

# ヤマトトウキの調製過程におけるアンジオテンシンI変換酵素 (ACE) 阻害活性と品質特性の変化

誌名	近畿中国四国農業研究 = Kinki Chugoku Shikoku agricultural research
ISSN	13476238
著者名	浅尾,浩史 間島,いつか 奥田,まみ子 鷺田,和人 小村,啓 野本,享資
発行元	近畿中国四国農業研究協議会
巻/号	17号
掲載ページ	p. 9-14
発行年月	2010年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## ヤマトトウキの調製過程におけるアンジオテンシン I 変換酵素 (ACE) 阻害活性と品質特性の変化

浅尾 浩史・間島いつか\*・奥田まみ子\*・鷺田 和人\*・小村 啓\*\*・野本 享資\*

奈良県農業総合センター 634-0813 橿原市四条町

\*奈良県中小企業支援センター 630-8031 奈良市柏木町

\*\*サントリー生物有機科学研究所 618-8503 三島郡島本町

## Changes of Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibition and Quality Characteristics in the Preparation Process of *Angerica acutiloba* Kitagawa

Hiroshi ASAO, Itsuka MASHIMA\*, Mamiko OKUDA\*\*, Kazuto WASHIDA\*, Hajime KOMURA\*\* and Kyouusuke NOMOTO\*

Nara Prefectural Agricultural Experiment Station, Kashihara, Nara 630-0813

\*Nara Prefectural Small & Medium Sized Enterprises Support Corporation, Nara, Nara 630-831

\*\*Suntory Institute for Bioorganic Research, Shimamoto, Osaka 618-8503

### Summary

Roots from 5-7 plant each of *Angerica acutiloba* Kitagawa were sampled, respectively, after five steps of processing: harvesting, sun-drying, washing and kneading with hot water, air-drying, and aging. Subsequent investigations assessed the dry matter ratio, angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitor activity, sugar content, and pyrazine content.

The ACE inhibitor activity, which is important for suppression of high blood pressure, increased markedly after switching from washing and kneading to air-drying and from air-drying to aging. The sample after aging had ACE inhibitor activity of about six-fold higher than that of after harvesting, demonstrating the pharmacological importance of post-harvest processing. Total sugar content increased during the period from harvesting to sun-drying. No change was observed thereafter until aging. Pyrazines contents are the indicator for quality evaluation; they were detected only slightly until air-drying processing, but they increased markedly from air-drying to aging.

(Received Feb. 1, 2010 ; Accepted Mar. 25, 2010)

薬用植物ヤマトトウキ (*Angerica acutiloba* Kitagawa) はセリ科の植物で、その根を乾燥させたものを当帰という。日本で流通している当帰の代表は、良品といわれている大和当帰と市場のほとんどを占める北海当帰であるが、大和当帰と北海当帰の基原植物は異なり、それぞれ *A. acutiloba* Kitagawa と *A. acutiloba* var. *sugiyamana* Hikino である。ヤマトトウキは17世紀中頃から大和や山城地方で野生のミヤマトウキ系のものが栽培化されたとされており、ホッカイトウキはヤマトトウキを原種として明治の末から大正年間に北海道で育種された病害虫に強い新種であるといわれている<sup>1)</sup>。当帰は古来漢方で婦人病や虚弱体質の改善の治療に用いられ、当帰芍薬散などの重要な漢方方剤に配合されている。また、当帰には血圧上昇を抑制する効果が期待されている<sup>2)</sup>。

