細菌分解は化学的方法と全く異っていることが推定できる。

結

論

著者らは微生物による γ -パイロン誘導体の代謝に関する研究の一環として麴酸の細菌による分解中間物としてコメン酸を分離し、確認した。

元素分析および赤外線吸収スペクトルは阪大理学部微量分析室の厚意によった。また研究費の一部は科学研究費の援助によった。なお本報文の概要は昭和 35 年 12 月、農化関西支部例会で発表した。

- (1) 徳山 泰, 野々村誠一, 辰巳忠次: 本誌, 33, 558 (1959); 野々村誠一, 樺本五男, 辰巳忠次: 本誌, 34, 732 (1960).
- (2) A. Corbellini, B. Gregorini: *Gazz. chim. ital.*, 60, 243 (1930).
- (3) H. R. V. Arnstein, R. Bentley: *Biochem. J.*, 54, 518 (1953).
- (4) F. Treatta-Mosca: *Ann. chim. applicata*, I, 488 (1914).

- (5) 坂口謹一郎: 醸学, 9, 788 (1931).
- (6) 高橋偵蔵, 朝井勇宣: 本誌, 10, 604 (1934).
- (7) 藪田貞次郎: 東化誌, 37, 1185 (1916).
- (8) 藪田貞次郎, 神戸勝二: 本誌, 6, 516 (1930).
- (9) H. R. V. Arnstein, H. Bentley: *J. Chem. Soc.*, 1951, 3436.
- (10) H. J. Birkinshaw, H. Raistrick: *Trans. Roy. Soc. Lond.*, B 220, 139 (1931).

[農化 第 35 卷, 第 10 号, p. 957~962, 1961]

アミノ酸とアルデヒドの化学反応について (第 4 報)*

シッフ塩基の脱炭酸反応

江 本 栄, 安 藤 誠 (理化学研究所)

昭和 36 年 2 月 11 日 受理

これまでアルデヒドによるアミノ酸の脱炭酸反応の第一歩はシッフ塩基の生成であると考えられてきた。しかし実際に α -アミノ酸とアルデヒドのシッフ塩基を純粋に単離し、これについて脱炭酸反応を試みた例はまだ知られていない。それは通常のアルデヒドと遊離アミノ酸の反応においては、単離が可能なほど安定なシッフ塩基型化合物はつくられないからである。また、アミノ酸のナトリウム塩とアルデヒドとからはシッフ塩基型化合物を造ることができるが、この型の化合物は脱炭酸反応が困難であるからである。しかしながら芳香族 o -オキシアルデヒドとアミノ酸の場合は、シッフ塩基型結合と共にフェノール性水酸基と窒素原子間の水素結合とによって六員環を形成し安定化されるので、シッフ塩基型化合物を単離することができる⁽¹⁾。事実、芳香族オキシアルデヒド中最も安定なシッフ塩基を造ると思われる 2-オキシ-1-ナフトアルデヒドを使用すると、 O -メチルセリンのシッフ塩基型化合物 (I) は含水メタノール中で約 95% の好収率で結晶状に取出すことができ、その赤外吸収スペクトル (第 1 図) によっても六員環構造によるシッフ塩基型化合物であることが明かである。

Carter⁽²⁾ ものべているように、 α -ブロム- β -メトキシプロピオン酸とアンモニアとの反応による O -メチルセ

* Chemical Reactions of Amino Acids with Aldehydes. Part IV. Decarboxylation of the Schiff's Base of Free Amino Acid.

