

# ギムネマ酸の抗齶蝕作用と化学構造との 関連の解析

波多野 博 行

## 1. まえがき

ギムネマ酸 (Gymnemic acid) という物質は、インド原産の植物ギムネマシルベスタ (*Gymnema sylvestre*, R. Br.) に含まれる化合物である。この植物は gur-mar (砂糖を壊すもの) とも呼ばれ、インドでは紀元前6世紀頃、すでに糖尿病に効く薬草として知られていたことがインドの古い薬物書 *Susruta-samhita*, *Nirnaya-Sagar Press, Bombay* に記載されていると云う<sup>1)</sup>。

この植物の葉の一片を噛むと、舌の甘味を感じずる感覚が一瞬の裡に無くなって、砂糖を舐めても砂糖を噛むが如くである。この興味ある現象と、古くからの薬草としての効果、とによって生理学や薬学の分野で注目され、特に糖尿病 (*medhumeha* 蜜の尿, サンスクリット語) の薬理作用に関する研究がなされてきたものである。

わが国では、鳥取大学医学部生理学教室の日地康武教授の研究室において詳しい生理学的研究がなされている<sup>1,2)</sup>。その結果によると、ギムネマシルベスタの葉から抽出したギムネマ酸を含む抽出物は幾つかの生理活性を示す。まず第一は、舌の甘味感覚を特異的に失わせる作用があり、次に、小腸からの糖の吸収を抑える作用があることが見出された。さらに、ギムネマ酸抽出物には抗ウイルス作用や抗齶蝕作用があるとも云われ、二三の酵素の活性を阻害することも知られている。このうち、グルコシルトランスフェラーゼの活性を阻害する作用があることは、抗齶蝕作用と関連があるので注目される。この酵素は、口腔内で歯垢の生成に関与するとされているから、ギムネマ酸のグルコシルトランスフェラーゼの活性阻害は、ギムネマ酸が歯垢の生成を抑制する作用に関連があることになる。

ギムネマ酸抽出物が、このようないろいろな生理活性を発現することは、化学の立場からみると、ギムネマ酸抽出中にはギムネマ酸だけではなく、化学構造の異なる類縁化合物が存在することを予想させるものである。

本論文は、筆者が鳥取大学医学部日地康武教授、井元敏明助教授、京都大学理学部機器分析センター山本文子博士らと共同して行っている「ギムネマ酸の化学構造と生理活性との関連の解析」に関する研究<sup>3)</sup>のうち、特に抗齶蝕作用との関連を解析した結果について述べるものである。

## 2. ギムネマ酸の生理活性と抗齶蝕作用

ギムネマシルベスタの葉から抽出したギムネマ酸を含む物質には、興味深い生理作用が幾つか知られている。その一つはヒトの舌の甘味感覚が失われる作用である<sup>4)</sup>。この現象は極めてドラマティックで瞬時に起こり、酸味や塩味、あるいは苦味や辛味などの感覚には全く影響がない。このことからこの作用は舌の味蕾細胞の甘味受容体の甘味識別能に選択的に働くもので、ギムネマ酸が味蕾細胞膜上の甘味受容蛋白質と特異的に結合し、受容機構を選択的に阻害するものとして、レセプターの機能の面から注目されるものである。また、ギムネマ酸抽出物はラットの小腸から葡萄糖や蔗糖が吸収されるのを抑制する効果があり、ギムネマ酸抽出物を投与すると血中の葡萄糖の濃度は著しく低下することが見出された<sup>5,6)</sup>。この作用の現れ方は、インシュリンの作用の現れるパターンとよく似ている点で注目される。その他、抗ウイルス作用に関しては糖尿病ウイルスの活性と関連があると思われ、また、酵素活性阻害作用に関しては、グルコシルトランスフェラーゼの活性を阻害するので抗齶蝕作用と関連して注目される<sup>7)</sup>。

齲蝕は口腔内連鎖状球菌 *Streptococcus mutans* による多因性疾患で、蔗糖の存在により起こるものとされている<sup>7)</sup>。蔗糖 (Sucrose, Saccharose) は葡萄糖 (Glucose) と果糖 (Fructose) との 1.4-グルコシド結合による二糖 (Disaccharide) で、図 1 に示す構造を持って

