

水晶体中の特異ペプチド Ophthalmic acid の合成

立 木 次 郎 ・ 奥 村 迪 雄

Jiro TATSUGI

Michio OKUMURA

On the Synthesis of Ophthalmic Acid, the Special Peptide in Lens.

Ophthalmic acid は 1956 年 Weley により牛の眼球水晶体に発見されたペプチッドで生体内の重要ペプチッド Glutathione に極めて類似の構造を有しているが Ophthalmic acid の生体内意義については不明である。著者らはその生物学的意義を解明する目的で Ophthalmic acid の合成を企劃し成功し得た。

本研究は大阪大学蛋白質研究所教授榎原俊平教授の指導の許に行われた。

1. 緒 言

Ophthalmic acid は 1956 年 Weley により牛の眼球水晶体から分離されたトリペプチッドでその化学構造はグルタチオンに極めて類似の構造を有している。(図 1)。

Ophthalmic acid は「生体中水晶体以外には見出されていない」という極めて特異なペプチッドであるが、その生物学的意義については今日まで殆んど解明されておらず、グルタチオンになるべきところを誤って Ophthalmic acid となつたものと考えられている。

しかしながら生体内に存在する以上なんらかの生理作用を有している筈であり、その生物学的意義を解明する上からも Ophthalmic acid の合成は極めて重要な意味を有するものと考えられる。

先述の如くグルタチオンに極めて類似の化学構造を有しグルタチオン分子中のシステインの代りに α-アミノ

酪酸が導入されたものであるが、さらに水晶体中には α-アミノ酪酸の代りにアラニンの置換した Nor-ophthalmic acid も少量混在しており(1)、その割合はグルタチオン 1 に対して Ophthalmic acid 0.1, Nor-ophthalmic acid 0.01 とされている。

2. Ophthalmic acid の化学構造

Ophthalmic acid は加水分解によりグルタミン酸、α-アミノ酪酸及びグリシンを生成する酸性トリペプチッドであり、次の 2 式の何れかと考えられる。

A) Glu—Abu—Gly.

B) Glu—Gly—Abu.

Glu; Glutamic acid, Abu: α-amino butyric acid, Gly: Glycine

さらにグルタミン酸の γ, α 何れの—COOH が Peptide の形成に関与しているかによりさらに次の 4 通りの構造が考慮される。

1) γ-Peptide

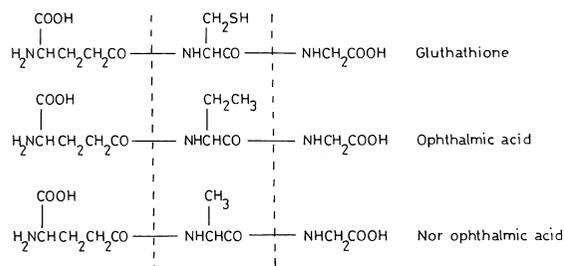
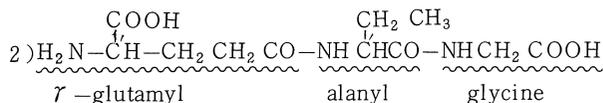
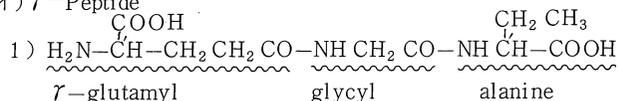
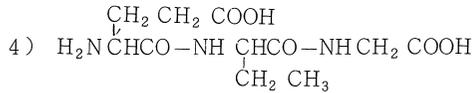
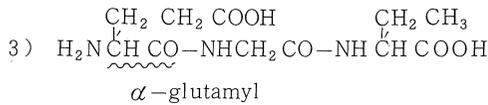


図 1

□) α -Peptide



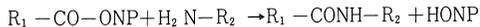
しかし、Weley が述べている如く¹¹⁾ PH4に於ける電気泳動がグルタチオンと同一程度であることから γ -Glutamyl 構造を有する特異なペプチッドと推定され、さらに γ -グルタミンナーゼ酵素により水解を受けることより支持され、最終的には Weley の酵素的合成によって確認された。

3. Ophthalmic acid 及び Norophthalmic acid の化学的合成

ペプチッドの合成化学は1932年 M. Bergmann²⁾ によってN-末端保護基として Carbobenzoxy 基が開発され、光学的活性アミノ酸の殆んどについてのペプチッドの合成が可能となり、次いで1953年 Vigneud らによる Dxytocin³⁾, Vasopressin⁴⁾ の全合成により飛躍的發展を遂げるに至った。かくして得られた最も重要な知見は、何としても特定のアミノ酸配列により特異の生物活性の出現を期待し得ることである。副腎皮質刺激ホルモン ACTH の合成成功によりペプチッドの化学は頂点に達したと言えよう。

