

Studies on α -glucosidase inhibitors from Asian medicinal plants

(アジア産薬用植物中の α -グルコシダーゼ阻害物質に関する研究)

学位論文内容の要旨

糖尿病は現代の生活習慣病の中でも最も大きな問題となっている疾病のひとつである。その予防および病態改善にはいくつかのアプローチが考えられるが、その中で食後高血糖の抑制および肥満の防止は病態発現にいたる入り口を抑えるという点で高い予防効果が期待される。この目的で糖質の消化吸收を抑制する種々の天然および合成化合物が探索および利用されている。本研究では糖質消化にかかわる主要酵素である小腸スクラーゼ、マルターゼおよび膵臓アミラーゼの活性を阻害する天然成分の探索研究の一環として、中国、タイ産の未開拓天然素材を中心として活性成分の探索を行ない、以下のように数種の活性成分の単離同定を行った。

スクリーニング実験

中国産およびタイ産薬用植物 41 種 53 部位の 50%メタノール抽出物を酢酸エチル (E) と水 (W) で分配し、両相について、ラット小腸スクラーゼ、マルターゼおよびブタ膵臓アミラーゼ阻害活性試験を行った。その結果、Chinese Aloe (W)、*Suregada multiflora* (stem, W)、*Astonia scholaris* (leaf, W)、*Polyalthia evecata* (stem, W)、*Leea indica* (stem, W)、*Senna alata* (stem, W)、*Datura metal* (fruit, W)、および *Trigonostemon reidioides* (stem, W) がスクラーゼに、Chinese Aloe (W)、*S. multiflora* (stem, W)、*A. scholaris* (leaf, W)、*P. evecata* (stem, W)、*L. indica* (stem, W)、*S. alata* (stem, W)、*D. metal* (fruit, W)、*Dendrophthoe pentandra* (stem, W)、*Ficus fovealata* (stem, W)、および *Curcuma longa* (root, E) がマルターゼに、*L. indica* (stem, W)、および *D. pentandra* (stem, W) がアミラーゼに高い阻害活性を示した。供試試料のうちマルターゼおよびスクラーゼに活性を示したものはほぼ共通しており、酢酸エチル可溶部よりも水可溶部の活性が高い傾向があった。それに対し、アミラーゼに活性を示した試料はわずかであった。

Chinese Aloe のスクラーゼ・マルターゼ阻害成分

Chinese Aloe の 50%メタノール抽出物の水可溶部を ODS カラムクロマトに供し、高い活性を示した 40%メタノール溶出部を逆相 HPLC (ODS, 15%アセトニトリル) で精製し、活性成分 (1) を得た。化合物 1 は FAB-MS から分子式が $C_{28}H_{28}O_{11}$ であり、 1H および ^{13}C NMR の結果からアロエ成分としてすでに報告のある 2-アセトニルクロモンの C-グルコシドアシル誘導体であると推定され、文献値との比較によって aloeresin A と決定した。収量は 100 g あたり 53 mg であった。またスクラーゼおよびマルターゼに対する IC_{50} 値はそれぞれ 11.9 mM、2.2 mM であった。アロエ抽出物の血糖値低下作用はこれまでに報告があるが、 α -グルコシダーゼ阻害成分の単離例はこれが初めてである。

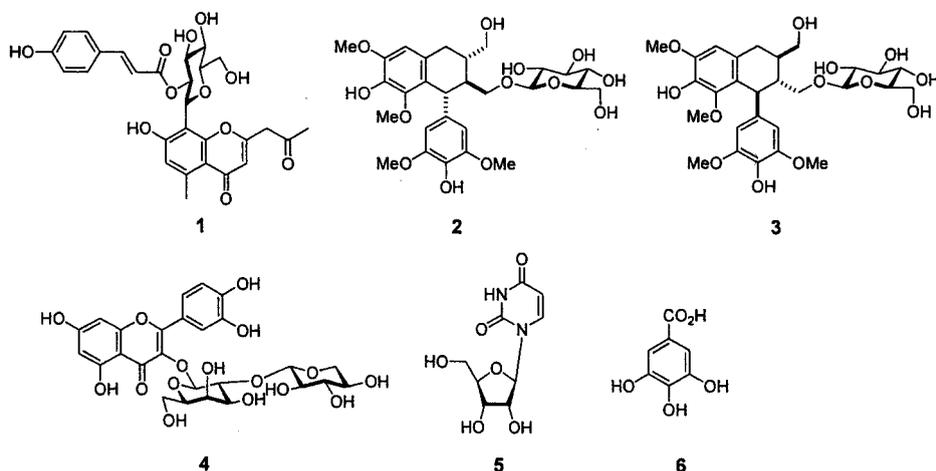
Devil tree (*Alstonia scholaris*) のスクラーゼ・マルターゼ阻害成分

