0.1%, TPD 0.05~1 mM の条件で大部分の還元波は $E_{1/2}-0.8$ V 付近にずれ, もとの $E_{1/2}$ には 0.01 mM TPD に相当する還元波高が残るのみである. これらの性質を考え合わせてつぎのような定量条件を選んだ. α -リボ酸および TPD をそれぞれ 1 mM 以上含む pH 2 酢酸塩緩衝溶液に Tween 20 を 0.02% の濃度に加えてポーログラフをとり, $E_{1/2}-0.35$ V の還元波高から α -リボ酸を, $E_{1/2}-0.8$ V の還元波高から TPD を定量する (Fig. 7 No.1). ただし α -リボ酸は 0.01 mM だけ高く TPD はそれだけ低く出るから, 濃度が低い場合は補正する必要がある.

本研究に際し御指導御激励を戴いた所長桑田 智博士, 部長渡辺 厚博士, 主任研究員神沢得之助博士に謹謝する. 試料を戴き御助言を賜わった松川泰三, 万木庄次郎両博士に深謝する.

武田薬品工業株式会社研究所

UDC 547.497.1.07:543.253

149. 朝日 豊: 薬品のポーログラフ的研究 (第 19 報^{*1}) チオセミカルバジド
と重金属との反応

Yutaka Asahi: Polarographic Studies of Pharmaceuticals. XIX.

Reaction of Thiosemicarbazide with Heavy Metals.

(Research Laboratories, Takeda Pharmaceutical Industries, Ltd.^{*2})

Thiosemicarbazide (T) shows anodic wave due to the reaction with mercury when using a dropping mercury electrode. At pH below 5, $E_{1/2}+0.01$ V, diffusion current constant $K_D=2.05$ ($\mu\text{A}\cdot\text{mM}^{-1}\text{mg}^{-2/3}\cdot\text{sec}^{1/2}$), and $n=1$, and above pH 5, $E_{1/2}=+0.36-0.07$ pH, $K_D=8.23$, and $n=4$. These facts were confirmed through microcoulometry, controlled potential electrolysis, and amperometric titration with mercury or silver nitrate. This polarographic method is used for determination of thiosemicarbazide and does not interfere in the determination of thiosemicarbazones. With rotating platinum electrode, thiosemicarbazide shows further oxidation wave at the positive potential. In acid solution, thiosemicarbazide reacts with equimolar amount of mercury nitrate but immediately undergoes decomposition to mercury and a mercuric complex $[\text{T}_2\text{Hg}]^{2+}[\text{NO}_3^-]_2$. This complex was isolated and from its infrared spectra, it was found that thiosemicarbazide is coordinated to mercury not by N and N but by N and S. In alkalinity, thiosemicarbazide reacts with 4 moles of mercury nitrate to form mercury sulfide, mercury-amino complex, and nitrogen.

(Received August 18, 1959)

チオセミカルバジド(以下 T)はアルデヒド類とチオセミカルバゾンをつくり, とくにチオアセタゾン¹⁾は抗結核剤としてよく知られている. このチオアセタゾンのポーログラフ的研究¹⁾を行なうにあたり T の性質を明らかにしておく必要があろう. 著者はまず T のポーログラフ的性質を検討し, 還元波を示さず陽極波を示すこと, 酸性では 1 電子, アルカリ性では 4 電子が関与することを知った. さらにマイクロクロメトリー, 定電位電解, 水銀および銀塩による電流滴定などでこの陽極波が水銀極との反応によることを明らかにし, 酸性における T と HgNO_3 との反応成績体の構造を究明した.

実験試料および装置 T および AgNO_3 は和光純薬の製品を 0.01M 水溶液として保存し, $\text{HgNO}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ は N_2 中で 0.01N HNO_3 に溶かして直ちに使用した. ポーログラフおよび定電位電解用電位差計には柳本製作所製 PA 2 型を用い, $25\pm 0.1^\circ$ で NCE を基準として測定した. 滴下水銀電極 (DME) は $m=0.607\text{ mg sec}^{-1}$, $t=4.66\text{ sec}$, $K_c=0.926$, $h=80\text{ cm}$ の恒数をもつものを用い, 回転白金電極 (RPE) は径 0.5 mm, 長さ 5 mm

*1 ポーログラフイー討論会に発表(1958.9), 第 18 報: 本誌 80, 684(1960).

