

氏 名 (本籍) えん 遠 どう 藤 ゆう 雄 いち 一

学 位 の 種 類 博 士 (薬 学)

学 位 記 番 号 薬 第 351 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 6 年 11 月 16 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

学 位 論 文 題 目 ブラジル生薬の生理活性物質に関する研究

(主 査)  
論 文 審 査 委 員 教 授 野 副 重 男 教 授 大 泉 康

教 授 坂 本 尚 夫

# 論文内容要旨

ブラジルは世界第5位の面積を占め、南米大陸の約半分、本邦の23倍という広大な国土を持つ。そのため植生も多種多様であり、世界の高等植物の約4分の1が存在するといわれている。民間薬に関しては現在まで約1600種確認されているが、未開のアマゾン地帯も含めると3000種以上にも及ぶと推定されている。近年、多くの研究者により種々の中南米植物についての成分研究がなされているが、植物種の豊富さからこれらはほんの一部に過ぎず、今だ薬効が解明されていない民間薬がほとんどである。また民間薬であるが故、その効能も不明瞭であることが多い。そこで著者は、医薬品となりうるリード化合物を探索する目的で、ブラジルの主に北部地域で用いられている生薬について、その効能にとらわれないランダムスクリーニングを実施し、活性成分の探索を行った。その結果、6種の生薬より13種の新規化合物を含む26種の活性成分を単離し、それらの構造を化学的手法、特に最新のNMRを駆使した技法により明らかとした。

## I. ブラジル生薬のスクリーニング

1988年から1991年にかけて入手したブラジル産生薬70種を、室温にてメタノール抽出し、得られたメタノールエキスを数種の *in vitro* 系での生理活性スクリーニングに供した。スクリーニング系としては、p388マウス白血病細胞に対する細胞毒性活性試験と、5-リポキシゲナーゼ (5-LOX)、アセチルコリンエステラーゼ (AChE)、モノアミンオキシダーゼ (MAO)-A 及び B の4種の酵素阻害活性試験を実施した。その結果、9種のエキスを細胞毒性活性、4種のエキスを MAO 阻害活性が認められた。また、多くのメタノールエキスが5-LOX 阻害活性を示す一方、AChE 阻害活性はほとんど観察されなかった。これらのエキスについて、活性を指標に詳細な成分検索を行った結果、Favela, Inbira-tanha, Assa-peixe, Cabacinha, Sucuba, Canela の計6種のエキスから生理活性成分を単離することができた。

Vernacular name	Scientific name (Family)	Plant weight (g)	Ext. weight (%)	$IC_{50}$ value with p388 ( $\mu\text{g/ml}$ )	Inhibition of 5-LOX (%) <sup>a)</sup>
<sup>1</sup> Alecrim	<i>Baccharis dracunculifolia</i> (Compositae)	20.0	4.41 (22.1)	17.5	83.4
<sup>2</sup> Assa-peixe	<i>Vernonia glandiflora</i> (Compositae)	20.0	1.49 (7.5)	4.8	n.t. <sup>b)</sup>
<sup>3</sup> Boido-de-chile	<i>Peumus boldus</i> (Moiimiacae)	60.0	15.21 (25.4)	17.5	81.8
<sup>4</sup> Carqueja	<i>Baccharis crispae</i> (Compositae)	40.0	8.26 (20.7)	61.2	76.1
<sup>5</sup> Carquejo	n.s. <sup>c)</sup>	5.0	0.46 (9.2)	68.9	76.4
<sup>6</sup> Favela	<i>Cnidococcus phyllacanthus</i> (Euphorbiaceae)	450.0	34.82 (7.7)	11.3	82.1
<sup>7</sup> Quebra-saco	n.s. <sup>c)</sup>	200.0	5.60 (2.8)	7.8	81.5
<sup>8</sup> Inbrama-de-cera	n.s. <sup>c)</sup>	20.0	0.83 (4.2)	>100	38.7
<sup>9</sup> Tilia	<i>Tilia cordata</i> (Tiliaceae)	20.0	2.71 (13.6)	>100	47.8
<sup>10</sup> Verbena	<i>Verbena glabrata</i> (Verbenaceae)	20.0	4.78 (23.9)	53.9	82.2

- a) Final Concentration : 10  $\mu\text{g/ml}$   
 b) Not tested.  
 c) Not assigned.