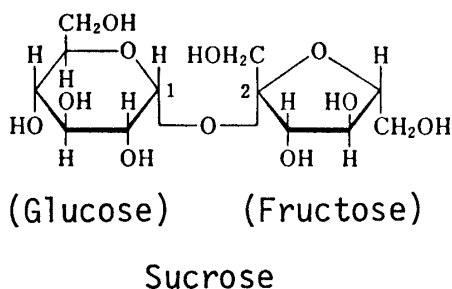


図 1 蔗糖の化学構造

いる。この糖は転化酵素 (Invertase) によって葡萄糖と果糖に分解されるが、*S. mutans* にはグルコシル基転移酵素 (Glucosyl transferase) が含まれていて、この酵素は蔗糖を基質としてそのグルコシル基を転移させ、菌体外にグルカン (Glucan) を生成する。グルカンは葡萄糖が重合した多糖 (Polysaccharide) で、水に溶けないので口腔内で沈着する。この沈着が歯の表面のエナメル質に起こると歯垢 (Plaque) となる。一方、インベルターゼにより生成した葡萄糖や果糖、および食物中の糖類は口腔内細菌の作用により醗酵していろいろな有機酸が生成される。これらの酸性物質が歯垢の周辺に滞留してエナメル質からカルシウム成分が溶出されると齲蝕が進行することとなる。

この齲蝕機構は図 2 のように要約できる。この

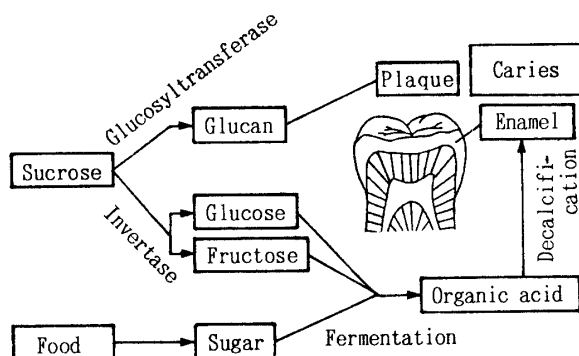


図 2 齲蝕の機構

過程においてギムネマ酸がグルコシルトランスフェラーゼを阻害するとグルカンの生成が抑制さ

れ、歯垢が沈着し難くなり、したがって歯垢周辺での酸性物質の滞留も少なくなり、エナメル質の脱灰も無くなって齲蝕が起こらないことになる。

### 3. ギムネマ酸成分の抽出と高速液体クロマトグラフィーによる分離

ギムネマシルベスタの乾燥した葉を温水で抽出し、ガーゼで濾過して沈澱物を除く。この液を硫酸酸性 pH 3.0 にして遠心分離して沈澱を集める。この沈澱を水洗いした後エタノールを加えて遠心分離して沈澱を除く。エタノール可溶部にアセトンを加えて沈澱を除く。上澄液を蒸発乾固して得た乾固物をジエチルカーボネートで抽出したものをギムネマ酸抽出試料とする。以上の調製法を図 3 に要約する。

