

各種ハーブ類の内因性活性酸素消去作用

山 口 務

緒 言

酸素は体内でその一部が攻撃性の強い活性酸素になり、発癌、動脈硬化、老化、糖尿病等の生活習慣病の原因となることが知られている。体内での活性酸素の発生は避けられないから、発生した段階で可及的速やかに消去することが、これらの病気を予防するために不可欠である。

一方、植物、特にお茶などに活性酸素を消去する成分が存在することが報告されている。

植物の中でハーブ類は、香気、色素、味等、他の植物と異なる独特の成分を含むことから、筆者らはこれまで各種のハーブ抽出物について抗変異原性の有無を研究し、シソ科、バラ科、セリ科等の植物に強い活性があることを見出し報告してきた。変異原物質は活性酸素を生成するものが多く、したがってこれらの植物は、活性酸素を消去する作用がある可能性が示唆される。そこで、活性酸素中、特に体内で発生する内因性活性酸素に対する消去作用の有無を検討した。

その結果、バラ科、シソ科、キク科、ショウガ科等に属するハーブ類が強い活性を示すことを確認した。

本報告では、各種ハーブ類の熱水抽出液（ハーブ茶）の内因性活性酸素に対する消去活性、及び活性を有するハーブ中に存在する活性成分の特定のための試験結果について記述する。

I. 実験材料及び実験方法

(1) 使用した活性酸素発生系

体内で発生する活性酸素は、肺ではヒポキサンチンからキサンチンオキシダーゼ系（以下 XOD 系と略す）により、また肝臓では NADPH からミクロソーム酵素系（以下ミクロソーム系と略す）により生成する。この二つの系を用い、試験管内で活性酸素の生成を再現させる条件を検討し、本研究に使用可能な条件を設定した。この条件で生成した活性酸素に、ハーブ抽出液を加えたとき消去されるかどうかを検討した。

1) XOD系の反応条件 この系における活性酸素 (O_2^-) の生成反応式を図1に示す。

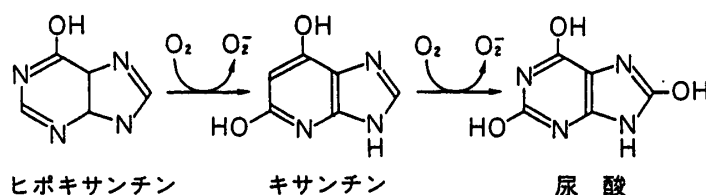


図1 XOD系における活性酸素 (O_2^-) の生成反応式

試験管に0.05M 炭酸バッファー (pH8.0)3.0ml、ハーブ抽出液50 μ l、次いでヒポキサンチン (2mg/ml 水溶液) 200 μ l、10mg XOD+320mg EDTA-Na/100ml 水溶液200 μ lを加えてよく振盪し、さらにニトロブルーテトラゾリウム (NBT) (3.4mg/ml 水溶液) 200 μ lを加え、37 $^{\circ}$ C、3時間静置した後、515nmにおける吸光度を測定する。対照としてハーブ抽出液の代わりに精製水を用い同様に吸光度を測定し、その値からハーブ存在下における吸光度を差し引いた値を活性酸素消去活性とした。

2) ミクロソーム系の反応条件

この系における活性酸素 (O_2^-) の生成反応式を図2に示す。

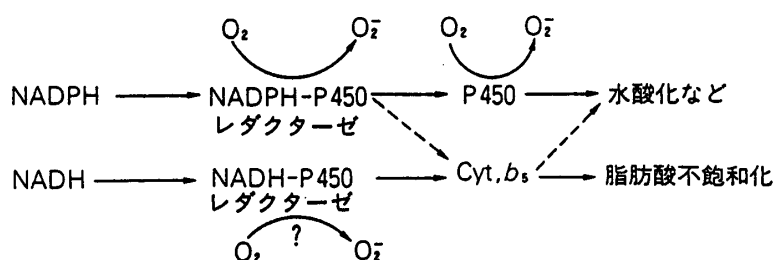


図2 ミクロソーム系における活性酸素 (O_2^-) の生成反応式

試験管に0.05M 炭酸バッファー (pH8.0)3.0ml、ハーブ抽出液50 μ lを加え、次いでカテキン (2.5mg/ml 水溶液) 100 μ l、NADPH (5mg/ml 水溶液) 200 μ l、ネズミ肝臓ホモジネート懸濁液500 μ lを加えよく振盪し、さらに NBT (3.4mg/ml 水溶液) 200 μ lを加えて、37 $^{\circ}$ C、3時間静置後、515nmにおける吸光度を測定する。対照としてハーブの代わりに精製水を用いて同様に吸光度を測定し、その値からハーブ存在下における吸光度を差し引いた値を活性酸素消去活性とした。

