

Chemical Study of Tannins and Related Polyphenols in Sapwood of *Quercus crispula* Blume (Japanese Oak)

(ミズナラ辺材のタンニンおよび関連ポリフェノールに関する化学的研究)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻
Mohamed Omar Mohamed Abo Zid

[目的]

オークやカシとして人類が古くから利用している *Quercus* 属植物は、北半球の広い地域に分布するブナ科の樹木である。その葉、樹皮、種子は薬用、食用、皮なめし剤として利用されてきたが、材は樹木の中でも特に耐朽性が強く、家具材や樽材などとして現在も世界中で利用されている。その耐久性は物理的だけでなく化学的な防御機構によるとされている。*Quercus* 属の材はほとんど死細胞で構成されるが、外側の辺材には生きた放射柔組織がわずかに存在する(図 1)。樹木の生長に伴って辺材の内側が心材に変わる際に柔組織細胞で抗菌性をもつエラジタンニン類が多量に合成され、それらが死細胞だけからなる心材に蓄積される。辺材と心材の境界部におけるポリフェノール量は非常に高く、材全体のわずか数%に過ぎない辺材放射柔組織での極めて旺盛なポリフェノール代謝は植物生理学的に非常に興味深い。しかし、材のエラジタンニン組成や分子構造については主成分についてしか検討されておらず、未だ多くの代謝産物が未解明のまま残されている。



図 1 ミズナラ材の断面

ミズナラ (*Quercus crispula*) は日本全土に分布する落葉広葉樹であり、耐久性の強い材は高級家具や樽材として利用される。材の成分としては *Quercus* 属の材に共通の castalagin と vescalagin (図 2) が明らかにされているが、その他のタンニンについては未だ明らかとなっていない。そこで本研究では、タンニンが活発に生合成されているミズナラ辺材に含まれるポリフェノール成分について詳細に検討し、ミズナラ材のタンニン組成を明らかにすると共に、エラジタンニンの代謝にかかわる知見を得ることを目的として研究を行った。

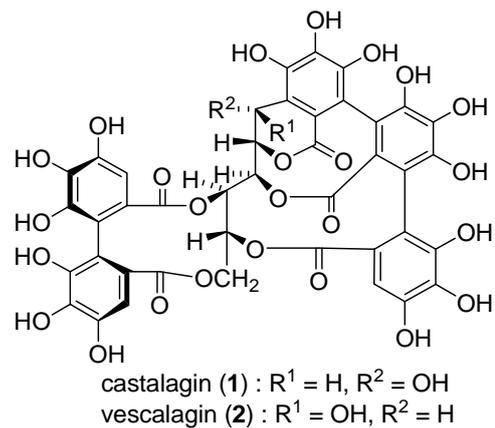


図 2 ミズナラの主エラジタンニンの構造

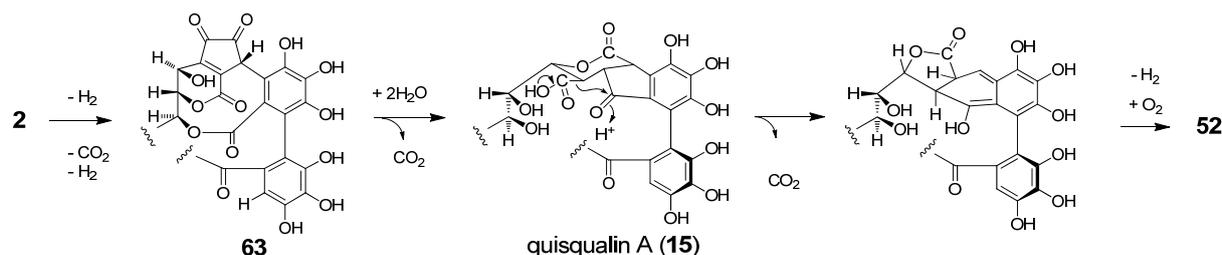
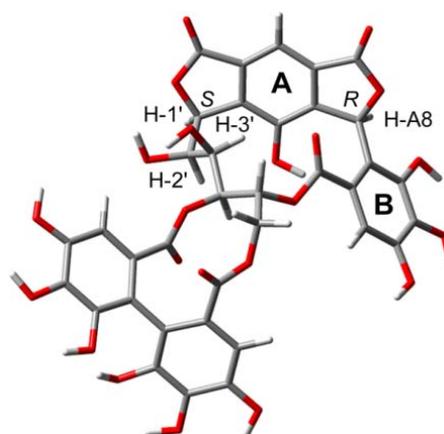
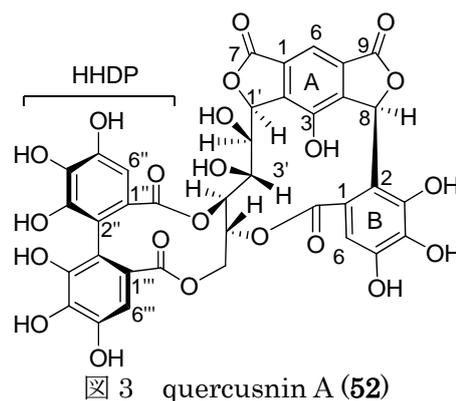
[方法・結果]

