

柿成熟果および幼果へた抽出物における機能性の探索

折居 千賀

Exploration of New Function of Calyxes from Mature and Immature Persimmons.

Chika Orii

Calyx of persimmon which named Chinese herbal medicine 'shitei' is used as cure for hiccups. Calyx of persimmon is little known about other function, and therefore, we investigated other functions such as lifestyle diseases prevention. Ethanol extract from calyxes of mature and immature persimmon inhibit α -glucosidase, β -lipase and angiotensin converting enzyme. Ethanol fraction from young *Diospyros kaki* 'Fuyu' shows the highest activity against α -glucosidase (IC_{50} 2.5 mg/ml). Water fraction from young *Diospyros kaki* 'Jiro' shows the highest activity against β -lipase (IC_{50} 1.7 μ g/ml). Water fraction from mature Fuyu shows the highest activity against angiotensin converting enzyme (IC_{50} 300.2 μ g/ml). Calyxes of Chinese medicine 'Shitei', Fuyu and Jiro contain three triterpenoids which are ursolic acid, oleanolic acid and betulinic acid. These triterpenoids inhibit only to β -lipase. Thus, compounds other than triterpenoids get involved in activity against α -glucosidase and angiotensin converting enzyme. These results suggest that calyx of persimmon has effects which are related to improved blood sugar control, anti-obesity effect and antihypertensive property. It is possible that calyx of persimmon are utilized as new material for functional foods.

Key words: *Diospyros kaki*, calyx, α -glucosidase, β -lipase, angiotensin-converting enzyme, inhibiting activity

柿 (*Diospyros kaki*) は中国を原産とする果物であり、古来より食用や薬、あるいは染料や塗料として用いられてきたなじみ深い果物である。それらは完全甘柿、不完全甘柿、不完全渋柿、渋柿に分類され、日本では富有柿、次郎柿、市田柿など様々な品種が存在する。しかし、食用としての柿は加熱処理に不向きであり、消費形態は他の果物に比べて多様ではない。さらに、摘果した果実や規格外果実は水分を多く含み、廃棄コストがかかるといった環境負荷の問題も有している。そのため、規格外果実を含め、柿を有効活用するための試みとして、その機能性に注目した様々な研究がなされている¹⁾。

柿の果実や果皮は、ビタミンや柿タンニンのほか β -クリプトキサンチンといったカロテノイド類やトリテルペノイド類を含むことが報告されている^{1, 2)}。果皮に関しては、果皮由来脂溶性抽出物を投与した2型糖尿病 Goto-Kakizaki ラットの肝臓に β -クリプトキサンチンの蓄積を認めたほか、インスリンシグナル伝達経路を初めとした遺伝子群の発現に変化を与えることが報告されており、インスリン抵抗性を改善する可能性が示唆された²⁾。柿葉および柿の葉茶はポリフェノールであるアストラガリンが含まれており³⁾、山菜や果実を初めとした200点の試料の中でも高いラジカル消去活性を示したことが報告されている⁴⁾。そのほか、柿葉の熱水抽出物にはI型あるいはIV型アレルギー抑制作用に関する報告もされている⁵⁾。へたは、

天日で乾燥させたものを柿蒂(シテイ)とよび、古来より去痰や吃逆(しゃっくり)止めの薬として用いられてきた⁶⁾。へたではこれまで堂上蜂屋柿へた由来成分として、ウルソール酸やフリーデリンをはじめとしたトリテルペノイド類やトリフォーリンといった19種類の化合物が報告されている⁷⁾。また、へたに含まれるウルソール酸およびオレアノール酸は、う蝕原因菌に対する抗菌作用⁸⁾、あるいは抗腫瘍作用⁹⁾についての報告があり、へたが有する機能性を示唆している。しかし、へたは他の部位と比較して、成分と機能性の関連など明らかにされていない点が多く、漢方としての効用もまた限定的である。そこで、本研究では中国産柿蒂、富有柿および次郎柿の成熟果および幼果へたエタノール抽出物を対象とし、柿へたの新たな機能性として、血糖値上昇抑制に関与する α -グルコシダーゼ阻害、抗肥満に関与する β -リパーゼ阻害、血圧上昇抑制に関与するアンジオテンシン変換酵素阻害活性について調べた。また、一般的に親しまれている日本茶、抗炎症および抗アレルギー作用を有する甜茶¹⁰⁾および柿葉を加工した柿の葉茶との比較も行ったので報告する。

