

ハーブおよびベニバナインゲンの アンジオテンシン変換酵素阻害能

茅原 紘・川上 晃・加藤久幸

有馬 博*・只左弘治

信州大学農学部 生物資源科学科 生物制御化学講座

Inhibition of Angiotensin Converting Enzyme by the Extracts from Herbs and *Phaseolus coccineus*

Hiroshi KAYAHARA, Akira KAWAKAMI, Hisayuki KATO

Hiroshi ARIMA* and Koji TADASA

Division of Bio-organic Chemistry, Department of Bioscience and
Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shinshu University

Angiotensin converting enzyme (ACE) was substantially inhibited by the water-extract from *Phaseolus coccineus* and herbs (especially Apple geranium and Nasturtium) respectively. Each inhibition value was 77% (*Phaseolus coccineus*), 71% (Apple geranium) and 61% (Nasturtium).

(Jour. Fac. Agric. Shinshu Univ. 15-22, 1991)

要 約

- (1) ベニバナインゲンの水抽出物には、強いアンジオテンシン変換酵素阻害能があり、その至適抽出条件は室温にてサンプル 1 g に対して水30ml の抽出濃度で、1 時間抽出を行えば良いことがわかった。さらに、煮沸抽出条件下でも活性が落ちないことから、調理後の生理活性の発現が充分期待できることが示唆され「機能的食品」素材としての利用が期待できる。
- (2) ハーブについては、アップルゼラニウムの葉とナスチウムの花の乾燥植物体の水抽出物に、強い ACE 阻害能があることが見いだされた。

Key ward: Angiotensin, Herb, Angiotensin Converting Enzyme

緒 言

アンジオテンシン変換酵素 (Angiotensin Converting Enzyme: EC 3, 4, 15, 1: ACE と

*信州大学農学部附属農場

1991 年 4 月 25 日受付

略記) は1分子に1原子の Zn^{2+} イオンを含む金属プロテアーゼであり、生体内で不活性なデカペプチド, Angiotensin I (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu) のC末端 His-Leu を切断し, 血管収縮, アルドステロン分泌など強い血圧上昇作用のあるオクタペプチド, Angiotensin II (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe) を生じさせる昇圧系酵素である¹⁾。

ACE は基質特異性が極めて低く, 多くの天然あるいは合成ペプチドが基質となるため, 多岐に渡る ACE 阻害物質あるいはペプチドが発見されている。さらに, こうしたペプチドなどが, ACE の働きを阻害することを利用して高血圧治療の医薬品として応用されている²⁾。また, 生体調節機能を有する食品, 「機能性食品」の効能因子としても期待され, 各種天然物の阻害能が研究されている³⁾⁻¹¹⁾。

天然物の ACE 阻害物として, 当研究室においても, スギナ, シコクピエ等の ACE 阻害能について良い結果を得ているが¹²⁾, 特に豆類の一部にも活性が報告されており, その他にも高血圧治療の民間薬として用いられる植物についても報告がされている³⁾⁻¹¹⁾。

そこで今回, マメ類の中でもあまり研究の進んでいないベニバナインゲンについて, 阻害活性の測定を行ない, さらに最適抽出条件の選定を行なった。

ベニバナインゲン (*Phaseolus coccineus* L.) は, 中米原産のマメ科インゲン属の作物であり, ハナマメ, ハナササゲとも呼ばれ, 現在世界各地で栽培されており, 若莢や豆が食用とされている¹³⁾。

さらに, 古来よりヨーロッパにて調味料や民間薬として用いられてきた各種ハーブ¹⁴⁾についても ACE 阻害能の測定を行なった。

ハーブについては, 各種効能が報告されており, 「機能性食品」素材として十分期待できる素材であるが, ACE 阻害能についての報告はされていない。そこで, ハーブの ACE 阻害能の測定を行ない, ベニバナインゲンと合わせて, 高血圧防止の機能を有する「機能性食品」素材としての検討を行なった。

