

平成 22 年 5 月 27 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007 ～ 2009

課題番号：19590030

研究課題名（和文）食用果実成分の多岐に亘る生理機能性の解明

研究課題名（英文）Studies on the various biological functions of the constituents from edible fruits

研究代表者

小野 政輝（ONO MASATERU）

東海大学・農学部・教授

研究者番号：60177269

研究成果の概要（和文）：

食用果実の有する機能解明を目的に、トマト、クロマメノキ、タイ産ナス、コショウボク、ならびにセイヨウニンジンボクの各果実の成分研究を行い、20 種の新規化合物を含む 98 種の化合物を分離し、それらの化学構造を決定した。また、それらの果実のエキスならびに成分について抗酸化活性試験、癌細胞増殖抑制活性試験、抗痛風活性試験ならびに抗炎症活性試験を行い、活性を示すエキスならびに成分を見出した。

研究成果の概要（英文）：

For the elucidation of the various biological functions of the edible fruits, we studied on the constituents from the fruits of *Lycopersicon esculentum*, *Vaccinium uliginosum* L., *Solanum melongena* L., *Schinus molle* L., and *Vitex agnus-castus* L. These studies resulted in the isolation and structural elucidation of 98 compounds including 20 new compounds. In addition, antioxidative activities, antiproliferative activity against cancer cells, antigout activity, and antiinflammation activity of the extracts and some constituents from the fruits were examined and some extracts and constituents showed the activities.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2008 年度	300,000	90,000	390,000
2009 年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：天然薬物学

科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：食用果実・機能性成分・化学構造・生物活性・抗酸化活性

1. 研究開始当初の背景

近年、食生活の変化に伴って糖尿病や、高血圧、痛風等の生活習慣病、アレルギーならびにがん等の疾患が増加してきている。また、健康の保持増進ならびに疾患の予防に対し

て、食品を活用するという社会的なニーズがますます高まってきている。

2. 研究の目的

食生活を通して人々の健康に貢献するため

の科学的エビデンスを得るために、ブルーベリーやトマト等の食用果実の有する新たな三次機能を発見するとともに、その機能を分子レベルで解明することを目的とする。

3. 研究の方法

食用果実のエキスを作成後、各エキスについて様々な生物活性試験を行う。また、エキス中の成分を、各種担体を用いたカラムクロマトグラフィーならびに高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を駆使し、分離・精製する。次いで、精製した化合物の化学構造を核磁気共鳴 (NMR) 法ならびに質量分析 (MS) 法をはじめとする機器分析および化学反応を用いて決定する。さらに、構造決定した化合物の各種生物活性を測定する。

4. 研究成果

(1) クロマメノキ果実に関する研究

クロマメノキ (*Vaccinium uliginosum* L.) は本邦産ブルーベリーの一つである。本果実のメタノール (MeOH) エキスはロダン鉄法による抗酸化試験で合成抗酸化物質の 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) と同程度の強い活性を示した (Fig. 1)。また、このエ

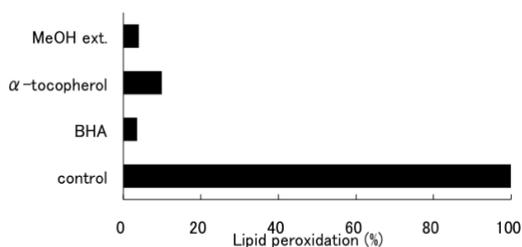


Fig. 1. Antioxidative Activity for the 5th day of the lipid peroxidation. The final concentration of the sample was 0.02%. A control containing no added samples or standards in its values represents 100% lipid peroxidation.