Vernacular name	Scientific name (Family)	Ext. weight (%) <sup>a</sup> [g]	IC <sub>50</sub> value with p388 [µg/ml]	Inhibition of S-LOX (%) <sup>b</sup>
<sup>1</sup> Alfalfa	<i>Medicago sativa</i> (Leguminosae)	7.75 (7.8)	>100	44.8
<sup>2</sup> Alcachofa	<i>Cynara scolymus</i> (Compositae)	28.99 (29.0)	17.0	97.6
<sup>3</sup> Anamu	<i>Peltiveria alliacosa</i> (Phytolaccaceae)	5.73 (5.7)	>100	76.6
<sup>4</sup> Apio	<i>Apium graveolens</i> (Umbelliferae)	19.46 (19.5)	>100	62.2
<sup>5</sup> Boixa-de-pastor	<i>Capsella bursa-pastoris</i> (Cruciferae)	5.24 (5.2)	>100	69.4
<sup>6</sup> Calendula	<i>Calendula officinalis</i> (Compositae)	9.80 (9.8)	41.3	82.5
<sup>7</sup> Casco-de-vaca	<i>Bauhinia terapotocis</i> (Leguminosae)	5.58 (5.6)	>100	100.0
<sup>8</sup> Chuzhugunza	<i>Maytenus leaves reiss</i> (Celastraceae)	19.82 (19.8)	61.2	90.8
<sup>9</sup> Cola-de-caballo	<i>Equisetum fluviatile</i> (Equisetaceae)	4.19 (4.2)	96.6	87.4
<sup>10</sup> Guabe	<i>Phytolacca dioica</i> (Phytolaccaceae)	6.81 (6.8)	>100	77.7
<sup>11</sup> Gualanday	<i>Jacalanda gualanday</i> (Bignoniaceae)	13.94 (13.9)	52.7	76.6
<sup>12</sup> Guarana	<i>Psyllinia cupana</i> (Sapindaceae)	13.51 (13.5)	>100	78.4
<sup>13</sup> Ironjil	<i>Melissa officinalis</i> (Labiatae)	11.44 (11.4)	69.0	95.6
<sup>14</sup> Muerdago	<i>Viscum album</i> (Loranthaceae)	10.82 (10.8)	>100	68.9
<sup>15</sup> Nogal	<i>Juglans regia</i> (Juglandaceae)	9.24 (9.2)	60.3	100.0
<sup>16</sup> Pao-de-cruz	<i>Brownia ariza</i> (Leguminosae)	4.96 (5.0)	>100	98.2
<sup>17</sup> Quila	<i>Cinchona calimaya</i> (Rubiaceae)	5.66 (5.7)	66.2	84.9
<sup>18</sup> Romaza	<i>Rumex crispus</i> (Polygonaceae)	3.51 (3.5)	58.0	100.0
<sup>19</sup> Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i> (Labiatae)	9.75 (9.8)	22.2	100.0
<sup>20</sup> Tachagren	<i>Plantago major</i> (Plantaginaceae)	10.02 (10.0)	>100	67.6

