を受けていることが明らかとなり、遺伝的に同じ個体を安定して入手することができれば、アルカロイド組成比が安定した麻黄を安定して入手することが可能であることが分かった。しかし、野生では単一の個体を由来とするマオウを継続して入手することは困難である。河北省の雄株のみの自生地は広面積であったが、極めて稀有な例である。根茎でつながった同一個体については、地上から判断をすることは困難である。このため、目的とするアルカロイド組成比の種苗を安定して入手するためには、株分け、挿し木、組織培養などの無性繁殖による栽培化をすることが最も適した手段であると考えられる。また平山らが指摘しているように、栽培年数が5年以上の個体において、年々アルカロイド含量の減少とE

組成比の上昇が継続して認められた⁵⁴⁾。マオウ属植物の栽培において、地下部を残して収穫することで継続して地上部を収穫することが可能なことは大きな利点であるが、継続栽培により、アルカロイド含量や組成比が変動するようであれば、定期的に植替えなどを行なう必要がある。本研究において、1個体についての結果であるが、植替えを行ったことにより、アルカロイド含量 (E+PE) 及びE組成比は試験開始の水準に戻った (第3章 第2節)。このことからアルカロイド組成比は、ほぼ遺伝的要因に影響しているが、栽培環境によっても変動する可能性が示唆されたが、結論を出すためにはサンプル数が少ないため、更なる調査が必要である。また本研究は鉢植え栽培の結果であったが、露地栽培でも同様であるのかを調査する必要もある。

- アルカロイド含量について、産地ごとに平均値を算出して比較すると、NE, NPE 及び ME 含量は、E 及び PE 含量と比較して著しく低かった (第2章)。そのためアルカロイド含量を対象として、産地ごとに評価する場合であれば、E 及び PE の含量による評価でほぼ充分であると考えられ、同様の見解は既に神谷らによって述べられている⁵⁶⁾。しかし個体ごとに比較をすると、NE, NPE 又は ME 組成比が高い個体が各地に散在しており、甘肅省環県、新疆和田市、新疆青河県では、NPE 比率が 60%以上の個体が認められた (第2章 第2節~4節)。これらについては生育環境や内部形態について一定の傾向は認められず、甘肅省環県では NPE 含量が低い個体も同所的に自生していた (第2章 第4節)。つまり、NPE 組成比が高かった原因は、環境要因や生育年数ではなく個体の特徴であることが示唆された。NPE に特有の薬理作用として、インスリン様作用⁵⁷⁾、ラットの肺細胞 β -アドレナリンレセプターの阻害作用⁵⁸⁾が報告されている。このような個体を種苗として活用するためには、NPE 組成比についても、クローン株として増殖することで組成比が一定であることを示す必要があるが、本研究では調査しておらず、今後の課題である。
- 本研究では NPE 含量が高かった個体、雌毬果の形態が特徴的であった個体、アルカロイドをほとんど含んでいなかった個体を採取し、いずれも外部形態から *E. intermedia* と同定したが、内部形態だけでは *E. intermedia* ではなく他の種と判定できる個体もあった。本研究では核 DNA の ITS1 領域において、*E. intermedia* (Gene bank における登録 No.AY394070) と配列が一致し、他の種との交雑の痕跡は認められなかったが、核 DNA の 18SrRNA、葉緑体 DNA の trn K など他の領域³⁰⁾についても、精査が必要と考える。また *E. intermedia* については、*E. sinica*, *E. equisetina* などと比較すると分布域が広く¹⁶⁾、核 DNA の ITS-1 領域の配列についても、これまでに3つの異型が報告されてい

