[農化 第 36 卷, 第 7 号, p. 541~546, 1962]

グルコースとアンモニアの反応生成物に関する化学的研究 (第 7 報)*

イミダゾール化合物のペーパークロマトグラムと化学構造との関係

河 本 正 彦 (兵庫農科大学)

昭和 36 年 7 月 31 日 受 理

イミダゾール化合物のペーパークロマトグラフィー (以下 PPC とする) に関して, Huebner⁽¹⁾, Cowgill⁽²⁾ 及び Ames⁽³⁾ 等の報告がある。Huebner は, 供試イミダゾールは炭素原子数の大なるほど R_F 値が大きくなること, また Ames 及び Cowgill は数種の関連したイミダゾール化合物の Pauly 試薬その他に対する呈色反応を報告している。しかし以上の研究は, 各イミダゾール化合物の R_F 値と化学構造の関係については充分な考察を加えていない。

著者は既報⁽⁴⁾の如く, グルコース-アンモニア反応水溶液に少くとも 8 種のイミダゾール化合物の生成することを認め, そのうち 4 種を同定し, 1 種の構造を推定した。これらの確認を行うために合成したイミダゾール化合物及び文献記載の方法に準じて調製したそれらの関連イミダゾール化合物を一括して, ペーパークロマトグラムを作製し, これらイミダゾール化合物の化学構造との関係を検討したところ, 第 1 表に示される如く興味ある事実が判明した。すなわち著者の使用した展開溶媒に関する限りでは,

1) イミダゾール核の側鎖にアルキル基のみが導入されたものは, すべてイミダゾールよりその R_F 値が大き

第 1 表 種々のイミダゾール化合物のペーパークロマトグラム

物 質 名	呈 色				R_F 値 展開溶媒		
	未反応 時蛍光	ヨードに よる褐変	ヨード噴霧 後の蛍光	Pauly 反応	1	2	3
2,4(5)-ジメチル-5(4)-エチルイミダゾール	—	+	+	—	0.98	0.99	0.82
2-メチル-4(5)-エチルイミダゾール	—	+	+	淡黄緑	0.95	0.99	0.81
2-エチル-4(5)-メチルイミダゾール	—	+	+	黄	0.95	0.98	0.77
4(5)-メチル-5(4)-エチルイミダゾール	—	+	+	黄	0.94	0.97	0.76
2,4,5-トリメチルイミダゾール	—	+	+	—	0.88	0.95	0.75
2-エチルイミダゾール	—	+	+	黄	0.84	0.94	0.75
4(5)-エチルイミダゾール	—	+	+	赤	0.82	0.94	0.69
4,5-ジメチルイミダゾール	—	+	+	黄	0.75	0.90	0.68
2,4(5)-ジメチルイミダゾール	—	+	+	淡黄緑	0.75	0.90	0.68
2-メチルイミダゾール	—	+	+	黄	0.69	0.83	0.67
4(5)-メチルイミダゾール	—	—	+	赤	0.68	0.82	0.66
イミダゾール	—	+	+	黄	0.62	0.77	0.66
2-オキシメチル-4(5)-メチルイミダゾール	—	—	+	赤	0.54	0.70	0.65
4(5)-メチル-5(4)-オキシメチル- イミダゾール	—	—	+	赤	0.40	0.64	0.65
4(5)-(2-オキシエチル)イミダゾール	—	—	+	赤	0.39	0.64	0.58
4(5)-オキシメチルイミダゾール	—	+	+	赤	0.32	0.62	0.49
未知イミダゾール No. 4	—	—	+	赤	0.29	0.44	0.47
4(5)-(2,3-ジオキシプロピル)イミダゾール	—	—	+	赤	0.21	0.38	0.46
4(5)-(2,3,4-トリオキシプロピル)- イミダゾール	—	—	+	赤	0.16	0.20	0.45
4(5)-(D-アラビノ-テトラオキシプロピル)- イミダゾール	—	—	+	赤	0.05	0.09	0.22
2,4(5)-ジオキシメチル-5(4)-メチル- イミダゾール	—	—	+	赤	0.29	0.44	0.48

展開溶媒 { 1. アセトン/クロロホルム/水/28% アンモニア水=30:5:4:0.2
2. エタノール/エーテル/水/28% アンモニア水=4:5:1:0.1
3. n-ブタノール/酢酸/酢酸エチル/水=1:1:1:1

