

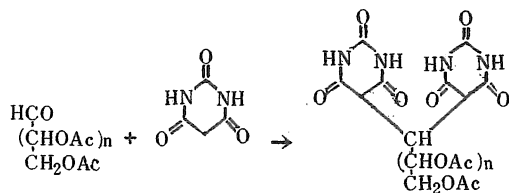
バルビツール酸ピリジン塩による カルボニル化合物の新呈色反応

北岡正三郎[※]・鈴木喜六[※]

Shozaburo KITAOKA and Kiroku SUZUKI

A New Color Reaction of the Carbonyl Compounds with Pyridinium Barbiturate

先に報告した⁽¹⁾ように、アルデヒド糖はピリジンの存在でバルビツール酸2分子と縮合してグリチトール誘導体となる。これは糖化学では新しい型の化合物である。



本報告ではこの反応を通常の還元糖および二、三のカルボニル化合物に応用し、呈色反応としての可能性を検討した。

実験方法

1) 呈色試薬：メタノールにバルビツール酸と等量のピリジンを加え、加熱後冷却すると無定形粉末としてバルビツール酸ピリジン塩が沈澱する。濾過によってこれを集め、アルコールで洗い乾燥する。このものの1%水溶液を呈色試薬とした。ほとんど無色の溶液である。

2) 呈色反応：少量の還元糖またはカルボニル化合物(1—5 mg)を上記呈色試薬 5 ml 中に加え、湯煎中で20分間加熱した。還元糖についてはこの条件では比較的うすい呈色しかえられないが、濃度を5—10倍にして反応せしめると濃い呈色がえられる。

3) ペーパー・クロマトグラフィ：濾紙は東洋濾紙 No.51を用いた。展開溶媒はn-ブタノール：ピリジン：水(9:5:6)で、展開は上昇法によった。呈色反応後に展開するので発色操作の必要はない。

結果と考察

1) 還元糖と呈色反応

Table 1

Color Reaction of Reducing Sugars with Pyridinium Barbiturate

(Sugars heated 20 min. in 1% barbiturate at 90°)

D-Xylose, D-Ribose	
D-Glucosamine HCl	Orange Brown
D-Glucose, D-Mannose, D-Galactose	
L-Sorbose	Yellow Brown
Lactose, Maltose,	
N-Acetyl-D-glucosamine	Pale Yellow
D-Glucuronic Acid	Dark Brown
D-Fructose, Inulin	Greenish-Yellow→ Yellow Brown

第1表に種々の還元糖とバルビツール酸ピリジン塩試薬との加熱による呈色を示す。この結果からペントースはヘキソースよりも稍強く呈色することがわかる。グルクロン酸は濃い褐色を呈するが、これは糖の分解を伴うものと推定される。興味あるのはフラクトースであって、最初緑がかった黄色を呈し、冷すとこの緑色は消える。イヌリンを長く反応させると同様な緑黄色を示す。しかしケトースでもソルボースはこの緑色を示さない。二糖類は単糖類に比べて弱い呈色を与える。

これらの結果から還元糖はバルビツール酸ピリジン塩試薬と反応して褐色系統の呈色をすることがわかった。しかしその呈色度は用いた条件では充分強くなく、しかも褐色という色は呈色反応として有利な色ではない。これらのことから、この反応は還元糖の呈色反応として既存のものにくらべて、とくにすぐれた点はない。グルクロン酸は強い呈色をするが、分解反応を伴う

※ 鳥坂大学農学部 食品化学研究室

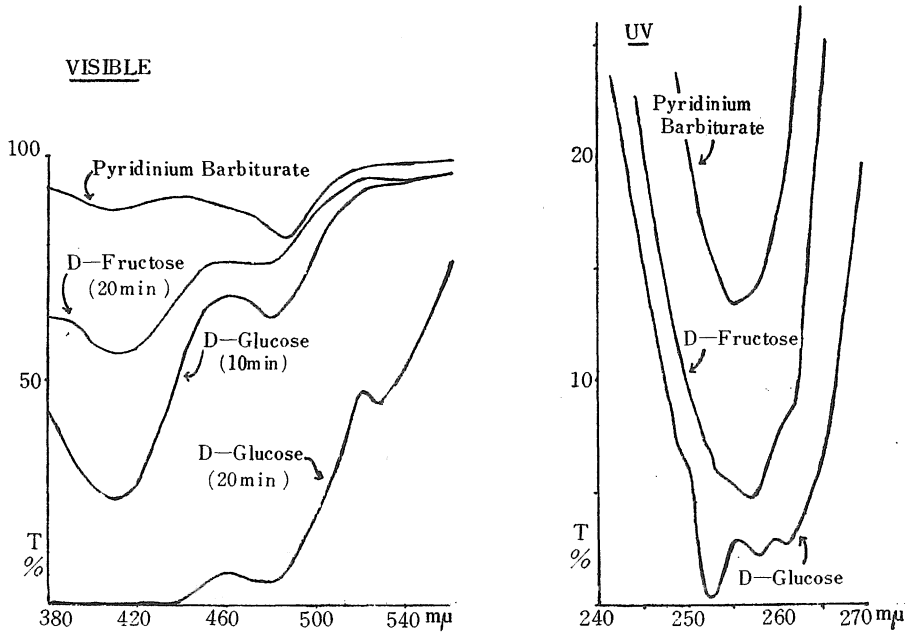


Figure 1

Absorption Curves of the Reaction Solutions of Pyridinium Barbiturate with D-Glucose and with D-Fructose

