



麴酸誘導体の研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2009-08-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 櫛本, 五男 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24729/00009472

麴酸誘導体の研究

櫟 本 五 男

Studies on Kojic Acid Derivatives

By

Itsuo ICHIMOTO

Department of Agricultural Chemistry, Lab. Chemistry of Natural Products

Kojic acid (5-hydroxy-2-hydroxymethyl- γ -pyrone) can be produced in good yield from a wide range of carbon sources by the action of a variety of microorganisms. The acid was first isolated by Saito in 1907 and the chemical structure was defined by Yabuta in 1924. Since then, numerous publications of kojic acid have dealt with its chemical and biological properties. Kojic acid is now available from various carbon sources (glucose, sucrose, etc.) in technical grades by the action of *Aspergillus flavus-oryzae*.

All of the known derivatives of kojic acid were practically prepared either by reactions involving its hydroxyl groups, or by the replacement of the ring oxygen atom with the nitrogen of ammonia or amines to give γ -pyridones. However, the characteristic chemical properties of kojic acid and its related compounds (comenic acid, pyromeconic acid, allo-maltol, maltol, etc.) have not yet been thoroughly established. The industrial application of kojic acid derivatives has not also been exploited.

In the present paper, the author deals with the experimental results and discussions to establish the characteristic chemical properties of kojic acid and its related compounds, and also describes the exploitation of physiologically available substances.

Chapter 1 Syntheses of Maltol and Ethyl-maltol from Kojic Acid

Maltol (3-hydroxy-2-methyl- γ -pyrone) and ethyl-maltol (3-hydroxy-2-ethyl- γ -pyrone) are useful for improving the flavors of various food products and as ingredient of perfumes and flavors. In this chapter, an excellent synthetic method of maltol homologue from kojic acid has been established.

§1 The Alkylation of Kojic Acid and its Related Compounds through their Mannich Base. The Mannich reaction of kojic acid in both basic and acidic media was studied. Mono-Mannich derivatives (substitution at position 6) were obtained; the reactivity in basic medium was found to be considerably greater than in acidic medium. This activity of the 6-position may depend on the existence of the two limiting resonance structures of kojiate anion. Reduction of the Mannich derivatives with zinc dust and acetic acid gave 6-methyl kojic acid. Mono-Mannich derivatives of comenic acid and pyromeconic acid were also prepared in the manner similar to that of kojic acid. Reduction of these Mannich derivatives with zinc dust and acetic acid afforded 6-methyl comenic acid and maltol, respectively.

§2 The alkylation of Kojic Acid and its Related Compounds through their Hydroxyalkylation. Hydroxymethylations of kojic acid, comenic acid and pyromeconic acid with formaldehyde in basic medium yielded the corresponding

methylol derivatives which were reduced with stannous chloride and hydrochloric acid to give 6-methyl kojic acid, 6-methyl comenic acid and maltol in good yields, respectively. Similarly, hydroxyethylation of comenic acid and pyromeconic acid with acetaldehyde gave the corresponding α -hydroxyethyl derivatives followed by reduction to afford 6-ethyl comenic acid and ethyl-maltol, respectively. The hydroxyalkylation appears to involve the reaction of a kojiate anion with the aldehyde by an $S_N 2$ mechanism.

§3 Selective Oxidation of Hydroxymethyl group of Kojic Acid (Synthesis of Comenic Acid from Kojic Acid). Selective oxidation of hydroxymethyl group at 2 position of kojic acid has been extensively studied.

I. Microbial Oxidation: Benzyl or methyl ether of kojic acid was found to be easily oxidized to corresponding comenic acid ether by *Arthrobacter ureafaciens* K-1 in submerged culture. By the addition of kojic acid ether (0.5%) to the growing culture which had been pre-incubated for 1 day, comenic acid ether was accumulated almost quantitatively in 4-6 days. With jar fermentors, higher accumulation of comenic acid ether was observed than with shakeflasks. Maximal yields of comenic acid ether (96%) were realized in 3 days in a jar fermentor, suggesting that mass production of comenic acid ether by submerged culture is possible.

II. Chemical Oxidation: Nickel peroxide and active manganese dioxide were shown to be useful oxidizing agents for the hydroxymethyl group in kojic acid benzyl ether. The oxidation of kojic acid benzyl ether with these oxidizing agents in an aqueous basic solution afforded the corresponding comenic acid ether in good yield (about, 90%). The best yields of comenic acid benzyl ether were resulted from the use of following conditions: pH, 12; reaction temperature, 40~60°C. The oxidation with nickel peroxide can advantageously be completed in a short (0.5~1.0 hr) with two equivalent amounts of the available oxygen in oxidizing agent. However, the completion of the oxidation with manganese dioxide required both a large excess amounts of oxidizing agent and a long time of more than two hours. Moreover, nickel peroxide recovered after oxidation can be readily renewed and repeatedly employed.

III. Hydrogenolysis of Comenic Acid Benzyl Ether: The hydrogenolysis of comenic acid benzyl ether over colloidal-Pd, Pd-BaSO₄ or Raney nickel gave comenic acid in good yield.

§4 Syntheses of Maltol Homologue from Kojic Acid (Decarboxylation of 6-Alkyl Comenic Acid). 6-Alkyl comenic acids were decarboxylated with copper powder or KC-400 (tetrachloro-diphenyl) to afford the corresponding maltol and ethyl-maltol in pure state, respectively.

It may be concluded from the results described above that the commercial production of maltol homologue from kojic acid is accomplished.

Chapter 2 Syntheses of Pyridazine and Pyrazole Derivatives from Kojic Acid and its Related Compounds

Interest in physiological activity of N-heterocyclic compounds such as pyridazine, pyrazole and pyridone derivatives has led to the suggestion of their synthetic derivatives from kojic acid and its related compounds.

§1 The Oxygen Exchange Reaction of Kojic Acid and its Related Compounds with ¹⁸O-Enriched Water. In order to examine on the attacking site of nucleophile toward kojic acid and its related compounds, the oxygen exchange reactions using ¹⁸O as a tracer were studied. The exchange reactions of kojic acid and γ -pyrone were carried out in aqueous neutral, acidic and basic solutions. The incorporation of ¹⁸O in kojic acid is similar to that of γ -pyrone and the incorporation

into the ring oxygen was observed. The exchange reactions of eight kinds of kojic acid derivatives and its related compounds also proceed in the basic medium. The results obtained show that the ring opening is sensitive to the position and nature of a substituent on the γ -pyrone ring. A compounds, having an electron-withdrawing group at the 2- or 6-position of the γ -pyrone ring incorporated more ^{18}O than a compound having an electron-releasing group. The mechanism of oxygen exchange reaction (attacking with hydroxide anion) is discussed together with resonance effect of kojiate anion.

§2 Reactions of Kojic Acid and its Related γ -Pyrone with Hydrazines.

The reactions of kojic acid and its related γ -pyrones with anhydrous hydrazine or phenylhydrazine have been investigated. Kojic acid and hydrazine gave 3,6-dihydroxymethyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine and 3-hydroxymethyl-pyrazolyl-(5)-glycoloyl-hydrazone, in 65% and 21% yields, respectively. The same reaction occurred in the case of allo-maltol and pyromeconic acid and gave the analogous results. On the other hand, 5-methoxykojic acid was allowed to react with hydrazine and afforded 1-amino-2-hydroxymethyl-5-methoxy- γ -pyridone and α [3-hydroxymethyl-pyrazolyl-(5)]- α -methoxy-acetaldehyde-hydrazone, respectively. The reaction of kojic acid with phenylhydrazine gave four kinds of 1-phenylpyrazole derivatives. The structural elucidation of these products could be fully substantiated by chemical evidences and spectroscopic data. The mechanisms for the reactions are also discussed.

目 次

緒 言	213
第1章 麴酸を中心とした 3(or5)-OH- γ -Pyrone 化合物の反応性とマルトール および同族体の合成	216
第1節 麴酸を中心とした 3(or5)-OH- γ -Pyrone 化合物の Mannich 反応	216
第2節 麴酸を中心とした 3(or5)-OH- γ -Pyrone 化合物のヒドロキシアルキ ル化	220
第3節 麴酸の側鎖の選択的麴化	224
第4節 麴酸よりマルトールおよび同族体の合成	234
第5節 ま と め	235
第6節 実 験 の 部	236
第2章 麴酸を中心とした 3(or5)-OH- γ -Pyrone 化合物よりピリダジン系およ びピラゾール系化合物の合成	241
第1節 重酸素重水 ($H_2^{18}O$) による酸素交換反応	241
第2節 麴酸を中心とした 3(or5)-OH- γ -Pyrone 化合物とヒドラジン類の反 応生成物	245
第3節 ま と め	257
第4節 実 験 の 部	258
第3章 総 括 と 結 論	263
謝 辞	265
文 献	265

緒 言

本研究は微生物の作用により安価に生産される麴酸 (5-hydroxy-2-hydroxymethyl- γ -pyrone)^{1,2)} の工業的用途を開発する目的で、生物活性的に有効な化合物の合成を中心として行なったものである。

γ -ピロン化合物はカルボニル基を有するにもかかわらずヒドラゾンやオキシムを生成せず、また二重結合を有するにもかかわらず付加反応を起さず、ニトロ化、ハロゲン化等の置換反応において典型的な芳香性を示す³⁾。このような芳香性は γ -ピロンの二重結合、環酸素原子、カルボニル基の π 軌道の over lap に基づく電子の非局在化により共鳴混成体として安定化しているためと推定され (Fig. 1)、このことは双極子能率、赤外吸収スペクトル、紫外吸収スペクトル等の物理的データにより証明されている⁴⁾⁻¹³⁾。

最近 Zahradnik¹⁴⁻¹⁶⁾ は分子軌道法より想定した γ -ピロンの反応の中心位置は Fig. 2 に示す如く実際の実験結果と一致することを明らかにし、その芳香性を証明している。このように γ -ピロン化合物は化学的にも興味ある反応性を有する pseudo aromatic 化合物である。

麴酸のような 3 (or 5)-OH- γ -pyrone は γ -カルボニル基に隣接した OH 基のために上記の如き概念では律しきれない種々の特異的反応性を示す。このことについて著者は電子のおよび量子化学的な見地より下図に示すように推定した (Fig. 3)。すなわち、5~6 位間の結合次数が比較的大きいにもかかわらず、この

両位置には π -電子密度の極大が存在しないので親電子の置換は電子密度の大きい 2 位 (OH 基オルト位) におこり、他方求核的な試薬との反応は電子密度の小さい 6 位におこるものと考えた。

以下第 1 章、第 2 章に述べる親電子および求核試薬との反応はすべて矛盾なくこの概念を立証した。

天然物としての γ -ピロン化合物は麴酸¹⁷⁻¹⁹⁾の外に数種の 3 (or 5)-OH- γ -pyrone 化合物 [(メコン酸 (III)²⁰⁻²²⁾, コメン酸 (IV)²³⁻²⁵⁾, ピロメコン酸 (V)^{26,27)}, マルトール (VI)²⁸⁻³²⁾] およびケリドン酸 (I)³³⁻³⁸⁾等がよく知られている (Fig. 4)。

麴酸 (II) は 1907 年齊藤¹⁷⁾により、米麴から分離され、藪田¹⁸⁾により麴酸と命名され、1924 年にその構造が 5-hydroxy-2-hydroxymethyl- γ -pyrone であることが決定された¹⁹⁾。次いで Maurer がグルコースよりの化学的合成に成功した³⁹⁾。それ以後麴酸の生合成機構^{40,41)}、あるいは化学的、生物学的性質について多数の研究が行なわれてきた¹⁾。現在では *Asp. flavoryzae* 群のカビを用いて各種炭水化物から適当な培養条件下で高収率で生成される普遍的な代謝産物として工業的生産も可能である²⁾。しかしながら麴酸の利用としては数種の麴酸誘導体が殺菌、殺虫剤として有効であることが報告されているに過ぎない。たとえば 2 価の重金属のキレート化合物 (VII) の植物病原菌に対する効力⁴²⁾、有機リン酸エステル (VIII, XI) の black fly に対する殺虫性⁴³⁾、チオウレア誘導体 (X) の抗菌性⁴⁴⁾ およびクロル麴酸の第 4 級アンモニウム塩 (XI) の抗菌性⁴⁵⁾等の報告があるのみで (Fig. 5)、殆んど未

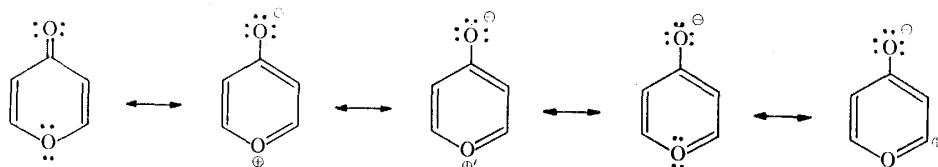


Fig. 1.

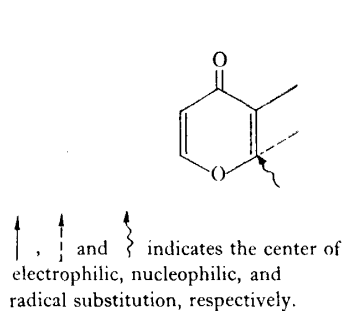


Fig. 2.

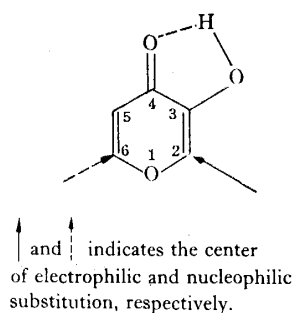


Fig. 3.

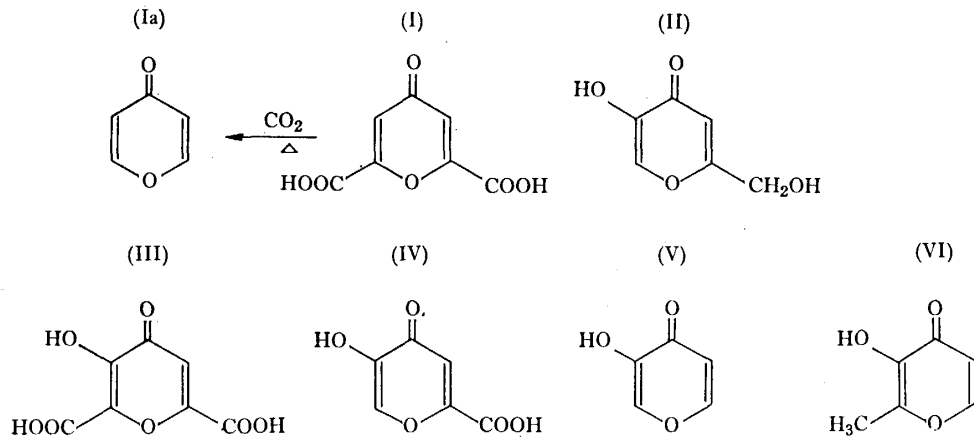


Fig. 4.

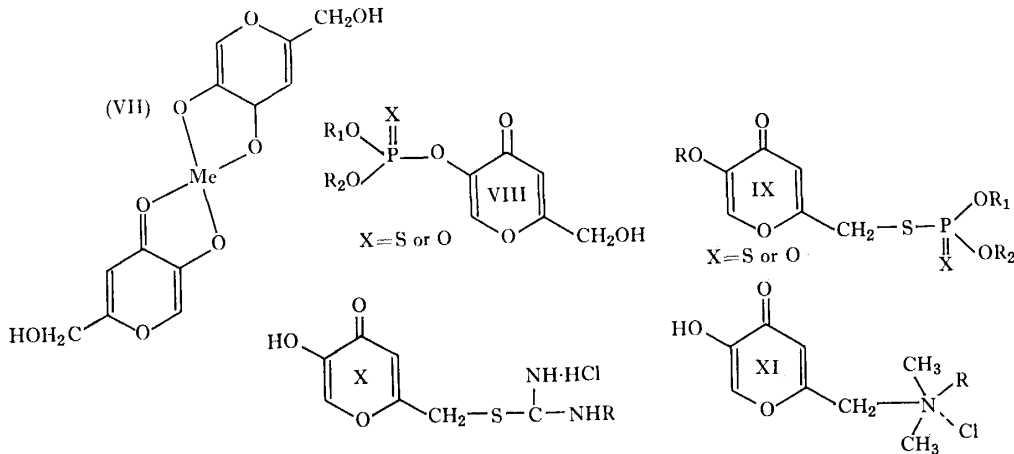


Fig. 5.

開発のまま現在に到っている。

最近、麴酸と同じ 3 (or 5)-OH- γ -pyrone 環をもつマルトールおよびその同族体のエチルマルトール (XIII) は新しいスタイルの食品香味改良剤^{46)~48)}として広く利用されるようになりその需用が世界的に増加したので経済的な合成法の確立が望まれている。

著者は麴酸の工業的利用の一つとして類似構造を有するこれらマルトール同族体の合成を試みた。

まず麴酸を中心にマルトール合成の中間物質と見られるコメン酸 (IV), ピロメコン酸 (V) の如き 3 (or 5)-OH- γ -pyrone の OH 基オルト位へ選択的にアルキル基を導入する手段として次の如き効率的な方法を見出した^{49)~51)}。

“塩基性条件下の Mannich 反応およびアルデヒドとの反応によるヒドロキシアルキル誘導体の合成, これら誘導体の亜鉛-氷酢酸および塩化第一錫-塩酸還元によるアルキル誘導体の合成”

麴酸の 2 位の CH_2OH 基の脱離を目的として, COOH 基への選択的酸化を試みた結果, 5 位の OH 基をベンジル基で保護して: “微生物的酸化^{52)~54)}—麴酸分解菌 (*Arthrobaacter* 属菌種) 使用” または “化学的酸化⁵⁵⁾—過酸化ニッケル, 活性二酸化マンガン使用” により殆んど定量的に COOH 基に酸化できた。得られたコメン酸のベンジルエーテルは加水素分解により収率よくコメン酸を与えた。コメン酸 (IV), 6-アルキルコメン酸 (XII) の脱炭酸反応は熱溶媒中加での加熱によりその目的を達した⁵⁰⁾。

以上, OH 基オルト位のアルキル化, 側鎖 CH_2OH 基の選択的酸化および脱炭酸反応を組合せることにより, 麴酸よりマルトール同族体の工業的新合成法を確立した。

他方, 麴酸の今一つの利用面は含窒素複素環化合物の合成である。1954 年に Jones⁵⁶⁾ が histamine の類似モデル化合物として 3- β -アミノエチル-ピラゾ-

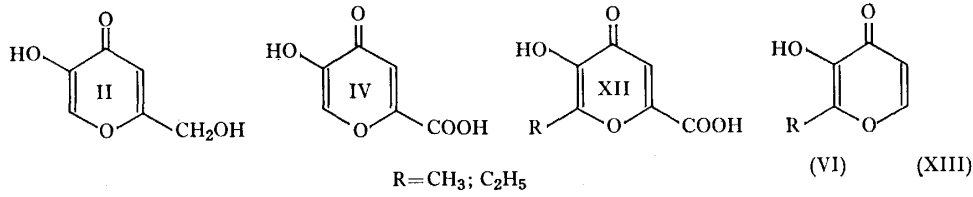


Fig. 6.

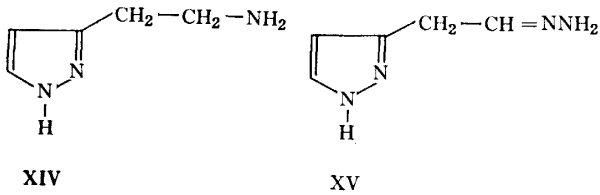


Fig. 7.

ル (XIV) を合成する目的で γ -ピロン (Ia) にヒドラジンを作用させてピラゾール誘導体 (XV) を得ているので、この種の反応は麴酸の如き 3 (or 5)-OH- γ -pyrone にも十分に期待され、麴酸の場合はフェノール性 OH 基の存在によりピラゾール誘導体の外、 γ -ピリドン、ピリタジン誘導体の生成も考えられる。

一般にピラゾール⁵⁷⁾およびピリダジン誘導体^{58), 59)}にはすぐれた薬理作用を示すものが多く殺菌剤、殺虫剤、殺草剤のほか、鎮静剤等の医薬として実用化されているものが多い。

もし麴酸をはじめとする 3 (or 5)-OH- γ -pyrone にヒドラジン類を作用させて上記の如き含窒素化合物が得られるならば生物活性的に見ても甚だ興味あること

である。

著者はヒドラジンとの反応を試みるにあたり、まず求核試薬との反応性を解明するために、重酸素重水 (H_2^{18}O) を用いて麴酸および類縁化合物に対する OH^- の攻撃位置およびその後の挙動について比較検討した^{60, 61)} 麴酸をはじめ 3 (or 5)-OH- γ -pyrone に対する OH^- の求核的攻撃は OH 基のオルト (6 位) またはパラ位 (2 位) におこりついでピロン環が開環することが明らかとなった。

一般に 3 (or 5)-OH- γ -pyrone に対する求核試薬の攻撃は OH 基オルト位の電子的性質により大きな影響をうけ、電子吸引性の基が存在すれば求核試薬の付加が容易で開環しやすく、反対に電子供与性の基が存在すると求核試薬の付加がおさえられ、開環しにくくなる。

以上の実験的知見にもとづいて麴酸を初め数種の 3 (or 5)-OH- γ -pyrone 化合物にヒドラジン類を作用させて目的とする含窒素化合物の合成を試みた。

麴酸を始め OH 基オルト位に置換基のない化合物は OH 基パラ位に直接ヒドラジンが求核的に攻撃し最終

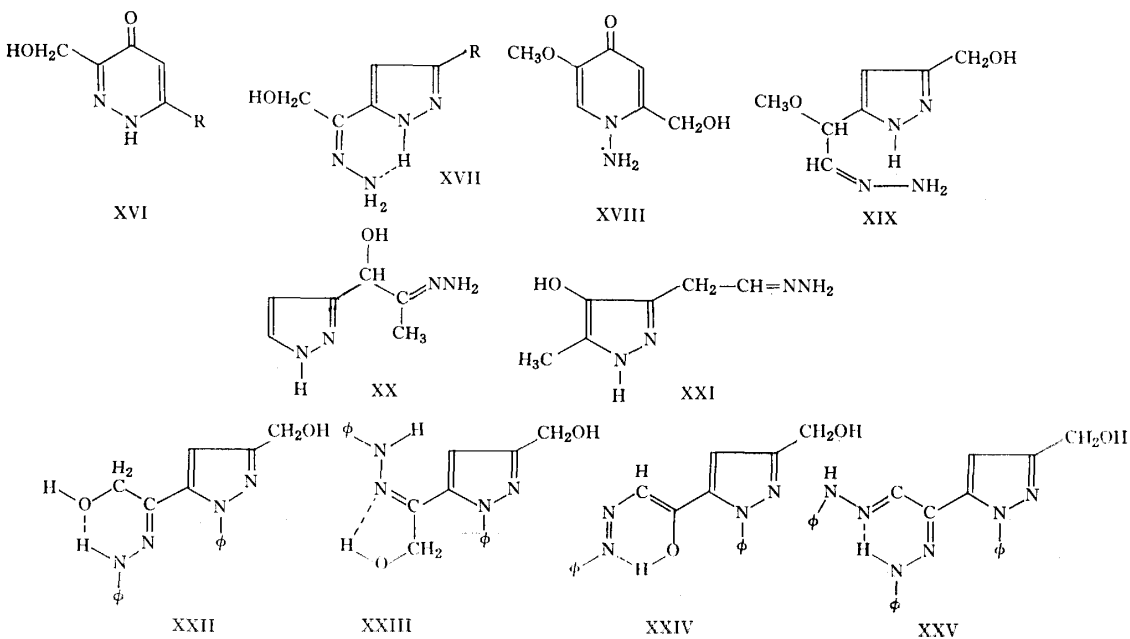


Fig. 8.

生成物として 4-オキソ-1,4-ジヒドロピリダジン (XVI) およびピラゾール誘導体 (XVII) を与えた. 5-メトキシ麴酸は 1-アミノ- γ -ピリドン (XVIII) およびピラゾール誘導体 (XIX) を与えた⁶²⁾.

マルトールに対しては γ -ピロン環の 2 位および 6 位の両方よりヒドラジンが求核的付加をして 2 種類のピラゾール誘導体 (XX, XXI) を生成した⁶³⁾.

さらに麴酸にフェニルヒドラジンを作用させると (XXII, XXIII, XXIV, XXV) の 4 種の 1-フェニルピラゾール誘導体が得られる⁶³⁾.

これらの物質はすべて文献未記載の新物質であってその構造を物理的, 化学的に解析しその生成機構を考察した. 生理活性については現在検討中であるが, 疫癩およびボトリチス病に対して効果のあるものが若干見出されている⁶⁴⁾.

第 1 章 麴酸を中心とした 3(or5)-OH- γ -Pyrone 化合物の反応性とマルトールおよび同族体の合成

マルトールは 1894 年に malt coffee 製造の際生ずる燻煙重合物中³⁰⁾から見出されたやわらかい特異な芳香を有する化合物で, 醤油の香气成分としても分離されている^{31), 32)}. 1945 年には Schenk ら⁶⁵⁾がストレプトマイシンのアルカリ分解生成物としてマルトールを得ている. 次に 1947 年に Spielman らにより初めてピロメコン酸よりマルトールが化学的に合成され, その構造が 3-hydroxy-2-methyl- γ -pyrone であることが確立された⁶⁶⁾.

マルトールはその芳香が種々の食品の風味, 特に香りの改良のために有効であり, 調合香料への配合または食品への直接添加が行なわれ, 新しいスタイルの食品添加物として広く利用されるようになってきた^{46), 47)}. さらにごく最近にいたり, マルトールの同族体であるエチルマルトール⁴⁸⁾がマルトールよりも良質な芳香性をもち効果も大であることが判明し, マルトールと共に注目されている. これまでマルトールは天然物として木材の乾留により製造, 供給されていたが, エチルマルトールも含めてその需要度の増加にともない経済的な合成法の確立が期待されている.

マルトールおよびその同族体合成における最も重要な点は母核である OH- γ -pyrone 環をできるだけ簡単な工程で製造することにある. 麴酸はその構造の類似性および麴菌の醗酵生産物として安価に製造されることよりマルトール同族体の合成原料に最適であると考

えられる.

著者は麴酸の特異的な物理化学的性質を利用して麴酸よりマルトール同族体の合成を試みた結果, 有機合成法と醗酵法の併用によって簡単に収量よく製造できる新方法を確立した.

第 1 節 麴酸を中心とした 3(or5)-OH- γ -Pyrone 化合物の Mannich 反応

マルトールおよび同族体合成工程において, OH- γ -pyrone 環の OH 基オルト位への選択的なアルキル基導入は不可欠の手段である故に, 麴酸 (1) を中心に類似 OH- γ -pyrone 化合物, 特にマルトールと同じ母核を有するコメン酸 (2), ピロメコン酸 (3) の Mannich 反応について検討を試みた.

フェノール類⁶⁷⁾, オキシピリジン類⁶⁸⁾はアミンおよびホルムアルデヒドと反応し, OH 基のオルト位がアミノアルキル化されて次の如くに Mannich 塩基を生成する.

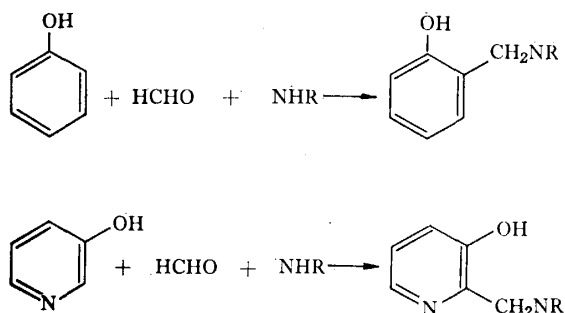


Fig. 9.

麴酸 (1) を始め各種 OH- γ -pyrone も 3 位あるいは 5 位にフェノール性の OH 基を有しているので Mannich 反応により相当するアミノアルキル誘導体の生成が期待される. 麴酸 (1) の Mannich 反応は最初 Woods⁶⁹⁾ により試みられ, 酸性溶液中でホルム

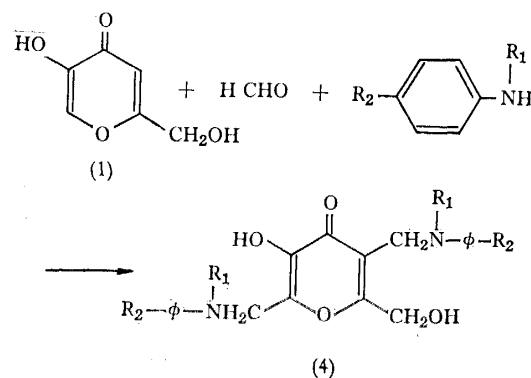


Fig. 10.

アルデヒドおよびアニリン、*p*-トルイジン等の芳香族アミン類を作用させ、Fig. 10 に示す如き推定構造式(4)の Mannich 塩基が得られたと報告しているが、此の構造は OH- γ -pyrone の反応性から考慮すれば誤りではないかと考えられる。

著者⁷⁰⁾および Krimmel^{44b,c)} はアルキルアミン類とホルムアルデヒドを酸性条件で麴酸(1)と反応させることにより、第2級アミンの場合はモノ Mannich 誘導体(5)を生成し、第1級アミンとの反応においては2分子の麴酸(1)が N-alkylamine と縮合した化合物(6)が得られ、その構造をそれぞれ次式の如く推定した(Fig. 11)。

他方、Brien⁷¹⁾ はアミンとホルムアルデヒドをエタノール中で麴酸(1)に作用させると容易にモノ Mannich 誘導体(5)を生成することを報告している。

しかしながら以上得られた麴酸(1)の Mannich 反応においては主生成物が単離されただけであり、誘

導体の化学構造は直接的に証明されておらず、かつその他の副反応の考慮もなされていないので反応機構にも不明な点が多く残されている。

著者は麴酸(1)およびコメン酸(2)、ピロメコン酸(3)のフェノール性 OH 基オルト位の容易なアルキル化を確立する一手段として Mannich 反応について詳細な考察を試みた。

麴酸(1)、コメン酸(2)およびピロメコン酸(3)の如き OH 基のオルト位に置換基のない γ -pyrone は OH 基の phenolic-function によって塩基性条件下では次の如き共鳴混成体(A, B)の寄与により OH 基オルト位が親電子試薬との反応の中心点と考えられる(Fig. 12)。

もしこの考えが OH- γ -pyrone の Mannich 反応に適用されると、塩基性溶液中ではアミノメチロール(R-N-CH₂OH)とアニオン(B)との反応が酸性溶液中よりもはるかに速く進行し、Mannich 誘導体(b)

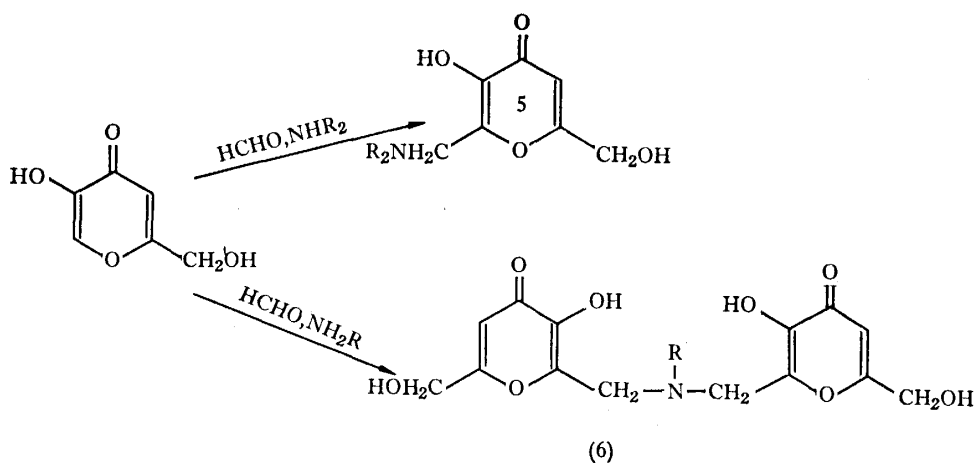


Fig. 11.

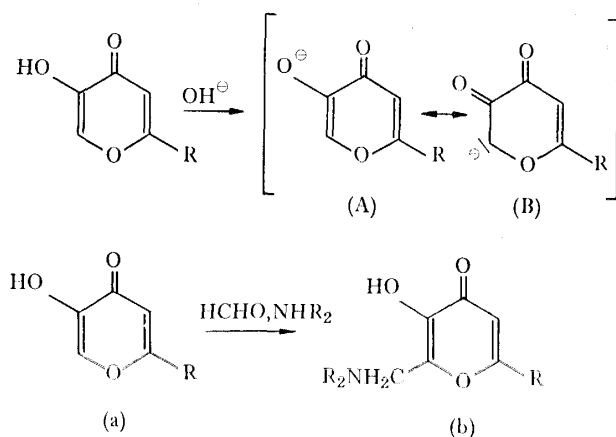


Fig. 12.

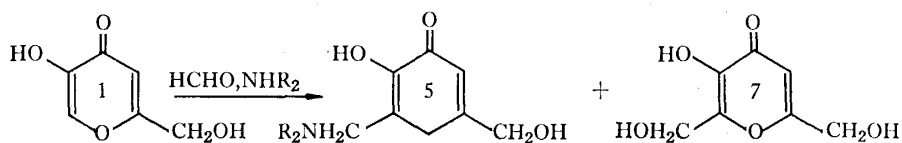


Fig. 13.