By Sakae EMOTO and Makoto ANDO (The Institute of Physical and Chemical Research)

第1図 N-(2-Hydroxy-1-naphthylidene)-O-methylserine (I)
(KBr 錠剤法)

リンの合成法は反応物中に共存する臭化アンモニウムと目的物を分離することが困難で精製に時日を要したのであるが、2-オキシ-1-ナフトアルデヒドを使用すると、O-メチルセリンと臭化アンモニウムのメタノール溶液から目的物をシッフ塩基として容易に収量良く取出すことができ、このシッフ塩基は水と煮沸するとすみやかに加水分解されてアルデヒドが油状に分離するからこれをこし分け水溶液を濃縮すると純粋の O-メチルセリンを製造することができる⁽³⁾。このアミノ酸精製法と共に次の各合成段階の改良、すなわち α 、 β -ジブロムプロピオン酸エステルをへて α -ブロム- β -メトキシプロピオン酸に導く合成法⁽⁴⁾及びこれのアミノ化にオートクレーブを用いない改良法を組合せることによってアクリル酸エステルから O-メチルセリンを従来法に比べ好収量 (61%) でしかも簡易な操作で得ることができた。

このようにして得られたシッフ塩基、N-(2-オキシ-1-ナフチリデン)-O-メチルセリン (I) の分解点 (164~165°) は O-メチルセリンのそれより遙かに低いので遊離アミノ酸よりシッフ塩基型化合物が脱炭酸しやすいことが予想されるが、溶媒中でも加温によって容易に脱炭酸することを確認するため次のような実験を行った。

1. ピリジン中の反応 このシッフ塩基 (I) はピリジンによく溶解するにもかかわらず脱炭酸温度は O-メチルセリンと *p*-ニトロベンツアルデヒドの場合⁽⁵⁾より高く 110° 附近で始まり、反応速度も速くない。しかしこのことからシッフ塩基が脱炭酸反応の中間体でないという推測は成立しない。これはおそらく *p*-ニトロベンツアルデヒドと 2-オキシ-1-ナフトアルデヒドの電子吸引力の差というアルデヒド側に原因があるからであろう。この脱炭酸反応の主生成物は β -メトキシエチルアミン (II) であった。

2. *n*-ブタノール中の反応 このシッフ塩基をブタノール中で加温すると約 105° 附近で溶解し炭酸ガスの発生速度は約 110° でピリジン中よりややおそいが、生成物もピリジン中と同様 β -メトキシエチルアミン (II) で収量も良い。しかしアミン転位反応産物と思われる 1-アミノメチル-2-ナフトール (III) も検出分離された。しかし *p*-ニトロベンツアルデヒドの場合と異なりアルドール縮合産物は検出されなかった。おそらく 2-オキシ-1-ナフトアルデヒドのアルドール縮合は位置障害を受けるためであろう。

(I)

(II)

(III)

(IV)

3. 酢酸中の反応 このシッフ塩基はブタノールより酢酸によく溶け、酢酸程度の酸性では分解されないが、加温すると濃色となりピッチ状物質が生じ、脱炭酸量も前二者に較べると少い。ペーパークロマトグラフィーによっても未反応アミノ酸が多量検出される。同時にアンモニアが検出され、 β -メトキシエチルアミン (II)、1-アミノメチル-2-ナフトール (III) も検出された。

た。このうち β -メトキシエチルアミン(II)を除く α, β -ビス(*p*-ニトロフェニル)-エタノールアミン(VII), 1-*p*-ニトロフェニル-2-アミノ-3-メトキシ-1-プロパノール(V)及び *p*-ニトロベンジルアミン(VI)が単離された。しかしシッフ塩基(I)単独の脱炭酸の場合に生成した 1-アミノメチル-2-ナフトール(III)は検出されなかった。

一般にアルキルアミンはナトリウムアルコレートのように強力な陰性試薬の存在でもアルデヒドによってアミン転位反応を起さないが、 α 位炭素原子に電子吸引基の影響を強く受けるアミン、たとえばベンジルアミン、ナフチルアミン等はピリジンのような弱い陰性試薬の存在でもプロトン移動を起しアミン転位反応の可能性がある。そこで 1-アミノメチル-2-ナフトール(III)と *p*-ニトロベンツアルデヒドのピリジン溶液を 30 分間ゆるやかに煮沸した後ピリジン溶液中のアミンを調べると、主成分は *p*-ニトロベンジルアミン(VI)で、微量の α, β -ビス(*p*-ニトロフェニル)-エタノールアミン(VII)及び未変化の 1-アミノメチル-2-ナフトール(III)が検出された。一方 β -フェニルアミンの一種である 1-*p*-ニトロフェニル-2-アミノ-3-メトキシ-1-プロパノール(V)は同様の処理によっても原料を回収し別種のアミンは検出されなかった。

