リボフラビンの O-イソプロピリデン体について¹⁾

田中照夫, 田中秀雄, 椿 紀恭

東亜栄養化学工業株式会社²⁾

O-Isopropylidene Derivatives of Riboflavin¹⁾

TERUO TANAKA, HIDEO TANAKA, and TOSHITAKA TSUBAKI

Toa-Eiyo Chemical Industries Co., Ltd.²⁾

(Received April 11, 1968)

From the acetonation product of riboflavin, several new O-isopropylidene derivatives of riboflavin were isolated. Periodate oxidation of mono-O-isopropylidene derivatives and riboflavin dibenzoates derived from mono-O-isopropylidene compounds showed that the structures of these O-isopropylidene derivatives are 2':4', 3':5'-di-O-isopropylidene-riboflavin (II), 4':5'-O-isopropylideneriboflavin (III), 3':4'-O-isopropylideneriboflavin (IV), and 2':3'-O-isopropylideneriboflavin (V). Partial hydrolysis of II and 2':3', 4':5'-di-O-isopropylideneriboflavin (I) afforded 2':4'-O-isopropylideneriboflavin (VI) and V respectively.

Kuhn 等³⁾ はリボフラビンをイソプロピリデン化して mp 293° の結晶を得, 2':3', 4':5'-ジ-O-イソプロピリデンリボフラビン (I) の構造を推定している. 著者等はリボフラビン誘導体の合成研究に使用する目的で数種の新しい O-イソプロピリデンリボフラビン, すなわち 2':4', 3':5'-ジ-O-イソプロピリデンリボフラビン (II), 4':5'-O-イソプロピリデンリボフラビン (III), 3':4'-O-イソプロピリデンリボフラビン (IV), 2':3'-O-イソプロピリデンリボフラビン (V), および 2':4'-O-イソプロピリデンリボフラビン (VI) を単離しその構造を推定したので報告する.

塩化水素, 硫酸, あるいは三フッ化ホウ素エテラートなどの縮合剤の存在下でリボフラビンをアセトンと縮合させ反応生成物をシリカゲルの薄層クロマトグラフィーでしらべると R_f 値の高いものから I, II, III, IV, および V の 5 種の生成物がみとめられた. 反応生成物をクロロホルムで抽出しシリカゲルのカラムクロマトグラフィーと再結晶によって 5 種の物質を単離した. これらの物質の紫外および可視部の吸収スペクトルはリボフラビンと大差なく元素分析値は I および II がジイソプロピリデン体に, III, IV, および V はモノイソプロピリデン体に一致した. I および II をギ酸または酢酸で注意して水解するとそれぞれ V および VI が得られその元素分析値はともにモノイソプロピリデン体に一致した (Table I). I の水解によって得られたものがイソプロピリデン化の反応生成物から得られる V と同一物質であることは過ヨウ素酸酸化の成績および赤外吸収スペクトルの一致によって確認した. III, IV, V, および VI の過ヨウ素酸酸化を行なうと III および V だけが 1 モルの過ヨウ素酸を消費し (Table II) V からは 1 モルのホルムアルデヒドを生成した. ピリジン中でトリチルクロライドを反応させると IV, V, および VI からは高収率でトリチルエーテルが得られ一級アルコールの存在を示した (Table III).

III, IV, V, および VI を無水安息香酸でベンゾイル化して対応するイソプロピリデン体のジベンゾエートとし, ついで酸分解でイソプロピリデン基を除去するとリボフラビン ジベンゾエートが得られた (Table IV). これらのジベンゾエートのうち III および IV から得られたジベンゾエートのみ 1 モルの過ヨウ素酸を消費した (Table V).

以上の事実から Chart 1 の構造を推定することができる. 6 個の可能なモノ-O-イソプロピリデンリボフラビンの異性体のうちで過ヨウ素酸を消費しホルムアルデヒドを生ずるものは V だけであり, イソプロピリデン体も

1) 日本薬学会第88年会で発表, 東京, 1968年 4 月.

