4. 総 括

真空中, 常温でアミロースに放射線を照射し, 生じたラジカルの ESR を測定し, それらの経時的な変化をしらべた. その結果 Schoch⁽⁸⁾ の *n*-ブタノール沈殿法で調製したアミロースは非対称な二重線のスペクトルを示し, このラジカルは 330 時間常温に放置したのちにも相当量が残存することをみとめた. 重水素化アミロースの場合のスペクトルは, 中央部に対照試料と明らかな差があらわれる. このことから γ 線照射アミロースラジカルの構造を推論した.

重水素化アミロースおよび対照加熱アミロースの場合, 330 時間常温放置後に残存するラジカル量はきわめて少ない. 試料の X 線回折の結果からこれは重水素化の際, 加熱することによりアミロースのラセン構造がこわれて非晶質化されラジカルが捕捉されにくくなったためであろうと推定した.

終りに終始懇切なる御指導をいただいた大阪大学産業科学研究所二国二郎教授, 理学部広田鋼蔵教授, 桑田敬治助教授および γ 線照射の便宜をはかられた放射線実験所長浅田常三郎教授に深謝する. また研究費の一部は文部省科学試験研究費の援助によるものである.

(1) D. Williams, J. E. Geusic, M. L. Wolfram, L. J. McGabe : <i>Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.</i> , 44 , 1128 (1958).	(1961).
(2) D. Williams, B. Schmidt, M. L. Wolfram, L. J. McGabe, A. Michaelakis : <i>ibid.</i> , 45 , 1744 (1959).	(6) A. J. Bailey, S. A. Barker, J. S. Brimacs, D. Pooley : <i>Nature</i> , 190 , 260 (1961).
(3) 上田 寿, 九里善一郎, 志田正二 : 日化, 82 , 8 (1961).	(7) 三品岡良 : 本誌, 35 , 40 (1961).
(4) S. Shida, Z. Kuri, Y. Fujiwara, H. Ueda : <i>J. Chem. phys.</i> , 32 , 371 (1960).	(8) E. J. Wilson, Jr. T. Schoch, C. S. Hudson : <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 65 , 1380 (1943).
(5) Z. Kuri, H. Ueda : <i>J. Poly. Sci.</i> , 50 , 349	(9) 桑田敬治, 市川隆久, 広田鋼蔵 : 日化投稿中.
	(10) D. J. E. Ingram : "Free Radicals as Studied by ESR", Butterworth Scientific Publication, London, 1958, p. 106.

[農化 第 36 巻, 第 7 号, p. 623~628, 1962]

酢酸菌によるフラクトースの酸化 (第 9 報)*

新 γ -パイロン化合物, 5-オキシマルトールの生成

寺田 治, 鈴木静子, 木下祝郎 (協和醸酵工業株式会社東京研究所)

昭和 36 年 11 月 29 日 受 理

緒 言

酢酸菌のあるものがフラクトースから麴酸を生成することは古く高橋, 朝井⁽¹⁾によって報告されたところである. その後池田⁽²⁾は *Gluconobacter roseus* について 3 種の γ -パイロンの生成を指摘し, その一つが麴酸であることを報告し, また相田⁽³⁾は未知のパイロンの一つをイソ麴酸として単離, 同定, 報告した.

著者等は *G. roseus* に近縁の *G. cerinus* について同様に 3 種の γ -パイロンの生成を認め (pyrone-I, II, III と仮称), pyrone-I をイソ麴酸, pyrone-II を麴酸と同定し⁽⁴⁾さらに未知の pyrone-III が 3-オキシ麴酸であることを決定, 報告した⁽⁵⁾. 以上のうち pyrone-I はその m. p., 元素分析値, IR および UV 吸収, およびそのアセチル誘導体の m. p., 元素分析値がイソ麴酸の文献記載⁽⁹⁾と一致することからイソ麴酸と同定したのであるが, さらに詳細に検討した結果, イソ麴酸の構造では説明しにくい現象が認められるに至った. よって種々の関連 γ -パイロン化合物を合成し, pyrone-I と比較検討した結果, pyrone-I が 3,5-dioxy-2-methyl-pyrone-1,4 (5-オキシマルトール) であることが推定されたので, 3-オキシ麴酸よりこれを合成し, これが pyrone-I と同一物であることを確認し得たのでここに報告する.

