308. 松川泰三, 増田克忠: Choline 誘導体の研究 (第3報*)

DL- および L-Methionylcholine の合成

Taizo Matsukawa and Katsutada Masuda: Studies on Choline Derivatives. III.
Synthesis of DL- and L-Methionylcholine.

(Research Laboratory, Takeda Pharmaceutical Industries, Ltd.**)

アミノ酸コリンエステルの合成は Dudley 等¹⁾ がグリシンについて始めて行い, その後 Freudenberg 等²⁾ と Gulland 等³⁾ は脳下垂体後葉の乳汁分泌並びに分娩促進ホルモン (oxytocic hormone) の研究に関連してグリシン, DL-アラニン, DL-ロイシン, DL-バリン, DL-フェニルアラニンおよびシスチンのコリンエステルを合成し, その生理作用を検べた. なおこのホルモンは最近 Vignard 等⁴⁾ によつて合成が完成された. 西沢等⁵⁾ は小竹等⁶⁾ によつて合成されたグルタミルコリンに興味ある生理作用を持つてゐることを認めたが, その後著者等は西沢教授*** の依頼によりコリンとの協同作用について幾多報告されているメチオニンとコリンとのエステルの合成を試みた. その合成法としては次の4方法を実施し, いずれも目的とするメチオニルコリン (III) を得た.

(A) メチオニン (I) を Wieland 等⁷⁾ の方法でメチオニクロライド塩酸塩 (II) にしてこれとコリンクロライドとを反応させる.

(B) 前記メチオニクロライド塩酸塩 (II) にジメチルアミノエタノールを作用させた後ヨウ化メチルを作用させてコリンエステルにする.

(C) N-carbobenzylloxymethionine⁸⁾ を五塩化磷で酸クロライドにした後コリンクロライドと加熱反応させてエステル化と脱カルボベンゾオキシ化とをする.

(D) Pählicke⁹⁾, Luré¹⁰⁾ 等のカルボン酸コリンエステル合成法をメチオニンに応用し, メチオニンの β -クロルエチルトリメチルアンモニウム塩 (V) を加熱してコリンエステルにする.

いずれの方法によつても反応生成物中には目的物の他に若干の原料と微量の副生物を含み, エタノール溶液からアセトンで析出させる操作を反復することによりかなり精製はされるが, 吸湿性が強く飴状を呈し結晶化困難で純品を捕捉することは出来ない. しかし精製して不純物を少くした後, 過塩素酸塩にすると無色結晶となり, 塩化白金塩にすると黄色結晶になるが吸湿性はかなり強い.

メチオニルコリン (III) はブタノール, 酢酸, 水 (4:1:1) を展開剤とするペーパーパチションクロマトグラフィー (PPC) にかけると Rf 値 0.22~0.24 を示すが反応中に生ずる副生物は 0.1 前後の Rf 値を示し, ニンヒドリンとドラゲンドルフ両試薬に対し共に陽性を示すことからベプタイドのエステルと考えられる.

(C) の方法では酸クロライドとコリンとを反応させたとき生ずる塩酸で脱カルボベンゾオキシ化が起る¹¹⁾ 場合と先ず酸クロライドが加熱によつて脱ベンジルクロライド化して N-カルボン酸無水物¹²⁾ を生成し, これとコリンとが反応する2種の反応経過が推定されるが, いずれにしても塩酸とベンジルクロライドとの存在で加温するため Dekker⁸⁾ 等の指摘したようなメチオニンのメチル基とベンジル基との置換反応が起るおそれがあるので, 別にメチオニンとベンジルクロライドとから S-benzylhomocysteine が生成する反応条件を検べたところ上記のメチオニルコリンが生成する程度の条件下ではこの生成が始んど考えられず PPC で検べると本品はメチオニン

* 第2報: 本誌 73, 400 (1953).

** Juso-nishino-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka.

*** 大阪大学医学部小児科.

1) H. W. Dudley: J. Chem. Soc. 119, 1259 (1921).

2) K. Freudenberg: Ber. 71, 329 (1938).

3) J. M. Gulland: J. Chem. Soc. 1940, 419.

4) V. de Vigneaud: J. Am. Chem. Soc. 75, 4879 (1953).

