

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	Debu Kumar Bhattacharjya
審査委員	主査 片山 健至
	副査 伊藤 和貴
	副査 佐藤 正資
	副査 市浦 英明
	副査 鈴木 利貞

論文名

Study and development of biological activity from edible mushrooms and *Citrus macroptera*  
(食用キノコと *Citrus macroptera* の生物活性の研究と開発)

### 審査結果の要旨

糖尿病は深刻な代謝疾患であり、健康の主要なリスクと見なされてきた。消化管での $\alpha$ -グルコシダーゼなどの炭水化物加水分解酵素を阻害することは、オリゴ糖や二糖の消化を妨げ、グルコースの吸収を遅らせることによって糖尿病を治療する一つの方法である。また、血糖値が増加すると活性酸素種(ROS)が多く発生し、さらに他のフリーラジカルの生成を増加させ、種々の合併症を引き起こす。酸化防止剤は、活性酸素種やその他のフリーラジカルの有害な影響を防ぐことができる生物活性物質である。一方、抗生物質は人類が細菌感染症と戦い、健康を大幅に維持するために欠かせない。しかし、過去数十年で、抗菌剤の誤用により、耐性菌が発生した。臨床診療では、糖尿病、酸化的損傷、細菌感染を制御するためにさまざまな合成薬剤が使用されている。したがって、最小限の副作用と比較的低コストで抗糖尿病薬、抗酸化剤、抗菌薬の開発につながる活性物質を見つけることは非常に重要である。このため、天然の生物資源由来の物質の使用が最良の選択肢である。食用キノコと柑橘類は、さまざまな慢性疾患から我々を守ることができる有望な生物活性を備えた化学物質の供給源として認識されている。したがって、本研究では、食用キノコとバングラデシュ産の柑橘類である *Citrus macroptera* の果実からの生物活性の研究と開発に焦点を当てる。

まず、7種の食用きのこの $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性と抗酸化活性を検討した。エノキタケ (*Flammulina velutipes*)、ヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*)、アラゲキクラゲ (*Auricularia polytricha*)、マイタケ (*Grifola frondosa*)、ヤマドリタケ (*Boletus edulis*)、レイシ (*Ganoderma lucidum*) 及びシイタケ (*Lentinula edodes*) からメタノール抽出物と水抽出物を調製し、これらの抗酸化活性と $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を検討した。ヤマドリタケの水抽出物の総フェノール含量 (30.8 mg GAE / g サンプル抽出物) 及び DPPH ラジカル消去活性 ( $IC_{50}$ : 0.33 mg / mL) が最も高かった。また、ヤマドリタケのメタノール抽出物の $\alpha$ -グルコシダーゼ (*Saccharomyces cerevisiae* 由来) 阻害活性 ( $IC_{50}$ : 1.27 mg / mL) も最も高かった。一方、このメタノール抽出物はラット小腸由来の $\alpha$ -グルコシダーゼには活性を示さなかったが、腸内細菌の $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性の検討も必要と考察した。

続いて、ヤマドリタケのメタノール抽出物からその $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性成分を探索し、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸及びリノール酸を同定した。ステアリン酸の活性 ( $IC_{50}$ : 6.13  $\mu$ g/ mL) が最も高く、(-)-エピカテキンの活性よりも高かった。関連してアラキジン酸、ベヘン酸、 $\alpha$ -リノレン酸の活性も検討し、ベヘン酸の活性 ( $IC_{50}$ : 0.99  $\pm$  0.03  $\mu$ g/mL) が最も高かった。ヤマドリタケは $\alpha$ -グルコシダーゼ (*S. cerevisiae* 由来) 阻害活性と抗酸化活性の開発に利用しうることが示唆された。

次いで、上記 7 種の食用キノコの抗菌活性を検討した。近年、抗生物質耐性菌が増加しているために、新規抗菌剤の開発は不可欠である。新薬の潜在的供給源の内、キノコは、抗菌剤の代替供給源になる可能性がある。本研究では、上記と同様の 7 種の食用キノコのメタノール抽出物と水抽出物を調製し、それらの抗菌活性を簡便迅速に検討するために、レサズリンと 96 ウェルプレートを用いるマイクロ希釈法を用いた。マンネンタケのメタノール抽出物は大腸菌に対する抗菌活性が最も高く、最小発育阻止濃度 (0.31 mg / mL) と最小致死濃度 (0.625 mg / mL) を示した。この抽出物は黄色ブドウ球菌に対しても抗菌活性が最も高く、最小発育阻止濃度 (0.16 mg / mL) と最小致死濃度 (0.31 mg / mL) を示した。

さらに *Citrus macroptera* の果実の化学成分とそれらの抗酸化活性について検討した。*Citrus macroptera* (ミカン科) は、東南アジアに広く分布し、バングラデシュの現地では satkara (サトカラ) と呼ばれ、薬理的に多様な薬用植物である。この果実全体の乾燥粉末のメタノール抽出物を分離精製して、キサントトキソール (1), イソメランジン (2), リモニン (3), スコポレチン (4), スコパロン (5), 5-[(6',7'-ジヒドロキシ-3',7'-ジメチル-2'-オクテニル)オキシ]ソラレン (6) およびメランジン水和物 (7) を単離同定した。これらの内、六つの化合物 1, 2, 4, 5, 6, 7 はクマリン類であり、リモニン (3) はフラノラクトン型テトラノルトリテルペンである。すべての化合物は既知であったが、1, 2, 4, 5, 7 はこの植物から初めて単離された。これらの化合物の 2, 2-ジフェニル-1-ピクリルヒドラジル (DPPH) ラジカル消去活性は、キサントトキソール (1) が最も高く ( $IC_{50}$ : 52.7  $\pm$  0.25 nmol/mL), 次いでイソメランジン (2) (291.1  $\pm$  0.00 nmol/mL), そしてスコポレチン (4) (590.7  $\pm$  0.00 nmol/mL) であった。

本学位論文に関する公開審査会は、令和 2 年 8 月 1 日にリモートシステムを利用して開催され、申請者の論文発表とそれに対する質疑応答が行われた。引き続き行われた学位論文審査委員会において、本論文の内容について慎重に審議した結果、審査委員全員一致して博士 (学術) の学位を授与するものと判定した。