

## ゴマ若葉に含まれるポリフェノール成分のラジカル消去活性

松藤 寛<sup>§</sup>, 大森潤一, 後藤修一, 千野 誠, 和田悦治\*,  
内田あゆみ\*\*, 深堀勝謙\*\*, 山形一雄, 櫻井英敏

日本大学生物資源科学部

\* (株)和田萬商店

\*\* (株)わだまんサイエンス

### Radical Scavenging Activity of Polyphenols in Young Leaves of *Sesamum indicum* L.

Hiroshi Matsufuji<sup>§</sup>, Junichi Ohmori, Shuichi Goto, Makoto Chino, Etsuji Wada\*,  
Ayumi Uchida\*\*, Katsunori Fukahori\*\*, Kazuo Yamagata and Hidetoshi Sakurai

College of Bioresource Sciences, Nihon University, 1866 Kameino, Fujisawa, Kanagawa 252-0880

\* Wadaman Co. Ltd., 7-97 Oihara, Yao, Osaka 581-0092

\*\* Wadaman Science Co., Ltd., 546 Karasumaoike Agaru, Nijoden-cho, Nakagyo-ku, Kyoto 604-0845

Antioxidant activities of young sesame leaves (*Sesamum indicum* L.) were measured using 3 different radical scavenging methods (DPPH, ABTS, and superoxide anion radicals). The activities of young sesame leaves in any of the methods were higher than those of barley and kale, while mulberry leaves had the highest activity. The activities were dependent on the polyphenol content in samples (mulberry, 15.9; sesame, 9.39; kale, 3.61; barley, 2.04 mg-gallic acid equivalent/g-dry weight). However, when antioxidant activities per weight of polyphenol were estimated, the young sesame leaves showed the same or higher antioxidant activity than mulberry leaves, suggesting that young sesame leaves would contain strong antioxidative phenolic compounds. Next, when young sesame leaf extract was applied to an HPLC-DPPH online post-column system, nine peaks (S1~S9) appeared in the UV chromatogram at 340 nm, and HPLC-separated components corresponding to peaks S4, S5, S6 and S8 reacted with DPPH. This result suggests that these are the major antioxidative components in young sesame leaves. From the results of several chromatographic purifications, about 1.4 kg of young sesame leaf powder yielded 524 mg of compound S5. The MS and NMR analyses revealed that S5 was acteoside, a phenylpropanoid glycoside. The acteoside content in young sesame leaf powder was 1.2%. (Received Sep. 22, 2010; Accepted Nov. 26, 2010)

**Keywords** : sesame, DPPH radical, ABTS radical, superoxide anion radical, acteoside

**キーワード** : ゴマ, DPPH ラジカル, ABTS ラジカル, スーパーオキシドアニオンラジカル, アクテオシド

ゴマはゴマ科 (Pedaliaceae) ゴマ属 (*Sesamum*) に属する一年生の草本 (*Sesamum indicum* L.) であり, アフリカ, アジア, 南米の熱帯から亜熱帯地域において栽培されている。栽培種である *S. indicum* 以外に 30 数種の野生種があり, アフリカでは一部食用として栽培・利用されている<sup>1)2)</sup>。ゴマは, その種子が食品として利用され, ゴマ (種子) やゴマ油は我が国の食生活においてとてもなじみ深い食品である。近年では, 含有するリグナン類が特に注目され, その機能性研究や成分化学的研究が活発に行われている<sup>3)</sup>。

一方, *S. indicum* や *S. radiatum* のゴマ葉は, アフリカ

やアジアにおいて胃痛, 打ち身, 発疹, カタル症状, 目の痛みの処方に利用される伝統薬・民間薬として利用されている<sup>2)4)5)</sup>。また, 中薬大辞典<sup>6)</sup>によると, 下痢や痢疾の病人が飲料として用いると刺激を緩和する作用があることや, 筋肉や関節の痛みを伴う風寒湿痺, 子宮出血 (崩中) や吐血の治療に用いられているとされている。我が国でのゴマ葉の食習慣はほとんどないが, 最近ゴマの若葉が健康食品素材として注目を集め, いくつかのメーカーからゴマ若葉青汁粉末として市販され始めている。

各社メーカーの成分表によると, ゴマ若葉乾燥粉末は 100 g あたり, 1300~1800 mg (没食子酸相当量として) のポリフェノールを含むとしている。しかし, ゴマ葉中のポリフェノール成分の詳細についての報告は少ない。中薬大辞典<sup>6)</sup>によると *S. indicum* の乾燥葉は 0.3% のペダリイン

〒252-0880 神奈川県藤沢市亀井野 1866

\* 〒581-0092 大阪府八尾市老原 7-97

\*\* 〒604-0845 京都市中京区烏丸御池上る二条殿町 546

§ 連絡先 (Corresponding author), hmatsufu@brs.nihon-u.ac.jp

というフラボノイド (6-hydroxy-luteolin 7-methyl ether 6-glucoside または pedalitin-6-O-glucoside) を含むと記載されている。この引用元は不明であるが、1960年に Morita<sup>7)</sup> は *S. indicum* の葉のメタノール抽出物から再結晶法によりペダリインを単離・同定している。また、Jain<sup>8)</sup> は組織培養した *S. indicum* のメタノール抽出物から同様に再結晶法によりペダリインを単離・同定し、約 0.5% 含むことを報告している。しかしながら、これらは古典的な精製方法であるため、その他の成分については何も明らかにされていない。他方、Konan ら<sup>9)</sup> は、*S. radiatum* の葉はフェノール類、リグナン類、フラボノイド類などのポリフェノールを豊富に含むとしているが、その成分・含有量については全く明らかにしていない。最近 Hata ら<sup>10)</sup> はゴマの葉の機能性研究の作用成分としてリグナン類に着目し、蛍光検出器を搭載した高感度 UPLC-FLD 法により *S. indicum* の葉中のセサミン含量を調べている。しかし、ゴマ葉乾燥重量 1g 当たりのセサミン含量は 0.5~2.6 $\mu$ g であり、種子中の 1/5000 程度と極めて少ないことを明らかにしている。

