N-置換 Piperazine 類の確認: 各々について第1報¹⁾(Table II)及び Table III に示す如き誘導体を合成し,更に別法により合成したものと混融し融点降下のない事を確認した。Table III には第1報に記載した以外の誘導体をかかげる。N-methylpiperazine di-2,4-dinitrophenolate. $C_5H_{12}N_2 \cdot 2C_6H_4N_2O_5$ 計算値 C 43.57, H 4.30. 実験値 C 43.83, H 4.55. N-ethylpiperazine dipicrate. $C_6H_{14}N_2 \cdot 2C_6H_3N_8O_7$ 計算値 N 19.58, 実験値 N 19.57. N-propylpiperazine dipicrate. $C_7H_{16}N_2 \cdot 2C_6H_3N_8O_7$ 計算値 N 19.12, 実験値 N 19.16. N,N'-dimethylpiperazine di-2,4-dinitrophenolate. $C_6H_{14}N_2 \cdot 2C_6H_4N_2O_5$ 計算値 N 17.43, 実験値 N 17.13. N-ethyl-N'-phenylpiperazine monomethiodide. $C_{10}H_{14}N_2 \cdot CH_3I$ 計算値 N 8.44, 実験値 N 8.24.

京都大学医学部薬学科

Summary

The vapor-phase reaction of N-alkyldiethanolamine and ammonia, in the presence of various dehydration catalysts resulted in the formation of the corresponding N-methyl-, -ethyl-, -propyl-, and -butyl-piperazines in 2~20% yield. Catalytic vapor-phase reaction of N-alkyldiethanolamine and aliphatic and aromatic amines gave the corresponding N,N'-dimethyl-, N-methyl-N'-phenyl-, and N-ethyl-N'-phenyl-piperazines in 7~32 % yield. Examination of various reaction conditions revealed that silica-alumina coprecipitate was the best as the catalyst and that the optimal reaction temperature was 325° for ammonia and aliphatic amines, and 450° for aromatic amines.

(Received March 2, 1955)

175. 岩津岳夫：Dihydrothiamine について (Vitamin B₁ 及び諸関係化合物の研究 第70報*)

Takeo Iwatsu: Studies on Vitamin B₁ and Related Compounds. LXX.

Synthesis and Reactions of Dihydrothiamine.

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

1938 年 Lipmann¹⁾ 等は thiamine (I) に sodium hyposulfite を作用させて 3-[2'-(methyl-4'-aminopyrimidyl)-(5')]-methyl-4-methyl-5- β -hydroxyethyl-2,3-thiazoline (II) (以下 dihydrothiamine と略称する) の生成を推定した。しかし 1945 年に至り Karrer²⁾ 等は上記反応で dihydrothiamine (II) は得られず、単に thiamine が分解されるに過ぎないことを証明した。さらに同氏³⁾ 等は 1950 年に thiamine (I) を脱水 tetra-

* 本研究は松川泰三：Vitamin B₁ 及び諸関係化合物の研究 (Taizo Matsukawa: Studies on Vitamin B₁ and Related Compounds) の一部である。

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

1) F. Lipmann, G. Perlmann: J. Am. Chem. Soc. **60**, 2574 (1938).

2) P. Karrer, W. Graf, J. Schukri: *Helv. Chim. Acta* **28**, 1923 (1945).

hydrofuran 中 lithium aluminum hydride で還元して始めて dihydrothiamine (II) を捕捉し、その後 thiamine (I) を同様に lithium aluminum hydride で還元して dihydrothiamine (II) を得た⁴⁾。

また Henessy⁵⁾ 等は thiamine (I) を sodium trimethoxyborohydride で還元して dihydrothiamine (II) を得たが、これらいずれの方法もその収量は悪く、dihydrothiamine (II) の医学的あるいは化学的検討を施すためその相当量を合成するのはかなり困難である。よつて著者は今回その合成について検討を加えた結果、極めて優秀な方法を発見するとともに dihydrothiamine (II) の化学的性状の一部を明らかにすることができた。

2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (IV)、 γ -aceto- γ -mercaptopropyl alcohol (V) およびホルムアルデヒドを希エタノール中で混和すると、冷時極めて容易に縮合し、高収量で dihydrothiamine (II) が得られた。ことに得た dihydrothiamine は mp 150° を示し***、Karrer 等の方法で thiamine の還元により得られたものと全く一致することを確認した。