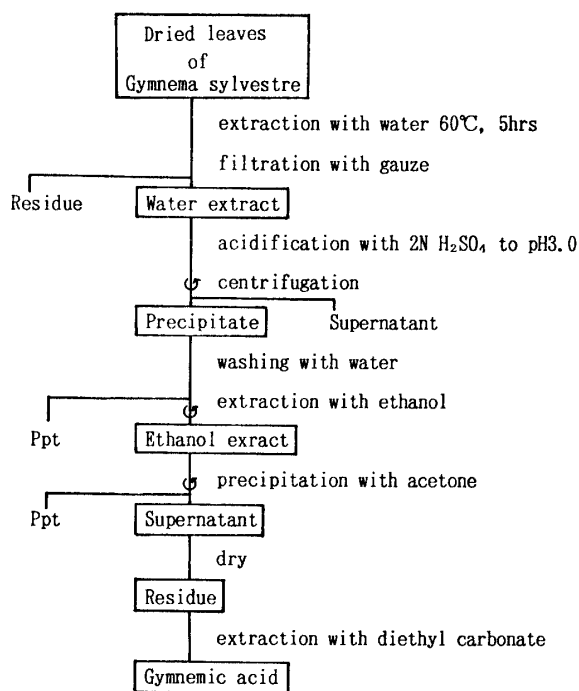


図 3 ギムネマ酸試料の調製法<sup>3)</sup>

このギムネマ酸抽出物を、試験管内でグルコシルトランスフェラーゼが蔗糖からグルカンを生成する系に加えると、グルカンの生成が阻止されることを確めた。

このギムネマ酸抽出物を、ODS シリカを充填したカラム (内径 4.6 mm, 長さ 10 cm) に添加し、酢酸酸性 62% メタノール水溶液で室温で溶出する。紫外部 230 nm における吸収で検出すると、図 4 に示すように、十数個のピークが検出される。これによってギムネマ酸抽出試料中に数十種の成分が含まれていることが解った。

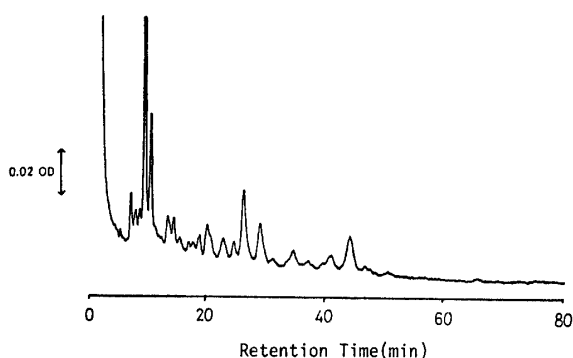


図4 ギムネマ酸抽出試料の高速液体クロマトグラム  
Sample : GA Extract 200 $\mu$ g, Column ODS Silica, 4.0mm $\phi$ ×100mm, Eluent : MeOH/H<sub>2</sub>O/AcOH, 62.0/37.5/0.5, Detection : UV 230nm, Temperature : 25°C

#### 4. 高速液体クロマトグラフ常圧イオン化質量分析計連結システムによるギムネマ酸の構造解析

クロマトグラフは混合物から純粋な化合物を分離する装置であるから、分離された成分が何であるかという定性や、幾らあるかという定量は、他の分析装置を用いて行わなければならない。ふつうは検出器と呼ばれる紫外可視分光光度計を用いて行われるが、最終的な構造決定には質量分析計で質量を測り、核磁気共鳴分光計で構造を確定するのが構造解析の常法である。

筆者は高速液体クロマトグラフと常圧イオン化質量分析計を連結した装置 (High Performance Liquid Chromatograph/Atmospheric Ionizing Mass Spectrometer : HPLC-APIMS) と核磁気共鳴分光計 (Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer : NMR) とを用いてギムネマ酸抽出物中の十数種の類縁化合物の一つ一つについて、それぞれの化学構造を決定し、どの構造がどの生理活性に関連するものであるかを解析した。

ギムネマ酸抽出物を試料として、高速液体クロマトグラフ常圧イオン化質量分析計を用いて全イオン質量分析を行った結果が図5に示す全イオン質量クロマトグラムである。この結果、13個のピークを示す主たる成分について質量数を求めると、No.1から順にそれぞれ764, 766, 764, 808, 808, 812, 808, 654, 848, 846, 870, 606\*, 670\* (\*質量数は未確定) と決定された。これらのうち、先にグルカンの生成阻止に効果のあった画

