

スギおよびアカマツ樹皮中でのフラバノール類の蓄積ならびにその構造上の変化*

Accumulation and Structural Changes of Flavanols in the Barks of *Cryptomeria Japonica*
D. Don and *Pinus densiflora* Sieb. and Zucc.*

鮫島正浩**, 善本知孝**

Masahiro SAMEJIMA** and Tomotaka YOSHIMOTO**

1 緒 言

フラバノール類はフラバノール単量体(1)およびその重合体であるプロアントシアニジン(2)から成る一群のフェノール性化合物の総称である (Fig. 1)。

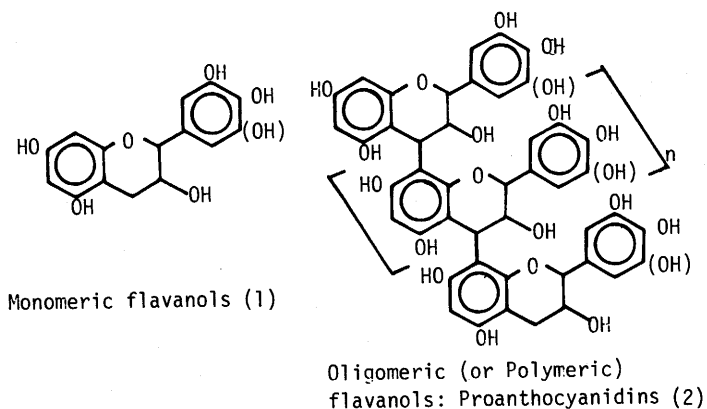


Fig. 1 Primary Structures of flavanols

著者らはすでに多種の針葉樹内樹皮についてフラバノール類の分析を行ない、その結果から以下に示す事柄を明らかにしている^{1),2),3),4)}。

- i) フラバノール類は多種の針葉樹内樹皮に極めて普遍的に存在する化合物である。
- ii) 内樹皮中でのフラバノール類の含有率は非常に高い。したがって、フラバノール類は針

*本研究の内容の一部は第31回木材学会大会 (1981年4月, 東京) にて発表した。

**東京大学農学部林産学科

Department of Forest Products, Faculty of Agriculture, University of Tokyo.

葉樹内樹皮の化学成分中でも特に主要な成分の1つとみなすことができる。

- iii) 従来、針葉樹々皮タンニンと呼ばれてきた物質はそのほとんどすべてがフラバノール類である。
- iv) フラバノール類の分子量分布あるいはそれを構成するフラバノール単位の立体異性体などについては著しい樹種差が認められる。また、これらの構造的特徴の差と針葉樹類の系統発生の間には密接な関係が認められることから、フラバノール類の構造的特徴は遺伝的因子によって大きく左右されることが示唆された。

形成層で生成された内樹皮（二次師部）の細胞は形成層の細胞分裂活動にともなって順次外側へ移行する。内樹皮の細胞の大部分は生きた細胞であるが、やがて外側の内樹皮中で周皮が形成されると、周皮より外側の組織は死滅し外樹皮となる。このような樹皮の細胞の一連の成長および変化において、フラバノール類が樹皮中にどのように蓄積されていくか、またその構造的特徴がどのような変化をうけていくかについては今だに明らかにされていない。

本研究ではスギおよびアカマツの樹皮を用いて、樹皮を形成層側から外側に向かっていくつかの部分に分別し、それらの各々についてフラバノール類の含有率ならびにその構造的特徴を分析した。そして、得られた結果より樹皮中でのフラバノール類の生成、蓄積ならびにその構造上の変化について考察を加えた。

