薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
89 (2) 173 - 181 (1969)

UDC 547.483.04 : 541.12.03

酸性水溶液中でのグルクロン酸アミドの加水分解反応特に リン酸緩衝液中での反応について

山名月中, 水上勇三,^{1a)} 市村藤雄^{1b)}
金沢大学薬学部,^{1a)} 金沢大学医学部付属病院薬剤部^{1b)}

Studies on the Hydrolysis of Glucuronamide in Phosphate Buffer Solutions

TSUKINAKA YAMANA, YŪZŌ MIZUKAMI,^{1a)} and FUJIO ICHIMURA^{1b)}
Faculty of Pharmaceutical Sciences^{1a)} and Hospital Pharmacy,^{1b)} Kanazawa University

(Received June 8, 1968)

Through the detection of the coloring of glucuronic acid (GH) by the hydroxamic acid method, degradation of glucuronamide (GN) was reexamined. The reaction scheme

where GL is glucuronic acid lactone and G⁻ the glucuronate ion. By determining of the influence of pH and buffer concentration on the rate constants, the following equation was obtained.

$$k = k_1 + k_4 = 2 \times 10^{-5} + 4.7 \times 10^{-2}[\text{H}^+] + 2.3 \times 10^3[\text{OH}^-] + 4.4 \times 10^{-3}[\text{H}_3\text{PO}_4] + 2.1 \times 10^{-4}[\text{H}_2\text{PO}_4^-] + 3.7 \times 10^{-2}[\text{HPO}_4^{2-}]$$

前報²⁾ でわれわれは反応液中のグルクロン酸アミド (GN) およびグルクロノラクトン (GL) の消長をヒドロキ
サム酸法で追跡して, GN は 0.1—0.3N 塩酸溶液中で Chart 1 に示す反応系にしたがって分解し, 結局グル
クロン酸 (GH) と GL との間の平衡に達することを報告した. その報告では, ヒドロキ
サム酸法によって GN と GL のみが呈色し, しかも (1) 式の関係が常に成り立つも
のとしていた.

Chart 1

$$[\text{GN}]_0 = [\text{GN}]_t + [\text{GL}]_t + [\text{GA}]_t \quad (1)$$

$[\text{GN}]_t, [\text{GL}]_t, [\text{GA}]_t$ はそれぞれ t 時間での GN, GL および GA の濃度

しかるにすでに報告³⁾ したようにヒドロキサム酸法によって GH およびグルクロン酸イオン (G⁻) (GH + G⁻ を GA とする) もまた呈色することがわかったので前報²⁾ で示した定量法および反応過程を再検討しなければならなかった.

GN は加水分解されると NH₃ を生じ, 常に (2) 式が成り立つはずである. そこで反応液をヒドロキサム酸法で呈色させると同時にインドフェノール法で NH₃ を定量すれば, 反応液中の GN, GL および GA の濃度を求めることができる.

0.3N HCl, 0.1N HCl + 0.2M KCl および pH 2.0, pH 5.6 のリン酸緩衝液中で GN を分解して各時間ごとに求めた GN, GL および GH の濃度を Table I に示す. Table I から (1) 式の関係が成立することがわかる. このようにして GN の加水分解反応液中では常に (1) 式が成り立つことから, ヒドロキサム酸法のみで反応液中の GN, GL および GH の量を求めることができる.

新たに確立したヒドロキサム酸法で GN の加水分解反応を検討したところ, 0.1—0.3N HCl 中では前報と異なって Chart 2 に示す反応系にしたがって加水分解することがわかった.

Chart 2

1) Location: a), b) Takara-machi, Kanazawa.

2) 山名月中, 水上勇三, 旭新一, 薬誌, 84, 699 (1964).

3) 山名月中, 水上勇三, 市村藤雄, 薬誌, 88, 1504 (1968).

そこで今回、前報の結果の訂正について報告するとともに新たにリン酸緩衝液中での GN の加水分解反応について詳しく検討したので報告する。

実 験 の 部

1. 試料 グルクロン酸アミド、グルクロノラクトンおよびグルクロン酸は市販品をデシケーター中で乾燥して使用した。

グルクロン酸アミド	mp 165—167° (decomp.)
グルクロノラクトン	mp 175°
グルクロン酸	mp 164°

2. 定量法 ia) アンモニアの定量：反応液の一部をとり波多野等⁴⁾のインドフェノール法にしたがって呈色させ、島津 QV-50 型分光光度計を用いて 625 mμ での吸光度を測定し NH₃ の濃度をもとめた。この方法による NH₃ の定量法は緩衝液の組成およびグルクロン酸誘導体の存在によって影響をうけるので、吸光係数は反応の都度 0.65 mg/ml の GN を加えた緩衝液中で求めた。

