

## 学位論文題名

## カバノキ属樹木の生活組織の化学成分に関する研究

## 学位論文内容の要旨

近年、地球環境問題がクローズアップされたことにより、森林と人の新しい共生を目指した研究が重視されるようになった。樹木を伐採せずに樹液の採取や、葉や花などの生活組織の利用により利潤を上げる方策が試行されている。これまでに、シラカンバ樹液に含有される化学成分、薬理活性、溢出機構などについての研究や、葉や内樹皮のフェノール性成分についての研究が行われて来ている。しかし、樹液に含有されるタンパク質の性状や、芽、葉、花序、果穂などの生活組織の化学成分の季節変動についての研究はあまり行われていない。

本研究では、カバノキ属樹木の内、日本の代表樹種であるシラカンバ (*Betula platyphylla* Sukatchev var. *japonica* Hara) とヨーロッパの代表樹種であるベルコウサカンバ (*Betula verrucosa* Her.) を対象にして、1) 樹液溢出量や、カチオン、アニオン、アミノ酸およびタンパク質などの化学成分量の経日変化を調べ、両者を比較すること、樹液中のタンパク質を分析し、タンパク質のアミノ酸のシーケンスに基づいて、他の植物タンパク質との類似性を検討すること、2) シラカンバ生活組織の芽、葉、雄花序、雌花序+果穂中のカチオン、アニオンおよびアミノ酸の含有濃度の季節変化を調べること、3) シラカンバ内樹皮の抽出成分を検索することなどを目的とした。

得られた結果の概要は以下のとおりである。

### 1) 樹液に含有される化学成分の分析

シラカンバとベルコウサカンバ樹液中のカチオン ( $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Na^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ )、およびアニオン ( $Br^-$ 、 $Cl^-$ 、 $SO_4^{2-}$ 、 $NO_3^-$ ) をキャピラリー電気泳動法 (CE) により分析した。また、水抽出物中のタンパク質の含有濃度を分析し、さらに塩酸加水分解後に全アミノ酸を分析した。

樹液に含まれるカチオン、アニオン、全アミノ酸およびタンパク質の濃度は、溢出時期の進行に伴って徐々に増加し、溢出終期には初期濃度の約2~3倍に増加した。

樹液中のタンパク質を精製し、シラカンバおよびベルコウサカンバ樹液中にそれぞれ主要な約10個のタンパク質のバンドを認めた。シラカンバの22 kDaのタンパク質と、ベルコウサカンバの25 kDaのタンパク質は、アミノ酸シーケンス分析の結果、互いに高い類似性があった(97%)。これらのタンパク質は、亜麻、コーンおよびトマトに存在すると報告されているいくつかの抗菌活性タンパク質との類似性も65%~74%とかなり高い値を示した。報告されている抗菌性タンパク質は、基本的には膜浸透性タンパク質である。樹液中に存在するこれらに類似するタン

パク質の諸性質の内、抗菌性の種類、傷害誘導性の有無、耐凍性タンパク質との関係など興味深い。

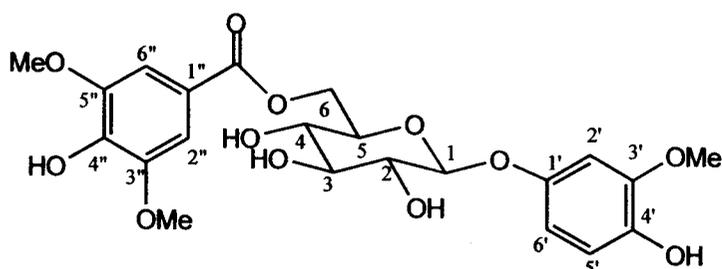
## 2) シラカンバ芽、葉、雄花序、雌花序+果穂などの生活組織の化学成分

シラカンバの芽、葉、雄花序、雌花序+果穂中のカチオン、アニオンおよび全アミノ酸の含量を、1)と同様に分析した。シラカンバの雄花序及び芽中のカチオン、アニオンの濃度は、ともに成長に伴って徐々に増加し、冬眠期に最大になり、以後減少した。葉、果穂中のカチオンおよびアニオンの濃度は、成長にともなって徐々に減少した。雄花序及び芽中のアミノ酸はともに、形成期に濃度が高いが、成長に伴って徐々に減少して休眠期に最少値を示し、開花、開葉に向けて増加した。葉および雌花序+果穂中のアミノ酸は、成長に伴って徐々に減少した。

芽、雄花序における総アミノ酸濃度の休眠期における減少、逆に総無機質濃度の休眠期における増加の現象は、耐凍性機序との関係で興味深い。

## 3) シラカンバ内樹皮の抽出成分

シラカンバ内樹皮の95%エタノール抽出物をシリカゲルカラムにより分画して、6種の化合物((+)-catechin (1)、platyphyllenone (2)、4'-hydroxy-3'-methoxyphenol-β-D-(6-O-4"-hydroxy-3",5"-dimethoxybenzoyl)-glucopyranoside (3)、platyphylloside (4)、3,4,5-trimethoxyphenyl-β-D-glucopyranoside (5)およびbetuloside (6))を単離した。そのうち化合物(3)は新規化合物であった。*p*ヒドロキノン類は、ブナ(*Fagus crenata*)、アブラチャン(*Parabenzoin praecox*)、コケモモ(*Vaccinium vitis-idaea*)などの植物から単離され、カバノキ科のカバノキ属(*Betula*)、ハンノキ属(*Alnus*)、ハシバミ属(*Corylus*)、クマシデ属(*Carpinus*)から単離されている。ジアリルヘプタノイドおよびその配糖体はカバノキ科樹木から数多く単離されているが、カバノキ科以外では、ショウガ科(*Zingiberaceae*)、マメ科(*Leguminosae*)、ヤマモモ科(*Myricaceae*)、カエデ科(*Aceraceae*)の数種で知られている。本研究において明らかになった成分ジアリルヘプタノイド誘導体、*p*ヒドロキシフェニル誘導体、*p*ヒドロキノン誘導体など各種のフェノール性成分は、いずれも抗酸化能に優れており、シラカンバ内樹皮の医薬利用に際しての基礎知見として役立つものである。



