グァバ葉抽出茶の糖類分解酵素活性阻害ならびに消化管輸送 およびグルコース吸収抑制による血糖値上昇抑制作用

山 内 有 信^{*1}, 稲 井 玲 子^{*2}, 東 元 稔^{*2}

^{*1}鈴峯女子短期大学専攻科栄養専攻, ^{*2}名古屋経済大学人間生活科学部

Suppressive Effect of Guava Leaf Tea on the Increase in Blood Sugar Levels by Its Inhibition of Saccharolytic Enzyme Activity, Gastrointestinal Transport and Glucose Absorption

Arinobu Yamauchi ^{*1}, Reiko Inai ^{*2} and Minoru Higashimoto ^{*2}

^{*1}Suzugamine Women's College, Graduate Program for a Major in Advanced Food and Nutrition ;

^{*2}Nagoya Keizai University, Faculty of Human Life and Sciences

Guava (*Psidium guajava* L.) has traditionally been used as a remedy for diabetes mellitus among people in the tropical and subtropical regions. To investigate the preventive effect of guava leaf tea (GLT) on the increase in blood sugar level, several studies were performed both *in vitro* and *in vivo*. An *in vitro* study showed some inhibitory effects of GLT on the activity of α -amylase, a group of starch-hydrolyzing enzymes. It was found that GLT markedly restrained the gastrointestinal transport and absorption of glucose in the small intestine after an oral administration of 1 g of glucose to rats. GLT also suppressed the increase in blood sugar levels induced by the glucose administration. These results suggest that the inhibitory effect of GLT on the increase in blood sugar levels may be attributable to its inhibition of saccharolytic enzyme activity, as well as of the gastrointestinal transport and absorption of glucose in the small intestine.

Jpn. J. Nutr. Diet., 66 (1) 25 ~ 29 (2008)

Key words : guava leaf tea, blood sugar level, α -amylase activity, gastrointestinal transport, glucose absorption

緒 言

日本人で最もよく飲まれる飲料として茶が挙げられ、実際自動販売機や店舗の飲料コーナーにおいても種々の茶が販売されている。また、近年は単に茶といっても緑茶だけではなく、紅茶、烏龍茶、麦茶をはじめ、いろいろな葉から抽出した液をブレンドしたものなど抽出原料の種類も豊富である。

この数ある抽出原料の一つであるグァバ (*Psidium guajava* L.) は熱帯、亜熱帯地方に広く自生し、果実や根とともに葉も生薬として古くから糖尿病の民間療法として用いられている¹⁾。そして、この民間療法の科学的な裏づけとして、グァバ葉抽出液における血糖上昇抑制効果^{2~6)}や、糖類分解酵素の活性阻害^{3, 7)}についてもすでに報告されている。消化酵素阻害物質の利用として α -アミラーゼ阻害物質や α -グルコシダーゼ阻害薬など種々の物質が考えられるが^{8~10)}、デンプンの消化吸収阻害によって血糖値やインスリンの上昇を抑

制させることから糖尿病の予防や治療に有用であると報告されており⁸⁾、抗肥満、抗糖尿病への利用が試みられ、日本では α -グルコシダーゼ阻害に加えて α -アミラーゼ阻害作用も持つアカルボース (バイエル薬品株、大阪) や、2 糖類分解酵素阻害作用のあるボグリボース (武田薬品工業株、大阪) が糖類分解酵素阻害剤として、糖尿病治療薬として臨床で用いられている³⁾。

そこで、グァバ葉抽出液の血糖値上昇抑制効果の追試として、*in vitro* でのグァバ葉抽出液の α -アミラーゼ活性阻害作用を調べた。さらに、ラットによるグルコースの胃から小腸への移行および小腸からの吸収の状況についても調べた。

方 法

実験 1. グァバ葉抽出茶による α -アミラーゼの活性阻害 (*in vitro*)

グァバ葉抽出茶によるデンプン消化酵素の活性阻害

キーワード：グァバ葉茶、血糖値、 α -アミラーゼ活性、消化管機能、グルコース吸収

(連絡先：山内有信 〒733-8623 広島市西区井口4-6-18 鈴峯女子短期大学 電話 082-278-1103 (代) 082-278-1105 (ex.323)

FAX 082-277-0301 E-mail arinobu@suzugamine.ac.jp)