吾々はこうしたペプチッド合成化学の基盤の上に立つて最も有利な合成法として活性エステル法を採り Ophthalmic acid 類の合成を試みた。

活性エステル法 (Active Ester method) は1955年 Bodanszky⁵⁾ の p-Nitrophenyl ester の利用により始めて開発された方法で、アミン成分と縮合するエステル部に強力な電子吸引性を導入することによってカルボニル炭素は親電子性となりアミン成分と容易に反応するに至る訳である。



本法の利点は合成が容易で収率が良く、生成物の結晶性が良好で取扱いの便利点である。またラセミ化の程度のより少ないことも極めて重要な特徴である。

3-1: Ophthalmic acid の合成

Ophthalmic acid の合成について吾国では1967年、緒方、石井両氏⁶⁾ により混合酸無水物法による合成が報告されているが、吾々は先述の如く活性エステル法による合成を実施した。その要点を Fig. 2 に示す。

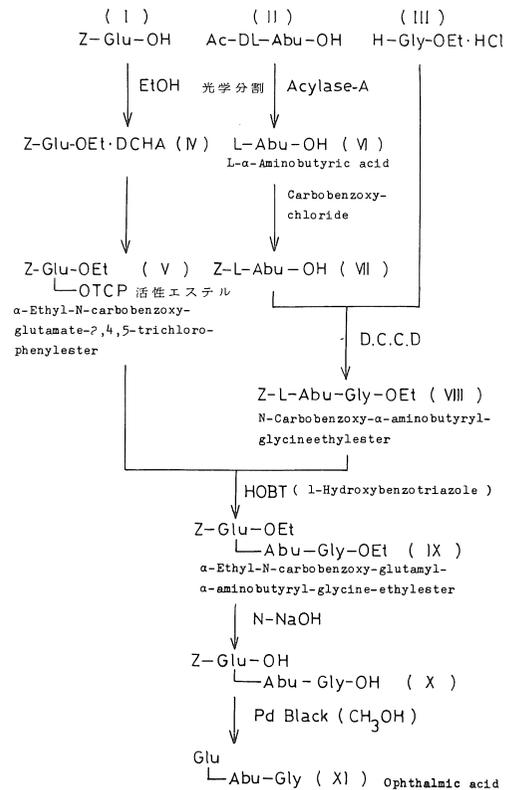


図2 Synthesis of Ophthalmic acid (XI)

Ophthalmic acid はグルタチオンに於けるシスティンの代りに L- α -アミノ酪酸の導入されたものであり、このものは容易に入手し得る DL- α -アミノ酪酸の光学分割により調製した。光学分割の方法としては酵素法を採用し、先ず α -アミノ酪酸の $-\text{NH}_2$ をアセチル化して、DL-N-アセチル- α -アミノ酪酸としこれに Acylase-A 酵素を作用して目的を達することができた。

合成の方法はグルタミン酸の TCP 活性エステル Z- α -Glu (OTCP)OEt (V) を上記酵素分割で得た L- α -アミノ酪酸のグリシンペプチッド Z-L-Abu-Gly-OEt (VIII) とカップリングさせて80%収率で合成し得た。

遊離の Ophthalmic acid (XI) は白金黒触媒存在下に接触還元して保護基 Z を除去し IR-45カラムを通して精製を行った。収率70%, 融点, 177-178°C で天然 Ophthalmic acid に一致した。

3-2: Norophthalmic acid の合成

Ophthalmic acid の合成に準じて、L- α -アミノ酪酸の代りに L-アラニンを使用して次の(A)(B)2法により合成した。

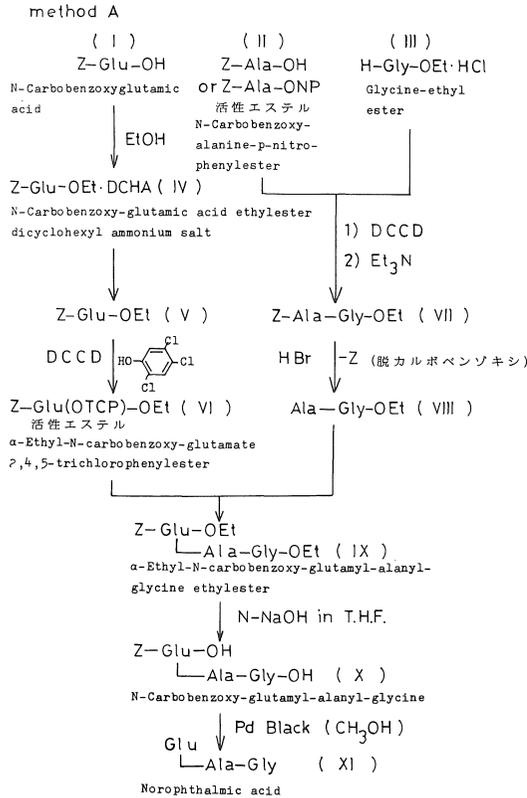


図3 Synthesis of Norophthalmic acid (XI)

