要 約

速醸醗における無機成分の消長は年度により溶出割合には幾分差があるが同じ傾向を示す。燐の溶出は殆んどが無機燐としてであり、この液状部への溶出は仕込初期より著しい。

他の成分は初期より米粒の溶解とほぼ見合った溶出を示す。ふくれ以後 P, K, Mg 及び KH_2PO_4 無添加の時は Na が酵母に吸収利用され、液状部含量が減少す。ふくれ→分けのときの液状部含量は P: 95~110→70~80 p. p. m., Mg: 約 20→12~15 p. p. m., K: 60~100→約 20 p. p. m., Ca: 65~80→60~70 p. p. m., Na: KH_2PO_4 無添加のとき 55→40 p. p. m.; KH_2PO_4 添加のとき 40→50 p. p. m. である。

(1) 嘉納成三: 本誌, 36, 379 (1962).	No. 8 (1956).
(2) 上野景平: 化学の領域, 5, 481 (1951); 6, 670 (1952).	(7) C. Urbach: <i>Mikrochemie</i> , 13, 31, 201 (1933).
(3) 水町邦彦, 本田雅健: 同上, 9, 223, 354 (1955).	(8) 森 太郎, 渡辺和夫: 醸工, 32, 421 (1954)
(4) 上野景平: キレート滴定法, 南江堂 (1956).	(9) 森 太郎, 渡辺和夫, 長谷川辰雄: 同上, 31, 419 (1953).
(5) J. Patton, W. Reeder: <i>Anal. Chem.</i> , 28, 1026 (1956).	(10) 江上不二夫他: 標準生化学実験, 文光堂, p. 18 (1953).
(6) 同仁薬化学研究所: Dotite News Letter,	

[農化 第 36 卷, 第 5 号, p. 386~389, 1962]

イ ソ ロ イ シ ン の 合 成 *

此 常 卓 男 (三共株式会社高峰研究所)

昭 和 36 年 9 月 22 日 受 理

イソロイシンの合成に関して従来より種々の合成法が報告されている。しかし、いずれも出発物質としてイソブチルアルデヒド、イソブチルハライド、あるいはメチルエチルケトンを用いて合成がなされている。しかしながら、 β -アルキル置換カルボン酸誘導体は上記物質によるほか、 α , β -エチレンカルボン酸を原料としてグリニヤール試薬の 1,4 付加反応を利用することによっても合成され得る。しかもこの際、反応の中間体として生ずるグリニヤールコンプレックスは次の式の如きエノール性 2 重結合が存在する。Kohler ら⁽¹⁾は、この 2 重結合にブロムが容易に付加し、ついでこの金属化合物を加水分解すれば、 α -ブロムカルボニル化合物が生成することを報告した。

この反応をクロトン酸とエチルマグネシウムブロミドとの反応に利用すれば、容易にイソロイシンの原料である α -ブロム β -メチルバレリアン酸が合成し得ることが期待される。

イソロイシンはアシメ炭素を 2 個有し、したがって 2 つのラセマートが存在する。このうちスレオ体がイソロイシン、エリスロ体がアロイソロイシンである。従来の合成法によって得られるイソロイシンは、いずれもこの両ラセマート D, L 体を含有している。しかしながら、生理的に有効なイソロイシンは L-スレオ体のみであり、合成に際しては、エリスロ体の生成をおさえるような立体特異的合成法の確立が望まれる。現在までに報告されたイソロイシンの合成法は、Doyle 等によればそれぞれの方法によりスレオ体の生成比は 45~78% に変動している⁽²⁾。しかし、これらよりその反応の立体特異の差を考慮することはできない。森等による β -メチルバレリ

* Synthesis of Isoleucine.

By Takuo KONOTSUNE (Takamine Research Laboratory, Sankyo Co., Ltd.)

