

ボウフウの栽培研究 (第2報)¹⁾
ボウフウの生育と成分含量の推移

石塚康弘*, 林 克彦, 守屋 明
養命酒製造株式会社 中央研究所

Studies on the Cultivation of
Saposhnikovia divaricata (Turcz.) Schischkin (II)
Seasonal Variation of Root Growth, Methanol Extract and Constituent Contents

YASUHIRO ISHIZUKA*, KATUHIKO HAYASHI and AKIRA MORIYA

Central Research Laboratories, Yomeishu Seizo Co., Ltd.
2132-37 Nakaminowa, Minowa-cho, Kamiina-gun, Nagano 399-46, Japan

(Received September 5, 1997)

In order to determine the best harvesting time of the root of *Saposhnikovia divaricata* (Umbelliferae) for the preparation of crude drug, the plant was cultivated for two years (1991-1992) in Nagano Prefecture, and the seasonal variations of plant growth and of the amount of MeOH extract from the root were investigated. Six constituents in the root, prim-*O*-glucosylcimifugin (G-Cim), cimifugin (Cim), 4'-*O*- β -glucosyl-5-*O*-methylvisamminol (GMV), falcarindiol (Fal), imperatorin (Imp) and deltoin (Del), were also quantitatively determined by HPLC. The amounts of MeOH extract and the six constituents in bolting plants and non-bolting plants, during the two years of cultivation were as follows. The root weights were the highest in November of the first year and in middle August of the 2nd year. The MeOH extract was the highest during the winter dormancy. The amounts of the six constituents were higher in the 2nd year plants than in the first year plants. The G-Cim, GMV, Fal, Del, and Imp contents decreased during the bolting and flowering periods, but the Cim content increased markedly during the flowering period. After the flowering or fruiting period, all of the six constituents markedly increased. Lignification and porosity of roots were observed after bolting, and these plants withered eventually. It is considered that the greatest cause of the increment of the constituents observed after the flowering or fruiting period is the decrement of the root weight. On the basis of the root yield and the amount of MeOH extract, the best harvest time of *Saposhnikovia divaricata* root is considered to be November of the first year.

Keywords — *Saposhnikovia divaricata*; Umbelliferae; cultivation; coumarin; chromone; polyacetylene; HPLC

ボウフウ *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischkin (Umbelliferae) は、享保年間に中国より種苗が伝えられ、江戸官園又は奈良県宇陀郡大宇陀町森野(藤助)

薬園等で栽培され、「藤助防風」「宇陀防風」の名があった。また、我国でも藤助防風を少量ではあるが栽培生産している²⁾。しかし、長年中国産防風とは隔離され栽培

されてきたにもかかわらず、形態や化学成分的には差が認められないようである³⁾。また卯之原ら¹⁾により、収量やエキス含量から、栽培1年目の晩秋に収穫が可能であることが報告されているが、栽培期間中の成分含量の推移についての詳細な研究はなされていない。

著者らは、ボウフウ(藤助防風)を2年間にわたり栽培し、その間の成長量や含有成分の推移について調査した結果、冬期間と開花期の根重の増減や抽だい開花にともなう成分含量の特徴的な変化について幾つかの知見を得たので報告する。

実験材料および方法

1. 栽培概要

栽培は長野県上伊那郡箕輪町の栽培試験圃場(標高約800m)で行った。播種は1991年4月26日に行い、その後2年間にわたり継続栽培した。栽植密度は、卯之原らの行った栽培条件⁴⁾の約1/2に当たる畝幅60cm、株間45cm、条間27cmの千鳥2条植えで行った。肥料は栽培1年目にのみ基肥として堆肥3t/10a、化成肥料 N:P:K=8kg:11.2kg:9.6kg/10a、重焼燐60kg/10a、苦土石灰60kg/10aを施した。

2. 採取時期および成長量の測定

試料の採取は、1991年7月～11月は月3回(上、中、下旬)、1991年12月～1992年11月は月1回行い、根重および根頭径を測定した。採取数は、実験開始から1992年4月までは毎回約30個体、5月以降は毎回約50個体とし、抽だい株と無抽だい株は区別した。

3. 内部組織の木化の観察

各採取時期ごと2～3個体の主根部をFAA液(ホルマリン:氷酢酸:エタノール:水=2:1:10:7)で固定し、マイクロスライサー(堂阪イーエム製 DTK-300)を用いて根頭部の横断面の切片を作成し、酢酸メチルグリーン試薬で染色した後、組織の木化の状態を観察した。

