

イチジク茶の食品安全性に関する検討

高橋 徹, 沖浦 文

Examination on the Food Safety of Fig (*Ficus carica* L.) Tea

Toru Takahashi and Aya Okiura

Some examination involved in food safety of the fig tea, made by the same procedure of green tea from fresh fig leaves, were carried out.

(1) Acute toxicity: Single administration of fig tea leaf powder in the maximum amount to mice did not caused the death or other abnormal condition. (2) Mutagenicity: Fig tea leaf powder did not affected the frequency of occurrence of the reverse mutation in some bacterial species. (3) Behavior of furocoumarins: It has been known that fresh fig leaves contain furocoumarins, to cause the photodermatitis. Psoralen and psoralic acid glucoside (PAG) are the major furocoumarin and its precursor in fig leaves. Psoralen content of the fig tea leaves was about one-tenth of the fresh fig leaves, but PAG content was almost the same. Some part (about 6%, molar ratio) of PAG was hydrolyzed and converted to psoralen under the simulated condition of digestion in the human stomach (HCl 0.19 M, 40°C for 6 h).

From our examination results, it was revealed that fig tea does not have acute toxicity and mutagenicity, but can cause photodermatitis in the case of intake large amount of infusion.

Key words: fig leaf, tea, furanocoumarin, acute toxicity, mutagenicity, photodermatitis

イチジク (*Ficus carica* L.) は主に果実が食用に利用されるが、その他の部位も漢方・伝統医薬の原料や食品として利用されることがある^{1, 2)}。葉に関しては、煎じ葉や茶に加工して利用されることが多いと考えられ、川西市商工会のイチジク茶「凜雪® (りんだ)」など国内での市販例もある。我々はイチジク茶について、PET ボトルなど容器詰め飲料素材として可能性があることを報告した³⁾。効能に関しては十分に解明されてはいないものの、葉の煎じ液の投与により I 型糖尿病患者の食後血糖値上昇が抑制された例⁴⁾、煎じた葉のクロロホルム抽出液が糖尿病誘導ラットの血中コレステロールを低下させた例⁵⁾、葉のエタノール抽出物がラットの浮腫や肉芽腫を抑制した例⁶⁾などが報告されており、機能性食品素材として可能性を有していると考えられる。

天然物を食用とする場合、人類による食経験があることや科学的に安全性が確認されている必要がある。イチジク葉は厚生労働省食品安全部による「農産物等の食品分類表」に「その他の野菜」として記載されており、食品として認められている。しかし、イチジク葉はプソラレンやベルガプテン (5-メトキシプソラレン) といったフロクマリンを含むことが知られている⁷⁻⁹⁾。また、我々はイチジク葉の主要なフロクマリンがプソラレンであることや、その前駆物質としてプソラル酸グルコシド (PAG) がプソラレンと同モル数含まれることを報告している¹⁰⁾。

フロクマリンは昆虫や細菌に対する防御物質と考えられるが^{11, 12)}、光増感作用を有しており光皮膚炎を引き起こす事がある。イチジク葉に関しては、「あせも」に効くと聞いて、母親が小児を夏の屋外で葉の煮汁を入れた水で行水させたところ、紅斑やびらんを発症した例¹³⁾、イチジクの剪定作業した男性において、露出した肌に紅斑と浮腫性の発疹が発生した例¹⁴⁾ などがある。一方で、フロクマリンの光増感作用は乾癬や白斑など皮膚病の治療に利用される^{15, 16)}。これは、フロクマリン製剤を服用、塗布、湯浴などの手段で摂取または付着させ、その後紫外線 (UVA) を照射するというものである (プソラレンの P と UVA の組み合わせから PUVA 療法と呼ばれる)。フロクマリンとしては 8-メトキシプソラレン (メトキサレン) が用いられる。

上記の症例はどちらも生あるいはそれに近い状態のイチジク葉成分が皮膚に付着し、屋外で紫外線を含む太陽光を浴びた結果起こったものである。一方、茶など葉の加工品の経口摂取による健康被害については、その利用が少ないためか事例はない。このように、イチジク茶は一応安全と考えられるが、利用拡大や機能性の研究を進めるにあたり、食品安全性に関して幾つかの検討が必要と考えられる。本稿では、茶への加工が成分に及ぼす影響、急性毒性や変異原性といった食品安全性に関する特性、フロクマリンの消長について調査した結果を報告する。

材料および方法

1. 試料

イチジク茶は市販の茶葉（商品名：凜雪[®]，販売元：川西市商工会，*現在は製造・販売されていない）を用いた。原料は兵庫県川西市内のイチジク園で栽培されている‘榊井ドーフィン’の若葉で，6月上旬に採取した若葉を，採取当日に緑茶と同様の行程（殺青，揉捻，乾燥）で製茶したものである。また微粉末に加工されたもの（以後，イチジク抹茶）も使用した。イチジク茶，イチジク抹茶とも川西市商工会より入手し，使用まで-20℃で保管した。

生のイチジク葉（以後，イチジク生葉）は，上記市販イチジク茶の原料採取園の一つより，原料採取と同日に，枝先端から5～6節目までの若葉を採取した。表面を流水で洗い（超純水ですすぎ），水分を拭き取った後，約1.5 cm角に刻んで縮分し，-80℃で保管した。

