

(別紙様式第3号)

学 位 論 文 要 旨

氏名：小川智史

題目： トチノキ種皮(*Aesculus turbinata* BLUME)ポリフェノールの構造解析と食品機能性
Structural Analysis and Nutraceutical Activity of Polyphenols from Japanese Horse
Chestnut (*Aesculus turbinata* BLUME)

トチノキ(*Aesculus turbinata* BLUME)の種子、すなわちトチノミは、日本各地で栃餅、トチノミ団子等の食品原料となる。このトチノミは、そのままでは苦味が強いため、木灰などによるアルカリ処理で、あく抜きが行なわれた後、食品素材として利用される。この際に生じる種皮は、これまで有効利用されずに廃棄されてきた。本研究ではこの種皮中のポリフェノールに着目して、それらを抽出し精製を行い、成分の構造解析や食品機能性を検討した。

トチノキ種皮からポリフェノール成分を熱水抽出し、Diaion HP-20, および Chromatorex ODS 1024T のカラムクロマトグラフィーにより分画し、最後に、Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーにより、F1, F2, そして F3 の3つの成分に分離した。これらの分離成分の構造を、マトリックス支援レーザー脱離イオン化・飛行時間型質量分析計により解析した。その結果、F1には、主に、低分子量のポリフェノール成分が含まれていた。F2 および F3 は、flavan-3-ol の重合体であるプロアントシアニジンであることが明らかになり、それぞれ 19 と 23 の重合度であることが確認された。F2 と F3 を 1-ドデカンチオールを用いて加チオール分解して得られたドデシルスルフィド誘導体を、逆相 HPLC とエレクトロスプレーイオン化質量分析により解析した。その結果、これらプロアントシアニジンの flavan-3-ol 同士の結合は、単結合の B-type の結合に加えて、二重結合である A-type interflavan 結合を有することが明らかになった。また、構成単位の flavan-3-ol が、ガロイル基を有するかを確認するため、その加水分解酵素であるタンナーゼにより処理して生成物を確認したところ、ガロイル基は結合していないことが明らかになった。これらの結果から、トチノキ種皮ポリフェノールの主成分は、ガロイル基を有していない flavan-3-ol を構成単位とする高重合のプロアントシアニジンであり、また、flavn-3-ol 同士の結合には、B-type と A-type の両方の interflavan 結合があることが明らかになった。

生活習慣病、癌、心疾患などの慢性的な病気が生体内での活性酸素・フリーラジカルの過剰発生と関連しており、これらの予防や治療には活性酸素の除去が効果的であると報告されている。近年では、抗酸化物質を含む食材の摂取がその予防に有効であるとした知見が多数報告されている。トチノキ種皮由来のポリフェノール成分の抗酸化作用を DPPH ラジカル消去試験およびβ-カロチン退色試験により評価した。その結果、強い抗酸化作用を示すことが明らかになった。

生活習慣病のひとつである糖尿病は、様々な合併症をきたす危険性のある病気である。糖尿病の予防には、食後の急激な血糖値の上昇を抑制することが有効である。この血糖値上昇抑制の手段のひとつとして、食事と一緒に、糖質消化酵素を阻害する成分を摂取する方法がある。澱粉や糖は、糖質消化酵素であるα-アミラーゼやα-グルコシダーゼなどにより単糖にまで分解され吸収される。この消化酵素を阻害することにより、単糖の吸収を緩和することで、血糖値の急激な上昇の防止が期待できる。トチノキ種皮ポリフェノール成分のα-グル

コシダーゼや α -アミラーゼに対する阻害作用を検討した結果、強い阻害作用を示すことが明らかになった。このことから、糖質消化酵素を阻害することにより、糖質の過剰摂取による血糖値の急上昇を抑制することが期待できる。

近年、肥満が社会問題になっている。この予防には食事に含まれる脂肪の吸収を抑制することが有効である。食事中のトリアシルグリセロールは、膵液リパーゼにより、2-モノアシルグリセロールと脂肪酸とに分解されて吸収される。そのため、膵液リパーゼを阻害することにより、肥満の予防が期待できる。トチノキ種皮由来のポリフェノール成分のリパーゼに対する阻害作用を検討した結果、強い阻害作用を示すことが明らかになった。また、マウスに、油脂と一緒に経口投与したところ、血中トリアシルグリセロールの上昇が抑制された。このことにより、*in vivo* の動物実験系でも、ポリフェノール成分は、脂肪の消化酵素のリパーゼを阻害し、脂質の分解吸収を抑制することが確認された。

これまで、本研究室では、皮剥ぎした天然のトチノミ、および木灰であく抜き処理された食用トチノミから、それぞれに由来するサポニン類を単離し、それらが血糖値上昇に対する抑制作用を示すことを明らかにしている。また、それらのサポニン類は、膵液リパーゼを有意に阻害する活性を示した。さらに、*in vivo* の動物実験として、マウスに高脂肪食と共に、天然および食用のサポニンを2ヶ月間摂取させたところ、体重の増加が有意に抑制されることも報告している。加えて、今回の研究において、トチノキ種皮に由来するポリフェノールは、抗酸化作用、糖質消化酵素に対する阻害作用、リパーゼ阻害による脂質摂取時のトリアシルグリセロールの血中レベルの上昇に対する抑制作用などの有効性が確認された。これらのことから、トチノミの種子および種皮の両方とも、非常に有用な機能性食品素材といえる。