4. HPLCによる含有成分の定量

定量分析は、クロモン類の中から血圧降下作用が報告されている⁵⁾ prim-O-glucosylcimifugin (以下 G-Cim)と cimifugin (以下Cim)および 4'-O-β-glucosyl-5-O-methylvisamminol (以下GMV)、フラノクマリン類からimperatorin (以下Imp)とdeltoin(以下Del)、ポリアセチレン類から鎮痛作用が報告されている⁶⁾ falcariindiol (以下Fal)を対象とし、栽培期間中のこれらの含量の推

移や抽だいによる変化について検討した。

(1)試料の調製: 採取試料は50°C、48時間温風乾燥した後、各採取時期ごとにまとめてウイレー型粉碎機で粉碎した。この試料0.5gにMeOHを15ml加え、70°C、30分間の熱還流抽出を行った。ろ過後の残渣に対し同様の操作を2回行い、これらのろ液を合わせて濃縮乾固しエキスを得た。

エキスは計量後、MeOHに溶解し正確に10mlとした。これを0.45 μmのメンブランフィルターでろ過し、このろ液をHPLC用試料とした。

MeOHエキス含量および含有成分の定量は、各採取時期ごとに3回反復した。

(2)HPLC装置および定量条件: 装置は島津 LC-5A、カラムはWakosil-II 5C18 HG (4.6×250mm)を用い、G-Cim、CimおよびGMVは下記①の条件で、Imp、DelおよびFalは②の条件で定量した。

①移動相: 15%CH₃CN; 流速: 1.0ml/min; 注入量: 10 μl; カラム温度: 40°C; 検出波長: 230nm.

②移動相: 52%CH₃CN; 流速: 1.0ml/min; 注入量: 10 μl; カラム温度: 40°C; 検出波長: 220nm.

結果および考察

1. 生育状況 (Fig. 1)

ボウフウの生育は、発芽から8月下旬まで極めて緩慢であったが、その後ロゼット状の地上部を形成して旺盛となり、11月中旬の霜により地上部は枯れた。2年目は4月に萌芽し、5月から80%以上の個体が抽だいた。抽だい株は7～8月に開花、10月下旬までに種子は完熟したが、その後地上部、地下部ともに枯死した。これに対し無抽だい株は、1年目と同様のロゼット状の地上部を形成して旺盛に生育し、霜により地上部が枯れた後も地下部は枯死しなかった。

栽培1年目の根重は、発芽から9月下旬までは緩やかに、その後は急激に増加し、11月上旬までの約40日間で10倍に達した。地上部が枯死した11月中旬から根重は緩やかに減少し、萌芽期の4月上旬には、1年目の最大根重の約1/2になった。その後5月上旬の抽だい期から8月中旬の開花期にかけ再び緩やかに増加し、ほぼ1年目の最大重量まで達したが、結実期の9月上旬以降は再び急激に減少した。

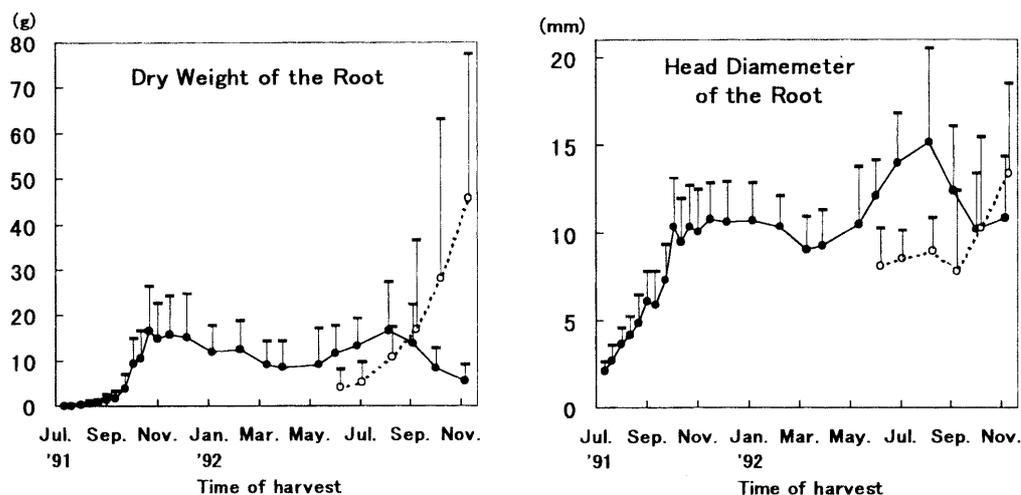


Fig. 1. Seasonal Changes in Dry Weight and Head Diameter of the Root in Bolting or Non-bolting Plants
Each value represents the mean \pm S.D. of 30-50 plants. ●: Bolting Plant, ○: Non-bolting Plant

