



ORYZA OIL & FAT CHEMICAL CO., LTD.

# フキエキス

## *JAPANESE BUTTERBUR EXTRACT*

抗アレルギー・花粉症予防  
食品素材

**フキエキス-P**

(粉末、食品用途)

**フキエキス-WSP**

(水溶性粉末、食品用途)

**フキパウダー**

(粉末、食品用途)

**フキエキス-PC**

(粉末、化粧品用途)

**フキエキス-WSPC**

(水溶性粉末、化粧品用途)

**フキエキス-LC**

(水溶性液体、化粧品用途)

**オリザ油化株式会社**

ver. 3.3 HS

抗アレルギー・花粉症予防  
食品素材

# フキエキス

JAPANESE BUTTERBUR EXTRACT

## 1. はじめに

今や現代病のひとつになった花粉症は、日本人の10人に1人が罹患しており、毎年2月から5月にかけてのスギやヒノキの花粉飛散時期に、鼻水、くしゃみ、目のかゆみなどで、不快な思いをされている方が多数いらっしゃいます。

これまでに、甜茶、シソ、トマト、バラなど、植物由来の抗アレルギー食品向け素材が数多く開発されており、その作用機序やヒトでの有効性など機能の裏付けとなる科学的データが揃いつつあります。しかしながら、これら既存の抗アレルギー素材は、何らかのかたちで、海外栽培品との関わりが考えられます。そこでオリザ油化では、国産野菜や果実について抗アレルギー活性に関する既出論文の調査やスクリーニング試験を実施した結果、フキの有効性に注目しました。

フキは学名 *Petasites japonicus*、英語名 Japanese Butterbur から分かるように、数少ない日本原産の野菜です。風味が良く早春を代表する食材として、日本人に古くから親しまれてきました。その種類は、山野に自生する野生のフキの他、栽培品種である「愛知早生フキ(*P. japonicus* Maxim.)」、「水フキ」、「アキタブキ(*P. japonicus* Maxim. var. *giganteus*)」、「ノビスギデンネン」など200種以上を数えます。栽培地としては、愛知県、群馬県、大阪府、北海道において、栽培が盛んであり、この中で「愛知早生フキ」は、生育が早く、収量が多いことから現在では栽培品種の代表格になっています。愛知県はフキの全国における最大の産地であり、特に知多地区の平成13年度の生産量は6,800トンで、愛知県の約90%、また全国の約40%を占めています。かつては早春の代名詞であったフキは、現在では10月から翌年5月まで出荷できるように栽培されています。

オリザ油化では、全国一の生産量を誇る愛知県産のフキに着目し、JA あいち知多や京都薬科大学の協力のもと、愛知県産フキから抽出したエキスの抗アレルギー活性評価を行った結果、マスト細胞からの脱顆粒、ロイコトリエン遊離及びTNF- $\alpha$ 産生に対する抑制作用の他、血管や気管の平滑筋収縮に対する抑制作用を有するこ



愛知早生フキ

とを見出しました。さらに、*in vivo* での有効性を確認するとともに、ヒトでの評価も実施しました。一方、有効成分としてセスキテルペン 2 種、ポリフェノール 6 種およびトリテルペン配糖体 2 種を単離同定するとともに、<sup>1)</sup> 新規セスキテルペン配糖体 fukinoside を単離構造決定しました。<sup>2)</sup> これらの活性成分を含有する「フキエキス」は、花粉症やアトピー性皮膚炎の症状緩和を目的とした抗アレルギー作用訴求製品にお使いいただけるものと考えております。

- 1) Shimoda H., Tanaka J., Yamada E., Morikawa T., Kasajima N., Yoshikawa M. Anti type I allergic property of Japanese butterbur extract and its mast cell degranulation inhibitory ingredients. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 2915-2920 (2006).
- 2) Yoshikawa M., Morikawa T., Tanaka J., Shimoda H. Medicinal foodstuff XXXII. Novel sesquiterpene glycoside sulfate, fukinoside A, with antiallergic activity from Japanese butterbur (*Petasites japonicus*). *Heterocycles*, **68** (11), (2006) in press.

## 2. フキエキスの機能性および含有成分

### (1) 伝承薬効および最近の研究

フキは別名蜂斗菜(ホウトサイ)ともよばれ、古くは解毒、駆瘀血および打撲症の治療を目的に使用されてきました。フキには精油成分が数多く含有されており、ふきのとうや根茎についてはセスキテルペンに関する複数の報告があります。<sup>1-4)</sup> また一部のエレモフィラン型セスキテルペンについては、抗アレルギー作用が既に報告されています。<sup>5)</sup>

ここ数年、愛知県と肩を並べるフキの産地である北海道や大阪の研究者により、フキの食用部位に関する研究が盛んに行われています。とくにフキに特徴的なポリフェノールであるフキノール酸については、帯広畜産大学の田崎先生のグループと大阪食とみどりの技術センターの岩本先生により、その生合成経路に関する研究<sup>6)</sup>や定量法<sup>7)</sup>が報告されています。またフキの品種改良については、群馬県農業試験センターにおいて、ふきのとうの収穫量を上げるための2倍体の交配研究が進んでいます。<sup>8)</sup> 一方、生物活性については、抗酸化活性<sup>9)</sup>、コラーゲン分解作用<sup>10)</sup>、好中球エラスターゼ阻害活性<sup>11)</sup>、エストロゲン活性<sup>12)</sup>、血管拡張作用<sup>13)</sup>およびアミラーゼやカルボキシペプチダーゼに対する阻害活性<sup>14)</sup>が報告されています。他のポリフェノールについては、フェニルプロパノイドのペタシフェノールにDNAポリメラーゼ阻害活性<sup>15,16)</sup>が見出されています。

近年、「西洋フキ (*Petasites hybridus*)」の根から抽出したエキスについて、アレルギー性鼻炎患者に対する症状改善効果が発表されました。<sup>17,18)</sup> この報告に

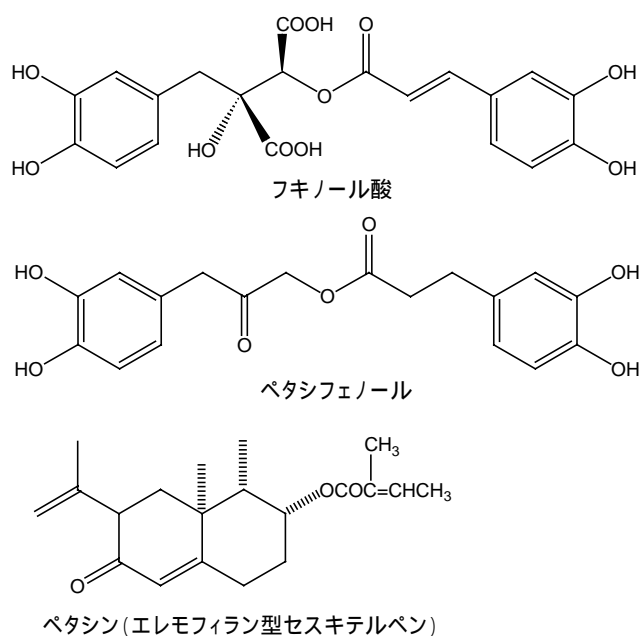


図 1. フキまたは西洋フキの既知成分

において、西洋フキの効果は医療用抗ヒスタミン剤と同等であるだけでなく、中枢神経系の抑制作用に基づく副作用がみられなかったとしています。有効成分はペタシンであり、フラボノイドなどにみられるマスト細胞からの脱顆粒抑制作用に加え、毛細血管や気管支の拡張作用及びロイコトリエン合成阻害作用<sup>19)</sup>を有することから、従来の抗アレルギー素材とは異なり、アレルギー症状発症時においての有効性が期待されています。

- 1) Naya K., Takagi I. The structure of petasitin, a new sesquiterpene from *Petasites japonicus* Maxim. *Tetrahedron Lett.*, **5**, 629-32 (1968).
- 2) Naya K., Nakagawa M., Hayashi M., Tsuji K., Naito M. The constituents of *Petasites japonicus* Maxim. Rhizomes. *Tetrahedron Lett.*, **31**, 2961-4 (1971).
- 3) Tori M., Kawahara M., Sono M. Novel epoxyremophilanolides, eremopetasitenins A1, A2, B1, and B2, from *Petasites japonicus*. *Tetrahedron Lett.*, **38**, 1965-8 (1997).
- 4) Goto Y., Kojima Y., Nakayama T., Terazawa M. Allelopathic sesquiterpenoids from rhizomes of *Petasites japonicus* ssp. *Giganteus* Kitam. *Phytochemistry*, **57**, 109-13 (2001).
- 5) Tobinaga S., Takeuchi N., Kasama T., Yamashita J., Aida Y., Kaneko T. Anti-histaminic and anti-allergic principles of *Petasites japonicus* Maxim. *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 745-8 (1983).
- 6) 田崎弘之, FELD, Hildegard, 波佐康弘, 西村真平, 岩本 嗣 日本農芸化学会 2004 年度大会 (広島) 講演要旨集 p. 89 (2004).
- 7) 岩本 嗣, 田崎弘之 日本農芸化学会 2004 年度大会 (広島) 講演要旨集 p. 89 (2004).
- 8) 小泉丈晴, 池田 洋, 工藤暢宏 園学研, **3**, 261-5 (2004).
- 9) 渡辺 悟, 田崎弘之, 三沢尚子, 佐藤和恵, 坂上 宏 日本農芸化学会 2004 年度大会 (広島) 講演要旨集 p. 87 (2004).
- 10) Kusano A., Seyama Y., Nagai M., Shibano M., Kusano G. Effects of fukinolic acid and cimicifugic acids from *Cimicifuga* species on collagenolytic activity. *Biol. Pharm. Bull.*, **24**, 1198-201 (2001).
- 11) Loser B., Kruse S. O., Melzig M. F., Nahrstedt A. Inhibition of neutrophil elastase activity by cinnamic acid derivatives from *Cimicifuga racemosa*. *Planta Med.*, **66**, 751-3 (2000).
- 12) Kruse S. O., Lohning A., Pauli G. F., Winterhoff H., Nahrstedt A. Fukilic and piscidic acid esters from the rhizome of *Cimicifuga racemosa* and the *in vitro* estrogenic activity of fukinolic acid. *Planta Med.*, **65**, 763-4 (1999).
- 13) Noguchi M., Nagai M., Koeda M., Nakayama S., Sakurai N., Takahira M. Vasoactive effects of cimicifugic acids C and D, and fukinolic acid in cimicifuga rhizome. *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 1163-8 (1998).
- 14) Kusano G., Takahira M., S., Shibano M., Kusano A., Okamoto Y., Tsujibo H., Numata A., Inamori Y. Studies on inhibitory activities of fukilic acid esters on germination,  $\alpha$ -amylase and carboxypeptidase A. *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 997-9 (1998).
- 15) Mizushina Y., Hirota M., Murakami C., Ishidoh T., Kamisuki S., Shimazaki N., Takemura M., Perpelescu M., Suzuki M., Yoshida H., Sugawara F., Koiwai O., Sakaguchi K. Some anti-chronic inflammatory compounds are DNA polymerase  $\alpha$ -specific inhibitors. *Biochem. Pharmacol.*, **66**, 1935-44 (2003).
- 16) Mizushina Y., Kamisuki S., Kasai N., Ishidoh T., Shimazaki N., Takemura M., Asahara H., Linn S., Yoshida S., Koiwai O., Sugawara F., Yoshida H., Sakaguchi K. Petasiphenol: a DNA polymerase  $\alpha$  inhibitor. *Biochemistry*, **41**, 14463-71 (2002).
- 17) Lee D. K., Carstairs I. J., Haggart K., Jacson C. M., Currie G. P., Lipworth B. J. Butterbur, a herbal remedy, attenuates adenosine monophosphate induced nasal responsiveness in seasonal allergic rhinitis. *Clin. Exp. Allergy*, **33**, 882-6 (2003).
- 18) Schapowal A. Randomised controlled trial of butterbur and cetirizine for treating seasonal allergic rhinitis. *B. M. J.*, **328**, 1-4 (2002).
- 19) Bickel D., Rder T., Bestmann H. J. Brune K. Identification and characterization of inhibitors of peptide-leukotriene-synthesis from *Petasites hybridus*. *Plant Med.*, **60**, 318-22 (1994).

