

1966 No. 2

(通巻第40号)

CHEMICAL TIMES

目 次

(通巻ページ)

工業分析化学随説(XII)	東北大学教授 理学博士	加藤多喜雄	670
トリコロミン酸とイボテン酸の化学(II)	東北大学助教授 理学博士	武井信典	
有機化合物の質量スペクトル(I)	東北大学医学部教授 薬学博士	竹本常松	675
制癌アルキル化剤とその定量法(III)	東京教育大学理学部 理学博士	大橋守	678
	明治薬科大学 薬学博士	丸山幸三	681

KANTO CHEMICAL CO., INC.

工業分析化学随説 (XII)

ジチゾンおよびその誘導体 (I)

東北大学教授 理学博士 加 藤 多喜雄
 東北大学助教授 理学博士 武 井 信 典

本随説 II において微量金属の吸光光度定量用抽出試薬として広く用いられているジチゾンの合成法等^{2, 3}の基礎的事項について簡単に述べ、ジチゾン誘導体についても引き続いて述べる予定であったが、著者等の手違いにより中断したままになっていた。この方面における研究はその後かなり行なわれているので、ここに改めてジチゾンおよびその誘導体について簡単に述べることにする。先に記したものと重複する点もあると思われるが、お許し戴きたいと思う。

I ジチゾンと金属イオンとの反応

ジチゾンは通常クロロホルム、四塩化炭素またはベンゼン溶液として用いられ、いずれの場合も希薄溶液では美しい緑色を呈している。しかしこの溶液を適当な pH その他の条件に調節した金属イオンの水溶液と振ると金属イオンはいわゆるジチゾン塩として有機相に抽出され、有機相は金属イオンにより黄色ないし赤紫色を呈するようになる。ジチゾンと反応して有機相に抽出可能ないわゆるジチゾン塩をつくる金属イオンは図 I に示すようなものである。

図 I ジチゾンと反応する金属

Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se
Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te
Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po

実線内：ジチゾン塩の生成が確実な金属

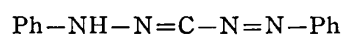
点線内：ジチゾン塩の生成がやや不確実とされている金属

図 I においてジチゾン塩の生成が確実に認められている実線で囲まれた金属の中には Hg, Cu 等のように 1 価、2 価いずれの状態においてもジチゾン塩を生成する金属と、Fe, Tl, Sn 等のように Fe^{2+} , Tl^+ , Sn^{2+} の状態においてだけジチゾン塩をつくり、 Fe^{3+} , Tl^{3+} , Sn^{4+} のジチゾン塩は生成されないといった金属もある。また Co には Co^{2+} ジチゾン塩だけが知られていたが、 Co^{3+} のジチゾン塩も存在するとする報告が最近行なわれている¹⁾。次にジチゾン塩の生成が確実でないとしてされている点線で囲まれた金属の中で、Sb は 3 価の状態ではジチゾン

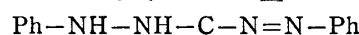
塩をつくり、四塩化炭素溶媒中で黄色を²⁾、熔融ナフタレン溶媒中でだいたい赤色を呈する³⁾といわれ、また、 As^{3+} , Sb^{3+} のペーパークロマトグラフ分離法における発色剤としてジチゾンのクロロホルム溶液を用いた例もある⁴⁾。また、 Te^{4+} は四塩化炭素に抽出可能なジチゾン塩をつくり、Po のジチゾン塩と同様に昇華性であるという⁵⁾。次に Ge は図 I ではジチゾン塩をつくらぬ金属とされているが、Irving 等⁶⁾ によると Ge^{2+} の状態ではジチゾン溶液により抽出可能であり、ジチゾン塩の存在が推定されている。

ジチゾンが種々の金属イオンとつくるジチゾン塩の組成、構造についての研究は多く行なわれており、組成についてはかなりの成果が得られているが、構造の点については不明の点が多い。

ジチゾンは下図のような構造を有し、溶液中において I, II で示される thiol 型、thione 型の互変異性体が平衡を保っていると考えられる。



〔I〕 Thiol 型



〔II〕 Thione 型

従ってジチゾンにはいずれの型にしても解離し得る水素が 2 個あり、二塩基性酸として作用すると考えられ、酸解離定数として $pK_{a1} : 4.82^7)$, $4.5 \pm 0.3^8)$, $pK_{a2} : 15$ 以上⁷⁾ 等の値が報告されている。

従ってジチゾンが金属イオンとつくるジチゾン塩には 2 種類存在することが考えられるが、通常生成するジチゾン塩はジチゾンが一塩基性酸として作用して得られるいわゆる酸性塩で、一般にはケト型ジチゾン塩あるいは primary complex とよばれている。ジチゾンが二塩基性酸として作用して得られるいわゆる正塩は僅かに Pd^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Ag^+ 塩についてだけ知られており、一般にはエノル型ジチゾン塩あるいは secondary complex とよばれている。

表 I, 第 1, 第 2 列に一般によく知られているジチゾ

ン塩の組成を示した。第1列は一般に記載されているものであり、第2列は Meriwether 等⁹⁾ の報告から引用したものである。表においてジチゾン₂は H₂Dz の形で略記してある。

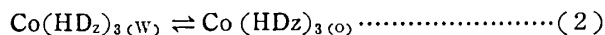
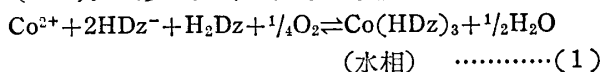
表 I ジチゾン塩溶液の極大吸収波長

ジチゾン塩		溶媒	極大吸収波長(mμ) ⁹⁾
Mn(HDz) ₂	Mn(HDz) ₂ · H ₂ O ⁹⁾	A	515, 608
	Os(HDz) ₃ (?)	A	390, 520
Co(HDz) ₂	Co(HDz) ₂	A	410, 545
Ni(HDz) ₂	Ni(HDz) ₂	B	480, 565, 665
Pd(HDz) ₂	Pd(HDz) ₂		
	green	A	450, 570, 640
	violet	A	470, 520
	red	A	500
PdDz	PdDz · 2H ₂ O	A	485
Pt(HDz) ₂	Pt(HDz) ₂	A	430, 488, 710
Cu(HDz) ₂	Cu(HDz) ₂		
	violet	A	545
	brown	A	445
CuDz	CuDz · 2H ₂ O	A	445
AgHDz	AgHDz · H ₂ O	A	470
Ag ₂ Dz	Ag ₂ Dz	A	490
Au(HDz) ₃	Au(HDz)Cl ₂	A	540, 570
	Au(HDz)(OH) ₂	A	460, 605
Zn(HDz) ₂	Zn(HDz) ₂	A	532
Cd(HDz) ₂	Cd(HDz) ₂	A	518, 605
Hg(HDz) ₂	Hg(HDz) ₂	A	490
TIHDz	TIHDz	A	515, 605
Sn(HDz) ₂	Sn ₂ O(HDz) ₂ · 2H ₂ O	B	520
Pb(HDz) ₂	Pb(HDz) ₂	A	518, 608
Bi(HDz) ₃	Bi(HDz) ₃	A	498
	Bi(HDz) ₂ Cl · 2HCl	A	500, 620

A : クロロホルム B : 四塩化炭素

表 I において、Meriwether 等による結果の中で Au(HDz)Cl₂, Au(HDz)(OH)₂, Sn₂O(HDz)₂ · 2H₂O, Bi(HDz)₂Cl · 2HCl等は初めて見る形と思われるが、大変に興味深い。なお、第2列において Cu²⁺ ジチゾン塩等に一種以上記載があるが、これについては後で述べる。

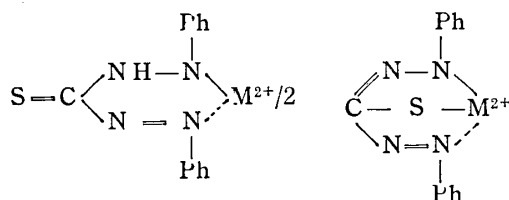
以上ジチゾンと反応する金属イオンならびに生成するジチゾン塩の組成について簡単に述べたが、Co³⁺のジチゾン塩の存在を認めた Duncan 等¹⁾の報告について若干補足して紹介する。Co は通常2価の状態ではジチゾンと反応し、Co(HDz)₂で示されるジチゾン塩を生成するが、Duncan 等は Co²⁺のジチゾン溶液による滴定、Job の連続変化法による検討、生成したジチゾン塩の元素分析、磁性の測定等の結果から生成するジチゾン塩は Co(HDz)₃ であるとし、その生成反応として



を示している。そしてこれらの結果が 10⁻⁴~10⁻⁵M のほぼ同程度の濃度の Co²⁺ ならびにジチゾン溶液を用いたときに得られるのに対し、ジチゾンを大過剰に用いるときは Co(HDz)₂ の生成が認められることから、Duncan 等は過剰に加えられたジチゾンが還元剤として働き、Co(HDz)₃ の生成を妨げているのであろうとしている。これらの結果は Co²⁺ の定量をジチゾンを用いて行なう場合に特に注意を要することを示すものと思われる。

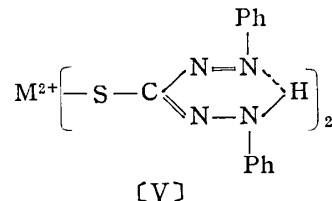
II ジチゾン塩の構造

ジチゾンには先に示したように thiol 型、thione 型の両互変異性体が存在するが、ジチゾンの分析化学的利用を初めて検討した H. Fischer¹⁰⁾ は通常分析条件においてはジチゾンは thione 型で金属イオンと反応し、生成するジチゾン塩は下図 III で示されるものであるとし、これをケト型ジチゾン塩とよんだ。