ヤマトトウキの調製では、初冬頃掘り上げ、はざ掛けによる自然乾燥を経た根部を湯揉みして根を整形した

後、熟成させるという方法が大和地方で伝統的に行われている。湯揉みは、夾雑物を除いて整形しやすくするとともに、酵素の働きで生理活性を高めるために行われている<sup>3)</sup>が、湯揉みによって、シヨ糖含量および希エタノールエキス含量が低下したと報告<sup>3)</sup>されている。さらに、湯揉みで、血圧上昇抑制に重要なアンジオテンシン I 変換酵素 (ACE) 阻害活性が低下するとの報告<sup>4)</sup>もあり、湯揉みが、ACE 阻害活性および糖含量に対してマイナスに働いていると指摘されている<sup>3,4)</sup>。そこで、ヤマトトウキの収穫から商品化までの5つの調製過程における ACE 阻害活性と糖含量の変化を検討した。

また、小村<sup>5)</sup>は減圧水蒸気蒸留法によって大和当帰に含まれる揮発成分を抽出してガスクロマトグラフィー (GC) で分析し、ピラジン類の含有割合を算出することによる品質 (等級) 評価法を見出した。そこで、操作がより簡便なモノリスシリカ素材を吸着剤とした MonoTrap を用いる GC 分析法で揮発成分を抽出し、ピラジン類の含有割合を算出することによって調製過程における品質を評価した。

なお、本研究は、JST、奈良県地域結集型研究開発プログラム「古都奈良の世紀植物機能活用技術の開発」の一環として実施した。

本研究の大和トウキ栽培の指導・実施において、ご協力いただいた福田眞三氏（福田商店）、中川貴男氏（明日香村役場）、「えいのうキトラ」（阿部山地区）および奈良県各機関の皆様には厚く御礼申し上げる。

## 1 材料および方法

### 1) 供試材料

奈良県高市郡明日香村阿部山地区の圃場で2008年4月6日に定植して栽培した大和トウキの根部を、収穫後（2008年12月15日）、はぎ掛け後（2009年2月28日）、湯揉み後（同年3月4日）、風乾後（同年4月20日）および熟成後（同年10月5日）の調製過程の5時期に5～7個体分サンプリングした（第1、2、3図）。

### 2) 乾物率の測定

根部サンプルの一部を80℃で3日間通風乾燥させ、乾燥させる前後の重量を秤量して乾物率を算出した。

### 3) ACE阻害活性の測定

根部サンプルを凍結乾燥後、粉碎した粉末に20倍量の蒸留水を加え、40℃で30分間振とう（100rpm）し、その後遠心分離（3,000g、10分間）により得た上澄みを原液とした。原液を段階的に希釈した試料溶液をACE kit-WST（同仁化学研究所）によるACE阻害活性の測定に用いた。ACE kit-WSTは、3-Hydroxybutyryl-Gly-Gly-Gly（3HB-GGG）から切りだされてくる3-Hydroxybutyric acid（3HB）を酵素法により検出する方法であり、マイクロプレートリーダー（BIO-RAD社）で450nmの吸光度を測定した。なお、ACE活性は50%阻害するために必要な試料濃度をIC50値（mg/ml）として算出した。