実験方法

1. 実験材料

中国産漢方薬「柿蒂(中国産柿蒂)」は中屋彦十郎薬局

より購入した。そのほか、当研究所所属農場にて7月に摘果、もしくは11月に収穫した富有柿および次郎柿の幼果および成熟果へたを用いた。これらは収穫後すぐに果皮、果実、種子、へたに分け、 -80°C にて保存した。また、比較対象として市販の日本茶、柿の葉茶、甜茶を購入し、 4°C で保存した。

2. 試薬

ポリフェノール量測定にはフォーリン・チオカルト試薬 (MP Biomedicals, LLC), 没食子酸 (和光純薬工業 (株)) を用いた。DPPH ラジカル消去活性には 1, 1-ジフェニル-2-ピクリル-ヒドラジル (DPPH, 和光純薬工業 (株)), 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox, MP Biomedicals, Inc.) を用いた。 α -グルコシダーゼ阻害活性測定にはラット小腸アセトンパウダー (Sigma Aldrich), LabAssayTM Glucose (和光純薬工業 (株)) を用いた。 β -リパーゼ阻害活性は基質に 4-メチルウンベリフェロンのオレイン酸エステル (Tronto Research Chemicals Inc.), 豚膵臓由来 β -リパーゼを用いた (和光純薬工業 (株))。アンジオテンシン変換酵素阻害活性には ACE kit-WST (同仁化学研究所) を用いた。

3. 抽出法

抽出にはエタノールを用いた。試料 2.0 g に対して 30 ml のエタノールを用い、 4°C で4日間抽出した。減圧乾固後の抽出物は 10% (w/v) となるようにエタノールに再溶し、残留したエタノール不溶成分は等量の水に再溶した。これらをそれぞれエタノール画分および水画分とした。

4. ポリフェノール量の測定

ポリフェノール量の定量は、既報に従いフォーリン・チオカルト法を用いた¹¹⁾。適宜希釈した試料溶液 90 μl に 50% フォーリン・チオカルト溶液を 450 μl 添加し、攪拌した。3分静置したのち、0.4 M 炭酸ナトリウム水溶液を 450 μl を添加後、 55°C で5分間反応を行った。反応後 30 分間放冷し、分光光度計 (U-3210 形自記分光光度計, 日立) にて 765 nm における吸光度を測定した。このとき、ポリフェノール含量は没食子酸エタノール溶液にて検量線を作成し、試料 1.0 g あたりの没食子酸相当量 (mg- 没食子酸相当量 /1.0 g) として算出した。

5. DPPH ラジカル消去活性による抗酸化活性測定

抗酸化活性の定量は既報に従った¹²⁾。試料溶液を適宜希釈後、96 穴プレートに 100 μl 添加した。0.2 M DPPH エタノール溶液 100 μl 添加したのち攪拌、混合した。室温で 30 分静置したのち、520 nm の吸光度をマイクロプレートリーダー (μQuant , BIO-TEK) で測定した。このとき、標準試薬として Trolox を用いた。検量線を作成したのち、抗酸化能を Trolox 相当量 ($\mu\text{mol-trolox}$ 相当量 /1.0 g) で算出した。

6. α -グルコシダーゼ阻害活性

測定は出口らの手法を一部改変して行った¹³⁾。1.0 g ラット腸管アセトンパウダーを 0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) 10 ml に懸濁し、氷冷下にて 30 分間攪拌処理を行った。遠心分離 (12000 rpm $\times$ 10 min, 4°C) を行ったのち、上清を粗酵素液とし -80°C にて保存した。阻害活性は以下のように行った。蒸留水 240 μl に 250 mM マルトース水溶液 200 μl と各抽出液 50 μl を添加、攪拌したのち 37°C で5分間プレインキュベートした。酵素液を 25 μl 添加後、 37°C で40分酵素反応を行った。反応終了後、0.2 M 炭酸ナトリウム水溶液を 500 μl 添加し、反応を停止させた。生成したグルコースを LabAssayTM Glucose を用いて発色させ、分光光度計にて 765 nm の吸光度を測定した。空試験区として、基質および試料を加えて 37°C 、30 分静置し、0.2 M 炭酸ナトリウム水溶液を添加したのち酵素液を加えたものを準備した。

