薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
89 (1) 44 - 50 (1969)

UDC 615.212.011 : 547.775.03

N-ヘテロ芳香族の電子的性状 (第28報¹⁾) 水溶液中アミノピリンとアミノ
安息香酸類との相互作用 ケイ光消失による電荷移動の観察

岡野定輔, 山崎佳弘, 上釜兼人

東北大学医学部薬学科²⁾

Electronic Properties of N-Heteroaromatics. XXVIII.¹⁾ Interaction of
Aminopyrine with Isomeric Aminobenzoic Acids in Aqueous
Media. Observation of Charge Transfer through
Fluorescence Quenching

TEISUKE OKANO, YOSHIHIRO YAMAZAKI, and KANETO UEKAMA

Pharmaceutical Institute, Tohoku University School of Medicine²⁾

(Received June 8, 1968)

The mode of interaction of aminopyrine with 2- and 3- aminobenzoic acids in aqueous media was studied through quenching of fluorescence of aminobenzoic acids by aminopyrine and related compounds, and formation of charge-transfer complexes was presumed from the following results. (1) Analysis of the data by the Stern-Volmer equation revealed that complexes of 1:1 molar ratio were formed between aminopyrine and aminobenzoic acids. (2) The F_0/F -pH curves indicated the participation of non-ionized species of aminopyrine in the complex formation. (3) Relative fluorescence intensities of aminopyrine-aminobenzoic acid system increased with increasing ionic strength. (4) Quenching constants decreased with decreasing polarity of solvents expressed by Z -values. (5) There was a parallel relationship between energy levels of the highest occupied molecular orbitals of pyrazolone derivatives (antipyrine and its 4-substituted derivatives) and quenching constants. (6) In correspondence with the magnitude of energy level values of the lowest empty molecular orbitals of aminobenzoic acids, the quenching constants of mixed systems of pyrazolone derivatives and 3-aminobenzoic acid were larger than those of mixed systems of the respective pyrazolone derivatives and 2-aminobenzoic acid.

著者等はさきに、アミノピリン (4-dimethylamino-2,3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one) および 4-アミノアンチピリン (4-amino-2,3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one) が水溶液中安息香酸誘導体との間に成分モル比 1:1 の可溶性錯体を形成することを認め³⁾、両者間の相互作用の性質を明らかにする目的で、主として無極性溶媒中でピラゾロン誘導体と α -キノロン類⁴⁾ および安息香酸誘導体⁵⁾ との間に生起する相互作用の性質を分光学的方法および分子軌道法により検討した。これらの検討の結果、無極性溶媒中ではアミノピリンと安息香酸誘導体との間に水素結合と電荷移動の両様の結合様式が関与することが明らかとなったが、これまでの結果ではアミノピリンと安息香酸誘導体との水溶液中での相互作用の様式を明らかにすることはできなかった。これは、水溶液中では両成分の相互作用による吸収スペクトルの変化が小さく、また安息香酸誘導体の溶解度が小さいため、吸収スペクトル法で両者間の相互作用の性質を検討することが困難なためであった。

本報において著者等は安息香酸のアミノ置換異性体類のケイ光がアミノピリンによって消失する現象を利用して、水溶液中でのアミノピリンと安息香酸との相互作用について検討することとした。すなわち、アミノ安息香酸 (ABA) 類は安息香酸誘導体の中で比較的強いケイ光性を有するが、著者等は ABA 類のケイ光が水溶液中ア

1) 第 27 報: 岡野定輔, 高館 明, 薬誌, **88**, 1179 (1968).

2) Location: Kita-4-bancho, Sendai.

3) T. Okano, K. Uekama, K. Ikeda., *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **16**, 6 (1968).

4) 岡野定輔, 上釜兼人, 薬誌, **87**, 1231 (1967).

5) 岡野定輔, 上釜兼人, 伊沢 優, 薬誌, **87**, 1237 (1967).

