

昭和四十四年四月一日 発行



1969 No. 2

(通巻第52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(XXII).....	東北大学名誉教授 理学博士 茨城大学教授 理学博士	加藤多喜雄.....886
現代遺伝学とその未来(II).....	山形大学理学部教授 理学博士 生物学科教授 理学博士	中沢信午.....890
植物中に含有される幻覚成分について(I).....	科学警察研究所 医学博士 主任研究官	丹羽口徹吉.....893
尿中 17-Oxosteroids 測定法の研究(II).....	帝国機器製薬株式会社 医学博士 薬理研究部主任研究員	神戸川 明.....895
ETH 留学記.....	千葉大学工学部 理学博士 合成化学科助教授	山田和俊.....898
編集後記		900

ケミカルタイムス編集委員会

KANTO CHEMICAL CO., INC.

工業分析化学随説 (XXII)

東北大学名誉教授 理学博士 加藤 多喜雄

茨城大学 教授 理学博士 武井 信典

これまで20回余り続けてきた本随説ではほとんど毎回溶媒抽出法による金属の分離、定量およびこれに関連する事項について述べてきた。しかし、考えるまでもなく、分析化学の分野では溶媒抽出法だけが分離の手段ではなく、この外にも沈澱分離法、電解分離法、クロマト分離法などの分離法がある。そしてそれぞれの方法が溶媒抽出法と同様に分析化学の分野で独自の発展をし、特色を発揮している。しかしながら、各分離法はそれが単に分析化学的分離の手段であるということだけで私共がその内容のすべてを理解出来るほど浅いものではなく、ほとんど独立した専門分野とみなせるほどに複雑、豊富な内容を持っている。したがって分析化学の分離手段についての総合的発展を遂げるために私共に可能なことは各分離法における進歩の結果を有効にいかすこと、および各分離法の特色となっている方法あるいは思考方法を別の分離法にもいかすことかと考えられる。実際にはこの可能性も各分離法についてかなりの程度まで理解していなければ満たされるものではなく、仲々実現し難いことである。

大層な前置きが長くなったが、とにかくその真意は余り一つの分野にばかり頭をつっこんでいてと考え方に飛躍的な前進は望めそうもないから、時には別の分野の勉強も必要のようだという筆者等の気持である。

そこで長々と続けてきた溶媒抽出法に最も近い分離法であるクロマト分離法、その中でも最も広く利用されているガスクロマトグラフ法での特色のある成果を一、二紹介させて戴くことにする。何かのお役に立てば幸である。

ガスクロマトグラフ法が1952年 A. J. P. Martin, A. T. James により初めて発表されて以来、その理論および応用面における進歩、発展は誠に目覚ましいものがあり、追従を許さぬ所がある。これはこの方法が従来ほとんど不可能であった混合系の分離、定量を可能とする画期的なものであったと共に、そのような混合系がいかに多かったかを示すものと思われる。したがってガスクロマトグラフ法の研究がまず分離、定量の可能性確認の点に重点が置かれ、これを目的とした担体および静止相液体の選択が主題となったのは当然であろう。しかし研

究の進展に伴って可能性が拡大され、あるいはその限界が明らかにされるにしたがって、その利用面を拡大し、あるいは限界を越えようとする研究が行なわれるようになってきたようである。例えばプロセスガスクロマトグラフ法、種々の検知器の開発、使用温度に限界のある気-液分配法に代るものとしての気-固吸着法の再検討などがその例としてあげられる。こうした動きによりガスクロ法が益々優れた分離、定量法として有用性を拡大してゆくものと思われる。

そこで本随説ではガスクロ法の分野で行なわれている非常に多くの研究の中で特に目を引かれるものを二、三紹介しようという訳であるが、本項ではまずガスクロ法における時間的因子について記すことにする。

分析所要時間というものはあらゆる分析法が現実的な有用性というものを一つの因子として持つ以上当然常に考えられねばならぬ問題であるが、ある分析法が他の分析法より時間がかからなくてすむといった比較はよく行なわれているが、もし間違っていたらお許し戴きたいが、分析法を所要時間という因子で解析するというようなことはなかったように思う。これに対し、ガスクロ法がその実験結果を解析する上で時間という因子を用いているということもあって、この問題を扱い易いということもあろうが、とにかくこの問題を定量的に取り上げている点に大変興味を持たれる。

この問題については先に安盛、岸本¹⁾が一、二の理論を紹介しているので、重複しないように以下述べることにする。

まず現在一般に実用化されている装置を前提としての分析所要時間を短かくするための因子の検討は Purnell 等²⁾、Knox³⁾、Ayers 等⁴⁾、Karger 等⁵⁾、Guiochon⁶⁾その他により行なわれているが、この中 Knox の扱いは Purnell 等の扱いと類似して居り、Purnell 等および Ayers 等の報告は既に紹介されているのでここでは省略して、最初に Karger 等の報告を見ることにする。

Karger, Cooke の理論

Karger 等⁵⁾ はガスクロ法における分析所要時間の最短化という考え方がしばしば実現困難な結論を引き出し

たりする点を考慮して、ある分析所要時間を指定して、その制限の中で効率のよいカラム、分析条件を求める方法を検討している。即ち、単に分離という点だけに着目すれば担体の粒子を細かくし、カラム温度を低くし、カラム長を長くしてやれば良い訳であるが、このような変化は必然的に分析時間を長くする。一方、分析時間を短くするためにカラム長を短くすれば今度は分離が悪くなる。しかし、カラム長を短くすると同時にカラム温度を下げれば分析時間に变化なく同じような分離効果が得られる筈である。という考え方である。

そこでまず分離を目的とするA、B二つの成分に対するカラムの分解能Rは次のように表わされる。

$$R = \frac{2d}{W_A + W_B} \dots\dots\dots(1)$$

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k}{k + 1} \right) \dots\dots\dots(2)$$

ここでdは得られたクロマトグラムにおけるA、B二成分のピーク間の距離、 W_A 、 W_B は各成分の基線におけるピーク巾、Nは二成分の分離に必要なカラムの理論段数、 α は二成分の補正保持容量の比（比揮発度）、 k は後から留出する成分の保持容量とカラムの死容量の比（ V_R/V_g ）をそれぞれ示す。ここでカラムの長さをL、カラムの一理論段当りの高さをHとすると、

$$NH = L \dots\dots\dots(3)$$

であるから、(2)、(3)から

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{\frac{L}{H}} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k}{k + 1} \right) \dots\dots\dots(4)$$

が得られる。そこでKarger等は実験条件としてキャリアーガスのカラム出口流速を常に一定として、分析所要時間を固定した場合のカラム長Lと分解能Rの関係をカラム温度を変化させて求め、RはあるLに対し極大値を示し、このような条件のもとではカラム長が長ければ長いほど良い分解能が得られるものではないこと、および、これは当然のことであろうが、あるカラム長のもとでは分析時間の長いほど良い分解能が得られるが、カラム温度は低くなり、得られるクロマトグラムのピークはブロードになるという結果を得ている。そしてこれに対する説明のため、まず(4)式におけるHがこの実験の範囲内ではカラム長、カラム温度には無関係に一定であると仮定して、 α 、 k のカラム温度、カラム長による変化を次のように論じている。

まず(4)式の $(\alpha - 1)/\alpha$ 項についてはカラム温度が両成分の沸点近くになり、 $\alpha \approx 1$ となるような場合を除き、カラム温度が変り、 α が変化してもこの項全体の変化のRへの寄与は大きくはないとし、実験的にもこれを確かめている。そして分析時間固定という条件のもとではカラム

