

熱帯材の化学的研究 I

Haplormosia monophylla 材中の新フラボン-C-配糖体*

林 良 興**・北尾弘一郎**・佐 藤 惺***

Yoshioki HAYASHI**, Koichiro KITAO** and Akira SATO***: Chemical Studies on the Tropical Wood I. A Novel Flavone-C-Glycoside from IDEWA (*Haplormosia monophylla* HARMS) Wood

緒 言

木材の需要激増にともなう外材の輸入増加，なかんずく，南洋材のわが国において占める比重の増加は，いきおいその工業的利用において種々の障害をもたらしてきた。すなわち，加工における切削不良，パルプ化の際の樹脂障害，塗装困難，接着不良，斑点やサビの出現などによる製品汚損など，大部分はその材が含有する成分に起因する障害である。このような熱帯材の抽出成分に関する基礎的研究は，とくに工業的立場からとくに要求されているばかりでなく，木材抽出物化学の興味あるテーマであり，近年多くの報告がなされつつある。

著者らは西アフリカ，ガボン産の木材，IDEWA (*Haplormosia monophylla* HARMS: *Leguminosae*¹⁾) が，つき板にした際白色斑点を生ずる原因を知るため，この材の成分を調べ，その主抽出成分としてサクラネチンが存在することをすでに報告した²⁾。その後，本材中の，いわゆる入皮 (bark-pocket) の部分に沈積している物質を見出し，それがフラボノイドの呈色反応を有する物質を多量に含んでいることを知った。この物質を単離してその化学構造を研究した結果，これは未知の化合物である di-C- β -D-glucopyranosylapigenin であると結論を得たので，これを haplormosin と仮りに名付けて報告する。

結果および考察

IDEWA 材の入皮部分から得た試料粉末をヘキサン，アセトンで前抽出したのち，50% メタノールで熱抽出した。このメタノール抽出液を濃縮し，放置して生ずるゲル状沈殿を濾取し，含水ピリジンおよび含水メタノールから繰り返し再結して，微黄色，微細羽毛状晶 m.p. 261~2°C (分解) を得た。このもの (以下 haplormosin と仮称) はペーパークロマトグラフィにおいて4種の溶媒系で，また薄層クロマトグラフィにおいて保持層にシリカゲルとポリアマイドパウダーを用い，それぞれの薄層に適した溶媒系で展開したが，いずれの場合も単一のスポットを与えた (Table 1)。

呈色反応でこの物質は塩化第二鉄 2% 溶液で紫カッ色，Mg/HCl 反応で橙赤色を呈するので

* 日本木材学会第18回大会 (1968年4月) にて要旨発表

** 木材化学部門 (Division of Wood Chemistry)

*** リグニン化学部門 (Division of Lignin Chemistry)

フラボン類と推定される。しかも、そのクロマトグラフ的挙動、および溶解性からポリヒドロキシル化されたものであり、 $[\alpha]_D^{19}=29.3^\circ$ の旋光能を有することからその構造として、一応フラボノイドの配糖体が考えられる。しかし、Molisch 反応, Fehling 反応による糖の検出は陰性であつた。元素分析結果では $C_{27}H_{30}O_{15}$ でメトキシル基は存在しない。無水酢酸とピリジン、または無水酢酸と少量の濃硫酸で調製した完全アセチル化物は $C_{27}H_{19}O_{15}(COCH_3)_{11}$ m.p.

Table 1. Rf values and colorations of haplormosin on filter paper, Toyo No. 50, developed by ascending method.

solvent system	BuOH/AcOH/H ₂ O (4/1/5, v/v)	BuOH/AcOH/H ₂ O (4/1/2, v/v)	30% AcOH	AcOH/HCl/H ₂ O (30/3/10, v/v)	PhOHsat. aq.
Rf value	0.31	0.37	0.70	0.90	0.60
coloration	light brown (in visible light), purple (under UV light), yellow (with ammonia vapor), purple brown (with 2% FeCl ₃), negative (with aniline hydrogen phthalate)				

