

山形大学紀要（農学）第19巻 第1号：27-45. 令和4年1月
Bull. Yamagata Univ., Agr. Sci., 19(1) : 27-45 Jan. 2022

落葉性針葉樹葉のヘキササン抽出成分について

高橋孝悦*・斉藤正一*・楠本倫久**・森川卓哉**,* **・芦谷竜矢*

*山形大学農学部食料生命環境学科

**森林研究・整備機構森林総合研究所森林資源化学研究領域

***群馬大学大学院理工学府分子化学部門

(令和3年9月2日受付・令和3年11月17日受理)

n-Hexane extractives of deciduous conifer leaves

Koetsu TAKAHASHI*, Shoichi SAITOU*, Norihisa KUSUMOTO**,
Takuya MORIKAWA**,* ** and Tatsuya ASHITANI*

*Department of Food, Life, and Environmental Sciences, Faculty of Agriculture, Yamagata University, Tsuruoka 997-8555, Japan

**Department of Forest Resource Chemistry, Forestry and Forest Products Research Institute, Tsukuba 305-8687, Japan

***Division of Molecular Science, Graduate School of Science and Technology, Gunma University, Kiryu 376-8515, Japan

(Received September 2, 2021 · Accepted November 17, 2021)

Summary

The leaf *n*-hexane extracts (neutral and acidic fractions) in deciduous conifer (Ichou : *Ginkgo biloba*, Metasequoia : *Metasequoia glyptostroboides*, Rakuushou : *Taxodium distichum*, Pondsypress : *Taxodium ascendens*, Suishou : *Glyptostrobus pennis*, Karamatsu : *Larix leptolepis*) were analyzed by GC and GC-MS comparing with five evergreen conifer leaves.

The results of the six deciduous conifers, the main constituents in the neutral fraction of Ichou were two unknown diterpenes, and two unknown hydrocarbons. Palmitic acid was also found in the acidic fraction. The main constituents in the neutral fraction of Metasequoia were α -pinene and 3-carene for monoterpenes, caryophyllene for sesquiterpene. The main constituent in the acidic fraction were palmitic acid and an unknown compound for fatty acids, and *trans*-communic acid and two unknown compounds for diterpene carboxylic acids. The main constituents in the neutral fraction of Rakuushou were α -pinene for monoterpene, caryophyllene and germacrene-D for sesquiterpenes, and two unknown diterpenes. The main constituent in the acidic fraction were palmitic acid, and *trans*-communic acid and two unknown compounds for diterpene carboxylic acids. The main constituents in the neutral fraction of Pondsypress were α -pinene and limonene for monoterpenes, caryophyllene, germacrene-D and an unknown compounds for sesquiterpene, and four unknown diterpenes. The main constituent in the acidic fraction were palmitic acid and an unknown compound for fatty acids, and *trans*-communic acid and five unknown compounds for diterpene carboxylic acids. The main constituents in the neutral fraction of Suishou were α -pinene, 3-carene and limonene for monoterpenes, caryophyllene and an unknown compound for sesquiterpenes, and four unknown diterpenes. The main constituent in the acidic fraction were palmitic acid for fatty acids, and three unknown compounds for diterpene carboxylic acids. The main constituents in the neutral fraction of Karamatsu were α -pinene, sabinene, 3-carene, limonene and bornyl acetate for monoterpenes, germacrene-D and hydroxygermacrene for sesquiterpenes. The main constituent in the acidic fraction were palmitic acid and an unknown compound for fatty acids, and five unknown compounds for diterpene carboxylic acids.

The cluster analysis was carried out by using Ward's method on the 36 major constituents found in neutral and acidic fraction. The results suggested that the all deciduous conifers had a near relationship without Ichou (*Ginkgo biloba*).

Key words : Cluster analysis, deciduous conifer, leaves, *n*-hexane extractives, terpenoids

I. はじめに

樹木は維管束植物 (Tracheophyta) の種子植物 (Spermatophyta) に属する裸子植物と被子植物の高木 (Tree) となる一群とされている。そのうちの裸子植物門 (Gymnospermae) に属する樹木を「針葉樹」、被子植物門 (Angiospermae) に属する樹木を「広葉樹」と呼んでいる。裸子植物門 (700種) にはソテツ類 (90種)、イチヨウ類 (1種)、針葉樹類 (540種)、マオウ類 (70種) があり、ソテツ類は幹が軟木質で木材とならないことやマオウ類は低木にしかならないことから樹木の対象にはなっていない。このため、イチヨウ類と針葉樹類が針葉樹 (Conifer) の対象とされている。また、被子植物門の単子葉類 (5万種) も木部を形成しないことから、双子葉類 (20万種) の中の木部を形成し高木となるものを広葉樹と呼んでいる¹⁾。

針葉樹は常緑のものがほとんどであるが、一部に秋に落葉するものがみられる。これを落葉性針葉樹 (Deciduous conifer)、あるいは落葉針葉樹と呼んでいる。この落葉性針葉樹は樹種も少なく、イチヨウ科のイチヨウ属 (*Ginkgo*: 1種)、スギ科 (ヒノキ科スギ亜科) のメタセコイア属 (*Metasequoia*: 1種)、ラクウショウ属 (*Taxodium*: 3種)、スイショウ属 (*Glyptostrobus*: 1種)、マツ科のカラマツ属 (*Larix*: 11種)、イヌカラマツ属 (*Pseudolarix*: 1種) などに限られている。ただ、常緑の針葉樹にも落葉はみられ、マツなどの針葉はだいたい3年目にはすべて落葉し、当年生、1年生、2年生の針葉を付けているのが一般である。スギなどの常緑針葉樹も3年以上になると葉緑素が無くなり、褐色に変化し樹皮化するものがほとんどである。

イチヨウの葉の成分については古くからよく研究されている。イチヨウの葉をエタノールやアセトンなどで抽出し、イチヨウ葉エキスなどとして用いられている。抗酸化作用や血圧上昇抑制作用、血糖上昇抑制作用、はたまた脳梗塞や動脈硬化の予防効果もあるとされている。フラボノイド類を多く含み、ピフラボン、フラボノール、フラボンなどとその配糖体で、種類も豊富である。さらに、テルペノイドとしては「龍型構造」を持つジテルペンの ginkgolide A, B, C、セスキテルペンラクトンの bilobalide などが有名である。この他にも癌細胞の増殖抑制作用があるとされるアルキルフェノール類の ginkgolic acid も含まれている^{2,3)}。

メタセコイアについては生きた化石とも言われ、中生代白亜紀や新生代第三期の地層から化石としてよく見つかる樹木である。生きた化石と言われる由縁はご存知のように、戦後まもない1946年に中国で再発見されたことからこう呼ばれている。元々は戦前の1941年に三木茂が関西地方の第三紀層の植物化石を調べているときに、セコイアに似た葉の形を持つ落葉性の植物として発見されたものである。中国では「水杉」、スイサンと呼ばれていたが、それがすでに絶滅した種とされていた「メタセコイア」であったことになる。中国で発見されたメタセコイアの種子がアメリカや日本をはじめ世界各地に送られ、今では世界各地で植栽されている。日本でも保存会が作られ、「アケボノスギ」とも呼ばれている⁴⁾。

メタセコイアの抽出成分についての研究は多くが心材の成分を扱ったもので、メタセコイアを特徴づける多様なノルリグナン型のフェノール性成分が発見されている^{5,6)}。心材以外にも球果や種子の成分や葉のフラボノイド類について扱ったものはあるが、テルペン類についての報告は少ない⁷⁾。球果については、Bajpaiらはその精油にはモノテルペン類の α -pinene、 α -thujene、 δ -3-carene、 β -pinene、bornyleneが、セスキテルペン類の β -caryophyllene、 α -humulene、caryophyllene oxideが、ジテルペン類の totarol および totarol acetate などが含まれることを報告している⁸⁾。また、種子の精油には、大量の α -pinene が含まれていることを報告している⁹⁾。

ラクウショウ属についてはラクウショウ (*Taxodium distichum*) についての報告が多くみられる。心材についてはジテルペン類の nezukol、ferruginol、manoolなどが¹⁰⁾、枝の心材についてはノルリグナン類の hinokiresinol や agatharesinol などが報告されている¹¹⁾。球果についてはよく研究されており、ジテルペンキノンの taxodione、taxodone、taxoquinone が単離され¹²⁾、アビエタン型ジテルペン類の taxodistine B、taxodal など、多くの新規化合物が報告されている¹³⁻¹⁶⁾。また、モノテルペン類は α -pinene および limonene、セスキテルペン類は caryophyllene oxide が主要成分として報告されている¹⁷⁾。詳しくは楠本の総説を参考にされたい¹⁸⁾。

同じラクウショウ属のボンドサイプレスについては十分な研究がなされていないようである。特に、針葉についてはラクウショウもそうであるが、落葉することから、試料を入手する時期が限られていること、春の新葉から秋の成熟葉と成長過程があることなどから報告例が少な

いように思われる。

スイショウについてはSimoneitらが樹脂、木部、枝葉、球果などの分析を行い、モノテルペンやセスキテルペンはほとんどみられず、アビエタン型、ピマラン型、ラブダン型の数多くのジテルペンとトリテルペンを報告している¹⁹⁾。また、カナダの湖から採取した堆積物と比較して、これらの成分がバイオマーカーとして使用できる可能性を示している²⁰⁾。材油については、ベトナムのSchmidtらがdihydroeudesmol isomer、cedrol、occidentalol、elemol、 α -cedreneなどの20種類のセスキテルペンとラブダン型ジテルペンのmanoolを報告している²¹⁾。樹皮からはXiongらがスピロビフラボノイドのspiropensilisol A、Bを報告している²²⁾。このようにスイショウの葉の成分について分析した報告例はないようである。

カラマツについては、三木らは心材フェルール性成分について調べ、taxifolin、katsuranin、quercetin、kaempferolなどのフラボノイド類やlariciresinolなどのリグナン類を報告している²³⁻²⁶⁾。笹谷らは樹皮のフェノール性成分について詳しく調べ、catechin、lariciresinol、lariciresinol-*p*-coumarate、isolariciresinol、lariciresinol monoacetate、isolariciresinol mono-*p*-coumarate、1, 2-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-propane-1, 3-diolなどを報告している²⁷⁾。野村らは当年生枝の葉のフラボノイドについて詳しく調べ、生長期の葉をメタノール抽出し、メタノール抽出物を1/2NHClに溶解し、その酢酸エチル可溶部を分析している。単離したkaempferol-3-O-glucosideがアベナの生長抑制作用を示すことを報告している²⁸⁾。Kaempferol-3-O-glucosideの他にもtaxifolin、catechin、epiafzelechinなどを加え、部位や季節、傷害による成分の変動について報告している²⁹⁻³⁵⁾。ただ、心材、樹皮、葉についてのテルペノイドについての報告は少ない。

以上のことから、落葉性針葉樹の葉の研究の全般的に言えることは、葉は春に開葉を始め秋にかけて成熟し、冬の到来とともに落葉することから、葉の成分も変化することが予想され、常緑針葉樹の葉のように安定的に試料を採取することが困難なため、葉を分析対象にすることが少ないようである。このことが落葉性針葉樹の葉の分析例を少なくしている。また、落葉性針葉樹の葉は常緑針葉樹に比べて精油成分も少なく、利用上の対象になっていないことから、落葉性針葉樹の葉のテルペノイド成分の分析が行われない一つの要因になっていると考え

