

トドマツ材精油の化学特性とその主要成分ジュバビオンの単離精製の実際について

利用部 バイオマスグループ 関 一人

■はじめに

トドマツ (*Abies sachalinensis*) (図1) は、北海道、サハリン、南千島に天然分布しています¹⁾。また、北海道において最も蓄積の多い樹種であり、人工林、天然林あわせて道内総蓄積の約30%、道内針葉樹蓄積の5割以上、人工林面積は約80万haで、道内人工林面積の5割以上を占めており、従来より有用な針葉樹材資源として認識されています¹⁻³⁾。



図1 トドマツ

道総研 森林研究本部 林産試験場 「道産木材データベース¹⁾」より

トドマツなどのモミ属 (*Abies*) には、おもに心材の主要成分として、基本の化学構造が炭素数15の精油成分・セスキテルペノイドの1種で油状物質であるジュバビオン (Juvabione, 図2 左) が存在することが明らかにされています⁴⁾。余談になりますが、昆虫のホシカメムシ (*Pyrhocoris apterus*) をバルサムファー (*Abies balsamea*) 材の製紙とともに偶然飼育したところ、成虫になれずに繁殖活動を阻害されたため、製紙から単離されたジュバビオンに幼若ホルモン⁵⁾として生理活性のあることが解明されています⁶⁾。また、ジュバビオンが初めて単離される20年以上前の1940年には、王子製紙 (株) の研究者らが、トドマツ材のサルファイト・パルプ製造で副産されるテレピン油中のセスキテルペノイドを鹼化 (脂肪酸エステルをアルカリ加水分解して脂肪酸とアルコールに分解する反応) した際にジュバビオンの類縁体・結

晶化物を初めて得て、トドマツ酸 (Todomatuic acid, 図2 右) と命名しています⁷⁾。

樹木の精油成分には抗菌活性があることが一般に知られています⁸⁾。以前、林産試験場では、トドマツ材のおが粉をきのこ (食用菌) の人工栽培に利用した場合に収量が低下する原因について調査しています。その結果、トドマツ材からのヘキササンなどの有機溶媒抽出物や精油に含まれるジュバビオンが、きのこ菌糸の成長阻害活性⁹⁻¹³⁾や、さらには食用菌以外の木材腐朽菌¹⁴⁾や芝生病原菌¹⁵⁾に対する抗菌活性を有することを、初めて明らかにしています。

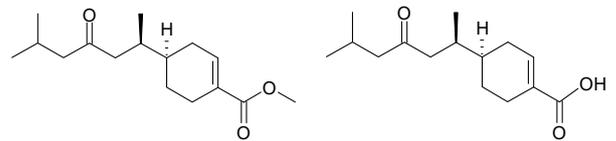


図2 ジュバビオン (左), トドマツ酸 (右) の化学構造式

化学式: 図 (左) $C_{16}H_{26}O_3$, 図 (右) $C_{15}H_{24}O_3$

これまでに林産試験場では、北海道産樹木の材・樹皮・葉における化学成分を精査するとともに、その利用に関して取り組んできました。最近では、シラカンバ外樹皮に含有する結晶性物質であるベツリンの実験室的な単離精製の実際について紹介してきました¹⁶⁾。一方、ジュバビオンは結晶性を有しない油状物質で、現在、試薬として一般の市販がなされていません。既往の報告では、モミ属の材からの石油エーテル抽出物⁴⁾や精油¹⁴⁾からの単離方法が簡便に記載されていますが、それら始発物の化学特性については明記されていません。ここでは、トドマツ材の有機溶媒抽出物よりも比較的の不純物が少なく成分分離の容易な、精油の化学特性およびジュバビオンの単離精製の実際について紹介します。

■木材粉碎物からの熱水蒸留法による精油の採取

トドマツのチップ材から電動式粉碎機を用いて5mm以下の粉碎物を得ました。以前紹介した方法¹⁷⁾と同様に、熱水蒸留法を用いて、トドマツ材の粉碎

物から精油を採取しました。具体的には、2Lのナス型フラスコに250 g程度の粉碎物と1.5 Lの蒸留水を入れて、6時間加熱し、0.7 mL程度の薄黄色の精油を得ました（図3）。これを数回繰り返して、合計で5 mL程度の精油を得ました。トドマツ材の粉碎物から採取された精油は、おもに花や葉から得られる事業用の精油¹⁷⁾とは異なり、華やかさの無い重い香りでした。

得られた精油は、約5倍量のジエチルエーテルに溶解し、20 g程度の硫酸ナトリウムを添加して、かく拌・静置をしたのち3日間ほどかけて脱水を試みました。その後、ろ過により硫酸ナトリウムを分離しました。脱水した精油・ジエチルエーテル溶液をナス型フラスコに入れ、ロータリー・エバポレーターを用いて加熱・減圧濃縮し、ジエチルエーテルを除去しました。