破碎したミズナラ辺材を含水アセトンで抽出し、得られたエキスを EtOAc で分配した。水層を Sephadex LH-20, Diaion HP20, ODS, silica gel などの各種カラムクロマトグラフィーで分離精製し、11 種の新化合物および 51 種の既知化合物を得た。既知化合物は 22 種のエラジタンニン、gallic acid と 5 種の galloyl ester 類、4 種の複合型 tannin、エラグ酸および 2 種の関連化合物、2 種のフラボノール配糖体、6 種のフェノール配

糖体、および 8 種のリグナン関連化合物であった。そのうち主成分はエラジタンニンの vescalagin (2) と castalagin (1) であり (図 2)、これらの二量体も多く含まれていた。このうち 1 にはポリフェノールの中でも比較的強い抗菌性が報告されている。

新化合物 52 は極めて特異な構造を持つエラジタンニンである (図 3)¹。その構造決定ではまず、1 次元 NMR に加えて ¹H-¹H COSY, HSQC, HMBC, NOESY スペクトル、および ¹³C-NMR 同位体シフトを駆使して平面構造を決定した。しかし、4 級炭素が多く通常のスペクトル解析ではこれ以上の検討は不可能であり、立体構造については決定できなかった。そこで可能性のある 4 種のジアステレオマー [1'S,A8S; 1'S,A8R; 1'R,A8S; and 1'R,A8R] について、計算化学的評価を行った (GIAO-mPW1PW91-SCRF/6-311+G(2d,p) level in acetone with the PCM model)。その結果、1'S,A8R の ¹H-および ¹³C-NMR ケミカルシフト、結合定数の計算値が実測値とほぼ完全に一致した。¹H-NMR スペクトルで、ベンジル位のメチン水素 H-8 が 7.28 ppm に低磁場シフト、glucose の H-3' が 2.69 ppm に高磁場シフトするなど、異常なシグナルパターンが観察され、これらの水素が強い磁気異方性効果を受けていることを示唆したが、計算結果からはこれらのことも矛盾せずに説明することができた (図 4)。また、ECD スペクトルについても計算値と実測値が良く一致し、アトロプ異性も確立することができた。以上の検討により化合物 52 の構造を決定し、quercusnin A と命名した。

この物質は明らかに材の主成分である vescalagin (2) から生成した代謝産物と考えられたが、これまで知られていない全く新しい炭素骨格を持ち、ヒドロキシ安息香酸の酸化代謝で説明される通常のエラジタンニン生合成では生成経路を説明できない。おそらくこの物質は菌類により 2 が代謝されて生成したものと推測し、純粋な 2 を溶解した培地に *Quercus* 属の材で栽培されるシイタケ菌を加えて培養した。その結果 2 は分解され、生成物から化合物 52 を分離することができた。このことから、52 は 2 の菌類による分解で生成したものであると結論した。その生成経路は、現在図 5 に示すように、63 と quisqualin A (15) を経由するルート推測している。



炭素骨格が **52** と同じ新規化合物 **quercusnin B (53)** も同様の手法で構造を決定した。この物質は骨格中に窒素を含む初めてのエラジタンニンである。この窒素原子は、**52** の生成過程の最終段階でアンモニアが取り込まれたものと推測される。

