

Salacia 属植物のポリフェノール成分： α -グルコシダーゼ及び
アルドースレダクターゼ阻害活性成分，Mangiferin，の定量分析

吉川雅之，^{*,a} 西田典永，^a 下田博司，^b 高田美紀，^b 河原有三，^b 松田久司^a
京都薬科大学，^a 森下仁丹株式会社^b

**Polyphenol Constituents from *Salacia* Species: Quantitative Analysis of Mangiferin
with α -Glucosidase and Aldose Reductase Inhibitory Activities**

Masayuki YOSHIKAWA,^{*,a} Norihisa NISHIDA,^a Hiroshi SHIMODA,^b Miki TAKADA,^b
Yuzo KAWAHARA,^b and Hisashi MATSUDA^a

Kyoto Pharmaceutical University,^a Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607-8412, Japan and Morishita
Jintan Co., Ltd.,^b 1-1-30, Tamatsukuri, Chuo-ku, Osaka 540-8566, Japan

(Received January 29, 2001; Accepted March 2, 2001)

Mangiferin, three catechins, and two catechin dimers were isolated from the roots of *Salacia reticulata* (SRE), and examined their inhibitory activities against several carbohydrate metabolize enzymes (sucrase, maltase, isomaltase, α -amylase, and aldose reductase). Among them, mangiferin was found to inhibit sucrase, isomaltase, and aldose reductase from rat with IC₅₀ values of 87, 216 and 1.4 μ g/ml, respectively. The inhibitory activities of mangiferin are competitive for sucrase and isomaltase with inhibitor constant (K_i) 55 μ g/ml and 70 μ g/ml, respectively. In order to determine the mangiferin contents in the water extracts from the roots of *S. reticulata*, a quantitative analytical method by means of HPLC was developed and the mangiferin contents in SRE were determined to be in the range of 0.9—2.3% by the application of this method. A high linear correlation ($r=0.934$) was observed between the mangiferin contents and the sucrase inhibitory activity. In addition, this analytical procedure of mangiferin was found to be applicable for other *Salacia* species (*S. oblonga*, *S. chinensis*, and *S. prinooides*). Thus, the quantitative HPLC analysis of mangiferin was supposed to be suitable for the quality control of *Salacia* species and its products.

Key words—*Salacia*; α -glucosidase; mangiferin; quantitative analysis; sucrase

緒 言

Salacia (*S.*) *reticulata* はデチンムル科 (Hippocrateaceae) またはニシキギ科 (Celastraceae) に分類される蔓性の多年性木本で、主にスリランカ北部やインド南部に自生している。*S. reticulata* の根や幹は、南アジア地域の伝統医学であるアーユルヴェーダにおいて、糖尿病の治療や自覚症状の緩和などに使用されてきた。我々は、スリランカ産 *S. reticulata* の抽出エキスが、 α -グルコシダーゼ阻害作用に基づく糖吸収抑制作用を示すことを明らかにするとともに、新奇なチオ糖スルホニウム分子内硫酸塩構造を有する salacinol (7) 及び kotalanol (8) を活性成分として単離し、それらの構造を決定した。^{1,2)} また、インド産の *S. oblonga* やタイ産 *S. chinensis* にも同様の α -グルコシダーゼ阻害活性のあることを見出し、salacinol (7) と kotalanol (8)

を単離同定した。さらに、アルドースレダクターゼ阻害活性を示す新規トリテルペン類やセスキテルペン類を明らかにしている。^{3,4)}

最近、このような薬効や含有成分の科学的知見を背景にして、健康食品素材として *S. reticulata* や *S. oblonga* 及び *S. chinensis* が応用されるようになってきている。しかし、*Salacia* 属植物はいずれも栽培化に成功しておらず野生品が用いられていることから、採取地や採取時期が明確でないものが多い。また、自生地における採取後の原料の加工や保存条件が整備されておらず、日本へ輸入した際にカビの発生や腐敗で変質した粗悪品もしばしば認められる。現在、*S. reticulata* の品質評価には、日本薬局方に基づくエキス含量や灰分などの測定のほか、薬効評価法として酵母やラット空腸由来の α -グルコシダーゼを用いたスクラーゼやマルターゼ阻害試験が適用されているが、化学的品質評価法として、 α -グ

