

ヌルデ材の成分

—心材のタンニン—

北尾 弘一郎*・荒木 幹夫**

Koichiro KITAO* and Mikio ARAKI**: The Constituents of *Rhus javanica* LINNÉ

—Gallotannin from Heartwood—

ヌルデ (*Rhus javanica* LINNÉ) は本州温暖地山野に多く自生する小喬木である。その葉にヌルデノミフシアブラムシ (*Melaphis chinensis* J. BELL) が寄生することによつてフクロ状の肥厚組織 (五倍子) が生じる。五倍子は多量にガロタンニンを含有し、いわゆるタンニン酸として医薬、インキなどに用いられる。類似樹種の五倍子からも同様のタンニンが得られ、これらのガロタンニンは E. FISCHER¹⁾, K. FREUDENBERG²⁾ らによつてほぼ β -ペンタ-O-m-ジガロイルグルコースに相当する組成ならびに構造をもつものとされてきたが、非結晶性であり、精製が困難であるためになお未詳のところがあるといわれている。

樹皮に切傷をつけると、うるしに似た汁液を流出する。春および夏期の汁液は空気に触れて、ただちに黒色となり、多量のアセトンと処理すると無色粉末の、おそらく多糖類と思われるものを分離する。しかし春期のものでもいわゆるかぶれることはない。秋期の分泌物は黒化することなく、黄かつ色の樹脂状に乾固し、アカシア樹皮から秋期に分泌されるゴム質に外観上は類似している。

材は辺材部無色、心材部は帯緑淡灰色である。著者らは本樹種の抽出成分について研究中であるが、本報では心材中に見出したタンニンに関して記載する。

試料は京都府宇治市京都大学木材研究所構内に自生している樹から抽出したものをを用いた。

材から分離した粗タンニンは淡黄色を呈し、このものからエラグ酸が確認できなかつた。このものをさらに活性炭で処理すると無色のタンニンが得られた。これを5%硫酸で加水分解し、その生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフで分離すると、没食子酸、m-ガロイル没食子酸を単離することができた。また加水分解生成物の薄層クロマトグラフによる検索から、m-トリ没食子酸と思われるものが生成物中に含有されていると考えられたが、これは少量のために分離、確認はできなかつた。また加水分解生成物中の糖類はグルコースのみであり、その存在はペーパークロマトグラフによつて確認した。

また局方タンニン酸とヌルデ心材タンニン、あるいは、それぞれのメチル化タンニンの赤外線吸収スペクトルを比較すると、第1図および第2図で示すようにほとんど差異は認められなかつた。

これらのことから心材タンニンは、おそらく真のガロタンニンかあるいはそれに非常に近い化学構造を有しているであろうと予想できる。ガロタンニンの化学構造はペンタ-m-ジガロ

* 木材化学研究部門, Division of Wood Chemistry, This Institute.

** 京都工芸繊維大学繊維学部, Chem. Lab. of Textile Fibers, Kyoto Univ. of Industrial Arts and Textile Fibers

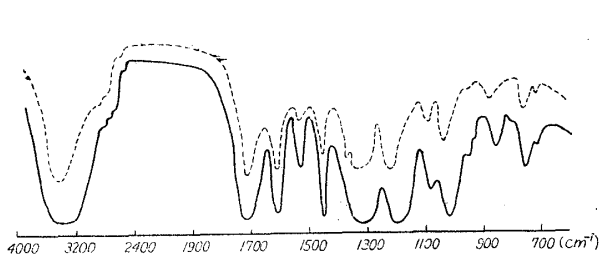


Fig. 1. Infrared Spectra of Tannin from *Rhus javanica* Linné and Tannic acid.

... Tannin from *Rhus javanica* Linne.
— Tannic acid.

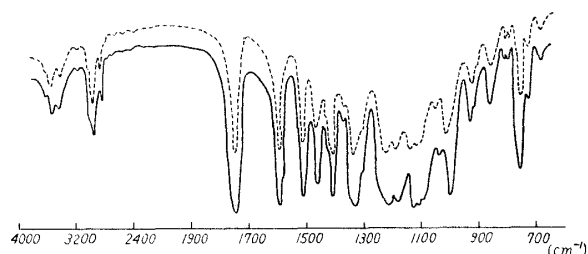


Fig. 2. Infrared Spectra of the Methylated Tannin and Methylated Tannic acid.