2 実 験

2.1 樹皮試料および抽出

スギ樹皮は1980年5月17日に、またアカマツ樹皮は1981年6月4日に東京大学千葉演習林内にて22年生立木の胸高部から採集した。

スギ樹皮（生重量約200g）は生木より剝離後、内樹皮内側、中央、外側および外樹皮の4つの部分にナイフで分別し、ただちにメタノール（1ℓ）に浸漬した。

一方、アカマツ樹皮（生重量約200g）は生木より剝離後、内樹皮内側、外側および外樹皮の3つの部分に分別し、ただちにメタノール（1ℓ）に浸漬した。

上記の状態では各部分の樹皮を2日間浸漬抽出し、その後樹皮片と抽出液を口別した。各樹皮片にはさらに別のメタノール（1ℓ）を加え、永冷下でポリトロンにより樹皮片を摩砕した。その後、静置して1日間浸漬抽出を行った。樹皮粉と抽出液を口別したのち、各樹皮粉はさらにメタノール（1ℓ）を用いて1日間の浸漬抽出を2度繰り返した。このようにして得た樹皮の各メタノール抽出物は合わせて濃縮し正確に50mlの溶液とし以下に示す各分析のための試料原液とした。

2.2 メタノール抽出物量

試料原液から正確に10mlをあらかじめ秤量して重量を求めたナス型フラスコにとり、ロータリー・エバポレータで濃縮、乾固し、さらに105°Cで8時間乾燥を行ったのち、秤量した。求めた重量からナス型フラスコの重量を減じた値を5倍してこれをメタノール抽出物量とした。

2.3 樹皮の絶乾重量

抽出済の樹皮を約1週間風乾したのち、さらに105°Cで8時間乾燥させ、その後その重量を秤量した。この値に前項で求めたメタノール抽出物量を加えた値を樹皮の絶乾重量とした。分別した各部分が樹皮全体に占める割合を Table. 1 に示す。

Table-1. Proportion of the subdivided sections of the barks

Cryptomeria japonica

	Percentage by weight
Inner bark	
inside	9.2
middle	33.1
outside	22.4
Outer bark	35.3
	100.0

Pinus densiflora

	Percentage by weight
Inner bark	
inside	18.7
outside	33.8
Outer bark	47.5
	100.0

2.4 フラバノール類の定量

試料原液からメタノール抽出物濃度200 μ g/mlの水溶液を調製し、バニリン-塩酸法⁵⁾を用いて定量した。定量の結果は各樹皮の絶乾重量に対する含有率として表示した。

2.5 フラバノール単量体および二量体の立体異性体構成比

試料原液からメタノール抽出物50mgを取り Sephadex LH-20カラムクロマトグラフィーと高速液体クロマトグラフィーの組み合わせによる著者らが考案した分析法⁶⁾により求めた。

2.6 フラバノール多量体の化学構造に関する分析

試料原液からメタノール抽出物1.0gをとり著者らの前報⁶⁾の方法に従い Sephadex G-25

およびLH-20カラムクロマトグラフィーを用いてフラバノール多量体を精製した。

^{13}C -NMRスペクトルの測定は次の条件で行った。重化溶媒： d_3 -メタノール，内部標準：TMS (0.0ppm)，45°パルス，パルス間隔：1秒，160回毎のブロック積算（合計積算回数15,000~20,000回）

フラバノール多量体を構成するフラバノール単位の立体異性体構成比は toluene- α -thiol による分解反応生成物の同定ならびに定量の結果から求めた⁶⁾。

