

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 25 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2011～2014

課題番号：23500968

研究課題名(和文)フェノール性化合物およびその亜硝酸との反応産物による澱粉消化抑制

研究課題名(英文) Suppression of starch digestion by phenolic compounds and the reaction products with nitrous acid

研究代表者

高浜 有明夫 (Takahama, Umeo)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：30106273

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：日常的に摂取される澱粉は小腸でグルコースに分解されて体内に吸収される。澱粉のグルコースへの分解速度が大きいと、それは、急激な血糖値増加へつながり、ひいては糖尿病へつながる。このような急激な血糖値増加は、米や小麦粉などの澱粉含有率の高い食品の摂取の場合に顕著である。以前は、ヒトは澱粉を色々な穀物や根菜類から摂取していた。これらの食品には、多種のフラボノイドが含まれており、これらの食品の澱粉の小腸での分解速度は、米や小麦粉などの澱粉のそれより小さいことが分かっている。我々は、この消化抑制は、フラボノイドが澱粉と疎水的に結合して、 α -アミラーゼによる澱粉消化を抑制させるためであることを示した。

研究成果の概要(英文)：We take starch as a food component, and the starch is hydrolyzed into glucose in the intestine to be absorbed into body. The faster hydrolysis of starch may result in diabetes. Such rapid digestion of starch to glucose is possible when rice and wheat flour, which contain relatively high starch, are ingested. Previously, humans took cereals and root crops, which contain various flavonoids, as sources of starch. It is known that the rates of starch digestion in the latter foods are slower than those in rice and wheat flour. In this study, we indicated that that the slow digestion of starch from cereals and root crops was due to hydrophobic binding of flavonoids to starch decreasing the ability to be a substrate for α -amylase.

研究分野：生物化学

キーワード：澱粉 フラボノイド 消化抑制 疎水的結合

1. 研究開始当初の背景

(1) 一般的に、植物由来の食物にはポリフェノール性化合物が含まれている。このポリフェノール類は、種々の物質と結合できることが知られている。タンパク質もポリフェノール類が結合できる物質の一つである。この結合によって幾種類かの酵素活性が抑制される。抑制される酵素には澱粉消化に関与する α -アミラーゼも含まれている。このことから、ポリフェノール類は、小腸で α -アミラーゼ活性を抑制することによって、血糖値の急激な上昇抑制に有効であろうと議論されてきた。他方、脂肪や脂肪酸も澱粉の消化を抑制できる。この抑制は澱粉と脂肪あるいは脂肪酸との間の疎水的結合によるものであることが分かっている。ポリフェノール類にも疎水的性質が強いものも含まれている。そこで、ポリフェノール類は、 α -アミラーゼ活性を抑制するのではなく、疎水的に澱粉と結合することによって、 α -アミラーゼによる澱粉消化を抑制できるであろうと予想した。

(2) 他方、植物性食物には硝酸塩が含まれている。これを摂取すると硝酸塩は小腸で吸収される。それは尿として排出されると同時に、唾液成分として口腔内に分泌される。分泌された硝酸塩は、口腔に常在している硝酸還元菌によって亜硝酸塩に還元される。生成した亜硝酸塩は胃腔 (pH \approx 2) で亜硝酸 (pKa \approx 3.3) に変化する。この亜硝酸はフェノール性化合物と反応できる。そこで、この反応に伴って生成する産物の澱粉消化抑制効果は反応前と異なっていると予想される。そこで、フェノール性化合物と亜硝酸との反応産物についても調べることにした。

2. 研究の目的

(1) この研究の第一の目的は、ポリフェノール類が澱粉と疎水的に結合して α -アミラーゼによる澱粉の消化を抑制できることを明らかにすることである。

(2) この研究の第二の目的は、胃腔条件下で亜硝酸とポリフェノール類との反応の産物を決定し、その反応産物の澱粉消化に対する作用を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) α -アミラーゼによる澱粉の消化に対するポリフェノールの影響は、ヨード澱粉法を用いて分光学的に測定した。それに先立ち、ヨード澱粉複合体形成に対するポリフェノールの影響も調べた。

(2) 亜硝酸とポリフェノールの反応によって生成する産物の特徴は、まず、分光学的に調べた。その分光学的特徴に基づいて、反応産物を HPLC を用いて単離して特徴づけや構

