HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	アカエゾマツ樹皮の化学成分：3. p-Hydroxyphenylglycerolの2つのglucosidesの単離
Author(s)	佐野, 嘉拓; 榊原, 彰
Citation	北海道大學農學部 演習林研究報告, 35(1), 157-163
Issue Date	1978-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/20992
Type	departmental bulletin paper
File Information	35(1)_P157-163.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

アカエゾマツ樹皮の化学成分*

3. p-Hydroxyphenylglycerol の2つの glucosides の単離

佐野嘉拓** 榊原 彰**

Studies on Chemical Components of Akaezomatsu (*Picea glehnii*) Bark*

3. Isolation of two Glucosides of p-Hydroxyphenylglycerol

By

Yoshihiro SANO** and Akira SAKAKIBARA**

目　　次

1. 緒　　言 …… 157
2. 実　　験 …… 157
2.1 供試木と試料の調製 …… 158
2.2 E-7 と 8 の単離 …… 158
3. 結果と考察 …… 158
参考文献 …… 162
Summary …… 163

1. 緒　　言

樹皮化学の十分な解明は樹皮の物理的，化学的利用の見地からも興味ある研究課題である。前報においては，北海道の主要な針葉樹の一種であるアカエゾマツの内樹皮と外樹皮の化学成分の物質収支[1]とアカエゾマツ樹皮に含まれるスチルベンとその配糖体成分[2]について報告した。今回はアカエゾマツ内樹皮に含まれる水溶性低分子量ポリフェノールについて検討を加えた。

2. 実　　験

分析器械は前報[2]で報告した器械を使用した。薄層クロマトグラフィー (TLC) 用吸着剤として，Silica gel GF_{254} (Merck) (S-TLC)，分取用吸着剤として，Silica gel 60 PF_{254} (Merck)

* 1977年7月31日受理
本報の概要は，第27回日本木材学会 (1972年4月，京都) において発表した。

** 北海道大学農学部林産学科木材化学教室
Laboratory of Wood Chemistry, Department of Forest Products, Faculty of Agriculture, Hokkaido University.

(P-TLC) および TLC-アルミシート Polyamide 11 F_{254} (Merck) (PA-TLC) を使用した。カラムクロマトグラフィー用充填剤として Wakogel C-200 と Polyamide C-200 (和光純薬) を使用した。

2.1 供試木と試料の調製

前報[1),2)]で使用したアカエゾマツ (*Picea glehnii* MAST.) の内樹皮から95% アルコール抽出物を調製し，前報[1)]のフローシートに準じて分別し，水溶性酢酸エチル可溶部を得た。

2.2 E-7 と 8 の単離

酢酸エチル可溶部5 g をポリアミドカラム (3×70 cm)，アルコール—水の混液により展開し，溶出液 30 mℓ ずつ採取した。アルコール—水 (2:1) の展開溶媒で最初に溶出して来る No. 1～20 のフラクションにジアゾ化スルファニル酸 (DSA) でフェノールの呈色を示す E-7 と 8 のフェノール成分が他の成分と共に得られた。No. 1～20 のフラクションをポリアミドカラム (3×50 cm)，水で展開し，30 mℓ の各溶出液を採取した。E-7 と 8 の混合物を含有する No. 10～25 のフラクションをポリアミドカラム (3×50 cm)，ベンゼン—メタノール (9:1) で展開し，各溶出液 50 mℓ を採取した。フラクションをクロロホルム—メタノール (3:1) の S-TLC で追跡し，No. 60～80 に E-7 と No. 85～100 に E-8 を含むフラクションを得た。E-7 と 8 は常法によりアセチル化した。E-7 と 8 を β-グルコシダーゼにより各々加水分解し，アグリコンをクロロホルム—アセトン (2:1) の混合液で抽出した。アグリコンをピリジン—無水酢酸 (1:1) でアセチル化し，ヘキサン—酢酸エチル (2:3) による P-TLC で多段展開し，精製した。

