光學的活性と植物生長素性に就て (植物生長素性物質に關する研究 第7報)

三 井 哲 夫 (京都大學農學部農産製造學研究室)

(昭和 25 年 12 月 28 日 受理)

Plant-growth Activity of Optically Active Isomers. (Studies on the plant-hormones. Part. 7)

Tetsuo MITSUI (Department of Agriculture, Kyoto University)

生體に對して何等から生理作用を有する有機化合物が不齊炭素原子に起因して、光學異性を有する時、光學的異性體間に顯著な生理作用を異にする事は數多くの實例の示すところであつて、化學構造と生理作用の關連を論ずるに重要な問題の一である。

植物生長素性物質に於てもこれと同様な事が想像できる。現在までに文獻に於て見られるこの例は只一つであつて、それは側鎖に不齊炭素原子を有する indole-propionic acid (I) である。

この物質の光學的活性體は *avena* の cylinder test に於ては兩者の相 (I) α -(Indole-3)-propionic acid 違は認められいなが、*avena* による curvature 試験では作用力に相違があり、右旋體は左旋體の約 30 倍強い事が報ぜられており⁽¹⁾、この相違は恐らく細胞膜への滲透力の相違に起因するのであらうと推論せられている⁽²⁾。

著者は第 3 報⁽³⁾に於て、naphthoic acid-1 の誘導體の内 3,4-dihydro-(II), 1,4-dihydro-(III), 及び 1,2,3,4-tetrahydro-naphthoic acid (IV) の 3 種が強い發根力を有する事を發見し、この結果から、從來植物生長素として具備すべき化學構造上の必要條件として提案されていた諸條項の内、少くとも 1 項目は訂正すべきものである事を指摘した。その後第 5 報⁽⁴⁾に於て上偏成長試験を行い、上記の 3 物質中 (III) 及び (IV) が強い作用力を有する事を實驗し既知生長素群と併せて同一の試験を行い、その結果この新生長素は既知生長素群の内でも強力で上位に位するものである事を報告した。

著者は引續き上記 (III) 及び (IV) の 2 物質が各 1 個宛の不齊炭素原子 (左圖 * 印) をその構成炭素骨格内に有する事に着目し、光學的活性體相互間の作用力の相違の有無に興味をもち、合成によつて得られるラセミ體を分割して光學的活性體を得て、これ等に就て第 4 報⁽⁵⁾の方法によつて生理試験を行つたその結果次の様に對掌體相互間に顯著な作用力の相違の存在する事を知り得た。

1. 1,4-Dihydro-naphthoic acid-1 (III) にあつては、右旋體 (*d*) はその對掌體の左旋體 (*l*) に比して 100 倍近くも強力である事。
2. 1,2,3,4-Tetrahydro-naphthoic acid-1 (IV) に於ては逆に *l* 體の方が *d* 體よりも約 10 倍以上強力である事。
3. 光學的異性體相互間の生長素性の強さの相違は (III) に於ては上記の様に著しいが、(IV) にあつてはそれ程ではない事。
4. これ等 4 種の光學的活性體の作用力の強さは (III) の *d*、(IV) の *l*、(III) の *l*、及び (IV) の *d* の順である事。
5. 兩物質のラセミ體の生理作用力は各の活性體の中間にある事。
6. これ等の 4 種の光學的活性體を既知生長素群と同一試験によつて比較すると *d*-(III) は殆んど (naphthyl-1)-acetic acid に匹敵し、*l*-(III) は *p*-chlorophenoxyacetic acid に近似しており、*l*-(IV) はその 0.1% 濃度に於ては 2-methyl-indole-3-acetic acid の同濃度に匹敵し、*d*-(IV) は phenoxyacetic acid よりも弱い。(Table 1 参照)

光學的活性體の植物生長素性に就ては indole 誘導體の唯一例を既に述べたが、著者のこの新生長素の光學的活性體では化學構造上、上述の indole 誘導體とは異り、不齊炭素原子は炭素骨格内にあり、且つ側鎖がはるかに簡單であるにもかかわらず、作用力の相違はこの例よりも著しい。又生長素力も強い、光學異性と生長素性の關

Fig. 1. *d*-1,4-Dihydro-naphthoic acid-1
(dexter)

Fig. 2. *l*-1,4-Dihydro-naphthoic acid-1
(laevus)

Fig. 3. *d*-1,2,3,4-Tetrahydro-naphthoic acid-1 (dexter)

Fig. 4. *l*-1,2,3,4-Tetrahydro-naphthoic acid (laevus)

Fig. 5. 1,4-Dihydro-naphthoic acid-1
(0.01%)

Fig. 6. 1,4-Dihydro-naphthoic acid-1
(0.1%)

Fig. 7. 1,2,3,4-Tetrahydro-naphthoic acid-1 (0.1%)

Table 1. Relative Activity of the Different Substances indicated by numbers, thus 1 is the most active.