### 4) 糖含量の測定

上記粉末サンプルに20倍量の蒸留水を加え、80℃で1



第1図 はぎ掛け風景



第2図 湯揉み過程

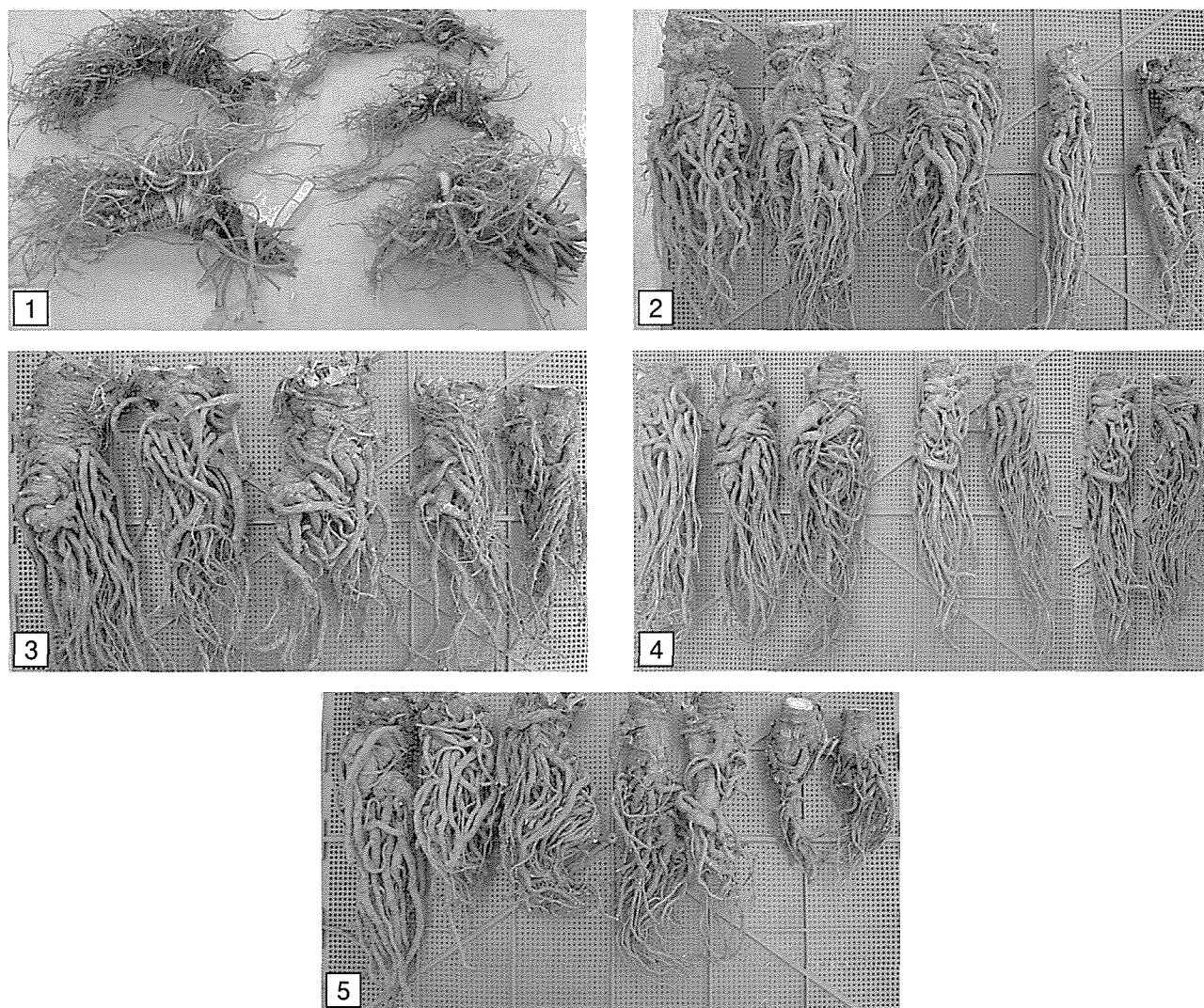
時間振とう(100rpm)し、その後遠心分離(3,000g, 10分間)により得た上澄みを1/10希釈して試料溶液とした。この試料溶液をF-キット(J. K. インターナショナル社)を用いて酵素反応させ、340nmの吸光度を測定して、ショ糖、ブドウ糖および果糖の含量を算出した。

5) ピラジン類の割合の測定

根部サンプルのチップ(1.5g)とMonoTrap DCC18(ジールサイエンス社)5枚をスクリー管(直径2cm, 高さ3.5cm)に入れ密栓後、蒸留水(0.5ml)を添加し、60℃で3時間加熱した後、MonoTrapから吸着された揮発性成分をジクロロメタンで抽出して濃縮後、GC-FID(GC-4000, ジールサイエンス社)で測定した。分析条件は、ヘリウムをキャリアガスとして、キャピラリーカラムはバリアン社のCP-Sil 8 CB LOW BLEED/MS(0.25mm×30m, 膜厚0.25μm)を用いた。オープン温度を40℃で10分間保持後、毎分4℃で220℃まで昇温させると、2-エチル-5-メチルピラジンは21.88分、2,

