HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	アカエゾマツ樹皮の化学成分：2. スチルベン類の単離
Author(s)	佐野, 嘉拓; 榊原, 彰
Citation	北海道大學農學部 演習林研究報告, 34(2), 287-304
Issue Date	1977-09
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/20982
Type	departmental bulletin paper
File Information	34(2)_P287-304.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

アカエゾマツ樹皮の化学成分

2. スチルベン類の単離

佐野嘉拓* 榊原 彰*

Studies on Chemical Components of Akaezomatsu (*Picea glehnii*) Bark

2. Isolation of Stilbenes

By

Yoshihiro SANO* and Akira SAKAKIBARA*

目 次

1. 緒 言 …… 287
2. 実 験 …… 288
2.1 供試木と試料の調製 …… 288
2.2 エーテル可溶部から E-1, E-2 と E-3 の単離 …… 288
2.3 酢酸エチル可溶部から E-4, E-5 と E-6 の単離 …… 289
3. 結果と考察 …… 291
3.1 3,4′,5-Trihydroxy-3′-methoxystilbene (E-1) (I) …… 292
3.2 3,4′,5-Trihydroxystilbene (E-2) (III) …… 293
3.3 3,3′,4′,5-Tetrahydroxystilbene (E-3) (IV) …… 294
3.4 3,4′,5-Trihydroxy-3′-methoxystilbene-3-β-D-glucoside (E-4) (V) …… 295
3.5 3,4′,5-Trihydroxystilbene-3-β-D-glucoside (E-5) (VII) …… 297
3.6 3,3′,4′,5-Tetrahydroxystilbene-3-β-D-glucoside (E-6) (VIII) …… 300
4. 結 論 …… 301
謝 辞 …… 302
参考文献 …… 302
Summary …… 303

1. 緒 言

樹皮は有機化合物の宝庫であり，樹皮の化学成分の検討は樹木生化学のみならず，樹木の完全利用の立場からも重要である。前報[1]においては北海道の代表的な針葉樹の一種であるア

1977. 1. 31 受理

* 北海道大学農学部林産学科 木材化学教室
Laboratory of Wood Chemistry, Department of Forest Products, Faculty of Agriculture, Hokkaido University.

カエゾマツを供試木とし，その樹皮に含まれる化学成分の分布を中心に検討した。化学成分の物質収支の結果はアカエゾマツの内樹皮から分離した師部繊維のアルコールベンゼン抽出物と熱水抽出物の一部が外樹皮へ移行する段階でアルコールベンゼンと熱水に不溶な高分子量化合物（リグニンとフェノール酸）に変化することを示唆した。低分子量ポリフェノール（アルコールベンゼン抽出物）と高分子量ポリフェノールの化学的相関関係に関する知見を得るために，アカエゾマツ樹皮の師部繊維に含まれる抽出成分を検討した。

2. 実　　験

2.1 供試木と試料の調製

前報の研究に使用したアカエゾマツ（*Picea glehnii* Mast.）と同一の供試木から剝皮，粉砕，ふるい分けし，内樹皮と外樹皮の師部繊維を得た。前報[1]のフローシートに基づき，師部繊維のアルコールベンゼン抽出物または含水アルコール抽出物を分別し，エーテル可溶部と酢酸エチル可溶部を調製した。

2.2 エーテル可溶部から E-1, E-2 と E-3 の単離

師部繊維から調製したエーテル可溶部を薄層クロマトグラフィー（TLC）にかけ，クロマトグラムを紫外線（UV）ランプで照射すると，強い青色の蛍光を発する化合物が検出された。これらの化合物を単離するために，エーテル可溶部 5 g を 3×50 cm のシリカゲルカラム，ベンゼン—アセトン（50 : 1）の混液で展開し，30 mℓ 毎にフラクションコレクターで採取した。No. 120～249 に E-1 と E-2, No. 250 以上に E-3 の物質を含むフラクションが得られた。E-1, 2 と 3 は UV ランプで強い蛍光を発する。No. 120～249 のフラクションをシリカゲルカラム（1.5×40 cm），ベンゼン—メタノール（40 : 1）の混液により更に展開した。E-1 および E-2 を含む各フラクションをクロロホルム—メタノール（20 : 1）の混液による分取 TLC で多段展開し，E-1 と E-2 を薄片状の褐色粉末としてそれぞれ単離した。No. 250 以上のフラクションをクロロホルム—メタノール（10 : 1）の混液による分取 TLC で単離，精製した。E-1, 2 と 3 をピリジン—無水酢酸（1 : 1）でアセチル化した。E-1-acetate と E-2-acetate はアルコールから再結晶した。E-3-acetate はヘキサン—酢酸エチル（2 : 1）の混液による分取 TLC で精製し，アルコールから再結晶した。

2.2.1 E-1-acetate の $KMnO_4$ 酸化

40 mg の E-1-acetate をアセトン 10 mℓ に溶解し，40 mg の $KMnO_4$ を含むアセトン 20 mℓ を加え，室温で 16 時間酸化した。未反応の $KMnO_4$ を分解し，MnO_2 を口別し，口液を 5% NaOH 水溶液で 1 時間還流した。酸化生成物をベンゼン—アセトン—ギ酸（150 : 10 : 1）の混液による分取 TLC で多段展開し，E-1-oxy を結晶として単離した。

E-1: Mass (m/e): 258 (M^+, 100%), 207 (30), 169 (12), 124 (40), 99 (40). UV (EtOH) mμ (log ε): 260 (3.55), 305 (4.28), 326.8 (4.37).

E-1-acetate: Mp. 103.5°C (EtOH). Mass (m/e): 384 (M^+, 10%), 342 (85), 300 (51), 258 (100). IR (cm^{-1}): 1760, 1600, 1580, 1500, 1460, 1440, 1410, 1370, 1335, 1295, 1260, 1200, 1140, 1120, 1020, 980, 960, 900, 840, 820, 780, 760, 720, 710, 700, 670. *Anal.* Calcd. $C_{21}H_{20}O_7$: C, 65.61; H, 5.24. Found: C, 65.50; H, 5.39.

E-1-oxy.: Mp. 213°C (H_2O). Mass (m/e): 168 (M^+, 100%), 153 (83), 151 (21), 125 (26). *Anal* Calcd. $C_8H_8O_4$: C, 57.14; H, 4.76. Found: C, 57.44; H, 4.85.

E-2: Mp. 260°C (EtOH–H_2O). Mass (m/e): 228 (M^+, 100%), 211 (12), 181 (20). UV (EtOH) $m\mu$ (log ε): 263 (3.42), 307 (4.31), 320 (4.29).

E-2-acetate: Mp. 111.8°C (EtOH). Mass (m/e): 354 (M^+, 9%), 312 (47), 270 (46), 228 (100). IR (cm^{-1}): 1760, 1610, 1600, 1580, 1510, 1440, 1370, 1290, 1220, 1200, 1170, 1120, 1020, 970, 940, 900, 860, 820, 790, 700, 670. *Anal.* Calced. $C_{20}H_{18}O_6$: C, 67.79; H, 5.12. Found: C, 67.80; H, 5.05.

E-3-acetate: Mp. 115°C (EtOH). Mass (m/e): 412 (M^+, 17%), 370 (33), 328 (100), 286 (83), 244 (81). IR (cm^{-1}): 1760, 1620, 1600, 1510, 1450, 1430, 1380, 1340, 1210, 1120, 1110, 1030, 970, 900, 850, 820, 790, 720, 700, 680.

2.3 酢酸エチル可溶部から E-4, E-5 と E-6 の単離

ポリアミド薄層クロマトグラフィー (P-TLC), アルコール—水 (2:1) により展開した酢酸エチル可溶部のクロマトグラムをUVランプで照射すると, 強い水～群青色を発する3つの主要な物質のスポットが検出された。酢酸エチル可溶部5gを3×70 cmのポリアミドカラム, アルコール—水の混液により展開し, 溶出液30 mℓずつを採取した。溶出液を紫外線スペクトル (UV) で追跡し, P-TLC で確認した。アルコール—水 (1:2) の混液で No. 1～20, (1:1) で No. 21～75, (2:1) で No. 75 以上のフラクションを得た。No. 25～47 に E-4, No. 48～58 に E-5, No. 59～86 に E-6 を含む各フラクションに大別された。各フラクションを再度ポリアミドカラム (3×50 cm), アルコール—水の混液で展開し, E-4, E-5 と E-6 を無定形の黄色粉末として単離した。E-4, E-5 と E-6 をピリジン—無水酢酸 (1:1) でアセチル化し, E-4-, E-5- と E-6-acetate をメタノールまたはアルコール—水から再結晶した。E-5-acetate は更にヘキサン—酢酸エチル (1:1), 分取 TLC により精製した。

