測定法 2-furaldehyde および INAH (または benzoylhydrazine) または furfurylidene-INAH (または 1-benzoyl-2-furfurylidenehydrazine) を所定の緩衝液に溶解して $3\sim 4\times 10^{-4}M$ の濃度となし、これを電気恒温水槽に入れて $30\pm 1^\circ$ で反応させ、30 分ないし 1 時間ごとに取り出して反応系の INAH の定量を行う。この系が平衡に達すると INAH の定量値が一定になるから、この定量値を平衡時の INAH の濃度とする。

平衡恒数の計算には (VII) 式を用いた。

$$K=[2\text{-furaldehyde concn. } M]/[\text{INAH concn. } M]/[\text{furfurylidene-INAH concn. } M] \dots (VII)$$

furfurylidene-INAH から出発した場合の (VII) 式による K の算出は平衡成立時に [2-furaldehyde concn. M] = [INAH concn. M] であるから、その時の INAH の定量値から (VII) 式における分子が計算され、分母は furfurylidene-INAH の初濃度と平衡成立時の INAH の濃度の差から算出される。一方 2-furaldehyde, INAH 混液から出発して平衡恒数を求める場合には INAH の初濃度と定量した平衡時の INAH 濃度の差が furfurylidene-INAH の平衡時の濃度となり、2-furaldehyde の初濃度と算出した furfurylidene-INAH の濃度の差が平衡時の 2-furaldehyde の濃度になるから、これらの値から平衡恒数を算出し得る。

武田薬品工業株式会社研究所

UDC 547.826.1-574.3:541.122

210. 藤原 洋: イソニコチン酸ヒドラジド誘導体の理化学的研究 (第 5 報) イソニコチン酸ヒドラジド誘導体の水溶液中の化学平衡について その 2

Hiroshi Fujiwara: Physicochemical Studies on Isonicotinoylhydrazine Derivatives

V. On Equilibrium of Isonicotinoylhydrazine Derivatives in

Aqueous Solutions. (2).

(Research Laboratories, Takeda Pharmaceutical Industries, Ltd.)

In order to elucidate equilibrium mechanism of hydrolysis in aqueous solution of *p*-amino- and *p*-dimethylamino-benzylidene-INAH, equilibrium constants were measured in buffer solutions of various pH. It was thereby clarified that the relationship between pH and equilibrium constants does not satisfy the known Conant formula, that the basicity of the aldehyde also affected these constants, and that an entirely new relative formula (VII) had to be forwarded.

(Received February 28, 1958)

前報で著者は 1-furfurylidene-2-isonicotinoylhydrazine (furfurylidene-INAH) を水溶液中で加水分解したときの平衡の機構を究明し、平衡恒数は液の pH の影響を受け、その関係は Conant の式で表わされることを明らかにした。また第 3 報で *p*-dimethylaminobenzylidene-INAH, *p*-aminobenzylidene-INAH のような強い electron releasing な置換基を持った benzylidene-INAH 誘導体が塩を形成するとき proton が azometine 基に付加することを明らかにした。isonicotinoylhydrazone (以下 INAH-hydrazone と略) の水溶液中における化学平衡について azometine 基の塩基性が重大な役割を演ずることは Conant の式から明瞭であるが、*p*-dimethylaminobenzaldehyde, *p*-aminobenzaldehyde などは塩基性を持つのでその平衡の機構には Conant 式以上の複雑さがあるだろう。本報で著者はこれらの INAH-hydrazone の平衡の機構について検討し、全く新しい機構によることを明らかにし得た。