3,5-トリメチルピラジンは22.03分、2,3,5,6-テトラメチルピラジンは26.04分の保持時間にピークが溶出した。2,3,5,6-テトラメチルピラジンのピークまでの全てのピークの面積に対するピラジン類のピーク面積の割合を算出した。

なお、MonoTrap法を従来の分析法である減圧水蒸気法と比較するために、熟成後サンプルを用いて分析した。根部サンプルチップ(5.0g)を、60℃の湯浴中で水50mlにより2時間抽出する操作を3回繰り返し、全抽出液をあわせ、これを2.0~3.3KPaの減圧下、湯浴温度40℃で蒸溜して揮発性成分の溜液を得た。得られた溜液は100mlの塩化メチレンで3回抽出し、抽出液を全てあわせた後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、常圧で濃縮サンプル量が0.2ml程度まで濃縮、これをGC用分析サンプルとし、GC-FID(5890N Series II, アジレント社)で測定した。分析条件は、ヘリウムをキャリアガスとして、キャピラリーカラムはアジレント社のDB-WAX(0.25mm×30m,



第3図 大和トウキ根部調製過程でのサンプル

1:収穫後, 2:はぎ掛け後, 3:湯揉み後, 4:風乾後, 5:熟成後

第1表 ヤマトトウキ調製過程における乾物率, ACE阻害活性, 糖含量およびピラジン類割合の変化

サンプリング時期	根重 (g)	サイズ	乾物率 (%)	IC50 (mg/ml)	糖 (%)				ピラジン類 (%)
					ショ糖	ブドウ糖	果糖	合計	
収穫後 (2008年12月15日)	90	M	34.0	0.612	4.89	0.18	0.14	5.21	0.00
	120	M	33.3	0.664	6.71	0.14	0.08	6.93	0.00
	290	L	28.1	0.693	9.80	0.14	0.11	10.05	0.00
	320	L	28.4	0.687	8.10	0.07	0.05	8.22	0.00
	430	L	27.3	0.646	7.69	0.14	0.12	7.95	0.00
平均±標準誤差	250±64 <sup>a</sup>		30.2±1.4 <sup>a</sup>	0.660±0.015 <sup>a</sup>	7.44±0.81 <sup>a</sup>	0.13±0.02 <sup>a</sup>	0.10±0.02 <sup>a</sup>	7.67±0.80 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
はざ掛け後 (2009年2月28日)	67	M	69.6	0.581	36.20	0.30	0.22	36.72	0.05
	71	M	64.5	0.491	26.03	0.31	0.23	26.57	0.19
	165	L	59.7	0.739	39.02	0.33	0.27	39.62	0.10
	170	L	55.6	0.791	34.75	0.23	0.15	35.13	0.00
	171	L	53.2	0.552	27.40	0.45	0.39	28.24	0.08
平均±標準誤差	129±24 <sup>ab</sup>		60.5±3.0 <sup>b</sup>	0.631±0.057 <sup>a</sup>	32.68±2.54 <sup>b</sup>	0.32±0.04 <sup>ab</sup>	0.25±0.04 <sup>a</sup>	33.26±2.51 <sup>b</sup>	0.08±0.03 <sup>a</sup>
湯揉み後 (2009年3月4日)	71	M	62.0	0.775	30.86	0.27	0.20	31.33	0.14
	95	M	63.5	0.745	31.97	0.27	0.17	32.41	0.08
	150	L	55.2	0.648	35.08	0.24	0.21	35.53	0.16
