

## 生薬・甘草の国内生産を目指して

芝野真喜雄<sup>\*,a</sup>, 尾崎和男<sup>b</sup>

## Aim for Production of Glycyrrhizae Radix in Japan

Makio SHIBANO<sup>\*,a</sup> and Kazuo OZAKI<sup>b</sup><sup>a</sup> Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 4-20-1 Nasahara, Takatsuki, Osaka 569-1094, Japan<sup>b</sup> Kyoto Herbal Garden, Takeda Pharmaceutical Company, Ltd., Ichijoji, Sakyo, Kyoto 606-8134, Japan

(Received October 27, 2010; Accepted November 19, 2010)

We proposed that the novel cultivation method, which was cultivated with *Glycyrrhiza uralensis* Fisher by using a plastic tube (the length: 50-100 cm), could be extremely useful for selection, breeding, and production of pharmaceutically fine strains. And for the purpose of selecting a fine strain for commercial cultivation, seven strains of *Glycyrrhiza uralensis* Fisher were investigated. Glycyrrhizin (GL) content of strain **A-19** cultivated for one year showed 5.04% of dry weight, and in the three-year-old plant, the fresh weight was 154.9 g and GL content was 6.09% of dry weight. Furthermore, strain **G-6** cultivated for three years was growing vigorously, the fresh weight and GL content were 236.7 g and 3.39% of dry weight, respectively. Thus strain **A-19** and **G-6** could be pharmaceutically fine strains for commercial cultivation in Japan. Moreover, a reversed-phase HPLC method for the quantification of liquiritigenin (LIQ), isoliquiritigenin (ISO) and formononetin (FOR) in licorice was developed. The flavonoid contents along with the glycyrrhizin content of cultivated licorice from seedling plants in Japan and commercial wild licorice were investigated. This method could be extremely useful for evaluating the quality of licorice.

**Key words**—*Glycyrrhiza uralensis*; cultivation; glycyrrhizin; liquiritigenin; isoliquiritigenin; formononetin

## 1. はじめに

漢方薬の歴史は古く、現在、国内で使用されている漢方薬の多くは、今から約二千年前に創製されたものである。近年、世界的に各国の伝統医学が見直され、医療先進国の日本においても、非常に多くの人々が漢方薬を必要としており、漢方医学が現代医療のなかで重要な役割を果たしてい

る。この漢方処方（医療用漢方製剤 148 処方、一般用漢方製剤 236 処方）の約 70 % に配合されている生薬が「甘草」であり、様々な処方の効果発現に大きく関与している重要生薬である。即ち、品質の安定した甘草の確保が不可欠であり、甘草の品質低下は漢方薬の約 70 % の品質に影響を与えることになる。

一方、甘草の基原植物はウラルカンゾウ

*Glycyrrhiza uralensis* Fisher およびスペインカンゾウ *G. glabra* Linné の 2 種で、その主成分であるグリチルリチン (GL) はアレルギー性の炎症疾患や慢性肝炎などの治療にも汎用される。これらの基原植物は日本国内に自生しておらず、すべての甘草を中国やモンゴルなどからの野生品の輸入に頼っている (2009 年の年間輸入量は約 1400 t, 1990 年では 6000 t)。しかしながら、近年、中国政府は、砂漠化問題などの環境保護の観点から、固砂作用を有する *Glycyrrhiza* 属植物や *Ephedra* 属植物の野生植物資源の採取、輸出を規制している<sup>1)</sup>。これらの規制が、産出量の減少や品質の変動に大きくつながり、世界的な甘草不足を引き起こしている。今後、これまでの様な価格の安い中国産生薬を安定的に確保することが難しくなるということを十分に認識しなければならない。

以上の背景から、我々は、日本国内でのウラルカンゾウの栽培技術の開発を行うことで、カンゾウ属植物の野生資源枯渇を防止し、2000 年の歴史ある漢方薬を絶やす事無く、2000 年後の未来へ伝えて行くという大きな目標で研究を続けている。

