

L(+)-Glutamic Acid 誘導體의 合成(II)

趙 潤 相

서울대학교 藥學大學

(Received March 14, 1979)

Yoon Sang Cho

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Studies on the Synthesis of L(+)-Glutamic Acid Derivatives(II)

Abstract— In the formation of L(+)-glutamine from L(+)-glutamic acid-5-hydrazide, large amount of Raney-Ni was effective under normal pressure but hydrogenation or amination of ester under pressure was useless. Preparation of glutamine with α -ketoglutaric acid (by way of 1,4,5,6-tetrahydro-6-oxo-3-pyridazine carboxylic acid) is interesting but not so efficient in yield.

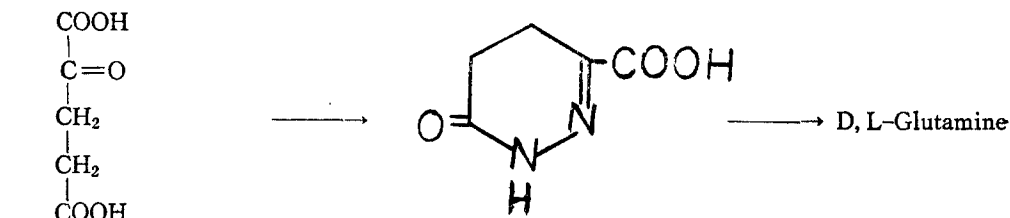
著者は 第1報에서¹⁾ L(+)-Glutamine의 合成을 위한 目的으로 製造條件으로 有利한 原料인 L(+)-glutamic acid-5-hydrazide의 合成에 대하여 檢討 報告하였다.

本報에서는 L(+)-glutamic acid-5-hydrazide의 還元에 의한 Akabori²⁾의 L(+)-Glutamine의 製造의 檢討 및 1,4,5,6-tetrahydro-6-oxo-3-pyridazine Carboxylic acid을 原料로 하는 Kline³⁾에 의한 L(+)-glutamine의 合成에 대하여 檢討하였기에 이에 報告하고자 한다.

Akabori and Narita's method



Kline and Cox's method



α -Ketoglutaric acid

1,4,5,6-tetrahydro-6-oxo-3-pyridazine carboxylic acid

Scheme 1—The Synthesis of L(+)-glutamine by Akabori and Kline

實 驗

L(+)-Glutamic acid-5-hydrazide의還元—Akabori 등의方法: L(+)-glutamic acid-5-hydrazide 10g을 물 30ml이 녹이고 Raney-Ni 40g을 넣고攪拌하면서水浴上에서反應시켜 10, 20, 30, 40 및 50분마다檢體를採取熱時濾過後熱湯으로洗滌한다. 이濾液에는 glutamine의 일부가 Ni과錯化合物을形成하여靑色을 나타낸다. 여기에少量의 dimethyl glyoxime을加하여加溫하면 Ni-dimethylglyoxim의赤色沈澱이生成하면서遊離 glutamine으로轉換된다. 이것을濾過하여 이濾液을 amino acid analyzer로定量하였다. standard로는完全히反應하였을 때의理論濃度の glutamine 水溶液을別途로 만들어比較定量하였다(Fig. 1). L(+)-glutamine의分離, 確認은 TLC로는困難하여 amino acid analyzer를利用하였으며未反應의 L(+)-glutamic acid-5-hydrazide의量은前報法에 의하여 TLC로展開시킨後 densitometer로定量한結果 35% 정도가未反應(40分反應物)로 남아 있음을 알았다. 이實驗에서反應時間은 40分程度가適當하였으며 이때 생성한 L(+)-glutamine의收率은 52%였다.

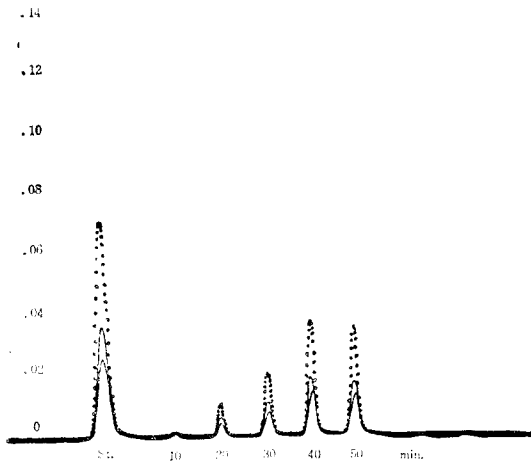


Fig. 1—The Amount of L(+)-glutamine being produced by reaction time The Condition of Amino Acid Analyser Model Hitachi KLA-5 Column temp. 55°C, Column 9mm ϕ ×550mm Diluent IPH-DL, Ion-exchange resin 2613 Buffer flow rate 60ml/hr, Ninhydrine reagent flow rate 30ml/hr.

