

## 食用素材からの膵リパーゼ阻害物質の探索

応用生物科学専攻 食資源科学講座 食品機能化学 竹本 彩乃

### 1. 研究背景

食事に含まれる脂質の主成分はトリグリセリドであり、膵臓より分泌される膵リパーゼによってモノグリセリドと脂肪酸に分解され、小腸絨毛より吸収される。したがって、膵リパーゼを阻害することで脂質の吸収量が減少し、肥満の予防、改善につながる。このような作用を持つ脂肪吸収阻害剤に *orlistat* や *cetlistat* があり、抗肥満薬として利用されている。本研究では、抗肥満作用を持つ機能性食品の開発を目標とし、食用素材 126 種をブタ膵リパーゼを用いた *in vitro* の試験により高い活性を示したポルチーニ (*Boletus edulis*) とオカジーリーフ (*Gnetum africanum*) に含まれる活性物質の探索を行った。

### 2. 方法

膵リパーゼ阻害活性試験には、基質としてトリオレインミセル溶液、酵素としてブタ膵臓リパーゼを用いた。試料、基質、酵素を混合し、酵素反応により遊離した脂肪酸量を脂肪酸定量キットで定量し、その減少量によって阻害率を算出した。

### 3. 結果と考察

ポルチーニの 50%メタノール水溶液抽出物をヘキサン、酢酸エチル、1-ブタノールを用いて溶媒分配した。得られた水可溶画分を吸着カラムクロマトグラフィー、逆相カラムクロマトグラフィー、ゲルろ過カラムクロマトグラフィーに供し、活性物質としてタンパク質を含む画分を得た。この画分は 7.38  $\mu\text{g/mL}$  において 54%の膵リパーゼ阻害活性を示した。タンパク質を含む画分を分析したところ、分子量 50 kDa 以下の成分が活性に寄与していることが分かり、主要な構成単位として 8 種のアミノ酸を同定した。そのほか、弱い活性物質として *tryptamine* を単離した。*tryptamine* は 30  $\mu\text{M}$  において 33%の膵リパーゼ阻害活性を有していた。

オカジーリーフのメタノール抽出物をクロロホルム：メタノール：水 (1 : 1 : 0.9) を用いて溶媒分配し、クロロホルム可溶画分を順相カラムクロマトグラフィー、逆相カラムクロマトグラフィー、ゲルろ過カラムクロマトグラフィーに供した。得られた活性物質は 2.3  $\mu\text{g/mL}$  で 71%の膵リパーゼ阻害活性を示した。NMR 分析の結果より、活性物質は脂肪酸を構成単位として含む比較的分子量の大きな物質であることが推定された。また、他の画分より既知の膵リパーゼ阻害物質である  $\beta$ -sitosterol ( $\text{IC}_{50} = 204 \mu\text{M}$ ) を単離した。

### 4. まとめ

高い膵リパーゼ阻害活性を有する食品素材としてポルチーニとオカジーリーフを選出した。ポルチーニの活性物質として分子量 50 kDa 以下のタンパク質と *tryptamine* を見出した。いずれの活性もポルチーニ抽出物の有する膵リパーゼ阻害活性を説明するには不十分で、他の化合物の寄与も予想される。

オカジーリーフの膵リパーゼ阻害活性を担う主成分は、脂肪酸を構成単位として含む化合物であることが推定された。脂肪酸が弱い膵リパーゼ阻害活性を有していることはすでに知られているが、今回見いだされた化合物は脂肪酸と比較して極めて強い膵リパーゼ阻害活性を有していた。したがって、脂肪酸部分による競合阻害だけでなく、別の要因も阻害活性に寄与していると考えられる。