窒素配糖體の研究(第19報) Anthranilic Acid-*N*-Glycosides の調製

井上吉之, 小野寺幸之進, 北岡正三郎 (京都大學農學部生物化學研究室)

昭和26年2月23日受理

Studies on *N*-Glycoside. Part 19. Preparation of Anthranilic Acid-*N*-Glycosides.

By Yoshiyuki INOUE, Kōnosshin ONODERA, and Shōzaburō KITAOKA

(Biochem. Lab., Dept. of Agriculture, Kyoto Univ.)

Anthranilic acid の生化學は現在十分には理解されていない。しかしそれが重要な metabolism に關與していることは、近時になつて益々はつきり推測されるようになった。Tryptophan の代謝物質として古武等が明らかにしたのは大分以前の事で、最近この方面の研究はいよいよ活潑となり、多くの發表があるが、anthranilic acid の決定的な役割はまだ知られていないようである。Anthranilic acid が tryptophan や nicotinic acid の biosynthesis の中間物質であるという報告⁽¹⁾は非常に興味をひくが、反對の data も出されている⁽²⁾。微生物に對しては酵母の増殖促進が報ぜられている⁽³⁾が、bacteria では明瞭な生長促進は認められなかつた*。最近中原等⁽⁴⁾によつて提出された vitamin L₁ 作用はまだ一般的には確認されていない⁽⁵⁾。

我々は前報⁽⁶⁾の *p*-aminobenzoic acid に次いでその異性體である anthranilic acid, その methyl ester, 及び *m*-aminobenzoic acid の *N*-glycoside を調製した。これは前報と同様、生理試験によつて *N*-glycoside 結合及びこれらの化合物自體の生化學的意義を明かにする目的によるものである。

實 験 の 部

N-glycoside の縮合はすべて *p*-aminobenzoic acid の場合と全く同様で、EtOH 又は MeOH 中で NH₄Cl を觸媒として行つた。Aglycone の anthranilic acid, その methyl ester 及び *m*-aminobenzoic acid はすべて本研究室に於て合成したもので、夫々 mp. 144°, 23°, 及び 174° を示す。

I Anthranilic acid-*N*-glycoside の調製

1. **Anthranilic acid-*N*-D-glucoside** Anthranilic acid 4.6 g, D-glucose 6.0 g, NH₄Cl 0.5 g, を 95% EtOH 40 cc 中に還流下湯煎上に加熱縮合せしめる。約 1 hr. で液は濃赤色の粘稠な液となる。これを減壓下に約 1/2 に濃縮し冷蔵庫に一夜放置すると結晶を析出する。水, MeOH, ether で洗い, MeOH から二度再結すれば無色針狀の結晶を得る。mp. 137~8° (分解)。[α]_D¹⁵ = 68° (94% EtOH)。1 分子の結晶水を含む。C₁₈H₁₇O₇N·H₂O として、實驗値 N = 4.33%, 計算値 N = 4.42%。anthranilic acid-*N*-D-glucoside は水, alcohol, ether, pyridine に可溶、溶液は微かな螢光を示す。

2. **Anthranilic acid-*N*-D-glucoside pentaacetate** Anthranilic acid-*N*-D-glucoside 1 g. を無水 pyridine 10 g に溶かし、これに無水醋酸 3 g を氷冷しつつ徐々に加える。この時 glucoside の一部は分解して激しい螢光を發する。この反應混液を密栓した後常溫に 30 hrs. 放置し、これを無水 MeOH を滴下しつつ減壓濃縮する。約 5 hrs. 後、MeOH 70 cc を消費して器底に結晶が現れた。この結晶及び共存する syrup を陶土板上で乾燥し、乾燥物を集めて MeOH に溶かし、これを自然蒸發せしむれば數日して結晶の析出を見た。MeOH から二度再結、無色の針晶である。m.p. 18.4~6° 收量 0.2 g. alcohol, ether に溶ける。[α]_D¹⁶ = 77° (EtOH)。C₁₈H₂₂O₁₁N として實驗値 N = 2.75%, 計算値 N = 2.62%。

