



Title	キタコブシ <i>Magnolia kobus</i> DC. var. <i>borealis</i> Sarg. の抽出成分(第II報) : リグナンの樹木内における分布及び葉中の季節変動
Author(s)	金, 允根; KIM, Yun-Geun; 小澤, 修二 他
Citation	北海道大学農学部 演習林研究報告, 53(1), 29-43
Issue Date	1996-03
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/21394">https://hdl.handle.net/2115/21394</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	53(1)_P29-43.pdf



# キタコブシ *Magnolia kobus* DC. var. *borealis* Sarg. の抽出成分 (第II報)

— リグナンの樹木内における分布及び葉中の季節変動 —

金 允根\* 小澤 修二\* 佐野 嘉拓\* 笹谷 宜志\*

Extractives of kitakobusi *Magnolia kobus* DC. var. *borealis* Sarg. II. :  
Distribution in Tree and Seasonal Variation in Leaves of Lignans

by

Yun-Geun KIM\*, Shuji OZAWA\*, Yoshihiro SANÔ\* and Takashi SASAYA\*

## 要 旨

キタコブシ *Magnolia kobus* DC. var. *borealis* Sarg. の各部位, 葉, 樹皮, 木部, 花蕾のメタノール抽出物のリグナンを対象に既に単離されている12種のリグナン及び syringaresinol (XIII), pinoresinol (XIV) を加えた14種のリグナンの定量分析を行った。magnolins (IV), epimagnolins (IX), eudesmin (III), yangambins (V) の様な methoxyl 基および methylenedioxy 基を置換したリグナンがいずれの部位においても主要成分であることが明らかになった。リグナン含有量の季節変動は5月から11月までの期間で, 各リグナンの含有量がほぼ類似した推移を持つことを示した。8月では他の月に比べ抽出物及び抽出物中のリグナン含有量は最も低い値を示したが, pinoresinol (XIV) は逆に増加した。pinoresinol を取り巻く生合成の変化は pinoresinol が他のリグナンの生合成に影響を与えていることを示唆した。

キーワード: モクレン科, キタコブシ, リグナン, 季節変動。

---

1995年9月30日受理, Received September 30, 1995

\*北海道大学農学部森林科学科木質資源化学講座

Laboratory of Wood Chemistry, Department of Forest Science, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060

## 1. はじめに

従来、漢方薬あるいは民間伝承の薬に植物の抽出物が用いられてきた。杜中 *Eucommia ulmoides* Oliver の抽出物エキスから syringaresinol およびその配糖体が単離されて以来、それらの化合物を含有する植物の探索に注目が集められてきた。北海道においても、一連の調査の結果、エゾウコギ *Acanthopanax senticosus* Harm. 樹皮の抽出物にこれらの化合物が存在することが明らかになった。特に, syringaresinol diglucoside はラットのストレス性腫瘍に対し、腫瘍成長を抑制する効果が見出されている<sup>1)</sup>。現在、エゾウコギ樹皮の水抽出エキスは健康食品の範疇で市販されている。しかしながら、種々の疾患に対し、投与の際、多くの問題があり、極微量でも良い場合を除き、ある一定量の投与が必要であり、エキス中に有効量が存在しなければ利用はかなり困難と云わざるを得ない。従って、エキス調製のために必要な原料中の含有量が重要視される場合が多い。新しく有効成分を見出すにはその検定の方法が煩雑であり、しかも、費用も莫大である。現在、行われている方法はこれまでに有効とされる成分を含む原料、即ち植物を探索する事から開始されるのが一般的であると同時に、その含有量の検索も重要である。

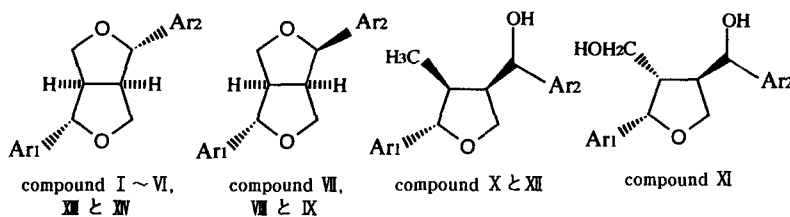
北海道立林産試験場において、北海道産樹木の樹皮利用の一環として各樹種樹皮アセトン抽出物の真菌類に対する生物活性を調査した。その結果、広葉樹樹皮中、ホオノキ *Magnolia obovata* Thunberg 及びキタコブシのアセトン抽出物に高い菌糸成長阻止効果のある事を見出した<sup>2)</sup>。又、樹葉の生物活性の調査をトドマツ *Abies sachalinensis* Mast., エゾマツ *Picea jezoensis* Carr., カラマツ *Larix kaempferi* Sarg., ハリエンジュ *Robinia pseudacacia* Linn., セイヨウハコヤナギ *Populus nigra* Linn. 及びオノエヤナギ *Salix sachalinensis* Fr. Schm. の樹葉を対象にして行っている<sup>3)</sup>。含有される成分の生理、薬理および生物活性の有無は非常に重要なことであるが、含有量の精査も必要である。flavonoid の ampelotin はカツラ *Cercidiphyllum japonicum* Sieb. et Zucc. 材に約 1.4%<sup>4)</sup>、又、オノエヤナギ葉中に 2.4%<sup>5)</sup>、さらにカラマツ材には flavonoid の taxifolin が約 1.9% も含有され<sup>6)</sup>、それらの有効な利用が現在望まれている。

本研究は前報<sup>7)</sup>に引き続きキタコブシ樹幹の各部、木部、樹皮、葉および花蕾中のリグナンを対象に含有量の検討を行った。対象としてのリグナンは前報<sup>7)</sup>で単離した各リグナンの他に、木部から単離された syringaresinol (XIII) および *Abies koreana* Wilson. 材から単離された pinoresinol (XIV) を加えた。又、葉中の季節的変化の推移についても検討を加えた。これらの結果を報告する。

