

## トリオースレダクトンと数種含窒素化合物との反応

大村, 浩久  
九州大学農学部食糧化学教室

藤田, 明男  
日清製粉株式会社中央研究所

佐藤, 雅子  
鹿児島大学教育学部家政学教室

大槻, 実  
和光堂株式会社東京工場

他

<https://doi.org/10.15017/23153>

---

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 28 (2), pp.79-92, 1974-02. 九州大学農学部  
バージョン：  
権利関係：

## トリオースレダクトンと数種含窒素化合物との反応

大村 浩久・藤田 明男<sup>1)</sup>・佐藤 雅子<sup>2)</sup>

大槻 実<sup>3)</sup>・飯尾 雅嘉

九州大学農学部食糧化学教室

(1973年11月22日受理)

### Reaction of Triose Reductone with Several Nitrogenous Compounds

HIROHISA OMURA, AKIO FUJITA, MASAKO SATO,  
MINORU OTSUKI and MASAYOSHI IIO

Food Chemistry Institute, Faculty of Agriculture,  
Kyushu University, Fukuoka

H. von Euler によつて創始されたレダクトンの化学は近年著しく進展し有機化学だけでなく食糧化学や生理学などの諸分野でもその重要性が指摘されている(野村ら, 1961; 野村・大村, 1969). このグループの代表的なものであり, 最も簡単な構造のトリオースレダクトン (TR)  $\text{CH}(\text{OH})=\text{C}(\text{OH})-\text{CHO}$  は, はじめブドウ糖を希水酸化ナトリウムとともに加熱して得られたものであつて, 非常に強い還元力を持つていることから“レダクトン”と名付けられたが, その後多くの強い還元力を示す類似した物質が見出され, これらを含めて広く一般にレダクトン類とよばれている. この最大の特徴は分子中にエンジオール基  $-\text{C}(\text{OH})=\text{C}(\text{OH})-$  を含んでいることであつて, これがレダクトンの持つ強い還元力その他の特徴的な諸性質の原因をなしている. またこのエンジオールオキシ基の1個または2個が  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{NHR}$  などで置換されたグループすなわちチオールエノール  $-\text{C}(\text{OH})=\text{C}(\text{SH})-$ , エナミノール  $-\text{C}(\text{OH})=\text{C}(\text{NH}-)-$ , エンジアミン  $-\text{C}(\text{NH}-)=\text{C}(\text{NH}-)-$ , エナミンチオール  $-\text{C}(\text{NH}-)=\text{C}(\text{SH})-$  なども強い還元性を示し広義のレダクトン類に含まれている.

TR はアミノ酸, アミンなど含窒素化合物と温和な条件下で容易に縮合することが知られており, これら生成物は一般にアミノレダクトンと云われている. この

アミノレダクトンはアミノカルボニル反応やストレッカー反応などにおいても生成し, 食品の褐変, 変香, 抗酸化作用ないしアミノ酸の生理的不活性化など食品の加工, 貯蔵, 調理などにおいて重要な役割を演ずる中間体であると考えられている. 他方必須アミノ酸として重要なトリプトファンの代謝中間体である3-ヒドロキシキヌレニンや3-ヒドロキシアントラニル酸などもアミノレダクトンに属し, 発癌性を示すことから特に注目されている (Boyland and Watson, 1956). さらに野村 (1958) は糖とアミノ化合物との反応すなわちアミノカルボニル反応よりもレダクトンとアミノ化合物との反応の方が容易に進行し新しく含窒素レダクトンを形成することから, これをアミノレダクトン反応と命名した. 特に芳香族アミンとの反応は代表的なものであつてその縮合生成物は“アニル”と云われているが, その他多くの含窒素化合物との反応もさらに予測され, しかもそれらの生成物には種々の生理的機能を持つものがあることも推定される.

そこでまず数種の含窒素化合物について TR との反応性を検討した. レダクトン類は通常 2,6-ジクロロフェノールインドフェノールすなわち Tillman 試薬で還元力を測定することにより定量されるが, 生成した縮合物も還元力を示すものが多いので, この方法は必ずしも適当ではない. しかしその場合にも TR の

- 1) 日清製粉株式会社中央研究所
- 2) 鹿児島大学教育学部家政学教室
- 3) 和光堂株式会社東京工場

特異的な吸収スペクトルの変動を分光学的に求めてその反応性を追及することができるので本報では主としてこの方法によつた。

## 実験方法

### トリオースレダクトン

野村・大村(1969)に従い、ブドウ糖を酢酸鉛および水酸化ナトリウムとともに加熱処理して TR の鉛塩を調製し、水洗後十分に脱水乾燥して微細粉末とし密封して冷所に保存する。使用に際しては小さく粉砕したこの鉛塩をアセトン中に懸濁し、活性炭を加え 20°C 以下に冷却しながら濃硫酸を滴加して脱鉛、生成した硫酸鉛を吸引濾過し、濾液を減圧濃縮して TR を析出させる。結晶は冷アセトン、ついで石油エーテルで洗滌し、またアセトンから再結し、褐色瓶中で水分が入らないようにして冷蔵庫に貯蔵する。調製に際しては手早く操作し、かつ処理温度、時間などを正確に保持することが肝要である。たとえば鉛塩の調製には、酢酸鉛および水酸化ナトリウムをブドウ糖に 87°~89°C で反応させるが、温度が低いと収量が非常に悪くなる。また TR は着色しやすいので水分をできるだけ除くことが必要である。そのため鉛塩の段階でよく水洗したのちアセトンで脱水乾燥させるが、この操作は非常に重要であつて、アセトンの使用量が十分でなかつたり操作がよくないと乾燥が悪くなる。その結果鉛塩はシラップ状になり、あるいは暗褐色を呈し、また粉末にならず粒状となる。そのため調製にはかなりの熟練が必要であるが、他方生成された鉛塩を濾液が透明になるまで十分に水洗したのちアセトン脱水の代りに凍結乾燥機で乾燥させると、脱水は完全に行なわれて、粉末状、灰白色の鉛塩が得られ、しかも純度の高い TR が比較的容易に調製される。さらに脱鉛後濃縮して析出した TR を濾別し冷アセトンで洗滌するが、この場合も操作を誤ると TR がアセトンに溶けて収量が非常に低下するので注意しなければならない。

TR は Tillman 試薬による滴定(野村・大村, 1969)あるいは満田・鹿田(1957)のインドフェノール・ブタノール溶液を用いるアスコルビン酸(AA)の微量比色定量法により測定した。

### 吸収スペクトル

大村ら(1967)常用の島津マルチパーパス自記分光光度計 MPS-50 型により自動的に記録して求めた。

### ペーパークロマトグラフィー

東洋濾紙 No. 51, 展開溶媒としては次の諸混液を

用いた。n-ブタノール・酢酸・水(BuOH・AcA・H<sub>2</sub>O 4:1:2); n-ブタノール・ギ酸・水(BuOH・FA・H<sub>2</sub>O 4:1:2); メタノール・塩酸・水(MeOH・HCl・H<sub>2</sub>O 7:2:1); エタノール・プロパノール(EtOH・PrOH 3:7); アンモニア飽和 n-ブタノール(Amm sat, BuOH); ピリジン・n-ブタノール・水(Pyr・BuOH・H<sub>2</sub>O 3:4:7)。検出には主として紫外線照射およびインドフェノール試薬を用いたが、ヒドロキシルアミンやオキシムには塩化第二鉄、尿素には Ehrlich 試薬を用いた。

## 実験結果および考察

### 1. TR の安定性

TR はそれ自身変化しやすいのではじめにその安定性を検討した。同一濃度(10 μg/ml)になるように TR を水に溶かしたもの(pH 2.8), pH を 7 ならびに 8 に調整したものおよび 2% メタリン酸に溶かしたもの(pH 1.8)を調製し、まずこれらを室温に放置してその残存率を求めた。3 時間以内の安定性を Fig. 1 に示すが、TR も AA と同様に酸性においては比

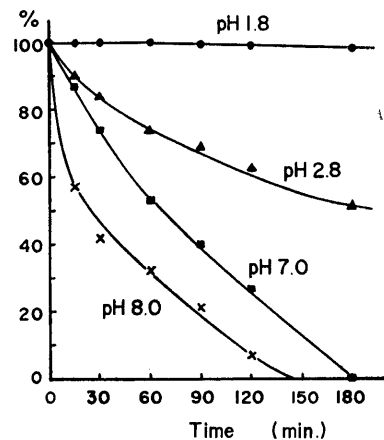


Fig. 1. Stability of triose reductone (TR). TR was dissolved in 2% metaphosphoric acid (pH 1.8) or H<sub>2</sub>O (pH 2.8) and pH of the aqueous solution was adjusted to 7 or 8 with 1 M sodium acetate. TR solution (10 μg/ml) was kept at room temperature and remaining TR was estimated with Tillman's reagent.

