with ether or ethyl acetate at an optimum pH. Unchanged, free bases of (I) and (II) were obtained in 57% and 26% yield, respectively, and a very small amount of the acetylated compound of (I). (III) and (IV) yielded oxidation products, *p*-(carboxymethyl)-phenylsulfonamide and *p*-(carboxymethyl)-phenyl methyl sulfone in 58% and 55% yield, respectively. The free bases of these compounds were not recovered. These results led to the conclusion that the oxidation of aminomethyl group was interfered by the introduction of a methyl group into the α -position of the amino radical.

(Received September 19, 1952)

460. 松川泰三, 万木庄次郎: Vitamin B₁ 及び諸関係化合物の研究 (第 39 報*)
Allithiamine の構造について

Taizo Matsukawa and Shojiro Yurugi: Studies on Vitamin B₁ and
Related Compounds. XXXIX. Structure of Allithiamine.

(Research Laboratory, Takeda Pharmaceutical Industries, Ltd.**)

前報においてニンニク (*Allium sativum* L. var. *japonicum* Kitamura) のアルコール抽出液と B₁ との反応溶液中から mp 132~133° (decomp) を示す無色菱形結晶の分離に成功し, これが藤原等の発見, 命名した allithiamine に他ならないことを明らかにした。更に分子量測定及び元素分析の結果からこれに組成式 C₁₃H₂₂O₂N₄S₂ を与え, その性状並びに吸収スペクトルから B₁-disulfide に類似した構造を持つ化合物であろうと推定した。

その後 allithiamine の加水分解及び還元を行い, その生成物を捕捉, 究明することにより allithiamine の構造を確定することが出来たのでここに報告する。

allithiamine に塩酸を作用させると先ず塩酸塩 (mp 151~152° (decomp)) となるが過剰の塩酸を加熱すると分解して油分が分離して来る。これをクロロホルムで抽出し母液を水蒸気蒸留に付しその蒸留分について Snell の義酸反応¹⁾を試みた所明らかに陽性を示し, 義酸の存在を証明することが出来た。また残留分を濃縮しアルコールで処理すると多量の 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (I) 塩酸塩が結晶として得られた。なお allithiamine の塩酸分解生成物を予試験的に paper partition chromatography により検べると (I) の他に極く微量の thiochrome 及び B₁ の分別帯が認められたが, この両者の生成は副反応によるものと考えられ, これを結晶として分離することは出来なかつた。次にクロロホルム抽出液を減圧下に濃縮し, 残留する油状物質を酢酸溶液中で重鉛末で還元すると揮発性の油分と不揮発性の油分とに分れる。両者共にニトロプルシッド反応陽性を示し, 前者はその臭気から allylmercaptan (IV) と考えられ, 後者はその特有の糠様臭気から γ -aceto- γ -mercaptopropyl alcohol (III) と推察されるが更にこれを確認するため本物質と 2-methyl-4-amino-5-form-aminomethylpyrimidine (V) とを義酸中で縮合させたところ予想通り B₁ (VI) を塩酸塩として捕捉することが出来²⁾, (III) に間違ないことが分つた。従つて allithiamine を加水分解して生成する油状物質は (IV) と (III) との 2 種のメルカプタンが disulfide となつて結合している α -aceto- γ -hydroxypropyl allyl disulfide (II) と考えられる。

次に allithiamine をアルコール性塩酸溶液中で重鉛末を用いて還元すると allylmercaptan [IV] の特異な臭気を放つと同時に溶液はチオクロム反応陽性となり, これから B₁ (VI) の塩酸塩を結晶として分離することが出

* 第 38 報: 松川, 万木: 本誌 72, (1952)

** Jusonishino-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka.

1) Snell: "Colorimetric Methods of Analysis" Vol. II, 105.

2) 松川, 万木: 本誌 71, 634 (1951).