ミノピリンの存在により消失することを予試験的にたしかめ、一方従来の結果およびアミノピリンと ABA のアミノ基の双方が塩基性であることから考えて、両者間の相互作用には ABA のアミノ基は直接関与しないことが予想されたので、ケイ光消失現象を利用して安息香酸とアミノピリンとの相互作用の様式を検討できると考えたわけである。以下に詳述するように、著者等は上述の消光現象について、錯体形成の成分モル比 (1:1 と決定)、消光定数、ケイ光消失に対する pH, イオン強度および溶媒の極性の影響、ピラゾロン誘導体 (アンチピリンおよびその 4 位置換体) および ABA 類の軌道エネルギー準位と消光定数との相関性などの面から検討した。すべての実験結果は水溶液中でのアミノピリンによる ABA 類のケイ光消失が主として両者間の電荷移動錯体の形成によるものであることを指示した。

結果および考察

各種溶媒中における 2-および 3-ABA の励起スペクトルの極大波長と、この波長で励起したときの ABA 類のケイ光スペクトルの極大波長を一括して Table I に示した。以下の検討においては溶媒の種類に応じて、それぞれこの表の励起波長およびケイ光スペクトルの波長を使用した。ABA 類の吸収スペクトルはアミノピリンないし後述の 4 位置換アンチピリン誘導体の共存により影響されなかった。

TABLE I. Excitation and Fluorescence Wavelengths of Aminobenzoic Acids in a Variety of Solvents

Solvent	2-ABA		3-ABA	
	$E_{\max}$ (m μ) ^{a)}	$F_{\max}$ (m μ) ^{b)}	$E_{\max}$ (m μ)	$F_{\max}$ (m μ)
H ₂ O ^{c)} pH 2.6	314	416	305	401
pH 3.5	314	415	305	401
pH 5.4	314	393	305	401
pH 6.8—10.6	314	391	305	401
(CH ₂ OH) ₂	—	—	315	393
MeOH	—	—	316	429
EtOH	—	—	318	429
iso-PrOH	—	—	318	428
n-BuOH	—	—	319	429
CH ₃ CN	—	—	324	398
DMSO	—	—	331	407
DMF	—	—	330	398

a) excitation maximum

b) fluorescence maximum

c) pH of aqueous solutions were adjusted by using mixtures of the following compositions: pH 2.6—3.5, H₃PO₄+KH₂PO₄; pH 5.4—8.5, NaH₂PO₄+Na₂HPO₄; pH 9.5—10.6, Na₂HPO₄+NaOH. Ionic strength of these mixtures was adjusted to 0.1.

アミノピリンは紫外部に吸収帯 (溶媒が水の場合, $\lambda_{\max}=276$ m μ) を示すが、2-および 3-ABA のケイ光スペクトルの波長領域にはアミノピリンの吸収帯は存在しないので、これらの ABA 異性体のケイ光のアミノピリンによる消失は非ケイ光性錯体の形成に起因すると考えることができる。しかし 4-ABA の励起スペクトルの極大は 275 m μ (溶媒, 水) にあり、この場合はアミノピリンによる内部蛍光効果を無視できないので、4-ABA とアミノピリンとの相互作用については本報では割愛した。なお以下の検討において ABA 類の濃度は 10^{-5} M としたが、この濃度付近で自己消光が起きないことは Fig. 1 の濃度—ケイ光強度プロットの直線性から明らかである。

1. 水溶液についての検討

Fig. 2 に pH 7.0 の 1/15 M リン酸塩緩衝液 (イオン強度, $\mu=0.067$) 中での 3-ABA のケイ光スペクトルに対するアミノピリンの消光作用を示した。アミノピリンの濃度増加とともに 3-ABA のケイ光強度が減少するのが見られる。アミノピリン—2-ABA 系についても同様の結果が得られた。

Fig. 1. Plots of Fluorescence Intensity versus Concentration for Aminobenzoic Acids at pH 7.0, 15°

analytical wavelengths, see Table I

Fig. 2. Quenching of Fluorescence of 3-ABA by Aminopyrine at pH 7.0, 15°

concn. of 3-ABA (curves 1—6): 1.0×10^{-5} M
concn. of aminopyrine added: curve 1, 0; 2, 1×10^{-4} M;
3, 4×10^{-4} M; 4, 8×10^{-4} M; 5, 1.2×10^{-3} M;
6, 1.6×10^{-3} M