温度が変るための k のカラム長による変化が大きな因子となっているとして次のような事実を示している。即ち、 k はカラム長の増加（カラム温度上昇）という条件のもとで最初は急激に減少し、次で次第に零に近づく漸近線を示す。したがって大きな k の値（カラム温度は低く、カラム長は短かい）のときは $k/(1+k)$ 項の変化のRへの寄与は小さく、 $\sqrt{L}$ だけが大きな因子となってカラム長の増加とともにRは増大する。

しかしカラム長の増加により、 k が急激に減少し、 $k/(1+k)$ の減少によるRの減少が $\sqrt{L}$ による増加に打ち勝つようになるとRは極大値を経て減少するようになる。そして分析所要時間を長くするほど上に述べたような理由に基づく変化、即ちRのカラム長、カラム温度による変化は小さいという。また、上に述べたような充填型カラムに対する結論はそのまま毛管カラムにも適用出来るが、Rのカラム長、カラム温度依存性は大きいとしている。

Karger等はさらに分析所要時間を固定したときの担体の粒子の大きさおよびキャリアーガス流速の影響をカラム長を固定して検討し、二、三の結論を得ているが、実験結果による所が多く、要点をまとめていく所があるのでここでは省略する。

G. Guiochon の理論

その後Guiochon⁶⁾は上に示したKarger等の理論をさらに進めて、分析所要時間を指定したときの最適のカラム長、カラム温度、キャリアーガス流速などを求める関係式を誘導しているのを、それを紹介する。

まずキャリアーガスのカラム出口における流速 U_0 、および平均流速 $\bar{U}$ はそれぞれ次のように示される。

$$U_0 = \frac{k'P_0}{2\eta L} (P^2 - 1) \dots\dots\dots(5)$$

$$\bar{U} = j U_0 = \frac{3k'P_0}{4\eta L} \frac{(P^2 - 1)^2}{P^3 - 1} \dots\dots\dots(6)$$

η : キャリヤーガスの粘度

$P = P_i/P_0$ 、 P_i 、 P_0 はカラム入口および出口における圧力

k' : 充填物の透過率

また、後留成分の保持時間 t_R は試料とキャリアーガスの流速比を R_F とすると

$$t_R = \frac{L}{R_F \bar{U}} = \frac{4\eta L^2}{3R_F k' P_0} \frac{P^3 - 1}{(P^2 - 1)^2} \\ = \frac{4\eta L^2 (1 + k)}{3k' P_0} \frac{P^3 - 1}{(P^2 - 1)^2} \dots\dots\dots(7)$$

$$\left(\frac{1}{R_F} = \frac{V_R + V_g}{V_g} = 1 + \frac{V_R}{V_g} = 1 + k \right)$$

ここで $P = P_i/P_0 > 3$ であれば $P^3 - 1 \approx P^3$ 、 $P^2 - 1 \approx P^2$ であるとする（これによる誤差は10%以下）と、(5)、(7)

より

$$t_R = \left[\frac{8\eta L^3}{9R_F k' P_0 U_0} \right]^{1/2}$$

$$R_F = \left[\frac{8\eta L^3}{9t_R k' P_0 U_0} \right]^{1/2} = \left(\frac{L}{\lambda} \right)^{3/2} \dots\dots\dots(8)$$

$$\lambda = \left[\frac{9t_R k' P_0 U_0}{8\eta} \right]^{1/3} \dots\dots\dots(9)$$

が得られる。ここで分離係数 S を次の如く導入すると

$$S = N \left(\frac{k}{1+k} \right)^2 = N (R_F - 1)^2 \dots\dots\dots(10)$$

(8), (10) より

$$S = \frac{L}{H} \left[\left(\frac{L}{\lambda} \right)^{3/2} - 1 \right]^2 \dots\dots\dots(11)$$

が得られる。Guiochon は (11) 式を分析時間を指定したときの最適のカラム長、カラム温度などを求めるための基本式として、それぞれの因子の決定を行なっている。

例えば、最適のカラム長は (11) 式を L で微分し、それを零とする条件から求めることが出来るとしている。即ち、

$$\frac{dS}{dL} = \frac{1}{H} \left[\left(\frac{L}{\lambda} \right)^{3/2} - 1 \right] \left[4 \left(\frac{L}{\lambda} \right)^{3/2} - 1 \right] = 0$$

これより解として $L = \lambda$, $L = \lambda/16^{1/3}$ が得られるが、 $L = \lambda$ からは (8), (11) から $S = 0$ となり採用出来ず、第二の解、即ち、

$$L_{opt} = \frac{\lambda}{16^{1/3}} = \left[\frac{9t_R k' P_0 U_0}{128\eta} \right]^{1/3} \dots\dots\dots(12)$$

が求めるカラムの最適の長さであるとするのである（ここでキャリアガスの粘度 η の温度変化は無視している）。また第二の解と (8) から

$$R_F = \frac{1}{4}, \quad k = 3$$

が得られる。即ち、指定した分析所要時間 t_R は (12) 式右辺の各因子にそれぞれの値を用いて最適のカラムの長さを求め、そのカラムを用いて後留出成分の k が 3 になるようにカラム温度を設定すれば得られるというのである。逆にいえば、後留出成分の k が 3 であるときはその時の分析時間に対しカラム長は最適であり、さらによい分離は分析時間を長く、カラムを長くしなければ得られないこととなる。即ち、分析所要時間を考慮しなければさらによい分離は可能であるが、分析時間が指定されると分離には限度があり、最大分離係数 S_M 、分解能 R_M はそれぞれ次のようになる。

$$S_M = \frac{9L_{opt}}{16H} \dots\dots\dots(13)$$

$$R_M = \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{3}{16} \sqrt{\frac{L_{opt}}{H}}$$

この値を分析時間を考えないで得られる最大効果、即ち、 $0^\circ K$ 、保持時間無限長の時得られる分解能 ($k \rightarrow \infty$)

となる故)

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{k}{1+k} = \frac{1}{4} \sqrt{\frac{L}{H}} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha}$$

と比較すると $3/4$ となる (α に変化はないとして)。また、保持時間を 10 倍長くしたときの分解能の上昇は 30% である。こうした点から見ると比較にかなりの仮定が含まれてはいるが、この分析時間指定というこの方法は現実的にかなり有利であるように思われる。ただ、多成分系で最終留分の保持時間を指定してカラム長を求めたとき保持時間の短い成分の分離はどうなるのか疑問が残る。

以上の操作は担体粒子の粒度、 U_0 などは既定のものとして行なっているが、Guiochon は上のようにして最適のカラムの長さを求めて後、その条件のもとにおける U_0 、粒度などの最適値を求める方法を示している。例えばキャリアガスの最適流速については (12), (13) より

$$S_M = \frac{9}{16} \cdot \frac{L_{opt}}{H} = \frac{9}{16H} \left[\frac{9t_R k' P_0 U_0}{128\eta} \right]^{1/3} \\ = 0.232 \left[\frac{t_R k' P_0 U_0}{\eta H^3} \right]^{1/3} \dots\dots\dots(14)$$

を導き、van Deemter の式

$$H = A + \frac{B}{U_0} + C U_0 \dots\dots\dots(15)$$

を併用して、次のような (14) の U_0 による微分を行ない、

$$\frac{dS_M}{dU_0} = 0.232 \left[\frac{t_R k' P_0}{\eta} \right]^{1/3} \frac{4B + A U_0 - 2C U_0^2}{3H^2 U_0^{5/3}}$$