*2 Juso-nishino-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka.

1) 朝日: 未発表, 続報.

の白金線をガラス管端に熔着し、水平に曲げたものを約 600 rpm の速度で回転させた。IR スペクトルは Perkin-Elmer Model 21 を、UV スペクトルには Beckman DU 型を、pH 測定には Beckman G 型を用いた。緩衝溶液 pH < 2: HNO_3 , pH 2~5: 酢酸塩, pH 7: リン酸塩, pH 9.2: ホウ砂, pH 9.4: $\text{NH}_3 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3$, pH 13: NaOH 。

実験結果

滴水銀電極によるポーラログラフィー pH 1~13 水溶液中で T は還元波を示さず陽極波を示す。その半波電位 $E_{1/2}$ は pH < 5 では +0.01 V, pH 5~13 では $E_{1/2} = +0.36 - 0.07 \text{ pH}$ で示され (Fig. 2), 濃度によって変化する。波高は濃度に比例し、拡散電流恒数 K_D は pH < 4 では 2.05, pH 5~13 では $8.23 (\mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{sec}^{1/2})$ を示す。一般に拡散恒数 D と分子量 M との間には $D = 8.85 \cdot 10^{-5} \cdot M^{1/2} (\text{cm}^2 \cdot \text{sec}^{-1})$ の関係が成立するので、T の D を $9.25 \cdot 10^{-6}$ と推定し、Ilkovič 式で、全電極反応に関与する電子数 n を計算すると pH < 4 では $n = 1.1 \pm 1$, pH 5~13 では $n = 4.4 \pm 4$ の値を得る。また $\log(i_a - i)/i$ と E とは直線関係にあり、pH < 4 では -50~-60 mV, pH 5~13 では -26~-30 mV の傾斜をもつ。

Microcoulometry T 1 mM, EtOH 10%, borax 0.1M を含む緩衝溶液 (pH 9.3) 1 cc をとり、滴水銀電極 ($K_D = 4.41$) を用い 0V vs NCE で電解し陽極波高の変化を測定した。たとえば電解開始後 0, 33, 63, 95, 135 min 後の波高はそれぞれ 23, 20.2, 15.8, 13.6 μA で、 n として 3.65, 3.40, 3.86, 3.83 の値を得 $n = 4$ と推定される。

定電位電解 T 369 mg, NH_4NO_3 0.1M, NH_3 0.1M を含む溶液 (pH 9.4) 200 cc を 0V vs SCE, 約 50 mA で 6 hr 電解し、電解の進行を陽極波高の減少によって観察した。T の残存率が 8.5% になるまでに要した電気量は約 1400 coulomb で、1 mol につき 4 F を要すとして計算した値 1430 coulomb に近い。電解液を通過して得た黒色沈殿 (約 210 mg) は HNO_3 にとけず王水にとけ昇華によって赤色に変わる。HgS 計算値 Hg 86.1, 実験値 Hg 87.5 (ポーラログラフ法) さらにその母液に Na_2S を加えると HgS 32 mg を得る。

チオセミカルバジドと AgNO_3 との反応 T 1 mM, NH_4NO_3 0.1M, NH_3 0.1M および種々の濃度の AgNO_3 を含む溶液 (pH 9.4) のポーラログラフをとった。T の陽極波 ($E_{1/2} - 0.31 \text{ V}$) は AgNO_3 の濃度が増すにつれて低下し、4 mM でちょうど消失する。 AgNO_3 の濃度を 4 mM 以上にすると $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ の還元波 ($E_{1/2} > 0.1 \text{ V}$) が現われる (Fig. 1a)。すなわちアルカリ性で T 1 mol は AgNO_3 4 mol と反応し黒色沈殿をつくる。なお AgNO_3 4~5 mM で認められる $E_{1/2} - 0.37 \text{ V}$ の陰極波は T と AgNO_3 との反応生成体によると考えられる。酸性では T 1 mol と AgNO_3 1 mol とが無色結晶性の錯塩をつくる。T の陽極波 (1 mM, pH 3.3, $E_{1/2} - 0.02 \text{ V}$, $i_a - 1.95 \mu\text{A}$) は当量の AgNO_3 の存在により陰極波 ($E_{1/2} - 0.02 \text{ V}$, $i_a 1.25 \mu\text{A}$) に変化し、過剰の AgNO_3 は +0.1 V 以上に還元波を示す (Fig. 1b)。

Fig. 1.

