

氏名(国籍)	アブドル ムニム (インドネシア)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博甲第3289号		
学位授与年月日	平成15年12月31日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	農学研究科		
学位論文題目	タヌキマメ (<i>Crotalaria sessiliflora</i>) に含まれる生理活性ポリフェノール化合物について		
主査	筑波大学教授	農学博士	松本 宏
副査	筑波大学教授	農学博士	鈴木 隆久
副査	筑波大学教授	農学博士	白井 健二
副査	筑波大学教授	農学博士	黒田 健一

論文の内容の要旨

本論文はタヌキマメ (*Crotalaria sessiliflora*) に含まれる抗酸化およびエストロゲン活性を示すポリフェノール類について研究したものである。タヌキマメの茎葉をメタノールで抽出し、減圧濃縮して得られた水溶液を順次酢酸エチルとブタノールで分配して、酢酸エチル可溶部とブタノール可溶部を得た。2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH)ラジカル消去能を指標としてセファデックス LH-20, ワコーシル分配, ワコーシル逆相, 逆相 HPLC カラムクロマトグラフィー等を組み合わせ、酢酸エチル可溶部から7種の化合物, ブタノール可溶部から2種の化合物を単離した。機器分析によって酢酸エチル可溶部から得られた化合物は, hydroquinone, eucomic acid, hydroxyeucomic acid, (2*R*)-5,7,3',4'-tetrahydroxyflavanone-7-*O*- β -D-glucopyranoside, vitexin, orientin および isorientin と同定された。この内, vitexin, orientin および isorientin 以外はいずれもタヌキマメ属植物から新たに単離された。特に (2*R*)-5,7,3',4'-tetrahydroxyflavanone-7-*O*- β -D-glucopyranoside は初めて分離された立体異性体であった。ブタノール可溶部からは新化合物 7,2',4'-trihydroxyisoflavone-4'-*O*- β -D-glucopyranoside および既知の rhamnosyloisorientin が単離された。

酢酸エチル可溶部から得られた化合物の抗酸化能を DPPH 法, 2,2'-azobis-(2-amidino-propane)dihydrochloride(AAPH) で誘導されるリノール酸酸化の酸化防止法および *tert*-ブチルペルオキシドラジカルの殺菌活性抑制法で調べた。DPPH 法では hydroxyeucomic acid が最も強く, IC₅₀ は 5.3 μ M であった。AAPH で誘導されるリノール酸酸化の酸化防止法では, orientin が最も効果が強く対照の BHT に対し 2.3 倍の活性を示した。*tert*-ブチルペルオキシドラジカルの殺菌活性抑制法では, orientin, isorientin が MIC62 μ M で最も強かった。

7,2',4'-Trihydroxyisoflavone-4'-*O*- β -D-glucopyranoside は, エストロゲン様活性を持つ代表的天然物 daidzein や genistein に構造が近似していることから同様な活性が期待された。そこで, エストロゲンに対応して増殖する乳癌細胞から誘導された MCF-7 細胞および神経成長因子 (NGF) の存在下にエストロゲンの作用でアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 活性を増大するラット褐色細胞腫より得られた PC12 細胞を用いてエストロゲン活性の有無を調べた。

分離された isoflavone の MCF-7 細胞に対する活性は、低濃度では daidzein および genistein より弱かったが、高濃度ではそれらと同等であった。MCF-7 細胞に対するエストロゲン様活性は抗エストロゲン物質 tamoxifen で阻害されたので、エストロゲンレセプター (ER) に結合して作用することを明らかにした。PC12 細胞に対しては低濃度 (0.02 ~ 0.2 μ M) の NGF 存在下で AChE 活性を 1.5 倍増大した。この化合物は NGF の存在下 ER を介し、PC12 細胞の AChE 生合成系を活性化すると推定した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

近年、種々の生理活性を示す植物成分としてポリフェノール類が注目を集めている。本研究は、有用なポリフェノール化合物やそれを含有する植物を発見する目的で行われた。著者はこれまで研究の対象とされてこなかった日本産タヌキマメ (*Crotalaria sessiliflora*) に注目し、ポリフェノール成分の単離、構造決定および生理活性試験を行なった。

本研究により、hydroquinone(1), eucomic acid(2), hydroxyeucomic acid(3), (2*R*)-5,7,3',4'-tetrahydroxyflavanone-7-*O*- β -D-glucopyranoside(4), vitexin(5), orientin(6), isoorientin(7), 7,2',4'-trihydroxyisoflavone-4'-*O*- β -D-glucopyranoside(8) および rhamnosylisoorientin(9) が単離同定された。これらのうち、(4) および (8) は新規物質であった。

DPPH 法、リノール酸酸化防止法、*tert*-ブチルペルオキシラジカル殺菌活性抑制法を用いて化合物 (1) ~ (7) の抗酸化能が調べられた。総合的に判断して、これらは対照に用いた合成抗酸化剤 BHT より強い抗酸化能を示した。また、化合物 (8) はエストロゲン様活性を示すことが MCF-7 および PC12 細胞を用いて調べられた。

以上のように、本研究は今日まで未利用であったタヌキマメに有用成分が含まれることを確認し、薬用植物としての可能性を見出した。その成果の役割は大きいと判断する。

よって、著者は博士 (農学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。