アミノピリンと 2-ABA および 3-ABA との混合系についてのデータを Stern-Volmer の式 (1)⁶⁾ に適用し、 $F_0/F-1$ と $[Q]$ の関係をプロットして Fig. 3 の直線を得た。

$$\frac{F_0}{F} - 1 = K_{app.} \cdot [Q] \quad (1)$$

Fig. 3. Stern-Volmer Plots of Aminopyrine-2-ABA and Aminopyrine-3-ABA Systems at pH 7.0, 15°

ここに F_0 および F はそれぞれピラゾロン誘導体 (消光物質) の不存在および存在下の ABA のケイ光極大波長におけるケイ光強度、 $[Q]$ は消光物質の濃度、 $K_{app.}$ は見かけの消光定数 (以下単に消光定数と記す)⁷⁾ である。Fig. 3 で得られた直線関係はアミノピリンが 2-および 3-ABA との間にいずれも成分モル比 1:1 の錯体を形成することを指示する。さらに、Fig. 3 の直線の勾配から $K_{app.}$ 値が算定される (数値、Table III 参照)。

pH の影響 Fig. 4 に 2 種の ABA 異性体についての pH-ケイ光強度曲線を示した。これらの曲線は pH 5 付近を中心にして飛躍を示しているが、2-ABA および 3-ABA のカルボキシル基の pK_a (25°) はそれぞれ 4.95 および 4.74 である (アミノ基の pK_a (25°) はそれぞれ 2.11 および 3.12) ので、⁸⁾ ABA 異性体類のケイ光性にはカルボキシル基の解離状態が重要な関係にあることが明らかである。

Fig. 5 に 2-および 3-ABA のケイ光に対するアミノピリンの消光効果と pH との関係を示した。2- および 3-ABA のいずれの場合も、比ケイ光強度 F_0/F は pH 5 付近を中心に急に変化し、酸性側では F_0/F 値が小さくなり 1 に近づくのが見られる。 F_0/F 値の減少、すなわちアミノピリンの消光能の低下がこの化合物の pK_a ($=5.10$, 25°) に対応した pH を中心に生起していることは、ケイ光消光がアミノピリンの解離状態に依存し、消光にはアミノピリンの非解離型が有利であることを示すものと解される。

6) O. Stern, M. Volmer, *Phys. Z.*, 20, 183 (1919).

7) 以下で明らかになるように、ケイ光消光は主として静的な機構によるが、動的機構も否定できないので「見かけの消光定数」とした。

8) A. Albert, E.P. Serjeant "Ionization Constants of Acids and Bases," Methuen & Co. Ltd., London, 1962, p. 148.

Fig. 4. Plots of Fluorescence Intensity versus pH for Aminobenzoic Acids at 15°

Fig. 5. Effect of pH on the Quenching of Fluorescence of Aminobenzoic Acids by Aminopyrine at 15°

composition of mixtures: ABA (2- or 3-isomer), 1.0×10^{-5} M, and aminopyrine, 5.0×10^{-3} M, in phosphate buffer solution, $\mu=0.1$

pH 約 3 以下の酸性領域で F_0/F 値が 1 に等しいことは、この領域ではアミノピリンによるケイ光の消失が実際上生じていないことを示す。なお、Fig. 4 および 5 の実験はリン酸塩緩衝液のイオン強度を 0.1 に保って行なった。また Fig. 5 の実験ではアミノピリンの濃度は半ケイ光消失濃度を使用した。

イオン強度の影響 Fig. 6 にアミノピリンと 2 種の ABA との pH 7.0 での相互作用に及ぼすイオン強度 (μ) の影響を示した。図から、2-ABA, 3-ABA のいずれの場合も μ 値が 0.1—2.0 の範囲でイオン強度の増加にともなって F_0/F 値が減少すること、すなわちアミノピリン (半ケイ光消失濃度) によるケイ光消失の度合が増大することが明らかである。

Fig. 6. Effect of Ionic Strength on the Quenching of Fluorescence of Aminobenzoic Acids by Aminopyrine at pH 7.0, 15°

composition of mixtures: ABA (2- or 3-isomer), 1.0×10^{-5} M, and aminopyrine, 5.0×10^{-3} M, in a phosphate buffer

Ionic strengths were adjusted by varying the concentration of phosphate mixtures.