2. 製茶モデル試験

イチジク生葉を用いて，製茶工程を再現したモデル試作を行った。試験はイチジク生葉の採取当日に実施した。洗浄し約2.0 cm角に刻んだイチジク生葉約100 gをザルに入れ，セイロで3分間蒸煮した（殺青工程に相当）。この他，蒸煮時間を1～10分と変えた試験も実施した。次いで，家庭用ホットプレート（EA-DA45-XL，象印マホービン）上にクラフト紙を敷いたものを焙炉の代わりとし（プレート温度は70～100℃），手で揉んで少しずつ水分をにじみ出させながら乾燥させた（揉捻工程に相当）。最後に通風乾燥機（DK600，ヤマト科学）を用いて65℃×4時間乾燥して仕上げた。仕上がり時の水分は3.4～5.9%であった（「凜雪」茶葉の水分は5.8%）。できた試作品はアルミ箔ラミネートパウチに入れ，-20℃で保管した。

3. 茶浸出液，葉抽出液の調製

イチジク茶の浸出液（熱水抽出液）は，茶葉1 gに対し80℃の熱水100 mLを加え，80℃で3分間保持した後，孔径0.45 μmのメンブランフィルターでろ過して調製した。またイチジク抹茶については，水/メタノール=1/1を溶媒に用いた抽出液も調製した。イチジク抹茶0.5 gに溶媒50 mLを加え，シェーカー（NR-30，TAITEC）を用い120 rpmで3時間，円運動で攪拌した後，メンブランフィルターでろ過して調製した。

イチジク生葉および製茶モデル試験試料の成分抽出溶媒として，ポリフェノールには水/メタノール=1/3，フロクマリンには水/アセトン=1/3，プソラル酸グルコシドにはメタノールを使用した。試料葉を20～24時間凍結乾燥した後，フードミル（IFM-300SG，岩谷産業）で10秒間×4回破碎した。粉末0.2 gに抽出溶媒30 mLを加え，イチジク抹茶と同様に攪拌して抽出した。全量をテフロン製の遠沈管に移しかえ，冷却遠心機（CR21G II，日立ハイテクノロジーズ，ローターはR18AY）で12,000 rpm×10分間遠心し，上澄み液を回収した。残渣に抽出溶媒10

mLを加えて攪拌した後，12,000 rpm×10分間遠心分離し，上澄み液を回収した。この操作を2回繰り返し，回収した上澄み液を50 mLに定容した。

4. 成分含量の測定

Kammerer ら¹⁷⁾の方法を一部改変しLC-MS（1100 システム，Agilent）で測定した。カラムはSynergi Hydro-RP，粒子径2.5 μm，サイズ100 mm×30 mm i.d.（Phenomenex）を用い，カラム温度40℃，移動相はA液：2%酢酸，B液：0.5%酢酸/アセトニトリル=1/1を使用し，流速は0.4 mL/分で，B液比率を分析開始時に10%，8分に24%，16分に30%，24分に55%，30分～33.2分は100%，34分～36分は10%とするグラジエント条件で成分を分離した。試料注入量は5 μLとし，フォトダイオードアレイ検出器を用いて，カフェリンゴ酸は320 nm，ルチン，プソラレン，ベルガプテン，プソラル酸グルコシドは250 nmの吸光度でそれぞれ検出した。質量分析条件は以下の通りとした。イオン化法：ESI、測定質量範囲：m/z 50～1000、フラグメンター電圧：150 V、キャピラリー電圧：3500 V、ネブライザーガス：N₂（60 psi）、乾燥ガス：N₂（12 L/min、350℃）、測定イオン：負イオン。

5. 急性毒性試験

雌雄マウスを用いた単回経口投与試験で評価した。6週齢（一週間の検疫順化飼育を含む）のSlc：ddY系の雌雄マウス（日本エスエルシー）を，一群5匹ずつ使用した。飼育条件は，温度23±2℃，湿度30～80%，換気回数12回/時以上，12時間照明（明期：6時30分～18時30分）とし，飼料（CRF-1，オリエンタル酵母工業）および水（水道水）は自由摂取とした。

投与にはイチジク抹茶を用いた。50 mg/mLまたは100 mg/mLとなるよう蒸留水（大塚製薬）に懸濁し，ゾンデを用いて20 mL/kgを投与した（以後，前者を1 g/kg投与群，後者を2 g/kg投与群とする）。対照群には同量の蒸留水を投与した。投与は一昼夜の絶食後に行い，その後14日目まで症状観察，体重および摂餌量の測定を行った。14日目の観察後，麻酔下での全採血により安楽死させた後に解剖し，主要臓器等について異常の有無を観察した。

この試験は株式会社田辺 R&D サービスに委託し，田辺三菱製薬株式会社動物実験委員会の承認を得（動物実験実施届書実施承認番号：AJ09-0158），田辺 R&D サービスにて2009年に実施されたものである。

6. 変異原性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験で評価した。具体的な方法等は労働省（現，厚生労働省）の「安衛法における変異原性試験，ガイドラインとGLP」¹⁸⁾に準じた。使用菌株は，復帰突然変異試験で一般的に使用されている *Salmonella typhimurium* の TA98，TA100，TA1535，TA1537 株および *Escherichia coli* の WP2uvrA 株を用いた。

