薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
88(8) 1062-1067 (1968)

UDC 547.78.04.07

Biotin の合成研究 (第2報¹⁾) 3,4-(1', 3'-Dibenzyl-2'-
oxoimidazolido)-2-oxothiophane の合成

伊坂一郎, 久保一夫, 高島睦雄, 村上増雄
山之内製薬株式会社中央研究所²⁾

Studies on the Synthesis of Biotin. II.¹⁾ Synthesis of 3,4-(1', 3'-
Dibenzyl-2'-oxoimidazolido)-2-oxothiophane

ICHIRO ISAKA, KAZUO KUBO, MUTSUO TAKASHIMA,
and MASUO MURAKAMI

Central Research Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.²⁾

(Received by January 5, 1968)

Reaction series in the synthesis of thiolactone (XI) from acetoxy compound (IV) in Goldberg's biotin synthesis were examined.

IV underwent reaction with hydrogen sulfide and hydrogen chloride in isopropanol to afford 5-isopropoxy-2-thiophanone derivative (VII). Treatment of VII with potassium hydrogen sulfide gave mercapto compound (IX) and disulfide of IX (X). Refluxing of IX in acetic acid or reduction of X with zinc powder in acetic acid lead to formation of XI, however total yield of XI from IV was low.

A new satisfactory synthesis of XI was found. Treatment of IV with hydrogen sulfide and hydrogen chloride in dioxane afforded 5-hydroxy-, and 5-chloro-2-thiophanone derivatives (VI and XV) with a good yield. Reduction of VI or especially of XV with zinc powder in acetic acid gave XI with a high yield.

Goldberg 等^{3a, b)} が biotin の合成原料として用いた 3,4-(1', 3'-dibenzyl-2'-oxoimidazolido)-2-oxothiophane (以下 thiolactone) (XI) は meso-dibromosuccinic acid を出発物質として Chart 1 の経路により合成されている。この合成法において 3,4-(1', 3'-dibenzyl-2'-oxoimidazolido)-5-acetoxy-2-oxothiophane (以下 acetoxy 体) (IV) から thiolactone の生成反応は 1) acetoxy 体のアルコール溶液に塩化水素ガスおよび硫化水素の導入, 2) アルコール中で先の反応生成物に硫化水素カリウムの作用, 3) 亜鉛末-醋酸による還元, よりなる三段階の連続操作で行なわれているが, Goldberg 等は各段階の反応生成物のあるいは thiolactone の収率など明らかにしていない。

この合成法にしたがえば biotin と同じ立体配置の *cis* 型 thiolactone が選択的に得られる点に興味を持ち, この反応を追試したところ thiolactone は 40% 以下の低収率であったので各段階での主生成物を解明するとともに収率向上を目的として検討した結果, acetoxy 体より thiolactone の簡便な新合成法を見出すに至った。

Thiolactone (XI) の生成反応 Acetoxy 体のイソプロパノール溶液に 10—20° で塩化水素ガスおよび硫化水素を同時に導入すると中性油状物質が生成し, 減圧蒸留により bp 200—210° (0.3 mmHg) の留分が好収率で得られた。本品は薄層クロマトグラフィーで単一スポットを示し, S を含有するも SH 基の存在は認められない。核磁気共鳴 (NMR) スペクトル⁴⁾ で 8.95 および 8.84 τ にイソプロピル基の吸収 (6H CH₃-) が認められ, 赤外線吸収 (IR) スペクトルでは $\nu_{C=O}$ 1725, 1700 cm⁻¹ が見られることおよび元素分析により第一段階の反応生成

1) 第1報: 伊坂一郎, 久保一夫, 高島睦雄, 村上増雄, 薬誌, 88, 422 (1968).

2) Location: Azusawa, Itabashi-ku, Tokyo.