造決定を行った。

4. 研究成果

(1) 我々は科学研究費申請前から、ポリフェノール類の澱粉消化抑制に関する研究を始めていた(引用文献)。この段階で、脂肪酸、エピカテキン-ジメチル没食子酸、およびルチンがソバ粉の澱粉消化を抑え、その促成は澱粉ポリフェノール複合体生成のためであると推定している。この複合体形成による抑制は、胆汁酸塩による澱粉消化抑制の場合にも観察されている[13]。この着想に基づいた研究は、ケンフェロールによる澱粉消化抑制に引き継がれた。その研究で、ケンフェロールはアミロースの消化をアミロペクチンの消化よりより有効に抑えることが分かった[7]。このことから、ケンフェロールによる澱粉消化抑制は、 α -アミラーゼ活性抑制ではなく澱粉/ケンフェロール複合体形成によるものであると推定した。また、可溶性澱粉の消化抑制は、ルチン<ケルセチン<ケンフェロールの順番で大きくなった。この結果から、フラボノールによる澱粉消化抑制は、その疎水性に依存することが明らかになった。このことは、アズキから単離した疎水性の強い化合物(Vignacyanidin)(図1)[6]による澱粉消化抑制は、ケンフェロールより大きかったことから支持された[8]。

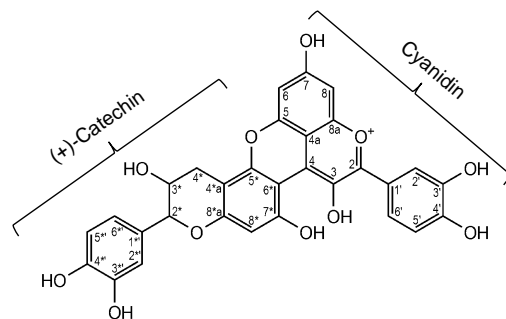


図1 Vignacyanidin

他方、親水性の強いサフラン由来のカロチノイドであるクロッシンも澱粉と結合するが、この化合物は澱粉消化に対して影響を与えなかった[9]。このことは、親水性の高い化合物と疎水性の高い化合物では、澱粉への結合様式あるいは結合部位が異なっていることを示唆している。

(2) 次に、胃腔条件下での亜硝酸とポリフェノール類との反応について研究した。まず、ルチンは亜硝酸によってそのキノン体に酸化され、そのキノン体には唾液成分であるチオシアン酸が結合した後、オキサチオロン誘導体に加水分解される(引用文献)。このルチンのオキサチオロン誘導体は、強いキサンチンオキシダーゼ阻害活性を持つケルセチンのオキサチオロン誘導体に変化した[12]。この加水分解反応は小腸で進行する可能性がある。

リングにはカテキン類、プロシアニジン類およびクロロゲン酸が多く含まれている。リングの摂取に伴って、カテキン類とプロシアニジン類のニトロソ化が観察された[1,5]。カテキンのニトロソ化物はさらに亜硝酸と反応し、そのラジカルを経てキノン体になる。ニトロソカテキンラジカルは、ケルセチンやアスコルビン酸で還元されると同時にケルセチンやケルセチン-7-グルコシドによっても還元される[2,3]。さらに、ニトロソカテキンのキノン体は、アスコルビン酸によって還元されると同時にチオシアン酸と反応してその付加物を形成する[4]。

リング中のクロロゲン酸は亜硝酸によってそのキノン体に酸化され、そのキノン体はルチンのキノン体と同じように、唾液中のチオシアン酸と反応して、チオシアン酸付加物を経て、オキサチオロン誘導体に変化する[1]。クロロゲン酸およびカフェ酸のオキサチオロン誘導体の生成は、それぞれコーヒーおよび白ワインの摂取後胃腔で可能であることが分かっている(参考文献と)。

以上の結果をまとめると図2のようになる。XOHは亜硝酸によって酸化されるエタノールを含むフェノール性化合物であり、XO[•]はそれらのラジカルである。(A)はケルセチンの酸化産物、(B)は亜硝酸エチル、(C)及び(D)はそれぞれルチンとクロロゲン酸のオキサチオロン誘導体、(E)はジニトロソカテキンである。(F)はジニトロソカテキンのチオシアン酸付加物であり、(G)はジニトロソカテキンキノンの予想される電荷移動錯体である。