ib) ヒドロキサム酸法：3.5 N NaOH, 2 M NH₂OH·HCl, 3.5 N HCl, 35% Fe(NH₄)(SO₄)₂·12H₂O-0.2 N H₂SO₄ および 1.8 N NaOH, 2 M NH₂OH·HCl, 1.8 N HCl, 35% Fe(NH₄)(SO₄)₂·12H₂O-0.2 N H₂SO₄ の 2 組の試薬を用いてそれぞれ前報³⁾と同様に操作し、島津 QV-50 型分光光度計で 480 mμ での吸光度 A_{3.5} および A_{1.8} をもとめた。GN, GL および GA の吸光係数 E_{GN3.5}, E_{GN1.8}, E_{GL3.5}, E_{GL1.8}, E_{GA3.5} および E_{GA1.8} はそれぞれ反応液の pH および緩衝塩濃度によってかなり異なるので反応液ごとにもとめた。

ii) 反応液中の GN, GL および GA の分別定量法—ia) インドフェノール法 (ia) およびヒドロキサム酸法 (ib) による分別定量法：GN を加水分解したときの反応液中の NH₃, GN, GL および GA の反応開始 t 時間後の濃度 [NH₃] _{t} , [GN] _{t} , [GL] _{t} および [GA] _{t} は GN の初濃度を [GN]₀ とし、反応液中の GN, GL および GA のみがヒドロキサム酸法で呈色するものとすれば (2), (3) および (4) 式でもとめられる。

$$[\text{GN}]_t = [\text{GN}]_0 - [\text{NH}_3]_t \quad (2)$$

$$[\text{GL}]_t = \frac{A_{3.5}E_{\text{GA}1.8} - A_{1.8}E_{\text{GA}3.5} - ([\text{GN}]_0 - [\text{NH}_3]_t)(E_{\text{GN}3.5}E_{\text{GA}1.8} - E_{\text{GN}1.8}E_{\text{GA}3.5})}{E_{\text{GL}3.5}E_{\text{GA}1.8} - E_{\text{GL}1.8}E_{\text{GA}3.5}} \quad (3)$$

$$[\text{GA}]_t = \frac{A_{3.5}E_{\text{GL}1.8} - A_{1.8}E_{\text{GL}3.5} - ([\text{GN}]_0 - [\text{NH}_3]_t)(E_{\text{GN}3.5}E_{\text{GL}1.8} - E_{\text{GN}1.8}E_{\text{GL}3.5})}{E_{\text{GL}3.5}E_{\text{GA}1.8} - E_{\text{GL}1.8}E_{\text{GA}3.5}} \quad (4)$$

iiib) ヒドロキサム酸法 (ib) のみによる分別定量法：ia) の場合と同様、初濃度としてそれぞれ [GN]₀, [GL]₀=0, [GA]₀=0 とすれば [GN] _{t} , [GL] _{t} および [GA] _{t} は (5), (6) および (1) 式でもとめることができる。

$$[\text{GN}]_t = \frac{(E_{\text{GL}3.5} - E_{\text{GA}3.5})([\text{GN}]_0 E_{\text{GL}1.8} - A_{1.8}) - ([\text{GN}]_0 E_{\text{GL}3.5} - A_{3.5})(E_{\text{GL}1.8} - E_{\text{GA}1.8})}{(E_{\text{GL}3.5} - E_{\text{GA}3.5})(E_{\text{GL}1.8} - E_{\text{GN}1.8}) - (E_{\text{GL}3.5} - E_{\text{GN}3.5})(E_{\text{GL}1.8} - E_{\text{GA}1.8})} \quad (5)$$

$$[\text{GL}]_t = \frac{(E_{\text{GN}1.8} - E_{\text{GA}1.8})([\text{GN}]_0 E_{\text{GN}3.5} - A_{3.5}) - ([\text{GN}]_0 E_{\text{GN}1.8} - A_{1.8})(E_{\text{GN}3.5} - E_{\text{GA}3.5})}{(E_{\text{GN}1.8} - E_{\text{GA}1.8})(E_{\text{GN}3.5} - E_{\text{GL}3.5}) - (E_{\text{GN}1.8} - E_{\text{GL}1.8})(E_{\text{GN}3.5} - E_{\text{GA}3.5})} \quad (6)$$