アン酸のブロム化⁽⁸⁾を経て得られるイソロイシンと, Marvel 等⁽⁴⁾の方法によるそれとは両ラセマートの含有比が著しく相違する。これはその前段階たる α -ブロム体の生成における両ラセマートの生成比の相違に起因するものと森等は推察している⁽⁸⁾。

今, イソロイシンの新合成法としてクロトン酸への EtMgBr の 1, 4 付加反応を行った場合, 両異性体がいかなる生成比で得られるかを検討し, さらに付加せしめるハロゲンの種類を変えた場合の生成比に及ぼす影響を観察し, この反応における立体化学的考察を試みた。

EtMgBr 2.5 モルのエーテル溶液に塩化第一銅少量を加え, 氷冷下クロトン酸 1 モ

ルのエーテル溶液を滴下する。さらに室温で 1 時間かく拌を続け反応を完結せしめた後, 混液を -20° に冷却し五酸化リンで乾燥した臭素 1 モルを徐々に滴下する。臭素の赤色は反応して直ちに消失する。滴下後, 氷水および希塩酸で分解し, エーテル層はチオ硫酸ソーダ溶液とともにしんとし, 過剰の臭素を除去し, 後常法通り処理する。酸性部分より b. p. $107\sim 9^\circ/3\text{mm}$ で留出する無色の液体, α -ブロム β -メチルバレリアン酸を収率 31.9% で得る。これを Marvel らの方法と比較するため同一操作により, アンモニア水でアミノ化し, 希エタノールより 1 回再結すれば m. p. 262° (封管中) のイソロイシンを得る。bioassay によりスレオ体の生成比を調べたところ 73% であり, 上述のバレリアン酸のブロム化により得られたものと同一であった。

付加するハロゲンを, 臭素の代りにヨウ素を用いヨウ素を結晶のままグリニヤール反応後の混液に投入反応せしめた。本法によって α -ヨード β -メチルバレリアン酸, b. p. $110\sim 2^\circ/1\text{mm}$ の淡褐色 (蒸留時若干分解する) を収率 31.4% で得る。この場合のスレオ体の生成比は 85.6% であって, α -ブロム誘導体に比して遙かに高い立体特異性を示した。バリン, イソロイシン等の β 位に側鎖を有するアミノ酸はその相当する α -ハロゲン酸よりワルデン反転を示すことなくアミノ化される故⁽⁶⁾, この現象は次のごとく解釈せられる。すなわち, α -位炭素へのハロゲンの付加はその原子の空間的大きさが大なるほど β 位炭素の配位の影響を受けやすくなり, 障害の少ない方向よりこの分子に近づき, その結果スレオ体が優先して生成するものと考えられる。

本 1, 4 付加反応の収率はよくないがクロトン酸を *sec*-ブチルエステルとして本反応を行なえば, 相当する α -ブロムエステル, b. p. $88\sim 90^\circ/5\text{mm}$ の無色の液体を 66.2% の収率で得ることができた。

しかし, その後のアミノ化はエステル体のままでは困難であって, 常法であるアンモニア飽和のメタノール溶液によるアミノ化では, 相当する α -ブロムアミド (IV) が生成するのみで, ハロゲンのアンモニアによる置換は

おきない。さらに条件を変えて、オートクレーブ中加熱したところ少量のイソロイシンは生成するが、大部分は樹脂化した。また、ウトロビン法, Gabriel 法についても検討したが好結果は得られなかった。そこで、エステルを加水分解後アミノ化することを試みた。まずエステルを 0.6 N MeOH-NaOH 溶液中室温下で加水分解を行った。本条件下では、臭素は脱離することなく容易に相当する α -ブロムカルボン酸になすことができた。本エステルを用いての合成では、得られるスレオ型イソロイシンの生成比は 69% であり、先の遊離カルボン酸の場合に比し著しく低下した。

実 験 の 部

α -Bromo- β -methyl valeric acid (I) 臭化エチル 16 g, 金属マグネシウム 3 g, 無水エーテル 20 ml よりグリニャール溶液を製し、これに新しく製した塩化第一銅 50 mg を一度に加える。この混液に室温下、無水エーテル 20 ml にとかしたクロトン酸 4.3 g を徐々に滴下する。反応熱により温度は上昇するが、徐々にエーテルが還流する程度に滴下速度を調節する。後、室温で 1 時間かく拌反応せしめる。反応液を -20° に冷却し、五酸化リンで乾燥した臭素 8 g を徐々に滴下する。30 分室温でかく拌した後、氷水および希塩酸を加え分解し、エーテル層を分液し、チオ硫酸ソーダ溶液で洗浄後、10% 炭酸ソーダ溶液で酸性分を抽出、アルカリ層を冷却下 20% 硫酸で酸性となし、析出する油状物をエーテルで抽出、水洗乾燥後、エーテルを留去、蒸留する。b. p. $107 \sim 9^{\circ}/3$ mm, 3.1 g (31.9%)。