較的に安定であつて特に希メタリン酸に溶かすとほとんど分解しない。これに対してアルカリ性においては不安定であつて急速に減少し、中性以上では 3 時間以内に完全に消失した。中性以下の溶液についてさらに

Table 1. Stability of TR in acid range.

Time (hr)	Remaining percent of TR			
	pH 1.8	2.8	6.0	7.0
4	99	47	31	0
6	98	44	0	0
8	97	39	0	0
24	96	0	0	0

The same as in Fig. 1.

長時間試験すると、Table 1 から明らかなように水溶液中では TR は 24 時間後には全く認められなくなった。しかし希メタリン酸中では AA と同様に安定であった。

こうして TR は酸性、特に希メタリン酸中で安定であることが明らかになったので、さらに長期間冷蔵庫に保存してその残存量を測定した。すなわち、TR および AA については 10  $\mu\text{g/ml}$ 、TR 鉛塩については 100  $\mu\text{g/ml}$  を 2% メタリン酸に溶かして試験した結果、長期間かなり安定であった (Table 2)。3 者間では鉛塩がやや安定であるかの傾向が認められるが大差はなく、いずれも約 9 週間後にほぼ半減した。

Table 2. Stability of TR in metaphosphoric acid.

Time (week)	Remaining percent of TR and ascorbic acid		
	ascorbic acid	TR	TR-Pb
0	100	100	100
1	100	93	97
2	88	84	90
4	73	74	79
6	65	61	70
9	49	54	58

Reaction mixture: Ascorbic acid: 10  $\mu\text{g/ml}$ , 2% metaphosphoric acid; TR: 10  $\mu\text{g/ml}$ , 2% metaphosphoric acid; TR-Pb: 100  $\mu\text{g/ml}$ , 2% metaphosphoric acid. Reaction mixtures were kept in a refrigerator and remaining amount of ascorbic acid, TR or TR-Pb was estimated with Tillman's reagent.

## 2. TR と *p*-アミノサリチル酸との反応

TR の反応性のうち特に著名なものは芳香族アミンとの縮合である。野村 (1961) は 2-アミノピリジン、*o*-アミノ安息香酸、*m*-ニトロアニリン、*o*-アミノフェノールならびに 3-アミノサリチル酸と TR とのモノアニルおよび *o*-アミノ安息香酸と TR とのジアニルを調製した。さらにスルホンアミド類の強い抗菌力が TR との縮合によつて消失することも明らかにされた (野村・三東, 1964)。我々もこのアミノレダクトンに関する研究の終局の目的としてはその生理的活性の検

討にあるので、芳香族アミンとして結核菌に対し効力を持つ *p*-アミノサリチル酸 (PAS) をまずとりあげその反応性を試験した。

PAS の場合も 3-アミノサリチル酸の場合と同様にして縮合物を調製した。すなわち TR 88 mg を 3 ml の水に溶かし、これに PAS 153 mg をアセトン 3 ml + 水 3 ml に溶かして添加した。ついで 2 ml 濃硫酸を加え 2 時間冷蔵庫中に放置すると黄色針状結晶を析出するので、水洗後メタノールより再結した。3-アミノサリチル酸の場合 0.2 ml 濃硫酸を添加しているが濃硫酸でも有効であった。生成物の融点は 118°C であった。

レダクトン類の生理的機能として山藤ら (1970) は抗腫瘍効果ならびに核酸切断能を見出すとともにこれが  $\text{Cu}^{2+}$  により促進されることを確めた。そこで TR と PAS との反応における  $\text{Cu}^{2+}$  の影響を試験した。反応液に 15.9 mg または 159 mg 硫酸銅を添加し反応させたが、この場合にも縮合生成物が容易に得られた。収量は  $\text{Cu}^{2+}$  の有無に拘らず一定であり、その色は  $\text{Cu}^{2+}$  の量に応じて黄緑味が強くなるようであった。

Fig. 2 に生成物 3 mg を 200 ml 水に溶かして測定

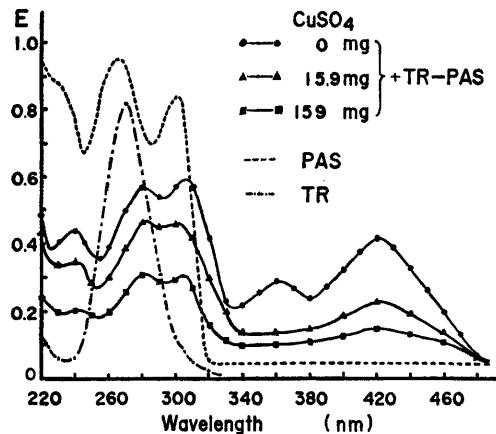


Fig. 2. Absorption spectrum of the reaction product of TR with *p*-aminosalicylic acid (PAS). Into TR solution (88 mg in 3 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ), 153 mg PAS (dissolved in 3 ml acetone + 3 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ) and 15.9 mg or 159 mg  $\text{CuSO}_4$  were added. The mixture was then acidified with 2 ml conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  and kept in a refrigerator. Yellowish needle crystals were formed and recrystallized from methanol. m. p. 118°C. TR-PAS, the product of TR and PAS, was dissolved in  $\text{H}_2\text{O}$  (3 mg/200 ml) and the absorption spectrum was estimated.

した吸収スペクトルを示す。TR は 270 nm 付近、PAS は 265 nm および 300 nm 付近に吸収極大を示し、可視部にはいずれもピークは認められない。それに対して TR-PAS<sup>1)</sup> では 240 nm, 280 nm, 305 nm 付近のほか、360 nm および 420 nm 付近の可視部にも明かな吸収が認められた。さらに吸光度は  $\text{Cu}^{2+}$  添加区での生成物において  $\text{Cu}^{2+}$  共存量に応じて低くなり、可視部特に 360 nm 付近のピークが消失する傾向を示した。これとともに *n*-ブタノール・酢酸・水で展開したペーパークロマトグラムから、Fig. 3 に示すように TR-PAS の Rf が  $\text{Cu}^{2+}$  共存に応じて多少上昇する傾向が認められたが、生成物に  $\text{Cu}^{2+}$  が含まれるか否かは不明で、さらに検討を要する。

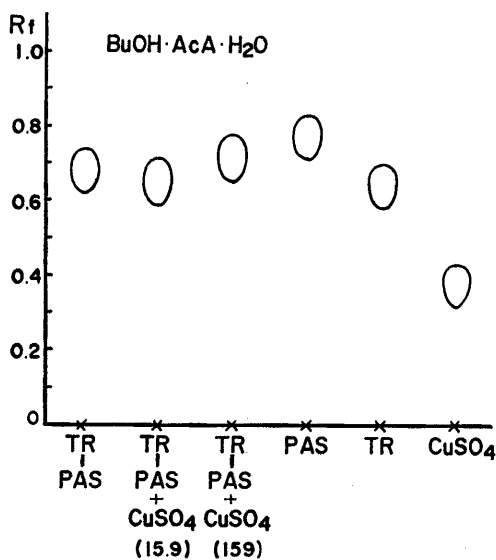


Fig. 3. Paper chromatogram of TR-PAS. TR-PAS was prepared as in Fig. 2. Spots were detected under UV light.