3) a) M.W. Goldberg, L.H. Sternbach, U.S. Patent 2489232 (1949) [C.A., 45, 184 (1951)]; b) *Idem*, U.S. Patent 2489235 (1949) [C.A., 45, 186 (1951)].

4) NMR スペクトルは日立 HI-60 を用い, T.M.S. を内部基準として測定。

Chart 1

物は 3,4-(1', 3'-dibenzyl-2'-oxoimidazolido)-5-isopropoxy-2-oxothiophane (VII) であることを確認した。一般にアルデヒドを硫化水素と塩化水素で処理するとチオアルデヒドが生成するが、多くの場合単分子としては単離できず、ただちに環状トリマーを形成することが知られている。⁵⁾ この場合も反応過程においてチオアルデヒドが生成し、閉環して 3,4-(1', 3'-dibenzyl-2'-oxoimidazolido)-5-hydroxy-2-oxothiophane (VI) を形成した後、溶媒と反応して VII を生成するものと推定されるが、実際に反応生成物より少量の mp 165° の結晶性物質として isopropyl 1,3-dibenzyl-2-oxo-5-thioformyl-4-imidazolidinecarboxylate の環状トリマー (VIII) が単離されたので反応中間体としてチオアルデヒドの生成していることは確実である。

つぎに VII をエタノール中数モルの硫化水素カリウムと室温で反応せしめる第二段階の反応では黄色油状の酸性物質と中性物質が 7:3 の重量比で得られた。この酸性物質からは thiolactone が得られるが中性物質からは得られない。すなわち、上記酸性物質は SH 基を有する物質と、S を含有するも SH 基の定性反応を示さない物質との混合物であるが、醋酸と還流するとチオール化合物は中性物質に変化するのに対し、他は未変化のまま残留することが薄層クロマトグラフィーによって認められた。この醋酸処理物を炭酸水素ナトリウム水溶液で処理し、中性油状物と酸性油状物を 6:4 の重量比で得た。ここに得られた中性油状物はエーテル中で結晶化し、mp 126—127° の無色プリズム晶を与え、thiolactone の標品と混融試験および IR スペクトルの比較により同定した。収率は isopropoxy 体 (VII) より計算して 27.4% であった。したがって前記のチオール化合物は 1,3-dibenzyl-2-oxo-5-mercaptomethyl-4-imidazolidinecarboxylic acid (IX) と考えられ、thiolactone のアルカリ加水分解により得られた IX の標品^{3a)}と薄層クロマトグラフィーで比較することによって確認した。

一方、SH 基の定性反応を示さない酸性物質は IR スペクトルおよび S 含量から IX の disulfide (X) を主成分とするものと推定され、醋酸中で亜鉛末還元すると、thiolactone が VII より 22.2% の収率で得られることにより確認した。

これらの事実から isopropoxy 体 (VII) は硫化水素カリウムにより還元を受けて IX あるいは X を生成することが明らかになった。

この反応の際、硫化水素カリウムの濃度が低い、硫化水素アンモニウムを用いると中性油状物が多量に生成し、thiolactone に導き得る酸性物質はほとんど得られないので、この還元反応が進行するためには OH⁻ による VII の開環 (加水分解) が初期の段階で起こることが必要と思われる。しかし、VII を水酸化アルカリの水またはアルコール溶液で処理すると複雑な反応を起こして薄層クロマトグラフィーで多数のスポットが認められるので、VII を硫化水素カリウムで処理する場合にも OH⁻ による副反応が併発して thiolactone の収率を低下させているものと考えられる。以上の結果より Goldberg 等の合成法は Chart 2 の経路で thiolactone を生成

5) S. Coffey, "Rodd's Chemistry of Carbon Compounds," Vol 1, Part C, 2nd ed., Elsevier Publishing Co., New York, 1965, p. 34.

First step.

Second step.

Third step.

