

## 東谷山周辺に生息する野草のDPPHラジカル消去と抗菌活性

岡田 悦政<sup>1</sup>, 岡田 瑞恵<sup>2</sup>

### DPPH radical scavenging effects and antimicrobial activity of wild grass inhabiting Tougokusan

Yoshinori Okada<sup>1</sup>, Mizue Okada<sup>2</sup>

A preliminary screening for antioxidant activity was conducted for 32 species of wild grass inhabiting Tougokusan. The extract from each wild grass species was prepared with methanol, and its DPPH radical-scavenging activity was measured. The activity ranged from 0.05 $\mu$ mol to 0.58 $\mu$ mol catechin equivalent/g of fresh sample weight. The total polyphenol content ranged from 0.0012 to 0.19 $\mu$ mol catechin equivalent/g. Samples with lower IC<sub>50</sub> values in DPPH radical scavenging activity than catechin (1mg/mL) were *Oxalis articulata*, *Veronica didyma* var. *lilacina*. The overall correlation between the radical scavenging activity and the total polyphenol contents in the 32 species of wild grass was statistically significant ( $p < 0.01$ ). In addition, the methanol extracts from wild grasses were examined for their antimicrobial activities against aerial bacteria. The extracts were screened for their antimicrobial activities at 2% (v/v). The extracts from *Equisetum arvense*, *Nasturtium officinale*, *Sonchus asper*, *Veronica didyma* var. *lilacina*, *Oxalis corymbosa* and *Stellaria neglecta* Weihe inhibited the growth of 30% or more against the aerial bacteria tested. In particular, *Nasturtium officinale* showed the highest antimicrobial activity among 32 species. *Veronica didyma* var. *lilacina*, *Oxalis corymbosa* and *Stellaria neglecta* Weihe, none of these plants have previously been reported to have antimicrobial properties.

愛知県名古屋市東谷山周辺の野草32種におけるポリフェノール (Pol) 量および1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジルラジカル (DPPH $\cdot$ ) 消去のスクリーニングを行った。野草はメタノール抽出し、DPPH $\cdot$ 消去活性を測定した。消去活性は0.05～0.58 $\mu$ mol/gであり、Pol量は0.0012～0.19 $\mu$ molの範囲であった。DPPH $\cdot$ 消去に対するIC<sub>50</sub>値において、カテキン (Cat) よりも低値を示した試料は、イヌノフグリとイモカタバミであった。野草のDPPH $\cdot$ 消去活性と総Pol量の相関は、統計学的に有意であった。さらに、野草抽出物の抗菌活性は、クレソン、スギナ、オニノゲシ、イヌノフグリ、ムラサキカタバミ、ミドリハコベで30%以上を示した。特に、クレソンは52.3%とCatよりも高い増殖阻害活性を示した。また、イヌノフグリ、ムラサキカタバミ、ミドリハコベの抗菌活性を初めて明らかにした。

キーワード：野草, DPPHラジカル, ポリフェノール, 抗酸化性, 抗菌活性

#### I. 緒言

生体内の酸化ストレスは、DNAのヒドロキシル化、タンパク質の変性、脂質過酸化、およびアポトーシス

をもたらす。最終的に細胞の生存能力を損なう状態であると定義される (Wang et al. 2017)。酸化ストレスに関与するフリーラジカル種 (reactive oxygen species: ROS) の上昇は、炎症、がん、循環器疾患などの病態に深く関わる一方で、発生、分化、増殖、老化などの

<sup>1</sup>愛知県立大学看護学部(健康管理学), <sup>2</sup>Yms Laboratory

生命活動や生理現象にも密接に関わっている (An et al. 2018). また, 身体的生理活動のみならず, 精神的ストレスとROSとの関連も見出されている. Giesbrechtらの研究チームは, 妊娠期のネガティブな気分とコルチゾールの間には, 関連する強い個人内変動があり, ネガティブな気分が1%上昇するごとに, コルチゾールが1.9%増加することを報告している (Giesbrecht, Campbell, Letourneau, Kooistra & Kaplan; APrON Study Team, 2012). 精神的ストレスはコルチゾールの分泌を増加させる. コルチゾールは, その生成や代謝の過程で多くのROSを産生する.

生命の恒常性を維持するため, 酸化・還元状態の適切なコントロールは, 疾病予防や治療のために重要となる. 酸化ストレスに関与するROSを生体内で抑制することの重要性とその簡便性から, ROSを防御できる食品への期待は大きく, 食用植物の抗酸化成分に関する報告は数多い (Morita, Naito, Niki & Yoshikawa, 2017, Swargiary, Daimari, Daimari, Basumatary & Narzary, 2016, Roy, Amdekar, Kumar & Singh, 2011, Xie et al. 2005, Espín, Soler-Rivas & Wichers, 2000). 例えば, 茶葉含有のカテキン, ブドウ果皮のアントシアニン, ダイズのイソフラボン, そして, タマネギのケルセチン等のポリフェノールの機能性成分が広く周知されている (Cao, Chen, Xiao, Ma & Li, 2016, Kumar, Negi & Sharma, 2013, Shi, Wu & Xu, 2010). ポリフェノールは, フェノール性のヒドロキシ基を複数もつ化合物の総称であり, ラジカル消去能を有し, 酸化ストレスを低減する. それらの成分はラジカルを消去する性質を通して, 生活習慣病を予防することが期待されている (Wei et al. 2018, Simioni et al. 2018, 的場, 2007).

これまで, ポリフェノールの健康に及ぼす効果や疾病予防に関する多くの研究や疫学調査が行われてきた. その中で, 最も重要な要となる作用は, ポリフェノールの持つ抗酸化作用, すなわち生体内でのROS消去活性であり, 高血糖下における血管傷害の抑制, 動脈硬化の予防, 抗がん, 抗老化等様々な疾病の予防に効果があることが示されている (Okada & Okada, 2015a, Okada & Okada, 2015b, Okada & Okada, 2016, Guo, Li et al. 2014, Yang & Wang, 1993, Lee, Suh & Kim, 2000). さらに, アジア諸国において, ダイズの摂取が多い人は結腸直腸癌, 乳癌, および前立腺癌のリスクを低下させる可能性があり (Rothwell, Knaze & Zamora-Ros, 2017), このような報告から, ある種の成分が, 特定のがんに対して

抑制効果をもつことも示唆されている.

一方, 抗酸化性をもつ食品成分には, 抗菌活性を併せもつ成分も少なくない. 例えば, スパイスであるクローブ, シナモン, 茶葉に含有されるカテキン等が代表的である. その機構は, 抗酸化作用そのものがROSを抑制することで腐敗を防ぐこと, また, 細菌のプロテアーゼ等の酵素阻害に由来することが推察されている (宮本, 1992). これら抗菌性は, 食品保蔵のみならず, エアコンや空気清浄機のフィルターへの応用など生活環境面への適応, さらに, カテキンの抗菌性は臨床への応用に対する研究も多く報告されている (Chava, Vedula, 2013, Miklasińska et al. 2016, Lee, Razqan & Kwon, 2017).