著者はこれら化合物の平衡恒数を後述 (実験の部) の方法で測定し、測定範囲内で INAH の一定値を得、平衡の成立を認めた。すなわちこの反応系における他の副反応として考えられるものにアルデヒドおよび INAH の分解、アルデヒド相互の反応などがある。これらの副反応が不可逆的であるならば平衡恒数の測定で INAH の一定値が得られないはずである。しかし副反応が可逆の場合にはこれのみで判定することはできない。著者はこのような副反応としてアルデヒドの縮合の可能性があるかと推定し、平衡恒数の測定と同一条件でアルデヒドの安定度を検討した。*p*-dimethylaminobenzaldehyde については pH 0.5 および 5, *p*-aminobenzaldehyde については

pH 1.5, 5 について azotometry で定量し, 平衡恒数測定条件では障害のないことが判明した。

これら化合物の平衡に至る時間は *p*-amino および *p*-dimethylamino の electron releasing な効果によつて azometine 基の電子密度が大きいため前報の furfurylidene-INAH にくらべて速く, 測定 pH 範囲でいずれも 1 時間以内に平衡に達する。著者は反応開始後 5 時間目まで 1 時間ごとに INAH を定量して平衡時の INAH の濃度を確認した。

p-dimethylaminobenzylidene-INAH の種々の pH の緩衝液中の加水分解の平衡恒数は Table I, Fig. 1 の通りである。

Table I. Equilibrium Constant of *p*-Dimethylaminobenzylidene-INAH in Buffers of Various pH at 30°

pH	K ($\times 10^{-4}$)
0.89	10.80, 11.20, 11.60
1.20	5.90, 6.12, 5.78
1.79	2.88, 2.51, 2.80
2.60	2.54, 2.25, 2.80
3.00	4.38, 4.91, 5.11
4.12	10.30, 10.50, 10.40
4.40	10.80, 10.50, 10.50

Fig. 1. Relationship between K of *p*-Dimethylaminobenzylidene-INAH in Buffers and pH

また *p*-aminobenzylidene-INAH については Table II, Fig. 2 に示す。

Table II. Equilibrium Constant of *p*-Aminobenzylidene-INAH in Buffers of Various pH at 30°

pH	K ($\times 10^{-4}$)
1.79	7.80, 7.31, 8.08
2.05	6.05, 6.42, 6.13
2.60	8.42, 9.01, 9.33
3.70	14.21, 14.68, 14.79
4.40	19.10, 18.92, 18.89
5.00	18.09, 19.30, 19.61

Fig. 2. Relationship between K of *p*-Aminobenzylidene-INAH in Buffers and pH

Fig. 1, 2 からこれら化合物の平衡の機構はいずれも同じであるように思われるが, 極小値を持っているので明らかに Conant 式を満足しない。

これらの機構に関して以下のように考察し得る。今 *p*-dimethylaminobenzylidene-INAH について述べると, この化合物は 3 酸塩基であるから水溶液中では (I), (II) および (III) のように順次イオン解離する。

初めに proton 付加する位置が (I) のように azometine 基であることおよびその影響で dimethylamino 基の塩基性がいちじるしく弱くなることはその塩酸塩の共鳴効果を論及した第 3 報から明らかである。また (II) の pyridine 部への proton 付加が平衡に直接関係しないことは前報から推定され、(I), (III) の平衡のうち (III) の塩基性はきわめて弱く、Table I, II の平衡恒数の測定 pH 範囲では影響しないと思われる。これらのことから平衡に関係するイオン解離は (I) のみであり、そのイオン解離恒数 K_S は (IV) 式で表わされる。

$$K_S = \frac{[\text{RCONHN}=\text{CHR}'] [\text{H}^+]}{[\text{RCONHN}^+\text{H}=\text{CHR}']} \quad (\text{IV})$$

この反応系の加水分解生成物 INAH, *p*-dimethylaminobenzaldehyde はいずれも塩基で水溶液中でイオン解離する。解離恒数 K_A , K_B は (V), (VI) 式で表わされる。

$$K_A = \frac{[\text{RCONHNH}_2] [\text{H}^+]}{[\text{RCONHN}^+\text{H}_3]} \quad (\text{V})$$

$$K_B = \frac{[\text{OCH} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \text{---} \end{array} \text{N}(\text{CH}_3)_2] [\text{H}^+]}{[\text{OCH} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \text{---} \end{array} \text{N}^+\text{H}(\text{CH}_3)_2]} \quad (\text{VI})$$

