UDC 547.812.5 : 615.411-011

85. 後藤 茂, 井口定男: ピロン誘導体の研究 (第12報^{*1})

ピロン誘導体の溶解補助作用

**Shigeru Goto and Sadao Iguchi: Studies on Pyrone Derivatives. XII.
Solubilizing Action of Pyrone Derivatives on Adrenochrome
Monosemicarbazone and Riboflavin.**(Institute of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Medicine, Kyushu University^{*2})

The solubility aiding action of pyrone derivatives regarding adrenochrome monosemicarbazone (AD) and riboflavin (RF) has been studied by the solubility method. The results are: (1) the aiding action of pyrone ring itself is weak, (2) the action is remarkably increased when the carbonyl and carboxylic groups are introduced into pyrone ring in the case of AD and the mechanism in which the carbonyl and carboxylic groups are participating directly has been considered, (3) any interrelation such as observed in the case of AD has not been found in the case of RF and (4) meconic acid is found to show the strongest action.

(Received August 22, 1962)

前報までに著者らはデハイドロ酢酸 (以下 DHA と略) の L-アスコルビン酸に対する抗酸化効果の検討を行ってきた。その結果酸性領域においてはある程度の好結果が観察でき、またその機作としては DHA の金属キレート形成に基づく負触媒効果以外に水溶液中における両者間の interaction をも考慮すべき必要のあることを報告¹⁾ した。ついで L-アスコルビン酸のみならずフェノール、ニコチン酸アミド、尿素、クエン酸などと DHA との interaction についても検討を行ない、水溶液中においてはいずれも interaction のうかがえる事実をも報告²⁾ した。

ところで、一般にピロン誘導体中には 2,6-dimethyl- γ -pyrone のようにすでに分子化合物、あるいはオキソニウム化合物の形成が指摘されているものがある。すなわち、2,6-dimethyl- γ -pyrone は塩基性を示し、サリチル酸、安息香酸、フェノール、ピクリン酸などの酸性物質³⁾、あるいはエタノール⁴⁾ などとも分子化合物を形成することが認められており、最近 Eckert は、この化合物がプロカイン塩酸塩と π -electron-doner-acceptor complex を形成することを UV スペクトルより確認している。なお、Eckert は complex 形成にあたって $-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}-$ group の存在の必要なことをも報告⁵⁾ している。また同様にピロン誘導体の一つである meconic acid の場合は、一般に尿素などの弱塩基類と容易に塩ないし分子化合物を形成するといわれている。

このようにピロン誘導体には complexing tendency を有するものがしばしば見出されているので、薬剤学的見地より検討を行なえば、ある場合には結合性溶解補助剤として有望なものを見出しうる可能性が考えられる。しかしながら現在までのところピロン誘導体の溶解補助剤としての利用に関する文献は全く見当たらないので、今回、著者らは DHA をはじめとし比較的入手の容易なピロン誘導体若干について、その難溶性薬物に対する溶解補助作用の観察を行なってみた。難溶性薬物としては、今回は adrenochrome monosemicarbazone (以下 AD と略) および riboflavin (以下 RF と略) をまず対象としたが、その結果比較的興味ある知見を得ることができたので報告する。

実験に供したピロン誘導体は、2,6-dimethyl- γ -pyrone (I), 4,6-dimethyl- α -pyrone (II), triacetic acid lactone (III), DHA-Na (IV), 2,6-dimethyl- γ -pyrone-3-carboxylic acid (V), isodehydroacetic acid (4,6-di-

^{*1} Part XI: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), in press.^{*2} Katakasu, Fukuoka.

1) 後藤, 松村, 井口: 薬剤学, 21, 192 (1961).

2) 後藤, 松村, 井口: 薬剤学, 22, 171 (1962).

3) D. Kendall: Beilstein, 17, 152.

4) J. Collie: Beilstein, 17, 293.

