357. 長瀬雄三, 大野武男: ジブロムフルオレスセインの水銀化合物に関する
研究 (第1報) ジブロムフルオレスセインの水銀化反応について

Yuze Nagase and Takeo Ohno: Studies on the Mercury Compounds of
Dibromofluorescein. I. Mercuration of Dibromofluorescein.

(Gifu College of Pharmacy*)

White¹⁾ は 1920 年 dibromofluorescein (以下 *dibr. fl.* と略記す) を酢酸酸性にて 1 mol 当量の酢酸水銀を用いて水銀化を行い, 水銀 1 mol が移入した hydroxymercuridibromofluorescein (*mercurochrome*) を得たと報告したが, その後 Mitchell²⁾ は *mercurochrome* の組成は hydroxymercuridibromofluorescein の disodium 塩のみではなくて未反応の *dibr. fl.* とその monohydroxymercury 化合物及び dihydroxymercury 化合物との混合物であろうと報告しているが実験的根拠に乏しい. 又 Rymill, Corran³⁾ は *dibr. fl.* の 50% アルコール溶液に酢酸水銀を加えて水銀化を行い反応に用いた酢酸水銀の量には無関係に水銀含量 37.8~39.2%, 17.4~22.4% 及び 2.76~3.4% を示す 3 つの fraction に分離し得るが 43.5% の水銀含量をもつ dihydroxymercury 化合物は得られないと述べている.

著者等⁴⁾ は先に *mercurochrome* の製造条件を検討し, 日本薬局方の規格に適合する見かけの水銀量及び臭素量をもつ *mercurochrome* は *dibr. fl.* と酢酸水銀との混合 mol 比を 1:1.1 とし, 反応メジウムを pH 4~5.6 とし 5 時間以上煮沸すれば得られることを報告し, なかんずく反応メジウムの水素イオン濃度は水銀移入量に決定的な影響を与えることを指摘した. 本報では *dibr. fl.* を徹底的に水銀化した結果を報告する.

先ず予試験的に次の如き方法を用いて *dibr. fl.* に水銀の移入する量を検討し, これを 0.1 N I_2 溶液の消費量をもつて表わした. 即ち *dibr. fl.* 0.1 g に一定量の酢酸水銀を加え酢酸, 酢酸ナトリウム緩衝液中で一定時間加熱し, 冷後生じた沈澱を J. P. VI の水銀定量法 (高木, 長瀬法) に従つてヨウ素の対応量を求めた. しかるべき理論上 0.1 g の *dibr. fl.* に移入する水銀の mol 数を, 相当する 0.1 N I_2 の cc 数にて示せば次の如くである.

dibr. fl. 1 mol : Hg 1 mol 0.1 N I_2 4.083 cc

dibr. fl. 3 mol : Hg 4 mol 0.1 N I_2 5.307 cc

dibr. fl. 2 mol : Hg 3 mol 0.1 N I_2 6.123 cc

dibr. fl. 1 mol : Hg 2 mol 0.1 N I_2 8.166 cc

実験の結果次のことを知つた. 即ち

(1) 反応時の pH を約 4, *dibr. fl.* と酢酸水銀との混合 mol 比を 1:2~4 とし加熱時間と水銀移入量との関係を検討した結果約 5 時間後に最高移入量に達する (実験の部 Table III).

(2) pH を 4, 加熱時間を 5 時間とし, *dibr. fl.* と酢酸水銀との混合 mol 比と水銀移入量との関係を検討したところ *dibr. fl.* 1 mol に対し, 酢酸水銀 4 mol を用うれば最高移入量に達する (実験の部 Table III).

(3) *dibr. fl.* と酢酸水銀との混合 mol 比を 1:4 とし, 反応メジウムの pH を変化せしめて 5 時間以上加熱し, その水銀移入量を検討し pH 3.6 以下では急激に減少し, pH 4 附近で最高に達し, その後漸減して pH 5 に至り再び増加するが pH 7 以上となると減少することを知つた (実験の部 Table IV).

更に反応メジウムの pH 値と水銀移入量との関係を精査するため, *dibr. fl.* 4.9 g (1/100 mol) を酢酸, 酢酸ナトリウム緩衝溶液中にて酢酸水銀 12.8 g (4/100 mol) を用いて水銀化を行い, 生成した水銀化合物を水酸化ナトリウム溶液及び酢酸より再沈澱し乾燥したものについて分析を行つた結果は Table I のようである. White¹⁾ が指摘している如く *dibr. fl.* の水銀化合物を 110° で乾燥したときには -HgOH 基と -HgOCOCH₃ 基の形のものが混合していると思われるので水銀及び臭素の含量を比較するため酢酸の定量結果を基礎とし -HgOCOCH₃ 基

* Kokonoe-cho, Gifu.

