

## サツマイモ茎葉の血圧降下作用

石黒浩二<sup>§</sup>, 吉元 誠, 鏑田仁人\*, 高垣欣也\*

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構  
九州沖縄農業研究センター

\* 株式会社東洋新薬

Hypotensive Effect of Sweetpotato Tops

Koji Ishiguro<sup>§</sup>, Makoto Yoshimoto, Masahito Tsubata\*  
and Kinya Takagaki\*

National Agricultural Research Center for Kyushu  
Okinawa Region, 6651-2 Yokoichi,  
Miyakonojo, Miyazaki 885-0091

\* Toyoshinyaku, Co., Ltd., 7-28 Yayoigaoka,  
Tosu, Saga 841-0005

Sweetpotato tops exhibited angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity, with different levels of activity in the constituent parts of the tops. Leaves showed the highest activity, while that of stems and petioles was much reduced. Since there appeared to be a relationship between ACE inhibitory activity and the total content of the caffeoylquinic acids in the constituent parts, the ACE inhibitory activity of each caffeoylquinic acid was analyzed. 3,4,5-tri-*O*-caffeoylquinic acid (3,4,5-triCQA) showed the strongest activity, followed by 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid (3,4-diCQA), and 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (4,5-diCQA). Spontaneously hypertensive rats (SHR) which were orally administered sweetpotato tops exhibited dose-dependent suppression in blood pressure increases in comparison with the control group. These results suggest that sweetpotato tops have a hypotensive effect in SHR, which is at least in part due to the ACE inhibitory activity of caffeoylquinic acids.

(Received Aug. 25, 2006 ; Accepted Oct. 13, 2006)

**Keywords** : sweetpotato tops, Suioh, angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity, spontaneously hypertensive rats (SHR), caffeoylquinic acids

**キーワード** : カンショ茎葉, すいおう, アンジオテンシン I 変換酵素 (ACE) 阻害活性, 高血圧自然発症ラット (SHR), カフェ酸誘導体

サツマイモ (*Ipomoea batatas* L.) は塊根部の利用が一般的であり, 茎葉部は我が国ではほとんど利用されていないが, アジア, アフリカ地域では茎葉部も食されている。日本の一部の地域では, 茎葉中の葉柄部を炒め物や和え物, 漬物などとして食しているが, 葉身部は豊富な栄養素が含まれているにもかかわらず<sup>1)2)</sup>, えぐみや苦味が強いいため, あまり利用されてこなかった。近年, 葉身部の食味が改善

され, 茎葉全体が利用できる茎葉利用品種「すいおう」が開発され<sup>3)</sup>, 「すいおう」を原料とする青汁や茶様飲料等が製品化されている。

葉身部にはポリフェノールなどの機能性成分も多量に含まれている。我々はこれまでに, 茎葉に含まれる主なポリフェノール成分は, カフェ酸 (CA), クロロゲン酸 (ChA), ジカフェオイルキナ酸 (4,5-diCQA, 3,5-diCQA, 3,4-diCQA) およびトリカフェオイルキナ酸 (3,4,5-triCQA) などのカフェ酸誘導体類であり (図 1)<sup>4)</sup>, これらのポリフェノール成分による抗酸化作用<sup>5)</sup>, 抗変異原作用<sup>6)</sup>, ガン細胞増殖抑制作用<sup>7)</sup>, および抗糖尿病作用<sup>7)</sup> などについて報告してきた。カフェ酸誘導体の中でも特に, 3,4,5-triCQA の各種生理活性は非常に高いことも明らかになっている<sup>7)</sup>。カフェ酸誘導体については, 他にも, メラニン生成抑制作用<sup>8)</sup>, 抗-HIV 作用<sup>9)</sup>, 抗炎症作用<sup>10)</sup>,  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性<sup>11)</sup> などについても報告されている。

本研究では, サツマイモ茎葉の生活習慣病に対するさらなる生理活性効果の検証の一環として, これまで対象としていなかった高血圧に対する抑制効果試験を試みた。まず, 茎葉および茎葉ポリフェノール成分によるアンジオテンシン I 変換酵素 (ACE : EC3.4.15.1) 阻害試験を行った。この際, サツマイモ茎葉は部位別に利用されることも想定されるため, 部位別に ACE 阻害活性を測定した。また, サツマイモ茎葉による高血圧自然発症ラット (SHR) に対する血圧上昇抑制試験についても併せて報告する。