2.3.1 E-4-acetate, E-5-acetate と E-6-acetate の酸加水分解

E-4-acetate, E-5-acetate と E-6-acetate の各 50 mg をアルコール 25 mℓ に溶解し, 濃塩酸 2.5 mℓ を加えて, N_2 気流中で1時間還流した。冷却後, 20mℓ の水を加え, アルコールを減圧留去し, アグリコンをエーテルあるいは酢酸エチルにより抽出した。各々のアグリコンをピリジン—無水酢酸 (1:1) でアセチル化し, E-4-agl.-acetate, E-5-agl.-acetate, と E-6-agl.-acetate をアルコール—水から再結晶した。

2.3.2 E-4, E-5 と E-6 のエチル化物の $KMnO_4$ 酸化

E-4, E-5 と E-6 を n-NaOH に溶解し，4倍量の $(C_2H_5)_2SO_4$ を加えて，N_2 気流中で80°C，3時間加熱した。過剰の $(C_2H_5)_2SO_4$ を分解し，エチル化物を酢酸エチル抽出した。各エチル化物を2.2.1の操作に準じて酸化した。酸化分解物をヘキサン—酢酸エチル—ギ酸 (30:5:1) による分取 TLC で多段展開し，E-4 から E-4-oxy., E-5 から E-5-oxy. を単離した。E-6 からの E-6-oxy. は微量のために分析出来なかった。

2.3.3 E-4 と E-6 のメチル化物の加水分解

E-4 と E-6 を少量のメタノールに溶解し，過剰のジアゾメタンによりメチル化を繰り返した。メチル化物 E-4-Me と E-6-Me をエムルシンにより加水分解し，アグリコンをエーテル抽出した。各アグリコンをヘキサン—酢酸エチル (2:1) による分取 TLC で多段展開し，E-4-Me-agl. と E-6-Me-agl. をメタノールから再結晶した。

E-4: $[\alpha]_D^{29}$ −63.7° (C, 5.7, MeOH). UV (EtOH) mμ (log ε): 260 (3.60), 305 (4.25), 326 (4.36)。

E-4-acetate: Mp. 164.2° (MeOH). Mass (m/e): 672 (M^+), 342, 300, 258, 169, 331, 289, 271, 229, 211, 187, 169. IR (cm^{-1}): 1760, 1610, 1590, 1510, 1470, 1460, 1410, 1380, 1220, 1140, 1120, 1090, 1060, 1040, 970, 910, 890, 860, 840, 820, 740, 690. *Anal.* Calcd. $C_{33}H_{36}O_{15}$: C, 58.93; H, 5.36. Found: C, 59.14; H, 5.55.

E-4-Et-oxy.: Mp. 198.4°C. Mass (m/e): 196 (M^+, 100%), 178 (18), 168 (62), 153 (52), 151 (15), 125 (18).

E-4-Me-agl. (E-6-Me-agl.): Mp. 124.8°C (MeOH). UV (EtOH) mμ (log ε): 260 (3.31), 305 (4.04), 324 (4.16). Mass (m/e): 286 (M^+, 100%). *Anal.* Calcd. $C_{17}H_{18}O_4$: C, 71.33; H, 6.29. Found: C, 71.33; H, 6.27.

E-5: $[\alpha]_D^{29}$ −58.1° (C, 4.8, MeOH). UV (EtOH) mμ (log ε): 256 (3.50), 305 (4.35), 320 (4.35).

E-5-acetate: Mp. 157.4°C (EtOH–H_2O). Mass (m/e): 642 (M^+), 331, 312, 228。 IR (cm^{-1}): 1760, 1610, 1600, 1580, 1510, 1460, 1380, 1320, 1300, 1220, 1140, 1040, 980, 960, 940, 930, 910, 840, 790, 740, 720, 690, 670. *Anal.* Calcd. $C_{32}H_{34}O_{14}$: C, 59.81; H, 5.30. Found: C, 59.61; H, 5.51.

E-5-Et-oxy.: Mp. 200°C. Mass (m/e): 166 (M^+, 49%), 138 (70), 121 (100).

E-6: $[\alpha]_D^{29}$ −60.4° (C, 5.7, MeOH). UV (EtOH) mμ (log ε): 257 (3.49), 305 (4.30), 321 (4.33).

E-6-acetate: Mp. 160.0°C (EtOH–H_2O). Mass (m/e): 700 (M^+), 370, 331, 244. IR (cm^{-1}): 1760, 1620, 1600, 1510, 1460, 1380, 1220, 1120, 1040, 950, 910, 860, 820, 790, 700, 670. *Anal.* Calcd. $C_{34}H_{36}O_{16}$: C, 58.28; H, 5.14. Found: C, 58.08; H, 5.37.

E-6-agl.-acetate: Mp. 115°C (EtOH). *Anal.* Calcd. $C_{22}H_{20}O_8$: C, 64.08; H, 4.85. Found: C, 63.43; H, 5.00.

本研究において，融点 (m.p.) の測定はメトラ FP51, 1°C/min. の昇温速度で行った。紫外線 (UV) 吸収スペクトルは Hitachi spectrophotometer 124 で測定した。赤外線 (IR) 吸収スペクトルは Hitachi grating infrared spectrophotometer 215 を用いて，KBr 錠剤として測定した。核磁気共鳴 (NMR) スペクトルは内部標準として tetramethylsilane (TMS) を用い，Hitachi high resolution NMR spectrophotometer R-24B などで測定した。質量 (Mass) スペクトルは Hitachi K-53GCRMS-4MS で測定した。

3. 結果と考察

コルク形成層を境界に，アカエゾマツの樹皮を内樹皮と外樹皮に分別した。内樹皮と外樹皮を粉砕，ふるい分けして得られた師部繊維は各々 33.9 と 13.1% のアルコールベンゼン抽出物を含む。しかし内樹皮と外樹皮の師部繊維に含まれるアルコールベンゼン抽出物の成分組成は著しく異なる。内樹皮のアルコールベンゼン抽出物は 13% のエーテル可溶部と 87% の水溶部に分別されるのに対して，外樹皮の抽出物は 62% のエーテル可溶部，23% の水溶部および 15% の両溶媒に溶解しない不溶部に分別された。水溶部から分別した酢酸エチル可溶部，お

Table 1. Yields, Spectral and Chromatographic Properties of Hydroxystilbenes

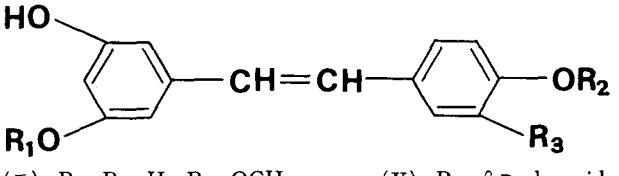
Compound	Yield*1) (%)	TLC (Rf value)*3)		UV (mμ)	
		S-1	P	λ_{max}^{EtOH}	λ_{max}^{EtOH}*4)
E-1	0.98	0.43	0.30	220, 326.8	233, 305, 318
E-2	0.17	0.20	0.25	218, 307, 300	228, 298, 310
E-3	0.03	0.07	0.17	220, 327	230, 298, 310
Compound	Yield*2) (%)	S-2	P	λ_{max}^{EtOH}	λ_{max}^{EtOH}*4)
E-4	9.77	0.58	0.55	220, 326	235, 305, 318
E-5	3.76	0.58	0.47	215, 305, 320	228, 298, 310
E-6	1.92	0.58	0.41	218, 322	234, 300, 312

*1) Yield (%): based on moisture-free outer bark fibers

*2) Yield (%): based on moisture-free inner bark fibers

*3) S-1: on silica gel with $CHCl_3$: MeOH = 15 : 1; S-2: on silica gel with $(CH_3)_2CO$: CH_3COOEt : H_2O = 10 : 10 : 1; P: on polyamide with EtOH : H_2O = 2 : 1

*4) λ_{max}^{EtOH} of the acetate



(I) $R_1=R_2=H$, $R_3=OCH_3$
(II) $R_1=H$, $R_2=CH_3$, $R_3=OH$
(III) $R_1=R_2=R_3=H$
(IV) $R_1=R_2=H$, $R_3=OH$
(V) $R_1=\beta$-D-glucoside, $R_2=H$, $R_3=OCH_3$
(VI) $R_1=R_2=CH_3$, $R_3=OCH_3$
(VII) $R_1=\beta$-D-glucoside, $R_2=R_3=H$
(VIII) $R_1=\beta$-D-glucoside, $R_2=H$, $R_3=OH$

よびエーテル可溶部の成分を薄層クロマトグラフィー(TLC)で展開し，UV ランプで検索すると，強い蛍光を発する化合物が主要成分として検出された。カラムクロマトグラフィーと分取 TLC を使用して，エーテル可溶部から E-1, E-2 と E-3, 酢酸エチル可溶部から E-4, E-5 と E-6 の UV ランプで強い蛍光を発する化合物を単離した。E-1～6 の師部繊維当りの収量と TLC による挙動を Table 1 に総括した。E-1 と E-2 はフェノール類の分離に一般的に使われるトルエン—ギ酸—ギ酸エチル (5 : 1 : 4) による TLC では互いに分離しなかった。

