

白芷の調製法と化学的品質評価（第5報） 保存中におけるフロクマリンの減少

姉帯 正樹^{*a}, 熊谷 健夫^b, 柴田 敏郎^b

^a北海道立衛生研究所, ^b国立医薬品食品衛生研究所北海道薬用植物栽培試験場

Preparation and Chemical Evaluation of *Angelica dahurica* Root (Part V) Decrement of Furanocoumarins during Preservation

Masaki Anetai^{*a}, Takeo Kumagai^b, and Toshiro Shibata^b

^a Hokkaido Institute of Public Health, Kita-19, Nishi-12, Kita-ku, Sapporo 060-0819, Japan

^b Hokkaido Experimental Station for Medicinal Plants, National Institute of Health Sciences,
108 Ohashi, Nayoro 096-0065, Japan

(Received November 25, 2003)

Angelica dahurica roots were preserved under various conditions for one year and were chemically evaluated by the contents of furanocoumarins. Eight linear furanocoumarins, i.e., psoralen, xanthotoxin, bergapten, byak-angelicol, oxypeucedanin, imperatorin, phellopterin and isoimperatorin, gradually decreased in the course of time during preservation except under dark and cold conditions. The contents of eight furanocoumarins decreased by UV irradiation for one week. The remarkable decrement of byak-angelicol and oxypeucedanin was observed when the powdered roots were heated at 50–60°C for one week. The other six furanocoumarins were stable to heating. These findings showed that the decrement of eight furanocoumarins during preservation could be due to not only pyrolysis but also being bathed in light especially UV.

Keywords: *Angelica dahurica* root; furanocoumarin; preservation; decrement; UV

白芷はヨロイグサ *Angelica dahurica* BENTHAM et HOOKER (セリ科) の根を乾燥した生薬で、鎮痛薬とみなされる漢方処方及びその他の処方に少数例配合されている。白芷の成分として種々のクマリン誘導体が知られている¹⁾。

第2報²⁾では入手年の明らかな白芷中のリニア型フロクマリン8種 (Fig. 1 に示す psoralen, xanthotoxin, bergapten, byak-angelicol, oxypeucedanin, imperatorin, phellopterin 及び isoimperatorin) を HPLC を用いて定量し、化学的に品質評価した。その結果、長期間室温に保存した試料は主成分である byak-angelicol 及び oxypeucedanin 含量が極めて低い傾向にあり、これらは保存中に分解すると考えられた。このことから、白芷中のフロクマリンは試料の保存条件及び保存期間の違いにより、その含量が大きく変動する可能性が示唆された²⁾。

そこで今回は、北海道で育成したヨロイグサ³⁾の乾燥根

(白芷) を種々の条件で1年間保存し、その保存条件がフロクマリンの含量に及ぼす影響を経時的に調べた。さらに、フロクマリンの紫外線及び熱に対する安定性について検討を加えた。

実験方法

1. 保存法別試料

北海道薬用植物栽培試験場圃場で育成した2年生ヨロイグサを2000年10月27日に掘上げた。水洗後、茎葉を除去し、透明アクリル板を張った無加温ハウス内で自然乾燥 (11月2日～2001年1月9日) した後、温風乾燥 (50°C, 48時間) した。北海道立衛生研究所において超遠心粉碎機 (Retsch 社, ZM1, メッシュスクリーン穴径 0.5 mm 使用) で粉碎後、粉末を以下の A～F の6条件で1年間保存した (各々5g 使用, 2001年6月1日～2002年6月3日)。

A: ガラス瓶に入れ、冷蔵室内の暗所に保存した。

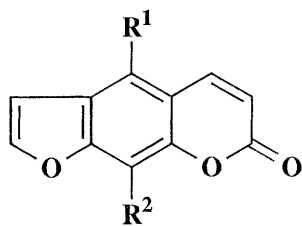


Fig. 1. Chemical Structure of Furanocoumarins.
 Psoralen, $R^1=R^2=H$; Xanthotoxin, $R^1=H$ $R^2=OCH_3$; Bergapten, $R^1=OCH_3$ $R^2=H$; Byak-angelicol, $R^1=OCH_3$ $R^2=3\text{-methyl-2,3-epoxybutyloxy}$; Oxy-peucedanin, $R^1=3\text{-methyl-2,3-epoxybutyloxy}$ $R^2=H$; Imperatorin, $R^1=H$ $R^2=3,3\text{-dimethylallyloxy}$; Phellopterin, $R^1=OCH_3$ $R^2=3,3\text{-dimethylallyloxy}$; Isoimperatorin, $R^1=3,3\text{-dimethylallyloxy}$ $R^2=H$.

