

ラットを用いたネオサラシノールの糖負荷後血糖上昇抑制効果について

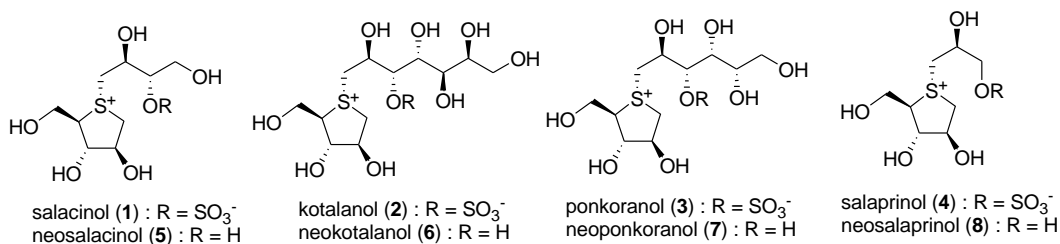
北林広巳¹⁾, 臼井俊行¹⁾, 勝田公雄²⁾, 山本正敏³⁾, 田邊元三⁴⁾, 吉川雅之⁵⁾, 村岡 修⁴⁾

¹⁾タカノ株式会社 ²⁾株式会社バイオアーク ³⁾株式会社イナリサーチ

⁴⁾近畿大学薬学部 ⁵⁾京都薬科大学

はじめに

インドやスリランカの伝統医学であるアーユルヴェーダでは、糖尿病の初期の治療薬としてサラシア属植物 (*Salacia reticulata*, *S. oblonga* および *S. chinensis* など) の抽出エキスが用いられている。これまでに、同植物抽出エキスに関する血糖値上昇抑制作用が精力的に研究されており¹⁻⁴⁾、我々も第2回サラシアシンポジウムにおいてその効果について報告している⁵⁾。さらに、エキスの活性寄与成分の探索により、特異なチオ糖スルホニウム硫酸分子内塩構造をもつ化合物 salacinol⁶⁾ (1), kotalanol⁷⁾ (2), ponkoranol⁸⁾ (3), salaprinol⁸⁾ (4) およびその脱硫酸エステル体である neosalacinol⁹⁾ (5), neokotalanol^{9a,10)} (6), neoponkoranol¹¹⁾ (7), neosalaprinol¹¹⁾ (8) が単離されるとともに、その作用機序が、消化管表層に存在する糖質加水分解酵素 (α -glucosidase) の阻害に基づくことが判明している。これらの活性寄与成分について、salaprinol (4) および neosalaprinol (8) を除いた6種のスルホニウム塩の阻害作用の強度が *in vitro* においていずれも市販糖尿病治療薬のアカルボースやボグリボースに匹敵するほど強い事も明らかになっている¹²⁾。一方、活性寄与成分の *in vivo* 血糖値上昇抑制効果に関する報告例は少なく、これまでに、ラットを用いて salacinol (1) と医薬品であるアカルボースの効果が比較されているにすぎない。^{6b)} そこで本報では、その他の活性寄与成分の *in vitro* における有効性を検証する研究の一環として、salacinol (1) の脱硫酸エステル体である neosalacinol (5) について、正常ラットにマルトースまたはスクロースを経口的に負荷した後の血糖値上昇抑制作用を検討したので報告する。Salacinol (1) に比べ、neosalacinol (5) は化学的に安定で合成も容易であることから、医薬品等への展開等を考慮すると、neosalacinol (5) についての基礎的知見の収集は極めて意義深いことと考えている。



材料および方法

1. 実験動物

糖負荷試験に汎用されている雄の Sprague-Dawley 系雄ラット (CrI:CD(SD)日本チャールズ・リバー株式会社) を入手し、動物入手日から 6 日間の検疫および馴化を行った。飼育条件は、温度 (22.4~23.0 °C)、湿度 (47.4~56.4%)、換気条件 (15~17 回/時間)、明暗サイクル(12 時間) とし、試験期間中、動物には固形飼料 (CRF-1、オリエンタル酵母株式会社) および水道水を自由に摂取させた。ただし、糖負荷試験実施前日から糖の投与前 16~21 時間の絶食を行った。投与时齢は 6 週で、投与時の体重範囲は 166~200 g であった。