a) Plant weight : 100 g  
b) Final concentration : 10 µg/ml

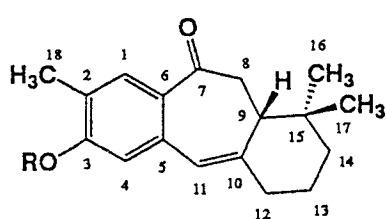
Vernacular name	Scientific name (Family)	Plant weight [g]	Ext. weight (%) [g]	IC <sub>50</sub> value with p388 [µg/ml]	S-LOX <sup>a</sup>	Inhibition [%] of ACtE <sup>b</sup>	MAO-A <sup>c</sup>	MAO-B <sup>c</sup>
<sup>1</sup> Abuna	<i>Cissampelos pareira</i> (Menispermaceae)	210.0	5.93 (2.8)	6.89	78.1	28.3	34.2	52.9
<sup>2</sup> Algodoeiro roxo	<i>Gossypium spp.</i> (Malvaceae)	3.4	0.21 (6.2)	>100	67.0	0	30.6	29.1
<sup>3</sup> Andirobeira	<i>Carapa guianensis</i> (Meliaceae)	64.6	2.37 (3.7)	86.6	50.2	15.6	80.6	54.9
<sup>4</sup> Barbatimão	<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Leguminosae)	26.3	1.68 (6.4)	61.1	66.3	12.8	61.3	62.4
<sup>5</sup> Cabacinha	<i>Luffa operculata</i> (Cucurbitaceae)	3.0	0.27 (9.0)	0.01	65.9	13.7	9.2	12.5
<sup>6</sup> Canela	<i>Aniba canellila</i> (Lauraceae)	6.9	0.28 (4.1)	31.6	89.5	8.5	57.7	75.9
<sup>7</sup> Capim-santo	<i>Cyperus sesquiflorus</i> (Cyperaceae)	267.0	25.79 (9.7)	40.2	86.5	3.4	18.0	32.3
<sup>8</sup> Carambola	<i>Averrhoa carambola</i> (Oxalidaceae)	212.0	9.29 (5.2)	27.2	85.3	4.4	17.8	38.4
<sup>9</sup> Carajá	<i>Arrabidaea chica</i> (Bignoniaceae)	110.0	4.53 (4.1)	18.3	76.8	8.2	63.2	54.5
<sup>10</sup> Carapanauva	n.s. <sup>d</sup>	338.9	6.30 (1.9)	5.05	67.4	48.1	76.1	67.6
<sup>11</sup> Casca-dose	<i>Lucuma glycophloea</i> (Sapotaceae)	27.8	1.64 (5.9)	57.4	52.3	3.4	41.7	49.1
<sup>12</sup> Chicharo	<i>Cajanus cajan</i> (Leguminosae)	202.7	20.51 (10.1)	17.1	90.8	3.1	61.1	55.3
<sup>13</sup> Cipó-mirariira	n.s. <sup>d</sup>	114.0	11.45 (10.0)	19.3	93.2	7.7	70.7	78.8
<sup>14</sup> Copaliba	<i>Copaifera langsdorffii</i> (Leguminosae)	52.9	1.54 (2.9)	65.5	80.9	20.6	62.4	65.0
<sup>15</sup> Coriça	n.s. <sup>d</sup>	6.0	0.13 (2.2)	>100	57.5	0	18.8	7.9
<sup>16</sup> Coriza	<i>Chorisia spp.</i> (Bombacaceae)	3.9	0.43 (11.0)	33.8	85.0	4.8	31.7	33.2
<sup>17</sup> Guabirobinha	<i>Myrtus mucronata</i> (Myrtaceae)	24.4	0.63 (2.6)	>100	53.3	10.9	10.2	8.5
<sup>18</sup> Inbira-tanha	<i>Chorisia crispiflora</i> (Bombacaceae)	180.0	6.42 (3.6)	0.26	54.7	35.9	38.0	45.3
<sup>19</sup> Mangerioba	<i>Cassia occidentalis</i> (Leguminosae)	52.0	0.94 (1.8)	18.0	68.3	6.5	64.2	30.6
<sup>20</sup> Marapanama	<i>Phycopeltium olacoides</i> (Olacaceae)	84.0	0.49 (0.6)	42.6	52.6	3.9	28.6	27.5
<sup>21</sup> Marupar	<i>Eleutherine americana</i> (Iridaceae)	253.1	2.81 (1.1)	4.58	81.2	3.1	52.8	49.1
<sup>22</sup> Merariira	n.s. <sup>d</sup>	203.8	8.99 (4.4)	48.2	100	20.6	71.1	73.6
<sup>23</sup> Miracum	n.s. <sup>d</sup>	48.5	0.22 (0.5)	85.3	60.8	8.0	12.9	27.5
<sup>24</sup> Mururé	n.s. <sup>d</sup>	110.7	0.54 (0.5)	17.7	100	12.4	57.2	61.6
<sup>25</sup> Oirama	<i>Alichonnes castaneifolia</i> (Euphorbiaceae)	7.6	0.25 (3.3)	48.5	87.8	8.3	50.6	40.0
<sup>26</sup> Pata-de-vaca	<i>Bauhinia orbicata</i> (Leguminosae)	5.8	0.58 (10.0)	>100	86.5	5.5	43.9	35.8
<sup>27</sup> Pau-d'arco	<i>Tabebuia serratifolia</i> (Bignoniaceae)	41.4	4.68 (11.3)	>100	47.7	3.1	27.5	52.4
<sup>28</sup> Pedra-umo-cad	<i>Myrcia multiflora</i> (Myrtaceae)	4.5	0.36 (8.0)	>100	88.1	3.1	39.5	34.3
<sup>29</sup> Perpetua	<i>Gomphrena globosa</i> (Amaranthaceae)	8.1	0.27 (3.3)	>100	70.9	6.5	14.8	12.9
<sup>30</sup> Pobre-velho	n.s. <sup>d</sup>	4.3	0.19 (4.4)	>100	68.1	1.0	13.4	16.5
<sup>31</sup> Quebra-pedra	<i>Phyllanthus niruri</i> (Euphorbiaceae)	2.0	0.09 (4.5)	44.8	63.2	6.2	30.0	7.2
<sup>32</sup> Quina-quina	<i>Coutarea hexandra</i> (Rubiaceae)	9.8	0.17 (1.7)	16.9	67.7	25.9	79.4	39.8
<sup>33</sup> Raiz-de-açafato	<i>Curcuma domestica</i> (Zingiberaceae)	244.6	6.99 (4.4)	4.34	62.7	0	26.3	21.7
<sup>34</sup> Rosa-branca	<i>Rubus coromarius</i> (Rosaceae)	0.8	0.04 (5.0)	65.9	85.8	6.8	20.0	14.0
<sup>35</sup> Sacaquinha	n.s. <sup>d</sup>	2.7	0.17 (6.3)	48.7	79.4	4.6	20.3	19.9
<sup>36</sup> Salva-do-marajó	<i>Hypoxis tomentosa</i> (Labiatae)	4.0	0.37 (9.3)	45.3	93.0	35.5	67.6	42.2
<sup>37</sup> Sucuba	<i>Himantanthus sucuba</i> (Apocynaceae)	40.2	0.73 (1.8)	18.2	66.6	6.2	21.2	60.0
<sup>38</sup> Ucuba	<i>Virola surinamensis</i> (Myristicaceae)	106.0	4.55 (4.3)	36.4	96.4	16.2	76.9	79.1
<sup>39</sup> Vassourinha	<i>Scoparia dulcis</i> (Scrophulariaceae)	3.4	0.12 (3.5)	49.2	59.0	0	29.7	28.2
<sup>40</sup> Vindozá	<i>Alpinia zerumbet</i> (Zingiberaceae)	6.5	0.30 (4.6)	92.4	69.8	2.7	56.3	61.4

