

1966 No. 1

(通巻第 39 号)

CHEMICAL TIMES

目 次

(通巻ページ)

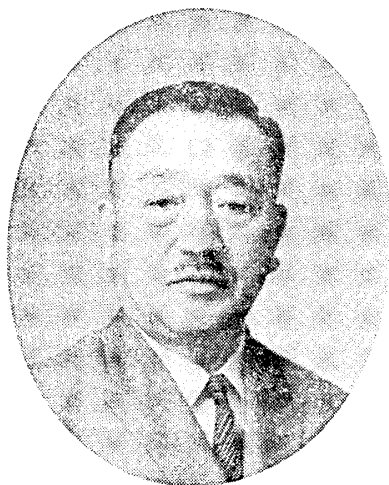
年 頭 の ご 撻 挨.....	関 東 化 学 株 式 会 社 社 長	大 塚 内 蔵.....646
工 業 分 析 化 学 随 説 (XI)	東 北 大 学 教 授 理 学 博 士	加 藤 多 喜 雄.....647
o-Toluidine 硼酸試薬による 血糖の迅速微量測定法	東 北 大 学 助 教 授 理 学 博 士 札幌医科大学付属病院中央検査部 生化学部門主任 理学博士 医学博士	武 井 信 典.....651
薬 物 代 謝 (III)	科 学 警 察 研 究 所 化 学 研 究 室 主 任 研 究 官 医 学 博 士	佐 々 木 禎 一.....655
末 摘 花.....	昭 和 大 学 病 院 歯 科 医 長 医 学 博 士	丹 羽 口 徹 吉.....657
制癌アルキル化剤とその定量法.....	明 治 薬 科 大 学 薬 学 博 士	園 江 稔.....658
アクチノマイシンDの化学と生物学 (II)	山 形 大 学 助 教 授 理 学 博 士	丸 山 幸 三.....661
アメリカ国立標準局 (NBS) を訪れて	関 東 化 学 (株) 草 加 工 場 検 査 部 長	中 沢 信 午.....663
トリコロミン酸とイボテン酸の化学.....	東 北 大 学 医 学 部 教 授 薬 学 博 士	根 本 美 明.....666
		竹 本 常 松.....666

KANTO CHEMICAL CO., INC.

昭和四十一年一月一日 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



年 頭 の ご 挨拶

関東化学株式会社 大 塚 内 蔵

1966年の新春を迎えるに当たり謹んで新年のお慶びを申し上げます。

省みまするに昨年は、我が国の政治、経済、外交、学術、産業の多方面に亘り数多くの教訓を得た年でありました。一昨年来景気回復を期する国民の希望も空しい低迷のまま新年を迎えたのでありますが、真の経済繁栄は、政府施策や他力に依存することより、個々の企業努力こそが最重要課題であることを切実に体験した次第であります。

折りも折り、朝永博士のノーベル賞受賞のニュースは国民的自覚を昂揚し、先進国に伍する自信を一層強め景気低迷の中に大きな曙光を投じた感が致します。

当社も去る11月、創業20周年の記念すべき日を迎えてささやかな記念行事を催しましたが、お取引先きを始め朝野多数のご列席を得、また数多くのご祝辞と共に将来に対するご懇篤なるご訓誡を賜りました事は全社員一同等しく感激致している処でございます。

一口に20周年とは申しますものの戦後の混乱期から数次の困難な試練を耐え抜いて、関東化学の今日有るを得ましたのは、ひとえに全国の鹿印試薬ご愛用者各位の当社に対する御引立の賜ものと

深く感謝申し上げます。

御蔭様で草加工場の整備3ヶ年計画も最終年を迎え、新鋭設備も新に稼働を開始し、当社業績の一層の好転に大きく寄与致しております。又、北海道に於きましても、札幌工場の新增築工事が新春操業開始を目標に急ピッチで進められております。

以上の社内整備を基礎に昨年は、EL規格製品の発売と臨床検査試薬の拡売に成功し、関係方面から多大のご好評を戴きましたが、今年も一層品質管理の強化と新製品開発、並びにアフターサービスの改善に努力を続ける所存でございます。ケミカルタイムスも新版刊行以来4年目を迎える事になりましたが、此の間貴重な玉稿をお寄せ下さいました諸先生に厚く御礼申し上げます。

なお、引き続き内容の充実と編集の強化に一層の努力を続けて愛読者のご期待に副いたいと念願致しておりますので今後共よろしくご助言ご指導の程をお願い申し上げます。

ここにケミカルタイムス1966年第1号を発行するに際し、新年を迎えてご抱負とご希望に燃えられる皆様のご健康とご多幸を祈り一言ご挨拶を申し上げます。

工業分析化学随説 (XI)

溶媒抽出法における溶媒 (II)

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

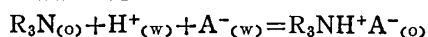
前号においては金属イオンの溶媒抽出系が概ねキレート抽出系およびイオン対抽出系に大別出来ることを述べ、更にキレート抽出系におけるいわゆる非活性溶媒の働きについて述べた。これに引き続いて本号ではイオン対抽出系における非活性溶媒の影響についてこれまでに知られていることを紹介する。

現在の所、イオン対抽出系に属する抽出反応の中で、工業的あるいは分析化学的に利用されているのは主として中性有機リン化合物、エーテル、ケトン等を抽出溶媒として用いるいわゆるオキソニウム抽出反応系および高分子アミンによる抽出系であり、また、非活性溶媒の影響も何れもこの2つの系について検討されている。

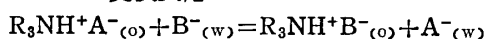
I 高分子アミン抽出系における溶媒

大きなアルキル基を持った分子量約 250 ~ 600 の一級、二級あるいは三級アミンは次に示すような反応により、水溶液より酸あるいは金属イオンを抽出することはよく知られていることである。

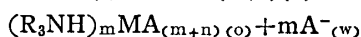
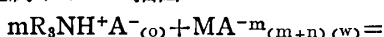
酸の抽出反応



アニオンの交換反応

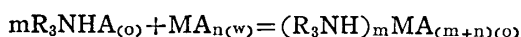


金属イオンの抽出



(アニオンの交換反応機構によることを示す)

あるいは



(アルキルアンモニウム塩と中性金属錯体による高次錯体生成反応機構によることを示す)

高分子アミンが示すこれらの抽出反応は工業的にも、また分析化学的にも酸の回収、あるいは金属イオンの分離、精製に広く応用されている。

実際の利用に当っては高分子アミンが非常に粘度の高い液体であるために適当な希釈剤で希釈して用いられるが、希釈剤が単に高分子アミンの希釈の役割を果しているばかりではなく、抽出反応系に大きな影響をおよぼしている。即ち、いわゆる非活性溶媒が反応系に対し非活性ではないことがかなり知られている。

まず Coleman 等¹⁾ は種々の一級、二級および三級アミンによる硫酸酸性溶液からの UO_2^{2+} の抽出におよぼ

す希釈溶媒の影響を検討し、多くの興味ある結果を得ているが、その一例を表 I に示す。

Table I Effect of amine structure and diluent on uranium extraction.

A			
	di-n-decylamine	di(tridecyl)amine	Amine S-24
kerosene		80	110
benzene	90	120	20
chloroform	150	40	2

B			
	methyl-di-n-decylamine	tri-n-octylamine	tris (tridecyl)amine
kerosene		30	140
benzene	50	150	60
chloroform	50	5	0.3

1 M SO_4^{2-} , pH 1, 0.004M $U(VI)$, phase ratio=1, 0.1M amine solution.

この結果から Coleman 等は次のように述べている。

表 I から直鎖状のアルキル基を持った di-n-decylamine の酸性硫酸塩は kerosene に不溶のため溶媒として用い得ないが、chloroform 溶媒のときの方が benzene 溶媒のときより UO_2^{2+} の分配比は高い。これに対し、窒素原子から離れた所に側鎖を有するアルキル基のついた di-(tridecyl)amine による UO_2^{2+} の分配比は benzene > kerosene > chloroform の順に希釈溶媒により変化し、更に、同じく二級アミンではあるが、窒素原子に接近した位置に側鎖を有するアルキル基のついた bis-(1-isobutyl-3,5-dimethyl-hexyl)amine (Amine S-24) を用いるときは kerosene > benzene > chloroform の順に希釈溶媒により UO_2^{2+} の分配比は変化する。このように Coleman 等はいわゆる非活性溶媒が金属イオンの分配比に大きな影響をおよぼし、しかもそれが活性抽出溶媒により異なるという結果を得た。そして更に表 II の結果と関連して次のように述べている。

直鎖状のアルキル基のついた三級アミン methyl-di-n-decylamine による kerosene, benzene, chloroform 各溶媒における UO_2^{2+} の分配比はそれぞれ直鎖状のアルキル基のついた二級アミン、および対称性三級アミンである di-n-decylamine および tri-n-octylamine が各溶媒中で示す値の中間の値を示す。また、窒素原子から離れた位置に側鎖を持ったアルキル基のついた二級アミン di-(tridecyl)amine による UO_2^{2+} の分配比の溶媒による変化と直鎖状アルキル基のついた対称性三級アミン tri-n-octylamine のそれとは類似している。同様のこと

が窒素原子に近い位置に側鎖を持ったアルキル基のついた二級アミン Amine S-24 と窒素原子から離れた位置に側鎖のついたアルキル基を持つ三級アミン tris(tridecyl)amine の示す UO_2^{2+} 分配比の溶媒による変化の間にも認められる。

これらの結果から Coleman 等は各級アミンのアルキル基の側鎖の増加は金属イオンの抽出に対し悪影響を示すが、一方、溶媒との適合性を増すものとし、測定結果はこれらの影響の総合結果を示すものとしている。そしてアミンは溶媒と chloroform > benzene > kerosene の順で会合するものと推定しているが、その詳細については触れていない。この外 Coleman 等は種々の N-benzyl-alkylamine その他による抽出反応に対する溶媒の影響についても述べているが、ここでは省略する。

一方、Taube は種々のイオン対抽出系における溶媒の影響について検討しているが、これについては後で述べる。

その後 Good, Bryan²⁾ は種々の一級、二級および三級アミンによる Co^{2+} の塩酸酸性溶液からの抽出における溶媒の影響を検討し、溶媒により Co^{2+} の分配比が著しく異なることを明らかにしている。その一例を表Ⅱに示す。

Table II Extraction of cobalt (II) by tri-n-hexylamine in various solvents

Solvent	Solvent dielectric constant	% Extraction of Co(II) from 8.5 M HCl
chloroform	4.81	29.2
bromoform	4.39	29.2
trichloroethylene	3.4	91.4
bromochloromethane	8.4	91.6
1,2-dichloroethane	10.65	93.4
anisole	4.33	96.0
1-bromo-3-chloropropane	8.0	96.4
nitrobenzene	35.74	97.1
bromocyclohexane	7.92	97.3
1-bromo-2-chloroethane	7.14	98.1
benzene	2.28	98.8

表Ⅱから判るように tri-n-hexylamine による Co^{2+} の抽出率は、同一条件においても溶媒によりかなり異なり、これらの値は溶媒の透電定数の値とは無関係である。溶媒の中で chloroform, bromoform が特に小さい抽出率を、これに次いで trichloroethylene, bromochloromethane が小さい値を示しているが、これについては Good 等はアミンの窒素と溶媒の水素の間に水素結合を起しているためとし、赤外部吸収スペクトルによる若干の検討を加えている。

一方、Siekierski 等³⁾ は tri-n-butylamine (TBuA), tri-benzylamine (TBA), tri-n-hexylamine (THA) および tri-n-octylamine (TOA) による Fe^{3+} の塩酸酸性溶液からの抽出における溶媒の影響を検討している。

まず Siekierski 等は各アミン溶液による Fe^{3+} の分配比 k が、溶媒相におけるアミン塩酸塩の活量 a と $\text{R}_3\text{NH}^+\text{FeCl}_4^-$ 錯体の活量係数 y_c の間に $k = K a/y_c$ なる関係にあることを導き、適当な標準を設けて種々の溶媒中における各値を求め、これより各アミンの抽出反応に対する溶媒の影響を次のように説明している。

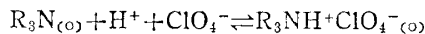
炭素数の少ない基を持つ TBuA, TBA においては溶媒相における塩酸塩の活量 a は溶媒により余り変化しないが、錯体の活量係数 y_c は溶媒により著しく異なり、また、 y_c は溶媒の双極子能率と一定関係にある。一方、炭素数の多い基を持つ THA, TOA においては a , y_c 共に溶媒の物理的性質の変化による影響を同様に受け、 y_c が溶媒の溶解パラメーターと一定関係にあることが認められる。抽出実験結果からは Fe^{3+} の分配比は TBuA, TBA によるときは溶媒により著しく異なり、n-heptane, cyclohexane のような脂肪族系炭化水素を溶媒とするときは Fe^{3+} は殆んど抽出されないが、芳香族系炭化水素溶媒系では大きな分配比を示す。一方、THA, TOA 抽出系においては溶媒による変化は比較的少ないことが知られた。

