

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590022

研究課題名(和文) 食用植物の多岐に亘る生理機能性の分子レベルでの解明

研究課題名(英文) Studies on the various biological functions of the edible plants at the molecular level

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)： 食用植物の有する生理機能解明を目的に、ブラックベリーの果実、葉および種子、クサギの葉、サツマイモの塊根、モリンガの葉と葉柄ならびにトマトの果実の成分研究を行った。その結果、それらのメタノールエキスから様々なクロマトグラフィーを用いて5種の新規化合物を含む53種の化合物を純粋に分離(単離)した。また、それらの化学構造を化学データならびにスペクトルデータより明らかにした。さらに、エキス、エキスから分画した画分および単離した成分について、抗酸化活性試験ならびに抗炎症活性試験等の様々な生物活性試験を行った。

研究成果の概要(英文)： For the elucidation of the various biological functions of the edible plants, we studied the constituents from the fruits, leaves, and seeds of *Rubus allegheniensis*, the leaves of *Clerodendrum trichotomum*, the tubers of *Ipomoea batatas*, the leaves and petioles of *Moringa oleifera*, and the fruits of *Solanum lycopersicum*. These studies resulted in the isolation of 53 compounds including five new compounds from their methanol extracts by using the various chromatographies. In addition, their chemical structures were elucidated on the basis of chemical and instrumental analyses data. Furthermore, various biological activities, e.g. anti-oxidative and anti-inflammatory activities, of the extracts, the separated fractions, and some isolates were examined.

研究分野：天然物化学

キーワード：食用植物 ブラックベリー クサギ サツマイモ モリンガ トマト 成分 生物活性

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、高脂血症等の生活習慣病、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、それらの疾患の予防あるいは病態の軽減のために、食品を活用するという社会的なニーズが高まってきている。

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、食用植物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、ならびに機能性成分の一斉分析法を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

5種の食用植物(ブラックベリー、クサギ、サツマイモ、モリンガ、トマト)のエキスを作成後、各エキスについて抗酸化活性試験、抗炎症活性試験、癌細胞増殖抑制活性試験、マクロファージの泡沫化抑制活性試験等の生物活性試験を行った。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)で分離・精製(単離)した。次いで、精製した化合物の化学構造を核磁気共鳴スペクトル、質量分析ならびにX線結晶構造解析をはじめとする機器分析データおよび化学反応データを用いて決定した。さらに、構造決定した化合物の上記生物活性を測定した。

4. 研究成果

(1) ブラックベリーに関する研究

生食の他ジャムなどの加工食品に利用されるブラックベリー (*Rubus allegheniensis* Port.; syn. *R. fruticosus* L.) の果実および葉の両メタノール (MeOH) エキス (ext.) から各種オープンカラムクロマトグラフィーならびに HPLC を用いて、果実のエキスから 12 種 (1-12)、葉のエキスから 7 種の化合物 (2, 3, 13-17) を単離し、それらの化学構造を明らかにした (図 1)。さらに、それらの中で 8 種のトリテルペノイド (1-4, 13, 15-17) にアテローム性動脈硬化の原因となるマクロファージの泡沫化抑制活性試験を行い、50 μM 濃度で活性を示す化合物を見出した (1, 90%; 2, 30%; 3, 32%; 4, 33%; 13, 4%; 15, 48%; 16, 4%; 17, 14%)。

また、種子の MeOH エキスにヒト白血病細胞株 HL-60 の増殖抑制活性 (EC₅₀ 237.1 μg/mL) を見出したことから、成分研究を行い、2 種の新規化合物 (18, 19) を含む 14 種 (1, 3-5, 18-27) のトリテルペノイドを単離し、構造決定した (図 2)。また、2 種の化合物に弱いながらも HL-60 の増殖抑制活性 (1, IC₅₀ 25.2 μM; 21, IC₅₀ 26.0 μM) を見出した。