また，多量体の平均分子量はゲル浸透クロマトグラフィーの結果から求めた⁶⁾。

3 結 果

3.1 フラバノール類の含有率の変化

分別した各部分についてフラバノール類の含有率を求めた結果を Fig. 2 に示す。

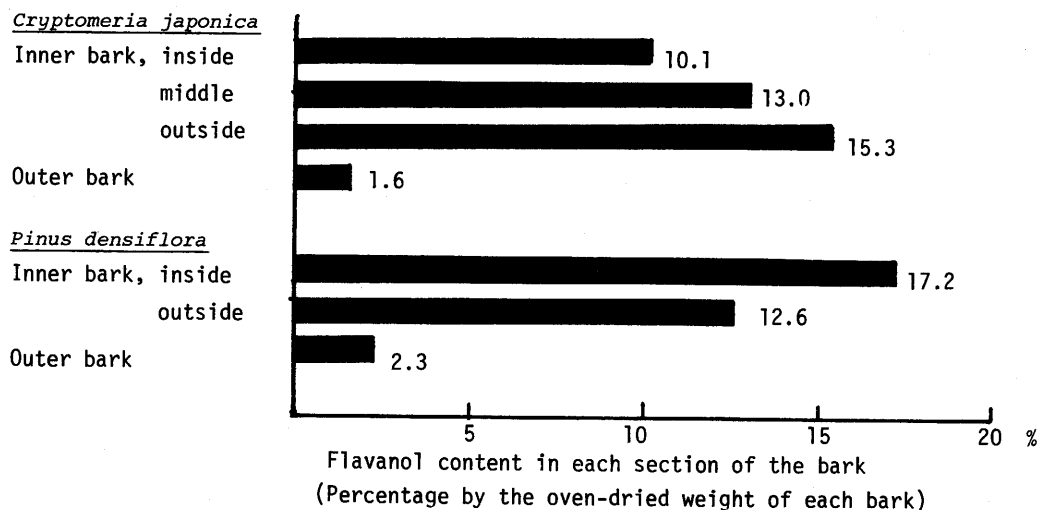


Fig. 2 Total flavanol content in each section of the barks

スギおよびアカマツの場合とも，内樹皮の各部分は絶乾重量に対して約10%以上のフラバノール類を含有している。内樹皮中でのフラバノール類の含有率はスギの場合は内側から外側に向って増加する傾向が認められるのに対して，アカマツの場合は逆にやや減少している。し

たがって、樹皮中でのフラバノール類の蓄積のされ方は樹種によってやや異っていると言える。

しかしながら、両樹種とも最も形成層寄りの内樹皮の内側部分でもかなり多量のフラバノール類を含有している事実は、フラバノール類が樹皮形成のかなり初期の段階でも多量に生成されていることを示している。

一方、外樹皮では両樹種ともフラバノール類の含有率はかなり低下していた。

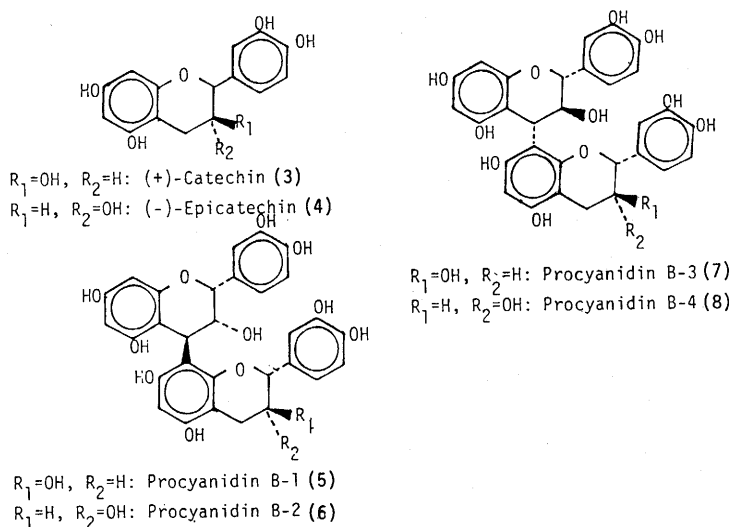


Fig.3 Chemical structures of monomeric and dimeric flavanols

3.2 フラバノール単量体および二量体の立体異性体構成比の変化

分別した各樹皮についてフラバノール単量体および二量体の立体異性構成比を求めた結果をTable. 2に示す。

両樹種の場合とも、フラバノール単量体は(+)-catechin(3)および(-)-epicatechin(4)の混合物であるが、これらの立体異性体の構成比には著しい樹種差が認められる。一方、同一樹種内では内樹皮の内側部分から外樹皮に至るまで、これらの立体異性体の構成比はほぼ近似した値を示して目立った変化は認められなかった。