試料の代わりに水もしくはエタノールを添加、同様の反応を行ったものを対照区とし、対照区に対する試験区の残存活性より阻害率を求め、50% 阻害濃度 (IC_{50} , mg/ml) を算出した。残存活性は次の式によって求めた。残存活性 (%) = {(試験区グルコース量 - 空試験区グルコース量) / 対照区グルコース量} $\times$ 100

7. β -リパーゼ阻害活性

測定は既法を一部改変して行った¹⁴⁾。基質は 4-メチルウンベリフェロンのオレイン酸エステル (4-MUO) を用い、精製した 4-メチルウンベリフェロン (4-MU) の蛍光を測定することにより実施した。基質溶液および酵素液の調製には 150 mM 塩化ナトリウムと 1.36 mM 塩化カルシウムを含む 13.0 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.0, 緩衝液 A) を用いた。活性測定は以下の通りに実施した。水あるいはエタノールで希釈した試料 25 μl を 96 穴マイクロプレートに添加後、基質 (0.1 mM 4-MUO ジメチルスルホキシド溶液を緩衝液 A にて 10000 倍に希釈したもの) を 50 μl 添加、 37°C で5分間プレインキュベートした。酵素は豚膵臓由来 β -リパーゼを用い、酵素液 (2.0 mg/ml) を 25 μl 添加後、 37°C で30分酵素反応を行った。反応終了後、0.1 M クエン酸ナトリウム (pH 4.2) 緩衝液を 50 μl 添加し、反応を停止させた。遊離した 4-メチルウンベリフェロンの蛍光 (励起波長 355 nm, 蛍光波長 460 nm) を蛍光プレートリーダー (FLUOstar Optima, BMG LABTECH) で測定した。空試験区として、基質および試料を加えて 37°C 、30 分静置し、クエン酸緩衝液を添加したのちに酵素液を加えたものを準備した。

試料の代わりに水もしくはエタノールを添加、同様の反応を行ったものを対照区とし、対照区に対する試験区の残存活性より阻害率を求め、50% 阻害濃度 (IC_{50} , $\mu\text{g/ml}$) を算出した。残存活性は次の式によって求めた。残存活性 (%) = {(試験区 4-MU 量 - 空試験区 4-MU 量) / 対照区 4-MU 量} $\times$ 100

8. アンジオテンシン変換酵素阻害活性

血圧上昇に関与するアンジオテンシン変換酵素 (ACE) に対する阻害活性は, ACE kit-WST を用いて調べた. 付属のマニュアルに従い各抽出物の ACE 阻害活性を測定した. 同キットは 3-Hydroxybutyryl-Gly-Gly-Gly (3HB-GGG) より遊離した 3-Hydroxybutyric acid (3HB) を酵素法にて検出する方法である. 測定は 96 穴プレートを用い, 分光光度計 (μ Quant, BIO-TEK 社) にて 450 nm の吸光度を測定した. 付属のマニュアルに従い阻害率を求め, 50% 阻害濃度 (IC_{50}) を算出した. 同キットは正確な測定を行う上で, 反応液中のエタノール終濃度に制限がある. このため, エタノール抽出物の水画分, 熱水抽出物について測定を行った. また, 添加時あるいは反応中に沈殿が生じた試料は結果より除外した.

9. 柿へたエタノール抽出物の GC-MS 分析

試料 5.0 g をエタノール 20 ml にて抽出 (4℃, 3 日間), 減圧乾固して得た抽出物を GC-MS 分析に供した. 乾固した試料に 100 μ l の無水ピリジンを添加し, 再溶した. 同溶液に 200 μ l の N-メチル-N-トリメチルシリルトリフルオロアセトアミド (MSTFA) を添加し, 室温で 4 時間反応させたのち GC-MS 分析に供した. GC-MS 分析条件を以下に示す. GG 装置: アジレントテクノロジー製 Agilent 6890 N; 検出器: アジレントテクノロジー製 Agilent 5972; カラム: アジレントテクノロジー製 J&W DB-5 (30m $\times$ 0.25 mm-i.d., 膜厚 0.25 μ m); キャリヤーガス: ヘリウム (1.0 mL/min); 注入口温度: 260℃; オープン: 80℃ で 2.0 min 保持後, 10℃/min で 320℃ まで昇温, 4.0 min 保持; 溶媒待機時間: 4.0 min; イオン化: EI (イオン化電圧 70 eV). トリテルペノイド類, ウルソール酸 (和光純薬工業), オレアノール酸 (MP Biomedicals, Inc.), ベツリン酸 (Apin Chemicals Ltd.) 標品を同様に誘導体化し, 比較を行った.

