

1964 No. 3

(通巻第33号)
33号

CHEMICAL TIMES

目 次

(通巻ページ)

工業分析化学随説(VI) 抽出試薬としての有機リン酸化合物(IV).....	東北大学 教授 理学博士 東北大学 助教授 理学博士	加 藤 多 喜 雄 武 井 信 典	542
含窒素共役系ジェンの Diels-Alder 反応 (1)...	明治薬科大学教授 薬学博士	富 松 祥 郎	548
染色による生死判別.....	山形大学 助教授 理学博士	中 沢 信 午	552
JIS 試薬の追加品目			551
編 集 後 記			555

KANTO CHEMICAL CO., INC.

工業分析化学随説 (VI)

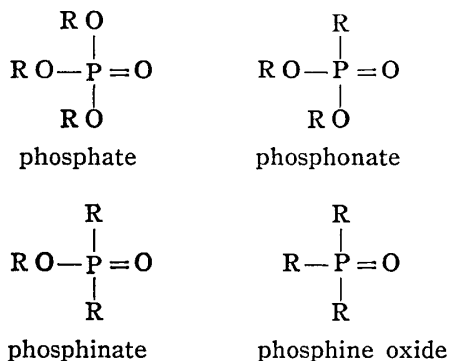
抽出試薬としての有機リン化合物 (IV)

東北大学教授 理学博士 加 藤 多 喜 雄
 東北大学助教授 理学博士 武 井 信 典

これまでは専ら TBP による酸、金属塩の抽出について述べてきたが、引き続き TBP 以外の有機中性リン化合物による抽出について記すこととする。先にも述べたように有機中性リン化合物中抽出剤として実用に供されているのは主として TBP であり、従って他の誘導体についての報告は余り多くはないが、TBP に比し優れた性質を有するものも見出されており、利用面も拡げられてきている。

I. 総括的性質

先にも述べたように有機中性リン化合物には次に示すような phosphate, phosphonate, phosphinate, phosphine oxide の4つの型がある。



これら4つの型のリン化合物が酸、或は金属塩の抽出においてどのように異なる挙動を示すかを総括的に検討した研究はかなり行なわれている。

まず Burger¹⁾ は44種に亘る phosphate, phosphonate, phosphinate 及び phosphine oxide による UO_2^{2+} , PuO_2^{2+} 硝酸塩の抽出を検討し、一般に抽出能力は、phosphate < phosphonate < phosphinate < phosphine oxide の順に増加し、電子吸引性の塩素原子のアルキル基への導入、或はフェニル基によるアルキル基の置換は著しく抽出能力を減少せしめ、tri-phenyl phosphate は殆んど抽出能を示さないことを認めている。また、フェニル基が直接リンと結合した phosphonate のときよりフェノキシ基としてリンと結合した phosphate のときの方が、抽出能の変化は著しいことを認め、更に Burger は各誘導体の抽出能とホスホリル基 $\equiv \text{P}=\text{O}$ の酸素原子の電子密度の関連性をホスホリル基の伸縮振動

による吸収の波数と UO_2^{2+} の分配比より検討し、両者が直線関係を示すことを指摘している。

一方 Healy 等²⁾ も pyrophosphate, methylene diphosphonate, ethylene diphosphonate を含む14種の中性リン化合物による UO_2^{2+} 硝酸塩の抽出を検討し、Burger と同様に抽出能は phosphate < phosphonate < phosphinate < phosphine oxide の順に増加することを認め、アルキル基をアリル基のような不飽和基で置換すると抽出能は減少することも明らかにしている。また、diphosphonate, pyrophosphate は二座配位子として作用し得るが通常の抽出条件では他の誘導体と同様 UO_2^{2+} とモル比 1:2 の錯体をつくり、抽出能は類似の一座位の誘導体より低く、これは金属イオンと結合していない一方のホスホリル基が電子吸引基として働いたためとしている。但し、 UO_2^{2+} 塩が飽和した状態ではモル比 1:1 の錯体を生成するが、溶液の粘度測定値から生成したキレートは重合しているとしている。

次に各同族間の誘導体については Siddall、及び原等の報告がある。まず Siddall³⁾ は phosphate, phosphonate による UO_2^{2+} , Th^{4+} 硝酸塩の抽出を検討し、次の結果を得ている。 UO_2^{2+} の抽出に対しては、phosphate, phosphonate 共にアルキル基が直鎖状のときは炭素数5のとき最大の抽出能を示し、またアルキル基が直鎖状であるより第2級炭素と結合した型の方が高い抽出能を示し、2-ethylhexyl 誘導体が最も高い抽出率を与える。また、trineopentyl phosphate は UO_2^{2+} , Th^{4+} , Zr^{4+} を殆んど抽出しないが、これは neopentyl 基による立体障害であろうと推定している。しかし、硝酸の抽出に対しては型、導入基の影響は余り大きくない。この外 Siddall は各誘導体の UO_2^{2+} , Th^{4+} 錯体の種々の溶媒に対する溶解度も測定し、phosphate, phosphonate の UO_2^{2+} 錯体の種々の飽和炭化水素系溶媒に対する溶解度はアルキル基が直鎖状のときは、直鎖の長い程大きいことを認め、更に Th^{4+} 抽出時の第三相生成についても検討している。次で Siddall⁴⁾ は Th^{4+} , UO_2^{2+} , Pu^{4+} , Np^{4+} , PuO_2^{2+} , NpO_2^{2+} 各硝酸塩の抽出に対する phosphate のアルキル基の影響を検討し、U, Pu, Np の抽出に対してはアルキル基が第二級炭素で酸素と結合しているとき大きな抽出能を示すが、 Th^{4+} の抽出に於てはアルキル基が大きく、側鎖を持つようになると抽出能はかえって減

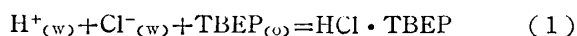
少することを認め、これはホスホリル基の電子密度よりもアルキル基の立体障害による影響が大きいためであろうとしている。この外 Siddall⁵⁾ は種々の phosphate, phosphonate による UO_2^{2+} 硝酸塩、硝酸の抽出反応の熱力学的定数も求めている。

次に野村、原⁶⁾ は phosphate, phosphonate, phosphinate, phosphine oxide による UO_2^{2+} 硝酸塩の抽出を検討し、Burger, Healy 等と同様の結果を得ているが、phosphate による抽出に於ては UO_2^{2+} の分配比は phosphate に導入されているアルキル基を含むカルボン酸の酸解離定数と逆比例関係にあると述べ、更に、水に対する溶解度は UO_2^{2+} との錯体生成の順位と同様に phosphine oxide > phosphinate > phosphonate > phosphate の順であることを指摘している。

II. 各誘導体による抽出反応

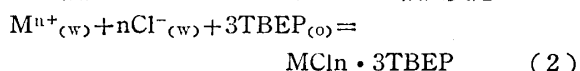
II-1 Phosphate 誘導体

TBP 以外の phosphate 誘導体による酸、金属塩の抽出反応に関する報告は極めて少ない。まず Healy 等⁷⁾ は TBP, dibutyl phenyl phosphate (DBPP), diphenyl butyl phosphate (DPBP), triphenyl phosphate (TPP) による UO_2^{2+} , Co^{2+} , Na^+ 各硝酸塩の抽出について検討し、抽出能は $\text{TBP} > \text{DBPP} > \text{DPBP} > \text{TPP}$ の順に減少し、生成する錯体は TBP , DBPP のときは $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{S}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{S}$, $\text{NaNO}_3 \cdot 3\text{S}$, (S は phosphate 分子を示す) であるが、抽出能の低い DPBP , TPP を用いるときは $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{S}$ とし、更に水分子の挙動についても検討している。次で Halpern 等⁸⁾ は tri-n-butoxyethyl phosphate ($\text{C}_4\text{H}_9\text{OC}_2\text{H}_4\text{O}$)₃PO (TBEP) による塩酸、 Zn^{2+} , Cr^{3+} , In^{3+} 各塩化物の抽出を検討し、塩酸の抽出反応は

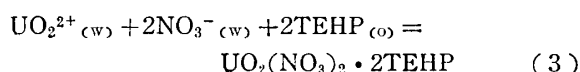


(w, o は夫々水相、有機相を示す)

で示され、溶媒和数 2 の錯体の生成はないとしている。また、この抽出反応に伴ない 4 分子の水も有機相に移ることを認め、更に TBEP 相中の塩酸濃度 0.05M 以下では塩酸はかなり解離していると述べている。次に金属イオンの抽出については Zn^{2+} , Cr^{3+} の抽出反応は



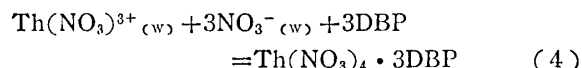
で示されるが、 In^{3+} の場合は TBEP 依存性 5 という高い値を示すとしており、 In^{3+} の抽出反応を示すに至っていない。一方 Peppard 等⁹⁾ は tri 2-ethyl hexyl phosphate (TEHP) による UO_2^{2+} 硝酸塩の抽出反応は TBP の場合と同様に



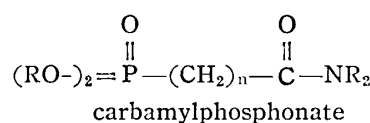
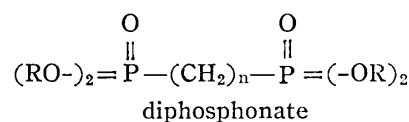
で示されるとし、硝酸イオン濃度の影響も検討している。

II-2 Phosphonate 誘導体

Katzin 等¹⁰⁾ は di-butyl butyl phosphonate (DBP) による Th^{4+} 硝酸塩の抽出反応において生成する錯体は $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 2\text{DBP}$, $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 3\text{DBP}$ の二種類で、前者は後者の約 2 倍生成すると報告している。しかし、Madigan 等¹¹⁾ は DBP による Th^{4+} の抽出反応は



