HCl 3.8 ml. および AcOH 7.5 ml. の混液を一度に加え、15° で 7 min. 激しく振盪すると V は一旦溶解し、直ちに TrOH が析出する。これを汙別し汙液を約 200 ml. の水水中に滴下し、白濁物を CHCl_3 25 ml. で三回抽出し、 H_2O , NaHCO_3 , H_2O の順で洗浄し、 CaCl_2 で乾燥後 CHCl_3 を減圧留去する。得られた残渣約 3.7 g. を約 10 ml. の benzene に溶解し、50 g. の florisil に吸着後 benzene で溶出。最初の fraction 約 600 ml. からは TrOH だけが検出された。つぎに benzene- Me_2CO (5:1) で溶出すると約 500 ml. の fraction は TrOH のみを含み、つぎの約 800 ml. の fraction からは糖のみが検出された。この fraction を集めて減圧濃縮し、残渣に ligroin を加えて hexaacetylmaltose (XII) の結晶性粉末 2.7 g. を得た。 $[\alpha]_D^{25} + 111.0^\circ$ ($c = 1.215$, CHCl_3) なお TrOH の検出は benzene 溶液少量にその倍量の conc. H_2SO_4 を注いだ時の黄色の呈色およびその溶液を水中に注入して白濁を生ずることによって判断した。また XII の検出は薄層クロマトグラフィーを利用し、Merck の Silica Gel を用いて toluene- Me_2CO -EtOH (3:1:1) で展開し Rf 約 0.54 のスポットを確認することによって。因みに各化合物の Rf は 6'-tritylheptaacetylmaltose (0.74), 6,6'-ditritylhexaacetylmaltose (0.78), 6'-tritylmaltose (0.18), 6,6'-ditritylmaltose (0.45), heptaacetylmaltose (0.59) である。

本研究に際し、終始御懇篤なる御指導を賜った東京大学薬学部 石館守三名誉教授、田村善蔵教授、多くの御助言を賜った南原利夫助教授、常に御激励を賜った弊社 林 茂常務取締役、今井祐次工場次長に厚くお礼を申し上げます。また元素分析、吸収スペクトルの労をとられた弊社総合研究所分析室の諸氏に厚く感謝いたします。

中外製薬株式会社浮間工場

薬学雑誌 YAKUGAKU ZASSHI
83 (10) 971 ~ 975

UDC 547.483

181. 平坂義信：グルクロン酸とグルコースとの α (1, 4) 重合体に関する研究
(第3報^{*1}) アセチル糖の第1アルコールのカルボン酸への新酸化法

Yoshinobu Hirasaka: Studies on the α (1, 4) Polysaccharides of Glucuronic Acid and Glucose. III. A New Method to Oxidize the Primary Alcohol in Sugar Acetates into Carboxylic Acid.

(Research Laboratory, Ukima Plant, Chūgai Pharmaceutical Co., Ltd.^{*2})

Oxidation of the primary alcohol group ($-\text{CH}_2\text{OH}$) in sugar acetates to carboxylic acid group ($-\text{COOH}$) had been effected by potassium permanganate method reported by Stacey but this was found to be not applicable to disaccharides like heptaacetylmaltose (I) and hexaacetylmaltose (II) because the reaction rate is extremely small and the yield is low. Oxidation agents to be used in such cases were examined and the concurrent use of chromium trioxide and potassium permanganate was found to be a good method. Application of $\frac{2}{3}$ mole of chromium trioxide to 1 mole of primary alcohol in I and II under limited conditions and subsequent oxidation with potassium permanganate afforded heptaacetyl-4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucose (III) and hexaacetyl-4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucuronic acid (IV), which were deacetylated respectively to 4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucose (VII) and 4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucuronic acid (VIII). The reaction rate of this oxidation is very large and the yield is very high but the condition of chromium trioxide oxidation is very limited and the sugar is decomposed outside this condition. Various properties of the new compound (VIII), especially the result of its acid hydrolysis, are discussed.

(Received June 19, 1963)

従来、有機溶媒中でアセチル糖の第1アルコールをカルボン酸まで酸化した例は極めて少なく、Stacey¹⁾ が tetraacetylglucose をアセトンと氷酢酸の混合溶媒中で KMnO_4 で酸化して tetraacetylglucuronic acid を得、

*1 第2報：本誌，83，966 (1963)。

*2 Ukima-cho, Kita-ku, Tokyo.

