



1967 No. 2

(通巻第44号)

CHEMICAL TIMES

発行者 関東化学株式会社

目 次

(通巻ページ)

工業分析化学随説 (XV)	東北大学名誉教授 理学博士 東北大学助教授 理学博士	加藤 多喜雄 武井 信典	742
原子吸光分析における 衛生化学への応用 (II)	岩手県衛生研究所 薬劑師 化学部 部長 医学博士	佐藤 彰	745
物理的測定法による 有機化合物の構造解析法入門 (II)	東京教育大学理学部 理学博士	大橋 守	747
犯罪と分析化学	科学警察研究所 医学博士 主任 研究官	丹羽口 徹吉	750
核酸を中心にした酵素の考え方 (III)	星薬科大学教授 薬学博士	涌井 袈裟参	753

KANTO CHEMICAL CO., INC.

工業分析化学随説 (XV)

電荷移動錯体生成反応の平衡定数測定法について

東北大学名誉教授 理学博士 加藤 多喜雄

東北大学助教授 理学博士 武井 信典

溶媒抽出法が実験室的操作から工業的規模に至るまで非常に広い範囲に亘って利用されていることは周知の通りであるが、利用されている抽出反応型式は種々様々であり、また、個々の反応の数も非常に多い。それらの多くの反応系は Diamond 等¹⁾、Marcus²⁾、関根³⁾等により分類されているが、その分類法もまた含まれている反応の型式に重点をおくか、あるいは利用型式に重点をおくか等の違いもあって一様ではなく、したがって、分類された結果もかなり違っている。たとえば、関根は次のような分類法を示している。

- a 単純中性分子の抽出系
- b 金属キレート錯体の抽出系
- c 水相中に形成された無荷電錯体の抽出系
- d 金属錯体酸の抽出系
- e イオン対の抽出系

この分類法の中で (b) 以下が何れも被抽出成分の抽出試薬あるいは抽出溶媒との反応を伴う抽出系であるのに対し、(a) の抽出系は反応を伴わない単なる溶解度の相違に基づく分配抽出系として分類されており、Diamond 等、Marcus も同様の項を設けて分類している。そして、その一例として何れもヨウ素、臭素等のハロゲン分子の抽出系をあげている。本随説ではこれまで主として反応を伴う抽出系について述べてきたが、ここでは (a) に属するハロゲン分子の抽出系に関連する事項について述べる。ただし、抽出には直接関係のない内容であることを予めお断りしておく。

1. ヨウ素—溶媒系の反応

上に述べたように (a) に分類されている抽出系においては、被抽出成分と抽出溶媒の間に相互作用はないとみなされているが、これは Diamond 等も述べているように、あくまでも理想的なことであって、この項に分類されている抽出系の中で被抽出成分と溶媒の間で相互作用の認められているものがある。その一例がヨウ素の抽出系である。

ヨウ素はベンゼン、四塩化炭素等溶媒抽出法ではいわゆる不活性溶媒と考えられる溶媒により、よく水相から抽出され、これは分析化学的にもよく利用されている。所で、抽出されたヨウ素の溶液の色は、溶媒によりかなり異なる。

すなわち、脂肪族炭化水素、四塩化炭素、二硫化炭素等の溶媒系では紫色であり、これはヨウ素ガスの色と同じであるが、アルコール、エーテル等の溶媒系ではかっ色、ベンゼン、トルエン、キシレン等の溶媒系では紫色、かっ色の中間色を示す。このようなヨウ素溶液の色の变化は、古くから興味を持たれ、その理由について多くの研究が行われてきた。その経過は Benesi、Hildebrand⁴⁾ の報告に述べられているので、ここでは省略するが、結局この方面の研究はヨウ素—溶媒間でルイス酸型の酸—塩基反応が起っているとする Benesi 等⁴⁾ の報告により終止符が打たれた。ここで生成する錯体についてはその後 Mulliken⁵⁾ により電荷移動錯体という考えが提出され、このような錯体はヨウ素—溶媒系の外にも非常に多く見られることがその後の研究で知られている。したがって、ヨウ素の溶液においては、ヨウ素と溶媒の間の相互作用の有無および強弱により溶液の色は異なり、極めて不安定な電荷移動錯体をつくる溶媒系、あるいは全く錯体をつくらぬ溶媒系では、ヨウ素溶液の色は、ヨウ素ガスの紫色と同様であり、錯体を生成する溶媒系では溶媒の種類および錯体の安定度により特異な呈色を示すということになる。なお、この錯体の生成は、ヨウ素の抽出に対し不可欠の条件ではないという点、先に示した抽出系の分類の中の (b) 以下と異なる所である。

電荷移動錯体については、すでに多くの綜説が出されている⁶⁾ので、その方を見て戴くことにして、本文では吸光光度法による錯体の生成定数の測定法における二、三の問題点について述べることにする。

2. 電荷移動錯体生成反応の平衡定数

ヨウ素—溶媒間の相互作用に関する Benesi 等⁴⁾ の研究は、この方面では著名なものであり、ここで改めて紹介するまでもないと思われるが、一応話の順序として簡単に紹介する。

Benesi 等はヨウ素のベンゼン、トルエン、キシレン、メシレン溶液の紫外部および可視部の吸収スペクトルを測定して、次のような結果を得た。

- i 各ヨウ素溶液は 280~400m μ の領域でヨウ素にも溶媒にも認められない新たな吸収を示す。そしてその極

大吸収点は、溶媒のベンゼン核に導入されたメチル基の数の増加とともに、長波長側に移行する。

ii 500m μ 付近の極大吸収点は溶媒のベンゼン核に導入されたメチル基の数の増加とともに短波長側に移行する。これらの結果から Benesi 等はヨウ素と溶媒の間にルイス酸型酸—塩基反応、すなわち、電子供与体—受容体間の反応が起っているものと考え、次のようにしてその反応の平衡定数を求めた。

まず、ヨウ素と溶媒 D は



で示される反応により 1:1 型錯体をつくるものとし、この反応の平衡定数 K を次のように表わした。

$$K = \frac{[C]}{([I_2] - [C])([D] - [C])} \quad (2)$$

ここで $[I_2]$, $[D]$ は四塩化炭素、二硫化炭素のようにヨウ素と錯体をつくらないと考えられる不活性溶媒中のヨウ素および溶媒 D の初濃度、 $[C]$ は生成した錯体の濃度である。ここで実験条件として $[D] \gg [I_2]$ とすれば $[D] - [C] \approx [D]$ とみなせる。次に生成した錯体による吸光度 As の測定をヨウ素および溶媒による吸収のない波長で行なうと、錯体濃度 $[C]$ 、錯体のモル吸光係数 ϵc の間には次のような関係がある。

$$\epsilon c = As / [C]l \quad (3)$$

(l は用いたセルの厚さを示す)

(2), (3) 式より $[C]$ を消去すると、次式が得られる。

$$[I_2]l / As = (1/K\epsilon c)1/[D] + 1/\epsilon c \quad (4)$$

(4) 式よりヨウ素初濃度一定の条件のもとで溶媒濃度を変化せしめて吸光度を測定し、 $[I_2]l / As$ を y 軸に、 $1/[D]$ を x 軸にとってプロットすると (1) 式で示されるような錯体生成反応が起っていれば直線関係が得られ、y 軸の切片から ϵc が、直線の傾斜から $K\epsilon c$ 、したがって K が得られることが知られる。(4) 式は Benesi-Hildebrand の式 (B-H 式) として電荷移動錯体生成反応の平衡定数測定法における著名な関係式である。Benesi 等は (2) 式におけるそれぞれの濃度単位として $[I_2]$, $[C]$ にモル濃度を、 $[D] - [C]$ 項はモル分率を用いて K および ϵc を測定し、次のような結果を得ている。

I_2 - 溶媒系の平衡定数

溶 媒	不活性溶媒	ϵc	K
ベンゼン	四塩化炭素	15,400	1.72
〃	n-ヘプタン	18,000	1.15
メシチレン	四塩化炭素	9,300	7.2
〃	n-ヘプタン	9,900	5.3

上の表から判るように、平衡定数は非常に小さな値であ

る。したがって、ヨウ素、溶媒、吸光度についての測定値の誤差、(4) 式誘導の過程で設けた仮定が測定結果に大きな影響をおよぼすと考えられる。また (4) 式における溶媒濃度 $[D]$ をどのような単位で表わすのが最も妥当であるかも問題となる。こういった点については電荷移動錯体の生成系についての研究と同様種々検討されている。紙数の関係もあり、そうした報告のすべてを紹介できないので、その二、三を紹介して見ることにする。

まず、電子供与体 D、受容体 A による 1:1 錯体 AD の生成反応における B-H 式は次のように種々の形に表わすことができる。

$$[A][D]/As = 1/K\epsilon c + [D]/\epsilon c \quad (5)$$

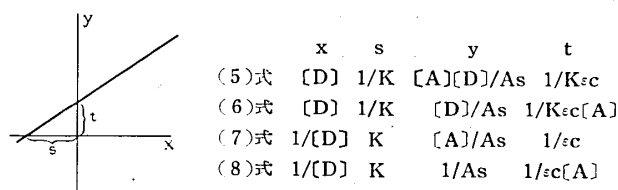
$$[D]/As = (1/K\epsilon c)(1/[A]) + (1/\epsilon c)([D]/[A]) \quad (6)$$

$$[A]/As = (1/K\epsilon c)(1/[D]) + 1/\epsilon c \quad (7)$$

$$1/As = (1/K\epsilon c)(1/[A][D]) + (1/\epsilon c)(1/[A]) \quad (8)$$

(以下簡単のため $l = 1 \text{ cm}$ とする)

これらの各式を用い、測定値から K, ϵc を求める際の x 軸、y 軸および x 軸、y 軸における切片は次図のようになる。



この図から切片 s から小さな平衡定数値を示す反応系に対しては (5), (6) 式を、また逆に大きな平衡定数値を示す反応系に対しては (7), (8) 式を用いるのが妥当であることが知られる⁷⁾。次に実験条件として A の一定量に対して D の添加量をどのようにとればよいかの点については Person⁸⁾ の報告がある。Person によれば D の濃度増加による As の変化は次のようになる。

