

ハーブ水抽出物のアンジオテンシン I 変換酵素及びコラゲナーゼ阻害能

川上 晃*・茅原 紘・忌部東洋・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

*岐阜大学大学院連合農学研究科（信州大学）

Inhibition of Angiotensin I Converting Enzyme and Collagenase by Water Extracts of Wild and Cultivated Herbs.

Akira KAWAKAMI*, **Hiroshi KAYAHARA**, **Toyo INBE**
and **Koji TADASA**

Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture,
Shinshu University.

*The United Graduate School of Agricultural Science, Gifu University.

Summary

Inhibition activity of angiotensin I converting enzyme (ACE) by water extracts from wild and cultivated herbs was examined in *in vitro* conditions to search the new material for making effective medicines to hypertension. Inhibition activity of bacterial collagenase (*clostridium* origin) by the extracts was also examined to check the specific inhibition of ACE activity, since the structural similarity of the active center of enzymes has been proposed between ACE and collagenase. Extracts from several plants such as rape (flower), mustard (leaf), udo (leaf), corn flower (flower), tarragon (leaf), dandelion (flower), *Angelica pubescens* (flower), *Dystaenia ibukiensis* (flower), italian parsley (leaf), arrowroot (leaf and flower), wisteria (blossom) and shallot (leaf) were revealed to possess the specific inhibitory potency to the ACE activity. These herbs are expected as the materials for making drugs for hypertension. In addition, extracts from some plants such as *Lindera Praecox* (nut), pomegranate (fruit), *Agrimonia nipponica* (flower), *Geranium nepalense* (leaf) and *Smilax china* (seed) were shown to inhibit collagenase activity specifically and they were expected to provide materials for some physiologically functional foods.

(Jour. Fac. Agric. Shinshu Univ. 31 : 97—107, 1994)

Key word : Angiotensin I Converting Enzyme, Collagenase, Inhibitor.

緒 言

近年、機能的食品素材としてハーブ（野草）の持つ生理活性が注目されている。血圧降下作用に関しては、アンジオテンシン I 変換酵素（以下 ACE と略記）の阻害を中心に、種々の植物、食品からの ACE 阻害物質の単離・同定が行われ、その作用が確認されている¹⁻⁵⁾。しかしながら、ハーブ類に関してその生理活性を系統的に広く検索した報告例は少ない。本研究はハーブについて、広く ACE 阻害能の有無を検索し、血圧降下作用を有する機能的食品を創製する際の素材情報を提供することを目的とした。ACE 阻害剤は、ACE の働きを抑えることで血圧上昇作用性生理活性ペプチド、Angiotensin II の生成を妨げ、その結果血圧降下剤として作用する。

血液中には ACE の他にも多数の酵素が存在する。そのため、ACE 阻害成分が ACE 活性中心 Zn²⁺とのキレート形成、あるいはタンパク質の変性作用などにより ACE を阻害する場合、血液中の ACE 以外の酵素も阻害してしまう⁶⁾。そのため、ACE に対して特異的な阻害能を有する阻害剤でなければ、血圧降下作用は期待できない。

そこで、ACE 阻害作用を有するハーブのうち、ACE と似ている別の酵素を阻害しないものを明らかにした。今回、その対照酵素として細菌コラゲナーゼを用いた。細菌コラゲナーゼは、構造タンパク質であるコラーゲンを分解するプロテアーゼで、壊疽・潰瘍・リウマチや歯周病などの原因とされており⁷⁾、その阻害剤も医薬品として有用である。この細菌コラゲナーゼは ACE と同じ Zn²⁺メタルプロテアーゼであり、活性中心の構造が ACE と類似している⁸⁾。そこで、ACE 阻害能を有するハーブの、細菌コラゲナーゼに対する阻害能を評価し、ACE に対してのみ阻害能をしめすハーブを明らかにした。