そして Cu²⁺, Hg²⁺, Ag⁺ にみられる正塩型ジチゾン塩は上図 IV に示すようにジチゾンが thiol 型で反応した結果得られるものであるとしてこれをエノル型ジチゾン塩とよんだ。これら Fischer による推定構造は教科書等によく引用され、採用されているが、実の所確認されたものではない。

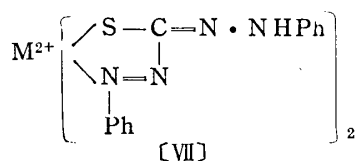
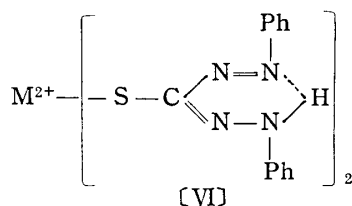
このジチゾン塩の構造について Irving 等¹¹⁾ はまずジチゾンが一塩基性酸として働いてつくるジチゾン塩は下図 V に示すようなもので、ジチゾンは thiol 型で反応するものと推定した。



そしてこの推定を確かめるために Irving 等¹²⁾ は thiol 型ジチゾンの -SH 基の水素をアルキル基で置換した S-アルキルジチゾン (3-alkylthio-1,5-diphenylformazan Ph-N=N-C(SR)=N-NH-Ph) を合成し、その金属イオンとの反応を検討した結果、Cu²⁺, Hg²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺ がいわゆるケト型ジチゾン塩をつくる条件のもとではこれらの金属イオンは S-アルキルジチゾンとは全く反

応せず、アセトン溶媒中で反応せしめて得た Hg^{2+} との反応生成物はいわゆるケト型ジチゾン塩とは全く異なるものであることを認めている。その後 Irving 等¹³⁾ は Ni^{2+} との反応生成物についても同様の結果を得ている。一方 Harding¹⁴⁾ はピリジン水溶液から再結晶せしめて得たケト型 Hg^{2+} ジチゾン塩 $\text{Hg}(\text{HDz})_2 - 2 \text{Pyridine}$ の X 線解析を行ない、 $\text{Hg}-\text{S}$ 結合、ならびに弱い $\text{Hg}-\text{N}$ (アゾ基) 結合を認め、ピリジンはイミノ基の水素と水素結合し、 Hg^{2+} には配位していない等の結果を得ており、また、Bryan¹⁵⁾ はいわゆるケト型 Cu^{2+} ジチゾン塩の結晶の X 線解析を行ない、 $\text{Cu}-\text{S}$, $\text{Cu}-\text{N}$ 結合を認めている。従って、 Hg^{2+} , Cu^{2+} ジチゾン塩に関する限り、少なくとも結晶状態においてはジチゾンは thiol 型で結合していると考えられる。この外 Irving 等¹³⁾ は立体的構造の面からいわずにケト型ジチゾン塩はつくり得ないとしている。以上のような結果から Fischer の推定したケト型構造は誤りであり、ジチゾンは thiol 型で反応にあずかり $-\text{S}-\text{M}$ 結合をつくっているとしてよいものと思われる。

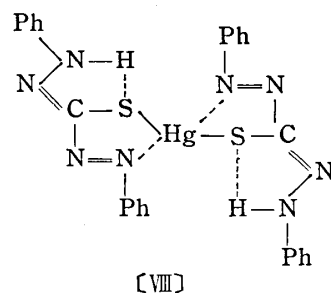
但し、ジチゾンが thiol 型で金属イオンと反応するとしても、生成物の構造が下図の VI であるか、あるいは VII であるかについてはなお問題が残る。



上図構造 VI および VII においてジチゾンはそれぞれ一配位子および二配位子として反応しており、同じく $-\text{S}-\text{M}$ 結合をつくるにしても VI の構造をとるか、あるいは VII の構造をとるかににより反応機構にはかなりの相違があると思われる。Harding および Bryan による Hg^{2+} および Cu^{2+} ジチゾン塩の結晶の X 線解析の結果では結晶状態では両塩は VII の構造をとっていることが知られたが、溶液状態でもそうであるという確証はない。この点については Irving 等¹⁶⁾ は金属イオンの配位数の点から通常の Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} ジチゾン塩は VII の構造をとり、次号で述べる予定の R_3Sn , R_2Sn 等の有機スズ化合物のジチゾン塩は VI の構造をとるものと推論している。一方 Duncan 等¹⁷⁾ は Hg^{2+} , Cu^{2+} ジチゾン塩の四塩化炭素溶液の赤外部吸収スペクトルを測定

し、いずれの場合も 3200cm^{-1} 附近に強い $\text{N}-\text{H}$ の伸縮振動による吸収を認め、その吸収波長ならびに吸収強度等から両塩の溶液における構造は VI であるとしている。

また Meriwether 等¹⁷⁾ は Hg^{2+} 塩の結晶および溶液の赤外部吸収スペクトルからいずれの状態においても Hg^{2+} 塩は下図のような構造であるとし、イミノ基の水素は S と強く水素結合しているとしている。



このように primary complex については $\text{S}-\text{M}$ の結合については一様に認められているが、細部にわたってはなお検討の余地が残されている。

いわゆるエノル型ジチゾン塩については Duncan 等¹⁷⁾ は Cu^{2+} 塩の四塩化炭素溶液の赤外部吸収スペクトルに $\text{N}-\text{H}$ 伸縮振動による吸収が認められないことからその構造として IV の型を支持しており、Meriwether 等⁹⁾ も Cu^{2+} 塩については同様の結果を得ているが、 Ag^{+} 塩では $\text{N}-\text{H}$ 伸縮振動による吸収を認めており、その組成 Ag_2Dz と矛盾した結果を得ている。

このように primary complex, secondary complex とともに構造についてはなお一層の検討を要するものと思われる。

III ジチゾン塩溶液の吸収スペクトル

ジチゾンが微量金属の吸光光度定量用抽出試薬として広く利用されているためあっても、ジチゾン塩の各種有機溶媒における可視部吸収スペクトルはよく測定されている。表 I にクロロホルムおよび四塩化炭素溶媒における各種ジチゾン塩の極大吸収波長測定値の一例を示した。

表 I から定性的に Hg^{2+} , Ag^{+} 塩等安定なジチゾン塩 (primary) の溶液は Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} 塩等比較的不安定なジチゾン塩の溶液に比し極大吸収点が短波長側にあるといえる。但し、 Cu^{2+} ジチゾン塩は比較的安定であるが、その溶液の極大吸収点はかなり長波長側にあり、例外的挙動を示している (この点については“無機化学全書” XV-2, 錯塩, p. 290 (1959) を参照されたい)。Irving 等¹⁸⁾ は Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Bi^{3+} , Pt^{2+} , Ag^{+} , Pd^{2+} , Au^{3+} 等のジチゾン塩の四塩化炭素溶液の極大吸収波長とこれらの金属イオンのハライド錯イオン (1:1) の生成定数の対数とがほぼ直線関係を示すことを認めている。また Meriwether 等⁹⁾ は多くの

ジチゾン塩が比較的金属イオンの種類に影響されることなくジチゾンと同様に可視部に強い吸収を示すことからジチゾン塩の吸収は金属イオンに配位したジチゾン自体によるものであるとしている。また、 Ni^{2+} , Pd^{2+} , Pt^{2+} , Au^{3+} 等 正方平面型結合配置をとる金属イオンのジチゾン塩溶液が可視部に一つ以上の吸収を示すのに対し、その他の四面体あるいは八面体型結合配置をとる金属イオンのジチゾン塩が只一つの吸収を示すことについては、平面構造のジチゾン塩においては中心に位置する金属イオンを通しての同一平面にあるジチゾンの π 電子系による吸収が加わっているためとしている。

ジチゾン塩のエタノール溶液の吸収スペクトルは四塩化炭素溶液のそれとは異なることが知られており²⁾、ジチゾン塩と極性溶媒との間には相互作用のあることが予想されるが、この方面の報告は殆んどないようである。

ジチゾン塩の赤外部吸収スペクトルについては Dyfverman¹⁰⁾ が臭化カリウム錠剤法で測定し、そのスペクトルの類似性から

1. ジチゾン
2. Ni^{2+} , Pd^{2+} , Pt^{2+} , Co^{2+} の primary complex
3. Cu^{2+} の secondary complex
4. Au^{3+} , Ag^+ , Hg^{2+} , Tl^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , In^{3+} , Pb^{2+} , Bi^{3+} の primary complex

の 4 グループに分類し、第 2, 第 4 のグループに属する primary complex は異なる構造を持つものと推定している。また、Meriwether 等⁹⁾ も Nujol 法により同様の測定を行ない、同じくスペクトルの類似性から

1. Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Sn^{2+} , Pb^{2+} , Bi^{3+} の primary complex
2. Cu^{2+} (brown), Ag^+ , Au^{3+} ($\text{Au}(\text{HDz})(\text{OH})_2$), Tl^+ の primary complex
3. Ni^{2+} , Pd^{2+} (green), Pd^{2+} (red), Pt^{2+} , Cu^{2+} (violet) の primary complex ならびに Pd^{2+} の secondary complex
4. Os^{3+} , Co^{2+} の primary complex