3. **Anthranilic acid-*N*-D-glucoside K-salt** 0.5 g の anthranilic acid-*N*-D-glucoside を計算量の K₂CO₃ を含む 1% 溶液中に徐々に溶解し、不溶物があれば濾去後常溫で真空濃縮すると無色の長針狀結晶を與える。99% MeOH で充分洗えば、m.p. 173° (分解發泡) を示す。水に非常に易溶である。Fehling 及び Anthrone test はいずれも陽性である。

4. **Anthranilic acid-*N*-D-mannoside** Anthranilic acid 2.4 g, D-mannose 3 g, NH₄Cl 0.2 g, 25 cc の MeOH 中に縮合。約 40 分して液は暗赤色となり、これを 2/3 に減壓濃縮後冷却放置して二晝夜経つても結晶が得られず、液を更に濃縮すれば黒色の樹脂様物を生ずるのみであつた。別の試みで縮合後の暗赤色液を密栓した後冷蔵庫中に 25 日放置すると器底に gel 狀物を粒狀に析出したが、これからは結晶は得られなかつた。

* 著者等の豫備實驗

5. **Anthranilic acid-N-D-galactoside** Anthranilic acid 2.4 g, D-galactose 3 g, NH_4Cl 0.2 g, 95% EtOH 30 cc. 無色の微針晶である. mp. 152° $[\alpha]_D^{20} = -16^\circ$ (EtOH). $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_7\text{N}$ として実験値 $N=4.82\%$, 計算値 4.68% .

6. **Anthranilic acid-N-D-xyloside** Anthranilic acid 2.3 g, L-arabinose 2.5 g, NH_4Cl 0.2 g, EtOH 35 cc. 結晶は析出し易く, 反應溶媒が少ない時は反應中既に析出する. mp. 168° (分解). $[\alpha]_D^{18} = 11^\circ$ (EtOH) $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{N}$ として, 実験値 $N=5.20\%$, 計算値 $N=5.21\%$.

7. **Anthranilic acid-N-D-arabinoside** 2.3 g : 2.5 g : 0.2 g : 30 cc MeOH. m.p. 167° の針晶又は盤晶. 1分子の結晶水を含み, 有機溶媒に易溶ではない. $[\alpha]_D^{16} = -11^\circ$ (EtOH). $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{O}_6\text{NH}_2\text{O}$ として, 実験値 4.72% , 計算値 4.88% .

8. **Anthranilic acid-N-L-rhamnoside** 2.3 g : 2.8 g : 0.2 g : 25 cc MeOH. 50% MeOH より再結. m.p. $165\sim 6^\circ$ (分解). $[\alpha]_D^{21} = 52^\circ$ (EtOH). $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_6\text{N}$ として. 実験値 $N=4.57\%$, 計算値 $N=4.65\%$.

9. **Anthranilic acid-N-D-fructoside** Anthranilic acid 1.2 g, D-fructose 1.5 g, NH_4Cl 0.1 g, MeOH 20 cc. 20 分で反應は終る. 微針晶で mp. $139\sim 40^\circ$. $[\alpha]_D^{10} = -18^\circ$ (EtOH). ether に非常に易溶. $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_7\text{N}$ として, 実験値 $N=4.75\%$, 計算値 4.68% .

II. Anthranilic acid-methyl ester (Neroli oil)-N-glycoside の調製

10. **Neroli oil-N-D-glucoside** Neroli oil 1.5 g, D-glucose 1.5 g, NH_4Cl 0.2 g, 95% EtOH 15cc. 50 分で反應を終え, 減壓濃縮, 赤褐色の液を冷却放置すると針晶を得る. 95% EtOH より再結. 水に不安定で 40% EtOH で加熱溶解すれば分解する. $126\sim 7^\circ$ で澄明に融ける. 結晶水 1 分子. $[\alpha]_D^{10} = 5^\circ$ (EtOH). $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{N}\cdot\text{H}_2\text{O}$ として実験値 $N=4.41\%$, 計算値 $N=4.23\%$.

11. **Neroli oil-N-D-mannoside** 1 g : 1 g : 0.1 g : 10 cc. 反應後暫くで結晶する. mp. $177\sim 8^\circ$ $[\alpha]_D^{12} = -54^\circ$ (EtOH). 2 分子の結晶水を含む. $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{N}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ として, 実験値 $N=4.18\%$, 計算値 4.01% .

