

ノート

セルロース誘導体の ^{13}C -NMRスペクトル

和田 一 夫, 門 坂 忠 雄*

1 緒 言

^{13}C -NMR は分子骨核に関する情報が得られることから有機化合物の構造を決定するうえで極めて有用である。 ^{13}C -NMR のひとつの特徴として、 ^{13}C の天然存在比が低いことからスピン相互作用が小さく、スペクトルが単純であり、解析が ^1H -NMR に比較して容易なことである。したがって、複雑な構造をもつ化合物、例えば、高分子化合物の構造解析にも広く利用されている。

多糖類誘導体の定性的確認分析としては、赤外分光法が広く行われているが、低置換度の誘導体では赤外吸収スペクトルによる同定は極めて困難である。そのため、構成糖の種類を酸分解後ガスクロマトグラフィーにより確認する方法が検討されている。ブラベンダー粘度計による粘度曲線は、でん粉誘導体、粘質多糖類の誘導体の確認に有効である。糖質の ^1H -NMR は置換基の確認、立体配座の同定に広く利用されているが、多糖質の ^1H -NMR では、単糖類の化学シフトが小さくシグナルの重なりが多いため解析には多くの困難が伴う。一方、グルコースの ^{13}C -NMR で明らかのように、ヘキソピラノースの炭素は60 ~ 100 ppm (TMS 基準) の範囲にシグナルを示すことから、グルコースを構成糖とする多糖質の構造確認に ^{13}C -NMR は広く利用され、セルロース誘導体についての報告は多い。

ここでは、高置換度のセルロース誘導体を試料とし、パルス角、パルス間隔、積算回数等の諸測定条件について検討し、 ^{13}C -NMR による多糖類誘導体の確認分析法としての実用性について考察した。

2 実 験

2・1 装置

日立 R26 高分解能核磁気共鳴装置：共鳴周波数 10 MHz . パルス方式：単一パルス方式 .

パルス角：0 ~ 90 ° , 1 / 4 ~ 64sec .

試料室温度：35 定温 .

コンピューター：4 K .

2・2 試料及び試薬

酢酸セルロース (コダック社製品、粉末状)、カラー写真用フィルムベース (サクラクローム、フジネガカラーのもの)、酢酸・酪酸セルロース (試薬)、トリデカン酸セルロース、酢酸水素フタル酸セルロース、エチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、ニトロセルロース、プロピレン オキシドセルロース (輸入品)、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース - Na 塩、硫酸セルロース及びグルコース、

溶媒：重水、重アセトン、重クロロホルム

基準物質：TMS

2・3 測定条件

試料 100 - 400mg を適当な溶媒 2ml に溶かし TMS 5~10 滴を添加 (重水を溶媒に用いた場合は、キャピラリーに TMS を封入し、試料管の中央に固定する) して測定した。ただし、酢酸セルロース (フジネガカラーフィルム) についてはジクロルメタンを溶媒に用い。磁場固定には $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ を添加した。

メチルセルロース及びカルボキシメチルセルロースについては、セルラーゼによる加水分解物についても測定した。なお、セルラーゼによる加水分解は Perlin¹⁾の方法にしたがった。

3 結果と考察

3・1 グルコースの ^{13}C - NMR

Fig. 1 及び Table 1 にスペクトル及びその帰属を示した。Perlin らの結果²⁾と比較すると、いずれも約 2~3ppm 低磁場にシフトしている。C - 1 炭素は - , - グルコースとも 100ppm 付近にシフトしており、C - 6 炭素は - , - グルコースとも約 65ppm 付近に現われる。C - 2 ~ C - 5 炭素は 70ppm から 80ppm の範囲に観察される。