(2) ハーブ類抽出液の調整

使用ハーブ類(65種)は、いずれも市販品(乾燥品)を購入した。バラ科植物の葉(9種)は、採取後日陰で4~5日間乾燥したものを使用した。

乾燥試料それぞれ500mgを100ml容三角フラスコにとり、沸騰水20mlを加え、ホットプレート上で90 $^{\circ}$ C、3分間保持した後、濾紙で濾過して得た濾液をハーブ抽出液とした。

(3) 試薬類

XOD 標品は、シグマ薬品製(牛乳由来)(100unit/mg)を購入した。ネズミ肝臓ミクロソーム懸濁液は、半井化学より購入し、原液を50倍希釈したものを使用した。その他の使用試薬は、いずれも和光純薬より特級品を購入した。

各種ハーブ類の内因性活性酸素消去作用

II. 結果及び考察

(1) XOD系活性酸素に対するハーブ類の消去作用

各種ハーブ類の XOD 系活性酸素に対する消去活性を測定した結果を表 1 に示す。なお、それぞれのハーブの植物分類による科名をカッコ内に併記した。

表 1 各種ハーブ類の XOD 系活性酸素生成系に対する消去活性

ハーブ類	OD (515nm)	消去率(%)	判定
対 照	0.547	0	
セイジ (シソ科)	0.070	87.2	+++
オレガノ (シソ科)	0.082	85.0	+++
ローズマリー (シソ科)	0.084	84.6	+++
レモンバーム (シソ科)	0.092	83.1	+++
ヒソップ (シソ科)	0.115	78.9	+++
ペパーミント (シソ科)	0.122	77.6	+++
サマーセイボリー (シソ科)	0.135	75.3	+++
メドウスイート (バラ科)	0.142	74.0	+++
アグリモニー (バラ科)	0.150	72.7	+++
ワイルドストロベリー (バラ科)	0.167	69.4	+++
白オーク (ブナ科)	0.167	69.4	+++
エルダーフラワー (スイカズラ科)	0.172	68.5	+++
オオシマサクラ (バラ科)	0.187	65.8	+++
シモツケ (バラ科)	0.192	64.8	+++
ユーカリ (フトモモ科)	0.197	63.6	+++
サザンウッド (キク科)	0.215	60.6	+++
タンポポ (葉) (キク科)	0.215	60.6	+++
ローズピンク (バラ科)	0.232	57.5	++
ローズレッド (バラ科)	0.234	57.2	++
リンデン (シナノキ科)	0.345	36.9	++
セイロンシナモン (クスノキ科)	0.365	33.2	++
ウッドベトニー (シソ科)	0.387	29.2	++
ディルシード (セリ科)	0.404	26.1	++
アニスシード (セリ科)	0.410	24.6	++
クローブ (フトモモ科)	0.419	23.4	++
コンフリー (ムラサキ科)	0.421	23.0	++
レッドクローバー (マメノキ科)	0.429	21.5	++
樺の葉 (カバノキ科)	0.432	21.0	++
タイム (シソ科)	0.449	17.9	+
ローズヒップ (バラ科)	0.452	17.3	+
リンデンウッド (シナノキ科)	0.457	16.4	+
ワームウッド (シナノキ科)	0.461	15.7	+
ステビア (キク科)	0.467	14.6	+
ローマンカモマイル (キク科)	0.469	14.2	+
オールスパイス (フトモモ科)	0.482	11.8	+
ポリジー (ムラサキ科)	0.482	11.8	+
レモンバーベナ (クマツヅラ科)	0.485	11.3	+
月桂樹 (クスノキ科)	0.495	9.5	+