で示されるとし、溶媒和数 2 の錯体の生成を認めていない。このように phosphonate による Th^{4+} を抽出する際生成する錯体の組成については TBP の場合と同様に一致した結果は得られていない。一方 Pappard 等⁹⁾ は di 2-ethyl hexyl 2-ethyl hexyl phosphonate DEH [EHP] による UO_2^{2+} 硝酸塩の抽出反応で生成する錯体は $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{DEH}[\text{EHP}]$ であると述べており、同様の結果は Healy 等⁷⁾ が di-butyl butyl phosphonate を用いて得ている。最近 Siddall¹²⁾ はランタナイド及びアクチナイド元素の抽出を行なうを目的としてホスホリル基を含む二座配位の抽出剤の検討を行なっている。先ず Siddall は diphosphonate として tetrabutyl methylenediphosphonate (TBMDP), ethylene-1, 2-diphosphonate (TBEDP), propylene-1, 3-diphosphonate (TBPDP), butylene-1, 4-diphosphonate (TBBDP) を、また、ホスホリル基、カルボキシル基を配位基とする抽出剤として di-butyl N, N-diethylcarbamylphosphonate (DBDECP), di-butyl N, N-diethylcarbamylmethylenephosphonate (DBDECMP) を合成し、Ce, Am, Pm 各硝酸塩の抽出を検討している。



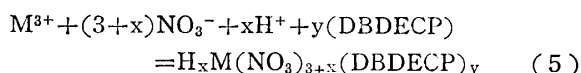
$n=0$ DBDECP

$n=1$ DBDECMP

先ず diphosphonate について見ると、何れの diphosphonate も dibutyl butyl phosphonate より大きい抽出能を示すが、メチレン基の数 (n) の増加と共に抽出能は減少する。但し、 n が 3, 4 の所では抽出能は逆転し、 $\text{TBBDP} > \text{TBPDP}$ となる。diphosphonate が大きな抽出能を示す理由としては錯体がキレート構造を持つ

ため、抽出能の変化は分子中のホスホリル基の濃度の大小によると説明している。そして n が 3, 4 の所で抽出能が逆転するのは夫々のホスホリル基の示す電子吸引性による錯体の安定度の低下は n が 3 のときより 4 のときの方が小さく、これが分子中のホスホリル基の濃度の減少による錯体の安定度の低下を相殺するためとしている。その外、硝酸、水の抽出結果から二つのホスホリル基は夫々独立には作用せず、夫々の有する電子吸引性の影響を受けていると述べている。

次に carbamylphosphonate による抽出においては金属イオンの抽出率は硝酸濃度の増加に伴って急激に増加し、硝酸との競走反応の認められないことから抽出反応は



で示されるとしている。但し DBDECP を用いるときは他のリン化合物と同様に、金属イオンの抽出率は硝酸濃度により極大値を示す。更に Siddall は diphosphonate に於ては水溶性、生成する錯体の希釈剤に対する溶解度等からその分子量に最低限度があり、分子量の大きい tetraamyl 或は tetrahexyl methylenediphosphonate が有用であろうと述べている。

II-3 Phosphinate 誘導体

phosphinate については Healy 等²⁾ が butyl di-butyl phosphinate について UO_2^{2+} 硝酸塩を抽出する際生成する錯体の組成が TBP におけると同様 UO_2^{2+} とのモル比が 1:2 であると述べている以外は見当らない。

II-4 Phosphine oxide 誘導体

総括的性質の項で述べたように中性有機リン化合物の中では phosphine oxide 型誘導体が最も大きな抽出能を示すことが知られているので、この型の抽出剤による金属イオンの抽出に関する報告は比較的多い。先ず Zingaro 等¹³⁾ は tri-*n*-octylphosphine oxide (TOPO) による硝酸及び Th^{4+} 硝酸塩の抽出を検討し、次のような結果を得ている。硝酸の抽出に於ては硝酸濃度 0.005~0.4M, TOPO 0.01~0.05M の範囲で常温で生成する錯体は $HNO_3 \cdot TOPO$ であるが、低温で硝酸濃度の低いときには $HNO_3 \cdot 2TOPO$ の生成することを認めている。また、赤外部の吸収スペクトルの測定結果から錯体は $(R_3P-OH)NO_3^-$ なる組成を持つとしている。次に Th^{4+} の抽出に於ては、硝酸濃度 0.01 M 以下で生成する錯体は $Th(NO_3)_4 \cdot 3TOPO$ であるが、硝酸濃度が高くなると錯体は $Th(NO_3)_4 \cdot n HNO_3 \cdot 3TOPO$ なる組成となるとしている。

次で Martin 等¹⁴⁾ は TOPO による硝酸及び Pu (III, IV, VI) Am^{3+} の抽出を行なっている。先ず硝酸の抽出については、水相の硝酸濃度が高くなると有機相の硝酸と TOPO のモル比は 1 以上となることを認め、これは硝酸が $HNO_3 \cdot TOPO$ として有機相に移る外に硝酸分子の分配が起るためとし、これを図 1 のように図示している。

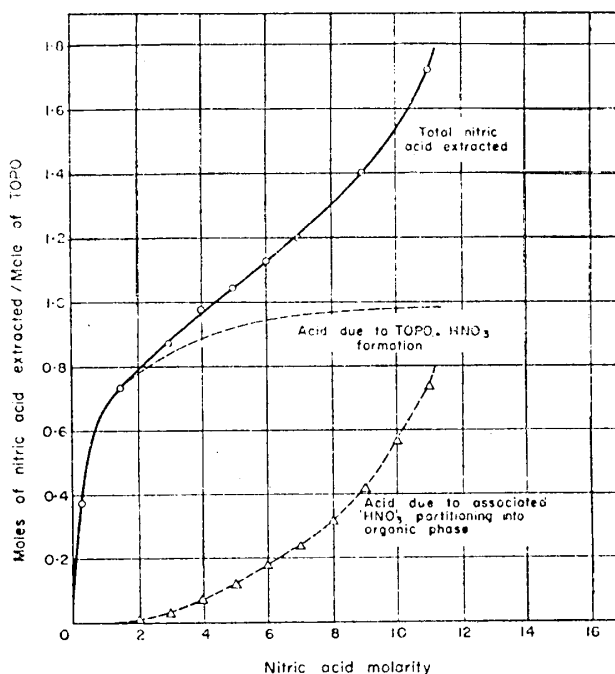
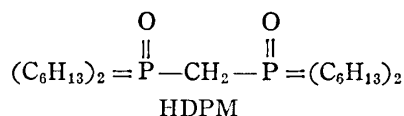


図 1 TOPO 溶液による硝酸の抽出曲線

次に Pu^{3+} の抽出については、次のような結果を得ている。 Pu^{3+} は塩酸性溶液からある程度抽出されるが定量的ではない。 Pu^{4+} , PuO_2^{2+} は塩酸、硝酸各酸性溶液からよく抽出される。硝酸酸性のとき Pu^{4+} , PuO_2^{2+} の抽出率極大値を示す酸濃度は著しく異なり、 Pu^{4+} は硝酸高濃度域で、 PuO_2^{2+} は低濃度域で抽出率の極大を示す。但し、塩酸性のときはほぼ同様の傾向を示す。また、硝酸塩抽出の際生成する錯体は、 $Pu(NO_3)_4 \cdot 2TOPO$ と推定している。一方 Heyn 等¹⁵⁾ は TOPO による UO_2^{2+} 硝酸塩の抽出を検討し、生成する錯体の組成は $UO_2(NO_3)_2 \cdot 2TOPO$ であることを認め、更に硝酸、 UO_2^{2+} 硝酸塩抽出反応の熱力学的定数も求めている。次で UO_2^{2+} 錯体のベンゼン、シクロヘキサン中における分子量を氷点降下法で求め、分子量は計算値よりベンゼン中ではやや低く、シクロヘキサン中ではやや高いことを認め、その理由として夫々、溶媒と分子の交換、及び重合を推定している。また Tocher 等¹⁶⁾ は TOPO による $HAuCl_4$, $HAuBr_4$ の抽出を検討し、生成する錯体の組

成は $\text{H}_3\text{O}^+ \cdot 3\text{TOPO} \cdot y\text{H}_2\text{O} \cdots \cdots \text{AuX}_4^-$ ($0 \leq y \leq 3$) で示されるとし、水素イオンの水和について論じている (本随説 (IV) 参照). この外 phosphine oxide 型の化合物については Mrochek 等¹⁷⁾ が diphosphine oxide である bis (di-n-hexyl phosphinyl) methane (HDPM) による酸, UO_2^{2+} 塩の抽出が検討されている.



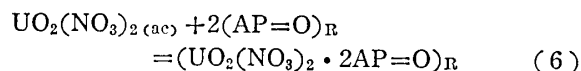
先ず塩酸, 硝酸, 過塩素酸, 硫酸の HDPM による抽出曲線は TOPO によるそれと類似しており, 硝酸の場合生成する錯体は酸濃度の低い所では $\text{HNO}_3 \cdot \text{HDPM}$ であるとしている. 次に UO_2^{2+} 硝酸塩の抽出においては, HDPM の希釈剤としてベンゼン, トルエン, *p*-サイメン, テトラヒドロナフタレンのような non-polar な溶媒を用いると有機相の UO_2^{2+} の濃度が高くなると粘度の高い有機第三相を生ずるが, 1-ニトロプロパン, 1-クロロニトロプロパン, メチレンクロライド, クロロホルムのような polar な溶媒を用いると第三相を生じないことを認め, 第三相の分析結果, 及び粘度測定値から $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{EDPM}$ 錯体の重合体であると推定している. UO_2^{2+} 硝酸塩の EDPM による抽出反応により生成する錯体は EDPM が過剰に存在する状態では $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{EDPM}$ で, UO_2^{2+} 濃度が高くなると溶媒和数 1 の錯体も生成するとしている. 更に UO_2^{2+} 抽出に対する硝酸, 塩酸, 過塩素酸, 硫酸の影響を TOPO の場合と比較して検討し, 何れの場合も TOPO より著しく高い抽出能を示し, この傾向は過塩素酸の場合に特に著しく, $\text{UO}_2(\text{HClO}_4) \cdot \text{HDPM}$ 系は特異な挙動を示すことを指摘している.

TOPO の分析化学的利用については White 等の研究がある. まず Mann, White¹⁸⁾ は $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ が TOPO により抽出可能であることを利用し, Cr^{3+} を $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ に酸化後 TOPO ベンゼン溶液で抽出し, これに diphenylcarbazine アルコール溶液を加え, 得られる呈色を利用して Cr^{3+} を定量している. 本法により 0.2-1ppm の Cr^{3+} の定量が可能であるという. 次で Horton, White¹⁹⁾ は Fe^{3+} , Cr^{3+} , Ti^{4+} , Th^{4+} , Zr^{4+} , Hf^{4+} , V^{5+} 等と共存する微量の UO_2^{2+} を TOPO 溶液で抽出後 dibenzoylmethane 発色法で定量する方法を示している. 本法により 20-3000 γ の UO_2^{2+} の定量が可能であるといわれる.