2. 被験物質および対照物質

被験物質である neosalacinol (5) は、muraoka らの方法に従い、酸性条件下で salacinol (1) をメタノール分解^{9d)}して無色の粘性のある油状物質として得、これを *in vivo* 試験に供試した。対照物質および溶解のための媒体として、日本薬局方注射用水 (株式会社大塚製薬) を使用した。比較対照物質としては、和光純薬工業株式会社のアカルボース純品を用いた。負荷物質 (糖質) としてスクロース (和光純薬工業株式会社) 及びマルトース (株式会社林原生物化学研究所) の純品を用いた。

3. 試験方法

絶食させたラットを試験前日の体重をもとに、コンピュータのプログラム (TOXstaff21 システム) を用いてランダムに 10 群 (n=6) に分けた。次に、ラットに被験物質 [neosalacinol (5)] を注射筒およびラット用ゾンデを用いて経口投与し、その 30 分後に糖質 (マルトースまたはスクロース) 1 g/kg を経口投与し、糖負荷後の血糖上昇抑制効果を調べた。neosalacinol (5) の投与量はマルトース負荷群では 5, 10 及び 25 mg/kg、スクロース負荷群では 1.25, 2.5 及び 5 mg/kg とし、比較対照物質群には、マルトース及びスクロース負荷に対して、アカルボースをそれぞれ 200 及び 5 mg/kg を経口投与し、その 30 分後に糖質 (マルトースまたはスクロース) 1 g/kg を経口投与した。対照群には日本薬局方注射用水を投与し、その 30 分後に糖質 (マルトースまたはスクロース) 1 g/kg を経口投与した。糖負荷前及び負荷後 0.5, 1 及び 2 時間にイソフルラン (マイラン製薬株式会社) 吸入による麻酔後、頸静脈から約 0.5 ml を採血し、血漿中のグルコース値について酵素法 (Gluc-DH 法) により測定した。

測定値から各群の平均値及び標準偏差を算出し Bartlett 法による分散の一様性の検定 (有意水準 5%) を行った。分散が一樣の場合は Dunnett 法によって対照群と各被験物質群との間で平均値の検定を行った。一方、分散が一樣でない場合は対照群と各被験物質群と

の平均順位の差について **Dunnett** 型の検定を行った。比較対照物質群の血漿中グルコース値については、対照群と比較対照物質群との間で **F** 検定による等分散性の検定を行い、分散が等しい場合は **Student** の **t** 検定を、分散が等しくない場合は **Aspin-Welch** の **t** 検定を行った。なお検定はいずれも両側検定で行った。

結果および考察

試験の結果を **Table 1** に示した。マルトースおよびスクロースの対照群ともに、ほぼ同様の血漿中グルコースの推移を示した。すなわち、血漿中グルコースは、糖負荷前は 88 または 91 mg/dL であったが、投与後 30 分では 202 または 206 mg/dL と顕著に上昇し、投与後 1 及び 2 時間ではそれぞれ 161 または 163 mg/dL 及び 135 または 142 mg/dL と次第に減少した。

Table 1 Evaluation of the hyperglycemic suppression effect of neosalacinol in rats following 2 types of sugar loads
Clinical chemistry - Plasma glucose -

- Maltose load group -		Sex: Male				Unit: mg/dL
Group	Control 0 mg/kg	Test article, low dose Neosalacinol 5 mg/kg	Test article, middle dose Neosalacinol 10 mg/kg	Test article, high dose Neosalacinol 25 mg/kg	Comparative control Acarbose 200 mg/kg	
Number of animals	6	6	6	6	6	
Pre	88 ± 12	93 ± 16	94 ± 9	85 ± 17	90 ± 11	
0.5 h	202 ± 9	207 ± 16	198 ± 11	179 ± 19 *	156 ± 38 #	
1 h	163 ± 16	165 ± 15	158 ± 12	158 ± 18	141 ± 13 #	
2 h	142 ± 13	138 ± 5	131 ± 13	132 ± 12	128 ± 9	