1) M. Stacey: J. Chem. Soc., 1939, 1529.

その後この酸化方法を適用した 2, 3 の報告^{2,3)} があるだけで, KMnO_4 以外の酸化剤が用いられて成功した例は皆無である.

よって著者は前報で合成した heptaacetylmaltose を Stacey 法に準拠して酸化したが, 酸化剤が消費されているにもかかわらず大部分の原料を回収する結果に終わった (Table I).

トルエン-アセトン-エタノール (3 : 1 : 1) の溶媒を用いて薄層クロマトグラフィーを実施するとき, 酸化生成物と原料がよく分離されるので反応の経過を知ることができたが, 酸化の進行は対照として実験した tetraacetylglucose の酸化と比較して極めて遅く, また大過剰の KMnO_4 を用いても, 反応は途中で停止した.

Table I. Yields of Heptaacetyl 4-O-(α -D-Glucopyranosiduronyl)-D-glucose by KMnO_4 Oxidation of Heptaacetyl Maltose

No.	Solvent	Oxidant ^{a)}	Reaction condition	Yield of oxidated product (%)
1	AcOH-acetone (1 : 1)	KMnO_4 ($\times 3$)	15°, 3 days	10.5
2	AcOH-acetone (1 : 1)	KMnO_4 ($\times 5$)	20°, 7 days	17.4
3	AcOH	KMnO_4 ($\times 3$)	20°, 3 days	27.8
4	AcOH	KMnO_4 ($\times 5$)	20°, 7 days	28.6
Tetraacetyl glucose	AcOH-acetone (1 : 1)	KMnO_4 ($\times 2$)	15°, 2 days	76.9

a) $\times 1$ means the calculated amounts of KMnO_4 to oxidize $-\text{CH}_2\text{OH}$ into $-\text{CO}_2\text{H}$.

この酸化液を常法に従って処理するとき, 未反応原料と酸化生成物が混合したままで結晶し, 再結晶で両者を分離できなかった. しかし混合物を florasil に吸着後アセトンで溶出するとき原料のみが溶出され, その後酸化生成物はピリジン含有の溶媒で溶出されることを発見し, 生成物の結晶を得ることができた.

つぎに hexaacetylmaltose を同様に KMnO_4 酸化し, 未反応原料を含むままで florasil で分離することを試みたが, この酸化生成物は極めて florasil への吸着が強く, 遂にいかなる溶媒で抽出することも失敗に終わった.

そこでさらに収率がよく, かつ再結晶の手段で酸化生成物を単離し得る別の酸化方法を検討した. まず水酸基をアセチル基等で保護したステロイド類の酸化にクロム酸 (CrO_3) が応用されている例^{4,5)} に従って酸化を試みたが, いずれも満足な結果は得られなかった.

一般に CrO_3 酸化法では酸化剤の種類, 反応溶媒, 反応温度と時間, 水・無水酢酸・濃硫酸の添加等で数限りない組合せが存在し, その都度生成物が異なる場合もあって, 酸化条件と生成物との間にはほとんど理論的な関がない.⁶⁾

したがっていろいろな酸化条件を用いて生成物を分析中, Table II に示すように, CrO_3 酸化と KMnO_4 酸化を順次実施することによって驚くべき好結果を得た.

すなわち, 原料の含む第 1 アルコール 1 モルに対して約 $\frac{2}{3}$ モルの CrO_3 を氷酢酸中^{*3} で反応させ, 中間生成物を無機物と分離後さらに氷酢酸中で KMnO_4 酸化すると収率よく生成物を得, これらの heptaacetyl-4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucose (Chart 1, III) ならびに hexaacetyl-4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucuronic acid (Chart 1, IV) は 1 回の再結晶で単一物質として得られた.

CrO_3 使用量が第 1 アルコールに対して $\frac{2}{3}$ mole/mole 以上の場合は, 酸化中糖が崩壊したと思われる不透明物質が生成し, それ以下の時は酸化不足による収率の低下と原料の混入を招いた. この反応機構は明らかでないが, 中間生成物は酸性基が少なく強い還元力をもつことから CrO_3 酸化で大部分の第 1 アルコールがアルデヒドに酸化され, アルデヒドは KMnO_4 でその後速かに酸化されるものと思われる.