試料はイチジク抹茶を，15 kGy のコバルト 60 ガンマ線

照射により滅菌して用いた。陽性対照物質は N-ethyl-N'-nitrosoguanidine (ENNG), 2-nitrofluorene (2-NF), 9-aminoacridine (9-AAc), 2-aminoanthracene (2-AAn) を用いた。イチジク抹茶および陽性対照物質はジメチルスルホキシド (DMSO) にそれぞれ懸濁または溶解して培地に添加した。陰性対照には DMSO のみを添加した。イチジク抹茶の添加用量 (終濃度) は, 0.206, 1.85, 5.56, 16.67, 50 mg/mL の 6 段階とした。培養は各群 2 枚 (陰性対照のみ 3 枚) のプレートで行った。各菌株と陽性対照物質の組み合わせは表 1 の通りとした。

測定は直接培養法と代謝活性化法で行った。後者はそのままでは変異原性がないが、動物体内で代謝された後で変異原性を示す物質の検出を目的とした方法で、ラットの肝臓抽出物 (活性を高めるために薬物代謝誘導剤が事前投与される) を培地に添加して被験物質と反応させる。直接培養法では被験液 100 μ L に, 1.0×10^9 個/mL 以上とした菌懸濁液 100 μ L, 100 mM リン酸 Na 緩衝液 (pH7.4) を 500 μ L 加え, 37°C で 20 分間前培養した。代謝活性化法では緩衝液の代わりに, S9mix^{注1} を使用した。次に 0.5 mM のビオチンとヒスチジン (*E. coli* はトリプトファンのみを使用) 液と 0.6% 軟寒天液を 1:10 で混合した液 2 mL を加え, 最少グルコース寒天平板培地 (テスメディア AN, オリエンタル酵母工業) に重層し, 37°C で 48 時間培養した。培養後, プレート当たり 2 回コロニー数を計測し, 式 1 で補正後の平均値をそのプレートの復帰突然変異コロニー数とした。この値が陰性対照の 2 倍以上となった場合に陽性と判定した。

$$\text{式 1) 補正值} = 0.0005X^2 + 1.3167X - 2.4266$$

(X: 計測コロニー数)

この試験は株式会社田辺 R&D サービスに委託し, 日精バイリス株式会社にて 2009 年に実施されたものである。

注 1) phenobarbital と 5,6-benzoflavone を腹腔内投与されたラット肝臓より調製した S9 fraction (オリエンタル酵母工業) 0.1 mL, 0.8 M 塩化マグネシウム 0.01 mL, 3.3 M 塩化カリウム 0.01 mL, 50 mM グルコース 6 リン酸 0.1 mL, 40 mM NADPH 0.1 mL, 40 mM NADH 0.1 mL, 0.2 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.4) 0.5 mL, 滅菌水 0.08 mL を混合したもの。

表 1 変異原性試験における使用菌株と陽性対照物質用量の組み合わせ

菌株	直接法	代謝活性化法
TA98	2-NF (1)	2-AAn (0.5)
TA100	ENNG (3)	2-AAn (1)
TA1535	ENNG (5)	2-AAn (2)
TA1537	9-AAc (80)	2-AAn (2)
WP2 <i>uvrA</i>	ENNG (2)	2-AAn (10)

() は用量: μ g/プレート

7. プソラル酸グルコシドの加水分解試験

プソラル酸グルコシドはイチジク茶浸出液より分取し, 簡易精製後に凍結乾燥したものをを用いた。プソラル酸グルコシドの 200 ppm メタノール溶液を褐色栓付き試験管に入れ, 0.19 M となるよう塩酸を加えて密栓し, 40°C に設定したヒートブロック (HF-21、ヤマト科学) で 6 時間加熱した。同様に 90°C で 3 時間加熱も行った。塩酸の代わりに水を入れたものを比較対照とした。試験液は 0.45 μ m のメンブランフィルターでろ過し, 上記 4 と同じ方法で成分を調べた。

結果および考察

1. イチジク茶の成分組成

変異原性試験においては, 目的以外の細菌による汚染を防ぐため, イチジク抹茶をガンマ線で滅菌処理した。そこで熱水抽出液および含水エタノール抽出液のポリフェノール (カフェリンゴ酸, ルチン)・フロクマリン関連物質 (プソラレン, ベルガブテン, プソラル酸グルコシド) の含量を測定し, 未滅菌のものと比較した。結果, いずれも影響はみられなかった (表 2)。またクロマトグラム上でも既存ピークの消失や新たなピークの出現などの変化は見られなかった (データ省略)。

今回使用したイチジク茶の原料葉は川西市内の複数のイチジク園で採取されている。そのうちの一箇所より採取したイチジク生葉についても, 上記成分含量を調べたところ, カフェリンゴ酸: 12.5 mg/g Dry Weight (DW), ルチン: 10.3 mg/g DW, プソラレン: 11.3 mg/g DW, プソラル酸グルコシド: 19.1 mg/g DW であった。材料構成や抽出

表 2 γ 線照射滅菌がイチジク抹茶のポリフェノール, フロクマリン関連物質含量に及ぼす影響

試料		カフェリンゴ酸	ルチン	プソラル酸グルコシド	プソラレン	ベルガブテン
熱水抽出液	未滅菌	9.7 $\pm$ 1.0	6.9 $\pm$ 0.3	27.2 $\pm$ 3.1	0.18 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.00
	γ 線滅菌	10.6 $\pm$ 0.4	7.6 $\pm$ 0.1	28.9 $\pm$ 1.4	0.17 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.00
含水エタノール抽出液	未滅菌	9.6 $\pm$ 0.0	7.9 $\pm$ 0.1	28.8 $\pm$ 0.0	0.43 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.00
	γ 線滅菌	9.5 $\pm$ 0.1	7.8 $\pm$ 0.1	28.5 $\pm$ 0.2	0.42 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.00