の 4 グループに分類し、また、 Cu^{2+} , Ag^+ の secondary complex および $\text{Pd}(\text{HDz})_2$ (violet) が類似性のない

特徴あるスペクトルを示すとしている。そして Dyfverman 同様各グループに属するジチゾン塩は同じ構造をしているものと推定している。

IV ジチゾン塩の光化学反応

ジチゾンを用いて Hg^{2+} の定量を行なったことのある方は恐らくどなたも抽出液を直射日光に当てると液が黄色が淡い緑がかった色に極めて敏鋭に変色し、光を避けるとまた速やかに元の黄色に戻るという、妙な現象にお気付きのことと思うが、この現象について Meriwether 等⁹⁾ ¹⁷⁾ が詳細な検討を行なっているのでこれについて紹介する。

まず Meriwether 等は次のような結果を得た。

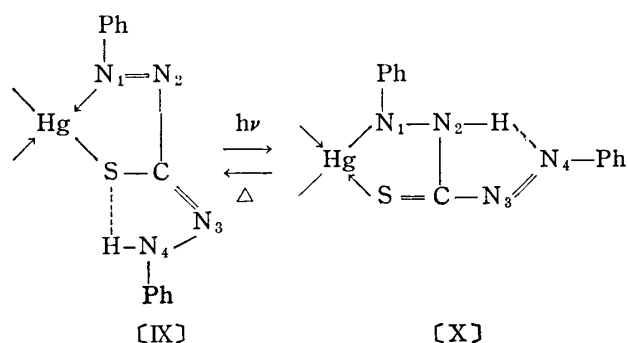
1. Pd^{2+} , Pt^{2+} , Ag^+ , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Bi^{3+} の primary complex は種々の溶媒系において主として 450 ~ 640m μ の光照射により極めて速やかな可逆的光化学反応を行なう。
2. Hg^{2+} 塩は結晶状態においても同様の反応を示す。
3. 暗所での逆反応は低温程おそい。
4. 光照射に対する安定性は Cd^{2+} 塩 < Bi^{3+} 塩 < Pb^{2+} 塩 < Pt^{2+} 塩 < Ag^+ 塩 < Zn^{2+} 塩 < Pd^{2+} 塩 < Hg^{2+} 塩 < Ni^{2+} 塩 である。
5. 光照射による遊離基の生成は認められない。
6. 逆反応は極性溶媒中で著しく早く、また、無極性溶媒系への微量の極性物質の添加により逆反応は著しく早められる。

更に Meriwether 等は表 II に示すジチゾン塩が 400 m μ 以下の光照射により不可逆的光化学反応を行ない、溶液の吸収スペクトルを異にする同一組成のジチゾン塩の得られることも明らかにしている。(表 I 参照)

以上のような結果を得た Meriwether 等は更に Hg^{2+} , Ag^+ , Bi^{3+} 塩について光照射前後の溶液の赤外部吸収スペクトルの測定を行ない、また、ベンゼン溶媒系での逆反応が一次反応で、反応速度定数がジチゾン塩の濃度、溶液の水含量により変化する。-NH-部分を-ND-化したジチゾン塩では逆反応速度は低下する等の事実を認め、これより下図(P. 6)のような光化学反応機構を示している。

表 II ジチゾン塩の光照射による不可逆的色の変化

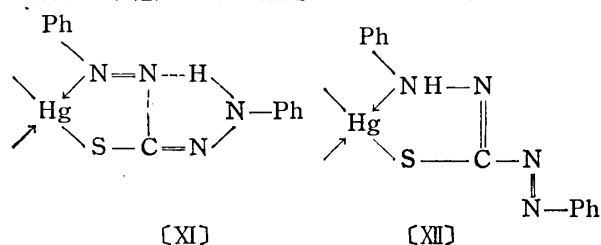
ジチゾン塩	溶媒	溶液の色と極大吸収波長 (m μ)	
		光照射前	光照射後
$\text{Mn}(\text{HDz})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Chloroform, methylene chloride	Red (515, 608 sh)	Blue (515, 608)
$\text{Pd}(\text{HDz})_2$ "violet"	Acetone	Violet	Red
$\text{Cu}(\text{HDz})_2$ "violet"	Acetone	Violet (545)	Brown (450)
AuCl_2HDz	Chloroform	Violet	Blue
$\text{Cd}(\text{HDz})_2$	Chloroform	Pink (518, 605 sh)	Violet (518, 605)
	Benzene	Green (455, 485 sh, 530 sh, 620)	Pink
TiHDz	Chloroform	Orange-red (515, 605 sh)	Red-violet (515, 605)



即ち、光照射により IX の S と強く水素結合している N₄ の水素は N₂ に移って N₄ と弱く水素結合し、ジチゾン塩はケト型構造となるとした。

このプロトン移動機構により赤外部吸収スペクトルの変化ならびに逆反応がプロトンドナーあるいはアクセプターとなり得る極性溶媒中で早く、また、ベンゼン溶媒中で極性溶媒である水の含量の少ないとき逆反応速度が小となり、-ND- ジチゾン塩でおおくなるという実験的事実を説明し得るとしている。

活性化状態における構造として X の外に



も考えられるが、XI ではプロトン移動が伴わないために溶媒の影響が説明出来ず、また、XII では活性化状態における溶液の可視部の吸収の位置が異なるとして Meriwether 等は採用していない。

この方面における恐らく最初の報告のあらましを紹介したが、ジチゾンがより広く定量用試薬として用いられるためにはこの面の研究が更に進められることが望まれる。
(つづく)

文 献

- 1) J. F. Duncan, F. G. Thomas : J. Chem. Soc., 2814 (1960)
- 2) 芦沢 : 分析化学 10, 350 (1961)
- 3) J. K. Carlton, W. C. Bradbury : Anal. Chem., 26, 1226 (1954)
- 4) F. H. Burstall, et al : J. Chem. Soc., 516 (1950)
- 5) H. Mabuchi : Bull. Chem. Soc. Japan, 29, 842 (1959)
- 6) H. Irving, J. J. Cox : J. Chem. Soc., 1470 (1961)
- 7) E. B. Sandell : J. Am. Chem. Soc., 72, 4660 (1950)
- 8) H. Irving, C. F. Bell : J. Chem. Soc., 1216 (1952)
- 9) L. S. Meriwether, et al : J. Am. Chem. Soc., 87, 4441 (1965)
- 10) H. Fischer : Angew. Chem., 47, 685 (1934) 50, 918 (1937)
- 11) H. Irving, et al : J. Chem. Soc., 1847 (1949)
- 12) H. Irving, et al : ibid., 4253 (1954)
- 13) H. Irving, et al : ibid., 2087 (1960)
- 14) M. M. Harding : ibid., 4136 (1958)
- 15) R. F. Bryan, P. M. Knopf : Proc. Chem. Soc., 203 (1961)
- 16) H. Irving, J. J. Cox : J. Chem. Soc., 1470 (1961)
- 17) L. S. Meriwether : J. Am. Chem. Soc., 87, 4448 (1965)
- 18) H. Irving, J. J. Cox : Proc. Chem. Soc., 324 (1959)
- 19) A. Dyfverman : Acta Chem. Scand., 17, 1609 (1963)



印

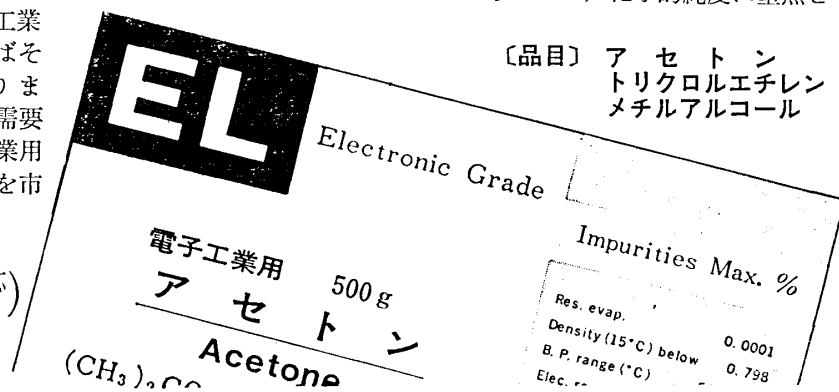
電子工業用洗剤 EL

Electronic Grade Degreasing Solvent

EL とは“Electronic Grade”の略称で、その薬品の特性を表示したものであります。すなわち電子工業用（半導体関係その他）の洗浄に使用するため、化学的電気的に純度を高めた精密な薬品であります。従来、この種の作業には一般試薬の特級品が使われていましたが、試薬は分析用薬品であるため、化学的純度に重点を置いて製造されていますので電子工業用として使用された場合、しばしばその電気的特性が問題になって居ります。当社では特に電子工業関係の需要家の皆様に安心して頂ける電子工業用洗剤として、これら新規格の製品を市場に送り出しました。――

〔包装単位〕

500 g ビン入（作業工程の状況に応）
2 kg ビン入（じてご指定下さい）



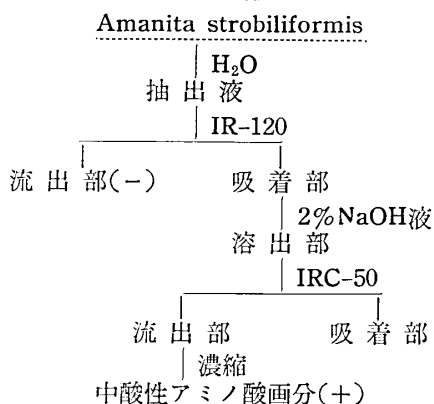
トリコロミン酸とイボテン酸の化学 (II)