1) E. C. White: J. Am. Chem. Soc. **42**, 2364 (1920).

2) H. A. Mitchell: Quart. J. Pharm. Pharmacol. **4**, 320 (1931).

3) F. E. Rymill, R. F. Corran: Pharm. J. **89**, 21 (1934).

4) 長瀬, 大野: 薬学研究 **20**, 261 (1948); 岐阜薬科大学紀要 **1**, 30 (1951).

Table I

No. of mercuration	pH at mercuration	Yield of mercury compound (g.)	Drying method (°C)	Analysis of		
				Hg(%)	Br(%)	CH ₃ COOH (%)
m. 1	2.6	4.1	110	2.9	30.5	—
m. 2	3.6	6.0	"	15.9	28.5	0.56
m. 3	4.0	7.8	"	37.2	19.2	2.32
m. 4	4.2	7.7	room temp. on P ₂ O ₅	35.4	18.6	7.07
m. 5	4.2	7.6	110°	36.5	19.3	2.67
m. 6	4.8	7.6	"	34.4	20.3	3.14
m. 7	5.0	7.7	room temp. on P ₂ O ₅	33.4	20.1	5.06
m. 8	5.0	7.7	110°	34.5	20.0	2.60
m. 9	5.6	7.2	"	34.2	18.8	2.50
m. 10	6.2	6.9	"	36.9	18.0	3.25

Hg 及び Br の分析値は 2 回の平均値を示す。

Table II

No.	Hg (%)	Br (%)	No.	Hg (%)	Br (%)
m. 1	2.9	30.5	m. 6	35.2	20.8
m. 2	16.0	28.6	m. 7	34.7	20.8
m. 3	37.8	19.5	m. 8	35.1	20.4
m. 4	37.3	19.6	m. 9	34.8	19.1
m. 5	37.2	19.7	m. 10	37.8	18.4

を -HgOH 基として換算したときの水銀及び臭素の含量を算出して Table II に示したような結果を得た。本実験により次の知見を得た。即ち

(1) dibr. fl. の水銀化合物を水酸化ナトリウム溶液から酢酸を用いて沈澱させたものを室温に乾燥するときは半仮面水銀は acetoxymercury 基として、又加熱乾燥すれば酢酸の一部は揮散して hydroxymercury 基として存在する。加熱温度、時間の如何によつては更に一部分は脱水して anhydro の形になることも考えられる。

(2) 水銀化の反応メジウムが pH 3 以下になると一旦移入した水銀も離れ易くなり、半仮面性水銀は金属水銀として析出し来る。

(3) pH 6 以上になると黒色の遊離水銀量が増加し又移入水銀量も増加の傾向が現われるが臭素量は減少する。これは dibr. fl. がアルカリ性に傾くに従い酢酸水銀によつて酸化されて臭素がイオンとして脱離するため、水銀の核移入が増加することに起因するものと思われる。この事は例えば m. 10 の如く水銀化反応に際し、反応前全く Br⁻ を検出し得なかつたにも関わらず、反応後かなりの Br⁻ を検出した事実によつても首肯出来る。

即ち dibr. fl. を徹底的に水銀化するとき 4 mol の酢酸水銀を用い、反応メジウムの pH を 4 とし 6 時間以上加熱すれば dibr. fl. 1 mol に対して 1.5 mol までの水銀を移入させることが出来るが反応条件を如何に変化せしめても、この方法によつては 2 mol の水銀が移入したいいわゆる dimercury 体のみを得ることは出来なかつた。なおこれらの構造に関しては第 2 報で詳論する。

本研究は文部省科学研究費によつて行つた。本研究に当り御指導を賜つた京都大学教授高木誠司先生並びに激励と便宜を与えられた本学学長宮道悦男先生に謹謝の意を表す。

実 験 の 部

加熱時間並びに混合割合と水銀移入量との関係 dibr. fl. 約 0.1 g を精秤し, 共栓三角コルベンに容れ, 約 0.1 N NaOH 10 cc に溶解し, 次いで約 0.1 N 酢酸 20 cc を加えて dibr. fl. を再沈澱し, 更に dibr. fl. 1 mol に対して 2~4 mol の割合に酢酸水銀を加え水にて全量約 100 cc とし (この時の pH 約 4) 還流冷却器を附し一定時間微に煮沸する程度に加熱. 生じた沈澱を一旦 N NaOH 8 cc に溶解し N AcOH 15 cc を加えて再沈澱を行い 10% KI 5 cc を加えて反応に与えられなかつた Hg^{++} を K_2HgI_4 に変じ, CCl_4 20 cc 及び 0.1 N I_2 20 cc を加え時々揺動しつつ約 1 時間静置した後, 過剰の I_2 を 0.1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ で還測し, 加熱時間並びに混合割合と水銀移入量との関係を dibr. fl. 0.1 g に対する 0.1 N I_2 の消費量をもつて示せば Table III のようである.

