YAKUGAKU ZASSHI
 薬学雑誌
 90 (6) 716 - 723 (1970)

UDC 547.831.03.04 : 541.651

電荷移動を利用する医薬品化合物の分解抑制 その1 ピラゾロン誘導体による リボフラビンの光分解抑制とその機構¹⁾

岡野定輔, 松本 仁, 石井真一, 磯部明彦
 東北大学医学部薬学科²⁾

Stabilization of Medicinal Compounds by the Use of Charge Transfer. (I). Inhibition of Photodecomposition of Riboflavine by Pyrazolone Derivatives and Its Mechanism¹⁾

TEISUKE OKANO, HITOSHI MATSUMOTO, SHIN'ICHI ISHII and AKIHIKO ISOBE
Pharmaceutical Institute, Tohoku University²⁾

(Received January 29, 1970)

A study was undertaken with a view to inhibiting decomposition of medicinal compounds by the use of alteration of their electronic states, which is accompanied with charge-transfer complexation. The photodecomposition of riboflavine in aqueous solution was shown to be inhibited by the presence of pyrazolone derivatives, the effectiveness of which decreased in the following order: 4-aminoantipyrine > aminopyrine > antipyrine > 4-isopropylantipyrine. The examination of the following phenomena has been carried out in ethylene dichloride: quenching caused by the presence of pyrazolones, of fluorescence of riboflavine tetrabutyrates and new absorption bands in the difference spectra of riboflavine tetrabutyrates-pyrazolone derivative systems. It was confirmed that complexes of 1:1 molar ratio were formed through participation of charge transfer, and the values of apparent quenching constant and formation constant were determined. The substituent group in 4-position of the isopropyl derivative was found to hinder the interaction sterically. Comparison of the quenching effects of pyrazolones on the fluorescence of lumiflavine and 3-methyl lumiflavine indicated that hydrogen bonding was also involved in the complex formation. From the correspondence of stabilities of the complexes and the inhibitory effects of the pyrazolone derivatives, it was presumed that charge transfer with pyrazolone derivatives plays an important part in inhibiting the photodecomposition of riboflavine in aqueous medium.

著者らは現在までに、種々の電子供与体と電子受容体との組合わせからなる電荷移動系について、錯体生成機構、錯体の性状などの面から検討を行ってきたが、これらの検討過程で著者らは、電荷移動錯体が形成されるとき、成分分子の安定性が錯体中では遊離のときより、場合により増大または低下するという興味ある事実を経験した。たとえばピラゾロン誘導体が電子供与体となった場合に、電子受容体である *p*-キノノン類³⁾やアミノ安息香酸類⁴⁾が光分解に対して著明に安定化され、またスルファニルアミド関連化合物 (電子供与体) とリボフラビン (電子受容体) との相互作用系⁵⁾では前者の分子の存在で後者の分子の光分解が抑制される事実を経験した。一方 DNA ないしデオキシリボスクレオサイド (電子供与体) と 4-nitroquinoline 1-oxide (電子受容体) との錯体⁶⁾の中では、後者の光分解は促進されることが観察された。これらの事実は、電荷移動錯体が形成されると

1) 本報は「N-ヘテロ芳香族の電子的性状」第42報である。第41報：岡野定輔, 三浦忠義, 吉田睦子, 上釜兼人, 薬誌, 89, 1379 (1969); 本報はまた「製剤法の改良研究」第18報である (第17報：志内賢彦, 岡野定輔, 薬剤学, 30, 36 (1970)).

2) Location: Aobayama, Sendai.

3) 岡野定輔, 上釜兼人, 薬誌, 87, 1231 (1967).

4) 岡野定輔, 山崎佳弘, 上釜兼人, 薬誌, 89, 44 (1969).

5) 岡野定輔, 辻 和之, 薬誌, 88, 76 (1968).

6) T. Okano, K. Uekama, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 16, 1411 (1968); T. Okano, A. Niitsuma, A. Takadate, K. Uekama, *Gann*, 60, 97 (1969); T. Okano, K. Uekama, E. Taguchi, *ibid.*, 60, 295 (1969).