No.	Name of substance	*
1	(Naphthyl-1)-acetic acid	hard
2	2,4-Dichloro-phenoxyacetic acid	"
"	2,4,5-Trichloro-phenoxyacetic acid	"
3	d-1,4-Dihydro-naphthoic acid	mild
4	(Indole-3)-acetic acid	"
5	r-1,4-Dihydro-naphthoic acid-1	"
6	l-1,2,3,4-Tetrahydro-naphthoic acid-1	middle
7	2-Methyl-indole-3-acetic acid	mild
8	r-1,2,3,4-Tetrahydro-naphthoic acid-1	middle
9	(Naphthoxy-2)-acetic acid	mild
10	p-Chloro-phenoxyacetic acid	middle
11	l-1,4-Dihydro-naphthoic acid-1	mild
12	Phenoxyacetic acid	middle
13	d-1,2,3,4-Tetrahydro-naphthoic acid	"

* Relative change of activity of substance when test the substance in various concentration.

"hard": Substance which decrease the activity extremely when dilute the test concentration.

I. 供試物質の上偏生長誘致性

本試験は第4報⁽⁵⁾に於て報告した方法に依つた。供試植物はトマトで1物質1濃度に就て最少24本の個體を用いた。試験の結果はに Fig. 1~7 圖示した。この圖中たて軸は屈曲の角度を横軸は處理後の經過時間を示している。猶試験の1例を寫眞に掲げた。Fig. 5, 6 及び 7 はラセミ體の屈曲線を比較のために記入したものである。この圖で明かな様に光學的活性體の現わす最低有效濃度は、1,4-dihydro-naphthoic acid では d 體は 0.001~0.0001%, l 體には 0.01% で、前者の 0.01% の示す屈曲と後者の 1% のそれとは殆んど等しい。1,2,3,4-tetrahydro-naphthoic acid-1 では d は 0.1%, l は 0.01% が最低有效濃度である。猶又供試濃度を稀くして行くと作用力は減退するが、その減じ方は 1,4-酸では著しくなくゆるやかで (Table 1 中 "mild" と云う語で表した) あつて、indole-acetic acid に似ているが、1,2,3,4-tetrahydro acid では變化が著しく (Table 1 中 "hard" で示す), (naphthyl-1)-acetic acid や phenoxyacetic acid の誘導體に類似している。Table 1 ではこれ等

連性について決定的な解明のための有効物質の乏しい今日、このような構造の簡単な新生長素の提供は既知の唯一の例に加えて本問題解決に有力な手がかりを與えるものと考えらる。

猶光學的活性體の分割に當つて、活性體の誘導體の融點について文獻記載の記録に訂正を要すべきものある事を確認し、併せて分割法を研究して比較的容易に成功し得る方法を考案した。

本研究の遂行に當つて御懇篤な御指導を給つた武居三吉教授に深甚の感謝を捧げ、又研究費の一部は文部省科學研究費に仰いだ事を併記する次第である。

Fig. 8

Fig. 9

Fig. 10

Fig. 11

4種の光學的活性體の作用力を既知生長素と比較してその強さを順位よつて示した。(既知生長素の屈曲曲線圖は第4報参照)

大根の子葉を使用して上偏成長を誘致せしめた試験をも併せて行つた。この試験は材料の育成が短期間であるので定性的な試験には適しているが、結果の取扱いが數字的に表し難く、又試験に供する適期が短いのが缺點と思われた。Fig. 8 は子葉に塗付する部位を示した。圖中 a. の中央に巾 2mm に塗り、一定時間經過後寫眞を撮影した。(Naphthyl)-acetic acid について各濃度について行つた結果は Fig. 9 に示した。猶觀察は塗付後 24 時間目の屈曲の様子である。前述の4種の光學的活性體についての試験は Fig. 10 及び Fig. 11 に示した。この試験に於ても對掌體相互間の生理作用の相違はよく表れる。