### 3. TR とグアニンまたはアデニンとの反応

レダクトン類が核酸切断能を示すことからこれが核酸の構成塩基と反応することが推定される。そこでアミノ基を含むグアニン (Gu) およびアデニン (Ad) と TR との反応性を試験した。

TR 8.8 mg と Gu 15.1 mg とをメタノール 10 ml に溶解し冷却管を付けて加熱、メタノールの沸点温度で反応させた。反応開始後 1 時間で灰白色物質が僅かに器壁に付着したが、反応液はほとんど無色透明であった。2 時間後には液は多少黄色味を帯びてきたが付着生成物は灰白色のままであり、3 時間経過すると着色は進み反応液は褐色を呈し付着物も淡褐色となつ

1) TR と PAS との縮合生成物を表わす。以下同じ。

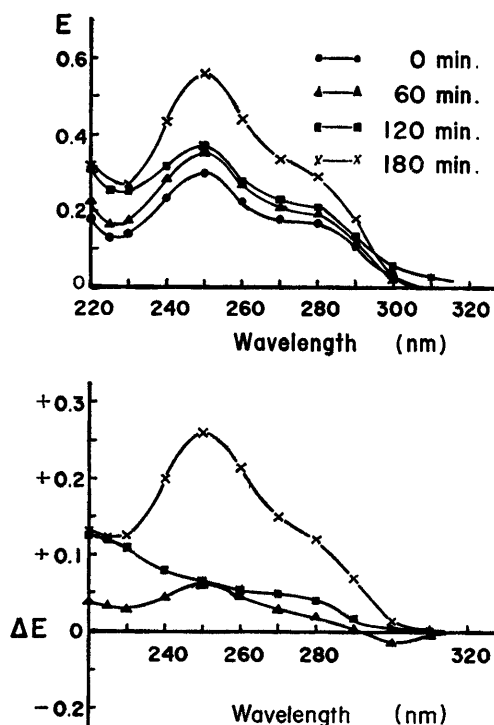


Fig. 4. Absorption spectrum and its variation of the reaction mixture of TR with guanine (Gu). Reaction mixture of 8.8 mg TR and 15.1 mg Gu in 10 ml methanol was heated at boiling temperature under reflux. Absorption spectrum of the reaction mixture was estimated after dilution of 400 times.

た。しかしメタノールの代りに水溶液中で同様に反応させると上記のような変化は認められなかった。また TR および Gu をそれぞれ単独にメタノールないし水中で加熱した場合も着色は観察されなかった。いずれにしてもこの程度では生成物は僅かに器壁に付着するに過ぎず再結し得るには至らなかった。そこで反応の経過を追及するため反応液の吸収スペクトルの変化を求めた。Fig. 4 は上述のものと同条件で加熱反応させたものを、400 倍に希釈して測定した吸収スペクトルおよびその吸光度の変化を示すものであるが、反応に伴って 250 nm を中心に吸光度が上昇した。なおこの場合にも Gu を単独に加熱した場合には変化はほとんど認められなかった。

次に上記反応液に硫酸銅 1.6 mg を加えて加熱反応させた場合、器壁に付着する生成量も多く、また反応液の着色も濃くなる傾向が見られた。この反応生成物を取つてギ酸に溶かし、ペーパークロマトグラフィーを行つたところ、Fig. 5 に示すように *n*-ブタノール・

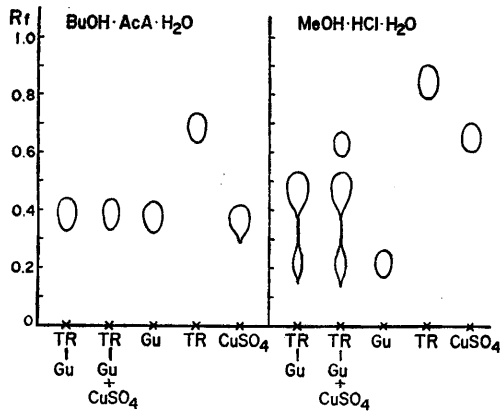


Fig. 5. Paper chromatogram of TR-Gu. As in Fig. 4, TR-Gu was prepared with or without supplementing 1.6 mg  $\text{CuSO}_4$  into the reaction mixture. Small amount of TR-Gu was formed on the wall of the flask. Scratched TR-Gu was dissolved in formic acid and served to the paper chromatography.

酢酸・水では生成物のスポットは検出されなかつたが、メタノール・塩酸・水では Rf 0.48 に明瞭なスポットが認められた。しかし  $\text{Cu}^{2+}$  の影響は認められなかつた。

ついで Ad を反応させた。Gu の場合と同様に TR 8.8 mg と Ad 13.5 mg をメタノール 10 ml に溶解し加熱反応させたが、1 時間後には Gu の場合と同じく灰白色の生成物がごく少量器壁に附着した。反応時間が長くなるにつれて生成物の量は多少増加し褐色を帯びてくる傾向があつたが、反応液は着色しなかつた。これに対してメタノールの代りに水溶液中で作用させると、器壁への附着物は生成しないが反応液は淡黄色を呈した。いずれにしてもこの場合にも十分な量の生成物は得られなかつたので、反応液について吸収スペクトルを測定した。Fig. 6 に示すように反応液の吸収スペクトルは Ad 自体のものと同じであつて 260 nm 付近に吸収極大があり、他に特異的なピークは観察されなかつた。しかし吸光度は反応時間が長くなるにつれて上昇し、260 nm 付近において最高であつたが、他方 290 nm 付近より長波長域においては吸光度は減少した。このことは反応成分に変動が起つていていることを示唆するものである。 $\text{Cu}^{2+}$  共存下における反応は Gu の場合と同様の傾向を示し反応液も多少黄色味を帯びた。しかしペーパークロマトグラフィーでは上記両展開溶媒により生成物の明白なスポットは検出されず、また  $\text{Cu}^{2+}$  の影響も認められなかつた (Fig. 7)。

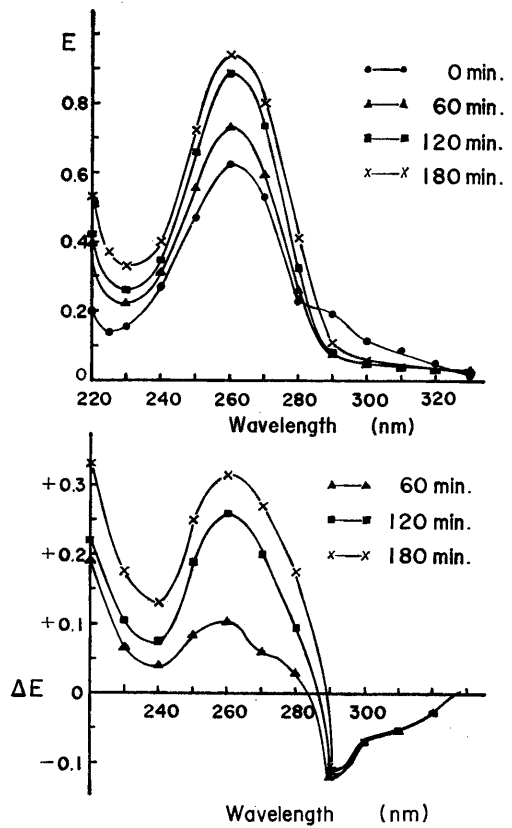


Fig. 6. Absorption spectrum and its variation of the reaction mixture of TR and adenine (Ad). Reaction mixture: 8.8 mg TR and 13.5 mg Ad in 10 ml methanol. Assay was carried out as in Fig. 4.

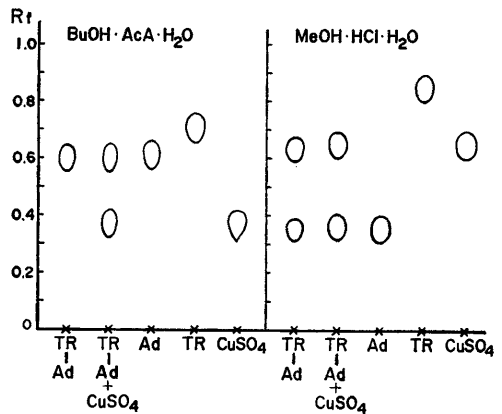


Fig. 7. Paper chromatogram of TR-Ad. TR-Ad was prepared as in Figs. 5 and 6 with  $\text{CuSO}_4$  and paper chromatography was carried out.