東北大学医学部教授 薬学博士 竹 本 常 松

4. イボテン酸の単離⁴⁾

イボテングタケ *Amanita strobiliformis* は、わが国では、大正の末期、松本彦七郎博士が仙台の城址の松林で採集し、はじめて和名を与えたテングタケ科 *Amanitaceae* に属するキノコで、外形はテングタケ *A. pantherina* に似ているが、すこぶる大形で、傘の表面には尖った疣が多数付着し、茎の下部のふくらみにも疣があるのが特徴とされている。仙台付近では9月末から10月初めにかけて海岸の松林の地上に多数発生し、土地の人たちもその殺蠅性を認識してハエトリモダシと呼んでいるが、その有効本体は未詳であった。私たちはさきにハエトリシメジからトリコロミン酸を抽出分離した経験から類推して、イボテングタケの殺蠅性成分もあるいはトリコロミン酸またその近縁物質ではなからうかと考え、有効本体の解明を企てた。まず、表7に示すようにキノコの水浸液をイオン交換樹脂を用いて分画し、イエバエに対する作用を検した結果、有効成分は中酸性アミノ酸画分に濃縮されることがわかった。

表7 殺蠅性画分の抽出分離



この画分を表8に示すようなアルミナクロマトグラフィーおよび表9に掲げるようなイオン交換クロマトグラフィーにかけてさらに分画したところ、目的成分はそれぞれ画分Cおよび画分Dに濃縮されてきた。

なお、画分Cおよび画分Dについて紙電気泳動を実施、ニンヒドリン発色部位と殺蠅有効部位との関係を調べた結果、殺蠅性成分は陽極に向かって泳動し、ニンヒドリンでははじめ黄色を呈し、後に紫色にかわる酸性アミノ酸らしいことがわかった。そこで酸性アミノ酸分離の

表8 アルミナクロマトグラフィーによる分画

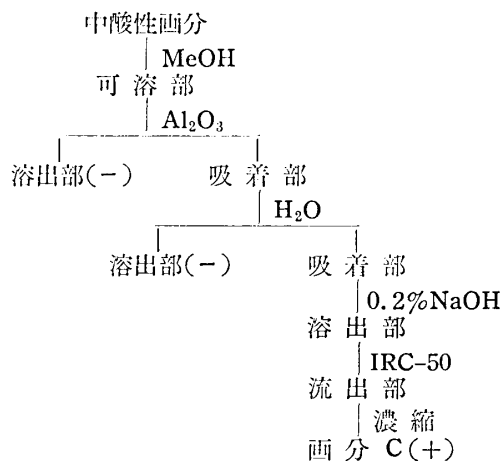
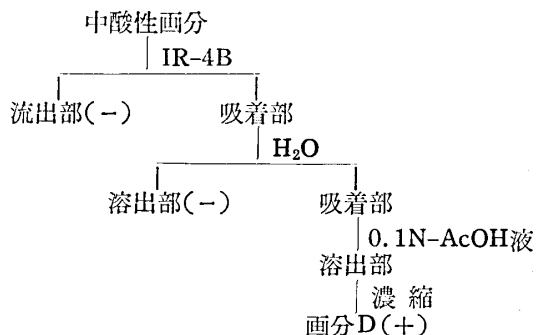


表9 イオン交換クロマトグラフィーによる分画



常法にしたがい、銅塩を経て精製し、*m. p.* 151~152° (decomp.), $C_5H_8O_5N_2$ *pK_a* 値2付近、5.1, 8.2の無色柱状晶(V)の単離に成功した。

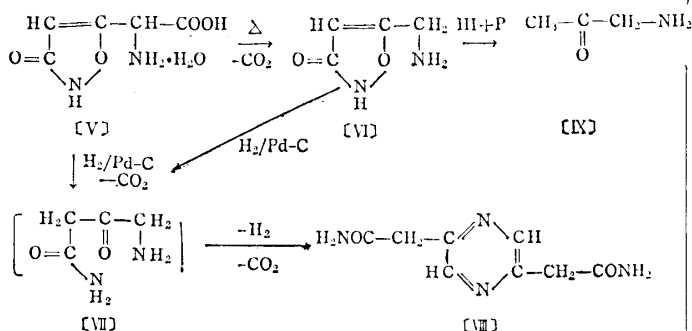
Vはイエバエに対して顕著な殺虫性を示し、ニンヒドリンではじめは黄色を呈するが、時間の経過とともに紫色にかわる。私たちはVを文献未知の酸性アミノ酸とみなし、イボテングタケにちなんでイボテン酸 *ibotenic acid* (Ibotensäure) と名づけることにした。その後、イボテン酸はベニテングタケ *A. muscaria*, テングタケ *A. pantherina* から分離され⁵⁾、タマゴタケ *A. caesarea* その他数種の *Amanita* 属キノコ中にも含まれているらしいことがわかった。⁶⁾

5. イボテン酸の構造⁷⁾

イボテン酸(V)のuvスペクトルは $\lambda_{\max}^{H_2O}$ 210 $m\mu$

($\log \epsilon$ 3.84) を示し、過マンガン酸カリウム液およびブロム水をすみやかに脱色することから分子の不飽和性がまず察知された。そこで酸化白金ならびにパラジウム炭を触媒として水素化を試みたが、生成物は不安定で、すみやかに着色変質して単離できなかった。またVは熱に対しても敏感で水溶液中で加熱しても容易に脱炭酸して m. P. 177~178°(decomp.), $C_4H_6O_2N_2$ の無色針状のピロ体(VI)にかわる。VIはニンヒドリンではじめ黄色を呈するが、時間の経過とともに紫色となり、また過マンガン酸カリウム液をただちに脱色する。VIをパラジウム炭を触媒として水素化して m. p. 280° (decomp), $C_8H_{10}O_2N_4$ の無色柱状品(VIII)を得た。VIIIはVをアルカリ性のパラジウム炭を用いて水素化しても得られるが、収率はよくない。VIIIはニンヒドリンで発色せず、また6N-塩酸と105°C, 16時間処理してもニンヒドリン陽性物質を生成するようなことはない。したがってVおよびVIに存在したアミノ基がVIIIではなんらかの理由で消滅していると解される。VIIIのUV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$: 274.5 μ ($\log \epsilon$ 3.88) は芳香族化合物の可能性を示唆し、事実2,5-dimethylpyrazineのUV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$: 277 μ ($\log \epsilon$ 3.85) との近似が認められた。このことはVIIIが2,5-dialkyl pyrazine体であることを示唆し、その分子組成からみて2,5-pyrazine diacetamideの可能性が考えられた。またVIIIのIRスペクトルでも3356, 3175, 1645 cm^{-1} には CONH_2 1661 cm^{-1} には CONH_2 , 2809, 1420, 1412 cm^{-1} には CH_2 COに基づく吸収帯が認められた。VIIIが2,5-pyrazine diacetamideであるとすると、その前駆体としては容易にVIIが想定できる。VIIはその生成からみてVIのジヒドロ体に該当し、これが2分子重合して水素1モルを放てばVIIIとなり得る。さかのぼってVを表10に掲げるような構造すなわち α -amino-3-oxo-4-isoxazoline-5-acetic acid であらわせばこれまでの実験事実はすべて無理なく説明できる。

表10 イボテン酸の反応



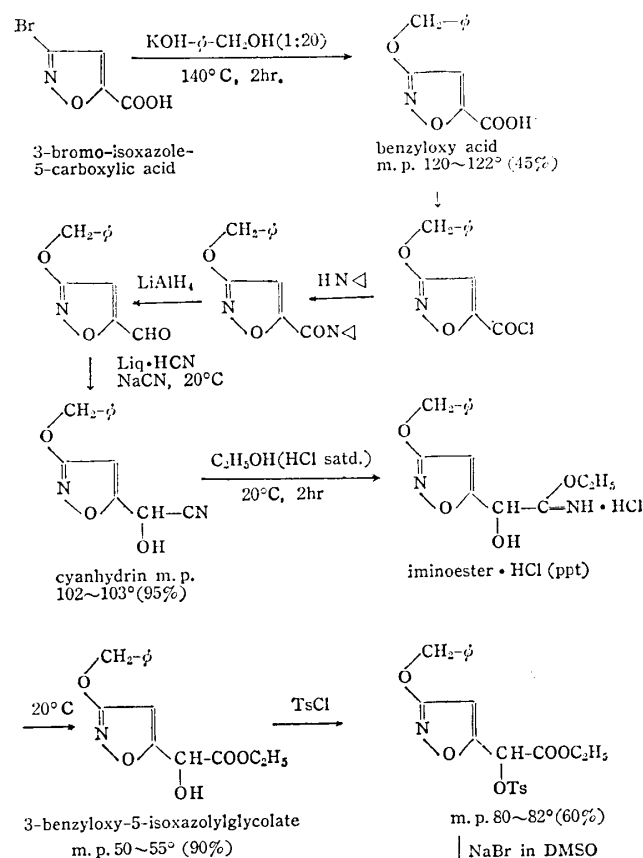
また、VIを赤リン加ヨウ化水素で処理して amino-2-propane(IX)の生成が認められること、VのNMRスペクトルで5.70ppmに一重線の1H, 4.43ppmに一重線の1Hのシグナルが見られ、またVIのNMRスペクトルでは