4'-hydroxy-3'-methoxyphenol-β-D-(6-O-4''-hydroxy-3'',5''-dimethoxybenzoyl)-glucopyranoside (3)

# 学位論文審査の要旨

主査	教授	寺沢	実
副査	教授	佐野	嘉拓
副査	教授	藤川	清三
副査	助教授	小島	康夫
副査	講師	玉井	裕

## 学位論文題名

### カバノキ属樹木の生活組織の化学成分に関する研究

本論文は、図47、表5、引用論文96編を含む、5章からなる106頁の和文論文である。別に参考論文5編が添えられている。

本研究は、カバノキ属樹木を対象にして、その生活組織中の化学成分についての検討を目的としている。具体的には、1) シラカンバとベルコウサカンバ樹液の溢出量や、樹液中のカチオン、アニオン、アミノ酸およびタンパク質などの化学成分の経日変化、およびタンパク質のアミノ酸シーケンス分析による他の植物タンパク質との類似性の検討、2) シラカンバの芽、葉、雄花序、雌花序+果穂などの生活組織中のカチオン、アニオン、アミノ酸含有量の季節変化の検討、および 3) シラカンバの内樹皮の抽出成分の検索である。

得られた結果の概要は以下の通りである。

#### 1) 樹液に含有される化学成分の分析

シラカンバとベルコウサカンバ樹液中のカチオン ( $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Na^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ )、アニオン ( $Br^-$ 、 $Cl^-$ 、 $SO_4^{2-}$ 、 $NO_3^-$ ) は、溢出時期の進行に伴って徐々に増加し、終期には初期の濃度の約2~3倍に増加した。全アミノ酸およびタンパク質の濃度もまた同様の傾向を示した。

シラカンバおよびベルコウサカンバ樹液中に認められる10個の主要なタンパク質の内、シラカンバの22 kDaのタンパク質と、ベルコウサカンバの25 kDaのタンパク質は、互いに高い類似性があった(97%)。これらのタンパク質は、亜麻、コーンおよびトマトに存在すると報告されている抗菌活性タンパク質とも比較的高い類似性があることが分かった(65%~74%)。これらの抗菌性タンパク質は、基本的には膜浸

透性タンパク質であるが、樹液中の類似タンパク質の諸性質、抗菌性の種類、傷害誘導性の有無、あるいは耐凍性タンパク質と関係など興味深い。

## 2) シラカンバの芽、葉、雄花序、雌花序+果穂などの生活組織の化学成分

シラカンバの雄花序及び芽中のカチオン、アニオンはともに形成期に濃度が低いが、成長に伴って徐々に増加して休眠期に最大値を示した後、開花、開葉まで徐々に減少した。葉及び雌花序+果穂中のカチオン、アニオンの濃度は、成長にともなって徐々に減少した。雄花序及び芽中のアミノ酸はともに形成期に濃度が高いが、成長に伴って徐々に減少して休眠期に最低値を示した後、開花、開葉に向けて増加した。葉及び雌花序+果穂中のアミノ酸は、成長に伴って徐々に減少した。

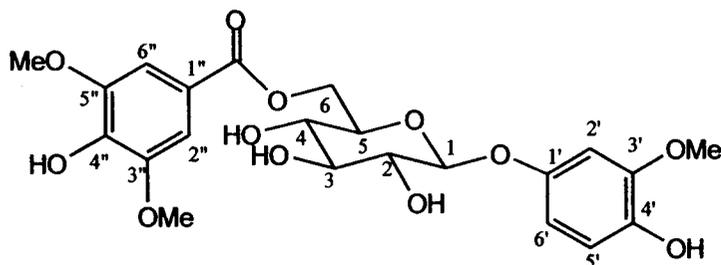
芽や雄花序における総アミノ酸濃度の休眠期における減少、逆に無機質濃度の休眠期における増加の現象は、耐凍性機序との関係で興味深い。

## 3) シラカンバ内樹皮のフェノール性成分

シラカンバ内樹皮の95%エタノール抽出物を分画して、6種の化合物 ((+)-catechin (1)、platyphyllenone (2)、4'-hydroxy-3'-methoxyphenol- $\beta$ -D-(6-O-4'-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoyl)-glucopyranoside (3)、platyphylloside (4)、3,4,5-trimethoxyphenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (5) および betuloside (6)) を単離した。そのうち化合物(3)は新規化合物であった。

以上のように、本研究により、シラカンバやベルコウサカンバ樹液中の無機質やタンパク質の量的変動および抗菌性タンパク質に類似したタンパク質の存在、シラカンバの芽、雄花序、葉、雌花序+果穂中の無機質およびアミノ酸含量の季節変動、およびシラカンバ内樹皮からの新規化合物を含む6種のフェノール成分の単離・構造決定など、カバノキ属樹木生活組織の化学成分に関する新情報がもたらされた。これらの知見は今後の生活組織の利用に際して、基礎的知見を提供するものであり、学術的に評価される。

よって審査員一同は、姜 洪洲が、博士（農学）の学位を有する資格があることを認めた。



4'-hydroxy-3'-methoxyphenol- $\beta$ -D-(6-O-4''-hydroxy-3'',5''-dimethoxybenzoyl)-glucopyranoside (3)