る⁴⁹⁾。本種の分類についてはさらなる研究が必要と考える。

- ・ 同じ圃場で栽培したクローン株のアルカロイド含量 (E+PE) において、10 倍以上の差が認められた (第 3 章)。生育の差 (草質茎の太さや長さ) が関わっている可能性が考えられるが、原因の解明には更なる研究が必要である。全ての個体ではなく、平均的に高含量の麻黄を栽培する方法として、本研究から以下の 2 つの方針が挙げられる。1 つは、産地調査の結果、*E. equisetina* のアルカロイド含量 (E+PE) が *E. sinica* 及び *E. intermedia* よりも含量が高い傾向が認められたため、本種の活用についても検討の余地があると考えられる。(第 2 章 第 2 節)。もう 1 つは低含量となる要因を排除することが挙げられる。新疆阿勒泰市 (XA2) ではアルカロイド含量 (E+PE+NE+NPE+ME) が顕著に低い個体が岩場に集中していた (第 2 章 第 3 節)。土の量が少ない岩場は、ポットでの継続栽培と類似した環境と言える。ポットでの継続栽培において、アルカロイド含量 (E+PE) が年々減少する傾向が認められた (第 3 章第 2 節) こととあわせて考察すると、根詰まりや栄養不足による生育不良が発生しやすい環境下ではアルカロイド含量が低くなる可能性が考えられる。つまり、圃場の硬化による酸素不足を抑制するため、植替えや中耕を継続して行なうことや、肥料の種類や量を調節することで、低含量となる可能性を抑制できる可能性がある。

結語

本研究において、著者らは市場品、野生品、栽培品のマオウについて多数のサンプルを解析し、マオウ属植物のアルカロイド組成比について、遺伝的要因が極めて大きいことを示した。序論で示したように、医薬品は常に安定した品質のものであることが要求される。薬効に影響すると考えられるアルカロイド組成比が、ほぼ安定したものを栽培によって得ることができる可能性を示した本新知見は、麻黄の品質安定化と栽培化の推進において、大きな意義があると考えられる。また、これまで麻黄中のアルカロイドとしてはE及びPEだけが評価されてきたが、NPE高含量の個体など他のアルカロイド組成比が特徴的な個体を複数の産地で確認できた。このような個体は報告例が少ないことから、ほとんど着目されていなかったが、麻黄を正しく使うためには、例外的な存在も評価していくことが、今後は必要になっていくものと考えられる。

以上の結果が今後の麻黄の原料供給、ひいては漢方薬の推進における一助となれば幸いである。

実験方法

1. エフェドリン系アルカロイド5種 (E, PE, NE, NPE 及びME) 含量の定量

〈試料溶液調製法〉

本品の粉末約 0.3g を精密に量り、薄めたメタノール(1→2)15mL を加え、20 分間振とうした後、遠心分離し、上澄液を分取した。残留物は薄めたメタノール(1→2)15mL ずつを用いて更にこの操作を 2 回行った。全抽出液を合わせ、薄めたメタノール(1→2)を加えて正確に 50mL とし、試料溶液とした。

〈標準溶液調製法〉

塩酸エフェドリン標準品、塩酸プソイドエフェドリン標準品、塩酸メチルエフェドリン標準品及び塩酸ノルエフェドリン標準品 (いずれも和光純薬工業より購入) 約 0.05g ずつを精密に量り、薄めたメタノール(1→2)を加えて溶かし正確に 20mL とし、この液 1mL を正確にとり、薄めたメタノール(1→2)を加えて正確に 50mL とし標準溶液①とする

塩酸ノルプソイドエフェドリン標準品 (塩酸ノルエフェドリンからの合成品、クラシエ製薬所蔵) 約 0.01g を精密に量り、薄めたメタノール(1→2)を加えて正確に 20mL とし、この液 1mL を正確にとり、薄めたメタノール(1→2)を加えて正確に 10mL とし標準溶液②とする。

〈HPLC 条件〉

カラム : YMC-ODS A-312 (6.0mmI.D×150mm, 粒子径 5 μ m)

移動相 : SDS 水溶液(注 1)／アセトニトリル／リン酸混液 (640:360:1)

カラム温度 : 40°C, 注入量 : 10 μ L, 流速 : 1.0mL/min, 測定波長 : 210nm

(注 1)ラウリル硫酸ナトリウム(SDS)5.0g を蒸留水 640mL に溶解したもの。

2. 内部形態の観察

草質茎の節間中央部を取り切り、常法により切片を作製した。得られた切片はオードジヤベルで漂白処理後、光学顕微鏡で観察し、皮層部および髄内に存在する繊維の計数を行った。また、本研究では節間の生長度を揃えるために、各維管束間の二次木部が 1~6 細胞層からなる節間を 1 株から 3 本抽出して観察した。

観察項目は以下の 6 点 (①横切面の長径, 短径, ②クチクラ層の有無, ③表皮下繊維群数, ④皮層繊維群数, ⑤髄内繊維群数, ⑥シュウ酸カルシウムの多寡) である。