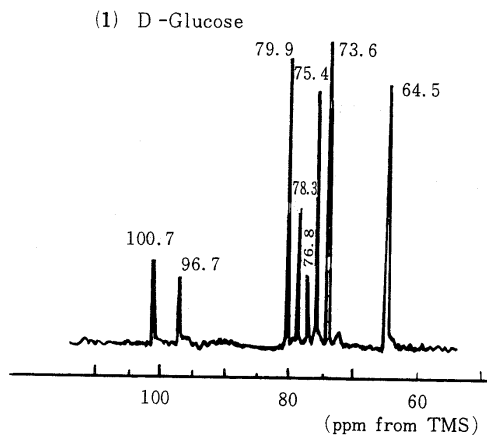
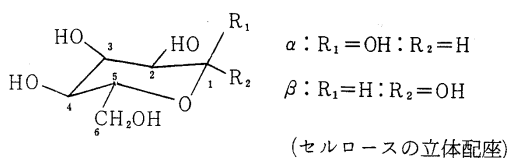


Fig. 1 ^{13}C - NMR spectrum of d - glucose
- d - Glucose (Wako sp.)

Pulse angle 35°
Interval 0.5 sec.
No of pulse 907
Solvent D_2O

Table 1 Chemical shifts of d - glucose ⁽¹⁾

		C 1	C 2	C 3	C 4	C 5	C 6
α -d-glucose	a	93.3	73.1	74.4	71.2	72.9	62.4
	b	96.7	75.4	76.4	73.6	75.4	64.5
β -d-glucose	a	97.1	75.6	77.3	71.2	77.3	62.4
	b	100.7	78.3	79.9	73.6	79.9	64.5

a : A.S.Perlin ⁽²⁾

b : This study

3・2 酢酸セルロースの ^{13}C - NMR

カラーフィルムベースは重クロロホルムにはほとんど溶解しないので、膨潤した状態で測定した。 Fig. 2

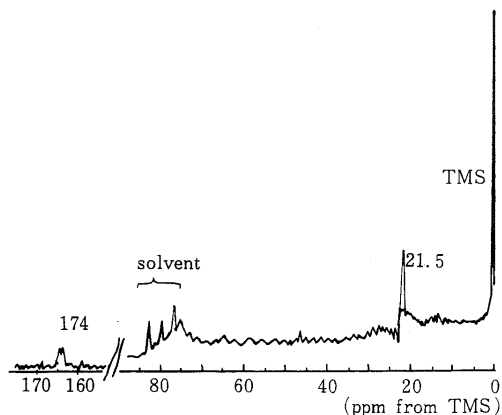


Fig. 2 ^{13}C - NMR spectrum of CA (sakura chrom II film)

Cellulose acetate (Sakura chrome)
Cell $(\text{OCOCH}_3)_n$
Pulse angle 80°
Interval 4 sec.
No of pulse 13,271
Solvent CDCl_3

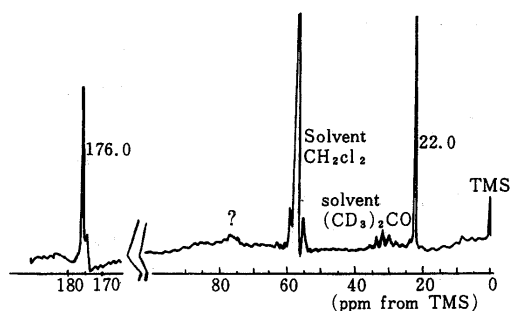


Fig. 3 ^{13}C - NMR spectrum of CA (Fuji F -)

Cellulose acetate (Fuji F2)
Pulse angle 70°
Interval 4 sec.
No of pulse 13,000
Solvent $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + (\text{CD}_3)_2\text{CO}$

にそのスペクトルを示した。アセチル基のメチル炭素が 21.5ppm に、カルボキシ基の炭素が 174ppm 付近に明瞭に現われている。その他の炭素シグナルはこの条件では観察できなかった。ジクロロメタンに溶けるカラーフィルムベースのスペクトルを Fig. 3 に示した。アセチル基のメチル炭素及びカルボキシ基の炭素シグナルが顕著に観察され、アセチル誘導体の確認ができる。糖骨核の炭素シグナルはブロードとなり明瞭でない。なお、ジクロロメタンでのシグナルが重クロロホルムでのシグナルよりも高磁場側にシフトしているのは、溶媒効果によるものと考えられる。³⁾カルボ

