Summary

Kainic acid (I) comes as colorless needle crystals of m.p. 251°(decomp.), $[\alpha]_D^{25}$: -14.8° (c=1, H₂O); it is soluble in water and acetic acid, sparingly soluble in methanol, insoluble in ether, petroleum ether, and benzene, and soluble in acids and alkalis; pK' of the aqueous solution are 2.05, 4.30, and 10.08; it discolors bromine and potassium permanganate solutions; forms a salt sparingly soluble in water with heavy metals and barium. Its ninhydrin reaction is yellow, coloration with sodium naphthoquinone-4-sulfonate is orange red, and with ferric chloride, yellowish brown. Its infrared absorption curve shows the absorption peculiar to acidic amino acid. Molecular formula corresponds to C₁₀H₁₅O₄N, molecular weight 213, and does not contain N-methyl, carbonyl, acetyl, or methoxyl group. In order to examine the properties of the functional groups in (I), the following derivatives were prepared by the routes shown in Fig. 1. Dihydrokainic acid (II), m.p. 272°(decomp.), C₁₀H₁₇O₄N. Zinc kainate (III), m.p. over 300°, C₁₀H₁₃O₄NZn·H₂O. Dimethyl kainate (IV), b.p.₄ 145°, C₁₂H₁₉O₄N. Dimethyl N-methylkainate methiodide (VI), m.p. 188~194°(decomp.), C₁₄H₂₄O₄NI. Monomethyl kainate (V), m.p. 250~252° (decomp.), C₁₁H₁₉O₄N. Kainic acid betaine (VII), m.p. 205~210°(decomp.), C₁₃H₂₁O₄N. Picrate of (VII), m.p. 174°(decomp.). Dimethyl dihydrokainate (VIII), b.p.₃ 125°, C₁₂H₂₁O₄N. Hydrochloride of (VIII), m.p. 158°. Diethyl dihydrokainate (IX), b.p.₁₃ 105°, C₁₄H₂₅O₄N. From the properties of these derivatives, it was seen that (I) possessed one unsaturated group and two carboxyl groups.

(Received April 8, 1955)

205. 上農義雄, 那波速男, 上柳次三郎, 森本 浩, 中守律夫, 松岡敏郎: Kainic Acid の構造研究 その 2 (海人草有効成分ならびに関連化合物の研究 第2報*)

Yoshio Ueno, Hayao Nawa, Jisaburo Ueyanagi, Hiroshi Morimoto, Ritsuo Nakamori, and Toshiro Matsuoka: Studies on the Active Components of *Digenea Simplex* Ag. and Related Compounds. II. Studies on the Structure of Kainic Acid. (2).

(Research Laboratory, Takeda Pharmaceutical Industries, Ltd.)

第1報において kainic acid (I) の不飽和基およびカルボキシル基の性質を明らかにしたが引き続き kainic acid (I) の窒素の性質を明らかにするため諸種の誘導体を造つた。kainic acid (I) を水に懸濁し 60° で無水酢酸を作用させるか (I) の水酸化ナトリウム溶液に室温で無水酢酸を作用させると mp 161~162° の N-acetylkainic acid (XI) C₁₂H₁₇O₅N が得られる。これをジアゾメタンでメチル化すると bp₄ 191~193° の dimethyl N-acetylkainate (XII) C₁₄H₂₁O₅N が得られる。本品はまた dimethyl kainate (IV) を無水酢酸でアセチル化しても得られ、ニンヒドリン反応陰性で、Dragendorff 試薬には橙色を呈す。ここに得られる dimethyl

* 本研究は立岡末雄: 海人草有効成分ならびに関連化合物の研究。(Sueo Tatsuoka: Studies on the Active Components of *Digenea simplex* Ag. and Related Compounds) の一部である。