横切面の一部が欠損した個体については、以下の方法で数値を記録した。長径及び短径については、残存した部位から推定できる長さを記録した。繊維群数（表皮下，皮層，髓内）については、欠損が少なく，最大数が推定できるものについては●<X<※（●：計測可能であった繊維群の数，※：10～，10個単位）と記録した。欠損が多く，最大数が推定できないものについては※の数値を省略し，●<X<と記録した。シュウ酸カルシウムの多寡については，偏光下の観察で皮層部繊維群の観察が困難なものを多，観察可能なものを中，観察が容易であるものを少とした。Fig.21 に示したようにシュウ酸カルシウムが顕著に多く，皮層の繊維群数が計測困難であった個体については，屋川らの報告⁵⁹⁾を参考にし，濃塩酸処理後に計測を行なった。

今回内部形態の観察を行なった種の特徴は，以下の Table 6 に示した通りである。

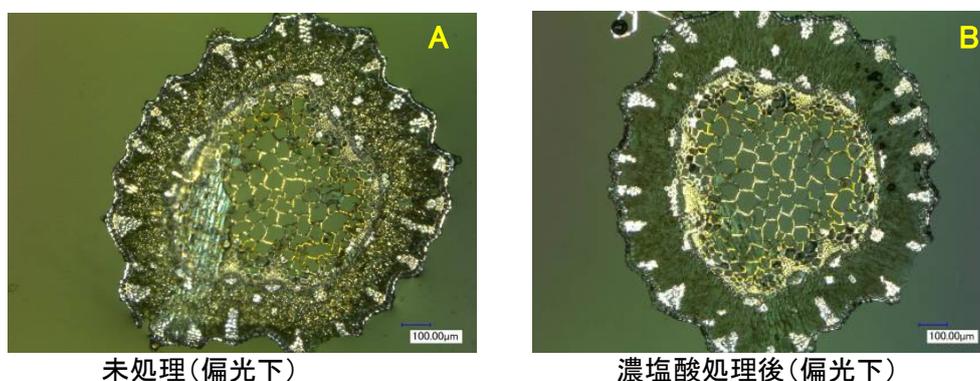


Fig.21 *Ephedra* 属植物のシュウ酸カルシウムの結晶

Table 6 書籍に記載された種に特徴的な組織(内部形態)

種	クチクラ瘤	皮層繊維群数	髓内繊維群数	シュウ酸カルシウム
<i>E.sinica</i>	有	少	少	少
<i>E.intermedia</i>	有	多	多	多
<i>E.equisetina</i>	無	少	しばしば有る	多
<i>E.przewalskii</i>	不規則で小さい	多	多	多
<i>E.lomatolepis</i>	有るが小さい	多	少	少
<i>E.intermedia</i> var. <i>tibetica</i>	有	しばしば有る	多	少

『常用中薬材品種整理和質量研究』⁴⁶⁾を参考にした。

3. DNA 解析

〈試料溶液調製法〉

植物試料20～50 mgを細く切り，液体窒素で凍結させて粉碎器にかけ，得られた粉末を DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN)を用い，同キットのプロトコールに従い抽出を行なった。

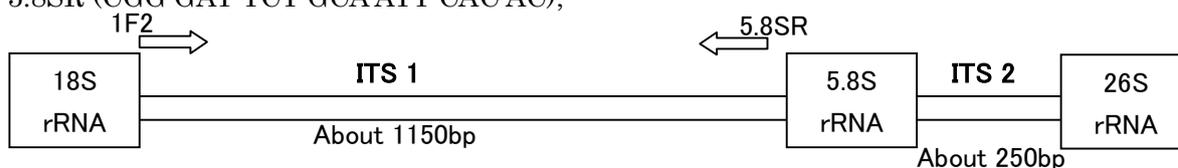
〈PCR〉

ITS1, trn L/F 領域の増幅は PCR 法により行なった。反応溶液は，10×PCR buffer for KOD-Plus(2.5 μ L)，dNTP を各0.2 mM(2.5 μ L)，MgSO₄ 1.0mM(1.0 μ L)，foreward primer 0.4mM(0.5 μ L)，reverse primer 0.4mM(0.5 μ L)，全DNA を約100-120ng及び 0.5units of KOD-Plus DNAPolymerase (Toyobo)で全量を25 μ L とした。