き、成分分子の電子状態が変化し、結果として分子の安定性に変化をきたしたものと解することができる。一般に錯体が形成されるとき分子が安定化されることについては、たとえば Higuchi ら⁷⁾はプロカイン系統の局所麻酔剤の加水分解がカフェインなどの錯体中で抑制されることを報告し、八木ら⁸⁾はリボフラビンの光分解がフェノール誘導体によって抑制されることを見出し、また畑らはメナジオン⁹⁾やフラビン類¹⁰⁾が各種の物質（フェノール、カフェイン、アンチピリンなど）の添加により安定化されることを観察し、その機構として、分子軌道の計算結果から電荷移動の寄与を予想している。著者らは上記の経験およびこれらの報告から、医薬品化合物の分解の抑制をはかる上で、錯体ことに電荷移動錯体の形成に由来する分子の電子状態の変化を利用することが、かなり一般性をもった手段となり得ることを考えて、とくにこの点から検討を行なうことを企図した。

本報において著者らはアンチピリン(2,3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one)を中心とする4種のピラゾロン誘導体によるリボフラビンの光分解抑制を観察するとともに、必要に応じて適宜リボフラビンの関連化合物を使用して、ピラゾロン誘導体との相互作用を検討した。ケイ光消光法および吸収スペクトル法によって相互作用を検討した結果、成分分子間に電荷移動と水素結合の両様の相互作用が生起することをたしかめることができた。またリボフラビンの光分解に対するピラゾロン誘導体の抑制効果と錯体の安定度との間に並行関係が成立することから、リボフラビンの光分解抑制にはピラゾロン誘導体との間の電荷移動が重要な役割を演じていることを推論した。

結 果

以下において使用したピラゾロン誘導体はアンチピリンおよびその4-アミノ置換体、4-ジメチルアミノ置換体（アミノピリン）、4-イソプロピル置換体である。イソアロキサチン誘導体としては、リボフラビンの水溶液が光化学的にかなり不安定で、正確な定量値を得るのに不適当であったので、相互作用の検討にあたっては適宜 riboflavin tetrabutyrate (RTB), lumiflavin (7,8,10-trimethylisoalloxyazine) または 3-methyllumiflavin を使用し、非水溶液中で検討した。

Fig. 1. Photodecomposition of Riboflavin in Phosphate Buffer, pH 7.0, at 25°

concn. of riboflavin: $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$
photoirradiation: at 465 mμ
Figures on the curve refer to irradiation time in minute.

Fig. 2. Inhibition by Pyrazolone Derivatives of the Photodecomposition of Riboflavin in Phosphate Buffer, pH 7.0, at 25°

—○—: photodecomposition of riboflavin
—●—: photodecomposition of riboflavin in the presence of (a) 4-aminoantipyridine, (b) aminopyrine, (c) 4-isopropylantipyridine, and (d) antipyridine
concentrations: riboflavin, $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$
pyrazolone derivatives, $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$

- 7) T. Higuchi, L. Lachman, *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, **44**, 521 (1955); L. Lachman, L. J. Ravin, T. Higuchi, *ibid.*, **45**, 290 (1956); L. Lachman, T. Higuchi, *ibid.*, **46**, 32 (1957); L. Lachman, D. Guttman, T. Higuchi, *ibid.*, **46**, 36 (1967).
- 8) 八木国夫, 松岡芳隆, ビタミン, **7**, 874 (1954); 八木国夫, 石橋郁子, ビタミン, **7**, 935 (1954).
- 9) S. Hata, M. Yamakawa, S. Tomioka, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **13**, 96 (1965).
- 10) a) 畑 俊一, 水野光司, 富岡穂一, 薬剤学, **27**, 130 (1967); b) 畑 俊一, 安楽孝雄, 佐野 肇, 薬剤学, **27**, 132 (1967); c) 畑 俊一, 富岡穂一, 薬剤学, **27**, 199 (1967).

