

## 学位論文要旨

氏名	アブデルナサー アブデルガニ エルザーウェリ
題目	ギンギシ ( <i>Rumex japonicus</i> ) とゲットウ ( <i>Alpinia zerumbet</i> ) の植物化学成分解析及び生物活性に関する研究 [Investigation on the biological activities and phytochemical analyses of <i>Rumex japonicus</i> and <i>Alpinia zerumbet</i> ]

ギンギシ (*Rumex japonicus*) とゲットウ (*Alpinia zerumbet*) は沖縄では広く自生している多年生植物である。沖縄及び中国で、さまざまな病気治療の伝統薬として用いられてきた。フェノール化合物類には抗酸化、抗菌、アレロパシー、植物のストレス防御作用などを含む多くの重要な機能を有する植物二次代謝産物に分類されるものがある。本研究は、ギンギシとゲットウ中のフェノール化合物類の含有量を測定し、生物活性を評価することを目的とした。

ギンギシ茎葉部より抽出した酢酸エチル画分には多量のフェノール化合物が含まれており、1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)法や  $\beta$ -カロテン脱色法、スーパーオキシドラジカル消去法により強い抗酸化活性を有することが確認された。この抽出物は還元力が高く、*Bacillus subtilis*、*B. cereus* 及び *E. coli* などに対する抗菌活性も示した。HPLC や GC-MS 分析により、種々のフェノール化合物、特に pyrogallol と pyrocatechin が含まれていることが分かった。

ギンギシのアレロパシー活性の調査では、葉茎部及び根部からの酸性分画は生物検定でレタスとイヌビエの幼芽、幼根の生長を抑制させ、根部の阻害は茎葉部よりも大きな阻害活性を示すことが分かった。HPLC 及び GC-MS 分析の結果、protocatechuic acid、*p*-hydroxybenzoic acid、syringic acid、ferulic acid、vanillin、pyrocatechin などが茎葉部に存在した。根部にはこれら6種類の化合物に加え、さらに caffeic acid が検出された。ギンギシの茎葉部及び根部の抽出物のアレロパシー活性はこれらフェノール化合物の含有量と相互関係があることが証明された。

硫酸銅を噴霧しストレスを与えた場合のゲットウ成分の変化、特に精油、全フェノール化合物、dihydro-5,6-dehydrokawain (DDK)などの含有量と抗酸化活性や抗菌活性に及ぼす影響について調査した。硫酸銅で処理すると1,8-cineol、camphor、borneol、及び terpinene-4-olなどの揮発性物質が増加し、また、フェノール化合物も増加する。そのために未処理のものより高い抗酸化活性及び抗菌活性を示すことが分かった。増加した主なフェノール化合物は Ferulic acid や *p*-hydroxybenzoic acid であった。銅ストレスはゲットウの防御機能を刺激し、抗酸化活性及び抗菌活性を有するフェノール化合物の増加を生み出すことを示している。

これらの研究の結果、ギンギシとゲットウは天然の安全な抗酸化剤あるいは薬品業界や食品分野で有効な原材料資源として利用できると思われる。

(学位第3号様式)