使用した primer セット (foreword / reverse) を以下に示す。

ITS1 : Eph-1F2 (ACG TCG CGA GAA GTT CAT TG)

5.8SR (CGG GAT TCT GCA ATT CAC AC)，



trn L/F : Aco1F (CGA AAR CGG TAG ACG CTA CG)

Aco2R (ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG)

また，反応プログラムは以下の方法で行なった。94℃ 2 分のホットスタートに次いで，熱変性 94℃ 15 秒，アニーリング 55℃ 30 秒，伸長反応 68℃ 45 秒，を 30 サイクル行なった後，68℃ 5 分，終了後 4℃で保持した。PCR 産物 3 μ L を 1.5 % のアガロースゲルを用いて電気泳動し，増幅を確認した。残りの産物を QIA quick PCR Purification Kit (QIAGEN) により精製した。

〈PCR反応〉

精製したPCR 産物はBig Dye Terminator Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems)を用いて反応させた。反応溶液は，PCR 産物20 ng， primer 1 μ L，Big Dye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems) 1 μ Lで全量10 μ L とした。使用したprimerは 3.2 μ M のEph-1F2, Eph-A (GCG GGG ACG TGG ACG GTC TT), Eph-D (CCC TTC CCC GTG TAA CAC GC), Eph-ohk3 (GAA AGG AAA TAG CGC CGG TC), Eph-5.8SRである。使用したプログラムを以下に示す。96℃ 2 分のホットスタートに次いで，96℃ 10 秒，50℃ 5 秒，60℃ 4 分を 25サイクル行なった後 4℃で保持した。産物を精製し，ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いて塩基配列を決定した。また，多重整列解析は DNASIS version 3.0 software (Hitachi) を用いて行なった。

葉緑体 *trn* L/F領域

(*E. sinica*に特徴的な配列がある)

	1~452	461	462	463	464	465	466	467	468	...	506	507	508
<i>E. sinica</i>	*	C	G	T	T	A	C	C	G	...	T	/	/
<i>E. intermedia</i>	*	*	*	T	G	T	T	A	C	...	A	T	T

E. sinica: AY423431

E. intermedia: AY423430

核ITS1領域

(*E. equisetina*に特徴的な配列がある)

	83	96	97	139	145	181	217	269	393	396	401	402	403	472	478
<i>E. equisetina</i>	A	T	G	G	-	C	C	T	C	A	-	-	-	C	C
<i>E. intermedia</i>	T	A	A	T	G	T	T	C	A	T	A	A	A	T	T

	511	538	548	567	583	762	773	784	797	800	801	802	803	810	817
<i>E. equisetina</i>	C	G	A	C	T	T	-	T	C	-	-	-	-	A	-
<i>E. intermedia</i>	T	A	C	A	A	C	C	C	T	T	T	G	C	C	C