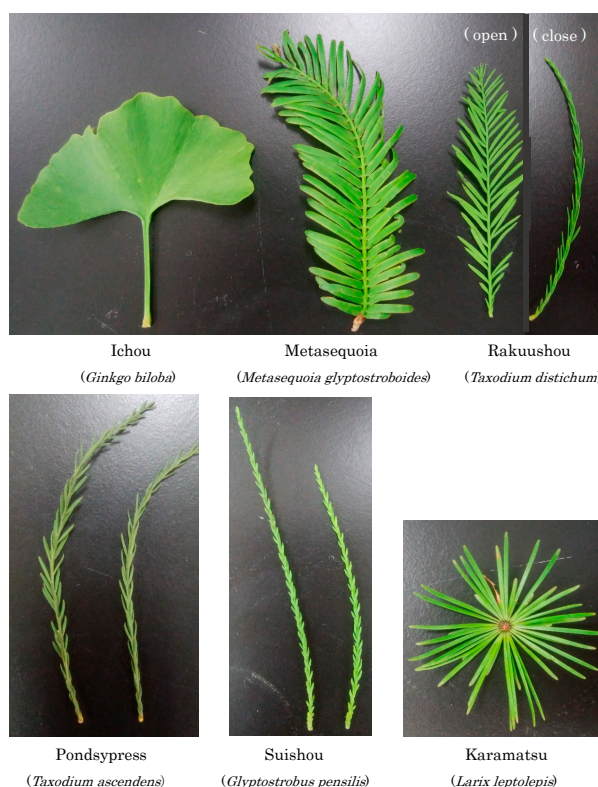


Photo 1 Leaves of deciduous conifers

られる。

今回は入手できた落葉性針葉樹（写真1）のイチヨウ（*Ginkgo biloba*）、メタセコイア（*Metasequoia glyptostroboides*）、ラクウショウ（*Taxodium distichum*）、ポンドサイプレス（*Taxodium ascendens*）、スイショウ（*Glyptostrobus pensilis*）、カラマツ（*Larix leptolepis*）の葉成分をそれぞれ比較しながら、その特徴を明らかにしたい。なお、昨年クロベ（*Thuja standishii*）、スギ（*Cryptomeria japonica*）、ヒバ（*Thujopsis dolabrata* var. *hondae*）、ヒノキ（*Chamaecyparis obtusa*）、コウヤマキ（*Sciadopitys verticillata*）の葉成分を分析し、報告している³⁶⁾ことから、常緑針葉樹との比較も行うこととした。

Ⅱ. 試料及び実験方法

1. 試料

イチヨウ（*Ginkgo biloba*）は、山形県鶴岡市羽黒町赤川地内から1個体（Ichou J：2020年8月24日採取）、同県同市櫛引地区から1個体（Ichou Kus：2020年10月2日採取）、同県同市若葉町地内から1個体（Ichou N：2020年9月30日採取）の計3個体を、メタセコイア（*Metasequoia glyptostroboides*）は、山形県鶴岡市若葉町地内から2個体（Metasequoia N：2020年8月24日採取、Metasequoia

N2：2020年9月30日採取）、同県同市櫛引地区から1個体（*Metasequoia* Ku：2020年9月27日採取）の計3個体を、ラクウショウ（*Taxodium distichum*）は、山形県鶴岡市若葉町地内から3個体（Rakuushou N：2020年8月24日採取、Rakuushou N、N2：2020年9月30日採取）を、ポンドサイプレス（*Taxodium ascendens*）は、茨城県つくば市松の里の森林総合研究所内の1個体（Pondosaipresu SS：2020年10月26日採取）と大阪府交野市私市の大阪府立大学附属植物園内の1個体（Pondosaipresu OS：2020年10月9日採取）の計2個体を、スイショウ（*Glyptostrobus pensilis*）は、大阪府交野市私市の大阪府立大学附属植物園内の3個体（Suishou OS1、2、3：2020年10月12日採取）を、カラマツ（*Larix leptolepis*）は、

山形県朝日町齊藤地区の2個体（Karamatsu Sa1、2：2020年9月30日採取）を、それぞれ使用した。

2. 抽出

試料の抽出は前報³⁶⁾と同様に行い、中性部と酸性部を得た。

3. 酸性部の分画

前報³⁶⁾と同様に行い、酸性部を得た。内部標準物質としては0.1%ベラトルム酸酢酸エチル溶液を使用した。

4. メチル化

前報³⁶⁾と同様に行い、トリメチルシリルジアゾメタンを用いて、メチル化した。

5. GC分析

前報³⁶⁾と同様の分析条件で行い、島津GC-2014を用

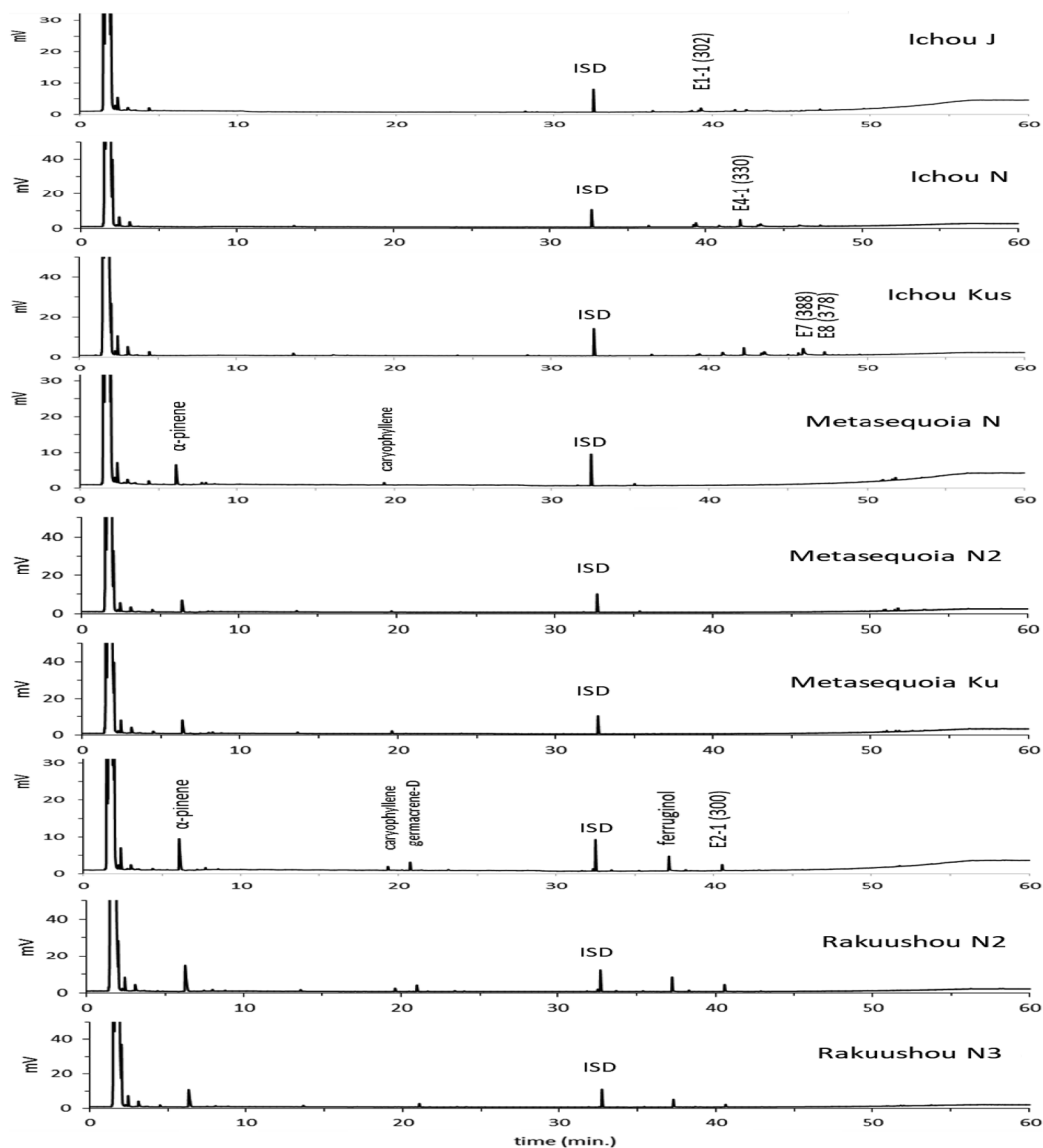


Fig. 1-1 GC of *n*-hexane extracts (neutral fraction) in the leaves of deciduous conifers

い、キャピラリーカラムはHP5系 (SH-Rtx-5MS) を使用した。

6. GCMS分析

前報³⁶⁾と同様の分析条件で行い、島津GCMS-QP 2010Ultraを用い、キャピラリーカラムはHP5系 (SH-Rtx-5MS) を使用した。

7. 化合物の確認と標準物質

前報³⁶⁾と同様、化合物の同定及び推定は、標品を用いて行うと共にガスマスによるシミラリティー検索により行った。標品から確認できたものを同定とし、その他のものについては推定とした。標準物質としてはヘネイコサン (0.1mg/ml酢酸エチル溶液) とベラトルム酸 (0.1mg/mlメタノール溶液) を使用した。

8. クラスタ解析

前報³⁶⁾と同様、成分の類似性に関する分析は、データ数が少ないため、得られたデータを正規化せず、平方距離を用いたウォード法により面積比をもちいて解析し樹

系図に示した。

Ⅲ. 結果及び考察

1. 落葉性針葉樹葉ヘキサン抽出成分 (中性部) の比較

6樹種16個体 (イチヨウ (3)、メタセコイア (3)、ラクウショウ (3)、ポンドサイプレス (2)、スイショウ (3)、カラマツ (2)) のGC分析 (Fig. 1) とGCMS分析 (Fig. 7) を行うと、5-10分付近にモノテルペンの α -pinene, sabinene, 3-carene, limoneneの4成分が、15-25分付近にモノテルペンアセテートとセスキテルペンのbornyl acetate, caryophyllene, germacrene-D, hydroxygermacrene, unknownの5成分が、35-50分付近にジテルペンと炭化水素の未同定の8成分がそれぞれ分離良く確認できた。

イチヨウは、モノテルペン、セスキテルペンがほとんどみられず、40分以降にジテルペンや炭化水素が僅かに存在するだけで、全体的にヘキサンで抽出される成分は

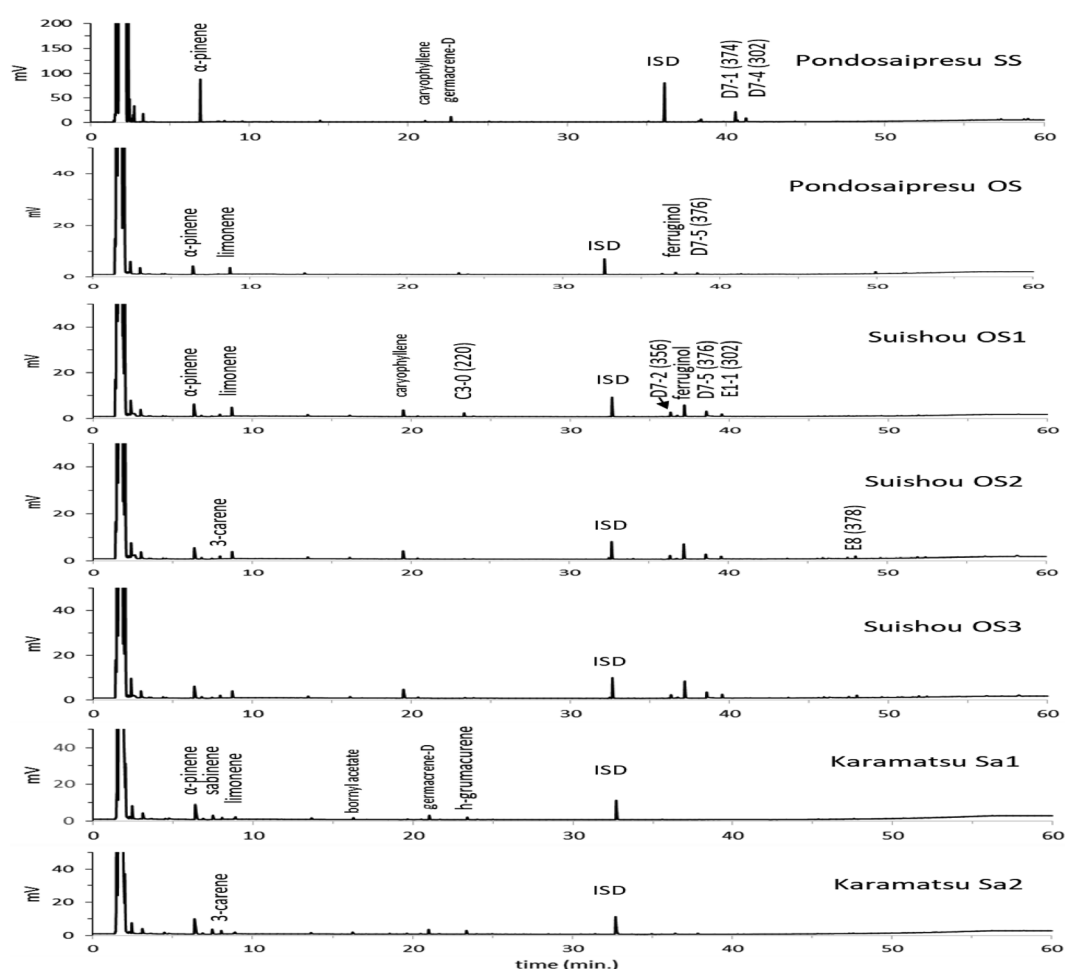


Fig. 1-2 GC of *n*-hexane extracts (neutral fraction) in the leaves of deciduous conifers

