

	サイジョウ ヒロミ
氏 名	西條 裕美
本籍（国籍）	福島県
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研第635号
学位授与年月日	平成27年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物生産科学専攻
学位論文題目	スギ(<i>Cryptomeria japonica</i> D.Don)樹皮抽出成分の化学的特性と生物活性(Chemical characterization and bioactivity of Sugi (<i>Cryptomeria japonica</i> D.Don) bark extract)
学位審査委員	主査 教授 芦谷 竜矢 副査 教授 高橋 孝悦 副査 准教授 小藤田 久義 副査 教授 橋本 勝

論文の内容の要旨

現在、日本には、戦後植林されたスギ (*Cryptomeria japonica* D. Don) 人工林が多く存在し、スギは有望な資源として充実しつつある。一方、スギを含む針葉樹丸太が製材される過程で大量の樹皮が排出され、そのほとんどが利用されていないのが現状である。近年、木質資源の付加価値の高い有効利用が求められているが、排出される樹皮のほとんどが燃料として使用されているだけである。特にスギは、資源量も多く廃棄される樹皮量が多いことから、有効利用法の開発が急務とされている。スギ樹皮は、木部と比べて特に多量の副成分を含み、生物活性成分を含有するといわれることから、付加価値の高い利用を考えるには、抽出成分の利用を拡大する必要がある。しかしながら、スギ樹皮の抽出成分については、知見の蓄積が少ないのが現状である。そこで、本研究では、スギ樹皮抽出成分の利用のため、スギ樹皮成分の新たな生物活性の探索と含有する成分の特性について検討した。

第2章では、樹皮の新たな有効利用法の探索として、スギ樹皮抽出物の赤潮藻類 (*Heterosigma akashiwo*) に対する増殖抑制効果を検討した。スギ樹皮を内樹皮、外樹皮に分け、それぞれヘキサン、酢酸エチル、メタノールによる逐次抽出を行った。得られた抽出物の中で、*H. akashiwo* に対し強い増殖抑制活性が確認されたのは、内樹皮のヘキサン抽出物、酢酸エチル抽出物、外樹皮のヘキサン抽出物であった。活性が確認された抽出物の主要成分は、cubebol, phyllocladanol, 6,7-dehydroferruginol, ferruginol, sugiol であった。それらの成分の *H. akashiwo* 増殖抑制試験を行ったところ、cubebol と ferruginol には強い活性、phyllocladanol, 6,7-dehydroferruginol, sugiol には、弱い活性が確認された。

第3章では、スギ樹皮成分の抗酸化剤としての利用を検討することを目的とし、主成分である ferruginol の抗酸化能の評価と、その抗酸化機構について追跡した。Ferruginol と市販抗酸化剤の carnosic acid, (±)- α -tocopherol, dibutylhydroxytoluene (BHT)を用い抗酸化試験を行った。

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)ラジカル捕捉能試験, β -カロテン退色法を行ったところ, ferruginol は, 使用した市販抗酸化剤より弱い活性であった。不飽和脂肪酸に対する抗酸化能を見るためリノール酸と直接混合する油脂酸化抑制能試験を行ったところ, ferruginol は, BHT に次いで油脂の酸化を抑制する活性を示し, その活性は, carnosic acid, (\pm)- α -tocopherol より強かった。次に ferruginol の抗酸化機構について調べるため, ferruginol とリノール酸を混合して加熱し, 生成物を追跡した。生成物中に 6,7-dehydroferruginol, 7 β -hydroxyferruginol, sugiol が確認され, 7 α -hydroxyferruginol, ferruginol のキノンメチド体の生成が推定された。各成分の生成量を反応時間ごとに追跡した結果から, ferruginol キノンメチド体を中間体とし, 6,7-dehydroferruginol, 7-hydroxyferruginol, sugiol を生成する, ferruginol の抗酸化反応機構を推定した。

スギは, 葉のジテルペン成分が品種によって異なることが知られている。そこで第 4 章では, 化学分類学的視点から葉のケモタイプが異なるスギの樹皮抽出物を分析し, 第 2 章で活性が確認された抽出成分の含有に差異があるかを検討した。ケモタイプが異なるスギの樹皮抽出物に共通してセスキテルペンの cubebol, ジテルペン phyllocladanol, ferruginol, 及び 6,7-dehydroferruginol, sugiol などの ferruginol 誘導体が確認された。ジテルペンでは, ferruginol が最も多く含有された。どの試料でも成分の含有量の差異は確認されたが, 葉のケモタイプに依存する定性的な違いは見つからなかった。次に樹皮抽出物の主成分である ferruginol の自動酸化反応について調べ, 生成物と樹皮成分との比較を行った。ferruginol を自動酸化させたところ, 反応初期で最も生成量が多かったのは, 第 3 章で確認された ferruginol のキノンメチド体であった。次いで生成量が多いのは 6,7-dehydroferruginol, sugiol, 7-hydroxyferruginol であった。この生成量の変動は, 第 3 章の油脂中の ferruginol の誘導体の変化に類似しており, 抗酸化機構と同様の自動酸化の反応機構が推察された。先行研究及び第 2 章で, 6,7-dehydroferruginol, sugiol は, ferruginol よりも弱い生物活性を示すことが知られているが, 自動酸化反応で ferruginol が容易にこれらの成分に変化することが示されたため, スギ樹皮抽出物を ferruginol の活性に依存した利用法で用いる場合は, 特に酸化反応による変質に注意する必要があることが示された。

