into saturated acids (19.5%), composed of palmitic and stearic acids, and unsaturated acids (80.5%) by Twitchell's method. The unsaturated acids were chiefly composed of oleic acid and 11.5% of linoleic acid. Linolenic acid was not found. By the extraction of the seeds with methanol, the presence of glucose (as glucosazone) and mannitol (as tribenzal derivative) was confirmed. From the ethereal extract of pericarp, crude triterpenoid (1.4%) was obtained and from which oleanolic acid was isolated. Pericarp contains a tolerable amounts of glucose. The amount of reducing sugar (as glucose) of epicarp, pulp, and seed average 22.5%, 40.85%, and 15.5%, respectively.

(Received April 1, 1953)

179. 松川泰三, 川崎 弌: Vitamin B₁ 及び諸関係化合物の研究 (第 44 報*)

Disulfide 型 B₁ 誘導体の化学変化について

Taizo Matsukawa and Hazime Kawasaki: Studies on Vitamin B₁ and Related Compounds. XLIV. Chemical Changes of the Derivatives of Disulfide-type Vitamin B₁.

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

前報¹⁻²⁾で allithiamine の化学変化について報告したが、本報ではこの系統の化合物 2-[2'-methyl-4'-aminopyrimidyl-(5')]-methylformamino-5-hydroxy-4^a-pentenyl-(3) alkyl disulfide (I) (以下 thiamine alkyl disulfide と略称する) 及び先に Zima³⁾ 等の得た B₁-disulfide (II) が熱、アルカリ、酸等に対してどのような化学変化を示すかを比較検討した。

thiamine methyl disulfide (I : R=CH₃) をシクロヘキサノール中で加熱すると methyl mercaptan の臭気を放ちながら分解するのが認められ、その反応液を paper partition chromatography (PPC) に付すると thiochrome (III) 及び 3-[2'-methyl-4'-aminopyrimidyl-(5')]-methyl-4-methyl-5-β-hydroxyethylthiazole-2-thione (SB₁) (IV) と予想される分別帯のみが得られ、これ等を反応液から結晶として捕捉し確認することもできた。しかし B₁-disulfide (II) の加熱分解³⁾ にあたり (III) と共に生成するといわれている 3-[2'-methyl-4'-aminopyrimidyl-(5')]-methyl-4-methyl-5-β-hydroxyethylthiazol-2-one (B₁-thiazolone) (V) はついに認めることができず、allithiamine の場合³⁾ と同様の結果を得た。Disulfide 型 B₁ の加熱による変化で (I) からは SB₁ (IV), (II) からは B₁-thiazolone (V) が生成することは甚だ興味深いことであるが、著者等は念のため (II) の加熱分解による生成物を PPC を用いて再検討した。(II) をエチレングリコール中で加熱分解し、冷後反応液にアセトンを加えて析出物を濾取するとほとんど無色の mp 200~210° を示す結晶が得られたが、本品をブロムシアン溶液とともに加熱すると強くチオクロムの螢光を現わし、また一部を PPC に付すると、B₁-thiazolone (V) と予測される分別帯が顕著に認められ、その他に Rf=0.72 に Dragendorff 試薬 (D 試薬) で朱紅色に呈色する分別帯と、微量の thiochrome (III) が検出される。Rf=0.72 の分別帯は SB₁ (IV) の Rf 値によく一致し、またブロムシアン試薬 (B 試薬) と加熱後アルカリ試薬 (A 試薬) によつて thiochrome 特有の紫色の螢光を放つこと等から上記の結晶中には SB₁ (IV) が混入しているものと考えられる。本品を熱湯から数回結晶すると mp 230~232° を示す無色の針状結晶となり B₁-thiazolone (V) と混融しても融点はほとんど降下しないが、この純粹と思われる結晶でもこれを PPC に付すると D 試薬では検出されないが、B, A 両試薬に

* 第 43 報: 松川, 岩津, 川崎: 本誌 73, 497 (1953). ** Jusonishino-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka.

1) 松川, 万木: 本誌 72, 1616 (1952).

2) 松川, 万木: 本誌 73, 73 (1953).

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

4) Sykes, Todd: J. Chem. Soc. 1951, 534.