結果および考察

1. 柿エタノール抽出物中のポリフェノール量および DPPH ラジカル消去活性

中国産柿蒂, 富有柿, 次郎柿の成熟果および幼果へた由来エタノール抽出物のポリフェノール量およびラジカル消去活性を測定し, 定量した (表 1). 富有柿幼果は最も高いポリフェノール量 7.25 mg/1.0 gFW (没食子酸相当量), ラジカル消去活性 10.09 μ mol/1.0 gFW (trolox 相当量) を示した. 次郎柿幼果ではポリフェノール量 3.36 mg/1.0 gFW, ラジカル消去活性 4.59 μ mol/1.0 gFW であった. 富有柿および次郎柿では, 成熟にともないこれらの値は減少した. ポリフェノールの含有量およびラジカル消去活性は富有柿が高く, 品種による成分あるいは成分量の違いが示唆された. 中国産柿蒂は富有柿や次郎柿と比較してポリフェノール量およびラジカル消去活性がいずれも低く, それぞれポリフェノール量 1.16 mg/1.0 gFW, ラ

ジカル消去活性 1.53 μ mol/1.0 gFW であった. 購入した中国産柿蒂は複数の品種が混合されたものであったが, 富有柿や次郎柿の生へたよりも低い値を示した. 緑茶, 甜茶, 柿の葉茶抽出物とへた抽出物を比較すると, 富有柿幼果へたでは柿の葉茶と同等のラジカル消去能を示したが, 緑茶や甜茶と比較するといずれも低い値であった.

2. 柿エタノール抽出物の α -グルコシダーゼ阻害活性

中国産柿蒂, 富有柿および次郎柿の成熟果, 幼果へた由来エタノール抽出物の α -グルコシダーゼ阻害活性を調べた (表 2). 中国産柿蒂は水画分のみ阻害活性を示した (IC_{50} =16.7 mg/ml). 富有柿および次郎柿では富有柿成熟果をのぞき, いずれもエタノール画分のみ阻害活性を示した. エタノール画分では成熟果および幼果ともに, 次郎柿よりも富有柿が高い阻害活性を示し, 成熟果では IC_{50} =5.8 mg/ml, 幼果では IC_{50} =2.5 mg/ml であった. また, 富有柿成熟果のみ水画分での阻害活性がみられた (IC_{50} =15.7 mg/ml). エタノール画分では富有柿および次郎柿にて活性の減少がみられ, これらは成熟にともなう減少であると推定した. しかし, 水画分については富有柿成熟果のみ阻害活性がみられたことより, 富有柿成熟果に特有な成分の存在が考えられた. また, 中国産柿蒂では水画分のみ阻害活性がみられたため, 中国産柿蒂, 富有柿および次郎柿では阻害活性に関与する化合物あるいは含有量がそれぞれ異なることが示唆された. 柿の葉茶はへたと異なり, エタノール画分および水画分のいずれにも α -グルコシダーゼ阻害活性はみられなかった. このため, エタノール抽出で得られる成分について, へたと葉では大きく異なることが示唆された.

α -グルコシダーゼ阻害で製剤化されているものとして, アカルボースが挙げられる. しかし, 同阻害剤は次のような副作用が報告されている. 糖質の消化, 吸収阻害による消化不良の結果, 便秘や放屁が増加するというものである. 同副作用では投与による腸内フローラの変化も指摘されている¹⁵⁾. このことは, 消化吸収阻害型の機能性を有する化合物全般について留意すべき副作用である. 一方, 漢方としての柿蒂には同副作用の報告はない. 柿へたに含まれる成分は機能性成分とあわせて腸内環境の急激な変化を起こしにくく, 継続摂取に適した機能性素材となる可能性が考えられた.

