炭水化物系化合物の自動酸化分解 (第 5 報¹⁾) Glucose の自動酸化分解機構について

小沢樹夫, 木苗直秀

静岡薬科大学²⁾Studies on the Autoxidation of Carbohydrate and Its Derivatives. V.¹⁾ The Mechanism of Autoxidative Decomposition of Glucose

TATSUO OZAWA and NAOHIDE KINAE

Shizuoka College of Pharmacy²⁾

(Received December 1, 1969)

N-Aryl-D-glucosylamine was cleaved autoxidatively in ethanol solution containing the same arylamine, and a pigment (I) was isolated from the reaction mixture. When *p*-toluidine was used, the pigment was obtained as red-brown needles. The result of analysis and the fact that 5-methylisatin was isolated from the hydrolysis of I with hydrochloric acid indicate I to be 2,3-bis-(*p*-tolylimino)-5-methylisatin (Ia) or 2-(*p*-tolylimino)-3-(*p*-tolylimino)-5-methylisatin (Ib).

2,3,4,6-Tetra-*o*-acetyl-2-oxyglucal (AOGA) and 3,4,6-triacetylglucal (AGA) were cleaved by ammonia, *p*-toluidine, and cyclohexylamine respectively. When ammonia was used, formic acid and arabonic acid were isolated. In the case of *p*-toluidine N-(*p*-tolyl)-2,3,4,6-tetra-*o*-acetyl-D-glucosylamine (VI) was obtained accompanied with a small amount of oxalic acid, arabonic acid, and azo-*p*-toluene. When cyclohexylamine was used, oxalic acid and D-arabonic acid were isolated only. The yields of each decomposition products from AOGA was higher than those from AGA. Since acetylated amine was obtained, it was considered that acetyl migration by amine occurred first in these reactions, followed by autoxidative decomposition.

前報¹⁾ までにわれわれは N-aryl-D-glucosylamine をアミンとともにエタノールに溶かし室温に放置すると自動酸化分解して, glucose の C₁-C₂ 間の切断によって N,N'-diaryl formamidine, N,N'-diaryurea, arabonic acid, oxalic acid および azobenzene 誘導体が生成し, また C₂-C₃ 間の切断で同じく oxalic acid と色素 (I) が生成することを報告した. この色素は glucosylamine を同一の芳香族アミンで分解する場合に得られ, アミンとして *p*-toluidine を使用した場合は融点 206—207° の安定な赤褐色結晶として得られ, glucose の C bond の C₁-C₂ fragment より誘導された色素であることは前報¹⁾ において glucose-1-¹⁴C, および glucose-2-¹⁴C を用いて生成する色素の比放射能を測定して明らかにした. その元素分析値, 赤外線吸収 (IR), 紫外線吸収 (UV) スペクトル, および 3 個のメチル基の存在を示す核磁気共鳴 (NMR) スペクトルの結果, また N,N'-di-*p*-tolylformamidine, N,N'-di-*p*-tolylurea の生成と関連して, この色素 (I) は 1-*p*-tolyl-2,6-dimethylbenzimidazole であり, 2,2'-di-*p*-tolylaminoethanol が中間体となり, 一方の *p*-tolylamino 基のベンゼン核の *ortho* 位と他方の *p*-tolylamino 基の NH 間で脱水素し, ついで脱水, 転位して生成したものと考えた. その後 Mass スペクトルより *m/e*: 339 (M⁺) であり, (CH₃-C₆H₄-N)₃C₂ の組成をもち, *p*-toluidine 3 個と glucose の C₁, C₂ より生成したものであることがわかった. また I を塩酸と加熱すると 2 モル比の割合で *p*-toluidine が遊離して, 同時に 5-methylisatin が生成することを確認した. よって前報で推定した構造式は誤りであり, 2,3-di-*p*-tolylimino-5-methylisatin (Ia), または 2-*p*-tolylamino-3-*p*-tolyliminoisatin (Ib) のいずれかの構造であることが明らかとなった. そこで I の生成中間体として C₁-*p*-tolylamino-C₁-*p*-tolylimino-C₂-*p*-tolyliminoethane (II) が考えられ, II の C₁ に結合した *p*-tolylamino 基または *p*-tolylimino 基のベンゼン核の *ortho* 位の H と C₂ に結合した H が脱水素閉環して, isatin 核が生成したものと考えられる. すなわち glucosylamine より enaminal (E)

1) 第 4 報: 小沢樹夫, 木苗直秀, 薬誌, 89, 1581 (1969).

