稲馬鹿苗病菌の生化学 (第 24 報) Gibberellin の化学構造 (その 5)

谷田沢道彦, 住木 諭 介 (東京大学農学部農芸化学教室)

昭和 26 年 6 月 14 日 受 理

The Biochemistry of *Bakanae* Fungus. Part 24. The Chemical Constitution of Gibberellin. V.By Michihiko YATAZAWA and Yusuke SUMIKI (Dept of Agr. Chem., Fac,
of Agr., Univ. of Tokyo)

Gibberic acid は $C_{18}H_{22}O_8$ の分子式をもち、その酸素の function が $-COOH$ および $>CO$ であることは、さきに報告した⁽¹⁾。今回はこのケトンの位置を知るために、gibberic acid に SeO_2 を作用させ、 α, β -diketone をえようとして実験を行つた。けだし α, β -diketone を得れば、これをさらに酸化分割して分解物をしらべることに、ケトン基が核内にあるか側鎖にあるか、が判定できるからである。 SeO_2 による酸化については N. RABJOHN らが綜説しているように⁽²⁾、その特徴の一つは ketone 基となる活性メチルあるいは活性メチレンを酸化して、 α, β -diketone または α, β -ketoaldehyd をつくるにある。

われわれはいくつかの予備実験によつて gibberic acid が SeO_2 に対して、かなり強く抵抗することを知つたが、アルコールを溶剤としたとき、温度を 140° 程度にあげれば酸化が行われることを知り、いごアルコールにとかし、封管し、xylene-bath 中で酸化を行つた。 SeO_2 の量は最初は gibberic acid に対して理論値の 2 倍量を用いたが、酸化はおそく、 144° 3 時間においても酸化は約 2/3 しかすすまない。 SeO_2 の量を理論値の 6 倍量用いるときは 3 時間で理論量の Se が沈積し、反応は充分にすすんだことを示した。反応のすすむ状態は、アルコール溶液が黄色に呈色することと、黒色の結晶型 Se が沈積することにより観察することができる。反応成績物はおもに酸性物質からなり、熱ベンゾールから再結すれば黄色の四角板状結晶となる。(ふつうは集合して顆粒状にえられる)。この物質を gibberdionic acid (Gibberdionsäure) と名づける。gibberdionic acid は分子式 $C_{18}H_{22}O_4$ 。mp. 188° でそのメタノール溶液にアルカリを加えるといちじるしく黄色をまし、これに H_2O_2 を加えると分解して無色となる。また SCHIFF の試薬には反応しないが、tolidin- 醋酸によつては強く赤く呈色して aldehyde の反応を与える⁽³⁾。gibberdionic acid は含水アルコールから再結すれば、融点のことなる無色の結晶を与えるが、phenyl-glyoxal が 1 分子の H_2O と結合して無色の結晶を与えることときわめて類似する。さらに gibberdionic acid は TSCHUGAEFF の反応⁽⁴⁾を与えず、phenyl-glyoxal とおなじく Cadmium-yellow の ppt. を生じ、鎖状 α, β -diketone-dioxim の anti-型に特有の Ni^{II} に対するいちじるしく赤い呈色反応をしめない。さらにまた本物質の紫外線吸収スペクトルは gibberic acid のそれに類似する。

以上の事実から gibberdionic acid は $C_{17}H_{18}(-COOH)(-CO-CHO)$ であることがわかる。

さらにこの事実をたしかめるために gibberdionic acid を H_2O_2 で酸化した。 $R_1-CO-CO-R_2$ に対して H_2O_2 が作用すれば $R_1-COOH+HOOC-R_2$ となるが⁽⁵⁾、 $-CO-CO-$ 基が環内にあれば dicarboxylic acid が生じ、側鎖にあれば 2 つの mono-carboxylic acid が生じる。gibberdionic acid のばあい前者ならば tricarboxylic acid、後者ならば揮発性の mono-carboxylic acid と核を有する dicarboxylic acid とが生ずる。ただ R の一方が H である glyoxyl 化合物のばあいは CO_2 がえられるはずである。

さて gibberdionic acid をアルカリ性で H_2O_2 を作用させた結果 gibberdicarboxylic acid たる decomp. p. 154° の針状結晶の酸を生ずる。一方定量的に反応生成物を検索すれば、dionic acid 1 mole に対して、ほぼ 1 mole の CO_2 と醋酸としても 1/7 mole 以下の揮発酸を生じた。従つて gibberdionic acid の H_2O_2 酸化にさいして揮発性酸が生成するとは言いがたい。なお溜出液は aldehyde も認めがたかつた。gibberdicarboxylic acid は使用した gibberdionic acid の量に近い。すなわち glyoxal の存在が裏付けされる。