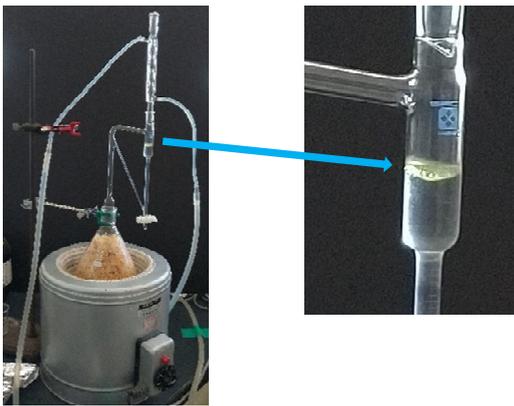


図3 トドマツ材・粉碎物からの精油の採取（熱水蒸留法）

■ガスクロマトグラフ質量分析計によるトドマツ材精油成分の定性分析見出し

トドマツ材精油の化学特性を調べるために、ガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）を用いて、既往の分析条件¹⁸⁾で検討を行いました。得られた結果（図4）における各ピークのマススペクトル値をNIST（National Institute of Standards and Technology：米国国立標準技術研究所）のライブラリで検索した結果、トドマツ材精油には、炭素数10のモノテルペノイドはほとんど無く⁹⁾、14種のセスキテルペノイドの存在が推定され（ピーク15は炭素数20のジテルペノイド）、ジュバビオン（図4のピーク13）が主要成分であることが分かりました。

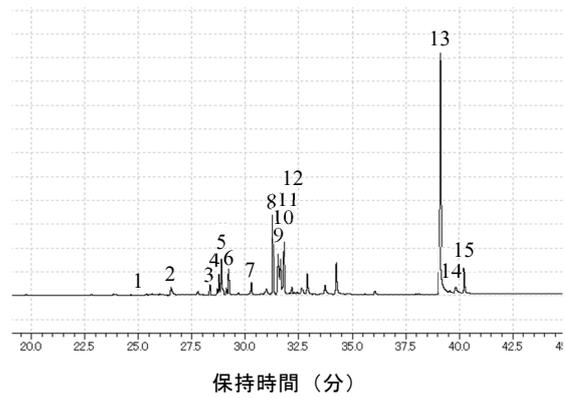


図4 ガスクロマトグラフ質量分析によるトドマツ材精油のトータルイオンクロマト

- 1 : α -Gujunene, 2 : Vestitenone, 3 : α -Muurolene,
- 4 : Calamenene, 5 : δ -Cadinene, 6 : α -Calamenene, 7 : Gleenol,
- 8 : epi-Cubenol, 9 : t-Cadinol, 10 : α -Cadinol, 11 : Cadalene,
- 12 : α -Atlantone, 13 : Juvabione, 14 : Dehydrojuvabione,
- 15 : 13-Epimanol

■シリカゲルクロマトグラフィーによるトドマツ材の精油成分の分離および分離状況

ジュバビオンを単離精製するために、ガラスカラム（図5 左、内径5×高さ30 cm）に500 mLのシリカゲル（粒径10 μ m）を既往の報告¹⁴⁾に準じて展開溶媒（ベンゼン：酢酸エチル、体積比50：1）とともに充填して、上部に精油（5 mL程度）を展着させ、下部に向けて溶出し（流速10 mL/分）、100 mLずつ三角フラスコで分取しました（図5 左）。



図5 シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精油成分の分離（左）、シリカゲル薄層クロマトグラフィーによる分離状況の確認（右）

図（左）：精油をカラム上部に展着して有機溶媒で下方に溶出させて分取する、図（右）：ヨウ素雰囲気下にて発色させた、分取物 No. 13, 14 にジュバビオンが分離されている（矢印）

シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる、トドマツ材の精油成分の分離状況を簡易に確認するために、得られた各100 mLの分取物について、シリカゲル薄層クロマトグラフィー (TLC) を用いて検索を行いました。展開溶媒はシリカゲルカラムクロマトグラフィーと同様のベンゼン：酢酸エチル（体積比 50：1）を用いました。結果を既往の報告⁹⁾と比較したところ、特定の分取物にジュバビオンが分離されていることが推定されました（図5 右）。さらに純度を高めるために、当該分取物のシリカゲルカラムクロマトグラフィーの操作を繰り返しました。



図7 高純度に精製されたジュバビオン

ナス型フラスコ下部でジュバビオンの油状物質が見られる

これらシリカゲルクロマトグラフィーを用いる実験で最も重要なこととして、事前に、試料を硫酸ナトリウムなどで、シリカゲルを乾燥機などで、溶出溶媒をモレキュラーブなどで、徹底して脱水する操作が、成分分離精度の格段の向上につながります。

■ガスクロマトグラフ質量分析計によるジュバビオンの単離精製の状況

シリカゲルカラムクロマトグラフィー（図5 左）による、分取物No.13および14の再精製物について、ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて確認したところ、極小ピークを伴うものの、ジュバビオンの大きなピークが確認されました（図6）。さらに、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（図5 左）を繰り返すことにより、純度のさらなる向上を図ることが可能と考えられます（図7）。