少なかった。

メタセコイアは、モノテルペンの α -pineneが顕著にみられるが、3-careneは少なく、セスキテルペンのcaryophylleneが僅かに存在するだけで、ジテルペンやリグナンなども全くみられなかった。

ラクウショウは、モノテルペンの α -pineneだけが顕著にみられるが特徴的であった。セスキテルペンはcaryophylleneとgermacrene-Dは僅かではあるがどの個体にもみられた。また、ferruginolと未同定のジテルペンが存在していた。

ポンドサイプレスは、モノテルペンでは α -pineneとlimoneneが顕著にみられた。セスキテルペンはcaryophyllene、germacrene-Dと未同定化合物が僅かではあるがどの個体にもみられた。また、ferruginolと未同定の3つのジテルペンが存在していた。

スイショウは、モノテルペンでは α -pinene、3-carene、limoneneの3成分がみられた。セスキテルペンではcaryophylleneが比較的多くみられ、未同定化合物も僅かにみられた。また、ferruginolと未同定の3つのジテ

ルペンと1つの炭化水素が存在していた。

カラマツは、モノテルペンでは α -pinene、sabinene、3-carene、limoneneの4成分がみられた。モノテルペンアセートのbornyl acetateもみられた。セスキテルペンではgermacrene-D、hydroxygermacreneの2成分がみられた。また、ジテルペンは認められなかった。

このように、落葉性針葉樹の葉のヘキサン抽出成分は常緑針葉樹と比べて、全体的には含有量も構成も少ないことが特徴と言えそうである。ただ、モノテルペンの α -pineneは含有量が多い傾向を示した。

2. 落葉性針葉樹葉ヘキサン抽出成分（中性部）の個体間の比較

次に、各樹種の個体間の比較を行った。イチョウは、各成分の含有量が少なく、4成分の構成が明らかに異なる個体は認められなかった。

メタセコイアは、モノテルペンの α -pineneの含有量が多いが、いずれの個体も多く存在し、個体間の相違は認められなかった。

ラクウショウは、モノテルペンの α -pineneの含有量が

Table 1 Constraction of *n*-hexane extractives (neutral fraction) in the leaves of deciduous conifers

P.Name	R.Time	M+	Compound	I or E	Ichou J	Ichou N	Ichou Kus	Metase N	Metase N2	Metase Ku	Rakuu N	Rakuu N2	Rakuu N3	Pondo SS	Pondo OS	Suishi OS1	Suishi OS2	Suishi OS3	Kara Sa1	Kara Sa2
1 A0	5.696	136	Tricvclene	E																
2 A1	5.954	136	α -Pinene	I				0.8844	0.9585	1.1446	1.6362	2.1078	1.5290	0.7985	0.7783	0.9324	0.9160	0.8602	1.1611	1.1741
3 A2	6.901	136	Sabinene	I															0.2367	0.2775
4 A3	7.505	136	β -Myrcene	I																
5 A3-1	7.778	136	3-Carene	I				trace	trace	trace						trace	0.1181	0.1097	trace	0.1483
6 A4	8.342	136	Limonene	I											trace	0.4387	0.4862	0.3845	0.3271	0.1097
7 A5	9.084	136	γ -Terpinene	I																
8 A6	10.425	152	Fenchone	E																
9 B1	14.023	196																		
10 B1-1	14.079	154																		
11 B2	14.965	154																		
12 B3	15.752	196	Bornyl acetate	E															0.1100	0.1130
13 B4	17.219	(181)	α -Terpinyl acetate	E																
14 C0	19.108	204	Caryophyllene	I				trace	trace	0.1822	0.1345	0.1629	trace	trace	trace	0.4552	0.6342	0.6035		
15 C1	20.515	204	Germacrene-D	E							0.2742	0.3159	0.1940	0.1318	trace				0.2235	0.2387
16 C1-1	21.848	204																		
17 C1-2	22.138	222	Cubehol	I																
18 C2	22.295	204	Elemol	I																
19 C3	22.867	222	Hydroxygermacrene	I																
20 C3-0	23.346	220																	0.1340	0.1991
21 C3-1	23.556	222													0.1316	0.2032	trace	trace		
22 C4	24.699	222	oor β -Eudesmol	E																
23 C5	25.029	222	Hedycarvol	E																
24 C6	28.451	272	Rimuene	I																
25 D1	30.016	272	Sclarene	I																
26 D2	30.135	272	Hibaene	I																
27 D3	30.871	272	Dolabradene	I																
28 D4	31.439	272	Iso-kaurene	E																
29 D5	32.191	272	Kaurene	I																
30 D6	33.797	290	Nezukol	I																
31 D7	36.945	286	Semperviol	E																
32 D7-1	36.963	374																		
33 D7-2	37.000	356													0.2934		0.2383	0.2109	0.1813	
34 D7-3	37.155	286	Ferruginol	I							0.5212	0.6367	0.3978		0.1531	0.6557	0.9534	0.9116		
35 D7-4	37.555	302												0.1042						
36 D7-5	38.573	376													0.1125	0.3263	0.2823	0.3062		
37 D8	38.578	(271)																		
38 E1	39.153	374																		
39 E1-1	39.297	302			0.2664	0.2391	trace									0.1189	0.1351	0.1758		
40 E2	40.357	344																		
41 E2-1	40.519	300									0.2182	0.3102	0.1312							
42 E3	41.941	388																		
43 E4	42.214	358																		
44 E4-1	42.193	330			trace	0.4546	0.2446													
45 E5	43.416	342																		
46 E6	43.736	328	Sciadin	I																
47 E7	45.947	388			trace	0.2608	0.2268													
48 E8	47.567	378			trace	trace	0.3504													
49 F1	50.697	354																		
50 F1-1	49.268	400																		
51 F2	49.925	352																		
52 F3	50.150	398																		

Legend: P.Name: peak name of GC, R.Time: retention time of GC, M+: molecular ion peak, I or E: identification or estimation, Ichou J,N,Kus: *Ginkgo biloba*, Metase N,Ku,N2: *Metasequoia glyptostroboides*, Rakuu N,N2,N3: *Taxodium distichum*, Pondo OS,SS: *Taxodium ascendens*, Suishi OS1,2,3: *Glyptostrobus pensilis*, Kara Sa1,2: *Larix leptolepis*, Trace: under 0.1.
Note: the data were calculated based on the ISD(veratric acid methyl ester) area in each sample, and were showed over 0.025 value.

多いが、いずれの個体も多く存在し、個体間の相違は認められなかった。また、セスキテルペン2成分、ジテルペン2成分についても個体間による相違は確認できなかった。ただ、同属のポンドサイプレスと比較するとモノテルペンのlimoneneの含有量やジテルペンの構成が異なる個体が存在し、種間による相違が認められた。

スイショウは、モノテルペン3成分、セスキテルペン2成分、ジテルペン4成分、いずれについても大きな変異は認められず、個体間の差は認められなかった。

カラマツは、モノテルペン4成分内 α -pineneの含有量が多く、個体変異は認められなかった。セスキテルペン3成分については明確な違いは認められなかった。

このように、落葉性針葉樹の葉ヘキサン抽出成分の種内変異がポンドサイプレスとカラマツで認められた。今後、落葉性針葉樹におけるケモタイプの存在を明らかにするため、個体数を増やして詳しく分析する必要がある。

3. 落葉性針葉樹葉ヘキサン抽出成分（中性部）の構成

落葉性針葉樹6樹種16個体で確認できた成分の構成を求め、表1に示した。ただ、含有量の少ない成分もみられたため、標準物質比が0.1以上のものを示し、それ以下のものはtraceとして表示した。

モノテルペンは4成分のすべてを同定した。その構成は樹種ごとに異なっていた。 α -Pineneはイチヨウを除くすべての樹種、個体で確認された。Sabineneはカラマツのみで確認された。3-Careneはラクウショウ、スイショウ、カラマツで確認された。Limoneneはポンドサイプレス、スイショウ、カラマツで確認された。モノテルペンアセテート1成分を推定した。Bornyl acetateを含有していたのはカラマツのみであった。

セスキテルペンは4成分の内、2成分を同定し、1成分を推定した。Caryophylleneはイチヨウとカラマツを除くすべての樹種と個体で確認された。Germacrene-Dはラクウショウ属のラクウショウとポンドサイプレスで確認された。Hydroxygermacreneはカラマツで確認された。未同定の成分（C3-0）はポンドサイプレスの1個体とスイショウで確認された。

ジテルペンは8成分すべてが未同定であった。D7-2はスイショウで、D7-1はポンドサイプレスの1個体（SS）で、ferruginolはラクウショウ、ポンドサイプレスの1個体（SS）とスイショウで、D7-4はポンドサイプレスの1個体（SS）で、D7-5はポンドサイプレスの1個体（OS）とスイショウで、E1-1はイチヨウとスイショウで、E2-1

はラクウショウで、E4-1とE7はイチヨウで、E8はイチヨウとスイショウの1個体（OS2）で、それぞれ確認された。なお、分子量が350を超える化合物もみられるため、フラン型のジテルペンやリグナンなどの可能性もあり、今後確認する必要がある。

このように未確認の成分も含めて各成分の量的な把握ができたことから、化学成分から落葉性針葉樹がどのように分類することが可能かを理解するために、クラスター解析を実施した。

4. 中性部のクラスター解析

クラスター解析の結果をFig. 2に示した。イチヨウ（*Ginkgo biloba*）は独立した科に位置づけられていることから、明らかに他の樹種とは異なる位置を占めていた。次に、スイショウ（*Glyptostrobus pensilis*）が異なる位置を占め、スギ科のメタセコイア（*Metasequoia glyptostroboides*）、ラクウショウ（*Taxodium distichum*）、ポンドサイプレス（*Taxodium ascendens*）は近い位置関係にあった。なお、カラマツ（*Larix leptolepis*）はマツ科に属し、スギ科の樹木よりも遠い位置関係にあると考えられるが、今回の結果からはスギ科と近い位置関係になった。それぞれの樹種の化学タイプについては今回の解析では明確に表れなかった。

津村らのDNAを用いたRFLP解析³⁷⁾では、スイショウとラクウショウやポンドサイプレスとは近い位置関係

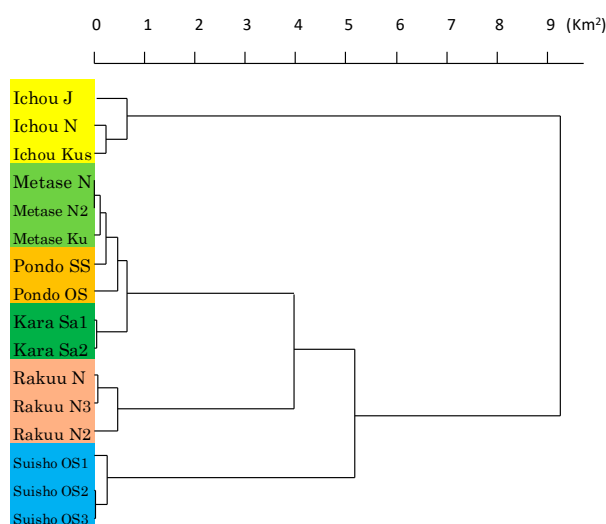


Fig. 2 Cluster analysis of *n*-hexane extracts (neutral fraction) in the leaves of deciduous conifers

Legend: Ichou J,N,Kus; *Ginkgo biloba*, Metase N,Ku,N2; *Metasequoia glyptostroboides*, Rakuu N,N2,N3; *Taxodium distichum*, Pondo OS,SS; *Taxodium ascendens*, Suisho OS1,2,3; *Glyptostrobus pensilis*, Kara Sa1,2; *Larix leptolepis*.