を生成するものと推定される。

これらの点を明らかにすると同時に、高収量でモノ Mannich 誘導体 (b) を得るために特に麴酸(1)を中心として塩基性、酸性両溶液中で、Mannich 反応を行ない、反応生成物、反応速度を比較検討した結果、いずれの場合も生成物としてモノ Mannich 誘導体 (5) が得られ (収量 80%), 他に過剰のホルムアルデヒドの存在により微量の 6-ヒドロキシメチル麴酸 (7) の生成も認められた。反応速度は低温にもかかわらず塩基性条件の方がはるかに速かった。なお反応生成物の確認および反応の進行はペーパークロマトグラフィーにより経時的に追跡した。

I) 酸性溶液中の反応 (使用したアミン: ジメチルアミン, モルホリン)

pH 1.0, 2.0, 4.0 (塩酸酸性) においては 30°C 以下の室温では殆んど反応せず、反応液を 70°C 以上に加熱することにより反応はゆるやかに進行した。pH 4.5 においては 2.5 時間、pH 2.0 においては約 6 時間の加熱攪拌によりほぼ反応は完結した。pH 1.0 の場合 8 時間加熱を続けても尚未反応の麴酸 (1) が存在した。中性附近 (pH 6.8) においては室温 (25~30°C) にて 1 時間以内で反応は完結した。

II) 塩基性溶液中の反応

麴酸 (1) を等モルの遊離のアミンおよびホルムアルデヒドの混合水溶液に加え (pH 8.0) 攪拌すれば瞬間的に反応して定量的に Mannich 塩基 (5) を生成

することが見出された。さらに NaOH 水溶液により pH を上昇させても同様の結果が得られた。Mannich 塩基は塩酸塩として単離した (収量 80~85%)。

III) 麴酸の Mannich 誘導体 (5) の構造

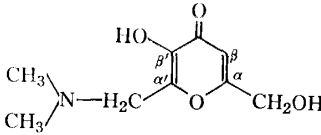
塩基性、酸性両溶液中で生成した Mannich 塩基は赤外吸収スペクトルより同一化合物であり、元素分析の結果から 1 個の R_2NCH_2 -基がピロン核に置換導入されていることが確認され、紫外吸収スペクトルにおける λ_{max} 274~5 m μ は麴酸 (1) の λ_{max} 269 m μ よりも 5~6 m μ 深色部へシフトしており、-OH 基のオルト位に置換基の導入を示している。

以上より麴酸の Mannich 誘導体 (5) の構造として (5) を提示することができる。構造 (5) は Table 1 に示す麴酸 (1) とジメチルアミンとの Mannich 誘導体 (5) の NMR スペクトルの比較検討、および (5) の還元による 6-メチル麴酸 (8) の合成により確認された。

IV) Mannich 反応の機構について

以上得られた生成物の構造、反応速度より、さらに 6-ヒドロキシメチル麴酸 (7) とアミンとは殆んど反応せず、OH 基を CH_3 で保護した麴酸メチルエーテル (9) もホルムアルデヒド、アミンと反応しない事実より 3 (or 5)-OH- γ -pyrone の Mannich 反応に対し次式の如く塩基性および酸性条件下ではそれぞれ異った二つの反応機構を提示することができる (Fig. 14)。

Table 1 NMR Spectra of Kojic Acid and Compound (5) (ppm from TMS)

Kojic Acid ^{a)}	α , =C-CH ₂ OH	β , =CH-	α' , =CH-
(5) b)	4.52	6.57	8.09
	α , =C-CH ₂ OH	β , =CH-	-N(CH ₃) ₂
	4.37	6.41	2.81
	α' , =C-CH ₂ -N(CH ₃) ₂		
	4.37		

The spectra were obtained at 60Mc, on a Varian A-60 spectrometer.
Solvent: a) D₂O; b) d₆-DMSO (+D₂O).

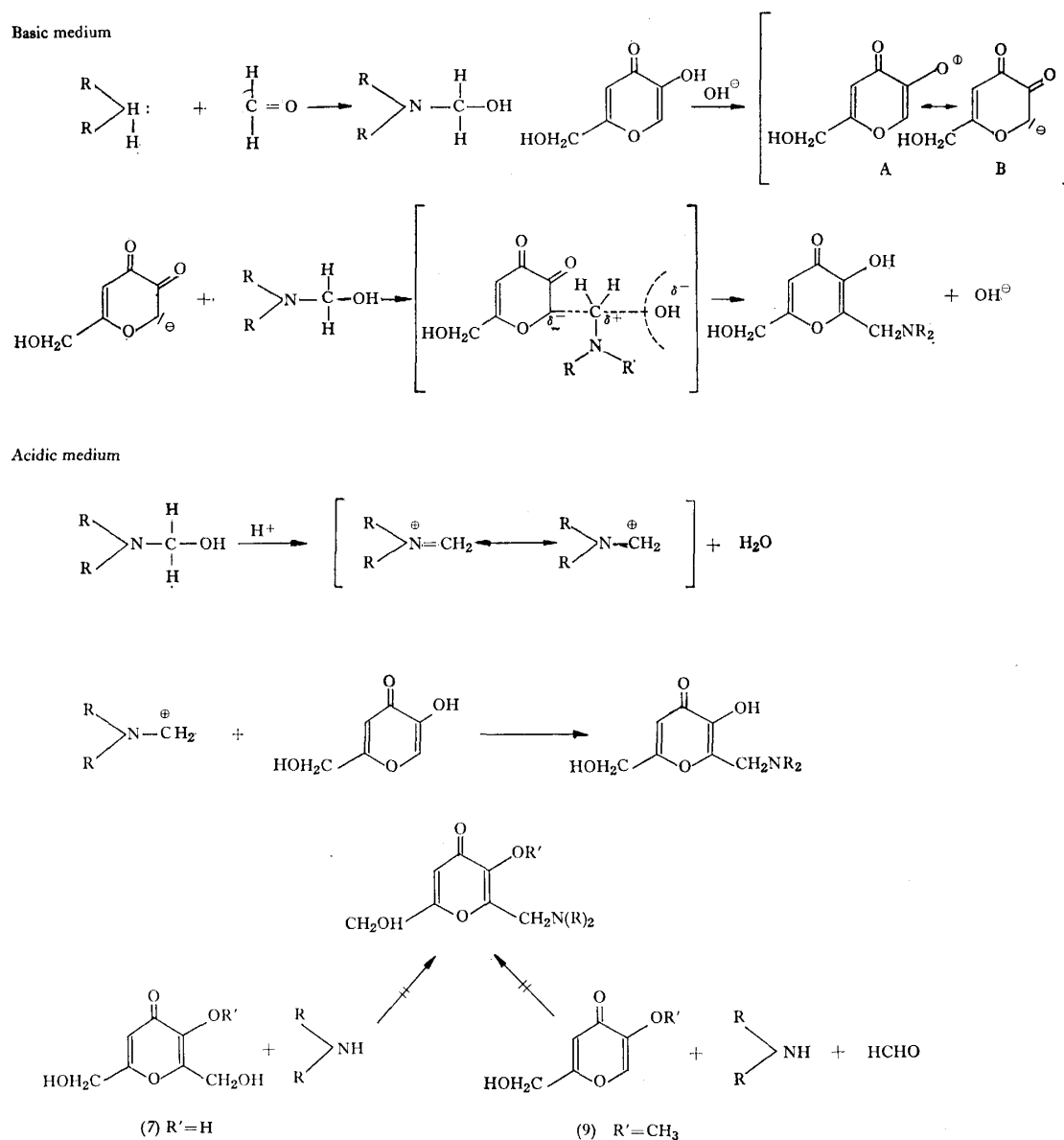


Fig. 14. Mannich Reaction of Kojic Acid

先ず塩基性条件下で麴酸(1)が速やかに反応するのは麴酸(1)の pK_a 7.96⁷²⁾より理論的にも妥当と考えられる。すなわちフェノール性OH基からの H^+ 解離により生成したフェノキサイドイオン[A]とその共鳴混成体[B]の寄与により、アニオン[B]がR-アミノメチロールを攻撃して S_N2 機構的に Mannich 塩基を生成するために、塩基性溶液中では速やかに反応が進行するものと推察される。

他方酸性条件下においてはR-アミノメチロールよりOH基が脱離しカルボニウムイオン ($R-N^+-CH_2$) を生成し、このカチオンが麴酸(1)を攻撃して反応が進行するが、酸性溶液中で麴酸は安定であり[A \leftrightarrow B]の

共鳴の寄与が殆んどなく、そのために反応の進行が極めておそく、加熱によって初めてゆるやかに進行するものと考えられる。

以上の結果、Mannich 誘導体の効率のよい合成法は微アルカリ条件が適当であることが明らかになった。

V) Mannich 誘導体の還元 (6-メチル麴酸(8)の合成)

メチル誘導体を合成するために化合物(5)の $R-N-CH_2-$ 基の還元を試みた。従来より知られている貴金属触媒を用いた場合 Mannich 基の還元分解と同時にピロン核の還元もおこると考えられるので⁷³⁾、前者のみを選択的に行なう方法の確立が望まれる。種

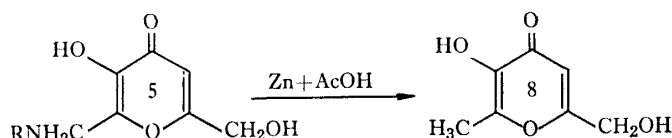


Fig. 15.

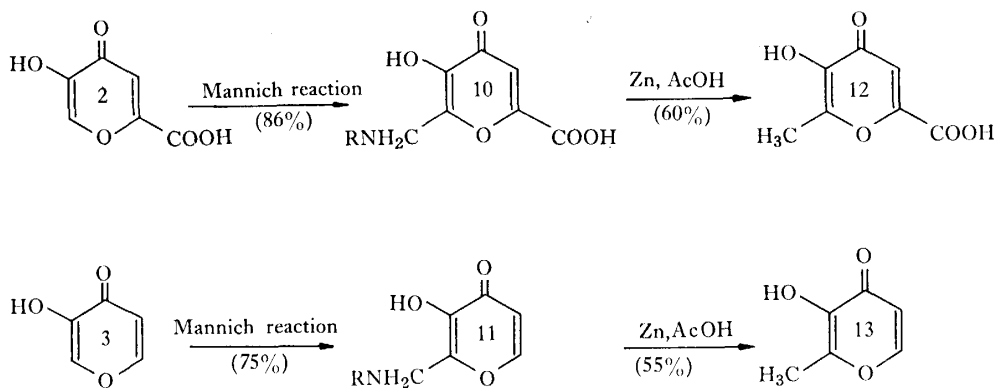


Fig. 16.

々, 検討した結果, 氷酢酸中で亜鉛粉末を用い還元すれば⁷⁴⁾ R-N-CH₂-基の R がメチルまたはエチルの時は比較的高収率 (55%) で 6-メチル麴酸 (8) を与えることが明らかになった (Fig. 15).

VI コメン酸 (2) およびピロメコン酸 (3) より 6-メチルコメン酸 (12) およびマルトール (13) の合成
上記の如く麴酸 (1) については Mannich 反応, 還元 of 2 段階で OH 基のオルト位のメチル化に成功したが本方法をさらにコメン酸 (2), ピロメコン酸 (3), に適応して 6-メチルコメン酸 (12) およびマルトール (13) の合成を試みた. 化合物 (2), (3) は麴酸 (1) と同様に第 2 級アミン, ホルマリンを作用させると速やかに反応して相当するモノ Mannich 誘導体 (10), (11) を生成する. これを亜鉛末と氷酢酸で還元すればそれぞれ相当するメチル誘導体 (12) (収量 60%), (13) (収量 55%) が得られた (Fig. 16).

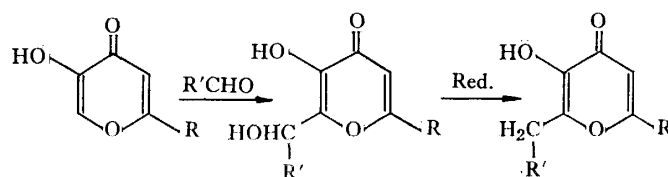
第 2 節 麴酸を中心とした 3 (or 5)-OH- γ -Pyrone 化合物のヒドロキシアルキル化

第 1 節において麴酸 (1), コメン酸 (2) およびピ

ロメコン酸 (3) の OH 基のオルト位にメチル基を導入する方法を明らかにしたが, 本節においては OH- γ -pyrone の OH 基のオルト位へのより容易なメチル基の導入およびエチルマルトール合成のためのエチル基導入法を確立するために麴酸を中心にコメン酸, ピロメコン酸のヒドロキシアルキル化について検討を加えた.

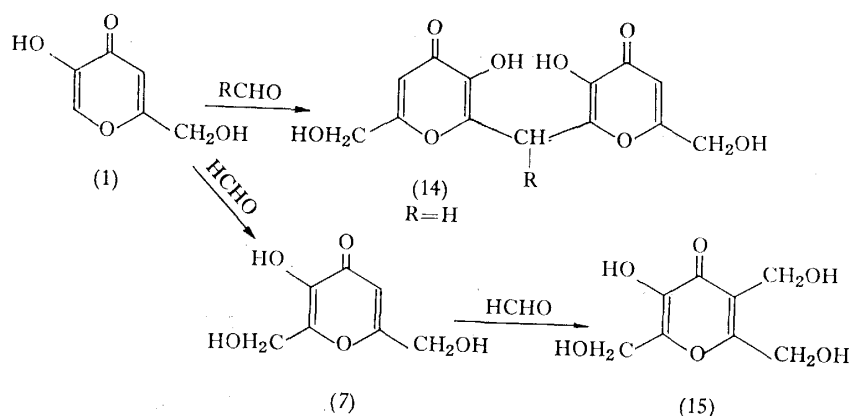
一般にフェノール類は塩基性溶液中でホルムアルデヒドと反応してオルトあるいはパラ位に CH₂OH 基の導入されたメチロール誘導体を生成することは古くより知られており, フェノール樹脂合成の一段として用いられる⁷⁵⁻⁷⁷⁾. 麴酸 (1) の如き O H- γ -pyrone も親電子試薬との置換反応に対して OH 基のオルト位が活性であり, ここに CH₂OH 基の導入が期待される. 特に塩基性溶液中においてその反応性は顕著である.

麴酸 (1) とホルムアルデヒドの反応は Barham⁷⁸⁾, Woods⁷⁹⁾ によって行なわれている. 溶媒としてエタノールを用い濃アンモニア水, 又は炭酸ソーダを塩基性触媒として反応させそれぞれ Fig. 18 に示す如き推定構造式の物質を単離したと報告している. このう



R' = H or CH₃

Fig. 17.



M.p. of Hydroxymethylation products

Compds.	(14)	(7)	(15)
Barham	248~249°		
Woods		155~156°	233° (?)
Ichimoto ^{a)}	248~249°	158~159°	

a)

	Yields of products (%)	
	(14)	(7)
Exp. I	4	76
Exp. II	trace	85
Exp. III	trace	90

Fig. 18.

ち Woods の生成物、特に (15) の化合物は 3 (or 5)-OH- γ -pyrone の化学的性質より納得し難いものであり、その融点より推定して恐らく不純物の混入している (14) と同一物質と考えられるが、これら生成物については物理的、化学的証拠による確認はされておらず不明である。著者は麴酸 (1)、コメン酸 (2) およびピロメコン酸 (3) の如き OH- γ -pyrone の OH 基のオルト位の選択的アルキル化法の確立、またその反

応機構を明らかにするために下記の如き反応系を想定して (Fig. 19)、水溶液中で麴酸 (1) とホルマリンを、NaOH, KOH, Na₂CO₃ を塩基として用いて反応させた結果、麴酸 (1) を等モルのホルムアルデヒドと pH 8.0 以上のアルカリ条件で反応させると短時間 (15分間) で殆んど定量的に (7) を生成し、高収率で単離し得る方法を見出した。さらに副反応生成物として微量の (14) の生成も認められた (Fig. 18).

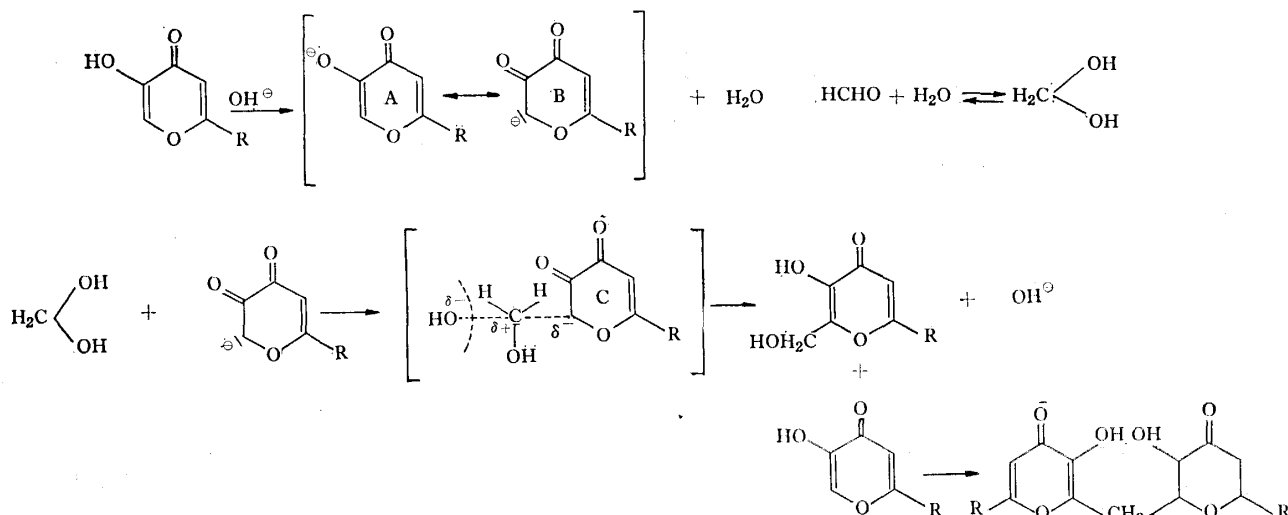


Fig. 19.

本法をコメン酸(2), ピロメコン酸(3)に適用しそれぞれ相当するメチロール誘導体(16), (17)を合成し(Fig. 22), さらにこれらの CH_2OH 基の CH_3 基への選択的還元法を種々検討し, 塩化第一錫による効果的な直接還元法を確立し高収率で6-メチル麴酸8, 6-メチルコメン酸(12), およびマルトール(13)を得ることに成功した。

また上記のヒドロキシメチル化を応用し, コメン酸(2)ピロメコン酸(3)にホルムアルデヒドの代わりにアセトアルデヒドを作用させてそれぞれ6- α -ヒドロキシエチルコメン酸(20)および α -ヒドロキシエチルマルトール(22)を合成し, 次いで得られた(20), (22)を塩化第一錫で還元して収率よく6-エチルコメン酸(24)およびエチルマルトール(25)を合成した。

I) 麴酸(1)のヒドロキシメチル化

麴酸(1)とホルマリンの等モルを弱塩基性水溶液中(pH 8.0~10.0)で反応させ, 生成物をペーパークロマトグラフィーで経時的に追跡すれば麴酸(1)の外に塩化鉄反応で紫紅色(3(or5)-OH- γ -pyroneに特異的な呈色反応)を呈するスポットが2個出現し, 反応開始後約15分間以内で麴酸(1)のスポットは完全に消失し反応が完結した。反応温度, 塩基の種類により生成量に若干の差異が見られるが, Rf 0.54に main spot (7), Rf 0.25に trace spot (14)が観察された。反応液より分別結晶法で m.p. 158~9°C ((7), 収量76~90%), m.p. 248~9°C ((14), 収量4%~trace)を単離した((Fig. 18 参照)。

II) 化合物(7)および(14)の構造

化合物(7)の分析値は $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_5$, すなわち推定構造式の計算値に一致し, 赤外吸収スペクトルにおいて2個の CH_2OH 基の $\nu\text{C-O}$ にもとづくと思われる吸収が1095および1087 cm^{-1} に, 3350 cm^{-1} 附近に麴酸(1)よりも強い OH 基の吸収が観察された。紫外吸収スペクトルにおいても麴酸(1) ($\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 269 $\text{m}\mu$) よりも 6 $\text{m}\mu$ 深色部に移動し, $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 275 $\text{m}\mu$ に吸収を示し, OH 基のオルト位に置換基が導入されていることを示しているので(7)の構造が支持される。此の構造は次に示す NMR スペクトルにより確認された(Fig. 20)。

化合物(14)は元素分析より $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_6$ の理論値に一致し, m.p. の値より Barham⁷⁸⁾ の報告した推定構造式と同一物質と考えられる。紫外吸収スペクトルでは $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 284 $\text{m}\mu$ に吸収を示し, 赤外吸収スペクトルにおいては CH_2OH 基にもとづく $\nu\text{C-O}$ の吸収が

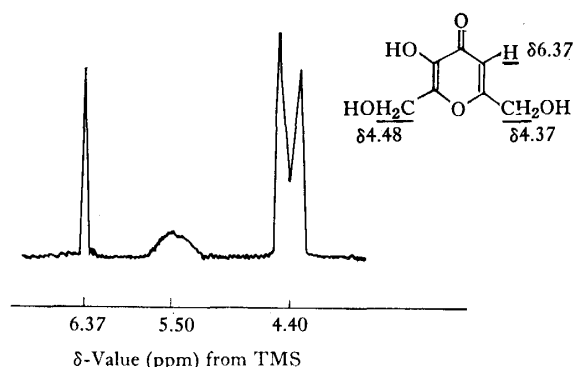


Fig. 20. NMR spectrum of Compound (7) at 60 MC in d_6 -DMSO

1100 cm^{-1} にシャープな1本の強い吸収を示すことおよび Barham の方法を追試して得られる化合物との混融テスト, さらに化合物(7)を塩基性溶液中で麴酸(1)と反応させると(14)を生成する事実より, 化合物(14)は2,2'-Dihydroxymethyl-6,6'-dikojyl-methane であることを確認した。

III) 6-ヒドロキシメチルコメン酸(16)およびヒドロキシマルトール(17)の合成

塩基性溶液中のヒドロキシメチル化をコメン酸(2), ピロメコン酸(3)に適用すると, それぞれ相当する6-ヒドロキシメチルコメン酸 [(16), m.p. 178~9°C, 収量90%], ヒドロキシマルトール [(17), mp. 152~3°C, 収量80%]を単離することができた。

IV) 反応機構

塩基性水溶液中においては前述した反応機構(Fig. 19)に従って, Mannich 反応と同様にアニオン[B]がホルムアルデヒド水合物に求核的攻撃をして[transition state C]を経て, 速やかにメチロール誘導体を生成するものと推定される。一方酸性条件下でのヒドロキシメチル化は比較的強い反応条件でも反応の進行はごくわずかで, 麴酸(1)からは少量の(7)の生成が確認されただけであり, カルボニウムイオン($+\text{CH}_2\text{OH}$)の攻撃によるヒドロキシメチル化は殆んど進行しないことも明らかになった(Fig. 21)。

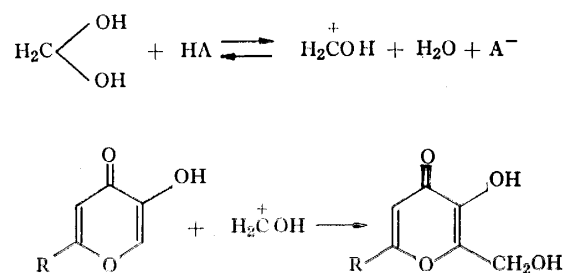


Fig. 21.

V) 6-ヒドロキシメチル麴酸 (7), 6-ヒドロキシメチルコメン酸 (16) およびヒドロキシマルトール (17) より 6-メチル麴酸 (8), 6-メチルコメン酸 (12) およびマルトール (13) の合成

ヒドロキシマルトール (17) はパラジウム又は白金等の貴金属触媒で接触水素化すれば、麴酸 (1) の加水素分解⁷³⁾と同様に CH_2OH 基が CH_3 基に還元され低収率 (20%) であるがマルトール (13) を与えた。他方 (16) および (17) は SOCl_2 でクロル化し、それぞれ 6-クロルメチルコメン酸 (18), α -クロルマルトール (19) を合成し、これらクロル化合物を亜鉛末と氷酢酸で還元すれば相当するメチル誘導体 (12), (13) が得られるが、この場合も低収率 (約20%) であ

るので、 CH_2OH 基から CH_3 基への収率のよい直接還元法を検討した。

Bailey⁸⁰⁾ がフラン誘導体に用いた塩化第一錫による還元法を種々改良して (7), (16) および (17) の還元を試みた所、適当な条件では (水溶液中で塩化第一錫および塩酸で30分間還流) 速やかに $\text{CH}_2\text{OH} \rightarrow \text{CH}_3$ の還元が行なわれて (7) より (8) (75%), (16) より (12) (80%), (17) より (13) (70%) が得られた。

化合物 (8) も無水クロム酸と氷酢酸で酸化すれば 8% 収量で化合物 (12) を与えた。

VI) コメン酸 (2) およびピロメコン酸 (3) より 6-エチルコメン酸 (24) およびエチルマルトール (25) の合成

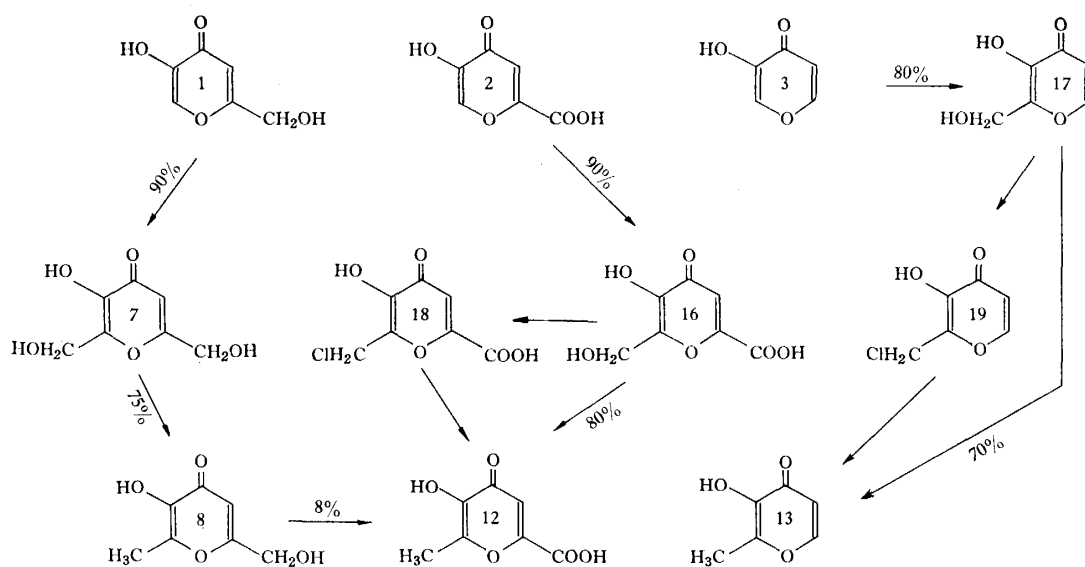
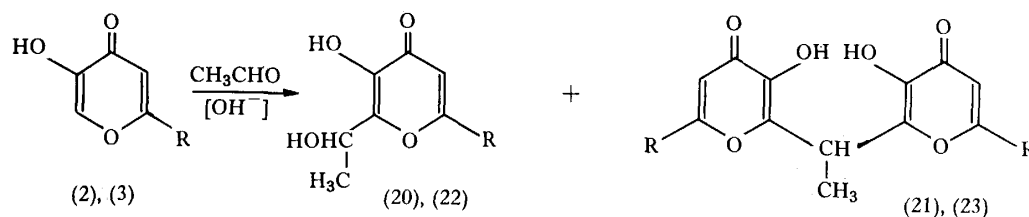


Fig. 22.



$R = \text{COOH}$ (2, 20, 21); $R = \text{H}$ (3, 22, 23)

Hydroxyethylation of Comenic acid (2)

Reaction condition		Yields of Products (%)	
Time (hr)	Temp. (°C)	(20)	(21)
6	45~52	61~65	15~20
10	32~40	63~68	10~15
20	23~27	85~90	—
**3	55~60	10~15	50~52

**None hydroquinone.

Fig. 23.

エチルマルトール合成のために, 前記ヒドロキシメチル化を応用し, コメン酸およびピロメコン酸とアセトアルデヒドの反応を試みた。

この反応においては反応温度の影響が大きく, 30°C 以上では縮合生成物 (21) および (23) の生成が増加し, 又 15°C 以下では殆んど反応せず, 23~27°C がヒドロキシエチル誘導体 (20) および (22) の生成に最適であることが見出された。なお微量のヒドロキノン (重合防止剤) を添加すれば (21), (23) の生成はおさえられた。

すなわちコメン酸 (2) およびピロメコン酸 (3) の弱塩基性水溶液 (pH 8~9) に等モルのアセトアルデヒドおよび微量のヒドロキノンを加えて 25°C 前後で約 20 時間反応させることにより, それぞれ相当する 6- α -ヒドロキシエチルコメン酸 (20) および α -ヒドロキシエチルマルトール (22) が高収量で得られることが判った (Fig. 23)。

化合物 (20) および (22) は塩化第一錫と塩酸の還

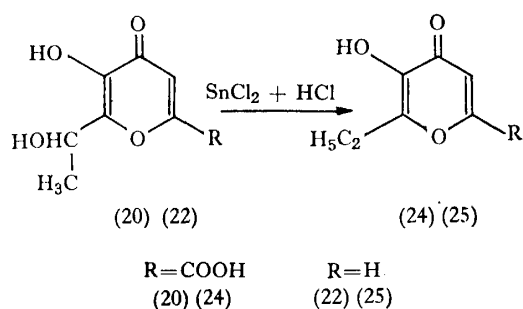


Fig. 24.

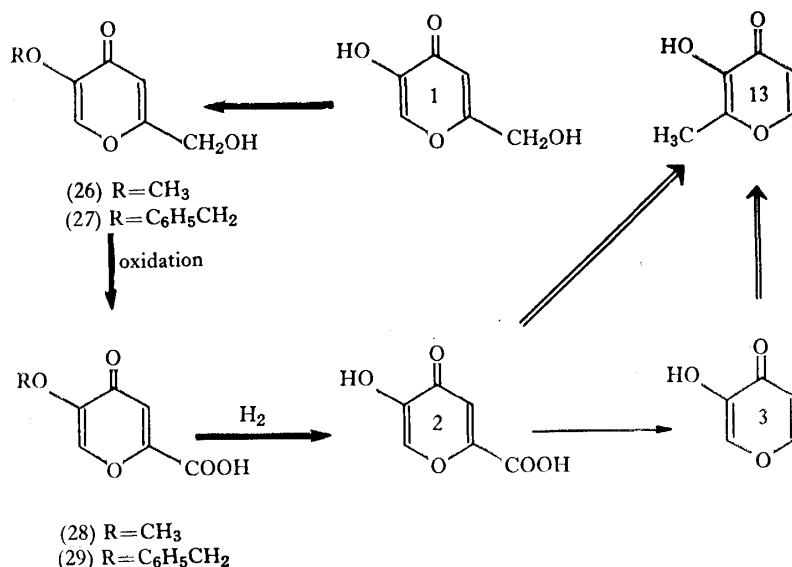


Fig. 25.

元により容易に 6-エチルコメン酸 (24) およびエチルマルトール (25) を生成した。

第3節 麴酸の側鎖の選択的酸化

本節においては麴酸の 2 位のメチロール基 (CH₂OH) を最終的に脱離するためにまずカルボキシル基 (COOH) への選択的酸化によるコメン酸 (2) の合成を試みた。

麴酸 (1) から (2) への直接酸化については野々村²⁴⁾が麴酸分解菌 *Arthrobacter ureafaciens* K-1 株による麴酸代謝の中間体として初めてコメン酸 (2) の単離に成功している (収率約 11%)。次いで, Tanner²⁵⁾らも *Fusarium*, *Absida* 属の数種の菌株を用いて麴酸 (1) より (2) を得ているがいずれも低収率である。化学的な直接酸化については Stephen⁴⁸⁾らはパラジウム-炭素触媒を用いて空気酸化によって麴酸 (1) から (2) を高収量で得られると報告しているが著者および林⁸¹⁾らの追試の結果, 微量の (2) しか単離できなかった。麴酸 (1) の如き OH- γ -pyrone は核カルボニル基と OH 基が隣接しているため通常の酸化剤による酸化反応ではピロン核の分解が起るので古くより行なわれている化学的酸化はいずれも OH 基をメチルあるいはベンジル基で保護している。麴酸のメチルエーテル (26) およびベンジルエーテル (27) の酸化については種々行なわれているが, 収率的に見るべきものはない^{70, 82~85)}。

著者は麴酸 (1) よりコメン酸 (2) を収率よく合成するために麴酸 (1) の CH₂OH 基の選択的酸化

について種々検討を試みた結果、微生物および化学的酸化によって麴酸のメチルエーテル(26)またはベンジルエーテル(27)より殆んど定量的に相当するコメン酸エーテル(28),(29)を得る方法を見出した。化合物(29)はラネーニッケル、パラジウム触媒を用い水添すれば加水素分解反応⁸⁶⁾により容易に脱ベンジル化されてコメン酸(2)を高収率で与えた。(Fig. 25)

その1 微生物による麴酸メチルおよびベンジルエーテルからコメン酸メチルおよびベンジルエーテルへの酸化

I) コメン酸メチルおよびベンジルエーテル(28, 29)の生成および確認

麴酸分解菌 *Arthrobacter ureafaciens* K-I 株⁸⁷⁾の resting cell による麴酸分解において上記の如く中間体としてコメン酸(2)を単離、確認しているが、K-I

株は麴酸のメチルおよびベンジルエーテル(26),(27)に対しても酸化能を有し、麴酸の分解と同様に磷酸塩緩衝液中 K-1 株の resting cell で(26)または(27)を分解させると、分解液中に塩酸酸性で沈澱してくる化合物が得られた。この結晶性物質はそれぞれコメン酸のメチルおよびベンジルエーテル(28),(29)であることが確認され、これら(28),(29)は比較的短時間の培養ではそれ以上の分解が起らず培地中に蓄積し、殆んど定量的収率で単離し得ることも明らかになった。

1) コメン酸メチルおよびベンジルエーテル(28),(29)の分離、および同定

基本培地(麴酸ブイヨン培地)で2日間振盪培養した洗浄菌体および(26)または(27)を pH 7.2 の M/30 磷酸塩緩衝液中に懸濁し 30~31°C で振盪機上で30時間保持して分解した。反応液は遠沈にて菌体

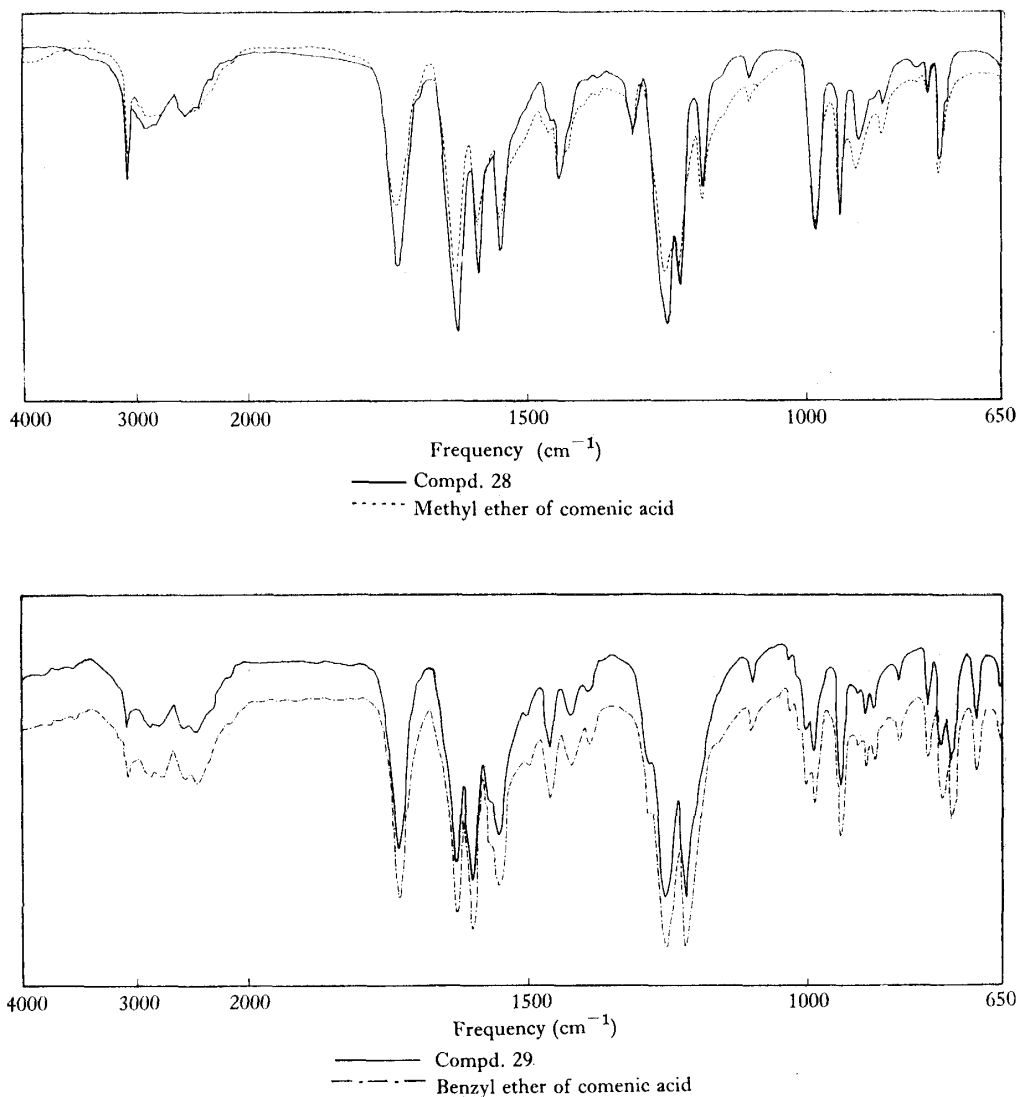


Fig. 26. Infrared Spectra of Comenic Acid Ethers (28, 29)

および未分解基質を除去した後, 上清液を塩酸酸性にすれば白色の結晶が沈澱してくる. エタノールで再結後, (26) の分解液からは m.p. 258°C の物質, (27) の分解液からは m.p. 196°C の物質が得られた. 分析値および m.p. よりそれぞれ (28) および (29) であると推定された. 標準試料との混融, 赤外吸収スペクトルの比較により分解生成物は (28) および (29) であることが確認された (Fig. 26).

