

論文内容の要旨

中薬材，冬虫夏草の核酸成分に関する分析化学的 及び行動薬理学的研究

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻 池田 理恵

[目的]

冬虫夏草 (*Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc., CS) は、蝙蝠蛾の幼虫に寄生する麦角菌科の菌である。その宿主である昆虫と菌糸の子実体からなる複合体は伝統的な中薬材として珍重されているが、近年は人工培養品が広く流通し、北虫草 (*Cordyceps militaris* (L) Link., CM) を始め *Cordyceps* 属の代替品が 350 種類以上知られている。中には、*Cordyceps* 属一般を指す“虫草”と CS とが混同されたり、悪意を持った偽物や模倣品も市場で発見されている。したがって、虫草製品の識別及び品質管理は重要な問題である。また、CS の抗酸化作用、抗腫瘍作用、免疫賦活作用及び抗炎症作用などの薬理作用が注目されるが、他の薬物療法への影響も懸念される。

本研究は、虫草の品質管理及び生体への影響を評価することを目的としている。まず、虫草の構成成分である核酸関連化合物 (adenosine, Ado; cordycepin, Cor; 2'-deoxyadenosine, 2'-dA; inosine, Ino; guanosine, Guo; uridine, Urn) の定量法を開発し、虫草試料の分析に適用した。次に、核酸含有量が虫草の品質管理のための指標としての有用性を検討した。最後に、Ado の各種疼痛に対する効果及び morphine (Mor) の作用に及ぼす影響を検討した。

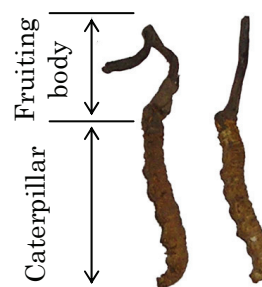


Fig. 1 Natural CS sample.

[結果及び考察]

1. 核酸関連化合物の HPLC-UV 定量法の開発とその虫草試料への適用¹⁾

虫草に含有する核酸関連化合物の定量のために、簡便な前処理操作を用いた、HPLC-UV 法を開発した。

標準溶液で作成した検量線は、0.03-150.0 $\mu\text{g/mL}$ (Ado, Cor), 0.03-53.6 $\mu\text{g/mL}$ (2'-dA), 0.05-100.0 $\mu\text{g/mL}$ (Ino), 0.02-200.0 $\mu\text{g/mL}$ (Guo, Urn) の範囲で良好な直線性を示した ($r \geq 0.996$)。また、注入量あたりの検出下限 ($S/N = 3$) は、0.9 pmol (Ado), 1.3 pmol (Cor), 1.2 pmol (2'-dA), 1.3 pmol (Ino), 0.7 pmol (Guo), 0.7 pmol (Urn) と食品試料の測定のために十分な感度を得られた。虫草試料を用いて作成した添加検量線も、マトリックスの影響を受けず、良好な直線性を示した ($r \geq 0.995$)。また、正確さは 67.4-99.7%，繰り返し精度は RSD で 0.32-5.7%，回収率は 85.6-105.6% であり、概ね良好な結果を得られた。

13 種の虫草試料 (天然 CS, A-C; 人工培養 CS, D-I; 人工培養 CM, J-M) を分析し、0.06-14.15 mg/g (Ado), 0.005-6.36 mg/g (Cor), 0.01-0.14 mg/g (2'-dA), 0.02-2.30 mg/g (Ino), 0.02-14.79 mg/g (Guo), 0.05-20.29 mg/g (Urn) と広い濃度範囲の定量が可能であった (Table 1)。この結果、虫草試料の核酸含有特性を明らかにすることが

できた。すなわち、天然 CS は、虫体と比較して子実体の方が核酸を多く含有していた。人工培養 CS は、天然 CS よりも、更に核酸の含有量は多く、かつ、Ado, Guo, Urn を同程度含有していた。また、天然 CS, 人工培養 CM は、それぞれ Ino, Cor を高濃度含有しており、この点が特徴的であった。