5) T.H. Eckert: Arch. pharm., 295, 233 (1962).

methyl- α -pyrone-5-carboxylic acid (VI), kojic acid (2-hydroxymethyl-5-hydroxy- γ -pyrone) (VII), chelidonic acid (γ -pyrone-2,6-dicarboxylic acid) (VIII), comenic acid (5-hydroxy- γ -pyrone-2-carboxylic acid) (IX), meconic acid (3-hydroxy- γ -pyrone-2,6-dicarboxylic acid) (X) の計 10 種である。

Fig. 1. Solubility of Adrenochrome Monosemicarbazone (AD) in the Presence of Pyrone Derivatives in Solutions at 30°

Fig. 2. Solubility of Riboflavin (RF) in the Presence of Pyrone Derivatives in Solutions at 30°

溶解補助試験は前報²⁾ 同様の溶解度法⁶⁾ (solubility method) を用い, さらに結果は Fig. 1, 2, に示すようにピロン誘導体の濃度 (M および $w/v\%$) に対するピロン誘導体存在時における溶液の吸光度 (A) と存在しない時の吸光度 (A_0) との比, すなわち (A/A_0) をプロットすることによって整理した.

Adrenochrome monosemicarbazone (AD) に対する溶解補助作用 AD に対する効果のすでに知られている代表的な溶解補助剤としては, 安息香酸ナトリウム,⁷⁾ サリチル酸ナトリウム,⁸⁾ 鮫島による⁹⁾ N -(2-pyridyl)-benzamide 塩酸塩, 7-(2-hydroxyethyl)theophylline などあげることができるが, ピロン誘導体の溶解補助作用に関しては, Fig. 1 に示すようにいずれも濃度の増加とともに AD の可溶化量は, 二の例外を除いて一般に直線的な増加傾向が認められた. したがってこれらの直線の勾配がそれぞれの溶解補助能を示すものと考えると, kojic acid (VII) が最小で, meconic acid (X) が最大である (Table I). たとえば,

Table I. Gradient of Solubility Curves (a)

Pyrone	AD	RF
2,6-Dimethyl- γ -pyrone (I)	6.5	6.1
4,6-Dimethyl- α -pyrone (II)	7.3	9.9
Triacetic acid lactone (III)	8.8	—
DHA-Na (IV)	8.9	18.2
2,6-Dimethyl- γ -pyrone-3-carboxylic acid (V)	13.5	0.0
Isodehydroacetic acid (VI)	18.3	5.8
Kojic acid (VII)	4.6	—
Chelidonic acid (VIII)	49.6	15.3
Comenic acid (IX)	32.8	17.7
Meconic acid (X)	117.0	47.2

(cf. Fig. 1 (A) and Fig. 2 (A))

前者 (VIII) の 0.65% ($4.55 \times 10^{-2} M$) 水溶液により AD の溶解度は約 1.2 倍の増加しか示さないが, 後者 (X) の 0.57% ($2.24 \times 10^{-2} M$) 水溶液は実に 4.1 倍の増加を示した. なお, AD は 30° において精製水中に 0.4 mg./ml. 溶解する. kojic acid (VII) の溶解補助能の小さな理由としては, 4 位 CO 基と 5 位 OH 基との間に分子内 chelation の生成が考えられ, これら溶解補助の functional group と考えられる基が十分な作用を発揮できぬ結果に基因するものと想像される. またこの場合のアルコール性の水酸基は, 溶解補助の functional group としては余り期待が持てないように思われる. 著者らは当初, 2,6-dimethyl- γ -pyrone (I) の溶解補助作用に注目したのであるが, 予期に反して 4,6-dimethyl- α -pyrone (II) よりも小なることが判った. しかも上記二者の溶解補助能はあまり大きくないことから, 一般にピロン環自体の示す溶解補助能は比較的小さいものと考えられる. α または γ -ピロン環に 1 個の CO 基を導入したいわゆる α , γ -ピロンである triacetic acid lactone (III) や DHA-Na (IV) においては, 2,6-dimethyl- γ -pyrone (I), 4,6-dimethyl- α -pyrone (II) と比較すると漸増の傾向がうかがえ, したがって CO 基が溶解補助作用に直接関与することが容易に想像できる. さらに COOH 基を α または γ -ピロン環に付加した pyronemonocarboxylic acid, pyronedicarboxylic acid は, さらに溶解補助能を増加するが, これは COOH 基の影響であることは明らかである.