N-acetylkainate (XII) を水酸化バリウム溶液と煮沸して軽く加水分解すれば N-acetylkainic acid (XI) になり、これを 10% 水酸化カリウム溶液で加水分解すれば kainic acid (I) が得られる。また dimethyl N-acetylkainate (XII) に濃アンモニア水を働かせると mp 256~258°(decomp) の N-acetylkainic acid diamide (XIII) $C_{12}H_{19}O_5N_3$ が得られる。上記の N-acetylkainic acid (XI) を酸化白金またはパラジウム炭を触媒として接触還元すると 1 mol の水素を吸収して白色の粉末が得られる、本品は容易に結晶化しないが、希硫酸で加水分解すると mp 272°(decomp) の結晶となり dihydrokainic acid (II) に一致する。従つてさきに得られた白色粉末は N-acetyldihydrokainic acid (XIV) である。N-acetyldihydrokainic acid (XIV) は dihydrokainic acid (II) を水溶液中無水酢酸でアセチル化しても得られるが、このときも結晶化が困難だったので、ただちにジアゾメタンでメチル化し bp₃ 177° の dimethyl N-acetyldihydrokainate (XV) $C_{14}H_{23}O_5N$ に誘導した。本品を濃アンモニア水で処理すると mp 252~253°(decomp) の N-acetyldihydrokainic acid diamide (XVI) $C_{12}H_{21}O_5N_3$ となり、dimethyl dihydrokainate (VIII) に phenyl isocyanate を反応させると mp 154° を示す dimethyl dihydrokainate phenylisocyanate (XVII) $C_{19}H_{26}O_5N_2$ が得られ、クロル炭酸エチルを作用させると bp₁ 160° の dimethyl N-ethoxycarbonyldihydrokainate (XVIII) $C_{15}H_{25}O_6N$ が得られる。また dimethyl kainate (IV) に亜硝酸を作用させると Liebermann 反応陽性な bp₃ 178° の dimethyl N-nitrosokainate (XXI) $C_{12}H_{18}O_5N_2$ が得られる。以上のべた kainic acid (I) およびその誘導体のアシル化ならびにニトロゾ化の結果から kainic acid に含まれる窒素は第 2 級アミンであることが明らかになった。

なお kainic acid をベンゼン・無水酢酸または無水酢酸とともに煮沸すると mp 186° の N-acetylkainic anhydride (XIX) $C_{12}H_{15}O_4N$ が得られ、この (XIX) は上述の N-acetylkainic acid (XI) を無水酢酸と加熱しても得られる。同様に dihydrokainic acid (II) を無水酢酸で処理すると N-acetyldihydrokainic anhydride (XX) mp 182~183° が得られ両無水物 (XIX), (XX) は赤外部 5.52, 5.67 μ ($\begin{smallmatrix} O & O \\ || & || \\ -C-O-C- \end{smallmatrix}$) に酸無水物の吸収を示す。

以上 2 報にわたつて述べた結果から kainic acid は 1 箇の二重結合、2 箇のカルボキシル基、および第 2 級アミノ基を有し、2 箇のカルボキシル基は無水物を造り易い位置にあるものと思われる。したがつて kainic acid (I) は新しい不飽和酸性アミノ酸と思われる。

実 験 の 部

N-Acetylkainic acid (XI) i) (I) 1 g を水 50 cc に溶かし約 60° でかきまぜながら無水酢酸 3 cc を徐々に滴下。約 1 時間かきまぜたのち反応液を減圧下で濃縮すると結晶が析出し、この結晶を水から再結晶、無色のブリズム晶、mp 161~162° となる。収量 1 g。本品はニンヒドリン、Dragendorff 試薬で呈色しない。 $[\alpha]_D^{25}$: $-53.4 \pm 0.5^\circ$ (c=1.01, H₂O)。 $C_{12}H_{17}O_5N$ 計算値 C 56.46, H 6.71, N 5.49, 実験値 C 56.48, H 6.44, N 5.54. ii) (I) 1 g を 2N 水酸化ナトリウム 5 cc に溶かし、室温でかきまぜながら無水酢酸 1 cc を 5 回に分けて徐々に滴下、約 1 時間反応させる。水を加えて 100 cc とし、この液 (pH 4.2) を径 1.7 cm の硝子管に Amberlite IR 120 (H-form) 30 cc を充填した塔に 1 分間 0.7 cc の流出速度で通すと、液性は次第に酸性を増し pH は約 2 となる。目的物が流出し終ると液性は中性にもどる。この pH 2~2.8 の流出部分 200 cc をとり、減圧下で濃縮し、放冷すると無色ブリズム晶 mp 161~162° が得られる。収量 1 g。本品を i) で得られるものと混融したが融点降下を示さず。

