



ORYZA OIL & FAT CHEMICAL CO., LTD.



# カンカエキス

*CISTANCHE TUBULOSA EXTRACT*

脳機能改善・抗老化・抗疲労・  
性能力向上・免疫力向上・脂質代謝促進・  
美容食品・化粧品素材

カンカエキス-P25

(水溶性粉末、食品用途)

カンカエキス-PC25

(水溶性粉末、化粧品用途)

オリザ油化株式会社

ver. 20 JT

脳機能改善・滋養強壮素材  
**カンカエキス**  
CISTANCHE TUBULOSA EXTRACT

## 1. はじめに

カンカニクジュヨウ (*Cistanche Tubulosa* (Schenk) R. Wight) は、タマリクス (日本名でベニヤナギ) の根部に寄生する植物であり、根および葉緑体も無いので、光合成をすることができません (図 1)。よって、寄生する植物の養分を吸い取って成長します。中国では希少価値の高い砂漠のチョウセンニンジンとして知られており、医薬品としてアルツハイマー病の治療に用いられています。日本では平成 16 年の厚生労働省の食薬区分の改正により、カンカニクジュヨウは食品として区分されています。同様な寄生植物である、漢方調剤用のニクジュヨウと同じハマウツボ科ニクジュヨウ属に属し、中薬大辞典には薬効として、腎を補う、精を益す、腸をなめらかにする、の効能があり、インポテンツ、不妊、血崩 (女性の生理不順) および腰膝冷痛を治すと記述されています。ニクジュヨウは、中国では補腎・滋養強壯の処方薬として、臨床で広く応用されてきました。しかし、近年になって、貴重な生薬であるニクジュヨウ (国家 2 級保護植物に認定されている) の採取が困難になったため、同属でありニクジュヨウとの効能効果に特筆すべき違いがないと報告されている、カンカニクジュヨウが代替品として注目を集めています。

カンカニクジュヨウは中国新疆ウイグル自治区タクラマカン砂漠に分布し、砂漠の厳しい環境下において、開花し、実をつけるという強い生命力を持っています (図 2)。また、宿主であるベニヤナギは高さ 6m に達する植物であり、濃いピンク色の小さな花を咲かせ、砂漠地域における防風・防砂林 (黄砂を防ぐ) としての役目を果たしています。このようなことから、カンカニクジュヨウは砂漠の緑地化および地球温暖化対策の切り札として注目され、中国政府は地域産業の活性化としても栽培を推奨しています。

タクラマカン砂漠のオアシスとして知られるホータン (和田) 地区は、森下敬一氏の報告によると、世界 4 大長寿国の一つであり、100 歳を超えるお年寄りの比率が中国一であります。さらに、長寿として有名な日本の沖縄県と比較した結果、10 万人当たりの 100 歳以上の人の数が、沖縄は 51 人に対してホータンは 183 人であり、約 3 倍以上であります。ホータンに住む人々は昔から、過酷な環境で生き抜くためカンカニクジュヨウを常食し、現地ではスライスした物を羊肉の鍋で煮込んで食用したり、お茶およびお酒に漬けて飲用したりする習慣があり、これらの事が長寿の秘訣といわれています。

オリザ油化では、台湾の医薬品メーカーである杏輝薬品工業(株)および北京大学の協力の元、カンカニクジュヨウエキスについての共同研究を行ってきました。杏輝薬品工業(株)は、新疆ホータン (和田) 地区に原料の生産基地を建設し、

子会社である新疆天力砂生薬物有限公司を設立しています。そこで、カンカニクジュヨウの GAP 栽培を行い、高品質で安定、無農薬の素材資源を提供することが可能であり、原料品質の均一性と安全性に非常に優れています。さらに、有機認証を取得して、GMP 施設での製造を行っています。当社では、カンカエキスの新規生理活性として、脳の老化予防作用、皮膚の抗老化作用、性能力向上作用および脂質代謝促進作用を見出しました。その他に、杏輝薬品工業(株)および北京大学で、長年の間培われた実験データとして、脳機能改善作用、抗老化作用、抗疲労作用および免疫力向上作用が見出されています。

当社のカンカエキスは今までにない高濃度品（エキナコシド 25%以上，アクテオシド 9%以上）であり、新たな脳機能改善、滋養強壮および美容素材として、食品や化粧品の配合原料として、幅広くご利用頂けるものと考えています。



図 1. カンカニクジュヨウ



図 2. 新疆ウイグル自治区ホータン（和田）地区（カンカ GAP 栽培場所）

## 2. カンカエキスの含有成分

カンカエキスに含まれる主な有効成分は、フェニルエタノイド配糖体であり、その中でも、エキナコシド (echinacoside) およびアクテオシド (acteoside) が多く含まれています (図 3)。エキナコシドは、ハーブであるエキナセアの主成分として知られていますが、含量的に植物界ではカンカニクジュヨウが一番多く含まれています。また、アクテオシド (ポリフェノールの一種) は抗酸化力が非常に強く、レスベラトロール (ブドウポリフェノール) の 15 倍、ビタミン C の 5 倍であると報告されています<sup>1)</sup>。その他に最近の研究において、新規化合物 (カンカノシドなど) が単離され<sup>2)</sup>、これらの新規化合物、エキナコシドおよびアクテオシドの薬理作用として血管弛緩作用が報告されています<sup>3)</sup>。また、同じニクジュヨウ属である、ニクジュヨウとカンカニクジュヨウのそれぞれの抽出物中の各活性成分含量を比較した結果、カンカニクジュヨウにより多くの活性成分が含まれている事が明らかとなりました (図 4)。

このように、活性成分を多く含むカンカエキスについての様々な生理活性を以下に紹介します。

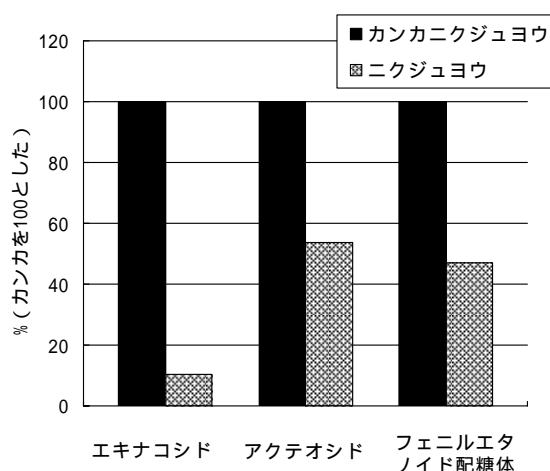
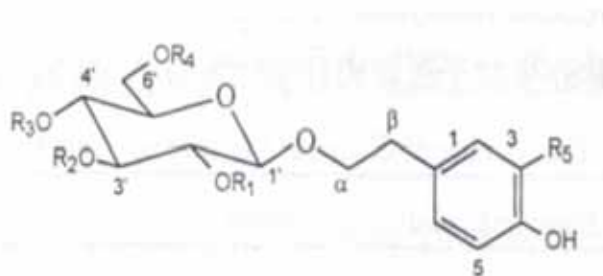


図 4. カンカニクジュヨウとニクジュヨウの活性成分含量比較 (カンカを 100 とした)

Compound Name	R1	R2	R3	R4	R5
2'-Acetylacteoside	Ac	Rha	Cf	H	OH
<b>Acteoside</b> <b>アクテオシド</b>	H	Rha	Cf	H	OH
Cistanoside A	H	Rha	Cf	Glc	OMe
Cistanoside C	H	Rha	Cf	H	OMe
<b>Echinacoside</b> <b>エキナコシド</b>	H	Rha	Cf	Glc	OH
Isoacteoside	H	Rha	H	Cf	OH
Tubuloside A	Ac	Rha	Cf	Glc	OH



Ac: Acetyl  
 Cf: trans-Caffeoyl  
 Glc: -D-Glucopyranose  
 Rha: -L-Rhamnopyranose

図 3. カンカエキスの活性成分

### 【参考文献】

- 1) カネボウ株式会社化粧品研究所：ニュースリリース，2005.
- 2) Haihui Xie *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, **54**(5), 669-675, 2006.
- 3) Yoshikawa M., *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.*, **14**(22), 7468-7475, 2006.

## カンカエキスの生理活性一覧

### (1) 脳機能改善作用

- 1) 学習能力および記憶力改善作用 (*in vivo*) ..... p.5
- 2) 脳神経細胞のアポトーシス抑制作用 (*in vitro*) ..... p.8
- 3) 神経細胞の保護作用 (*in vitro*) ..... p.9
- 4) 脳の老化予防作用 (*in vitro*) ..... p.11
- 5) マウス脳虚血再灌流モデルに及ぼす作用 (*in vivo*) ..... p.13
- 6) 脳内神経伝達物質に及ぼす作用 (*in vivo*) ..... p.15
- 7) 脳梗塞および心筋梗塞予防作用 (*in vivo*) ..... p.16
- 8) ヒト臨床試験 (Phase I-III) ..... p.18

### (2) 抗老化作用

- 1) 活性酸素種阻害作用 (*in vitro*) ..... p.23
- 2) マウスにおける SOD 活性上昇作用および脂質過酸化抑制作用 (*in vivo*) ..... p.23
- 3) カンカニクジュヨウとニクジュヨウの脂質過酸化抑制作用比較 ..... p.25
- 4) 老化モデルマウスに対する抗老化作用 (*in vivo*) ..... p.26

### (3) 美容作用 (皮膚の抗老化作用)

- 1) ヒアルロニダーゼ阻害作用 (*in vitro*) ..... p.28
- 2) エラスターゼ阻害作用 (*in vitro*) ..... p.29
- 3) チロシナーゼ阻害作用 (*in vitro*) ..... p.30
- 4) 皮膚光老化予防作用 (*in vivo*) ..... p.31

### (4) 抗疲労作用

- マウスにおける抗疲労作用 (*in vivo*) ..... p.33

### (5) 性能力向上作用

- 1) ストレス負荷マウスの性行動に及ぼす影響 (*in vivo*) ..... p.35
- 2) 男性ホルモン産生に及ぼす作用 (*in vitro, in vivo*) ..... p.36

### (6) 免疫力向上作用

- カンカエキスの免疫力増強作用 (リンパ球に及ぼす影響) (*in vivo*) ..... p.40

### (7) 脂質代謝促進作用

- 1) コレステロール合成および代謝に及ぼす作用 (*in vivo*) ..... p.41
- 2) 脂肪酸の代謝に及ぼす作用 (*in vivo*) ..... p.43

### (8) 抗酸化作用

- SOD 様活性および DPPH ラジカル消去能 (*in vitro*) ..... p.45

### 3. カンカエキスの機能性

#### (1) 脳機能改善作用

##### 1) 学習能力および記憶力改善作用 (*in vivo*)

学習・記憶に対する考え方として、3段階のメカニズムがあります。

記憶を習得する能力、すなわち学習能力。

記憶を保存する能力、すなわち記憶力。

記憶した情報を引き出す、思い出す (recall) 能力。

カンカエキスはこれら全てのメカニズムにおいて有意に作用する事が明らかになりました。以下にこれらの結果を示しました。

##### 記憶の習得および保存能力改善作用 (杏輝社および北京大学によるデータ)

カンカエキスの学習能力・記憶力改善作用を検討するために、マウスを用いて Step down test を行いました<sup>4)</sup>。この方法は、36V の電流が流れている電線上に避難場所を設置し、避難している時間と電撃を受けた回数で学習能力・記憶力を評価します (図 5)。この装置を用いて、マウスにトレーニングを行い、トレーニング前にスコポラミン (脳内のアセチルコリン受容体を阻害することによって学習能力障害を引き起こす薬物) およびトレーニング後に亜硝酸ナトリウム (脳内の酸素を欠乏させて、記憶に関わるタンパク質の合成を阻害する薬物) をそれぞれ投与し、学習・記憶障害を起こさせました。その結果、カンカエキス投与群は記憶障害モデル群と比較して、潜伏期 (避難している時間) および間違い回数 (電撃を受けた回数) を有意に改善させ、トレーニングを行った正常マウス群 (ノーマル群) とほぼ同じレベルに改善する事が認められました (図 6, 7)。また、脳細胞のエネルギー代謝を活性化させる医薬品であるピラセタム (陽性対照) よりも強い作用を有する事が認められました。これらの事よりカンカエキスはスコポラミンによって引き起こされた学習能力障害および亜硝酸ナトリウムによって引き起こされた記憶障害を有意に改善させ、学習能力および記憶力の両面から、脳機能に対する向上作用を有する事が明らかとなりました。

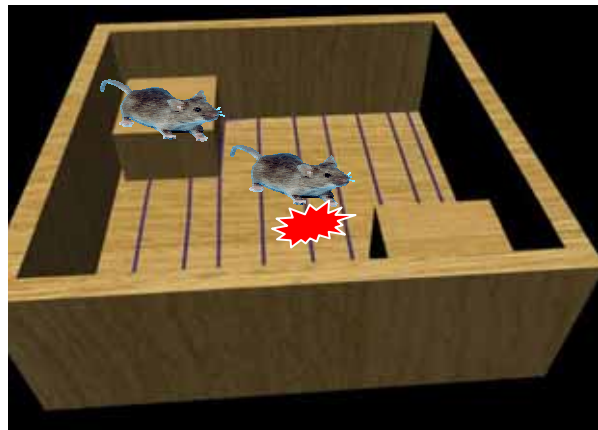


図 5. Step down test

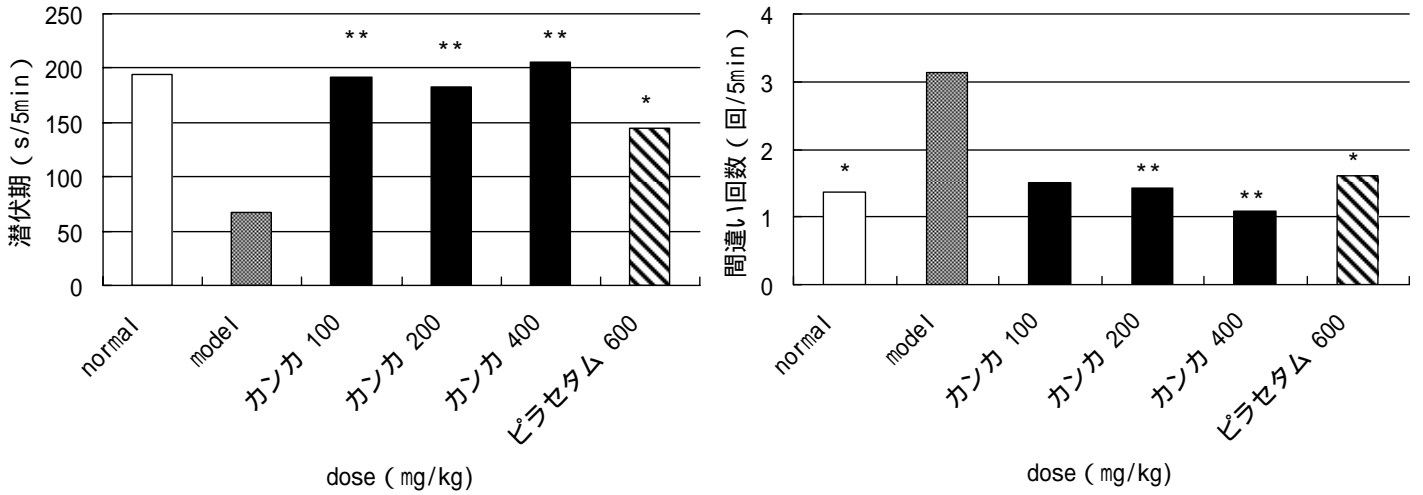


図 6. カンカエキスの学習能力改善作用 (スコポラミン投与)  
 n=12-15, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01

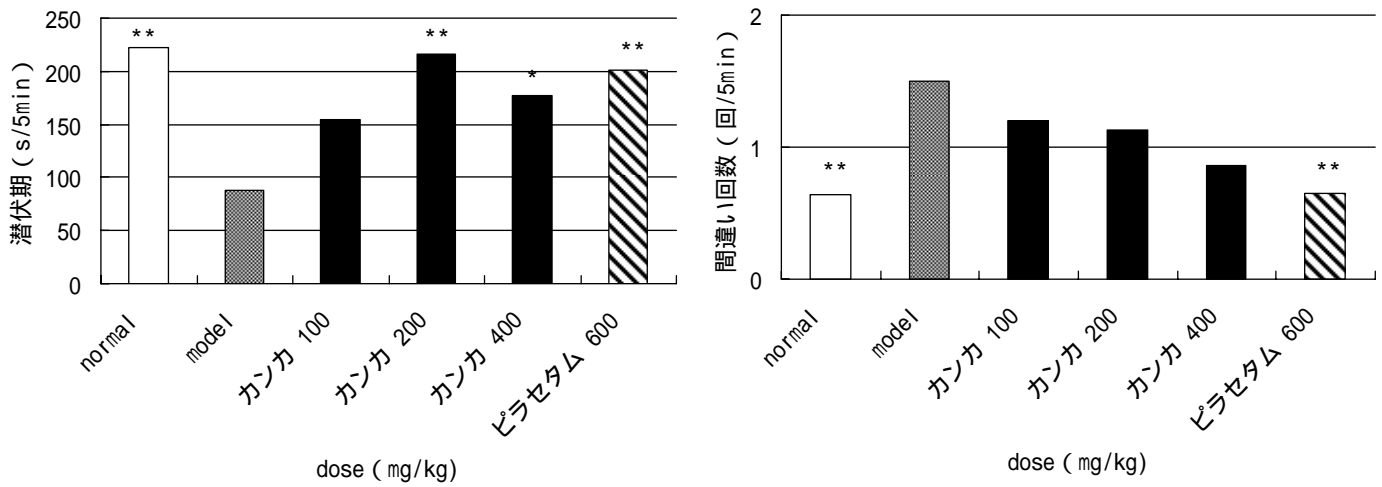


図 7. カンカエキスの記憶力向上作用 (亜硝酸ナトリウム投与)  
 n=14-15, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01

4) Cong G, et al., Effects of CTG on memory consolidation dysfunction of mice. *Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology.*, 16(3), 162-164, 2005.

