

Legal 反応に対する知見*

田 辺 良 久, 紙 谷 晶 子

(薬品分析学教室)

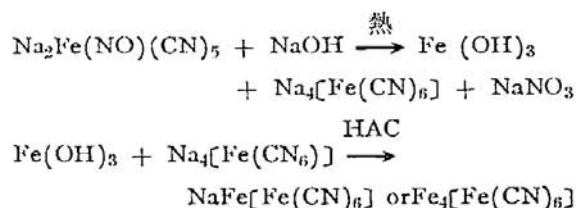
Studies on Legal's Color Reaction.

By Yoshihisa Tanabe and Akiko Kamiya.

Legal 反応¹⁾は古くから活性 methylene に対する反応として有名であり, 又 =トロプルシッドナトリウムは硫化アルカリと反応して紫紅色を呈し, この事実を更に拡大して -SH, >S=O 等を検出するのに Grote 試薬²⁾が発見されていることも亦周知のことである. 吾々はアデニン合成の途中に得られた中間物質及びプリン誘導体, バルビツール酸系の化合物, 並びに数種の双環含窒素化合物に Legal 反応を試み, 得られた 2, 3 の知見について報告する.

実験方法は常法の如く行つた. この際盲検では NaOH アルカリ性では黄色を呈し, 次に酢酸酸性にすれば淡黄色であつた. 最初バルビツール酸系の化合物について Legal 反応を行つた処, 一般に NaOH アルカリ性では盲検同様黄色を呈し, 特別の呈色を示さなかつたが, 酢酸酸性にすると青緑色を呈するかの如く思われ, バルビツール酸系化合物が一般に呈色するのかと思われたが, 更に実験を重ねる内に呈色したり, しなかつたりするという不思議な現象に遭遇し, よく検討した処, 被検物質を水で溶かすために水浴上で加熱し, 冷さず直ちに 5% =トロプルシッドナトリウムを加え, 更に 10% NaOH でアルカリ性とし, 次に酢酸で酸性としていたが, 対照に水を水浴上で長く加熱した上へ熱い内に同様に試薬を加えても青緑色に着色することを認め, これらの反応は一応疑つて見

るべき結論に達し, 冷時において試薬を作用せしめた処, 殆んど着色しなかつた. しかし, これらの物質があるときは対照そのものの場合より熱時において着色し易いことより一種の触媒的作用を営むのではないかと思われる. 盲検の呈色は試薬の一部分分解によるベルリン青の生成によるものと思われる.



バルビツール酸は活性メチレンを有するに拘わらず Legal 反応陰性で稍々熱を加えると酢酸酸性で青色になり易いのは上記ベルリン青反応を触媒的に促進するものと思われる. Dilituric Acid も亦同様である. 5 位にアルキル又はチクロヘキセニル基を有する睡眠剤類はバルビツール酸に比して上記促進作用弱きかの如く思われる. 又 5 位にイソニトロソ, アミノ, 水酸基を有する置換体でアルカリ性で呈色し, Legal 反応陽性の如く見えるものもあるも, これは =トロプルシッドナトリウムを加えず単にアルカリ性にしたのみでも呈色することより Legal 反応とは関係なきものの如し. チオバルビツール酸系のものが呈色するのもバルビツール酸と同様ベルリン青の生成促進作用によるとと思われる

* 昭和30年10月日本薬学会北陸支部創立総会発表

が、硫黄化合物が一般に呈色し易いこと及びメチオニンの如く稍々熱を加えて行つた場合、酢酸酸性で橙赤色を呈し、長く熱して行つた場合は青色を呈すること等より見て、ベルリン青生

成反応以外に何らかの反応が起ることが推定される。メチオニンのこの橙赤色呈色反応は色調の特異性より一種の定性反応として利用し得るものと思われる。(第1表参照)