よりあきらかに SB_1 (IV) が検出される。また母液からは thiochrome (III) が結晶として分離される。以上の結果から (II) の加熱分解で生成する主成分は文献^{3,4)} 記載のように確かに (III) と (V) であるが、この他に SB_1 (IV) を微量副生することが分つた。しかし B_1 -thiazolone (V) と SB_1 (IV) とは溶解度が似ているので、それらの分離は困難で、(V) を純粋に得るには別途の合成法^{5,6)} によらねばならない。

つぎに (I) のアルカリ域における変化を検べた。thiamine methyl disulfide (I : R=CH₃) あるいは thiamine butyl disulfide (I : R=C₄H₉) を 50%アルコールに溶かし、希水酸化ナトリウム溶液で pH 8~9 に調節しながら 50~60° に加温して 30, 60 分、2.5 時間後の変化をそれぞれ PPC によって検べたところ 30 分後には既に多量の B_1 (VI), B_1 -disulfide (II) が検出され、60 分、2.5 時間後でもメチル誘導体の場合に微量の thiochrome (III) が検出された以外は何らこれ以上の変化は認められなかつた。原料 (I) は 2.5 時間後でもなお残存することが確かめられた。しかしさらに 30 分沸騰水浴上に加熱すると上記の化合物以外に (V), (IV) 等も検出することができる。

また (I) の場合と同条件で B_1 -disulfide (II) のアルカリ域における変化を検べたところ 60 分後では Zima 等³⁾ の報告と同様 B_1 (VI) の生成しか認められなかつたが、2.5 時間後ではこの他に微量の (III), (V) と極めて微量の (IV) を検出した。さらに 30 分沸騰水浴上に加熱すると (IV) の生成が著しく増大する。しかしこの場合でも原料 (II) はなお残存するのを認める。一方前報²⁾ において allithiamine をアルコール溶液中 pH 8 で 60°, 2.5 時間加熱した場合には (II) の生成を認めなかつたが、今回同条件で 60 分後の変化を検べたところ、(I) の場合と同様多量の B_1 (VI) の他 (II) も検出され、また同時に (III), (IV), (V) も検出された。

以上の結果から B_1 -disulfide (II) はアルカリ溶液中で主に B_1 に変化することが分つたが、その他に (III), (IV), (V) の副生するのが認められた。これらのものは先にアルカリ溶液中で B_1 から生成することが知られている⁷⁾ ので、恐らく (III), (IV), (V) は、(II) から B_1 を介して二次的に生成したものと考えられる。また (I) は主に B_1 (VI), B_1 -disulfide (II) に変化することが分つたが、同時に副生する (III), (IV) 及び (V) は上記と同様の過程を経て生成したものと考えられる。

最後に thiamine methyl disulfide (I : R=CH₃) を過剰の塩酸と加熱したところ allithiamine の場合¹⁾ と全く同様に分解した。即ちこの際分離して来る油分をクロロホルムに転溶した母液から義酸の存在を証明し、多量の 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (VII) 塩酸塩が結晶として得られた。つぎにクロロホルム層を減圧下に濃縮し、残留する油状物質を酢酸溶液中亜鉛末で還元すると、ニトロプルシッド反応陽性で糠様臭気を持つ油分が得られ、これを義酸中 2-methyl-4-amino-5-formaminomethylpyrimidine (VIII) と縮合させることによつて B_1 (VI) を塩酸塩として捕捉することができた。従つて一般に (I) は塩酸により次式のように分解

5) 松川, 岩津: Science **115**, 213 (1952); 本誌 **72**, 369 (1952).

6) Sykes: J. Chem. Soc. **1951**, 2507.

7) 松川, 万木: 本誌 **72**, 1599 (1952).

されるものと思われる。

本研究に当り終始御鞭撻を賜つた研究所長桑田 智博士に謹謝する。

実 験 の 部

Paper Partition Chromatography (PPC) 展開条件及び検出試薬 展開液: 酢酸・ブタノール・水 (1:4:5), 展開温度 $18 \pm 1^\circ$, 展開時間 14~15 時間. 濾紙: 東洋濾紙 No. 131. 装置: 桑田等⁸⁾ の考案した下降式装置. 検出試薬: 第 37 報⁷⁾ 参照.

基準物質の展開 a) B₁, b) thiochrome, c) B₁-disulfide, d) B₁-thiazolone, e) SB₁, 以上 5 種の化合物は第 37 報⁷⁾ 参照. f) allithiamine, Rf=0.80 (± 0.02), g) thiamine methyl disulfide, Rf=0.69 (± 0.02), h) thiamine butyl disulfide, Rf=0.82 (± 0.01). f), g), h) はいずれも D 試薬で朱紅色に呈色, また C 試薬をかけて加熱乾燥後 B 試薬及び A 試薬を順次かけると生成する thiochrome の螢光により検出される.