にあり、メタセコイアはこれらより離れた位置関係にあるとしている。また、イチヨウについては解析していないが、カラマツについては遠い位置関係にあるとしている。落葉性針葉樹のテルペノイドなどの成分は量的に少ないこともあり、独特の傾向を示すようであった。樹種と個体を増やすことにより、化学タイプも含めた分類の可能性を検討する必要がある。

5. 落葉性針葉樹葉ヘキサン抽出成分（酸性部）の比較

6樹種16個体（イチヨウ（3）、メタセコイア（3）、ラクウショウ（3）、ボンドサイプレス（2）、スイショウ（3）、カラマツ（2））の葉のヘキサン抽出物の酸性部をメチル化し、ガスクロ分析（Fig. 3）とガスマス分析（Fig.

8）を行った。ガスクロ分析を行うと、保持時間30分付近から50分付近までに17の主要メチル化物が認められた。30分付近から35分付近にかけては脂肪酸のpalmitic acidなど2成分が確認された。35分付近から45分付近にかけてはジテルペンカルボン酸の*trans*-communic acidなど14成分が確認された。

イチヨウは、脂肪酸のpalmitic acidだけが存在し、ジテルペンカルボン酸は全くみられなかった。

メタセコイアは、palmitic acidともう一つの脂肪酸が存在し、ジテルペンカルボン酸では*trans*-communic acid, sandaracopimaric acidの他に未同定の2成分が認められた。ただ、含有量は少なかった。

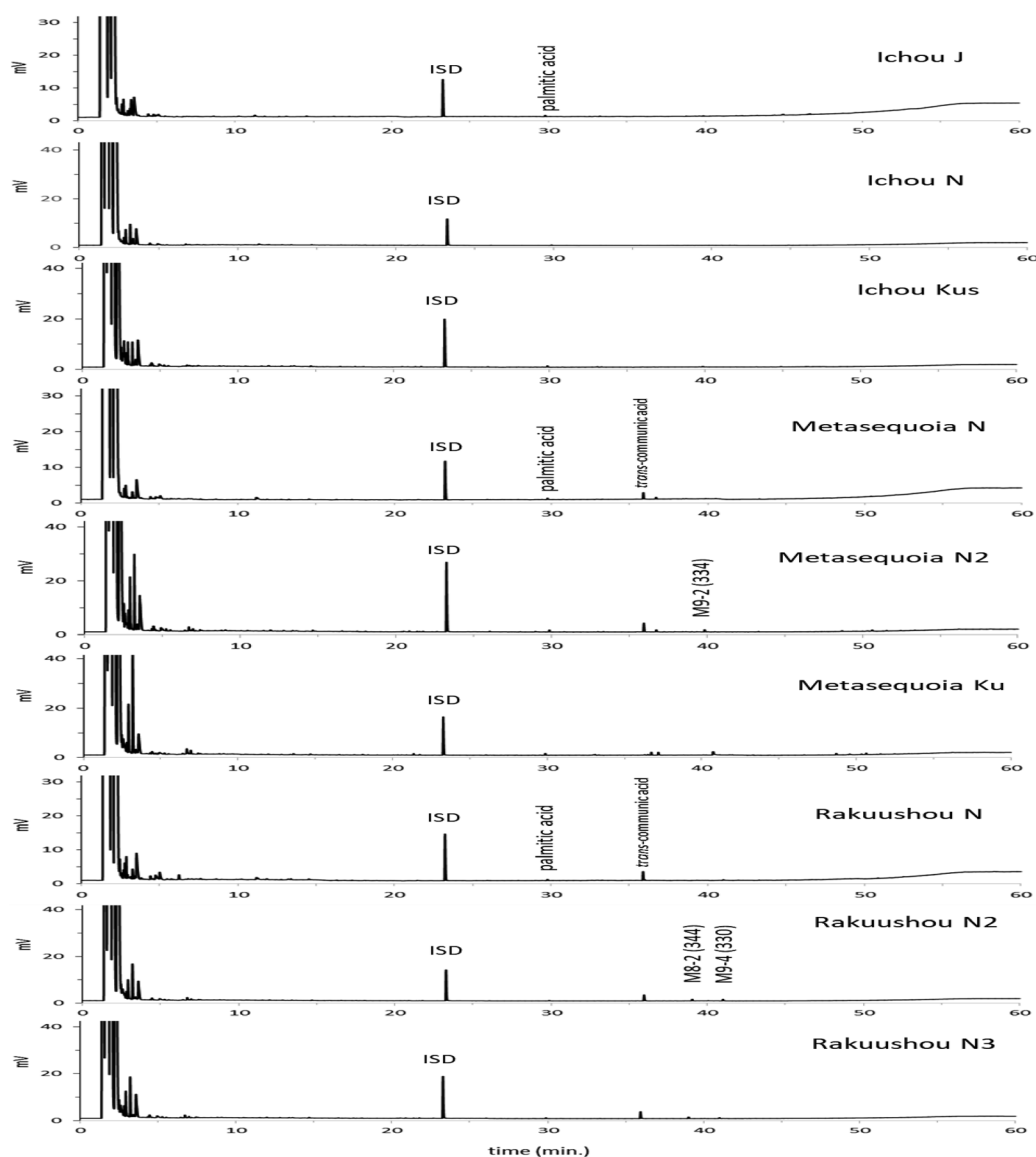


Fig. 3-1 GC of *n*-hexane extracts (acidic fraction) in the leaves of deciduous conifers

ラクウショウは、palmitic acidだけが脂肪酸として存在し、ジテルペンカルボン酸では*trans*-communic acidの他に未同定の2成分が認められた。ただ、全体的に含有量は少なかった。

ポンドサイプレスは、palmitic acidともう一つの脂肪酸が存在し、ジテルペンカルボン酸では*trans*-communic acidの他に未同定の6成分が認められた。ただ、含有量は少なく、個体間に差がみられた。

スイショウは、palmitic acidだけが脂肪酸として存在し、ジテルペンカルボン酸では*trans*-communic acidは認められず、他に未同定の3成分が認められた。ただ、全体的に含有量は少なかった。

カラムツは、palmitic acidともう一つの脂肪酸が存在し、ジテルペンカルボン酸では*trans*-communic acidは認められず、dehydroabietic acid, abietic acidの他に未同定の3成分が認められた。ただ、全体的に含有量は少なかった。

このように、落葉性針葉樹の葉の酸性部の成分は常緑針葉樹と比べて、ヒノキで認められたセスキテルペンカルボン酸の hinoki acid やスギで認められた多くのジテルペンカルボン酸など特徴的な成分は認められず、全体的には含有量も構成も少ないと言う特徴を示した。

6. 落葉性針葉樹葉ヘキサン抽出成分（酸性部）の個体間の比較

次に、各樹種の個体間の比較を行った。イチヨウは、脂肪酸の palmitic acid だけが存在し、いずれの個体でも確認でき、個体間の差は認められなかった。

メタセコイアは、2種類の脂肪酸と*trans*-communic acidなどのジテルペンカルボン酸3成分がいずれの個体でも確認され、ほとんど個体間差が認められなかった。

ラクウショウは、脂肪酸の palmitic acid が共通に存在し、*trans*-communic acidなどのジテルペンカルボン酸3成分がいずれの個体でも確認され、ほとんど個体間差が認められなかった。ただ、同属のポンドサイプレスは脂

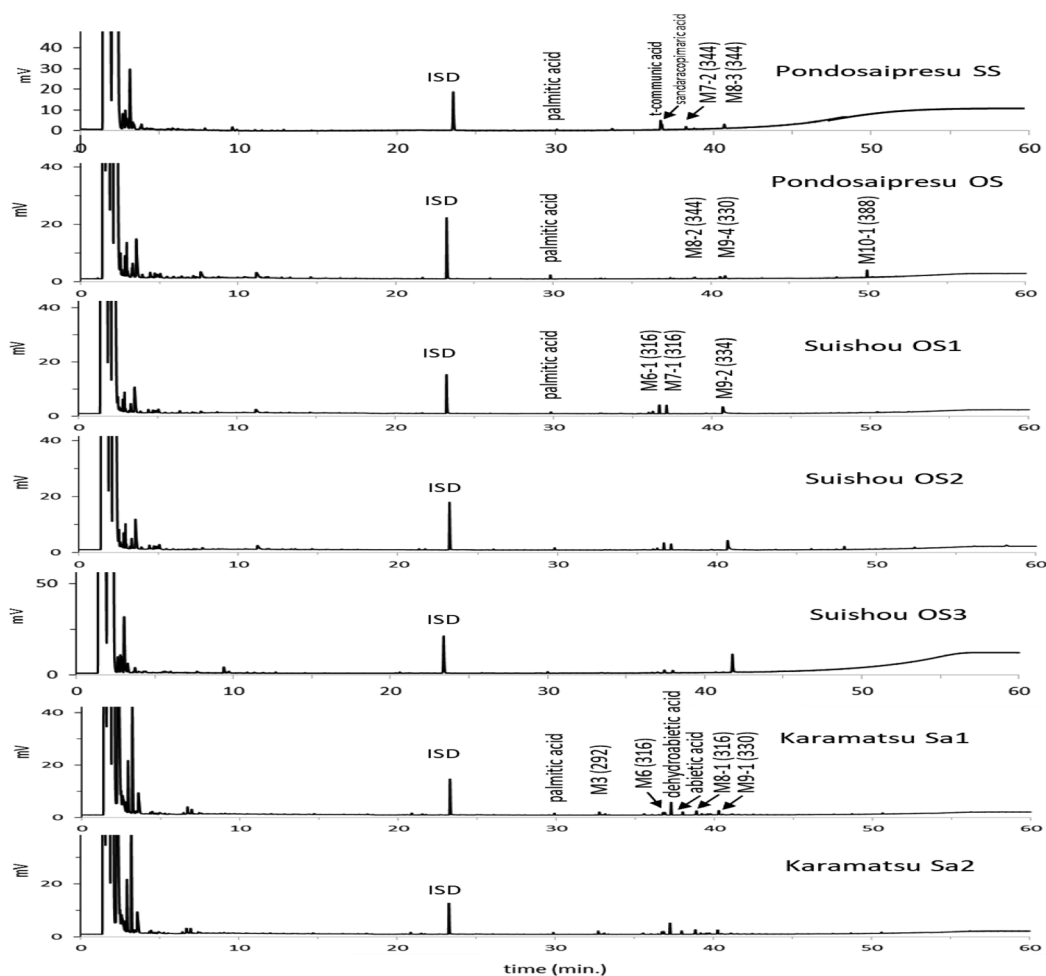


Fig. 3-2 GC of *n*-hexane extracts (acidic fraction) in the leaves of deciduous conifers

