

## カバノアナタケ (*Inonotus obliquus*) 由来の抗酸化成分の同定

熊谷 彩子<sup>1,2,\*</sup>・小泉 幸央<sup>2,\*</sup>・川越 政美<sup>2,3)</sup>・小代田宗一<sup>2)</sup>  
杉山 俊博<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>秋田大学ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー

<sup>2)</sup>秋田大学大学院医学系研究科病態制御学系 分子機能学・代謝機能学講座

<sup>3)</sup>秋田大学バイオサイエンス教育・研究センター動物実験部門

(received 19 August 2013, accepted 4 September 2013)

### Identification of antioxidants derived from *Inonotus obliquus*

Ayako Kumagai<sup>1,2,\*</sup>, Yukio Koizumi<sup>2,\*</sup>, Masami Kawagoe<sup>2,3)</sup>, Souichi Koyota<sup>2)</sup>  
and Toshihiro Sugiyama<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Venture Business Laboratory, Akita University, Akita 010-8502, Japan

<sup>2)</sup>Department of Biochemistry-Metabolic Science, Division of Bioregulatory Medicine, Akita University Graduate School of Medicine and Faculty of Medicine, Akita 010-8543, Japan

<sup>3)</sup>Animal Research Laboratory, Bioscience Education-Research Center, Akita University, Akita 010-8543, Japan

#### Abstract

The medicinal mushroom *Inonotus obliquus* is a traditional and widely used multi-functional fungus. In the present study, the lipophilic fraction of *Inonotus obliquus* were investigated for their antioxidative activity with hydroxyl radical scavenging activity assays. As a result, two acidic materials had higher antioxidative activity than basic or neutral materials. Furthermore, antioxidative acidic materials including organic acids were isolated by silica gel column chromatography and subsequent preparative high-performance liquid chromatography. Two purified antioxidants, designated compound 1 and 2, were identified as vanillic acid and syringic acid, respectively. Vanillic acid and syringic acid were showed the antioxidative activities with IC<sub>50</sub> values of 59.0 and 2.8 μg/ml, respectively.

**Key words :** *Inonotus obliquus*, antioxidative activity, lipophilic fraction, vanillic acid, syringic acid

#### I. 緒 言

近年、高齢化社会が進み生活習慣病の予防や老化予防対策が重要視されている。高齢者のみならず、若年や中年層においても生活習慣病や脳梗塞・心筋梗塞などの動脈硬化性疾患が増加している。生活習慣病や動脈硬化性疾患の引き金の一つが活性酸素である。活性酸素はがんや糖尿病・高血圧など様々な疾患に関与していることが知られている。活性酸素は、呼吸に伴い呼吸量の約3%が常に発生している。また、我々は不規則な食生活や食の欧米化・ストレス・紫外線や排気

Correspondence : Toshihiro Sugiyama  
Department of Biochemistry-Metabolic Science, Division of Bioregulatory Medicine, Akita University Graduate School of Medicine and Faculty of Medicine 1-1-1 Hondo, Akita 010-8543, Japan  
Tel : 81-18-884-6074  
Fax : 81-18-884-6443  
E-mail : sugiyama@med.akita-u.ac.jp

\*These authors contributed equally to this work and are co-first authors

ガスなどの外的要因により、日常的に酸化力の強い活性酸素に曝されている。元々、活性酸素に立ち向かうべく、生体内に活性酸素を消去する酵素を持ち合わせている。しかし加齢や外的要因などにより、活性酸素を消去する酵素の活性が低下している。その結果、活性酸素が生体内に大量に発生し、様々な疾患を誘発する。

現在、健康志向の高まりとともに、人々の健康食品に対する関心が高まってきている。その中で注目を集めている食材の一つに担子菌類、すなわちキノコがある。その代表例としてアガリクス（学名 *Agaricus lucidum*）やメシマコブ（学名 *Phellinus linteus*）などがある。これらは、 $\beta$ -グルカンやテルペン類を有しており、免疫賦活<sup>1)</sup>、抗腫瘍活性<sup>2)</sup>、血糖降下作用<sup>3)</sup>、血圧降下作用<sup>4)</sup> などさまざまな薬理効果を示す。さらに活性酸素やフリーラジカルによる生体損傷についても、これらの担子菌類はその成分中に抗酸化物質を含んでいるため、予防医学の観点からも注目されている。