これらの事実を考え合せると、このシッフ塩基(I)と *p*-ニトロベンツアルデヒドとのピリジン中の反応では生成したナフチルアミン誘導体がすべて *p*-ニトロベンツアルデヒドによってアミン交換反応を受け *p*-ニトロベンジルアミン誘導体に変化した結果、1-アミノメチル-2-ナフトール(III)がほとんど検出されないと説明することができるかも知れない。しかしシッフ塩基(I)単独の場合は A₁ コースを通った β -メトキシエチルアミン(II)が主成分であったのに対して *p*-ニトロベンツアルデヒド混合脱炭酸の場合は α, β -ビス(*p*-ニトロフェニル)エタノールアミン(VII)が主成分となり、アミン生成割合が変化したことも説明するためにはメゾメリー中間体(第 2 図)生成以前にシッフ塩基上でアルデヒド交換反応が生起したと考える方が妥当のようである。すなわち、アルデヒドによるアラニンの脱炭酸反応速度⁽⁷⁾は *p*-ニトロベンツアルデヒドに比較してサリチルアルデヒドは 10 分の 1 以下であることは既によく知られている。

なお、*p*-ニトロベンツアルデヒドの添加量を増すと B₂ コースに相当するアミン(VII)とそれに由来すると思われるピッチ状物質が増したが、アミン生成反応に大きな変化はなかった。

5. その他の溶媒中の反応(他のアルデヒド共存) *n*-ブタノール中ではピリジン中の反応結果と大差なく、*p*-サイメン中では温度を高めたため炭酸ガス発生量も多く四種のアミン中 β -メトキシエチルアミン(II)が特に多く生成したのが目立った。ジメチルスルホキシド中では 1-*p*-ニトロフェニル-2-アミノ-3-メトキシ-1-プロパノール(V)の収率が良く、粗製品で 31% に達した。

実 験 の 部 (融点は補正しない値である)

N-(2-オキシ-1-ナフチリデン)-O-メチルセリン O-メチルセリン 3.6 g を 15 ml の水に溶かし、約 50° に加温し、メタノール 20 ml を加えた溶液に 2-オキシ-1-ナフトアルデヒド 5.5 g をメタノール 20 ml に加温して溶解した液を加えるとただちに溶液は鮮黄色となり、徐々に結晶が析出する。結晶をこし取り、エーテルで洗うと目的物 7.7 g, m. p. 161° (dec.), 収率 94.8% を得た。メタノールより再結晶すると m. p. 164~165° (dec.) となる。

分析値: C 65.69, H 5.50, N 5.26%

計算値: C 65.92, H 5.53, N 5.13% (C₁₅H₁₃O₄N; M. W. 273.28)

2-オキシ-1-ナフトアルデヒドを用いる O-メチルセリンの製造

(1) α -メトキシ- β -ブロムプロピオン酸: アクリル酸メチルより α, β -ジブロムプロピオン酸メチルとし Na-メチラートのメタノール溶液中で (CH₃)₃NO 存在下に α -メトキシ- β -ブロムプロピオン酸メチルに導き、分溜精製後加水分解すると α -メトキシ- β -ブロムプロピオン酸を収率 87% で得ることができた。

(2) O-メチルセリン: 冷却した濃アンモニア水 360 ml に (NH₄)₂CO₃ 36 g 及び α -メトキシ- β -ブロムプロピオン酸 25 g を加え室温に 8 日間放置した後減圧下に濃縮しシラップ状とした後水を約 25 ml 加えた液を 2-オキシ-1-ナフトアルデヒド 25 g をメタノール約 150 ml にとかした液に滴々に加える。結晶をこし取り十分水洗した後少量のメタノール、次にエーテルで洗い乾燥したシッフ塩基を水約 200 ml に懸濁し加温すると約 80° で油状となる。10 分間 90° に保った後冷却し遊離したアルデヒドをこし分け、ロ液を活性炭で脱色し減圧下に濃縮し少量のアセトンを加えると無機塩を全く含まぬ純 O-メチルセリン結晶(収率 70%)を得ることができた。