2) Location: 160 Oshika, Shizuoka.

Chart 1

を経て free radical F_1 が生成し, Chart 1 の経路をとって N,N' -di-*p*-tolylformamidinium, arabonic acid, azo-*p*-toluene, N,N' -di-*p*-tolylurea が生成すると同時に 1,2-di-*p*-tolylamino-1-*p*-tolylimino 型の radical II_F となり, これがラジカル分解して中間体 II となり, さらに脱水素閉環して色素 (I) が生成するのであろう。

Glucal (GA), 2-hydroxyglucal (OGA) は古く Fischer,³⁾ Mauer⁴⁾ らにより合成法が報告された不飽和糖化合物であり, C_1 - C_2 間の不飽和結合が C_2 - C_3 間に転位する反応として Bergmann⁵⁾ は 3,4,6-tri-O-acetylglucal (AGA) を水と加熱して 4,6-di-O-acetyl-2,3-dideoxy-D-erythro-hex-2-enose (D-pseudoglucal) の生成, Ferrier ら⁶⁾ は AGA と *p*-nitrophenol から *p*-nitrophenyl-4,6-di-O-acetyl-2,3-didehydro-2,3-dideoxy-α-D-erythro-hexoside の生成, AGA と methanol または ethanol を加圧下で加熱して methyl または ethyl 4,6-di-O-acetyl-2,3-didehydro-2,3-dideoxy-D-erythro-hexoside の生成,⁷⁾ 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-hydroxyglucal (AOGA) と氷酢酸による 1,2,4,6-tetra-O-acetyl-2,3-didehydro-2,3-dideoxy-D-erythro-hexose の合成⁸⁾ などの報告があり, また Wolfrom ら⁹⁾ は 2,3,4,6-tetra-O-methyl-2-hydroxyglucal が室温で HCl により 5-methoxymethyl-2-furfural になる反応を報告している。

TABLE I. Decomposition Products of Glucal and 2-Hydroxyglucal

Reaction	Products (g)					
	III	IV	V	VI	VII	VIII
1) AOGA + NH_3	III (0.1)	IV (0.3)	V (0.4)			
2) AGA + NH_3	III (0.01)	IV (0.1)	V (0.2)			
3) AOGA + PT		IV _{PT} (0.4)	V _{PT} (0.2)	VI _{PT} (1.5)	VII _{PT} (0.04)	VIII _{PT} (0.01)
4) AGA + PT			V _{PT} (0.08)	VI _{PT} (1.2)		VIII _{PT} (0.01)
5) AOGA + CA		IV _{CA} (0.3)	V _{CA} (0.2)		VIII _{CA} (0.02)	
6) AGA + CA		IV _{CA} (0.1)	V _{CA} (0.1)		VIII _{CA} (0.01)	

The figure in parenthesis is the yield of each decomposition product.

Reaction 1), 2) AOGA or AGA 5 g was dissolved in 50 ml MeOH saturated with ammonia at 0°.

3), 4) AOGA or AGA 5 g and PT 2 g dissolved in 40 ml MeOH.

5), 6) AOGA or AGA 5 g and CA 2 g dissolved in 30 ml MeOH.

III: formamide

IV: arabanamide

V: acetylated amine

VI: N-*p*-tolyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glucosylamine

VII: oxalamide

VIII: azo-*p*-toluene

3) E. Fischer, *Ber.*, **47**, 196 (1914).

4) K. Mauer, *Ber.*, **62**, 332 (1929).

5) M. Bergmann, *Ber.*, **64**, 158 (1931).

6) R. Ferrier, W. Overend, A. Ryan, *J. Chem. Soc.*, **1962**, 3667.

7) R. Ferrier, *J. Chem. Soc.*, **1964**, 5443.

8) R. Ferrier, W. Overend, G. Sankey, *J. Chem. Soc.*, **1965**, 2830.

9) M. Wolfrom, E. Wallace, E. Metcalf, *J. Am. Chem. Soc.*, **64**, 265 (1942).

