

# アシタバ(*Angelica keiskei* Koidzumi)根、茎および葉部の成分の 分離および分析

菅本 和寛<sup>1)</sup>・松下 洋一<sup>2)</sup>・松井 隆尚<sup>3)</sup>・比喜多 宏<sup>4)</sup>・朴 鍾喆<sup>5)</sup>

## Isolation and Analysis Components of Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi) Roots, Stems, and Leaves

Kazuhiro SUGAMOTO, Yoh-ichi MATSUSHITA, Takanao MATSUI, Hiroshi HIKITA,  
and Jong Cheol PARK

### Abstract

Five compounds, Psoralen (**1**), 8-Hydroxy-8,9-dihydrooroselol (**2**), 9-Hydroxy-8,9-dihydrooroselol (**3**), 4-Hydroxyderricin (**4**), and Xanthoangelol (**5**) were isolated from the EtOAc extract of roots of Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi) growing in Miyazaki. The EtOAc extracts of Ashitaba roots, stems, and leaves were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC).

### Key words:

Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi), EtOAc extract, HPLC

## 1. 緒言

アシタバ (*Angelica keiskei* Koidzumi) は、房総半島、三浦半島、伊豆諸島を中心とした太平洋沿岸に自生しているセリ科の大型多年草であり、フラボン類や多種のクマリン類および、他のセリ科植物に見られない特徴的なカルコン類を有している。また、産地によりアシタバの形態、成分面に差異があることが確認されている<sup>1)</sup>。

本研究では、宮崎県内海産のアシタバを試料とし、根部の酢酸エチル抽出物から3種類のクマリンと2種類のカルコンを単離した。また、単離した成分を標品とし、根、茎および葉部の酢酸エチル抽出物を HPLC

で分析し、各部の含有成分を比較した。さらに、根、茎、葉の酢酸エチル抽出物と根から単離した成分の抗菌活性と酢酸エチル抽出物の抗酸化活性を評価した。

## 2. 実験

### 2.1 試料、試薬および測定機器

宮崎県内海産アシタバ根、茎、葉 (大島系、2007年4月2日採取) を60℃の乾燥器で約50時間乾燥し、葉はパワーブレンダー MX2050(BRAUN)で、茎と根はウイレー型粉砕機 1029-A(吉田製作所)を用いて粉末状にした後、抽出に用いた。試料の含水率は、ケット式赤外水分測定器 F-1A (Kett Electric Laboratory) により重量減少から求め、根は10.8%、茎は9.6%、葉は3.3%であった。

1) 宮崎大学工学部物質環境化学科助教

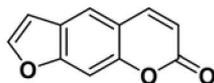
2) 宮崎大学工学部物質環境化学科准教授

3) 宮崎大学工学部物質環境化学科教授

4) 宮崎大学大学院工学研究科物質環境化学専攻院生

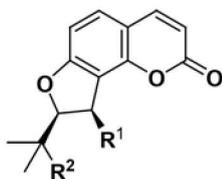
5) 順天大学校生命産業科学大学韓薬資源学科教授

## Liner type furano coumarin



Psoralen (1)

## Angular type dihydrofuranofuranocoumarins

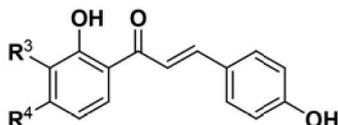
R<sup>1</sup>=OH, R<sup>2</sup>=O-angeloyl :

8-Angeloyloxy-8,9-dihydrooroselol (2)

R<sup>1</sup>=O-angeloyl, R<sup>2</sup>=OH :

9-Angeloyloxy-8,9-dihydrooroselol (3)

## Chalcones

R<sup>3</sup>=prenyl, R<sup>4</sup>=methoxy : 4-Hydroxyderricin (4)R<sup>3</sup>=geranyl, R<sup>4</sup>=OH : Xanthoangelol (5)Fig.1 Compounds from *Angelica keiskei* Koidzumi.