シッフ塩基の脱炭酸

(1) ビリジン: シッフ塩基 (I) 4.1 g をビリジン (BaO 脱水) 40 ml とかし, かきまぜつつ加温, 15 分後に 110° とすると CO_2 発生, 116° , 15 分間で停止, CO_2 の発生量は理論量の 73.5%. 反応液を濃縮し酢酸エチルに溶解し 5% HCl 40 ml で抽出 2 回. 酢酸エチル層より 2-オキシ-1-ナフトアルデヒド m. p. $79\sim 81^{\circ}$, 2.2 g (約 82%) を回収. HCl 層を濃縮し吸湿性淡黄色粉末 2.5 g を得た. ペーパークロマトグラフィー*の結果 β -メトキシエチルアミン (R_F 0.233) (II) に相当するスポットが大部分で, そのほか 1-アミノメチル-2-ナフトール (III) に相当する小さい橙黄色スポット (R_F 0.501) が見られた.

(2) *n*-ブタノール: シッフ塩基 (I) 1.4 g をブタノール 40 ml 中に加えかきまぜつつ加温, 115° で CO_2 発生, 20 分で停止. CO_2 発生量は理論量の 79%. 反応液が 70° となったときピクロロン酸 1.3 g をアルコール 30 ml と水 2 ml に溶かした溶液を加える. 黄色結晶 0.7 g, 母液から回収した同一結晶と合せ, アルコールから再結晶し, β -メトキシエチルアミン・ピクロネート m. p. 230° (dec.) 1.1 g, 収率 80.5% を得た.

分析値: C 46.31, H 5.14, N 20.85%

計算値: C 46.01, H 5.05, N 20.64% ($\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_6\text{N}_5$, M. W. 339.31)

(3) *n*-ブタノール: シッフ塩基 4.1 g をブタノール 50 ml 中で前記と同様に脱炭酸したのち, 5% HCl 30 ml を加え水蒸気蒸溜しアルデヒド 2.0 g を回収, ピッチ状物質 0.3 g. 残留液を減圧濃縮し残渣 1.6 g に無水エタノールを加え塩化アンモニウム 0.1 g をこし分ける. このアルコール溶液のペーパークロマトグラフィーは R_F 0.23 (紫) (II) ≥ 0.07 (紫) (未反応アミノ酸) > 0.50 (橙黄) (III) の順にスポットが大きい. アルコール溶液を濃縮し少量の水を加えると結晶生成. 水より再結晶 m. p. $225\sim 227^{\circ}$, 0.1 g. 1-アミノメチル-2-ナフトール (III) HCl 塩であった.

分析値: C 62.78, H 5.65, N 6.70%

計算値: C 63.02, H 5.77, N 6.68% ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{ONCl}$, M. W. 209.675)

母液を濃縮し吸湿性結晶を得た. 粗 β -メトキシエチルアミン (II)-HCl 塩である.

(4) 氷酢: シッフ塩基 4.1 g を氷酢 40 ml 中で加熱する. 95° 附近より CO_2 発生, 15 分間で終了, CO_2 発生量は理論量の 40.2%, 多量のピッチ状物質が器壁に附着, 反応液のペーパークロマトグラフィーの結果は O -メチルセリン $> \text{NH}_4^+ > \beta$ -メトキシエチルアミン > 1 -アミノメチル-2-ナフトールの順にスポットが大きい.

(5) 2-オキシ-1-ナフトアルデヒド過剰添加: シッフ塩基 4.1 g, 2-オキシ-1-ナフトアルデヒド 5.2 g をブタノール 50 ml 中で加熱し 110° で脱炭酸させる. 15 分間後に 10% HCl 15 ml を加え水蒸気蒸溜. 2-オキシナフトアルデヒド 6.7 g を回収. ピッチ状物質 1.0 g, 残留液を濃縮し (1.1 g) これより NH_4Cl 0.2 g, 1-アミノメチル-2-ナフトール HCl 塩 0.17 g を得た. 他は β -メトキシエチルアミン HCl 塩.