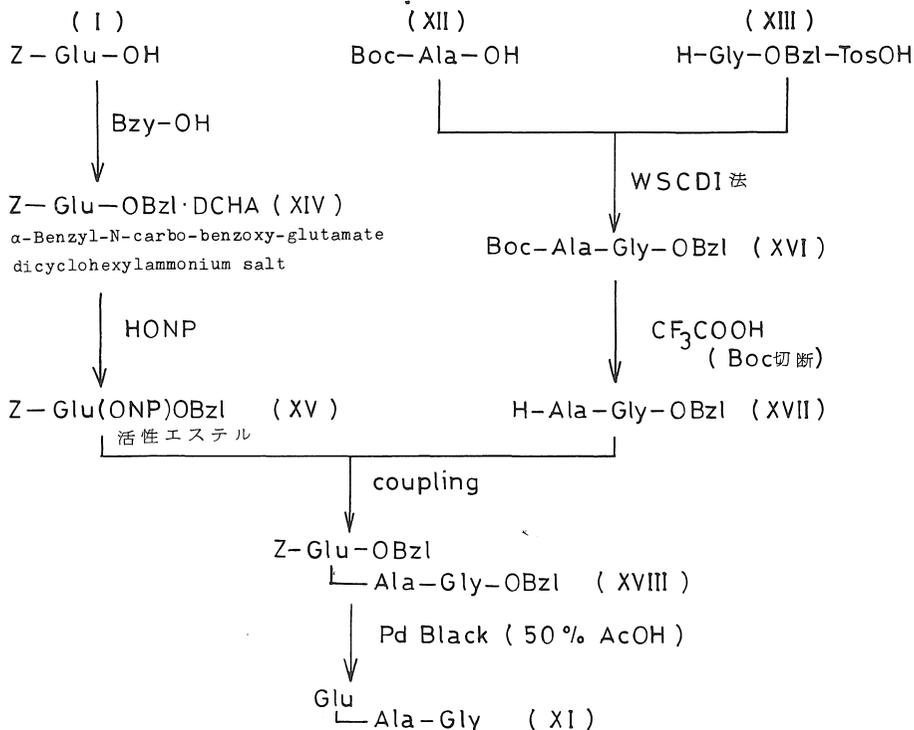


図 4

A法では Alanine と Glycine のカップリングはD. C. C. D. 法を用いたがB法ではW. S. C. D. I. (1-Ethyl-3-(3-Dimethylaminopropyl) Carbodimide) を利用した。

D. C. C. D 法ではカップリングの際D. C. C. Dを中和するためトリエチルアミンを使用する結果トリエチルアミン塩酸塩の除去及びアチル尿素の混入等の類雑があるが、W. S. C. D. I. 塩基ではこれらの類雑を伴はず好都合であることを見出した。

A, B 2法により合成した Norophthalmic acidは融点204~205°C, 旋光度及び元素分析値等で同一物であることを確認した。

4. 結 論

上記の如くして Ophthalmic acid 及び Norophthalmic acidの合成に成功した。これらのものは水晶体中の特異な aci-tripeptide であるに抱らずその生物活性について全然知見の得られていない現状である。水晶体中で何らかの生理作用を演じているに違いないものと考えられる。視力の上で未だ説明されていない重要な役割を果たしているのかも知れない。これらの諸点についての検討が加えられ興味ある新知見の得られる日の早からんことを期待して止まない。

5. 実験の部

5-1: Norophthalmic acid の合成

1) Carbobenzoxy-alanyl-glycine Ethylester
Z-Ala-Gly-OEt (Ⅶ) の合成

A) D. C. C. 法

Corbofenzoxy-alanine Z-Ala-OH (Ⅷ)

