

薬用植物オウレンの薬効成分を検出する — 検量線を用いた簡易ベルベリン含有量推定技術の開発 —

近藤翔太・宮本健矢・菅野侑那・黄蓀・大村優嘉・林田大和・原田陽太
(兵庫県立農業高等学校 生物工学科)

背景と目的

兵庫県丹波地域では、薬用植物のひとつであるオウレン(写真1)が古くから栽培されている。オウレンの薬用成分であるベルベリンは、整腸作用をはじめ様々な薬効を有することが知られている。しかし、丹波オウレンの栽培には5年程度の期間を要することや、中国産オウレンが安価に輸入されるようになり、国内での取引価格が低下したため、現在では営利栽培がされなくなった。中国産オウレンは丹波オウレンと種が異なる可能性があり、私たちは現在栽培されなくなった丹波オウレンの、薬用植物としての再評価に取り組んだ。今後、ベルベリン含有量を簡易に比較できるようになることで、遺伝資源として残された個体から優良系統を選抜することも可能であると考え技術開発を開始した。



写真1 丹波オウレン
Coptis japonica var. *major*

仮説の設定

- 仮説 ①: ベルベリン水溶液の吸光度は濃度に比例する
- 仮説 ②: ベルベリンの吸光度から含有量の算出ができる
- 仮説 ③: 含有量からオウレン産地間の比較が可能である

材料および方法

【実験Ⅰ】ベルベリン水溶液による濃度の推定

塩化ベルベリン粉末を100ppmに調整し、濃度勾配 [0 ppm, 1ppm, 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10ppm] となるように蒸留水で希釈をおこなった(写真2)。各希釈溶液をキュベット(5ml)に分注し、分光光度計(株式会社日立ハイテクノロジーズ製)を用い340nmの吸光度を測定した。測定値をもとに検量線の作成を試みた。

【実験Ⅱ】オウレンに含まれるベルベリン含有量の比較

乾燥オウレン(根茎・粉末)の0.1 g/D.W.中に含まれる成分を抽出し、分光光度計を用いて吸光度を測定した。供試材料には、中国産オウレン(市販品)と丹波オウレン(兵庫県薬草試験地産)を蒸留水10mlに添加、実際の利用場面(処方時)を想定した80℃温湯抽出をおこない、遠心分離後の上澄み液を抽出液として分析に用いた。抽出液をキュベット(5ml)に分注し、予備実験の結果をふまえて分光光度計で340nmの吸光度を測定した。得られた結果を実験Ⅰの検量線からベルベリン含有量の定量及びサンプル間での比較を実施した。

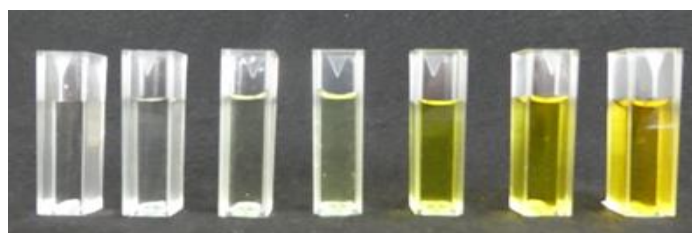


写真2 検量線を求めるための塩化ベルベリン濃度勾配溶液

結果

①予備実験の結果、ベルベリン溶液の吸光度は 340nm であると推定され一定の濃度勾配で調整した溶液は、濃度に比例した吸光度が得られ検量線を作成することができた(図 1)。

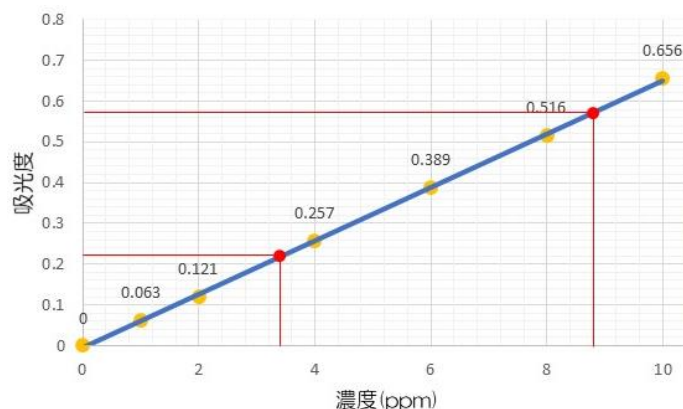


図 1 薬用成分 塩化ベルベリンの検量線 (340nm)

②乾燥サンプル 0.1 g/D.W. からの温湯抽出液では、

- a. 中国産オウレン 吸光度 0.223 (80 倍希釈溶液)
- b. 丹波オウレン 吸光度 0.575 (80 倍希釈溶液)

という値が検出できた。それぞれの吸光度をベルベリン溶液が示す検量線に照合した結果(図 1)、80 倍希釈溶液でのベルベリン含有量は中国産オウレンで 3.4ppm、丹波オウレンで 8.8ppm であると算出できた。この結果から抽出溶液のベルベリン濃度はそれぞれ 272ppm、および 704ppm と算出できる(図 2)。

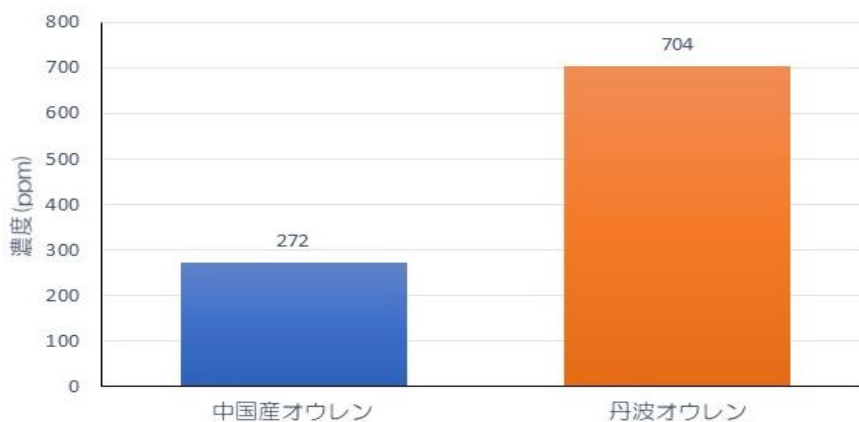


図 2 抽出溶液(処方時)を想定したベルベリン濃度の比較

③このことから乾燥サンプル 1g あたりの薬用成分ベルベリン相当量は中国産オウレンでは約 27mg、丹波オウレンは約 70mg 含まれ、2.6 倍の薬用成分が含まれると推定した。

考察とまとめ

一連の実験結果から、丹波オウレンと中国産オウレンはベルベリンの生産・蓄積能力に差異があり、現在では栽培されなくなった丹波オウレンには高い有用性があることが示唆された。さらに、ベルベリン以外の有用成分についても同様の方法で検出が可能であると考えている。今回予備実験として HPLC を用いた分析も実施したが、私たちは遺伝資源植物の評価方法として簡易に実施できる今回のような技術の開発は地域資源を再評価するためにも有効であると考えます。