

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25年 8月26日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究 C

研究期間：2010～2012

課題番号：22580133

研究課題名（和文） コリアンダー精油成分の肺吸収と機能性に関する基礎的研究

研究課題名（英文） Basic Studies on absorption and biological activities of coriander essential oil and their components.

研究代表者

田村 啓敏 (TAMURA HIROTOSHI)

香川大学・農学部・教授

研究者番号：00188442

研究成果の概要（和文）：コリアンダーのRaji細胞による抗発ガンプロモーター活性を探索し、主要成分の2-alkenal類に高い活性があることが分かった。次に、2-dodecenalを選び、この物質が肺や皮膚を通じて、体外に放出されることをラット冠静脈に細管を常置したカニュレーション法でラット体内に導入し、そこから放出される揮発成分をTenaxTA吸着剤に捕集しヘッドスペースガスのGC分析を行うことで明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Essential oil of *Coriandrum sativum* L., especially (*E*)-2-alkenals (C_{10} - C_{16}) has found the suppression activity of the deformation of Raji cells carrying the genome of Epstein-Barr virus (EBV) early antigens. Furthermore, (*E*)-2-dodecenal, one of (*E*)-2-alkenals introduced in blood through cannula was detected by GC analysis after collection of headspace gas by Tenax TA from breath and skin (ca 1 % of the dose).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
22年度	1700,000	510,000	2210,000
23年度	900,000	270,000	1170,000
24年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3100,000	930,000	4030,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：揮発成分、生理機能、体内吸収、Raji細胞、抗発ガン

1. 研究開始当初の背景

コリアンダー種子、全草には独特の臭い匂い成分があり、嫌いな人からはドクダミとカメムシの混合臭と酷評されるほど強烈な香気を有する。東南アジアなどでは、食に香りを添えるため乾燥葉を頻繁に加える。中国ではサラダとして食されることも多い。このコリアンダー種子や全草の精油成分については、数多くの報告が有る。これまでに香気成分として同定された成分は 37 成分あり、主に水蒸気蒸留により精油を捕集している。我々は、これまでに温和な条件下で精油を分離する技術を確認しており、スダチやオレンジ精油などの抽出に応用し、成果を挙げてきた(*Food Sci. Technol. Res.*, **9**, 54)。しかし、コリアンダーの匂い成分の生理機能性に関する報告は少ない。最近 Sanhueza らはコリアンダーのフラボノイドによる白血病細胞の増殖抑制とアポトーシス誘導に関する報告をしている(*Bioorig. Med. Chem., Lett.*, **16**, 4223)が、匂いを発する精油自身の生理機能に関する報文は Kubo らのサルモネラ菌に対する効果(*J. Agric. Food Chem.* **52**, 3329)以外ほとんど見かけないため、揮発成分の生理機能の解明、特に揮発性生理機能物質の肺や皮膚からの吸収について評価することにした。

2. 研究の目的

コリアンダー匂い物質と機能成分には特に関連性があるわけではないが、コリアンダー香気成分に機能性があることが証明されると、匂いの認識をし、嗅ぐ行為が直接アロマセラピーやサプリメント効果を引き出すことを意味するため、まずは匂い特性を明確にする。次に、咽頭ガンに関連するガン遺伝子をもつリンパ系細胞である Raji 細胞に、プロモーターの TPA を添加し、Raji

細胞の癌化を促し、変形、細胞の付着性を高める。これに対し、コリアンダー精油が抗発ガン活性を示すことを確認し、その有効成分を特定する。

最後に、極性の低いコリアンダー精油の肺などからのラット血中への移行と代謝メカニズムの解明に興味を持たれたので、揮発成分の肺からの吸収や体内代謝研究の基礎データを得ることを目的に研究する。

3. 研究成果

3-1 製油の抽出と成分の同定

SDE 法と改良型溶媒抽出法(以下溶媒抽出法)により精油抽出を行った。この2つを選択した理由は、SDE 法はコリアンダー精油抽出の先行研究を調べたところ、多くの実験で用いられていたためであり、溶媒抽出法は熱による変性が起きない方法であったからである。この2つの方法で抽出した精油を生のコリアンダーと嗅ぎ比べてもらい、どちらの精油が生のコリアンダーに似ているかを評価してもらった。その結果、溶媒抽出法で得た精油の方がコリアンダーに似ているという結果になった。SDE 法は、水蒸気を用いて抽出するので、熱に弱い香気成分は抽出できずに壊れたり逃げたりしてしまう。SDE 法で得た精油のクロマトグラムの方がピークの数が少ないことから、熱に弱い成分がコリアンダーの香気中に多く含まれていたのではないかと考えた。

抽出した精油成分の保持指標(RI)値と GC-MS 分析により得られたマススペクトルのパターンをデータ集や標品と比較することで、精油中に含まれる香気成分の同定を行った。その結果、42 成分の香気成分を同定することができ、その内今回新たに同定できた成分は 22 成分あった。その内訳は、炭化水素が 14 成

