ノ ー ト

植物油中の新規ビタミンEの確認

松本 晃・高橋寿美子・中野 賢二・貴島 静正

エーザイ株式会社 基礎研究本部

(〒112 東京都文京区小石川 4-6-10)

Identification of New Vitamin E in Plant Oil

Akira MATSUMOTO, Sumiko TAKAHASHI, Kenji NAKANO, Shizumasa KIJIMA

Research Division, Eisai Co., Ltd.

(4-6-10, Koishikawa, Bunkyo-ku, Tokyo, 〒112)

New vitamin E was isolated and purified from palm and rice bran oils by column chromatography and preparative HPLC.

Structural determination was made by UV, MS and ^1H -NMR spectroscopy as 2,5,7,8-tetramethyl-2-(4',8',12'-trimethyltrideca-11'-enyl)-6-chromanol.

1 緒 言

自然界におけるビタミンE(作用物質)には、現在トコフェロール4種とトコトリエノール4種の計8種同族体が知られており、とくに植物油中に多く含まれている。

熱帯性多年草本であるアブラヤシの果実より得られるパーム油中には α -トコフェロールの他、トコトリエノール類及びこれらのエステル体をわずかに含む¹⁾、エステル体に関しては、精製米ぬか油、精製大豆油、ごま油にも認められ²⁾、最近、唐辛子、パプリカ中でもその存在が明らかにされた³⁾。

今回、我々はこれらエステル体でなく新規構造のビタミンEをパーム油及び米ぬか油中から発見したので報告する。

2 実 験

2.1 試 料

市販のパーム油、パームオレイン、米ぬか(エーテル抽出物)を用いた。

2.2 未知物質の単離

パーム原油から分子蒸留によって得たトコフェロール濃縮物(総トコフェロール90%)1gを、吸着剤としてシリカゲル(70~230 mesh, MERCK)を高さ50cmまで充填した内径2cm、長さ70cmのガラスカラムにかけ、 n -ヘキサン: n -ブチルエーテル(99:1)、(97:3)、(95:5)、(93:7)、(90:10)の順に100mL

ずつで展開後、 n -ヘキサン:イソプロピルアルコール(95:5)で溶出し、未知物質を含む画分を分取した。

精製はInertsil PREP-ODS カラム, 10 μm , (250mm $\times$ 20mm, ジーエルサイエンス), 移動相としてメタノールを用いて分取HPLCにより未知物質約20mgを単離し、UV, 旋光度, MS, ^1H -NMR スペクトルにより構造確認を行った。

2.3 分析機器

UV スペクトルは島津 UV-2100 分光光度計, 旋光度は日本分光 DIP-4 Digital Polarimeter を用いて測定した。

MS スペクトルは日本電子製 JMX-DX 300 を用い EI 法により, また ^1H -NMR スペクトルは重水素クロロホルムを溶媒として, 日本電子製 JMN-GX 400 を用いて測定した。

2.4 試料の HPLC 操作条件

測定条件1: ポンプ, LC-6 A (島津); 蛍光検出器, RF-530(島津); 励起波長, 290nm; 測定波長, 330nm; カラム, Zorbax SIL, 5 μm , (250mm $\times$ 4.6mm, Dupont); 移動相, n -ヘキサン/ジオキサン/イソプロピルアルコール(985:10:5); 温度, 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速, 1.5mL/min。

測定条件2: ポンプ, 検出器は測定条件1に同じ。カラム, Inertsil ODS-2, 5 μm , (250mm $\times$ 4.6mm, ジーエルサイエンス); 移動相, メタノール/水(95:5); 温度, 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速, 1mL/min。

連絡者: 松本 晃

3 結果と考察

Fig.-1 に UV スペクトルを示したが、未知物質は 292 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$ EtOH, 76.0) に吸収極大を示し、 α -トコフェロール及び α -トコリエノールと同じ吸収極大を示し⁴⁾、またアルカリ性ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウ

ムによる二相酸化⁵⁾後の α_D^{25} (イソオクタン) は $+30.1^\circ$ と α -トコフェロールの $+29.6^\circ$ ⁶⁾とよく一致していた。このことは、天然のトコフェロール及びトコリエノール同様、クロマン環 2 位の立体構造が *R* であることを強く示唆している。

Fig.-2 に未知物質の MS スペクトルを示した。 m/z

1, α -T (8.0 mg %); 2, α -T 3 (7.5 mg %); 3, UK (8.5 mg %) in ethanol.

Fig.-1 UV spectra of *d*- α -tocopherol (α -T), *d*- α -tocotrienol (α -T 3) and unknown matter from palm oil (UK)

Fig.-2 Mass spectrum of unknown matter from palm oil.