つぎに Chart 1 に示すように III, IV をクロロホルム中でメチルエステル化してそれぞれのエステル (V), (VI)

*3 CrO_3 を溶解するに足る微量の水を含む.

2) B. Lythgoe, S. Trippett : J. Chem. Soc., 1950, 1983.

3) B. Lindberg : Acta Chem. Scand., 14, 1051 (1960).

4) P. D. Meister, D. H. Peterson : J. Am. Chem. Soc., 76, 5679 (1954).

5) K. Heusler, A. Wettstein : Helv. Chim. Acta, 35, 284 (1952).

6) 目 : “実験化学講座,” 17, 73 (1957) 丸善.

Chart 1.

a) AcOH contains a small amount of water enough to dissolve CrO_3

Table II. CrO_3 - $KMnO_4$ Oxidation of Primary Alcohol to Carboxyl in Sugar Acetates

Material	CrO_3 oxidation at $10\sim 15^\circ$		$KMnO_4$ oxidation at 20°		Products (%)	
	Used CrO_3 (mole/mole CH_2OH)	Reaction time (hr.)	Used $KMnO_4$ (mole/mole CH_2OH)	Reaction time (hr.)		
I	2/3	48	—	—	III	7
I	2/3	16	8/3	48	III	68
I	4/3	8	—	—	III	12
I	4/3	8	4/3	48	III	44
II	2/3	16	8/3	48	IV	64
II	4/3	8	4/3	48	IV	40

Fig. 1.

Paper Chromatogram of the Acid-hydrolyzate of 4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucuronic Acid (VIII)

hydrolysis : 5% HCl at 100°
 solvent : BuOH-AcOH- H_2O
 (4 : 1 : 5) upper layer.
 spray reagent : HCl-anisidine.

を得た。V はすでに第1報⁷⁾ で他の方法によって合成したものと融点および IR は一致し、混融しても融点の降下を示さなかった。

また V, VI のすべての保護基を脱離して、4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucose (VII) および 4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucuronic acid (VIII) を得た。

7) 平坂：本誌，83，960 (1963)。

Ⅷ は白色結晶性粉末で、水に易溶、メタノール、エタノールに難溶、エーテル、クロロホルム等の溶媒に不溶である。その水溶液は強酸性を呈し、ナトリウム塩はエタノール不溶の結晶として単離される。バリウム塩は水に難溶である。

また酸加水分解にはⅦ以上に抵抗し、Fig. 1 に示すように 5% 塩酸で煮沸しても約 3 時間ではほとんど分解せずわずかに生成したグルクロン酸とそのラク톤の存在を示した。

実 験 の 部

Maltose 誘導体の薄層クロマトグラフィーによる検出 toluene-Me₂CO-EtOH (3:1:1) が良好な分離を示した。Merck の Silica Gel を用い、展開後 130° で 20 min. 加熱した。各誘導体の R_f 平均値 (5 回) はつぎの通り。

6'-tritylmaltose (0.18), 6,6'-ditritylmaltose (0.45), 6'-tritylheptaacetylmaltose (0.74), 6,6'-ditritylhexaacetylmaltose (0.78), heptaacetylmaltose (0.59), hexaacetylmaltose (0.54)。

Heptaacetylmaltose (I) の KMnO₄ 酸化と Heptaacetyl-4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucose (III) の単離 1) I 2 g. を特級 AcOH 20 ml. に溶解し、特級 KMnO₄ 1.1 g. を少量ずつ加える (室温)。反応液中の酸化剤の有無は、反応液 1 滴を濾紙上にとり、直ちに水 1 滴を加えて生ずる KMnO₄ の紅色で検した。約 3 日室温反応後 KMnO₄ が消費されたので反応液を減圧濃縮し、残渣に CHCl₃ 40 ml. および 2N HCl 10 ml. を加え、よく振盪しつつ 15% NaHSO₃ 溶液を少量ずつ加えて Mn⁺⁺ を還元脱色し、CHCl₃ 層を分取し、水層をさらに CHCl₃ 20 ml. で抽出して合し、水洗後 MgSO₄ で乾燥し減圧濃縮する。この液は薄層クロマトグラフィー (T.L.C.)*⁴ で未反応原料 (I) (R_f 0.74) を大量に示し、R_f 0.03~0.38 に帯状の酸化生成物の存在をも示す。