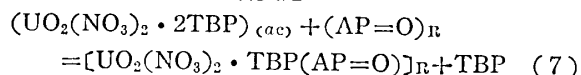
II-5 特殊な誘導体

以上ではすべて酸, 金属イオンの抽出に関する報告を紹介したが, 同様にホスホリル基を利用する固相への吸

着についての報告を紹介する. Kennedy²⁰⁾ は tri-allyl phosphate ($(\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{O})_3\text{P}=\text{O}$) の重合により得られる phosphate 型固状重合体による UO_2^{2+} 硝酸塩の吸着, 溶離を検討し, 次のような結果を得ている. 樹脂柱に $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ のアセトン溶液を流すと UO_2^{2+} は樹脂に吸着される. このときの反応は



(ac, R は夫々アセトン相及び樹脂相を示し, また, A は重合体中の一単位よりホスホリル基を除いた残基を示す) で示され, TBP その他による抽出反応と同様である. また, アセトン相で UO_2^{2+} が $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{TBP}$ として存在するときは吸着反応は



で示される. この外 LiCl , $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ 等も吸着され, アセトン, アセトン-水, アセトン-アルコール, TBP 等により溶離されると述べている.

III TBP の分解

以上で TBP 及びその類縁化合物による酸, 金属イオンの抽出に関する報告の紹介は終るが, これらの中ではやはり TBP の用いられている場合が最も多い. 従って TBP の化学的安定性, 或は放射線に対する安定性等がかなり検討されている. TBP の加水分解生成物である低級エステルは後に述べるように Synergistic effect により, 金属イオンの抽出に大きな影響を及ぼすので, TBP の分解は実際問題としても重要な意味があるので, ここでこの方面についての文献を紹介する.

先ず放射線による分解について見ると Burger 等²¹⁾ は TBP 及び TBP^- 希釈剤に対する γ 線の影響を検討し, 分解生成物として di- 及び mono-butyl phosphate, butyl alcohol, butyl ether, H_2 , butane, propane, ethane, methane 及び高分子重合体を認め, 各生成物の G 値 (線量 100 eV の吸収により生成する分子数) も求めている. Rigg 等²²⁾ も同様の研究を行ない, Burger 等と若干異なる結果を得, 更に TBP による UO_2^{2+} , Pu^{4+} の抽出に対する照射分解の影響を検討している. 一方, Campbell 等²³⁾ は中性子照射による TBP の分解について検討し, di- 及び mono-butyl phosphate, H_3PO_4 , H_3PO_3 , $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_6$, $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 等の無機リン酸及び Phosphine 等の生成を認め, 中性子束密度の影響も検討している.

次に TBP の化学的安定性についてはかなりのことが知られている. 先ず Burger²³⁾ の review によると TBP は酸化剤に対し極めて安定で, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 酸性溶液, KMnO_4 溶液により常温では殆んど酸化されない.

また水溶液中における加水分解反応は酸（アルカリ）の共存により促進され、その効果は $\text{HI} > \text{HBr} > \text{HCl} > \text{HNO}_3 > \text{H}_2\text{SO}_4$ の順に減少し、反応は TBP 及び酸濃度について一次で、各段の反応速度の比は $k_1 : k_2 : k_3 \approx 4 : 2 : 1$ であるという。また、反応は $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ 共存下光の照射により促進されるといわれる。但し TBP の水に対する溶解度は極めて小さいので実際には余り重要ではなく、問題となるのは有機相における加水分解である。これについては Burger によると、酸性水溶液と接触する TBP の加水分解反応速度は水相における速度に比し低く、有機相の水含量の増加と共に大となるという。図 2 に種々の条件における TBP の加水分解定数の変化を示した。

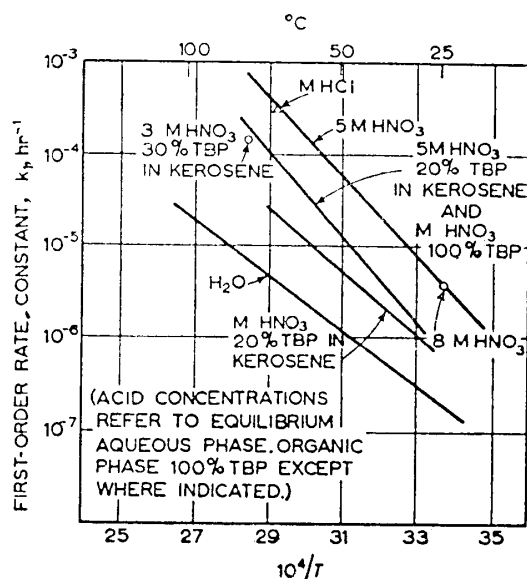


図 2 有機相における TBP の加水分解の速度定数

次に、塩酸水溶液と接触する TBP の分解については Kertes 等²⁴⁾の報告がある。Kertes 等によると純 TBP の塩酸共存下の分解は水の含量により変化し、mono-及び di-butyl phosphate, H_3PO_4 生成量は図 3 に示すように放置により増加する。

そして、TBP 相の密度、粘度、比電導度と TBP の分解度 H の間には次のような関係がある。

$$\begin{aligned}\text{密度 (g/ml)} &= 1.033 - 0.00035 H \\ \text{粘度 (cp)} &= 21.32 - 0.178 H \\ \text{比電導度 (mho)} &= 0.00374 - 0.000021 H\end{aligned}$$

また分解生成物中に butyl chloride は認められるが butyl alcohol の存在は認められないことから TBP の分解反応は $\text{C}-\text{O}$ 結合の切断による脱アルキル反応で、 $\text{P}-\text{O}$ 結合の切れる加水分解反応ではないとしている。

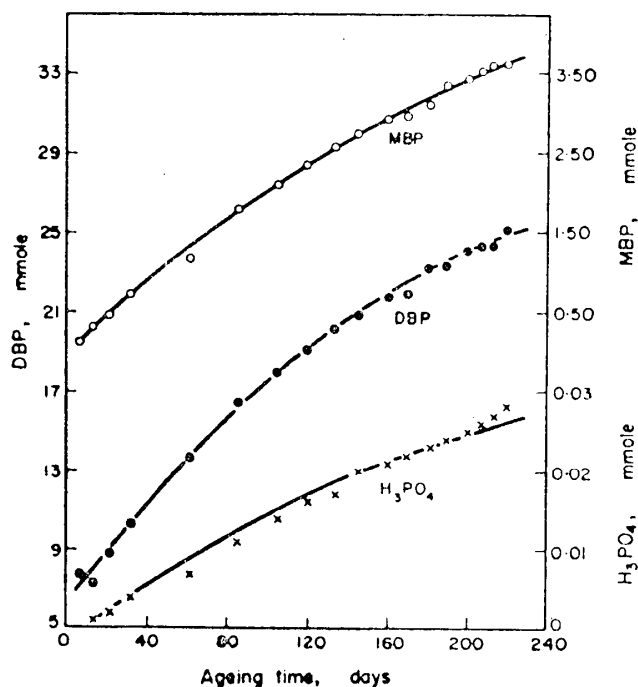
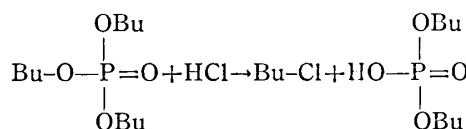
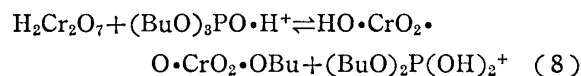


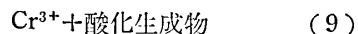
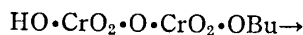
図 3 43.80m-mole の TBP からの DBP, MBP, H_3PO_4 の生成量



尚、水相における TBP の分解反応も同様であると Burger の review には述べられている。Kertes 等は更に放置中の TBP 相の含水量変化、TBP-HCl- H_2O 錯体についても論じている。

Burger²³⁾ は TBP は酸化剤に対しかなり安定であると述べているが、Tuck 等²⁵⁾ は Cr^{6+} を抽出した TBP の分解を検討し、次のような結果を得ている。TBP の Cr^{6+} による分解反応速度は TBP 相の Cr^{6+} 濃度につき一次で、速度定数は水相の塩酸、過塩素酸、硫酸濃度の増加と共に大となるが、硝酸の場合は逆に減少する。また、TBP の分解生成物として butylaldehyde, butyl alcohol, di-butyl phosphate, butyric acid を認めている。以上の結果から、Tuck 等は Cr^{6+} による TBP の分解反応は次のように示されるとしている。まず第一段階として水素イオンと結合した TBP と $\text{H}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ の間のエステル交換反応が起り、次で生成した $\text{H}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ エステルの分解反応が起る。即ち、





そして反応(8)は速やかに平衡に達し、反応(9)が律速段階であるという。また、反応(8)、(9)ともに酸により促進されるために、速度定数は TBP 相で最も大きな酸解離を示す、過塩素酸のとき大きな値を示すとし、塩酸の場合に反応の遅いのは Cr^{6+} の抽出に際して HCrO_3Cl が生成するためとしている。更に硝酸の場合に、逆の傾向を示すのは $\text{TBP} \cdot \text{HNO}_3$ 錯体が $\text{TBPH} (\text{H}_2\text{O})_4^+ \cdot \text{NO}_3^-$ ではない(本随説(IV)参照)のために酸触媒能が小さいからであるとし、 $\text{TBP} \cdot \text{H}_2\text{O}$ が反応(9)を促進する可能性も指摘している。

IV 中性リン化合物及びその金属塩錯体の赤外部吸収スペクトル

中性リン化合物及びその金属塩錯体の赤外部吸収スペクトルは主に TBP についてかなり多く測定されており、それらの結果から抽出反応の追跡、錯体の結合様式の推定、或は電子受容体としての金属塩の Lewis の定義による酸性度の比較等が行なわれている。但し、この方面は筆者等は詳しくないので簡単に文献の紹介にとどめておく。