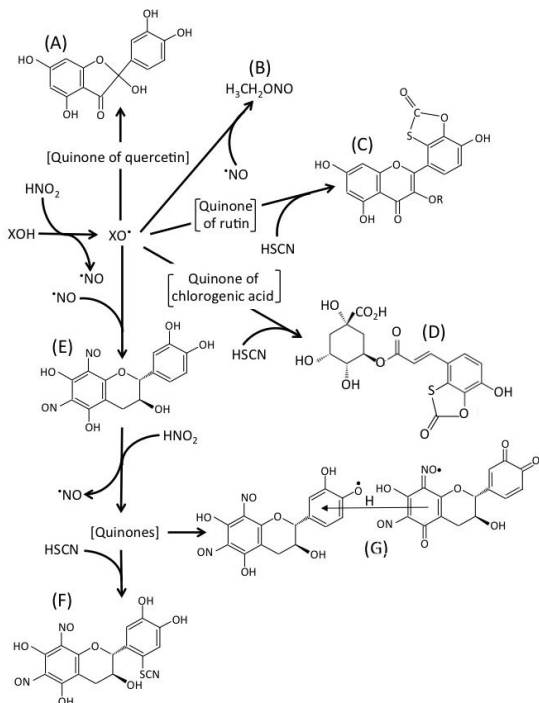


図2 胃腔条件でのポリフェノール等の反応

(3) 図2の反応産物の澱粉消化に対する影

響についての研究は不十分であるが、少なくとも、ルチンとケルセチンのオキサチオロン誘導体は澱粉消化に大きな影響をあたえないようである(引用文献)。オキサチオロン以外の化合物の澱粉消化に対する影響は今後の課題である。

<引用文献>

- Takahama, U. and Hirota, S. Fatty acids, epicatechin-dimethylgallate, and rutin interact with buckwheat starch inhibiting its digestion by amylase: Implications for the decrease in glycemic index by buckwheat flour. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 58, 2010, pp. 12431-12439.
- Takahama, U., Tanaka, M., Hirota, S. and Yamauchi, R. Formation of an oxathiolone compound from rutin in acidic mixture of saliva and buckwheat dough: Possibility of its occurrence in the stomach. *Food Chem.* Vol. 116, 2009, pp. 214-219.
- Takahama, U., Tanaka, M., Oniki, T., Hirota, S. and Yamauchi, R. Formation of the thiocyanate conjugate of chlorogenic acid in coffee under acidic conditions in the presence of thiocyanate and nitrite: possible occurrence in the stomach. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 55, 2007, pp. 4169-4176.
- Takahama, U., Tanaka, M. and Hirota, S. Formation of nitric oxide, ethyl nitrite and an oxathiolone derivative of caffeic acid in the mixture of saliva and white wine. *Free Radic. Res.* Vol. 44, 2010, pp. 293-303.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計13件)

- [1] Hirota, S. and Takahama, U. Reactions of polyphenols in masticated apple fruit with nitrite under stomach simulating conditions: Formation of nitroso compounds and thiocyanate conjugates. *Food Res. Int.* Vol. 75, 2015, pp. 20-26. (査読有)
- [2] Morina, F., Takahama, U., Yamauchi, R., Hirota, S., and Veljovic-Jovanovic, S. Quercetin 7-O-glucoside suppresses nitrite-induced formation of dinitrosocatechins and their quinones in catechin/nitrite systems under stomach simulating conditions. *Food Funct.* Vol. 6, 2015, pp. 219-229. (査読有)
- [3] Veljovic-Jovanovic, S., Morina, F., Yamauchi, R., Hirota, S., and Takahama, U. Interactions between (+)-catechin and quercetin during their oxidation by nitrite under the conditions simulated the stomach. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 62, 2014, pp. 4951-4959. (査読有)
- [4] Takahama, U., Yamauchi, R., and Hirota, S.