3. 柿エタノール抽出物の β -リパーゼ阻害活性

中国産柿蒂, 富有柿および次郎柿の成熟果, 幼果へた由来エタノール抽出物の β -リパーゼ阻害活性を調べた (表 3). へた抽出液のエタノール画分では中国産柿蒂でもっとも高い阻害活性を示し, IC_{50} =135.9 μ g/ml であった. α -グルコシダーゼ阻害活性と同様, 中国産柿蒂と富有柿および次郎柿へたとは相違がみられたため, 品種や加工による成分あるいは成分量の差が考えられた. 水画分では, 次郎柿成熟果が IC_{50} =1.7 μ g/ml と最も高い阻害活性を示した. このことより, 富有柿はエタノール画分で成熟にと

表1 柿へたエタノール抽出物のポリフェノール量および DPPH ラジカル消去活性

試料	状態	ポリフェノール量	DPPH
		(mg-没食子酸相当量/1.0 g)	(μ mol-trolox 相当量/1.0 g)
中国産柿蒂	漢方薬 (乾燥)	1.16	1.53
富有柿	成熟 (生)	4.39	3.07
	幼果 (生)	7.25	10.09
次郎柿	成熟 (生)	2.40	1.77
	幼果 (生)	3.36	4.59
柿の葉茶	乾燥茶葉	13.7	8.80
甜茶	乾燥茶葉	14.7	25.8
日本茶	乾燥茶葉	15.7	63.4

表2 柿へたエタノール抽出物の α -グルコシダーゼ阻害活性

試料	状態	α -グルコシダーゼ阻害活性 (IC_{50} =mg/ml)	
		エタノール画分	水画分
中国産柿蒂	漢方薬 (乾燥)	—	16.7
富有柿	成熟 (生)	5.8	15.7
	幼果 (生)	2.5	—
次郎柿	成熟 (生)	29.2	—
	幼果 (生)	6.6	—
柿の葉茶	乾燥茶葉	—	—
甜茶	乾燥茶葉	—	—
日本茶	乾燥茶葉	0.4	3.1

表3 柿へたエタノール抽出物の β -リパーゼ阻害活性

試料	状態	β -グルコシダーゼ阻害活性 (IC_{50} = μ g/ml)	
		エタノール画分	水画分
中国産柿蒂	漢方薬 (乾燥)	135.9	7.2
富有柿	成熟 (生)	1102.5	5.7
	幼果 (生)	600.3	23.1
次郎柿	成熟 (生)	462.3	1.7
	幼果 (生)	515.4	6.9
柿の葉茶	乾燥茶葉	113.6	86.9
甜茶	乾燥茶葉	473.2	—
日本茶	乾燥茶葉	92.2	11.8

表4 柿へたエタノール抽出物水画分のアンジオテンシン変換酵素阻害活性

試料	状態	ACE 阻害活性 (IC_{50} = μ g/ml)
中国産柿蒂	漢方薬 (乾燥)	674.4
富有柿	成熟 (生)	300.2
	幼果 (生)	2438.2
次郎柿	成熟 (生)	1807.6
	幼果 (生)	2515.9
柿の葉茶	乾燥茶葉	—
甜茶	乾燥茶葉	1614.8
日本茶	乾燥茶葉	1088.9

もなう活性の減少がみられたが、次郎柿は成熟にともない、両画分にて活性が増加した点で相違がみられた。また、柿の葉茶、甜茶および日本茶との比較では、柿へた水画分でこれら3種の茶葉よりも高い阻害活性を示した。中国産柿蒂、富有柿、次郎柿抽出物にて β -リパーゼ阻害活性が確認されたため、これらの柿へた抽出物は抗肥満活性を有することが示唆された。

4. 柿エタノール抽出物水画分の ACE 阻害活性

へた由来エタノール抽出物水画分についてアンジオテンシン変換酵素阻害活性を調べた(表4)。いずれのへたも同酵素に対する阻害活性を示し、富有柿成熟果($IC_{50}=300.2 \mu\text{g/ml}$)、中国産柿蒂($IC_{50}=674.4 \mu\text{g/ml}$)に高い阻害活性が見られた。これらは日本茶よりも高い阻害活性であった。富有柿幼果および次郎柿幼果はほぼ同じ活