先ず Ferraro²⁶⁾ は種々の金属硝酸塩水和物と TBP-金属硝酸塩錯体の NO_3^- による吸収を比較し、錯体系においては 1380cm^{-1} 付近の NO_2 の非対称性伸縮振動による吸収 ν_3 が splitting している等 NO_3^- の対称性の低くなっていることから NO_3^- と中心金属イオンとの結合は硝酸塩水和物の場合より共有結合性が強いと述べている。大島²⁷⁾ は splitting の波数巾と希ガス型電子配置を持つ金属イオン並に遷移金属イオンの硝酸塩の TBP による分配比の間には夫々直線関係が成立することを示している。

また、Katzin³⁰⁾ は TBP-硝酸塩系における NO_3^- の吸収の splitting から金属イオンと NO_3^- 間の結合を詳細に論じ、Verstegen²⁹⁾ は TOPO-硝酸塩系でも同様 NO_3^- の ν_3 の splitting を認め、その波数巾と金属イオンの e/r (e は金属イオンのイオン価を、 r はイオン半径を示す)の間には関連性のあることを指摘している。

次にホスホリル基の吸収についてもまた多くの測定が行なわれている。先ず Ferraro²⁶⁾ は TBP の金属硝酸塩との錯体生成により $\text{P}=\text{O}$ の伸縮振動による吸収が低振動数側に shift すると簡単に述べているが、その後 Katzin³⁰⁾ は更に多くの測定例から同様の結果を得、 $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ による吸収も検討している。また、大島²⁷⁾ は $\text{P}=\text{O}$ の吸収の shift の波数と金属硝酸塩の分配比の間には NO_3^- の splitting の場合と同様の関係があると述

べている。Nukada 等³¹⁾ は TBP による UO_2^{2+} 硝酸塩の抽出反応を $\text{P}=\text{O}$, $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ の吸収の変化を利用して追跡し、硝酸と UO_2^{2+} 硝酸塩の間に競走反応のあることを認めている。また、Cotton 等³²⁾ は trimethyl-及び triphenylphosphine oxide 並にその金属塩との錯体の $\text{P}=\text{O}$ による吸収を利用して $\text{P}-\text{O}$ 並に $\text{O}-$ 金属イオンの結合次数を論じ、Frazer 等³³⁾ は triphenyl phosphine oxide と金属ハライドとの錯体の $\text{P}=\text{O}$ による吸収の shift から金属ハライドの酸性度の比較を行っており、この系統の研究は外にもあるが本文とは直接関係がないので省略する。

この外 Nukada 等³¹⁾ は $\text{TBP} \cdot \text{HNO}_3$ 錯体の $\text{P}=\text{O}$, $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ による吸収についても述べており、また、Katzin³⁰⁾ は TBP 相の水による吸収の金属塩抽出による変化についても述べている。

以上でリン化合物による金属イオンの抽出に関する文献の紹介は終るが、前にも述べたようにここに示した文献は全部ではなく、見落したものも多いであろうことをお断りしておく。

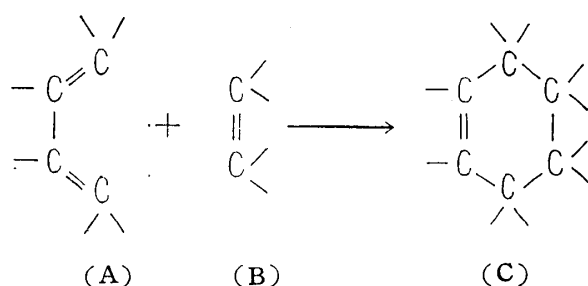
文 献

- 1) L.L. Burger: J. Phys. Chem., **62**, 590 (1958)
- 2) T.V. Healy, J. Kennedy: J. Inorg. Nucl. Chem., **10**, 128 (1959)
- 3) T.H. Siddall III: Ind. Eng. Chem., **51**, 41 (1959)
- 4) T.H. Siddall III: J. Inorg. Nucl. Chem., **13**, 151 (1960)
- 5) T.H. Siddall III: J. Am. Chem. Soc., **81**, 4176 (1959)
- 6) S. Nomura, R. Hara: Anal. Chim. Acta, **25**, 212 (1961)
- 7) T.V. Healy et al: J. Inorg. Nucl. Chem., **10**, 137 (1959)
- 8) M. Halpern et al: ibid., **24**, 1251 (1962)
- 9) D.F. Peppard et al: ibid., **24**, 1387 (1962)
- 10) L.I. Katzin et al: J. Am. Chem. Soc., **78**, 5139 (1956)
- 11) D.C. Madigan, R.W. Catrall: J. Inorg. Nucl. Chem., **21**, 334 (1961)
- 12) T.H. Siddall III: ibid., **25**, 883 (1963)
- 13) R.A. Zingaro, T.C. White: ibid., **12**, 315 (1960)
- 14) B. Martin et al: ibid., **21**, 96 (1961)
- 15) A.H.A. Heyn, Y.D. Soman: ibid., **26**, 287 (1964)
- 16) M.I. Tocher, et al: J. Phys. Chem., **68**, 368 (1964)
- 17) J.E. Mrochek, et al: J. Inorg. Nucl. Chem., **25**, 955 (1963)
- 18) C.K. Mann, J.C. White: Ind. Eng. Chem., **30**, 989 (1958)
- 19) C.A. Horton, J.C. White: ibid., **30**, 1779 (1958)
- 20) J. Kennedy: J. Appl. Chem., **9**, 26 (1959)
- 21) L.L. Burger, E.D. McClanahan: Ind. Eng. Chem., **50**, 153 (1958)
- 22) T. Rigg, W. Wild: Progress in Nuclear Energy. Series III. vol. II p. 320 (1958)
- 23) I.G. Campbell et al: J. Inorg. Nucl. Chem., **10**, 225 (1959)
- 24) L.L. Burger: Progress in Nuclear Energy, Series III vol. II p. 307 (1958)
- 25) A.S. Kertes, M. Halpern: J. Inorg. Nucl. Chem., **20**, 117 (1961)
- 26) D.G. Tuck, R.M. Walters: J. Chem. Soc., 4712 (1963)
- 27) J.R. Ferraro: J. Inorg. Nucl. Chem., **10**, 319 (1959)
- 28) 大島: 日本原子力学会誌 **4**, 166 (1962)
- 29) L.I. Katzin: J. Inorg. Nucl. Chem., **24**, 245 (1962)
- 30) J.M.P.J. Verstegen: ibid., **26**, 25 (1964)
- 31) L.I. Katzin: ibid., **20**, 300 (1961)
- 32) K. Nukada et al: Bull. Chem. Soc. Japan., **33**, 894 (1960)
- 33) F.A. Cotton et al: J. Chem. Soc., 2199 (1960)
- 34) M.J. Frazer et al: J. Inorg. Nucl. Chem., **25**, 637 (1963)

含窒素共役系ジエンの Diels - Alder 反応 (I)

明治薬科大学教授 薬学博士 富 松 祥 郎

Dies-Alder 反応はジエン合成 diene synthesis とも呼ばれ、共役二重結合系に対し、他の不飽和結合が付加的に縮合し、6員環を形成する反応であり、一般式で示すと次のようにあらわされる。



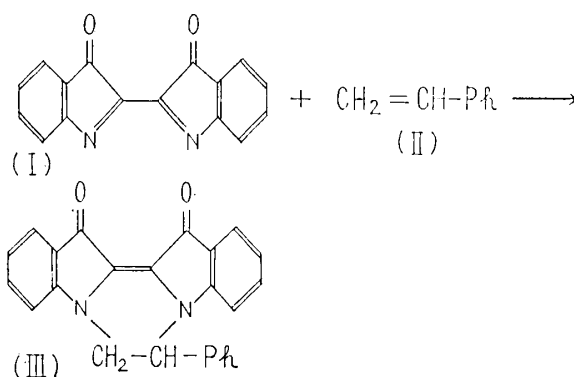
(A) を diene component, (B) を dienophile, 生成物 (C) を adduct と呼ぶ。dienophile の $C=C$ 結合はある程度極性を有することが必要であり、 $C=C-C=O$ のごとくカルボニル基その他の陰性基がエチレン結合と共役したものであるとき反応しやすい。この種の反応は1928年 O. Diels およびその協力者 K. Alder により発見されて以来、きわめて多数の応用例が開拓され、6員環化合物の合成に多大の寄与をなした功績により、1950年度のノーベル化学賞が両氏に授与された。

本反応の全般に関しては詳細な総説¹⁾があるのでそれらを参照されたい。

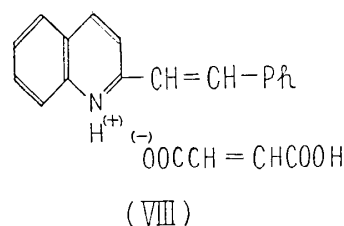
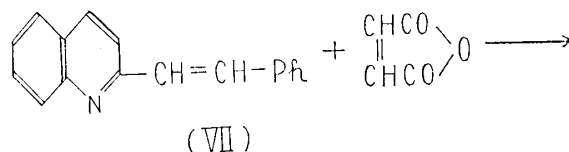
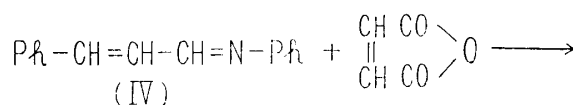
しかし従来の Diels-Alder 反応は主として $C=C-C=C$ 系の diene component について行なわれ $C=C-C=N$, $N=C-C=N$ 系などの含窒素共役系についてはきわめて少数の研究が発表されているにすぎず、しかもその多くは全く反応しないという結果に終わっているか、または反応はしても異型の生成物を与えることが報告されている。筆者が本研究に着手した当初 (1952年) までは含窒素共役系が正規の Diels-Alder 型 adduct を与えると報告されたのは Pummerer²⁾ らによる dehydroindigo (I) についての一例のみという状況であった。

すなわち (I) を styrene (II) の約7モル当量とともに水浴上で加熱すると62%の収率で付加体 styreneindigo (III) を得るという。