材料及び実験方法

1. **実験材料：** ハーブ類は、長野県上伊那郡飯島町の圃場にて栽培したもの、あるいは長野県上伊那郡南箕輪村信州大学農学部演習林及びその周辺部にて野生するものを採取した。いずれも採取後水道水で水洗し直ちに凍結した。凍結状態で粉砕後、100 g を非加温下で24時間凍結乾燥した。さらにこれを乳鉢で粉砕し、得られた粉末を実験に用いた。実験に用いたハーブの種類及び使用部位を Table 1 に示した。

ACE (EC 3.4.15.1) 及び基質 hippuryl-histidyl-leucine (HHL) は Sigma 社より購入した。コラゲナーゼは、*Clostridium histolyticum* 由来のコラナーゼ A (EC 3.4.24.3) を Boehringer Mannheim 社より、また基質は、4-phenyl-azobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg (Pz-PLGP-D-R) を Bachem 社より購入した。

2. **ハーブ抽出液の作製：** 先に得たハーブ乾燥粉末0.5 g に脱イオン蒸留水40mlを加えて20°Cにて30分間攪拌し、その後遠心分離 (5200×g, 20分) により得た上澄みを抽出液 (原液) とした。さらに、この抽出液 (原液) 1 ml に脱イオン蒸留水 4 ml を加え、5 倍希釈液を作製した。

3. **ハーブ抽出液のタンパク質濃度測定：** 牛血清アルブミンを標準品タンパク質として、

Table 1. 実験使用ハーブ一覧
Lists of herbs used for the experiments.

種番号 Species No.	科 Family	種 Species	学名 Botanical name	部位 ¹⁾ Part of plant used
1	アオイ	マロウ	<i>Malva sylvestris</i>	葉
2	アカザ	アカザ	<i>Chenopodium centrorubrum</i>	葉
3	アカネ	カワラマツバ	<i>Galium verum</i>	全草
4		クルマムグラ	<i>Galium trifloriforme ver. nipponicum</i>	葉
5		ヤイトバナ	<i>Pederia scandens</i>	葉
6	アカバナ	マツヨイグサ	<i>Oenothera stricta</i>	花
7		ヤナギラン	<i>Chamaenerion angustifolium</i>	実
8	アブラナ	アブラナ	<i>Brassica campestris</i>	花
9		マスタード	<i>Brassica juncea</i>	葉
10		ロケットサラダ	<i>Eruca sativa</i>	花
11				葉
12	イネ	アワ	<i>Setaria italica</i>	実
13		レモングラス	<i>Cymbopogon citratus</i>	葉
14	イラクサ	アカソ	<i>Boehmeria tricuspis</i>	全草
15	ウコギ	ウコギ	<i>Acantho panax spinosus</i>	葉
16		ウド	<i>Aralia cordata</i>	葉
17	カラハナソウ	カラハナソウ	<i>Humulus lupulus L. var. cordifolius</i>	花
18	カタバミ	カタバミ	<i>Oxalis corniculata</i>	葉
19	キキョウ	シデシャジン	<i>Asyneuma japonica</i>	全草
20	キク	ア-ティチョーク	<i>Cynara scolymus</i>	葉
21		イワニガナ	<i>Ixeris stolonifera</i>	全草
22		オオヨモギ	<i>Artemisia Montata</i>	葉
23		キオン	<i>Senecio nemorensis</i>	全草
24		キンケイギク	<i>Coreopsis drummondii</i>	花
25		コーンフラワー	<i>Centaurea cyanus</i>	全草
26		サワアザミ	<i>Cirsium yezoense</i>	花
27		シオン	<i>Aster tataricus</i>	全草
28		タラゴン	<i>Artemisia dracunculus</i>	葉
29		タンポポ	<i>Taraxacum officinale</i>	花
30				根
31		ニガナ	<i>Ixeris dentata</i>	全草
32		ノコギリソウ	<i>Achillea alpina</i>	全草
33		ヒメジオン	<i>Stenactis cass annuus</i>	花
34		フキ	<i>Petasites japonicus</i>	葉
35	キンボウグ	リュウキンカ	<i>Caltha palustris var. nipponica</i>	葉

1) : 葉 ; Leaf, 花 ; Flower, 実 ; Seed, 根 ; Root, 全草 ; Whole plant.