Fig. 7. Relationship between Apparent Quenching Constants of Aminopyrine-3-ABA System and Z -values of Solvents

analytical wave length, see Table I

2. 溶媒効果

アミノピリン-3-ABA 系について各種溶媒中でケイ光スペクトルを測定し、測定値を式 (1) に適用して K_{app} 値を決定した。 K_{app} 値を溶媒の極性の尺度である Z 値⁹⁾ に対してプロットした結果は Fig. 7 に示したとおりで (Table II 参照), ジメチルスルホキサイド (DMSO) およびジメチルホルムアミド (DMF) 以外の溶媒については K_{app} 値と Z 値の間に良好な並行関係が成立し、溶媒の Z 値が減少するにつれて K_{app} 値が減少するのが認められた。 DMSO と DMF の場合にプロットが直線からはずれることは、アミノピリン-安息香酸錯体の遷移エネルギー (吸収スペクトル法による) と Z 値との関係にも見られたところで、⁹⁾ 溶媒-成分分子、溶媒-錯体などの相互作用が加わって現象が複雑になった結果と考えられる。

TABLE II. Physical Constants of Solvents and the Quenching Constants of Aminopyrine-3-ABA System

Solvent	$Z^a)$	$\epsilon^b)$	$\eta^c)$	$K_{app}^d)$
H ₂ O	94.6	80.4	0.894	1075
(CH ₂ OH) ₂	85.1	37.7	17.33	1040
MeOH	83.6	32.6	0.544	900
EtOH	79.6	24.3	1.078	850
iso-PrOH	76.3	18.3	1.765 (30°)	800
<i>n</i> -BuOH	77.7	17.1	2.271 (30°)	895
CH ₃ CN	71.3	37.5	0.325 (30°)	775
DMSO	71.1	45.0	1.990	525
DMF	68.5	37.6	0.908	535

a) Z -values at 25°

b) dielectric constants at 25°

c) coefficients of viscosity at 25° (unless otherwise indicated)

d) apparent quenching constants measured at 15°

Table II には溶媒の誘電率 ϵ および粘性率 η の値を併記した。 K_{app} 値は ϵ 値にも並行する傾向を示し、相互作用が溶媒の極性増加にともなって生じやすくなることが示されたが、 K_{app} 値と η 値との間には一定の関係は認められなかった。

3. アミノピリンの 4 位置換体による検討 アミノピリンの 4 位ジメチルアミノ基を置換した化合物について、15° および 35° で 2-および 3-ABA のケイ光に対する消光能を測定した結果を Table III に示す。表には K_{app} 値とピラゾロン誘導体の pK_a 値および最高被占軌道エネルギー準位 ($M_{h.o.}$) の数値⁴⁾ とを対応させた。4 位に置換基のないアンチピリンには消光能はほとんど認められず、消光定数は 4 位に電子供与性基が置換された場合に著明に大きくなった。消光定数の大きさがピラゾロン誘導体の pK_a よりも $M_{h.o.}$ の値と並行する傾向を示していることは、相互作用機構の問題と関連して注目に値する (次節参照)。また、すべてのピラゾロン誘導体について、消光定数は 3-ABA 系についての値の方が 2-ABA 系のそれより大となっていることも注目される。