記憶の recall(思い出し)改善作用(杏輝社および北京大学によるデータ)

マウスに対して水迷路実験の訓練を1日4回、1週間行いました(図8)。この訓練によって、水迷路を記憶させます。その間、サンプルを毎日経口投与しました。最終訓練日の翌日に、30%エタノールを投与して、記憶した情報を引き出す、思い出す(recall)能力に対する障害を引き起こさせました。その後、水迷路実験で評価を行いました。その結果、コントロールと比べて目的地への到達時間が有意に短くなりました(図9)。さらに、目的地に到達できない割合(失敗率)においても有意に改善されました(表1)。また、ピラセタム(陽性対照)よりも強い作用を有する事が認められました。以上の結果より、カンカエキスは一度記憶した情報を引き出す、思い出す(recall)能力に対して改善作用を有する事が認められました。

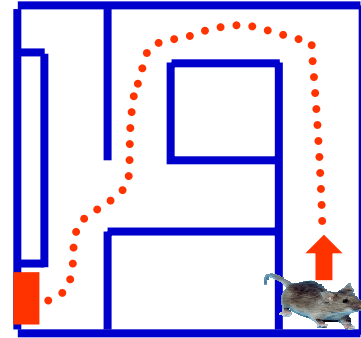


図 8. Water maze test

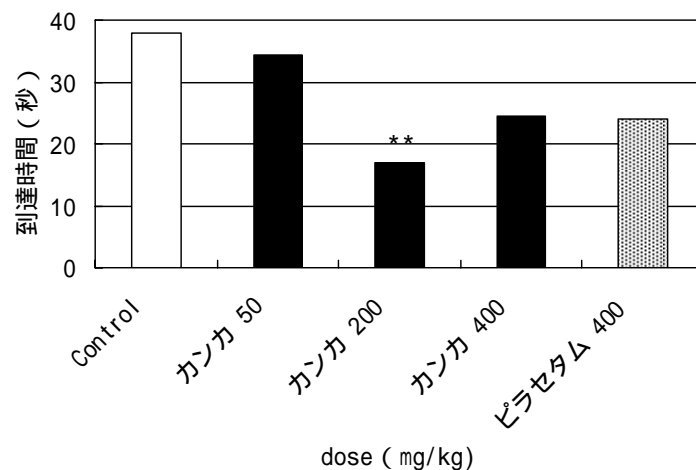


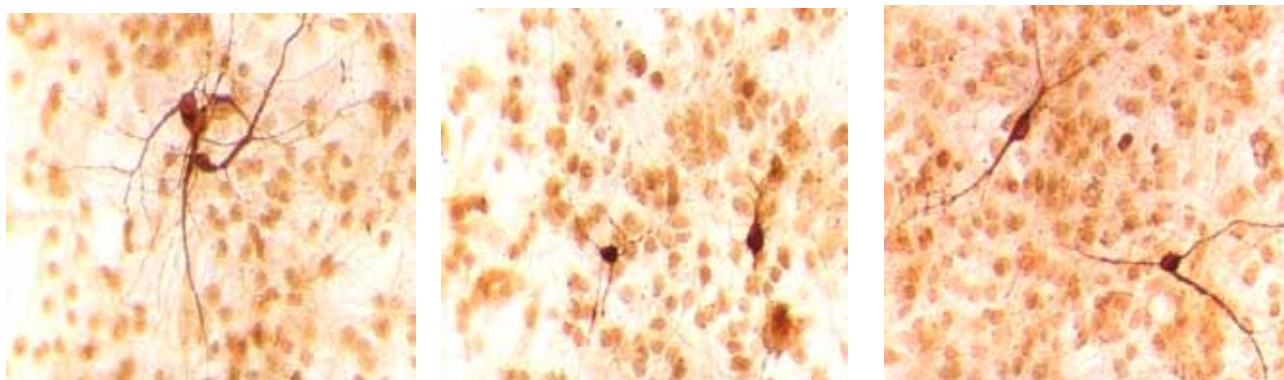
図 9. カンカエキスの記憶の recall 改善作用 (エタノール投与) n=10-12, \*\*: p<0.01

表 1. エタノール投与前後における水迷路時での失敗率 \*\*: p<0.01

mg/kg	Number	Before ethanol		After ethanol	
		到達時間 (秒)	失敗回数 / 失敗した動物の数	到達時間 (秒)	失敗回数 / 失敗した動物の数
Control	12	7.73±0.75	0/0	37.78±15.90	62/10
カンカ 50	12	7.46±0.13	0/0	34.40±21.71	47/8
カンカ 200	11	7.14±0.18	0/0	16.99±9.06**	8/3**
カンカ 400	10	7.91±0.19	0/0	24.38±27.84	46/7
ピラセタム 400	10	8.00±0.46	0/0	24.08±32.52	54/6

## 2) 脳神経細胞のアポトーシス抑制作用 (*in vitro*, 杏輝社および北京大学によるデータ)

カンカニクジュヨウと同属である、ニクジュヨウの脳神経細胞における抗アポトーシス作用について検討を行いました<sup>5)</sup>。胎児ラット(14~16日齢)から採取した初代中脳神経細胞を培養し、神経毒である1-methyl-4-phenylpyridium ion (MPP<sup>+</sup>, 50 μmol/L)を用いて中脳神経細胞アポトーシスモデルを作成しました。その後、作成したアポトーシスモデルに対してニクジュヨウエキス(フェニルエタノイド配糖体含量: 50 μg/mL)を添加し、脳神経細胞を経時的に顕微鏡で観察しました。その結果、ニクジュヨウエキスは顕著に脳神経細胞アポトーシスを抑制することが明らかになりました。さらに、ニクジュヨウエキス添加群は、脳神経細胞元の成長が良好であり、軸索(細胞体より延びている突起状の構造で、神経細胞において信号の出力を担っている)がコントロール群(MPP<sup>+</sup>添加群)と比較して長く、正常群とほぼ同じ長さまで伸展を促進することが認められました(図10)。これらの結果より、ニクジュヨウエキスは障害を受けた脳神経細胞を回復させることによって、脳機能改善作用を有する事が明らかとなりました。また、同属であり各含有成分含量の多いカンカエキスにおいてもこれらの効果が期待できると考えられます。



Normal

Apoptosis induced by MPP<sup>+</sup>MPP<sup>+</sup>+ニクジュヨウ

図10. 脳神経細胞死の抑制作用

5) Research on anti-apoptosis mechanism of phenylethanoid glycosides in *Cistanche tubulosa* in middle brain neurons. *Chinese Pharmacology Communication.*, **19**(4), 50-51, 2002.

### 3) 神経細胞の保護作用 (*in vitro*)

カンカニクジュヨウの含有成分であるエキナコシドについて、TNF $\alpha$  によって誘導されるアポトーシスに対しての、ヒト神経芽細胞 (SHSY5Y) 保護作用が報告されています<sup>6)</sup>。SHSY5Y 細胞を培養後 ( $1 \times 10^4$  cell/well), 各評価分析の36時間前にエキナコシド (1,10 および 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) および TNF $\alpha$  (100  $\text{ng}/\text{mL}$ ) を添加しました。細胞の生存能力は MTT assay 法で評価を行い、細胞内の活性酸素種レベルは蛍光色素である 2,7-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H<sub>2</sub>DCFDA: この試薬は細胞内で代謝された後、蛍光が発生します。その蛍光強度は、細胞内の活性酸素レベルを定量的に反映できます) を用いて染色法で評価を行いました。さらに、カスパーゼ (細胞にアポトーシスを起こさせるシグナル伝達経路を構成する、一群のシステインプロテアーゼ) 活性をキットで評価しました。その結果、エキナコシド添加群は TNF $\alpha$  添加群と比較して濃度依存的に細胞の生存能力を有意に向上させる事が認められました (図 11)。また、エキナコシドは濃度依存的に活性酸素レベルを有意に抑制する作用が認められました (図 12)。さらに、アポトーシス実行型であるカスパーゼ-3 (アポトーシス誘導型カスパーゼなどによって活性化され、細胞内の他のタンパク質を分解してアポトーシスを起こさせる) 活性を濃度依存的に抑制する作用が有意に認められました (図 13)。これらの結果より、エキナコシドは神経芽細胞内の活性酸素種レベルおよびカスパーゼ-3 活性を抑制することによって、障害を受けた神経芽細胞を保護する作用を有する事が明らかとなりました。また、この作用はエキナコシドを多く含むカンカエキスにおいても同様であると考えられます。

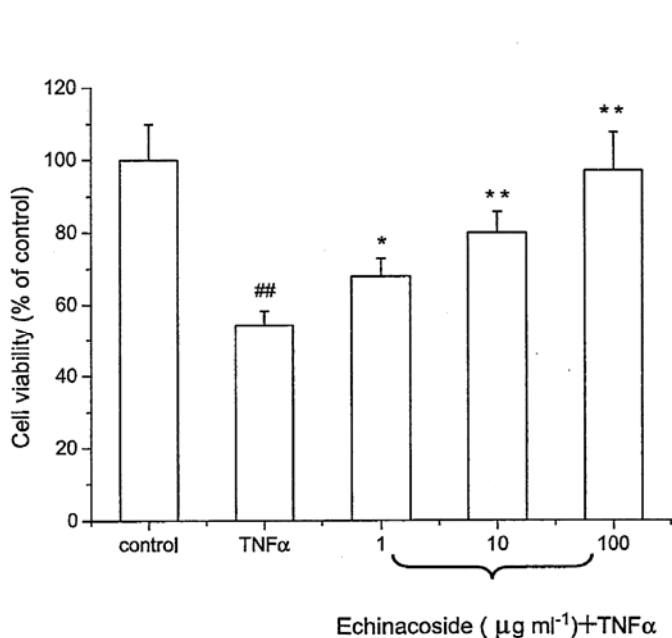
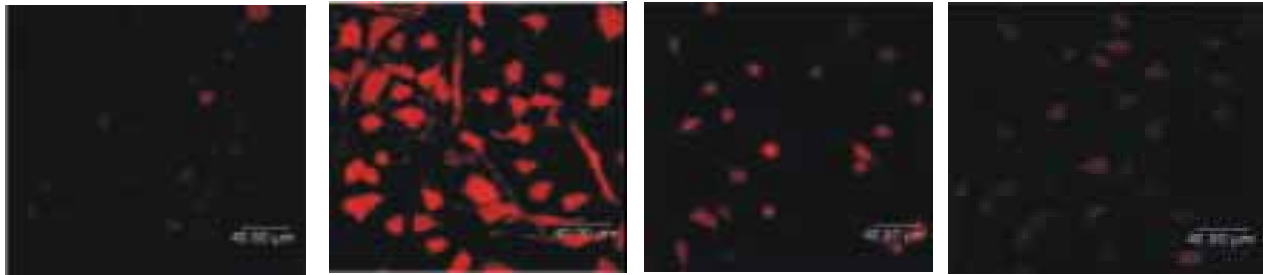


図 11. 神経芽細胞の生存能力  $n=8$ , \*:  $p<0.05$ , \*\*:  $p<0.01$  (TNF $\alpha$  との比較),  
###:  $p<0.01$  (control との比較)



Control                      TNFα 処理                      エキナコシド 10 μg/mL                      エキナコシド 100 μg/mL

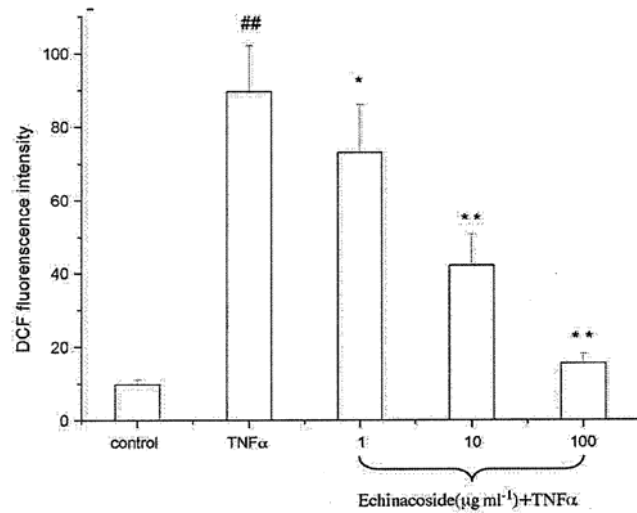


図 12. エキナコシドの活性酸素種レベル抑制作用  $n=8$ , \*:  $p<0.05$ , \*\*:  $p<0.01$  (TNFα との比較), #:  $p<0.01$  (control との比較)

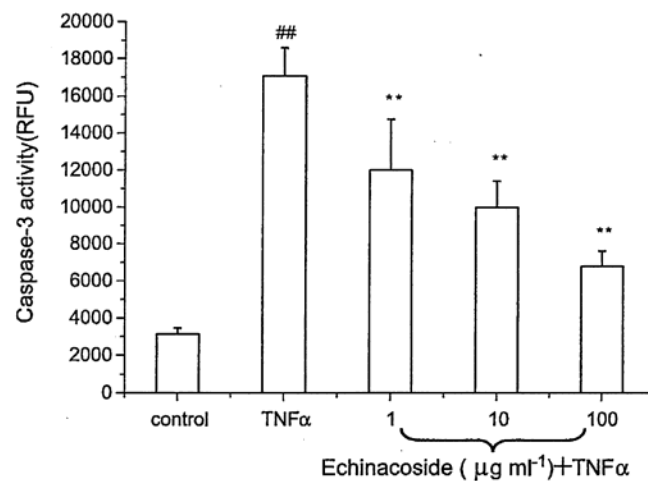


図 13. エキナコシドのカスパーゼ-3 活性阻害作用  $n=8$ , \*\*:  $p<0.01$  (TNFα との比較), #:  $p<0.01$  (control との比較)

6) Min D., *et al.*, Echinacoside rescues the SHSY5Y neuronal cells from TNFα-induced apoptosis. *European Journal of Pharmacology.*, **505**, 11-18, 2004.

#### 4) 脳の老化予防作用 (*in vitro*, オリザ油化によるデータ)

カンカエキスを用いて脳の老化予防作用を検討するために、ヒト神経芽細胞 (SK-N-SH) 増殖に及ぼす影響について、細胞の増殖度を MTT アッセイ法で評価を行いました。さらに、神経突起伸展に及ぼす影響について、経時の変化を顕微鏡にて観察しました。実験の結果、カンカエキスにおいて濃度依存的に神経芽細胞増殖作用が認められました (図 14)。さらに、顕微鏡写真において、カンカエキスはコントロールと比較して、より多くの神経突起の伸展が観察され、隣り合う細胞とのネットワーク形成も確認されました (図 15)。これらの結果より、カンカエキスは神経芽細胞の増殖を促進させ、また、神経芽細胞の神経突起の伸展を促進させることにより、神経芽細胞に障害が起っていない状態であっても、神経芽細胞が神経細胞に変化することを促進する可能性が示唆されました。これにより、脳の老化 (痴呆症など：痴呆症状をもたらす直接の原因はいずれも脳神経の変性・脱落である) を効果的に予防し、また、脳の機能を更に向上させることができると考えられます。また、含有成分であるエキナコシドおよびアクテオシドも同様に増殖作用が認められ、エキナコシドにおいては低濃度で有意差が認められました (図 16)。さらに、エキナコシドおよびアクテオシドについても同様に神経突起伸展作用が認められました (図 17)。これらのことより、カンカエキスのヒト神経芽細胞増殖作用および神経突起伸展作用の一部に、エキナコシドおよびアクテオシドが関与している事が示唆されました。

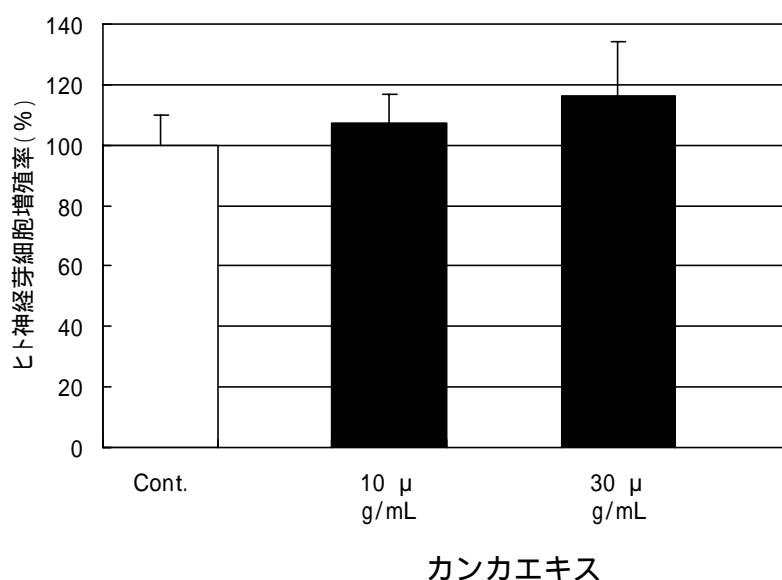


図 14. カンカエキスのヒト神経芽細胞増殖作用 (% of Control, 平均値 ± 標準偏差,  $n=5$ )



図 15. カンカエキスの神経突起進展作用（顕微鏡写真 400 倍）

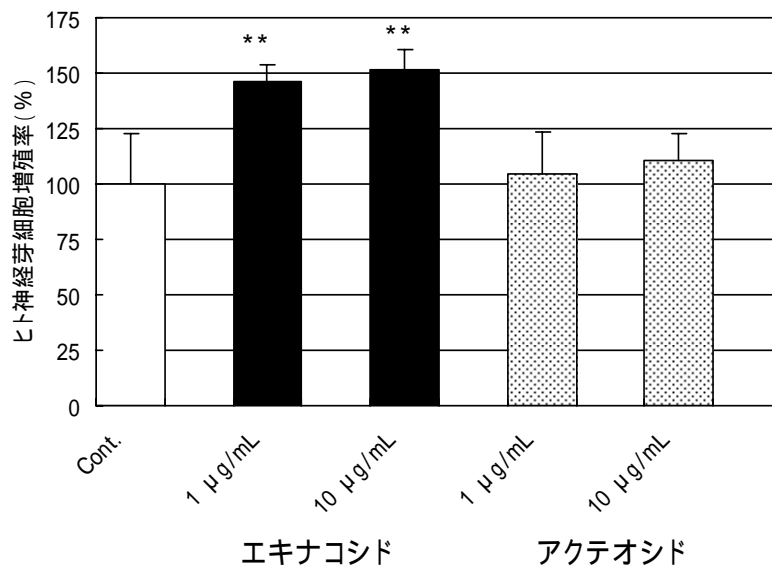


図 16. エキナコシドおよびアクテオシドのヒト神経芽細胞増殖作用  
 (% of Control, 平均値 ± 標準偏差, n=5. \*\*: p<0.01)

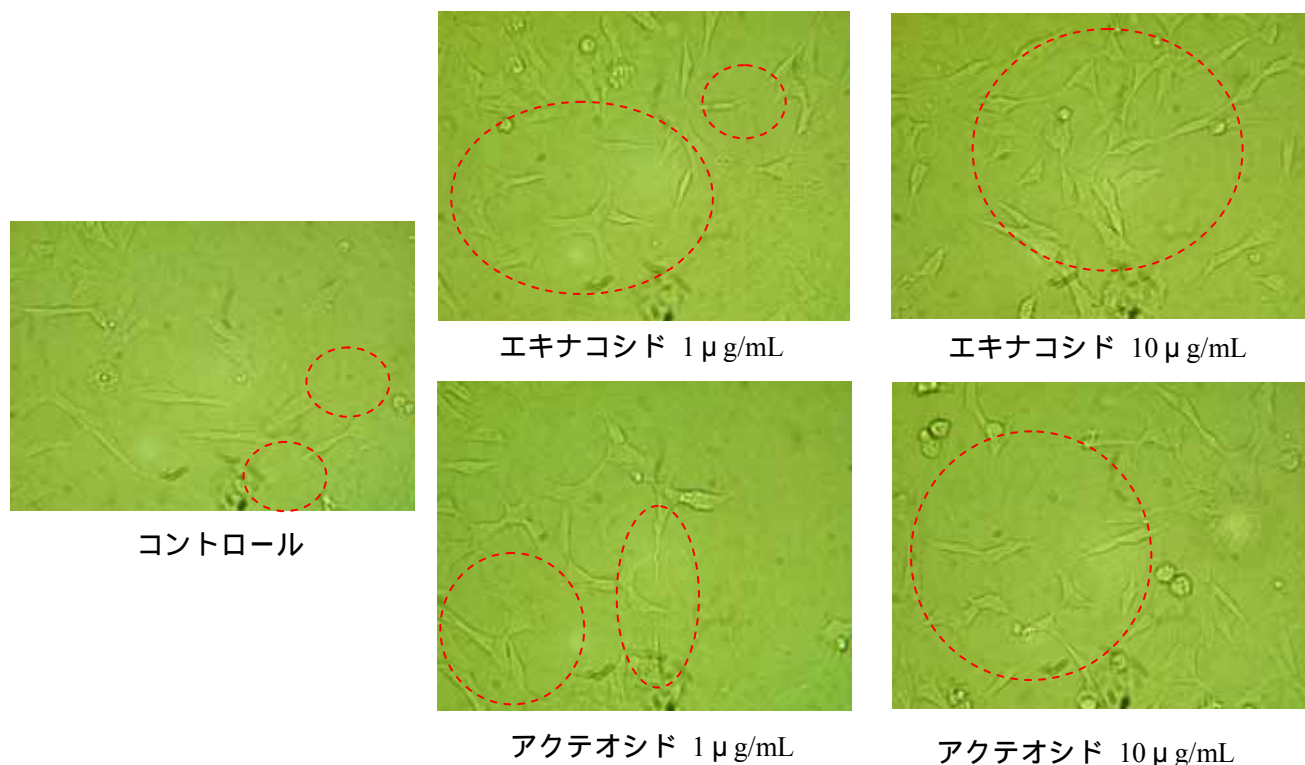


図 17. エキナコシドおよびアクテオシドの神経突起進展作用（顕微鏡写真 400 倍）

【実験方法】

ヒト神経芽細胞（SK-N-SH）を MEM 培地（10%FCS, 100 units/mL ペニシリン, 100  $\mu$ g/mL ストレプトマイシン含有）にサスペンド（ $1 \times 10^4$  cells/mL）し, 60 mm のシャーレに 5mL ずつ播種した。各種濃度に調製したカンカエキスを添加し, 経時変化を顕微鏡にて観察した。また, 培養 5-6 日目の細胞について, 細胞の増殖度を MTT アッセイ法で評価した。