II. 光學的活性體のラセミ分割

1,4-Dihydro-naphthoic acid-1 のラセミ分割： 本實驗は再三反覆實驗を行い、文獻記載⁽⁶⁾よりも容易且つ純粹に兩成分に分割し得る方法を知ると共に、文獻中融點に訂正を要すべき事を確めた。

純 1,4-dihydro-naphthoic acid-1 5.0 g をフェノールフタレインを指示薬として、1N 苛性ソーダ液で正確に中和し、これに *l*-menthylamine 鹽酸鹽 5.5 g を水 25cc に溶解した液をよく攪拌しつゝ滴加する。直ちに白色結晶性沈澱を生じ(最初は樹脂狀になるが直ちに固化する)、これを約2時間氷冷後吸引濾過し減壓乾燥する。收量 8.2 g。濾液を酸性にすると少量の沈澱を生じ、これを濾集し、融點を測定すると 84~85° で出發物のラセミ體と同一物であつた。鹽は純アセトン*150 cc を加えて加温溶觸せしめて氷冷すると針狀結晶が析出する。濾集乾燥する。mp. 146°, 收量 3.9 g。この物質を同一溶劑で再結すると mp. 148~150° の結晶になし得るが、この鹽は解離し易く、損失が大きい爲このまゝ遊離酸に導いて後精製する方が收量が良い事を知つた。即ち上記 mp. 146° の鹽 3.9 g を水 10 cc に懸濁し濃鹽酸 3 cc 及び少量のテールを加え、攪拌すると透明に溶解する。減壓下空氣を通じてエーテルを追うと結晶が析出する。收量 1.55 g, mp. 92° であつた。これを今一度石油エーテル(沸點 70~80°)で再結すると mp. 99°, 收量 1.25 g, 更に今一度再結して mp. 102°, 收量 1.02 g になり、更にこれ以上再結しても融點に變りはなかつた。これは純 *d*-acid である。

アセトンの濾液は、これを濃縮する**事なく、氷一食鹽の寒劑で約 24 時間冷却する。この處理で析出する結晶は、前記 *d*-acid の鹽の結晶とは異り、柱狀結晶として器底に沈澱して析出する。これを吸濾して mp. 128° の結晶 2.9 g を得た。この物質の純品は PICARD⁽⁶⁾は mp. 146° と記載しているが、著者が反覆再結しても mp. 131° 以上にはならなかつた。この點を確める爲に一度遊離酸となし、充分精製した純 *l*-acid mp. 102° の物質を使用し再び *l*-menthylamine の鹽となし、再結精製したがやはり mp. 131° であり、この物質は純品である事を確認した。

Fig. 12

の *dl*-acid と同一の結晶形を有し、混融試験によつて同一物である事を確めた。

再結晶法として通常行われる三角式方法によつて、上記の鹽の分割を試みたけれども、64回の再結によつて極

* 文獻では醋酸エチルを使用しているが、追試の結果アセトンの方が優れている事を知つた。

** PICARD は濃縮して易溶性結晶を分離しているが、熱を與える爲油狀物質が出来易く、その爲純粹になり難く、收量が悪い事を知つた。

少量の純品が得られたに過ぎず、本法のように温度差と結晶化速度の相異を利用する方法が適している事を知つた。上記の方法を Fig. 12 に圖示する。

純 *d*- 及び *l*-acid の等量を混融した結果 mp. 83~84° を示した。猶分割に使用した *l*-menthylamine は鹽酸性の濾液を集め濃縮し、水から再結して回収した。

旋光度の測定：*d*-1,4-Dihydro-naphthoic acid-1 (*l*-menthylamine 鹽がアセトンに難溶の酸)

Subst. 0.1522 g, chloroform を加えて 10 cc とす。

$l=10\text{cm}$, $\alpha_D^{20}=+3.10^\circ$ $[\alpha]_D^{20}=+203.7^\circ$

l-1,4-Dihydro-naphthoic acid-1 (*l*-menthylamine 鹽が易溶の酸)

