UDC 547.483:541.122

今井祐次, 平坂義信 : Glucuronic Acid とその Lactone との平衡

Yûji Imai and Yoshinobu Hirasaka : The Equilibrium
between Glucuronic Acid and its Lactone.

(Research Laboratory, Ukima Plant, Chûgai Pharmaceutical Co., Ltd.*1)

Glucuronic acid and glucuronolactone are in equilibrium in aqueous solution and their ratio is dependent on temperature. Their transition velocity differs markedly with temperature and is also increased by mineral acid which, however, does not affect componental ratio at equilibrium. Results are presented on the measurement of componental ratio at equilibrium, transition velocity, periodical change, and action of mineral acids.

(Received November 16, 1959)

水溶液中における glucuronic acid (以下 acid と略記) と glucuronolactone (以下 lactone と略記) の平衡移動に関しては古くから加熱溶液の旋光度の変化によつて推定され¹⁻³⁾, 特に 60° 以上で顕著であると報告されている⁴⁾. また Ehrlich 等⁵⁾ は Ba glucuronate から定量的に Ba を除去して得た acid の結晶が, 処理温度が高い程 lactone を混入してくることを確かめ, 以後にも経験的に, lactone を析出させる時水溶液を加熱処理することがよく行なわれている^{6,7)}.

鉍酸存在下では低温でも平衡移動の起こることは同じく旋光度の変化から推測されていて⁸⁾, Goebel 等は acid を混入した lactone を沸騰水酢酸で処理して精製の目的を達した⁹⁾. 最近に至り高温では lactone が出来易く, 低温で acid 成分の増加することが報告されている¹⁰⁾.

Chart 1.

著者等はこの平衡関係の追究に当たり, まず lactone から Na glucuronate を製した後¹¹⁾, 冷時 cation 交換樹脂 Amberlite IR-120 (H) を用いて Na を除去し低温高度真空中で速やかに濃縮することによつて acid の結晶を得た. 従来 acid の結晶は Ehrlich の方法⁵⁾ によつてのみ得られているが, Goebel 等⁹⁾ の指摘する如く, 生成物の融点は安定しない. このことは中間体たる Ba glucuronate の結晶水が一定せず, かつ 0° での硫酸によるバリウムの定量的除去が困難で, 純度の低下を見るためと考えられる.

Fig. 1 に各濃度の acid 水溶液の実測 pH, Fig. 2 には acid の中和曲線を示す. この結果は解離恒数を測定した Hirsh 等の記録^{4,12)} と一致した.

*1 Ukima-cho, Kita-ku Tokyo.

1) Thielfeldel : Z. physiol. Chem., Hoppe-Seyler's **11**, 393.2) A. Spiegel : Ber. **15**, 1964(1882).3) H. Kiliani : Ber. **59**, 1469(1926).4) W. Pauli, A. Linsker : Kolloid Z. **79**, 273(1939).5) F. Ehrlich, K. Reforst : Ber. **62**, 628(1929).6) L. Mehlretter, H. Alexander : J. Am. Chem. Soc. **73**, 242(1951).7) G. Serchi, L. Arcangeli : Sperimentale Sez. chim. biol. **2**, 108(1951).8) Schüller : Z. angew. Chem. **56**, 274.9) W. F. Goebel, H. Babers : J. Biol. Chem. **100**, 573(1933).

10) A. Peterman : U. S. Pat. 2,627,520.

11) G. Benjamin : U. S. Pat. 2,681,352.

12) P. Hirsh : Rec. trav. chim. **71**, 999(1952).

Fig. 1.
pH of Glucuronic Acid Solution
at various concentration

Fig. 2.
Titration curve of Glucuronic acid
(970 mg. of acid used)

Fig. 3.
pH of Glucuronolactone contaminated
with various Amounts of Acid
(880 mg. of lactone used)

lactone はその構造上、中性物質であるが精製後も極めて少量の acid が混入して溶液は弱酸性を呈する。lactone に acid を混合した時の溶液の実測 pH は Fig. 3 に示したが、逆に pH 測定で acid の混合比を求めることが出来る。

著者等は精製 acid および lactone を任意の条件で水に溶解し、両成分の分別定量を実施した結果、平衡関係について以下の如き所見を得た。acid 量は 0° で 0.01N 水酸化ナトリウム滴定で求めた。同条件で短時間では lactone は水酸化ナトリウムを消費しない。lactone 量および全量はそれぞれ hydroxamic acid 法¹³⁾ および尿素による呈色法¹⁴⁾ を用いた。高温処理の際の崩壊は脱炭酸量¹⁵⁾ を測定したが、実験の範囲内では誤差と見做し得た。また lactone の混入比率の大きい時は pH 測定を併用した。

I. 温度の影響 Fig. 4 は各温度での acid あるいは lactone 量の経時的な変化を示す。

Fig. 4.
Transformation of Glucuronic Acid
or Lactone at various Temperatures

— starting material is
glucuronolactone
- - - starting material is
glucuronic acid

温度が一定の場合は常に同一の平衡状態に達し、平衡時の成分比は温度でのみ決定される。高温程 lactone 比

13) G. Kaye, W. Kent : J. Chem. Soc. 79(1953). 14) 川畑, 他 : 本誌 77, 767(1957).