加水分解 (XI) 1 g を 10% 水酸化カリウム液 20 cc と 10 時間煮沸した後 500 cc の水でうすめ、Amberlite IRC 50 (H-form) の塔を通し、引き続き酸性の流出液が無くなるまで水 300 cc で塔を洗滌。流出液を減圧下で 30 cc まで濃縮し、不溶物を濾しとつたのち濾液に水酸化バリウムの濃厚溶液を加えて加熱すると白色のバリウム塩が析出。冷後これを濾しとり、水に懸濁し、pH 3~3.2 になるまで希硫酸を滴下。ここに析出する硫酸バリウムを濾しきり、濾液を減圧下で濃縮すると結晶が析出。収量 0.3 g 水から 2 回再結晶すると無色針状晶 mp 251°(decomp) となり、kainic acid (I) mp 251°(decomp) と混融しても融点は降下しない。 $[\alpha]_D^{25}$: $-15 \pm 0.5^\circ$ (c=1, H₂O)。 $C_{10}H_{15}O_4N$ 計算値 C 56.32, H 7.09, N 6.57, 実験値 C 55.94, 55.75, H 6.85, 6.81, N 6.47.

Dimethyl N-acetylkainate (XII) i) (XI) のエステル化 (XI) 2 g をメタノール 20 cc に溶かし、これに過剰のジアゾメタンのエーテル溶液を加えて室温に 1 時間放置したのちエーテルを留去、残留物を減圧蒸留して bp₄ 191~193° の無色の油状物を得。ニンヒドリン反応陰性、Dragendorff 試薬で橙色を呈する。 $[\alpha]_D^{25}$: $-34.5 \pm 0.5^\circ$ (c=1, C₂H₅OH)。 $C_{14}H_{21}O_5N$ 計算値 C 59.35, H 7.47, N 4.94, 実験値 C 58.63, H 7.40, N 4.92. ii) (IV) のアセチル化、(IV) 1 g に無水酢酸 1 cc を注意して加えると発熱して反応する。約 1 時間加温後減圧下で無水酢酸を留去して得られる飴状物を減圧蒸留すると bp₆ 192° の無色油状物 0.9 g を得。

$C_{14}H_{21}O_5N$ 実験値 C 59.13, H 7.50, N 4.78.

加水分解 (XII) 0.7 g に 10% 水酸化バリウム液 10 cc を加え 2 時間煮沸したのち, 水 10 cc を加えて不溶物を濾去, 濾液に希硫酸を加えて中和し pH 2.2 とする. 析出する硫酸バリウムを濾し去った濾液を減圧下で濃縮すると結晶が析出し, これを水から再結晶. 無色のプリズム晶 mp 162° を得. 本品は N-acetylkainic acid (XI) mp 161~162° との混融で融点降下を示さず. $[\alpha]_D^{20}$: $-53 \pm 0.5^\circ$ ($c=1$, H_2O); $[\alpha]_D^{25}$: $-43.1 \pm 0.5^\circ$ ($c=1$, O_2 , C_2H_5OH). $C_{12}H_{17}O_5N$ 計算値 C 56.46, H 6.71, N 5.49, 実験値 C 56.76, H 6.71, N 5.45,

N-Acetylkainic acid diamide (XIII) (XII) 0.5 g に濃アンモニア水 5 cc を加え, 密栓して 5 日間室温に放置したのち反応物を減圧下に濃縮し, シロップ状にすると結晶が析出. 熱湯から再結晶, 無色のプリズム晶, mp 256~258° (decomp) を得. 収量 0.3 g. 本品はメタノール, エタノールに難溶. $[\alpha]_D^{25}$: $-50.5 \pm 0.5^\circ$ ($c=1, H_2O$). $C_{12}H_{19}O_5N_3$ 計算値 C 56.90, H 7.56, N 16.59, 実験値 C 57.11, 57.19, H 6.90, 6.98, N 16.41.