について、三雲らによるジアスターゼの消化によるデンプンの α 化度の測定¹¹⁾を応用して、次のような方法で測定した。

1) グァバ葉抽出茶

グァバ葉抽出茶として、厚生労働省より特定保健用食品の認可を受けた市販グァバ茶（蕃爽麗茶：ヤクルト㈱，東京）を使用した。

2) 試薬

(1) 基質液（8%可溶性デンプン）

可溶性デンプン（片山化学工業㈱，大阪）16gを100ml程度の蒸留水に浮遊させ、攪拌しながら透明になるまで沸騰水で湯煎して徐々に加熱し、冷却後蒸留水を加えて200mlに定容して作成。

(2) 酵素液（5% α -アミラーゼ液）

麦芽由来と微生物由来を配合した粉末 α -アミラーゼ（ジアスターゼ：片山化学工業㈱，大阪）5gを蒸留水100mlに溶解したもの（以後「対照-E」とする）と、グァバ葉抽出茶100mlに溶解したもの（以後「GLT-E」とする）を作成。

なお、 α -アミラーゼ（ジアスターゼ）の至適pHは5.0、安定pHは5.0～8.0であり、今回作成した酵素液のpHは、対照-E = 5.58，GLT-E = 5.50と安定pH範囲内であった。また、0.1N塩酸あるいは0.1N水酸化ナトリウム溶液を用いて、pH5.0～5.8での酵素活性（マルトース生成量）を調べた結果、図1に示すように、pH5.4～5.8の範囲では、pH5.0と比較して活性が低いものの、ある程度のpHの範囲で安定した活性が得られたことから、今回は、対照-Eに0.1N塩酸を加えることでGLT-Eと同じpH5.50に調整して使用した。

(3) 1N塩酸

市販の1N塩酸（ナカライテスク㈱，京都）を使用。

(4) 0.1N（0.05mol/l）ヨウ素溶液

市販の0.1Nヨウ素溶液（ナカライテスク㈱，京都）を使用。

(5) 0.1N水酸化ナトリウム溶液

市販の0.1N水酸化ナトリウム溶液（ナカライテスク㈱，京都）を使用。

(6) 0.1Nチオ硫酸ナトリウム溶液

市販の0.1Nチオ硫酸ナトリウム溶液（ナカライテスク㈱，京都，factor = 1.004）を使用。

(7) 10%硫酸液

50%硫酸液（ナカライテスク㈱，京都）を5倍希釈して作成。

3) 手順

(1) 18個の三角フラスコを3つに分類し、50mlの

図1 α -アミラーゼ液のpHとデンプンの消化（マルトース生成量）
t検定

基質液をそれぞれに分注し（A：対照用，B：GLT用，C：盲検用），37℃に設定した恒温槽で温めた。また、酵素液も基質液と同じ温度になるように同様に恒温槽で保温した。

(2) 対照用のA液に対照-E，試験用のB液にGLT-Eをそれぞれ5ml加え，正確に5分間37℃で軽く攪拌しながら温め，5分経過後すばやく2mlの1N塩酸を加えて酵素反応を停止させた。盲検用のC液は，2mlの1N塩酸を加えて攪拌後に蒸留水ベースの酵素液5mlを加えた。

(3) A，B，C各液それぞれをメスフラスコに蒸留水で洗い込み，100mlに定容した。

(4) A，B，C各液それぞれの希釈液を10mlずつ6つの三角フラスコに分注し，10mlの0.1Nヨウ素溶液，18mlの0.1N水酸化ナトリウム溶液を加え，正確に15分間室温に置き，15分経過後すばやく2mlの10%硫酸を加えた。

(5) 0.1Nチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定し，次式によってマルトース量を算出した。

$$\text{マルトース量 (mmol)} = \text{チオ硫酸ナトリウム溶液規定度 (1.004)} \times (\text{盲検滴定 ml} - \text{試料滴定 ml}) \times 0.5 \text{ mmol}$$