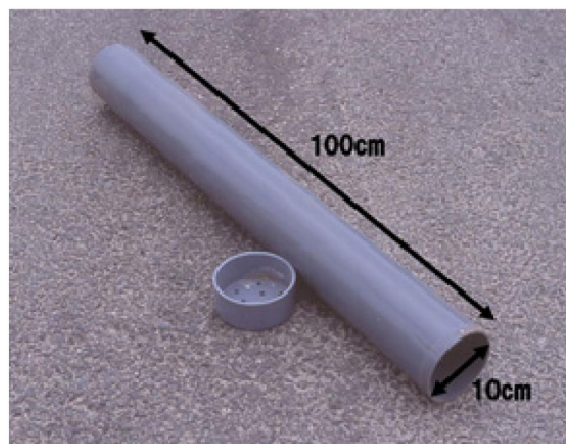


Fig. 1. Cultivation by Using a Plastic Tube

この総説では、最近 5 年間で行った基礎研究を中心に薬用植物栽培に関する多くの問題点や今後の展開について述べたい。

## 2. 栽培法の検討

カンゾウ属植物は、数メートル下の地下水を求めて主根を伸ばし、乾燥地帯でも生育することができる。さらに地表近くをストロンが走り、生育場所を広げる。このような特徴からは、収穫にかなりの労力が必要であると予想できた。そこで、我々は、塩化ビニール製のパイプを用いた筒栽培法 (Fig. 1) で、実験を試みている<sup>2)</sup>。この方法は系統間でのコンタミネーションを防ぎ、生育年数の明確な主根を得ることができるので系統選抜などの実験系での栽培には大変優れている。この総説での栽培は全て筒栽培法を用いた (栽培条件等は文献 2) を参照願いたい)。しかしながら、大規模での栽培にはコスト面や廃パルプ処理など問題点も多い。より工夫された実用栽培法の確立が急務である。



## 3. 優良個体の選抜<sup>3)</sup>

ウラルカンゾウの自生地は中国東北部やモンゴルの乾燥地帯で、平均温度も日本より低い。そこで、国内外の薬用植物園などから種苗交換等で導入したウラルカンゾウの中で生育が国内 (特に大阪、京都) でも良いと考えられた 7 系統について予備栽培実験を行った。これらの形態学および形質的特性を Table 1 にまとめた。これらの系統のうち、2000 年に開花結実した 5 系統より種子を採取し、優良個体調査を行った。調査結果を Table 2 および Fig. 2 に示した。

これらの調査結果からは、私達の優良個体選抜の指標値であった生根重が 200 g 以上で GL 含量が 2.50 % 以上を示すものはなかった。しかし、これまでの蓄積したデータでは、ストロン (走出茎) を用いた苗 (RP) や地上部からの節培養で増殖させた挿し芽苗 (CP) の GL 含量は実生苗 (SP) のそれより高くなるということがわかっている。そこで、指標値に準ずる値を示した 3 個体 (Strains A-19, A-17, G-6) および対照として GL 低含量の 2 個体 (Strains A-16, G-2) を一次選抜し、それらの RP を作製し、検討を行った。これらの 5 個体の 1 年生および 2 年生の地下部の生育量ならび