Table 1. Continued. (No. 1).

種番号 Species No.	科 Family	種 Species	学名 Botanical name	部位 ¹⁾ Part of plant used
36	クスノキ	アブラチャン	<i>Lindera praecox</i>	実
37	クルミ	クルミ	<i>Juglans mandshurica</i>	葉
38	クワ	クワ	<i>Morus bombycis</i>	葉
39	グミ	トウグミ	<i>Elaeagnus multiflora</i>	実
40	ゴマノハグサ	ゴマノハグサ	<i>Scrophularia buergeriana</i>	葉
41		サギゴケ	<i>Mazum miquelii</i>	全草
42		ヒヨクソウ	<i>Veronica melissaefolia</i>	全草
43	サクラソウ	オカトラノヲ	<i>Lysimachia clethroides</i>	花
44	ザクロ	ザクロ	<i>Punica granatum</i>	実
45	シソ	アカジソ	<i>Perilla frutescens folium purpurea</i>	葉
46		アップルミント	<i>Mentha officinalis</i>	葉
47		ウツボグサ	<i>Prunella unlgaris ssp. asiatica</i>	全草
48		オレガノ	<i>Origanum vulgare</i>	葉
49		カキドウシ	<i>Glechoma hederacea ssp. grandis</i>	全草
50		キャットニップ	<i>Nepeta cataria</i>	葉
51		クルマバナ	<i>Clinopodium chinense ssp. grandiflorum</i>	全草
52		スペアミント	<i>Mentha viridis</i>	葉
53		セージ	<i>Salvia officinalis</i>	葉
54		タイム	<i>Thymus vulgare</i>	葉
55		ハッカ	<i>Mentha frutescens var. citriodora</i>	全草
56		バジル	<i>Ocimum basilicum</i>	葉
57		ペパーミント	<i>Mentha piperita</i>	葉
58		マジョラム	<i>Origanum majorana</i>	葉
59		ローズマリー	<i>Rosmarinus officinalis</i>	葉
60		パイナップルミント	<i>Mentha spp.</i>	葉
61		レモンバーム	<i>Melissa officinalis</i>	葉
62		レモンベルガモット	<i>Monarda didyma</i>	葉
63	ショウガ	ミョウガ	<i>Zingiber mioga</i>	葉
64	スイカズラ	スイカズラ	<i>Lonicera japonica</i>	葉
65	スギナ	スギナ	<i>Equisetum aruense</i>	葉
66	セリ	コリアンダー	<i>Coriandrum sativum</i>	葉
67		シシウド	<i>Angelica pubescens</i>	花
68		セリ	<i>Oenanthe japonica</i>	葉
69		セリモドキ	<i>Dystaenia ibukiensis</i>	花
70		ディル	<i>Anethum graveoles</i>	葉
71		ミツバ	<i>Cryptotaenia japonica</i>	葉

1) : 葉 ; Leaf, 花 ; Flower, 実 ; Seed, 根 ; Root, 全草 ; Whole plant.

Table 1. Continued. (No. 2).

