L-アスパラギン酸のマグネシウム塩の溶解度について

中垣正幸, 小林征雄

京都大学薬学部¹⁾

Solubility of Magnesium Salt of L-Aspartic Acid

MASAYUKI NAKAGAKI and MASAO KOBAYASHI

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University¹⁾

(Received February 29, 1968)

Solubility of magnesium hydrogen L-aspartate was examined. This salt is very easily soluble in water but hardly dissolves in organic solvents. In a mixture of water and organic solvents miscible with water, such as methanol, ethanol, propanol, and acetone, the salt distributes between the two layers, forming a dilute solution of the salt in the upper layer and a concentrated solution in the lower layer. The solubility of the salt in the upper layer increases exponentially with the molar fraction of water in the upper layer and the solubility is not affected by temperature. Analysis was carried out on the propanol-water-aspartate system in the upper and lower layers, three-componental phase diagram was prepared, and the Plait point, at which the upper and lower layers agreed, was calculated. It was also found that the exponential function established between the solubility in the upper layer and molar fraction of water thereof is also applicable to the lower layer.

L-アスパラギン酸水素マグネシウム (以下 $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$) と L-アスパラギン酸水素カリウム (以下 KHAsp) の混合物については、疲労回復作用、アンモニア解毒作用その他多くの薬理効果が報告されており、²⁻⁶⁾ H. Laborit 等はこの作用機序をアスパラギン酸が生体内の代謝過程で演ずる役割にもとづいて説明している。しかし L-アスパラギン酸をそのまま投与しても効果は少なく、塩にして与えることによってその効果が大きくなるという報告は、単に代謝過程からだけでは説明できない点を含んでいる。この点に関し Nieper 等はアスパラギン酸イオンが金属イオンと弱く結合して、細胞膜を透過しやすくなるという考えを提出している。⁷⁻⁹⁾

著者等はこれらの記述に着目し、アスパラギン酸塩の物理化学的性質を解明したいと考え、本報においては主として $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の溶解性について研究した。L-アスパラギン酸自身は比較的水に溶けにくい物質であるが、マグネシウム塩やカリウム塩は極めて水に溶けやすい。たとえば空気中に放置することにより吸湿潮解して液状となる。したがって水に対する溶解性は極めて大きく溶解度の測定は困難である。しかし水以外の有機溶媒たとえばアルコール類、アセトン、エーテル、クロロホルム、ベンゼン、ピリジンなどにはほとんど溶けない。また水と自由に混合し得る有機溶媒と水との混合溶媒に溶かすと、 $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ が濃厚なときには二液相に分離し、上層にアスパラギン酸塩の希薄層、下層に濃厚層が出現する。この現象を究明するために、エタノール-水、メタノール-水、アセトン-水の系について上層中の $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の濃度と有機溶媒のモル分率との関係を調べ、かつプロパノール-水の系については下層の組成も測定し三成分系に対する相図を作製した。これらの結果から混合系における $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の溶解に関する経験則を見出し、また溶解状態に関する考察を行なった。

- 1) location: Yoshida-shimoadachi cho, Sakyo-ku, Kyoto.
- 2) H. Laborit, R. Moymier, *Compt. rend. Soc. biol.*, **151**, 1383 (1957).
- 3) B. Weber, H. Laborit, *Compt. rend. Soc. biol.*, **152**, 1361 (1958).
- 4) H. Laborit, B. Weber, *Press. Med.*, **66**, 2125 (1958).
- 5) H. Rosen, A. Brumenthal, *J. Pharm. Sci.*, **51**, 592 (1962).
- 6) H. Nakamura, *Nippon Seirigaku Zasshi*, **25**, 151 (1963).
- 7) H.A. Nieper, *Artz. Forsh.*, **15** (11) I/507 (1961).
- 8) H.A. Nieper, *Med Welt.*, **15**, 813 (1962).
- 9) H.A. Nieper, *Med Welt.*, **17**, 966 (1962).

