

目的

トウキは漢方薬や家庭薬の原料として汎用される生薬で、日本薬局方においてトウキの基原はトウキ *Angelica acutiloba* Kitagawa 又はホツカイトウキ *Angelica acutiloba* Kitagawa var. *sugiyamae* Hikino とされている。

平成24年度では860トンほどの使用量のうち、約20%が日本産である。奈良、和歌山両県境で生産されるトウキは、大和当帰(大深当帰)として流通しており、他と比較し高価で品質がよいといわれている。奈良県では、漢方のメッカ推進プロジェクトにおいて、大和当帰のブランド化や未利用部の葉部の活用などを進めたいと考えている。

トウキの根部の代表的な成分としてはフタリド類の Ligustilide (LG) などがよく知られている。また、フロクマリン類の Psoralen (Pso)、Xanthotoxin (Xan)、Bergapten (Ber) が含まれているが、これらはファイトアレキシンであり、生薬調製過程でも生成するストレス化合物であることが報告されている。¹⁾ フロクマリン類はプソラレン誘導体であり、多量に摂取し、これらの化合物が血中にある状態で紫外線を浴びると紅斑、色素沈着、びらんなどの症状を呈する光毒性を有することが知られている。葉部を食品などに利用しようとする場合には、このような有害作用のある化合物の含量を把握し、有害作用がでないように利用することが肝要である。しかし、トウキの葉について、これら成分の調査報告はなく、今回、同じセリ科のハマボウフウ、パセリ、セロリ、ニンジンの野菜類と含有量の比較調査を行った。

1) Anetai M., Masuda T., Takasugi M., *Natural Medicines.*, **50**, 399-403 (1996)

試験検体

用いた検体は表1のとおりである。トウキの2014年採取品及びハマボウフウは、葉と茎に分け、ニンジンには根と葉に分けた。更に、トウキ2014年採取品の葉、ハマボウフウの葉、パセリ及びセロリはそれぞれ二分割した後、一方は乾燥し、残りは冷凍庫で保管した。それぞれの検体数は以下の通りである。

トウキ	2013年採取品	葉	4検体	茎	2検体
	2014年採取品	葉	27検体	茎	27検体
	2015年採取品	葉	3検体		
ハマボウフウ	2014年採取品	葉	6検体	茎	6検体
ニンジン	2014年採取品	葉	6検体	根	6検体
パセリ	2014年採取品	葉	5検体		
セロリ	2014年採取品	葉	6検体		



表1 検体リスト

サンプル記号	植物種	部位	産地	採取年月日	調製、保管等条件
AaN-L-D-1401~1411	トウキ	葉	奈良県五條市(農場A)	2014年8月	30℃で100時間温風乾燥後、室温保管 -10℃の冷凍庫保管
AaN-S-D-1401~1411		茎			
AaN-L-F-1401~1411		葉			
AaP-L-D-1401~1416	トウキ	葉	奈良県五條市(農場B)	2014年9月	30℃で100時間温風乾燥後、室温保管 -10℃の冷凍庫保管
AaP-S-D-1401~1416		茎			
AaP-L-F-1401~1416		葉			
Aa-LB-D-1301~1302 Aa-LS-D-1301~1302	トウキ	葉	奈良県五條市(農場B)	2013年11月	30℃で100時間温風乾燥後、室温保管
Aa-S-D-1301~1302		茎			
AaP-L-D-1501~1502	トウキ	葉	奈良県五條市(農場B)	2015年4月	30℃で4日間乾燥
AaP-L-D-1503					30℃で4日間乾燥後、オートクレーブ処理
GIT-L-D-1401~1406	ハマボウフウ	葉	徳島県鳴門市自生	2014年9月	30℃で100時間温風乾燥後、室温保管 -10℃の冷凍庫保管
GIT-S-D-1401~1406		茎			
GIT-L-F-1401~1406		葉			
DcU-L-D-1401~1406	ニンジン	葉	奈良県宇陀市	2014年10月	30℃で100時間温風乾燥後、室温保管
DcU-R-D-1401~1406		根			
PcT-D-1401~1405	パセリ	葉	奈良県天理市	2014年10月	30℃で100時間温風乾燥後、室温保管
PcT-F-1401~1405		葉			-10℃の冷凍庫保管
AgT-D-1401~1406	セロリ	葉	奈良県天理市	2014年10月	30℃で100時間温風乾燥後、室温保管
AgT-F-1401~1406		葉			-10℃の冷凍庫保管

