



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Title	Tyrosinase Inhibitory Active Components Contained in Bangladesh Medicinal Plants and Elucidation of the Inhibition Mechanism(内容と審査の要旨(Summary))
Author(s)	Mohammad Nuruzzaman Masum
Report No.(Doctoral Degree)	博士(農学) 甲第715号
Issue Date	2019-03-31
Type	博士論文
Version	none
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/78472

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏 名 (本 国 籍)	Mohammad Nuruzzaman Masum (バングラデシュ人民共和国)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 7 1 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 3 1 年 3 月 3 1 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	Tyrosinase Inhibitory Active Components Contained in Bangladesh Medicinal Plants and Elucidation of the Inhibition Mechanism (バングラデシュの薬用植物に含まれるチロシナーゼ阻害 活性成分と阻害機構の解明)
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 准教授 寺 本 好 邦 副査 岐阜大学 教 授 光 永 徹 副査 静岡大学 教 授 河 合 真 吾 副査 岐阜大学 助 教 山 内 恒 生

論 文 の 内 容 の 要 旨

本研究は、バングラデシュで採取した 7 種類の薬用植物から、B16 メラノーマ細胞に対し低毒性で、チロシナーゼ阻害およびメラニン生産抑制活性を示す抽出物をスクリーニングし、その活性成分の単離と構造解析さらに活性成分のメラニン生産抑制機構について論じている。

7 種の植物中、*Persicaria orientalis* の根抽出物のみがチロシナーゼモノフェノラーゼおよびジフェノラーゼ阻害活性を有し、IC₅₀ はそれぞれ 13 および 17 μ g/ml であった。また、*P.orientalis* 根抽出物の 50, 25 および 12.5 μ g/ml の処理濃度で B16 細胞に対して高い細胞生存率を示した。そこで、チロシナーゼ阻害活性成分の単離を試みた。まず、*P.orientalis* の根から MeOH で抽出物を得た後、*n*-ヘキサン、EtOAc、および EtOH でそれぞれ分配した。EtOAc および EtOH 可溶部は、それぞれ 39 および 22 μ g/ml の IC₅₀ で、抽出物としては良好なチロシナーゼ阻害活性を示した。有効成分は、EtOH 可溶部をシリカゲルおよび Sephadex LH-20 カラム、次いで C-18 逆相分取 HPLC により単離し、1D、2D NMR および MALD-TOFMS 分析からヒドロピペロシド(1)、バニコシド A(2)、バニコシド B(3)、バニコシド C(4)、バニコシド E(5)、エキソチシン(6)、エピカテキン-3-*o*-ガレート(7)、ガリック酸(8)および 3,4-ジヒドロキシ安息香酸(9)と同定した。そのうち 5 種はフェニルプロパノイドスクロースエステル(化合物 1 ~5)で *P.orientalis* の根の主要な二次代謝産物であった。単離された化合物 1~5 のチロシナーゼ活性阻害を評価したところ、いずれも良好なチロシナーゼモノフェノラーゼおよびジフェノラーゼ阻害活性を示した。モノフェノラーゼ阻害活性では、化合物 1 が最も強い阻害(IC₅₀ 27.1

μM)を示し、チロシナーゼ阻害剤として化粧品に配合されているコウジ酸とほぼ同等の値を示した。ジフェノラーゼ阻害活性では化合物 4 が効果的で、コウジ酸の約 2 倍の効果を示した。次に化合物 1~5 のメラニン生産抑制作用について B16 メラノーマ細胞で評価した。化合物 1 および 4 は、高濃度($50\mu\text{M}$)条件においても低細胞毒性を示した。さらに各化合物は濃度依存的にメラニン生産抑制作用を示し、特に化合物 3 は、 50 および $25\mu\text{M}$ において、有意に高い細胞外メラニン阻害活性率を示した。美白剤として化粧品に配合されているアルブチンは、 $730\mu\text{M}$ でメラニン合成に対して 58%の阻害効果を示したが、化合物 1、3 および 4 は、 $50\mu\text{M}$ という比較的 low 濃度においても良好なメラニン産生抑制効果を示した。また、構造活性相関の結果、グルコース 6 位のフェルロイル基および 2 位または 3 位にアセチル基を有する構造は、細胞毒性の引き金になっている事が明確となった。

以上の結果から、*P.orientalis* の根抽出物は、チロシナーゼ阻害剤およびメラニン生産抑制剤として使用できる複数の有望な化合物を含有する事が示され、実用性のある天然美白剤の開発が期待される。

審査結果の要旨

申請者 Mohammad Nuruzzaman Masum は、7 種のバングラディッシュ産薬用植物のスクリーニングにより *Persicaria orientalis* の根エキスのみが有望なチロシナーゼ阻害活性を有し、その活性成分を探索したところ、9 種類の化合物の単離同定に成功した。その中でスクロースに *p*-クマル酸 3 分子が結合した 5 種のバニコシド誘導体がチロシナーゼ阻害活性および B16 メラノーマ細胞のメラニン生産を抑制した。しかしながら、グルコースの 3 位あるいは 5 位がアセテートおよび 6 位がフェルレートになった化合物 IV と V はメラノーマ細胞に対して強毒性を示す結果となった。今後は構造活性相関研究が進み、臨床実験での効果が認められれば、実用性のある天然化粧品美白剤の開発に繋がる事が期待される。

1. Mohammad Nuruzzaman Masum, Siwattra Choodej, Kosei Yamauchi and Tohru Mitsunaga (2018) Isolation of Phenylpropanoid Sucrose Esters from the Roots of *Persicaria orientalis* and Their Potential as Inhibitors of Melanogenesis. Medicinal Chemistry Research (in press).
2. Mohammad N. Masum, Kosei Yamauchi and Tohru Mitsunaga (2018) Tyrosinase Inhibitors from Natural and Synthetic Sources as Skin-lightening Agents. Reviews in Agricultural Science (in press).