a) Final Concentration : 10 µg/ml  
b) Final Concentration : 100 µg/ml  
c) Not assigned.

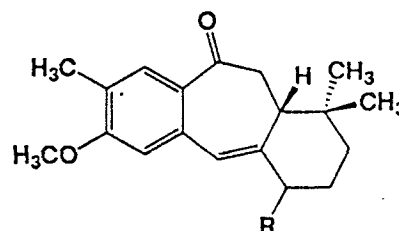
## II. Favela の細胞毒性成分

Favela はブラジル北西部原産のトウダイグサ科の常緑樹 *Cnidocolus phyllacanthus* (MART.) PAX &

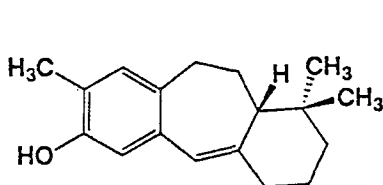
H<sub>OFFM.</sub> である。現地では主に種子油を食用として用いており、樹皮エキスには血液凝固作用があると言われている。Favela の樹皮 450g から得られたメタノールエキスは p388 マウス白血病細胞に対する細胞毒性活性 (IC<sub>50</sub> : 11.3 μg/ml) を示し、液液分配により酢酸エチル可溶部に活性が移行した。この画分について細胞毒性活性を指標に分画を行い、新規骨格を有する細胞毒性成分 faveline methyl ether 及び deoxofaveline を単離した。また、同一骨格を有する 6 種の新規化合物を単離し、これらの構造を決定した。絶対構造は励起子キラリティー法及び X 線結晶構造解析により検討し、本化合物群のような歪みをもった共役系の場合においても励起子キラリティー法が適用できることを明らかにした。活性成分である faveline methyl ether に関しては、数種の誘導体を合成し、細胞毒性活性の発現部位についての検討を行った。さらに、非常に稀な構造を有する新規四環性化合物 favelanone 及び neofavelanone を単離、構造決定を行い、faveline 類との生合成的関連について考察した。



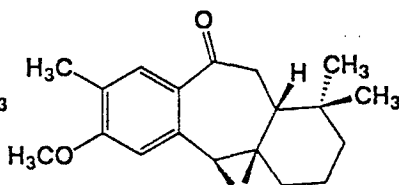
faveline methyl ether : R = CH<sub>3</sub> (IC<sub>50</sub> : 1.8 μg/ml)  
faveline : R = OH