## 5) マウス脳虚血再灌流モデルに及ぼす作用 (*in vivo*)

カンカニクジュヨウと同属であるニクジュヨウについて, 脳虚血再灌流に及ぼす影響および海馬 CA<sub>1</sub> 部位（脳の記憶や空間学習能力に関わる脳の器官であり, 虚血に対して非常に弱く, アルツハイマー病における最初の病変部位である）のアポトーシスに対する保護作用が報告されています<sup>7)</sup>。マウスを 5 グループ〔偽手術群, 脳虚血群, 脳虚血再灌流群, 脳虚血再灌流 + 陽性対照（イチョウ葉エキス）群および脳虚血再灌流 + ニクジュヨウエキス群〕に群分けし, 各サンプルを 8 日間経口投与しました。最終投与 1 時間後に麻酔下で右側の頸動脈を 3 時間絹糸で結紮して, 脳虚血モデルを作成しました。その 24 および 48 時間後に再灌流を行い, 脳虚血再灌流モデルを作成しました。脳虚血面積値は脳切片を染色して測定し, 脳虚血再灌流 24 時間後の脳海馬 CA<sub>1</sub> 部位のアポトーシス率はキットを用いて TUNEL 法で評価しました。その結果, ニクジュヨウエキス群はコントロール群（脳虚血再灌流群）と比較して, 脳虚血を有意に改善

するとともに再灌流後(24 および 48 時間後)に受けるダメージに対しても有意に抑制する事が認められました(表 2)。また,脳虚血再灌流 24 時間後の脳海馬 CA<sub>1</sub> 部位におけるアポトーシス率を抑制し,陽性対照のイチョウ葉エキスとほぼ同等な作用を有する事が認められました(図 18)。これらの結果より,ニクジュヨウは脳海馬のアポトーシスを抑制することにより,脳細胞を保護し,脳梗塞およびアルツハイマー病に対して予防作用を有する事が明らかとなりました。また,この作用は同属且つ各含有成分の高いカンカエキスにおいても同様であると考えられます。

表 2. マウスにおける脳虚血再灌流に及ぼす影響(平均値 ± 標準偏差, \*\*:  $p < 0.01$ ,  $n = 13-18$ )

Group	Dose (mg/kg)	0h	24h	48h
		脳虚血面積値 (%)		
偽手術群		0	0	0
脳虚血群		57.47±5.37		
脳虚血再灌流群		56.96±6.43	72.98±6.57	60.45±6.06
イチョウ葉エキス群	100	20.32±3.45**	25.67±5.38**	23.83±3.78**
ニクジュヨウ群	62.5	27.23±5.66**	31.13±3.92**	22.27±5.32**
ニクジュヨウ群	125	21.45±4.47**	25.81±6.74**	20.06±4.69**
ニクジュヨウ群	250	22.03±6.22**	25.94±4.07**	22.14±4.75**

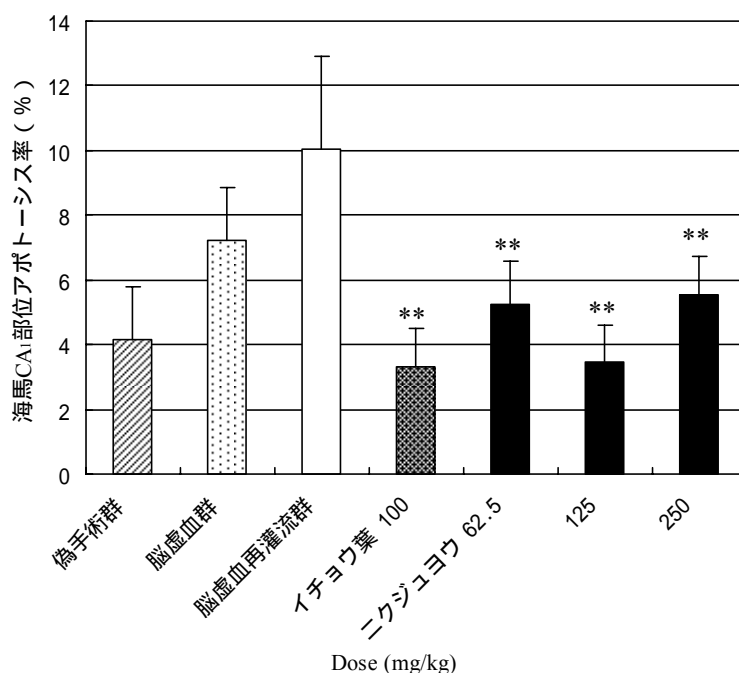


図 18. 脳虚血再灌流 24 時間後の脳海馬 CA<sub>1</sub> 部位におけるアポトーシス抑制作用(平均値 ± 標準誤差, \*\*:  $p < 0.01$ ,  $n = 10$ )

7) Xiao-wen Wang, *et al.*, Protective effects of glycosides of *Cistanche* on cerebral ischemia-reperfusion damage of brain tissue in CA<sub>1</sub> region of hippocampus in awake mice. *Stroke and Nervous Diseases.*, **10**(6), 325-328, 2003.

## 6) 脳内神経伝達物質に及ぼす作用 (*in vivo*)

カンカニクジュヨウと同属であるニクジュヨウに、脳内神経伝達物質の含量を増加させる作用が報告されています<sup>8)</sup>。各サンプルをラットに40日間連続投与しました。最終投与日の12時間後にラットから脳を採取して、HPLC-ECD法を用いてドーパミン(DA)、ノルアドレナリン(NA)およびセロトニン(5-HT)等の脳内神経伝達物質を測定しました。その結果、ラット視床下部のNAおよびセロトニンの代謝物である5-HIAA含量が有意に増加しました(表3)。また、DAとその代謝物であるDOPACの割合も有意に増加しました(表4)。これらの結果より、ニクジュヨウエキスは脳内神経伝達物質の含量を増加させることによって、脳機能改善作用を有することが認められました。また、同属であり各含有成分含量の多いカンカエキスにおいてもこれらの効果が期待できると考えられます。

表 3. 脳内神経伝達物質含量に及ぼす影響 (μg/g 組織重量, 平均値 ± 標準偏差, n=6)

(mg/kg)	DA	DOPAC	NA	5-HT	5-HIAA
Cont.	0.42±0.05	0.08±0.02	1.58±1.09	1.84±0.15	0.85±0.15
ニクジュヨウ 200	0.48±0.06	0.08±0.01	1.69±0.18	2.04±0.26	1.02±0.17
ニクジュヨウ 400	0.46±0.04	0.06±0.01	1.98±0.19**	2.27±0.30	1.04±0.13*

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

表 4. 脳内神経伝達物質含量と代謝物質含量との割合に及ぼす影響 (μg/g 組織重量, 平均値 ± 標準偏差, n=6)

(mg/kg)	DA/DOPAC	5-HT/5-HIAA
Cont.	5.64±1.41	2.16±0.23
ニクジュヨウ 200	5.81±0.67	2.04±0.35
ニクジュヨウ 400	7.62±1.20*	2.19±0.17

\*:  $p < 0.05$

8) Influence of *Cistanche* on the amount of monoaminergic neurotransmitters in rat brain. *Chinese Herb*, 24(8), 417-419, 1993.

## 7) 脳梗塞および心筋梗塞予防作用 (*in vivo*)

### ラットにおける血小板の凝集抑制作用 (杏輝社および北京大学によるデータ)

ラットにおけるカンカエキスの血小板の凝集に対する影響について評価を行いました。各サンプル(陽性対照:アスピリン)をラットに7日間経口投与し、最終投与から1時間後に、血液を大動脈から採取しました。その後、血小板の凝集を引き起こす adenosine disodium diphosphate (ADP) 溶液を加えて SPA-4 多機能血小板凝集計を用いて凝集率を測定しました。その結果、カンカエキス群はコントロール群と比較して血小板の凝集抑制作用が有意に認められました(図19)。また、陽性対照薬物であるアスピリンとほぼ同等の作用が認められました。

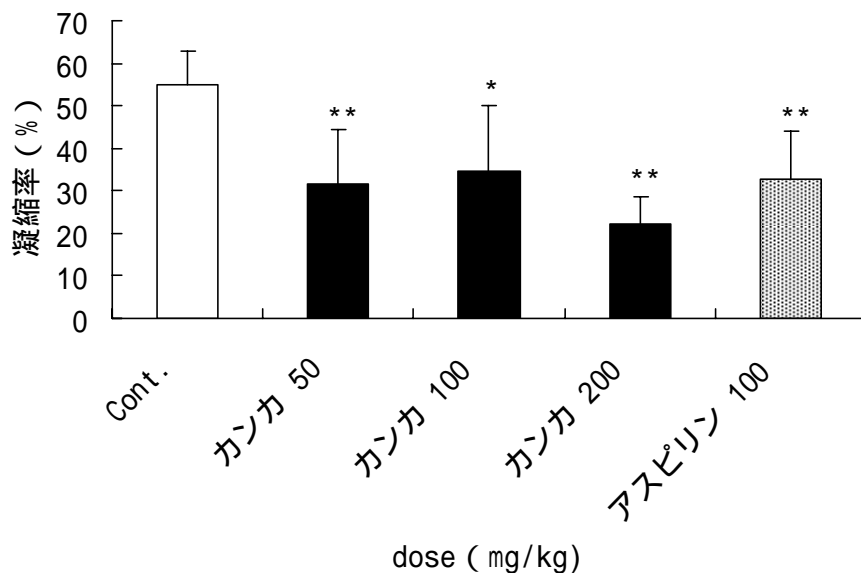


図 19. カンカエキスの血小板凝集抑制作用 (平均値 ± 標準偏差, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ,  $n = 10-11$ )

## ラットにおける血栓形成抑制作用(杏輝社および北京大学によるデータ)

ラットにおけるカンカエキスの静脈バイパスの血栓形成に対する影響について評価を行いました。各サンプル(陽性対照:アスピリン)をラットに7日間経口投与し、最終投与日に静脈のバイパスを単離して血栓重量を測定しました。その結果、カンカエキス群はコントロール群と比較して静脈バイパスの血栓形成阻害が有意に認められました(図20)。以上の結果よりカンカエキスは脳梗塞および心筋梗塞に対する予防作用が期待できると考えられます。

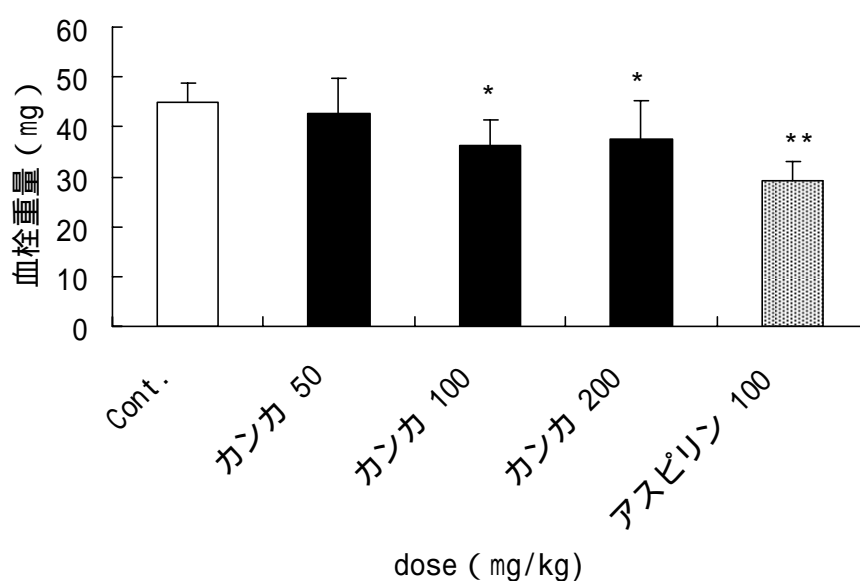


図20. カンカエキスの血栓形成抑制作用(平均値±標準偏差, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ )

## 8) ヒト臨床試験 (Phase I-III, 杏輝社データ)

### Phase I 臨床試験

#### 1.1 単回投与安全性試験

試験グループ	1	2	3	4	5	6	7
投与量 (mg/回)	150	300	600	900	1500	1800	2400
増加係数	1	2	4	6	10	12	16
被験者数	2	4	6	6	4	4	4

被験者数：30人

用法：経口投与（エキナコシド 25%以上，アクテオシド 3%以上）

試験結果：

全ての被験者における体温，呼吸頻度，心拍数，収縮期血圧，拡張期血圧，肝・腎機能，空腹時血糖，血液一般検査，尿一般検査，大便一般検査および心電図を測定した結果，異常変化がみられませんでした。また，試験中に各グループにおいて副作用もみられませんでした。以上の結果より，正常人における単回投与での安全性が認められました。

#### 1.2 継続投与安全性試験

被験者数：12人

研究機関：成都漢方医薬大学附属病院

投与期間：10日（開始時期：2001.11）

試験グループ	1	2
投与量 (mg/回)	600	900
被験者数	6	6

用法・用量：経口投与，1日3回（エキナコシド 25%以上，アクテオシド 3%以上）

試験結果：

全ての被験者における体温，呼吸頻度，心拍数，収縮期血圧，拡張期血圧，肝・腎機能，空腹時血糖，血液一般検査，尿一般検査，大便一般検査および心電図を測定した結果，異常変化がみられませんでした。また，試験中に各グループにおいて副作用もみられませんでした。以上の結果より，正常人における継続投与での安全性が認められました。

#### 1.3 結論

カンカニクジュヨウエキスの Phase I 臨床試験において，単回および継続投与安全性試験中に副作用および各観察パラメータの異常変化がみられませんでした。よって，臨床試験（Phase II, III）に使用するのが安全であることが明らかになりました。また，Phase II, III 臨床試験において，経口投与，1回 600 mg，1日3回（エキナコシド 25%以上，アクテオシド 3%以上）の用量としました。

## Phase II 臨床試験

2.1 試験方法：倫理委員会が許可した試験方法に従って、二重盲検試験法を用いて5つの研究機関で行いました。すなわち、陽性対照比較に医薬品（Hydergine<sup>\*1</sup>）を使用して、被験者を無作為に試験群と対照群に分けて、3ヶ月間の投与を行いました。被験物質を服用させる前後の患者における認知機能状態（Mini Mental State Examination: MMSE）、社会生活能力（Berg Balance Scale: BBS）、日常生活能力（Ability of Daily Living: ADL）および医師による診察を通じて、カンカニクジュヨウエキスが血管性痴呆に対する臨床治療効果に及ぼす影響を陽性対照群と比較して評価しました。また、臨床治療時における安全性も同時に評価しました。

研究機関：福建省漢方医薬研究院，戸州医学院附属漢方病院，陝西漢方医薬大学附属病院，西安市漢方病院，成都漢方医薬大学附属病院。

試験期間：2002.3～2002.10

2.2 被験者数：カンカニクジュヨウエキス群：120人  
 陽性対照群（医薬品：Hydergine）：120人  
 投与期間：3ヵ月  
 投与量：経口投与，1回600mg，1日3回

### 2.3 試験結果

#### 2.3.1 有効性結果

総有効率	認知機能状態 (MMSE)	社会生活能力 (BBS)	日常生活能力 (ADL)	医師の診察 (症状)
カンカエキス群	75.66%	66.09%	50.43%	84.35%
陽性対照群	72.32%	54.46%	40.18%	70.54%

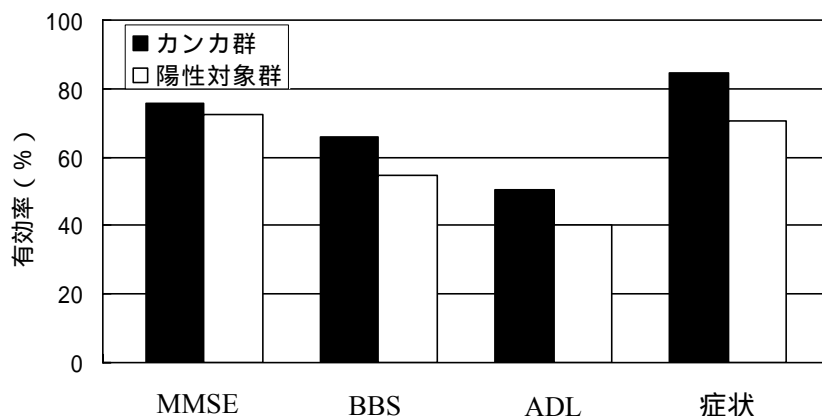


図 21. カンカエキス群および陽性対照群における各パラメータ比較 (Phase II)

## 2.3.2 各程度の病状に対する有効性分析（カンカエキス群）

血管性痴呆患者レベル	治癒傾向率	改善	変化なし	悪化
軽度(46人)	63.04%	-	34.78%	2.17%
中度(61人)	34.43%	44.26%	21.31%	0.00%
重度(9人)	22.22%	55.56%	22.22%	-

中度患者において、カンカエキス群は陽性対照群より有効でした。

重度および軽度患者において、カンカエキス群は陽性対照群とほぼ同じ結果でした。

## 2.3.3 各施設での有効性比較

カンカエキスの血管性痴呆患者に対する Phase II 臨床試験において、5つの研究機関での有意差はみられませんでした ( $p>0.05$ )。このことから、各研究機関での有効性は同じだと考えられます。

## 2.4 長期有効性

カンカニクジュヨウエキスの血管性痴呆に対する Phase II 臨床試験において、その長期有効性を調べるために、試験終了3ヵ月後に認知機能状態について各患者宅を訪問し、アンケート調査（訪問調査）を行いました。その結果、カンカエキス群は試験終了3ヵ月後、認知機能状態においての有効性がキープされた、または改善されたことが認められ、有効率は90.32%でした。一方、陽性対照群では有効率が78.05%でした。また、カンカエキス群の被験者の訪問調査時における認知機能状態を評価するスコアは、投与前より  $7.89 \pm 4.40$  点上がり、投与終了時点より  $0.35 \pm 2.95$  点高くなりました。一方、陽性対照群において、被験者の認知機能状態を評価するスコアは投与前より  $5.73 \pm 3.23$  点上がったが、投与終了時点より  $0.80 \pm 1.58$  点低くなりました。以上の結果より、両群の訪問調査結果を比較して、有意差がみられました ( $p<0.05$ )。このことから、カンカエキス群の長期有効性は陽性対照群（Hydergine）より高いと考えられます。