キスから各種クロマトグラフィーを用いて 2 種の新規ポリフェノール (1, 2) を 5 種の既知フェノール類 (3—7) とともに分離し、それらの化学構造を機器分析データを用いて決定した (Fig. 2)。これらの化合物はいずれもロダン鉄法による抗酸化試験で、天然抗酸化物質の α -tocopherol と同程度あるいはそれ以上の強い活性を示した。さらに、4 種 (EC_{50} (μ M): 1, 16.6; 3, 10.2; 6, 24.4; 7, 21.9) は、1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ラジカ

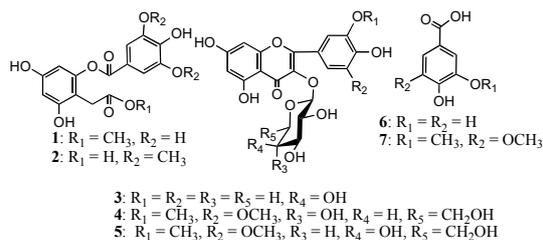


Fig. 2. Structures of 1—7

ル消去活性試験で、 α -tocopherol より、強いラジカル消去活性を示した (Fig. 3)。

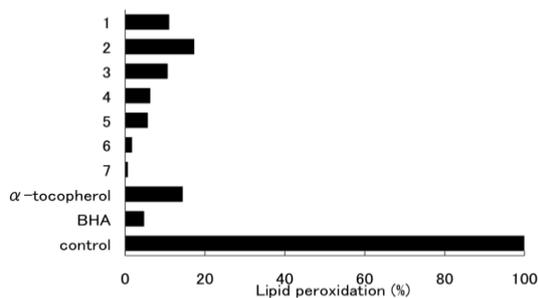


Fig. 3. Antioxidative Activity for the 5th day of the lipid peroxidation. The final concentration of the sample was 0.5 mM. A control containing no added samples or standards in its values represents 100% lipid peroxidation.

(2) コシヨウボク果実に関する研究

コシヨウボク (*Schinus molle* L.) の果実は飲み物に用いたり、ピンクペッパーと称し、食物の風味や彩りに用いる。本果実のメタノールエキスから、1 種の新規セスキテルペノイド (8) を含む 12 種のセスキテルペノイド (8—19)、6 種のトリテルペノイド (20—25)

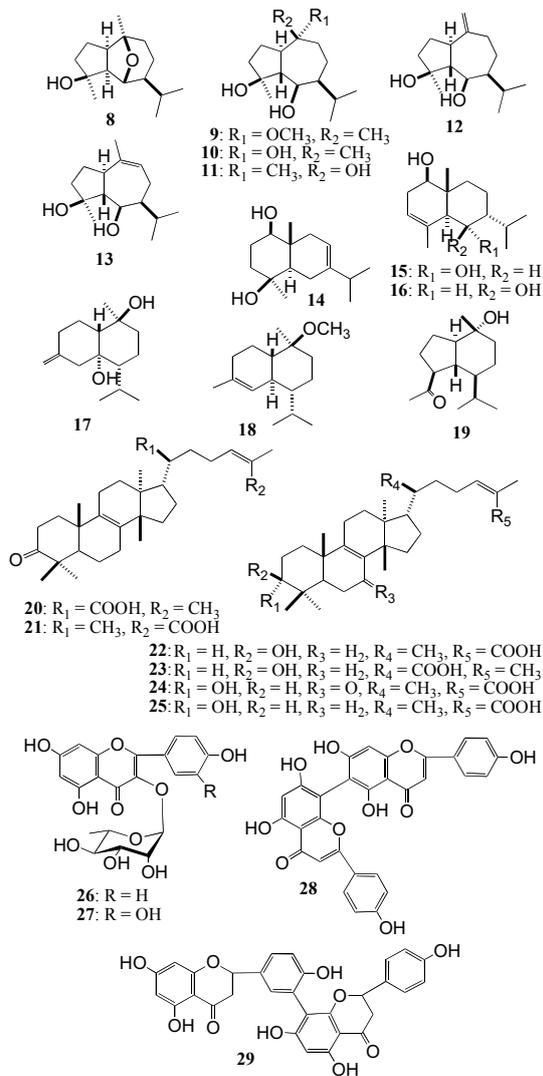


Fig. 4. Structures of 8—29

ならびに4種のフラボノイド(26—29)を分離した。また、それらの化学構造をX線結晶構造解析等の機器分析により決定した(Fig. 4)。これらの化合物のうち、3種のフラボノイド(26—28)はロダン鉄法で α -tocopherolと同程度の活性を示した(Fig. 5)。さらに、1種のフラボノイド(27)は α -tocopherolより強いDPPHラジカル消去活性を示した(Fig. 6)。