### 1. 実験方法

#### (1) 試料

サツマイモ茎葉 (品種名「すいおう」) は, 九州沖縄農業研究センター都城研究拠点において 2002 年度に栽培した。収穫した茎葉は, 葉身部, 茎部, および葉柄部に分離したものを凍結乾燥し, ACE 阻害試験に供試した。なお, 部位別の乾燥重量割合は葉身部 32.9%, 茎部 32.9%, および葉柄部 34.2% であった。

サツマイモ茎葉の凍結乾燥粉末の 80% エタノール抽出液を濃縮・乾固し, HEPES バッファー (0.1 M HEPES, 0.3 M NaCl, pH 8.3) に置換し, ACE 阻害活性測定用の試料とした。

SHR に対する血圧上昇抑制試験には, 青汁用に調製した試料を供した。サツマイモ茎葉全体を熱水 (97°C) に 1 分間浸漬し, ブランチング処理を行い, 冷却後, 熱風乾燥した後に, 微粉末にしたものを動物試験に用いた。

#### (2) 試薬

カフェ酸誘導体類の HPLC による測定または ACE 阻害活性測定において使用した CA は和光純薬工業株式会社製, ChA はシグマ社製, キナ酸 (QA) はナカライテスク社製, 4,5-diCQA, 3,5-diCQA, 3,4-diCQA および 3,4,5-triCQA は筆者らが単離したものの<sup>4)</sup>を用いた (図 1)。ACE 試薬は和光純薬工業株式会社製 (牛肺由来), 基質は, Bachem AG 製

〒885-0091 宮崎県都城市横市町 6651-2

\* 〒841-0005 佐賀県鳥栖市弥生が丘 7-28

§ 連絡先 (Corresponding author)

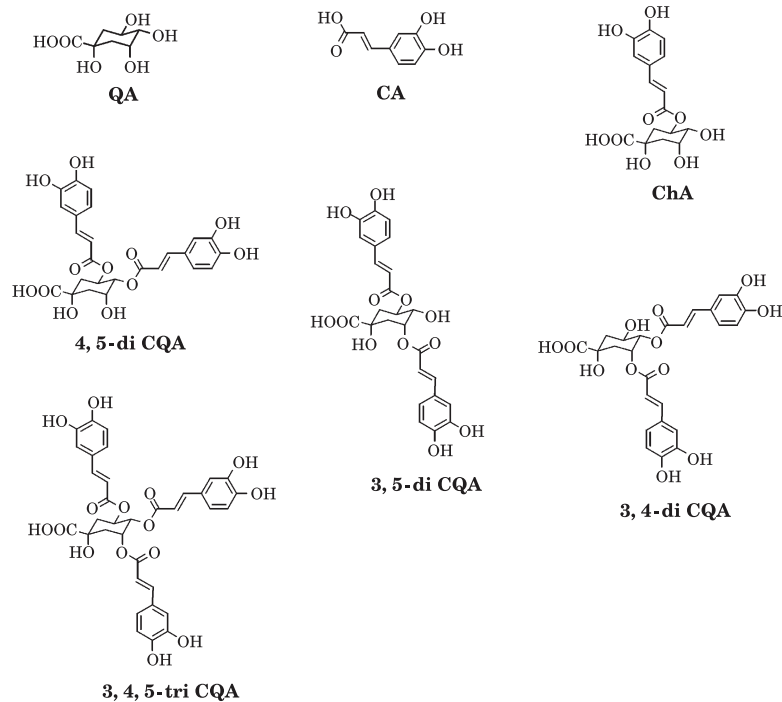


図 1 サツマイモ茎葉に含まれるカフェ酸誘導体とキナ酸の構造

QA : キナ酸, CA : カフェ酸, ChA : クロゲン酸, 4,5-diCQA : 4,5-ジ-O-カフェオイルキナ酸, 3,5-diCQA : 3,5-ジ-O-カフェオイルキナ酸, 3,4-diCQA : 3,4-ジ-O-カフェオイルキナ酸, 3,4,5-triCQA : 3,4,5-トリ-O-カフェオイルキナ酸