シッフ塩基と *p*-ニトロベンツアルデヒド

(1) ビリジン: シッフ塩基 5.5 g, *p*-ニトロベンツアルデヒド 3.0 g, ビリジン 50 ml をかきまぜつつ加温, CO_2 の発生は 17~23 分間で停止, CO_2 発生量約 46%. 反応液からビリジンを溜去し 10% HCl 20 ml を加え水蒸気蒸溜し 2 種のアルデヒド混合物 2.6 g を回収. ピッチ状物質 1.9 g をこし分けた母液を濃縮し水 50 ml を加え放置し α, β -ビス (*p*-ニトロフェニル) エタノールアミン (VI) HCl 塩 0.29 g を得た. 母液をペーパークロマトグラフィーで調べると, R_F 0.493 (V) > 0.08 (未反応アミノ酸) > 0.416 (VI) > 0.256 (II) > 0.612 (VII) の順にスポットが大きい. 1-アミノメチル-2-ナフトール (III) は無い. 母液をアルカリ性とし酢酸エチルで抽出しアミン (V) と (VI) の合計量 0.4 g を得, これより純アミン (V) 0.15 g を精製した.

(2) ビリジン: シッフ塩基 5.5 g, *p*-ニトロベンツアルデヒド 4.5 g, ビリジン 50 ml を加熱し反応終了後前記同様に処理してアルデヒド回収量 2.8 g, ピッチ状物質 3.6 g, アミン (VI) HCl 塩 0.4 g を分けたのち母液から NaOH による分別沈澱法によってアミン (VI) 1.1 g を分別. 母液からさらにアミン (VI) を含む粗製アミン (V) 0.75 g をえた. これを精製しアミン (V) 0.50 g (12.2%) をえた.

(3) ブタノール: シッフ塩基 2.7 g, *p*-ニトロベンツアルデヒド 1.5 g, ブタノール 50 ml を加熱, 脱炭酸終了後 10% HCl 6 ml を加え 3 回抽出し HCl 層を濃縮しアルコールを加え第一結晶 0.4 g. m. p. $232\sim 238^{\circ}$ (dec.) を得, これをメタノールより再結晶し *p*-ニトロベンジルアミン・HCl m. p. 265° (dec.) を得た.

* ペーパークロマトグラフィーの展開液は水飽和 *n*-ブタノール 50 ml に氷酢 2.5 ml を加えた溶液.

分析値: C 44.57, H 4.90, N 14.67%

計算値: C 44.57, H 4.81, N 14.85% ($C_7H_9O_2N_2Cl$, M. W. 188.62)

回収された 2 種のアルデヒド混合物 2.4 g.

(4) *p*-サイメン: シッフ塩基 5.5 g, *p*-ニトロベンツアルデヒド 4.5 g, *p*-サイメン 50 ml を反応させる。130° で均質となり 140° で CO_2 ガス発生, 145°, 13 分間で停止, CO_2 発生量 79%. 10% HCl 15 ml を加え水蒸気蒸溜, ピッチ状物質 1.5 g をこし分けた HCl 溶液を濃縮し残渣 2.6 g を得た。これを水 25 ml にとかし放置し析出したアミン(VI)HCl 塩 0.1 g を分け, 5% NaOH 溶液で pH 7 まで中和し析出したアミン(VI) 0.5 g を分けロ液を強アルカリとし酢酸エチルで抽出し粗製アミン(V) 1.3 g を得た。なお酢酸エチル抽出液はアミン(II)のスポットが大きく濃縮途中で湿気にあうと白煙を生ずるが, 濃縮後は揮発したためかスポットも小さくなった。この結果から *p*-サイメン中ではアルデヒド交換反応及びアルドール縮合反応はおそいと考えられる。

