

脱カフェインコーヒー豆抽出物の糖質分解酵素阻害活性とクロロゲン酸類の寄与

誌名	日本食品科学工学会誌 : Nippon shokuhin kagaku kogaku kaishi = Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology
ISSN	1341027X
著者名	紙谷,雄志 岩井,和也 福永,泰司 木村,良太郎 中桐,理
発行元	日本食品科学工学会
巻/号	56巻6号
掲載ページ	p. 336-342
発行年月	2009年6月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



脱カフェインコーヒー豆抽出物の糖質分解酵素阻害活性と クロロゲン酸類の寄与

紙谷雄志[§], 岩井和也, 福永泰司, 木村良太郎, 中桐 理

UCC 上島珈琲株式会社 R&D センター

In vitro Analysis on Inhibitory Activity of Amylolytic Enzymes in Decaffeinated Green Coffee Bean Extracts and Contributions of Chlorogenic Acids

Yuji Kamitani[§], Kazuya Iwai, Taiji Fukunaga, Ryotaro Kimura and Osamu Nakagiri

R&D Center, UCC Ueshima Coffee Co, Ltd., 3-1-4 Zushi, Takatsuki-Shi, Osaka 569-0036

Extract of decaffeinated green coffee beans (EDGCB) was prepared by supercritical CO₂ treatment and alcohol extraction and contained 38% (w/w) chlorogenic acids (CQAs, consisting of 8 kinds of chlorogenic acid isomers). The effects of CQAs in EDGCB on inhibitory contribution of amylolytic enzymes (α -glucosidase and α -amylase) were examined *in vitro*. The activity of these amylolytic enzymes was inhibited depending on the EDGCB concentration, and CQAs significantly contributed by 63.1–85.8%. Comparison of CQA isomers showed that inhibitory activities of di-caffeoylquinic acids (3,5-diCQA, 3,4-diCQA and 4,5-diCQA) were the strongest, followed by those of caffeoylquinic acids (3-CQA, 5-CQA and 4-CQA) and feruloylquinic acids (5-FQA and 4-FQA) in α -amylase and sucrase. 3,4-diCQA was the main active component in EDGCB for inhibiting maltase. The number of caffeoyl groups and the binding position for quinic acid significantly affected the inhibitory activity of CQAs. The effects of EDGCB on the inhibitory activity of α -GI (acarbose or voglibose) *in vitro* and on the postprandial blood glucose level were next examined using rats. Addition of EDGCB to the reaction mixture with a low concentration of α -GI showed additive inhibitory effects of each enzyme. Moreover, EDGCB prevented the increase in blood glucose level *in vivo*. These results suggest that EDGCB is useful for prevention of postprandial hyperglycemia. (Received Nov. 13, 2008 ; Accepted Mar. 6, 2009)

Keywords: extraction, decaffeinated green coffee beans, chlorogenic acids, amylolytic enzyme, inhibitory activity, postprandial blood glucose

キーワード: コーヒー豆抽出物, クロロゲン酸類, 阻害活性, 糖質分解酵素 (α -グルコシダーゼ, α -アミラーゼ), 食後血糖値

クロロゲン酸類は一般的に植物界に広く存在するポリフェノール¹⁾であり, 桂皮酸誘導体(カフェ酸, フェルラ酸等)とキナ酸のエステル化合物の総称である. コーヒー生豆はカフェオイルキナ酸(CQA), フェルロイルキナ酸(FQA), ジカフェオイルキナ酸(diCQA)などのクロロゲン酸類を多く含む食品として知られている²⁾.

近年, これらクロロゲン酸類の生理活性として血糖値上昇抑制作用³⁾⁴⁾, 血圧改善作用⁵⁾⁶⁾, 抗発癌作用⁷⁾, 抗酸化作用⁸⁾などが多数報告されており, その機能性が着目されている. 特に糖質分解酵素(α -グルコシダーゼ, α -アミラーゼ)阻害による血糖値上昇抑制作用に関しては, ヤーコン⁹⁾, エンサイ¹⁰⁾, さつまいも(すいおう)¹¹⁾, プロポリス抽出物¹²⁾の関与成分として, クロロゲン酸異性体の寄与が示唆されている. 一方, コーヒーは2型糖尿病を予防する⁴⁾といっ

た報告があり, 焙煎コーヒー豆の熱水抽出物およびクロロゲン酸³⁾などの糖質分解酵素阻害活性が研究されている. しかし, コーヒー豆抽出物に含まれるクロロゲン酸異性体の阻害活性に対する総合的な寄与については未だ報告されていない.

そこで本報告では, 超臨界抽出によりデカフェ処理したコーヒー豆抽出物の糖質分解酵素阻害について, 8種類のクロロゲン酸異性体に着目した阻害活性への寄与を評価した. また, 健康食品素材を開発する検証の一環として, コーヒー豆抽出物のラットにおける血糖値上昇抑制試験についても併せて報告する.