## (2) フキエキスの抗アレルギー成分

フキには、特有の香り成分であるモノテルペンやセスキテルペンの他、ポリフェノール成分が数多く含有されています。しかしながら、先に述べたようにセスキテルペンについては、根茎やふきのとうの含有成分に関する報告はあるものの、食用部位である地上部についてはほとんどありません。そこで、オリザ油化では、フキの地上部から抽出したエキスの脂溶性分画について、ラット好塩基球性マスト細胞である RBL-2H3 の脱顆粒抑制活性を指標とした抗アレルギー活性成分の探索を進めた結果、下記成分を単離・同定するとともに、新規セスキテルペン配糖体 fukinoside A (potassium 2 $\beta$ -hydroxyfukinone-2-O- $\beta$ -D-glucopyranoside-6'-sulfate) を単離・構造決定しました。

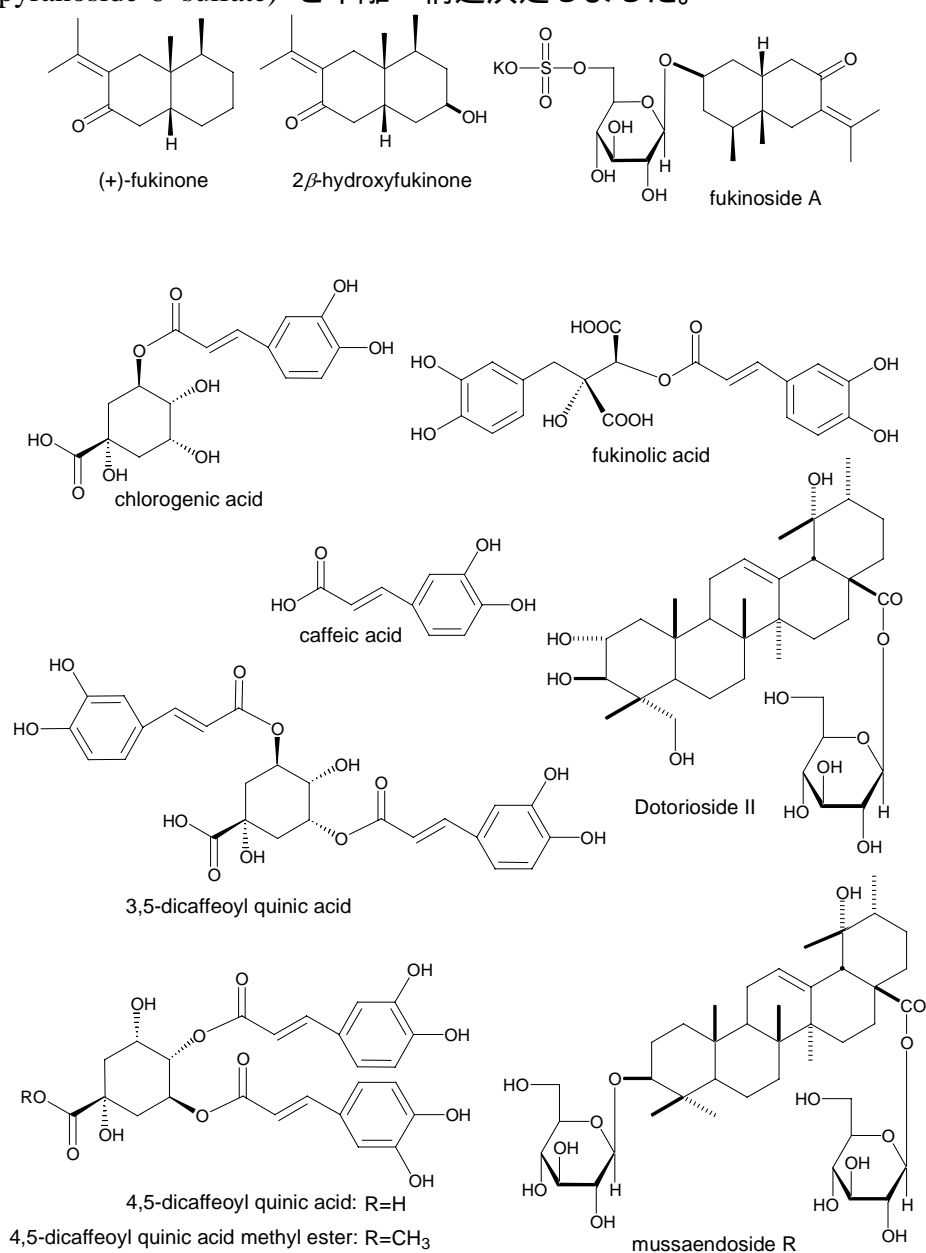


図 2. フキ地上部の含有成分

### 3. アレルギーの発症機構

アレルギー疾患罹患者のマスト細胞表面には、特定の抗原（花粉など）と結合する性質を持った IgE 抗体が存在します。体内に進入した抗原が IgE に結合・架橋することで、Lyn, Syk をはじめとする特定タンパクのリン酸化や、カルシウムイオンの流入による細胞内カルシウムやジアシルグリセロール濃度の上昇が惹起されます。その結果、ヒスタミンを含む顆粒の細胞外への開口分泌（脱顆粒）、5-リポキシゲナーゼ活性化によるロイコトリエンの産生ならびに核内サイトカイン転写因子の活性化による TNF- $\alpha$  の産生などが引き起こされます。花粉症にみられる目鼻のかゆみや鼻水の増加，喘息の気管支収縮や鼻づまりは、これらマスト細胞からつくられる物質によって引き起こされています。また、TNF- $\alpha$  はアレルギー疾患の慢性化や過敏性の亢進に関与しています（図 3）。

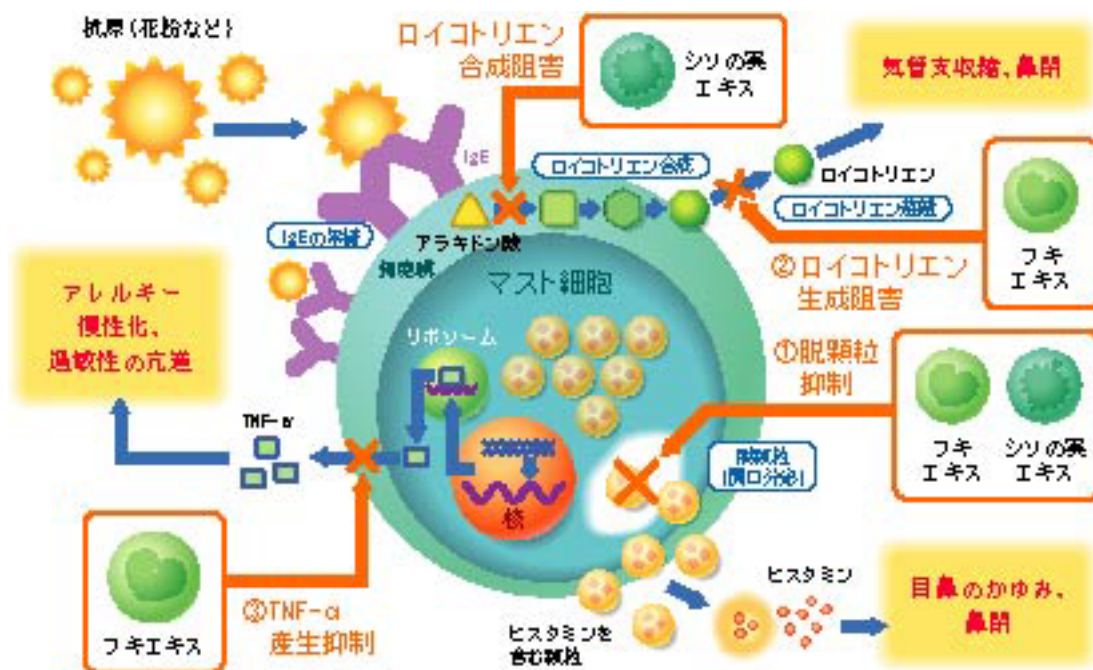


図 3. 抗原刺激時のマスト細胞の活性化とフキエキスおよびシソの実エキスの作用点

## 4. フキエキスとシソの実エキスの併用効果

オリザ油化では、抗アレルギー素材として既に「シソの実エキス」を上市しており、脱顆粒抑制作用やロイコトリエン合成阻害の他、抗炎症作用を備えており、種々の抗アレルギー食品にお使い頂いております。

一方、フキエキスは、脱顆粒抑制作用の他、シソの実エキスにはないロイコトリエン遊離抑制作用や TNF- $\alpha$  産生抑制作用を備えており、種々のアレルギー症状を軽減することが可能です。

さらに、フキエキスとシソの実エキスを併用することにより、表 1 に示すような抗アレルギー効果が期待できます。併用により、マスト細胞が関与するアレルギー反応において、2つの素材が効果的に機能することが、図 4 でわかりいただけます。

表 1. フキエキスとシソの実エキスの併用効果

1	脱顆粒抑制作用の増強	シソの実エキス フキエキス	目鼻のかゆみ，鼻水軽減作用の増強
2	ロイコトリエンの生成及び遊離阻害	合成阻害：シソの実エキス 遊離阻害：フキエキス	鼻閉，気道収縮に対する抑制効果の増強
3	TNF- $\alpha$ 産生抑制	フキエキス	アレルギー疾患の慢性化の抑制，気道組織，眼および鼻粘膜の過敏症の亢進抑制

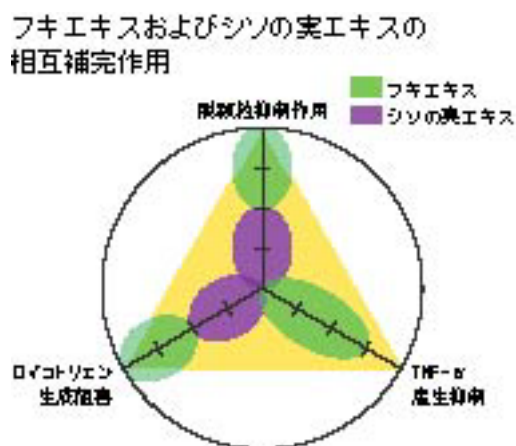


図 4. マスト細胞のアレルギー反応に対する弊社抗アレルギー素材の作用イメージ

## 5. フキエキスの抗 型アレルギー作用

### (1) 脱顆粒抑制作用 (*in vitro*)

フキエキスならびに既存の抗アレルギー素材のマスト細胞からの脱顆粒抑制作用を、ラット好塩基球性マスト細胞 (RBL-2H3) からのヘキソサミニダーゼ遊離を指標に比較検討しました。その結果、フキエキスには、甜茶エキスと同等の脱顆粒抑制作用があることが分かりました (図5)。