学位論文要旨	
氏名	ABDELNASER ABDELGHANY ELZAAWELY
題目	Investigation on the biological activities and phytochemical analyses of <i>Rumex japonicus</i> and <i>Alpinia zerumbet</i> [ギンギシ ( <i>Rumex japonicu</i> ) とゲットウ ( <i>Alpinia zerumbet</i> ) の植物化学成分解析及び生物活性に関する研究]
<p><i>Rumex japonicus</i> and <i>Alpinia zerumbet</i> are perennial plants growing widely in Okinawa, Japan. They have been used by Japanese and Chinese in traditional medicine for treatment of various diseases. Phenolic compounds are a class of plant secondary metabolites that are involved in many important functions including antioxidant, antimicrobial, allelopathic and plant defense against stress. The objectives of this study were to evaluate the biological activities of <i>R. japonicus</i> and <i>A. zerumbet</i> and to determine their content of phenolic compounds that may attribute to these activities.</p> <p>Among different extracts of <i>R. japonicus</i> aerial parts, ethyl acetate extract contained the highest level of total phenolic compounds and showed the strongest antioxidant and antibacterial activities. The results demonstrated a correlation between antioxidant activity of this extract and its high level of phenolic compounds, in particular pyrogallol and pyrocatechin.</p> <p>The acidic fractions prepared from aerial parts and roots of <i>R. japonicus</i> reduced the seedling growth of lettuce and barnyardgrass in a bioassay and the inhibition of roots was greater than that of aerial parts. HPLC and GC-MS analyses indicated the presence of protocatechuic acid, <i>p</i>-hydroxybenzoic acid, syringic acid, ferulic acid, vanillin and pyrocatechin in aerial parts. In addition to these six compounds, caffeic acid was detected in roots. The results verified that the allelopathic activity was well correlated with the high level of phenolic compounds in these extracts.</p> <p>Changes in the contents of essential oil, total phenolics, dihydro-5,6-dehydrokawain (DDK) and antioxidant and antibacterial activities were investigated in <i>A. zerumbet</i> plants, which had been sprayed with copper sulphate. Volatile components that increased after copper treatment include 1,8-cineol, camphor, borneol, and terpinene-4-ol. Ethyl acetate extract of copper-treated plants contained increased levels of total phenolics and had higher antioxidant and antibacterial activities than that of non-treated plants. Contents of DDK, vanillin and cinnamic acid were significantly higher in chloroform and ethyl acetate extracts of <i>A. zerumbet</i> plants following exposure to copper.</p> <p>An extraction protocol to obtain essential oil, DDK and enriched antioxidant phenolic extracts from fresh leaves and rhizomes of <i>A. zerumbet</i> and their wastes was developed. The highest DDK content was found in hexane extract of fresh rhizomes. Ethyl acetate extracts from leaves showed higher antioxidant activity assayed by DPPH radical scavenging and <math>\beta</math>-carotene bleaching methods than those from rhizomes. Ferulic and <i>p</i>-hydroxybenzoic acids were the major phenolics present in these extracts.</p> <p>Based on these results, it is suggested that <i>R. japonicus</i> and <i>A. zerumbet</i> can be utilized in food and pharmaceutical manufactures as an effective and safe source of natural antioxidant.</p>	

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏 名	Abdelnaser Abdelghany Elzaawely
審査委員	主査 琉球大学 教授 多和田 真吉
	副査 琉球大学 教授 安田 正昭
	副査 佐賀大学 教授 加藤 富民雄
	副査 鹿児島大学 教授 菅沼 俊彦
	副査 琉球大学 教授 石原 昌信
審査協力者	
<p>ギシギシ(<i>Rumex japonicus</i>) とゲットウ (<i>Alpinia zerumbet</i>) の植物化学成分解析 及び生物活性に関する研究</p> <p>Investigation on the biological activities and phytochemical analyses of <i>Rumex japonicus</i> and <i>Alpinia zerumbet</i></p>	
<p>ギシギシ (<i>Rumex japonicus</i>) とゲットウ (<i>Alpinia zerumbet</i>) は沖縄地域 に広く自生している多年生植物であり、さまざまな病気治療の民間伝承薬とし て用いられてきた。本研究は、これら未利用資源植物中の生物活性物質を調査 し、その有効利用を図り、新たなバイオマス資源としての実用化の可能性につ いて検討したものである。得られた結果は以下のように要約される。</p> <p>1. ギシギシ茎葉部より抽出した酢酸エチル画分には多量のフェノール化 合物が含まれており、1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 法や <math>\beta</math>-カロテ ン脱色法、スーパーオキシドラジカル消去法により強い抗酸化活性を有するこ とが確認された。この抽出物は還元力が強く、<i>B. subtilis</i>、<i>B. cereus</i> 及び <i>E. coli</i> などに対する抗菌活性も示した。HPLC や GC-MS 分析により、種々のフ ェノール化合物、特に安全な pyrogallol と pyrocatechin が多く含まれている ことが分かり、抗酸化剤として食品添加物の開発の可能性が示された。</p> <p>2. ギシギシのアレロパシー活性の調査では、葉茎部及び根部からの酢エ チ抽出物は生物検定でレタスとイヌビエの幼芽、幼根の生長を抑制させ、根部 の阻害は茎葉部よりも大きな阻害活性を示すことが分かった。HPLC 及び GC-MS 分析の結果、protocatechuic acid、<i>p</i>-hydroxybenzoic acid、syringic acid、 ferulic acid、vanillin、pyrocatechin などが茎葉部に存在した。根部には</p>	

これら6種類の化合物に加え、さらに caffeic acid が検出された。ギシギシの茎葉部及び根部の抽出物のアレロパシー活性はこれらフェノール化合物の含有量と相互関係があることが証明された。