実験方法

1. 実験材料

コーヒー豆抽出物は, コーヒー生豆を超臨界抽出(CO₂, 70°C, 45 MPa), アルコール抽出(60%エタノール, 50°C,

〒569-0036 大阪府高槻市辻子3-1-4

[§] 連絡先 (Corresponding author), yuui-kamitani@ucc.co.jp

1時間)した後、スプレードライにより乾固した素材を実験に用いた。コーヒー生豆はクロロゲン酸類含量の高いカネフォーラ種・ロブスタである Indonesia AP-1 を原料として選定した。

2. クロロゲン酸類画分の調製

クロロゲン酸類画分はコーヒー豆抽出物から Sephadex LH-20 (GEヘルスケアバイオサイエンス(株)) カラムクロマトグラフィーでのメタノール/グラジエント溶出により CQA, FQA 画分と diCQA 画分を分画し、分取 HPLC (ジエールサイエンス(株), PLC561) により 3-CQA, 5-CQA, 4-CQA, 5-FQA, 4-FQA, 3,5-diCQA, 3,4-diCQA, 4,5-diCQA のクロロゲン酸異性体を精製、調製した。

3. コーヒー豆抽出物中のクロロゲン酸類の定量

コーヒー豆抽出物中のクロロゲン酸類は HPLC を用いて定量した。HPLC の分析条件は以下に示した。

検出器：紫外線分光光度計 (ジエールサイエンス(株)), カラム：Inertsil ODS-3 4.6×150 mm (ジエールサイエンス(株))/40°C, 移動相：(A) 0.2% 酢酸/メタノール=80/20, (B) メタノール, グラジエント条件：0-50 min (A) 100-55% (B) 0-45%, 50-60 min (A) 55% (B) 45%, 60-65 min (A) 100% (B) 0%, 検出波長：325 nm, 流速：1.0 mL/min. 検出されたピークは、ピーク面積法と換算値¹³⁾ (5-CQA : 1.00, 3-CQA : 1.07, 4-CQA : 1.07, 5-FQA : 1.04, 4-FQA : 1.04, 3,5-diCQA : 0.9, 3,4-diCQA : 0.9, 4,5-diCQA : 0.9 とする) に基づき定量した。

4. コーヒー豆抽出物およびクロロゲン酸類画分の酵素阻害活性

(1) α -グルコシダーゼ阻害活性

出口, 阿武らの方法¹⁴⁾¹⁵⁾ を参考にして行った。ラット小腸アセトン粉末 (SIGMA) 2g に 56 mM マレイン酸緩衝液 (pH 6.0) 45 mL を加え均質化した後、遠心分離 (5000 rpm, 20 分, 4°C) した上清を粗酵素液とした。なおマルターゼ反応には 5 倍希釈した粗酵素液, スクララーゼ反応には粗酵素をそのまま用いた。被験物質 50 μ L に 56 mM マレイン酸緩衝液 (pH 6.0) 50 μ L, 粗酵素液 50 μ L, 基質として 2% マルトース溶液あるいは 2% スクロース溶液 50 μ L 加え酵素反応を行った (37°C, 30 分間)。被験物質, 基質溶液, 酵素液は緩衝液にて溶解した。マルターゼ活性反応液, スクララーゼ活性反応液は蒸留水 800 μ L, 200 μ L をそれぞれ加え希釈し, 反応を停止させた (沸騰水浴中, 10 分間)。その後, グルコース CII-テストワコー (和光純薬工業(株)) を用いて酵素反応に基づきグルコースを定量した。ポジティブコントロールにグァバ葉抽出物 (市販グァバ葉抽出物飲料の凍結乾燥品), アカルボース, ボグリボース (Toronto Research Chemicals Inc.) を用いた。 α -グルコシダーゼ阻害活性の阻害率は下記の式より算出した。

$$\alpha\text{-グルコシダーゼ阻害率(\%)} \\ = ((A-B) - (C-D)) / (A-B) \times 100$$

A : 検体を添加していない反応液の吸光度 (コントロール), B : 検体, 酵素を添加していない反応液の吸光度 (ブランク), C : 検体反応液の吸光度, D : 基質を添加していない反応液の吸光度 (検体ブランク)

(2) α -アミラーゼ阻害活性

酵素反応は基質として *p*-Nitrophenyl- α -D-maltoside (G_2 -*p*NP) (SIGMA) を用い, 加水分解による *p*-Nitrophenol を吸光度 405 nm で経時的に測定した。被験物質 10 μ L に 20 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) で 10 倍希釈した豚膵臓由来 α -アミラーゼ溶液 (SIGMA) 20 μ L, 20 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) を 160 μ L 加え, プレインキュベーション (35°C, 30 分間) した後, 20 mM G_2 -*p*NP を 10 μ L 加え酵素反応を行った (35°C, 60 分間)。コントロール溶液の傾きを相対活性 100% として, 検体反応液の傾きから相対活性を求めた。ポジティブコントロールにグァバ葉抽出物, アカルボースを用いた。 α -アミラーゼ阻害活性の阻害率は下記の式より算出した。

$$\alpha\text{-アミラーゼ阻害率(\%)} = (A-B) / A \times 100$$

A : コントロール溶液の吸光度の傾き

B : 検体反応液の吸光度の傾き

(3) クロロゲン酸類の糖質分解酵素阻害活性への寄与
クロロゲン酸類画分のコーヒー豆抽出物への阻害活性寄与率はコーヒー豆抽出物の阻害活性 IC₅₀ 値を 100% とし, [コーヒー豆抽出物の IC₅₀ 値] × [コーヒー豆抽出物中のクロロゲン酸類含有量(%)] / [クロロゲン酸類画分の IC₅₀ 値] として算出した¹⁶⁾。