- Reactions of (+)-catechin with salivary nitrite and thiocyanate under conditions simulating the gastric lumen: Production of dinitrosocatechin and its thiocyanate conjugate. *Free Radic. Res.* Vol. 48, 2014, 956-966. (査読有)
- [5] Hirota, S. and Takahama, U. Reactions of apple fruit polyphenols with nitrite under conditions of the gastric lumen: Generation of nitric oxide and formation of nitroso catechins. *Food Sci. Technol. Res.* Vol. 20, 2014, pp. 439-447. (査読有)
- [6] Takahama, U., Yamauchi, R., and Hirota, S. Isolation and characterization of a cyanidin-catechin pigment from adzuki bean (*Vigna angularis*). *Food Chem.* Vol. 141, 2013, pp. 282-288. (査読有)
- [7] Takahama, U. and Hirota, S. Effects of starch on nitrous acid-induced oxidation of kaempferol and inhibition of α -amylase-catalyzed digestion of starch by kaempferol under conditions simulating the stomach and the intestine. *Food Chem.* Vol. 141, 2013, pp. 313-319. (査読有)
- [8] Takahama, U., Yamauchi, R., and Hirota, S. Interactions of starch with a cyanidin-catechin pigment (vignacyanidin) isolated from *Vigna angularis* bean. *Food Chem.* Vol. 141, 2013, pp. 2600-2605. (査読有)
- [9] Hirota, S. and Takahama, U. Starch inhibits crocin-dependent reduction of nitrite to nitric oxide under the conditions of the gastric lumen increasing bioavailability of the carotenoid. *Food Sci. Technol. Res.* Vol. 19, 2013, pp. 1121-1126. (査読有)
- [10] Takahama, U. and Hirota, S. Enhancement of iron(II)-dependent reduction of nitrite to nitric oxide by thiocyanate and accumulation of iron(II)/thiocyanate/nitric oxide complex under the conditions simulating the mixture of saliva and gastric juice. *Chem. Res. Toxicol.* Vol. 25, 2012, pp. 2017-215. (査読有)
- [11] Takahama, U. and Hirota, S. Effects of the food additive sulfite on nitrite-dependent nitric oxide production under the conditions simulating the mixture of saliva and gastric juice. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 60, 2012, pp. 1102-1112. (査読有)
- [12] Takahama, U., Koga, Y., Hirota, S. and Yamauchi, R. Inhibition of xanthine oxidase activity by an oxathiolanone derivative of quercetin. *Food Chem.* Vol. 126, 2011, pp. 1808-1811. (査読有)
- [13] Takahama, U. and Hirota, S. Inhibition of buckwheat starch digestion by the formation of starch/bile salt complexes: Possibility of its occurrence in the intestine. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 59, 2011, pp. 6277-6283. (査読有)
- [学会発表](計5件)
1. 廣田幸子、高濱有明夫 澱粉は亜硝酸によるクチナシ黄の酸化を抑え、クチナシ黄はアミラーゼによる澱粉の消化を促進する 日本食品化学工学会 2012,8月29~31日、藤女子大学(札幌)
 2. 高濱有明夫、廣田幸子 食品添加物である亜硫酸塩による胃腔条件下での一酸化窒素の生成と抑制 日本食品化学工学会 2012,8月29~31日、藤女子大学(札幌)
 3. 高濱有明夫、山内亮、廣田幸子 アズキ種子から単離した赤紫色素の亜硝酸との反応および澱粉との結合 日本食品化学工学会 2013,8月29~31日、実践女子大学(日野)
 4. Filis Morina, Sonja Veljovic-Jovanovic, 山内亮、廣田幸子、高濱有明夫 胃腔条件下での亜硝酸による6,8-ジニトロソカテキンの酸化に対するケルセチンおよびケルセチン配糖体の影響 日本食品化学工学会 2014,8月28~30日、中村学園大学(福岡)
 5. Filis Morina, Sonja Veljovic-Jovanovic, Ryo Yamauchi, Sachiko Hirota, Umeo Takahama. Interactions of quercetin with radicals derived from catechin and dinitrosocatechin under the conditions simulating the gastric lumen. 14th International Nutrition and Diagnostics Conference. September 2~5, 2014. Hotel DAP, Prague (Czech Republic).
- [図書](計4件)
1. Takahama, U., Tanaka, M. and Hirota, S. Buckwheat flour. In *Flour and Breads and their Fortifications in Health and Disease Prevention*. Edited by Victor Preedy, Ronald Watson, and Vinood Patel. Academic Press (Amsterdam), 2011, pp. 141-151.
 2. Takahama, U., Hirota, S. Transformation of nitrite and nitric oxide produced by oral bacteria to reactive nitrogen oxide species in the oral cavity. In *Oral Health Care - Prosthodontics, Periodontology, Biology, Research and Systemic Conditions*. Edited by Mandeep Viridi, InTech, 2012, pp. 193-204.
 3. Takahama, U., Hirota, S. Reactions of quercetin and its glycosides in the oral cavity and the stomach. In *Quercetin*, Edited by Taiki Chikamatsu and Yuudai Hida, Nova Science Publishers, Inc., 2012, pp. 257-268.
 4. Takahama, U., Ansai, T., Hirota, S. Nitrogen oxides toxicology of the aerodigestive tract. *Advances in Molecular Toxicology*, Vol. 7, 2013, pp. 129-177.
- [産業財産権]
出願状況(計0件)
- 名称:

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高浜 有明夫 (TAKAHAMA, Umeo)
九州歯科大学・歯学部・教授
研究者番号：30106273

(2) 研究分担者

()
研究者番号

(3) 連携研究者

廣田 幸子 (HIROTA, Sachiko)
東亜大学・教授
研究者番号：00312140