いずれにしても、少なくとも TR が Gu または Ad とメタノール中で反応する傾向があることは推定される。しかしその反応の程度は微弱であつて十分でない。のでさらに反応条件などを検討する必要がある。

#### 4. TR とヒドロキシルアミンおよびオキシムとの反応

ヒドロキシルアミン (HA) は最も簡単なアミンであるが、無機窒素同化系における中間体だけでなくウイルス誘発能や突然変異誘起能など重要な機能を持つ化合物であつて当研究室における研究の主体をなしてきた(山藤, 1964)。これはカルボニル化合物と結合してオキシムを形成し、作用の程度に差はあるが HA と同様の生理的機能を保持している。これはオキシムにも  $-NOH$  基が含まれていることに基くものと推定される(大村ら, 1970)。HA が TR と結合するならばその結合様式はオキシムの場合と異なることが推定され、その生成物についての研究は HA の機能の解明にさらに有効であると考えられる。

TR 8.8 mg と HA (塩酸塩) 7.0 mg とを 10 ml メタノール中で加熱反応させると、反応開始後数分で反応液は黄色を帯び、1 時間後には褐色となつてかなり顕著な反応性があることを示唆したが生成物は得られなかつた。この場合、メタノールの代わりに水を用いると全く着色は起らなかつた。そこでメタノール反応液を一定時間毎にとり出し、200 倍希釈して吸収スペクトルを測定した (Fig. 8)。反応開始後 15 分ですでに TR の吸収極大は消失し、他方 230 nm 付近に生成物のもつと推定されるピークを示すスペクトルが観察された。反応時間が長くなるにつれて褐変するが、それとともに吸光度は 270 nm を中心に低下し (TR の減少を示す)、一方 230 nm 付近を中心に吸光度は高くなつた (生成物の増加を示す)。

上記反応においては HA の塩酸塩をそのまま使用したので反応液は強酸性であつてみかけの pH 1 以下であつた。そこで水酸化ナトリウムメタノール溶液で反応液の pH を 5 および 9 に調整し、Fig. 8 の場合と同一条件で加熱反応させた。2 時間反応させた結果、pH 5 では液は褐色を呈し、また器壁にも多少の褐色生成物が附着した。しかしアルカリ性では反応液はほとんど着色せず、また附着物も灰白色であつた。反応の前後における溶液をそれぞれ 200 倍に希釈し吸収スペクトルおよび吸光度の変化を求めた。Fig. 9 から明らかなように、pH 5 における TR の吸収スペクトルは 270 nm 付近に極大があり、他方 pH 9 においては 300 nm 付近にピークがあるが、反応後はいずれも消

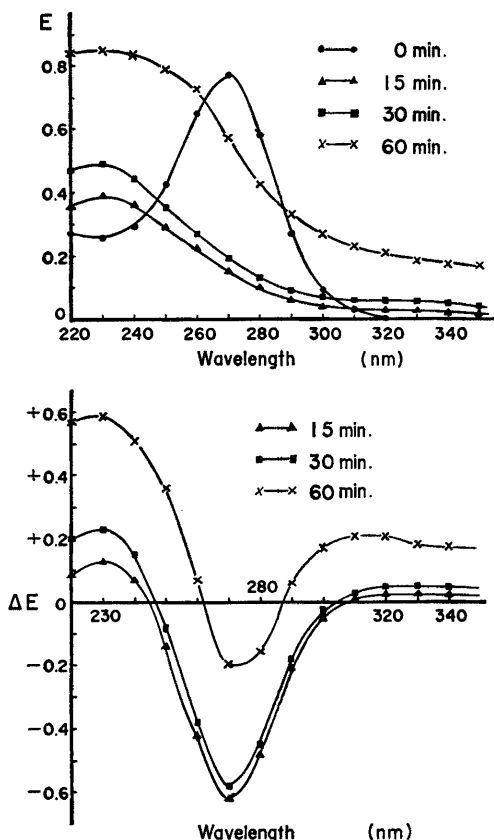


Fig. 8. Absorption spectrum and its variation of the reaction mixture of TR and hydroxylamine hydrochloride (HA·HCl). Reaction mixture: 8.8 mg TR and 7.0 mg  $NH_2OH \cdot HCl$  in 10 ml methanol. Assay was carried out as in Fig. 4, but the spectrum was estimated after dilution of 200 times.

失した。しかも吸光度の低下はそれぞれ吸収極大の位置で最も顕著であつた。

また器壁に附着した生成物について、種々の展開溶媒によりペーパークロマトグラフィーを行なつたところ、特に *n*-ブタノール・ギ酸・水により Rf 0.08 に生成物の明瞭なスポットを認めたと (Fig. 10)。またビリジン・*n*-ブタノール・水でのペーパークロマトグラムから TR と HA の反応により数種の化合物を生ずることが推定される。

いずれにしても TR-HA 縮合物が生成される可能性は考えられるが、それを分離するためには反応条件についてさらに詳細な検討を要する。

オキシムは HA とカルボニル化合物から容易に生成されるが分子中に  $-NOH$  基が含まれている。TR とこの  $-NOH$  基との反応性については知られていな

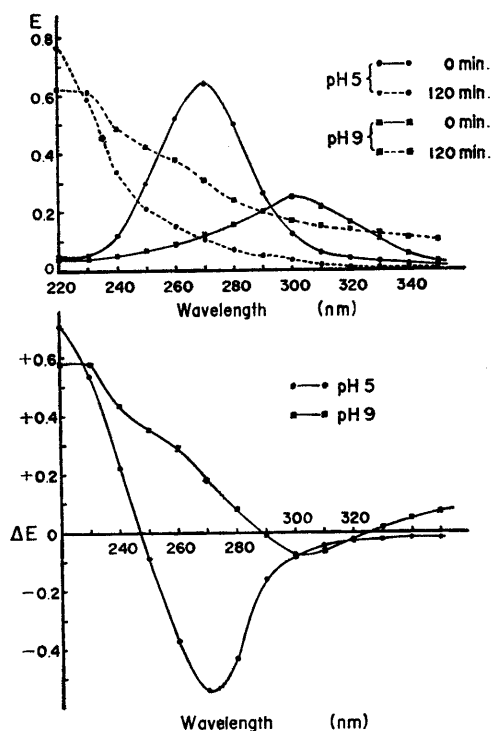


Fig. 9. Absorption spectrum and its variation of the reaction mixture of TR and HA at pH 5 and 9. Assay was carried out as in Fig. 8, but pH of the reaction mixture had been adjusted to 5 or 9 with NaOH.

いので、次にグルコースオキシム (GO) との反応を試験した。

HA の場合と同様に TR 8.8 mg と GO 19.3 mg とをメタノール 10ml に溶解し加熱反応させた。反応開始後数分で淡褐色の生成物が少量ながら器壁に附着し始め、反応時間の長くなるにつれてその量は増加し、また反応液の褐色度が濃くなった。また水溶液中で同様に作用させたところ生成物の器壁附着は認められなかったが、Gu, Ad, HA などの場合とは異なつて反応液は褐変し、TR はオキシムと比較的に反応しやすいことを示唆している。

次にメタノール反応液の吸収スペクトルの時間的変化を Fig. 11 に示す。HA の場合と同じように TR のスペクトルが消失し 230 nm 付近にピークが観察される。従つて吸光度は 270 nm 付近を中心に減少し 230 nm 付近を中心に増大する。しかしその変動度は HA の場合には及ばない。

上記反応は酸性で行なわれたが、TR の吸収スペクトルおよび安定性は pH によりそれぞれ異なるので、次に反応液の pH を炭酸カルシウムメタノール溶液で

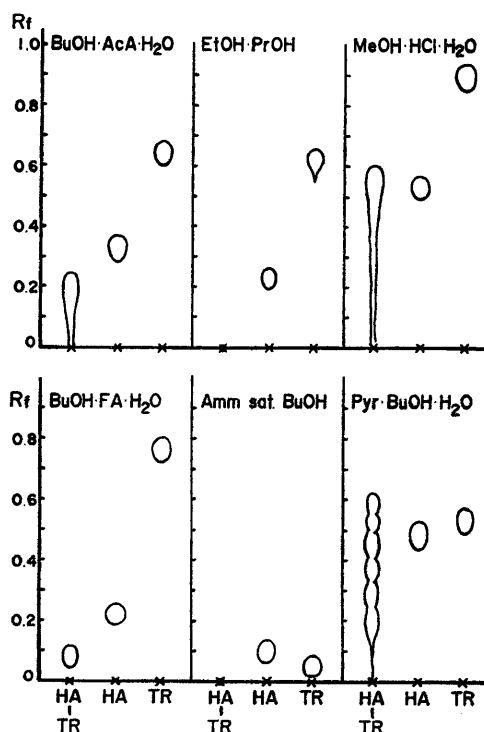


Fig. 10. Paper chromatogram of TR-HA. TR-HA was prepared on the wall of the flask as in Fig. 9. Paper chromatography was carried out as in Fig. 3, but HA was detected with  $\text{FeCl}_3$ .