一般的に、ポリフェノール含有量と抗酸化性は高い相関があり、ポリフェノール含有量の高い食品は強い抗酸化性を示す。そこで、本研究ではゴマ若葉の抗酸化性を DPPH ラジカル消去活性、ABTS ラジカル消去活性、スーパーオキシドアニオン消去活性 (WST-1 法) の 3 種の方法により評価するとともに、その主要活性ポリフェノール成分を明らかにすることを試みた。

## 実験方法

### 1. 材料および試料調製

ゴマ若葉粉末試料は、ミャンマー産黒ゴマ (*S. indicum* L.) (2007年6月島根県栽培) の背丈約 30~70 cm より摘み取られた若葉の殺菌粉碎品 (試作品) を使用した。大麦若葉、ケール、桑葉の粉末試料は株式会社和田萬商店より入手した。DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) は和光純薬工業製、ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) は Roche Diagnostics 製、Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) は Aldrich 製、SOD Assay-Kit WST は同人化学研究所製、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD; EC. 1. 15. 1. 1. ウシ赤血球由来) は Sigma 製を使用した。その他の試薬は、市販の特級試薬を、水は Milli-Q 水を用いた。

抗酸化活性が認められる濃度を調製するために、ゴマ若葉、大麦若葉、ケール、桑葉粉末試料はそれぞれ 2.5, 7.5, 7.5, 1.3 g を秤量し、約 40 ml の 80% エタノールを加え、15 分間超音波処理した。ADVANTEC No. 5C でろ過後、50 ml にメスアップし、試料溶液を調製した。この溶液を適宜希釈し、各種抗酸化測定用試料とした。なお、これらの一部をエバポレーターで濃縮し、エタノールを除去後、凍結乾燥し、その重量から 80% エタノール抽出液の重量濃度

を算出した。

### 2. 抗酸化活性測定

#### (1) DPPH ラジカル消去活性測定

DPPH 法は既報<sup>11)</sup> に従った。すなわち、試験管に試料溶液 0.2 ml, 100 mmol/l Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4) 0.8 ml, 0.20 mmol/l DPPH-エタノール溶液 1 ml を添加し、10 秒間激しくかく拌した後、暗所で常温にて 30 分間静置した。30 分後、反応溶液の 517 nm における吸光度 ( $A_s$ ) を測定した。試料溶液の代わりにエタノールを添加した場合の吸光度をコントロールとし、以下の式 (1) からコントロールの吸光度 ( $A_c$ ) に対する、試料添加時の吸光度 ( $A_s$ ) の減少割合、すなわち消去率 (%) を求めた。なお、50% の消去率を示すときの試料濃度 (終濃度) を  $IC_{50}$  として求めた。

$$\text{消去率}(\%) = (A_c - A_s) / A_c \times 100 \quad \dots\dots(1)$$

標準物質として用いた Trolox も同時に測定を行い、 $IC_{50}$  値を求め、各試料の Trolox 等価活性 (TEAC) を以下の式 (2) で求めた。

$$\text{TEAC} = \text{Troloxの}IC_{50}(\mu\text{g/ml}) / \text{試料の}IC_{50}(\mu\text{g/ml}) \quad \dots\dots(2)$$

#### (2) ABTS ラジカル消去活性

ABTS 法は既報<sup>11)</sup> に従った。7 mmol/l ABTS 水溶液 5 ml に 140 mmol/l 過硫酸カリウム 88  $\mu$ l を加え、暗所で室温にて 12~16 時間インキュベートした。この溶液を ABTS stock solution とし、734 nm の吸光度が  $0.7 \pm 0.02$  になるようにエタノールで希釈し、これを ABTS working solution とした。試験管に ABTS working solution 1 ml を分注し、そこに試料 10  $\mu$ l を添加して、10 秒間激しくかく拌し、30 $^{\circ}$ C で 4 分間インキュベートした。その後、734 nm における吸光度 ( $A_s$ ) を測定した。試料溶液の代わりに 80% エタノールを添加した場合の吸光度をコントロールとした。上式 (1) より、コントロールの吸光度 ( $A_c$ ) に対する、試料添加時の吸光度 ( $A_c$ ) の減少の割合から消去率 (%) を求めた。その後、各試料について上式 (2) より TEAC を求め、その値を ABTS ラジカル消去活性とした。

#### (3) スーパーオキシドアニオンラジカル消去活性 (SOSA)

SOSA は既報<sup>11)</sup> に従い SOD Assay Kit-WST の使用方法を一部改変した WST-1 法にて行った。96 穴マイクロプレートに 20  $\mu$ l の試料溶液、200  $\mu$ l の WST-W 溶液、20  $\mu$ l の WST-E 溶液を順次添加し、マイクロプレートリーダーでかく拌した。WST-E 溶液の添加から 10 分後にマイクロプレートリーダーで 450 nm における吸光度 ( $A_s$ ) を測定した。試料の代わりに超純水を添加した際の吸光度を  $A_{b1}$ 、WST-E の代わりに dilution buffer を添加した場合の吸光度を  $A_{b2}$ 、WST-E の代わりに dilution buffer を添加し、かつ試料の代わりに 80% エタノールを添加した際の

吸光度を  $A_{b3}$  とし、以下の式 (3) より消去率を求めた。また、50% の消去率を示すときの試料濃度 (終濃度) を  $IC_{50}$  として求めた。

$$\text{消去率}(\%) = (A_{b1} - A_{b2}) \times (A_s - A_{b2}) / (A_{b1} - A_{b3}) \times 100 \quad \dots\dots(3)$$

標準物質として用いた SOD も同時に測定を行い、 $IC_{50}$  値を求め、各試料の SOD 等価活性を以下の式 (4) で求めた。なお、SOD は Milli-Q 水に溶解した。

$$\text{SOD等価活性} = \text{SODの}IC_{50}(\text{units/ml}) / \text{試料の}IC_{50}(\text{mg/ml}) \quad \dots\dots(4)$$