性を示したが、次郎柿よりも富有柿で成熟にともなう顕著な活性の増加がみられた。なお、柿の葉茶では同酵素に対する阻害活性は見られなかった。日本茶や甜茶、柿の葉茶は柿へたよりも高いポリフェノール量を有していたが、これらのポリフェノール類は同酵素の阻害活性に顕著な影響を与えない可能性が示唆された。また、いずれのへたも成熟果で高い阻害活性がみられたため、成熟にともなう特定成分の生成あるいは減少、それらの化合物の相乗効果が考えられた。この結果より、柿へた由来成分の摂取による血圧上昇抑制効果の可能性が示唆された。

5. 柿へたエタノール抽出物由来成分の解析

各種柿へたエタノール抽出液をGC-MS分析に供した(図1 A, B)。富有柿および次郎柿の未熟果、成熟果でみられた20分~25分に出現するピークは、中国産柿蒂では

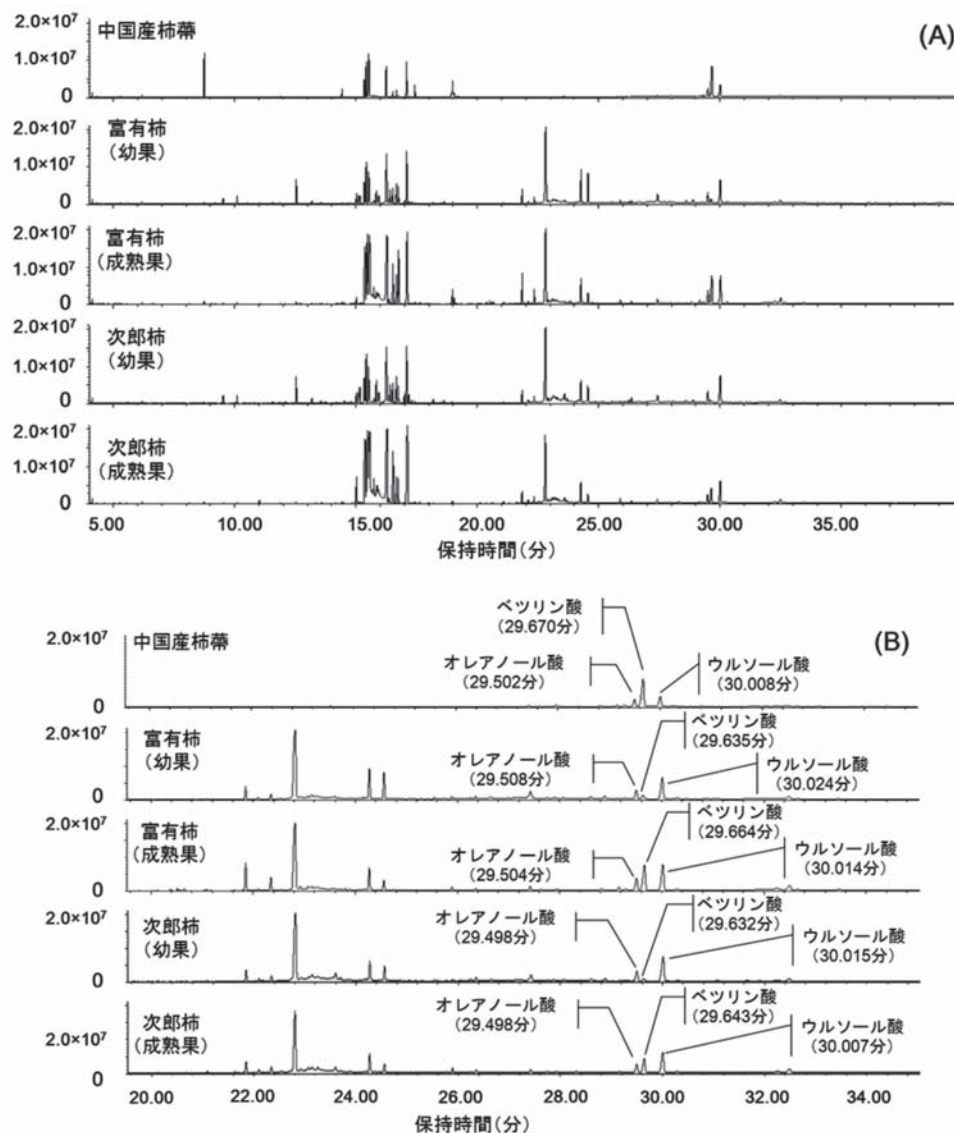


図1 柿蒂抽出物由来成分のGC-MS分析結果

(A) 各柿蒂抽出物成分のGC-MS全イオン電流クロマトグラム;
(B) 20.00分より34.00分までの拡大図

みられなかった (図 1A)。また、富有および次郎柿へたでは品種の違い、あるいは熟度の違いによるピークの差はなかった。このことより、20 分～25 分に出現するピークは加工 (乾燥) の有無、保存期間および保存環境の相違に影響をうける成分であることが考えられた。また、富有柿と次郎柿に関しては、エタノールで抽出成分の含有量における相違が示唆された。

へた成分とされるトリテルペノイド類について標品との比較を行った結果、オレアノール酸 (RT=29.538 分)、ベツリン酸 (RT=29.662 分)、ウルソール酸 (RT=30.083 分) と保持時間および質量スペクトルが一致するピークが見られた (図 1B)。中国産柿蒂、富有柿および次郎柿の幼果、成熟果へたはいずれもこれら 3 種のトリテルペノイド類を含むことを明らかにした。また、トリテルペノイド類の β -リパーゼ阻害活性について調べた結果、ウルソール酸で $IC_{50}=124.2 \mu\text{g/ml}$ 、オレアノール酸で $IC_{50}=1339.7 \mu\text{g/ml}$ の阻害活性を示した。ベツリン酸は 50% 阻害には至らなかったが弱い阻害活性を示した。同トリテルペノイド類は α -グルコシダーゼ阻害活性は示さず、 β -リパーゼ阻害活性のみに関与することが示唆された。