12. **Neroli oil-N-D-galactoside** 1.5 g : 1.5 g : 0.2 g : 10 cc. 数日間冷蔵庫に放置して始めて結晶を得る. m.p. 152° $[\alpha]_D^{10} = -102^\circ$ (EtOH). 結晶水 1 分子. $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{N}\cdot\text{H}_2\text{O}$ として, 実験値 $N=4.40\%$, 計算値 $N=4.23\%$.

13. **Neroli oil-N-D-xyloside** 1.5 g : 1.5 g : 0.2 g : 15 cc. m.p. 170° $[\alpha]_D^6 = -23^\circ$ (EtOH) 結晶水 1 分子. $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_6\text{N}\cdot\text{H}_2\text{O}$ として, 実験値 $N=4.77\%$, 計算値 $N=4.65\%$.

14. **Neroli oil-N-L-rhamnoside** 1.5 g : 1.5 g : 0.2 g : 10 cc. 反應液は gel 状に膠化する. ほぼ同量の水を加えて徐々に加熱溶解すれば分解物と同時に, 少量の晶質物を析出したが, 一夜置くとこれも gel 状態となった.

III. m-Aminobenzoic acid-N-glycoside の調製

15. **m-Aminobenzoic acid-N-D-glucoside** m-Aminobenzoic acid 2 g, D-glucose 3 g, NH_4Cl 0.2 g を 15 cc の MeOH 中に徐々に加温すれば, 沸騰に至る前に完溶する. 液淡橙色. これは室温に放置するだけで漸次赤色化する. 尙少時加熱した後, desiccator 中に減壓放置すれば結晶を得る. 水及び MeOH で充分洗滌後 MeOH から再結, 微針晶である. 1 分子の結晶水を含む. mp. 109° , $[\alpha]_D^{10} = 6^\circ$ (EtOH) $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_7\text{N}\cdot\text{H}_2\text{O}$ として実験値 $N=4.56\%$, 計算値 $N=4.42\%$ alcohol, ether, pyridine に可溶.

16. **m-Aminobenzoic acid-N-D-mannoside** 2 g : 3 g : 0.2 g : 10 cc EtOH. 加温後暫くして厚い結晶塊に析出. 洗滌後 MeOH より再結. 結晶. m.p. 136° $[\alpha]_D^{12} = -10^\circ$ (EtOH) $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_7\text{N}$ として, 実験値 $N=4.57\%$, 計算値 $N=4.68\%$.

17. 他 **m-Aminobenzoic acid-N-glycoside** m-Aminobenzoic acid は糖に對して反應性高く, 且, 合成品は不安定で, D-galactose, -D-xylose, -L-arabinose, -L-rhamnose 等すべて樹脂化した產物を與えた.

IV. 三異性體の N-glycoside の比較

Aminobenzoic acid の三異性體の N-glycoside は以上で不完全ながら合成を終つたので, その性質の異同を比較する. p-(PABA), m-(MABA), 及び o-(OABA) 異性體とも, alcohol 中で NH_4Cl (又は HCl , CH_3COOH)

COOH 等の酸)を觸媒として *N*-glycoside をつくることは今までの實驗から確められ、この場合 ester 結合が先に起らない事もわかつたが、合成の難易は各異性體によつて差があつた。合成の困難は合成品が膠化し易くて結晶とならない *anesthesin-N-D-galactoside* や *OABA-N-D-mannoside* の如き場合と、合成品の不安定性に基づくものの二種類があつた。縮合させた液を放置して膠化した場合、少量の水を加えて溶解放置すればそれが結晶となる例は *PABA-N-D-glycoside* その他しばしば見られ、結晶水の必要によるのかと推測されたが、*Neroli oil-N-L-rhamnoside* の如くかなり多量の水を加えて始めて晶質物を析出するものや、又水だけでは結晶とならないものがあり、その原因はわからない。合成品の安定性について言うと、*PABA*, *OABA*, *MABA* の順に安定度が低下する。*OABA* では縮合中着色が激しくとも無色の結晶が得られるが暗所で氣密に保存してさえ、半年すれば相當量が分解する。*MABA* では實驗の所で觸れたように大部分の糖について分解が激しく、縮合物は黒色の樹脂化する傾向にある。反應混液を常溫に放置してすら激しい着色を示す程である。しかし *MABA* の *N-glycoside* は一旦純粹の結晶になると保存中の分解が少い所から、これは合成品の不安定性というよりも、むしろ *MABA* の糖に對する反應性の高さに原因を求める方が正しいように思われる。これに對し *OABA-N-glycoside* の不安定性は NH_2 基と COOH 基の近接によるものであらう。この COOH 基が安定度に影響することは ester の *N-glycoside* が縮合時の着色が少く、結晶が純粹に得易く且、長期に亘つて殆んど變化しないことから推測出来る。