830~1143:解析不能

E. equisetina: GU968572

E. intermedia: AY394070

Fig.22 *Ephedra*属植物の鑑別に関わる塩基配列

引用文献

- 1) Stanley Caveney, David A. Charlet, Helmut Freitag, Maria Maier-Stolte and Alvin N. Starratt, New observations on the secondary chemistry of world *Ephedra* (Ephedraceae), *Am. J. Bot.* **88**(7), 1199-1208 (2001).
- 2) 日漢協資料原料生薬使用量等調査報告書—平成20年度の使用量— (平成23年7月15日), 日本漢方生薬製剤協会 生薬委員会
- 3) <http://www.nikkankyo.org/aboutus/investigation/investigation03.html> (2011).
- 4) Masayuki Mikage and Nobuko Kakiuchi, The recent situation of the resources of Chinese crude drug Ma-huang, *Ephedra* Herba, *J. Trad Med.* **22**(suppl.1), 61-69(2005).
- 5) 中華人民共和国中央人民政府ホームページ 法令法規
- 6) http://www.gov.cn/flfg/2006-10/19/content_417322.htm
- 7) 厚生労働省 エフェドラ情報<http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/jirei/ephedra.html>
- 8) 中華人民共和国中央人民政府ホームページ 今日中国
- 9) http://www.gov.cn/jrzg/2013-06/26/content_2434985.htm
- 10) 厚生労働省, 『第16改正日本薬局方』, 1589(2011).
- 11) a: 日本公定書協会監修, 『第14改正日本薬局方解説書 医薬品各条生薬等』, D-412~D-415, 廣川書店, 東京 (2001). b: D-1090~D-1094
- 12) 日本公定書協会監修, 『第15改正日本薬局方解説書 医薬品各条生薬等』, D-273~D-277, 廣川書店, 東京(2006).
- 13) 中国科学院昆明植物研究所 編, 『雲南中草薬選 続集』, 158, 昆明 (1978).
- 14) 国家薬典委員会編, 中華人民共和国薬典2010年版一部, 300, 化学工業出版社, 北京 (2010).
- 15) 国家薬典委員会編, 中華人民共和国薬典2000年版一部, 262, 化学工業出版社, 北京 (2000).
- 16) 国家薬典委員会編, 中華人民共和国薬典2005年版一部, 223, 化学工業出版社, 北京 (2005).
- 17) 田中俊弘, 大場幸次, 川原一仁, 酒井英二, 市場品麻黄各種の成分組成の比較: エフェドリン系アルカロイドについて, *生薬学雑誌*, **49**(4), 418-424 (1995).
- 18) 梶村計志, 岩本嗣, 山崎勝弘, 坂上吉一, 横山浩, 米田該典, *Ephedra distachya*の成長とエフェドリン系アルカロイド含量の変動, *生薬学雑誌*, **48**(2), 122-125 (1994).
- 19) 傅徳志, 陳潭清, 郎楷永, 洪涛 主編, 『中国高等植物 第3巻』, 112-118, 青島出版社, 青島 (2000).
- 20) 趙汝能 主編, 『甘肅中草薬資源志 下編』, 586, 甘肅科学技術出版社, 蘭州 (2007).
- 21) Changfeng Long, Nobuko Kakiuchi, Guoyue Zhong, Masayuki Mikage, Survey on Resources of *Ephedra* Plants in Xinjiang, *Biol. Pharm. Bull.*, **28**(2):285-288(2005).
- 22) 新疆植物志編委会, 『新疆植物志 第1巻』, 87-108, 新疆科技衛生出版社, 烏魯木齊 (1993).
- 23) 析本天海堂編, 『析本天海堂創立60周年記念誌』, 448~456, 東京 (2010). 内容の一部は http://metabolomics.jp/wiki/Tochimoto:Ephedrae_Herbaに公開.

- 24) 劉曠, 石倩, 楊洋, 李若洁, 朱元元, 白鋼, 麻黄碱与偽麻黄碱平喘効果及機制比較研究, *中草藥*, **40**(5), 771-774 (2009) .
- 25) Hughes D T D (Wellcome, UK), Laitinen L A, Empey D W, Bye C, Britton M G, McDonnell K, A comparison of the bronchodilator action of pseudoephedrine and ephedrine in patients with reversible airway obstruction. *Eur J Clin Pharmacol* , **23**(2), 107-109 (1982).
- 26) Kazumi Akiba, Atsushi Miyamoto, Tomoharu Suzuki, Ken Anezaki, Takeshi Tadano, Shinobu Sakurada and Kensuke Kisara, Effects of d-pseudoephedrine on tracheo-bronchial muscle and the cardiovascular system. *Folia pharmacol. japon* , **75**(4), 383-390 (1979).
- 27) Hiroshi Hikino, Chohachi Konno, Hiroshi Takata and Mitsuru Tamada, Antiinflammatory Principle of *Ephedra* Herbs, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**(10), 2900-2904(1980).
- 28) 張建生, 田珍, 楼之岑, 十二種国産麻黄の品質評価, *薬学学報*, **24**(12), 937-948 (1989).
- 29) Chiaki Nagase, The Effect of Chinese Herbal Medicine ; Dokkatsu-Kakkon-To (Chinese Name: Du-Huo-Ge-Gen-Tang) ; on the Symptom of Shoulder Stiffness, *Clinical Report* , **30**, 633-643(1996).
- 30) Ying-mei Liu, Shuenn-Jyi Sheu, Shiow-Hua Chiou, Hsien-Chang Chang, Yuh-Pan Chen, A comparative Study on Commercial Samples of *Ephedrae* Herba, *Planta Med* , **59**, 376-378(1993).
- 31) 日本防菌防黴学会編, 『21世紀の生薬・漢方製剤』, 87-88, 繊維社, 大阪(1999).
- 32) Li-Li Wang, Nobuko Kakiuchi, Masayuki Mikage, Studies of *Ephedra* Plants in Asia. Part 6: Geographical changes of anatomical features and alkaloids content of *Ephedra sinica*, *J Nat Med*, **64**, 63-69 (2010).
- 33) Yuki Kitani, Shu Zhu, Takayuki Omote, Ken Tanaka, Javzan Batkhuu, Chinbat Sanchir, Hirotooshi Fushimi, Masayuki Mikage, Katsuko Komatsu , Molecular Analysis and Chemical Evaluation of *Ephedra* Plants in Mongolia, *Biol. Pharma. Bull.*, **32**(7), 1235-1243(2009).
- 34) 相田由美子, はちみつの組成基準と試験法, *食品衛生誌*, **49**, 9-12(2008).
- 35) Masayuki Mikage, Naoko Kondo, Michiyo Yoshimitsu, Ikumi Nakajima and Shao-qing Cai, Studies of *Ephedra* Plants in Asia. Part 2. On the Current situation of the Cultivation of *Ephedra* Plants in China, *Nat. Med.*, **58**(6), 312-320(2004).
- 36) 森岡一, 『生物遺伝資源のゆくえ 知的財産制度からみた生物多様性条約』, 49, 三和書籍, 東京 (2009).
- 37) 中国科学院中国植物誌編集委員会編, 『中国植物誌 第7巻』, 468~489, 科学出版社, 北京 (2000).
- 38) 劉国鈞 編著, 『薬用動植物種養加工技術 麻黄』, 中国中医薬出版社, 北京 (2001).
- 39) 安藤広和, 松本昌士, Allain Nathalie, Coskun Maksut, Yilmaz Turgut, 御影雅幸, *Ephedra equisetina*並びにその関連種のDNA及びアルカロイド解析, 日本薬学会第133年会 (横浜), 講演要旨集, 29pmA-38 (2013).