試験方法 1

【試料】

乾燥検体：粉砕器で粉砕し、42号ふるい(355 μ m)を通したものを、試料とした。

冷凍検体：そのまま試料とした。

【試料溶液】

乾燥試料：試料を精密に量り、試料 0.1g に対して溶媒量が 10mL となるように、メタノール/水混液(4:1)を正確に加え、20分間超音波処理の後、遠心分離し、上澄液を孔径 0.45 μ m のメンブレンフィルターでろ過し、ろ液を試料溶液とした。

冷凍試料：試料約 8g を精密に量り、メタノール/水混液(4:1) 50mL を加え、ミキサーで切碎し、メタノール/水混液(4:1) 100mL を加えて 20分間超音波処理の後、ろ過する。残留物はメタノール/水混液(4:1)で洗い、洗液はろ液と合わせ、メタノール/水混液(4:1)で正確に 200mL とする。この液を孔径 0.45 μ m のメンブレンフィルターでろ過し、ろ液を試料溶液とした。

【標準溶液】

プロラレン(東京化成工業製, 純度 98%)、キサントキシン(東京化成工業製, 純度 98%)、ベルカプテン(東京化成工業製, 純度 98%)のメタノール溶液(0.5mg/mL)をメタノール/水混液(4:1)で 50倍希釈したものをフロクマリン標準原液とした。リグスチドは 0.1mg/mLメタノール溶液(和光純薬工業製, 500 μ L アンプル入り, 表示純度 0.097~0.103mg/mL)をリグスチド標準原液とした。

これら標準原液を適宜混合し、必要によりメタノール/水混液(4:1)で希釈して標準溶液を調製した。

試験方法 2

【HPLC条件】

検出器	: 紫外吸光光度計 (測定波長 : 300nm)
カラム	: Inertsil ODS-4 (4.6mm×150mm、5 μ m、GLサイエンス製)
カラム温度	: 40.0 $^{\circ}$ C
移動相	: 薄めたリン酸(1→100) / アセトニトリル混液 (3:2)
流量	: 毎分 1.0mL (リグスチド [®] の保持時間が約 31 分)
注入量	: 10 μ L

【システム適合性】

システムの性能 : 標準溶液 10 μ Lにつき、上記の条件で操作したとき、フロラレン、キサントキシン、ベルカプテン、リグスチド[®]の順に溶出し、フロラレンとキサントキシンの分離度が 1.9 であったことから、「標準溶液 10 μ Lにつき、上記の条件で操作するとき、フロラレン、キサントキシン、ベルカプテン、リグスチド[®]の順に溶出し、フロラレンとキサントキシンの分離度は 1.5 以上である。」と規定した。

システムの再現性 : 標準溶液 10 μ Lにつき、上記の条件で試験を 6 回繰り返したとき、フロラレン、キサントキシン、ベルカプテン、リグスチド[®]のピーク面積の相対標準偏差が 0.9%、0.7%、0.7%、1.1% であったことから、「標準溶液 10 μ Lにつき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、フロラレン、キサントキシン、ベルカプテン及びリグスチド[®]のピーク面積の相対標準偏差はそれぞれ 3.0%以下である。」と規定した。

【乾燥減量】 (乾燥試料についてのみ実施)

乾燥試料適当量を質量既知の秤量瓶にとり、105 $^{\circ}$ Cで 6 時間乾燥し、乾燥減量を算出した。

試験結果 1

標準溶液、トウキ葉乾燥試料、トウキ葉冷凍試料及びハマボウフウ葉の代表的クロマトグラムを図1～図4に示す。

乾燥試料のフロクマリン類の定量結果を表2及び図5に、冷凍試料のフロクマリン類の定量結果を表3及び図6に、乾燥試料のリグスチリドの定量結果を表4、図7及び図8に、冷凍試料のリグスチリドの定量結果を表5及び図9に示す。

