また貴重な菌株を分与された長尾研究所椿啓介博士に感謝する。元素分析, 分子量測定をお願いした当社微量分析室の小野江敏浩氏, 大塚弘氏, 紫外部, 赤外部吸収スペクトルをお願いした理化学測定室の肥後崎信行氏, 樋口速雄氏, 毒性試験, 抗癌試験をお願いした薬理研究室の荒川順生氏, 竹田れい子氏に感謝する。

(本報告の要旨は昭和 34 年 5 月 23 日, 日本農芸化学会関東支部第 192 回講演会にて発表した。)

(1) 石橋慶次郎: 本誌, 35, 253 (1961).

(3) 中村路一, 石橋慶次郎: 本誌, 32, 739 (1954).

(2) 西門義一: 大原農研特別報告, 4, 82 (1930).

〔農化 第 35 卷, 第 3 号, p. 262~265, 1961〕

ヘキソサミンの生化学的研究 (第 3 報)*

陽イオン交換樹脂による N-アセチル-D-グルコサミンの β-配糖体の α-配糖体への転移について

櫛田 秀雄, 林 一郎 (科研薬化工株式会社研究所)

昭和 35 年 9 月 11 日 受 理

最近 N-アセチル-D-グルコサミンの配糖体が Bifidus Factor としての作用を有し, 特にその β-配糖体にその活性が高いことが判明し注目を浴びている^(1~3). しかしその活性を有する N-アセチル-D-グルコサミンの配糖体合成についてはすでに多くの方法が報告されているが, その内 N-アセチル-D-グルコサミンより比較的簡単に α-配糖体を合成する方法として, アルコール溶液中にて陽イオン交換樹脂を用いる報告がある⁽⁴⁾. しかし P. György⁽⁵⁾ らの報告によると α-配糖体以外に少量であるが β-配糖体も同時に合成される. したがって著者らは陽イオン交換樹脂による配糖体合成法は必ずしも α-配糖体のみの合成法ではなく, 条件何如によっては β-配糖体の含量の高い配糖体を合成しようと考え, エチル配糖体につきいろいろ検討し, ほぼ予想通りの結果をえた. その詳細は別報に報告する予定であるが, 条件如何により α および β-配糖体の合成される割合の異なる原因は, 生成した β-配糖体が陽イオン交換樹脂により, 反応中 α-配糖体へ転移するためと考えられた. α-配糖体への転移については β-配糖体のアセチル化されたものが金属ハロゲナイドにより α-配糖体へ^(6,7), また N-carbobenzoxyl-D-glucosamine⁽⁸⁾ および N-acetyl-trimethyl-D-glucosamine⁽⁹⁾ の β-メチル配糖体, N-acetyl-trimethyl-D-glucosamine の β-ベンチル配糖体⁽¹⁰⁾ などがアルコール中で塩酸の存在により α-配糖体へ転移することが報告されている. しかし陽イオン交換樹脂による N-アセチル-D-グルコサミンの β-配糖体の α-配糖体への転移についての報告はなされていないようである. そこで著者らは Amberlite IR-120 を用いて α および β-配糖体の混合物を合成し, これをカラムクロマトグラフィにより分別精製して, メチル, エチル, n-プロピル, ベンチル配糖体の β-体をえて Amberlite IR-120 による β-配糖体から α-配糖体への転移を比較検討し, その配糖体のアグリコンによる差, 反応温度, 反応時間などの転移に対する影響を見た.

実 験 の 部

実験方法および結果

I) 触媒としての Amberlite IR-120 の粉末調整: 市販の Amberlite IR-120 (ナトリウム型) を 2N の食塩水溶液, 2N の塩酸にて conditioning して水素型にかえる. この水素型になった樹脂を湿潤状態でこまかくしたのち, フルイにて 80~120 メッシュの部分を取り出し, これをメタノールにて 2 度それぞれ 3 時間煮沸して, つぎにエタノールにて 2 度, それぞれ 3 時間煮沸, 脱水と同時にアルコールに溶ける樹脂中の不純物をのぞく. この樹脂を風乾したのち, 真空デシケーター中にて完全に乾燥し, 触媒として使用した. なお, この触媒としてのイオン交換樹脂の活性度の指針となると考えられる交換容量を本田の方法⁽¹¹⁾で測定して 4.40 ± 0.02 ミリ

* Biochemical Studies on Hexosamine. Part III. The Conversion of N-Acetyl-β-D-glucosaminides into the α-Anomer by the Action of the Ion-exchanger Amberlite IR-120.

By Hideo KUSHIDA and Ichiro HAYASHI (Research Laboratory, Kaken Yaku Kako Co., Ltd. Kyoto.)