リボフラビンの光分解におよぼすピラズロン誘導体の影響

Fig. 1 に示したように、リボフラビンの水溶液 (0.05 M リン酸塩緩衝液, pH 7.0) を $465 \text{ m}\mu$ (α 吸収帯の肩の位置) で励起すると、 $520 \text{ m}\mu$ 付近にケイ光極大 ($F_{\max}$) をもつケイ光スペクトルが得られるが、溶液を $465 \text{ m}\mu$ の単色光で照射すると、スペクトルは全波長にわたって経時的に強度を低下し、リボフラビンが顕著な光分解を受けることが認められた。以下におけるピラズロン誘導体存在下のリボフラビンの光分解の観察には、 $520 \text{ m}\mu$ におけるケイ光強度の変化を利用した。

リボフラビンとピラズロン誘導体との混合溶液の混合直後の $520 \text{ m}\mu$ のケイ光強度を 100 とし、光照射下の溶液中のリボフラビンの分解を経時的に観測した結果を Fig. 2 に示す。図から明らかなとおり、ピラズロン誘導体が存在しないときは、20 分以内に約 80% のリボフラビンが光分解されるのに対して、ピラズロン誘導体の存在下ではリボフラビンの光分解は多少とも抑制され、抑制効果の順序はつぎのとおりであった。

相互作用の検討

ピラズロン誘導体による RTB のケイ光消光 Fig. 3 に、ethylene dichloride ($(\text{CH}_2\text{Cl})_2$) を溶媒としたときの RTB のケイ光スペクトルに対するアミノピリンの消光効果を示した。アミノピリンの濃度増加とともに RTB のケイ光強度が低下するのが見られる。アミノピリン以外のピラズロン誘導体と RTB との混合系についても同様の結果が得られた。

Fig. 3. Quenching of Fluorescence of RTB by Aminopyrine in $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$ at 25°

concn. of RTB (curves 1—4): $1.0 \times 10^{-6} \text{ M}$
concn. of aminopyrine added: curve 1, 0;
curve 2, $1.0 \times 10^{-2} \text{ M}$; curve 3, $2.0 \times 10^{-2} \text{ M}$;
curve 4, $3.0 \times 10^{-2} \text{ M}$

Fig. 4. Stern-Volmer Plots of the RTB-Aminopyrine System in $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$

The concentration of RTB was $1.0 \times 10^{-6} \text{ M}$.

Fig. 4 に、 15° および 25° における RTB-aminopyrine 系についてのデータを Stern-Volmer 式⁽¹⁾

$$F_0/F - 1 = K_F \cdot [Q] \quad (1)$$

に適用して作成したプロットを示した。ただし、 F_0 および F はそれぞれ消光物質 (ピラズロン誘導体) の非存在および存在下のケイ光物質 (RTB) の $F_{\max}$ ($=505 \text{ m}\mu$) におけるケイ光強度、 $[Q]$ は消光物質のモル濃度、また K_F は見かけの消光定数である (この場合、ケイ光消光には静的機構のほか動的機構 (次項参照) も関与しているので K_F は見かけの定数である)。

Fig. 4 に明らかなとおり、RTB-aminopyrine 系についての Stern-Volmer プロットは 15° および 25° とも直線を与えた。このことは混合系中の成分がいずれの温度においてもモル比 1:1 の錯体を形成したことを示す。

アミノピリン以外のピラズロン誘導体と RTB との混合系についても Stern-Volmer プロットは直線性を示した。これらのプロットの直線の勾配から K_F 値を決定した。結果を Table I に示す。表中 RTB-4-amino-

11) O. Stern, M. Volmer, *Phys. Z.*, **20**, 183 (1919).

TABLE I. Apparent Quenching Constants of the RTB-Pyrazolone Systems and Energy Levels of the Highest-occupied Molecular Orbitals of the corresponding Pyrazolone Derivatives

Quencher	K_F		$\lambda_{h.o.}^{a)}$ (β unit)
	15°	25°	
4-Aminoantipyrine	36.8	43.8	0.206
Aminopyrine	43.8	38.6	0.236
4-Isopropylantipyrine	22.2	18.9	0.251
Antipyrine	26.2	24.7	0.274

a) ref. 3

antipyrine 系 (15° の K_F 値が期待より小であった) をのぞく 3 種の混合系については, K_F 値は 15° の値の方が 25° のそれより大となり, 静的消光の影響が大きいことが認められた. 25° における K_F 値の大きさの順序は, 水溶液中リボフラビンの光分解に対するピラズロン誘導体の抑制効果の順序 (前記) と一致した.