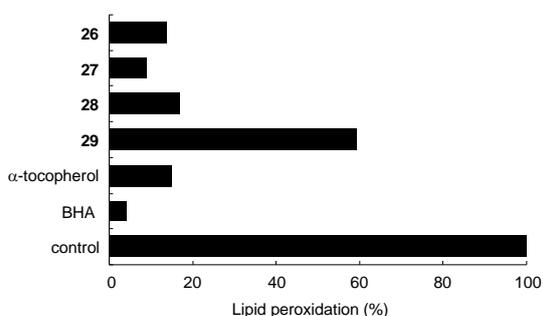


Fig. 5. Antioxidative activity of 26—29, α -tocopherol and BHA after 5th day of lipid peroxidation. The final concentration of the sample was 0.5 mM. The value of control represents 100% lipid peroxidation.

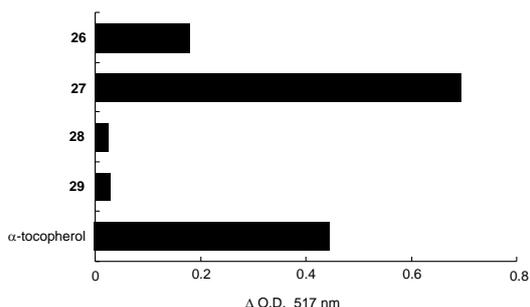


Fig. 6. DPPH radical-scavenging effect of 26—29 and α -tocopherol. The final concentration of each sample tested was 0.02 mM. Δ O. D. = O. D. of control at 517 nm (1.115) - O. D. of sample.

(3) ナス果実に関する研究

タイ産ナス(*Solanum melongena* L., 'Ma kheuu prau')から4種の既知ステロイド配糖体を分離し、それらの化学構造を明らかにした(Fig. 7)。ナス果実からステロイド配糖体が分離されたのは、本研究がはじめてと考えられる。尚、これらの化合物のうち

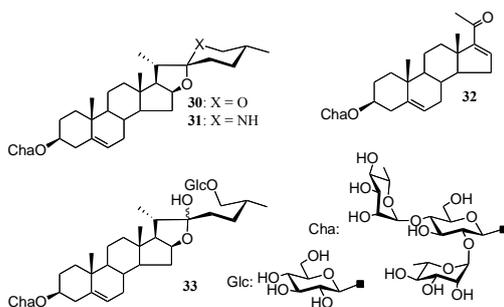


Fig. 7. Structures of 30—33

3種(30, 31, 33)はヒト白血病細胞株(HL-60)の増殖抑制活性を有することを明らかにしている。

(4) セイヨウニンジンボク果実に関する研究

セイヨウニンジンボク(*Vitex agnus-castus* L.)の乾燥した果実は、健康食品やハーブティーとして利用されている。本果実をヘキサン、アセトン、MeOHで順次パーコレーションした。このうち、ヘキサン抽出画分から8種の新規化合物(34—41)を含む14種のジテルペノイド(34—47)ならびに各1種のノルジテルペノイド(48)とフラボノイド(49)を分離、構造決定した。アセトン抽出画分からは、2種の新規(50, 51)を含む10種のジテルペノイド(36, 46, 47, 50—56)、4種のトリテルペノイド(57—60)および1種のセスキテルペノイド(61)を分離、構造決定した(Fig. 8, 9)。さらに、MeOH抽出画分