これを零とする U_0 の値として ($4B + A U_0 - 2C U_0^2 = 0$ から)

$$U_{M,0} = \frac{A + \sqrt{A^2 + 32BC}}{4C} \dots\dots\dots(16)$$

を示している。(16) 式で A の寄与を無視すると

$$U_{M,0} = \sqrt{2B/C} \dots\dots\dots(17)$$

となり、(15) 式から得られる U_0 の最適値 $U = \sqrt{B/C}$ に比し $\sqrt{2}$ 倍だけ大きいことが判る。また、(16) を (15) に代入し、このような条件のもとにおける一理論段当りの高さは $A = 0$ とすると

$$H = 1.5 \sqrt{2BC} \dots\dots\dots(18)$$

となる。(15) から得られる H の極小値

$$H_{min} = A + 2 \sqrt{BC}$$

も同じく $A = 0$ としてその値と比較すると、約 6% 高く、それだけカラムの分離効果は悪くなっていることになる。

この外 Guiochon は最適の担体粒径も求めているがその詳細は省略して、結果だけを示しておく。

$$d_M = \sqrt{C_2/C_1} \dots\dots\dots(19) \\ (C = C_1 d^2 + C_2)$$

Guiochon は以上のような結果に基づき、あるカラムにつき、分析時間を指定したときの総合した分離係数の最大値は α のA項が無視し得るときは次のように示されとしている。

$$S_M = 0.0775 \left[\frac{t_R^2 \times P_0}{\gamma BC_1 C_2} \right]^{1/2} \dots\dots\dots (20)$$

$$x = k' / d_p^2$$

d_p 担体粒径の平均値

Guiochon はこのような結果をさらに Karger 等の結果と比較検討したり、キャリアーガスの種類による得失も論じたりしているが、省略して、このような結果を実際にはどのように利用すればよいのか、著者の示している操作を紹介しておくことにする。

まず分離を目的とする二つの成分に対し比揮発度 α ($=V'_R2/V'_R1$) の大きい、分配係数 K の大きい、 $d\alpha/dT$ が負の値を持った静止相液体を選択する。次に分離が可能な最低のカラム温度を想定する。そして、充填型カラムについては k が3になるよう担体に対する静止相液体の量を決定する ($V'_R = V_g + KV_L$ V_L : カラム内の静止相液体の体積、より求め得る)。このようにして調製した担体をつめたカラムを用い、van Deemter の式の各掌数項を求める。次にその結果から(16), (19)式を使って最適流速、担体の最適粒径を求め、次でそれらから最適のカラムの長さを求めるというのである。

また、このようなことをしなくても 80~100 あるいは

100~120 メッシュの担体を用い、 k' が3になるように静止相液体の量を決定し、 H を最小とするキャリアーガス流速の 1.4~2 倍の流速で操作すれば大体間違いはなく、得られる結果はその時の分析所要時間では最高に近いという。

以上のような Guiochon の扱い方はその後実験的に検討されてはいないようで、その妥当性は今後の問題であるとしても、とにかくこのような考え方そのものは大変面白いものと思う。分析時間を短縮するためにはこの外静止相液体の膜厚をうすくしたり、キャリアーガス流速を更に大きくしたり、出口圧を大気圧以下にしたりする試みがなされているが、これらは次回にゆずることにする。

ガスクロ法がプロセスの管理に応用されるためには装置の機構的な問題と共に、カラムの選択、操作条件の決定も重要な問題である。分析所要時間を出来るだけ短かくして、瞬間瞬間のデーターを出来るだけ多く取るということを可能にするためにはどうしてもこの問題は解決しなければならないものではないかと思う。

文 献

- 1) 安盛, 岸本: 化学の領域増刊 58号 p.79 (1963)
- 2) J. H. Purnell, C. P. Quinn: "Gas Chromatography 1960" ed. Derty. p. 184. Butterworths, London (1960)
- 3) J. H. Knox: J. Chem. Soc., 433 (1961)
- 4) B. O. Ayers, R. J. Loyd: Anal. Chem., **33**, 986 (1961)
- 5) B. L. Karger, W. D. Cooke: *ibid.*, **36**, 985, 991 (1964)
- 6) G. Guiochon: *ibid.*, **38**, 1020 (1966)



新発売……………

●尿中17-オキシ・ハイドロコルチコステロイド定量試薬

オーハーキット®
Ohakit<シカ>

17-OHCS測定の欠点は真値を求められないことにありました。神戸川法では酵素水解によって不純物を取り除き、純ステロイドの測定が可能です。キットにはβ-Glucuronidase・呈色液・呈色試薬錠(フェニールヒドラジン誘導体)・アルカリ洗浄液・標準液が組まれています(50回分)。β-G末は安定の粉末で、呈色試薬錠も安定性があり、長期保存が可能です。

新発売品

血清コレステロール測定
フォーゼロ スリー
試薬<シカ>403
〔ズルコウスキー改良法〕発色液

250ml(50回分)
¥ 2,300円

本品はLiebermann-Burchard反応を利用したもので、除タン白・抽出の操作を行わず、操作は簡易・迅速、しかも微量検体で測定できます。一段階の測定操作、優れた再現性、発色後の褪色や、血清中のビリルビンによる影響もほとんどみられません。

現代遺伝学とその未来 (II)

山形大学理学部生物学教授 理学博士 中 沢 信 午

遺伝性の病について

鎌型赤血球貧血症つまり sickle-cell anemia は熱帯アフリカ地方などの黒人に特有の遺伝性体質によるものである。症状としては、赤血球が三日月形または鎌形で、溶血によって死にやすい。この体質の遺伝子は正常に対して劣性で、正常をA、鎌型をaで書きあらわすと、遺伝子をAAのように所有する人は完全に正常、Aaも正常だが鎌型血球を混在する。aaの人は貧血がひどく、死に至りやすい。一方において、鎌型血球をもつ人はマラリアに抵抗力が大きく、それゆえに熱帯アフリカでは生存に有利ではある。

さて、正常のヘモグロビンと鎌型血球のそれとを比較すると、分子構造上の差異はただ一つ、ヘモグロビンのポリペプチッドのβ鎖の第6位のアミノ酸が、正常では glutamine 酸であるのに、鎌型では valine に置換されているだけである。

	1	2	3	4	5	6	7	8	146									
正常	val	-	his	-	leu	-	thr	-	pro	-	glu	-	glu	-	lys	-	...	his
鎌型	val	-	his	-	leu	-	thr	-	pro	-	val	-	glu	-	lys	-	...	his

したがって、正常血球をもつ体質から、ある時代に突然変異して鎌型が生じたとすると、グルタミン酸とりこみに対応する DNA の塩基が変化したわけである。塩基から説明すると、グルタミン酸をペプチッドにとり入れるための DNA の塩基は TCA という3個のひと組みであり、バリンのそれは ACA である。したがって、おそらく、TがAに置き変わった突然変異が鎌型血球のオリジンとなったと想像される。

私たちがフェニルアラニンを余計にたべると、健康体では特異的な酵素によって、それがチロシンになり、つづいて別の酵素によってメラニンとなり、あるいは別の経路を通して CO_2 と H_2O に分解され、排出される。ところが、チロシンに変える酵素をつくる遺伝子のない人は、尿中にフェニルピルビン酸を作って排出する。このフェニルピルビン酸が排出しきれずに蓄積すると、トリプトファンをセロトニンに変える反応が阻害され、その結果として精神薄弱症があらわれる。あるいは、チロシンからメラニンをつくる酵素の欠乏している人は白子症となり、またチロシンから生じたアルカプトンを分解する酵素のない人は、アルカプトン尿と称する病にかかる。アルカプトン尿は、尿を放置すると黒色になる。これは尿中のホモゲンチジン酸が酸化酵素の欠乏によって自動酸化したことによる。