Table—2 Proportion of the stereoisomers of monomeric and dimeric flavanols

<i>Cryptomeria japonica</i>	Monomeric flavanols		Dimeric flavanols			
	(+)-Catechin	(-)-Epicatechin	B-1	B-2	B-3	B-4 ^{a)}
Inner bark						
inside	65	35	0	0	50	50
middle	69	31	4	3	50	43
outside	71	29	4	3	55	38
Outer bark	73	27	<hr/>			
<i>Pinus densiflora</i>						
Inner bark						
inside	95	5	65	0	35	0
outside	92	8	72	0	28	0
Outer bark	91	9	66	0	34	0

a) B-1: Procyanidin B-1, B-2: Procyanidin B-2, B-3: Procyanidin B-3, B-4: Procyanidin B-4

フラバノール二量体では、スギ樹皮の場合は procyanidin B-3 (7) および B-4 (8) が主体となっていて、procyanidin B-1 (5) あるいは B-2 (6) はほとんど存在しないか、または存在してもごく微量であった。これに対して、アカマツ樹皮の場合は procyanidin B-1 (5) および B-3 (7) を主体としていて、procyanidin B-2 (6) あるいは B-4 (8) の存在は確認できなかった。このようにフラバノール二量体の立体異性体の構成には著しい樹種差が認められた。しかしながら、同一樹種での二量体の立体異性体構成比は樹皮の各部分ともほぼ近似した値を示していて目立った変動は認められなかった。

3.3 フラバノール多量体の構造的特徴の変化

分別した各樹皮から精製したフラバノール多量体の¹³C-NMR スペクトルを Fig. 4 に示す。いずれの多量体の場合も、すべてのシグナルはフラバノール単位に由来すると考えられるシグナルであり、糖類、フェニルプロパン類あるいは脂質などに由来すると考えられるシグナルは観測されなかった。³⁾したがって、スギおよびアカマツ樹皮の各部分から得たすべての多量体はフラバノール単位だけによって構成されている物質とみなせる。

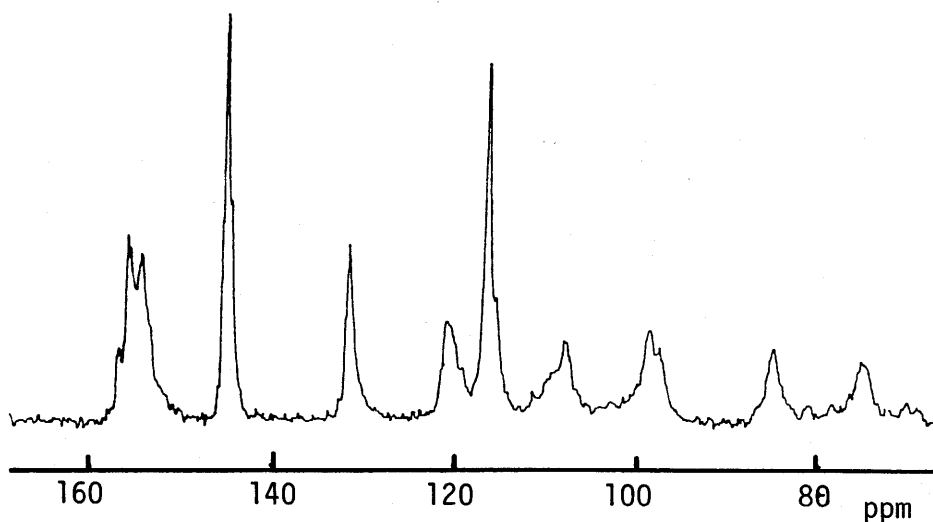
スギおよびアカマツ樹皮から得た多量体のスペクトルを比較すると一部に異った化学シフトを与えるシグナルが観測されるが、これはスギとアカマツの場合では多量体を構成するフラバノール単位の立体異性体の構成が著しく異なることに由来すると考えられる。