Table III から明らかなおとおり、消光定数に対する温度の影響はほとんど認められなかった。これは錯体形成の結合エネルギー (ΔH) が小さいためであるか、あるいは静的消光機構のほかに動的な消光機構が同時に関与したためかは明らかでない。消光現象に動的消光が関与しているか否かは現在の実験結果からは肯定も否定もできないが、ケイ光消失と溶媒の粘性の間に規則性のある関係が認められなかったこと (Table II) や、消光定数の値がかなり大きいことなど、実験事実はすべて相互作用において静的消光が支配的役割を演じていることを示している (次節参照)。

4. 相互作用機構の考察

以上、アミノピリンと安息香酸誘導体との相互作用を前者による後者のケイ光消失の面から検討したが、つぎに実験結果に基づいて相互作用機構を考察する。

3 節で言及したとおり、ピラゾロン誘導体による 2 種の ABA 異性体のケイ光消失に関する消光定数の値は、前

9) E.M. Kosower, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 3253 (1958).

TABLE III. Quenching of Fluorescence of Aminobenzoic Acids by Pyrazolone Derivatives at pH 7.0

Quencher	pK_a (at 25°)	$M_{h.o.}^a)$ (β unit)	Temp. (°C)	$K_{app.}^b)$	
				2-ABA- quencher	3-ABA- quencher
4-Aminoantipyrine	4.10	0.206	15	910	1900
			35	820	1900
4-Hydroxyantipyrine	8.30	0.220	15	170	485
			35	180	460
Aminopyrine	5.10	0.236	15	250	590
			35	250	550
4-Isopropylantipyrine	1.30	0.251	15	6	70
			35	8	70
4-Bromoantipyrine	0.05	0.254	15	8	80
			35	5	85
Antipyrine	1.50	0.274	15	0	0
			35	0	0

a) parameters for energy level of the highest molecular orbital; see ref. 4

b) apparent quenching constants calculated by Eq. 1

者の pK_a 値よりもその最高被占軌道エネルギー準位の大きさに並行するのが認められたが、このことは相互作用において局在的な酸-塩基結合よりもむしろ、電子供与体としてのピラゾロン誘導体と電子受容体としての ABA 類の間の電荷移動が重要な役割を演じていることを示すものと考えられる。Table IV に Fukui 等¹⁰⁾ のパラメーター (クーロンおよび共鳴積分値) を使用し、simple LCAO MO 法で算定した 2-および 3-ABA の最低空軌道エネルギー準位 ($M_{l.e.}$) の値を掲げた。表に示されている $M_{l.e.}$ の β の係数から、2-ABA、3-ABA とも中程度の強さの電子受容性を有する分子であり、また 3-異性体の方が 2-異性体より電子受容性が高いことが予想される。ピラゾロン誘導体と 2 種の ABA 異性体の間の消光定数の値は、検討したすべてのピラゾロン誘導体について、3-ABA 系の方が 2-ABA 系より大となったが、このことは 2-および 3-ABA の電子受容性の大小から考えて、ピラゾロン-ABA の相互作用に両者間の電荷移動が大きな役割を演じていることをさらに強く支持する事実といえる。

Table III の $M_{h.o.}$ 値と $K_{app.}$ 値との関係では、アミノピリンおよび 4-isopropylantipyrine についての消光定数が、それらの $M_{h.o.}$ 値から予期されるよりやや小さな値となっているが、このことは両種の化合物の比較的大きな 4 置換基 (ジメチルアミノおよびイソプロピル基) が電子供与性分子 (ピラゾロン誘導体) と電子受容性分子 (ABA) の接近を立体的に障害したと考えれば矛盾なく説明することができる。

ケイ光消失に対するイオン強度の影響の検討からは、イオン強度が大きいほどアミノピリン-ABA 系

の F_0/F 値が大となることが明らかとなり (Fig. 6), またケイ光消失に対する溶媒効果の検討結果からは、消光定数の値が溶媒の Z 値 (この値は電荷移動スペクトルの遷移エネルギーをもとにして定められた値である) と並行し、 Z 値が大きいほど消光定数値が大となることが明らかとなった (Fig. 7)。これらの結果は溶媒のイオン性ないし極性の増大とともに、相互作用に関与する分子の分極が促進されて、分子間の電荷移動が生じやすくなっ

TABLE IV. Energy Levels of the Lowest Empty Molecular Orbitals of Isomeric Aminobenzoic Acids

Compound	$M_{l.e.}^a)$ (β unit)
2-ABA	-0.604
3-ABA	-0.432

a) Parameters for Coulomb and resonance integrals used in the simple LCAO MO calculations were those of Fukui, *et al.* (ref. 10).10) K. Fukui, C. Nagata, T. Yonezawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 2268 (1958).