## 2. 実 験

### 2.1 試料の調製

樹木各部位のリグナンの挙動を調べるため、各部位から試料を調製した。葉と花蕾は北海



Compound I. kobusin	Ar1 : piperonyl	Ar2 : veratryl
Compound II. aschantin	Ar1 : piperonyl	Ar2 : 3,4,5-trimethoxyphenyl
Compound III. eudesmin	Ar1 = Ar2 : veratryl	
Compound IV. magnolin	Ar1 : veratryl	Ar2 : 3,4,5-trimethoxyphenyl
Compound V. yangambin	Ar1 = Ar2 : 3,4,5-trimethoxyphenyl	
Compound VI. medioresinol	Ar1 : guaiacyl	Ar2 : syringyl
Compound XII. syringaresinol	Ar1 = Ar2 : syringyl	
* Compound XIV. pinoresinol	Ar1 = Ar2 : guaiacyl	
* Pinoresinol was isolated from <i>Abies korcana</i> Wilson. wood		
Compound VII. fargesin	Ar1 : piperonyl	Ar2 : veratryl
Compound VIII. phillygenin	Ar1 : guaiacyl	Ar2 : veratryl
Compound IX. epimagnolin	Ar1 : veratryl	Ar2 : 3,4,5-trimethoxyphenyl
Compound X. kobusinol A	Ar1 : guaiacyl	Ar2 : veratryl
Compound XII. magnostellin A	Ar1 = Ar2 : veratryl	
Compound XI. kobusinol B	Ar1 = Ar2 : veratryl	

### Lignans isolated from kitakobusi.

道大学構内に生育しているキタコブシから採取した。樹皮と木部は北海道立林業試験場試験林で採取したものである。各部位は Fig. 1 で示すようにメタノール(MeOH)抽出物を石油エーテル(LPE), ジエチルエーテル(Et<sub>2</sub>O)を用いて順次分別を行い, MeOH 抽出物と各溶媒分別物を調製した。

#### 2.1.1 葉部

葉部は1994年7月に採取したもので風乾にした後, 抽出に供した。葉部(200g)を手でもみ潰し, 2ℓ抽出用のプラスチック容器にとり, MeOH 1ℓを加え室温で72時間抽出した。溶媒を新しくし, 再び抽出する操作を3回繰り返した。合した抽出液は濾過後, 濃縮し, Fig. 1 に示すように順次分別した。

#### 2.1.2 木部

木部は1994年6月北海道立林業試験場の試験林で採取したキタコブシ(32年生, 胸高径15

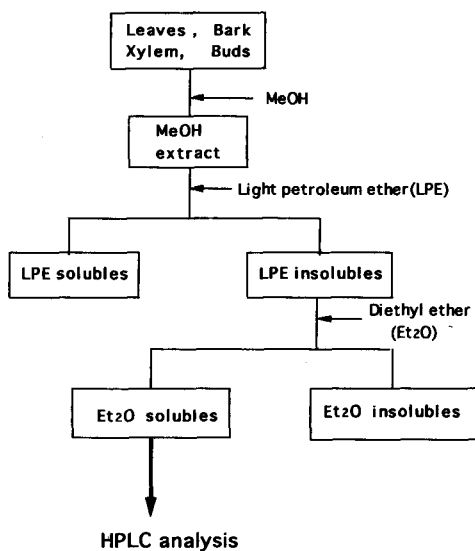


Fig. 1. Fractionation of each section from kitakobusi.

cm, 樹高17m)を用いた。樹幹は1m毎に切り、剥皮後、木部は電気鉋で削り小片とした。この小片はウィリーミルで粉碎し、40~60メッシュの木粉を集め、抽出物用の試料とした。この中、HPLC分析用として木粉200gを2.1.1に準じて処理した。

### 2.1.3 樹皮

上記の木部から得た樹皮を小片とし、木部と同様にウィリーミルで粉碎し、40~60メッシュの樹皮粉を集めて試料として用いた。風乾試料(200g)は2.1.1と同じ方法で抽出した。

### 2.1.4 花蕾

花蕾は1994年5月、開花前の蕾を北海道大学構内で採取したものであり、風乾花蕾(520g)は2.1.1と同様に順次抽出し試料とした。

## 2.2 標品の調製およびHPLC分析

キタコブシ樹木の各部位に含まれているリグナン含有量の季節変動を調べるために前報<sup>7)</sup>で単離した12種のリグナンを標品とした。さらに2種の化合物, syringaresinol(XIII)および pinoresinol(XV)の季節変化を調べた。

### 2.2.1 Syringaresinol

木部のEtOH抽出物(175g)から分別したエーテル可溶部(28.84g)をクロロホルム/メタノール(100/1~0/100)の溶媒を用いたシリカゲルカラム(6.0×100cm)で展開した。溶出液を300mlずつ分取し、30フラクションを得た。これらの各フラクションはTLCの検索で4つのフラクション(F1~F4)にまとめた。F1とF2を合したフラクション(1.6g)はベンゼン/アセトン(40/1~0/1)の溶媒を用いたシリカゲルカラムにより6フラクション(F1, 2-1~F1, 2-6)に分けた。このうちF1, 2-6フラクションから析出した結晶を集め、ベンゼンとアセトンを用いて洗いながら濾過した。得られた化合物(76.8mg)は機器分析で次の結果を与えた。

$[\alpha]_D^{25} -20.7^\circ (c=0.30 \text{ in MeOH})$ . m.p.: 174~175°C. UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  nm(log  $\epsilon$ ): 271.8(2.41), 238.2(3.16). UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}+0.1\text{N NaOH}}$  nm(log  $\epsilon$ ): 282.0(2.84), 260.0(3.09), 245.4(3.06), 256.3(2.84) (shoul.). IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3436, 3089, 2940, 2868, 1610, 1518, 1454, 1377, 1318, 1246, 1156, 1061, 1040. EI-MS m/z: 418( $\text{M}^+$ ), 122, 139, 155, 161, 167, 181(base ion), 182, 193, 210, 387.  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.10(2H, m, H-8, H-8'), 3.90(12H, s, OMe $\times$ 4), 4.28(2H, m, H<sub>B</sub>-9, H<sub>B</sub>-9'), 4.72(2H, d,  $J=4.0$  Hz, H-7, H-7'), 5.50(2H, s, OH), 6.58(4H, s, H-2, 6, 2', 6').  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  54.37(C-8, 8'), 54.39(OMe $\times$ 4), 71.70(C-9'), 71.62(C-9, 9'), 80.09(C-7, 7'), 102.71(C-2, 6, 2', 6'), 132.11(C-1, 1'), 134.32(C-4, 4'), 147.17(C-3, 5, 3', 5'). これらの結果、この化合物を2,6-bis-(4-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo [3,3,0] octaneの構造を有し、(-)syringaresinol (XIII)と同定した。この化合物はこれまで *Guazuma tomentosa* Kunthの心材より単離されている<sup>8)</sup>。