### 3. フォーリン・チオカルト法

80% エタノール抽出液中のポリフェノール量はフォーリン・チオカルト法<sup>12)</sup>により求めた。すなわち、試験管に試料液 0.5 ml とフォーリン・チオカルト試薬 0.2 ml、続いて飽和炭酸ナトリウム溶液 0.5 ml を素早く加えて混合した。その後水 4.3 ml を加えて混合し、室温で 1 時間以上放置して十分に発色させた後、765 nm の吸光度を測定した。没食子酸標準液を同様に操作して得た検量線からポリフェノール量 (没食子酸相当量) を求めた。

### 4. DPPH on-line ポストカラム法

既存の方法<sup>13)</sup>を一部改変して行った。すなわち、ゴマ若葉の 80% エタノール抽出液 (15 mg/ml) を、以下の条件の HPLC に供した。カラム: X-bridge<sup>TM</sup> C-18 (4.6×150 mm, 5 $\mu$ m, Waters), 溶媒: 5% アセトニトリル (0.1% ギ酸含有) (0 分)→35% アセトニトリル (0.1% ギ酸含有) (15 分)→100% アセトニトリル (0.1% ギ酸含有) (40 分), 流速: 0.8 ml/min, 検出波長: 340 nm, 温度: 40°C, 注入量: 10 $\mu$ l。

HPLC の配管出口に 3 方ジョイントを取り付け、200 mmol/ml MES バッファー (pH 6.0) と 0.1 mmol/l DPPH-アセトニトリル溶液を 8:2 の割合で混合した溶液を流速 0.6 ml/min で流して混合し、反応ユニット (0.25 mm×15 mm, 60°C) で反応させた。反応液を波長 517 nm にて検出し、DPPH ラジカルとの反応によって生じるネガティブピークを検出した。

### 5. ゴマ若葉粉末中ポリフェノールの精製

粉末試料 200 g にヘキサン 500 ml を加え、30 分間の振とうを行った。この操作を 2 回行い、脱脂した。次いで 80% エタノールを 500 ml 加え、30 分間振とうし、ろ過後抽出液を得た。この操作を 2 回繰り返す、得られた抽出液を 100 ml まで濃縮した。この操作を 7 回繰り返す、合計 1.4 kg の試料を処理し、計 700 ml の抽出液を得た。この抽出液は多くのクロロフィルを含むことから、次に HP-20 カラム (5.5×53 cm) による除去を行った。1 回当たり 100~200 ml の抽出液を負荷後、メタノール、メタノール-アセトン混液 (1:1)、アセトンを各 1.5 l ずつ流し、メタノール画分 (計 6.0 l) を得た。エバポレーターにて乾燥後 (102.8

g), 40% メタノール 450 ml に溶解し、その 150 ml に対して、酢酸エチル 150 ml, ブタノール 150 ml による順次分画を行い、ブタノール画分を得た (17.1 g)。本画分を 40% メタノール 200 ml に溶解し、ODS カラムクロマトグラフィ (カラム: Develosil Lop-ODS, 24×360 mm, 移動相: 40% メタノール, 流速 6 ml/min, 注入量 5 ml) に供した。視覚的に分離が認められる 5 つの画分 (Fr. 1~Fr. 5) に分け、このうち Fr. 3 (1.08 g) を 40% エタノール 5 ml に溶解し、分取 HPLC (Inertsil ODS-3 JET 10×50 mm, 移動相: 40% エタノール, 流速: 4.0 ml/min, カラム温度: 40°C, 検出波長: 340 nm, 注入量 150 $\mu$ l) に供した。溶出成分を細かく分け (9 画分: Fr. 3-1~Fr. 3-9), 同条件下でリサイクル分取 HPLC (SSC-1300, センシュー科学) を行うことにより、Fr. 3-2 より成分 S5 を単離した (524 mg)。

### 6. MS および NMR 測定

質量分析 (MS) は Waters 社製 Quattro Premier を搭載した UPLC-MS/MS にてエレクトロスプレーイオン化法 (ESI) ネガティブモードおよび日本電子製 JMS-SX102A にて電子衝撃イオン化法 (FAB) ネガティブモードにて行った。また NMR は試料 10 mg を DMSO- $d_6$  および MeOH- $d_4$  1 ml に溶解し、日本電子製 ECA-500 にて  $^1H$ ,  $^{13}C$ , 各種二次元測定 (DQF-COSY, NOESY, HMQC, TOCSY, HMBC) を行った。

### 7. ゴマ若葉粉末中アクトオシドの定量

ゴマ若葉粉末 50 mg に 80% エタノール 50 ml を加え、15 分間の超音波処理後、0.45 $\mu$ m フィルターでろ過し、HPLC 試料とした。5~500 $\mu$ g/ml のアクトオシドの検量線 ( $r=0.9999$ ) よりゴマ若葉粉末中のアクトオシド量を見積もった。

## 実験結果

### 1. ゴマ若葉の抗酸化性

粉末試料の 80% エタノール抽出液を調製し、その抗酸化性を 3 つのラジカル消去法 (DPPH ラジカル消去法, ABTS ラジカル消去法, スーパーオキシドアニオンラジカル消去に基づく WST-1 法) により評価した。流通量の多い青汁素材である桑葉、大麦若葉、ケールとゴマ若葉の抗酸化性を比較したところ、どの抗酸化活性測定法においても、概ね抗酸化性は、桑葉>ゴマ若葉>ケール>大麦若葉の順となった (図 1)。これらの抗酸化性は試料中のポリフェノール量に起因すると考えられたことから、フォーリン・チオカルト法によりポリフェノール量を求めた。表 1 に示すようにポリフェノール量は、桑葉>ゴマ若葉>ケール>大麦若葉の順となり、抗酸化性の順と完全に一致した。一方、ポリフェノール量当たりで抗酸化性を比較したところ、DPPH ラジカル消去活性においてゴマ若葉は桑葉よりも強い抗酸化性を示し、ABTS ラジカル消去活性ではゴマ若葉と桑葉の活性差は小さくなり、 $O_2^-$  ラジカル消去活性で