5. 経口糖尿病薬 α -GI 剤 (アカルボース, ボグリボース) の糖質分解酵素阻害活性への影響

出口らの方法¹⁷⁾ に準じて行った。 α -グルコシダーゼ阻害活性において, アカルボース (マルターゼ : 0.23, 6.4 μ g/mL, スクララーゼ : 2.7, 63 μ g/mL) およびボグリボース (マルターゼ, スクララーゼ : 0.11, 0.44 μ g/mL) に対し, コーヒー豆抽出物の終濃度が 0.1, 0.5, 1.0 および 1.5 mg/mL となるように調製, 反応液に混合し, 4(1) に示した方法で試験を行った。また α -アミラーゼ阻害活性においても同様に, アカルボース (60, 180 μ g/mL) に対し同濃度のコーヒー豆抽出物を混合し, 4(2) に示した方法で試験を行った。

6. ラットを用いた糖質 (スクロース, マルトース) 負荷試験

(1) 実験動物

生後 6 週齢の雄性ラット (SPF, SD 系) を 7 日間馴化後, 試験に用いた (7 週齢 6 匹/群)。

(2) 糖質 (スクロース, マルトース) 負荷試験

スクロースおよびマルトース溶液は 200 mg/mL となる

Table 1 Chlorogenic acids content of EDGCB

	Content (% w/w)
3-CQA	5.12
5-CQA	14.8
4-CQA	7.03
5-FQA	3.84
4-FQA	1.29
3,5-diCQA	1.59
3,4-diCQA	2.10
4,5-diCQA	3.04
CQA, FQA	32.1
diCQA	6.73

EDGCB: Extract of decaffeinated green coffee beans

ように調製し、被験物質を溶解して被験物質溶液とした¹⁴⁾¹⁸⁾。被験物質は 16.7, 50 および 150 mg/mL となるように溶解した。16 時間以上絶食させたラットに対し、各被験物質溶液を 10 mL/kg 強制経口投与した (スクロス負荷試験: 低用量 167 mg/kg, 中用量 500 mg/kg, 高用量 1500 mg/kg, マルトース負荷試験: 中用量 500 mg/kg)。被験物質溶液の投与前, 投与 30, 60, 120 分後に尾静脈から採血を行い、小型血糖値測定器: グルテスエース ((株)三和化学研究所) を用いて血糖値を測定した。

(3) 統計処理

得られた数値は各群において平均値および標準偏差で示し、一元配置分散分析を行い、有意な場合はさらに多重比較 (Tukey-Kramer 法) により平均値の比較を行った。有意水準は危険率 5% および 1% とした。

実験結果および考察

1. コーヒー豆抽出物のクロロゲン酸類と阻害活性への寄与

コーヒー豆抽出物のクロロゲン酸類含有量は CQA, FQA として 32.1%, diCQA として 6.73% であり、合計 38.8% であった。最も高含有のクロロゲン酸異性体は 5-CQA であり (14.8%), その他, 3-CQA 5.12%, 4-CQA 7.03%, 5-FQA 3.84%, 4-FQA 1.29%, 3,5-diCQA 1.59%, 3,4-diCQA 2.10% および 4,5-diCQA 3.04% であった (Table 1)。コーヒー豆抽出物 100 g (水分 3.1 g を含む) 中には、クロロゲン酸類以外の成分として、タンパク質 10.4 g, 灰分 10.2 g, 食物繊維 2.2 g, 脂質 0.2 g およびカフェイン 0.003 g を含んでいた (日本食品分析センターに分析依頼: 分析試験報告書 第 206110333 号)。

これらクロロゲン酸類を含むコーヒー豆抽出物のマルターゼ阻害活性 (a), スクララーゼ阻害活性 (b) および α -アミラーゼ阻害活性 (c) は、コーヒー豆抽出物の濃度依存的な阻害活性を示した (Fig. 1)。その関与成分として示唆されるクロロゲン酸類画分にも阻害活性が認められ、コー

ヒー豆抽出物の阻害活性に CQA, FQA 画分と diCQA 画分がほぼ同等に寄与していることが分かった (スクラーゼ 43.1% (IC_{50} : 1.01 mg/mL), 35.1% (IC_{50} : 0.260 mg/mL), α -アミラーゼ 40.1% (IC_{50} : 0.182 mg/mL), 45.1% (IC_{50} : 0.034 mg/mL))。一方、マルターゼ阻害作用については CQA, FQA 画分, diCQA 画分の阻害活性に対する寄与はそれぞれ 14.9% (IC_{50} : 0.808 mg/mL), 56.7% (IC_{50} : 0.044 mg/mL) であり, diCQA 画分は CQA, FQA 画分の約 4 倍の寄与であった (Table 2)。