3. グルクロン酸アミドの加水分解反応 共栓コルベンに反応液 100 ml を入れ、精度 ±0.1° の恒温槽中で加温し、液温が恒温に達してから GN 64.6 mg (1/300 M) を加えてすばやく溶解させる。GN を加えた時を反応開始時とし以後一定時間ごとに反応液の一部をとり直ちに氷冷し反応液中の GN, GL および GA を定量する。NH₃ を同時に定量する場合には上記と同様にして GN を溶解後、速かにアンブルに分注融閉して恒温槽中で加温を続け、GN を加えた時を反応開始時として以後一定時間ごとにアンブルを取り出し、氷冷後生成した NH₃ を定量する。

結 果 お よ び 解 析

GN を加水分解し反応液中の GN, GL および GA の消長をヒドロキサム酸法およびインドフェノール法を用いて追跡した。その結果 Table I に示すように [GN] _{t} , [GL] _{t} および [GA] _{t} の和は常にほぼ [GN]₀ に等しく、(1) 式が成立することがわかった。そこで (5), (6) および (1) 式を用いて反応液中の GN, GL および GA の濃度を求めたところ、Table I とまったく同じ結果が得られたので、GN の加水分解液中の GN, GL および GA の濃度はヒドロキサム酸法のみでも求められることが確かめられた。そこでつぎに今回新たに確立したヒドロキサム酸法を用いて酸性域における GN の加水分解反応を検討した。

4) 波多野博行, 桐田智子, 化学の領域増刊, 光電比色法, 34, 47 (1958)。

TABLE I. Hydrolysis of Glucuronamide in Various pH Solutions at 70°

0.3 N HCl					0.1 N HCl+0.2 M KCl				
Time (min)	GN (%)	GA (%)	GL (%)	Sum. (%)	Time (min)	GN (%)	GA (%)	GL (%)	Sum. (%)
10	86.9	5.8	7.4	100.1	20	90.0	6.0	45.	100.5
20	74.0	13.0	14.5	101.5	40	81.7	11.9	6.1	99.7
30	62.1	18.4	20.1	100.6	60	74.3	15.7	10.8	100.8
40	54.1	21.7	23.8	99.6	80	65.5	20.2	14.0	99.7
50	46.6	25.3	27.4	99.3	120	53.0	27.1	18.1	98.2
60	40.3	30.0	29.9	100.2	160	44.7	31.1	25.5	101.3

pH 2.0 Phos. buffer					pH 5.6 Phos. buffer				
Time (hr)	GN (%)	GA (%)	GL (%)	Sum. (%)	Time (hr)	GN (%)	GA (%)	GL (%)	Sum. (%)
1	91.5	7.2	0.8	99.5	1	95.7	2.9	0.4	99.0
2	85.4	12.6	4.3	102.3	2	91.1	4.8	5.0	100.9
3	77.3	15.6	6.1	99.0	3	86.8	5.5	7.1	99.4
4	72.4	18.1	9.9	100.4	4	85.1	5.9	11.1	102.1
5	65.7	22.1	11.4	99.2	5	80.0	5.8	14.9	100.7
6	61.1	24.1	13.7	98.9	6	75.8	5.6	18.3	99.7
7	57.5	26.3	17.4	101.2	7	73.3	5.5	22.2	101.0
8	52.8	28.3	19.9	101.0	8	69.5	5.5	25.5	100.5

TABLE II. Breakdown of Glucuronamide (GN) and Formation of Glucuronic Acid Lacton (GL) in 0.3 N HCl at 60°

Time (min)	GN found (%)	GL found (%)	GL Calc.			k_1 (min ⁻¹) × 10 ⁻³
			Chart 1 (%)	Chart 3 (%)	Chart 2 (%)	
30	83.4	9.6	2.0	13.8	10.0	4.2
60	69.7	17.1	6.3	21.6	16.6	4.2
90	55.3	22.0	10.7	26.1	21.1	4.5
120	45.5	25.5	15.0	29.2	24.6	4.2
150	39.1	27.0	18.8	31.2	27.5	4.1
180	33.0	30.0	22.2	32.8	29.3	4.2
210	25.7	31.5	24.5	33.6	30.8	4.0

TABLE III. Breakdown of Glucuronamide (GN) and Formation of Glucuronic Acid Lacton (GL) in 0.3 N HCl at 50°

Time (min)	GN found (%)	GL found (%)	GL Calc.			k_1 (min ⁻¹) × 10 ⁻³
			Chart 1 (%)	Chart 3 (%)	Chart 2 (%)	
30	93.8	3.0	0.3	5.7	3.5	1.1
60	86.1	7.2	0.9	10.2	6.4	1.3
90	82.5	8.5	1.9	13.7	8.9	1.2
120	77.0	11.0	2.8	16.0	10.6	1.2
180	69.5	14.8	6.0	20.3	14.5	1.1
240	61.0	18.0	8.7	22.8	17.1	1.3
300	52.9	19.9	11.8	24.7	19.4	1.3