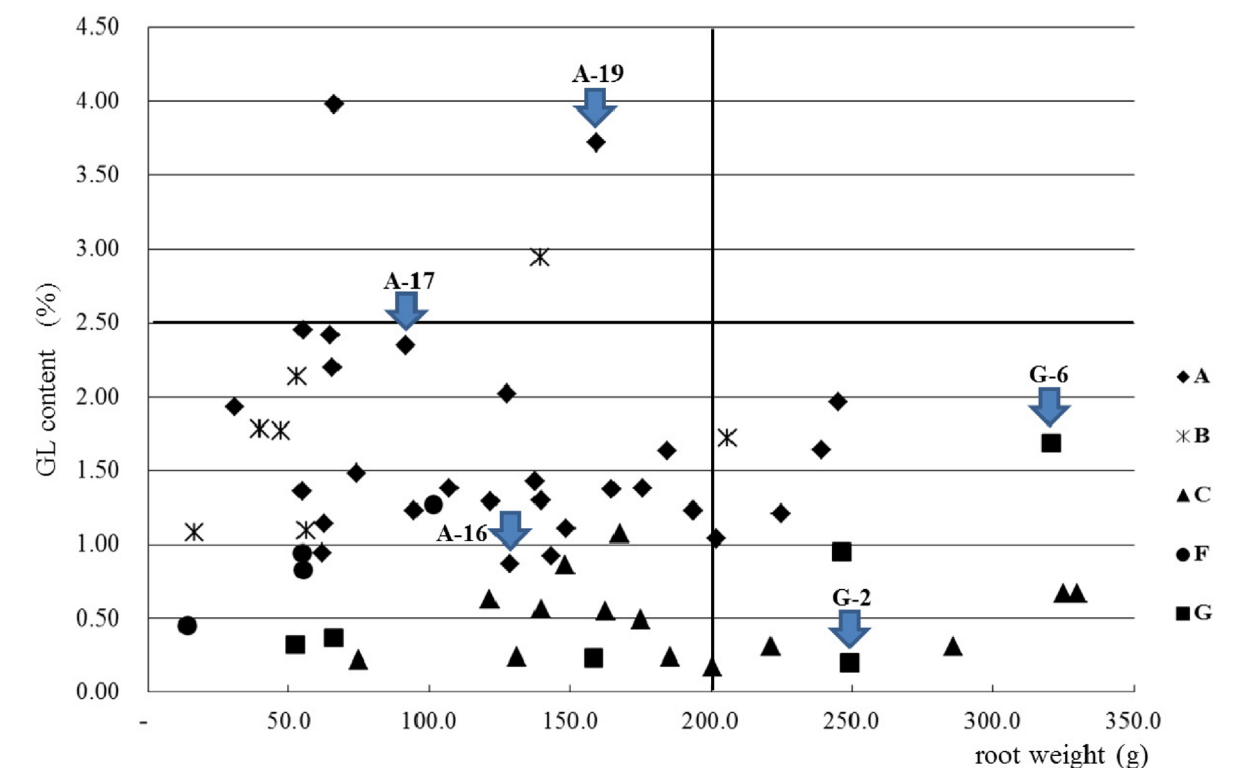


Fig. 2. Relationship Between the Root Weight and Content of Glycyrrhizim in Fifty-nene Biennial Plants

Table 1. Botanical Characteristics of Seven Strains (*Glycyrrhiza uralensis*)

Strain no.	Origin of plant strain	Maxium height (N=5) (cm)	Leaflet (N=33)		Legume(cm)		100 seeds weight (g)
			Length (cm)	Width (cm)	Length	Width	
A	University of Tokyo, Japan	44.4 ± 3.6	5.2 ± 0.1	3.3 ± 0.1	5.9	0.8	1.50
B	Kanzo-Yashiki, Enzan, Japan	25.8 ± 2.8	3.6 ± 0.1	2.4 ± 0.1	3.9	0.9	1.86
C	Hortus Botanicus Insituti Vilar, USSR (Russian strain 1)	74.8 ± 4.6	4.7 ± 0.1	2.3 ± 0.1	4.5	0.5	1.05
D	Shengyang Pharmaceutical University, China	66.4 ± 4.5	3.5 ± 0.1	2.2 ± 0.1	-	-	-
E	Hokkaido Division, Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institute of Biomedical Innovation, Japan	45.4 ± 4.1	3.9 ± 0.1	2.4 ± 0.1	-	-	-
F	Health Sciences University of Hokkaido, Japan	54.8 ± 3.9	3.4 ± 0.1	2.1 ± 0.1	3.8	0.6	1.02
G	Hortus Botanicus Insituti Plantarum Medicinalium Moscow, USSR (Russian strain 2)	50.0 ± 3.5	4.6 ± 0.1	2.3 ± 0.1	3.3	0.5	0.82