* Chemical Studies on the Reaction Products of Glucose and Ammonia. Part VII. Relation between Paperchromatograms and Chemical Structures of Imidazole Compounds.
By Masahiko KÔMOTO (The Hyogo University of Agriculture)

くなった。その場合アルキル基の炭素数が増すにつれて R_F 値は増大した。

2) 同じアルキル基で置換される場合でも、そのアルキル基がイミダゾール核の2の位置に入るときは、4または5の位置に入ったものより R_F 値が大きくなる。たとえば、2-メチルイミダゾール > 4(5)-メチルイミダゾール; 2-エチルイミダゾール > 4(5)-エチルイミダゾールの如くである。

3) オキシアルキル基がイミダゾール核に導入されると R_F 値はすべてイミダゾールより小さくなり、アルコール基の数が増すにつれて R_F 値はますます小さくなる。オキシアルキル基が2の位置に入ると、4または5の位置に入ったものより R_F 値は大きい。たとえば、2-オキシメチル-4(5)-メチルイミダゾール > 4(5)-メチル-5(4)-オキシメチルイミダゾールの如くである。

しかるにイミダゾール核の2, 4及び5の位置に順次メチル基の導入されることによって塩基度が高くなること、特に2の位置に導入されると著しいことが報告されているが⁽⁵⁾、これらの報告に記されたアルキルイミダゾールの塩基度と著者の測定した R_F 値とを対比したものが第2表であり、塩基度の異なるものは R_F 値は大となることがわかった。

第2表 イミダゾール化合物の塩基度と R_F 値

物質名	pK	R_F 値 (展開剤第1表の1)
2,4,5-トリメチルイミダゾール	8.86	0.84
2,4(5)-ジメチルイミダゾール	8.36	0.75
2-メチルイミダゾール	7.86	0.69
4(5)-メチルイミダゾール	7.52	0.68
イミダゾール	6.95	0.62
4(5)-オキシメチルイミダゾール	6.38	0.32

イミダゾール及び 2,4(5)-ジメチル-5(4)-エチルイミダゾール等は Pauly 反応に対し陰性であり、それらはイミノ基が遊離している場合に陽性のヨード試薬反応によってのみ検出され得る。第1表に示すように Pauly 反応に際し黄色を呈するものと、赤色を呈するものが認められた。すなわちイミダゾール核において4または5の位置のみアルキル基あるいはオキシアルキル基で置換したもの、及び4または5の位置をアルキル基で、2あるいは5または4の位置をオキシアルキル基で置換した二置換体は赤色を呈し、それ以外は黄色を呈した。

イミダゾール化合物の化学構造と R_F 値及び Pauly 反応との関係について得られた以上の知見を基にして、イミダゾール化合物のオキシメチル化反応の際生ずる二、三の未知物質の推定を試みた。

4(5)-メチルイミダゾールまたはイミダゾールにホルムアルデヒドを加え加熱すると第1図及び第2図の如く Pauly 反応により赤色を呈し(第2図4のみ黄色)、しかもそれぞれの出発物質より R_F 値の小さな多くのスポットが生じてくる。第1図のスポット1及び2はそれぞれ標準物質と R_F 値及び Pauly 反応による呈色が完全に一致するから 2-オキシメチル-4(5)-メチルイミダゾール (I) 及び 4(5)-メチル-5(4)-オキシメチルイミダゾール (II) と同定した。Erlenmeyer⁽⁷⁾ も 4(5)-メチルイミダゾールのホルムアルデヒドとの反応で (II) の生成することを確認している。ところが反応時間の延長につれて第1図b)の如く、(II)は漸減するが (I) は急激に減少し、ついには (I) も消失してスポット3のみとなる。大判濾紙により PPC を行ない、切り取り抽出法で得たシラップ状の3を既報⁽⁸⁾の赤燐及びヨウ化水素酸を用いる方法で還元して精製後、PPC を行なったと

ころ, 2, 4, 5-トリメチルイミダゾールと呈色反応及び R_F 値の完全に一致するスポットを検出し得た。よって 3 は 2, 4(5)-ジオキシメチル-5(4)-メチルイミダゾールと推定される。以上のことから 4(5)-メチルイミダゾールのオキシメチル化反応は次式の如く進行するものと推察した。