- 40) 倪 斯然, 松本昌士, 下山祐依, N. Allain, M. Coşkun, T. Yilmaz, 御影雅幸, *Ephedra distachya* の組織学的, 化学的, 分子遺伝学的研究, 植物研究雑誌, **88**, 144-155 (2013).
- 41) Masayuki Mikage, Akira Takahashi, Hu-Biao Chen, Quan-Song Li, Studies of *Ephedra* Plants in Asia. Part 1. On the Resources of *Ephedra* Plants in China, *Natural Medicines*, **57** (5), pp.202-208, (2003).
- 42) Masayuki Mikage, Hao Hong, Xiaoqing Cai: Studies of *Ephedra* Plants in Asia. Part 5, The herbivory damage to *Ephedra* plants by livestock, *J. Trad. Med.*, **25**(4), 108-111 (2008).
- 43) 程大敦, 郭平, 趙俊, 内蒙草麻黄中生物碱的動態研究, *中国薬科大学学報* **23**(2), 82-87 (1992).
- 44) 劉珊, 郭東清, 賈雲峰, 光照对麻黄生長發育及生物碱産量的影響. *中藥材*, **22**(5), 221-222(1995).
- 45) Hao Hong, Hu-Biao Chen, Dong-Hui Yang, Ming-Ying Shang, Xuan Wang, Shao-Qing Cai, Masayuki Mikage, Comparison of contents of five ephedrine alkaloids in three official origins of *Ephedra* Herb in China by high-performance liquid chromatography, *J. Nat. Med.*, **65**, 623-628 (2011).
- 46) 川谷豊彦, 藤田早苗之助, 大野忠郎, 久保木憲人, 星崎和子, 春日部において栽培された若干の麻黄のアルカロイド含有量について, *薬学雑誌*, **79**(3), 392-393(1959).
- 47) GC LaBrecque et.al., Laboratory tests with sixty-five compounds as repellents against house flies, *The Florida Entomologist*, **42**(4), 175-177 (1959).
- 48) H.Z. Levinson, The defensive role of alkaloids in insect and Plants, *Experientia*, **32**(4), 408-411 (1976).
- 49) 楼之苓, 秦波 主編, 『常用中藥材品種整理和質量研究』, 39-121, 北京医科大学・中国協和医科大学連合出版社, 北京 (1995).
- 50) 上海科学技術出版社・小学館 編, 『中藥大辞典 第4巻』, 2441-2445, 小学館, 東京 (1985).
- 51) Naoko Fushimi, Lili Wang, Shunsuke Ebisui, Shaoqing Cai, Masayuki Mikage, Studies of *Ephedra* Plants in Asia. Part 4. Morphological differences between *Ephedra sinica* Stapf and *E. intermedia* Schrenk et C.A.Meyer, and the botanical origin of Ma-huang produced in Qinghai Province, *J. Trad. Med.*, **25**(3), 61-66(2008).
- 52) Nobuko Kakiuchi, Masayuki Mikage, Stefanie Ickert-Bon, Maria Maier-Stolte, Helmut Freitag, A molecular phylogenetic study of the *Ephedra distachya* / *E. sinica* complex in Eurasia, *Willdenowia*, **41**, 203-215 (2011).
- 53) Ai Inoko, Nobuko Kakiuchi, Michiyo Yoshimitsu, Shaoqing Cai and Masayuki Mikage, *Ephedra* Resource in Sichuan and Yunnan Provinces 2007, *Biol. Pharm. Bull.*, **32**(9), 1621-1623 (2009).
- 54) R.R. Askew, J. Blasco-Zumeta, Insects associated with galls of a new species of Eurytomidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) on *Ephedra nebrodensis* in Spain, *Journal of Natural History*, **32**(6), 805-821 (1998).

