Summary

If the structure of kainic acid, the anthelmintic principle of *Digenea simplex* Ag., is as shown below, various reactions listed in Table I would be explained well.

(Received April 8, 1955)

219. 村上信三, 竹本常松, 鄭 然昌, 醍醐皓二: 海人草有効成分の研究 (第9報)

カイニン酸の構造について その2

Shinzo Murakami, Tsunematsu Takemoto, Zensho Tei, and Koji Daigo:

Studies on the Effective Principles of *Digenea simplex* Ag. IX.

Structure of Kainic Acid. (2).

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Osaka)

著者等は先にカイニン酸の構造を

と推定したが、これで考えられる可能な平面的構造式を列举すれば Table I に示すようになる。

Table I. Assumed Structures of Kainic Acid

著者等は実験の部に記載するような各種誘導体を検討した結果、カイニン酸について次のような事実を明らかにした。即ち (i) 無水酢酸で処理すれば容易に酸無水物が得られ、このものは赤外線吸収スペクトルでは 5.51 μ と 5.65 μ に吸収が認められるので六員環無水物であると考えられる*。 (ii) カイニン酸を塩酸で処理すればその異性体と思われる仮称 N 酸 (VII) と C₁₀H₁₅O₄N の組成を有するラクトン体 (VIII) が得られる。このラクトン体は

* N-phenylacetylglutamic anhydride は 5.50 μ と 5.60 μ に吸収が認められる [J. A. King et al.: J. Am. Chem. Soc. **74**, 5202 (1952)].

赤外線吸収スペクトルでは 5.80μ に吸収が認められるので δ -ラクトン体であると考えられる。(iii) カイニン酸は Hofmann 分解を受けつけない。以上の事実を考慮して前掲の 8 種の式を検討すれば、(a) では酸無水物は 7 員環となり (i) の事実と矛盾する。また δ -ラクトン体生成の説明も困難である。なお 3 位にイソプロペニル基がついて Hofmann 分解が多少は困難となることが考えられても、全然出来ない点も首肯し難い**。(b), (d),

Table II. Reactions of Kainic Acid

**

tropic acid は円滑に Hofmann 分解を受ける [R. Willstätter: Ber. 28, 3271 (1895)].

(e), (g) では δ -ラクトン体の生成は説明出来るが, 酸無水物は 5, 7 または 8 員環としてのみ可能であり, また Hofmann 分解の困難なことも理解し難い. (c) では δ -ラクトン体の生成及び Hofmann 分解の点は首肯出来るが, 酸無水物は 7 または 8 員環とならざるを得ない. (f) は酸無水物の 6 員環となることは可能であつても δ -ラクトンの形成及び Hofmann 分解に対する抵抗については説明出来ない. 以上 (a) から (g) に至る 7 式ではカイニン酸の示す諸反応を説明するには不適切である. 最後の (h) では Table II に示すように酸無水物は 6 員環となること, δ -ラクトン体の生成すること及び Hofmann 分解の困難なことも首肯出来る. なお (h) ではグルタミン酸とイソペンテンを考慮に入れた biogenesis の観点からも興味深いものがある.

Fig. 1. Infrared Spectra of N-Acetylkainic Acid Anhydride (II), Kainic Acid Lactone (VIII), and Bromokainic Acid Lactone (IX) (in Nujol)

本研究に当り赤外線吸収スペクトル測定の労をとられた大阪市立大学理工学部赤外分析室及び武田薬工研究所, 元素分析を実施された本学薬学科福田 稔講師並びに武田薬工研究所分析室の方々に感謝する. なおカイニン酸研究の面で著者等と連繋を保つていた武田薬工研究所では, 重要な化学的根拠からカイニン酸の構造を (h) と決定した旨, 本稿起草前に著者等に通報せられた. 併せてここに感謝の意を表する.

実 験 の 部

N-アセチルカイニン酸無水物 (II) 及び対応する遊離酸 (III) よく乾燥したカイニン酸 10 g に無水酢酸 30 cc を加え, 水浴上で 1 時間加熱する. 次に無水酢酸を減圧蒸留し, 残留物を 1 夜放置すれば mp 186° の無色板状または柱状結晶 (II) 6.5 g を得. 本品はニンヒドリン反応陰性, 赤外線吸収スペクトルでは 5.51 μ 及び 5.65 μ に吸収が認められる. $C_{12}H_{15}O_4N$ 計算値 C 60.75, H 6.37, N 5.90, 実験値 C 61.30, H 6.18, N 5.81. 本品は水からの再結晶により mp 202° の無色短柱状結晶 (III) となる. $C_{12}H_{17}O_5N$ 計算値 C 56.46, H 6.71, N 5.49, CH_3CO -(1 個) 16.85, 実験値 C 56.54, H 6.61, N 5.31, CH_3CO -(Kuhn-Roth 法) 16.11. この結晶は無水酢酸から再結晶すれば再び mp 186° の無色短柱状結晶 (II) に戻る.