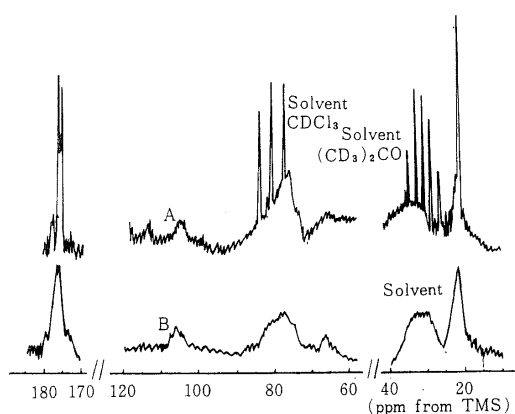


Fig. 4 ^{13}C - NMR spectrum of CA

Pulse angle (°) 90 60
Interval (sec.) 4 2
No of pulse 13,000 17,000
Solvent $\text{CDCl}_3 + (\text{CD}_3)_2\text{CO}$ $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$

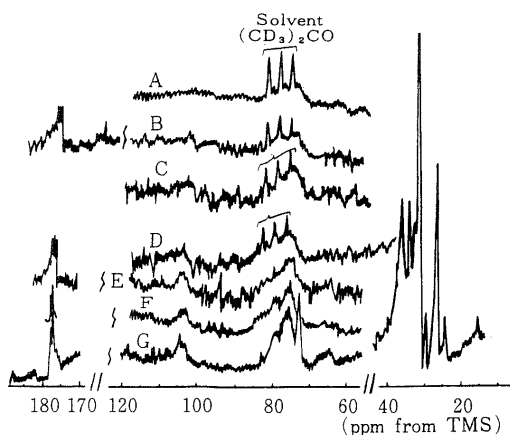


Fig.5 ^{13}C - NMR spectra of CTD

キシ基は 2 本にスプリットしているが、これはアセチル基の置換位置の違いによるものと考えられる。Fig. 4 は粉末状のトリ酢酸セルロースを重クロロホルムに溶かしたときのスペクトルであり、糖骨核のシグナルはブロードに現われている。

3・3 トリデカン酸セルロース (CTD) の ^{13}C - NMR

Table 2 に示した条件で測定した。スペクトルは Fig. 5 に示した。置換基のメチル・メチレン 及びカルボキシ基炭素のシグナルが、それぞれ 15 ~ 40ppm 及び 175 ppm に現われている。パルス間隔を短

Table 2 Measurement conditions of CTD

spectra	pulse angle(°)	Interval (sec.)	No of pulse
A	80	16	3218
B	70	8	4096
C	60	2	5098
D	45	0.5	4679
E	60	0.25	9000
F	60	0.25	14774
G	90	0.25	16348

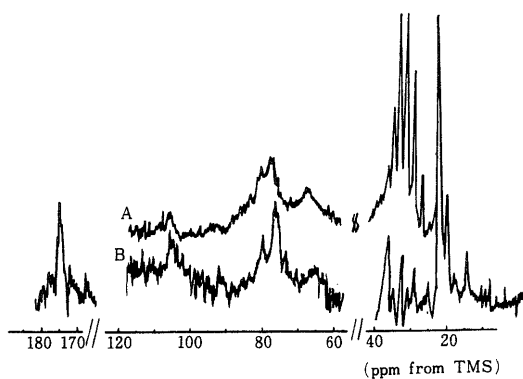
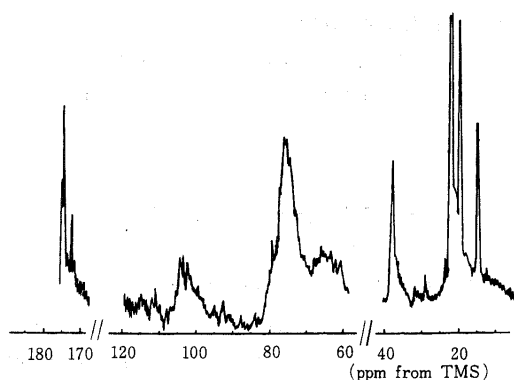
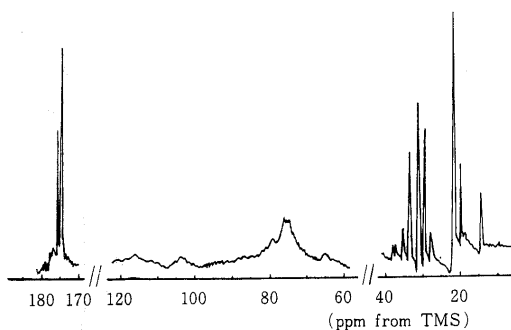


