

## 学位論文要旨

氏名

金海麗

題目

セイタカアワダチソウのポリフェノール成分に関する研究  
(Studies on the polyphenols in *Solidago altissima* L.)

セイタカアワダチソウ (*Solidago altissima* L.) は、北アメリカ原産のキク科 *Solidago* 属の多年生草本であり、その根の成分として、ポリアセチレン類やジテルペン類が報告されている。他の成分に関する研究は少なく、本植物は現在、雑草として扱われている。本研究において、セイタカアワダチソウの未知の化学成分の解析と新しい機能性素材としての利用を目的に、二次代謝成分に関する化学的解析を行った。また、本植物の各種培養系を確立すると共に、その二次代謝成分であるポリフェノール類の生産制御について検討した。さらに、本植物体をポリフェノール資源として利用することを研究の一環として、ポリフェノール類の効率的抽出法を開発した。

この研究で得られた知見は以下の通りである。1) 逆相カラムクロマトグラフィーを駆使することにより、カフェー酸誘導体類を8種 (caffeic acid、chlorogenic acid、3-*O*-caffeoylquinic acid、4-*O*-caffeoylquinic acid、3-*O*-coumaroylquinic acid、4-*O*-coumaroylquinic acid、3, 5-di-*O*-caffeoylquinic acid および 4, 5-dicaffeoylquinic acid)、1種のフェノール配糖体 (*trans*-tiliroside) 共に2種の新規化合物 (kaempferol 3-*O*-rutinoside 7-*O*- $\beta$ -D-apiofuranoside および 2, 4, 6-trihydroxy-1-butyrophenone 2-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside) を単離、構造決定した。2) 本植物体の葉部におけるポリフェノール成分含量および構成パターンの季節変動について明らかにした。3) 各器官 (葉、茎、根および花) 別および各着生部位別の葉におけるポリフェノール成分の構成パターンおよび含量について明らかにした。4) 本植物体の茎葉培養系、カルス培養系、不定根培養系および毛状根培養系を確立し、各種培養系におけるポリフェノール含量について明らかにした。5) 毛状根培養系において、光照射およびアスコルビン酸添加により、ポリフェノール類の生産量増加に成功した。6) 大豆タンパク質を利用して、大豆タンパク質・ポリフェノール複合体を調製することにより、本植物体のポリフェノール類の効率的抽出法を確立した。

本研究により、セイタカアワダチソウに多様なポリフェノール類が高含量で含まれていることを初めて明らかにした。特に、今回単離した新規フェノール配糖体類はケミタキシノミーにおいても有用な物質である。また、各種培養系の確立に成功し、ポリフェノールの生産制御の可能性を初めて示した。さらに、本研究で調製した大豆タンパク質・ポリフェノール複合体は、食品分野における新しい素材として期待される。

以上、セイタカアワダチソウは、ポリフェノール資源としての有用性と実用性を示したものである。

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	JIN HAILI
題 目	Studies on the polyphenols in <i>Solidago altissima</i> L. (セイタカアワダチソウのポリフェノール成分に関する研究)
<p><i>Solidago altissima</i> L. (Compositae) is a perennial herb originated from North America. Some polyacetylenes and diterpenes were isolated from the roots of this plant. The studies on the other phytochemicals of this plants have not been done so much. In this research, in order to clarify the unknown chemical compounds of this plant and to utilize this plant as a new functional chemical, analysis of the second metabolites was carried out. In addition, various tissue cultures of this plant were established, and the factors which regulate the production of secondly metabolism, especially polyphenol production were also investigated. As a part of the studies on the utilization of this plant as a polyphenol resource, an efficient extraction method of polyphenol from this plant was also developed.</p> <p>Novel findings obtained in this research were as follows: 1) Eight caffeic acid derivatives (caffeic acid, chlorogenic acid, 3-<i>O</i>-caffeoylquinic acid, 4-<i>O</i>-caffeoylquinic acid, 3-<i>O</i>-coumaroylquinic acid, 4-<i>O</i>-coumaroylquinic acid, 3, 5-di-<i>O</i>-caffeoylquinic acid and 4, 5-dicaffeoylquinic acid), a phenolic glucoside (<i>trans</i>-tiliroside), and two new compounds (kaempferol 3-<i>O</i>-rutinoside 7-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-apiofuranoside and 2, 4, 6-trihydroxy-1-butyrophenone 2-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopyranoside) were isolated using reversed-phase chromatographies. 2) The seasonal changes of polyphenol contents and the pattern of polyphenol constituent in the leaves of this plant, were clarified. 3) The polyphenol pattern and contents in various organs (leaves, stem, roots and flowers) and in the leaves grown in different position of the plant (upside, middle and below position), were also analyze. 4) Various cultures (shoot culture, callus culture, adventitious roots and hairy roots) of <i>S. altissima</i> L. were established, and the contents of polyphenols in these cultures were also investigated. 5) In increase of the polyphenol of the yields in the hairy roots was succeeded by illumination and addition of ascorbic acid in the medium. 6) The efficient extraction method of polyphenols from this plant was established by preparation of soybean protein-polyphenols complex.</p> <p>In this research, it was elucidated that high contents of various polyphenols were contained in <i>S. altissima</i> L. for the first time. The new phenolic glucosides obtained were also considered to be useful chemical compounds for the chemitaxonomy. In addition, for the fist time various cultures of this plant were successful established, and the possibility of the regulation of polyphenol biosynthesis was shown. Moreover, the soybean protein-polyphenols complexes prepared in this study are expected as new function food materials were also prepared.</p> <p>By this result, <i>S. altissima</i> L. was shown an useful resource of plant polyphenols.</p>	