3.1 3, 4′, 5-Trihydroxy-3′-methoxystilbene (E-I) (I)

エーテル可溶物から UV ランプで水色の蛍光を発し，50% H_2SO_4 を噴霧すると瞬時に赤色を呈する E-1 を単離した。E-1 は黄褐色粉末で結晶しなかった。E-1 はマススペクトルによる分子量 (M^+) 258 と，C 68.76 と H 5.69 の元素分析の結果から分子式 $C_{15}H_{14}O_4$ を示した。E-1 と E-1-acetate の NMR から，E-1 は 1 個のメトキシル基，3 個のフェノール性水酸基，1, 3, 5- と 1, 3, 4- 置換の 2 つの芳香核と 1, 2- 置換エチレン基を有する (Fig. 1)。E-1-acetate の IR は 960 cm^{-1} に 1, 2-置換エチレン基の trans 二重結合に特有な吸収を示した (Fig. 2)。E-1-acetate を $KMnO_4$ で酸化し，次に脱アセチル化した。α-resorcilic acid と vanillic acid に相当するスポットが酸化物のクロマトグラムから検出された。酸化物から分取 TLC により単離された E-1-oxy. を元素分析の結果と分光分析の比較から vanillic acid と同定した。以上の結果，E-1 を trans 3, 4′, 5-trihydroxy-3′-methoxystilbene (I) と同定した。I は isorhapotigenin という名で知られるスチルベンであり，black spruce の inner bark[2], *Picea glauca* の樹皮[3] など

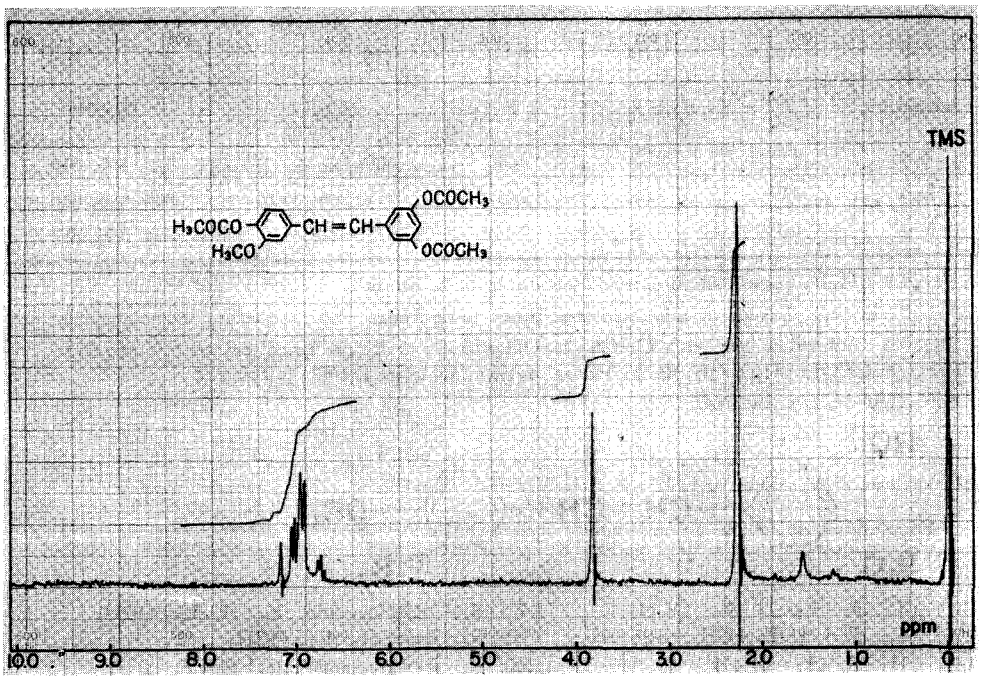


Fig. 1. NMR spectrum of the acetate of E-1 (I)

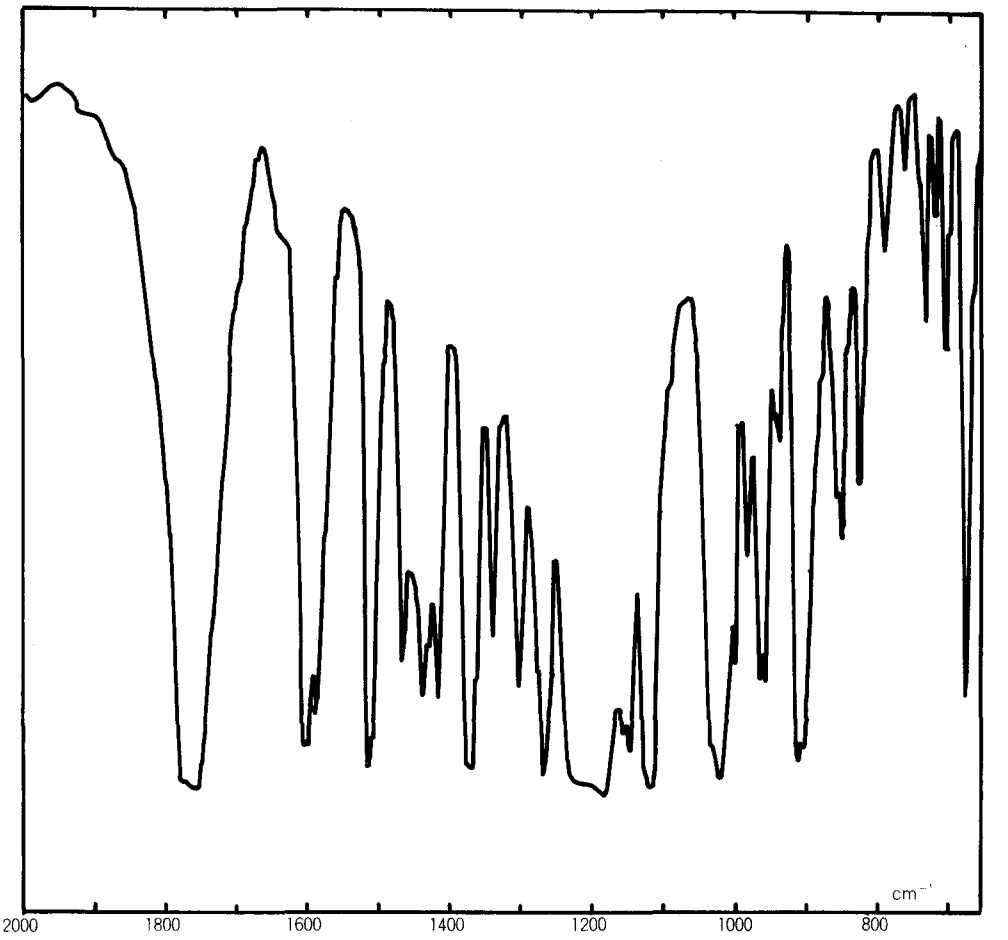


Fig. 2. IR spectrum of the acetate of E-1 (I)

から単離されている。E-1-acetate の融点 (103°C) はこれらの文献値とよく一致した。I の構造異性体である 3, 3′, 5-trihydroxy-4′-methoxystilbene (rhapotigenin) (II) は *Eucalyptus sideroxylon* の葉[4] などから単離されているが, そのアセテートの融点 (114～115°C) は E-1-acetate の融点と一致しなかった。

3.2 3, 4′, 5-Trihydroystilbene (E-2) (III)

師部繊維のエーテル可溶物から単離した E-2 は E-1 とよく似たクロマトグラム的挙動を示すが, クロロホルム—メタノールによる TLC では E-1 と E-2 は互いに異なる挙動を示した。E-2 は UV ランプで照射すると群青色の蛍光を発する。E-2 の UV は比較的吸光度のよく似た 2 つの極大吸収を 307 と 320 mμ に示した。E-2 は 228 の M^+ と C 72.16 と H 5.36 の元素分析の結果から分子式 $C_{14}H_{12}O_3$ を, E-2-acetate は 354 の M^+, および元素分析の結果から分子式 $C_{20}H_{18}O_6$ を与えた。E-2-acetate の NMR はフェノール性アセチル基 (δ=2.30, 9H), ビニール基 (δ=7.08, 2H) および 1, 4- と 1, 3, 5-置換の 2 個の芳香核 (7H) のプロトンの存在を