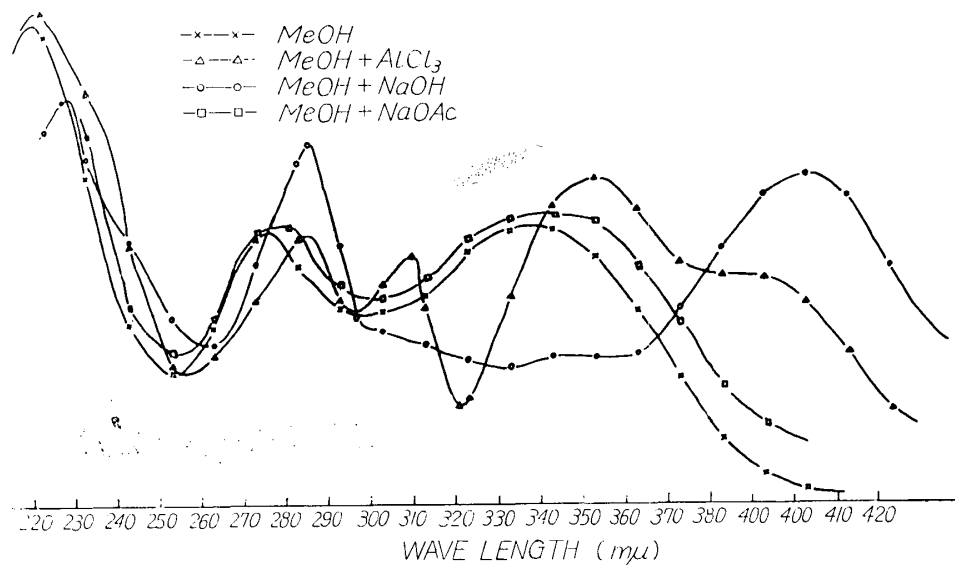


Fig. 1 UV spectra of haplormosin

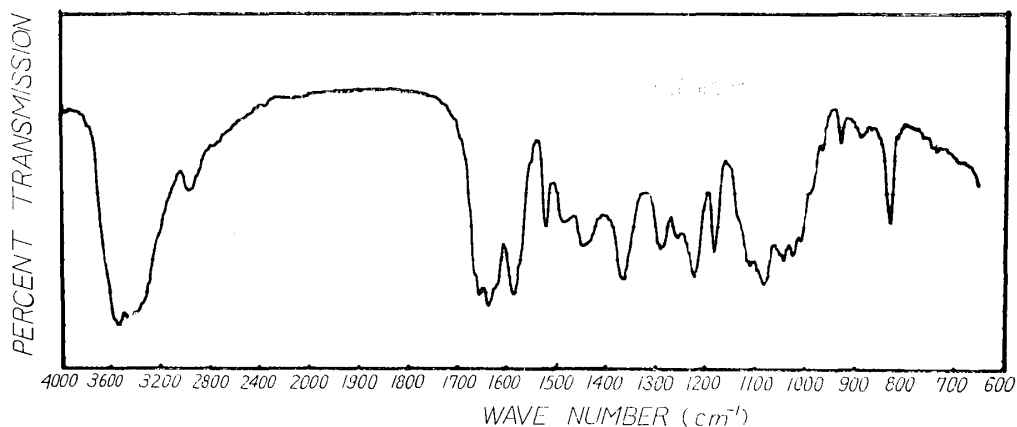


Fig. 2 IR spectrum of haplormosin

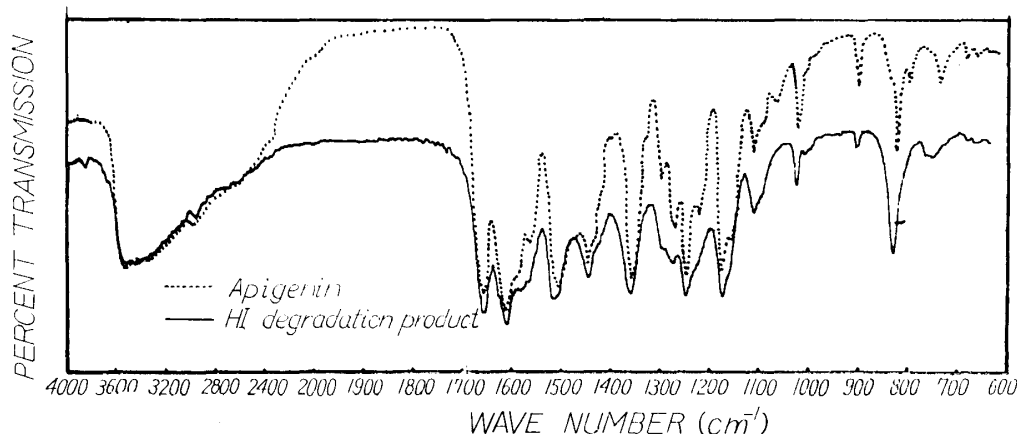


Fig. 3 IR spectra of HI degradation product of haplormosin and apigenin

155~6°C を示し、分子量はRast 法で1057、氷点降下法ではベンゼン中1065であつた。

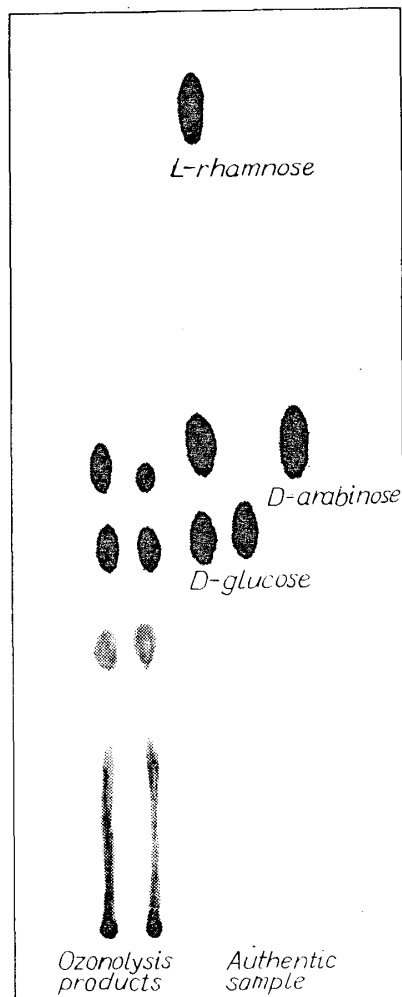


Fig. 4 PPC of ozonolysis product of haplormosin

haplormosin の UV スペクトルおよび IR スペクトルは Fig. 1, Fig. 2 に示す。フラボノイドの UV スペクトルに関する最近の研究³⁾によれば、このように2個のピークが存在するのはフラボンに特性的であり、334 $m\mu$ 近傍の吸収はB環とピロン環によるシナモイル型の共鳴系によるもの、また 273 $m\mu$ 近傍にあらわれるピークは、A環とピロン環からなるベンゾイル型の共鳴系にもとづくものであるといわれている。さらに、334 $m\mu$ のピークは塩化アルミニウムを加えると約 52 $m\mu$ 深色的にシフトし、また 273 $m\mu$ のピークは酢酸ナトリウムを加えることにより 8 $m\mu$ だけ同様にシフトする。前者からは5位におけるOHの存在が推定され、また、後者からは7位にOHの存在が推定されるからこのフラボンはアピゲニン型と考えられる。