$\delta(\text{ppm})$	Relative intensity	Splitting[Hz]	Assignment
5.12	1	tqq, $J=7,2,2$	11'
4.22	1		OH
2.62	2	t, $J=7$	4
2.17	3	s	7-CH ₃
2.12	6	s	5-CH ₃ , 8-CH ₃
1.97	2	m	10'
1.83	2	td, $J=7,14$	3 Ha
1.76		td, $J=7,14$	3 Hb
1.70	3	d, $J=2$	13'
1.62	3	d, $J=2$	16'
1.55	2	m	1'
1.24	3	s	2-CH ₃
1.0~1.5	14	m	2', 3', 4', 5', 6', 7', 8', 9'
0.87	3	d, $J=7$	14', 15'
0.86	3	d, $J=7$	

Fig.-3 ¹H-NMR spectrum of unknown matter from palm oil and its assignment. Fig.-4 Structure of *d*- α -tocomonoenol.

(A) Standard solution, (B) Commercial palm oil.

HPLC conditions : column, Zorbax SIL ($5\mu\text{m}$, $250\text{ mm} \times 4.6\text{ mm}$, Du Pont); mobil phase, *n*-hexane/dioxane/2-propanol (985 : 10 : 5); temperature, 30°C ; flow rate, 1.5 mL/min ; *Ex* 290 nm ; *Em* 330 nm ; injection volume, $15\mu\text{L}$ (Sample 100 mg/mL in *n*-hexane).

1, α -T; UK, unknown matter; 2, α -T3; 3, β -T; 4, γ -T; 5, β -T3; 6, γ -T3; 7, δ -T and 8, δ -T3.

Fig.-5 Normal-phase chromatograms of tocopherols (T) and tocotrienols (T3)

(A) Standard solution, (B) Commercial palm oil.

HPLC conditions : column, Inertsil ODS-2 ($5\mu\text{m}$, $250\text{ mm} \times 4.6\text{ mm}$, GL Sciences); mobil phase, methanol/water (95 : 5); temperature, 30°C ; flow rate, 1.0 mL/min ; *Ex* 290 nm ; *Em* 330 nm ; injection volume, $15\mu\text{L}$ (Sample 100 mg/mL in 2-propanol).

1, α -T; 2, α -T3; 3, 4, β -T and γ -T; 5, 6, β -T3 and γ -T3; 7, δ -T; 8, δ -T3 and UK, unknown matter.

Fig.-6 Reverse-phase chromatograms of tocopherols (T) and tocotrienols (T3)

428 (M^+) に分子イオンピークが認められ、核のフラグメントは α -トコフェロール及び α -トコトリエノールと同様^{7),8)}に側鎖の脱離による m/z 205 及びトロピリウムイオンによる m/z 165 にそれぞれのピークが認められ、 α -トコフェロール、 α -トコトリエノールと同じクロマンオール環を有し、側鎖部分に1個の二重結合の存在が示唆された。

¹H-NMR スペクトル及びその帰属を Fig.-3 に示した。 δ : 5.12 ppm (tqq, 1 H, $J=7,2,2$ Hz, C=C-H) に 11' 位のプロトンが現れることから未知物質は 2,5,7,8-tetramethyl-2-(4'8'12'-trimethyltrideca-11'-enyl)-6-chromanol (α -トコモエノール, Fig.-4) と決定した。

α -トコモエノールは市販のパーム油、パームオレインからそれぞれ 12.8 $\mu\text{g/g}$, 14.2 $\mu\text{g/g}$ 検出されたほか、米ぬか (エーテル抽出物) から 7.2 $\mu\text{g/g}$ 検出された。

ビタミン E の生成経路^{9),10)}は①ホモゲンチジン酸とフィチルピロリン酸が縮合して 3-フィチルトルキノールとなり、これが環化して δ -トコフェロールとなり、更にメチル化されて γ , β , α -トコフェロールが生成する経路と②ホモゲンチジン酸とゲラニルゲラニルピロリン酸とが縮合して 3-テトラプレニルトルキノールとなり、これが環化して δ -トコトリエノールとなり、

更にメチル化されて γ , β , α -トコトリエノールが生成する経路の2つが考えられているが、 α -トコモエノールがトコトリエノールを多く含む植物油 (パーム油, 米ぬか) から検出されたことは、その生成経路中間体として極めて興味深い。

〔平成7年(1995年)4月20日受理〕

文 献

- 1) A. Kato, Ab. Gapor, K. Tanabe, M. Yamaoka, H. Mamuro, *Yukagaku*, 30, 590 (1981)
- 2) 加藤秋男, 田辺恵三, 山岡正和, 油化学, 30, 515 (1981)
- 3) 氏家 隆, 中川由美, 田中愛子, 油化学, 43, 421 (1994)
- 4) M. Mino, H. Nakamura, "VITAMIN E" Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/Karger, Basel (1993) p. 3
- 5) *U.S. Pharmacopeia*, 23, (1995) p. 1632
- 6) 牧野孝夫, 倉田信行, ビタミン, 56, 303 (1982)
- 7) S.E. Sheppele, R.K. Mitchum, C.J. Rundolph, Jr., K.F. Kinnerberg, V. Odell, *Lipids*, 7, 297 (1972)
- 8) M.K.G. Rao, E.G. Perkins, *J. Agr. Food Chem.*, 20, 240, (1972)
- 9) D.R. Threlfall, *Vitam. Horm.*, 29, 153 (1971)
- 10) W. Janiszowska, J.F. Pennock, *Vitam. Horm.*, 34, 77 (1976)