その中で近年、カバノアナタケ（学名 *Inonotus obliquus*、別学名 *Fuscoporia obliqua*）が注目されている。カバノアナタケは、タバコウロコタケ科 (*Hymenochaetaceae*) に属する白色腐朽菌で、ロシア、フィンランド、日本では北海道などの北方の寒冷地にのみ生息し、白樺の木に着生するキノコである。ロシアでは昔からカバノアナタケから抽出したお茶“チャーガ茶”を飲むとがんが治ると云われてきた。最近、カバノアナタケ水抽出物が、抗酸化作用<sup>5,6)</sup> や HIV-1 プロテアーゼ阻害活性効果<sup>7)</sup> を示すことが報告されている。

今回我々は、カバノアナタケ抽出物の抗酸化作用について調べた。カバノアナタケ抽出液の水溶性画分には抗酸化活性を示す成分が含まれていることが報告されているが、脂溶性画分については十分に明らかにされていない。そこで、カバノアナタケ抽出液の脂溶性画分について抗酸化活性を調べ、カバノアナタケを活性酸素に起因する疾患の予防に有効な機能性食品として活用するための可能性について検討した。

## II. 試薬および方法

### 試薬

カバノアナタケは株式会社四季菜（秋田県秋田市）より提供された粉末を用いた。抽出に用いたエタノール

および酢酸エチルは Wako Pure Chemical から購入した。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の溶媒には、高速液体クロマトグラフ用蒸留水およびアセトニトリル (Nacalai) を使用した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーは Wakogel C-200 (Wako Pure Chemical Industries) を使用した。

### カバノアナタケ由来の抗酸化物質の精製

カバノアナタケ粉末 200 g を 70% エタノール溶液 10 L で抽出した。減圧濃縮してエタノールを除去した後、pH 2.0 に調整し、酢酸エチルで抽出した。水層は、さらに pH 12.0 に調整後、酢酸エチルで抽出し、有機層を塩基性物質 (361.2 mg) として得た。一方の有機層は、炭酸水素ナトリウム緩衝液 (pH 8.0) で抽出した。水層を pH 2.0 に調整後、酢酸エチルで抽出し、有機層を酸性物質 (有機酸など、5.57 g) として得た。一方の有機層は、炭酸水素ナトリウム緩衝液 (pH 12.0) を加え抽出し、有機層を中性物質 (3.24 g) として得た。一方、水層は pH 5.0 に調整後、酢酸エチルで抽出し、有機層を酸性物質 (フェノールなど、241.4 mg) として得た。さらに、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒: クロロホルム/メタノール混合液によるステップワイズ溶出) および分取 HPLC により酸性物質 (有機酸など) に含まれる抗酸化物質の精製を進めた。

### HPLC 条件

HPLC 分析は Hitachi LaChromo Elite を使用し、以下の条件で行なった。カラム: CAPCELL PAK C18 (2 × 150 mm, Shiseido), 溶媒 A: 0.05% リン酸, 溶媒 B: アセトニトリル/0.05% リン酸, グラジエント: 0 → 40% B (20 分), 40% B (10 分), 流速: 0.5 ml/min, 温度: 40°C, 検出波長: 210 nm. 分取 HPLC は Shimadzu LC6 を使用し、以下の条件で行なった。カラム: CAPCELL PAK C18 (20 mm × 250 mm, Shiseido), 溶媒: 6% アセトニトリル/0.05% ギ酸, 流速: 10 ml/min, 温度: 40°C, 検出波長: 210 nm.

### 活性酸素消去能の測定

抗酸化活性の測定試験には抗酸化能測定キット ラジカルキャッチ (ALOKA) を使用し、化学発光の検出にはマイクロプレートリーダー Infinite 200 (TECAN) を使用した。抗酸化活性の比較対照として、抗酸化作用を有するアスコルビン酸 (Wako Pure

Chemical Industries) を用いた。96 穴プレートに試料 10  $\mu$ l, 塩化コバルト溶液 30  $\mu$ l, ルミノール溶液 30  $\mu$ l を加え, 37°C, 5 分間前反応を行なった。前反応後, 0.3% 過酸化水素水 30  $\mu$ l を添加した。化学発光は, 測定開始 0 分から 15 分までを測定し, 積分値を算出することにより求めた。コントロールの発光量を 100% とした時に, 発光量を 50% 抑制する濃度を IC<sub>50</sub> として算出した。