しかし上記合成反応を水酸化ナトリウムの存在下に行うと mp 160° を示す無色針状結晶が得られ、本品は dihydrothiamine (II) と同一組成、同一分子量を有し、両者の混融試験を行うと中間で熔融し、また両者の赤外線スペクトルは僅かに異なるに過ぎない。(以後本品を isodihydrothiamine と仮称する)。

また Henessy⁵⁾ 等は dihydrothiamine を熱湯で処理して mp 175° の物質を捕捉し、その構造を推定した。dihydrothiamine (II) は水には難溶であるが熱湯または酸にはよく溶解し、冷後または酸を中和しても結晶は析出しないが、この溶液を処理すると Henessy 等と同様 mp 175° の無色稜柱状結晶が得られた。本品も dihydrothiamine (II) と同一組成、同一分子量を持つているが、dihydrothiamine または isodihydrothiamine と混融すると明らかに融点降下を示し、その赤外線吸収スペクトルもかなりの相違を示す。(以後本品を pseudo-dihydrothiamine と仮称する)。なお前述の dihydrothiamine を合成する際にも pseudo-dihydrothiamine が少量副生するが、これは一次的に生成した dihydrothiamine から変化してできたものではないかと考えられる。これ等の 3 者はその融点以外の諸性質は酷似しており、同一 Rf 値、同一化学反応を示すので、互いに甚だ近似した構造を持つものと思われるが、その構造については目下検討中である。

また 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (IV) とホルムアルデヒドを水溶液中で混和すると容易に反応して縮合体を生成する。本品はその元素分析値および従来の文献例から tri[2-methyl-4-aminopyrimidyl-(5)]methyltrimethylenetriamine (VI) と推定される。この縮合体と γ -aceto- γ -mercaptopropyl alcohol (V) を混和すると同じく dihydrothiamine またはその異性体が生成。

Karrer³⁾ 等は、dihydrothiamine (II) にヨードを反応させるとほぼその 1 分子を消費し、生成物は単一ではないが一部 thiamine (I) が再生するらしいと推定した。しかしこのような操作では thiamine (I) の生成は全く認められず、dihydrothiamine (II) を塩化第二鉄、ニトロプルシッドナトリウム、赤血塩等で処理して初めて thiamine (I) の生成を見た。iso- 或いは pseudo-dihydrothiamine も同様操作で thiamine (I) を生成する。

3) P. Karrer, H. Krishna: Helv. Chim. Acta **33**, 555 (1950).

4) P. Karrer, H. Krishna: Ibid. **35**, 459 (1952).

5) 122nd Annual Meeting of the American Chemical Society (1952).

*** Karrer 等は mp 138° と報告している。

更に dihydrothiamine (II) は酸に溶解して放置すると徐々に、また加熱すると急速に分解して前述の縮合体 (VI) になる。iso- 或いは pseudodihydrothiamine もこれと同一の分解反応を起す。

なお dihydrothiamine は十姉妹によるビタミン B₁ 欠乏症予防試験の結果 thiamine の約 1/10~1/15 の作用を示すことが分つた。これは恐らく生体内で本品から thiamine への脱水素反応が起り難いためと考えられる。

元来 thiamine は植物体内において合成されるもので、その生成機構については明らかではないが著者は上記の 5-aminomethylpyrimidine 体 (IV) とホルムアルデヒドと α -keto-thiol (V) との縮合による dihydrothiamine (II) の生成反応が生理的に近い条件下で高率をもつて行われること、並びにこれ等の原料物質がいずれも自然界において生成される可能性の多いことなどから、生合成の機構としては一旦上記反応により dihydrothiamine (II) が生成し、これに適当な脱水素酵素が作用して thiamine が生成すると推定することも無理ではないと考える。

終りに本研究に当り御鞭撻を賜つた所長桑田 智博士に謹謝し、元素分析を担当された菅、鈴木、塚本、中田、柏木、岡本の諸氏、分子量測定の方をとりれた伊藤氏に深謝する

実 験 の 部

Dihydrothiamine (i) LiAlH₄ 2.5 g を tetrahydrofuran 60 cc に浮遊させ、これに thiamine 塩酸塩 5 g を少量ずつ加え更に 4 時間かきまぜる。つぎに水 4 cc を注意して加え、不溶物を汙別、汙液に炭酸ガスを通じて析出する少量の沈澱を汙別、汙液を減圧で乾固し、残留物をエタノールから再結晶し mp 150° の無色針状結晶を得。本品はチオクロム反応弱陽性、水に難溶、熱湯、酸、エタノールに可溶。C₁₂H₁₈ON₄S 計算値 C 54.11, H 6.82, 実験値 C 53.94, H 6.72。

