

◆日本食品科学工学会第62回大会で胡麻若葉について発表させて頂きました。
(発表講演集より)

82

8月28日(金)午後/D会場

2Dp5 フラボノイド結合性蛍光プローブ DPBA によるゴマ葉ポリフェノールの蛍光発光について

(¹日大院・生資化,²日大・生資科・食生,³(株)わだまんサイエンス)

○藤佑志郎¹, 千野誠², 内田あゆみ³, 深堀勝謙³, 松藤寛²

【目的】 蛍光プローブである DPBA(2-aminoethyl diphenylborinate)はカテコール構造や 5-ヒドロキシ-4-ケトン基をもつフラボノールやフラボン類と特異的に反応し、緑や黄色等の蛍光を示すことから、植物の組織染色に利用されている。当研究室では、これまでゴマ葉中のポリフェノールについて検討し、構造中にカテコール骨格を2分子有するフェニルプロパノイド類のアクテオシド(Act)およびフラボン配糖体であるペダリイン(Ped)が豊富に含まれていることを明らかにしてきた。DPBA によるゴマ葉の組織染色により、これら成分の葉中の局在部位の可視化が可能になると考え、本研究ではこれら成分と DPBA との反応性について検討した。

【方法】 単離した Act と Ped、並びに Ped のアグリコンであるペダリチン Pen、及び市販フラボノール類であるルチン Rut とケルセチン Qur、カテコール構造をもつカフェ酸 Caf とヒドロキシチロソール Hyd を用い、種々の溶液中での反応性を分光蛍光光度計にて調べた。すなわち、試料と DPBA を EtOH もしくは DMSO に溶解し、緩衝液(pH4, 7, 9)の存在下及び非存在下での蛍光生成を3次元スペクトルのスキャン分析にて励起波長、蛍光波長、蛍光強度を調べた。

【結果】 非水溶媒系にて、各成分の反応性を調べたところ、カテコール構造を有する Act、Caf、Hyd は DMSO 溶媒中で特に強い蛍光を示した(Act: 最大励起波長 λ_{ex} 400 nm, 最大蛍光波長 λ_{em} 475 nm, Caf: λ_{ex} 390 nm, λ_{em} 475 nm, Hyd: λ_{ex} 335 nm, λ_{em} 385 nm)。一方、非水溶媒中では Ped や Qur の蛍光は弱く、それらの配糖体である Pen や Rut はほとんど蛍光を示さなかった。含水溶媒系では、Act や Hyd の蛍光は弱くなったが、Caf はほとんど変化しなかった。一方、Ped、Pen、Qur、Rut は含水条件下、特に pH4 の条件下で強い蛍光を示した(Ped と Pen: λ_{ex} 460 nm, λ_{em} 570 nm, Qur と Rut: λ_{ex} 430 nm, λ_{em} 550 nm)。従って、溶媒条件と選択的な励起波長により、特定成分の可視化の可能性が示された。現在、ゴマ葉の組織染色について検討中である。

2Dp6 ゴマ若葉熱水抽出物の抗糖化活性とイリドイド化合物の同定について

(¹日大院・生資化,²日大・生資科・食生,³(株)和田萬商店,⁴(株)わだまんサイエンス)

藤佑志郎¹, 千野誠², 和田悦治³, 内田あゆみ⁴, 深堀勝謙⁴, ○松藤寛²

【目的】 ゴマ若葉は優れた抗酸化性を示し、その主要活性成分は豊富に含まれるフェニルプロパノイド化合物のアクテオシド(Act, 乾燥粉末中 1.2%)とフラボン配糖体であるペダリイン(Ped, 乾燥粉末中 0.6%)であること、またその他 6 種のポリフェノールも微量(0.02~0.09%)に含まれていることを明らかにしてきた。今回、抗糖化活性について検討を行い、新たに 3 種のイリドイド類が含まれていることが判明したので報告する。

【方法】 ゴマ若葉粉末に 10 倍量の水を加え、熱水で 30 分抽出し、濃縮後凍結乾燥した。本熱水抽出物を糖(グルコース、フルクトース)及び牛血清アルブミン(BSA)と混合させ、3~9 日間 37°C でゆっくり振とうした。終了後、反応液を遠心回収し、分光蛍光光度計(励起波長 370 nm, 蛍光波長 440 nm)にて生成する最終糖化産物 AGEs の蛍光強度を測定することにより、*in vitro* 抗糖化活性を評価した。抽出液中の活性成分は、ODS カラムを用い、分取 HPLC を繰り返すことにより精製・単離した。

【結果】 ゴマ若葉熱水抽出物は濃度依存的に AGEs の生成を抑制した。HPLC 分析の結果、熱水抽出物中の Act 含量は 5.1%であり、この値から乾燥粉末中含量を見積もると、0.46%となり、熱水では効率よく抽出されないこと、そして熱安定性試験の結果、Act は熱水中では壊れやすいことが判明した。一方、Act は抗糖化活性を示すものの、抽出物中の含量から判断すると、その他の活性成分が存在することが示唆された。活性を示した分画物を HPLC-PDA にて調べたところ、最大吸収波長 216~225 nm を示し、270 nm 以上には吸収を示さない、すなわちベンゼン骨格を構造中に含まない 3 つの成分が観察された。これらを単離し、構造決定したところ、Lamalbid、Sesamoside、Shanzhiside methyl ester のイリドイド化合物であることが判明した。現在、単離品を用いた抗糖化活性について検討中である。

※2Dp6の文中の、Act含量5.1%は2.5%へ、0.46%は0.22%へ当日修正をさせて頂きました。