一方、同一樹種では内樹皮から得た多量体と外樹皮から得た多量体とはほぼ同一の化学シフトにシグナルを与えている。したがって、両者のフラバノール多量体は近似した構造を有しているとみなせる。しかしながら、両樹種とも内樹皮から得た多量体にくらべて外樹皮から得た多量体のスペクトルは線幅の広いスペクトルになっている。このことは外樹皮から得た多量体が一部で若干の構造的変化を起していることを示唆している。

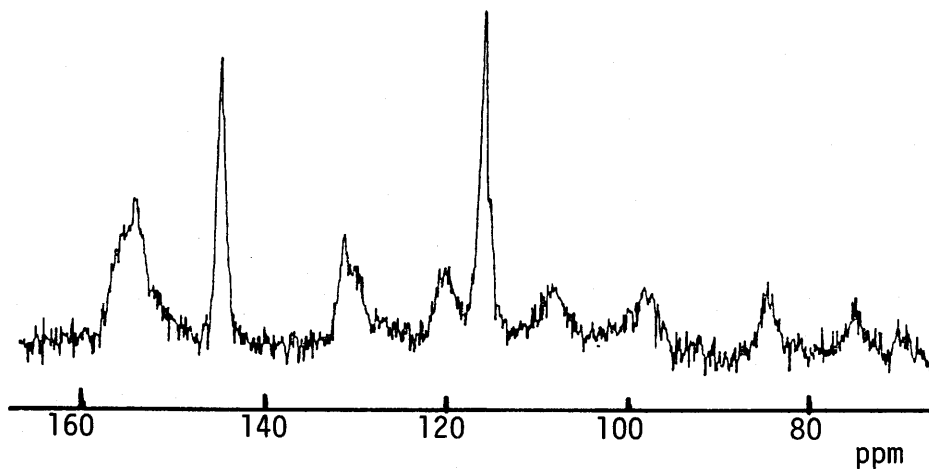
スギおよびアカマツ樹皮の各部分から得た多量体を toluene- α -thiol で分解して得た生成物の同定ならびに定量的結果から、多量体のフラバノール単位の結合様式およびフラバノール伸長単位と末端単位での立体異性体の構成比を求めた。

分解反応によって多量体から得られたフラバノール単量体およびそのチオエーテル化合物の全収率を Table. 3 に示す。両樹種の場合とも内樹皮から得た多量体は約80%前後におよぶ高収率で分解生成物を与えた。このことは、内樹皮中の多量体では $C_{(4)}-C_{(8)}$ [あるいは $C_{(4)}-C_{(6)}$] 結合の単純な繰り返しによってフラバノール単位が重合した構造を主体としていることを示している。

a)



b)