Subst. 0.1370 g, $l=10\text{cm}$, $\alpha_D^{20}=-2.79^\circ$, $[\alpha]_D^{20}=203.6^\circ$

1,2,3,4-Tetrahydro-naphthoic acid-1 のラセミ分割：ラセミ酸 9.2 g を 1 *N* 苛性ソーダで中和し、これに *l*-menthylamine 鹽酸鹽 10.0 g を水 50 cc に溶解した液を滴加する。2 時間氷冷後鹽を濾集し、減壓乾燥し (收量 16.9 g), これを純アセトン 300 cc に加温溶解せしめた後氷冷し析出する結晶 6.7 g を得た。mp. 118~122°。これを今一度アセトンから再結すると mp. 123° の柱状結晶 (收量 4.6 g) となつた。この結晶はこれ以上再結しても融點には變りなかつた。この鹽は前記 1,4-酸の場合と同様に鹽酸で處理し、得られる遊離酸を石油エーテルで再結して mp. 54° の鱗片状結晶 1.60 g を得た。これは純 *l*-acid で更に再結を反覆しても融點に變りなかつた。次に上記の鹽を分離したアセトン母液は、このまゝ寒剤で冷却しても何等の析出物が生じなかつたので、70 cc に迄濃縮し、-20° に一夜冷却した。この處理で mp. 120~123° の結晶 3.25 g が析出した。これを前記結晶の再結母液で再結すると mp. 123° の結晶 1.20 g を得た。これは鹽酸で分解し、石油エー

テルで再結して mp. 54° の鱗片状結晶 0.63 g が得られた。この物質は上記 *l*-acid である事を混融試験で確認した。-20° に迄冷却し、結晶を濾別した母液は、更に濃縮しても油状物の分離を起すのみで何等の析出物は見られなかつた。そこでこれに鹽酸及び水を加え、鹽を分解せしめると遊離酸の結晶が析出した。これを濾集水洗後石油エーテルで再結 (2 度) して mp. 54° の結晶 0.85 g を得た。この物質は純 *d*-acid で、上記の *l*-acid と混融するとラセミ體の融點即ち 83° を示した。このようにラセミ體が兩成分よりも高融點を示す事は、このラセミ體は單なる混合物ではなく、一種の結合體即ち racemic compound である事を示すものである。以上の分別法を左に圖示した。

Tetrahydro-acid のラセミ分割に於て 1,4-dihydro acid の場合と異なる處は、光學的活性體の易溶性の menthylamine 鹽が結晶し難い事である。PICKARD⁽⁶⁾ は易溶部から融點不鋭敏な 78° 鹽を得、恐らく純度の低いものであろうと述べているが、著者の實驗ではこの様な物質は得られず易溶部からは油状物質が分離して来るに過ぎなかつた。しかもこの油状物質を鹽酸で處理すると、容易に遊離酸の結晶と *l*-menthylamine 鹽酸鹽とに別れる故に、分解等の變質を來したものと考へられぬ。著者は更に一度分割し、充分に精製した mp. 54° の *d*-acid を純粋な *l*-menthylamine 鹽酸鹽溶液で處理して結合せしめた處沈澱を生じ、その融點は 126° であつた。これをアセトンで再結すべく試みだが、油性物となり結晶化しなかつた。しかし石油エーテルからは再結し得て六面體の集積結晶を得、mp. 128° であつた。そこで著者は PICKARD の報告した mp. 78° (不鋭敏) よりも 128° の方が正しいと考へるものである。

Epinasty produced by two optical antipodes of "1,4-dihydro-naphthoic acid-1"
(concentration : $d=0.1$, $l=1\%$)

laevus

dexter

Epinasty produced by two optical antipodes of "1,4-dihydro-naphthoic acid-1"
(concentration : 0.01 %) 3

laevus

dexter

Epinasty produced by two optical antipodes of "1, 2, 3, 4-tetrahydro-naphthoic acid-1"
(concentration : 0.1 %)

旋光度の測定 *l*-1,2,3,4-Tetrahydro-naphthoic acid-1 (*l*-menthylamine 鹽がアセトンに難溶の酸)

Subst. 0.1526 g, Chloroform を加えて 10 cc とす.