5) 西沢, 他: ビタミン 7, 428 (1954).

6) 小竹, 島津, 久保田: 日化 72, 320 (1951).

7) T. Wieland, W. Shafer: Ann. 576, 104 (1952).

8) C. A. Dekker, J. S. Fruton: J. Biol. Chem. 173, 471 (1948).

9) H. Pählicke, H. Horenstein: Ber. 71, 1644 (1938).

10) S. I. Luré: J. Gen. Chem. U. S. S. R. 9, 2075 (1939); ibid. 11, 739 (1941).

11) T. Wieland: Angew. Chem. 63, 7 (1951). 12) L. Zerwas, M. Bergmann: Ber. 65, 119 (1932).

より大きい Rf 値を示すが, これに相当する分別帯も認められないこと等からこのような副反応は起つていないものと考えられる。

反応生成物および関係物質の PPC (BuOH : AcOH : H₂O = 4 : 1 : 1)

Compound	Rf	Ninhydrin	Dragendorff	Reference
Methionine	0.45	violet	—	
Choline	0.34	—	brown purple	
Methionylcholine	0.22~0.24	yellow→violet	orange red	HClO ₄ salt Rf : 0.4
By-product	0.05~0.1	yellow→violet	orange red	dipeptide choline ester
"	0.13	—	brown	only by [C] POCl ₃ +choline→
β-Chloroethyltrimethylammonium	0.5	—	reddish brown	
S-Benzylhomocysteine	0.65	violet	—	

終りに本研究に当り終始御鞭達を賜つた桑田 智博士に深謝する。また元素分析を担当された菅, 塚本, 柏木, 中田の諸氏に感謝する。

実 験 の 部

N-Carbobenzyloxy-DL-methionine (IV) メチオニン 15 g を 2N 水酸化ナトリウム溶液 50 cc に溶解し, これに 18 g のクロル炭酸ベンジルと 60 cc の 2N 水酸化ナトリウム溶液とを交互に少量ずつ強くかきまぜて加える。3 時間反応させた後, エーテルで過剰のクロル炭酸ベンジルを抽出除去し, 水層をコンゴレード酸性になるまで塩酸を加えると油が析出し固化す。濾取し 40% エタノールまたはクロロホルムから再結晶し, 光沢ある板状結晶。mp 113°, 収量 19.5 g。

Methionylcholine (III) L 体, DL 体いずれの場合も同様に行われる。

(A) メチオニンの粉末 6 g を新たに蒸留したアセチルクロライド 100 cc 中に懸濁させ, 氷と食塩で冷却し -5° 前後の温度で強くかきまぜながら粉末五塩化燐 11 g を加え, 2 時間反応させるとメチオニンクロライド塩酸塩 (II) が析出す。速かに濾取し脱水石油エーテルで洗いアセチルクロライドを完全に除去す。本品は容易に吸湿して黄色油状物に変化するから直ちに脱水ベンゾール 200 cc 中に入れ粉末コリンクロライド 5 g と共に防湿して強くかきまぜ, 水浴上に加温還流させると塩酸ガスを発生して褐色の粉末から飴状になる。ベンゾールを傾瀉して除き, エタノールに加温溶解。脱色後アセトンを加えると黄色油状物が析出する。これを PPC で検べると原料のメチオニン, およびコリンを若干含むが, (III) は Rf 0.22~0.24 にドラージェンドルフ試薬で橙赤色, ニンヒドリン試薬で黄褐色→紫色に呈色する分別帯として明らかに認められる。これの エタノール溶液に過塩素酸を加えると (III) の過塩素酸塩が結晶として析出する。mp 151° (decomp) (L), 180° 以上で炭化 (DL)。C₁₀H₂₄O₆N₂Cl₂S 計算値 C 27.59, H 5.55, N 6.43, 実験値 C 27.88, H 5.73, N 6.34。また塩化白金により黄灰色の塩化白金塩が得られる。mp 195~197° (L)。C₁₀H₂₄O₂N₂SPtCl₆ 計算値 N 4.35, Pt 30.30, 実験値 N 4.28, Pt 30.68。塩酸塩飴状物質として収量 5~6 g。