第 1 表

試 料	NaOH	HAC	試 料	NaOH	HAC
Barbituric —	黄	淡黄 *(加温青緑)	3-Methyl-5-ethyl-5-phenyl Acid	黄	淡黄
5-Nitro —	橙	淡黄 *(加温青緑)	3,5-Dimethylcyclohexenyl —	黄	淡黄
5-Amino —	黄	緑	5-Ethyl-5-cyclohexenyl —	黄	淡黄
5-Isonitroso —	赤	紺	Thiobarbituric Acid	黄	濃緑~藍
5-Hydroxy —	黄褐	橙(赤)	5-Nitro —	橙黄	淡褐
5,5-Diethyl —	黄	淡黄	5-Amino —	赤褐	汚青緑
5-Ethyl-5-Phenyl —	黄	淡黄	Urea	黄	淡黄
5-Ethyl-5-isoamyl —	黄	淡黄	Thiourea	黄	青(藍)
5-Ethyl-5-(1-methylbutyl) —	黄	淡黄	Methionine	黄	橙赤 *(加温)

* 加温とあるは試料を水に溶かす際、水浴上で2~3秒温め、直ちに試薬、NaOH HAC を加えた際の呈色を示す。

次にプリン系化合物に対して Legal 反応を試みるにいずれも呈色せぬが、試料を水浴上にて溶かして直ちに冷さず試薬を加え、アルカリ、酢酸を順次添加する時には尿酸はベルリン青生成反応を著しく促進するやに思われ、この反応も亦尿酸の定性反応の一助として使い得るものと思われる。(第2表参照)

更にピリミジン系化合物について Legal 反応

を行うに、いずれも陰性なるも、最後に酢酸酸性にするときはトリアミノピリミジン及びピリミジンS置換体は青色を呈す。トリアミノピリミジンの呈色は5位のアミノ基に関係ある如く。S置換体の呈色はベルリン青反応生成促進作用によるものか、又はSと試薬との間の何らかの反応によるかは未だ精査せず。(第3表参照)

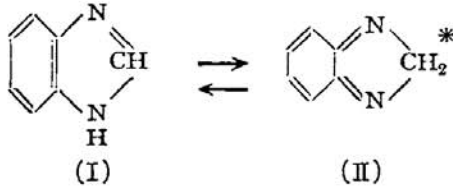
第 2 表

試 料	NaOH	HAC	試 料	NaOH	HAC
Theophylline	黄	淡黄	Caffeine	黄	淡黄
Theobromine	黄	淡黄	Uric acid	黄	青緑 (但し2~3秒加熱)
Xanthine	黄	淡黄			

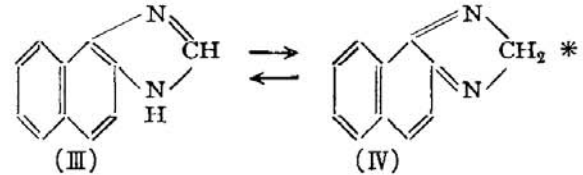
第 3 表

試 料	NaOH	HAC	試 料	NaOH	HAC
4,6-Diamino-Pyrimidine-2-thiol	濃黄	青	4,6-Diamino-Pyrimidine	黄	淡黄
4,5,6-Triamino-Pyrimidine-2-thiol	濃黄	青緑	4,5,6-Triamino-Pyrimidine	黄	淡橙赤~橙赤
			5-Formylamino-4,6-diamino-Pyrimidine	黄	淡黄

次にピリミジンに関連してベンツイミダゾール及びその2位に置換基を有するもの、及びナフトイミダゾール、キノオキサリン、キナツォリン等に Legal 反応を行つて見るに2位置換ベンツイミダゾール以外はいずれも陽性で(第4表参照)、この事実はベンツイミダゾール



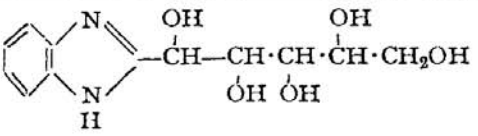
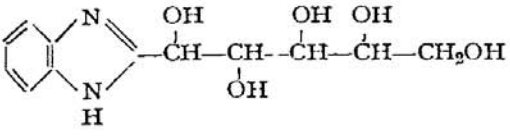
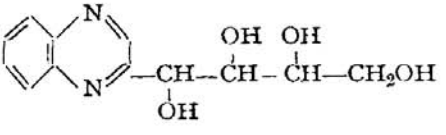
ル、ナフトイミダゾールでは(II)、(IV)式を取ると考えれば活性メチレンを有することより Legal 反応陽性の事実が説明され得るも、キナツォリン、キノオキサリンの呈色は上の如く考えられず、これは活性メチンの呈色と考えるべきかと思われる。今迄に活性メチンが Legal