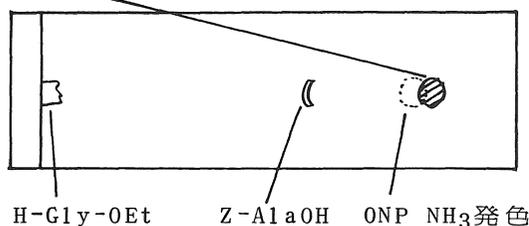
11.2g (0.05mol) 及びグリシンエチルエステル塩酸塩
H-Gly-OEt.HCl 7.7g(0.055mol) を THF 30ml. クロ
ロホルム 120ml に懸垂し冷却下にトリエチルアミン 7.7
ml(0.055mol) で中和した後, -10°C に冷却下, 攪拌下
に DCCD 10.3g (0.05mol) を THF 20ml に溶解したもの
を滴下する. -5°C で 1 時間攪拌後室温に一夜放置する.
酢酸 1 ml を加えて過剰の DCCD を分解 (5~10 分間)
し析出した尿素を濾別後母液を濃縮乾涸する. 残渣に酢
酸と H_2O を加え酢酸エチル層を N-塩酸 80ml 宛 2 回,
 H_2O 100ml 2 回, 5% 重曹 100ml 2 回, 水 100ml 3 回
の順にて洗浄後 (洗浄中尿素の結晶が析出するから濾別
する) 無水硫酸マグネシウムにて乾燥する. 乾燥剤を
別した母液は濃縮乾涸し得られた油分を少量の酢エチに
溶解し n-ヘキサンにて結晶化させる.

収量 12g (77.9%) M.P. $99\sim 100^{\circ}\text{C}$

B) 活性エステル法

H-Gly-OEt.HCl 6.95g (0.05mol) をクロロホルム
50ml に懸垂しトリエチルアミン 7ml (0.05mol) にて
冷却下に中和する. 次いで N-Carbobenzoxy-alanine
-p-nitrophenylester Z-Ala-ONP 17.2g (0.05mol)
を加えて攪拌下に一夜放置し TLC でチェックする.

生成物 HBr ニンヒドリン 発色



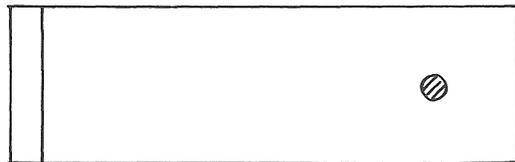
展開溶媒: $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{AcOH}$

(95 : 5 : 3)

図 5 A.

反応溶液を濃縮乾涸し得られた油状物を酢エチにと
かし Na_2CO_3 水溶液にて ONP の黄色が消失するまで洗
浄する (10~15 回). 次いで 1N-塩酸で一回, H_2O で 2
回洗浄後脱水硫酸マグネシウムにて乾燥後濾過し濾液を

濃縮乾涸する. 残渣を酢エチにとかし n-ヘキサンにて
結晶化精製する (図 5 B).



HBr ニンヒドリン 発色

展開溶媒: $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{AcOH}$

(95 : 5 : 3)

図 5 B. 結晶精製 ZAla-Gly-OEt の TLC.

収量 12g (77.9%) M.P. $99\sim 101^{\circ}\text{C}$

元素分析: C H N
分析値, 58.48 6.58 9.06

$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{N}_2$ としての計算値,
58.43 6.54 9.09

考察: 活性エステル法は DCCD 法と比較してその操
作が簡便で, DCDD 法の如く後処理の段階で生成してく
る尿素を濾別する必要なく且つ反応は円滑に進行するよ
うである.

2) N-Carbobenzoxy-alanine p-nitrophenylester
Z-Ala-ONP の調製

Carbobenzoxyalanine Z-Ala-OH 22.3g (0.1mol) 及
び p-Nitrophenol 16.7g (0.12mol) を酢酸エチル 500
ml に溶解し -5°C に冷却下に DCCD 20.6g (0.1mol) を
酢酸エチル 100ml にとかしたものを滴下する.

滴下終了後同温度で 1 時間次いで室温で反応させる.
反応後析出した尿素を濾別, 母液を濃縮すると油状物を
析出するから, これにエタノールを加えて不溶分 (尿素)
を濾去した後濾液に n-ヘキサンを加えて結晶化させる.

粗結晶 29g

エタノール 70ml より再結晶を行う.