Thiamine methyl disulfide の加熱分解 thiamine methyl disulfide 0.5 g をシロヘキサノール 3 cc に溶かし $150 \sim 160^\circ$ に 10 分間加熱すると methyl mercaptan 臭を発して分解し反応液は黄褐色に着色する. 放冷すると黄色結晶が析出するので, これにアセトン 15 cc を加えて不溶物を濾取, 温湯から再結晶し mp $228 \sim 229^\circ$ (decomp) の微黄色針状結晶, thiochrome と混融しても変化せず. 母液のシクロヘキサノール・アセトン混液を減圧下に濃縮乾固して得られる淡黄色結晶性粉末の一部について PPC を行い, Rf=0.45~0.47 に thiochrome 及び Rf=0.71~0.73 に SB₁ を検出した. さらにこれを温湯で洗滌後熱湯から再結晶し mp $235 \sim 237^\circ$ の無色針状結晶. SB₁ と混融しても降下せず.

B₁-Disulfide の加熱分解 B₁-disulfide 1 g をエチレングリコール 1 cc に溶かし, 5 分間加熱還流させ, 冷後アセトン 10 cc を加え不溶物を濾取, 少量のアセトンで洗滌すると mp $200 \sim 210^\circ$ のほとんど無色の結晶 0.2 g を得. 本品をブロムシアン溶液とともに加熱するとチオクロムの螢光を強く現わし, その一部を稀酢酸に溶かし PPC に付すると多量の B₁-thiazolone (Rf=0.62), 微量の SB₁ (Rf=0.72), 極めて微量の thiochrome (Rf=0.45) が検出される. 本品を熱湯から再結晶し mp $230 \sim 232^\circ$ の無色針状結晶, B₁-thiazolone と混融し融点降下せず. PPC に付すると B, A 両試薬で SB₁ (Rf=0.72) が明らかに検出される. なお母液を減圧下に乾固し, 残留する餾状物にアセトンを加えると黄色結晶を得. 濾取, 温湯から再結晶, mp $228 \sim 229^\circ$ (decomp), 微黄緑色針状結晶, 0.2 g. thiochrome と混融し変化せず.

pH 8~9 における thiamine methyl disulfide の変化 a) thiamine methyl disulfide 0.5 g を 50% アルコール 8 cc に溶かし, 1% 水酸化ナトリウム溶液で pH 8~9 に調節しながら $50 \sim 60^\circ$ に加熱し 30, 60 分及び 2.5 時間後それぞれ反応液の一部を酢酸酸性として PPC に付した. 30, 60 分後では多量の B₁ (Rf=0.28), B₁-disulfide (Rf=0.38 ± 0.02) 及び原料 (Rf=0.69 ± 0.01) 等が検出され 2.5 時間後には以上の他 thiochrome (Rf=0.44 ± 0.01) が検出される.

b) 上記 2.5 時間後の反応液をさらに 30 分沸騰水浴上に加熱後一部を酢酸酸性として PPC を行い, B₁ (Rf=0.31), B₁-disulfide (Rf=0.42) と微量の thiochrome (Rf=0.46), B₁-thiazolone (Rf=0.60) 及び SB₁ (Rf=0.70) 等を検出した.

pH 8~9 における thiamine butyl disulfide の変化 thiamine butyl disulfide 0.2 g を 50% アルコール 10 cc に溶かし, 1% 水酸化ナトリウム溶液で pH 8~9 に調節しながら $50 \sim 60^\circ$ に加熱し 30, 60 分, 2.5 時間後その反応液の一部を酢酸酸性として PPC を行い, B₁ (Rf=0.28), B₁-disulfide (Rf=0.38) 及び原料

(Rf=0.82) 等を検出した。さらに 30 分沸騰水浴上に加熱した後同様に PPC を行い、B₁ (Rf=0.29), B₁-disulfide (Rf=0.41), 原料 (Rf=0.82) 以外に微量の thiochrome (Rf=0.45), B₁-thiazolone (Rf=0.58), SB₁ (Rf=0.67) 等を検出した。

pH 8~9 における B₁-disulfide の変化 B₁-disulfide 0.5 g を 50%アルコール 8 cc に溶かし、1%水酸化ナトリウム溶液で pH 8~9 に調節しながら 50~60° に加熱し、60 分及び 2.5 時間後反応液の一部を酢酸酸性とし PPC を行つた。60 分後には多量の B₁ (Rf=0.31) と原料 (Rf=0.40) を、2.5 時間後には B₁ (Rf=0.30), 原料 (Rf=0.40) と微量の thiochrome (Rf=0.45), B₁-thiazolone (Rf=0.60) 及び極めて微量の SB₁ (Rf=0.68) 等を検出した。さらに 30 分沸騰水浴上に加熱した後の反応液を同様に PPC に付し、多量の B₁ (Rf=0.32), B₁-disulfide (Rf=0.42) と thiochrome (Rf=0.48), B₁-thiazolone (Rf=0.61), SB₁ (Rf=0.68) 等を検出した。