5, 7 および 9 に調整し同一条件で 2 時間反応させた。器壁に附着した生成物の色は褐色ないし淡褐色であつて、酸性において最も濃くアルカリ性、中性の順であつた。また生成量も酸性で最も多く、反応しやすいことを認めた。反応前後の吸収スペクトルおよび吸光度の変化を Fig. 12 に示す。吸光度の変化は酸性域で大きく、また TR の吸収極大部すなわち酸性では 270 nm、中性では 300 nm 付近を中心に低下した。

他方各 pH での生成物を器壁からかき取りその水溶液の吸収スペクトルを求めた。Fig. 13 から pH 5, 7 および 9 での生成物はそれぞれ 305~310 nm, 290~295 nm または 290 nm 付近に極大, 265 nm, 250 nm または 235 nm 付近に極小をもつものであることを認めた。もちろん生成物の量が少なく再結その他の精製を行なつていないし、スペクトルは定性的なものであつて正確な比較はできないが、pH により反応が異なることを示唆している。ピリジン・*n*-ブタノール・水で展開したペーパークロマトグラムを Fig. 14 に示すが、これから特に酸性側において数種の生成物が混合



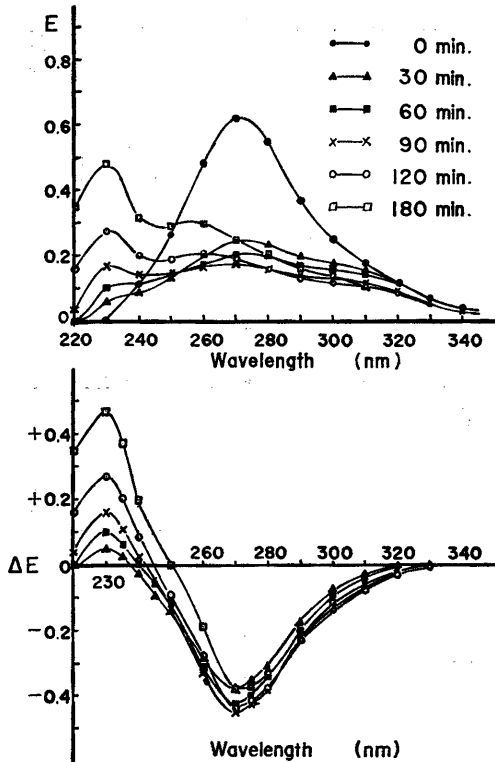


Fig. 11. Absorption spectrum and its variation of the reaction mixture of TR and glucose oxime (GO). Reaction mixture: 8.8 mg TR and 19.3 mg GO in 10 ml methanol. Assay was carried out as in Fig. 8.

しているように思われる。なお Fig. 11 での生成物をさらに数種の溶媒で展開したところ、Fig. 15 に示すように *n*-ブタノール・ギ酸・水では Rf 0.04 に、アンモニア飽和 *n*-ブタノールでは Rf 0.03 に単一スポットとして検出されたが、かなり大きいテーリングを生じ明白なスポットが認められない場合もあった。

TR と GO との反応は水溶液中でも起ることが推定されるので、着色度と還元力との時間的変化を求めた (Fig. 16)。TR 3.5 mg, GO 7.3 mg を水 80 ml に溶解して 80°C で加熱反応させ、一定時間毎に還元力 (AA 相当量) ならびに 530 nm での吸光度を求めた。その結果 TR と GO との反応において着色度の増加と還元力の低下とはほぼ比例関係にあることを認めた。もちろん TR 単独でも着色および還元力の減少が起るが、GO との反応によつてこの傾向は促進される。これに対して HA は水溶液中で TR と反応しにくいことが示唆されたが、比較のために同一条件 (終濃度 0.5 mM すなわち TR 3.5 mg, HA (塩酸

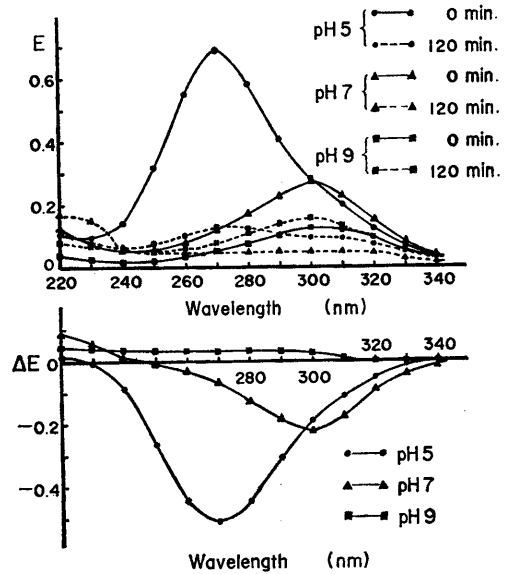


Fig. 12. Absorption spectrum and its variation of the reaction mixture of TR and GO at pH 5, 7 and 9. Assay was carried out as in Fig. 11, but in the reaction mixture adjusted its pH to 5, 7 or 9 with  $\text{CaCO}_3$ .

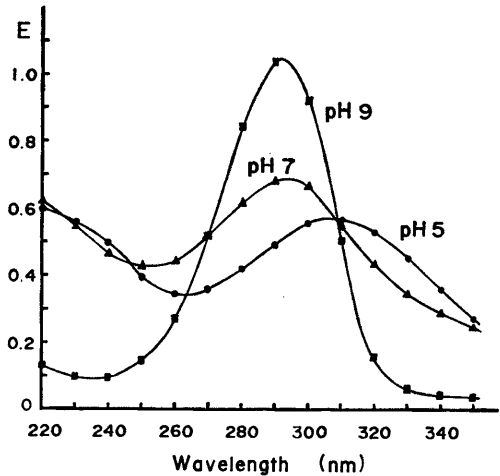


Fig. 13. Absorption spectrum of TR-GO formed at pH 5, 7 or 9. As in Fig. 12, TR-GO was prepared on the wall of the flask and the spectrum was estimated.

塩) 3.2 mg を溶解) での着色および還元力低下の時間的経過をみたところ、HA の場合には GO とは異なり少なくとも反応の促進は認められず、むしろ TR の変化を多少抑える傾向が観察された。

また TR とガラクトースオキシム (GaO) との反応も GO と同様に試験した。この場合にも反応開始

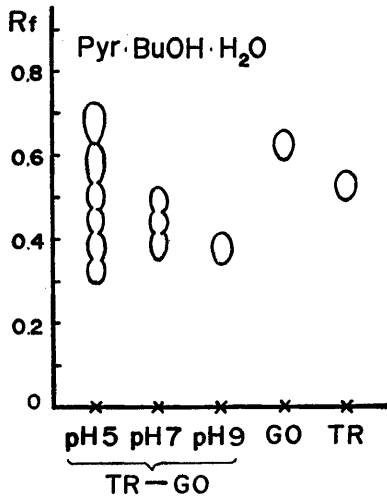


Fig. 14. Paper chromatogram of TR-GO formed at pH 5, 7 or 9. TR-GO was the same as in Fig. 13. GO was detected with  $\text{FeCl}_3$ .

後 5～6 分で淡褐色の生成物が器壁に付着し始め時間の経過とともに濃くなつたが、反応液はほとんど無色のままであつた。しかし水溶液は淡褐色を呈するだけで生成物の付着は起らなかつた。メタノール反応液の吸収スペクトルの変化を Fig. 17 に示すが、GO の場合に比較的類似した傾向が認められる。しかし GO では 230 nm に新しく極大を生じたのに対し、GaO では 260 nm 付近に極大、245 nm 付近に極小を持ち、しかも吸光度の増加は短波長程大きいことを認めた。

器壁に付着した生成物のペーパークロマトグラムを Fig. 18 に示す。GO との反応におけると同様に *n*-ブタノール・ギ酸・水では Rf 0.08 に単一スポットが検出されるが他の溶媒ではテーリングのほか特にピリジン・*n*-ブタノール・水で数個 (Rf 0.79, 0.67, 0.58, 0.50) のスポットに分離する。GaO (Rf 0.68) ないし TR (Rf 0.53) の夾雑を考慮しても生成物が若干の混合物であることを示唆している。

次に反応液の pH を 5, 7 および 9 に調整して 2 時間反応させたところ、GO と同じく反応は酸性において顕著であつて、生成物は酸性側におけるもの程褐色を呈した。Fig. 19 に反応前後の溶液の吸収スペクトルおよび吸光度の変化を示す。酸性では 270 nm 付近、中性では 270～300 nm、アルカリ性では 300 nm 付近を中心に吸光度は低下し、その変化は酸性側程大きい。