(ii) γ -aceto- γ -chloropropyl-(α) 2-methyl-3-chlorotetrahydrofuryl-(2) ether⁶⁾ 6 g と水 12 cc とを混じ水浴上 15 分間加熱して γ -aceto- γ -chloropropyl alcohol の溶液を造り、冷後エタノール 12 cc を加え、これに 10%水酸化ナトリウム溶液 17.6 cc に硫化水素を飽和した溶液を混和すると発熱して反応し γ -aceto- γ -mercaptopropyl alcohol の溶液を得。別に 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine 塩酸塩 8 g を 10%水酸化ナトリウム 30.4 cc に溶解し、これに上記メルカプタン溶液を加え、氷水中でよく冷却しながら 35%ホルムアルデヒド溶液 3.6 cc を混和してしばらく氷水中に放置すると白濁して油分が析出し次第に固化。これを搾取、水洗すると粗 dihydrothiamine 8 g が得られ、エタノールから再結晶し mp 150° の無色針状結晶、(i) で得られた標品と混融しても融点降下しない。C₁₂H₁₈ON₄S 計算値 C 54.11, H 6.81, N 21.04, 実験値 C 54.09, H 6.78, N 20.92。

再結晶母液を減圧で乾固し、飴状の残留物にエーテルを加えて放置すると次第に結晶化。これをエタノールから再結晶、mp 175° の無色稜柱状結晶。下記 pseudodihydrothiamine と混融しても融点降下しない。

Isodihydrothiamine (i) γ -aceto- γ -chloropropyl-(α) 2-methyl-3-chlorotetrahydrofuryl ether⁶⁾ 1.3 g, 水 2.6 cc を混じ水浴上 15 分間加熱、冷後エタノール 2.6 cc を加え、これに 10%水酸化ナトリウム溶液 3.8 cc に硫化水素を飽和した溶液を混和して γ -aceto- γ -mercaptopropyl alcohol 溶液を造る。別に 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine 塩酸塩 2 g を 10%水酸化ナトリウム 10 cc に溶解、これにエタノール 10 cc, 上記メルカプタン溶液及び 35%ホルムアルデヒド 0.9 cc を混和し 24 時間放置後、減圧でエタノールを留去すると結晶が析出。収量 0.5 g。エタノールから再結晶、mp 160° の無色針状結晶。C₁₂H₁₈ON₄S 計算値 C 54.11, H 6.81, N 21.04, 分子量 266.36, 実験値 C 54.08, H 6.68, N 20.14, 分子量 (Barger method 溶媒エタノール) 265 $\pm$ 5。

(ii) dihydrothiamine 0.5 g をエタノール 10 cc に溶解し、これに 3%水酸化ナトリウム溶液 10 cc を混和。2 日間放置後、減圧下でエタノールを留去し、析出する結晶をエタノールから再結晶、mp 160° の無色針状結晶。上記 iso-dihydrothiamine と混融して融点降下しない。

Pseudodihydrothiamine (i) dihydrothiamine 0.5 g に水 5 cc を加え水浴上で加熱すると溶解するが冷却しても結晶は析出しない。これにクロロホルムを加えてふりまぜ、クロロホルム層を脱水、減圧下に乾固し粘稠な残留物にエーテルを加えて放置すると結晶化。エタノールから再結晶、mp 175° の無色稜柱状結晶。C₁₂H₁₈ON₄S 計算値 C 54.11, H 6.81, N 21.04, 分子量 266.36, 実験値 C 54.53, H 6.68, N 21.02, 分子量 (Barger method 溶媒エタノール) 260 $\pm$ 5。

(ii) dihydrothiamine 0.5 g を水 5 cc に浮遊させ、これになるべく少量の酢酸を加えて冷却溶解させ、暫時の後炭酸水素ナトリウムで酢酸を中和。この際結晶は析出しない。以後 (i) と同様に処理すると pseudo-dihydrothiamine を得。