材料及び方法

(1) 阻害活性測定試験

ACE 酵素液として, ウサギ肺のアセトンパウダー 1 g あたり 50 mmol リン酸緩衝液

表1 被試験物質溶液およびブランク溶液の組成

成分	被試験溶液	水	溶	不	溶	ブランク 1	ブランク 2
100mM リン酸カリウム緩衝液 (pH8.3)		250		250		250	250
3 M 塩化ナトリウム水溶液		50		50		50	50
50mM Hippuryl-His-Leu 50%MeOH 溶液		50		50		50	50
蒸留水		50				100	
10%MeOH 水溶液				50			100
被試験物質水溶液		50					
被試験物質水溶液 (10%MeOH 含有)				50			

MeOH: Methanol 表中数字は採取量 (μ l) を示す。

(pH8.36) 10ml で抽出し (4 °C 24時間), 遠心分離して上澄みの溶液を用いた¹⁵⁾。阻害活性試験は, 基質として, Hippury-His-Leu を用い, ブランクおよび被試験物質を溶かした反応液を表1に示した組成で調製した。ここで, ハーブ精油など蒸留水に不溶の被試験サンプルを用いる場合, サンプルを溶かすのに10%メタノール含有蒸留水を蒸留水の代わりに用いた。このときのブランクの組成も対応する溶液とした。

それぞれの反応液に ACE 酵素液50 μ l を加えて反応させ (37°C 45分 Incubation), 1 N HCl 500 μ l で ACE を失活後, Ethyl acetate (3 ml) で生じた Hippuric acid を抽出し遠心分離後, Ethyl acetate 層 (1 ml) を採り, 減圧濃縮し, 残液を蒸留水 (3 ml) に溶解して測定溶液とした。

活性阻害率の計算は, 測定溶液の228nm の紫外吸収値を求め, その値を Hippuric acid の生成量の尺度として, 式(1)にて算出した。

$$\text{阻害率 (\%)} = \frac{(\text{BR2} - \text{BR1}) - (\text{SM2} - \text{SM1})}{(\text{BR2} - \text{BR1})} \times 100 \quad (1)\text{式}$$

但し

酵素反応前の各液の紫外吸収値 SM1: 被試験溶液
BR1: ブランク溶液
酵素反応後の各液の紫外吸収値 SM2: 被試験溶液
BR2: ブランク溶液

(2) 測定サンプル

ペニバナインゲンは, 長野県上伊那郡南箕輪村 信州大学農学部附属農場で栽培されたも

表2 ACE 阻害率の測定に用いたハーブ類と採取部分

サンプル No.	一般名称	学名	採取部分
1	Apple geranium	Palagonium odorasratissimum L.	葉
2	Apple mint	Mentha	葉
3	Bergamot	Monarda didyma L.	葉
4	Borage	Borago officinalisi L.	葉
5	Cat mint	Nepta cataria L.	葉
6	Fennel	Foeniculum vulgare Mill.	葉
7	German chamomile	Matricaria chamomilla L.	花, 葉
8	Japanese Medlar	Eribotrya japonica Lindl.	葉
9	Mexican sage	Salvia officinalis L.	花, 葉
10	Nandina	Nandina domestica Thunb.	果実
11	Nasturtium	Tropaeolum majus L.	赤花, 黄花
12	Oregano	Origanum vulgare L.	葉
13	Peppermint	Mentha piperita L.	葉
14	Rhubarb	Rheum rhaponticum L.	葉, 茎
15	Sage	Salvia officinalis L.	葉
16	Sanshu	Cornus officinalis Sied.	果実
17	Tansy	Tanacetum vulgare L.	葉