含量は mg/100 mL で表した。数値は平均値 $\pm$ 標準偏差 (n=2)。

条件が異なるため、厳密な比較はできないが、イチジク茶ではポリフェノールやプロソラル酸グルコシドは残存しているが、プロソレンは顕著に減少していることが分かった。

2. 製茶工程がイチジク葉成分に及ぼす影響

イチジク茶におけるプロソレンの減少は製茶工程、中でも加熱を受ける殺青工程において起こっていると推察された。そこで上記イチジク茶原料葉を、時間を変えて蒸煮し、成分含量の変化を調べた。結果、プロソレンは1分以上の蒸煮により約1/10と顕著に減少したが、カフェリンゴ酸とプロソラル酸グルコシドは20分蒸煮しても減少せず、ほぼ生と同等量が残存した(図1)。ルチンとベルガプテンも、それぞれカフェリンゴ酸、プロソレンと同様の変化を示した(データ省略)。以上より、加熱処理はイチジク葉に対して、機能的に期待できるポリフェノールを残存させつつ、フロクマリンを顕著に減少させることが分かった。ただし、フロクマリン前駆物質もポリフェノール同様に影響を受けずに残存することも分かった。

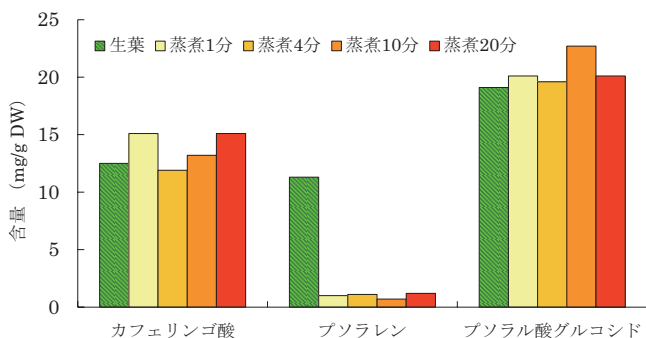
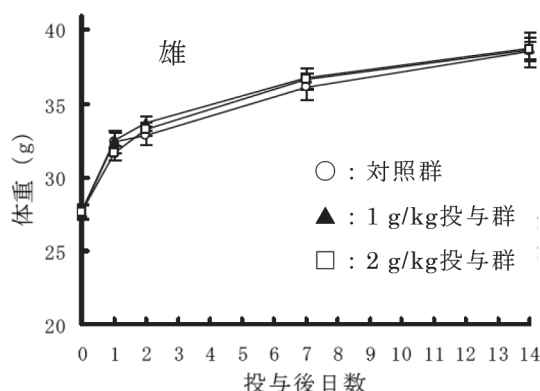


図1 蒸煮がイチジク葉の成分含量に及ぼす影響

*蒸煮はn=1, 抽出はn=2で実施した(データは平均値)
成分は凍結乾燥後、それぞれに対応した溶媒で抽出した



3. イチジク茶の急性毒性

イチジク抹茶を単回経口投与した後、14日間一般症状を観察したが、いずれの個体においても異常は認められず(表3)、死亡することもない(表4)。また摂餌量(データ省略)および体重変化(図2)にも、投与の影響はみられなかった。投与14日後に解剖して主要臓器・組織を観察したところ、雌の1 g/kg投与群の1匹に左側腎臓の欠損がみられたが、これはイチジク抹茶投与の影響ではなく、自然発生でみられる先天性の異常と考えられた。その他の個体には異常な所見は認められなかった(表5)。

表3 イチジク抹茶投与後14日間のマウスの症状観察結果

性別	試験区	匹数	症状
雄	対照群	5	変化なし
	1 g/kg投与群	5	変化なし
	2 g/kg投与群	5	変化なし
雌	対照群	5	変化なし
	1 g/kg投与群	5	変化なし
	2 g/kg投与群	5	変化なし

表4 イチジク抹茶投与後のマウスの死亡率

性別	試験区	匹数	死亡数	死亡率(%)
雄	対照群	5	0	0
	1 g/kg投与群	5	0	0
	2 g/kg投与群	5	0	0
雌	対照群	5	0	0
	1 g/kg投与群	5	0	0
	2 g/kg投与群	5	0	0

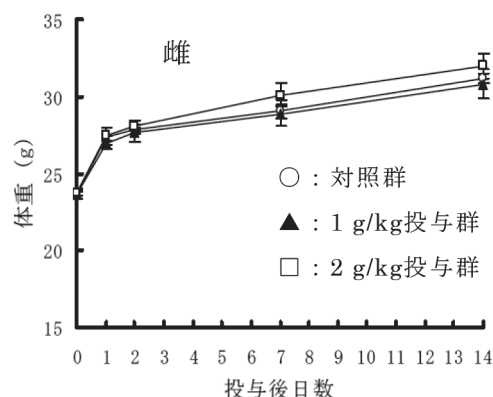


図2 イチジク抹茶投与後のマウスの体重変化

表5 イチジク抹茶投与14日後のマウスの解剖時所見

性別	試験区	匹数	所見
雄	対照群	5	異常なし
	1 g/kg投与群	5	異常なし
	2 g/kg投与群	5	異常なし
雌	対照群	5	異常なし
	1 g/kg投与群	5	左側腎臓の欠損×1匹
	2 g/kg投与群	5	異常なし