N-アセチルジヒドロカイニン酸 (VI) N-アセチルカイニン酸 1.75 g を 100 cc の水にとかし, 10%パラジウム炭 1 g を加え水素気流中で接触還元すれば 40 分間で 160 cc (計算量 153.6 cc) の水素を吸収して反応は終了する. 触媒を汙別し, 汙液を水浴上で濃縮放置すれば結晶が析出. 水より再結晶, mp 137° の N-アセチルジヒドロカイニン酸の無色短柱状結晶 (VI) 0.8 g を得. $C_{12}H_{19}O_5N$ 計算値 C 56.02, H 7.44, N 5.44, CH_3CO -

(1 個) 16.72, 実験値 C 55.68, H 7.51, N 5.16, $\text{CH}_3\text{CO}-$ (Kuhn-Roth 法) 16.15.

N-アセチルジヒドロカイニン酸無水物 (V) 及び対応する遊離酸 (VI) よく乾燥したジヒドロカイニン酸 2 g に無水酢酸 10 cc を加え、水浴上で 40 分間加熱。これを減圧濃縮し、1 夜放置すれば無色板状結晶が析出。得量 1.5 g。無水酢酸より再結晶, mp 184° の無色板状結晶 (V)。 $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{N}$ 計算値 C 60.24, H 7.16, N 5.85, 実験値 C 60.08, H 6.81, N 5.71。水から再結晶, mp 137° の無色短柱状結晶 (VI)。本品は N-アセチルカイニン酸を水素化して得られる N-アセチルジヒドロカイニン酸と混融して融点降下せず。また真空中に 110°, 2 時間乾燥すれば mp 184° の N-アセチルジヒドロカイニン酸無水物 (V) に戻る。

カイニン酸の塩酸処理 カイニン酸 5.3 g に濃塩酸 32 cc を加え、水浴上で 3 時間加熱。反応物は直ちに減圧で蒸発乾固し、塩酸を出来るだけ除いた後 50 cc の水にとかし、酸化銀を加えて振りクロロイオンを完全に除去。汙液に硫化水素を通じて脱銀し、得られる水溶液を蒸発濃縮し、酢酸銅飽和水溶液を加え水浴上で加温すると深藍色の沈澱を生ずる。過剰の酢酸銅溶液を加えても、もはや沈澱が生じなくなれば沈澱を汙液しよく水洗し、洗液は汙液と合する。

a) N 酸 (VII)* 酢酸銅溶液による沈澱を水 150 cc に浮遊させ、硫化水素で脱銅する。汙液を水浴上で蒸発濃縮すれば短柱状結晶約 2 g を得る。水より再結晶, mp 253~255° の無色短柱状結晶。得量 1.5 g。 $[\alpha]_D^{25} : +2.5^\circ$ ($c=3.0$, 水)。過マンガン酸カリ溶液及びブロム水を冷時直ちに脱色する。本品は重曹水に発泡して溶解し、ニンヒドリンにより黄色を呈し、濃厚水溶液の場合は赤褐色の沈澱を生ずる。本品は結晶水を含有しない。 $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_4\text{N}$ 計算値 C 56.32, H 7.09, N 6.57, 実験値 C 56.75, H 6.95, N 6.93。

b) ラクトン体 (VIII)** 銅塩を分離した汙液部を硫化水素で脱銅し、汙液を蒸発乾固し、少量の水より再結晶, mp 272~274° (decomp) の絹糸状結晶。得量 2 g。 $[\alpha]_D^{25} : -7.8^\circ$ ($c=11.0$, 水)。本品は重曹水で発泡が認められず、また水溶液は酢酸銅により深藍紫色を呈するが沈澱しない。酢酸鉛によつても沈澱を生じない。過マンガン酸カリ溶液及びブロム水を直ちに脱色せず、塩化鉄溶液に対しては冷時呈色せず、加温すれば黄褐色を呈する。亜鉛末と乾留すれば松村反応、Ehrlich 反応共に陽性の物質を生ずる。本品は結晶水を含有せず。 $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_4\text{N}$ 計算値 C 56.32, H 7.09, N 6.57, 実験値 C 56.04, H 7.10, N 6.26。