分、アルコールが4成分、アルデヒドが1成分、ケトンが1成分、その他は2成分であった。

同定した成分のFIDに対する相対感度を求め、各成分の精密な定量値を算出した。

相対感度から各香気成分の含量を求めたところ、コリアンダー精油の中に最も多く含まれていたのは(*E*)-2-tetradecenalで40.61%であった。次に多く含まれていた成分は(*E*)-2-pentadecenalで7.824%であった。

3-2 OIS を用いた特徴的香気成分の決定

精油の重要香気成分を明らかにするためには、各成分の匂いの感覚量を知る必要がある。匂いの刺激量を示す U_0 を 0.5 乗することで匂い刺激に対して人が脳内で受ける感覚量となることを Stevens により報告されているので、感覚量を表す OIS を求めた。

$$OIS \quad (\text{感覚量}) = U_0/U_{\text{omax}}$$

その結果、最も感覚量が大きかったのは(*E*)-2-dodecenal で次に(*E*)-2-tetradecenal, (*E*)-2-tridecenal, (*E*)-2-undecenal となった。コリアンダー精油中で、感覚量の大きい上位成分はすべて(*E*)-2-alkenal 類で占められていた。したがって、重要香気成分は(*E*)-2-dodecenal, (*E*)-2-tetradecenal, (*E*)-2-tridecenal, (*E*)-2-undecenal であり、コリアンダー香気の基本臭であることが分かった。

次に、生のコリアンダーの匂い強度に一番似ている精油の濃度を知るために、評価尺度法による官能検査を行った。「ひとの感覚は10倍以上濃度差があるとき匂いを識別しやすい」という Weber-Fechner の原理から、10倍の濃度差のある精油 6000ppm, 600ppm, 60ppm, 6ppm, 3000ppm, 300ppm, 30ppm, 3ppm, 1000ppm, 100ppm, 10ppm, 1ppm の精油希釈液を調製した。パネラーによる官能評価を行っ

たところ、600ppm, 300ppm, 1000ppm の濃度の精油が生のコリアンダーに似ているという結果になった。したがって、60ppm~1000ppm がコリアンダー香気として好ましい香気濃度であることが分かった。最もコリアンダーに似ているという結果が得られたのは1000ppm だったが、その濃度と統計的に有意差の無い最小濃度の試料は60ppm の濃度であったので、以後実験では1000ppm と60ppm でLod 値を計算した。

1000ppm と60ppm の精油のLod 値から匂いの感覚量が高く、重要だと判断された成分は、13成分あることが分かった。

3-3 (*E*)-2-dodecenal のラット血中投与

肺や皮膚を通じて、体外に放出することを証明するため、ラット冠静脈に細管を常置したカニューラーを通じ、2-dodecenal を直接投与した。結果を図3-1に示した。各採血時間における血中の(*E*)-2-dodecenal 濃度は、投与後0.5分間に(*E*)-2-dodecenal 濃度は大幅に減少し、血中から(*E*)-2-dodecenal が消失していた。また、それ以降も徐々に(*E*)-2-dodecenal 濃度が減少し、3分以降は定量限界を下回った。投与後10分及び30分に採取した血液からは、(*E*)-2-dodecenal を検出することはできなかった。

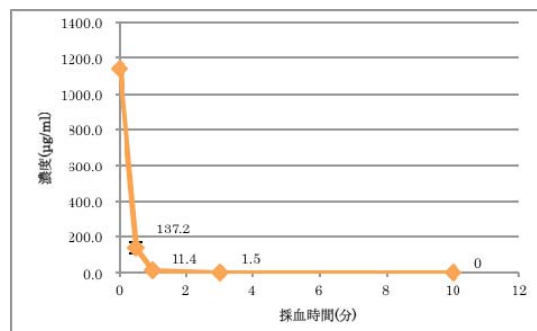


図3-1 頸静脈投与試験での経時的(*E*)-2-dodecenal 濃度

3分から10分間に血中から他器官に(*E*)-2-dodecenal が運ばれ、血中から消失し

たことが示唆された。

3-4 呼気検出試験

実際にヘッドスペースガスとして体外に匂い成分が放出されているかどうかを検証するため、ラットを入れたチャンバーの空気の流れの出口に Tenax TA カラムを取り付け、30 分ごとにカラムを交換し、(E)-2-dodecenal 量を定量した結果を図 3-2 に示した。(E)-2-dodecenal 量は、60-90 分間まで徐々に上昇し、最大量 127.1 μ g であった。回収率は、0.36%。その後一旦検出量は急激に減少したが、150-180 分の推定量が 50.1 μ g となり、2 番目に大きい値を示した。以上の結果より、投与後 60-90 分で体内からの排出が促進されていることが明らかになった。さらに、測定時にラットの排泄物中には (E)-2-dodecenal が確認されなかったことから、定量できた (E)-2-dodecenal は呼気もしくは皮膚から排出されたと考えることができた。また、150-180 分で (E)-2-dodecenal 量が再び上昇したのは、血中に投与した (E)-2-dodecenal が体内をめぐり、各器官でトラップされて蓄積されていたものが徐々に排出されたのではないかと推測した。