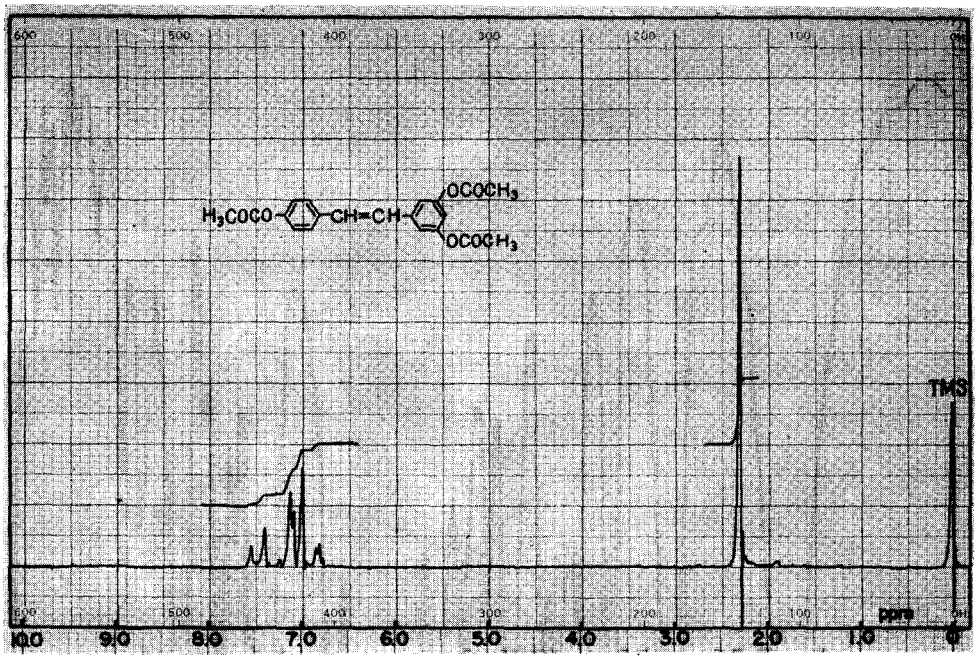


Fig. 3. NMR spectrum of the acetate of E-2 (III)

示唆した (Fig. 3)。E-2-acetate の IR は trans 二重結合に帰属される吸収帯を 970 cm^{-1} に示した (Fig. 4)。E-1-acetate の $KMnO_4$ 酸化に準じて処理された E-2-acetate の分解物のクロマトグラムはトルエン—ギ酸—ギ酸エチル (5:1:4) の展開溶媒において Rf 0.40 と 0.65 を示す α-resorcilic acid と p-hy-droxybenxoic acid に相当するスポットを示した。以上の結果, E-2 を trans 3, 4′, 5-trihy-droxystilbene (III) と同定した。Trans 3, 4′, 5-trihydroxystilbene (III) は resveratrol と命名されており, *Eucalyptus wandoo* の心材[5], *Eualyptus sideroxylon* の葉[4] の抽出成分から単離されている。E-2-acetate の融点 (111.8°C) は刈米, 高橋ら[6] により報告されている III のアセテートの融点 (111～112°C) とよく一致した。

3.3 3, 3′, 4′, 5-Tetrahydroxystilbene (E-3) (IV)

エーテル可溶物のクロマトグラムを UV ランプで照射すると, E-1 と E-2 よりも低い Rf の部分に水色の蛍光を発する E-3 のスポットが検出された。E-3 をカラムクロマトグラフィーと分取 TLC により単離, 精製したが, E-3 は操作途中で 1 部分変質した。E-3 を含有するフラクションを常法に従ってアセチル化し, E-3-acetate をヘキサン—酢酸エチル (2:1) の展開溶媒による分取 TLC を使って, 多段展開した。E-3-acetate は微量成分のために十分な分析が出来なかったが, Mass, IR と UV などの分光分析の結果は相当する化合物の 3-β-D-glucoside から酸加水分解により調製した trans 3, 3′, 4′, 5-tetrahydroxystilbene (IV) のアセテートの結果とよく一致した (Fig. 5, 6)。IV は astringenin[7] または piceatannol[8] とも呼ばれ, *Vouacapoua macropetala*, *V. americana*[9], *Laburnum alpinum*[10] の心材および spruce の樹皮[8] 中

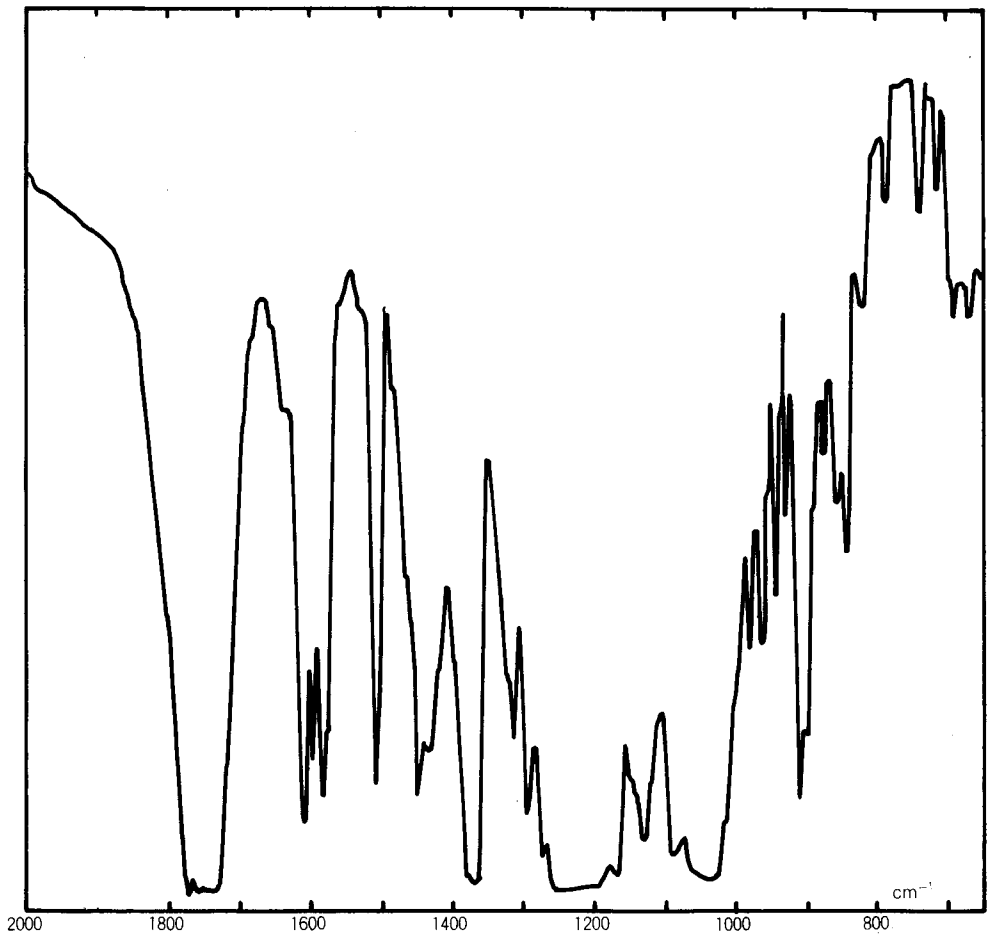


Fig. 4. IR Spectrum of the acetate of E-2 (III)

に検出されている。Piceatannol のアセテートの融点は 115°C と 127°C の 2 重融点を示す[8] と報告されているが，E-3-acetate は 115°C の温度で融解し，再硬化しなかった。

3.4 3, 4′, 5-Trihydroxy-3′-methoxystilbene-3-β-D-glucoside (E-4) (V)

内樹皮の師部繊維から抽出したアルコール可溶物またはアルコール—ベンゼン可溶物を，エーテル可溶部と酢酸エチル可溶部に分別した。酢酸エチル可溶物を P-TLC で展開し，UV ランプを照射すると水色または群青色の蛍光を発するスポットが主要成分として検出された。酢酸エチル可溶物をポリアミドカラムクロマトグラフィーで分離し，溶出液の UV スペクトルに基づいて分別した。E-4 は師部繊維絶乾重量当たり9.77%，酢酸エチル可溶物当たり44.80%の高収量で黄褐色の粉末として単離された。E-4 は $[\alpha]_D^{29}$ を −63.7° に示し，酸加水分解により D-glucose を生じることから，β-D-glucoside と推定される。E-4-acetate のマススペクトルは 672 の M^+ の他に，m/e 331, 289, 271, 229, 211, 187 と 169 に tetraglucose oxonium ion とその 2 次フラグメントイオン，および m/e 342, 300, 258 と 169 に E-4-acetate のアグリコン部

分とその2次フラグメントイオンに相当すると思われるマスイオンを与えた。E-4-acetate は 672 (M^+) と元素分析の結果から $C_{33}H_{36}O_{15}$ の分子式を示した。NMR は tetraacetylglucose 残基に帰属されるプロトンの他に，2個のフェノール性アセチル基，1個のメトキシル基，と芳香核と共役した 1, 2-置換エチレン基に相当するプロトンの存在を示唆した (Fig. 7)。E-4-acetate は 970 cm^{-1} に trans 二重結合に帰属される鋭い IR の吸収帯を示した。