第 2 図 イミダゾールのオキシメチル化反応

a) 反応によって生じたイミダゾールの同定
b) 反応によって生じたイミダゾール化合物の PPC による追跡 (展開剤 1)
D: イミダゾール

次に第 2 図のスポット 5 は標準物質と R_F 値及び呈色反応が完全に一致するから 4(5)-オキシメチルイミダゾールと同定した。Elderfield⁽⁹⁾ はホルムアルデヒドによるイミダゾールのオキシメチル化に際し 2-オキシメチルイミダゾール及び 4(5)-オキシメチルイミダゾールの生成することを述べている。第 2 図 a) のスポット 4 は比較的初期に生成すること、及び前述の如くイミダゾール核の 2 の位置にオキシアルキル基が導入されるときは 4 または 5 の位置に導入されたものより R_F 値は大きくなるという知見を基にして 2-オキシメチルイミダゾールであると推察した。またイミダゾール核にオキシアルキル基の導入されることにより R_F 値はすべてイミダゾールより小さくなり、アルコール基の数が増すにつれて R_F 値はますます小さくなるという理由から、スポット 7 は 2, 4(5)-ジオキシメチルイミダゾール、スポット 8 は 2, 4, 5-トリオキシメチルイミダゾールと考えられた。よってイミダゾールのオキシメチル化反応は次式の如く進行すると考えられた。

実 験

I. イミダゾール化合物のペーパークロマトグラム

A] PPC に供した試料

- a. イミダゾール: Snyder⁽¹⁰⁾の方法により合成.
- b. 4(5)-メチルイミダゾールピクレート: Windaus 等⁽¹¹⁾の方法により合成.
- c. 2-メチルイミダゾールピクレート: Farghers 等⁽¹²⁾の方法により合成.
- d. 4,5-ジメチルイミダゾールピクレート: Farghers 等⁽¹²⁾の方法により合成.
- e. 2,4,5-トリメチルイミダゾールピクレート: Farghers 等⁽¹²⁾の方法により合成.
- f. 2,4(5)-ジメチルイミダゾールピクレート: Windaus 等⁽¹³⁾の方法により合成.
- g. 4(5)-エチルイミダゾールピクレート: 既報⁽¹⁴⁾の方法により合成.
- h. 2-エチルイミダゾール: Windaus 等⁽¹³⁾の 2,4(5)-ジメチルイミダゾール合成法を準用し, 次式に従って合成した.

1.5 g の (I) を 30 ml の 10% NaOH に溶解し, 攪拌しながら 0° で (II) を 10 g 加え, 6時間攪拌後, 20° で1夜放置した. 生じた白色析出物を濾取後, エタノールから再結し, 2.5 g の m. p. 205~207° の (III) を得た. 1 g の (III) に 0.6 g の (IV) を加え, 封管中 180° で6時間反応後, 水で稀釈, 濃縮後, 濾過, 濾液に濃 K₂CO₃ 溶液を加えてアルカリ性にし, これをエーテルで抽出する. エーテル抽出物をさらに水で抽出, 水抽出液をシラップにまで濃縮, このシラップにピクリン酸飽和エーテル溶液を加え, 1夜放置し m. p. 130~138° の結晶を得た. これを熱水から2回再結し, m. p. 145~148° の黄色針状結晶を得た. この 51 mg に 0.15 ml の濃 HCl を加え, ベンゼンと振盪して遊離したピクリン酸をベンゼン層に移した. 水層を減圧下濃縮し, これに過剰の Na₂CO₃ を加えて強アルカリ性とした. この溶液を蒸発乾涸し, エタノールで抽出後, この抽出後を濃縮して m. p. 64~72° の結晶を得た. これをベンゼンに溶かし, リグロイン及びエーテルを加えて混濁を生ぜしめ 0° に放置, 析出した結晶を同様の操作で再結して m. p. 76~78° の (V) の白色結晶を得た.

- i. 2-メチル-4(5)-エチルイミダゾール・オキサレート: Windaus⁽¹³⁾の方法により合成.
- j. 2-エチル-4(5)-メチルイミダゾール・オキサレート: Windaus⁽¹³⁾の方法により合成.
- k. 4(5)-メチル-5(4)-エチルイミダゾールピクレート: Radzisevski 法⁽¹⁵⁾を準用し, 次式に従って合成した.

Riley⁽¹⁶⁾の方法により (VI) を出発物質として合成した 10 g の (VII) を 50 ml の水に溶解, 0° で攪拌しながら 50 ml の 37% ホルムアルデヒド及び 80 ml の 28% アンモニア水を加え, 0° で1夜放置した. これを濃縮後, 濃 K₂CO₃ 溶液を加えてアルカリ性にし, エーテルで抽出した. エーテル抽出液をシラップに濃縮, これにピクリン酸飽和エーテル溶液を加え, 1夜放置すると m. p. 137~146° の黄色結晶を得た. これを熱水から3回再結すると m. p. 156~158° の (VIII) のピクレートが得られた.