haplormosin をアルカリ熔融し、酸性にしてエーテル抽出したものの薄層クロマトグラフィを行ない、UV 光、塩化第二鉄、マツ材反応で検した結果、パラオキシア息香酸が確認され、また微量のプロログルシンの存在もみとめられた。これに、メトキシル基の存在せぬことも考えあわせると、haplormosin のフラボン核はアピゲニンであることがわかる。

したがって本化合物の構造としてはポリオキシン化合物、とくに2個の糖基を有する配糖体が予想される。

haplormosin を2%硫酸中で4時間、8時間および16時間それぞれ煮沸、加水分解を行なつた。反応液を水酸

化バリウムで中和し、イオン交換樹脂で脱塩後、ペーパークロマトグラフィーを行なつたが、いずれの場合も糖は検出できず、スポットは加水分解前と変らない Rf 値であつた。

また、試料水溶液を β -グルコニダーゼと混ぜ、2日間 30°C に放置したが糖は生成しなかつた。

これらの結果から糖の結合は通常の加水分解条件では切断されない結合、すなわち近年になりいくつか発見され、L. J. HAYNES^{4,5)}, L. HÖRHAMMER and H. WAGNER⁶⁾ により総説されている、いわゆる C-配糖体様の結合であろうと推定された。本物質は、vitexin (8-C- β -D-glucopyranosylapigenin) に類似の化合物と考えられ、vitexin より糖基の数が多いと考えられる。

haplormosin をフェノール中でヨウ化水素とともに煮沸し、反応生成物のエーテル抽出液をアルミナカラムで分別し、m.p. 300°C 以上の黄色結晶性物質を得た。薄層クロマトグラフィー、IR スペクトルで調べたところ、Fig. 3 にしめすようにバセリの葉から得たアピゲニン (4', 5, 7-trihydroxyflavone) の標品に一致した。これより haplormosin はアピゲニン ($C_{15}H_{10}O_5$) に $C_{27}H_{30}O_{15}$ - $C_{15}H_{10}O_5$ = $C_{12}H_{20}O_{10}$ の側鎖が結合したものであることが確認できた。