日常食している野菜, ハーブやスパイスなどは歴史的に薬草として使用されてきたものも多い. 野草のポリフェノール量の測定を行った研究において, 常食する野菜に比べ, ポリフェノール含量の高い野草が多く存在することが報告されている (Shahat, Ibrahim & Elsaid, 2014, Bahmanzadegan, Rowshan, Zareiyan & Hatami, 2017, 浦部, 灘本, 平, 田尾, 西川, 2005, 浦部, 酒井, 灘本, 2008). しかし, 野草単一種の報告はあるものの, 野草におけるROS消去活性および抗菌活性に対するスクリーニングの報告は, 日本および西アジア (サウジアラビア, イラン)における幾つかの知見しか存在しない.

愛知県名古屋市の北東部と瀬戸市の境界にある東谷山周辺は, 西側一帯が愛知県の自然環境保全地域として指定され, 豊かで優れた自然が残されている. また, 保全植物には東海地方固有種もある (愛知県, 2011). 本大学は東谷山の中腹に位置し, 自生する野草を採取することが可能であり, このような良好な自然環境に育まれ自生する野草は, 検討すべき活性が潜在的にあると考え, 東谷山周辺の野草について検討した. 本研究の意義として, 1)種として活性が検討されていない野草は数多い. 2)東谷山周辺という植生の違い, および生育環境の違いから同一種間であっても成分の異なりが推察される. 3)民間療法として使用されている野草は未だ科学的エビデンスが不足している. これらの理由から本研究を遂行した. 東谷山周辺に自生する野草のもつ機能性として, 抗酸化性および抗菌活性を見出し, その活性成分としてのポリフェノールとの関連性について検討することを目的とし, 医療分野における有用性を分析考察した.

## II. 材料および実験方法

### 1. 実験材料

愛知県名古屋市近郊の東谷山周辺において、4月～5月に採取した20科32種の野草を試料とした。使用した試薬は、富士フィルム和光純薬株式会社およびMerck & Co. から購入し、試薬は全て特級グレードを使用した。

### 2. 植物試料の採取および分析用試料液の調製

上記により採取された32種の野草は各々採取後直ちに100%メタノールによって抽出調製し、これを分析用試料とした。以下に詳細を記す。根を除く地上部の全草を採取し、約2mmに細かく刻んだ野草10.0gを量り取り、100%メタノールを36ml加え良く攪拌後、一夜静置し、抽出液をNo. 2Cの口紙を用いて、ろ過後のろ液を100%メタノール抽出液とした。なお、ろ過により得られた抽出液量は、各試料に差異がみられるものの21.0～30.3mlの範囲であった。抽出液試料は、分析時まで-20℃にて貯蔵された。

### 3. 総ポリフェノール量の測定

野草抽出液中のポリフェノール量はFolin-Denis法を用い、以下のように定量した。96穴マイクロプレートにカテキン標準液および調製試料200 $\mu$ l（原液、1/5、1/10希釈液）と蒸留水15 $\mu$ l、そして1N-Folin-Ciocalteu試薬15 $\mu$ lを加え室温で5分間静置後、2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 75 $\mu$ lを加え15分間静置し、750nmの吸光度をマイクロプレートリーダー（Tecan infinite F200）で測定した。測定は3回行い、その平均値を求めた。標準物質に（+）-カテキンを用いて検量線を作成し、各試料の総ポリフェノール量をカテキン当量として換算した。

### 4. DPPHラジカル消去活性の測定

Blois (1958) の方法を一部変更し行った。96穴マイクロプレートに調製試料50 $\mu$ l（原液、1/5および1/10希釈溶液）を入れ、さらに0.5mM-DPPHラジカルメタノール溶液200 $\mu$ lを加えて混和し、20分間室温に静置した。520nmにおける吸光度をマイクロプレートリーダー（Tecan infinite F200）にて測定した。測定は3回の平均値とし、検量線より吸光度の減少値に対応したカテキン当量を求め、ラジカル消去活性値として示した。また、測定したDPPHラジカル消去活性の値は、カテキン当量

におけるIC<sub>50</sub>の値を用いて比較した。

### 5. 空中落下菌に対する抗菌活性試験

一般生菌測定用液体培地（Merck CASO プイヨン）を使用し、シャーレの蓋をはずし10分間実験台上に放置した後、37℃で48時間インキュベーションし、これを菌培養液とした。マイクロプレートに一般生菌測定用液体培地を250 $\mu$ lずつ入れ、菌培養液を10 $\mu$ lずつ加え、さらに各野草抽出試料液5 $\mu$ l（原液）を加えた。インキュベーションの0、15、23時間後に（0時間をリファレンスとした）、マクファーランド比濁法により、660nmにおいて測定を行い、測定値から菌抑制率を算出した。

## III. 結 果

### 1. 野草のポリフェノール含量

表2に示したように、32種の野草メタノール抽出液中のポリフェノール量を測定し、野草新鮮物に含まれるポリフェノール量をカテキン当量で表した。試料1gあたりの総ポリフェノール量（カテキン当量：catechin eq/g）は、0.0012 $\mu$ mol（0.35 $\mu$ g）～0.19 $\mu$ mol（54.63 $\mu$ g）の広範な値を示し、最低値はミドリハコベ、オニタビラコであり、最高値はギシギシであった。

### 2. 野草のDPPHラジカル消去活性

32種野草のDPPHラジカル消去活性を表1に示した。試料1gあたり0.05 $\mu$ mol（ミドリハコベ）～0.58 $\mu$ mol（ドクダミ、スイバ）の値を示した。DPPHラジカル消去活性は、ドクダミ0.58 $\mu$ mol、スイバ0.58 $\mu$ mol、イタドリ0.57 $\mu$ mol、ギシギシ0.56 $\mu$ mol、ムラサキカタバミ0.55 $\mu$ molが近似値で高い活性を示した（表1）。さらに、カテキン当量に対する各々の試料のIC<sub>50</sub>値を図1に示した。比較物質であるカテキン（1mg/ml）よりもIC<sub>50</sub>が低値であったものは、イモカタバミ0.38 $\mu$ g、イヌノフグリ1.22 $\mu$ gであり、カタバミはカテキンと同等の2.92 $\mu$ gの値を示した。

また、希釈濃度による影響においては、32種のうち、1/5希釈に至適濃度が認められたものは、ミツバ、ハルジオン、ヤブニンジン、カラスノエンドウ、ヒメオドリコソウ、イタドリ、キュウリグサ、ユキノシタの8種であり、それら以外の試料は、正および負の濃度依存を示した。

Table 1 Total polyphenol content and DPPH radical scavenging activity of the wild grasses