	215	L	50.8	0.614	34.98	0.48	0.35	35.81	0.09
	220	L	58.8	0.767	36.20	0.66	0.54	37.40	0.00
平均±標準誤差	150±30 <sup>ab</sup>		58.1±2.3 <sup>b</sup>	0.710±0.033 <sup>a</sup>	33.82±1.02 <sup>b</sup>	0.38±0.08 <sup>ab</sup>	0.29±0.07 <sup>a</sup>	34.50±1.13 <sup>b</sup>	0.09±0.03 <sup>a</sup>
風乾後 (2009年4月20日)	35	S	88.7	0.439	34.07	0.39	0.29	34.75	0.18
	43	S	89.9	0.431	34.56	0.28	0.26	35.10	0.18
	68	M	88.1	0.260	25.13	0.54	0.42	26.09	0.20
	69	M	89.5	0.316	36.29	0.27	0.22	36.78	0.16
	113	L	82.4	0.406	36.71	0.25	0.22	37.18	0.12
	117	L	83.1	0.366	32.92	0.35	0.27	33.54	0.31
	130	L	83.3	0.389	37.39	0.29	0.21	37.89	0.37
平均±標準誤差	82±14 <sup>b</sup>		86.4±1.3 <sup>c</sup>	0.372±0.024 <sup>b</sup>	33.87±1.57 <sup>b</sup>	0.34±0.04 <sup>ab</sup>	0.27±0.03 <sup>a</sup>	34.48±1.51 <sup>b</sup>	0.21±0.03 <sup>a</sup>
熟成後 (2009年10月5日)	32	S	93.3	0.075	27.22	0.51	0.69	28.42	0.92
	37	S	90.4	0.116	29.73	0.87	0.99	31.59	0.94
	55	M	91.2	0.131	34.22	0.37	0.50	35.09	1.95
	73	M	90.0	0.112	29.01	0.51	0.59	30.11	5.32
	115	L	90.5	0.135	29.10	0.51	0.63	30.24	1.68
	127	L	90.8	0.112	26.04	0.26	0.50	26.80	10.85
	140	L	91.9	0.133	34.63	0.26	0.37	35.26	2.03
平均±標準誤差	83±17 <sup>b</sup>		91.2±0.4 <sup>c</sup>	0.116±0.008 <sup>c</sup>	29.99±1.24 <sup>b</sup>	0.47±0.08 <sup>b</sup>	0.61±0.07 <sup>b</sup>	31.07±1.20 <sup>b</sup>	3.38±1.37 <sup>b</sup>

異なるアルファベット間にはTukeyの多重検定により5%水準で有意差あり

膜厚0.25 μm)を用いた。オープン温度を40℃で10分間保持後、毎分4℃で220℃まで昇温させると、2-エチル-5-メチルピラジンは19.80分、2,3,5-トリメチルピラジンは20.65分、2,3,5,6-テトラメチルピラジンは23.39分の保持時間にピークが溶出した。2,3,5,6-テトラメチルピラジンのピークまでの全てのピークの面積に対するピラジン類のピーク面積の割合を算出した。

## 2 結 果

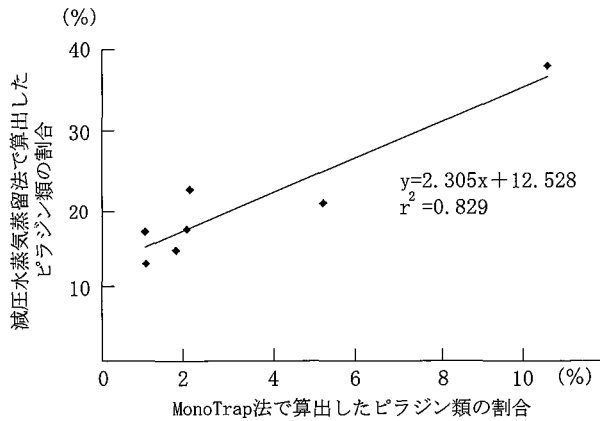
1) 調製過程の各段階における乾物率, ACE阻害活性, 糖含量およびピラジン類の割合  
乾物率は収穫後(30.2%)からのはざ掛け後(60.5%)