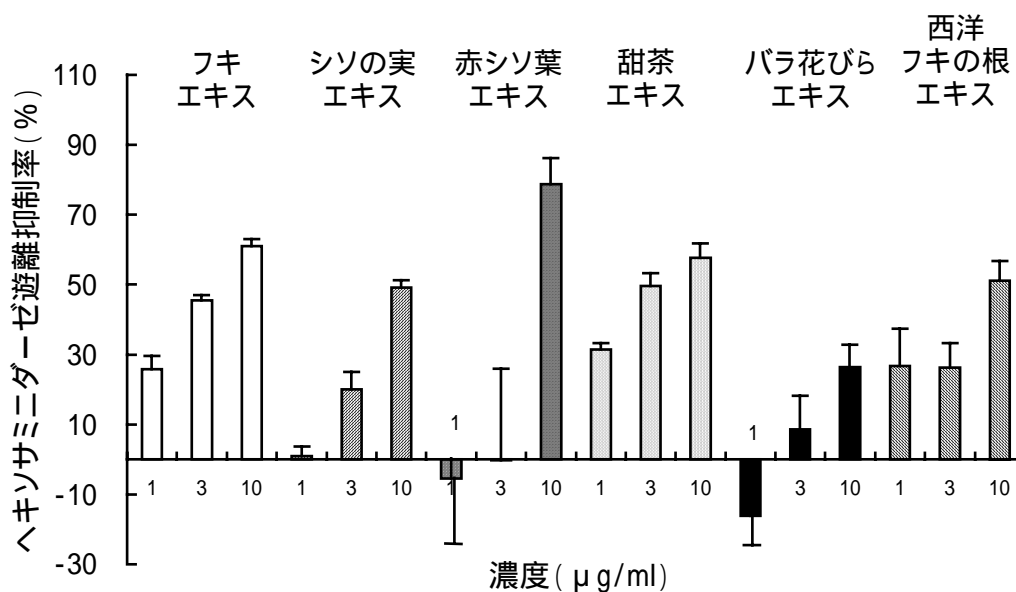


図5. フキエキス及び既存抗アレルギー素材の、RBL-2H3 細胞からのヘキソサミニダーゼ遊離抑制作用 (n=4-6, 平均値 ± 標準誤差)

表2. フキエキス及び既存抗アレルギー素材の RBL-2H3 細胞からのヘキソサミニダーゼ遊離に対する IC<sub>50</sub> 値

素材名	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
フキエキス	5.0
シソの実エキス	15.2
赤シソ葉エキス	8.6
甜茶エキス	4.2
バラ花びらエキス	59.9
西洋フキの根エキス	6.8

また、フキエキスの含有成分について、マスト細胞からの脱顆粒抑制作用を、ラット好塩基球性マスト細胞 (RBL-2H3) からのヘキソサミニダーゼ遊離を指標に比較検討しました。その結果、mussaendoside R を除く全ての成分に脱顆粒抑制活性があることが分かりました (図6, 表3)。



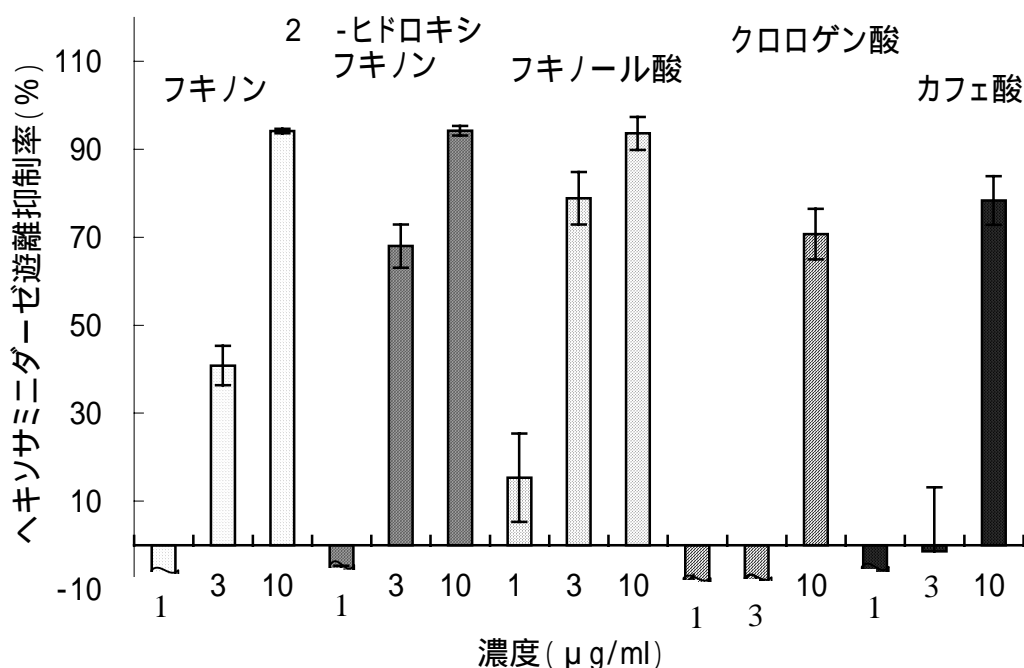


図 6. フキエキス含有成分の、RBL-2H3 細胞からのヘキソサミニダーゼ遊離抑制作用 (n=4, 平均値 ± 標準誤差)

表 3. フキエキス含有成分の RBL-2H3 細胞からのヘキソサミニダーゼ遊離に対する IC50 値

成分名	IC50 ( µg/ml )	成分名	IC50 ( µg/ml )
(+)-Fukinone	4.2	2β-Hydroxyfukinone	4.2
Chlorogenic acid	9.5	Fukiolic acid	2.1
Caffeic acid	8.6	3,5-Dicaffeoyl quinic acid	2.9
4,5-Dicaffeoyl quinic acid	3.3	4,5-Dicaffeoyl quinic acid methyl ester	4.0
Dotorioside II	4.0	Mussaendoside R	>100
成分名		IC50 ( µg/ml )	
Potassium 2β-hydroxyfukinone-2-O-β-D-glucopyranoside-6'-sulfate			8.6

【実験方法】

RBL-2H3 細胞を、ウシ胎児血清 (10%)、ペニシリン (100 unit/ml) およびストレプトマイシン (100 µg/ml) を含有する Minimum Essential Medium Eagle (MEM 培地, Sigma 社) 中で継代培養 (37 °C, 5% CO<sub>2</sub>) した。反応惹起前日に、RBL-2H3 細胞を 24 穴平底マイクロプレートに 2.0 × 10<sup>5</sup> 個 (400 µl/well) ずつ播種した。1 時間培養後、ラットモノクローナル抗ジニトロフェニル (DNP)-IgE 抗体 (Sigma 社) を添加し、(終濃度: 0.45 µg protein/ml)、24 時間培養して感作をおこなった。試験当日、感作させた細胞を 500 µl の siraganian buffer (pH7.2, 119 mM NaCl, 5 mM KCl, 0.4 mM MgCl<sub>2</sub>, 25 mM PIPES) で 2 回洗浄し、160 µl の 5.6 mM glucose, 1 mM CaCl<sub>2</sub> および 0.1% ウシ血清アルブミン (BSA) を含有す

る siraganian buffer を加えて 37 で 10 分間予備加熱した。次に、20  $\mu$ l の被験物質溶液を加え、10 分後に抗原となる DNP-BSA (終濃度: 10  $\mu$ g/ml) を加えて 30 分間反応させた。反応終了後、10 分間氷冷して反応を止めた後、上清 50  $\mu$ l を別の 96 穴平底マイクロプレートに移した。ここに 0.1M クエン酸 buffer (pH 4.5) に溶解した 1 mM *p*-nitrophenyl-*N*-acetyl- $\beta$ -glucosaminide (PNAG) 50  $\mu$ l を加えて混和後、37 で 1 時間反応させた。反応溶液に 200  $\mu$ l の反応停止液 (0.1M NaHCO<sub>3</sub>/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, pH: 10.0) を加えて混和し、マイクロプレートリーダーで吸光度 (測定波長: 410nm) を測定して、ヘキソサミニダーゼ遊離率を算出した。

## (2) ロイコトリエン遊離抑制作用 (*in vitro*)

ロイコトリエンは抗原刺激により、マスト細胞の細胞膜リン脂質から合成される炎症性メディエーターで、気管支喘息における気道収縮に関与しています。フキエキスならびに既存の抗アレルギー素材について、抗原刺激によるロイコトリエン遊離におよぼす作用を検討しました。その結果、フキエキスに抑制作用が認められました (図 7)。一方、甜茶エキスやシソの実エキスには、抑制作用はみられませんでした。

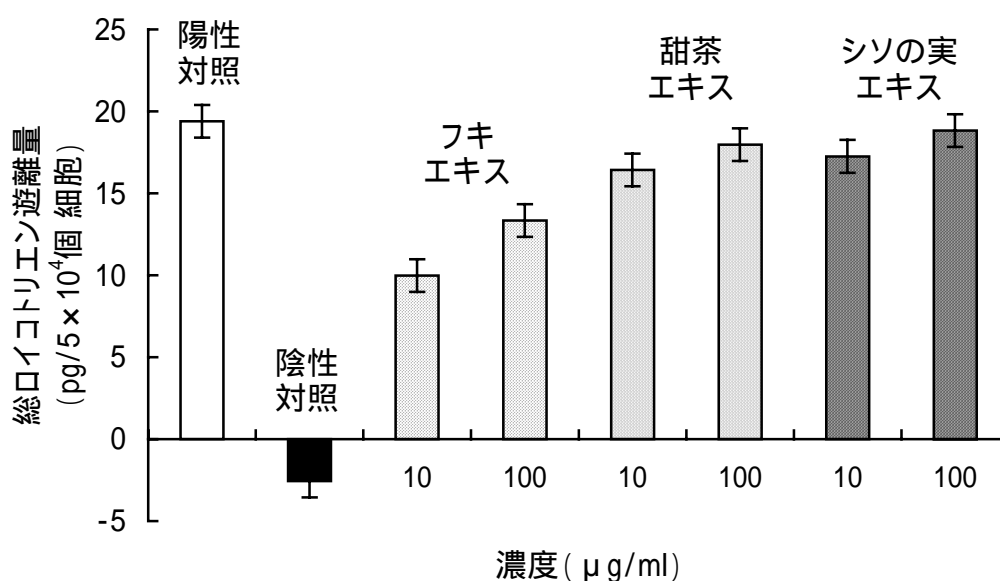


図 7. フキエキス及び既存抗アレルギー素材の、RBL-2H3 細胞からの抗原刺激によるロイコトリエン遊離阻害活性 (n=6, 平均値 ± 標準誤差)