2) K-I 株休止菌によるコメン酸ベンジルエーテル (29) の生産

上記より明らかのように K-1 株 resting cell は麴酸エーテル (26), (27) を酸化してそれぞれ相当するコメン酸メチルおよびベンジルエーテル (28), (29) を与えるが, 適当な条件を選択すれば高収率で (28), (29) の生成が期待されるので以下の実験を試みた. 被酸化物 (基質) としては反応液中からの分離が容易であり, かつ反応生成物 (29) のコメン酸 (2) への脱ベンジル化も水添による加水素分解で効果的に行なえるという理由で (27) を用いた.

基本培地で 2 日間培養した resting cell を用い分解

Table 2 Production of Benzyl Ether of Comenic Acid from Varying Concentrations of Benzyl Ether of Kojic Acid

	Added benzyl ether of kojic acid g/100 ml	Yield of benzyl ether of comenic acid
Exp. I	0.5×15	7.7 g (96.8%)
Exp. II	0.6×15	7.8 g (91.8%)
Exp. III	0.7×15	8.0 g (72.0%)

Fifteen flasks were employed for the three experiments and 120 mg of cells (dry weight) was used in each flask. The reaction mixture was incubated for 6 days.

Table 3 Effect of Varying Concentrations of Cells on the Production of Benzyl Ether of Comenic Acid

Incubation time, days.	2	4	6	8
Cells (dry weight), mg.	Yield of benzyl ether of comenic acid			
89	0.16 (30.2)	0.32 (60.4)	0.37 (69.8)	0.45 (84.9)
132	0.30 (56.6)	0.47 (88.7)	0.51 (96.3)	0.50 (94.3)
176	0.36 (71.8)	0.51 (96.3)	0.50 (94.3)	—
222	0.47 (88.7)	0.51 (96.3)	0.50 (94.3)	—
258	0.51 (96.3)	0.50 (94.3)	—	—

0.5 g of substrate (benzyl ether of kojic acid) was used in each experiments,

反応を試み, Table 2 および Table 3 に示す如き結果を得た. Table 2 より (29) が極めて高収率 (72~97) % で得られることが判明し, 適当な条件では殆んど定量的 (97%) に (27) から (29) に酸化され, 蓄積されることも明らかになった. Table 3 の結果は菌体量と基質の酸化速度を表わし, 本実験に用いた条件では 260 mg の乾燥菌体量の cell によって 0.5 g の (27) が 2 日間で完全に酸化されることが見出され, 反応時間が長くなればわずかであるが生成した (29) の減少が観察され, K-1 菌によって (29) の分解が行なわれているものと推定される (後述).

K-I 株の resting cell で (27) を分解する場合, cell の量, 基質量の適当な選択によって短期間 (2 日間) の分解反応で殆んど定量的に (29) を与え, 培養条件をさらに検討することにより工業的生産の可能性を示唆した.

II) 一次培養法によるコメン酸ベンジルエーテル (29) の生産

(I) で記載した如く麴酸分解菌 K-I 株による二次培養法麴酸ベンジルエーテル分解において, 培地中にコメン酸ベンジルエーテルを蓄積し高収率で単離することに成功した. ここではコメン酸の工業的生産の見地より一次培養法による麴酸ベンジルエーテル (27) からコメン酸ベンジルエーテル (29) への酸化の条件について検討した結果について述べる.

1) 振盪培養法によるコメン酸ベンジルエーテル (29) の生産

最初に基本培地に (27) を添加して (29) の生成について検討した. Fig. 27 に示す如く, (29) の生成は 24 時間前培養後 (27) を添加した時が最もよく, 収量は本培養 2 日間で 85%, 4 日間で 96% に増加している.

次に生産培地における培養液の生化学的变化を経時的に追跡し Fig. 28 の結果を得た. 基本培地の炭素

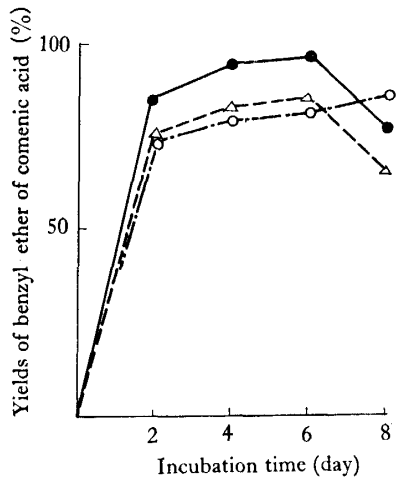


Fig. 27. Effect of the pre-culture time on the production of benzyl ether of comenic acid.

Age of growing culture Cell (dry wt.), mg
 ○---0 (hr) * (165)
 ●---24 170
 △---48 210
 *24 hri ncubated cell dry weight.

源麴酸 (1) は2日間で殆んど消費され (約80%) その後わずかづつ減少している。菌体の増殖は2日目まで最高に達し、同時に (29) の生成が始まり、以後自己消化期に入り菌体量は減少している。(29) の生成は (27) 添加後24時間を経て急激に増加し、4日間で大体最高に達している。本実験より炭素源麴酸が殆んど消費される菌体増殖の最高期より (27) の酸化が始まり短期間においては生成された (29) が代謝されずに蓄積されることが明らかになった。

次に (27) の最適添加量について検討した結果

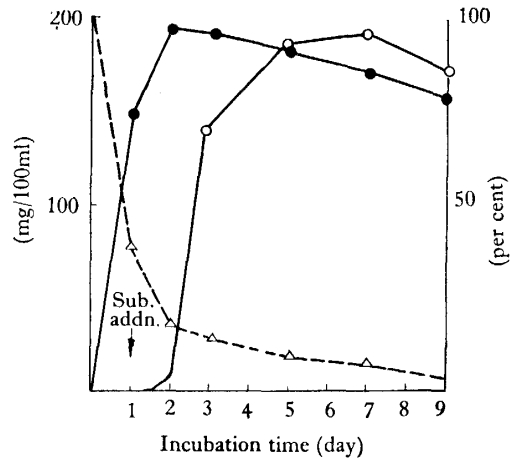


Fig. 28. Chemical changes attending benzyl ether of comenic acid production by strain K-I in the fermentation medium.

○—Benzyl ether of comenic acid (%)
 ●—Cell dry weight (mg/100 ml)
 △---Kojic acid (mg/100 ml)

Table 4 から明らかなように基質添加後6日目までの (29) の生成量は殆んど同程度であり、その後培養日数を12ないし14日間に延長すれば高濃度の場合において生成物に若干の増加が観察された。しかしながら短期間培養では 0.5% 濃度が最適であることが明白である。

本実験の一部および〔Iの2〕で指摘したように (29) の収量が培養日数の延長と共に漸時減少することが観察されるが、この事実は一度生成した (29) が K-1 株によって分解されて行くためと推定されるの

Table 4 Effect of varying concentration of substrate on the production of benzyl ether of comenic acid.

Substrate conc. (g/100 ml)	Incubation time (day)						
	2	4	6	8	10	12	14
	Yield of benzyl ether of comenic acid, g/100 ml (%)						
0.5	0.19 (35.9)	0.46 (86.8)	0.50 (94.3)	0.48 (90.6)	0.46 (86.8)	0.40 (75.5)	0.39 (73.7)
0.7	0.18 (24.3)	0.47 (63.3)	0.51 (68.8)	0.56 (75.5)	0.58 (78.2)	0.61 (82.3)	0.62 (83.6)
0.9	0.19 (19.9)	0.47 (49.3)	0.50 (52.4)	0.59 (61.9)	0.66 (69.2)	0.69 (72.4)	0.71 (74.4)
1.1	0.18 (15.4)	0.46 (39.5)	0.51 (43.8)	0.60 (51.5)	0.69 (59.2)	0.71 (61.0)	0.71 (61.0)

Substrate was added to 24 hr incubated culture broth (cell dy weight, 130 mg/100 ml) in each experiments.

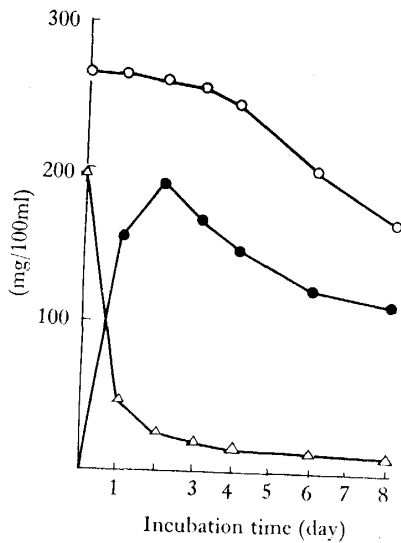


Fig. 29. Degradation of benzyl ether of comenic acid by strain K-I.

○—Benzyl ether of comenic acid
●—Cell dry weight
△—Kojic acid

で (29) を基質としてその分解過程を検討し Fig. 29 に示す結果を得た。培養初期は殆んど分解されず 6 日目以後になると相当に分解が行なわれ 7 日目で 2/3 に減少しており培養日数が長くなれば (29) の分解が顕著になることが判明した。これよりコメン酸ベンジルエーテルの生産目的には短時日の培養で高収率で得られる 0.5% 濃度で基質 (27) を使用するのが最適であると言える。

野々村⁴¹⁾らが K-1 株を炭素源麴酸 (1) の代わりにグルコースに置換した基本培地で培養後, resting cell による麴酸酸化能を検討し若干の lag time を経て酸素吸収を示すことから本菌による麴酸分解は inducible enzyme よりなっていると推論しているので, 工業的生産の見地より培地中の炭素源麴酸 (1) をグルコースに種々の割合で置き換えてその適応性について検討を加えた。

培養液の経時的な変化の一例を Fig. 30 に示す。本例は麴酸 0.2% の代わりに麴酸 0.1% およびグルコース 0.1% を炭素源として使用したが, 麴酸のみと殆んど同じ結果を示し, (29) の生成も変わらず, 基質 (27) 添加後 6 日目で 92% 収量に達しており, 炭素源の置き換えが充分可能であることが判った。次に麴酸からグルコースへの置換の割合を検討した結果 Fig. 31 に示す如く麴酸 0.05%—グルコース 0.15% の割合まで (29) の生成は殆んど低下しないことが確認された。

本報で使用している培地は麴酸ブイオン培地である

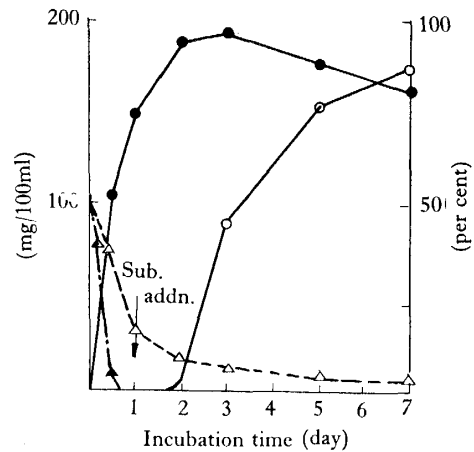


Fig. 30. Chemical changes attending benzyl ether of comenic acid production by strain K-I in the fermentation medium (carbon source: Kojic acid, 0.1%; glucose, 0.1%)

○—Benzyl ether of comenic acid (%)
●—Cell dry weight (mg/100ml)
△—Kojic acid (mg/100 ml)
▲—Glucose (mg/100 ml)

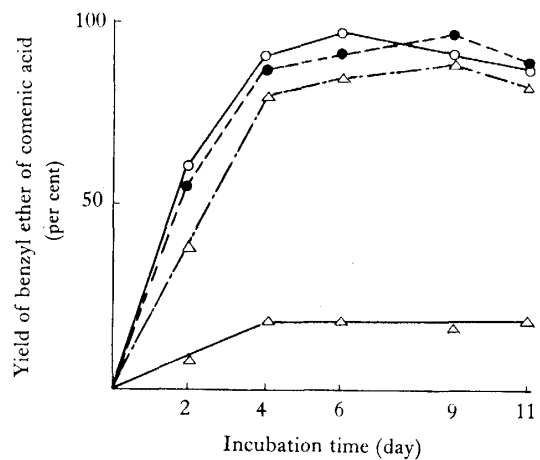
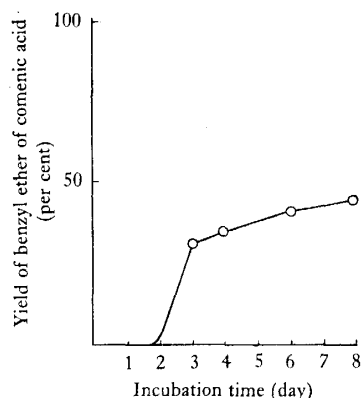


Fig. 31. Effect on benzyl ether of comenic acid production of varying ratio of glucose as replacement of Kojic acid in the basal medium.

Kojic acid Glucose *Cell dry weight
○—A 0.2(%) 0.0 130(mg/100 ml)
●—B 0.1 0.1 180
△—C 0.05 0.15 260
▲—D 0.01 0.19 260

*24 hr incubated cell dry weight.

が, 合成培地による (29) の生成について若干の検討を加えた結果, 窒素源として無機化合物を用いた時 (29) の生成は微量であったが, 有機窒素源のペプト



Composition of medium; KH_2PO_4 , 0.1%; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.02%; NaCl , 0.01%; CaCl_2 , 0.01%; Peptone, 0.3%; glucose, 0.5%; kojic acid, 0.2%; pH adjusted to 7.2. Substrate (benzyl ether of kojic acid) was added to 24hr pre-incubated medium (cell dry weight, 315mg/100ml).

Fig. 32. Production of benzyl ether of comenic acid in the synthetic medium.

ンを用いた時 Fig. 32 に示す如く、菌体増殖に比して活性は低いが、合成培地による (29) の生産の可能性を示唆している。

次に連続培養の可能性を検討するため一度本培養を行なった菌体を用いて二次培養法による (29) の生成を調べた。Table 5 に示す如く一次培養期間の短いものでは比較的高収率 (6日間培養: 72%) で (29) が生成されることから、短期間培養では連続培養法による (29) の生産が可能であると考えられる。

2) 深部培養法によるコメン酸ベンジルエーテル (29) の生産

振盪培養実験を基礎としてジャーフェンターによる (29) の生産に若干の検討を試みた。振盪培養法と同様に前培養した菌体生育培地に基質 (27) を添加

して本培養を行ない (29) の生成を経時的に追跡した。基質 (27) 添加時間は培養開始時, 10, 12, 15および20時間の各時間に行なった。Fig. 33 に示す如く菌体生育の増殖期に相当する12~15時間後の基質添加において (29) の生成が最も効果的であり, 3日間の本培養で90~96%収率で (29) を与えた。これに対しシード量を増加して前培養時間を短かくした時 (10時間培養) および前培養時間を長くして定常期に基質を添加した場合 (20時間前培養) 菌体増殖に比較して (29) の生成にかなりの低下が観察され, 振盪培養法の場合と同様に基質添加の時間が (29) 生成の大きな因子となることは明白である。本実験に用いた培養条件においては前培養12~15時間の増殖期に基質 (27) を添加すれば培地 100 ml あたり約 230~260 mg (dry wt.) の菌体の存在で3日間の培養により殆んど定量的に相当するコメン酸ベンジルエーテル (29) に酸化されることが判明した。

培地中の炭素源麴酸を一部グルコースに置き換えても振盪培養と同様に (29) の生成には低下が見られず (Fig. 33 IV 図), 炭素源としてグルコースが利用できることが確認された。

また前培養12時間で本培養した菌体を用いて再使用試験を行なった結果, Fig. 34 に示す如く 175 mg (dry wt.)/100 ml の菌体量で4日間培養すれば約65%収率で (29) を与え, 菌体の再使用は可能であり連続培養の可能性を示唆している。

以上振盪および深部培養法による麴酸ベンジルエーテルからコメン酸ベンジルエーテル生産の基礎実験は醗酵に関する具体的な諸条件を検討することにより, コメン酸の工業的製造の一手段として期待出来る方法であることを明らかにした。

Table 5 Activity of reusing cells for the production of benzyl ether of comenic acid.

**Time of first incubation, day	2	4	6
Cells (dry weight), mg/100 ml	185	195	260
Incubation time (day)	Yield of benzyl ether of comenic acid (g/100 ml, (%))		
2	0.17 (32.0)	0.14 (26.4)	0.14 (26.4)
4	0.30 (56.5)	0.23 (43.3)	0.25 (47.2)
6	0.38 (71.6)	0.32 (60.2)	0.34 (64.1)

**The cells which were incubated once were collected and reused for the second incubation in 1/30 M phosphate buffer solution. In second incubation, 0.5 g of substrate (benzyl ether of kojic acid) was used.

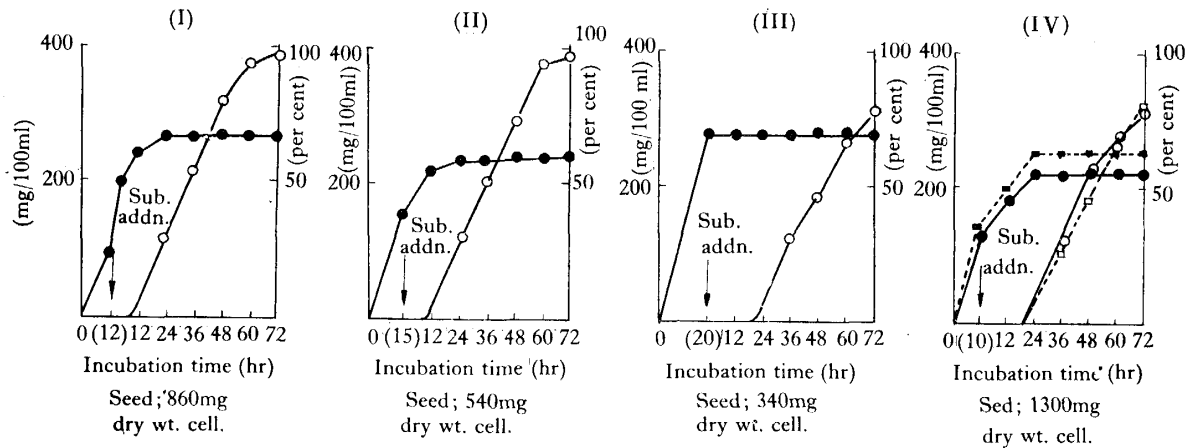
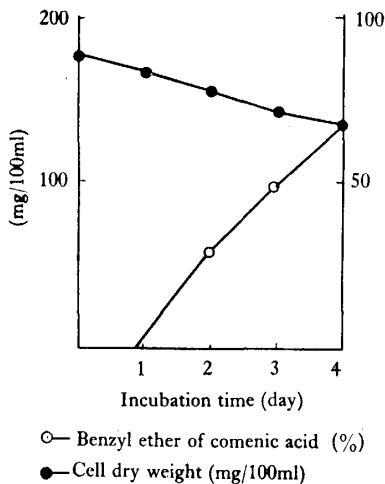


Fig. 33. Production of benzyl ether of comenic acid in a jar fermentor.

○—Benzyl ether of comenic acid *□—(%)
●—Cell dry weight ■—(mg/100 ml)

*This experiment was carried out in the culture medium containing kojic acid (0.1%) and glucose (0.1%).

**The incubation times of parenthesis number [(10), (12), (15), (20)] were shown to the adding times of benzyl ether of kojic acid (corresponding to pre-culture times).



The cells which were incubated once were collected and reused for the second incubation in 1/30M phosphate buffer solution.

Fig. 34. Activity of reusing cells for the production of benzyl ether of comenic acid by the use of Jar fermentor.

その2 過酸化ニッケルおよび活性二酸化マンガンによる麴酸ベンジンエーテル (27) の酸化

I) 過酸化ニッケル酸化

過酸化ニッケルによる有機化合物の酸化については、トルエンよりベンズアルデヒドおよび安息香酸への酸化が知られているのみであったが、最近、中川

ら⁸⁸⁾は種々のアルコール類(鎖状飽和, 不飽和アルコール, 芳香族アルコール等)の酸化を水溶液および有機溶媒中で行ない, それぞれ相当するカルボン酸, カルボニル化合物を高収率で与えると報告している. この知見より著者は麴酸(1)よりコメン酸(2)を得る目的で麴酸ベンジルエーテル(27)の酸化を試みた結果, 水溶液中の酸化において, 約90%の高収率でコメン酸ベンジルエーテル(29)を得る方法を確立したので以下に記載する.

水溶液中での酸化

有効酸素の2倍量の酸化剤を用いて(27)の酸化を水溶液中で行なうと, 高収率で(29)が生成されることが見出されたので反応条件の検討を行なった. 本実験において微量のコメンアルデヒドのベンジルエーテル(31)の生成が認められたが生成量の表示は省略する.

i) 反応温度: Fig. 36 より明らかなごとく 0°C 付近の低温度および 80°C において収率に約 10% の減少が見られ, 反応温度により若干の差異があるが, 後述の二酸化マンガンの場合ほど顕著な影響がないことがわかった. 反応温度 40~60°C では 83% 収量で(29)が単離できた.

ii) pH: 過酸化ニッケルの酸化力が溶媒の塩基度により影響される事実より⁸⁸⁾, (27) 酸化反応の塩基度による効果について検討した. 過酸化ニッケルは塩基性条件下で調整するので, 酸化剤自身に含まれるア

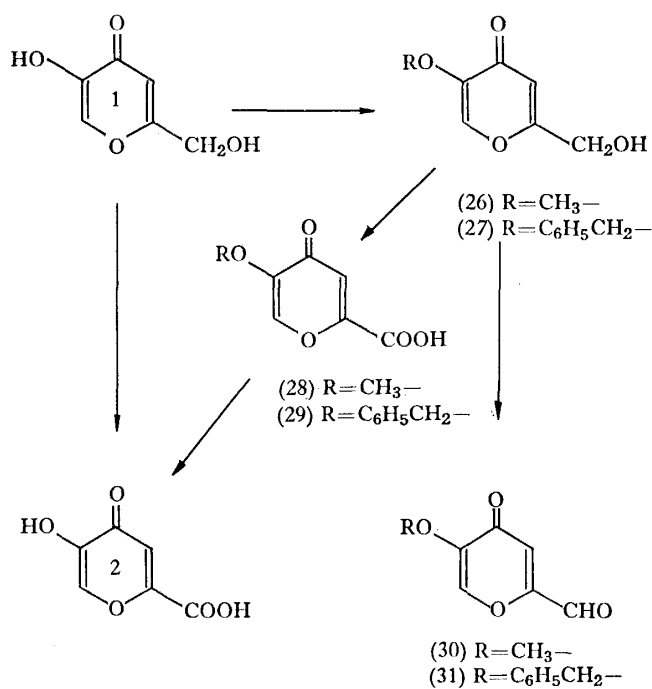


Fig. 35.

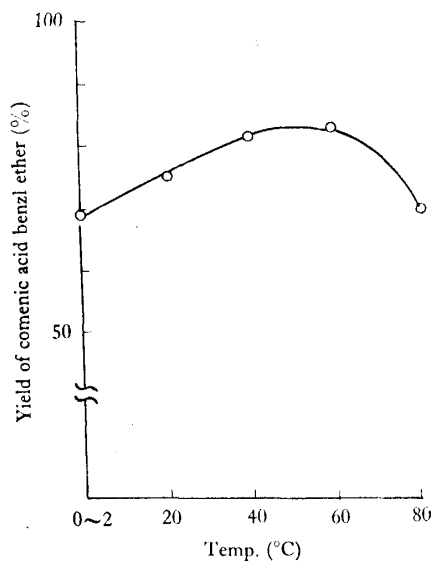


Fig. 36. Effect of Reaction Temperature on the Oxidation of Kojic Acid Benzyl Ether with Nickel Peroxide.

2.0 *(6.2 g) of nickel peroxide was used and the reaction mixture was allowed to react for 1 hour.

*Ratio of nickel peroxide to kojic acid benzyl ether based on the available oxygen.

ルカリ量が調整時の洗浄により異なる。そのため pH の変化による影響を調べた。本実験に使用した酸化剤は水に懸濁したとき pH 10.5 であったので 1N-NaOH および 1N-HCl で所定の pH に調節した。Fig. 37

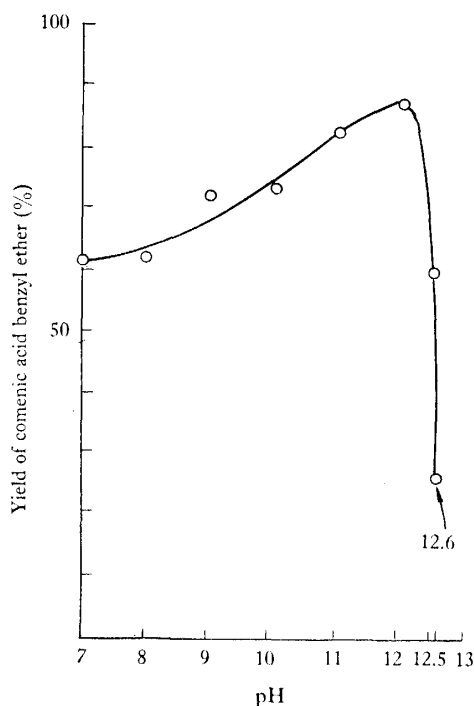


Fig. 37. Influence of Alkalinity on the Oxidation of Kojic Acid Benzyl Ether with Nickel Peroxide.

2.0 *(6.2 g) of nickel peroxide was used and the reaction mixture was allowed to react for 1 hour.

*Ratio of nickel peroxide to kojic acid benzyl ether based on available oxygen. pH was adjusted with 1 N HCl or 1 N NaOH.

から明らかなごとく中性附近が最も低収率で, 以後 pH の上昇とともに (29) の生成が増加し, pH 12 で最高に達している (収量87%). pH 12 以上にすれば急激に (29) の生成が低下し, pH 12.6 においては反応液が茶褐色に着色する. これは酸化剤の活性低下よりも, むしろアルカリによる反応物の分解によるものと推定される.

iii) 酸化剤の使用量: 過酸化ニッケルはアルコール基の酸化において有効酸素の理論量の 1.5 倍用いれば充分であることが指摘されている⁸⁸⁾. Fig. 38 に示すような種々の酸化剤使用量における (29) の生成について検討した. 理論量を用いた場合 (29) の生成量は約65%であり, 2 倍量以上を用いると最高収率 (88%) に達することがわかった.

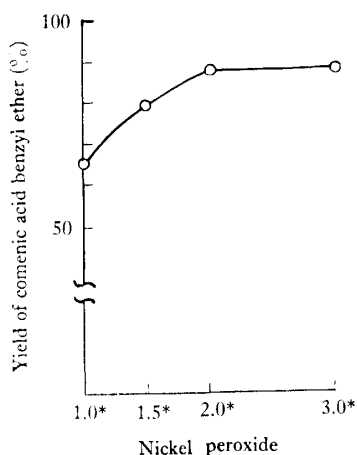


Fig. 38. Effect of Varying Amounts of Nickel Peroxide on the Oxidation of Kojic Acid Benzyl Ether.

The reaction mixture was adjusted with 1 N NaOH to pH 12.0 and then allowed to react for 1 hour.

*Ratio of nickel peroxide to kojic acid benzyl ether based on available oxygen.

iv) 反応の経時的变化: 上記実験結果より反応液の pH 12, 反応温度 40°C, 酸化剤を有効酸素の 2 倍量の反応条件で (27) から (29) への酸化反応を経時的に追跡した結果, Fig. 39 に見られるごとく, 酸化反応は30分間で殆んど進行し (収量80%), 1時間で (29) の生成は最高 (88%) に達し, 以後一定に保たれている. この事実は生成した (29) の酸化分解は全く無く, 選択的にピロン環の 2 位の CH₂OH 基が COOH 基に酸化されていることを示している.

v) 酸化剤の再活性化: 一度反応に用いた酸化剤は回収水洗後次亜塩素酸ソーダにより容易に再活性化さ

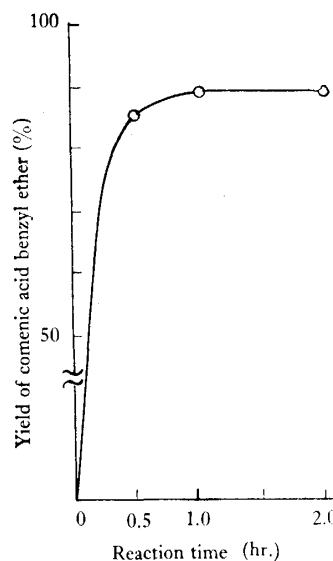


Fig. 39. Reaction Rate of Oxidation for Kojic Acid Benzyl Ether (Nickel Peroxide).

れ, 酸化力には全く低下が見られず連続的使用の行なえることが明らかになった.

II) 活性二酸化マンガ酸化

活性二酸化マンガンは共役ポリエナルアルコール, ベンジルアルコール, アリルアルコール等不飽和アルコールの有機溶媒中での酸化において相当する不飽和カルボニル化合物を与えることが知られており⁸⁹⁾, 麴酸 (1) についても Becker⁸⁴⁾ Thomas⁹⁰⁾ らはクロロホルム, ベンゼン中での酸化で (26) および (27) からそれぞれ (30), (31) を得ている (Fig. 35). 著者は活性二酸化マンガンによる水溶液中の酸化において, 過酸化ニッケルと同様に90%以上の高収率で (27) から (29) への酸化に成功した,

i) 酸化剤の添加量: 通常二酸化マンガンは被酸化物に対して大過剰が必要で 5~20 倍の重量比で用いられている. 本実験においては (27), 1.16 g, (0.005 mole) について 5~20 g の二酸化マンガンを使用した. Fig. 40 から明らかなように, 酸化剤の増量とともに (29) の生成量は増加し約 10 倍量 (12.5 g) の二酸化マンガンの添加時において完全な反応が行なわれることが判明した. この反応においても過酸化ニッケルの場合と同様に, 微量のコメンアルデヒド誘導體 (31) の生成が認められた.

ii) pH: 本酸化剤も調整条件によりアルカリ量が一定でないので, 塩基度による効果について種々の pH により検討した. 本実験に使用した活性二酸化マ

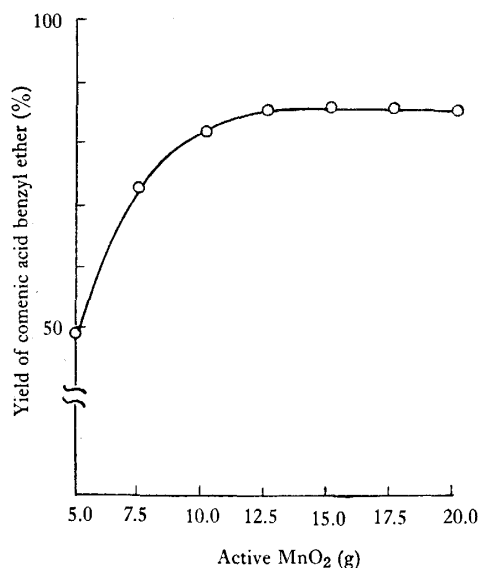


Fig. 40. Effect of Varying Amounts of Manganese Dioxide on the Oxidation of Kojic Acid Benzyl Ether.

The reaction mixture was allowed to react for 2 hours (40°C).

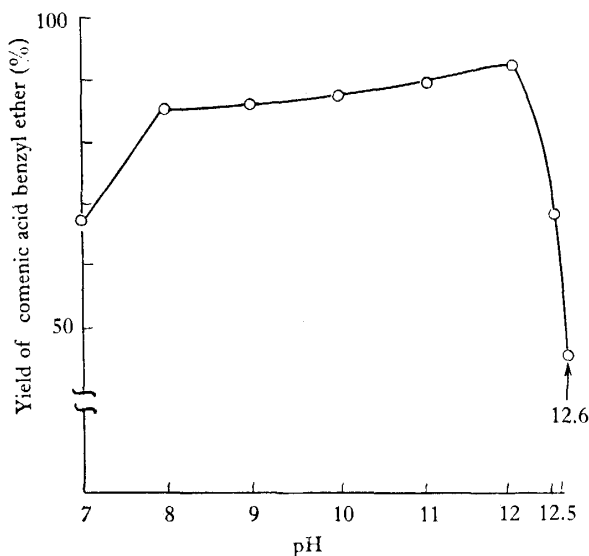


Fig. 41. Influence of Alkalinity on the Oxidation of Kojic Acid Benzyl Ether with Manganese Dioxide.

12.5 g of MnO₂ was used and the mixture was allowed to react for 2 hours (40°C). pH was adjusted with 1 N HCl or 1 N NaOH.