Gibberdicarboxylic acid はその分子式 $C_{17-18}H_{22-24}O_6$ と考えられ、1/100 N NaOH aq. で滴定した値と、micro-Rast の方法により測定した値とから dicarboxylic acid であると考えられ、残る 2 つの酸素は 2 重結合が H_2O_2 により酸化されてできた glycol 型の酸素であると推定される。何となれば醋酸によりアセチル誘導体を生ずるからである。

実 験 の 部

Gibberic acid の SeO_2 酸化 実験につかつた SeO_2 は灰色セレンを perhydrol (30% H_2O_2) で酸化したのち昇華して精製した⁽⁶⁾. 酸化および gibberdionic acid 分離のつづきは Fig. 1 にしめた通りである. 酸化のさい同時に生成する揮発性酸は微量 (1 mole : 1 mole と仮定し計算値の 1/7~1/50) であり, 主反応とは関係のないものとする. 結晶 gibberdionic acid の収量は酸化反応濾液に水を加えて放置してえられる結晶性塊をただちに封管中熱ベンゾールで再結したほうが, Fig. 1 にしめすような手つづきを経るよりも常に圧倒的に多いが, その理由はわからない.

Fig. 1. The Oxidation of Gibberic Acid by Selenium-dioxide

Gibberdionic acid その結晶は Fig. 2 および Fig. 3 にしめす. mp. 188° (decomp. ?) 紫外線吸収スペクトルは gibberic acid のそれと似て, 262 $m\mu$ および 272 $m\mu$ に最大吸収部をもつ (Fig. 4). アルコール, エーテル, ベンゾール, クロロフォルム, 醋酸ブチルに可溶, 水, リグロイン, 石油エーテルにほとんど又は全然とけない. 元素分析の結果およびマイクロラスト法による分子量測定値は次の如くである.

Analysis.	Sample (mg)	CO_2 (mg)	H_2O (mg)	C %	H %
Found {	2.959	7.876	1.637	72.57	6.19
	3.140	8.333	1.766	72.46	6.29
Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4$				73.1	6.4

Sample (mg)	Camphor (mg)	ΔT	Mw
0.201	2.425	11.5	7.5 k
0.322	3.094	14.5	7.2 k
Found	7.3 k	292	
		Calcd.	312

Gibberdionic acid の 28.4 mg を含水アルコールにとかししたのち, 溶剤を蒸発すると菱形平板状無色結晶 (Fig. 5) をえる. この結晶はアルコールにとかし水を加えて白濁させて放置すると gibberdionic acid の黄色結晶にもどる. この無色結晶はアルコール, アセトン, ベンゾールにとけるが, 水, リグロインにはとけない. アルコールにとかし蒸発させ結晶化させて 50

Fig. 2 Gibberdionic acid (yellow)

Fig. 5 Gibberdionic acid (colourless)

Fig. 3 Gibberdionic acid (yellow)
(aggregated grain form) Fig. 8 Absorption spectrum of Gibberdicarboxylic
acid in ultraviolet domain.

Fig. 7 Gibberdicarboxylic acid

アルコールで洗い精製する. mp. $84\sim 5^\circ$ 常温 5 時間 P_2O_5 上乾燥させたのち分析した結果は次の如くで phenylglyoxal および, その hydrate と類似の関係にあるものと思われる.

Fig. 4. Absorption spectrum of Gibberdionic acid (1/1000 M)

Analysis	Sample (mg)	CO ₂ (mg)	H ₂ O (mg)	C %	H %
Found	2.185	5.337	1.512	66.62	7.74
	2.537	6.195	1.800	66.66	7.94
Calcd. for	$C_{10}H_{20}O_4$			73.1	6.4
	" $\cdot H_2O$			69.1	6.9
	" $\cdot C_2H_5OH$			70.4	7.3
	" $\cdot C_2H_5OH \cdot H_2O$			67.0	7.4
	" $\cdot 2C_2H_5OH$			68.3	7.9
	" $\cdot 3C_2H_5OH$			66.7	8.4

Perhydrol による Gibberdionic acid の酸化 酸化および gibberdicarboxylic acid を分離する手つぎは Fig. 6 にしめた. H_2O_2 が MnO_2 により充分分解されたかどうかは KI-澱粉試験紙で確めた.