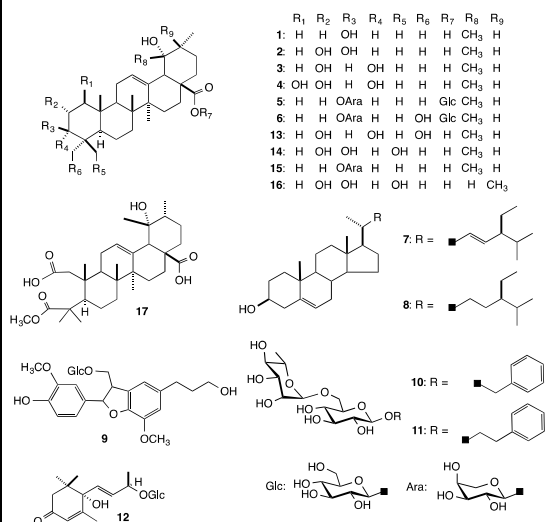


図 1. 化合物 1-17 の構造

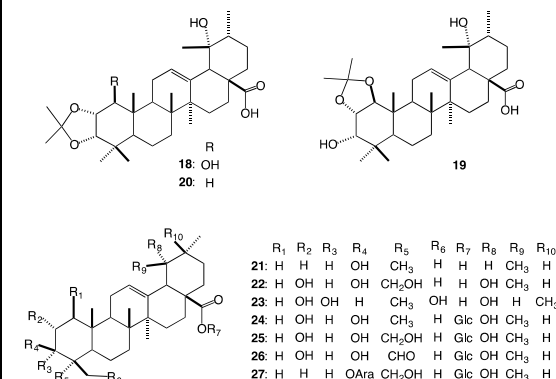


図 2. 化合物 18-27 の構造

(2) クサギの成分に関する研究

精進料理に利用される山菜であるクサギ (*Clerodendron trichotomum* Thunb.) の葉の MeOH エキスに 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ラジカル消去活性 (EC₅₀ 25.3 μg/mL) 、O₂⁻ ラジカル消去活性 (EC₅₀ 233 μg/mL) 、H₂O₂ 消去活性 (EC₅₀ 261 μg/mL) および NO 消去活性 (EC₅₀ 430 μg/mL) を見出した。また、このエキスから、1 種の新規ジテルペノイド (28) を含む 6 種 (28-33) の化合物を単離し、構造決定した (図 3)。

また、単離した化合物に上記 4 種の抗酸化活性試験を行い、32 に DPPH ラジカル (EC₅₀ 22.2 μM) 、H₂O₂ (EC₅₀ 80.2 μM) ならびに O₂⁻ ラジカル (EC₅₀ 23.4 μM) の各消去活性試験で活性を見出した。また、31 に弱いながらも、NO 消去活性 (EC₅₀ 452 μM) を確認した。

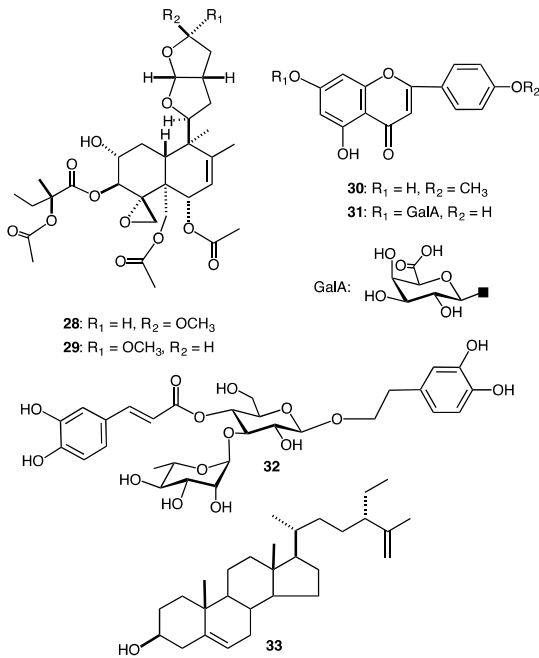


図3 . 化合物 28-33 の構造

3) サツマイモに関する研究

サツマイモ (*Ipomoea batatas* L.) は、ヒルガオ科サツマイモ属のつる性の植物で、その塊根は世界中で食用される他、酒類等への加工もある。本植物は、耐病性、収穫量、デンプン含有率ならびに貯蔵性を良くするために品種改良され、多種の品種が作られている。サツマイモ‘ムラサキマサリ’塊根部の MeOH エキス、ならびに分画した画分について (チャート 1)、4 種の抗酸化活性試験 [DPPH ラジカル消去活性試験 (MeOH ext.,