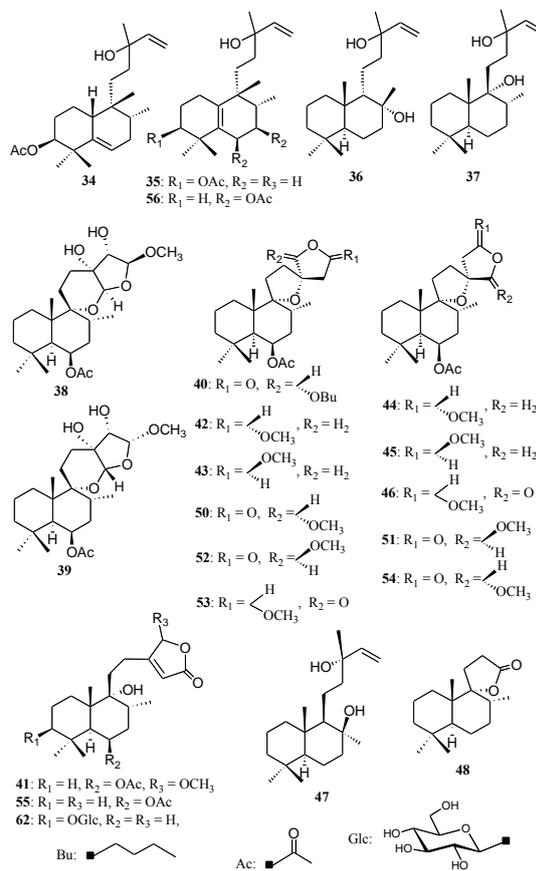


Fig. 8. Structures of 34—48, 50—56, and 62

らは1種の新規ジテルペノイド配糖体(62)、2種のモノテルペノイド配糖体(63, 64)、3種のイリドイド配糖体(65—67)、1種のヘミテルペノイド配糖体(68)、2種のフラボノイド(69, 70)、ならびに1種のリグナン配糖体(71)を分離、構造決定した。また、

MeOH 溶出画分に各種抗酸化試験の評価を行い、活性を見出した (Fig. 10).

