薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
87 (1) 95 ~ 98 (1967)

UDC 547.466.8.07

藤井利幸, 藤田公司: D- および L-Serine の合成

Toshiyuki Fujii and Tadashi Fujita: Synthesis of D- and L-Serine.

(Chemical Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.*1)

The optical resolution of DL-O-methylserinamide (V), the intermediate in the serine synthesis from acrylonitrile, was described. Resolution of DL-O-methylserinamide (V) was carried out with L-tartaric acid in methanol solution. The precipitated L-hydrogentartrate of L- V, m.p. 172~173°(decomp.), $[\alpha]_D^{20} + 12.57^\circ$ (c=1, NHCl), was isolated from the methanol solution, and L-hydrogentartrate of D- V, m.p. 150~151°(decomp.), $[\alpha]_D^{20} + 0.29^\circ$ (c=1, NHCl), was crystallized from the mother liquor.

Hydrolysis of these optically active V with 47% HBr solution afforded the corresponding L- and D-serine (VI). The synthesized L-serine (VI) was found to correspond to natural serine.

(Received February 17, 1966)

光学活性 serine を得る方法としては, i) DL-serine の誘導体である, DL-serine benzylester に dibenzoyl-D-tartaric acid,¹⁾ N-3,5-dinitrobenzoyl-DL-serine に L- または D-threo-1-*p*-nitrophenyl-2-amino-1,3-propanediol,²⁾ また O-benzyl-N-formyl-DL-serine に brucine, あるいは quinine³⁾ を作用させてそれぞれの diastereomer を分離したのち, これらを加水分解して serine とする光学的分割法と, ii) D-glucosamine を benzoyl 化, 過ヨード酸酸化, ついで酸化銀処理により serine とする⁴⁾ 光学活性先駆物質の化学的処理による方法, iii) N-acetyl,⁵⁾ N-chloroacetyl,⁶⁾ N-acetyl-O-benzyl,⁷⁾ N-acetyl-O-methyl-DL-serine⁸⁾ などの酵素による分割法が報告されている。

Chart 1.

*1 Kashima-cho, Higashi-yodogawa-ku, Osaka.

1) G. Losse, M. Augustin: Ber., **91**, 157~159 (1958).

2) L. Vellus, et al.: Bull. soc. chim. France, 1015~1017 (1954).

3) F. Wuensch, G. Fuerst: Z. Physiol. Chim., **329**, 109~112 (1962).

4) H. Kuzuhara, M. Matsui: 農化, **34**, 404~405 (1960).

5) S. Akabori, et al.: Arch. Biochem. Biophys., **83**, 1726 (1956).

6) E. Fischer, H. Roesner: Ann., **375**, 199 (1910).

7) K. Okawa: Bull. Chem. Soc. J., **29**, 486, 488 (1956); Ibid., **30**, 110 (1957).

8) M. Jacger, S. Iskrie, M. Wickerhauser: Croat. Chem. Acta, **28**, 5 (1956).

上記の光学分割および酵素分割のいずれもがいったん, DL-serine をそれぞれ適当な誘導体に導いて, 分割を行っており, 工業的に有利な方法とはいえない. そこで, 著者等は, DL-serine を出発原料とするのではなく, その合成中間体で光学分割をすべく, acrylonitrile を出発原料とする DL-serine 合成の 1 方法として Chart 1 に示す方法で, まず合成中間体 O-methylserinamide (V) を得, V を L-tartaric acid を分割試剤として光学分割を試み, その分割に成功した. ここで得られた D- および L-O-methyl serinamide (V) を加水分解して D- および L-serine (VI) を合成したので報告する.

その合成法は, Chart 1 に示すように, Askarov 等⁹⁾の方法にしたがって, acrylonitrile (I) を臭素化して, 2,3-dibromopropionitrile (II) としたのち, 80% 硫酸で加水分解すると, 2,3-dibromopropionamide (III) が得られる. この II の硫酸による加水分解については, Askarov 等⁹⁾は II 中に攪拌下, 70~80° で 80% 硫酸を滴下して, 2,3-dibromopropionic acid (III'); m.p. 127° を得たと報告しているが, 既知文献によれば, III' は m.p. 59~

Chart 2. Resolution of (V) by means of L-Tartaric Acid

9) M. A. Askarov, *et al.*: *Uzbeksk. Khim. Zh.*, **7**, (5), 50~55 (1963).