本実験では、雌雄マウスに対して体重1 kgあたり最大2 gのイチジク抹茶を投与したが、その後の生育状態や臓器・組織への影響はみられなかった。以上より、イチジク抹茶のマウスへの単回経口投与における最大無影響量および最大耐量はともに2 g/kg以上と判断された。すなわち、投与可能な上限と考えられる高用量を投与しても、急性毒性はないと結論づけられた。この投与量を体重60 kgのヒトに当てはめる（外挿）と120 gとなる。イチジク茶葉1 gに湯100 mLを使用して浸出液を作る場合、茶葉120 gは浸出液12 Lに相当する。またイチジク抹茶を練り込んだ菓子などを想定した場合でも、茶葉だけで120 g以上を一度に摂取することは通常ではありえないといえる。マウ

スとヒトでは代謝や薬物に対する応答が完全に同じではないが、イチジク茶葉あるいはその浸出液は、少なくとも単回の摂取であれば、人体に悪影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる。

4. イチジク茶の変異原性

イチジク抹茶の培地への添加により、細菌の復帰突然変異が増加するかどうかを調べた。この方法では特定のアミノ酸（ヒスチジンまたはトリプトファン）を合成できない突然変異菌株に対して被験物質を与える。被験物質に変異原性があれば、突然変異が起こって上記アミノ酸を含まない培地でも増殖できる個体が多く現れる。溶媒（DMSO）のみを培地に添加した陰性対照区に対して、生存数（復帰突然変異コロニー数）が2倍以上に増えた場合に変異原性ありと判定される。

直接培養法・代謝活性化法ともに、陽性対照物質を添加した区では、復帰突然変異コロニー数が陰性対照区の数倍～数十倍に増加した。これに対して、直接培養法・代謝活性化法ともに、イチジク抹茶添加区の復帰突然変異コロニー数は、陰性対照区の2倍以上にはならなかった（表6）。また、いずれの試験区においても、菌の生育阻害は認められなかった。以上より、イチジク抹茶は遺伝子突然変異を誘発しない、すなわち変異原性を示さないことが分かった。

表6 イチジク抹茶が細菌の復帰突然変異に及ぼす影響

培養	被験物質 濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰突然変異コロニー数(平均コロニー数/plate) ²				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2uvrA
直接 培養法	20.6	18	114	8	8	25
	61.7	25	119	9	10	24
	185	19	117	9	7	23
	556	18	116	10	8	24
	1667	18	102	10	8	22
	5000	19	126	10	9	22
	陰性対照 ³	21	103	25	7	25
	陽性対照 ³	432	675	804	397	933
代謝 活性化法	20.6	21	109	8	19	29
	61.7	24	109	10	19	20
	185	27	113	13	16	24
	556	26	102	10	11	22
	1667	27	119	10	16	21
	5000	27	118	11	15	25
	陰性対照	22	104	8	15	27
	陽性対照	476	781	276	188	412

²陰性対照のみ3反復、他は2反復

³陰性対照はDMSOのみを、陽性対照は表1記載の物質をDMSOに溶解して添加した

5. プソラル酸グルコシドの加水分解試験

ヒトでは、胃液の塩酸濃度は約 0.5% (0.17 M)、食物の滞留時間は脂肪が多い食品で 4～5 時間とされる¹⁹⁻²¹⁾。そこで、塩酸濃度 0.19 M、温度 40℃、反応時間 6 時間の、ヒト胃内消化よりやや過酷な条件で、200 ppm のプソラル酸グルコシドを加水分解した。結果、加水分解後にはプソラル酸グルコシドが減少し、プソラレンを含む反応生成物のピークが出現した(図 3)。加水分解後の量を比較すると、

プソラル酸グルコシドは 76% が加水分解され、その内の 8%, 元のプソラル酸グルコシド比では約 6% がプソラレンになると考えられた(図 4)。塩酸を加えず加熱しただけの対照区では、プソラレンは生成されなかった。また、90℃ で 3 時間加熱すると、プソラル酸グルコシドは消失し、プソラレンしか検出されなかった(データ省略)。この条件では溶媒の一部が揮発してしまったため、正確な定量はできなかった。

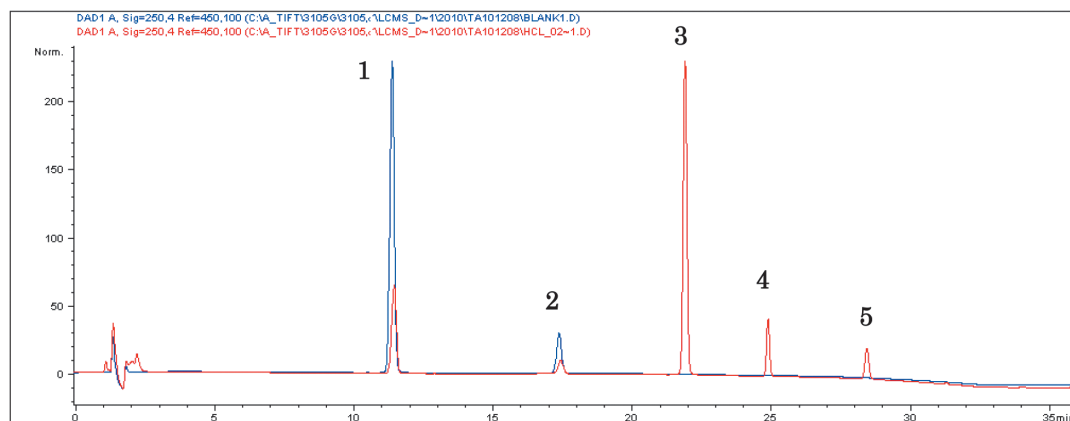


図 3 40℃ で 6 時間加熱したプソラル酸グルコシド液の HPLC クロマトグラム (OD 250 nm)