benzylidene-INAH 誘導体が置換基によつて水溶液中の加水分解の平衡恒数に差があることは続報で明らかにするが、(VI)式において共軛酸である $\text{OCH} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \text{---} \end{array} \text{N}(\text{CH}_3)_2$ と $\text{OCH} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \text{---} \end{array} \text{N}^+\text{H}(\text{CH}_3)_2$ とではアルデヒドへの置換基効果は当然違いがあるから、おのおの INAH-hydrazone の平衡恒数にも差があり、(VI) のイオン解離平衡が平衡恒数に関係すると思われる。

以上の結果、著者が測定した任意の pH に対する平衡恒数 K は (VII) 式のようになる。

$$K = \frac{[(\text{CH}_3)_2\text{N} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \text{---} \end{array} \text{CHO} + (\text{CH}_3)_2\text{N}^+\text{H} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \text{---} \end{array} \text{CHO}] [\text{RCONHNH}_2 + \text{RCONHNH}_3]}{[\text{RCONHN}=\text{CH} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \text{---} \end{array} \text{N}(\text{CH}_3)_2 + \text{RCONHN}^+\text{H}=\text{CH} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \text{---} \end{array} \text{N}(\text{CH}_3)_2]} \quad (\text{R} = \text{N} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \text{---} \end{array})$$

$$= \frac{[(\text{CH}_3)_2\text{N} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \text{---} \end{array} \text{CHO}] [\text{RCONHNH}_2] \left\{1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_A}\right\} \left\{1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_B}\right\}}{[\text{RCONHN}=\text{CH} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \text{---} \end{array} \text{N}(\text{CH}_3)_2] \left\{1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_S}\right\}} = \frac{K_0 \left\{1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_A}\right\} \left\{1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_B}\right\}}{\left\{1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_S}\right\}} \quad (\text{VII})$$

K_0 はイオン解離しない遊離の塩基の間の平衡恒数である。(VII) 式で $[\text{H}^+] \ll K_A$, $[\text{H}^+] \ll K_B$ および $[\text{H}^+] \ll K_S$ のような pH で求めた K に一致する。第 3 報に述べたように azometine 基の塩基性は置換基との共鳴効果のため相当強く、イオン解離恒数は $K_S < K_B$, $K_S < K_A$ が推定される。このことから (VII) 式の K は $[\text{H}^+]$ の増加につれてまず $K = K_0$, ついで $\frac{[\text{H}^+]}{K_S} > \frac{[\text{H}^+]}{K_A \cdot K_B} + \frac{[\text{H}^+]}{K_A} + \frac{[\text{H}^+]}{K_B}$ となり K の値は減少し、ついで $[\text{H}^+]$ が大になれば逆に K の値は増加して行く。この変化は Fig. 1, 2 の曲線に一致し、その関係が (VII) 式を満足するように思われる。これを確認するために次の方法を行つた。すなわち (VII) 式中 K_A は INAH のイオン解離恒数であるから、前報において最小自乗法で算出した 0.42×10^{-2} を用い得る。また K_B はそれぞれ *p*-dimethylaminobenzaldehyde, *p*-aminobenzaldehyde のイオン解離恒数であるが、この算出には Sager¹⁾ らの方法を応用した。すなわち 30° におけるアルデヒドの紫外吸収スペクトルを種々の pH で測定し、それから *p*-dimethylaminobenzaldehyde では 1.58×10^{-2} , *p*-aminobenzaldehyde は 1.44×10^{-2} の K_B を得た。Vandenbelt²⁾

1) E. E. Sager, M. R. Schooley, A. S. Carr, S. F. Acree: J. Research. Natl. Bur. Standards. **35**, 521 (1945).

2) J. M. Vandenbelt, et al.: Anal. Chem. **25**, 726 (1954).