これらの結果から Siekierski 等は TBuA, TBA 抽出系においては錯体と溶媒間の双極子能率による相互作用の大小が Fe^{3+} の分配比に直接影響するため、溶媒により分配比が著しく異なるものとし、一方、THA, TOA 抽出系においては溶媒のアミン塩酸塩および錯体に対する分散力が大きな影響をおよぼすが、その傾向が同一であり、溶媒による塩酸塩の活量 a 、錯体の活量係数 y_c の分配比におよぼす影響が $k = K a/y_c$ なる関係式より明らかなように互にその変化を打ち消すように働くために、この系においては溶媒による分配比の著しい相違が起らないものとしている。

次に、Good 等と同様に chloroform 溶媒のときは何れのアミンを用いても Fe^{3+} の分配比は著しく低いことを認め、これに対しては Siekierski 等は chloroform の水素とアミンの間に水素結合を起しているためとはしているが、アミンの窒素が既に水素イオンと結合しており、窒素と水素間の水素結合は起り得ず、 $\text{R}_3\text{NH}^+\text{Cl}^-$ の塩素との間に $\text{R}_3\text{NH} \cdots \text{HCCl}_3$ の形で示される結合をしているものと考えており、Good 等とは異なる考え方をしている。

最近 Bucher, Diamond⁴⁾ は tri-laurylamine (TLA) による過塩素酸の抽出に対する芳香族系炭化水素溶媒の影響を検討し、イオン対 $\text{TLA} \cdot \text{HClO}_4$ の多量体化の起

らないような低濃度域における



の抽出反応の平衡定数Kとして表Ⅲを示している。

Table Ⅲ Comparison of order of extraction constants and dielectric constants

Solvent	K	Dielectric constant
triethylbenzene	2.4×10^4	2.26
tetrachloroethylene	3.3×10^4	2.30
trimethylbenzene	1.8×10^5	2.28
benzene	3.7×10^5	2.28
chlorobenzene	4.2×10^7	5.62
anisole	1.2×10^8	4.33
o-dichlorobenzene	1.5×10^8	9.93

これより Bucher 等は大体において透電恒数の大きい溶媒を用いたとき程大きな平衡定数を示すことを指摘し、更に、anisole($C_6H_5OCH_3$)が透電恒数の値に比し大きな平衡定数を示している点については次のように述べている。 R_3NH^+ イオンの水素の溶媒分子との静電的、あるいはより化学的相互作用の強い程、即ち、水素の静電的、あるいはより化学的溶媒和の傾向の高い程、その溶媒における酸抽出反応の平衡定数は大となる。そして芳香族系炭化水素溶媒においては核の持っている π 電子がこの水素とのより化学的結合に関与しているが、anisoleにおいてはこの π 電子による結合がメトキシ基の存在により強められると共に、塩基性のエーテル結合の酸素もこのより化学的な結合に関与するために特異的に大きな平衡定数を示す。

次にアミン塩は高濃度域においては溶媒相において多量体化することが知られているが、芳香族系炭化水素溶媒系ではこの傾向の低いことを認め、これは先に示したような水素の静電的、あるいはより化学的な溶媒和により溶媒相においてアミン塩の単量体が安定化されたためとしている。そして、trimethylbenzene, triethylbenzene 溶媒系で benzene 系に比し低濃度域で多量体化の起るのはメチル基およびエチル基が π 電子による結合を立体的に阻害し、溶媒和による単量体の安定化が低められているためと説明している。

II オキソニウム抽出系における溶媒

オキソニウム抽出系においては抽出溶媒自体の変化に基づく酸あるいは金属イオンの分配比の変化は非常に詳しく検討されているが、希釈溶媒の影響についてはあまり知られていない。

Siekierski⁵⁾ は tri-n-butylphosphate (TBP) による金属イオンの硝酸酸性溶液からの抽出反応が、



で示されるときは水相組成が一定のときは金属イオンの

分配比kが溶媒相における TBP の活量aおよび錯体 $M(NO_3)_n xTBP$ の活量係数 y_c と $k = K a^n / y_c$ なる関係にあることから、kにおよぼす a, y_c の影響を種々の溶媒系について検討し、次のような結果を得ている。

まず5% TBP 溶液における TBP の活量は i, 脂肪族系炭化水素, ii, 置換基を持った脂肪族および芳香族系炭化水素, iii, chloroform および bromoform の順に小さくなり、haloform 溶媒系で活量が特に小さくなるのは溶媒が TBP と水素結合を起すためと考えられる。活量と溶媒の双極子能率、透電恒数のような物理化学的性質の間には比例関係は成立しないが、溶媒の溶解パラメーターの小さい程 TBP の活量は大きくなっている。Eu³⁺, Th⁴⁺, 硝酸の分配比は概ね TBP の活量と同様に溶媒により変化するが、その差は小さい。次にkおよびa(従って溶媒相における TBP の活量係数 y_s) の測定値より上記関係式を用い、適当な基準を設けて金属錯体の溶媒相における活量係数 y_c を求め、これが溶媒により y_s と比例的に変化することを認めた。以上の結果より、抽出溶媒と生成する金属錯体の希釈溶媒との相互作用の差の大きい程抽出反応における希釈溶媒の影響は大きくなるとし、TBP 抽出系におけるように相互作用が分散力あるいは弱い双極子に基づくものであるときは、希釈溶媒と抽出溶媒および金属錯体間の相互作用は希釈溶媒により同様に変化するためにその差に著しい変化を起さず、従って、希釈溶媒の影響が大きく現われないと説明している。そして、抽出溶媒あるいは金属錯体が著しく極性の強い場合、あるいは何れか一方が希釈溶媒と水素結合等により結合を起すような場合には希釈溶媒の影響は大きくなるものと結論している。

一方 Taube⁶⁾ は Pu(IV), Np(IV), (VI), U(VI) の TBP, tetrabutylammonium nitrate (TBAN), TLA 等による硝酸酸性溶液からの抽出を極性溶媒である chloroform 等と無極性溶媒である benzene, carbon tetrachloride 等の種々の混合比の混合溶媒を用いて検討し、TBP, TLA 抽出系においては benzene, carbon tetrachloride を chloroform で希釈してゆくと金属イオンの分配比は一樣に減少するが、TBAN 抽出系では配分比の極大値を与える混合比の存在すること、TBAN 系では極性溶媒の方が大きな分配比を与えること等を認めている。そして抽出系における希釈溶媒の影響として、

i. 生成する錯体と溶媒の極性による相互作用

ii. 混合溶媒系における溶媒間の極性による相互作用をあげ、後者の相互作用の強いときは生成錯体の溶媒相への移行に必要な溶媒相における空孔生成に要するエネルギーは大となるとし、また、極性～無極性混合溶媒系における透電恒数が両溶媒のモル分率と直線関係になく、極大値を示すことから、混合溶媒系における空孔生

成に要するエネルギーも同様であろうとし、溶媒抽出系における希釈溶媒の影響を次のように論じている。

a. 生成する錯体が大きな双極子能率を持ち、その構造があまり大きくない場合〔M(IV)のTBANとの錯体〕はchloroformのような極性溶媒の方が錯体と極性により相互作用を起すため抽出は容易に起る。また、極性溶媒に無極性溶媒を加えてゆくと極性溶媒間の相互作用による結合が次第にゆるめられてゆくために空孔生成に要するエネルギーが小となり、ある混合比までは抽出はより容易となり、分配比は極大値を示すようになる。

b. 錯体の双極子能率が小で、大きな構造をもつ場合〔M(IV)のTLAとの錯体〕は空孔生成因子が支配的で、従って、無極性溶媒の方が分配比は大となり、混合溶媒系では分配比は極大値は示さない。

c. 双極子能率が小さく、構造も小さい場合〔M(VI)のTBPとの錯体〕は分配比はchloroform < carbon tetrachloride < benzeneの順に増加するが、その差は大きくない。benzeneが最大の分配比を示すのはbenzene

の感応双極子により錯体と相互作用を起し得るためである。

d. 錯体が無極性で、構造も上記の例の中で中間的な場合〔M(IV)のdi-n-butyl phosphateとの錯体〕は空孔生成因子のみにより支配され、分配比はchloroform < benzene < carbon tetrachlorideの順となる。

以上のようにイオン対抽出系における希釈溶媒はいわゆる非活性溶媒ではなく、抽出率に大きな影響をおよぼすことが知られているが、その作用の本質も色々な観点から検討され、説明されているので、最適溶媒の選択も可能な場合が少なくない。

以上、抽出反応系を大きく二分し、それぞれの系における溶媒の影響について紹介した。

文 献

- 1) C. F. Coleman, et al : Ind. Eng. Chem., **50**, 1756 (1958)
- 2) M. L. Good, S. E. Bryan : J. Inorg. Nucl. Chem., **20**, 140 (1961)
- 3) W. Smulek, S. Siekierski : ibid., **24**, 1651 (1962)
- 4) J. J. Bucher, R. M. Diamond : J. Phys. Chem., **69**, 1565 (1965)
- 5) S. Siekierski : J. Inorg. Nucl. Chem., **24**, 205 (1962)
- 6) M. Taube : ibid., **12**, 174 (1959), **15**, 171 (1960)

純 炭 化 水 素 類

品位 99.5% 標準.....容量 25 g

品位 98%.....容量 250 g, 25 g

品 名	沸点(°C/760mm)	比重(d_4^{20})	屈折率(n_D^{20})
n-ヘキサン	C ₆ H ₁₄ 68.8	0.6594	1.3750
n-ヘプタン	C ₇ H ₁₆ 98.4	0.6837	1.3877
n-オクタン	C ₈ H ₁₈ 125.5	0.7027	1.3975
n-ノナン	C ₉ H ₂₀ 150.0	0.7180	1.4058
n-デカン	C ₁₀ H ₂₂ 174.0	0.7299	1.4117
n-ウンデカン	C ₁₁ H ₂₄ 195.8	0.7404	1.4171
n-ドデカン	C ₁₂ H ₂₆ 214.4	0.7492	1.4216
n-トリデカン	C ₁₃ H ₂₈ 234.0	0.7567	1.4254
n-テトラデカン	C ₁₄ H ₃₀ 253.0	0.7632	1.4289
n-ペンタデカン	C ₁₅ H ₃₂ 268.0	0.7688	1.4320
n-ヘキサデカン	C ₁₆ H ₃₄ 287.9	0.7741	1.4347
n-ヘプタデカン	C ₁₇ H ₃₆ 160/11mm	0.7767(22°C)	1.4356(25°C)
n-オクタデカン	C ₁₈ H ₃₈ 180/15mm	0.7768(28°C)	1.4368(28°C)
標準燃料 容量 500 g			
ヘプタメチルノナン	C ₁₆ H ₃₄ 246.0	0.7850	1.4399
イソドデカン	C ₁₂ H ₂₆ 177.0	0.7495	1.4217
吸収スペクトル用純溶媒 容量 500 g			
イソオクタン	C ₈ H ₁₈		
シクロヘキサン	C ₆ H ₁₂		

製造元 関東高压化学株式会社

発売元 関東化学株式会社

(価格をご照会下さい)

『o-Toluidine—硼酸試薬による血糖の迅速微量測定法』

札幌医科大学附属病院中央検査部，生化学部門主任

理学博士 医学博士 佐々木 禎 一

臨床化学検査の分野での最近の新しい化学検査種目と方法との増加は目覚ましいものがある。特に体液中の酵素活性の変動を鑑別診断の助けとする酵素診断法と，分析法の発展に伴う各種測定法の微量化とは実に著しい進歩を示している。

しかし従来古くから行われて来た各種検査法が持っている診断的意義は決して等閑視されているわけではなく，むしろ種目によっては益々繁賑に使用されている。例えば，ここで新しい迅速簡易な微量測定法を紹介する血糖の検査などは，古くから行われていた診断上最も重要な検査種目の一つであり，これは決して単に糖尿病の診断の目的にのみ用いられるものではない。体内の糖代謝は自律神経系及び内分泌系の調節，支配下にあるので，その変動を知ることが両系疾患の診断並びに経過の判定の参考にするという様にその検査対象は広範囲の領域に亘っているのである。

この目的で，以前から実に多数の血糖測定法が知られている。糖の定量法の殆んどがこの目的に利用されて来たといっても決して過言ではない。

しかし，われわれが臨床の要望に応じて血糖の測定をする際にどんな方法を用いるかという場合，種々の要因により左右され，実用して首肯出来る方法の数は自ずと限定されてくる。臨床検査の分野から，よい測定法としての条件を満たすには，その反応自体の化学的性状，例えば正確度，精密度や再現性といった点のみならず，簡易性（操作段階が少なく，特殊な試薬や器具を必要とせず，普及し易いという性状），迅速性，他の生体内の混在成分や投与薬剤の影響を受けない特異性などが重要な因子となることはもちろんであり，更にその際夫々の検査室の事務内情によって測定法の評価基準は左右されるものである。

実際には血糖検査件数は，外来，入院患者の如何を問わずかなりの数にのぼり，更に糖質負荷試験（一定基準量の糖質を服用せしめ，径時的に尿中および血中の糖の変動を調べる）も併行すると全体では実に夥しい件数となり，検査技師数の足りない現時点では，その結果多くの病院で心ならずも検査受付の制限を行なっているのが実情である。われわれの検査部門でもこの例に洩れず多くの血糖検査をかかえて已むなく受付制限をし，現実に