種番号 Species No.	科 Family	種 Species	学名 Botanical name	部位 ¹⁾ Part of plant used
72	セリ	イタリアンパスレー	<i>Carum petroselinum</i>	葉
73	タデ	イタドリ	<i>Reynoutria japonica</i>	葉
74		イヌタデ	<i>Persicaria longiseta</i>	全草
75		スイバ	<i>Rumex acetosa</i>	花
76		ソバ	<i>Fagopyrum esculentum</i>	実
77				葉
78		ミゾソバ	<i>Persicaria thunbergii</i>	葉
79	ツユクサ	ツユクサ	<i>Commelina communis</i>	全草
80	ツリフネソウ	ツリフネソウ	<i>Impatiens textori</i>	全草
81	ナス	キンギンナスビ	<i>Solanum aculeatissimum</i>	実
82		ホウズキ	<i>Physalis alkekengi var. franchetii</i>	実
83		ワルナスビ	<i>Solanum carolinense</i>	花
84	ノウゼンハレン	ノウゼンハレン	<i>Tropaeorus majus</i>	花
85	バラ	キンミズヒキ	<i>Agrimonia nipponica</i>	花
86		クサボケ	<i>Chaenomeles japonica</i>	花
87				実
88		ノイバラ	<i>Rosa polvantha</i>	花
89		ヘビイチゴ	<i>Duchesnea chrysantha</i>	実
90		モミジイチゴ	<i>Rubus pal matus thumb. var. cotophyllus</i>	実
91		ヤマザクラ	<i>Prunus jamasakura</i>	花
92		ワレモコウ	<i>Sanguisorba officinalis</i>	葉
93	ヒユ	イノコズチ	<i>Achyronthes bidentata var japonica</i>	実
94	フウロソウ	ゲンノショウコ	<i>Geranium nepalense</i>	葉
95	ベンケイソウ	キリンソウ	<i>Sedum aizoon var. floribundum</i>	花
96		ベンケイソウ	<i>Hylotelephium telephium</i>	全草
97	マツムシソウ	マツムシソウ	<i>Scabiosa japonica</i>	全草
98	マメ	クサフジ	<i>Vicia villosa</i>	花
99				全草
100		クズ	<i>Paeraria hirsuta</i>	花
101				葉
102		ナンテンハギ	<i>Vicia unijuga</i>	全草
103		ヌスビトハギ	<i>Desmodium podocarpum</i>	実
104		ファヌグリーク	<i>Trigonella foenum-graecum</i>	葉
105		ベニバナインゲン	<i>Phaseolus coccineus</i>	実
106		ムラサキツメクサ	<i>Trifolium pratense</i>	花
107		ヤマフジ	<i>Wisteria brachybotrys</i>	花

1) : 葉 ; Leaf, 花 ; Flower, 実 ; Seed, 根 ; Root, 全草 ; Whole plant.

Table 1. Continued. (No. 3).

種番号 Species No.	科 Family	種 Species	学名 Botanical name	部位 ¹⁾ Part of plant used
108	ミカン	コクサギ	<i>Orixa japonica</i>	葉
109		サンショウ	<i>Zanthoxylum piperitum</i>	実
110				葉
111	ミツバウツギ	ミツバウツギ	<i>Staphylea bumalda</i>	葉
112	メギ	イカリソウ	<i>Epimedium gradiflorum var. thunbergianum</i>	全草
113		ナンテン	<i>Nandina domestica</i>	葉
114	ユキノシタ	コアジサイ	<i>Hydrangea nirtasieb</i>	花
115		ユキノシタ	<i>Saxifraga stolonifera</i>	花
116	ユリ	オニユリ	<i>Lilium lancifolium</i>	全草
117		コバギボウシ	<i>Hosta albomarginata</i>	花
118				葉
119		サルトリイバラ	<i>Smilax china</i>	実
120		シャロット	<i>Allium asalonicum</i>	葉

1) : 葉 ; Leaf, 花 ; Flower, 実 ; Seed, 根 ; Root, 全草 ; Whole plant.

市販の吸着法タンパク質分析キット⁹⁾(Pierce社製BCAタンパク質分析キット)により、試料中のタンパク質濃度を測定した。

4. ACE阻害能の測定： Cushmanらの方法¹⁰⁾及び西澤らの方法²⁾を参考にして、ACEの働きで基質から遊離した馬尿酸の量をHPLCにて定量しACE阻害能の指標とした。pH8.3ホウ酸緩衝液にHHLを溶解し、12.5mMHHL溶液とした。この溶液50 μ lに抽出液、酵素液(ACE2.5mU含有)及びpH8.3ホウ酸緩衝液(300mM食塩含有)各50 μ lを加え、37 $^{\circ}$ Cにて2時間反応させた。1N塩酸200 μ lの添加により酵素反応を止めた後、反応液中の馬尿酸を酢酸エチル800 μ lで抽出した。液層分離後、上層400 μ lを常温で濃縮後、濃縮物をメタノール50 μ lに溶解して、これに含まれる馬尿酸量をHPLCにより定量した。HPLC条件：UV228nm, カラム：TOSOH TSKgel-ODS120A 4.8 \times 150mm, 40 $^{\circ}$ C, 溶離液：10%アセトニトリル/脱イオン蒸留水。