### 【実験方法】

脱顆粒試験に準じて試験を行い、抗原刺激 30 分後に培養上清中に遊離されるロイコトリエン量を ELISA 法 (Leukotriene C<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub> enzyme immunoassay system, アマシャムファルマシア社) を用いて測定した。

### (3) TNF- 産生抑制活性 (*in vitro*)

TNF- は、抗原刺激の数時間後（即時型アレルギー遅発相）に産生される炎症性サイトカインのひとつで、アレルギー疾患においては、症状の増悪、慢性化に関与しているといわれています。フキエキスは、低濃度から濃度依存的な TNF- 産生抑制作用を示しました（図 8）。一方、低濃度（1 および 10  $\mu\text{g/mL}$ ）のバラ花びらエキスやシソの実エキスに、抑制作用はみられませんでした。

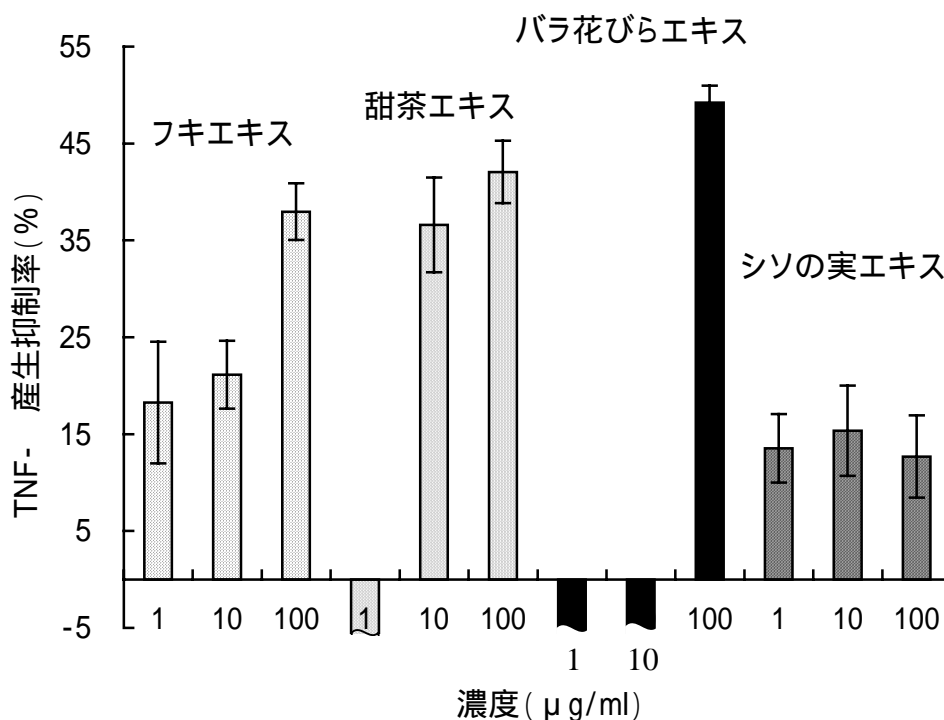


図 8. フキエキス及び既存抗アレルギー素材の、RBL-2H3 細胞からの抗原刺激による TNF- 産生抑制活性 (n=4, 平均値  $\pm$  標準誤差)

#### 【実験方法】

脱顆粒試験に準じて試験を行い、抗原刺激 4 時間後までに産生される TNF- 量を ELIZA 法 (Tumor Necrosis Factor Alpha [( )TNF ], Rat, Biotrak ELIZA system, アマシャムファルマシア社) を用いて測定した。

### (4) ラット PCA 反応 (*in vivo*)

フキエキスの *in vivo* における抗アレルギー作用を、I 型アレルギーモデルのラット受身皮膚アナフィラキシー (PCA) 反応を用いて調べました。試験の結果、フキエキスは反応惹起 2 時間前の経口投与により、炎症反応による色素の皮内への漏出を抑制することが分かりました (図 9)。

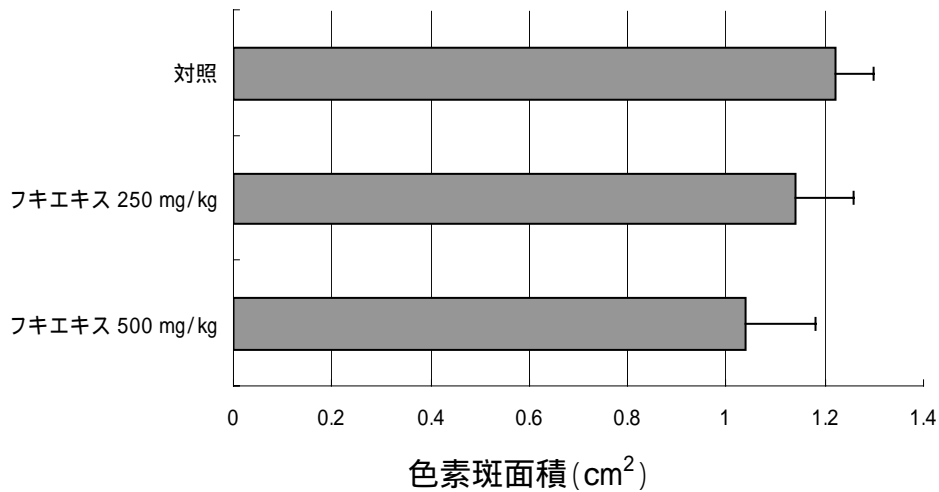


図9. フキエキスのラット PCA 反応に対する作用 (n=6, 平均値 ± 標準誤差)

**【実験方法】**

ラット (Wistar, 雄, 7 週齢) の背部を剃毛後, PBS (-) で 12500 倍希釈した抗 DNP-IgE (100 μl/site) を皮内投与した。2 日後 (前日から 20 時間絶食) に, フキエキスの 5% アラビアゴム懸濁液を経口投与し, 2 時間後に DNP-BSA (1.5 mg/ml) を含有する 1% エバンズブルー-PBS (-) 溶液 (0.5 ml) を静脈内投与した。30 分後にラットを屠殺し, 皮膚に漏出したエバンズブルーの色素斑の面積をデジタルプランイメーターで測定した。

**(5) ロイコトリエンに対する抗炎症作用 (in vivo)**

フキエキスの抗炎症作用を, ロイコトリエン D4 皮内投与による炎症モデルを用いて評価しました。その結果, フキエキスは, 500 mg/kg の投与により, 抗炎症作用を示すことが明らかになりました。

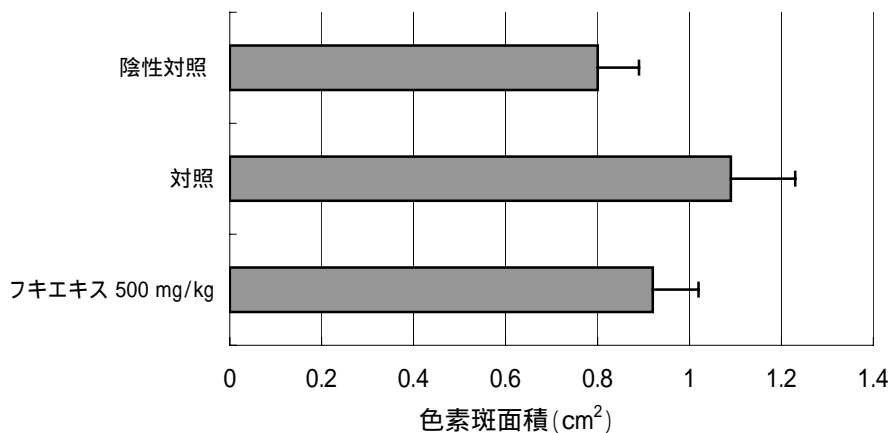


図10. フキエキスのロイコトリエン D4 誘発炎症反応に対する作用 (n=4, 平均値 ± 標準誤差)

【実験方法】

前日から 20 時間絶食したラットに、フキエキスの 5%アラビアゴム懸濁液を経口投与した。2 時間後に 1%エバンズブルー-PBS (-) 溶液 (0.5 mL) を静脈内投与した。ラットの背部を剃毛し、エバンズブルー投与 30 分後に、ロイコトリエン D<sub>4</sub> (1 μg/mL) および陰性対照として PBS (-) を、正中線を挟んで 2 箇所それぞれ 100 μL/site) ずつ皮内投与した。さらに 30 分後にラットを屠殺し、皮膚に漏出したエバンズブルーの色素斑の面積をデジタルプランメーターで測定した。

(6) 血管および気管に対する収縮抑制効果 (in vitro)

既に発症してしまったアレルギー疾患の症状緩和には、対象となる組織に直接作用し、平滑筋を弛緩させる必要があります。例えば、花粉症の鼻閉（鼻詰まり）においては、マスト細胞から遊離したヒスタミンによって鼻粘膜の血管が収縮しています。また、気管支喘息では、ロイコトリエンによる気管支平滑筋の収縮により、気道狭窄が起こっています。そこで、フキエキスと既存の抗

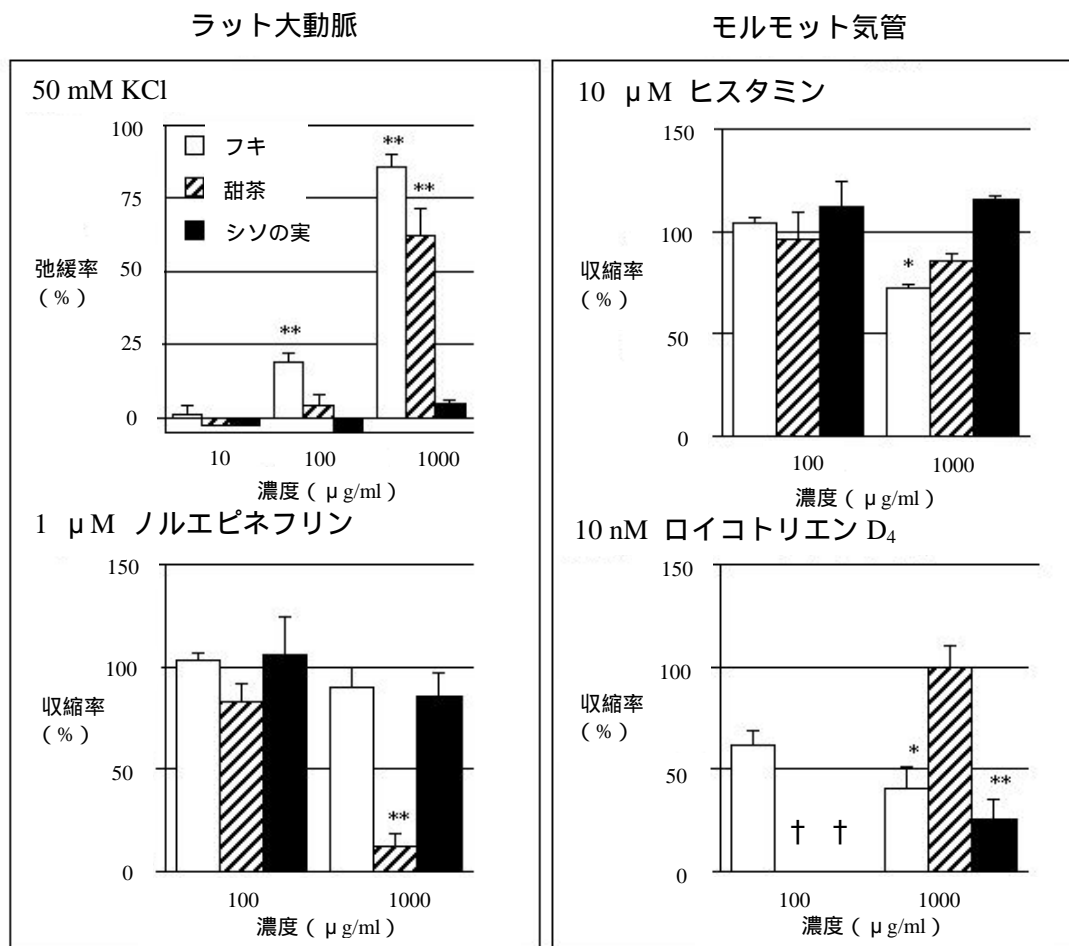


図 11. フキエキスおよび既存抗アレルギー素材の血管および気管収縮に対する作用 (n=3-6, 平均値 ± 標準誤差, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01, †: 未検討)