と、湯揉み後(58.1%)から風乾後(86.4%)にかけて有意に増大した(第1表)。

各段階でのACE阻害活性のIC50値は、湯揉み後(0.710 mg/ml)から風乾後(0.372 mg/ml)、更に熟成後(0.116 mg/ml)と段階毎に有意に高まった(第1表)。

全糖含量は収穫後(7.67%)からのはざ掛け後(33.62%)に急激に増大してその後は変化なかった。ヤマトトウキ根部に含まれる糖の大部分はショ糖(全糖の96.5%~98.3%)であった。一方、ブドウ糖と果糖は調製過程が進むにつれて高まる傾向にあり、特に、果糖は風乾後(0.27%)から熟成後(0.61%)にかけて有意に増加した(第1表)。

ピラジン類の割合は収穫後から風乾後までわずかな増加(0~0.21%)が見られただけだったが、熟成後(3.38%)



第4図 MonoTrap法と減圧水蒸気蒸留法で算出したピラジン類割合の相関

において有意に増加した(第1表)。なお、本研究で用いた MonoTrap法で算出したピラジン類の割合を、従来の測定法である減圧水蒸気蒸留法で算出した割合と比較すると高い相関 ( $r^2=0.872$ ) が認められた(第4図)。

2) 調製過程の各段階における根部の大きさが乾物率、ACE阻害活性、糖含量およびピラジン類の割合に及ぼす影響

各調製過程において、根重の軽いもの程乾物率は高い傾向にあり、特に収穫後、はざ掛け後および湯揉み後においてその傾向は顕著であった。一方、熟成後のピラジン類の割合は、非常に軽い根重のサンプル(S)と比較してある程度重いサンプル(M, L)の方が、その割合は高まる傾向となった。IC50および糖含量とサンプル根重との間には相関は認められなかった(第1表)。

### 3 考 察

血圧降下薬としてカプトプリルなど数種のACE阻害活性物質が繁用されている<sup>6)</sup>ことを考えると、静脈注射による動物実験ながら血圧降下作用が報告された当帰<sup>1)</sup>には、ACE阻害活性が関係した薬効が見込まれる。この当帰の調製過程において、ACE阻害活性を追跡することは、当帰の薬理活性を知る上でも重要な知見を与えると期待できる。兼俊ら<sup>3)</sup>はホッカイトウキを用いて乾燥方法の違いによるACE阻害活性を調べ、凍結乾燥で最も高いACE阻害活性(IC50: 7.8mg/ml)を示したと報告している。さらに、湯揉み過程は有意にACE阻害活性を低下させたとしている。そこで、ヤマトトウキの根を用いて伝統的な調製過程でのACE阻害活性を調べたところ、収穫後から湯揉み後までの工程ではACE阻害活性に有意な変化はなかった。しかし、湯揉み後、風乾後、熟成

後と進むにつれてACE阻害活性は高まり、IC50値は各々0.710mg/ml, 0.372mg/ml, 0.116mg/mlとなった。収穫後から換算すると約6倍にACE阻害活性が高まったことになり、収穫後の調製過程が薬理的にも重要であることが確認できた。他の血圧降下作用があるとされる植物のIC50値は、キノコ<sup>7)</sup>が0.06mg/ml~2.25mg/ml, サツマイモ<sup>8)</sup>が0.161mg/ml~0.721mg/ml, 豆類<sup>9)</sup>が0.06mg/ml~0.58mg/mlであり、これらと比較してもヤマトトウキの根のACE阻害活性は同水準である。