卯之原ら¹⁾は、根重は1年目の秋期まで増加し、2年目の成長は緩やかで微増もしくはほとんど変化しないと報告している。今回の調査結果のうち、1年目の活動期(4~10月)の変化は卯之原ら¹⁾の結果と同じであったが、休眠期間中(11~3月)の根重の半減および2年目の変化は異なるものであった。この違いは、卯之原らの最大根重が今回の結果(1年目の11月時点)の約1/3であることから、高密度(卯之原らの栽植密度は今回の約2.5倍)による成長の抑制に起因しているものと考えられる。

根頭径は10月中旬まで増加し、休眠期間中は一時停滞するが、翌年の萌芽期から開花期にかけて再び増加し、2年目の8月中旬に最大となった。

2. 内部組織の木化 (Fig. 2)

1年目の9~10月にかけて、根頭部の髄に厚膜化した細胞が確認され始め、その後、休眠期から萌芽期にかけて厚膜化した細胞の数は徐々に増加した。2年目の5~6月にかけて花茎の伸長が始まると、主根および根頭部の木部柔組織に厚膜化が確認され、木部が著しく発達した。開花結実後、師部は廃退し枯死した。

3. 栽培期間中のエキスおよび成分含量の推移 (Fig. 3)

1年目のエキス量は活動期を通じて緩やかに増加し、休眠期間中は2年間の栽培期間中の最大含量を維持した。しかし2年目の萌芽期から緩やかに、開花期以降は急激に減少し、10月上旬の結実期には最大時(2月中旬)の約1/2まで低下した。

G-CimとGMVの含量は、9月上旬までは比較的高い含量であったが、根部の肥大成長にともない減少し始め、10月下旬には9月中旬の含量の1/2まで減少した。その後、休眠期から抽だい開始期にかけて緩やかに増加したが、開花期にかけて再び減少し、開花後は急激に増加した。

Falは当初ほとんど含有されていなかったが、栽培1年目の10月中旬以降急激に増加し、その後G-CimやGMVと同じような含量の推移を示した。ただしFalの開花期間中の減少は他の2成分と比べ著しく、最大時の約42%まで低下した。

Cimは、生育初期から2年目の抽だい期にかけて含量が少なく、その変動も小さかった。しかし、その後の開花期には、他の成分が減少したのとは逆に顕著に増加し、結実期にかけて一旦減少したものの11月には他の成分には見られない急激な増加を示した。

クマリン類であるImpとDelは、全栽培期間を通じて他の4成分より含量が少なく、含量の変動はG-CimおよびGMVと同様であった。

結実期以降に6成分すべてが顕著に増加した原因は、この時期に根の著しい木質化が進むことから、それまで根に貯えられていた糖質などが種子へ移動し、相対的に成分含量が増加したためと考えられる。

根部組織の木質化は、2年目の萌芽期から開花期にかけて観察され、この時期にはエキス量が減少しているにもかかわらず根重や根頭径が増加した。

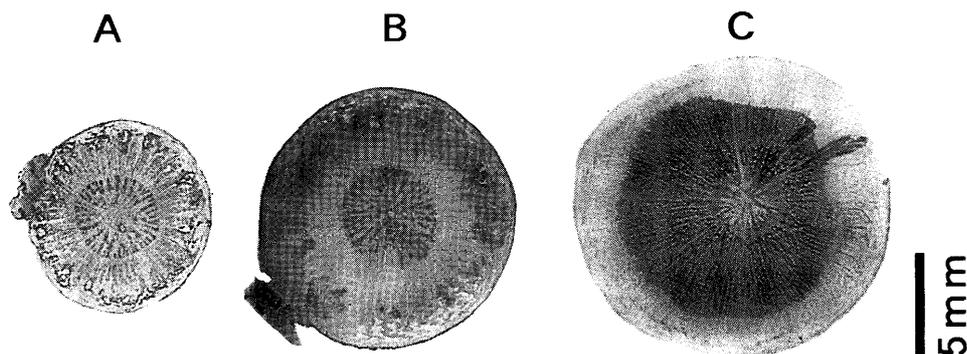


Fig. 2. Comparison of Lignification of Bolting Plants and Non-bolting Plants

Blue colour developed in a cross-section of main root by lignification detecting reagent,acet-methyl-green solution.

A:Non-bolting plant at november of the first year. B:Non-bolting plant at november of the second year.

C: Bolting plant at november of the second year.