Table III Expended Quantities (cc.) of 0.1 N I_2 to Hg Combined with 0.1 g. Dibr. fl. (pH 4)

Ratio of mixture Hours boiled	Dibr. fl. : Hg(OAc) ₂	Dibr. fl. : Hg(OAc) ₂	Dibr. fl. : Hg(OAc) ₂	Dibr. fl. : Hg(OAc) ₂
	1 : 2	1 : 3	1 : 4	1 : 6
0.5	2.85, 3.28 (3.07)	3.04, 3.22 (3.13)	3.72, 3.50 (3.61)	
1.0	3.70, 3.77 (3.74)	4.13, 4.09 (4.11)	4.07, 4.01 (4.04)	
2.0	4.42, 4.06 (4.24)	4.83, 4.59 (4.71)	5.16, 4.79 (4.98)	
3.0	4.16, 4.34 (4.25)	4.96, 5.08 (5.02)	5.20, 5.26 (5.23)	
5.0	5.18, 5.15 (5.17)	5.95, 5.57 (5.76)	6.14, 5.87 (6.01)	5.79, 5.83 (5.81)
7.0	4.83, 4.33 (4.58)	5.56, 5.41 (5.49)	5.87, 5.90 (5.89)	
10.0	4.90, 4.95 (4.93)	5.14, 5.44 (5.29)	6.18, 5.96 (6.07)	

反応メジウムの pH と水銀移入量との関係 dibr. fl. 約 0.1 g を精秤し, 共栓三角コルベンに容れ約 0.1 N NaOH 10 cc に溶解し, 次いで種々の濃度の酢酸を加えて dibr. fl. を再沈澱し, 更に dibr. fl. 1 mol に対して 4 mol の割合に酢酸水銀を加え, 必要あれば酢酸ナトリウムを加えて水にて全量 100 cc とし還流冷却器を附し約 7 時間微に煮沸する. 以下前と同様に処理して反応時の pH と水銀移入量との関係を dibr. fl. 0.1 g に対する 0.1 N I_2 の消費 cc 数をもつて示せば Table IV のようである.

Table IV Expended Quantities (cc.) of 0.1 N I_2 to Hg Combined with 0.1 g. Dibr. fl. (Boiling-7 hrs., Dibr. fl. 1 mol : Hg(OAc)₂ 4 mol)

pH at mercuration	3.2	3.4	3.6	4.0	4.2	4.6	5.0	5.4	5.8	6.0	6.6	7.0	Ca 8
	3.79	4.55	5.48	6.09	6.13	5.77	5.56	5.61	6.39	6.44	6.08	4.16	1.32
	3.83	4.73	5.42	5.99	6.14	5.73	5.50	5.78	6.03	6.38	6.15	5.69	1.13
				5.95	6.05	5.70	5.49			6.57			
				6.07	6.14	5.62	5.41			6.41			
Mean	3.81	4.64	5.45	6.02	6.12	5.71	5.49	5.70	6.21	6.45	6.12	4.93	1.23

ジブロムフルオレスセインの水銀化 dibr. fl. 4.9 g (1/100 mol) を N NaOH の適当量に溶解し, これに種々の濃度の酢酸を加えて dibr. fl. を再沈澱した後, 酢酸水銀 12.8 g (4/100 mol) を加え, 更に必要あれば酢酸ナトリウムの適当量を加えて溶液の pH を 2.6 (m. 1), 3.6 (m. 2), 4.0 (m. 3), 4.2 (m. 4, m. 5), 4.8 (m. 6), 5.0 (m. 7, m. 8), 5.6 (m. 9) 及び 6.2 (m. 10) に調節し, 水にて全量約 500 cc とし還流冷却器を附し攪拌しながら 130° の油浴中で約 10 時間煮沸する. 生じた沈澱を冷後濾取水洗し, 一旦 N NaOH に溶解濾過して遊離の水銀あれば分離した後, 酢酸を加えて生じた沈澱を濾取水洗し, 110° 又は五酸化燐上で乾燥した. 反応液の pH は反応の前後に測定したが何れの場合も前後における pH の変化はなかつた. これらの水銀化合物について水銀, 臭素及び酢酸の定量を行った.