N-Acetyldihydrokainic acid (XIV) i) (XI) 2 g を水 20 cc に溶かし, 酸化白金の存在下で接触還元すると水素 200 cc (理論量 175 cc) を吸収. 触媒を濾去, 濾液を減圧下で蒸発乾固すると目的物が白色粉末として得. 収量 2 g. ii) (XI) 1 g を 20 cc の水に溶かし, パラジウム炭の存在下で i) と同様に接触還元して白色粉末 1 g を得. iii) (II) 2 g を水 50 cc に溶かし 50~55° で無水酢酸をかきまぜながら数時間を要して滴下し, 反応液がニンヒドリン試薬で黄色を呈しなくなるまで反応させる. 反応液を減圧下で蒸発乾固, 白色粉末 2 g を得.

加水分解: 上記白色粉末 (XIV) 2 g を 5% 硫酸 40 cc に溶かし, 約 5 時間煮沸後水酸化バリウムを過剰にならぬように加え, 硫酸を硫酸バリウムとして沈澱させる. 沈澱を濾去し得られる濾液を減圧下で濃縮して結晶を得. 収量 1.3 g. 熱湯から再結晶すると mp 272° (decomp) の無色プリズム晶となり, dihydrokainic acid (II) mp 272° (decomp) と混融しても融点は降下せず. $[\alpha]_D^{25}$: $-36 \pm 0.5^\circ$ ($c=1, H_2O$). $C_{10}H_{17}O_4N$ 計算値 C 55.80, H 7.94, N 6.51, 実験値 C 55.57, H 7.66, N 6.37.

Dimethyl N-acetyldihydrokainate (XV) (XIV) 2 g をメタノール 20 cc に溶かし, これにジアゾメタンのエーテル溶液を過剰に加える. しばらく放置したのち減圧下で溶剤を留去して得られる残留物をベンゼン 30 cc に溶かし, 無水硫酸ナトリウムで乾燥. ベンゼンを留去して得られる残留物を減圧蒸留して無色の油 bp₃ 177° を得. $[\alpha]_D^{25}$: $-39 \pm 0.5^\circ$ ($c=1, C_2H_5OH$). $C_{14}H_{23}O_5N$ 計算値 C 58.93, H 8.13, N 4.91, 実験値 C 58.61, H 7.98, N 4.90.

N-Acetyldihydrokainic acid diamide (XVI) (XV) 1 g を濃厚アンモニア水 10 cc に溶かし, 密栓して 1 週間室温に放置したのち反応液を減圧下で濃縮すると飴状物が残留. これを水 2 cc に溶かし放冷すると結晶が析出. 収量 0.3 g. これを熱湯から再結晶, 無色のプリズム晶 mp 252~253° (decomp) を得. $[\alpha]_D^{25}$: $-43.5 \pm 0.5^\circ$ ($c=1, H_2O$). $C_{12}H_{21}O_5N_3$ 計算値 C 56.45, H 8.29, N 16.46, 実験値 C 56.87, 56.89, H 7.98, 8.08, N 15.73, 15.72.