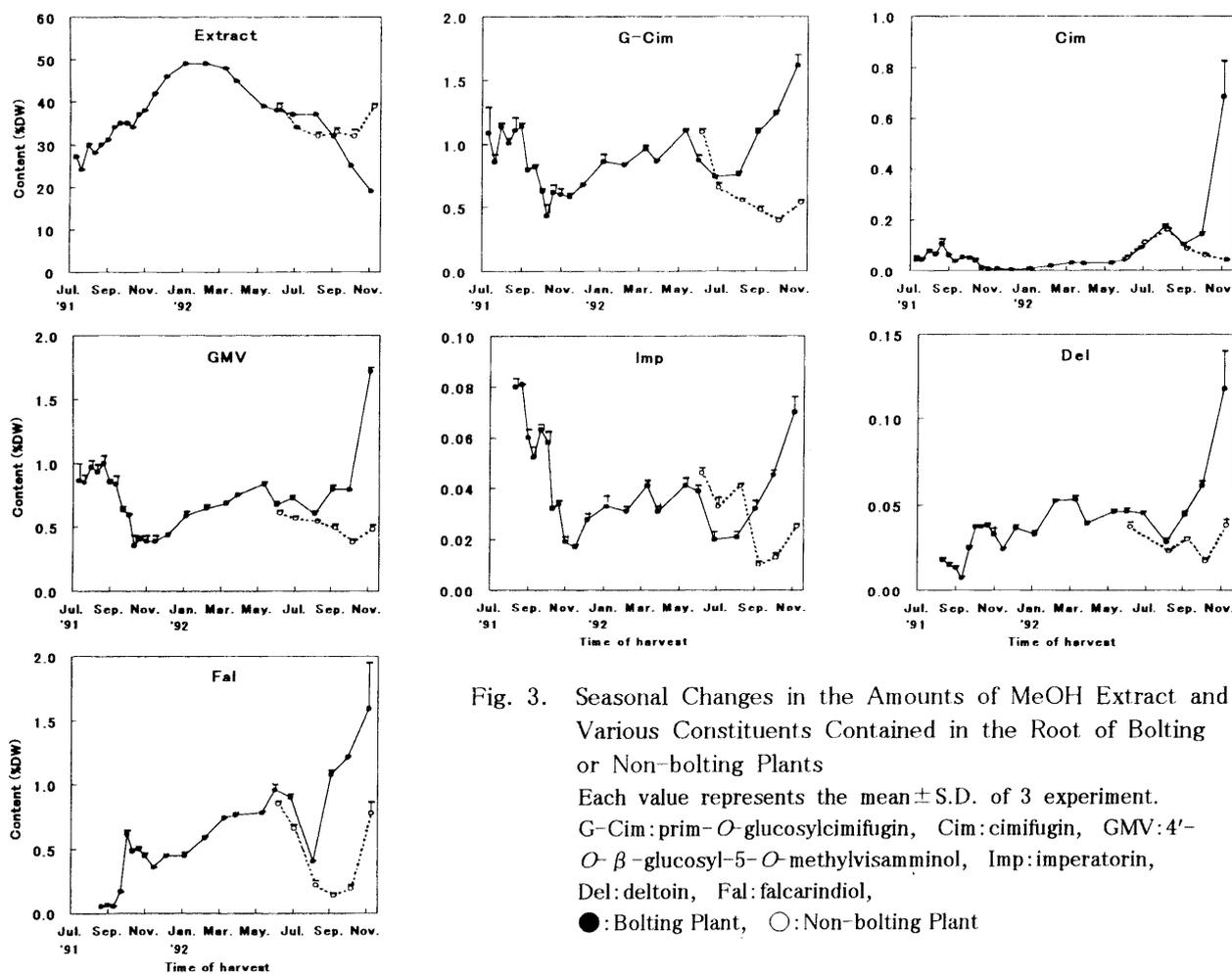


Fig. 3. Seasonal Changes in the Amounts of MeOH Extract and Various Constituents Contained in the Root of Bolting or Non-bolting Plants

Each value represents the mean \pm S.D. of 3 experiment.