と考えられるので呈色反応として望ましくない。フラクトースが与える緑黄色は特異的であるが呈色の安定性が悪い難がある。

第1図にグルコースとフラクトースの冷却後の呈色液の可視および紫外吸収曲線を示す。

2) 還元糖呈色液のペーパークロマトグラフィ

第2表にいくつかの還元糖のバルビツール酸ピリジン塩試薬による呈色液のペーパー・クロマトグラムでえた黄褐色のスポットの R_f 値を示す。展開溶媒はn-ブタノール：ピリジン：水で上昇法によった。

Table 2

The R_f Values of Some Monosaccharide-Pyridinium Barbiturate Condensates (BuOH-Pyridine- H_2O 9:5:6)

Glucose	0.31, 0.27
Mannose	0.35
Galactose	0.34, 0.22
Xylose	0.35
Ribose	0.30
Deoxyribose	0.30, 0.35
Rhamnose	0.33
Fructose	0.35

この結果からバルビツール酸ピリジン塩との縮合物は還元糖相互間にペーパー・クロマトグラム上大きな差を示さないことがわかる。ヘキソースとペンチースとの識別、あるいはアルドースとケトースの識別も困難である。その上反応時間、温度を増すと多数のスポットが現われる傾向があり、この縮合物のペーパー・クロマトグラフィによる還元糖の定性は期待できない。

3) 二、三のカルボニル化合物との呈色反応

還元糖以外のカルボニル化合物で、生化学的あるいは食品化学的に興味ある二、三のものについて、同様にしてバルビツール酸ピリジン塩と反応せしめ、その呈色をしらべた。第3表はその結果である。

この結果から見ると還元糖の場合にくらべて鮮明な呈色が見られることがわかるが、多くは淡色である。しかし、ピルビン酸、 α -ケトグルタル酸がピンク色に発色することは、反応条件を変えると有望な呈色反応になる可能性を示している。とくにグリオキザルは濃赤色に呈色し、最も実用性が高いと考えられる。吸収極大も鋭く有利である。ただ、グリオキザルは生体成分として存在することに疑問がもたれるが、この呈色反応を利用してその存在をしらべると面白い分野が開けるかも知れない。

第2図にはグリオキシル酸、ピルビン酸、 α -ケトグルタル酸、2-ケト-D-グルコン酸の呈色液の吸収曲線を示した。

Table 3

Color Reaction of Some Carbonyl Compounds with Pyridinium Barbiturate

(Carbonyls heated 20 min. in 1% barbiturate at 90°)

	Color	Absorption maximum, m μ
Glyoxylic Acid	Lemon Yellow	410(482)
Pyruvic Acid	Pink Brown	470
α -Ketoglutaric Acid	Pink Brown	499
2-Keto-D-gluconic Acid	Orange Brown	480
Glyoxal	Deep Red Brown	480
3-Octanone	Yellow	410(481)
Menthone	Yellow	410(482)
4-Hydroxy-coumaran-3-one	Yellow Orange	465(495)

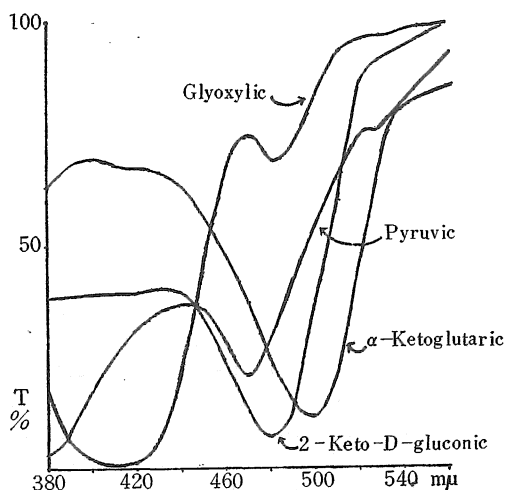


Figure 2

Absorption Curves of the Reaction Solutions of Pyridinium Barbiturate and Some Carbonyl Acids

4) ピルビン酸とバルビツール酸の縮合物の単離

バルビツール酸ピリジン塩(二水物)(2.4g)を40mlの水に加えて加熱沸騰させ、これに2mlのピルビン酸を加え、15分間加熱をつづける。反応液の色は黄色からオレンジ色を経て赤色になる。反応液を冷し一夜冷蔵庫に放置すると、未反応のバルビツール酸ピリジン塩が析出するのでこれを濾別し、濾液を濃いシラップにまで濃縮する。これに20mlのメタノールを徐々に加えて透明な溶液とし、さらに50mlのエタノールを加えると沈澱が析出する。この沈澱はエタノールに易溶のものと、比

