4) **イサチン酸ナトリウム** 文献記載¹⁵⁾の方法によった。市販イサチンに 10% NaOH を加え加熱溶解後濃縮して得られる結晶を水より再結晶して淡黄色葉状晶を得た。元素分析値, UV スペクトルとも一致。

5) **イサト酸バリウム** 文献記載^{16,17)}の方法によった。市販アンスラニル酸とクロルギ酸エチルを加熱還流し, 冷後析出する結晶を Ac_2O より再結晶して無水イサト酸 (白色菱形晶, m.p. $237^\circ(\text{decomp.})$) とし, 次いで aq. $\text{Ba}(\text{OH})_2$ で処理してイサト酸バリウムを得た。白色塊状晶。

6) **デヒドロインジゴ亜硫酸ナトリウム** 文献記載¹⁸⁾の方法によった。市販インジゴを氷酢酸に懸濁し, 還流煮沸下 KMnO_4 を徐々に加える。冷後析出する結晶を濾取, 氷酢酸洗, 水洗してデヒドロインジゴ (赤黄色針状晶, m.p. $211\sim 212^\circ(\text{decomp.})$) を得。次いで Na_2SO_3 溶液と還流煮沸後減圧濃縮して析出する黄色針状晶を得た。

7) **インドール** 東京化成工業株式会社製。

8) **アンスラニル酸** 第一化学薬品株式会社製。

9) **セリンおよびアラニン** 味の素株式会社製。

トリプトファンの分解 0.05M トリプトファン溶液に 0.05M Na_2SO_3 を加えて pH 7.0~7.3 に補正し, 無色硬質アンプルに封入 (空間部は窒素ガス置換を行わず) 後 100° で加熱を続ける。

インジゴチンおよびインジルビンの単離確認 トリプトファン分解液より得られた黒紫色沈殿を濾取水洗, 乾燥, CHCl_3 溶出, CHCl_3 を留去してベンゾール溶液とし以下前記標品調製 2), 3) の方法により分離してそれぞれの結晶を得, 標品と IR スペクトルを比較して一致した。

本研究に際し終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った九州大学薬学部 百瀬勉教授に衷心より感謝申し上げる。また終始御激励を賜った竜居副所長, 御助言を賜った富岡課長に感謝申し上げる。また元素分析, IR および UV スペクトル測定を実施された分析室の諸氏に感謝する。

中外製薬株式会社研究所

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
86 (11) 1039~1042 (1966)

UDC 547.757.04 : 542.943

169. 安楽孝雄：亜硫酸塩によるトリプトファンの分解に関する研究 (第2報^{*1})

デヒドロインジゴ亜硫酸の単離並びにその構造について^{*2}

Takao Anraku: Studies on the Decomposition of Tryptophan by
Sulfurous Acid Salts. II.^{*1} Isolation of Dehydroindigo-
di ulfite and its Structure.^{*2}

(Research Laboratory, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.^{*3})

Among the decomposition products of tryptophan caused by sulfite in solution, dehydroindigo disulfonic acid was isolated and identified. Although this substance was reported to have been obtained from indigotin, it was found to be formed also from indole. Position of the sulfite group in this compound has been presumed but addition of the salt to the imino-nitrogen can also be considered. It was concluded from the infrared spectrum and formation of salts that the presumed positions of 2 and 2' would be the most appropriate.

(Received January 20, 1966)

第1報においてトリプトファンに酸素の共存下亜硫酸塩を作用させて生ずる分解物の1つとして, 黄色で弱い緑色蛍光を発生するデヒドロインジゴ亜硫酸 (I) をペーパークロマトグラム上 R_f 0.16 に分離し, これが室内光線下で青色に変色し, この青色変化物がインジゴチンであることを推定したことから, デヒドロインジゴ亜硫酸がインジゴチンへ分解する中間体と考えられることを報告した。

^{*1} 第1報: 本誌, 86, 1034 (1966).

^{*2} 日本薬学会九州支部例会 (1964年2月) に発表。

^{*3} Takata-minami-cho, Toshima-ku, Tokyo.