の Hippuryl-L-histidyl-L-leucine (Hip-His-Leu) を使用した。

### (3) カフェ酸誘導体含量の測定

カフェ酸誘導体の定量は、過去に報告した方法<sup>4)</sup>で HPLC により行った。すなわち、蓋付きガラス製遠沈管内でサツマイモ茎葉の凍結乾燥粉末 50 mg に 10 ml の 80% エタノールを加え、5 分間水浴中で煮沸した。1500×g, 10 分間遠心分離し、上清をポアサイズ 0.45 μm の PTFE メンブレンフィルターでろ過し、その 10 μl を HPLC に注入した。HPLC の条件は、カラム ; YMC-Pack ODS-AM AM-302 (150×4.6 mm I.D.), 移動相 : A) 0.2% (v/v) ギ酸および B) メタノール, 溶出条件 ; 2% B (0~15 min, イソクラティック), 2→45% B (15~50 min, リニアグラジエント), 流速 ; 1 ml/min, カラム温度 ; 40°C, 検出波長 ; 326 nm を用いた。標準試料として, CA, ChA, 4,5-diCQA, 3,5-diCQA, 3,4-diCQA および 3,4,5-triCQA を用い, 各成分について検量線を作成し, 定量した。

### (4) ACE 阻害活性測定

ACE 阻害活性は ACE 試薬に添付の活性測定法<sup>12)</sup>を 96 穴マイクロプレートにて測定可能な手法に改変して測定した。すなわち、黒色石英マイクロプレート (Hellma 社製) の各ウェルに、サンプル 50 μl を入れ、これらに 0.01 U/ml ACE 100 μl を添加して、37°C にて 10 分間プレインキュベートした。その後、25 μl の基質溶液 (25 mM Hip-His-Leu) を添加し、37°C にて 40 分間反応させた。100 μl の 0.5 N

NaOH を加えて反応を停止した後、0.2% の O-フタルアルデヒド溶液を 10 μl 添加して、室温で 15 分間反応させた。15 μl の 3.6 M リン酸を添加し、マイクロプレート測定付属装置 (MPA-9300) および蛍光測定付属装置 (CS-930) 付きの二波長フライングスポットスキャニングデンシトメーター (CS-9300PC : 島津製作所製) を用いて、360 nm の励起波長による蛍光強度 (420 nm 以下の光を除去する迷光除去フィルター L-42 を使用) (S<sub>x</sub>) を測定した。サンプルの代わりに HEPES バッファーのみを添加し、同様の操作を行った場合の蛍光強度 (C) をコントロールとした。また、ACE 酵素液の代わりに HEPES バッファーを添加した場合の蛍光強度をサンプルブランク (SBL<sub>x</sub>) とした。サンプル添加量を横軸、サンプル自身による蛍光強度を補正し、コントロールに対する蛍光度  $\{(S_x - SBL_x) / C \times 100\}$  を縦軸としたプロットにおいて、直線的に蛍光度が減少する範囲で、ACE 活性減少率が 50% を示すときの反応液中のサンプル濃度を IC<sub>50</sub> 値とした。なお、1 サンプルについて 2 反復で測定し、これを 3 回行い、平均値を算出した。

### (5) 血圧上昇抑制効果

サツマイモ茎葉粉末を用いて以下のようにして、血圧上昇抑制効果について検討した。まず、4 週齢の雄性の SHR (日本チャールス・リバー株式会社) 9 匹を固形飼料 (MF : オリエンタル酵母工業株式会社) で 1 週間馴化した。馴化後、非観血式自動血圧計 (ソフトロン社製) を用いて血圧を測定し、この収縮期血圧の平均値が同等となるように 3

群に分けた。次いで、そのうちの1群に粉末飼料 (MF:オリエンタル酵母工業株式会社) をサツマイモ茎葉粉末が1% (w/w) となるように配合した試験飼料を与えた群を1%添加群とし、同様に3% (w/w) となるように粉末飼料を配合した試験飼料を与えた群を3%添加群とした。また、残りの1群は対照群とするため、粉末飼料を与えた。試験飼料投与開始から7, 14, 21日目に各ラットの収縮期血圧を測定した。なお、投与期間中、いずれの群にも特記すべき状態変化は認められず、体重増加および摂餌量の差も認められなかった。

(6) 統計処理

実験データは平均±標準誤差で表し、血圧上昇抑制試験については、市販のソフトウェア「SPSS for Windows 10.0.7J」を用いて Dunnet の多重比較法により有意差の検定 ( $p < 0.05$ ) を行った。