## 2.2.2 Pinoresinol

pinoresinol (XV) は *Abies koreana* Wilson. の木部の EtOH 抽出物から単離したものをを用いた<sup>9)</sup>。

## 2.2.3 HPLC 分析

HPLC (高速液体クロマトグラフィ) 分析の試料は各部位の Et<sub>2</sub>O 可溶部 10 mg を 500  $\mu$ l の MeOH に溶解し, 更に内部標準物質の protocatechualdehyde-3,4-dibenzylether 0.065 mg を加えて溶解した。溶液をメンブランフィルター (3 mm, 0.20 Micron) を備えたシリンジで濾過し, 分析用の溶液を調製した。溶液の 5.0  $\mu$ l を分析に供した。HPLC 測定は Hitachi L-4000 を用い, 検出は UV の 280 nm によった。カラムは逆相系カラム (ODS-2) を使用し, 溶出溶媒はアセトニトリル/3% 酢酸 (40/60~45/55~100/0) を用いた。ピークの同定は標品の保持時間と対比して行った。

## 2.3. 季節変動

### 2.3.1 MeOH 抽出物の調製

キタコブシ葉部のリグナン含有量の季節変動を検索するために, 2.1.1 と同様に試料を採取した。開葉が始まる 5 月から落葉する 11 月の 7 カ月間に亘って毎月 15 日に採葉した。採取した葉は水道水で汚れを洗った後, 濾紙で水を除き, 凍結乾燥した。凍結乾燥した葉 (10 g) を 300 ml 容フラスコに取り, MeOH 150 ml を加え温浴上で加熱抽出した。得られた抽出物は溶媒を留去し, 凍結乾燥した後, 秤量した。

### 2.3.2 酵素加水分解

凍結乾燥した MeOH 抽出物 10 mg を  $\beta$ -glucosidase を含む 0.1 M NaOAc 緩衝液 (pH 0.5) 3 ml (2 mg/ml) に加え, 37°C, 24 時間振とうし加水分解した。反応後, 内部標準物質 0.05 mg と蒸留水 10 ml を加えた後, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> を用いて 10 ml ずつ 3 回抽出した。溶媒を留去した後, 減圧乾固し, HPLC 分析の試料とした (Fig. 2)。

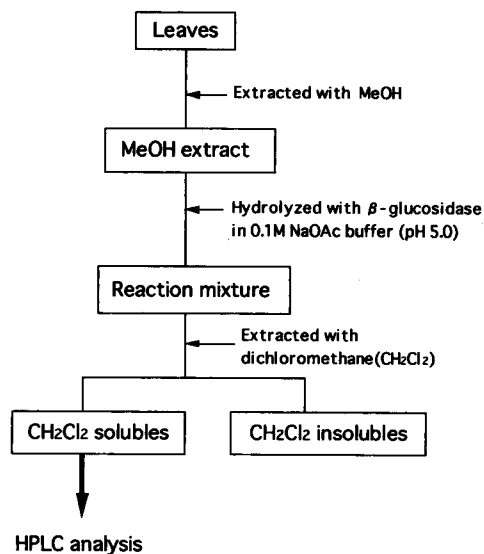


Fig. 2. Quantitative analysis of lignans from kitakobusi.

## 3. 結果と考察

樹木の木部, 樹皮, 花, 果実及び根の抽出成分の含有量は各部により異なることが観察されている。一般に樹皮抽出物は木部のそれより高い値を示すことが知られている<sup>6)</sup>。これまでモクレン属 *Magnolia* の花蕾<sup>10,11)</sup>, 樹皮, 葉<sup>12,13)</sup> 及び種子<sup>14)</sup> の抽出物成分の研究が行われており,

特に花蕾は辛夷(shin-i), 樹皮は厚朴として漢方薬にも記載されている。しかし, 抽出物の含有量についての記載は不十分である。抽出成分の持つ機能を利用する見地からも極微量で利用目的を達する成分以外は量が必要である。このような観点から, キタコブシの葉, 樹皮, 木部, 花蕾の MeOH 抽出物および溶媒分別物量を検討した。前報<sup>7)</sup>で述べたようにキタコブシの葉から 12 種のリグナン類を単離同定した。本研究ではキタコブシ各部のメタノール抽出物から分別した Et<sub>2</sub>O 可溶部を対象に HPLC を用いて各部位のリグナンを比較検討した。検討したリグナンは前報<sup>7)</sup>で単離したリグナンの他, 木部より単離したリグナン(+)syringaresinol (XIII), さらに *M. fargesii* Cheng. の花蕾(辛夷)から(+)pinoresinol (XV)<sup>10)</sup>が単離されているので, これらの化合物を加え, 14 種のリグナンである。

### 3.1 各部位メタノール抽出物及び溶媒分別物

各部位の MeOH 抽出物, LPE, Et<sub>2</sub>O の各分別物の含有量を Table 1 に示す。木部 MeOH 抽出物は 6.31%, 樹皮のそれは 9.86% を示し, 樹皮の方が高く, 多くの樹木に見られる傾向を示した。葉の抽出物は 24.57% であり, 木部の約 3.8 倍, 樹皮の約 2.5 倍に達し, 著しく多い。花蕾の抽出物は 46.72% と極めて著量の抽出物量で葉の約 1.9 倍に相当する。LPE 分別物においても花蕾では 11.6% (対試料), 葉では 6.9% と木部, 樹皮のそれらより高く, この傾向は Et<sub>2</sub>O 分別物についても見られ, 花蕾, 葉, 樹皮, 木部は各々 8.0%, 1.4%, 2.5%, 0.6% (対試料) を含有している。樹皮 Et<sub>2</sub>O 分別物は葉の分別物より高い値を示した。一般に樹皮アルコール抽出物の Et<sub>2</sub>O 可溶部が高い値を示すことは多くの樹木で観察される所である。キタコブシ樹皮

Table 1. Yields (%) of each tissue in kitakobusi\*

Tissue	MeOH extractives (% of oven-dried sample)	LPE solubles (% of MeOH extractives)	Et <sub>2</sub> O solubles (% of MeOH extractives)
Leaves	24.57	28.60	5.60
Bark	9.86	17.84	25.46
Xylem	6.31	11.10	9.30
Buds	46.72	24.82	17.12

Buds: % based on air-dried samples.

\*kitakobusi: *Magnolia kobus* DC var. *borealis* Sarg.