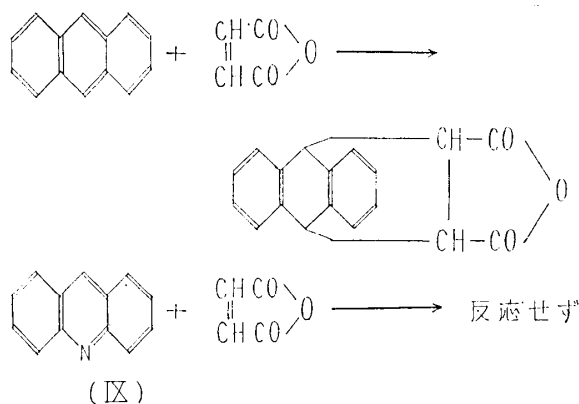
anethole, isoeugenole など³⁾ も (I) と正規の adduct を与えることが知られているが、奇異なとくに通常、上



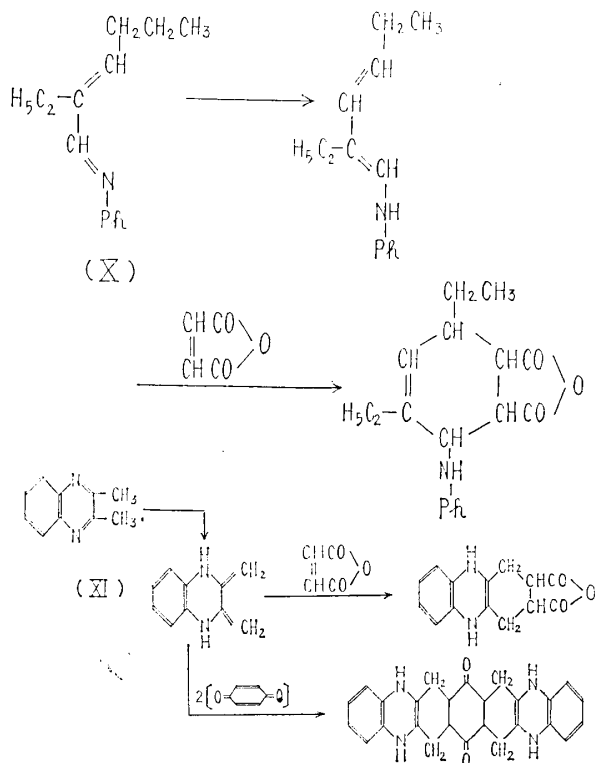
記の dienophile より活性と見られている maleic anhydride, quinone などは (I) と反応しないと報告されている。また Bergmann⁴⁾ によれば cinnamylidene-aniline (IV) と maleic anhydride は反応せず、湿気存在では azine 結合の切断により cinnamic aldehyde (V) と maleanilic acid (VI) に分解し、2-styryl quinoline (VII) と maleic anhydride は styrylquinolinium maleate (VIII) を生成するにすぎぬという。



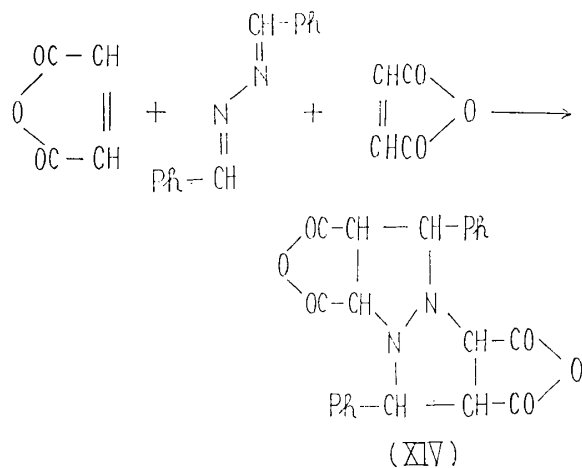
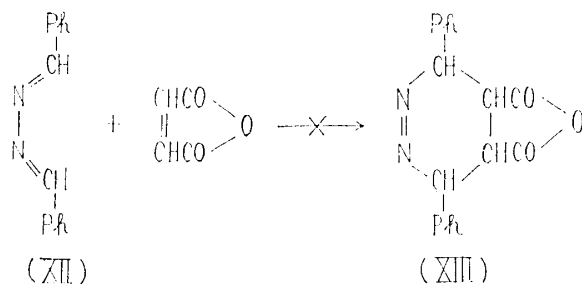
また anthracene は maleic anhydride と meso 位 (9, 10位) に正規の付加反応をすることはよく知られた事実⁵⁾ であるにもかかわらず, これと同型の acridine (IX) は maleic anhydride と反応しないという.⁶⁾



異型反応の例としては 2-ethyl-2-hexenalanine (X) と maleic anhydride は $N=C-C=C$ 系としては反応せず転位して $C=C-C=C$ 系に変じて反応する.⁷⁾ また 2,3-dimethylquinoxaline (XI) はトルエン溶液中で maleic anhydride および *p*-benzoquinone と反応して付加体を生ずるが, この場合も含窒素共役系として反応するのでなく, 転位により炭素共役系として反応することが明らかにされた.⁸⁾



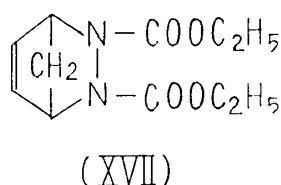
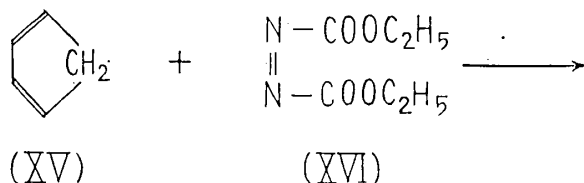
2個の窒素を有する diene 系については Wagner-Jauregg⁹⁾ により benzalazine(XII)と maleic anhydride の反応が試みられたが予期される当モル付加体 (XIII) は得られず, (XII) 1モルに対し maleic anhydride 2モルの付加体得られ, その構造を (XIV) と推定したが, その後 Bruckner ら¹⁰⁾ により確証された。



以上のごとく含窒素共役系ジエンに関する過去の報告は予期に反するものが多いわけであるが, (VII), (XI)などは一応芳香性と考えられる環の double bond が関与するものゆえ, その不活性はうなづけるものがあるとするも, (IV), (X), (XII) に正規の付加反応が行なわれないことについては, $C=C$ 結合と $C=N$ 結合の性質が基本的にどの程度まで異なるものかについて多分の疑問を残すものといわねばならぬ。

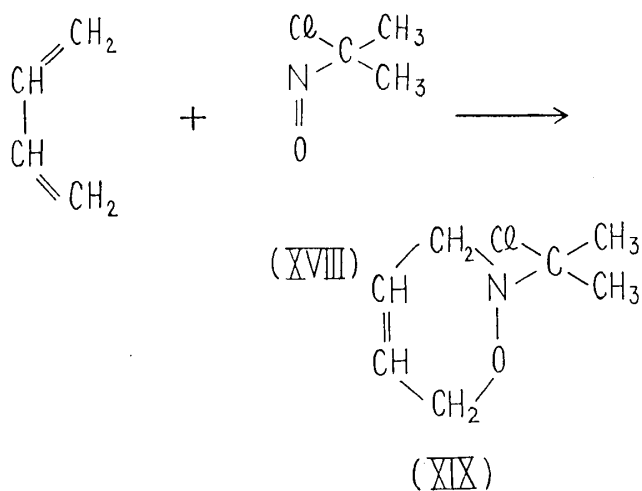
しかるに一方, 注目すべきことは $C=N$, $C\equiv N$, $O=N$, $N=N$ などの窒素不飽和結合が dienophile となって $C=C-C=C$ 系ジエンと反応し, 含窒素複素環を形成する反応例は意外に多いのである。Diels-Alder 反応が体系として確立される以前に Diels¹¹⁾ らによって行なわれた cyclopentadiene (XV) と azodicarboxylic ester (XVI) の反応によって (XVII) を生成する反応

はそのもっとも初期のものと考えられる。しかもこの反応はきわめて緩和な条件で行なわれ、収率も良好といわれる。



この反応はその後、Cohenら¹²⁾、Alderら¹³⁾、Barangerら¹⁴⁾の研究により確かめられた。

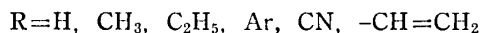
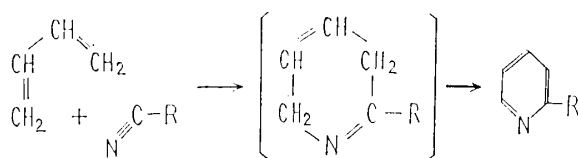
また Wichterle¹⁵⁾ は 2-chloro-2-nitrosopropane (XVIII) と butadiene をエタノール中、反応させて両者等モル付加体を得たが、その構造はその後 Finkelstein¹⁶⁾ らにより Raman スペクトルで検討した結果、3,6-dihydro-*o*-oxazine誘導体 (XIX) であることが確認された。これは (XVIII) の N=O double bond が dienophile として作用した正規の Diels-Alder 型付加反応の例である。



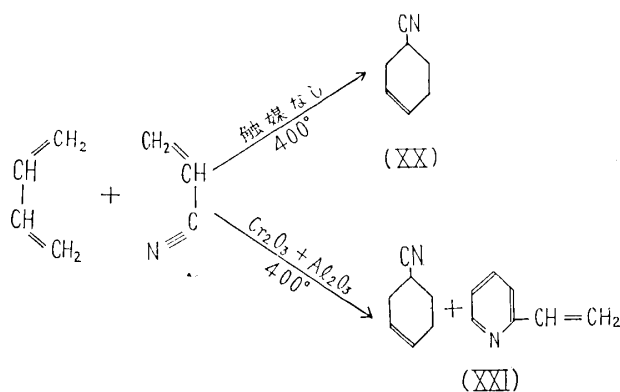
この反応を単なるニトロソアルカン RNO に応用しても反応しないことが判明したので N=O 基に隣接して電子吸引基 (上例では Cl) が必要なものと思われる¹⁷⁾。しかし芳香族ニトロソ化合物は dienophile としてふつうの diene とよく反応することが知られている^{18), 19)}。

C≡N bond は一般の付加反応に対し、比較的不活性と考えられているが Janz²⁰⁾ らは青酸および各種のニト

リル類を用い、その C≡N 結合が dienophile として作用し、diene と反応して Pyridine 誘導体を生成することを発見し、その熱力学的、および動力学的研究をも発表した。反応は主として気相において 300~500° で行なわれ、触媒として酸化クロム、活性アルミナなどが有効であるという。生成物は正規の Diels-Alder 付加体であるから 2,5-dihydropyridine 誘導体であるがこの実験条件下で容易に脱水素して Pyridine 誘導体になる。



acrylonitrile $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CN}$ の C=C bond は炭素系のみの Diels-Alder 反応に dienophile として作用することはよく知られているから上述のことより、反応条件によっては C=C あるいは C=N のいずれか一方または両方が反応にあづかることが考えられる。事実 Janz²¹⁾ の研究によると触媒なしでは C=C 結合のみが反応に関与し cyanocyclohexene (XX) を生ずるが酸化クロム、活性アルミナ混合触媒の存在では少量ながら vinylpyridine (XXI) も生成することが見出された。