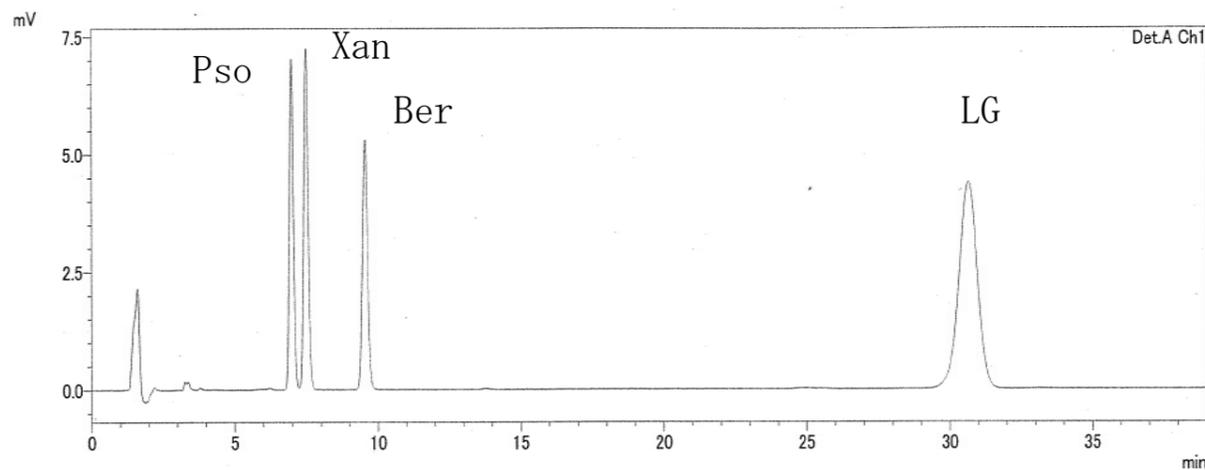


図1 標準溶液

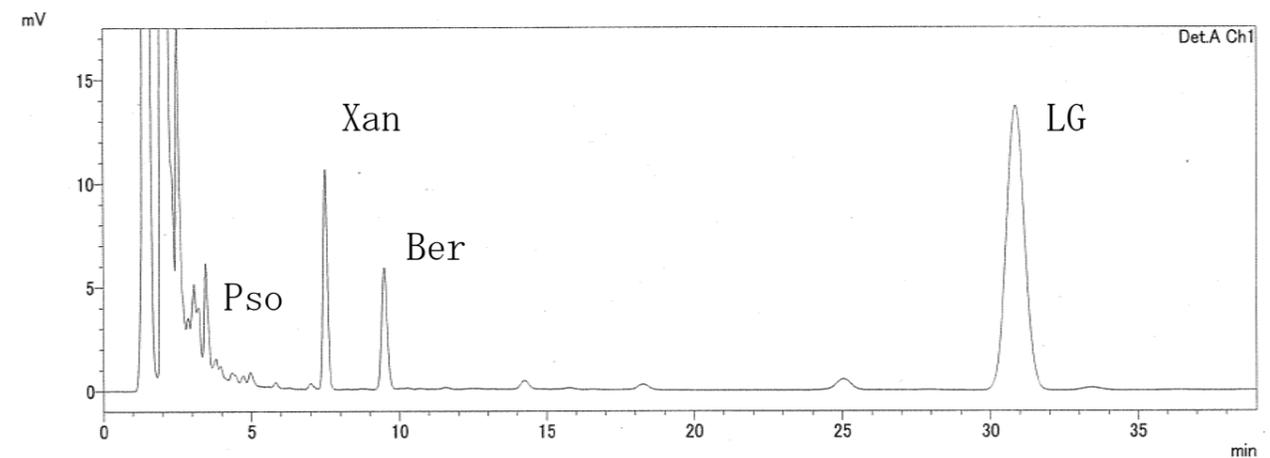


図2 トウキ葉乾燥試料(Aap-L-D-1402)

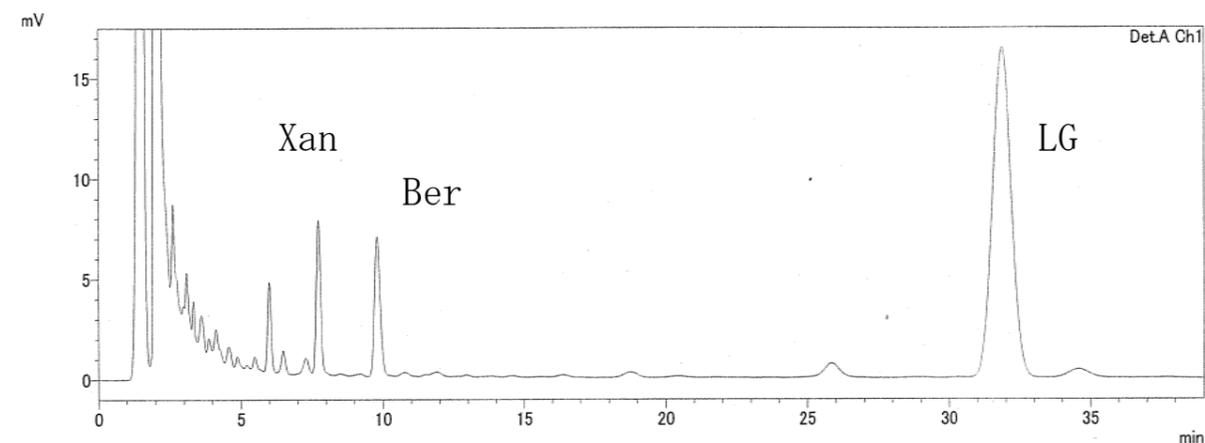


図3 トウキ葉冷凍試料(Aap-F-D-1402)