Riboflavin (RF) に対する溶解補助作用 現在まで知られている RF の溶解補助剤は数十種にも上るが,^{10,11)} 実用的なものとしてはウレタン, トリプトファン, ニコチン酸アミド, 溶性サッカリン, 芳香族オキシカルボン酸, 3-hydroxy-2-naphthoic acid¹²⁾ 等をあげることができる. ところでこの RF に対するピロン誘導体の溶解補助効果は AD の場合と同様, 数種の例外を除き一般に直線的な増加を示している (Fig. 2). しかしその順位は必ずしも AD の場合の順位と一致しない. すなわち RF に対しても meconic acid (X) はやはり最大の効果を示すが, AD の場合には相当の効果の見られた 2,6-dimethyl- γ -pyrone-3-carboxylic acid (V) が予期に反して効果が最低であった. 一例を示すと, meconic acid (X) の 0.7% ($2.75 \times 10^{-2} M$) 溶液においては, RF の溶解

6) T. Higuchi, D. A. Zuck: J. Am. pharm. Assoc., **42**, 138 (1953).7) Societ des Laboratories Labaz Soc. Anon.: Belg. Pat., 525, 542 (C. A., **48**, 14132 (1954)).8) D. Fleischhacker, N. Barsel: U. S. pat., 2,581,851 (C. A., **46**, 2759 (1952)).9) 鮫島: 本誌, **81**, 1208 (1961).10) 清水: ビタミン, **3**, 181 (1950).11) 鮫島: 薬学研究, **32**, 754 (1960).12) 山本, 他: 塩野義年報, **5**, 95 (1955).

度は 2.4 倍程度の増加を示したが, 2,6-dimethyl- γ -pyrone-3-carboxylic acid (V) は 0.78% ($4.64 \times 10^{-2} M$) 溶液においても RF の溶解度は全く増加がうかがえなかった (30° における RF の pH 7.08 リン酸緩衝液に対する溶解度の平均値は 0.105 mg./ml.). この理由については現在のところ不明の点が多くなお検討中であるが, 一方やはり pyronemonocarboxylic acid に属する isodehydroacetic acid (VI) が同様に極めて低い溶解補助作用しか示さなかった事実は, これら pyronemonocarboxylic acid の構造面に問題があるのかもしれないと考えられる. なお, 2,6-dimethyl- γ -pyrone (I), 4,6-dimethyl- α -pyrone (II) の両者については, AD の場合同様後者 (II) の溶解補助能の方がより大きい結果を得た. 以上の実験結果は Fig. 2 および Table I に示す. RF に対する DHA-Na の効果に関してはすでに一部報告¹³⁾ が行なわれているが, 今回われわれの行なった実験においても全く軌を一にする結果が得られた.

考 察

AD ならびに RF を対象としてピロン誘導体の溶解補助作用の検討を実施した結果, つぎのような結果が得られた. (1) ピロン環自体の溶解補助作用は小さい. (2) AD に対しては, ピロン環に CO 基や COOH 基を導入すると, 溶解補助作用は増加し, したがってその機構は CO 基または COOH 基に直接関与することが容易に推測できる. これはおそらく CO 基の受容性, OH 基の供与性が発揮される結果, AD に対する溶解補助作用が示されるものと考えられる. しかるに RF に対してはこのような相関性は見出されなかった. (3) meconic acid (X) は今回検討を行なったピロン誘導体中では AD, RF 双方に対し最も大きな溶解補助能を示し, 今後の応用の可能性をも示唆する点が認められた.

ところでこれらピロン誘導体の溶解補助機構を, 仮に 1:1 モル比の溶解性 complex 形成に基づくものと仮定すれば次式が成立する.

ここで K はこの interaction の平衡定数であり, C' は free すなわち complex state にない solubilize の濃度でこの反応の前後においてこれは一定であると仮定する. いま pyrone 濃度 C が complex 濃度 x に較べて非常に大であるとすれば $C-x \approx C$

$$x/C' = CK = \frac{A-A_0}{A_0}$$

$$A/A_0 = CK + 1$$

すなわち, A/A_0 を縦軸に, C を横軸にとれば, 両者間に直線関係が成立しその勾配 (a) はただちに平衡定数を表わすことになる. したがって, Table I に示した a 値は以上の仮定に基づく平衡定数 (K)^{*3} である.

一般に, 溶液中における二物質間の interaction の確証を行なうことは, 種々の困難性を伴ない, 同一の組合せでも研究者によって見解がまちまちである場合が多い. 今回の実験に関してもその機作について, 著者等は一応上記のような推論を提起するが, 根本的な解決のためにはさらに詳細な検討が必要であると考えられる.