小松ら⁷⁾が genkwanin (4', 5-dihydroxy-7-methoxyflavone) の C-配糖体である swertisin で行なつたように、試料の 50% エタノール溶液を約 12 時間オゾン分解し、反応液を濃縮、ペーパークロマトグラフィーで標品と比較してたしかめたところ、D-グルコース、および微量の D-アラビノースを検出した (Fig. 4)。さらに、この反応物をアセチル誘導体とし、薄層クロマトグラフィーでペンタアセチルグルコースおよび、テトラアセチルアラビノースの標品と比較したところ、両者とも検出できた。これによりアピゲニンに結合する側鎖は D-グルコース 2 分子からなり、微量検出されたアラビノースは反応中にグルコースの 1 位の炭素が切断されて生じたものと考えられる。

HÖRHAMMER and WAGNER⁸⁾ によれば、通常の O-配糖体の場合、糖の C-O 伸縮振動は 1100~950 cm^{-1} のあいだに広い吸収としてあらわれるが、C-配糖体の場合は比較的弱い 2 本の吸収として 1010 cm^{-1} と 1040 cm^{-1} に現われる。

haplormosin の IR スペクトルは Fig. 2 に示したように、1010 cm^{-1} と 1040 cm^{-1} に存在する 2 本の吸収帯は、上記の HÖRHAMMER らの指摘するところと一致する。またスペクトルの形は vitexin のそれにきわめて類似している。

以上の実験結果から haplormosin はアピゲニン 1 分子に対し 2 分子の D-グルコースが C-配糖体結合した化合物と考えられる。

グルコースの結合位置に関しては、完全に明らかにすることができなかつたが、NMR スペクトルの結果を考察して、次の論拠からアピゲニンの C₆ および C₈ 位にそれぞれ結合していると考えられる。

1) $\tau=3.20$ の 1 個のプロトンはアピゲニンの C₃, C₆, または C₈ のいずれかに帰属できる。グルコースの結合可能な位置は NMR の結果から、C₃, C₆, C₈ のいずれかのほかにはない。だから $\tau=3.20$ の 1 個のプロトンは上記の 3 つの位置のうち、2 つがふさがっていることを示す。すなわち、加水分解でグルコースが生じないことからわかるとおり、2 個のグルコースはどちらも C-C 結合をしているのであり、したがって、グルコビオースとして存在している

のでもない。

2) vitexin は希酸加水分解により、8位のグルコースが6位に転移した isovitexin を得る⁹⁾。同様のことが、orientin (8-C-glycosylluteorin)¹⁰⁾, hemiphloin (6-C-glycosylnaringenin)¹¹⁾, flavocommeritin (6-C-glycosylgenkwanin)¹²⁾, swertisin (8-C-glycosylgenkwanin-isoflavocommeritin⁷⁾ など知られている。

3) Gibbs の呈色反応は陰性であつた。すなわち、これにより5位のOHに対し、パラの位置(8位)がふさがっていることを示す¹³⁾。

以上よりグルコースの結合位置は C₆, C₈ と考えられる。

NMR スペクトルの帰属は次の通りである (Fig. 5)。

$\tau=2.00$ ($J=9$ cps: 2H) のダブルットは C_{2'}, C_{6'} のプロトン, $\tau=3.10$ ($J=9$ cps: 2H) のダブルットは C_{3'}, C_{5'} に結合したプロトンに帰属させることができる。 $\tau=4.56\sim 5.62$ にわたる10個のプロトンは2分子のグルコースによるものである。このうちで、 $\tau=5.32$ に存在する $J=10$ cps のダブルットは HOROWITZ and GENTILI¹⁴⁾ が vitexin, isovitexin について適用した

