

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (薬科学)		氏名	Muhammad Fitrah Ilyas
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当			
論文題目				
Phytochemical study of Indonesian plants and microbial transformation (インドネシア産植物の含有成分の分析と微生物変換研究)				
論文審査担当者				
主査	教授	古武 弥一郎	印	
審査委員	教授	野村 渉		
審査委員	准教授	柳瀬 雄輝		
〔論文審査の結果の要旨〕				
<p>植物、微生物などの産生する天然有機化合物はこれまで医薬品や化粧品原料など様々な分野で利用されてきた。例えば、医薬品として用いられる低分子有機化合物のうち、天然物に何らかの関係のあるものが7割あるとされる。また、これまでに化学的に解析された植物は約 15%とされ、さらに活性が評価されたものは 6%に過ぎないとされるなど、未解析・未利用植物資源は多い。インドネシアは世界的に植物などの生物資源の多様性に富む地域として認識されており、新たな生物活性化合物の宝庫である。今回、申請者は出身のスマトラ島に産する 3 種の植物、<i>Cleome ruidosperma</i>、<i>Excoecaria agallocha</i>、<i>Chromolaena odorata</i> について含有成分の検討を行った。</p> <p>それぞれの MeOH 抽出物を n-ヘキサン、酢酸エチル、1-ブタノールおよび水で液-液分配し、各溶媒の可溶画分を得た。得られた画分を Diaion-HP20 で脱クロロフィル処理をしたのち、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、ODS カラムクロマトグラフィー、さらに HPLC を用いて各化合物を単離・精製した。得られた化合物について 1D および 2D-NMR(核磁気共鳴スペクトル)、IR(赤外線吸収スペクトル)、MS(質量分析スペクトル)などのスペクトルデータの解析によりその化学構造を決定した。また、DPPH ラジカルを用いたラジカル除去活性についても検討を行い、二つの化合物に活性を見出した。</p> <p>一方、上記の植物含有成分の分析過程で、morin 3-O-β-D-glucopyranoside として報告されている化合物のスペクトルデータが quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside と極めて類似していることが判明した。さらに、これまでに報告されている多数の morin 3-O-β-D-glucopyranoside に関する論文を精査したところ、いずれもその構造決定および化合物の同定に疑問を呈するものであることが判明した。morin 3-O-β-D-glucopyranoside は市販されておらず、直接の比較ができないことから、本研究で調整することにした。Morin は複数の水酸基を持ち、望みの一か所だけに化学的方法で糖付加させることは困難である。そのため、種々の合成法を検討した結果、<i>Cunninghamella echinulata</i> および <i>Cunninghamella elegans</i> を用いた微生物変換を利用することにした。</p> <p><i>C. echinulata</i> および <i>C. elegans</i> は Riken 微生物材料開発室(JCM)から入手し、PDA 平板培地にて種培養を行い、改変 YPD 液体培地に接種し、3 日間振盪培養することで菌糸の増殖を促した。そこに、DMSO に溶解した morin を添加し、さらに 8 日間培養を行った。2 日毎に一部をサンプリングし、酢酸エチルで抽出、TLC にて経時変化を観察した。その結果、原料の morin より極性の大きな化合物が 2 日目から現れ 4 日目でピークに達したのち 8 日まで維持されていることが認められた。<i>C. echinulata</i> および <i>C. elegans</i> とともに同様の生成物を与え、両菌株に代謝物の差はないと考えられたが、若干 <i>C. echinulata</i> の方が良好なスポットを与えたことから、今後の検討は <i>C. echinulata</i> の代謝物で行うこととした。次に、8 日目の培養物をすべて酢酸エチルで抽出、濃縮し、培養粗抽出物を得た。この粗抽出物を TLC にて展開し、薄層分取を行った。得られたフラクションは TLC 上、1 スポットであったが、NMR を測定したところ 2 種類の化合物が存在することが明らかになっ</p>				

た。そこで、さらに HPLC で精製し、それぞれ、NMR、MS などを測定したところ、この 2 種類の化合物のうち、一つが目的の morin 3-O- β -D-glucopyranoside であることが判明した。これまでの多くの報告で疑問を呈しているのが、NMR データの帰属であるため、一次元 NMR だけでなく、COSY、HSQC、HMBC および NOESY スペクトルの解析などにより詳細に構造解析した。その結果、予想通り、これまで疑問を呈していた多くの論文は帰属の誤りであり、本来は、quercetin 3-O- β -D-glucopyranoside とすべきであることが明らかになった。また、最近報告された LC-MS による論文でもこれらの先行文献を引用して、間違っただけで同定しているものが新たに報告されていることから、さらなる間違いを引き起こさないように、本研究結果は速やかに学術誌にて報告する必要があるものである (in press)。

一方、培養物にみられた二つの化合物のうち、溶出時間のやや長い化合物について、その化学構造が未知であったことから、上述の morin 3-O- β -D-glucopyranoside と同様に NMR や MS データを詳細に解析することとした。その結果、本化合物は morin 2'-O- β -D-glucopyranoside であることが判明した。本化合物のように 2'位に糖が付加した化合物はこれまでに報告がなく、新規の成分であることが明らかになった。この 2'位は B 環が回転すると 3 位に近接することから、*C. echinulata* および *C. elegans* の糖転移酵素の活性中心が、3 位あるいは 2'位の近傍にあり、そのことが、この 2 か所に糖を付加した生成物を生じた理由と考えられた。

以上の結果から、本論文は、混乱を生じていた、既に報告されている誤った数多くの論文について、その誤りを適切に指摘し、訂正箇所を示すとともに、今後、これ以上の誤報の発生の防止に寄与する重要な報告である。また、今回の微生物変換により、新規天然物の創製を達成し、多様性の拡大に利用できる一例となったことから、今後の天然物化学の発展に寄与するものとなった。

よって審査委員会委員全員は、本論文が Muhammad Fitrah Ilyas 氏に博士(薬科学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。