姉帯ら<sup>3)</sup>はヤマトトウキとホッカイトウキを用いて根部乾燥法の違いが糖含量に及ぼす影響を検討し、温風乾燥と比較して徐々に乾燥した自然乾燥品の方が、糖含量が高まると報告している。本研究においてはヤマトトウキを材料にして収穫後からの調製過程で糖含量を測定し、収穫後に7.67%の糖含量がはざ掛け後には30.26%と約4倍に増加するという結果が得られた。これは乾燥中に酵素の作用でショ糖が合成されたとする姉帯ら<sup>3, 10)</sup>の報告と同様な結果であったが、はざ掛け後から熟成するまで全糖含量はほとんど変化しないが、ブドウ糖と果糖が最後の熟成過程で増加したのは興味深い。

揮発性成分であるピラジン類は、収穫直後には全く検出されなかったが、調製過程でわずかに検出できるようになり、風乾から熟成の期間において顕著に増大した。さらに、根重の軽いサンプルよりも重いサンプルにおいてピラジン類の割合が大きくなる傾向であった。小村<sup>5)</sup>は大和当帰から水蒸気蒸留法で揮発成分を抽出し、GC-FIDで測定して算出した場合、ピラジン類の割合が高い程、等級は高い傾向にあると報告している。低級アルキルピラジンは食品の調理過程の際にメイラード反応で生成するとされており、大和当帰の場合も熟成過程でメイラード反応のような化学反応が起き、何らかの前駆物質からピラジン類が生成されたと考えられる。なお、MonoTrap法によるピラジン類の測定値は従来法(減圧水蒸気蒸留法)と比較して相関が高く、かつ簡便であることから、今後当帰の品質評価を行うのに有効な手法になると考えられる。

良質な大和当帰を作り上げるには、栽培から調製まで多くの手間がかけられている。収穫直後では低かったACE阻害活性や品質特性に関わると考えられるピラジン類の割合は調製過程で発現、増加していくことが明らかとなった。

### 4 摘 要

ヤマトトウキの根部を、収穫後、はざ掛け後、湯揉み後、風乾後および熟成後の調製過程の5時期に5~7個

体分サンプリングして、乾物率、ACE阻害活性、糖含量およびピラジン類の割合を検討した。

ACE阻害活性は湯揉み後から風乾後と、風乾後から熟成後にかけて有意に高まった。最終サンプルは収穫後と比較すると約6倍にACE阻害活性が高まり、収穫後の調製過程が薬理的にも重要であることが判明した。全糖含量は、収穫からはぎ掛けの期間に約4倍に増加したが、その後は熟成までの期間に変化はなかった。品質評価の指標となるピラジン類は、風乾まではほとんど検出されず、風乾から熟成の期間で急激に増加した。

## 引用文献

- 1) 宇高一郎・中村泰之・蔭山 充：漢方研究, 10, 29-37, 2005.
- 2) 林 元英:日薬理誌, 73, 177-191, 1977.
- 3) 姉帯正樹・柴田敏郎・畠山好雄：Natural Medicine, 51 (4), 331-334, 1997.
- 4) 兼俊明夫・林 隆章・姉帯正樹・金島弘恭・尾谷賢・袁嶋裕典・内山智幸・畠山好雄・飯田 修：北海道衛研所報, 43, 1-5, 1993.
- 5) 小村 啓：香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会要旨集, 52, 43-46, 2008.
- 6) Kubo, M., K. Kobayashi and R. Ishida : J. Pharmacobio-Dyn, 15, 657-665, 1992.
- 7) 伊藤華子・青柳康夫：日本食品科学工学会誌, 53 (9), 8459-465, 2006.
- 8) 石黒浩二・吉元 誠・鏑田仁人・高垣欣也：日本食品科学工学会誌, 54 (1), 45-49, 2007.
- 9) 伊藤華子・吉田 望・白貝紀江・青柳康夫：日本食品科学工学会誌, 55 (5), 253-257, 2008.
- 10) 姉帯正樹・柴田敏郎・菱田敦之・畠山好雄：北海道衛研所報, 52, 78-80, 2002.