Devil tree (*Alstonia scholaris*) 乾燥葉の 50%メタノール抽出物の水可溶部を ODS カラムクロマトに供し、高い活性を示した 20%メタノール溶出部を逆相 HPLC (ODS, 35%メタノール) で精製し、阻害活性画分 2 画分を得た。このうち高極性側画分を再度 HPLC (ODS, 25%メタノール) で精製し、活性成分 (2) および関連成分 (3) を得た。また、低極性側画分から活性成分 (4) を得た。機器分析の結果、化合物 2 および 3 はともに分子式 $C_{28}H_{38}O_{13}$ の異性体であり、NMR のパターンも類似していた。1D および 2D NMR の詳細な解析から、リグナン配糖体であることがわかり、文献検索の結果、2 および 3 をそれぞれ(-)-および(+)-lyoniresinol 3a-O-glucopyranoside と同定した。収量は 100 g あたりそれぞれ 20 mg および 22 mg であった。化合物 2 の阻害活性 (IC_{50}) はスクラーゼに対し 2.0 mM、マルターゼに対し 1.4 mM であった。化合物 3 はどちらの酵素にもほとんど活性を示さなかった。アグリコン部が鏡像体関係にある 2 と 3 で酵素阻害活性が大きく異なることは興味深い。また、化合物 4 は機器分析の結果よりフラボノール配糖体であることがわかり、文献値との比較によって quercetin-3-O-xylopyranosyl(1→2)galactopyranoside と同定した。収量は 100 g あたり 0.4 mg、スクラーゼおよびマルターゼ阻害活性 (IC_{50}) はそれぞれ 17 mM および 2.0 mM であった。

その他の活性成分

Suregada multiflora 乾燥枝の 50%メタノール抽出物の水可溶部を疎水性樹脂 (Diaion HP-20) カラムに供し、水溶出部を逆相 HPLC (ODS, 0.1%トリフルオロ酢酸含有 1%メタノール) で精製し、弱いながら活性成分 (5) を得た。化合物 5 は機器分析の結果分子量 244 であり、特徴的な NMR パターンから uridine と同定した。収量は 100 g あたり 2.5 mg、スクラーゼおよびマルターゼに対する IC_{50} はいずれも 15 mM 程度であった。また、*Leea indica* 乾燥枝の 50%メタノール抽出物の水可溶部を疎水性樹脂 (Diaion HP-20) カラムに供し、高いアミラーゼ阻害活性を示した 60%メタノール溶出部を逆相 HPLC (ODS, 0.1%トリフルオロ酢酸含有 20%メタノール) で精製し、活性成分 (6) を得た。化合物 6 は機器分析の結果 gallic acid と同定した。収量は 100 g あたり 1.7 mg、ブタ膵臓アミラーゼに対する IC_{50} は 4.9 mM であった。

以上の結果より、Chinese Aloe および Devil tree 葉は抗糖尿病作用物質含有素材として有望であり、今後さらに動物試験等の評価をすすめた上で、この活性を生かした機能性食品開発への展開が期待される。



学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 端 潤
副 査 教 授 原 博
副 査 教 授 鍋 田 憲 助

学 位 論 文 題 名

Studies on α -glucosidase inhibitors from Asian medicinal plants

(アジア産薬用植物中の α -グルコシダーゼ阻害物質に関する研究)