さらに 8 種類のクロロゲン酸異性体別に阻害活性への寄与を比較すると、スクラーゼ, α -アミラーゼでは 5-CQA が最も高く、コーヒー豆抽出物の阻害活性に寄与する成分であった (19.9%, 23.3%)。5-CQA はコーヒー豆抽出物の主成分として含有されており、焙煎コーヒー豆の熱水抽出物による既報⁹⁾と一致するものであった。マルターゼ阻害作用については、コーヒー豆抽出物中にわずか 2.10% しか含有されていない 3,4-diCQA の寄与が 39.8% と顕著に高いことが確認された (Table 2)。3,4-diCQA は寺田らが報告するようにジカフェオイルキナ酸の中でもマルターゼに特異的、かつ強力な阻害活性を有する成分であり⁹⁾、コーヒー豆抽出物、特に diCQA 画分の主要な阻害活性成分として寄与したものと考えられる。近年、3つのカフェオイル基を有するカフェ酸誘導体として、トリカフェオイルキナ酸 (3,4,5-triCQA) がさつまいも (すいおう)¹¹⁾ やプロポリス抽出物¹²⁾ から単離され、さらに強力な α -グルコシダーゼ阻害活性を有することが報告されている。本結果からもクロロゲン酸類における糖質分解酵素の阻害活性は、diCQA (3,5-diCQA, 3,4-diCQA, 4,5-diCQA) \gg CQA (3-CQA, 5-CQA, 4-CQA) $>$ FQA (5-FQA, 4-FQA) となり、キナ酸に結合するカフェオイル基数と共に結合部位にも依存すること、またフェルロイル基よりカフェオイル基が強く阻害活性に作用することが、ヤーコン、すいおうなどの植物抽出物の報告と併せて推察された。以上の結果を踏まえると、コーヒー豆抽出物の糖質分解酵素の阻害活性には CQA, FQA, diCQA など 8 種類のクロロゲン酸異性体が 63.1-85.8% と高く総合的に寄与することが示唆された。本研究で用いたコーヒー豆抽出物は超臨界抽出により、カフェイン、脂質がほぼ除去されている (カフェイン: 0.03%, 脂質: 0.2%)。また、クロロゲン酸類以外の成分としてタンパク質、食物繊維等が含まれるが、クロロゲン酸類が約 40% と主成分であること、かつ阻害活性に高い寄与を示したことから、これらクロロゲン酸類以外の成分の寄与は極めて小さいものと考えられた。

2. コーヒー豆抽出物による経口糖尿病薬 α -GI 剤 (アカルボース, ボグリボース) の阻害作用への影響

α -GI 剤 (アカルボース, ボグリボース) はインスリン分泌細胞である膵臓 β 細胞に直接作用せず、小腸での消化吸収を遅延させ、食後血糖値の上昇を抑制する薬剤として、