本報告ではこれを分離、確認するとともに、その構造についてはこれまで $-\text{SO}_3^-$ 基がイミノ N へ塩付加したものの、またはカルボニルへ酸アニオンとして付加したものと考えられるものの、その合成経路および塩酸または NaOH による分解物などから、I に示す推定構造式が与えられている¹⁾ のみで確認されていなかったが、IR スペクトルの結果および s-ベンジルチウロニウム塩、p-トルイジン塩が得られること、これらの塩の元素分析値および IR スペクトルの結果から推定構造式を肯定する結果が得られたことを報告する。

デヒドロインジゴ亜硫酸の単離、確認 第1報において得た黒紫色沈殿の母過液を遮光下で蒸発乾固して活性アルミナ柱を通過すると最上層に強い黄色層、ついで淡黄色層、淡紅色層に分離する。最上層は第1報におけるペーパークロマトグラフィー (PPC) のスポット L に相当し、淡黄色層はスポット K に相当する。この淡黄色層を分取して水で溶出し、活性アルミナによる精製を繰り返して黄色針状晶を得た。

Fig. 1. Infrared absorption spectrum of Sodium-dehydroindigodisulfonate (KBr)

元素分析の結果ならびに UV および IR スペクトルが第1報の方法で得たデヒドロインジゴ亜硫酸ナトリウムと一致したことからこれを確認した。

このものは甘味を有し、水に易溶で水溶液は弱い螢光を発生するが第1報で述べたように水溶液を放置するとインジゴチンを沈殿として生成し、螢光は消失する。光線に対してはきわめて不安定で、分離の際にカラムを光線に当てると初めの黄色から緑色→青色と変化するのが見られる。

インドールよりデヒドロインジゴ亜硫酸の生成 トリプトファンから酸素および亜硫酸塩の作用によってデヒドロインジゴ亜硫酸を得たことから、これはトリプトファンの側鎖が離脱して酸化および亜硫酸の付加が起って生成されたものと考え、インドールからも同様に得られることを予想した。そこでインドールの飽和水溶液に亜硫酸ナトリウムを加え、酸素共存下で封管中で光線を避けて 100° で加熱し、得られた溶液を先きと同様に処理した。加熱時に光線を当てるとデヒドロインジゴ亜硫酸の取得量が悪いので全操作を遮光下に行なった。活性アルミナカラムで分離して黄色針状晶を得、元素分析値、UV および IR スペクトルが先きに得たデヒドロインジゴ亜硫酸ナトリウムと一致した。第1報で述べたようにこの場合もアルミナカラム上でデヒドロインジゴ亜硫酸の上層にスポット L に相当する強い黄色層の分離するのを認めた。インドールと亜硫酸塩からインジゴ色素を得る方法²⁾ において、緑色螢光を発する液を経てこれに NaOH を加え、十分空気を通じて青色色素を得ているが、この場合もデヒドロインジゴ亜硫酸を経てインジゴチンが生成されたものと考えられる。しかしながらこの緑色螢光を発生する中間体については分離を行なっておらず、詳細な記述はみられない。

デヒドロインジゴ亜硫酸の構造について 本化合物は Chart 1 に示す合成経路からその推定構造式が与えられているがまだ確認されていない。

このものは Kalb¹⁾ が述べているように希塩酸と煮沸するとインジゴチンとイサチンを生成し、希アルカリとは冷時においても瞬間的にインジゴチンを生成することから、亜硫酸基は2および2'位へ付加するのでなく、カルボニルへ酸アニオンとしての付加またはイミノ N への塩付加も考えられる。そこで著者は類縁化合物との IR スペクトルの比較の結果およびこのものの s-ベンジルチウロニウム塩および p-

Chart 1.

1) L. Kalb: Ber., 42, 3653 (1909).

2) Badische Anilin & Soda-Fabrik: D. R. P., 130629 (1902).

トリプトファン塩が得られたこと、ならびにこれらの塩の元素分析値および IR スペクトルの結果から推定構造式どおり 2 および 2' 位への付加が妥当であるとの結論を得た。

インドール (II), N-アセチルイサチン (III), デヒドロインジゴジアセテート (IV), デヒドロインジゴ亜硫酸 (I) の IR スペクトルを比較すると, ν_{NH} に基づくと考えられる 3400 cm^{-1} 附近の吸収が II および IV で見られるのに対し III では消失しており, I の 3400 cm^{-1} の吸収が ν_{NH} に基づくことは明らかである. またカルボニルへの付加でないことは I において $\nu_{\text{C=O}}$ に基づく 1675 cm^{-1} の吸収がみられることから明らかである.

Fig. 2. Infrared Absorption Spectra of Indole (II), N-Acetylisatin (III) and Dehydroindigo-diacetate (IV) (KBr)

Fig. 3. Infrared Absorption Spectra of Dehydroindigo-disulfonic acid-di-*p*-toluidin Salt (V) and -di-S-benzylthiuronium Salt (VI) (KBr)

またイミノ N への付加が塩付加として存在するのであれば s-ベンジルチウロニウム塩または *p*-トリプトファン塩は得られないはずであるが, 両者の塩が容易に得られ, 元素分析値が s-ベンジルチウロニウム基または *p*-トリプトファン基がそれぞれ 2 分子含まれるとして一致すること, かつこれらの塩の IR スペクトルに $\nu_{\text{OSO}_2^-}$ に基づく 1250 および 1050 cm^{-1} 附近の吸収が見られることから, それぞれスルホン酸の s-ベンジルチウロニウム塩または *p*-トリプトファン塩として存在し, 亜硫酸基がイミノ N 位へ塩として結合するものでないことを推定した.