ルコシダーゼ阻害活性成分の簡便な定量分析法の開発が必要とされている。しかし、 α -グルコシダーゼ阻害活性成分の salacinol (7) や kotalanol (8) は、 α -グルコシダーゼ阻害活性を指標とした分離精製の後には示差屈折計を使用して検出することができるが、大量に共存する糖質に比べて含有量が微量であることや、通常の定量分析に用いられる紫外線や可視光領域に吸収がないことから、生薬や製剤中の含量について、HPLCをはじめ GC, TLC での分離定量分析は困難であった。また、発色試薬による比色定量や、GC や HPLC での定量に対応し得る化合物への誘導も現在のところ成功していない。一方、 α -グルコシダーゼ阻害活性を指標として *Salacia* 属植物から salacinol (7) や kotalanol (8) を単離する過程で、それらの含量と活性強度の比較考察から、エキスの阻害活性はこれらの活性成分のみでは説明できず、他の活性成分の存在が予想された。そこで、*S. reticulata* エキスの α -グルコシダーゼ阻害作用成分の再探索を行い、これまでに、キサントン配糖体の mangiferin (1),⁵⁾ 3 種のカテキン単量体 (–)-epicatechin (2),⁶⁾ (–)-epigallocatechin (3),⁶⁾ (–)-4'-*O*-methylepigallocatechin (4)⁷⁾ 及び 2 種のカテキン二量体 (–)-epiafzelechin-(4 β →8)-(–)-4'-*O*-methylepigallocatechin (5),⁸⁾ (–)-epicatechin-(4 β →8)-(–)-4'-*O*-methylepigallocatechin (6)⁹⁾ を単離同定した。これら化合物について、糖質の代謝に関与する各種 α -グルコシダーゼ、アミラーゼ及びアルドースレダクターゼに対する阻害活性を検討した結果、比較的高収率で得られた mangiferin (1) に salacinol (7) や kotalanol (8) よりは弱い、ラット由来のスクラーゼやイソマルターゼさらにアルドースレダクターゼに対して阻害活性を有することを見出した。活性強度と含量から考察すると、1 は *S. reticulata* の抗糖尿病作用成分の 1 つと考えられた。また、1 の生物活性については、これまでに抗酸化,¹⁰⁾ 骨吸収抑制¹¹⁾ 及び免疫調節作用¹²⁾ のほかに、インスリン非依存型糖尿病マウス (KK-AY) における血糖降下作用¹³⁾ などが報告されている。そこで、*S. reticulata* 熱水抽出物 (SRE) や他の *Salacia* 属植物より得られた抽出物に含有される 1 について HPLC 定量分析の開発を行った。そして、1 を指標とした本 HPLC 定量法が抗糖尿病作用を有する *Salacia* 属植物の有用な品質評価法になることが判

明した。

実験の部

1. *S. reticulata* 含有フェノール性化合物の単離

1-1. 装置及び器具 カラムクロマトグラフィーの充填剤は、Sephadex LH-20 (アマシャムファルマシア)、Silica gel 60 (メルク) 及び Chromatorex ODS DM1020T (富士シリシア化学) を用いた。HPLC は Shimadzu LC-10AT (島津製作所) にカラム CAPCELL PAK C18 UG80 (250×20 mm *i.d.*, 5 μ m, 資生堂) を装着し、検出には Shimadzu RID-6A (島津製作所) を、また記録には Shimadzu クロマトパック C-R6A (島津製作所) を用いた。TLC は Silica gel 60F₂₅₄ (メルク) を使用し、スポットの検出は UV 照射 (245, 365 nm) 及び 10% 硫酸セリウム水溶液を噴霧後の加熱時の呈色により行った。

1-2. 分離及び精製 スリランカ産 *S. reticulata* 乾燥根 (3.1 kg) を粉碎し、メタノール (10 l) を加えて 80°C で 3 時間加熱抽出を行った。抽出液を濾別後、残渣にメタノール (10 l) を加え、同様の抽出操作を計 3 回繰り返した。抽出液を合わせて減圧下溶媒留去してメタノール抽出物 (317 g, 10.2%) を得た。抽出物 (280 g) を Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (400 g, H₂O→MeOH) に付し、水溶出部 (119 g, 4.34%) 及びメタノール溶出部 (158 g, 5.78%) に分画した (Fig. 1)。

メタノール溶出部を、順相シリカゲルカラムクロマトグラフィー [1500 g, *n*-hexane : AcOEt (1 : 1) → CHCl₃ : MeOH (5 : 1) → MeOH] で分画し、Fr. 1 (17.5 g, 0.73%), Fr. 2 (11.3 g, 0.47%), Fr. 3 (110 g, 4.56%) を得た。Fr. 2 (10.7 g) を、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー [300 g, MeOH : H₂O (3 : 7→7 : 3) → MeOH → CHCl₃]、分取 HPLC [C18 column, MeOH : H₂O (15 : 85 及び 25 : 75)] により分離精製し、(–)-epicatechin (2, 95.3 mg, 0.0089%), (–)-epigallocatechin (3, 97.1 mg, 0.012%), (–)-4'-*O*-methylepigallocatechin (4, 615.9 mg, 0.057%), (–)-epiafzelechin-(4 β →8)-(–)-4'-*O*-methylepigallocatechin (5, 28.2 mg, 0.0026%), (–)-epicatechin-(4 β →8)-(–)-4'-*O*-methylepigallocatechin (6, 114.1 mg, 0.014%) を得た。