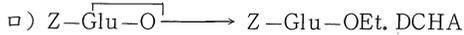
収量 25g (72.7%) M.P. $79\sim 80^{\circ}\text{C}$

3) α -Ethyl carbobenzoxy glutamate Dicyclohe-
xylammoniumsalt Z-Glu-OEt.DCHA (Ⅳ) の合成
イ) Z-Glu-Anhydride の合成

Carbobenzoxy glutamic acid Anhydride

Z-Glu-OH 84g (0.3mol) を無水 THF 700ml にと
かし -5°C に冷却下, DCCD 61.8g (0.3mol) を少量の無
水 THF に溶解したものを滴下す. 滴下終了後同温度で
1 時間攪拌を行い後室温で一夜放置し, 析出した尿素を
濾別した後 THF を溜去液を濃縮すると油状物を析出す

るから無水エーテルを加えると結晶化する。M. P. 93~94°C 収量 71g



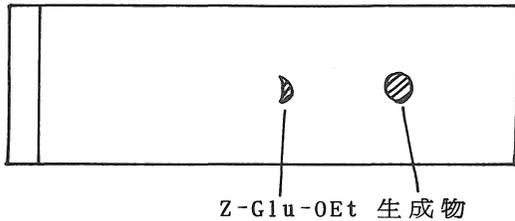
上に得た Z-Glu. Anhydride を無水アルコール 700 ml にかし室温で 2 時間放置後約 1 時間加熱後放冷し冷却下に DCHA. 54.4g (0.3mol) を加える。冷所に放置すると (一夜) 少量の結晶が析出するが、その儘約 1/2 まで濃縮しエーテルを加え析出さす。水 2 立より再結する。

収量 52g (35.3%) M. P. 158-159°C

4) α -Ethyl N-Carbobenzoxy glutamate 2.4.5 trichlorophenyl ester Z-Glu-OEt (V) の合成

Z-Glu-OEt · DCHA (VI) 51.45g (0.105mol) を酢エチ 210ml に懸垂させ N-硫酸 105ml を加えて振盪すると結晶が溶解するから 2 回水洗後脱水 MgSO₄ で乾燥後濃縮すると油状物が得られる。油状物を酢エチ 400ml にかし 2.4.5 trichlorophenol 29.4g (0.147mol) を加え -10°C に冷却し DCCD 21.63g (0.105mol) を酢エチ 20ml に溶かしたものを滴下する。そのまま 30分~60分間 -5°C で搅拌後室温で一夜放置してカップリングを終る。

TLC で反応の終点を確認する。



展開溶媒 : CHCl₃ : MeOH : AcOH

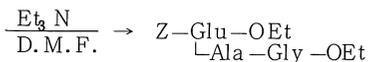
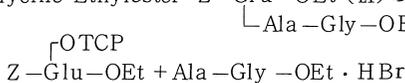
(95 : 5 : 3)

図 6

析出した尿素を濾別し母液を濃縮乾涸すると油状物が析出するからエタノールを加えて結晶化する。エタノール 200ml より再結する。

収量 34g (66.3%) M. P. 75~76°C

5) α -Ethyl-N-Carbobenzoxy-glutamyl-alanyl-glycine Ethylester Z-Glu-OEt (IX) の合成



イ) Z-Ala-Gly-OEt (VII) の脱 Z 基

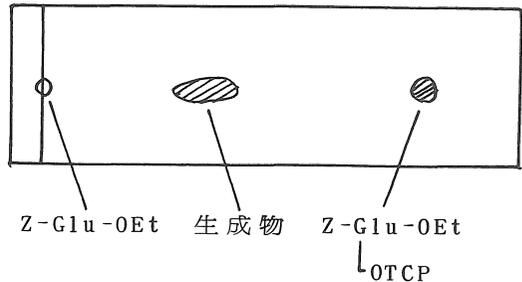
(VII) 3.1g (0.01mol) に HBr / AcOH 10ml 加え時々振

りませ乍ら 30分~60分放置する。

TLC により HBr-ニンヒドリン呈色の無くなるかを確認、無水エーテルを加えて沈澱さす。2~3 回デカントしてテシケーター中で乾燥する。

ロ) カップリング

上に得られた Ala-Gly-OEt · HBr を DMF 10ml にかし Et₃N で中和すると Et₃N · HBr 塩が析出する。次に Z-Glu (OTCP) OEt 5.38g を DMF 10ml にかしたものを加え、N-メチルモルフォリンにて PH7~8 に調整し反応促進剤として HOBT (1-Hydroxy-benzotriazol) 0.1g を加えて一夜放置する。TLC より反応終点を確認後、後処理を行う。



展開溶媒 : CHCl₃ : MeOH : Pyridine

(95 : 5 : 3)

図 7

ハ) 後処理

N, N-Dimethyl-1.3-Propanediamine (CH₃)₂N (CH₂)₃NH₂ 1ml を加えて未反応の Z-Glu-OEt を分解し、反応後に酢酸エチル、水を加えて振り、HCl 1 回、水 2 回、N-炭酸ソーダ水 2 回、水 3 回にて洗浄後無水芒硝で乾燥する。芒硝を濾別後濾液を濃縮乾涸し酢酸エチルより再結晶を行う。