シリカゲル BW-300 (破砕型, 富士シリシア)、シリカゲル 60N (球状 63-210 μm, 関東化学) をカラムクロマトグラフィーに用いた。薄層クロマトグラフィー (TLC) プレート シリカゲル 60F<sub>254</sub> (20×20 cm, メルクジャパン) を TLC 分析に使用した。分取薄層クロマトグラフィー (PLC) プレート シリカゲル 60F<sub>254</sub>, 1 mm (20×20 cm, メルクジャパン) を PLC 分取に用いた。融点はマイクロ融点測定器 MP-500D (柳本製作所) で測定し未補正である。赤外吸収 (IR) スペクトルは赤外分光光度計 270-30 (日立製作所) で、<sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C 核磁気共鳴 (<sup>1</sup>H-NMR および <sup>13</sup>C-NMR) スペクトルは、Bruker AV-400M (400 MHz および 100 MHz) で測定した。高速液体クロマトグラフィー分析には送液ユニット LC-6AD、オンラインデガッサ DGU-20AS、オートサンプラ SIL-10AF、検出器 SPD-20A、およびフラクションコレクタ FRC-10A (島津) を用いた。

## 2.2 宮崎県産アシタバ根、茎および葉の酢酸エチル抽出・分離

2.2.1 宮崎県産アシタバ根、茎および葉部の酢酸エチル抽出<sup>2)</sup>

宮崎県内海産アシタバ根部(含水率 10.8%) 200 g を酢酸エチル 500 cm<sup>3</sup> で 3 時間加熱還流抽出した。冷却後吸引ろ過し、酢酸エチル抽出液を減圧下で溶媒留去した。試料は繰返し抽出し、以上の操作を計 3 回行い、合計 6.47 g の赤茶色粘性固体の酢酸エチル抽出物を得た。また、茎および葉部についても同様の操作で抽出を行い、茎(含水率 9.6%) 200 g から 10.0 g、葉(含水率 3.3%) 300 g から 16.4 g の酢酸エチル抽出物を得た。

## 2.2.2 宮崎県産アシタバ根の酢酸エチル抽出物の成分分離

アシタバ根酢酸エチル抽出物 6.47 g をシリカゲル BW-300 130 g を用いたカラムクロマトグラフィーで分離した。ヘキサン、ヘキサン (Hex) : 酢酸エチル (EA) = 10 : 1 ~ 1 : 1 の混合溶媒、酢酸エチル、メタノールを溶離液とし、溶媒組成を変えて順次溶出した。各溶出フラクションについて薄層クロマトグラフィー (TLC)、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR および IR 測定を行い含有成分を同定<sup>3,4)</sup>した。

シリカゲルカラムクロマトグラフィーのフラクション (以下 Fr. と略す) 55 (Hex : EA = 4 : 1) で得た薄黄色固体 103.9 mg をヘキサン : 酢酸エチルで再結晶し、無色針状結晶の Psoralen (1) 19.9 mg を単離した。Fr. 77-88 (Hex : EA = 4 : 1) で得た黄色固体 242.1 mg をヘキサン : 酢酸エチルで再結晶し、黄色微細針状結晶の 4-Hydroxyderricin (4) 139.1 mg を単離した。Fr. 103 (Hex : EA = 2 : 1) として 8-Angeloyloxy-8,9-dihydrooroselol (2) 40.9 mg を単離した。Fr. 117-118 (Hex : EA = 1 : 1) で得た黄色粘性固体 609.7 mg をヘキサン : ジイソプロピルエーテルで再結晶し、黄色微細針状結晶の Xanthoangelol (5) 487.4 mg を単離した。

また、アシタバ根酢酸エチル抽出物 5.04 g をシリカゲル 60N 130 g を用いたカラムクロマトグラフィーで分離した。ヘキサン、ヘキサン (Hex) : 酢酸エチル (EA) = 10 : 1 ~ 1 : 1 の混合溶媒、酢酸エチル、メタノールを溶離液とし、溶媒組成を変えて順次溶出した。Fr. 31