Fr. 3 (20.0 g) を、順相シリカゲルカラムクロマ

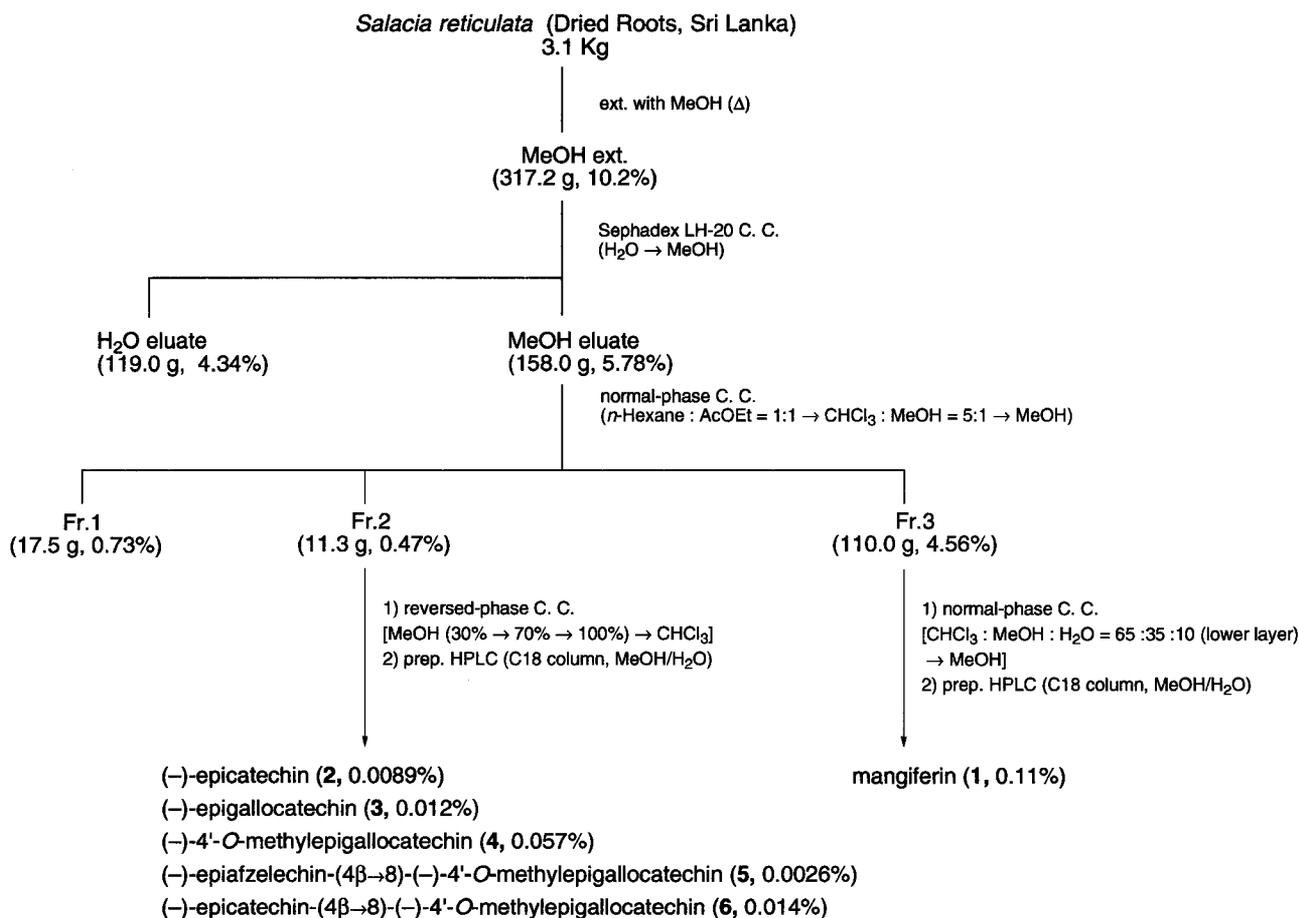


Fig. 1. Isolation of Mangiferin (1) and Catechins (2—6)

トグラフィー [150 g, CHCl₃ : MeOH : H₂O (65 : 35 : 10, 下層) → MeOH], 分取 HPLC [C18 column, MeOH : H₂O (25 : 75)] により分離精製し, キサントン配糖体 mangiferin (1, 482.0 mg, 0.11%) を得た (Fig. 2).

また, これら単離化合物 (1—6) は, 旋光度, MS 及び NMR などの物理化学データと文献値との比較により同定した.⁵⁻⁹⁾ なお, ここに示した分画及び単離化合物の収率は, すべて生葉からの換算値である.

2. 糖質代謝酵素阻害試験

2-1. α-グルコシダーゼ阻害試験 ラット空腸由来の粗 α-グルコシダーゼ画分は, Kessler ら¹⁴⁾ の方法に準じて刷子縁膜分画を調製して用いた. すなわち Wistar 系雄性ラット (体重 120~150 g, 紀和実験動物, 和歌山) をエーテル麻酔により安楽死させて開腹し, 空腸部をトライツの靭帯から下方へ 20 cm にわたって摘出した. 切開した空腸内部を氷

冷した生理食塩水で洗浄後, 粘膜をスライドガラスのエッジを用いてこそぎとり, 50 mM マンニトール含有 2 mM トリス・塩酸緩衝液 (pH 7.1) を加えて, 氷冷しながらホモジナイザーを用いて微細化した. これに塩化カルシウムを 10 mM になるように添加し, 4°C で 15 分放置後に遠心分離 (3000×g, 4°C, 15 分) を行った. 得られた上清を, さらに遠心分離 (27000×g, 4°C, 30 分) し, 沈殿部 (刷子縁膜分画) を得た. これを 0.1 M マレイン酸緩衝液 (pH 6.0) に懸濁し, Lowly 法でタンパク量を測定した後, 試験に供するまで -20°C で保存した.