結果および考察

1. L-アスパラギン酸と酸化マグネシウムの反応

Mg (HAsp)₂ の合成には L-アスパラギン酸 (H₂Asp) と酸化マグネシウムを用いた。酸化マグネシウムは水に不溶性であるが酸性溶液には溶解する。著者等は Mg (HAsp)₂ 合成の予備的検討として、酸化マグネシウムのアスパラギン酸溶液に対する溶解性を調べ、両者の反応性を検討した。いま一定濃度のアスパラギン酸水溶液に対して酸化マグネシウムを徐々に加えてゆくと、アスパラギン酸のモル濃度を [H₂Asp] とし、溶液中に移行した酸化マグネシウムのモル濃度を [MgO] としモル比を k とすると、

$$k = [\text{MgO}] / [\text{H}_2\text{Asp}] \quad (1)$$

ここで溶液中に移行したマグネシウムとは、反応液をとときどき振とうしながら室温に一昼夜放置したのち 5 号のガラスフィルターで濾過し、濾液を EDTA 滴定したときのマグネシウムの濃度である。酸化マグネシウムは溶液中では当然アスパラギン酸と反応しアスパラギン酸のマグネシウム塩が生じていると考えられるが、アスパラギン酸は二塩基酸であるから、 $k=0.5$ においてはアスパラギン酸水素マグネシウム Mg (HAsp)₂、また $k=1$ 、においてはアスパラギン酸マグネシウム MgAsp を生ずるものと考えられる。Fig. 1 にはこのモル比を k 縦軸に示し、加えた酸化マグネシウムとアスパラギン酸のモル比 k_0 を横軸に示した。

Fig. 1 において点線は加えた酸化マグネシウムが全部アスパラギン酸と反応すると考えたときの理論直線であるが、測定値 k_0 が 0.6 近辺まで完全にこの理論値と一致している。しかし 0.6 以上では測定値は下にずれる。これは k_0 が 0.6 以上では酸化マグネシウムは一部沈殿して反応に参加していないためである。酸化マグネシウムがさらに多くなると溶液中に移行するマグネシウムの量は一定値に漸近し、 k は 1 以上にならない。このことはアスパラギン酸マグネシウム MgAsp が生成し難いことを示している。なお本論文において取扱かうアスパラギン酸水素マグネシウム Mg (HAsp)₂ は $k=0.5$ に相当するものである。

Fig. 1. The Mole Ratio of MgO Dissolved to L-Aspartic Acid Solution of the Concentration of 20.02 mmole/liter

Fig. 1 の各反応濾液に対して、pH および 25° における比導電率 K (mhos/cm) を測定した結果を Fig. 2 に示した。Fig. 2 の横軸は反応濾液中の酸化マグネシウムとアスパラギン酸のモル比 k であり、Fig. 1 の縦軸に等しい。

Fig. 2. The Specific Conductance and pH Values vs. k at 25°

—○— K —●— pH

Asp) のモル比が、 $k=0.5$ のものといわれている。Fig. 1 および Fig. 2 の結果によればこの組成の Mg (HAsp)₂ を得るには、酸化マグネシウムと L-アスパラギン酸を理論量混合すれば良いことは明らかである。著者等はおよそ 100 g の L-アスパラギン酸と理論量のマグネシウムを含む酸化マグネシウムを正確に秤量し、水およそ 500 ml を加え攪拌した。攪拌開始後しばらくして L-アスパラギン酸と酸化マグネシウムは反応して液は透明になる。pH が当量点の pH と一致したことを確かめたのち、反応液を濾過し 50—60° で減圧濃縮した。十分濃縮してから液を乳鉢に移し冷アセトンを加えると濃厚液層が沈殿する。上層をとり去りさらに冷アセトンを加

しい。pH 値は $k=0.5$ で明瞭な変曲点を示しているが、これはアスパラギン酸の 2 つのカルボキシル基が段階的に解離する結果と考えられる。また K はこの当量点 ($k=0.5$) まではほぼ直線的に増大する。これは未解離のアスパラギン酸 H₂Asp が酸化マグネシウムと反応しアスパラギン酸水素イオン HAsp⁻ とマグネシウムイオン Mg²⁺ を生ずるためと考えられるが、当量点以上では溶液中に Mg²⁺ の量が増加するにもかかわらず、 K は減少する。この現象から $k=0.5$ 以上では Mg²⁺ とアスパラギン酸水素イオンとはキレート的に結合し、このため導電率に対する寄与が減少するものと考えられる。

一般に市販されているアスパラギン酸塩はマグネシウムとア

えて乳鉢で攪拌すると下層は徐々に固くなり数回アセトンを取りかえることによって白色粉末が生じる。この粉末をさらにアセトンで数回洗ったのち濾過し、常温低圧でおよそ一週間乾燥し、以後塩化カルシウムデシケートーに貯え以下の実験の試料とした。

2. $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の性質

以上のようにして得られた $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ は X 線的に無晶形である。著者等の知る限りにおいて $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ が結晶としてとりだされた例はない。したがって $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 粉末に含まれているマグネシウムを EDTA 滴定法、 HAsp^- をキェルダールの窒素定量法、水分をカールフィッシャー法 (以下 K.F. 法と記す) で分析し純度を検定した、この結果を重量百分率に換算して Table I に示した。

