

## 学位（博士）論文の要旨及び審査結果の要旨

学位記番号	甲第三号	学位授与年月日	令和2年3月19日
氏名（カナ）	孕石 梨愛 （ハラミイシ リエ）		
論文題目（和）	天然物を利用した機能性食品開発に関する薬学的研究		
論文題目（洋）	Pharmaceutical research on development of functional foods using natural products		
審査委員	主査： 松山大学 教授 河瀬 雅美 副査： 松山大学 教授 天倉 吉章 副査： 松山大学 教授 玉井 栄治		
受理日	令和1年11月30日		
公開発表日	令和1年12月19日		
審査終了	令和2年2月5日		

# 博士論文審査結果（要旨）

博士（薬学） 孕石 梨愛

論文題名 天然物を利用した機能性食品開発に関する薬学的研究

## 1. 内容の要旨

天然物を利活用した機能性食品の開発について、1) 天然素材の成分解析に基づく特徴成分の探索、2) 特徴成分を指標にした製品化のための品質評価について、分子を指標とする薬学的研究を目的に検討を行った。

1) 天然素材としてクルミについて成分精査した結果、既知化合物 27 種とともに 3 種の新規化合物 [glansreginin C、ellagic acid 4-O-(3'-O-galloyl)- $\beta$ -D-xyloside、platycaryanin A methyl ester] を構造決定した。また、ナッツ類 6 種とクルミについて HPLC による成分比較を行った結果、glansreginin A (GA) のピークがクルミにのみ顕著に認められた。クルミ（生及びロースト品）市販品について、GA の定量分析を行った結果、すべての試料で分析可能であり、また GA は熱に安定であることが示唆された。それゆえ、GA がクルミの指標となり得る特徴成分として支持された。一方で GA の生理活性について、リポ多糖 (LPS) 誘発全身性炎症モデルマウスを用いた脳保護作用について検討した。その結果、オープンフィールドテストでは、GA の投与が LPS 誘発性の不動時間の延長を抑制することが示唆され、また免疫組織化学染色では、脳海馬において LPS 誘発性のミクログリアの活性化を有意に抑制していることが示された。これらの結果から、GA は抗炎症活性を持ち、脳内においても作用することが示唆された。

2) ベルト式及び JBT（インライン）式の 2 種の搾汁機を用いて調製した河内晩柑果実のジュースについて、HPLC 分析による成分比較を行った。主検出成分は、いずれも果汁の主成分である naringin (NGIN) で、次いで narirutin (NRTN) であった。果皮成分である 3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone (HMF)、nobiletin (NBT)、NGIN、NRTN、auraptene (AUR) の 5 成分について定量分析した結果、HMF、NBT、AUR はベルト式で調製した果汁の含有量が高く、NGIN、NRTN は JBT 式が高い結果となった。それゆえ、目的とする成分により、調製法の使い分けが可能であることが示された。また、これらのジュース中の熱安定性について検討した結果、AUR は 3 時間後に若干の分解が認められたが、その他の成分は 10 時間後も安定であった。一方、エタノール中ではいずれも熱に安定であった。

以上、本研究において、天然物を機能性食品として開発する場合、素材の特徴成分の同定、製品中における機能性成分の含有に関して、分子を指標にした薬学的検討について一例を示すことができた。これらは、機能性素材の品質保証につながるレギュラトリーサイエンスに資する一データになり得ることが期待される。

## 2. 審査結果の要旨

天然資源を基原とする素材（天然素材）は、生薬・漢方薬としてだけでなく、機能性食品としても幅広く使用されている。特に、機能性食品において天然素材を正しく用いるためには、その基原となる動植物について品質確保のための評価と最終製品における品質保証が求められる。申請者は、機能性食品としても食されているクルミや柑橘の含有成分を精査し、それらを指標としたクルミ市販品や柑橘（河内晩柑）ジュースの品質評価のベースとなる以下の研究成果を得た。