## 2.5 安全性評価について

両群における投与前後の血液一般検査、尿一般検査、大便一般検査、肝機能（ALT）、腎機能（BUN, Cr）および心電図データに対して分析した結果、カンカニクジュヨウエキスは安全性指標に悪影響がないと認められました。陽性対照群（Hydergine）と比べて、心電図データへの影響において有意差が認められましたが ( $p<0.05$ )、他の安全性指標において有意差が認められませんでした ( $p>0.05$ )。

## 2.6 結論

以上の臨床試験結果より、カンカニクジュヨウエキスの血管性痴呆治療に対する有効性が認められました。また、臨床試験中に毒性および副作用などがみられなかったことから、カンカニクジュヨウエキスは血管性痴呆治療に有効かつ安全であることが明らかとなりました。

### Phase III 臨床試験

3.1 試験方法：倫理委員会が許可した試験方法に従って、二重盲検試験法を用いて4つの研究機関で行いました。すなわち、陽性対照比較に医薬品（Hydergine）を使用して、Phase II よりも多くの被験者を無作為に試験群と対照群に分けて、3ヶ月間の投与を行いました。被験物質を服用させる前後の患者における認知機能状態（MMSE）、社会生活能力（BBS）、日常生活能力（ADL）および医師による診察を通じて、カンカニクジュヨウエキスが血管性痴呆に対する臨床治療効果に及ぼす影響を陽性対照群と比較して評価しました。また、臨床治療時における安全性も同時に評価しました。

研究機関：成都漢方医薬大学付属病院，西安市漢方病院，戸州医学院付属漢方病院，福建省漢方医薬研究院。

試験期間：2002.12～2003.8

3.2 被験者数：カンカニクジュヨウエキス群：333人  
陽性対照群（医薬品：Hydergine）：111人

投与期間：3ヵ月

投与量：経口投与，1回600mg，1日3回

### 3.3 試験結果

#### 3.3.1 有効性結果

総有効率	認知機能状態 (MMSE)	社会生活能力 (BBS)	日常生活能力 (ADL)	医師の診察 (症状)
カンカエキス群	77.74%	72.10%	57.37%	91.19%
陽性対照群	64.15%	62.26%	38.68%	66.98%

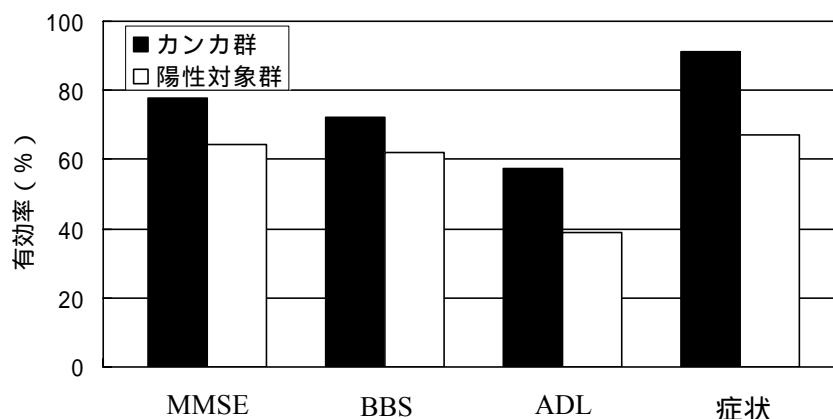


図 22. カンカエキス群および陽性対照群における各パラメータ比較 (Phase III)

### 3.3.2 各程度の病状に対する有効性分析（カンカエキス群）

血管性痴呆 患者のレベル	治癒傾向 率	改善	変化なし	悪化
軽度(137人)	83.94%	-	16.06%	0.00%
中度(182人)	37.36%	49.45%	13.19%	0.00%
重度(3人)	66.67%	33.33%	0.00%	-

中度および軽度患者において、カンカエキス群は陽性対照群より有効でした。重度患者が陽性対照群には含まれませんでした。

### 3.3.3 各施設での有効性比較

カンカエキスの血管性痴呆患者に対する Phase III 臨床試験において、4つの研究機関での有意差はみられませんでした ( $p>0.05$ )。このことから、各研究機関での有効性は同じだと考えられます。

### 3.4 長期有効性

カンカニクジュヨウエキスの血管性痴呆に対する Phase III 臨床試験において、その長期有効性を調べるために、試験終了3ヵ月後に認知機能状態について各患者宅を訪問し、アンケート調査（訪問調査）を行いました。その結果、カンカエキス群は試験終了3ヵ月後、認知機能状態においての有効性がキープされた、または改善されたことが分かり、有効率は64.71%でした。一方、陽性対照群では有効率が69.77%でした。また、カンカエキス群の訪問調査時における被験者の認知機能状態を評価するスコアは、投与前より  $5.39 \pm 3.26$  点上がり、投与終了時点より  $1.71 \pm 2.43$  点低くなりました。一方、陽性対照群では被験者の認知機能状態を評価するスコアは、投与前より  $4.47 \pm 2.70$  点上がったが、投与終了時点より  $1.47 \pm 1.84$  点低くなりました。訪問調査した両群は比較できないので、両群の比較は行いませんでした。

### 3.5 安全性評価について

カンカニクジュヨウエキスの Phase III 臨床試験において、両群の一般状態、安全性指標に悪影響がないと認められました。

### 3.6 結論

以上の臨床試験結果より、カンカニクジュヨウエキスの血管性痴呆治療に対する有効性が認められました。また、臨床試験中に毒性および副作用などが認められなかったことから、カンカニクジュヨウエキスは血管性痴呆治療に有効かつ安全であることが、Phase II 臨床試験に続いてさらに証明されました。

\*1: Hydergine（ヒデルギン，一般名：メシル酸ジヒドロエルゴトキシン，ノバルティス社）

脳代謝・末梢血液循環改善薬。末梢の血管の緊張をやわらげて血管を拡張し、血液の流れを良くする作用があります。また、脳への酸素および血液供給を促進し、脳細胞の代謝を改善します。

## (2) 抗老化作用

### 1) 活性酸素種阻害作用 (*in vitro*)

ニクジュヨウ抽出物（フェニルエタノイド配糖体を主成分とする画分）について活性酸素種阻害作用および DNA 保護作用が報告されています<sup>9)</sup>。活性酸素種（ $O_2^-$ : スーパーオキシド,  $\cdot OH$ : ヒドロキシルラジカル,  $H_2O_2$ : 過酸化水素,  $^1O_2$ : 一重項酸素）の阻害作用について、化学発光法を用いて  $IC_{50}$ （50%阻害するサンプル濃度）を測定しました。また、ヒドロキシルラジカルによる DNA 障害に対する保護作用についても同様な方法で  $IC_{50}$  をもとめました。その結果、ニクジュヨウ抽出物は非常に強く活性酸素種を阻害し、且つ活性酸素によって障害を受けた DNA を保護する作用（ $IC_{50}$ : 0.4211  $\mu g/mL$ ）が認められました。各活性酸素種に対する  $IC_{50}$  は表 5 にまとめました。以上の結果よりニクジュヨウ抽出物に活性酸素種阻害作用に基づく抗老化作用が認められ、この作用は、同属であり各含有成分の多いカンカニクジュヨウにも期待できると考えられます。

表 5. ニクジュヨウの各活性酸素種に及ぼす阻害作用

活性酸素種	$IC_{50}$ (mg/mL)
$O_2^-$ (スーパーオキシド)	0.0731
$\cdot OH$ (ヒドロキシルラジカル)	7.031
$H_2O_2$ (過酸化水素)	0.098
$^1O_2$ (一重項酸素)	0.1254

9) Xiaowen W., *et al.*, Free radical scavenging ability from *Cistanche* glucosides and its protection ability against DNA damage induce by OH. *Chinese Pharmaceutical Journal*, **36**(1), 29-32, 2001.

### 2) マウスにおける SOD 活性上昇作用および脂質過酸化抑制作用 (*in vivo*)

ニクジュヨウ抽出物（フェニルエタノイド配糖体を主成分とする画分）について SOD 活性上昇作用および脂質過酸化抑制作用が報告されています<sup>10)</sup>。マウスを用いて、各サンプルを 18 日間経口投与しました。最終投与の 2 時間後に、血液を採取し、赤血球内の SOD 活性および血清 MDA（マロンジアルデヒド）含量を測定しました。さらに、各臓器（心臓、脳、肝臓および腎臓）における DNA および RNA 含量に及ぼす影響について評価しました。その結果、ニクジュヨウ抽出物はコントロール群と比較して有意に SOD 活性を増加させると共に、

MDA 含量を抑制する作用が認められました (図 23)。さらに、肝臓と腎臓において DNA および RNA 含量を増加させる事が明らかとなりました (表 6, 7)。以上の結果よりニクジュヨウ抽出物に脂質過酸化抑制作用および抗酸化活性に基づく抗老化作用が認められ、この作用は、同属であり各含有成分の多いカンカニクジュヨウにも期待できると考えられます。

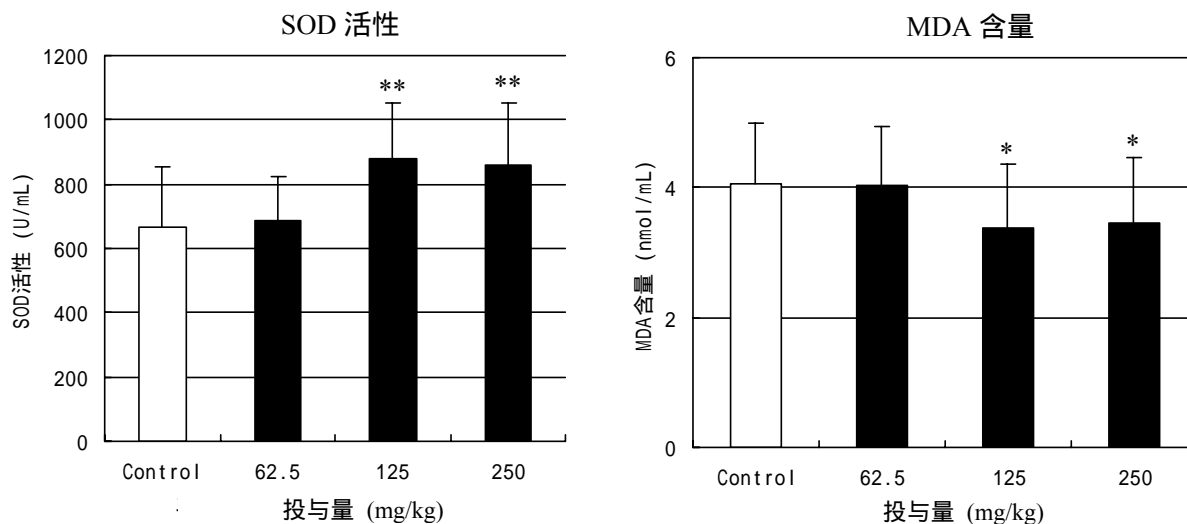


図 23. マウスにおける SOD 活性上昇作用および脂質過酸化抑制作用 (平均値 ± 標準偏差, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ,  $n = 20-30$ )

表 6. 各臓器の DNA 含量に及ぼす影響 (平均値 ± 標準偏差, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ,  $n = 20-30$ )

Dose(mg/kg)	DNA ( $\mu\text{g}/100\text{mg}$ )			
	心臓	脳	肝臓	腎臓
Cont.	72.2±13.3	53.7±14.1	96.1±17.0	141.6±20.7
ニクジュヨウ 62.5	73.7±14.2	58.7±20.0	96.4±10.2	146.2±20.9*
125	72.2±14.6	58.1±16.6	105.3±10.6*	163.4±22.2**
250	73.4±12.5	63.3±18.6	109.7±17.8**	164.3±19.2**

表 7. 各臓器の RNA 含量に及ぼす影響 (平均値 ± 標準偏差, \*\*:  $p < 0.01$ ,  $n = 20-30$ )

Dose(mg/kg)	RNA ( $\mu\text{g}/100\text{mg}$ )			
	心臓	脳	肝臓	腎臓
Cont.	76.1±17.9	81.2±17.3	253.5±56.7	133.4±17.9
ニクジュヨウ 62.5	78.3±18.3	80.7±17.1	252.6±42.9	142.9±28.9
125	76.4±18.4	81.4±15.3	299.5±52.9**	161.3±27.8**
250	77.0±13.8	90.6±18.2	319.9±39.5**	167.3±25.6**

10) Linlin L., et al., Effects on *Cistanche* glycosides anti-lipid peroxidation and anti-radiation. *China Journal of Chinese Material Medicine*, 22(6), 364-367, 1997.

### 3) カンカニクジュヨウとニクジュヨウの脂質過酸化抑制作用比較 (*in vitro*, *in vivo*)

カンカニクジュヨウおよびニクジュヨウ抽出物の脂質過酸化抑制作用における比較が以下の試験によって報告されています<sup>11)</sup>。

#### 1. ウサギの血中における脂質過酸化抑制作用 (*in vitro*)

ウサギの全血と、カンカニクジュヨウおよびニクジュヨウ抽出物を培養した後、血清中脂質過酸化の指標となるマロンジアルデヒド (MDA) 含量を TBA 法にて測定しました。その結果、コントロールと比較して、カンカニクジュヨウおよびニクジュヨウ抽出物は、血清中 MDA 含量を有意に減少させました (図 24)。その作用は、カンカニクジュヨウの方が、ニクジュヨウより強いことがわかりました。

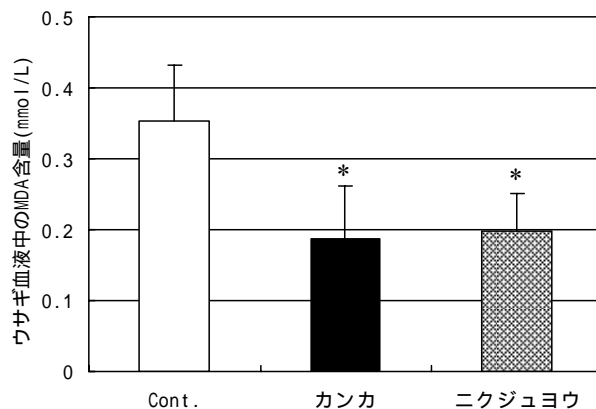


図 24. ウサギの血中における脂質過酸化抑制作用 (平均値 ± 標準偏差, \*:  $p < 0.05$ ,  $n = 8$ )

#### 2. マウスの肝臓における脂質過酸化抑制作用 (*in vitro*)

マウス肝臓のホモジネートと、カンカニクジュヨウおよびニクジュヨウ抽出物を培養した後、培養上清中の MDA 含量を TBA 法にて測定しました。その結果、コントロールと比較して、カンカニクジュヨウおよびニクジュヨウ抽出物は、培養上清中 MDA 含量を有意に減少させました (図 25)。その作用は、カンカニクジュヨウの方が、ニクジュヨウより強いことがわかりました。

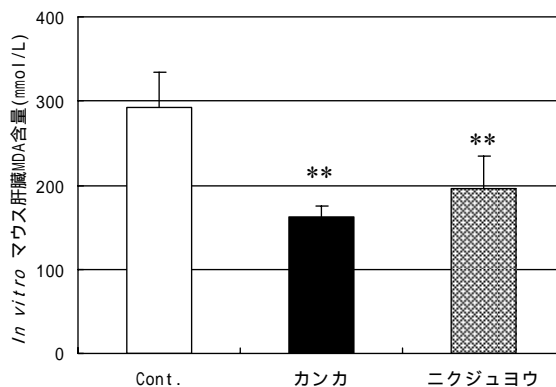


図 25. マウスの肝臓における脂質過酸化抑制作用 (平均値 ± 標準偏差, \*\*:  $p < 0.01$ ,  $n = 8$ )

### 3. 各サンプルを経口投与したマウスの肝臓における脂質過酸化抑制作用 (*in vivo*)

マウスにカンカニクジュヨウおよびニクジュヨウ抽出物を1日1回、連続10日間経口投与しました。11日目に、マウス肝臓ホモジネートのMDA含量をTBA法にて測定しました。その結果、コントロール群と比較して、カンカニクジュヨウおよびニクジュヨウ抽出物は、肝臓MDA含量を有意に減少させました(図26)。以上の結果よりカンカニクジュヨウおよびニクジュヨウ抽出物の脂質過酸化抑制作用は同等である事が明らかとなりました。

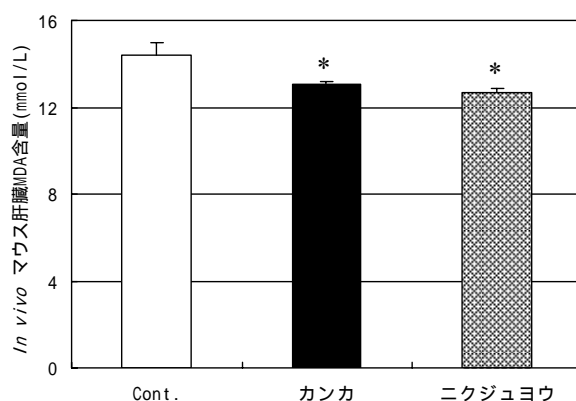


図26. マウスの肝臓における脂質過酸化抑制作用( 平均値 ± 標準偏差, \*:  $p < 0.05$ ,  $n = 6$ )

11) Dawen S., *et al.*, The effects of traditional Chinese medicine *Cistanche* species on the immune function and lipid peroxidation. *Acta Academiae Medicinae Shanghai*, **22**(4), 306-308, 1995.

### 4) 老化モデルマウスに対する抗老化作用 (*in vivo*)

カンカエキスの活性成分であるエキナコシド (ECH) に老化モデルマウス (D-ガラクトース投与) に対する抗老化作用が報告されています<sup>12)</sup>。マウスにD-ガラクトースを1日1回、連続6週間皮下投与し、老化モデルマウスを作製しました。各サンプルは同様の期間経口投与し、陽性対照群にはビタミンE (VE) を用いました。最終投与後の翌日に採血および各臓器 (心臓, 肝臓, 腎臓および脳) を摘出しました。心臓, 肝臓, 腎臓および脳組織に対して, EPR (electron paramagnetic resonance) 法を用いて, 活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) レベルを測定しました。また, 体内酸化防御システムの指標として血液中のGSH-Px活性をDTNB法[5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)法]にて, 血清のSOD活性をEPR法にて測定しました。さらに, 肝臓のMDA含量をTBA法にて, 脳内のMAO活性 (monoamine oxydase) を, MAO活性測定キットを用いて測定しました。その結果, 老化モデルマウス群と比べて, エキナコシド群は心臓, 肝臓,

腎臓および脳組織において活性酸素種レベルを有意に改善しました(図 27)。また、エキナコシドおよびビタミン E は有意に血液中の GSH-Px 活性および血清 SOD 活性を上昇させました。さらに、エキナコシドおよびビタミン E は脳内 MAO 活性および肝臓 MDA 含量を有意に減少させました(表 8)。以上の結果から、カンカエキスの活性成分であるエキナコシドは抗老化作用を有することが明らかになりました。さらに、その抗老化作用のメカニズムに、エキナコシドの抗酸化作用、肝臓 MDA 含量抑制作用および脳内 MAO 活性低下作用が関与していると考えられます。

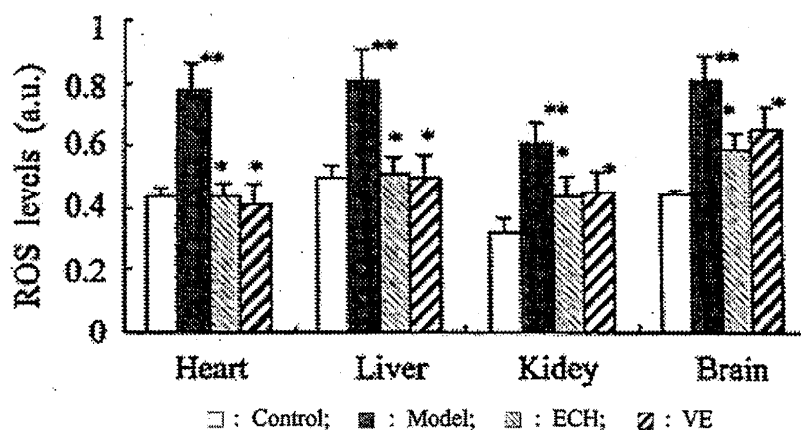


図 27. マウスの各臓器における活性酸素種 (ROS) レベルに与える影響( 平均値 ± 標準偏差, \*\*:  $p < 0.01$  vs control group \* :  $p < 0.01$  vs model group, ECH: 50 mg/kg, VE: 50 mg/kg,  $n=10$ )

表 8. エキナコシドのマウス血中 GSH-Px, 血清 SOD 活性, 肝臓 MDA 含量および脳内 MAO 活性に及ぼす影響 (平均値 ± 標準誤差,  $n=10$ )

	GSH-Px (U/mgprot)	SOD (U <sub>ESR</sub> /ml)	MDA (nmol/mgprot)	MAO (U/h/mgprot)
Control	60.63±7.80	350.5±11.3	1.52±0.20	24.76±1.19
Model	32.99±10.75 **	300.0±14.2**	2.46±0.32**	28.09±3.76**
ECH (50 mg/kg)	54.27±7.97*	338.0±18.5*	1.95±0.21*	24.71±0.88*
VE (50 mg/kg)	45.87±7.42*	343.0±18.4*	1.95±0.37*	22.59±2.52*

\*\* $P < 0.01$  vs control group; \* $P < 0.01$  vs model group.