60°,¹⁰⁾ III は m.p. 130~133°¹¹⁾ と報告されており、われわれの追試の結果得た m.p. 127° の結晶 (これは benzene で再結晶すれば m.p. 131~133° の無色針状晶となる) は、融点, IR 吸収スペクトルから、明らかに III の構造が支持される. この III を, White 等¹²⁾の方法にしたがって, 無水メタノール中, ナトリウムメチラートを作用せしめ, 3-methoxy-2-bromopropionamide (IV) としたのち, 濃アンモニア水と反応させて反応液を減圧濃縮後, Amberlite IR-120 樹脂 (H 型) で処理すると, 粗製の DL-O-methylserinamide (V) となる. V は通常, アメ状物であるが, これは, エタノール性塩酸と処理すると (V)-HCl として単離することができる. この (V)-HCl をメタノール中, 新しく製した酸化銀と処理して, DL-(V) のメタノール溶液を調製し, これに対応量の L-tartaric acid のメタノール溶液を加えて分割を行なうわけである.

その分割法は, Chart 2 に示すように, まず, DL-(V)-HCl のメタノール溶液を酸化銀と処理して, DL-(V) のメタノール溶液としたのち, これに対応量の L-tartaric acid を溶解したメタノール溶液を加えて1度加温して, 脱炭処理して得た澄明液に, L-(V)-L-hydrogen-tartrate の結晶種を加えて氷室に1夜放置すると, 粗製の L-O-methylserinamide-(V)-L-hydrogen-tartrate が析出してくる. 本結晶は, 90% メタノールで2度, 再結晶を行なうと, m.p. 172~173°(decomp.), $[\alpha]_D^{20} + 12.57^\circ$ ($c=1$, $N\text{-HCl}$) の無色プリズム晶となる. この L-(V)-L-hydrogen-tartrate を水溶液として, Amberlite IR-120 樹脂 (H 型) で処理して L-(V) を樹脂に吸着させたのち, 希アンモニア水にて溶出する. 溶出液は減圧濃縮すると L-(V) をアメ状物として得るが, これはアルコール性塩酸によって塩酸塩として単離したのち, またはアメ状物のまま, 47% HBr 水と4時間煮沸したのち, 再び Amberlite IR-120 樹脂 (H 型) を用いて常法により処理すると, 目的の L-serine (VI) を得ることができる. 本品は, 標品と混融して, 融点降下なく, IR-吸収スペクトルも, 完全に一致した. また, その光学純度は文献^{*2)}記載の値を 100% とすると, $[\alpha]_D^{20} + 15.03^\circ$ ($c=10$, $2N\text{-HCl}$) で, 約 98% と推定される.

つぎに, D-(V)-L-hydrogen-tartrate を得るには L-(V)-L-hydrogen-tartrate を沍取した母液を濃縮して得た残渣を 80% アルコールで2回再結晶を行なうと, 目的物が, m.p. 150~151°(decomp.), $[\alpha]_D^{20} + 0.29^\circ$ ($c=1$, $N\text{-HCl}$) の無色針状晶として得られる. 本結晶を L-(V) のときと同様の操作をすることによって, D-serine (VI) を得ることができる. 本品の m.p. は 212~213° (decomp.) で L-(VI) と同融点であるが, $[\alpha]_D^{20} - 14.39^\circ$ ($c=10$, $2N\text{-HCl}$) で L-(VI) とは旋光性が逆であることより, 目的物と確認された. また, その光学純度は, 94.4% と推定される.

なお, DL-O-methylserinamide (V)-HCl, D-, および L-(V)-HCl の IR-吸収スペクトルは Fig. 1 に示すとおりで, DL-(V) はラセミ混合物ではなく, ラセミ化合物であることを示している.

Fig. 1. Infrared Absorption Spectra of D-, L-, and DL-O-Methylserinamide-V-HCl (in Nujol)
— DL-(V)-HCl ---- D-(V)-HCl L-(V)-HCl

実験の部

2,3-Dibromopropionitrile (II) Askarov 等⁹⁾の方法で, acrylonitrile (I) より合成した. b.p.₂₀ 130°. 収率 95%.

*2 J. Biol. Chem., **143**, 128 (1958): L-serine $[\alpha]_D^{20} + 15.3^\circ$ ($c=10$, $2N\text{-HCl}$).

10) C. S. Marvel, *et al.*: J. Am. Chem. Soc., **62**, 3495 (1940).

11) Moureu: Ann. chim. et. phisi., [7], 2, 177 (1912).

12) H. C. White, *et al.*: C. A., **51**, 10565^(b) (1957).