Dimethyl dihydrokainate phenylisocyanate (XVII) i) (VIII) に phenylisocyanate を滴下すると発熱して反応し飴状物を得. しばらく水浴上で加温したのち石油エーテルを加えて過剰の phenyl isocyanate を除き粗結晶を得. これをブタノールから再結晶, 無色板状晶 mp 154° (decomp) を得. $[\alpha]_D^{15}$: $-45.2 \pm 0.5^\circ$ ($c=1.01, C_2H_5OH$). $C_{19}H_{26}O_5N_2$ 計算値 C 62.96, H 7.23, N 7.73, OCH₃ 17.13, 実験値 C 63.00, H 6.92, N 7.51, OCH₃ 17.14.

Dimethyl N-ethoxycarbonyldihydrokainate (XVIII) (VII) 1.3 g を水 10 cc に懸濁させ, 氷冷下でかきまぜながらクロロ炭酸エチル 1.5 cc を滴下し, さらに炭酸水素ナトリウムを加えてアルカリ性とし約 1 時間反応させる. 反応液をエーテルで抽出し, エーテル溶液を無水硫酸ナトリウムで乾わかし, エーテルを留去して得られる残留物を減圧蒸留, 無色の油状物 bp₁ 160° を得. 収量 1.5 g. 本品はニンヒドリン反応陰性. $C_{15}H_{25}O_6N$ 計算値 C 57.13, H 7.99, N 4.44, 実験値 C 57.26, H 7.85, N 4.21.

Dimethyl N-nitrosokainate (XXI) (IV) 1 g を水 2 cc に溶かし, これに亜硝酸ナトリウム 2 g を水 2 cc に溶かして加えると直ちに淡黄色の油が分離. これをエーテル 50 cc ずつで 3 回抽出し, エーテル液をあわせて少量の水酸化カリウム液で洗滌し, 水洗後無水硫酸ナトリウムで乾燥. 溶媒を留去して得られる残留物を減圧蒸留すると淡黄色の油 bp₃ 178° を得. 本品は Liebermann のニトロソアミン反応陽性である. $C_{12}H_{15}O_5N_2$ 計算値 N 10.37, 実験値 N 10.07.

N-Acetylkainic anhydride (XIX) i) (I) 5 g を無水酢酸 10 cc と乾燥ベンゼン 40 cc の混液に懸濁し, 沸騰水浴上で加熱すると約 40 分で結晶は溶け去るが, さらに 2 時間加熱し, 減圧下で溶媒を留去すると結晶が析出する. これを濾しとり, 無水酢酸あるいは氷酢酸から再結晶, 無色のプリズム晶, mp 186° を得. 収量 5 g. $[\alpha]_D^{15}$: $+38.4 \pm 1.2^\circ$ ($c=0.411, C_5H_5N$). $C_{12}H_{15}O_4N$ 計算値 C 60.75, H 6.37, N 5.90, 実験値 C 60.44, H 6.06, N 6.01. ii) (XI) 2 g に無水酢酸 4 cc, 乾燥ベンゼン 8 cc を加え, 水浴上で加熱還流させ, しばらくするとアセチル体は溶け去る. 続いて 2 時間反応させた後溶媒を減圧下で留去, 結晶析出. これを無水酢酸から再結晶, 無色プリズム晶 mp 186°. 本品は i) の方法で得たものと混融するとき融点降下を示さず. $[\alpha]_D^{25}$: $+38.6 \pm 0.5^\circ$ ($c=1.01, C_5H_5N$). $C_{12}H_{15}O_4N$ 実験値 C 60.86, H 6.52, N 5.79.

N-Acetyldihydrokainic anhydride (XX) (II) 5.6 g を無水酢酸 11.2 cc, 乾燥ベンゼン 45 cc の混液

に懸濁し、水浴上で加温すると約 2 時間で結晶は溶け去る。更に 1 時間加熱後溶媒を減圧下で留去、結晶析出。これをろし、乾燥ベンゼンで洗滌後、無水酢酸から再結晶、無色板状晶、mp 182~183° を得。収量 2.5 g $[\alpha]_D^{25}$: +38.7±0.5° (c=1.03, C₅H₅N). C₁₂H₁₇O₄N 計算値 C 60.24, H 7.16, N 5.85, 実験値 C 59.97, 59.88, H 7.05, 6.75, N 5.76, 5.53.

