

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Anastasia Wheni Indrianingsih
審査委員	主査 橋 燦郎 副査 大谷 慶人 副査 片山 健至 副査 伊藤 和貴 副査 市浦 英明

論文名

Studies on Isolation and Characterization of Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Compounds from Woody Plants and Endophytic Fungi

(木本植物およびその内生菌からの抗酸化物質および α -グルコシダーゼ阻害物質の単離と特性評価に関する研究)

審査結果の要旨

フリーラジカルは生体に対して酸化的なダメージを与え、ガンや糖尿病等の病気や老化を引き起こしており、抗酸化性物質は我々の健康にとって重要と考えられる。しかし、人工の抗酸化性物質は、我々の体に蓄積しガンや臓器にダメージを与えることが示されている。そのため、植物から抽出した天然の抗酸化性物質は安全で栄養にもなるため、食品への応用もすすめられている。一方、糖尿病は高血糖症により特徴づけられている。糖尿病の一つの治療法は、炭水化物の加水分解酵素、 α -グルコシダーゼの消化器官中での働きを阻害することによりグルコースの吸収を抑えることである。植物はこれらの物質を含有する可能性を有しているだけでなく、実際にも植物由来の成分がこれらの物質（薬剤）として利用されている。そのため、本研究では、数種の木本植物から抗酸化物質および α -グルコシダーゼ阻害物質を見出すとともに、それらの特性評価について検討した。

まず始めに、*Quercus gilva* Blume (イチイガシ)、*Quercus phillyraeoides* A. Gray (ウバメガシ) 等 14 種の木本植物のメタノール抽出物を 4 種の抗酸化活性試験 (DPPH free radical scavenging activity, H₂O₂ radical scavenging activity, β -carotene bleaching assay, reducing power assay) および α -グルコシダーゼ阻害活性試験 (α -グルコシダーゼは *Saccharomyces cerevisiae* 由来) を用いてそれぞれの活性を調べた。その結果、*Q. gilva* Blume および *Q. phillyraeoides* A. Gray が高い抗酸化活性を示すことを見出した。それぞれの抗酸化活性 (IC₅₀) は、38.53 μ g/mL, 25.00 μ g/mL であった。また *Mallotus japonica* および *Q. phillyraeoides* A. Gray が高い α -グルコシダーゼ阻害活性を示すことを見出した。それぞれの α -グルコシダーゼ阻害活性 (IC₅₀) は、8.46 μ g/mL, 9.88 μ g/mL であった。

高い抗酸化活性を示した *Quercus gilva* Blume のメタノール抽出物を抗酸化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分画し、抗酸化活性を有する 3 種の抗酸化性物質 (化合物 1, 2, 3) を単離した。機器分析により、化合物 1, 2 をそれぞれ catechin, epicatechin と同定した。また、化合物 3 は、機器分析および加水分解により、

tiliroside と同定した。化合物 1, 2 の抗酸化活性 (IC₅₀) は、40.86 μ M, 22.55 μ M, であった。化合物 2 は、quercetin のそれ (28.08 μ M) よりも高い活性を示した。一方、化合物 3 の抗酸化活性 (IC₅₀) は、160.24 μ M と中程度の活性であったが、 α -グルコシダーゼ阻害活性 (IC₅₀) は、28.36 μ M と高い活性を示した。なお、化合物 1, 2 の α -グルコシダーゼ阻害活性 (IC₅₀) は、それぞれ 168.6 μ M, 920.6 μ M であった。

また、*Q. phillyraeoides* A. Gray のメタノール抽出物から α -グルコシダーゼ阻害活性化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分画し、 α -グルコシダーゼ阻害活性を有する 1 種の化合物 (4) およびタンニンフラクション (化合物 5~9) を単離した。機器分析および加水分解から化合物 4 は β -sitosterol glucoside と同定した。化合物 5~9 は、GPC による分子量およびチオアシドリシスによる分解物の精査から縮合型タンニンと同定した。化合物 4 およびタンニンフラクション (化合物 5~9) の α -グルコシダーゼ阻害活性 (IC₅₀) は、それぞれ 118.8 および 2.79, 2.78, 3.10, 2.60, 3.14 μ g/mL であった。Quercetin の α -グルコシダーゼ阻害活性 (IC₅₀) は、4.80 μ g/mL であり、タンニンフラクションは高い α -グルコシダーゼ阻害活性を有していることを見出した。なお、これらの化合物は、抗酸化活性も有しており、高血糖症を誘導する酸化的ストレスの治療への応用も可能と考えられる。

さらに、高酸化活性だけでなく高 α -グルコシダーゼ阻害活性を有する *Quercus gilva* Blume の内生菌がこれらの活性に関係しているかどうかを明らかにするため、*Q. gilva* Blume の茎および葉から数種の内生菌を単離し、同定した。そして、それらの菌の培養物 (菌体抽出物および培養液からの抽出物) の抗酸化活性および α -グルコシダーゼ阻害活性を調べた。その結果、高い α -グルコシダーゼ阻害活性を示す内生菌、*Xylariaceae* sp GGS 01 を見出した。この菌の培養抽出物から 2 種の α -グルコシダーゼ阻害活性物質 (化合物 10 および脂肪酸フラクション 11) を単離した。化合物 10 は機器分析から 8-hydroxy-6,7-dimethoxy-3-methylisocoumarine と同定した。また、脂肪酸フラクション 11 は脂肪酸の混合物 (パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレイン酸) であった。2 種の α -グルコシダーゼ阻害活性物質の阻害活性 (IC₅₀) は、それぞれ 41.75 μ g/mL および 5.95 μ g/mL であった。植物中の抗酸化活性物質および α -グルコシダーゼ阻害活性物質とその植物内生菌が生産するそれらの活性物質は同じ化合物ではないが、内生菌もそれらの活性物質を生産していることを明らかにした。これらの結果から、*Q. gilva* Blume、*Q. phillyraeoides* A. Gray および *Xylariaceae* sp GGS 01 は、天然の抗酸化剤および抗糖尿病薬剤の源になる可能性を示している。

以上から、*Q. gilva* Blume、*Q. phillyraeoides* A. Gray および *Xylariaceae* sp GGS 01 からの抗酸化活性物質および α -グルコシダーゼ阻害活性物質 11 種および 1 種の脂肪酸フラクションを単離するとともに、それらの化学構造を明らかにした。そして、高い抗酸化活性を有する化合物 1 種を見出すとともに、高い α -グルコシダーゼ阻害活性を有する化合物 6 種および 1 種の脂肪酸フラクションを見出した。さらに、単離した化合物の構造と活性との関係も明らかにした。

本論文の公開審査会は 2016 年 8 月 6 日に香川大学農学部で開催され、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。