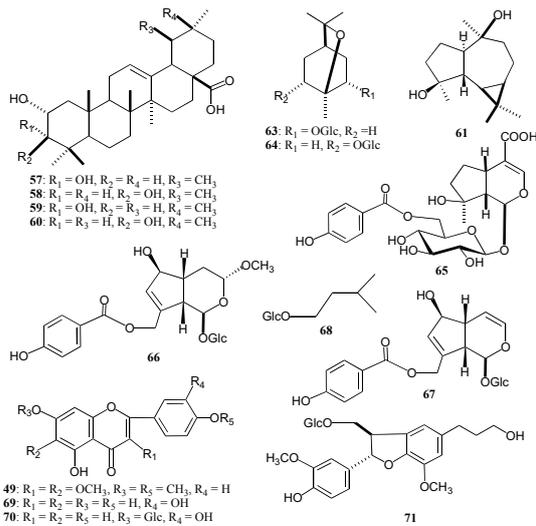


Fig. 9. Structures of 49, 57—61, and 63—71

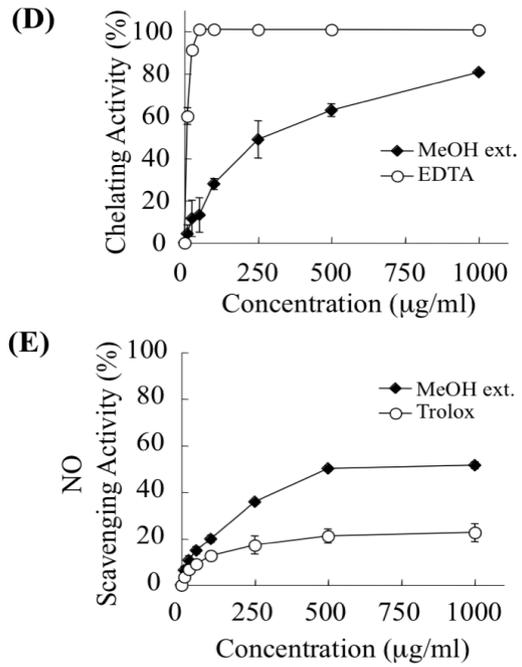
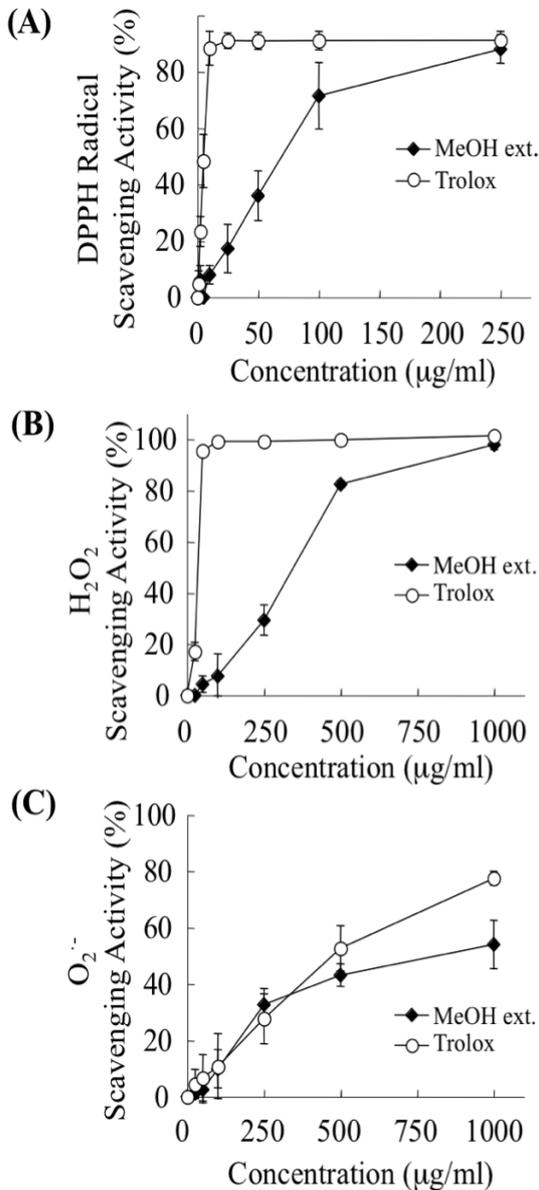


Fig. 10. Antioxidative activities of the MeOH extract from the fruit of *V. agnus-castus* L.. Varying concentrations of the fruit extracts re-constituted in 50% ethanol were used for the determination of the activities on DPPH radical scavenging (A), H₂O₂ scavenging (B), O₂⁻ radical scavenging (C), chelation (D), and NO scavenging (E). In all cases (A—E), trolox was used as a positive control. In (D), EDTA was used as a positive control. Data shown represent mean ± S.D. derived from four determinations.