らは *p*-aminobenzaldehyde に対して同様の方法で pK_a 1.76 ($K=1.70 \times 10^{-2}$, at 25°) を得ているが, 著者の測定値との差は測定温度による差であろう. また Table I, II においていずれも pH 4.40 以上では K は一定値になるのでその値を K_0 とした. (VII) 式における K_0 , K_A および K_B 値は既知であるから, K_s は (VII) 式から最小自乗法で算出した (VIII) 式によつて求め得る.

$$K_s = \frac{\sum [H^+]^2}{[\sum [H^+] \cdot \{K_0/K(1+[H^+]/K_A)(1+[H^+]/K_B)\} - \sum (H^+)]} \quad (VIII)$$

(VIII) 式から Table I, II の測定値によつて *p*-dimethylaminobenzylidene-INAH, *p*-aminobenzylidene-INAH の K_s を算出すると前者には 0.0466×10^{-2} , 後者には 0.0638×10^{-2} が得られる. 算出した K_s の値から各 pH における K を算出し, 測定値の平均値と比較すると Table III のようになる.

Table III. Comparison between Observed and Calculated K -Values in Hydrolysis of *p*-Dimethylaminobenzylidene-INAH and *p*-Aminobenzylidene-INAH at Different pH of Buffers at 30°

<i>p</i> -Dimethylaminobenzylidene-INAH $K (\times 10^{-4})$			<i>p</i> -Aminobenzylidene-INAH $K (\times 10^{-4})$		
pH	Obsvd.	Calcd.	pH	Obsvd.	Calcd.
0.89	11.20	11.15	1.79	7.73	7.65
1.20	5.93	6.19	2.05	6.20	6.51
1.79	2.73	2.90	2.60	8.72	7.29
2.60	2.53	2.23	3.70	14.56	15.34
3.00	4.60	4.44			
4.12	10.40	9.36			

実験値と計算値はほぼ一致し, *p*-dimethylaminobenzylidene-INAH および *p*-aminobenzylidene-INAH の水溶液中における加水分解生成物との間の平衡の機構は既知の Conant 式によらず (VII) 式によることが明らかである.

本研究に終始御鞭撻を賜わつた研究所長桑田 智博士, 部長渡辺 厚博士に謹謝し, 御助言御指導を賜わつた山岸正治博士, 神沢得之助博士の両氏に深謝する. またアゾトメトリーで協力された横尾 亮氏, 実験に協力された岡本千鶴子嬢に感謝する.

実 験 の 部

INAH 定量法の検討 1) 反応系の INAH の定量: アルデヒドおよびその INAH-hydrazone とともに呈色しているので前報のように buffer blank のみでは誤差が大きくなる. 著者は反応系の NQS 法による吸光係数 (ϵ -value) から反応系の総アルデヒドのみの NQS 法による ϵ -value を除き, これを反応系の INHA の ϵ -value とした.

2) 反応系の INAH 以外の化合物の定量法に対する影響: 著者は反応系中の各種化合物の INHA の定量に対する影響を検討するため *p*-aminobenzaldehyde $3.5 \times 10^{-4} M$, *p*-dimethylaminobenzaldehyde $4.1 \times 10^{-4} M$, その INAH-hydrazone はそれぞれ $3.7 \times 10^{-4} M$, $3.6 \times 10^{-4} M$ の水溶液について NQS 法を行い, その ϵ -value (λ 480 $m\mu$) の変化を測定した (Table IV).

Table IV. Effect of *p*-Aminobenzaldehyde, *p*-Dimethylaminobenzaldehyde and their INAH-hydrazone in NQS Method.

time of react. (min.)	0	1	3	5	10
<i>p</i> -Aminobenzaldehyde	0.013	0.012	0.013	0.013	0.013
its Hydrazone	0.014	0.015	0.014	0.016	0.052
<i>p</i> -Dimethylaminobenzaldehyde	0.015	0.014	0.016	0.015	0.016
its Hydrazone	0.013	0.014	0.014	0.016	0.038

これら化合物の Table IV における呈色液と同濃度の 480 $m\mu$ における ϵ -value は *p*-aminobenzaldehyde およびその INAH-hydrazone では 0.014, 0.015, *p*-dimethylaminobenzaldehyde では 0.016, 0.014 で Table IV における値と一致し, この値は NQS 法によつて生じたものではなく, 化合物の色であることを認め得る. 故に反応系の INAH の定量には反応後 5 分以内に ϵ -value を測定し, 反応系の総アルデヒドの呈色を盲験値として除くことにより最小の誤差で INAH を定量し得る.