まず

$$As = \epsilon c[AD] = \epsilon cK[D][A]$$

において、A に対する D の添加量が余り過剰でないときは AD の生成量は極めて僅かであり、 $[A^\circ] \approx [A]$, $[D^\circ] = [D]$ とみなし得る ($[A^\circ]$, $[D^\circ]$ はそれぞれの初濃度を示す)。したがって、AD の生成量、したがって As は D の添加量の増加に伴って直線的に増加する。一方、D の添加量が大過剰となり A がすべて錯体となってしまう、それ以後 D の濃度を増しても、As は増加しない。これらの関係を図示すれば、図 1 のようになる。そこで、たとえば Scott の式と呼ばれている (5) 式を用い、図 1 の領域 I の測定値を用い、K, ϵc を求めるとすると、直線の y 軸における切片は $1/K\epsilon c$ を示すが、直線の傾斜は零となり、 ϵc を求めることは不可能となる。

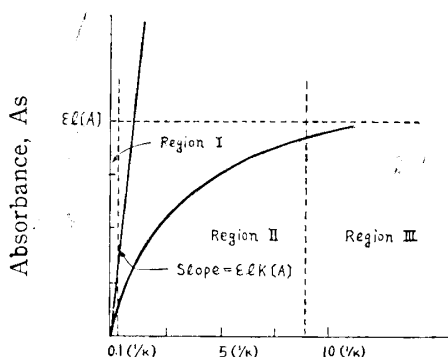
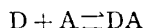


図1 Concentration, [D]

また領域Ⅲの測定値を用いるときは、直線の傾斜は $1/\epsilon c$ を示すが、y 軸の切片は零となり、 K を求められなくなる。結局 K , ϵc の双方を精度よく求めるためには、領域Ⅱの測定値を用いる必要があり、実際には K , ϵc の測定値のバラツキの少ない濃度範囲を実験的に求めて行なうのが普通である。この点について Person は $0.1[A] < [AD] < 0.9[A]$, あるいは $0.1(1/K) < [D] < 9.0(1/K)$ の範囲で測定を行なえば、 K , ϵc の双方を小さなバラツキで測定し得るとしている。

次に、B-H 式を誘導するに当っては、 $[D] \gg [A]$ で $[D] - [DA] \approx [D]$ であるというのが一つの仮定となっているが、これが常に妥当であるか否かを検討したのに Drago 等⁹⁾の報告がある。Drago 等は測定波長において電子受容体 A による吸収もある場合を考慮して、次のように K , ϵc を求める式を誘導している。



の反応に対する D , A の初濃度を $[D^0]$, $[A^0]$, A の測定波長におけるモル吸光係数を ϵ_A とすれば、

$$K = \frac{[DA]}{([A^0] - [DA])([D^0] - [DA])}$$

$$A_s = \epsilon c [DA] + \epsilon_A ([A^0] - [DA])$$

$$\epsilon_A [A^0] = A_{s^0}$$

から $[DA]$ を消去すると

$$\frac{1}{K} = \frac{A_s - A_{s^0}}{\epsilon c - \epsilon_A} - [A^0] - [D^0] + \frac{[A^0][D^0](\epsilon c - \epsilon_A)}{A_s - A_{s^0}} \quad (9)$$

が得られる。ここで $\epsilon_A = 0$ とすれば

$$\frac{1}{K} = \frac{A_s}{\epsilon c} - [A^0] - [D^0] + \frac{[A^0][D^0]}{A_s} \quad (10)$$

となり、さらに、 $(A_s/\epsilon c) - [A^0] = 0$ とすれば、これより (7) に示した B-H 式が導かれることになる。

Drago 等は (9) または (10) 式を用い、これまでに報告されている二、三の反応系に対する測定結果を用いて二組の測定値より K , ϵc を求める計算を行ない、B-H 式によるよりも精度の高い K , ϵc の求められることを

示し、これより $[D^0] - [DA] \approx [D^0]$ とする仮定は常に成立するものではないことを指摘している。

最後に Benesi 等は B-H 式を用いて K , ϵc を求めるに当って $[I_2]$ には容量モル濃度を、 $[D]$ にはモル分率を用いた。電荷移動錯体生成反応系における電子供与体および受容体の活量係数は殆んど知られておらず、したがって、得られた平衡定数 K はみかけ上の値である。ただし、通常電子受容体の濃度はじゅうぶんに低くとられており、したがって、その活量はモル濃度で代用し得ると考えられる。しかし、電子供与体の方はなかり広い濃度範囲にわたって用いられており、そのような広い濃度域で活量の代りに用い得るような濃度単位をえらぶということは難かしい問題である。通常低い濃度域で測定し得る系 (K の大きい系) では容量モル濃度を、高い濃度域を必要とする系 (K の小さい系) ではモル分率を用いる方法がとられているが、Trotter 等¹⁰⁾が示しているように、電子供与体濃度に容量モル濃度、重量モル濃度、モル分率の何れの単位を用いても B-H 式によるプロットは直線となりどの単位が妥当であるかを定めることはできない。

さらに、Trotter 等は先にあげた Benesi 等⁴⁾のヨウ素-ベンゼン系の測定値を用い、ベンゼンの濃度単位としてモル分率、容量モル濃度、重量モル濃度を用いたときの錯体のモル吸光係数は、それぞれ 18,000, 13,500, 9,800 となり、著しく異なることを指摘し、重量モル濃度を用いたときの値は下限を示し、モル分率、容量モル濃度を用いて得られる値は過大値であろうとしている。

以上電荷移動錯体生成反応の平衡定数の吸光光度法による測定についての問題点を極めて簡単に二、三の文献により紹介した。ここでは一応 1:1 錯体の生成系に話を限定したが、この外に 1:2 錯体のような高次錯体の生成、幾何異性体の生成、不活性溶媒の影響、Mulliken 等¹¹⁾による“contact”complex の問題等、電荷移動錯体の生成系は極めて複雑である。これらの点については、また別の機会に記したいと考えているが、無機、分析化学の分野でも非常に不安定な錯体の生成定数の測定に用いられると思うので簡単な紹介をした。何かのお役に立てば幸である。

文 献

- 1) R. M. Diamond, D. G. Tuck: *Progr. Inorg. Chem.*, **2**, 109 (1960)
- 2) Y. Marcus: *Chem. Rev.*, **63**, 139 (1963)
- 3) 関根: *分析化学*, **14**, 764 (1965)
- 4) H. A. Benesi, J. H. Hildebrand: *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 2703 (1949)
- 5) R. S. Mulliken: *ibid.*, **72**, 600 (1950)
- 6) たとえば L. J. Andrews, R. M. Keefer: *Advances in Inorg. Chem. & Radiochem.* Vol.3, 91 (1961) Acad. Press. Inc.
L. J. Andrews, R. M. Keefer: *Molecular Complexes in Org. Chem.*, (1964) Holden-Day, Inc.
L. E. Orgel: *Quart. Rev.*, **8**, 422 (1954) etc.
- 7) P. R. Hammond: *J. Chem. Soc.*, 479 (1964)
- 8) W. B. Person: *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 167 (1965)
- 9) N. J. Rose, R. S. Drago: *ibid.*, **81**, 6138 (1959)
- 10) P. J. Trotter, M. W. Hanna: *ibid.*, **88**, 3724 (1966)
- 11) L. E. Orgel, R. S. Mulliken: *ibid.*, **79**, 4839 (1957)

原子吸光分析における衛生化学への応用 (II)

岩手県衛生研究所 薬 剤 師 佐 藤 彰
化 学 部 長 医学博士④ ビタミン B₁₂ の定量 (医薬品分析への応用)¹²⁾

医薬品の持つ特殊性を考えるとその品質を常に保証することはわれわれ薬剤師に負わされている当然の社会的責任であるが、生産額においても世界一、二を争う国内各種医薬品の品質をチェックするという仕事はまた大へんなことであり、A. A 法を導入し得る分析可能なものには、是非応用することが急務であろうと思われる。筆者は先ず既に国民から「赤いビタミン」として親しまれている「ビタミン B₁₂」の定量を試みた。B₁₂ には分子内錯塩として一分子の Co を含有するのでこれを A. A の HC-Co. ランプを用いて測定し、間接的に B₁₂ の含量を知ろうと考えた。その実験結果、注射剤のような比較的組成の単純なものは試料を純水で 2 倍に希釈し、直ちにアトマイズすることによって公定法で採用している分光光度法と同様な結果を得ることができ、錠剤や、カプセル剤などについては分光光度法は不可能(総合ビタミン、賦形剤混和のため)なので、これらについては硫酸硝酸分解法を採用し、血清 Cu, Fe, 尿中 Pb と同様有機試薬による抽出法によって精度よく表示量に合致する定量結果を得た。それで B₁, B₂, B₆ などのビタミン B 群より選択的に B₁₂ のみを定量することに成功した。目下胃潰瘍治療剤である銅クロロフィリンナトリウム製剤についても検討を行っているが B₁₂ と同じく Cu を定量し主剤含量測定に應用することができ得る結果を認めた。

⑤ 薬用植物成分の分析 (植物体分析への応用)¹³⁾

東洋医学に基礎をおく生薬は草根木皮の類で古くから日本人になじみ深い。最近特に漢方ブームであり、新薬(西洋薬)の中にも大部これらの生薬を混合して製剤化する傾向が多くなっている。薬学は有機化学がその根源となっており、無機微量元素成分はむしろ医薬品中の夾雑物としての純度試験としてテストすることが多い。

薬用植物の有効成分としてのアルカロイド、配糖体、蛋白物質、精油などの有機成分の蔭にあって、その潤滑油としての役割をもっている無機金属成分を吟味して薬効に関連づけることも有用であろうと考え、筆者は市販生薬 144 種類について常成分である K, Na, Ca, Mg, Fe や微量元素である Cu, Zn, Co, Pb, Mn を定量した。各検体 10 g をとり 450°C で灰化し、希塩酸で灰分を温浸後、残渣をフッ化水素酸処理したのち残留物を再び希

塩酸をもって溶解し前濾液と合し、全量を 100 ml とする。試料液 1 ml には 0.1 g の生薬を含有するわけで Zn, Mg は検液を × 40 し分析, Na, K は × 20, Ca は × 5, Mn, Fe, Cu はそのまま, Pb, Co は A. P. D. C-MIBK 法により分析した。目下各部位(皮, 木, 根, 茎, 根, 葉, 花, 果実, 種子, 草)毎の各成分との比較と健胃, 強心利尿, 鎮痛鎮静, 鎮咳祛痰など薬効別に分類し、それぞれ検討を加えつつある。