B: ガラス瓶に入れ、実験室内〔直射日光の当たらない本箱上、天井の蛍光灯（32 W×2、1年間の点灯時間は約2,700時間）から30 cm下〕に放置した。

C: ポリ袋に二重にして入れ、Bのガラス瓶と並べて放置した。

D: ガラス瓶に入れ、ネット袋に入れた後、温室のガラス屋根から約40 cmの所に吊り下げた。

E: ポリ袋に二重にして入れ、Dのガラス瓶と共に温室内に放置した。

F: ガラス瓶に入れ、アルミ箔で二重に包んでから、Dのガラス瓶と共に温室内に放置した。

各々について7月2日、8月3日、9月3日、10月3日、11月2日、2002年2月4日及び6月3日に粉末の一部を取り出し、分析用試料とした。保存期間中の各試料を放置した場所の気温は、冷蔵室内で4.5℃、実験室内で15～32℃、温室内で6～58℃であった。

なお、ガラス瓶は400～360 nmの透過率が92%、360～280 nmでは波長が短くなるに従い漸次透過率が低下（310 nmで50%）し、280 nm以下の波長域の紫外線を透過しないネジ栓付遠心沈澱管（岩城硝子(株)、PYREX、50 ml, TE-32)⁴⁾、ポリ袋はチャック付（伊藤忠サンプラス(株)、サンジップE-4、低密度ポリエチレン）を用いた。ポリ袋は気体透過性、透湿性を有し⁵⁾、二重にして紫外線を照射（次項参照）したところ、その透過率は約80%であった。

2. 紫外線照射

上記粉末を以下のG～H'の4条件で紫外線照射あるいは暗所に放置した。照射は15 Wの殺菌灯（三共電気(株)、殺菌ランプGL15）から約20 cm離し（9 J/m²・sec）、段ボール箱中で1週間行った（箱内温度24～28℃）。

G: シャーレ（直径12 cm）2枚に薬包紙を敷き、その各々の上に粉末約300 mgを薄く広げ、ふたをせずに直接照射した。

G': シャーレ上の粉末約300 mgを、1週間放置した（箱内温度25～26℃）。

H: ガラス瓶⁶⁾に粉末約650 mgを入れ、栓をした後、Gと共に照射した。

H': ガラス瓶中の粉末約700 mgを、G'と共に1週間放置した。

3. 加熱処理

上記粉末を以下のI～Kの3条件で加熱処理した。加熱はヒーティングブロック（ヤマト科学(株)、HL-21型のアルミブロックを外し、温度計を差した段ボールで蓋をした）中で1週間行った。

I: ガラス瓶に粉末約650 mgを入れ、栓をし、アルミ箔で包んでから40±0.5℃に加熱した。

J: Iと同様の試料を50±0.5℃に加熱した。

K: Iと同様の試料を60±0.5℃に加熱した。

4. HPLCによるフロクマリンの定量

条件A～Fについては、各々約250 mgを分析用試料A～Fとした。各試料にメタノール10.0 mlを加え、超音波処理（ヤマト科学(株)、Branson B-32H、270 W、約50℃、20分間）し、遠心分離（3,000 rpm、10分間）後、上清を試験溶液とした²⁾。

条件G～Kについては、各々約300 mgを分析用試料G～Kとした。各試料にメタノール/水混液（4:1）10.0 mlを加え、超音波処理（約25℃、20分間）し、遠心分離後、上清を試験溶液とした⁶⁾。定量は2回行い、その平均値を求めた。

試験溶液の分析条件は既報^{2,6)}に従った。

結 果

1. 保存中のフロクマリンの経時変化

ヨロイグサの乾燥根粉末を種々の条件で1年間保存し、各々の条件におけるフロクマリン含量の経時変化を調べた。一例として、ガラス瓶に入れ温室内に放置（条件D）した際の経時変化をFig. 2に示す。なお、psoralen, xanthotoxin, bergapten, byak-angelicol, oxy-peucedanin, imperatorin, phellopterin及びisoimperatorinの初期値は、それぞれ2.5, 4.3, 11.3, 487, 404, 132, 63及び85 mg/100 gであった。