マンガンは水に懸濁した時 pH 8.0 であったので、1N-NaOH および 1N-HCl で所定の pH に調節した。中性付近では (29) の生成量は約 68% であるが pH の上昇と共に漸次酸化が促進され、pH 12 で (29) の生成量は最高に達している (収量 92%)。pH 12.5 に

おいては反応液が茶褐色に着色し、反応物のアルカリ分解のために (29) の収量が低下するものと考えられる (Fig. 41)。この結果は過酸化ニッケルの場合と同様で、(27) から (29) への水溶液中の酸化において溶媒の塩基性が反応に影響し、pH 12.0 のときに最も効果的であることがわかった。水を溶媒としたときの二酸化マンガンを過酸化ニッケルを用いた不均一系酸化反応における塩基の効果は、酸化剤の表面への被酸化物の吸着力の増加および反応の第一段階で生成されたアルデヒド化合物からカルボン酸への酸化を促進するものと推定される。

iii) 反応温度：二酸化マンガンの酸化は反応温度による影響が大であり、(29) の生成量に顕著な差異を示すことが観察された (Fig. 42)。0~20°C の低温においては反応の進行が遅いため酸化 (29) の収量は約 30% であるが、40~60°C の反応温度において (29) の生成が最高に達し (収量 93%)、過酸化ニッケルと同様に 40~60°C が (27) から (29) への最適酸化温度であることが確認された。

iv) 反応の経時的変化：上記実験結果の最適条件を用いて経時的に (27) から (29) への酸化反応を検討したところ Fig. 43 に示すごとく結果が得られた。す

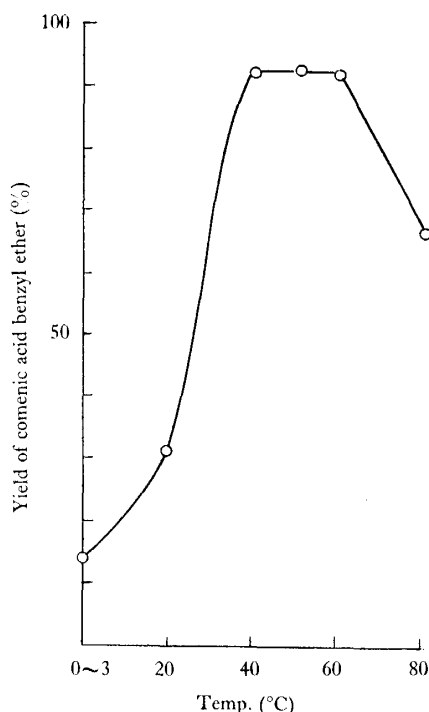


Fig. 42. Effect of Reaction Temperature on the Oxidation of Kojic Acid Benzyl Ether with Manganese Dioxide.

Reaction condition: MnO₂ 12.5 g, pH 12.0, reaction times 2 hr.

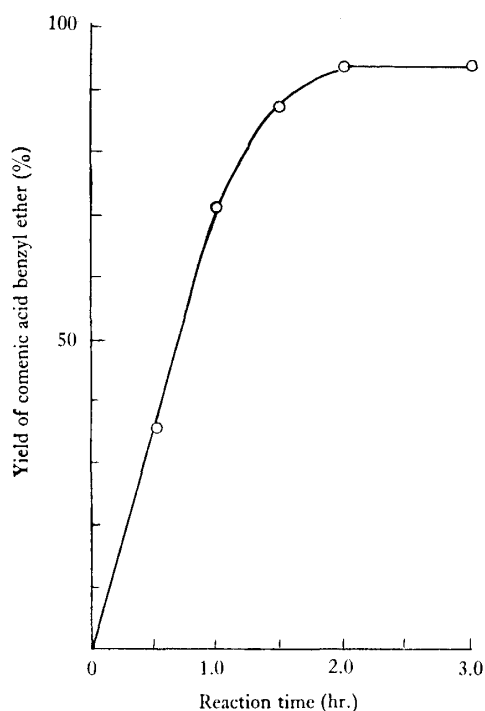


Fig. 43. Reaction Rate of Oxidation for Kojic Acid Benzyl Ether (Manganese Dioxide).

なわち2時間で完全に反応が進行し, それ以後反応時間を延長しても酸(29)の生成量は変化せず, ピロン環の2位の CH_2OH 基が選択的に COOH 基に酸化されていることを示している. しかしながら二酸化マンガンによるアルコール基からカルボキシル基への酸化速度は, 過酸化ニッケルよりも遅く完全酸化に約2倍の時間が必要である.

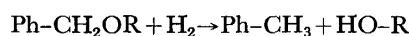
v) 過酸化ニッケルおよび活性二酸化マンガンによる麴酸ベンジルエーテル(27)酸化の比較: 両酸化剤とも水溶液中の反応では選択的に(27)を(29)へ酸化する. 特に弱塩基性水溶液中(pH 12)の反応で(27)より(29)を約90%の高収率で与えることが確認され, この反応は不均一系反応で生成物の単離が容易であり, 従来の方法より優れているので工業的にも期待できる.

過酸化ニッケルは酸化剤としての使用量が二酸化マンガンの約半量で充分であり, かつ一度反応に用いた

ものは簡単に再活性化して使用できる利点を有し, 二酸化マンガンより有効な酸化剤であることが明らかになった.

その3 コメン酸ベンジルエーテル(29)よりコメン酸(2)の合成

芳香族アルキルエーテルは一般に加水素分解は困難であるが, ベンジルエーテルはベンジル基の共鳴安定性のために, 水素原子またはヒドリドイオンと結合しやすくラネーニッケル触媒では $100\sim 150^\circ\text{C}$ で, パラジウムや白金触媒では常温で容易に加水素分解を受けて, トルエンとアルコールまたはフェノールを生ずることが知られている⁸⁶⁾.



γ -ピロン化合物では Thomas⁹⁰⁾ がコメンアルデヒドのベンジルエーテル(31)をパラジウム-炭素で接触水素化し, 加水素分解生成物としてコメンアルデヒド(32)を得ている(Fig. 44).

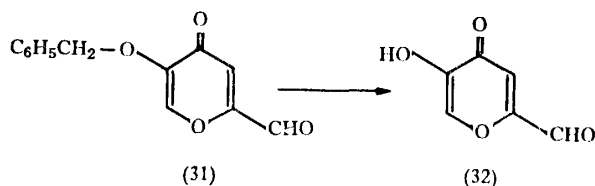


Fig. 44.

麴酸(1)よりコメン酸(2)合成においてはコメン酸ベンジルエーテルの脱ベンジル化が重要な段階であり, 高収率でコメン酸(2)を与える方法の確立が望ましい. かくしてパラジウム, ラネーニッケル触媒による(29)のベンジル基の加水素分解を試みた結果, コロイドパラジウム, パラジウム-硫酸バリウムの如きパラジウム触媒のもと常温, 常圧での水素化およびラネーニッケル(W-7)触媒⁹¹⁾を用いてオートクレーブ中加圧下で水素化すれば容易に脱ベンジルされて高収率(80~85%)で(2)が得られる方法を見出した.(Fig. 45).

第4節 麴酸よりマルトールおよび同族体の合成

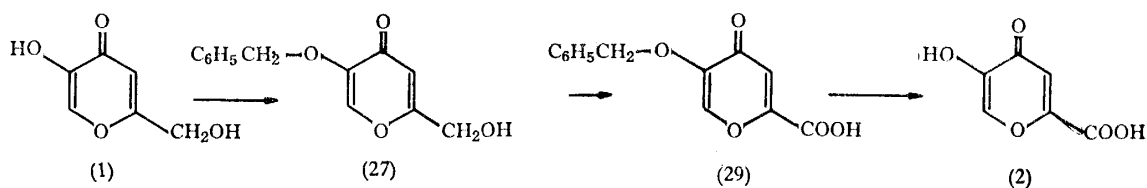


Fig. 45.

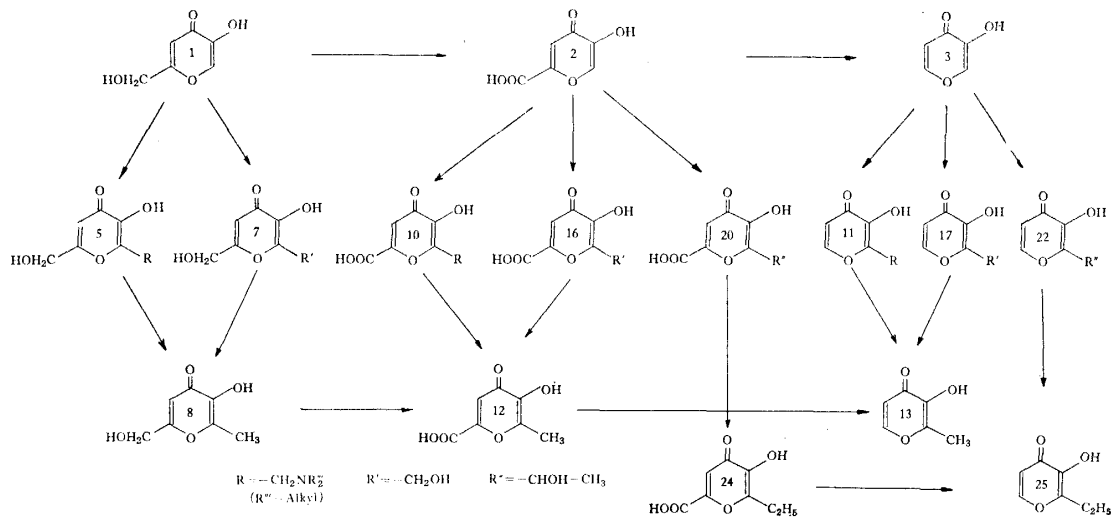


Fig. 46. Synthesis of Maltol homologue from Kojic acid

麴酸 (1) の親電子試薬との反応性、側鎖の選択的酸化反応および後述する側鎖カルボン酸の脱炭酸反応を組み合わせることにより次図に示す如く、大略2つの工程で麴酸からマルトール同族体の全合成が可能である。

すなわち、“麴酸 (1)→コメン酸 (2)→ピロメコン酸 (3)→マルトール同族体 (13), (25)” および、“麴酸 (1)→コメン酸 (2)→6-アルキルコメン酸 (12) (24)→マルトール同族体 (13), (25)” である。収率面から工業的製造には後者の工程が優れている (麴酸より45~48%)。

6-アルキルコメン酸 (12), (24) の脱炭酸反応は一般法として知られている銅粉との混合乾留法によると収率的にも悪く、かつ操作の点からも繁雑であるので、効率的に脱炭酸を行なう方法を検討した結果、熱溶媒として KC-400 (テトラクロルジフェニール) を用い、280~300°C に加熱すれば速やかに脱炭酸反応をおこし、反応終了後減圧にて蒸留すればマルトール同族体 (13), (25) が昇華析出する (収率90%) 新方法を見出した。

以上の結果、麴酸の特異的な反応性を利用することにより、麴酸よりマルトール同族体の経済的合成という目的を達した。

第5節 ま と め

麴酸の工業的利用の一つとしてその構造の類似性よりマルトールおよびエチルマルトールのような香味改良剤の合成を試みた。

1) OH 基オルト位のアシル化

麴酸、コメン酸、ピロメコン酸は次の如き方法でフェノール性 OH 基のオルト位に収率よくアルキル基 (メチル基およびエチル基) が置換導入される。

麴酸はその pKa (7.96) と同じ値以上の pH の塩基性条件において第二級アミン、ホルムアルデヒドと反応し殆んど定量的に Mannich 誘導体を生成し、ついで Mannich 誘導体を亜鉛-氷酢酸で還元することにより高収量で6-メチル麴酸を与えた。本方法をコメン酸、ピロメコン酸に応用して、それぞれ6-メチルコメン酸およびマルトールを得た。

麴酸、コメン酸、ピロメコン酸は Mannich 反応と同様の塩基性条件でホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドと速やかに反応して相当するヒドロキシメチルおよび α -ヒドロキシエチル誘導体を生成し、これらの誘導体は塩化第一錫-塩酸で還元することにより高収量で6-メチル麴酸、6-メチルコメン酸、マルトール、6-エチルコメン酸、エチルマルトールを与えた。

2) 麴酸よりコメン酸の合成

麴酸のピロン環2位の CH_2OH 基の脱離を目的とする COOH 基への選択的酸化を微生物および化学的酸化剤により試みた。麴酸のピロン環5位の OH 基をベンジル基で保護して酸化すれば、いずれの場合も殆んど定量的収量でコメン酸ベンジルエーテルを与えた。すなわち麴酸分解菌 (*Arthrobacter ureafaciens* K-1) による酸化は短時日の培養で90~96%収量でコメン酸ベンジルエーテルが得られた。他方過酸化ニッケル、活性二酸化マンガによる酸化は pH 12 の塩基性条件で2~3時間の反応で90%収量でコメン酸ベンジル

エーテルを与えた。

コメン酸ベンジルエーテルはパラジウムおよびラネーニッケル触媒を用いて接触水素化すれば容易にベンジル基が加水素分解を受け、収量よくコメン酸が得られた。

3) 麴酸よりマルトール同族体の合成

6-アルキルコメン酸の脱炭酸反応を熱溶媒中の加熱により効率的になし得たので“麴酸→コメン酸→6-アルキルコメン酸→マルトール同族体”の工程によるマルトール同族体の新合成法が確立した。

第6節 実験の部

第1節, 第2節の反応の進行および生成物の定性確認に使用したペーパークロマトグラフの溶媒組成はブタノール4 : 蟻酸1.5 : 水1である。

第1節の部

麴酸の Mannich 誘導体 (5a~c)

A方法 (酸性条件)

5-Hydroxy-2-hydroxymethyl-6-dimethylaminomethyl- γ -pyrone·HCl (5a) : ジメチルアミン塩酸塩 (17.5 g), パラホルムアルデヒド (7.8 g), 濃塩酸 (2 ml) を水 20 ml に加えて 80~90°C に加熱する。パラホルムアルデヒドが完全に溶解すれば、麴酸 (8.4 g) および水 50 ml を加えて加熱を続ける (6時間)。反応液は活性炭で処理し、水を蒸発すれば (5a) の粗結晶を得る。50% エタノール水で再結, 白色針状結晶, m.p. 189°C (dec.), 収量 80%, $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 274 m μ (ϵ , 8200), $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3080, 2820, 2590, 1453 cm⁻¹. 分析値 : 実験値 C, 45.91; H, 6.06; N, 5.87. 計算値 C₉H₁₃O₄N·HCl C, 45.87, H, 5.99; N, 5.94%.

5-Hydroxy-2-hydroxymethyl-6-diethylaminomethyl- γ -pyrone·HCl (5b) : 上記と同様の反応操作でアミンとしてジエチルアミン塩酸塩を用いて, m.p. 157~158°C の白色結晶を得た。分析値 : 実験値 C, 50.05; H, 6.90; N, 5.28. 計算値 C₁₁H₁₇O₄N·HCl : C, 50.10; H, 6.88; N, 5.31%. 収量 70%.

5-Hydroxy-2-hydroxymethyl-6-morpholinomethyl- γ -pyrone·HCl (5c) : モルホリン塩酸塩も上記アルキルアミンと同様に Mannich 誘導体を生成した。50% エタノール水で再結, 白色結晶, m.p. 182~183°C (dec.). 本結晶は炭酸カリで中和すれば遊離の Mannich 塩基を与えた。エタノールで再結, 白色 leaflets, m.p. 164~165°C, 収量80%. $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 275 m μ (ϵ , 16000); $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 2825, 2720, 1437 cm⁻¹. 分析値 :

実験値 C, 54.84; H, 6.27; N, 5.76. 計算値 C₁₁H₁₅O₅N : C, 54.76; H, 6.27; N, 5.81%.

B方法 (塩基性条件)

Dimethylaminomethyl 誘導体 (5a) : ジメチルアミンの40%水溶液 (9 ml), 37% ホルマリン (7 ml) を 100 ml の水またはエタノールに加え, この混合溶液に麴酸 (1) 8.5 g を溶かしはげしく攪拌する (10~15分間)。反応液は塩酸酸性にした後, 水を蒸発すれば (5a) の粗結晶が得られる。50% エタノールで再結, 収量85%.

Morpholinomethyl 誘導体 (5c) : 上記と同様の操作で行なった。此の場合生成物 (5c) が直接反応液中に結晶して来た (エタノール溶媒の時), 収量85%.

6-Hydroxymethyl kojic acid (7) とアミンとの反応 : 酸性, 塩基性両条件で行なったがいずれも出発物質が回収された。

Mannich 誘導体 (5) の還元

6-Methyl kojic acid (6-methyl-5-hydroxy-2-hydroxymethyl- γ -pyrone), (8) : (5a) 12 g, 亜鉛粉末 (7 g) を氷酢酸 100 ml に加えて 70~80°C で加熱する (6時間)。反応後, 過剰の亜鉛を濾去し, 濾液は蒸発乾固する。残渣を水に溶かし残存している亜鉛を硫化水素を通じて硫化亜鉛の形で除去する。濾液より水を蒸発すれば (8) の粗結晶を得る。エタノールで再結, m.p. 148°C, 収量55%. $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 277 m μ (ϵ 9300); $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3270, 3030, 1648, 1610, 1548, 1243, 1040 cm⁻¹. 分析値 : 実験値 C, 48.80; H, 4.69. 計算値 C₇H₈O₄ : C, 48.84; H, 4.68%.

コメン酸 (2), ピロメコン酸 (3) の Mannich 誘導体

5-Hydroxy-2-carboxy-6-dimethylaminomethyl- γ -pyron (10) : B法によりコメン酸 4.7 g (0.03 mol) より 86% 収量で Mannich 誘導体 (10), m.p. 152~153°C を得た。 $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 280 m μ ; $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3400, 3200, 1733, 1460, 1282, 1222 cm⁻¹. 分析値 : 実験値 C, 50.78; H, 5.24; N, 6.55%. 計算値 C₉H₁₁O₅N : C, 50.70; H, 5.20; N, 6.57%.

3-Hydroxy-2-dimethylaminomethyl- γ -pyrone (11) : 方法Bによりピロメコン酸, ジメチルアミン, ホルマリンを反応させて生成物 (11) は塩酸塩として単離した, 収量 75%, m.p. 180°C (dec.). $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 274 m μ ; $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3250, 3040, 2560, 1470, 1276, 1200 cm⁻¹. 分析値 : 実験値 C, 46.49; H, 6.04; N, 6.70. 計算値 C₈H₁₁O₃N·HCl : C, 46.73; H, 5.88; N, 6.81

%

Mannich 誘導体の還元

6-Methyl comenic acid (5-Hydroxy-2-carboxy-6-methyl- γ -pyrone), (12) : 化合物 (10) 4.3 g を 40 ml 氷酢酸に溶かし、亜鉛粉末 4 g を加えて攪拌しながら 70~80°C で約 5 時間加熱した。過剰の亜鉛を除去し、濾液に水 800 ml を加え、亜鉛を除くために硫化水素を通じた。硫化亜鉛を濾去し、濾液を減圧濃縮すれば (12) の粗結晶を得る。アセトンで再結、m.p. 237~238°C (dec.) の白色結晶を 60% 収量で得。

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 224 m μ (ϵ , 20300), 303 m μ (ϵ , 4000); $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3320, 3075, 2945, 1740, 1639, 1618, 1550, 1225, 1217, 1058 cm⁻¹. 分析値 : 実験値 C, 49.42; H, 3.56. 計算値 C₇H₆O₅ : C, 49.42; H, 3.48%.

Maltol (3-Hydroxy-2-methyl- γ -pyrone), (13) : 上記コメン酸誘導体と同様の処理により (11) より 55% 収量で (13) を得た。エタノールで再結、m.p. 160~161°C, 標品との混融, 赤外吸収スペクトルの比較により同定した。 $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 277 m μ (ϵ , 7800); $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3250, 1652, 1620, 1560, 1460, 1260, 1200, 1080 cm⁻¹.

第 2 節の部**Hydroxymethylation of (1), (2), (3)**

6-Hydroxymethyl kojic acid (2,6-dihydroxymethyl-5-hydroxy- γ -pyrone, 7) および 2,2'-Dihydroxymethyl-6,6'-dikojyl-methane (14) の合成

1) : 麴酸 (8.4 g), 炭酸ソーダ (2 g) を水 100 ml に溶かし、これに 37% ホルマリン (7 ml) を加え、65°C で 1 時間、攪拌加熱する。反応液は塩酸で中和し、活性炭処理後ペーパークロマトグラムで 2 個のスポット (塩化鉄呈色反応で紫紅色), Rf (0.54, 0.25) を与えた。反応液を半量まで濃縮し、一夜氷室に放置すれば 0.8 g の粗結晶 (m.p. 238°C) を得た。エタノールで再結、m.p. 248~249°C の粉状結晶 (14) を得、本物質は Rf 0.25 に相当した。

化合物 (14) を単離した濾液を乾燥状態まで水を蒸発し、残渣をエタノール-ヘキサン混合溶媒に溶かし、無機塩を濾去した後溶媒を留去すれば 6.8 g (76%) の (7) の粗結晶を得た。メタノールで再結、白色針状結晶, m.p. 158~159°C.

(14); $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 284 m μ (ϵ , 12700), $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1630, 1460, 1210, 1100 cm⁻¹. 分析値 : 実験値 C, 52.46; H, 4.21. 計算値 C₁₃H₁₂O₈ : C, 52.71; H, 4.08%.

(7); $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 275 m μ (ϵ , 7600), $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3350, 1612,

1095, 1087 cm⁻¹. $\delta_{\text{max}}^{\text{d}_6\text{-DMSO}}$ 4.37 (2H), 4.48 (2H), 6.37 (1H). 分析値 : 実験値 C, 48.70; H, 4.80. 計算値 C₇H₈O₅ : C, 48.84; H, 4.68%.

2) : 麴酸 (4.2 g), KOH (1 g), 37% ホルマリン (3.5 ml) を水 50 ml に溶かし、65°C で 15 分間攪拌加熱する。以下 1) と同様の操作で化合物 (7) を 85% 収量で単離した。なお本実験で (14) の生成はごく微量で単離できなかった。

3) : 麴酸 (14.2 g) を水 100 ml に溶かし、NaOH または KOH で pH 8~8.5 に調節した後、37% ホルマリン (7 ml) を加え、室温で 15 分間攪拌する。以下 1), 2) と同じ操作を行ない (7) を 90% 収量で単離した。この場合も微量の (14) の生成が認められた。

4) : (酸性条件) - 麴酸 (7.1 g), パラホルムアルデヒド (2.8 g), 氷酢酸 (7 ml), 燐酸 (85%, 42 ml), 濃塩酸 (12 ml) の混合溶液を 80~90°C で約 6 時間加熱する。反応液は 200 ml 冷水に注ぎ込み、飽和の重曹水で中和し、蒸発乾固する。残渣を約 200 ml のエタノールに溶かし、エタノール可溶部はペーパークロマトグラムにより麴酸 (1) および (7) のほぼ等量混合物であることが確認された。エタノールを留去すれば、粗結晶として 3.6 g の混合物を得。

6-Hydroxymethyl comenic acid (6-hydroxymethyl-5-hydroxy- γ -pyrone-2-carboxylic acid, (16)) : 3) の方法にもとずいてコメン酸 (2) より合成した。この場合反応液を塩酸酸性にすれば (16) が殆んど定量的に沈澱してきた。エタノールで再結、m.p. 178~179°C (dec.) の白色結晶を得、収量 90%。 $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 303 m μ (ϵ , 3100); $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3350, 3100, 2980, 2820, 1740, 1629, 1572, 1480, 1411, 1275, 1236, 1215, 1054, 1008, 947, 888, 770 cm⁻¹. 分析値 : 実験値 C, 45.31; H, 3.42. 計算値 C₇H₆O₆ : C, 45.17; H, 3.25%.

Hydroxymaltol (2-hydroxymethyl-3-hydroxy- γ -pyrone, (17)) : 3) の方法でピロメコン酸 (3) より合成した。収量 80%, m.p. 152~153°C⁹²⁾. $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 276 m μ ; $\nu_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 3280, 1646, 1611, 1552, 1480, 1190, 1042, 1008 cm⁻¹. 分析値 : 実験値 C, 50.65; H, 4.26%. 計算値 C₆H₆O₄ : C, 50.71; H, 4.26%.

Hydroxymaltol の接触水素化 (Maltol (13)) : 化合物 (17) 4.8 g を 60 ml の氷酢酸に溶かし、Adams の酸化白金 150 mg を加えて、常温、常圧で水素化す

れば (17) に対して 2.5 mol の水素を吸収した。触媒, 溶媒を除去し, 残渣を蒸留すれば 900 mg の白色結晶 (13), m.p. 160~161°C を得。mix. m.p. 160~261°C.

化合物 ((16), (17)) の塩素化, 還元

6-chloromethyl comenic acid (18) : (16) 3.7 g に過剰の SOCl_2 を作用させると激しく反応し, モノ塩化物を与える。反応後, 石油エーテルで洗浄し, 水で再結, m.p. 189~190°C, 収量 60%。分析値 : 実験値 C, 41.15; H, 2.50。計算値 $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_5\text{Cl}$: C, 41.10; H, 2.46%。

α -chloromaltol (19) : (17) 2.8 g を 20 ml のクロロホルムに溶かし, 15 ml の SOCl_2 を加えて 40 分間還流する。溶媒を留去し, 黒色の固体をベンゼンで再結, m.p. 145~146°C の白色針状結晶を 31% 収量で得。分析値 : 実験値 C, 44.83; H, 3.31。計算値 $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_3\text{Cl}$: C, 44.90; H, 3.14%。

6 Methyl comenic acid (12) : (18) を氷酢酸, 亜鉛で還元し, 60% 収量で (12) を得た, m.p. 237~238°C (dec.)。標品との混融, 赤外吸収スペクトルにより同定。

Maltol (13) : 化合物 (19) を上記と同様に氷酢酸, 亜鉛で還元し, 反応液のエーテル抽出により (13) を得た。クロロホルムで再結, m.p. 160~161°C, 収量 60%。混融, 赤外吸収スペクトルにより同定。

化合物 ((7), (16), (17)) の塩化第一錫による還元

6-Methyl kojic acid (8) : 化合物 (7) 1.7 g を水 20 ml に溶かし, 塩化第一錫 6.5 g を溶かした濃塩酸 5 ml の熱溶液を加え, 30 分間, 還流する。反応液は 400 ml の水中に注ぎ, 硫化水素を通じて硫化錫を除去し, 濾液は減圧下で水を留去する。残渣はヘキサノールで結晶化し, さらにエタノールで再結, 無色針状結晶, m.p. 148°C, 収量 75%。標品との混融, 赤外吸収スペクトルの比較により同定。

6-Methyl comenic acid (12) : 化合物 (16) を上記麴酸誘導体と同様の還元を行ない, ヘキサノールで結晶化し, アセトンで再結, m.p. 237~238°C の白色結晶を 80% 収量で得。標品との混融, 赤外吸収スペクトルの比較により同定。

Maltol (13) : 化合物 (17) も上記還元法にて 70% 収量で (13) を与えた。

6-Methyl kojic acid (8) の酸化 (6-Methyl comenic acid (12)) : 化合物 (7) 1.6 g を 20 ml 氷酢酸に溶かし, 無水クロム酸 1 g を加えて攪拌しながら 50°C

に加熱する (1 時間)。反応液は中和後エーテルで抽出する。抽出液よりエーテルを留去すれば結晶状物質が得られた。アセトンで再結, m.p. 237~238°C (dec.), 収量 8%。混融, 赤外吸収スペクトルより (12) として同定。

Hydroxyethylation of (2), (3)

6- α -Hydroxyethyl comenic acid (20) および (21) : 1) コメン酸 (2) 31.2 g を水 500 ml 中に懸濁し, 次いで 20% NaOH 水溶液を加えてコメン酸 (2) を溶かしながら pH 7.9~8.0 に調節する。

これに 80% アセトアルデヒド 12 g およびヒドロキノン 0.5 g を加えて 32~40°C で約 20 時間攪拌する。反応終了後, 20% 硫酸で酸性 (pH 2.0) にすれば (21) の白色の結晶が析出してくる。濾別後, 濾液を氷室に 24~48 時間放置すれば (20) の白色結晶が析出してくる。(20), (21) は水-エタノールで再結, 収量 (20) 63%, (21) 15%。

2) 上記反応を温度 23~27°C で行なうと (20) のみを 90% 収量で得られた。

化合物 (20) : m.p. 172~174°C ; $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 302 μ ; $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1713, 1616, 1560 cm^{-1} 。 $\delta_{\text{max}}^{\text{d}_6\text{-DMSO}}$ 1.43 (d, J=7, 3H), 5.11 (q, J=7, 1H), 6.98 (s, 1H)。分析値 : 実験値 C, 47.89; H, 3.87。計算値 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_6$: C, 48.01; H, 4.03%。

化合物 (21) : m.p. 220~221°C ; $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 310 μ ; $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1720, 1622, 1250, 1219 cm^{-1} 。 $\delta_{\text{max}}^{\text{d}_6\text{-DMSO}}$ 1.64 (d, J=7, 3H), 4.82 (q, J=7, 1H), 6.98 (s, 2H), 8.34 (4-OH)。分析値 : 実験値 C, 49.48; H, 3.14。計算値 $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_{10}$: C, 49.71; H, 2.98%。

α -Hydroxyethyl maltol (22) および (23) : ピロメコン酸 (3) 22.4 g を水 500 ml 中に懸濁し, 20% NaOH 水溶液で pH 8 に調節した。この溶液に 80% アセトアルデヒド 12 g およびヒドロキノン 0.5 g を加えて 25~20°C で約 20 時間攪拌する。反応終了後 20% 硫酸で酸性にし氷室に放置すれば淡褐色の結晶 (23) が析出してくる。(23) を濾別後, 溶媒を蒸発し, 残渣をクロロホルムで抽出する。クロロホルムを蒸発すると (22) の白色結晶を得。収量 (22) 55%, (23) 10%。

化合物 (22) : m.p. 130~131°C ; $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 277 μ ; $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3290, 1646, 1610, 1550 cm^{-1} 。 $\delta_{\text{max}}^{\text{d}_6\text{-DMSO}}$ 1.35 (d, J=7, 3H), 5.04 (q, J=7, 1H), 6.35 (d, J=5, 1H), 8.12 (d, J=5, 1H)。

分析値：実験値 C, 53.65; H, 5.30. 計算値 $C_7H_8O_4$ C, 53.84; H, 5.16%.

化合物 (23) : m.p. 241~242°C; $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 283 m μ ; $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1632, 1580, 1550 cm^{-1} . $\delta_{\text{max}}^{\text{d}_6\text{-DMSO}}$ 1.54 (d, J=7, 3H), 4.80 (q, J=7, 1H), 6.39 (d, J=5, 2H), 8.06 (d, J=5, 2H).

分析値：実験値 C, 57.83; H, 4.20. 計算値 $C_{12}H_{10}O_6$ C, 57.60; H, 4.03%.

化合物 (20), (22) の還元

6-Ethyl comenic acid (24) :

6- α -ヒドロキシエチルコメン酸 (20) 20 g を水 100 ml 中に懸濁し, これに塩化第一錫 23 g の濃塩酸溶液 40 ml を加えて, 75~80°C で 1.5 時間攪拌する. 反応液をエーテルで 24 時間連続抽出し, エーテルを蒸発後抽出物を 500 ml の水に溶かし, 硫化水素を通じて錫を除き, 滷液を蒸発すれば 6-エチルコメン酸 (24) の白色結晶を得る, 収量 75%. m.p. 233~234°C; $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 303 m μ ; $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1700, 1620, 1545 cm^{-1} . $\delta_{\text{max}}^{\text{d}_6\text{-DMSO}}$ 1.22 (t, J=7, 3H), 2.74 (q, J=7, 2H), 6.95 (s, 1H). 分析値：実験値 C, 52.03; H, 4.51. 計算値 $C_8H_8O_5$: C, 52.18; H, 4.38%.

Ethyl maltol (25), (3-Hydroxy-2-ethyl- γ -pyrone) :

α -ヒドロキシエチルマルトール (22) を (24) の合成と同じ操作で還元すれば 65% 収量で (25) を得る.

m.p. 90~91°C; $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 277 m μ ; $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1650, 1618, 1559, 1200 cm^{-1} . $\delta_{\text{max}}^{\text{CDCl}_3}$ 1.23 (t, J=7, 3H), 2.78 (q, J=7, 2H), 6.44, 7.73 (d, J=6, 1H).

分析値：実験値 C, 59.74; H, 5.97. 計算値 $C_7H_8O_3$: C, 59.99; H 5.75%.

第 3 節

その 1

1 供試菌株 : *Arthrobacter ureafaciens* K-1 株⁸⁷⁾.

2 基質 : 麴酸メチルエーテル [(5-Methoxy kojic acid) (26)]⁹³⁾; 麴酸ベンジルエーテル [(5-Benzyloxy kojic acid) (27)] を用いた. (27) の合成は Thomas⁹⁴⁾ の方法を改良して行なった, 収量 90%.

3 培養方法

i) 培地組成

保存培地 : ペプトン (10 g), 食塩 (5 g), 肉エキス (5 g), 麴酸 (2 g), 水 1 l, pH 7.2.

一次培地 : ペプトン (5 g), 食塩 (2.5 g), 肉エキス

(2.5 g), 麴酸 (2 g), 水 1 l, pH 7.2.

一次培養法で麴酸ベンジルエーテル (27) を酸化する時は上記一次培地に所定の時間に直接添加して培養した.

二次培地 : M/30 磷酸緩衝液 (pH 7.2) を用いた.

振盪培養法 : 一次培養は 500 ml 培養フラスコに上記培地 100 ml を注入, 殺菌後, 保存培地で 2 日間培養した mating タイプの菌体を殺菌水に懸濁し, その一定量を摂取しシェーカーで 30~31°C で培養した.

二次培養は一次培地で 2 日間培養した後, 菌体を遠沈 (6000 r.p.m.) して集め, 殺菌水で洗浄後殺菌した磷酸緩衝液に懸濁し, 培養フラスコに一定量摂取し, さらに緩衝液を加えて全量 100 ml にする. これに基質の一定量を加えて 30~31°C で培養した.

深部培養法 : 丸菱製 20 l 容ジャーフェーマンターを用い次の如き条件で行なった. 培地, 12 l; 攪拌速度 350 r.p.m.; 通気量 12 l/min; 培養温度 30°C. 培地組成は振盪培養に準じて行なった. なお本実験の種菌は振盪培養法により 24 時間培養した菌体を用いた.

4 生成物の分離および同定

本培養終了後遠沈にて菌体を除去し, 培地を塩酸酸性にすれば殆んど白色の粉状結晶が沈澱してくる. 結晶は滷別し, 少量の冷水で洗浄後乾燥した. 化合物 (26) より m.p. 256~257°C の物質, 化合物 (27) より m.p. 193°C の物質を得た. エタノールで再結することにより m.p. 258°C (28) および m.p. 196°C (29) の白色結晶を得た.

コメン酸メチルエーテル [(5-methoxy-2-carboxy- γ -pyrone), (28)] : 分析値 : 実験値 C, 49.45; H, 3.59. 計算値 $C_7H_6O_5$: C, 49.42; H, 3.56%.

コメン酸ベンジルエーテル [(5-benzyloxy-2-carboxy- γ -pyrone), (29)] : 分析値 : 実験値 C, 63.44; H, 4.08. 計算値 $C_{13}H_{10}O_5$: C, 63.41; H, 4.09%.

化合物 (28) および (29) は標品^{84, 90)}との混融試験, 赤外吸収スペクトル (Fig. 26) より確認した.

その 2

I 酸化剤の調整

1 **Nickel peroxide** : 中川ら⁸⁸⁾の方法により調整した. 6% 次亜塩素酸ソーダ 300 ml に 42 g. の NaOH を溶かした混液を 130 g の $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を 300 ml の水に溶かした溶液に滴下しつつ 30 分間, 20°C で攪拌する. 生成した黒色の nickel peroxide は滷別し充分に水洗後塩化カルシウム上で減圧乾燥する.