Fig. 6 ^{13}C - NMR spectra of CAB

Pulse angle (°) A B
Interval (sec.) 40 90
Interval (sec.) 2 0.25
No of pulse 33,000 16,384
Solvent $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$

Fig. 7 ^{13}C - NMR spectrum of CAB

Pulse angle 90°
 Interval 0.5 sec.
 No of pulse 16,384
 Solvent $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$

Fig. 8 ^{13}C - NMR spectrum of CAB

Pulse angle 80°
 Interval 4 sec.
 No of pulse 16,384
 Solvent $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$

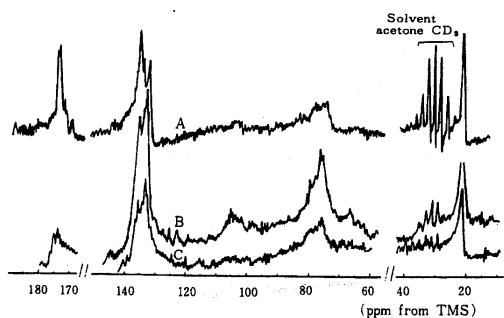
かくして測定した場合 (Fig. 5 A G), $\text{C}=\text{O}$ の炭素シグナルの分裂は不明瞭になり, 糖骨核のシグナル (105ppm 付近, 70~80ppm 及び 65ppm 付近) が比較的明瞭に現われてくる (Fig. 5 D G 参照)。

3・4 酢酸・酪酸セルロース (CAB) の ^{13}C - NMR

スペクトルは Fig. 6, 7 及び 8 に示した。糖骨核核シグナルが, 105ppm, 70~80ppm 及び 65ppm 付近に認められる。この糖骨核によるシグナルは, パルス間隔が短かく, パルス角度が大きいくほど相対的に強くなっている。この場合も置換基の $\text{C}=\text{O}$ 炭素シグナルはパルス間隔を短かくするとブロードな単一のシグナルとなる。

3・5 酢酸水素フタル酸セルロース (CAHP) の ^{13}C - NMR

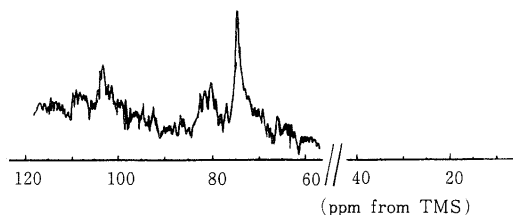
Fig. 9 にスペクトルを示した。アセチル基のメチル炭素は 22ppm 付近, フタル酸のベンゼン環炭素は 130~140ppm, カルボキシル基の炭素は 175ppm 付近にそれぞれシグナルが現われている。セルロースの糖骨核によるシグナルは 75~80ppm に比較的明瞭に現われており, 105ppm 付近及び 65~70ppm にもブロードな弱いピークが現われている。

Fig. 9 ^{13}C - NMR spectra of CAHP

	A	B	C
Pulse angle ($^\circ$)	45	70	90
Interval (sec.)	0.5	0.5	0.25
No of pulse	65,000	39,324	16,324
Solvent	$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	$(\text{CD}_3)_2\text{CD}$

3.6 ニトロセルロースの ^{13}C -NMR

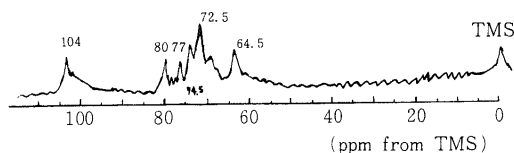
Fig. 10 にスペクトルを示した、セルロースの糖骨核によるシグナルのみが現われている。ニトロ基による影響については考察しなかった。

Fig. 10 ^{13}C -NMR spectrum of NC

Pulse angle 45°
Interval 0.25 sec.
No of pulse 16,384
Solvent $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$