反応を行うことは殆んど例を見ないことより、これら化合物の呈色は興味あることである。な

おフトラヂンではどうなるか行つて見たいと思う。

第 4 表

試料	NaOH	HAC	限 界
Benzimidazole	(黄)緑	紅	50 γ /cc
Naphthoimidazole	黄	橙 赤	100 γ /cc
Quinazoline	血 赤	血 赤	HAC 大過剰となれば棕色
Quinoxaline	血 赤	紫 赤	HAC 大過剰となれば脱色
	黄	淡 黄	
	黄	淡 黄	
	黄	淡 黄	

次にキナルヂン等は活性メチルを有し、呈色するも微弱であるので、これらのヨードエチラートでは強く呈色すべきであるが、果してどうか試みた結果、いずれも予想通りよく呈色することを認めた。(第5表参照)

又アデニン、グアニン、2-thiol-adenine、8-

azaguanine 等に Legal 反応を試みるにアデニン、及び 2-thiol-adenine はアルカリ性では陰性なるも、酢酸酸性では夫々赤紫色、暗緑色を認め、他は全く反応せず、このアデニンの呈色は色調の特異性より一定性反応として利用し得るものと思われる。

第 5 表

試 料	NaOH	HAC	試 料	NaOH	HAC
2-Methylbenzothiazole ethiodide	青緑	紫	2-Thiol-adenine	黄褐	暗緑
2-Ethylbenzothiazole ethiodide	黄	赤褐	Adenine	黄	赤紫
Quinaldine ethiodide	緑	紫青	Guanine	黄	白↓
Lepidine ethiodide	緑	紫青	8-Azaguanine	黄	白↓
2,4-Dimethylthiazole ethiodide	血赤	紫	* ↓は沈澱を示す.		
Benzoxazole ethiodide	黄(-)	淡黄(-)			

本研究に際し、試料の一部を恵与せられた足立亀久

夫・金友昭一両氏に深謝す。

実 験 の 部

実験方法： 試料約 2~5mg を水 1~2cc に溶かし、室温に冷し、これに 5%ニトロプルシッドナトリウム溶液 2 滴を加え、次に 10%苛性ソーダ溶液 1~2 滴を加え、アルカリ性として呈色を検し、更に氷酢 2~3 滴を以て酢酸酸性として呈色の如何を検した。(盲検ではアルカリ性で黄色、酢酸酸性では淡黄色)。

メチオニンの定性反応： メチオニン約 5mg を水 1cc に溶かし、10%苛性ソーダ溶液 1 滴を加え、水浴上 2~3 秒加熱し、次に 5%ニトロプルシッドナトリウム溶液 1~2 滴を添加し、氷酢にて酸性とするときは橙赤色を呈し、放置

すれば血赤色となる。(但し加熱長ければ青色となる故注意)。

尿酸の定性反応： 尿酸約 2~5mg を水に溶かし(2~3 秒水浴上加熱)、次に 5%ニトロプルシッドナトリウム溶液 2 滴、苛性ソーダ溶液 2 滴、氷酢 2~3 滴を順次加えるに青緑色を呈す。(但し対照を要す)。

アデニンの定性反応： アデニン 3~5mg を少量の水に溶かし、水浴上 2~3 秒加熱し、この上へ上記同様、順次試薬を加え、氷酢で酸性とするに赤紫色を呈す。

文 献

- 1) Legal : Jahrsber. üb. d. Fortschr. d. Chem. 1883, 1648 ;
Bitto : Ann. 267, 372 (1892) ;
Livio Cambi : C. (1914), 1099.

- 石館, 坂口 : 薬誌 70, 508 (1950).
石館, 赤塚 : 化学の領域 3, 600 (1949).
2) I. W. Grot : J. Biol. Chem. 93, 25 (1931).

Summary

It was found that benzimidazole, quinoxaline, and quinazoline etc. gave Legal's colour reaction, and adenine, methionine, uric acid might be confirmed with sodium nitroprussiate, caustic

soda and glacial acetic acid in connection with Legal's reaction.

昭和31年 6 月30日受理