山 口 務

ハーブ類	OD (515nm)	消去率(%)	判定
キャラウェイ (セリ科)	0.525	4.0	±
アンジェリカシード (セリ科)	0.527	3.6	±
アンジェリカ (根) (セリ科)	0.513	2.7	±
コリアンダー (セリ科)	0.534	2.3	±
カルダモン (ショウガ科)	0.537	1.8	±
ジンジャー (ショウガ科)	—	—	—
ブラックペッパー (コショウ科)	—	—	—
ホワイトペッパー (コショウ科)	—	—	—
レモンピール (ミカン科)	—	—	—
オレンジピール (ミカン科)	—	—	—
オレンジブロッサム (ミカン科)	—	—	—
マリーゴールド (キク科)	—	—	—
サフラワー (キク科)	—	—	—
ヤロウ (キク科)	—	—	—
ジャーマンカモマイル (キク科)	—	—	—
ジャスミン (ヒイラギ科)	—	—	—
ハイビスカス (アオイ科)	—	—	—
ナツメグ (ニクズク科)	—	—	—
レモングラス (イネ科)	—	—	—
スターアニス (モクレン科)	—	—	—
ジュニパーベリー (マツ科)	—	—	—
アルファルファ (マメ科)	—	—	—
けしの実 (ケシ科)	—	—	—
フェンネル (イラクサ科)	—	—	—
マスタード (アブラナ科)	—	—	—
パプリカ (ナス科)	—	—	—
甘草の根 (ウリ科)	—	—	—

本実験条件で生成した活性酸素を60%以上消去する活性を示したハーブ類は、試験した69種中15種であった。また、それらのハーブ類の属する科名をみると、シソ科に属するものは7種で最も多く、次いでバラ科に属するもの5種、キク科に属するもの2種などであった。このようにシソ科、及びバラ科の植物にXOD系活性酸素消去活性を示すものが多いことは、それらの植物に特有の成分が含まれ、その成分が活性を示すことが考えられ興味がある。

各種ハーブ類の内因性活性酸素消去作用

(2) ミクロソーム系活性酸素に対するハーブ類の消去活性

ミクロソーム系活性酸素に対する各種ハーブ類の消去活性を測定した結果を表2に示す。

表2 各種ハーブ類のミクロソーム活性酸素生成系に対する消去活性

ハーブ類	OD (515nm)	消去率(%)	判定
対照	0.532	0	
シモツケ (バラ科)	0.210	60.52	++
ユーカリ (フトモモ科)	0.224	57.8	++
ワイルドストロベリー (バラ科)	0.225	57.7	++
メドウスイート (バラ科)	0.257	51.7	++
白オーク (ブナ科)	0.267	49.8	++
サザンウッド (キク科)	0.277	47.9	++
カルダモン (ショウガ科)	0.316	40.6	++
ジンジャー (ショウガ科)	0.349	35.2	++
オオシマサクラ (バラ科)	0.377	29.1	++
レモンバーム (シソ科)	0.409	23.1	++
樺の葉 (カバノキ科)	0.415	22.0	++
レモンピール (ミカン科)	0.415	22.0	++
ジュニパーベリー (マツ科)	0.420	21.0	++
ローズピンク (バラ科)	0.422	20.7	++
ナツメグ (ニクズク科)	0.440	17.3	+
ステビア (キク科)	0.452	17.3	+
サフラワー (キク科)	0.454	14.7	+
タンポポの葉 (キク科)	0.455	14.5	+
セイジ (シソ科)	0.460	13.6	+
オレガノ (シソ科)	0.464	12.8	+
ローズマリー (シソ科)	0.470	11.7	+
ヒソップ (シソ科)	0.474	10.9	+
ペパーミント (シソ科)	0.475	10.7	+
サマーセイボリー (シソ科)	0.476	10.5	+
ローズヒップ (バラ科)	0.478	10.2	+
ローズレッド (バラ科)	0.479	9.9	+
アグリモニー (バラ科)	0.480	9.8	+
リンデン (シナノキ科)	0.507	4.7	±
セイロンシナモン (クスノキ科)	0.512	3.8	±
エルダーフラワー (スイカズラ科)	0.514	3.4	±
ウッドバトニー (シソ科)	0.520	2.2	±
ディルシード (セリ科)	—	—	—
アニスシード (セリ科)	—	—	—
クローブ (フトモモ科)	—	—	—
コンフリー (ムラサキ科)	—	—	—
レッドクローバー (マメ科)	—	—	—
タイム (シソ科)	—	—	—
リンデンウッド (シナノキ科)	—	—	—
ワームウッド (キク科)	—	—	—
ローマンカモマイル (キク科)	—	—	—
オールスパイス (フトモモ科)	—	—	—