Wild grasses Japanese name	Scientific name	Family name	Total polyphenol content ( $\mu\text{mol catechin eq/g}$ )	DPPH radical scavenging activity ( $\mu\text{mol catechin eq/g}$ )
ミドリハコベ	<i>Stellaria neglecta</i> Weihe	ナデシコ	0.0012	0.05
オニタビラコ	<i>Youngia japonica</i>	キク	0.0012	0.10
スギナ	<i>Equisetum arvense</i>	トクサ	0.04	0.22
ヤブマオ	<i>Boehmeria longispica</i>	イラクサ	0.18	0.24
シロツメクサ	<i>Trifolium repens</i>	マメ	0.10	0.30
イモカタバミ	<i>Oxalis articulata</i>	カタバミ	0.04	0.35
ミツバ	<i>Cryptotaenia japonica</i>	セリ	0.17	0.35
ヨモギ	<i>Artemisia indica</i>	キク	0.15	0.35
ヒメオドリコソウ	<i>Lamium purpureum</i>	シソ	0.14	0.36
カタバミ	<i>Oxalis corniculata</i>	カタバミ	0.05	0.37
ホトケノザ	<i>Lamium amplexicaule</i>	シソ	0.11	0.37
キュウリグサ	<i>Trigonotis peduncularis</i>	ムラサキ	0.15	0.38
オランダミミナグサ	<i>Cerastium glomeratum</i> Thuill.	ナデシコ	0.09	0.39
スズメノカタビラ	<i>Poa annua</i>	イネ	0.11	0.40
カラスノエンドウ	<i>Vicia angustifolia</i>	マメ	0.15	0.41
ヤブヘビイチゴ	<i>Duchesnea indica</i>	バラ	0.15	0.41
アカツメクサ	<i>Trifolium pratense</i>	マメ	0.14	0.42
ヤブニンジン	<i>Osmorhiza aristata</i>	セリ	0.12	0.42
イヌノフグリ	<i>Veronica didyma</i> var. <i>lilacina</i>	オオバコ	0.06	0.43
コメツブツメクサ	<i>Trifolium dubium</i>	マメ	0.13	0.43
ユキノシタ	<i>Saxifraga stolonifera</i>	ユキノシタ	0.15	0.43
アメリカカフウロソウ	<i>Geranium calolinum</i>	フウロソウ	0.16	0.44
ヤエムグラ	<i>Galium aparine</i>	アカネ	0.11	0.44
ハルジオン	<i>Erigeron philadelphicus</i>	キク	0.15	0.47
オニノゲシ	<i>Sonchus asper</i>	キク	0.09	0.49
クレソン	<i>Nasturtium officinale</i>	アブラナ	0.07	0.49
ノゲシ	<i>Sonchus oleraceus</i>	キク	0.08	0.54
ムラサキカタバミ	<i>Oxalis corymbosa</i>	カタバミ	0.11	0.55
ギシギシ	<i>Rumex japonicus</i>	タデ	0.19	0.56
イタドリ	<i>Reynoutria japonica</i>	タデ	0.14	0.57
スイバ	<i>Rumex acetosa</i>	タデ	0.09	0.58
ドクダミ	<i>Houttuynia cordata</i>	ドクダミ	0.13	0.58