2) Location: Iizaka, Fukushima.

3) R. Kuhn, H. Rudy, F. Weygand, *Chem. Ber.*, **68**, 625 (1935).

それから導かれるリボフラビン ジベンゾエートも過ヨウ素酸を消費するものは V 以外では III だけである。またイソプロピリデン体もそれから導かれるリボフラビン ジベンゾエートも過ヨウ素酸を消費せず、しかも一級アルコールの存在する構造は VI である。イソプロピリデン体は過ヨウ素酸を消費せずそれから導かれるリボフラビン ジベンゾエートが過ヨウ素酸を消費するものは IV でなければならない。V および VI の水解前はそれぞれ I および II であることがわかる。

I は Kuhn 等によって得られた物質であってその収率も良く糖類に普通にみられる 5 員環ケタール構造を有する。これに対し II のイソプロピリデン基の結合様式はやや異常にみえる。しかし縮合剤として硫酸を使用すると II の収率は I と同程度になり分子模型を検討すると I, II とともに steric strain が小さいことがわかる。一方、多くの反応条件下において I は II より収率良く得られまた酸による水解速度も幾分遅いことから I は II より安定型と考えられる。わずかな反応条件の差で 2 種の異なるイソプロピリデン体の一方をより多く生ずる例はピリドキシンについて知られている。⁴⁾

I または II を酸水解すると一級アルコールに結合したイソプロピリデン基がさきに除かれるのはそれらがリビチル基の末端にあってイソアロキサジン核による立体障害をうけにくいと解される。また V から導かれ

Chart 1

TABLE I. O-Isopropylideneriboflavin

Compound	mp ^{a)} (°C)	Formula	Analysis (%)					
			Calcd.			Found		
			C	H	N	C	H	N
I	291—292	C ₂₃ H ₂₈ O ₆ N ₄	60.52	6.18	12.27	60.35	5.95	11.97
II	188—190	C ₂₃ H ₂₈ O ₆ N ₄	60.52	6.18	12.27	60.37	6.29	12.01
III	260—262	C ₂₀ H ₂₄ O ₆ N ₄	57.69	5.81	13.45	57.59	5.60	13.35
IV	259—260	C ₂₀ H ₂₄ O ₆ N ₄	57.69	5.81	13.45	57.61	5.59	13.52
V	270—272	C ₂₀ H ₂₄ O ₆ N ₄	57.69	5.81	13.45	57.32	5.68	13.78
VI	263—264	C ₂₀ H ₂₄ O ₆ N ₄	57.69	5.81	13.45	57.80	5.48	13.29

a) decomp.

4) W. Korytnyk, *J. Org. Chem.*, **27**, 3727 (1962).

TABLE II. Moles of Periodate consumed per Mole of O-Isopropylidene-riboflavin in Dimethylformamide^{a)} at 20°

Compound	Reaction time (hr)				
	3 (6)	6 (18)	12 (24)	18 (48)	24 (98)
I	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0
III	(0.35)	(0.59)	(0.78)	(0.89)	(0.96)
IV	0	0	0	0	0
V	1.02	1.00	1.03	1.02	1.02
VI	0	0	0	0	0

a) Equal volume of 0.1 M acetate buffer (pH 4.5) was added.

TABLE III. Trityl Ether of O-Isopropylideneriboflavin

O-Isopropylidene-riboflavin 5'-trityl ether	mp (°C)	Formula	Analysis (%)					
			Calcd.			Found		
			C	H	N	C	H	N
3',4'-	228—229	C ₃₉ H ₃₈ O ₆ N ₄	71.11	5.81	8.51	70.66	5.92	8.58
2',3'-	185—186	C ₃₉ H ₃₈ O ₆ N ₄	71.11	5.81	8.51	70.66	5.68	8.31
2',4'-	243—244	C ₃₉ H ₃₈ O ₆ N ₄	71.11	5.81	8.51	71.25	5.87	8.62