- l. 2,4(5)-ジメチル-5(4)-エチルイミダゾールピクレート: Radzisevski⁽¹⁵⁾法を準用し次式に従って合成した.

10 g の (VII) を水 50 ml 及びメタノール 30 ml に溶解し, 0° で攪拌しながらこれに 80% アセトアルデヒド 50 ml 及び 28% アンモニア水 80 ml を加え, 0° で1夜放置後, 反応液を濃縮した. これに濃 K_2CO_3 溶液を加えてアルカリ性とし, エーテルで抽出した. この抽出液をシラップに濃縮すると全体が固化した. この褐色塊にピクリン酸飽和エーテル溶液を加え, 攪拌溶解, 1夜放置すると黄褐色の結晶を生じた. これを熱水から再結して m. p. 192~197° の黄色結晶を得た.

- m. 4(5)-オキシメチルイミダゾールピクレート: Totter⁽¹⁷⁾ の方法により合成.
- n. 2-オキシメチル-4(5)-メチルイミダゾールピクレート: 著者⁽¹⁸⁾ の分離したもの.
- o. 4(5)-メチル-5(4)-オキシメチルイミダゾールピクレート: Erlenmeyer⁽⁷⁾ の方法により合成.
- p. 4(5)-(2-オキシエチル) イミダゾールピクレート: Huebner⁽¹⁾ の方法により合成.
- q. 4(5)-(2,3,4-トリオキシブチル) イミダゾール・TPB: 著者⁽¹⁹⁾ の分離したもの.
- r. 4(5)-(2,3-ジオキシブチル) イミダゾール・TPB: 著者⁽¹⁹⁾ の分離したもの.
- s. 4(5)-(D-アラビノ-テトラオキシブチル) イミダゾール・HCl: 石福⁽²⁰⁾ の方法により合成.
- t. 未知物質 No. 4: 著者がセルロース・カラムクロマトグラフィーによりグルコース-アンモニア水溶液よりシラップ状に分離したもの.

B] PPC 東洋濾紙 No. 50 を用い, 25° で一次元展開を行なった. 展開溶媒はアセトン/クロロホルム/水/28% アンモニア水=30:5:4:0.2; n-ブタノール/酢酸/酢酸エチル/水=1:1:1:1; エタノール/エーテル/水/28% アンモニア水=4:5:1:0.1 を用いた. イミダゾールの検出は Cowgill⁽²⁾ の方法に準じた. すなわち展開後, 濾紙を乾燥し, 蛍光の有無を調べ, ついで 1% ヨード・アルコール溶液を噴霧したときの褐色のスポットの出現の有無及び蛍光の有無を調査した. 放置して褐色のスポットが消失した後, Pauly 試薬を噴霧し, ついでアンモニア蒸気にさらし呈色させた. なお, PPC に供したピクレートは塩酸及びベンゼンを用いて一旦塩酸塩とした後, 中和したもの; 塩酸塩及び酢酸塩はアルカリで中和したもの; TPB 化合物は 0.5 N-HCl を加え, 40~50° に加温したものをそれぞれ展開せしめた.

II. 4(5)-メチルイミダゾール及びイミダゾールのオキシメチル化反応の PPC による追跡

A] 同定に用いた標準物質 実験 I に用いたと同じイミダゾール化合物を用いた.

B] 方法 4(5)-メチルイミダゾールあるいはイミダゾールに対し 37% ホルムアルデヒドを 4 モル相当量加え, 封管中 120° で種々の時間加熱し, 反応生成物を検討するために反応液を試料としてアセトン/クロロホルム/水/28% アンモニア水=30:5:4:0.2 (展開剤 I) 及びエタノール/エーテル/水/28% アンモニア水=4:5:1:0.1 (展開剤 II) を展開溶媒として PPC を行なった.

本研究に当り御指導, 御鞭撻を賜った本学浜口栄次郎先生, 九州大学大島康義先生, 名古屋大学田村悌一先生に心より謝意を表する. 実験遂行に当り協力を受けた本学藤井聰氏に感謝する.