pH 8~9 における allithiamine の変化 allithiamine 0.1 g を 99%アルコール 50 cc, 水 7 cc の混液に溶かし、1%水酸化ナトリウム溶液で pH 8~9 に調節しながら 50~60° に 1 時間加熱すると反応液は黄色に着色しチオクロム反応は強陽性となる。減圧下に濃縮し少量の水を加えて稀釈し酢酸酸性としてエーテルで抽出する。エーテル抽出液を濃縮して PPC を行い、多量の未反応の allithiamine (Rf=0.80), 微量の B₁ (Rf=0.28) B₁-disulfide (Rf=0.37) 等を検出した。さらに水層を濃縮後 PPC を行い、多量の B₁ (Rf=0.34), B₁-disulfide (Rf=0.42) のほか、微量の thiochrome (Rf=0.49), B₁-thiazolone (Rf=0.62), SB₁ (Rf=0.72) 及び allithiamine (Rf=0.81) 等を検出した。

Thiamine methyl disulfide の塩酸分解 thiamine methyl disulfide 0.5 g を 10%塩酸 10 cc に溶かし水浴上に 30 分加熱すると次第に白濁して油が分離する。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分について chromotropic acid による義酸の反応⁹⁾を試みその存在を証明した。次に残留液を減圧下に乾固し 99%アルコールを加えて析出する結晶を濾取、80%アルコールから再結晶、mp 264~265° (decomp), 無色針状結晶。2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine 塩酸塩と混融して変化しない。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。これを水酢酸 2 cc に溶かし亜鉛末 0.3 g を加えて水浴上 10 分間加熱して還元後、亜鉛を濾別して濾液を乾固。残留物に希塩酸を加えると油が分離する。これをクロロホルムに転溶、クロロホルム減圧下に留去、残留油分はその烈しい糠様臭気から γ -aceto- γ -mercaptopropyl alcohol と思われるので、これに 2-methyl-4-amino-5-formaminomethylpyrimidine 塩酸塩 0.2 g, 義酸 3 cc を加えて 100~110° に 40 分加熱すると反応液はチオクロム反応強陽性となる。つぎに減圧下に乾固して少量の水を加え不溶の油分をクロロホルムに転溶、水層を脱色後減圧下に乾固、残留物に少量の塩酸アルコールを加え少時水浴上に加温し冷後アセトンを加えて析出する結晶を濾取、これを濃塩酸 0.4 cc, 99%アルコール 0.4 cc の混液に加えて不溶物を濾去し、濾液を再び減圧下に乾固、99%アルコールを加えると mp 245~248° (decomp) の結晶を得。チオクロム反応強陽性。B₁ 塩酸塩と混融して変化しない。

武田薬品工業株式会社研究所

Summary

Heating of 2-[2'-methyl-4'-aminopyrimidyl-(5')]-methyl-formamino-5-hydroxy- Δ^2 -pentenyl-(3) alkyl disulfide (vitamin B₁ alkyl disulfide) (I) in cyclohexanol results in its decomposition to thiochrome (III) and 3-[2'-methyl-4'-methylpyrimidyl-(5')]-methyl-4-methyl-5- β -hydroxyethylthiazole-3-thione (SB₁) (IV). Heating of vitamin B₁ disulfide (II) in ethylene glycol results in its decomposition to (III) and 3-[2'-methyl-4'-methylpyrimidyl-(5')]-methyl-4-methyl-5- β -hydroxyethylthiazol-2-one (vitamin B₁-thiazolone) (V), with a minute amount of (IV) as a by-product which was confirmed by the paper partition chromatography. Heating of (I) in alkaline medium results in the formation of vitamin B₁ (VI), (II), (III), (IV), and (V), while the similar heating of (II) yields (VI), (III) (IV), and (V). These components were all proved by the paper partition chromatography. Heating of (I) with hydrochloric acid results in its decomposition into formic acid, 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine, (VII), and α -aceto- γ -hydroxypropyl alkyl disulfide.

(Received April 1, 1953)

9) Feigl: "Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfel Reaktionen" 3 Auflage, S. 431 (1938).