Table I にはさきに著者ら³⁾が算定したピラズロン誘導体の最高被占軌道エネルギー準位 ($\lambda_{h.o.}$) の数値をあわせて掲げたが, K_F 値と $\lambda_{h.o.}$ 値との関係については「考察」の部で述べる

消光定数に対する溶媒の影響 静的消光の効果が顕著であったピラズロン誘導体のうちアミノピリンおよびアンチピリンと RTB との混合系の K_F 値に対する溶媒の極性および粘性の影響を検討した. 結果を Table II に示す. 表の K_F 値を溶媒の Z 値¹²⁾ に対して作成したプロットは, Fig. 5 に示したように, 少数の溶媒の例外をのぞいて (「考察」の部参照), RTB-aminopyrine 系および RTB-antipyrine 系の場合とも直線関係を示した. 一方溶媒の粘性率 η と K_F 値との関係には, η 値¹³⁾ が大きいほど K_F 値が小となる傾向が認められ, ケイ光消光に動的機構の寄与があることが明らかとなった.

Lumiflavine 類のケイ光消光 イソアロキサチン核の 3 位 NH 基とピラズロン誘導体の電気陰性基との間の水素結合の可能性を検討する目的で, lumiflavine と 3-methylumiflavine の両者のケイ光に対するアミノピリンおよびアンチピリンの消光効果を比較検討した. 結果を Fig. 6 に示す. 図から明らかとなおり, 両種のピラズロン誘導体の場合とも, $F_0/F-1$ で表わした消光の度合は lumiflavine の場合の方が 3 位置換体の場合より

TABLE II. Apparent Quenching Constants of the RTB-Aminopyrine and RTB-Antipyrine Systems as contrasted with the Values of Z and Coefficient of Viscosity^{a)}

Solvent	$Z^{b)}$	$\eta^{c)}$ (cps)	K_F	
			RTB-aminopyrine system	RTB-antipyrine system
MeOH	83.6	0.544	41.8	21.6
EtOH	79.6	1.078	28.6	17.0
<i>n</i> -BuOH	77.7	2.271 (30°)	19.0	13.0
iso-PrOH	76.3	1.765 (30°)	23.1	15.1
(CH ₂ OH) ₂	85.1	17.33	7.00	6.00
DMSO	71.1	1.990	6.00	2.50
DMF	68.5	0.908	18.3	9.00
CCl ₄	—	0.843 (30°)	80.0	98.0
CH ₂ Cl ₂	64.2	0.393 (30°)	48.0	26.5

a) Unless otherwise indicated, figures denote values at 25°. b) ref. 12 c) ref. 13

12) E. M. Kosower, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 3253 (1958).

13) J. A. Riddick, E.E. Toops, Jr., "Organic Solvents," ed. by A. Weissberger, Interscience Publishers, Inc., New York, 1955.

Fig. 5. Apparent Quenching Constants of the RTB-Pyrazolone Derivative Systems at 25° plotted against Z-Values of Solvents

points: 1, MeOH; 2, EtOH; 3, *n*-BuOH; 4, iso-PrOH; 5, (CH₂OH)₂; 6, DMSO; 7, DMF; 8, CH₂Cl₂

大きな値を示した。これらの相互作用系の 15° および 25° の K_F 値を Table III に示す。両温度における K_F 値の比較から、これらの相互作用系においては、静的消光機構の影響が大きいことがうかがわれる。

吸収スペクトルの解析 (CH₂Cl)₂ 溶媒中でピラゾロン誘導体と RTB を混合すると、溶液はただちに橙黄色となり、RTB を対照とした混合系の差スペクトルには、Fig. 7 に示したように、487 mμ 付近に吸収極大 ($\lambda_{\max}$) をもつ新吸収帯が出現するのが観察された。