しかし GA, OGA の C bond の切断分解反応についてはいまだ知られていない. われわれは前報に準じて AOGA とアンモニア, AGA とアンモニア, AOGA と *p*-toluidine (PT), AGA と PT, AOGA と cyclohexylamine (CA), AGA と CA の 6 種類の組合せについて methanol または ethanol 中の分解を検討した. アンモニアとの反応では, 冷時アンモニアを飽和した methanol を使用し, これに AOGA または AGA を溶かし, 1 夜冷蔵庫に放置した反応液について, その他は AOGA, AGA 1 モルに対しアミン 1.2—1.5 モルを加え室温に 3—4 週間放置した反応液について分解物を検索した. その結果が Table I である. 1) AOGA, AGA とアンモニアの場合は 1 夜で一部が脱アセチル, 分解して formamide (III) と *D*-arabonamide (IV) になり, 同時にアセチル基が交換して acetamide (V) が生成した. 2) AOGA と PT の場合は反応溶液は 1 週間で赤褐色になり, まず *N*-acetyl-*p*-toluidine (V_{PT}) が析出し, ついで母液から白色針晶の *N*-*p*-tolyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-*D*-glucosylamine (VI_{PT}) が得られた. また分解物として *N,N'*-di-*p*-tolylloxalamide (VII), azo-*p*-toluene (VIII), *N*-*p*-tolyl-*D*-arabonamide (IV_{PT}) をカラムおよび薄層クロマトにより, それぞれ少量ながら分離し, シュウ酸とアラボン酸に一部分解することを知った.

3) AGA と PT の場合は褐変溶液より VI が析出し, ついで少量の *N*-acetyl-*p*-toluidine (V_{PT}) と azo-*p*-toluene ($VIII_{PT}$) が得られたが, アラボン酸, シュウ酸, ギ酸は検出されなかった. OH 基をもたない AGA の場合に VI_{PT} が生成することは興味ある事実であり, AGA から free radical $CH_3COO\cdot$ が生成し, これが C bond の 2 位 C に結合して AOGA の場合と同様に VI_{PT} が生成するものであろう. 4) AOGA, AGA と CA の場合は *N,N'*-dicyclohexyloxalamide (VII_{CA}) と *N*-acetylcyclohexylamine (V_{CA}), および *N*-cyclohexyl-*D*-arabonamide (IV_{CA}) が生成するが, AGA の方が AOGA に比べてこれら分解物の収量はやや少なかった. また結晶化しないためか VI に相当する化合物は確認できなかった.

以上の結果より, AOGA は AGA よりも自動酸化分解を受けやすいこと, $NH_3 > CA > PT$ と pK 値の大きなアミンほど糖を分解する力が強いことがわかった. いずれの反応においても一部アミンのアセチル化物が生成しているが, これは Hockett, Chandler,¹⁰⁾ Deulofeu, Deferrari ら¹¹⁾ の報告で知られているように glucose のアセチル化物がアンモニアと反応するとアセチルが分子内転位して *N*-acetyl-*D*-glucosylamine を生成する反応と類似しており, AGA, AOGA のアセチル基がアミンに移ったものである. また VI に PT を加えて放置したがほとんど分解がおこらないという事実から, シュウ酸, アラボン酸などの分解物は VI を経由して生成するのではなく, AOGA の 2 位以下のアセチル基がさらに一部脱離したのち glucose と同様に酸化分解して生成するものと思われる. よって AGA は C_2 に OH 基がないため, AOGA では C_2 の OH 基がアセチル化されているため, いずれも glucose, glucosylamine よりも C bond の開裂に対して抵抗性が強いこと, AOGA は AGA よりも分解されやすいこと, アンモニア, PT, CA のうちアンモニアがもっとも作用が強く, 飽和メタノール中で容易に C_1 - C_2 間で開裂をおこしてアラボン酸とギ酸が生成すること, AOGA と PT, AOGA と CA, AGA と CA の場合は一部が C_1 - C_2 間で開裂してアラボン酸とシュウ酸が生成するが, AGA と PT ではこの開裂がおきていないことがわかった. また PT の組合せでは azo-*p*-toluene が生成するがこれは Chart 2 の F_N 型 radical の生成が原因であることは前報で述べてある. AOGA, AGA より VI の生成は Chart 2 の経路を考えている. AOGA ではアミンが付加して VI ができるが AGA からは VI に相当する付加物 VI_A ができ, これから F_2 radical となり, F_2 から free radical が C_3 にうつり C_3 oxyradical (F_3O) を生成して $CH_3COO\cdot$ radical を分離する. これが F_2 と結合して VI を生成するものと思われる. また AOGA, AGA とアンモニアの場合のみギ酸が生成し, その他の場合はシュウ酸の生成する理由は現在のところ不明である.