Table 2. Comparison of Roots and Contents of Glycyrrhizin in Biennial Plants from Five Strains

Strains	Source material	Number of plantlets	Diameter (cm)		Length of taproots (cm)	Number of lateral roots	Weight (g)		Glycyrrhizin contents(%)
			Rs	R <sub>50</sub>			Fresh	Dry	
A	SP	28	2.1 ± 0.1	1.3 ± 0.1	60.7 ± 2.0	0.8 ± 0.2	127.4 ± 11.5	61.4 ± 5.5	1.68 ± 0.14
B	SP	7	1.5 ± 0.2	0.8 ± 0.1	64.1 ± 1.7	1.6 ± 0.7	79.7 ± 25.5	41.7 ± 13.3	1.79 ± 0.24
C	SP	14	2.7 ± 0.1	1.4 ± 0.1	64.9 ± 4.3	0.8 ± 0.3	190.6 ± 20.4	96.2 ± 10.6	0.50 ± 0.07
F	SP	4	1.7 ± 0.2	0.5 ± 0.1	71.8 ± 2.0	1.3 ± 0.5	56.3 ± 17.8	30.4 ± 9.4	0.87 ± 0.17
G	SP	6	2.6 ± 0.2	1.2 ± 0.3	69.2 ± 1.2	2.0 ± 0.7	182.1 ± 44.2	93.5 ± 22.8	0.63 ± 0.24
SP: seedling plant	Rs: basal root, R <sub>50</sub> : 50cm point from the base of the root						Each value represents the mean ± standard error.		

に GL 含量を調査した結果を Table 3 に示した。これらの結果は 1 次選抜の結果をよく反映していた。即ち、GL 低含量および GL 高含量の個体は、それぞれ個々の性質を維持していた。また、同一個体の SP と RP では、GL 含量に差が認められ、我々の予想どおり、RP で高値になることが確認できた。以上の結果より、優良個体として Strain A-19 および Strain G-6 を選抜することができた。さらに、これら 2 個体の年次経過を 3 年間調査し、優良個体であることを確認した (Table 4)。今後、更なる生産栽培に適した優良系統を見出すためには個体の選抜が不可欠である。

4. 栽培甘草の化学的品質評価<sup>4)</sup>

現在の市場にみられる甘草は、野生品を由来としており、その生育年数も 5 年以上のものが

大半を占めていると予想される。このような中で、国内での栽培は、その採算性から考えて、栽培年数を 2 年とする目標を設定した。そこで、SP を植え付けた後、1 年生および 2 年生の根およびストロンについて化学的品質評価を試みた。

4.1 測定成分

第 15 改正日本薬局方では、甘草の主成分である GL を 2.5 % 以上含まなければならないと規定している。そこで、品質評価には GL 含量調査は絶対不可欠なものである。さらに市場品と栽培甘草の比較が目的であるため、フラボノイド成分についても含量調査を行った。即ち、甘草には Fig. 3 に示したようなフラボノイド配糖体を含有しており、これらが抗酸化活性、抗炎症活性、抗腫瘍活性、発癌抑制活性など多くの薬理活性を示すことが報告されている<sup>5-9)</sup>。しかし、これらのフラボノイドを個々に定量することは非常に困難であ