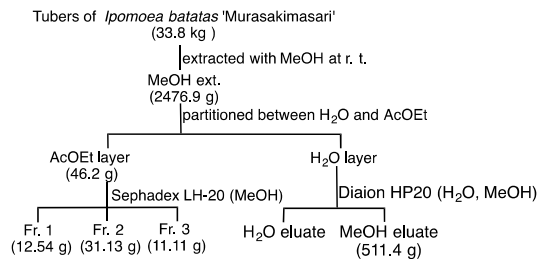


チャート 1 . ‘ムラサキマサリ’の抽出および分画

EC₅₀ 82.7 μg/mL; AcOEt layer, EC₅₀ 11.5 μg/mL; H₂O layer, EC₅₀ 160 μg/mL; MeOH eluate, EC₅₀ 21.1 μg/mL; Fr. 3, EC₅₀ 6.50 μg/mL) H₂O₂ 消去活性試験 (MeOH ext., EC₅₀ 499 μg/mL; AcOEt layer, EC₅₀ 50.3 μg/mL; H₂O layer, EC₅₀ 575 μg/mL; MeOH eluate, EC₅₀ 36.2 μg/mL; Fr. 3, EC₅₀ 35.4 μg/mL) ABTS⁺ラジカル消去活性試験 (MeOH ext., EC₅₀ 67.5 μg/mL; AcOEt layer, EC₅₀ 17.3 μg/mL; H₂O layer, EC₅₀ 67.5 μg/mL; MeOH eluate, EC₅₀ 7.58 μg/mL; Fr.

3, EC₅₀ 3.74 μg/mL) 鉄イオンキレート活性試験 (MeOH ext., EC₅₀ 288 μg/mL; H₂O layer, EC₅₀ 279 μg/mL; Fr. 1, EC₅₀ 699 μg/mL; Fr. 3, EC₅₀ 52.1 μg/mL)]、3 種の抗炎症活性試験 [RAW264.7 マウス由来マクロファージ様細胞の NO 産生抑制 (AcOEt layer, EC₅₀ 80.6 μg/mL; Fr. 3, EC₅₀ 42.9 μg/mL) リボキシゲナーゼ阻害活性 (MeOH ext., EC₅₀ 283 μg/mL; AcOEt layer, EC₅₀ 56.8 μg/mL; H₂O layer, EC₅₀ 592 μg/mL; MeOH eluate, EC₅₀ 82.8 μg/mL; Fr. 1, EC₅₀ 682 μg/mL; Fr. 3, EC₅₀ 82.6 μg/mL) և ヒアルロニダーゼ阻害活性 (Fr. 3, EC₅₀ 972 μg/mL)]、ならびに HL-60 の増殖抑制活性試験 (MeOH eluate, EC₅₀ 53.2 μg/mL; Fr. 3, EC₅₀ 25.6 μg/mL) を行い、活性を示す画分を見出した。

また、エキスから、2 種 (34、35) の新規を含む 5 種 (34-38) の樹脂配糖体を単離し、構造決定した (図 4) 。

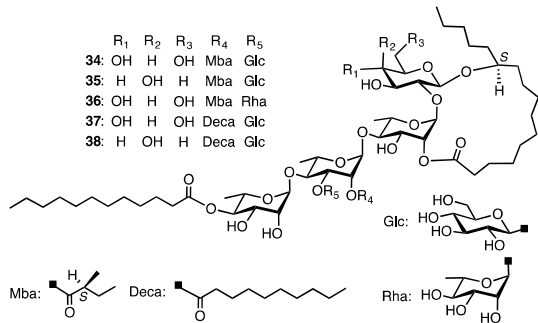


図4 . 化合物 34-38 の構造

また、7 品種 [ムラサキマサリ (1)、べにまさり (2)、べにあずま (3)、九州 166 号 (4)、高系 14 号 (5)、紅ハルカ (6)、ジョイホワイト (7)] のサツマイモ塊根部の樹脂配糖体画分 (チャート 2) について、蒸発散乱型検出器を用いた HPLC 分析 [カラム、ナカライテスク 5C18 AR-II (4.6 mm i.d.×250 mm) ; 溶媒、H₂O-MeOH (85% 100% (0.5%/min) , 100% (10 min hold)) ; 流速、1.0 mL/min ; カラム温度、35 °C ; 検出器、ELSD-LT II (島津製作所) ; 検出器温度、50°C] を行い、品種により樹脂配糖体組成に違いがみられることを明らかにした (図 5) 。