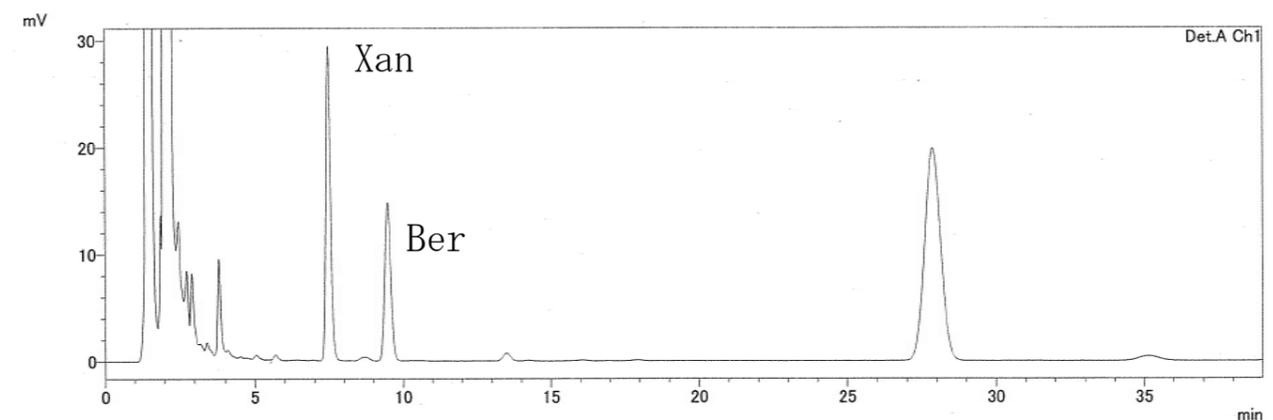


図4 ハマボウフウ葉乾燥試料(GIT-L-D-1401)

表2 乾燥試料のフロクマリン類含量 (mg/100g)

	Psoralen		Xanthotoxin		Bergapten		フロクマリン類3成分の合計	
	最小値 ～最大値	平均値 ±標準偏差	最小値 ～最大値	平均値 ±標準偏差	最小値 ～最大値	平均値 ±標準偏差	最小値 ～最大値	平均値 ±標準偏差
トウキ葉(2014 農場A)	0.7～1.6	1.0±0.3	10.6～46.4	25.0±13.5	6.4～36.3	20.1±8.4	18.5～80.1	46.1±20.2
トウキ茎(2014 農場A)	0.5～1.3	0.9±0.2	3.6～18.5	9.4±5.0	0.4～9.8	6.2±3.1	7.6～28.7	16.4±6.6
トウキ葉(2014 農場B)	0.6～5.3	1.6±1.2	2.3～145.4	46.9±35.5	2.6～43.7	22.8±12.1	5.6～191.0	71.3±46.2
トウキ茎(2014 農場B)	0.4～2.1	0.8±0.4	2.6～73.6	19.7±19.8	1.8～22.6	9.4±6.4	4.9～96.9	30.0±25.8
トウキ葉(2015)	0.3～0.4	0.4±0.1	0.8～1.6	1.1±0.4	0.5～0.7	0.6±0.1	1.7～2.7	2.1±0.6
トウキ葉(2013)	0.8～1.0	0.9±0.1	9.4～22.5	14.2±5.8	1.4～4.0	2.5±1.1	11.7～27.4	17.5±6.9
トウキ茎(2013)	0.8～1.7	1.25	5.4～13.2	9.3	2.0～2.8	2.4	8.2～17.7	12.9
ハマボウフウ葉	0.08～0.14	0.1±0.03	40.2～96.9	64.7±24.5	43.2～67.2	57.7±9.4	87.6～162.9	122.5±26.9
ハマボウフウ茎	nd～0.3	0.1±0.12	11.3～48.0	27.0±16.6	25.6～43.1	31.4±6.3	36.9～89.7	58.5±21.9
ニンジン葉	nd～0.4	0.2±0.14	nd～0.22	0.1±0.06	nd～0.2	0.1±0.1	0.04～0.8	0.4±0.3
ニンジン根	nd～0.3	0.05±0.13	0.07～0.22	0.2±0.1	nd～0.4	0.1±0.14	0.1～0.9	0.3±0.3
パセリ	nd～0.3	0.1±0.1	1.0～1.9	1.6±0.4	11.2～26.3	15.2±6.3	13.1～28.2	16.9±6.5
セロリ	0.5～1.8	0.8±0.5	0.4～3.2	1.3±1.2	0.8～4.4	2.1±1.5	1.9～9.4	4.2±3.1