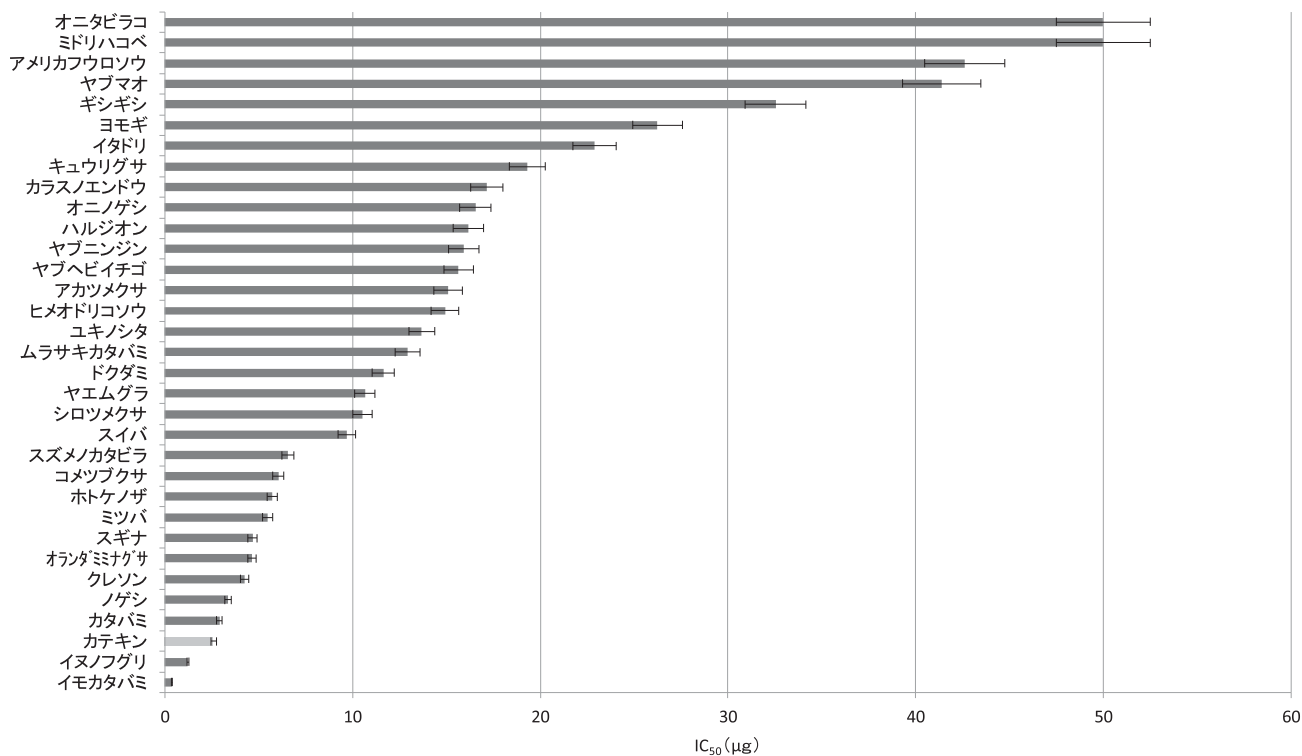


Fig. 1 DPPH radical IC<sub>50</sub> values of wild grass extracts

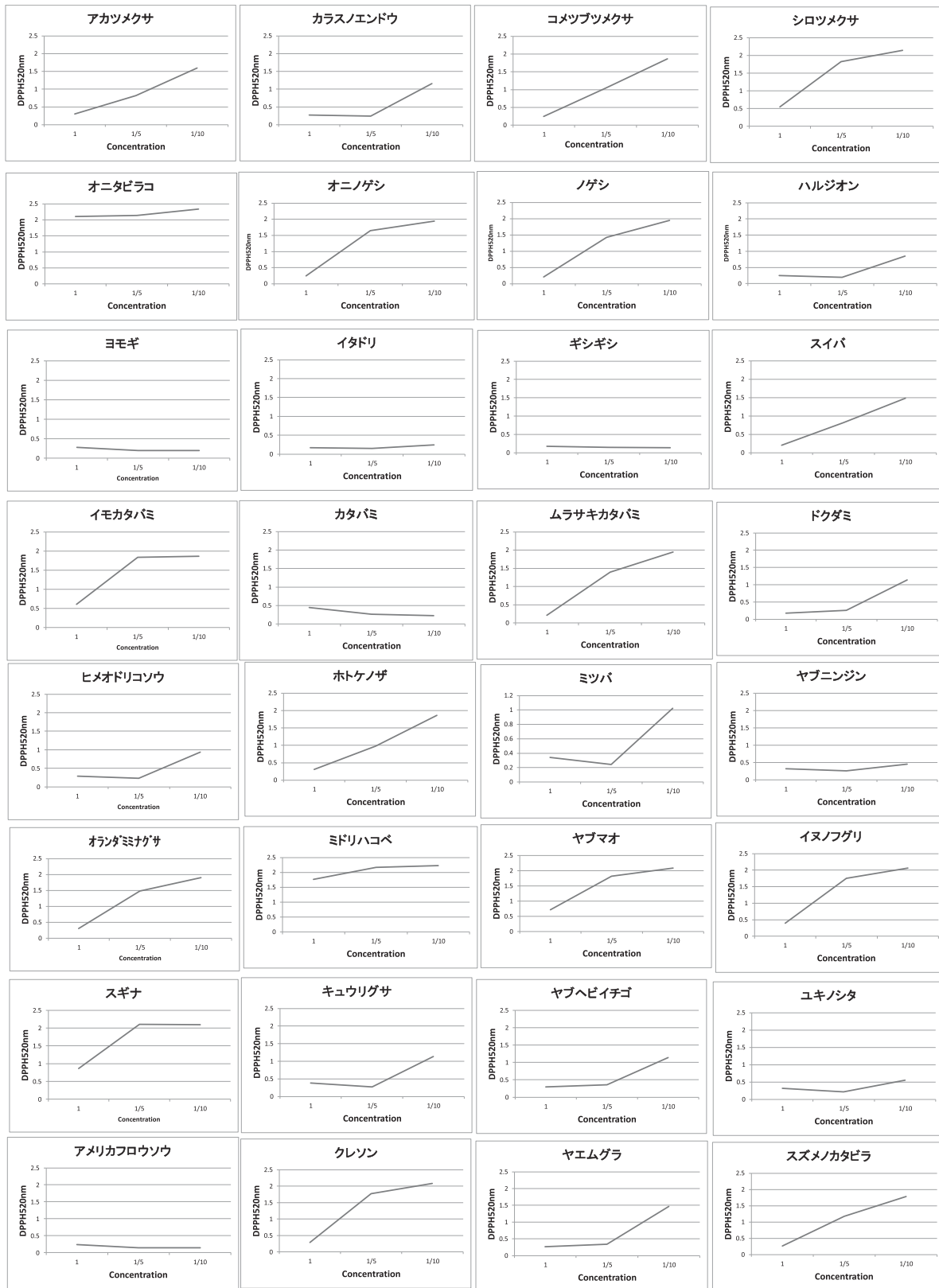


Fig. 2 DPPH radical scavenging activity of wild grass extracts.

Values are the mean  $\pm$  SD (n = 3).

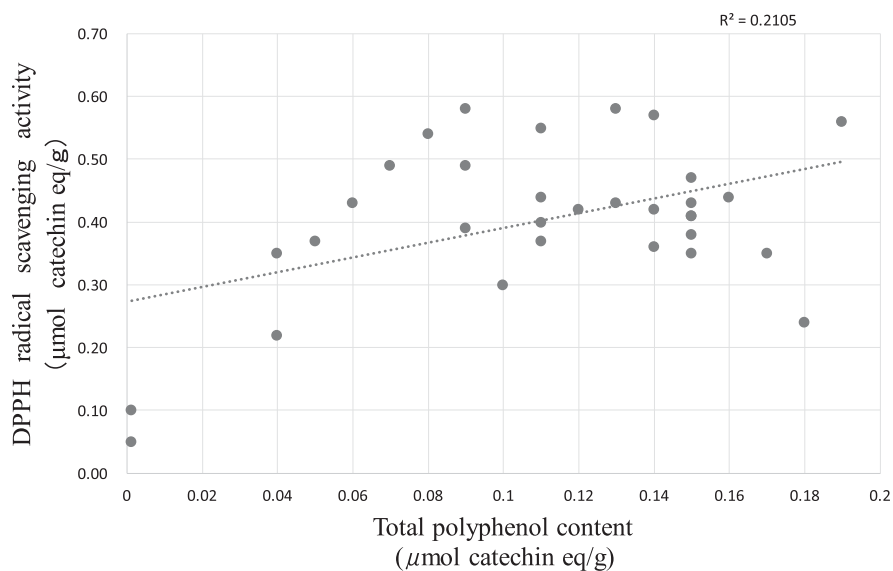


Fig. 3 Relationship between the DPPH radical scavenging activities and the total polyphenol contents of the wild grasses.