G-Cim: prim-*O*-glucosylcimifugin, Cim: cimifugin, GMV: 4'-*O*- β -glucosyl-5-*O*-methylvisamminol, Imp: imperatorin, Del: deltoin, Fal: falcarindiol,

●: Bolting Plant, ○: Non-bolting Plant

4. 2年生の無抽だい株と抽だい株のエキスおよび成分含量の比較 (Fig. 3)

2年生の無抽だい株を抽だい株と比較すると、エキ

ス量は、抽だい株が9月以降急激に減少したのに対し、無抽だい株では6~11月の間比較的安定していた。

G-Cim, GMV および Fal 含量は、抽だい株では 8 月頃に一時的に減少した後急激に増加したのに対し、無抽だい株では 3 成分のすべてが 9 月ないし 10 月まで減り続けた。また、10 月時点の抽だい株の成分含量に対する無抽だい株の成分含量の割合は、G-Cim が 32%, GMV が 48%, Fal はわずか 16%であった。Cim は、両者とも 8 月にほぼ同含量のピークを示したが、無抽だい株では 11 月に抽だい株のように増加することはなかった。以上の結果からポウフウは、抽だいですることにより形態だけでなく一部の成分とエキス含量に大きな変化が起きることが明らかとなった。

今回の実験結果よりポウフウの収穫適期は、

- ①利用部位である根部の収量で評価するなら、1 年目の 11~12 月、
 - ②エキス含量で評価するなら、1 年目の 11 月から翌年の 3 月、
 - ③ Cim を除く 5 種類の成分含量で評価するなら、抽だいい期にあたる 2 年目の 5~6 月、
 - ④ Cim 含量で評価するなら、2 年目の 8 月、
- の 4 つの時期が考えられる。

一方、王らは、通称“母防風”と呼ばれている開花株の鎮痛、解熱作用は未抽だい株の防風の効果のそれぞれ 70~80% と 55%であること⁷⁾や、一部の成分を除き母防風の方が未抽だい株より精油成分含量が若干少ない⁸⁾ことを報告している。また、中華人民共和国薬典⁹⁾では、未抽花茎株の根を使用すると記載されている。これらの実験結果や経験は、明らかに未抽だい株と抽だい株を区別するもので、抽だいや開花にともなう成分含量の変化は、生薬としては好ましくないものとして対応されてきたことを示すものと考えられる。また、抽だいい期には根部の木質化が進みエキス含量自体が減少してしまうことから、この時期の収穫物は生薬として適しているとは考えられず、単に成分含量が多いという理由だけで 2 年目に収穫することは適当ではないと考える。

以上、ポウフウの収穫適期は、根の収量とエキス含量および当地の耕土の凍結などの寒冷な気候を考慮し、栽培 1 年目の 11 月と判断した。

なお、成分含量には本報で述べた季節変化の他、栽培品と市場品の間にもいくつかの相違がある。この点に関しては生育年数や生薬の保存期間が関与していることが考えられ、現在検討中である。

結論

1. ポウフウは、栽培 2 年目に約 80%の個体が抽だい、開花するが、その根重は栽培 1 年目の最大根重を越えない。
2. ポウフウは、2 年目の萌芽期から抽だい、開花期にかけて根の木質化が起こり、エキスの減少や根重の低下にともなう成分含量の増加が起きる。
3. 栽培期間中の根の質および量的変化、エキス、当地の気候条件、王ら^{7,8)}の報告および中華人民共和国薬典⁹⁾の記載などから総合的に判断し、ポウフウの収穫適期を栽培 1 年目の 11 月と結論した。

謝 辞: 本研究に当り、内部組織の観察および種々のご助言をいただいた東京薬科大学 指田豊教授、徳本廣子氏に感謝致します。

引用文献および注

- 1) 卯之原慶助, 小林弘美, 米田該典, 生薬, 37, 281 (1983).
- 2) 日本公定書協会編, “第十三改正日本薬局方解説書 第二部”, 廣川書店, 東京, 1996, p. 981.
- 3) 小林弘美, 出山武, 小松順子, 米田該典, 生薬, 37, 276 (1983).
- 4) 卯之原らの栽培条件は、条間60cm, 株間12cm. 基肥は10a当り燐硝安カリ40kg. 追肥は8月上旬に燐硝安カリ20kg. 9月中旬に尿素10kg, BM重焼燐8kg, 塩化カリ6kg. 2年次の5月上旬に燐硝安カリ40kgである.
- 5) 佐々木博, 石毛淳, 湯浅和典, 新保真澄, 公開特許公報, 58-55419 (1983).
- 6) S.Tanaka, Y.Ikeshiro, M.Tabata, M.Konoshima, *Arzneimforsch.*, 27, 2039 (1977).
- 7) 王建华, 崔景荣, 朱燕, 楼之岑, *中国医薬学報*, 4, 20 (1989).
- 8) 王建华, 楼之岑, *薬学通報*, 22, 335 (1987).
- 9) 中華人民共和国衛生部薬典委員会編, “中華人民共和国薬典1990年版一部”, 人民衛生出版社, 北京, 1990, p.125.