は迅速な客観的なデータから診断に寄与すべき検査本来の姿からかなり遠のいた次元で困迷しているのが現在の姿である。

この解決策の一つとして，われわれは検査部門の立場からより迅速に行いうる血糖検査法を探して来たが，最近山口医大の佐々木により開発された o-Toluidine—硼酸法（以下O-T-B法）¹⁾ という測定法が，少くとも現在最も上記の希望に則している方法であろうとの結論に達し，既にこの方法を日常のルーチンの検査に採用している。その結果，検査の迅速性，簡易性という点から検査に要する時間が大巾に節減され，受付制限も近く全廃出来るという段階に到達し得たので，この測定法の概要を紹介し，併せてわれわれが種々検討して得た成績も簡単に述べてみることにする。

1. 主な血糖測定法

まず血糖測定法として従来主に用いられて来たものをまとめて次に示した。

1) 概測（半定量）法とそのセット製品名：

a. Crecelius-Seifert の picric acid 法——エルマ階段式血糖比色計，Zeiss-Ikon 血糖比色計。

b. Benedict 反応²⁾によるもの——Dextrotest，シノテスト100号，

c. Dinitrosalicylate 法^{3), 4)}——アタゴ簡易血糖定量器

d. Glucose oxidase 法⁵⁾他——Tes-tape, Dextrostix の他に尿糖用の Clinistix, Uristix, Combistix 等の簡易測定ペーパー。

e. 百瀬法⁶⁾——Dinitrophthalic acid/ K_2CO_3 の錠剤

2) 定量法：

a. Hagedorn-Tensen 法⁷⁾（藤田—岩竹法）⁸⁾

b. Somogyi-Nelson 法（Folin-Wu 法）^{9), 10)}

c. 百瀬法⁶⁾

d. o-Aminobiphenyl 法^{11), 12), 13)}

e. o-Toluidine 原法^{14), 15), 16)}

f. Glucose oxidase 法⁵⁾，他

g. Autoanalyzer を用いる方法（Hoffman 法^{17), 18)}，百瀬法¹⁹⁾，o-Aminobiphenyl 法¹⁹⁾，o-Toluidine 法²⁰⁾）。

h. その他の比色定量法

①アルカリ性溶液中で糖の還元力を利用するもの (Hagedorn-Jensen 比色定量法²²⁾, 3,4-Dinitrobenzoic acid 改法²²⁾, 3,5-Dinitrosalicylate 法^{3), 4)}).

②酸性溶液中で生ずる糖の分解産物を発色に利用する方法 (濃硫酸法²³⁾, Thymol 法^{24), 25), 26)}, Phloroglucinol 法^{25), 26)}, Furfural 法^{25), 26)}, p-Aminobenzoic acid 法²⁵⁾, Anthrone 法^{27), 28)}, 他, 5-Oxytetralone 法²⁹⁾).

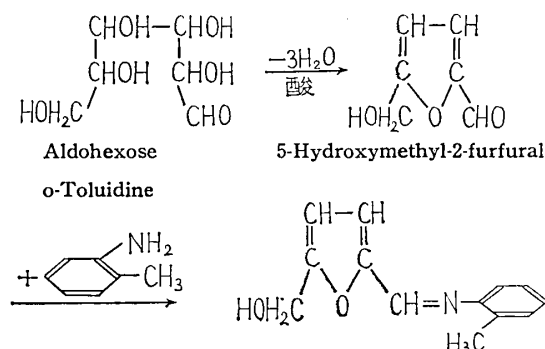
3) その他の特殊定量法:

薄紙 Chromatography, 薄層 Chromatography, ガス Chromatography, Polarography, イオン交換樹脂法, 電気泳動法, 旋光度法, 赤外分析法, 等.

2. o-Toluidine-硼酸法

1) 反応原理:

o-Aminobiphenyl 法^{11), 12), 13)} 等と同じく糖の酸性溶液中で脱水反応後得られた Furfural(5-Hydroxymethyl-2-furfural) に芳香族第一級アミン (o-Toluidine) を作用させて縮合, 発色させる. この青色を 640 mμ で測



定するのが原法^{14), 15), 16)}の反応原理である, この方法は 1959年 Hultman¹⁴⁾が初めて報告し, その後 Hyvärinen & Nikkilä (1962)¹⁵⁾, Dubowski (1962)¹⁶⁾が相次いで追試検討を加え, チオ尿素を試料中に加えて糖の呈色を安定化することに成功してから, 血糖検査法としての価値が認められて来た.

わが国においても玄番ら³⁰⁾により良好な追試成績が報告せられ, 一方糸賀ら³¹⁾は従来の方法の測定値との間かなりの差がある (特に過血糖の場合) こと, および純粋な o-Toluidine が入手しにくいという点から批判的な評価を下している. しかし最近佐々木¹⁾が試薬中に硼酸を添加することにより従来の欠点を是正出来ることを明らかにしたが, この点に関するわれわれの追試の成績³²⁾もかなり満足しうるものであった.

2) 試薬の調整:

a. O-T-B試薬—チオ尿素(G. R.) 1.5 g を氷酢酸(G. R.) 920 ml に溶解し, これに無色の o-Toluidine(G. R.) 80 ml を添加してよく混和する. この混合液の 960 ml を飽和硼酸水溶液 (6.0 g / dl の硼酸水溶液を一晩静置しその

母液を使用) 40 ml と混和する. 褐色ビン中に保存すれば氷室中で半年間は安定である.

b. ブドー糖標準溶液—11.00 g のブドー糖 ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$) を 0.25 g / dl の安息香酸水溶液に溶解して 1,000 ml とする. この原液は 1 年間は安定で, 使用時 H_2O で稀釈して 50, 100, 200 および 400 mg / dl 濃度の各溶液を調製して標準曲線を作製する.

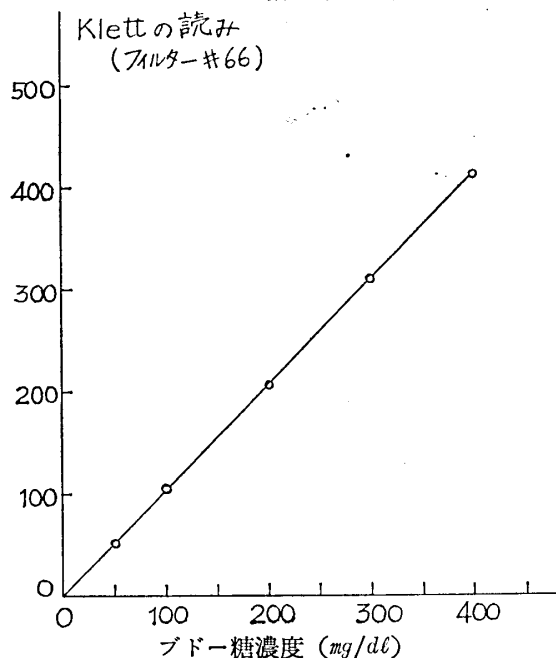
3) 測定操作法:

a. 微量測定法——血清若しくは血漿 0.05 ml を O-T-B 試薬 5.00 ml とよく混和し, 激しく煮沸している浴中で正確に 8 分間加温して発色せしめる. 次いで直ちに冷流水中で 3 分間程冷却後, 30 分以内に発色した青色を 640 mμ 若しくはこの周辺のフィルターで測定比色する. なお対照として O-T-B 試薬を用いて比色計の吸光度を零に調節する.

b. 超微量測定法——小児患者や耳朶採血の場合はヘマトクリット測定用毛細管 (凝固と解糖作用阻止の目的で NaF 水溶液処理をしたもの) に採血し, 遠心分離する. 血漿部分をアンブルカットで切り取りマイクロピペットに正確に 0.02 ml うつし取る. この 0.02 ml の血漿若しくは分離直後の血清を 2.00 ml の O-T-B 試薬入りの小試験管中に正確に吹きこみ, よく混和後煮沸浴中で 7 分間加温し, 以下微量法と全く同じに操作する.

c. 標準曲線の作製——O-T-B 試薬 5.00 ml 宛入った 5 本の試験管の中 4 本に各濃度の標準ブドー糖溶液を, 残りの 1 本に蒸留水を夫々 0.05 ml 宛添加し, 前記微量測定法通り反応, 発色を行い, O-T-B 試薬を対照として 640 mμ での吸光度を測定する. われわれは #66 のフィルタ

[Fig 1] o-Toluidine-硼酸法による
ブドー糖の標準曲線



一を用い Klett-Summerson 光電比色計 (微量セル使用) で測定している。一方超微量測定の場合は、O-T-B 試薬 2.00ml, 蒸溜水および各種ブドー糖標準溶液 0.02ml を用い, 7 分間の加温をする他は総て同じである。標準曲線は少くとも 0~300mg/dl の範囲内では完全に Beer の法則に従う (Fig. 1) 参照)。

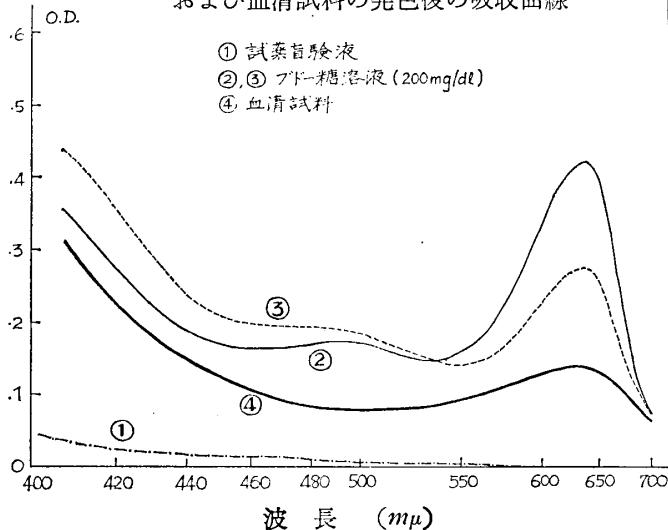
3. O-T-B 法についての検討成績

検討成績は佐々木¹⁾によっても若干報告されておるが、われわれ自体も追試³²⁾に引続き種々の検討成績を得たのでその結果を略述する。

1) 呈色液の吸収曲線:

青色に発色したブドー糖標準溶液と血清試料は [Fig. 2] の様に、640m μ に吸収極大を持つ (Curve ②, ④) が、水を用いた試薬盲験液では Curve ①の様に 550m μ 以上の波長領域で全く吸収はない。一方試薬調製時の G. R. の氷醋酸の不良のものでは③の様に 640m μ での吸

[Fig 2] o-Toluidine-硼酸試薬によるブドー糖および血清試料の発色後の吸収曲線



収は低下し、逆に 400~500m μ 周辺の吸収が増加し発色液も肉眼的にも褐色をおびた青色になる。

2) 加温 (反応) 時間の発色に及ぼす影響:

煮沸浴中 7~8 分間の加温で発色が最大となり、以後若干減少し 20 分以上では一定となる。

3) 呈色の安定性:

30 分以内なら変化はないが、60 分で少々減少し以下漸減する。

4) 他糖類の影響: ^{31), 32)}

Aldohexose (Galactose, Mannose), Glucosamine, Lactose は程度の差こそあれ、皆類似の吸収を示す。Xylose は黄褐色 ($E_{\max}$: 475m μ) に発色し、Fructose, Glucuronolactone, Ascorbic acid と全く呈色反応を示さない点、注目すべき性状であろう。

5) 回収試験:

回収能は高く、超微量測定法の場合で、50~200mg/dl ブドー糖を添加した血清試料での回収率は平均 99% であった。

6) 再現性:

高い再現性を示し (多重測定試験および日々の標準曲線の変動様相の成績から)、二重測定の くい違いは 3% 以内である。

7) 血中 Bilirubin の影響:

0~20mg/dl 濃度の Bilirubin 添加は血糖測定値に殆んど影響を与えず、従って黄疸血清でも正しい血糖値を示す。この点 O-T-B 法の最も優れた性状である。

8) 溶血の影響:

溶血々清では O-T 原法、o-Aminobiphenyl 法より僅かながら低値を示すといわれているが¹⁾、高度の溶血でない限り余り見るべき影響はない³²⁾。

9) 抗凝固剤と解糖阻止剤の影響:

ハロゲン化物 (例えば NaF) の添加は発色に影響を与えない^{1), 30)}。ヘパリン、二重酢酸塩、EDTA, NaF 或いは NaF-Thymol-EDTA 混合末等の抗凝固剤の添加時の影響を調べた結果、NaF 単独添加が多少の溶血をもたらすが良好な成績を示し、かつ解糖阻止作用もあるので、われわれは抗凝固剤として NaF を使用している。

10) 他測定法の比較:

Hagedorn-Jensen 法⁷⁾, Somogyi-Nelson 法^{9), 10)} および o-Aminobiphenyl 法¹³⁾ 等とかなり高い相関を示し (いずれも略々 0.96 程度の相関係数を示す) ているが、実測値は Hagedorn-Jensen 法より 8~12% 程低値を示し³²⁾、Somogyi-Nelson 法や o-Aminobiphenyl 法に近い値を示す。しかし Glucose のみを特異的に酸化して測定する Glucose oxidase 法よりは当然高い値をとる。