(Hex : EA=2 : 1) 111.1 mg を PLC (クロロホルム : メタノール = 20 : 1) で分離し、無色油状物質の 9-Angeloyloxy-8,9-dihydrooroselol (**3**) 65.7 mg を単離した。

### 2.3 単離化合物のスペクトルデータ

2.2.2 で単離した化合物 (**1-5**) のスペクトルデータを以下に示す。

#### Psoralen (**1**)

無色針状結晶, m.p. 159.5-163.1 °C, <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 6.38 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-6) 6.84 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-4) 7.48 (1H, s, H-5) 7.69 (1H, s, H-9) 7.70 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-3) 7.81 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-7); <sup>13</sup>C-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 99.84, 106.35, 114.62, 115.39, 119.81, 124.85, 144.04, 146.88, 152.01, 156.39, 160.99.

#### 8-Angeloyloxy-8,9-dihydrooroselol (**2**)

無色油状物質; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1.82 (3H, s), 1.86 (3H, s), 1.86 (3H, s), 1.96 (3H, d, *J* = 7.2 Hz), 3.13 (1H, d, *J* = 3.6 Hz), 4.92 (1H, d, *J* = 6.4 Hz), 5.70 (1H, d, *J* = 3.6 Hz), 6.03 (1H, qq, *J* = 1.2, 7.2 Hz), 6.24 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 6.85 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.40 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.66 (1H, d, *J* = 9.6 Hz). IR (CHCl<sub>3</sub>) 3600, 3010, 2950, 1740, 1620.

#### 9-Angeloyloxy-8,9-dihydrooroselol (**3**)

無色油状物質; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1.43 (6H, br.s), 1.84 (3H, m), 1.98 (3H, m), 4.59 (1H, d, *J* = 6.7 Hz), 6.12 (1H, m), 6.23 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 6.88 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 7.04 (1H, d, *J* = 6.6 Hz), 7.44 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.64 (1H, d, *J* = 9.6 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 14.18, 15.75, 20.32, 26.07, 26.86, 68.99, 71.12, 91.53, 107.79, 112.74, 113.12, 113.28, 126.64, 131.45, 140.39, 143.50, 151.69, 159.73, 163.82, 166.46.

#### 4-Hydroxyderricin (**4**)

黄色微細針状結晶 m.p. 138.9-140.0 °C (ヘキサン-酢酸エチル); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1.68 (3H, s), 1.80 (3H, s), 3.39 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 3.90 (3H, s), 5.23 (1H, t, *J* = 7.0 Hz), 6.21 (1H, s), 6.49 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 6.87 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.45 (1H, d, *J* = 15.6 Hz), 7.53 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.78 (2H, d, *J* = 9.0 Hz), 7.81 (2H, d, *J* = 15.4 Hz), 13.5

(1H, s). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 17.83, 21.73, 25.81, 102.17, 114.64, 116.04, 117.57, 117.99, 122.03, 127.54, 129.22, 130.57, 131.97, 144.20, 158.31, 162.96, 163.31, 192.50. IR (CHCl<sub>3</sub>) 3300, 2960, 1750, 1640, 1625, 1600.

#### Xanthoangelol (**5**)

黄色微細針状結晶, m.p. 122.7-123.8 °C (ヘキサン-ジイソプロピルエーテル), <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1.59 (3H, s), 1.67 (3H, s), 1.83 (3H, s), 2.08 (4H, m), 2.12 (4H, m), 3.49 (2H, d, *J* = 7.1 Hz), 5.07 (1H, m), 5.30 (1H, t, *J* = 7.0 Hz), 5.96 (1H, br.s), 6.33 (1H, br.s), 6.43 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 6.87 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.45 (1H, d, *J* = 15.6 Hz), 7.54 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.72 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.83 (1H, d, *J* = 15.6 Hz), 13.9 (1H, s); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 16.27, 17.70, 21.71, 25.67, 26.34, 39.71, 107.93, 113.99, 114.10, 116.03, 117.96, 121.01, 123.72, 127.62, 129.27, 130.57, 132.10, 139.66, 144.19, 158.19, 161.85, 163.84, 192.28.