- Sucrose load group -		Sex: Male				
Group	Control 0 mg/kg	Test article, low dose Neosalacinol 1.25 mg/kg	Test article, middle dose Neosalacinol 2.5 mg/kg	Test article, high dose Neosalacinol 5 mg/kg	Comparative control Acarbose 5 mg/kg	
Number of animals	6	6	6	6	6	
Pre	91 ± 11	89 ± 14	90 ± 13	92 ± 9	96 ± 9	
0.5 h	206 ± 11	175 ± 13 *	155 ± 19 **	138 ± 26 **	158 ± 21 ##	
1 h	161 ± 8	152 ± 19	141 ± 26	133 ± 8 *	147 ± 12 #	
2 h	135 ± 9	136 ± 16	127 ± 16	130 ± 10	134 ± 11	

Pre: Pre-dosing 0.5, 1 and 2 h: 0.5, 1 and 2 hours following sugar load

*: P<0.05, **: P<0.01, significantly different from between the control and test article groups

#: P<0.05, ##: P<0.01, significantly different from between the control and comparative control groups

マルトース負荷群では、neosalacinol (**5**) の 25 mg/kg 群で糖負荷後 30 分の血漿中グルコースは 179 ± 19 mg/dL と対照群と比べて有意に低値であった。一方、比較対照 (アカルボース) の 200 mg/kg 群では糖負荷後 30 分及び 1 時間の血漿中グルコースは対照群と比べて有意に低値 (負荷後 0.5 時間 156 ± 38 mg/dL, 負荷後 1 時間 141 ± 13 mg/dL) であった (**Table 1**, **Fig. 1**)。

スクロース負荷群では、被験物質の糖負荷後 30 分の血漿中グルコースは 1.25 mg/kg 群で 175 ± 13 mg/dL, 2.5 mg/kg 群で 155 ± 19 mg/dL, 5 mg/kg 群で 138 ± 26 mg/dL であり、対照群と比べていずれも有意な低値を示した。さらに、5 mg/kg 群では糖負荷後 1 時間の血漿中グルコースは 133 ± 8 mg/dL と対照群と比べて有意に低値であった。一方、アカルボースの 5 mg/kg 群では糖負荷後 30 分及び 1 時間の血漿中グルコースは有意に低値 (負荷後 0.5 時間 158 ± 21 mg/dL, 負荷後 1 時間 147 ± 12 mg/dL) を示した。Neosalacinol (**5**) 及

びアカルボースの同一用量 (5 mg/kg) における比較では、糖負荷後 30 分, 1 時間の血漿中グルコースの値は、neosalacinol (5) 投与のほうがアカルボース投与よりも低値を示した (Table 1, Fig. 2)。