* —: 対照区 (塩酸なし), —: 加水分解 (塩酸添加)

1: プソラル酸グルコシド, 2: 未同定, 3: 未同定 (生成物 1), 4: 未同定, 5: プソラレン

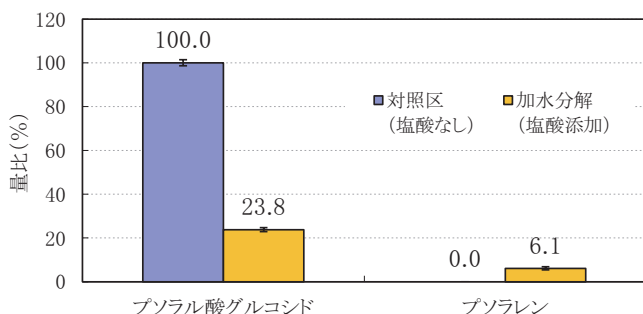


図 4 加水分解後のプソラル酸グルコシドおよびプソラレンのモル比

* 対照区の残存量を 100% とした。

値は平均値, バーは標準偏差 (n=5)

加水分解によってプソラレン以外にも反応生成物が生じたが、この物質が加水分解の中間体なのか、生成されたプソラレンがさらに加水分解されて生じたものかを確認する必要がある。そこで、プソラル酸グルコシドおよびプソラレン各 200 ppm を 40℃ (塩酸濃度 0.19 M) で加水分解し、途中経時的に成分を測定し、両物質および保持時間約 22 分の反応生成物 (生成物 1) のピーク面積を比較した。結果、プソラル酸グルコシドが経時的に減少するのに対応して、生成物 1 とプソラレンが増加した(図 5)。プソラレンを加水分解処理しても変化は見られなかった(図 6)。以上より、生成物 1 はプソラレンが変化したものではなく、

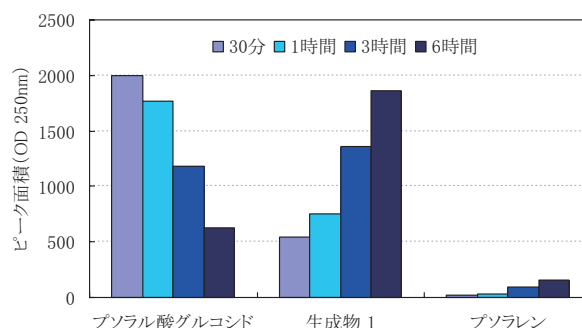


図 5 加水分解加熱時間と成分相対量の関係

* 試験は n=1, 測定は n=2 で実施した
(データは平均値)

プソラル酸グルコシドが加水分解されてプソラレンになる反応中間体または副生成物と考えられた。ネガティブイオン検出では生成物 1 の主要フラグメントは m/z 217 と 439 であった。これは、プソラル酸グルコシド ($[M-H]^-$: m/z 365) が加水分解されてグルコースが外れたと仮定したもの (計算値: m/z 202) とは異なった。図 3 のピーク 2 と 4 は、それぞれプソラル酸グルコシドおよび生成物 1 と同じ m/z を示したことから、異性体と推定された。以上、生成物 1 を同定することはできなかったが、経口摂取されたプソラル酸グルコシドの数%が胃においてプソラレンになる可能性があることが明らかとなった。

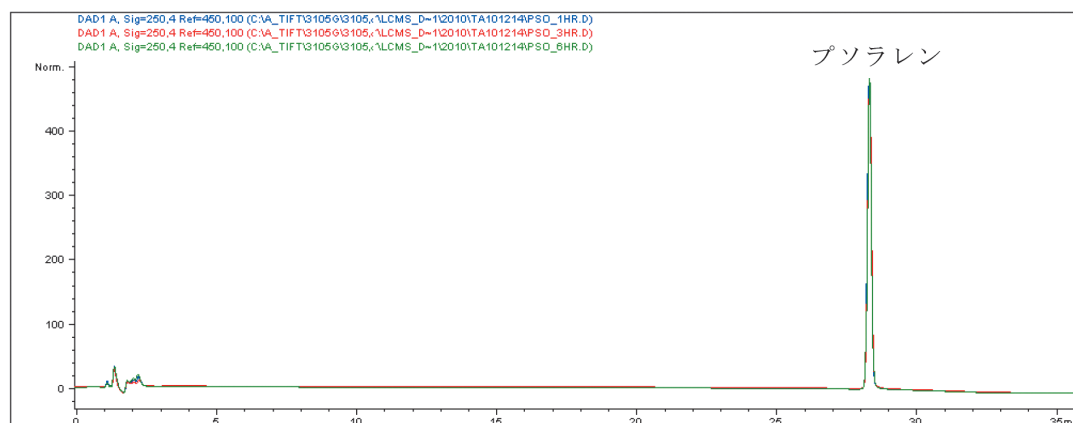


図6 加水分解中のプソラレン液の HPLC クロマトグラム (OD 250 nm)