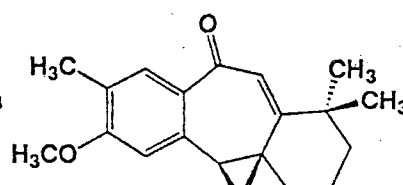
favelol : R = α-OH  
isofavelol : R = β-OH  
favelone : R = =O



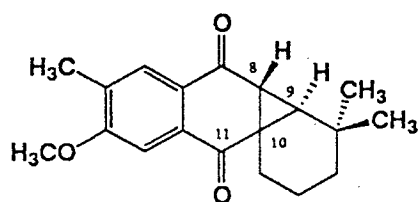
deoxofaveline (IC<sub>50</sub> : 1.0 μg/ml)



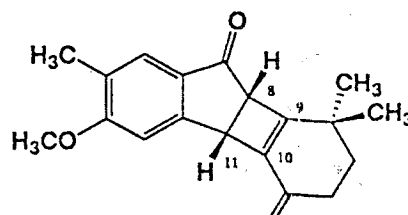
faveloxide



dchydrofaveloxide



favelanone

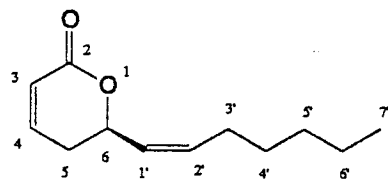


neofavelanone

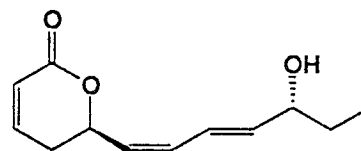
### III. Inbira-tanha の細胞毒性成分

Inbira-tanha はパンヤ科の *Chorisia crispiflora* H. B. K. である。種子の絨毛はカボックと称され重要な繊維原料として用いており、葉茎部のエキスはリュウマチや月経痛に有効とされている。Inbira-tanha 葉茎部 180g のメタノールエキスは p388 マウス白血病細胞に対する強力な細胞毒性活性

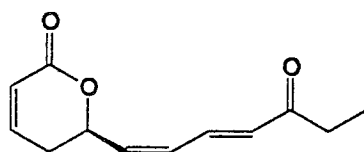
( $IC_{50}$ : 0.26  $\mu\text{g/ml}$ ) を示し、酢酸エチル可溶部に活性が移行した。この画分について細胞毒性活性を指標に分画を行い、活性成分として2種の新規化合物を含む4種の5,6-dihydro- $\alpha$ -pyrone 誘導体を単離した。絶対構造の決定にはCDスペクトル及び改良 Mosher 法を適用した。



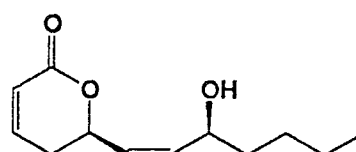
argentilactone  
( $IC_{50}$ : 4.2  $\mu\text{g/ml}$ )



(6R, 5'R)-5,6-dihydro-6-(5-hydroxy-[1Z,3E]-1,3-heptadiene)-2H-pyran-2-one  
( $IC_{50}$ : 1.5  $\mu\text{g/ml}$ )



(6R)-5,6-dihydro-6-([1Z,3E]-1,3-heptadiene-5-one)-2H-pyran-2-one  
( $IC_{50}$ : 0.5  $\mu\text{g/ml}$ )

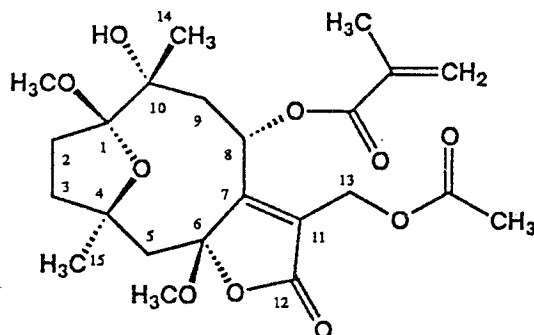


(6R)-5,6-dihydro-6-([1Z,3E]-1,3-heptadiene-5-one)-2H-pyran-2-one  
( $IC_{50}$ : < 0.33  $\mu\text{g/ml}$ )