抽出物中のリグナンの他, ポリフェノール類もこの可溶部に存在する可能性があり, 今後精査する必要がある。抽出物および分別物の含有量のみを重視するなら抽出原料として花蕾が有望であることが示唆された。既にモクレン属の花蕾や樹皮即ち辛夷や厚朴は医薬品としての使用上の制限内にあり, 使用上拘束がある。葉及び木部は制限外であり, 葉の利用が期待される。

#### 3.1.1 葉部のリグナン

7月に採取した葉部メタノール抽出物の Et<sub>2</sub>O 可溶部の HPLC クロマトグラムを Fig. 3 に示す。保持時間(Rt) 33.6 min のピークは内部標準として用いた protocatechualdehyde-3, 4-dibenzylether である。Rt 19.2 min の特徴的なピークは epimagnolin (IX) のそれに一致する。Rt 11.1 min, 14.8 min, 16.0 min, 17.3 min, 23.9 min, 26.7 min の各ピークは phillygenin

(VIII), eudesmin(III), magnolin(IV), yangambin (V), epimagnolin(IX), kobusin (I), aschantin(II), fargesin(VII)に一致した。その他, pinoresinol(XV), kobusinol B(XI), medioresinol(VI), kobusinol A(X), magnostellin A (XII)に相当するピークが各々 Rt 3.91 min, 4.3 min, 5.8 min, 6.3 min, 9.6 min に認められる。葉部の Et<sub>2</sub>O 可溶部には前報<sup>7)</sup>で確認された 12 種のリグナン全てが認められ, 葉部から単離されていない pinoresinol (XV) の存在も確認された。一方, 木部から単離された syringaresinol (XIII) は葉の Et<sub>2</sub>O 可溶部には認められなかった (Fig. 3)。各リグナンの含有量を Table 3 と 4 に示した。epimagnolin (IX) が  $108.60 \times 10^{-3}$  mg/g の値を示し, ついで magnolin (IV) は

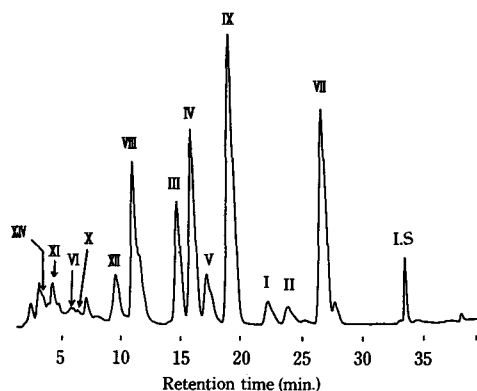


Fig. 3. HPLC chromatogram of Et<sub>2</sub>O solubles from methanol extract in leaves of kitakobusi.

Notes ; Column : Inersil ODS-2(6×270 mm) ; Eluent : linear gradient of H<sub>2</sub>O(3% acetic acid)-CH<sub>3</sub>CN, 60 : 40 (0 min.)→55 : 45 (20 min.)→0 : 100 (40 min.)(v/v) ; Flow rate : 1 ml min<sup>-1</sup> ; Detection : 280 nm.

$67.84 \times 10^{-3}$ mg/g の値を示した。この 2 種の化合物は furofuran 環の C-2 epimer である。さらに, 含有量の多い成分は fargesin (VII), yangambim (V), phillygenin (VIII) である。これら 3 種のリグナン含有量は HPLC クロマトグラム上で確認されたりグナンの約 85.0% を占め, 葉中で優位なりグナンと言える。epimagnolin は確認される全リグナンの 28.1% に達し, 極めて著量である。これまでキタコブシ葉部のリグナン検索で単離されなかった pinoresinol (XV) は 0.2% 存在するが, syringaresinol (XIII) は確認されなかった。主要なりグナン 5 種中, 遊離のフェノール水酸基を有するのは phillygenin (VIII) 1 種で, 他に methoxyl 基及び methylenedioxy 基で置換されている。他の遊離のフェノール性またはアルコール性水酸基を有する成分は medioresinol (VI), kobusinol A (X), kobusinol B (XI) および pinoresinol (XV) であるが, キタコブシ葉中のリグナンは遊離の水酸基を持つ成分が極めて少なく, 非フェノー

Table 2. Yields of MeOH extracts and enzymatic hydrolyzates of kitakobusi

Month, 1994	MeOH extract	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> extract
May	394.3	3.5
June	305.4	6.0
July	245.7	6.2
Aug.	182.6	5.2
Sep.	235.8	4.2
Oct.	304.8	4.4
Nov.	236.7	4.1

Yields : mg per g of sample. Aug., Sep., Oct. and Nov. : August, September, October and November, respectively.

Table 3. Content of lignans in each tissue from kitakobusi

Tissue	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	XIII	XIV
Leaves	5.17	10.11	25.86	67.84	47.37	1.32	50.65	53.76	108.60	0.00	0.89
Bark	2.26	18.90	4.47	29.92	65.65	2.38	0.15	3.52	0.92	6.50	0.36
Xylem	0.00	0.34	0.27	1.61	0.78	0.00	0.00	0.00	0.56	9.75	0.30
Buds	6.00	11.03	11.10	30.84	21.99	5.20	0.00	0.53	3.57	0.25	1.17

content :  $\times 10^{-3}$ mg per g of oven-dried sample. I : kobusin, II : aschantin, III : eudesmin, IV : magnolin, V : yangambin, VI : medioresinol, VII : fargesin, VIII : phillygenin, IX : epimagnolin, XIII : syringaresinol, XIV : pinoresinol

ル性成分が主要成分となっていることを示した。これらリグナンの量的比較を Table 3 と 4 に示す。

モクレン属樹種の葉部のリグナンに関し、コブシ *M. kobus* の MeOH 抽出物から sesamin, kobusin (I), eudesmin (III), epieudesmin, phillygenin (VIII)<sup>12,13)</sup> が、シデコブシ *M. stellate* の MeOH 抽出物から magnostellin A (XII) 及び B, sesamin, kobusin (I), eudesmin (III), (+)piperitol<sup>15)</sup> が、タイサンボク *M. grandiflora* Linn. の EtOH 抽出物から peroxykostenolide の vertolorin<sup>16)</sup> が、ハクモクレン *M. denudata* Desr. の MeOH 抽出物から<sup>17)</sup> ネオリグナン (dihydrobenzofuran 型) denudatin A および B, burchellin さらに terahydrofuran 型の veraguensin が単離されている。キタコブシ葉部のリグナン中にはコブシから単離された sesamin, episesamin は確認されない。この 2 種の化合物は互いに epimer である。キタコブシ葉部の 2 種の化合物 kobusin (I) および eudesmin (III) は同様に epimer であり、magnolin (IV) と epimagnolin (IX) の epimer も存在し、1 つの特徴を示した。