来た。

以上の結果から allithiamine に対し 2-[2'-methyl-4'-aminopyrimidyl(5')]-methyl-formamino-5-hydroxy-4²-pentenyl(3) allyl disulfide (VII) なる構造式が与えられる。

即ち allithiamine (VII) は塩酸により 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (I) と義酸と α -aceto- γ -hydroxypropyl allyl disulfide (II) との3成分に分解され、これは先に著者等³⁾が thiol 型 B₁ の 2,4-dinitrophenyl 体 (VIII) の加水分解の際認めたと全く同一の分解方式に従っており、allithiamine が thiol 型 B₁ の誘導体なることを示す有力な証拠となるものである。また酸性溶液中における還元に際しては B₁-disulfide と同様 -S-S- 結合が還元され⁴⁾、allylmercaptan (IV) が生成すると同時に thiol 型 B₁ が生成し、これが直ちに閉環を起して ammonium 型 B₁ (VI) になる

ものと考えられる。

さて以上の研究により allithiamine の構造は判明したが、ここで問題になるのは、これがニンニク中の何れの成分と B₁ との反応により生成したかということである。ニンニクの成分としては種々のものが発見されているが allithiamine の構造から考えて先ず対象となるのはその含硫成分である。加来⁵⁾は朝鮮産のニンニクを水蒸気蒸留して得られる精油は diallyl disulfide, diallyl trisulfide, dipropyl disulfide 等が主成分であると報告している。又 Cavallito, Bailey 等⁶⁾はセイヨウニンニク (*Allium sativum* L.) から新有効成分を分離してこれに allicin なる名称を与え、その構造は allyl 2-propene-1-thiolsulfinate (IX) であると報告し、更に多数の同族体を合成して抗菌作用を検べ⁷⁾、セイヨウニンニクの有効成分の本態は allicin なることを明らかにした。その後 Stoll 等⁸⁾はセイヨウニンニクから新たに alliin なる成分を分離し、allicin (IX) は alliin から alliinase による酵素分解により二次的に生成したものであると述べている。

そこで著者等は allylmercaptan, diallyl disulfide 及び allicin (IX) を合成して、これ等を前報のニンニク

3) 松川, 岩津: 本誌 70, 52 (1950).

4) Zima, Williams: Ber. 73, 941 (1940).

5) 加来: 本誌 46, 866 (1926).

6) Cavallito, Bailey: J. Am. Chem. Soc. 66, 1950(1944); Cavallito, Buek, Suter: Ibid. 66, 1952(1944).

7) Small, Bailey, Cavallito: J. Am. Chem. Soc. 69, 1710 (1947).

8) Stoll, Seebeck: Helv. Chim. Acta 31, 189 (1948); 32, 197 (1949).

成分の場合と同様の条件下で B_1 と反応させたところ前二者では殆んど allithiamine の生成を認めることは出来なかつたが, allacin (IX) との反応の際は収量よく allithiamine (VII) を得ることが出来た. なお日本種のニシキ (*Allium sativum* L. var. *japonicum* Kitamura) の成分として未だ allacin は発見されていないが上記の結果からこれが存在していることはほぼ確実で, これと B_1 との反応により allithiamine (VII) が生成したものと考えられる. またこの反応は thiol 型 B_1 (X) と allacin (IX) との反応であるからその生成過程としては, 反応溶液中において ammonium 型 B_1 (VI) と thiol 型 B_1 (X) との平衡状態が thiol 型 B_1 (X) の消費により破れ, 総ての B_1 が thiol 型として allithiamine (VII) の生成に与つたものと思われる.

終りに本研究に当り終始御鞭撻を賜つた朝比奈泰彦先生及び所長桑田智博士に深謝する. また元素分析を担当された菅, 鈴木, 小林の諸氏に感謝する.

実 験 の 部

Allithiamine の塩酸分解 a) Paper Partition Chromatography による分解生成物質の検索: (i) 展開条件 展開液 ブタノール: 酢酸: 水 = 4:1:5, 展開温度 $20 \pm 1^\circ$, 展開時間 14~15 hrs, 濾紙 東洋濾紙 No. 131. 装置 桑田等²⁾の考案した下降式装置を使用.

