

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Rizna Triana Dewi
審査委員	主査 橋 燦郎 副査 大谷 慶人 副査 鈴木 利貞 副査 伊藤 和貴 副査 市浦 英明

論文名

Isolation and Characterization of α -Glucosidase Inhibitor and Antioxidant Compounds from *Aspergillus terreus*

(*Aspergillus terreus* からの α -グルコシダーゼ阻害物質および抗酸化物質の単離と特性評価)

審査結果の要旨

糖尿病は多数の人が罹患している病気の一つである。糖尿病の大部分は二型糖尿病と言われており、高血糖症により特徴づけられている。高血糖症は活性酸素種により組織に酸化ストレスが加わることにより引き起こされると考えられている。それ故、糖尿病は高血糖症と酸化ストレスを大幅に減少させることにより、この病気の発症を大幅に低下させることができると考えられている。一方、*Aspergillus terreus* は広く自然界に存在する糸状菌であり、コレステロール低下作用など多数の薬学的価値を持つ菌である。しかし、この菌が生産する抗酸化物質および α -グルコシダーゼ阻害物質については僅かにしか調べられていない。そのため、本研究では、分離源が異なる *A. terreus* 4 菌株 (LS01, RCC1, MC751, LS07) が産生する抗酸化物質および抗 α -グルコシダーゼ阻害能物質を単離同定するとともに、単離したこれらの活性物質の特性評価について検討した。

まず始めに、*A. terreus* LS01 菌が生産する代謝物 (酢酸エチル抽出物) を抗酸化活性 (DPPH free radical scavenging activity) 試験を併用しながらシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、高い抗酸化活性を有する 2 種の物質 (化合物 1, 2) を単離した。機器分析により、化合物 1, 2 をそれぞれ Terreic acid, Terrumutin と同定した。それらの抗酸化活性 (IC₅₀) (50%阻害濃度) は、それぞれ 115 μ M, 114 μ M であった。これら 2 種の抗酸化物質が *A. terreus* から単離されたのは本研究が初めてである。また、*A. terreus* MC751 菌が生産する代謝物 (酢酸エチル抽出物) を抗酸化活性試験および α -グルコシダーゼ阻害活性 (α -Glucosidase Inhibitor activity) 試験を併用しながらシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、高い両活性を有する 1 種の活性物質 (化合物 3) を単離した。機器分析により、化合物 3 を Butyrolactone I と同定した。この物質は高い濃度依存性の α -グルコシダーゼ阻害活性 (IC₅₀) (50%阻害濃度) 54 μ M を有するだけでなく、高い抗酸化活性 (IC₅₀) 51 μ M も有する物質であった。*A. terreus* MC751 菌から高い両活性を有する物質が単離されたのは本研

究が初めてである。また、*A. terreus* MC751 菌の培養（Czapek-dox 培地）時にイースト抽出物を加えることにより、この化合物 3 の生産量を高めることができることも見出した。さらに、*A. terreus* MC751 菌の培養（Czapek-dox 培地）時にイースト抽出物を加えて培養した際に、その培養液の抽出物から 2 種の活性物質（3, 4）を単離した。機器分析により化合物 3, 4 をそれぞれ Butyrolactone I, Butyrolactone II と同定した。化合物 3 は、高い α -グルコシダーゼ阻害活性 (IC₅₀) 54 μ M だけでなく高い抗酸化活性 (IC₅₀) 51 μ M を有する物質であった。さらに、化合物 3 の α -グルコシダーゼ阻害活性および抗酸化活性と構造の関係を解明するため、化合物 3 を 3 種の化合物 [aspernolides A, Butyrolactone I -triacetate, Butyrolactone I -diacetate] に変換してそれぞれの化合物の両活性を調べた。その結果、化合物 3 のプレニル側鎖およびフェノール性水酸基が α -グルコシダーゼ阻害活性に関係していることを明らかにした。しかし、抗酸化活性にはこれらは関係しないことも明らかにした。一方、化合物 4 は、高い抗酸化活性 (IC₅₀) 17.6 μ M を有する物質であった。

次に、*A. terreus* LS07 菌を Czapek-dox 培地で培養（静置培養および振とう培養）した。*A. terreus* LS07 菌を静置培養した培養液の抽出物（酢酸エチル抽出物）から、 α -グルコシダーゼ阻害活性および抗酸化活性を有する化合物（3, 4）を単離した。一方、*A. terreus* LS07 菌を Czapek-dox 培地で振とう培養した場合には、その培養液の抽出物（酢酸エチル抽出物）から α -グルコシダーゼ阻害活性および抗酸化活性を有する化合物（5, 6）を単離した。機器分析により、化合物 5 を Oleic acid、化合物 6 を Ergosterol と同定した。化合物 5 は非常に高い α -グルコシダーゼ阻害活性 (IC₅₀) 8.5 μ M を示した。しかし、脂肪酸の二重結合の数が増加すると α -グルコシダーゼ阻害活性が減少することも見出した。一方、化合物 6 の α -グルコシダーゼ阻害活性および抗酸化活性は低いものであった。

さらに、*A. terreus* RCC1 菌が生産する代謝物（酢酸エチル抽出物）を抗酸化活性試験および α -グルコシダーゼ阻害活性試験を併用しながらシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、5 種の活性物質（化合物 3, 7, 8, 9, 10）を単離した。機器分析により、化合物（3, 7, 8, 9, 10）をそれぞれ Butyrolactone I, Lovastatin, Terrein, Isoaspulvinone E, Aspulvinone E と同定した。化合物（9, 10）の α -グルコシダーゼ阻害活性 (IC₅₀) はそれぞれ 8.9 μ M, 7 μ M であり、抗酸化活性 (IC₅₀) はそれぞれ 168 μ M, 115 μ M であった。Aspulvinone 類が α -グルコシダーゼ阻害活性および抗酸化活性を示すことは本研究で初めて明らかにされた。

以上から、分離源が異なる *A. terreus* 4 菌株（LS01, RCC1, MC751, LS07）が生産する抗酸化物質および α -グルコシダーゼ阻害物質を 10 種単離した。そして、これらの化学構造を解明するとともに、化学構造と活性との関係を明らかにした。

本論文の公開審査会は 2013 年 8 月 3 日に高知大学で開催され、論文審査と質疑応答が行われた。それに引き続いて、学位論文審査委員会を開催して審査し、全員一致して本論文が博士（学術）の学位を授与するに値するものと判断した。