

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Amalia Indah Prihantini
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

Isolation and Evaluation of Bioactive Compounds from Temperate Woody Plants and Endophytic Fungi

(温帯産木本植物およびその内生菌からの生理活性物質の単離と評価)

審査結果の要旨

世界の多くの生物資源について、それらの生理活性はまだ十分には評価されていない。一方、人の病気の治療に天然から抽出した物質を使用することに注目が集まっている。天然の薬用物質は植物や内生菌を含む菌類からも得られる。また、それらの物質の生産は組織培養法によっても向上させることができる。本研究は、温帯産木本植物およびその内生菌が生産する生理活性物質を単離し、その生理活性を評価するとともに、植物の組織培養法による生理活性物質の生産性を向上させることについて検討した。

まず始めに、*Elaeocarpus sylvestris* (ホルトノキ)、*Distylium racemosum* (イスノキ) 等温帯産木本植物 14 種について、それらの抗酸化活性および α -グルコシダーゼ阻害活性について調べた。14 種の植物の葉をメタノールで抽出して得たメタノール抽出物を用いて、4 種の抗酸化試験 (DPPH radical scavenging assay, reducing power assay, hydrogen peroxide assay, β -carotene bleaching assay) および 1 種の α -グルコシダーゼ阻害活性試験によりそれらの活性を調べた。その結果、*Elaeocarpus sylvestris* が最も高い抗酸化活性を示した。一方、 α -グルコシダーゼ阻害活性については、*Distylium racemosum* が最も高い活性を示したが、これら 2 種の植物以外にも *Acer mono Maxim* および *Liquidamabar straciflua* も高い活性を示すことを見出した。

E. sylvestris の葉のメタノール抽出物を抗酸化活性試験 (DPPH radical scavenging assay) を併用しながらシリカゲルカラムクロマトグラフィー、分取薄層クロマトグラフィー (分取 TLC) を用いて分離し、3 種の活性物質 (1, 2, 3) を単離した。それぞれの化合物は機器分析により、ellagic acid (1), gallic acid (2), methyl gallate (3) と同定した。そして、3 種の化合物の抗酸化能の評価を行い、3 種全ての化合物が 4 種の抗酸化活性試験 (DPPH radical scavenging activity, reducing power activity, hydrogen peroxide activity, β -carotene bleaching activity) で高い活性を示すことを明らかにした。さらに、構造と抗酸化活性の関係を明らかにするため、benzoic acid を基本に、14 種の化合物について検討した。その結果、フェノール性水酸基の数と位置、特にオルトおよびパラ位のフェノール性水酸基が抗酸化活性発

現に重要であることを見出した。なお、methyl gallate については、高い抗酸化活性だけでなく弱い α -グルコシダーゼ阻害活性も示した。

次に、*E. sylvestris* から7種の内生菌を単離し、それらの菌を同定した。そして、それらの菌の培養物（菌体抽出物、培養液からの抽出物）の抗酸化活性を調べた。その結果、7種の内生菌の中では、*Pseudocercospora* sp. ESL 02 菌が最も高い抗酸化活性を示すことを見出した。そして、この菌の菌体抽出物を抗酸化活性試験（DPPH radical scavenging assay）を併用しながらシリカゲルカラムクロマトグラフィー、分取 TLC を用いて分離し、3種の活性物質（4, 5, 6）を単離した。そして、機器分析により、3種の化合物をそれぞれ、terreic acid (4), 6-methylsalicylic acid (5), 3,3'-oxybis(2,6-dichloro-5-methylphenol) (6)と同定した。3種の活性物質の中でも terreic acid は高い抗酸化活性を示した。

さらに、*D. racemosum* の葉のメタノール抽出物について、抗酸化試験および 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、分取 TLC を用いて分離し、2種の活性物質（3, 7）を単離した。そして、機器分析により、2種の化合物をそれぞれ、methyl gallate (3), 2,4-dihydroxy-6-methoxyacetophenone (7) と同定した。化合物（3）は高い抗酸化活性だけでなく弱い α -グルコシダーゼ阻害活性を示した。また、化合物（7）は弱い抗酸化活性だけでなく中程度の α -グルコシダーゼ阻害活性を示した。

また、*Artemisia annua* 中の抗酸化物質、caffeic acid の生産量を組織培養により向上させる試みについても検討した。生産量を向上させるため、カルス増殖時の植物ホルモンの組合せ（4種）について検討した。その結果、NAA (0.5mg/L)と BA (0.5mg/L)の組合せが最も多くの caffeic acid を生産できることを見出し、組織培養により生理活性物質の生産性を向上できる可能性を明らかにした。

以上から、温帯産植物、*E. sylvestris* から3種の抗酸化物質（ellagic acid, gallic acid, methyl gallate）を単離同定するとともに、*E. sylvestris* からの内生菌、*Pseudocercospora* sp. ESL 02 菌から3種の抗酸化物質（terreic acid, 6-methylsalicylic acid, 3,3'-oxybis(2,6-dichloro-5-methylphenol)）を単離同定した。また、*D. racemosum* から2種の生理活性物質、高い抗酸化活性及び弱い α -グルコシダーゼ阻害活性を示す1種の化合物（methyl gallate）と、中程度の α -グルコシダーゼ阻害活性及び弱い抗酸化活性を示す1種の化合物（2,4-dihydroxy-6-methoxy- acetophenone）を単離同定した。また、組織培養により、植物中の生理活性物質（抗酸化活性物質、caffeic acid）の生産性を向上できる可能性を明らかにした。

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。