



【研究の目的】 活性酸素が多くの疾病の病態に  
関与していることが明らかになるにつれ、  
活性酸素を消去する天然抗酸化物に注目が集  
まってきた。これまでの研究で喘息の治  
療に用いられているアフリカ産薬草の *Thonningia*  
*sanguinea* は抗酸化作用を有し、その有効成分と  
して新規タンニンである Thonningianin A (ThA) および  
B が単離された。本研究では、この ThA の抗  
酸化作用を明らかにするために脂質過酸化反  
応 (LPO)、ラジカル消去作用、デオキシリポ  
ース (DOX) 分解への作用を検討した。

【方法】 未処置 Sprague-Dawley ラット肝から常法に  
より調整したミクロソーム画分を実験に供し  
た。ThA は前報の方法で 50% メタノールで抽  
出・単離されたものを用いた。脂質過酸化反  
応はミクロソームに NADPH 生成系を加える酵素  
的反応および  $Fe^{2+}$  / アスコルビン酸法による非  
酵素的反応により惹起させた。ラジカル消去  
作用は、1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)、スーパ  
ーオキシドアニオン ( $O_2^-$ )、ペルオキシラジカル

(RO<sub>2</sub>) への作用をESRを用いて測定した。一方、ヒドロキシルラジカル(OH)消去作用およびキレート作用はDOX法で検討した。

【結果・考察】 ThAは酵素的LPOを10 $\mu$ Mで61%減少させたが、同濃度のタンニン酸、没食子酸、ビタミンE(V.E)およびC(但し、1 $\mu$ M)はLPOを各々65%、7%、13%および39%減少させた。ThA(10 $\mu$ M)は非酵素的LPOを65%減少させたが、タンニン酸、没食子酸、V.EおよびC(1 $\mu$ M)は84%、7%、12%および5%減少させた。これより、ThAはタンニン酸よりは弱い、V.E、V.Cよりも強いLPO阻害作用を有することが明らかになった。ThA(10 $\mu$ M)はシトクロムP-450活性を阻害しなかったが、25および100 $\mu$ Mでは5%、40%阻害した。これより、ThA 10 $\mu$ Mによる酵素的LPO抑制はP450阻害によるものではなく、LPOそのものの抑制であることが示唆された。ThAはOHに対しては弱い消去作用を示したが、DPPH、O<sub>2</sub><sup>-</sup>およびRO<sub>2</sub><sup>-</sup>を用量依存性に消去し、IC<sub>50</sub>は各々7.5 $\mu$ M、10 $\mu$ Mおよび30 $\mu$ Mであ

った。さらに ThA はキサンチンオキシダーゼ (XnO) を阻害し、その IC<sub>50</sub> は 30 μM であった。これより、ThA は O<sub>2</sub><sup>-</sup> を消去するのみならず、O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生も抑制することが示唆された。ThA のキレート作用を確認するために EDTA を用い、DOX の分解への影響を検討した。ThA (10 μM) は EDTA を加えた場合は 15 %、EDTA がいない場合は 70 % に DOX 分解を阻害した。同様に *T. sanguinea* 抽出液も EDTA を加えない場合のみ DOX 分解を阻害することが確認された。また、ThA の吸収スペクトルを測定したところ、Fe<sup>2+</sup> イオンを加えると青黒色生成物と共に 538 nm のピークが出現し、ThA/Fe<sup>2+</sup> 複合体を生じていることが示された。これより、ThA はキレート作用を有することが明らかになった。

以上、ThA の抗酸化作用は DPPH、O<sub>2</sub><sup>-</sup>、RO<sub>2</sub><sup>-</sup> などラジカルを直接消去する作用、XnO 阻害による O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生阻害作用ならびに鉄キレート作用によることが明らかにされた。

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏名	Maxwell Afari Gyamfi
		平成 14 年 12 月 2 日		
論文審査委員		主査教授	坂 梨 又 郎	
		副査教授	吉 見 直 己	
		副査教授	野 中 寛 雄	
(論文題目)				
Antioxidant properties of Thonningianin A, isolated from the African medicinal herb, <i>Thonningia sanguinea</i>				
(論文審査結果の要旨)				
<p>上記論文に関し、研究に至る背景と目的、研究内容とその学術的水準、研究成果の意義について慎重に検討し、以下の審査結果を得た。</p> <p>1. 研究の背景と目的</p> <p>アフリカ産薬草の <i>Thonningia sanguinea</i> (T. S.) はガーナにおいて現在でも喘息の治療薬として使用されている。T. S.に抗酸化作用があり、アフラトキシン肝障害やガラクトサミン肝障害を軽減すること、および肝薬物代謝酵素阻害作用を有することが著者等のこれまでの研究で明らかにされている。この T. S.の抗酸化成分として単離・同定されたものが新規タンニンである Thonningianin A および B であり、本研究は、このうちの Thonningianin A (Th A) の抗酸化作用を詳細に解明する目的で行われたものである。</p> <p>2. 研究内容と水準</p> <p>Th A はラット肝ミクロソーム P450 を介する酵素的脂質過酸化反応および Fe<sup>2+</sup>/アスコルビン酸による非酵素的脂質過酸化反応を強く阻害した。著者らは、この酵素的脂質過酸化反応抑制が P450 酵素阻害によるものではなく、脂質過酸化反応を直接抑制することによるものであることを確認している。また、著者らは、Th A が、O<sub>2</sub><sup>-</sup>、DPPH、ペルオキシラジカルに対して 30 μM 以下の IC<sub>50</sub> を示し、強いラジカル消去作用を有すること、および Th A が O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生酵素のキサンチンオキシダーゼを阻害</p>				

- 備 考
- 1 用紙の規格は A4 とし縦にして左横書とすること。
  - 2 要旨は 800 字～1200 字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。

すること、さらに、Th A には  $\text{Fe}^{2+}$ キレート作用があることを明らかにしている。

本研究は、T. S.から単離された新規抗酸化物質 Th A の抗酸化作用メカニズムを解明したもので、学術的に高水準にあるものと判断される。

### 3. 研究成果の意義

近年、薬草の抗酸化作用についての研究が増えてきているが、アフリカ産薬草についての研究は殆どなく、抗酸化成分を特定したものは本研究がはじめてであり、しかも、単離された抗酸化成分は新規の抗酸化物質であった。この新規抗酸化物質である Th A の抗酸化作用メカニズムを明らかにしたことは、薬草 T. S.の抗酸化作用に科学的根拠を与えるものであり、同時に T. S.の薬理作用の解明に大きく寄与するものと言える。

以上により、本論文は学位授与に十分値するものと判定した。

- 備考
- 1 用紙の規格は A4 とし縦にして左横書とすること。
  - 2 要旨は 800 字～1200 字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。