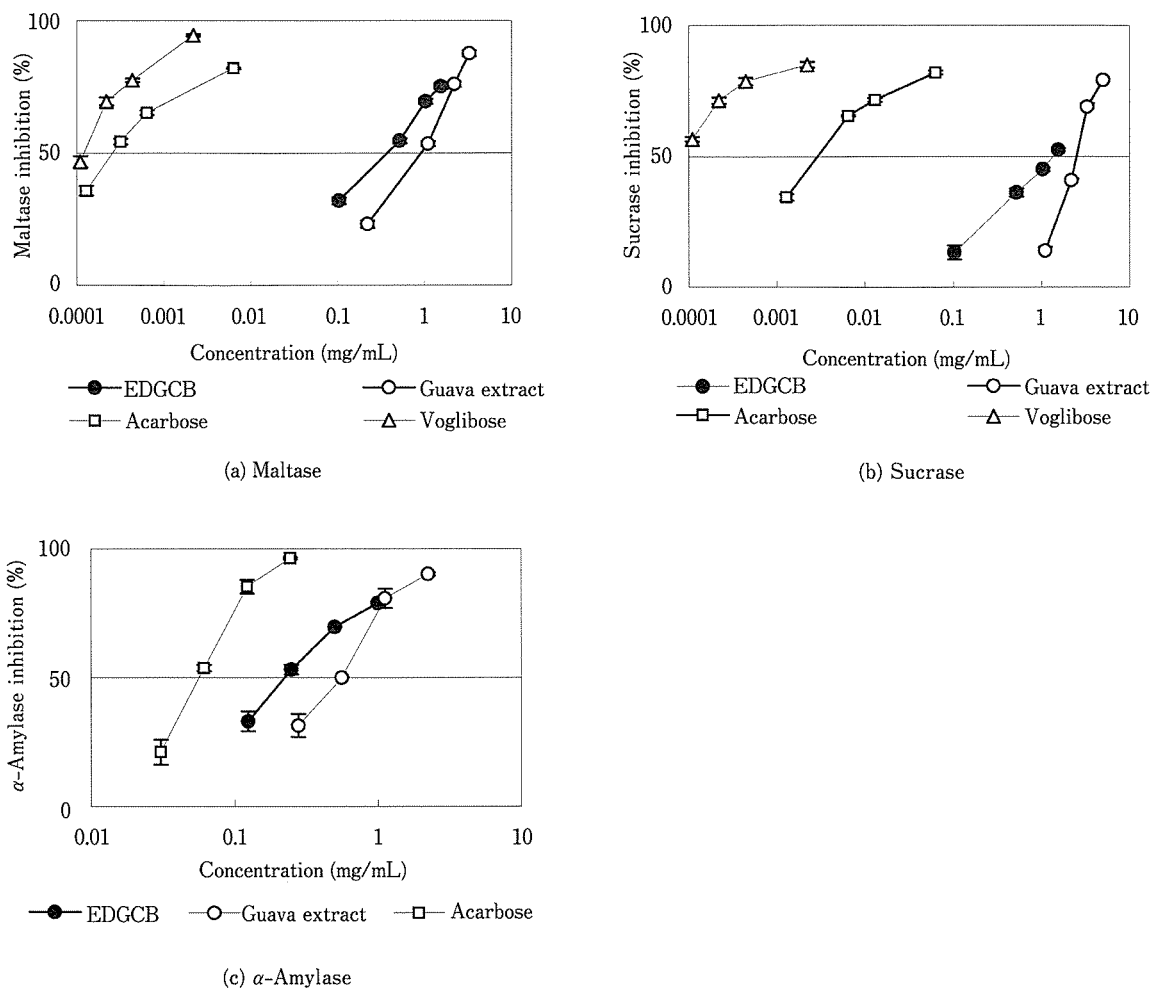


Fig. 1 Inhibitory effects of EDGCB and α-GI on Maltase, Sucrase and α-Amylase activity

Table 2 The comparison of contribution ratio and inhibitory activity of amylolytic enzymes

	Maltase		Sucrase		α-Amylase	
	IC ₅₀ (mg/mL)	Contribution (%)	IC ₅₀ (mg/mL)	Contribution (%)	IC ₅₀ (mg/mL)	Contribution (%)
EDGCB	0.374	—	1.36	—	0.228	—
CQA, FQA fraction	0.808	14.9	1.01	43.1	0.182	40.4
diCQA fraction	0.044	56.7	0.260	35.1	0.034	45.1
3-CQA	0.816	2.35	0.986	7.04	0.168	6.95
5-CQA	0.799	6.94	1.01	19.9	0.145	23.3
4-CQA	0.814	3.23	0.980	9.73	0.162	9.87
5-FQA	2.99	1.03	1.89	2.75	0.486	1.80
4-FQA	3.16	0.33	1.90	0.92	0.445	0.66
3,5-diCQA	0.252	2.24	0.342	6.31	0.050	7.29
3,4-diCQA	0.020	39.8	0.243	11.7	0.027	17.6
4,5-diCQA	0.158	7.18	0.296	13.9	0.038	18.3
CQAs		63.1		72.3		85.8

IC₅₀ : Concentration which inhibits amylolytic enzyme activity to 50%

広く臨床で応用されている¹⁹⁾。そこで今回、コーヒー豆抽出物を健康食品素材として α -GI 剤と併用する場合を考慮に入れ、*in vitro*にて α -GI 剤の糖質分解酵素阻害効果に対するコーヒー豆抽出物の影響を評価した。その結果、コーヒー豆抽出物は約 50% の阻害活性を示す α -GI 剤との共存下において、添加量に伴う相加的な抑制効果を示した。一方、阻害活性が飽和する高濃度の薬剤量では、相加効果は認められなかった (Table 3)。これら α -GI 剤の阻害活性に対するコーヒー豆抽出物の影響は、既報のグァバ葉抽出物による影響¹⁴⁾と一致しており、 α -GI 剤と類似した作用機序であることが推測される。また効果量より低い薬剤量に対して、コーヒー豆抽出物が併用効果をもたらす可能性も示唆された。

3. 糖質 (スクロース, マルトース) 負荷試験における コーヒー豆抽出物の影響

ラットへのスクロース負荷試験では、コーヒー豆抽出物は低用量群 (167 mg/kg)、中用量群 (500 mg/kg) および高用量群 (1500 mg/kg) の間で用量依存的に投与 30 分後の血糖値の上昇を有意に抑制した (Fig. 2)。血糖値上昇抑制作用を有する食品素材であるグァバ葉抽出物、月見草抽出物は 500 mg/kg 投与の結果、スクロース負荷後の血糖値上昇を有意に抑制することが報告されている¹⁴⁾¹⁶⁾。今回、コーヒー豆抽出物はこれら食品素材と同用量投与によって、スクロース負荷後の血糖値上昇の抑制が認められた。したがって、コーヒー豆抽出物 500 mg/kg の用量は機能性食品素材としての有効性を判断するにあたって問題のない用量であると思われた。

