

生薬、漢方薬の機能解明を指向した真菌類の 二次代謝産物の変化を指標とする新たな評価系の検討

申請代表者	若菜 大悟	星薬科大学薬化学教室	助教
所外共同研究者	細江 智夫	星薬科大学薬化学教室	教授
所外共同研究者	武田 尚	星薬科大学薬化学教室	助教

■背景・目的

糸状菌が産生する代謝産物は、ヒトに対する様々な医薬品等を添加、培養する事で変化することが知られている。これは機能こそ異なるものの、糸状菌が同じ真核生物であるヒトと同様の標的部位を持つことを示唆している。このような糸状菌とヒトの相同性を利用して、我々は「菌類の代謝産物プロファイルの変化」を指標とした漢方薬の機序解明の新しいアプローチ方法の開発と、生薬、漢方薬中の機能性物質の特定を目的とした研究を実施した。

■結果・考察

糸状菌の二次代謝産物に影響を与える生薬エキスを探索するため、糸状菌に生薬エキスを添加し、培養後、HPLC プロファイルの比較を行った。培養は 24 well plate (Axygen 社) を使用し、糸状菌は *Aspergillus fumigatus* CBS101355 株を用いた。また、培地は真菌培養に一般的に用いられる potato dextrose broth (PDB) を使用した。HPLC 分析は linear gradient mode で行い、島津製作所製 PDA 検出器を附属した装置を用いた。また、カラムは Mightysil RP-18 GPII (ϕ 2.0x150 mm、関東化学) を用いた。

24 well plate の各 well に PDB 2 mL を分注し、貴研究所よりご提供頂いた生薬抽出エキスを滅菌済みの培地に添加後、25℃、1 週間静置培養を行った。培養後、凍結乾燥を行い、メタノールで抽出した。各抽出エキスは、添加した生薬エキスの影響を検討するため、HPLC 分析を実施し、含有成分プロファイルの比較を行った。

今回生薬エキス添加実験に用いた 120 種の生薬エキスの内、18 種の生薬エキスは、真菌の代謝産物プロファイルに変化を生じさせた。その内、特徴的な変化を示したものを図 1 に表示した。tR 13.8 min のピークは含有量の差はあるものの、ガジュツ、キクカ、キョウニン、クジン、ゴボウシ、ゴマ、シゴカ、ショウキョウ、シンイ、トウガシ、ブクリョウ及びマシニン抽出エキス添加時に共通して観測された (図 1A)。また、オウゴン及びガジュツにはそれぞれを添加した際にのみ検出されるピーク (オウゴン：tR 15.3 min、ガジュツ：tR 16.6 min) が観測された (図 1B, 1C)。さらに、オウヒ、ゴボウシ 添加時には tR 10.6 min 共通した新規に出現したピークが観測された (図 1D)。

■結論

今回、*A. fumigatus* CBS101355 株に生薬抽出エキスを 120 種をそれぞれ添加し、培養した結果、18 種の生薬エキスに *A. fumigatus* の代謝産物プロファイルを変化させる物質が含まれることが確認

された。以上の結果から、生薬エキスに含まれる、真菌の生合成にとその作用部位を明らかにすることで、生薬の新たな機能を見出す可能性が示唆された。

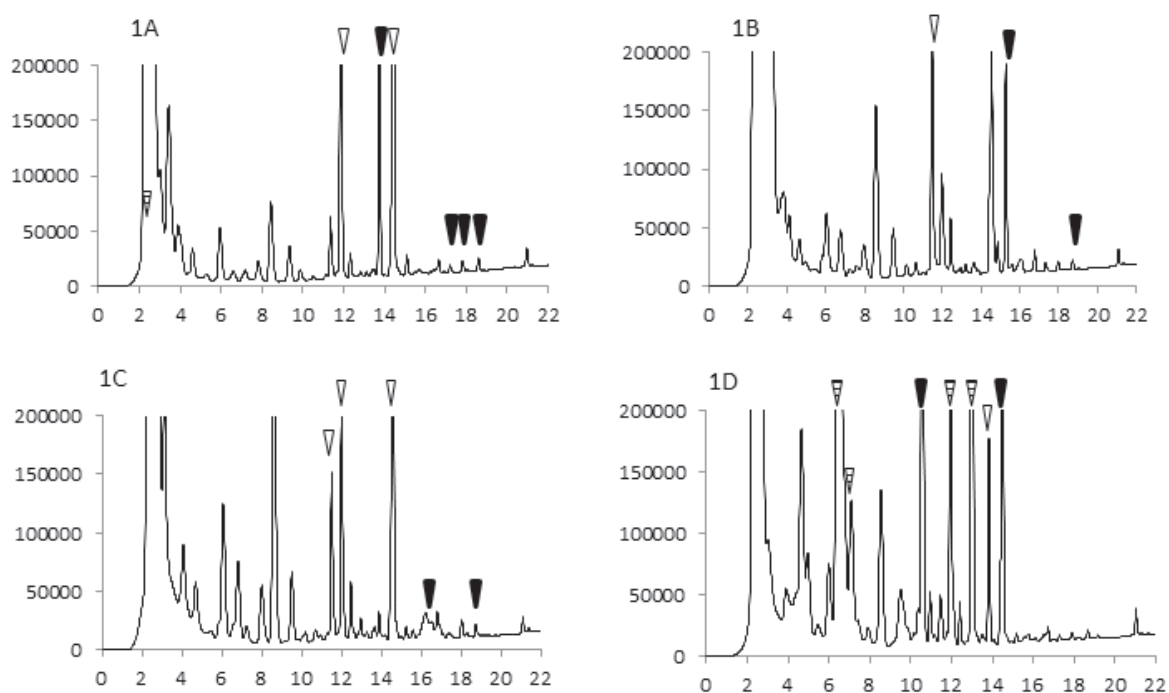


図1 生薬エキス添加培養エキスの HPLC プロファイル

A: キョウニン添加、B: オウゴン添加、C: ガジュツ添加、D: ゴボウシ添加

▼: 新たに検出されたピーク、▽: 含量が著しく増加したピーク、▽: 生薬エキス由来ピーク