* Oxidation of Fructose by Members of *Acetobacter*. Part IX. Characterization of another New γ -Pyrone Derivative, 5-Oxymaltol.
By Osamu TERADA, Shizuko SUZUKI and Shukuo KINOSHITA (Tokyo Research Laboratory, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.)

実験の部

I. **Pyrone-I** の諸性質 mp., 元素分析値, IR および UV 吸収, アセチル誘導体等についてはすでに第4報⁽⁴⁾に記載したので, ここには省略する.

1. メチル誘導体

a. ジアゾメタンによるメチル化: ジアゾメタンにより pyrone-I の活性水酸基のメチル化をこころみた. pyrone-I 300 mg をメタノール 20 ml に溶解し, これに氷冷下 4.5 ml のニトロソメチルウレタンより発生せしめたジアゾメタンを導入し, 1 夜氷室中に放置する. もはや塩化鉄反応を呈しない反応液を減圧蒸溜して, 溶媒および過剰のジアゾメタンを溜去し, 得られる淡黄色のシラップを少量のメタノール-エーテル (1:1) に溶解して氷室中に放置すれば, 淡黄色柱状結晶を析出する. メタノール-エーテル (1:1) より 2 回再結すれば無色扁柱状ないし長板状結晶を得る. m. p. 97.5~98°, 収量約 70 mg (20%), 元素分析値は次に示すごとく pyrone-I ($C_6H_6O_4$) のジメチルエーテルに一致する.

Anal. Found: C 56.49, H 5.84%. Calcd. for $C_6H_4O_4(CH_3)_2$: C 56.47, H 5.92%.

すなわち pyrone-I は 2 個のフェノール性水酸基を有すると考えられる.

b. ヨウ化メチルによるメチル化: ヨウ化メチルと酸化銀によって pyrone-I の全水酸基をメチル化した. すなわち pyrone-I 1.5 g をメタノール 20 ml に溶解し, 常法⁽⁶⁾に従いヨウ化メチル 18 ml および酸化銀 18 g でメチル化する. 濾液を減圧蒸溜して溶剤および過剰のヨウ化メチルを溜去し, 得られたシラップを少量のメタノール-エーテル (1:1) に溶解して氷室中に放置すれば, 無色柱状結晶を析出する. さらに 2 回メタノール-エーテル (1:1) より再結したものは無色扁柱状ないし板状を呈し, m. p. 98° を示し, a において得られたジメチルエーテル結晶と混融するも m. p. 低下を示さない. 収量 1.19 g (65%). 元素分析値は次に示すごとくジメチルエーテルに一致する.

Anal. Found: C 56.36, H 5.92%. Calcd. for $C_6H_4O_4(CH_3)_2$: C 56.47, H 5.92%.

以上 a, b の実験結果は, さきに第4報⁽⁴⁾に報告した pyrone-I が無水酢酸によってジアセチル誘導体を与える事実とともに, pyrone-I が 2 個の水酸基を有し, そのいずれもがフェノール性水酸基であることを示す.

2. 近似 γ -パイロンとの比較 Pyrone-I はその諸性質がイソニコチン酸の文献記載⁽³⁾に一致するにもかかわらず以上のごとくイソニコチン酸の構造と相反する結果が得られた. 一般にかかる γ -パイロンの構造決定はそのメチル誘導体のバリタ分解によるのであるが, pyrone-I はその生成量少なく, 同定に必要な量を集積することが困難であったので, 以下述べるごとく近似構造を有する γ -パイロンを合成し, これらと pyrone-I との比較検討によってその構造を推定し, 合成によってこれを確認する方法をとった. ここに比較の資料として合成された γ -パイロンはアロマルトール (II), 6-オキシニコチン酸 (III), 6-オキシアロマルトール (IV) およびマルトール (V) であって, 前3者はニコチン酸より第8報⁽⁵⁾記載の方法により合成し, マルトールは Schenk 等⁽⁷⁾の方法に従ってストレプトマイシンより調製した.