ブロムラクトン体 (IX) カイニン酸 6 g を水 375 cc に溶かし、外部から冷却しながら 2.5% のブロム水 200 cc を滴加する。次に酸化銀を加えて攪拌し生成したブロム水素を除き、汙液を硫化水素で脱銀し減圧濃縮すると粗結晶 2 g を得。水から再結晶, mp 244° の無色針状結晶。得量 0.7 g。本品はニンヒドリン反応黄色、結晶水を含有せず。ラクトン滴定するに計算量の 105.6% のアルカリを消費する。 $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{NBr}$ 計算値 C 41.11, H 4.83, N 4.79, Br 27.35, 実験値 C 41.13, H 5.03, N 4.68, Br 27.11。

ブロムラクトン体 (IX) の脱ブロム、カイニン酸 (I) の再生 ブロムカイニン酸ラクトン 0.5 g を 70 cc の水に溶かし、氷酢酸 30 cc 及び亜鉛末 6 g を加え水浴上で 1 時間加熱する。冷後汙過し、汙液を蒸発乾固し酢酸臭が無くなるまで水を加えて蒸発乾固を繰返し、残渣を水に浮遊させ硫化水素で脱亜鉛し、汙液を濃縮すれば mp 252° の無色針状結晶約 0.05 g を得。本品はカイニン酸と混融して融点降下せず、また PPC によりカイニン酸と同一の Rf 値を示す。 $[\alpha]_D^{25} : -10.10^\circ$ ($c=3.33$, 水)。 $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_4\text{N}$ 計算値 C 56.32, H 7.09, N 6.57, 実験値 C 56.19, H 7.06, N 6.33。

ジヒドロカイニン酸ジメチルエステル (X) よく乾燥したジヒドロカイニン酸 5 g を無水メタノール 100 cc 中に浮遊させ、外部より氷冷しながら乾燥塩酸ガスを 1 時間激しく導入。反応液をそのまま 1 昼夜放置した後メタノールを留去し、炭酸ソーダで中和し、酢酸エステルで抽出し、溶媒を留去した残留物を減圧蒸留する。bp₆ 145°。 $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}$ 計算値 C 59.24, H 8.70, N 5.76, 実験値 C 59.18, H 8.56, N 5.57。

N-ベンゾイルジヒドロカイニン酸ジメチルエステル (XI) ジヒドロカイニン酸ジメチルエステル 6.6 g に炭酸カリ 4.6 g、ベンゾイルクロライド 4.4 g、水 25 cc を加え振りまぜながら微温を加える。油滴は漸次消失し、器壁に白色油状物が析出し、放置すれば固化する。粗結晶の得量 8 g。エーテルより再結晶, mp 93° の無色針状結晶。得量 5.5 g。 $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{O}_5\text{N}$ 計算値 C 65.69, H 7.25, N 4.03, 実験値 C 65.79, H 7.21, N 3.95。

ジヒドロカイニン酸ジメチルエステルメチルメチオダイド (XII) ジヒドロカイニン酸ジメチルエステル 6 g、ヨードメチル 9 g 及び炭酸カリ 2 g に少量の水を加え振りながら微温を加える。反応物を 1 夜放置すれば結晶状に固化し、約 6 g の粗結晶が得られる。メタノールから再結晶, mp 164.5° の無色柱状結晶 (XII)。 $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{NI}$ 計算値 C 42.17, H 6.56, N 3.50, 実験値 C 41.89, H 6.81, N 3.88。

Hofmann 分解の試み ジヒドロカイニン酸ジメチルエステルメチルメチオダイド 3 g を少量の水に溶かし酸化銀を加えてよく振り汙過し、汙液を減圧下蒸発乾固し、残留物を油浴中で蒸留すれば bp₄ 135~145° の油状物質 (XIV) 約 1.1 g を得。 $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{O}_4\text{N}$ 計算値 C 60.68, H 9.01, N 5.44, 実験値 C 60.18, H 8.85, N 5.22。本品は二重結合を有せず、ヨードメチルを加えて常温に放置すれば暫時にして固化。少量の水から再結晶, mp 163~164° の無色柱状結晶。本品はジヒドロカイニン酸ジメチルエステルメチルメチオダイド mp 164.5° と混融して融点降下せず。即ち Hofmann 分解の進行は認められない。