### 2.4 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析

アシタバ根、茎および葉部の酢酸エチル抽出物をアシタバ根部から単離した成分 **1-5** を標品として HPLC で定性分析した。: 分析条件; 検出器, 紫外可視分光光度計検出器; 検出波長, 330 nm; 使用カラム, COSMOSIL 5C<sub>18</sub>-AR-II (250×4.6 mm, ナカライテスク); 流速, 0.9 cm<sup>3</sup>/min, 分離液, H<sub>2</sub>O : MeOH=1 : 4, 温度, 30 °C, 流速, 0.9 cm<sup>3</sup>/min

### 2.5 アシタバ根、茎および葉部の酢酸エチル抽出物および根部より単離した成分の生理活性評価

#### 2.5.1 抗菌活性試験

既報<sup>7)</sup>に従い、アシタバ根、茎および葉部の酢酸エチル抽出物とアシタバ根部から単離したカルコン類 **4** と **5** を試料とし、グラム陰性菌の *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Ralstonia solanacearum* グラム陽性菌の *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* を用いて抗菌試験を行った。

#### 2.5.2 抗酸化活性評価

既報<sup>8)</sup>に従い、アシタバ根、茎および葉部の酢酸エチル抽出物の抗酸化活性(DPPH ラジカル消去能)を評価

した。DPPH ラジカル消去能は抽出物 1 g 当たりの Trolox 相当量として、測定 3 回の平均値を求めた。

### 3. 結果および考察

#### 3.1 アシタバ根、茎および葉部の酢酸エチル抽出・分離

##### 3.1.1 アシタバ根、茎および葉部の酢酸エチル抽出

宮崎県内海産アシタバ根部 200 g、茎 200 g、葉 300 g それぞれを酢酸エチル 500 cm<sup>3</sup> で 3 回 3 時間加熱還流抽出し根部より 6.47 g、茎部より 10.0 g、葉部より 6.4 g の酢酸エチル抽出物を得た。

##### 3.1.2 アシタバ根の酢酸エチル抽出物の成分分離

アシタバ根酢酸エチル抽出物 6.47 g をシリカゲル BW-300 を用いたカラムクロマトグラフィーで分離した。ヘキサン、ヘキサン (Hex): 酢酸エチル (EA)=10:1~1:1 の混合溶媒、酢酸エチル、メタノールを溶離液とし、溶媒組成を変えて順次溶出した。各溶出フラクションについて薄層クロマトグラフィー (TLC)、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR および IR 測定を行い含有成分を同定した。フラクション (以下 Fr. と略す) 55 (Hex: EA=4:1) から無色針状結晶の Psoralen (**1**) 19.9 mg を単離した。Fr.77-88 (Hex: EA=4:1) から、黄色微細針状結晶の 4-Hydroxyderricin (**4**) 139.1 mg を単離した。Fr.103 (Hex: EA=2:1) として無色油状物質 8-Angeloyloxy-8,9-dihydrooroselol (**2**) 40.9 mg を単離した。Fr.117-118 (Hex: EA=1:1) 609.7 mg から、黄色微細針状結晶の Xanthoangelol (**5**) 487.4 mg を単離した。

アシタバ根酢酸エチル抽出物 5.04 g をシリカゲル 60N を用いたカラムクロマトグラフィーで分離した。ヘキサン、ヘキサン (Hex): 酢酸エチル (EA)=10:1~1:1 の混合溶媒、酢酸エチル、メタノールを溶離液とし、溶媒組成を変えて順次溶出した。Fr.31 (Hex: EA=2:1) 111.1 mg から、無色油状物質の 9-Angeloyloxy-8,9-dihydrooroselol (**3**) 65.7 mg を単離した。