#### IV. その他の細胞毒性成分

##### 1) Assa-peixe の細胞毒性成分

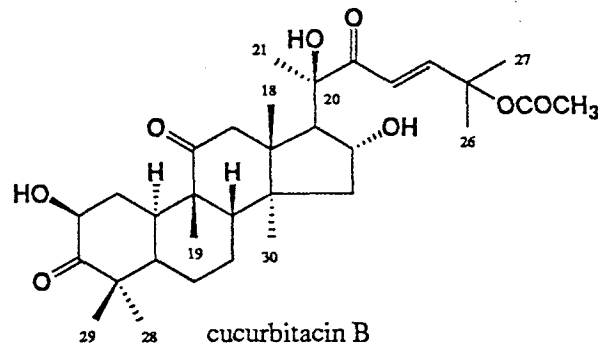
Assa-peixe は *Vernonia grandiflora* Less. または *V. polyanthes* Less. (キク科) であり、そのエキスは腎臓病や腸カタルに有効とされている。Assa-peixe 葉基部 20g より得られたメタノールエキスに p388 マウス白血病細胞に対する細胞毒性活性 ( $IC_{50}$ : 4.8  $\mu\text{g/ml}$ ) が認められたことから、活性を指標に分画を行った。ヘキサン及び酢酸エチル可溶部より活性画分を得、この画分のメイン化合物である hirsutinolide 系の新規化合物を単離した。その構造は詳細な 2D-NMR の解析により行った。



(1R\*, 4R\*, 6R\*, 8S\*, 10R\*)-1,4-epoxy-1,6-dimethoxy-8-methacryloxy-13-acetoxygermacra-5E,7(11)-dien-6,12-olide

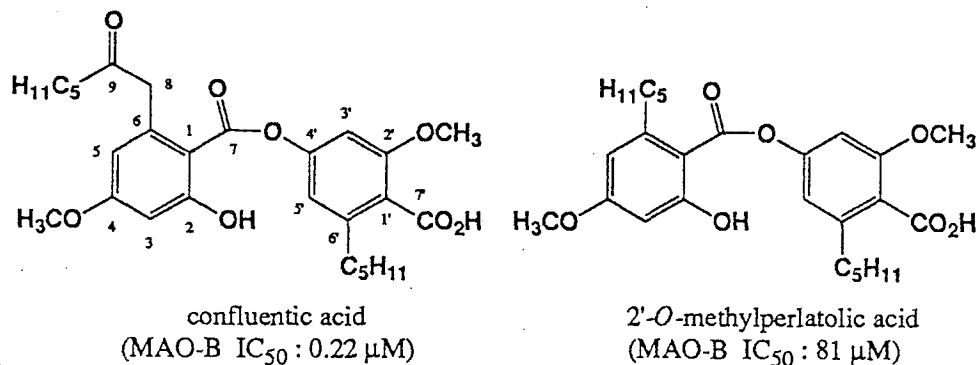
## 2) Cabacinha の細胞毒性成分

Cabacinha はブラジル全土に分布しているウリ科の蔓性植物 *Luffa operculata* (L.) COGNIAUX である。水性エキスは黄疸や水腫に効果があるとされ、エタノールエキスについては墮胎作用や殺軟体動物活性などが検討されている。今回検討したブラジル植物の中で、この Cabacinha の果実部 3 g より得られたメタノールエキスが p388 マウス白血病細胞に対し最も強い細胞毒性活性を示したことから (IC<sub>50</sub>: 0.01 μg/ml), 活性成分を検索した。その結果、本エキスのメイン化合物を単離し、その構造を抗腫瘍活性化合物として知られている cucurbitacin B と同定した。



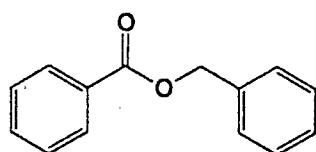
## V. Sucuba の MAO 阻害活性成分

Sucuba は *Himatanthus sucuuba* (M. Arg.) WOODSON (キョウチクトウ科) のブラジル北部での現地名である。樹皮は胃炎、肺炎、痔などに有効とされており、熱帯ウマバエの駆虫にも用いられている。Sucuba の樹皮 330g から得られたメタノールエキスに強力かつ選択的な MAO-B 阻害活性が認められたことから (MAO-A: 21.2%, MAO-B: 60.0% at 100 μg/ml), 活性の集中した酢酸エチル可溶部を探索した。その結果、8種の化合物を単離し、活性成分として confluentic acid を同定した。本化合物の活性はこれまで報告されているいくつかの天然由来の MAO-B 阻害活性化合物の中では最強のものであり、かつ MAO-B に選択的なものであった。活性画分から単離した関連化合物 2'-O-methylperlatolic acid にはほとんど MAO 阻害活性が認められなかったことから、側鎖の部分構造が活性発現に必須であると推定した。