今後植物成分と土壌成分との関係についても A. A 法を導入し研究を続行したいものと考え、目下岩手医大薬理学教室との協同研究として、ブシ末(トリカブト)中の微量元素元素の分析に應用している。

IV 今後の研究課題

以上実験例として血清, 尿, 頭髮, 唾液などの生化学的試料および医薬品類についての応用例を紹介したが、今後の衛生化学的応用分野について考えてみたい。

〔1〕成人病予防対策研究への応用

これは成人病としてのガン, 高血圧患者の生活環境の中で飲料水, 食品, 空気などより、体内に蓄積される Zn¹⁴⁾, Cu, Si^{15) 16)} などの微量元素が疫学的に病因物質として注目されている現在、疫学調査の一環として臨床学的観察と併行して環境による体内蓄積元素の追究が意欲的に進める必要を感じる。この面での A. A の活躍を期待したい。

- ① ガン患者と健康者血清中の Zn, Cu の相関性の吟味。
- ② ガン患者の頭髮, 血液, 骨, 臓器中の Zn, Cu などの定量と健康者のそれとの比較環境の把あく。
- ③ 高血圧頻度の高率地域と低率地域の飲料水と住民頭髮, 血液, 尿中の Si の定量。

〔2〕水質化学への応用

水は液体なので A. A 利用は極めて有望であり、広汎な活用が期待し得る。干渉物質の影響が少ない特性を利用。

- ① 飲料水への利用 飲料水中の K, Na, Ca, Mg などの常成分と Pb, Cu, Zn, Hg などの異常成分の定性定量。
- ② 温泉分析への利用 K, Na, Ca, Mg, Fe などの常成分と Cu, Pb, Zn, Mn などの微量成分, また外国製 A. A を用いて Li, Al, Ba, As, Ni, Co, V, Mo, Si, B

などの痕跡元素分析。

③産業廃水，殊に鉱山廃水中の重金属分析。

Cu, Pb, Zn, Mn 外国製 A. A での Hg の分析。

④プール，公衆浴場浴水への利用（実施中）

汚染指標としての Zn, K, Na 消毒剤使用時の Ag, Cu の分析。

〔3〕大気汚染研究への応用

①降下ばい塵中重金属の定量（実施中）

Fe, Cu, Mn, Pb, Zn, As, Si, Hg などの定量。

②浮遊塵埃中の重金属の定量（実施中）

ハイボリウムエアースンプラーを用いてガラスフイバー，または濾紙を用いて大気中の浮遊塵を捕集し硝酸抽出を行ったのち A. P. D. C-M. I. B. K 法による Pb, Cu, Hg, As, Mn, Zn などの定量。

③自動車排ガスによる大気汚染の調査

自動車排ガスが大気中に放散されると空気中に多量の Pb が飛散し，公衆衛生上その有害性が問題視されるに至っている。筆者らは特殊なエアースンプラー（24時間連続採取）により大気中の Pb を捕集（捕集液：アルカリ性醋酸アンモニウム）し A. A により迅速測定を行うと共に，地域住民の頭髪，爪中の鉛量を測定し，健康におよぼす影響調査を計画している。

〔4〕労働衛生学的応用

総合開発の進展による潜在的な微量有害性金属による中毒が予想されるので，労働基準局および衛生行政当局の協力のもとに Fe, Mn, Cu, Pb, Zn, Cd, As などが空気中に多く存在するおそれのある不健康職場の労務管理の一助として，積極的に環境調査を実施する必要性を痛感する。サンプリングは前項の自働 24 時間連続採取装置，分析機器は A. A 一步前進して感度の著しく高い外国製 A. A の設置を見れば今後の労働衛生面に計り知れない恩恵を受けることになる。公衆衛生上最も力を入れる分野である。

〔5〕食品衛生面への応用

最近食品衛生上有害性重金属の問題が大きくクローズアップされている（Zn, Pb, Sn 中毒）ので特にこの分野における A. A の利用を推進する必要がある。

①缶詰中重金属の定量

Zn, Pb, Sn を取り上げたい。これらは缶詰の内容液を何等前処理することなしに直ちに A. A に導入することによって定量可能と思われ，殊に測定時間の迅速化が貴重である。将来食品検査車がインスペクターを乗せて，市中を廻る時，ポータブルの A. A 器の出現により現場で直ちに p. p. m~p. p. b オーダの分析が 2~3 秒で可能なわれわれ衛生化学者が夢にみていたことが現実化する時代がすぐそこまで来ている。これらによってどれ程公衆衛生が向上するか，正に分析化学者の黄金時代

が到来する。よい事はすぐ実行に移す決断力が必要である。衛生行政に奉仕するわれわれの努力が実を結ぶ日も近い。

②残留農薬の定量

無機性農薬が穀類，果実，野菜中に残留する量が最近問題になっている。Cu, Pb 外国製 A. A 器で As, Hg の定量などが目下行なわねばならない課題であろう。

③市乳の栄養，衛生学的調査

市乳の栄養学的面としての Ca 量，衛生学的面としての Sr および重金属の定量などが容易に行われると思う。

V おわりに

全国衛生研究所に先がけて A. A 器の導入をみたのは 1964 年の暮であった。A. A に関する世界の，日本の先覚者たちの業績をむさぼり読んだ末にどうしても「衛生化学の領域」に導入しなければならないと考え，そして得られた。それから早や 2 年，A. A なくしては考えられない充実した毎日である。学問は常に新しいものを要求する。衛生化学は緑の下の方力持ち的存在であるというわれわれの今までの意識を A. A が変えた。最先端を行く光榮ある学問である。今までのささやかな筆者のプロパーガンターが効を奏し，次第に全国衛研化学陣を刺激し，2，3 年後には「同志」が増加し，A. A デスカッションを日本薬学会公衆衛生部会などでとりあげられる日を楽しみに微力を捧げたいと思っている。日本の科学陣が作り上げる純良な試薬と A. A 器が明日の公衆衛生を今までにない急テンポで変遷させ，未知の分野を開拓して行くであろうことを期待し，人類の福祉に寄与されることを信じて，明日もまた新しい希望に満ちた聖職を守りつづけて行きたい。最後に A. A の先覚者 Australia A. Walsh 博士に最大な感謝を捧げると共に，現在まで筆者に与えられた多くの A. A 関係者の助言，指導，激励に対し心からお礼を申し上げて筆を擱く。

参 考 文 献

- 12) 佐藤 彰：原子吸光関係講演要旨集（Ⅲ）第 8 報（昭41.9）
- 13) "：原子吸光関係講演要旨集（Ⅱ）第 6 報（昭40.8）
- 15) 平山 雄：ガンの探検：光文社 183，（昭33.7）
- 15) 三沢敬義外：日本医事新報 No. 1718, 1719（昭32.）
- 16) 佐藤 彰：ケミカルタイムス 30号 14-16（1963 No. 4）

訂 正

前号表紙の目次 佐藤彰博士：原子吸光分析における生化学への応用は，……衛生化学の間違いでした。

物理的測定法による

有機化合物の構造解析法入門 (II)

東京教育大学理学部 理学博士 大 橋 守

I. 核磁気共鳴スペクトル (その2)

前号にごく基礎的な核磁気共鳴(NMRと略記する)スペクトルの性格をまとめてみた¹⁾。今回はこのNMRスペクトルを実際に有機化合物の構造研究に役立たせた実例についてスペクトルの解析を試みよう。こんなふうにしてNMRスペクトルが役立つのだという理解の一助となつて頂けたら幸甚。前述のように核スピンを有する原子種： C^{13} 、FなどのNMRスペクトルも実測され、それぞれ有用な知見が与えられているが、ここでは最も一般的なプロトンのNMRスペクトルに話を限る。複雑なスペクトルの各シグナルの背後にかくされているものは前号にのべたように化学シフトとスピンスピン結合実数であり、スペクトルの解析とは各シグナルから各プロトンの化学シフト、結合状況を解明し構造と関連づけることで、分子の平面構造だけでなく、官能基あるいは結合の異方性効果と結びつけて立体構造の解明まで可能の場合が多い。構造未知の天然有機化合物の構造決定には絶大な威力を発揮している。

I. スペクトル解析の順序

スペクトル解析の順序は特に規則があるわけではないがあらましつぎのようなものであろう²⁾。まず各シグナルの積分強度を考慮して分裂しているシグナルを1Hに相当する組に分類し、その化学シフトからそのHがどんな基に属しているかおよその割つけをおこなう。複雑な構造を有する天然有機化合物などではNMRスペクトルも各水素シグナルの重なり、多様なスピンスピン結合による分裂の複雑化などで解析の困難な場合も多い。スペクトルを単純化するには溶媒効果や100Mcあるいは200Mc(まだ市販されていない)分析計を用いてシグナルの重なりを分離させたり、スピンドカップラーを用いてスペクトルのスピンスピン結合を消去することが必要である。化学的には活性水素を重水素交換し、その水素のシグナルを消去したり、関与するスピンスピン結合をなくしたりする。ここでくわしく説明するスペースはないけれど、スピンドカップラーに用いられている二重共鳴方式を簡単に説明しよう。二重共鳴方式はスピンスピン結合を消去するだけでなく、スピンスピン結合をしている水素対の化学シフトも明確になしうるので極めて重要な技術である。前号にのべたようにAB二水素はスピンスピン結合により図1のような4本のシグナルを与える。A水素、B水素に属するシグナルが各2本に分裂しているのは各水素の二種のスピンの向きが相互作用をおよぼしているからである。今Aを共鳴させてそのシグナルを測定している時同時にBも共鳴させるとBのスピンの向きは激しく交換し、AはBのスピンの向きが一定しないのでBのスピンスピン状態を反映することができず、結

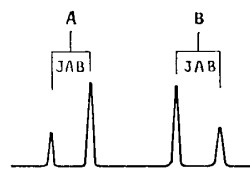
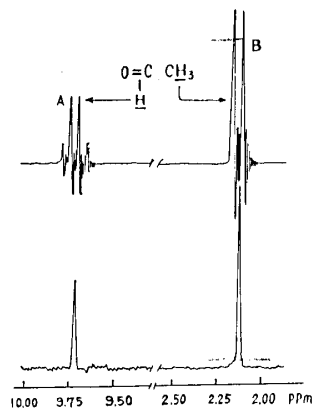


