

## 学 位 論 文 要 旨

氏 名	アルダバス マヘル マモード
題 目	ヨルダンに自生する薬草 <i>Varthemia iphionoides</i> Boiss and Blanche の生理活性物質に関する研究 (Studies on Some Biochemically Active Compounds from the Jordanian Medicinal Plant <i>Varthemia</i> ( <i>Varthemia iphionoides</i> Boiss and Blanche))

ヨルダンに自生する植物 *Varthemia iphionoides* Boiss の地上部について、ヘキサン、酢酸エチル、クロロホルム、エタノール、水など各種溶媒を用いて抽出し、抗酸化活性と抗菌活性・抗腫瘍性活性などの生理活性を調べた。まず、DPPH 法による抗酸化能測定法を検討したところ、分析試料に高濃度の塩や鉄イオンなどの金属イオンが含まれていると分析が妨害されることを見出し、前処理として脱塩操作を必要とすることが分かった。エタノール抽出と水抽出画分は抗酸化能が高く、100  $\mu$ g/ml の濃度でそれぞれ 91 と 89% の DPPH ラジカル消去能が認められた。リノール酸酸化に対しても保護効果が顕著に認められた。また、両画分は、豚膀胱液  $\alpha$ -アミラーゼ活性を 200  $\mu$ g/ml の濃度でそれぞれ 71% と 67% 阻害した。一方、酢酸エチル抽出とクロロホルム抽出画分は、6 種の細菌に対し顕著な抗菌活性を示し、前者についてさらに分離精製を進めたところ、ある種のセスキテルペン (オイデスマン化合物 selina-4,11(13)-dien-3-on-12-oic acid) が見つかった。その化合物の寒天培地デスク拡散法による最小生育阻害濃度 MIC は 250 - 500  $\mu$ g/ml であった。ヘキサン、クロロホルム、エタノール抽出画分は、200  $\mu$ g/ml の濃度でヒト腫瘍細胞 (HL-60) に対してそれぞれ 89, 68, 62% の顕著な生育阻害活性を示した。さらに、エタノール抽出画分をカラムクロマトグラフィーなどで分離精製し、9 種の 3-O-ポリメトキシフラボンを得た。その内の 1 つ 4'-hydroxy-3,5,6,7-tetramethoxy-flavone は天然界から初めて見出した。それらポリメトキシフラボン類の生理活性との構造相関を調べたところ、いくつかはヒト腫瘍細胞に対する生育阻害活性を示し、その活性発現には A 環の 5 位と 7 位に遊離の水酸基を持つことが重要であることが示唆された。