(5) トマト果実に関する研究

桃太郎種トマト 1 品種 (*Lycopersicon esculentum*, ‘モモタロウファイト’) ならびにミニトマト 2 品種 (DUNAL ALEF., ‘コモモ’ と ‘千果’) の果実を材料に成分研究を行った. ‘モモタロウファイト’ からは 1 種の新規ヘミテルペン配糖体 (72), 3 種のスteroid配糖体 (73—75), 4 種の芳香族化合物 (76—79), ならびに 1 種のイオン配糖体 (80) を分離, 構造決定した (Fig. 11). ‘コモモ’ からは 3 種の新規化合物 (81—83) を含む 9 種の芳香族配糖体 (78, 81—88) と 1 種のスteroid配糖体 (89) を分離, 構造決定した (Fig. 11). ‘千果’ の果実からは 1 種の新規化合物 (90) を含む 3 種のスteroid配糖体 (75, 89, 90) ならびに 1 種の新規フェノール配糖体 (92) を含む 6 種の芳香族化合物 (85, 88, 91—94) を分離, 構造決定した (Fig. 11). ‘モモタロウファイト’ の 3 種の芳香族化合物に弱い DPPH ラジカル消去活性を見出した. また, ‘モモタロウファイト’ および ‘コモモ’ の両エキスについて, HL-60, ヒト乳癌細胞株 (MCF-7), ヒト大腸癌細胞株 (Caco-2) およびヒト肝臓癌細胞株 (HepG2) の増殖抑制活性試験を行い, ‘モモタロウファイト’

のエキスに弱いながらも活性を見出した (Fig. 12, Fig. 13). さらに, ‘モモタロウファイト’ と ‘コモモ’ のエキスを抗痛風効果の指標となるキサンチンオキシダーゼ阻害活性なら

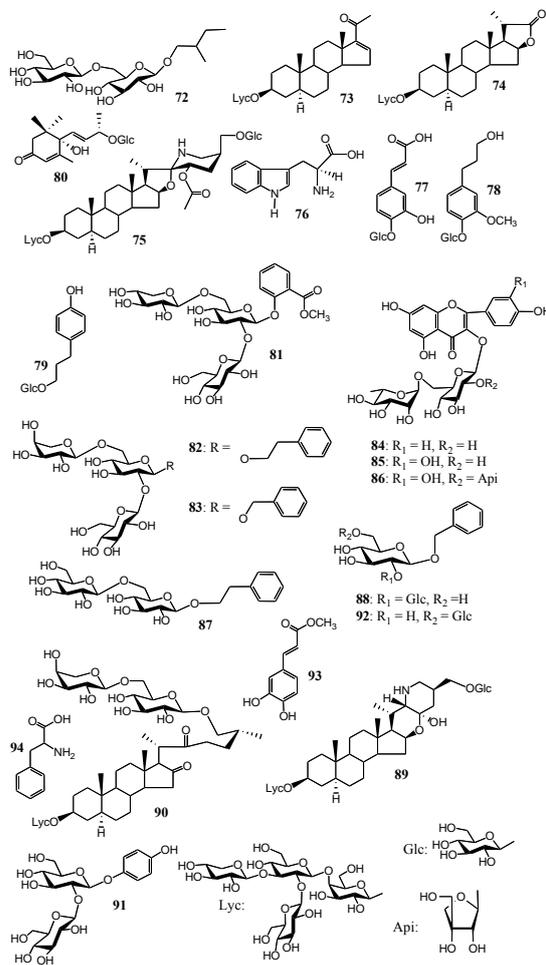


Fig. 11. Structures of 72-91

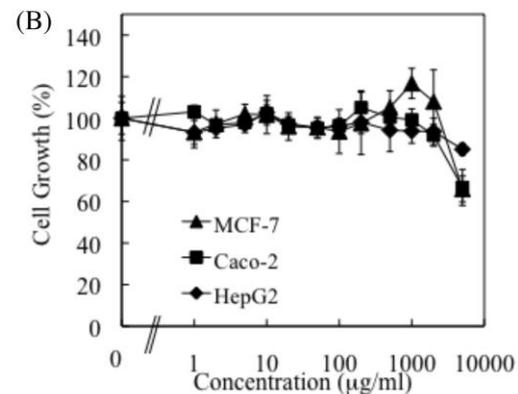
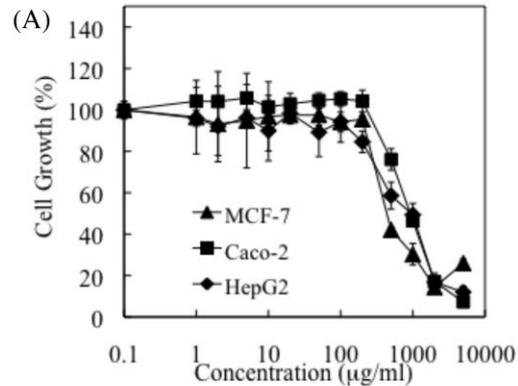
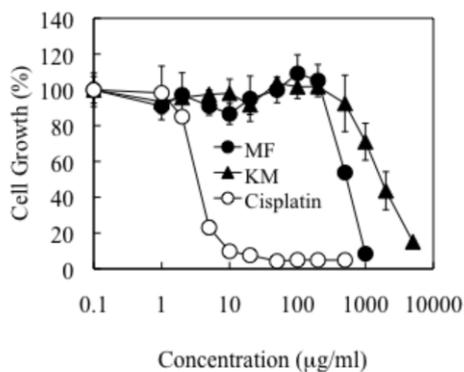