4 種のピラゾロン誘導体と RTB との混合系についての差スペクトル (対照, RTB) のデータを用いて、Benesi-Hildebrand¹⁴⁾ にしたがった式 (2)

$$[\text{pyrazolone}][\text{RTB}]/\Delta A = [\text{pyrazolone}]/\Delta \epsilon + 1/K_A \Delta \epsilon \quad (2)$$

に関するプロットを作成した結果、Fig. 8 に示したように、 $[\text{pyrazolone}][\text{RTB}]/\Delta A$ と $[\text{pyrazolone}]$ との間には直線関係が成立することが認められた。ただし $[\text{pyrazolone}]$ および $[\text{RTB}]$ はそれぞれピラゾロン誘導体および RTB の初濃度 (モル), ΔA は光路 1 cm で測定した差スペクトルの $\lambda_{\max}$ における吸光度, $\Delta \epsilon$ および K_A はそれぞれ系中に生成した錯体の分子吸光係数および生成定数である。

Fig. 8 のプロットの直線性は各混合系において成分モル比 1:1 の錯体が形成されたことを指示する。プロットの直線の切片と勾配の関係から $\Delta \epsilon$ および K_A 値を求めた。これらの解析結果を Table IV にまとめる。表から明らかとなおり、 $\Delta \epsilon$ 値と K_A 値とは並行し、またこれらの値の大小関係は K_F 値 (前記) のそれとも並行した。

TABLE III. Comparison of Quenching Constants of Lumiflavine-Pyrazolone and 3-Methylumiflavine-Pyrazolone Systems in Ethylene Dichloride

Flavine		K_F	
		Aminopyrine	Antipyrine
Lumiflavine	15°	54.0	46.7
	25°	49.0	37.5
3-Methylumiflavine	15°	49.0	33.0
	25°	44.0	22.5

14) H. A. Benesi, J.H. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 2703 (1949).

Fig. 6. Quenching of Fluorescence of Lumiflavines by Pyrazolone Derivatives in (CH₂Cl)₂ at 25°

● : lumiflavine plus aminopyrine
 ● : lumiflavine plus antipyrine
 ○ : 3-methylumiflavine plus aminopyrine
 ○ : 3-methylumiflavine plus antipyrine
 The concentration of the flavine derivatives was $1.0 \times 10^{-6} \text{ M}$.

Fig. 7. Difference Absorption Spectra of Mixed Systems of RTB and Pyrazolone Derivatives in $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$ at 25°

difference spectral system: pyrazolone derivative ($6.0 \times 10^{-3}\text{M}$) + RTB ($2.0 \times 10^{-3}\text{M}$) vs. RTB ($2.0 \times 10^{-3}\text{M}$)
 —: RTB—4-aminoantipyrine system
 ----: RTB—aminopyrine system
: RTB—antipyrine system
 - · - · - : RTB—4-isopropylantipyrine system

Fig. 8. Benesi-Hildebrand Plots for the Interactions between RTB and Pyrazolone Derivatives in $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$ at 25°

curves: a, RTB—4-aminoantipyrine; b, RTB—aminopyrine; c, RTB—4-isopropylantipyrine; d, RTB—antipyrine
 The concentration of RTB was $2.0 \times 10^{-3}\text{M}$.

TABLE IV. Properties of Complexes formed between Riboflavine Tetrabutryate and Pyrazolone Derivatives in Ethylene Dichloride at 25°

Pyrazolone	$\lambda_{\text{max}}^a)$	$\Delta\epsilon$	K_A (liter/mole)
4-Aminoantipyrine	488.0	182	28.2
Aminopyrine	487.0	170	21.8
4-Isopropylantipyrine	486.0	137	12.6
Antipyrine	485.5	148	16.3

a) absorption maximum of difference spectrum of mixture of pyrazolone derivative ($6.0 \times 10^{-3}\text{M}$) plus riboflavine tetrabutryate ($2.0 \times 10^{-3}\text{M}$) vs. riboflavine tetrabutryate ($2.0 \times 10^{-3}\text{M}$)