表3 ACE阻害率の測定に用いたハーブ精油とその抽出部分

サンプル No.	一般名称	学名	抽出部分
1	Angelica	Angelica archagelica L.	花
2	Basil	Ocimum basilicum L.	全草
3	Bergamot orange	Citrus Nergamia Risso et Poit.	果皮
4	Chamomile	Anthmin nobilis L.	花
5	Campher tree	Cinnamomum camphore L.	幹
6	Clary sage	Silvia sclares L.	葉
7	Hinoki Crpress	Chamaecryparis obtusa endl.	球果
8	Blue gam	Eucalyptus globulus	葉
9	Fennel	Foeniculum vulgare Mill.	全草
10	Bible frankincense	Boswellia cartei Bidw.	乳果
11	Geranium	Pelargonium	全草
12	Jasmine	Jasminum sambac (L.) Ait.	花
13	Common juniper	Junoperus communitis L.	木果
14	Lavender	Lavandul	花
15	Lemon	Citrus limon (L.) Brum.	果皮
16	Lemonglass	Cymbopogen citratus	全草
17	Linden	Tilia europaea L.	花
18	Mandrin	Citrus reticulata	葉
19	Marjoram	Majorana hortensis Moench	葉
20	Melissa	Melissa officinalis L.	全草
21	Myrrh	Commaphora	樹液
22	Neroli	Citrus aurantium L.	花
23	Sour orange	Citrus aurantium L.	果皮
24	Patchouli	Pogostemon cablin Benth.	全草
25	Peppermint	Mentha piperita L.	全草
26	Rose	Rosa damascena Mill.	花
27	Rosemary	Rosmarinus officinalis L.	葉
28	Rose wood	Cassia siamea Lam.	幹
29	Sandal wood	Satalum slbum L.	幹根
30	Ylang Ylang	Cananga odorate Hook.	花
31	Perilla	Perilla frutescens Britt.	全草

のをを用いた。測定にはベニバナインゲンの種子を用い、よく乾燥させた後に、粉末にして用いた。種子粉末1gに、蒸留水を定量加え、攪拌後、口液を超速心(13000rpm/5min)して上澄みを被試験サンプルとした。

ハーブは、ニッポン緑産(株)より入手、あるいは苗を譲渡してもらい、長野県伊那市西箕輪にて栽培したものを乾燥して用いた。表2に今回用いたハーブの種類および、用いた部分をまとめる。この乾燥ハーブを1gあたり蒸留水30mlで抽出し、被試験サンプルとした。さらに、表3にまとめたハーブ精油を英国、Maggie Tisserand社より購入し、測定に用いた。このハーブ精油の被試験サンプルの調製には、精油50 μ lをメタノール5ml、蒸留水45ml

に懸濁し、これを蒸留水で1000倍希釈して調製した。なお、シソ精油については、小川香料(株)製を用いた。

結果及び考察

1-1) ベニバナインゲンの ACE 阻害活性

表4に、ベニバナインゲンの抽出条件と ACE 阻害活性試験の結果を検討した結果をまとめた。

表4より、標準抽出条件を、サンプル1gに対して蒸留水30ml、室温で1時間抽出と固定した。

1-2) ベニバナインゲンの ACE 阻害活性成分の分離精製

サンプル3gを蒸留水50mlで室温で1時間抽出したものを、全量10mlに濃縮した。この濃縮液を超遠心(15000rpm/10min)し、上澄み液を減圧濃縮して610mgの淡赤白色ゴム状の残物を得た。これを、Nakarai Chemical Ltd 製 Silica Layer G-10を用いた薄層板(20cm×20cm)でメタノールを展開溶媒として TLC 分取し、5区分のフラクションを得た。

個々のフラクションの分離物質10mgを蒸留水0.5mlに溶解し、これをサンプル溶液として、ACE 阻害能を計算した。フラクション物性、収量および ACE 阻害能を表5にまとめ

表4 ベニバナインゲンの ACE 阻害率に及ぼす抽出条件の影響

No.	採取量 (g)	溶媒量 (ml)	時間 (hour)	温度 (°C)	ACE 阻害率 (%)
1	1	DW 30	1	25	71
2	1	DW 30	24	25	68
3	1	DW 50	1	25	41
4	1	DW 100	1	25	17
5	1	DW 200	1	25	8
6	1	DW 500	1	25	4
7	1	DW 30	1	30	68
8	1	DW 30	1	50	53
9	1	DW 30	1	100	66

