305. 大熊誠一： ジメチルグリオキシムとオキシベソツアルデヒドによる
セミカルバゾン及びチオセミカルバゾン類の呈色反応について*

Seiichi Ohkuma : Color Reaction of Semicardazones and Thiosemicarbazones
with Dimethylglyoxime and Hydroxybenzaldehydes.

(National Hygienic Laboratory**)

著者等¹⁾ はさきにニトロフラゾン及びチオアセタゾンの試験規格設定に当り、アルデヒド区分を 2,4-dinitro-phenylhydrazone として定性、定量したが、その後セミカルバチド (以下 SCi) 及びチオセミカルバチド (以下 TCi) 区分の特異的な呈色反応を見出した。

セミカルバゾン (以下 SCo)²⁾ 及びチオセミカルバゾン (以下 TCo)³⁾ 類は重金属イオンと難溶性の有色塩を形成し、また TCo はベンタシアノ鉄錯塩⁴⁾ と緑色の錯塩を形成するが、これらの反応は SCo, TCo 類に特有な反応ではない。ω-bromoacetophenone⁵⁾ はチオアセタゾンと phenylthiazine または thiazole 誘導体を形成し発色するが、その呈色は黄色なので良好な呈色反応とはいえない。

セミカルバゾン類の呈色反応 Smith⁶⁾ は SCi 及び 4-phenylsemicarbazide 類が塩酸酸性溶液中で dimethylglyoxime (以下 DG) と反応し赤色に呈色することを報告した。そこで著者は DG を塩酸酸性下各種化合物に作用させたが、炭化水素、アルコール、アルデヒド、ケトン、キノン、糖、カルボン酸、エステル、フェノール、ニトロ化合物、アミン、ヒドラチン、酸アミド、酸ヒドラチッド及び各種有機硫黄化合物等は陰性であつた (実験 1)。従つてこの反応は SCi 及び 4-phenylsemicarbazide 類の特有反応である。更にこの反応を各種アルデヒド、ケトン類の SCo について行つたが、例外なく赤色を呈し、TCo は一部の例外を除いて陰性であつた (実験 2, Table Ia, Ib)。SCo が反応陽性となるのは SCo の加水分解によつて生成した SCi が塩酸酸性下 DG と反応し赤色を呈するためと考えられる。従つてこの DG と塩酸による方法 (実験 2) はアルデヒド、ケトン類の SCo 及び SCi 類の特異的な検出法として使用できる。

セミカルバゾン及びチオセミカルバゾン類の呈色反応 DG と例外的に反応陽性となり赤色を呈する TCo はすべて *o*- または *p*-hydroxybenzaldehyde, alkoxybenzaldehyde 類の TCo であり、他のアルデヒド、ケトン類の TCo は陰性である (実験 2, Table Ib)。この現象は TCo が塩酸酸性下で TCi とアルデヒドまたはケトンに加水分解し、生成するアルデヒドまたはケトンの中で *o*- または *p*-hydroxybenzaldehyde, alkoxybenzaldehyde 類のみが特異的に TCi と DG の反応を赤色の方向に向けるものと考え、TCi に塩酸酸性下で DG と各種アルデヒド、ケトン類を作用させた。その結果 *o*- または *p*-hydroxybenzaldehyde, alkoxybenzaldehyde (例えば salicylaldehyde, *p*-hydroxybenzaldehyde, vanillin, isovanillin, anisaldehyde and piperonal, etc.) を添加した場合は赤色を呈し、他のアルデヒド及びケトン類 (例えば formaldehyde, acetaldehyde, benzaldehyde, *p*-dimethylaminobenzaldehyde, *p*-acetaminobenzaldehyde, *p*-chlorobenzaldehyde, *o*-nitrobenzaldehyde, *m*-nitrobenzaldehyde, *p*-nitrobenzaldehyde, *m*-hydroxybenzaldehyde, cinnamic aldehyde, acetone, cyclohexanone, acetophenone, *p*-hydroxyacetophenone, *p*-aminoacetophenone, benzophenone, *p*-hydroxybenzophenone, etc.) を添加した場合は反応陰性であつた (実験 3)。以上の事実

* 第 75 回日本薬学会年会で講演 (1955)。

** Tamagawa-Yoga machi, Setagaya-ku, Tokyo. 1) 長沢, 大熊: 本誌 74, 410(1954)。

2) Arreguine: Rev. asoc. bioquim. argentina 11, 265(1944); C. A. 39, 1963. 高木, 宇野: 薬学研究 20, 29(1948)。

3) Schmitz: Deutch. Apoth.-Ztg. 61, 816(1951); C. A. 46, 4954; Leal, Alves: Noticias form. (Portugal) 18, 113(1952); C. A. 47, 6603。