2. 実験結果

(1) サツマイモ茎葉の ACE 阻害活性

サツマイモ茎葉の80%エタノール抽出液について、ACE阻害活性を測定した。茎葉の各部位でACE阻害活性が認められ、その活性は茎葉中の部位で異なった。葉身部が最も強く ( $IC_{50}: 0.161 \text{ mg/ml}$ )、続いて茎部 ( $IC_{50}: 0.410 \text{ mg/ml}$ )、葉柄部 ( $IC_{50}: 0.721 \text{ mg/ml}$ ) の順であった (表1)。80%エタノール抽出液には多量のカフェ酸誘導体 (図1) が含まれていた。その総含量は凍結乾燥粉末100gあたり、葉身部で7100mg、茎部で2892mg、葉柄部で1392mgであった (表2)。茎葉部位で、総カフェ酸誘導体含量が多いほど、ACE阻害活性が強いことから、カフェ酸誘導体によるACE阻害作用が示唆された。

表 1 サツマイモ茎葉の ACE 阻害活性

	ACE 阻害活性
	$IC_{50}$ (mg/ml±標準誤差)
葉身	$0.161 \pm 0.012$
茎	$0.410 \pm 0.027$
葉柄	$0.721 \pm 0.093$

表 2 サツマイモ茎葉のカフェ酸誘導体含量

	葉身	茎	葉柄
	(mg/100g 凍結乾燥粉末)		
CA	29	63	10
ChA	1633	873	494
4,5-diCQA	1323	327	327
3,5-diCQA	3656	1409	502
3,4-diCQA	279	220	59
3,4,5-triCQA	180	N.D.	N.D.
総含量	7100	2892	1392

N.D.: Not Detected.

(2) カフェ酸誘導体の ACE 阻害活性

カフェ酸誘導体 (CA, ChA, 4,5-diCQA, 3,5-diCQA, 3,4-diCQA および 3,4,5-triCQA) および QA の ACE 阻害活性を測定した。カフェ酸誘導体はいずれも強い ACE 阻害活性を示し、最も活性の強かった 3,4,5-triCQA の  $IC_{50}$  は  $28.7 \mu\text{M}$  であった (表3)。続いて、3,4-diCQA ( $IC_{50}: 37.5 \mu\text{M}$ )、4,5-diCQA ( $IC_{50}: 41.0 \mu\text{M}$ )、ChA ( $IC_{50}: 53.0 \mu\text{M}$ )、3,5-diCQA ( $IC_{50}: 71.3 \mu\text{M}$ )、CA ( $IC_{50}: 85.5 \mu\text{M}$ ) の順であった (表3)。なお、QA に ACE 阻害作用は認められなかった。

(3) サツマイモ茎葉による SHR に対する血圧上昇抑制効果

次に、サツマイモ茎葉による SHR に対する血圧上昇抑制効果を検証した。茎葉全体を青汁用に調製した試料には、カフェ酸誘導体が約1% (w/w) 含まれた。茎葉を配合した飼料を与えた群では、対照群と比較して、有意差 ( $p < 0.05$ ) は認められなかったものの、血圧上昇が緩やかとなり、その傾向は1%添加群より3%添加群で大きかった (図2)。

3. 考察

食品蛋白質から得られたペプチドによる ACE 阻害の報告は多数あるが<sup>13)</sup>、他の食品中成分による ACE 阻害の報告例は少ない<sup>14)15)</sup>。本研究により、サツマイモ茎葉および茎葉に含まれる 4,5-diCQA, 3,5-diCQA, 3,4-diCQA および 3,4,5-triCQA の ACE 阻害作用が初めて示された。カフェ酸誘導体類の ACE 阻害活性は 3,5-diCQA を除いて、カフェオイル基の数が増加するに従い、強くなる傾向を示した。また、QA のみでは ACE 阻害活性を示さなかったこと

表 3 カフェ酸誘導体の ACE 阻害活性

	$IC_{50}$ ( $\mu\text{M}$ ±標準誤差)
QA	>500
CA	$85.5 \pm 1.9$
ChA	$53.0 \pm 1.5$
4,5-diCQA	$41.0 \pm 0.9$
3,5-diCQA	$71.3 \pm 9.2$
3,4-diCQA	$37.5 \pm 0.6$
3,4,5-triCQA	$28.7 \pm 1.3$