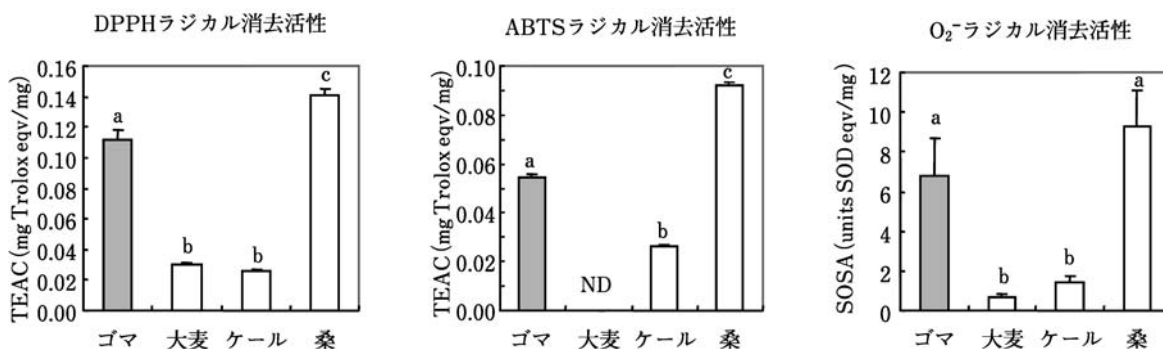


図 1 ゴマ若葉、大麦若葉、ケール、桑葉の 80% エタノール抽出物の抗酸化活性  
 図中のバーは標準偏差 (n=4) を、異なるアルファベットは有意差 (p<0.05) を表す

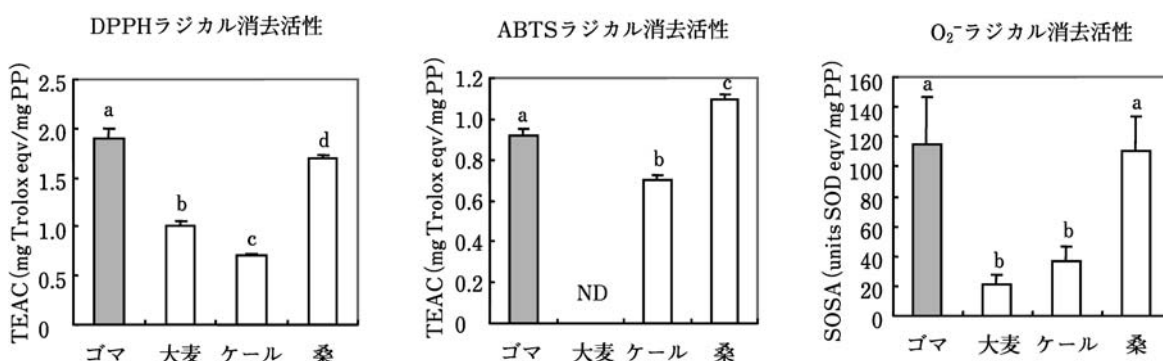


図 2 ポリフェノール重量当たりのゴマ若葉、大麦若葉、ケール、桑葉の抗酸化活性  
 図中のバーは標準偏差 (n=4) を、異なるアルファベットは有意差 (p<0.05) を表す

表 1 ポリフェノール含量

ゴマ	9.39±0.46
大麦	2.04±0.055
ケール	3.61±0.058
桑	15.9±0.060

(mg-没食子酸当量/g-乾燥重量)

は同等の値を示した (図 2)。したがって、ゴマ若葉中には抗酸化性の強いポリフェノールが含まれていると考えられた。

## 2. ゴマ若葉中の主要活性成分

ゴマ若葉抽出液を HPLC に供したところ、大きな 2 つのピーク (S4 と S5) に加え、7 つのピークが検出され、少なくとも 9 つのポリフェノール成分を含むと考えられた (図 3 上)。これらの中で S4, S5, S6, S8 に起因する 4 つの成分はポストカラム後の DPPH と反応し、517 nm の DPPH 消去クロマトグラムにおいて主要なネガティブピークを示したことから、これらがゴマ若葉中の主要活性成分と考えられた (図 3 下)。中でも、S5 は最大のネガティブピークを示し、ゴマ若葉の抗酸化性に最も寄与している成分と考えられたことから、この成分の精製・単離を試みた。各種クロマトグラフィーの結果、ゴマ若葉乾燥粉末 1.4 kg より S

5 を 524 mg 単離することができた。紫外吸収スペクトルにおいて、335, 293, 222 nm に極大吸収が、また LC-ESI-MS および FAB-MS のどちらにおいても  $m/z$  623  $[M-H]^-$  の脱プロトン分子イオンピークが観察され、分子量は 624 であると推測された (図 4)。また、カフェ酸ユニットの脱離に伴うフラグメントピーク ( $m/z$  461) が観察された。DMSO- $d_6$  溶解時の  $^1H$ ,  $^{13}C$  および各種二次元 NMR 測定の結果、並びに MeOH- $d_4$  に溶解した際の化学シフト値の文献値<sup>14)15)</sup> との一致 (表 2) により、S5 はフェニルプロパノイド化合物の一つであるアクテオシド (2-(3,4-dihydroxyphenylethyl) (1-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-(4-caffeoyl)-glucopyranoside 別名: verbascoside) (図 5) と考えられた。また、HPLC の溶出時間、UV 吸収スペクトル、MS スペクトルは市販標準品と完全に一致し、S5 はアクテオシドであると結論づけた。検量線作製の結果、ゴマ若葉粉末 1 g 中には 12 mg (1.2%) のアクテオシドが含まれることが判明した。

