

論文内容の要旨

農学国際専攻

平成 14 年度博士課程 入学

氏名 黒瀬 孝介

指導教官 谷田貝光克

論文題目 球果成分及びその生理活性に関する研究

球果はその種子保存において、外部環境による種子の発育阻害から身を守るための重要な機能を有していると考えられている。球果とは、裸子植物の中でマツ属やスギ属などのつくるマツカサ状の構造物をいい、1 本の木質化した軸に数個ないし多数の木質化した鱗片が螺旋または対生してついたものである。鱗片の間に種子が隠れており、外敵から身を守っている。針葉樹の種子は子房に囲まれておらず、しかも胚珠は球果の鱗片の上側にのる様に存在している。にもかかわらず、球果の複雑な構造によって、外部環境から保護されている。多くのマツ類は種子が成熟すると、球果から順次落下し放出されていく。また球果自身も林床に落下するが、葉や枝よりも耐久力が強く、その耐久性は葉や枝の 2~3 倍である。これは種子が発芽するまでの間、それらは耐久性に少なからず貢献していることが知られている。昆虫の攻撃や病原菌による発症から身を守るため抽出物を蓄えて利用しているようである

一般に抽出物は樹木の葉、材、樹皮などから様々な形で得られている。球果の場合も同様なことが予想されるが、球果の抽出物およびその生物活性などの特性に関する報告は極めて少なく未だ未知の部分が多い。そして球果は種子を守るために特殊な化合物を有していることが期待できる。そこで、球果に着目し球果に含まれる抽出物の成分分析と生理活性試験を行った。

用いた試料は、*Abies sachalinensis*, *Cedrus deodara*, *Larix kaempferi*, *Picea abies*, *Pinus densiflora*, *Pinus rigida*, *Pinus taeda*, *Tsuga diversifolia*, *Chamaecyparis obtuse*, *Cryptomeria japonica*, *Alnus maximowczii* の計 11 種である。それぞれの球果の精油を採取し、GC/MS にて成分の同定を行った。収率は 0.01%~2.01%であった。成分のうち、同定化合物数と含有率の大きい成分の上位 5

位を以下に示した (Table 1)。成分同定の結果、*A. maximowiczii* 以外では、 α -pinene, β -pinene, myrcene を含んでいた。炭素数の数によって成分をモノテルペン、セスキテルペン、ジテルペン、その他に分類すると、*Picea abies* はジテルペンが多く、他ではモノテルペン含有率の高い樹種が多いが、*Pinus densiflora* はセスキテルペンが多いことがわかった (Fig 1)。葉と比較してもこの両者のみ成分の傾向が違った。

精油成分を代謝骨格別に分類してみると、モノテルペン類の Pinane, Menthane 骨格が多いことがわかった。これら両者の関係は対照的であり、片方が多いと片方が少なくなる関係が見られた。特にヒノキ科、スギ科にはその傾向が顕著であった。これらのことから樹種によって、どちらかが優位に生合成を行う酵素を持っているかがわかる。

セスキテルペンでは、Germacrene, Caryophyllane, Cadinane group の含有率が高かった。これらことから、今回供試した樹種では、セスキテルペンにおいてもやはり酵素で優位な反応経路があることが示唆された。

球果の精油成分を葉と比較した結果、樹種によっては明らかに違う成分が見られ、また代謝骨格の系統にも違いが見られた。このことから球果と葉では代謝・蓄積に違いがあると考えられる。

人類を含め地球上に存在するほとんどすべての生物は酸素をエネルギー源として体内に摂取し生活を営んでいる。酸素は細胞内のミトコンドリアの呼吸鎖、ヘム鉄蛋白質あるいはオキシダーゼ類などにより還元反応を受け、活性酸素種に変換される。これらの活性酸素種は細胞内組織あるいは生体マトリックスに作用し、種々の過酸化反応を介して生体に傷害を与えることが明らかにされつつある。

植物は常に紫外線・放射線・酸素などによる、酸化障害を受けているが、その防御機能として色素などを利用して防いでいる。人間にも抗酸化作用を有するので、有効であるアントシアニン、フラボノイド、カテキンなどは植物において二次代謝産物として生成されるものである。植物の様々な防御機能は我々人間にとっても有効であり、それ故に多くの研究がされてきている。

球果は種子を保管・保護し自らの子孫を残すために非常に有益な化合物を蓄積していると考えられる。なかでも現在世の中に注目されているのは活性酸素を抑えるはたらきのある抗酸化物質を含んでいることである。そこで球果成分の抗酸化物質について DPPH ラジカル消去作用試験によって検討し、以下の結果を得た。

- 1) 球果のメタノール抽出物 11 種の DPPH ラジカル消去作用試験を行った結果、*Pinus densiflora*, *Pinus rigida*, *Tsuga diversifolia*, *Alnus maximowiczii* の 4 種が 95% 以上の消去活性作用を示した。他に、*Picea abies* が、約 70% の消去活性を示し、*Larix kaempferi*, *Pinus taeda* が約 40% の消去活性を示した。
- 2) そこで、特に強い活性を示した、*Pinus densiflora*, *Pinus rigida*, *Tsuga diversifolia*, *Alnus maximowiczii* において、メタノール抽出物から、ヘキサン、クロロホルム、酢酸エチルの順に分画し、その分画物の、DPPH ラジカル消去作用試験を行った。その結果、*Pinus rigida* と *Alnus maximowiczii* では、酢酸エチル抽出部とメタノール残渣部に約 90% 以上の消去活性が見られた。*Tsuga diversifolia* では、酢酸エチル抽出部に約 90% 以上の消去活性が見られ

た。*Pinus diversiflora* は他の 3 種とは弱いながらもやはり酢酸エチル抽出部に約 50%の消去活性が見られた。

3)次に、4 種に共通して活性のみられた、酢酸エチル抽出部を、炭酸水素ナトリウム、炭酸ナトリウム、水酸ナトリウムで順次アルカリ処理し、それぞれ強酸性部、中酸性部、弱酸性部、中性部を得た。その 4 画分で DPPH ラジカル消去作用試験を行った。その結果、*Alnus maximowiczii* では強酸性部、中酸性部に約 90%以上の強い活性がみられることがわかった (Fig 2)。また *Pinus diversiflora* でも、強酸性部には強い活性が、中酸性部にはやや弱い活性がみられた。*Pinus rigida* と *Tsuga diversiflora* は、強酸性部に約 90%の消去活性が見られた。

混合物状態の画分を NMR 測定した結果、芳香核にフェノール性水酸基、カルボキシル基を有することがわかった。また球果はアントシアニンをはじめとするポリフェノール類を含有していることが報告されているので、これらの活性化合物はフラボノイド類の可能性が高いと考えられる。

Ames 試験では、ミヤマハンノキのメタノール抽出物で弱い活性が見られた。その他の抽出物では有意な活性がみられなかった。

球果の精油成分を研究した結果、葉、材、樹皮に劣らぬ精油量を含有する部位であることが明らかとなった。球果は熟して種子を放出後は樹木にとって、無用のものとなりまた非常に乾燥した状態となる。用いた球果は乾燥していたが、非常に多くの精油成分を含有しよい香りを放つことがわかった。そのため乾燥した状態でも腐ることがないため、葉とは違い長い間芳香剤用の役割に利用可能である。材、樹皮は生長に時間を要し、バイオマスとして利用可能になるまでに長期間を要する。一方球果は毎年樹上に形成されるため、短期的に何度も利用できる、バイオマス資源として大きな利用可能性を秘めている。それに加えて、抗酸化性などの生物活性を有しているので、将来のバイオマス資源として大いに期待の持てる部位である。