Table 2 Constraction of *n*-hexane extractives (acid fraction) in the leaves of deciduous conifers

P.Name	R.Time	M+	Compound (methyl ester)	I or E	Ichou J	Ichou N	Ichou Kus	Metase N	Metase N2	Metase Ku	Rakuu N	Rakuu N2	Rakuu N3	Pondo SS	Pondo OS	Suishi OS1	Suishi OS2	Suishi OS3	Kara Sa1	Kara Sa2
1 M1	27.929	248	Hinoki acid	E																
2 M2	29.628	270	Palmitic acid	E	0.029	0.031	0.023	0.032	0.025	0.042	0.025	trace	0.026	0.027	0.037	0.029	0.031	0.025	0.038	0.029
3 M3-0	32.741	294																		
4 M3	32.888	292						trace	trace	0.025				0.029					0.049	0.038
5 M4	34.552	316																		
6 M5-0	35.396	316	cis-Communic acid	E																
7 M5	35.785	316	trans-Communic acid	I				0.160	0.123	trace	0.167	0.193	0.169	0.232	trace					
8 M5-1	35.885	316	Sandaracopimaric acid	I										0.140						
9 M6	36.600	316																	0.100	trace
10 M6-1	36.704	318						trace	0.028	0.074						0.221	0.139	0.101		
11 M7	37.042	330																		
12 M7-1	37.127	316								0.067						0.193	0.107	0.100		
13 M7-2	37.234	344												0.106						
14 M7-3	37.347	314	Dehydroabietic acid	I															0.356	0.335
15 M7-4	37.503	316	Abietic acid	I															0.112	0.110
16 M8	37.693	348																		
17 M8-1	37.750	316																	0.135	0.124
18 M8-2	37.965	344									trace	0.072	0.060		trace					
19 M9	38.672	334																		
20 M9-1	39.421	330																	0.102	0.100
21 M9-2	39.654	334																		
22 M9-3	40.129	330						trace	trace	0.122						0.300	0.303	0.525		
23 M9-4	40.467	330																		
24 M10	43.600	328									trace	0.042	0.033		trace					
25 M10-1	49.927	388																		
26 M11	50.584	398													0.103					

Legend: P.Name: peak name of GC, R.Time: retention time of GC, M+: molecular ion peak, I or E: identification or estimation, Ichou J.N.Kus: *Ginkgo biloba*, *Metase N.Ku.N2*; *Metasequoia glyptostroboides*, Rakuu N.N2.N3; *Taxodium distichum*, Pondo OS.SS; *Taxodium ascendens*, Suishi OS1.2.3; *Glyptostrobus pensilis*, Kara Sa1.2; *Larix leptolepis*, Trace; under 0.025.

Note: the data were calculated based on the ISD(veratric acid methyl ester) area in each sample, and were showed over 0.025 value.

脂肪酸の palmitic acid などの2成分や *trans*-communic acid などのジテルペンカルボン酸7成分間で差が認められ、個体間差が認められた。

スイショウは、脂肪酸の palmitic acid が共通に存在し、未同定のジテルペンカルボン酸3成分がいずれの個体でも確認され、ほとんど個体間差が認められなかった。

カラマツは、二種類の脂肪酸と未同定のジテルペンカルボン酸5成分がいずれの個体でも確認され、ほとんど個体間差が認められなかった。

このように、落葉性針葉樹の葉の酸性成分の種内変異がポンドサイプレスで認められた。今後、個体数を増やして落葉性針葉樹におけるケモタイプの存在を詳しく調べる必要がある。

7. 落葉性針葉樹葉ヘキササン抽出成分 (酸性部) の構成

落葉性針葉樹6樹種16個体で確認できた成分の構成を求め、表2に示した。ただ、含有量の少ない成分もみられたため、標準物質比が0.025以上のものを示した。

脂肪酸は2成分の内、palmitic acid のみが推定された。Palmitic acid はどの樹種にも共通して存在していた。

ジテルペンカルボン酸は15成分の内、*trans*-communic acid, sandaracopimaric acid, dehydroabietic acid, abietic acid の4成分を同定した。*trans*-Communic acid はメタセコイア、ラクウショウとポンドサイプレスに共通する成分として認められたが、イチヨウ、スイショウ、カラマツにはどの個体でも認められなかった。このように、*trans*-communic acid は種間で相違が存在していた。sandaracopimaric acid はメタセコイアとスイショウで認められ、dehydroabietic acid と abietic acid はカラマツ

で認められるなど、種特有のジテルペンカルボン酸も存在していた。未同定のジテルペンカルボン酸については一部に個体間での差がみられるが、多くのジテルペンカルボン酸は個体内での差はほとんど認められなかった。ただ、ポンドサイプレスでは主要な成分で差が認められた。

このように、全体的に含有量が少なく、明確な傾向を確認することができなかった。そこで、未確認の成分も含めて各成分の量的な把握ができたことから、次にクラスター解析を行うこととした。

8. 酸性部のクラスター解析

クラスター解析の結果をFig. 4に示した。平方距離の値は中性部が0-9の値を取ったが、酸性部は0-0.9とおおよそ1/10とさらに小さい値となり、種間のまとまりがあまりみられなかった。ただ、中性部の解析と同じように、イチヨウとスイショウでは大きく異なっていた。

前述した津村らのDNAを用いた解析³⁷⁾では、スイショウとラクウショウやポンドサイプレスとは近い位置関係にあり、メタセコイアはこれらより離れた位置関係にあるとしている。また、イチヨウについては解析していないが、カラマツについては遠い位置関係にあるとしている。しかし、酸性部においても中性部と同様、量的に少ないことから、明確な傾向を見ることができなかった。樹種と個体を増やすことにより、化学タイプも含めた分類の可能性を検討する必要がある。次に、中性部と酸性部を合わせて解析する。

9. 中性部と酸性部のクラスター解析

次に、6樹種16個体の中性部19成分と酸性部17成分、

合計36成分を用いてクラスター解析を行った (Fig. 5)。

中性部の解析とほぼ同じ結果となった。イチヨウ (*Ginkgo biloba*) は独立した科に位置づけられ、他の樹種とは異なる位置を占めた。イチヨウ以外の樹種では、遠い位置関係にあると考えられるマツ科のカラマツはメタセコイア (*Metasequoia glyptostroboides*) やポンドサイプレス (*Taxodium ascendens*) に近い位置関係であった。比較的遠い位置関係と考えられるのはスイショウ (*Glyptostrobus pensilis*) とラクウショウ (*Taxodium distichum*) であった。

津村らのDNAを用いた解析³⁷⁾では、前述したようにスイショウとラクウショウやポンドサイプレスとは近い位置関係にあり、メタセコイアはこれらより離れた位置

関係にあるとしている。また、イチヨウについては解析していないが、カラマツについては遠い位置関係にあるとしている。落葉性針葉樹のテルペノイドなどの成分は量的に少ないこともあり、独特の傾向を示すようであった。樹種と個体を増やすことにより、化学タイプも含めた分類の可能性を検討する必要がある。

次に、落葉性針葉樹と常緑針葉樹を比較するために、前回分析したクロベ (*Thuja standishii*)、スギ (*Cryptomeria japonica*)、ヒバ (*Thujopsis dolabrata* var. *hondae*)、ヒノキ (*Chamaecyparis obtusa*)、コウヤマキ (*Sciadopitys verticillata*) と今回の6樹種16個体を同時にクラスター解析を行い、その関係を明らかにすることとした。

10. 落葉性針葉樹と常緑針葉樹葉ヘキサン抽出成分のクラスター解析

落葉性針葉樹6樹種16個体と常緑針葉樹5樹種8個体、計11樹種24個体の中性部の52成分と酸性部の26成分、合計78成分によるクラスター解析を行った (Fig. 6)。

常緑針葉樹の5樹種はそれぞれ独立したクラスターを形成し、ヒノキが最も遠い位置関係にあり、次いでコウ

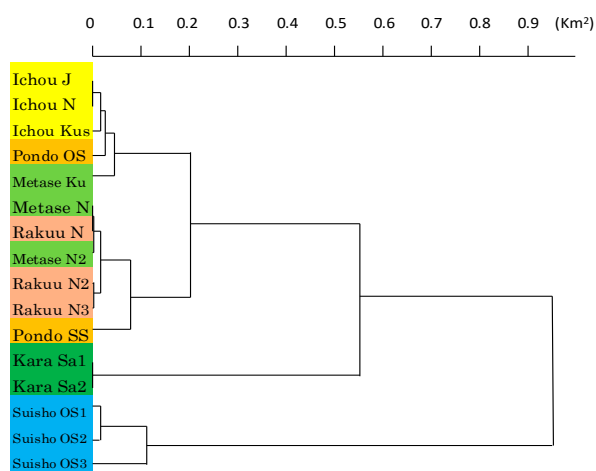


Fig. 4 Cluster analysis of *n*-hexane extractives (acid fraction) in the leaves of deciduous conifers
Legend: Same as in Fig. 2.

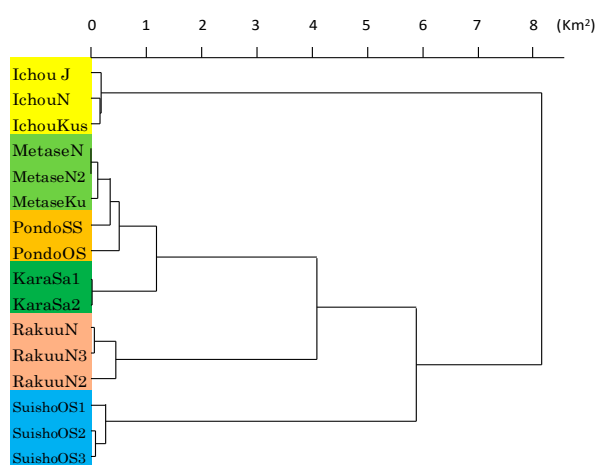


Fig. 5 Cluster analysis of all *n*-hexane extractives in the leaves of deciduous conifers
Legend: Same as in Fig. 2.

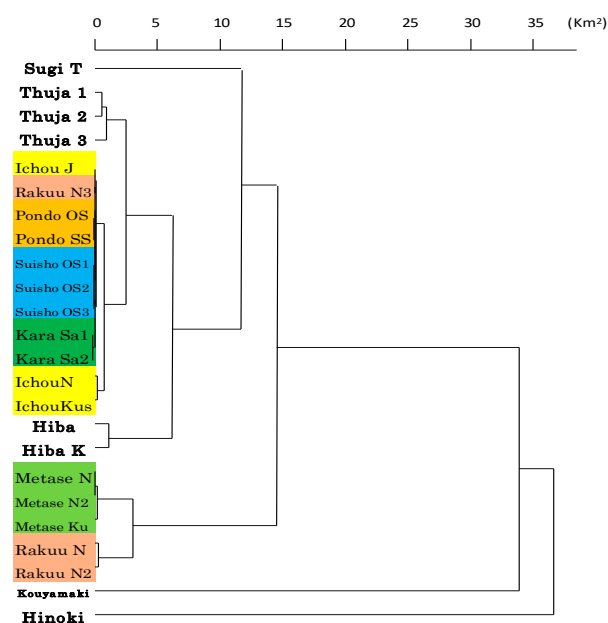


Fig. 6 Cluster analysis of all *n*-hexane extractives in the leaves of deciduous and evergreen conifers

Legend: Sugi T; *Cryptomeria japonica*, Thuja 1,2,3; *Thuja standishii*, Hiba & K; *Thujopsis dolabrata*, Kouyamaki; *Sciadopitys verticillata*, Hinoki; *Chamaecyparis obtusa*, Others; same as fig. 2 legend. Ichou J,N,Kus; *Ginkgo biloba*, Metase N,Ku,N2; *Metasequoia glyptostroboides*, Rakuu N,N2,N3; *Taxodium distichum*, Pondo OS,SS; *Taxodium ascendens*, Suisho OS1,2,3; *Glyptostrobus pensilis*, Kara Sa1,2; *Larix leptolepis*.