3. 結果と考察

アカエゾマツ内樹皮の95% アルコール抽出物から分別した水溶性の酢酸エチル可溶部をポリアミドカラムクロマトグラフィーで展開を繰り返し，E-7 と 8 を内樹皮絶乾重量当り 0.16 と 0.14% の各収量で，無定形の粉末として単離した。E-7 と 8 のクロマトグラム，分光分析および元素分析の結果を表-1 に総括した。E-7 と 8 はフェノール配糖体に一般的な展開溶媒系による S-TLC で同一の Rf を示すが，クロロホルム—メタノール (3:1) による S-TLC では各々 0.31 と 0.15 の Rf を示した。しかし β-グルコシダーゼによる E-7 と 8 の加水分解で得られるアグリコンは互いに全てのクロマトグラムが一致し，分光学的性質も一致した。E-7 と 8 の紫外線 (UV) と赤外線 (IR) 吸収スペクトルもほとんど一致するから，E-7 と 8 は同一アグリコンを有し，d-グルコースの結合位置の異なる構造異性体と推定される。E-7 と 8 から得た各アグリコンを一緒にし，アセチル化し，分取 TLC で精製した。アグリコンのアセテートは δ 2.00～2.20 に 3×aliphatic acetyl, 2.30 に 1×phenolic acetyl, 3.80 ($d\times d$, J_{AB}=12 Hz, J_{BX}=6 Hz) と 4.35 ($d\times d$, J_{AB}=12 Hz, J_{AX}=4 Hz) に ABX パターンの AB 部分に相当する γ-CH_2, 5.30～5.60 に X 部分に相当する β-CH, 6.05 (d, J=6 Hz) に α-CH, 7.15 (d, J=8 Hz)

Table 1. Properties of E-7 and 8

	Yield (%)	Color (DSA)	Mp. (°C)	Silica gel TLC S-1	S-2	S-3	Mass (m/e)	UV (nm)	IR (cm^{-1})
	*1		*2		*2	*3	331	226 MX	1750 (S)
							293	248 MN	1610 (W)
E-7	0.16	Pink	50.6	0.31	0.28	0.09	250	277 MX	1510 (M)
							208		1430 (M)
							191	283 S	1370 (S)
									1220 (S)
							598	224 MX	1185 (W)
							581		1040 (S)
							538	245 MN	910 (M)
E-8	0.14	Yellow	56.5	0.15	0.33	0.09	514		840 (W)
							433	276 MX	
							361		
							331	282 S	
							293		

The acetate of E-7: Anal. Calcd. $C_{29}H_{36}O_{11}$: C, 54.38; H, 5.63. Found: C, 54.05; H, 5.68.
The acetate of E-8: Anal. Calcd. $C_{29}H_{36}O_{11}$: C, 54.38; H, 5.63. Found: C, 54.17; H, 5.80.
*1: based on moisture-free inner bark.
*2: the acetate.
*3: the aglycone.
TLC: S-1=$CHCl_3$: MeOH (3:1), S-2=C_6H_6: Me_2CO (9:1), S-3=$CHCl_3$: MeOH (10:1).
UV: MX=maximum, MN=minimum, S=shoulder.
IR: S=strong, M=medium, W=weak.