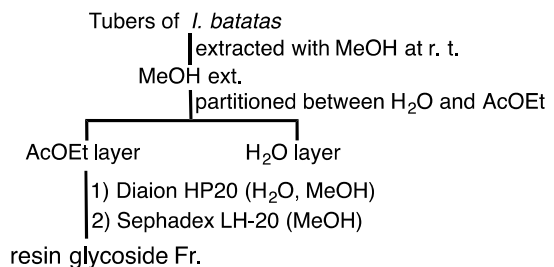


チャート 2 . 樹脂配糖体画分の調製

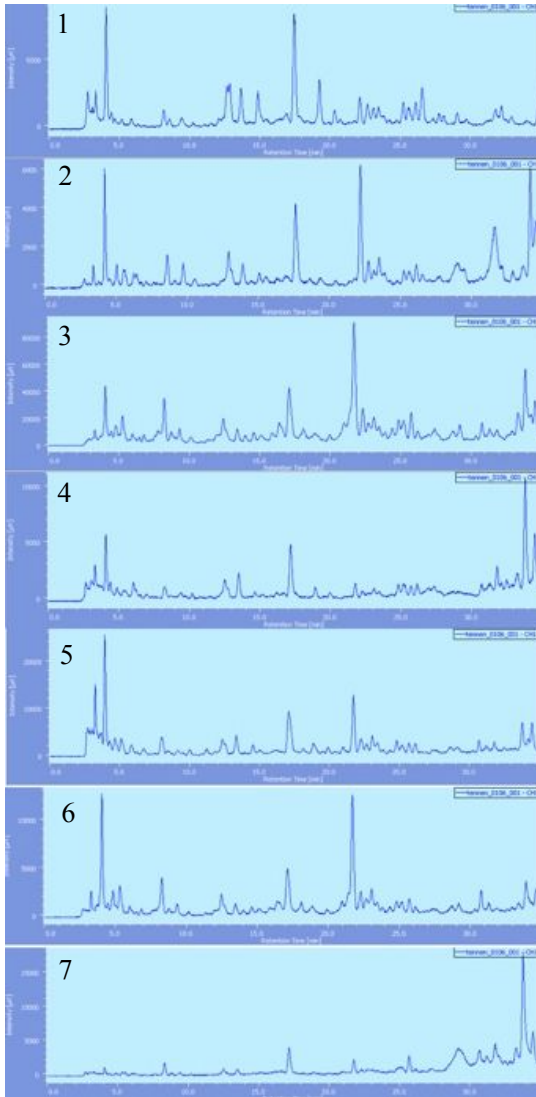


図5．樹脂配糖体画分のクロマトグラム

(4) モリンガの成分に関する研究

モリンガ (*Moringa oleifera* Lam.; syn. *M. pterygasperma* Gaertn.) は、インド原産のワサビノキ科 (Moringaceae) の落葉低木で、全体、特に根に辛味が強く、ワサビ (アブラナ科 Brassicaceae) の代用とされる。また、若芽や若い果実、根などは、香辛料や野菜として食用される他、葉、根ならびに種子は薬用されることもあり、葉は利尿、手足の痛み、淋病などに、根は強壯、通経、風邪、脚気などに、種子から得られる油は痛風、リウマチ、高血圧症の治療に用いられる。さらに、種子は強い凝析作用と抗菌作用を有するため、アジアやアフリカで浄水の目的で利用される。本植物の葉と葉柄の MeOH エキスおよび分画した画分 (チャート3) の抗酸化活性試験 [DPPH ラジカル消去活性試験 (MeOH ext., EC₅₀ 156.5 μg/mL; AcOEt layer, EC₅₀ 79.2 μg/mL; H₂O layer, EC₅₀ 149 μg/mL; MeOH eluate, EC₅₀ 32.4 μg/mL) H₂O₂ 消去活性試験