TABLE IV. O-Isopropylideneriboflavin Dibenzoate and Riboflavin Dibenzoate

O-Isopropylidene-riboflavin dibenzoate	mp (°C)	Formula	Analysis (%)					
			Calcd.			Found		
			C	H	N	C	H	N
4',5'-	234—236	C ₃₄ H ₃₂ O ₈ N ₄	65.38	5.16	8.97	65.22	5.04	9.12
3',4'-	233—235	C ₃₄ H ₃₂ O ₈ N ₄	65.38	5.16	8.97	64.96	5.07	8.85
2',3'-	247—249	C ₃₄ H ₃₂ O ₈ N ₄	65.38	5.16	8.97	64.99	4.97	9.17
2',4'-	235—237	C ₃₄ H ₃₂ O ₈ N ₄	65.38	5.16	8.97	64.98	5.02	8.80
Di-O-benzoylriboflavin								
2',3'-	164—170	C ₃₁ H ₂₈ O ₈ N ₄	63.69	4.83	9.58	63.36	4.83	9.68
2',5'-	185—195	C ₃₁ H ₂₈ O ₈ N ₄	63.69	4.83	9.58	63.98	4.91	9.60
4',5'-	260—262 ^{a)}	C ₃₁ H ₂₈ O ₈ N ₄	63.69	4.83	9.58	63.70	4.51	9.45
3',5'-	160—175 ^{a)}	C ₃₁ H ₂₈ O ₈ N ₄	63.69	4.83	9.58	63.18	4.75	9.43

a) decomp.

TABLE V. Moles of Periodate consumed per Mole of Riboflavin Dibenzoate in Dimethylformamide^{a)} at 20°

Di-O-benzoyl-riboflavin	Reaction time (hr)				
	3 (6)	6 (24)	12 (48)	18 (62)	24 (86)
2',3'-	0.54	0.75	0.96	1.00	1.02
2',5'-	(0.40)	(0.53)	(0.75)	(0.78)	(0.86)
4',5'-	0	0	0	0	0
3',5'-	0	0	0	0	0

a) Equal volume of 0.1 M acetate buffer (pH 4.5) was added.
Migration of benzoyl group was negligible at pH 4.5.

TABLE VI. *R_f* Values of Riboflavin Derivatives in Thin-Layer Chromatography

O-Isopropylidene- riboflavin	Solvent		O-Isopropylidene- riboflavin dibenzoate	Solvent		Di-O-benzoyl- riboflavin	Solvent	
	1	2		1	3		1	3
I	0.55	0.71	4',5'-	0.47	0.76	2',3'-	0.10	0.30
II	0.40	0.58	3',4'-	0.61	0.88	2',5'-	0.30	0.64
III	0.15	0.34	2',3'-	0.60	0.89	4',5'-	0.24	0.59
IV	0.10	0.20	2',4'-	0.47	0.78	3',5'-	0.26	0.63
V	0.08	0.17						
VI	0.15	0.32						

solvent: 1, acetone—C₆H₆ (1:1); 2, tetrahydrofuran—C₆H₆ (7:3); 3, acetone—C₆H₆ (2:1)
 plates: Silicagel G (Merck, CaSO₄ 13%), 0.25 mm thick activated at 120° for 30 min
 Developed 10 cm at 20°.

TABLE VII. Absorption Band of O-Isopropylideneriboflavin

Compound	$\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ m μ (ϵ)			
I	224 (29100)	272 (32500)	355 (8600)	447 (12000)
II	224 (27500)	272 (31900)	355 (8260)	450 (11600)
III	224 (29800)	272 (34100)	355 (9190)	448 (12400)
IV	224 (28400)	270 (31000)	358 (8590)	445 (11300)
V	224 (30840)	271 (32600)	354 (9220)	448 (11700)
VI	224 (30800)	272 (34800)	356 (9440)	448 (12500)