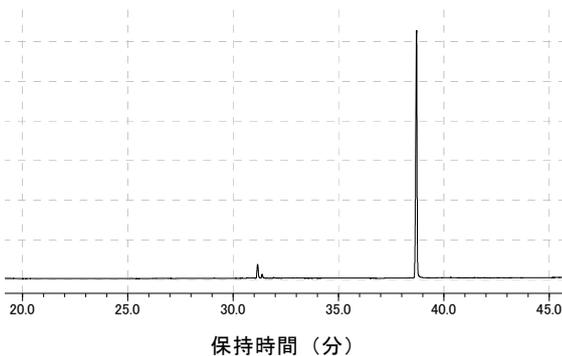


図6 ガスクロマトグラフ質量分析によるジュバビオンの精製状況

保持時間 31 分付近に極小ピークが存在するものの、同 38.7 分付近にジュバビオンの大きなピークが存在する

■おわりに

北海道のトドマツ高齢級人工林において多発する、カイメンタケ (*Phaeolus schweinitzii*) などによる根株心腐病やナラタケ類 (*Armillariella spp.*) によるならたけ病に起因する木部組織の被害は、木材としての経済的価値を著しく損ないます^{19,20)}。一方、樹病耐性に関するトドマツの林木育種に向けて、いくつかの精英樹家系のトドマツ材のヘキササン抽出物が、強力な木材腐朽菌である、褐色腐朽菌のオオウズラタケ (*Fomitopsis palustris*) および白色腐朽菌のカワラタケ (*Trametes versicolor*) などに対しての抗菌活性が示されています²¹⁾。また、同抽出物の主要成分はジュバビオンであることから同成分が抗菌活性の主要因であることが推定されています²¹⁾。そのため、これまで述べてきたトドマツ材精油の化学特性およびジュバビオンの単離精製に関する情報については、今後、木材腐朽菌対策に向けた、トドマツ材中の抗菌活性物質であるジュバビオンなどを指標とした遺伝育種分野への応用が期待されます。

■参考文献

- 1) 林産試験場：道産木材データベース, <https://www.hro.or.jp/forest/research/fpri/koho/default/doumoku-index.html> (2007)。(閲覧日 2024 年 12 月 2 日)
- 2) 北海道：令和 4 年度 (2022 年度) 北海道林業統計, <https://www.pref.hokkaido.lg.jp/sr/sum/kcs/rintoukei/04rtk.html> (2024)。(閲覧日 2024 年 12 月 2 日)
- 3) 北海道：令和 5 年度 (2023 年度) 北海道森林づくり白書 (2024)。

- 4) Manville JF, Kriz CD : *Canadian Journal of Chemistry* **55** (13), 2547–2553 (1977) .
- 5) 大橋和典 : 植物防疫 73 (7), 461–464 (2019) .
- 6) Bowers WS, Fales HM, Thompson MJ, Uebel EC : *Science* **154**, 1020–1021 (1966) .
- 7) 土橋力也, 榛澤 亨 : 日本化学会誌 61 (10), 1041–1047 (1940) .
- 8) 岡村大悟, 鮫島正浩, 谷田貝光克 : 木材保存 **28** (69), 224–235 (2002) .
- 9) 米山彰造, 富樫 巖, 本間千晶, 青山政和 : 林産試験場報 **3** (3), 16–22 (1989) .
- 10) Yoneyama S, Togashi I, Oikawa H, Aoyama M : *Mokuzai Gakkaishi* **36** (9), 266–273 (1990) .
- 11) 米山彰造 : 林産試だより, 3 月号, 10–17 (1991) .
- 12) 米山彰造 : 林産試だより, 10 月号, 6–12 (1992) .
- 13) 米山彰造, 富樫 巖, 瀧澤南海雄 : 林産試験場報 **6** (2), 6–14 (1992) .
- 14) Aoyama M, Togashi I, Yoneyama S, Doi S : *Journal of Antibacterial and Antifungal Agents* **19** (9), 463–465 (1991) .
- 15) Aoyama M, Doi S : *Mokuzai Gakkaishi* **38** (1), 101–105 (1992) .
- 16) 関 一人 : 林産試だより, 5 月号, 1–3 (2023) .
- 17) 関 一人 : 林産試だより, 10 月号, 6–7 (2010) .
- 18) Seki K, Orihashi K, Saito N, Kita K, Nakata K : *Journal of Forest Research* **24** (5), 292–302 (2019) .
- 19) 徳田佐和子 : 光珠内季報 **134**, 1–4 (2004) .
- 20) 徳田佐和子 : 林業試験場報告 **49**, 35–88 (2012) .
- 21) Takashima Y, Tamura A, Nosedo N, Tanabe J, Makino K, Ishiguri F, Habu N, Iizuka K, Yokota S : *Journal of Wood Science* **61** (2), 192–198 (2015) .