(MeOH ext., EC₅₀ 952 μg/mL; AcOEt layer, EC₅₀ 377 μg/mL; H₂O layer, EC₅₀ 725 μg/mL; MeOH eluate, EC₅₀ 64.9 μg/mL) NO 消去活性試験 (AcOEt layer, EC₅₀ 677.5 μg/mL; MeOH eluate, EC₅₀ 312 μg/mL)] を行い、いずれの抗酸化活性試験でも、MeOH eluate が強い活性を示した。

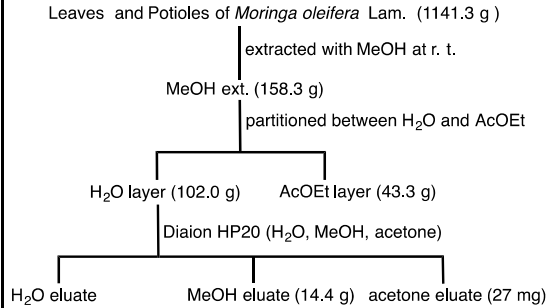


チャート3．モリンガの抽出および分画

また、MeOH エキスの成分研究を行い、2種のグルコシノレート (39、40)、1種のカルバメート (41)、2種のニトリル配糖体 (42、43) および2種のフラボノイド (44、45) を単離し、構造を明らかにした (図6)。

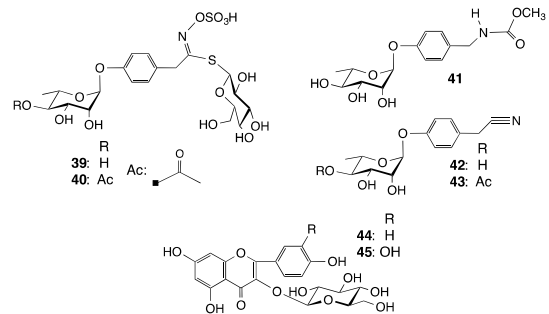


図6．化合物 39-45 の構造

(5) トマト果実に関する研究

ミニトマト (*Lycopersicon esculentum* L.) の1品種 'ココ' の果実のMeOHエキスならびこのエキスのDiaion HP20カラムクロマトグラフィーにおけるMeOH eluateについて、抗酸化活性試験 [DPPH ラジカル消去活性試験 (MeOH ext., EC₅₀ 410 μg/mL; MeOH eluate, EC₅₀ 35.0 μg/mL) ABTS⁺ ラジカル消去活性試験 (MeOH ext., EC₅₀ 135 μg/mL; MeOH eluate, EC₅₀ 23.4 μg/mL)] および抗炎症活性試験 [RAW264.7マウス由来マクロファージ様細胞のNO産生抑制 (MeOH eluate, EC₅₀ 129 μg/mL) リボキシゲナーゼ阻害活性 (MeOH eluate, EC₅₀ 286 μg/mL)] を行い、MeOH eluateに活性を見出した。

また、MeOH eluate から、5種のステロイド配糖体 (46-49)、2種のフラボノイド (50、51)、1種のジヒドロカルコン配糖体 (52) ならびに

1種のフェニルプロパノイド(53)を単離し、構造を明らかにした(図7)。

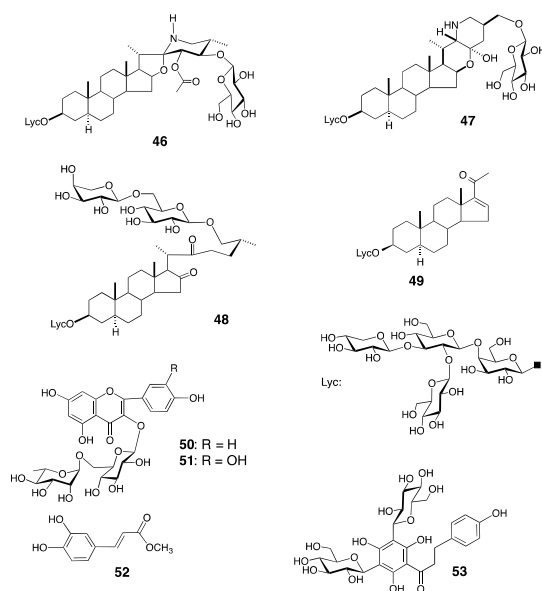


図7. 化合物46-53の構造

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。本研究では、ブラックベリー、クサギ、サツマイモ、モリンガおよびトマトの5種の食用植物の機能性成分の研究を行った。この研究で、ブラックベリー中の動脈硬化予防効果の可能性のある成分や、クサギ中の抗酸化成分を明らかにした。また、エキスや分画した画分の機能を明らかにするとともに、それらに含まれる成分の構造研究を行ったが、成分レベルでの活性試験に至っていないものもある。これらについては、今後、研究を行う予定である。さらに、サツマイモの樹脂配糖体画分について、光蒸散型検出器を用いた品種間の比較を行った結果、品種による成分の違いが確認された。