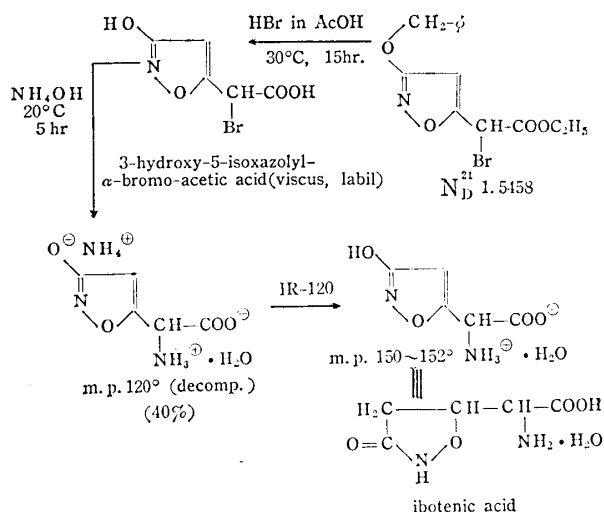
5.83ppmに一重線の1H, 4.17ppmに一重線の2Hのシグナルが認められることも表10に示したイボテン酸およびピロ体の構造を支持している。

6. イボテン酸の合成⁸⁾

1965年4月、チューリッヒ大学のEugster教授はガイギー社の研究陣と共同して表11に掲げたような行程でイボテン酸を合成した。すなわち、3-bromo-isoxazole-5-carboxylic acidにベンチルアルコールを作用させてベンチルオキシ酸とし、酸クロリドを経てエチレンイミド体に導き、 LiAlH_4 で還元してアルデヒド体とし、シアン水素を反応させてシアンヒドリンとなし、塩酸飽和のエタノールを作用させてイミノエステル塩酸塩に導き、20°Cで水解して得られたグリコレートをトシル化し、DMSO中でブロナトリウムを反応させてブロム置換し、酢酸中ブロム水素と処理して脱ベンチルして3-hydroxy-5-isoxazoly- α -bromoacetic acidとし、次に濃アンモニアを作用させて m.p. 120°(decomp.)のイボテン酸のアンモニウム塩を得、アンバーライト IR-120を用いて遊離の酸を製した。本品は m.p. 150~152° (decomp.)で、天然のイボテン酸と一致したという。

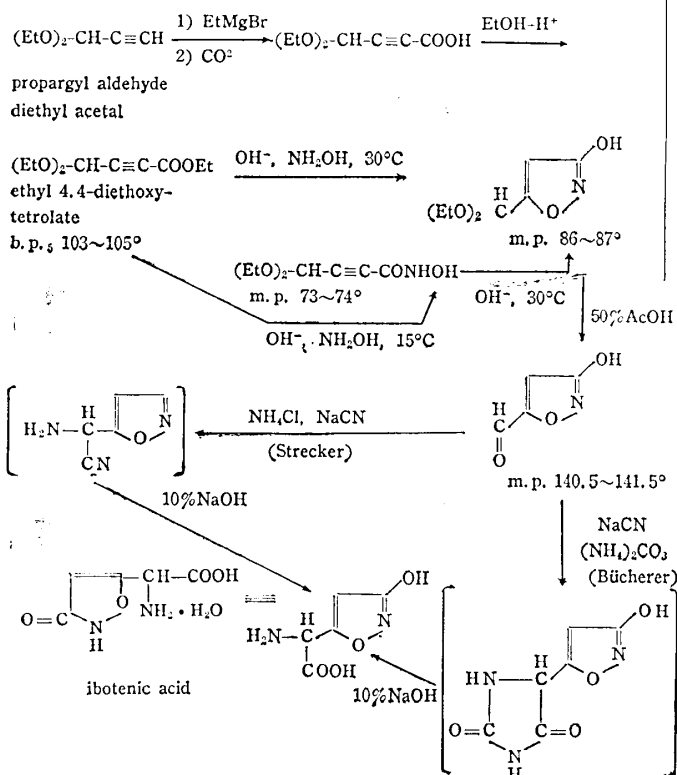
表11 イボテン酸の合成





続いて1965年8月、三共株式会社中央研究所の岸田有吉博士らは表12に示したような経路でイボテン酸を巧みに別途合成した。

表12 イボテン酸の合成



すなわち propargyl aldehyde diethylacetal の Grignard 化合物に炭酸ガスを反応させた後、エステル化して ethyl 4,4-diethoxy-tetrolate を得、これにヒドロキシルアミンを作用させる場合 30°C では直接 3-hydroxy-isoxazole-5-aldehyde diethylacetal が得られるが、15°C では一旦ヒドロキサム酸が得られ、これを 30°C に保つと 3-hydroxy-isoxazole-5-aldehyde diethylacetal に閉環する。これを 50% 酢酸で加水分解して得られたアルデヒド体に Strecker 反応を行い、ただちに加水分解して得られた物質は天然イボテン酸に一致した。また、別にアルデヒド体に Bücherer 反応を行い、生成したヒダントインをアルカルで加水分解してもイボテン酸が得られたという。

おわりに

トリコロミン酸およびイボテン酸は当初目的とした殺蠅性を顕著に示すばかりでなく、ともにすこぶる佳良なうま味を有し、その呈味閾値は 0.001~0.003% とされている。

このように興味ある特性をそなえた物質ではあるが、入手困難なキノコから抽出製造するとなると容易な業ではない。幸い化学合成の成功をみた現在、さらに経済生産の途がひらかれ、人間生活に役立つ日の将来を待望して筆を擱く。(1965.10.6)

文 献

- 1) 竹本, 横部, 中島: 薬学雑誌, 84, 1186 (1964)
- 2) 竹本, 中島, 佐久間: 薬学雑誌, 84, 1233 (1964).
- 3) 竹本, 中島, 在原, 鍋谷: 日本薬学会東北支部大会 (1995.10.3).
- 4) 竹本, 中島, 横部: 薬学雑誌, 84, 1232 (1964).
- 5) A. R. Gagneux, F. Häfliger, R. Meier C. H. Eugster: Tetrahedron Letters, No. 25, 2081 (1965); 岸田, 平岡, 井手, 寺田, 中村 (竹本への私信, 1965.8.7).

—新入荷ご案内—

ドイツ リーデル・デ・ヘーン社(R.)
の輸入品も在庫いたしましたのでご
案内いたします

R. 金属バリウム	100 g
R. 純鉄線 径 0.2 mm	50 g
R. 純鉄線 径 0.57mm	約 100 g
R. ジギトニン	1 g

(価格をご照会下さい)

有機化合物の質量スペクトル (I)

東京教育大学理学部 理学博士 大 橋 守

ま え が き

天然物の構造決定や合成反応生成物の同定に質量スペクトルの利用はもはやほとんどルーテンの方法となり、有機関係の学術雑誌にはほとんど毎号この方法の文献が引用されるような現状である。赤外線吸収スペクトルや核磁気共鳴スペクトルの初期の段階に似た現状で質量スペクトルの解析も益々盛んに発展してゆくことだろう。質量スペクトルは既に本誌でもちょっとふれたように¹⁾、気体有機分子から電子1コが除去されて(普通熱電子衝撃による)生成される分子イオンの単分子分解反応として理解される。その反応を支配する法則性の追求には理論化学の面から取扱かわれるものとして Lennard-Jones と Nall²⁾ による分子軌道法の適用から導かれた理論と、Rosenstock, Eyring らによる統計理論から導かれた quasi-equilibrium 理論³⁾がある。これらの理論は反応理論としては重要であるが複雑な有機化合物のスペクトル解析には適しない。一方有機化学の側からいわゆる有機電子論とよばれる反応理論を適用してスペクトルの解析をめざすものとして McLafferty⁴⁾ にはじまり、Biemann⁵⁾ を経て Djérassi⁶⁾ に至る経験的理論があり現在スペクトルの解析には専らこの方法が用いられている。この理論も未だ完全なものといひ難く、スペクトルの説明はなし得ても、複雑な化合物のスペクトルを予見することはむづかしい。過去2年間のわずかな経験を中心に質量スペクトル解析法の一例をまとめてみた。ほんの解析法の入口であるが、お役に立てれば幸であるし、大方の御批判御叱正を頂ければ幸甚である。

1. 概 要

1.1. 質量スペクトル

まず、質量スペクトルをうる方法をかんたんに述べよう。固体あるいは液体有機化合物(1mg以下)をまず試料導入系(Inlet System)で減圧(10^{-6} mmHg)、高温($100\sim 300^\circ$)下に気化し、ついでイオン源(Ion Source)に導入し、熱電子衝撃(熱電子のエネルギーは通常50~80ev)を与える。熱電子衝撃を受けた有機分子は原子価電子の1つがたたき出されてイオン化する。このときイオン化に要するエネルギー(物質のイオン化電圧、~10ev程度)以上のエネルギーは分子全体に拡散し、あらゆる結合を活性化させる。このときあるものは単分子分解反応における活性錯合体(遷移状態)に相当し、この活