分析値 $C_6H_{11}O_2Br$ として、計算値: C 36.93, H 5.64, Br 41.0%。

実験値: C 36.11, H 5.20, Br 40.25%。

α -Iodo- β -methyl valeric acid (I') 上記同様に、臭化エチル 16 g, 金属マグネシウム 3 g よりグリニャール溶液を製し、これに塩化第一銅を加えクロトン酸 4.3 g を反応せしめた混液を -20° 下、ヨウ素の結晶 6.3 g を加え室温下 30 分反応せしむ。以下同様に処理し蒸留すれば b. p. $110 \sim 112^{\circ}/1$ mm の淡黄色液体を得た。

分析値 $C_6H_{11}O_2I$ として、計算値: C 29.90, H 4.54, I 52.5%。

実験値: C 31.07, H 4.93, I 50.82%。

sec-Butyl α -bromo- β -methyl valerate (III) 臭化エチル 32.8 g, マグネシウム 6 g, 無水エーテル 80 ml よりグリニャール溶液を製し、氷冷下塩化第一銅 100 mg を加え、30 分かく拌後 sec-butyl crotonate⁽⁶⁾ 14.2 g を無水エーテル 80 ml にとかしたものを氷冷下にかく拌しつつ滴下する。2 時間室温にて反応せしめた後、 -15° に冷却、乾燥した臭素 27 g を徐々に滴下反応せしめる。室温にて 30 分放置後氷水および希塩酸中に注下、エーテル層はチオ硫酸ソーダ溶液、重炭酸ソーダ溶液、水でそれぞれ洗浄、乾燥、エーテルを留去蒸留。b. p. $88 \sim 90^{\circ}/5$ mm, 16.6 g (66.2%)。

分析値 $C_{10}H_{19}O_2Br$ として、計算値: C 47.8, H 7.57, Br 33.14%。

実験値: C 47.93, H 7.90, Br 32.42%。

DL-Isoleucine (II)

i) α -Bromo- β -methyl valeric acid (I) 4.25 g を濃アンモニア水 (比重 0.9) 45 ml に少量ずつ加えて溶解し、密栓 37° にて 5 日放置後ろ過し、ろ液を 13 ml に減圧濃縮、 15° に冷却、析出せる結晶をろ取、メタノールで洗い乾燥する。m. p. 262° (封管中) 1.2 g。さらにろ液を 4 ml に減圧濃縮、冷却し析出する結晶をろ取。0.42 g。

双方の結晶を合せ、熱水 20 ml にとかしエタノール 10 ml を加え氷室に放置、析出する結晶をろ取、少量の冷 95% エタノールで洗滌。m. p. 262° (封管中) 1.25 g (43.8%)。 (bioassay, DL-isoleucine 73%)。

分析値 $C_6H_{13}O_2N$ として、計算値: C 54.94, H 9.99, N 10.68%。

実験値: C 54.75, H 9.67, N 10.81%。

ii) α -Iodo- β -methyl valeric acid (I') 3 g を上記同様にアミノ化し、希エタノールより再結。m. p. 268° (封管中) 490 mg。 (bioassay, DL-isoleucine 85.6%)。

iii) sec-Butyl α -bromo- β -methyl valerate (III) 2.5 g を 0.6 N MeOH-NaOH 溶液 30 ml 中に徐々に加え、室温にて 1 夜放置後、塩酸で中和し減圧下メタノールを留去、少量の水を加え、アルカリ性となしエーテルで中性物を除去、水層は氷冷下塩酸で酸性となし、エーテルで抽出、エーテル層を水洗、乾燥後、溶媒を留去蒸留、b. p. $105 \sim 7^{\circ}/3$ mm (浴温) の α -bromo- β -methyl valeric acid を 1.72 g (88.3%) 得。

これを上記同様にアミノ化, 希エタノールより再結. m. p. 252~4° (封管中) 340 mg (37%). (bioassay, DL-isoleucine 69%).

