

ミシマサイコ (*Bupleurum falcatum* L.) の栽培試験大塚英昭^{1a)}, 小林重雄^{1b)}, 柴田承二^{1a, b)}東京大学薬学部^{1a)}, 東京大学薬用植物園^{1b)}Studies on the Cultivation of *Bupleurum falcatum* L. (Mishimasaiko)HIDEAKI OTSUKA,^{1a)} SHIGEO KOBAYASHI^{1b)} and SHOJI SHIBATA^{1a, b)}Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo^{1a)}
Experiment Station for Medicinal Plant Studies, University of Tokyo^{1b)}

(Received May 27, 1977)

The cultivation of *Bupleurum falcatum* L. whose roots are used as an important Chinese drug, Ch'ai-hu (Saiko), has been studied to estimate the yields of saikosaponins which represent the pharmacological activities of this drug.

The pot cultivation of this plant showed a fairly good development of fiber roots in the annual crop, which contain higher amount of biologically effective saikosaponins a and d than the biennial roots harvested in the field cultivation (see TABLE II and III).

緒 言

柴胡の原植物としてはミシマサイコ (*Bupleurum falcatum* L.) が主に用いられ、本邦ではもともと野生品がその用に供せられていたが、近年、ほとんど中国、韓国からの輸入に頼っている現状であって²⁾、その栽培生産の確立が急がれている。著者らは柴胡製剤原料としてのミシマサイコの栽培の効率化を試みることを目的として、saikosaponinの液滴向流クロマトグラフ法²⁾ (droplet counter-current chromatography) (DCC) による定量³⁾を指標とし栽培実験を行なった。ミシマサイコの圃場栽培において3年生まで維持することが根の十分な発育などに鑑み望ましいとされてきたようであるが、3年次に枯死するものが多いことが経験されている。そこで成分収率の向上を目途として圃場試験と平行してポット栽培試験を行ない最適条件の発見につとめた。

実 験 方 法

1. ミシマサイコの栽培

1973年秋に武田薬品福知山農場で採集された種子の分与をうけ、それを1974年3月下旬から4月上旬にかけてワグネルポット (1/5,000) および圃場に播種した。圃場においては畦幅 60 cm, 条播とした。種子はウスプルン 1,000 倍稀釈液に2時間浸漬した後、陰乾にし用いた。播種量は 10 a 当たり 1,800 g, 基肥は圃場, ポットともに 10 a 当たり堆肥 300 kg, 菜種油粕 30 kg, 化成肥料 N:P:K=15:15:15 の尿素系高度6号を 30 kg, 追肥は基肥と同じ化成肥料を生育2年次発芽前に 15 kg 施肥した。管理は適宜除草し、とくに土寄せ等を行なわなかった。収穫は本来地上部が枯れてから行なうべきであろうが、一般に野生のものを採集する時はむしろその植物の見分けやすい時に行なうから少し早めとし、ポットでは1974年10月および1975年8月、圃場では1975年8月に収穫した。収穫根は水洗後、60°C, 24時間熱風乾燥を行なった。

2. 粗サイコサポニンの抽出

細かく粉碎した試料 5~20 g を 2% ピリジンを含有するメタノール (150 ml) で4時間還流下3回抽出する。残渣

1) Location: a) Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113; b) 1479 Hata-machi, Chiba.

2) 木島正夫, 宮川喬行, 滝上雅博, 生薬, 28, 161(1974).

3) H. Otsuka, S. Kobayashi and S. Shibata, *J. Med., Plant Res.*, in press.