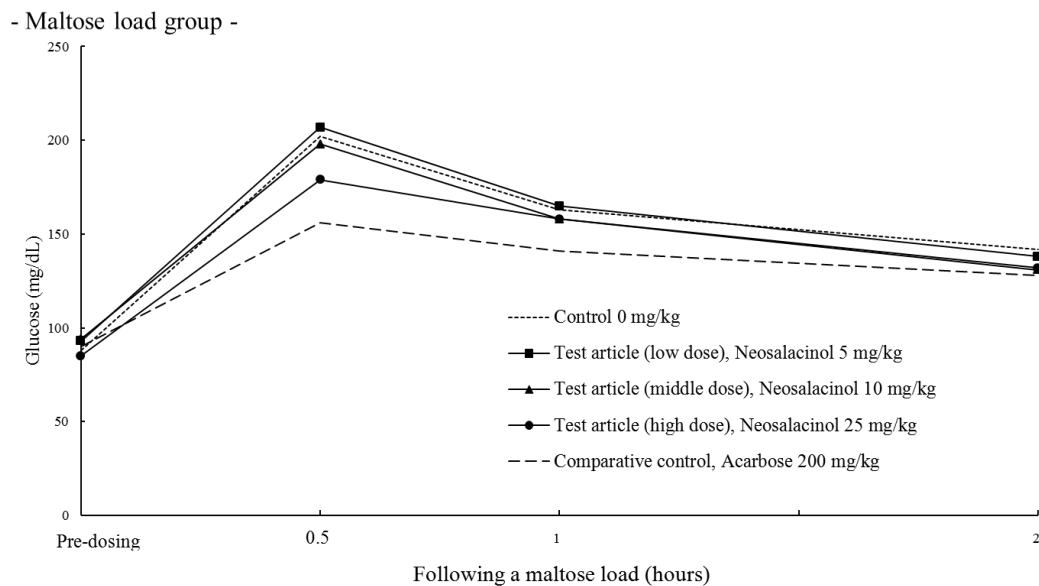


Fig. 1 Evaluation of the hyperglycemic suppression effect of neosalacinol in rats following maltose loads
 Clinical chemistry (Male)
 - Plasma glucose -

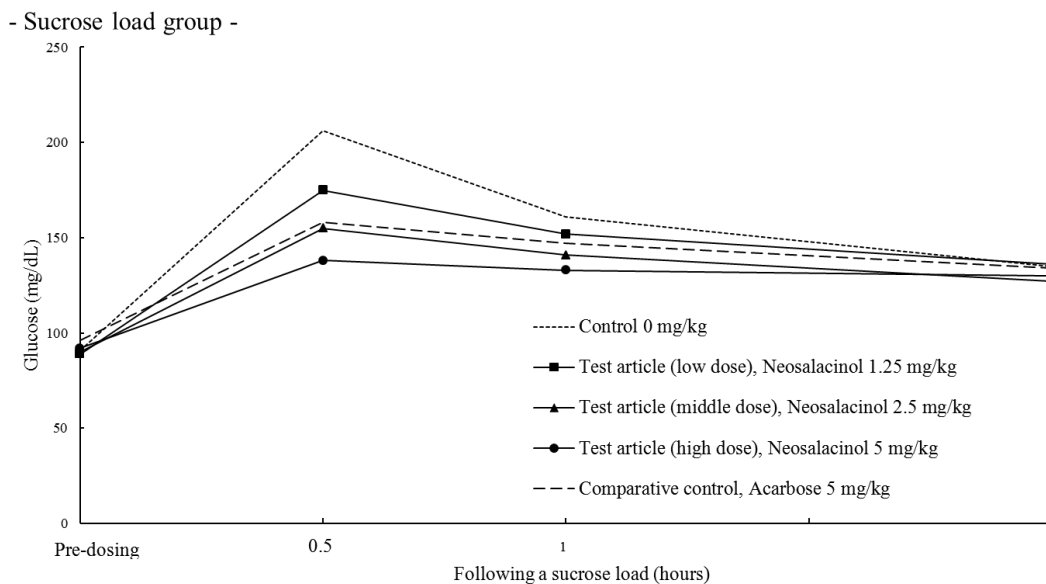


Fig. 2 Evaluation of the hyperglycemic suppression effect of neosalacinol in rats following sucrose loads
 Clinical chemistry (Male)

以上のように、マルトース及びスクロースを負荷したラットにおいて、neosalacinol (5) 投与による血糖上昇の抑制作用が有意に認められ、二糖類から単糖への分解抑制による α -グ

ルコシダーゼ阻害作用に基づく効果と考えられた。今回の試験において血糖上昇抑制効果の見られた用量は、Yoshikawa らが報告しているサラシア属植物の根及び茎から抽出単離した salacinol (1) のラットでの血糖抑制効果とほぼ同等であった^{6b)}。このことは、salacinol (1) と、その脱硫酸エステル化した neosalacinol (5) の両者が *in vivo* においても同等の活性の強さを有することを確認した意味において、活性寄与成分の脱硫酸エステル化と活性の強さについての一定の示唆を与えるものである。