Fig. 1. Disappearance of Glucuronamide (GN) and Formation of Glucuronic Acid Lacton (GL) in 0.3N HCl Solution at 60°

found: glucuronamide $\odot$
 glucuronic acid lacton $\circ$
 calculated glucuronic acid lacton $\circ$
 used Chart 1 — — —
 used Chart 2 — — —
 used Chart 3 — — —

Fig. 2. Disappearance of Glucuronamide (GN) and Formation of Glucuronic Acid Lacton (GL) in 0.3N HCl at 50°

found: glucuronamide $\odot$
 glucuronic acid lacton $\circ$
 calculated glucuronic acid lacton $\circ$
 used Chart 1 — — —
 used Chart 2 — — —
 used Chart 3 — — —

それぞれ 50° および 60° の恒温に保った 0.3N HCl 溶液中での GN の加水分解反応をヒドロキサム酸法で追跡し, Table II, III および Fig. 1, 2 に示す結果を得た. これらの結果より求めた擬一次分解速度定数 k を GL を 同じ条件で加水分解して求めた k_2 , k_3 の値とともに Table IV に示した. 前報⁵⁾ で示したようにこの反

TABLE IV. Experimental Rate Constants k , k_1 , k_2 , k_3 and k_4 for the Hydrolysis of Glucuronamide (GN) in 0.3N HCl and HCl-KCl Buffer Solutions at Various Temperature

	Temp.	k (min^{-1}) $\times 10^{-3}$	k_1 (min^{-1}) $\times 10^{-3}$	k_4 (min^{-1}) $\times 10^{-3}$	k_3 (min^{-1}) $\times 10^{-3}$	k_2 (min^{-1}) $\times 10^{-3}$
0.3 N HCl	90°	95	78	17	140	110
0.3 N HCl	70°	16	12	4	28	23
0.3 N HCl	60°	6.2	4.2	2	15	9.6
0.3 N HCl	50°	2.1	1.2	0.9	6.7	3.4
0.2 N HCl+0.1 M KCl	70°	10.4	7.8	2.6	18	15
0.1 N HCl+0.2 M KCl	70°	5.2	3.9	1.3	9.4	7.8
0.05 N HCl+0.25 M KCl	70°	2.6	1.9	0.7	4.7	3.9

応液中では G^- の存在が無視できるので, GN の分解過程としてすでに前報で述べた Chart 1 および新たに Chart 2 および Chart 3 に示した反応系が考えられる.

Chart 1 および Chart 3 に示した反応系での $[GL]_t$ の理論式はそれぞれ (7) 式および (8) 式で示される⁶⁾.

5) 山名月中, 水上勇三, 旭新一, 薬誌, **84**, 696 (1964).

6) T. Yamana, Y. Mizukami, F. Ichimura, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **14** (5), 479 (1966).

$$(\text{Chart 1}) \quad [\text{GL}]_t = \frac{[\text{GN}]_0 k_2}{k_2 + k_3} (1 - e^{-(k_2 + k_3)t}) - \frac{k_2 [\text{GN}]_0}{k_2 + k_3 - k} (e^{-kt} - e^{-(k_2 + k_3)t}) \quad (7)$$

(Chart 3)

$$(\text{Chart 3}) \quad [\text{GL}]_t = \frac{[\text{GN}]_0 k_2}{k_2 + k_3} (1 - e^{-(k_2 + k_3)t}) + \frac{(k - k_2) [\text{GN}]_0}{k_2 + k_3 - k} (e^{-kt} - e^{-(k_2 + k_3)t}) \quad (8)$$

これらの式で Table IV の各速度定数を用いて算出したそれぞれの $[\text{GL}]_t$ の値を Table II, III および Fig. 1, 2 に示した. いずれも実測値と理論値は一致せず, GN の加水分解反応は Chart 1 および Chart 3 に示す反応系のいずれにも従はないことがわかった. Chart 3

Chart 2 に示す反応系の解析についてはすでにグルクロン酸エチルエステル (GE) の加水分解反応⁶⁾ を検討したとき述べたように, この場合の $[\text{GL}]_t$ は (9) 式で示される. そこで GE の場合と同様 Table II および Table III に示した $[\text{GL}]_t$ の実測値と Table IV の k_2 および k_3 を用い (9) 式で各時間ごとに k_1 の値を算出し,

$$[\text{GL}]_t = \frac{[\text{GN}]_0 k_2}{k_2 + k_3} (1 - e^{-(k_2 + k_3)t}) + \frac{[\text{GN}]_0 (k_1 - k_2)}{k_2 + k_3 - k} (e^{-kt} - e^{-(k_2 + k_3)t}) \quad (9)$$

$$k = k_1 + k_4 \quad (10)$$

それらの値を Table II および Table III に示した. k_1 の値はそれぞれほぼ一定値を示しており, その平均値を k_1 とした.