加壓方法—위의實驗에서大量的 Raney-Ni를使用함에도不拘하고收率이 좋지 않은點을補完할目的으로少量의 Raney-Ni存在下 H₂ gas를導入(25 psi)하여加溫反應시키거나, L(+)-glutamic acid-5-ethyl ester을 20% 암모니아水와 함께加壓反應시켜 ammonolysis를 여러가지로試圖하였으나操作만複雜할뿐 어느때에도 위의反應만큼의成果를 볼수가 없었다. 이것은일반적으로 amine類가 Raney-Ni 등의觸媒에 대한觸媒毒으로作用하는데起因한다고 생각된다.

Kline, Cox의方法—Scheme 1에서 보는바와 같이 α -ketoglutaric acid를原料로 1, 4, 5, 6-tetrahydro-6-oxo-3-pyridazine carboxylic acid를合成한 다음 Pd/C를觸媒로 H₂ gas 70atm으로還元시키는方法인데 여기서 쓰이는 α -ketoglutaric acid는 ethyl oxalate와 diethyl succinate를 C₂H₅OK存在下縮合시키는 Horning⁴의方法, *Pseudomonas*의微生物을利用하는方法⁵⁻⁶

및天然物(糖, 蛋白質)의加水分解工程에서副生하는 levulinic acid를利用하는 Hoffmann⁷의方法 등이 알려져 있으나本實驗에서는低廉하고求得이 쉬운 cane sugar를原料로하여 levulinic acid를製造⁸하고 이것을出發物質로하는方法에 대하여檢許하였다.

levulinic acid의製造—McKenzie의法 즉 cane sugar 水溶液에 HCl를 넣고 steam bath로加熱시킨後炭화된部分을濾別하고水浴上에서蒸發濃縮하고 이것을 ether로抽出, 溶媒溜去後 137~139°/10mm로減壓蒸溜하면 mp 32~34°의 levulinic acid를 얻는다. 이反應에서反應溫度와收率, 反應時間과收率에 대한關係는 다음과 같다.

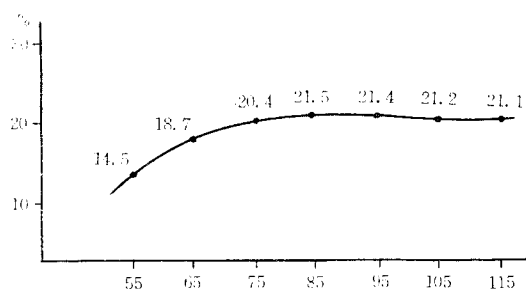


Fig. 2—The relation between the heating-temp. and the yield of levulinic acid (20hrs.)

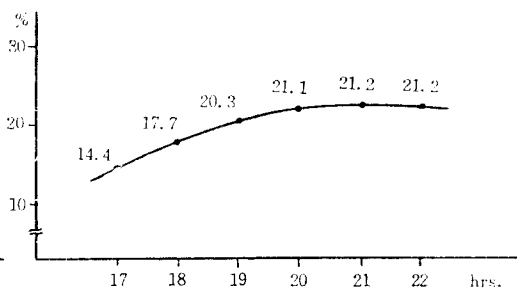
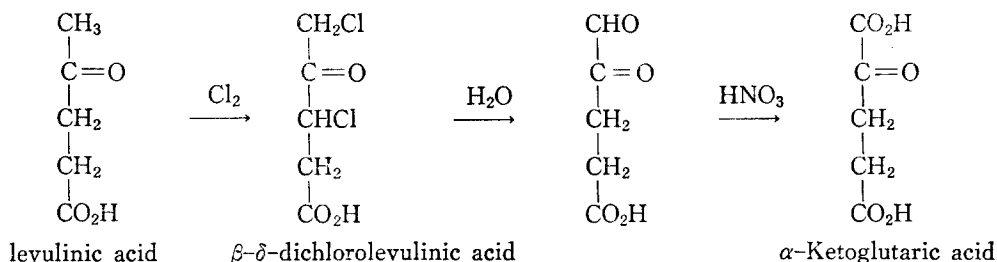


Fig. 3—The relation between the heating times and the yield of levulinic acid

α -Ketoglutaric acid의 製造—levulinic acid로부터 α -ketoglutaric acid의 製造는 都築等⁹⁾의 方法에 따라 다음과 같은 過程을 거쳐 合成하였다.