4) 統計学的分析

対照-EとGLT-Eにおけるマルトース量の母平均の差の検定は，等分散の検定を行った上で，対応のないt検定で行った。

実験2. 糖の胃から小腸移行量および小腸からの吸収量の比較（ラット）

1) 方法

8週齢Wistar系雄性ラットに，グルコース1gを蒸留水5mlに溶解した液（以後「対照」とする）またはグァバ葉抽出茶（蕃爽麗茶：ヤクルト㈱，東京）5mlに

溶解した液（以後「GLT」とする）を、試料採取に要する時間を考慮して、7匹ずつに30分間隔で経口投与した。ラットはグルコース投与の60分後にエーテル麻酔下で開腹し、下大静脈から採血した後、直ちに胃幽门部を結紮し、引き続いて回腸終点部と十二指腸側を結紮、最後に胃噴門部を結紮して、胃と小腸に分けてそれぞれ摘出した。

胃残存内容物を採取するため、胃の一部をはさみで切り、蒸留水で洗いながら内容物を採取し、メスフラスコで100mlに調整した胃内容物試料原液1mlを採取し5倍希釈して胃内容物試料液とした。また、小腸は十二指腸側から蒸留水を注入しながら、回腸末端部から内容物を採取し、メスフラスコで100mlに調整した小腸内容物試料原液をそのまま試料液とした。

それぞれの内容物試料液の糖濃度および血糖値を、市販の血糖値測定キット（グルコースCⅡテストワコー：和光純薬㈱，東京）を用いて測定し、胃から小腸への移行量（1g－胃内残存糖量）、小腸からの吸収量（胃から小腸への移行量－小腸内残存量）を算出した。

2) 統計学的分析

小腸移行量、小腸移行率、吸収量、吸収率ならびに経口糖負荷60分後血糖値について、群間の母平均の差の検定は、等分散の検定を行った上で、対応のない t 検定またはWelch検定で行った。

結 果

実験1. グァバ葉抽出茶による α -アミラーゼの活性阻害 (*in vitro*)

α -アミラーゼを蒸留水に溶解した酵素液（対照-E）とグァバ葉抽出茶に溶解した酵素液（GLT-E）によるデンプンの消化による生成マルトース量を比較した結果、図2に示すように対照-Eの 2.70 ± 0.03 mmolに対してGLT-Eでは 2.14 ± 0.02 mmolと有意な低値（ $p < 0.001$ ）を示した。

図2 デンプンの消化（マルトース生成量）の比較
平均値±標準偏差， t 検定，*** $p < 0.001$

実験2. 糖の胃から小腸移行量および小腸からの吸収量の比較（ラット）

蒸留水に溶解したグルコース液（対照）を経口投与したラットとグァバ葉抽出茶に溶解したグルコース液（GLT）を経口投与したラットの経口糖負荷60分後の血糖値を比較した結果（図3）、対照群の 237.0 ± 26.7 mg/dlに対してGLT群では 195.3 ± 49.5 mg/dlと有意な低値（ $p < 0.05$ ）を示した。

図3 ラットにおけるグルコース（1g）経口投与60分後の血糖値
平均値±標準偏差，Welch検定，* $p < 0.05$

図4 ラットにおけるグルコース（1g）経口投与60分後の小腸移行および吸収の状況
平均値±標準偏差 対照群 (n=7)，GLT群 (n=7)， t 検定（小腸移行量および吸収量）・Welch検定（小腸移行率および吸収率）* $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$

また、摂取させたグルコースの小腸移行量、小腸移行率、吸収量ならびに吸収率について比較した結果(図4)、全てについて対照群に対してGLT群では有意な低値を示した。

考 察

現在のわが国は高齢社会となったことに加えて、生活習慣病の罹患者や予備群に位置する人々が急増している。とくに生活習慣病に関連した問題の中で、厚生労働省の患者調査データから中村らによって解析された糖尿病有病率の変化と将来推計によると、全年齢合計の有病率は男女ともに2008年には1993年の2倍になると報告されている¹²⁾。このように、急速な糖尿病罹患者あるいは罹患者の疑われる人の増加は、今のわが国における深刻な健康問題の一つである。