このようにして求めた k_1 およびさきに求めた k, k_2 および k_3 を用いて (9) 式で $[\text{GL}]_t$ の値を求め Table II, III および Fig. 1, 2 に示した. 実測値と理論値はいずれもよく一致している. その結果, GN の HCl 溶液中での加水分解反応は前報で報告した Chart 1 ではなく Chart 2 にしたがって進行することがわかった.

k_4 は (10) 式を用いて k および k_1 より算出することができる. さきに 50° および 60° の 0.3 N HCl 中で GN および GL を加水分解して得た各速度定数を, 70° および 90° の 0.3 N HCl ならびに 70° の HCl-KCl 緩衝液中で GN および GL を加水分解して求めた値とともに Table IV に示した.

0.3 N HCl 中での GN の加水分解速度定数 k_1, k_4 より求めた活性化エネルギーはそれぞれ 24.2 kcal/mole および 17.7 kcal/mole, 頻度因子はそれぞれ $2.9 \times 10^{13} \text{ min}^{-1}$ および $7.8 \times 10^8 \text{ min}^{-1}$ であった.

つぎに pH 1.4—6.1 のリン酸緩衝液中での GN の加水分解反応について検討した. この場合には GH の解離が無視できないことを考慮に入れると, HCl 酸性での Chart 2 より GN の分解過程として Chart 4 に示す反応系が考えられる. GN を分解するときの初期条件は $[\text{GN}]_0, [\text{GL}]_0 = 0, [\text{GA}]_0 = 0$ であるから Chart 4 に示す反応系より (11), (12), (13) および (14) 式が得られる.

これらの式を解くことにより, GN の分解液中中の $[\text{GN}]_t$ および $[\text{GL}]_t$ はそれぞれ (15) および (16) 式で示される.

$$[\text{GN}]_t = [\text{GN}]_0 e^{-(k_1 + k_4)t} \quad (15)$$

$$[\text{GL}]_t = \frac{[\text{GN}]_0 k_2^*}{k_2^* + k_3} (1 - e^{-(k_2^* + k_3)t}) + \frac{[\text{GN}]_0 (k_1 - k_2^*)}{k_2^* + k_3 - (k_1 + k_4)} (e^{-(k_1 + k_4)t} - e^{-(k_2^* + k_3)t}) \quad (16)$$

TABLE V. Rate Constants k, k_1, k_4, k_3 and k_2 for the Hydrolysis of Glucuronamide (GN) in Various Phosphate Buffer Solutions at 70° and Ionic Strength 0.3

pH	Phos (M)	k (min ⁻¹)		k_1 (min ⁻¹)		k_4 (min ⁻¹)		k_3 (min ⁻¹), k_2 (min ⁻¹)	
		Obs. × 10 ⁻⁴	Calc. × 10 ⁻⁴	Obs. × 10 ⁻⁴	Calc. × 10 ⁻⁴	Obs. × 10 ⁻⁴	Calc. × 10 ⁻⁴	Obs. × 10 ⁻³	Obs. × 10 ⁻³
1.4	0.15	24.7	24.6	19.4	19.0	5.3	5.2	4.7	3.8
	0.1	22.7	22.5	17.6	17.3	5.1	5.0	4.2	3.4
	0.05	21.1	20.7	16.2	15.7	4.9	4.8	3.8	3.1

1.8	0.192	13.4	13.2	11.2	10.7	2.2	2.5	2.9	2.4
	0.128	11.4	11.4	9.4	9.0	2.0	2.3	2.3	1.9
	0.064	9.4	9.6	7.6	7.3	1.8	2.1	1.8	1.5
2.0	0.33	13.6	13.2	11.5	10.9	2.1	2.2	3.2	2.5
	0.22	10.7	10.3	8.9	8.5	1.8	1.8	2.4	1.9
	0.11	7.8	7.7	6.4	6.0	1.4	1.5	1.6	1.3
2.65	0.315	4.7	4.8	3.6	3.6	1.1	1.1	2.2	1.9
	0.21	3.7	3.7	2.8	2.6	0.9	0.8	1.6	1.3
	0.105	2.5	2.4	1.8	1.7	0.7	0.5	0.9	0.8
3.2	0.3	2.2	2.1					2.0	1.7
	0.2	1.6	1.6					1.4	1.2
	0.1	1.0	1.0					0.9	0.8
4.4	0.3	2.1	1.6					2.9	
	0.2	1.5	1.1					2.1	
	0.1	0.8	0.7					1.3	
5.6	0.255	8.5	8.6					11.3	
	0.17	6.1	6.3					9.4	
	0.085	4.1	3.9					7.4	
6.1	0.18	21.0	20.3					28.8	
	0.12	15.8	15.1					25.5	
	0.06	10.7	9.8					22.3