E-4-acetate をアルコール性塩酸により加水分解し，引き続きアセチル化した。このアグリコンのアセテートはクロマトグラフィーによる挙動，IR, UV 等の分光分析の結果からアカエゾマツ樹皮の師部繊維から先に単離，同定した isorhapotigenin (I) のアセテートに相当した。E-4 をエチル化し，$KMnO_4$ 酸化すると，E-4-Et-oxy として vanillic acid ethyl ether が単離された。したがって E-4 の糖残基は resorcinol 骨格の水酸基と glucoside 結合をしてることを示唆する。以上の結果から，E-4 を trans 3, 4′, 5-trihydroxy-3′-methoxystilbene-3′-β-D-glucoside (V) と同定した。V は isorhapotin と呼ばれ，black spruce の内樹皮[2]，*Picea glauca*[3,11] の樹皮の抽出成分として単離されている。E-4-acetate の融点 (164.2°C) はこれらの文献値と一致した。E-4 をジアゾメタンでメチル化し，エムルシンで加水分解して得られるアグリコン (E-4-Me-agl.) (m.p. 124.8°C) を分光分析と元素分析の結果から trans 3, 3′, 4′-trimethoxy-5-hydroxy-stilbene (VI) と同定した (Fig. 8, 9)。

3.5 3, 4′, 5-Trihydroxystilbene-3-β-D-glucoside (E-5) (VII)

師部繊維重量当り 3.76%，酢酸エチル可溶部当り 17.28% の収量で単離された E-5 は UV

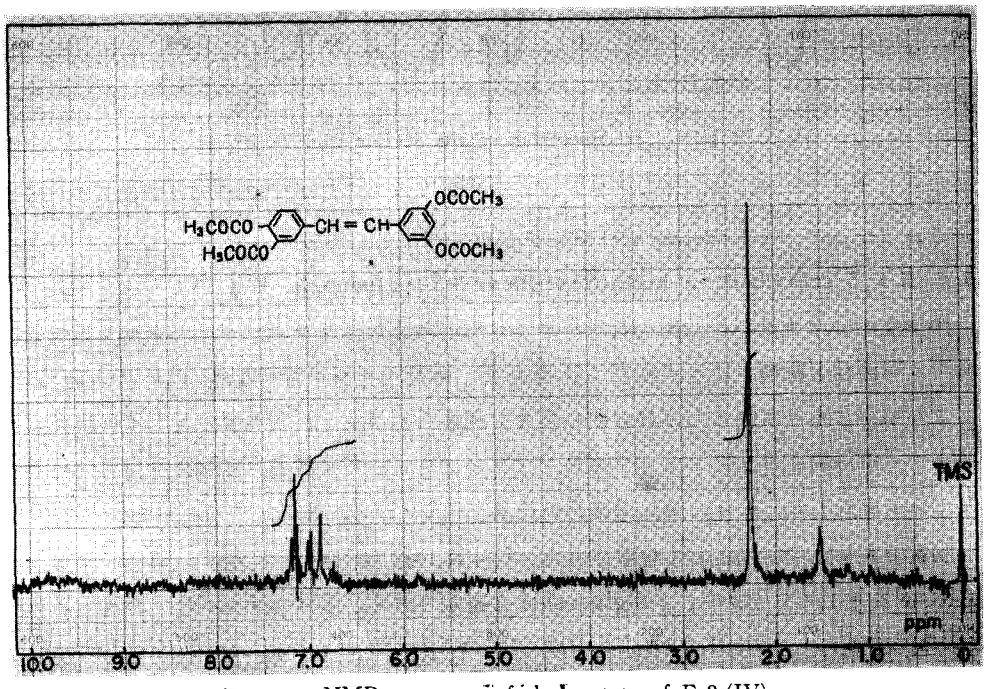


Fig. 5. NMR spectrum of the acetate of E-3 (IV)

ランプの照射により群青色の蛍光を発し，305 と 320 mμ に吸光度のほとんど一致する二つの極大吸収を持つ特徴的な UV スペクトルを示した。E-5 は $[\alpha]_D^{29}$ が −58.1°，酸加水分解により D-glucose を生じることから β-D-glucoride と推定される。E-5 を常法に従ってアセチル化した。E-5-acetate はアルコール—水から再結晶し，m.p. 157.4°C の結晶として得られた。E-5-acetate のマススペクトルから，642 の M^+ と tetraacelylglucose oxonium ion の関連フラグメントイオンの他に，m/e 312, 270 と 228 のフェノール部分のフラグメントイオンが示された。642 (M^+) と元素分析の結果から，E-5-acetate の分子式は $C_{32}H_{34}O_{14}$ と計算された。E-5-Acetate の NMR は糖残基のプロトンの他に，2 個のフェノール性アセチル基，1, 2-置換したエチレン基 (δ=6.8) および芳香核の各プロトンの存在を示唆した (Fig. 10)。E-5-acetate は 960 cm^{-1} に trans 二重結合に帰属される吸収帯を有した。E-5-acetate を酸加水分解し，アグリコンをアセチル化して調製した E-5 のアグリコンのアセテートは E-2-acetate の分析結果と一致し，resveratrol (III) のアセテートと同定した。$(C_2H_5)_2SO_4$ でエチル化した E-5 を $KMnO_4$ で酸化

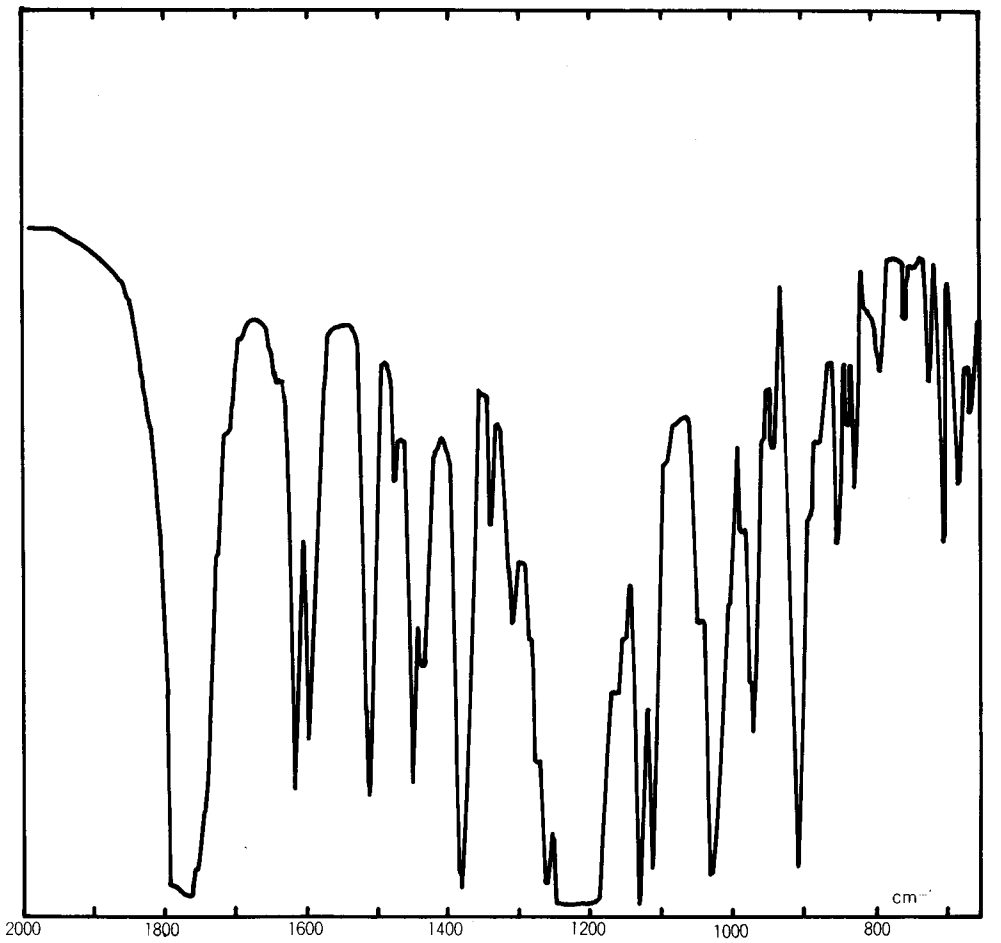


Fig. 6. IR spectrum of the acetate of E-3 (IV)