アレルギー素材について、KCl やノルエピネフリンによって惹起された血管収縮に対する作用をラットの大動脈標本を用いて、ヒスタミンやロイコトリエン D<sub>4</sub> による気管収縮に対する作用をモルモットの気管標本を用いて検討しました。

試験の結果、血管収縮において、フキエキスと甜茶エキスに KCl によって収縮した平滑筋に対する弛緩作用が認められました(図 11)。ノルエピネフリンによる平滑筋収縮に対しては、甜茶エキスに収縮抑制作用がみられましたが、フキエキスには抑制作用は認められませんでした。この結果から、フキエキスは、非特異的な血管平滑筋弛緩作用を有することが分かります。一方、気管収縮においては、フキエキス(1000 μg/ml)にヒスタミン収縮に対する有意な抑制作用が認められました。ロイコトリエン D<sub>4</sub> による収縮に対しては、フキエキスとシソの実エキスに有意な抑制作用が認められました。

これらの結果から、フキエキスは血管や気管の平滑筋収縮に対する抑制作用を有し、既に発症してしまったアレルギー疾患(鼻詰まりや気道収縮)の症状緩和にも効果が期待できます。さらに、フキエキス含有成分であるフキノンの平滑筋収縮抑制活性を調べた結果、KCl による血管収縮に対する弛緩作用(表 4)、ヒスタミンやロイコトリエン D<sub>4</sub> による気道収縮に対する抑制作用(表 5, 6)が認められました。

表 4. フキノンの KCl による血管収縮に対する抑制作用

	n	弛緩率 (%)		
		1 (μg/ml)	3	10
対照	4	3.1 ± 2.3	5.0 ± 2.0	6.3 ± 1.9
フキノ	4	1.6 ± 0.3	10.9 ± 0.7**	49.2 ± 2.2**

平均値 ± 標準誤差, \*\*: p<0.01

表 5. フキノンのヒスタミン (His) による気管収縮に対する抑制作用

	濃度 (μg/ml)	n	収縮率 (%)		
			His 1 (μM)	3	10
対照	-	5	22.0 ± 4.7	45.8 ± 4.5	97.0 ± 8.5
フキノ	10	3	15.7 ± 4.3	34.6 ± 10.5	92.9 ± 7.5
	30	3	25.0 ± 2.2	54.4 ± 6.4	102.1 ± 6.4
	100	3	11.5 ± 5.3	24.7 ± 11.1	54.1 ± 19.2*

平均値 ± 標準誤差, \*: p<0.05

表 6. フキノンのロイコトリエン D<sub>4</sub> (LT) による気管収縮に対する抑制作用

	濃度 (μg/ml)	n	収縮率 (%)
			LT 10 (nM)
対照	-	3	104.5 ± 20.1
フキノ	10	3	92.7 ± 9.5
	100	3	51.6 ± 15.3

平均値 ± 標準誤差

**【実験方法】****ラット摘出胸部大動脈標本を用いた KCl 収縮試験**

ラット(Wistar, 雄, 体重 250 ~ 300 g)から胸部大動脈を摘出し, Krebs-Henseleit 栄養液 (NaCl: 118 mM, KCl: 2.7 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 1.2 mM, MgSO<sub>4</sub>: 1.2 mM, CaCl<sub>2</sub>: 2.5 mM, NaHCO<sub>3</sub>: 25 mM, Glucose: 10 mM) 中で螺旋状に切開して, 長さ 15 mm の切片標本を作製した。これを栄養液を満たしたマグヌス装置 (マグヌス槽容積: 6 mL) に装着し, 混合ガス (5% O<sub>2</sub>, 95% N<sub>2</sub>) でバブリングしながら 1 g の負荷をかけ, 張力の変化をアイソトニックトランスデューサーを介して解析装置 (MacLab 8e AD Instruments, 解析ソフト Chart v3.6.8) に記録した。張力安定後, 3 M KCl (100 μL) を添加し (終濃度 50 mM), 収縮がプラトーに達するまで放置した。次に 10 分間隔で 3 回洗浄操作を行い, 安定後に再び 3 M KCl (100 μL) を添加した。収縮がプラトーに達した後, DMSO に溶解した被検サンプル (3 μL) を低濃度から, 30 分間隔で累積添加し, 張力の変化を記録した。

**ラット摘出胸部大動脈標本を用いた ノルエピネフリン収縮試験**

作製した胸部大動脈切片を EDTA (37.2 mg/L) 含有 Krebs-Henseleit 栄養液中で, に準じて張力を安定させた。マグヌス槽に 1 mM ニフェジピン DMSO 溶液 (6 μL) を添加し, その 10 分後に 1 mM ノルエピネフリン (6 μL) を添加して収縮を 25 分間記録した。次に 10 分間隔で 3 回洗浄操作を行い, 安定後に再び 1 mM ニフェジピン DMSO 溶液 (6 μL) を添加して, 10 分間放置した。次に DMSO に溶解した被検サンプル (6 μL) を加え, 10 分後に ノルエピネフリンを終濃度で 1 nM ~ 10 μM になるように累積添加し, 張力の変化を記録した。

**モルモット摘出気管標本を用いたヒスタミン収縮試験**

モルモット (Hartley, 雌, 体重 250 ~ 300 g) から気管を摘出し, 1 μM のインドメサシンを含有する Krebs-Henseleit 栄養液中で, 長さ 3 ~ 4 mm の輪状に切断後, 軟骨部分を切開して標本を作製した。これをマグヌス装置に装着後, 1 g の負荷をかけ, 前述の方法に準じて張力の変化を記録した。張力安定後, 10 mM の塩酸ヒスタミン (6 μL) を添加し (終濃度 10 μM), 収縮がプラトーに達するまで放置した。次に 10 分間隔で 3 回洗浄操作を行い, 安定後に再び 10 mM の塩酸ヒスタミン (6 μL) を添加した。10 分間隔で 3 回洗浄後, DMSO に溶解した被検サンプル (6 μL) を加えた。さらに 10 分後, 0.3 ~ 10 mM の塩酸ヒスタミンを累積的に添加して張力の変化を記録した。

**モルモット摘出気管標本を用いたロイコトリエン D<sub>4</sub> 収縮試験**

に準じて, 気管の張力安定後, 10 μM のロイコトリエン D<sub>4</sub> (6 μL) を添加し (終濃度 10 nM), 収縮がプラトーに達するまで放置した。次に 10 分間隔で 3 回洗浄操作を行い, 安定後に再び 10 μM のロイコトリエン D<sub>4</sub> (6 μL) を添加した。10 分間隔で 3 回洗浄後, DMSO に溶解した被検サンプル (6 μL) を加えた。さらに 10 分後, 10 μM のロイコトリエン D<sub>4</sub> (6 μL) を添加して張力の変化を記録した。

## 6. フキエキスの花粉症罹患者に対する作用

スギ花粉症罹患者 [10 名 (うち 3 名はアンケートのみ)] に，スギ花粉飛散前から飛散時期にかけてフキエキス (250 mg) を 4 週間自由摂取してもらい，摂取後および摂取終了 4 週間 (リカバリー期間) 後のアレルギーに関する血中パラメーターを比較しました。同時に，摂取期間中と，摂取終了から 4 週の間 (リカバリー期間) に，花粉症症状に対するアンケート調査を行いました。

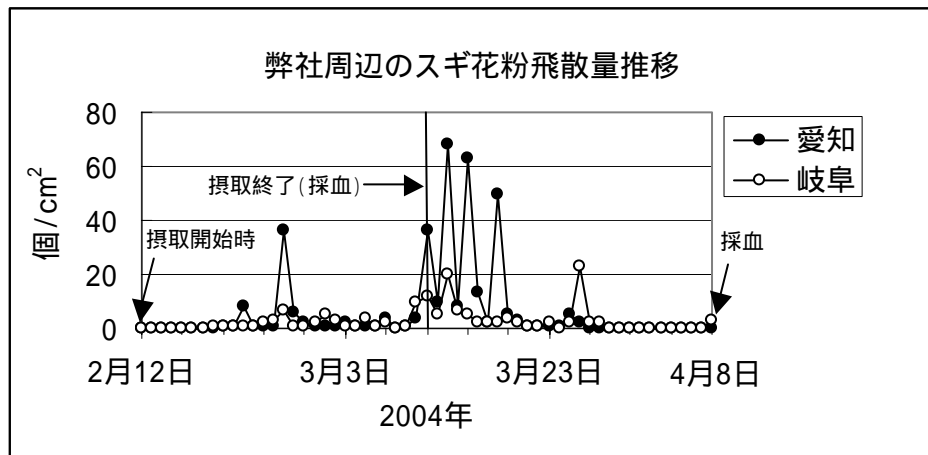
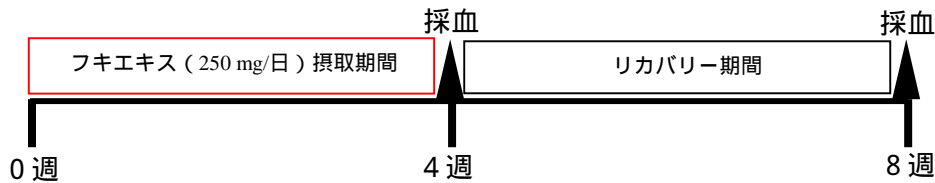


図 12. 試験スケジュールとスギ花粉の飛散量推移

2004 年度は，花粉の飛散が少ない年でしたが，摂取終了日である 3 月 11 日においては，愛知県名古屋市で 36 個/cm<sup>2</sup>，岐阜県岐阜市では 12 個/cm<sup>2</sup> と，まとまった量の花粉が観測されました。アンケート集計の結果，くしゃみ回数，臭覚および目の痒みについて，フキエキス摂取期間中に，リカバリー期間中と比較して，症状の緩解傾向がみられました (図 13)。血中パラメーターの比較では，フキエキス摂取直後の白血球に占める好塩基球比率が，リカバリー期間後の値と比較して低値を示していました (図 14)。好塩基球は，末梢組織中ではマスト細胞として存在していることから，その比率の上昇抑制は，マスト細胞が関与する I 型アレルギーの予防に何らかの形で寄与するものと思われます。一方，好酸球から産生される好酸球塩基性タンパク (ECP) のフキエキス摂取直後の血中濃度も，リカバリー後と比較して低値を示しており，フキエキス摂取期間中，好酸球の活動が抑制されていたことが示唆されます。