生成物は褐色を呈したが、中性およびアルカリ性では褐色のほかに灰白色のものも得られた。前者は水溶

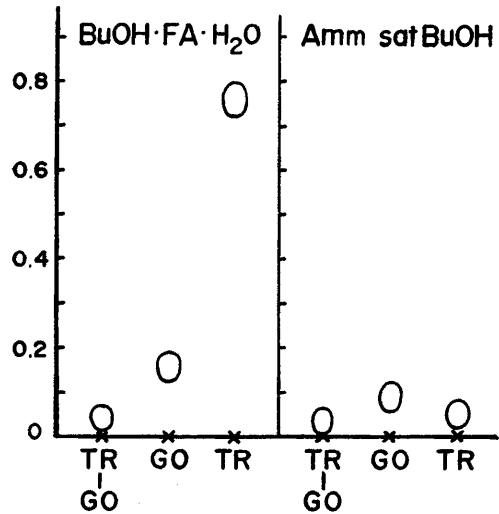
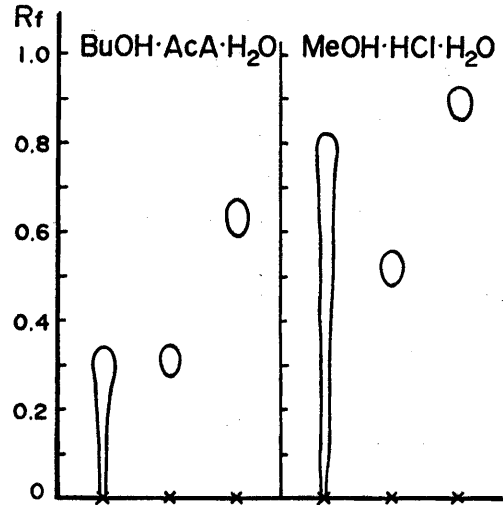


Fig. 15. Paper chromatogram of TR-GO formed at pH 5. Explanation is the same as in Fig. 14.

性であるが後者は水に溶けずギ酸に溶解した。Fig. 20 は pH 5, 7 および 9 での水溶性生成物の吸収スペクトルであるが、それぞれ 300 nm, 290 nm および 270 nm 付近に極大、250 nm, 250 nm および 240 nm 付近に極小が認められる。これに対してギ酸可溶性のものでは 260 nm 付近より短波長側にギ酸の吸収があるため正確な吸収スペクトルは測定されなかつたが、少くもこれより長波長側においては吸収極大は認められない。

これら TR と HA ないしオキシムとの反応に対する  $\text{Cu}^{2+}$  の影響は特に HA の場合に特異的であつた。

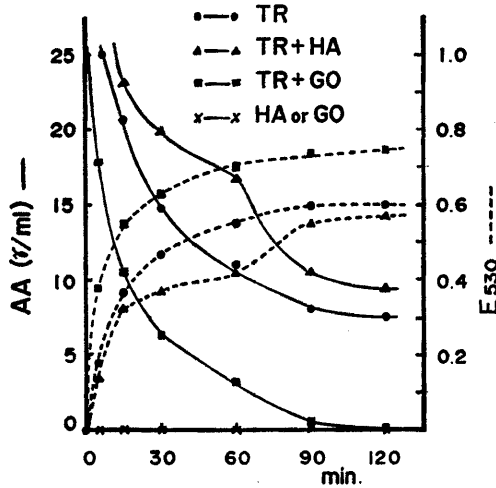


Fig. 16. Browning and reducing activity of the reaction mixture of TR with HA or GO. Reaction mixture: 3.5 mg TR and 3.2 mg HA·HCl in 80 ml H<sub>2</sub>O; 3.5 mg TR and 7.3 mg GO in 80 ml H<sub>2</sub>O. Reaction mixture was heated at 80°C. The reducing value of the reaction mixture was determined with Tillman's reagent and expressed with corresponding concentration of ascorbic acid. The browning of the reaction mixture was assayed by estimating the optical density at 530 nm.

すなわち TR 8.8 mg と HA (塩酸塩) 7.0 mg に硫酸銅 1.6 mg を加え 10 ml メタノール中で 2 時間加熱反応させたところ、2 時間後においても反応液は淡黄緑色を呈した。水の場合も同様であつてこの色は Cu<sup>2+</sup> のものと推定されるが、Cu<sup>2+</sup> を加えない場合メタノール中では褐色を呈し水溶液中では全く変化しなかつた。従つて TR と HA との反応の場合には、Cu<sup>2+</sup> はむしろ TR-HA の生成を妨害するのではないかと想像される。事実この反応液の吸収スペクトルを測定すると、Fig. 21 に示すように Cu<sup>2+</sup> が存在する場合反応前においても 270nm にある TR の吸収が消失している。これに対して GO ないし GaO では反応前では明らかに TR の吸収が認められる。従つて TR と HA とは Cu<sup>2+</sup> の共存下で特に瞬間的に反応するものと推定される。しかしこの場合 TR-HA を生ずるか否かは明らかでない。他方 TR とオキシムとの反応においては、これまでと同じく Cu<sup>2+</sup> により促進され生成物の色が濃くなる傾向は観察された。

こうして TR と HA ないしオキシムとの反応性は一応確かめられたが、pH あるいは Cu<sup>2+</sup> の共存により反応性はかなり異なることも推定されるので、この場

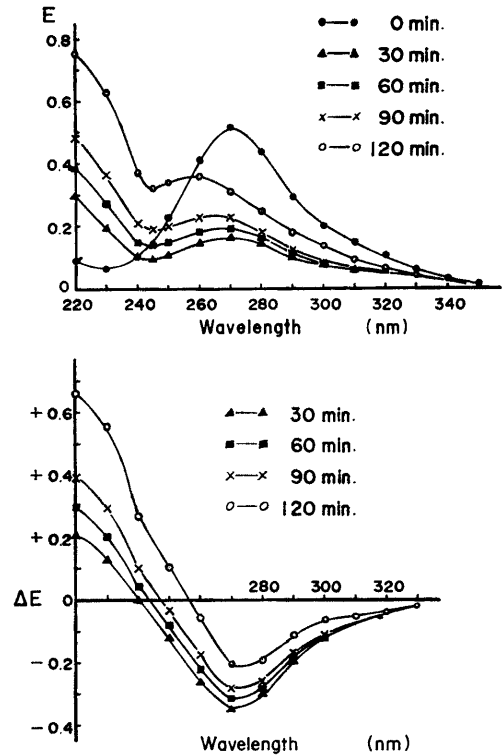


Fig. 17. Absorption spectrum and its variation of the reaction mixture of TR and galactose oxime (GaO). Assay was carried out as in Fig. 11, but with GaO instead of GO.

合も反応条件その他を詳細に検討することが必要である。特に 1 : 1 の比率で反応させたにも拘らず少くも数種の生成物が得られるように思われることは、レダクトンの化学にとつても興味ある問題を提示するものと考えられる。

##### 5. TR と尿素およびヒドロキシウレアとの反応

TR と芳香族アミンとの反応においては、それらが 1 : 1 または 1 : 2 の割合に縮合したモノアニルないしジアニルを生成するが、もし分子中に 2 個あるいはそれ以上の -NH<sub>2</sub> 基を含む場合同様に 1 : 1 または 1 : 2 縮合物だけを生成するか否かは疑問である。そこで分子中に 2 個の -NH<sub>2</sub> 基を含む尿素 (U) およびそれぞれ 1 個の -NH<sub>2</sub> 基および -NOH 基を持つヒドロキシウレア (HU) についても取り敢ず TR との反応性を試験した。

TR 8.8 mg と U 6.0 mg をメタノール 10 ml に溶かし加熱反応させたところ、僅かに灰白色物質が器壁に付着し反応液は淡黄色を帯びた。反応液の吸収ス

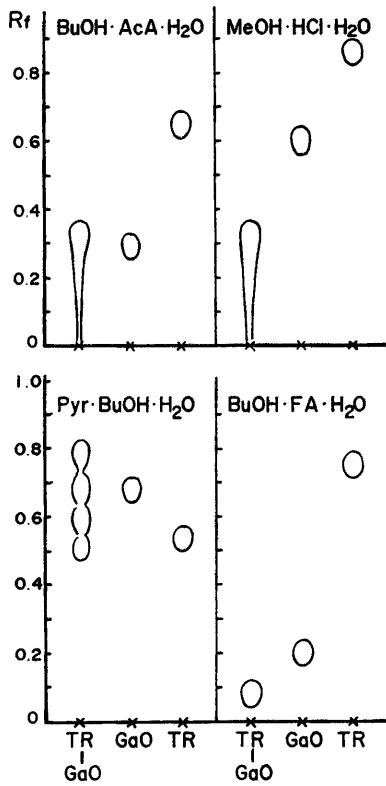


Fig. 18. Paper chromatogram of TR-GaO. TR-GaO was formed on the wall of the flask as in Fig. 17.