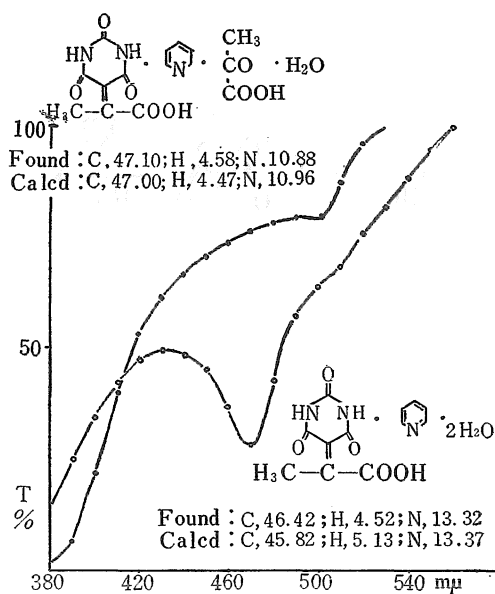


Figure 3

Composition and Absorption Curve of the Condensation Products of Pyruvic Acid and Pyridinium Barbiturate

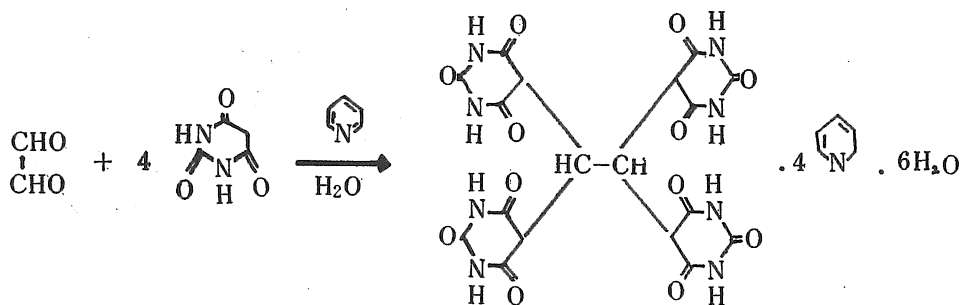
較的難溶のもの二者に分別できる。この二者は元素分析値、吸収曲線も相互に異なる、すなわち第3図に示すように、アルコール易溶物は図の右下の組成をもち、その吸収曲線には480m μ に非常に鋭い極大がある。一方アルコール難溶物は図の左上に示した組成を有し、その吸収曲線は500m μ の辺りの小さなピークのほかになだらかである。したがってピルビン酸の赤味がかかった呈色はこのアルコール易溶性物質の生成によるものと思われる、呈色反応の条件としてピルビン酸が過剰でないことが有利であることがわかる。

5) グリオキサールとバルビツール酸ピリジン塩との縮合物の単離

グリオキサール3gとバルビツール酸ピリジン塩(二水物)50gを50mlの水に加え、10分間加熱沸騰させると暗赤色の液がえられる。このものに冷後エタノールとアセトンを加えると沈澱が析出する。濾過により集め、乾燥すると赤褐色の粉末となる。このものは元素分析によって予想通り次頁の構造および組成を有することがわかった。

6) 他のピリミジン類の呈色反応性

グリオキサールがバルビツール酸とピリミジンの存在下極めて強い呈色をするので、グリオキサールについてバルビツール酸以外の二、三のピリミジンについてピリジンの存在下に同様の条件で加熱反応せしめた。その結



Calcd. for $C_{38}H_{46}N_{12}O_{18}$: C, 47.60; H, 4.80; N, 17.54.

Found : C, 47.90; H, 4.61; N, 17.41.

果2-チオバルビツール酸はバルビツール酸と同様に呈色反応をするが、5-エチルバルビツール酸、ウラシル、ウリジル酸は呈色を与えなかった。

総括

以上の実験からバルビツール酸ピリジン塩は還元糖の呈色反応としては有望ではないが、生化学あるいは食品化学的に重要なカルボニル類の検出または定量に使用できる可能性をもつことがわかった。とくにグリオキサールとは極めて強い赤色に呈色するので、ジカルボニル類への適用は非常に興味深い。

最近原田等はマロン酸エステルがアルカリの存在下で還元糖と呈色することを報告しているが⁽²⁾、マロン酸エステルもバルビツール酸もともに活性メチレン基を有し、呈色反応はこの活性メチレン基とカルボニル基との反応によるもので同一の機構が考えられる。

引用文献

1. 北岡正三郎・小野寺幸之進：日本農芸化学会昭和37年度大会にて講演（4月28日，仙台）
2. 原田篤也・金納義二・鎌倉攻・戸田恭子・中井礼子：農化 37：80，1963

SUMMARY

Pyridinium barbiturate was examined as a possible coloring agent for reducing sugars and some biologic carbonyl compounds. Reducing sugars produced with this reagent brown colors too pale and unstable in test tube and chromatographic tests to be useful as a coloring agent. However, pyruvic acid and a few other carbonyl acids gave pink color and it is expected that this reagent can be used if the reaction conditions are selected. Glyoxal gave deep red color and this reagent should be a good coloring agent for dicarbonyls. The condensation products of pyridinium barbiturate and pyruvic acid and glyoxal were isolated.