ハーブ類	OD (515nm)	消去率(%)	判定
ポリジ (ムラサキ科)	—	—	—
レモンバーベナ (クマツヅラ科)	—	—	—
キャラウェイ (セリ科)	—	—	—
アンジェリカシード (セリ科)	—	—	—
コリアンダー (セリ科)	—	—	—
ブラックペッパー (コショウ科)	—	—	—
ホワイトペッパー (コショウ科)	—	—	—
オレンジピール (ミカン科)	—	—	—
オレンジプロッサム (ミカン科)	—	—	—
マリーゴールド (キク科)	—	—	—
ヤロウ (キク科)	—	—	—
ジャーマンカモマイル (キク科)	—	—	—
ジャスミン (ヒイラギ科)	—	—	—
ハイビスカス (アオイ科)	—	—	—
レモングラス (イネ科)	—	—	—
スターアニス (モクレン科)	—	—	—
アルファルファ (マメ科)	—	—	—
けしの実 (ケシ科)	—	—	—
フェンネル (イラクサ科)	—	—	—
マスタード (アブラナ科)	—	—	—
パプリカ (ナス科)	—	—	—
甘草の根 (ウリ科)	—	—	—

表1のXOD系に比して、表2のマイクロソーム系では消去活性を示すハーブ類は少なく、しかも強さはいずれも消去率60%以下であった。その中消去率20%以上を示したものをみると、バラ科に属するものが5種であったのに対し、シソ科に属するものはわずかに1種であった。したがって、シソ科植物に特有な成分は、XOD系に対しては強い消去活性を示すが、マイクロソーム系に対しては余り活性を示さないことから、これら二つの系の生成する活性酸素種には可成り差があるものと思われる。一方、両系に共通して活性を示したハーブ類には、シモツケ(バラ科)、ユーカリ(フトモモ科)、ワイルドストロベリー(バラ科)、メドウスイート(バラ科)、白オーク(ブナ科)、オオシマサクラ(バラ科)、サザンウッド(キク科)、レモンバーム(シソ科)などがあり、シソ科よりもバラ科植物に活性が集中している傾向がみられる。

体内に生成する活性酸素を消去する活性は、両系のどちらにも作用することが望ましく、バラ科植物には両系に作用する特有な成分が含まれていることは、注目される。

(3) 活性を示したハーブ中の作用物質の特定

表1及び2で活性の強かったハーブ類の中のどの成分が、活性酸素の消去に働いているのか、その成分の特定を試みた。

活性の強かったハーブ中に含まれる成分を文献から検索し、その中の入手可能な物質69種類を試薬として購入した。この中、粉末状試薬については10mgを、また液状試薬については10μlを精秤し、精製水5.0mlを加えて溶解し、試料溶液を調整した。

各種ハーブ類の内因性活性酸素消去作用

各試料について、XOD系、及びマイクロソーム系に対する消去活性を測定した。

1) 活性を示したハーブ中に存在する物質のXOD系に対する消去活性

上記試料溶液各50 μ lをとり、I-(1)-1)に記載した実験条件にしたがって、XOD系に対する消去活性の有無を測定した。

結果を表3に示した。

表3 有効ハーブ中各種成分のXOD発生系に対する消去作用

化 合 物	OD (515nm)	消去率(%)	判 定
対 照	0.553	0	
カテキン	0.032	94.2	+++
エピカテキン	0.075	86.4	+++
クエルシトリン	0.110	80.1	+++
ゲニステイン	0.133	75.9	+++
没食子酸	0.168	69.6	+++
p-アニスアルデヒド	0.175	68.4	+++
メチルチロシン	0.182	67.0	+++
3,4-ジヒドロキシ桂皮酸	0.190	65.6	+++
t-桂皮酸	0.195	64.7	+++
コーヒー酸	0.205	62.9	++
プロトカテキュ酸	0.230	58.4	++
タンニン酸	0.255	53.9	++
オイゲノール	0.280	49.4	++
スコボレチン	0.305	44.8	++
エスクレチン	0.328	40.7	++
クマリン	0.345	37.6	++
1-ペリラルデヒド	0.370	33.1	++
オレアノール酸	0.370	33.1	++
0-バニリン	0.385	30.4	++
カルバクロール	0.410	25.9	+
アビエチン酸	0.428	22.6	+
ベルベリン塩酸塩	0.436	21.2	+
ナリンゲニン	0.445	19.5	+
サフロール	0.452	18.3	+
ウルソール酸	0.468	15.4	+
チモール	0.470	15.0	+
ヒノキチオール	0.476	13.9	+
ロスマリン酸	0.482	12.8	+