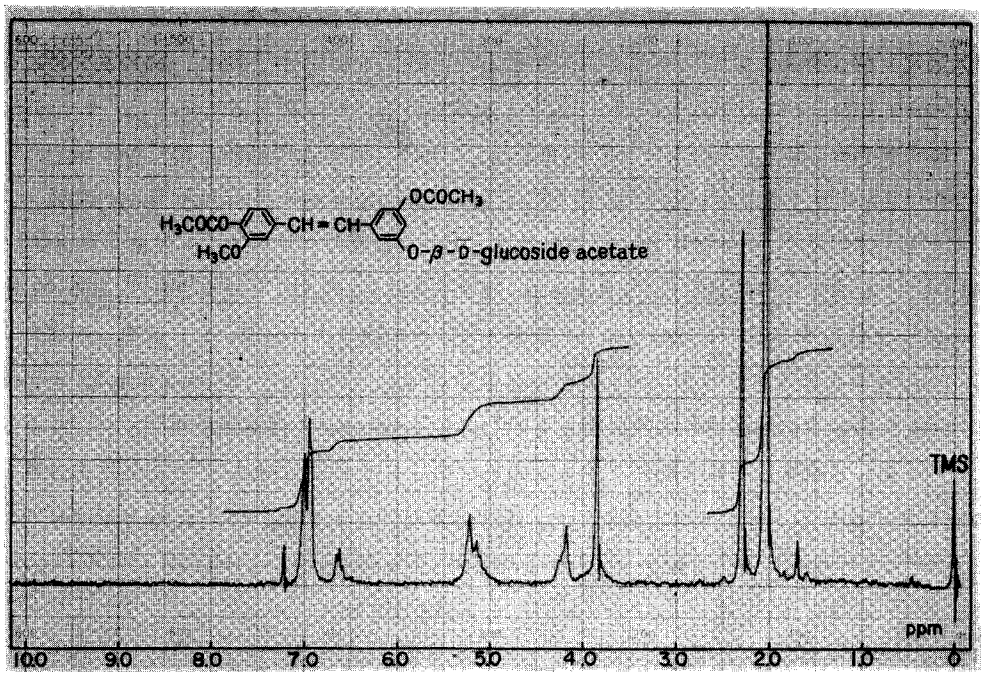


Fig. 7. NMR spectrum of the acetate of E-4 (V)

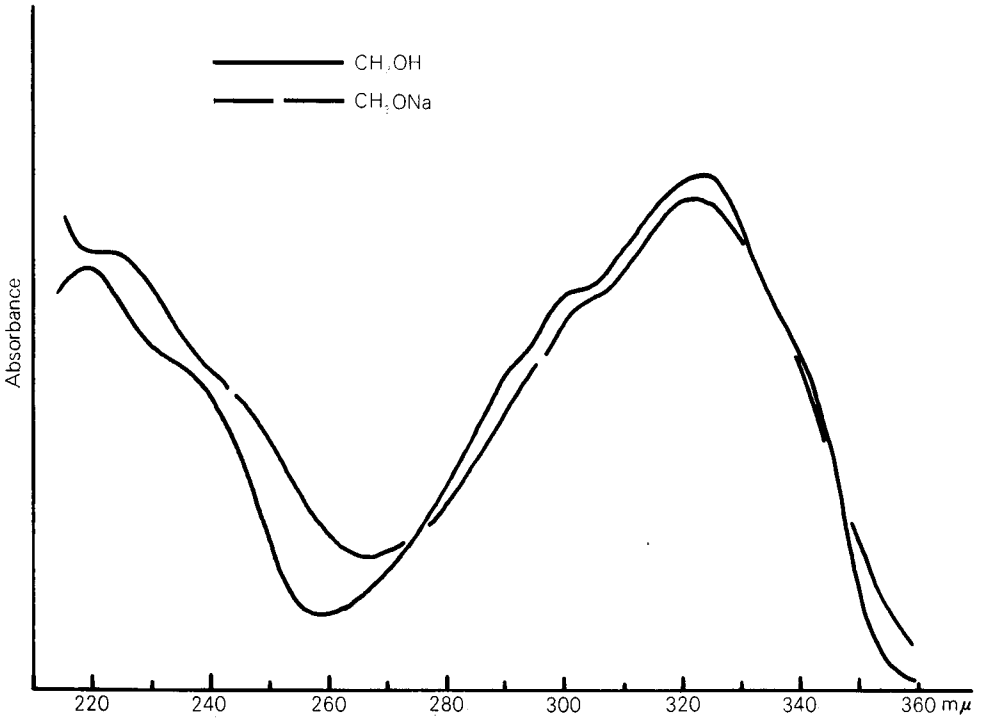


Fig. 8. UV spectra of E-4-Me-agl. (VI)

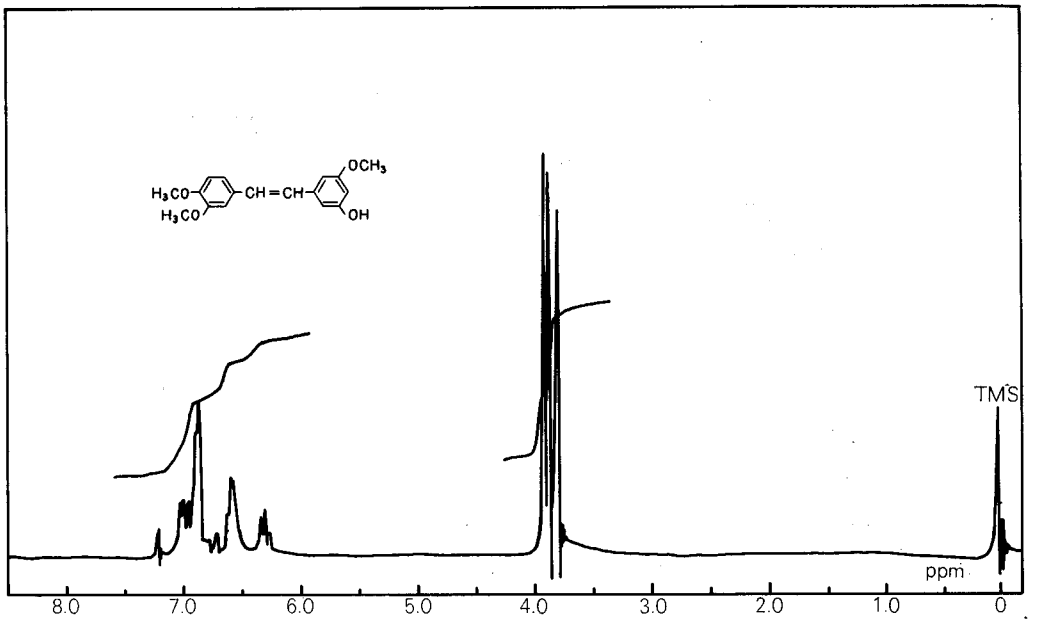


Fig. 9. NMR spectrum of E-4-Me-agl. (VI)

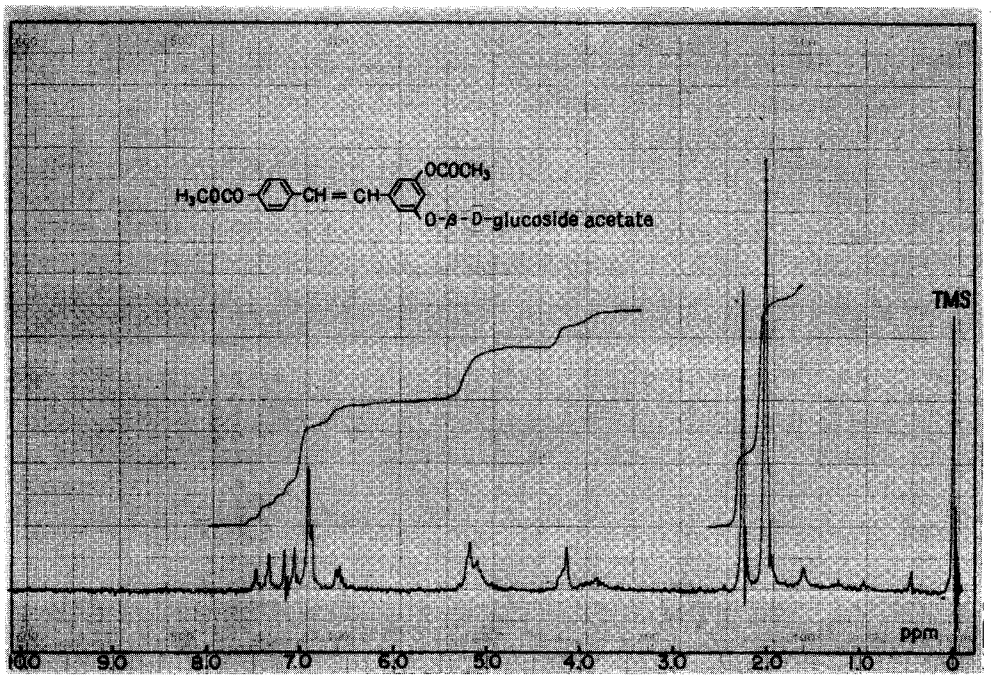


Fig. 10. NMR spectrum of the acetate of E-5 (VII)

し，E-5-Et-oxy を単離した。クロマトグラフィーの挙動，融点，分光分析の結果から E-5-Et-oxy を p-ethoxybenzoic acid と同定した。E-5 の D-glucose 残基はしたがって resorcinol 骨格構造のフェノールと glucoside 結合している。以上の結果に基づいて，E-5 を trans 3, 4′, 5-trihydroxystilbene-3-β-D-glucoside (VII) と同定した。3, 4′, 5-Trihydroxystilbene-3-β-D-glucoside は HILLIS ら[4,5,6] により単離され，piceid と命名されている。E-5-acetate の融点 (157.4°C) は HILLIS らの物質の融点と一致した。