次にコーヒー豆抽出物の中用量群 (500 mg/kg) にてマルトース負荷試験を実施したところ、投与 30 分、60 分後の血糖値の上昇を有意に抑制した (Fig. 3)。しかし、その血糖値上昇抑制作用はスクロース負荷時と同程度であり、*in vitro*でのマルターゼ阻害活性ほど明確な顕著性は認められなかった。この原因について詳細は不明であるが、フラボノイド成分であるルテオリンがその例として挙げられるように、*in vitro*の評価系にて膜結合型酵素である α -グルコシダーゼを遊離 α -グルコシダーゼとして阻害活性を評価した場合、実際の腸管での阻害挙動とは異なるため、*in vivo*の評価系では十分に反映されない場合がある²⁰⁾。また、コーヒー豆抽出物のマルターゼ、スクラーゼおよびアミラーゼ阻害活性において、CQA, FQA と diCQA の寄与割合がそれぞれ大きく異なっており、これらが *in vitro* と *in vivo* の結果が直結しなかった原因の一つではないかと考えられる。クロロゲン酸類の種類によっても血糖値上昇抑制作用への作用機序が異なる可能性が考えられるため、*in vivo*にてクロロゲン酸異性体別の評価が必要と考える。

クロロゲン酸類の血糖値上昇抑制作用に関する作用機序には、今回検証した糖質分解酵素の阻害作用の他に、腸管における Na⁺ 依存型グルコース輸送阻害作用¹⁾、*in vitro*

Table 3 Inhibition of Maltase, Sucrase, and α -Amylase activity by α -GI and EDGCB mixture

Maltase activity	
α -GI and EDGCB	Inhibition (%)
Acarbose 0.23 μ g/mL	48.2
Acarbose 0.23 μ g + EDGCB 0.1 mg/mL	56.0
Acarbose 0.23 μ g + EDGCB 0.5 mg/mL	67.7
Acarbose 0.23 μ g + EDGCB 1.0 mg/mL	74.8
Acarbose 0.23 μ g + EDGCB 1.5 mg/mL	79.2
Acarbose 6.4 μ g/mL	81.2
Acarbose 6.4 μ g + EDGCB 0.1 mg/mL	83.0
Acarbose 6.4 μ g + EDGCB 0.5 mg/mL	85.7
Acarbose 6.4 μ g + EDGCB 1.0 mg/mL	87.2
Acarbose 6.4 μ g + EDGCB 1.5 mg/mL	87.9
Voglibose 0.11 μ g/mL	49.9
Voglibose 0.11 μ g + EDGCB 0.1 mg/mL	63.7
Voglibose 0.11 μ g + EDGCB 0.5 mg/mL	78.4
Voglibose 0.11 μ g + EDGCB 1.0 mg/mL	85.1
Voglibose 0.11 μ g + EDGCB 1.5 mg/mL	89.3
Voglibose 0.44 μ g/mL	81.4
Voglibose 0.44 μ g + EDGCB 0.1 mg/mL	86.2
Voglibose 0.44 μ g + EDGCB 0.5 mg/mL	90.1
Voglibose 0.44 μ g + EDGCB 1.0 mg/mL	91.7
Voglibose 0.44 μ g + EDGCB 1.5 mg/mL	93.2
Sucrase activity	
α -GI and EDGCB	Inhibition (%)
Acarbose 2.7 μ g/mL	51.0
Acarbose 2.7 μ g + EDGCB 0.1 mg/mL	59.5
Acarbose 2.7 μ g + EDGCB 0.5 mg/mL	70.1
Acarbose 2.7 μ g + EDGCB 1.0 mg/mL	75.0
Acarbose 2.7 μ g + EDGCB 1.5 mg/mL	79.6
Acarbose 63 μ g/mL	82.3
Acarbose 63 μ g + EDGCB 0.1 mg/mL	84.8
Acarbose 63 μ g + EDGCB 0.5 mg/mL	86.5
Acarbose 63 μ g + EDGCB 1.0 mg/mL	87.7
Acarbose 63 μ g + EDGCB 1.5 mg/mL	88.6
Voglibose 0.11 μ g/mL	53.9
Voglibose 0.11 μ g + EDGCB 0.1 mg/mL	63.0
Voglibose 0.11 μ g + EDGCB 0.5 mg/mL	72.1
Voglibose 0.11 μ g + EDGCB 1.0 mg/mL	76.0
Voglibose 0.11 μ g + EDGCB 1.5 mg/mL	81.4
Voglibose 0.44 μ g/mL	81.9
Voglibose 0.44 μ g + EDGCB 0.1 mg/mL	85.3
Voglibose 0.44 μ g + EDGCB 0.5 mg/mL	86.8
Voglibose 0.44 μ g + EDGCB 1.0 mg/mL	88.0
Voglibose 0.44 μ g + EDGCB 1.5 mg/mL	88.9
α -Amylase activity	
α -GI and EDGCB	Inhibition (%)
Acarbose 60 μ g/mL	53.3
Acarbose 60 μ g + EDGCB 0.1 mg/mL	67.7
Acarbose 60 μ g + EDGCB 0.5 mg/mL	73.3
Acarbose 60 μ g + EDGCB 1.0 mg/mL	86.6
Acarbose 60 μ g + EDGCB 1.5 mg/mL	91.4
Acarbose 180 μ g/mL	89.9
Acarbose 180 μ g + EDGCB 0.1 mg/mL	93.8
Acarbose 180 μ g + EDGCB 0.5 mg/mL	97.7
Acarbose 180 μ g + EDGCB 1.0 mg/mL	98.6
Acarbose 180 μ g + EDGCB 1.5 mg/mL	98.7