$r=0.459$   $p<0.01$

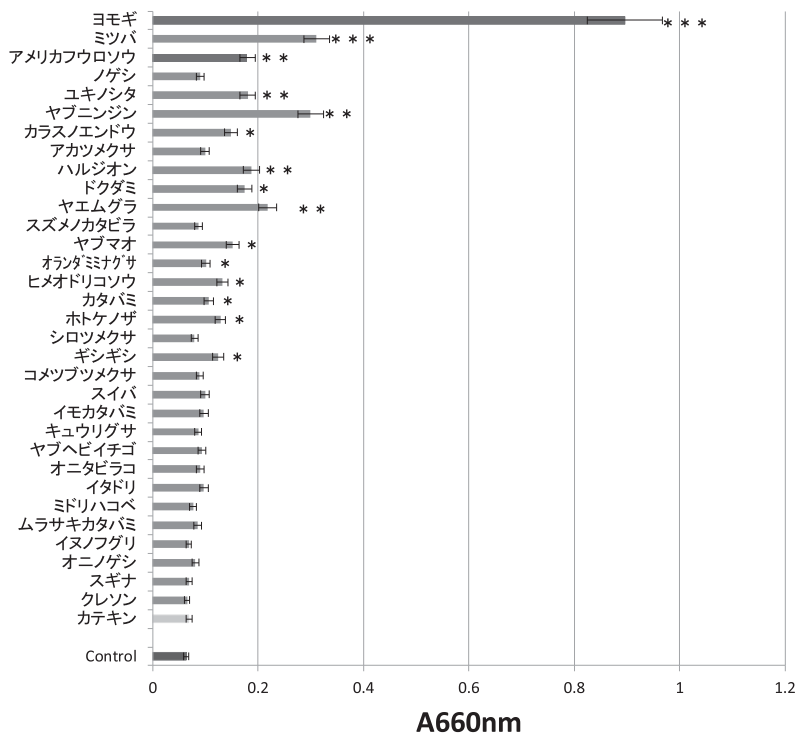


Fig. 4 Antimicrobial activities of wild grass extracts at 0hr

\*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , \*\*\*  $p<0.001$

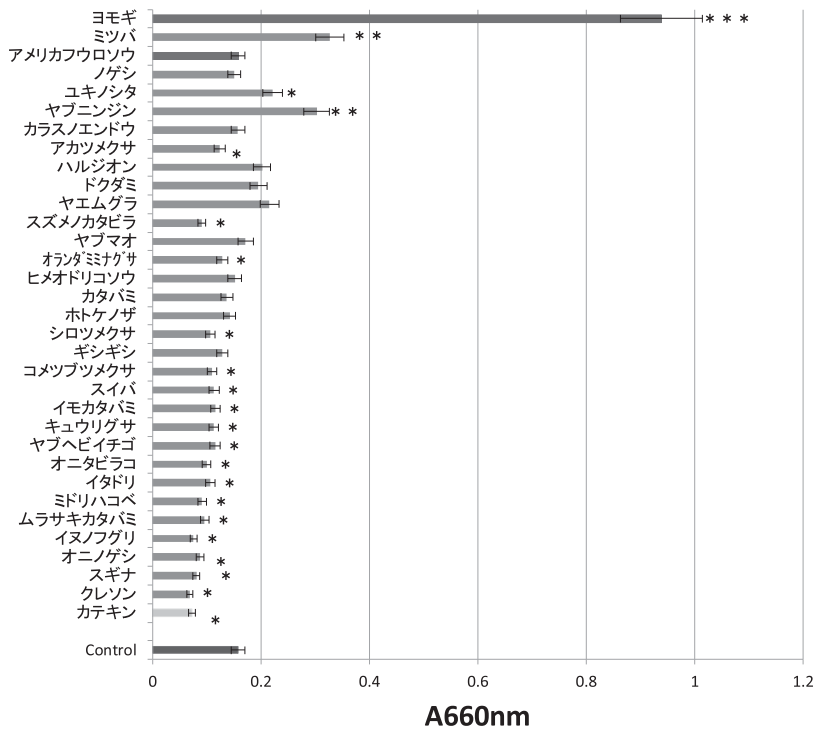


Fig. 5 Antimicrobial activities of wild grass extracts at 15hr  
 \* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001

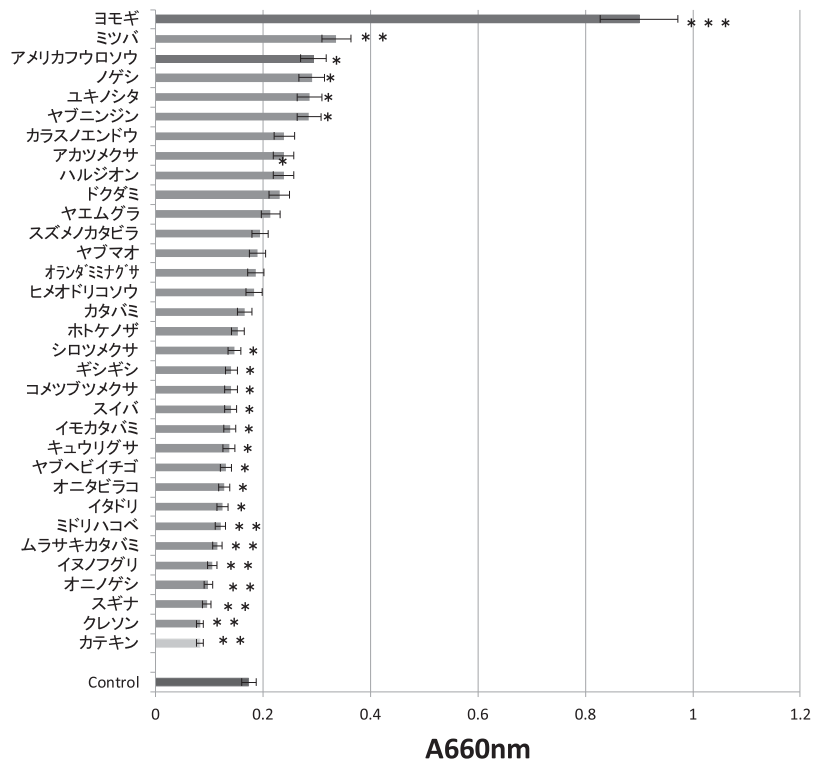


Fig. 6 Antimicrobial activities of wild grass extracts at 23hr  
 \* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001



### 3. ポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性

図3に、表1に示したDPPHラジカル消去活性 ( $\mu\text{mol/g}$  catechin eq/g) とポリフェノール量 ( $\mu\text{mol/g}$  catechin eq/g) との相関関係は、正の相関 ( $r=0.459$ ,  $p<0.01$ ) が認められた。

### 4. 抗菌活性の評価

野草32種の抽出液のうち、マクファーランド比濁法 (660nm) による23時間培養後の結果は、クレソン (原液) が52.3%と最も高い値を示し、次いで、スギナ45.0% (原液)、オニノゲシ (原液) が43.6%を示した。両者は、比較物質とした1mg/mlカテキンの52.6%と同等の効果を示した。また、イヌノフグリ39.2%、ムラサキカタバミ33.9%、ミドリハコベ30%と続いた。

## IV. 考 察

本研究において、試料1gあたりのポリフェノール量 (catechin eq/g) は、 $0.0012\mu\text{mol}$  ( $0.35\mu\text{g}$ )  $\sim$   $0.19\mu\text{mol}$  ( $54.63\mu\text{g}$ ) の範囲であった。多くの研究において、ポリフェノールが抗酸化に寄与し (Manganaris, Goulas, Mellidou & Drogoudi, 2018), その総量が抗酸化活性と相関関係にあることが報告されている。栽培された薬用植物種 (シソ科) を対象とした研究においても、総フェノール含有量と抗酸化活性との間に強い正の相関を示している (Cocan et al. 2018)。また、イネ科植物においても同様に、両者の間に相関性があることが認められている (Saklani et al. 2017)。この両者の関係性は野草においてもまた認められ (浦部ら, 2008), 本研究における32種の野草においても同様に、両者には正の相関が認められた。また、DPPHラジカル消去活性はドクダミ、スイバともに $0.58\mu\text{mol}$  (catechin eq/g) であり、試料中最も高い活性を示した。ドクダミは周知の通り、薬草として常用されており、含有されるケルセチンとケルセチン-3- $\beta$ -D-ガラクトピラノシドには、高いDPPHラジカル消去活性が認められている (Chou, Su, Ku & Wu, 2009)。さらに、凝縮されたタンニンの存在も明らかになっている (Toda, 2005)。一方、スイバには、単量体のフラバン-3-オール、プロアントシアニジン、フラボノイドの存在が示されている (Schmuck et al. 2015)。また、別の報告において、クリソフェノール、エモジン等のアントラキノンおよびその配糖体、タンニン、シュウ酸、シュウ酸カリウム、酒石酸、アスコルビン酸等が

含まれている (大橋, 1997) ことが明らかにされており、高いラジカル消去活性は、多分にこれらの成分の寄与に起因することが推察される。

浦部らの報告との比較において (浦部, 灘本, 平, 田尾, 西川, 2005), 浦部らはポリフェノール値をカフェ酸当量にて算出しており、我々はカテキン当量にて算出しているため、算出条件が異なることから、ポリフェノール値の単純な比較は出来ない。しかし、同じ抽出溶媒を使用しているため、共通する試料6種のポリフェノール量の高い順を比較する。浦部らは (浦部ら, 2005), イタドリ>スイバ>ギシギシ>ノゲシ>コメツブツメクサ>スギナの順に低く、我々の結果は、ギシギシ>イタドリ>コメツブツメクサ>スイバ>ノゲシ>スギナの順に低かった。ポリフェノール成分は本来植物が外的環境から自身を防御するために産生されるものとされる。共通する最も低値のスギナを除いて、他の我々の試料は $0.08 \sim 0.19\mu\text{mol}$  (catechin eq/g) の範囲にある。浦部らとの違いは、東谷山特有の温度、湿度、日照、雨量、土壌の質、人為的作業の加わり方等の違いから植生に差が生じた可能性が考えられ、また、溶出された試料の濃度、抽出内容の差によることが推察される。