4) Williams, et al.: J. Lab. Clin. Med. 29, 329(1944); Olson, et al.: J. Biol. Chem. 169, 681 (1947); van Sonsbeek: Pharm. Weekblad 84, 433(1949); Gootjes, Nauta: Ibid. 85, 869(1950); Doden, Kolf: Klin. Wochschr. 29, 480(1951); C. A. 46, 4602. 大熊: 本誌 72, 1101(1952)。

5) Wollenberg: Med. Deut. Woch. 75, 899(1950)。

6) Smith: Analyst 60, 171(1935)。

(実験 2, Table Ib 実験 3) から *o*- または *p*-hydroxybenzaldehyde, alkoxybenzaldehyde 類は塩酸酸性下で特異的に TCi と DG の反応を陰性から陽性に転化させる作用のあることが判る. そこで各種アルデヒド及びケトン類の TCo 及び TCi に DG と *p*-hydroxybenzaldehyde または vanillin を塩酸酸性下で作用させたところ, すべての TCo 類及び TCi は赤色を呈し (実験 4, 5, Table II), 各種アルデヒド及びケトン類の SCo 及び SCi 等では赤色を呈すると共に (実験 4, 5, Table II) DG 単独で反応させる場合より遙かに鋭敏となり, 確認限度が 1/5~1/10 程度になることが見出された (実験 5, Table III). このような作用は *o*- または *p*-hydroxybenzaldehyde, alkoxybenzaldehyde, 類にすべて共通に認められるが***, *p*-hydroxybenzaldehyde は

Table Ia. Color Reaction of some Semicarbazones with Dimethylglyoxime

Semicarbazones	Color	Semicarbazones	Color
Benzaldehyde	R	Piperonal	VR
Salicylaldehyde	//	Cinnamic aldehyde	OR
<i>m</i> -Hydroxybenzaldehyde	//	<i>p</i> -Dimethylaminobenzaldehyde	R
<i>p</i> -Hydroxybenzaldehyde	//	<i>p</i> -Acetaminobenzaldehyde	//
Protocatechualdehyde	VR	<i>o</i> -Nitrobenzaldehyde	R~BrR
Anisaldehyde	R	<i>m</i> -Nitrobenzaldehyde	//
Vanillin	VR	<i>p</i> -Nitrobenzaldehyde	//
Isovanillin	//	5-Nitrofurfural	R
Acetone	//	<i>p</i> -Aminoacetophenone	R~VR
Cyclohexanone	R	<i>m</i> -Nitroacetophenone	R
Biacetyl	//	<i>p</i> -Nitroacetophenone	VR
Acetophenone	R~VR	Benzophenone	R
<i>p</i> -Hydroxyacetophenone	//	<i>p</i> -Hydroxybenzophenone	VR
<i>p</i> -Methylacetophenone	VR	Semicarbazide	R~VR
Br.....brown	O.....orange	R.....red	
V.....violet	Y.....yellow		

Table Ib. Color Reaction of some Thiosemicarbazones with Dimethylglyoxime

Thiosemicarbazone	Color	Semicarbazones	Color
Benzaldehyde	OY	<i>p</i> -Nitrobenzaldehyde	Y
Salicylaldehyde	OR	Cinnamic aldehyde	OY
<i>p</i> -Hydroxybenzaldehyde	VR	Acetone	//
Anisaldehyde	//	Cyclohexanone	//
Vanillin	//	Acetophenone	//
<i>p</i> -Dimethylaminobenzaldehyde	Y	<i>p</i> -Hydroxyacetophenone	//
<i>p</i> -Acetaminobenzaldehyde	OY	Camphor	//
<i>o</i> -Nitrobenzaldehyde	Y	Benzophenone	//

o- 体より呈色色調がよく, かつ *p*-hydroxybenzaldehyde 類の中では vanillin が鋭敏度, 試薬の入手容易さ等からいつて優れている. TCi 及び TCo は DG に vanillin を併用することにより赤色を呈すると共にその反応の鋭敏度は SCi, SCo の場合より若干低い可成り鋭敏である (Table III). なおこの vanillin を併用する方法を各種化合物について実施したところ, 一部のケトン, フェノール類が赤色を呈したので注意を要する. しかしこれらの化合物は vanillin と塩酸のみでも赤色を呈するから DG は反応に関係しないものと考えられる. 従つて vanillin を併用する dimethylglyoxime-塩酸法 (実験 5) はアルデヒド, ケトン類のセミカルバゾン, チオセミカルバゾン, セミカルバチッド及びチオセミカルバチッド等の鋭敏な検出法として使用できる.