* 40℃加熱 1 時間 (—), 3 時間 (—), 6 時間 (—) のクロマトグラムを重ねて示した。

6. イチジク茶の安全性に関する考察

今回の調査により, ‘梔井ドーフィン’の葉を緑茶と同様の方法で製茶した「イチジク茶」は, 急性毒性や変異原性に関しては問題がないこと, 蒸気で加熱される殺青工程においてフロクマリン (プソラレン) が約 1/10 に減少することが分かった。一方で, プソラレンの前駆物質であるプソラル酸グルコシドはほぼ全量が残存することも明らかとなった。プソラレンを 0.3 mg/100 mL, プソラル酸グルコシドを 25 mg/100 mL 含むイチジク茶があると仮定する。これを 100 mL 飲んだ場合, 胃内で約 1.5 mg のプソラレンが生成されると推定され, 元から残存していた量と合わせると実質的なプソラレン摂取量は約 1.8 mg (0.018 mg/mL) になると推定される。

本稿の情報だけで, イチジク茶に含まれるプソラレンによる健康リスク, 特に光皮膚炎リスクを評価するのは困難であるが, 関連する文献を基に検討してみたい。皮膚病治療法の一つに, メトキサレン製剤を服用してから紫外線照射を受ける内服 PUVA 療法があることは先に述べた。この治療法でのメトキサレン用量は 0.6 mg/kg^{16, 22)} ~ 1.0 mg/kg²³⁾ で, 服用後 2 日間は紫外線暴露を避ける必要があり, 一週間当たりの治療回数は 3 回が上限とされている。従って, 0.6 mg/kg 以上の用量を摂取すると, その後 2 日間は光皮膚炎発症の可能性があると見える。これを上記仮定イチジク茶浸出液にあてはめると, 33.3 mL/kg 以上, 体重 60 kg のヒトでは約 2 L と, かなり多量に飲まない限りリスクは低いと考えられる。一方, Schlatter らは, メトキサレンまたはベルガプテンを体重 63 ~ 74 kg のヒトに経口投与する実験を行い, 一度にメトキサレンとして 15 mg (0.2 ~ 0.24 mg/kg) 以上を摂取して紫外線を浴びると光皮膚炎を発症する可能性があるとして述べている²⁴⁾。これを同様に当てはめると 11 ~ 13.3 mL/kg, 体重 60 kg のヒトでは 660 ~ 798 mL となる。食品成分は腸内でも消化酵素や腸内細菌によって代謝されるので, ここでのプソラレン生成も否定できない。さらに, プソラル酸グルコシドの加水分解試験で現れたプソラレンの異性体と推察される

物質の影響も考えられる。安全マージンを考慮して, 光皮膚炎が起きないプソラレンの単回摂取許容量を 0.1 mg/kg と仮定すると, 前述の仮定イチジク茶浸出液では一日当たりの上限摂取量は 5.6 mL/kg, 体重 60 kg のヒトでは 336 mL と推定される。

今後の課題としては, 慢性毒性の評価ならびに光皮膚炎発症の閾値を明確にすることが考えられる。慢性毒性に関しては, Rozman らが雌雄カニクイザルに週 3 回, 26 週間にわたり, メトキサレンを 2, 6, 18 mg/kg 胃内投与する実験を行っている²⁵⁾。その結果, 2 mg/kg 投与では嘔吐などの障害は起こらなかったと報告している (光皮膚炎については調べられていない)。また彼らはこの投与量はヒトの内服 PUVA 療法 (0.4 ~ 0.6 mg/kg × 週 3 回) に相当すると考察している。これを前述の仮定イチジク茶浸出液にあてはめ, 光皮膚炎発症に対する安全マージンを考慮して許容量を上記と同じ 0.1 mg/kg と仮定すると, 体重 60 kg のヒトでは 336 mL × 週 3 回までが許容量と推定される。光皮膚炎発症の閾値については, ヒトでの試験は困難なので, スードマウス等に経口投与し, 紫外線照射する試験で検討する方法などが考えられる。

フロクマリンには光増感作用の他に, 消化器官における薬物代謝酵素の活性を抑制する性質がある。有名な例として, グレープフルーツジュースに含まれるフロクマリンの一種ベルガモチンとジヒドロキシベルガモチンが, 薬物代謝酵素の一つ CYP3A4 の働きを阻害し, 同時に服用した医薬品の体内吸収量が想定よりも多くなり, 薬が効きすぎてしまうことが知られている²⁶⁾。この点について, 岩永らは 12 種のフロクマリンについて CYP3A4 活性阻害作用を調べた結果, ノトプテロールなど 3 種が高い阻害作用を示す一方, プソラレンとベルガプテンを含む他 9 種は阻害作用を示さなかったと報告している²⁷⁾。従って, 主要フロクマリンがプソラレンであるイチジク葉/茶においては, 薬物代謝酵素阻害が起こる可能性は極めて低いと考えられる。

