

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 黒瀬 孝介

樹木の球果は、1本の木質化した軸に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、鱗片の間に種子を蓄えており、それを害虫、樹病菌、酸化などの様々な外部環境からのストレスから子孫維持の目的で守っている。球果を有する多くの樹種は種子が成熟すると、球果と共に落下するが、同じく落下する葉や枝よりも耐久力が高いことが知られている。その耐久力の本となっているものの一つに抽出成分が考えられる。樹木の抽出成分は葉、材などが今までに調べられ、その特性などが明らかになっているものも多いが、外部からのストレスに対応する生物活性の高い抽出成分を含むことが予想されるにも関わらず、球果の抽出物及びその生物活性についての研究報告は極めて少なく、未だ未知の部分が多い。そこで、本研究では球果に含まれる抽出成分に焦点をあわせ、球果の構成成分を明らかにし、樹種間での構成成分を比較しケモタキソノミー上の知見を得るとともに、球果にとっては外部ストレスの一つと考えられる酸化に対する抗酸化作用への抽出成分の関わりを検討した。さらに球果の持つ生物活性の有効利用を目的として Ames 試験による活性成分を検討した。

本論文は7章からなり、第一章では研究の背景と本論文の研究目的が述べられている。さらに、2章：試料、3章：球果成分—精油成分について、4章：生理活性試験、5章：総括、6章：謝辞、7章：参考文献 となっている。以下に本論文の概要を示す。

Abies sachalinensis, *Cedrus deodara*, *Larix kaempferi*, *Picea abies*, *Pinus densiflora*, *Pinus rigida*, *Pinus taeda*, *Tsuga diversifolia*, *Chamaecyparis obtusa*, *Cryptomeria japonica*, *Alnus maximowiczii* の11樹種の球果を試料とした。まず、それぞれの球果の精油を採取し、その成分の同定を行った。その結果、*Alnus maximowiczii* 以外では α -pinene, β -pinene, myrcene を含んでおり、さらに、炭素数によって分類すると、*Picea abies* はジテルペン、*Pinus densiflora* はセスキテルペンが多く、他ではモノテルペン含有率の高い樹種が多いことが明らかになった。葉の場合も上記2樹種のみが他の樹種と成分の傾向が違った。

精油成分を代謝骨格別に分類すると、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 の含有率が高く、このことから今回供試した樹種では、上記3化合物群のセスキテルペン生合成が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・蓄積の違いがあると考えられる。

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。そこで、強い活性を示した *Pinus densiflora*, *Pinus rigida*, *Tsuga diversifolia*, *Alnus maximowiczii* のメタノール抽出物をさらに分画、分配等により活性を追求した結果、*Alnus maximowiczii* では強酸性部、中酸性部に約 90%以上の強い活性があり、*Pinus diversiflora* では、強酸性部には強い活性が、中酸性部ではやや弱い活性があることが明らかになった。さらに、*Pinus rigida* と *Tsuga diversiflora* は、強酸性部に約 90%の消去活性が見られた。これら分画物の NMR を測定した結果、フラボノイド構造の存在が推定された。

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。

以上本論文は、球果精油成分を精査し、それぞれの構成成分を明らかにするとともに、そのケモタキソノミー上からの考察を加え、樹種、あるいは属毎によって優位な生合成経路を明らかにした。さらに、球果の抗酸化性を検討し、活性な分画を得、その構造を推定した。これらの研究成果は球果成分の生合成を考察する上での貴重な知見を提供し、また、球果中での生物活性物質の存在を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが多い。よって審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。