#### 3.2 アシタバ根、茎および葉部の酢酸エチル抽出物の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析

アシタバ根、茎および葉部の酢酸エチル抽出物をア

シタバ根部から単離した成分 **1-5** を標品として HPLC で定性分析した (Fig. 2)。今回単離した成分は相対比は異なるが、アシタバ根、茎、葉部全てに含まれていた。馬場らは八丈島産と大島産のアシタバの根の成分の比較をしており、八丈島系ではアンギュラー型ジヒドロピラノクマリン類が、一方、アンギュラー型ジヒドロフラノクマリン類がそれぞれ特徴的に多く含まれることを明らかにしている。今回単離した **2** と **3** はいずれも大島系のアシタバから単離されているアンギュラー型ジヒドロフラノクマリンである。以上の結果より、宮崎県内海産のアシタバは大島系のアシタバであると考えられる。

#### 3.3 アシタバ根、および葉部の酢酸エチル抽出物および根部より単離した成分の生理活性評価

##### 3.3.1 抗菌活性試験

アシタバ根、茎および葉の酢酸エチル抽出物と根から単離したカルコン **4** と **5** の抗菌活性の評価結果を表 1 にまとめた。酢酸エチル抽出物の抗菌活性は、その抽出部位により活性が異なった。根>茎>葉の順に抗菌活性が強く、特に根はグラム陰性菌の *R. solanacearum* とグラム陽性菌に対し強い抗菌活性を示した。単離したカルコン **4** と **5** も同じ菌に対し強い抗菌活性を示し、ポジティブコントロールの Chloramphenicol と同程度の活性であった。以上の結果より、カルコン **4** と **5** を多く含む根の酢酸エチル抽出物が強い抗菌活性を示したと考えられる。

##### 3.3.2 抗酸化活性評価

アシタバ根、茎および葉部の酢酸エチル抽出物の DPPH ラジカル消去能を図 3 に示した。DPPH ラジカル消去能は根 42.5(μmol-Trolox 相当量/g)、茎 43.5(μmol-Trolox 相当量/g)、葉 79.7(μmol-Trolox 相当量/g) となり、葉が最も抗酸化活性が高く、根と茎はほとんど変わらないことがわかった。

Table 1. Antibacterial effect of EtOAc extract of Asitaba roots, stems and leaves, and isolated compounds **4** and **5**.

Type	Bacterium	Minimum inhibition concentration (MIC) / mg · ml <sup>-1</sup>					Chloramphenicol
		EtOAc extract of roots	EtOAc extract of stems	EtOAc extract of leaves	<b>4</b>	<b>5</b>	
Gram-negative	<i>E. coli</i>	>1024	> 1024	> 1024	> 256	> 256	16
	<i>P. mirabilis</i>	>1024	> 1024	> 1024	> 256	> 256	2
	<i>R. solanacearum</i>	64	256	> 1024	2	1	2
Gram-positive	<i>B. subtilis</i>	16	512	1024	< 1	2	3
	<i>S. epidermidis</i>	16	512	1024	1	< 1	1