12) Gulinuer M., et al., Anti-aging function study on echinacoside. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 20(3), 183-187, 2004.

### (3) 美容作用(皮膚の抗老化作用)

#### 1) ヒアルロニダーゼ阻害作用 (*in vitro* , オリザ油化によるデータ)

ヒアルロニダーゼは、ヒアルロン酸の加水分解酵素であり、皮膚をはじめ動物組織に広く分布しています。本酵素の基質となるヒアルロン酸は、皮膚、靭帯、関節液、眼の硝子体などの組織に多く存在するムコ多糖の一種であります。例えば、皮膚においては、細胞の保護、栄養の運搬、細胞水分の保持、柔軟性の維持等に、また関節液として組織構造、機能の維持および潤滑性の保持等に、重要な役割を果たしています。皮膚や関節における生体ヒアルロン酸量は、老化または病的状態により減少することが知られており、その結果、皮膚の乾燥、肌荒れ、ハリ、弾力性の低下、シミ、シワの増加、あるいは関節の湿潤性悪化による関節痛等を引き起こします。そこで、皮膚の抗老化作用の一環として、カンカエキス、エキナコシドおよびアクテオシドを用いて、生体内（ヒト）で発現しているヒアルロニダーゼ（Type I）の阻害作用について評価しました。その結果、カンカエキスのヒアルロニダーゼ（Type I）阻害作用が認められました（図 28）。このことより、カンカエキスは生体内（ヒト）におけるヒアルロニダーゼ阻害作用を有する事が示唆されました。さらに、皮膚の抗老化作用についても可能性が示唆されました。また、エキナコシドおよびアクテオシドについてもヒアルロニダーゼ（Type I）阻害作用が認められました（図 29）。このことより、カンカエキスの生体内（ヒト）におけるヒアルロニダーゼ阻害作用の一部に、エキナコシドおよびアクテオシドが関与している事が示唆されました。

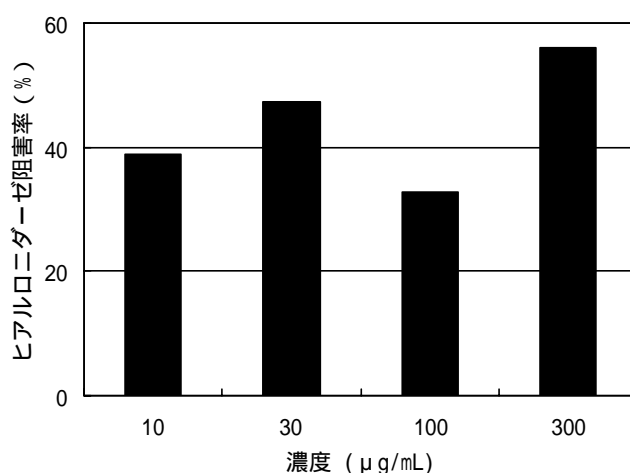


図 28. カンカエキスのヒアルロニダーゼ（Type I）阻害作用

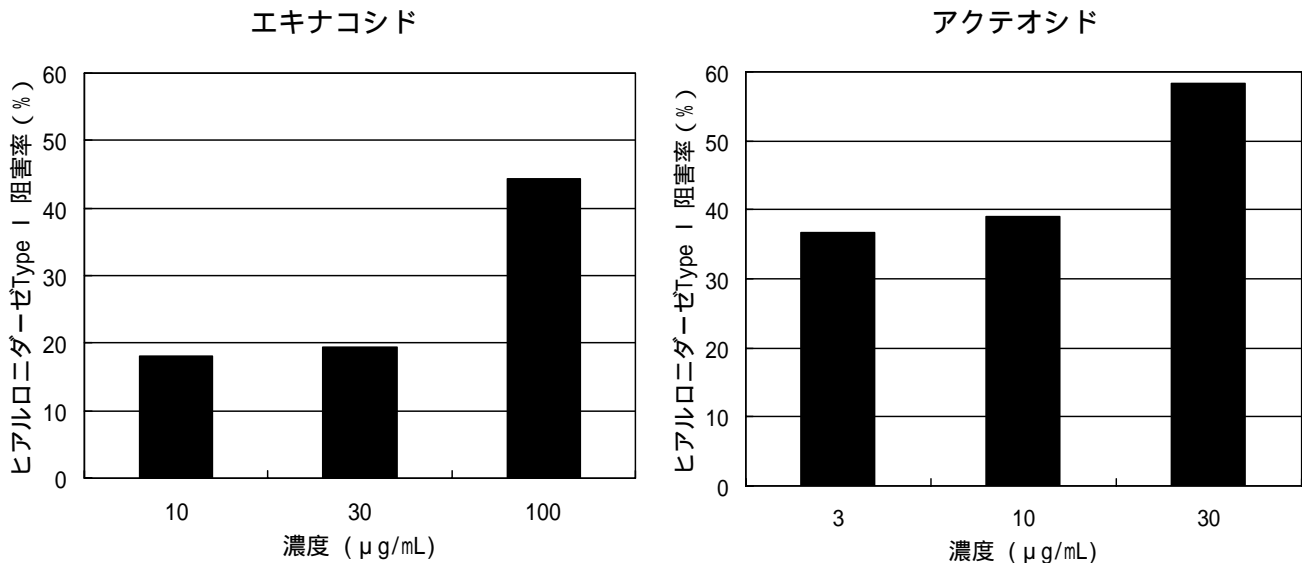


図 29. エキナコシド (左) およびアクテオシド (右) のヒアルロニダーゼ (Type I) 阻害作用

【方 法】酵素溶液 0.05 mL に酵素活性化剤 0.1 mL を加え、37 で 20 分間放置後、各サンプル溶液 0.1 mL を加え、さらに 37 で 20 分間放置後ヒアルロン酸溶液 0.25 mL を加え、37 で 40 分間反応させた。0.4N NaOH 0.1mL を加えて反応を停止させた後、ホウ酸溶液 0.1mL を加え、90 で 3 分間加熱した。氷冷後、P-Dimethylaminobenzaldehyde 3mL を加え、37 で 20 分間放置後、吸光度 (585 nm) を測定した。

## 2) エラスターゼ阻害作用 (*in vitro*, オリザ油化によるデータ)

エラスチンは、コラーゲンと同様に皮膚を構成する主要タンパク質で、皮膚などの伸展性に富んだ組織に多くみられます。皮膚の弾力性に関与しており、エラスチンがエラスターゼにより分解されると、皮膚の弾力性がなくなり、皮膚にシワやたるみが生じます。そこで、カンカエキス、エキナコシドおよびアクテオシドのエラスターゼに対する作用を Elastase Assay Kit を用いて調べました。その結果、カンカエキス、エキナコシドおよびアクテオシドに、濃度依存的なエラスターゼ阻害作用が認められました (図 30)。この結果より、カンカエキスのエラスターゼ阻害作用にエキナコシドおよびアクテオシドの関与が示唆されました。

【方 法】各サンプルをそれぞれ終濃度で 10,30,100,300,1000 μg/mL となるように 10% DMSO で調製し、96 ウェルプレートに 50 μL ずつ加えた。次に DQ エラスチン (100 μg/mL) を 50 μL 加えた後、エラスターゼ (0.2U/mL) を 100 μL 加えた。20 分後に蛍光光度 (励起波長: 485nm, 測定波長: 530nm) を測定した。

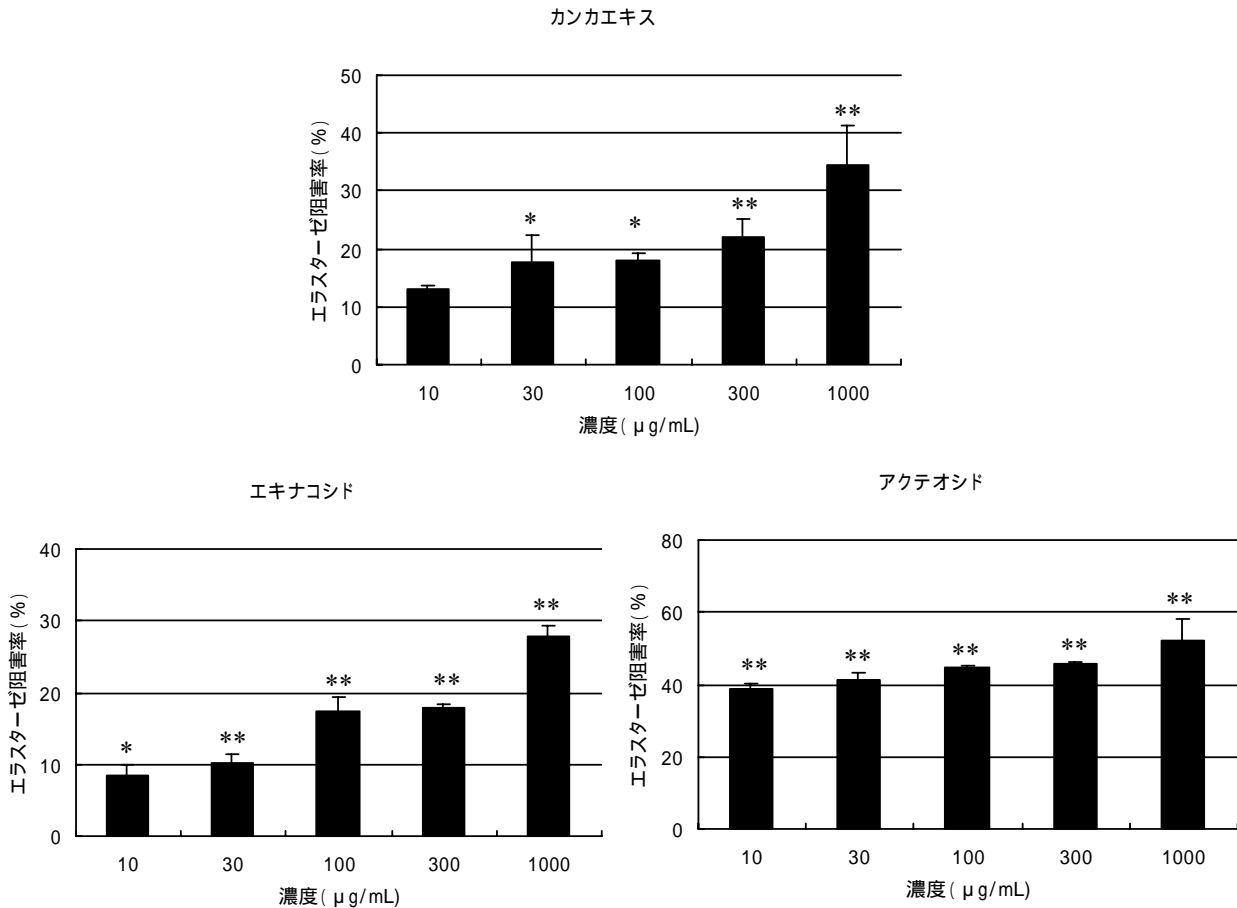


図 30. カンカエキス，エキナコシドおよびアクテオシドのエラスターゼ阻害作用（平均値 ± 標準誤差， $n=3$ ，\*： $p<0.05$ ，\*\*： $p<0.01$ ）

### 3) チロシナーゼ阻害作用 (*in vitro*，オリザ油化によるデータ)

肌のくすみや色黒，シミの原因は，メラニンです。生体内では，チロシナーゼの働きでチロシンからドーパキノンが生成し，その後，酸化反応などが進行してメラニンが生成されます。既にカンカエキスおよびアクテオシドにチロシナーゼ阻害作用<sup>13)</sup>が報告されているが，エキナコシドの関与は不明です。そこで，エキナコシドのチロシナーゼに対する作用を調べました。その結果，エキナコシドに，濃度依存的なチロシナーゼ阻害作用が認められました（図 31）。この結果より，カンカエキスのチロシナーゼ阻害作用に，アクテオシドの他にエキナコシドが関与していることが明らかとなりました。

13) 美白化粧品，特開 2005-82522 (2005.3.31).

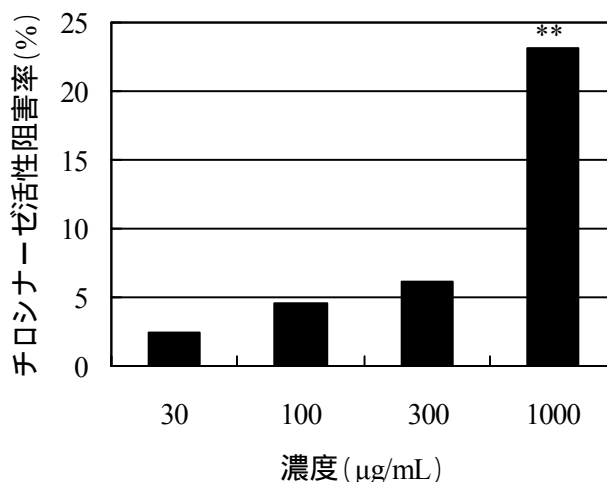


図 31. エキナコシドのチロシナーゼ阻害作用 ( $n=4$ , \*\*:  $p<0.01$ )

【方 法】各種濃度のサンプル溶液 (70  $\mu$ L/well) に, 0.3% L-DOPA (70  $\mu$ L/well) を添加し, 予備加温 (37  $^{\circ}$ C, 5 分間) 後, チロシナーゼ溶液 (mushroom 由来, 1.6 units/mL) を添加 (70  $\mu$ L/well) し, 37  $^{\circ}$ C で 5 分間反応させた。反応終了後, マイクロプレートリーダーを用いて吸光度 (492nm) を測定した。

#### 4) 皮膚光老化予防作用 (*in vivo*, オリザ油化によるデータ)

皮膚の老化現象は, 紫外線によって発生する活性酸素が原因の一つとなって引き起こされます。そこで, 皮膚の抗老化作用として, 光老化マウス (ヘアレスマウスに紫外線を照射する) を作製し, シワ形成に及ぼす影響および皮膚老化関連遺伝子 (ヒアルロニダーゼ: Hyal1, コラゲナーゼ: MMP-1) に及ぼす影響について評価しました。その結果, シワ形成に及ぼす影響についてカンカエキスは 200 mg/kg において, 紫外線照射によるシワ形成を抑制する傾向が認められました (図 32)。また, RT-PCR でヒアルロニダーゼおよびコラゲナーゼ遺伝子発現量を比較した結果, カンカエキス (200 mg/kg) において UV 照射による, ヒアルロニダーゼおよびコラゲナーゼ遺伝子の発現量を抑制する作用が認められました (図 33)。この結果は, 図 32 に示したシワ形成に及ぼす影響と, 同様な傾向がみられました。このことより, カンカエキスは皮膚老化遺伝子の発現を抑制することによって, シワ形成を抑制すると考えられます。以上の結果より, カンカエキスは紫外線照射によって引き起こされる, 皮膚の老化現象を抑制する事が認められました。

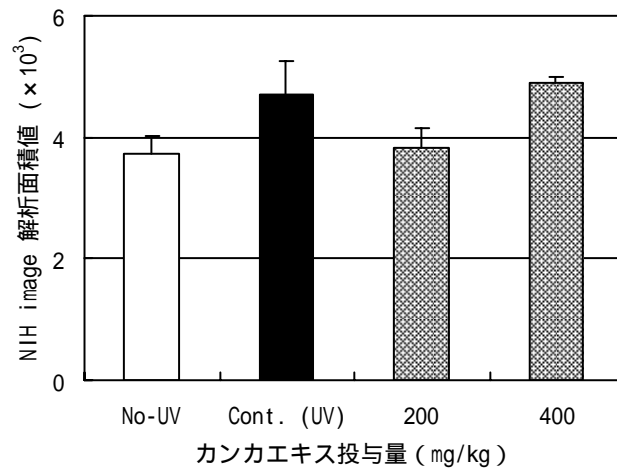


図 32. カンカエキスのシワ形成抑制作用 (平均値 ± 標準誤差, n=4)

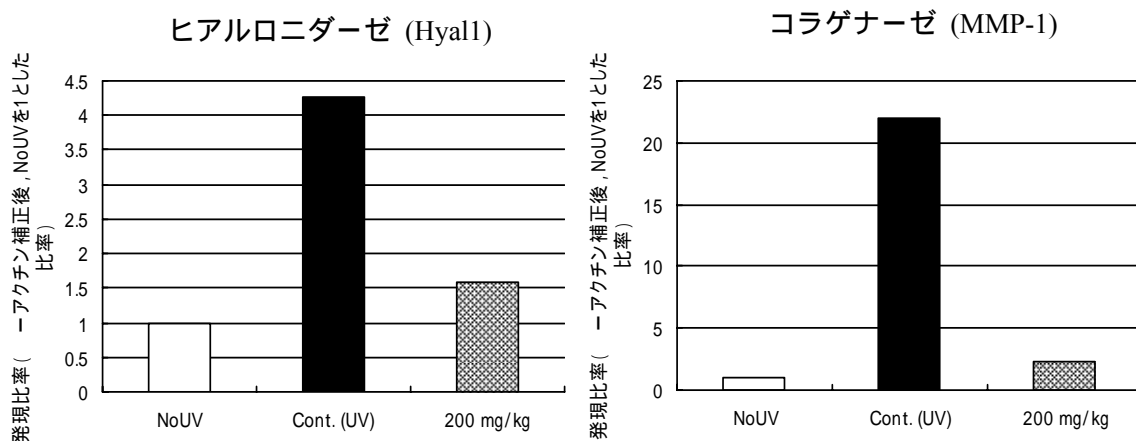


図 33. カンカエキスのヒアルロニダーゼおよびコラゲナーゼ遺伝子発現に及ぼす影響 (カンカエキス 400 mg/kg 投与群は RNA 抽出がうまくいかなかったため各遺伝子発現量は測定できなかった。)

【方 法】ヘアレスマウスを 4 群 (No UV 群, UV + 溶媒群, UV + カンカ 200 mg/kg 群 および 400 mg/kg 群) に分け, 各サンプルを継続 6 週間経口投与した。1 週間に 3 回 UV を照射し, 6 週間行った (1 週目: 50 mJ/cm<sup>2</sup>, 2 週目: 70 mJ/cm<sup>2</sup>, 3 および 4 週目: 80 mJ/cm<sup>2</sup>, 5 および 6 週目: 200 mJ/cm<sup>2</sup>)。最終投与後にヘアレスマウス背部のレプリカを SKIN CAST を用いて採取した。その後, NIH image で画像解析を行いシワ形成に及ぼす影響を評価した。また, ヘアレスマウスの皮膚を採取し, 皮膚の RNA を抽出して, 逆転写反応後 RT-PCR で各遺伝子の発現量を比較した。