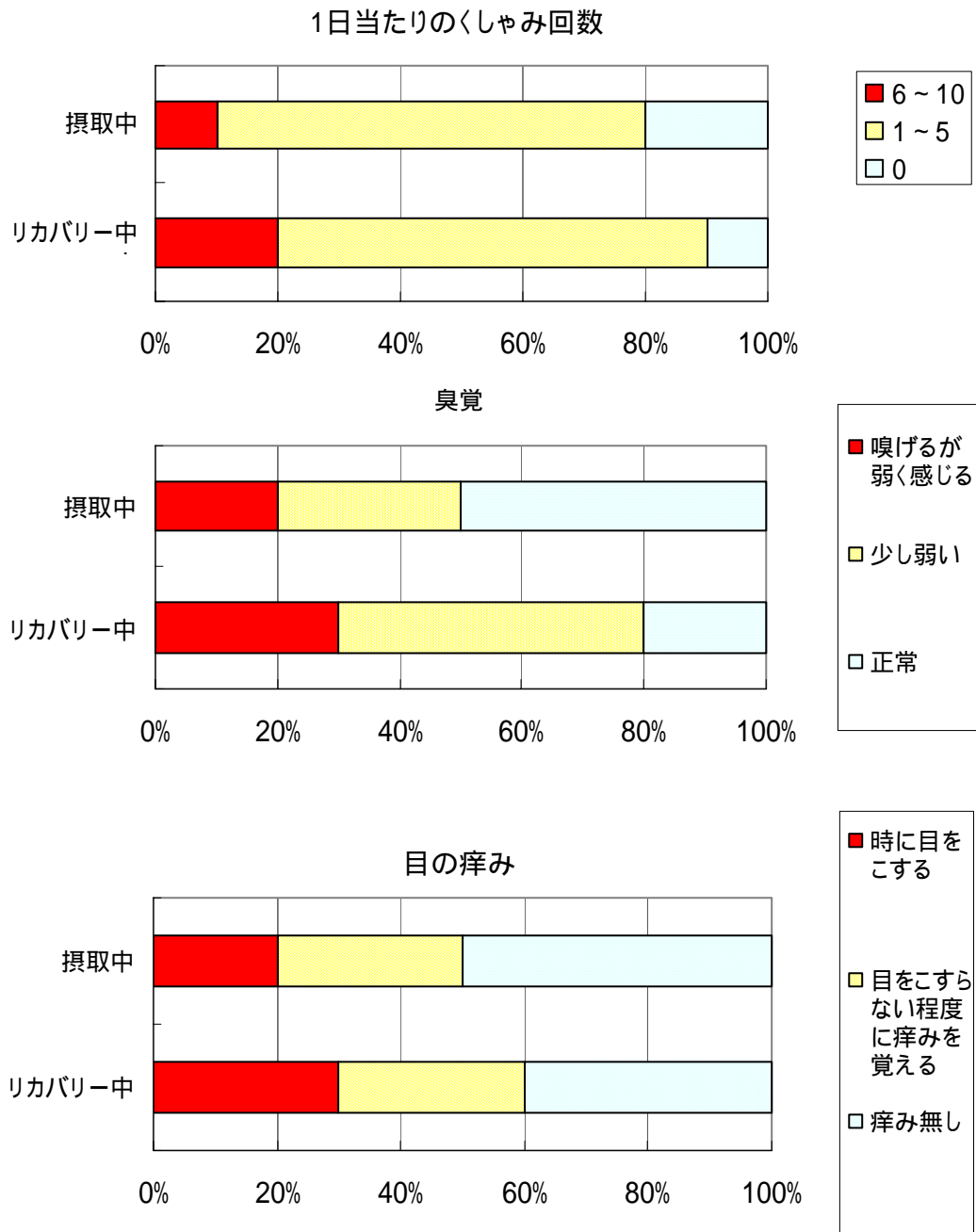


図 13. フキエキス摂取中と摂取後のリカバリー期間中の症状変化

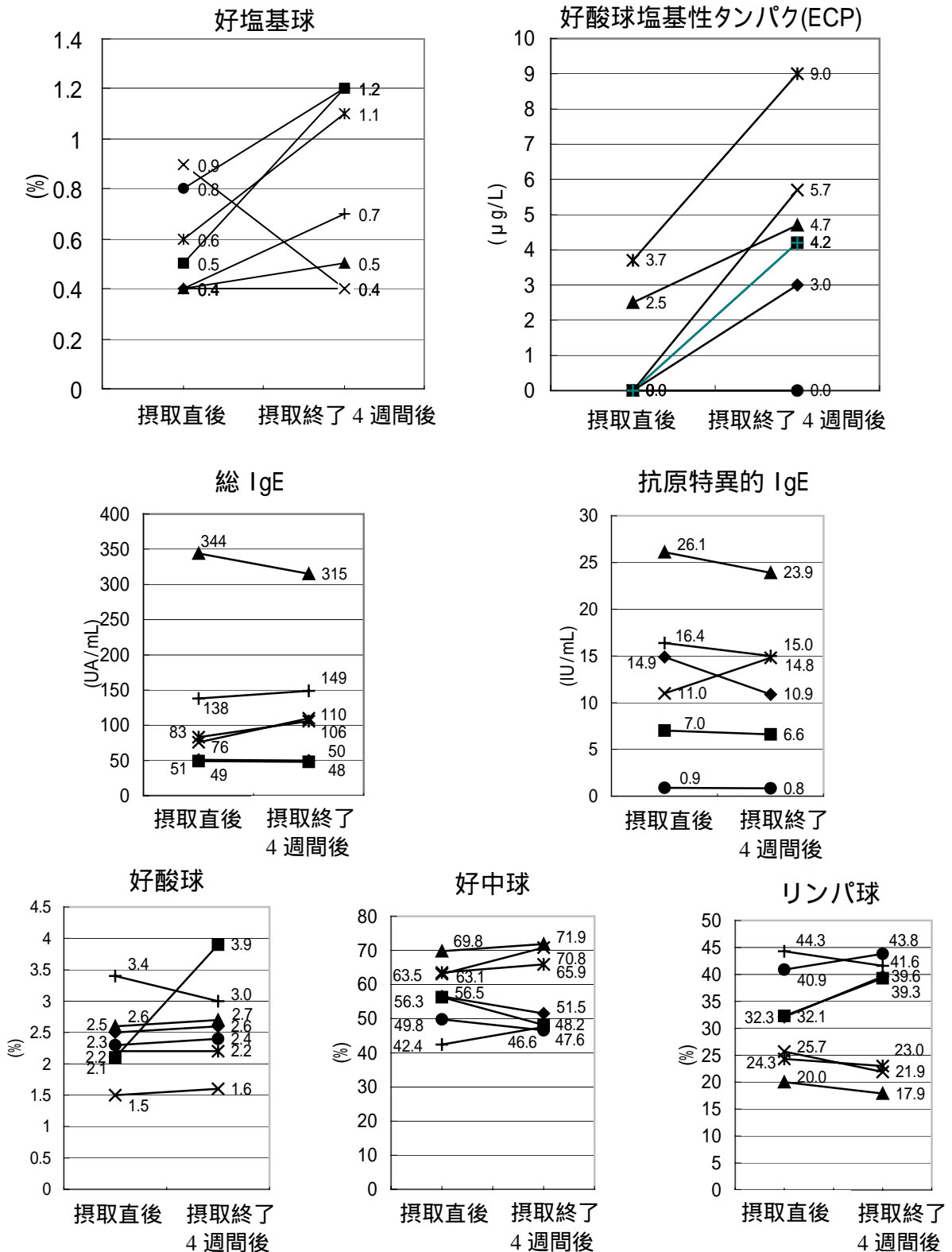


図 14. フキエキス摂取直後と摂取終了 4 週間後の血中パラメーター変化

## 7. フキエキスの安定性

### (1) 熱安定性

フキエキス-P の賦形剤未添加品の熱安定性を検討した結果，フキノン及び総ポリフェノール含量は，120℃，1時間の加熱によっても変化がみられず，通常の食品加工温度に対して安定であることが分かりました。

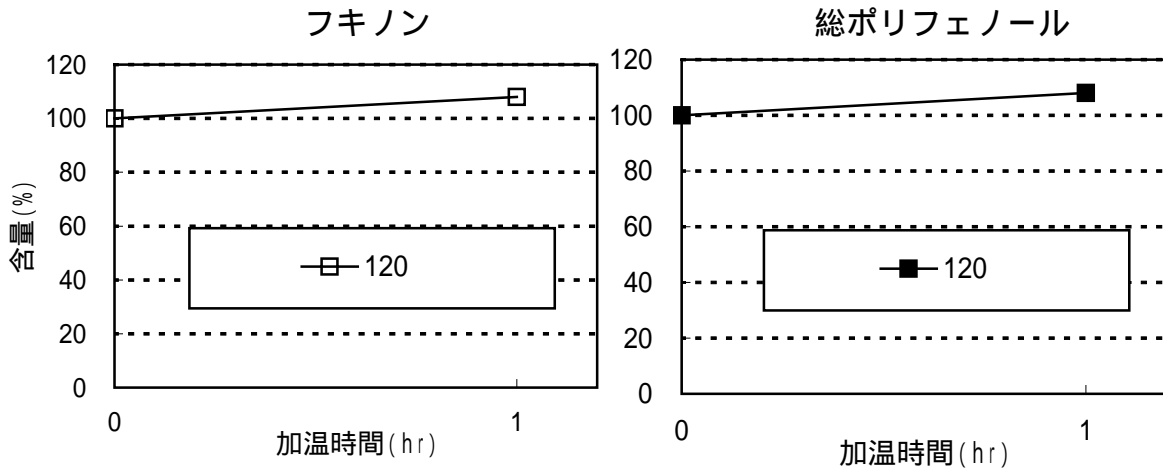


図 15 . フキエキス-P 賦形剤未添加品の熱安定性 (初期値を 100%とした)

### (2) pH 安定性

フキエキス-P の賦形剤未添加品を pH を調整した水溶液とし，非遮光下，室温で 1 週間保存後，フキノン及び総ポリフェノール含量を測定しました。フキエキス-P 賦形剤未添加品中のフキノン及び総ポリフェノールは，酸性からアルカリ性まで幅広い pH 域で安定であることが分かりました。