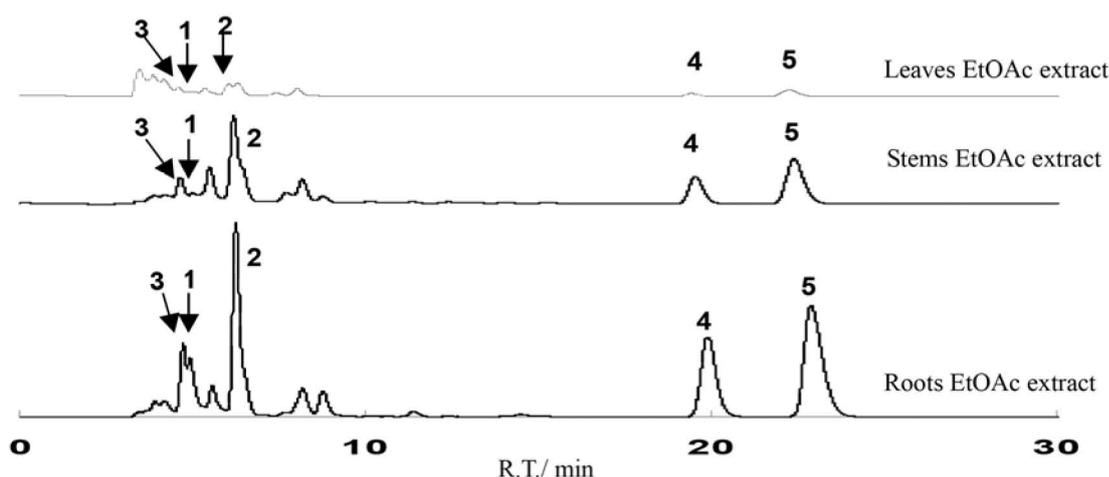


Fig. 2 HPLC chromatogram of EtOAc extract of Asitaba roots, stems, and leaves.

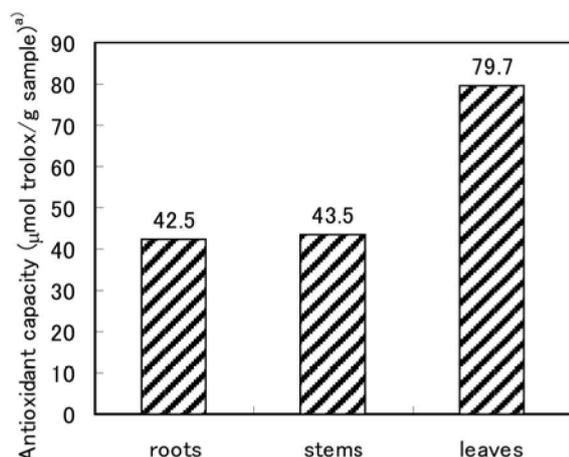


Fig. 3 Antioxidant capacity of EtOAc extract of Asitaba roots, stems, and leaves.

a) Values represented as mol of trolox equivalents per g sample.

#### 4. まとめ

- 1) アシタバ根部を酢酸エチル抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し **1-5** を単離することができた。
- 2) 今回単離した成分 **1-5** は相対比は異なるが、アシタバ根、茎、葉部それぞれの酢酸エチル抽出物に全て含まれていた。また、**2** と **3** が含まれることから、宮崎県内海産のアシタバは大島系のアシタバであると考えられる。
- 3) アシタバ根部酢酸エチル抽出物はグラム陰性菌の *R. solanacearum* とグラム陽性菌に対し強い抗菌活性を示した。単離したカルコン **4** と **5** も同じ菌に対し強い抗菌活性を示したことから、カルコン **4** と **5** を多く含む根の酢酸エチル抽出物が強い抗菌活性を示したと考えられる。
- 4) アシタバ根、茎および葉部の酢酸エチル抽出物の DPPH ラジカル消去能は葉が最も抗酸化活性が高く、根と茎はほとんど変わらなかった。

## 参考文献

- 1) K. Nakata, H. Katsumata, M. Taniguti, S. Kita, K. Baba, *Natural Medicine*, **51**, 532-536 (1997).
- 2) M. Taniguchi, T. Kido, M. Kozawa, *Phytochemistry*, **26**, 3907 (1990).
- 3) J. Banerji, *HETEROCYCLES*, **26**, 11 (1987).
- 4) K. Baba, F. Hamasaki, Y. Tabata, M. Kozawa, G. Honda, M. Tabata, *Shoyakugaku Zasshi*, **39**, 282-290 (1985).
- 5) M. Kozawa, N. Morita, K. Baba, K. Hata, *YAKUGAKU ZASSHI*, **98**, 210-214 (1978).
- 6) M. Kozawa, N. Morita, K. Baba, K. Hata, *YAKUGAKU ZASSHI*, **98**, 636-638 (1978).
- 7) Y. Matsushita, Y. H. Hwang, K. Sugamoto, T. Matsui, *J. Wood Sci.*, **52**, 552 (2006).
- 8) 平川 良子, 柚子崎 千鶴子, 小村 美穂, 宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告, **48**, 73 (2003).