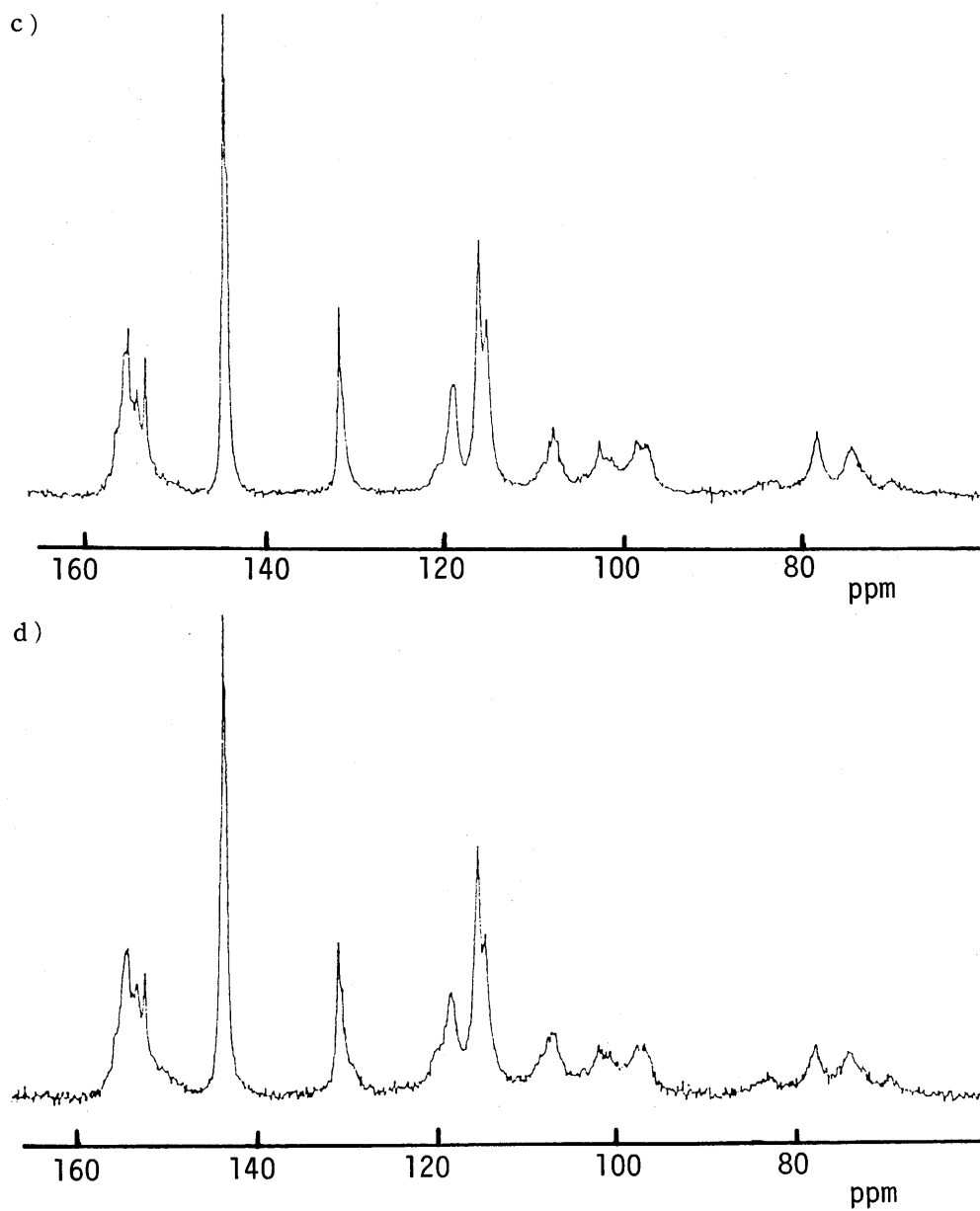


Fig.4 ^{13}C -NMR spectra of polymeric flavanols from each section of the barks
a) the inside section of the inner bark of *C. japonica*
b) the outer bark of *C. japonica*
c) the inside section of the inner bark of *P. densiflora*
d) the outer bark of *P. densiflora*

Table—3 Yield of thiolysis products of polymeric flavanols from subdivided sections of the barks

	Yield of thiolysis products (Percentage of the weight of the polymer)	
<i>Cryptomeria japonica</i>		
Inner bark		
inside		91
middle		78
outside		75
Outer bark		31
<i>Pinus densiflora</i>		
Inner bark		
inside		86
outside		79
Outer bark		75

これに対して、スギ外樹皮から得た多量体では分解生成物の収率が著しく低下している。このような結果はスギ外樹皮の多量体ではフラバノール単位の結合様式に著しい変化が生じ、多量体が toluene- α -thiol によって分解されにくくなったことを示している。したがって、スギ樹皮の場合は外樹皮に移行する際にフラバノール多量体が著しく構造変化をうけたとみなせる。

一方、アカマツの場合は外樹皮から得た多量体でも toluene- α -thiol によって効率よく分解される。このことはアカマツ外樹皮の多量体ではフラバノール単位間の結合様式の主体が依然として C₍₄₎-C₍₈₎ [あるいは C₍₄₎-C₍₆₎] 結合であることを示している。したがって、アカマツの場合はスギの場合ほど著しい構造上の変化をうけていないとみなせる。