## (4) 抗疲労作用

### マウスにおける抗疲労作用 (*in vivo*)

カンカエキスについて、酸欠状態での生存時間、亜硝酸ナトリウム（毒物）投与による生存時間および強制水泳による耐久時間を指標にした抗疲労作用が報告されています<sup>14)</sup>。

#### マウスにおける酸欠状態での生存時間

マウスに各サンプルを7日間経口投与しました。最終投与の1時間後に、マウスを250 mLのボトル（炭酸ナトリウム入り）に入れて酸欠状態での生存時間を測定しました。その結果、カンカエキス投与群はコントロール群と比較して、濃度依存的に酸欠状態での生存期間を有意に延長させる事が明らかとなりました（図34）。

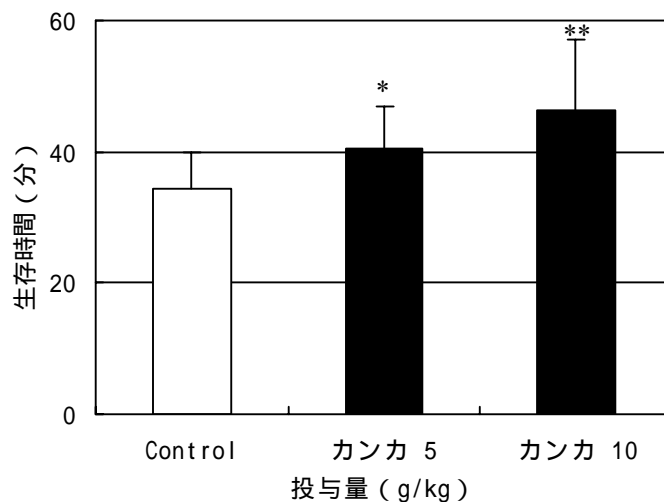


図 34. 酸欠状態での生存時間延長作用（平均値 ± 標準偏差, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ,  $n = 10-12$ ）

#### マウスにおける亜硝酸ナトリウム(毒物)投与による生存時間

マウスに各サンプルを腹腔内投与して、その30分後に亜硝酸ナトリウム(250 mg/kg)を腹腔内投与し、生存時間を測定しました。その結果、カンカエキス投与群はコントロール群と比較して濃度依存的に亜硝酸ナトリウム（毒物）投与による生存時間を有意に延長させる事が明らかとなりました（図35）。

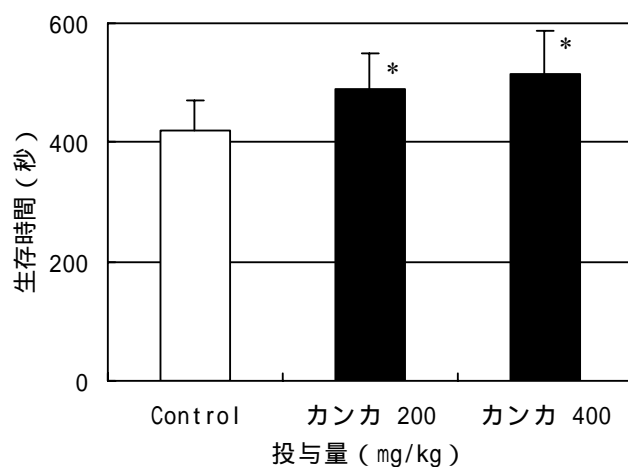


図 35. 亜硝酸ナトリウム投与時の生存時間延長作用( 平均値 ± 標準偏差, \*:  $p < 0.05$ ,  $n = 10$ )

### マウスにおける強制水泳による生存時間

マウスに各サンプルを 7 日間経口投与しました。最終投与の 1 時間後に、マウスに体重当たり 5%の重りを負荷させて、強制水泳実験を行いました。マウスが水に沈み、呼吸が止まるまでの時間を測定しました。その結果、カンカエキス投与群はコントロール群と比較して濃度依存的に強制水泳による耐久時間を有意に延長させる事が明らかとなりました(図 36)。これらの結果より、カンカエキスにマウスにおける抗疲労作用が認められました。

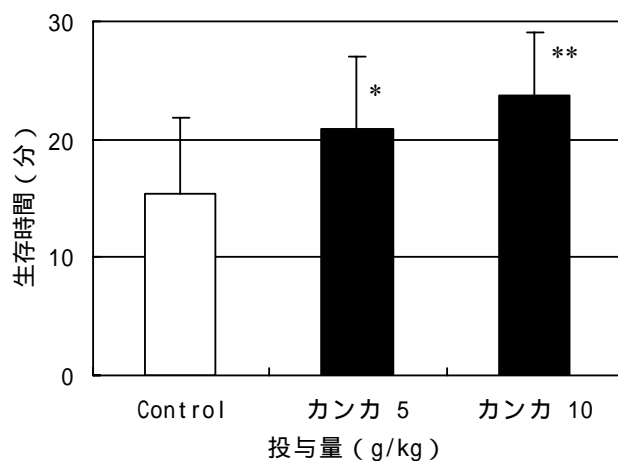


図 36. 強制水泳時の生存時間延長作用 ( 平均値 ± 標準偏差, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ,  $n = 12$ )

14) Zhiqiang W., et al., Effects of CTG on oxygen insufficiency tolerance and fatigue tolerance. *Chinese Traditional Herbal Drugs*, 27(supplementary issue), 137-138, 1996.

## (5) 性能力向上作用

### 1) ストレス負荷マウスの性行動に及ぼす影響(*in vivo*)

ニクジュヨウ抽出物（フェニルエタノイド配糖体を主成分とする画分）およびその含有成分である，エキナコシド，アクテオシドについて性能力向上作用が報告されています<sup>15)</sup>。ニクジュヨウ抽出物およびその含有成分がストレス負荷により低下する性行動に及ぼす影響を 15 日間連続で検討しました。性行動の検討は雌性マウス 10 匹に雄性マウス 1 匹を 10 分間同居させ，mounting（交配）および intromission（射精）の行動を行った匹数，回数および行動を起こすまでの時間を測定しました。その結果，ストレス負荷対照群に対して有意差がみられた各投与群とその日数についてみると，ニクジュヨウ抽出物群は mounting と intromission の行動回数でそれぞれ 3 日と 5 日，開始時間ではそれぞれ 4 日でした。アクテオシドおよびエキナコシド投与群は intromission の行動匹数でそれぞれ 4 日と 5 日，mounting と intromission の行動回数ではそれぞれ 3-6 日，mounting と intromission の開始時期ではそれぞれ 4-6 日でした。以上のことより，ニクジュヨウ抽出物（フェニルエタノイド配糖体を主成分とする画分）はストレス負荷によるマウスの性行動の低下を防御する活性成分の存在が考えられ，それらはアクテオシドおよびエキナコシドであることが明らかとなりました。これらの作用は，同属であり各含有成分の多いカンカニクジュヨウにも期待できると考えられます。

15) Sato T., *et al.*, Pharmacological studies on *Cistanchis Herba*. I. Effects of the constituents of *Cistanchis Herba* on sex and learning behavior in chronic stressed mice (1), *Yakugaku Zasshi*, **105**(12), 1131-1144, 1985.

## 2) 男性ホルモン産生に及ぼす作用 (*in vitro*, *in vivo* オリザ油化によるデータ)

### 肝臓の男性ホルモン産生遺伝子に及ぼす作用

カンカエキスの、肝臓の男性ホルモン(テストステロン)およびその活性体(ジヒドロテストステロン)の合成に關与する酵素の遺伝子発現を調べました。カンカエキス(400 mg/kg)を毎日1回、マウスに2週間投与した後、肝臓の総RNAを抽出しました。Control群とカンカエキス投与群から各1例を選択して、DNAマイクロアレイ解析を行った結果、テストステロンを合成する3-hydroxysteroid dehydrogenase (3β-HSD)の発現を1.5倍程度上昇させ、かつジヒドロテストステロンを合成するステロイド5α-レダクターゼ2およびアルド-ケトレダクターゼの遺伝子発現を2倍にまで促進しました(図37)。続いて、マイクロアレイ解析に含まれていなかった合成酵素のなかでC<sub>17-20</sub> lyase以外の遺伝子について、RT-PCRによる遺伝子発現の確認を行いました。その結果、P450 SCC、17- $\alpha$ -hydroxylase、17- $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenaseおよびステロイド5α-レダクターゼ2に、遺伝子発現の増強がみられました(図38)。特に、5α-レダクターゼ2については、controlに対して15倍もの遺伝子発現の促進が確認されました。これらの結果から、カンカエキス(400 mg/kg)は肝臓においては、男性ホルモンの産生に關与する酵素の遺伝子発現を促進していることが明らかになりました。

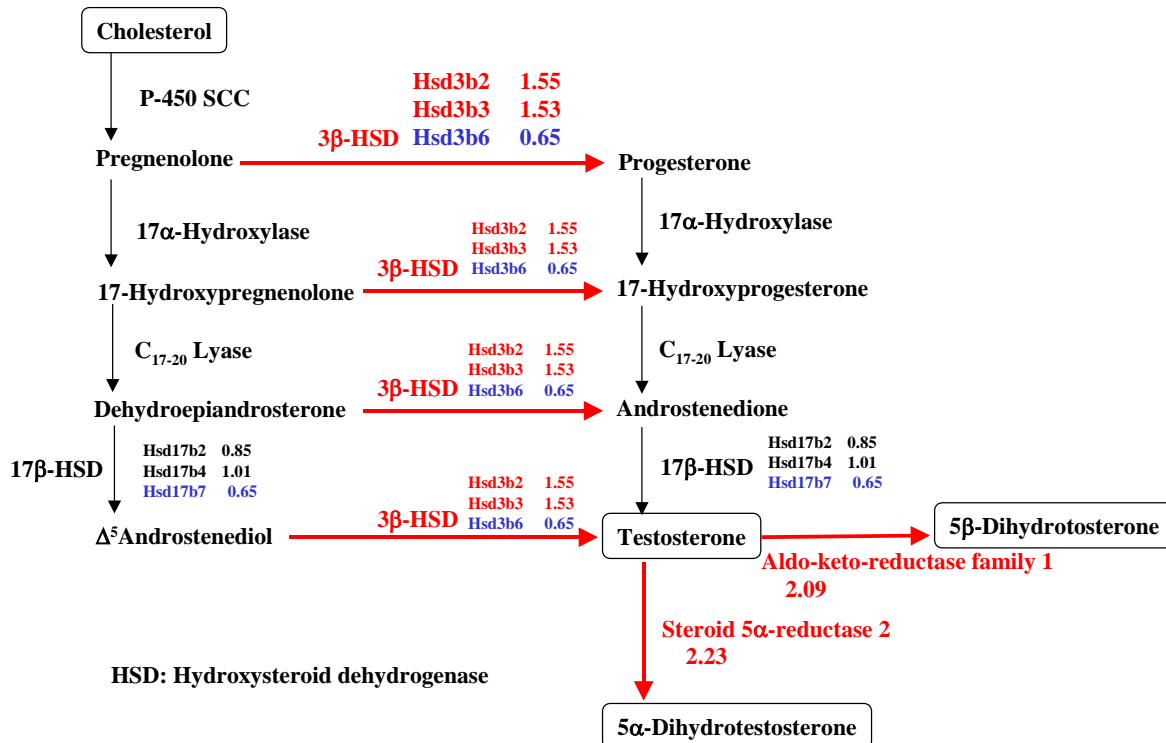


図 37. DNA マイクロアレイ解析による、カンカエキス(400 mg/kg)反復投与後の男性ホルモン合成酵素の遺伝子発現に及ぼす影響[ (増加)および (減少)は、controlを1とした場合の比率を示す。]

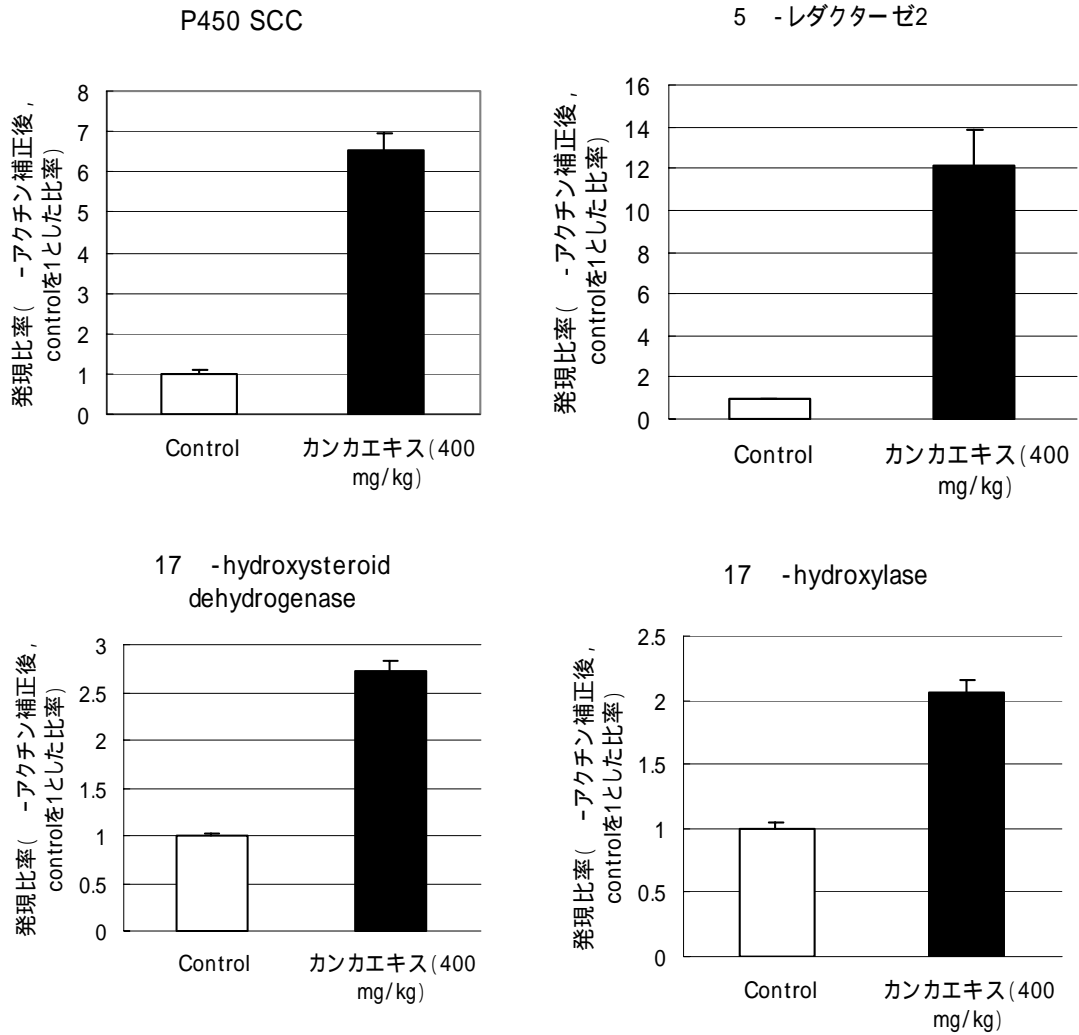


図 38. RT-PCR で行ったカンカエキス ( 400 mg/kg ) 反復投与後の男性ホルモン合成酵素の遺伝子発現に及ぼす影響 ( 平均値 ± 標準誤差 , n=3-7 )

### 精巢の男性ホルモン遺伝子発現に及ぼす作用

肝臓に引き続いて、精巣における 5 $\alpha$ -レダクターゼ 1 および 2 の遺伝子発現に及ぼす作用を、リアルタイム PCR を用いて調べました。しかしながら、精巣においては遺伝子発現の増強は認められませんでした (図 39)。

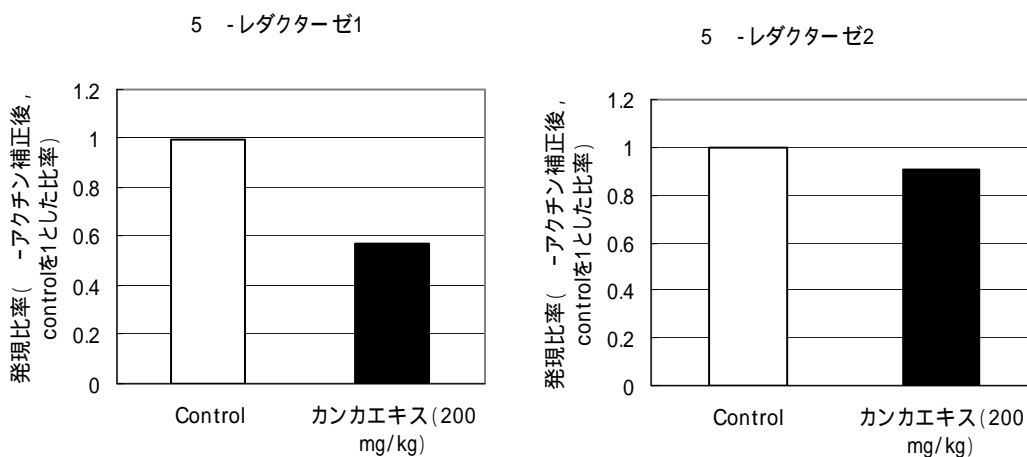


図 39. カンカエキス (200 mg) 反復投与後の精巣の 5 $\alpha$ -レダクターゼ遺伝子発現に及ぼす作用 ( $n=5-7$ )

【方法】5ヶ月例の雄性 ddY マウスに、カンカエキス (200 mg/kg) を2週間経口投与した後、精巣を RNA later で安定化後、Quiagen 社のキットを用いて RNA を抽出した。常法に従って、逆転写反応で c-DNA を作製した後、RT-PCR で遺伝子の発現を調べた。

### マウス血中テストステロンに及ぼす作用

、の結果をもとに、カンカエキスの血中男性ホルモン (テストステロン) 濃度に及ぼす作用を検討しました。その結果、有意差はみられませんでした、テストステロンの上昇傾向が認められました (表 9)。

	用量 (mg/kg)	$n$	テストステロン (ng/mL)
5ヶ月齢マウス	-	6	29.53 $\pm$ 10.4
カンカエキス	200	7	40.41 $\pm$ 29.64
	400	7	79.11 $\pm$ 44.66

平均値  $\pm$  標準誤差

【方 法】5ヶ月例の雄性 ddY マウスに、カンカエキスを2週間経口投与した後、全血採血を行った。血清を分離した後、Testosterone EIA kit (Cayman Chemical Corporate) を用いて、テストステロン含量を測定した。

### レイディッヒ細胞からのテストステロン産生に及ぼす作用

レイディッヒ細胞は精巣内に存在し、テストステロンを産生する細胞です。この細胞のセルライン (R2C) を用いて、テストステロン産生に及ぼす作用を検討しました。その結果、カンカエキスおよび主成分であるエキナコサイドに、テストステロンの上昇が認められました (図 40)。