(5) ジメチルスルホキシド: シッフ塩基 5.5 g, *p*-ニトロベンツアルデヒド 3.0 g, $(CH_3)_2SO$ 50 ml を加熱, 108~135°, 10 分間反応後水 250 ml に注ぎ沈澱をこしわけ水洗し 10% HCl 20 ml と水蒸気蒸溜。アルデヒド回収量 2.7 g, CO_2 発生量 59%, ピッチ状物質 2.25 g. HCl 溶液を NaOH で中和し分別沈澱させるとアミン(VI) 0.6 g (9.1%), 粗製アミン(V) 1.4 g (アミンVIを少量含む) (31%) を得た。

(1) F. C. McIntire: *J. Am. Chem. Soc.*, 69, 1377 (1947).

(2) L. R. Schiltz, H. E. Carter: *J. Biol. Chem.*, 116, 793 (1936).

(3) 江本 栄, 安藤 誠: *Sci. Papers Inst. Phys. Chem. Res.*, 55, 109 (1961).

(4) 江本 栄, 安藤 誠: 有機化合物合成法, 10集, 80 (昭33), 技報堂; Jap. Pat. 260583(昭35).

(5) 江本 栄, 安藤 誠: 本誌, 35, 663, 667(1961).

(6) 江本 栄, 安藤 誠: 本誌, 35, 882(1961).

(7) F. G. Baddar, Z. Iskander: *J. Chem. Soc.*, 1954, 203.

〔農化 第 35 卷, 第 9 号, p.962~967, 1961〕

アミノ酸とアルデヒドの化学反応について (第5報)*

アミノ酸とアルデヒドのアルドール縮合

江 本 栄, 安 藤 誠 (理化学研究所)

昭和 36 年 2 月 15 日 受 理

アルカリ水溶液ではアミノ酸のアミノ基はイオン解離が妨げられるので芳香族アルデヒドと反応して N-アリリデンアミノ酸塩を造り, その α -炭素原子はカルボキシル基とシッフ塩基結合との隣り合った二個の二重結合によって活性化され, 第二のアルデヒドとアルドール様の結合反応をするはずである。グリシンがアルカリ性溶液中でベンツアルデヒドと縮合し β -フェニルセリンを生ずることは古く前世紀に Erlenmeyer⁽¹⁾ によって知られたが, 近年クロラムフェニコール合成に関連してグリシンまたはそのエステルやヒダントイン等と芳香族アルデヒドの縮合反応について多くの研究がなされた。その結果, グリシンとベンツアルデヒドのアルカリ水溶液中の反応は低温では初期段階で *erythro* 型も多いが室温以上及び時間の経過と共に *threo* 型縮合物となることや, グリシンエステルと *p*-ニトロベンツアルデヒドをアルコール中で反応させるとまずシッフ塩基となり続いて *erythro* 型 *p*-ニトロフェニルセリンエステルシッフ塩基を生じ, これがグリシンエステルと反応して *threo* 型 *p*-ニトロフェニルセリンエステルのシッフ塩基となるが⁽²⁾, 溶媒なしでは直接 *threo* 型縮合物を与える⁽³⁾ ことが明らかにされた。またグリシン銅錯塩はアセトアルデヒドと反応しスレオニン, アロスレオニンを生ずる⁽⁴⁾。グリシン以外のアミノ酸エステルについてはアラニンエステルと *p*-ニトロベンツアルデヒド⁽⁵⁾, O-ベンジルセリンエステルと *p*-ニトロベンツアルデヒド⁽²⁾等について知られるのみで, フェニルアラニン, グルタミン酸, アスパラギン酸エステルは光線照射によっても縮合しないという。

しかし, 遊離のカルボキシル基をもつアミノ酸についてのアルドール縮合反応はグリシンを除いて全然試みられていない。前に述べたように 2-オキシ-1-ナフトアルデヒドは遊離アミノ酸と安定なシッフ型塩基を造り有機

* Chemical Reactions of Amino Acids with Aldehydes. Part V. Aldol Condensation of Amino Acids with Aldehydes.

By Sakae EMOTO and Makoto ANDO (The Institute of Physical and Chemical Research)