別の浦部らの報告 (2008) と比較すると、共通する種は13種であった。ポリフェノール量の測定において、同様に、我々はカテキン当量にて算出し、浦部ら (2008) はカフェ酸当量にて算出している。さらに、抽出溶媒が異なるため、ポリフェノール値を比較することは出来ない。ゆえに、DPPHラジカル消去活性の高い試料を基準として比較検討した。彼らと共通する13種のうち、我々の示す結果のラジカル消去活性が最も高値であったスイバ、ドクダミを基準として、これら以上のラジカル消去活性を示した浦部らの報告中の試料は、イタドリ、ヨモギのみであった。本研究中のイタドリは、 $0.57\mu\text{mol}$  (catechin eq/g) であり、最高値のスイバ、ドクダミ $0.58\mu\text{mol}$  (catechin eq/g) と、非常に近似値を示している。さらに、ヨモギに関しては、 $0.35\mu\text{mol}$  (catechin eq/g) のラジカル消去活性を示し、これらは、浦部らの活性順とは異なる結果であった。すなわち、DPPHラジカル消去活性における我々の結果は、スイバ・ドクダミ (同値) > イタドリ > ヨモギであり、浦部らは、ヨモギ > イタドリ > スイバ > ドクダミとなる。さらに、本研究結果のイタドリ0.14とヨモギ0.15 ( $\mu\text{mol}$  catechin eq/g) のポリフェノール値は、非常に近似値であり、また、イタドリおよびヨモギは、 $IC_{50}$ 値からも活性が低いことが示



された。

一方、各試料のIC<sub>50</sub>値において、比較物質であるカテキンより強いラジカル消去活性が示された試料は、イヌノフグリとイモカタバミであった。カタバミ（属）の抗炎症作用は広く知られるが、抗酸化活性とともに、マウス肝組織のマロンジアルデヒドレベルを減少させることで肝組織の保護に寄与することも明らかにされている（Sreejith et al. 2014）。さらに、カタバミの成分の一つであるクエン酸には抗炎症、抗酸化効果があることから（Abdel-Salam et al. 2014）、今後、ポリフェノール以外の成分との相乗性についても検討する必要があると考える。また、イヌノフグリとイモカタバミのポリフェノール量とDPPHラジカル消去活性についての報告は未だなく、本報告が初めての報告となる。本研究において、DPPHラジカル消去活性とポリフェノール総量の間には正の相関が認められ、これまでの報告を支持する結果となったが、しかし、総ポリフェノール含量が低値を示したイモカタバミ0.04 $\mu$ mol、イヌノフグリ0.06 $\mu$ mol、スイバ0.09 $\mu$ molのうち、特に、イヌノフグリ、イモカタバミは、IC<sub>50</sub>値において32種中でカテキンより高いラジカル消去活性を示した。このように、両者はポリフェノール量が少量でありながら、ラジカル消去活性が高いことから、医療への有用性が高い野草の一つであることが期待される。少量でDPPHラジカル消去活性が高い理由を推察するならば、自生している野草中のポリフェノールが配糖体のような形で存在することに起因することも推測される。そのためには、どの段階まで純化すると活性が保たれるのかを、分画しながら検討していく必要がある。また、茶葉、野草に多く含まれるラジカル消去活性が高いタンニンは、低分子ながらタンパク質と結合しやすい（Perez-Gregorio, Mateus & De Freitas, 2014）など、特有の性質を備えている。一方で、タンニンは分子内の別のポリフェノールなどと縮合して化合物として存在している（Okuda, Yoshida, Hatano, 1995）。このように、DPPHラジカル消去活性の高かった野草には、ドクダミに含まれるカテキンの例のように（Cho, Yokozawa, Thyu, Kim & Shibahara, 2003）、抗酸化性の強い物質の縮合や他の成分間の結合という形で含有されることも推測され、その形が活性に貢献している可能性もある。また、野草は、民間伝承の薬草としての存在であることが多く、食用とする植物とは異なり安全性に不明瞭さが残る。しかし、イタドリ、ギシギシ、スイバ、ヨモギ、スギナ、ドクダミ等については多くの経験の蓄積から可食

性が確認されている（浦部ら、2005）が、医療応用としての安全性については、さらに研究的データが必要になると思われる。

他方、抗菌活性はクレソンが最も高い効果を示した。アブラナ科であるクレソンには、ポリフェノール、イソチオシアネート、テルペン、ビタミン等が含まれる。含まれるポリフェノールには、フラボノイド、フェノール酸、プロアントシアニジン等が認められている。フラボノイドは、黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性を示し（Mahboubi, Asgarpanah, Sadaghiyani & Faizi, 2015）、さらに、土壌、水環境、塵埃に多いバチルス属に対する高い抗菌活性も認められている（Burman, Bhattacharya, Mukherjee & Chandra, 2018）。クレソンには、アブラナ科特有の2-フェニルエチルイソチオシアネートが含まれ（Freitas, Aires, de Santos Rosa & Saavedra, 2013）、この成分には抗菌作用が認められているため、フラボノイドとの相乗効果も推察される。これらの報告からも、我々の示したクレソンの高い抗菌活性に対する結果が裏付けられた。一方、クレソンと同等の効果を示したトクサ科のスギナ、キク科のオニノゲシについての抗菌性に対する報告は見られるものの、オオバコ科のイヌノフグリ、カタバミ科のムラサキカタバミ、ナデシコ科のミドリハコベについての抗菌活性は未だ報告がなく、今回の結果において、それぞれ39.2%、33.9%、30%の潜在的な抗菌活性が初めて示された。また、Onoらは25種の野草において、グラム陰性菌の*P. mirabilis*、*E. coli*、グラム陽性菌の*S. aureus*、*B. subtilis*に対する抗菌活性を検討している（Ono, Urabe, Sumiyoshi, Nadamoto & Nishikawa, 2006）。そのうち、我々の試料と同一の野草種が7種あり、それらについて比較すると、ノゲシ、ハルジオン、ドクダミ、ヤエムグラの4種については彼らの結果と同様に抗菌活性が認められず、矛盾はない。さらに、イタドリ、ギシギシ、スイバの3種における我々の結果は（空中落下菌）、コントロール値より抗菌活性は高いものの、1mg/mlカテキンの52.6%を下回った。Onoらの結果は、この3種の野草のうち、*S. aureus*に対する抗菌活性のみを有していた試料がギシギシ、イタドリ（茎）であった。唯一、スイバに関しては、4種の菌全てに対する抗菌性は示されず、この点は我々の結果と異なるところである。しかし、別の報告において、スイバ（乾燥物試料）の*S. aureus*に対する抗菌性が報告されている（浦部ら、2003）。この報告は、同一種であっても、新鮮物試料と乾燥物試料

の抗菌活性の違いが示されている。この差を生んだ理由は言及されていないものの、試料調製過程における加熱温度の違い、試料に残存する水分量の差などが抗菌活性に影響したのかも知れない。このことから鑑みると、試料の状態や調製法によって、活性に差を生むことが推察され、溶出条件等の検討を行う必要がある。

