



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Structural Elucidation of Bioactive Compounds  
from Japanese Larch and Vietnamese Medicinal  
Plants

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2023-06-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 各務, 裕也 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/00101285">http://hdl.handle.net/20.500.12099/00101285</a>

氏 名 (本 国 籍)	各 務 裕 也 (愛 知 県)
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 甲 第 7 9 8 号
学 位 授 与 年 月 日	令 和 5 年 3 月 1 3 日
研 究 科 及 び 専 攻	連 合 農 学 研 究 科 生 物 資 源 科 学 専 攻
研 究 指 導 を 受 け た 大 学	岐 阜 大 学
学 位 論 文 題 目	Structural Elucidation of Bioactive Compounds from Japanese Larch and Vietnamese Medicinal Plants (日 本 産 カ ラ マ ツ お よ び ベ ト ナ ム 産 薬 用 植 物 に 含 ま れ る 生 物 活 性 物 質 の 構 造 解 析)
審 査 委 員 会	主 査 岐 阜 大 学 准 教 授 今 村 彰 宏 副 査 岐 阜 大 学 教 授 光 永 徹 副 査 静 岡 大 学 教 授 河 合 真 吾

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

植物から得られる二次代謝産物は、高密度に集積した官能基や多環性骨格といった3次元的に複雑な構造を有するものが多い。このような化合物はタンパク質等の生体分子に対して多点認識による相互作用が可能であることから、医薬品シード化合物や生命現象を紐解くケミカルプローブとして広く利用されている。したがって、現代においてもユニークな構造や強力な生物活性を有する新規天然物を獲得することは、有機化学や分子生物学を中心とした学問領域の進歩や産業の発展に貢献し得る。本研究では日本産カラマツとベトナム産薬用植物2種を研究対象とし、それらに含まれる生物活性物質を探索した。まず、カラマツ樹皮やベトナム産苦丁茶葉が含有する微量二次代謝物質を明らかにするため、詳細な成分研究を行った。次いで、LC-MS<sup>2</sup>を基盤としたバイオインフォマティクスである分子ネットワーク解析を導入し、ベトナム産ミカン科植物からの合理的かつ効率的な新規天然物の探索とその構造解析を行った。

### 1) カラマツ樹皮の化学成分探索とチロシナーゼ阻害活性

大量の未利用資源として排出されるカラマツ (*Larix kaempferi*) 樹皮の微量物質を明らかにするため、樹皮抽出物を各種クロマトグラフィーにより繰り返し分離、精製し、新規フェナントレン配糖体1種 (**16**) と既知物質17種 (**1-15, 17, 18**) を単離、構造決定した。マッシュルーム由来チロシナーゼを用いて単離化合物による阻害活性を評価した結果、8種が有意に阻害することが分かり、特に procyanidin B7 (**18**, IC<sub>50</sub> 31 μM) は医薬部外品の美白剤として使用されるコウジ酸 (IC<sub>50</sub> 33 μM) に匹敵した。これは、**18** が基質である L-チロシンや L-ドーパと同じカテコール骨格および多数の水酸基を有することによる活性部位へ強い相互作用に起因すると考察した。

2) 苦丁茶葉原料植物 *Ilex kaushue* から単離したフェノール化合物の構造解析と TNF- $\alpha$  阻害活性  
葉膳茶 “Kuding tea” の茶葉として用いられる *Ilex kaushue* の広範な成分検索を目的として、葉抽出物より新規フェノール酸 1 種 (19)、新規カフェオイルキナ酸 1 種 (20)、新規シアン化配糖体 1 種 (21)、および既知物質 20 種 (22–41) を単離、構造決定した。既知物質として単離した化合物のうち、8 種は *Ilex* 属植物から初めての単離報告であった。20 のキナ酸と 21 のグルコースおよびシアン化ベンジル基の絶対立体配置を分解反応と量子化学計算により決定した。また 21 とそのエピマーの計算 ECD スペクトルから、21 が <sup>1</sup>B 帯 (195–200 nm) で示した負の Cotton 効果は不斉中心であるシアノヒドリンに支配されていることが明らかとなった。微量成分として得た新規物質 (19–21) の生物活性を評価したところ、いずれも細胞毒性を示さなかった 25–100  $\mu$ M の濃度でリポ多糖 (LPS) によって誘導されるマウスマクロファージ細胞の TNF- $\alpha$  産生を抑制することが分かった。