以下の式に従ってACE阻害活性を算出した。

$$\text{阻害率(\%)} = \frac{\text{Hb} - \text{Hs}}{\text{Hb}} \times 100$$

ここでHs, Hbは、

Hs：ハーブ抽出液を加え反応を行った時の馬尿酸の生成量、

Hb：脱イオン蒸留水を加え反応を行った時の馬尿酸生成量。

5. コラゲナーゼ阻害能の測定： Wünschの方法¹¹⁾を参考にして測定した。pH7.1Tris-塩酸緩衝液に基質Pz-PLGP-D-Rを溶解し、750 μ M基質溶液を調製した。10mM酢酸カルシウム水溶液に酵素を125mg/lの濃度で溶解し、酵素溶液を調製した。ハーブ抽出液、基

Table 2. 各種ハーブ水抽出物の *in vitro* における ACE 活性阻害試験結果
Results of the *in vitro* inhibition tests for the ACE activity by
aqueous extracts from various herbs.

種 No. Species No.	蛋白質 protein mg/ml	ACE 阻害率 ACE inh. % undiluted ×5	種 No. Species No.	蛋白質 protein mg/ml	ACE 阻害率 ACE inh. % undiluted ×5	種 No. Species No.	蛋白質 protein mg/ml	ACE 阻害率 ACE inh. % undiluted ×5			
1	0.54	42	9	41	4.76	59	0	81	5.23	90	34*
2	1.61	0	0	42	1.41	82	0	82	0.40	87	0
3	2.48	0	0	43	4.69	71	28*	83	1.21	97	0
4	1.14	0	0	44	6.43	66	0	84	2.41	64	2
5	1.47	86	0	45	4.82	22	0	85	4.56	87	4
6	1.21	92	25* ¹⁾	46	0.54	0	0	86	1.81	91	87**
7	0.60	0	0	47	3.69	0	0	87	3.69	0	2
8	1.88	96	94**	48	4.29	59	0	88	4.36	83	45*
9	4.62	87	84**	49	4.49	64	62**	89	2.28	86	0
10	2.75	54	0	50	1.54	82	0	90	4.36	92	12
11	2.14	81	43*	51	4.69	0	0	91	1.94	85	69**
12	0.47	100	0	52	4.69	91	89**	92	3.25	84	66**
13	0.60	0	0	53	0.54	0	0	93	0.67	6	0
14	3.08	0	0	54	0.50	0	0	94	0.27	16	0
15	0.40	17	1	55	2.08	0	0	95	1.07	50	0
16	1.74	87	86**	56	0.47	0	0	96	0.94	0	0
17	0.94	0	0	57	0.54	0	0	97	1.27	50	0
18	1.68	95	85**	58	1.01	0	0	98	2.08	0	0
19	1.74	0	0	59	0.60	81	69**	99	1.21	0	0
20	1.81	87	0	60	3.02	77	58**	100	1.47	95	93**
21	2.28	77	0	61	0.47	76	31*	101	1.41	89	83**
22	1.68	28	0	62	1.27	56	0	102	1.47	0	0
23	5.09	0	0	63	0.87	26	0	103	1.88	77	0
24	3.75	72	0	64	4.15	50	10	104	0.80	0	0
25	1.07	89	85**	65	1.34	0	0	105	0.94	84	0
26	3.22	75	19	66	0.20	0	0	106	2.01	31	0
27	1.54	0	0	67	1.74	92	74**	107	1.07	94	91**
28	0.87	84	46**	68	1.01	48	0	108	2.28	65	6
29	1.94	87	46**	69	1.41	84	45*	109	1.07	84	0
30	0.60	47	2	70	1.54	86	72**	110	1.88	0	0
31	1.68	95	88**	71	3.62	27	0	111	1.21	71	0
32	1.07	8	0	72	0.40	89	71**	112	3.02	58	0
33	3.62	87	80**	73	2.01	77	70**	113	1.74	7	0
34	3.82	42	0	74	1.61	57	18	114	2.48	87	82**
35	2.81	0	0	75	4.09	86	74**	115	7.30	69	19
36	4.69	25	0	76	0.34	80	0	116	2.08	0	0
37	2.68	89	80**	77	2.41	0	0	117	1.68	46	0
38	0.60	83	0	78	1.14	0	0	118	1.07	40	0
39	1.88	88	88**	79	1.88	12	10	119	1.41	0	0
40	1.34	0	0	80	2.55	73	0	120	1.27	98	95**