今後は、野草成分を特定し詳細な検討を行うことにより、特定保健用食品や医薬品等、広い範囲での疾病予防への貢献に繋がる可能性を含んでいる。野草は、種々の生理活性を持つポリフェノール類の豊富な資源として、広く医療分野への応用が期待される。

## V. 結 論

本研究は、愛知県名古屋近郊の東谷山周辺に自生する32種の野草における総ポリフェノール量およびDPPHラジカル消去活性を明らかにした。ポリフェノール含量は、0.35 $\mu$ g ~ 54.63 $\mu$ gの範囲であり、スイバ、ドクダミ、イタドリには高いラジカル消去活性が認められた (catechin eq/g)。IC<sub>50</sub>におけるラジカル消去活性の比較は、イヌノフグリ、イモカタバミが比較物質のカテキンよりも高い活性を示した。総ポリフェノール量とDPPHラジカル消去活性には、正の相関が認められた。また、抗菌活性においては、32種中クレソンが52.3%と最も高い活性を示し、さらに、イヌノフグリ、ムラサキカタバミ、ミドリハコベの30-39.2%の潜在的な抗菌活性を初めて明らかにした。

## 謝 辞

本研究実施にあたり、多くの時間を割いてサンプル収集、実験に御協力、貢献頂いた森万理亞様に深く感謝し御礼申し上げます。

## 文 献

Abdel-Salam OM, Youness ER, Mohammed NA, Morsy SM, Omara EA & Sleem AA. (2014) Citric acid effects on brain and liver oxidative stress in lipopolysaccharide-treated mice. *J Med Food*. 17(5): 588-98. doi: 10.1089/jmf.2013.0065.

愛知県 愛知県自然環境保全地域 東谷山 [https://www.pref.aichi.jp/kankyosizen-ka/shizen/hozen/](https://www.pref.aichi.jp/kankyosizen-ka/shizen/hozen/toukokusann.pdf#)

toukokusann.pdf# 2011

An BC, Choi YD, Oh IJ, Kim JH, Park JI & Lee SW. (2018) GPx3-mediated redox signaling arrests the cell cycle and acts as a tumor suppressor in lung cancer cell lines. *PLoS One*. 13(9): e0204170. doi: 10.1371/journal.pone.0204170.

Bahmanzadegan A, Rowshan V, Zareiyani F & Hatami A. (2017) Essential oil composition, free radical scavenging activity and polyphenolic content of *Gaillonia eriantha* Jaub. & Spach from Iran. *Nat Prod Res*. 31(11): 1343-1346. doi: 10.1080/14786419.2016.1244199.

Blois MS. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 4617, 1199-1200.

Burman S, Bhattacharya K, Mukherjee D & Chandra G. (2018) Antibacterial efficacy of leaf extracts of *Combretum album* Pers. against some pathogenic bacteria. *BMC Complement Altern Med*. 18(1): 213. doi: 10.1186/s12906-018-2271-0.

Cao L, Chen X, Xiao X, Ma Q & Li W. (2016) Resveratrol inhibits hyperglycemia-driven ROS-induced invasion and migration of pancreatic cancer cells via suppression of the ERK and p38 MAPK signaling pathways. *Int J Oncol*. 49(2): 735-43. doi: 10.3892/ijo.2016.3559.

Chava VK, Vedula BD. (2013) Thermo-reversible green tea catechin gel for local application in chronic periodontitis: a 4-week clinical trial. *J Periodontol*. 84(9): 1290-6. doi: 10.1902/jop.2012.120425.

Cho EJ, Yokozawa T, Thyu DY, Kim SC, Shibahara N & Park JC. (2003) Study on the inhibitory effects of Korean medicinal plants and their main compounds on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Phytomedicine*. 10(6-7): 544-51.

Chou SC, Su CR, Ku YC & Wu TS. (2009) The constituents and their bioactivities of *Houttuynia cordata*. *Chem Pharm Bull* (Tokyo). 57(11): 1227-30.

Cocan I, Alexa E, Danciu C, Radulov I, Galuscan A, Obistioiu D . . . & Dehelean CA. (2018) Phytochemical screening and biological activity of Lamiaceae family plant extracts. *Exp Ther Med*. 15(2): 1863-1870. doi: 10.3892/etm.2017.5640.

Espín JC, Soler-Rivas C & Wichers HJ. (2000)

- Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J Agric Food Chem.* 48(3): 648–56
- Freitas E, Aires A, de Santos Rosa EA & Saavedra MJ. (2013) Antibacterial activity and synergistic effect between watercress extracts, 2-phenylethyl isothiocyanate and antibiotics against 11 isolates of *Escherichia coli* from clinical and animal source. *Lett Appl Microbiol.* 57(4): 266–73. doi: 10.1111/lam.12105.
- Giesbrecht GF, Campbell T, Letourneau N, Kooistra L & Kaplan B; APrON Study Team. (2012) Psychological distress and salivary cortisol covary within persons during pregnancy. *Psychoneuroendocrinology.* 37(2): 270–9. doi: 10.1016/j.psyneuen.2011.06.011.
- Guo R, Li W, Liu B, Li S, Zhang B & Xu Y. (2014) Resveratrol protects vascular smooth muscle cells against high glucose-induced oxidative stress and cell proliferation in vitro. *Med Sci Monit Basic Res.* 20: 82–92. doi: 10.12659/MSMBR.890858.
- Kumar A, Negi G & Sharma SS. (2013) Neuroprotection by resveratrol in diabetic neuropathy: concepts & mechanisms. *Curr Med Chem.* 20(36): 4640–5.
- Lee S, Razqan GS & Kwon DH. (2017) Antibacterial activity of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and its synergism with  $\beta$ -lactam antibiotics sensitizing carbapenem-associated multidrug resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Phytomedicine.* 24: 49–55. doi: 10.1016/j.phymed.2016.11.007.
- Lee S, Suh S & Kim S. (2000) Protective effects of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate against hippocampal neuronal damage after transient ischemia in gerbils. *Neurosci Lett.* 287(3): 191–4.
- Mahboubi A, Asgarpanah J, Sadaghiyani PN & Faizi M. (2015) Total phenolic and flavonoid content and antibacterial activity of *Punica granatum* L. var. *pleniflora* flowers (Golnar) against bacterial strains causing foodborne diseases. *BMC Complement Altern Med.* 15: 366. doi: 10.1186/s12906-015-0887-x.
- Manganaris GA, Goulas V, Mellidou I, Drogoudi P. (2018) Antioxidant Phytochemicals in Fresh Produce: Exploitation of Genotype Variation and Advancements in Analytical Protocols. *Front Chem.* 5: 95. doi: 10.3389/fchem.2017.00095.
- の場輝佳, (2007) 抗酸化作用を中心とした食の機能性, *日本食生活学会誌*, 18, 3, 205–210.
- Miklasińska M, Kępa M, Wojtyczka RD, Idzik D, Dziedzic A & Wąsik TJ. (2016) Catechin Hydrate Augments the Antibacterial Action of Selected Antibiotics against *Staphylococcus aureus* Clinical Strains. *Molecules.* 21(2): 244. doi: 10.3390/molecules21020244.
- 宮本悌次郎, (1992) 香辛料の抗菌性と食品保蔵への応用 *調理科学* Vol. 25, No. 2.
- Morita M, Naito Y, Niki E & Yoshikawa T. (2017) Antioxidant action of fermented grain food supplement: Scavenging of peroxy radicals and inhibition of plasma lipid oxidation induced by multiple oxidants. *Food Chem.* 237: 574–580. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.05.157.
- 大橋信夫 (1997) 身近な漢方薬材辞典, 鈴木 昶 (編者), 82–83, 東京堂出版.
- Okada M, Okada Y. (2015a) Effects of methanolic extracts of edible plants on RAGE in high-glucose-induced human endothelial cells. *Biomed Mater Eng.* 25(3): 257–66. doi: 10.3233/BME-151280.
- Okada M, Okada Y. (2016) Potential Properties of Plant Sprout Extracts on Amyloid  $\beta$ . *Biochem Res Int.* 2016: 9347468. doi: 10.1155/2016/9347468.
- Okada Y, Okada M. (2015b) Effects of methanolic extracts from edible plants on endogenous secretory receptor for advanced glycation end products induced by the high glucose incubation in human endothelial cells. *J Pharm Bioallied Sci.* 7(2): 145–50. doi: 10.4103/0975-7406.148783.
- Okuda T, Yoshida T & Hatano T. (1995) “*Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*”, 66, Herz, W., Kirby, G. W., Moore, R. E., Steglich, W., Tamm, C. eds., Springer-Verlag, Wien, 1–117.
- Ono K, Urabe K, Sumiyoshi A, Nadamoto T & Nishikawa Y. (2006) Growth inhibition of food