즉 levulinic acid 8.6g (0.1mole)을 CHCl_3 에 녹이고 Cl_2 gas를 室溫에서 교반하면서 약 4g의 增量이 될때까지 導入하면 HCl gas를 發生하면서 反應한다. 反應이 끝나고 溶媒를 溜去하면 β , δ -dichlorolevulinic acid의 白色 粗結晶(mp 78°) 11.5g을 얻는다(收率 74.7%). 이것은 그대로 다음 工程에 使用하여도 無妨하다.

위의 粗結晶 10g을 물 100ml에 넣고 약 5時間 加熱한 다음 여기에 C-HNO_3 7ml을 넣고 70~80°로 水浴上에서 加熱하면 NO_2 를 發生하면서 反應한다. NO_2 의 發生이 끝나면 反應液을 濃縮하고 acetone으로 再結晶하면 mp. 104°의 α -ketoglutaric acid 1.9g을 얻는다.

위의 實驗의 3回 平均 收量은 cane Sugar 200g에서 α -ketoglutaric acid 약 3.5g이었다.

1, 4, 5, 6-Tetrahydro-6-oxo-3-pyridazine carboxylic acid의 製造— α -ketoglutaric acid 2.2g (0.015mol)에 물 3ml을 넣고 强하게 교반하면서 0.9ml(0.021mol)의 85% hydrazine hydrate를 서서히 넣는다. 室溫에서 30分 교반한 다음 冷所에 一夜 放置하면 結晶性 固型物이 析出한다. 이것을 여과한후 2N-HCl로 洗滌하여 室溫에서 乾燥하면 mp 196~7(dec.)의 結晶(hemihydrate) 1.8g을 얻는다.

D. L-Glutamine의 製造—1, 4, 5, 6-tetrahydro-6-oxo-3-pyridazine carboxylic acid hemihydrate 1.7g을 물 15ml에 懸濁시키고 5% Pd/C 0.5g을 넣고 70Atm이 되도록 H_2 gas를 넣고 室溫에서 攪拌反應시키면 反應이 進行됨에 따라 壓力이 減少된다. 反應後 觸媒를 濾別, 水洗한 다음 多量의 Acetone을 넣으면 mp 168°~9의 結晶 (D. L 體) 0.8g이 析出한다.

考 察

L(+)-glutamic acid-5-hydrazide의還元에는水溶液中에서多量のRaney-Ni와약40分間還流反應시킴이가장 좋았으며加壓下의反應 및加壓下의ammonolysis 등의方法 등은별로效果가 없었다. Raney-Ni을多量使用함은原料 및生成物自體가觸媒毒으로作用하는데起因하는 것으로思料되며回收Raney-Ni의再活用이檢討되어야 한다. Kline, Cox의法の利用에서는使用原料의求得이容易하다는利點은 있으나過程이複雜하며各工程에서의收率이低調하며反應이 끝난 후에D, L體의分割等解決하여야 할問題가 많아生産性は稀薄하다고思料된다.

結 論

以上の結果로 보아L(+)-glutamine의製造에는glutamic acid를原料로 하여dry HCl存在下methyl ester, 85% hydrazine hydrate로50°C에서反應후Raney-Ni로치리함이가장 좋은方法으로思料된다.

文 獻

1. 鞠探豪 외, 서울大學校藥學論文集, 2, 156(1977).
2. S. Akabori and K. Narita, *Proc. Acad. Sci. (Japan)*, 29, 264(1953).
3. B. G. Kline and H. S. Cox, *J. Org. Chem.*, 1854(1961).
4. C. E. Horning, *Org. Syn. Coll. III*, 510, John Willey & Sons (1955).
5. C. Lockwood, *U. S. Pat.*, 2, 443, 919 (1948).
6. D. Witt, *U. S. Pat.*, 2, 841, 616 (1958).
7. C. W. Huffmann, *Chem Rev.*, 63, 625(1963).
8. B. F. Mckenzie, *Org. Syn. Coll. I* 335, John Willey & Sons (1941)
9. 都築 외, 日特許公報 5, 966 (1955)