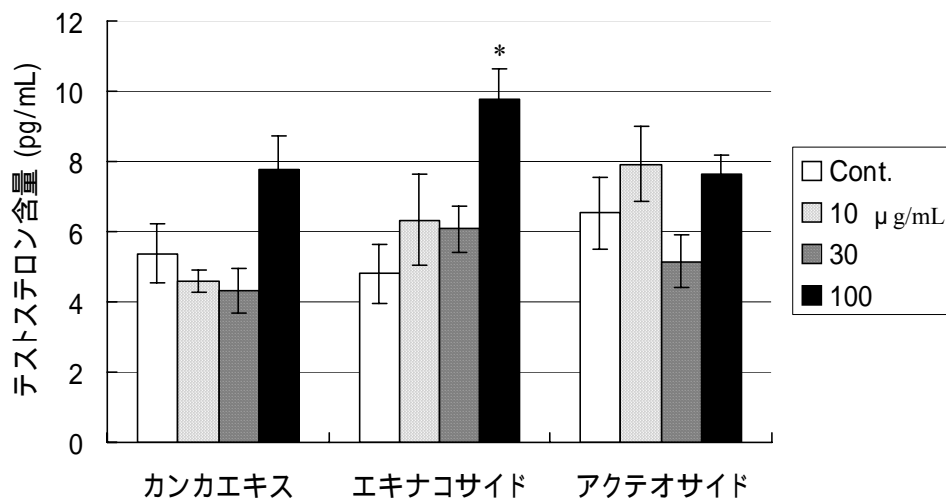


図 40. カンカエキスおよび含有成分のレイディッヒ細胞におけるテストステロン産生に及ぼす作用 (n=4, 平均値 ± 標準誤差, \*: p<0.05)

【方 法】ラット精巣癌由来レイディッヒ細胞 (R2C) を 24 穴プレートに播種 (2.5 × 10<sup>5</sup> cells/500 uL) し、24 時間前培養を行った。サンプルを添加して 4 時間培養後、上清を分離してテストステロン含量を測定した。

## (6) 免疫力向上作用

### カンカエキスの免疫力増強作用(リンパ球に及ぼす影響, *in vivo*)

ニクジュヨウ抽出物(フェニルエタノイド配糖体を主成分とする画分)について免疫力向上作用が報告されています<sup>16)</sup>。マウスを用いて、免疫力を低下させる目的で<sup>60</sup>Co(コバルト60)放射線を照射しました。その後、各サンプルを15日間連続経口投与し、最終日に採血を行い、切片標本を染色しました。免疫力の指標となるリンパ球(細菌およびウイルスに対して攻撃する細胞)の直径を顕微鏡下で測定し評価を行いました。その結果、ニクジュヨウ抽出物はコントロール群と比較して有意にリンパ球のサイズを増加させる作用が認められました(図41)。これらの作用は、同属であり各含有成分の多いカンカエキスにも期待できると考えられます。

また、カンカエキスはリンパ細胞を活性化し、ガン細胞に対しての細胞殺傷率増加作用が報告されています<sup>17)</sup>。これらの報告より、カンカエキスは免疫力を増強する作用があることが明らかとなっています。

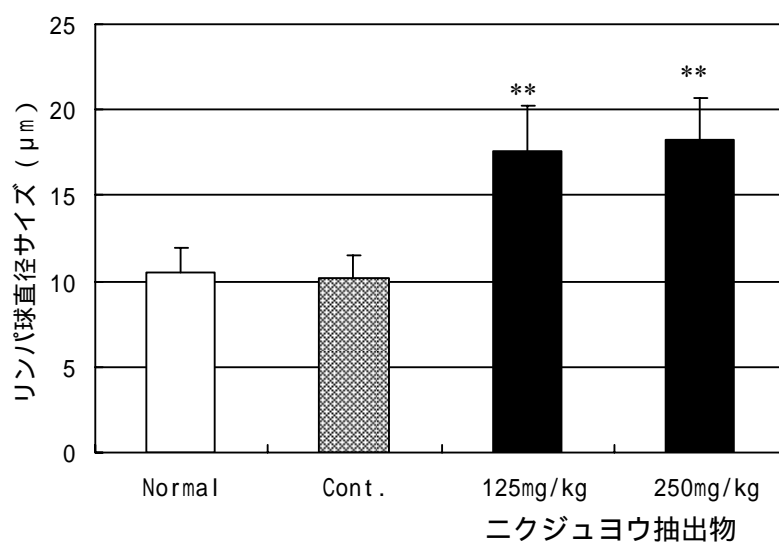


図41. ニクジュヨウ抽出物のマウスリンパ球に及ぼす作用( 平均値 ± 標準偏差, \*\*:  $p < 0.01$ ,  $n = 15$  )

16) Xiaowen W., *et al.*, Morphological changes of peripheral blood corpuscles of radiated mice feeded with *Cistanche*. *ACTA Academiae Medicinae Xinjiang*, **18**(2), 83-86, 1995.

17) Dawen S., *et al.*, The effects of traditional Chinese medicine *Cistanche* species on the immune function and lipid peroxidation. *Acta Academiae Medicinae Shanghai*, **22**(4), 306-308, 1995.

## (7) 脂質代謝促進作用

### 1) コレステロール合成および代謝に及ぼす作用

(*in vivo*, オリザ油化データ)

カンカエキスの、肝臓の脂質代謝関連遺伝子発現に及ぼす作用を調べました。カンカエキス(400 mg/kg)をマウスに2週間投与した後、肝臓の総 RNA を抽出しました。

Control 群とカンカエキス投与群から各 1 例を選択して、DNA マイクロアレイ解析を行った結果、カンカエキスは図 42 に示すコレステロール合成に関与する酵素の遺伝子発現を抑制することが判明しました。とくに 3-hydroxy-methyl-3-methylglutaryl CoA (HMG CoA) からメバロン酸を合成する HMG CoA reductase は、コレステロール合成における律速酵素で、本酵素の阻害は高コレステロール血症の治療に有効であることが知られています。これらコレステロール合成酵素の遺伝子発現抑制により、コレステロールの合成が抑制されるものと考えられます。

さらに、この他に、カンカエキス投与マウスにおいて、アポプロリポタン B、VLDL レセプターおよびリポタン B と VLDL レセプターについて認められました(表 10)。アポリポタン B と VLDL レセプターについては、RT-PCR により他の個体の遺伝子発現についても調べましたが、いずれの分子にも発現の増強が見られました(図 43)。いずれの分子も、血中のコレステロールの移送や細胞への取り込みに関与する分子であることから、カンカエキスが血中コレステロール低下作用を示す可能性が示唆されました。

実際に、カンカエキスを投与したマウスの血清や肝臓のコレステロールを測定した結果、LDL-コレステロールと pre $\beta$ + $\beta$ リポタン比率(VLDL および LDL-コレステロールを含む分画)の軽微な減少と、HDL-コレステロールと $\alpha$ -リポタン比率(HDL-コレステロールを含む分画)の軽微な上昇が認められました(表 11)。今回、実験に用いたマウスは正常マウスですので軽微な変化しか見られませんが、高コレステロール血症(病態)モデル動物で評価することにより、より明確な効果がでることが期待されます。

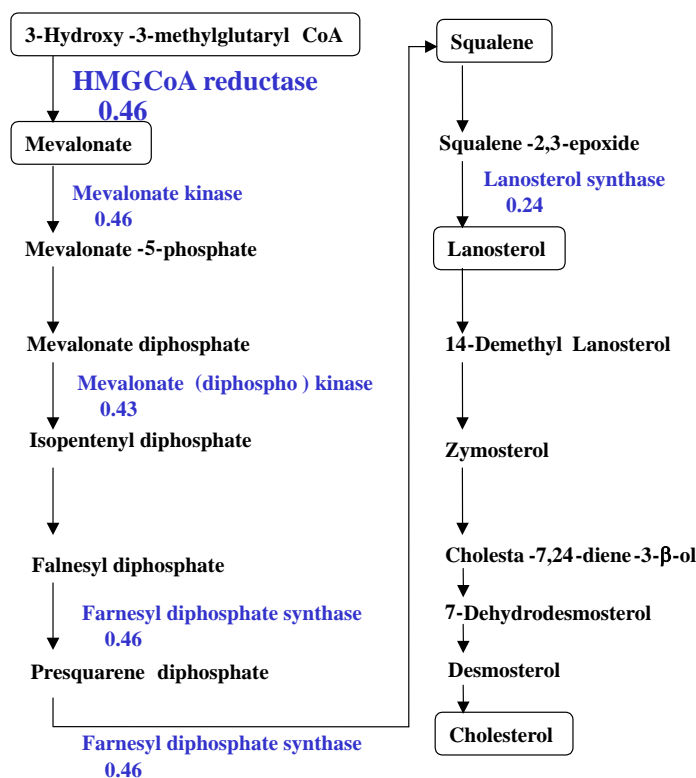


図 42. DNA マイクロアレイ解析による、カンカエキス (400 mg/kg) 反復投与後のコレステロール合成関連遺伝子の変化 ( は, control を 1 とした場合の比率を示す。)

表 10. カンカエキス (400 mg/kg) 反復投与により、発現が上昇したコレステロール輸送遺伝子

	発現量	機能
アポリipoprotein B	2.87	VLDL のコレステロールの移送
VLDL レセプター	9.00	VLDL の細胞内への取り込み
リipoproteinリパーゼ	2.08	VLDL の分解と細胞内への取り込み

発現量は, control の発現量を 1 とした場合の相対比率

表 11. カンカエキス (400 mg/kg) 反復投与後の血清および肝脂質

	総コレステロール (mg/dL)	LDL-コレステロール(mg/dL)	Preβ+β-リポ蛋白比率 (%)	HDL-コレステロール (mg/dL)	α-リポ蛋白比率 (%)	肝臓コレステロール (mg/g)
Control	129.8 ± 12.8	10.0 ± 1.4	17.0 ± 1.5	119.8 ± 11.3	76.1 ± 1.9	3.1 ± 0.1
カンカ 400mg/kg	132.0 ± 8.7	9.5 ± 0.5	16.4 ± 0.9	123.8 ± 7.7	78.3 ± 1.2	3.2 ± 0.2

各値は, 平均値と標準誤差 (n=5-7) で示した。

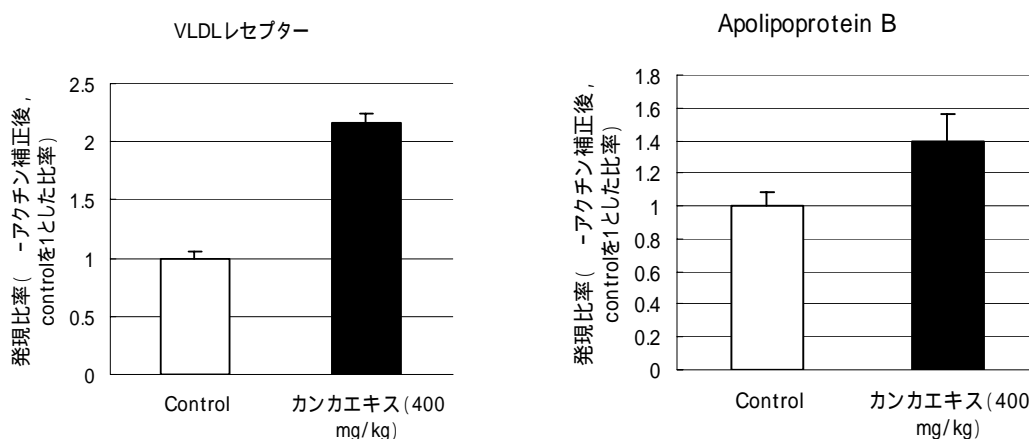


図 43. カンカエキス (400 mg/kg) 反復投与後の VLDL レセプターおよびアポリポタン B の遺伝子発現 (平均値 ± 標準誤差)

## 2) 脂肪酸の代謝に及ぼす作用 (*in vivo*, オリザ油化データ)

次に、脂質代謝に関与する肝臓の遺伝子について、解析を行いました。その結果、表 12 に示す遺伝子発現の増強が認められました。リピン 1 や PPAR $\alpha$  は、脂質代謝を制御する分子ですがリピン 1 は、ごく最近になって、脂質代謝促進に関する機能が明らかになった分子です。acetyl-CoA acyl transferase や CPT はいずれも  $\beta$ -酸化に関与する酵素で、前者は  $\beta$ -酸化そのものに、後者はミトコンドリアへの脂肪酸の取り込みに寄与しています。これら分子の遺伝子発現の増強は、カンカエキスが肝臓における脂肪酸の代謝を促進していることを示唆する結果です。リピン 1 と CPT1 については、RT-PCR により他の個体の遺伝子発現も調べましたが、図 44 に示すようにいずれの分子の遺伝子についても、明らかな増強が認められています。以上の結果から、カンカエキスには肝臓における脂質代謝の促進作用が期待されます。

表 12. カンカエキス (400 mg/kg) 反復投与により、発現が上昇した脂質代謝関連遺伝子

	発現量	機能
リピン 1	5.11	脂質代謝を制御
PPAR $\alpha$	2.14	$\beta$ -酸化など脂質代謝を制御
Acetyl-CoA acyl transferase 1A	2.78	$\beta$ -酸化に関与
Acetyl-CoA acyl transferase 1B	2.07	$\beta$ -酸化に関与
Carnitine palmitoyl transferase (CPT) 1	2.67	脂肪酸のミトコンドリアへの取り込み ( $\beta$ -酸化の律速酵素)

発現量は、control の発現量を 1 とした場合の相対比率

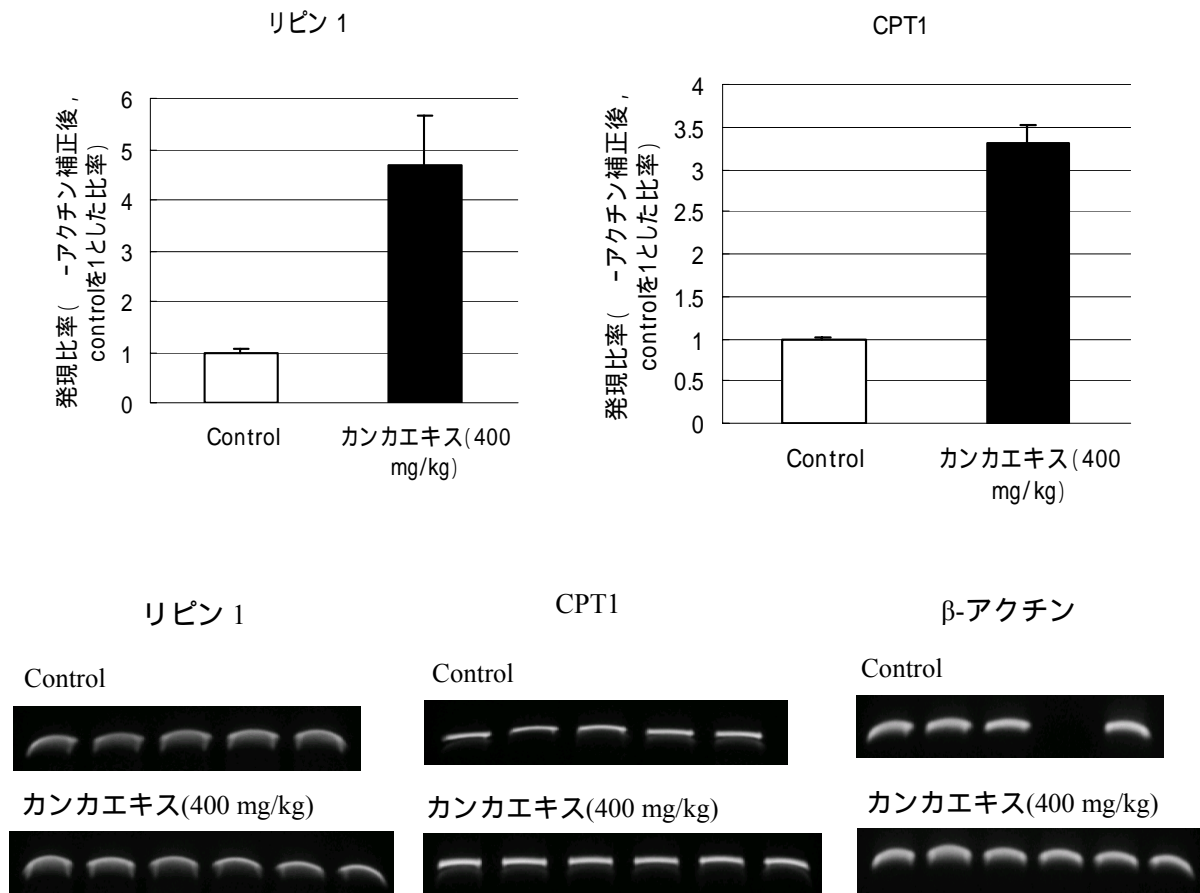


図 44. カンカエキス ( 400 mg/kg ) 反復投与後のリピン 1 および CPT1 の遺伝子発現

グラフは、平均値 ± 標準誤差 (  $n=5-7$  ) で示した。電気泳動像は、RT-PCR 終了後に実施した。β-アクチン ( Control ) の右から 2 つ目のレーンは操作ミスによる欠落

【方 法】5 ヶ月齢の雄性 ddY マウスに、カンカエキス ( 400 mg/kg ) を 2 週間経口投与した後、肝組織を RNA later で安定化後、Quiagen 社のキットを用いて RNA を抽出した。このうち、control 群から 1 例、カンカ投与群から 1 例について、DNA マイクロアレイ解析を行った。他の個体の遺伝子発現は、RT-PCR を用いて調べた。

\* カンカエキスの脂質代謝促進作用に関する実験データが下記の学術雑誌に掲載されました。

【学術論文】 Shimoda H., Tanaka J., Takahara Y., Takemoto K., Shan S. J., Su M. H. The hypocholesterolemic effects of *Cistanche tubulosa* extract, a Chinese traditional crude medicine, in mice. *Am. J. Chin. Med.*, **37**(6), 1125-38, 2009.