主成分であるbyak-angelicolは時間の経過と共に減少し、1年後には約4分の1の含量を示した。同様にoxy-peucedaninも減少したが、その度合いは前者よりも緩やかで、4カ月後には含量の逆転が認められた。含量のより少ないimperatorin, phellopterin及びisoimperatorinも時間の経過と共に減少した。ストレス化合物（ファイトアレキシン）であるpsoralen, xanthotoxin及びbergapten³⁾はスケールの関係上Fig. 2から削除したが、上記の5成分と同様に時間の経過と共に減少した。

2. 保存後の残存率

6条件下における8成分の1年後の残存率をTable 1に示す。

冷暗所保存（A）では、8成分の残存率は95～100%という高い値を示した。室内放置の場合、ガラス瓶中（B）では70～86%、ポリ袋中（C）では52～83%の値が得られ、保存容器の違いにより残存率に差が認められた。温室保存の

場合、室内放置より更に大きい減少が認められ、一部の成分ではガラス瓶中 (D) とポリ袋中 (E) で残存率に差が認められた。ガラス瓶をアルミ箔で包んで遮光 (F) すると、6成分の残存率は93%以上の高い値を示したが、byak-angelicol は68%, oxypeucedanin は75%の低い値を示した。

3. 紫外線照射による減少

紫外線照射1週間後の各成分の残存率を Table 2 に示す。

直接照射 (G) では大きく減少し、8成分の残存率は35~75%を示した。主成分である byak-angelicol の残存率は69%, oxypeucedanin は75%であった。他の6成分の残存率を比較すると、imperatorin が35%と最も低い値を

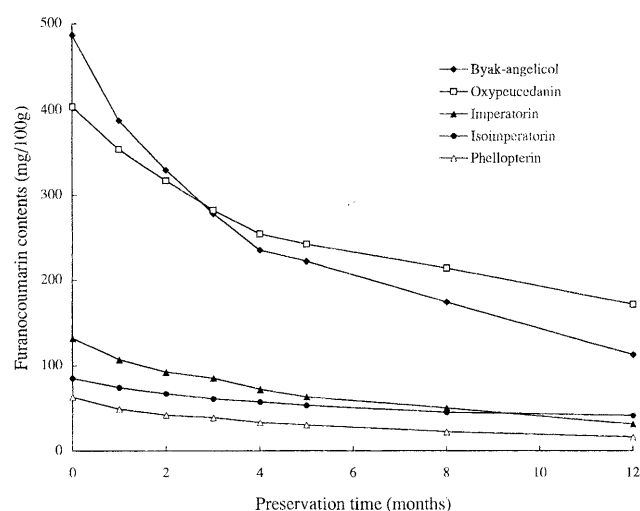


Fig. 2. Time-course Study of Eight Furanocoumarin Contents in Angelica dahurica Root during Preservation for One Year.

Powdered Angelica dahurica root in a glass centrifuge tube with a screw cap was placed in a greenhouse from June 1, 2001 to June 3, 2002 (condition D).

示した。なお、ブランク (G') の残存率は94~100%で、5成分に若干の減少が認められた。

一方、ガラス瓶中 (H) の残存率は75~97%であった。

このように条件 G と H で大きな差が認められ、これは主として 360 nm 以下の波長の紫外線透過率の違いに起因し、本波長領域が減少に大きく関与していることが示唆された。

4. 加熱による減少

加熱1週間後の各成分の残存率を Table 3 に示す。

40°C (I) では各々の残存率は90~100%の高い値を示した。50°C (J) では主成分である byak-angelicol 及び oxypeucedanin の減少が認められ、各々の残存率は62%及び71%に低下した。60°C (K) では byak-angelicol 及び oxypeucedanin は顕著に減少し、各々の残存率は10%以下であったが、imperatorin, phellopterin 及び isoimperatorin は81~89%と高い値を示し、psoralen, xanthotoxin 及び bergapten では100%と全く影響は認められなかった。

保存法別試料における遮光条件下温室内保存 (F) の結果より、psoralen, xanthotoxin, bergapten, imperatorin, phellopterin 及び isoimperatorin は熱に安定であるが、byak-angelicol 及び oxypeucedanin は不安定であることが示唆され、本加熱実験において、この結果をほぼ裏付ける結果が得られた。