文 献

- 1) 梁 晨千鶴: 東方栄養新書, p70-71, メディカルユーコン, 京都 (2005).
- 2) Lee K.-H., Wang H.-K., Itokawa H. and Morris-Natschke S. L.: Current perspectives on Chinese medicines and dietary supplements in China, Japan and the United States, *J. Food Drug Anal.*, **8**, 219-228 (2000).
- 3) 高橋 徹, 沖浦 文, 阿部竜也: 容器詰め飲料素材としてのイチジク茶の特性, 公益財団法人東洋食品研究所研究報告書, **28**, 17-26 (2010).
- 4) Serracarla A., Hawkins F., Pérez C., Domínguez E., Campillo J. E. and Torres M. D.: Hypoglycemic action of an oral fig-leaf decoction in type-I diabetic patients, *Diabetes Res. and Clin. Practice.*, **39**, 19-22 (1998).
- 5) Canal J. R., Torres M. D., Romero A. and Pérez C.: A chloroform extract obtained from a decoction of *Ficus carica* leaves improves the cholesterolaemic status of rats with streptozotocin-induced diabetes, *Acta Physiologica Hungarica*, **87**, 71-76 (2000).
- 6) Patil V. V. and Patil V. R.: Evaluation of anti-inflammatory activity of *Ficus carica* Linn. leaves, *Indian J. Natural Prod. and Resources*, **2**, 151-155 (2011).
- 7) 福士俊一, 西面 操, 堀津浩章: イチジク *Ficus carica* L. 緑葉成分 (第1報) プソラレン, パルミチン酸の分離, 確認, 農化, **31**, 593-595 (1957).
- 8) 福士俊一, 田中 浩: イチジク *Ficus carica* L. 緑葉成分 (第3報) フロクマリン類について, 農化, **33**, 376-379 (1959).
- 9) 磯村 明, 永井正博, 石館八重子, 井上隆夫, 柳浦才三: イチジク葉の血圧降下成分, 生薬学雑誌, **29**, 147-151 (1975).
- 10) Takahashi T., Okiura A., Saito K. and Kohno M.: Identification of phenylpropanoids in fig (*Ficus carica* L.) leaves, *J. Agric. Food Chem.*, **62**, 10076-10083 (2014).
*公益財団法人東洋食品研究所研究報告書 30 号に転載
- 11) Klocke J.A., Balandrin M.F., Barnby M.A. and Yamasaki R.B.: Limonoids, Phenolics, and Furanocoumarins as insect antifeedants, repellents, and growth inhibitory compounds, *ACS Symposium Series*, **387**, 136-149 (1989).
- 12) Manderfeld M.M., Schafer H.W., Davidson P.M. and Zottola E.A.: Isolation and identification of antimicrobial furocoumarins from parsley, *J. Food Prot.*, **60**, 72-77 (1997).
- 13) 谷 守: 化学物質による皮膚障害 36- 植物による光毒性接触皮膚炎, 医薬ジャーナル, **38**, 2398-2405 (2002).
- 14) Hussein A. and Shugaev I.: Phototoxic response to *Ficus carica* leaf and shoot saps, *Israel Med. Association J.*, **14**, 399-400 (2012).
- 15) 佐々木政子, 坂田俊文, 鋤柄光則: 8-メトキシプソラレンの光化学反応と光医療, 日化誌, 1984 年, 354-360 (1984).
- 16) 井関宏美, 橋本洋子, 堀尾 武: PUVA 療法が奏功した丘疹-紅皮症 (太藤) の1例, 皮膚, **39**, 579-582 (1997).
- 17) Kammerer D., Claus A., Carle R. and Schieber A.: Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS, *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 4360-4367 (2004).
- 18) 労働省安全衛生部化学物質調査課 (編): 安衛法における変異原性試験-テストガイドラインとGLP, 中央労働災害防止協会, 東京 (1991).
- 19) 青沼 繁, 江川 宏, 真弓忠範: 生理化学・病態生化学, p36, 廣川書店, 東京 (1974).
- 20) 鈴木洋通: よくわかるからだの基本としくみ, p66-68, 秀和システム, 東京 (2008).
- 21) 安藤幸夫, 西尾剛毅: 胃腸・肝臓などのしくみと病気がわかる事典, p62-67, 成美堂, 東京 (2005).
- 22) 日本乾癬学会光線療法ガイドライン作成委員会: 乾癬の光線療法ガイドライン, 日本皮膚科学会誌, **126**, 1239-1262 (2016).
- 23) 吉池高志: アトピー性皮膚炎の治療法, 順天堂医学, **45**, 352-360 (1999).
- 24) Schlatter J., Zimmerli B., Dick R., Panizzon R. and Schlatter C.: Dietary intake and risk assessment of phototoxic furocoumarins in human, *Food Chem. Toxicology*, **29**, 523-530 (1991).
- 25) Rozman T., Leuschner R., Brick R. and Rozman K.: Toxicity of 8-methoxypsoralen in cynomolgous monkeys (*Macaca fascicularis*), *Drug Chem. Toxicol.*, **12**, 21-37 (1989).
- 26) 内田信也, 山田静雄: 食品・サプリメントと医薬品との相互作用, ふんせき, **393**, 454-460 (2007).
- 27) 岩永一範, 岡本 玲, 林 真奈美, 濱畑有記美, 有宗香織, 宮崎 誠, 掛見正郎: 漢方製剤含有フラノクマリン類による小腸 Cytochrome P450 3A 阻害に関する研究, 大阪薬科大学紀要, **8**, 109-118 (2014).