1) 天然素材としてクルミ (*the seed of Juglans regia*) について含有成分の分離精製を行った。その結果、既知化合物 27 種と 3 種の新規化合物 [glansreginin C、ellagic acid 4-*O*-(3'-*O*-galloyl)- $\beta$ -D-xyloside、platycaryanin A methyl ester] の合計 30 種類の化合物を単離、構造決定した。これら 30 種類の成分からクルミの指標に成り得る特徴成分を探索するために、ナッツ類 6 種（アーモンド、カシューナッツ、ピーカンナッツ、ピスタチオ、ヘーゼルナッツ、マカダミアナッツ）とクルミについて HPLC による成分比較を行った。その結果、クルミにのみ glansreginin A (GA) のピークが顕著に認められることを明らかにした。また、クルミ市販品（生クルミ、ローストクルミ等）において、GA は HPLC により定量的に分析可能であることを示した。一方、クルミはローストして使用される場合もあるので、指標成分は熱に安定であることが求められるが、GA は熱にも安定であることを示した。それゆえ、GA がクルミの特徴成分としての指標になり得ることを明らかにした。また、GA の生理作用について、リポ多糖 (LPS) 誘発全身性炎症モデルマウスを用いて脳保護作用を検討した。その結果、オープンフィールドテストでは、GA の投与が LPS 誘発性の不動時間の延長を抑制し、さらに免疫組織化学染色では、脳海馬において LPS 誘発性のミクログリアの活性化を有意に抑制した。これらの結果により、GA は抗炎症活性を持ち、脳保護作用を有することが示唆された。

2) 柑橘として愛媛県特産の河内晩柑果実 (*Citrus kawachiensis* fruits) のジュース (KBJ) について、製造法による成分含量の違いを調べる目的で、2 種の搾汁機 [ベルト式及び JBT 式] で調製した KBJ に含まれる機能性成分の HPLC 分析を行った。ベルト式搾汁機を用いて調製したジュース (KBJ-B) と JBT 式搾汁機を用いて調製したジュース (KBJ-J) について、柑橘類の代表的な 5 種類の機能性成分、nobiletin (NBT)、naringin (NGIN)、3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone (HMF)、narirutin (NRTN)、auraptene (AUR) を指標にそれらの含有量を比較した。その結果、KBJ-B と KBJ-J のどちらの果汁も主成分は NGIN で、次いで NRTN が多かった。しかし、KBJ-B では、KBJ-J より HMF と NBT の含有量は両方とも約 7 倍、また AUR のそれは約 2 倍であった。一方、KBJ-J では、KBJ-B より NGIN と NRTN の含有量は約 1.5~2 倍であった。したがって、KBJ において、調製法の違いにより目的とする機能性成分の使い分けが可能であることを示した。例えば、脳機能改善効果があるとされる機能性成分の HMF や AUR の含量は、KBJ-B の方が KBJ-J より多いことを化学的に証明している。一方、柑橘エキ스는様々な商品に添加する場合、加熱工程が必要となることもあるため、

この5成分について熱安定性についても検討した。その結果、AURは3時間後に若干の分解が認められたが、他の4成分は10時間後も安定であった。一方、エタノール中ではいずれも熱に安定であった。

以上、申請者は、1) クルミから新規化合物3種を含む計30種の化合物を明らかにするとともに、glansreginin Aがクルミの特徴成分として指標となり得ることを見出し、クルミ市販品中のクルミ含量の定量的な検証を可能にした。また、glansreginin Aが脳保護作用を示すことを見出した。2) 愛媛県特産の河内晩柑果実のジュース(KBJ)について、5種類の機能性成分をHPLC分析により定量して、ジュースの製法の違いによる機能性成分の含有量の違いや熱安定性を化学的に検証し、KBJの含有機能性成分の使い分けが調製法により可能であることを示した。以上、本研究成果は、機能性食品の品質確保のための科学的根拠に基づいた品質の評価が、含有成分を指標にした薬学的検討により可能であることを示したものであり、機能性食品の適正使用を見据えたレギュラトリーサイエンスの視点からの研究の発展に大いに寄与する成果であると言える。

本学位論文の予備審査会は、令和元年12月19日に松山大学大学院医療薬学研究科により開催され、口頭発表と質疑応答が公開で行われた。その後、学位論文審査委員3名により本学位論文の内容とそれに関連した事項について口頭試問と審査が行われた。その結果、本学位論文に記載された研究成果は、学術性と実用性が高く、その内容は薬学に関連する学問領域において高く評価されることから、審査委員全員一致して、博士(薬学)の学位を授与するに値するものと判定した。