当量/瓦の値をえた。

II) N-アセチル-D-グルコサミンの β -アルキル配糖体の合成 : 配糖体の合成は 50 g の N-アセチル-D-グルコサミンを三径コルベンにとり, 5 g の乾燥した Amberlite IR-120 の粉末をこれに加えて, さらに 500 g のエタノールを加え, 冷却器をつけ, 沸騰水浴上にて攪拌しながら 2 時間加熱したのち, アルコール不溶の未反応 N-アセチル-D-グルコサミンおよびイオン交換樹脂を濾過してのぞき, この濾液を減圧濃縮してエチル配糖体の α 型と β 型の混合物をうる。この混合物は約 20 g であり, 旋光度の測定によると β -配糖体の含量は 50~60% のものであった。濾別した未反応の N-アセチル-D-グルコサミンとイオン交換樹脂の混合物にさらにアルコールを追加して, 同様反応せしめれば N-アセチル-D-グルコサミン 50 g に対する収量は増す。メチルおよび *n*-プロピル配糖体も同様な条件で α 型と β 型の混合物をうる。この場合も収量は殆んど同じであるが, β -配糖体の含量はメチル配糖体の場合やや多い。ベンチル配糖体についても同様の条件で反応させ, その反応濾液を減圧にて濃縮し, α 型および β 型の混合物をうるが, その収量は約 5 g であり, β -配糖体含量は 70~80% である。従って反応に使用せる N-アセチル-D-グルコサミンに対する収量を増すためには前記の如く, 濾別せるイオン交換樹脂と未反応の N-アセチル-D-グルコサミンの混合物にベンチルアルコールを追加して反応せしめ, 同様に α 型および β 型の配糖体混合物をうる。アルコール追加を反復すれば α および β -配糖体の混合物の収量は理論値の約 80% まではえられる。つぎに α および β 型配糖体の単離を行なった。ベンチル配糖体は比較的アルコールに難溶でまた結晶し易く, 再結晶を繰返すことにより前記条件により合成された α 型および β 型配糖体の混合物より第 1 表の融点, 旋光度の α および β 型配糖体を結晶としてうることが出来た。メチル, エチルおよび *n*-プロピル配糖体の α 型, β 型の混合物は再結晶にて β 型配糖体を単離することは不可能であるため, それぞれ活性炭-セライトカラムに吸着させ, これより 10% エタノールをもって溶出を行ない β 型配糖体および α 型配糖体をそれぞれ単離結晶化した。えられたそれぞれの結晶の旋光度および融点は第 1 表に示すものであり, すべて従来の報告と一致したものがえられた。

第 1 表 配糖体の融点, 旋光度 (5), (12) の報文と一致。

	$[\alpha]_D$	m. p.
Methyl-N-acetyl- α -D-glucosaminide	+131.0	187~8°
" - β - "	-44.0	204~5°
Ethyl-N-acetyl- α -D-glucosaminide	+134.0	177~8°
" - β - "	-42.5	178~9°
Propyl-N-acetyl- α -D-glucosaminide	+140.0	170~1°
" - β - "	-48.0	189~90°
Benzyl-N-acetyl- α -D-glucosaminide	+168.0	183~4°
" - β - "	-48.0	205~6°

$$\frac{\text{実測 } \alpha}{\text{反応させた重量} \times 2} = \text{得られた } [\alpha]_D$$

$$\frac{\text{得られた } [\alpha]_D \sim \beta \text{ 型 } [\alpha]_D \text{ のひらき}}{\alpha \text{ 型 } [\alpha]_D \sim \beta \text{ 型 } [\alpha]_D \text{ のひらき}} = \alpha \% (\text{転移率})$$

イオン交換樹脂をエタノールにて洗いながら 25 ml にする。これを旋光計で旋光度を測定して β 型から α 型への転移率を知る。他の配糖体についてもそれぞれメチル, プロピル, ベンチルアルコール中にて同様な処理で測定する。なおベンチル配糖体は 1 ミリモル/10 ml の実験は温度が下ってくると結晶が現われて来て, 成功しにくいので少し濃度を落し 0.87 ミリモル/10 ml とした。エタノールの沸点で行なった実験は 30 ml のエレンマイヤーフラスコに Amberlite IR-120, 無水エタノールおよびエチル-2-アセトアミド-2-デオキシ- β -D-グルコシドを加えて, フラスコに冷却器をつけ, 水浴上にて 3 時間煮沸する方法をとった。