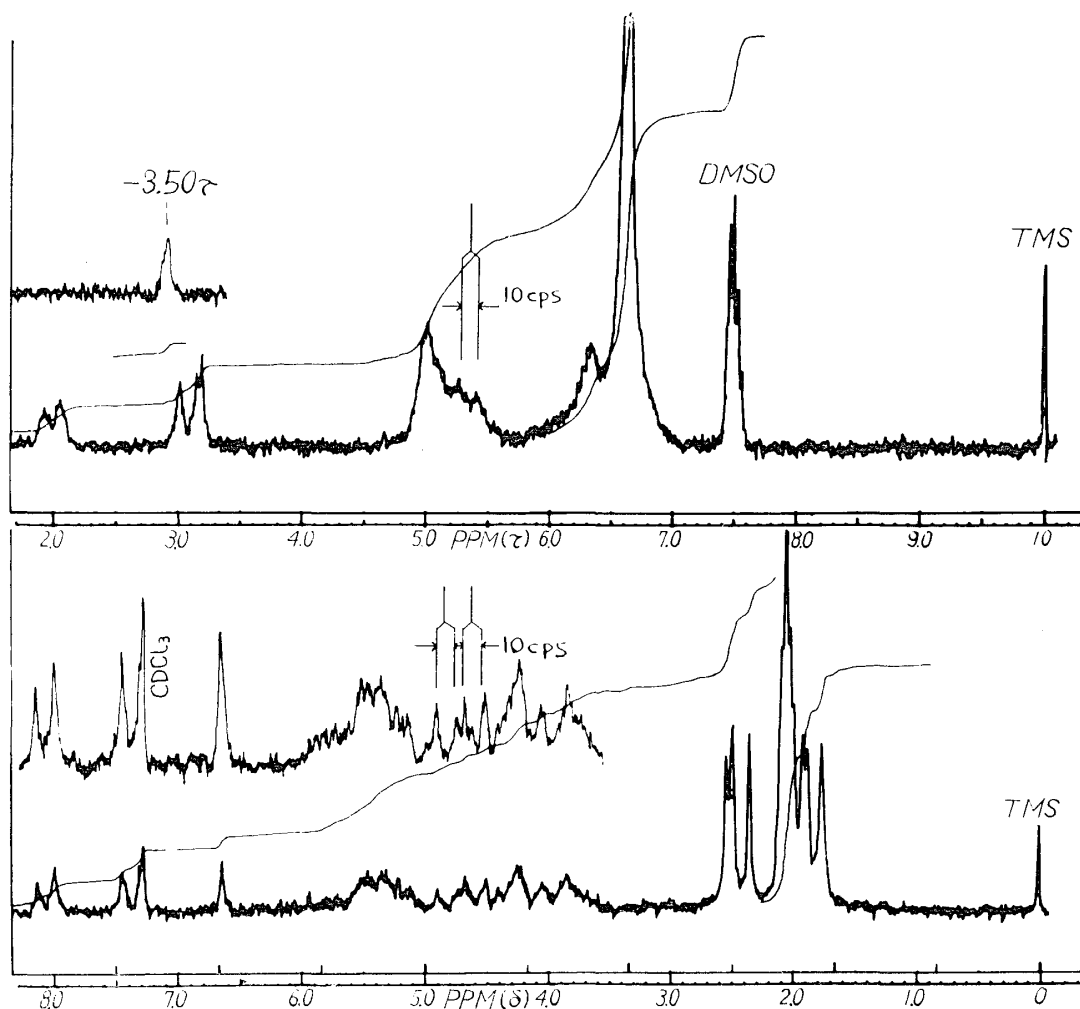


Fig. 5 NMR spectra of haploromsin and its acetate

ように、C-C結合し、 β 配置を有する糖の、1位と2位の炭素に結合したプロトンのカップリングによつて生じたものと考えられる。それゆゑ、この糖は β 配置をしていると推定できる。

アセテートの NMR では $\tau = \text{ca. } 7.8 \sim 8.3$ の間に24個のアセトキシプロトンがある。これはグルコース2分子の8個の OH がアセチル化されて生じたものである。 $\tau = \text{ca. } 7.4 \sim 7.7$ の9個のアセトキシ基はフェノール性水酸基がアセチル化されて生じたもので、 $\tau = 7.67$ は C_4' 、 $\tau = 7.52$ は C_5 、 $\tau = 7.45$ は C_7 に OH があることを示す。

以上の実験結果から、haplormosin は 6,8-di-C- β -D-glucopyranosyl-5,7,4'-trihydroxyflavone と結論できる。