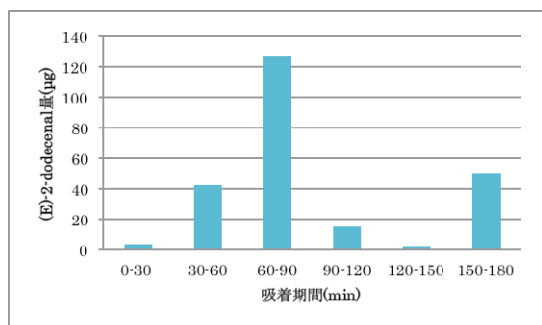


図 3-2 (E)-2-dodecenal の Tenax TA カラム吸着推定量 (30 分毎) *実験に供した 8 週齢 Wistar ST 系雄ラットの体重は 295g

3-5 (E)-2-dodecenal 経口投与試験

投与した溶液は、(E)-2-dodecenal の希釈液であり、表 3-1 に示した組成の溶液を経口投与サンプルとした。

表 3-1 サンプル溶液の構成

成分	量
(E)-2-dodecenal	125 μ l
リン脂質	75 μ l
生理食塩水	800 μ l
計	1000 μ l

採血時間は投与後 10、40、60、160、240 分に行ったところ、2 つの主要ピークの増減を確認できた。(E)-2-dodecenal 血中投与試験では、血中に直接 (E)-2-dodecenal を投与し、表 3-2 各採血時間における血中濃度

血中での同成分の経時変化をモニターした

採血時間	血中濃度(mg/ml)		標準誤差	
	ピーク 1	ピーク 2	ピーク 1	ピーク 2
	1	2	1	2
10	0.391	0.193	0.115	0.054
40	0.409	0.202	0.127	0.05
60	0.922	0.949	0.214	0.205
160	0.222	1.600	0.068	0.267
240	0.040	0.031	0.003	0.001

が、今回は、経口から腸管吸収を経た門脈でのサンプリング分析であるため、成分の代謝が起きていることが考えられた。ピーク 1 は、(E)-2-dodecenal と近い保持時間を有し、投与後 60 分までに血中濃度は増加し続けるが、それ以降は減少していた。240 分ではほぼ血中からなくなった。

一方、ピーク 2 は、(E)-2-dodecenal の代謝物であると推測しているが、投与後すぐに血中に検出され、60 分~160 分にかけて大きく血中濃度は上昇し、投与後 240 分には血中には存在しなくなった。

これらの結果より、経口投与によって投与

された(E)-2-dodecenal は門脈でサンプリングが行われているものの、腸管循環があることから、一部肝臓を経ており、代謝物に誘導されたか、もしくは抱合を受け、抱合体となり、血中に残存した可能性が挙げられる。しかし、代謝物の化学構造まで特定できておらず、どのような過程で生じたかは不明である。また、この種の研究は諸端についたばかりであり、今後さらに詳細な検討を要する。今後さらに詳しく、代謝産物の特定などを行い、(E)-2-dodecenal 代謝物の化学構造を明らかにし、代謝経路に関する明確な情報を得たい。また、血中への(E)-2-dodecenal 投与実験からラット体外へ香気成分が放出されることから、体外に設置した(E)-2-dodecenal も体内へ移行する可能性が示唆された。

4. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

1. Tamura H., Maeyama, K., Yoshida E. and Kori M. Aroma character of coriander (*Coriandrum sativum* L.) limited odor unit method and sensory perception in preference. "Nutrition, Functional and Sensory Properties of Foods". Chi-Tang Ho, Cynthia Mussinan, Fereidoon Shahidi, Ellene Tratras Contis (Edited) (2013), RSC publishing, Cambridge, UK, pp 66-73
2. Kano S., Maeyama K., Wang Y., Kondo A., Furumoto T. Fukui H. and Tamura H. Suppression of the deformation of Raji cells by (E)-2-alkenals aroma compounds of coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves and behavior of (E)-2-dodecenal

in rat blood. "Nutrition, Functional and Sensory Properties of Foods".

Chi-Tang Ho, Cynthia Mussinan, Fereidoon Shahidi, Ellene Tratras Contis (Edited) (2013), RSC publishing, Cambridge, UK, pp 313-323

[学会発表] (計2件)

- 1) S. Kano¹, K. Maeyama², Y. Wang², A. Kondo², T. Furumoto^{1,2}, H. Fukui^{1,2} and H. Tamura suppression of the deformation of Raji cells by (E)-2-alkenals, aroma components of coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves and behavior of (E)-2-dodecenal in rat blood. The 13th flavor conference in Greece ACS May 25-June 1 2012
- 2) H. Tamura, K. Maeyama, E. Yoshida, and M. Kori, Aroma character of coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves: Limited odor unit method and sensory preference in preference. The 13th flavor conference in Greece ACS May 25-June 1 2012

ホームページ等

<http://www.ag.kagawa-u.ac.jp/tamura/research.html>

5. 研究組織

(1) 研究代表者

田村 啓敏 (TAMURA HIROTOSHI)

香川大学・農学部・教授

研究者番号・00188422