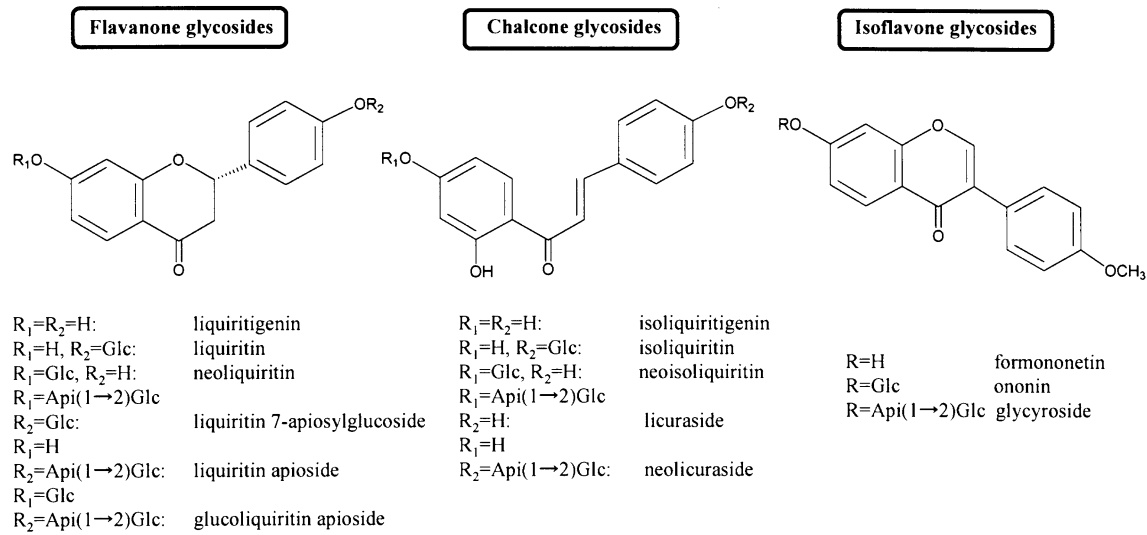


Fig. 3. Structures of the Principal Flavanones, Chalcones and Isoflavone Glycosides from Licorice.



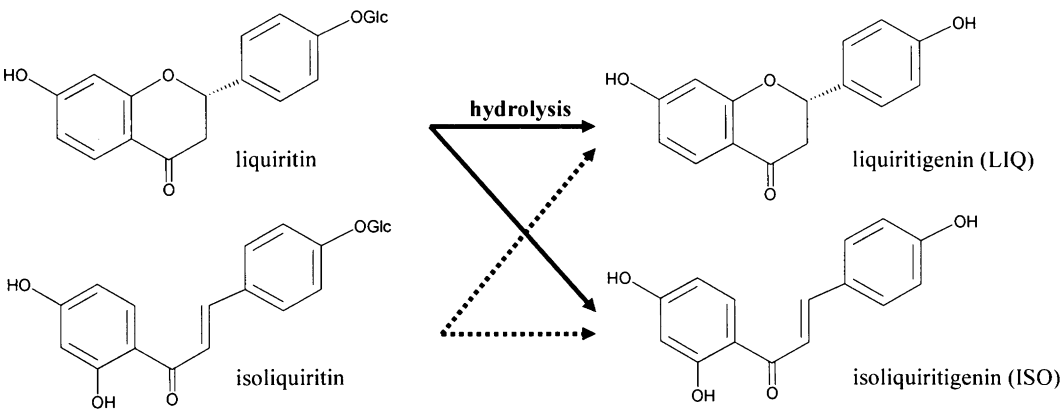


Fig. 4. Acid Hydrolysis of Liquiritin and Isoliquiritin

る。そこで、これらの配糖体を加水分解することにより得られる主アグリコンである liquiritigenin (LIQ), isoliquiritigenin (ISO), formononetine (FOR) を定量することにより total フラボノイドとして評価を試みた (Fig. 4)。分析法の詳細については、*Planta Med.* に報告しているので、ここでは省略する。