0.1 M マレイン酸緩衝液 (pH 6.0) で希釈したサンプル溶液 (50 μl) と基質 (スクロース及びマルトース : 74 mM, イソマルトース : 7.4 mM) 100 μl を混合し, プレインキュベート (37°C, 3 分) を行った. これに緩衝液で希釈 (対照群のグルコース生成量が, スクロース : 5 mg/dl, マルトース, イソマルトース : 10 mg/dl になるように調製) した粗

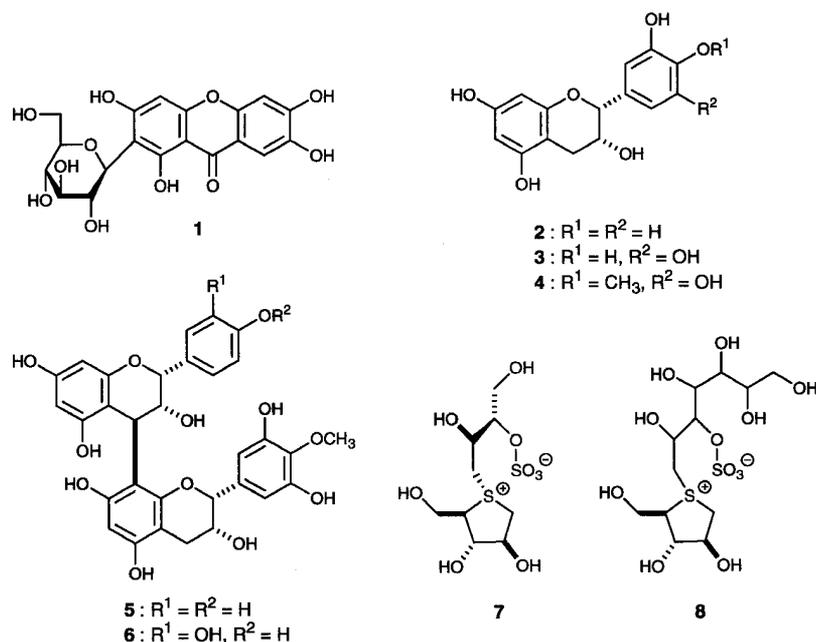


Fig. 2. Chemical Constituents from the Roots of *S. reticulata*

α -グルコシダーゼ画分 (50 μ l) を添加して 30 分間反応後、精製水 (800 μ l) を加えて沸騰水浴中に試験管を 2 分間浸漬した。冷後、生成したグルコース量をムタロターゼ・グルコースオキシダーゼ法 (グルコース CII テストワコー, 和光純薬工業) を用いて測定した。酵素阻害率は、対照群との比較で算出した。1 の阻害定数 (K_i) 算出の際には、1 の濃度を 50 μ g/ml とし、基質濃度をスクロース 6.17—74.0 mM, イソマルトース 0.92—7.40 mM に変化させて試験を行い、作成した Lineweaver-Burk プロットより算出した。

2-2. α -アミラーゼ阻害試験 0.25 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で希釈したサンプル溶液 (25 μ l) と可溶性デンプン (20 mg/ml, 和光純薬工業) 50 μ l を混合し、プレインキュベート (37°C, 5 分) を行った。これに緩衝液で希釈したブタ膵臓由来アミラーゼ (4 unit/ml, シグマ) 25 μ l を添加して 30 分間反応後、0.1 M 塩酸 (1 ml) を添加して反応を停止した。反応液 (100 μ l) を採取して 0.01 M ヨウ素試液 (2 ml) と混合し、660 nm における吸光度を測定した。酵素阻害率は対照群との比較で算出した。

2-3. アルドースレダクターゼ阻害試験 1—4 匹のラットの眼球より得たレンズに、10 mM 2-メルカプトエタノール (ナカライテスク) 含有 135 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えて氷冷下でホモ

ジネートを行った。これを遠心分離 (100000 \times g, 4°C, 30 分) して得られた上清を、粗アルドースレダクターゼ画分として、試験に供するまで -20°C で保存した。

180 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0, 225 μ l), 1.0 M 硫酸リチウム (50 μ l, 和光純薬工業), 10 mM DL-グリセルアルデヒド (50 μ l, 和光純薬工業) 及び緩衝液で希釈 (対照群の NADP 生成量が 10 μ M になるように調製) した粗アルドースレダクターゼ画分 (100 μ l) の混液に、ジメチルスルフォキシドで希釈したサンプル溶液 (25 μ l) を添加し、プレインキュベート (30°C, 3 分) を行った。これに 0.3 mM NADPH (50 μ l, 和光純薬工業) を加えてインキュベート (30°C, 30 分) を行った後、0.5 M 塩酸 (150 μ l) を加えて反応を停止した。反応液に 10 mM イミダゾール (和光純薬工業) 含有 6 M 水酸化ナトリウム (500 μ l) を加えて 60°C で 20 分放置し、室温まで冷却後に反応液の蛍光強度 (励起波長: 360 nm, 測定波長: 460 nm) を測定した。酵素阻害率は、対照群との比較で算出した。