2,3-Dibromopropionamide (III) II 213 g. を攪拌下 conc. H_2SO_4 120 g. と H_2O 20 ml. との混合物を, 1.5 hrs. を要して滴下する. この間の反応液は $70\sim 80^\circ$ に保つ. ついで, 反応液は, 30° まで冷却して, 氷水中にはげしく攪拌しながら注加していくと, 白色粉末状晶が析出してくる. 結晶を濾取, 氷水洗浄, 風乾, 収量 219 g. (95%). m.p. $125\sim 127^\circ$, 無色針状晶 (from benzene) m.p. $130\sim 133^\circ$. IR cm^{-1} : $\nu_{\text{O}=\text{C}}$ 1690, ν_{NH} 3250, 3380 (in Nujol).

O-Methylserinamide 塩酸塩 (V-HCl) III 69.3 g. の abs. MeOH 溶液に, Na 6.9 g. と abs. MeOH 80 ml. より製した MeONa-MeOH 溶液を 20° 以下で攪拌しながら滴下して, 3 hrs. 同温度に保つ. 1 夜室温で放置後, 浴温 60° 以下で反応液を減圧濃縮する. 残渣は 35% アンモニア水 500 ml. に溶かし, オートクレープ中, $100\sim 110^\circ$ で 2 hrs. 加熱する. 反応液は減圧濃縮し, 残渣を水約 500 ml. に溶かし, 溶液の pH を 4~5 に調整する. 本溶液を Amberlite IR-120 樹脂 (H 型), 1000 ml. の column に通導して V を吸着させる. V を吸着した column はハロゲンイオンのなくなるまで, 水洗した後 5% アンモニア水 750 ml. で V を溶出し, ついで水 1000 ml. で洗浄する. 溶出液および水洗液は合して減圧濃縮し残ったアメ状物は, abs. EtOH 100 ml. に溶解後, 氷水冷しながら, これに, 20% EtOH-HCl, 70 ml. を加えると, (V)-HCl が析出する. 濾取, EtOH 洗浄, 乾燥, 収量 29.1 g. (63%) 無色針状晶 (from MeOH) m.p. $174\sim 176^\circ$.

L-Tartaric acid による O-methylserinamide (V) の分割 L-O-Methylserinamide-L-hydrogen-tartrate [L-(V)-L-T] (V)-HCl 30.8 g. の 300 ml. abs. MeOH 溶液に, AgNO_3 37.5 g. と NaOH 9.6 g. より新製した Ag_2O を加え, 約 4 hrs. 室温で攪拌し, 不溶物を濾去する. 濾液に, L-tartaric acid 30 g. を含む abs. MeOH 100 ml. 溶液を加え, 少量の不溶物を脱色炭とともに, 温時濾去して得た澄明液に, L-(V)-L-T の結晶種を加え, 1 夜氷室に放置すると, 粗-L-(V)-L-T が析出する. 濾取, MeOH 洗浄, 乾燥, 収量 21.3 g. m.p. $163\sim 165^\circ$ (decomp.) 本粗結晶を 90% MeOH 650 ml. で 2 回再結晶を行なうと L-(V)-L-T 13.1 g. (49%) 無色プリズム晶, m.p. $172\sim 173^\circ$ (decomp.). $[\alpha]_D^{20} + 12.57^\circ$ ($c=1$, N-HCl) を得る. $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_8\text{N}_2$ Anal. Calcd.: C, 35.82; H, 6.01; N, 10.45. Found: C, 36.12; H, 6.04; N, 10.58.

D-O-Methylserinamide-L-hydrogen-tartrate [D-(V)-L-T] 前項の L-(V)-L-T を濾取した母液を濃縮すると 30.5 g. のアメ状物を残す. 本アメ状物を 80% EtOH 260 ml. で 2 回再結晶すると, D-(V)-L-T 12.6 g. (47%) 無色針状晶, m.p. $150\sim 151^\circ$ (decomp.). $[\alpha]_D^{20} + 0.29^\circ$ ($c=1$, N-HCl) を得る. $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_8\text{N}_2$ Anal. Calcd.: C, 35.82; H, 6.01; N, 10.45. Found: C, 35.57; H, 5.83; N, 10.93.