図 1

局Bのスピンの影響をうけないのと同じことになり1本のシグナルを与える。周波数掃引デカップラーを用いると或る特定の水素Aを二重共鳴させ、その水素の関与するスピンスピン結合をすべて消去させることができ、スペクトルのシグナルの変化からAがどの化学シフトの水素と相互作用を有しているか明確になしう。図2にアセトアルデヒドの二重共鳴スペクトルを示す³⁾。通常のスペクトルにみら

アセトアルデヒドの NMR スペクトル



二重共鳴スペクトル

図 2

れるAシグナルはメチル水素とのスピンスピン結合により1:3:3:1の強度比をもつ4本に分裂し、Bシグナルはアルデヒド水素とのスピンスピン結合により2本に分裂している。これは典型的な AX_3 型(前号参照)分裂シグナルである。今Bシグナルから454cps低磁場(60Mc)にあるAシグナルを共鳴させるとBシグナルは1本となり、またBシグナルを共鳴させてAシグナルを測定すると1本になってしまう。こうしてBプロトンはAプロトンとスピンスピン結合をしていることが証明される。スピンスピン結合の存在が証明されると両プロトンは近接位に存在することになり各プロトンの結合炭素間の状態が判明する。

II. スペクトル解析の実例

現在有機化学の学術雑誌でNMRという文字がみつからない号は皆無である程多数の研究がNMRスペクトルに基づいてなされている。どれを選んでも良いのであるが、ここではアトロピン(I)を濃硫酸-濃硝酸(1:1)の混酸で処理してえられたm.p. 173~4°の黄色結晶の構造を図3のNMRスペクトルから推定してみよう³⁾。関係する話題も重要な点は付記しておく。

δ : 8.30, 8.17, 7.67, 7.54 ppm (AB 型 4 H), 低磁場領域に存在する 4 本のシグナルの形は前号でのべた AB 型シグナルの典型であるが, その強度は注意を要す

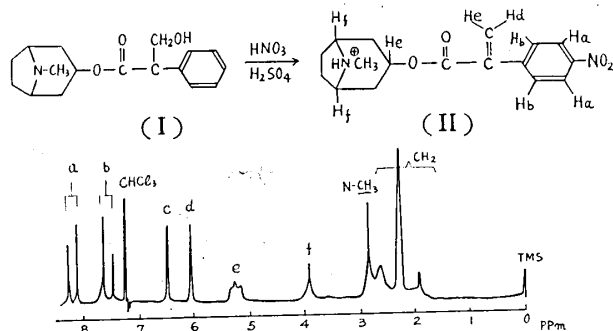


図 3 Nitroatropamine nitrate の NMR spectrum (CDCl_3)

る. δ 8.30, 7.54 ppm のシグナルはわずか 0.75H, また δ 8.17, 7.67 ppm のシグナルは 1.25 H の面積強度で各シグナルがそれぞれ 1 H に対応しているものではない. AB 型シグナル 4 本の面積強度が 4 H に相当することから全く同じ関係にある 2 組の AB 型 2 H の重畳とみななければならない. これらの水素の化学シフトの位置は前号でのべた関係式から算出される. この化学シフト

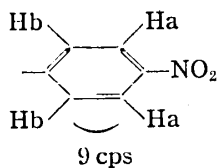
$$\delta_{ab} = \sqrt{(8.30 - 7.54)(8.17 - 7.68)} = 0.61$$

(a, b, 水素の化学シフトの差)

$$a \text{ 水素の化学シフト} : \frac{1}{2}(8.17 + 7.68 + 0.61) = 8.23 \text{ ppm}$$

$$b \quad \quad \quad : \frac{1}{2}(8.17 + 7.68 - 0.61) = 7.66 \text{ ppm}$$

8.23 および 7.66 ppm はベンゼン環上の水素に相当し, スピンスピン結合定数 9 cps は隣接オルソ 2 H に相当する. したがってこの 4 本のシグナルは 1,4-二置換ベンゼン構造を示し, 文献にみられる p-ニトロベンゼン類のシグナルとよく一致しつぎの部分構造が与えられる. ニトロ基のオルソ位の H_a が低磁場に吸収するのはニトロ基の強い電子求引性のため H_a の電子密度が減少しているためであろう.



δ : 9.28 ppm, 溶媒に用いた重クロロホルム中に混在するクロロホルム CHCl_3 のシグナル. 市販の重クロロホルムに必見されるピークで CHCl_3 が完全に CDCl_3 に置きかわっていないためである.

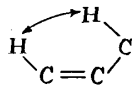
δ : 6.52 (1 H), 6.08 (1 H), 化学シフトはビニル水素を示すが, スピンスピン結合がみられない. スピンスピン結合のみられない場合は, つぎのようなものがある. i) 5 結合以上離れて存在する 2 H. ii) お互の dihedral 角が 90° の隣接水素. iii) 互の角度が $\sim 120^\circ$ の gem, 2 H. iv) virtual coupling と呼ばれる特殊な相互作用の 4 種である. ii), iii) については前号で述べた. 通常 4 結合隔てたプロトン間の遠距離スピンスピン結合はこの間に二重結合を含む場合 (a), (b) および固定骨格で W 文字の関係にある単結合 (c) にみられる.

iv) は複雑なので省略するがスピンスピン結合がみられないというよりもシグナルの形がくずれるのが普通で, メチル

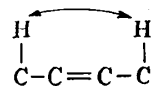
J: 0~3 cps

J: 0~2 cps

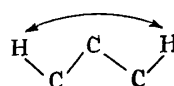
J: 0~10 cps



アリル結合(a)



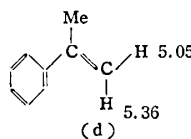
ホモアリル結合(b)



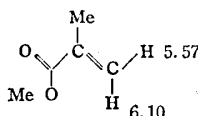
W文字則(c)

シクロヘキサン類のメチルシグナルの変形にみられる.

δ 6.52, 6.08 ppm の 2 本のシグナルは iii) に相当し, 末端メチレン構造の可能性が大きい. 特にニトロアトロピンの質量スペクトルがニトロ化脱水アトロピンに相当するので, 1 級水酸基が酸処理により脱水され共役二重結合が新生したものと考えられる. どちらのプロトンが低磁場シグナルに対応するか明確でない. つぎに示した d) e) の両データからみると, ベンゼン環とエステルカルボニル基の異方性効果は丁度相殺される方向に働いているが, カルボニル基に対して s-cis のコンホメーション (f) をとった時のカルボニル基の大きな効果を考慮すれば H_c (f') がより低磁場に吸収するとみなされよう⁴⁾.



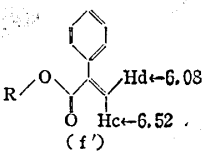
(d)



(e)



(f)



(f')

δ : 5.27 ppm, 巾広い 1 H, 化学シフトはエステル水酸基の結合位 H_e に相当. 水酸基の結合位にある水素は通常エーテル化あるいはエステル化により 0.5~1.0 ppm 程低磁場へシフトするので, 水酸基存在の確認に利用される.

δ : 3.90 ppm, 巾広い singlet 2 H, 窒素原子と結合した炭素上の H_f . 化学シフトはこのようなトロパン核では 3.0~3.3 ppm に存在する筈で, 異常に低磁場にあるのは窒素が硝酸塩として正電荷を帯び, その強い I 効果のために H_f の電子密度が減少しているためである.

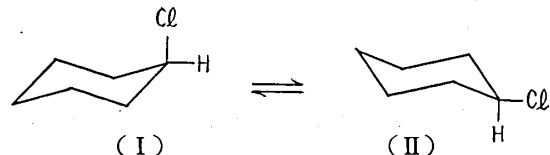
δ : 2.80 ppm, 3 H; $N-\text{CH}_3$ 基であるが通常的位置 2.3 ppm より低磁場にシフトしている. 上述の窒素の 4 級化に伴い正電荷密度が減少していることに帰しうる.

δ : 2.8~1.8 ppm, 8 H. m; トロパン骨格のメチレン基のシグナル, 重畳が甚だしく解析困難.

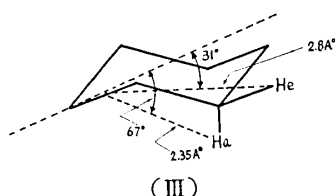
以上のように各シグナルから判明する部分構造一すなわち p-ニトロベンゼン, 末端メチレン, エステル水酸基, $N-\text{CH}_3$, $2 \times N-\text{CH}$, $4 \times \text{CH}_2$ を関連づけ, アトロピンの構造に反映させると一義的に p-nitroatropamine (2) の構造が導かれる. 実際には NMR スペクトルだけでなく, Mass, IR, UV スペクトルも総合的に駆使されて構造決定がなされた⁵⁾.

III. 空間異性体研究の一例

クロルシクロヘキサンはつぎのように二種類のコンホーメーションをとり、平衡状態で存在するが、両者間の反転エネルギーは僅少で分離は困難であった。CD₂Cl₂中-115°のNMRスペクトルは図4に示すように13:87



の強度比で equatorial 水素を有する構造 (I) の方が少なくなっている⁵⁾。シクロヘキサンにみられる axial, equatorial 水素の化学シフトは C-C 結合の異方性効果



によるもので (III) に示す角度と距離に依存し、両者の間に 0.40 ppm の差で axial 水素の方が高磁場に吸収することが知られている。また、前号でのべた結合定数が dihedral 角に依存することから axial-axial 水素間の結合定数は 12cps, axial-equatorial, equatorial-equatorial 水素間の結合定数は 3 cps 前後という関係にあり、隣接水素の数が多い場合 axial 水素は半値巾 12 cps 以上の巾広いシグナルを与え、equatorial 水素では 9 cps 以下の比較的シャープなシグナルであると経験的に知られている²⁾。図4a はこのような axial, equatorial 異性体間の関係をよく示している。クロルシクロヘキサンを