平衡恒数の測定 1) 試料: *p*-aminobenzaldehyde, *p*-dimethylaminobenzaldehyde, INAH, *p*-aminobenzylidene-INAH, *p*-dimethylaminobenzylidene-INAH: 第 1~3 報記載のもの, 緩衝液: pH 1.50 以上は前報の広域緩衝液を用いた. pH 1.50 以下は Walpole³⁾ の HCl·AcONa 緩衝液を用いた.

3) Walpole: Biochem. J. **107**, 2501 (1914).

2) 測定法 第 4 報記載の方法によつた。

3) アルデヒドの安定度 *p*-aminobenzaldehyde および *p*-dimethylaminobenzaldehyde の緩衝溶液を調製して 30° の恒温槽中に保存し、その濃度変化を azotometry で測定した (Table V)。

Table V. Stability of *p*-Aminobenzaldehyde and *p*-Dimethylaminobenzaldehyde in Buffer Solution of Different pH at 30°

time \ pH	<i>p</i> -Aminobenzaldehyde		<i>p</i> -Dimethylaminobenzaldehyde	
	1.50	5.00	0.50	5.00
0 hr.	701 γ/cc.	698 γ/cc.	702 γ/cc.	700 γ/cc.
2	700	699	698	701
5	702	700	701	700

Table V から測定範囲で何ら変化しないことを確かめた。

吸収スペクトル法による解離恒数の測定 (VI) 式における K_B を算出するために Sager らの紫外外部吸収スペクトルによる方法を応用した。すなわち *p*-dimethylaminobenzaldehyde, *p*-aminobenzaldehyde の水溶液は 352 および 322 $m\mu$ に吸収極大 (λ_{max}) を示す。しかも塩を形成することによつて λ_{max} が短波長側に移行することはよく知られている。すなわち液の酸度の増大によつて 352 と 322 $m\mu$ の ϵ -value は次第に減少し、遊離のアルデヒドの濃度に比例する。(VI) 式から $K_B / [H^+] = [(CH_3)_2N \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{CHO}] / [(CH_3)_2N^+H \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{CHO}]$ となり、 $K_B = [H^+]$ の場合には $[(CH_3)_2N \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{CHO}] = [(CH_3)_2N^+H \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{CHO}]$ となるから、アルデヒドの同一濃度の各 pH の緩衝溶液の ϵ -value を測定し、塩と遊離のアルデヒドが等しくなる pH を算出すれば K_B を求め得る。*p*-aminobenzaldehyde について液の pH と ϵ -value (λ 322 $m\mu$) との関係を図示すれば Fig. 3 になり、*p*-dimethylaminobenzaldehyde では Fig. 4 になる。pH がある点以下では ϵ -value は変化せず、すべてのアルデヒドが塩になつた場合の ϵ -value である。またある点以上でも一定になりすべてのアルデヒドが遊離して存在する場合の ϵ -value であるから、両者の等しいところはその差の midpoint で、図中 A 点がそれにあたり、その時の pH が pK_a となる。このようにして *p*-aminobenzaldehyde, *p*-dimethylaminobenzaldehyde の K_B をそれぞれ 1.44×10^{-2} , 1.58×10^{-2} と算出し得る。

Fig. 3. Relationship between ϵ -Value (λ 322 $m\mu$) of *p*-Aminobenzaldehyde in Buffers and pH

Fig. 4. Relationship between ϵ -Value (λ 352 $m\mu$) of *p*-Dimethylaminobenzaldehyde in Buffers and pH