これらの現象はすべて、遺伝子がタンパク質である酵素の生産に役割を演じていることを示している。つまり

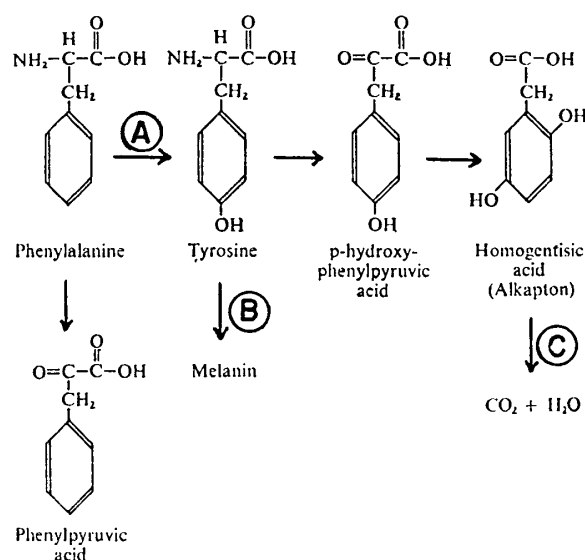


図2 フェニルアラニンの代謝。

Aが阻害されるとフェニルケトン尿、Bが阻害されると白子、Cが阻害されるとアルカプトン尿症になる。

ある遺伝子をもたないというのは、ある酵素が生産されない結果をみちびく。ここで、遺伝子がいかにしてタンパク合成に作用するかを研究せねばならないのである。

DNAからタンパクへの道

バクテリアに寄生するウィルスはバクテリオファージ（または単にファージ）とよばれる。大腸菌にファージが侵入すると、菌自身のタンパク合成がストップし、かわって菌体の中でファージの固有のタンパクができる。だが、それに先きだって、RNA(リボ核酸)の合成にも異変がおこり、菌のRNAでなくて、ファージのDNAとよく似たRNAができる。またファージのDNAも菌体内で生産される。こうなると菌体の中では、ファージの体を構成する材料がそろったわけで、ファージが増殖して菌体をこわし、外へとび出す結果となる。

この事実を詳細にしらべると、どうも菌体ではまず正常な場合にもDNAからRNAが生じ、つづいてタンパクができることが想像される。そして一般に、生物体ではこの原則にしたがってタンパク合成が進行することも、しだいに判明しつつある。この研究には実に多くの学者が多方面から関係し、とうてい短かくのべることはできない。ここでは、その最重要なポイントを指摘するにとどめよう。それは、DNAを構成する塩基の配列順

序によって、それから生ずる RNA 中の塩基の配列も決まり、さらにそこで生産されるタンパク分子の中のアミノ酸の配列順序もきまるといふ点である。したがって、どういう種類のタンパク質ができるかは、どういう塩基配列をもつ DNA がはたらいたかによってきまる。DNA を凹型とすると、そこで生じた RNA は相補的に凸型であり、タンパクは凹型になる、ということである。

DNA のストランドが、さきにのべた (1) と (2) からなるとすると、その一方のストランドに相補的に RNA ができる。できた RNA は特にメッセンジャー RNA とよばれ、1 本のストランドから成り、DNA のストランドと似ているが、T のかわりに U (ウラシル) をもち、また塩基のほかにもう一つの成分であるペントースの 2 位のところが、DNA は H_2 であるのに、RNA では H_2O となっている。さてそこで、

—ATGGC—

—TACCG—

という DNA からは、—UACCG—

あるいは —AUGGC—

という 1 本ストランドの RNA ができる。この RNA は核の外へ出ていって、細胞質中にある核酸とタンパクの結合体であるリボソームに、ゆるく結合し、そこでタンパクが合成される。一方、細胞質中のアミノ酸は、それぞれ独自の低分子の RNA (トランスファー RNA) と結合し、メッセンジャー RNA のところへやってきて、トランスファー RNA の独自性によって、メッセンジャーの上の塩基の 3 個ずつの組みと対応してならば、一端から順次にペプチッド結合して、RNA を解放し、タンパクの一次的構造ができ上がる。

このとき、メッセンジャー RNA の上の、塩基の 3 個ずつの組みの種類によって、どのアミノ酸がそれに対応するかが特異的であり、いわば、何というアミノ酸をそこへ持ってくるかという暗号 (code) をなしている。この暗号の研究がまた、現代遺伝学のテーマとなっている。

すなわち、親から受けついだ遺伝子は、それ自身、特定のタンパクをつくるべき情報をになっており、それは DNA の上の塩基の 3 個ずつの組みという形で暗号化されている。この暗号を複製することによって、遺伝子は保守的に増殖し、またこの暗号に相補的に対応した構造をもつ RNA は、暗号の伝達者として、タンパク工場へ暗号を伝え、この暗号を解読して、塩基組みをアミノ酸におきかえてタンパク合成が行なわれる。この暗号が、グルタミン酸に対しては RNA の AGU であり、バリンに対しては UGU である。そこで、さきにのべた鎌型赤血球の場合が理解されるであろう。

細胞分化と発生遺伝学

おなじ母細胞から体細胞分裂によって生じた多くの細胞は、原則的にはひとしい遺伝子の組みをもっている。それらの遺伝子組みを ABC……とする。もし各遺伝子が一斉にそろって全部活動し、タンパク合成をするならば、各細胞はすべておなじタンパク質をもつことになる。しかし、もし細胞によって活動する遺伝子が異なる

ならば、細胞はそれぞれ異なるタンパク質をもつ結果になる。1 個の細胞に含まれる遺伝子は数千種をこえ、活動する遺伝子は 1 個ずつとはかぎらず、2 個のこともあり、数個のこともあるから、どの細胞で、どれどれの遺伝子が活動するかによって、実にばく大な種類のタンパク質の組みあわせができる。私たちの身体はそうしたものである。目には目の、手には手の独自のタンパク質がつくられ、しかも、目の中でも、レンズと角膜と虹彩とはそれぞれ異なるタンパク質をもつ。このように、同一の遺伝子群をもちながら、細胞によって合成するタンパク質が異なる場合に、それらの細胞はたがいに「分化」しているという。この細胞分化の定義は 1962 年にカリフォルニアの Asilomar で開かれた第 21 回発生生物学シンポジウムで、フランスの Jacob と Monod が発表したもので、以来これがたいへん有名になった⁹⁾。

こうして分化するには、細胞によって異なる遺伝子が活動するからで、そのためには、細胞が異なる外圍条件に接触し、外からそれぞれ異なる物質をとり込み、それらが、おのおの独自の遺伝子活動を誘発するという機序が考えられる。

たとえば、有名なのは、大腸菌のある系統で、 β -D-ガラクトシドを分解する酵素 β -ガラクトシダーゼを生産しないものに対して、培地にガラクトシドを加えると、たちまちガラクトシダーゼを生産する。つまり、おなじ菌が、ガラクトシドを含む環境と、含まない環境とにおかれたときに、それぞれ異なるタンパク合成をはじめるのである。同様の例は多くのバクテリア、原生動物、植物細胞などについても知られている。

ここで、ちょっと思索にふけてみる。そもそも分化とは、その背景に統一という意味を秘めているのではあるまいか。一つの全体が分化するというのは、相互に無関係な部分に分散するのではなく、分化することによって、全体の機能を高めることではあるまいか、そうだとすると、細胞分化というのは、単に細胞が別々のタンパク合成をはじめるだけではなく、それらが統一的に、より高次な全体をつくることではあるまいか。

この考えは、多細胞生物においては正しいと思う。多細胞体では、一つの卵から出発して、おなじ遺伝子セットをもつ多くの細胞に分裂したまま、この細胞群が一つの体をつくる。しかも各細胞もしくは細胞群は、それぞれ独自のタンパク合成をし、多細胞体という調和体系をつくっている。したがって、細胞分化はデタラメにおこるのではなく、自動的に制御されている。時間的には、発生段階の逐次の移行という現象として、また空間的には体の各部の分化として、全体を通じて遺伝子の差異活動 (differential gene action) がある。この差異活動を示すいくつかの注目すべき事実がある。