ペクトルの時間的経過を Fig. 22 に示すが、この場合にも常態通り、たとえばオキシムの場合と同じように 270 nm を中心に吸光度は低下し、一方 240 nm 付近より短波長域において吸光度は上昇した。

生成物についてメタノール・塩酸・水およびピリジン・*n*-ブタノール・水でペーパークロマトグラフィーを行なったが、Fig. 23 に示すように数種の生成物が混じていることが推定される。

また同じく pH 5, 7 および 9 での反応におけるスペクトルの変化を Fig. 24 に示す。酸性においてはこれまでと同様に 270 nm を中心に吸光度は低下するが、アルカリ性においてはかえって 300 nm を中心に上昇し、また中性ではスペクトルの変動はほとんど認められない。こうして TR と U との反応性も pH により異なることがうかがわれる。

さらに各 pH での生成物の吸収スペクトルを Fig. 25 に示す。pH 5 での生成物は 280 nm 付近、pH 7 では 290~300 nm、pH 9 では 290 nm 付近に吸収極大が認められた。生成物は精製していないので明らか

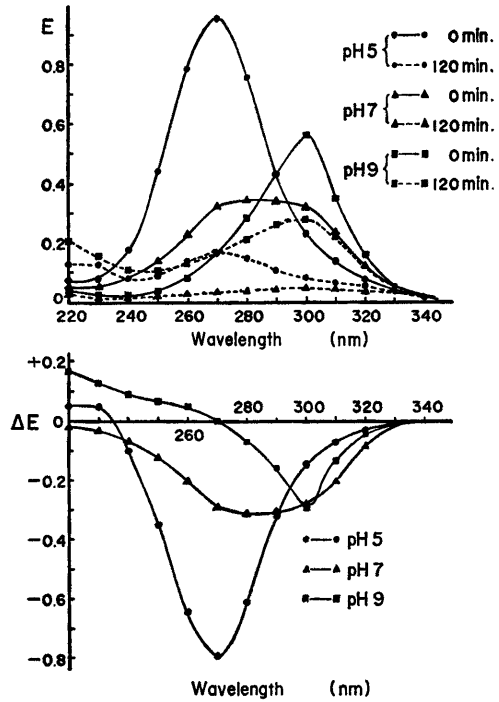


Fig. 19. Absorption spectrum and its variation of the reaction mixture of TR and GaO at pH 5, 7 and 9. Assay was carried out as in Fig. 12, but with GaO instead of GO.

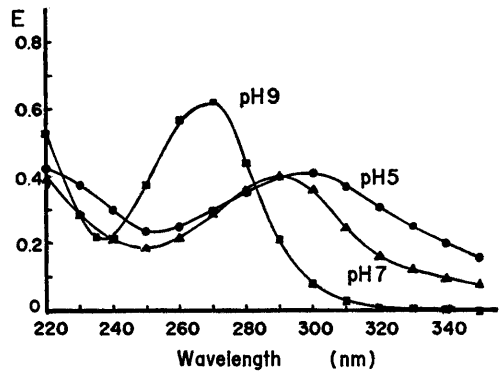


Fig. 20. Absorption spectrum of soluble TR-GaO formed at pH 5, 7 or 9. TR-GaO was prepared as in Fig. 19. Brown precipitate was formed at pH 5, 7 or 9. In addition, gray precipitate was also formed at pH 7 or 9. The brown preparation is soluble in H<sub>2</sub>O and the gray one is insoluble in H<sub>2</sub>O but soluble in formic acid. Absorption spectrum of the brown soluble TR-GaO was estimated.

ではないが、スペクトルには多少の相違はあると推定

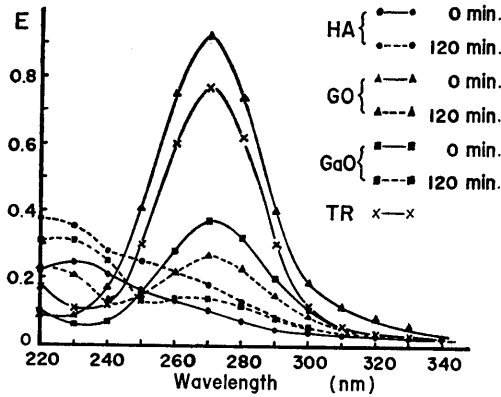


Fig. 21. Effect of  $\text{CuSO}_4$  on the reaction of TR with HA, GO or GaO. Assay was carried out as in Figs. 8, 11 or 17, but with 1.6 mg  $\text{CuSO}_4$ .

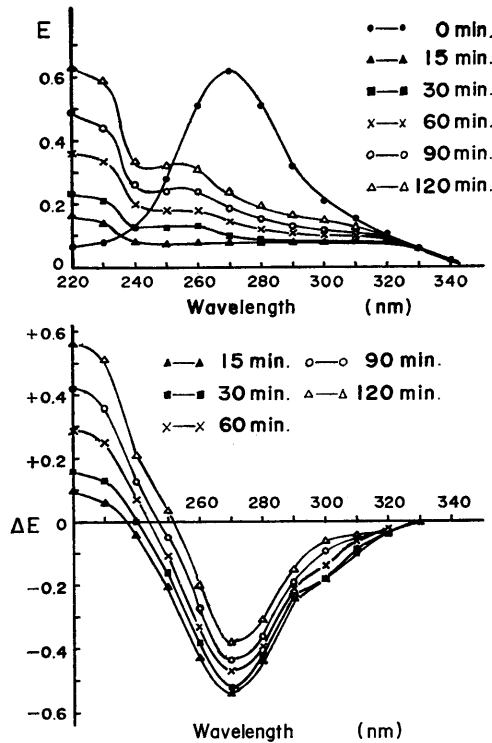


Fig. 22. Absorption spectrum and its variation of the reaction mixture of TR and urea (U). Reaction mixture: 8.8 mg TR and 6.0 mg U in 10 ml methanol. Assay was carried out as in Fig. 8.

される。

Uの代わりに HU 6.6 mg を用い、pH 4, 7および9で2時間反応させた。反応開始30分後には、酸性ではほとんど変化はないが中性およびアルカリ性では

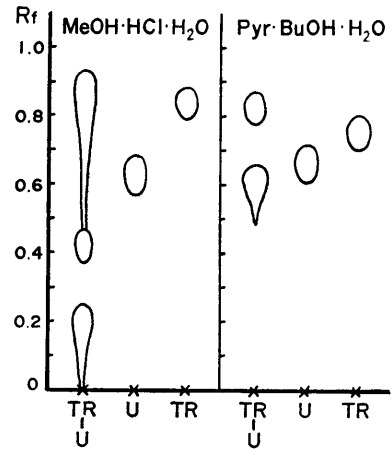


Fig. 23. Paper chromatogram of TR-U. TR-U was prepared as in Fig. 22. Paper chromatography was carried out as in Fig. 3, but U was detected with Ehrlich's reagent.

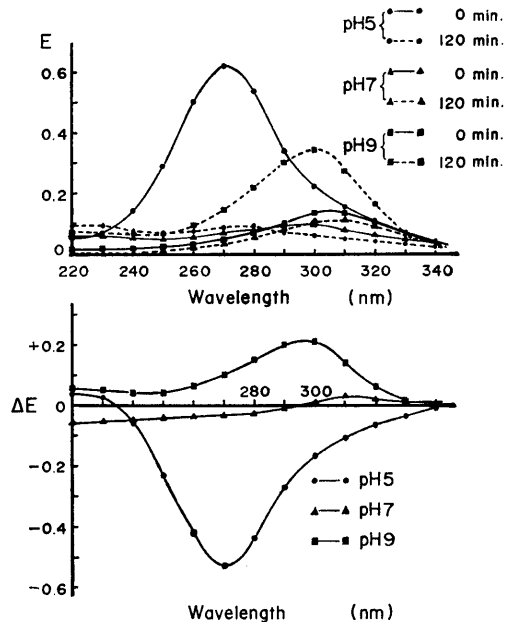


Fig. 24. Absorption spectrum and its variation of the reaction mixture of TR and U at pH 5, 7 and 9. Assay was carried out as in Fig. 23, but in the reaction mixture adjusted its pH to 5, 7 or 9 with  $\text{CaCO}_3$ .