4.2 測定結果

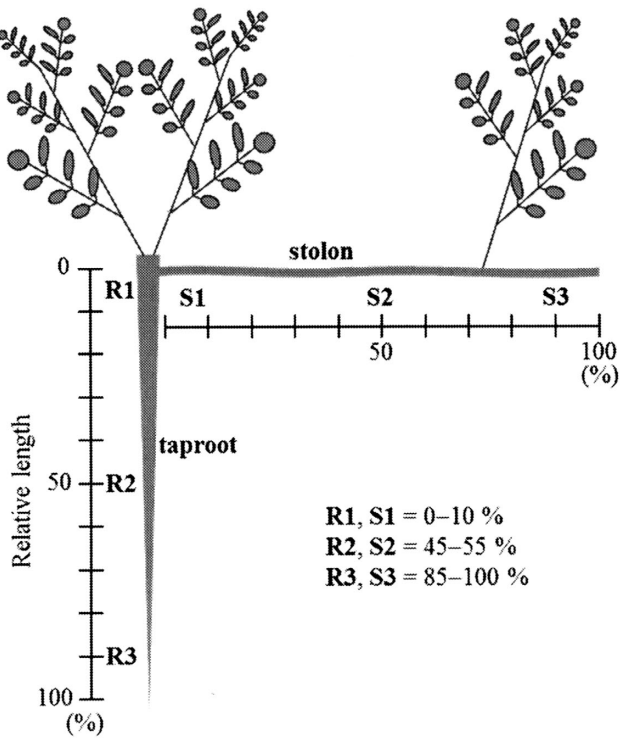
4-1 において設定した成分の測定結果を Table 5 にまとめた。スペインカンゾウ (*G. glabra*) を除き、GL 含量は局方規定値を満たした。我々は、漢方薬に使用されるウラルカンゾウ (*G. uralensis*) の栽培を目的としており (スペインカンゾウは主に、GL 抽出原料や食品添加物として使用されている)、実験を行ったウラルカンゾウの 4 系統については満足いくものであった。即ち、2 年間の栽培で局方に適した甘草が生産可能であることを示唆した。しかしながら、今回対照とした市場品は GL、

LIQ, ISO, FOR のいずれの成分も我々の栽培したウラルカンゾウより高値を示した。この結果は、Table 4 からも予想できるように生育年数の差であると予想でき、生育年数が推定 5 年以上のものが採集される野生品はその含有成分も高い。しかし、野生品を由来とする生薬全般に言えることだが、生育年数や産地の違いによる品質のバラツキが大きい。ウラルカンゾウの国内栽培化は品質の安定した甘草を持続的に供給することを目的としており、これを実現するためには GL, LIQ, ISO, FOR などの成分を含め総合的な規定が必要であると考えられる。

次に、最適な収穫部位を明らかにするため、収穫した根およびストロンを部位別に成分含量を調査した (Fig. 5)。それぞれの成分は根の生長点に近づくほど高値を示した。これらの分析結果は、今後の収穫部位や栽培法の検討に有益なものである。

Table 5. Comparison of LIQ, ISO, FOR and GL Contents in Cultivated Licorice (2 Year Old) from Seeding Plants and Commercial Wild Licorice

Sample name	N	Index compound			
		GL	LIQ	ISO	FOR
Cultivated root					
<i>G. uralensis</i> strain <b>G</b>	4	3.301 ± 0.437	0.639 ± 0.126	0.300 ± 0.062	0.061 ± 0.011
<i>G. uralensis</i> strain <b>B</b>	3	3.674 ± 0.499	1.127 ± 0.121	0.559 ± 0.056	0.029 ± 0.002
<i>G. uralensis</i> strain <b>A</b>	3	3.031 ± 0.629	0.685 ± 0.123	0.330 ± 0.064	0.024 ± 0.001
<i>G. uralensis</i> strain <b>F</b>	3	2.982 ± 0.266	0.646 ± 0.070	0.293 ± 0.043	0.037 ± 0.006
<i>G. glabra</i> (OUPS-ggR)	1	2.168	0.264	0.135	0.101
<i>G. glabra</i> (OUPS-ggl)	1	2.110	0.581	0.269	0.099
Commercial wild licorice					
from China (Inner Mongolia)	1	4.266	1.494	0.745	0.134
from China (Dongbei)	1	6.100	2.190	1.382	0.216