3.7 硫酸セルロース (OS) の ^{13}C -NMR

Fig.11 にスペクトルを示した。ニトロセルロースのスペクトルと同様にセルロースの糖骨核によるシグナルが観察されるが、ニトロセルロースの場合に比較してシグナルの分離が良い。

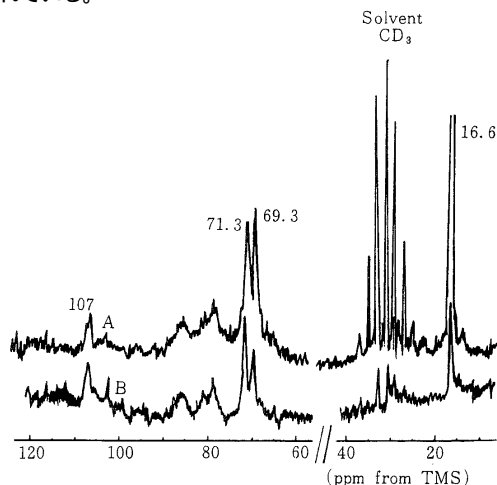
Fig. 11 ^{13}C -NMR spectrum of CS

Pulse angle 80°
Interval 4 sec.
No of pulse 15,319
Solvent D_2O

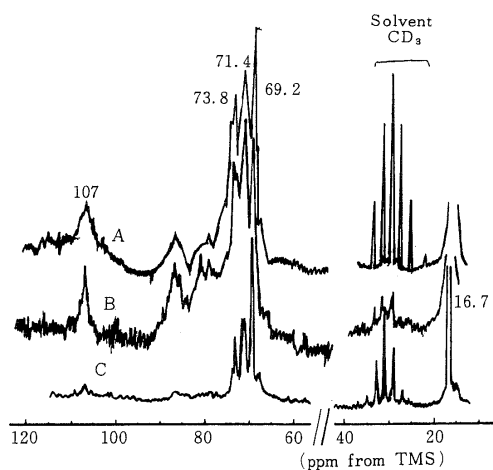
3.8 エチルセルロース (EC) の ^{13}C -NMR

Fig.12 にスペクトルを示した。16.6ppm にエチル置換基のメチル炭素が現われており、69.3ppm 及び 71.3 ppm にエチル置換基のメチレン炭素又は糖骨核の C - 6 炭素に相当するシグナルが現われている。セルロースの糖骨核による炭素のシグナルは微弱であるが、C - 1

(107ppm) に相当するシグナルは比較的明瞭に現われている。

Fig. 12 ^{13}C -NMR spectra of EC

	A	B
Pulse angle ($^\circ$)	60	90
Interval (sec.)	4	0.25
No of pulse	14,660	17,163
Solvent	$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$

Fig. 13 ^{13}C -NMR spectra of EHEC

	A	B	C
Pulse angle ($^\circ$)	90	90	70
Interval (sec.)	4	0.25	4
No of pulse	13,330	16,384	6,005
Solvent	$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$

3.9 エチルヒドロキシエチルセルロース (EHEC) の ^{13}C -NMR

スペクトルを Fig. 13 に示した。73.8ppm のシグナルはエチルセルロースでは観察されないものであり、ヒドロキシエチル基のメチレン炭素によるシグナルと推定される。

3.10 プロピレンオキシド付加セルロース (輸入品) の ^{13}C -NMR

Fig. 14, 15 及び 16 にスペクトルを示した。18ppm 及び 20ppm のシグナルは置換基プロピレンオキシドのメチル炭素、70ppm 及び 80ppm 付近のシグナルは、メチン及びメチレン炭素によるものと考えられる。セルロースの糖骨核による炭素シグナルはほとんど検出できない程度である。重クロロホルムを溶媒に用いた場合にはシグナルはブロードとなり、1 ~ 2 ppm 程度低磁場にシフトしている。

