

氏 名 (本 国 籍)	R.R. Harlinda Kuspradini (インドネシア共和国)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 515 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 21 年 3 月 13 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 3 条第 1 項該当
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	Inhibitory Activity on Dental Caries by Some Indonesian Plant Extracts (インドネシア産植物抽出成分によるう蝕阻害活性)
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 准教授 光 永 徹 副査 岐阜大学 教授 大 橋 英 雄 副査 静岡大学 教授 鈴 木 恭 治 副査 信州大学 教授 徳 本 守 彦

論 文 の 内 容 の 要 旨

古代から人類は、病気の治癒や怪我の治療に、植物から得られる天然の材料あるいはその抽出物を薬剤として使ってきた。ブラジルに次ぎ世界で 2 番目に豊かな生物多様性を有するインドネシアでは、民間伝承薬として多種多様な植物エキスが、“ジャムウ (Jamu)” という名で現在でも受け継がれ、予防薬や治療薬として愛飲されている。Jamu の効能には抗炎症、高血圧予防、抗菌、抗ウイルスなどがあり、さまざまな生理活性が知られている。本研究では、インドネシア産薬用植物の、Jamu の効能としては挙げられていない、抗う蝕 (虫歯予防) について検討した。

虫歯は口腔内細菌 *Streptococcus* 属が引き起こす感染症で、食事の欧米化に伴い日本でも国民の約 9 割が感染経験のある恒常的な病である。本菌は Glucosyltransferase (GTase) を産生し、歯の表面で砂糖からグルカンを合成する。このグルカンは他種の細菌によって乳酸や酢酸などに分解され脱灰 (う蝕) を発生する。本研究では、抗菌作用と GTase 阻害活性の点から、抗う蝕効果のある薬用植物の検索と活性成分の構造特定を行った。

第 1 章では、インドネシア産 16 種の樹木試料および 12 種の薬用植物のポリフェノール分析について検討した。フェノール含有量はフォーリンチオカルト法、フラボノイド含有量は塩化アルミニウムシフト試薬法およびフラバノール含有量はバニリン塩酸法でそれぞれ測定した。その結果、ほとんどの試料で高いフェノール含量を有することが分かり、それ等の試料にはフラボノイド類が多く含まれることが明らかとなった。しかしながら、縮合型タンニンを検定するバニリン塩酸法による値はほとんどの試料で低く、縮合型タンニン類を含む試料は少ないと判断した。

第2章では、インドネシア産植物28種から *Streptococcus sobrinus* に対する抗菌活性とグルコシルトランスフェラーゼ(GTase)の阻害活性を検定した。その結果、*Curcuma xanthorrhiza* の50%エタノール水抽出物に最も高い抗菌活性が認められた。しかしながら、*Curcuma xanthorrhiza* の虫歯菌に対する抗菌効果はこれまでに報告されており、すでに活性成分も同定されていたため、続いて抗菌活性の高い *Koompassia malaccensis* (Kempas) の50%エタノール水抽出物を選択した。また本試料はGTase阻害に関しても高い阻害活性が認められたので、*K. malaccensis* の50%エタノール水抽出物をう蝕阻害活性成分の対象試料に定めた。

第3章では、*K. malaccensis* の50%カラムクロマトグラフィーおよび分取HPLCにより、成分の分画を行った。各画分の抗菌活性およびGTase阻害活性を検定したところ、4つの化合物が対象化合物として絞られた。これらの¹H NMR, ¹³C NMR, COSY, HMQC, HMBCなどの核磁気共鳴装置およびEIMS, TOFMSによる質量分析装置をもとに活性化合物を同定した。その結果、(+)-taxifolinと3つのtaxifolinラムノース配糖体(neoastilbin, astilbinとisoastilbin)が特定された。特にneoastilbinはGTaseに対し強力な阻害活性を示した。これらの化合物は低分子ポリフェノールであるにもかかわらずタンニンのような比較的大きなポリフェノール分子と変わらない阻害活性を示したことは、新しい知見であった。またタキシホリン配糖体の立体構造からC2位に結合するB環の立体配置によってGTase阻害活性が影響を受けることから、B環にある水酸基がGTase阻害に大いに貢献すると考えられた。

第4章は、ショウガ科植物の *Curcuma domestica* (Kunyit)と *C. xanthorrhiza* (Temulawak)から得られた抽出物のGTase阻害活性の比較を行った。ショウガ科の植物は、Jamuで最もしばしば使用される植物であるので、今後のJamuの有効利用のための基礎資料の蓄積になると考えた。

これらのショウガ科の植物抽出物は、*S. sobrinus*のGTaseを活性を抑制していることがわかり、ショウガ科植物の歯牙プラークを予防する有望な抑制薬剤のための役立つソースであることを示唆した。