ウルソール酸およびオレアノール酸は堂上蜂屋柿由来成分⁷⁾として報告されており、これ 3 種のトリテルペノイド類は品種や熟度、加工や保存の影響を受けにくい柿蒂共通の機能性成分であると考えられた。しかし、トリテルペノイド類は水に難溶のため、エタノール画分における β -リパーゼ阻害活性にのみ関与し、水画分における β -リパーゼ阻害活性、 α -グルコシダーゼ阻害および ACE 阻害活性には別成分の関与が示唆された。機能性成分として疎水性化合物のほか、親水性化合物の存在もまた示唆されたため、水あるいは熱水抽出も有効であることが考えられた。

まとめ

柿へたの新たな機能性について調べた。へた由来のエタノール抽出物は α -グルコシダーゼ阻害、 β -リパーゼ阻害、アンジオテンシン変換酵素阻害活性を示した。中国産柿蒂、富有柿および次郎柿の成熟果、幼果へたのポリフェノール量および抗酸化活性は柿の葉茶や甜茶、日本茶よりも低い値を示した。 α -グルコシダーゼ阻害活性は、エタノール画分で富有柿が次郎柿よりも高い阻害活性を示し、成熟果では $IC_{50}=5.8 \text{ mg/ml}$ 、幼果では $IC_{50}=2.5 \text{ mg/ml}$ であった。 β -リパーゼ阻害活性では、エタノール画分では中国産柿蒂が $IC_{50}=135.9 \mu\text{g/ml}$ と高い阻害活性を示し、水画分では中国産柿蒂、富有柿、次郎柿それぞれが比較対象の茶葉類よりも高い阻害活性を示した。アンジオテンシン変換酵素阻害活性では、いずれの水画分にも阻害活性が見られ、富有柿成熟果は $IC_{50}=300.2 \mu\text{g/ml}$ で最も高い阻害活性を示した。柿の葉茶では同酵素に対する阻害活性は見られず、葉およびへたにおける成分などの相違が示唆された。GC-MS による解析により、中国産柿蒂、富有柿および次郎柿へたに含まれる成分としてウルソール酸、オレ

アノール酸、ベツリン酸を同定した。これら 3 種のトリテルペノイド類は β -リパーゼ阻害活性のみ寄与することを明らかにした。 α -グルコシダーゼ阻害およびアンジオテンシン変換酵素阻害活性には親水性化合物を含む他の化合物の関与が示唆された。また、中国産柿蒂と富有柿、富有柿と次郎柿ではそれぞれに活性の傾向や相違が見られたため、加工の有無や保存環境にともなう成分あるいは成分量の相違があることが考えられた。