単位は換算した乾燥物 100g 中の含量(mg)

nd: Pso<0.05mg/100g , Xa<0.06mg/100g , Ber<0.07mg/100g

表3 冷凍試料のフロクマリン類含量 (mg/100g)

	Psoralen		Xanthotoxin		Bergapten		フロクマリン類3成分の合計	
	最小値 ～最大値	平均値 ±標準偏差	最小値 ～最大値	平均値 ±標準偏差	最小値 ～最大値	平均値 ±標準偏差	最小値 ～最大値	平均値 ±標準偏差
トウキ葉(2014 農場A)	0.5～1.3	0.8±0.2	3.4～11.7	6.0±2.6	2.2～7.6	4.7±2.0	6.6～19.8	11.4±4.1
トウキ葉(2014 農場B)	0.6～2.4	1.4±0.5	0.4～47.6	15.4±12.7	1.0～14.9	7.1±4.0	2.6～63.1	23.8±16.2
ハマボウフウ葉	nd	—	13.7～48.8	31.1±14.1	9.8～24.6	17.7±6.7	23.5～72.2	48.8±20.2
パセリ	nd	—	0.4～1.4	0.7±0.4	1.8～4.0	2.5±0.9	2.2～5.4	3.2±1.3
セロリ	0.05～0.12	0.08±0.03	nd～0.4	0.2±0.2	nd～0.8	0.3±0.3	0.1～1.2	0.6±0.4

単位は換算した乾燥物 100g 中の含量(mg)

nd: Pso<0.05mg/100g , Xa<0.06mg/100g , Ber<0.07mg/100g

表4 乾燥試料のリグスチリド含量(%)

	Ligustilide	
	最小値～最大値	平均値±標準偏差
トウキ葉(2014 農場A)	0.80～1.12	0.94±0.12
トウキ茎(2014 農場A)	0.40～0.90	0.69±0.16
トウキ葉(2014 農場B)	0.34～1.53	0.81±0.26
トウキ茎(2014 農場B)	0.22～0.92	0.60±0.21
トウキ葉(2015)	0.48～0.62	0.57±0.08
トウキ葉(2013)	0.19～0.28	0.23±0.05
トウキ茎(2013)	0.24～0.25	0.25

単位は換算した乾燥物中の含量(%)

表5 冷凍試料のリグスチリド含量(%)

	Ligustilide	
	最小値～最大値	平均値±標準偏差
トウキ葉(2014 農場A)	0.17～0.37	0.24±0.07
トウキ葉(2014 農場B)	0.11～0.43	0.26±0.09

単位は冷凍試料中の含量(%)