分No.10について HPLC/APIMS による質量スペクトルを測定すると図6に示す結果がえられる。

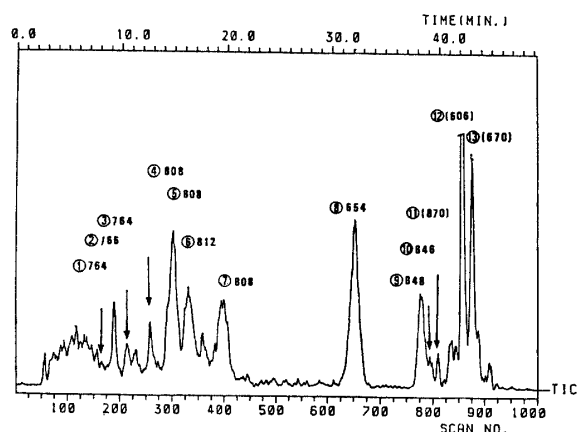


図5 ギムネマ酸抽出試料の全イオン質量スペクトル3)

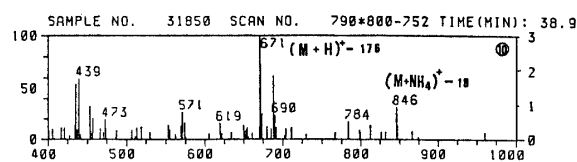


図6 ギムネマ酸抽出試料分画ピークNo.10の質量スペクトル3)

この試料について、さらにインビーム法で質量スペクトルを測定すると図7に示す結果が得られる。

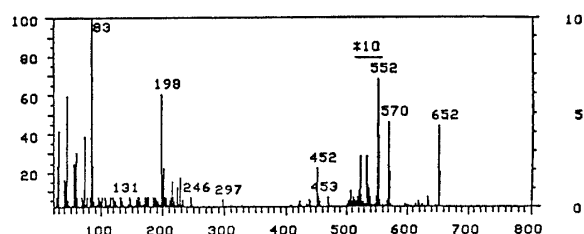


図7 ギムネマ酸抽出試料分画ピークNo.10のインビーム法による質量スペクトル3)

これらの求めた質量数を解析した結果とNMRによる構造解析の結果この化合物の構造は図8に示すものであることが決定された。この構造式の示すR<sub>1</sub>とR<sub>2</sub>はチグリン酸エステルであり、これがグルカン生成抑制効果のある化合物であることが図9に示すように決定された。R<sub>1</sub>～R<sub>5</sub>が遊離のヒドロキシル基である化合物は歯垢生成作用が全く無いことも明らかにされた。

なおこの他に、R<sub>1</sub>がチグリン酸エステル、R<sub>3</sub>が酢酸エステルの化合物も同様の効果があり、また、R<sub>1</sub>あるいはR<sub>3</sub>がチグリン酸エステルである化合物もある程度グルカン抑制効果を示すもので

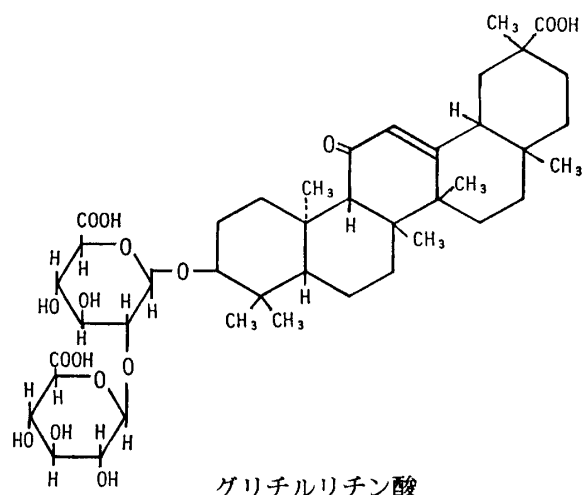
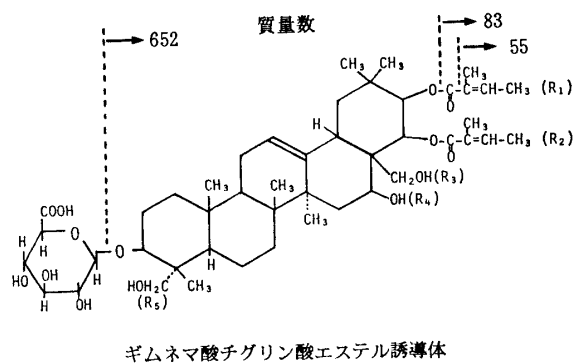