Fig. 3 Disappearance of Glucuronamide (GN) and Formation of Glucuronic Acid Lactone (GL) in pH 2.0 Phosphate Buffer Solution at 70° and Ionic Strength 0.3

found: glucuronamide (○)
glucuronic acid lactone (○)
glucuronic acid (●)
calculated glucuronic acid lactone used Chart 4

び温度を一定に保ったリン酸緩衝液中で GN を加水分解して求めた k_1 および k_4 は (17a) および (17b) 式で示される。

$$k_1 = k_{1, \text{pH}} + k_{1, \text{Phos}} [\text{Phos}] \quad (17a)$$

$$k_4 = k_{4, \text{pH}} + k_{4, \text{Phos}} [\text{Phos}] \quad (17b)$$

ここで, $k_{1, \text{pH}}$, $k_{4, \text{pH}}$ および $k_{1, \text{Phos}}$, $k_{4, \text{Phos}}$ はそれぞれ k_1 および k_4 を pH および緩衝塩に関する項にわけた

ここで,

$$k_2^* = \frac{k_2}{1 + K_a / [\text{H}^+]}$$

イオン強度を $\mu=0.3$ さらに温度を 70° に保ち, 各 pH ごとに緩衝塩濃度のみを変えて調節した pH 1.4—6.1 のリン酸緩衝液中で GN を加水分解して各時間ごとの $[\text{GL}]_t$ および k を求めた。これらの値と前報で求めた k_2, k_3 を用いて (16) 式で k_1, k_4 を算出し, すべての速度定数を Table V に示した。

Table V に示した各速度定数を用いて算出した $[\text{GL}]_t$ はすべての実測値とよく一致した。緩衝塩濃度 0.33 M, pH 2.0 のリン酸緩衝液中で GN を分解して得た結果を Fig. 3 に示す。

以上の結果より GN は弱酸性領域においては Chart 4 に示した反応系にしたがって加水分解されることがわかった。pH 3.2 以上では GN の加水分解反応液中の GL の量が少ないので (16) 式を用いて k より k_1 を正確に求められず, Table V には記載しなかった。しかし反応の初期における GL の生成量が GA の生成量より大きく pH 1.4—2.65 の場合と同様 $k_1 > k_4$ であることが推測された。

Table V より各速度定数は反応液の pH および緩衝塩濃度の影響を受けていることがわかる。一般にイオン強度およ

ときの触媒定数である。

$$k_{1,\text{pH}} = k_{1,0} + k_{1,\text{H}^+}[\text{H}^+] + k_{1,\text{OH}^-}[\text{OH}^-] \quad (18a)$$

$$k_{4,\text{pH}} = k_{4,0} + k_{4,\text{H}^+}[\text{H}^+] + k_{4,\text{OH}^-}[\text{OH}^-] \quad (18b)$$

$$k_{1,\text{Phos}} = k_{1,\text{H}_3\text{PO}_4} \frac{[\text{H}_3\text{PO}_4]}{[\text{Phos}]} + k_{1,\text{H}_2\text{PO}_4^-} \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{Phos}]} + k_{1,\text{HPO}_4^{2-}} \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{Phos}]} \quad (19a)$$

$$k_{4,\text{Phos}} = k_{4,\text{H}_3\text{PO}_4} \frac{[\text{H}_3\text{PO}_4]}{[\text{Phos}]} + k_{4,\text{H}_2\text{PO}_4^-} \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{Phos}]} + k_{4,\text{HPO}_4^{2-}} \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{Phos}]} \quad (19b)$$

Fig. 4. Plots showing the Effect of Phosphate Concentration on the Rate Constants of GN Hydrolysis (k) at fixed pH Values (70° and Ionic Strength 0.3)

Fig. 5. Plots showing the Effect of Phosphate Concentration on the Rate Constants k_1 at fixed pH Values (70° and Ionic Strength 0.3)

Fig. 6. Plots showing the Effect of Phosphate Concentration on the Rate Constants k_4 at fixed pH Values (70° and Ionic Strength 0.3)

では $k_{1,0}$, $k_{4,0}$, k_{1,OH^-} , k_{4,OH^-} は無視でき $k_{1,\text{pH}}$ および $k_{4,\text{pH}}$ は $k_{1,\text{H}^+}[\text{H}^+]$ および $k_{4,\text{H}^+}[\text{H}^+]$ で近似されることがわかる。そこで Fig. 7 より k_{1,H^+} および k_{4,H^+} が求められる。