3) ミカン科 *Melicope pteleifolia* からの新規抗炎症クロメンの分子ネットワーク解析による発見と構造解析

ベトナム伝統生薬 “Ba Chac” として知られる *Melicope pteleifolia* の葉抽出物とそこから得た 3 つの分配画分について LC-MS<sup>2</sup> によるノンターゲット分析を行い、得られたデータを用いて分子ネットワーク解析を行った。構築されたネットワークの中でも、全てのノードで  $m/z$  247 に共通フラグメントイオンを示したネットワークはライブラリー検索によるヒットがなく、その前駆イオンの多くは本植物から未報告であった。これを標的化合物群として分画を進め、新規 2H-クロメン二量体 melptelchromene A–E (42–46) と既知物質 2 種 (47, 48) を得た。ラセミ体 43–46 を含む新規化合物の構造はキラルカラムによる光学分割、高分解能質量分析、NMR、および量子力学計算によって、エチリデンあるいは 1,3-ジアリールブタノールをリンカー部に持つユニークな 2H-クロメン二量体と決定した。また、LPS で誘導される一酸化窒素産生抑制活性 (NO) を評価したところ、(-)-5 (IC<sub>50</sub> 3.0  $\mu$ M) と (+)-5 (IC<sub>50</sub> 5.1  $\mu$ M) で最も高い阻害活性が認められ、モノマーユニット間のリンカー結合位置が NO 産生阻害活性の発現に重要であることを明らかにした。

## 審査結果の要旨

各務裕也氏の学位論文の内容は以下の 3 つに大別される。

### 1) カラマツ樹皮の化学成分探索とチロシナーゼ阻害活性

カラマツ (*Larix kaempferi*) 樹皮から 18 個の化合物を単離同定し、1 個は新規化合物のフェナントレン配糖体であった。これら単離化合物のチロシナーゼを阻害活性を評価した結果、8 種が有意に阻害することが分かり、特に procyanidin B7 (IC<sub>50</sub> 31  $\mu$ M) は医薬部外品の美白剤として使用されるコウジ酸 (IC<sub>50</sub> 33  $\mu$ M) に匹敵した。

### 2) 苦丁茶葉原料植物 *Ilex kaushue* から単離したフェノール化合物の構造解析と TNF- $\alpha$ 阻害活性

*Ilex kaushue* 葉から新規化合物 3 種と既知化合物 20 種を単離同定した。新規化合物 3 種の抗炎症試験の結果、25–100  $\mu$ M の濃度でリポ多糖 (LPS) によって誘導されるマウスマクロファージ細胞の TNF- $\alpha$  産生を抑制することが分かった。

### 3) ミカン科 *Melicope pteleifolia* からの新規抗炎症クロメンの分子ネットワーク解析による発見と構造解析

ベトナム伝統生薬 *Melicope pteleifolia* の葉抽出物と 3 つの分配画分について LC-MS<sup>2</sup> によるノンターゲット分析を行い、得られたデータを用いて分子ネットワーク解析を行った。*m/z* 247 を共通フラグメントイオンとして分画を進め、新規 2*H*-クロメン二量体 melptelchromene A-E と既知物質 2 種を得た。エチリデンあるいは 1,3-ジアリールブタノールをリンカー部に持つ 2*H*-クロメン二量体の LPS で誘導される一酸化窒素産生抑制活性 (NO) を評価したところ、高い阻害活性が認められ、モノマーユニット間のリンカー結合位置が NO 産生阻害活性の発現に重要であることを明らかにした。

本学位論文の基礎論文は以下の 3 報である。

1) Identification of chemical constituents from the bark of *Larix kaempferi* and their tyrosinase inhibitory effect

Yuya Kakumu, Kosei Yamauchi, Tohru Mitsunaga

*Holzforschung*, 2019, volume 73, issue 7, 637–643

2) New benzoic acid and caffeoyl derivatives with anti-inflammatory activities isolated from leaves of *Ilex kaushue*

Yuya Kakumu, Thi Minh Tu Nguyen, Kosei Yamauchi, Tohru Mitsunaga

*Natural Product Research*, 2022, volume 36, no. 12, 3013–3021

3) Molecular networking-based discovery of anti-inflammatory chromene dimers from *Melicope pteleifolia*

Yuya Kakumu, Minh Tu Thi Nguyen, Tohru Mitsunaga

*Phytochemistry*, 2022, volume 202, 113322

既発表論文

1) *Arnica montana* L. extract containing 6-*O*-methacryloylhelenalin and 6-*O*-isobutyrylhelenalin accelerates growth and differentiation of human subcutaneous preadipocytes and leads volumizing of skin

Kotaro Sakamoto, Chiharu Watanabe, Teruaki Masutani, Asuka Hirasawa, Kanae Wakamatsu, Arunasiri Iddamalgoda, Yuya Kakumu, Kosei Yamauchi, Tohru Mitsunaga

*International Journal of Cosmetic Science*, 2022, in press

2) 各務裕也, 光永徹: 分子ネットワーク解析による新規天然分子の発見

化学と生物 印刷中 2022