## 学 位 論 文 要 旨

氏 名	AL-DABBAS MAHER MAHMOUD BASHEER
題 目	<p>Studies on Some Biochemically Active Compounds from the Jordanian Medicinal Plant <i>Varthemia</i> (<i>Varthemia iphionoides</i> Boiss and Blanche)          (ヨルダンに自生する薬草 <i>Varthemia iphionoides</i> Boiss and Blanche の生理活性物質に関する研究)</p>
<p>Hexane, ethyl acetate, chloroform, ethanol and water extracts of aerial parts of <i>Varthemia</i>, <i>Varthemia iphionoides</i> (Compositae) were investigated <i>in vitro</i> for antioxidant activities, antibacterial activity, <math>\alpha</math>-amylase inhibitory activity and for antiproliferation activity against human leukemia HL-60 cells. The existence of inorganic salts, particularly iron or copper salts, in plant samples was found to interfere with DPPH results. The choice of buffer systems and the elimination of co-existing salts by ion-exchange resins are important to obtain the accurate DPPH radical-scavenging activity in plant extracts. Ethanol and water extracts showed higher DPPH radical scavenging activity, with inhibition percentage of 90.6 and 89.1 respectively, at a concentration of 100 <math>\mu</math>g/ml. They also exhibited pronounced antioxidant activity in the linoleic acid system. Ethanol and water extracts also inhibited the activity of <math>\alpha</math>-amylase from porcine pancreas by 70.5 and 67.0 %, respectively at concentration of 200 <math>\mu</math>g/ml in the CNP-G<sub>3</sub> degradation method. Ethyl acetate and chloroform extracts showed a pronounced antibacterial activity against six bacterial species. Bioassay-guided fractionation of the ethyl acetate extract and further purification of the most antibacterially active fraction led to the isolation and identification of an eudesmane sesquiterpene, selina-4, 11 (13)-dien-3-on-12-oic acid. The minimum inhibitory concentrations (MICs) of this compound which was determined by the agar dilution method ranged between 250~500 <math>\mu</math>g/ml. Hexane, chloroform and ethanol extracts showed a pronounced antiproliferation effect on human leukemia (HL-60) cells (<math>P &lt; 0.05</math>), with inhibition percentage of 89.0, 68.4 and 62.3 respectively, at a concentration of 200 <math>\mu</math>g/ml. Fractionation of the ethanol extract and further purification by column chromatography afforded nine 3-O-polymethylated flavones, one of them was isolated for the first time from natural source; 4'-hydroxy-3,5,6,7-tetramethoxyflavone. The compounds structure was determined using spectroscopic methods. The structure activity relationships between these isolated flavones and antiproliferation activity could be related to the free hydroxyl groups at C-5 and C-7 in A-ring and polymethoxyl groups on the flavones structure.</p>	

## 学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	アルダバス マヘル マモード
審査委員	主査 鹿児島大学農学部・教授 菅沼 俊彦
	副査 鹿児島大学農学部・助教授 北原 兼文
	副査 佐賀大学農学部・教授 藤田 修二
	副査 宮崎大学農学部・教授 辰巳 保夫
	副査 琉球大学農学部・教授 安田 正昭
審査協力者	鹿児島大学名誉教授 橋永 文男
題目	<p>Studies on Some Biochemically Active Compounds from the Jordanian Medicinal Plant <i>Varthemia</i> (<i>Varthemia iphionoides</i> Boiss and Blanche)</p> <p>(ヨルダンに自生する薬草 <i>Varthemia iphionoides</i> Boiss and Blancheの生理活性物質に関する研究)</p>
<p>ヨルダンに自生する植物 <i>Varthemia iphionoides</i> Boiss and Blanche の地上部について、ヘキサン、酢酸エチル、クロロホルム、エタノール、水など各種溶媒を用いて抽出し、抗酸化活性と抗菌活性・抗腫瘍性活性などの生理活性を調べた。まず、DPPH 法による抗酸化能測定法を検討したところ、分析試料に高濃度の塩や鉄イオンなどの金属イオンが含まれていると分析が妨害されることを見出し、前処理として脱塩操作を必要とすることが分かった。</p> <p>エタノール抽出と水抽出画分は抗酸化能が高く、100 <math>\mu</math>g/ml の濃度でそれぞれ 91 と 89% の DPPH ラジカル消去能が認められた。リノール酸酸化に対しても保護効果が顕著に認められた。また、両画分は、豚膀胱液 <math>\alpha</math>-アミラーゼ活性を 200 <math>\mu</math>g/ml の濃度でそれぞれ 71% と 67% 阻害した。一方、酢酸エチル抽出とクロロホルム抽出画分は、6 種の細菌に対し顕著な抗菌活性を示し、前者についてさらに分離精製を進めたところ、ある種のセスキテルペン（オイデスマン化合物 selina-4,11(13)-dien-3-on-12-oic acid）が見つかった。その化合物の寒天培地デスク拡散法による最小生育阻害濃度 MIC は 250 - 500 <math>\mu</math>g/ml であった。ヘキサン、クロロホルム、エタノール抽出画分は、200 <math>\mu</math>g/ml の濃度でヒト腫瘍細胞（HL-60）に対してそれぞれ 89, 68, 62% の顕著な生育阻害活性を示した。</p>	