本論文は英文 111 頁、図 27、表 17、チャート 24、引用文献 73 からなり、参考論文 3 編が付されている。

糖尿病は現代の生活習慣病の中でも最も大きな問題となっている疾病のひとつである。その予防および病態改善にはいくつかのアプローチが考えられるが、その中で食後高血糖の抑制および肥満の防止は病態発現にいたる入り口を抑えるという点で高い予防効果が期待される。この目的で糖質の消化吸收を抑制する種々の天然および合成化合物が探索および利用されている。本研究は糖質消化にかかわる主要酵素である小腸スクラーゼ、マルターゼおよび膵臓アミラーゼの活性を阻害する天然成分の探索研究の一環として、中国、タイ産の未開拓天然素材を中心として活性成分の探索および単離同定を行ったものである。

スクリーニング実験

中国産およびタイ産薬用植物 41 種 53 部位の 50%メタノール抽出物を酢酸エチル (E) と水 (W) で分配し、両相について、ラット小腸スクラーゼ、マルターゼおよびブタ膵臓アミラーゼ阻害活性試験を行った。その結果、Chinese Aloe (W)、*Suregada multiflora* (stem, W)、*Astonia scholaris* (leaf, W)、*Polyalthia evecata* (stem, W)、*Leea indica* (stem, W)、*Senna alata* (stem, W)、*Datura metal* (fruit, W)、および *Trigonostemon reidioides* (stem, W)がスクラーゼに、Chinese Aloe (W)、*S. multiflora* (stem, W)、*A. scholaris* (leaf, W)、*P. evecata* (stem, W)、*L. indica* (stem, W)、*S. alata* (stem, W)、*D. metal* (fruit, W)、*Dendrophthoe pentandra* (stem, W)、*Ficus fovealata* (stem, W)、および *Curcuma longa* (root, E)がマルターゼに、*L. indica* (stem, W)、および *D. pentandra* (stem, W)がアミラーゼに高い阻害活性を示すことを見出した。

Chinese Aloe のスクラーゼ・マルターゼ阻害成分

Chinese Aloe 粉末の 50%メタノール抽出物の水可溶部を ODS カラムおよび逆相 HPLC で精製し、活性成分 1 を得た。化合物 1 は機器分析の結果クロモン配

糖体 aloeresin A と同定した。スクラーゼおよびマルターゼに対する IC₅₀ 値はそれぞれ 11.9 mM、2.2 mM であった。アロエ抽出物の血糖値低下作用はこれまでに報告があるが、 α -グルコシダーゼ阻害成分の単離例はこれが初めてである。

Devil tree (*Alstonia scholaris*) のスクラーゼ・マルターゼ阻害成分

Devil tree 葉の 50%メタノール抽出物の水可溶部を ODS カラムおよび逆相 HPLC で精製し、二種の活性成分 **2** および **3** と関連成分 **4** を得た。機器分析の結果、化合物 **2** および **3** はそれぞれリグナン配糖体(-)-lyoniresinol 3a-O-glucopyranoside および quercetin-3-O-xylopyranosyl(1→2)galactopyranoside と同定した。また、化合物 **4** は **2** の立体異性体(+)-lyoniresinol 3a-O-glucopyranoside であった。化合物 **2** および **3** の阻害活性 (IC₅₀) はそれぞれスクラーゼに対し 2.0 mM および 17 mM、マルターゼに対し 1.4 mM および 2.0 mM であった。化合物 **4** はどちらの酵素にもほとんど活性を示さなかった。アグリコン部が鏡像体関係にある **2** と **4** で酵素阻害活性が大きく異なることは興味深い知見である。

その他の活性成分

Suregada multiflora 枝の 50%メタノール抽出物の水可溶部より弱い活性成分として uridine を得た。スクラーゼおよびマルターゼに対する IC₅₀ はいずれも 15 mM 程度であった。また、*Leea indica* 枝の 50%メタノール抽出物の水可溶部よりアミラーゼ阻害活性成分として gallic acid を得た。IC₅₀ は 4.9 mM であった。

以上の結果、Chinese Aloe および Devil tree 葉は抗糖尿病作用物質含有素材として有望であり、将来的にこの活性を生かした機能性食品開発への展開が期待できることが初めて明らかになったことは特筆すべき成果である。

よって審査員一同は、Nilubon Jong-Anurakkun が博士 (農学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。