IV) 反応生成物の確認 : 転移を行なわせた溶液をペーパークロマトグラフィにて検索した結果, 反応生成物である α 型配糖体と未反応の β 型配糖体を認めたのみで, N-アセチルグルコサミン, その他の 2 次的分解物と考えられる物質は検出できなかった。したがってこの転移量の追求に旋光度を用いることとした。ペーパークロマトグラフィは下降法にて, 溶媒にはブタノール-エタノール-水 (4:1:1) を用い, 標準品として N-アセチル-D-グルコサミン, また前記のごとくえたそれぞれの α および β 型の配糖体を使用した。発色剤はアニリン臭化水素酸塩 N/100 と臭化水素 N/1000 を含有する水飽和ブタノールを用い, 110~120° に加熱, 緑褐色~褐色の

III) 転移反応の測定 : 25ml の試験管

に前記の方法にて調整した Amberlite IR-120 を 100 mg または 200 mg とり, これに 10 ml の無水エタノールを加えて, しばらく放置後, エチル-2-アセトアミド-2-デオキシ- β -D-グルコシドを 1 ミリモルまたは 2 ミリモルこれに加えて試験管を溶閉する。これを恒温槽 (+0.2°) の中に作った滑車にとりつけ回転させる。一定時間回転を続けたのちとりだし開封して, イオン交換樹脂をガラスフィルターにて洗いながら 25 ml のメスコルベンに移す。そしてイオ

第1図 転移に対する反応時間および温度の影響

●—● メチル ●—● エチル
○—○ プロピル ■—■ ベンチル

第2表 触媒量, β 型配糖体の初濃度による影響

濃度 ミリモル /10ml	Amberlite IR-120 (mg)	α 型生成量 ミリモル/ 10 ml	転移率 (%)
1	100	0.35	35
1	200	0.62	62
2	100	0.41	21

アグリコンはエチル, 反応温度および時間 60°, 6時間

スポットをうる方法である。えられた結果は次の如くである。

1) 転移に対する反応時間および温度の影響: 反応時間および温度による影響は第1図の如く明らかに見られ, 時間と共に α 型が増加するが, 特に温度による影響が強く, エチル-配糖体のみについて見ても, 反応6時間後 40° の場合は10%の転移率であるが, 60° では35%となり, 78° では実に77%に達している。

2) 触媒量, β 型配糖体の初濃度の差による転移速度の差: 第2表に示すが配糖体のアグリコンはエチル基であり, 反応時間および反応温度はそれぞれ6時間, 60°である。触媒量は増すと転移量を増すが, 触媒量2倍で転移量は1.8倍となった。また初濃度を増すと転移量は増すが, 転移率は減少した。

3) アグリコンの違いによる転移速度の差: アグリコンによる差は第1図の如く見られた。すなわち, メチル, エチルおよび n -プロピルの3つの配糖体については大きな差ではないが, この測定に入ってくる誤差が転移率で1%程度であるので, 反応温度40°, 反応時間3時間, 6時間の場合のメチル配糖体とエチル配糖体の差, 同じような差が60°, 3時間, 6時間の場合に見られるといえる。またエチル配糖体と n -プロピル配糖体の差も, 60°, 6時間, 9時間の場合に見られる。したがって n -プロピル>エチル>メチルの順に転移し易い傾向をもつと思われる。ベンチル配糖体については, 初濃度が異なるが2)の結果より濃度が低ければ転移量が少なく, 転移率が高くなることが判明している。他の3つの配糖体より転移率は高くなるはずであるが, 逆に14%という転移率を示し, エチル配糖体の35%などに比較すると半量以下となる。もし同一濃度で実験が行われていたとすると, 更に少い転移率になったものと思われる。

考 察

以上の実験結果より Amberlite IR-120 は N-アセチル-D-グルコサミンの β 型配糖体を α 型配糖体にかえることを知った。

この事実は配糖体に触媒として塩酸を用い, このような β 型配糖

体より α 型配糖体に移るとい報告, 又金属ハロゲン化ナイドにより β -配糖体が α -配糖体に転移することなどよく類似している。また従来スルホン酸型陽イオン交換樹脂が配糖体の合成の触媒として用いられた場合は, 生成せる配糖体の大部分が α -配糖体であるのはこのイオン交換樹脂による α 体への転移に起因するものと考えられる。従来配糖体を合成する場合, β 型配糖体についてはベンタアセチル-D-グルコサミンよりアセトハロゲンノグルコサミンを合成, 更にそのアセテートの配糖体を作り, 後脱アセチル化するという工程が取られていた。 α 型配糖体についてはN-アセチル-D-グルコサミンより直接配糖体を合成する簡便な方法として, 陽イオン交換樹脂を触媒として用い合成されていた。このことは β 型配糖体がまず合成されたとしても, 合成反応が進行中, 存在するイオン交換樹脂により α 型への転移が起っているためであって, その転移については実験I~IIIの如くその反応時間が長く, 反応温度が高くなる程, また陽イオン交換樹脂量が多く β 型配糖体の濃度が低い程 α 型配糖体への転移が速くなるという結果が判明して α 型配糖体が多く合成されるのは当然のことと考えられた。しかしわれわれの得た転移に対する反応条件をもとにして, N-アセチル-D-グルコサミンの配糖体合成の条件を適当に調節することにより György の得た β 型配糖体含量最高の30%以上の配糖体を合成しうることが可能となり, 実験方法II)の如き β 型配糖体含量50~60%の配糖体をうることが出来た。またアグリコンが異なることにより, その転移の速度が異なることは興味のあることであるが, 少なくとも陽イオン交換樹脂による配糖体合成にて, 高含量の β 型配糖体を得んとする場合は, そのアグリコンに差があることに充分注意されねばならぬと思われる。

