

DART-TOF/MS によるサラシア属植物の保健成分の検出

芳野恭士 *1

Determination of health beneficial components in Salacia plants using DART-TOF/MS

YOSHINO Kyoji *1

Abstract: Direct analysis in real time (DART) coupled with time-of-flight mass spectrometry (TOF/MS), DART-TOF/MS, is one of the convenient methods to determine some active components in natural products, because almost no pretreatment is needed. In this study, we tried to determine salacinol and mangiferin, which could inhibit the activities of sugar-digestive enzymes, in the stem extract of Salacia plant (*Salacia reticulata*) with DART-TOF/MS. The ions at [M] mass of 334 and [M + H]⁺ of 335 were determined as salacinol, and the ions at [M] mass of 244 and [M + H]⁺ of 245 were determined as the aglycone of mangiferin. Then, this method could be useful to confirm the presence of these available compounds in Salacia products. In the case of (-)-epicatechin, an ion at [M] mass of 290 was not detected, so further investigation is necessary to research the suitable conditions for the analysis of catechins with DART-TOF/MS.

Key Words: *Salacia reticulata*, DART-TOF/MS, Salacinol, Mangiferin

1. はじめに

サラシア属植物は、インドやスリランカなどの熱帯地域に生息しているデチンムル科のツル性樹木である。インド、スリランカの伝統医学であるアーユルヴェーダに記載のあるハーブの一つで、その根や幹が糖尿病の初期治療等に使用されてきた[1,2]。作用機序の一つとして、二糖類の消化酵素である α -グルコシダーゼ (AGc) 活性を阻害する作用があり[3]、その有効成分としてはチオ糖硫酸塩のサラシノール[4]およびコタラノール[5]とその類縁化合物、キサントン配糖体のマンギフェリン[6]等が知られている。また、ポリフェノール成分として、(-)-エピカテキン (EC), (-)-エピガロカテキンとそのメチル化合物や 2 量体といったカテキン類とその誘導体も検出されている[7]。

本研究では、リアルタイム直接分析 (DART) -飛行時間型質量分析 (TOF/MS) 法を用いて、サラシア属植物中のこれらの成分を検出するための簡便な方法について検討を行った。

2. 材料および方法

2. 1 サラシア属植物の幹エキスの調製

サラシア属植物として、(株)盛光より供与されたスリランカ産の *Salacia reticulata* の幹を用いた。この幹の微粉砕物に 9 倍量の水を加え、50℃、1 時間振盪抽出した。抽出物を 10℃、4000 rpm、20 分間遠心分離した後、その上清を凍結乾燥させてエキスを得た。収量は約 6%であった。このエキスについて、0.001%(w/v)の水溶液を調製して DART-TOF/MS による分析を行った。

2. 2 DART-TOF/MS 法によるサラシノールとマンギフェリンの定性分析

サラシア属植物の幹エキスについて、それに含有されるサラシノールとマンギフェリンの定性分析を DART-TOF/MS 法を用いて行った。装置は JEOL 社製 DART イオン源装着 JMS-T100LC AccuTOF™ LC-TOFMS、イオン化ガスはヘリウム、ガス温度は 350℃、正イオンモードで測定した。オリフィス 1 電圧は 85 V、オリフィス 2 電圧は 5 V、リングレンズ電圧は 15 V、ピーク電圧は 500 V とした。測定範囲は m/z 50-1000 Da を用いた。

3. 結果および考察

サラシア属植物普及協会では、サラシア属植物を含有する製品の品質を確認するための基準の一つとして、サラシア属植物のエキスについて「サラシア属植物特有の成分で

*1 物質工学科

Department of Chemistry & Biochemistry

あるサラシノールの定性分析」によるサラシア属植物であることの確認試験を行うことを推奨している[8]。サラシノールが選択された理由としては、AGc 活性阻害作用を示す主要成分であることと、その標準物質が市販されていることが考えられる。現在、サラシノールの定量分析法には、液体クロマトグラフィー/質量分析 (LC/MS) 法[9]やキャピラリーゾーン電気泳動法[10]が知られている。一方、その定性分析法としては、簡便な方法が見出されていない。

DART-TOF/MS 法は、分析のための試料の前処理がほぼ必要なく、粗製の天然物エキス等をそのまま使用できる簡便な定性分析の手法の一つである。しかし、これまでにこの新たな分析方法のための分析条件については、十分に検討されていないものと思われる。我々は、アカザカズラ (*Anredera cordifolia*) の葉に含まれる糖吸収抑制作用を持つトリテルペノイドサポニンの boussingoside A₁ について、DART-TOF/MS による定性分析を報告した[11]。