Some Typical Polarograms of Thiosemicarbazide (T)

- a, b, c: Dropping mercury electrode, capillary constant 0.926
d: Rotating platinum electrode, $l = 5 \text{ mm}$, $\phi = 0.5 \text{ mm}$, 600 r.p.m., 0.1 V/min. (—) or very slowly
a: T 1 mM, NH_4NO_3 0.1M, NH_3 0.1M, AgNO_3 0~5 mM or HgNO_3 4 mM (-----)
b: T 1 mM, NH_4NO_3 0.1M, HNO_3 1 mM, AgNO_3 0~2 mM,
c: T 2 mM, NH_4NO_3 0.1M, HNO_3 2 mM, HgNO_3 2~3 mM,
d: T 0.2 mM, pH 0~13.

回転白金電極によるポーラログラフィー T 0.2 mM を含む pH 0~13 の溶液に RPE を浸け NCE を対極とし -1 V から +1 V $\sim 0.1 \text{ V/min}$ の加電圧速度でポーラログラフをとるとなだらかな酸化波が得られる。その $E_{1/2}$ は DME で得られる陽極波より 0.2 V 以上陽性で、波高は濃度にほぼ比例し 100 $\mu\text{A}/\text{mM}$ 程度である。ところが一定電位における電流値は徐々に低下し平衡に達するのに数分を要する (Fig. 1 d, 2)。

回転白金電極を指示電極とするチオセミカルバジドの銀電流滴定 T 1 mM, 0.5M HNO_3 溶液 10 cc を

2) N. Riehl, G. Wirths: Z. physik. Chem. 194, 97(1944) から換算。

Fig. 2.

Half-wave Potential $E_{1/2}$ -pH Curves of Thiosemicarbazide by DME

(○) or RPE (×).

Fig. 3.

Amperometric Titration of Thiosemicarbazide (1 mM, 10 cc) by 0.01M AgNO_3 in 0.5M HNO_3 (a) or 0.5M NH_4NO_3 , 0.5M NH_3 (b) at 0 V vs. N.C.E. using RPE as Indicator Electrode

0.01M AgNO_3 で電流滴定すると、 AgNO_3 1 cc までは電流がほとんど流れず、それ以上になると直線的に増加し「J」型の滴定曲線が得られる (Fig. 3 a). ただし電流が一定値をとるのに数分を要する。また 0.5M NH_4NO_3 , 0.5M NH_3 溶液中では AgNO_3 の添加によつて電流が一旦上昇し 10~30 min かけて漸次低下するが、平衡に達したときの電流と (AgNO_3/T) の mol 比との関係は Fig. 3 a に示されるように $\text{AgNO}_3/\text{T}=4$ に折点をもつ。

酸性溶液中でのチオセミカルバジドと HgNO_3 との反応 ポーログラフイー: T 2 mM, HNO_3 2 mM, NH_4NO_3 0.1M を含む溶液は $E_{1/2} -0.03$ V, $i_d -4$ μA の陽極波を示す。これに HgNO_3 を 2 mM の濃度となるように含ませた場合は $E_{1/2} -0.06$ V, $i_d 3.3$ μA の陰極波を示し, HgNO_3 を 3 mM にすると別に Hg^+ の還元波 ($E_{1/2} > 0$ V, $i_d 1.6$ μA) が現われる (Fig. 1 c).

反応成績体の単離: T 0.1M, HNO_3 0.05M を含む溶液 150 cc に HgNO_3 0.1M, HNO_3 0.05M 溶液 160 cc を加えると直ちに灰色沈殿が 1.6 g 生成し, 戸別乾燥すると凝集して金属 Hg となる。この戸液を放置すると徐々に無色針状結晶 2.6 g が生成する。dil HNO_3 から再結晶したものは dp 165°, $(\text{CH}_3\text{N}_3\text{S})_2 \text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 計算値 N 22.1, Hg 39.6, 実験値 N 21.76, Hg 39.7.