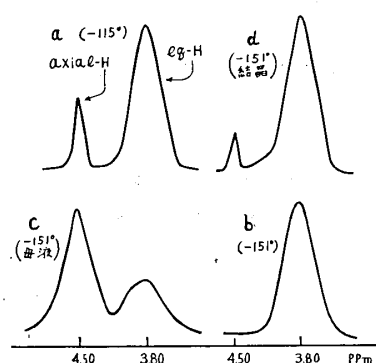


図4 ChlorocyclohexaneのNMR⁵⁾

非常にゆっくりと結晶化させ (-43.9°) ついで -151° に冷却して後 NMR を測定すると図4bに示すように axial 水素のシグナルしか認められず 100% 純 equatorial クロルシクロヘキサン (II) の結晶であることが示される。図4(c) は -115° の平衡混合物を -150° に冷却したもので axial-equatorial の水素の強度比は 58:42 となり II が結晶化して遊離し、その母液は I が多くなっていることを示す。ここで母液を除去し、結晶を -150°C で測定してみると95%の I であることが示される (図4d)。この溶液は -125° に温めると20分後には -115° で測定された図4aと同じスペクトルを与える。以上、反転異性体の単離が初めて NMR スペクトルから証明されたわけである⁵⁾。

自由回転を有する化合物は温度を下げるにより回転ができなくなり、特定のコンホーメーに固定されることも NMR スペクトルから実証される。たとえば NN-

dimethyl formamide では図5に示すように温度とシグナルの間に変化がみられる。常温では自由回転が束縛されて S-cis コンホーメーションのメチル水素が低磁場に S-trans のメチル水素が高磁場に吸収する。もちろんこ

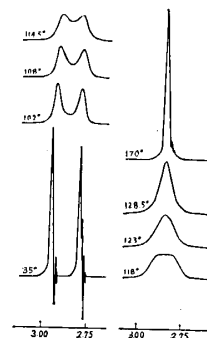
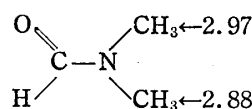


図5 N, N-dimethylformamide のスペクトルの温度変化



のとき自由回転が不可能ということではなく、周波数の逆数の時間より長く一状態に止っていれば両シグナルがみられるのであって温度をあげるに従い一状態に止る時間が短くなり、図に示されるように段々2本のシグナルは巾広く接近してやがて1本に平均化されてしまう。温度変化とスペクトルの形から回転に要する活性化エネルギーを算出することができ、N,N-dimethyl formamide の場合 12kcal という数字が与えられている^{6,7)}。NMR スペクトルは現在非常に広範に用いられ、上述のような未知構造物質の構造決定や回転、反転異性現象の解明だけでなく、反応の追跡などプロトンの関与するあらゆる現象に適用される。ここでは触れなかったけれど最近の話題として飽和現象に関連する Overhauser 効果から空間的な相対位置の解明、溶媒和に基づく分子各位置の化学シフトの変化の経験的統一などデータ蓄積と待って益々その実用性を高めている。かつてはクロム酸酸化により得られた酢酸の定量でその存在を推定していたメチル基など NMR スペクトルは確実にまたその存在様式—たとえば2本に分裂しておれば、 $\begin{matrix} \text{H} \\ | \\ -\text{C}-\text{CH}_3 \end{matrix}$ 化学シフトが 1.5 ppm 付近なら、 $\begin{matrix} \text{R} \\ | \\ =\text{C}-\text{CH}_3 \end{matrix}$ など—まで判然と与えることができるのであり、研究の迅速、確実さから貢献する大きさは論をまたない。

以上 NMR スペクトルの利用例を1, 2説明してみた。有機化学にとって、非常に重要な技術となっている核磁気共鳴スペクトル利用法的一端を知って頂けたら幸である。

参考文献

- 1) 本誌 43, 731 (1967)
- 2) 中川直哉 "NMR スペクトルの解釈" P. 172, 共立出版 (1966)
- 3) 山崎, 谷口, 藤勝 "明治薬科大学研究紀要" P. 53 (1966)
- 4) L. M. Jackmann "Application of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry" Pergamon Press, London 1959, 清水博訳 "核磁気共鳴" P. 176, 東京化学同人 (1962)
- 5) F. R. Jensen, C. H. Bushweller, J. Am. Chem. Soc. 88, 4279 (1966)
- 6) J. A. Pople, W. G. Schneider and H. J. Bernstein "High Resolution Nuclear Magnetic Resonance" P. 368, McGraw-Hill, New York (1959)
- 7) F. A. Bovey "Chem. Eng. News" P. 98 Aug. 30 (1965)

犯罪と分析化学 (II)

科学警察研究所
主任研究官 医学博士

丹 羽 口 徹 吉

B 一酸化炭素

古くからの都市ガスによる過失中毒、自殺の外、最近では液体プロパン燃料の誤用による一酸化炭素中毒事件も数多く発生している。裁判化学では、火災の現場より発見された死体について問題になることが多く、死体の血液中に一酸化炭素が存在するかどうか、またどれ位存在するか、等进行检查することにより、殺害死後放火したものか、あるいは煙（一酸化炭素を含んでいる）にまきこまれて焼死したものを判断する重要な手がかりとすることが多い。

1962年9月、山梨県山中湖畔の別荘に火災が発生し、その焼跡から10人の成年男女の死体が発見され、「秋田山荘事件」として、他殺か、過失死かと世中を騒がせた事件があった。この場合、早速焼死体から血液、胃内容物等が可能な範囲で採取され、血液については一酸化炭素および各種薬毒物、また胃内容については、系統的に薬毒物の検査が行われた結果、血液中に一酸化炭素を認めた他は、何も検出されなかった。

一方、その原因を究明するため、この事件を再現すべく、秋田山荘の一部を建築し、燃料として用いられたプロパンガス（組成；エタン1.0%，プロパン52.4%，ブタン17.7%，プロピレン24.9%，ブテン4.0%：50kg入ボンベ）を当時と同様、浴室のバーナーにより燃焼せしめ、一酸化炭素の発生状況、各点における濃度、建築物各部の温度上昇状況、動物の致死状況などを詳細に測定観察した。その結果、本事件は不運な事故死であり、（再現実験で兎の場合、点火後1時10分から7時間30分で各点とも全部死亡）全員が中毒死した後に風呂釜はからだきの状態となり（再現実験では点火後13時間45分）、浴室の建物の温度が急上昇して、さらにバーナーのゴム管が破れ、焰をふきだし炎上したものと認められた。そしてさらに、一酸化炭素発生の原因についても検討された。その結果、この場合は、ボンベにつけられた減圧弁が準工業用（家庭用減圧弁は水柱で280mm前後の圧力に調制可能、また、準工業用は1,000まで、工業用は1,000mm以上調制）であったため、浴室のバーナーに過剰のプロパンガスが供給され、空気の補給が不足して不完全燃焼をおこし、急速に一酸化炭素が発生したものと推定された。予備的にプロパンガスの圧力と一酸化炭素発生量との関係を検討したが、その結果を第Ⅲ図に示す。バーナーは風呂釜用で空気孔を全開し、一酸化炭素濃度はバーナー直上でそ

れぞれの圧力に調制1分後に測定したものである。

一般に空気中一酸化炭素濃度は、検知管法により測定される。また血液中の濃度は拡散法⁴⁰⁾もしくは吸光度測定法⁴¹⁾により求めている。拡散法については、他にゆずることとし、ここでは吸光度測定法について述べる。

本法は419mμにおける一酸化炭素・ヘ

モグロビンの特異な吸収の増大を測定して、その濃度を求めるものである⁴⁴⁾。実際には個体によるヘモグロビンの濃度差を補正するため、CO-ヘモグロビンとO₂-ヘモグロビンの混合比率に関係せず、それぞれの吸収曲線が540mμで交差することを利用して、次の操作を行い測定を進める。即ち、対照血液および資料血液を水で200倍に希釈し、540mμでそれぞれの吸光度E、E'を測定し、真の希釈率D、D'を次式によって求める。

$$D = \frac{E}{6.6} \times 100 \quad D' = \frac{E'}{6.6} \times 100$$

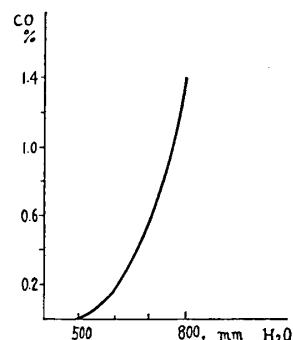
次に対照および資料の血液の200倍希釈液をとり、さらに水でD、D'倍にそれぞれ希釈してAo、Bxとする。各10mlをとり純一酸化炭素を5分間静かに導通して一酸化炭素を飽和させA₁₀₀、B₁₀₀とする。このAo、Bx、A₁₀₀、B₁₀₀について419mμにおける吸光度E₀、E'_x、E₁₀₀、E'₁₀₀を測定し、

$$X(\%) = 100 - \left[\frac{(E'_{100} - E'_x) \times \frac{E_{100}}{E'_{100}} \times 100}{E_{100} - E_0} \right]$$

によって一酸化炭素ヘモグロビン量X(%)を求める。

C 催眠薬

催眠薬による自殺、過失死の事例は依然として多く、また、最近では青少年の間で乱用されることによって生ずる二次的な犯罪も増加しつつある。本邦では諸外国と異なり、主としてブロムワレリル尿素系の催眠薬が広く常用されてきたため、このものによる事件が多く、特に近時は非バルビツール酸系催眠薬、精神安定剤、または他



第Ⅲ図 燃料ガスの圧力とCO発生量

の医薬品と混合して用い、自殺、過失死する事例も多くなりつつある。資料として考えられるものには、現場に残された錠剤、死体からの胃内容物、血液、尿、その他諸臓器があげられるが、とにかく多種にわたる催眠薬のスクリーニング・テストが必要で、この点に関し種々検討が加えられてきた。次に本邦で問題となり易い催眠薬について、沈澱および呈色反応を応用した系統的な予試験の方法を示す⁴⁰⁾。

その他、各々の系の催眠薬について薄層クロマトグラフィーおよびガスクロマトグラフィーによって分離確認する方法が広く用いられている。

薄層クロマトグラフィーを用いる方法では、ブロムワレリル尿素系催眠薬について金沢¹⁵⁾が、バルビツール酸系のものについては、Frahm¹⁶⁾、Eberhardt¹⁷⁾、丹羽口¹⁸⁾中沢¹⁹⁾等が、非バルビツール酸系のものについては Cochin²⁰⁾、丹羽口²¹⁾等が展開溶媒、発色剤、薄層の作製法について、それぞれ検討を加えている。そしてこれらを総合して展開溶媒にクロロホルム：アセトン(9:1)、アセトン：二塩化エチレン(15:85)、イソプロパノール：アンモニア：クロロホルム(9:2:9)等を用い、発色剤として硝酸第一水銀溶液、ヨウ素溶液または Pydon & Smith²²⁾の方法を用いて、各催眠薬の一せい分析の目的を達することができるようになった⁴⁰⁾。