考 察

畑ら^{10a)}はピラズロン誘導体であるアンチピリンおよびスルピリンがリボフラビンを安定化することを報告している。著者らは上記において、リボフラビンの光分解に対する4種のピラズロン誘導体の抑制効果を観察するとともに、混合系の分子間相互作用の解析に重点をおいて検討を行なった。

すでに述べたとおり、リボフラビンの光分解に対するピラズロン誘導体の抑制効果は4-aminoantipyrine > aminopyrine > antipyrine > 4-isopropylantipyrine の順に減少した。この順序は 25° における見かけの消光定数 K_F および錯体生成定数 K_A の値の順序と一致したことが注目される。

ケイ光消光法による Stern-Volmer プロットおよび吸収スペクトル法による Benesi-Hildebrand プロットはいずれも直線性を示し、各ピラズロン誘導体と RTB との間にモル比 1:1 の錯体が形成されることが指示された。

電荷移動

Table I に明らかとなっており、 K_F 値 (25° の値) は 4-isopropylantipyrine の場合をのぞいて $\lambda_{\text{h.o.}}$ 値と並行した。この関係は K_F 値 (Table IV) と $\lambda_{\text{h.o.}}$ 値との関係についても同様で、イソプロピル置換体を例外として並行関係が認められる。一方差スペクトルの λ_{max} の値と $\lambda_{\text{h.o.}}$ 値との間には良好な並行関係が存在し、 $\lambda_{\text{h.o.}}$ の β の係数が小さいほど λ_{max} の位置は長波長側にあるのが認められる (Table I および IV)。 $\lambda_{\text{h.o.}}$ 値の大きさから、ピラズロン誘導体が良好な電子供与体となり得ることが知られるが、 λ_{max} 値、 K_F および K_A 値、および $\lambda_{\text{h.o.}}$ 値の間にこのような関係が存在することは、良好な電子受容体である RTB⁵⁾ とピラズロン誘導体との間に電荷移動形の相互作用が生じたことを示すものと考えられる。4-アミノアンチピリンおよびアミノピリンの K_F およ

び K_A 値が 4-イソプロピルアンチピリンおよびアンチピリンの値に比較してかなり大きな値となっているのは、4 位にアミノまたはジメチルアミノ基が置換された場合、これらの置換基の n -donor としての性質が錯体の安定性に寄与することを示すものと考えられる (著者ら¹⁵⁾ は 4-アミノアンチピリンおよびアミノピリンと安息香酸誘導体との相互作用系で、 n - π 形電荷移動の寄与があることを観察した). アミノピリンの場合、 n -donor 性は 4-アミノアンチピリンより大となるが、一方で 4 位置換基の立体障害があると考えられ、得られた K_F および K_A 値には両因子が含まれているものと思われる. 4-イソプロピルアンチピリンの K_F , K_A 値とアンチピリンのそれとを比較すると、 $\lambda_{h.o.}$ との関係が逆転しているが、これは前者では 4 位置換基の立体障害効果があるためと考えられる.

K_F 値と溶媒の極性の尺度である Kosower の Z 値 (この値は電荷移動スペクトルの遷移エネルギーをもとにして定められた値である) との間関係では、エチレングリコール ($(CH_2OH)_2$) およびジメチルホルムアミド (DMF) の場合をのぞいて、両者間に良好な並行関係が成立し、 Z 値の増大にともなって K_F 値が増大する傾向が認められた (Fig. 5). この結果は、溶媒の極性が増大するとともに分子の分極が促進され、分子間の電荷移動が生じやすくなったためと考えられ、¹⁶⁾ やはり相互作用への電荷移動の関与を支持する事実である. Fig. 5 で $(CH_2OH)_2$ および DMF が溶媒となったときに K_F - Z の関係が直線性から著しくはずれたことについては、前者の場合は溶媒の粘性率がきわめて大きいことが動的消光 (後記参照) に抑制的にはたらいた結果と見られ、また後者の場合はピラズロン誘導体と p -キノン類³⁾ や安息香酸誘導体¹⁵⁾ との間の電荷移動において認められたと同様に、溶質-溶媒ないし錯体-溶媒の相互作用など複雑な因子が関係した結果と考えられる. なお Table II で、四塩化炭素およびジクロルメタン溶媒の場合に、 K_F 値が著しく大きな値を示したのは、塩素原子をもった溶媒分子とケイ光分子 RTB との間にスピン軌道カップリングが生じた、いわゆる外部重原子効果¹⁷⁾ が発現した結果と考えられる.

