

京都大学	博士（薬学）	氏名	赤塚 亮太
論文題目	シソに含まれる青酸配糖体についての天然物化学的研究		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>青酸配糖体は、α-シアノヒドリンをアグリコンとし、加水分解により HCN と糖とカルボニル化合物を生じる天然物であるが、HCN は、呼吸鎖に毒性を示すため植物の防御物質の一種と考えられている。しかし、適量では鎮咳作用を示すとされており、日本薬局方では鎮咳作用を期待して用いる生薬キョウニンでアミグダリンがその定量指標成分として規定されている。また、ピクリン酸試験紙法というシアン化合物の定性試験法が厚生労働省の「食品、添加物等の規格基準」にて規定されている。シソ科シソ属の一年草であるシソは、日本薬局方収載生薬ソヨウの基原植物であり、葉の両面または片面が赤色のものは薬用に、葉が緑色のものは食用にされている。その特徴的な成分はアントシアニン類や精油類等であるが、プルナシン等の青酸配糖体が単離されたという報告もある。しかし、それ以上の詳細については知見がない。そこで申請者は、シソにおける青酸配糖体の種類や含量、集積部位、変動要因等を明らかにすることを目的に次のような研究を行った。</p> <p>第 1 章 シソに含まれる青酸配糖体のピクリン酸試験紙法による検出と HPLC による定量</p> <p>人工気象室で栽培した純系のシソおよび市場品ソヨウを用い、ピクリン酸試験紙法により青酸配糖体の有無を確認した。その結果、栽培品は全て陽性または擬陽性となり、市場品については陽性・陰性の両方が存在した。さらに、検体ごとに試験紙の呈色の濃さに違いがあったが、アミグダリン溶液を任意の濃度に調製して実験を行ったところ、青酸配糖体の濃度とピクリン酸試験紙の呈色の濃さはほぼ比例していたため、この試験は半定量試験として応用可能であることがわかった。</p> <p>また、セイヨウバクチノキから、プルナシンとそのシアノ基が結合している炭素原子の立体異性体であるサンプニグリンを混合物として単離した。この単離物とシソ分析サンプルの分析データを比較したところ、シソに含まれる青酸配糖体としてはプルナシンが多く、そのエピマーであるサンプニグリンや diglucoside 様物質も存在することが判明した。diglucoside 様物質については、HPLC にて単離し、その分析データを文献値と照合して青酸配糖体であるユーカリプトシン A であると判明した。これらは先行研究でシソから単離された青酸配糖体の種類に一致した。</p> <p>さらに、セイヨウバクチノキからの単離物を用いて検量線を作成し、純系シソおよび市場品ソヨウのプルナシンの定量を行った。純系シソ葉については、葉の主脈の長さごとに分類し、対生についている 1 対の葉の茎を挟んで一方は新鮮葉のまま、もう一方は乾燥葉にしてからプルナシンの定量を行った。それ以外の葉は主脈の長さに関係なく収穫し、系統間のプルナシンの含量の比較に用いた。その結果、純系シソの葉については、系統ごとにプルナシンの含量に違いがみられた。このことから、青酸配糖体の生合成には遺伝的背景が大きく関与している可能性が示された。また、新鮮葉と乾燥葉では新鮮葉にプルナシン含量が多い傾向にあった。このことから、乾燥中に β-グルコシダーゼにより分解されたと考えられたため、シソの β-グルコシダーゼ活性試験を行った。その結果、活性が認められ、シソでも β-グルコシダーゼの存在が確認された。一方、プルナシンの含量は主脈の長さとは反比例する傾向にあることが判明した。</p>			

植物が防御物質を生合成するのに必要な「コスト」と防御による「利益」の兼ね合いにより防御物質が分配されるという最適防御理論に基づけば、シソでは将来性のためには主脈が短い、すなわち若い葉を優先的に防御しようとしているという可能性が示唆された。

市場品ソヨウのプルナシンの含量にはばらつきがあり、約 0.3—3.5 mg/g 程度含まれていることが判明した。市場品ソヨウ 1 g 中のプルナシンから発生しうる HCN の量を計算すると、0.028—0.11 mg 程度であり、例えば体重 60 kg の人間への毒性量である 30—210 mg より少なく安全であると考えられた。

第 2 章 シソの青酸配糖体の変動要因と集積部位について

屋外で栽培したシソを 8 月上旬から 10 月下旬の間に 7 回収穫し、プルナシンの定量を行い、その季節変動について調査した。その結果、8 月上旬から中旬にかけて急激に減少し、花芽を形成する 9 月中旬までにやや増加した後に穏やかに減少することが判明した。

開花中および落葉後のシソの全草を収穫し、各部位の単位質量あたりのプルナシンを定量した。その結果、開花期における含量は葉 > 花 > 蕾 > 花芽 > 果実 > 茎 > 根の順に多かったが、根からは検出されない個体も存在した。このことを最適防御理論に当てはめると、開花中において最も優先して防御すべきであるのは葉であると考えられた。また、落葉後においては、種子からはプルナシンは検出されず、その他の部位からもほとんど検出されなかった。したがって、開花期に検出されていたプルナシンは分解・代謝された可能性が示唆された。

また、シソ・エゴマ 4 系統を人工気象室で栽培し、プルナシンの定量を行った。その結果、使用した全系統でプルナシンが検出され、栽培日数とその含量は概ね比例する傾向にあった。尚、エゴマから青酸配糖体が検出されたのは初の例であった。

以上、申請者はシソに含まれる青酸配糖体の種類や含量について明らかにし、集積部位、変動要因等について検討した。シソは、生薬ソヨウの基原であり、また香味野菜としても利用される植物であり、青酸配糖体はその活性や香味に影響を与えている化合物である。ソヨウの品質を議論する際には本研究の成果が役立つものと考えている。

(論文審査の結果の要旨)

提出された論文は、シソに含まれる青酸配糖体の種類や体内の分布について、またシソの生育時期と青酸配糖体の含量変化について調べ、考察したものである。生薬に含まれる青酸配糖体は、生薬の薬理活性を担う成分であると同時に、その化合物だけを成分的にみれば有毒成分であるため、含量や構造、また含量の変化等については詳細に把握することが望ましい。生薬ソヨウの基原となるシソについては、これまで青酸配糖体が含まれることは知られていたが、天然物化学的な側面から化合物の構造のみに注目した報告がほとんどで、植物の成長に伴う変化や詳細な含量変化、また、遺伝的背景との関連など、植物二次代謝の観点から全体像としてとらえて考察を加えたものは、本論文が初めてであると思われる。植物二次代謝成分は、生薬の品質評価の指標にしばしば利用されるが、それには、各成分の生成や蓄積に関して全体像として観察した情報が必要である。本論文はそのような観点からも、有用な知見を含むもので、シソの品質評価に新たな切り口を与えるものになりうる研究成果であると考えられる。

よって、本論文は博士(薬学)の学位論文として価値あるものと認める。また、令和4年12月19日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： _____ 年 _____ 月 _____ 日以降