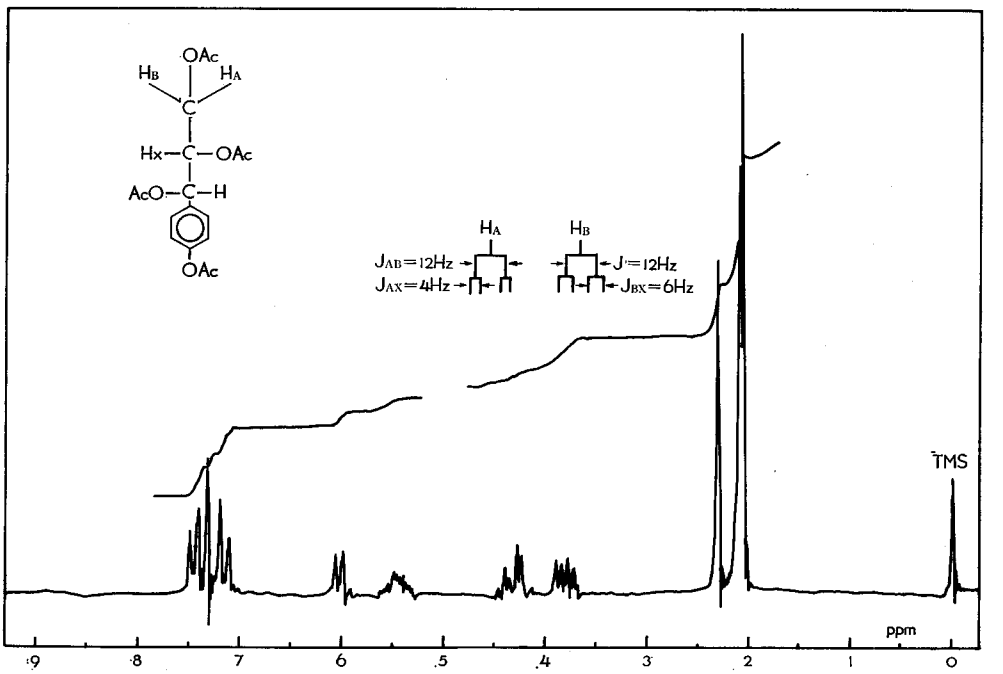


Fig. 1. NMR spectrum of the acetylated aglycone from E-7 and 8.

と 7.45 (*d*, *J*=8 Hz) に 4H のベンゼン環の各プロトンシグナルを示した (Fig. 1)。Phenylpropane 型の側鎖プロトンの化学シフトは側鎖構造がグリセロールであることを示唆し，更に β と γ 位のプロトンが ABX パターンのスピン結合を示す[3]ことから，このアグリコンは threo-1-C-(p-hydroxyphenyl)-glycerol (I) と推定される。アグリコンの Mass スペクトルは最大マスイオンピークを m/e 166 (M^+–18) に示し，そのアセテートでは 80 eV，90°C のスペクトル測定条件において，分子イオンピークが m/e 352 (M^+) に現れた。測定温度を通常の測定温度 (110～130°C) に上げると，M^+ が現れず，最大マスイオンピークは m/e 293 (M^+–59) に現れた。旋光度は測定出来なかった。以上の結果は全て相当する合成物 I の分析結果と一致し，アグリコンを threo-p-hydroxyphenylglycerol (I) と同定した。したがって，E-7 と 8 は I の β-D-glucosides と推定される。E-7 はジアゾ化スルファニル酸で桃色を呈するから，グルコース残基をグルセロール側鎖に結合している。E-7 のアセテートの NMR スペクトルは E-7 が 4 個のベンゼン環プロトン，1 個のグルコース残基，1 個のグリセロール側鎖，1 個のフェノール性水酸基，6 個のアルコール性水酸基を含むことを示唆した (Fig. 2)。p-Hydroxyphenylglycerol (I) の tetraacetate の NMR スペクトルにおいて β-CH に相当するシグナル部分 (δ 5.30) をデカップリングすると，E-7 のアセテートの NMR スペクトルに存在する δ 4.80 (*d*, *J*=6 Hz, 1 H), 3.70 と 4.10 に中心を持つシグナルが単純化した。したがって，E-7 のアセテートでは α-CH のシグナルが δ 4.80 に，γ-CH_2 のシグナルが δ 3.70 と 4.10 に現れる。グリセロ