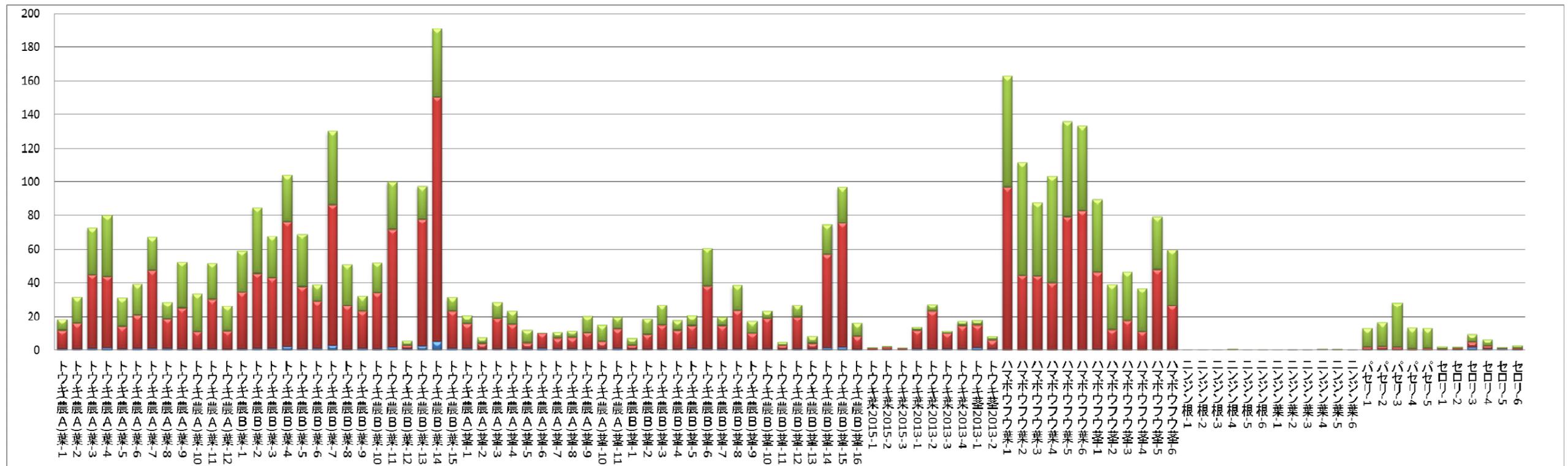
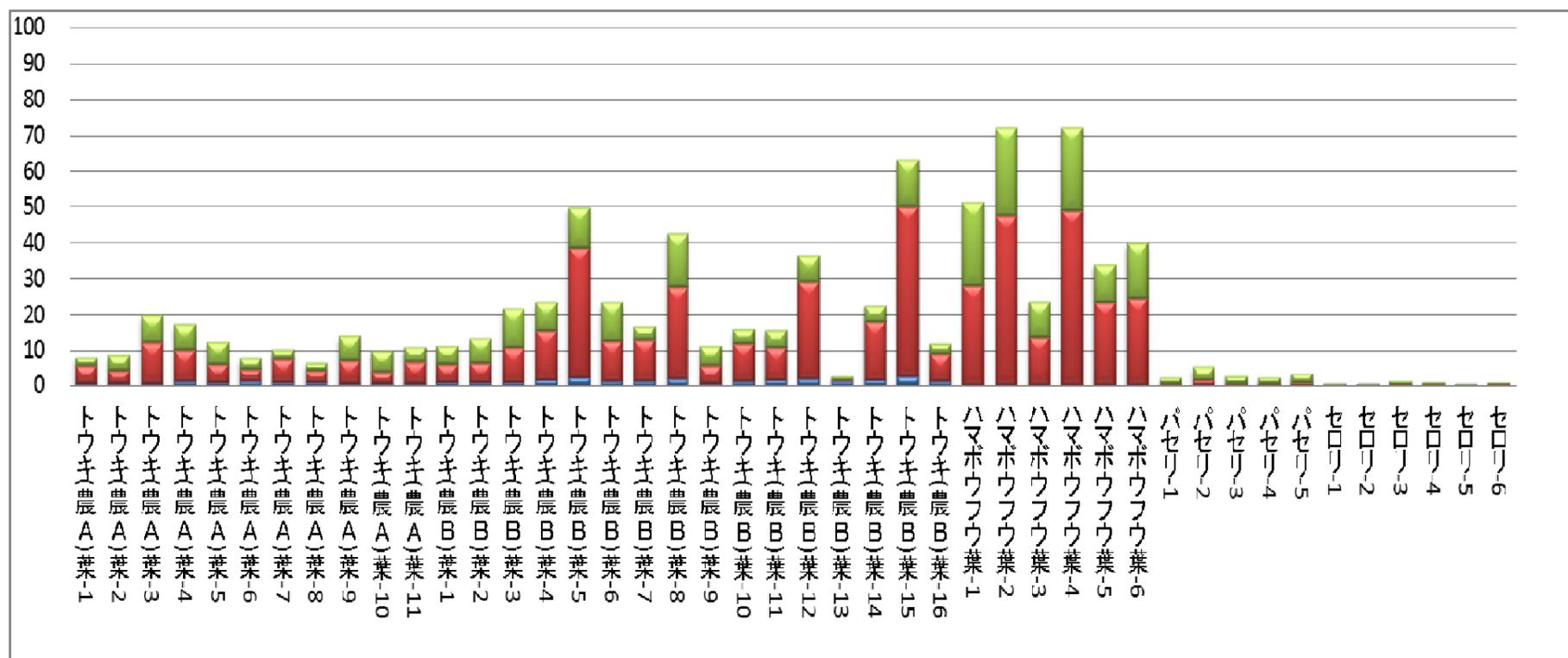


図5 乾燥試料のフロクマリン類含量 (mg/100g)



凡例 (図5 及び 図6)

- Psoralen
- Xanthotoxin
- Bergapten

図6 冷凍試料のフロクマリン類含量 (mg/100g)