収量 2.5g (53.8%) M. P. 141~142°C

旋光度 : [α]_D²⁵ -16.7° (C=2, DMF)

元素分析 :

	C	H	N
実験値 :	56.60	6.76	9.03
C ₂₂ H ₃₁ O ₈ N ₃ としての計算値 :	56.76	6.71	9.03

6) N-Carbobenzoxy- γ -glutamyl-alanyl-glycine Z-Glu-OH (X) の合成

上に得られた diethylester (XI) 2.33g を THF 50ml に溶解し 0°C に冷却下 N-NaOH 11ml を滴下する。滴下後室温に反応させる。

TLC により反応の終了を確認後 THF を減圧下に溜去

し IR-200 (強酸性) のカラムを通して精製する。酸性分を取り濃縮乾涸すると結晶性残渣が得られるからエタノール-ヘキサンより再結晶する。

収量 1.13g (56.5%) M. P. 178.5~179.5°C

7) Norophthalmic acid (XI) の合成

イ) 6) にて得られた Z 体 1.6g (0.0039mol) をメタノール 35ml に溶解し Pd 黒を少量加えて接触還元を行う。TLC より反応の終点を確認後 Pd 触媒を濾別し濃縮乾涸すると目的物の粗結晶が得られる。収量 0.92g (83.2%) 水-エタノールより再結晶を行う。

収量 0.89g (80.4%) M. P. 204~205°C

ロ) Z-Glu-OBzl より合成
 $\begin{array}{l} \text{Z-Glu-OBzl} \\ | \\ \text{Ala-Gly-OBzl} \end{array}$

別途合成した OBzl 体 2.95g (5mmol) をメタノール 70ml に懸垂し 50% 酢酸 70ml を加え, Pd 黒の少量を加えイ) に準じて接触還元を行う。反応の進行と共に OBzl 体は溶解するに至る。反応開始後 2 時間で完全に溶解する。イ) 同様に処理して得られた油状物を少量の水に溶かしエタノールを加えて結晶化する。粗収量 1.47g 水-エタノールより再結晶。収量 1.2g (93.5%) M. P. 205~206°C $[\alpha]_D^{22} -13.7^\circ$ (C=2, N-HCl)

ハ) Norophthalmic acid の電気泳動実験結果
 1500Volt 50分間

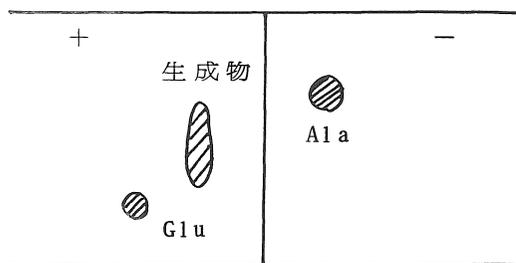


図 8

Alanine の様な中性物質は \ominus 方向に移動し逆に酸性の Glutamin 酸は \oplus 方向に移動している。生成物 Norophthalmic acid も酸性であるから \oplus 方向に移動するものの tripeptide であるから Glutamin 酸よりは移動は小さい。

元素分析結果

	C	H	N
実験値	43.08	6.14	15.15
$C_{10}H_{17}O_6N_3$ と しての計算値	43.65	6.23	15.27

5-2: Ophthalmic acid の合成

1) N-Acetyl-DL- α -aminobutyric acid.

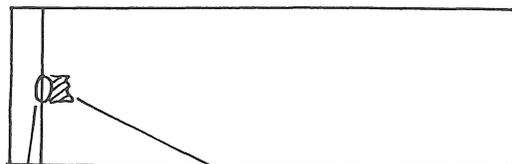
(Ac-DL-AbuOH) (II) の合成

DL-AbuOH (α -aminobutyric acid) 10.3g (0.1

mol) を 2N-NaOH 100ml にとかし 0~5°C に冷却下, 2N-NaOH 100ml を加えたのち無水酢酸 20ml を滴下 (この間 PH, 8 以上に保つ), 滴下終了後同一温度で 1 時間反応させたのに室温で一晩放置する。

TLC により反応の終点を確認する (ニンヒドリン発色物の消失するまで)。

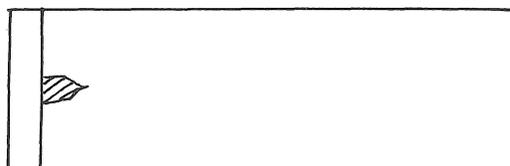
滴下終了時の TLC



ニンヒドリン発色 HBrニンヒドリン発色

DL-Abu. (Ac-DL-AbuOH)

室温 2 時間後の TLC



HBrニンヒドリン発色

(Ac-DL-AbuOH)