L- および D-O-Methylserinamide 塩酸塩, および臭化水素酸塩 [L- or D-(V)-HCl, or L- or D-(V)-HBr] L-(V)-L-T 13.1 g. を約 5% の水溶液とし, Amberlite IR-120 樹脂 (H 型) 350 ml. の column に通導して L-(V) を吸着させた後, 流出液が中性となるまで水洗する. ついで, 5% アンモニア水 350 ml. で L-(V) を溶出し, 水 700 ml. で洗浄する. 残ったアメ状物は abs. EtOH 10 ml. に溶解して氷水冷下, 20% EtOH-HCl 10 ml. を加えると L-(V)-HCl が析出する. 濾取, EtOH 洗浄, 乾燥. 収量 6.45 g. (90%) 無色針状晶 (from abs. EtOH) m.p. $210\sim 211^\circ$. $[\alpha]_D^{20} + 11.80^\circ$ ($c=10$, 2N-HCl). $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}_2\text{Cl}$ Anal. Calcd.: C, 31.07; H, 7.17; N, 18.12. Found: C, 31.31; H, 6.71; N, 18.63.

また, L-(V)-HBr は EtOH-HCl のかわりに EtOH-HBr を用いて同様の操作で合成した. 無色針状晶 (from abs. EtOH) m.p. $187\sim 188^\circ$. $[\alpha]_D^{20} + 9.50^\circ$ ($c=1$, N-HCl). $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}_2\text{Br}$ Anal. Calcd.: C, 24.13; H, 5.57; N, 14.07. Found: C, 24.32; H, 5.35; N, 14.01.

同様に D-(V)-HCl および D-(V)-HBr を得る. D-(V)-HCl, 無色針状晶 (from abs. EtOH) m.p. $209\sim 210^\circ$. $[\alpha]_D^{20} - 11.43^\circ$ ($c=10$, 2N-HCl). $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}_2\text{Cl}$ Anal. Calcd.: C, 31.07; H, 7.17; N, 18.12. Found: C, 31.36; H, 6.86; N, 18.50.

D-(V)-HBr は無色針状晶 (from abs. EtOH) m.p. $187\sim 188^\circ$. $[\alpha]_D^{20} - 9.50^\circ$ ($c=1$, N-HCl). $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}_2\text{Br}$ Anal. Calcd.: C, 24.13; H, 5.57; N, 14.07. Found: C, 24.31; H, 5.08; N, 14.16.

L-Serine および D-serine [L-(VI) および D-(VI)] L-(V)-HCl 6.45 g. を 47% HBr 水 70 ml. と 4 hrs. 煮沸後, 反応液を減圧濃縮する. 残渣を水 150 ml. に溶解し 10% アンモニア水で pH を 4~5 に調整したのち Amberlite IR-120 樹脂 (H 型) 100 ml. の column に通導し L-(VI) を吸着させる. column はハロゲンイオンのなくなるまで水洗したのち, 5% アンモニア水 200 ml. で溶出し, 水 400 ml. で洗浄する. 溶出液, 水洗液は合して減圧濃縮すると粗製の L-(VI) が結晶として残る. 収量 4.55 g. (97%). m.p. $207\sim 209^\circ$ (decomp.). $[\alpha]_D^{20} + 14.72^\circ$ ($c=10$, 2N-HCl). 本粗結晶を 50% EtOH 50 ml. より再結晶すると, 純 L-(VI) 3.0 g. (70%) 無色針状晶 m.p. $213\sim 214^\circ$ (decomp.). $[\alpha]_D^{20} + 15.03^\circ$ ($c=10$, 2N-HCl), $[\alpha]_D^{20} - 6.62^\circ$ ($c=4$, H_2O) を得る.

D-(VI) を得る場合は D-(V)-HCl 6.1 g. より L-(VI) と同様の操作で, 粗 D-(VI) 3.9 g. (94%) m.p. $208\sim 209^\circ$ (decomp.). $[\alpha]_D^{20} - 14.12^\circ$ ($c=10$, 2N-HCl) を得たのち, 50% EtOH 40 ml. より再結晶して D-(VI) 2.68 g. (68%) 無色針状晶. m.p. $212\sim 213^\circ$ (decomp.). $[\alpha]_D^{20} - 14.39^\circ$ ($c=10$, 2N HCl), $[\alpha]_D^{20} + 6.18^\circ$ ($c=4$, H_2O) を得た.

終わりに, 本研究に当たり, 御指導, 御鞭撻を賜った, 生産技術本部長, 藤沢正男博士, 化成研究所長, 杉本典夫博士に深謝致します. また, 実験に御協力頂いた, 梅田昌昭氏に御礼申し上げます.

田辺製薬化成研究所