さらに、エタノール抽出画分をカラムクロマトグラフィーなどで分離精製し、9種の3-O-ポリメトキシフラボンを得た。その内の1つ4'-hydroxy-3,5,6,7-tetramethoxy-flavoneは天然界から初めて見出した。それらポリメトキシフラボン類の生理活性との構造相関を調べたところ、いくつかはヒト腫瘍細胞に対する生育阻害活性を示し、その活性発現にはA環の5位と7位に遊離の水酸基を持つことが重要であることが示唆された。

以上のように、本論文はヨルダンに自生するVarthemia属の薬草中から、生理活性物質として1種のオイデスマン化合物と、新規な天然化合物1種を含む9種の3-O-ポリメトキシフラボンを単離した。そして、抗酸化活性や抗腫瘍活性とこれらポリメトキシフラボン類の構造相関を探ることにより、活性に重要な水酸基を推定することができた。本論文で得られたヨルダンの薬草成分に関する成果は、ポリメトキシフラボン類の生化学的研究に新たな知見を与え、本論文は学位論文として十分な価値があるものと判定した。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏 名	アルダバス マヘル マモード
審査委員	主査 鹿児島大学農学部・教授 菅沼 俊彦
	副査 鹿児島大学農学部・助教授 北原 兼文
	副査 佐賀大学農学部・教授 藤田 修二
	副査 宮崎大学農学部・教授 辰巳 保夫
	副査 琉球大学農学部・教授 安田 正昭
審査協力者	鹿児島大学名誉教授 橋永 文男
実施年月日	平成 19 年 1 月 15 日
試験方法（該当のものを○で囲むこと。） <input checked="" type="radio"/> 口答・筆答	
<p>主査及び副査の5名は、前指導教員である審査協力者1名を加えて、平成19年1月15日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得た。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力並びに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者 氏名	アルダバス マヘル マモード
<p>[質問1] 抗菌物質として単離したオイデスマン化合物はどのような機構で抗菌作用を示すのか？</p> <p>[回答1] テルペン骨格に結合したケトン基とカルボキシル基の存在が活性に関与していると思う。</p> <p>[質問2] この化合物の抗菌活性が、グラム陽性菌より、グラム陰性菌の方に強く作用する理由はどうか？</p> <p>[回答2] この化合物はセスキテルペンで親油性なので、脂質層が露出しているグラム陰性菌の方に作用しやすいと思われる。</p> <p>[質問3] 今回研究対象とした <i>Varthemia</i> 属のヨルダン薬草と類似した植物が日本でも見られるのか？</p> <p>[回答3] 日本の植物をよく知らないが、ハーブ植物のセージが近縁種である。</p> <p>[質問4] 単離したポリメトキシフラボンの豚膀胱 <math>\alpha</math>-アミラーゼの阻害実験を2つの方法で行っているが、両方で阻害の程度がどうして異なったのか？</p> <p>[回答4] 2つの方法で、異なる基質を用いている。CNP-G3は比較的 low molecular weight の合成基質であり、ヨード法では可溶性デンプンという比較的高分子の天然基質を用いている。酵素の阻害実験では、通常 low molecular weight 基質を用いた場合の方が、阻害が顕著に現れる。</p> <p>[質問5] なぜ、この植物を研究対象としたのか？</p> <p>[回答5] 理由としてはいくつかある。1) この植物種は、ヨルダンでも稀少植物でどこにでもある植物ではないということ、2) 薬草として長年に渡って人々に飲用されて安全であること、3) 薬草商は多くの病気にこの薬草を使うように勧めるが、その科学的根拠がまだ明確でないこと、が挙げられる。この植物の有効成分を明らかにするために種々の化合物を単離した。</p> <p>[質問6] 試料中の塩や鉄イオンなどで DPPH 法による抗酸化能が妨害を受けることを明らかにしたが、試料の前処理として脱塩操作ではなく、キレート剤を用いたことがあるか？</p> <p>[回答6] キレート剤で鉄イオンの影響が軽減される可能性があると思われるので、今後検討したい。</p>	