考 察

長時間のケイ酸カラムクロマトグラフィーにより、byak-angelicol は開裂して byak-angelicin に変化するが、oxypeucedanin は安定であることが報告されている⁷⁾。従って、byak-angelicol 及び oxypeucedanin はどちらも側鎖にエポキシ環を有するが、その安定性は異なるものと考えられる。今回の実験結果から、byak-angelicol はもとよりこれまで安定と考えられてきた oxypeucedanin も室温保存中に経時的に減少することが明らかになった。両者

Table 1. Recovery Ratios of Eight Furanocoumarins in Powdered Angelica dahurica Roots after Preservation under Various Conditions for One Year.

Preservation conditions			Recovery Ratios (%)							
Place/Temperature/Container			Pso	Xan	Ber	BAng	OPeu	Imp	Phe	iImp
A Cold room 4.5°C Glass			100	100	99	95	96	96	95	95
B Laboratory 15~32°C Glass			80	86	86	71	78	70	83	84
C " " Vinyl			52	74	75	65	76	56	56	83
D Greenhouse 6~58°C Glass			20	35	37	23	42	23	26	49
E " " Vinyl			16	30	28	24	40	22	23	34
F " " Al foil			96	95	96	68	75	92	93	94

Recovery ratios were calculated from the value before preservation. The samples were preserved under each condition from June 1, 2001 to June 3, 2002.

Pso, psoralen; Xan, xanthotoxin; Ber, bergapten; BAng, byak-angelicol; OPeu, oxypeucedanin; Imp, imperatorin; Phe, phellopterin; iImp, isoimperatorin.

Container: glass, a centrifuge tube with a screw cap (50 ml); vinyl, a polyethylene bag; Al foil, a centrifuge tube with a screw cap (50 ml) wrapped in aluminum foil.

Table 2. Recovery Ratios of Eight Furanocoumarins in Powdered *Angelica dahurica* Roots after UV Irradiation under Two Conditions for One Week.

Irradiation condition	Recovery Ratios (%)							
	Pso	Xan	Ber	BAng	OPeu	Imp	Phe	iImp
Unshield								
G UV irradiation	50	50	52	69	75	35	42	60
G' Blank	100	100	100	98	97	95	95	94
In glass bottle								
H UV irradiation	88	97	75	93	94	89	86	92
H' Blank	100	100	100	100	100	100	100	100

Recovery ratios were calculated from the value before each treatment. Irradiation was done by a 15 W sterilizing UV lamp (GL15, SANKYO DENKI Co., Ltd.), which was set at twenty cm distance from the samples ($9\text{ J/m}^2\cdot\text{sec}$) in a paper box at temperatures of 24 to 28 °C.

Irradiation condition: Unshield, the sample was directly irradiated; In glass bottle, the sample was shielded in a centrifuge tube with a screw cap (TE-32, PYREX, IWAKI GLASS Co., Ltd.).

Other notes are the same as Table 1.

Table 3. Recovery Ratios of Eight Furanocoumarins in Powdered *Angelica dahurica* Roots after Heating at Various Temperatures for One Week.

Temperature	Recovery Ratios (%)							
	Pso	Xan	Ber	BAng	OPeu	Imp	Phe	iImp
I 40±0.5°C	100	100	100	90	92	97	100	98
J 50±0.5°C	100	100	100	62	71	94	94	96
K 60±0.5°C	100	100	100	7	9	81	84	89

Recovery ratios were calculated from the value before heat treatment. Heat treatment was carried out in a heating block (HL-21, YAMATO Co., Ltd.) with a paper lid in which a thermometer was inserted. The samples were shielded in a centrifuge tube with a screw cap (50 ml) wrapped in aluminum foil.

Other notes are the same as Table 1.

を比較すると, byak-angelicolの方がより低い残存率を示した. 紫外線照射及び加熱実験の結果から, 両者の減少の主原因は光及び熱による分解であると考えられた.