### 機器分析

EI-MS は JMS-GCmate (JEOL) を用いた。高分解能 FAB-MS は JMS AX-505 HA (JEOL) を用いた。NMR は EX-270 (JEOL) を用いて, <sup>1</sup>H-NMR (270 MHz) と <sup>13</sup>C-NMR (67.5 MHz) を測定した。ケミカルシフトは ppm で表し, <sup>1</sup>H-NMR では CD<sub>3</sub>OD (3.30 ppm) を, <sup>13</sup>C-NMR では CD<sub>3</sub>OD (49.0 ppm) を内部標準として測定した。

## III. 結 果

### カバノアナタケ粉末の抽出

カバノアナタケは高い抗酸化活性を有することが知られている。その活性は, カバノアナタケの産地や抽出方法によって差があると考えられる。そこで, 本研究では, 株式会社四季菜 (秋田県秋田市) より提供さ

れたカバノアナタケ粉末を溶媒抽出し, その抽出液がどの程度の抗酸化活性を持つのかを調べた。カバノアナタケの抽出過程を図 1 に示した。カバノアナタケ粉末 200 g を 70% エタノール (10 L) で抽出し, 濃縮減圧後, 酸性条件化で酢酸エチル抽出することにより, 脂溶性成分と水溶性成分に分離した。その後, さらに各 pH 条件化で酢酸エチルまたは炭酸水素ナトリウム緩衝液で抽出し, 酸性物質 (フェノールなど) 241.4 mg, 酸性物質 (有機酸など) 5.57 g, 中性物質 3.24 g, 塩基性物質 361.2 mg を得た。溶媒抽出によって得られた酸性, 中性, 塩基性物質の抗酸化活性を測定したところ, IC<sub>50</sub> の値は, 酸性物質 (有機酸など) が 48.2  $\mu$ g/ml, 酸性物質 (フェノールなど) が 38.0  $\mu$ g/ml, 中性物質が 100  $\mu$ g/ml 以上, 塩基性物質が 51.8  $\mu$ g/ml となり, 酸性物質の抗酸化活性が強いことがわかった (表 1)。

### カバノアナタケ酸性有機酸物質中の抗酸化物質の精製

次に, 活性が高く, 回収率も高かった酸性物質 (有機酸など), 1 g をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分画し, 各フラクションの抗酸化活性を測定した。分画したフラクションのうち, Fr.4, 5, 6 の IC<sub>50</sub> は, それぞれ, 1.3 $\pm$ 0.1, 1.1 $\pm$ 0.2, 3.4 $\pm$ 0.4  $\mu$ g/ml と強い抗酸化活性を示した (表 2)。強い抗酸化活性を示

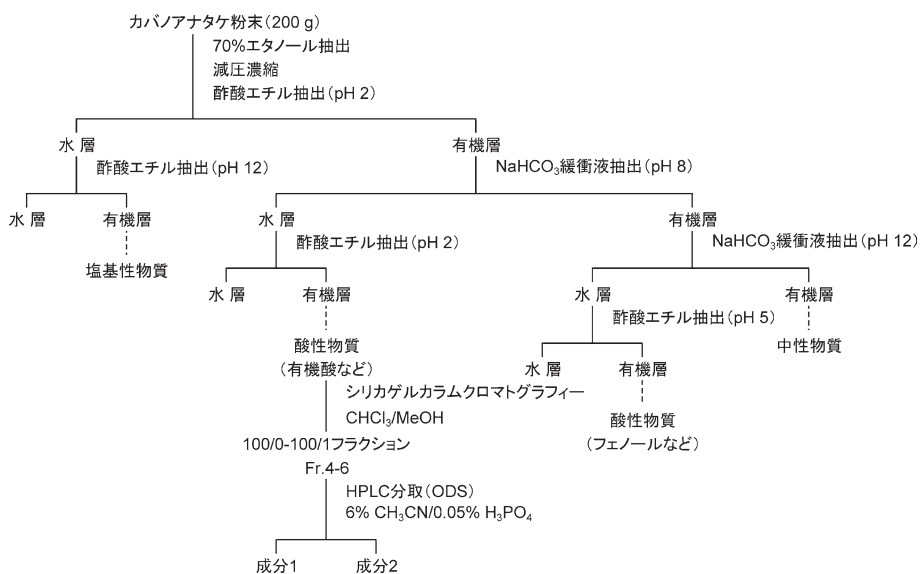


図 1. カバノアナタケ由来の抗酸化物質の精製

(70)