Chart 2

するものと推定される。

Goldberg 等の方法を追試した際, thiolactone の結晶母液よりカラムクロマトグラフィーにより 2-hydroxy-thiophane 誘導体 (XII) が mp 145° の無色結晶として, また 1,3-dibenzyl-4-methyl-4-imidazolin-2-one (XIII) が無色油状物として少量ずつ単離され, IR スペクトル, NMR スペクトルおよび元素分析によりこれらを確認した。

Thiolactone の新合成法 2 級水酸基は一般に亜鉛末でメチレン基に還元されるので, acetoxy 体より 3,4-(1',3'-dibenzyl-2'-oxoimidazolido)-5-hydroxy-2-oxothiophane (VI) を合成し, これを亜鉛末還元することにより thiolactone を得んと試みた. すなわち acetoxy 体をジオキサンに溶解し, 塩化水素ガスおよび硫化水素を飽和して室温に長時間放置すると, 薄層クロマトグラフィーで Fig. 1 に示す変化が認められた.

4 日間放置の後, 反応液を濃縮して得られる油状物質をシリカゲルのカラムクロマトグラフィーで分離すると, まず, 薄層クロマトグラフィーで Fig. 1 のスポット D を示す物質が mp 173—175° の無色リン片状晶として単離された. 本品は S および Cl を含有し, IR スペクトルで $\nu_{C=O}$ 1720, 1690 cm^{-1} の吸収が認められ元素分析は 3,4-(1',3'-dibenzyl-2'-oxoimidazolido)-5-chloro-2-oxothiophane (XV) に一致した. また, スポット C を示す物質は無色油状物質として単離され, S を含有し, IR スペクトルで $\nu_{C=O}$ 1720, 1700 cm^{-1} および ν_{O-H} 3330 cm^{-1} の吸収が認められた. 元素分析により本品は当初目的とした VI であることを確認した. acetoxy 体を含みジオキサン中塩化水素で処理するとスポット B と同一 R_f 値の無色油状物が得られ IR スペクトルはラクトン型の $\nu_{C=O}$ 1780 cm^{-1} および ν_{O-H} 3300 cm^{-1} の吸収を示した. また, acetoxy 体のアルカリ加水分解物^{3a)}の薄層クロマトグラフィーでもスポット B と同一 R_f 値の物質が認められることから 2-oxo-5-hydroxytetrahydrofuran 誘導体 (V) が反応過程において生成しているものと思われる.

つぎに, acetoxy 体をジオキサン中, 過塩素酸の存在下硫化水素と反応せしめると VI が好収率で得られ, 硫化水素—塩化水素の反応で得られたものと薄層クロマトグラフィーおよび IR スペクトルの一致を見た.

V より VI あるいは XV への変化は IR スペクトルでラクトン型 $\nu_{C=O}$ 1780 cm^{-1} よりチオラクトン型 $\nu_{C=O}$ 1720 cm^{-1} への shift によっても認められる (Fig. 2).

Acetoxy 体と硫化水素および塩化水素の反応において無水の塩化亜鉛を添加すると XV の収率が著しく増加するが, VI をジオキサン中で塩化亜鉛の存在下塩化水素と反応せしめても XV は低収率でしか得られないので XV の生成は VI を経由するよりは, むしろチオアルデヒドの塩化水素付加体 (XIV) を経由するものと考えられる.

このようにして得られる VI および XV をそれぞれ醋酸中で亜鉛末還元すると thiolactone が得られ, とくに XV よりほとんど定量的に生成した.

Fig. 1. Thin-Layer Chromatography of Reaction Mixture of 3,4-(1',3'-Dibenzyl-2'-oxoimidazolido)-5-acetoxy-2-oxothiophane with H_2S -HCl in Dioxane^{a)}

a) Hydrogen sulfide and hydrogen chloride were saturated in dioxane solution of acetoxy compound (IV), and the reaction mixture was allowed to stand at room temperature.