15) W. O. Kenyon : J. Am. Chem. Soc. 69, 342(1947).

Fig. 5.
Rates of Glucuronolactone (or Acid)
equilibrated at various Temperatures

が高く、100°では約63%。低温では徐々に平衡時の acid 比が増加し、室温で約80%の acid を認める。Fig. 5は各温度での平衡時の両成分比をプロットしたものである。したがって加熱還流で acid を lactone 化する操作は、acid の混入比率が40%以上の時にのみ意義を有する。

II. 温度と移行速度 acid および lactone の平衡状態への移行速度は温度で顕著に相異し、高温程大きく温度の低下と共に対数的に減少する。移行は初濃度とは無関係に直線的 (零次反応) に進行するが Table I には各温度での単位時間当りの移行量、Fig. 6 には全濃度の1%が移行するに要する時間を示した。0°では移行は観察されなかった。

Table I. Transformations of Glucuronic Acid or Glucuronolactone
at various Conditions

Used material	Temperature (°C)	Time	Transformed amount (%)	Mean transformation rate
lactone	0~5	15 days	4	0.27% per day
lactone	20	30 days	30	1% per day
lactone	50	3 days	60	20% per day
acid	60	30 hr.	50	1.7% per hr.
lactone	70	20 hr.	50	2.5% per hr.
acid	80	8 hr.	53	6.6% per hr.
lactone	90	5 hr.	44	8.8% per hr.
lactone	100	2 hr.	37	19% per hr.
acid	100	3.5 hr.	63	18% per hr.

Fig. 6.
Period to transform 1% of
Glucuronic Acid
(or Lactone) at various
Temperatures

Fig. 7.
Period to reach the Equilibrated
State at various Temperatures
—○—○—○ when glucuronolactone
is used
---△---△--- when glucuronic acid
is used

III. 平衡に達する迄の時間 移行速度から当然、平衡に至る迄の時間は高温程短縮される。lactone を溶解した時、100°, 80°, 60° 溶液でそれぞれ約 3 hr, 10 hr, 40 hr で平衡したが室温では 10 週間近くを要した。また acid の場合結晶溶解後 100°, 80°, 60° でそれぞれ平衡迄に約 2 hr, 8 hr, 30 hr を要した。結果を Fig. 7 に示す。したがって低温であつても長時間放置すれば lactone はかなり acid に変化する。

IV. 鉱酸の作用 acid および lactone の移行速度は鉱酸の添加で著しく増大される。Table II では当量の硫酸を共存させた時の、acid および lactone が溶解後平衡に達する迄の時間を比較した。

Table II. The Effect of Mineral Acid on Transformation Rate

Used material	Temperature (°C)	Time to reach equilibrium	Content of acid (%)
lactone	0~5		still transforming after 6 days
lactone	20	6 days	80
acid	20	48 hr.	80
lactone	40	12 hr.	60
acid	60	5 hr.	55
acid	80	1 hr.	45

この結果から、鉱酸存在下でも平衡状態の両成分は同一である、したがって鉱酸の作用は移行促進に限定され、lactone 化の際は時間短縮の効果のみが期待されるものと考えられる。

実 験 の 部

Glucuronic acid (I) の単離 sodium glucuronate monohydrate 10 g を水 100 cc に溶解し、NaOH 溶液を滴下して pH 8.0 とし直ちに冷却し Amberlite IR-120 (H) 50 cc 層を通し、resin を 150 cc の水で洗浄。通過液と洗液を合し減圧下浴温 35° で濃縮し、syrup に EtOH を約倍量加え、再び濃縮して濃縮は 4~5 hr で終るようにする。析出結晶は 80% EtOH より再結晶。収量 7.2 g. mp 152~153°(decomp). $[\alpha]_D^{20} +16.5^\circ$ (10 min, c=1, H₂O)+34.0° (3 hr, c=1, H₂O) 0° 0.01N NaOH 消費量から酸度 998.6~100.2%。

Glucuronolactone (II) の精製 粗製 (II) 10 g を熱時速やかに 95% EtOH 80 cc に溶解し活性炭で脱色精製後冷却して結晶析出。収量 8.5 g. mp 172~173°(decomp). $[\alpha]_D^{20} +17.0^\circ$ (10 min, c=1, H₂O) +18.8° (1 hr, c=1, H₂O) 0° 0.01N NaOH 消費量から酸度 0.08%。

(I) と (II) の分別定量 (II) は 0° 滴定で瞬時 0.01N NaOH を消費しないから、(I) だけを phenolphthalein 存在下に滴定することが出来る。

全量は比色定量^{13,14)} による他、(II) が 0.01N NaOH 過剰量 (pH 9 以上) 存在下で室温で定量的に中和される性質を利用して簡単に求めることが出来る。室温放置時間は 10 min。

Hydroxamic acid 呈色による (II) の定量 (II) 10⁻³~10⁻⁴M 溶液 2 cc に、使用直前 2M NH₂OH·HCl 溶液と 3.5M NaOH 等容量混合液 4 cc を加え室温 4 min 放置。その後 3.34M HCl 2 cc を加え直ちに 0.37M FeCl₃ 溶液 2 cc を加えて発色を 505 mμ にて測定。

本研究に当たり、終始懇切なる御指導を賜わつた東京大学薬学部石館教授に深謝致します。

中外製薬株式会社