## カバノアナタケの抗酸化成分

表 1. カバノアナタケ抽出物質の抗酸化活性

| Sample         | IC <sub>50</sub> (μg/ml) |
|----------------|--------------------------|
| 酸性物質 (有機酸など)   | 48.2                     |
| 酸性物質 (フェノールなど) | 38.0                     |
| 塩基性物質          | 51.8                     |
| 中性物質           | > 100                    |

表 2. Fr. 4, 5, 6 の抗酸化活性

| Sample  | IC <sub>50</sub> (μg/ml) |
|---------|--------------------------|
| Fr. 4   | 1.3±0.1                  |
| Fr. 5   | 1.1±0.2                  |
| Fr. 6   | 3.4±0.4                  |
| アスコルビン酸 | 3.7±0.4                  |

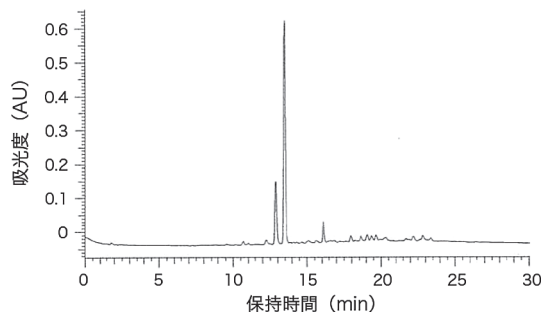


図 2. Fr. 4, 5, 6 の HPLC 分析

サンプル: 2 μg, カラム: CAPCELL PAK C18 (2×150 mm), 溶媒 A: 0.05% リン酸, 溶媒 B: アセトニトリル/0.05% リン酸, グラジエント: 0 → 40% B (20 分), 40% B (10 分), 流速: 0.5 ml/min, 温度: 40°C, 検出波長: 210 nm

した Fr.4, 5, 6 をまとめ (28.9 mg), HPLC で分析した結果, 12.9 分 (成分 1) および 13.5 分 (成分 2) にピークが確認された (図 2). 次に成分 1 および 2 の HPLC 分取を行なった. その結果, それぞれ純度 95% 以上の成分 1 (8.8 mg) および成分 2 (17.8 mg) が得られた (図 3).

## カバノアナタケ酸性有機酸物質中の抗酸化物質の構造解析

成分 1 と比べ, 2 倍多く精製物を取得できた成分 2 を用いて構造解析を進めた. EI-MS 分析の結果, m/z 198 の分子イオンピークが観察された. また, 109, 127, 137, 155, 183 のフラグメントピークも観察さ

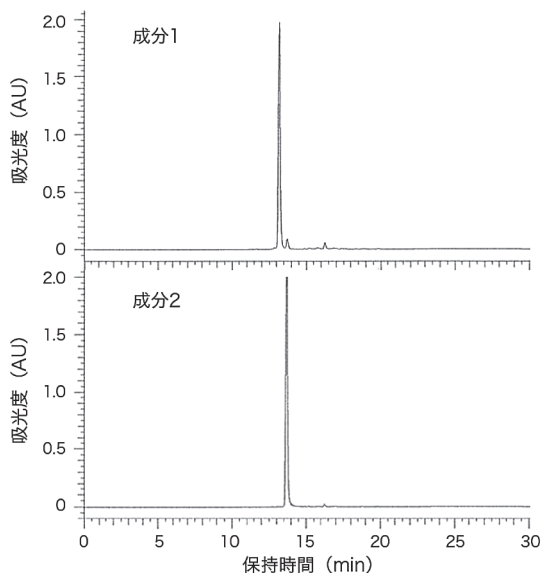
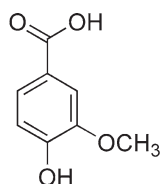


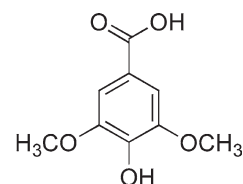
図 3. 成分 1 および成分 2 の HPLC 分析

サンプル: 2 μg, カラム: CAPCELL PAK C18 (2×150 mm), 溶媒 A: 0.05% リン酸, 溶媒 B: アセトニトリル/0.05% リン酸, グラジエント: 0 → 40% B (20 分), 40% B (10 分), 流速: 0.5 ml/min, 温度: 40°C, 検出波長: 210 nm