## 学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏 名	金 海麗
審査委員	主査 佐賀 大学 准教授 石丸 幹二
	副査 佐賀 大学 教授 柳田 晃良
	副査 鹿児島 大学 准教授 橋本 文雄
	副査 鹿児島 大学 教授 坂田 祐介
	副査 佐賀 大学 准教授 濱 洋一郎
審査協力者	
題 目	セイタカアワダチソウのポリフェノール成分に関する研究 (Studies on the polyphenols in <i>Solidago altissima</i> L.)
<p>セイタカアワダチソウ (<i>Solidago altissima</i> L.) は、北アメリカ原産のキク科 <i>Solidago</i> 属の多年生草本である。その根の成分として、ポリアセチレン類やジテルペン類の報告はあるが、他の成分に関する研究例は少なく、本植物は現在、未利用植物、いわゆる雑草として扱われている。</p> <p>本研究は、セイタカアワダチソウの未知の化学成分を解明し、その機能性成分の効率的調製法を提案することにより、本植物を新しい機能性植物素材として利用することを目的としたものである。具体的な研究成果は、以下の様である。</p> <p>1) 未知成分の化学的解明に関しては、本植物の葉を材料とし、各種カラムクロマトグラフィーを駆使することにより、カフェー酸誘導体類を 8 種 (caffeic acid、chlorogenic acid、3-<i>O</i>-caffeoylquinic acid、4-<i>O</i>-caffeoylquinic acid、3-<i>O</i>-coumaroylquinic acid、4-<i>O</i>-coumaroylquinic acid、3, 5-di-<i>O</i>-caffeoylquinic acid および 4, 5-dicaffeoylquinic acid)、フェノール配糖体 1 種 (<i>trans</i>-tiliroside) と共に 2 種の新規フェノール類 (kaempferol 3-<i>O</i>-rutinoside 7-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-apiofuranoside および 2, 4, 6-trihydroxy-1-butyrophenone</p>	

2-O- $\beta$ -D-glucopyranoside) を単離、構造決定した。特に、今回得られた butyrophenone は、キク科植物においては初めて報告されたものであり、ケモタキノミーの面からも注目される物質である。

2) 本植物のポリフェノール成分の季節変動と器官別構成に関しては、3月から10月までの葉部における上記ポリフェノール類の含量変化と、10月における各器官(葉、茎、根および花部)および各着生部位別の葉部におけるポリフェノール構成を明らかにした。このことは、本植物のポリフェノール資源としての利用において、有用なデータを提供するものである。

3) 本植物のポリフェノール成分の効率的調製法の開発に関しては、各種培養細胞系(茎葉培養系、カルス培養系、不定根培養系および毛状根培養系)を確立し、ポリフェノールの生産性に関与する各種因子(光およびビタミン成分)を明らかにした。また、本植物をポリフェノール資源として利用するために、大豆タンパク質を利用したポリフェノール類の効率的抽出法を確立した。大豆タンパク質-ポリフェノール複合体を調製することにより、特にカフェー酸誘導体類が効率的に抽出されることを明らかにした。