Table. 4 に各多量体の伸長単位と末端単位での立体異性体 (Fig. 5 参照) の構成比を示す。樹種間においては立体異性体構成比に著しい差が認められるが、同一樹種では内樹皮内側から外樹皮に至るまで目立った差は認められない。以上の結果から、同一樹種内での樹皮中の生理的状态の差が多量体でのフラバノール単位の立体異性体の構成比に与える影響は小さいと言える。

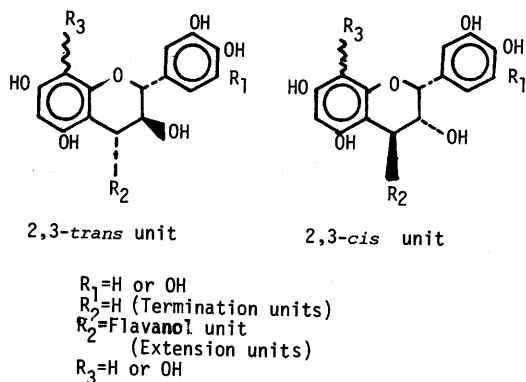


Fig.5 Constituent flavanol units of polymeric flavanols

Table—4 Proportion of the stereoisomers of the flavanol units of polymeric flavanols from subdivided sections of the barks

	2,3- <i>Trans</i> unit: Extension unit	2,3- <i>Cis</i> unit: Termination unit
<i>Cryptomeria japonica</i>		
Inner bark		
inside	71 : 29	62 : 38
middle	75 : 25	64 : 36
outside	81 : 19	64 : 36
Outer bark	69 : 31	61 : 39
<i>Pinus densiflora</i>		
Inner bark		
inside	12 : 88	87 : 13
outside	11 : 89	89 : 11
Outer bark	9 : 91	85 : 15

Table—5 Mean molecular weight of polymeric flavanols from subdivided sections of the barks

	\overline{M}_n	\overline{M}_w
<i>Cryptomeria japonica</i>		
Inner bark		
inside	1260	1610
middle	1460	1750
outside	1360	1590
Outer bark	2140	3090
<i>Pinus densiflora</i>		
Inner bark		
inside	1870	2440
outside	1920	2580
Outer bark	2240	3050

\overline{M}_n : Number average molecular weight

\overline{M}_w : Weight average molecular weight

多量体の平均分子量に関する分析結果を Table. 5 に示す。スギおよびアカマツ内樹皮から得た多量体の平均分子量を比較すると明らかに後者のほうが大きい。一方、同一樹種では内樹皮の各部分から得られた多量体の平均分子量には大きな差は認められなかった。これに対して、外樹皮から得た多量体では内樹皮にくらべて平均分子量が著しく高く、明らかに高分子化している。この傾向はスギの場合が特に著しかった。

4 考 察

スギおよびアカマツ内樹皮中でのフラバノール類の蓄積のされ方あるいはその含有率は木部

に存在するフラボノイドなどのフェノール性抽出成分のそれとは著しく異った様相を示している。

木部のフェノール性抽出成分は辺材中にはあまり蓄積されておらず、その多くは辺材が心材に移行する段階で生成ならびに蓄積されると考えられている⁷⁾。したがって、これらのフェノール性抽出成分は形成層からかなり離れた木部において初めて蓄積されると言える。

これに対して、内樹皮中のフラバノール類は形成層のすぐ近傍の部分でもすでに多量に蓄積されている。さらに、内樹皮中のフラバノール類の含有率は10%以上にもおよんでいて、木部のフェノール性抽出成分とは比較できないほど高い。

内樹皮中でのフラバノール類の生成のされ方ならびにその含有率は、以上のような観点から木部のフェノール性抽出成分のそれよりはむしろ木部中でのリグニンのそれに類似しているように思える。