- 55) Masayuki Mikage , Naoko Kondo, Michiyo Yoshimitsu, Ikumi Nakajima, Shao-qing Cai, Studies of *Ephedra* Plants in Asia. Part 2. On the Current Situation of the Cultivation of *Ephedra* Plants in China, *Natural Medicines*, 58 (6), 312-320(2004).
- 56) 中薬材規範化種植（養殖）技術指南編委会, 『中薬材規範化種植（養殖）技術指南』, 840-849, 中国農業出版社, 北京（2006）.
- 57) 平山学, 『漢方生薬「麻黄」の高品質化及び種苗生産に関する栽培研究』, 修士論文, 金沢大学大学院自然科学研究科（博士前期課程）生命薬学専攻（2010）.
- 58) 栽培と品質評価指針作成検討委員会（座長：佐竹元吉）, 『薬用植物 栽培と品質評価 Part 9』, 薬事日報社, 東京, pp.69-78（2000）.
- 59) 神谷秀樹, 漢方エキスの指標成分の定量（その4）, 第22回生薬分析シンポジウム講演要旨集, 41-53（1993）.
- 60) 高久武司, 蔣明, 奥田拓道, 前田信治, 麻黄中のインスリン様物質の単離とその生理作用について, *和漢医薬学雑誌*, 14, 358-359（1997）.
- 61) 江明華, 劉璐, 王薔, 占偉祥, 麻黄碱及其類似物对大鼠肺細胞膜 β 腎上腺素受体的作用, *中国薬理学報*. 8(4), 318-320（1987）.
- 62) 屋川玄児, 藤井正也, 植物葉の低温灰化像におけるシュウ酸カルシウムの観察, *香川大学農学部学術報告*, 29(61), 91-98（1977）.

謝辞

本研究は金沢大学自然科学研究科医薬保健学域薬学類 御影雅幸教授の御指導のもとに着手し、終始懇篤なる指導を賜りました。ここに深甚なる謝意を表します。

なお、本研究を遂行するにあたり、クラシエ製薬株式会社漢方研究所長 大窪敏樹氏の深い御理解と御協力の下に行なわれました。厚く御礼申し上げます。

北京大学薬学院の蔡少青教授、佐々木陽平准教授には 2013 年の新疆での調査において、三宅克典助教授には成分解析、2012 年の新疆での調査において御協力を賜りました。厚く御礼申し上げます。

DNA の種同定に加え、結果について多大なご助言を賜りました安藤広和氏、新疆での調査において現地での案内、サンプル整理で多大な御協力を賜りましたニルファエル・ムタリフ氏の御両名に厚く御礼を申し上げます。

内蒙古・甘肅省では、四川省成都市の張平氏及び北京大学 陳世忠教授、新疆では内蒙古の白布仁氏の御協力の下、調査を行なうことができました。厚く御礼を申し上げます。

最後に、実験を進める上で様々なご助言、ご協力を賜りました資源生薬学研究室の皆様方、クラシエ製薬株式会社の皆様方に深謝いたします。