成分 1

(バニリン酸)



成分 2

(シリング酸)

図 4. 成分 1 および成分 2 の構造

れた. 高分解能 FAB-MS の結果, m/z 198.0528 が観察され, 分子式は不飽和度 5 を有する C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub> (Calcd: 198.0528) であることがわかった. <sup>1</sup>H-NMR の結果, 3.87 ppm (6H, s, CH<sub>3</sub>O-) および 7.31 ppm (2H, s, -CH=) の <sup>1</sup>H ピークが観察された. <sup>13</sup>C-NMR の結果, 56.7 ppm (CH<sub>3</sub>O-), 108.2 ppm (-CH=), 122.0 ppm (4 級), 141.6 ppm (4 級), 148.8 ppm (4 級), 170.1 ppm (-CO-) の <sup>13</sup>C ピークが観察された. 以上の結果から, 成分 2 はシリング酸であることがわかった (図 4). 同様に, 成分 1 の構造解析の結果, シリング酸のメトキシ基が

1つ遊離したバニリン酸であることがわかった(図4).

#### カバノアナタケ由来のバニリン酸およびシリング酸の抗酸化作用

次に、成分1であるバニリン酸および成分2であるシリング酸の抗酸化活性を測定した。バニリン酸およびシリング酸の $IC_{50}$ は、それぞれ、 $59.0 \pm 2.8 \mu\text{g/ml}$ 、 $2.8 \pm 0.2 \mu\text{g/ml}$ となり、シリング酸は、比較対照として用いたアスコルビン酸 ( $3.7 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$ ) よりも強い抗酸化活性を示した。

### IV. 考 察

近年の健康食品ブームにより、カバノアナタケが注目されている。カバノアナタケは、「チャージ茶」として商品化されており、がんの予防効果や生活習慣病の予防に効果があるとされている。カバノアナタケの成分としては蛋白質・脂質・糖質・食物繊維・灰分などの栄養成分がある。また、カバノアナタケの水溶性画分から多糖類<sup>8)</sup>やフェノール化合物<sup>9)</sup>が同定されている。一方、カバノアナタケの脂溶性画分からは、ラノスタン型トリテルペン<sup>10,11)</sup>、ヒスピジン<sup>9)</sup>、イノスカピン<sup>12)</sup>、イノブリン<sup>13)</sup>、ダバリアラクトンやその誘導体<sup>14)</sup>が同定されている。これらのカバノアナタケ抽出物は、抗酸化作用や抗炎症作用などを示すことが報告されている。

今回用いた抗酸化活性の測定法の1つであるケミルミネッセンス法は、フェントン反応により過酸化水素から発生させた活性酸素(ヒドロキシラジカル)をルミノール発光で捉えることにより活性酸素量を測定するものであるが、その活性酸素消去能はフェノール化合物濃度と非常に高い相関性があることが報告されている<sup>15,16)</sup>。フェノール化合物はカバノアナタケの水溶性画分に多く含まれており、今回、我々は脂溶性画分にも強いヒドロキシラジカル消去活性を有する成分が含まれていることを明らかにした。特に成分2が高い抗酸化活性を示し、構造解析の結果からシリング酸であることがわかった。また、成分2と比較して弱い抗酸化活性の成分1がバニリン酸であることもわかった。

シリング酸とバニリン酸は白色腐朽菌によるリグニンの生物分解物として<sup>17)</sup>、またバニリン酸はノルアドレナリンの代謝産物としても知られている<sup>18)</sup>フェノール化合物である。シリング酸には麻酔・鎮静作

用<sup>19)</sup>、抗菌・抗真菌活性<sup>20)</sup>、抗酸化作用<sup>21)</sup>、肝保護作用<sup>22)</sup>、高血圧改善作用<sup>23)</sup>など、バニリン酸には抗菌・抗真菌活性<sup>20)</sup>、抗酸化作用<sup>21)</sup>、メラニン生成阻害作用<sup>24)</sup>、肝保護作用<sup>22)</sup>、腸炎改善効果<sup>25)</sup>、心筋梗塞抑制<sup>26)</sup>、高血圧改善作用<sup>27)</sup>などが報告されている。最近、中島らはカバノアナタケ由来の抗酸化物質の1つとして他のフェノール化合物と共にシリング酸を見出している<sup>28)</sup>。しかし、カバノアナタケ由来の抗酸化物質としてのバニリン酸の報告は今回が初めてである。