3. *S. reticulata* 熱水抽出物 (SRE) 及び *Salacia* 属植物抽出物の mangiferin (1) の定量分析

3-1. 試料の調製 インド産 *S. reticulata* の乾燥根を 10 倍量の精製水で加熱抽出 (80°C, 3 時間) して調製した SRE 5 ロット (Lot 981201, 9906A06,

9910A10, 9911B11, 9912B12, 0001A01) を試料とした。他の *Salacia* 属植物 [*S. oblonga* (根, インド市場品), *S. chinensis* (幹, タイ市場品), *S. prinoidea* (根, 中国野生品)] については, 乾燥粉碎物を 10 倍量の MeOH (*S. chinensis* については 80% MeOH) で熱時抽出し (80°C, 3 時間), ろ過後, 濃縮乾固して得たエキスを試料とした。定量分析には, 精密に秤量した試料 (0.10 g) に抽出溶媒 (精製水, メタノール又は 80% MeOH) を加えて超音波照射により溶解後, 正確に 100 ml とし, メンブランフィルター (0.45 μm , ジーエルサイエンス) で濾過した溶液を用いた。乾燥減量は第 13 改正日本薬局方一般試験法「乾燥減量試験法」に準じて試料を恒量になるまで乾燥後に算出した。

3-2. 分析装置 HPLC は Waters 2690 (ウォーターズ) を使用し, 検出には Waters 2487 (ウォーターズ) を, 記録及びデータ解析にはミレニウム (ウォーターズ) をそれぞれ用いた。

3-3. HPLC 条件 カラム: Waters XTerra MS C18 (150×3.9 mm *i.d.*, 5 μm , ウォーターズ), 移動相: MeOH-1% 酢酸水溶液混液 (0 min, 15 : 85; 20 min, 25 : 75; 60 min, 65 : 35), 流速: 1.0 ml/min, カラム温度: 35°C 付近の一定温度, 測定波長: 360 nm, 注入量: 20 μl 。

3-4. 検量線の作成 Mangiferin (**1**, 10.7 mg) を精密に秤量し, 50% MeOH に溶解して全量 100 ml とした (0.107 mg/ml)。ここから **1**, **2**, **3** 及び **5** ml を正確にとり, それぞれに 50% MeOH を加えて正確に 10 ml とした標準溶液 (10.7, 21.4, 32.1, 53.5 及び 107.0 $\mu\text{g/ml}$) を用いて検量線を作成した。

3-5. 精度試験 繰り返し注入精度試験は, SRE (Lot. 9910A10) の試料溶液 (1 mg/ml, 20 μl) を 5 回繰り返して定量し, ピーク面積より C.V. 値を算出した。また添加回収試験は, SRE (Lot. 9910A10) の試料溶液 (1 mg/ml, 100 ml) に mangiferin (**1**, 0.25, 0.5 及び 1.0 mg) をそれぞれ添加して定量を行い, 回収率を算出した。

結果及び考察

1. *S. reticulata* 含有成分の糖質代謝酵素阻害活性 Table 1 に *S. reticulata* から得たフェノール性化合物の糖質代謝酵素に対する阻害活性を示した。比較的高収率で得られた mangiferin (**1**) に, スクララーゼ活性及びイソマルターゼ活性に対する阻害作用 (IC_{50} : スクララーゼ 87 $\mu\text{g/ml}$, イソマルターゼ 216 $\mu\text{g/ml}$) が認められた。また, アルドースレダクターゼに対しても, 単離した化合物の中で唯一阻害活性 (IC_{50} : 1.4 $\mu\text{g/ml}$) を示した。その他, スクララーゼ活性に対して (-)-epigallocatechin (**3**) が, マルターゼ活性に対して (-)-epicatechin (**2**) が, さらにイソマルターゼ活性に対して (-)-4'-*O*-methylepigallocatechin (**4**) が, それぞれ阻害作用 (IC_{50} : 130, 140 及び 179 $\mu\text{g/ml}$) を示したが, **5**, **6** については酵素阻害活性はほとんど認められなかった。

比較強いスクラーゼ阻害活性が認められた **1** のスクラーゼ活性及びイソマルターゼ活性に対する阻害様式を Lineweaver-Burk プロットを作成して検討したところ Fig. 3 に示すように競合阻害型であることが判明した。また阻害定数 (K_i) は, スクララー

Table 1. Inhibitory Effects of Constituents from *S. reticulata* on α -Glucosidases, α -Amylase, and Aldose Reductase (ARase) Activities

	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)				
	Sucrase	Maltase	Isomaltase	α -Amylase	ARase
Mangiferin (1)	87	>300(42)	216	>300(16)	1.4
(-)-epicatechin (2)	277	140	254	>300(35)	>6
(-)-epigallocatechin (3)	130	>300(47)	>300(40)	>300(14)	>6
(-)-4'- <i>O</i> -Methylepigallocatechin (4)	>300(27)	>300(35)	179	>300(12)	>6
(-)-epiafzelechin-(4 β →8)-(-)-4'- <i>O</i> -Methylepigallocatechin (5)	>300(-1)	>300(0)	>300(12)	>300(26)	>6
(-)-epicatechin-(4 β →8)-(-)-4'- <i>O</i> -Methylepigallocatechin (6)	280	>300(44)	>300(38)	>300(30)	>6
Salacinol (7)	0.84	3.2	0.59	NT	>6
Kotalanol (8)	0.58	2.8	1.9	NT	>6

Values in parentheses represent % inhibition at 300 $\mu\text{g/ml}$. NT indicates "not tested".