さらに、Yoshikawa らはサラシアに含まれる活性寄与成分の中には、アカルボースよりも強い血糖値上昇抑制効果を有すると *in vitro* の結果において報告している^{6b)}。今回のラットによる *in vivo* の試験においても、スクロース負荷における neosalacinol (5) 及びアカルボースの同一用量における結果を考慮すると、neosalacinol (5) の作用はアカルボースと同等又はそれよりも強いと考えられ、サラシア属植物に含まれる活性寄与成分とその類縁体が、将来的に新たな α -グルコシダーゼ阻害薬の候補としての可能性の一端を示すものである。

引用文献

- 1) 下田博司, 川守秀輔, 河原勇三, 日本栄養・食糧学会誌, **51**, 279-287 (1998).
- 2) 梶本修身, 川守秀輔, 下田博司, 河原勇三, 平田洋, 高橋丈生, 日本栄養・食糧学会誌, **53**, 199-205 (2000).
- 3) 別府秀彦, 鹿野昌彦, 藤田孝輝, 井谷功典, 尾崎清香, 濱保健一, 岸野恵理子, 伊藤哲也, 新保寛, 園田茂, 東口高志, 日本食品新素材研究会誌, **8**, 105-117 (2005).
- 4) 北林広巳, 中村千穂, 勝田公雄, 堀井朝運, 野溝郁文, 鷹野準, 吉川雅之, 村岡修, 齋藤安弘, 齋藤正実, 小池田崇史, 健康・栄養食品研究, **10**, No.2, 23-36, (2007).
- 5) 北林広巳, 第2回サラシア属植物シンポジウム講演要旨集, 2009 (大阪), pp.48-54.
- 6) a) Yoshikawa M., Murakami T., Shimada H., Matsuda H., Yamahara J., Tanabe G., Muraoka O., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 8367-8370 (1997); b) Yoshikawa M., Morikawa T., Matsuda H., Tanabe G., Muraoka O., *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 1547-1554 (2002).
- 7) a) Yoshikawa M., Murakami T., Yashiro K., Matsuda H., *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 1339-1340 (1998); b) Muraoka O., Xie W., Osaki S., Kagawa A., Tanabe G., Amer M. F. A., Minamatsu Y., Morikawa T., Yoshikawa M., *Tetrahedron*, **66**, 3717-3722 (2010).
- 8) a) Yoshikawa M., Xu F., Nakamura S., Wang T., Matsuda H., Tanabe G., Muraoka O., *Heterocycles*, **75**, 1397-1405 (2008); b) Tanabe G., Sakano M., Minematsu T., Matsuda H., Yoshikawa M., Muraoka O., *Tetrahedron*, **64**, 10080-10086 (2008).
- 9) a) Muraoka O., Morikawa T., Miyake S., Akaki J., Ninomiya K., Yoshikawa M., *J. Nat. Med.*, **65**, 142-148 (2011); b) Minami Y., Kuriyama C., Ikeda K., Kato A., Takebayashi K., Adachi I., Fleet W. J. G., Kettawan A., Okamoto T., Asano N., *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 2734-2740 (2008); c) Tanabe G., Xie W., Ogawa A., Minematsu T., Yoshikawa M., Muraoka O., *Bioorg.*

- Med. Chem. Lett.*, **19**, 2195-2198 (2009); d) Tanabe G., Yoshikai K, Hatanaka T, Yamamoto M., Shao Y., Minematsu T., Muraoka O., Wang T., Matsuda H., Yoshikawa M., *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 3926-3937 (2007).
- 10) a) Ozaki S., Oe H., Kitamura S., *J. Nat.Prod.*, **71**, 981-984 (2008); b) Muraoka O., Xie W., Tanaba G., Amer M. F. A., Minematsu T., Yoshikawa M., *Tetrahedron Lett.*, **49**, 7315-7317 (2008).
- 11) a) Xie W., Tanabe G., Akaki J., Morikawa T., Ninomiya K., Minematsu T., Yoshikawa M., Wu X., Muraoka O., *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 2015-2022 (2011).
- 12) 村岡修, 第5回サラシア属植物シンポジウム講演要旨集, 2012 (東京) , pp.6-14.