結論および考察

トリプトファンに酸素の存在下亜硫酸塩を作用させて生ずる分解物のうち, 黄色成分の 1 つで弱い蛍光を発生するデヒドロインジゴ亜硫酸をナトリウム塩として分離し, これを確認した. このものは Kalb がインジゴチンよりデヒドロインジゴまたはデヒドロインジゴジアセテートを経て, これらに亜硫酸ナトリウムを作用させて得ているが, トリプトファンから直接得た報告を見ない.

本物質はインドールからも全く同様に得られることから, 生成機構としてはトリプトファンの側鎖が離脱してインドールを生成し, これに酸化ならびに亜硫酸の付加作用が起って bimolecular-compound であるデヒドロインジゴ亜硫酸を生成したものと推定し得る. このようにデヒドロインジゴ亜硫酸の生成経路としてインジゴチンからのほかに, トリプトファンまたはインドールからのものがあることを見出したのであるが, 分解の経路としては実験条件としての液性および反応温度から考えて, トリプトファン→インジゴチン→デヒドロインジゴ亜硫酸ではなく, トリプトファン→デヒドロインジゴ亜硫酸→インジゴチンであると考えられる.

本物質の構造はその合成経路からデヒドロインジゴの 2, 2' 位へ亜硫酸基の付加した推定構造が与えられていたが, 類縁化合物との IR スペクトルの比較または s-ベンジルチウロニウム塩および *p*-トリプトファン塩が得られたことから, 2, 2' 位への付加が妥当であるとの結論を得た.

Chart 2.

実 験 の 部

デヒドロインジゴ亜硫酸ナトリウムの単離 トリプトファンからの場合とインドールからの場合とまったく同一に処理した。すなわち分解液を減圧乾固後熱 MeOH で繰り返し抽出し、Blockmann の活性アルミナ（クロマトグラフィー用）柱を通過、分離した淡黄色層を分取、MeOH 乾燥、水で抽出、再び減圧乾固して MeOH 溶液とし、活性アルミナ柱による精製を繰り返す。最後に水溶液を濃縮後冷却して黄色針状晶を得た。元素分析値ならびに IR スペクトルともに第 1 報で得たデヒドロインジゴ亜硫酸ナトリウムと一致した。

N-アセチルイサチンの合成 文献記載³⁾の方法に従い、イサチンに Ac₂O を加え煮沸還流、冷後析出する結晶をベンゾールより再結晶して黄色針状晶を得た m.p. 139~141°。

デヒドロインジゴ亜硫酸-s-ベンジルチウロニウム塩 I 0.4 g. を弱 HCl 酸性水溶液とし 0.32 g. の s-ベンジルチウロニウムクロリドの EtOH 溶液を加えるとただちに黄色沈殿を生ず。湯浴上 5 min. 間加熱後濾取水洗し水より再結晶。黄色針状晶。m.p. 206~208°(decomp.). C₃₂H₃₂O₈N₆S₄ Anal. Calcd.: C, 50.78; H, 4.26; N, 11.10. Found: C, 50.52; H, 4.36; N, 11.02.

デヒドロインジゴ亜硫酸-p-トルイジン塩 I 0.5 g. を水溶液とし p-トルイジン 0.3 g. の弱 HCl 酸性水溶液を加え湯浴上 10 min. 間加熱して生じた沈殿を MeOH より再結晶。黄色針状晶。m.p. 252~255°(封管中 decomp.). C₃₀H₃₀O₁₂N₄S₂ Anal. Calcd.: C, 51.28; H, 4.30; N, 7.97. Found: C, 51.32; H, 4.16; N, 7.74.

本研究に際し終始御懇篤なる御指導を賜わり、試薬の 1 部を御恵送された九州大学 百瀬 勉教授に衷心より感謝申し上げる。また終始御激励を賜わった竜居副所長、佐野博士、御助言を賜わった新田、安藤両博士に感謝申し上げます。また元素分析、IR スペクトルの測定を担当された分析室の諸氏に感謝する。

中外製薬株式会社研究所

3) W. Sucda: Ber., 11, 585 (1878).