実 験 の 部

試 薬 adrenochrome monosemicarbazone (AD) は市販品を数回 EtOH より再結晶したものを用いた (m.p. 218°(decomp.)). riboflavin (RF) は市販品 (和光純薬) をそのまま使用した.

ピロン誘導体 DHA-Na ($C_8H_7O_4Na \cdot H_2O$) (IV), kojic acid ($C_6H_6O_4$, 試薬一級 (和光純薬)) (VII), meconic acid ($(C_7H_4O_7) \cdot 3H_2O$, 試薬特級 (和光純薬)) (X) の 3 種以外はすべて合成を行なった.

2,6-Dimethyl- γ -pyrone (I) は DHA に conc. HCl を作用し合成した¹⁴⁾ (m.p. 136° (Et₂O より再結晶)).

4,6-Dimethyl- α -pyrone (II), isodehydroacetic acid (VI) はアセト酢酸エチルと conc. H₂SO₄ とよりまず VI (m.p. 153° (H₂O より再結晶)) を合成¹⁵⁾ した後, これに Cu 粉を加えて加熱し, 脱炭酸を行なうことに

*3 単位として L./mole を付す.

13) 久恒: 本誌, 83, 109 (1963).

14) 山田: “有機合成化学,” p. 233 (昭 26) 修教社.

15) “Organic Synthesis,” Vol. 32, p. 76 (1952).

よって合成¹⁶⁾した。減圧蒸留 (149°/50 mm.) により精製 (m.p. 48~50°).

Triacetic acid lactone (III) DHA に 85% H₂SO₄ を作用し合成^{17,18)}した (m.p. 188° (H₂O より再結晶)).

2,6-Dimethyl- γ -pyrone-3-carboxylic acid (V) DHA に PCl₅, POCl₃ を作用させて最初 DHA-chloride を合成¹⁹⁾した後, これに conc. H₂SO₄ を加えて加熱し合成²⁰⁾した (m.p. 98~99° (EtOH より再結晶)).

Chelidonic acid (VIII) シュウ酸エチルと乾燥 Me₂CO および EtONa との反応により合成.²¹⁾ 水より再結晶した後 160°, 1 hr. の減圧乾燥を行なった (m.p. 261~262°(decomp.)).

Comenic acid (IX) meconic acid (X) に conc. HCl を作用させて合成²²⁾した. 水より再結晶.

溶解度法 (Solubility method) AD または RF 各 20 mg. を摺合せ栓つき振盪管に入れ, AD の場合はピロン誘導体の任意の量を入れて正確に秤量し, ついで精製水 10 ml. を加える (DHA-Na の場合のみ pH 7.08 のリン酸緩衝液を使用). RF の場合はピロン誘導体の既知濃度の溶液をあらかじめ作製し (溶解には pH 7.08 のリン酸緩衝液を用いた), この 10 ml. を加えた. いずれも密栓して 30° に調節した恒温水槽中に装置して振盪を行なう. 検討の結果, いずれも 8 hr. 以内で濃度平衡に達することを確認したので, 8 hr. 経過後静置し, 上澄み液の一定量をピペットで採取し, pH 7.08 のリン酸緩衝液で, AD の場合は 50 倍に, RF の場合は 10 倍に希釈して, 日立製 EPU-2 型分光光度計を用い, AD は 354 m μ , RF は 455 m μ における吸光度測定を実施し, 定量を行なった. なお, これらの波長においていずれも Beer の法則の成立することはあらかじめ確認した. ピロン誘導体の AD の吸光度におよぼす影響は一般にほとんど認められなかったが, kojic acid (VII), comenic acid (IX), meconic acid (X) のような hydroxypyron の場合はやや影響が認められたので補正を行なった. RF の場合はこのようなことは全く認められなかった.

本研究に当たり御鞭撻戴いた松村教授ならびに実験に協力された鹿川明学士に感謝します.

九州大学医学部薬学科

16) "Organic Synthesis," Vol. 32, p. 57 (1952).

17) J. Collie: J. Chem. Soc., **59**, 609 (1891).

18) J. Collie, T. Hilditch: J. Chem. Soc., **91**, 787 (1907).

19) F. Feist: Ann., **257**, 283 (1890).

20) *Idem*: *Ibid.*, **257**, 286 (1890).

21) "Organic Synthesis" Col. Vol. 2, p. 670.

22) G. A. Garkusha, *et al.*: C. A., 22302 (1961).