3.6 3, 3′, 4′, 5-Tetrahydroxystilbene-3-β-D-glucosido (E-6) (VIII)

酢酸エチル可溶物のポリアミドカラムクロマトグラフィーにより，E-4, E-5 についで E-6 が分離して来た。E-6 は酢酸エチル可溶物当り8.78% の収量で得られた。E-6 の UV スペクトルは λ_{max}^{EtOH} を 327 mμ に，$\lambda_{shoulder}^{EtOH}$ を 305 mμ に持つ曲線を与えた。E-6 は $[\alpha]_D^{29}$ −60.4°，酸加水分解により D-glucose を生じるから β-D-glucoside と考えられる。E-6 をピリジン—無水酢酸でアセチル化し，アルコール—水から無色の E-6-acetate の結晶を調製した。E-6-acetate のマススペクトルは 700 (M^+) と糖残基のフラグメントイオンおよび 370, 328, 286 と 244 の主要なフラグメントイオンを有した。分子量 700 と元素分析の結果から，E-6-acetate は $C_{34}H_{36}O_{16}$ の分子式を持つ。E-6-acetate の NMR スペクトルは糖残基に帰属されるプロトンと3個のフェノール性アセチル基，1, 2-置換のエチレン基および芳香核のプロトンの存在を示した (Fig. 11)。E-6-acetate のアルコール性塩酸による加水分解で得られるアグリコンをアセチル化し，アルコールから無色の結晶を得た。アグリコンのアセテート (E-6-agl.-acetate, m.p. 115°C) は

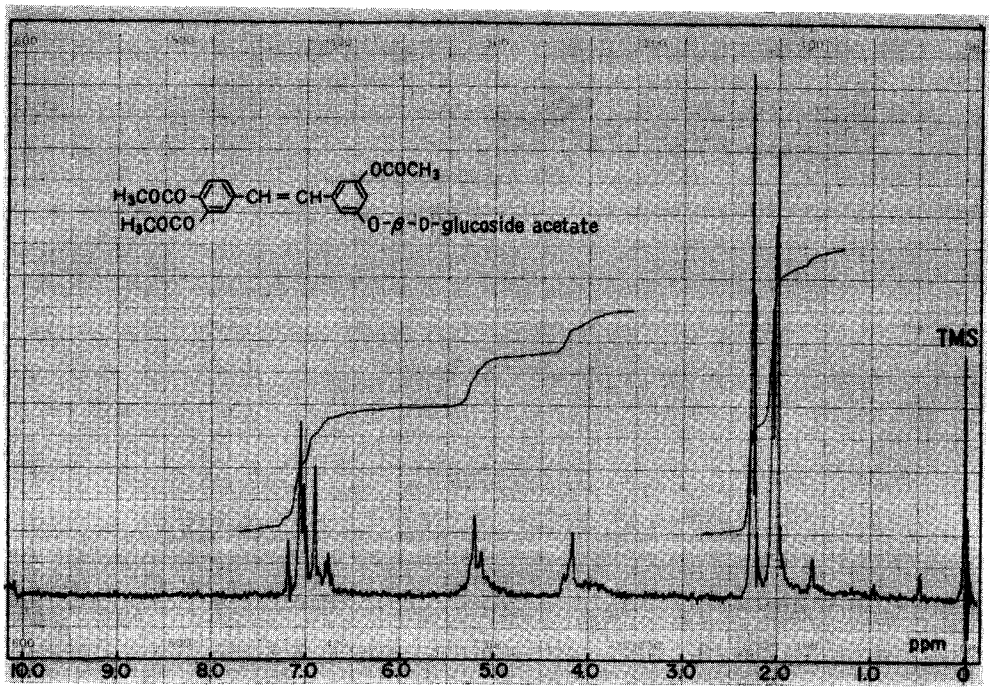


Fig. 11. NMR spectrum of the acetate of E-6 (VIII)

412 (M^+), 370, 328, 286 と 244 のフラグメントイオン (m/e) を有し, M^+ と元素分析の結果は $C_{22}H_{20}O_8$ の分子式を示唆した。E-6-agl-acetate の NMR は 4 個のフェノール性アセチル基, 1, 2-置換のエチレン基, 1, 3, 5- と 1, 3, 4-置換の二つの芳香核の各プロトンの存在を, IR スペクトルは 970 cm^{-1} に trans 二重結合の吸収帯を示した。したがって E-6-agl を trans 3, 3′, 4′, 5-tetrahydroxystilbene (IV) と同定した。E-6-agl-acetate の融点 (115°C) は HAWORTH[8] らにより報告されているような 2 重性を示さなかった。E-6-agl. に対する糖残基の位置を決定するために, E-6 のエチル化物の酸化を試みたが十分な結果は得られなかった。したがって E-6 をジアゾメタンでメチル化し, ついでエムルシンで加水分解して得られるアグリコン (E-6-Me-agl.) の性状を E-4 の同一処理で調製した E-4-Me-agl. の性状と比較した。融点, 分光分析, 元素分析の結果は E-6-Me-agl. と E-4-Me-agl. が同一構造をもつ化合物であることを示唆した。以上の結果から E-6 を trans 3′, 4′, 5-tetrahydroxystilbene-3-β-D-glucoside (VIII) と同定した。E-6 のアセテートの 1, 2-置換エチレン基の吸収帯は 950 cm^{-1} に現れた。VIII は astringin と命名され, HILLIS らにより *Eucalyptus dundasii* の葉から単離されている[7]。E-6-acetate の融点 (160.0°C) はこの文献の融点 (152～153°C) よりも若干高かった。

4. 結　　論

アカエゾマツ樹皮から, ふるい分けにより分離した師部繊維の抽出成分を検索し, 6 種類のスチルベンを単離, 同定した。外樹皮の師部繊維から抽出, 分別したエーテル可溶物から isorhapotigenin (I), resveratrol (III) と astringenin (IV) を各々 0.98, 0.17 と 0.03% (師部繊維重量に対して) の収量で得た。内樹皮師部繊維から調製したエーテル可溶物から I, III と IV が 0.32, 0.05 と 0.00% の各収量で, 酢酸エチル可溶物からは, isorhapotin (V), piceid (VII) と astringin (VIII) が 9.77, 3.76 と 1.92% (師部繊維重量に対して) の各収量で単離された。V, VII と VIII の収量の合計は酢酸エチル可溶物の 60.8% を占める。スチルベンは樹木の材, 樹皮, 葉に検出される重要な低分子量ポリフェノールの一種であり, 心材中に存在して心材の耐朽性を向上させる[5]。マツ属の心材中に検出される pinosylvin とその monomethyl ether などのスチルベンは樹木同定の指標物質として重要である。スチルベンの殺菌性と抗菌性[12] は一般的に知られている特性であるが, その他に酸性条件下におけるパルプ化障害[13], パルプの変色, 日光にさらされた木材表面の変色[14] などの諸性質も研究されている。しかし樹木中のスチルベンは一般に微量成分であり, 非常に不安定であるために, その研究は困難とされ, クロマトグラフ的挙動に関する詳細な報告[15,16] などは存在するが, 定量的知見はほとんど見られない。トウヒ属のスチルベンに関する報告は比較的多く, isorhapotin (V) は *P. mariana* B.S.P., *P. glauca* VOSS, *P. sitchensis* CARR.[11] の樹皮成分として検出されている。また resveratrol (III) は *P. polita* sieb., *P. koyamai* SHIRASAWA[17] と *P. bicolor* MAYR[18] の葉, piceid (VII) は *P. glehnii* SCHMIDT の葉[19], astringenin (IV) は *P. abies* KARST の樹皮成分[8] として知られてい

る。MANNERS と SWAN[11] はカナダ産の5種類のトウヒ属に含まれるスチルベンを検討し，astringin (VIII), astringenin (IV), isorhapotion (V) と isorhapotigenin (I) を単離，またはクロマトグラフ的に検出している。

以上のように樹木中に含まれるスチルベンに関する報告は多数存在するが，本研究のように樹皮の師部繊維に関する報告はほとんどない。また本研究のように，スチルベンの樹木中における生合成の経路を示唆する isorhapotigenin (I), resveratrol (III), astringenin (IV), isorhapotin (V), piceid (VII) と astringin (VIII) の6種類ものスチルベンが同一樹種から，多量に単離された報告も存在しない。アカエゾマツ樹皮の師部繊維に含まれるその他の抽出成分に関する研究は継続中である。師部繊維に含まれるスチルベンと高分子量ポリフェノールとの相関関係については今後の課題である。