本研究により、セイタカアワダチソウに含まれる多様なポリフェノール類が初めて明らかになった。また、本植物の各種培養系の利用により、ポリフェノール類の生産制御の可能性も示された。さらに、本研究で調製に成功した大豆タンパク質-ポリフェノール複合体は、新しい機能性食品素材としても注目されるものである。

以上、本論文は、セイタカアワダチソウの新しいポリフェノール資源としての有用性と可能性を示したものであり、博士(農学)の学位論文として十分に価値のあるものと判定した。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	金 海麗
審査委員	主査 佐賀 大学 准教授 石丸 幹二
	副査 佐賀 大学 教授 柳田 晃良
	副査 鹿児島 大学 准教授 橋本 文雄
	副査 鹿児島 大学 教授 坂田 祐介
	副査 佐賀 大学 准教授 濱 洋一郎
審査協力者	
実施年月日	平成20年 1月23日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答・筆答	
<p>主査及び副査は、平成20年1月23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。具体的には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。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者  
氏 名

金 海麗

[質問 1] ポリフェノール・大豆タンパク質複合体の調製に大豆タンパク質を利用する理由は何ですか？

[回答 1] ポリフェノールがタンパク質と結合しやすい特徴があり、この特徴を利用して、お茶のカテキン類を大豆タンパク質に吸着させ、抽出する方法が報告されています。そこで、同様に大豆タンパク質を用いてセイタカアワダチソウのポリフェノール成分を抽出する方法を試みました。

[質問 2] 新規化合物 Sa-11 のケモタキソノミーについて説明してください。

[回答 2] 今回単離した Sa-11 の構造のブチル基はシダ植物で多く報告されています。植物の進化の過程の中で、最初の維管束植物であるシダ植物の成分が系統上もっとも進化したキク科に認められたことは非常に興味深いと思います。

[質問 3] セイタカアワダチソウの葉の着生部位別含量を比較する理由は何ですか？

[回答 3] セイタカアワダチソウの葉の成分の季節変動については、春季は Sa-2 が多く含まれ、夏季は Sa-7 が多く含まれていますので、新しく出てくる葉の方が Sa-2 を多く含むのではないかと考え、実験をしました。

[質問 4] 培養系でカフェー酸誘導体以外の成分に注目しなかった理由は何ですか？

[回答 4] 培養系においては、Sa-2 と Sa-7 が主成分であり、他の成分は殆ど生産されないからです。

[質問 5] 光照射により、毛状根はカフェー酸誘導体以外に他の成分を生産しましたか？

[回答 5] いいえ、新しい成分の生産は認められませんでした。

[質問 6] 毛状根のポリフェノール成分が、光照射により、増える理由は何ですか？

[回答 6] 光によって、ポリフェノールの生合成関連酵素が活性化されるからです。

[質問 7] セイタカアワダチソウのどの部位、どの時期に採取するのが、もっとも効率的にポリフェノール成分が採れますか？

[回答 7] 本植物から Sa-2 を採取する適期は春季の葉であり、Sa-7 は夏季の葉で、また、花にも多くの Sa-2 と Sa-7 が含有されているので、秋季の花からも効率的にポリフェノール類をとることができます。

[質問 8] 春季に Sa-2 の含量が高く、Sa-7 は夏季に含量が高い理由は何ですか？

[回答 8] 植物体の成長に伴い、caffeoyl 基が Sa-2 のキナ酸に結合して Sa-7 が合成されます。Sa-2 と Sa-7 に特別な活性の相違はないと思います。

[質問 9] ポリフェノール・大豆タンパク質の複合体を 50%アセトンで抽出する理由について教えてください。

[回答 9] 水で抽出されやすい部分と極性が小さいアセトンで抽出されやすい部分からなるポリフェノールを抽出しやすいからです。

[質問 10] ポリフェノール・大豆タンパク質複合体は、人の体内に摂取されたとき、その複合体からポリフェノール類は遊離しますか？

[回答 10] 胃酸により、ポリフェノール類が複合体から遊離されると思います。

[質問 11] 紫外線照射下で組織培養したら、ポリフェノール生産量はどのように変化すると思いますか？

[回答 11] ポリフェノールの生合成関連酵素が活性化されるので、ポリフェノール生産量は増加することが予想されます。

[質問 12] セイタカアワダチソウは他の植物と比較してポリフェノール素材としてどのような利点がありますか？

[回答 12] 各時期、各器官に応じた多種のカフェー酸誘導体類を抽出可能であり、また、植物の生育も非常に旺盛ですので、素材として有用です。