第 1 は Markert¹⁰⁾ によって指摘されたアイソザイム (isozyme) の分布である。コハク酸脱水素酵素 (LDH) は呼吸のときにコハク酸とフマル酸の間をとりもつ役割をするが、これは単一の物質でなく、5 種の同類酵素 (アイソザイム) の混合物で、各アイソザイムは電気泳動によって分離される。各アイソザイムを LDH-1,

LDH-2 のようによぶ。これらの分量は同一体でも器官によって異なり、おなじ器官でも発生段階によって独自である。たとえばマウスの胎児では、出生5日前のじん臓は LDH-5 を多くもつが、出生1日前には LDH-4 がもっとも多くなる。そして出生後12日たつと、LDH-1 と2とが大部分を占める。またおなじ成体では、心臓は LDH-2、骨格筋は LDH-5 がもっとも多く含まれている。

第2は Beermann ら¹¹⁾によって研究された染色体のパフ (puff) 現象である。たとえばショウジョウバエの幼虫の3令後期には、唾液腺の第Ⅲ染色体の CO=74 付近に特に遺伝子活動がさかんで、ここから RNA がどんどん放出されるのを顕微鏡でみとめられる。が、前蛹期に入ると、こんどは CO=71 付近において RNA 合成が活性をおびてくる。そしていよいよ蛹になると、ふたたび 74 付近と 66 付近とにそれが現われる。このありさまは、ちょうど染色体から何かが吹き出るような形をとるので、パフとよんでいる。またユスリカの幼虫の唾液腺では、4個の特殊な細胞のみに、特殊のパフがみられるが、他の細胞にはこれがない。

それにしても、体の中の、どの細胞でどの遺伝子が活動するか、という制御は、どうやって行なわれるのだろうか。これはむずかしい問題だが、Jacob と Monod は独自のモデルを提出した。これがオペロン説 (operon theory) である。

染色体上に存在する遺伝子には3種がある。第1はタンパク質の構造をきめる構造遺伝子で、いままでのべたのはこの部類に属する。これが活動するとメッセンジャー RNA が生ずる。第2はこの遺伝子の活動を作動する作動遺伝子で、オペレーター (operator) とよばれる。第3はこのオペレーターの作動を阻害する調節遺伝子である。一つの調節遺伝子は特定のオペレーターを支配し、そのオペレーターは2個から数個の構造遺伝子を作動する。オペレーターとその支配を受ける構造遺伝子をいっしょにして、これをオペロン (operon) という。調節遺伝子から生じた物質はリプレッサー (repressor) で、これがオペレーターを不活化すると構造遺伝子ははたらかない。しかし構造遺伝子がもしはたらくと、それによって生じた特定のタンパク質が、直接または間接にリプレッサーと反応し、リプレッサーを不活化し、それによってオペレーターの不活化を解放することもある。あるいは、そのタンパク質がリプレッサーの一部と結合して活性化し、かえってオペレーターを不活化することもある。この関係は複雑で、一概には説明ができない。要するに、細胞内に生じたある物質が特定の遺伝子の活動を制御するというのである。この、ある物質の量と質とが体内で統一的に分布していれば、時間的にも空間的にも秩序ある遺伝子活動がおこるわけだが、その実証には、なお多難な前途があるといつてよからう。発生遺伝学はこうした領域を開拓する。それは遺伝学と発生学との結びつきから、未来へ向かって発展するであろう。

遺伝学の利用

人類の思想史において、進化論が大きな貢献をしたこ

とはもちろんだが、遺伝学もまた多くの思想的影響を及ぼしつつある。つまり、一見して神秘的な生物現象について、一步一步と合理的、体系的説明をあたえて、個人々々の世界観に役立っているのはたしかである。

一方、日常生活への利用をみると、第一に優生学がある。人間から人間が生まれるにあたって、いかにして悪形質を排除して、優秀な形質を残すかという問題を考えるに役立っている。また人類の集団の中における遺伝子の消長を計算して、国の未来、人類の将来を考えるために遺伝学は役に立つこと、いうまでもない。医学におけるガン予防と治療、法医学における血液型、外科手術における拒否反応についてなど、各方面で遺伝学は活躍する。農学では品種改良の方法を提供し、工学では特殊な遺伝子活動を誘導してゴム質やアルカロイドなどをガラス器の中で生産せしめ、あるいは未来において、タンパク合成の人工、デンプン合成の人工的可能性にまで発展するであろう。遺伝学の人生に益するところ、実にばかりしれぬものがある。

文 献

- 9) Jacob, F. and Monod, J. Cytodifferentiation and Macromolecular Synthesis (ed. by M. Locke), Academic Press (1963).
- 10) Markert, C. L. Do.
- 11) Beermann, W. and Clever, U. Sci. Amer. 210, 50 (1964).



★関東化学の 臨床検査用キット★

○A / Pの測定に

シカフォス

○新発売!

酸シカフォス

○GOT・GPT測定に

エスゴット

○尿素窒素測定に

ユリナイト

○コレステロール測定に

**硫 酸
氷 酢 酸**

植物中に含有される幻覚成分について (I)

I. Ololiuqui 中のリゼルグ酸アルカロイドについて

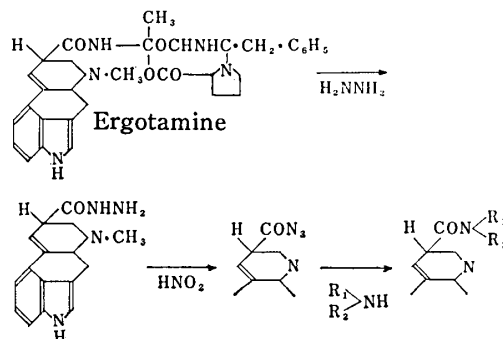
科学警察研究所 主任研究官 医学博士 丹羽 口 徹 吉

中南米の山奥では今日でも Aztec Indians に属する原住民が独特の宗教を信じて生活しており、彼等は宗教上の儀式の際、Ololiuqui と称する植物の種子を服用し、幻想的な視覚を感じ陶酔の境地にひたりながら、神と直接対話し、その教えを乞うことができるものと信じ祈禱しているといわれている¹⁾。

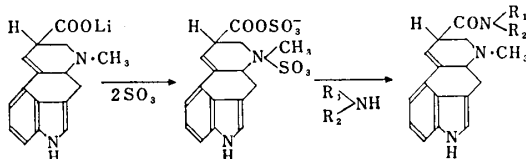
この Ololiuqui という植物種子は、上記の原住民が先史時代から、ある種のキノコ (psilocybin 即ち 4-phosphoryloxy-N, N-dimethyltryptamine を含んでいる) や、ある種のサボテン (mescaline を含んでいる) とともに広く用いられてきたもので、1570 年、Hernandez はこの植物について次のように述べている。即ち、これは蔓を有し、葉は薄く緑色で心臓型をなし、茎の断面はまるく、花は白くて細長い。また、種子は堅く木質で球状をなし、根は繊維状である。この種子である Ololiuqui を服用すると、視野には色彩豊かな幻覚が現われ、極めて特異な精神状態になる、と記述されている。

その後、この植物は、一たん Convolvulaceae に属するものとされたが²⁾³⁾、それまで向精神作用を有する成分を含有する植物は、もっぱら Solanaceae ナス科に属するもののみで、Convolvulaceae にはなかったため、この植物も Solanaceae に属する *Datura meteloides* であると同定された⁴⁾。それ以来、どちらの「科」に属する植物であるかについて長い間論争がくり返されてきたが、種の面から検討された結果、今日では Convolvulaceae に属する *Rivea corymbosa* であるとされている。