図8 ギムネマ酸の構造  
( $R_1$ ,  $R_2$ がチグリン酸エステル誘導体のもの)  
付図 グリチルリチン酸の構造

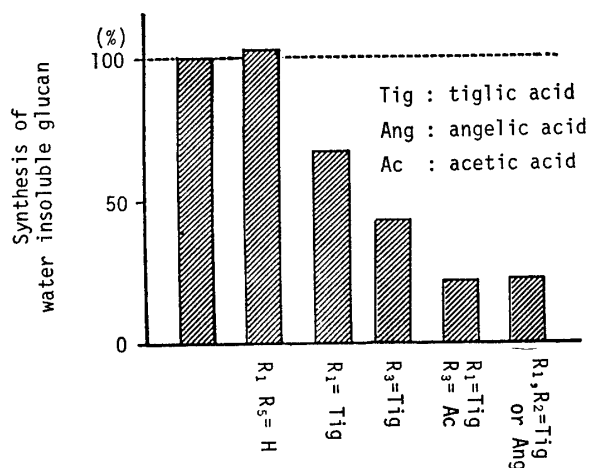


図9 ギムネマ酸のチグリン酸エステル誘導体のグルカン生成抑制効果<sup>3)</sup>  
(糖 30mM, 37°C, pH 7.0, 60min)

ある。これらの構造とグルカン生成に関与するグルコシルトランスフェラーゼの阻害機構に関しては今後の解析にまたねばならない。

以上の結果から、ギムネマ酸の化学構造は図8に示すように、グルクロン酸を糖成分とするトリテルペン系配糖体であり、そのうち抗齶蝕作用を

示す成分はギムネマ酸のチグリン酸エステル誘導体であることが解った。

ギムネマ酸の構造は、すでに、甘草から抽出されているグリチルリチン酸によく似た構造であることが図8からわかる。グリチルリチン酸は砂糖の数百倍もの甘味を持った化合物として知られているもので、一方のギムネマ酸は砂糖の甘味を完全に消失させる作用があることから、両者が化学構造はよく似ているが、その作用は、一見相反するものを示すことは甚だ興味深いことであると共に、生理活性物質の生理作用と化学構造との関連の重要性を示すものである。

本研究は、鳥取大学医学部日地康武、井元敏明、京都大学理学部山本文子らの諸氏との共同研究の成果である。また、高速液体クロマトグラフ常圧イオン化質量分析に当たっては日立製作所那珂工場鷹野重威、加藤義明の諸氏の協力を得た。共に記して感謝の意を表す。

## 文 献

- 1) Indian Materia Medica (1954) ; 井元敏明, インド産植物ギムネマシルベスタ由来配糖体の血糖値上昇抑制作用, 製薬工場, 7 (1), 46-49 (1987) より引用
- 2) 日地康武編「ギムネマシルベスタ」, たたら書房 (1985)
- 3) T. Imoto, Y. Hiji, F. Yamamoto, H. Hatanoto : Development of HPLC/APIMS ; Determination of Structures and Activities of Gymnemic Acids, Pittsburgh Conference ABSTRACT BOOK, NO. 1652 (1988)
- 4) Hooper, D. : An Examination of the leaves of *Gymnema sylvestri*, J. Trans., 17 867-868 (1987)
- 5) 吉岡伸一, 他 : インド産植物ギムネマシルベスタ葉から抽出したギムネマ酸の蔗糖負荷試験における血糖値上昇抑制効果, 医学のあゆみ, 135, 241-242 (1985)
- 6) 吉岡伸一 : ラット小腸におけるギムネマ酸およびナツメ葉抽出物の葡萄糖吸収抑制効果, 米子医学雑誌, 37, 142-154 (1986)
- 7) 三好美智夫, 井元敏明, 笠木健 : 米子医学雑誌, 38, 127-137 (1987)
- 8) 浜田茂幸, 小谷尚三 : 齶蝕と細菌 (上), (下), 歯界展望, 41, 56-62, 227-234 (1973)