たためと解することができる。Tsibris 等¹¹⁾ は溶媒のイオン性が増大すると電荷移動錯体が生成しやすくなる場合について報告し、また久保山等¹²⁾ および Foster 等¹³⁾ は電荷移動型相互作用が極性の大きな環境中でより生じやすい場合について述べている。さらに、アミノピリン-ABA 系の消光定数値は比較的大きく 100 のオーダー (Table II) となっており、これらの数値はアミノピリンと安息香酸誘導体との混合系について溶解度法⁹⁾ および吸収スペクトル法⁵⁾ で認められた生成定数の値より大であるが、電荷移動錯体では励起状態で dative 構造の寄与が増大すること¹⁴⁾ を考えれば、ケイ光スペクトル法で測定された消光定数の値が基底状態で観察された生成定数の値より大きいことが首肯される。

以上から、アミノピリンと ABA との間の相互作用には主として電荷移動力が寄与していると考えられることができる。既報⁵⁾ ではアミノピリンと安息香酸誘導体との非水溶液中の相互作用に水素結合と電荷移動の両様の結合力が寄与することが明らかにされたが、水溶液中においては成分分子と水との間の水素結合のために成分間の水素結合が抑制され電荷移動力が主要な driving force となったと考えられる。

実 験 の 部

試料 2-ABA, 3-ABA およびピラゾロン誘導体は前報⁵⁾ と同様の方法で精製して使用。全溶媒は常法に従って十分に精製、脱水して使用。

ケイ光スペクトル測定 島津ケイ光分光光度計 GF-16 型を使用、スリット巾は 1 mm とした。

吸収スペクトル測定 島津マルチパーパス自記分光光度計 MPS-50 型を使用。なお吸収スペクトルおよびケイ光スペクトル測定の際、セル室は Haake 超恒温槽を用いて $\pm 0.1^\circ$ の恒温を保った。

pH 測定 堀場製作所 P 型 pH メーター (精度 ± 0.01) を使用して測定。

pK_a 測定 ピラゾロン誘導体のうち前報⁴⁾ で報告しなかった 4-hydroxyantipyrine の pK_a は分光法により 25° で測定した。

消光定数の測定 ABA 類の濃度は 1×10^{-5} (終濃度) とした。ピラゾロン誘導体の濃度は ABA の濃度の 20—160 倍の範囲で 5 段階とった。両者の混合液 (溶媒, 1/15M リン酸塩緩衝液) につき 15° および 35° で ABA 類のケイ光スペクトルの極大波長でのケイ光強度を測定し、このケイ光強度の値を用いて式 (1) により消光定数の値を算定した。

謝辞 本研究にあたり、有益な御助言をいただいた東京工業試験所 久保山 昭博士ならびに本学理学部国分 決博士に深甚な謝意を表する。

11) J.C.M. Tsibris, D.B. McComick, L.D. Wright, *Biochemistry*, **4**, 504 (1965).

12) 久保山昭, 長倉三郎, 日化, **75**, 579, 1082 (1958); 久保山昭, 日化, **81**, 558 (1960).

13) R. Foster, D.L. Hammick, *J. Chem. Soc.*, **1954**, 2685; R. Foster, T.J. Thompson, *Trans. Faraday Soc.*, **58**, 860, 1059 (1962).

14) R. S. Mulliken, *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 811 (1952); G. Briegleb, W. Liptay, K. Schindler, *Z. Elektrochem.*, **66**, 311 (1962).