$l=10$ cm, $\alpha=-0.23^\circ$ $[\alpha]_D^{25}=-15.1^\circ$

d-1,2,3,4-Tetrahydro-naphthoic acid-1 (*l*-menthylamine 鹽が易溶の酸)

Subst. 0.1577 g, $l=10$ cm, $\alpha=+0.24^\circ$ $[\alpha]_D^{25}=+15.2^\circ$

この結果は *l*-menthylamine と結合して難溶の鹽を形成する酸が左旋體で、易溶の方が右旋體である事を示し、これは 1,4-dihydro-acid の場合と比較すると、溶剤に對する溶解度と旋光の符號とは逆の関係になる。

***l*-Menthylamine の合成** Menthone-oxim : 純メタノール 6.5 cc に金屬ナトリウム 4.42 g を溶解せしめ、これに硫酸ヒドロキシルアミン 16 g を水 13 cc に溶解せしめた溶液を加える。析出する硫酸ソーダを濾別し、濾液に menthone (薄荷腦をクロム酸酸化して得たもの) 20 g を加え、湯浴上で30分間逆流加熱した後、メタノールの約半量を溜去し、水を加え混濁を始めて氷冷すると oxim は結晶塊となつた。濾集して mp. $46\sim 47^\circ$ の結晶 20 g を得た。この oxim 生成に當つて原料の menthone が不純であると結晶しないから出来る丈原料を精製しておく必要がある。

l-Menthylamine : 上記 oxim 10 g を純メタノール 135 cc に溶解し、逆流煮沸しつつ金屬ナトリウム 15 g を加えて還元する。ナトリウム消失後水蒸氣蒸溜し初溜のメタノール溜分を別ち、次に溜出する油狀物を集め、鹽酸酸性にして放置すると不溶の油狀物は結晶化する。この結晶は未反應の oxim で、これを濾別し、4.95 g を回収した。この濾液は amine の鹽酸鹽溶液で、これを蒸發皿中で濃縮して針狀結晶 3.07 g を得た。又水蒸氣蒸溜の初溜分(主としてメタノール)を鹽酸酸性となし、湯浴上でメタノールを溜去すると鹽酸鹽 1.36 g が得られた。*l*-Menthylamine 鹽酸鹽の收量は合計 4.43 g であつた。この還元は純エタノールを使用すると未反應の oxim の量は少ないが、isopropyl alcohol では却つて收量が惡かつた。

- (1) KÖGL : *Naturwissenschaften*, 25, 469 (1937)
- (2) VELDSTRA *Enzymologia*, 11, 163 (1944)
- (3) 三井, 田中 武居 : 農化, 20, 468 (1944)
- (4) 三井, 田村 : 農化, 25, 17 (1951)
- (5) 三井 : 農化, 24, 465 (1951)
- (6) PICKARD, and NEVILLE : *J. Chem. Soc.*, 1905, 1763 : 1906, 1101.

Summary

In the previous paper (Part III)⁽¹⁾ it has been reported that 1,4-dihydro-, 3,4-dihydro-, and 1,2,3,4-tetrahydro-naphthoic acid-1 had activity of producing the adventitious roots and in the last paper (Part V)⁽²⁾ it has been found that two of these (1,4-dihydro and 1,2,3,4-tetrahydro-naphthoic acid-1) also had strong activity to produce epinasty for tomato-plants.

These new plant-hormones have an asymmetric carbon atom in each molecule and now the physiological activities of optically active components of these substances have been determined by epinasty experiments with tomato-plants (by the method described in Part IV).⁽³⁾

The results obtained are illustrated in Figs. 1~7, and the relative activity and the radish cotyledon test are shown in Table 1 and Figs. 8~11. Thus it appears that *d*-1,4-dihydro-naphthoic acid is 100 times as active as *l*-acid, and *l*-1,2,3,4-tetrahydro-naphthoic acid is 10 times as active as *d*-acid. Chemical procedure to resolve the racemic acid is shown in Figs. 12 and 13.

These results suggest that there is an extreme difference between "dexter" and "laevus" components on physiological activity.

These new findings seem to give an important hold to study on the relation between the chemical structure and the physiological activity of plant-growth substances.

- (1) T. MITSUI, M. TANAKA, S. TAKEI : *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, 20, 468 (1944)
- (2) T. MITSUI, A. TAMURA : *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, 25, 17 (1951)
- (3) T. MITSUI : *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, 24, 465 (1951)