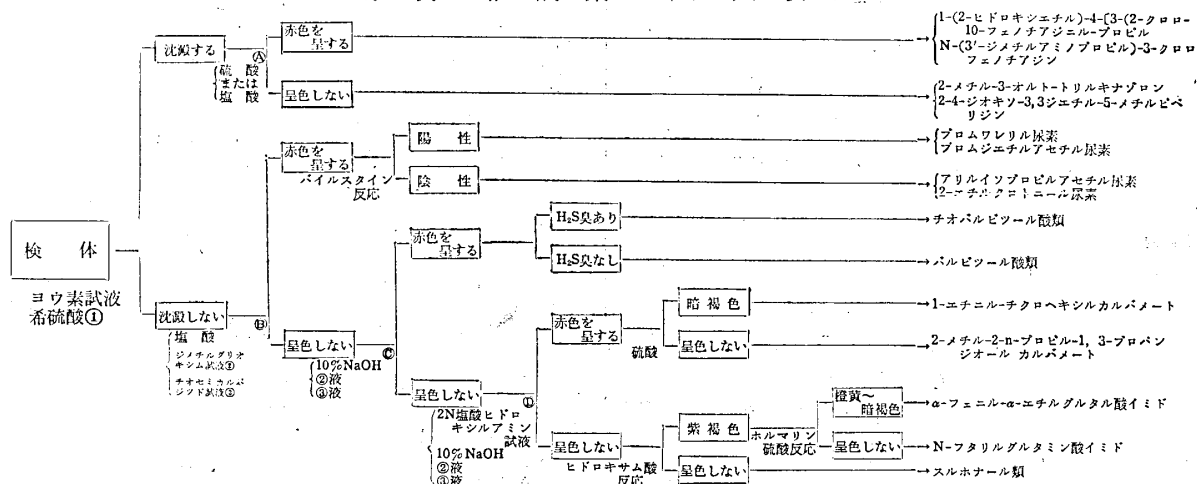
また、バルビツール酸系催眠薬相互の分離を一層明瞭にする目的で、硝酸銀で処理した薄層を用いることが提唱されている¹⁹⁾。即ち、通常、薄層はシリカゲルに水を加えて作製されるが、この場合は水の代りに10%硝酸銀溶液を用いて作製し、遮光しつつ活性化した後、ベンゼ

ン：エタノール(95:5)、水飽和ブタノール、クロロホルム：酢酸(9:1)、またはベンゼン：ピリジン：酢酸(80:20:2)等を展開溶媒として用いる方法である。

ガスクロマトグラフィーによる分析法については、ブロムワレリル尿素系のものを星野等²³⁾が、バルビツール酸系、非バルビツール酸系のものについては内山等²⁴⁾によって検討されており、またバルビツール酸系催眠薬については Kirk²⁵⁾ 26) 27) 等の詳細な研究がある。そして薄層クロマトグラフィーの場合と同様、これらを総合して催眠薬の一せい分析を行い得る条件について種々検討された⁴⁰⁾。その結果、検出器に熱伝導度型を用い、吸着剤として SE-30 (5%, レンガ粒40~60メッシュ)。3 mm 径、2.25 m 長のカラムを用い、カラム温度 200°で行うと大体の催眠薬は R. T. 2~23分で分離可能であり、また同型検出器で SE-30 (25%, セライト545, 80~100メッシュ)。6 mm 径、2 m 長のカラムを用い、241°で、R. T. 2.5~9.55分で分離することができる。また、水素イオン化型検出器では DC-11 (5%, セライト 60~80メッシュ)で6 mm 径、1.5 m 長のカラムを用い、カラム温度200°の場合、R. T. 3.8~36.5分で分離可能である、いずれの場合も、R. T. の小なものから、バルビタール、スルホナール、2,4ジオキソ-3,3ジエチル-5-メチルピペリジン(メチプリロン)、アロバルビタール、アモバルビタール、ペントバルビタール、メチルヘキサビタール、 α -フェニル- α -エチルグルタル酸イミド(グルテチイミド)、エチルヘキサビタール、2-メチル-3-オルトトリルキナゾロン(ハイミナール)の順で分離してくる。

その他、各個の催眠薬についても、それぞれ特異的な

第I表 催眠薬の予試験法



試薬：①ヨウ素試液、ヨウ素14 gをヨウ化カリウム液100 mlに溶かし、希塩酸1 ml、水を加えて1 lとしたもの。

②ジメチルグリオキシム試液、ジメチルグリオキシム0.3 gを塩酸に溶かし10 mlとしたもの。

③チオセミカルバジッド試液、チオセミカルバジッド0.1 gを水5 mlに温時溶解し95%エタノールを加え

10 mlとしたもの。

反応：④フェノチアジン誘導体は酸で赤色を呈する。

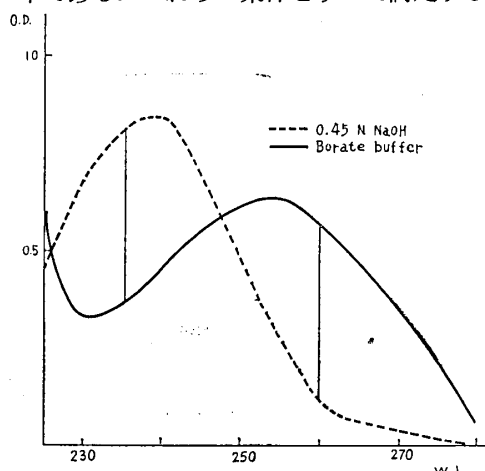
⑤末端遊離尿素基を有するものは赤色を呈する。

⑥NaOHと水浴上で加熱、バルビツール酸を分解した後、末端遊離尿素基の反応を行う。

⑦ヒドロキシルアミンを加熱により縮合せしめ、尿素誘導体として反応を行う。

反応を利用した確認反応が古くから知られている。例えば、バルビツール酸系催眠薬のアノモニア溶液は、銅イオンによって各バルビツール酸誘導体特有の色、形を有する錯塩の結晶を作ることが知られていたが^{28) 29)}、さらに、これら錯塩のX線回折を行うことにより、そのパターンから、より一層正確に相互の確認をすることができるようになった³⁰⁾

また、バルビツール酸系催眠薬の紫外吸収はpHによって変動することを利用して定性ならびに定量試験を行う方法が報告されている^{31) 32)}。本法は生体資料からの抽出物、または薄層クロマトグラフィーによって分離されたスポットからの抽出物にも応用される。即ち、バルビツール酸誘導体は硼酸緩衝液中では238~240m μ に、また0.45N苛性ソーダ溶液中では252~255m μ に最大吸収があり、両吸収曲線は220~227m μ および247~250m μ で交わり、両者の吸光度の差が最大となるのは、260m μ と236m μ である。これらの条件をすべて満足することに



第IV図 アモバルビタールの吸収曲線

より定性的に確認される。また、260m μ における両者の吸光度の差は、溶解しているバルビツール酸誘導体の濃度に比例するので、この点を利用して3~30 μ gの範囲で定量が可能である。

D 局所麻酔薬

手術時に局所麻酔薬が使用されることがあるが、いわゆるショック死等、不慮の事故を起こす例がある。この際、事故の原因を究明することは困難であるが、使用された薬剤を確認すると言う意味で血液、脳脊髄液、尿等からの検出を依頼されることがある。従って裁判化学的に個々の局所麻酔薬について、呈色、沈澱反応、紫外外部吸収、赤外吸収、ペーパークロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィーによる分析法が報告されているが³³⁾この場合も催眠薬の場合と同様に一せい分析法が望まれていた。

丹沢等³⁴⁾は、この目的にそって11種の局所麻酔薬について薄層クロマトグラフィー、ろ紙電気泳動法、処理ペーパークロマトグラフィーによる分析法を検討し良好な結

果を得ている。薄層クロマトグラフィーでは、展開溶媒としてクロロホルム：メタノール(9:1)を用い、0.1N苛性ソーダ溶液で作製した薄層を用いた場合、スポットの状態も良形で、分離も明瞭であった。発色剤としてはドラージェンドルフ試液、塩化白金・ヨウ化カリウム液を用いている。ペーパークロマトグラフィーではアルカロイドの分離に使用されている³⁵⁾ジルコニウムホスフェート処理したろ紙を用い、ブタノール：酢酸：水(4:1:5)で展開を行い、相互の分離に良好な結果を得ている。

また同じく、ガスクロマトグラフィーについても検討されている³⁶⁾。この場合、資料中、塩を形成しているものはアルカリ性でエーテル抽出し遊離型化合物にして注入された。⁹⁰Srによる放射線イオン化型検出器を用い、1m長のThermol-Qカラムで、200~230°の場合、ほぼ一せい分析の目的を達している。

E 精神安定剤

先にも述べたように、最近、催眠薬、麻薬等とともに精神安定剤の乱用が目立ち、これらの分析を依頼される場合がある。精神安定剤中、最も多いのはフェノチアジン系のもので、これらの分離にも薄層クロマトグラフィーが応用されている。^{37) 38)} 狐塚³⁹⁾等は、展開溶媒、発色剤等について検討を加え、特に麻薬等のアルカロイドが混合されている場合、それぞれを確認することに成功している。即ちベンゼン：ジオキサン：アノモニア(60:35:5)の溶媒で展開した後、まず、0.5%塩化白金酸試薬によりフェノチアジン誘導体を検出し、次いで2%ヨウ化カリウム溶液によって他のアルカロイドを確認している。

