(日本化学会誌, 1977, (11), p. 1750~1751)

o-アセチルベンゾフェノンとアミノ酸との呈色反応

(1977年7月28日受理)

南谷 晴子・前川 悦朗*

o-アセチルベンゾフェノン [1] は人間の皮膚に付着すると数時間後に青緑色を呈する¹⁾。この呈色は皮膚の構成成分のアミノ基との反応によるものと推定し、比較のためにタンパク質中のアミノ酸 24 種との呈色反応を行なった。その結果、これらの色調は大別すると五つの型にわけられる。代表的な呈色とその吸収極大の位置は表 1 に示すが、皮膚上での呈色に類似しているのは L-システインの場合のみであった。なお、L-システインおよび第二級アミンである L-プロリン、L-ヒドロキシプロリンはまったく呈色しない。

そこで L-システインと [1] との反応混合物から色素の単離を試みた。分離、精製のためにカラムクロマトグラフィーを行なうと、最初に可視吸収スペクトルや薄層クロマトグラムに認められなかった色を示す部分が現われてくる。これは -SH の反応性のためであると推定し、比較のために S-メチル-L-システインを合成して [1] との反応を行なった。この反応混合物から単離された青色色素 [2a] は第一級アミンと [1] との反応から得られる青色色素、1,1'-ジアルキル-5,5'-ジフェニル-3,4:3',4'-ジベンゾ-2,2'-ビロメチニウムクロリド [3]²⁾ とは異なって反応混合物を塩酸で処理しなくても安定に単離できる。[2a] の組成は元素分析値と質量スペクトルから $C_{28}H_{28}N_2O_2S$ であり、その構造は NMR, UV ならびに IR スペクトルを考慮して、1-(1-カルボキ

シ-2-メチルチオエチル)-5,5'-ジフェニル-3,4:3',4'-ジベンゾ-2,2'-ビロメチンと推定される。

ここで [2a] においてはビロメチンの一方の窒素原子には [3] の場合と違って置換基がついていない。しかし、S-メチル-L-システインが [3] のようなビロメチニウム塩を生成してから N-置換基がはずれたのか、反応のさいに S-メチル-L-システインが分解してアンモニアが生成し、これが反応したのかは明らかでない。なお、[2a] の UV スペクトルには特徴があり、メタノール溶液ではアセトン溶液にくらべて吸収極大の位置がいちじるしく長波長側へ移動する (λ_{max} 546 nm (アセトン) $\rightarrow$ λ_{max} 630 nm (MeOH))。

さきに述べたように L-システインとの反応で得られる青色色素は分離、精製に困難な点が多いが、得られた青色色素の一つは収量が非常に少ないけれども、UV スペクトルが [2a] と同様に溶媒によっていちじるしく異なること (λ_{max} 536 nm (アセトン) $\rightarrow$ λ_{max} 614 nm (MeOH))、ならびに質量スペクトルの特徴から [2b] の構造式をもつと推定される。すなわち、質量スペクトルを比較すると

Table 1 Color reaction of o-acetylbenzophenone [1] with amino acids^{a)}

Amino acids	Color after 24 hrs	λ_{max} (nm)
Cys	Light yellowish-green ^{b)}	427, 620
Val	Light blue	619
Ile	Light bluish-green	622
Lys	Deep reddish-violet	557, 609
Arg	Reddish violet	567, 613
His	Violet-red	418, 570
Trp	Violet-red	452, 557
Gly	Deep reddish-violet	530(sh), 557, 620
Met	Violet	526, 565, 621

- a) To a solution of 5×10^{-5} mol of [1] in 5 ml of methanol were added 10^{-4} mol of amino acid in a small amount of water and 1 ml of acetic acid and the mixture was left to stand at room temperature.
 b) On further standing at room temperature, the color of the reaction mixture turned into deep bluish-green with increasing absorption intensity at 620 nm.

* 名古屋工業大学工業化学科, 466 名古屋市昭和区御器所町

1) E. Maekawa, Y. Suzuki, S. Sugiyama, *Chem. Ber.*, 101, 847 (1968).

2) 南谷晴子, 前川悦朗, 日化, 1974, 1953; 1975, 1535.

となり、フラグメンテーションの特徴がよく一致する。

なお、これらの青色色素 [2a, b] の生成のさいには [1] とアソニアとから得られる青色色素, 5,5'-ジフェニル-3,4:3',4'-ジベンゾ-2,2'-ピロメテン [4]¹⁾ がかならず生成するのが認められた。[4] の吸収極大の位置も溶媒によって大きく変化する (λ_{max} 583 nm (アセトン) $\rightarrow$ λ_{max} 624 nm (アセトン-酢酸)¹⁾)。一方、ピロメテニウム塩 [3] の吸収極大は溶媒を変えても (アセトン, メタノールおよびこれらに酸を加えた場合) 移動しない。