## 考 察

ゴマ若葉はポリフェノールを豊富に含むことから高い抗酸化性を示し、またその主要活性成分の一つはアクテオシドであることが判明した。一般に、カテコール構造を有す



表 2 S5 の <sup>1</sup>H- および

	S5 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )			S5 (MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> )	
	$\delta_c$	$\delta_H$ (mult, <i>J</i> in Hz)	HMBC	$\delta_c$	$\delta_H$ (mult, <i>J</i> in Hz)
Ag-1	129.6		Ag-H5, Ag-H $\alpha$ , Ag-H $\beta$	131.5	
-2	116.8	6.58 (d, 1.7)	Ag-H6, Ag-H $\beta$	117.1	6.69 (d, 2.0)
-3	145.5		Ag-H2, Ag-H5	146.2	
-4	144.1		Ag-H2, Ag-H6	144.7	
-5	116.0	6.59 (d, 8.0)	Ag-H6	116.3	6.67 (d, 8.5)
-6	120.0	6.45 (dd, 1.7, 8.0)	Ag-H2, Ag-H $\beta$	121.2	6.56 (dd, 2.0, 8.5)
$\alpha$	70.8	3.55 (m), 3.84 (m)	Ag-H $\beta$ , Glc-H1	72.3	3.70 (m), 4.04 (m)
$\beta$	35.5	2.66 (m)	Ag-H2, Ag-H6, Ag-H $\alpha$	36.6	2.79 (m)
Caf-1	126.0		Caf-H5, Caf-H $\beta$ , Caf-H $\gamma$	127.7	
-2	115.2	6.98 (d, 1.7)	Caf-H6, Caf-H $\gamma$	115.2	7.05 (d, 2.0)
-3	146.1*		Caf-H2, Caf-H5	146.9	
-4	149.0		Caf-H2, Caf-H5, Caf-H6	149.9	
-5	116.3	6.72 (d, 8.0)	Caf-H6	116.5	6.77 (d, 8.5)
-6	121.9	6.94 (dd, 1.7, 8.0)	Caf-H2, Caf-H $\gamma$	123.3	6.95 (dd, 2.0, 8.5)
$\alpha$	166.2		Caf-H $\beta$ , Caf-H $\gamma$ , Glc-H4	168.3	
$\beta$	114.0	6.16 (d, 16)	—	114.7	6.27 (d, 16)
$\gamma$	146.1*	7.42 (d, 16)	Caf-H2, Caf-H6	148.1	7.59 (d, 16)
Glc-1	102.8	4.31 (d, 8.0)	Glc-H2, Ag-H $\alpha$	104.2	4.37 (d, 8.0)
-2	75.0**	3.17 (t, 8.5)	Glc-H3	76.1	3.39 (dd, 8.5, 9.0)
-3	79.5	3.66 (t, 9.0)	Glc-H2, Glc-H4, Rhm-H1	81.7	3.81 (t, 9.0)
-4	69.6	4.67 (t, 9.5)	Glc-H3, Glc-H5	70.6	4.92 (t, 9.5)
-5	75.0**	3.44 (m)	Glc-H4, Glc-H6	76.3	3.51 (m)
-6	61.2	3.28 (m), 3.35 (m)	Glc-H4, Glc-H5	62.4	3.52 (m), 3.62 (m)
Rhm-1	101.8	4.98 (d, 1.5)	Rhm-H2, Glc-H3	103.1	5.18 (d, 2.0)
-2	71.0	3.64 (m)	Rhm-H1	72.4	3.91 (dd, 2.0, 3.5)
-3	70.9	3.24 (dd, 3.0, 9.5)	Rhm-H2, Rhm-H4	72.1	3.57 (dd, 3.5, 9.0)
-4	72.1	3.06 (t, 9.5)	Rhm-H2, Rhm-H3, Rhm-H6	73.8	3.29 (t, 9.0)
-5	69.3	3.31 (m)	Rhm-H1, Rhm-H4, Rhm-H6	70.5	3.53 (m)
-6	18.7	0.92 (d, 6.0)	Rhm-H4, Rhm-H5	18.5	1.09 (d, 6.5)

\*\*\* ; オーバーラップ

る化合物は強い抗酸化性を有しており、カテコール構造を2つ有するアクテオシドが強い抗酸化性を示したことは化学構造から考えても道理である。アクテオシドの抗酸化性については、すでに報告されており、カフェ酸や $\alpha$ -トコフェロールよりも強いDPPHラジカル消去活性を有することが明らかにされている<sup>16)</sup>。

アクテオシドはフェニルプロパノイド化合物の一つであり、植物、特に薬用植物中に広く分布していることが知られている。岩煙草 (*Conandron ramoidioides*)<sup>17)</sup>、ツノゴマ (*Proboscidea Louisiana*)<sup>18)</sup>、天人草 (*Leucoseptrum japonicum*)<sup>14)</sup>、ハマウツボ (*Cistanchis herba*)<sup>19)</sup>、チョロギ (*Stachys sieboldii*)<sup>20)</sup>、オオバコ (*Plantago asiatica*, *Plantago depressa*)<sup>21)22)</sup>、地黄 (*Rehmanniae Radix*)<sup>23)</sup>、オリーブ果実<sup>24)</sup>などに含まれていることが報告されている。一方、ゴマ若葉中での報告は無いものの、ゴマとアクテオシドで調べると、1988年にPotteratら<sup>25)</sup>は*S. angolense* (アフリカで成育する野生種)の根樹皮のメタノール抽出物よりアクテオシドやイリドイド化合物を、1993年にSuzukiら<sup>26)</sup>は

*S. indicum*の全草の熱水抽出物からアクテオシドを含めたフェニルプロパノイド類を8つ明らかにしている。また、2007年にKhaleelら<sup>27)</sup>は*S. indicum*の種子を取り除いた残り部分のメタノール抽出物から、アクテオシドの存在を報告している。したがって、試料の収穫時期や含量についての記載が無い場合一概には言えないが、草丈30~70cmから種子ができる100cm以上<sup>1)</sup>のゴマ草にアクテオシドは含まれると考えられる。