以上を総合するに含窒素不飽和結合が dienophile として炭素共役系に付加する反応は少数ながらある程度知られているが窒素を含む共役二重結合系が diene component として正規の Diels-Alder 型反応を行なうことはきわめて希な特例としか考えられず、これが果して反応条件によっては一般的に可能性のあるものかどうかの検討はほとんど未開拓の分野であるといつてよい。筆者はこの点に着目し、まず第一に純有機化学的立場より $C=N$ 結合を含む共役系に対する Diels-Alder 型反応の可能性の範囲ならびに $C=N$ 結合と $C=C$ 結合が性質上どの程度まで異なるかという基本的検討より始めることとし、第二にはもしこの種の反応につき条件の変更によりある程度まで一般性が認められるに至れば、医薬品には数多い含窒素複素環の合成法に新しい手段として取入れられるのではないかという薬学的立場を兼ねて、本研究を開始した次第である。

その結果、 $C=C-C=N$ 系、 $N=C-C=N$ 系を含め、収率としてはいまだ満足すべきものではないが、数種の可能な例を見出したので次号にそれらの概要を述べることにする。

文 献

- 1) Organic Reactions 4, 1, 60; ibid 5, 136;
Newer method of preparative organic chemistry P.381~511
- 2) Pummerer, Fiesselmann: Ann. 544, 206 (1940)
- 3) Pummerer, Stieglitz; Ber. 75, 1072 (1942)
- 4) Bergmann: J. Am. Chem. Soc. 60, 2811 (1938)
- 5) Diels, Alder, Beckmann: Ann. 483 191 (1931);
Bachmann, Klotzel: J. Am. Chem. Soc. 60, 481 (1938)
Bachmann, Scott; ibid 70, 1458, 1462 (1948)
- 6) Barnett, Goodway, Higgins, Lawrence: J. Chem. Soc. 1934, 1224
- 7) Snyder, Hasbrouk, Richardson: J. Am. Chem. Soc. 61, 3558 (1940)
- 8) Schönberg, Mostafa: J. Chem. Soc. 1943, 654
- 9) Wagner-Jauregg: Ber. 63, 3219 (1930)
- 10) Bruckner, Kandel: Helv. Chim. Acta. 1951, 230~244
- 11) Diels, Blom, Koll: Ann. 443, 242 (1925)
Diels, Alder: Ann. 450, 237 (1926)
- 12) Cohen, et. al.: J. Am. Chem. Soc. 79, 2661 (1951)
- 13) Alder, Niklas: Ann. 565, 81, 90 (1954)
- 14) Baranger, Levisalles: J. Bull. Soc. Chim. 704 (1957)
Chem. Abstracts 51, 12924 (1957)
- 15) Wichterle: Collect. Trav. Chem. Tchechosl. 12, 292 (1947)
- 16) Finkelshtein et. al.: J. Phys. Chem. (U.S.S.R.) 24, 802 (1950)
- 17) Wichterle et. al.: Chem. Listy 51, 605 (1957)
- 18) Arbuzov et. al.: Izvest. Akad. Nauk S.S.S.R Otdel Khim. Nauk 344 (1952)
- 19) Wichterle et al.: Coll. Czech. Chem. Comm 24, 1158 (1959)
- 20) Janz, Hawkins: J. Chem. Soc. 1949, 1479, 1485
- 21) Janz, Duncan: J. Am. Chem. Soc. 75, 5389 (1953)

JIS 試薬の追加品目

昭和39年3月1日に次の試薬21品目が新たに日本工業規格に制定され、同年3月24日官報に公示された。

JISK	品 名	等 級			
8052	m-アミノフェノール (3-アミノフェノール)	1 級	8632	チオセミカルバジド	特級
8082	アントロン	特級	8650	テトラエチルアンモニウムヒドロキシ F溶液 (10%)	特級
8214	塩化トリフェニルテトラゾリウム	特級	8670	1,3,5-トリニトロベンゼン	特級
8273	p-キシレノールブルー	特級	8681	p-トルエンスルホン酸	1 級
8337	ケイタングステン酸 (26水塩)	特級	8724	ニトラミン	特級
8367	酢酸ストロンチウム	特級 1 級	8725	p-ニトロ塩化ベンジル	1 級
8452	ジギトニン	特級	8718	p-ニトロベンズアルデヒド	特級
8466	4,5-ジクロロフルオレセイン	1 級	8862	ベンゾパープリン 4 B	1 級
8467	2,4-ジニトロフェノール	特級	8874	ポアリエブルー C 4 B	1 級
8468	2,6-ジニトロフェノール	特級	8902	メチルバイオレット 6 B	特級
			8906	モリブデン酸ナトリウム	特級 1 級

アルミニウム定量試薬に



印

セ ン ダ ク ロ ム A L (Sendachrome AL)

を 御 奨 め し ま す

東北大学工学部分析科
加藤教室 品位検定品

1 g, 5 g, 25 g 詰

染色による生死判別

山形大学助教授 理学博士 中 沢 信 午

心臓というポンプの活動が停止し、血液の循環が行われなくなると、人体にはもはや永遠に不可逆な生命の終末がやってきて、医師は死亡と診断する。だがここにも例外がある。健康人が海に落ちておぼれたような場合には、人工呼吸法によってもう一度生命をとりもどすこともできる。死亡診断され、万事休してしまっ、火葬場へはこぼれる途中で蘇生した例もあり、土葬になり墓場の底で生き返った話すらある。こういう例外は、一度死んでから生き返ったのか、それとも、その間かすかに生きつづけていたのか、そのへんを判定するのはきわめて困難なことである。なぜなら、個体というエンジンが止まっても、各細胞はまだ生きている。いわゆる個体レベルではすでに死が訪れていても、細胞レベルではまだ死がやってきていないのである。これを実用的に利用したのが眼の角膜移植で、死者からとった、まだ生きている角膜を盲人に移植してやれば、角膜の不完全ゆえに目の見えなかった人が救われ、移植された角膜は新しいホストの上で一生涯を生きつづける。これはすでに今日の常識である。このように個体の死と細胞の死とは異なることがわかるが、下等動物のように心臓を持たないもの、血液循環など最初から行っていない原生動物、植物などの生死をどうやって診断したらよいだろうか。そういう生物では体の各部分間における調和、全体性などが失われたときに死と判定してもよからう。しかし実際に調和や全体性を何によって測定するかという困難がある。致しかたなく細胞の生死をもって個体の生死とするよりほかあるまい。つまり、多細胞生物ならば、体を構成する大部分の細胞が死んだときにその個体も死んだとするか、あるいは、個体の生死は問題外とし、生死はただ各細胞だけについていえるにすぎないであろう。そこで、一体全体、細胞が生きているか死んでいるかを、物理・化学的に区別する確実な方法があるか、という問題を取り上げてみたい。とくに、ここでは私自身でテストした細胞の生体染色と生死判別の関係を中心にいくつかの例をあげてみる。

メタクロマジー

細胞の内部には原形質があり、原形質の本体は水を分散媒とした分散系で、おもな分散粒子は諸タンパク質、脂質、炭水化物などで、これら粒子はコロイドをつくっている。またはその一部は濃厚なゾルとなり、コロイドの中にさらに小液滴としてコアセルベート(coacervate)をなしたりしている。こういう生きた原形質を塩基性色

素で染色すると、しばしばメタクロマジー (metachromasy) をおこす。

メタクロマジーとは純粹の色素がそれ自身の溶液と異なる色調で染色をおこす現象で、1877年 Ehrlich によってこう定義された。もちろん pH や酸化還元による変色とは別の現象である。たとえばトルイジン・ブルー (toluidine blue) で粘液、軟骨の基礎物質、肥満細胞の顆粒などがピンク色に染まるのがこれである。メタクロマジーをおこしやすいのは主として塩基性色素である。なかでもトルイジン・ブルー、クレシル・ブルー (cresyl blue) メチレン・ブルーその他36種がメタクロマジー色素としてよく知られている¹⁾。メタクロマジーを利用して原形質の生死を判別できる場合がある。

オキサジン色素の一種クレシル・ブルーは非常に原形質に侵入しやすく、この水溶液 (0.01%) に細胞をいれ、生きた細胞はピンク色にメタクロマジーをおこす。たとえば海藻の一種 *Cladophora utriculosa* をこの色素の海水溶液に浸すと、細胞膜の最外層にある粘質は青く、ついで内層はピンク、細胞質もピンクに染まる。しかしこれは元氣よく生長しつつある細胞で、最初から明らかに死んでいると見える細胞では細胞質が青く染色し、細胞膜は全く染まらない。この生死の差異は非常に明確で、糸状に列をなす細胞のなかに1個だけ死細胞が混っていると、ピンク色に染まった細胞列の間に1個の青い細胞が出現することになる。このメタクロマジーは pH 5.5~8.5 にわたっておなじようにおこる。こころみに生長しつつあると見える若い細胞群をとって、アルコール、ホルマリン、熱、傷害などによって kill してから上の溶液に入れると、こんどは全細胞が青く染まる。また、ピンクにメタクロマジーをおこしている細胞が、顕微鏡下でしだいに死んでくると、その部分からピンク→青への変化がはじまり、ついに細胞全体が死んだと思われるころには全面的に青くなる。とくに細胞が分岐しつつある若い生長点の部分でこの変化が早期におこる。これは若い細胞質ほどデリケートで枯死しやすい事実と一致する現象である。

他の植物ホンダワラ (*Sargassum*) アサクサノリ (*Porphyra*)、アオサ (*Ulva*)、アオミドロ (*Spirogyra*)、シダ植物などについてもこのテストが行われ、全部同様に生細胞ではピンク、死細胞では青に染色することがわかった。したがって一般に植物細胞の生死判定に利用で

きそうであるが、なお大規模に実験してみる必要があることはもちろんである。トルイジン・ブルーでも同様のメタクロマジーがおこるが、この色素はしばしば死細胞でもこれがおこるので、生死判別には適当でない。