Section		Cultivated <i>G. uralensis</i>			
		strain <b>G</b> (1 year old)	strain <b>A</b> (1 year old)	strain <b>B</b> (1 year old)	strain <b>A</b> (2 year old)
GL	R1	2.455	1.787	1.842	5.405
	R2	2.510	2.414	3.404	5.560
	R3	4.256	3.533	4.369	7.243
	S1				6.835
	S2				8.741
	S3				9.274
LIQ	R1	0.972	0.377	0.795	1.230
	R2	1.085	0.511	1.150	1.567
	R3	1.253	0.767	1.124	1.898
	S1				1.108
	S2				1.307
	S3				1.352
ISO	R1	0.469	0.169	0.341	0.524
	R2	0.537	0.241	0.579	0.664
	R3	0.568	0.372	0.557	0.939
	S1				0.464
	S2				0.627
	S3				0.584
FOR	R1	0.056	0.031	0.027	0.055
	R2	0.028	0.024	0.033	0.054
	R3	0.077	0.023	0.028	0.047
	S1				0.039
	S2				0.040
	S3				0.041

(% of dry weight)

Fig. 5. Differences in the LIQ, ISO, FOR and GL Contents in Sections of Root and Stolon

## 5. 今後の課題

甘草の栽培化だけではなく薬用植物を栽培化する時、一般農作物との大きな違いは、市場が小さいことである。そのため製薬会社との契約栽培を念頭に入れないと成功しない。即ち、生産した生薬の買い手や出口までを考えなければならない。また、これらの薬用植物の栽培は、収穫するだけではなく、乾燥や調製（修治）が必要であることも農家にとって高い壁となる。さらに、必要最低限の農薬も必要となるが、薬用植物に対する登録農薬も少なく、登録には時間と費用が掛かる。そして、最大の問題は、長い栽培年数をかけ収穫したものは医薬品となるため、薬局方に規定されている有効成分含量など一定の品質基準を満たさねば商品とならないという点である。これらの多くの問題を解決するような栽培研究は、薬用植物や生薬の専門家である薬用植物園が中心となり進めていかなければならないと考えている。最近、薬用植物生産に特化したベンチャー企業もカンゾウの栽培に進出した。このような企業とも積極的に共同研究を行い、国内での甘草安定供給を早期に実現させたい。

**謝辞** 本研究の一部は、平成 21 年度大阪薬科大学同窓会研究助成金により行われたものであり、大阪薬科大学同窓会に深く感謝致します。

## REFERENCES

- 1) 山本豊, 薬用植物研究, **31**, 78–80 (2009).
- 2) 尾崎和男, 芝野真喜雄, 草野源次郎, 渡辺斉, 生薬学雑誌, **61**, 89–92 (2007).
- 3) 尾崎和男, 芝野真喜雄, 草野源次郎, 渡辺斉, 生薬学雑誌, **64**, 76–82 (2010).
- 4) Shibano M., Ozaki K., Watanabe H., Tabata A., Taniguchi M., Baba K., *Planta Med.*, **76**, 729–733, (2010).
- 5) Chin Y. W., Jung H. A., Liu Y., Su B. N., Castoro J. A., Keller W. J., Pereira M. A., Kinghorn A. D., *J. Agric. Food. Chem.*, **55**, 4691–4697 (2007).
- 6) Kwon G. T., Cho H. J., Chung W. Y., Park K. K., Moon A., Park J. H. Y., *J. Nutr. Biochem.*, **20**, 663–676 (2009).
- 7) Jayaprakasam B., Doddaga S., Wang R., Holmes D., Goldfarb J., Li X. M., *J. Agric. Food. Chem.*, **57**, 820–825 (2009).
- 8) Ma J., Fu N. Y., Pang D. B., Wu W. Y., Xu A. L., *Planta Med.*, **67**, 754–757 (2001).
- 9) Kumar S., Sharma A., Madan B., Singhal V., Ghosh B., *Biochem. Pharmacol.*, **73**, 1602–1612 (2007).