アゾトメトリー: 試料 506 γ (1 μmol) を NaBrO で酸化すると 56.2~56.9 γ の N (4 当量) が発生した。同じ条件で T 1 mol から N 2 当量が発生する³⁾から, この錯塩は T 2 分子を含むことになる。また試料をアルカリで分解すると HgS と N 0.31~0.95 当量が生成する。

戸紙電気泳動: 酢酸塩緩衝溶液 (pH 3.6) を浸した戸紙に試料をつけクロルベンゼン中 20°, 800 V, 4 mA で 30 min 泳動させ, ニンヒドリンで T を, Na_2S で Hg を, スルファニル酸, 1-ナフチルアミン, Zn 末による赤色像で NO_3^- を検出した。

つぎに 0.1M borax 中 800 V, 10~20 mA, 17~20° で 1 hr 泳動させた (Table I). これらの結果からこの錯塩は酸性で T_2Hg^{2+} と NO_3^- とにイオン化し, アルカリ性では一部が HgS に分解することがわかる。

UV T. $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ 235 m μ (ϵ 12000), HgNO_3 $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ 245 m μ (ϵ 9600), $\text{T}_2\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ 211 m μ (ϵ 40600).

IR $\lambda_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ (μ) T: 3.00, 3.10, 3.18 (NH); 6.10, 6.18 (NH_2); 6.54, 6.76 (N-C=S); 7.64, 7.82, 8.62, 10.00, 12.50.

$\text{T}_2\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$: 3.00, 3.08, 3.18 (NH); 6.17 (NH_2); 7.23 (NO_3^-); 7.59, 7.87, 8.38, 9.59, 9.73, 9.83; 12.23 (NO_3^-); 14.8.

Table. I. Paper Electrophoresis of Thiosemicarbazide and its Mercuric Nitrate Complex (cm.)

pH 3.6, 20°, 800V, 4 mA, 30 min.			pH 9.2, 800 V, 10~20 mA, 1 hr.		
Thiosemicarbazide (T)	-8 (T)		0 (T)		
HgNO_3		- 5 (Hg) +31 (NO_3)		0 (Hg)	
Complex $\text{T}_2\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$	-28 (T)	-28 (Hg) +44 (NO_3)	-42 (T)	-42 (Hg)	0 (HgS)

アルカリ性におけるチオセミカルバジドと HgNO_3 との反応 T 1 mM, NH_4NO_3 0.1M, NH_3 0.01M および HgNO_3 0~4 mM を含む溶液のポーログラフをとると, T の陽極波高は HgNO_3 の増加に比例して低下

し HgNO_3 4 mM の場合完全に消失する。

T 0.1M 水溶液 35 cc に 0.1M HgNO_3 150 cc, 1M NH_3 20 cc を加えると直ちに黒色沈殿 3 g が生成し N_2 ガスが発生する。この沈殿を加熱すると大部分 Hg として蒸発する。定量値 Hg 84.4, N 2.71, S 2.31。そこで沈殿の組成は HgS 17%, $\text{HgNH}_2 \cdot \text{NO}_3$ 27%, Hg 56% と推定される。

考 察

チオセミカルバジド (T) が $\text{pH} > 5$, DME で示す陽極波には 1 mol 当り 4 電子が関与することは K_D , micro-coulometry, 定電位電解の結果から明らかである。ところが陽極波の傾斜および $E_{1/2}$ -pH 曲線の傾斜から電極反応の律速過程には 2 電子, 2 プロトンが関与することがわかる。しかし $E_{1/2}$ は濃度によつて変化しないからチオール型チオセミカルバジド (TSH) の電解酸化反応 ($2 \text{TSH} \rightarrow \text{TSST} + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}$) によるとも考えられない。一方 T のアルカリ性溶液に HgNO_3 を 4 mol 加えると陽極波がちょうど消失し黒色沈殿が生成する。これらの事実からこの陽極波は DME から溶出した Hg^+ 4 mol と T 1 mol とが反応するために生ずると考えられる。T と Hg^+ との反応生成体はアルカリ性では不安定で直ちに Hg, HgS, その他の mercury amino complex および N_2 などに分解する。なお RPE で観察される T の陽極波は DME の場合と異なり, TSH の酸化によると思われるが確実ではない。

つぎに $\text{pH} < 5$, DME で認められる陽極波には, その K_D 値, 波の傾斜および $E_{1/2}$ が pH, 濃度で変わらないことから, T 1 mol 当り 1 電子が関与すると考えられる。また T に当 mol の HgNO_3 を加えるとちょうど陽極波が消失することは T と HgNO_3 との 1:1 の錯塩の生成を暗示している。したがつて DME の陽極酸化によつて生成した Hg^+ イオンが T と 1:1 の錯塩をつくり, かような陽極波の限界電流が得られるのであろう。