ヒドロキシラジカルは生体に対する毒性が明らかであり、これを効率的に消去する物質の有用性が注目されている。しかし、極めて微量で効果的にヒドロキシラジカル消去能を有する物質はほとんどない。カバノアナタケの水溶性画分はメシマコブやアガリクスなど主要な担子菌類と比べて高い抗酸化活性を示すことが知られており<sup>29)</sup>、それに加えてシリング酸やバニリン酸を含むカバノアナタケ脂溶性画分の機能性についてさらに評価することで、機能性食品としての利用が期待される。

### V. 謝 辞

本研究は、科学技術振興機構(JST)「実用化のための可能性試験(FS)」、「シーズ発掘試験研究」、文部科学省「都市エリア産学官連携促進事業」および免疫力強化研究所よりご支援を頂きました。ここに深く感謝いたします。

### VI. 参考文献

- 1) 中根一樹, 松浦夕子, 久保 茂, 武田隆久, 伊藤剛, 奥川 郁, 矢野裕太郎, 上田祐二 (2001) アガリクス茸抽出液の *in vitro* での免疫賦活活性—ヒトNK活性, 樹状細胞誘導に及ぼす効果—, *Biotherapy* **15**, 503-507.
- 2) 中嶋加代子, 岸本律子 (2009) メシマコブの抗腫瘍活性成分について, *Bulletin of Beppu University Junior College*.
- 3) Miura, T., Kubo, M., Itoh, Y., Iwamoto, N., Kato, M., Park, S.R., Ukawa, Y., Kita, Y. and Suzuki, I. (2002) Antidiabetic activity of *Lyophyllum decastes* in genetically type2 diabetic mice. *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 1234-1237.
- 4) 大鶴 勝, 堀尾拓之, 升井洋至, 武田威真雄 (1999)