上述した研究結果より, スギ樹皮は, 燃料や材料としての利用だけではなく, 低極性抽出物の多様な成分が新たに有害な藻類の防除剤, 抗酸化剤として利活用できる可能性が示された。また, その主体となる ferruginol は, 自動酸化されやすく, 抽出成分を利用するためには, 樹皮又は抽出物の保存状態等を考慮して使用する必要があることも示した。さらに今回示された抽出成分の利用方法は, 樹皮の燃料や材料利用に先立って得られる成分の利用法の 1 つであり, 樹皮の多面的利用を可能にした。このように本研究は, 将来的には資源のカスケード利用が望まれる中で, スギ樹皮の多段階利用のファーストステップとして, 付加価値の高い抽出成分利用の可能性を示すものであり, その基礎的知見の提示を行ったものである。

論文審査の結果の要旨

スギ (*Cryptomeria japonica* D. Don) は日本の主要な林産資源の一つであるが, 製材過程で排出される樹皮の有効利用が望まれている。スギ樹皮は, 木部と比べて多量の抽出成分を含有するが, スギ樹皮の抽出成分については, 知見の蓄積が少ないのが現状である。そこで, 本論文では, スギ樹皮抽出成分の有効利用のため, 新たな生物活性の探索と含有する成分の特性につ

いて検討した。

まず、水域の環境問題の原因となる赤潮藻類 (*Heterosigma akashiwo*) に対する抽出物の増殖抑制活性を検討した。スギ内樹皮と外樹皮それぞれのヘキサン、酢酸エチル、メタノール逐次抽出物を用いて試験を行い、内樹皮のヘキサン抽出物、酢酸エチル抽出物、外樹皮のヘキサン抽出物が *H. akashiwo* に対し強い増殖抑制活性を有することを明らかにした。さらに、活性成分を探索し、低極性抽出物の主成分である ferruginol が最も強い活性を有することを明らかにした。その他に cubebol, phyllocladanol, 6,7-dehydroferruginol, sugiol にも活性を確認したが、6,7-dehydroferruginol, sugiol は比較的弱い活性であることを示した。

次に、スギ樹皮成分の抗酸化剤としての利用を検討することを目的とし、主成分である ferruginol の抗酸化能の評価と、その抗酸化機構を検討した。極性溶媒中での DPPH ラジカル捕捉能試験、β-カロテン退色法試験では、ferruginol は市販抗酸化剤より弱い活性であった。しかし、リノール酸と直接混合する油脂酸化抑制能試験では、ferruginol は市販抗酸化剤よりも油脂の酸化を抑制する活性を示した。さらに、リノール酸メチルと ferruginol の反応生成物を追跡し、ferruginol キノンメチドを中間体とし、6,7-dehydroferruginol, 7-hydroxyferruginol, sugiol を生成する抗酸化反応機構を提示した。

また、化学分類学的視点から葉のケモタイプが異なるスギの樹皮抽出物を分析し、樹皮低極性成分に葉のケモタイプに依存する定性的な違いがないことを明らかにした。樹皮成分の変化について検討するため、ferruginol の空気中での自動酸化反応を追跡したところ、ferruginol のキノンメチド体を経て 6,7-dehydroferruginol, 7-hydroxyferruginol, sugiol を生成する抗酸化機構と同様の自動酸化の反応機構を推定した。6,7-dehydroferruginol, sugiol は、樹皮含有成分であるが、ferruginol よりも弱い生物活性を示すため、スギ樹皮抽出物を ferruginol の活性に依存した利用法で用いる場合は、酸化反応による変質に注意する必要性を示した。

上述した研究成果は、スギ樹皮低極性抽出物が新たに有害な藻類の防除剤や抗酸化剤として利活用できる可能性を示したものである。この抽出成分の利用方法は、樹皮の燃料や材料利用に先立って得られる成分の利用法の1つであり、林産学上の今日的な課題となっている樹皮の多面的利用を可能にする基礎的知見であるといえる。これらは、これまでの研究には見られない新しい視点の研究成果であり、今後の木質系未利用資源の有効利用に貢献することが期待される。

以上により、本審査委員会は「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士(農学)の学位論文として十分価値あるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

主論文

1. Saijo H, Tsuruta K, Kusumoto N, Ashitani T, Takahashi K. (2013) Growth inhibition activities of Sugi bark components against *Heterosigma akashiwo*. *Journal of Wood Science*, 59(3) 238-242.
2. Saijo H, Kofujita H, Takahashi K, Ashitani T. (2015) Antioxidant activity and mechanism of the abietane-type diterpene ferruginol. *Natural Product Research*. doi:10.1080/14786419.2014.997233 (掲載証明付き)

参考論文

1. Yamashita Y, Hashimoto N, Kusumoto N, Saijo H, Goto I, Kobayashi H, Kurihara Y, Takahashi K, Ashitani T (2015) Acaricidal activity of components of *Cryptomeria japonica* against spider mites. Journal of Wood Science, 61(1), doi:10.1007/s10086-014-1445-8 (published online)