(iii) iso-dihydrothiamine を (i) と同様に処理すると pseudo-dihydrothiamine を得。

Tris[2-methyl-4-aminopyrimidyl-(5)]methyltrimethylenetriamine 2-methyl-4-amino-5-amino-

methylpyrimidine 塩酸塩 2 g を 10%水酸化ナトリウム 7 cc 及び水 10 cc に溶解し、冷却しながら 35%ホルムアルデヒド 0.9 cc を混和し、氷水中に放置すると沈澱が析出。これを濾取、水洗し mp 約 155° の白色粉末 1.2 g を得。本品は冷水及び有機溶媒に不溶、熱湯または酸には易溶であるが、冷却または中和しても結晶は析出しないので精製困難である。(C₇H₁₀N₄•H₂O)₃。計算値 C 49.98, H 7.19, N 33.31, 実験値 C 50.70, 50.43, H 6.88, 6.42, N 32.68, 32.53。

塩酸塩：(i) 遊離塩基 1 g を水 10 cc 中に浮遊させ、10%塩酸 4.2 cc を加えて溶解、減圧下に濃縮しエタノールと混和すると結晶が析出。収量 0.9 g。希エタノールから再結晶し mp 265° (decomp) の無色針状結晶。(C₇H₁₀N₄•2HCl)₃。計算値 C 37.68, H 5.42, N 25.11, Cl 31.78, 実験値 C 38.03, H 5.36, N 24.95, Cl 31.91。

(ii) 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine 塩酸塩 2 g を水 5 cc に溶解し 35%ホルムアルデヒド 0.8 cc を混和し、一夜後減圧下に濃縮、残留物にエタノールを混和すると結晶が析出。mp 265° (decomp)。これを上記 (i) の塩酸塩と混融して融点降下しない。

picrate：遊離塩基 0.2 g を水 1 cc に浮遊させ酢酸少量を加えて溶解し、エタノール 10 cc と混和、これにピクリン酸 0.7 g をエタノール 14 cc に溶解した溶液を加えると黄色沈澱が析出。希エタノールから再結晶し黄色稜柱状結晶。減圧下に 80° で乾燥すると mp 206° (decomp)。(C₇H₁₀N₄•H₂O•2C₆H₃O₇N₃)₃。計算値 C 36.43, H 2.90, N 22.36, 実験値 C 36.54, H 2.88, N 22.12。

Tris[2-methyl-4-aminopyrimidyl-(5)]methyltrimethylenetriamine と γ-aceto-γ-mercaptopropyl alcohol との反応 tris[2-methyl-4-aminopyrimidyl-(5)]methyltrimethylenetriamine 1 g を水 7 cc、水酢酸 1 cc の混液に溶解し、これに γ-aceto-γ-chloropropyl-(α) 2-methyl-3-chlorotetrahydrofuryl-(2) ether 1 g から上述のようにして造つた γ-aceto-γ-mercaptopropyl alcohol の溶液を混和し数時間放置後 paper partition chromatography⁷⁾ によつてその生成物を検べると dihydrothiamine (またはその異性体) が検出される。Rf 0.63。Dragendorff 試薬で紅褐色。赤血塩及び水酸化ナトリウムでチオクロム様の弱い螢光を発す。

Dihydrothiamine から thiamine の生成 (i) dihydrothiamine 0.5 g を少量の酢酸を含む水 5 cc に溶解し、これに塩化第二鉄 (FeCl₂•6H₂O) 1.5 g を水 5 cc に溶解した溶液を混和。数時間放置後反応液にピクリン酸 1.5 g をベンゼン 20 cc に溶解した溶液を加えよくふりまぜると黄色粘稠な油分が析出。この油分を分離して温エタノールを加えると結晶化。収量 0.4 g。これを希エタノールから再結晶すると mp 204° (decomp) の黄色葉状結晶、thiamine dipicrate と混融しても融点は変化しない。また粗 picrate に 15%塩酸を加えてかきまぜ、析出するピクリン酸をベンゼンで抽出、除去し水層を脱色、減圧下に濃縮しエタノールを混和すると結晶が析出。mp 250° (decomp) の無色針状結晶、thiamine 塩酸塩と混融して融点は変化しない。

(ii) dihydrothiamine 0.5 g を少量の酢酸を含む水 5 cc に溶解し、これにニトロアルシッドナトリウム 2 g を水 6 cc に溶解した溶液を混和し数時間放置。以下 (i) と同様に処理すると thiamine 塩酸塩を得。