本研究にあたり御指導をいただいた研究部長, 長沢佳熊博士に深謝する.

実 験 の 部

実験 1 各種化合物のごく少量⁷⁾に 3 w/v% dimethylglyoxime 塩酸溶液⁸⁾ (以下 dimethylglyoxime 試液) 1 滴を加え水浴中で 5 分以上加熱.

*** *m*-hydroxybenzaldehyde はこのような作用を示さない.

7) a pin head 程度の量を使用した.

8) 塩酸は濃塩酸 (約 35%) を使用する. なおこの試液は用時調製する.

実験 2 アルデヒド、ケトン類のセミカルバゾン及びセミカルバチドの呈色反応 (検出法) 試料の微量またはそのエタノール溶液の 1 滴に dimethylglyoxime 試液 1 滴を加え水浴中で加熱。試料がセミカルバゾン類及びセミカルバチド及び *o*- または *p*-hydroxybenzaldehyde, alkoxybenzaldehyde 類のチオセミカルバゾンであると直ちにまたは 5 分以上の加熱により赤色～紫赤色を呈する Table Ia, Ib, 参照。確認限度は Table III 参照。

実験 3 チオセミカルバチドのごく少量¹⁾に 10 w/v% の各種アルデヒドまたはケトン類のエタノール溶液の 1 滴及び dimethylglyoxime 試液 1 滴を加え水浴中で 5 分以上加熱。

実験 4 アルデヒド、ケトン類のセミカルバゾン、チオセミカルバゾン、セミカルバチド及びチオセミカルバチドのごく少量¹⁾に *p*-hydroxybenzaldehyde または vanillin の 10 w/v% エタノール溶液の 1 滴及び dimethylglyoxime 試液の 1 滴を加え水浴中で 5 分以上加熱。Table II. 参照。

Table II. Color Reaction of some Semicarbazones and Thiosemicarbazones with Dimethylglyoxime in the Presence of *p*-Hydroxybenzaldehyde or Vanillin.

Semicarbazone and Thiosemicarbazone	Color		Semicarbazone and Thiosemicarbazone	Color	
	DG-R + HB-R	DG-R + V-R		DG-R + HB-R	DG-R + V-R
Benzaldehyde	OR	R	Piperonal	R	VR
Salicylaldehyde	R	VR	3,4-Dimethylbenzaldehyde	〃	〃
<i>m</i> -Hydroxybenzaldehyde	〃	〃	<i>p</i> -Chlorobenzaldehyde	〃	〃
<i>p</i> -Hydroxybenzaldehyde	〃	〃	<i>p</i> -Acetaminobenzaldehyde	BrR	BrR
Protocatechualdehyde	〃	〃	<i>o</i> -Nitrobenzaldehyde	R	R
Anisaldehyde	〃	〃	<i>p</i> -Nitrobenzaldehyde	〃	VR
Vanillin	V~VR	V~VR	Phenylacetaldehyde	〃	〃
Isovanillin	〃	〃	Cinnamic aldehyde	〃	〃
5-Nitrofurfural	OR	R	Semicarbazide	〃	〃
Perillaldehyde	R	VR	<i>p</i> -Ethoxyphenylthiourea	Y	Y
Arabinose	〃	RV	<i>o</i> -Methylphenylthiourea	〃	〃
Acetone	〃	VR	N,N'-Diphenylthiourea	〃	〃
Cyclohexanone	VR	〃	2-Phenylsemicarbazide	OY	OY
Acetophenone	R	〃	3,4-Dimethylbenzoic acid thiohydrazide	〃	〃
<i>m</i> -Nitroacetophenone	〃	〃	<i>p</i> -Acetaminophenylsulfonic acid thiohydrazide	Y	Y
Benzophenone	〃	〃	Thiosemicarbazide	R	R
DG-R.....	Dimethylglyoxime hydrochloric acid solution.				
HB-R.....	<i>p</i> -Hydroxybenzaldehyde ethanolic solution.				
V-R.....	Vanillin ethanolic solution.				

Table III. Limit of Detection of Semicarbazides, Thiosemicarbazides, Semicarbazones, and Thiosemicarbazones.