酸化剤の再活性化 : 一度酸化反応に用いた nickel

peroxide は水洗後約10倍量の次亜塩素酸ソーダ溶液(6%)中で20分間攪拌し, 水洗後乾燥する。

2 **Active MnO₂**: Attenburrow⁹⁵⁾の方法を適用した。KMnO₄ 960 g を水 6 l に溶かした熱溶液を攪拌しながら MnSO₄·4H₂O 1,110 g を 1500 ml の水に溶かした溶液と 40% NaOH 水溶液 1170 ml を同時に滴下する。滴下を開始すれば直ちに茶褐色の MnO₂ の沈澱を生成する。約1時間で滴下を終了し, さらに1時間攪拌を続ける。反応終了後沈澱は遠沈にて分離し, 洗液が無色になるまで水洗する。得られた MnO₂ は 100~120°C で乾燥し, 使用する前に粉状にする。本実験においては三井化学製の市販品も併用した。

3 **酸化剤の有効酸素量の測定**⁸⁸⁾: 有効酸素量はヨードメトリー法により測定した。約 0.2 g の酸化剤を 2~3 g の KI を含む 36% 酢酸溶液 20 ml に溶解し, 密封して10分間放置する。遊離したヨードを 0.1N-Na₂S₂O₃ 溶液で滴定する。有効酸素量は次式によって算出した。

$$\frac{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ (ml)}}{1,000 \times \text{oxidizing agent (g)} \times 10 \times 2} = \frac{\text{g-atom oxygen}}{\text{g oxidizing agent}}$$

II 水溶液中の酸化

コメン酸ベンジルエーテル [(5-benzyloxy-2-carboxy- γ -pyrone (29))] の合成

1) 1.16 g (1/200 mole) 麴酸ベンジルエーテル(27) と 6.2 g (理論量の2倍) の nickel peroxide を 75 ml の水に懸濁し (pH の調節には 1N-NaOH および 1N-HCl を滴下した), 反応温度を一定に保ちマグネチックスターで攪拌した。反応終了後, 酸化剤を汙別し, 少量の冷水で洗浄後, 汙液を濃塩酸で酸性 (pH 1.0) にすれば白色の沈澱が生じる。本物質をエタノールで再結すれば m.p. 196°C の白色の結晶を得, 標準試料との混融, 赤外吸収スペクトルなどから (29) であることを確認した。

2) 1.16 g (1/200 mole) 麴酸ベンジルエーテル (27) と 12.5 g の MnO₂ を 75 ml の水に懸濁し, 上記 nickel peroxide と同様の操作で反応を行い, コメン酸ベンジルエーテル (29) を単離した。

その3

コメン酸ベンジルエーテル (29) の加水素分解 (Comenic acid (2))

1) 塩化パラジウム 100 mg, アラビヤゴム 100 mg を水 20 ml に溶かし, 水素を通じて活性化する。これに化合物 (29) 4 g, エタノール 130 ml を加えて常

温, 常圧で水素化すれば25分間で約 1 mol の水素を吸収した。過剰のエタノールを加えてパラジウム触媒を汙別し, 溶媒を留去すれば白色粉状結晶, m.p. 285°C (dec), が 87.5% 収率で得られた。

2) 化合物 (29) 4 g をエタノール 150 ml に溶かし, パラジウム-硫酸バリウム触媒 1 g を加えて水素化すれば40分間で 1 mol の水素を吸収した。触媒, 溶媒を除去すると, 白色粉状結晶, m.p. 285°C (dec) が 86% 収率で得られた。

3) 化合物 (29) 4.92 g (0.02 mol) を 120 ml のエタノールに溶解し, ラネーニッケル触媒 (W-7)⁹¹⁾ 2 g を添加してオートクレイブ中で加圧下 (100 kg/cm²) で 90~95°C で水素化すれば理論量(29)に対して 1 mol の水素が吸収される。冷後触媒を汙去し, 汙液を蒸発すれば白色の粉状結晶が得られる。m.p. 285°C (dec), 収量 80%。

本物質は標品²⁴⁾との混融, 赤外吸収スペクトルの比較によりコメン酸(2)であることを同定した。λ_{m_{ax}}^{MeOH} 223 mμ (ε, 19300), 300 mμ (ε, 3600), ν_{m_{ax}}^{KBr} 3320, 3060, 1727, 1220, 1208, 1149 cm⁻¹. 分析値: 実験値 C, 46.08; H, 2.66. 計算値 C₆H₄O₅: C, 46.17; H, 2.58%。

第4節 Decarboxylation of (12) and (24)

6-Methyl comenic acid (12) の脱炭酸 [Maltol (13)]

1) 化合物 (12) 3.4 g を 0.2 g の銅粉と混合し, 最初30分間で 300°C に加熱し, 次いで減圧下 (20~30 mmHg) 260°C で30分間加熱を続ける。昇華性結晶物質をトラップに集め, クロロホルムに溶かし, 再結する, 白色プリズム結晶, m.p. 160~161°C が 70% 収量で得られた。本物質 (13) は標品との混融, 赤外吸収スペクトルの比較により同定した。

2) 化合物 (12) 3.4 g を KC-400 (Tetrachlorodiphenyl) と混合し, 油浴上で 280~300°C に加熱すると, 激しく脱炭酸反応を起す。約15分後反応物を減圧 (20~30 mmHg) で蒸留すれば白色の結晶が昇華してくる。クロロホルムで再結, 白色プリズム結晶, m.p. 160~161°C を 90% 収量で得。

Ethyl maltol (25)

6-エチルコメン酸 (24) を (2) 法で脱炭酸すれば 90% 収量で (25) を得た。m.p. 90~91°C. 混融, 赤外吸収スペクトルより同定。

第2章 麴酸よりピリダジン系およびピラゾール系化合物の合成

γ -ピロンにヒドラジンを作用させると容易にピラゾール誘導体を生成することが知られており、麴酸の如き 3(or5)-OH- γ -pyrone もヒドラジン類と反応して含窒素複素環化合物を与えるものと推定される。麴酸の場合はフェノール性 OH 基の存在によりピラゾールの外、 γ -ピリドン、ピリダジン誘導体の生成も期待され、これらは生物活性的にも興味ある化合物である。

本章においては麴酸の利用の一つとして含窒素化合物の合成を目的として、麴酸およびその誘導体と求核試薬 (H_2^{18}O , $\text{NH}_2\text{-NHR}$) の反応性について検討を加えた結果、重酸素重水による交換反応より OH- γ -pyrone 環に対する求核試薬の付加反応が明らかになり、次いでヒドラジン類との反応より生成物として 4-オキソ-1, 4-ジヒドロピリダジン、ピラゾール、1-アミノ- γ -ピリドン、1-フェニールピラゾール誘導体等生理活性的に期待される含窒素複素環化合物が得られた。

第1節 重酸素重水 (H_2^{18}O) による酸素交換反応

γ -ピロン化合物は次の如く OH^- , NH_3 , NH_2R 等の求核試薬の攻撃により開環することが知られている^{1,3,4,96,97}。

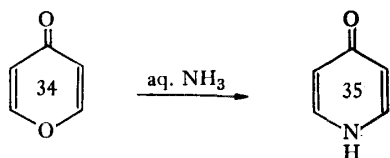
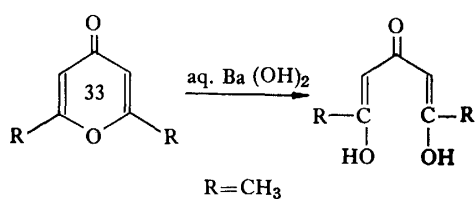


Fig. 47.

麴酸 (1) の如き 3(or5)-OH- γ -pyrone の塩基性条件下での挙動についてはフェノール性 OH 基の解離にもとづくコージェイトアニオンの共鳴限界構造および OH^- , NH_3 , $\text{NH}_2\text{-NHR}$ 等の求核的試薬の付加に

よる環酸素原子の結合開裂にもとづく開環構造からの考察が必要である。

本節ではヒドラジン類との反応を試みるにあたり、まず求核試薬との反応性を明らかにするために、重酸素重水 (H_2^{18}O) をトレーサーに用いて麴酸 (1) を中心に類似 γ -ピロン化合物に対する OH^- の付加位置およびその後の挙動について比較検討した。

I. γ -ピロン (34) の ^{18}O 交換反応

基礎実験として γ -ピロン (34) の ^{18}O 交換反応を試みた。(34) を重酸素重水 (1.5 atom% ^{18}O) に溶解し、塩基性 (NaOH)、酸性 (HCl) および中性の各条件のもとで 30°C で 20 時間保持した後、(34) を回収し Rittenburg 改良法⁹⁸) で ^{18}O を分析した。

Table 6 The Values of ^{18}O incorporations in the recovered γ -Pyrone (34) under various conditions and its 4-Thio- γ -pyrone derivative (36)

Compound	Natural abundance of ^{18}O was 0.204 atom % ^{18}O .		
	Neutral	Acidic	Basic
γ -Pyrone (34)	0.25	0.27	0.52
4-Thio- γ -pyrone (36)	0.30	0.31	0.55

Natural abundance of ^{18}O was 0.204 atom % ^{18}O .

Table 6 に示す如く、塩基性条件では特に ^{18}O の incorporation が顕著であり、環酸素原子への交換が十分に推察されるが表示した値は (34) の 2 個の酸素原子中の ^{18}O の平均値であるので、環酸素への ^{18}O incorporation を正確に論ずることは出来ない。この点を考察するためにはカルボニル基の酸素原子または環酸素原子を ^{18}O 交換反応をおこさない条件で他原子に交換する必要がある。ベンゼン、リグロイン等の有機溶媒中での P_2S_5 によるカルボニル基のチオール化

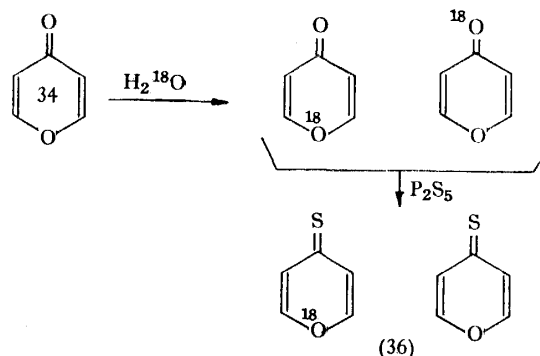


Fig. 48.

は酸素交換反応なしに 4-Thio- γ -pyrone (36) を与えるので⁹⁹⁾, 交換反応後回収した (34) より 4-Thio- γ -pyrone を合成し ^{18}O 分析を行なった.

Table 6 の値より環酸素原子への ^{18}O incorporation が明らかになり, その交換量はカルボニル基の酸素原子より多く, OH^- によるピロン核 2 位または 6 位への求核的攻撃の方が優勢であることを示している. このことは Table 8 に示す γ -ピリドン (35) が塩基性条件下で殆んどカルボニル基の ^{18}O 交換を行なっていないことから明らかであり, (34) における ^{18}O incorporation の大部分は環酸素原子におこっていることを支持している.

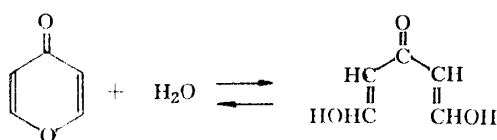


Fig. 49.

酸性, 中性においても若干の ^{18}O 交換がおこっており, この事実は Beak¹⁰⁰⁾ らの次の知見とよく一致している. すなわち著者が本研究を行なっている同時期に, 彼等は強い酸性条件下で γ -ピロン (34) の H_2^{18}O および D_2O の交換反応を検討し, 次の様な反応機構を提示した.

γ -ピロン (34) への H_2O の求核的な 1, 4-addition により, [a] を経て開環し互変異性体 [b] および [c] を生成すると推定し, H_2O による加水系および脱水系により (34) は [a] \rightleftharpoons [b] \rightleftharpoons [c] を通じてカルボニル酸素, 環酸素へ ^{18}O incorporation を行なっていると推定している.

著者の結果および彼等の考察より, γ -ピロン (34) は水溶液中では Fig. 50 の如く H_2O による加水によって開環構造を取っていることが明らかにされ, 特

に塩基性条件下では求核性の増加によって開環構造の寄与が多いことを支持している.

II. 麴酸 (1) および類似 γ -ピロン化合物の ^{18}O 交換反応

麴酸 (1) を γ -ピロン (34) と同様に塩基性, 酸性, 中性の三条件下で重酸素重水 (1.5 atom% ^{18}O) 中で 40°C で 20 時間保持した後回収した麴酸の ^{18}O を分析した結果, Table 7 に示す如く ^{18}O incorporation の傾向は (34) と全く同様に, 中性, 酸性条件では少なく, 塩基性溶液中で特に多量の交換が観察された.

Table 7 The values of ^{18}O incorporations in the recovered kojic Acid (1) under various conditions

	Atom % ^{18}O		
	Neutral	Acidic	Basic
Kojic Acid	0.23	0.28	0.51

Natural abundance of ^{18}O was 0.204 atom % ^{18}O .

しかしながら麴酸 (1) は 4 個の酸素原子を有しており分析値は 4 酸素原子の平均値を表示しているので ^{18}O incorporation を考察するためにはフラグメンテーションを行なうか, あるいは酸素原子を他原子へ置換する必要がある. 麴酸 (1) より (34) と同様な 4-Thio- γ -pyrone 誘導体の合成は困難であったので他の類似 γ -ピロン化合物の ^{18}O 交換反応から検討を試みた.

麴酸 (1) と同様な塩基性条件下で 6-ヒドロキシメチル麴酸 (7), 6-メチル麴酸 (8), 5-メトキシ麴酸 (9), マルトール (13), γ -ピリドン (35), 2-ヒドロキシメチル-5-ヒドロキシ- γ -ピリドン (37), 2-ヒドロキシメチル-5-メトキシ- γ -ピリドン (38), アロマルトール (39) の ^{18}O 交換反応を行ないそれぞれ Table 8

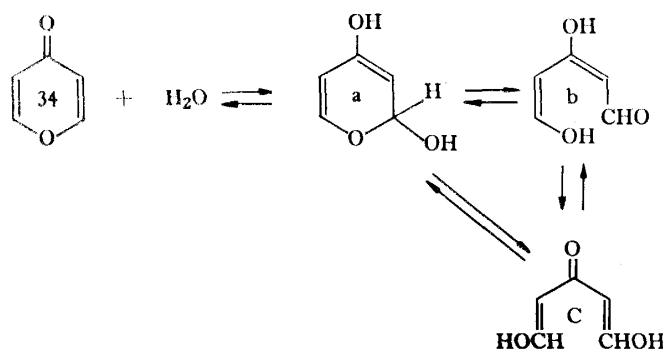


Fig. 50.

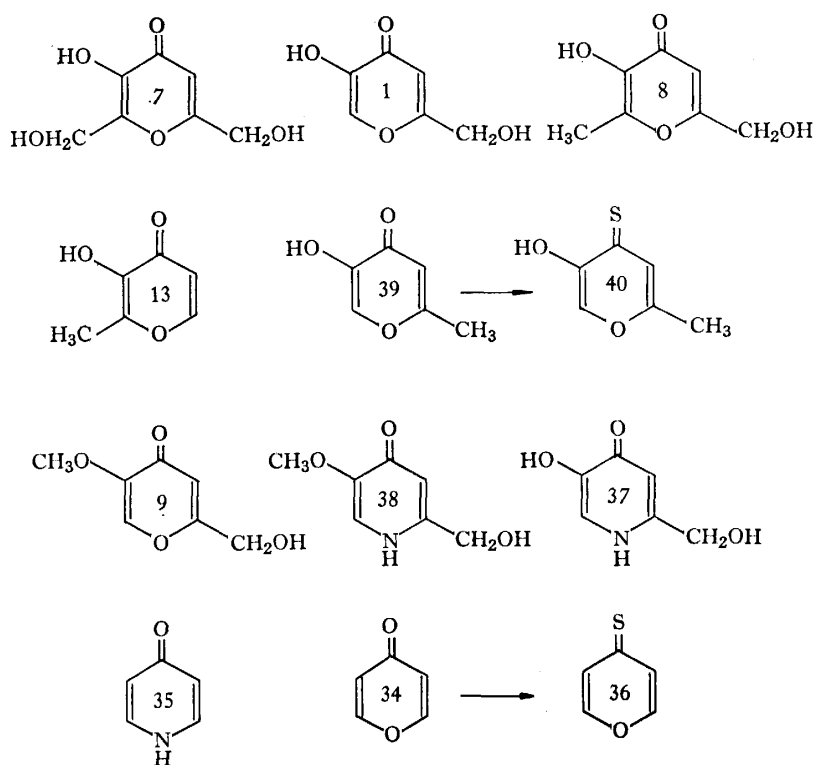


Fig. 51.

Table 8 The Values ^{18}O incorporations in the recovered γ -Pyridone derivatives under basic condition

Compound	Atom % ^{18}O
γ -Pyidone (35)	0.206
2-Hydroxymethyl-5-hydroxy- γ -pyridone (37)	0.360
2-Hydroxymethyl-5-methoxy- γ -pyridone (38)	0.210

Natural abundance of ^{18}O was 0.204 atom % ^{18}O .

および9に示す ^{18}O incorporation の値を得た。Table 8 より明らかな如く麴酸(1)の環酸素原子をNに置換した γ -ピリドン誘導体(37)は麴酸(1)よりも ^{18}O incorporation が少ないことから麴酸(1)の環酸素原子への交換の寄与が最も大きいと考えられる。さらに、 γ -ピロン(34)で得られた結果と綜括すれば次の如き機構が想定される。

process A は H_2O または OH^- の如き求核試薬のピロン核2位または6位への攻撃による開環を伴う反応、他方 process B は中間体(c)を通じてのカルボニル酸素の交換反応である。

γ -ピロン(34)では process A が優先しており、麴酸(1)も同様と考えられるが、process A : B の割

Table 9 The Values ^{18}O incorporations in the recovered Compounds related to kojic Acid

Compound	Atom % ^{18}O
Maltol (13)	0.26
Allomaltol (39)	0.49
**5-Hydroxy-2-methyl-4-thio- γ -pyrone (40)	0.74
6-Hydroxymethylkojic Acid (7)	0.64
6-Methylkojic Acid (8)	0.34
5-Methoxykojic Acid (9)	0.28

Natural abundance of ^{18}O was 0.24 atom % ^{18}O .

**This compound was prepared from allomaltol incorporating ^{18}O .

合は実験条件、求核試薬の反応性、個々のピロン化合物の性質によって規定されるものと考えられる。

もしこの経路が麴酸(1)に適応されるならば5位のOHおよび2位の第一級アルコール基のOHの ^{18}O 交換反応は無視されねばならない。

ピロン核2位の CH_2OH 基の代わりに CH_3 基を有するアロマルトール(39)は麴酸(1)とよく似た ^{18}O incorporation を行なっている (Table 9)。

しかしながらピロン核のOH基オルト位に CH_3 基

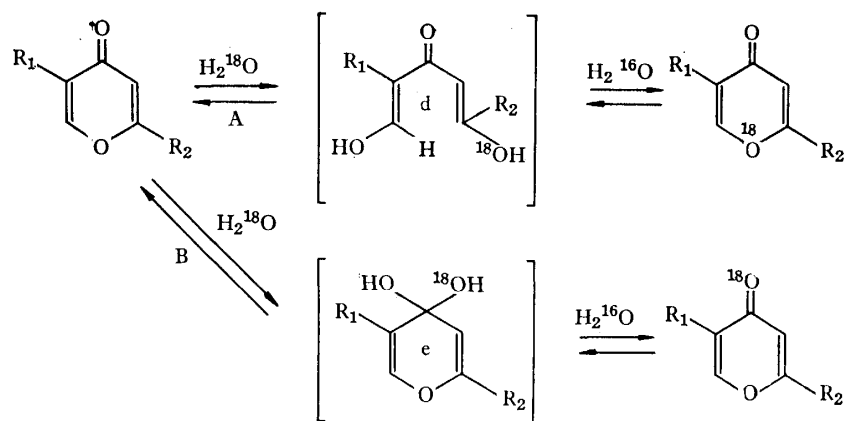


Fig. 52.

を有するマルトール (13) ではごくわずかしき ^{18}O incorporation がなかった. また OH 基を CH_3 基で保護した 5-メトキシ麴酸 (9) も natural な ^{18}O よりもごくわずかに多いだけの ^{18}O incorporation しか示さなかった. 他方 6-ヒドロキシメチル麴酸 (7) には麴酸 (1) よりも多い ^{18}O incorporation が観察された.

3(or5)-OH- γ -pyrone の incorporation の順序は次の通りである: 6-Hydroxymethyl kojic acid > kojic acid > Allomaltol > 6-Methyl kojic acid > 5-Methoxy kojic acid > Maltol.

もしも開環が γ -ピロン核の 2 位または 6 位に対する OH^- の求核的攻撃により生ずるならば, これらの位置に電子求引性の基が存在する場合環酸素原子の ^{18}O 交換反応が促進されることが類推される.

アロマルトール (39) の CH_3 基の位置異性体であるマルトール (13) は殆んど ^{18}O 交換反応を行なわないが, この事実は OH 基オルト位の CH_3 基のオルト効果 (電子的性質も含む) によりピロン環への OH^- による求核的攻撃がおさえられるためと推測される. アロマルトール (39) は OH 基の共鳴効果のためにオルト位が electron negative になり, その限界構造としてアニオン (B) の存在が可能であり (Fig. 53), 他方カルボニル基の立ち上り効果より OH^- の付加反応はピロン核 2 位に独占的におこっていると類推される.

もしも麴酸 (1) を始め 3(or5)-OH- γ -pyrone の ^{18}O 交換反応がカルボニル基またはフェノール性 OH 基の酸素原子に優先的におこっているならば, 麴酸 (1), 5-メトキシ麴酸 (9) およびアロマルトール (39), マルトール (13) 等の ^{18}O incorporation 分析値の大きな差異は, 置換基の電子的諸性質, または立体化学的效果等のいずれによっても説明することは不可能である.

^{18}O incorporation の差は上記マルトール (13) およびアロマルトール (39) で推論した如くピロン核の開環によってのみ説明することが出来る.

5-メトキシ麴酸 (9) の低い ^{18}O 分析値は OH 基が CH_3 基で保護されているためにフェノール性 OH 基の共鳴効果はなくなり, $\text{CH}_3\text{-O}$ -基の感応効果によりピロン核の π -電子系が非局在化して安定しているために OH^- の付加による開環のしにくさによるものと考えられる.

麴酸 (1), アロマルトール (39) における環酸素原子への ^{18}O incorporation を立証するためにアロマルトール (39) より 4-Thio- γ -pyrone 誘導体 (40) の合成を試みた. (39) をリグロイン中で P_2S_5 と還流すれば m.p. 100°C の黄色結晶が得られた. 分析値は $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2\text{S}$ の理論値に一致し, 赤外吸収スペクトル ($\nu_{\text{C}=\text{S}}$, 1160 cm^{-1}) 紫外吸収スペクトル ($\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ $352\text{ m}\mu$) より 5-hydroxy-2-methyl-4-thio- γ -pyrone (40) であることが確認された.

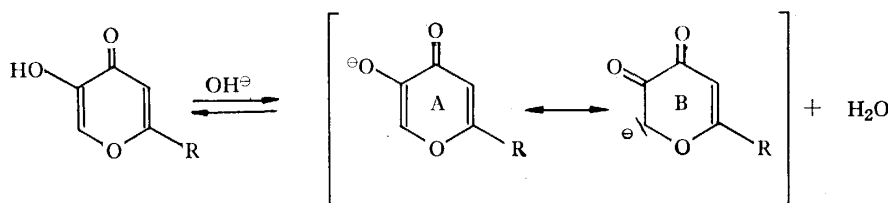


Fig. 53.

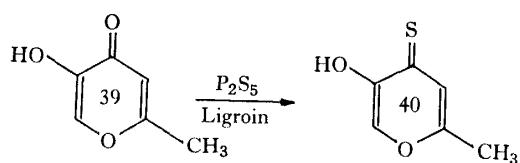


Fig. 54.

交換反応後回収した (39) より (40) を合成し ^{18}O 含有量を分析し Table 9 の如き結果を得た, すなわち環酸素原子への ^{18}O incorporation の多いことが認められた. さらに環酸素原子を窒素原子に置換した 2-ヒドロキシメチル-5-ヒドロキシ- γ -ピリドン (37) の ^{18}O 分析値と比較検討することにより ^{18}O incorporation が環酸素原子に優先的に行なわれていることが明らかになった.

麴酸 (1), アロマルトール (39) および 6-ヒドロキシメチル麴酸 (7) は ^{18}O 交換反応と同一の塩基



性条件下で endiol ($-\text{C}=\text{C}-$) 定性試薬, Tillman's reagent (2, 6-dichlorophenol-indophenol)¹⁰¹⁾ によって容易に酸化され, いずれも開環構造で存在していることを示唆している. 他方マルトール (13), 5-メトキシ麴酸 (9) は酸化されず, ^{18}O incorporation と比較することによりピロン核の開裂が起りにくいためと推論できる.

以上 ^{18}O incorporation の分析値および Tillman's reagent による酸化反応より, 3 (or 5)-OH- γ -pyrone の ^{18}O 交換反応は 4 位のカルボニル基酸素よりも環酸素原子に優先的におこり, OH^- 付加によるピロン核開環の sensitivity は OH 基オルト位の置換基の種類によって左右されると結論できる.

麴酸 (1) の ^{18}O 交換反応の主要経路は (Fig. 55) の如く推定される, すなわち反応の第一段階は OH^- によるピロン核 2 位への攻撃であり (6 位は 5 位 OH 基の共鳴効果のために electron negative になる; 2 位は 4 位カルボニル基の立上り, CH_2OH 基の電子求引効果のために electron deficiency になる), 次に加水によって生成した中間体 (endiol) から脱水閉環してピロン環を再成し反応が完結する経路で, もっとも妥当な機構と考えられる.

第 2 節 麴酸を中心とした 3(or 5)-OH- γ -Pyrone 化合物とヒドラジン類との反応生成物

前章において麴酸 (1), アロマルトール (39) 等の如き 3 (or 5)-OH- γ -pyrone が OH^- の攻撃によって開環することを明らかにし, その攻撃点はピロン環の 2 位であると推定した (Fig. 56). 本節では麴酸を中心として 3 (or 5)-OH- γ -pyrone と求核試薬との反応性を利用して生物学的に興味ある含窒素複素環化合物, すなわちピリダジン, ピラゾール, γ -ピリドン等の合成を目的としてヒドラジン (N_2H_4) およびフェニールヒドラジン ($\text{NH}_2\text{-NH-C}_6\text{H}_5$) との反応を試みた.

γ -ピロンとヒドラジンの反応は 1954 年 Jones^{56, 102)}

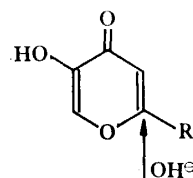


Fig. 56.

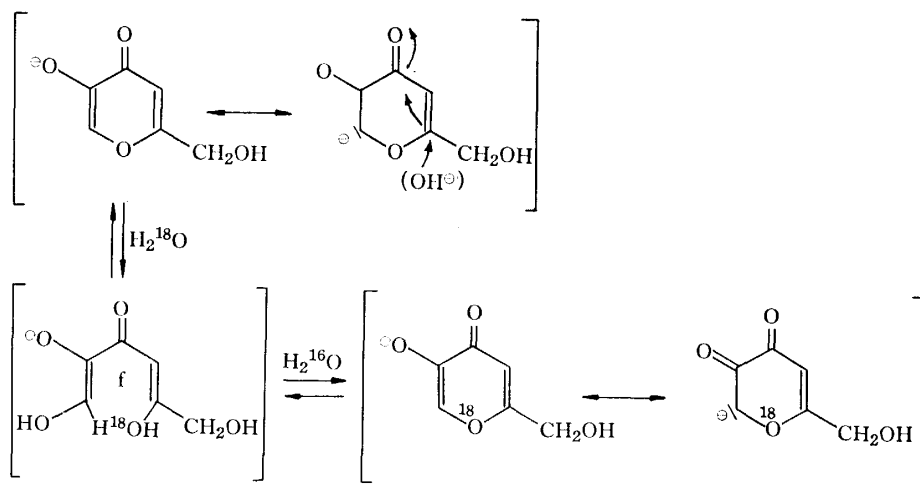


Fig. 55.

によって始めて試みられ, γ -ピロン (34) よりの反応生成物として 3-pyrazole-acetaldehyde-hydrazone (41) を単離し, その生成機構を Fig. 57 の如く推定した.

3 (or 5)-OH- γ -pyrone 化合物では特に麴酸について著者の協同研究者⁹³⁾ (小谷, 辰巳) および Thomas, Marxer¹⁰³⁾ が同時期に含窒素複素環化合物を合成する目的でヒドラジンとの反応を試み, 反応生成物として 3, 6-dihydroxymethyl-4-oxo-1, 4-dihydropyridazine (43) を得ている. 後者はさらに m.p. 139~140° のピラゾール誘導体を単離し, その構造を (44b) として同定し, 次の反応機構を提示した (Fig. 58).

しかしながら, この反応はすべてメタノール中でヒドラジン水和物 ($\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$) を作用させており, ヒドラジンの求核性を考慮すれば¹⁰⁴⁾, ピロン核への攻撃はヒドラジン ($\text{NH}_2\text{-NH}_2$) の窒素の対電子により行なわれるものと考えられ, Jones¹⁰²⁾ および

Thomas¹⁰³⁾ の反応機構はいずれも間違っていると推論できる. また Thomas の得たピラゾール誘導体の構造にも疑問があり, 麴酸 (1) の如き 3 (or 5)-OH- γ -pyrone はフェノール性 OH 基の存在により反応も複雑になり, 反応生成物にも特異的な化合物の生成が期待される.

著者はこれらの諸点を解明すると同時に, ピリダジン, ピラゾール, γ -ピリドン等の含窒素複素環化合物を合成するために γ -ピロン (34), 麴酸 (1), ピロメコン酸 (3), アロマルトール (39), 5-メトキシ麴酸 (9), マルトール (13) と無水ヒドラジンとの反応および麴酸とフェニールヒドラジンとの反応について検討を加えた. 以下反応生成物の確認, 反応機構の考察, および若干の生理活性について記載する.

I. γ -ピロン (34) と無水ヒドラジンの反応

ヒドラジンの求核性を確認するために溶媒無しで (34) と無水ヒドラジンを直接反応させると瞬間的な発熱反応をおこし, 殆んど定量的に m.p. 122~123° の

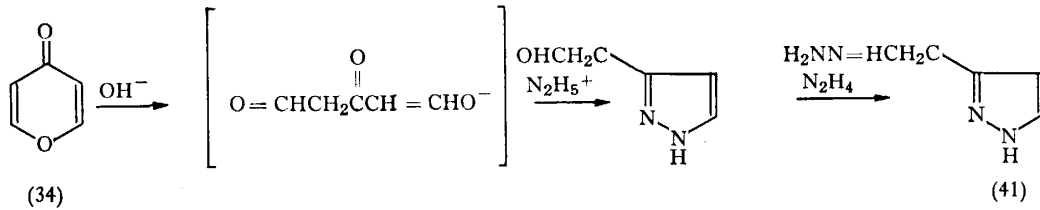


Fig. 57.

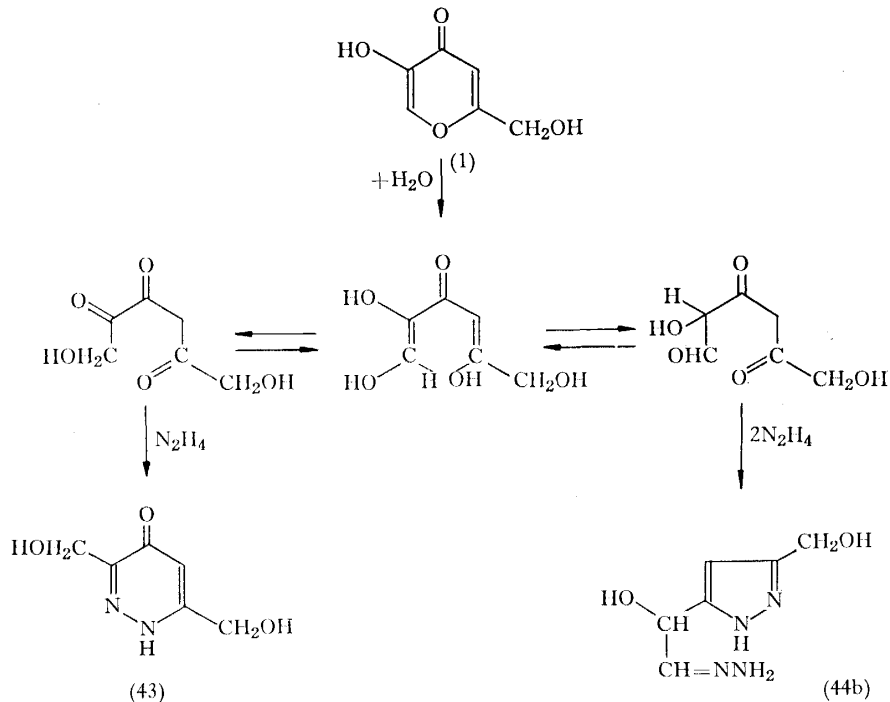


Fig. 58.

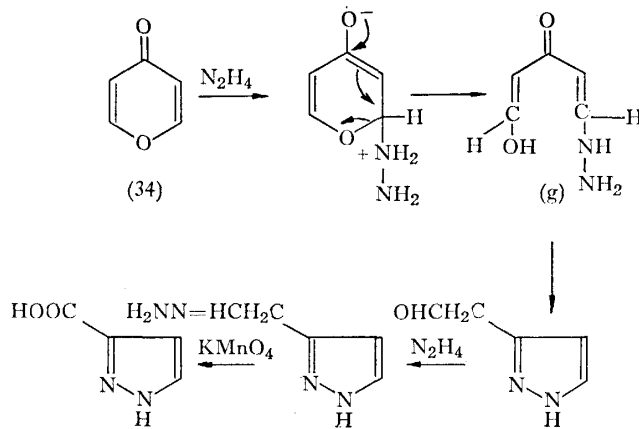


Fig. 59.

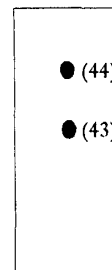
ピラゾール誘導体を得られ、本物質は Jones¹⁰²⁾ 法によって合成した 3-pyrazole-acetaldehyde-hydrazone (41) と同一物質であることが確認された。すなわち Fig. 59 の如くピロン核 2 位または 6 位へのヒドラジンの求核的攻撃により生成した開環型ヒドラゾン (g) が直ちに分子内環化を行ない安定なピラゾール環を形成するものと推論できる。

II. 麴酸 (1) と無水ヒドラジンの反応

麴酸 (1) を (34) と同様に無水ヒドラジンと直接反応させるか、または無水メタノールを溶媒に用いて反応させた場合、いずれも同じ反応生成物を与えた。反応液の TLC (薄層クロマトグラム) により 2 個の生成物が確認された。TLC で less polar な化合物は反応液より直接単離でき (収量 65%)、本物質は Thomas¹¹¹⁾、小谷ら⁹³⁾ の方法で合成した (43) と同一

物質であり、著者は NMR スペクトルによりその構造を確認した (Table 12)。

化合物 (43) を分離した後、TLC の high polar 物



TLC of comps. (43) and (44)
solvent system

Hexane (5): EtOH (5): MeOH (3)

Fig. 60.