4. ま と め

以上最近開発された O-T-B 法と呼ばれる血糖測定法を、実際多くの複雑な制約の中で日常業務として血糖検査を行なっている病院の臨床検査部門の立場から種々の評価を行いながら、その紹介を試みた。

この方法は従来の血糖測定法の持っていた諸欠点をかなり大巾に改善し、われわれの最も望む迅速、簡易な測定法として極めて満足しうる方法であると思う。しかも、精度、正確度からいっても、また実測成績から見ても従来の複雑な熟練を要求される精密法と比べ、優るとも劣らない成績が得られている。除蛋白操作を必要としない点、黄疸血清でも血糖値は影響されない点、Ascorbic acid, Glucuronolactone, Fructose で全く発色しない点、また超微量法に適している点は、特にこの方法のユニークな性状として認めてよいと思う。

われわれは、この測定法を使用して日々の血糖検査業

務の著るしい時間的節減をすることが出来たが、目下更にこの方法の Autoanalyzer による測定法の自動分析化を試みている。

本法の検討に御助言戴いた山口医科大学臨床病理学教室の佐々木匡秀氏、柴田進教授、並びに札幌医科大学中央検査部長福島豁行教授に深甚の謝意を表します。また成績検討に協力された種村邦子、坂本稜子両薬学士に深謝致します。

文 献

- 1) 佐々木 (匡秀) : 臨床病理 12, 434 (1964).
- 2) S. R. Benedict : J. Amer. Med. Assoc. 57, 1193 (1911).
- 3) G. L. Miller : Anal. Chem. 31, 426 (1959).
- 4) A. F. Mohun & I. J. Y. Cook : J. Clin. Pathol. 15, 169 (1962).
- 5) A. Saifert & S. Gerstenfeld : J. Lab. & Clin. Med. 51, 448 (1958).
- 6) T. Momose, A. Inaba, Y. Mukai & T. Shinkai : Chem. Pharm. Bull. 9, 263 (1961).
- 7) H. C. Hagedorn & B. N. Jensen : Biochem. Zschr. 135, 46 (1923).
- 8) A. Fujita & D. Iwatake : Ibid. 242, 43 (1932).
- 9) M. Somogyi : J. Biol. Chem. 160, 61 (1945); 195, 19 (1952).
- 10) N. Nelson : Ibid. 153, 375 (1944).
- 11) T. E. Timell, C. P. J. Glaudemans & A. L. Currie : Anal. Chem. 28, 1916 (1956).
- 12) G. Athanail & P. G. Cabaud : J. Lab. & Clin. Med. 51, 321 (1958).
- 13) S. Shibata : Bull. Yamaguchi Med. School. 8, 209 (1961); 9, 13 (1962).
- 14) E. Hultman : Nature 138, 108 (1959).
- 15) A. Hyvärinen & E. A. Nikkilä : Clin. Chem. Acta 7, 140 (1962).
- 16) K. M. Dubowski : Clin. Chem. 8, 215 (1962).
- 17) W. S. Hoffman : J. Biol. Chem. 120, 51 (1937).
- 18) Technicon : Autoanalyzer Reference Bull. "Glucose, N. 1" (1961); Res. Bull. "Glucose Procedure (Reducing Substance), N. 1" (1962).
- 19) 高原, 水野, 浅野, 佐藤, 山崎, 赤石沢, 三上 : 第11回日本臨床病理学会総会で発表 (於東京), 昭, 39, 11, 22.
- 20) R. Zender : Clin. Chim. Acta 8, 351-358 (1963).
- 21) I. A. Ataulakhanov : Chem. Abstr. 56, 2675 (1962).
- 22) T. Akiyama & M. Noguchi : Ibid. 54, 4268 (1960).
- 23) M. D. Rio & P. G. Perez : Ibid. 59, 7837 (1963).
- 24) W. K. L. Gröger : Clin. Chim. Acta. 6, 866 (1961).
- 25) 柴田, 井内, 笠井, 三島 : 臨床病理 9, 186 (1961).
- 26) 北村 : 医学のあゆみ 28, 344 (1959).
- 27) 茂手木 : 日新医学 32, 95 (1950).
- 28) R. E. Zipf & A. L. Walds : J. Lab. & Clin. Med. 39, 497 (1952).
- 29) T. Momose & Y. Ohkura : Talanta. 3, 151 (1959).
- 30) 玄番, 谷中, 小田喜, 近藤 : 臨床病理 11, 116 (1963).
- 31) 糸賀, 喜瀬, 綿田, 山本 : 臨床病理 12, 156 (1964).
- 32) 佐々木 (順一) : 第 8 回北海道臨床化学分析談話会 (於札幌), 昭, 39, 9, 19.

最高純度を誇る

低炭酸塩

低鉄分

低重金属

Cica 印

水酸化カリウム

水酸化ナトリウム

最高品位

四塩化ケイ素

試用見本および説明書はお申込下さい。大口需要や特殊用途には専任係員を派遣いたします。

医療器具洗剤

シカクリーン MI

洗浄効果

現在医療器具用洗剤として輸入されている商品との洗浄効果の比較試験は次の通りです。同一汚染量の器具に就き、同一条件で完全に洗浄するまでの時間を測定したものです。

品名	濃度	pH	液温	組成	洗浄時間
ヘモゾール (輸入品)	1%	9.6	50°C	りん酸系	1分50秒
シカクリーン	1%	11.2	50°C	珪, りん酸系	1分26秒

(試用見本および説明書はお申込次第お送りします)

1 kg ポリ袋詰

定価 ￥450

製造発売元

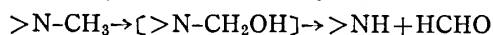
関東化学株式会社

薬 物 代 謝 (III)

科学警察研究所 化学研究室 主任 研究 官 医 学 博 士 丹 羽 口 徹 吉

II 脱アルキル化反応

本反応は一種の酸化的脱アルキル化反応と見られる。すなわち、まず第一段階では、前記の水酸化反応と同様で水酸化アルキル体が生じ、次いでアルデヒドが脱離してこの反応が完結されるものと考えられる。



この脱アルキル化反応の代表的なものとしては N-脱アルキル化反応と、O-脱アルキル化反応があげられる。

(1) N-脱アルキル化反応

N-メチル基を有する薬物は非常に多種にわたるため、本反応の生化学的機構は、かなり古くから研究されていた。発ガン性色素の一種と考えられている、4-dimethylamino-azobenzene (butter yellow) をラットに与えると、p-aminophenol, p-acetamidophenol, p-phenylenediamine, およびその diacetyl 誘導体等が代謝物として尿中に認められている¹⁾。これを化学反応別に見ると、脱メチル化反応、水酸化反応、アゾ結合開裂反応、アセチル化反応で、これらの反応が生体内でおこなわれていることがわかる。また Muller²⁾ 等はラット肝臓の homogenate を用いて、この butter yellow を基質とし incubate すると、脱メチル化反応がおこり、フォルムアルデヒドを生ずることを認めた。この際 Co-factor として、NADPH, glucose-6-phosphate (G-6-P) および酸素が必要である、さらに、Axelrod 一派は、N-メチル基を有するモルヒネ、メタドン、メペリジン等の麻酔剤³⁾ や、エフェドリン⁴⁾、アンチピリン⁵⁾、N-メチル化覚醒剤を基質とし、それらの N-脱メチル化反応に関与する酵素系を詳細に検討した。この結果、この酵素系は多くの哺乳動物の肝 microsomes 中に存し、Co-factor として NADPH および酸素等を必要とすることを立証した。第 I 表にこれらの酵素系の肝臓内分布状態を、第

第 I 表 Intracellular Localization of Enzyme System*

Intracellular Fraction	Formaldehyde formed from (μM)			
	Morp-hine	l-Meth-adone	Mepe-ridine	Ephe-drine
Rat whole homogenate	0.13	0.24	0.30	2.5
Rat microsomes + soluble fraction	0.72	1.10	1.90	2.0
Rat nuclei	0.00	0.00	0.00	0.4
Rat mitochondria	0.00	0.00	0.00	0.0
Rat microsomes	0.00	0.00	0.00	0.0

Rat soluble fraction	0.00	0.00	0.03	0.0
Rat microsomes + nuclei + sol. frc.	0.30	0.19	0.34	
Rat microsomes + heated nuclei + soluble fraction	1.10	1.50	2.70	
Rat mitochondria + microsomes + soluble fraction	0.15	0.46	0.46	
Rat heated mitochondria + microsomes + soluble fraction	0.62	1.20	2.20	

* Incubation の条件: 500mg のラット肝臓より作られた各 fraction の homogenate + 10μM 基質, 37°C, 2 時間。

第 II 表 Requirements for the Enzymatic N-Demethylation*

Cofactors	Formaldehyde formed from (μM)			
	Morp-hine	l-Meth-adone	Mepe-ridine	Ephe-drine
Complete system**	0.9	1.2	1.8	1.3
NADP omitted	0.0	0.3	0.0	0.1
NAD substituted for NADP	0.0	0.3	0.0	0.2
Oxygen omitted	0.0	0.0	0.0	0.2

* Incubation の条件: 37°C, 2 時間。

** Complete system: 500mg のラット肝臓より得られた microsomes および soluble fraction, NADP 0.1~0.2μM, Nicotinamide 50μM, MgCl₂ 25μM, Semicarbazide 100μM, 0.5M phosphate buffer (pH 7.4) 1 ml。

II 表、第 III 表に Co-factor に関する実験例を示す。酵素の活性度は脱メチル化反応によって生じたフォルムアルデヒドを定量することによって測定された。

この表に見られるように、麻酔剤の脱メチル化反応の酵素系は肝 nuclei および肝 mitochondria 中の熱に不安定な、ある factor によって阻害を受ける。

soluble fraction 中に NADP を還元し NADPH とする G-6-P および G-6-P dehydrogenase が含まれているものと考えられる。

第 III 表 Requirement for NADPH*

Additions	Formaldehyde formed (μM)			
	Morp-hine	l-Meth-adone	Mepe-ridine	Ephe-drine
NADP 3μM	0.0	0.0	0.0	0.1
NADPH 3μM	0.4	0.7	0.9	0.2
Soluble fraction + NADP 0.2μM	0.7	1.7	1.7	1.7

* Incubation の条件: ラット肝臓 500mg より得た microsomes, MgCl₂ 25μM, Nicotinamide 50μM, Semicarbazide 100μM, Phosphate buffer (pH 7.4) 1 ml, 37°C, 2 時間。

末 摘 花

昭和大学病院歯科医長 医学博士 園 江 稔

“末摘花”と書くとき読者諸君はニヤリとする。俳風末摘花、柳多留の恋愛論を相像するからである。俳風の末摘花の題が何に由来しているかは知らないが、或は源氏物語の麗人末摘花嬢に起因しているのかも知れない。

常陸宮という高貴な父を失ってから、ひとり寂しく暮している末摘花嬢の話を伝え聞いた光の君が、モーションをかけて再三ラブレターを送るのだが梨の便りで返事がない。腹心の太輔の命婦の手引で或夜彼女の家へ押入ったが、コンプレックスに加えてヒコポンテリーの彼女は、光にろくろく言葉も交さぬ程のしとやかさ。父の在命中の華かさに批べて今は貧しく荒れ果てた居住に、彼女は毛皮の胴着を着て寒さをしのぐ有様。灯火とて乏しい暗がり、幾夜か通った源氏も物好きだったが、或る雪の朝、未だ日も昇らぬ東雲のあかるさに彼女の姿を正視した光源氏は驚ろいた。先ずまっさきに目にとまったのが鼻であった。普賢菩薩の乗物のようにあぎれる程高く、長く伸びて先が曲り、おまけにその先っぽが赤いと来ている。オデコで馬つづらの下ぶくれで、体は座高が高く、痩せた事はこれ以上痩せられないと云ったところ。只髪だけは豊かに長く、ウチカケの下から引ずって床に一尺も余ったと云う。

さすがの通人光源氏もこの末摘花の寝起姿で、幻滅を感じてしまった。

後朝の別れと云っても相敵の寝起き姿の醜くさに悲哀を味うのは古今も変らないものと見える。

それはさて、このやんごとなき常陸宮の御娘を末摘花と光源氏が名付けたのは、ハナの先が赤かったからに外ならない。末摘花とは赤色の同意語で、ベニの別名、くわしくはベニバナの異名なのである。キク科1年生の植物、高さ1m広披針形の葉を互生し夏日茎頂にアザミに似た紅黄色の頭頂花を開く。

早朝露のある間に頂花を摘んで乾燥したものがベニバナで、これを圧搾したものがベニイタである。これから抽出された色素がカルタミン。

干紅と云うのはイタベニを硫酸処理してドロベニを作り、これを乾燥固形したものを云う。種子は食糧、飼料又油を搾り、この油のススから造ったのが有名な紅花墨である。

このベニバナは中近東が原産で、古くアラビヤでは薬用、染料とに用いられていた。アラビヤのミイラを包ん

だ布からこの染料が検出されたそうだ。後年スペインに渡って食品の染料になっている。

中国に伝わったのは周時代以前から殷の紂王の妃、妲己が愛用したとある。がそのころは製品が輸入されたのであって、中国で栽培されるようになったのは漢の武帝が近東制覇を目ざした勢に乗じ、張騫をして種子をとりよせてからに始る。