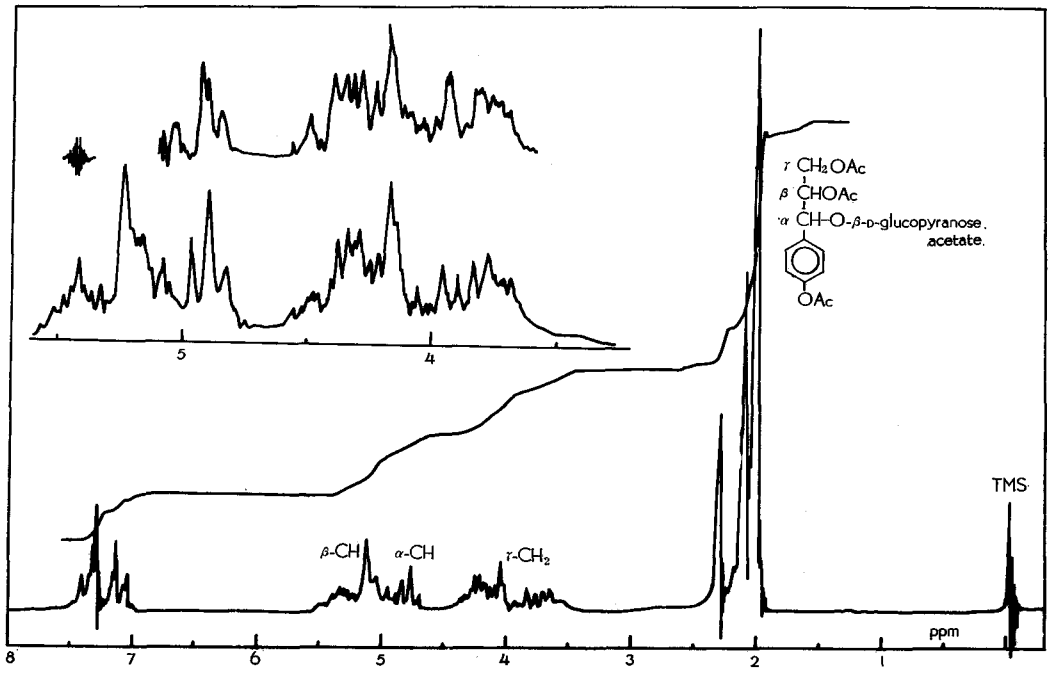


Fig. 2. NMR spectra of the acetylated E-7.

ール側鎖の化学シフトはグルコース残基が α 位で結合していることを示す。E-7 の Mass スペクトルは最大マスイオンピークを m/e 166 に，アセテートではグルコース残基に関係するマスイオンピークの他に，m/e 293, 250, 208 と 191 に特異的ピークを示した。E-7 の旋光度は測定出来なかった。元素分析の結果も考慮し，E-7 を 1-C-(4-hydroxyphenyl)-1-O-β-D-glucopyranosyl-glycerol (II) と同定した。E-7 のアセテートの融点 (50.6°C) が低いことから，E-7 は II の threo と erythro 異性体の混合物と推定され，NMR の結果から threo-II が支配的な量で存在すると思われる。E-8 はジアゾ化スルファニル酸で黄色を呈し，p-hydroxybenzyl alcohol 基の存在を示唆することから，E-8 はグルコース残基をグリセロール側鎖の β または γ 位で結合している。E-8 のアセテートの NMR スペクトルは E-7 と同一官能基の存在を示した (Fig. 3)。δ 5.38 のシグナルをデカップリングすると，5.98 ($d\times d$), 3.68 および 3.92 のシグナルが単純化した。したがって，E-8 のアセテートではグリセロール側鎖の α-CH が δ 5.98 ($d\times d$), β-CH が 5.38, γ-CH_2 が 3.68 と 3.92 の各化学シフトを示す。側鎖プロトンのこれらの挙動は E-8 がグルコース残基をグリセロール側鎖の γ-位で結合していることを示唆する。E-8 のアセテートの Mass スペクトルは m/e 598 (M^+-42), 581 (M^+-59), 556, 538, 496, 433, 331, 293, 271, 191, 169, 149, 123, 99 と 43 に相対強度の比較的大きなマスイオンピークを示し，また m/e 361 にもイオンピークを示した。m/e 361 のピークはグリセロール側鎖の β-γ の炭素結合の開裂で生じたと推定され，E-8 が側鎖の γ-位でグルコース残基を結合していることを支持す