武田薬品工業株式会社研究所

Summary

Following the previous series of experiments, various derivatives of kainic acid (I) were prepared. N-Acetylkainic acid (XI), m.p. 161~162°, C₁₂H₁₇O₅N. Dimethyl N-acetylkainate (XII), b.p.₄ 191~193°, C₁₄H₂₁O₅N. N-Acetylkainic diamide (XIII), m.p. 256~258°(decomp.), C₁₂H₁₉O₃N₃. N-Acetyldihydrokainic acid (XIV), m.p. C₁₂H₁₉O₅N. Dimethyl N-acetyldihydrokainate (XV), b.p.₃ 177°, C₁₄H₂₃O₅N. N-Acetyldihydrokainic diamide (XVI), m.p. 252~253°(decomp.), C₁₂H₂₁O₃N₃. Dimethyl dihydrokainate phenylisocyanate (XVII), m.p. 154°, C₁₉H₂₆O₅N₂. Dimethyl N-ethoxycarbonyldihydrokainate (XVIII), b.p.₁ 160°, C₁₅H₂₅O₅N. Dimethyl N-nitrosokainate (XXI), b.p.₃ 178°, C₁₂H₁₈O₅N₂. N-Acetylkainic anhydride (XIX), m.p. 186°, C₁₂H₁₅O₄N. N-Acetyldihydrokainic anhydride (XX), m.p. 182~183°, C₁₂H₁₇O₄N. From the properties of these derivatives, the nitrogen in (I) was found to be a secondary amine.

(Received April, 8, 1955)

206. 上農義雄, 那波速男, 上柳次三郎, 森本 浩, 中守律夫, 松岡敏郎: Kainic Acid の構造研究 その 3 (海人草有効成分ならびに関連化合物の研究 第 3 報*)

Yoshio Ueno, Hayao Nawa, Jisaburo Ueyanagi, Hiroshi Morimoto, Ritsuo Nakamori, and Toshiro Matsuoka: Studies on the Active Components of *Digenea simplex* Ag. and Related Compounds. III. Studies on the Structure of Kainic Acid. (3).

(Research Laboratory, Takeda Pharmaceutical Industries, Ltd.)

著者等は前報で kainic acid は -NH, -COOH, -COOH, F₁ を有する新しい不飽和酸性アミノ酸であると報告したが、引き続き重鉛末、ソーダ石灰による脱水素反応などを行い新知見を得た。

kainic acid (I) を 10 倍量のソーダ石灰と混和し、窒素気流中で乾留すると bp₂₄ 78~80° のピロール臭を有する液体が得られる。本品の分析値、分子量測定値は C₇H₁₁N (II) によく一致し、紫外部には Fig. 1 に示すようにピロール特有の吸収を示し、また赤外部には Fig. 2-i) に示すように 7.26, 7.38 μ に特異の吸収を有し isopropyl 基の存在が推定される。本品は松材反応, Ehrlich 反応ともに陽性で、氷酢酸中 isatin と反応して金属光沢を有する褐色結晶性の pyrrole-blue (III) C₁₅H₁₄ON₂ を生成する。以上の結果から (II) は少なくとも α 位の 1 つが遊離している¹⁾ alkylpyrrole であると推定された。そこで pyrrole 核の β 位の置換基の有無および置換基の種類を検討する目的で (II) をクロム酸酸化したところ、mp 83° の C₇H₉O₂N (IV) が得られた。本品の紫外部には Fig. 3 に示すような maleinimide 特有の吸収が現われるが、C₇H₉O₂N に一致する maleini-

* 本研究は立岡末雄: 海人草有効成分ならびに関連化合物の研究 (Sueo Tatsuoaka: Studies on the Active Components of *Digenea simplex* Ag. and Related Compounds) の一部である。

1) P. Pratesi: Ann. 504, 258 (1933).