さてクレシル・ブルーでは生細胞にだけメタクロマジーがおこるというのは、どういうメカニズムによるのだろうか。もっとも細胞と関係なく、たとえばクレシル・ブルー液に寒天を加えるとやはりメタクロマジーがおこる。ここではそういう *in vitro* の場合をのぞいて、細胞内でのことに限って生死判別の話題とすることに注意していただきたい。ところで一般にメタクロマジーがおこる各種の場合について総説するところなる。

(a) $M/20,000$ のトルイジン・ブルー水溶液に $M/10,000$ のコンドロイチン硫酸または寒天を加えるとメタクロマジーを示して赤紫色になる²³⁾。

(b) サフラニン水溶液に軟骨成分の chondrin を加えるとサフラニンが赤から黄に変わる。これは chondrin とサフラニンとの結合による色調変換と考えられる²⁾。しかしこの物質は糖タンパクとしての chondromucoid 上記のコンドロイチン硫酸その他を含んでいるから、これは前例とおなじメタクロマジーと想像される。

(c) メチレン・ブルーの $2.54 \times 10^{-6} M$ をアルコール水、9.1% 硫酸アンモニウム、1.8% 寒天などに溶液とし、それぞれの吸収スペクトルをみると、アルコール溶液では $660 m\mu$ 、それからしだいに値が低下して寒天溶液では $550 m\mu$ とピークが移動する。同様の現象は他の多くのメタクロマジー色素でみられるが、メタクロマジー色素以外の色素ではこの変化がみられない⁴⁾。

(d) 細胞内でメタクロマジーをおこさせる物質は酸性巨大分子多糖類、またはその塩類である²⁾、たとえば硫酸エステルを含む $R \cdot OSO_3H$ 型の多糖類とその塩で、コンドロイチン硫酸、ムコイチン硫酸、寒天、ヘパリンなどは代表的なものである²⁾。

(e) carboxyl 基をもつ高分子多糖類もまたメタクロマジーをおこさせる。ヒアルuron酸 hyaluronic acid、アラビアゴムなどがそれである。しかしメタクロマジーの程度は硫酸エステルより低い²⁾。

(f) myelin、神経細胞のある種のリピドなどもメタクロマジーの原因となる。これらの場合はリピド溶剤で処理するとメタクロマジーは消える。これはリピドが硫酸エステルまたはリン酸基を含むときにおこると考えられる。

(g) 加水分解で $-OSO_3H$ をのぞくとメタクロマジーは失われる。反対に、通常はメタクロマジーをおこさないグリコゲン、デンプン、セルローズ、キチンなどに $-OSO_3H$ を附加するとメタクロマジーがおこる²⁾。リン酸基についてもおなじことがある。イーストを H_2O に

いれて栄養不良にし、これにリン酸塩を加えるとメタクロマジーがより一段と強くあらわれる。

(h) carboxyl 基をもつ多糖類が原因となるメタクロマジーは硫酸エステルをもつ多糖類とくらべて、塩類の存在によってはるかに鋭敏に左右される。たとえば、1% NaCl を加えると硫酸エステル多糖類はメタクロマジーに影響を受けないが、carboxyl 基をもつものではメタクロマジーが失われる²⁾。

(i) 多くの場合を通じてみると、結局、メタクロマジーは硫酸エステル、carboxyl 基、リン酸基のいずれかによるものと思われる²⁾。またその説明としては、色素の重合によるという理論と、色素分子間の量子力学的共鳴の場合において中間体の荷電分布が変わることによるという理論とがあるが、どちらも決定的ではないようである。

以上の実例と既成の理論とから、さきにかかげたクレシル・ブルーのメタクロマジーによる生死判別をどう理解したらよいだろうか。まず細胞内には硫酸エステル、carboxyl 基、リン酸基などが高分子化合物と結合して存在することはもちろんであるから、それらの一つ、または全部と結合して色素がメタクロマジーを示すも当然である。だが、細胞の死とともにメタクロマジーが消えるのはどういうわけか。このメタクロマジーの大部分が carboxyl 基をもつ多糖類によるとすれば、わりあい説明をつけやすいであろう。つまり生活細胞は通常は各種塩類の出入を自からコントロールしており、媒液の塩濃度が変わっても、すみやかに細胞内でもそれと呼応して塩濃度が増減することはない。しかし死細胞ではこの性質が失われる。一方において carboxyl 基によるメタクロマジーが塩濃度に鋭敏に支配されることは上にのべた通りである。そこで、細胞の死とともにクレシル・ブルーと共存する塩濃度が急変して、それによって、メタクロマジーをおこしていた色素の重合が解離し、または分子内の荷電分布が変化してメタクロマジーが失われると考えてはどうだろうか。Landsmeer および Giel (1956) はメタクロマジーをおこさせる硫酸エステル、carboxyl 基、およびリン酸基を識別する方法を示している。原形質中では pH 3.4 以下の強酸性条件で carboxyl 基をもつ物質は電荷を失いメタクロマジーを示さないのに対して、硫酸エステルとリン酸基とはなおメタクロマジーを示す。そして、後の2つを識別するには媒液に 0.001 N の UO_2NO_3 を加えるとリン酸基のメタクロマジーは失われるが硫酸エステルのそれは失われない。ところで上にのべたように、クレシル・ブルーの生活細胞内でのメタクロマジーは pH 5.5~8.5 にわたっておこるが、より低い pH ではこれが失われる。これは、このメタクロマジーが carboxyl 基にもとづくことを示すようである。この考え方がもし正当であれば、細胞内におけるクレシ

ル・ブルーのメタクロマジーは、細胞に塩類が自由に出入できない場合のみおこり、結局、生とは塩類の出入をコントロールする現象にほかならない、ということになるが、これは今のところ仮説である。

色素の透過性

一般に生きた細胞内に酸性色素が侵入することはできないか、またはわずかに入り得るのみである。色素の吸収比（細胞内の色素濃度と外液のそれとの比）は塩基性色素では 100 あるいはそれ以上であるが、酸性色素では 1.0 以下のことが多い。ところが細胞を固定すると一瞬にして酸性色素も細胞に入ってゆく。とくにコンゴ・レッド (Congo red) は分子が大きいことと相まって、ほとんど絶対に生きた細胞に入ることができない⁸⁾。しかし死細胞には自由に入る。だがこれにも例外がある。たとえば海藻 *Fucus* の卵ではコンゴ・レッドの 0.01% 海水溶液において明らかに生きたままこの色素で染色し、やがてその毒性によって死ぬと、より一層染色度が上がる。こういう事実から、一般にコンゴ・レッドの染色をしらべると、生きた細胞では単に染色度が低いというだけである。この色素は pH4.1 以上では赤、3.9 以下では青色を呈することを利用し、生細胞を pH4.5 のコンゴ・レッド水溶液に入れておき、ほとんど染色がみとめられなくても、この細胞を pH3.5 の液にうつしてみると、細胞内にはコンゴ・レッドの色調変化がおこって薄い青色があらわれる場合が多い。この色調変化によってコンゴ・レッドが生きた細胞内に入っていたのがわかる。また原生動物やイーストの生体染色にコンゴ・レッドが用いられる事実はこの色素が生細胞にも侵入することを示している。そのほか、生きた細胞ではミトコンドリアが Janus green B で青く染色するが、死ぬとこの染色はおこらず、こんどは haematoxylin で染まるようになる。また neutral red と methylene blue との 1:1 混合液に細胞を入れると、生きていれば前者で、死んでいれば後者で染まるという実験も報告されている。

テトラゾリウム還元

細胞が生きているかぎり呼吸しているはずだから、呼吸酵素の活動を detect すれば生死を判別できるであろう。この目的にもっとも簡便に使われるのがコハク酸脱水素酵素の活性をテトラゾリウム塩の還元によって示す方法である。なかでも TTC (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride) は使用法が単純なためによく用いられる。1.0~0.1%, pH7.5 に調製した TTC 水溶液に細胞を入れ、これに少量のコハク酸ソーダを加えると、細胞内では呼吸の TCA サイクルの一部において、コハク酸脱水素酵素によってコハク酸→フマル酸への変化が進行し、そのさいコハク酸から脱離した水素原子 2 個が TTC に受けとられ、赤色の沈殿 formazan をつくること

は常識である。この反応がコハク酸の存在で促進され、マロン酸によって阻害され、37°C pH7~8 で最もよくおこることから、これをコハク酸脱水素酵素の作用と判定できる。死んだ細胞ではこれが見られない。ただしこの場合の死細胞とは、コハク酸脱水素酵素の活性がなくなった細胞という単純な意味にほかならないから、死んでもなお酵素の活性がのこっていればこの反応はおこるところに生死判別の決定的方法とはいえないものがある。

のみならず、さきにのべたメタクロマジーや色素の透過性の場合とちがって、ここでは同一細胞について生→死への変化を連続して観察することはできない。コハク酸を加えた場合、マロン酸を加えた場合、温度、pH などのシリーズについて別々の細胞をテストした結果、酵素の活性を統計的に考察するのみである。なぜなら、1つの細胞を実験に使用すれば、その細胞をもとの状態にもどすことが困難だから、くり返して同一細胞をテストすることができないのである。また細胞内にはしばしばアスコルビン酸があり、これも TTC をよく還元するから、TTC 還元イコール脱水素酵素と考えることには無理がある。そのほか SH, myelin, ケトン, アルデヒド、粘液タンパクなども TTC を還元する細胞内物質である。

むすび

以上のほかに生死判別の物理的方法がいくつかある。たとえば生きた原形質内では粒子のブラウン運動がみられるが、原形質が死ぬと凝固してブラウン運動はおこらなくなる。とはいえ、ではブラウン運動していれば果たして生きているのか、と問われれば解答に困ってしまう。しかし原形質流動はたしかに生死の判別規準となるようである。有名なのはムラサキツユクサ *Tradescantia* の雄しべの毛の細胞、車軸藻の節間細胞などで、そこでは毎秒 10 μ あるいはもっと速く原形質が流れているが、死ぬとこれが止まる。しかし、死ななくても低温、SH 阻害物質その他によって可逆的に流動を支配できるから、流動が止んだからといって死んだとは断定できない場合がある。それどころではない、生から死への変化にあたって、しだいに原形質の粘性が低下してブラウン運動がますます活ぱつになる場合がある⁹⁾。原形質の電気抵抗も生細胞と死細胞とで異なる。たとえば緑藻 *Valonia* では 10~100mv の直流に対して径 20mm の巨大細胞の抵抗は生きてるとき 2000 Ω 、死ぬと 1900~1800 Ω に低下する¹⁰⁾。