(1) C. F. Huebner: <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 73 , 4667 (1951).	(7) H. Erlenmeyer et al.: <i>Helv. Chim. Acta</i> , 31 , 32 (1948).
(2) R. W. Cowgill: <i>Anal. Chem.</i> , 27 , 1519 (1955).	(8) 河本正彦: 本誌, 36 , 407 (1962).
(3) B. N. Ames et al.: <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 74 , 252 (1952).	(9) R. C. Elderfield: <i>Heterocyclic Compds.</i> (John Wiley and Sons), 5 , 208 (1957).
(4) 河本正彦: 本誌, 36 , 305 (1962).	(10) H. R. Snyder: <i>Org. Synth.</i> , 22 , 65 (1942).
(5) G. Dedicken: <i>Ber.</i> , 39 , 1831 (1906); A. H. M. Kirby: <i>Biochem. J.</i> , 32 , 1146 (1938); R. W. Cowgill: <i>J. Biol. Chem.</i> , 198 , 33 (1952).	(11) A. Windaus et al.: <i>Ber.</i> , 38 , 1166 (1905).
(6) H. Pauly: <i>Z. physiol. Chem.</i> , 42 , 508 (1904).	(12) R. G. Farghers: <i>J. Chem. Soc.</i> , 115 , 217 (1919).
	(13) A. Windaus et al.: <i>Ber.</i> , 55 , 3706 (1922).
	(14) 河本正彦: 本誌, 36 , 416 (1962).
	(15) K. Hofmann: <i>The Chemistry of Hetero-</i>

- cyclic Compds.-Imidazole and Its Deriv., Part I. Interscience Publisher, 1953, p. 33.
- (16) H.L. Riley et al.: *J. Chem. Soc.*, 1932, 1875.
- (17) J.R. Totter: *Org. Synth.*, 24, 64 (1942).
- (18) 河本正彦: 本誌, 36, 410 (1962).
- (19) 河本正彦: 本誌, 36, 464 (1962).
- (20) 石福覚治: 薬学, 48, 584 (1928).

〔農化 第 36 卷, 第 7 号, p.546~551, 1962〕

グルコースとアンモニアの反応生成物に関する化学的研究(第 8 報)*

生成するイミダゾール化合物を中心として推定した,
アンモニア水溶液中におけるグルコースの分解機構

河 本 正 彦 (兵庫農科大学)

昭和 36 年 7 月 31 日 受 理

既報⁽¹⁾の如く著者はグルコース-アンモニア水反応溶液(以下 G-A 反応溶液とする)中に 4(5)-メチルイミダゾール, 2-オキシメチル-4(5)-メチルイミダゾール, 4(5)-(2-オキシエチル)イミダゾール及び 4(5)-(2,3,4-トリオキシプロピル)イミダゾールの生成することを確認し, 4(5)-(2,3-ジオキシプロピル)イミダゾールの生成することを推定した. 従来イミダゾール化合物は次式に従って生成するといわれている⁽²⁾.

従って G-A 反応溶液中に生成する上記の種々のイミダゾール化合物の化学構造からメチルグリオキサール, ホルムアルデヒド, グリコールアルデヒド, 3-デオキシテトロソン, 3-デオキシペントソン及び 3-デオキシヘキソソン等のカルボニル化合物が生成することを推定できる. 生成したこれらの化合物はほとんど不安定なものばかりであるが, 反応系中でアンモニアと反応してイミダゾール化合物に変化し, 安定化するものと考えられる. 従って G-A 反応溶液中で, どのイミダゾール化合物が如何なる順序で生成してくるかを知れば, グルコースの分解機構を推定できるはずである.

G-A 反応溶液中に生成する各種イミダゾールを経時的にペーパークロマトグラフィー(以下 PPC と略記する)で追跡した結果は第 1 及び 2 図の如くで, 4(5)-メチルイミダゾール, 4(5)-(2,3,4-トリオキシプロピル)イミダゾール, 2-オキシメチル-4(5)-メチルイミダゾール, 4(5)-(2-オキシエチル)イミダゾール, 未知イミダゾール化合物(No. 4)及び 4(5)-(2,3-ジオキシプロピル)

イミダゾールの順に該反応溶液中に出現してくる. これらのイミダゾールの生成機構は(1)式に従えば次の如くである.

第 1 図 グルコース-アンモニア水溶液を加熱した場合のイミダゾール化合物の生成順位

* Chemical Studies on the Reaction Products of Glucose and Ammonia. Part VIII. Decomposition Mechanism of Glucose in Aqueous Ammonia Solution Presumed from the Occured Imidazole Compounds. By Masahiko KŌMOTO (The Hyogo University of Agriculture)