なお、di-C-glycosylflavone に関しては、既に1965年、M. K. SEIKEL and T. J. MABRY¹⁵⁾ により lucenin-1 (6,8-di-C-glycosylluteolin) が *Vitex lucens* T. KIRK から、また L. HÖRHAMMER et al.¹⁶⁾ が violanthin を *Viola tricolor* L. から見出している。後者は、6,8-di-C-glycosylapigenin であるが、糖残基のうち1個がラムノースといわれており、いうまでもなく物理定数も本報の物質とは異なるから本物質とは異なるものである。

実験の部

Haplormosin の単離

IDEWA (*Haplormosia monophylla* HARMS, Leguminosae) の入皮中に存在する微黄色固体、約50 g を粉末とし、10倍量のヘキサン、次いでアセトンでひき続き抽出し、中性分および混入した樹皮フェノールを除いた。次に約10倍量の50%メタノールと共に2 l の丸底フラスコに入れ、還流冷却器を付し、湯浴上で抽出した。3時間毎にメタノールを代え、5回抽出をくり返した。抽出液を集め、汙過し濃縮して一夜放置するとゲル状の沈殿を生じた。沈殿を汉取し、アセトン、酢酸エチルで洗滌後、ピリジンに溶かし、少量の水を加えて結晶させた。さらに含水メタノールから2回再結して微黄色羽毛状晶、m.p. $261 \sim 2^\circ\text{C}$ (分解) 約13 g を得た。このものはクロマトグラフ的に単一であつた (Table 1)。薄層クロマトグラフィーの結果はポリアマイド薄層上、メタノール：アセチルアセトン：水 (4 : 2 : 1 v/v) で展開し $R_f = 0.84$ であつた。また、エタノール：水 (3 : 2 v/v) で展開した場合は $R_f = 0.87$ であつた。スポットは紫外線をあて、紫色の蛍光を発することにより検出した。

溶解性は水、メタノール、ピリジン、DMSO およびアルカリに可溶、アセトン、クロロホルム、エーテルに不溶である。

分析値 [Found; C 52.72%, H 5.30%, Calcd. for $C_{27}H_{30}O_{15} \cdot H_2O$; C 52.86%, H 5.26%] $[\alpha]_D^{19} 29.3^\circ$ ($c = 3.01$ ピリジン)。

呈色反応は $FeCl_3$ で紫カッ色、 Mg/HCl 反応で橙赤色、 Na_2CO_3 溶液には黄色、Gibbs 反応は陰性、また Molish 反応および Fehling 反応は陰性であつた。

UV スペクトル $\lambda_{max}(\text{MeOH})$; 221, 273, 334 $m\mu$ ($AlCl_3$ 添加); 282, 306, 351, 380 $m\mu$ (CH_3COONa 添加); 281, 342 $m\mu$ 。

IR スペクトル $\nu_{max}(\text{KBr})$; 833, 1010, 1040, 1635 cm^{-1} 。

Undeca-O-acetylhaplormosin

試料 200 mg に無水酢酸 4 ml を加え、ごく少量の濃硫酸を滴下すると発熱して溶解する。

一夜放置後、30ml の冷水に注下し、生じた沈殿を集め水洗後水—メタノールから結晶化した。べつに 200mg の試料を 2ml のピリジンにとかし、3ml の無水酢酸を加え、湯浴上で4時間加温し、前と同様に結晶化した。収量、293mg, m.p. 155~6°C, FeCl_3 反応は陰性であり、また IR スペクトルに OH の吸収はなかつた。分析値 [Found ; C 55.03%, H 5.14% Calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{19}\text{O}_{15}$ (COCH_3)₁₁ ; C 55.68%, H 4.94%] 分子量は Rast 法で 1056, 氷点降下法によりベンゼン中で測定したところ 1065 であり、 $\text{C}_{47}\text{H}_{52}\text{O}_{26}$ (1057) に一致する。

Haplormosin のアルカリ分解

試料 300mg, KOH 3g をニッケルルツボに入れ、水 1ml を加え混合する。140~150°C に保つて1時間加熱した。内容物を 300ml の水に溶解し汙過し、汙液を酸性にしてこれをエーテル抽出した。抽出液を水洗し、エーテルを蒸発させフェノール臭を有する蒸発乾固物(収量約 20mg)を得た。これをメタノールに溶かし、シリカゲル薄層にスポットし、トルエン：ギ酸エチル：ギ酸 (5 : 4 : 1 v/v) で展開した。Rf=0.52 の化合物は UV 光で紫色、2% 塩化第二鉄に黄色でありパラオキシン安息香酸に一致した。Rf=0.28 の物質は UV 光で紫色、2% 塩化第二鉄に紫カッ色、2% H_2SO_4 に黄赤色でありまたマツ材反応に陽性でありフロログルシンの標品に一致した。