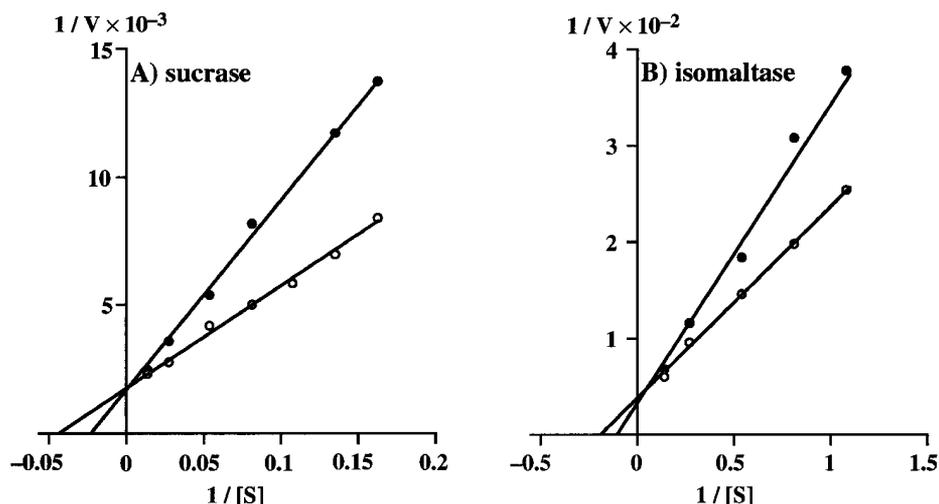


Fig. 3. Lineweaver-Burk Plots of Sucrase (A) and Isomaltase (B) Prepared from Rat Jejunum with (●) or without (○) 50 $\mu\text{g/ml}$ Mangiferin (1)

The substrate concentration were sucrose: 6.17–74 mM, isomaltose: 0.92–7.4 mM, respectively.

Table 2. Kinetic Constants (V_{\max} , K_m) of Sucrase and Isomaltase Prepared from Rat Jejunum and Inhibitor Constants (K_i) of Mangiferin (1)

Substrate	V_{\max} (mol/mg protein/h)	K_m (mM)	K_i ($\mu\text{g/ml}$)
Sucrose	556	21	55
Isomaltose	250	5.3	70

ゼ: 55 $\mu\text{g/ml}$, イソマルターゼ: 70 $\mu\text{g/ml}$ であった (Table 2)。以上の結果より, 1が糖質の吸収に関与する α -グルコシダーゼや, 糖尿病の合併症に関わるアルドースレダクターゼを阻害することが明らかになり, *S. reticulata*の重要な抗糖尿病作用成分であることが判明した。

2. SRE及び他の *Salacia* 属植物抽出物の mangiferin (1) の定量

2-1. HPLC 条件の検討 種々の溶媒条件を検討した結果, Fig. 4に示した MeOH/1% 酢酸水溶液混液 (0 min, 15 : 85; 20 min, 25 : 75; 60 min, 65 : 35) の直線グラジエントによって, 1のピークの良い分離が認められた (Fig. 5)。

2-2. 検量線の直線性 1の検量線は, Fig. 6に示すように 0–107.0 $\mu\text{g/ml}$ の範囲でピーク面積値 y と濃度 x との間に, 良好な直線性が認められた。最小二乗法により求められた回帰直線式は $y = 3.00 \times 10^7 x + 12111$ であり, 相関係数は $r = 0.9999$ であった。

2-3. 精度試験 SRE (Lot. 9910A10) の試料

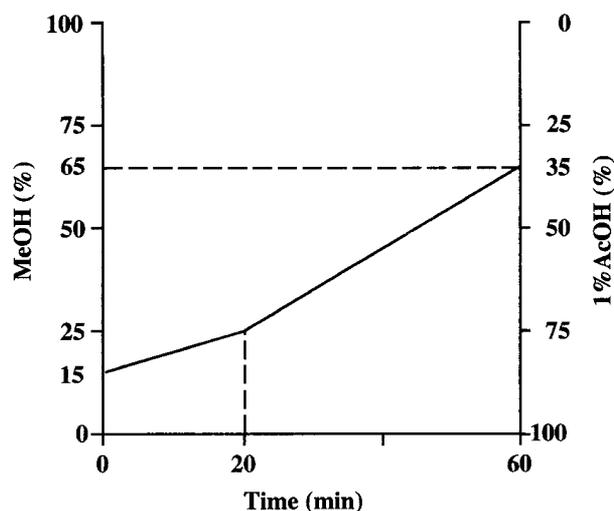


Fig. 4. Linear Gradient of Solvent for HPLC Analysis

溶液を連続計 5 回繰り返し注入して得た 1のピーク面積値の C.V. 値は, 0.67% で良好な値を示した。また, 添加回収試験における 1の回収率は 97.7–100% であった。