(iii) iso- 或いは pseudo-dihydrothiamine を上記同様に処理すると (i) と全く同一の結果を得。

Dihydrothiamine の塩酸による分解 (i) dihydrothiamine 0.5 g を 10%塩酸 5 cc に溶解し、沸騰水浴上で 15 分間加熱すると白濁して油分が析出。この油分をクロロホルムで抽出、水層を脱色、減圧下に濃縮すると mp 265° (decomp) の無色針状結晶が析出。収量 0.25 g。これを tri[2-methyl-4-aminopyrimidyl-(5)]methyltrimethylenetriamine 塩酸塩と混融しても融点は変化しない。

(ii) iso- 或いは pseudo-dihydrothiamine を上記同様に処理すると (i) と全く同一の結果を得。

武田薬品工業株式会社研究所

Summary

Reaction of equimolar amounts of 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (IV), γ-aceto-γ-mercaptopropyl alcohol (V), and formaldehyde, in dil. ethanol, results in the formation of dihydrothiamine (II), m.p. 150°, in a good yield, and (II) is identical with the sample obtained by reduction of thiamine (I) with lithium aluminum hydride. When the foregoing reaction is carried out in the presence of sodium hydroxide or on the application of sodium hydroxide on (II), isodihydrothiamine, m.p. 160°, is formed. Solvation of dihydro- or isodihydro-thiamine in water with application of heat converts them into pseudodihydrothiamine. Both iso- and pseudo-dihydrothiamines possess the same composition and molecular weight as those of dihydrothiamine, show the same Rf values, and give identical reactions.

Application of (V) to the condensate (VI) from equimolar reaction of (IV) and formaldehyde also yields (II) or its isomer. Thiamine is formed from (II) by the application of ferric chloride, sodium nitroprusside, or potassium ferricyanide. Warming the solution of (II) in hydrochloric acid effects its complete decomposition and formation of (VI). The same treatment pseudo- or iso-dihydrothiamine gives the same results, forming thiamine or (VI).

(Received March 3, 1955)

176. 藤原 洋：抗生物質の理化学的研究（第3報^{**1)}）プロカインペニシリンの水溶液における分解の動力学 その2

Hiroshi Fujiwara: Physicochemical Studies on Antibiotics. III. The Kinetics of Decomposition of Procaine Penicillin in Aqueous Solutions. (2).

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

著者は前報¹⁾でプロカインペニシリンの水溶液における態度を検討し、1 mol の磷酸緩衝液に溶解したプロカインペニシリンは pH 4~8 で一次的に分解することを明らかにし、紫外吸収スペクトルの測定から pH 6 以上では分解によって penicilloic acid が生成すると報告した。またこの反応で速度恒数の対数は pH と直線関係にあり、一定 pH において反応温度と速度恒数との関係は Arrhenius 式を満足することを示した。しかし分解速度恒数は pH および反応温度以外に緩衝液の種類とその濃度に影響することが推定されるので本研究はそれ等の影響について検討した。緩衝液は製剤に応用可能な クエン酸、磷酸、酢酸緩衝液を用い、分解速度恒数は前報と同様の方法で測定した。Table I は各種の濃度の各種緩衝液を用いたプロカインペニシリンの分解速度恒数である。

Table I

Phosphate buffer			Acetate buffer		
pH of Buffer	Concn. of buffer	k (U/cc., hr.)	pH of Buffer	Concn. of buffer	k (U/cc., hr.)
6.75	1 mol	0.312	6.75	1 mol	0.046
"	0.5	0.129	7.25	1	0.055
"	0.3	0.092	6.25	1	0.039
"	0.1	0.026	6.75	0.5	0.026
"	0.05	0.014	"	0.3	0.021
Citrate buffer					
pH of Buffer	Concn. of buffer	k (U/cc., hr.)	Reaction conditions:		
6.25	1 mol	0.0548	temp.: $60^{\circ} \pm 1^{\circ}$		
6.75	1	0.0805	Reaction order:		
"	0.5	0.0303	First order		
"	0.3	0.0176			

分解速度恒数を測定する場合 0.05 mol 以下の緩衝液濃度では一定の速度恒数が得られず反応時 液の pH を逐次測定して行くと予想した通り酸の生成による pH の降下が見られた。この場合には初速度をその条件の速度恒数とした。

* Juso-nishino-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka.

** 第 74 回日本薬学会年會に発表 (1954).

1) 第 2 報: 本誌 74, 343 (1954).