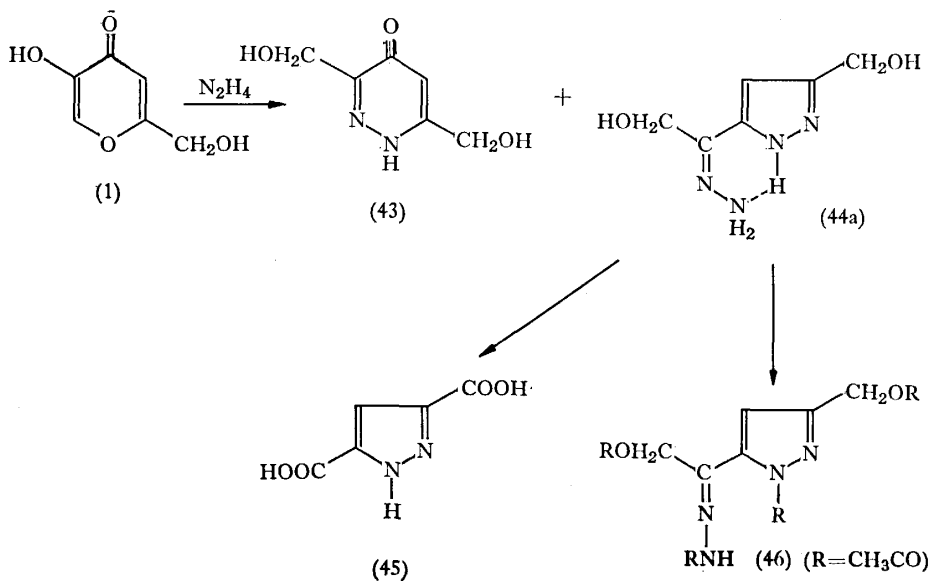
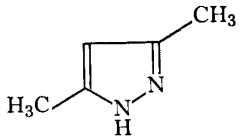
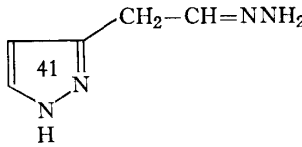
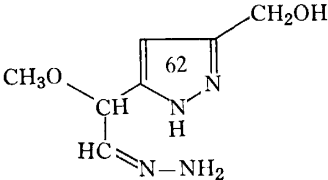


Fig. 61.

Table 10 UV Spectra of Pyrazole Derivatives.

	$\lambda_{\max}^{\text{H}_2\text{O}}$ 215m μ (ϵ , 4900)
	$\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 216m μ (ϵ , 9800)
	$\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 218m μ (ϵ , 7200)
(44)	$\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 264m μ (ϵ , 8700)

質を含む残渣をエーテルで連続抽出すれば m.p. 139~140° の結晶 (44) が得られた (収量21%). 分析値は $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2\text{N}_4$ の理論値に一致し, ラネーニッケル触媒による接触水添後, KMnO_4 で酸化すれば pyrazole-3, 5-dicarboxylic acid (45) を与えたので Thomas の分離したピラゾール誘導体 (44b) と同一物質と推定された. 彼等は KMnO_4 酸化によるピラゾール核の同定, 赤外吸収スペクトルによる νOH (2.8 μ), νNH (3.4 μ) の吸収から (44b) の構造を提示している. もしもこの構造が正確であるならば紫外吸収スペクトルの λ_{\max} は Table 10 から明らかな如く化合物 (41) $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 216 m μ および (62) $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 218 m μ に殆んど等しい値を示すべきである. しかしながら (44) の実測値は $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 264 m μ であり, (41) および (62) の λ_{\max} より 46~48 m μ の深色移動を示し, ピラゾール核と共軛した環外二重結合の存在を示唆している. すなわち化合物 (44) の構造は (44b) ではなく, (44a) と推定される.

次にこれらピラゾール核の環外の部分構造を確認するために NMR スペクトルによる解析を試みた. Fig. 62 に示す如く δ 4.25, δ 4.55 ($J=6$) に2個の $-\text{CH}_2\text{OH}$ 基の $-\text{CH}_2-$ による 2H の二重線のシグナル, それぞれ相当する $-\text{OH}$ のプロトンシグナルが δ 4.75 および δ 5.35 に三重線で観察され, 2個の

CH_2OH 基の存在が明らかになった^{105, 106}. δ 6.40 にピラゾール核4位のオレフィンプロトンのシグナル¹⁰⁷, δ 7.88 に $-\text{NH}_2$ にもとづくブロードな 2H シグナルおよび δ 12.67 の低磁場に環内の NH 基のプロトンシグナルが水素結合した broadenine line (半値巾, 8 cps) で観察された^{106, 108}. 以上の結果より化合物 (44) の構造は (44a) 式で提示することができる.

次に部分構造を化学的に立証するために化合物(44)を無水酢酸でアセチル化すれば Tetra-acetate (46) が得られ, NMR スペクトル (Fig. 63) によりその構造が解析された.

以上物理的, 化学的データより化合物 (44) の構造は Thomas の提示した (44b) 式は間違いであり, 3-Hydroxymethyl-pyrazolyl-(5)-glycoloyl-hydrazone (44a) であることが確認された.

III. ピロメコン酸 (3) およびアロマルトール (39) と無水ヒドラジンの反応

麴酸 (1) に対するヒドラジンの求核的攻撃はピロン核2位におこるものと推定されるが⁶¹, 反応生成物 (43) および (44) からは2個の環外 CH_2OH 基が対称位置に存在するために攻撃位置を明確に論ずることはできない. 此の点を解明するために, 置換基の異なるピロメコン酸 (3) およびアロマルトール (39) とヒドラジンの反応を試みた所, 麴酸 (1) と同様な結

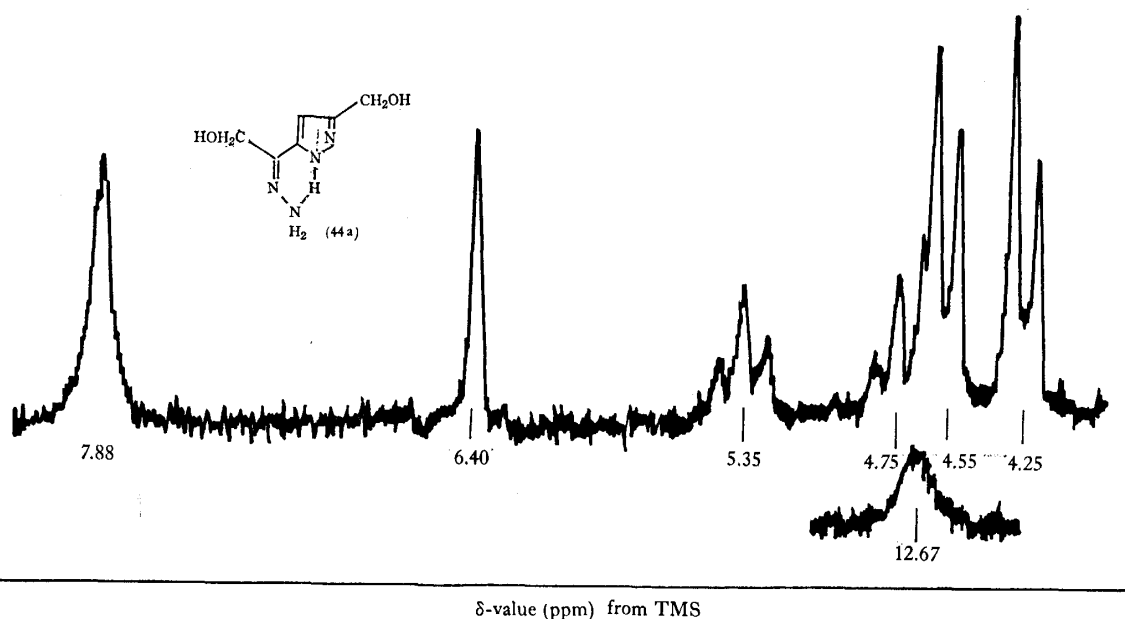
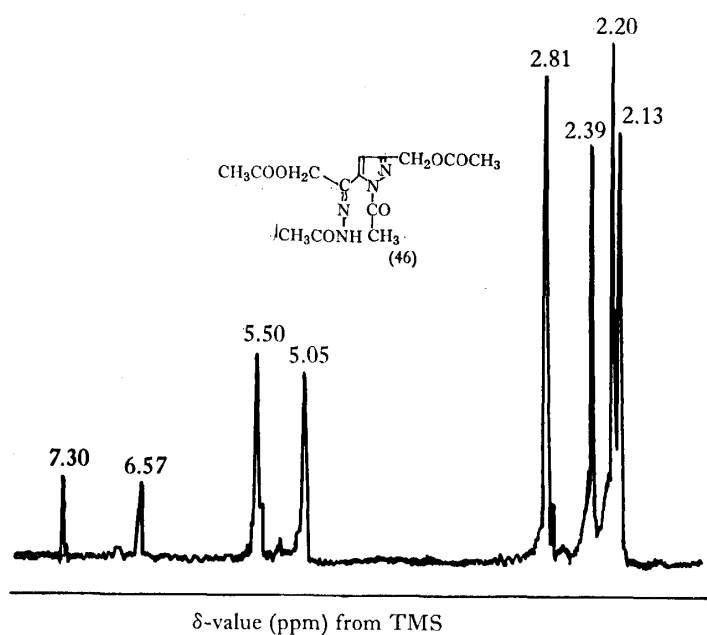


Fig. 62. The NMR spectrum of compound (44) at 60 Mc in DMSO

Fig. 63. The NMR spectrum of compound (46) at 60 Mc in CDCl_3

果が得られた。化合物 (3) からは (47), (収量, 52%) および (48), (収量, 18%) が得られ, 他方化合物 (39) は (49) (収量, 65%) および (50) (収量, 20%) を与えた。反応生成物 (47) および (49) は紫外吸収スペクトル (Table 11), 赤外吸収スペクトル

O
 \parallel
 $[-\text{N}=\text{C}-\text{C}=\text{C}-]$ (ビニログ系) の吸収; 1629, 1597, 1556 cm^{-1} (47) および 1613, 1594, 1533 cm^{-1} (49)], NMR スペクトル (Table 12) および化学的処理

(51), (52), (53), (54), (55), (56), (57)¹⁰⁹, (58) の合成により (47) は 3-Hydroxymethyl-4-oxo-1, 4-dihydro-pyridazine, (49) は 3-Hydroxymethyl-6-methyl-4-oxo-1, 4-dihydro-pyridazine であることが確認された。

他方反応生成物 (48) および (50) は紫外吸収スペクトル, 赤外吸収スペクトル [(48): λ_{max} 264 $\text{m}\mu$; ν_{max} 3275, 1594, 1010 cm^{-1} . (50): λ_{max} 264 $\text{m}\mu$; ν_{max} 3290, 1594, 1012 cm^{-1}] より (44) と類似の

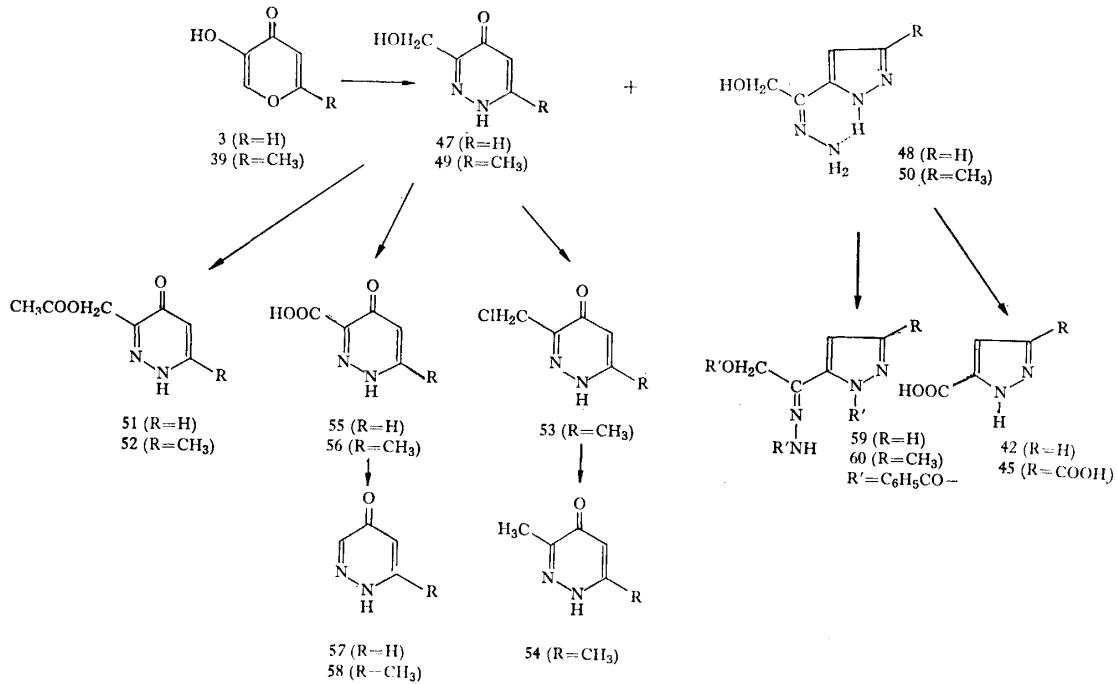


Fig. 64.

Table 11 UV Spectra of 4-Oxo-1,4-Dihydro-Pyridazine Derivatives

Com- pounds	UV absorption in					
	MeOH		2n-HCl		2n-NaOH	
	m μ	ϵ	m μ	ϵ	m μ	ϵ
43	268	13800	249	8300	251	9000
					278	5200
47	267	13400	250	8400	248	9300
					276	4600
49	267	13500	249	7700	250	9100
					277	5300
57	262	13500	247	9500	245	11800
lit. ¹⁰⁹					273	4500
	261	13400	247	9400		

ピラゾール系化合物であることが推定され, その構造は化学的処理による誘導體 (42) (45) (59) (60) の合成および NMR スペクトル Table 13 により, 3-R-pyrazolyl-(5)-glycoloyl-hydrazone (R : (48)=H, (50)=CH₃) であることが確認された。

本実験結果により OH オルト位に置換基のない 3(or5)-OH- γ -pyrone はヒドラジンによって図の如く OH 基パラ位に攻撃をうけることが判明した (Fig. 65)。

IV. 麩酸メチルエーテル (5-メトキシ麩酸 (9)) と無水ヒドラジンの反応

化合物(62)を合成する目的で, 5-メトキシ麩酸(9)とヒドラジンの反応を試みた。此の反応は OH 基が保護されているために特異な生成物を与える可能性を有している点でも興味を持たれる。

実際に, 反応液より 2 個の化合物 [(61) 収量20%] および [(62) 収量35%] が得られた。これらの構造は次の如き化学的, 物理的方法により確認された。

反応生成物 (61) の紫外吸収スペクトル, 赤外吸収スペクトル ($\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 283 m μ (ϵ 16500), neutral; $\lambda_{\max}^{2\text{n-HCl}}$ 253 m μ (ϵ 5800), λ_{\max} 277 m μ (ϵ 6200), acidic; ν_{\max}^{KBr} 1630 cm⁻¹) は 1-amino- γ -pyridone 核の特性吸収を示しており¹¹⁰⁾, アセチル化により Triacetate (63) を与え, 脱アミノ化により 2-Hydroxymethyl-5-methoxy- γ -pyridone (38) を与える事実より側鎖に CH₂OH 基を有する 1-amino- γ -pyridone 誘導體であることが判明した。

他方反応生成物 (62) は KMnO₄ 酸化により殆んど定量的に相当するピラゾール-3,5-ジカルボン酸 (45) を与え, 紫外吸収スペクトル (λ_{\max} 218 m μ (ϵ 7200)) と比較考察することにより側鎖の β 位にヒドラジンが存在していることが明らかになった。

化合物 (61) および (62) の部分構造は, Table 14 に示す NMR スペクトルにより立証され, その構造が 1-Amino-2-hydroxymethyl-5-methoxy- γ -pyridone

Table 12 NMR Spectra of 4-Oxo-1, 4-Dihydro-Pyridazine Derivatives^{a)}

Compounds	R ₁	δ(p.p.m.)	R ₂	δ(p.p.m.)	R ₃	δ(p.p.m.)
43	CH ₂ OH	4.75 (s)	H	6.61 (s)	CH ₂ OH	4.80 (s)
47	CH ₂ OH	4.78 (s)	H	6.72 (d) J=8	H	8.43 (d) J=8
49	CH ₂ OH	4.82 (s)	H	6.51 (s)	CH ₃	2.39 (s)
54	CH ₃	2.23 (s)	H	6.34 (s)	CH ₃	2.40 (s)
55	COOH		H	7.21 (d) J=8	H	8.62 (d) J=8
56	COOH		H	7.18 (s)	CH ₃	2.63 (s)
57	H	8.12 (d) J=3	H	6.76 (d, d) J=8, J=3	H	8.38 (d) J=8
58	H	7.90 (d) J=3	H	6.52 (d) J=3	CH ₃	2.45 (s)

a) The spectra were obtained at 60 Mc, on a JNM-C-60 spectrometer, in D₂O containing DSS as an internal standard. Chemical shifts are quoted as (p.p.m.) downfield from DSS (0.00 p.p.m.). Abbreviations used are s=singlet, d=doublet.

Table 13 NMR Spectra of (48) and (50)

Com- pounds	R ₁	δ(p.p.m.)	R ₂	δ(p.p.m.)	R ₃	δ(p.p.m.)
48	H	7.74 (d)	H	6.48 (d) (J=8)	CH ₂ OH	4.23
50	CH ₃	2.29	H	6.24	CH ₂ OH	4.21

The spectra were obtained at 60 Mc, on a Varian A-60 spectrometer in d₆-DMSO (1 drop, D₂O) containing TMS as an internal standard.

(61), α[3-Hydroxymethyl-pyrazolyl-(5)-]-α-methoxy-acetaldehyde-hydrazone (62) であることを確認

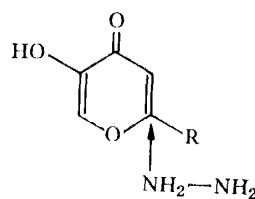


Fig. 65.

した。

V. マルトール (13) と無水ヒドラジンの反応

マルトール (13) は OH 基オルト位に CH₃ 基が存在し、ヒドラジンとの反応も麴酸 (1), アロマルトール (39) 等と異なる機構で進むと推察される。前

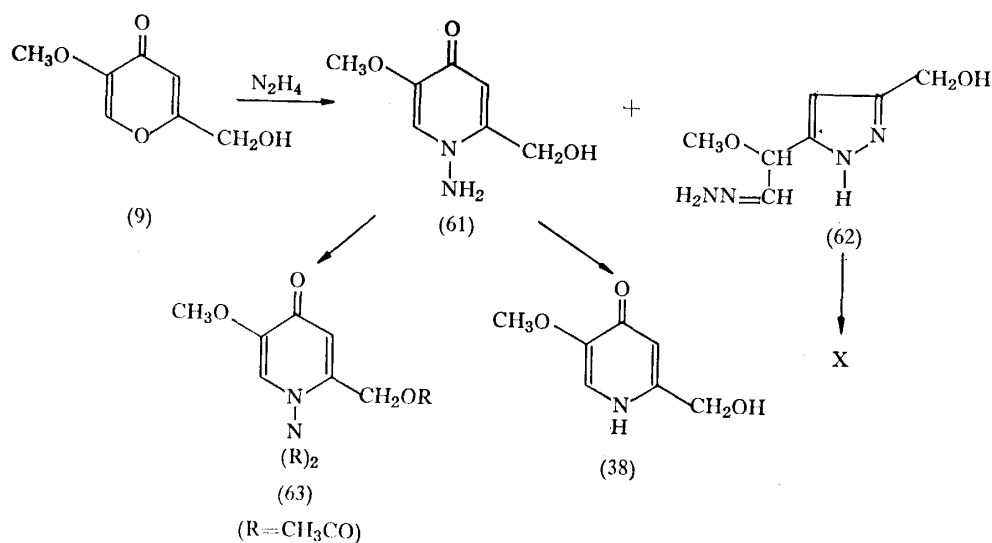


Fig. 66.

Table 14. NMR Spectra of (61), (62) and (63) (ppm from TMS)

61 ^{a)}	$\text{CH}_3\text{-O-C}=\text{C}$ $\delta, 3.65$	$=\text{C-CH}_2\text{-OH}$ $\delta, 4.47(\text{d}) \delta, 5.38(\text{t})$ $(J=6)$	$\alpha, =\text{CH-}$ $\delta, 7.67$	$\beta, =\text{CH-}$ $\delta, 6.12$
	$-\text{N-NH}_2$ $\delta, 6.04$			
63 ^{b)}	$\text{CH}_3\text{-O-C}=\text{C}$ $\delta, 3.55$	$=\text{C-CH}_2\text{-O-CO-CH}_3$ $\delta, 4.71 \quad \delta, 2.08$	$\alpha, =\text{CH-}$ $\delta, 7.04$	
	$\beta, =\text{CH-}$ $\delta, 6.46$	$-\text{N} \begin{cases} \text{COCH}_3 \\ \text{COCH}_3 \end{cases} \delta, 2.42 (s, 6\text{H})$		
62 ^{c)}	$\text{CH}_3\text{-O-CH-CH=N-}$ $\delta, 3.16 \quad \delta, 4.61(\text{d}), \delta, 7.06(\text{d})$ $(J=7)$	$\text{HC}=\text{C-CH}_2\text{OH}$ $\delta, 6.07 \quad \delta, 4.42$		

The spectra were obtained at 60 Mc, on a Varian A-60 spectrometer. Solvents : a) DMSO ; b) CDCl_3 (+ D_2O) ; c) d_6 -DMSO (+ D_2O). In all cases, TMS was used as internal standard. Abbreviation, (t) is triplet.

節で明らかな様にマルトール (13) は OH^\ominus の求核的攻撃を受け難かったがヒドラジンのとの反応も同じ様に反応の進行が遅く, メタノール中で 3~4 時間還流を続けてもなおかなりのマルトール (13) が残存し, ヒドラジンの求核的付加がおさえられていることが明らかになった. 反応液の T.L.C より 2 個の生成物が確認された. 反応液を冷却すれば m.p. 173°C の粉状結晶 (65) が単離された (収量 40%). 本物質の分析値は $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{ON}_4$ の理論値に一致し, 赤外吸収スペクトル (ν_{OH} , 3250 cm^{-1}) および紫外吸収スペクトル ($\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ $231\text{ m}\mu$ (ϵ , 6300)) よりピラゾール核にエノ-

ル性 OH 基が置換基として結合していることを指摘している. ベンゾイル化により Tribenzoate (67) を与えることより 5-Methyl-4-hydroxy-pyrazolyl-acetaldehyde-hydrazone (65) を提示することができる. 環外の CH_3 基, $-\text{CH}_2\text{-CH=N-NH}_2$ 基は NMR スペクトルにより確認され (Fig. 68), (65) 式の構造が確立された.

化合物 (65) を単離した残渣をエーテルで抽出すれば T.L.C. で確認された別の反応生成物 (64) を含む粘稠な油状物質を得た. 本物質は結晶化, 蒸留が不可能であり, (64) を単離することはできなかった.

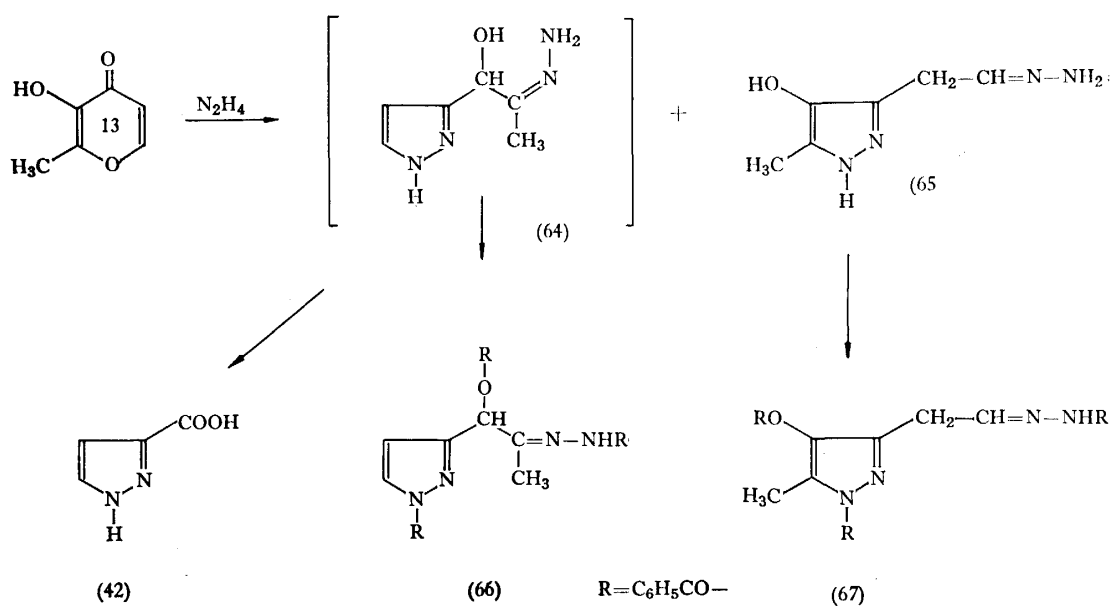


Fig. 67.

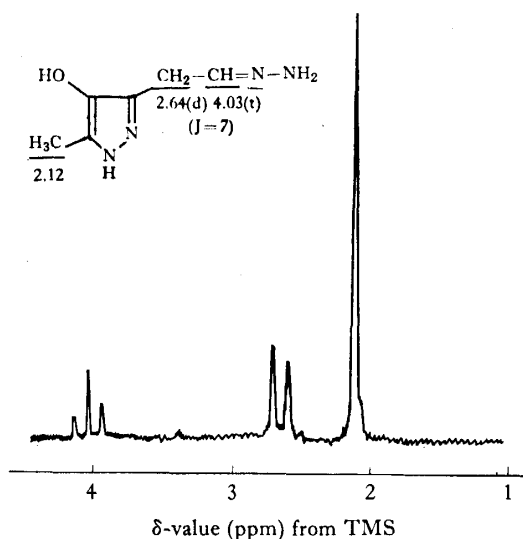


Fig. 68. The NMR spectrum of compound (65) at 60 Mc in D_2O (basic)

$KMnO_4$ 酸化で容易にピラゾールカルボン酸 (42) を与え、ベンゾイル化によって Tribenzoate (66) が得られたので構造式として 3 (or 5)-pyrazole-hydroxyacetone-hydrazone (64) を提示することができる。

マルトール (13) は CH_3 基の位置異性体アロマルトール (39) と異なりピロン核の 2 位および 6 位の両方からヒドラジンの攻撃をうけて、ピラゾール誘導体のみを生成することが判明した。

VI. 麴酸 (1) とフェニールヒドラジンの反応

麴酸 (1) よりピラゾール誘導体を優先的に合成するために、麴酸 (1) とフェニールヒドラジンを種々の条件で反応させて次表 (Table 15) の如き結果を得た。すなわち、反応条件により生成比は異なるが (68), (69), (70), (71) の 4 個の 1-phenyl-pyrazole 誘導体を得られた。これらの化合物の構造は下記の如き物理的、化学的処理により確認した。

1-phenyl-pyrazole 核の同定: (68), (69), (70) および (71) は加水素分解によりそれぞれ 1, 1, 1 および 2 モル当量のアニリンを生成し、水素化生成物を $KMnO_4$ で酸化すれば 1-phenyl-pyrazole-3, 5-dicarboxylic acid を生じることから, (68), (69), (70), (71) は pyrazole 核の 3 および 5 位に置換基を有し、その側鎖に 1~2 個の $C_6H_5-NH-N=$ 基の存在する 1-phenyl-pyrazole 誘導体であることが確認された。

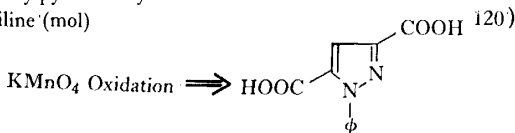
化合物 (68), (69) の構造: NMR スペクトル (Fig. 69-I, II) による側鎖解析により (68), (69) は共に分子内に 2 個の CH_2OH 基を有することが判明し、さらに各シグナルの比較および紫外吸収スペクトル [(68) λ_{max}^{EtOH} 334 $m\mu$ (ϵ , 18500), (69) λ_{max}^{EtOH} 313 $m\mu$ (ϵ , 12400)] より両者は記下の如き幾何異性体であることが明らかになった。

Table 15. Reaction of Kojic Acid with Phenylhydrazine.

Product		(68)	(69)	(70)	(71)
Reaction condition	$\phi-NH-NH_2$ (mol)				
	No Solvent (120°)	2.2	10 (%)	(%)	15 (%)
5% H_2SO_4 + EtOH (1:1)	3.3	25	1 2	trace	12
5% HCl + EtOH (1:1)	4.0	19 (Mixture)		trace	15
10% Acetic acid	3.7		1		14
10% Acetic acid	1.3	13 (Mixture)			

Identification of 1-Phenylpyrazole system produced Aniline (mol)

(68, 69) \Rightarrow Hydrogenation 0.87
 (70) \Rightarrow Hydrogenation 1.74
 (71) \Rightarrow Hydrogenation 0.94



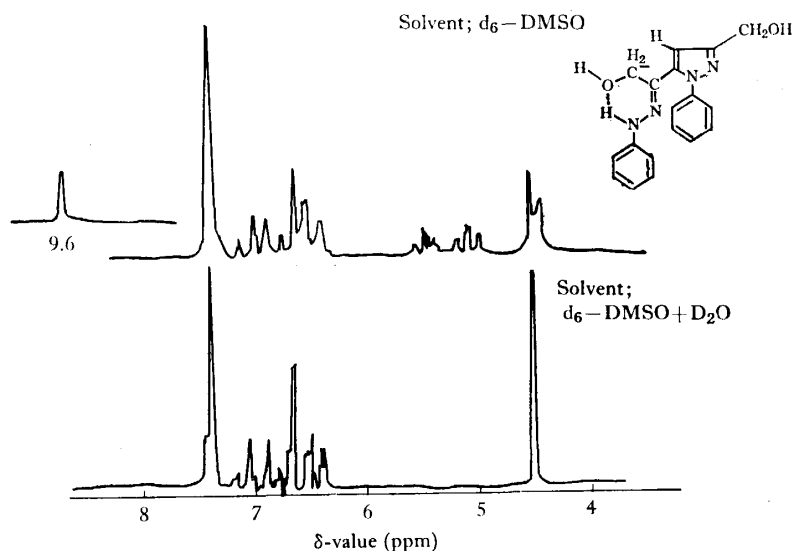


Fig. 69-I NMR spectrum of (68)

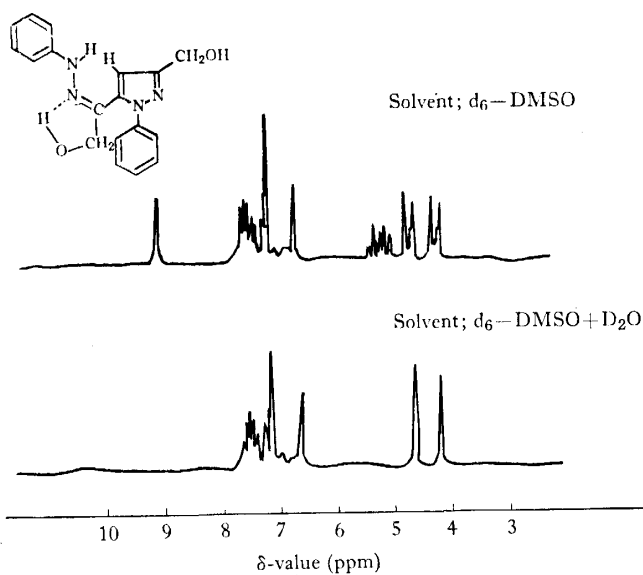


Fig. 69-II NMR spectrum of (69)

化合物(70)の構造: 分析値 $C_{18}H_{16}O_2N_4$ から(68), (69)より1モル脱水素されたAzo化合物と考えられた。塩酸または酢酸一亜鉛還元によるAzo定性反応¹¹¹⁾は+であり, また極性の異なる溶媒中での可視吸収スペクトルも全く溶媒効果をうけず一定であるので¹¹²⁾(Fig. 70), 極めて安定な水素結合を取っていることが明らかになった。さらに詳細なる部分構造はNMRスペクトル(Fig. 71)によって確認された。

化合物(71)の構造: 加水素分解により2モルのアニリンを生成することから, 側鎖に2個の $C_6H_5-NH-N=$ 基を有することが判明した。赤外吸収スペクトル

($3260, 3190, 1595, 1485, 1252\text{ cm}^{-1}$)はOsazoneの特性吸収を示し¹¹³⁾, Osazone定性テスト+であり, NMRスペクトルによりその部分構造が確認された(Fig. 72)。

VII. 反応機構の考察

上記実験結果より, 麴酸を中心とした3(or5)-OH- γ -pyroneとヒドラジン類の反応に対してFig. 73, 74, 75の如き反応機構を提示することができる。

麴酸, ピロメコン酸, アロマルトール, 5-メトキシ麴酸はFig. 73に示す様に, 最初ピロン環2位へのヒドラジンの求核的攻撃によりアダクト[B]を生じ,

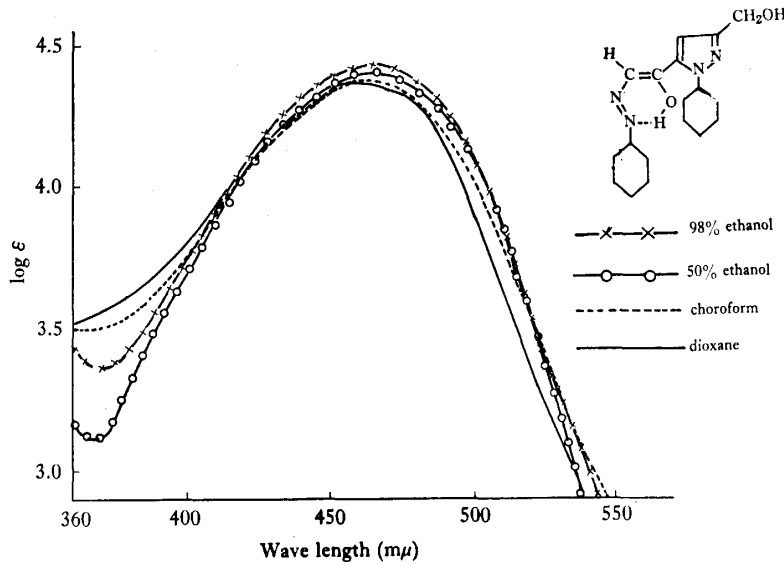


Fig. 70 UV spectra of (70)