大阪大学医学部薬学科

* カイニン酸との関係が不明なので、仮に N 酸と呼ぶことにする。

** さきに DAL (digenic acid lactone の略) と仮称していたもの [本誌 74, 268 (1954)]。

Summary

Examination of various properties of kainic acid and its derivatives, and their infrared absorption spectra produced conclusive evidence that 2-carboxy-3-carboxymethyl-4-isopropenylpyrrolidine, the structure determined by the Takeda Research Laboratory and privately shown to the present writers, would be the most appropriate structure for kainic acid and that it enabled explanation of various reactions listed in Table II.

(Received April 8, 1955)

220. 高原篤夫, 谷口 繁: ペーパー・クロマトグラフィーによる薬品試験 (第9報¹⁾)
光電光度計による滷紙上展開物質の直接定量法*

Atsuo Takahara and Shigeru Taniguchi: Test of Drugs by Paper Partition Chromatography. IX. A Direct Quantitative Determination of Substances on Paper Chromatogram by Electrophotometer.

(Osaka Municipal Higashi Citizens' Hospital**)

ペーパー・クロマトグラフィーによつて滷紙上に分離した各成分を定量する方法としては、物質像の長さ、面積等²⁾を測定して算出する方法以外に、展開部位から適当な方法で各成分を抽出して滴定³⁾、比色⁴⁾又は bioassay⁵⁾等による化学的、物理的或は生物学的定量法があるが、何れにしても対象が γ 単位の少量物質であり原理は正確に見えても技術的な面で相当な実験誤差を免かれ得ない。

次に滷紙上に展開した物質を直接定量する方法としては保留分析における欠損部の測定⁶⁾、アイソトープを含んだ有機化合物の分別帯の放射能の測定⁷⁾等の特定な場合を除いて、呈色部の濃度を光学的に測定する方法が試みられている。例えば祖父江、簗野⁸⁾は水銀燈の青紫色フィルター通過光を糖の呈色部にあて、その透過光度と糖量の関係を求めたところ滷紙の不均一性のため結果が不規則に出てこれを定量法に採用することは出来ないが、反射率と試料の量との間には一定の関係を有することを認めている。梅村¹⁰⁾はアミノ酸のニンヒドリン呈色部に極く細い光線をあて、その最大吸収部を測定して一応の量的関係を求め、Grassmann, Hanning¹¹⁾は血清の滷紙電気泳動図に白色光をあて、アルブミンとグロブミンの量的相関性を求めており、他にアミノ酸のデンストメトリーに関しては数種の報告がある。また橋本、森¹²⁾は自製の紫外線パピログラフ装置を用いて滷紙上物質を検索するために描いた紫外線パピログラフィーの山の面積或はその高さが定量関係にあることを予想しており、デンストメーターによる透過光、反射光或は螢光等の測定が試みられつつある。一方著者等は滷紙の条件を詳細に検討し、滷紙上に展開した物質を直接比色定量し得る光電光度計を設計自製し満足な結果を得た。

即ち測定に差支えない範囲の単色光が細長いスリットを通して適当に呈色せしめた展開滷紙の幅一ぱいに当る様に設計した。滷紙は透過率を向上させるため予め流動パラフィン処理を施し、このものをガラス板に挟んでス

* 第74回日本薬学会年会(1954)で発表。

** Sugiyama-cho, Higashi-ku, Osaka.

1) 第7報: 薬剤部長会年報 **13**, 121 (1954); 第8報: 薬剤部長会年報投稿。

2) Fisher, Parson, Morison: Nature **161**, 764 (1948).

3) Fisher, Parson, Holmes: Nature **164**, 183 (1949).

4) Hawthorne: Nature **160**, 715 (1947). 5) Cavallini, Frontali, Toschi: Nature **163**, 568 (1949).

6) Goodall, Levi: Nature **158**, 675 (1946). 7) Tomarelli, Florey: Science **107**, 630 (1948).

8) Wieland, Wirth: Angew. chem. **63**, 473 (1950). 9) 祖父江, 簗野: 工化 **54**, 460 (1951).

10) 梅村: 医学と生物学 **19**, 250 (1951). 11) Grassman, Hannig: Z. physiol. chem. **290**, 1 (1952).

12) 橋本, 森: Nature **170**, 1024 (1952).