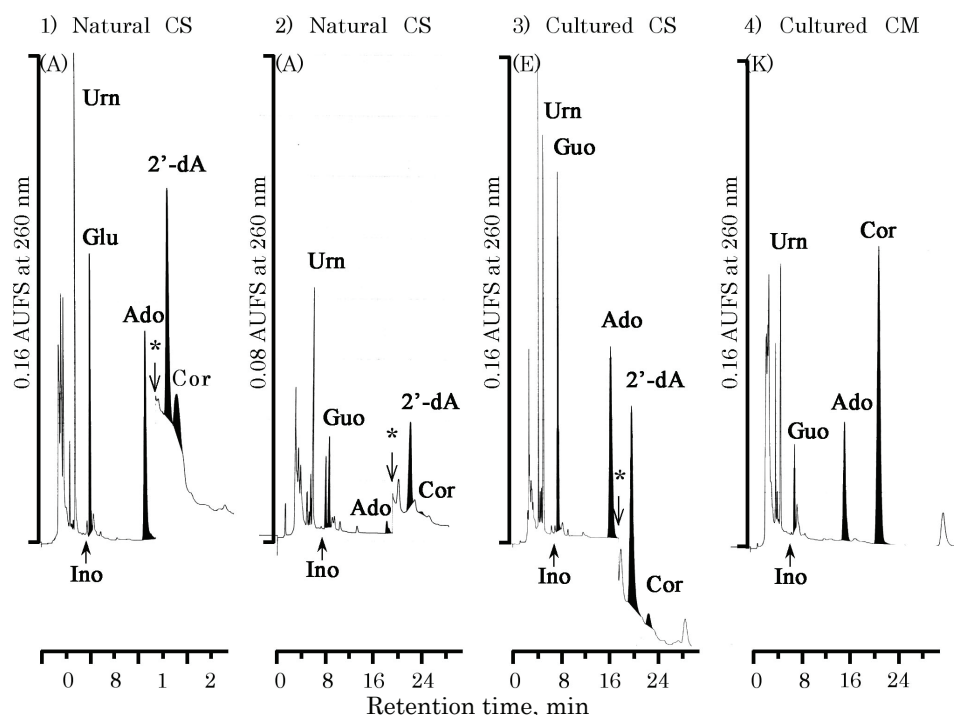


Fig. 2 Chromatograms of *Cordyceps* samples.

Samples: 1) fruiting body of natural CS of sample A, 2) caterpillar of natural CS of sample A, 3) cultured CS of sample E, 4) cultured CM of sample K. Mobile phase, $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}=5/95$ (v/v).
* Sensitivity of the detector was changed to 0.004 AUFS on the arrow.

Table 1 Contents of nucleosides in *Cordyceps*.

	Contents, mean \pm SEM, mg/g					
	Ado	Cor	2'-dA	Ino	Guo	Urn
Natural CS (n = 3)	1.09 \pm 0.14	0.008 ^a	0.05 \pm 0.01	0.92 \pm 0.23	1.45 \pm 0.13	1.44 \pm 0.43
Cultured CS (n = 6)	5.92 \pm 1.74	0.016 \pm 0.008	0.04 \pm 0.02	0.05 \pm 0.01	6.15 \pm 1.80	6.15 \pm 1.80
Cultured CM (n = 4)	0.75 \pm 0.37	3.18 \pm 1.50	0.02 ^a	0.02 \pm 0.00	0.45 \pm 0.23	0.42 \pm 0.34

^a Data was represented as a mean of 2 samples.