Haplormosin の加水分解

a) 2% H_2SO_4 加水分解。試料 200mg と 2% H_2SO_4 20ml を三角フラスコ (200ml) に入れ、冷却器を付したものの3個を用意し、それぞれ4時間、8時間、16時間還流煮沸した。加水分解後、水酸化バリウムを反応液に加え中和し、生ずる沈殿を汉過した。汉液は Amberlite IR-120 のカラムを通し脱塩した。得られた水溶液を低温で 2~4 ml に濃縮し、東洋汉紙 No. 50 にスポットし、I ブタノール：酢酸：水 (4 : 1 : 5 v/v), II フェノール飽和水, III 30%酢酸を用い上昇法により展開した。Rf 値は I 0.28~0.32, II 0.59~0.61, III 0.69~0.70 であつた。発色はフェノール類の呈色試薬として 2% 塩化第二鉄と 10% 赤血塩の等量混合液を用い、また糖の検出のためには anilinhydrogenphthalate を用いた。しかし後者をスプレーしても呈色するものは認められなかつた。

b) β -glucosidase による加水分解。試料 (約 100mg) を水溶液 (20ml) とし、市販の β -glucosidase 約 30 mg を加え、30°C で2日間放置した後、溶液を濃縮し、前記同様クロマトグラフを行なつたが糖は検出できなかつた。

Haplormosin の HI による分解

試料 600mg をフェノール 10ml に溶かし、HI 20 ml を加え 130~135°C で8時間加熱した。反応物を水 (400ml) 中に投じ、生じた沈殿を 4% チオ硫酸ナトリウムで洗滌してヨウ素を除去し、水洗したのち少量のエタノールに溶解した。エタノール溶液をメルク製活性アルミナ (中性) のカラム (1.0×25cm) に移し、大量のメタノールで溶出したが、メタノールで溶出されず、カラムの最上部に吸着されている物質があつた。これを取りだし 5% NaOH で処理し、希硫酸で酸性とし、エーテルで抽出し、水洗後エーテルを蒸発させ黄色結晶性物質 42 mg を得た。本物質はシリカゲル薄層上、トルエン：ギ酸エチル：ギ酸 (5 : 4 : 1 v/v) で展開したところ Rf=0.28 (2% H_2SO_4 ; 黄色, ジアゾ化ベンジジン; 橙色) であり、パセリ

生葉より得たアピゲニンおよびナリンゲニンを酸化セレンで脱水素して得たアピゲニンに Rf 値, 呈色反応とも一致した。IR スペクトルも Fig. 3 に示したごとくアピゲニンに一致した。

Haplormosin の過ヨウ素酸酸化

試料 50mg を水 20ml にとかし, これに 0.05M NaIO₄ 液 (20ml) を加え, この混合液を室温で暗所に放置した。一定時間ごとに 5ml をとり, これに飽和重ソウ水 10ml, 0.1N Na₂AsO₃ 液 6ml および 20% KI 溶液 1.5ml を加え, 30分後デンプンを指示薬として加え, 0.05M I₂ で滴定した。べつに同じ条件で空試験を行なつた。過ヨウ素酸消費量は 2 時間後 3.26 モル, 4 時間後 3.35 モル, 6 時間後 3.62 モル, 20 時間後 3.81 モルであつた。

Haplormosin のオゾン分解

試料 500mg を 50% エタノール 100ml に溶解しオゾン濃度約 8.70g/m³ の空気を通じた。最初, 黄色の反応溶液は, 反応の進行とともに減色し, 無色となつてからもなお 6 時間通気した。反応終了後エーテル可溶部を除き, 水溶液を濃縮 (約 2 ml) した。これを東洋汙紙 No. 51 にスポットし, 比較のために D-グルコース, D-アラビノース, L-ラムノースをスポットして, ピリジン: ブタノール: 水 (3: 10: 3 v/v) で下降法により 2 日間展開した。糖の検出のため, anilinehydrogenphthalate をスプレーし, 80°C, 5 分間乾燥して発色させた。D-グルコースと D-アラビノースが検出された (Fig. 4)。