側鎖として 3,3-dimethylallyloxy 基を有する imperatorin, phellopterin 及び isoimperatorin は熱には比較的安定であったが, 直射日光 (紫外線) には不安定で, 特に imperatorin 及び phellopterin の減少が著しかった. Fig. 1 に示す構造式の R^2 に側鎖を有する byak-angelicol, imperatorin 及び phellopterin は R^1 に各々同一の側鎖を有する oxypeucedanin 及び isoimperatorin と比較して, 光及び熱に対してより低い残存率を示した. 側鎖の種類及び位置による反応性の違いを反映しているものと推察される.

側鎖を有さない psoralen, xanthotoxin 及び bergapten は加熱及び遮光条件下では安定であったが, 採光条件下では大きく減少し, 日光あるいは蛍光灯下での残存率は psoralen で低い傾向にあった. これらの 3 化合物はいずれも人の皮膚に付いた後に日光に当たると皮膚炎を起こすことが知られており, psoralen の作用が最も強いとさ

れている⁸⁾. 今回の psoralen の残存率の低さは, その光毒性 (反応性) の強さを反映しているものと考えられる.

紫外線照射実験により, 360 nm 以下の波長の紫外線が減少に関与していることが示唆されたが, リニア型フロクマリンは波長の長い 320~400 nm で強い光反応性を示し, 280~315 nm では有意な光反応性を示さないことが知られている⁹⁾. 本実験において, すべてのフロクマリンが温室保存 (D, E) において著しい減少がみられたのは, 320~400 nm の紫外線を長期間浴びたことに起因すると考えられる. ガラス瓶保存 (B, D) とポリ袋保存 (C, E) における各化合物の残存率の差は, 透過する紫外線の波長領域及びその透過率の違いに加え気体透過性及び透湿性の違いによると考察する.

以上のように, 今回定量したフロクマリン 8 種はいずれも室温保存中に徐々に減少し, その減少率は側鎖の有無, 側鎖の位置により大きく異なることが明らかになった. 今後, 白芷成分の研究を進める際には, 実験材料の保存状態, 保存期間などを考慮しなければならないと考える.

なお, 白芷の調製法の違い (日照条件, 温風仕上げの有

無) が成分含量に及ぼす影響について現在検討中であり、これらの結果については改めて報告する予定である。

ま と め

白芷の保存条件が、8 種類のフロクマリンの含量に及ぼす影響を経時的に調べた。その結果、白芷を光の当たる室温下や温室に放置すると, psoralen, xanthotoxin, bergapten, byak-angelicol, oxypeucedanin, imperatorin, phellopterin 及び isoimperatorin は時間の経過と共にいずれも減少したが、冷暗所保存では減少が認められなかった。

この原因を明らかにするため、1 週間の紫外線照射試験ならびに 40～60℃ の加熱試験を行った結果、主成分である byak-angelicol 及び oxypeucedanin は紫外線照射により減少し、50℃ 以上の加熱により著しく減少した。他の 6 成分も紫外線照射により減少したが、加熱に対しては比較的安定であった。

以上の結果から、白芷中のフロクマリンは保存中の温度や光、特に紫外線の影響を受けやすいことが明らかになっ

た。

REFERENCES AND NOTES

- 1) The Committee of Japanese Pharmacopoeia Guide Book, ed., "The Guide Book of Japanese Pharmacopoeia 14th Ed.", Hirokawa Publishing, Tokyo, 2001, pp. D-977-D-980.
- 2) Anetai M., *Iyakuhin Kenkyu*, **33**, 203-209 (2002).
- 3) Anetai M., Kumagai T., Shibata T., *Rep. Hokkaido Inst. Pub. Health*, **52**, 86-88 (2002).
- 4) "2003-2004 LAB/SCIENCE PRODUCTS", Asahi Techno Glass, Tokyo, 2003, p. 966.
- 5) Asahi Kasei Amidas ed., "Plastic Data Book", Kogyo Chosakai Publishing, Tokyo, 1999, pp. 38, 39.
- 6) Anetai M., Masuda T., Takasugi M., *Natural Medicines*, **50**, 399-403 (1996).
- 7) Hata K., Kozawa M., Yen K.-Y., *Yakugaku Zasshi*, **83**, 606-610 (1963).
- 8) Sashida Y., *Practical Dermatology*, **3**, 749-756 (1981).
- 9) Diawara, M.M., Trumble, J.T., "Handbook of Plant and Fungal Toxicants", ed. by D'Mello, J.P.F., CRC Press, New York, 1997, pp. 175-189.