DW：蒸留水

表5 ベニバナインゲン抽出液の分取精製物の ACE 阻害率

フラクション No.	分析用 TLC Rf 値 (メタノール)	収量 (mg)	ACE 阻害率 (%)
1	0.94	140	31
2	0.72	330	45
3	0.44/0.17	380	34
4	0.07/0.02	140	77
5	原点	120	76

る。

表5より、すべてのフラクションから、比較的高いACE阻害能が得られた。

さらにこの中で、No.4, No.5のフラクションで高いACE阻害能が得られ、活性成分がこの中に多量に含まれていると考えられる。

2 ハーブ類のACE阻害能

ハーブの植物体乾燥物からの水抽出物のACE阻害能の測定結果を図1にまとめる。

図1より、アップルゼラニウムの葉と、ナスタチウムの花から強いACE阻害能が得られた。さらに、ペパーミントなど数種のハーブからも比較的高いACE阻害能が得られ、ハーブ植物体の水抽出物が「機能的食品」素材として有望であることがわかった。

次に、ハーブ精油についてACE阻害能を測定した結果を図2にまとめる。

10%メタノール含有系でACE阻害能が有意に測定できるかを知るために、強いACE阻害能を有することが知られるトリペプチド誘導体、Benzyloxycarbonyl-Phe-Ala-Pro-OH¹⁶⁾を懸濁させてACE阻害能を測定したところ、阻害率は63%であった。この結果と比較すると、今回測定したハーブ精油には、強いACE阻害活性がないと考えられる。

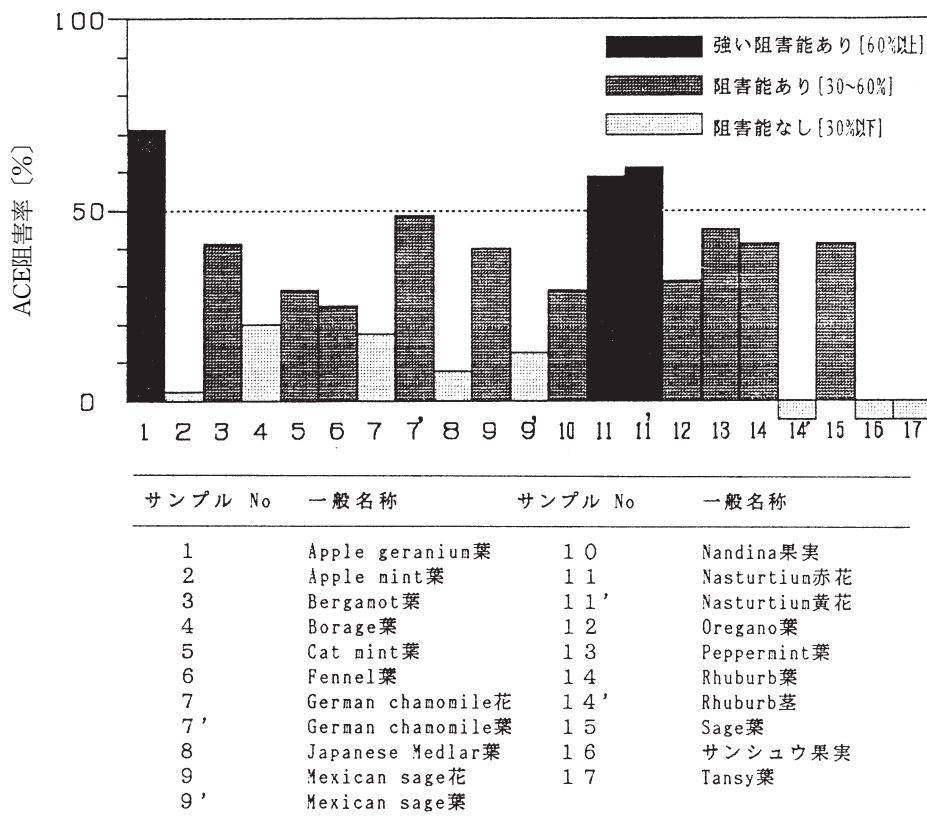
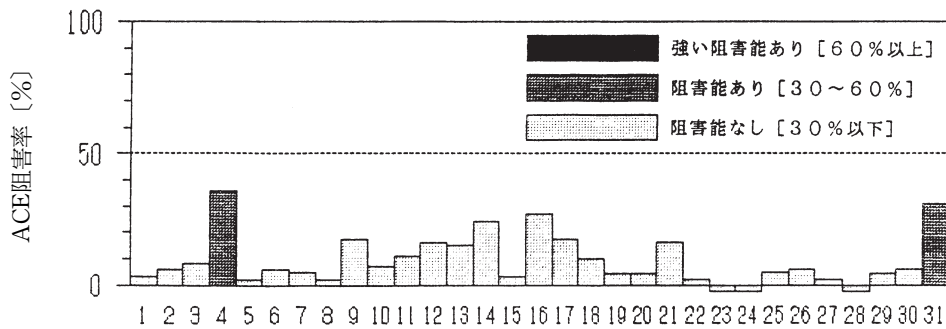