この植物の成分については、1960年、麦角アルカロイドの研究者で、LSD (Lysergic acid diethylamide) の発見者である Hofmann によって始めて報告された。彼等は、Ololiuqui の有する特異な向精神作用が LSD のそれと類似していることから、これに含有される向精神作用をもたらす成分の研究に着手し、それらがリゼルグ酸アルカロイドおよびクラビンアルカロイドであることを見出した⁵⁾⁶⁾⁷⁾。これら一連のアルカロイドは、すでに麦角アルカロイドから部分合成などにより得られていたもので、例えばリゼルグ酸のアミド類は次のようにして合成された。まず、麦角アルカロイドをヒドラチンで開裂してリゼルグ酸ヒドラチッドとし、これに亜硝酸を作用せしめてアチッドとした後、目的のアミンを加えてアミドとしている⁸⁾。本法によるときは、天然から得られる d-リゼルグ酸誘導体を原料としてもラセミ化された異性体の dl-lysergic acid hydrazide が得られるので、Di-(p-toluy)-l-tartaric acid を用いて分割した後アチッドからアミドとし、これを異性化して d-リゼルグ酸アミドとする必要がある。一方、Garbrecht はこの分割、異性化の段階を省くため次の方法を提唱している。天然の麦

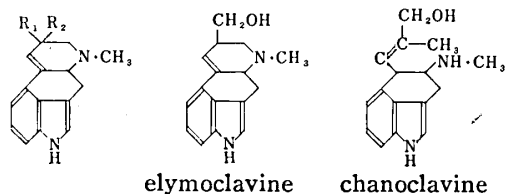


角アルカロイドの加水分解によって得られる d-リゼルグ酸に水酸化リチウムを作用せしめてリチウム塩とし、さらに冷却しつつ無水硫酸のジメチルホルムアミド溶液を加えた後目的のアミンを加えてアミドを得ている⁹⁾。



Ololiuqui 中から得られ、確認されたアルカロイドは lysergic acid amide (LAA), isolysergic acid amide, elymoclavine, chanoclavine, lysergol がある。これらのうち、Ololiuqui に特有な幻覚作用を有するものは LAA だけである⁵⁾⁶⁾⁷⁾。しかしながらこのようなアルカロイドは、従来、菌類から得られていただけで、高等植物から抽出されたのは始めてであったため、実験に供した Ololiuqui が菌によって汚染されていたのではなかろうかとの疑問が、多くの植物化学者によってもたれた。

Taber 等はこの点を確認するため、種子を胚、胚軸、



- | | | |
|--|---|-------------------------------|
| $R_1 = \text{CONH}_2$ | } | lysergic acid amide |
| $R_2 = \text{H}$ | | |
| $R_1 = \text{H}$ | } | isolysergic acid amide |
| $R_2 = \text{CONH}_2$ | | |
| $R_1 = \text{CH}_2\text{OH}$ | } | lysergol |
| $R_2 = \text{H}$ | | |
| $R_1 = \text{CON}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ | } | LSD |
| $R_2 = \text{H}$ | | |
| $R_1 = \text{CONHC}_2\text{H}_5$ | } | lysergic acid monoethyl amide |
| $R_2 = \text{H}$ | | |

子葉、種皮などの部分に分け、それぞれの部分についてアルカロイドの抽出をおこなった。その結果、胚、胚軸、

子葉にはアルカロイドが存在するが、種皮や皮下には存在しないことを確かめた。同時に、種子に付着している菌を分離し、これらにもアルカロイドが含まれていないことを認めたので、LAAを始めとするアルカロイドは確実に種子中に含まれているものであるとの結論に達している¹⁰⁾。また、Ololiuquiの植物 *Rivea corymbosa* を温室で栽培した場合、その葉、茎にも含有されるアルカロイド量が植物の成長につれて増加し、葉には0.027%、茎には0.012%(乾燥重量に対し)に達することを認めた¹¹⁾。

種子からアルカロイドを抽出する方法については、

- すりつぶした種子を炭酸水素ナトリウム液にひたし、酢酸エチルで抽出、溶媒を溜去した残渣を0.1N H_2SO_4 もしくは1%酒石酸溶液に溶かし、エーテルで振とうした後、酸層を炭酸水素ナトリウムで中性ないしはアルカリ性にしてクロロホルムで抽出する。
- すりつぶした種子を10%アンモニアにひたし、エーテルで抽出する他はa)法のようにする。
- 濃アンモニアと、メタノール・クロロホルム混液を用いる。
- a)法のようにおこなうが、最初の抽出をソックスレーで10時間おこなう。
- 種子のアルコール抽出物をDowex 50W×2 (H^+)に通し、3%アンモニアの80%エタノール液で流出し、流出液を蒸発した後、酸液を加え前と同様に操作するなどの方法について検討されたが¹²⁾、実際、アルカロイド含有の有無を調べる場合には、1.0ないし1.5gの種子を用い、b)法によって抽出される¹³⁾。

抽出物中の個々のアルカロイドを同定確認するには、先述したLSDの分析法¹⁴⁾と同様、薄層クロマトグラフィー、蛍光分析による方法を主体として種々検討されている。特に薄層で種々の溶媒系を用い展開した後、紫外線下でスポットの蛍光を観察したり、p-ジメチルアミノベンツアルデヒド試薬を噴霧して青ないし青紫色の呈色を観察する検出法は、これらのアルカロイドに特異的なもので、検出限度はいずれも0.1ないし1.0 μg である。また、総アルカロイド含量を定量するため、p-ジメチルアミノベンツアルデヒドの含塩化第二鉄・硫酸試液(Van Urk 試薬)を先の抽出物に加え、青色の呈色を550m μ で測定し、LAA量に換算して総アルカロイド量としている¹²⁾¹³⁾。この比色法によれば、いずれのアルカロイドも、およそ同じ強度の呈色を示し、50 $\mu g/ml$ 以下の濃度で定量が可能であるので総アルカロイド量を求めることができる。蛍光分光分析による定量法についても種々検討されている。これらのアルカロイドは、前述したように紫外線下で強い蛍光を発生し、290~325m μ の紫外線を照射すると340~400m μ に最大強度を有する蛍光を示し、0.01~0.5 $\mu g/ml$ の範囲でそれぞれを定量することができる。

薄層クロマトグラフィーで種子からの抽出物を展開分離した後、蛍光により確認したスポットの位置を剝離し、希酸によりそれぞれのアルカロイドを抽出、Van Urk 試薬により発色するか、蛍光分光分析により定量して個々のアルカロイド含量を測定することも試みられて

いる¹²⁾。また、展開後、Van Urk 試薬により発色させた薄層を densitometer にかき、それぞれのスポットの呈色強度を測定し、LAA, iso-LAA の含量を定量した例もある¹³⁾。

Ololiugui そのものの向精神作用について、実験的に人体実験が試みられたこともあるが¹⁵⁾、その有効成分がLAAであることが確認される前から、リゼルグ酸関連化合物の化学構造と向精神作用との関係について系統的に興味ある研究がなされてきた。即ち、Hofmann 等によって合成されたLSD, lysergic acid monoethylamide (LAE) およびLAAの向精神作用は、いずれもその化学構造上5位の不斉炭素による異性体のうち、d-体のみが有していることが明らかにされている。またさらに、これら三者の化合物中、最も強い作用を有するのはLSDで、このもの25~100 μg を経口または静脈注射により投与すると、視覚に特異的な影響を与えるのみならず、時としては味覚、聴覚、触覚にも変化をもたらすことが確かめられている¹⁶⁾。そして、人格不統一、離人的症状が強く現われ、さらには精神分裂症に似た状態になるといわれている。このような作用は、投与後30分位で始まり、2~3時間後に最も強く発現し、8時間は持続するようである¹⁷⁾。