第1図 Pyrone-I および関連 γ -pyrone のクロマトグラム
展開剤: n-ブタノール-ギ酸-水 (4:1.5:1)

ロンはアロマルトール (II), 6-オキシニコチン酸 (III), 6-オキシアロマルトール (IV) およびマルトール (V) であって, 前3者はニコチン酸より第8報⁽⁵⁾記載の方法により合成し, マルトールは Schenk 等⁽⁷⁾の方法に従ってストレプトマイシンより調製した.

a. クロマト的挙動: Pyrone-I および関連 γ -パイロンのクロマトグラムを第1図に示す. これによればフェノール性 OH の位置はほとんど R_F に影響なく, 数の増加は軽度の低下をきたすのみであるが,

2-C の $-\text{CH}_2\text{OH}$ が $-\text{CH}_3$ になれば著しい R_F の上昇をきたすことが認められる。

Pyrone-I は図のごとく (II), (IV), (VI) のマルトール群と近似の R_F 値を示し, イソ麴酸の構造 (6-oxy-2-oxyethyl-pyrone-1,4) から予想される R_F よりはるかに高く, かつ pyrone-I と 3-オキシ麴酸の R_F 比 (1.66) は 2-C 置換基のみを異にする (II) と (I) の R_F 比 (1.41) および (IV) と (III) の R_F 比 (1.52) に近く, pyrone-I と 3-オキシ麴酸 (VII) との間に, (II) と (I), (IV) と (III) の間におけるがごとき構造的関係の存在を示唆する。

b. 紫外部吸収: Pyrone-I および関連 γ -パイロンの UV 吸収を第 2 図に示す。吸光曲線の形状, 極大吸収の位置に影響するのはフェノール性 $-\text{OH}$ の数および位置であり, 2-C 置換基が $-\text{CH}_2\text{OH}$ であるか $-\text{CH}_3$ であるかは関係がないもののごとくであるが, ここにおいても pyrone-I は 3-オキシ麴酸と近似の曲線を与え, 両者が 2-C 以外の構造において同一であることを示唆する。

c. 可視部吸収: Pyrone-I および関連 γ -パイロンの第 2 鉄塩との呈色を第 3 図に示す。(III) (IV) がその ene-diol 構造による不安定性のため安定な呈色を示さず, 従って例数が少ないが, アロマルトールと麴酸との間に見られるごとき関係が, pyrone-I と 3-オキシ麴酸との間にも認められる。

d. 滴定曲線: Pyrone-I および関連 γ -パイロンの滴定曲線を第 4 図に示す。pyrone-I は 2 個のフェノール性 $-\text{OH}$ を有する 3-オキシ麴酸 (VIII) に近似の滴定曲線を与え, フェノール性 $-\text{OH}$ 1 個の麴酸, アロマルトールとは異なる。

e. m. p.: 第 2 節冒頭に示したごとく 2-C 置換基のみを異にする γ -パイロン間には著しい m. p. の差を認めないが, かかる見地からすれば, pyrone-I (184.5°) は麴酸 (152~3°) よりも, むしろ 3-オキシ麴酸 (186.5~7°) に近い構造を有すると考えられる。

f. 塩化チオニルとの反応: 2-C に $-\text{CH}_2\text{OH}$ を有する麴酸, 3-オキシ麴酸は SOCl_2 によって 2-C クロロメチル誘導体を与えるが, pyrone-I は 2-C に $-\text{CH}_3$ を有するマルトール群と同様 SOCl_2 に安定である。

第 2 図 Pyrone-I および関連 γ -パイロンの紫外部吸収
 濃度: 40g/ml 溶媒: 水
 ×はヒドロキシマルトールの極大吸収位置を示す (Stodola⁽⁹⁾)

第3図 Pyrone-I および関連 γ-パイロンの第2鉄塩の可視部吸収

各パイロン 200 γ/ml, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 1 mg/ml, H_2SO_4 500 γ/ml を含む溶液の可視部吸収を示す。