性化エネルギーの小さな所で分解が進行する。分解で生成した正イオンはつぎつぎと安定な生成イオンへと分解が進み一連の正電荷イオンが得られる。注意すべきは原子価電子の飛出した結合位置で解裂がおこるのでなく、分子が分解する前に電子の再配列がおこり、結局最高被占準位にある電子が飛出したと考えて差支えない。Lennard-Jones らはこの仮定から出発し、実験事実と一致する結果を得ている²⁾。こうしてえられた一群の正電荷イオンは加速電圧(V)をうけて加速され磁場へ突入する。いま質量mのイオンがこの状態にあるとすると、1式に従い半径Rの円運動をする。実際の分析計ではRは一定で磁場H、あるいは加速電圧Vを変えてつぎつぎと異ったm/eをコレクターに集め、増巾し、記録する。前者を磁気走査、後者を電気走査という。通常分析計では分解能をあげるために

$$m/e = \frac{H^2 R^2}{2V} \dots\dots\dots (1)$$

磁場の方向収束性(Direction focussing)を利用するように設計されている。さらに分解能をあげるには電場によるイオンの速度収束性(Velocity focussing)もこれに加えたいわゆる複収束分析計(Double focussing)も考案され、市販されている⁷⁾。

- 1) 大橋守, 本誌 "ケミカルタイムズ", 31 522 (1964)
- 2) Lennard-Jones and Hall, Trans Faraday Soc., 48, 581 (1952)
- 3) H.M. Rosenstock, M.B. Wallenstein, A.L. Wahrhaftig and H. Eyring, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 38, 667 (1952)
- 4) a) F.M. McLafferty, "Mass Spectrometry" in "Determination of Organic Structures by physical Methods" Vol 2. F.C. Nachod and W.D. Phillips, ed., New York, Academic Press, (1962)
b) F.M. McLafferty ed "Mass Spectrometry of Organic Ions" New York, Academic Press. (1963)
- 5) K. Biemann, "Mass Spectrometry, Organic Chemical Applications" New York, McGraw-Hill Book Co., (1962)
- 6) a) H. Budz: Kiewicz, C. Djerassi, D. H. Williams, "Interpretation of Mass Spectra of Organic Compounds" San Francisco, Holden-Day, Inc., (1964)
中川有造, 大橋守, 鈴木真言訳 "有機化合物の質量スペクトルの解析" 南江堂, 東京 (1965)
b) idem, "Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry" Vol 1. Alkaloids, Vol 2, Steroid, Terpenoid, Sugars and miscellaneous classes, San Francisco, Holden-Day Inc., (1964)
- 7) a) J. H. Beynon "Mass Spectrometry and Its Application to Organic Chemistry" Amsterdam, Elsevier Publ. Co (1960)
b) 荒木峻, "質量分析法" 化学同人, 東京 (1960)
c) 北原喜男, 佐々木慎一, 村田一郎, "マススペクトルの見方" 共立出版, 東京 (1965)
d) 大橋守, 佐々木慎一, "化学の領域" 移稿中 (1966)

1.2. ピークの種類

こうして得られた各イオンの強度は一番大きいもの基準ピーク (base peak) を100として、相対強度であらわす。これをパターン係数ともいう。試料分子から一電子除去されて (2式) 生成したイオンを分子イオン (Molecular ion) あるいは親イオン (Parent ion) とよぶ。

分子量を与えることになるので特に重要である。その強

$$M + e \longrightarrow M^+ + 2e \quad \dots\dots\dots (2)$$

度は物質によりまちまちで基準ピークになるものもあるし、また全然みとめられないものもある。一般に π 電子を有するものは強度が大きい。分子イオンの結合の1つが単純解裂して生成するイオンをフラグメント・イオン (fragment ion), 原子核の転移を伴ったイオンを転移イオン (rearrangement ion) とよぶ。特にカルボニル基のような官能基を有するものは六員環の遷移状態を通過しての転位がエネルギー的に優位であり、スペクトルの型を規定してしまう程強いピークを与えることが多い。このような転移を McLafferty 転移ともいう。有機化合物の構成原子は各種同位元素よりなり、あるイオンには必ず質量数の異なるイオンが付随する。これを同位元素ピーク (Isotope peak) とよぶ。同位元素ピークの強度は大体 C^{13} の存在比に由来するもので、 C^{13} について1.1%程度である。たとえば $C_{20}H_{40}^+$ イオンの同位元素ピークの強度はこのイオン強度のおよそ22%程度ということになる。質量スペクトルを構成するピークにはこのほか、イオン-分子間反応で生成される $M+1$ ピークやイオンの分解速度に起因する準安定イオン (metastable ion) などが存在する。電子衝撃により生成したイオンの分解速度が非常に速くでイオン源で分解してしまうものはシャープなピークを与えるが、加速最中に分解するものや、磁場のなかで分解するものは器壁に吸収されたり、スペクトルの単なる背景となってしまうピークを与えない。この中間で加速されてから磁場へ入るまでの間に分解がおこる (10^{-6} 秒程度の分解速度) と強度は弱いが広いピークがみられる。これを準安定イオンという。準安定イオン・ピーク m^* と分解前のイオンの質量 m_1 , 分解後のイオンの質量 m_2 の間には3式の関係があり、準安定イオンが観測されるということは m_1 から m_2

$$m^* = \frac{m_2^2}{m_1} \quad (3)$$

が一段階の反応で生成されたという証明になり、メカニズムの上からはきわめて重要である。化合物によってはこのほか二重電荷イオン (Doubly Charged ion) のみられるものもある。Biemann は生成イオンの様式を14種に分類しているが⁵⁾、体系としてはまとまっているけれど実用の面では Djérassiら^{6a)} の官能基別特性分解

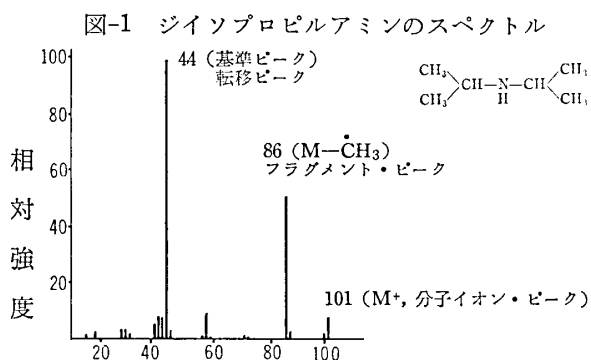
様式の方が便利である。

2. スペクトルの解析の一例

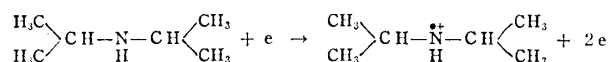
スペクトルの解析については好著も多数出版され^{4,7)}、この小文で全般にわたることはもとより不可能である。単に一例としてアミン、ケトン類の代表的結合解裂様式をあげて単分子分解反応に対する考え方を紹介し、ついで両者が1分子中に存在するトロピノンのスペクトルを解析してみる。

2.1. アミンのスペクトル^{6a) 8) 9)}

脂肪族アミンの代表例としてジイソプロピル・アミン (Diisopropyl amine) のスペクトル図1にあげた⁹⁾。各ピークはつぎのように解析される。

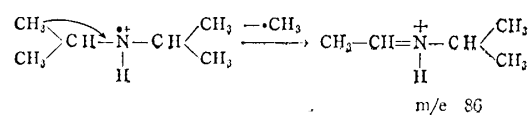


m/e 101 : 分子イオンピーク。有機化合物で奇数の窒素を含むものは奇数の、偶数の窒素有するものは偶数の分子量となる (非共有結合を有するもの、たとえば NO 基など) には適用できない。この場合は N 1 個であるので奇数分子量となる。熱電子衝撃により窒素原子の孤立電子対の1個が除去されて生成したものとみなしうる。イオン化に要するエネルギーは 9.4 eV 程度であり、もし熱電子衝撃を与えるさい熱電子のエネルギーがちょうどこのイオン化電圧に等しいと、この分子イオンピークだけが観測される。次の式で表現される。



m/e 102 : には必ず同位元素ピークが存在する。この強度は前述のように M^+ のおよそ 6.6% と考えられる。スペクトル上のパターン係数は 0.7 程度、図1には省略されている。

m/e 86 : フラグメント・ピーク ($M-15$) 窒素が結合している炭素の α 結合の解裂により生成する。



制癌アルキル化剤とその定量法 (II)

明治薬科大学教授 薬学博士 丸 山 幸 三

制癌アルキル化剤の人体あるいは動物体内における分布、排泄、代謝の研究には、放射能分析が有用であるが、標識化合物の合成はしばしば困難で、かつ高価でもあり、Perfusion の際のアルキル化剤の定量には問題がある。そこでもっと簡便な方法が求められ、呈色反応を利用した比色定量法の研究が行なわれている。

[1] 8-Quinolinol を用いる比色定量法

Trams¹⁾ は制癌アルキル化剤のうち、HN₂系のbis-(β-halogenethyl) 化合物と 8-quinolinol が反応して、呈色物を生成することを利用して比色定量を行なっている。呈色の条件は HN₂ の水溶液 2.5 ml に 95 % エタノール 2.5 ml を加え、さらに数滴の 5% 酢酸を加えて微酸性にする。つぎに 8-quinolinol の 5% エタノール溶液 0.5 ml を加えてふりまぜ、さらに 10% 炭酸ナトリウム 0.5 ml を加え、30 秒間烈しくふりまぜ、室温で 90 分放置後、呈色液 (橙色) を 468 mμ で吸光定量する。このときブランク溶液は黄緑色を呈し本試験液中の HN₂ が希薄なときは、その呈色はブランク溶液の呈色と同じである。定量下限は HN₂ 0.2 μ mole/ml。