活性のほとんど無かった化合物を以下に列挙すると、

リグニン、ボルネオール、カンファー、コルヒチン、 β -インドール酢酸、リナロール、ゲラニオール、シトロネロール、シネオール、フェネチルアルコール、シトロネラル、サリチル酸メチル、アニソール、ゲラニオール、p-シメン、メントン、バイカリン、D-リモネン、シトラール、クリシン、ベタイン、メントール、グリチルリチン、ホモゲンチジン酸、クエルセチン、バイカレイン、ガラングイン、 α -テルピネン、セロチン酸等41種類である。

表中、XOD 系に対して消去活性を有する物質は、試験した69種類中28種であり、特にフラボノイド類はいずれも強い消去活性を示すことがわかった。また、桂皮酸類、フェノールカルボン酸類、及びポリフェノール類にも可成り強い活性がみられた。

2) 活性を示したハーブ中に存在する物質のマイクロソーム系に対する消去活性

上記試料溶液各50 μ l をとり、II-(1)-2)の実験条件にしたがって、マイクロソーム系に対する消去活性の有無を測定した。

結果は表4に示す。

表4 有効ハーブ中各種成分のマイクロソーム活性酸素発生系に対する消去作用

化 合 物	OD (515nm)	消去率(%)	判 定
対 照	0.582	—	
カテキン	0.105	82.0	+++
ゲニステイン	0.120	79.4	+++
クエルシトリン	0.155	73.4	+++
3,4-ジヒドロキシ桂皮酸	0.182	68.7	+++
センノサイド	0.225	61.3	+++
クリシン	0.275	52.7	+++
プロトカテキュ酸	0.304	47.8	+++
タンニン酸	0.332	43.0	+++
ナリンゲニン	0.355	39.0	++
α -テルピネオール	0.360	38.1	++
コーヒー酸	0.368	36.8	++
クエルセチン	0.375	35.6	++
ガラングイン	0.400	31.3	++
オレアノール酸	0.425	27.0	++
イソサクラネチン	0.430	26.1	++
メチルチロシン	0.453	21.1	+
アビエチン酸	0.460	21.0	+
リグニン	0.465	20.1	+
ベラトロール	0.480	17.5	+
ロゾール酸	0.495	15.0	+
クマリン	0.497	14.6	+
エスクレチン	0.510	12.5	+
5-ヒドロキシフェルラ酸	0.515	11.5	+

活性のほとんど無かった化合物を以下に列挙すると、

ボルネオール、カンファー、コルヒチン、 β -インドール酢酸、スコポレチン、リナロール、ゲラニオール、シトロネロール、フェネチルアルコール、シトロネラル、サリチル酸メチル、アニソール、カルバクロール、 β -ミルセン、メントン、ペリルアルデヒド、バイカリン、シトラール、エスクレチン、チモール、0-バニリン、ベタイン、ベルベリン、メントール、グリチルリチン、ヒノキチオール、バイカリン、ウルソール酸、ロスマリン酸、セロチン酸、カルバクロール 等46種類である。

各種ハーブ類の内因性活性酸素消去作用

ミクロソーム系に対する消去活性を示した物質は、試験した69種中23種類であり、特にフラボノイド類、テルペン類に強い活性を示す化合物がみられた。

この中で、イソサクラネチン、アビエチン酸、クリシン、ヘリオトロピン、スコポレチン、ロスマリン酸、エスクレチン、チモールが、活性酸素消去活性を有することを示した報告は今までにみられない。

表3と4を比較すると、カテキン、クエルシトリン、ゲニステイン、3,4-ジヒドロキシ桂皮酸、タンニン酸、プロトカテキュ酸、コーヒー酸、オレアノール酸、メチルチロシン、アビエチン酸等はXOD系、ミクロソーム系の両者に対して強い活性を示した。しかし、同じ化合物についての両者に対する比較では、ミクロソーム系よりもXOD系に対してより強い消去活性を示すものが多かったのは、ハーブについての結果とほぼ同じ傾向であった。一方、没食子酸、p-アニスアルデヒド、オイゲノール、スコポレチン、エスクレチン、1-ペリラルデヒド、o-バニリンは、XOD系にのみ活性を示したのに対し、センノサイド、クリシン、 α -テルピネン、クエルセチン、ガラנגイン、イソサクラネチン、ヘリオトロピンはミクロソーム系にのみ活性を示した。

活性酸素種には、スーパーオキシドラジカル、ヒドロキシラジカル、一重項酸素、過酸化水素等が存在するが、上の結果から考えられることは、XOD系により生成する活性酸素種とミクロソーム系により生成する活性酸素種ではかなり差があることは、上の結果からも推定される。