アクテオシドは、抗酸化性以外にも、肝保護作用、抗炎症作用、鎮痛作用、性機能改善、鎮静効果など様々な薬理作用<sup>28)</sup>を示すことが報告されている。渡辺ら<sup>29)</sup>は様々な生理機能を有するアクテオシドが合成できないこと、また天然植物中でも含有量が0.002%~0.08%と極微量であることから効果的な抽出法を考案し、特許を取得している。一方、アクテオシドを豊富に含む植物は少ないが、オリーブ果実からアクテオシドを含む健康食品が販売されている。オリーブ果実中の含有量については、あまり報告はないが、Owenら<sup>24)</sup>によると、1kg果皮あたり4.83gを含むとされ

<sup>13</sup>C-NMR データ

Miyase ら <sup>14)</sup> (MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> )		Wu ら <sup>15)</sup> (MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> )	
$\delta_c$	$\delta_H$ (mult, <i>J</i> in Hz)	$\delta_c$	$\delta_H$ (mult, <i>J</i> in Hz)
131.4		131.5	
116.3		117.1	6.71 (d, 1.5)
144.0		146.1	
145.5		144.7	
117.0		116.3	6.68 (d, 7.5)
121.2		121.3	6.57 (dd, 1.5, 7.5)
71.9		72.2	
36.1	2.78 (t)	36.6	2.80 (m)
127.4		127.7	
114.5		115.2	7.06 (s)
149.1		146.8	
146.2		149.8	
116.3		116.5	6.79 (d, 8.5)
123.1		123.2	6.97 (d, 8.5)
168.2		168.3	
115.3	6.28 (d, 15)	114.7	6.28 (d, 16.5)
147.8	7.64 (d, 15)	148.0	7.60 (d, 16.5)
103.7	4.36 (d, 8)	104.2	4.38 (d, 8.0)
75.4		76.2	
81.5		81.6	
70.1		70.6	4.93 (t, 10.0)
75.7		76.0	
62.1		62.4	
102.6	5.17 (s)	103.0	5.20 (s)
71.9		72.3	
71.9		72.0	
73.6		73.8	
70.1		70.4	
18.2	1.10 (d, 6)	18.5	1.10 (d, 6.0)

ている (0.48%)。また、アクテオシドは、インポテンツ、不妊、血崩 (生理不順)、腰膝冷痛を治し、補腎・滋養強壯の処方薬として臨床で使用されてきたハマウツボ科 (ニクジュヨウ *Cistanche deserticola*) に豊富に含まれている (0.48~1.52%)<sup>30)</sup>。現在、ニクジュヨウは中国において国家 2 級保護植物に認定され、その採取が困難となり、その代替品として同等の薬理効果をもつカンカニクジュヨウ (*Cistanche tubulosa*) が利用されている。これはカンカエキスとして商品化され、様々な機能が調べられている<sup>31)32)</sup>。ゴマ若葉粉末は、1.2% と多くのアクテオシドを含むことから、ゴマ若葉においてもこれらのさまざまな機能が期待される。中薬大辞典によるゴマ葉の薬効は、アクテオシドの効果とはほぼ一致することから、今後肝保護作用などをはじめ、種々の作用、効果を確認することも必要であろう。

アクテオシドは種々の薬用植物に含まれるものの、豊富に含む植物は希である。今後、ゴマ草での局在部位 (茎や葉、特に葉でも未展開葉や展開葉、葉身部位など) や収穫

時期と、成分含量の変化を明らかにすることにより、アクテオシドを指標としたゴマ草の有効的な製品化が可能になると考えられる。一方、ゴマ若葉にはアクテオシド (S5) 以外に、もう一つの大きなピーク成分 (S4) が存在する。定量するためには標準品が必要であり、ピークの大きさだけで量を比較することはできないが、S4 と S5 は同程度のピークの大きさである。LC-MS の結果では、分子量は 478 と推定され (データ未掲載)、これは既報のペダリイン<sup>7)8)</sup> (分子量 478) と一致する。ペダリインは市販されておらず、現在 S4 をはじめとするその他の成分の同定・定量について検討を行っている。

## 要 約

我が国におけるゴマ葉の食習慣はほとんどないが、アジアやアフリカではゴマ葉は食用として、あるいは伝統薬・民間薬として利用されている。このゴマ葉はポリフェノールを豊富に含むものの、その成分研究はほとんど行われておらず、不明な点が多い。そこで、ゴマ若葉中の豊富なポ

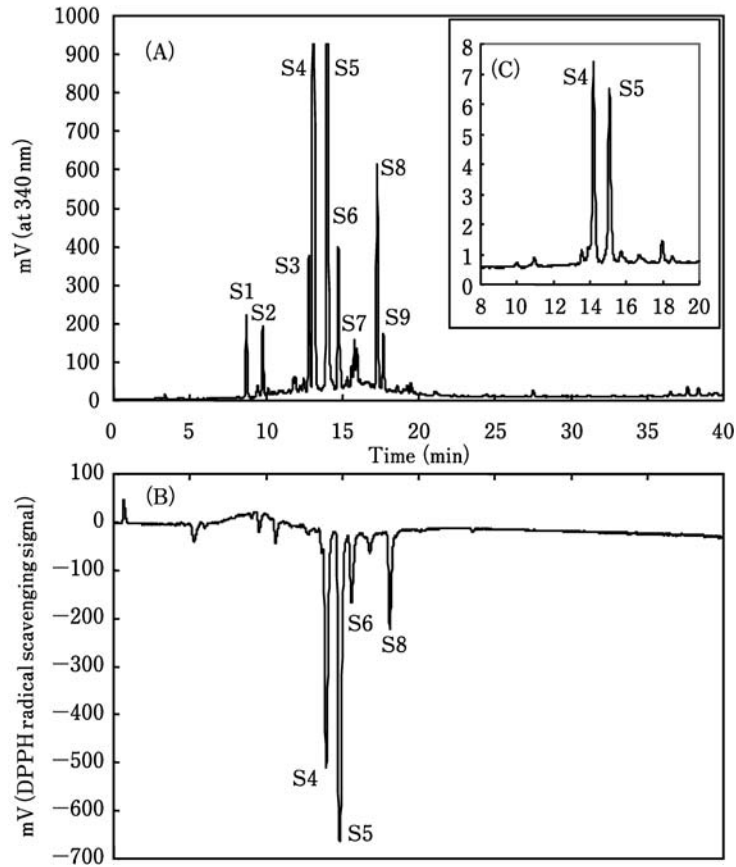


図 3 ゴマ若葉抽出物のクロマトグラム (A) とポストカラム法による DPPH ラジカル消去クロマトグラム (B) (A) と (B); 15 mg/ml, (C); 1.0 mg/ml