参考文献

- 14) 秋谷；谷村：薬誌 72, 453 (1952)
- 15) 金沢：科警研報告 18, 239 (1965)
- 16) Frahm, Gotttesleben, Soehing: Arzneimittel - Forsch, 11, 1008 (1961)
- 17) Eberhardt, Freunbdt, Langbein: Arzneimittel - Forsch, 12, 1087 (1962)
- 18) 丹羽口：衛生化学 10, 6 (1964)
- 19) 中沢, 中島: ibid, 10, 266 (1964)
- 20) Cochin & Daly: J. Pharm, Exper, Therap, 139, 154 (1963)
- 21) 丹羽口, 大木: 科警研報告 16, 41 (1963)
- 22) Rydon & Smith: Nature 169, 922 (1952)
- 23) 星野, 丹沢, 原納, 浮田, 金沢: 衛生化学 12, 133 (1966)
- 24) 内山, 奥井: ibid, 9, 65 (1963)
- 25) Parker & Kirk: Anal, Chem, 33, 1378 (1961)
- 26) Nelson & Kirk: ibid, 34, 899 (1962)
- 27) Parker, Fonton & Kirk: ibid, 35, 418 (1963)
- 28) Rosenthaler: Toxikologische Mikroskopische Analyse 183 (1935)
- 29) Romijn: Pharm. Weekbl, 92, 397 (1957)
- 30) 山村: 科警研報告 12, 320 (1959)
- 31) Goldbaum: Anal, Chem, 24, 1604 (1952)
- 32) Broughton: Biochem. J, 63, 207 (1956)
- 33) 宮下, 松村: 科警研報告 16, 295 (1963)
- 34) 丹沢, 星野, 浮田: 衛生化学 12, 129 (1966)
- 35) Caussio & Marini-Bittolo: J. Chromatog. 11, 238 (1963)
- 36) 浜田, 星野, 丹沢, 浮田: 衛生化学 10, 14 (1964)
- 37) Cochin & Daly: J. Pharm. Exper. Therap. 139, 160 (1963)
- 38) Mellinger & Keller: J. Pharm. Sci 51, 1169 (1962)
- 39) 狐塚, 磯野, 道田, 原: 科警研報告 17, 353 (1964)
- 40) 日本薬学会 犯罪科学試験法

前号表紙の目次 丹羽口徹吉博士「犯罪と分析化学」は「犯罪と分析化学(I)」と訂正します。

核酸を中心にした酵素の考え方 (Ⅲ)

星薬科大学教授 薬学博士 涌井 袈裟 参

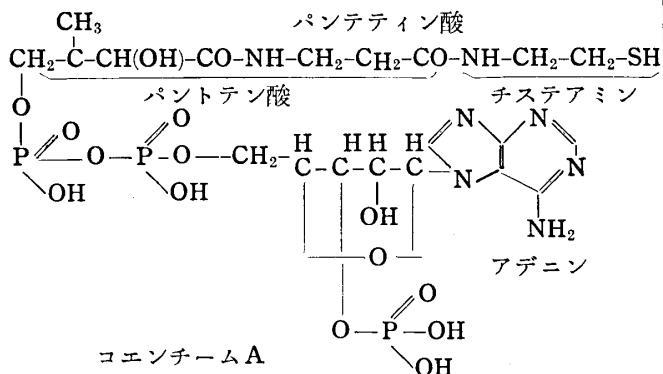
核酸を中心にした酵素の考え方

核酸を中心にした酵素の考え方に2つあると思う。1つは核酸に直接働いて、これに変化を与えるもの。他の1つは核酸の構成成分を酵素自身の構成成分としているものである。前者としては一般に知られているヌクレアーゼの核酸分解酵素で、その中にヌクレオチダーゼ、ヌクレオンダーゼあるいはRNAに働くリボヌクレアーゼ、ヌクレオチドの脱リン酸反応をするヌクレオシドホスホリラーゼなどがある。

後者に属するものとしては、アデニン-リボースリン酸を含むもので生体内反応に参与する。コエンチームA、高エネルギー保持のリン酸を受授するATP、ADP、体内で水素運搬に参与するTPN、DPN、フラビン酵素のFAD、グルコース基転位を行なうUDPなどがある。

コエンチームA

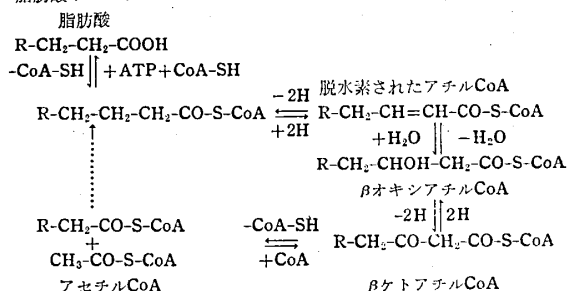
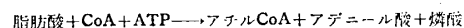
構造式を見てもわかるようにCoAはアデニール酸(ヌクレオチド)とパントテン酸(ビタミン)、チステアミン、リン酸基を含み、パントテニールチステインとアデニール酸とがピロリン酸によって結合されるとみなされるもので、その活性作用はチステアミン中のSH基にあるといわれている。次の反応により生合成されるものと考えられる。



1. パントテン酸 + チステイン + ATP → パントテニール酸
2. パントテニールチステイン → パンテティン
3. パンテティン + ATP → 4'ホスホパンテティン
4. 4'ホスホパンテティン + ATP → デホスホCoA + ピロリン酸
5. デホスホCoA + ATP → CoA + ADP

糖代謝の際は生成するピルビン酸から脱炭酸によってアセチルCoAをつくり、これをオキサール酢酸上に運搬してクエン酸を生成させ、脂肪酸のβ酸化による分解時には、遊離の酢酸をつくらず、活性の高エネルギー保持のCoA化物(アセチルCoA)をつくる。この脂肪酸の活性化はCoA中のSHとS-アルキル化物をつくるによるものとされている。

すべての脂肪酸は飽和、不飽和、ジカルボン酸を問わず、このようにしてCoAと結合し、脂肪酸のアチルCoAとして反応する。

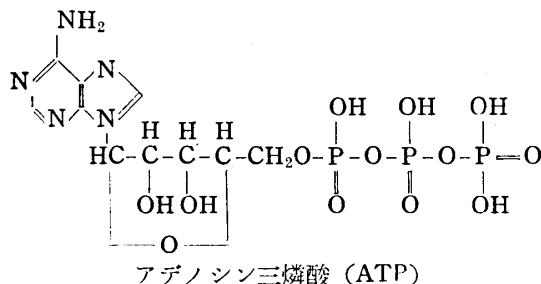


脂肪酸のβ酸化による分解は、CoAが次のように関与するものといわれる。

脂肪酸の生合成はアセチルCoAから生成される。したがって、CoAは脂肪酸の生成に関与するといわれる。同様にしてアセチルCoAは、コレステリンの生合成の原料基本体であるという。

アデノシン二リン酸 (ADP) およびアデノシン三リン酸 (ATP)

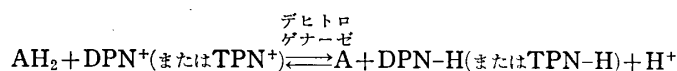
ATPは次の構造をもち、遊離したモノヌクレオチドである高エネルギー保持のリン化合物で、すべての細胞の直接のエネルギー源泉である。糖代謝に糖のリン酸化に参与することはすでによく知られている。



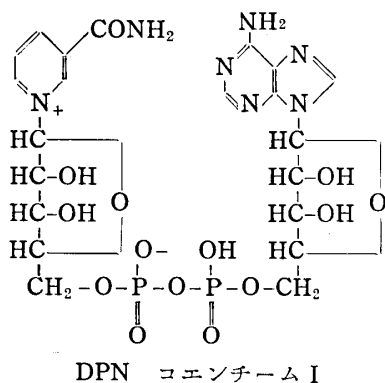
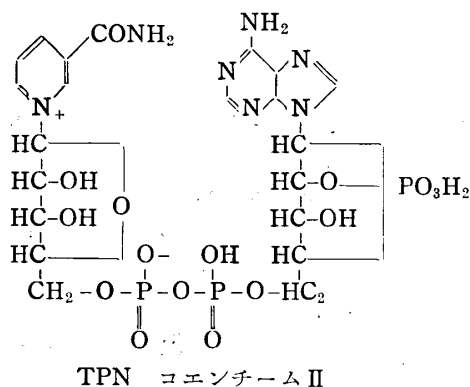
最近の報告によると実験的につくられた脂肪肝においては ATP の含量が著しく減少し、肝臓に脂肪蓄積の前に ATP の減少を観察するという。Dianzanic(1957年)は脂肪肝の蓄積はメチル基供給の障害のためでなく、ATP の欠乏による。それは ATP の欠乏のため脂肪の活性化 (CoA との結合) に使用される ATP が減少し、そのために脂肪の分解に支障を来し、また恐らくは磷脂体の生合成も減少することによって脂肪肝がおこるのであるという。

トリホスホおよびジホスホピリジンスクレオチド (TPN および DPN)

TPN と DPN は、共にピリジン核をもっているので、ピリジン酵素ともいわれる。トリホスホピリジンスクレオチド (TPN) はまたコエンザイム II ともいわれ、ジホスホピリジンスクレオチド (DPN) はコエンザイム I ともいわれ、脱水素酵素のコエンザイムで生体内での水素運搬の役をする。酸化あるいは還元された形で細胞中に発見される。脱水素酵素による一般的反応は次の式によって示される。



AH_2 = 脱水素される物質 A = 脱水素された物質

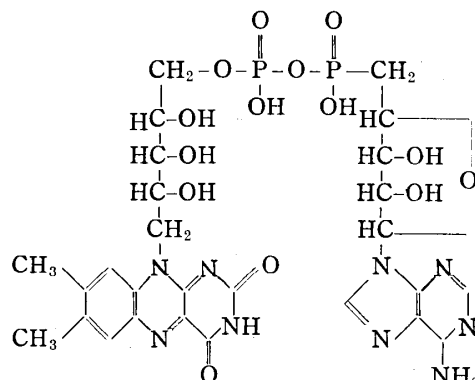
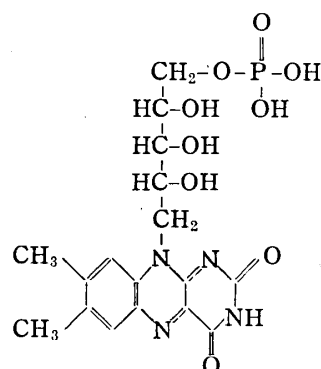


動物組織中ではニコチン酸あるいはニコチン酸アミドが存在する。時にこの2つの酵素の合成が行なわれる。その生合成反応は次のようである。

1. ニコチン酸アミド + リボース-1-リン酸 $\xrightleftharpoons[\text{ニコチン酸アミドリボシド+リン酸}]{\text{スクレオチドホスホリラーゼ}}$
2. ニコチン酸アミドリボシド + ATP $\xrightleftharpoons[\text{ニコチン酸モノスクレオチド+ADP}]{\text{キナーゼ}}$
3. ニコチン酸アミドモノスクレオチド + ATP $\xrightleftharpoons[\text{DPN+リン酸}]{\text{スクレオチドピロホスファターゼ}}$