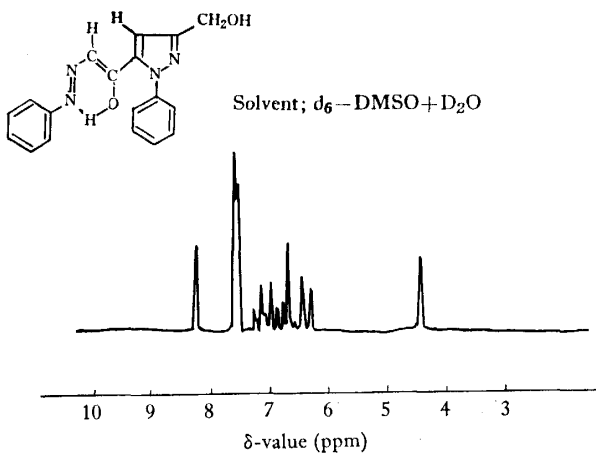


Fig. 71. NMR spectrum of (70)

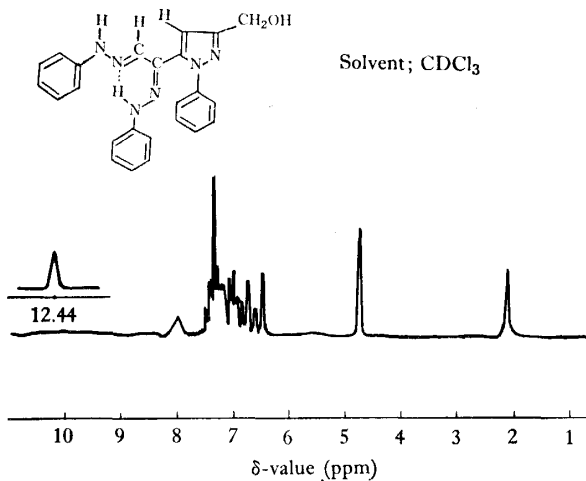


Fig. 72. NMR spectrum of (71)

不対電子の移動により開環し中間体としてヒドラゾン
を形成する。麴酸、ピロメコン酸、アロマルトール
の場合、可能な conformer として [C], [D] の寄与が
考えられ、これらの conformer が直ちに閉環して立
体的にも熱力学的にも安定な芳香性を有する 4-oxo-
1,4-dihydro-pyridazine (43, 47, 49) および pyrazole
(44, 48, 50) 誘導体を生成するものと推察される。立
体的効果より推考すれば中間体 [C] が [D] よりも
安定で取りやすい conformer であり、さらに5員環
よりも6員環への閉環のしやすさのために化合物(43,
47, 49) の生成が優先していると考えられる。

5-メトキシ麴酸の場合、推定構造 [E] および [F]
のヒドラゾン中間体の閉環によりそれぞれ相当する
1-amion- γ -pyridone (61) および pyrazole (62) 誘
導体を生成するものと推察される。収率的に見て、後
者が前者より幾分優先的であるのは、中間体 [E] の
C-1 に結合している窒素原子のメゾメリー効果が環形
成に影響しているものと推定される。

アロマルトールの位置異性体であるマルトールは
pyrazole 誘導体 (64, 65) のみを生成するのでその反
応機構は Fig. 74 に示す様に、ヒドラジンの求核的付
加が γ -ピロン環の 2 および 6 位の両方におこり、ア
ダクト [G] および [H] より電子の移動によってヒド
ラゾン中間体 [I] および [J] の形成が考えられ、
[I], [J] は閉環することによって (64), (65) を反応
生成物として与えると推察される。

麴酸とフェニールヒドラジンの反応はヒドラジン
(N_2H_4) の場合と同様に、フェニールヒドラジンの求

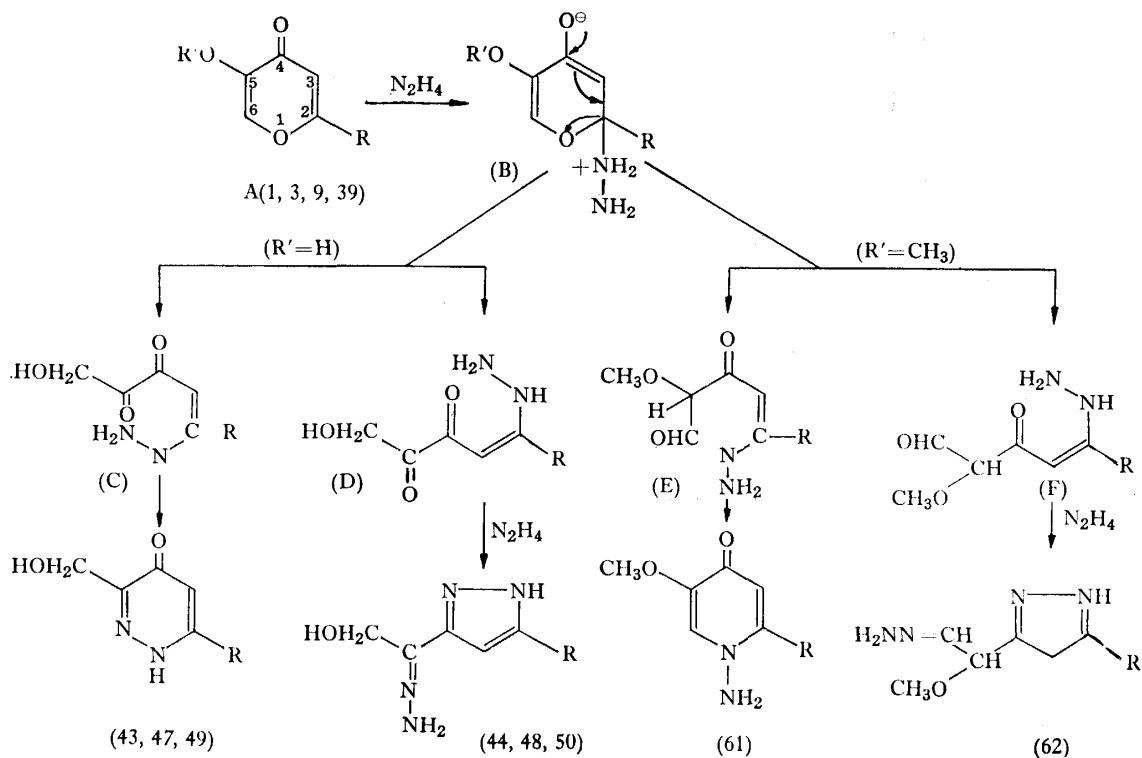


Fig. 73.

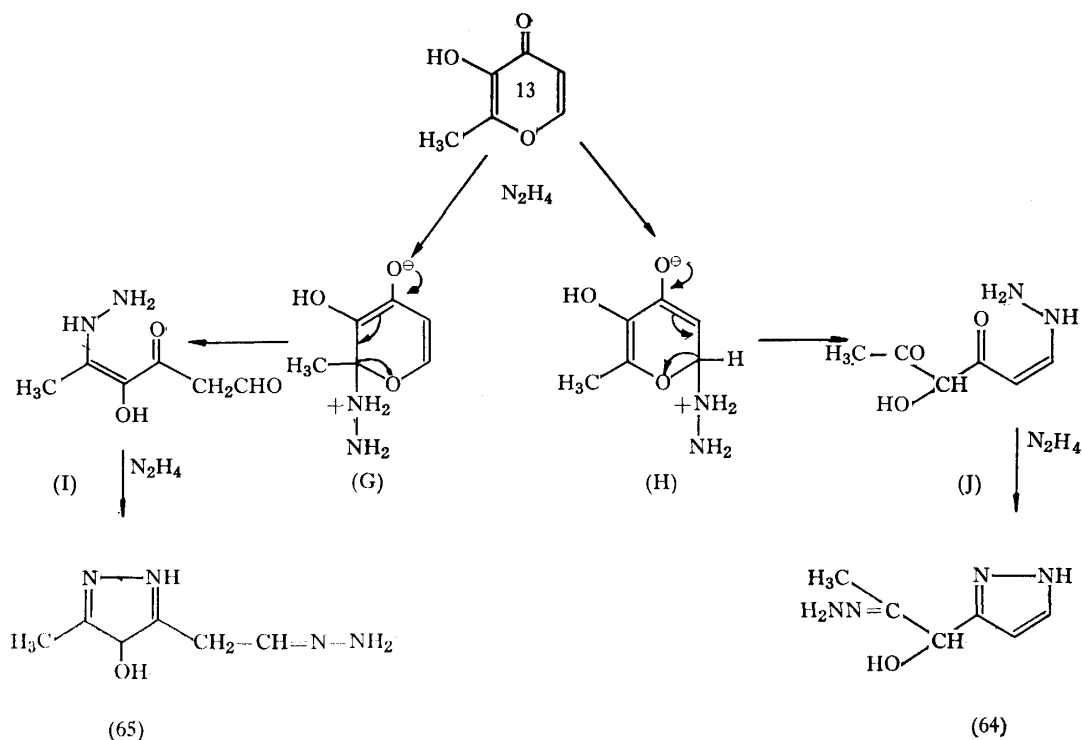


Fig. 74.

核的攻撃によりヒドラゾン [K] を生じ、このものは直ちに分子内環化を行なって 1-phenyl-pyrazole 核を有する中間体 (M \rightleftharpoons L \rightleftharpoons N) を形成する。(M), (N) は

次の経路で (68), (69), (70), (71) を生成するものと考えられる¹¹⁴⁾。すなわち、酸触媒を用いると (68, 69) および (71) が、無触媒の場合は (68, 69) およ

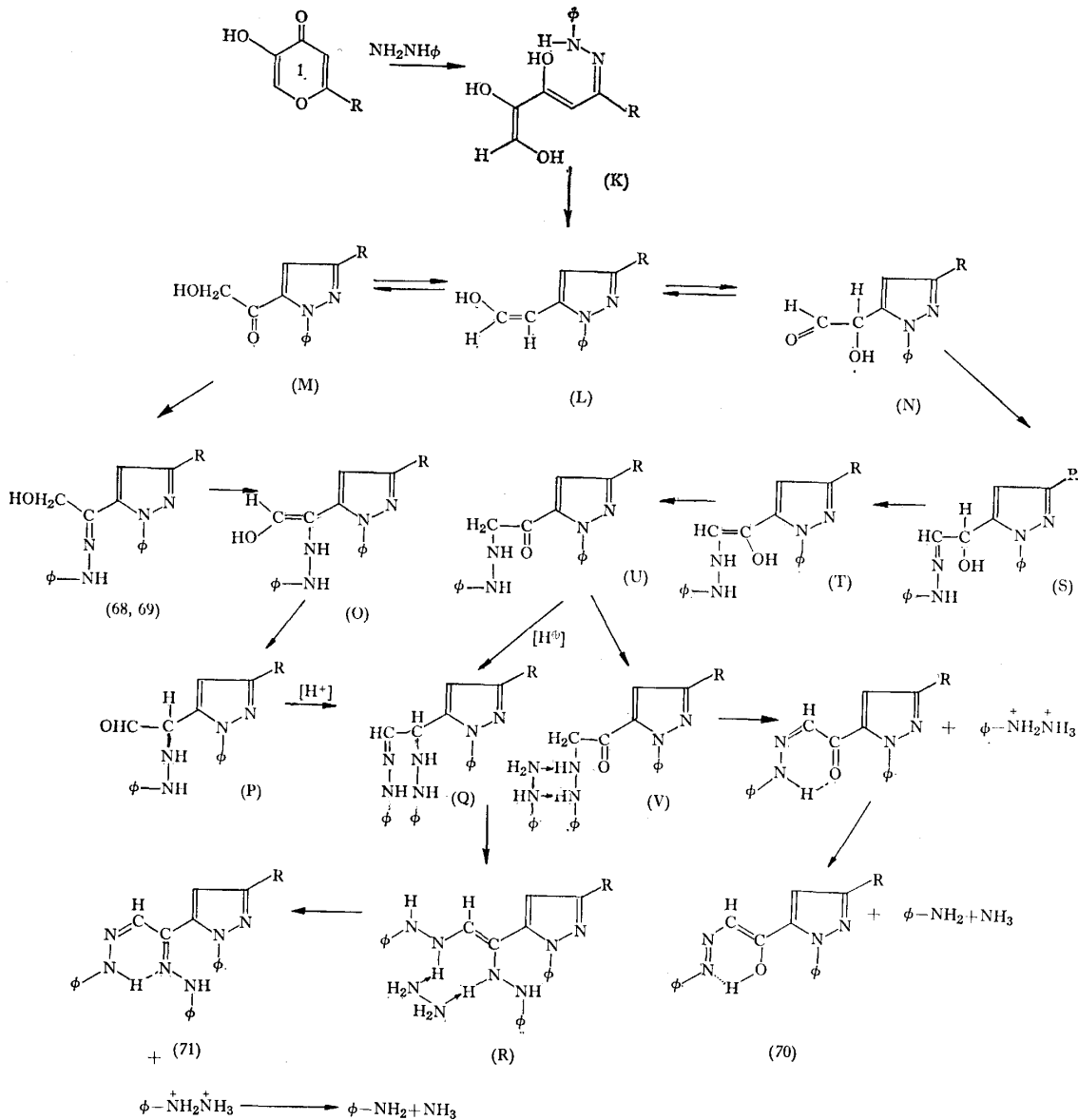


Fig. 75.

あり、農業方面への開発の可能性を示唆している。

第3節 ま と め

麴酸利用の一つとしてピリダジン、ピラゾール、 γ -ピリドン等生物活性的に興味ある含窒素化合物の合成を目的として、重酸素重水、ヒドラジン類等求核試薬との反応について検討を試みた。

1. ヒドラジン類との反応を試みるにあたり、まず求核試薬との反応性を明らかにするために、重酸素重水 ($H_2^{18}O$) をトレーサーに用いて麴酸を中心に類似 γ -ピロン化合物に対する OH^- の付加について調べた。麴酸への ^{18}O incorporation は塩基性条件では特に大きく、その大部分は環の酸素原子にあることが明

び (70) が主生成物として得られる。

VII. 植物病原菌に対する効果

最近著者は合成した麴酸誘導体の植物病原菌に対する効果およびその他の生理活性試験を行なっているが、ピリダジン、ピラゾール誘導体の分析結果を Table 6 に示す。

ピリダジン誘導体にかなりの効力を有するものが見出された。化合物 (43) は疫病に、化合物 (53) はポトリチス病に対してそれぞれ、300 ppm まで有効で

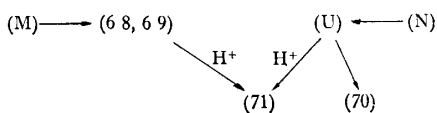
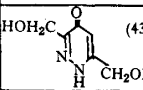
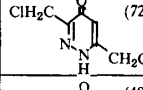
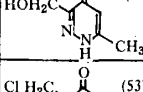
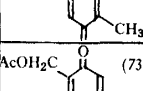
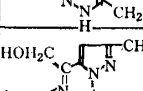
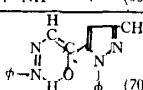
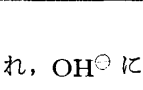


Table 16. Antibiotic spectra of 4-Oxo-1,4-dihydropyridazine and Pyrazole derivatives.

Compounds	Helminthosporium leaf spot	Blast	Sheath blight	Bacterial leaf blight	Late blight	Gray mold	Alternaria leaf spot	Anthraco-nose
 (43)	×	×	×	×	○ 300○ 100×	×	△	×
 (72)	×	×	×	○+ 300×	△	△	×	×
 (49)	×	×	×	×	△	×	△	△+
 (53)	×	×	×	○+ 300×	△	○ 1000○ 300○ 100○ 30×	×	×
 (73)	×	×	×	1000×	×	×	△	
 (68)	×	×	×	×	×	×	×	×
 (70)	×	×	×	×	×	×	×	

らかにされ、 OH^\ominus による γ -ピロン環の 2 位または 6 位への求核的付加によって開環構造を取ることが証明された。一般に 3 (or 5)-OH- γ -pyrone 化合物はフェノール性 OH 基および OH 基のオルト位の置換基の電子的性質が OH^\ominus のピロン環への求核的付加に大きな影響を与えることが明らかになった。置換基として電子求引性の基が存在すると OH^\ominus の付加が容易で開環しやすく、反対に電子供与性の基が存在すると OH^\ominus の付加がおさえられ開環しにくくなる。

2. 含窒素複素環化合物を合成するために、麴酸を中心に γ -ピロン化合物とヒドラジン類の反応を試みた。

麴酸、アロマルトール、ピロメコン酸等 OH 基のオルト位に置換基のない化合物は予期した如く、いずれも OH 基のパラ位にヒドラジン類の攻撃を受け開環することが明らかになった。これらの化合物は試薬としてヒドラジン (N_2H_4) を用いると主生成物として 4-オキソ-1, 4-ジヒドロピリダジンおよびピラゾール誘導体を与え、他方フェニールヒドラジン ($\text{NH}_2\text{-NH-C}_6\text{H}_5$) を用いると麴酸は 4 種類の 1-フェニールピラゾール誘導体を生成した。

フェノール性 OH 基を保護した麴酸メチルエーテルも同様にヒドラジン (N_2H_4) の求核的攻撃を受けて開環し、1-アミノ- γ -ピリドンおよびピラゾール誘導体を与えた。

OH 基のオルト位に CH_3 基を有するマルトールはピロン環の 2 位および 6 位の両方にヒドラジン (N_2H_4) の攻撃を受けて 2 種類のピラゾール誘導体を生成した。

植物病原菌に対する抗菌性試験によりピリダジン誘導体に有効なものが見出された。

第 4 節 実験の部

重酸素重水交換反応には麴酸 (1), 6-hydroxymethyl kojic acid (7), 6-methyl kojic acid (8), 5-Methoxy kojic acid (9)⁹³⁾, γ -pyrone (34)³⁸⁾, γ -pyridone (35)¹¹⁵⁾, 5-hydroxy-2-hydroxymethyl- γ -pyridone (37)⁸⁵⁾, 5-Methoxy-2-hydroxymethyl- γ -pyridone (38)⁹⁷⁾, allomaltol (39)⁷³⁾, maltol (13) の 10 種類を用いた。

(第 1 節)

重酸素交換反応

1) 塩基性条件: 試料 (0.5 g) を 0.8% NaOH 重酸素重水溶液 (約 1.5 atom % ^{18}O) 10 ml に溶かし、40°C で 20 時間保持した。反応後塩酸で中和し、減圧にて水を留去し、残渣を非水溶媒で再結す。精製した試料は標品と同定後重酸素 (^{18}O) 分析に供した。

例外として γ -pyrone (34) は塩基性条件での回収率が分解のために低いので、0.2% NaOH 重酸素重水溶液 (約 1.5 atom % ^{18}O) で 30°C で 20 時間保持した。反応液は塩酸で中和後蒸留およびガスクロマトグ

ラフで (34) を精製した。

2) 酸性条件：試料 (0.5 g) を pH 1.0 の塩酸性重酸素重水溶液 (1.5 atom % ^{18}O) 10 ml に溶かし、 40°C で 20 時間保持した。試料は溶媒を除去後、再結あるいは蒸留により回収した。精製した試料は標品と同定後、重酸素 (^{18}O) 分析を行なった。

3) 中性条件：酸および塩基を加えずに試料 (0.5 g) を重酸素重水 10 ml に溶かし、 40°C で 20 時間保持した。

この場合、 γ -pyrone (34) の溶液は中性であるが、麩酸 (1) はフェノール性 OH 基を有しているのものでその水溶液は弱酸性になっている。

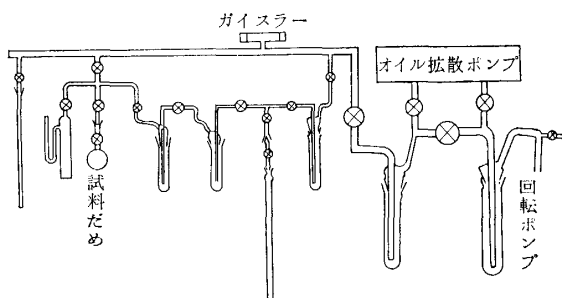
試料は水を蒸発後、再結、蒸留によって精製し、重酸素 (^{18}O) の分析に供した。

重酸素重水の測定法⁹⁸⁾

試料中の ^{18}O 含量の測定には Rittenberg¹¹⁶⁾ や Anbar¹¹⁷⁾ らの方法を改良した塩化第二水銀とシアン化第二水銀との 1 : 1 混合物と試料とを一緒にして、真空シールした封管中で燃焼する方法をとった。加える無機化合物の量は試料中の酸素に比例するのであるが、酸素原子 2 個を含む、分子量 150 程度の化合物 50 mg に対して各々 200 mg 程度が適当である。試料は約 30 分間脱気してから超硬質のガラス管に真空シールし、 $500\sim 600^\circ\text{C}$ で数時間燃焼させる。その後、下記のような装置で CO_2 ガスを精製して質量分析に供した。硫黄を含む化合物は酢酸鉛の粉末の層を通過させた。

重酸素含量の算出は次式によった。

$$\text{重酸素含量} = \frac{R \times 100}{2 + R} \quad \left(R = \frac{\text{質量数46のピーク}}{\text{質量数44のピーク}} \right)$$



2, 6-Dichlorphenol-indophenol 脱色試験¹⁰¹⁾：

試料 0.5 g を 0.8% NaOH 水溶液中に溶解し (pH 8.0~8.5), 2, 6-dichlorphenol-indopheoni の 0.01% 水溶液を滴下する。

麩酸 (1), 6-ヒドロキシメチル麩酸 (7), アロマルトール (39) は速やかに 2, 6-dichlorphenol-

inhophenol を還元、脱色した。

6-メチル麩酸 (8) は比較的ゆるやかに 2, 6-dichlorphenol-indophenol の青色を脱色した。

他方マルトール (13), 5-メトキシ麩酸 (麩酸のメチルエーテル) (9) は 2, 6-dichlorphenol-indophenol を全く還元しなかった。

4-Thio- γ -pyrone (36) : γ -ピロン (34) 1 g を 100 ml の乾燥リグロインに溶かし、25 g の P_2S_5 の粉末を加えて、3 時間還流する。反応後リグロインの上澄液を注ぎ出し、冷後過剰の P_2S_5 を除去し、溶媒を蒸発させる。残渣を石油エーテルで再結、m.p. 49°C の黄色針状結晶を得る。 $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 236, 337 m μ ; $\nu_{\text{C}=\text{S}}$ 1156 cm^{-1} . 分析値：実験値 C, 52.03; H, 3.50. 計算値 $\text{C}_5\text{H}_4\text{OS}$: C, 51.97; H, 3.49%.

5-Hydroxy-2-methyl-4-thio- γ -pyrone (40) : アロマルトール (39) 0.5 g を 1.25 g P_2S_5 と 50 ml リグロイン中で 3 時間還流後、上記 (36) と同様の操作で m.p. $100\sim 101^\circ\text{C}$ の黄色結晶を得た。 $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 280, $\nu_{\text{C}=\text{S}}$ 352 m μ ; $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1160, $\nu_{\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}}$ 1630, 1558 cm^{-1} . 分析値：実験値 C, 49.54; H, 4.18. 計算値 $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2\text{S}$: C, 49.50; H, 4.15%.

ヒドラジン類との反応 (第 2 節)

Anhydrous hydrazine との反応

3-pyrazole-acetaldehyde-hydrazone (41) : γ -ピロン (34), 0.96 g (0.01 mol) を入れたフラスコを氷冷しながら、無水ヒドラジン 0.7 g (0.022 mol) を注意して加えると瞬間的に激しい発熱反応が起る。粘着性のある生成物を室温で 2~3 週間放置すれば、m.p. $120\sim 122^\circ\text{C}$ の白色粉状結晶 (41) を与えた。化合物 (41) は Jones の方法¹⁰²⁾ で合成した 3-pyrazole-acetaldehyde-hydrazone と赤外吸収スペクトル、混融試験より同一物質であることを確認した。 $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 216 m μ ; $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3260, 3190, 2940, 1532, 1470 cm^{-1} . $\delta_{\text{max}}^{\text{DMSO}}$ 3.36 (2H, d, J=6), 6.01 (1H, d, J=2), 7.05 (1H, t, J=6), 7.49 (1H, d, J=2). 分析値：実験値 C, 48.42; H, 6.52; N, 45.05. 計算値 $\text{C}_5\text{H}_8\text{N}_4$: C, 48.37; H, 6.50; N, 45.13%.

Pyrazole-3(or5)-carboxylic acid (42) : 化合物 (41) を 100 ml の水に溶かし、過マンガン酸カリ 2 g を加えて 80°C で 2 時間攪拌した。反応後、二酸化マンガンの沈澱を除去し、母液を約 50 ml に濃縮し、塩酸で中和後エーテルで連続抽出する。抽出液よりエーテルを留去すれば粗結晶 0.3 g が得られた。メタノール

で再結, m.p. 216°C (dec) の結晶 (42), 0.2 g を得.
標品¹¹⁸⁾との混融 m.p. 216°C.

3, 6-Dihydroxymethyl-4-oxo-1, 4-dihydro-pyridazine (43): 方法 A—無水ヒドラジン 7 g (0.22 mol) 中へ 14.2 g (0.1 mol) の麴酸を加え, 攪拌しながら 50°C で 30 分間加熱する. 反応液の TLC (薄層クロマトグラフ) により 2 個の生成物 (Rf 0.75, 0.3) の存在が確認された. 生成の割合は極性の小さい方が優先的であり, 反応混合物をエタノールに溶かし, 48 時間氷室に放置すれば極性の小さい生成物 (43) 9 g (58%) を得た. 50% メタノール水で再結, m.p. 222~223°C の白色結晶を得, 小谷, 辰己法⁹⁹⁾で合成した (43) と赤外吸収スペクトル, 紫外吸収スペクトル, 混融試験で完全に一致した. $\delta_{\max}^{\text{D}_2\text{O}}$ 4.75 (2H), 4.80 (2H), 6.61 (1H).

方法 B—麴酸 14.2 g (0.1 mol) を 150 ml 無水メタノールに溶かし, 無水ヒドラジン 7 g (0.22 ml) を滴下した. 約 1 時間還流, 攪拌後, 反応液は半量まで濃縮し, 一夜氷室に放置した. 6 g の粗結晶 (43) を得た. 母液は減圧で溶媒を留去し, 得られた粘稠残渣をエタノールで結晶化することにより (43) 4 g を得た. 粗結晶は 50% メタノール水で再結, m.p. 222~223°C, 収量 65%.

3-Hydroxymethyl-pyrazolyl-(5)-glycoloyl-hydrazone (44): 化合物 (43) を分離した反応母液を濃縮し, 残渣を 120 ml の水に溶かし, 120 時間エーテルで連続抽出し, エーテル留去後, 3.6 g (21%) の (44) の粗結晶を得た. エタノール—エーテルの混合溶媒で再結, 3.3 g の (44), m.p. 139~140°C を得た. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 264 m μ (ϵ , 8700); ν_{\max}^{KBr} 3400, 3200, 1592, 1000 cm⁻¹. 分析値: 実験値 C, 42.15; H, 6.15; N, 32.60. 計算値 C₆H₁₀O₂N₄: C, 42.35; H, 5.92; N, 32.93%.

Pyrazole-3, 5-dicarboxylic acid (45): 化合物 (44) 2 g を 20 g のアンモニアを含んだメタノール 100 ml 中に溶かし, ラネーニッケルを触媒にして加圧下 (54 kg/cm²) 150°C で水素化した. 溶媒, 触媒を除去し, 油状残渣を 150 ml の水に溶かし, 過マンガン酸カリ 10 g を加えて 80°C で 2 時間加熱した. 反応液より二酸化マンガンを濾別後, 母液を減圧下 20 ml まで濃縮し, 濃塩酸で酸性 (pH 2.0) にすれば, 300 mg の (45) が得られた. 水で 2 回再結, m.p. 289~290°C (dec.) の白色結晶を得た. 標品¹¹⁹⁾との赤外吸収スペクトル, 混融試験の比較により同定した.

Acetate of (44), (46): 化合物 (44) 1 g を無水酢酸 20 ml に溶かし, 30 分間還流する. 反応後過剰の無水酢酸をエタノールで分解し, 溶媒を減圧下留去した. 油状残渣をエーテルに溶かし, 重曹の飽和水溶液で洗浄, 乾燥後, エーテルを蒸発させると, 500 mg の (46) の粗結晶を得た. エタノール—ヘキサンで再結, m.p. 154°C の白色結晶 300 mg を得. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 275 m μ ; ν_{\max}^{KBr} 1725, 1710, 1674, 1240, 1225 cm⁻¹. 分析値: 実験値 C, 49.68; H, 5.34; N, 16.55. 計算値 C₁₄H₁₈O₆N₄: C, 49.70; H, 5.36; N, 16.56%.

3-Hydroxymethyl-4-oxo-1, 4-dihydro-pyridazine (47): B 法により, ピロメコン酸 (3) 11.2 g (0.1 mol) と無水ヒドラジン 7 g (0.22 mol) から m.p. 206~208°C の (47) の粗結晶 6.5 g (52%) 得た. メタノール—水 (1:1) の混合溶媒で再結, m.p. 212°C (dec.) の白色結晶 (47) を 5.4 g 得た. ν_{\max}^{KBr} 3250, 1620, 1594, 1556, 1484, 1020 cm⁻¹. 分析値: 実験値 C, 47.58; H, 4.85; N, 22.13. 計算値 C₅H₆O₂N₂: C, 47.64; H, 4.80; N, 22.13%.

5-Pyrazole-glycoloyl-hydrazone (48): 化合物 (44) の分離と同じ方法で行なった. 化合物 (47) を分別した残渣をエーテル抽出し, (48) 2.5 g (18%) を得た. エタノール—エーテルで再結, m.p. 108°C の白色針状結晶 2.2 g を得. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 264 m μ (ϵ , 8900); ν_{\max}^{KBr} 3275, 3120, 2920, 1594, 1455, 1010 cm⁻¹. 分析値: 実験値 C, 43.00; H, 5.65; N, 39.57. 計算値 C₅H₈ON₄: C, 42.85; H, 5.75; N, 39.98%.

3-Hydroxymethyl-6-methyl-4-oxo-1, 4-dihydro-pyridazine (49): B 法により, アロマルトール (39) (12.6 g, 0.1 mol) と無水ヒドラジン (7 g, 0.22 mol) から化合物 (49) を粗結晶として 9 g (65%) を得た. 50% メタノール水で再結, m.p. 246~247°C の白色結晶 8 g を得た. ν_{\max}^{KBr} 3310, 1618, 1592, 1533, 1483, 1032 cm⁻¹. 分析値: 実験値 C, 51.44; H, 5.83; N, 19.70. 計算値 C₆H₈O₂N₂: C, 51.43; H, 5.75; N, 19.99%.

3-Methyl-pyrazolyl-(5)-glycoloyl-hydrazone (50): 既述の方法にしたがって化合物 (49) を分離した残渣から 3.1 g (20%) の (50) を得た. エタノール—エーテルで再結, m.p. 134°C の白色結晶 2.6 g を得. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 264 m μ (ϵ , 9700); ν_{\max}^{KBr} 3290, 3150, 2940, 1594, 1460, 1012 cm⁻¹. 分析値: 実験値 C, 46.80; H, 6.56; N, 36.19. 計算値 C₆H₁₀ON₄: C, 46.74; H, 6.54; N, 36.34%.

3-Acetoxymethyl-4-oxo-1, 4-dihydro-pyridazine (51) : 化合物 (47) 2.5 g を無水酢酸 (20 ml) に溶かし, 30分間還流加熱する. 常法通り操作して, (51) の粗結晶 2.6 g を得た. エタノールで2回再結, m.p. 205°C (dec.) の (51) 2.2 g を得. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 264 m μ (ϵ , 13000); ν_{\max}^{KBr} 1740, 1280 cm⁻¹. 分析値: 実験値 C, 49.89; H, 5.11; N, 16.54. 計算値 C₇H₈O₃N₂: C, 50.00; H, 4.80; N, 16.66%.

3-Acetoxymethyl-6-methyl-4-oxo-1, 4-dihydro-pyridazine (52) : 上記と同様に (49) 2.8 g を無水酢酸で処理して (52) 2.8 g を得た. エタノールで再結, m.p. 251~252° (dec.) の無色針状結晶 (52) 2.4 g を得. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 264 m μ (ϵ , 12500); ν_{\max}^{KBr} 1760, 1253 cm⁻¹. 分析値: 実験値 C, 53.02; H, 5.47; N, 15.02. 計算値 C₈H₁₀O₃N₂: C, 52.74; H, 5.53; N, 15.38%.

3, 6-Dimethyl-4-oxo-1, 4-dihydro-pyridazine (54) : 化合物 (49) 8 g を過剰のチオニルクロライドで処理すると激しい発熱反応をおこす, 反応終了後, 生成した固体を粉碎し, 石油エーテルで洗浄後, 水続いてメタノール-水から再結, m.p. 206°C (dec.) の (53) 5.5 g を得た. 分析値: 実験値 C, 45.48; H, 4.34; N, 17.38. 計算値 C₆H₇ON₂Cl: C, 45.44; H, 4.45; N, 17.67%.

化合物 (53) 4.8 g をエタノール (90 ml), 氷酢酸 (90 ml) そして酢酸ナトリウム (6 g) を加えた混合溶液に溶かし, パラジウム-炭素触媒 (2 g) を加え, 常温, 常圧で1時間水素化すれば (53) の1モルに相当する水素が吸収された. 溶媒, 触媒を除去し, 残渣を酢酸エチルで抽出し, 抽出液を真空蒸発して, 化合物 (54) の粗結晶 3.2 g を得た. エタノール-酢酸エチルで再結, m.p. 249~250°C の白色粉状結晶を得た. 本物質は化合物 (43) より得た (54)¹⁰³⁾ と比較同定した. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 268 m μ (ϵ , 14300); ν_{\max}^{KBr} 3480, 2930, 1623, 1585, 1540, 1483 cm⁻¹. 分析値: 実験値 C, 58.09; H, 6.43; N, 22.49. 計算値 C₆H₈ON₂: C, 58.05; H, 6.50; N, 22.57%.

4-Oxo-1, 4-dihydro-pyridazine-3-carboxylic acid (55) : 化合物 (47) 25 g を水 100 ml 中に溶かした溶液へ水 150 ml に過マンガン酸カリ (5 g) を溶かした溶液を激しく攪拌しながら15分間かけて滴下する. その間温度を 75°C に保ち, 過マンガン酸塩の紫色が完全に消えてから, 反応液を汙過し, 二酸化マンガンを除去する. 汙液を 20 ml まで減圧濃縮し, 濃塩酸で酸性 (pH 2.0) として後水室に放置すれば (55) の

粗結晶 2 g が得られた. 水で再結, m.p. 250°C (dec.) の白色結晶 1.5 g を得. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 261 m μ (ϵ , 9300). 分析値: C, 42.63; H, 2.97; N, 19.82. 実験値: 計算値 C₅H₄O₃N₂: C, 42.86; H, 2.88; N, 20.00%.