この場合の電極電位は $E = E_0 - (RT/F) \ln[(i_a - i)/i]$ で表わされ実験事実と一致する。

ところが Hg^{I} 錯塩は不安定で溶液内で Hg^{II} 錯塩と Hg とに変化するので, T の酸性溶液に HgNO_3 を加えた場合 $[\text{HgT}_2](\text{NO}_3)_2$ の組成をもつ Hg^{II} 錯塩と Hg が単離されたのである。T は $\text{Cu}^{4,6,7}$, $\text{Co}^{4,7}$, Zn^{7} , $\text{Ni}^{4,5}$, $\text{Ag}^{6,8}$, Pd^{9} , Pt^{5} などと錯塩をつくることが知られているが, Hg 錯塩についてはいまだ報告されていないのでその構造について少し考察してみよう。一般に Hg^{II} 錯塩は 6s 6p³ 混成軌道で tetrahedral 型の配位化合物をつくることが考えられる。そこで Hg^{II} 1 mol に対し T 2 mol が配位する場合 T 1 分子は 2 つの配位結合をもつことになるが, N と S あるいは N と N いずれであろうか。この点は IR スペクトルによつて解明された。すなわち T が示す 6.54 μ の吸収は thiosemicarbazone 類⁹⁾にもみられるもので N-C=S に起因し, 6.10 および 6.18 μ の吸収は 2 つの NH_2 変角振動によると思われる。これが Hg^{II} 錯塩になるとこれらのうち 6.10 および 6.54 μ の吸収がなくなり, 新しく 7.23, 12.23 μ に NO_3^- による吸収が現われる。したがつて T は N と S で Hg に配位していることがわかる。また電気泳動の結果から $[\text{T}_2\text{Hg}]^{2+} (\text{NO}_3^-)_2$ のようにイオン化しうることがわかり, つぎのような構造を与えることができる。

つぎに AgNO_3 と T とが酸性で結晶性錯塩 TAgNO_3 をつくることは Haugas⁹⁾ らも報告しているが, アルカリ性では T 1 mol と AgNO_3 4 mol とが反応し HgNO_3 の場合と同様に複雑な分解を起こすことがわかつた。同様の現象は hydrazine, hydroxylamine などと重金属との反応にもみられ, たとえば hydrazine は HgCl_2 と錯塩 $\text{N}_2\text{H}_4\text{HgCl}_2$ をつくるが不安定で $\text{N}_2\text{H}_4\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ を経て Hg, HgCl , および N_2 に分解するという。

4) K. A. Jensen, E. Rancke-Madsen: Z. anorg. allgem. Chem. **219**, 243(1934) (C. A. **28**, 7193(1934)).

5) K. A. Jensen: Ibid. **221**, 6, 11(1934) (C. A. **29**, 1354(1934)).

6) V. Harlay: Compt. rend. **200**, 1220(1935); J. pharm. chim. **23**, 392(1936) (C. A. **29**, 3931(1934); **30**, 8059(1935)).

7) E. Schraufstättner: Z. Naturforsch. **56**, 190(1950) (C. A. **44**, 8999(1950)).

8) 朝日: 本誌に投稿予定

9) E. A. Haugas, B. W. Mitchell: J. Pharm. and Pharmacol. **2**, 759(1950).

最後に分析的応用について述べよう。T と AgNO_3 あるいは HgNO_3 との反応は比較的遅く、電流滴定法を適用することは困難である。また thioacetazone 類は 2 mol の AgNO_3 と反応することが知られているので電流滴定法を試みたが、1.0~1.1 mol 付近に終点が認められ精度がよくない。しかしポーログラフ法は T の定量法として充分使用でき、かつ thiosemicarbazone 類の還元波による定量を妨害しないことがわかった。

本研究に際し終始御激励を賜わった所長桑田 智博士、部長渡辺 厚博士、主任研究員神沢得之助博士に謹謝する。また IR スペクトル測定 of 西川正夫氏、窒素の定量をお願いした横尾、梶原、岡本の諸氏に深謝する。

武田薬品工業株式会社研究所