TABLE I. The Analysis of $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$

	Mg^{2+}	HAsp^-	H_2O	Total
Weight percent	6.64 ± 0.001	72.24 ± 0.50	20.60 ± 0.10	99.48 ± 0.60
Molar ratio	1.00	2.00	4.19	

分析結果の総量は $99.48 \pm 0.60\%$ であり $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 粉末にはマグネシウム、アスパラギン酸イオン、水以外の不純物はほとんど含まれていない。また Table I の第 3 行に示したごとく、マグネシウムとアスパラギン酸および水のモル比は 1.00:2.00:4.19 である。以上の分析結果から k が 0.5 の純粋な酸性塩が生成していることが結論される。

Fig. 3. The Differential Thermal Analysis of $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$

この塩を示差熱天秤によって分析した結果を Fig. 3 に示した。図中実線は示差熱曲線、点線は最初の試料重量に対する重量パーセントである。この点線上に引いた横線は試料中に含まれる水分子が全部離脱した場合に対応し化学分析の結果をもとに計算したものである。Fig. 3 より $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 粉末は 80° 付近から脱水しはじめ、 240° 付近で完全に脱水され、 240° 以上では引き続いて分解が起ると考えられる。 200° 以上でも脱水が完全に行なわれずまた脱水終了とほとんど同時に分解が起っている現象は $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ が水分子と極めて強く結合していることを示している。

3. $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の溶解度

$\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の濃厚な溶液にアルコール、アセトンなど水と完全に混和する有機溶媒を加えてゆくと次第に白濁し、しばらくすると二液層に分離する。冷アセトンによる $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の粉末化はこの現象を利用したものである。 $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ を粉末にすることはアセトンだけが可能であり、エタノール、メタノール、プロパノールなどでは困難である。著者等はこれらの現象についてより定量的な知見を得るために、水とこれら有機溶媒の混合溶液に対する $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の溶解性を検討した。Fig. 4 はこれら混合溶媒に対する上層中の $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の溶解度を溶媒 100 g あたりの無水物の量とし S で示して、この S と式 (2) によって表現される溶媒中の水のモル分率 $x_{\text{H}_2\text{O}}$ の関係を示したものである。

$$x_{\text{H}_2\text{O}} = [\text{H}_2\text{O}] / ([\text{H}_2\text{O}] + [\text{Org. Solv}]) \quad (2)$$

ここで $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の溶解度 S はマグネシウムの EDTA 滴定から計算した。また水分量は K.F. 法で決定し有機溶媒の重量は溶液の重量から $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ と水の重量を差し引いて計算した。

Fig. 4 の結果よりこの測定領域において相分離を起させる強さはアセトン > プロパノール > エタノール > メタノールの順となる。また S の曲線が指数関数的であることに着目し、溶解度の常用対数 $\log S$ と溶媒中の水のモル分率 $x_{\text{H}_2\text{O}}$ の関係を Fig. 5 に示した。いずれの場合においても直線関係が認められる。なお $x_{\text{H}_2\text{O}}$ の小なる部分においては S の値は小さく測定不可能であったが、Fig. 5 における直線性を仮定してそれぞれの直線を $x_{\text{H}_2\text{O}} = 0$ まで外そうした場合の $\log S_0$ から S_0 を求め、この値を $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の有機溶媒への溶解度と考える。この結果は Table II に示す通りであって、溶解度はアセトン < プロパノール < エタノール < メタノールの順に増大する。溶解度の小さい有機溶媒ほど脱水力が強いと考えられる。

Fig. 4. The Solubility of $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ (g/100 g Solvent) to the Mixed Solvent vs. $X_{\text{H}_2\text{O}}$ at 30°

—○— MeOH —●— EtOH
—●— PrOH —●— acetone

Fig. 5. The Relationship between $\log S$ and $X_{\text{H}_2\text{O}}$

—○— MeOH —●— EtOH
—●— PrOH —●— acetone

TABLE II. The Solubility S_0 (g/100 g Solvent) of $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ in the Organic Solvent Calculated by Extrapolation of $\log S$ to $X_{\text{H}_2\text{O}}=0$

	MeOH	EtOH	PrOH	acetone
$\log S_0$	-2.22	-4.13	-4.63	-6.15
S_0	6.02×10^{-3}	7.41×10^{-5}	2.34×10^{-5}	7.08×10^{-7}

Fig. 6 は溶解度の温度依存性を知るためにエタノール-水系について種々の温度で測定した溶解度の対数 $\log S$ を示したものである。温度を 20° から 70° までの広範囲で変化させたにもかかわらず溶解度はほとんど変化しなかった。