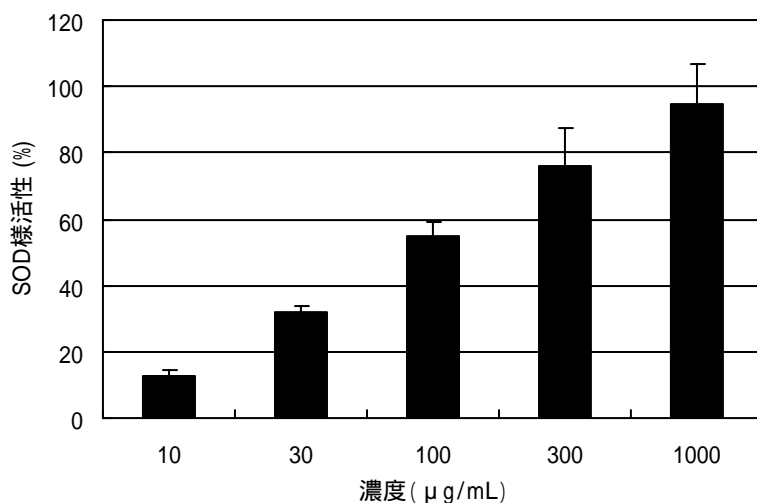
## (8) 抗酸化作用

### SOD 様活性および DPPH ラジカル消去能 (*in vitro*, オリザ油化データ)

ヒトの生体内では、ストレスなどの刺激により活性酸素が発生します。この活性酸素は酸化傷害を引き起こし、細胞等を損傷し、種々の生活習慣病や老化促進と密接に関係しています。

そこで、カンカエキスの抗酸化作用を、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 様活性および 1,1-ジフェニル 2-ピクリルヒドラジル (DPPH) ラジカル消去能を指標に評価しました。その結果、カンカエキスは図 45 に示す濃度において、濃度依存的に SOD 様活性および DPPH ラジカル消去能を示しました。

#### SOD 様活性



#### DPPH ラジカル消去能

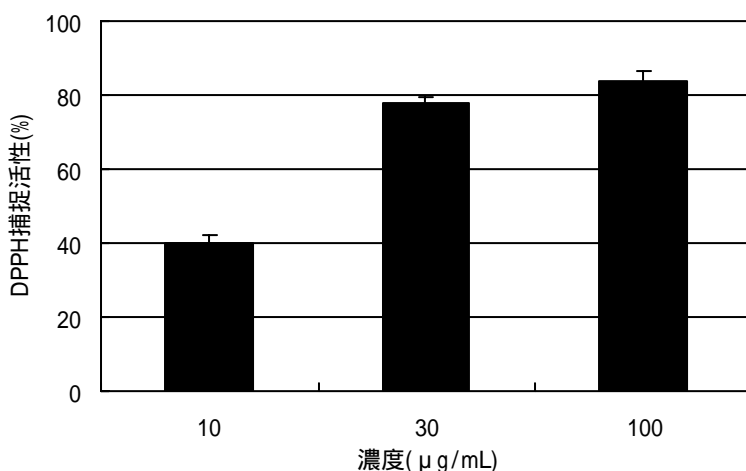


図 45. カンカエキスの抗酸化活性 (平均値 ± 標準偏差,  $n=5$ )

## 4. カンカエキスの安定性

### (1) 熱安定性

カンカエキスの熱安定性を検討した結果、エキナコシド、アクテオシドおよびフェニルエタノイド配糖体含量は、1時間の加熱（100 および 120 ）によっても変化がみられず、通常の商品加工温度に対して安定であることが分かりました（図 46）。

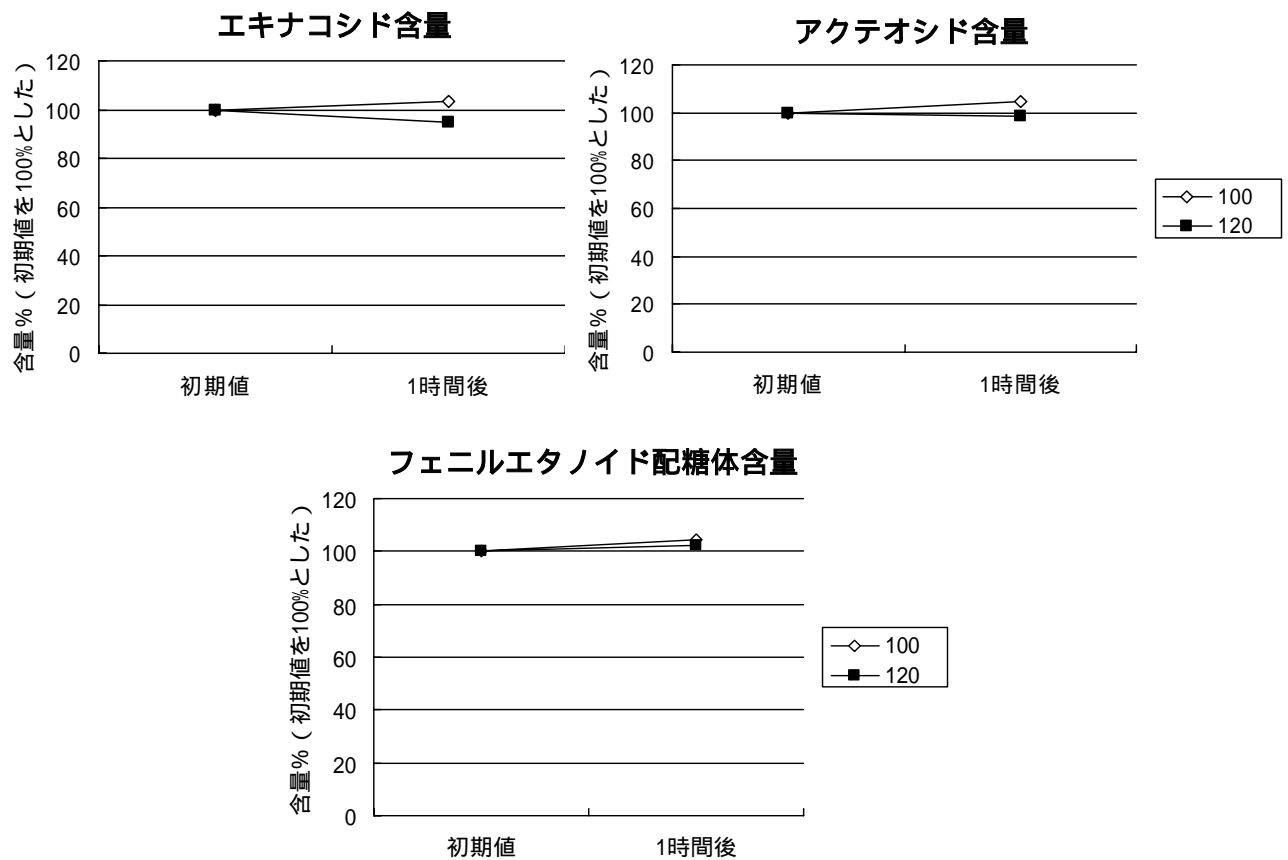
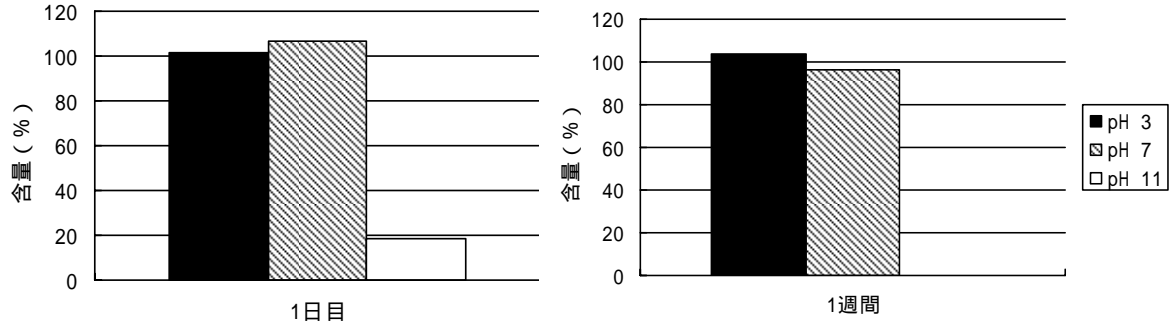


図 46. カンカエキスの熱安定性

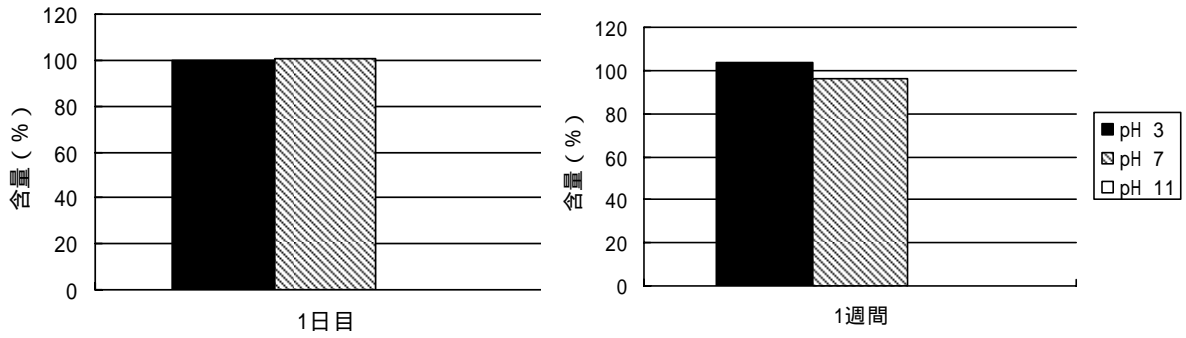
### (2) pH 安定性

カンカエキスを 30%エタノールに溶解させ、pH 調整し、非遮光下、室温で 1 日および 1 週間保存後、エキナコシド、アクテオシドおよびフェニルエタノイド配糖体含量を測定しました。カンカエキス中の各成分は酸性～中性領域で安定であり、通常の商品加工領域では問題ない事が確認されました（図 47）。

エキナコシド含量



アクトオシド含量



フェニルエタノイド配糖体含量

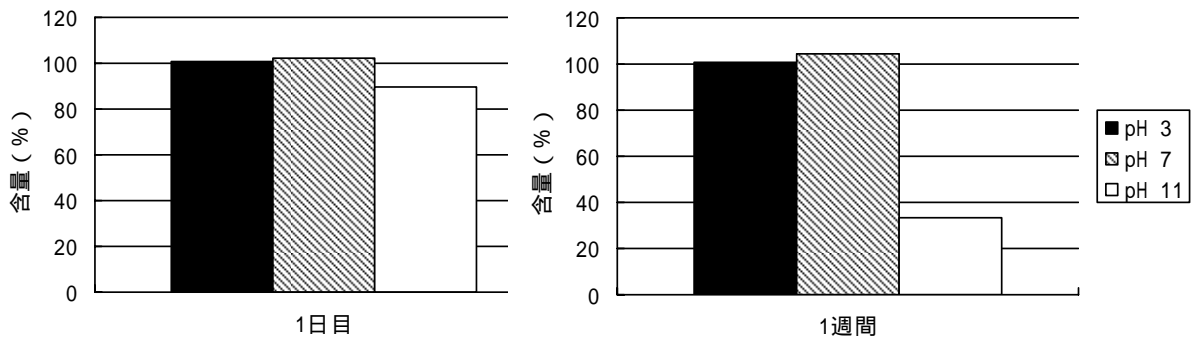


図 47. カンカエキスの pH 安定性 (pH 無調整初期値を 100%とした)

### (3) 液剤安定性

カンカエキス-P25 について、0.4%水溶液(pH3.5)を調製し、室温(非遮光下)、25 (遮光)、40 (遮光)、5 (遮光)で2週間保存し、沈殿、濁り、着色の有無を目視で確認しました。カンカエキス-P25 の液剤安定性は酸性域において極めて高いことがわかりました。

	液剤安定性 (0.4%水溶液, pH3.5 条件下)			
	室温 (照射)	25 (遮光)	40 (遮光)	5 (遮光)
沈殿 濁り	なし	なし	なし	なし
着色	なし	なし	なし	なし

## 5 . カンカエキス-P25 の栄養成分

分析項目	結果	注	分析方法
水分	3.2g/100g		減圧加熱乾燥法
タンパク質	1.9g/100g	1	ケルダール法
脂質	1.0g/100g		酸分解法
灰分	2.9g/100g		直接灰化法
炭水化物	91.0g/100g	2	
エネルギー	381kcal/100g	3	修正アトウォーター法
食物繊維	0.0g/100g		プロスキー法
ナトリウム	250mg/100g		原子吸光光度法
食塩相当量	0.6g/100g		ナトリウム換算値

注1) 窒素・タンパク質換算係数：6.25

注2) 計算式：100 - (水分+タンパク質+脂質+灰分)

注3) エネルギー換算係数：タンパク質 4; 脂質 9; 糖質 4; 食物繊維 2

試験依頼先：株式会社エスアールエル

試験成績書発行年月日：平成 18 年 12 月 13 日

依頼番号：第 200611300029 号

## 6. カンカエキスの安全性

### (1) 残留農薬

カンカエキスについて、食品衛生法および農薬取締法に準じて、447項目の農薬の有無を調べました。その結果、全項目について基準値（検出限界値）以下であることが判明しました。

試験依頼先：株式会社マシス

試験成績書発行年月日：平成 19 年 1 月 16 日

依頼番号：9444

### (2) 有機認証

カンカエキスについて、有機認証（農薬を使用していない）を取得しています（認証番号：COFCC-R-0704-0096、下記参照）。



## (2) 急性毒性 (LD<sub>50</sub>)

雌雄性マウス ( $n=10$ ) にカンカエキス (26.4 g/kg) を経口投与し、8日間観察しました。その結果、死亡例や検体投与による毒性症状は認められませんでした。従って、カンカエキスのマウスにおける LD<sub>50</sub> 値 (経口投与) は、雌雄ともに 26.4 g/kg 以上です。

また、同様な試験で、カンカエキスのラットにおける LD<sub>50</sub> 値 (経口投与) は、雌雄ともに 17.6 g/kg 以上です。

## (3) 遺伝毒性

### 変異原性試験 (Ames 試験)

サルモネラ菌株 TA97, TA98, TA100 および TA102 を用いて、カンカエキスの Ames 試験を行いました。その結果、カンカエキス 8 ~ 5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の濃度において、変異原性は認められませんでした。

### 多染性赤血球小核試験

雌雄性マウス ( $n=5$ ) にカンカエキス (2.5 ~ 10 g/kg) を経口投与し、胸骨骨髄における多染性赤血球細胞 (PCE) の小核発生率を観察しました。その結果、カンカエキスの骨髄細胞に対する損傷は認められませんでした。

### 催奇形性試験

雄性マウス ( $n=5$ ) にカンカエキス (2.5 ~ 10 g/kg) を5日間連続経口投与し、30日後に精子を観察しました。その結果、カンカエキスのマウスの精子における催奇形性は認められませんでした。

## (4) 亜急性毒性

雌雄性ラット ( $n=10$ ) にカンカエキス (0.65 g ~ 1.3 g/kg) を30日間連続経口投与しました。その結果、死亡例や体重推移の異常は認められませんでした。また、血液学的検査および血液化学的検査においても異常は認められませんでした。

## (5) 長期毒性試験

雌雄性ラット ( $n=18$ ) にカンカエキス (1.65 g/kg) を180日間連続経口投与しました。その結果、死亡例や体重推移の異常は認められませんでした。

また、ビーグル犬 ( $n=18$ ) にカンカエキス (1.50 g/kg) を180日間連続経口投与しました。その結果、死亡例や体重推移の異常は認められませんでした。

以上の結果よりカンカエキスは安全性が高いと考えられます。

## 7. カンカエキスの推奨摂取量

各実験結果より，一日あたりカンカエキス-P25 として，100～400 mg の使用をおすすめします。

## 8. カンカエキスの応用例

	利用分野	訴求	剤系
食品	脳機能改善食品 滋養強壮食品 美容食品	1) 脳機能改善 2) 滋養強壮 3) 抗老化 4) 抗疲労 5) 性能力向上 6) 美容	飲料（清涼飲料水，ドリンク等）， ハードおよびソフトカプセル，タ ブレット，キャンディー，チュ インガム，グミ，クッキー，チョコ レート，ウエハース，ゼリー等
化粧品	美容化粧品		化粧水，ローション，パック，ボ ディジェル等

## 9. 荷姿

カンカエキス-P25 （水溶性粉末，食品用途）

カンカエキス-PC25 （水溶性粉末，化粧品用途）

5kg 内装：アルミ袋

外装：ダンボール包装

## 10. 保管方法

高温多湿を避け，暗所に保管して下さい。

## 11. 表示例

### <食品>

カンカエキス-P25

表示例： カンカエキス，カンカ抽出物，

カンカニクジュヨウエキス，カンカニクジュヨウ抽出物

\* 食品表示については所轄の保健所及び，地方農政局にご確認下さい。

### <化粧品>

カンカエキス-PC25

表示名称：シスタンチェツプロサ根エキス

INCI 名：Cistanche Tubulosa Root Extract

製品規格書  
製品名

**カンカエキス-P25**

食品

本品は、ハマウツボ科ニクジュヨウ属のカンカニクジュヨウ (*Cistanche tubulosa*) から含水エタノールで抽出して得られた粉末である。本品は定量するとき、エキナコシドを25.0%以上、アクテオシドを9.0%以上およびフェニルエタノイド配糖体を50.0%以上含む。本品は水溶性である。

<b>性 状</b>	茶色～淡茶色の粉末で、わずかに特有なにおいがある。	
<b>エキナコシド含量</b>	25.0% 以上	(HPLC)
<b>アクテオシド含量</b>	9.0% 以上	(HPLC)
<b>フェニルエタノイド配糖体含量</b>	50.0% 以上	(UV)
<b>乾燥減量</b>	10.0% 以下	(衛生試験法, 1g, 105℃, 2時間)
<b>純度試験</b>		
(1)重金属	10 ppm 以下	(食品添加物公定書, 一般試験法, 重金属試験法)
(2)ヒ素	1 ppm 以下	(食品衛生検査指針, ヒ素試験法)
<b>一般生菌数</b>	$1 \times 10^3$ 個/g 以下	(衛生試験法, 標準寒天培地)
<b>真菌数</b>	$1 \times 10^2$ 個/g 以下	(衛生試験法, ポテトデキストロース寒天培地クロラムフェニコール添加)
<b>大腸菌群</b>	陰 性	(衛生試験法, BGLB培地)
<b>組 成</b>	<u>成 分</u>	<u>含有量</u>
	カンカ抽出物	100%

製品規格書  
 製品名

**カンカエキス-PC25**

## 化粧品

本品は、ハマウツボ科ニクジュヨウ属のカンカニクジュヨウ (*Cistanche tubulosa*) から含水エタノールで抽出して得られた粉末である。本品は定量するとき、エキナコシドを25.0%以上、アクテオシドを9.0%以上およびフェニルエタノイド配糖体を50.0%以上含む。本品は水溶性である。

<b>性 状</b>	茶色～淡茶色の粉末で、わずかに特有なにおいがある。	
<b>エキナコシド含量</b>	25.0% 以上	(HPLC)
<b>アクテオシド含量</b>	9.0% 以上	(HPLC)
<b>フェニルエタノイド配糖体含量</b>	50.0% 以上	(UV)
<b>乾燥減量</b>	10.0% 以下	(1g, 105℃, 2時間)
<b>純度試験</b>		
(1)重金属	10 ppm 以下	(第2法)
(2)ヒ素	1 ppm 以下	(第3法)
<b>一般生菌数</b>	1 × 10 <sup>3</sup> 個/g 以下 (衛生試験法, 標準寒天培地)	
<b>真菌数</b>	1 × 10 <sup>2</sup> 個/g 以下 (衛生試験法, ポテトデキストロース寒天培地クロラムフェニコール添加)	
<b>大腸菌群</b>	陰 性 (衛生試験法, BGLB培地)	
<b>組 成</b>	<u>成 分</u>	<u>含有量</u>
	シスタンチェツプロサ根エキス	100%

この規格及び試験方法において、別に規定するものの他は、外原規通則及び一般試験法を準用するものとする。

## 商品企画からOEM生産まで お気軽に，ご相談ください。

オリザ油化は，健康に役立つ機能性をもつ  
食品素材の開発をめざしています。  
多品種の機能性食品素材を生産し，多くの  
食品情報を有しております。  
お気軽にお問い合わせください。

製造発売元：オリザ油化株式会社

本社

〒493-8001 愛知県一宮市北方町沼田 1 番地

TEL (0586)86-5141(代表) FAX (0586)86-6191

URL/<http://www.oryza.co.jp/> E-mail: [info@oryza.co.jp](mailto:info@oryza.co.jp)



東京営業所

〒101-0041 東京都千代田区神田須田町 1-24-10 大東京ビル 5F

TEL (03)5209-9150 FAX (03)5209-9151 E-mail: [tokyo@oryza.co.jp](mailto:tokyo@oryza.co.jp)

「本資料は，学術的なデータ等に基づき作成しておりますが，当該製品を配合した消費者向け製品への表現については，健康増進法や薬事法等の関連法規に従うようご注意ください。」

- \* 本書の無断複写及び，流用は，著作権法上の例外を除き，禁じられています。
- \* 本カタログに記載された内容は，都合により変更させていただくことがあります。

\* 今回の改訂箇所

- ・ エラスターゼ阻害作用データ追加 (P29)
- ・ チロシナーゼ阻害作用データ追加 (P30)
- ・ 学術雑誌掲載のお知らせ (P44)
- ・ 食品及び化粧品表示例追加 (P51)

制定日 2007年5月10日

改定日 2010年2月13日



ORYZA OIL & FAT CHEMICAL CO., LTD.