(ii) 検出試薬 D 試薬: Kraut-Dragendorff の処方に従つて調整. B 試薬: 飽和ブロム水に 10% シアンカリウム溶液をブロムの色が消失するまで加える. A 試薬: 5% 水酸化ナトリウム溶液にイソブタノールを飽和させる.

(iii) 試料の調整 allithiamine 0.1 g を 10% 塩酸 3 cc に溶解し, 30 分間加熱し還流させる. 溶液は漸次白濁して来るので冷後水を加えてクロロホルムで分液抽出して油分を除き, 水層を脱色後減圧下に乾固し, 残留物の一部を水に溶解し上記の条件で PPC による検索を試みた. 先ず紫外線下に照射して微量の thiochrome ($R_f = 0.3$) の像を認め, 次に D 試薬により多量の紫紅色の呈色像 ($R_f = 0.22 \sim 0.23$) 及び微量の朱紅色の呈色像 ($R_f = 0.26 \sim 0.27$) を検出した. 紫紅色の呈色像は B, A 試薬により thiochrome を生成せず, 又その紫色がかつた色調の相異からビリジジン誘導体であろうと推定されたが, 別に試みた基準物質の R_f 値との一致から 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine 塩酸塩と思われる.

b) 分解物質の捕捉及び確認: allithiamine 0.5 g を 10% 塩酸 10 cc に溶解し水浴上に 30 分間還流させると油が分離して乳濁する. 冷後クロロホルム 20 cc を加えて油分を抽出.

(i) 水層の処理 水層を水蒸気蒸留して得られた留液について Snell の反応を試み義酸の存在を証明した. 次に残留液を減圧下に乾固し, 99% アルコール少量を加えて氷冷すると無色の針状結晶が析出する (収得量 300 mg). mp $262 \sim 263^\circ$ (decomp). チオクロム反応は陰性. 更に水及びアルコールから再結晶し mp 266° (decomp) の無色針状結晶, 既知の 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine 塩酸塩と混融しても変化なく, 元素分析値も良く一致. $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{Cl}_2$ 計算値 N 26.54, 実験値 N 26.19.

本品の一部を水に溶解しアルコール性飽和ピクリン酸溶液を加えて, 沈澱するジピクラートを数回アルコールから再結晶すると mp 229° (decomp) の黄色針状結晶. $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_{14}\text{N}_{10}$ 計算値 N 23.49, 実験値 N 23.36.

なお PPC による予試験で検出された B_1 及び thiochrome は微量のため捕捉することが出来なかつた.

(ii) クロロホルム抽出液の処理 クロロホルム抽出液を水洗後脱水して減圧下に乾固すると油分が残留. この油分を氷醋酸 2 cc に溶解し亜鉛末 0.3 g と共に水浴上に 10 分間加熱して還元する, その際排出する気体を希アルカリ溶液中に導いて吸収させる. この溶液の一部にニトロプルシッドナトリウム溶液を加えると直ちに紫紅色となり, 明らかに遊離の -SH 基の存在を示し, 又その特異な臭気から判断して, この気体は allylmercaptan と思われる. 次に還元後の溶液を濾過して亜鉛を除き, 希醋酸水溶液で数回洗滌し, 濾液及び洗液を合せて

再び減圧下に乾固。残留物に稀塩酸を加えると油が分離するのでクロロホルムで抽出し、脱水後減圧下に乾固して油分 163 mg を得。本品は烈しい米糠様の臭気を有することから γ -aceto- γ -mercaptopropyl alcohol と推定したが、更にこれを証明するためこの油分 163 mg に 2-methyl-4-amino-5-formaminomethylpyrimidine 塩酸塩 250 mg を加え、脱水酸素 4 cc を溶媒として 110° に 30 分間加熱反応させた。反応後減圧下に乾固し、得られた残留物に水を加えて溶解し、クロロホルム可溶物を除き、脱色後再び減圧下に乾固。次にアルコール性塩酸少量を加えて水浴上に暫く還流し、多量のアセトンを加えて氷冷し析出する無色の結晶を汙取 (収得量 0.3 g)。これは 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine 塩酸塩と B₁ 塩酸塩との混合物で、これに 0.4 cc の塩酸及び 0.4 cc の純アルコールを加えて暫くかきまぜると、前者の aminomethylpyrimidine 体のみが不溶なので分離、回収される (回収量 144 mg)。この汙液を減圧下に乾固した後水に溶解し、脱色後減圧下に濃縮し無水アルコール 5 cc を加えて放冷すると B₁ 塩酸塩の無色針状晶が析出 (収得量 18 mg)。本品は mp 243° (decomp) で既知の B₁ 塩酸塩と混融しても変化を認めなかった。