6-Methyl-4-oxo-1, 4-dihydro-pyridazine-3-carboxylic acid (56) : 上記と同様に化合物 (49) 2.5 g を過マンガン酸カリで酸化し (56) 1.9 g を得た. 水で再結, m.p. 212°C の (56) の白色結晶 1.4 g を得. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 261 m μ (ϵ , 8000). 分析値: 実験値 C, 46.60; H, 3.85; N, 18.25. 計算値 C₆H₆O₃N₂: C, 46.76; H, 3.92; N, 18.18%.

4-Oxo-1, 4-dihydro-pyridazine (57) :

方法 A : 化合物 (55) 1 g を 5 ml の KC-400 中に懸濁し, 30分間 290~300°C で加熱した後, 反応液を熱水で抽出する. 抽出液は減圧下水を留去することにより (57) の粗結晶 0.6 g を与えた. エタノールで再結, m.p. 250°C の白色結晶 0.4 g を得た. 標品¹⁰⁹⁾ との混融試験, 赤外吸収スペクトルの比較により同定した.

方法 B : 化合物 (55) 1 g を 10 ml の50%硫酸中に懸濁し, 3時間還流した. 反応液をアンモニア水で中和し, 減圧乾固した. 残渣を酢酸エチルで抽出し, (57) の粗結晶 0.4 g を得た. エタノールで再結, (57) の白色針状結晶 0.3 g を得. m.p. 250°C.

6-Methyl-4-oxo-1, 4-dihydro-pyridazine (58) : B 法により化合物 (56) 1 g から (58) の粗結晶 0.3 g が得られた. エタノールで再結, (58) の白色針状結晶 0.2 g を得. m.p. 238°C; $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 262 m μ (ϵ , 13400); ν_{\max}^{KBr} 1654, 1614, 1575, 1530, 1455 cm⁻¹. 分析値: 実験値 C, 54.43; H, 5.44; N, 26.44. 計算値 C₅H₆ON₂: C, 54.54; H, 5.49; N, 25.44%.

化合物 (48), (50) の酸化: 前述の (44) より (45) の合成と同じ方法で (48) を水添し, 過マンガン酸カリで酸化して 3 (or 5)-pyrazole-carboxylic acid (42) を得た. m.p. 216°C (dec.). 同様の操作で (50) は pyrazole-3, 5-dicarboxylic acid (45) を与えた, m.p. 289~290°C (dec.).

Benzoate of (48), (50) : 常法により (48) にベンゾイルクロライドを作用させて tribenzoate (59) を得た. m.p. 231°C (dec.). 分析値: 実験値 C, 68.96; H, 4.73; N, 12.25. 計算値 C₂₆H₂₀O₄N₄: C, 69.01; H, 4.46; N, 12.38%.

同様に (50) をベンゾイルクロライドで処理して (60) を得た. m.p. 235°C (dec.). 分析値: 実験値

C, 69.34; H, 4.59; N, 12.07. 計算値 $C_{27}H_{22}O_4N_4$:
C, 69.51; H, 4.75; N, 12.01%.

1-Amino-2-hydroxymethyl-5-methoxy- γ -pyridone (61): 5-メトキシ麴酸 15.6 g (0.1 mol), 無水ヒドラジン 7 g (0.22 mol) を無水メタノール (100 ml) に溶かし攪拌しながら 2 時間還流させた. 溶媒を留去後, 油状残渣をエタノール-エーテル混合溶媒に溶かし, 48 時間氷室に放置すれば (61) のピンク色の結晶 3.4 g (20%) が得られた. エタノールで再結, (61) の白色結晶 3 g を得, m.p. 242°C; $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 283 m μ (ϵ , 16500); $\lambda_{\max}^{2\text{NHCl}}$ 253 m μ (ϵ , 5800), 277 m μ (ϵ , 6200); ν_{\max}^{KBr} 1630, 1550 cm^{-1} . 分析値: 実験値 C, 49.52; H, 5.94; N, 16.40. 計算値 $C_7H_{10}O_3N_2$: C, 49.40; H, 5.92; N, 16.46%.

α -[3-Hydroxymethyl-pyrazolyl-(5)]- α -methoxy-acetaldehyde-hydrazone (62): 化合物 (61) を分別した母液を 5~6 週間冷蔵庫中に放置すれば (62) の粗結晶 5 g が得られた. この母液をエーテル抽出し, さらに (62) 1.3 g を得た. 収量 35%, エタノール-水で再結, m.p. 113~114°C. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 218 m μ (ϵ , 7200); ν_{\max}^{KBr} 3275, 2930, 1570, 1430, 1028 cm^{-1} . 分析値: 実験値 C, 45.24; H, 6.66; N, 30.16. 計算値 $C_7H_{12}O_2N_4$: C, 45.64; H, 6.57; N, 30.42%.

化合物 (62) の酸化: (62) 3 g を 300 ml の水に溶かし, 過マンガン酸カリで酸化すれば, 3 g の (45) を与えた. 収量 87%.

1-N-diacetyl-2-acetoxymethyl-5-methoxy- γ -pyridone (63): 化合物 (61) 1 g を無水酢酸 (30 ml) 中に溶かし, 1 時間還流した. 常法により処理して, 1.1 g の (63) を得た. エタノールで再結, m.p. 150°C の白色針状結晶 0.7 g を得た. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 289 m μ (ϵ , 16400); ν_{\max}^{KBr} 1740, 1710, 1625, 1260, 1223 cm^{-1} . 分析値: 実験値 C, 52.92; H, 5.60; N, 9.77. 計算値 $C_{13}H_{16}O_6N_2$: C, 52.70; H, 5.44; N, 9.46%.

2-Hydroxymethyl-5-methoxy- γ -pyridone (38): 化合物 (61) 1.7 g をエタノール 50 ml および 2N 塩酸 50 ml の混合溶液に溶かし, これに硝酸ソーダ水溶液 (7.5%) 10 ml を攪拌下 0°C の条件で滴下した. 反応液は室温で 2 時間放置した後, アンモニア水で中和し, 濃縮乾固した. 残渣はメタノール-エーテルで抽出して, 無機物を除いた後, 溶媒を留去することにより (38) の粗結晶 1.2 g を得. エタノールで再結, m.p. 172°C, 標品⁹⁷⁾との混融試験, 赤外吸収スペクト

ルの比較により同定した. 分析値: 実験値 C, 54.46; H, 6.31; N, 9.01. 計算値 $C_7H_9O_3N$: C, 54.19; H, 5.85; N, 9.03%.

5-Methyl-4-hydroxy-pyrazolyl-acetaldehyde-hydrazone (65): マルトール (13) 12.6 g (0.1 mol) を 100 ml のメタノールに溶かし, 無水ヒドラジン 7 g (0.22 mol) を加え 3~4 時間還流した. 反応液を半量まで濃縮し, 氷室に数日間放置すれば, 白色の粉状結晶 (65) が 42% 収量で得られた. エタノール, エーテルで洗浄, m.p. 173°C; $\lambda_{\max}^{\text{H}_2\text{O}}$ 231 m μ (ϵ , 6300); ν_{\max}^{KBr} 3250, 1610, 1445, 1233, 1110, 1022 cm^{-1} . $\delta_{\max}^{\text{D}_2\text{O}}$ 2.12 (3H), 2.64 (2H (d), J=7), 4.03 (1H (t), J=7). 分析値: 実験値 C, 47.40; H, 6.72; N, 36.16. 計算値 $C_6H_{10}ON_4$: C, 46.74; H, 6.54; N, 36.34%.

化合物 (65) にベンゾイルクロライドを作用させると Tribenzoate (67), m.p. 231~232°C の白色結晶が得られた. 分析値: 実験値 C, 69.80; H, 4.90; N, 12.51. 計算値 $C_{27}H_{22}O_4N_4$: C, 69.51; H, 4.75; N, 12.01%.

化合物 (64) の酸化: (65) を分離した反応母液をエーテルで 72 時間連続抽出すれば (64) を主成分とする油状物質 2.6 g が得られた. 本物質は結晶化および蒸留が不可能であったので, その一部を過マンガン酸カリで酸化した所, m.p. 216°C (dec.) の白色結晶を高収率で与えた (80%). 標品との比較より (42) であることを確認した.

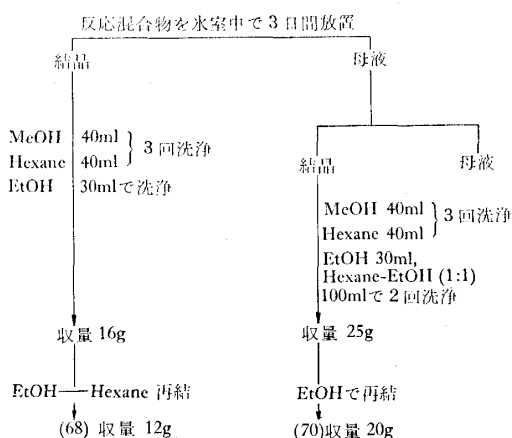
(64) にベンゾイルクロライドを作用させると Tribenzoate (66), m.p. 237°C (dec.) の白色結晶が得られた. 分析値: 実験値 C, 69.62; H, 5.17; N, 11.85. 計算値 $C_{27}H_{22}O_4N_4$: C, 69.51; H, 4.75; N, 12.01%.

Phenylhydrazine との反応:

1) 麴酸 72 g とフェニールヒドラジン 100 ml の混合物を油浴中 (110~115°C) で 1 時間放置した. 反応開始後 5 分間で反応液は淡黄色→赤色→黒赤色に変化し, 激しい発熱反応をおこし, アンモニアおよびアニリンを発生した. 反応終了後室温に冷却した後エタノール-ヘキサン (1:1) 混合溶媒 200 ml に注ぎ氷室に放置しておくこと結晶が析出した.

2-Hydroxymethyl-1-phenylpyrazolyl-5-glycoloyl-phenylhydrazone (68): m.p. 160°C; 分析値: 実験値 C, 66.95; H, 5.40; N, 17.19. 計算値 $C_{18}H_{18}O_2N_4$: C, 67.06; H, 5.63; N, 17.38%.

2-Hydroxymethyl-5-(α -hydroxy- β -phenylazo-



ethenyl)-1-phenylpyrazole (70) : m.p. 240°C (dec.); 分析値 : 実験値 C, 67.42; H, 5.09; N, 17.21. 計算値 $C_{18}H_{16}O_2N_4$: C, 67.48; H, 5.03; N, 17.49%.

2) 麴酸 43 g とフェニールヒドラジン 100 ml をエタノール—5% H_2SO_4 (1:1) 混合溶媒 480 ml に溶かし, 2時間還流後, 冷蔵庫に一夜放置し粗結晶 120 g を得た. 以下分別結晶法にて (68) 24 g, (69) 1 g, (71) 10 g を単離した.

2-Hydroxymethyl-1-phenylpyrazolyl-5-glycoloyl-phenylhydrazone (69) : m.p. 172°C; 分析値 : 実験値 C, 67.21; H, 5.58; N, 17.30. 計算値 $C_{18}H_{18}O_2N_4$: C, 67.06; H, 5.63; N, 17.38%.

2-Hydroxymethyl-1-phenylpyrazolyl-5-glyoxyloyl-phenyl-osazone (71) : m.p. 168°C; 分析値 : 実験値 C, 69.90; H, 5.48; N, 20.33. 計算値 $C_{24}H_{22}ON_6$: C, 70.22; H, 5.40; N, 20.48%.

3,6-Dichloromethyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine (72) : 化合物 (43) をチオニルクロライドで処理し, 生成物を水, メタノール—水で再結すれば m.p. 177~178°C の白色結晶を得. 標品¹⁰³⁾との赤外吸収スペクトルの比較により同定.

3,6-Diacetoxymethyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine (73) : 化合物 (43) を常法通り無水酢酸で処理すれば m.p. 183~184°C の Diacetate を得, 収量85%⁹³⁾. 分析値 : 実験値 C, 50.27; H, 5.13; N, 11.89. 計算値 $C_{10}H_{12}O_5N_2$: C, 50.00; H, 5.00; N, 11.66%.

第3章 総括と結論

本研究は麴カビにより安価に生産される麴酸の利用を目的とし, まず麴酸の各種反応に対する特性を解明し, 第1に麴酸と類似構造をとる新しいスタイルの食

品香味増進剤であるマルトールならびに同族体 (エチルマルトール) を麴酸から誘導する方法を確立するためのものであり, 第2に生理活性の期待されるピリダジン, ピラゾール両系化合物を麴酸から合成するために行なったものである.

第1節 麴酸を中心とした 3(or 5)-OH- γ -pyrone 化合物の反応性とマルトールおよび同族体の合成

第1項 麴酸を中心とした 3(or 5)-OH- γ -Pyrone 化合物の Mannich 反応

3(or 5)-OH- γ -pyrone 環の OH 基オルト位への選択的なアルキル基導入はマルトール同族体の合成に不可欠な工程である. そこで一つの手法として, 麴酸, コメン酸およびピロメコン酸の Mannich 反応について検討した.

麴酸は塩基性および酸性の両条件下で第2級アミン (ジメチルアミン, ジエチルアミン, モルホリン) およびホルムアルデヒドと反応して相当するモノ Mannich 誘導体を生成する. 特に pH 8 以上 (麴酸の $pK_a=7.96$) の塩基性水溶液中では瞬間的に反応し, 殆んど定量的に Mannich 誘導体を与えることが明らかとなった.

弱塩基性条件下の反応は5位のフェノール性 OH 基から H^+ の解離により生成したフェノキサイドイオンの共鳴混成体の一つであるカルバニオン (コージェイトアニオン) がジアルキルアミノメチロールを攻撃して SN_2 機構的に Mannich 塩基を生成するものとして説明出来, 塩基性触媒はフェノール性 OH 基からの H^+ の解離をたすけ反応を促進させるものと考えられる.

Mannich 誘導体は氷酢酸中で亜鉛末を用い還元すれば $\begin{matrix} R \\ \diagdown \\ N-CH_2 \\ \diagup \\ R \end{matrix}$ 基の R がメチルまたはエチルの時は比較的高収率で6-メチル麴酸を与える方法が見出された.

本方法をコメン酸, ピロメコン酸に適応してそれぞれ Mannich 誘導体を経て最終生産物として6-メチルコメン酸およびマルトールが得られた.

第2項 麴酸を中心とした 3(or 5)-OH- γ -Pyrone 化合物のヒドロキシアルキル化

前項で述べた如く, Mannich 誘導体の生成とその還元による方法ではメチル基の導入はできるがエチル基には適用できない.

本項においては, メチル基導入工程を簡易化し, か

つエチル基導入を可能ならしめるために麴酸, コメン酸およびピロメコン酸のヒドロキシアルキル化を検討した。

麴酸は Mannich 反応と同様に pH 8 以上の塩基性条件では速やかにホルムアルデヒドと反応し殆んど定量的に 6-メチロール誘導体を生成した。この反応も Mannich 反応と同様にコージェイトアニオンのホルムアルデヒド水和物への攻撃による求核置換反応として説明できる。

コメン酸, ピロメコン酸も同様にそれぞれ相当するメチロール誘導体を与えた。

また, エチル基の導入についてはコメン酸, ピロメコン酸にアセトアルデヒドとの反応を試み, 23°~27°C, 弱塩基性水溶液 (pH 8~9) 中で微量のヒドロキノノ (重合防止剤) を加えて約 20 時間反応させることにより 6- α -ヒドロキシエチルコメン酸および α -ヒドロキシエチルマルトールが高収量で得られた。

これらのヒドロキシアルキル誘導体は塩化第一錫—塩酸で還元すればそれぞれ相当するアルキル誘導体 6-メチル麴酸, 6-メチルコメン酸, マルトール, 6-エチルコメン酸およびエチルマルトールが収率よく得られた。

第 3 項 麴酸の側鎖の選択的酸化

本項においては麴酸の側鎖のメチロール基 ($-\text{CH}_2\text{OH}$) を化学的および生物的に酸化する方法を検討した。

麴酸の如き 3(or5)-OH- γ -pyrone は核カルボニル基と OH 基が隣接しているため通常酸化反応ではピロン核の分解がおこる。これを防ぐために 5 位の OH 基をベンジル基で保護して酸化し, 反応後保護基を脱離する方法をとった。

化学的酸化法—過酸化ニッケル, 活性二酸化マンガンによる麴酸のベンジルエーテルの酸化は pH 12 の塩基性条件下 2~3 時間の反応で 90% 収量でコメン酸のベンジルエーテルを与えた。

生物的酸化法—麴酸分解菌 (*Arthrobacter ureafaciens* K-1) を用いた一次培養法による酸化では増殖期に被酸化物 (麴酸のベンジルエーテル) を添加すれば 3 日間の培養で 96% 収量でコメン酸ベンジルエーテルが得られた。

コメン酸ベンジルエーテルはパラジウムおよびラネーニッケル触媒を用いて接触水素化すれば容易にベンジル基が加水素分解を受け, 収率よく (80~87%) コメン酸が得られた。

第 4 項 麴酸よりマルトールおよび同族体の合成

麴酸の親電子試薬との反応性, 側鎖の選択的酸化反応および後述する側鎖カルボン酸の脱炭酸反応を組合せることにより, 大略 2 つの工程で麴酸からマルトール同族体の全合成が可能である。

すなわち, “麴酸→コメン酸→ピロメコン酸→マルトール同族体” および “麴酸→コメン酸→6-アルキルコメン酸→マルトール同族体” である。

本工程中のコメン酸および 6-アルキルコメン酸の脱炭酸反応は熱溶媒中で加熱することにより容易に目的を達した。なお収率面から工業的製造には後者の工程が優れていることが明らかになった (麴酸より 45~48%)。

以上の結果, 有機合成反応と発酵法を併用することにより麴酸よりマルトール同族体の経済的新合成法を確立した。

第 2 節 麴酸を中心とした 3(or 5)-OH- γ -Pyrone 化合物よりピリダジン系およびピラゾール系化合物の合成

第 1 項 重酸素重水 (H_2^{18}O) による酸素交換反応

ヒドラジン類との反応を試みるにあたり, まず求核試薬との反応性を明らかにするために重酸素重水 (H_2^{18}O) をトレーサーに用いて麴酸を中心に 3(or5)-OH- γ -pyrone 化合物に対する OH^\ominus の付加について検討した。

麴酸への ^{18}O 取りこみは塩基性条件では特に大きく, 主な交換反応は環の酸素原子にて行なわれていることが明らかにされ, 中間体として OH^\ominus による γ -ピロン環の 2 位または 6 位への求核的攻撃によって開環構造を取ることが証明された。

種々の 3(or5)-OH- γ -pyrone 化合物について実験を行なった結果 OH- γ -pyrone 環のフェノール性 OH 基およびオルト位 (OH 基に対して) の置換基の電子的性質が OH^\ominus のピロン環への求核的攻撃に大きな影響を与えることが明らかになった。オルト位に電子求引性の基が存在すると OH^\ominus の付加が容易で開環しやすく, 反対に電子供与性の基が存在すると, OH^\ominus の付加がおさえられ開環しにくくなることが明らかにされた。

第 2 項 麴酸を中心とした 3(or5)-OH- γ -Pyrone 化合物とヒドラジン類との反応生成物

含窒素複素環化合物を合成するために, 麴酸およびそれより誘導される γ -ピロン化合物とヒドラジン類

との反応を試みた。

麴酸，アロマトール，ピロメコン酸等 OH 基のオルト位に置換基のない化合物はいずれも OH 基のpara位にヒドラジン類の攻撃を受け開環することが明らかになった。

これらの化合物は試薬としてヒドラジン (N_2H_4) を用いると主生成物として4-オキソ-1, 4-ジヒドロピリダジンおよびピラゾール誘導体を与え，他方フェニールヒドラジン ($NH_2-NH-C_6H_5$) を用いると麴酸は4種類の1-フェニールピラゾール誘導体を生成した。

フェノール性 OH 基を保護した5-メトキシ麴酸も同様にヒドラジンの求核的攻撃を受けて開環し，1-アミノ- α -ピリドンおよびピラゾール誘導体を与えた。OH 基のオルト位にメチル基を有するマルトールは2種類のピラゾール誘導体を生成した。

得られた物質はすべて文献未記載の新物質であってその構造を物理的，化学的に解析した。なおこれらの生成機構は電子的にも立体化学的にも興味ある問題であり，重酸素重水 ($H_2^{18}O$) による交換反応と併せて麴酸に対する求核試薬との反応性も明らかになった。

生理活性については現在検討中であるが，植物病原菌に対して二三有効なものが見出されている。

以上，麴酸の反応特性を明らかにするとともに，食品の香味改良剤として広く利用されるマルトール同族体合成法の確立によって麴酸の工業的利用の一途を開き，他方麴酸より合成された含窒素複素環化合物は生理活性の対象として役立つことが期待される。

謝 辞

本研究の題目を御指示いただき終始御指導を賜った本学教授辰巳忠次先生に心から感謝の意を表します。

また研究の遂行にあたり，御助言，御協力をいただいた上田博夫教授，野々村誠一助教授，中川昌平博士をはじめ宮川金二郎博士，北岡祥伯博士，伊津野俊郎氏，福島昭夫氏，藤井吉太郎氏，平田弘和氏，内田慎輔氏，内田囊氏，鷺野乾氏，島昭二氏，橋本芙喜子氏の各位に感謝いたします。

さらに本研究を遂行中絶えず有益な御助言を賜った東京大学名誉教授藪田貞次郎先生，実験の考察に御討論いただいた本学工学部井本英二教授，東京大学高橋信高教授，京都大学井上雄三助教授，NMR スペクトルの解析をお願いした武田薬品工業 K.K. 朝日豊博士の各位にも感謝の意を表します。

文 献

- 1) A. BEELIK; *Advances in Carbohydrate Chem.*, **11**, 145 (1956).
- 2) 辰巳，米津；昭和43年度日本農芸化学大会要旨集 p. 93.
- 3) L.F. Cavalieri; *Chem. Reviews*, **41**, 525 (1947).
- 4) R.C. ELDERFIELD; *Heterocyclic Compds.*, **1**, 370 (1959).
- 5) F. ARNDT, G.T.O. MARTIN and J.R. PARTINGTON; *J. Chem. Soc.*, **1935**, 602.
- 6) E.C.E. HUNTER and J.R. PARTINGTON; *J. Chem. Soc.*, **1933**, 87.
- 7) L.F. SUTON; *Trans. Faraday Soc.*, **30**, 789 (1934).
- 8) G.G. LE FEVRE and R.J.W. LE FERRE; *J. Chem. Soc.*, **1937**, 1088.
- 9) A. LUTTRINGHAUS and J. GROHMANN; *Z. Naturforsch.*, **10b**, 365 (1955).
- 10) M. ROLLA, M. SANESI and G. TRAVERSO; *Ann. chim. (Rome)* **42**, 673 (1952).
- 11) M. ROLLA, M. SANESI and G. TRAVERSO; *Ann. chim. (Rome)* **44**, 430 (1954).
- 12) K. YAMADA; *Bull. Chem. Soc. Japan*, **35**, 1323 (1962).
- 13) A.R. KATRITZKY and R.A. JONES; *Spectrochim. Acta*, **17**, 64 (1961).
- 14) R. ZAHRADNIK, C. PARKANYI and J. KOUTECKY; *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **27**, 1242 (1962).
- 15) C. PARKANYI and R. ZAHRADNIK; *ibid.*, **27**, 1355 (1962).
- 16) R. ZAHRADNIK; *Advances in Heterocyclic Chem.* **5**, 28 (1965).
- 17) 芥藤賢道；植物学雑誌，**21**，7 (1907).
- 18) 藪田貞次郎；東京化学会誌，**37**，1185 (1916).
- 19) T. YABUTA; *J. Chem. Soc.*, **115**, 575 (1924).
- 20) S. SEGUIN; *Ann. chim.*, [1] **92**, 225 (1814).
- 21) H. THOMAS and R. PIETRULLA; *Ber. deut. pharm. Ges.*, **31**, 4 (1921).
- 22) J.P. WIBAUT and R.J.C. KLELPOOL; *Rec. trav. chim.*, **66**, 24 (1947).
- 23) a) A.Y. BERLIN; *Zhur. Obshcel Khim.*, **19**, 1177 (1949).
b) W. BORSCHKE; *Ber.*, **49**, 2544 (1916).
c) H. MEYER; *Monatsh.*, **26**, 1328 (1905).
d) E.L. SHIMMIN and F. CHALLENGER; *J. Chem. Soc.*, **1949**, 1185.
- 24) 野々村，辰巳；農化誌 **31**，954 (1961).
- 25) F.W. TANNER et al.; *US pat.* 3140239 (July 7 1964).
- 26) 今井，真山；日本薬学会大会講演抄録 (1950).
- 27) R. MAYER; *Ber.*, **90**, 2362 (1957).
- 28) J. STENHOUSE; *Ann.*, **123**, 191 (1862).

- 29) W. FEIERSTEOM; *Ber.*, **34**, 1804 (1901).
 30) BRAND; *Ber.*, **27**, 806 (1894).
 31) 木原 清; 工化誌, **43**, 376 (1940).
 32) 中島, 今木, 武居; 日化誌, **70**, 40 (1949).
 33) HAITINGER, LIEBEN; *Monatsh.*, **5**, 339 (1884); **6**, 279 (1885).
 34) L. CLAISEN; *Ber.*, **24**, 111 (1891).
 35) R. WILLSTATTER and R. PUMMERER; *Ber.*, **37**, 3740 (1904); **38**, 1460 (1905).
 36) L. RUZICKA and V. FORNASIR; *Helv. Chim. Acta*, **3**, 806 (1920).
 37) E.R. RIEGEL and F. ZWILGMAYER; *Org. Syn. Coll.* **II**, 126 (1943).
 38) I. ICHIMOTO and C. TATSUMI; *Bull. Univ. Osaka Pref., Ser. B*, **16**, 105 (1965).
 39) K. MAURER; *Ber.*, **63**, 25 (1930).
 40) H.R.V. ARNSTEIN and R. BENTLEY; *Biochem. J.*, **54**, 508 (1953).
 41) 野々村誠一; 大阪府立大学紀要, 農学, 生物学, **13**, 59 (1962).
 42) W.C. O'KANE et al.; *US pat.* 2460188 (Jan. 25, 1949).
 43) J. METIVIER; a) *F. pat.* 1125943 (Nov. 12, 1956);
 b) *US pat.* 2778767 (Jan. 22, 1957);
 c) *US pat.* 2905700 (Sep. 22, 1959).
 44) C.P. KRIMMEL et al.; a) *US pat.* 2851467 (Sep. 9, 1958); b) *US pat.* 2907773 (Oct. 6, 1959); c) *US pat.* 2907772 (Oct. 6, 1959).
 45) J.F. FREDRICK et al.; *US pat.* 2918402 (Dec. 22, 1959).
 46) 小野正夫; 香料, **71**, 47 (1963).
 47) 小松 昭; 香料, **86**, 179 (1967).
 48) C.R. STEPHEN et al.; *C.A.*, **64**, 9688 (1966); *Belg. pat.* 651427, Feb. 5, 1965.
 49) I. ICHIMOTO, H. UEDA and C. TATSUMI; *Agr. Biol. Chem.*, **29**, 94 (1965).
 50) I. ICHIMOTO, K. FUJII and C. TATSUMI; *ibid.*, **29**, 325 (1965).
 51) I. ICHIMOTO and C. TATSUMI; *Agr. Biol. Chem.*, **34**, 961 (1970).
 52) I. ICHIMOTO, K. FUJII, F. SEKIDO, S. NONOMURA and C. TATSUMI; *Agr. Biol. Chem.*, **29**, 99 (1965).
 53) 辰巳忠次; 化学と生物, **3**, 16 (1965).
 54) C. TATSUMI, I. ICHIMOTO, S. UCHIDA, and S. NONOMURA; *J. Ferment. Technol.*, **47**, 178 (1969).
 55) 樫本, 鷺野, 藤井, 辰巳; 農化誌, **41**, 317 (1967).
 56) R.G. JONES and M.J. MANN; *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 4048 (1953).
 57) A.N. KOST and I.I. GRANDBERG; *Advances in Heterocyclic chem.*, **6**, 347 (1966).
 58) J. DRUEY; *Angew. Chem.*, **70**, 5 (1958).
 59) T. JOSHIMA and S. TAMURA; *Agr. Biol. Chem.*, **29**, 157 (1965).
 60) I. ICHIMOTO, Y. KITAOKA and C. TATSUMI; *Bull. Univ. Osaka Pref., Ser. B*, **18**, 69 (1966).
 61) I. ICHIMOTO, Y. KITAOKA and C. TATSUMI; *Tetrahedron*, **22**, 841 (1966).
 62) I. ICHIMOTO, K. FUJII and C. TATSUMI; *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 979 (1967).
 63) 樫本, 鷺野, 藤井, 辰巳; 日本農芸化学会大会要旨集 p. 62 (1967).
 “ ” ; 第2回非ベンゼン系芳香族化合物討論会要旨集 p. 56 (1968).
 64) 樫本, 辰巳; 未発表.
 65) J.R. SCHENCK and M.A. SPIELMANN; *J. Am. Chem. Soc.*, **67**, 2276 (1945).
 66) M.A. SPIELMANN and M. EREIFELDER; *ibid.*, **69**, 2908 (1949).
 67) W.J. BURKE; *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 609 (1949); G.F. GRILLOT and W.T. GORMLEY; *ibid.*, **67**, 1968 (1945).
 68) A. STEMPEL and E.C. BUZZI; *ibid.*, **71**, 2969 (1949).
 69) L.L. WOODS; *ibid.*, **68**, 2744 (1946).
 70) I. ICHIMOTO, K. MIYAGAWA and C. TATSUMI; *Bull. Univ. Osaka Pref. Ser. B*, **15**, 61 (1964).
 71) G. O'BRIEN, J.M. PATTERSON and J.R. MEADOW; *J. Org. Chem.*, **25**, 86 (1960); *ibid.*, **27**, 1711 (1962).
 72) G. CHOUX and R.L. BENOIT; *J. Org. Chem.*, **32**, 3974 (1967).
 樫本, 辰巳ら; 昭和43年度, 発酵工学大会要旨集 p. 8 (1968).
 73) I. ICHIMOTO and C. TATSUMI; *Agr. Biol. Chem.*, **28**, 723 (1964).
 74) R.B. WOODWARD et al.; *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5455 (1953).
 75) O. MANASSE; *Ber.*, **27**, 2409 (1894); **35**, 3844 (1902).
 76) 瀬戸, 堀内; 工化誌, **57**, 603 (1954); **57**, 689 (1954).
 77) J. REESE; *Ber.*, **86**, 979 (1953).
 78) H.N. BARHAM and G.N. REED; *J. Am. Chem. Soc.*, **60**, 1541 (1938).
 79) L.L. WOODS; *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 4322 (1950).
 80) P.S. BAILEY and G. NOWLIN; *ibid.*, **71**, 732 (1949).
 81) 林, 川瀬; 第10回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会要旨集 p. 146 (1966).
 82) 藪田, 神戸; 農化誌, **6**, 516 (1930).
 83) J.P. EASTERLY and H.E. HENNIS; *US pat.*

- 3152148 (Oct. 6, 1964); *C.A.*, **62**, 530 (1965).
- 84) H.D. BECKER; *Acta Chem. Scand.*, **15**, 683 (1961).
- 85) K. HEYNS and G. VOGELSANG; *Ber.*, **87**, 13 (1954).
- 86) 三井生喜雄; 有機反応機構の進歩第2集 (槇書店), p. 143 (1963).
- 87) 野々村, 辰巳; 農化誌, **38**, 213 (1964).
- 88) K. NAKAGAWA, R. KONAKA and T. NAKATA; *J. Org. Chem.*, **27**, 1597 (1962).
- 89) 小田良平; 酸化と還元 p. 410 (南江堂) (1963).
- 90) A.F. THOMAS; *J. Chem. Soc.*, **1962**, 439.
- 91) H. ADKINS and H.R. BILLICA; *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 695 (1948).
- 92) F.H. STODOLA et al.; *ibid.*, **73**, 2290 (1951).
- 93) R. KOTANI and C. TATSUMI; *Bull. Univ. Osaka Pref. Ser. B*, **10**, 33 (1970).
- 94) A.F. THOMAS and A. MARXER; *Helv. Chim. Acta.*, **43**, 469 (1960).
- 95) J. ATTENBURROW et al.; *J. Chem. Soc.*, **1952**, 1094.
- 96) D. COOK; *Can. J. Chem.*, **41**, 1435 (1963).
- 97) K. HEYNS and G. VOGELSANG; *Ber.*, **87**, 1377 (1954); K.N. CAMPBELL, J.F. ACKERMAN and B.K. CAMPBELL; *J. Org. Chem.*, **15**, 221 (1950).
- 98) S. OAE, T. KITAO and Y. KITAOKA; *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 3359 (1962).
- 99) F. EIDEN; *Arch. Pharm. Ber. dtsh. pharmaz. Ges.*, **292/64**, 461 (1959); F. ARNDT and P. NACHTWEY; *Ber.*, **57**, 1908 (1924).
- 100) P. BEAK and G.A. CARLS; *J. Org. Chem.*, **29**, 2678 (1964).
- 101) 野村, 足立, 山藤; レダクトン化学の基礎とビタミン C の生化学的効果, (内田老鶴圃) H. Von Euler (原著), p. 6, (1960).
- 102) R.G. JONES and C. AINSWORTH; *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 3172 (1954).
- 103) A.F. THOMAS and A. MARXER; *Helv. Chim. Acta.*, **41**, 1898 (1958).
- 104) W.P. NORRIS and R.A. HENRY; *J. Org. Chem.*, **29**, 652 (1964).
- 105) O.L. CHAPMAN and R.W. KING; *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 1256 (1964).
- 106) J.W. EMSLEY, J. FEENEY and L.H. SUTCLIFFE; *High Resolution NMR Spectroscopy*, vol **1**, 537 (1965).
- 107) L.G. TENSMEYER and C. AINSWORTH; *J. Org. Chem.*, **31**, 1878 (1966).
- 108) J.R. CROOK and K. SCHUG; *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 4271 (1964).
- 109) K. EICHENBERGER, R. ROMEISCH and J. DRUEY; *Helv. Chim. Acta*, **39**, 1755 (1956).
- 110) A.I. SCOTT; *Interpretation of the UV Spectra of Natural Products*; 178 (1964).
- 111) 船久保英一; 有機化合物確認法 p. 239 (1967). 養賢堂.
- 112) BURAWOY, and THOMPSON; *J. Chem. Soc.*, **1953**, 1443.
- 113) L. MESTER; *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 1301 (1955); *ibid.*, **77**, 4301 (1955).
- 114) 北岡正三郎; 化学の領域, **18**, 495 (1964).
- 115) W. BORSCHKE; *Ber.*, **54**, 2678 (1921).
- 116) D. RITTENBERG and L. PONTICORVA; *Intern. J. Appl. Rad. Isotopes*, **1**, 208 (1958).
- 117) M. ANBAR and S. GUTTMAN; *ibid.*, **5**, 233 (1958).
- 118) R.V. ROTHENBURG; *Ber.*, **27**, 955 (1894); D.M. BURNES; *J. Org. Chem.*, **21**, 97 (1956).
- 119) R.H. WILEY and P.E. HEXNER; *Org. Synth.*, **31**, 43 (1951).
- 120) 大田正樹; 大有機化学, 第15巻複素環式化合物 II p. 284 (朝倉書店, 1958).