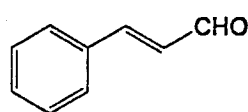
## VI. Canela の MAO 阻害活性成分

Canela はクスノキ科 *Aniba canelilla* (H. B. K.) Mez. の現地名である。Canela 及び同科の近隣植物に関しては古くから精油や芳香成分に関する研究が成されており、葉部は民間では貧血や胃痛に有効とされている。Canela の葉部 6.9g メタノールエキスに選択的な MAO-B 阻害活性が認められたことから (MAO-A : 57.7%, MAO-B : 75.9% at 100  $\mu$ g/ml), 活性成分を探索し, benzoic acid benzyl ester と *trans*-cinnamaldehyde を単離, 同定した。benzoic acid benzyl ester は MAO-B に選択的な阻害活性を有するのに対し, *trans*-cinnamaldehyde は MAO-A 及び B ともに阻害効果を示すことが明らかとなった。



benzoic acid benzyl ester

(MAO-A : 36.4 % at 100  $\mu$ g/ml)  
(MAO-B : 74.4 % at 100  $\mu$ g/ml)



*trans*-cinnamaldehyde

(MAO-A : 77.5 % at 100  $\mu$ g/ml)  
(MAO-B : 95.2 % at 100  $\mu$ g/ml)

## 審査結果の要旨

天然より、医薬品リード化合物として有用な活性を有する、新規天然有機化合物の単離を目的とし、本著者はブラジルの主に北部地域で用いられている生薬 70 種について、ヒトおよびマウス由来の各種癌細胞セルラインを用いた細胞毒性試験および二、三の酵素、たとえばモノアミノキシダーゼの阻害作用などを指標としたランダムスクリーニングを行ない、活性成分を探索した。その結果、以下の生薬から生理活性成分を単離した。

Favela はトウダイグサ科常緑樹 *Cnidocolus phyllacanthus* であり、樹皮エキスに p388 マウス白血病細胞に対する細胞毒性が認められた。活性成分を探索し、新規骨格を有する細胞毒性成分 faveline methyl ether 及び deoxofaveline と、同一骨格を有する 6 種の新規化合物を単離した。絶対構造は励起子キラリティー法により決定し、本化合物群のような歪みをもった共役系の場合においても本法が適用できることを明らかにした。また、数種の誘導体を作製し、活性発現部位についての検討を行った。さらに非常に稀な構造を有する新規 4 環性化合物 favelanone 及び neofavelanone を単離し、これらの生合成経路についても考察した。その他、Inbira-tanha (*Chorisia crispiflora*) の細胞毒性成分として 2 種の新規化合物 Assa-peixe (*Vernonia grandiflora*) から hirsutinolide 系の新規セスキテルペンを、Cabacinha (*Luffa operculata*) から cucurbitacin B を単離した。

Sucuba は *Himatanthus sucuuba* であり、樹皮エキスに選択的なモノアミノキシダーゼ-B 阻害活性が認められたことから、活性成分を探索した。その結果、8 種の化合物を単離し、活性成分として confluentic acid を同定した。本化合物の活性はこれまで報告されている天然由来のモノアミノキシダーゼ阻害活性化合物の中では最強のものであった。また、Canela (*Aniba canelilla*) のエキスからモノアミノキシダーゼ阻害活性成分として、benzyl benzoate と *trans*-cinnamaldehyde を同定した。

以上のように著者は、70 種のブラジル生薬から選定した 6 生薬より、13 種の新規化合物を含む 26 種の活性成分を単離し、それらの構造を主に最新の NMR を駆使した技法により明らかとした。これらのうち、Favela 成分はいずれも新規骨格を有しており、同様の骨格を有する化合物の魁となった。また、Sucuba のモノアミノキシダーゼ-B 阻害活性物質は強力な活性を有しており、本化合物を医薬品のリードとして現在研究開発が進められているという成果を得ている。よって、本論文は博士（薬学）の学位論文として合格と認める。