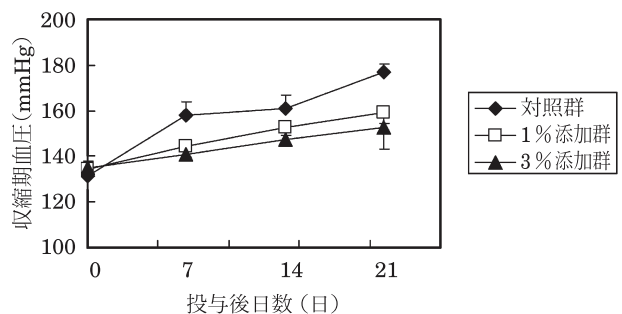


図 2 サツマイモ茎葉の SHR ラットに対する血圧上昇抑制効果

から、この阻害活性はカフェオイル基に依存することが推定された。抗酸化能や抗変異原活性でもカフェオイル基の数による活性増加の傾向が認められている<sup>5)6)</sup>。

既に ACE 阻害活性が認められている茶成分と比較すると、(-)-エピカテキンガレートの IC<sub>50</sub> が 1400 μM、(-)-エピガロカテキンガレートが 90 μM、テアフラビンモノガレート A が 115 μM、テアフラビンモノガレート B が 110 μM、テアフラビンジガレートが 35 μM であり<sup>14)</sup>、サツマイモ茎葉のカフェ酸誘導体はそれらと同程度以上の ACE 阻害活性を示した。カフェ酸誘導体類の ACE 阻害様式は不明であるが、原ら<sup>14)</sup>が (-)-エピガロカテキンガレートについて推定したような、ACE 活性部位との分子構造的な結び付きによることも考えられる。

Mishima *et al.*<sup>16)</sup> はブラジル産プロポリスより抽出した 3,4-diCQA, 3,5-diCQA および 3,4,5-triCQA の SHR に対する単回経口投与試験 (10 mg/kg) を行い、これらのカフェ酸誘導体は有意な血圧上昇抑制効果を示し、特に、3,4,5-triCQA の抑制効果は最も強いことを報告している。カフェ酸誘導体による SHR の血圧上昇抑制のメカニズムは不明であったが、本研究により明らかとなった ACE 阻害作用により、カフェ酸誘導体は SHR の血圧上昇を抑制したものと推定される。

サツマイモの茎葉ではカフェ酸誘導体類は葉身部に最も多く含まれており、3,4,5-triCQA は葉身部のみで検出される (表 2)。葉身部は我が国ではあまり利用されてこなかったが、沖縄では、従来からサツマイモ葉 (カンダバー) が長い間食されてきた。栄養価のみならず、カフェ酸誘導体が多量に含まれる葉身部を積極的に利用することが有益であると推察される。

サツマイモ茎葉を配合した飼料を与えた SHR は、用量依存的に血圧上昇が緩やかとなる傾向を示した。1% および 3% 添加群のいずれにおいても、投与期間中 5% 水準での有意差は認められなかったが、3% 添加群では飼料投与開始から 7 日目および 21 日目の対照群との差の有意確率 (*p*) は、それぞれ *p* = 0.067 および *p* = 0.063 であり、10% 水準での有意差は認められた。「すいおう」の育成後、サツマイモ茎葉は青汁、茶様飲料、野菜ジュースなどの素材として利用されており、野菜としての導入も徐々に進んでいる。青汁用に調製したサツマイモ茎葉粉末を摂取した SHR において、血圧上昇が抑制される傾向が示されたことから、調理品や加工品を通して、サツマイモ茎葉を日常的に摂取することで、血圧降下や高血圧予防への効果が期待される。

サツマイモ茎葉にはルテインやβ-カロテンなどのカロテノイド、ビタミン E や K1 などの脂溶性の有用成分も多量に含まれており<sup>13)17)18)</sup>、眼病予防や骨粗しょう症予防などの疾病予防効果も期待される。

#### 4. 要 約

(1) サツマイモ茎葉の 80% エタノール抽出液に ACE 阻害活性が認められた。活性の強さは茎葉中の部位で異なり、葉身部、茎部、葉柄部の順であった。

(2) 80% エタノール抽出液に含まれるカフェ酸誘導体に ACE 阻害活性が認められた。活性の強さは、おおよそカフェオイル基の数に比例し、3,4,5-triCQA, 3,4-diCQA, 4,5-diCQA, ChA, 3,5-diCQA, CA の順であった。