以上のことより、柿へた抽出物の抗肥満、血糖値上昇抑制、血圧上昇抑制効果に関し、へたに含まれるトリテルペノイド類が抗肥満活性に寄与することを明らかにした。これらの知見は漢方「柿蒂湯」の利用可能性を拡大するだけでなく、柿へたの利用に関し、品種や熟度を問わない新たな機能性資源として活用できる可能性が示唆された。

参考文献

- 1) 菅原哲也, 五十嵐喜治, 庄内柿の機能性を活かした食品加工技術開発と商品開発, 日本食品科学工学会誌, **61**, 339-345, (2014)
- 2) Izuchi R, Nakai Y, Takahashi H, Ushiyama S, Okada S, Misaka T, Abe K., Hepatic gene expression of the insulin signaling pathway is altered by administration of persimmon peel extract: a DNA microarray study using type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats, *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 3320-3329 (2011).
- 3) 鶴永陽子, 松本敏一, 倉橋孝夫, 持田圭介, 板村裕之, 収穫時期の違いがカキ「西条」の葉における機能性成分含量に及ぼす影響, 園芸学研究, **5**, 321-324, (2006)
- 4) 木村俊之, 山岸賢治, 鈴木雅博, 新本洋士, 農産物のラジカル消去能の検索, 日本食品科学工学会誌, **49**, 257-266, (2002)
- 5) 松本元伸, 小谷麻由美, 藤田晃人, 田中敏郎, 柿葉抽出物の NC/Nga マウスにおけるアトピー性皮膚炎抑制作用, 日本栄養・食料学会誌, **54**, 3-7, (2001)
- 6) 寺本晃治, 桑原正喜, 松原義人, 肺癌化学療法に伴う吃逆の副作用に関する検討, 肺癌, **41**, 191-194, (2001)
- 7) 松浦信, 飯沼宗和, 資源植物の成分研究 (第 4 報) 柿蒂の成分について その 1, 薬学雑誌, **97**, 452-455 (1977)
- 8) 小西美徳, 鈴木英明, 池見宅司, 齧蝕原因菌に対する柿蒂抽出成分の抗菌効果, 日本歯科保存学雑誌 **51**, 299-307, (2008)
- 9) Yu-Ying Han, Xiao-Wei Xue, Zheng-Ming Shi, Peng-Yan Wang, Xin-Rui Wu, and Xue-Jiang Wang, Oleanolic acid and ursolic acid inhibit proliferation in transformed rat hepatic oval cells, *World J Gastroenterol*, **20**, 1348-1356, (2014)
- 10) 石倉義之, 諏訪芳秀, 岡田力, 河野茂勝, 甜茶 (*rubus suavissimus*) 熱水抽出エキスの抗アレルギー作用, 炎症, **15**, 167-173 (1995)

- 11) 木村俊之, 山岸賢治, 鈴木雅博, 老田茂, 農産物におけるラジカル消去能と総ポリフェノール量に関する一考察, 東北農業研究, **58**, 237-238, (2005)
- 12) 久本雅嗣, 市川茉莉枝, 依田諭, 小林浩武, 奥田徹, オンラインDPPH-HPLC法によるブドウ種子フェノール中の抗酸化化合物の探索, ASEV 日本ブドウ・ワイン学会誌 **22**, 3-9, (2011)
- 13) 出口ヨリ子, 長田邦子, 内田和美, 木村広子, 芳川雅樹, 工藤辰幸, 保井久子, 綿貫雅章, グアバ葉熱水抽出物のdb/dbマウスにおける抗糖尿病効果およびヒト飲用試験による食後血糖値上昇抑制効果, 日本農芸化学会誌, **72**, 923-931, (1998)
- 14) 小島芳弘, 村中隆, カワラケツメイに含まれる新規タンニンおよびそのリパーゼ阻害活性, 日本食品科学工学会誌, **59**, 279-283 (2012)
- 15) 大井一弥, 後藤浩之, 片山歳也, 木村光政, 藤岡満, アカルボースによる放屁増加の副作用モニタリング, 医療薬学, **29**, 375-378, (2003)