るリボフラビン-4':5'-ジベンゾエートは普通の反応条件下では過ヨウ素酸をまったく消費しないが III の酸化速度ならびに IV から導かれるリボフラビン-2':5'-ジベンゾエートの酸化速度もかなり遅いことから 4', 5' 位において置換されたリボフラビンの 2', 3' 位がとくに障害されることが推測される。

実験の部

リボフラビンのイソプロピリデン化 I, II, III, IV, および V の単離——(1) リボフラビン 20 g, アセトン 2.5 liter, オルトギ酸エチルエステル 40 g の混合物を室温でかきまぜながら H₂SO₄ 150 g を 10 hr を要して滴下, さらに 2 hr かきまぜてリボフラビンを完全に溶解させて 1 夜放置した。NH₄OH で中和, 1 部のアセトンを減圧留去, CHCl₃ で抽出する。1 回目の抽出液は主として I および II を含むから MgSO₄ で乾燥して CHCl₃ を減圧留去, アセトンから再結して I を得, その母液を蒸発乾涸し AcOEt から再結して II を得る。2 回目以降 10 回目までの抽出液を合わせ MgSO₄ で乾燥後濃縮すると III が析出する。III を濾取した母液はシリカゲルのカラム (200 メッシュ, 3.5×50 cm) に吸着させ CHCl₃ で I と II の混合物を, CHCl₃—アセトン (9:1) で III を, CHCl₃—アセトン (4:1) で IV を, アセトンで V を溶出し III, IV, および V は MeOH から再結。収量 I 2.0 g, II 2.0 g, III 7.0 g, IV 1.4 g, V 0.1 g。

(2) リボフラビン 3.0 g, アセトン 300 ml, 2,2-ジメトキシプロパン 5.0 g の混合物を室温でかきまぜながら BF₃・エタレート 3 g を 1 hr を要して滴下, さらに 5 hr かきまぜたのち (1) と同じく処理。収量 I 1.8 g, II 0.8 g。

I および II の酸水解 V および VI の単離——(1) I 800 mg を 90% AcOH 20 ml に溶かし室温に 5 日間放置。水を加え NaHCO₃ で中和し生じた沈殿は MeOH を加え加温して溶かす。CHCl₃ で数回抽出し抽出液は水洗, 乾燥したのち濃縮し析出した結晶を濾取。MeOH から再結。V の収量 270 mg。

(2) II 800 mg を 90% AcOH 20 ml に溶かし室温に 2 日間放置。(1) と同じく処理。VI の収量 338 mg。

O-イソプロピリデンリボフラビンジベンゾエート III, IV, V または VI 200 mg, ピリジン 20 ml, 無水安息香酸 1 g の混合物を 5—16 hr 90° に加熱。水に注ぎ 1 夜放置して濾過。C₆H₆, AcOEt, アセトン, または EtOH から再結。必要ならば C₆H₆—アセトン溶媒を用いシリカゲルのクロマトグラフィーで精製。収量 120—150 mg。

リボフラビンジベンゾエート O-イソプロピリデンリボフラビン ジベンゾエート 100 mg をテトラヒドロフラン, PrOH, EtOH, または MeOH 45 ml に溶かし 1 N HCl 5 ml を加える. III ジベンゾエートおよび VI ジベンゾエートは室温で 48 hr 放置. V ジベンゾエートおよび IV ジベンゾエートは 2—3 hr 還流. 溶媒を減圧留去し析出した結晶を濾取. C_6H_6 , AcOEt, アセトン, または EtOH から再結. 収量 60—70 mg.

IV, V, および VI のトリチル化 IV, V, または VI 100 mg, トリチルクロライド 500 mg をピリジン 10 ml に溶かし 30 min 80° に加熱. 水に注ぎ沈殿を濾取水洗する. 沈殿を石油エーテルで洗い C_6H_6 から再結するかまたは C_6H_6 に溶かしエーテルまたは石油エーテルを加えて再結. 収量 129—138 mg. III を同一条件でトリチルクロライドと反応させると 80 mg の原料が回収された.