1) : '**', Potent ACE inhibitor. (Inh. %; inhibitory activity %>50% at diluted solution.)

'*', Weak ACE inhibitor. (Inh. %>25% at diluted solution.)

Table 3. 表2中でACE阻害能を示したハーブ水抽液による *in vitro* における
コラゲナーゼ活性阻害試験の結果
Results of the *in vitro* inhibition tests for the collagenase activity by
aqueous extracts from those ACE inhibitory herbs listed in Table 2.

種 No.	種	コラゲナーゼ阻害率%		種 No.	種	コラゲナーゼ阻害率%	
Species	Species	Collagenase Inh. %		Species	Species	Collagenase Inh. %	
No.		undilute	×5diluted	No.		undilute	×5diluted
6	マツヨイグサ	91	52	61	レモンバーム	80	55
8	アブラナ	0	0** ¹⁾	62	レモンベルガモット	51	2
9	マスタード	6	0**	67	シシウド	12	0**
11	ロケットサラダ	0	0*	69	セリモドキ	0	0**
16	ウド	6	0**	70	ディル	9	0**
18	カラハナソウ	83	44	72	イタリアンパスレー	5	0**
25	コーンフラワー	5	0**	73	イタドリ	83	29
26	サワアザミ	53	19	74	イヌタデ	0	0*
28	タラゴン	0	0**	75	スイバ	99	49
29	タンポポ	0	0**	81	キンギンナスビ	93	5
31	ニガナ	31	0	86	クサボケ	87	4
33	ヒメジオン	46	0	88	ノイバラ	97	49
37	クルミ	74	14	91	ヤマザクラ	64	19
39	トウグミ	100	27	92	ワレモコウ	92	47
43	オカトラノヲ	100	82	100	クズ	17	0*
49	カキドウシ	46	0	101	クズ	6	0**
52	スペアミント	82	47	107	ヤマフジ	7	0**
59	ローズマリー	53	12	114	コアジサイ	96	32
60	パイナップルミント	64	46	120	シャロット	0	0**

1) : These herbs inhibited the ACE activity, but no collagenase inhibitory activity was observed.

See Table 2 to refer the meaning of ‘**’ and ‘*’

質溶液及び酵素溶液各100 μ lを混合し、37°Cで15分間反応させた。1N塩酸600 μ lを加えて酵素反応を止めた後、反応液中のPz-Pro-Leuを酢酸エチル2.4mlで抽出した。液層分離後、上層1.4mlを採取し、320 nmの吸光度を測定した。

以下の式に従ってコラゲナーゼ阻害活性を算出した。

$$\text{阻害率(\%)} = \frac{(Aw - Ab) - As}{(Aw - Ab)} \times 100$$

ここでAw, Ab, Asはそれぞれ、

As: 被試験溶液に酵素を作用させた時の吸光度, Ab: 酵素液に1 N塩酸を加えて失活後Asと同様に処理した時の吸光度, Aw: 被試験溶液の代わりに蒸留水を作用させたときの吸光度。

Table 4. 表2中でACE阻害能を示さなかったハーブで *in vitro* におけるコラゲナーゼ活性阻害能を示したハーブ一覧
Lists of the collagenase inhibitory herbs among the ACE non-inhibitory herbs in Table 2.