実 験 の 部¹²⁾

装置 UV スペクトルは日立 ESP-3T 型, Mass スペクトルは日立 RMS-4 型, NMR スペクトルは日本電子 JNM-C-60H 型を使用して測定した.

1) *N*-*p*-tolyl-*D*-glucosylamine (GPT) より色素 (I) の生成 GPT 0.10 モルと PT 0.15 モルを ethanol 300 ml にどかして室温に放置する. 1 週間後に褐変溶液よりアラボン酸 formamidine 塩が析出し, 母液をさらに 1

10) R. Hockett, L. Chandler, *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 957 (1944).

11) V. Deulofeu, J. Deferrari, *J. Org. Chem.*, **17**, 1087 (1952).

12) 融点は未補正.

Chart 2

週間放置すると色素 (I) が析出した。Methanol より再結晶。赤褐色針晶, mp 206—207°, 収量 1.22 g. 2,3-Di-*p*-tolylimino-5-methylisatin (Ia) または 2-*p*-tolylamino-3-*p*-tolyliminoisatin (Ib) である。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 270 (4.30), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm $^{-1}$: 1580 (C=N), 1470 (C=N), 1240 (C-N), NMR (10% solution in CDCl_3) τ : 7.55, 7.63, 7.90 (いずれも 3H, $-\text{CH}_3$), Mass Spectro m/e : 393 (M^+). Anal. Calcd. $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_3$: C, 81.38; H, 6.24; N, 12.38. Found: C, 81.40; H, 6.17; N, 12.26.

(I) の HCl 分解 I 0.5 g をエタノール 100 ml に溶かし 10% HCl 3 ml を加える。直ちに加水分解が起こり 5-methylisatin が析出。濾過後ベンゼンより再結晶。赤橙色針晶, mp 182—183°. Anal. Calcd. $\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$: C, 67.07; H, 4.38; N, 8.69. Found: C, 67.12; H, 4.36; N, 8.59. 別途合成した 5-methylisatin と融点, IR が一致した。先の濾液を濃縮すると *p*-toluidine の HCl 塩 0.42 g が得られた。

2) Glucal のアミン分解 i) AOGA のアンモニア分解—AOGA 5 g を冷時アンモニア飽和メタノール溶液 50 ml に溶かし, 1 夜冷蔵庫に放置。少量の析出物を濾過後 40° で減圧濃縮する。この残渣にエタノール 10 ml を加えてくり返して減圧濃縮すると mp 80—81° の白色針晶としてアセトアミドが析出する。油浴中 110°, 5 mmHg で蒸留してアセトアミドを揮散させたのち, 残留物 3.5 g を水 50 ml に溶解し, 塩基性樹脂 (Amberlite CG-400, 炭酸型) 20 g を加えてパッチ法で 2 時間振盪する。濾過後中性, 塩基性物質を含む濾液を酸性樹脂 (Amberlite IR-120, H 型) をとおして流出液, および洗液は合して濃縮し中性部分とする。2.6 g. 先の塩基性樹脂に吸着された酸性物質は 2% Na_2CO_3 溶液を加えて溶出し, 酸性樹脂を通して酸性部分を得た。0.4 g. この操作において各フラクションの一部をとり 5% 水溶液として別途合成品と共に TLC 法を適用した。(吸着剤シリカゲル, 展開溶媒: クロロホルム-メタノール (5:1), 呈色剤: パナジン酸アンモニウム, および硫酸) その結果ギ酸アミド, アラボン酸, およびそのラクトン体, アラボン酸アミドを確認した。