PABA-N-D-glucoside の所で少し述べた異性體様物質については他の場合でも幾つか見受けられたが、これはもつと精密な研究が必要である。變旋光の不規則性は *OABA-N-D-glucoside* についても認められた。

溶媒に對する態度から言うと、free の酸の *N-glycoside* は alcohol, ether, acetone, pyridine, 無水醋酸等の有機溶媒によく溶け、水には原酸よりやや溶解度が高くなる。ester の *N-glycoside* は水及び ether に溶け難い。*OABA-N-D-fructoside* の如く alcohol に非常に易溶のものから、*PABA-N-D-xyloside* の如く比較的溶け難いものまで同一の溶媒に對しても溶解性は區々である。Aglycon 及び糖の種類による一般的な通性はない。free の酸では稀薄な alkali 液にはよく溶ける。これは鹽をつくるからであらう。濃い alkali 液では分解する。酸は alkali より強く *N-glycoside* 結合に作用する。

前報で nitroprussid Na による呈色反應の事を述べたが、これは *OABA-* 及び *MABA-N-glycoside* についても適用される。又 anthrone 反應も陽性で、*N-glycoside* が同反應の適用内にあることがわかつた。

- (1) H. N. RYDON *Brit. J. Exptl. Path.*, 29, 48(1948); W. H. SCHÖPFER and M. L. BOSS: *Helv. Physiol. et Pharmacol. Acta*, 7, 20~2 (1949); *C. A.*, 43, 9186 (1949).
- (2) J. F. NYE, K. MITCHELL, E. LEIFER and W. H. LANGHAM: *J. Biol. Chem.*, 179, 783~7 (1949).
- (3) 出射: 大阪醫, 40, 397 (1941).
- (4) 中原, 犬飼, 鶴上, 永田: *Sci. Papers I. P. C. R.*, 42, 153 (1945).
- (5) B. L. Oser: *Ann. Rev. Biochem.*, 17, 436 (1948).
- (6) 井上, 小野寺, 北岡: 農化, 25, 56 (1951)

Summary

The *N*-glycosides of anthranilic acid, its methyl ester, and *m*-aminobenzoic acid were prepared through condensation in EtOH or MeOH using NH_4Cl as catalyzer, and their properties were described. The compounds and their melting points follow: anthranilic acid-*N-D-glucoside*, 137~8°, *N-D-glucoside* pentaacetate, 184~6°, *-N-D-glucoside* K-salt, 173°, *-N-D-galactoside*, 152°, *-N-L-arabinoside*, 168°, *-N-D-xyloside*, 167°, *-N-L-rhamnoside*, 165~6°, *-N-D-fructoside*, 139~40°, anthranilic acid methyl ester-*N-D-glucoside*, 126~7°, *-N-D-mannoside*, 177~8°, *-N-D-galactoside*, 152°, *-N-D-xyloside*, 170°, *m*-aminobenzoic acid-*N-D-glucoside*, 109°, *-N-D-mannoside*, 136°. The properties were compared among three isomers to each other; the fragility order was found to be *m*-, *o*-, and *p*-isomer. *N*-Glycosides of the ester were less soluble in water and ether than those of free acid which were also soluble in alcohol, and pyridine. No general rule was found among the solubilities of the three isomers. The color reactions by Na-nitroprussid and the anthrone reagent were all positive.