フラバノール類の立体異性体の構成ならびに平均分子量などは内樹皮中では形成層寄りの内側部分でも外側部分でもほとんど差が認められない。したがって、フラバノール類の構造上の特徴は内樹皮中での生理的因子の差にはあまり影響されないとみなせる。すなわち、フラバノール類の構造上の特徴は前報⁹⁾で示したように樹種間での遺伝的因子の差によってより強く決定されるものであることが示唆された。

外樹皮においてはフラバノール類の含有率が著しく減少しているが、これは内樹皮が外樹皮に移行する際にフラバノール類の大部分が変質して不溶化したためであると推定される。しかしながら、スギとアカマツを比較して明らかのように、変質の程度は樹種によってかなり異っていると言える。

十河⁸⁾は樹皮中のリグニンには多量のカテコール骨格を含有する樹皮フェノール酸と呼ばれる物質が存在することを報告している。カテコール骨格は木部のリグニンにはほとんど存在しないが、フラバノール類には特徴的な骨格である。したがって、樹皮フェノール酸は不溶化したフラバノール類であると推定される。

要 旨

スギおよびアカマツ樹皮を形成層側から外側に向っていくつかの部分に分離し、樹皮中でのフラバノール類の蓄積ならびにその構造の変化について分析を行ない、次に示すような結果を得た。

- i) スギおよびアカマツ内樹皮中のすべての部分には樹皮の絶乾重量に対して10%以上のフラバノール類が含有されている。
- ii) フラバノール類は内樹皮形成のかなり初期段階でもかなり多量に生成されていると考え

られる。

- iii) 内樹皮中の内側と外側部分ではフラバノール類の構造的特徴にはほとんど差が認められない。したがって、内樹皮中の生理的因子の変化がフラバノール類の構造的特徴に与える影響は小さいとみなせる。
- iv) 外樹皮では溶媒で抽出されるフラバノール類は内樹皮にくらべて激減する。したがって、外樹皮のフラバノール類の大部分は不溶化されていると考えられる。また、スギの外樹皮のフラバノール類にはフラバノール単位の結合様式あるいはその平均分子量などに内樹皮のそれと明確な差が認められた。

(1982年5月28日受理)

引用文献

- 1) 鮫島正若, 善本知孝: 木材学会誌, **27**, 491, (1981)
- 2) 鮫島正浩, 善本知孝: 木材学会誌, **27**, 606 (1981)
- 3) 鮫島正浩, 善本知孝: 東京大学農学部演習林報告, **71**, 153 (1981)
- 4) M.Samejima and T.Yoshimoto: *Mokuzai Gakkaishi*, **28**, 67 (1982)
- 5) R.B. Broadhurst and W.T. Jones: *J. Sci., Food Agric*, **29**, 788 (1978)
- 6) M. Samejima and T. Yoshimoto: *Mokuzai Gakkaishi*, **27**, 658 (1981)
- 7) 近藤民雄: 木材学会誌, **11**, 227 (1965)
- 8) 十河村男: 香川大学農学部研究紀要, **25**, 1 (1971)

Summary

The barks of *Cryptomeria japonica* and *Pinus densiflora* were divided in several sections from inside (near cambium) to outside. Content and structural characteristics of flavanols in each section were investigated and the following results were obtained.

- i) Much amount of flavanols is contained in all sections of the inner bark of both species and their concentrations reach to over 10 percent by the weight of oven-dried barks.
- ii) Production of flavanols begins at the earlier stage of bark formation because much amount of flavanols is accumulated in the inside section of the inner barks near cambium.
- iii) In the inner barks of both species, there is no evidence suggesting secondary structural changes, i.e., changes of molecular weight distribution and changes of the proportion of the stereoisomers. Therefore, differences of physiological factors among each section of the inner barks show less effect on the structural characteristics of flavanols.
- iv) The content of extractable flavanols decreases significantly in the outer barks of both

species. This observation suggests that most of flavanols are converted into insoluble form in the outer barks. The structural characteristics of flavanols in the outer barks of *Cryptomeria japonica* are different significantly from those in the inner bark of the same species on their molecular weight distributions and on the bonding modes among flavanol units.