- spoilage bacteria by wild-grass extracts. *Food Preservation Science*. 32(6).
- Perez-Gregorio MR, Mateus N & De Freitas V. (2014) New procyanidin B3-human salivary protein complexes by mass spectrometry. Effect of salivary protein profile, tannin concentration, and time stability. *J Agric Food Chem*. 15; 62(41): 10038–45. doi: 10.1021/jf5033284.
- Rothwell JA, Knaze V & Zamora-Ros R. (2017) Polyphenols: dietary assessment and role in the prevention of cancers. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 20(6): 512–521. doi: 10.1097/MCO.0000000000000424
- Roy P, Amdekar S, Kumar A & Singh V. (2011) Preliminary study of the antioxidant properties of flowers and roots of *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl) Miers. *BMC Complement Altern Med*. 11: 69. doi: 10.1186/1472-6882-11-69.
- Saklani S, Mishra AP, Chandra H, Atanassova MS, Stankovic M, Sati B . . . & Suleria HAR (2017) Comparative Evaluation of Polyphenol Contents and Antioxidant Activities between Ethanol Extracts of *Vitex negundo* and *Vitex trifolia* L. Leaves by Different Methods. *Plants (Basel)*. 27; 6(4). pii: E45. doi: 10.3390/plants6040045.
- Schmuck J, Beckert S, Brandt S, Löhr G, Hermann F, . . . & Hensel A. (2015) Extract from *Rumex acetosa* L. for prophylaxis of periodontitis: inhibition of bacterial in vitro adhesion and of gingipains of *Porphyromonas gingivalis* by epicatechin-3-O-(4 $\beta$ →8)-epicatechin-3-O-gallate (procyanidin-B2-Di-gallate). *PLoS One*. 10(3): e0120130. doi: 10.1371/journal.pone.0120130.
- Shahat AA, Ibrahim AY & Elsaid MS. (2014) Polyphenolic content and antioxidant activity of some wild Saudi Arabian Asteraceae plants. *Asian Pac J Trop Med*. 7(7): 545–51. doi: 10.1016/S1995-7645(14)60091-2.
- Shi C, Wu F & Xu J. (2010) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and PAF mediate Abeta1-42-induced Ca<sup>2+</sup> dyshomeostasis that is blocked by EGb761. *Neurochem Int*. 56(8): 893–905. doi: 10.1016/j.neuint.2010.03.016.
- Simioni C, Zauli G, Martelli AM, Vitale M, Sacchetti G, Gonelli A & Neri LM. (2018) Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. *Oncotarget*. 9(24): 17181–17198. doi: 10.18632/oncotarget.24729.
- Sreejith G, Jayasree M, Latha PG, Suja SR, Shyamal S, Shine VJ . . . & Rajasekharan S. (2014) Hepatoprotective activity of *Oxalis corniculata* L. ethanolic extract against paracetamol induced hepatotoxicity in Wistar rats and its in vitro antioxidant effects. *Indian J Exp Biol*. 52(2): 147–52.
- Swargiary A, Daimari A, Daimari M, Basumatary N & Narzary E. (2016) Phytochemicals, antioxidant, and anthelmintic activity of selected traditional wild edible plants of lower Assam. *Indian J Pharmacol*. 48(4): 418–423.
- Toda S. (2005) Antioxidative effects of polyphenols in leaves of *Houttuynia cordata* on protein fragmentation by copper-hydrogen peroxide in vitro. *J Med Food*. 8(2): 266–8.
- 浦部貴美子, 北尾幸子, 香山佳代子, 灘本知憲, 川村正純, 西川善之. (2003) 野草抽出物による *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* および *Bacillus subtilis* の生育抑制, *日食科工*, 50 (8), 350–355.
- 浦部貴美子, 酒井久仁子, 灘本知憲. (2008) 野草抽出物の DPPH ラジカル消去活性, *日本家政学会誌*, 59, 929–934.
- 浦部貴美子, 灘本知憲, 平尚子, 田尾桃子, 西川善之. (2005) Follin-Denis法により測定した野草中の総ポリフェノール量, *日本家政学会誌*, 56, 405–408.
- Wang Y, Wu Y, Wang Y, Xu H, Mei X, Yu D . . . & Hamieh A. (2017) Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. *Nutrients*. 9(5). pii: E521. doi: 10.3390/nu9050521.
- Wei X, Meng X, Yuan Y, Shen F, Li C & Yang J. (2018) Quercetin exerts cardiovascular protective effects in LPS-induced dysfunction in vivo by regulating inflammatory cytokine expression, NF- $\kappa$ B phosphorylation, and caspase activity. *Mol Cell Biochem*. 446(1-2): 43–52. doi: 10.1007/s11010-018-3271-6.
- Xie C, Koshino H, Esumi Y, Takahashi S, Yoshikawa K & Abe N. (2005) Vialinin A, a novel 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenger from

an edible mushroom in China. *Biosci Biotechnol Biochem.* 69(12): 2326-32.

野草大図鑑, 1991北隆館

野草雑草検索図鑑, 千葉県立中央博物館, [http://chiba-muse.jp/wf2014/keishitsuKensaku\\_v16.html](http://chiba-muse.jp/wf2014/keishitsuKensaku_v16.html)

野草・雑草検索ページ, 千葉県立中央博物館, <http://chiba-muse.jp/yasou/>

Yang C, Wang ZY. (1993) Tea and Cancer. *J Natl Cancer Inst*, 85(13): 1038-49.