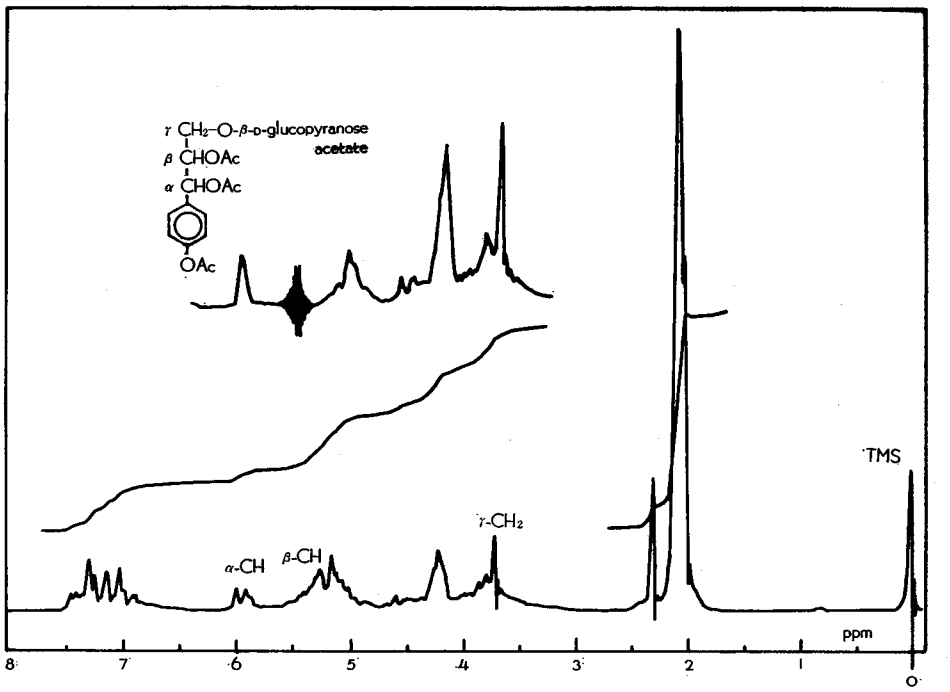


Fig. 3. NMR spectra of the acetylated E-8.

[I] $R_1=R_2=R_3=R_4=H$

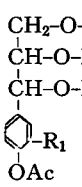
[II] $R_1=R_3=R_4=H$, $R_2=\beta$-D-glucopyranosyl

[III] $R_1=R_2=R_3=H$, $R_4=\beta$-D-glucopyranosyl

[IV] $R_1=OCH_3$, $R_2=\beta$-D-glucopyranosyl, $R_3=R_4=H$

[V] $R_1=OCH_3$, $R_2=R_4=H$, $R_3=\beta$-D-glucopyranosyl

[VI] $R_1=OCH_3$, $R_2=R_3=R_4=H$



る。以上の結果と元素分析の結果を参考にして，E-8 を 1-C-(4-hydroxyphenyl)-3-O-β-D-glucopyranosyl-glycerol (III) と同定した。E-8 のアセテートの融点 (56.5°C) から，E-8 は threo と erythro 異性体の混合物と推定される。アカエゾマツ内樹皮の酢酸エチル可溶部から新たに 1-C-(4-hydroxyphenyl)-1-O-β-D-glucopyranosyl-glycerol (II) と 1-C-(4-hydroxyphenyl)-3-O-β-D-glucopyranosyl-glycerol (III) を単離，同定した。II と III の構造に類似する化合物として，THEANDER[4] は *Pinus sylvestris L.* の針葉から guaiacylglycyrol の 1- と 2-β-D-glucosides (IV), (V) を単離している。同一針葉から II と III の抽出成分を単離したと最近報告している[5]が，詳細な分析結果は提出されていない。MANNERS と SWAN[6] は *Thuja plicate* の葉から POPOFF と THEANDER[7] は前述の針葉から phenylpropane 構造を有する dilignol glycosides を単離している。著者ら[8] はアカエゾマツリグニンの温和な加水分解に関する研究結果から，II と III のアグリコンに相当する p-hydroxyphenylglycerol (I) と guaiacylglycerol (VI) がグリセロール側鎖を遊離した状態でリグニン中に存在することを示唆した。したがって phenyl-propane 構造を有する抽出成分はリグニンの生合成と関連して興味深く，両者の相関関係の解明は今後の重要な研究課題である。