消光機構

K_F 値と温度との関係 (Table I) からは、4-アミノアンチピリンの場合をのぞき、静的消光機構の寄与が認められ、一方 K_F 値と粘性率との関係 (Table II) からは、動的消光機構 (単なる分子の衝突と、衝突の結果非ケイ光性錯体 (encounter complex) が生ずることの両者を含む) の寄与が明らかとなった. したがってピラズロン誘導体による RTB のケイ光消光には、ケイ光分子と消光分子との間の錯体形成に基づく静的な消光¹⁸⁾ と、両分子の衝突に起因する動的な消光との両様の機構が関与していると見なければならぬ. $(CH_2Cl)_2$ 溶媒中 15° における RTB-aminoantipyrine 系の K_F 値が期待より小さな値となったのは、このような消光機構が複雑に干渉し合った結果と考えられる.

同温度 (25°) で測定した K_F 値と K_A 値とを比較すると、いずれのピラズロン誘導体の場合も、 K_F 値の方が K_A 値より著明に大きい. これは、吸収スペクトル法では基底状態における錯体形成だけが観測の対象となっているのに対して、ケイ光消光法では基底状態での錯体形成の因子のほかに、励起状態における動的消光が同時に観察されているためと考えられる.

水素結合

Fig. 6 および Table III に示されているように、lumiflavine および 3-methylumiflavine のケイ光に対するアミノピリンとアンチピリンの消光作用を比較検討した結果は、いずれのピラズロン誘導体の場合も、lumiflavine の方が 3-メチル置換体より強く消光された (Chart 1 参照). この事実は相互作用にイソアロキサチン核の 3 位イミノ基による水素結合があずかっている可能性を示唆する. したがって、3 位に置換基のないイソアロキサチン誘導体とピラズロン誘導体との間の錯体形成には、電荷移動と水素結合とが同時にはたらくているものと考えられる. ピラズロン誘導体の側の水素受容部位としては 5 位カルボニル基の可能性が大きい¹⁹⁾ 電荷移動と水素結

15) 岡野定輔, 上釜兼人, 伊沢 優, 薬誌, **87**, 1237 (1967).

16) D.L. Hammick, *J. Chem. Soc.*, **1954**, 2685; T.J. Thompson, *Trans. Faraday Soc.*, **58**, 860, 1059 (1962); J.C.M. Tsibris, D.M. McComick, L.D. Wright, *Biochemistry*, **4**, 504 (1965); 久保山 昭, 長倉三郎, 日化, **75**, 579, 1082 (1958); 久保山 昭, 日化, **81**, 558 (1960).

17) S. P. McGlynn, T. Azumi, M. Kasha, *J. Chem. Phys.*, **40**, 507 (1964); S. P. McGlynn, J. Daigre, E. J. Smith, *ibid.*, **42**, 794 (1965).

18) B. L. Van Duuren, *Chem. Rev.*, **63**, 325 (1963).

19) A. Regenbogen, *Pharm. Weekblad*, **55**, 1126 (1918); P. Pfeiffer, O. Angren, *Z. Physiol. Chem.*, **154**, 276 (1926).