以上の結果は $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の溶解度は温度にはほとんど依存せず、溶液中の水分量がもっとも重要な因子であることを示している。

4. $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ -プロパノール-水系の相図

以上の実験において下層の組成の分析をも試みたが、K.F.法による水分定量値に再現性が得られなかったため上層のみを分析の対象とした。しかしプロパノール-水系については K.F.法に良い再現性が得られたので上層・下層の組成を分析し、Fig. 5 において示した対数関係を下層に対しても検討し、その結果を Fig. 7 に示した。

Fig. 6. The Relationship between $\log S$ in Aqueous EtOH Solution and $x_{\text{H}_2\text{O}}$ at the Various Temperature

—●— 20° —○— 30° —●— 40° —●— 70°

Fig. 7. The Relationship between $\log S$ of the Upper and Lower Layer of $\text{PrOH}-\text{H}_2\text{O}-\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ System and $x_{\text{H}_2\text{O}}$ at 30°

—○— the upper layer
—●— the lower layer

図中白丸印は上層，黒丸印は下層における $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の濃度 S (g/100 g) の常用対数である．この結果は下層においても直線関係が成立し，かつ上層に対する直線の延長線上に下層の測定値が存在している．なお Fig. 7 中に測定値と併記した数字番号は，同一の数字によって対応する上層と下層を示すものである．

また Table III に プロパノール-水系の平衡時における種々の物理量を示した．第一列および第二列にそれぞれ全系における水の重量分率 $W_{\text{H}_2\text{O}}$ と $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の重量分率 $W_{\text{Mg}(\text{HAsp})_2}$ を，第三列第四列には上層の密度 d_u と水のモル分率 $x_{\text{H}_2\text{O}}^u$ ，第五列第六列には下層の密度 d_L と水のモル分率 $x_{\text{H}_2\text{O}}^L$ ，第七列には全溶液の容積に対する下層の容積分率 V_L を示した． V_L の値は目盛りつき試験管を用いて，上層と下層の体積を測定して求めた．また溶液の一部を一定容量のピペットでとりその溶液の重量から各層の密度を求めた．下層または上層溶媒中の水のモル分率 $x_{\text{H}_2\text{O}}$ と密度の関係を Fig. 8 に示した．図中の数字番号は Fig. 7 と同様の意味を持つもの

TABLE III. The Parameters of $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ — PrOH — H_2O System at 30°

$W_{\text{H}_2\text{O}}$	$W_{\text{Mg}(\text{HAsp})_2}$	The upper layer		The lower layer		V_L
		d_u	$x_{\text{H}_2\text{O}}^u$	d_L	$x_{\text{H}_2\text{O}}^L$	
0.376	0.0416	0.864	0.639	1.113	0.976	0.115
0.445	0.0516	0.878	0.767	1.111	0.953	0.210
0.542	0.0400	0.904	0.846	1.045	0.914	0.208
0.604	0.0770	0.902	0.762	1.052	0.946	0.450
0.674	0.070	0.938	0.685	0.999	0.967	0.769
0.691	0.100	0.908	0.794	1.036	0.946	0.805

Fig. 8. The Relationship between the Densities of the Upper and Lower Layer of PrOH — H_2O — $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ System and $X_{\text{H}_2\text{O}}$

—○— the upper layer
—●— the lower layer

Fig. 9. The Phase Diagram of PrOH — H_2O — $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$

—○— the upper layer
—●— the lower layer
—◐— total system

である．Fig. 7 および Fig. 8 の結果は $X_{\text{H}_2\text{O}}$ が大きくなる程 $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の溶解度は大きくなりまた密度も大きくなることを示している．

$\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ -プロパノール-水系における相平衡の状態を三成分系に対する三角図表として Fig. 9 に示した．図中黒丸，白丸および半分黒の丸はそれぞれ下層および全系の三成分系の重量分率を示している．また実線は上層および下層の溶解度曲線であり，点線は上層下層および全系を結ぶ tie-line である．図中もっとも右端の tie-line は $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 粉末を無水の プロパノールに溶かした場合であるが， $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ は無水の プロパノールにはほとんど溶けず，この線上の左端の点は $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 1 分子に対して水 4.19 分子を含む粉末の組成をあらわしている．溶解度曲線より左側 A の領域では全系は均一層であるが，右の領域 B では上層と下層に分離する．

全系中の $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ と水の割合を一定に保ちながら，プロパノールを増加してゆくと， $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ と水