本試験中橙色を呈する物質はクロロホルムに定量的に抽出され桃色を呈する。クロロホルムを留去し、氷冷後無水エーテルで洗浄を繰り返すと、吸湿性暗赤色の油状物 (室温) が得られる。この物質はスポットテストで Fe³⁺ と呈色しない。またクロロホルム溶液の λ_{max} は 285 mμ である (8-quinolinol の λ_{max} は 310 mμ)。この物質のエタノール溶液に酸を加えると脱色する。また亜鉛末のような還元剤は呈色を抑える。HN₂ の代りに酸化剤 (過酸化水素、過ヨウ素酸カリウム) を 8-quinolinol に反応させると、やはり橙色に呈色するが、この呈色物質はクロロホルムに移溶せず、またこのものの吸収曲線は HN₂ に由来するものと同じではない。

HN₂ と 8-quinolinol の反応生成物を検討するためにメチル基を C¹⁴ でラベルした HN₂ を混じた HN₂ と 8-quinolinol を反応させ NH₂ の各濃度における吸光度を測定して検量線を求めた。ついで各検液をクロロホルムで抽出し、抽出液の吸光度および放射能を測定したところ、C¹⁴-NH₂ はクロロホルム抽出液に回収されており、(HN₂ は 8-quinolinol と結合) またその radio activity は呈色物質の量に大体比例することがわかった。C¹⁴ の回収率は 90~95%。8-quinolinol を加えないブランクのク

ロロホルム抽出液は、ほとんど activity を示さず、C¹⁴ がクロロホルムに移溶していないことを示している。

8-quinolinol との呈色反応は、HN₂ のような bis-(β-halogenethyl) 三級アミンのほかに、sulfur mustard やその sulfoxide にも行なわれるが、monofunctional な化合物、bis-(β-hydroxyethyl) 体、芳香族-N置換体、N-hexadecyl HN₂, TEM, ethyleneimine は呈色しない。なお丸山²⁾ は Nitromin, nor HN₂, Alanine HN₂ [N-bis (β-chloroethyl)-alanine] も呈色しないことを認めている。

本法は[2]に述べる NBP を用いる方法より特異的であるが、血液中の定量には放射能分析のみが満足な結果を与えると Trams は云っている。HN₂ に 8-quinolinol を反応させる前、または直後に、l-cysteine を HN₂ に作用させると、呈色液の吸光度は減退する。また 8-quinolinol と反応させる前に HN₂ に生体試料を作用させると、その物質の性質や濃度によって呈色が 84% に抑えられた。しかし肝ホモジネートと HN₂ を作用させたときは、HN₂ の回収は、本比色法による測定値と放射能分析の値とがよく一致した実験例もある。またこのホモジネート反応液に普通の金属イオンを加えても、反応を妨げなかった。

丸山²⁾ は 8-quinolinol 以外に HN₂ の呈色試薬を求めて、8-quinolinol 置換体、o-アミノフェノール、クロロフェノール、サリチルアミドなど 20 数種についてテストし、呈色するものとして Table I の結果を得た。

Table I

Reagents	Color of reaction mixture	λ _{max} , mμ	Limit of identification, μg
8-Quinolinol	orange	468	100
Quinoform	pink	495	50
Bromoxine	pink	494	100
Ferron	orange	475	250
2-Methyloxine	yellow	—	—
8-Mercapto-quinoline	red brown	—	—
o-Aminophenol	red brown	—	—
α-Nitroso-β-naphthol	orange yellow	—	—

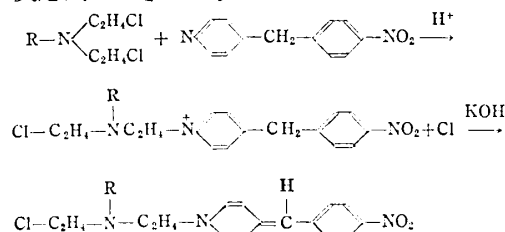
2-methyl-oxine 以下はブランクも本試験と同じ呈色

を行ない、 HN_2 の呈色とは考え難い。Tramsの8-quinolol による橙色は、 Na_2CO_3 アルカリ性で室温に90分放置して発色を完了させるが、キノホルムなどによつて行なう丸山の方法は、 Na_2CO_3 の存在で70°, 60分加温するとキノホルムの場合橙黄色となるが、これに酢酸を加えると桃色に変る。このときブランクは Na_2CO_3 で黄色になるが、酢酸を加えると直ちに退色しほとんど無色になる。8-quinolol による Trams 法のブランク、本試験の呈色液に酢酸を加えても、 Na_2CO_3 アルカリ性で得られたそれぞれ黄色、橙色は変化しない。キノホルムによる HN_2 の確認限度は $50\mu\text{g}$ でプロモキシソ、フェロンよりすぐれており、これを用いて反応の条件を検討した。即ち HN_2 $2.5\text{mg} \sim 25\mu\text{g}$ を含む無水エタノール溶液に、0.2%キノホルム 7ml 、10% Na_2CO_3 0.1ml を加え、70° 60分加温後、5%酢酸 0.1ml を加え、なお無水エタノールで 10ml に定容し、 $495\text{m}\mu$ で吸光定量を行なう。定量下限は $0.1\mu\text{mole/ml}$ 。

[2] 4-(p-nitrobenzyl) pyridine (NBP) を用いる 比色定量法

本法は Klatt³⁾ Friedman⁴⁾ Ausman⁵⁾ Petering⁶⁾ によって報告されており、始め Epstein⁷⁾ によって報告された、ethyleneimine や diethyl sulfate のようなアルキル化剤と本試薬との反応を基礎にしたものである。

Peteringによれば、本法はつぎに述べるけい光法より簡単であり、脂肪族、芳香族、異項環 HN_2 系化合物のいずれにも適用され、Perfusion の際の血中濃度の定量などに有用であるといっている。アルキル化剤と NBP との反応式をつぎに示す。



PeteringはUracil Mustard, Dopan [5-Bis-(2-chloroethyl)-amino-6-methyluracil], Chlorambucil [4'-Bis-(2-chloroethyl)-amino-3-phenylbutyric acid], HN_3 [Tris-(2-chloroethyl)-amine. HCl], HN_2 の定量に好結果を得ており、生成物の溶解性、呈色物の色は R のいかんによって決まる。

定量法はまずアルキル化剤 10mg を dimethylacetamide (DMA) 5ml に溶かし、無水エタノールまたは saline で 100ml に希釈する。この検液(試料 $10 \sim 70\mu\text{g}$ を含む)に pH4.0 のフタル酸塩緩衝液 1.0ml 、NBP 試液(5%アセトン溶液) 1.0ml 、0.9% saline 1.0ml を加え、さらに無水エタノールを加えて全容 4.0ml にする。この混合液

を湯浴中 80° で 20 分加温する。反応完結後氷冷し 1.0 N KOH 0.1ml を加え、さらにエタノールで 5.0ml にし、2~3 分以内に $600\text{m}\mu$ で吸光定量する。アルカリを加えてから時間とともに呈色は減退する(毎分 1%) から、一定時間後に吸光度を測定することが重要である。定量上限は $70\mu\text{g/ml}$ 。

つぎに Uracil Mustard の検液をプラズマに混じて作った合成試料溶液から、試料の回収試験を行なった。この溶液にアセトンを加え沈澱するたん白を遠沈で分離。アセトン抽出液に NBP 試液、フタル酸塩緩衝液、エタノールを加え、60° で 5 分、ついで 80° で 20 分加温してアセトンを留去後、前述の通り KOH で発色させる。この場合の呈色はプラズマを含まない場合より早く退色(毎分 5%) するから、アルカリを加えてから敏速に吸光度を測定しなければならないし、またその吸光度の値はプラズマ不含の場合より低い。回収率約 60%。

この定量法の問題点の一つは、最大感度の波長の選択である。もちろん λ_{max} は試料に応じてそれぞれ異なる訳であるが、Klatt は $562\text{m}\mu$ を選び、Friedman は HN_2 , nor HN_2 の定量に、 $540\text{m}\mu$ のフィルターを用いて $0.5\mu\text{g/ml}$ まで測定している。Petering は五種の化合物のいずれの場合も $600\text{m}\mu$ (Uracil Mustard の λ_{max}) を選んでいるが、Uracil Mustard 以外の場合も充分満足すべき結果を得ていると云う。

つぎの問題点は反応液の pH である。Epstein はフタル酸塩緩衝液で pH4.0 が最良の条件であるといい、Klatt は酢酸で pH を 4.5~5.0 に保持すべきことを述べ、Friedman は同じく pH4.6 でも酢酸塩緩衝液の方が、フタル酸塩緩衝液よりよいと云っている。Petering は酢酸塩で pH4.6 と、フタル酸塩で pH4.0 の両方の場合を比色して、後者が高い吸光度値を与えることを実証している。

最後に発色に用いられるアルカリの種類は呈色の濃さに関係する。Epstein や Klatt は、 K_2CO_3 (ethyleneimine の定量) または triethylamine (非水溶媒中のアルキル化剤の定量) を用いているが、Petering は 1.0N KOH (90%エタノール溶液)を用い、水溶液中でも非水溶液中でも両方に適用できるものとした。 K_2CO_3 はアセトンやエタノールに溶けにくく、これを溶かすための水はあまり加えられないし、また triethylamine はしばしば不純であり、かつ不安定で有毒の試薬であるから、これらを用いることを避けている。