種 No. Species No.	種 Species	コラナーゼ阻害率% Collagenase inhibitory % Undilute × 5diluted	
7	ヤナギラン	70	30
36	アブラチャン	100	73** ¹⁾
44	ザクロ	100	76**
47	ウツボグサ	100	53*
48	オレガノ	91	50*
51	クルマバナ	67	45
54	タイム	76	58*
55	ハッカ	81	26
58	マジョラム	73	37
64	スイカズラ	68	7
76	ソバ	49	7
79	ツユクサ	78	8
85	キンミズヒキ	97	74**
94	ゲンノショウコ	100	94**
97	マツムシソウ	45	7
103	ヌスビトハギ	60	0
104	ファヌグリーク	65	0
109	サンショウ	82	23
112	イカリソウ	61	27
119	サルトリイバラ	100	53*

1)**potent collagenase inhibitors.

(Inhibitory activity % > 70% at diluted solution.)

**weak collagenase inhibitors.

(Inhibitory % > 50% at diluted solution.)

結果及び考察

ハーブ乾燥粉末の水抽出液（原液）及びその5倍希釈液について、タンパク質濃度及びACE阻害能を測定した結果をTable 2にまとめた。ハーブ抽出液原液は強くACE活性を阻害し、全サンプルの30%以上のサンプルが強いACE阻害能（阻害率75%以上）を示した。そこで、5倍希釈液におけるACE阻害率が50%以上のハーブを強いACE阻害能、5倍希釈液における阻害率25%以上のハーブを並みの阻害能と定義したところ、今回用いた120種類のハーブの内、強いACE阻害能を示したハーブは30種あった。並み及び強いACE阻害能を示したハーブの抽出液（原液）及び5倍希釈液を用いて、コラゲナーゼ阻害活性を測定

した結果 Table 3にまとめた。この結果、Table 3中で“**”を付記したハーブはコラゲナーゼに対して、阻害活性を全く示さなかった。これらのハーブは、ACE に対して特異的な阻害作用を示す素材と考えられ、*in vivo*での ACE 阻害作用が期待できる。

ここで、Table 3中“**”を付記した13種類のハーブは ACE に特異的な阻害能を有すると思われるが、測定系内における抽出液のタンパク質量は、20mg/l (イタリアンパセリ葉) ~230mg/l (マスタード葉) であった。ハーブ抽出液中に ACE の基質となるタンパク質が含まれている場合、基質 HHL の分解が競合的に阻害され、見かけ上 ACE 活性は阻害されてしまう。ところが、測定系内の基質 HHL 濃度は1.4g/l で、ハーブ抽出液中のタンパク質濃度の6~70倍と大きい。仮に抽出物中の一部のタンパク質が ACE 基質として加わったとしても、その影響は僅かであると考えられる。

Table 3に記載のハーブでコラゲナーゼに対しても阻害作用を示したハーブ抽出液は、金属キレートを形成しやすい成分を含む可能性が高く、他のメタルプロテアーゼの阻害剤としても期待できる。

また歯周病をターゲットにしたコラゲナーゼ阻害剤の場合、作用部位は口腔表面であるため¹²⁾、キレート形成などで他の酵素の阻害をしても問題にならず、これらのハーブは歯周病予防等に期待できる。

Table 4には、原液で50%以上のコラナーゼ阻害活性を示し、かつコラゲナーゼに対して選択的に阻害能を有するハーブを示した。同表中で“**”を付記したハーブは、5倍希釈で阻害率50%以上の強い阻害活性が得られ、その作用もコラナーゼに対して選択的であるので、*in vivo*での阻害作用が期待される。