1) 0 hr	A: compound IV
2) 6 hr after	B: compound V
3) 24 hr after	C: compound VI
4) 96 hr after	D: compound XV

solvent system: isopropylether—ethyl acetate (3:1)

plates: silicagel-G (Merck)

indicator: KMnO_4 aq. or I_2

Fig. 2. Infrared Spectra of Reaction Products of 3,4-(1',3'-Dibenzyl-2'-oxoimidazolido)-5-acetoxy-2-oxothiophane with H_2S -HCl in Dioxane

-----	compound IV
- · - · -	compound V
—————	compound VI or XV

以上の知見により、著者等の合成法は Chart 3 に示す経路をとるものと推定される。反応溶液から XV を途中で単離することなく、亜鉛末還元を続けて行ない、約 80% の収率で thiolactone が得られた。

実験の部⁶⁾

Acetoxy 体 (IV) と H₂S-HCl との反応 (iso-ProH 溶媒) 文献^{3a)} にしたがひ、IV 18 g を iso-ProH 100 ml に溶解し、乾燥 H₂S および HCl gas を同時に 10—20° で 2.5 hr 導入。反応液を 50° 以下で減圧濃縮。残留物をエーテルに溶解し、5% NaHCO₃ および H₂O で洗浄後、MgSO₄ で乾燥。エーテルを留去して淡黄色油状物 18 g を得た。減圧蒸留し VII 15.5 g を得た。bp_{0.3} 200—210° 淡黄色油状物。Anal. Calcd. C₂₂H₂₄O₃N₂S:C, 66.65; H, 6.10; N, 7.07; S, 8.08. Found: C, 67.35; H, 6.01; N, 7.04; S, 8.13. シリカゲルの薄層クロマトグラフィー (Merck 社, silica gel G; イソプロピルエーテル AcOEt 3:1 で展開。KMnO₄ aq. で発色) で単一スポットを示した。

蒸留残留物をシリカゲルのカラム (関東化学, 100 メッシュ以上; CHCl₃ および EtOH で展開) に通し、溶出液を濃縮。析出結晶を EtOH より再結晶し VIII 0.9 g を得た。mp 165° 淡黄色プリズム晶。Anal. Calcd. C₆₆H₇₂O₉N₆S₃: C, 66.65; H, 6.10; N, 7.07; S, 8.08; mol. wt. 1189.5. Found: C, 66.74; H, 5.80; N, 7.01; S, 8.24; mole. wt. 1150 (蒸気圧法⁷⁾).

VII の KSH 還元 前記 VII 9 g を KSH 溶液 (KOH 15.8 g を含む EtOH 80 ml の溶液に H₂S を飽和) に溶解。室温に 15 hr 放置後 1 hr 還流。反応液を水中に分散し、エーテル抽出し、抽出液を濃縮して中性黄褐色油状物 4 g を得。薄層クロマトグラフィーで多数のスポットを認めた。一方水層を HCl で酸性にし、析出油状物をエーテル抽出。水洗後、濃縮して酸性黄色油状物 8.7 g を得。薄層クロマトグラフィーで SH 基の定性反応 (Na Nitroprusside) 陽性および陰性のスポットを認めた。これを AcOH 60 ml に溶解し、2 hr 還流後、AcOH を減圧留去、残留物を AcOEt に溶解し、5% NaHCO₃ で抽出。AcOEt 層を水洗し、MgSO₄ で乾燥。溶媒留去して中性黄色油状物 4.6 g を得。エーテルを加え、析出結晶を MeOH より再結晶して thiolactone (XI) 2.1 g (27.4%) を得た。mp 126—127° 無色プリズム晶 (lit.^{3a)} mp 126—127°)。標品と混融および IR スペクトルにより同定した。IR cm⁻¹: ν_{C=O} 1700, 1690. (KBr). NaHCO₃ 抽出液を HCl で酸性にし、析出油状物を AcOEt に取り、水洗。MgSO₄ で乾燥し、溶媒を留去して IX の disulfide (X) を含む酸性黄色油状物 (SH 定性反応陰性) 3 g を得た。X として Anal. Calcd. C₃₈H₃₈O₆N₄S₂: N, 7.88; S, 9.02. Found: N, 7.42; S, 10.27.