2-4. SRE 及び他の *Salacia* 属植物抽出物の mangiferin (1) 含量 Table 3に各抽出物中の 1の含量, 乾燥減量及びスクラーゼ阻害活性を示した。SRE 中の 1の含量は 0.9–2.3% であり, ばらつきが認められた。そこで, SRE 中の 1の含量とスクラーゼ阻害活性 (IC_{50}) の相関を調べたところ, Fig. 7に示すように高い相関 ($r = 0.934$) が認められ, 1が SRE の α -グルコシダーゼ阻害活性に対す

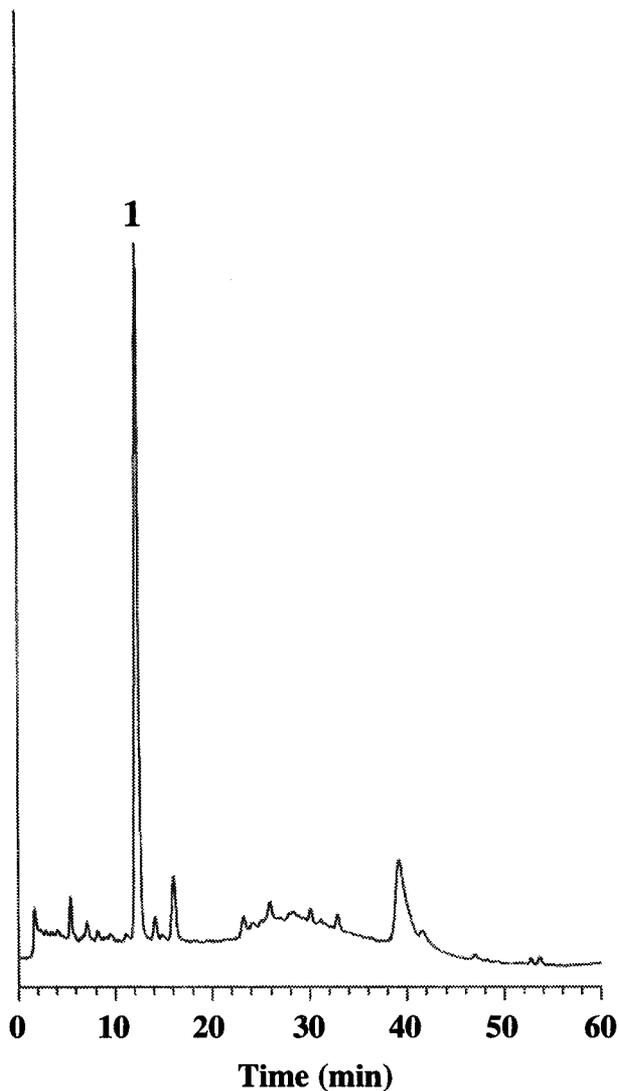


Fig. 5. Typical HPLC Chromatogram of SRE Mangiferin (1) t_R : 12.3 min

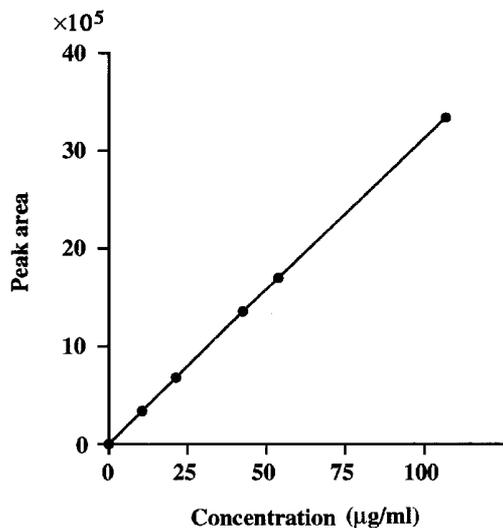


Fig. 6. Standard Plot of Mangiferin (1)

Table 3. Profiles of Extract and Sucrase Inhibitory Activities (S. I. A.) of Various *Salacia* Species

	Part	Yields of extract (%)	Loss on drying (%)	Contents of 1 (%)	S. I. A. IC ₅₀ (μg/ml)	
SRE	root					
<i>(S. reticulata)</i>						
		981201	7.5	4.7	2.3	23
		9906A06	7.3	4.5	2.2	17
		9910A10	13.8	3.6	0.9	56
		9911B11	9.8	6.2	1.9	27
		9912B12	8.7	4.8	1.4	33
		0001A01	12.7	6.9	0.9	70
<i>S. oblonga</i>	root	10.4	5.3	2.7	40	
<i>S. chinensis</i>	stem	10.3	5.1	12.1	76	
			11.0	5.2	22.4	>300
<i>S. prinoidea</i>	root	14.8	2.9	28.5	28	

Loss on drying was measured by the method described in Japanese Pharmacopoeia XIII. Sucrase from rat jejunum was used for measurement of S. I. A.