展開溶媒: $CHCl_3 : MeOH : AcOH : H_2O$

(10 : 10 : 1 : 10)

図 9

反応液を PH 7 に調節し少し濃縮後塩酸々性とし (IN-HCl) 酢酸エチルで抽出する。抽出物がなかったため IR-200 の酸性樹脂を通して精製する。

収量 12g (82.7%) M. P. 132~133°C

2) L- α -aminobutyric acid. (L-Abu) (VI) の合成 (acylase による光学分割)

Ac-DL-Abu-OH 43.5g (0.3mol) を N-NaOH 300ml にとかし $CoCl_2$ 6ml, Acylase A 1.1g を加える。次に PH meter にて PH 7.9 に adjust し 38°C で反応させる。途中比色定量により反応の進行状態をチェックする。約一週間後, 後処理する。酢酸にて PH 4 に調節し活性炭処理 (脱酵素) し濃縮乾涸し水-エタノールより再結晶する。

収量 9.1 g (61%) M. P. 270°C 以上. (分解)

3) N-Carbobenzoxy- α -aminobutyric acid Z-L-Abu-OH (VII) の合成

H-L-Abu-OH 5.2 g (0.05 mol) を 2 N-NaOH 50ml にとかし 0~5°C にて Carbobenzoxy chloride (Z-Cl) 9.4g を滴下する (この間 PH 9 以上に保つ). 滴下終了後同温度 (0~5°C) で 1 時間, 室温で 3 時間反応後, 後処理を行う.

反応液を 1 度エーテル抽出し過剰の Z-Cl を除去後 N-HCl で酸性とし析出する油分を酢酸エチルで抽出する. 酢酸エチル・ヘキサンより再結晶する.

収量 7g (58.8%) M.P. 79~80°C

$[\alpha]_D^{21}$ -9.74° (C=2, EtOH)

Lit: M.P. 78~79° $[\alpha]_D^{20}$ -9.8 (C=1.2 EtOH)

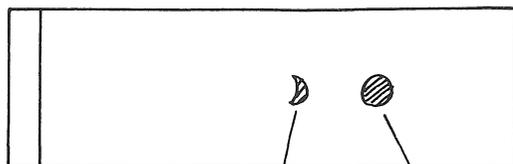
4) α -Ethyl-N-carbobenzoxy glutamate Dicyclohexyl ammonium salt (IV) の合成

Z-Glu-OH 84g (0.3mol) を無水 THF 700ml に溶解し -10°C に冷却下に DCCD 61.8g (0.3mol) を少量の無水 THF に溶かしたものを滴下する. 同温度で 1 時間, 室温で一夜反応させる. 析出した尿素を濾別し母液を濃縮すると油状物が得られるが, これに無水エーテルを加えると Z-Glu-Anhydride が結晶化してくる. これを無水アルコール 700ml にとかし室温に 2 時間放置後 1 時間還流し冷後 Dicyclohexylamine (DCHA) 54.4g (0.3mol) を加えると Z-Glu-OEt·DCHA が析出してくる. 2 立の水より再結晶する.

収量 52g (35.3%) M.P. 158~159°C

5) α -Ethyl-N-carbobenzoxy glutamate 2,4,5 trichloro phenylester (V) Z-Glu-OEt の合成

Z-Glu-OEt·DCHA 51.45g (0.105mol) を酢酸エチルエステル 210ml に懸垂し, N-硫酸 105ml 宛 2 回脱 DCHA を行う. 水洗 (2~3 回) 後脱水硫酸マグネシウムにて乾燥後濃縮すると油状物が析出する. 油状物を酢酸エチルエステルに溶かし 2,4,5 Trichlorophenol 29.4



Z-Glu-OEt 生成物

展開溶媒: $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{AcOH}$

(95 : 5 : 3)

図 10

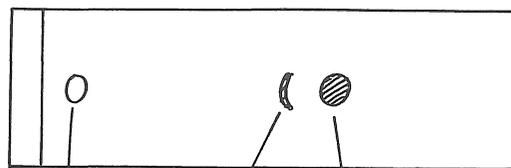
g (0.147mol) を加え -10°C に冷却下に DCCD 21.63g (0.105mol) を 20ml の酢酸エチルにとかしたものを滴下する. 同温度で 1 時間室温で一夜放置して TLC で反応の終点をチェックする.

析出した尿素を濾別後母液を濃縮乾涸して得られる油状物に冷エタノールを加えて結晶化させる. 熱エタノール 200ml より再結する.