CHCl₃ 留去後の残渣を benzene-Me₂CO (5:1) 20 ml. に溶解し florasil 40 g. のカラムに吸着後同溶媒で溶出すると溶出液は T.L.C. で I のみを示し、かつ I 1.2 g. を回収。つぎに溶出液を toluene-pyridine-EtOH (2:1:1) にかえて III を溶出させ、この fraction を合して減圧濃縮し残渣を水 5 ml. に溶解し、CHCl₃ 30 ml. を加え、2N HCl 溶液を加えて水層を強酸性とし (約 10 ml.)、CHCl₃ 液を分離して水洗後 MgSO₄ で乾燥し、CHCl₃ を減圧留去し、残渣を EtOH 10 ml. に加熱溶解し、活性炭で脱色後室温放置すると針状晶が析出。EtOH から再結晶、収量 0.6 g. III: m.p. 202~203°; $[\alpha]_D^{18} + 72.2^\circ$ (c=2.775, CHCl₃). C₂₆H₃₄O₁₉ Anal. Calcd.: C, 48.00; H, 5.27. Found: C, 47.73; H, 5.48.

2) I 2 g. を上記 1) と同様に KMnO₄ 酸化後、酸化液から同様の手順で原料および生成物を CHCl₃ で抽出後水洗し、水 40 ml. を加えて氷冷下 NaHCO₃ を加えて注意して中和すると III は水層に移行する。I のみを含む CHCl₃ 層 (T.L.C. で確認) を分離し、新たに CHCl₃ 40 ml. を加え、水層を 2N HCl で強酸性とし、III がふたたび移行した CHCl₃ 溶液を分取し、水洗後 MgSO₄ で乾燥し減圧濃縮する。以下 1) と同手順で操作して III 0.5 g. を得る。

I の CrO₃-KMnO₄ 酸化による III の合成 I 5 g. を特級 AcOH 50 ml. に溶解し、一方特級 CrO₃ 500 mg. をあらかじめ水 0.4 ml. および AcOH 50 ml. に溶解した溶液を一度に加えて、氷冷下よく混和し水冷しながら一夜放置する。この反応液に MeOH 4 ml. を加えて室温 0.5 hr. 放置後減圧濃縮し、残渣に CHCl₃ 50 ml. および 2N HCl 10 ml. を加えて振盪し、CHCl₃ 液を分取し、水洗後 MgSO₄ で乾燥して減圧下溶媒を留去する。この残渣を AcOH 30 ml. に溶解し、KMnO₄ 1.6 g. を一度に加えて室温 24 hr. 攪拌後反応液を減圧濃縮し、残渣に CHCl₃ 80 ml. を加え、2N HCl 20 ml. を加えてよく振盪しつつ 15% NaHSO₃ 溶液を少量ずつ加えて Mn⁺⁺ を還元脱色し、CHCl₃ 層を分取し水層は CHCl₃ 30 ml. で抽出して合し、水洗後 MgSO₄ で乾燥し、減圧で CHCl₃ 留去後残渣に EtOH 40 ml. を加えて加熱溶解し活性炭で脱色後室温に放置すると結晶が析出する。EtOH より再結晶して針状晶 3.4 g. を得。III: m.p. 202~203°; $[\alpha]_D^{18} + 73.2^\circ$ (c=2.103, CHCl₃). C₂₆H₃₄O₁₉ Anal. Calcd.: C, 48.00; H, 5.27. Found: C, 47.86; H, 5.38. 上記 KMnO₄ 酸化で得られた III と混融しても融点の降下を認めない。

III より Heptaacetyl-4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucose methyl ester (V) の合成 III 1 g. を CHCl₃ 5 ml., MeOH 5 ml. の混液に溶解し、CH₃N₂ の Et₂O 溶液を氷冷下加えて液性を中性とし、減圧濃縮すると固化する。これを熱 EtOH に加熱溶解し活性炭で脱色後室温放置すると針状晶が得られる。収量定量的。V: m.p. 197~198°; $[\alpha]_D^{18} + 73.5^\circ$ (c=3.320, CHCl₃). C₂₇H₃₆O₁₉ Anal. Calcd.: C, 48.80; H, 5.46. Found: C, 48.84; H, 5.57.