ヤマキ、ズキ、ヒバ、クロベの順となった。落葉性針葉樹ではメタセコイアとラクウショウがヒノキやコウヤマキにつぐ位置関係となった以外はイチョウ、ポンドサイプレス、スイショウ、カラマツなどは近い位置関係にあった。また、イチョウやラクウショウの一部の個体については分散も認められた。

このように、落葉性針葉樹と常緑針葉樹は明らかに異なっていた。これは、落葉性針葉樹が常緑針葉樹に比べ、ヘキサシ抽出成分が全体として少なく、また、樹種特有の成分もみられないことから、このような結果になったと推察される。今後、個体数を増やして分析し、樹種を特徴づける成分やケモタイプの有無を調べることで、化学成分による分類の可能性を追求する必要がある。

11. おわりに

落葉性針葉樹葉ヘキサシ抽出成分（中性部と酸性部）の特徴を明らかにするために、6樹種16個体（イチョウ、メタセコイア、ラクウショウ、ポンドサイプレス、スイショウ、カラマツ）をGC・GCMS分析し、比較・検討した。また、前回分析した常緑針葉樹5樹種8個体とのクラスター解析を行い比較した。その結果を下記に示す。

- (1) 落葉性針葉樹6樹種16個体を分析し、中性部では19成分、酸性部では17成分、合計36成分を確認することができた。
- (2) イチョウの葉の成分の特徴は、中性部ではモノテルペンやセスキテルペンが全く認められず、40分付近以降、僅かにジテルペンが認められたことである。酸性部では脂肪酸の palmitic acid が認められただけであった。
- (3) メタセコイアは、中性部ではモノテルペンの α -pinene が顕著にみられる他 3-carene が僅か認められ、セスキテルペンの caryophyllene も存在していた。ジテルペンなどは全く確認されなかった。酸性部では palmitic acid など二種類の脂肪酸と *trans*-communic acid, sandaracopimaric acid 他2種類のジテルペンカルボン酸が確認された。
- (4) ラクウショウは、中性部ではモノテルペンの α -pinene だけが顕著にみられ、セスキテルペンの caryophyllene と germacrene-D が僅かに存在していた。ジテルペンは2成分確認された。酸性部では脂肪酸の palmitic acid と *trans*-communic acid の他

3種類のジテルペンカルボン酸3成分が確認された。

- (5) ポンドサイプレスは、中性部ではモノテルペンの α -pinene と limonene が顕著にみられ、セスキテルペンの caryophyllene, germacrene-D が僅かに存在していた。ジテルペンは3成分確認された。酸性部では脂肪酸の palmitic acid などと *trans*-communic acid の他7種類のジテルペンカルボン酸が確認され、これらに個体間差が認められた。
- (6) スイショウは、中性部ではモノテルペンの α -pinene, 3-carene, limonene の3成分がみられ、セスキテルペンの caryophyllene と未同定化合物が存在していた。ジテルペンは5成分確認された。酸性部では脂肪酸の palmitic acid とジテルペンカルボン酸の sandaracopimaric acid の他に2成分が確認された。
- (7) カラマツは、中性部ではモノテルペンの α -pinene, sabinene, 3-carene, limonene の4成分がみられ、モノテルペンアセテートの bornyl acetate もみられた。セスキテルペンの germacrene-D, hydroxygermacrene の2成分が確認された。酸性部では2種類の脂肪酸とジテルペンカルボン酸の dehydroabietic acid, abietic acid の他に3成分が確認された。
- (8) 落葉性針葉樹のクラスター解析からは、中性部ではイチョウが明らかに他の樹種とは異なる位置を占めていた。次に、スイショウが異なる位置を占め、スギ科のメタセコイア、ラクウショウ、ポンドサイプレスは近い位置関係にあった。また、カラマツはマツ科に属し、スギ科の樹木よりも遠い位置関係にあると考えられるが、今回の結果からはスギ科に近い位置関係になった。酸性部では平方距離の値が中性部で0-9の値を取ったが、酸性部が0-0.9とおおよそ1/10と小さい値となり、種間のまとまりがあまりみられなかったが、中性部と同様にイチョウとスイショウでは大きく異なっていた。中性部と酸性部を合わせて解析すると、酸性部の平方距離が小さかったことから、ほぼ中性部の解析と同じ結果となった。
- (9) 落葉性針葉樹と常緑針葉樹を合わせた解析からは、常緑針葉樹の5樹種（クロベ、スギ、ヒバ、ヒノキ、コウヤマキ）は津村らのDNAを用いた解析結果³⁷⁾に近いものになり、ヒノキが最も遠い位置関係にあり、次いでコウヤマキ、ズキ、ヒバ、クロベの順となった。落葉性針葉樹ではスギ科のスギよりもメタセコイアとラクウショウの方がヒノキやコウヤマキ

に近い位置関係となった以外はイチョウ、ポンドサイプレス、スイショウ、カラマツなどに大きな違いはみられなかった。これは、落葉性針葉の葉のヘキササン抽出成分が常緑針葉樹よりも少ないことに起因していると考えられた。

- (10) クラスター解析を用いた化学成分による落葉性針葉樹の分類を行うためには、個体数を増やし樹種ごとの傾向を明かにすると共に、未確認の成分を同定する必要がある。

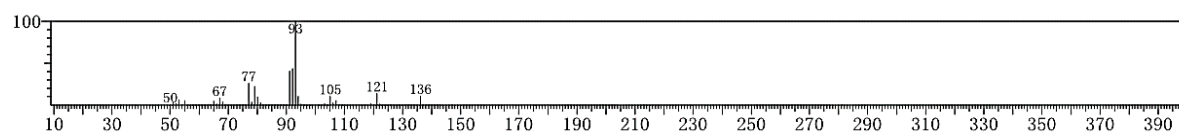
今回の分析を実施するにあたり、多くの方に貴重な試料を提供いただいた。大阪市立大学理学部植物園から原田氏に試料を採取して頂き、2度にわたり提供して頂いた。心より感謝申し上げます。また、森林総合研究所敷地内から試料を採取して頂き、ご提供頂いた。深謝申し上げます。また、この研究を遂行するにあたり、多くの方にご協力頂いたことに改めてお礼を申し上げます。なお、本研究は「安江保民基金」の支援を頂いた。ご支援に感謝申し上げます。

文 献

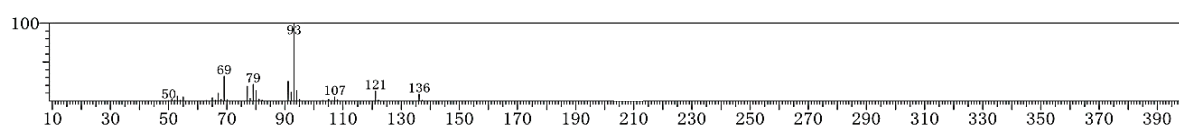
- 1) 島地謙・須藤彰司・原田浩 (2020) 木材の組織. 森北出版 p2-16. 東京.
- 2) 佐々木啓子・松岡耕三 (2012) イチョウ葉エキスの薬理活性. 千葉科学大学紀要 5 : 61-67.
- 3) 中西香爾 (1968) 天然物有機化学の構造決定法 IX ギンゴライド類の研究. 生物と化学 6(10) : 628-636.
- 4) 齊藤清明 (1995) メタセコイア—昭和天皇が愛した木—. 中公新書. 東京.
- 5) Enoki A., Takahama S. and Kitao K. (1977) The extractives of Metasequoia, *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng. I. The isolation of metasequirin-A, athrotaxin and agatharesinol from the heartwood. Mokuzaigakkaishi, 23(11) : 579-586.
- 6) Enoki A., Takahama S. and Kitao K. (1977) The extractives of Metasequoia, *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng. II. The isolation of hydroxyathrotaxin, metasequirin-B and hydroxymetasequirin-A. Mokuzaigakkaishi 23 (11) : 587-593.
- 7) 加藤鉄二・本間隆夫 (1996) メタセコイアの新鮮な葉に含まれるフラボノイド類の単離と化学構造. 東海大学スポーツ医科学雑誌. 8 : 971-975.
- 8) Bajpai V.K., Rahman A. and Kang S.C. (2007) Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. Industrial Crops and Products 26(1) : 28-35.
- 9) Mou X.L., Fu C., Wu H.K., Abdurazimov B.B. and Yang Y. (2007) Composition of essential oil from seeds of *Metasequoia glyptostroboides* growing in China. Chemistry of Natural Compounds 43(3) : 334-335.
- 10) Scheffrahn R.H., Hsu R.C., Su N.Y., Huffman J.B., Midland S.L. and Sims J.J. (1988) Allelochemical resistance of Bald Cypress, *Taxodium distichum*, heartwood to the subterranean termite, *Coptotermes formosanus*. Journal of Chemical Ecology 14(3) : 765-776.
- 11) 高橋孝悦・上仲恭子・坂井克己 (1996) メタセコイア及びラクウショウのフェノール性成分. 第46回日本木材学会大会発表要旨集. 402.
- 12) Kupchan S.M., Karim A. and Marcks C. (1968) Tumor inhibitors XXXIV. Taxodione and taxodone, two novel diterpenoid quinone methide tumor inhibitors from *Taxodium distichum*. Journal of the American Chemical Society 90(21) : 5923-5924.
- 13) Yamamoto H., Hirao T., Wakayama K. and Chida, T. (2003) Abietane diterpenes from cones of *Taxodium distichum* Rich. Bulletin of the Faculty of Education, Ibaraki University 52 : 31-39.
- 14) Hirao T., Nakano Y. and Yamamoto H. (2008) Four new 6,7-dioxyabietane diterpenes from cones of *Taxodium distichum* Rich. Bulletin of the Faculty of Education, Ibaraki University 57 : 71-76.
- 15) Hirasawa Y., Izawa E., Matsuno Y., Kawahara N., Goda Y. and Morita H. (2007) Taxodistines A and B, abietane-type diterpenes from *Taxodium distichum*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 17(21) : 5868-5871.
- 16) Kusumoto N., Murayama T., Kawai Y., Ashitani, T., Ogiyama K. and Takahashi K. (2008) Taxodal, a novel irregular abietane-type diterpene from the