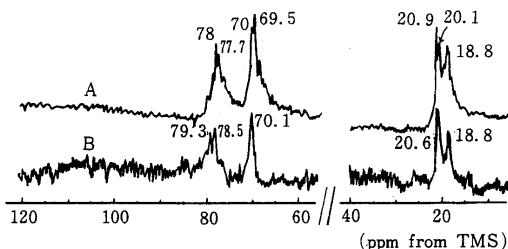
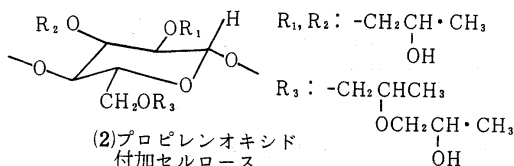


Fig. 14 ^{13}C -NMR spectra of sample imported

	A	B
Pulse angle	80	30
Interval (sec.)	8	0.25
No of pulse	6,986	18,000
Solvent	D ₂ O	D ₂ O



3.11 カルボキシメチルセルロース - Na 塩 (CMC) の ^{13}C -NMR

Fig.17 に CMC のスペクトルを示した。75ppm に鋭いシグナル及び 184ppm にカルボキシル基の炭素シグナルが現われている。CMC をセルラーゼにより加水分解したもののスペクトルは Fig. 18 に示した。加水分解物ではグルコースの各炭素のシグナルが現われているが C - 1 (107.3ppm) 及び C - 6 (63.8ppm, 未置換) 以外のシグナルの帰属はできなかった。また、 $-\text{CH}_2\text{COONa}$ のメチレン炭素のシグナルの確認も困難であった。

解したもののスペクトルは Fig. 18 に示した。加水分解物ではグルコースの各炭素のシグナルが現われているが C - 1 (107.3ppm) 及び C - 6 (63.8ppm, 未置換) 以外のシグナルの帰属はできなかった。また、 $-\text{CH}_2\text{COONa}$ のメチレン炭素のシグナルの確認も困難であった。

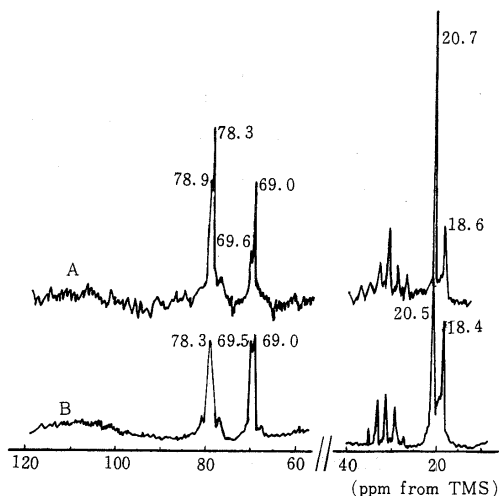


Fig. 15 ^{13}C -NMR spectra of sample imported

	A	B
Pulse angle	80	70
Interval (sec.)	2	0.5
No of pulse	5,870	17,870
Solvent	(CD ₃) ₂ CO	(CD ₃) ₂ CD

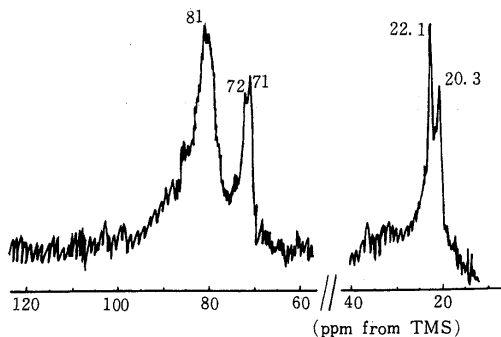
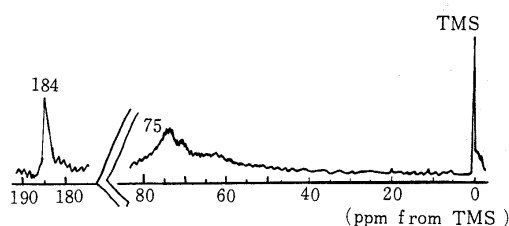
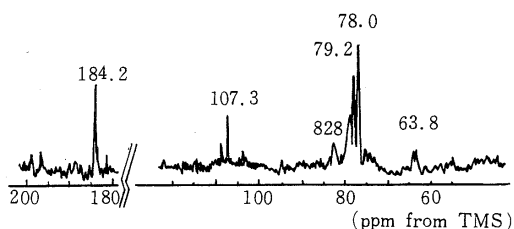