(3) サツマイモ茎葉を配合した飼料を摂取した SHR は茎葉の添加量依存的に血圧上昇が緩やかになる傾向を示した。

以上のことより、サツマイモ茎葉による SHR の血圧上昇抑制傾向は、カフェ酸誘導体類の ACE 阻害が一つの要因と推察された。

#### 文 献

- 1) 吉元 誠, サツマイモ葉のミネラル, ビタミン含量, 農業技術, **57**, 529-533 (2002).
- 2) 小泉英夫, 安井明美, 鈴木忠直, 堤 忠一, かんしょ塊根および茎葉部中のビタミン, ポリフェノール, 無機成分の定量, 食総研報, **55**, 1-8 (1991).
- 3) Ishiguro, K., Toyama, J., Islam, M.S., Yoshimoto, M., Kumagai, T., Kai, Y., Nakazawa, Y. and Yamakawa, O., Suioh, a new sweetpotato cultivar for utilization in vegetable greens. *Acta Hort.*, **637**, 339-345 (2004).
- 4) Islam, M.S., Yoshimoto, M., Yahara, S., Okuno, S., Ishiguro, K. and Yamakawa, O., Identification and Characterization of foliar polyphenolic composition in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 3718-3722 (2002).
- 5) Islam, M.S., Yoshimoto, M. and Yamakawa, O., Distribution and physiological functions of caffeoylquinic acid derivatives in leaves of sweetpotato genotypes. *J. Food Sci.*, **68**, 111-116 (2003).
- 6) Yoshimoto, M., Yahara, S., Okuno, S., Islam, M.S., Ishiguro, K. and Yamakawa, O., Antimutagenicity of mono-, di-, and tricaffeoylquinic acid derivatives isolated from sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaf. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **66**, 2336-2341 (2002).
- 7) 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. *Acta Hort.*, **703**, 107-115 (2006).
- 8) 下園英俊, 小堀真珠子, 新本洋士, 津志田藤二郎, サツマイモ抽出物によるマウスメラノーマ細胞のメラニン生成抑制, 食科工, **43**, 313-317 (1996).
- 9) Mahmood, N., Moore, P.S., De Tommasi, N., De Simone, F., Colman, S., Hay, A.J. and Pizzi, C., Inhibition of HIV infection by caffeoylquinic acid derivatives. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, **4**, 235-240 (1993).
- 10) Peluso, G., De Feo, V., De Simone, F., Bresciano, E. and Vuotto, M.L., Studies on the inhibitory effects of caffeoylquinic acids on monocyte migration and superoxide ion production. *J. Nat. Prod.*, **58**, 639-646 (1995).
- 11) 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**, 1797-1803

- (2004).
- 12) Cheung, H.S. and Cushman, D.W. Inhibition of homogeneous angiotensin-converting enzyme of rabbit lung by synthetic venom peptides of *Bothrops Jararaca*. *Biochim. Biophys. Acta.*, **293**, 451-463 (1973).
  - 13) 松井利郎, 食品成分による高血圧疾患予防とその作用メカニズム, *バイオサイエンスとインダストリー*, **60**, 665-670 (2002).
  - 14) 原 征彦, 松崎妙子, 鈴木建夫, 茶成分のアンジオテンシン I 変換酵素阻害能について, *食科工*, **61**, 803-808 (1987).
  - 15) Actis-Goretta, L., Ottaviani, J.I. and Fraga, C.G., Inhibition of angiotensin converting enzyme activity by flavanol-rich foods. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 229-234 (2006).
  - 16) Mishima, S., Yoshida, C., Akino, S. and Sakamoto, T., Antihypertensive effects of Brazilian propolis: Identification of caffeoylquinic acids as constituents involved in the hypotension in spontaneously hypertensive rats. *Biol. Pharm. Bull.*, **28**, 1909-1914 (2005).
  - 17) Ishiguro, K. and Yoshimoto, M., Content of an eye-protective nutrient lutein in sweetpotato leaves. *Acta Hort.*, **703**, 253-256 (2006).
  - 18) 須見洋行, 長田国彦, 矢田貝智恵子, 内藤佐和, 柳澤泰任, 海草および甘藷葉部中に高濃度含まれるビタミン K1, *食科工*, **50**, 63-66 (2003).

(平成 18 年 8 月 25 日受付, 平成 18 年 10 月 13 日受理)