- cones of *Taxodium distichum*. Tetrahedron Letters 49(33) : 4845-4847.
- 17) Kusumoto N., Ashitani T. and Takahashi K.(2010) The chemical defense in living fossil conifer cones, Abstract of 26th Annual Meeting of International Society of Chemical Ecology. Tours. P051.
- 18) 楠本倫久 (2012) ヒノキ科球果に含まれる生物活性成分. 木材保存. 38(5) : 198-209.
- 19) Simoneit B.R.T., Otto A., Oros D.R. and Kusumoto N.(2019)Terpenoids of the swamp cypress subfamily (Taxodioideae), Cupressaceae, an overview by GC-MS. Molecules 24(17) : 3036-3053.
- 20) Simoneit B.R.T., Otto A., Kusumoto N. and Basingerd J.F.(2016)Biomarker compositions of Glyptostrobus and Metasequoia(Cupressaceae)fossils from the Eocene Buchanan Lake Formation, Axel Heiberg Island, Nunavut, Canada reflect diagenesis from terpenoids of their related extant species. Review of Palaeobotany and Palynology 235 : 81-93.
- 21) Schmidta E., Huongb L.T., Daic D.N., Thangd T.D., Wannerc J. and Jirovetza L.(2016)Analysis and olfactory description of four essential oils from vietnam. Natural Product Communications 11(10) : 1551-1554.
- 22) Xiong J., Hu C.-L., Wang P.-P., Gao D.-D., Huang F., Li J., and Hu J.-F.(2020)Spirobiflavonoid stereoisomers from the endangered conifer *Glyptostrobus pensilis* and their protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 30(4) : 4-11.
- 23) 出町秀也・寺沢実・笹谷宜志 (1968) カラマツ *Larix leptolepis* の成分 ―心材のフェノール性物質について― 日本木材学会北海道支部講演集 1 : 57.
- 24) Miki K., Ito K. and Sasaya T.(1979)Lignans from heartwood of *Larix leptolepis* Gord. Mokuzai Gakkaishi 25(10) : 665-670.
- 25) Miki K., Sasaya T. and Sakakibara A.(1979)A new lignan consisting of four guaiacyl group from *Larix leptolepis* Gord. Mokuzai Gakkaishi 25(10) : 678-679.
- 26) Miki K., Takehara T., Sasaya T. and Sakakibara A.(1980)Lignans from *Larix leptolepis* Gord. Phytochemistry 19(3) : 449-453.
- 27) 笹谷宜志・竹原太賀司・三木啓司・榊原彰 (1980) カラマツ *Larix leptolepis* Gord のフェノール成分. 北海道大学農学部演習林研究報告 37(3) : 837-860.
- 28) 野村一高・武藤憲由 (1976) カラマツ当年生枝の成分に関する研究 (I) : 生長期のカラマツ葉中のケンフェロール-3-O-グルコシド. 日本林学会誌 58(3) : 86-91.
- 29) 野村一高・武藤憲由 (1976) カラマツ当年生枝の成分に関する研究 (II) : 生長休止期のアブシジン酸. 日本林学会誌 58(6) : 214-217.
- 30) 野村一高・武藤憲由 (1976) カラマツ当年生枝の成分に関する研究 (III) : 生長休止期のフェノール性成分. 日本林学会誌 58(7) : 258-265.
- 31) 野村一高 (1976) カラマツ当年生枝の成分に関する研究 (IV) : フェノール性成分の季節的变化. 日本林学会誌 58(10) : 379-382.
- 32) 野村一高 (1977) カラマツ当年生枝の成分に関する研究 (V) : 生長期の茎葉中のフェノール性成分. 日本林学会誌 59(10) : 372-381.
- 33) 野村一高 (1978) カラマツ当年生枝の成分に関する研究 (VI) : 先枯病抵抗性とフェノール性成分の季節的变化. 日本林学会誌 60(8) : 73-280.
- 34) 野村一高・岸田昭雄 (1979) カラマツ当年生枝の成分に関する研究 (VII) : 先枯病抵抗性個体の指標としてのフェノール性成分. 日本林学会誌 61(1) : 1-7.
- 35) Nomura K.(1980)Studies on the constituents of the annual shoots of *Larix leptolepis* Gordon(VIII) -Localization of phenolic compounds. Journal of the Japanese Forestry Society 62(12):465-467.
- 36) 高橋孝悦・渡部大寛・斉藤正一・楠本倫久・芦谷竜矢 (2020) 山形県上倉山のクロベ (*Thuja standishii* Carr.) 葉のヘキサシ抽出成分について. 山形大学紀要 (農学) 18(4) : 351-368.
- 37) Tsumura K. Yoshimura N. Tamaru K. and Ohba K.(1995)Molecular phylogeny of conifers using RFLP analysis of PCR-amplified specific chloroplast genes. Theoretical Applied Genetics 91(8) : 1222-1236.

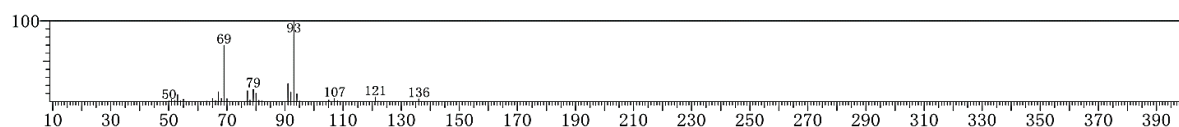
A1 peak : **M+136** α -Pinene



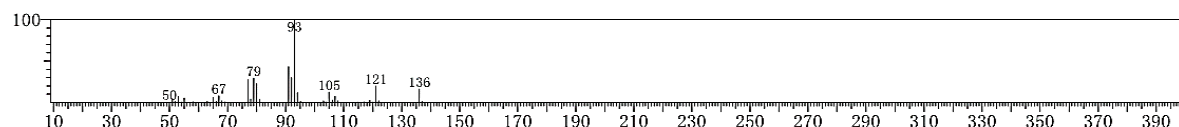
A2 peak : **M+136** Sabinene



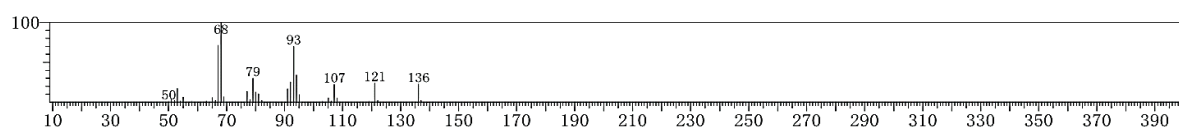
A3 peak : **M+136** β -Myrcene



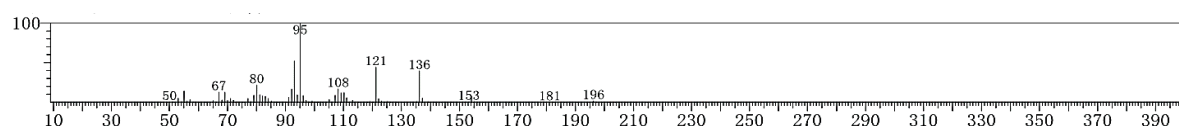
A3-1 peak : **M+136** 3-Carene



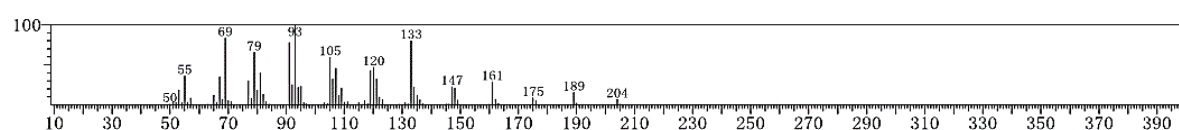
A4 peak : **M+136** Limonene



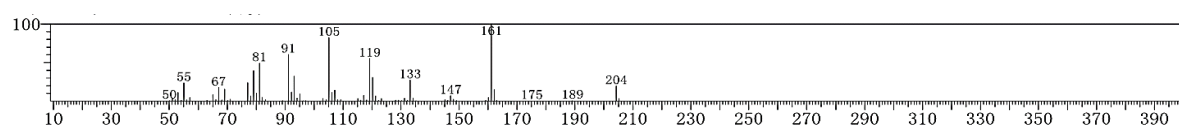
B3 peak : **M+196** Bornyl acetate



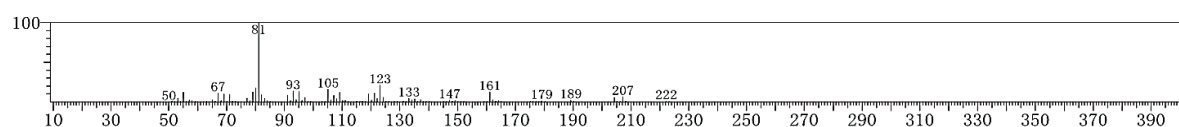
C0 peak : **M+204** Caryophyllene



C1 peak : **M+204** Germacrene-D

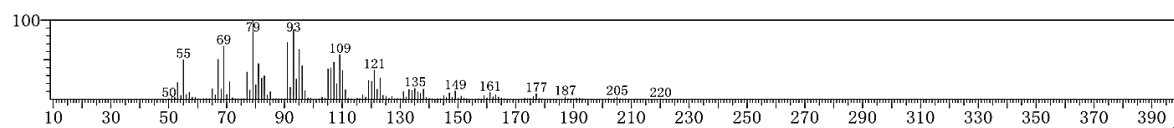
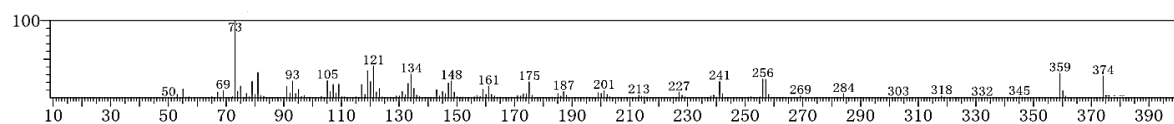
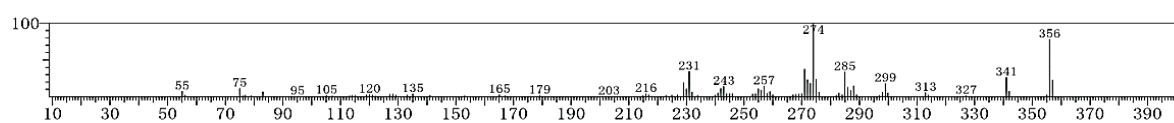
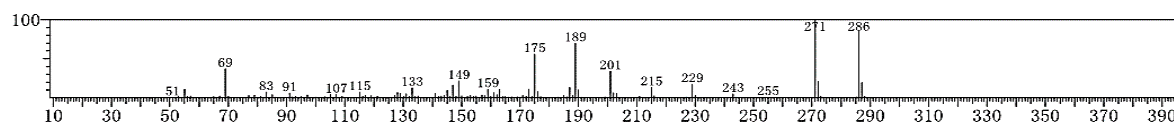
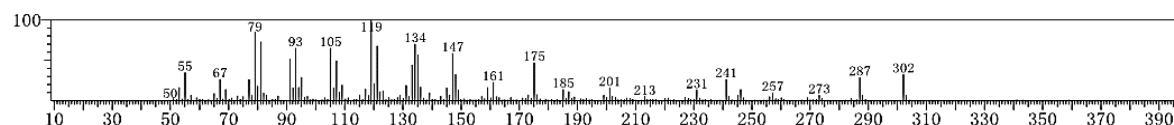
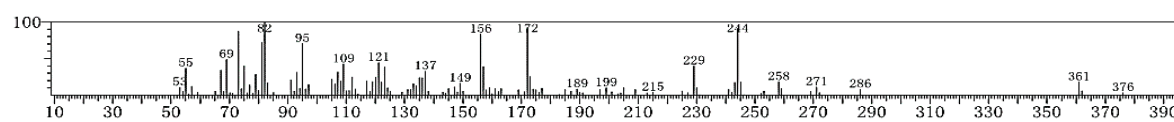
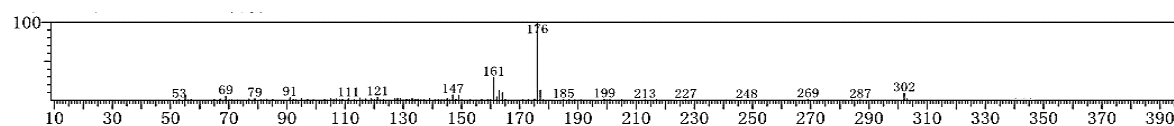
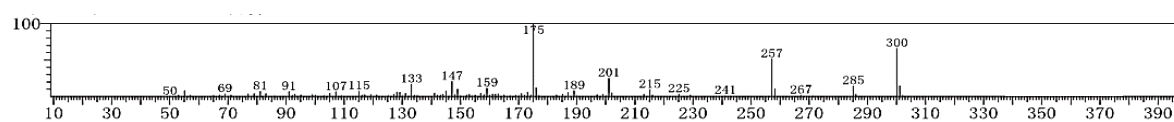
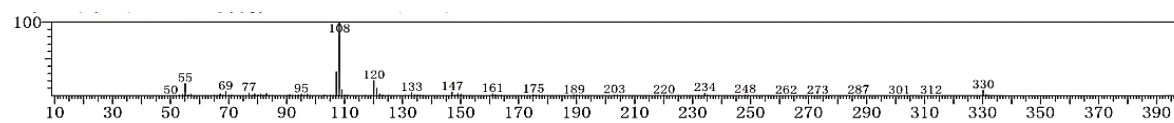