酸性油状物質の Zn 末還元 前記操作により得た X を含む酸性油状物 3 g を AcOH 60 ml に溶解。Zn 末 10 g を加えて、3 hr 攪拌しながら還流。冷後、汙過し、汙液を濃縮。残留物に 10% H₂SO₄ および AcOEt を加えて溶解、AcOEt 層を分離。5% NaHCO₃ および H₂O で洗浄し、MgSO₄ で乾燥。溶媒留去し、残留物にエーテルを加え、析出結晶を MeOH より再結晶し thiolactone (XI) 1.7 g (22.2%) を得た。mp 125—126° 無色プリズム晶。

3,4-(1',3'-Dibenzyl-2'-oxoimidazolido)-2-hydroxythiophane (XII) および 1,3-Dibenzyl-4-methyl-4-imidazolin-2-one (XIII) 文献^{3a)} の操作法にしたがって IV 3.8 g より XI 1.1 g (32.6%) を得。母液を濃縮し、

Chart 3

6) 融点はすべて未補正。

7) 分子量測定は日立 115 型分子量測定装置を用い、ベンゼンを溶媒とした。

残留油状物を Al_2O_3 (Merck) のカラム (ベンゼンで展開) に通し, XIII 0.4 g を得た. bp 190—195° (0.3 mmHg) 無色油状物. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{ON}_2$: C, 77.67; H, 6.52; N, 10.07. Found: C, 77.19; H, 6.62; N, 9.87. IR cm^{-1} : $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1670 (KBr). NMR τ : 8.17 ($\text{CH}_3-\text{C}=\text{CH}$, H_β , singlet).

XIII を分離した残りの fraction を集め, 濃縮. 残留物をシリカゲルのカラム (関東化学, 100 メッシュ以上; AcOEt で展開) に通し結晶性物質を得. EtOH より再結晶し, XII 0.2 g を得た. mp 145° 無色針状晶. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{N}_2\text{S}$: C, 67.04; H, 5.92; N, 8.23. Found: C, 67.26; H, 6.09; N, 7.98. IR cm^{-1} : $\nu_{\text{O-H}}$ 3330, $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1675. (KBr).

Acetoxy 体 (IV) と H_2S -HCl との反応 (ジオキサン溶媒) IV 5 g を 80% ジオキサン 50 ml に溶解し, 氷冷下 HCl gas および H_2S を順次飽和. 室温に 96 hr 放置する. この間, 24 hr ごとに HCl および H_2S の飽和を反覆する. 反応後, 溶媒留去. 残留物をエーテルに溶解. 5% NaHCO_3 および H_2O で洗浄し, MgSO_4 で乾燥. エーテルを留去し, 残留油状物は薄層クロマトグラフィーで 2 スポットを示す (Fig. 1). シリカゲルのカラム (関東化学, 100 メッシュ以上; CHCl_3 で展開) を通し, 結晶性物質を単離. EtOH より再結晶して XV 1.7 g (34.6%) を得た. mp 173—175° 無色リン片状晶. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{N}_2\text{S}$: C, 61.15; H, 4.56; N, 7.51; S, 8.59. Found: C, 61.08; H, 4.68; N, 7.54; S, 8.60. IR cm^{-1} : $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1720, 1690.

同じカラムより VI 1.1 g (23.6%) を得た. 無色油状物. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{N}_2\text{S}$: N, 7.91; S, 7.04. Found: N, 8.35; S, 6.80. IR cm^{-1} : $\nu_{\text{O-H}}$ 3330, $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1720, 1700 (KBr). 標品と IR スペクトルおよび薄層クロマトグラフィーの一致をみた.