TABLE I. Growth of *Bupleurum falcatum* L. observed in the Field and Pot Experiments

| Cultivation in | Total No. of culture | Annual | | Biennial | | % in survivals | |
|-------------------------|----------------------|----------|--------------|----------|--------------|----------------|-----|
| | | Blighted | Pedunculated | Blighted | Pedunculated | | |
| Field | I | 100 | 6 | 4 | 26 | 68 | 92 |
| | II | 100 | 11 | 3 | 45 | 55 | 100 |
| | III | 100 | 7 | 5 | 35 | 60 | 92 |
| | IV | 100 | 20 | 4 | 45 | 51 | 93 |
| | V | 100 | 13 | 6 | 43 | 53 | 93 |
| Wagner pot (1/5,000) | I | 15 | 0 | 2 | 3 | 12 | |
| | II | 18 | 2 | 1 | 6 | 11 | |
| | III | 17 | 0 | 3 | 3 | 13 | |
| | IV | 20 | 2 | 2 | 7 | 13 | |
| | V | 19 | 1 | 0 | 5 | 14 | |

を洗って 500 ml とし減圧濃縮後、水 500 ml に懸濁、水飽和ブタノールで 5 回 (500 ml × 4; 250 ml) 抽出し、ブタノール層は合し水洗 (500 ml; 250 ml) 減圧濃縮する。濃縮残渣をメタノール 2~5 ml に溶解し、エーテル (500 ml) 中に滴下し、エーテル沈澱を行なう。沈澱を濾取乾燥し粗サポニン画分とする。

3. DCC への試料添加

自作 DCC, カラム数 509 本 ($l=400$ mm, $\phi=1.65$ mm), 理論段数約 1,000 段を用いた。Chloroform : Benzene : Ethyl acetate : Methanol : 水を容積比でそれぞれ 45 : 2 : 3 : 60 : 40 に混合振盪し、暫く放置、平衡に達させた。2 層となった下層を固定相として全体に充填した。続いて試料約 30mg を精秤し、下層 3 ml に溶解して添加した。ただちに上層を移動相として送液 (4.5 ml/hr) して液滴を上昇させた。溶出した移動相は 3 ml ずつ、320 フラクションまで分取した。

4. 定量

Fr. No. 1~Fr. No. 80 はテストチューブコンセントレーターで直接減圧乾固し、それぞれ水 6 ml を加え、そのうち 2 ml を取り定量に用いた。Fr. No. 82~Fr. No. 320 迄は 1 本おきに同様に減圧乾固、水 2 ml を加え定量に用いた。各フラクション水溶液に 5% (v/v) フェノール 1 ml を加え、次いで精密分析用濃硫酸 5 ml を瞬間的に滴下し発色させる。20 分放置後、流水にて冷却し 3 時間以内に吸光度を 490 nm で測定した (Hitachi model 101 spectrophotometer)。検量線については前報⁴⁾を参照されたい。

実験結果

TABLE I は 1 年次から 2 年次の生育状況の変化を枯死 (blighted) した株数と抽台 (pedunculated) した本数で示したものであるが、圃場栽培のものは適当に 100 本を 1 区画として 5 区画を設定し追跡した。ポット栽培においても適当本数発芽したロットを選んだ。まず圃場栽培では 1 年次に各区画 100 本のうち 10~20 本が枯死し残りの数本が抽台を始めた。2 年次に移ると、平均的区画として区画 III について記せば、100 本のうち 35 本が枯死、残り 65 本の 60 本が抽台し抽台率は 92% となっている。他の区画をみても 30~40% 枯死、残りの 90% を越える本数が抽台を始めている。3 年生育という目的をみたすためには摘芯、抽台地上部の刈取等の方法が試みられているが、抽台を一応植物における世代の更新とみれば、ミシマサイコも 2 年次で収穫することが望ましいと考えられる。

ポット栽培品の場合もほぼ同様の結果を示し、2 年次では生き残った株のほとんどが抽台をしている。

圃場にて 2 年栽培した収穫品は太さは一般市場品とほぼ同等であるが、質は少し堅いように思われる。ポット栽培品は 1 年生、2 年生ともに細根の発達が著しく、同じ 2 年生の主根を圃場栽培のものと比較するとかなり小柄であり、圃場栽培したものは収穫時に細根まで完全に掘り起すことは困難である。圃場栽培品 2 年生の場合、乾燥重量比で主根 76%, 細根 24%, ポット栽培品 1 年生主根 66%, 細根 34%, 2 年生主根 43%, 細根 56% という割合で得られたが、この場合の主根、細根の区別は明確ではないので、大よその割合である。