a) 中性部分とフェニルヒドラジンの反応: 中性部分 0.5 g を水 10 ml に溶かし, フェニルヒドラジン塩酸塩 1 g, および結晶酢酸ナトリウム 2 g を加えて水浴上で 1 時間加温する。析出する結晶を濾過したのち酢酸エチルより再結晶。黄色針晶, mp 145° 0.1 g. Anal. Calcd.: $\text{C}_7\text{H}_8\text{ON}_2$: C, 61.75; H, 5.92; N, 20.58. Found: C, 61.79; H, 6.02; N, 2.060. 別途合成した標品との比較よりギ酸フェニルヒドラジドであることを確認した。

b) 酸性部分とフェニルヒドラジンの反応: 酸性部分 0.2 g を水 10 ml に溶かし, フェニルヒドラジン塩酸塩 0.5 g, および結晶酢酸ナトリウム 1 g を加えて水浴上で 2 時間加温する。濃縮後, 残留物をベンゼンで処理し難溶物をエタノールより再結晶。無色リン片晶, mp 190—191°. Anal. Calcd. $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_5\text{N}_2$: C, 51.56; H, 6.29; N, 10.93. Found: C, 51.48; H, 6.24; N, 10.98. アラボン酸フェニルヒドラジドを得た。

ii) AGA のアンモニア分解—AGA 5 g を冷時アンモニア飽和メタノール 50 ml に溶かし 1 夜冷蔵庫に放置。

減圧濃縮して残渣をクロロホルムで洗いアセトアミドを除いたのち、水に溶解する。i) と同様にイオン交換クロマト法を適用して酸性部分 0.2 g, および中性部分 3 g を得た。各フラクションについて TLC 法により、アラボン酸, ギ酸アミドを確認したがその収量は AOGA の場合と比較して少なかった。

iii) AOGA の PT 分解——AOGA 5 g と PT 2 g (1:1.2 モル) をエタノール 40 ml に溶かし室温に放置する。反応溶液は無色から赤褐色に変化し 1 週間後に析出する結晶を濾過してメタノールより再結晶。無色リン片晶, mp 145°, N-acetyl-*p*-toluidine (V_{PT}) 0.2 g を得た。濾液をさらに放置すると 1 週間後にふたたび結晶析出。メタノールより再結晶。白色針晶, mp 144—145°. N-*p*-tolyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -glucosylamine (VI) が得られた。0.5g. Anal. Calcd. $C_{21}H_{27}O_9N$: C, 57.66; H, 6.23; N, 3.20. Found: C, 57.67; H, 6.24; N, 3.14. 濾液は反応開始 6 週間後に濃縮してベンゼン処理し, ベンゼン可溶部分は塩酸処理アルミナを用いてベンゼン: 酢酸エチル (7:3) でカラムクロマトを行ない, 順にazo-*p*-toluene ($VIII_{PT}$), N-acetyl-*p*-toluidine (V_{PT}), N,N'-di-*p*-tolylloxalamide (VII_{PT}) を得た。ベンゼン難溶部分については TLC 法により, N-*p*-tolyl- β -arabonamide¹³⁾ が少量得られた。

iv) AGA の PT 分解——AGA 5 g と PT 2 g をエタノール 40 ml に溶かし室温に放置する。反応溶液から 2 週間後に析出する結晶 (VI) 0.4 g を濾過する。濾液をさらに 3 週間放置後濃縮し, iii) と同様にしてカラムクロマト法により (V_{PT}), ($VIII_{PT}$), を得た。

v) AOGA の CA 分解——AOGA 5 g と CA 2 g をエタノール 30 ml に溶かし室温に放置。3 週間後に析出する結晶を濾過してエタノールより再結晶, 無色針晶, mp 270—272°. N,N'-di-cyclohexyloxalamide (VII_{CA}) を得た。濾液をさらに 2 週間放置後 iii) と同様クロマト法により N-acetylcyclohexylamine (V_{CA}) とアラボン酸を得た。

vi) AGA の CA 分解——AGA 5 g と CA 2 g をエタノール 30 ml に溶かし反応させたところ v) と同様, oxalamide (VII_{CA}) と (V_{CA}), およびアラボン酸を得た。

謝辞 終わりに元素分析を施行された成田九州男, 野呂和子, 河村久代の 3 氏, UV スペクトルを測定された豊田孝子氏, Mass スペクトルを測定された内田三夫氏に謝意を表します。

13) 小沢樹夫, 長岡 達, 木苗直秀, 薬誌, 88, 1212 (1968).