Gibberdicarboxylic acid

Fig. 7 にその結晶の写真をしめす. 加熱すれば 145° 附近より発泡分解して 154° でとけ, mp. $148\sim 50^\circ$ の無色物質にかわる. 紫外線吸収スペクトルは $262 m\mu$ および $272 m\mu$ に

Fig. 6. Oxidation of Gibberdionic acid with Perhydrol

最大吸収帯をもち, gibberic acid のそれに極めて類似する (Fig. 8). アルコール, エーテルにとけ, いくらか吸湿性で水にわずかとける. リグロインには溶けない. 元素分析, ミクロラスト及びアルカリ滴定による分子量測定結果は次の如くである.

	Sample (mg)	CO ₂ (mg)	H ₂ O (mg)	C %	H %	Sample (mg)	factor of 1/100 N NaOH	cc consumed	Mw calcd. for dibasic acid
Found	2.261	5.247	1.510	63.29	7.47	5.003	1.35	2.28	324
	2.210	5.107	1.464	63.03	7.41				
	1.747	4.048	1.069	63.19	6.85				
Calcd. for	C ₁₈ H ₂₂ O ₈			64.7	6.6	2.420	1.44	1.01	332
	C ₁₉ H ₂₄ O ₈			64.3	7.1				
	C ₁₇ H ₂₂ O ₈			63.3	6.8				
	Sample (mg)	Camphor (mg)		ΔT					
	0.278	3.232		10.4					
Mw.	Found			333					
	Calcd. for C ₁₈ H ₂₄ O ₈			336					
	Calcd. for C ₁₇ H ₂₂ O ₈			322					

本研究に始終御指導いただいた藪田貞治郎先生に厚く御礼申しあげる。また元素分析をしていただいた山本節子、村瀬良子両君に感謝する。なお本研究費の一部は文部省科学研究費によつた。

- (1) 藪田, 住木, 麻生, 田村, 五十嵐, 玉利: 農化, 17, 898~9 (1941).
- (2) N. RABJOHN: *Organic Reaction*, Vol. 5, p. 331 (1949).
- G. R. WALKINS, C. W. CLARK: *Chem. Review*, 36, 236 (1945).
- (3) 筆者ら: 未発表.
- (4) L. TSCHUGAEFF, L. SPIRO: *Ber.*, 41, 1678, 2219 (1906).
- (5) WEITZ, SCHEFFER: *Ber.*, 54, 2332 (1921).
- SCHÖNBERG, MALCHOW: *ibid.*, 55, 3747 (1922).
- BARNES: *J. Am. Chem. Soc.*, 57, 937 (1935).
- (6) 谷田沢: 科学, 18, 364 (1948).

Summary

In the preceeding paper of this series, it has been reported that the function of 3 oxygen atoms in gibberic acid, C₁₉H₂₂O₈, was identified as being one carbonyl and one carboxyl. In this paper, the results of oxidation of gibberic acid by selenium dioxide are described which were attempted in order to ascertain the position of the ketone group.

The oxidation does not take place by the usual method, but advances smoothly when the alcoholic solution of gibberic acid is heated at 144° during 3 hours in a sealed tube using six times of the theoretical amount of selenium dioxide. By this oxidation, gibberic acid gives a substance named "gibberdionic acid". Gibberdionic acid, crystallizing into yellowish plates, mp 188°, has an empirical formula, C₁₉H₂₀O₄, and shows an absorption spectrum of ultraviolet ray very similar to that of gibberic acid. This fact shows that there occurs no change in the mother nucleus of gibberic acid but oxidation occurs in one of the side chains introducing a new carbonyl group at the position of the next carbon atom of the ketone group which existed originally. Gibberdionic acid is negative against Schiff's reagent, the reaction of Tschugaef's diketone-Ni-dioxime, but positive for the reaction of tolidine-acetate, showing the existence of an aldehyde group. Moreover, this acid gives the ppt. of cadmium-yellow and colourless crystals when recrystallized from alcohol containing water, showing just the same reactions of phenylglyoxal.

By treating gibberdionic acid with hydrogen peroxide in an alkaline solution, we obtain one mole of a hydroxy-dicarboxylic acid and one mole of carbon dioxide, but no aldehyde and volatile acid. This acid has been named "gibberdicarboxylic acid" and it crystallizes out in the form of colourless needles and decomposes at 145°. We propose as the empirical formula of gibberdicarboxylic acid C_{17~19}H_{22~24}O₆, and its absorption spectrum of ultraviolet ray is observed to be very similar to that of gibberic acid. Therefore, gibberdionic acid must be an acid which contains a glyoxal, -CO-CHO.

From these results, it is ascertained that the position of ketone group in gibberic acid is located not in the mother nucleus but in one of side chains and, moreover, adjacent to the terminal methyl group of its side chain.