... Methylated Tannin.
— Methylated Tannic acid

イルグルコースと考えられてきたが、ARMITAGE³⁾らは近年、この種のタンニンが β -ペンター *O*-ガロイルグルコースを中心に、それに3~4個の没食子酸がデブシド状に結合した構造をもつと報告している。すなわち、 β -ペンター *O*-*m*-ジガロイルグルコースの1~2個のガロイル基が脱離しているという実験結果をえている。さらに逆に *m*-ジガロイル基のほかにトリガロイル基の存在の可能性があると述べている。

これらガロタンニンの構造決定には、ガロタンニンの構造中心となる糖に対する没食子酸の結合量を決定することが必要であり、その定量法には二三の方法がある。著者らは試料タンニンをジアゾメタンで処理し、その完全メチル化物の加水分解生成物の分析から決定しようと試みた。しかし心材タンニンおよび比較対照としてもちいた局方タンニン* をジアゾメタンで数回処理すると、それぞれからメトオキシル基含有量30.8%, 33.9%のメチル化物をえたが、それ以上のメチル基の導入は不可能であつた。また、これらのに IR はなお残存水酸基の存在を示す吸収がみられた。(図2参照)

しかしこのものが、ほぼ一様にメチル化されているとして、各メチル化タンニンをアルカリ加水分解して、生成してくる3, 4, 5-トリ-*O*-メチル没食子酸と3, 4-ジ-*O*-メチル没食子酸との比を測定してタンニン中の *m*-ジガロイル基とガロイル基との比を求めてみた。この比は加水分解生成物をシリカゲル薄層クロマトグラフを利用して両者を分離し、それを比色定量して決定した。その結果メトオキシル基30.8%のメチル化ヌルデ心材タンニンからは3, 4, 5-トリ-*O*-メチル没食子酸5個に対して、約3個の3, 4-ジ-*O*-メチル没食子酸が生成し、メトオキシル33.9%含有の局方タンニン酸からは、同じく5個に対し、約3.5個の3, 4-ジ-*O*-メチル没食子酸が生成した。換言すればヌルデ心材タンニンは *m*-ジガロイル基3個に対し、ガロイル基1個、局方タンニンは *m*-ジガロイル基3.5個に対して1.5個のガロイル基が、それぞれグルコースに結合していることになり、前記 ARMITAGE らの得た結果と数値的に一致して結果をえた。

以上のことから心材タンニンの没食子酸結合量が五倍子タンニン(局方タンニン酸)のそれに比してわずかに小であるという結果を得たが、両者の間に構造上の大きい差異があるとは認められなかつた。しかし同一樹からの心材タンニンと、その五倍子タンニンと比較した場合もそうであるかはなお明らかでない。しかし、材の正規組織からも葉の異常肥厚組織である五倍子に含有される五倍子タンニンとほとんど同一構造のタンニンが見出されたことは、五倍子タ

* 市販局方タンニン中のアセトン可溶物を用いた

ニンが、昆虫の刺戟によつて特異的に生合成されるものでないことを示し興味深いことであるとえられる。

また心材には、かなり多くの遊離の没食子酸が認められた。これはガロタンニンのデブシド結合が容易に切断され则认为られるので、心材中に長く蓄積されているあいだにガロタンニン本体から開裂されてきたものであるとえられる。また材の横断面全面にわたつて塩化第二鉄による暗青色呈色反応を示すことから、心材のみならず、辺材中にもおそらく心材から見だされたと同じタンニンが含有されているとえられる。

なお心材抽出物中のフェノール類ならびに他の成分については別に報告する予定である。

実 験

タンニンの抽出：ヌルデ心材粉末 5kg を温 アセトンで抽出し、低温で濃縮して 350 g のシラップを得た。これに多量のエーテルを加え、エーテル不溶物を多量の冷水で抽出して、その水溶液を低温 (25°C) で濃縮した。この濃縮水溶液を酢酸エチルで抽出し、抽出液を炭酸水素ナトリウム水溶液で充分洗滌したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥後低温で濃縮乾固して粉末状の粗タンニンを得た。これを少量の温水に溶解し、4°C で保存した。数週間後この水溶液にさらに水を加えて希釈したところ多量の樹脂状不溶物が遊離してきたので、これをろ別し、活性炭で処理して無色の水溶液とし、それを前述と同様に酢酸エチルで抽出して、無色粉末状タンニン 5.4 g を得た。