燕の地でこのカルタミンと脂を混和して練固めた顔料としたのが即ち“燕脂”である。匈奴の皇后閼氏がこのエンジを用いたとある。今日云う脂粉の脂はこの燕脂であり、粉は白粉。

日本への渡来は呉の国からで、呉(クレ)の染料(藍)だとしてクレノアイ、つまりクレナイと呼ばれた。後年種子の輸入があり、日本式製紅法も会得されてから久しく、唐の時代になって再び中国から製品が渡って来たのを唐のクレナイ、即ちカラクレナイと呼んだと思う。直訳すれば“中国の中国の藍”となるが、こんな例は他にもまだある。中国から渡って来た穀物の一種をモロコシと呼んだがそれが普及された後にまた似た穀物が輸入されたのを唐モロコシと名付けたのである。

化学染料のない昔はこのクレナイがどれ程貴重であったかは、ベニバナ一駄あれば村一番の分限者に匹敵するといわれたのでもわかる。江戸時代の最上ベニは有名で、七日市町、十日市町はその当時の市日の残りである。

京都に干紅があつて、蛤の合せ貝に干固めて売っていたが、今でもあるかしら。筆者の幼時向島の土手下の“手の御前”で寒ベニを売っていた。4~5センチの浅い小皿にベニ汁を塗って寒夜に乾し固めるのだと教えられたが、なつかしい思い出のかずかずがある。小さな白い陶皿に塗られたベニの、上べが玉虫色に光るのを、ベニサン指の先へつけて、唇へ運ぶのが当時の乙女のなりであった。いまではその名さえ忘れられたベニサン指とはクスリ指、正確には第4指のことだが、このベニサン指の爪が、ほのかに薄く紅染って、サクラ貝のようであったヒトの姿がいまも私の思い出の中に生きている。

花の命の短かさよ、結実をまたずに摘みとられ、押し搾られる花の命を末摘花と名付けたとすれば、これに似た花もまた他にある。同じく花の命をまたずに受精もせぬに摘みとられ、乾燥される植物だが、その名はホップ。

クワ科に属するつる性雌雄異株の宿根生草木。原産地はアジア中部地方，コーカサスより起り，アルメニヤを経てバビロンに伝えられ，民族移動と共に広まったと云われる。ブドーと同様，このつる草の図格が色々な面に用いられている。

8世紀から14世紀までドイツで広く栽培され，日本に輸入されたのは明治10年，現在は長野，山形，北海道で栽培されている。6～12mに達するこのつる草の手に竹竿を用いずに樹木の棒を用いているようだが，これは栽培法が竹のない外国から伝来した時のまま伝えているのだと思う。この草の茎の断面は中腔六角形，葉は互生で3～5分掌状，上葉は心臟形いずれは葉縁は鋸歯状。雄花は総状黄色。雌花は多数集まって球状を呈し中央に中

軸，その各節に鱗片状の4枚の小包及び一對の包がある。いずれも黄色で，各小包内面の基部に一對の雌花があり，熟すれば子房及包の基部の粒状腺体から黄色粉が出る。これが所謂ホップ粉で，ルプリンと呼ばれている。この処女の雌花を乾燥したホップがビール製造にかかせないものである。ホップ草は雌雄異株で，ホップを採るのは雌花だし，蒔植には差枝で足りるから雄株は不要である。したがって雄株は植えられない。たまたま間違った枝交りの雄株を1畝に2～3株を認めるにすぎない。

因にビールの味のうち苦味はフムロン。ルブロン。芳香はフロレン。ミルセン。いずれもホップに因るものである。

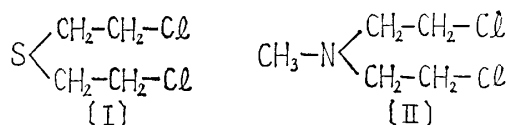
制癌アルキル化剤とその定量法 (I)

明治薬科大学教授 薬学博士 丸 山 幸 三

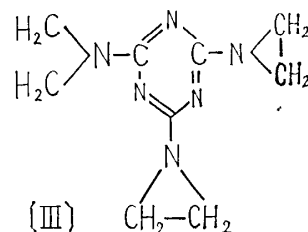
第一次世界大戦の後半に独軍によって用いられた毒ガス yperit (mustard gas, Lost) が，後日癌の薬物治療の研究の端緒を開くものであったことは周知の事実である。

すなわち1931年 I, Berenblum は，発癌物質を用いて行なう動物の実験的発癌を yperit すなわち bis-2-chloroethylsulfide [I] により抑制する実験を行なった。また同年 F.E. Adair, H.J. Bagg らは，この化合物を用いて自然発生癌の抑制に関する実験も報告している。しかし当時の実験は yperit のあまりにも烈しい毒性のために大きく発展することができなかったが，その後これに似た作用を持つ一連の化合物いわゆるアルキル化剤 (Alkylating agent) が合成され，癌の薬物治療の可能性に期待がもてるようになった。一方これらの化合物によって癌細胞の生理ならびに生化学に新しい知見を加えることもできるようになった。

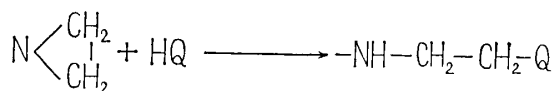
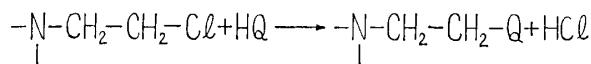
アルキル化剤の基本的なものは Nitrogen Mustard (HN₂) [II] と Triethylenemelamine (TEM) [III] である。



これらの化合物の重要な作用基の一つである 2-chloroethyl 基および ethyleneimino 基は一般に化学的応性に富み，生理的に近い環境，すなわち希薄で殆んど



中性の水溶液の中で 37° でも容易に他の化合物の有するアミノ基，カルボキシル基，スルフォヒドリール基あるいはリン酸基などのいわゆる Functional group と結合することが明らかにされている。

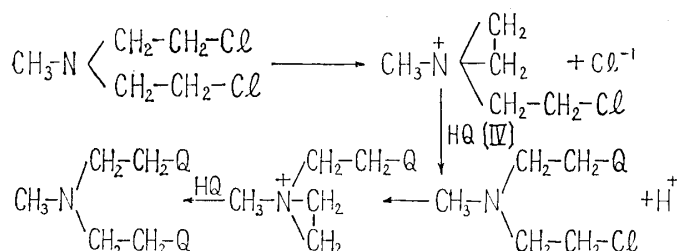


このような反応はすなわち Alkylation であり，このような作用をもつ化合物を一括して Alkylating agent と総称し，制癌性化合物を特に biological alkylating agent と呼んでいる。

Nitrogen Mustard を 0.5 mg/kg の割合で吉田肉腫動物の腹水内に入れると，分裂中の吉田肉腫細胞の染色体に著明な異常像が見られ分裂が抑制される，このような形態学的な変化から直ちに HN₂ が分裂核と特別な親

和性を有するものと速断することはできないが、このような変化に至る第一段階としてまず重要な細胞構成物質と HN_2 の化学的結合を考えることは妥当であり、このような反応が Alkylation であることは疑いない。ゆえにこれらの制癌物質の生体内における Alkylation の実態を理解するために試験管内において最も生理的と考えられる条件下における HN_2 の希薄水溶液中の態度が検討された。

HN_2 はこれを希薄な水溶液中に放置すると直ちに三員環構造を有する ethyleneimmonium ion (IV) となり、anion のような Nucleophilic center を有する他の物質と直ちに反応して2段階に Alkylation を行なう。第2段階目の 2-chloroethyl 基のアルキル化は第1段階目に比しかなり速度が遅い。



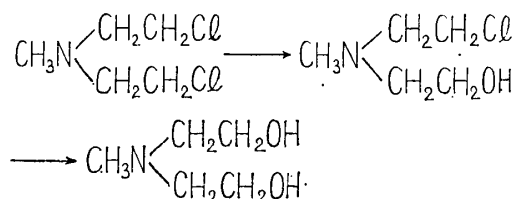
しかるに TEM はこのような ethyleneimmonium ion を生成しない。その ethyleneimino 基はさらに優勢な Nucleophilic center をもつ第2の物質のために置換されることによって Alkylation が行なわれる。

つぎにこれまで数多く作られた Alkylating agent の化学構造を通観するに、その活性作用基、例えば HN_2 化合物の 2-chloroethyl 基が2個以上存在するものが著しい制癌効果を持っていることが実験的に帰納されている。この Functionality の問題が制癌作用の機構解明の上に重大な手がかりを与え、核酸に関する物理的乃至は化学的知見の著しい集積は制癌機構の理解に新しい道を開いた。すなわち J.A.V. Butler¹⁾ および Butler Smith²⁾, P. Alexander³⁾ は HN_2 による DNA の粘度降下に関する実験を行い、このような物理的性質の変化と制癌作用を関連づけ、かつ Functionality と制癌効果の関係を巧妙に推論したが実験的証明はない。また、作用基が2個以上存在するときその制癌作用が著しく強化される事実の生化学的意義に関する仮説が、Rose⁴⁾ によって唱えられ、恐らく2つの作用基が癌細胞を構成する重要な物質を、2本の手で Cross-linking するために制癌効果が発現するものと考えられた。

HN_2 が核酸やタンパク (アミノ酸)、酵素を対して行なうアルキル化反応の条件や機構に関して、その後多くの報文があるが詳説は省略する。

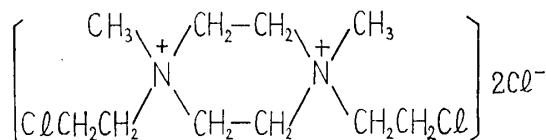
つぎにアルキル化剤自身の性質であるが、 HN_2 の塩酸塩は極めて吸湿性の結晶で、その10%水溶液の pH は

ほぼ2.5位であり、一般に3以下付近の pH ではかなり安定であるが、中性水溶液中ではすみやかに加水分解が行なわれ、クロロヒドリンを経てジヒドロキシエチルアミンになる。



この加水分解は pH および濃度に支配され、希薄溶液ではいっそうすみやかであり、最終産物のジヒドロキシン体は生物学的に全く不活性である。

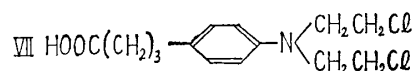
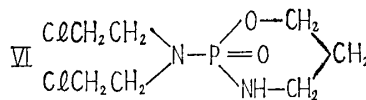
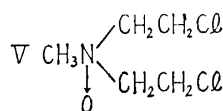
また、加水分解と同時に一部二量体化 (dimerization) が行なわれ、ピペラジニウム誘導体を生成する。

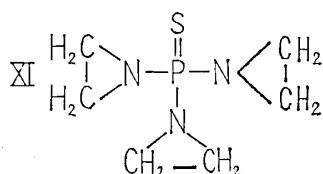
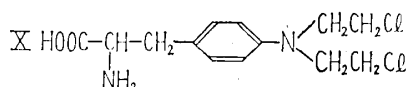
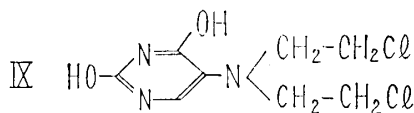
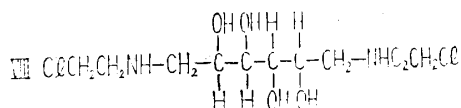


HN_2 塩酸塩の1%水溶液を70時間放置すると、その約25% (当量) が dimer (ほとんど cis 型) になる。このものは4級アミンで、その 2-chloroethyl 基は ethyleneimmonium 環を形成することができないので生物学的活性が失われている。

HN_2 はアルキル化を行なうと同時に、それ自身加水分解、二量体化を行ない、これら3つの反応はそれぞれの条件下で競合しており、後二者の反応は HN_2 自身の失活を意味する。したがって HN_2 の血中濃度 (生物学的有効量) の測定はもちろん、それ自身の純度定量にも細心の注意を必要とする。

HN_2 を制癌アルキル化剤の基本として考え、その効果をなるべく保持したまま毒性を減弱せよとて多くの誘導体が合成されたが、今日臨床的に意味のあるものは Nitromin [V], Endoxan [VI], Leukeran [VII], Degranol [VIII], Uracil mustard [IX], Sarkolysin と Melphalan [X], Thio-TEPA [XI] などである。





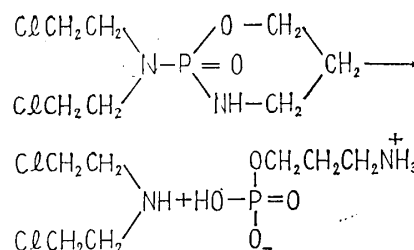
Degranol はハンガリーで L. Vargha⁹⁾ によって合成され、マンニットに2級の 2-chloroethylamine が2ヶ結合したものであるが、4ヶの水酸基のために水溶性の塩基で、制癌作用をもつほとんど唯一の2級アミン誘導体であることが注目される。なお Degranol の Deoxy 体である 1,6-bis (2-chloroethyl) hexylenediamine⁹⁾ は制癌作用を示さない。