淡黄色になった。2時間後には反応は若干進行し pH 4の反応液は淡黄色となり、pH 7および9では褐色の生成物が器壁に付着したが反応液は黄色であつた。しかし付着物の量は pH 9において7よりも多かつた。反応にともなう吸収スペクトルの変動を Fig. 26 に示すが、pH 4では 270~280 nm、pH 7および9では

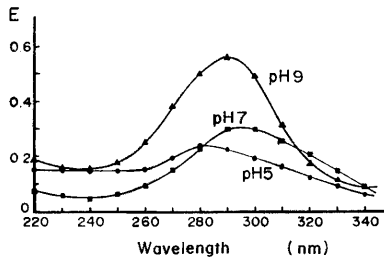


Fig. 25. Absorption spectrum of TR-U formed at pH 5, 7 or 9. TR-U was prepared as in Fig. 24.

300 nm 付近を中心に吸光度は低下している。その低下度は中性およびアルカリ性において酸性におけるよりも大きい、これは反応性に富むことを示すものである。しかし pH 4 では 225 nm 付近に吸光度の上昇が認められ、この反応は特異的なものであることが推定された。

二、三の溶媒による生成物のペーパークロマトグラ

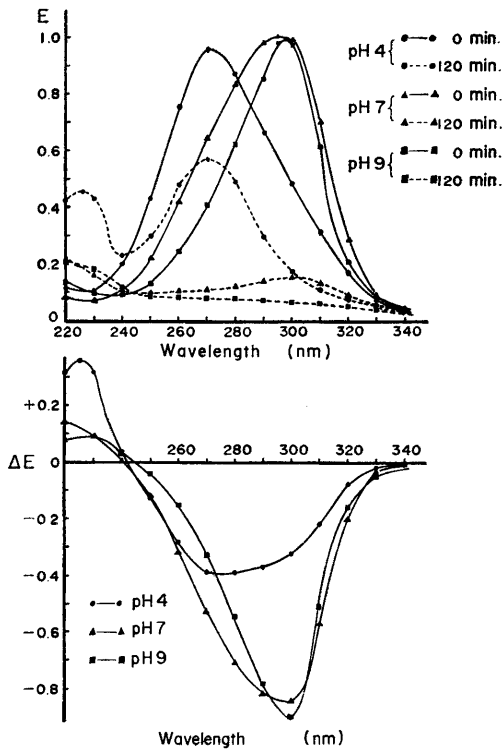


Fig. 26. Absorption spectrum and its variation of the reaction mixture of TR and hydroxyurea (HU) at pH 4, 7 and 9. Reaction mixture: 8.8 mg TR and 6.6 mg HU in 10 ml methanol. Assay was carried out as in Fig. 24.

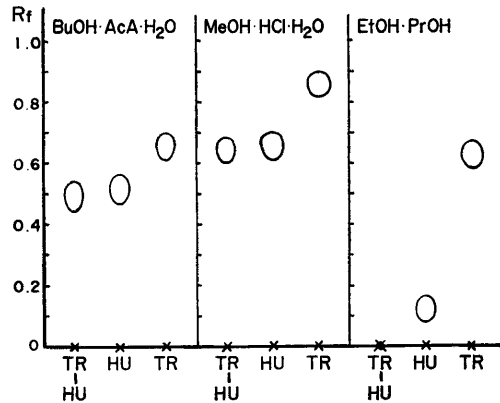


Fig. 27. Paper chromatogram of TR-HU. TR-HU was prepared as in Fig. 26 at pH 4. Paper chromatography was carried out as in Fig. 23.

ムを Fig. 27 に示す。n-ブタノール・酢酸・水およびメタノール・塩酸・水では生成物の Rf (0.49 または 0.64) と HU の Rf (0.51 または 0.65) とがほとんど同一であつて他の適切な溶媒を選択することが必要である。しかし HU は塩化鉄により紫色に呈色して検出されたが、生成物はこの試薬により発色せず紫外線照射により検出されるので、Rf はほとんど同一であつても識別される。またエタノール・プロパノールでは生成物の展開は認められなかつた。

こうして U ならびに HU についても TR との反応性が認められたが、さらに  $\text{Cu}^{2+}$  添加により他の含窒素化合物の場合と同様に反応が促進されることも観察された。

いずれにしても、これら種々の含窒素化合物が TR と反応することは吸収スペクトルの変動やペーパークロマトグラフィーから推定される。しかし反応生成物の分離確認、諸性質の解明などについては、さらに反応条件の検討、あるいはたとえば展開溶媒の改良などによつて進められなければならない。

## 総 括

トリオースレダクトンもアスコルビン酸と同様に酸性、とくにメタリン酸中で安定であることを確めた。

さらに種々の含窒素化合物、すなわち p-アミノサリチル酸、グアニン、アデニン、ヒドロキシルアミン、グルコースオキシム、ガラクトースオキシム、尿素およびヒドロキシウレアとの反応性を、主として吸収スペクトルの変化およびペーパークロマトグラフィーによつて試験した。その結果、反応条件については

なお検討すべき点を残してはいるが、少くも用いた含窒素化合物はトリオースレダクトンと反応し、とくに pH によりその反応は異なることを認めるとともに -NOH 基も反応し得ることを示した。

## 文 献

- Boyland, E. and G. Watson 1956 3-Hydroxy-anthranilic acid, a carcinogen produced by endogenous metabolism. *Nature*, **177**: 837-838
- 満田久輝・鹿田健彦 1957 インドフェノール・ブタノール溶液を用いるビタミンCの微量比色定量法. ビタミン, **13**: 394-401
- 野村男次 1958 ビタミンCの分解と食品の褐変化—特にオレンジジュースの褐変化. 化学の領域, **12**: 432-441
- 野村男次 1961 レダクトンに関する研究 (第3報) Triose Reductone と, 2, 3の芳香族アミンとの反応. 農化, **35**: 444-446
- 野村男次・足立達・山藤一雄・H. フォン・オイラー

- 1960 レダクトン化学の基礎とビタミンCの生化学的成果—食品学の新基礎—. 内田老鶴圃, 東京
- 野村男次・大村浩久 1969 レダクトンの化学. 内田老鶴圃新社, 東京
- 野村男次・三東崇昇 1964 レダクトンに関する研究 (第8報) トリオースレダクトンとスルホンアミドとの反応生成物. 農化, **38**: 306-308
- 大村浩久・塚本徹・篠原和毅・鳥巢隆雄 1970 緑藻の尿素脱水素酵素(VI)ヒドロキシウレアについて. 栄養と食糧, **23**: 344-350
- 大村浩久・内田泰・尊田民喜 1967 剥皮リンゴ切片の可視部における反射ならびに吸収スペクトル. 九大農学芸誌, **23**: 33-42
- Yamafuji, K. 1964 *Nutritional Factors in Virus Formation*. Crosby Lockwood & Son, London
- Yamafuji, K., H. Murakami and M. Shinozuka 1970 Antitumour Activity of Dopa, Dopamine, Noradrenalin or Adrenalin and their Reaction with Nucleic Acids. *Z. Krebsforsch.*, **73**: 195-203

## Summary

Triose reductone combines with amino compounds to form aminoreductones. In order to prepare them and to elucidate their function, reaction of triose reductone with several nitrogenous compounds was investigated.

At first, stability of triose reductone at various pH was examined and it was observed that, similar to ascorbic acid, triose reductone is also stable in acid media, especially in metaphosphoric acid.

Then, the reactions of triose reductone with *p*-aminosalicylic acid, guanine, adenine, hydroxylamine, glucose oxime, galactose oxime, urea and hydroxyurea were investigated. Through the determination of the absorption spectrum and its variation of the reaction mixture and the paper chromatography of the product, the reaction of triose reductone with them was established. In addition, it was indicated that the reaction is dependent on pH, although the condition should be examined in detail, and that some compounds containing NOH group can combine with triose reductone.