γ-Aminobutyric Acid の 一 合 成 法*

三 木 太 平 (東京農業大学農学部農芸化学科生物化学研究室)

昭 和 31 年 7 月 3 日 受 理

緒 言

この研究は L-glutamic acid decarboxylase の研究に際し, γ-aminobutyric acid 標準品の必要を感じ合成を行つたものである。

1883 年 SCHOTTEN⁽¹⁾ は piperyl urethane を原料として之を合成し, 1889~1890 年に GABRIEL⁽²⁾ は γ-phthalimidobutyronitril を加水分解し, 又 1891 年 ASCHAN⁽³⁾ は N-(β-bromoethyl)-phthalimide と diethyl sodio malonate との附加物たる diethyl γ-phthalimidoethyl malonate を加水分解し, TAFEL, STERN⁽⁴⁾ は 1900 年 succinimide を電解還元して 2-pyrrolidone となし, 之を加水分解しておのおの γ-aminobutyric acid を合成した。又 1953 年加藤等⁽⁵⁾は chloroacetonitril より ethyl pyrrolidone-(5)-carboxylate を製し, 之を加水分解する方法を発表し, 同時に ethyl β-formyl propionate を原料とする方法, 及び ethyl γ-nitrobutyrate を還元する方法を報告した。最近著者等は β-ethoxyethanol (I) を出発点とし, マロン酸エステルを使用してペーパークロマトグラフ標準品に使用し得るものを製出した。その反応は次の如く要約される。

実 験

β-Ethoxyethyl bromide⁽⁶⁾ (II) : 還流冷却器, 攪拌機, 滴下ロートを備えたフラスコ中に生石灰にて脱水, 蒸溜した (I) 220 g を入れ, 劇しく攪拌しながら三臭化磷 200 g を徐徐に加え, ゆるやかに沸騰させながら 30 分間に滴下した。滴下終了後更に 30 分間攪拌を続けた後, 内容物を蒸溜し, 130° 迄の溜分を水中に集め, 下に分れた油層を集め, 水洗後無水塩化カルシウムにて乾燥し, 分溜により精製した。b. p. 125~127° (補正せず)。収量: 162.2 g (理論量の 43.4%)。実験値: Br 52.15%, 計算値 (C₄H₉OBr として): 52.22%。

Diethyl β-ethoxyethyl malonate (III) 塩化カルシウム管を附した還流冷却器, 攪拌機, 滴下ロートを備えたフラスコ中に無水エタノール 350 ml を入れ, 金属ナトリウム 11.5 g を徐徐に加えて溶解させ, 之に diethyl malonate 80 g を攪拌しながら加え, 少時の後 (II) 76 g を徐徐に滴下した。滴下終了後攪拌を続けながら水浴上 80° にて 2 時間ゆるく還流させ, 1 夜放置後酢酸にて pH 6.0 とし, エタノールを除去し, 残渣を水中に注ぎ, 下に分れた油層を分け, 水層は毎回 300 ml のエーテルにて 2 回抽出し, おのおのを無水芒硝にて脱水した。エーテル抽出物は蒸溜してエーテルを除き, 残渣と前記油層とを合して減圧下に蒸溜した。b. p. 125~129°/11 mm (補正せず)。n_D²⁰ 1.4239, 収量: 85.3 g (理論量の 73.4%)。実験値: C 56.95%, H 8.73%, EtO 58.23%。計算値 (C₁₁H₂₀O₅ として): C 56.88%, H 8.68%, EtO 58.19%。

γ-Ethoxybutyric acid (IV) : 10% 苛性ソーダ溶液 200 ml に (III) 22.0 g を加え, 還流冷却器を附して 4 時間ゆるく沸騰させた。冷却後エーテルにて分解不能の微量の油状物質を抽出除去し, 水層を硫酸にて pH 3.0 とした後エーテルにて 5 回抽出した。エーテル層は合して水洗後無水芒硝にて脱水し, エーテルを蒸溜した。残渣をおだやかに沸騰還流させれば 24 時間後にフラスコ内容物の沸点は 210° を示し一定となつたので之を徐徐に

* A Study on the Synthesis of γ-Aminobutyric Acid.

By Taihei MIKI (SAHASHI Laboratory of Biochemistry, Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Tokyo Agricultural University).