本実験では、サラシア属植物の幹エキスについて、まずサラシノールの存在を DART-TOF/MS で検出することを試みた。本研究で分析を行った化合物の化学構造を図 1 に示す。サラシノールの分子量は 334 であるため、 m/z 330 - 355 の範囲での DART-TOF/MS のスペクトルを図 2 に示す。 m/z 334 および m/z 335 に、サラシノールの分子イオン[M]とそのプロトン付加体分子イオン[M + H]⁺に相当するピークが見られ、サラシノールの存在が示唆された。次に、マンギフェリンについて検討したが、マンギフェリンの[M]および[M + H]⁺に相当する位置には、小さなピークしか認められなかった。そこで、そのアグリコンを確認するため、 m/z 235 - 255 の範囲での DART-TOF/MS のス

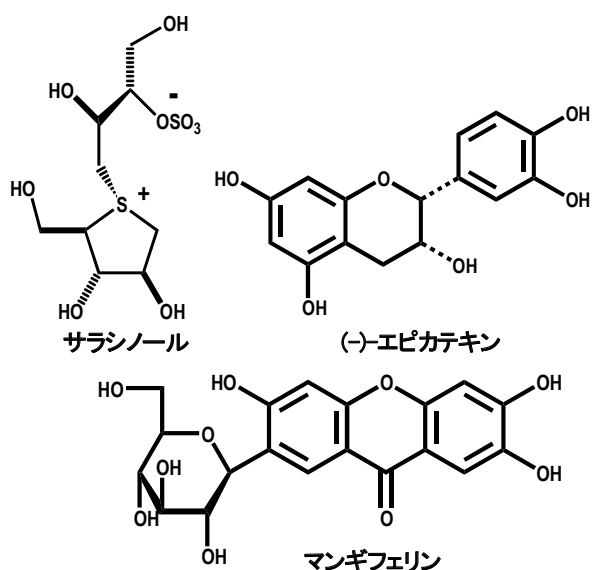


図 1 サラシノール、マンギフェリン、(-)エピカテキンの化学構造

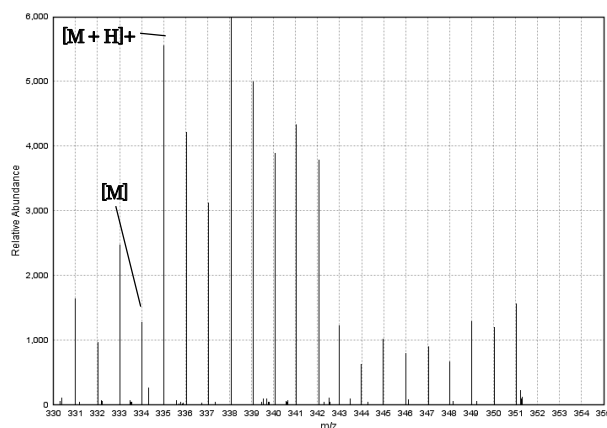


図 2 サラシア属植物の幹エキス中のサラシノールの DART-TOF/MS スペクトル

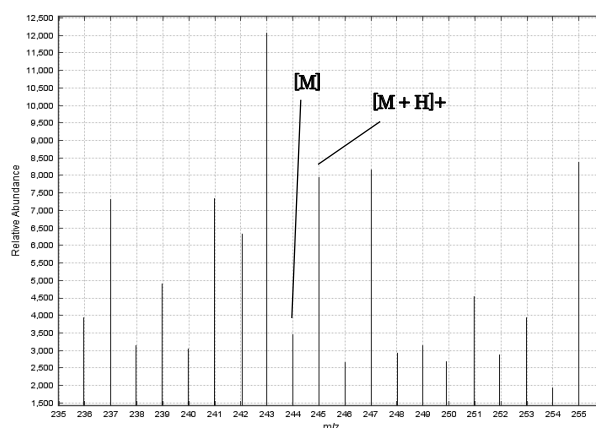


図 3 サラシア属植物の幹エキス中のマンギフェリンアグリコンの DART-TOF/MS スペクトル

ペクトルを図 3 に示す。 m/z 244 および m/z 245 に、マンギフェリンのアグリコン部分の [M] と [M + H]⁺ に相当するピークが見られ、マンギフェリンの存在が示唆された。フラボノイド類とそのアグリコンの DART-TOF/MS による分析については、これまでに Wang ら[12]の報告がある。EC 等のカテキン類あるいはその類縁化合物についても、DART-TOF/MS による分析の報告は少ない。Kpegba ら[13]は、カシア属の植物 (*Cassia sieberiana*) の根に含まれるエピアフラゼレキンを DART-TOF/MS で測定している。しかし、IonSense 社のアプリケーションノート[14]では、チャ (*Camellia sinensis*) のカテキンを DART-TOF/MS で測定する場合、その水酸基をトリメチルシリル化により保護しないと熱分解により [M] のピークが検出されない可能性があることが示されている。実際、本研究で用いた実験条件下で EC の標準品の 0.1%(w/v) 水溶液を分析したところ、その分子量である 290 に相当するピークは見られなかった (図 4)。マンギフェリンやカテキン類は、高速液体

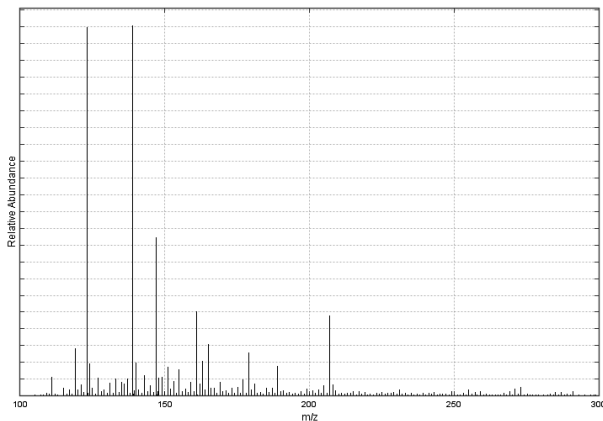


図4 (-)-エピカテキンのDART-TOF/MSスペクトル

クロマトグラフィー (HPLC) を用いて容易に分析できるが[15]、カテキン類を DART-TOF/MS で測定する場合には分析条件や試料の前処理の検討を行う必要があるものと考えられる。

4. まとめ

本研究の結果から、サラシア属植物に含まれる保健成分のうち、サラシノールとマンギフェリンについては DART-TOF/MS を用いてその定性分析を行うことが可能であることがわかった。DART-TOF/MS は、測定対象の試料を簡単な前処理のみで分析できるため、今後、医薬品や保健機能食品、あるいは毒物等に含まれる特定成分の検出や同定への利用が期待されている。