### 3.1.2 樹皮のリグナン

樹皮 MeOH 抽出物 Et<sub>2</sub>O 可溶部の HPLC クロマトグラムを Fig. 4 に示す。樹皮リグナンの特徴は Rt 16.0 min の magnolin (IV), Rt 17.3 min の yangambin (V), Rt 23.9 min の aschantin (II) であり、各  $29.92 \times 10^{-3}$ mg/g,  $65.65 \times 10^{-3}$ mg/g および  $18.90 \times 10^{-3}$ mg/g の値を示した。これら 3 種のリグナンはクロマトグラム上で確認されるリグナンの約 72.0% に相当

Table 4. Content of lignans in each tissue from kitakobusi

Tissue	X	XI	XII
Leaves	3.06	2.77	9.03
Bark	2.15	5.58	3.59
Xylem	0.00	1.93	0.15
Buds	0.49	5.43	1.31

content :  $\times 10^{-3}$ mg per g of oven-dried sample. X : kobusinol A, XI : kobusinol B, XII : magnostellin A.

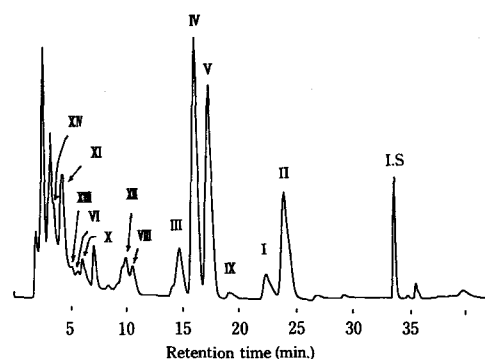


Fig. 4. HPLC chromatogram of Et<sub>2</sub>O solubles from methanol extract in bark of kitakobusi.

Notes ; Column : Inersil ODS-2(6 $\times$ 270 mm) ; Eluent : linear gradient of H<sub>2</sub>O(3% acetic acid)-CH<sub>3</sub>CN, 60 : 40 (0 min.) $\rightarrow$ 55 : 45 (20 min.) $\rightarrow$ 0 : 100 (40 min.)(v/v) ; Flow rate : 1 ml min<sup>-1</sup> ; Detection : 280 nm.

する。14種のリグナンは認められるが、葉部のリグナン含有量に比べ、極めて少ない。しかし、yangambin (V) や aschantin (II) はこの成分が葉中で占める割合に比べ、樹皮中では著しく高い値を示した。各リグナンの量的比較を Table 3 と 4 に示す。この2つの成分は各々 eudesmin (III) および kobusin (I) に methoxyl 基が1つ結合した構造を有する。樹皮では kobusin (I) と magnolin (IV) が葉部に比べ減少しているが、aschantin (II) と yangambin (V) の増加が認められる。このことは樹皮において methoxyl 化が行われた事を示唆する。

又樹皮で僅かであるが、syringaresinol (XIII) が認められた。一方、葉中の pinoresinol (XIV) 含有量 (0.2%) は樹皮でも 0.2% で同じであった。又葉中の phillygenin (VIII) や epimagnolin (IX) は 13.9% および 28.1% を示したが、樹皮中では 2.2% および 0.6% であり、樹皮中のリグナンの生成が葉中の生成と異なることを示唆した。

### 3.1.3 木部のリグナン

木部 MeOH 抽出物 Et<sub>2</sub>O 可溶部の HPLC クロマトグラムを Fig. 5 に示す。クロマトグラムは鮮明でなく、確認されたリグナンは7種のみで他はクロマトグラム上では認め難い。これらの成分は syringaresinol (XIII), kobusinol B (XI), magnolin (IV), yangambin (V), epimagnolin (IX) である。全体としてリグナンは非常に低い値を示したが、syringaresinol (XIII) の含有量は確認される木部全リグナンの 62.1% を占める著しく高い値を示してある。さらに magnolin (IV) および kobusinol B (XI) もそのなかで優位の成分であり、キタコブシリグナンの特徴を示す (Table. 3)。HPLC クロマトグラムは全体的に幅広いピークを与え、Et<sub>2</sub>O

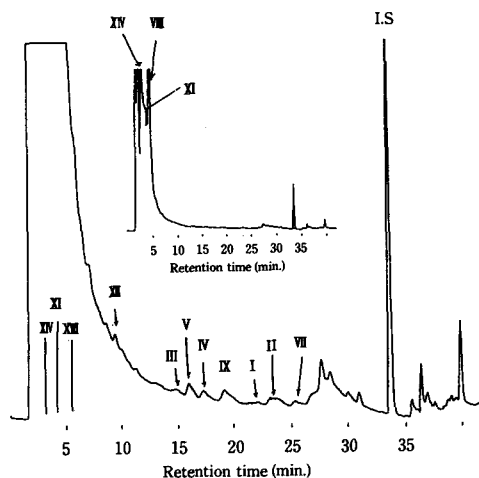


Fig. 5. HPLC chromatogram of Et<sub>2</sub>O solubles from methanol extract in xylem of kitakobusi.

Notes ; Column : Inersil ODS-2(6×270 mm) ; Eluent : linear gradient of H<sub>2</sub>O(3% acetic acid)-CH<sub>3</sub>CN, 60 : 40 (0 min.)→55 : 45 (20 min.)→0 : 100 (40 min.)(v/v) ; Flow rate : 1 ml min<sup>-1</sup> ; Detection : 280 nm.

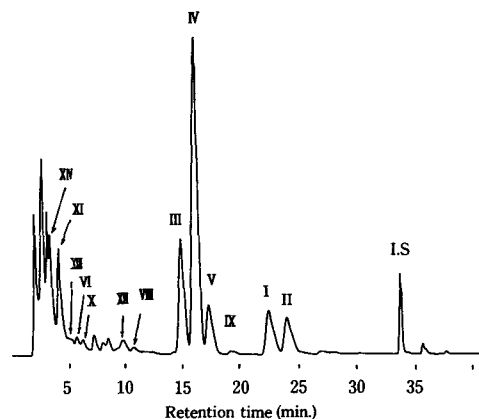


Fig. 6. HPLC chromatogram of Et<sub>2</sub>O solubles from methanol extract in buds of kitakobusi.