そのほかにも生死判別の方法があるが、どの方法によっても完全に生か死かを定めるには困難がある。というよりも、実は徹底した生死判別は論理的に不可能だといった方がよからう。なぜなら、ある方法によって生細胞ではプラス、死細胞ではマイナスがあらわれることから生と死とを分け得ると思われても、それにはあらかじめ別の方法で生死の判定がついていなければならない。たと

例えばある色素が一般に生細胞は染まり、死細胞は染まらないという通則を立てるには「生きていれば染まる」というその「生きている」をどうやって判定するか？である。

このように、生と死とを決定的に判別する方法はないことになる。それというのも、今日の科学では生命の定義がまだ不明確だからである。「生とは死への抵抗である」という Bichat (1800) の有名な定義があるが、これとても「ではその死とは何か」という矛盾を自からの中に含んでいる。生命はタンパク質の存在様式で、その様式とは絶えざる自己更新(メタボリズム)にはかならない、という Engels-Oparin の生命の定義は一応卓越しているが、さりとて、この定義にしたがって直ちに1個の細胞が生きているか否かを判別する方法があるわけではない。それほど生死の区別はむずかしいのである。かといって「生は死にかならない」といっても依然として生と死とが別であることはわかり切っている。どこかに両者の別があるはずである。「生命の概念とは要するに生命現象をありのままに見た場合にわれわれが知覚するものを指している」という Haldane (1931) の生命の定義、「生命は負のエントロピーを食うことだ」という Schrödinger (1944) の定義、生きた状態とは「外に対して開放した系で、この系ではたえず構成材料を交代しつつも、ある定常な流動平衡を保つ」という Bertalanffy (1949) の定義、そのほか既成のどの定義をもってきても、生と死とを明確に判別できるものではないのが今日のありさまである。

生を x 、死を y とすると、両者いずれもある物理化学的パラメーターの函数で、パラメーターの数値が増減すると x も y もその値を変じ、 x が増加すると y が減じ、反対に y が増加すると x が減じて、 x または y がある限界をこえたところで初めて人間はこれを生または死と気づくのかかもしれない。そうだとすると、生と死は程度問題で、どんな細胞もある程度は生きており、またある程度は死んでいるといえる。したがって生きている程度は $i = 100 \times x / (x+y)$ という生命指数で表現され、 $i > 50$ のときは生、 $i > 50$ のときは死と実用的に規定することも可能であろう。だがそのパラメーターが何であり、 x および y が実際に何であるかが大問題である。しかし、この考えをうらがきする事実はある。たとえばコンブ *Laminaria* の細胞の電導率を測定すると、イオンに対する細胞の透過性が死によって高まるが、その程度がある段階をこえると不可逆的死がおとずれ、それをこえない間は細胞はもとの状態へ回復できるという連続的死滅の例である。

こういうわけで、1872年にライプチヒで Du Bois Reymond が行なった自然認識の限界に関する名講演の結論、つまり、生命の本性については Ignoramus (われらは知らず) そしてまた今後も Ignorabimus (われらは知らないであろう) という有名な命題は、今日の科学に

ついてはまだ打破されていないのである。だがついには、これが過去のものとなり、とりあえず単に表面的な現象をとらえるだけでもよいから、生きた原形質と死んだそれとを簡便に識別できる一般の技術が開発されることはおそらく可能であり、私たちはそれを望んでいる。

文 献

- 1) Lison, L.: *Protoplasma* **24**, 453 (1953).
- 2) " " : *Histochimie et Cytochimie Animales*, 3 ed. 今泉正訳, 白水社 P. 255 (1960)
- 3) Michaelis, L.: *Biol. Bull.* **87**, 155 (1944).
- 4) " " : *Cold Spr. Harb. Symp.* **12**, 131 (1947).
- 5) Jorpes, E. et Bergstrom, S.: *J. Biol. Chem.* **118**, 447 (1937).
- 6) Pearson, B. H.: *Acta Soc. Med. Upsal* **58**, 1 (1953).
- 7) Landsmeer, J. M. F.: *Acta Physiol. Pharmac. Neerl.* **2**, 112 (1951).
- 8) 山羽俊兵: 透過性と生体染色, 養賢堂 (1934) P. 140
- 9) De Robertis, E. D. P.: *General Cytology* 2nd ed. 鶴上三郎訳, 朝倉書店 (1954) P. 417.
- 10) Blinks, L. R.: *J. Gen. Physiol.* **13**, 361 (1930).

【編 集 後 記】

人のうわさも75日というが15年たってもなお世人の好奇心を刺戟しているのは下山事件である。他殺か自殺かをめぐって、学界の大問題をおこして今日までできたが7月5日で法律上では時効となった。法務省は時効直前の6月25日東大法医学教授古畑種基博士および東大薬学部衛生裁判化学教授秋谷七郎博士らの他殺鑑定書を衆議院法務委員会の要求で発表したので都下の各新聞は一斉にまた下山事件を報道した。

偶然とはいいい両博士の他殺鑑定公表の前日、編集子は元科学警察研究所員の永田秀男(薬剤師, 特許弁理士)君の案内で、古畑種基博士が所長である科学警察研究所(千代田区三番町6)を見学した。四階の近代建築に4部2課11研究室があり、参考資料室、法医、理化学の各研究室を見学し、最後に所長室で古畑先生に紹介された。先生はお年よりずっと若くみえ、しかも沢山の著述をされた頗るエネルギッシュな感じを受けた。先生から「一本の毛は語る」の近著をいただいた。その著書に書かれているように科学警察研究所はその学問的水準を一流大学なみに上げたいといわれているだけに最新の設備と優秀なる新進の技術陣を網羅されており、それぞれ真剣に仕事と取組んでおられたのには自ら頭が下がった。因に永田君の骨折りで本誌次号から古畑所長の新しい血液型についての論文が掲載することになっています。御期待下さい。

明治薬大の富松祥郎教授の含窒素共役系ジエンの Diels-Alder 反応は昭和27年から本研究が始められ現在も尚引きつづき研究されている。薬学雑誌にはすでに5報発表され、含窒素複素環の新しい合成法であってアルカロイドの母核として重要なベンツオキノリジンが生成されるので製薬化学の領域では興味ある問題である。教授は本研究によって昭和32年薬学の学位を得られた。Diels-Alder 反応は合成に広く応用されている重要な反応であって、1928年ドイツで Otts Diels 教授と、その学生 Kurt Alder によって発見された。これが化学に重要な寄与をしたことは1950年に Nobel 賞が2人の発見

者に贈られことからわかる。この反応は共役ジエン類に $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}$ 基を含む化合物を混合させると自発的に環状化合物を作る。これをジエン合成 diene synthesis という。

富松教授はこのジエン合成を含窒素共役系ジエンに応用されたので本誌には3回にわたって連続執筆されることになっている。有機化学合成の御参考にしていただきたい。(稲垣)

新 発 売

血清コレステロール測定用(分析表付)

氷 酢 酸 500 g
硫 酸 500 g

この氷酢酸・硫酸はきわめて高純度に精製してあります。血清コレステロール測定用には勿論、高純度を要求するすべての分析にも御使用できます。

発売元  中外製薬株式会社

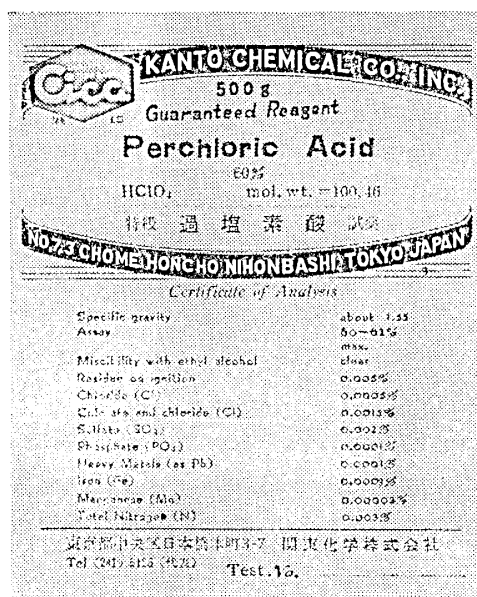
東京都中央区日本橋本町3丁目3番地

製造元  関東化学株式会社

東京都中央区日本橋本町3丁目7番地

(御要望によりパンフレットを御送りいたします)

新 方 式 紹 介



Certificate of Analysis とは

1964年度から計画生産の軌道にのった製品は品質を実際の検査成績によって表示することに致しました。それは JIS あるいは自社規格によって検査した成績がレッテルに Certificate of Analysis という新しい用語の下に表わされています。従って御使用に際して従来より一層御便宜のことと思います。

この新方式の表示を今後ますます整備拡大いたしますので、何卒 Certificate of Analysis 試薬に御注目下さって御指定御愛用願います。

関 東 化 学 株 式 会 社

本 社 東京都中央区日本橋本町3丁目7番地
電話 (241) 5126~9・2882・4958・5059・5502

工 場 日本工業規格表示許可工場
埼玉県草加市稲荷町2048番地
出張所 札幌市北九条東1丁目
北九州市戸畑区天神町2丁目76番地
連絡所 東京都大田区大森町7丁目236番地
東京都北多摩郡国分寺町1392
千葉市今井町268番地
大宮市東町2丁目17番地
静岡県三島市久保町1510番地

電話 草加 (2) 4177~4179
電話 札幌 (71) 0724・1446
電話 戸畑 (88) 3961・3962
電話 東京 (761) 5786 (763) 3070
電話 国分寺 (2) 3489・1935
電話 千葉 (61) 0209
電話 大宮 (41) 9260
電話 三島 (5) 4420

大 阪 関 東 化 学 株 式 会 社

大阪市東区瓦町3丁目1番地 電話大阪 (231) 代表 1672~4

横 浜 関 東 化 学 株 式 会 社

横浜市西区桜木町7丁目42番地 電話横浜 (44) 5784・5796

昭和三十九年七月十日 発行

発行者

関 東 化 学 株 式 会 社

ケミカルタイムス編集委員会