Chart 1

合の両結合様式が関与した相互作用によって、2種の分子がどのようなかたちで接近しているかを現段階でいうことはできない。ちなみにイソアロキサチン核の3位イミノ基が水素結合に関与した例として、Kyogoku ら²⁰⁾ はリボフラビン誘導体と 9-ethyladenine との間の環状二量体の形成にこの基が関与することを報告している。

光分解抑制と相互作用

すでに述べたように、リボフラビンの光分解に対するピラズロン誘導体の抑制効果は、ピラズロン誘導体と RTB との錯体に関する K_A および K_F 値の両者と並行し、 K_A および K_F 値はまたピラズロン誘導体（立体障害が明らかなイソプロピル置換体をのぞく）の $\lambda_{n.o.}$ 値と並行した。これらの事実はピラズロン誘導体によるイソアロキサチン誘導体の光分解抑制には、両者間の錯体形成が重要な役割を演じていることを示すものと考えられる。基底状態での K_A 値と光分解抑制効果との並行性は、系中の分子間における電荷移動錯体の形成が光分解抑制に寄与することを示している。一方 K_F 値と光分解抑制効果との間の並行関係は、光分解抑制に静的機構だけでなく、動的機構も関与することを示している。

上記において、光分解の抑制は水溶液中で観察し、相互作用の検討には非水溶液を用いたが、リボフラビンのリビチル基をエステル化し、また溶媒の種類を変えても、電子スペクトル（イソアロキサチン核に由来する）には本質的な変化がないことは、さきに著者ら²¹⁾が報告したとおりで、このことから RTB による検討の結果とリボフラビンによる検討結果とを直接対比して考えることは妥当なことと思われる。水溶液のデータと非水溶液のそれとがよい対応を示したことは、逆にこのことを裏書きしているといえるであろう。非水溶媒中で相互作用を検討した結果からは、電荷移動および水素結合などの driving force の寄与が推定されたが、一般に電荷移動が極性溶媒中で強くなるのに対して、分子間の水素結合は水溶液中では抑制されることを考えると、水溶液中でのリボフラビンの光分解抑制には、電荷移動の方が主要な役割を演ずると推測される。

実験の部

定量的実験はすべて遮光条件下で行ない、またスペクトル測定にあたっては、Haake 超恒温槽を使用してセル室を $\pm 0.1^\circ$ の恒温に保った。

試料および溶媒 イソアロキサチン誘導体およびピラズロン誘導体はいずれも適当な溶媒から数回再結晶して使用した。mp: riboflavine, 280° (decomp.) (H_2O); RTB, 146° (EtOH- H_2O); aminopyrine, 108° (ligroin); antipyrine, 112° (ligroin); 4-aminoantipyrine, $108-109^\circ$ (ligroin-benzene); 4-isopropylantipyrine, $108-109^\circ$ (benzene). Lumiflavine, mp 319° , および 3-methylumiflavine, mp $278-280^\circ C$, は既報²¹⁾ と同一試料を使用した。

(CH_2Cl)₂ は dil. H_2SO_4 および dil. NaOH で洗浄後、十分に水洗し、 Na_2SO_4 で脱水したのち蒸留して用いた。MeOH, EtOH, iso-PrOH, *n*-BuOH, (CH_2OH)₂, DMSO, DMF, CCl_4 , および CH_2Cl_2 の各溶媒は、市販品を 30 cm の Widmer 精留塔で蒸留し、初留と後留を十分にのぞいて使用した。

光照射 試料溶液を島津ケイ光分光光度計 GF-16 形のセル室におき、光源としてウシオ電機製 500 W キセノンランプを用いて光照射した。

ケイ光スペクトルの測定 全波長ケイ光スペクトルの測定には島津ケイ光分光光度計 GF-16 形を使用、特定波長でのケイ光強度の測定にはターナーケイ光光度計 Model 110 を使用した。後者の場合は 1 次および 2 次フィルターとして、それぞれターナーカラーズベック 47-B および 8 を用いた。

吸収スペクトルの解析 全波長スペクトルの測定には島津マルチパーパス自記分光光度計 MPS-50 形を、定量目的には島津光電分光光度計 QV-50 形を使用した。錯体の $\Delta\epsilon$ および K_A 値を測定するにあたっては、RTB の濃度を一定とし、ピラズロン誘導体の濃度はその 5—40 倍の範囲で 5 段階とって、混合溶液の新吸収帯の λ_{max} における吸光度を測定した。

20) Y. Kyogoku, B.S. Yu, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **42**, 1387 (1969).

21) 岡野定輔, 辻 和之, 薬誌, **87**, 473 (1967).