また、もっとも簡単なアミノ酸であるグリシンと [1] とからは青色ならびに赤色色素が得られたが¹⁾, この青色色素 [5] は [3] と類似の構造をもち、[3] のように塩酸塩ではなく分子内塩をつくっていることが確かめられた。この [5] の UV スペクトル (λ_{max} 621, 297, 273 nm (MeOH)) と [2a] のそれ (実験の部) とを比較して [2a] はアセトン中では一方の窒素原子のところに非共有電子対が存在するが、メタノール中ではその酸性のために $\rightarrow N^+H$ となり [5] と同じ共役系をもつものと考えられる。

実験¹⁾

1-(1-カルボキシ-2-メチルチオエチル)-5,5'-ジフェニル-3,4:3',4'-ジベンゾピロメテン [2a]

[1] 560 mg の 90% 含水エタノール溶液 (60 ml) に *S*-メチ

3) [4] の場合は、酸を加えなければメタノール中でも吸収極大の位置はほとんど変わらない (λ_{max} 580 nm (MeOH) $\rightarrow$ λ_{max} 627 nm (MeOH-酢酸))。これは [4] が分子内水素結合をつくっており、窒素原子のまわりの電子分布はメタノールの酸性によってはほとんど影響をうけないためと考えられる。

- 4) 南谷晴子, 河崎哲夫, 城戸浩至, 前川悦朗, 名工大学報, 27, 151 (1975)。
- 5) 元素分析は京都大学有機微量元素分析総合研究施設にお願いした。記して謝意を表する。
- 6) V. du Vigneaud, H. S. Loring, H. A. Craft, *J. Biol. Chem.*, 105, 481 (1934) にしたがって合成した。

ル-L-システイン⁶⁾ 675 mg と酢酸 2 ml を加え室温で放置する (*S*-メチル-L-システインは完全に溶けないがそのまま放置した)。30日後、未反応の *S*-メチル-L-システインを分別してからカラムクロマトグラフィーを行ない (Mallinckrodt シリカゲル, 100メッシュ), 最初ベンゼンで溶出する部分から [4] が得られた。ベンゼン-クロロホルム (1:1) で溶出する副生成物を除いてから 2% のメタノールを含むベンゼン-クロロホルムで溶出する青色部から 40 mg の [2a] が得られた。mp 158~160°C。

分析値 C 76.34%, H 5.52%, N 5.06%,
O 7.18%, S 6.50%

$C_{33}H_{26}N_2O_2S \cdot 1/3 H_2O$ としての

計算値 C 76.13%, H 5.17%, N 5.38%,
O 7.16%, S 6.16%

MS: 前記

λ_{max} (MeOH) (nm): 630 ($\epsilon=67300$), 577 (sh) ($\epsilon=29800$), 299 ($\epsilon=18200$), 270

λ_{max} (MeOH-HOAc 9:1) (nm): 630 ($\epsilon=75600$), 299 ($\epsilon=14900$), 275 ($\epsilon=16800$)

λ_{max} (アセトン) (nm): 546 ($\epsilon=50500$), 375

NMR (δ) ($CDCl_3$): 12.5 (br., 1H カルボン酸), 9.1~6.7 (m, 19H, 芳香環およびこれに共役したメチン), 5.73~5.27 (m, 1H, N-CH), 3.78~3.27 (m, 2H, -CH-CH₂-SCH₃), 1.53 (s, 3H s-CH₃)

IR (cm^{-1}): 1690 (ν_{O-N}), 1610 と 1420 (ν_{SO})

1-(1-カルボキシ-2-メルカプトエチル)-5,5'-ジフェニル-3,4:3',4'-ジベンゾピロメテン [2b]

[1] 560 mg と L-システイン 605 mg とから [2a] の場合と同じように処理して [4] と [2b] 2~3 mg が得られた。mp 160~166°C。なお、カラムクロマトグラフィーのさい、ベンゼンに不溶の部分は水に溶けて黄緑色を呈するが、放置したさい析出する固体はおもに L-システインであった。

MS: 前記

λ_{max} (MeOH) (nm): 614, 446 (sh), 381, 360, 295 (sh)

λ_{max} (MeOH-HOAc): 616, 446 (sh), 382, 360, 290

λ_{max} (アセトン) (nm): 536, 405 (sh), 370

IR (cm^{-1}): 1685 (ν_{O-N}), 1610 と 1420 (ν_{SO})

Color Reactions of *o*-Acetylbenzophenone with Amino Acids

Seiko NAN'YA and Eturô MAEKAWA

Nagoya Institute of Technology; Shōwa-ku, Nagoya-shi 466 Japan

Inspection of the color reactions between *o*-acetylbenzophenone [1] and twenty four amino acids present in proteins revealed that only the coloration with L-cysteine was analogous to that with human skin.

On the color reactions of [1] with *S*-methyl-L-cysteine and of [1] with L-cysteine, deep blue pigments, $C_{33}H_{26}N_2O_2SR$ ([2a] (R=Me) and [2b] (R=H), respectively) were isolated. The structures of [2a] and [2b] were determined as 1-(1-carboxy-2-methylthioethyl)- and 1-(1-carboxy-2-mercaptoethyl)-5,5'-diphenyl-3,4:3',4'-dibenzo-2,2'-pyrromethenes, respectively, on the basis of their IR, UV, NMR and MS-spectra.