Notes ; Column : Inersil ODS-2(6×270 mm) ; Eluent : linear gradient of H<sub>2</sub>O(3% acetic acid)-CH<sub>3</sub>CN, 60 : 40 (0 min.)→55 : 45 (20 min.)→0 : 100 (40 min.)(v/v) ; Flow rate : 1 ml min<sup>-1</sup> ; Detection : 280 nm.

に可溶性リグナン以外の成分の影響を受けていると考えられ、内部標準物より後に溶出する成分も多く存在した。

#### 3.1.4 花蕾のリグナン

花蕾 MeOH 抽出物 Et<sub>2</sub>O 可溶部の HPLC クロマトグラムを Fig. 6 に、含有量を Table 3 と 4 に示す。花蕾のリグナン含量は葉部のリグナン含量の 25.6%程度しか存在しない。fargesin (VII) の存在は不明確であるが、他の 13 種は確認できる。その内、主なりグナンは優位なものから magnolin (IV), yangambim (V), eudesmin (III), aschantin (II), kobusin (I), kobusinol B (XI), medioresinol (VI), epimagnolin (IX) であり、他はいずれも  $2.0 \times 10^{-3}$  mg/g 以下の値を持つ成分である。花蕾においても magnolin (IV) が最も主要な成分であり、他の部位と同様の結果を示した。確認される全リグナンに対する kobusin の割合が葉部の場合の 1.3%、樹皮の場合の 1.4% に比べ 6.1% と高い。14 種のリグナン中、フェノール性水酸基が比較的高く置換されている medioresinol (VI) および pinoresinol (XV) は葉中では 0.3% および 0.2% を占めているが、花蕾中でこれらの化合物は 5.3% および 1.2% と比較的高い値を示し、花蕾の特徴とも考えられる。各リグナン含有量を Table 3 と 4 に示した。

コブシの花蕾は辛夷として日本薬局方外成薬規格集、新常用和漢集に記載されている。特有な芳香を有し、精油の citral, cineol, eugenol, pinene を含有するとされている<sup>18)</sup>。その他、タムシバおよびモクレン、ハクモクレン<sup>19)</sup>の花蕾も辛夷として市場に出ている。しかし、これら辛夷の含有成分の詳細な知見は得られていない。漢薬に用いられている中国の辛夷は *M. fargesii* Cheng. の花蕾を指す。これまで中国産辛夷の研究において、EtOH 抽出物から pinoresinol dimethyl ether (eudesmin), 又 liriioresinol dimethyl ether (yangambin), magnolin (VI), fargesin (VII) が、辛夷を直接 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で抽出した抽出物から phillygenin, pinoresinol, (+)de-O-methylmagnolin (magnolin の veratryl 基の代わりに guaiacyl 基が置換) が<sup>10)</sup>単離されており、中国産辛夷中のリグナンも又高度に置換されている成分を含有している。キタコブシの花蕾は *M. fargesii* Cheng. の花蕾中のリグナンを含め、多種のリグナンを含有している。辛夷の薬理効果はリグナンのみで評価し得ないと考えられるが、リグナンの観点で中国産の辛夷とキタコブシ花蕾を比べるならば同様に扱う事が可能と考えられる。

#### 3.2 葉中のリグナン含有量の季節変動

樹木生活組織中の 4-hydroxyphenylpropanoid はリグニン、リグナン、フラボノイド、クマリン等の前駆体として極めて重要である。温帯および亜寒帯における樹木生育期間に季節の変化があり、樹木で生合成される過程にも変化を生ずる。リグニン形成に関し、phenylpropanoid glucoside の coniferin は針葉樹形成層において 5 月中旬から 7 月中旬へと増加し、以後急激に減少する傾向を示す。一方、モクレン科 Magnoliaceae, モクセイ科 Oleaceae の樹木の形成層に coniferin および syringin が認められる。syringin は 5 ~ 6 月に生成、貯蔵された後、9 月へ向け減少する<sup>20,21)</sup>。樹木の葉部は光合成が最も頻繁に行われる器官であり、糖生成と

同時に他の成分の生合成にも深く関係する。キタコブシ樹葉中に生成されるリグナン類の季節的变化を HPLC を用いて MeOH 抽出物中の配糖体とアグリコンの共存による分析への不明確さを避けるために抽出物は酵素処理を行い、得られる CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 可溶部を分析した。

5月から11月までの葉部の MeOH 抽出物量を Table 2 に示す。この期間、最も高い値を示したのが5月であり、39.43%であった。しかし、8月に向かって18.26%まで減少した。以後は11月まで増減をしながら最終的には増加した。5月は樹木の活動が開始する時期に相当し、多種の抽出成分が貯蔵されているものと推察される。以後、日時の経過と共に新たな生成と他成分への変換を繰り返すと考えられ、8月に最も低い抽出量に達し、11月に向かって貯蔵の方向へ推移している。この抽出物の HPLC 分析の際に糖類の影響を避けるため、 $\beta$ -glucosidase による脱グルコシド化を行い、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で抽出し、可溶部を集めた。この CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 可溶部の量を Table 2 に示す。試験期間の7ヵ月間で最も高い値を示したのは7月の6.2 mg/g であり、又最も低い値は5月の3.5 mg/g であった。5月では生合成の開始と共に抽出物量は急激に増加するが、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 可溶部、即ちアグリコンに相当する成分の生成よりむしろ糖類等が多く生成されていると考えられる。この CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 可溶部は6月には5月の1.7倍に達し、7月も6月と同程度の CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 可溶部が存在する。8月の5.2 mg/g から11月4.1 mg/g へと漸減するが、急激な減少は認められない。8月の抽出物量は最も低い値18.26 mg/g を示すが、その中に含有される CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 可溶部は急激な変化は認められず、アグリコン量を保持している。これは8月に気候等の要因で抽出物の生成に変化が生じ、全体として抽出物の量が少なくなったと考えられる。しかし、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 可溶部の量には大きな変化が生じていないと推察される。その

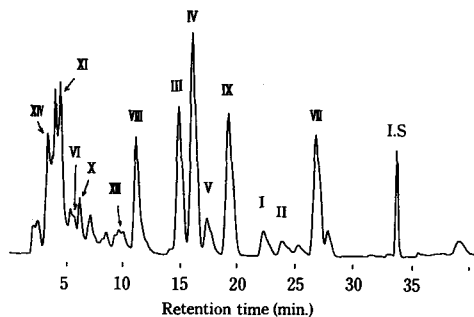


Fig. 7. HPLC chromatogram of the enzymatic hydrolyzate of methanol extract from kitakobusi leaves collected in July, 1994.