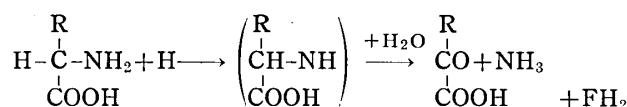
フラビンアデニンスクレオチド (FAD)

およびフラビンモノスクレオチド (FMN)

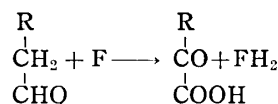


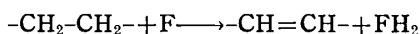
FAD と FMN は共にフラビン酵素、黄色酵素ともいわれ、水素運搬の作用するが、それにはいろいろの型がある。2, 3 をあげれば

1. アミノ酸の酸化的脱アミノ反応



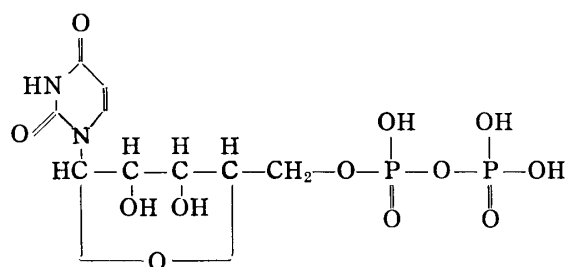
2. アルデヒドの酸化反応



3. $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ の脱水素反応

ウリジンジホスファート (UDP)

グルコースの転位酵素のコエンチームでウリジンジホスファートがあり、その最後の燐酸基のHがグルコースまたはグルクロン酸基と結合し、ウリジンジ燐酸グルコース (UDPグルコース) あるいはウリジンジ燐酸グルクロン酸 (UDP-グルクロン酸) となる。この酵素は、は



ウリジン二燐酸

じめガラクトースとグルコースの高転位酵素として発見され、続いてD-ガラクトース、D-キシロース、L-アラビノース、アセチル-D-グルコースアミンなどの転位酵素も発見されている。この酵素は物質代謝に重要な役割を演じている。UDPの構造を上を示す。

結 語

核酸に関する最近の研究業績は、目を見張るものがある。遺伝子の情報伝達はDNA中のプリン、ピリミジン塩基の中にかくされているという。RNAにはアミノ酸の種類を識別する情報と、そのアミノ酸を正しい位置に運ぶ情報とがにかくされているという。これらのどこにそのような秘密な能力があるのだろうか。

筆者はある雨降りの日、ホームで電車を待つ間に、雨がさから落ちてつくった2つの水たまりの間に線を引いた処が、小さな水たまりは大きな水たまりの方に吸引されてゆくを見て「ハッ」と思わせられたことがある。そしてこの現象を相似性的吸引作用と仮想した。

親が子を、兄弟同志が、同学の先輩後輩、同郷同国の者が他国のものより親密間をもつのも、この相似性的吸引作用によるのではないだろうか。RNAがアミノ酸を識別し、その配列に正しい位置を与えるのも、この相似性的吸引作用が働き、それが意欲的意志発現的に見られるのではないかと考えた。そう考えると酵素分子はこれを規正する物質となるべく相似的な組成をもち、そしてなるべく大きな粒子（もちろん限度はあるが）であることが望まれることになる。

コエンチームAは、その活性部は中に含まれるパントテン酸に結合するチステアミンのS基にあるといわれているが、相似性と吸引力を多くする意味では、その分子

は一定の大きさをもつことが必要であろう。

DNAを構成しているプリン、ピリミジン塩基の中に遺伝子の情報伝達がかくされていて、RNAがその情報をうけてアミノ酸を規正し適宜配列にもってゆくメカニズムも、こうした相似性的吸引作用が一因となるのではなからうか。意欲作用の出発点は案外簡単な処にあるのかもしれない。

前にも述べたように、酵素は蛋白質である。そして細胞中には酵素が充満しているという。その蛋白質からなっている酵素には、皆各々の固有性があるが、それらの固有性あらしめる根源が核酸、DNA、RNAにある、とすれば、DNA、RNAこそ神秘の本源である。その神秘を包蔵している酵素にも活性团的なものがあることがわかりつつある。一方、酵素にも生滅現象があつて、過去にあつて現在にないために苦しむということもできくる。

Baldwinによれば、人がウリカーゼなる酵素を失ったために痛風という病気になやまされている。もし、ウリカーゼを失わないでいたとすれば、人は痛風を全く知らなかったであろうという（ウリカーゼは尿酸を酸化してアラントインにする）。

また、人間にコレステリンを分解する酵素（コレステリナーゼ）が多量にあつて、血管壁に固着するコレステリンを分解してしまえば、われわれは動脈硬化症になやまされず、もっと軽減されるかもしれない。発癌性物質と酵素との関係はどうなのであろうか。

ATPに関係をもつ製品として、チルクイン（杏林）、トリノシン（山之内）、アデホス（コーワ）、などある。その詳細は関係社の文献で知って欲しい。

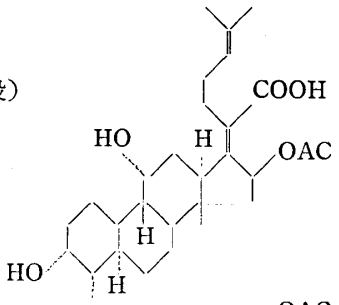
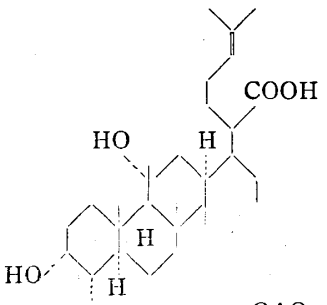
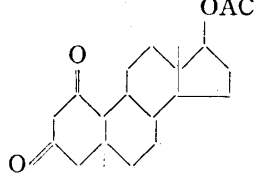
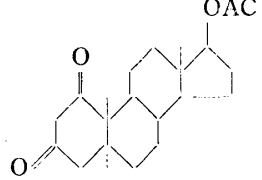
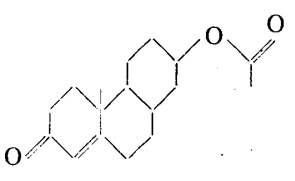
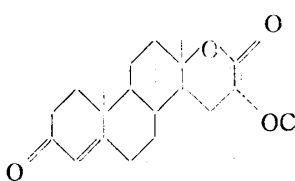
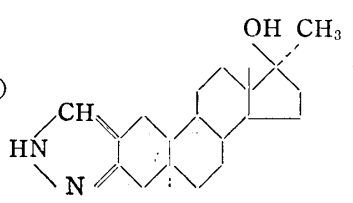
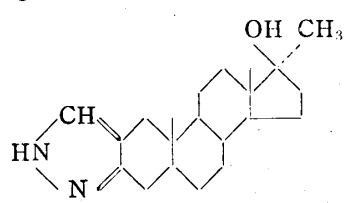
主な文献

- 1) K, Lang; Biochemie der Ernährung (1957)
- 2) E, Lehnartz; Chemische physiologie (1959)
- 3) F, Lenthardt; Lehrbuch der physiologisch chemie (1955)
- 4) A, W, Reisler; Ernährungs-hygiene (1961)
- 5) Frutor, Simmond 共著、江上、外訳：生化学、上、下、(丸善) (1956)
- 6) Wagner Mitchell: 中村外訳：遺伝生化学 (1955)
- 7) F, Haurowitz 鈴木訳：生化学の進歩 (1954)
- 8) 青田、吉川外：生化学から見た生命 (1957)
- 9) 三浦謙一郎：蛋白質、核酸、酵素、5:20 (1960)
- 10) 池田庸之助：生化学、35.1 (1963)

《編 集 後 記》

前号で「校正おそるべし」といって誤字や脱字は本誌のような化学的な機関誌では最も重要なことを、とくに強調しておきながら、次のような正誤表をつけるほど多くの誤植を執筆の諸先生から注意がありましたので、茲に訂正してお詫び申し上げます。 (稲垣)

前号 (1967 No. 1 通巻第43号) 黒沢雄一郎博士：ステロイドホルモン以外のステロイド化合物の薬効についての正誤表 (次頁)。

頁 欄 行 (誤)	(訂 正)
(737 左上から3行目) estoron に分類され, (737 左上から5行目) estoron 系に (737 左上から9行目) , ついで dehydroepiandrosterone, androsterone, Δ^4 -androstene-3, 17-dione の順である. (737 左下から14行目) , ついで estoron (737 左下から13行目) estradiol は注射で	estrane に分類され, estrane 系に , ついで androsterone, Δ^4 -androstene-3, 17-dione, dehydroepiandrosterone の順である. , ついで estrone estriol は注射で
(738 右中段)	
	
[X]	[X]
(739 左上)	
	
[XIII]	[XIII]
(739 左上)	
	
[XIV]	[XIV]
(739 右下)	
	
[XXI]	[XXI]

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 (279) 1751(大代表) 生産部直通(279)1845~6	
	1851(代 表) 地方課直通(279)1763	
工 場	日本工業規格表示許可工場 無機試薬 第 6835 号・有機試薬 第 6836 号	
	埼玉県草加市稲荷町 2048 番地 電話草加(0489-2) 4177~9	
湘南出張所	平塚市八幡下高間 1300 番地 電話平塚(21) 2051・2052	
札幌出張所	札幌市北九条東 1 丁目 電話札幌(73) 6181(代表)	
九州出張所	北九州市戸畑区天神 2 丁目 2 番 14 号 電話戸畑(88) 3961・3962	
鶴見連絡所	横浜市鶴見区下吉町 863 番地 電話鶴見(50) 3386~3388	
国分寺連絡所	東京都国分寺市東元町 3 丁目 4 番地 19 号 電話国分寺(21) 3489・1935	
京葉連絡所	千葉市今井町 2 丁目 14 番地 13 号 電話千葉(61) 1303・1304	
大宮連絡所	大宮市大和田町 2 丁目 1437 番地 電話大宮(41) 9260	
三島連絡所	静岡県三島市中央町 4 番 6 号 電話三島(75) 4422	
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) 1672~1674	