第4図 Pyrone-I および関連 γ-パイロン化合物の滴定曲線
濃度 100 mg/50 ml

して目的物を結晶状に得ることができなかった。よってさらに種々の反応条件について検討した結果、次に述べるごとくジオキサン中で反応せしめることによって一応所期の目的物を得ることができた。すなわち 2.5 g の 3-オキシ麩酸を加温下約 100 ml のジオキサンに溶解し、室温に冷却後、3.6 ml のチオニルクロライドを注加し、室温に1夜放置する。反応液を 50° の湯浴上で減圧蒸溜してジオキサン、過剰のチオニルクロライドおよび反応によって生成した HCl の一部を溜去し、得られる褐色のシラップを約 50 ml の蒸溜水に溶解して CaCO_3 で中和しエーテルで3~4時間抽出する。長時間抽出すれば分解物、未反応の 3-オキシ麩酸が抽出され、精製に障害を与える。抽出液よりエーテルを溜去して得られる黄色シラップは数時間内に結晶塊となる。これを水より2回再結すれば無色の小針状結晶を与える。m. p. 149~149.5°, 元素分析値は 3-オキシ麩酸クロライド (IX) に一致する。

以上の比較検討の結果は必ずしも確実な論拠となりうるものではないが、第1節の結果と併せ考えれば pyrone-I が 3,5-dioxy-2-methyl-pyrone-1,4 (VIII) であることを示唆すると考えられるので、次のごとく合成による確認をこころみた。

II. Pyrone-Iの合成 実験 I の結果から pyrone-I が 3,5-dioxy-2-methyl-pyrone-1,4 (VIII) であることが推定されるので、薮田⁽⁸⁾が麩酸からアロマルトールを合成した方法にしたがい、3-オキシ麩酸 (VII) から次のごとく経路によって (酸) を合成し、これと pyrone-I との異同を検討した。

1. 3-オキシ麩酸クロライド (IX) の合成 : 麩酸のクロル化の場合は薮田の報告⁽⁸⁾のごとく、単に麩酸結晶に過剰のチオニルクロライドを注加するのみで室温下激しく反応し、好収量で目的物が得られ、かつ未反応麩酸を残さないが、3-オキシ麩酸は同一条件では反応が極めて緩慢で多量の未反応物を残し、かつ多量の分解物が生成

第 5 図 Pyrone-I および合成 5-オキシマルトールの赤外部吸収 (KBr tablet 法)

Anal. Found : C 40.85, H 2.88, Cl 19.90%.

Calcd. for $C_6H_5O_4Cl$: C 40.84, H 2.85, Cl 20.08%.

このものは水に可溶, メタノール, エタノール, エーテルに著しく易溶である。収量 150~200 mg (5~7%)。

2. 5-オキシマルトール (VIII) の合成 : 上に得られたクロライド 100 mg を蒸留水 50 ml に溶解し, 過剰の Zn および酢酸を加え 50° の湯浴上で 4~6 時間還元する。完了後反応液を $CaCO_3$ で中和, 濾過しエーテルで 1 夜抽出する。抽出液からエーテルを溜去して得られるシラップをメタノールより 2 回再結すれば, 無色ないし淡黄色の板状結晶を得る。m. p. 184~184.5° を示し pyrone-I と混融するも m. p. 低下を示さず, UV, IR 吸収 (第 5 図) においても完全に pyrone-I に一致し, 元素分析値も 5-オキシマルトール (VIII) および pyrone-I⁽⁴⁾ に一致する。収量 65 mg (81%)。

Anal. Found : C 50.54, H 4.18%. Calcd. for $C_6H_8O_4$: C 50.71, H 4.26%.

以上の結果はここに得られた結晶が 5-オキシマルトール (3,5-dioxy-2-methyl-pyrone-1,4) (VIII) であり, かつ pyrone-I と同一物であることを示す。すなわち pyrone-I は 3,5-dioxy-2-methyl-pyrone-1,4 (5-オキシマルトール, 3-オキシアロマルトール, 2-メチルルビジノール) である。