LAEはLSDの10倍量を投与して始めて効果を発揮する。例えば500 μg のLAEを注射しても視覚には大きな影響がなく、思考力が少しく低下するだけで、LSDよりも強い作用が表われるのは睡気が強くなる点だけである。LAEの投与量を750 μg から1mgに増すと睡気はますます強くなり、思考力ならびに視覚に対する影響が強く表われ、遂にはLSDの場合と同様、幻覚が表われることがある。

しかしながら、LAAの場合は、LAEと同量の投与でも睡気が強く現われ、服用後30分から1時間で眠ってしまい、平均2時間は睡眠が継続する。また、その他に流涎、嘔吐、めまいや下痢のような自律神経系の異常がおこってくる¹⁷⁾。

このように、LAAの酸アミドNH₂のHがエチル基で置換された場合、その幻覚作用は増大するものと考えられている。

文 献

- 1) A. Hofmann: J. Exptl. Med. Sci., 5, 31 (1961)
- 2) L. Oliva: Lecciones Farmacol., 2, 392 (1854)
- 3) N. Leon: Morelia, 14, 113 (1888)
- 4) W.E. Safford: J. Heredity, 6, 291 (1915)
- 5) A. Hofmann, A. Tschertter: Experientia, 16, 414 (1960)
- 6) A. Hofmann, A. Cerletti: Deut. Med. Wochschr., 86, 885 (1961)
- 7) A. Hofmann: Planta Med., 9, 354 (1961)
- 8) A. Stoll, A. Hofmann: Helv. Chim. Acta, 26, 944 (1943)
- 9) W. L. Garbrecht: J. Org. Chem., 24, 368 (1959)
- 10) W. A. Taber, R. A. Heacock: Can. J. Microbiol., 81, 137 (1962)
- 11) W. A. Taber, R. A. Heacock, M. E. Mahon: Phytochemistry, 2, 99 (1963)
- 12) W. A. Taber, L. C. Vining: ibid., 2, 65 (1963)
- 13) K. Genest: J. Chromatog., 19, 531 (1965)
- 14) 丹羽口: 本誌 No. 3, 840 (1968)
- 15) H. Osmond: J. Mental Sci., 101, 526 (1955)
- 16) H. Solms: J. Clin. Exptl. Psychopath., 17, 429 (1956)
- 17) H. Stoll: Progr. Allergy, 3, 388 (1952)

尿中 17-Oxosteroids 測定法の研究 (II)

(とくに OSKIT について)

帝国臓器製薬株式会社 薬理研究部主任研究員 医学博士 神戸川 明

2. 抽出

1) 抽出溶媒

抽出溶媒は表1の如く、エーテル、ベンゼン、トルエン、ジクロルエタン、クロロホルムいずれも95%以上で抽出可能であるが、溶媒と水との相互溶解度が少ないこと、引火性がないこと、毒性が少ないこと、蒸発によるロスが大きくないこと、また蒸発乾固が容易なことを考慮に入れると、エーテルやベンゼンは引火性があり、ベンゼン、四塩化炭素は毒性があり、エーテル、酢酸エチルは相互溶解度が大である。クロロホルムはこれらの欠点がなく、また上層が常に水で被われ蒸発が少ないこと、試験管で上層から尿やアルカリ液を除くことができ、簡便な抽出法で抽出できることから抽出溶媒としてクロロホルムが最適といえる。

2) エマルジョンが生じた時

クロロホルムはエマルジョンができ易いが、一度振とう後分離した尿層をできるだけ除いてもう一度強く振とうすると、エマルジョンが消失する。それでもエマルジョンが残った時は、次のようにする。すなわちエマルジョンが少ない時は次のアルカリ洗浄で除くことができるが、エマルジョンの多い時は遠沈してクロロホルム層を別の共栓試験管にとる。

3) アルカリ洗浄

洗浄用の NaOH の濃度は4~10%の間であれば、洗浄能力や 17-OS 収量は変わらない。尿の抽出やアルカリ洗浄でクロロホルムのロスが多い時は5 ml とれなくなる。また、17-OS はアルカリに対しては安定であるから水洗の必要はなく、また、ろ紙でろ過することにより、脱水と脱アルカリが同時にできる。すなわちろ紙は水と親和性がつよいから少しの水（アルカリ洗液）はろ紙に吸着されクロロホルムのみがろ過されて、クロロホルム中の 17-OS はろ紙に吸着されることは全くない。

4) クロロホルムの採取量

5 ml の所に目盛のある試験管にろ過して、この5 ml を残してあとはすてる。このろ過はろ液が5 ml 以上になったらやめる。最後までろ過するとろ紙の面から蒸発して濃縮されるからである。また、ろ過をする時静かに傾斜して水滴が入らないようにするとろ過が早い。ろ過がおそかったり、風のある所でろ過すると濃縮される。しかし、Standard も尿と同じ操作であるから、すなわち10 ml のクロロホルムを入れて抽出、洗浄し、そのろ液の5 ml をとるので蒸発とか水層への溶解による溶媒の減少のためのプラスの誤差は補正される。また、5 ml の目盛の

試験管がない時は、安全ピペッターで5 ml とるか、またはメスシリンダーでとると良い。口で吸うのはあまり健康上感心しない。

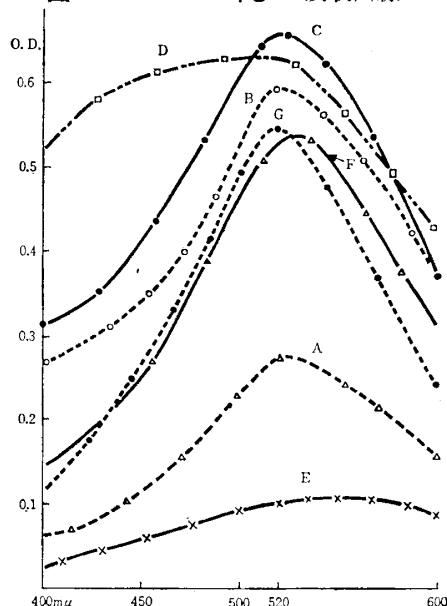
5) 蒸発乾固

沸とう石を入れて80~100°C 位の水中で蒸発させる。17-OS は、熱には安定であるから乾固後加熱しておいたとしても差がない。

6) ブランク

加水分解の前から精製水や生理食塩水で操作しても、発色が空の試験管と差がないので発色の所からブランクをたてる。

図4 HDA 50 μ g の吸収曲線



3. 発色測定

1) Zimmermann 反応の各種の方法と呈色の特長

表1と図4の如く発色試薬には m-dinitrobenzene (m-DNB) が広く用いられ、呈色は 520m μ に最大があるが、3,5-dinitrobenzoic acid を用いた方法では吸収最大が 550m μ で、その呈色は他の方法にくらべて非常にうすい。m-dinitrobenzene のアルコール溶液の代わりに 5% Hyamine を用いて発色させると、その呈色の吸収はフラットな曲線で Allen 補正するには適さず Allen 補正值は我々のよりかなり低かった。つぎに Zimmermann 発色した Z.C. をエーテルやジクロルメタンで Z.C. のみを抽出して測る我々の方法や、Peterson, 屋形の方法は表1の吸光度のように吸光度と補正吸光度