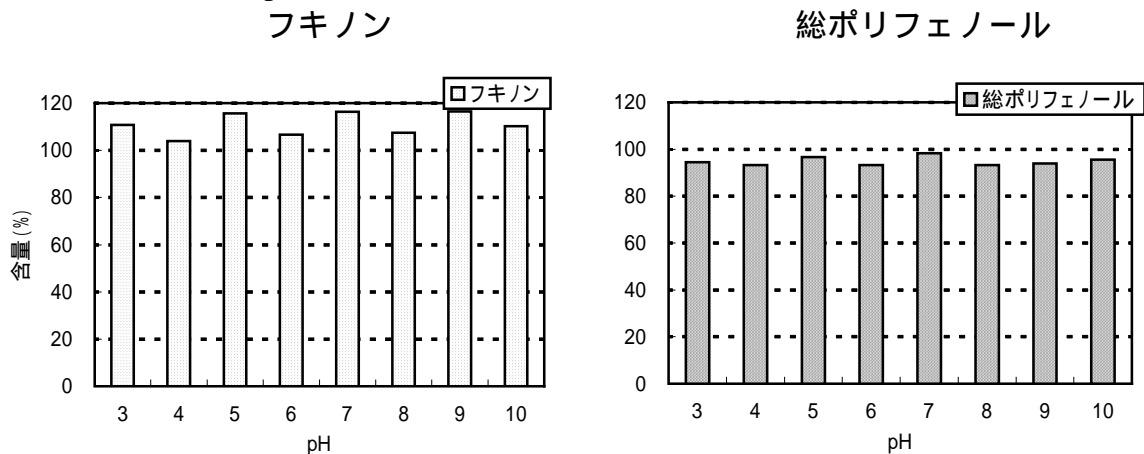


図 16 . フキエキス-P 賦形剤未添加品の pH 安定性 (初期値を 100%とした)

### (3) 液剤安定性

フキエキス-WSP の賦形剤未添加品について、0.5%水溶液(pH3.5)を調製し、室温(非遮光下)、40(遮光)、5(遮光)で経時的に保存し、沈殿、濁り、着色の有無を目視で確認しました。フキエキス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(0.5%水溶液)		
		室温 (非遮光下)	40 (遮光)	5 (遮光)
酸性 (pH3.5)	沈殿 濁り	16週間経過後, 沈殿,濁りなし	16週間経過後, 沈殿,濁りなし	16週間経過後, 沈殿,濁りなし
	着色	16週間経過後, 着色なし	16週間経過後, 着色なし	16週間経過後, 着色なし

## 8. フキエキス-P 賦形剤未添加品の栄養成分

分析項目	結果	注	分析方法
水分	0.8 g/100g		減圧加熱乾燥法
タンパク質	6.2 g/100g	1	ケルダール法
脂質	3.6 g/100g		酸分解法
灰分	20.9 g/100g		直接灰化法
炭水化物	68.5 g/100g	2	
エネルギー	331 kcal/100g		修正アトウォーター法
食物繊維	0.3 g/100 未満		プロスキー法
ナトリウム	1200 mg/100g		原子吸光光度法

注1) 窒素・タンパク質換算係数: 6.25

注2) 栄養表示基準(平成15年厚生省告示第176号)による  
計算式:  $100 - (\text{水分} + \text{タンパク質} + \text{脂質} + \text{灰分})$

注3) 栄養表示基準(平成15年厚生省告示第176号)による  
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16年4月19日

依頼番号: 第200404060017号

## 9. フキエキス-P 賦形剤未添加品の安全性

### (1) 残留農薬

食品衛生法(厚生労働省)で残留基準値が定められた 33 農薬について調査しました。

	分析項目	結果	検出限界	方法
1	アセフォート	検出せず	1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
2	イプロジオン	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
3	エトフェンプロックス	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
4	エトリムホス	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
5	クロルピリホス	検出せず	0.05 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
6	ジエトフェンカルブ	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
7	ジクロルボス	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
8	シハロトリン	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
9	シフルトリン	検出せず	1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
10	シペルメトリン	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
11	チオベンカルブ	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
12	チオメトン	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
13	トリクラミド	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
14	トリフルラリン	検出せず	0.05 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
15	トルクロホスメチル	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
16	パラチオンメチル	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
17	ビオレスメトリン	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
18	ピリダベン	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
19	ピリミホスメチル	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
20	ピレトリン	検出せず	1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
21	フェナリモル	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
22	フェニトロチオン	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
23	フェノブカルブ	検出せず	0.5 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
24	フェンバレレート	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
25	フルシトリネート	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
26	フルトラニル	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
27	プロシミドン	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
28	ペルメトリン	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
29	ペンディメタリン	検出せず	0.05 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
30	マラチオン	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
31	ミクロブタニル	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
32	メチオカルブ	検出せず	0.05 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法
33	レナシル	検出せず	0.1 ppm	ガスクロマトグラフ-質量法

試験依頼先：株式会社キューサイ分析研究所

試験成績書発行年月日：平成 16 年 4 月 12 日

試験成績書発行番号：第 20040405-1 号

## (2) 急性毒性 (LD<sub>50</sub>)

医薬品の単回投与毒性試験ガイドラインに従い、動物に負担のかからない許容最大量である 2000 mg/kg のフキエキスを、絶食下の ICR 系雌雄マウス (5 週齢) に経口投与し、14 日間飼育・観察を行いました。その結果、死亡例や体重推移の異常 (対照群との比較) は認められず、試験終了後に行った剖検においても、臓器の肉眼的異常は認められませんでした。したがって、フキ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 2000 mg/kg 以上です。

## 10. フキエキスの推奨摂取量

一日あたりフキエキス-P として、250 mg の使用をおすすめします。

## 11. フキエキスの応用例

	利用分野	訴求	剤形
食品	抗アレルギー食品	1) 花粉症対策 2) アトピー性皮膚炎対応等々	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, チューインガム, グミ, クッキー, チョコレート, ウエハース, ゼリー等
化粧品	抗アレルギー化粧品		化粧水, ローション, パック, ボディジェル等

なお、フキエキス-WSP は水溶性が高い為、食品では飲料、また化粧品では化粧水やローションをはじめとした幅広い用途に応用可能です。

## 12. 包装形態

フキエキス-P, フキパウダー (粉末, 食品用途), フキエキス-WSP (水溶性粉末, 食品用途)

5kg 内装: アルミ袋  
外装: ダンボール包装

フキエキス-PC (粉末, 化粧品用途), -WSPC (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

フキエキス-LC (水溶性液体, 化粧品用途)

5kg 内装: キュービーテナー  
外装: ダンボール包装

## 13. 保存方法

高温多湿を避け、暗所に保管して下さい。

## 14. 表示例

### <食品>

#### フキエキス-P

表示例：フキエキスまたはフキ抽出物

#### フキエキス-WSP

表示例：フキエキスまたはフキ抽出物

#### フキパウダー

表示例：フキ

### <化粧品>

#### フキパウダー

INCI 名：Petasites Japonicus Powder

#### フキエキス-PC

表示名称：デキストリン，フキ葉/茎エキス

INCI 名：Dextrin，Petasites Japonicus Leaf/Stem Extract

#### フキエキス-WSPC

表示名称：デキストリン，フキ葉/茎エキス

INCI 名：Dextrin，Petasites Japonicus Leaf/Stem Extract

#### フキエキス-LC

表示名称：BG，水，フキ葉/茎エキス

INCI 名：Butylene Glycol，Water，Petasites Japonicus Leaf/Stem Extract

## 製品規格書

## 製品名

**フキエキス-P**

## 食品

本品は、キク科フキ (*Petasites japonicus*) の茎および葉から含水エタノールで抽出して得られた粉末である。

**性状** 淡黄色の粉末で、わずかに特有なにおいがある。

**確認試験**

## (1) フキノール酸

本品 250 mg に少量のHPLC用メタノールを加えて、10 分間超音波処理をし、HPLC用メタノールで 10 ml に定容後、0.45 μm PTFEフィルターで濾過して、試験溶液とする。別にフキノール酸にHPLC用メタノールを用いて 0.1 mg/ml に調製した液を標準溶液とする。試験溶液及び標準溶液各 5 μl につき、次の操作条件で高速液体クロマトグラフ法によって試験を行うとき、試験溶液のクロマトグラムに、標準溶液（フキノール酸）のピークを認める。

(HPLC条件)

カラム：capcellpak C18 (資生堂) ( 4.6 mm × 250 mm )

移動層：Solvent A = クエン酸水溶液 (クエン酸一水和物 2.1 g 1L)

Solvent B = メタノール

グラジエント条件：

時間[min]	0	19	25	35	50	60	61	70
移動層	100%A	100%A	80%A 20%B	80%A 20%B	60%A 40%B	60%A 40%B	100%B	100%B

流速：1 ml/min，検出器：UV 324 nm，カラム温度：30

## (2) フキノン

本品 2.0 g を遠沈管にとり、精製水 10 ml を添加して、1 分間超音波処理後、酢酸エチル 10 ml を添加して、振盪機で 3 分間攪拌する。これを遠心処理 (室温, 3000 rpm, 10 分間) して、酢酸エチル層を回収する (3 回繰り返す)。回収した酢酸エチル層を濃縮乾固し、20% アセトニトリル 3 ml に溶解し、Sep-Pak C18に通導する。次に、70% アセトニトリル 7 ml で洗浄し、アセトニトリル 5 ml で溶出する。この液を 10 ml に定容し、0.45 μm PTFEフィルターで濾過して、試験溶液とする。別に、フキノンをアセトニトリルを用いて 0.1 mg/ml に調製した液を標準溶液とする。試験溶液及び標準溶液各 10 μl につき、次の操作条件で高速液体クロマトグラフ法によって試験を行うとき、試験溶液のクロマトグラムに、標準溶液 (フキノン) のピークを認める。

(HPLC条件)

カラム：Shim-pack CLC-ODS (島津) ( 6.0 mm × 150 mm )

移動層：アセトニトリル：水 = 8：2

流速：1 ml/min，検出器：UV 254 nm，カラム温度：30



<u>総ポリフェノール含量</u>	1.0 % 以上	(食品機能研究法記載 Folin-Denis 法)
<u>総テルペノイド含量</u> [賦形剤未添加物中]	300 $\mu$ l/100 g 以上	(日本薬局方, 一般試験法, 生薬試験法, 精油含量) (フキエキス-P 中の理論値: 60 $\mu$ l/100 g 以上)
<u>乾燥減量</u>	10.0 % 以下	(衛生試験法, 1g, 105 , 2 時間)
<u>純度試験</u> (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)
<u>一般生菌数</u>	$3 \times 10^3$ 個 /g 以下	(衛生試験法, 標準寒天培地)
<u>真菌数</u>	$1 \times 10^3$ 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)
<u>大腸菌群</u>	陰性	(衛生試験法, BGLG 培地)

<u>組成</u>	<u>成分</u>	<u>含有量</u>
	澱粉分解物	80%
	フキ抽出物	20%
	合計	100%

製品規格書  
製品名

**フキエキス-WSP**

食品

本品は、キク科フキ (*Petasites japonicus*) の茎および葉から含水エタノールで抽出して得られた粉末である。本品は水溶性である。

性状 淡黄色の粉末で、わずかに特有なにおいがある。

確認試験

フキノール酸

本品 250 mg に少量のHPLC用メタノールを加えて、10 分間超音波処理をし、HPLC用メタノールで 10 ml に定容後、0.45 μm PTFEフィルターで濾過して、試験溶液とする。別にフキノール酸をHPLC用メタノールを用いて 0.1 mg/ml に調製した液を標準溶液とする。試験溶液及び標準溶液各 5 μl につき、次の操作条件で高速液体クロマトグラフ法によって試験を行うとき、試験溶液のクロマトグラムに、標準溶液（フキノール酸）のピークを認める。

（HPLC条件）

カラム：capcellpak C18 (資生堂) ( 4.6 mm × 250 mm )

移動層：Solvent A = クエン酸水溶液 (クエン酸一水和物 2.1 g 1L)