科学的に機能の解明された食品を積極的に用いて、健康の維持や疾患の予防に役立てること、さらには、それらの生物活性成分を利用した予防医学的なサプリメントを開発することは、我が国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。また、我が国では2015年4月から、農林水産物・食材における健康強調表示(ヘルスクレーム、機能性表示食品)制度が導入されたことから、食用植物に含まれる機能性成分の分析は、今後、さらに重要になると考えられる。特に、農産物は多種の品種が流通していることから、それらの品種毎の機能性成分の違い等について明らかにする必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

M. Ono, S. Yasuda, Y. Shiono, C. Furusawa, S. Inaba, T. Tanaka, T. Ikeda, T. Nohara, A New Hemiterpene Glycoside from the Ripe Tomatoes, *Nat. Prod. Res.*, 査読有, **29** (3), 2015, 262-267
DOI: 10.1080/14786419.2014.974053

M. Ono, S. Yasuda, H. Komatsu, Y. Fujiwara, M. Takeya, T. Nohara, Triterpenoids from the Fruits and Leaves of the Blackberry (*Rubus allegheniensis*) and Their Inhibitory Activities on Foam Cell Formation in Human Monocyte-Derived Macrophage, *Nat. Prod. Res.*, 査読有, **28** (24), 2014, 2347-2350
DOI: 10.1080/14786419.2014.939087

M. Ono, C. Furusawa, K. Matsumura, S. Noguchi, S. Yasuda, M. Okawa, J. Kinjo, M. Eto, K. Yamaguchi, H. Yoshimitsu, T. Nohara, A new diterpenoid from the leaves of *Clerodendron trichotomum*, *J. Nat. Med.*, 査読有, **67** (2), 2013, 404-409
DOI: 10.1007/s11418-012-0690-7

〔学会発表〕(計5件)

樋口智美、西 香織、川添真希、淵崎哲史、小松春喜、大川雅史、金城順英、吉満 斉、野原稔弘、安田 伸、小野政輝、ブラックベリー (*Rubus fruticosus*) 種子の成分に関する研究(2)、平成26年度日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部大会、平成26年10月12日、熊本県立大学(熊本市)

鈴木宏明、西岡 峻、西田陽一郎、安田 伸、永井竜児、長野克也、池寄陽子、岡田誠治、大川雅史、金城順英、吉満 斉、野原稔弘、小野政輝、ワサビノキ (*Moringa oleifera*) の葉と葉柄の成分に関する研究、平成26年度日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部大会、平成26年10月12日、熊本県立大学(熊本市)

山野裕貴、寺本世生、内藤沙織、安田 伸、多賀直彦、椋田聖孝、大川雅史、金城順英、吉満 斉、野原稔弘、小野政輝、サツマイモ‘ムラサキマサリ’塊根の樹脂配糖体に関する研究、平成26年度日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部大会、平成26年10月12日、熊本県立大学(熊本市)

小野政輝、西 香織、安田 伸、小松春喜、大川雅史、金城順英、吉満 斉、野原稔弘、ブラックベリー (*Rubus allegheniensis*) 種子の成分に関する研究、日本生薬学会 第61回年会、平成26年9月13日、福岡大学(福岡市)

山本和孝、高良真樹子、小松春喜、藤原章雄、竹屋元裕、野原稔弘、小野政輝、ブラックベリー (*Rubus allegheniensis*) の成分に関

する研究(3) 平成24年度日本農芸化学会
西日本支部および日本栄養・食糧学会九州・
沖縄支部合同大会、平成24年9月29日、鹿
児島大学(鹿児島市)

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

安田 伸 (YASUDA, Shin)
東海大学・農学部・准教授
研究者番号: 10512923