考 察

以上の実験結果から第 4 報⁽⁴⁾においてイソ麩酸として報告した pyrone-I が, 5-オキシマルトール (3,5-dioxy-2-methyl-pyrone-1,4) であることが確認された。第 4⁽⁴⁾, 7 報⁽¹⁰⁾では *Gluconobacter cerinus* がフラクトースから 5-ケトフラクトースを経て麩酸, イソ麩酸等 3 種の γ -パイロン化合物を生成することを報告し, その生成の一新経路を提案したが, イソ麩酸の生成についてはその構造上説明が困難であった。しかるに上述のごとく pyrone-I がイソ麩酸ではなく, 5-オキシマルトールであることが確認されたこと, および *G. cerinus* の生成する γ -パイロンは麩酸, 3-オキシ麩酸⁽⁶⁾ および 5-オキシマルトールの 3 種のみで他に塩化鉄呈色物質の生成は認められないことから, さきに提案した γ -パイロン化合物の生成経路を次のごとく一部訂正したい。

なお 5-オキシマルトールとイソ麴酸との関係について考察すれば、(i) イソ麴酸⁽³⁾は *G. roseus* の醗酵液より単離、報告をされたものであるが、著者等の追試によれば *G. roseus* の生成する γ -パイロンも *G. cerinus* と同様、麴酸、3-オキシ麴酸および 5-オキシマルトールの 3 者のみで、他に塩化鉄呈色物質を認めなかった。(ii) また一部第 4 報⁽⁴⁾にも報告したごとく、両者はその m. p., UV および IR 吸収、元素分析値およびアセチル誘導体の m. p., 元素分析値において一致する点から、両者が同一物質である可能性が濃厚である。なお IR 吸収の $1350\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ 領域に多少の差異が認められるが、これはイソ麴酸のそれが Nujol 法によって測定されたことによると考えられ (Nujol は $1458, 1378\text{ cm}^{-1}$ に強い吸収を有し補償が困難である⁽¹¹⁾)、他の領域では完全に一致する点から両者の同一性はほとんど疑いがない。(iii) また相田⁽⁸⁾はイソ麴酸をジアゾメタンで処理して、ジメチル誘導体を得たことを報告しているが、ジアゾメタンは一般に第 1 アルコール基のごとき非活性水酸基をメチル化することはなく、事実麴酸⁽¹²⁾、3-オキシ麴酸⁽⁶⁾の 2-C 第 1 アルコールはジアゾメタンと反応しない。従ってもしジメチル誘導体を得られたとすれば、イソ麴酸の構造 (6-oxy-2-oxymethyl-pyrone-1,4) と背反する。

以上の諸事実から著者等はイソ麴酸として報告されたものが、5-オキシマルトールと同一物ではないかとの疑問をもつものであるが、詳細についてはさらに検討中である。

要 約

Gluconobacter cerinus がフラクトーズから生成する 3 種の γ -パイロン中さきに⁽⁴⁾イソ麴酸として報告したものが、新 γ -パイロン、5-オキシマルトール (3,5-dioxy-2-methyl-pyrone-1,4) であることを証明した。これに基づきさきに提案したフラクトーズからの γ -パイロン化合物の生成経路を一部訂正、完成した。

(1) 高橋偵造, 朝井勇宣: 本誌, 9 , 55, 369 (1927).	(7) J. R. Schenk, M. A. Spielman: <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 67 , 2276 (1945).
(2) 池田庸之助: 本誌, 26 , 90 (1952); 28 , 538 (1954).	(8) 藪田貞治郎: 本誌, 1 , 1 (1924); T. Yabuta: <i>J. Chem. Soc.</i> , 125 , 575 (1924).
(3) K. Aida, M. Fujii, T. Asai: <i>Proc. Japan. Acad.</i> , 32 , 600 (1956).	(9) F. H. Stodola et al.: <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 73 , 2290 (1951).
• (4) 寺田 治, 鈴木静子, 木下祝郎: 本誌, 35 , 1333 (1961).	• (10) 寺田 治, 鈴木静子, 木下祝郎: 本誌, 36 , 217 (1962).
• (5) 寺田 治, 鈴木静子, 木下祝郎: 本誌, 36 , 426 (1962).	(11) 日本化学会編: 実験化学講座, 1 , 丸善, p. 320 (1957).
(6) H. R. V. Arnstein, R. Bentley: <i>Biochem. J.</i> , 54 , 493 (1956).	(12) 藪田貞治郎, 神戸勝二: 本誌, 6 , 516 (1926).