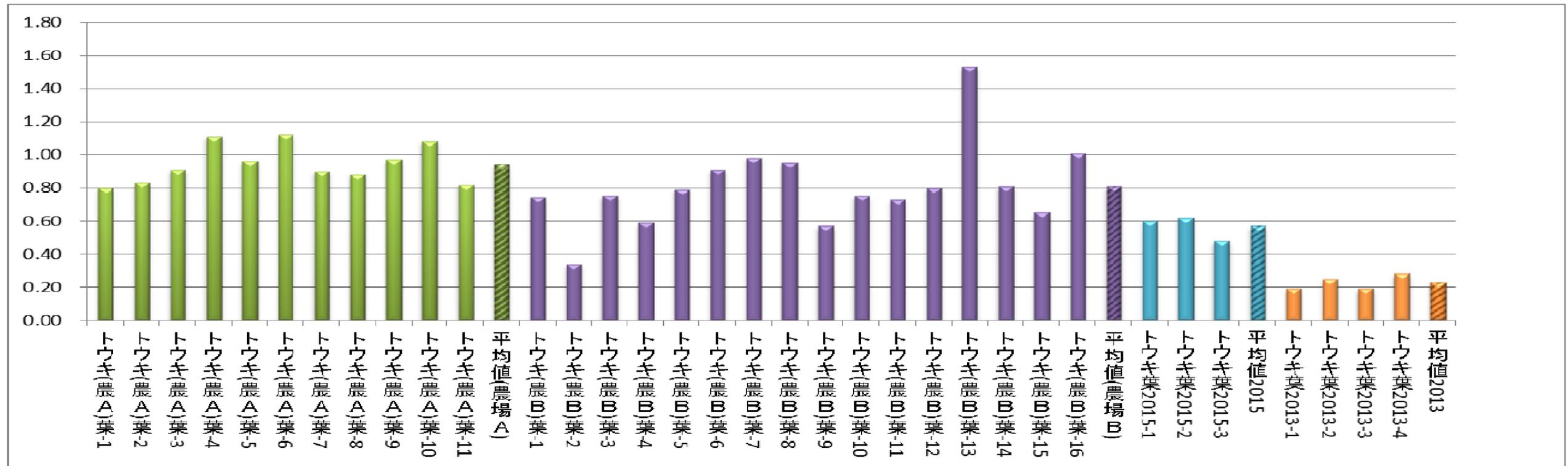
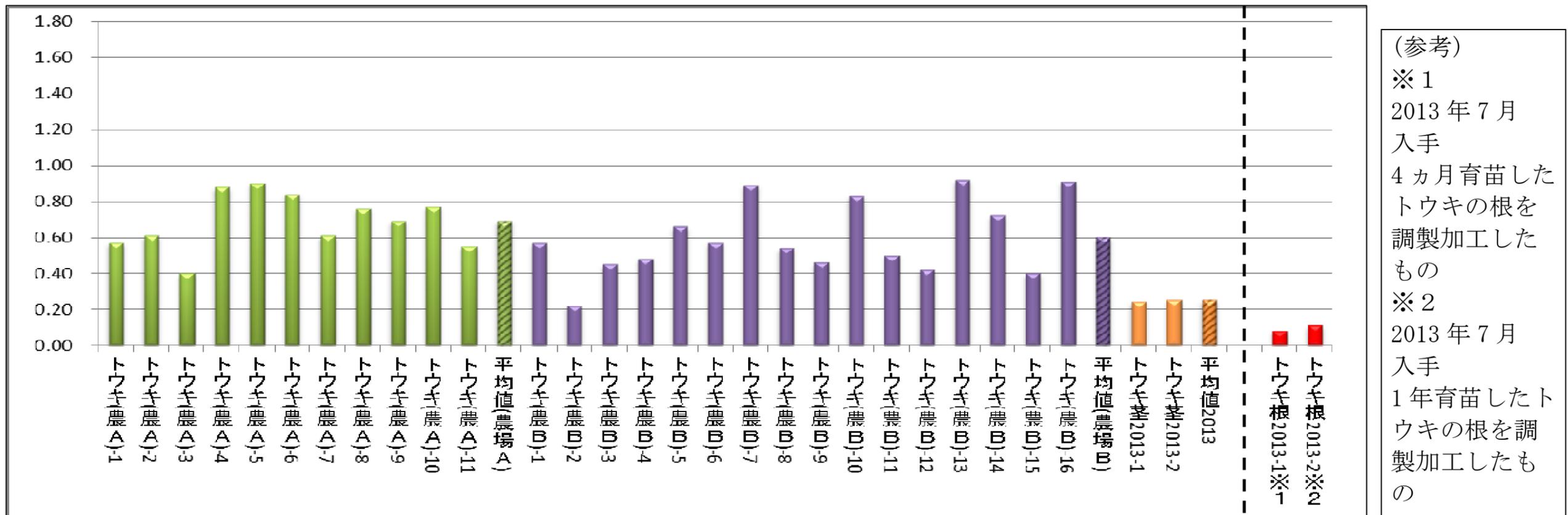


図7 乾燥試料(トウキ葉)のリグスチリド含量(%)



(参考)
 ※1
 2013年7月
 入手
 4ヵ月育苗した
 トウキの根を
 調製加工した
 もの
 ※2
 2013年7月
 入手
 1年育苗したト
 ウキの根を調
 製加工したも
 の

図8 乾燥試料(トウキ茎)のリグスチリド含量(%)