VI の Zn 末還元 前記 VI 2.9 g を AcOH 30 ml に溶解し, Zn 末 10 g を加えて攪拌しながら 5 hr 還流. 冷後, 濾過し, AcOH 洗. 濾, 洗液を合し, 減圧濃縮. 残留物をエーテル処理し, 析出結晶を MeOH より再結晶し, XI 0.25 g (9%) を得た. mp 126—127° 無色プリズム晶.

XV の Zn 末還元 前記 XV 1.5 g を AcOH 10 ml に溶解し, Zn 末 2 g を加えて攪拌しながら 4 hr 還流. VI の場合と同様の操作により XI 1.25 g (92%) を得た. mp 126—127° 無色プリズム晶.

3,4-(1', 3'-Dibenzyl-2'-oxoimidazolido)-5-hydroxy-2-oxothiophane (VI) IV 5 g をジオキサン 40 ml に溶解し, 60% HClO_4 10 ml を加え, H_2S を氷冷下で飽和. 室温に 140 hr 放置後, 溶媒留去. 残留物に AcOEt および H_2O を加えて溶解し, AcOEt 層を分離. 5% NaHCO_3 および H_2O で洗浄し, MgSO_4 で乾燥. 溶媒留去して VI 4.6 g (99%) を得た. 無色油状物. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{N}_2\text{S}$: C, 64.40; H, 5.12; N, 7.91; S, 7.04. Found: C, 64.13; H, 5.44; N, 7.41; S, 7.30. IR cm^{-1} : $\nu_{\text{O-H}}$ 3330, $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1720, 1700 (KBr).

VI と HCl との反応 前記 VI 1 g をジオキサン 10 ml に溶解し, ZnCl_2 0.2 g を添加して HCl gas を氷冷下で飽和. 室温に 60 hr 放置後, 溶媒留去. 残留物をエーテルで処理. 析出結晶を MeOH より再結晶し XV 0.07 g (7.7%) を得た. mp 172—174° 標品と混融および IR スペクトルにより同定した.

3,4-(1', 3'-Dibenzyl-2'-oxoimidazolido)-5-hydroxy-2-oxotetrahydrofuran (V) IV 3.8 g を 80% ジオキサン 40 ml に溶解し, HCl gas を氷冷下で飽和. 室温に 48 hr 放置後, 溶媒留去. 残留物をエーテルに溶解し, 5% NaHCO_3 および H_2O で洗浄. MgSO_4 で乾燥. 溶媒留去して V 3.2 g (94.5%) を得た. 無色油状物. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{N}_2$: N, 8.28. Found: N, 8.06. IR cm^{-1} : $\nu_{\text{O-H}}$ 3300, $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1780, 1690 (KBr).

XI の新合成法 IV 50 g をジオキサン 500 ml に溶解し, ZnCl_2 10 g を添加し, HCl gas および H_2S を氷冷下 ($10 \pm 2^\circ$) 飽和. 10—20° で放置する. 24 hr ごとに HCl gas および H_2S の飽和を反覆し 96 hr 後, 溶媒を減圧留去すると XV が析出固化する. これを取り出すことなく, AcOH 400 ml に溶解し, Zn 末 100 g を加えて攪拌しながら 4 hr 還流. 冷後, 濾過し, AcOH で洗浄. 濾, 洗液を合して, 溶媒を減圧留去. 残留物を AcOEt に溶解し, 10% H_2SO_4 , H_2O , 5% NaHCO_3 , および H_2O で順次洗浄. MgSO_4 で乾燥した後, 溶媒を減圧留去. 残留結晶を MeOH より再結晶して XI 33.4—35.6 g (75—80%) を得た. mp 126—127° 無色プリズム晶.

謝辞 本研究に際し御配慮を賜った山之内製薬株式会社社長 山内健二氏, 専務取締役 渡辺順平氏に深謝します. また元素分析室ならびに測定課のかたがたに感謝します.