謝　　辞

本研究を行うにあたり，試料採取に御便宜を賜った北海道大学農学部附属演習林の各位に深謝致します。

参 考 文 献

1) 佐野嘉拓・田中憲次：“アカエゾマツ樹皮の化学成分” 北大演報, **33**, 223 (1976).
2) DAN W. MANSON: “The leucoanthocyanin from black spruce inner bark.”; *Tappi*, **43**, 59 (1960).
3) D, H. ANDREWS, J. C. HOFFMAN and C. B. PURVES: “Isolation, structure, and synthesis of a stilbene glucoside from the bark of *Picea glauca* (MAENCH) Voss.”; *Can. J. Chem.*, **46**, 2525 (1968).
4) W. E. HILLIS and M. HASEGAWA: “The polyphenols in leaves of eucalyptus sideroxylon”; *Biochem. J.*, **83**, 503 (1962).
5) D. E. HATHWAY and J. W. T. SEAKINS: “Hydroxystilbenes of eucalyptus wandoo”; *Biochem. J.*, **72**, 369 (1959).
6) 刈米達夫・高橋三雄・伊藤徳三・増谷孝一郎：“松柏類および近縁植物の成分 (第29報)”; 薬学雑誌, **79**, 219 (1959).
7) M. HASEGAWA and W. E. HILLIS: “Preliminary report on the polyphenols in the leaves of eucalyptus dundasii”; *Bot. Mag. Tokyo*, **79**, 626 (1966).
8) TILL CUNNINGHAM, E. HASLAM and R. D. HAWORTH: “The constitution of piceatannol”; *J. Chem. Soc.*, 2875 (1963).
9) F. E. KING, T. J. KING, D. H. GODSON and L. C. MANNING: “Extractives from Hardwoods (XXVIII)”; *J. Chem. Soc.*, 4477 (1956).
10) H. ERDTMAN and T. NORIN: “Heartwood constituents of laburnum alpinum Bercht. & Presl”; *Acta Chem. Scand.*, **17**, 1781 (1963).
11) G. D. MANNERS and E. P. SWAN: “Stilbenes in the barks of five Canadian Picea species”; *Phytochem.*, **10**, 607 (1971).
12) H. LYR: “Hemmungsanalytische Untersuchungen an Einigen Ektoenzymen Holzerstörenden Pilze”: *Enzymol.*, **23**, 231 (1961).
13) H. ERDTMAN: “Compounds inhibiting the sulfite cooking”; *Tappi*, **32**, 303 (1949).
14) J. W. W. MORGAN and R. J. ORSLER: “The chemistry of colour changes in wood”; *Holzforschung*, **22**, 11 (1968).

15) W. E. WILLIS and N. ISHIKURA: "The chromatographic and spectral properties of stilbene derivatives"; *J. Chromatog.*, **32**, 323 (1968).
16) W. HEMINGWAY, W. E. HILLIS and K. BRUERTON: "A gas-liquid chromatographic examination of stilbene derivatives"; *J. Chromatog.*, **50**, 391 (1970).
17) 刈米達夫・高橋三雄・伊藤徳三・増谷孝一郎: "松柏類及び近縁植物の成分 (第32報)"; 薬学雑誌, **79**, 1326 (1959).
18) 伊藤徳三: "松柏類及び近縁植物の成分 (第47報)"; 薬学雑誌, **81**, 236 (1961).
19) 刈米達夫・高橋三雄・伊藤徳三・増谷孝一郎: "松柏類及び近縁植物の成分 (第47報)"; 薬学雑誌, **78**, 935 (1958).

Summary

The extractives prepared from the bark fibers were examined as basic research for the study of correlation of compounds between low and polymeric polyphenols in the bark of Akaezomatsu (*Picea glehnii* MAST.). From the ether-soluble fraction of the outer bark fibers, three compounds designated as E-1, E-2 and E-3 were isolated in yields of 0.98, 0.17 and 0.03% (by wt.), respectively, on the basis of the moisture-free fibers by means of silica gel column and preparative thin-layer chromatography. From the ethylacetate-soluble fraction of the inner bark fibers, three compounds designated as E-4, E-5 and E-6 were isolated in yields of 9.77, 3.76 and 1.92% (by wt.), respectively, on the basis of the moisture-free fibers by means of polyamide column chromatography. All the compounds show an intense blue fluorence on the thin-layer chromatograms under ultraviolet light like hydroxystilbenes. E-4, E-5 and E-6 were cleavaged with emulsin or alcoholic acid to give aglycones and D-glucose.

1. The UV absorption of E-1 in ethanol showed a maximum at 326.8 mμ. The parent and base ion peak of E-1 appeared at m/e 258. The acetate of E-1 was recrystallized from ethanol (m.p. 103.5°C). Molecular formular of the acetate corresponds to $C_{21}H_{20}O_7$ from the results of elementary analysis and the mass number of parent ion. NMR spectrum of the acetate suggests the presence of three phenolic acetyl, one methoxy, and 1, 2-disubstituted ethylenic groups. The aborption band at 960 cm^{-1} in IR spectrum suggests a trans-ethylenic configuration. The oxidative degradation of the acetate yielded vanillic acid. Therefore, E-1 is identified as trans 3, 4′, 5-trihydroxy-3′-methoxystilbene (isorhapotigenin) (I).

2. E-2 exhibited two UV maxima at 307 and 320 mμ, and its mass spectrum showed the parent and base ion peak at m/e 228. The acetate melted at 111.8°C. It has a molecular formular ocrresponding to $C_{20}H_{18}O_6$ by elementary analysis and the mass number of parent ion. From NMR spectrum of the acetate, E-2 is shown to contain three phenolic hydroxyl, 1, 2-disubstituted ethylenic groups conjugated with aromatic nuclei. The absorption at 970 cm^{-1} in IR spectrum may be due to a trans-ethylenic configuration. On the basis of the above results, E-2 is identified as trans 3, 4′, 5-trihydroxystilbene (resveratrol) (III).

3. The main part of E-3 fraction was separated and purified as acetate by means of preparative thin-layer chromatography. Spectral and chromatographic properties of E-3-acetate were wholly identical with those of the acetylated aglycone of E-6. E-3 is identified as 3, 3′, 4′, 5-tetrahydroxystilbene (astrigenin) (IV).

4. E-4 had an optical rotation of −63.7°C in methanol and an VU maximum at 326 mμ. Its acetate melted at 164.2°C. Mass spectrum of the acetate afforded the parent ion peak at m/e 672 and the prominent ion peaks at m/e 331, 169, 109 corresponding to tetraacetyl-glucose oxonium ion and its secondary fragments. The acetate has a molecular formular corresponding to $C_{33}H_{36}O_5$ from the results of elementary analysis. NMR spectrum of the acetate suggests the presence of two phenolic acetyl, one methoxy and 1, 2-disubstituted ethylenic groups conjugated with aromatic nuclei in addition to glucose residue. The sharp band at 970 cm^{-1} in IR spectrum of the acetate may be attributed to a trans-ethylenic configuration. The oxidation of the ethylated compound of E-4 yielded vanillic acid ethyl ether (m.p. 198.4°C). From the above results, E-4 is identified as trans 3, 4′, 5-trihydroxy-3′-methoxystilbene-3-β-D-glucoside (isorhapotin) (V). IR spectrum of the acetylated aglycone of E-4 is in accord with that of the acetate of E-1.

5. E-5 had an optical rotation of −58.1°C in methanol and provided two UV maxima at 305 and 320 mμ. Its acetate (m.p. 157.4°C) has a molecular formular corresponding to $C_{32}H_{34}O_4$. NMR spectrum of the acetate suggests the presence of two phenolic acetyl, and 1, 2-disubstituted ethylenic groups conjugated with aromatic nuclei in addition to glucose residue. IR spectrum of the acetate had a sharp band at 960 cm^{-1}. E-5 gave p-ethoxybenzoic acid (m.p. 200°C) by the oxidation of the ethylated E-5. Therefore, E-5 is identified as trans 3, 4′, 5-trihydroxystilbene-3-β-D-glucoside (piceid) (VII). Chromatographic and spectral properties are identical with those of the acetate of E-2.

6. E-6 had an optical rotation of −60.4°C in methanol and an UV maximum at 321 mμ. The actate melted at 160.0°C and a molecular formular corresponding to $C_{34}H_{36}O_{16}$ from the results of elementary analysis and mass spectrum. From NMR and IR spectra of the acetate, E-6 is shown to contain three phenolic hydroxyl, tetra alcoholic hydroxyl, and trans 1, 2-disubstituted ethylenic groups. The acetylated aglycone of E-6 (m.p. 115°C) is identified as trans 3, 3′, 4′, 5-tetrahydroxystilbene tetraacetate by means of elementary analysis, and UV, NMR, IR and Mass spectra. Hydrolysis of the methylated E-6 with emulsin yielded trans 3, 3′, 4′-trimethoxy-5-hydroxystilbene (m.p. 124.8°C), which is identical with the hydrolyzate of the methylated E-4. On the basis of these results, E-6 is identified as trans 3, 3′, 4′, 5-tetrahydroxystilbene-3-β-D-glucoside (astrigin) (VIII).