第5章は、インドネシア産樹木で産業上重要な木材であるカプール (*Dryobalanops* sp.)心材のGTase阻害活性について検討した。50%エタノール水抽出物のポリフェノール分析の結果、加水分解性タンニンが多く含まれていることが明らかとなった。またそれらがGTase活性を強く阻害する成分であることを明らかにした。常法に従い、タンニンを分画したところ活性画分は主にellagitanninsであることが示唆された。機器分析を用いて活性物質の構造を検索したところ、bergeninとeschweilenol Cが同定された。これらの化合物は、緑茶抽出物やウーロン茶抽出物に含まれるポリフェノールに比べGTaseを比較的強く阻害した。

以上の研究から、インドネシア産樹木および薬用植物には虫歯(う蝕)の予防に関して潜在的能力のある植物が多く存在することが明らかとなり、それらの生理活性物質の探索資源としてインドネシア産植物が有効であることが示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

虫歯は口腔内細菌 *Streptococcus* 属が引き起こす感染症で、食事の欧米化に伴い日本でも国民の約 9 割が感染経験のある恒常的な病である。本菌は *Glucosyltransferase*(GTase)を産生し、歯の表面で砂糖からグルカンを合成する。このグルカンは他種の細菌によって乳酸や酢酸などに分解され脱灰(う蝕)を発生する。本研究では、抗菌作用と GTase 阻害活性の点から、抗う蝕効果のある薬用植物の検索と活性成分の構造特定を行った。

第 1 章では、インドネシア産 16 種の樹木試料および 12 種の薬用植物のポリフェノール分析について検討した。フェノール含有量はフォーリンチオカルト法、フラボノイド含有量は塩化アルミニウムシフト試薬法およびフラバノール含有量はバニリン塩酸法でそれぞれ測定した。その結果、ほとんどの試料で高いフェノール含量を有することが分かり、それ等の試料にはフラボノイド類が多く含まれることが明らかとなった。しかしながら、縮合型タンニンを検定するバニリン塩酸法による値はほとんどの試料で低く、縮合型タンニン類を含む試料は少ないと判断した。

第 2 章では、インドネシア産植物 28 種から *Streptococcus sobrinus* に対する抗菌活性とグルコシルトランスフェラーゼ(GTase)の阻害活性を検定した。その結果、*Curcuma xanthorrhiza* の 50%エタノール水抽出物に最も高い抗菌活性が認められた。しかしながら、*C. xanthorrhiza* の虫歯菌に対する抗菌効果はこれまでに報告されており、すでに活性成分も同定されていたため、次に抗菌活性の高い *Koompassia malaccensis*(ケンパス)の抽出物を選択した。また本試料は GTase 阻害に関しても高い阻害活性が認められたので、*K. malaccensis* の 50%エタノール水抽出物をう蝕阻害活性成分の対象試料に定めた。

第 3 章では、*K. malaccensis* のカラムクロマトグラフィーにより、成分の分画を行った。各画分の抗菌活性および GTase 阻害活性を検定したところ、4 つの化合物が対象化合物として絞られた。これらの機器分析の結果、(+)-taxifolin と 3 つの taxifolin ラムノース配糖体(neoastilbin, astilbin と isoastilbin)が特定された。特に neoastilbin は GTase に対し強力な阻害活性を示した。これらは低分子ポリフェノールであるにもかかわらず比較的高い阻害活性を示したことは、新しい知見であった。またそれらの C2 位に結合する B 環の立体配置によって GTase 阻害活性が影響を受けることから、B 環にある水酸基が GTase 阻害に大いに貢献すると考えられた。

第 4 章は、ショウガ科植物の *Curcuma domestica*(Kunyit) と *C. xanthorrhiza*(Temulawak)から得られた抽出物の GTase 阻害活性の比較を行った。ショウガ科の植物は、Jamu で最もしばしば使用される植物であるので、今後の Jamu の有効利用のための基礎資料の蓄積になると考えた。これらのショウガ科の植物抽出物は、*S. sobrinus* の GTase の活性を抑制していることがわかり、ショウガ科植物の歯牙プラークを予防する有望な抑制薬剤のための役立つソースであることを示唆した。

第 5 章は、インドネシア産樹木で産業上重要な木材であるカプール (*Dryobalanops* sp.) 心材の GTase 阻害活性について検討した。50%エタノール水抽出物のポリフェノール分析の結果、加水分解性タンニンが多く含まれていることが明らかとなった。またそれらが GTase 活性を強く阻害する成分であることを明らかにした。常法に従い、タンニンを分画したところ活性画分は主に ellagitannins であることが示唆された。また、bergenin と eschweilenol C がカプール材からはじめて単離され、緑茶抽出物やウーロン茶集出物に含まれるポリフェノールに比べ GTase を比較的強く阻害した。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

1. Kuspradini, H., Mitsunaga, T., Mihara, R. and Ohashi, H.: Investigating glucosyltransferase inhibitory activities of polyphenols from kapur (*Dryobalanops* sp) heartwood extracts. J. Nat. Med. 61: 462-467, 2007.
2. Kuspradini, H., Mitsunaga, T., and Ohashi, H.: Anti microbial activity against *Streptococcus sobrinus* and glucosyltransferase inhibitory activity of taxifolin and some flavanonol rhamnosides from Kempas (*Koompassia malaccensis*) extracts. J. Wood Sci. in press.