つぎに $k_{1,\text{Phos}}$ および $k_{4,\text{Phos}}$ について検討した。Table VI に示した $\frac{[\text{H}_3\text{PO}_4]}{[\text{Phos}]}$, $\frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{Phos}]}$, $\frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{Phos}]}$ および $k_{1,\text{Phos}}$, $k_{4,\text{Phos}}$ の値を (19a), (19b) 式に代入すれば、それぞれ $k_{1,\text{H}_3\text{PO}_4}$, $k_{4,\text{H}_3\text{PO}_4}$, $k_{1,\text{H}_2\text{PO}_4^-}$, $k_{4,\text{H}_2\text{PO}_4^-}$, $k_{1,\text{HPO}_4^{2-}}$, $k_{4,\text{HPO}_4^{2-}}$ を未知数とする連立方程式が得られる。この連立方程式を前報³⁾ と同様最少自乗法で解くことによって

k_{1,H^+} , k_{4,H^+} , k_{1,OH^-} , k_{4,OH^-} , $k_{1,\text{H}_3\text{PO}_4}$, $k_{4,\text{H}_3\text{PO}_4}$, $k_{1,\text{H}_2\text{PO}_4^-}$, $k_{4,\text{H}_2\text{PO}_4^-}$, $k_{1,\text{HPO}_4^{2-}}$, $k_{4,\text{HPO}_4^{2-}}$ はそれぞれ k_1 または k_4 での H^+ , OH^- , H_3PO_4 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} に関する触媒定数であり、 $k_{1,0}$, $k_{4,0}$ は k_1 , k_4 での常数項、 $[\text{Phos}]$ は全リン酸濃度を示す。Table V に示した速度定数 k_1 および k_4 と緩衝塩濃度との関係を各 pH ごとに Fig. 4, 5 および Fig. 6 に図示した。それぞれよい直線関係が成り立っている。それらの直線の勾配および直線と縦軸との交点より求めた $k_{1,\text{pH}}$, $k_{4,\text{pH}}$, $k_{1,\text{Phos}}$, $k_{4,\text{Phos}}$ を Table VI に示した。

Table VI に示した $k_{1,\text{pH}}$ および $k_{4,\text{pH}}$ の $\log k$ -pH profile を Fig. 7 に示した。Fig. 7 から pH 1.4—2.65

TABLE VI. Experimental Rate Constants k_{pH} , k_{Phos} , k_1 , $k_{1 \cdot pH}$, $k_1 \cdot Phos$, k_4 , $k_{4 \cdot pH}$, $k_4 \cdot Phos$ and $\frac{[H_3PO_4]}{[Phos]}$, $\frac{[H_2PO_4^-]}{[Phos]}$, $\frac{[HPO_4^{2-}]}{[Phos]}$ at 70° and Ionic Strength 0.3:

pH	$\frac{[H_3PO_4]}{[Phos]}$	$\frac{[H_2PO_4^-]}{[Phos]}$	$\frac{[HPO_4^{2-}]}{[Phos]}$	k_{pH} (min ⁻¹) $\times 10^{-4}$	k_{Phos} (min ⁻¹ M ⁻¹) $\times 10^{-3}$	k_1 (min ⁻¹) $\times 10^{-4}$	$k_1 \cdot pH$ (min ⁻¹ M ⁻¹) $\times 10^{-3}$	k_4 (min ⁻¹) $\times 10^{-4}$	$k_4 \cdot Phos$ (min ⁻¹ M ⁻¹) $\times 10^{-4}$
1.4	0.83	0.17		19.2	3.6	14.4	3.3	4.7	3.8
1.8	0.667	0.333		7.4	3.1	5.8	2.8	1.6	3.3
2.0	0.556	0.444		4.9	2.6	3.8	2.3	1.1	3.0
2.65	0.219	0.781		1.4	1.1	0.9	0.9	0.5	2.4
3.2	0.073	0.927	0.0003	0.4	0.6				
4.4	0.0057	0.989	0.0049	0.3	0.6				
5.6	0.0003	0.921	0.079	1.8	2.7				
6.1	0.0001	0.767	0.233	5.2	9.0				