グァバ葉抽出液は、ヒトや動物の実験によって血糖上昇抑制効果が報告されている^{2~6)}。この血糖値の上昇抑制効果の要因として、糖類分解酵素の活性阻害^{3, 7)}が報告されており、とくに出口らの実験³⁾では、グァバ葉抽出液が唾液および胆汁の α -アミラーゼ活性だけでなく、小腸粘膜に存在する二糖類水解酵素の活性を阻害することによりデンプン、スクロース、マルトースからブドウ糖への分解を抑制し、その結果腸管からのブドウ糖の吸収を遅延あるいは抑制することが考えられることを報告している。今回の酵素活性阻害の確認実験の結果、グァバ葉抽出茶が α -アミラーゼの活性を阻害することを確認できた。これらのことから、糖類分解酵素の活性阻害によって血糖値の上昇を抑制する可能性が高いことを再確認したが、興味深いことにグァバ葉抽出茶の血糖上昇抑制効果は、糖類分解酵素の活性阻害の効果だけではないことも見出すことができた。

当初、我々はグァバ葉抽出茶の血糖上昇抑制効果は糖類分解酵素の活性阻害によるものであり、胃から小腸への内容物の物理的な移行量や小腸からのグルコースの吸収など消化管機能についてはとくに関与していないものと考えていた。その確認を目的として、消化の必要のないグルコース液をラットに経口投与して、胃から小腸への内容物の移行量測定、ならびに小腸での吸収量の測定実験を行った。その結果、もはや消化する必要のないグルコースであるにも関わらず、グルコース液の経口投与60分後の血糖値は、グァバ葉抽出茶を摂取させた群で有意な低値を示した。さらに、胃から小腸への内容物(グルコース)移行および小腸からのグルコース吸収量も有意な低値を示した。このことから、内容物の移送や吸収機能など消化管の機能を抑制する作用も併せ持ち、その効果によって血糖値の

上昇抑制に関与している可能が考えられた。実際、グァバは糖尿病だけでなく生薬として下痢止めにも用いられているとされている^{1, 13, 14)}。この科学的根拠として、Lozoyaらは、急性下痢疾患の患者へグァバ葉抽出物を経口投与した実験によって、グァバ葉抽出物が腸の痙攣を抑制し腹痛期間を減少させたことを報告している¹⁴⁾。また、Almeidaらは、マウスを用いた実験でグァバ葉等の抽出液は、水分の吸収を増大させる結果、消化管の推進力(胃腸の物質輸送機能)が低下することで抗下痢効果の潜在性を示唆している¹³⁾。今回の実験では、消化管の動きそのものや、消化管内容物の水分量を測定していないが、今回認められたグルコース投与60分後の血糖上昇抑制効果に、胃から小腸への内容物移行量の減少、すなわち消化管の動きそのものによる物理的要因も関与している可能性が十分に考えられた。その一方で、Abreuらは、グァバ葉抽出物水溶液の摂取がイオン輸送に関係する膜構造を変化させることを報告している¹⁵⁾。このことから、グァバ葉抽出液は、SGLT1によるナトリウムイオンとグルコースの共輸送によって吸収されるグルコースの二次性能動輸送系に何らかの影響を及ぼしている可能性も予想される。

グルコースの胃から小腸への移行量および小腸からの吸収を調べるために用いた実験手法は、その過程で誤差が生じやすいこともあるが、ラットへのグルコースの経口糖負荷試験において、投与60分後の血糖値の上昇が有意に抑制された要因として、とくに消化管の推進力の低下によるものか、小腸における吸収能力の低下によるものか、あるいはその両方が関与しているのかについて詳細を判断することができない。この要因について明らかにするためには、今後さらに、例えばX線撮影などでリアルタイムに消化管の動きを確認するなど、異なった様々な視点からの検討が必要である。しかし、今回の実験の結果、少なくともグァバ葉抽出液の血糖上昇抑制効果は、消化酵素の活性阻害による効果だけではなく、グァバ葉抽出液による消化管の運動そのものの抑制作用や小腸におけるグルコースの吸収能力の低下も関与していることが示唆された。

ま と め

グァバ葉抽出茶の血糖上昇抑制ならびに糖類分解酵素の活性阻害について追試した。その結果、*in vitro* 試験で α -アミラーゼによるデンプン分解の阻害も確認された。さらに、ラットを用いたグルコースの経口投与60分後の胃から小腸への移行および小腸からの吸収を調べた結果、消化の必要がないグルコースを投与したにも関わらず60分後の血糖値は有意な低値を示し、グルコースの胃から小腸への移行および小腸からの吸収