- (1) P. György : Chemistry and Biology of Mucopolysaccharide, Ciba Foundation Symposium. J. & A. Churchill LTD, London, p.140 (1958).
- (2) P. György, C. S. Rose : *Proc. Soc. Exp. Biol., N.Y.*, 90, 219 (1955).
- (3) C. S. Rose, R. Kuhn, F. Zilliken : *ibid.*, 49, 123 (1954).
- (4) F. Zilliken : *Ber.*, 86, 466 (1953).
- (5) F. Zilliken, C. S. Rose, G. A. Braun, P. György : *Arch. Biochem. Biophys.*, 54, 392 (1955).
- (6) E. Pacsu : *Ber.*, 61, 1508 (1928).
- (7) 井上吉之, 小野寺幸之進, 唐沢郁夫, 西沢嘉彦 : 本誌, 24, 362(1950), 25, 499(1951).
- (8) A. Neuberger, R. P. Rivers : *J. Chem. Soc.*, 122 (1939).
- (9) W. O. Cutler, W. H. Naworth, S. Peat : *J. Chem. Soc.*, 1979 (1937).
- (10) W. O. Cutler, S. Peat : *J. Chem. Soc.*, 274 (1939).
- (11) 本田雅健 : 日化, 70, 52 (1949).
- (12) R. Kuhn, W. Kirschenlohr : *Ber.*, 86, 1331 (1954).

[農化 第 35 卷, 第 3 号, p.265~269, 1961]

高級溶解用パルプの製造 (第 3 報)*

広葉樹の二段蒸解

川 瀬 馨 (日本パルプ工業株式会社研究所)

昭和 35 年 9 月 12 日 受理

緒 論

二段蒸解法によって赤松から易漂白性の高 α -繊維素のパルプが製造できることを報告^(1,2)したが,更に広葉樹に本蒸解法を適用する実験を行なった。

針葉樹と広葉樹ではその木材組成成分の差異によって蒸解特性及び得られるパルプ品質が著しく異なってくることは既に従来の蒸解法に関する研究⁽³⁻⁷⁾からも明瞭である。従って本報では前報迄の赤松を用いて得られた知見を基にしてブナ材の二段蒸解を行なって両者の蒸解特性を比較すると共に,混合広葉樹の工業的チップによる中間工業規模実験結果を報告する。

第 1 図 酸蒸解による木材成分の崩壊及び溶出

1. α -セルロース
2. β -セルロース
3. KMnO_4 価
4. 粘度
5. ペントザン

実 験

ブナ材 (径 20~30 cm の材の手割チップ) を試料として, 酸蒸解における酸蒸解時間, 酸濃度, アルカリ蒸解のアルカリ添加量, 硫化度の 4 要因をとりあげて検討し, 赤松と比較して考察した。

まず酸蒸解時間を 0~1.5 時間に変化して酸蒸解によるパルプ特性値の変化を追求した。その他の酸蒸解条件は全亜硫酸 (TA) 6.0%, 結合亜硫酸 (CA) 0.7%, 温度 140°, 到達時間 4 時間であり, アルカリ蒸解は温度 165°, 到達時間 1.5 時間, 持続時間 1.5 時間, アルカリ添加量 15%, 硫化度 25% で一定である。

第 1 図に示すようにアルカリ添加量は 15% で通常の硫酸塩蒸解 (アルカリ添加量 20~25%) より非常に少ないにも拘らず完全にパルプ化され, リグニン (KMnO_4 価) は酸蒸解 0 時間でも大部分が溶出し, KMnO_4 価で約 3 という低い値になっている。ブナ材のリグニン

* The Manufacture of a High Grade Dissolving Pulp. Part III. Acid-alkali Two Steps Cooking of Hardwood.

By Kaoru KAWASE (Research Laboratory, Nippon Pulp Ind. Co.)