要 約

不飽和カルボン酸に対するグリニヤール試薬の 1, 4 付加反応をイソロイシンの合成に応用し, 新合成法を確立した. すなわち, クロトン酸およびその *sec*-ブチルエステルにエチルマグネシウムブロミドを作用せしめた後, その反応コンプレックスにハロゲンを付加し, 得られた α-ハロゲンカルボン酸をアミノ化してイソロイシンを合成した. なお, この際グリニヤールコンプレックスへのヨウ素付加においてスレオ型が優先して生ずることより, その付加が隣接基の立体効果をうける現象を認めた.

終りに臨み本研究に終始変らざる温い御鞭撻をいただいた当社取締役研究所長松居宗俊氏, 御懇篤なる指導を賜った室長岩井一成博士, また種々の御協力をいただいた当研究所員の諸氏に厚く謝意を表します.

(本報告は昭和 36 年 5 月, 日本農芸化学会関西支部大会第 179 回講演会において発表した.)

(1) E. P. Kohler : <i>Am. Chem. J.</i> , 34 , 571 (1906).	(5) E. Fischer u. H. Scheibler : <i>Chem. Ber.</i> , 41 , 881, 2891 (1908); E. Abderhalden, P. Hirsch u. J. Schuler : <i>ibid.</i> , 42 , 3394 (1909).
(2) E. P. Doyle : <i>J. Chem. Soc.</i> , 1955, 1719.	(6) J. M. Petersen : <i>J. Org. Chem.</i> , 22 , 170 (1957).
(3) 森 寛, 近藤 滋, 熊谷広吉 : 日化誌, 78 , 1174 (1957).	
(4) C. S. Marvel : <i>Org. Synth.</i> , 21 , 60(1941).	

[農化 第 36 巻, 第 5 号, p. 389~392, 1962]

β 位に側鎖を有するアミノ酸の合成*

此 常 卓 男 (三共株式会社高峰研究所)

昭和 36 年 9 月 22 日 受 理

一般に β 位に側鎖を有する天然アミノ酸としてバリン, イソロイシン, *tert*-ロイシンの存在が知られていたが, 最近に至り *E. coli* の細胞中に pantonine⁽¹⁾ が発見され, また抗生物質の一構成成分としてペニシリン中の D-penicillamine⁽²⁾, bottramycin 中の β-methyl-phenylalanine⁽³⁾, etamycine 中の N-methyl-β-methyl-L-leucine⁽⁴⁾ 等の β-アルキル置換アミノ酸が存在することが報告されている.

著者は前報⁽⁵⁾においてクロトン酸に対するエチルマグネシウムブロミドの 1, 4 付加反応を利用して一挙に α-ブロム β-メチルパレリアン酸を合成, これをアミノ化してイソロイシンに誘導した. 今回は本合成法を用いてさらに β 位に側鎖を有するアミノ酸としてバリン, β-メチルノルロイシン (ホモノルロイシン), β-メチルロイシン (ホモロイシン) の合成を試みた結果を報告する.

1) バリン L-バリンはたん白質中には比較的少ないが, 亜麻仁のたん白質中に約 12.7% 含まれている. しかしたん白質を加水分解して L-バリンを得ることは比較的困難である. 一般にバリンはイソブチルアルデヒドの Strecker 法⁽⁶⁾, イソプロピルブロミドのマロン酸合成⁽⁷⁾等の一般のアミノ酸合成法によって作られる. 著者はクロトン酸へのグリニヤール試薬の 1, 4 付加反応を利用して次式のごとき反応経路によって合成した. α-ブロムカルボン酸 (Ⅲ) の収率はグリニヤール試薬の 1, 4 付加のいかんにより大きく影響を受けるが, 原料として遊離の酸を用いるよりそのエステル (Ⅰ) を用いた方が (Ⅲ) の収量ははるかに良好であった. 著者はそこで

* Synthesis of β-Branched Amino Acids.

By Takuo KONOTSUNE (Takamine Research Laboratory, Sankyo Co., Ltd.)