参 考 文 献

1) 佐野嘉拓・田中憲次：“アカエゾマツ樹皮の化学成分”. 北大演報, **33**, 223 (1976).
2) 佐野嘉拓・榊原 彰：“アカエゾマツ樹皮の化学成分, 2. スチルベン類の単離”. 北大演報, **34**, 287 (1977).
3) B. JOHANSSON und G. MIKSCHE: “Über die Benzyl-arylätherbindung im Lignin. II. Versuche an Modellen”. *Acta Chem. Scand.*, **26**, 289–308 (1972).
4) O. THEANDER: “The Constituents of Conifer Needles. III. Isolation of β-D-Glucosides of Guaiacyl Glycerol from *Pinus silvestris* L.” *Acta Chem. Scand.*, **19**, 1792–1793 (1965).
5) T. POPOFF and O. THEANDER: “Phenolic Glycosides from *Pinus silvestris* L.” *App. Polpmer Sym.*, **28**, 1341–1347 (1976).
6) G. D. MANNERS and E. P. SWAN: “Isolation and Structure of a Dilignol Rhamnoside from the Leaves of *Thuja plicata* Trees.” *Can. J. Chem.*, **49**, 3607–3611 (1971).
7) T. POPOFF and O. THEANDER: “The Constituents of Conifer Needles. VI. Phenolic Glycosides from *Pinus sylvestris*.” *Acta Chem. Scand.*, **31**, 329–337 (1977).
8) Y. SANO and A. SAKAKIBARA: “Hydrolysis of Lignin with Dioxane and Water. VI. Isolation of Monomeric Compound A and B.” *J. Japan Wood Res. Soc.*, **16**, 81–66 (1970).

Summary

Further studies on the low-molecular weight compounds of the ethyl acetate fraction of a 95% ethanol extract of Akaezomatsu (*Picea glehnii* Mast.) inner bark have results in the isolation of two new glucosides, designated as E-7 and E-8. The two glucosides were separated by means of polyamide column chromatography using gradient elution with benzene and methanol. E-7 and 8, obtained in 0.16 and 0.14% yields of the moisture-free inner bark, respectively, were amorphous. Hydrolysis of either of the glucosides with β-glucosidase yielded D-glucose and an aglycone. The acetate of aglycone, which was purified by preparative thin layer chromatography, was identified with an authentic sample of D, L-threo-p-hydroxyphenylglycerol tetraacetate by comparison of thin layer chromatography, and Mass and NMR spectra (Fig. 1).

E-7 gave a pink color with diazotized sulfanilic acid. Its acetate melted at 50.6°C. Mass spectrum of the acetate doesn't show the parent ion, but affords the characteristic ions at m/e 293, 250, 208 and 119 related to the acetylated aglycone part of E-7. From NMR spectrum, the acetate of E-7 is shown to contain four aromatic protons, a β-D-glucopyranosyl moiety, a glycerol side chain, one phenolic acetate and six aliphatic acetate. The double resonance experiments indicated that glucose is linked at α-hydroxy of the glycerol side chain in E-7 (Fig. 2). Based on the above results and that of the elementary analysis, E-7 was identified as 1-C-(p-hydroxyphenyl)-1-O-β-D-glucopyranosyl-glycerol (I). The low melting point of the acetate suggested that E-7 was a mixture of erythro and threo isomers.

E-8 gave a yellow color with diazotized sulfanilic acid. Mass spectrum of the acetylated E-8 shows the major ions at m/e 598 (M^+-42), 581, 538, 514, 496, 433, 331, 293, 169 and 109. From NMR spectrum, E-8 was shown to contain the same functional groups as those in E-7 (Fig. 3). The double resonance treatments indicated that glucose was linked at γ-position of the glycerol side chain in E-8. Based on the above results, E-8 was identified as 1-C-(p-hydroxyphenyl)-3-O-β-D-glucopyranosyl-glycerol (II). The result of the elementary analysis supported the proposed structure of E-8. It seems to be a mixture of erythro and threo isomers, which is presumed by the low melting point (56.5°C) of the acetylated E-8. These compounds are of interest in connection with the biosynthetic process of lignin.