3. 硫酸銅を噴霧しストレスを与えた場合のゲットウ成分の変化、特に精油、全フェノール化合物、dihydro-5,6-dehydrokawain (DDK) などの含有量と抗酸化活性や抗菌活性に及ぼす影響について調査した。硫酸銅で処理すると 1,8-cineol、camphor、borneol、及び terpinene-4-ol などの揮発性物質が増加し、また、フェノール化合物も増加する。そのために未処理のものより高い抗酸化活性及び抗菌活性を示すことが分かった。増加した主なフェノール化合物は ferulic acid や *p*-hydroxybenzoic acid であった。銅ストレスはゲットウの防御機能を刺激し、抗酸化活性及び抗菌活性を有するフェノール化合物を増加させ付加価値の高い生物活性物質の収量を高めることが確認された。

上記のように、本研究によりギシギシとゲットウは安全な天然抗酸化剤あるいは薬品業界や食品分野で有効な植物資源として利用できることを証明しており、沖縄県において有用植物資源利用による産業振興に貢献できる研究成果として高く評価できる。従って、本論文は博士の学位論文として十分に価値あるものと判定した。

学力確認結果の要旨	
学位申請者 氏 名	Abdelnaser Abdelghany Elzaawely
審査委員	主査 琉球大学 大学 教授 多和田 真吉
	副査 琉球大学 大学 教授 安田 正昭
	副査 佐賀大学 大学 教授 加藤 富民雄
	副査 鹿児島大学 大学 教授 菅沼 俊彦
	副査 琉球大学 大学 教授 石原 昌信
審査協力者	
実施年月日	平成 18 年 7 月 21 日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <span style="float: right;">(口答)・(筆答)</span>	
<p>主査及び副査は、平成 18 年 7 月 21 日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的に別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。また、筆記により、外国語（英語）の学力を確認した。</p> <p>以上の結果から、審査員会は申請者が大学院連合農学研究科博士課程修了者と同等以上の学力ならびに識見を有するものと認め、<u>博士（農学）</u>の学位を与えるに足る十分な資格をもつものと判定した。</p>	

学位申請者 氏 名	Abdelnaser Abdelghany Elzaawely
<p>[質問 1] ギシギシの抽出物を用いて抗カビ活性の測定を行いましたか。</p> <p>[回答 1] いいえ、今回は大腸菌などの病原菌に対する活性を測定しましたが、カビ類については調査しませんでした。</p> <p>[質問 2] あなたの研究ではフェノール化合物は全部遊離型で測定しておりますが、糖鎖が結合したエステル型にも強い活性のある物質があると思われませんが、これについても調査しましたか。</p> <p>[回答 2] ガスクロと高速液クロの分析では遊離型の方が分析しやすいので、アルカリで加水分解して、全部遊離型にしてから研究を行いました。</p> <p>[質問 3] ギシギシの抗酸化活性及びアレロパシー活性で使った抽出溶媒はなぜエタノールを用いましたか。他の抽出溶媒も確認しましたか。</p> <p>[回答 3] 色々抽出溶媒を試みましたがエタノール抽出物が最も強い活性を示しました。</p> <p>[質問 4] ゲットウの葉に硫酸銅をスプレーした時に、植物組織学的な変化が見られましたか。</p> <p>[回答 4] はい、ありました。焼けたような斑点や細胞が壊死した部分が見られましたが、これらの変化には注目しませんでした。研究の目的がゲットウの生物活性物質に及ぼす影響について調査することだったので、また、サンプルを採取する 24 時間後は、これらの変化は無視できるほど小さなものでした。</p> <p>[質問 5] 還元力の機構には何がありますか。</p> <p>[回答 5] 還元力とは物質の持つ電子転移活性を意味し、高い還元力のあるものは高い抗酸化活性があるものと見なされています。</p> <p>[質問 6] 同定したそれぞれのフェノール化合物のアレロパシー活性を測定しましたか。</p> <p>[回答 6] いいえ、同定した其々のフェノール化合物のアレロパシー活性は既に文献などで報告されており、ギシギシ抽出物の強いアレロパシー活性はそれぞれの化合物によるのではなく、全体的に高濃度のフェノール化合物類が含まれているためであり、抽出混合物そのままでも有効利用できると判断されました。</p> <p>[質問 7] なぜアレロパシーの実験で検定植物としてレタスとイヌビエを選びましたか。</p> <p>[回答 7] 普通、植物抽出物のアレロパシー活性を測定する時に、一般的には单子葉植物からはイヌビエを、また双子葉植物に属するものとしてはレタスを検定植物として選びます。</p>	