表3及び4で活性を示した物質を化学構造上から分類すると表5のようである。

表5 活性酸素消去作用を示す物質の分類

-
1. フラボノール類
ゲニステイン、イソサクラネチン、クエルシトリン、クリシン、ナリングニン、クエルセチン、ガラングイン
 2. タンニン類
カテキン、エピカテキン、タンニン、エラジン酸、クロロゲン酸、タンニン酸
 3. 精油成分
ヘリオトロピン、オイゲノール、イソオイゲノール、バニリン、グアヤコール、チモールサフロール、カルバクロール
 4. フェノールカルボン酸
プロトカテキュ酸、クマリン酸、コーヒー酸、フェルラ酸、バニリン酸、没食子酸、ロスマリン酸、桂皮酸
 5. テルペン類
ゲラニオール、リナロール、ピネン、アビエチン酸、グリチルリチン、アブスシン酸、オレアノール酸、ウルソール酸
 6. クマリン類
クマリン、エスクレチン、スコポレチン、リグニン
-

表から明らかなように、活性酸素消去活性を示す物質は数種類のグループに集中していて、特にハーブ類の色や苦味、渋味等に関係するフラボノール類、フェノールカルボン酸類、テルペン類等と、ハーブ特有の芳香に関係する精油成分類、桂皮酸類、アルデヒド類等に強い活性がみられる。

上記の表1及び2は、ハーブ類そのものを用いた実験結果であり、ハーブの中に含まれる成分の量は極めて微量であろうと思われる。それに対して表3、4は純粋な試薬を使用しているので、ここで使用した量はハーブ中の量に比較すると数倍から数十倍になるのではないかとと思われる。しかし、表1、2の活性に比して表3、4の活性はそれほど高い値を示していない。

その理由として、これらの成分はハーブ中では単独で存在するのではなく数種類が同時に存在していて、それらの相乗効果により高い活性を示しているのではないかと考えられる。

本研究の結果から、発癌、動脈硬化、老化、糖尿病等の原因となる内因性活性酸素を除去する効果のあるシモツケ、ワイルドストロベリー、メドウスイート、ローズピンク、アグリモニー等バラ科のハーブティーを飲むことにより、これらの病気を予防できる可能性が期待される。

要 約

1. 肺における活性酸素生成系（XOD系）、及び肝臓における活性酸素生成系（ミクロソーム系）を試験管内で再現させる条件を検討し、本研究に使用可能な条件を設定した。
2. この条件を使用し、ハーブ類74種について、両系に対する消去活性を測定した結果、
 - 1) XOD系活性酸素に対しては、シソ科ハーブ7種、バラ科ハーブ5種、キク科ハーブ2種が60%以上の消去活性を示した。
 - 2) ミクロソーム系活性酸素に対しては、消去活性は若干低かったが、20%以上の活性を示したハーブは、バラ科5種、ショウガ科2種、シソ科1種であった。

特にシモツケ、ワイルドストロベリー、メドウスイート、ローズピンク、アグリモニー等バラ科ハーブ類は、肺、及び肝臓両系の生成する活性酸素を消去する活性を有するので、それらの飲用により病気を予防できる可能性がある。
3. 活性の高かったハーブ類に含まれる成分69種の純品について、両系に対する消去活性を測定した結果、活性成分はいずれもフラボノール類、タンニン類、精油成分、フェノールカルボン酸類、テルペン類、クマリン類に属する化合物であった。

この中、イソサクラネチン、アピエチン酸、クリシン、ヘリオトロピン、ロスマリン酸、エスクレチン、スコポレチン、チモールが、活性酸素消去活性を有することを示した報告は今までにない。

参 考 文 献

- 1) ハーブ大全：リチャード・メイビー著：小学館
- 2) ハーブの知識と応用：小松 美枝子：グラフ社
- 3) メディカルハーブ：ペネラピ・オディ著：日本ヴォーグ社
- 4) 活性酸素：八木 国夫、中野 稔、／監修
二木 鋭雄、島崎 弘幸／編集：医歯薬出版
- 5) 活性酸素と病気：大柳 善彦著：化学同人
- 6) 活性酸素：萩田 善一、大浦 彦吉著：共立出版
- 7) 植物の機能：旭 正編集：岩波出版
- 8) アミノ酸代謝と生体アミン（中・下）：社団法人 日本生化学会：東京化学同人