5. 参考文献

- [1] M. Modak, P. Dixit, *et al.* (2007): *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **40**, 163-173.
- [2] 吉川雅之 (2002): *化学と生物*, **40**, 172-178.
- [3] 吉川雅之, Y. Pongpiriyadacha, 他 (2003): *Yakugaku Zasshi*, **123**, 871-880.
- [4] M. Yoshikawa, T. Morikawa, *et al.* (2002): *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 1547-1554.
- [5] M. Yoshikawa, T. Murakami, *et al.* (1998): *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 1339-1340.
- [6] 吉川雅之, 西田典永, 他 (2001): *Yakugaku Zasshi*, **121**, 371-378.
- [7] M. Yoshikawa, K. Ninomiya, *et al.* (2002): *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 72-76.
- [8] サラシア属植物 規格基準策定に向けての協会の取り組み, サラシア属植物普及協会, <http://salacia-association.jp/approach.html>, 2019.9.29 取得.

jp/approach.html, 2019.9.29 取得.

- [9] O. Muraoka, T. Morikawa, *et al.* (2010): *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **52**, 770-773.
- [10] W. F. Zandberg, S. Mohan, *et al.* (2010): *Anal. Chem.*, **82**, 5323-5330.
- [11] 芳野恭士, 嘉島康二, 他 (2018): 沼津高専研究報告, **52**, 33-38.
- [12] L. Wang, S. Zeng, *et al.* (2016): *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **121**, 30-38.
- [13] K. Kpgba, A. Agbonon, *et al.* (2011): *J. Nat. Prod.*, **74**, 455-459.
- [14] Green tea analysis with DART, IonSense Application Notes, IonSense Inc., <https://www.ionsense.com/internal/appNotesDetails.cfm/30/en/2>, 2019.9.29 取得.
- [15] 芳野恭士, 岸 由紀乃, 他 (2012): *日本栄養・食糧学会誌*, **65**, 221-227.