が上層および下層へ分配される状態を検討することによって、相分離におよぼすプロパノールの影響を検討した。いま $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ の重量分率を 1:11.20 すなわち式 (3) によって定義されるモル比 R を 178.9 に選ぶと、この条件は Fig. 9 の三角図表の $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ と H_2O を結ぶ辺上の点 P と、プロパノールをあらわす頂点を結ぶ鎖線上において満たされており、かつ鎖線は臨界点をとることになる。鎖線

$$R = [\text{H}_2\text{O}]/[\text{Mg}(\text{HAsp})_2] \quad (3)$$

上の点について全系中のプロパノールの重量分率 W_{PrOH} と各相における $\log R$ の関係を Fig. 10 にまた各相の密度との関係を Fig. 11 に示した。これは溶液 P に プロパノールを加えたときの上下両相の組成および密度を示す。Fig. 10 によれば全系中の $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ と水の比が一定であってもプロパノールが多いと上層と下層の差は大きくなり、かつ各相の $\log R$ の値はそれぞれ W_{PrOH} に対して直線関係をなす。二直線の交点は臨界点すなわち plait 点であり図中 $\odot$ 印で示され、この点におけるそれぞれの成分の重量分率は $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 0.057, H_2O 0.643, PrOH 0.300 である。なお点 p に相当する点を Fig. 10 の縦軸に $\otimes$ 印で示した。また Fig. 11 において plait 点における密度を上層と下層の曲線の交点として $\odot$ で示した。

Fig. 10. The Relationship between Log R and W_{PrOH}

—○— the upper layer
—●— the lower layer

Fig. 11. The Relationship between the Densities of the Upper and the Lower Layer and W_{PrOH} of the Total System

—○— the upper layer
—●— the lower layer

以上のことから $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ は水に溶解している状態において厚い水和層にとりまかれていることを推定させる。粉末 $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ がきわめて吸湿性が強いことはこの推定をうらづけるものである。このような溶解状態に脱水能力を有する有機溶媒が混入すると、 $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 分子を取りまいている水和層は一部脱水され沈殿を生じるが、このとき脱水されない部分の水和層は $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 分子とともに沈殿し、下層は $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ と水分子に富む層となる。この場合 Fig. 10 に見られるごとく全系中に有機溶媒の分率が大いほど水和層は強く脱水され沈降する $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 分子の水和層は薄くなり下層において $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 1 分子当たりの水のモル数は小さくなり、この結果下層の R は小さくなるものと考えられる。

実験の部

1. 試薬 アスパラギン酸は田辺製薬株式会社より提供されたもので、本品はペーパークロマトグラムで1スポットのみであったが、さらに数回水を用いて再結晶した。この結果元素分析値は Table IV に示すように、実験誤差の範囲で理論値と一致した。また 0.1N NaOH 溶液で pH 滴定を行なった結果も純粋であることが確認された。

TABLE IV. The Elemental Analysis of *L*-Aspartic Acid

	C	H	N
Calculated	0.360	0.0530	0.105
Observed	0.364	0.0515	0.106

MgO は市販の試薬特級を用いた。この場合空气中より水分を吸収して $\text{Mg}(\text{OH})_2$ になっている可能性を考慮

し、希塩酸溶液に溶解し 0.02 M EDTA 溶液で含有するマグネシウム量を測定し、力価を決定して用いた。また有機溶媒はいずれも市販品の試薬特級を蒸留によって精製した。

2. 分析 マグネシウムは pH 10 において 0.02 M EDTA 溶液で滴定し、指示薬としてエリオクロムブラック T を用いた。また水分量は三菱カルフィッシャー水分測定装置を用い、終末点はマジックアイによる方法を用いた。試料溶液はアルコール系は三菱カルフィッシャー用無水メタノールに溶解し、アセトンについてはエチレングリコールとピリジンの混合溶媒を用いた。

3. 溶解度測定 30 ml 入りの共栓試験管に適量の $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 粉末および一定量の有機溶媒を加えここに水を追加した。 $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 粉末を数回振盪分散させ、一昼夜恒温槽で一定温度に保ったのちとり出し、上層の各成分の組成を分析した。分散のとき溶媒中に水の割合が比較的多い時は、振盪によって系はエマルジョン様外観を呈するが、しばらくすると二層に分離する。水分子が少ないときは $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ 粉末は固形状または半固形状を呈した。また EtOH-H₂O 系において高温測定を行なうときは、空冷管をとりつけ蒸発を防止した。

4. 示差熱天秤 $\text{Mg}(\text{HAsp})_2$ およそ 100 mg に対し 3 倍量のアルミナ粉末を担体として用いた。昇温速度は 2°/min で行なった。

謝辞 終わりに L-アスパラギン酸を提供された田辺製薬株式会社に謝意を表する。