Fig. 16 ^{13}C -NMR spectrum of sample imported

Pulse angle	90 °
Interval	0.25 sec.
No of pulse	16,384
Solvent	CDCl ₃

Fig. 17 ^{13}C - NMR spectrum of CMC Na - salt

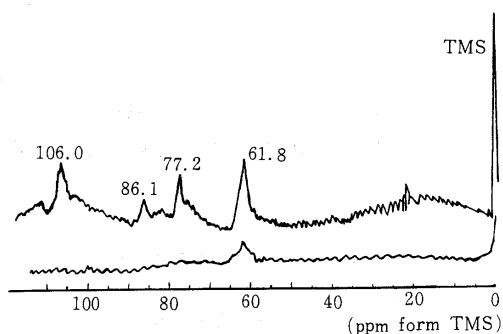
Cell (OCH₂COONa)_n
 Pulse angle 70 °
 Interval 4 sec.
 No of pulse 14,335
 Solvent D₂O

Fig. 18 ^{13}C - NMR spectrum of CMC Na - salt

Cell (OCH₂COONa)_n
 Pulse angle 50 °
 Interval 2 sec.
 No of pulse 6,010
 Solvent D₂O
 Degraded by cellulase

3.1.2 メチルセルロース (MC) の ^{13}C - NMR

Fig. 19 に MC 及び MC をセルラーゼで加水分解したもののスペクトルを示した。MC では 61.8 ppm に置換基のメチル炭素のシグナルのみが観察されるが、セルラーゼで加水分解したものではグルコースの各炭素のシグナルが明瞭に現われている。しかし、C - 6 炭素と - OCH₃ のメチル炭素のシグナルの区別はできなかった。

Fig. 19 ^{13}C - NMR spectra of MC

Cell	(OCH ₃) _n	
Pulse angle (°)	80	80
Interval (sec.)	8	8
No of pulse	18,875	7,551
Solvent	D ₂ O	D ₂ O
Upper : Degraded by cellulase		

4 要 約

セルロース誘導体の ^{13}C - NMR では、置換基の炭素シグナルは顕著に現われているが、糖骨核の炭素のシグナルは弱く確認が困難であった。パルス角を大きくしてパルス間隔を短くした場合、溶媒及び内部基準 TMS のシグナル強度は著しく減少し、セルロースの糖骨核の炭素シグナルが相対的に強くなる。しかし、置換基のカルボキシル基の炭素シグナルはブロードとなる。一方、パルス間隔を長くするか、又は、パルス角を小さくするとカルボキシル基の炭素シグナルは置換基位置の違いによる 2 以上のシグナルとして観察される。カルボキシメチルセルロースの C - O 炭素のシグナルは異なった挙動を示した。セルラーゼ処理後のスペクトルはいずれの場合もヘキソピラノース環の炭素シグナルが観察される。

ニトロセルロース、硫酸セルロースは糖骨核の炭素シグナルが比較的明瞭に観察される。

文 献

- 1) A . S . Perlin , A . Parfondry ; Carbohydrate Res . , **57** , 39 (1977)
- 2) A . S . Perlin , B. Casu , Tetrahedron Lett , 292 (1969)
- 3) 杉浦真喜子 , 上地真一 , 第 18 回 NMR 討論会要旨集 (1979)

Carbon ¹³NMR Spectroscopy of Cellulose Derivatives

Kazuo WADA and Tadao KADOSAKA *

* Central Customs Laboratory , Ministry of Finance
531 Iwase , Matsudo - shi , Chiba - ken271 Japan

Analytical conditions of cellulose derivatives without degradation by ¹³C - NMR spectroscopy were examined.

High substituted derivatives were choosen and they were I measured at 10 MHz. Good spectra could not be obtained from the samples in order to high viscosity and low solubility. But good spectra were given from the samples which solved in some organic solvent. Carbon signals of substituents were so sharp compared with that of cellulose skelton. It was found that the identification of class of substi - tuent is possible by this method .

- Received sep . 16 , 1980 -