Fig. 13. Effect of two tomato extracts from the fruit part of MF (A) and KM (B) species on the cell growth of MCF-7 human mammary carcinoma, Caco-2 human colorectal carcinoma, and HepG2 human hepatoma cell lines. Cells were incubated in the presence of MF or KM extract for 24 h. Data represents mean \pm S.D. from three determinations.

びに抗炎症効果の指標となるヒアルロニダーゼ阻害活性試験を行い, ‘コモモ’ のエキスを弱いながらも両活性を見出した. また, トマ

ト果実には品種による成分の差異, ならびにこれに伴うと考えられる生物活性の違いが見られた.

身近な食材であっても, その成分や生物機能が詳細に研究された例は少ない. 特に, トマトは世界中で最も食されている野菜の一つであるが, このトマトからも 6 種の新規化合物を含む様々な成分を分離, 構造決定した. 今日, トマトの機能性成分としてはリコピンが注目されているが, 今後, 本研究で得た成分の生物活性を詳細に研究することで, トマトの有する新たな生物機能が分子レベルで明らかにされていくと共に, それらの機能性成分を利用した予防医学的なサプリメント開発に繋がることが期待される. また, 本研究材料とした他の果実成分についても, 今後, 様々な生物活性試験を行っていく予定である. 食用植物に含まれる機能性成分を明らかにし, それらを用いて健康を維持することは, 本邦における人口の高齢化, 生活習慣病の増加, ならびに医療費の高騰等の社会的問題の軽減という観点からも意義あることと考えられる.

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6件)

① M. Ono, Y. Shiono, T. Tanaka, C. Masuoka, S. Yasuda, T. Ikeda, M. Okawa, J. Kinjo, H. Yoshimitsu, T. Nohara, Three New Aromatic Glycosides from the Ripe Fruit of Cherry Tomato, *J. Nat. Med.*, 査読有, in press.

② M. Ono, Y. Nagasawa, T. Ikeda, R. Tsuchihashi, M. Okawa, J. Kinjo, H. Yoshimitsu, T. Nohara, Three New Diterpenoids from the Fruit of *Vitex agnus-castus*, *Chem. Pharm. Bull.*, 査読有, **57**, 2009, 1132—1135.

③ M. Ono, T. Yamasaki, M. Konoshita, T. Ikeda, M. Okawa, J. Kinjo, H. Yoshimitsu, T. Nohara, Five New Diterpenoids, Viteagnusins A—E, from the Fruit of *Vitex agnus-castus*, *Chem. Pharm. Bull.*, 査読有, **56**, 2008, 1621—1624.

④ M. Ono, Y. Shiono, Y. Yanai, Y. Fujiwara, T. Ikeda, T. Nohara, A New Steroidal Glycoside and a New Phenyl Glycoside from a Ripe Cherry Tomato, *Chem. Pharm. Bull.*, 査読有, **56**, 2008, 1499—1501.