図1 ハーブ水抽出物のACE阻害率



サンプル No	一般名称	サンプル No	一般名称
1	Angelica花	17	Linden花
2	Basil全草	18	Mandarin葉
3	Berganot orange果皮	19	Marjoran葉
4	Chanonile花	20	Melissa全草
5	Canpher tree幹	21	Myrrh樹液
6	Clary sage葉	22	Neroli花
7	Hinoki Crpress球果	23	Sour orange果皮
8	Blue gan葉	24	Patchouli全草
9	Fennel全草	25	Peppermint全草
10	Bible frankincense乳果	26	Rose花
11	Geranium全草	27	Rosemary葉
12	Jasmine花	28	Rose wood幹
13	Common juniper木果	29	Sandal wood幹根
14	Lavender花	30	Ylang Ylang花
15	Lenon果皮	31	Perilla全草
16	Lenonglass全草		

図2 ハーブ精油懸濁液の ACE 阻害率

謝 辞

ハーブ等を提供して頂き，さらに実験方法，生理活性等の討論に参加して頂いた(株)ニッポン緑産 櫻井茂隆社長に深謝します。

引用文献

- 1) Mario R. W. Ehlers et al., *Biochemistry*, **28**, 13 (1989)
- 2) Hiroyuki Koike, 現代化学, p55-61, **1** (1989)
- 3) 丸山 進, バイオサイエンスとインダストリー, **47**, 11 (1991)
- 4) 鈴木建夫 et al., 農化誌, **57**, 1143 (1983)
- 5) Makoto Nishizaki et al., 道営研所報, **35**, 108 (1985)
- 6) 大南宏治 et al., 基礎と臨床, **19**, 10 (1985)
- 7) 高久武司 et al., 生技研報告, **9**, 24 (1987)
- 8) 原 征彦 et al., 農化誌, **61**, 803 (1987)

- 9) Osamu Ito et al., *Medicine and Biology*, **115** (6), 375 (1987)
- 10) 特許広報 平1-175941
- 11) 大橋昭王 修士論文 (1990年 信大農学部)
- 12) 加藤久幸 卒業論文 (1991年 信大農学部)
- 13) James A. Duke, 有用マメ科植物ハンドブック, 雑豆輸入基金協会, 297 (1985)
- 14) 堀田 満, 世界有用植物辞典, 平凡社, 1987
- 15) Koji Tadasa et al., *J. Fac. Agr. Shinshu Univ.*, **25**, 37 (1988)
- 16) Hiroshi Kayahara et al., *Peptide Chemistry 1982*, 167 (1983)