C3 peak : **M+222** Hydroxygermacrene



(continued on next page)

Fig. 7 MS spectrum of main constituents in the leaves neutral fractions of deciduous conifer

C3-0 peak : **M+220**D7-1 peak : **M+374**D7-2 peak : **M+356**D7-3 peak : **M+286** FerruginolD7-4 peak : **M+302**D7-5 peak : **M+376**E1-1 peak : **M+302**E2-1 peak : **M+300**E4-1 peak : **M+330**

(continued on next page)

Fig. 7 (continued)

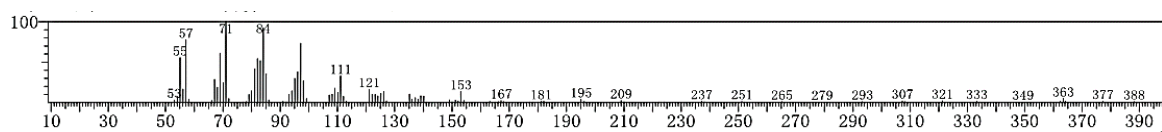
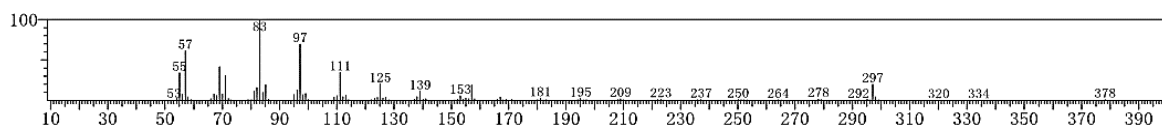
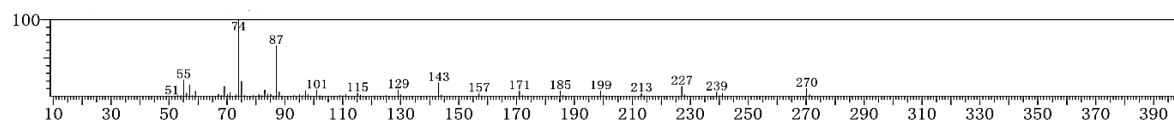
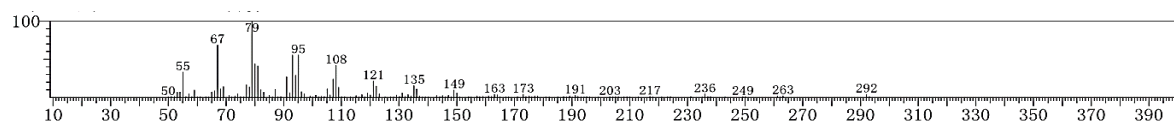
E7 peak : **M+388**E8 peak : **M+378**

Fig. 7 (continued)

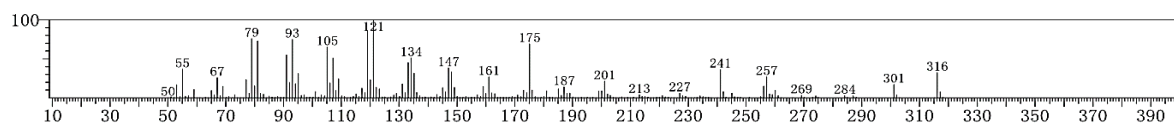
M2 peak : **M+270** Palmitic acid methyl ester



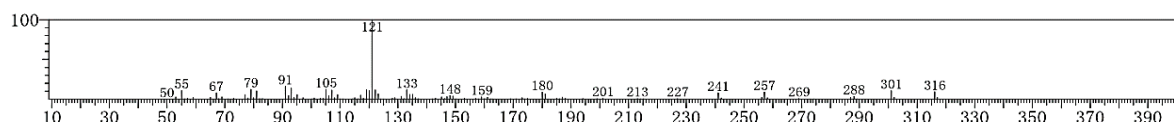
M3 peak : **M+292**



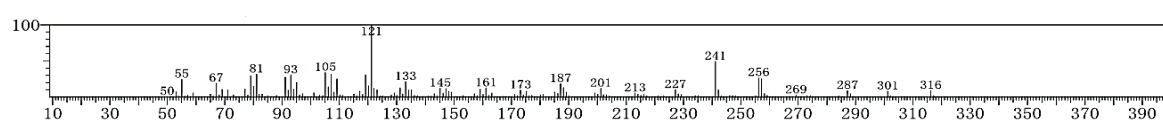
M5 peak : **M+316** *trans*-Communic acid methyl ester



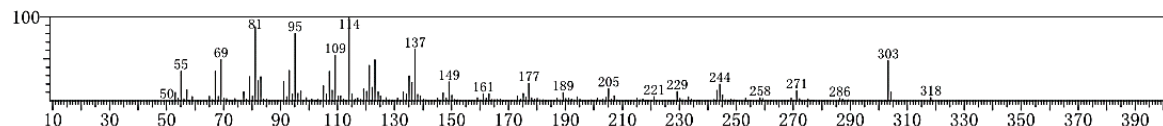
M5-1 peak : **M+316** Sandaracopimaric acid methyl ester



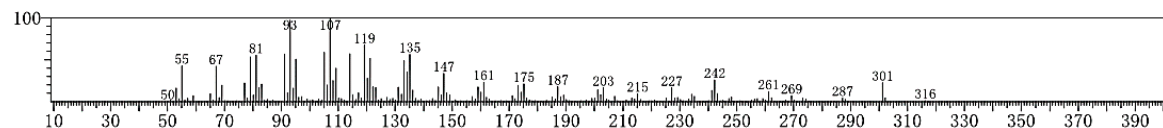
M6 peak : **M+316**



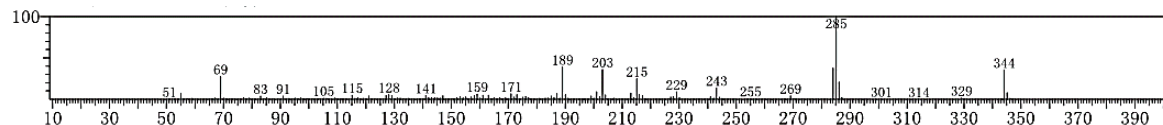
M6-1peak : **M+318**



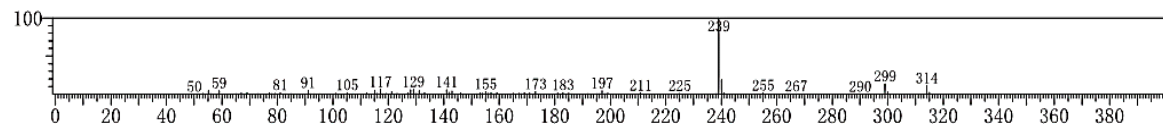
M7-1 peak : **M+316**



M7-2 peak : **M+344**



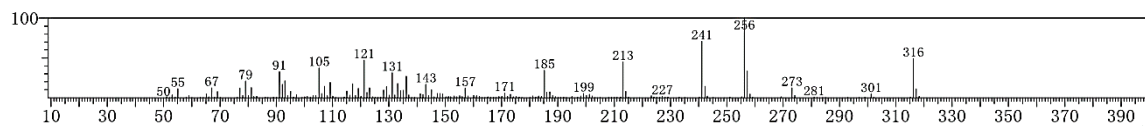
M7-3 peak : **M+314** Dehydroabietic acid methyl ester



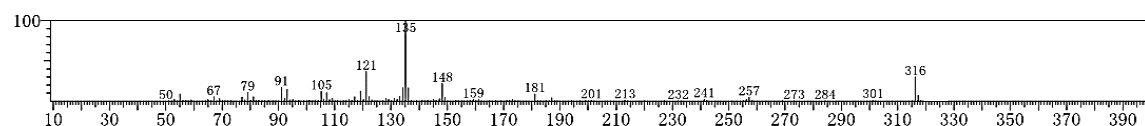
(continued on next page)

Fig. 8 MS spectrum of main constituent methyl esters in the leaves acidic fraction of deciduous conifer

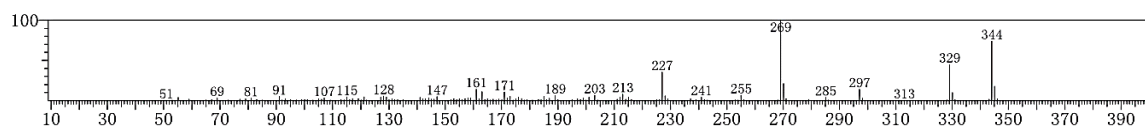
M7-4 peak : M+316 Abietic acid methyl ester



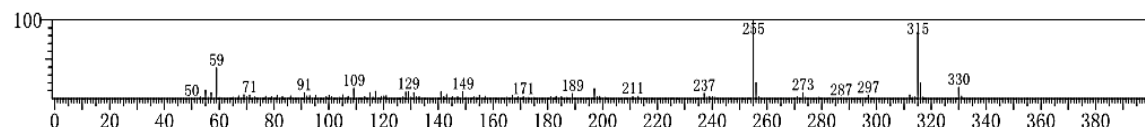
M8-1 peak : M+316



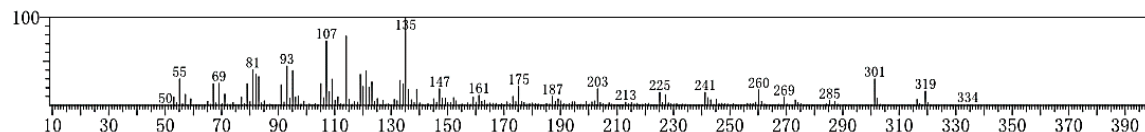
M8-2peak : M+344



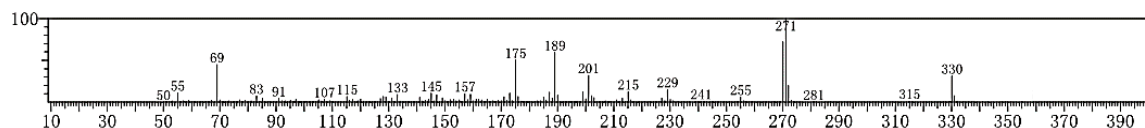
M9-1 peak : M+330



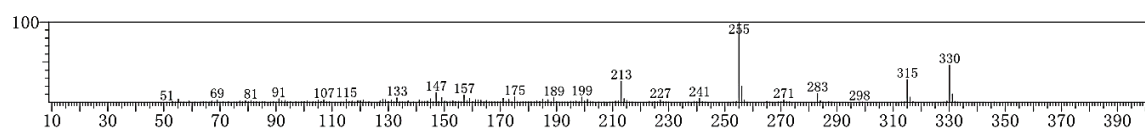
M9-2 peak : M+334



M9-3peak : M+330



M9-4 peak : M+330



M10-1 peak : M+388

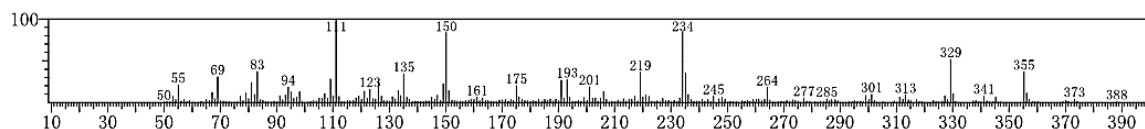


Fig. 8 (continued)