⑤ M. Ono, M. Yamashita, K. Mori, C. Masuoka, M. Eto, J. Kinjo, T. Ikeda, H. Yoshimitsu, T. Nohara, Sesquiterpenoids, Triterpenoids and Flavonoids Constituents from the Fruits of *Schinus molle*, *Food Sci. Technol. Res.*, 査読有, **14**, 2008, 499—508.

⑥ C. Masuoka, K. Yokoi, H. Komatsu, J. Kinjo, T. Nohara, M. Ono, Two New Antioxidant *Ortho*-Benzoyloxyphenyl Acetic Acid Derivatives from the Fruit of *Vaccinium uliginosum*, *Food Sci. Technol. Res.* 査読有, **15**, 2007, 215—220.

[学会発表] (計10件)

① 惠利真太郎, 江口啓介, 長澤由美子, 小野政輝, 増岡智加子, 小林弘昌, 井越敬司, 安田伸, セイヨウニンジンボク (*Vitex agnus-castus* L.) 果実抽出物における抗酸化活性評価, 2009年度日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同沖縄大会, 2009年10月31日, 西原市

② 塩野有希, 古澤知里, 稲葉慎也, 田中孝幸, 安田伸, 小野政輝, 藤原章雄, 池田剛, 塚本佐知子, 野原稔弘, トマト成熟果実の成分について(3), 日本生薬学会第56回年会, 2009年10月4日, 京都市

③ 長澤由美子, 山崎徹, 此下和太郎, 小野政輝, 池田剛, 吉満斉, 野原稔弘, セイヨウニンジンボク果実の成分について(4), 日本生薬学会第55回年会, 2008年9月19日, 長崎市

④ 塩野有希, 柳井祥宏, 小野政輝, 藤原章雄,

池田剛, 吉満斉, 野原稔弘, チェリートマト成熟果実の成分について, 日本生薬学会第55回年会, 2008年9月19日, 長崎市

⑤ 山崎徹, 此下和太郎, 池田剛, 吉満斉, 野原稔弘, 小野政輝, セイヨウニンジンボクの成分について(3), 日本生薬学会第128回年会, 2008年3月26日, 横浜市

⑥ 此下和太郎, 山崎徹, 石橋貴弘, 増岡智加子, 池田剛, 吉満斉, 野原稔弘, 小野政輝, セイヨウニンジンボクの成分について(2), 第22回日本生薬学会九州支部大会, 2007年12月9日, 福岡市

⑦ 増岡智加子, 山下雅和, 森香緒里, 原啓晃, 衛藤仁, 池田剛, 野原稔弘, 小野政輝, ペルー産有用植物の成分研究(XIV) コショウボク果実の成分について(3), 平成19年度日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部大会, 2007年9月29日, 熊本市

⑧ 田中なみ, 橋本脩平, 増岡智加子, 井越敬司, 飯田善彦, 池田剛, 野原稔弘, 小野政輝, タイ産ナス果実の成分について, 平成19年度日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部大会, 2007年9月29日, 熊本市

⑨ 山崎徹, 此下和太郎, 小野政輝, 池田剛, 吉満斉, 野原稔弘, セイヨウニンジンボク果実の成分について, 日本生薬学会第54回年会, 2007年9月14日, 名古屋市

⑩ 小野政輝, 山下雅和, 森香緒里, 増岡智加子, 衛藤仁, 池田剛, 吉満斉, 野原稔弘, ペルー産有用植物の成分研究(XIII) コショウボク果実の成分について(2), 日本生薬学会第54回年会, 2007年9月14日, 名古屋市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小野 政輝 (ONO MASATERU)
東海大学・農学部・教授
研究者番号: 60177269

(2) 研究分担者

増岡 智加子 (Masuoka Chikako)
東海大学・阿蘇教学課・上級技術員
研究者番号: 50446134
安田 伸 (Yasuda Shin)
東海大学・農学部・講師
研究者番号: 10512923