TABLE VII. Summary of Specific Rate Constants at 70° and Ionic Strength 0.3

k_1	$k_{1 \cdot H^+}$	3.5×10^{-2} min ⁻¹ M ⁻¹
	$k_{1 \cdot H_3PO_4}$	4.0×10^{-3} min ⁻¹ M ⁻¹
	$k_{1 \cdot H_2PO_4^-}$	2.0×10^{-5} min ⁻¹ M ⁻¹
k_4	$k_{4 \cdot H^+}$	1.2×10^{-2} min ⁻¹ M ⁻¹
	$k_{4 \cdot H_3PO_4}$	4.0×10^{-4} min ⁻¹ M ⁻¹
	$k_{4 \cdot H_2PO_4^-}$	2.0×10^{-4} min ⁻¹ M ⁻¹
k	k_0	2.0×10^{-5} min ⁻¹
	k_{H^+}	4.7×10^{-2} min ⁻¹ M ⁻¹
	k_{OH^-}	2.3×10^3 min ⁻¹ M ⁻¹
	$k_{H_3PO_4}$	4.4×10^{-3} min ⁻¹ M ⁻¹
	$k_{H_2PO_4^-}$	2.1×10^{-4} min ⁻¹ M ⁻¹
	$k_{HPO_4^{2-}}$	3.7×10^{-2} min ⁻¹ M ⁻¹

Fig. 8. Dependence of the Rate Constants k_{Phos} on pH of the Solutions at 70° and Ionic Strength 0.3

Fig. 7. Plots showing the Relation between pH and the Rate Constants of Glucuronamide Hydrolysis at 70° and Zero Buffer Concentration

リン酸に関する各触媒定数が求められる。

このようにして求めたすべての触媒定数を Table VII に示した。

k_1 および k_4 の場合と同様 GN の擬一次分解速度定数 k は (20) 式で示される。

$$k = k_{pH} + k_{Phos}[Phos] \quad (20)$$

$$k_{pH} = k_0 + k_{H^+}[H^+] + k_{OH^-}[OH^-] \quad (21)$$

$$k_{Phos} = k_{H_3PO_4} \frac{[H_3PO_4]}{[Phos]} + k_{H_2PO_4^-} \frac{[H_2PO_4^-]}{[Phos]} + k_{HPO_4^{2-}} \frac{[HPO_4^{2-}]}{[Phos]} \quad (22)$$

ここで k_{pH} および k_{Phos} は k を pH および緩衝塩に関する項にわけたときの触媒定数であり、 k_{H^+} , k_{OH^-} , $k_{H_3PO_4}$, $k_{H_2PO_4^-}$, $k_{HPO_4^{2-}}$ はそれぞれ H^+ , OH^- , H_3PO_4 , $H_2PO_4^-$

$\text{HPO}_4^{=}$ に関する k の触媒定数, k_0 は定数項である. そこで k_1 および k_4 の場合と同様に解析して k の各触媒定数を求め Table VII に示した.

Table VII に示した各触媒定数を用いて算出した $k_{1,\text{pH}}$, $k_{4,\text{pH}}$ および k_{pH} を実線で Fig. 7 に示し, さらに Table VI, Table VII に示した $\frac{[\text{H}_3\text{PO}_4]}{[\text{Phos}]}$, $\frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{Phos}]}$, $\frac{[\text{HPO}_4^{=}] }{[\text{Phos}]}$ および各触媒定数を用いて算出した $k_{1,\text{Phos}}$, $k_{4,\text{Phos}}$ および k_{Phos} を実線で Fig. 8 に示した.

以上の結果より GN のリン酸緩衝液中での GL および GH への分解速度定数 k_1 および k_4 は pH 1.4—2.65 ではそれぞれ (23) および (24) 式で示され, さらに GN の分解速度定数 $k(k=k_1+k_4)$ は pH 1.4—6.1 では (25) 式で示される.

Table V に (23), (24) および (25) 式で算出した各速度定数の理論値を実測値とともに示したが, いずれもよく一致しており, 仮定した反応系が実験結果をよく表現している.

$$k_1 = 3.5 \times 10^{-2}[\text{H}^+] + 4 \times 10^{-3}[\text{H}_3\text{PO}_4] + 2 \times 10^{-6}[\text{H}_2\text{PO}_4^-] \quad (23)$$

$$k_4 = 1.2 \times 10^{-2}[\text{H}^+] + 4 \times 10^{-4}[\text{H}_3\text{PO}_4] + 2 \times 10^{-4}[\text{H}_2\text{PO}_4^-] \quad (24)$$

$$k = 2.0 \times 10^{-5} + 4.7 \times 10^{-2}[\text{H}^+] + 2.3 \times 10^{-3}[\text{OH}^-] + 4.4 \times 10^{-3}[\text{H}_3\text{PO}_4] \\ + 2.1 \times 10^{-4}[\text{H}_2\text{PO}_4^-] + 3.7 \times 10^{-2}[\text{HPO}_4^{=}] \quad (25)$$