収量 34g (66.3%) M.P. 80~82°C

6) N-Carbobenzoxy- α -aminobutyryl-glycine ethylester Z-Abu-Gly-OEt (VII) の合成

Z-L-Abu-OH 4.76g (0.02mol) 及び H-Gly-OEt·HCl 2.78g (0.02mol) を THF 40ml に懸垂し -10°C に冷却下 DCCD 4.12g (0.02mol) を少量の THF に溶解したものを滴下する. 同温度で 1 時間, 室温で一夜反応させ TLC より反応終結をチェック.



Gly-OEt Z-Abu 生成物

展開溶媒: $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{AcOH}$

(95 : 5 : 3)

図 11

析出した尿素を濾別後, 母液を濃縮乾涸し得られた油状物を酢酸エチルにとかし 5% 重曹水, 水, I-N-塩酸, 水の順に洗滌後, 無水芒硝で乾燥する. 常法により処理し得られた結晶を酢酸エチル-n-ヘキサンより再結晶する.

収量 4.17g (61.6%) M.P. 105~106°C.

7) α -Ethyl-N-carbobenzoxy-glutamyl- α -aminobutyryl-glycine ethylester (IX) Z-Glu-OEt の合成

L-Abu-Gly-OEt

1: Z-Abu-Gly-OEt の脱 Z 基

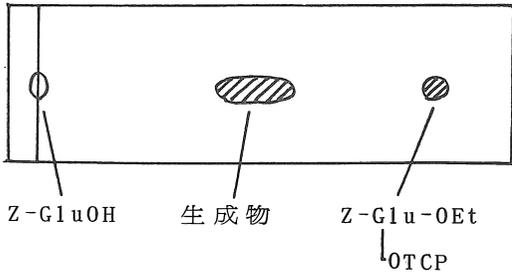
Z-Abu-Gly-OEt 6.8g (0.021mol) に HBr / AcOH 21ml を加え時々振りまぜながら室温に放置する (約 1 時間). TLC より反応の終点を確認後無水エーテルを加え沈澱させる. 2~3 回傾斜して NaOH 入りのデシケター中に乾燥する.

2: Coupling

上に得た H-Abu-Gly-OEt·HBr を DMF 10ml に溶解し冷却下に トリエチルアミン 2.9ml (0.021mol)

で中和したのち Z-Glu (OTCP) OEt 10.76g (0.022mol) を DMF 15ml にとかしたものを加え、N-メチルモルフォリン 3.2 ml にて PH 8 に調整後反応促進剤として HOBT (1-Hydroxybenz triazole) 0.2g を加え室温で反応させる。

TLC より反応の終点を確認後反応溶液に N,N-ジメチル-1,3-プロパンジアミン 1 ml を加え過剰の Z-Glu (OTCP) OEt を分解する。



展開溶媒 : CHCl_3 : MeOH : Pyridine
(95 : 5 : 3)

図 12

反応溶液に H_2O とクロロホルムを加えて溶解しクロロホルム層を N-HCl, H_2O , 5% NaHCO_3 , H_2O の順に洗滌後無水芒硝で乾燥する。エタノールより再結晶する。

収量 8g (80%) M.P. 165~166°C

8) N-Carbobenzoxy- γ -glutamyl- α -amino butyrylglycine (X) Z-Glu-OH の合成
└ Abu-Gly-OH

前記 tripeptide (IX) 2.4g (0.005mol) を THF 50ml に加熱溶解させる。徐々に注意して冷却し結晶が少し析出した時点で N-NaOH 11ml (0.011mol) を少量宛徐々に滴下する。滴下終了後室温に反応させ TLC により反応の進行状態を確認する。PH.7 に調整し減圧下に THF を溜去し N-HCl で酸性にすると結晶が析出する。エタノールヘキサンより再結晶する。

収量 1.64g (78.1%) M.P. 168.5~170.5°C.

9) Ophthalmic acid (XI) Glu-OH の合成
└ Abu-Gly-OH

上記 Tripeptide (X) 5.3g (0.01mol) をメタノール 70 ml にとかし少量の Pd-黒を加えて接触還元して Z 基を脱離させる。2~3 時間後触媒を濾別し母液を濃縮乾溜し IR-45 (500ml) のカラムを通して精製を行う。

収量 2g (70%) M.P. 177~178°C.

天然の Ophthalmic acid に完全に一致する。

引用文献

- 1) Biochem. J., **68**, 189 (1958).
- 2) Chem. Ber., **65**, 1192 (1932).
- 3) J. A. C. S., **76**, 3115 (1954).
- 4) 同上 **76**, 4751 (1954).
- 5) Nature., **175**, 685 (1955).
- 6) Chem. Pharm. Bull., **15**, 909 (1967).