(a) 水銀の定量: J. P. VI 所載の mercurochrome の水銀定量法に従つて定量を行った (Table I).

(b) 臭素の定量: J. P. VI 所載の mercurochrome の臭素定量法に従つて定量を行ったが検体を水酸化ナトリウムで燻滅するとき熱処理時間が長過ぎるときは臭化ナトリウムが一部分揮散するため正確な分析値を与えない*ので赤熱した電気炉中で 4~5 分間燻滅した (Table I).

(c) 酢酸の定量: 検体約 0.5 g を精秤し, なるべく少量の水酸化ナトリウム溶液に溶かし 80% 磷酸 10 cc を加えて水蒸気蒸留を行い, 留液約 400 cc に達したならば BTB を指示薬として 0.1 N KOH で滴定した. 別に

* mercurochrome の臭素定量法については別に詳報する予定である.

空実験を行い 0.1 N KOH の消費量からこれを控除した (Table I).

岐阜薬科大学

Summary

Mercuration of dibromofluorescein by heating a mixture of dibromofluorescein and mercury acetate in 1:4 ratio in acetic acid showed that the pH of the medium greatly affected the amount of mercury introduced, besides the length of heating. At pH below 3, the mercury introduced was liable to liberate and the half-masked mercury precipitated out as metallic mercury. At pH over 6, dibromofluorescein was oxidized by mercury acetate and a part of bromine was liberated. At above pH 7, mercuration no longer proceeded and the amount of liberation of black mercury increased. The reaction proceeded most smoothly at around pH 4 and up to 1.5 moles of mercury could be introduced. However, adjustment of molar ratio, heating time, and pH of the medium failed to effect introduction of two moles of mercury by this method to form a dimercury compound.

(Received October 2, 1953)

358. 長瀬雄三, 大野武男: ジブロムフルオレスセインの水銀化合物に関する研究 (第2報) 水銀化合物の構造について

Yuzo Nagase and Takeo Ohno: Studies on the Mercury Compound of Dibromofluorescein. II. Structure of Mercury Compound.

(Gifu College of Pharmacy)

第1報において dibromofluorescein (以下 *dibr. fl.* と略記す) を 4 mol 相当量の酢酸水銀を用いて水銀化を行い再洗滌したものを乾燥したとき, pH 4 では Hg 37.3%, Br 19.6% (m. 4), pH 5 では Hg 34.7%, Br 20.8% (m. 7) の分析値を与える水銀化合物を得ることを報告した. 本報ではこれらの水銀化合物の組成について検討し得た知見を報告する.

半仮面性水銀が同一分子中に carboxyl 基を持つとき, これと $-\text{COO} \cdot \text{Hg} \cdot \text{C}_6\text{H}_5$ 結合をすることは著者の一人長瀬¹⁾の tyrosine の水銀化合物の研究, 或いはサリチル酸水銀の構造²⁾から推察出来るところである. 又先きに報告したフルオレスセインの化学構造に関する知見³⁾から推察すれば *dibr. fl.* もまた液性の変化にともないオルトキノ型 (I), ラクトン型 (II) 及びパラキノ型 (III) の 3 型をとるものと考えられる. 更に又キノ型炭素のオルト位並にパラ位には水銀が移入し難い事実⁴⁾, 従つてラクトン型からは dimercury 体 (V) が, オルト又はパラキノ型からは monomercury 体 (IV, VI) が誘導されることなどから併せ考えると Table I の如く m. 4 はその分析値が (VII) 式の構造に, m. 7 は (VIII) 式の構造に一致する.

この推定は *dibr. fl.* 及び酢酸水銀の希薄水溶液を用いて吸収スペクトル法を応用して水銀移入量を測定した結果と一致する. 即ち pH 4 においては *dibr. fl.* 2 mol に対して酢酸水銀 3 mol, pH 5 においてはほぼ 3 mol: 4 mol の混合液が長波長部の吸収端の極大を認めた (実験の部 Fig. 1 及び 2).

即ち pH 4 附近では *dibr. fl.* のラクトン型とパラキノ型とがほぼ同量に, pH 5 附近では 1:2 の割合に存在することを示し, 従つて m. 4 は dimercury 体と monomercury 体とが同量に, m. 7 は 1:2 の割合に生

1) 長瀬: 本誌 58, 185 (1938).

2) 第6改正日本薬局方註解 (第3版, 南江堂) 304 (1951).

3) 長瀬, 大野: 本誌 73, 1033 (1953)

4) 長瀬, 大野: 昭和 25 年日本薬学会総会講演「パラニトロフェノールの水銀化合物について」