心材中の遊離没食子酸：前述のエーテル可溶部を炭酸水素ナトリウム水溶液で抽出し、その抽出液を塩酸酸性としたのち、エーテルで抽出した。エーテル溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、エーテルを留去して淡黄色粉末 8.5 g を得た。これをシリカゲル G, トルエン：ギ酸エチル：ギ酸 (5:4:1: V/v) の系で薄層クロマトグラフを行なつた結果、これはほとんど純粋な没食子酸であり、またそれを熱水から再結晶さして標品との IR を比較すると完全に一致した。ジメチル硫酸と水酸化ナトリウムとでメチル化するとトリ-O-メチル没食子酸メチル mp 82~83°⁴⁾ が得られ、その IR も標品のそれと一致した。

炭酸水素ナトリウム水溶液で抽出後のエーテル溶液を蒸発乾固して黄かつ色半固状物 30 g をえた。それからベンゼン、ヘキサン可溶物 (脂肪酸エステルなど) および不溶物 (フェノール類など) 20 g を得たが、これらについては別に報告する予定である。

タンニンの硫酸加水分解：本タンニン 7 g に 5% 硫酸 70ml を加え還流煮沸した。10時間ご反応液をエーテルで抽出、エーテル溶液を乾固すれば粉末 3.3 g が得られた。これを前記と同様の薄層クロマトグラフで定性分析したところ、これは多量の没食子酸、*m*-ガロイル没食子酸および少量のおそらく *m*-トリ没食子酸の混合物であることが明らかになつた。なお没食子酸と *m*-ガロイル没食子酸とは標品と同時展開して確認した。エーテル抽出残液を再び10時間煮沸して前回と同様に処理して 0.5 g が得られ、これは薄層クロマトグラフの結果 多量の没食子酸と少量の *m*-ガロイル没食子酸が認められた。さらに次の10時間に 0.4 g 計 4.2 g のこれらの混合物が得られた。また上記加水分解中に樹脂状不溶物 (乾燥すれば黒色) 0.5 g を生じた。

これら加水分解反応の傾向は局方タンニン酸についても同様であつた。

加水分解後の水溶液を炭酸バリウムで中和し、硫酸バリウムをろ別後、Dowex 50W-x8 (H⁺) のカラムを通したのち減圧濃縮し、シラップを得た。これを *n*-ブタノール-ピリジン-水の (10 : 3 : 3, V/v) 展開剤を用いて下降法ろ紙クロマトグラフィーで分析してみるとグルコースのみのスポットをあたえた。(アニリンフタレートで発色)。

加水分解生成物のカラムクロマトグラフィー：上記加水分解生成物 1.5 g を少量のアセトンに溶解し、少量のシリカゲルと混合して乾燥後、それをあらかじめシリカゲル 150 g を充填したカラムの上部に置き、前記薄層クロマトグラフィーと同様の混合溶媒を用いて展開し、約13区分までに没食子酸 0.5 g, 14~21区分に *m*-ガロイル没食子酸 0.4 g を得た。

タンニンのメチル化：タンニン 0.1 g を少量のアセトンに溶解し、ジアゾメタンのエーテル溶液の過剰を加えて一夜放置後、エーテルを留去した。これを2回くり返してメトオキシル基含有量 30.24% のメチル化タンニンを得た。さらしこの操作を3回くり返して最終的にメトオキシル基含有量 30.8% のメチル化タンニンを得た。このメチル化タンニンの IR には水酸基の吸収がみとめられた。局方タンニンも同様に処理してメトオキシル基含有量 33.9% のメチル化物が得られた。このものの IR にも前述心材タンニンのメチル化物と同様に水酸基の吸収がみとめられた。

これはいずれもベンゼンに易溶の無色粉末であつた。

メチル化タンニンのアルカリ加水分解：上記メチル化物 50mg を *N*-メタノール性水酸化カリウム溶液 (含水) 5ml と 3~5 時間煮沸還流して後、水を加えて減圧濃縮し、塩酸酸性として加水分解生成物をエーテルで抽出した。

エーテル水溶液を水洗、乾燥後溶媒を留去して、1ml のギ酸エチル溶液とし、つぎにのべる薄層クロマトグラフの試料とした。

トリ-O-メチル没食子酸と 3, 4-ジ-O-メチル没食子酸との薄層クロマトグラフによる定量：4×20cm のシリカゲル G の薄層面に 13mm 間隔で前記加水分解生成物溶液を付し、クロロホルム-酢酸 (95 : 5, v/v) で展開後、片側を覆つて希過マンガン酸カリウム-硫酸溶液をスプレーしてこの酸の展開位置を確認して、他側のそれに相当する部分を削り取つた。この削り取つた部分を一夜減圧デシケーター中で乾燥後、それに 5ml のメタノールを加えてろ過し、ろ液の 260m μ のにおける吸光度を測定した。この値と、標品について測定した吸光度とから上記二つの酸の量比を決定した。なお、それぞれの標品の薄層クロマトグラフにおける *R_f* および吸光度はつぎのようであつた。すなわち、

$$\begin{aligned} \text{トリ-O-メチル没食子酸 ; } R_f &= \frac{135}{160}, E_{mol}^{lcm} = 9030 \text{ (260m}\mu \text{ において)}, 3, 4\text{-ジ-O-} \\ \text{メチル没食子酸 ; } R_f &= \frac{90}{160}, E_{mol}^{lcm} = 8500 \text{ (260m}\mu \text{ において)} \end{aligned}$$