Allithiamine の塩酸塩 Allithiamine をアルコール性塩酸の少量に溶解し、無水エーテルを加えて一夜放置すると器壁に無色針状晶の塩酸塩が析出する。mp 151~152° (decomp). C₁₅H₂₂O₂N₄S₂·HCl 計算値 C 46.08, H 5.93, N 14.33, 実験値 C 46.22, H 6.16, N 14.22.

Allithiamine の還元 Allithiamine 0.5 g を 10%アルコール性塩酸 5 cc に溶解し、亜鉛末 0.17 g を加え時々ふりまぜながら室温に 20 時間放置。この際 allylmercaptan 臭を放つ。次に水で稀めて硫化水素を飽和して沈澱する硫化亜鉛を汉別し、汉液を減圧下に濃縮し熱純アルコール 6 cc を加えて放冷すると B₁ 塩酸塩の結晶 311 mg を得。更に水及びアルコールから再結晶すると mp 249° (decomp) を示し既知の B₁ と混融しても変化を認めなかった。

Allithiamine の合成 Diallyl disulfide 2 g を氷酢酸 12 cc に溶解し、32%過酸化水素水 1.45 g を水で冷却しながら徐々に加えると僅かに発熱して反応。一夜放置後水 100 cc を加えて稀釈し、炭酸水素ナトリウムを加えて大体中和する。別に B₁ 塩酸塩 2.2 g を水 20 cc に溶解し、10%水酸化ナトリウム溶液で予め pH 8 に調整したものを用意し、之に上記の allicin 溶液を加え、更に 99%アルコール 200 cc を加えると溶液は透明となる。次に 10%水酸化ナトリウム溶液で pH 8 に調整し 50~60° の浴温中で加温すると反応の進行に従い酸性に傾くから、アルカリ溶液を加えて pH 8 を保つようにする。約 1 時間後には B₁ の実性反応であるチオクロム反応は陰性となり、反応の完結を示す。数回脱色後減圧下にアルコール分を留去し、多量のエーテルで抽出し、脱水後乾固すると飴様物質を得。之にベンゾールを加えて暫く器壁を研磨すると結晶化。汉別して粗結晶 1.8 g を得た。之をベンゾールから数回再結晶すると無色菱形結晶となる。mp 132~133° (decomp)。収得量 1.5 g。C₁₅H₂₂O₂N₄S₂ 計算値 C 50.82, H 6.26, N 15.81, S 18.09, 実験値 C 50.54, H 6.03, N 15.69, S 17.89.

武田薬品工業株式会社研究所

Summary

Hydrolysis of allithiamine with hydrochloric acid was found to yield formic acid, 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (I), and α -aceto- γ -hydroxypropyl allyl disulfide (II). Reduction of (II) in acetic acid solution with zinc dust yielded allylmercaptan (IV) and γ -aceto- γ -mercaptopropyl alcohol (III). Reduction of allithiamine in alcoholic hydrochloric acid with zinc dust resulted in the formation of allylmercaptan (IV) and vitamin B₁ (VI). From these results, the structure of 2-[2'-methyl-4'-amino-pyrimidyl(5')]-methylformamino-5-hydroxy-4²-pentenyl(3) allyl disulfide (VII) can be given to allithiamine. Further examinations were made to find which of the component of garlic bulbs reacted with vitamin B₁ to form allithiamine and it was found that the latter was formed by the reaction of allicin (IX) and vitamin B₁.

(Received September 19, 1952)