2. 虫草含有食品の品質管理のための指標に関する基礎的検討

虫草及びそれを含有する食品の品質管理のための指標として、核酸含有量の有用性を検討した。その結果、ロット管理には、比較的含有量が多い Ado, Guo, Urn が有用であった。健康食品中の虫草の含有率の推定に用いるためには、不十分であった。また、核酸含有量から算出した類似度及び Cor と Ino の相対含有量で虫草の識別が可能であることを明らかにした。すなわち、類似度は同種間で高値を示し、Cor/Ado (Guo, Urn) 比と Ino/Ado (Guo, Urn) 比のプロットは虫草種により 3 群に分布した (Fig. 3)。これは、虫草を含有する健康食品 (人工培養 CS 含有食品, o-v; 人工培養

CM 含有食品, w-y) にも適用可能であり, 原材料である虫草の識別が可能であった (Fig. 4)。今後, さらに多数の試料を分析することで, 虫草の識別のための基準値の確立につながる事が期待できる。

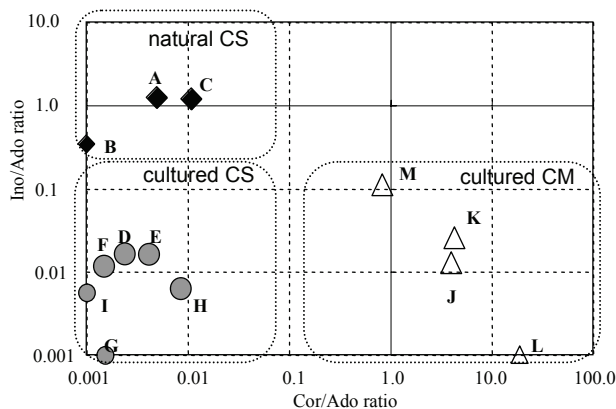


Fig. 3 Correlation for contents of Cor and Ino in *Cordyceps* samples.
Samples: natural CS (A-C, ◆), cultured CS (D-I, ●) and cultured CM (J-M, △).

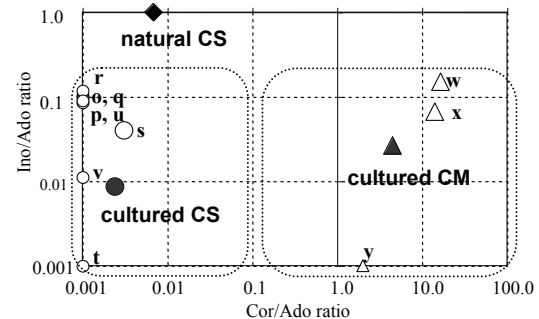


Fig. 4 Correlation for contents of Cor and Ino in health foods containing *Cordyceps*.
Samples: health foods containing *Cordyceps* (cultured CS: o-v, ○; cultured CM: w-y, △) and mean value of *Cordyceps* (natural CS, ◆; cultured CS, ●; cultured CM, ▲).

3. 疼痛及び Mor 退薬症候に対する Ado の影響評価²⁾

虫草の構成成分である Ado について, 全身投与した場合の生体に及ぼす影響を評価した。その結果, 抗アロディニア効果及び Mor 退薬症候の減少効果が認められた。また, microdialysis 法によるサンプリングと HPLC-ECD 法を併用して, Mor 退薬症候発現時の脳内ドパミン (DA) レベルを定量した。その結果, 発現時には扁桃体において DA 量が上昇することが明らかになった。つまり, Mor 退薬症候には扁桃体 DA レベルの変動が関与しており, さらに, Ado が影響している可能性が示唆された。これらのことは, アロディニアや Mor 依存に対する治療剤の可能性を示すものだと考える。しかしながら, 虫草としての生体影響の評価のためには, 他の成分による影響を含めてさらなる検討が必要である。

[結論]

冬虫夏草の核酸成分について, 分析化学的及び行動薬理的な検討を行い, その品質や生体に及ぼす影響を総合的に評価した。今後, 品質及び生体影響に関する情報をさらに収集し, 適切に評価することで, 中薬材, 冬虫夏草の適切な摂取に貢献できるものとする。

[文献]

- 1) Ikeda R., Nishimura M., Sun Y., Wada M., Nakashima K.: Simple HPLC-UV determination of nucleosides and its application to the authentication of Cordyceps and its allies., *Biomed. Chromatogr.*, (2008), in Press.
- 2) Sounvoravong S., Ikeda R., Wada M., Nakashima K.: The changes of dopamine levels in addicted mouse amygdala and the effects of dopamine receptor agents on morphine withdrawal signs., *Asian Chem. Lett.*, (2007), in Press.