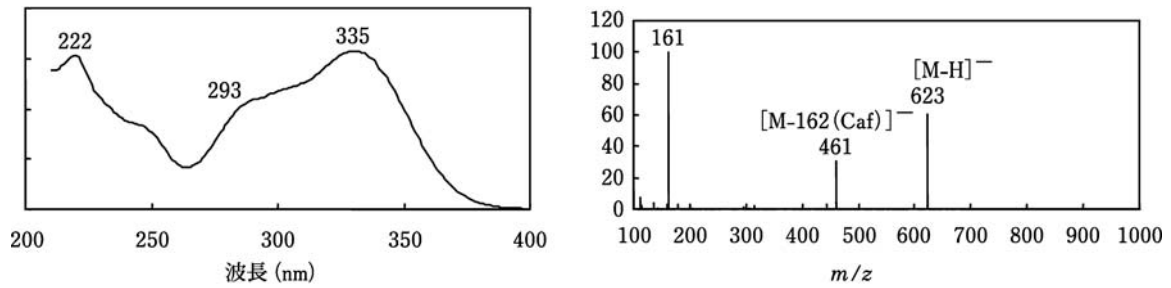


図 4 S5 の紫外吸収スペクトルと ESI-MS (-) スペクトル

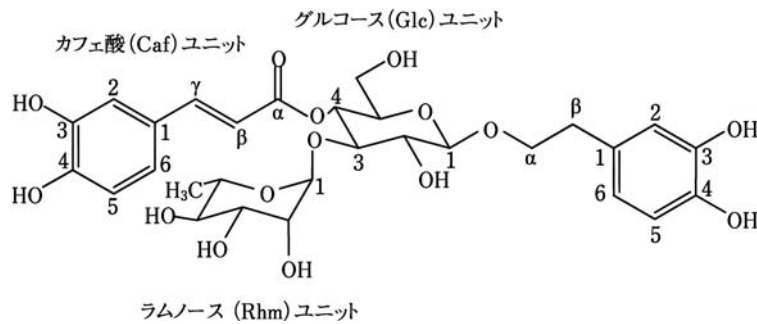


図 5 アクテオシド (S5) の化学構造

リフェノールに着目し、抗酸化性と活性成分について検討した結果、以下の知見を得た。

(1) 3つのラジカル消去測定 (DPPH ラジカル消去活性, ABTS ラジカル消去活性, スーパーオキシドアニオンラジカル消去活性) により評価したところ, どの測定法においてもゴマ若葉は大麦若葉やケールよりも高い抗酸化性を示し, その活性は桑葉に次ぐものであった。この活性は含有ポリフェノール量に依存した。

(2) ポリフェノール含量当たりで抗酸化性を評価したところ, どの測定法においてもゴマ若葉と桑葉の活性差は小さくなり, 中でも DPPH ラジカル消去活性ではゴマ若葉は桑葉よりも強い活性を示したことから, ゴマ若葉には強い抗酸化性を示すポリフェノール成分が含まれると考えられた。

(3) DPPH ポストカラム法を用いて, 含有成分並びに活性関与成分を調べたところ, ゴマ若葉中には少なくとも9つのポリフェノール成分が含まれ, うち4つが主要な活性成分であると考えられた。

(4) 各種スペクトル分析の結果, 主要活性成分の一つはフェニルプロパノイド配糖体であるアクテオシドであり, ゴマ若葉乾燥粉末中に1.2%含まれることが判明した。

アクテオシドは様々な生理機能を有し, 種々の薬用植物に存在することが明らかにされているが, 豊富に含まれる植物は希である。本研究により, ゴマ若葉にアクテオシドが豊富に含まれることが判明したことから, 今後アクテオシドを指標としたゴマ若葉の有効利用が期待される。