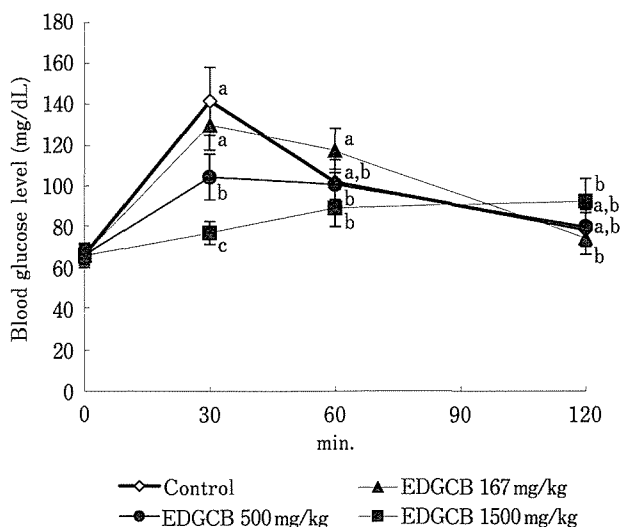


Fig. 2 Effect of EDGCB on blood glucose levels in sucrose (2 g/kg)- loaded rats

mean \pm S.D. ($n=6$) Different letters are significantly different. ($P < 0.05$)

でのインスリン分泌促進作用²¹⁾も報告されている。一方、クロロゲン酸類は腸管より直接、もしくは加水分解を受けて吸収されると考えられており^{22)~25)}、糖質とコーヒー豆抽出物を摂取した場合、腸管内ではクロロゲン酸類による糖質分解酵素阻害、グルコース輸送阻害の他に、クロロゲン酸類自身の吸収も同時に起こっていると考えられる。今後、これらクロロゲン酸類の体内動態も踏まえ、コーヒー豆抽出物の血糖値上昇抑制作用に関して、クロロゲン酸類の糖質分解酵素阻害とグルコース輸送阻害への寄与割合について更なる検討が必要である。

要 約

本研究は、超臨界抽出により脱カフェイン処理したコーヒー豆抽出物の糖質分解酵素阻害と、その主成分であるクロロゲン酸異性体の寄与、さらにラットによる糖質負荷後の血糖値上昇抑制作用について検討した。

(1) コーヒー豆抽出物のクロロゲン酸類含有量は38.8%であり、8種のクロロゲン酸異性体はコーヒー豆抽出物の糖質分解酵素の阻害活性に63.1~85.8%寄与することが確認された。

(2) クロロゲン酸異性体の阻害活性はジカフェオイルキナ酸が最も強く、順にカフェオイルキナ酸、フェルロイルキナ酸であった。その阻害活性にはカフェオイル基がフェルロイル基より強く作用し、カフェオイル基数と共にキナ酸への結合部位も重要であることが推察された。

(3) コーヒー豆抽出物は α -GI剤(アカルボース、ボグリボース)と類似した作用機序を示し、効果量より低い α -GI剤量に対して、相加的な併用効果があることが推測された。また、 α -グルコシダーゼ阻害を介した血糖値の上昇抑制作

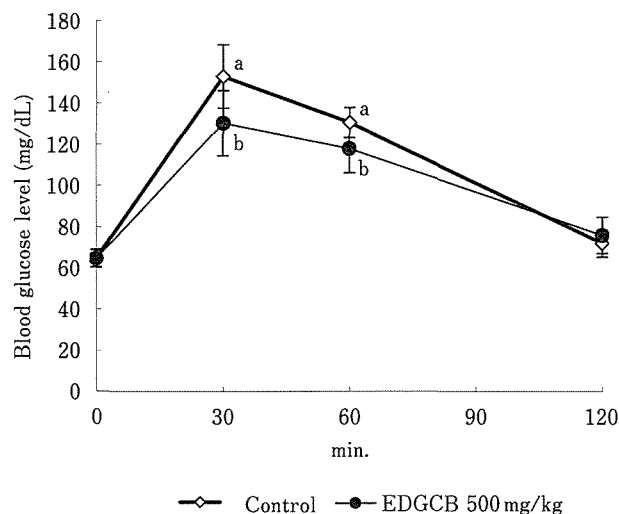


Fig. 3 Effect of EDGCB on blood glucose levels in maltose (2 g/kg)- loaded rats

mean \pm S.D. ($n=6$) Different letters are significantly different. ($P < 0.05$)