も抑制されていた。これらの結果から、グアバ葉抽出茶による血糖値上昇抑制効果は、糖類分解酵素の活性阻害はもちろんのこと、消化管運動など消化管機能の抑制も関与している可能性が考えられた。

文 献

- 1) 円山八州彦, 秋田秀秋, 松田玲子, 久保道徳, 波田野力, 奥田拓男: グアバ (*Psidium guajava* L.) の研究 (第1報) グアバ葉の抗糖尿病薬理活性とその有効成分の研究 (その1), 生薬学雑誌, **39**, 261-269 (1985)
- 2) Cheng, J. T. and Yang, R. S.: Hypoglycemic effect of guava juice in mice and human subjects, *Am. J. Chin. Med.*, **11**, 74-76 (1983)
- 3) 出口ヨリ子, 長田邦子, 内田和美, 木村広子, 芳川雅樹, 工藤辰幸, 保井久子, 綿貫雅章: グアバ葉熱水抽出物の db/db マウスにおける抗糖尿病効果およびヒト飲用試験による食後血糖値上昇抑制効果, 日本農芸化学会誌, **72**, 923-931 (1998)
- 4) Mukhtar, H. M., Ansari, S. H., Ali, M., Naved, T. and Bhat, Z. A.: Effect of water extract of *Psidium guajava* leaves on alloxan-induced diabetic rats, *Pharmazie*, **59**, 734-735 (2004)
- 5) Oh, W. K., Lee, C. H., Lee, M. S., Bae, E. Y., Sohn, C. B., Oh, H., Kim, B. Y. and Ahn, J. S.: Antidiabetic effects of extracts from *Psidium guajava*, *J. Ethnopharmacol.*, **96**, 411-415 (2005)
- 6) Mukhtar, H. M., Ansari, S. H., Bhat, Z. A., Naved, T. and Singh, P.: Antidiabetic activity of an ethanol extract obtained from the stem bark of *Psidium guajava* (Myrtaceae), *Pharmazie*, **61**, 725-727 (2006)
- 7) 井上良計, 細見尚美, 辻田隆広, 奥田拓道: グアバ葉抽出エキスの α -アミラーゼインヒビターの作用について, *New Food Industry*, **36**, 1-7 (1994)
- 8) Puls, W. and Keup, U.: Influence of an amylase inhibitor (BAY d 7791) on blood glucose, serum insulin and NEFA in starch loading tests in rats, dogs and man, *Diabetologia*, **9**, 97-101 (1973)
- 9) Walton, R. J., Sherif, I. T., Noy, G. A. and Alberti, K. G.: Improved metabolic profiles in insulin-treated diabetic patients given an alpha-glucosidase inhibitor, *Br. Med. J.*, **1**, 220-221 (1979)
- 10) Gerard, J., Luyckx, A. S. and Lefebvre, P. J.: Improvement of metabolic control in insulin dependent diabetics treated with the alpha-glucosidase inhibitor acarbose for two months, *Diabetologia*, **21**, 446-451 (1981)
- 11) 岩尾裕之: デンプンの定量: 改訂食品分析ハンドブック/小原哲次郎, 鈴木隆雄, 岩尾裕之監修, 林淳三, 印南 敏, 菅原龍幸編, pp.227-229 (1982) 建帛社, 東京
- 12) 中村好一, 大木いずみ, 谷原真一: 糖尿病患者有病率・患者数の将来推計, 日本衛生学雑誌, **52**, 654-660 (1998)
- 13) Almeida, C. E., Karnikowski, M. G., Foletto, R. and Baldisserotto, B.: Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine, *Rev. Saude. Publica.*, **29**, 428-433 (1995)
- 14) Lozoya, X., Reyes-Morales, H., Chávez-Soto, M. A., Martínez-García, M. C., Soto-González, Y. and Doubova, S. V.: Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease, *J. Ethnopharmacol.*, **83**, 19-24 (2002)
- 15) Abreu, P. R., Almeida, M. C., Bernardo, R. M., Bernardo, L. C., Brito, L. C., Garcia, E. A., Fonseca, A. S. and Bernardo-Filho, M.: Guava extract (*Psidium guajava*) alters the labelling of blood constituents with technetium-99m, *J. Zhejiang Univ. Sci. B.*, **7**, 429-435 (2006)

(受付:平成19年5月23日, 受理:平成19年10月20日)