Petering の用いた DMA は、Uracil Mustard などの溶剤として加えられたのではなく、DMA が 2~5% に、アルキル化剤の saline 溶液中に存在すると、アルキル化剤の安定性を増すためである。彼は DMA が 10% まで存在しても呈色に影響を与えないことを見出している。

除たん白をトリクロル酢酸で行なうと、Uracil Mus-

tard は呈色しない。Friedman は塩酸の存在で3分煮沸してたん白を沈殿させているが、Uracil Mustard を試料とする場合は、この除たん白法では呈色しないことを Petering が述べている。Klatt の方法では、プラズマが反応混合液に加えられたまま定量しているが、呈色が一定でない。Petering はアセトンを用いているが、除たん白の方法により定量値が影響を受けることを、Uracil Mustard について検討し、これを採用したもののようにある。

〔3〕 β -Naphthol を用いるけい光定量法

Mellettら⁸⁾ のけい光を利用した方法は、非常に感度がよく、血液中の微量の thio TEPA, TEPA の定量に有用であるが、操作が複雑で巧技を必要とするから、ルーチンな方法といい難い。Uracil Mustard の場合、強塩酸で処理することや、繁鎖な操作中の損失が大きいと Petering はいっている。

(A) thio TEPA の定量法

尿 5 ml, または 0.5M リン酸塩緩衝液 (pH 7.4) 0.25 ml をまぜた 0.9% saline 5 ml, または 15% tetrasodium edathamil (Versene) 0.5 ml をまぜたプラズマ 3 ml を、40分間ベンゼン (チオフェン不含) 15 ml とふりまぜ、ついで遠沈する。ベンゼン抽出液 10 ml を β -naphthol のベンゼン溶液 (1.25 mg/ml) 2 ml に加え、混合液を湯浴上蒸発乾固する (約15~20分)。ついでワックス浴で125~130°で20分加熱。2 N 塩酸 4 ml を用いて沈殿管の内壁に附着する昇華物をできるだけ洗い去る。この酸の混合物を湯浴中15分加温。温溶液に 10N NaOH 1 ml を加えてふりまぜ、また湯浴中2分加温する。混合液を室温までさまし ethylene dichloride (EtCl_2) 10 ml を加え、20分間ふりまぜついで遠沈する。上層水溶液を除き、 EtCl_2 層を 0.5N NaOH 5 ml で2回ふりまぜ、遠沈して水

層は除く。 EtCl_2 抽出液 9 ml を N 塩酸 2 ml に加え、混合物を10分間ふりまぜ、ついで遠沈して下層 EtCl_2 は除く。酸性溶液を純 EtCl_2 15 ml で20秒間ふりまぜ、ついで遠沈、 EtCl_2 は除く。ここに得られる酸性溶液についてけい光定量を行なう。励起波長 290 m μ , けい光波長 355 m μ , 計器の感度は 2.0 $\mu\text{g/ml}$ 標準 β -naphthol 水溶液が30%の透過率を示すように調整する。

thio TEPA をプラズマや尿に加えた試料の回収試験は、0.05~0.2 $\mu\text{g/ml}$ では 95 $\pm$ 20%, 0.2~2.0 $\mu\text{g/ml}$ では 90 $\pm$ 12% である。組織からの回収率は、脳では60~100%, 腎, 肝, 脾, 筋肉では 0~30% で不満足な結果である。

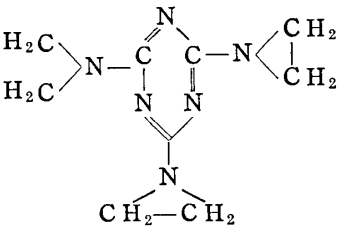
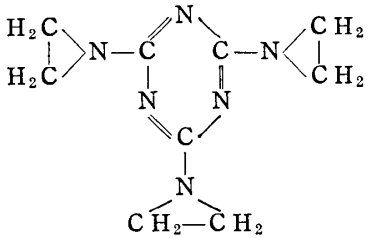
(B) TEPA の定量法

TEPA の抽出には (エタノール 10 ml + クロロホルム 90 ml) 15 ml を用いるほかは、thio TEPA の場合と同じで。プラズマや尿からの回収率は 88 $\pm$ 15% で thio TEPA よりやや小さい。TEPA の抽出法では thio TEPA も抽出されるから、両者が共存する試料では合計量が定量される。TEPA はその水溶液からベンゼンより抽出されないから、thio TEPA の方法は特異的であり、この方法の定量値を TEPA の方法の定量値から引けば TEPA の量となる。

文 献

- 1) E. G. Trams: Anal. Chem. **30**, 256 (1958)
- 2) 丸山幸三, 川鍋康治, 工藤順子, 第19回日本薬学会大会講演
- 3) O. Klatt, A. C. Griffin, and J. S. Stahlin, Jr.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **104**, 629 (1960)
- 4) O. M. Friedman, and E. Boger: Anal. Chem. **33**, 906 (1961)
- 5) R. K. Ausman, G. E. Crevar, H. Hagedorn, T. J. Bardos, and J. I. Ambrus: J. Am. Med. Assoc. **178**, 735 (1961)
- 6) H. G. Petering, and G. J. van Giessen: Journal of Pharmaceutical Sciences **52**, 1159 (1963)
- 7) J. Epstein, R. W. Rosenthal, and R. J. Ess.: Anal. Chem. **27**, 1435 (1955)
- 8) L. B. Mellett, and L. A. Woods: Cancer Res. **20**, 524 (1960)

前 号 の 正 誤 表

頁	誤	正
658: 制癌アルキル化剤とその定量法の本文中		
659: 左下から5行	酵素に対して	酵素に対して
660: 左下から15行	ラセミ体. melphalan はこのものの1異性体	ラセミ体である. melphalan はこのものの2異性体
660: 右本文下から4行と5行の間に線を挿入	法について述べる * この化合物は iodoacetyl 基……	法について述べる * この化合物は iodoacetyl 基……

＜編集後記＞

本誌は新版発行以来、分析化学、有機化学、生化学など各分野に於ける進歩に関する諸論文を紹介して年4回の定期発行を続けておりますが、執筆の諸先生方の絶大なご支援により発行が順調にすすんでいることに對し、ここに改めて深く謝意を表します。またご愛読者各位におかれましても、本誌をひきつづきご愛顧賜り、次々に新らしくお申込をいただき、年々大幅に増刷を余儀なくされておりますことに對しても厚く御礼申し上げます。

さて、本号にご執筆下さいました東京教育大学理学部の大橋守博士は去る1963年No. 4、1964年No. 1に“ス

タンホード大学の一隅から”と題して C. Dyerassi 教授の招聘で2カ年を同大学で質量スペクトルの研究に過された時の随筆を寄稿いただいておりますが、昨年帰朝されて、この質量スペクトルについて数多くの研究業績を発表され、本年の日本化学会19年會では「天然有機化合物の構造研究」に關して『進歩賞』を受賞されました。この度はご多忙のところをわざわざ本誌の為に博士ご自身の実験例によって平易に「質量スペクトルの解析」についてご執筆いただきました。また前記の C. Dyerassi 教授らの近著“Interpretation of mass spectra of Organic compounds”の全訳書は大橋博士らによって完成し南江堂から発行されております。(稲垣)

— お 知 ら せ —

本社および室町分室の電話番号が昭和41年3月10日より下記の通り変更になりました。

【本 社】 東 京 279-1751 (大代表)
 地方課直通 279-1763
 生産部直通 279-1761・1762
 【室町分室】 東 京 279-1851 (代表)

大宮連絡所の新事務所が下記に完成しました

(新住所) 大宮市大和田町2丁目1437番地 電話 大宮 41-9260

室町分室新築に着手

長らく皆様の相談所として室町の角にありました弊社分室は建物老朽化のため、4月より改築されることになり、3階建の新事務所の建築が近く着工されます。

この建築期間中学術部、営業第2部連絡課及び経理部、総務部の一部が下記仮事務所に移転致します。 東京都中央区日本橋本町3-3 志平ビル3階

関 東 化 学 株 式 会 社

本 社	東京都中央区日本橋本町3丁目7番地 電話(279)1751(大代表) 生産部直通(279)1761~2 地方課直通(279)1763
室 町 分 室	東京都中央区室町3丁目4番地 電話(279)1851 代表
工 場	日本工業規格表示許可工場 無機試薬 第6835号・有機試薬 第6836号
滝野川倉庫	埼玉県草加市稲荷町2048番地 電話草加(0489-2)4177~9
湘南出張所	東京都北区滝野川3丁目84番地2号 電話(919)4430
札幌出張所	平塚市八幡下高間1300番地 電話平塚(21)2051・2052
九州出張所	札幌市北九条東1丁目 電話札幌(73)6181(代表)
鶴見連絡所	北九州市戸畑区天神町2丁目76番地 電話戸畑(88)3961・3962
国分寺連絡所	横浜市鶴見区下吉町863番地 電話鶴見(50)3386~3388
京葉連絡所	東京都国分寺市東本町3丁目4番地19号 電話国分寺(21)3489・1935
大宮連絡所	千葉県今井町2丁目14番地13号 電話千葉(61)1303・1304
三島連絡所	大宮市大和田町2丁目1437番地 電話大宮(41)9260
大阪関東化学株式会社	静岡県三島市中央町4番6号 電話三島(75)4422
	大阪市東区瓦町3丁目1番地 電話大阪(231)1672~1674