用を示し、糖尿病予防効果のある健康食品素材としての可能性が示唆された。

文 献

- Herrmann, K., Occurrence and content of hydroxycinnamic acid compounds in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **28**, 315-347 (1989).
- Tolonen, A., Joutsamo, T., Mattila, S., Kamarainen, T. and Jalonen, J., Identification of isomeric dicaffeoylquinic acids from *Eleutherococcus senticosus* using HPLC-ESI/TOF/MS and ¹H-NMR methods. *Phytochem. Anal.*, **13**, 316-328 (2002).
- 立石絵美, 韓立坤, 奥田拓道, ラットにおける食後の血糖値に及ぼすコーヒー豆の熱水抽出物の影響, *栄養学雑誌*, **62**, 323-327 (2004).
- Johnston, K.L., Clifford, M.N. and Morgan, L.M., Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans, glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. *Am. J. Nutr.*, **78**, 728-733 (2003).
- Suzuki, A., Kagawa, D., Ochiai, R., Tokimitsu, I. and Saito, I., Green coffee bean extract and its metabolites have a hypotensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res.*, **25**, 99-107 (2002).
- 斎藤郁夫, 土田 隆, 渡辺卓也, 新井陽一, 三井友毅, 大川渡, 梶原 泰, 生コーヒー豆抽出物配合飲料のヒト血圧に及ぼす影響, *医学と薬学*, **47**, 67-74 (2002).
- Shimizu, M., Yoshimi, N., Yamada, Y., Matsunaga, K., Kawabata, K., Hara, A., Moriwaki, H. and Mori, H., Suppressive effects of chlorogenic acid on *N*-methyl-*N*-nitrosourea-induced glandular stomach carcinogenesis in male F344 rats. *J. Toxicol. Sci.*, **24**, 433-439 (1999).
- Nattella, F., Nardini, M., Giannetti, I., Dattilo, C. and Scaccini, C., Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 6211-6216 (2002).
- 寺田澄男, 伊藤紀久夫, 高道宏, 生越直仁, 野口直人, 小出

- 裕治, ヤーコン地上部の α -グルコシダーゼ阻害活性成分と血糖上昇抑制活性, *Natural Medicines*, **57**, 89-94 (2003).
- 10) 湧田裕子, 豊川哲也, 奥平留美子, 市場俊雄, 市村年昭, 丸山 進, エンサイの血糖値上昇抑制効果に関する研究, 沖縄県工業技術センター研究報告書, **6**, 43-50 (2004).
- 11) Yoshimoto, M., Kurata, R., Okuno, S., Ishiguro, K., Yamakawa, O., Tsubata, M., Mori, S. and Takagaki, K., Nutritional value and physiological functions of sweetpotato leaves. *ISHS Acta Hort.*, **703**, 107-115 (2006).
- 12) Matsui, T., Ebuchi, S., Fujise, T., Abesundara, K.J.M., Doi, S., Yamada, H. and Matsumoto, K., Strong anti-hyperglycemic effects of water-soluble fraction of Brazilian propolis and its bioactive constituent, 3,4,5-tri-O-caffeoylquinic acid. *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 1793-1803 (2004).
- 13) Clifford, M.N., Ohiokpehai, O. and De Mezzens, H., *ASIC, 11th Colloque, Rome*, 252-262 (1985).
- 14) 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, グァバ葉熱水抽出物の 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, *農化*, **72**, 923-931 (1998).
- 15) 阿武尚彦, 田村幸一, 大野弘美, 富裕孝, 桑 (*Morus alba* L.) 葉エキスのマルターゼ, スクララーゼおよび α -アミラーゼ阻害活性について, *日本食品保蔵科学会誌*, **30**, 223-229 (2004).
- 16) 藍谷教夫, 木村弘之, 阿比留康弘, 曾山裕子, 村上裕子, 張慧利, 杉本朋子, 小西洋太郎, 月見草エキスの血糖値上昇抑制作用とその関与成分, *日食工誌*, **50**, 180-187 (2003).
- 17) 出口ヨリ子, 長田邦子, 綿貫雅章, グァバ葉抽出液と経口糖尿病薬アカルボースあるいはボグリボースの併用による正常マウスの血糖値上昇抑制への作用, *栄食誌*, **56**, 207-212 (2003).
- 18) 田中 忍, 韓立坤, 鄭毅男, 奥田拓道, ラットにおける食後の血糖値上昇に及ぼすイチョウ葉由来のフラボノイドフラクションの抑制作用, *薬誌*, **124**, 605-611 (2004).
- 19) 奥村利勝, 高後 裕, 小腸粘膜の生理と糖尿病治療, *日薬理誌*, **120**, 29-31 (2002).
- 20) 松井利郎, 機能性食品素材 (第 6 回) 糖尿病予防食品—天然成分による糖質分解系阻害—, *フードリサーチ*, **632**, 49-53 (2008).
- 21) 野口英作, 細田朝夫, 柏田 歩, 築野卓夫, 森下比出子, 谷口久次, フェルラ酸および関連化合物のインスリン分泌促進作用, 和歌山県立工業技術センター平成 13 年度研究報告, 17-19 (2001).
- 22) Olthof, M.R., Hollman, P.C.H. and Katan, M.B., Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J. Nutri.*, **131**, 66-71 (2001).
- 23) Nardini, M., Cirillo, E., Natella, F. and Scaccini, C., Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 5735-5741 (2002).
- 24) Nakamura, S., Matui, Y., Watanabe, T., Kondo, N. and Masukawa, Y., Pharmacokinetics of chlorogenic acid absorbed in human plasma and their metabolites following oral ingestion of coffee drink. *Jpn. Pharmacol. Ther.*, **34**, 1239-1246 (2006).
- 25) Adriana, F., Mariana, M., Carmen, M.D. and Sophie, L., Chlorogenic acid from green coffee extract are highly bioavailable in humans. *J. Nutri.*, **138**, 2309-2315 (2008).
- (平成 20 年 11 月 13 日受付, 平成 21 年 3 月 6 日受理)