Notes ; Column : Inersil ODS-2(6×270 mm) ; Eluent : linear gradient of H<sub>2</sub>O(3% acetic acid)-CH<sub>2</sub>CN, 60 : 40 (0 min.)→55 : 45 (20 min.)→0 : 100 (40 min.)(v/v) ; Flow rate : 1 ml min<sup>-1</sup> ; Detection : 280 nm.

Table 5. Seasonal variations of lignan contents in kitakobusi leaves

Month	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	XIII	XIV
May	6.15	14.12	15.20	60.28	42.23	13.84	31.27	11.86	33.99	0.16	3.06
June	6.90	9.85	33.87	116.20	42.52	2.67	65.93	56.60	84.44	0.00	2.68
July	6.51	10.11	35.57	120.73	46.48	1.51	50.65	52.10	80.94	0.00	2.74
Aug.	4.98	10.79	18.71	94.01	34.56	1.28	36.98	25.00	54.82	0.00	7.60
Sep.	7.17	12.24	33.92	110.35	49.66	1.59	56.10	42.92	77.67	0.00	3.03
Oct.	11.65	16.92	50.71	158.34	25.03	1.65	58.01	46.83	90.67	0.00	2.26
Nov.	11.82	19.49	53.18	124.44	74.36	2.24	70.17	50.20	93.44	0.00	3.24

content : ×10<sup>-3</sup>mg per g of oven-dried sample. I~XIV : the same as those shown in Table 3.

中、代表的に7月のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>可溶部のHPLCのクロマトグラムをFig.7に示す。又、各リグナンの値をTable 5と6に示した。比較対象とした14種の化合物の中、syringaresinol(XIII)は5月に極めて少量認められるが、以降は11月まで観察されない。葉中のリグナンは3.1.1でも述べたようにmagnolin(IV), epimagnolin(IX), fargesin(VII), eudesmin(III), ついでphillygenin(VIII)と続く。とくにmagnolin(IV)およびepimagnolin(IX)は5月から6月にかけて約1.9倍から2.5倍生成される。この2つのepimerの前駆体は確定していないが、pinoresinolとも推定される。tetrahydrofuran環のfurofuran環への閉環、続いてのメチル化が急激に生ずるものと考えられる。magnolin(IV)は8月に若干生成量が減ずるが、9月の値は大体6月の値と同程度に推移し、10月に再び増加した後、11月には大体7月の段階の生成量に達する。一方、epimagnolin(IX)は8月のmagnolin(IV)と同様、生成量は減少するが、その他は大体一定に推移した。しかし、magnolin(IV)に見られるような10月に増加する結果を示さない。yangambin(V)は5月から9月にわたりmagnolin(IV)とepimagnolin(IX)が若干減少する8月においてさえ、大体一定の生成量を維持している。しかし10月に減少し、11月に増加する。これはmagnolin(IV)の10月、11月の生成量と対比できる。yangambin(V)はmagnolin(IV)より1個のmethoxyl基をさらに置換している構造であり、10月から11月にかけてmethoxyl化の変換をしているものと思われる。この場合、*equatorial-equatorial*配位のaryl基を持つfurofuran環のmagnolinから同じ立体配置を有するyangambin(V)の変換は*axial-equatorial*配置のepimagnolin(IX)より有利と考えられる。10月、11月のepimagnolin(IX)は量的変化を殆ど示さない。tetrahydrofuran環を有するkobusinol A(X)およびkobusinol B(XI), magnostellin A(XII)は6月において5月の生成量の各々約5.2倍、2.2倍および2.6倍に増加し、以後10月に向かって減少し、11月には蓄積の方向へ推移し僅かに増加する。この3種の化合物の7月以降の比較的早い減少傾向は他の成分への変換が容易に行われるものと推察される。化合物IからXIIまでの生成量に関する挙動と全く異なるのが、pinoresinol(XIV)のそれである。5月より11月まで8月を除き、他の月は一定量に推移している。8月は他の化合物の平均生成量の2.7倍に達する。これは8月の抽出物生成に伴う何らかの要因がpinoresinol(XIV)を取巻くturn overに支障を生じ、pinoresinol(XIV)の蓄積と他の成分の減少という結果を生じたと推定される。

コブシの葉中にはこれまでsesaminとkobusin(I)およびeudesmin(III)とepieudesminのepimerさらにphillygeninが単離されている。キタコブシ葉部にはsesaminおよびepieudesminは確認できないが、magnolin(IV)とepimagnolin(IX)およびkobusin(I)と

Table 6. Seasonal variations of lignan contents in kitakobusi leaves

Month	X	XI	XII
May	1.52	6.02	3.21
June	7.91	13.06	8.40
July	6.13	13.21	5.26
Aug.	2.80	6.69	3.36
Sep.	2.72	3.60	4.32
Oct.	2.04	4.84	3.10
Nov.	2.96	7.59	6.52

content :  $\times 10^{-3}$ mg per g of oven-dried sample.

X~XII : the same as those shown in Table 4.

fargesin (VII) の2種の epimer を初め、他に9種のリグナンの存在を確認した。さらに HPLC クロマトグラムによる検索で pinoresinol (XV) が認められた。各成分の機能の詳細な検討は今後の課題である。syringaresinol (XIII) を除く他のリグナンの利用に際し、何時葉を採取すべきかは充分考慮すべき問題である。