Uracil mustard はピリミジン前駆体である uracil が正常組織よりも腫瘍組織に速かにとりこまれ腫瘍内で活性化作用基の効果を発現するとされている。

Sarkolysin は HN_2 の phenylalanine 誘導体でソ連で発表されたラセミ体。melphalan はこのものの1異性体で、英国で用いられており、phenylalanine の antagonist と考えられる可能性もある。

TEM は毒性が強いので、そのメラミン核をリン酸に置換して TEPA を合成したが、これは脂溶性で不安定なため更にその欠点を改善して Thio TEPA が合成された。これは水溶性で水溶液はほとんど中性、20° 以上に加温したり、酸性にすると不安定である。

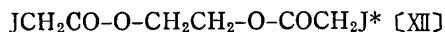
Nitromin, Endoxan は潜在活性化化合物 (Masked compound) と呼ばれ、いずれも in vitro では不活性であるが、生体内で、特に癌組織では正常組織より優勢に活性化されるものと考えられる。Nitromin は生体内でその N-oxide が還元されて HN_2 となり効果を現わすのであり、 HN_2 を少からず改善することができた。また Endoxan は生体内の酵素の作用によりリン酸アミ



ドおよびリン酸エステルの結合が加水分解され、生成する nor HN_2 の活性が効果を示すものと思われる。

これらの生体内における活性化が癌組織で特異的に行なわれるならば、癌に対する選択性が獲得されたことになるが、未だ理想的なものではない。しかし臨床的にもかなり良い効果を示している。

また Alkylating agent はその臨床上の使用法を改良することによって効果を改善することができる。普通制癌剤は静脈注射により全身的に投与するのであるが、全身に対する副作用の軽減を計るために、腫瘍に近い動脈に注射 (Infusion) したり、腫瘍の局所灌流法 (Perfusion) が試みられた。この目的のためには生体内における活性および毒性がすみやかに減退するような制癌剤が有利であり、はじめ HN_2 や体液中で速かに失効する傾向のあるアミノ酸型ナイトロジェンマスタードが用いられ、現在は更にその酸アミド誘導体や [XII] のような化合物が検討されている。



Alkylating agent をこのように適用する場合必要になるのがその血中有効濃度の消長である。次にその定量法について述べる

* この化合物は iodoacetyl 基を2ヶもちbifunctional であるから制癌作用を示すが、生体内では血清中の esterase によって速かに加水分解されて効力および毒性が失われる。

文 献

- 1) J.A.V. Butler: Nature 165 714 (1950).
- 2) Butler, Smith: J.Chem. Soc. (1950) 3411.
- 3) P. Alexander: Nature 169 226, 572 (1952)
- 4) F.L. Rose, et al: Nature 165, 993 (1950).
- 5) L.Vargha: J.Chem. Soc. (1957) 805.
- 6) 丸山幸三, 坪川 忠, 川鍋康治: 明治薬科大学研究紀要 1, 89 (1961)

アクチノマイシンDの化学と生物学 (II)

山形大学助教授 理学博士 中 沢 信 午

遺伝子が染色体中にあり、そこでつくられる m-RNA が遺伝情報をなす物質として染色体の外へ放出される現象がパフで、その著しいものをバルビアニ・リングと称する。パフのよく見える材料としてショウジョウバエの唾液腺にある巨大染色体は有名である。おなじ双翅目の昆虫ユスリカの幼虫にも同様のパフが観察される。さてこれら幼虫に放射性ウラシルをもつヌクレオシドを注射して、巨大染色体の DNA のところで RNA に合成されるありさまは染色体をラジオオートグラフィ法によってしらべると明らかに観察される。放射性ウラシルをとりこんだ RNA が写真フィルムの銀を還元して染色体のまわりに点々とあらわれ、パフのところでもっとも著しくみられる。しかし、アクチノマイシンDを加えた条件ではこの合成が低下し、したがって銀還元による黒い点々はほとんどあらわれない。

南海産の緑藻類カサノリは長さ5 cmにおよぶ巨大な1個の細胞で、生育期には核はただ一つ細胞の基底部にある。カサノリの幼体は正常な条件では H^3 ラベルしたウラシルを RNA にとりこみ、その RNA は光量の充分にある明条件では細胞の先端にあつまる。しかし暗条件に育てると反対に RNA は基底の核のまわりにおいて濃度が高く、頂端へむかって減少する。この RNA がいわゆる形態形成物質らしく、のちに先端にカサを開いた形のキャップと称する器官を分化するのに役割を演ずる。ところがアクチノマイシン $20\mu\text{g/ml}$ の存在によって、明条件でも暗条件でも、 H^3 -ウラシルをとりこんだ RNA は基端にしか分布せず、しかもその量はいちぢるしく低い。さらにもっと悪いことに、正常では H^3 -ウラシルはまず核のなかに検出され、ついで細胞質中にも出てくることから、核で RNA がつくられるといわれる。しかしアクチノマイシンDがあると、核のなかに H^3 -ウラシルがなく、ただ細胞基部の細胞質中にだけそれがみられる⁹⁾。

つまりアクチノマイシンDによって核の RNA 合成は完全にストップし、いままで核中にあった RNA がそのまわりに拡散してくることを示すものであろう。

カサノリの幼体を横に切断すると、上方は無核片、下方は有核片となる。両者をアクチノマイシンD $10\mu\text{g/ml}$ を含む条件で培養すると、無核片では80%の高率でキャップを分化するが、有核片ではその分化がわずか8%にすぎない⁹⁾。この事実は重要な意味をもっている。第1に、これはキャップ分化のためのタンパク質を合成すべ

き m-RNA がアクチノマイシンDのために生産されず、したがって分化がおこらないということである。これは有核片でのことである。第2に無核片では高い率で分化がおこるというのは、無核片中に以前から存在する m-RNA からタンパク質が合成される過程をアクチノマイシンDはすこしもさまたげないことの生物学的実証である。有核片においても、もちろん RNA → タンパクの過程は阻害されないが、さきにものべたように、カサノリの RNA は細胞の頂端部に多いので、切断すると有核片の方にはほとんどなくて、無核片の方に大部分の RNA がきてしまうから、アクチノマイシンDがある条件ではタンパク合成は無核片だけに圧倒的にみられる結果となる。第3にキャップ分化にいたる30日以上にもわたってアクチノマイシンDの存在下に無核片でタンパク合成がつづくということは、m-RNA がこの期間活動していたということを示すようである。これをうらづける別の実験として、RNA → タンパク質の合成過程だけを特異的に阻害するピュロマイシン (puromycin) $10\sim 30\mu\text{g/ml}$ の存在条件で培養すると、無核片も有核片ともにキャップ分化を示さない⁹⁾。そうだとすると、メッセンジャー RNA はこの場合バクテリアのそれとちがって30日以上寿命をもつことになるようである。

サンショウウオの一種 *Pleurodeles* の卵が分裂して2細胞になったときにアクチノマイシンD $0.2\mu\text{g}$ を注射すると、しばらく正常の卵割がつづき、胞胚まで進んで発生が止まる。ここで染色体には多くの異常があらわれて、分裂中期の不分離、スティッキー染色体などが現われる。もう少し進んで囊胚 (のうはい) 期に卵膜をとりぬいてからアクチノマイシンD $20\mu\text{g/ml}$ を含む液にいれると、発生は直ちに止まる。濃度を下げて $10\mu\text{g/ml}$ では発生はつづけられるが、内胚葉が外へとび出したエクソガストルラと称する奇型が多くあらわれる。さらに発生が進行して神経管の分化がおこるが、小頭化をまねかれない運命にある。

カエルの一種 *Xenopus* の卵の発生初期に $20\sim 30\mu\text{g/ml}$ のアクチノマイシンDで1~2日間処理してから正常条件にもどすと、完全なエクソガストルラを生じ、好塩基性の外胚葉とRNAにとばしい中胚葉とが分離する。アクチノマイシンDはしたがって両生類の発生において背腹性と頭尾性を阻害し、背腹軸と頭尾軸にそって出現するRNAの濃度勾配を消去する。さきにものべた小頭化はこのためにおこる。つまりもともとRNAの濃度の高

い部域ほどアクチノマイシンDによってRNAの補給が絶たれる結果として大きな損害をうけるのである。

シダ植物の一種モエジマシダ (*Pteris vittata*) の胞子が発芽して2~4細胞からなるいわゆる原糸体をつくったときにアクチノマイシンD 750~200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含むクノブ液にいて培養すると、明条件、25°Cで、正常に比して著しく特異的な横の生長(2次元生長)がおさえられ、前葉体と称する段階が出現せず、ただ1次元的に糸状生長するのみである。したがって細胞は生きているわけで、ただタンパク合成がおさえられて低下しているのである。一方シダの原糸体は正常な場合にその頂端部にRNAがあつまっている。そして、このRNAの濃度勾配はマクチノマイシンDによってもいぜんとして保持されるのである。タンパク合成はおさえられて生長度は低下していることから、m-RNAについてはやはりアクチノマイシンDのためにその補給を絶たれているとみてよからう。すると、消えないで残存するRNAの大部分はリボソームRNAにちがいない。実際メッセンジャーRNAなるものはリボソームRNAに比してずっと少量なのである。正常の場合、この頂端部のRNAを遠心力でうごかして基底にもつてくると、そこに生長点が移動して、そこに新しく前葉体をつくることから、このRNAは分化に重要なはたらきをもつことはたしかである。

さてアクチノマイシンDをあたえた場合、このRNAの濃度勾配が消失しないにもかかわらず2次元生長が抑制されるという事実は、2次元生長なるものがリボソームRNAではなくて、アクチノマイシンDで合成を阻害される場所のもう一つの要素、つまりメッセンジャーRNAによって支配されていることを強く示している。そして、なお1次元的には生長をつづけられるということは、枯草菌では細長く伸長生長がつづけられたとおなじく、なおほそぼそとタンパク合成がつづけていること、つまりメッセンジャーRNAがなお残存して活動をつづけつつあることを意味する。したがってメッセンジャーRNAの寿命はこの場合は2分間といった短命ではなく、1日以上におよぶと考えられる¹⁰⁾。

シダの原糸体が1次元的に生長をつづけるときにRNAの塩基成分としてウラシルの方がシトシンよりも多い。しかし2次元生長がはじまるとともに反転してシトシンの方がウラシルよりも多くなること次表の通りである¹¹⁾。

	アデニン	グアニン	シトシン	ウラシル
1次元生長	100	13.5	17.2	12.3
2次元生長	100	12.9	10.5	9.2
8-アザグアニンによる2次元生長阻害	100	13.5	8.2	12.0

このことは、アクチノマイシンDがDNA中のグアニ

ンを阻害するから、グアニンと相補的にRNA中にとりこまれるべきシトシンがとりこまれず、したがってシトシンを多くもつRNAよりも相対的にウラシルを多くもつRNAの量が優位を占め、2次元生長がおこらないという理論に有利な事実であろう。

スギナ (*Equisetum arvense*) の胞子をクノブ液にまいて1000 lux, 白色光, 25°Cにおくと12時間で発芽し、どんどん生長と分化をつづける。ところがクロラムフェニコール5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含む培地では発芽して原糸体が2細胞になったところで止まり、枯死する。これは、この段階まではタンパク合成なしに進みうるが、ここからあとはタンパク合成が必要なことを意味する。ところでアクチノマイシンD 20~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含む培地では、発芽して4~5細胞までは発生がすすみ、そこで止まり枯死する。いいかえれば、クロラムフェニコールによってタンパク合成が止められるために発生を中止する2細胞期をすぎて、必要なタンパク合成がしばらくはつづいてから、やがてメッセンジャーRNAのデグラデーションがおこってタンパク合成が止み、その時期が4~5細胞期であろう、ということである。そうだとすると、発芽以前からアクチノマイシンDはこの場合あたえられていたのだから、この時期までは最初からあったメッセンジャーRNAは生きてはたらいたということになりそうである。その期間はおよそ3日である(筆者のデータによる)。

アクチノマイシンDについてはなお続々と多くの研究がなされつつある。また、このほかにも遺伝子の活動をおさえる物質はたくさんあるにちがいない。アクチノマイシンDは何といても人工的な遺伝子の阻害剤であるから、自然における遺伝子の活動とその抑制とを理解する手段になるとしても、自然そのものはどうなっているかはこれだけでは知る由もない。だが自然における生物体内では、たえず、ある遺伝子の活動促進と、他の遺伝子の活動制限とが、精密に、しかも普通は合目的に制御され、そして生命なるものが生長し、分化し、老衰してゆく。そうしたメカニズムを解明する一つの手がかりとしてアクチノマイシンDがとり上げられたわけである。

最近、自然ではヒストンが遺伝子の活動抑制を行なっているものとして話題をにぎわしつつある。ヒストンは昔から染色体中に存在するタンパク質として知られていたが、昨年あたりわかったことは、この物質がDNAのまわりからみつくことによってRNAの合成を阻害するというのである。一方において遺伝子の活動を促進させるものとして昆虫の前胸腺ホルモンの成分をなすエクディゾンがある。これはユスリカなどで、特定の染色体のバブ誘起剤としてはたらく。エクディゾン(ecdyson)というスタータアによって誘起されたRNA合成が、つぎつぎと連鎖反応をおこして順序正しくいろいろの遺伝

子の RNA 合成を誘起し、また制限してゆくのである。カイコの蛹 500kg からとり出したエクディゾンの量はわずか 25mg という少ないものだが、X線による構造解析、質量分析、UV、IR、核磁気などを利用してエクディゾンの分子は Perhydroanthracene のような平板状の大きなサイクリック構造をなすといわれている。こうして、遺伝学、発生学、生化学とそれらに関連する分野とは総

合して生命の認識を深めてゆこうとするのである。

文 献

- 8) De Vitry, F. : Develop. Biol. 9, 484 (1964).
- 9) Brachet, J. et al. : ibid. 9, 398 (1964).
- 10) Nakazawa, S. and Tanno, Noriko : Naturwissenschaften (1965, 印刷中).
- 11) Hotta, Y. : Jap. J. Bot. 17, 214 (1960).