***m*-ガロイル没食子酸の合成**：FISHER らの方法⁵⁾ によつて合成した。mp 285° (文献値 285°)

3, 4-ジ-O-メチル没食子酸の合成：HASLAM⁶⁾ らの方法によつてメチル 3-ベンゾイルオキシ-4,5-ジメトオキソベンゾアートを合成し、それを加水分解して得た。

3-O-ベンゾイル没食子酸メチル：没食子酸メチルのエーテル溶液 (100ml) に 2.5ml のピリジンと 1.7 g の塩化ベンゾイルとを加え室温で 6 時間放置した。分離してくる油状物質を酢酸エチル溶解し、炭酸水素ナトリウム水溶液で洗滌後、溶媒を留去すると 0.7 g の結晶を得

た。これを水とともに煮沸して可溶物をのぞき、不溶物をろ過後エーテル—ヘキサンから再結晶して mp 183° の結晶を得た。

この融点は表記物質の融点とは一致せず不純物を含有するものと考えられる。

反応混合物のエーテル可溶部を前記と同様に処理してのち、再結晶すると 0.5 g の結晶が得られた。mp 173° (文献値⁶⁾ 172~174°)

メチル 3-ベンゾイルオキシ-4, 5-ジメトキシベンゾアート：3-O-ベンゾイル没食子酸 メチル 0.5 g を 3ml の酢酸エチルに溶解し、過剰のジアゾメタンエーテル溶液を加えて一夜放置後、エーテルを留去すると結晶を得た。これをただちに次の操作に用いた。

3, 4-ジ-O-メチル 没食子酸：前記の ベンゾアートに 1*n* メタノール性水酸化カリウム溶液を 15ml 加えて 2 時間煮沸還流後、反応溶液を塩酸酸性とし、生成物をエーテルで抽出した。エーテル溶液を乾燥後、溶媒を留去して得られる結晶をベンゼンで十分に洗滌して 0.2 g の結晶を得た。mp 193° 温水から再結晶すると無色針状結晶が得られた mp 193° (文献値と一致)。

Rèsumè

From acetone-extractive of the heartwood of *Rhus javanica* L. a tannin was isolated as colorless, amorphous powder in a yield of 0.11 %. Hydrolysis with 5 % sulfuric acid gave glucose, gallic acid and m-digallic acid. Glucose was confirmed by paper chromatography. Gallic and m-digallic acid were isolated by silicic acid column chromatography and identified by comparison with reliable specimen. The tannin was extensively methylated with diazomethane and subjected to hydrolysis with methanolic potassium hydroxide solution. 3, 4-Di-O-methylgallic acid and 3, 4, 5-tri-o-methylgallic acid in the hydrolyzate were analyzed by ultra violet absorption measurement after isolation of each acid with thin-layer technique. The result showed that 3 mols of the former against 5 mols of the latter were present in the hydrolyzate. Same procedures as above were undertaken with a commercial "tannic acid" for comparison, where, 3.5 mols of the former acid was found for 5 mols of the latter acid. The heartwood of *Rhus javanica* contained, beside tannin, free gallic acid which was obtained in a yield of 0.17 %.

文 献

- 1) FISHER, E. and K. FREUDENBERG, Ber., **46**, 1127 (1913), FISHER, E. and M. BERGMANN, ibid., **51**, 176. (1918), FISHER, E. ibid., **52**, 826 (1919).
- 2) FREUDENBERG, K. and W. SCILASI, **55**, 2813 (1922), **56**, 406 (1923).
- 3) ARMITAGE, R. et al., J. Chem. Soc., **1961**, 1842.
- 4) OVERMAYER, C. J., J. Am. Chem. Soc., **49**, 499 (1927).
- 5) FISHER, E. et al., Ber., **51**, 45 (1918).
- 6) HASLAM, E. et al., J. Chem. Soc., **1961**, 1836.