Hexaacetylmaltose (II) の CrO₃-KMnO₄ 酸化による hexaacetyl-4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucuronic acid (IV) の合成 II 5 g. を特級 AcOH 50 ml. に溶解し、一方特級 CrO₃ 1.0 g. を水 1 ml. および AcOH 50 ml. に溶解した混液を一度に加えて、よく混和し水冷下一夜反応。この反応液に MeOH 6 ml. を加えて室温 30 min. 放置後減圧濃縮し、残渣に CHCl₃ 50 ml. および 2N HCl 10 ml. を加えてよく振盪し、CHCl₃ 溶液を分取し水洗後 MgSO₄ で乾燥して減圧濃縮する。残渣を AcOH 30 ml. に溶解し、KMnO₄ 3.2 g. を加え室

*⁴ toluene-Me₂CO-EtOH (3:1:1) 使用。

温 24 hr. 攪拌後反応液を減圧濃縮し、残渣に CHCl_3 80 ml. および 2*N* HCl 20 ml. を加えてよく振盪しながら 15% NaHSO_3 溶液を少量ずつ加えて Mn^{+4} を還元脱色し、 CHCl_3 層を分取し、水層は CHCl_3 30 ml. で抽出して合し、水洗後 MgSO_4 で乾燥し減圧で溶媒を留去し、残渣に ligroin-石油エーテルを加えると結晶性粉末を得る。収量 3.2 g. $[\alpha]_D^{18} + 104.2^\circ$ ($c=5.18$, CHCl_3).

IV より Hexaacetyl-4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucuronic acid methyl ester (VI) の合成 IV 3 g. を CHCl_3 10 ml., MeOH 10 ml. の混液に溶解し、 CH_2N_2 の Et_2O 溶液を滴下して液性を中性とし、減圧で溶媒を留去後残渣に水を加えると VI が結晶性粉末として得られる。収量 2.8 g. $\text{EtOH-H}_2\text{O}$ から再結晶。VI : $[\alpha]_D^{18} + 110.0^\circ$ ($c=3.855$, CHCl_3). $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_{19}$ Anal. Calcd.: C, 48.00; H, 5.27. Found: C, 48.73; H, 5.24.

VI より 4-O-(α -D-Glucopyranosiduronyl)-D-glucuronic acid (VIII) の合成 VI 2 g. を abs. MeOH 25 ml. に加え、0.56*N* NaOMe 溶液 7.5 ml. を加えて室温攪拌すると約 30 min. で VI は溶解する。0~2° で一夜放置後反応液に Amberlite IR-120 (H) 少量を加えて液性を中性とし、resin 汙別後汙液を減圧濃縮し、残渣に 0.25*N* Ba(OH)_2 23 ml. を加えて溶解し室温 1 hr. 放置すると沈殿が生成する。これに Amberlite IR-120 (H) 少量を加えて室温で攪拌して沈殿を溶解し、さらに Amberlite IR-120 (H) の 10 ml. のカラムを通し、resin を水 40 ml. で洗浄して通液と洗液を合して減圧濃縮し、残渣に Me_2CO を加えると暫時にして VIII が析出。収量 900 mg. $[\alpha]_D^{18} + 73.0^\circ$ ($c=2.740$, H_2O). VIII 100 mg. を水 5 ml. に溶解し 0.1*N* NaOH で中和し、溶媒を減圧留去後残渣に EtOH を加えると結晶析出。4-O-(α -D-glucopyranosiduronyl)-D-glucuronic acid の Na 塩: decomp. 166~168°; 収量定量的。 $[\alpha]_D^{18} + 140.4^\circ$ ($c=0.6267$, H_2O). $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_{13}\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ Anal. Calcd.: C, 32.01; H, 4.48. Found: C, 31.88; H, 4.79.

本研究に際し、終始御懇篤なる御指導を賜った東京大学薬学部 石館守三名誉教授、田村善蔵教授、多くの御助言を賜った南原利夫助教授、常に御激励を賜った弊社 林 茂常務取締役、今井祐次工場次長に厚くお礼を申し上げます。また実験の一部に協力された浮間工場 松永 功君、元素分析、吸収スペクトルの労をとられた総合研究所分析室の諸氏に厚く感謝いたします。

中外製薬株式会社浮間工場