アメリカ国立標準局 (NBS)* を訪れて

関東化学株式会社草加工場検査部長 根 本 美 明

筆者は通省産業省工業品検査所在職中本年 3 月中旬から 4 月上旬にかけて 3 週間ばかり標準試薬の検査技術に関する調査のためアメリカに出張を命ぜられ、ワシントンにある NBS、ついでニューヨークの近くにある Fisher Scientific Co. (Fair Lawn, N. J.) および Merck & Co., Inc. (Rahway, N. J.) を訪問してきた。

3 月 17 日朝羽田空港を立ち、ホノルルを経てサンフランシスコに泊り、18 日の午後 4 時半頃ワシントンのダレス空港に到着したがジェット機の速さをしみじみと感じた。サンフランシスコからワシントンまでの空路は幸いにも快晴で、白雪におおわれたロッキー山脈の眺めなどは実に素晴らしかった。

さて NBS については既に他誌に記載されているので周知のことと思いますが、商務省に属する研究機関で 1901 年に所員僅か 14 人で発足したそうで、現在では総員 4,000 人を越えワシントンとコロラド州のデンバーに近いボルダー (Boulder) の二ヶ所に分れており、総員の約 3 分の 1 はボルダーの方にいる。ただしワシントンの方の庁舎はメリーランド州のゲイサースバーグ (Gaithersburg) (現在地より西北方約 20 哩) に敷地 550 エーカー、費用 104,000,000 ドルをかけて建設中の新庁舎に明年移転することになっている。NBS は設立当初は重さや長さの標準をきめる研究を目的として出発したそうであるが、現在では物理的・化学的量の測定に関する多数の標準の確立および維持が一つの重要な仕事となっており、物質の性質に関する研究や分析試験研究に用いる数多い標準物質を出している。

NBS は基礎標準研究所、材料研究所、中央電波伝播研究所および応用技術研究所の 4 つの研究所からなっており、標準試薬に関する仕事は材料研究所のなかの分析化学部で行なっている。

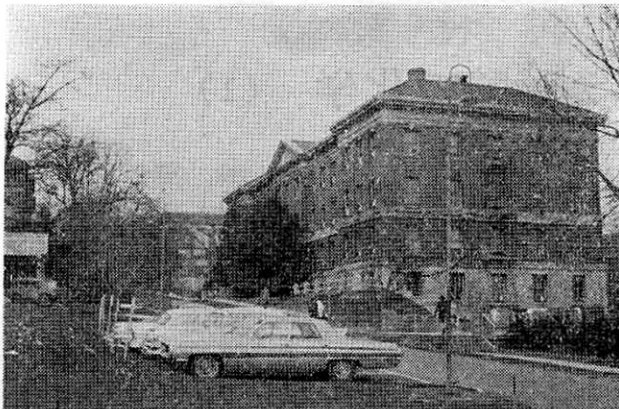
NBS の所長は物理学者の A.V. Astin 博士で無機標準物質課長 J.L. Hague 氏の案内で挨拶に行ったが、広い所長室の隅に大きなアメリカ国旗が真直ぐに立てら

れていたのが強く目に映じた。筆者は先づ今回の調査を承諾してくれたことについて謝意を述べ、ついで NBS の永年の立派な業績に対して敬意を表したのち、日本の試薬特に標準試薬の現状について説明したが、博士は静かに頷いて、調査については協力を惜しまない旨を笑をうかべながら話された。分析化学部のある建物もさすがに古くはなっているが、そこには永年の歴史が染み込んだ一種の風格が自から感じられた。部員は 90 人程おり、部長は W.W. Meinke 博士で、話し方のなかなか流暢な紳士である。一般に標準物質は国際的な関連をもつことが望ましいので標準試薬類についても国際的な会議をもつよにしてはどうかと提唱したところ、国際純正および応用化学連合や日米科学協力会議の関係もあり、また費用の問題もあるので初めは情報の交換を行ない考慮するようにしたいと言っていた。

標準試薬に関して主に説明や案内をしてくれた人は前記の Hague 氏と主任研究官 K.M. Sappenfield 氏であった。実験室は別に変ったところはなく少し手狭なように見えた。通風室をよく活用しているせいかどの実験室に入っても薬品の臭気はほとんど感じない。ベックマンの蛍光光度計も本体を通風室内に入れて使っていた。試薬棚を見たが着色ビンが割合に多く用いられており、マリクロット、ペーカー、フィッシャーなどのレットルが多く目についた。廊下の両側には大きな戸棚が並んでおり、その中には各種の標準物質がぎっしり詰っていたがこれは別に見せるための陳列ではなくて、整理保存してあるもので実に変な数でさすがと感心した。

Hague 氏は写真のように体格の偉大な紳士で非常に親切にしてくれ、たあたかも旧知のような気持で心易く話ができた。先づ筆者持参の工業品検査所で検査した国産の標準試薬シュウ酸ナトリウム、重クロム酸カリウム、スルファミン酸、炭酸ナトリウムおよび亜鉛の 5 種類について検査方法とデーターを説明し、水溶液もこの

* National Bureau of Standards



NBS 化学本館

重量法によるが、吸光光度法も研究的にやっている。アルミニウムは普通のアルミノン法、鉄は o-フェナンスロリン法で、2,2'-ジピリジル法は用いていない。

研究所本来の研究業務と検査業務との割合はどの程度かを聞いてみたところ研究が80%で検査は20%位とのことであった。NBS が1963年に払下げた標準試薬の数量はつぎの通りである。なおこの標準試薬は原則として直接需要者に払下げ、商社には出さないことになっている。

NBS 標準試薬払下げ数量 (1963年)

	本数	g 入	単価 \$
シュウ酸ナトリウム	592	60	4.00
重クロム酸カリウム	382	75	〃
三酸化ヒ素	359	〃	〃
安息香酸	146	30	〃
〃 (熱量測定用)	748	〃	〃
フタル酸水素カリウム	2,094	60	〃
〃 (pH測定用)	171	〃	2.50
合 計	4,492		

すなわち5千本足らずでこれは工業品検査所の近年の実績によれば標準試薬については年間約1万本程度封かんしているの、わが国の約1/2であり意外に少ないと感じた。このうち約80%がアメリカ国内で消費されており、あとの約20%は世界各国に輸出されている。しかしアメリカでは民間の会社でも標準試薬を出しており、NBS 検定のものと二タ通り出ていてトラブルはおきないかと聞いてみたところ、使用する側が目的に応じて的確に使われており問題はおきないそうである。NBS のものは主に基礎研究などに用いられており、ルーティンワークにはおおむね会社検定のもので済んでいる。Fisher Scientific Co. で聞いたところによると Referee System というのがあって、何か分析上の問題がおきると Impartial Analyst を派遣して統一をはかるのだそうであるが普通は問題はないとのことである。アメリカでは NBS 検定のものは最も権威があるが、民間会社の検定品もじゅうぶん信用がある。しかし NBS のものは値段が高い。これは化学量器についても同様で ASTM や会社の検定品もあるがやはり NBS のものは最も高価である。

なお Hague 氏から断片的に聞いた話を拾ってみると



NBS 構内、前方左の建物は化学本館

- ①日本の試薬についてどう思うか意見を求めたところ、カタログも見ることがないので何も知らないと言っていた。これはまことに遺憾なことで今後は大いに PR の必要があると感じた。
- ② NBS は試薬について行政的のことには何か問題でもなければ関係しない。アメリカでの試薬の生産量とか生産金額などに関する統計的のことも分っていない。
- ③現在試薬関係では ACS 規格が最も権威があり重んぜられている。Rosin 規格は余り用いられていないようである。
- ④試験研究などで特に高純度の試薬の必要を生じた場合は大量のときはメーカーを動員して作るが、少量であれば大抵は研究者自身で作る。会社では採算に合はないと作らない。
- ⑤試薬製造上のことについては何か問題があれば指導もするが普通は行なわない。
- ⑥ NBS では数年前までは試薬を購入するときその品質を試験していたが、手数を要するので今はやっていない。使用する試薬の品質については研究者が自分で確かめるが、時には悪いのがあって返却することもある。
- ⑦一般試薬については日本の官封試薬のようなものはない。

筆者が帰国後 Hague 氏より NBS の標準試料 $K_2Cr_2O_7$ (99.98%), $Na_2C_2O_4$ (99.95%), As_2O_3 (99.99%), C_6H_5COOH (99.98%), C_6H_5COOH (26.434 abs. kJ/g mass (weight in vacuum)) および Al (Fr. pt. 660.0°C) が寄贈されてきたが、これらは工業検査所に保存されている。

日本の標準試薬は全般的に見るとまだまだの状態である。製造の面も検査の面もなかなか容易な仕事ではないが、官民協力して今後大いに進展させ1日も早く世界的な定評を得るようにしたいものである。

文 献

- 1) 岡部: 化学工業 14, 1174 (1961)
- 2) 石坂: 化学工業資料 30, 14 (1962)
- 3) 益子: 工業技術 4, 12号, 19 (1963)
- 4) 工業技術院総務部: 同上 6, 1号, 44 (1965)
- 5) J. K. Taylor, S. W. Smith: J. Res. NBS. 63A, 153 (1959)
- 6) G. Marinenko, J. K. Taylor: ibid. 67A, 31 (1963)
- 7) G. Marinenko, J. K. Taylor: ibid. 67A, 453 (1963)

トリコロミン酸とイボテン酸の化学 (1)

東北大学医学部教授 薬学博士 竹 本 常 松

はじめに

大阪大学時代からみちのくのはエトリシメジには淡い関心をよせていたが、意を決して成分研究に手を染めたのは東北大学に移ってきた年の秋からである。途中、目的のキノコは思うように集まらず、どうなることかと再三気をもんだものであるが、若くて元気な協力者諸君がよく頑張ってくれたので、有効成分の捕捉にも成功し、曲りなりにも構造解明にまでたどりついた。

最近になって日本および外国の大会社の研究陣が相次いで化学合成の成功を伝えてきた。この機に、長くて短かった5年間の出来事を回想しつつ、トリコロミン酸とイボテン酸の化学を抽出から合成まで簡単に綜説してみた。

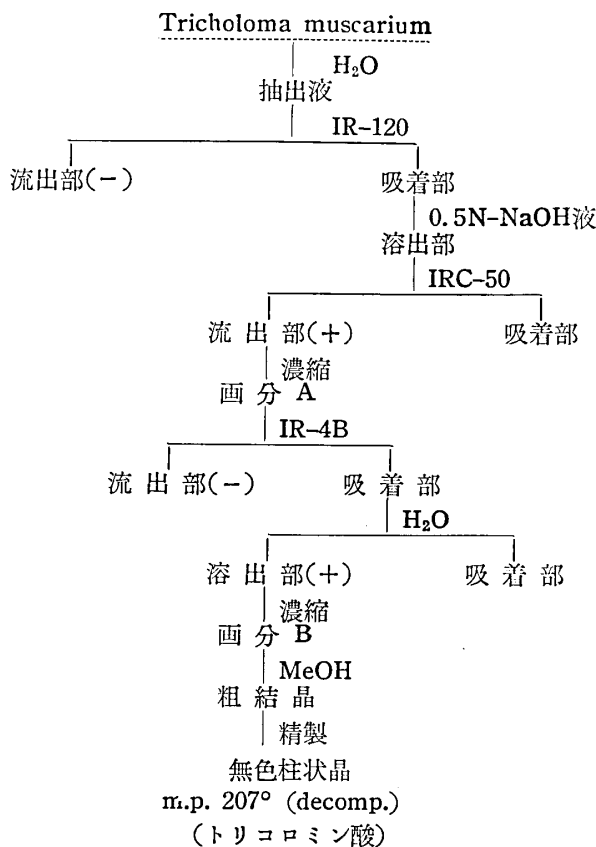
1. トリコロミン酸の単離¹⁾

ハエトリシメジ *Tricholoma muscarium* はシメジ科 *Tricholomataceae* に属するキノコで、信州や東北地方では、古くからハエの捕殺に利用していたようである。この場合キノコをそのまま、またはすこし火にあぶってから器に盛り、少量の水を注ぎ、あるいは残飯などをまぜて目的の場所に置くと、ハエ類が誘引されてきてこれをなめ、中毒して動けなくなり、その場で死ぬのである。