(B) 前述のメチオニンクロライド塩酸塩 (II) とやや過剰のジメチルアミノエタノールのベンゾール溶液とを冷却しながら反応させ暫時加熱還流させた後ベンゾールを留去し, 残る黄色の油をエタノールに溶解 (ここに生成するジメチルアミノエチルエステルを取り出さず, そのまま次の反応に用いた。Rf 0.21), 酸化銀で塩酸を除去しこれと計算量のヨウ化メチルを加えて 1 時間加熱還流。この反応液を PPC で検べると (III) の分別帯が明らかに認められ, その他に Rf 0.07~0.1 にニンヒドリン, ドラージェンドルフ両試薬に陽性の副生物が若干認められた。これは (A) でも極く微量認められるが, 本法の方が生成量の多いところから恐らくメチオニンクロライドが互に結合したメチオニルメチオニンのコリンエステルではないかと考えられる。目的物は反応溶液から (A) と同様にして精製することにより得。

(C) N-carbobenzyloxy 体 (IV) 5 g をエチレンクロライド 50 cc に懸垂させ、これに粉末五塩化燐 5 g を加え、冷却下にふりまぜ溶解させる。汙過して減圧下に溶媒を留去すると無色飴状物質が残る。石油エーテルで洗いオキシ塩化燐を除去し、2.5 g の粉末コリンクロライドと脱水ジオキサン 20 cc とを加えて水浴上に 3 時間加熱するとコリンクロライドは漸次溶消す。反応後減圧下に濃縮し上層に分離してくるベンジルクロライドをベンゾールで洗滌除去後、得られる黄褐色飴状物質をエタノールに加熱溶解。この溶液を PPC で検べると明らかに (III) の生成が認められたが Rf 0.1 前後にドラージェンドルフ試薬のみに陽性、及びニンヒドリン、ドラージェンドルフ両試薬に陽性の 2 種の副生物が少量認められた。前者はオキシ塩化燐とコリンとの結合体で、これを両者の反応成積体から確かめた。後者は (B) と同様にメチオニンジベプタイドのコリンエステルと考えられる。なお (III) の精製は (A) の場合と同様にして行つた。

(D) β -クロロエチルトリメチルアンモニウムクロライド 3 g を水 5 cc に溶解し酸化銀 2.5 g を加えて生成する β -クロロエチルトリメチルアンモニウムヒドロキシドの溶液にメチオニン 3 g を加えて減圧下に乾固し、メチオニンとの塩 (V) にした後沸騰水浴上 5 時間加熱すると黄色飴状物質を得。エタノールに加熱溶解して不溶のメチオニンを汙去し、アルコール溶液を PPC にかけると (III) の生成が認められるが、原料の β -クロロエチルトリメチルアンモニウムヒドロキシドが Rf 0.5 に認められる他、Rf 0.1 前後にドラージェンドルフ、ニンヒドリン両試薬に陽性の副生物を僅かに認められる。以後の精製法は (A) に準じて行う。

メチオニンの回収は約 2 g でこの方法による反応率は低く収量も悪い。

S-Benzylhomocysteine メチオニン 2 g、ベンジルクロライド 1.4 g および濃塩酸 20 cc を混じ、直火で 10 時間加熱還流させ減圧で濃縮後、コンゴローート中性に水酸化ナトリウムで中和し、析出する結晶を汙取、エタノールで洗滌後水から再結晶し光沢ある鱗片状結晶 mp 240° を得。反応直後に溶液を PPC で検べるとメチオニン [Rf 0.45] の他に Rf 0.65 にニンヒドリン試薬で紫色に呈色する S-benzylhomocysteine の像とニンヒドリンで黄色→紫色に呈色する像が Rf 0.07 と 0.25 とに認められ、これ等はその色調から前二者のベンジルエステルではないかと推定される。なお精製した結晶は Rf 0.65 に単一像を示す。

武田薬品工業株式会社研究所

Summary

Since glutamylcholine, whose synthesis had previously been reported^{5,6)}, was found to have interesting physiological actions, synthesis of the ester of methionine and choline was attempted and the objective methionylcholine was obtained by four different routes. The ester thereby obtained was highly hygroscopic and was obtained as a crystalline hyperchlorate. The by-products obtained during the course of this synthesis were examined by paper chromatography.

(Received July 6, 1954)