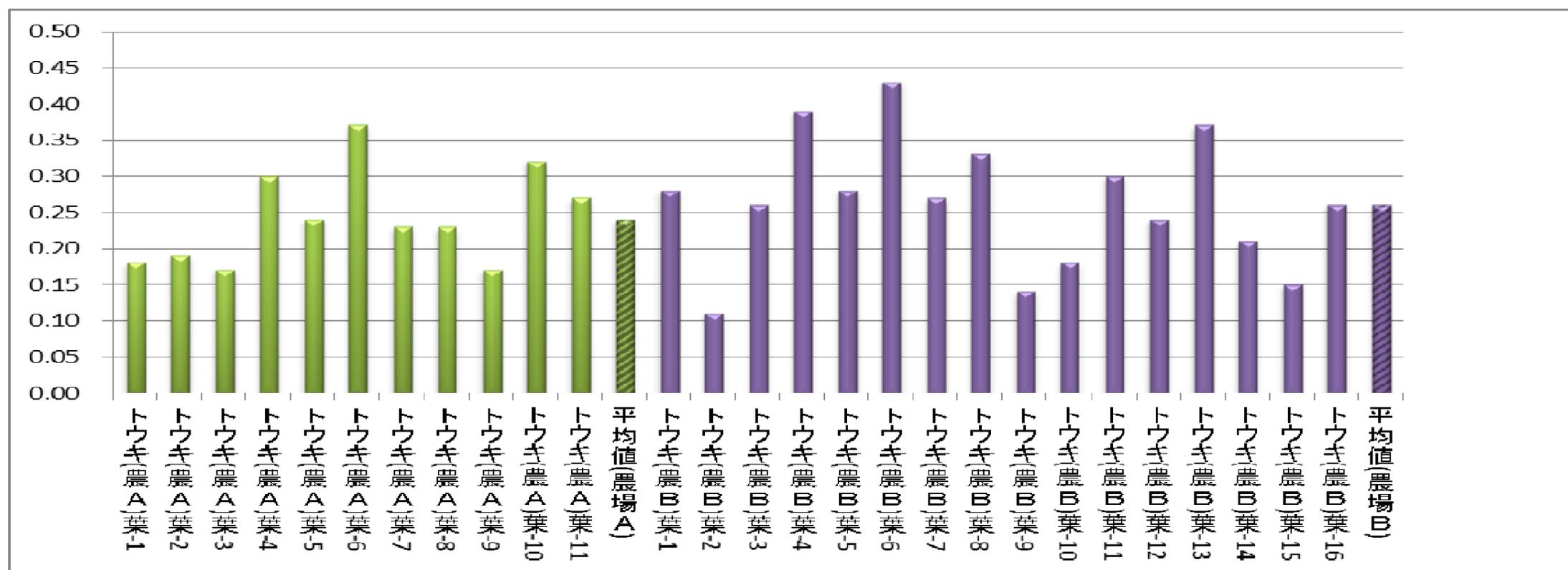


図9 冷凍試料(トウキ葉)のリグスチリド含量(%)

Ligustilide はトウキの精油成分の1つで、化学的品質評価の指標成分²⁾として、また、同じセリ科のセンキュウの含有成分でもあることから、日本薬局方当帰芍薬散エキス¹⁾のトウキ及びセンキュウの確認試験における標準物質として用いられている。

さらに、Ligustilide は血管弛緩作用が報告されている³⁾ことから、トウキの生理活性成分として考えられている。

2) Anetai M., Shibata T., Hatakeyama Y., *Natural Medicines.*, **51**, 331-334 (1997)

3) Chan S. S. K. et al., *J. Ethnopharmacology.*, **111**, 677-680 (2007)

試験結果 2

- ① トウキのフロクマリン類含量は、茎と比較すると葉に多く含まれていた ($p < 0.05$)。
- ② ハマボウフウは葉及び茎で、トウキの葉の約 2 倍量のフロクマリン類が認められた。パセリはトウキの葉の約 1/3 程度、セロリは約 1/5~1/10 程度の含量であったが、ニンジンの根及び葉にはほとんど含まれていなかった。
- ③ トウキのリグスチリド含量は、茎と比較すると葉に多く含まれていた ($p < 0.05$) が、年度間の差は大きく、2013 年採取品は平均値で 2014 年採取品の約 1/3 程度であった。

考察

トウキの葉にはフロクマリン類が含まれるため、食品原料等に利用する場合、濃縮等の加工には注意が必要であり、フロクマリン類の含量に留意し、調製方法、摂取量、摂取方法によっては、摂取後に長時間の直射日光の照射を避けるなどの注意喚起の必要性が示唆された。フロクマリン類は、外因性の誘発成分であるため、含量の変動が大きいといわれていることから、今後、個体内、個体間、季節間、年度間の変動について、更に調査を進めていきたい。