ハエトリシメジはこのような顕著な殺蠅性を有するにもかかわらず、有効本体は未詳であった。この本体解明を思いついた私たちは、1960年秋に、やっと集めた数個のハエトリシメジを用いて、イエバエに対する作用を調べた結果、有効成分は

- 1) 石油エーテル、エーテル、クロロホルム、アセトン、エタノールには不溶または難溶で、水には溶ける。
- 2) セロハン膜を透過する。
- 3) イエバエに対してはやや速効的に中毒症状をあらわし、はじめ脚部に麻痺性変化をきたし、仮死状態を経て斃死させる。
- 4) 水溶液から強酸性カチオン交換樹脂および活性炭に吸着し、吸着した有効成分は、交換樹脂からはアルカリ液で、活性炭からはメタノールで溶離される。
- 5) メタノール溶液からはアルミナに吸着し、水で溶出される。
- 6) 中性緩衝液中でろ紙電気泳動すれば陽極に向う。ことなどがわかった。

表1 トリコロミン酸の分離



これらの点からみて、殺蠅性成分は分子の大きくない、酸性アミノ酸様物質らしく推定されたので、適切と考えられる抽出分離法を考案実施することにした。すなわち表1に示すように新鮮なキノコを繰返し水で浸出して得られた抽出液を、アンバーライト IR-120 塔に通導し、吸着部を水酸化ナトリウム液で溶出し、溶出液をアンバーライト IRC-50 塔に通導して脱塩した後、減圧濃縮して顕著な殺蠅性を保有する画分Aを得た。

画分Aをアンバーライト IR-4B 塔に通導し、吸着部に水を流し、得られた溶出液を減圧濃縮して一段と効力の高い画分Bを製した。画分Bはろ紙クロマトグラフィーならびにろ紙電気泳動法にかけて調べた結果、ニンヒドリン発色部位に殺蠅性が認められた。また二次元ろ紙クロマトグラフィーでもニンヒドリンで発色する主なスポットは1個であった。この有効画分Bに少量のメタノ

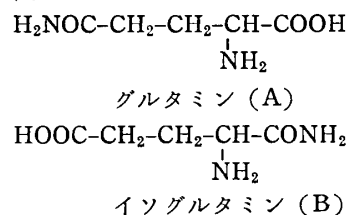
ールを加えて放置し、析出した粗結晶を集めて水から再結晶して m. p. 207° (decomp.), $[\alpha]_D^{+80.0^\circ}$ (H_2O), $C_5H_9O_4N_2$ の無色無臭で、かつ佳良なうま味をもった柱状晶 (I) を得た。I の 0.01% 水溶液はイエバエに対し顕著な殺虫性を示した。I はニンヒドリンで、はじめに赤紫色を呈し、後に紫色にかわる。中性緩衝液中でのろ紙電気泳動では陽極に向かって泳動し、ろ紙クロマトグラフィーでは R_f 0.10 [BuOH-AcOH- H_2O (4:1:1)], R_f 0.28 [PhOH- H_2O (4:1)] を示す。PK_a 値は 2 付近, 6.0, 8.6 である。これらの所見から I は文献未知の酸性アミノ酸と見なされたので、ハエトリシメジの属名 *Tricholoma* にちなんでトリコロミン酸 tricholomic acid (*Tricholominsäure*) と名づけることにした。

2. トリコロミン酸の構造²⁾

トリコロミン酸 (I) は過マンガン酸カリウム液およびブロム水をすみやかに脱色し、分子の不飽和性がうかがわれた。そこで酸化白金を触媒として水素化を試みたところ 1 モルの水素を吸収して m. p. 185° (decomp.), $[\alpha]_D^{+11.7^\circ}$ (H_2O), $C_5H_{10}O_4N_2 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ のジヒドロ体 (II) が無色針状晶として好収率で得られた。II はニンヒドリンで紫色を呈するが、もはや過マンガン酸カリウム液やブロム水を脱色せず、PK_a 値も 2 付近, 8.8 で、ろ紙電気泳動でも中性物質の挙動を示した。これらの点から II の窒素原子 2 個のうち 1 個はアミノ基、他の 1 個は中性結合の形成に関与するものと解された。IR スペクトルでも $1650cm^{-1}$ 付近に $CONH_2$ 基づくと考えられる吸収が認められた。これをさらに確かめるために II を塩酸で処理したところ m. p. 193° (decomp.), $[\alpha]_D^{+23.5^\circ}$ (6N-HCl), $C_5H_9O_5N \cdot HCl$ の無色針状晶 (III) が得られた。III はニンヒドリンで紫色を呈し、ろ紙電気泳動では酸性物質の挙動を示した。また IR スペクトルでは II で認められた $CONH_2$ に基づくと解される $1650cm^{-1}$ 付近の吸収が消失し、あらたに 1736 , 1408 , $1192cm^{-1}$ に $COOH$ に基づく吸収, $3425cm^{-1}$ に OH に基づく吸収が認められた。これらの事実ならびに組成からみて、III はヒドロキシグルタミン酸の一種と考えられるにいたったので、II を直接に赤リン加ヨウ化水素で処理したところ、m. p. 200° (decomp.), $[\alpha]_D^{+0^\circ}$ (6N-HCl), $C_5H_9O_4N$ の無色針状晶 (IV) が得られ、DL-グルタミン酸と IR スペクトルその他の所見でまったく一致した。したがって III はヒドロキシグルタミン酸の一種と見なされる根拠が強まったが、なかんずく III の R_f 値その他の性状性質から erythro-3-hydroxy-glutamic acid の塩酸塩のそれと近似していたので大阪大学の金子武夫教授から恵与された標品と比較した結果、 R_f 値、ろ紙電気泳動値、IR スペクトルなどの所見がよく一致し、III

は erythro-3-hydroxy-L-glutamic acid の塩酸塩と同定された。さかのぼって III のモノアミド体と見られる II においては 2 個のカルボキシル基のいずれかが酸アミド結合しているものと解されるにいたった。この関係は表 2 に掲げるグルタミン (A) とイソグルタミン (B) の関係と同類であるから、両者の PK_a 値と II のそれを比較することにより類推の根拠が得られるはずである。

表 2 グルタミンおよびイソグルタミン



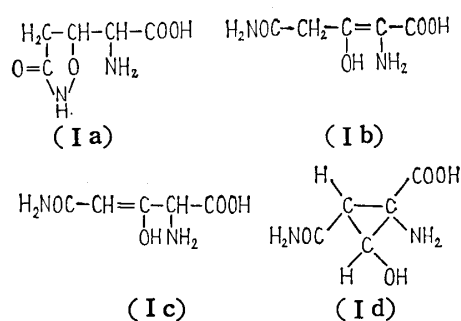
それぞれの PK_a 値は表 3 に示すとおりで、II の PK_a 値は A のそれと近似し、したがって II とグルタミンとの構造類似が示唆された。

表 3

物質	PK _a 値	
グルタミン (A)	2.17	9.13
イソグルタミン (B)	3.81	7.88
II	2 付近	8.8

II を 3-hydroxy-L-glutamine とすると、II のデヒドロ体と見られる I の構造として考えられるものは表 4 に掲げる 4 種に限られる。

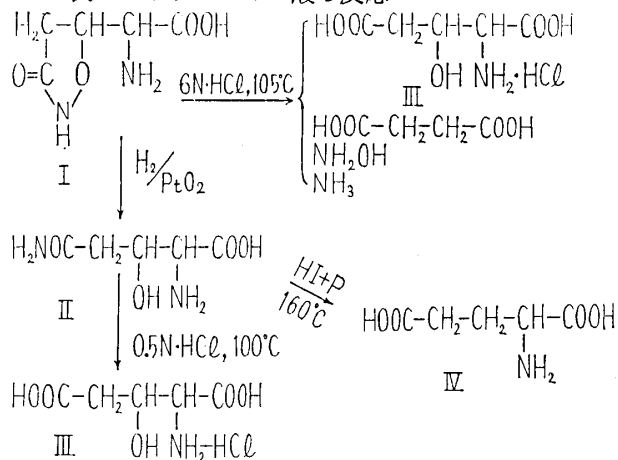
表 4



このうちいずれがトリコロミン酸の構造として妥当であるかを決定するために I の NMR スペクトルを検討したところ、2.90 ppm に二重線 ($J=10$ cps) の 2H, 3.10 ppm に二重線 ($J=4$ cps) の 1H, 5.09 ppm に複合三重線 ($J_1=4$ cps, $J_2=10$ cps) の 1H のシグナルが認められ、I に $CH_2-CH-CH$ の部分構造の存在が示唆された。これより I b, I c, I d は一応消去され、I a すなわち α -amino-3-oxo-isoxazolidine-5-acetic acid のみが妥当な構造として残った。I を 6N 塩酸で処理した場合 III およびコハク酸が得られ、同時にヒドロキシル

アミンおよびアンモニアの生成が認められる事実も Ia の式をもってすればよく説明し得る。以上の反応をまとめると表5のようになる。

表5 トリコロミン酸の反応

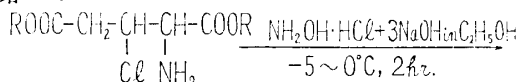


3. トリコロミン酸の合成³⁾

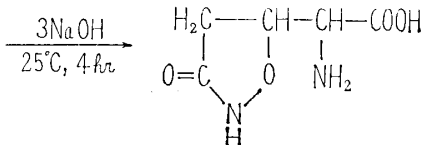
1965年3月、武田薬工研究所の岩崎英介博士らは DL-トリコロミン酸およびその threo 体を大要表6に掲げたような経路でいち早く合成した。

表6 DL-トリコロミン酸の合成

経路1:



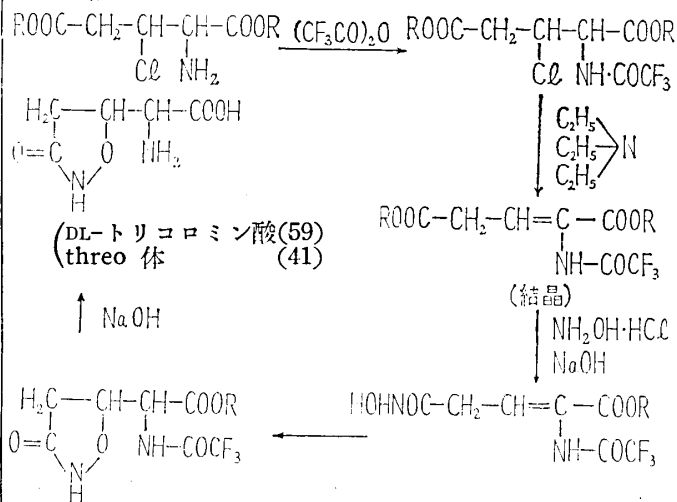
3-Chloroglutamate



(DL-トリコロミン酸(主) m.p. 195~196°(decomp.)
(threo 体(副) m.p. 213~214°(decomp.))

経路1では 3-chloroglutamate に 1 当量のヒドロキシルアミン塩酸塩と 3 モルのアルカリを加え -5~0°C で 2 時間反応させた後、さらに 3 モルのアルカリを加

経路2:



え、室温で4時間処理すると閉環と加水分解が同時に起る。この場合 threo-3-chloroglutamate からは DL-トリコロミン酸と少量の threo 体が得られたが、erythro-3-chloroglutamate を原料とした場合は threo 体が主成分として得られたという。

経路2では 3-chloroglutamate のアミノ基をトリフロロアセチル基で保護しておき、反応後アルカリで除去して副反応を避ける手段を講じた。まず 3-chloroglutamate に無水トリフロロ酢酸を反応させて得られたトリフロロアセチル化合物にトリエチルアミンを室温で作用させ N- フロロアセチルデヒドロ体へ導き、これにヒドロキシルアミン塩酸塩と苛性アルカリを加えて閉環ならびに脱アセチルを同時に起させて DL-トリコロミン酸とその threo 体をほぼ同量の割合で得ている。

得られた DL-トリコロミン酸は m.p. 195~196° (decomp.) の無色板状品で、IR スペクトル、R_f 値およびアミノ酸分析計での所見では天然のトリコロミン酸のそれとよく一致したという。

1) 竹本, 中島: 薬学雑誌, 84, 1183 (1964).

2) 竹本, 中島: 薬学雑誌, 84, 1230 (1964).

3) 岩崎, 神谷, 丘, 上柳: Chem. Pharm. Bull., 13(6), 753(1965).

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・3740

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
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
平塚市八幡下高間1300番地
東京都国分寺市国分寺1392番地
横浜市鶴見区下末吉町863番地
千葉市今井町2丁目14番地13号
大宮市東町2丁目17番地
静岡県三島市中央町4番6号
大阪市東区瓦町3丁目1番地

大阪関東化学
株式会社

電話 草加 (2) 4177~4178
札幌 (73) 6181~2
戸畑 (88) 3961・3962
平塚 (21) 2051・2052
国分寺 (21) 3489
鶴見 (50) 3386・3387
千葉 (61) 1303・1304
大宮 (41) 9260
三島 (5) 4422
電話 大阪 (231) 代表 1672~4