今回多くの物質の混合物であるハーブ抽出液を用いて、ACE 及びコラゲナーゼ阻害作用のスクリーニングを行った。この結果、それぞれの利用目的に対して有望なハーブを明らかにした。今後、これらの情報をもとに、ハーブ抽出液中の阻害物質を明らかにし、医薬品あるいは機能性食品として利用すべき研究に着手していきたい。

要 約

血圧降下作用を有する機能性食品素材の提供を目的として、ハーブ水抽出物の *in vitro* 反応系におけるアンジオテンシン I 変換酵素 (ACE) に対する阻害能を測定した。さらに、細菌コラゲナーゼに対する阻害能も同時に測定した。その結果、*in vitro*において ACE を特異的に強く阻害し、*in vivo*における作用が期待できるハーブとして13種、(アブラナ花、マスタード葉、ウド葉、コーンフラワー花、タラゴン葉、タンポポ葉、シシウド葉、セリモドキ葉、ディル葉、イタリアンパセリ葉、クズ花葉、フジ花及びシャロット葉)、コラゲナーゼに対して *in vivo* で阻害作用が期待できるハーブとして5種、(アブラチャン実、柘榴実、キンミズヒキ花、ゲンノショウコ葉及びサルトリイバラ実) が得られた。さらに、キレートの形成など他のメタルプロテアーゼに対して阻害作用が期待でき、口腔中のコラゲナーゼ阻害 (歯周病予防) に有効と思われるハーブが多数存在することが明らかになった。

これら結果は、今後の血圧降下作用及びリユーマチ、歯周病予防などに有効な機能性食品や医薬品の創製に対して有用な情報を与えるものであろう。

参 考 文 献

- 1) 鈴木建夫, 石川宣子, 目黒 熙, 食品中のアンジオテンシン I 変換酵素阻害能について, 農化, **57** (11), 1143-1146 (1983).
- 2) 西澤 信, 大山 徹, 長南隆夫, 中野道晴, 堀 義宏, 金島弘恭, 北海道産植物のアンジオテンシン I 変換酵素阻害作用, 道衛研所報, **35**, 108-110 (1985).
- 3) 栗村芳郎, 鈴木建夫, 日本国公開特許公報, H 4-124137 (1992).
- 4) 高久武司, 亀田健治, 尾形優治, 種々の植物からの生理活性物質の単離, 生技研究報告, **9**, 24-26 (1987).
- 5) 小山文彦, 中村由美夫, 日本国公開特許公報, H5-97798 (1993).
- 6) 原 征彦, 松崎妙子, 鈴木建夫, 茶成分のアンジオテンシン I 変換酵素阻害能について, 農化, **61** (7), 803-808 (1987).
- 7) Grobelny D., Poncz L. and Galardy R. E., Inhibitions of human skin fibroblast Collagenase, Thermolysin, and *Pseudomonas aeruginosa* Elastase by peptide hydroxamic acids., *Biochem.*, **31**, 7152-7154 (1992).
- 8) Yiotakis A., Hatgiyannacou A, Diva V. and Toma F., New thiol inhibitors of *Clostridium histlyticum* Collagenase. Importance of the P3' position., *Eur. J. Biochem.*, **172**, 761-766 (1988).
- 9) Wiechelmann K., Braun R. and Fitzpatrick J., Investigation of the bicinchonic acid protein assay : Identification of the groups responsible for color formation, *Anal. Biochem.*, **175**, 231-237 (1988).
- 10) Cushman D. W. and Cheung H. S., Spectrophotometric assay and properties of the Angiotensin converting enzyme of rabbit lung., *Biochem. Pharmacol.*, **20**, 1637-1648 (1971).
- 11) Wünsch E. and Heidrich H. G., Zur quantitativen Bestimmung der Kollagenase, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **333**, 149-151 (1963).
- 12) M. Makimura, M. Hirasawa, K. Kobayashi, S. Sakanaka, T. Taguchi, and S. Otake, Inhibitory effect of tea catechins on Collagenase activity, *J. Periodontol.*, **64** (7), 630-636 (1993).