さらにこの濃縮したオゾン分解生成物を乾固し, 常法通り無水酢酸と濃硫酸でアセテートとした。これをペンタアセチルグルコースおよびテトラアセチルアラビノースと薄層クロマトグラフィにより比較した。シリカゲル薄層を用い I エタノール: ベンゼン (95: 5 v/v), II トルエン: ギ酸エチル: ギ酸 (5: 4: 1 v/v) で展開した。I の場合は Rf=0.27 と Rf=0.20 にスポットがあり, 前者はテトラアセチルアラビノース, 後者はペンタアセチルグルコースに一致した。II の場合は Rf=0.55, Rf=0.49 にスポットがあつた。前者はテトラアセチルアラビノースに, また後者はペンタアセチルグルコースであつた。スポットは 30% H₂SO₄ をスプレーし, 105°C で 5 分間加熱した。

UV スペクトル

島津マルチパーパス自記分光光度計, 日立パーキンエルマー紫外自記分光光度計を用いて測定した。試料はメタノールに溶かし塩化アルミニウムはメタノール溶液として, また酢酸ナトリウムは固体のまま加えた。

IR スペクトル

KBr 400mg に対し, 試料 2mg を KBr タブレットとした。測定には日本分光 IR-S 型, DS-402G 型を用いた。

NMR スペクトル

Varian 60Mc を用いて測定した。内部標準として TMS を用いた。haplormosin は DMSO に溶かし, また undeca-O-acetylhaplormosin は CDCl₃ に溶解して測定した。

謝 辞

ケンフェロールを恵与された林業試験場高橋技官, NMR を測定していただいた京大薬学部新宮博士, 元素分析をしていただいた京大農学部三井研究室, また UV 分光器を使用させていただいた京大農学部今村研究室と京大食糧科学研究所森田研究室に深謝する。

Summary

From the bark-pocket of IDEWA wood, an African tree *Haplormosia monophylla* HARMS : (*Leguminosae*), a yellow microcrystalline substance tentatively named Haplormosin, $C_{27}H_{30}O_{15}$, m.p. $261\sim 2^{\circ}C$, was isolated. The molecular structure of Haplormosin was elucidated as 6,8-di-C- β -D-glucopyranosyl-4', 5,-7-trihydroxyflavone by chemical reactions, UV, IR and NMR spectra.

文 献

- 1) DE SAINT AUBIN, G., La Foret Du Gabon, p. 109, France, Centre Technique Forestier Tropical (1963).
- 2) SATO, A., Y. HAYASHI and K. KITAO, Wood Research, No. 43, 9 (1968).
- 3) GEISSMAN, T. A., The Chemistry of Flavonoid Compounds, p. 107, Pergamon Press (1962).
- 4) HAYNES, L. J., Advances in Carbohydrate Chemistry, Vol. 18, 227, New York, Academic Press (1963).
- 5) HAYNES, L. J., *ibid.*, Vol. 20, 375 (1965).
- 6) OLLIS, W. D., Recent Advances in the Chemistry of Natural Phenolic Compounds, p. 185, Pergamon Press (1961).
- 7) KOMATSU, M., T. TOMIMORI and M. ITO, Chem. Pharm. Bull., **15**, 267 (1967).
- 8) PRIDHAM, J. B., Methods in Polyphenol Chemistry, p. 45, Pergamon Press (1963).
- 9) KOEPPEN, B. H. and D. G. ROUX, Biochem. J., **97**, 444 (1964).
- 10) HILLIS, W. E. and A. CARLE, Austral. J. Chem., **16**, 147 (1965).
- 11) TAKEDA, K., S. MITSUI and K. HAYASHI, Bot. Mag. Tokyo, **79**, 578 (1966).
- 12) KOEPPEN, B. H., Z. Naturforsch., **19B**, 173 (1964).
- 13) GEISSMAN, T. A., The Chemistry of Flavonoid Compounds, p. 70, Pergamon Press (1962).
- 14) HOROWITZ, R. M. and B. GENTILLI, Chem. and Ind., 498 (1964).
- 15) SEIKEL, M. K. and T. J. MABRY, Tetrahedron Lett., 1105 (1965).
- 16) HOERHAMMER, L. *et al.*, Tetrahedron Lett., 1701 (1965).