Compound	Limit of detection (γ)	
	DG-R	DG-R+V-R
Semicarbazide·HCl	15	2
Thiosemicarbazide	—	3
<i>p</i> -Acetaminobenzaldehyde semicarbazone	25	5
<i>p</i> -Acetaminobenzaldehyde thiosemicarbazone	—	10
5-Nitrofurfural semicarbazone	30	3

実験 5 アルデヒド、ケトン類のセミカルバゾン、チオセミカルバゾン、セミカルバチド及びチオセミカルバチドの呈色反応 (検出法) 試料の微量またはそのエタノール溶液の 1 滴に 10 w/v% vanillin エタノール溶液 1 滴及び dimethylglyoxime 試液 1 滴を加え水浴中で加熱。試料がセミカルバゾン、チオセミカルバゾン、セミカルバチド及びチオセミカルバチドであると直ちにまたは 5 分以上の加熱により赤色～紫赤色を呈する。Table II 参照。確認限度は Table III を参照。

Summary

Aldehydes or ketone semicarbazones and semicarbazides, when heated with dimethylglyoxime and hydrochloric acid, give specific red to reddish purple coloration. A minute amount of the sample or one drop of its ethanolic solution is added with one drop of 3 w/v% hydrochloric acid solution of dimethylglyoxime and heated in a water bath. Thiosemicarbazones and thiosemicarbazides do not give this coloration but the concurrent presence of *o*- or *p*-hydroxybenzaldehydes and alkoxybenzaldehydes results in red to reddish purple coloration, and the same in semicarbazones and semicarbazides results in far more sensitive coloration than in the case of dimethylglyoxime alone. A minute amount of the sample or one drop of its ethanolic solution, added with one drop of 3 w/v% hydrochloric acid solution of dimethylglyoxime and one drop of 10 w/v% ethanolic solution of vanillin is heated in a water bath by which, either immediately or after 5 minutes, red to reddish purple coloration appears.

(Received June 8, 1955)

306. 村上信三, 竹本常松, 鄭 然昌, 醍醐皓二*, 高木信也** : 海人草有効成分の研究 (第 10 報***) α -アロカイニン酸について

Shinzo Murakami, Tsunematsu Takemoto, Zensho Tei, Koji Daigo*, and Nobuya Takagi** : Studies on the Effective Principles of *Digenea simplex* Ag. X. On α -Allokainic Acid.

(Pharmaceutical Faculty, University of Osaka,* and Shiraishi Pharmaceutical Industries, Ltd**.)

著者等はカイニン酸の結晶母液から mp 237~238°(decomp), $[\alpha]_D^{15}$: +6.7°(c=3.006, 水), 組成 $C_{10}H_{15}O_4N$ の無色針状又は柱状結晶を分離した。本品はカイニン酸¹⁾, β -カイニン酸²⁾ 及び α -イソカイニン酸³⁾ と混融して明らかに融点降下を示す。本品のニヒドリソール反応はカイニン酸に比べて弱い。明らかに黄色を呈し, Feigl⁴⁾ 等のニトロプルシドソーダ及びアセトアルデヒドによる脂肪族第二級アミンの呈色反応は深青色を呈する。なお本品を水溶液として無水酢酸で酢化すれば mp 185°, $[\alpha]_D^{25}$: -38.1°(c=2.628, 水) の N-アセチル化合物 (II) が得られる。又本品は水に溶けて酸性を示し, 赤外線吸収スペクトルでは 5.80 μ に COOH, 6.13 μ に COO⁻ の吸収が認められ, 非水滴定値も二塩基性酸のそれによく一致する。本品は過マンガン酸カリ, ブロムを速かに消費し, テトラニトロメタンで黄色を呈し明らかに不飽和性を示し, 赤外線吸収スペクトルでは 11.12 μ に置換基を有する末端ビニル基の存在を示す吸収が認められる。以上の点から著者等は本品を新物質と見做し, はじめ T-酸 (T-acid) と仮称していたが, 後に森本⁵⁾ は本品及びカイニン酸を特定の条件下でオゾン酸化して同一のメチルケトン体**** が得られることからその平面構造はカイニン酸と同じく 2-カルボキシ-3-カルボキシメチル

* Hotarugaike, Toyonaka, Osaka-fu.

** Dainihon-machi, Higashiyodogawa-ku, Osaka.

*** 第 9 報, 村上, 竹本, 鄭, 醍醐: 本誌 75, 869(1955).

1) 村上, 竹本, 清水: 本誌 73, 1026(1953); 村上, 竹本, 鄭, 醍醐: 本誌 74, 560(1954).

2) 森本: 本誌 75, 901, 906(1955).

3) 森本: 本誌 75, 928, 932(1955).

4) Feigl, et al.: Microchim. Acta. I, 138(1937).

5) 森本: 本誌 75, 937(1955).

**** 比較的低温で注意して操作すればこれとは異なる mp 213°(decomp), $[\alpha]_D^{25}$: -17.5°(c=2.4, 水), 組成 $C_9H_{13}O_5N$ のメチルケトン体得られる。