蒸溜した。b. p. 223~228° (補正せず)。 n_D^{20} 1.4229, 収量: 9.7 g (理論量の 77.6%)。実験値: C 54.69%, H 9.20%, EtO 33.91%。計算値 ($C_6H_{12}O_3$ として): C 54.53%, H 9.15%, EtO 34.16%。

γ -Bromobutyric acid (V): 10% 臭化水素酸-氷酢酸溶液 200 ml に (IV) 7.8 g を溶解し, 油浴上 2 時間沸騰, 還流させた。冷却後減圧下で氷酢酸を除き, 残渣を減圧蒸溜により精製した。b. p. 128~131°/11 mm (補正せず)。収量: 6.2 g (理論量の 60.1%)。実験値: Br 47.76%。計算値 ($C_4H_7O_2Br$ として): Br 47.85%。

なお (V) 3.34 g を hexamine 5.6 g, ジオキサン 40 ml と共に油浴上 2 時間ゆるく沸騰させ, 冷却後白色沈澱を濾過し, 沸騰クロロフォルムにて抽出, 過剰の hexamine を除いた後濾過, 乾燥すれば微黄白色の結晶状縮合物 6.0 g が得られた。収率: 理論量の 98.4%。この縮合物の一部を水に溶解し, 東洋濾紙 No. 50 上にスポットし, 酢酸-ブタノール-水 (1:4:2) を用いて展開すれば, R_F 0.40 にニンヒドリン試薬にて発色 (微紫赤色) する単一なスポットが得られた。

γ -Aminobutyric acid (VI) 滴下ロート及び攪拌器を備えたフラスコ中に 28% アンモニア水 250 ml を入れ, 之を 10° に冷却し, 攪拌しながら滴下ロートより (V) 5.0 g を徐々に滴下した。ついで室温に 3 日間放置した後, 減圧下にて蒸発, 乾固し, 得られた白色残渣に 10% 塩酸 3 ml を加え, 生じた (VI) を塩酸塩とし, 再び蒸発, 乾固して過剰の塩酸を完全に除去し, 残渣を 95% エタノールにてよく抽出した。エタノール溶液は合してエタノールを減圧下で除き, 残渣を水に溶解し, 新たに沈澱させた水酸化銀を加え臭素イオンを沈澱せしめ, 臭化銀の沈澱は良く熱水にて洗滌した。濾液, 洗液を合して硫化水素ガスにて過剰の銀イオンを除き, 濾液及び洗液を合して減圧下低温にて濃縮, シラップ状としてデシケーター中に放置すれば徐々に白色長針状結晶を生じた。之を濾過し, 少量の 95% エタノールにて洗滌, 乾燥すれば m. p. 195~200° (decomp. 補正せず) の針状結晶が得られた。収量: 2.1 g (理論量の 68.0%)。この結晶を約 5 倍量の水に溶解し, 7 倍量の 98% エタノールを加え放置すれば長針状の結晶を生じた。之を濾過し, 95% エタノールにて洗滌後乾燥した。m. p. 200° (decomp. 補正せず)。回収率: 64.0%。実験値: C 46.39%, H 8.80%, Van Slyke-N 13.17%。計算値 ($C_4H_9O_2N$ として): C 46.59%, H 8.80%, N 13.58%。

この結晶の一部を水に溶解し, 東洋濾紙 No. 50 上にスポットし, 酢酸-ブタノール-水 (1:4:2) にて展開すれば, R_F 0.47 にニンヒドリン試薬に対し赤紫色に発色する単一なスポットが得られ, 之は南瓜中に存在する L-glutamic acid decarboxylase にて L-glutamic acid を分解した時に生ずる γ -aminobutyric acid のものと一致した。

要 約

1) マロン酸エステル及び β -ethoxyethyl bromide を出発点として γ -aminobutyric acid の標準品を合成した。その各段階の収率は下記の如くであつた。

(I)→(II): 43%, (II)→(III): 73%, (III)→(IV): 78%, (IV)→(V): 60%, (V)→(VI): 68%。

2) 合成した γ -aminobutyric acid のペーパークロマトグラムは南瓜中に存在する L-glutamic acid decarboxylase によつて L-glutamic acid を分解して得られる γ -aminobutyric acid のそれと同一であつた。

本稿を終るに当り終始御懇篤なる御指導, 御鞭撻を賜つた本学教授佐橋佳一博士に深甚なる謝意を表すると共に, 御援助を賜つた味の素株式会社及びマイクロ分析を行うに当り御協力いただいた長谷川忠男氏に感謝致します。本研究の要旨は日本農芸化学会大会 (昭和 31 年 3 月, 東京) で発表した。

(1) C. SCHOTTEN: *Ber.*, 16, 643 (1883).

(1900).

(2) S. GABRIEL: *Ber.*, 22, 3335 (1889); 23, 1771 (1891).

(5) 加藤二郎, 石原 等, 日渡 修 本誌, 27, 500 (1953).

(3) W. ASCHAN: *Ber.*, 24, 2450 (1891).

(6) *Org. Synth.* 23, 32 (1943).

(4) J. TAFEL, M. STERN: *Ber.*, 33, 2230