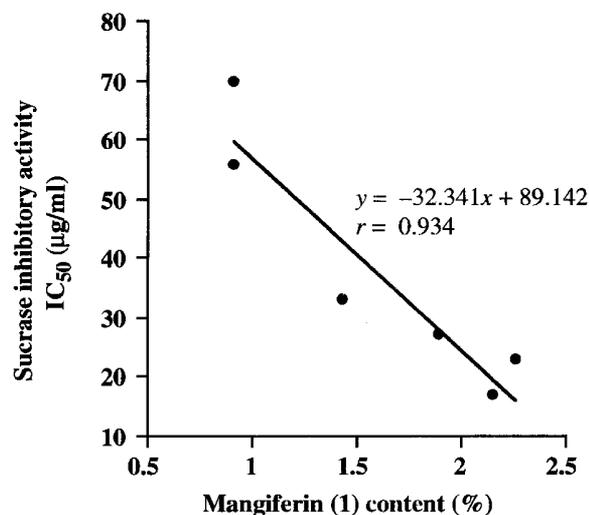


Fig. 7. Correlation of Mangiferin (1) Contents and Sucrase Inhibitory Activity of SRE

る寄与が極めて高いことが明らかになった (Fig. 7).

一方、他の *Salacia* 属植物から調製した抽出物についても、SRE と類似したクロマトグラムが得られ分離定量が可能であった。これら植物については、入手サンプル数が少ないため、抽出物中の 1 の含量とスクラーゼ阻害活性の相関については検討していない。本定量法が、他の *Salacia* 属植物の品質評価基準として適当かどうかについては、*S. chinensis* の結果にみられるように 1 の含量が高いにもかかわらず α -グルコシダーゼ阻害活性をほ

とんど示さない場合もあることから、慎重な対応が必要と考えられる。

以上の結果より、*S. reticulata* のフェノール性成分として得られた mangiferin (**1**) は、ラット由来の α -グルコシダーゼやアルドースレダクターゼに対して阻害活性を示し、SRE の活性に対する寄与が高いことが判明した。また近年 Ichiki ら¹³⁾により、**1** がインスリン非依存型糖尿病マウス (KK-A^y) において、血糖降下作用を示すことも報告されており、今回確立した **1** の HPLC による再現性の良い定量法は、*S. reticulata* や SRE さらにはこれらを配合した製剤の抗糖尿病活性の品質管理を行う上で有用な指標になると考えられる。

REFERENCES

- 1) Yoshikawa M., Murakami T., Shimada H., Matsuda H., Yamahara J., Tanabe G., Muraoka O., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 8367–8370 (1997).
- 2) Yoshikawa M., Murakami T., Yashiro K., Matsuda H., *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 1339–1340 (1998).
- 3) Matsuda H., Murakami T., Yashiro K., Yamahara J., Yoshikawa M., *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 1725–1729 (1999).
- 4) a) Yoshikawa M., Yutana P., Kageura T., Matsuda H., Abstracts of papers, the 121th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, Sapporo, p. 156 March, 2001; b) Yoshikawa M., Murakami T., Kishi A., Yutana P., Matsuda H., Abstracts of papers, the 121th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, Sapporo, p. 156 March, 2001.
- 5) a) Fujita M., Inoue T., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2342–2348 (1982); b) Wada H., Shimizu Y., Tanaka N., Cambie C. R., Braggins E. J., *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 461–465 (1995).
- 6) Nishino C., Enoki N., Tawata S., Mori A., Kobayashi K., Fukushima M., *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 139–143 (1987).
- 7) a) Monache F. D., Pomponi M., Marini-Bettolo G. B., D'Albuquerque I. L., Goncalves de Lima O., *Phytochemistry*, **15**, 573–574 (1976); b) Anjaneyuru A. S. R., Rao M. N., *Indian J. Chem.*, **18B**, 292–293 (1979).
- 8) Weeratunga G., Bohlin L., Verpoorte R., Kumar V., *Phytochemistry*, **24**, 2093–2095 (1985).
- 9) Hussein G., Nakamura N., Meselhy M. R., Hattori M., *Phytochemistry*, **50**, 689–694 (1999).
- 10) Sanchez G. M., Re L., Giuliani A., Nunez-Selles A. J., Davison G. P., Leon-Fernandez O. S., *Pharmacol. Res.*, **42**, 565–573 (2000).
- 11) Li H., Miyahara T., Tezuka Y., Namba T., Nemoto N., Tonami S., Seto H., Tada T., Kadota S., *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 1322–1326 (1998).
- 12) Chattopadhyay U., Das S., Guha S., Ghosal S., *Cancer Lett.*, **37**, 293–299 (1987).
- 13) Ichiki H., Miura T., Kubo M., Ishihara E., Komatsu Y., Tanigawa K., Okada M., *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 1389–1390 (1998).
- 14) Kessler M., Acuto O., Storelli C., Murer H., Müller M., Semenza G., *Biochim. Biophys. Acta*, **506**, 136–154 (1978).