## 文 献

- 1) 並木満夫, 小林貞作, 「ゴマの科学」, (朝倉書店, 東京), pp. 1-41 (1989).
- 2) Ahmed, T., Shittu, L.A.J., Bankole, M.A., Shittu, R.K., Adesanya, O.A., Bankole, M.N. and Ashiru, O.A., Comparative studies of the crude extracts of sesame against some common pathogenic microorganisms. *Sci. Res. Essay*, **4**, 584-589 (2009).
- 3) 並木満夫, 「ゴマ—その科学と機能性—」, (丸善, 東京), (1998).
- 4) Ogunlesi, M., Okiei, W. and Osibote, A., Analysis of the essential oil from the leaves of *Sesamum radiatum*, a potential medication for male infertility factor, by gas chromatography — mass spectrometry. *Af. J. Biotechnol.*, **9**, 1060-1067 (2010).
- 5) Auwalu, B.M. and Babatunde, F.E., Analyses of growth, yield and fertilization of vegetable sesame (*Sesamum radiatum* Schum). *J. Plant Sci.*, **2**, 108-112 (2007).
- 6) 中薬大辞典, (小学館, 東京), p. 1751 (1998).
- 7) Morita, N., Studies on the flavonoid of sesame leaves. I. On the structure of the glycoside, pedaliin. *Chem. Pharm. Bull.*, **8**, 59-66 (1960).
- 8) Jain, S.C., Isolation of pedaliin from *Sesamum indicum* L., tissue cultures. *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2127 (1981).
- 9) Konan, A.B., Datte, J.Y. and Yapo, P.A., Nitric oxide pathway-mediated relaxant effect of aqueous sesame leaves extract (*Sesamum radiatum* Schum. & Thonn.) in the guinea-pig isolated aorta smooth muscle. *BMC complement. Altern. Med.*, **8**, 23-30 (2008).
- 10) Hata, N., Hayashi, Y., Okazawa, A., Ono, E., Satake, H. and Kobayashi, A., Comparison of sesamin contents and CYP81Q1 gene expressions in aboveground vegetative organs between two Japanese sesame (*Sesamum indicum* L.) varieties differing in seed sesamin contents. *Plant Sci.*, **178**, 510-516 (2010).
- 11) 島村智子, 松浦理太郎, 徳田貴志, 杉本直樹, 山崎 壮, 松藤 寛, 松井利郎, 松本 清, 受田浩之, 酸化防止剤力価評価のための各種抗酸化活性測定法の共同試験, *食科工*, **54**, 482-487 (2007).
- 12) 新・食品分析法〔Ⅱ〕, (社)日本食品科学工学会 食品分析研究会 共同編集, (光琳, 東京), pp. 68-72 (2006).
- 13) Oki, T., Kobayashi, M., Nakamura, T., Okuyama, A., Masuda, M., Shiratsuchi, H. and Suda, I., Changes in radical-scavenging activity and components of mulberry fruits during maturation. *J. Food Sci.*, **71**, C18-C22 (2006).
- 14) Miyase, T., Koizumi, A., Ueno, A., Noro, T., Kuroyanagi, M., Fukushima, S., Akiyama, Y. and Takemoto, T., Studies on the acyl glycosides from *Leucoseptrum japonicum* (MIQ.) KITAMURA et MURATA. *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2732-2737 (1982).
- 15) Wu, Y.-T., Lin, L.-C., Sung, J.-S. and Tsai, T.-H., Determination of acteoside in *Cistanche deserticola* and *Boschniakia rossica* and its pharmacokinetics in freely-moving rats using LC-MS/MS. *J. Chromatogr. B.*, **844**, 89-95 (2006).
- 16) Xiong, Q., Kadota, S., Tani, T. and Namba, T., Antioxidative effects of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 1580-1585 (1996).
- 17) Nonaka, G. and Nishioka, I., Bitter phenylpropanoid glycoside from *Conandron ramoidioides*. *Phytochemistry*, **16**, 1265-1267 (1977).
- 18) Sasaki, H., Taguchi, H., Endo, T., Yoshioka, I., Higashiyama, K. and Otomasu, H., The glycosides of *Martynia louisiana* Mill. A new phenylpropanoid glycoside, martynoside. *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 2111-2121 (1978).
- 19) Kobayashi, H., Karasawa, H., Miyase, T. and Fukushima, S., Studies on the constituents of *Cistanchis herba*. III. Isolation and structures of new phenylpropanoid glycosides, cistanosides A and B. *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 3009-3014 (1984).
- 20) 宮瀬敏男, 上野 明, 木谷哲也, 小林弘美, 河原有三, 山原條二, チョロギに関する研究(第1報)新規配糖体の単離と構造, *薬誌*, **110**, 652-657 (1990).
- 21) Miyase, T., Ishino, M., Akahori, C., Ueno, A., Ohkawa, Y. and Tanizawa, H., Phenylethanoid glycosides from *Plantago asiatica*. *Phytochemistry*, **30**, 2015-2018 (1991).
- 22) Nishibe, S., Sasahara, M., Ying, J., Lu, Y.C. and Tanaka, T., Phenylethanoid glycosides from *Plantago depressa*. *Phytochemistry*, **32**, 975-977 (1993).
- 23) 北川 勲, 福田陽一, 谷山登志男, 吉川雅之, 生薬修治の化学的解明(第10報)地黄 (*Rehmanniae radix*) の含有成分その4: 中国, 韓国及び日本産各種地黄の成分比較, *薬誌*, **115**, 922-1003 (1995).
- 24) Owen, R.W., Haubner, R., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W. E., Spiegelhalder, B. and Bartsch, H., Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. *Food Chem. Toxicol.*, **41**, 703-717 (2003).
- 25) Potterat, O., Msonthi, J.D. and Hostettmann, K., Four



- iridoid glucosides and a phenylpropanoid glycoside from *Sesamum angolense*. *Phytochemistry*, **27**, 2677-2679 (1988).
- 26) Suzuki, N., Miyase, T. and Ueno, A., Phenylethanoid glycosides of *Sesamum indicum*. *Phytochemistry*, **34**, 729-732 (1993).
- 27) Khaleel, A.E.S., Gonaïd, M.H., El-Bagry, R.I., Sleem, A.A. and Shabana, M., Chemical and biological study of the residual aerial parts of *Sesamum indicum* L.. *J. Food Drug Anal.*, **15**, 249-257 (2007).
- 28) Li, L., Tsao, R., Yang, R., Liu, C., Young, J.C. and Zhu, H., Isolation and purification of phenylethanoid glycosides from *Cistanche deserticola* by high-speed counter-current chromatography. *Food Chem.*, **108**, 702-710 (2008).
- 29) 渡辺 純, 葛西浩一, 鐘ヶ江亮太, 有賀敏明, 戸邊光一郎, アクテオシドの抽出法, 特開 2000-302797 (<http://www.jtokkyo.com/2000/C07H/JP2000-302797.shtml>) (2000.10.31).
- 30) Shi, H.M., Wang, J., Wang, M.Y., Tu, P.F. and Li, X.B., Identification of *Cistanche* species by chemical and inter-simple sequence repeat fingerprinting. *Biol. Pharm. Bull.*, **32**, 142-146 (2009).
- 31) 田中潤司, 蘇 慕寰, 下田博司, カンカエキスの新たな健康機能—学習能力および記憶力改善作用—, *Food Style* 21, **12**, 26-28 (2008). No. 1-10 で連載.
- 32) 村岡 修, 二宮清文, 森川敏生, 若山広子, 松田久司, 吉川雅之, 李 征, カンカの肝保護作用成分, *食品と開発*, **43**, 82-83 (2008).
- (平成 22 年 9 月 22 日受付, 平成 22 年 11 月 26 日受理)
-