#### 4. お わ り に

キタコブシ各部位の MeOH 抽出物は著量を含する花蕾 (46.7%) に続いて葉 (24.6%)、樹皮 (9.9%)、木部 (6.3%) の順である。MeOH 抽出物中の LPE 可溶部は花蕾で抽出物当たり 24.7%、葉では 24.6% に達する。LPE 可溶部に通常、精油成分が含有され、花蕾や葉部の香りに関与していると考えられる。コブシの花蕾には citral, cineol, eugenol および pinene が含まれており、キタコブシの花蕾の香りもこれらと関係があると考えられる。今後、花蕾、葉部の LPE 可溶部の精査が必要である。一方、Et<sub>2</sub>O 可溶部は抽出物当たりでは樹皮は比較的著量の割合を占める。これはリグナン以外のフェノール類によるものと推察されるが、本研究では Et<sub>2</sub>O 可溶部中のリグナンを対象としたので、他の成分の詳細な検索は行っていない。各部位のリグナンは各々特徴的な結果を示した。葉部における主要成分は magnolin (IV) および epimagnolin (IX) である。樹皮では magnolin (IV) と yangambin (V)、又花蕾では magnolin (IV) と yangambin (V) となっている。いずれも遊離のフェノール性水酸基を持たず、methoxyl 基によって置換されている。しかし、木部ではフェノール性水酸基を持つ syringaresinol (XIII) が主要成分である。漢方薬の辛夷は *M. fargesii* Cheng. の花蕾を用いているが、これに含有されるリグナンはキタコブシの場合と同様、methoxyl 基又は methylenedioxy 基で置換されており、遊離のフェノール性水酸基を持つリグナンとして phillygenin (VIII) および pinoresinol (XV) を含有している。キタコブシの花蕾はこの2種の他、medioresinol (VI)、kobusinol A (X) の少量を含有している。いずれにしてもこれらリグナンの生物活性などの機能の精査が必要と考えられる。葉中のリグナンの季節変動の調査において各リグナン量の7か月間の推移は大体類似していた。しかし、5月から6月にかけて含有量が増加する成分が多く、盛んに生合成されている事を示唆する。生合成されるリグナンは magnolin (IV) および epimagnolin (IX) の含有量が極めて多く、キタコブシ葉中のリグナンの特徴を示す。8月には抽出物含有量が他の月に比べ低い値を示したが、酵素処理後の CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 可溶部の収率には余り急激な変化は認められなかった。個々のリグナンの含有量は8月で最も低い値を与えたが、pinoresinol (XV) のみが逆に増加する結果を示した。これは8月に pinoresinol (XV) を取り巻く生合成の環境での turn over に何らかの変化を生じ、pinoresinol (XV) が蓄積され、他のリグナンの生成が押さえられたものと推定される。このことはキタコブシ葉中のリグナンの pinoresinol (XV) が他のリグナンの生成に深く関与していることを示すと考えられる。

## 謝 辞

本研究における試験木の採取に際し、北海道立林業試験場の各位に深甚なる謝意を表す次第である。

## 文 献

- 1) 藤川隆彦：東日本学院大学修士論文 (1993).
- 2) 森 満範, 土居修一, 青山政和：日本木材学会北海道支部講演集, No. 26, 41-44 (1994).
- 3) バイオ技術による樹葉等の有効化利用研究. 平成4年度研究成果報告書(1993)：同平成5年度研究成果報告書 (1994).
- 4) 笹谷宜志：北大演研報, **44**, 38-394 (1987).
- 5) 李学州, 小澤修二, 笹谷宜志：日本木材学会北海道支部講演集, No. 24, 65-69 (1992).
- 6) 笹谷宜志：北大演研報, **44**, 1417-1434 (1987).
- 7) 金允根, 小澤修二, 佐野嘉拓, 笹谷宜志：北大演研報, **53**, 1-28 (1996).
- 8) Anjaneyulu, A. S. R., V.S. Murty : *Indian J. Chem.*, **20B**, 85-87 (1981).
- 9) Kim, Y.-G., et al : *ibid.*, **40(4)**, 414-418 (1994)
- 10) Miyazaw, M., H. Kasahara, H. Kameok : *Phytochemistry*, **31**, 3666-3668 (1992).
- 11) Kakisaw, H., Y. P. Cheu, H. Y. Hsu : *ibid.*, **11**, 2289-2293 (1972).
- 12) Kamikado, T., et al : *Agr. Biol. Chem.*, **39**, 833-836 (1975).
- 13) Iida, T., M. Nakano, K. Ito : *Phytochemistry*, **21**, 673-675 (1982).
- 14) 広瀬正克, 佐藤泰夫, 萩谷 彬：日本化学雑誌, **89**, 889-891 (1968).
- 15) Iida, T., Y. Noro, K. Ito : *Phytochemistry*, **22**, 211-213 (1983).
- 16) El-Feraly, F. s., et al : *J. Org. Chem.*, **44**, 3951-3955 (1979).
- 17) Iida, T., K. Ichino, K. Ito : *Phytochemistry*, **21**, 2939-2941 (1982).
- 18) 小林義雄：わかりやすい林業研究解説シリーズ No. 74. 薬用樹木の知識, (財) 林業科学技術振興所, 16 (1984).
- 19) 山岸 喬：北海道薬草図鑑 (栽培篇), 北海道新聞社, 162-163, 176-177 (1993).
- 20) Terazawa, M., H. Okayama, M. Miyake : *Mokuzai Gakkaishi* : **30**, 322-328 (1994).
- 21) Terazawa, M., M. Miyake : *ibid.*, **30**, 329-334 (1984).

## Summary

The present work has been undertaken to clarify the distribution of lignans in each section, such as xylem, bark, leaves and flower buds from kitakobusi *Magnolia kobus* DC. var. *borealis* Sarg. The lignans obtained from each section consisted of furofuranoids and tetrahydrofuranoids.

Lignans of the leaves were characterized as furofuranoids such as magnolin(IV), epimagnolin(IX), eudesmin(III) and yangambin(V), which were highly replaced with substituents such as methoxyl and methylenedioxy groups.

The bark contained fourteen lignans of which main compounds were magnolin(IV) and yangambin(V), though the flower buds contained magnolin(IV) and yangambin (V) as main lignans. These four lignans did not have free hydroxyl group, but methoxyl groups

replaced. Syringaresinol(XIII) was found in only xylem and bark but they were small portions.

To investigate the seasonal accumulation of lignans, the leaves were collected at Hokkaido University campus from May to November in 1994. MeOH extracts obtained from the leaves were subjected to hydrolysis by  $\beta$ -glucosidase to avoid the complexity of extractives resulting from glucosides. The enzymatic hydrolysates were extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , and the determination of lignans in the  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  solubles was performed on HPLC.

The amount of lignans increased during May to June, except aschantin(II). The contents of many lignans decreased to minimum in August, but the amount of pinoresinol(XV) enhanced twice compared with those of the other months. This accumulation of compound XV seemed that biosynthesis surrounding pinoresinol (XV) in the leaves changed from normal state to abnormal. If this assumption was reasonable, it suggested that pinoresinol(XV) may be correlated intensely to formation of the other lignans in the leaves.