TABLE II では収穫量、歩留りを調査した、これは調査面積が少々少ない欠点はあるが、10 a 当たりに換算すると圃場栽培 2 年生のものでは 37 kg の収穫があり、1 年生ポット栽培では 35 kg, 24 kg, 2 年生ポットでは 45 kg, 43 kg となる。ここで肥料の組成の相異によりポット 1 年生の収穫量に 11 kg の差がみられることは誠に興味深い。す

TABLE II. Yield of the Roots of *Bupleurum falcatum* L. Harvested in the Pot Experiments

| | Fresh weight (a) | Dry weight(g) (b) | Yield(%) (b/a) × 100 | Yield per 10a (kg) | Fertilizer |
|--|---------------------|----------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------|
| Field biennial 1.65 a | 2 kg | 620 | 31 | 37 | Compound |
| Wagner Pot(1/5,000)10 Pots Annual | 400 g 350 g | 71 49 | 18 14 | 35 24 | Compound Single |
| Wagner Pot(1/5,000)10 Pots Biennial | 450 g 430 g | 90 86 | 20 20 | 45 43 | Compound Compound |

TABLE III. Yields of Saikosaponins Isolated from *Bupleurum* Roots Obtained by the Cultivation Experiments in Comparison with Those Commercially Available

| Cultivation | Part | Ratio of each part (%) | Saponin yield (%) | Saikosaponins mg/100g of each part | | | Saikosaponins mg/100g of whole roots | | | Saikosaponins g/10 a | | |
|---|-------------|------------------------|-------------------|------------------------------------|-----|-----|--------------------------------------|-----|-----|----------------------|-----|-----|
| | | | | a | d | c | a | d | c | a | d | c |
| Field biennial | main roots | 76 | 1.26 | 131 | 69 | 97 | | | | | | |
| | fiber roots | 24 | 3.39 | 478 | 214 | 253 | 214 | 103 | 134 | 79 | 38 | 50 |
| Wagner pot annual | main poots | 66 | 3.02 | 478 | 327 | 416 | | | | | | |
| | fiber roots | 34 | 4.97 | 1059 | 421 | 315 | 475 | 359 | 382 | 166 | 126 | 134 |
| Wagner pot biennial | main roots | 43 | 1.19 | 106 | 80 | 132 | | | | | | |
| | fiber roots | 56 | 4.29 | 597 | 223 | 276 | 380 | 159 | 211 | 167 | 70 | 93 |
| Commercial product harvested in Shizuoka | | | | 2.06 | 280 | 213 | 277 | | | | | |
| Commercial product imported from China | | | | 1.34 | 189 | 92 | 114 | | | | | |
| Commercial product <i>Bupleurum longiradiatum</i> | | | | 1.86 | 166 | 111 | 141 | | | | | |

なわち複合肥料あるいは化成肥料類には増量剤が含まれるが、この増量剤によって肥料の性質も変化する。またポット1年生の収量 35 kg にくらべてポット2年生の収量 45 kg で、この間1年生は2回収穫できるからその総収量は70 kg となることに注目したい。

TABLE III は以上の栽培品のサイコサポニン含量を DCC で分析した結果であり、下段に参考として市場品柴胡のサイコサポニン含量が記載してある。

考 察

TABLE III によれば、いずれの場合もその細根部に多量のサイコサポニンの含有が認められ、さらに薬理的に有効⁴⁾な saikosaponin a, d に注目すればポット栽培1年生細根部にそれらが大量に含有されていることがわかる。10 a 当たりの柴胡収獲量から算出した saikosaponin a, d の得量はポット1年生 saikosaponin a 166 g, d 126 g, 2年生では saikosaponin a 167 g, d 70 g となり、前述のごとく、1年生栽培品の収獲量は2年間では倍になることを考えると、1年生の方がはるかに有利となる。とくに saikosaponin 生産収量についていうならば、圃場栽培よりポットあるいはそれに準ずる方法で短期栽培し、細根をより多く収獲するように努力した方が有利であると考えられる。

謝 辞 本研究に当たりミンマサイコの種子を供与された武田薬品工業京都試験農園 後藤實氏に感謝する。

4) 山本昌弘, 第6回和漢薬シンポジウム記録要旨集, p.66 (富山, 1972).