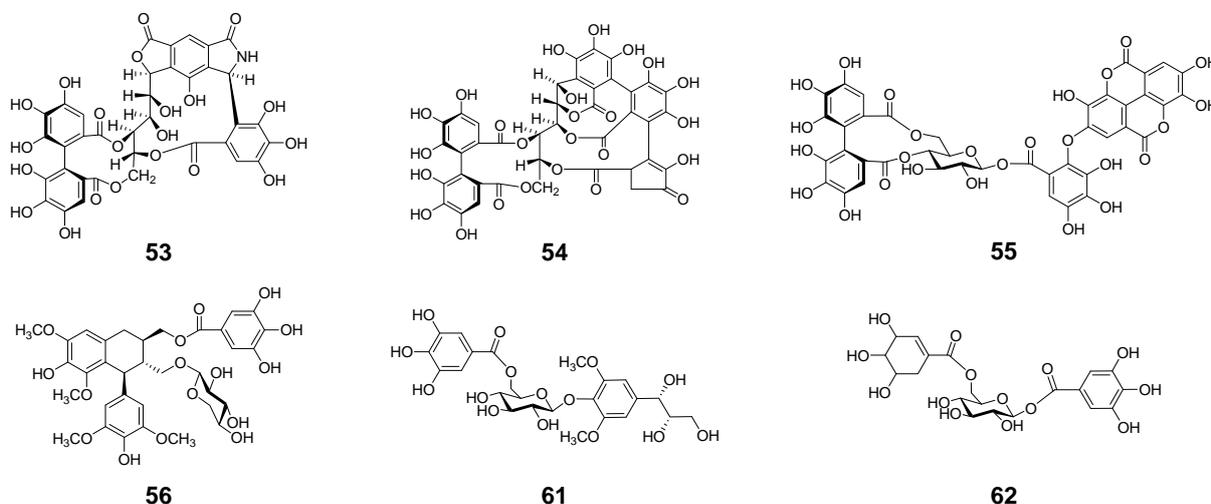


図 6 その他の主な新化合物の構造

その他の主な新化合物の構造を図 6 に示す。化合物 **54** は **vescalagin** の直鎖グルコースの 5 位に結合した芳香環が酸化されて生成したもので、グルコース 1 位に結合した芳香環が酸化されたものは多く報告されているが、5 位の芳香環が酸化されたものはこれまで数種類しか報告されていない²。化合物 **55** は、**valoneoyl dilactone** ユニットを持つエラジタンニンで、ブナ科の材からこのアシル基を持つものが得られたのは初めてである。化合物 **56** は **lyoniresinol** 配糖体の **galloyl ester** で、リグナン部分に直接 **galloyl** 基が結合した化合物はこれまでに無い²。化合物 **61** はフェニルグリセロール配糖体の **galloyl ester** で、NMR などの詳細な比較検討により絶対配置を含めて構造を推定した。また、化合物 **62** はシキミ酸がグルコースに直接エステル結合した極めて稀な化合物である。

[考察]

ミズナラ辺材から全く新しい骨格を持つエラジタンニン 2 種を分離し、スペクトルの詳細な解析と計算化学的手法を駆使して構造を決定した。また、その骨格が菌によるエラジタンニンの代謝により生成することを確認した。関与した菌が植物に内在する菌なのか、材を切断した後に付着した菌なのかは不明であるが、これらの化合物が得られたことは化学生態学的視点から植物抗菌物質と菌類との関係を考える上で重要な知見であるとともに、菌によるタンニンの構造変換の可能性も示唆している。また、辺材から多種のエラジタンニンを分離したことで、人類が古くから利用してきた *Quercus* 属樹木の材における機能性エラジタンニン **1** と **2** について、二量体化、糖との結合、酸化などの代謝に関する知見が得られた。

[基礎となった学術論文]

1. **Omar M.**, Matsuo Y., Maeda H., Saito Y., Tanaka T., *Org. Lett.*, **16**, 1378-1381 (2014).
2. **Omar M.**, Matsuo Y., Maeda H., Saito Y., Tanaka T., *Phytochem. Lett.*, **6**, 486-490 (2013).