Solvent B = メタノール

グラジエント条件：

時間[min]	0	19	25	35	50	60	61	70
移動層	100%A	100%A	80%A 20%B	80%A 20%B	60%A 40%B	60%A 40%B	100%B	100%B

流速：1 ml/min，検出器：UV 324 nm，カラム温度：30

総ポリフェノール含量 1.0 % 以上 (食品機能研究法記載 Folin-Denis 法)

乾燥減量 10.0 % 以下 (衛生試験法，1g，105℃，2時間)

純度試験

(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)

<u>一般生菌数</u>	3 × 10 <sup>3</sup> 個 /g 以下	(衛生試験法, 標準寒天培地)
<u>真菌数</u>	1 × 10 <sup>3</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)
<u>大腸菌群</u>	陰性	(衛生試験法, BGLG 培地)

<u>組 成</u>	<u>成 分</u>	<u>含有量</u>
	澱粉分解物	80%
	フキ抽出物	20%
	合 計	100%

## 製品規格書

## 製品名

## フキパウダー

## 食品

本品は、キク科フキ (*Petasites japonicus*) の茎および葉を乾燥して得られた粉末である。

**性状** 緑色の粉末で、わずかに特有なにおいがある。

**確認試験**

## (1) フキノール酸

本品 1.5 g をすり付きマイヤーに入れ、70%エタノール15 ml を加えて70 で攪拌しながら還流抽出を2時間行う。冷後濾過し、残渣を70%エタノール15 ml で洗い、濾液と合わせて70 で濃縮する。濃縮物に、少量のHPLC用メタノールを加えて、10 分間超音波処理をし、HPLC用メタノールで 25 ml に定容後、0.45  $\mu$ m PTFEフィルターで濾過して、試験溶液とする。別にフキノール酸をHPLC用メタノールを用いて 0.1 mg/ml に調製した液を標準溶液とする。試験溶液及び標準溶液各 5  $\mu$ l につき、次の操作条件で高速液体クロマトグラフ法によって試験を行うとき、試験溶液のクロマトグラムに、標準溶液（フキノール酸）のピークを認める。

(HPLC条件)

カラム：capcellpak C18(資生堂) ( 4.6 mm × 250 mm )

移動層：Solvent A = クエン酸水溶液 ( クエン酸一水和物 2.1 g 1L )

Solvent B = メタノール

グラジエント条件：

時間[min]	0	19	25	35	50	60	61	70
移動層	100%A	100%A	80%A 20%B	80%A 20%B	60%A 40%B	60%A 40%B	100%B	100%B

流速：1 ml/min，検出器：UV 324 nm，カラム温度：30

## (2) フキノン

本品 5.0 g をすり付きマイヤーに入れ、70%エタノール50 ml を加えて70 で攪拌しながら還流抽出を2時間行う。冷後濾過し、残渣を70%エタノール30 ml で洗い、濾液と合わせて70 で濃縮する。濃縮物を、遠沈管にとり、精製水 10 ml を添加して、1 分間超音波処理後、酢酸エチル 10 ml を添加して、振盪機で 3 分間攪拌する。これを遠心処理(室温, 3000 rpm, 10 分間)して、酢酸エチル層を回収する(3 回繰り返す)。回収した酢酸エチル層を濃縮乾固し、20% アセトニトリル 3 ml に溶解し、Sep-Pak C18に通導する。次に、70% アセトニトリル 7 ml で洗浄し、アセトニトリル 5 ml で溶出する。この液を 10 ml に定容し、0.45  $\mu$ m PTFEフィルターで濾過して、試験溶液とする。別に、フキノンをアセトニトリルを用いて 0.1 mg/ml に調製した液を標準溶液とする。試験溶液及び標準溶液各 10  $\mu$ l につき、次の操作条件で高速液体クロマトグラフ法によって試験を行うとき、試験溶液のクロマトグラムに、標準溶液（フキノン）のピーク

を認める。

(HPLC条件)

カラム：Shim-pack CLC-ODS (島津) (6.0 mm × 150 mm)

移動層：アセトニトリル：水 = 8：2

流速：1 ml/min，検出器：UV 254 nm，カラム温度：30

<u>乾燥減量</u>	10.0 % 以下	(衛生試験法，1g，105℃，2時間)
<u>純度試験</u>		
(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)
<u>一般生菌数</u>	$3 \times 10^3$ 個 /g 以下	(衛生試験法，標準寒天培地)
<u>真菌数</u>	$1 \times 10^3$ 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)
<u>大腸菌群</u>	陰性	(衛生試験法，BGLG 培地)
<u>組成</u>	<u>成分</u>	<u>含有量</u>
	フキ	100%

## 製品規格書

## 製品名

**フキエキス-PC**

## 化粧品

本品は、キク科フキ (*Petasites japonicus*) の茎および葉から含水エタノールで抽出して得られた粉末である。

**性状** 淡黄色の粉末で、わずかに特有なにおいがある。

**確認試験**

## (1) フキノール酸

本品 250 mg に少量のHPLC用メタノールを加えて、10 分間超音波処理をし、HPLC用メタノールで 10 ml に定容後、0.45 μm PTFEフィルターで濾過して、試験溶液とする。別にフキノール酸にHPLC用メタノールを用いて 0.1 mg/ml に調製した液を標準溶液とする。試験溶液及び標準溶液各 5 μl につき、次の操作条件で高速液体クロマトグラフ法によって試験を行うとき、試験溶液のクロマトグラムに、標準溶液（フキノール酸）のピークを認める。

(HPLC条件)

カラム：capcellpak C18 (資生堂) ( 4.6 mm × 250 mm )

移動層：Solvent A = クエン酸水溶液 (クエン酸一水和物 2.1 g 1L)

Solvent B = メタノール

グラジエント条件：

時間[min]	0	19	25	35	50	60	61	70
移動層	100%A	100%A	80%A 20%B	80%A 20%B	60%A 40%B	60%A 40%B	100%B	100%B

流速：1 ml/min，検出器：UV 324 nm，カラム温度：30

## (2) フキノン

本品 2.0 g を遠沈管にとり、精製水 10 ml を添加して、1 分間超音波処理後、酢酸エチル 10 ml を添加して、振盪機で 3 分間攪拌する。これを遠心処理 (室温, 3000 rpm, 10 分間) して、酢酸エチル層を回収する (3 回繰り返す)。回収した酢酸エチル層を濃縮乾固し、20% アセトニトリル 3 ml に溶解し、Sep-Pak C18に通導する。次に、70% アセトニトリル 7 ml で洗浄し、アセトニトリル 5 ml で溶出する。この液を 10 ml に定容し、0.45 μm PTFEフィルターで濾過して、試験溶液とする。別に、フキノンをアセトニトリルを用いて 0.1 mg/ml に調製した液を標準溶液とする。試験溶液及び標準溶液各 10 μl につき、次の操作条件で高速液体クロマトグラフ法によって試験を行うとき、試験溶液のクロマトグラムに、標準溶液（フキノン）のピークを認める。

(HPLC条件)

カラム：Shim-pack CLC-ODS (島津) ( 6.0 mm × 150 mm )

移動層：アセトニトリル：水 = 8：2

流速：1 ml/min，検出器：UV 254 nm，カラム温度：30

<u>総ポリフェノール含量</u>	1.0 % 以上	(食品機能研究法記載 Folin-Denis 法)
<u>総テルペノイド含量</u> [賦形剤未添加物中]	300 $\mu$ l/100 g 以上	(日本薬局方, 一般試験法, 生薬試験法, 精油含量) (フキエキス-PC 中の理論値: 60 $\mu$ l/100 g 以上)
<u>乾燥減量</u>	10.0 % 以下	(1g, 105 , 2 時間)
<u>純度試験</u>		
(1) 重金属	10 ppm 以下	(第 2 法)
(2) ヒ素	1 ppm 以下	(第 3 法)
<u>一般生菌数</u>	$1 \times 10^2$ 個 /g 以下	(衛生試験法, 標準寒天培地)
<u>真菌数</u>	$1 \times 10^2$ 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)
<u>大腸菌群</u>	陰性	(衛生試験法, BGLG 培地)

<u>組 成</u>	<u>成 分</u>	<u>含有量</u>
	デキストリン	80%
	フキ葉/茎エキス	20%
	合 計	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。

## 製品規格書

## 製品名

**フキエキス-WSPC**

## 化粧品

本品は、キク科フキ (*Petasites japonicus*) の茎および葉から含水エタノールで抽出して得られた粉末である。本品は水溶性である。

性状 淡黄色の粉末で、わずかに特有なにおいがある。

確認試験

## フキノール酸

本品 250 mg に少量のHPLC用メタノールを加えて、10 分間超音波処理をし、HPLC用メタノールで 10 ml に定容後、0.45 μm PTFEフィルターで濾過して、試験溶液とする。別にフキノール酸をHPLC用メタノールを用いて 0.1 mg/ml に調製した液を標準溶液とする。試験溶液及び標準溶液各 5 μl につき、次の操作条件で高速液体クロマトグラフ法によって試験を行うとき、試験溶液のクロマトグラムに、標準溶液（フキノール酸）のピークを認める。

（HPLC条件）

カラム：capcellpak C18 (資生堂) ( 4.6 mm × 250 mm )

移動層：Solvent A = クエン酸水溶液 (クエン酸一水和物 2.1 g 1L)

Solvent B = メタノール

グラジエント条件：

時間[min]	0	19	25	35	50	60	61	70
移動層	100%A	100%A	80%A 20%B	80%A 20%B	60%A 40%B	60%A 40%B	100%B	100%B

流速：1 ml/min，検出器：UV 324 nm，カラム温度：30

総ポリフェノール含量 1.0 % 以上 (食品機能研究法記載 Folin-Denis 法)

乾燥減量 10.0 % 以下 (衛生試験法，1g，105℃，2時間)

純度試験

(1) 重金属 10 ppm 以下 (第2法)

(2) ヒ素 1 ppm 以下 (第3法)



<u>一般生菌数</u>	1 × 10 <sup>2</sup> 個 /g 以下	(衛生試験法, 標準寒天培地)
<u>真菌数</u>	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)
<u>大腸菌群</u>	陰性	(衛生試験法, BGLG 培地)

<u>組 成</u>	<u>成 分</u>	<u>含有量</u>
	デキストリン	80%
	フキ葉/茎エキス	20%
	合 計	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。

## 製品規格書

## 製品名

**フキエキス-LC**

## 化粧品

本品は、キク科フキ (*Petasites japonicus*) から含水 1,3-ブチレングリコール (BG) で抽出して得られた液体である。

性状 褐色の液で、無臭またはわずかに特有のにおいがある。

確認試験 本品 30  $\mu$ l を、3.5 ml の水に加え、フォーリンデニス試薬 0.2 ml と飽和炭酸ナトリウム溶液 0.4 ml を加えるとき、液は青色を呈する。

純度試験

(1) 重金属 10 ppm 以下 (第 2 法)

(2) ヒ素 1 ppm 以下 (第 3 法)

一般生菌数  $1 \times 10^2$  個 /g 以下 (衛生試験法、標準寒天培地)

真菌数  $1 \times 10^2$  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)

大腸菌群 陰性 (衛生試験法、BGLG 培地)

組成

成分	含有量
BG	69%
水	30%
フキ葉/茎エキス	1%
合計	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  
〒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  
規格書変更

制定日 2004年4月30日

改定日 2007年12月4日