- マイタケ投与が高血圧自然発症ラットの血圧及び体重に及ぼす影響. 日本食品科学工学会誌 **46**, 806-814.
- 5) Youn, M.J., Kim, J.K., Park, S.Y., Kim, Y., Park, C., Kim, E.S., Park, K.I., So, H.S. and Park, R. (2009) Potent anticancer properties of the water extract of *Inonotus obliquus* by induction of apoptosis in melanoma B16-F10 cells. *J. Ethnopharmacol.*, **121**, 221-228.
  - 6) Mu, H., Zhang, A., Zhang, W., Cui, G., Wang, S. and Duan, J. (2012) Antioxidative properties of crude polysaccharides from *Inonotus obliquus*. *Int. J. Mol. Sci.*, **13**, 9134-9206.
  - 7) Ichimura, T., Watanabe, O. and Maruyama, S. (1998) Inhibition of HIV-protease by water-soluble lignin-like substance from an edible mushroom, *Fuscoporia obliqua*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 575-577.
  - 8) Kim, Y.O., Han, S.B., Lee, H.W., Ahn, H.J., Yoon, Y.D., Jung, J.K., Kim, H.M. and Shin, C.S. (2005) Immuno-stimulating effect of the endo-polysaccharide produced by submerged culture of *Inonotus obliquus*. *Life Sci.*, **77**, 2438-2456.
  - 9) Lee, I.K. and Yun, B.S. (2006) Hispidin analogs from the mushroom *Inonotus xeranticus* and their free radical scavenging activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 2376-2379.
  - 10) Shin, Y., Tamai, Y. and Terazawa, M. (2002) Triterpenoids, steroids, and a new sesquiterpene from *Inonotus obliquus* (Pers., Fr.) Pilat. *Int. J. Med. Mush.*, **4**, 77-84.
  - 11) Nakata, T., Yamada, T., Taji, S., Ohishi, H., Wada, S., Tokuda, H., Sakuma, K. and Tanaka, R. (2007) Structure determination of inonotsuoxides A and B in vivo anti-tumor promoting activity of inotodiol from the sclerotia of *Inonotus obliquus*. *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 257-264.
  - 12) Zheng, W., Miao, K., Zhang, Y., Pan, S., Zhang, M. and Jiang, H. (2009) Nitric oxide mediates the fungal-elicitor-enhanced biosynthesis of antioxidant polyphenols in submerged cultures of *Inonotus obliquus*. *Microbiology*, **155**, 3440-3448.
  - 13) Lee, I.K., Kim, Y.S., Jung, J.Y. and Yun, B.S. (2007) New antioxidant polyphenols from the medicinal mushroom *Inonotus obliquus*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**, 6678-6681.
  - 14) Zheng, W., Zhao, Y., Miao, K. and Jiang, H. (2009) NMR-based metabonomic analysis on effect of light on production of antioxidant phenolic compounds in submerged cultures of *Inonotus obliquus*. *Biores. Technol.*, **100**, 4481-4487.
  - 15) Sato, M., Ramarathnam, N., Suzuki, Y., Ohkubo, T., Takeuchi, M. and Ochi, H. (1996) Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 37-41.
  - 16) Okuda, T., Takayanagi, T., Sato, M. and Yokotsuka, K. (2002) Changes in radical scavenging activity of Japanese Cabernet Sauvignon red wines during ageing. *J. Wine Res.*, **13**, 93-100.
  - 17) Henderson, M.E.K. (1955) Release of aromatic compounds from birch and spruce sawdusts during decomposition by white-rot fungi. *Nature*, **175**, 634-635.
  - 18) Rosen, L. and Goodall, McC. (1962) Identification of vanillic acid as a catabolite of noradrenaline metabolism in the human. *Proc. Soc. Exp. Biol. NY*, **110**, 767-769.
  - 19) Dar, M.S. and Ikram, M. (1979) Studies on *Quercus infectoria*; isolation of syringic acid and determination of its central depressive activity. *Planta Med.*, **35**, 156-161.
  - 20) Aziz, N.H., Farag, S.E., Mousa, L.A. and Abo-Zaid, M.A. (1998) Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios.*, **93**, 43-54.
  - 21) Hirota, A., Taki, S., Kawai, S., Yano, M. and Abe, N. (2000) 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical-scavenging compounds from soybean miso and antiproliferative activity of isoflavones from soybean miso toward the cancer cell lines. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 1038-1040.
  - 22) Itoh, A., Isoda, K., Kondoh, M., Kawase, M., Watari, A., Kobayashi, M., Tamesada, M. and Yagi, K. (2010) Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on CCl<sub>4</sub>-induced liver injury. *Biol. Pharm. Bull.*, **33**, 983-987.
  - 23) Kumar, S., Prahalthan, P. and Raja, B. (2012) Syringic acid ameliorates L-NAME-induced hypertension by reducing oxidative stress. *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **385**, 1175-1184.
  - 24) Chou, T.H., Ding, H.Y., Hung, W.J. and Liang, C.H. (2010) Antioxidative characteristics and inhibition

- of  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone-stimulated melanogenesis of vanillin and vanillic acid from *Origanum vulgare*. *Exp. Dermatol.*, **19**, 742-750.
- 25) Kim, S.J., Kim, M.C., Um, J.Y. and Hong, S.H. (2010) The beneficial effect of vanillic acid on ulcerative colitis. *Molecules.*, **15**, 7208-7217.
- 26) Prince, P.S., Dhanasekar, K. and Rajakumar, S. (2011) Preventive effects of vanillic acid on lipids, bax, bcl-2 and myocardial infarct size on isoproterenol-induced myocardial infarcted rats, a biochemical and in vitro study. *Cardiovasc. Toxicol.*, **11**, 58-66.
- 27) Kumar, S., Prahalathan, P. and Raja, B. (2011) Antihypertensive and antioxidant potential of vanillic acid, a phenolic compound in L-NAME-induced hypertensive rats, a dose-dependence study. *Redox. Rep.*, **16**, 208-215.
- 28) Nakajima, Y., Sato, Y. and Konishi, T. (2007) Antioxidant small phenolic ingredients in *Inonotus obliquus* (persoon) Pilat (Chaga). *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 1222-1226.
- 29) 渡邊 治, 阿部 茂, 川上 誠, 柿本雅史 (2005) カバノアナタケ (*Fuscoporia oblique*) の抗酸化活性に関する研究. 北海道立食品加工研究センター報告 **6**, 13-16.