表1 17-OS の各種発色法と呈色の特徴

	各方法	m-DNB		KOH		希釈液	抽出	吸収max		補正 O. D. max $\pm 60m\mu$
		濃度	溶媒	濃度	溶媒			m μ	O. D.	
A	Holtorff	1%	EtOH	5 N	水	70%EtOH	—	520	280	114
B	Peason	1%	"	8 N	水	"	—	520	590	185
C	Callow	1%	"	飽和	EtOH	"	—	520	660	190
D	Epstein	飽和	5%Hyamin	8 N	水	5%Hyamin	—	510	630	65
E	Cohen	1%DNBA	EtOH	5 N	水	70%EtOH	—	550	110	30
F	Peterson 屋形	1%	EtOH	8 N	水	50%EtOH	CH ₂ Cl ₂	520	540	215
G	神戸川	1%	"	8 N	水	30%EtOH	Ether	520	542	230

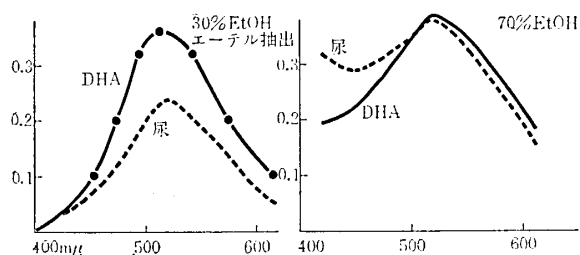
※ DNBA=3,5-dinitrobenzoic acid

呈色度の比較のため m-DNB は 0.4ml, KOH は 0.2ml, 希釈は 4 ml (F, G は 2 ml) F, G の抽出溶媒は 4 ml を用いた。
O. D. は DHA 50 μ g の吸光度 $\times 1000$.

表2 Zimmermann Chromogen の抽出測定と
希釈測定と比較

尿 No.	尿 中 17-OS 値 (mg/day)			
	520m μ 値		Allen 補正值	
	30%EtOH 2ml エーテル 4ml 抽出	70% EtOH 4ml	30%EtOH 2ml エーテル 4ml 抽出	70%EtOH 4ml
1	11.6	16.2	11.4	12.1
2	9.9	14.5	9.3	8.7
3	3.8	5.2	3.2	4.0
4	10.5	17.5	10.2	9.7
5	5.9	8.5	5.0	5.0
6	6.7	7.8	6.4	5.5
7	7.0	9.2	6.8	4.4
8	13.1	15.6	12.3	12.2

図 5



が共に高く、感度が高いことを示した。ここで我々の Z. C. をエーテルで抽出して測る方法と、Z. C. を 70% アルコールでただ希釈して測る方法を比較すると、表 2 と図 5 の如くエーテル抽出の方が短波長部分（不純物による吸収）の吸収がなく、また純品 DHA と尿と同じ吸収曲線を示した。このことは尿から抽出したものの呈色がエーテル抽出をすることにより純品 17-OS の吸収のみを測ることができることを示すものである。このエーテル抽出をして Allen の補正 $[520E - (460E + 580E) \times 1/2]$

をしたものが真の値に近い値を出せることが臨床的に判明されている。エーテルで抽出して測ったものは 520m μ のみでもかなり正確な値が出ることを示した。ゆえにこの表 2 の如く種々の尿で、この方法での値と他の方法での値をくらべてみると、エーテル抽出したものは 520m μ で測るだけでは真の値が出るということがわかる。また、エーテル抽出せずに 70% アルコールで希釈後 Allen の補正をしても同じであった。しかし、70% アルコール希釈のものは Allen で補正しないと真の 17-OS 値より高い値になる。これは尿の不純物による影響である。

2) 発色温度と時間

図 6 のごとく、温度が高いと Zimmermann 反応が早い、できた 17-OS の Z. C. は分解も早く褐色になり易い。ゆえに 37° より 25° や 17° の方に最高の吸光度に達するから反応は室温がよい。しかし温度が低いと発色速度がおそく呈色に時間がかかる。一般に Z. C. が褐色になると、この褐色 Chromogen がエーテル抽出で一部抽出されるから、Z. C. が褐色になる前に反応を止めた方がよい。

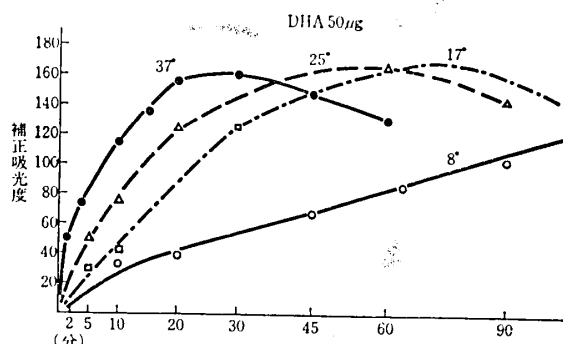
3) Z. C. のエーテル抽出

反応は m-DNB と KOH の濃度をアルコール水溶液でうすくすればほとんど停止して変わらなくなる。さらにエーテルやジクロルメタンで抽出をすると、この Z. C. 呈色は変わらない。

このジクロルメタン抽出をするとジクロルメタン層が白濁してしまうため遠沈することが必要であるが、エーテルで抽出すると液は透明であり、またセルに入るときも傾斜するのみでエーテル層が光軸の所に入り簡単に測定ができる。もし下層部分が一部セルに入っても光軸があたる所には影響がない。このエーテルで 17-OS の Z. C. を抽出して測るとき、抽出後しばらくするとエーテル中にとけている Z. C. や KOH が下層に降りてくるため、セルに入れる前に一度軽く振って測る方法がよい。エーテルの蒸気は空気より重たいから試験管内ではほとんど測定している間にエーテルの量は変わらない。また 17-OS 値が高くて呈色が濃すぎるときは、このエーテル層を 1 ml とり、これに 1% m-DNB : 8 N-KOH

: 30% EtOH : エーテルを 4 : 2 : 20 : 40 の割に混合したもので希釈して測るとよい。ただエーテルのみで希釈すると色が消えやすい。

図6 17-oxosteroidsの Zimmermann 反応呈色における温度と時間の関係



4) 光

m-DNB と KOH とで反応するとき直射日光をあてると褐色になるが、室内では明るい所でも暗所でも発色に差がない。しかし暗所の方がよいと思われる。

5) 回収率と精度

この測定法は Standard を初めから尿と同じ方法で操作するため回収率を出しておく必要はないが、本測定法の回収率は次のようである。

Standard 100 μ g を水 10 ml にとかし尿と同様に操作して得たもの (50 μ g 相当) と Standard 50 μ g を乾固した

ものとの Z 反応し、測定して回収率を算出した。

回収率 = 95% $\pm$ 8%

精度は普通 8% 以内のバラツキで測定されるが、この精度はテクニックによるから同一の尿とか Standard を数検体とり、測ってバラツキを見ておいた方がよい。

6) 正常値

年 令	性 別	平均 値	範 囲
8~13	♂ ♀	1.9	1.1~3.6
14~19	♂ ♀	4.0	1.9~8.5
20~42	♂	8.0	3.5~13.0
	♀	5.3	3.0~8.0
42<	♂	5.6	3.0~9.0
	♀	4.3	1.0~8.0

結 論

1. OSKIT による本測定法は操作が簡便で 2 時間で 20 検体を測ることができる。
2. 尿中の 3 種の 17-OS を Standard として、尿と全く同じ操作をするので正確な値がでる。
3. ホルマリン (不純物阻止液) を添加して酸水解をするので尿色素がつかられない。
4. 17-OS の Zimmermann 反応後、17-OS の呈色物質のみをエーテルで抽出するから尿中の不純物の影響を受けない。以上のことが判明した。



高純度を保証する

Certificate of Analysis 試薬



製造ロット毎に
実際の検査成績
を表示してあり
ますので安心し
てご使用出来ま
す

ETH 留 学 記

千葉大学工学部
合成化学科助教授

理学博士

山 田

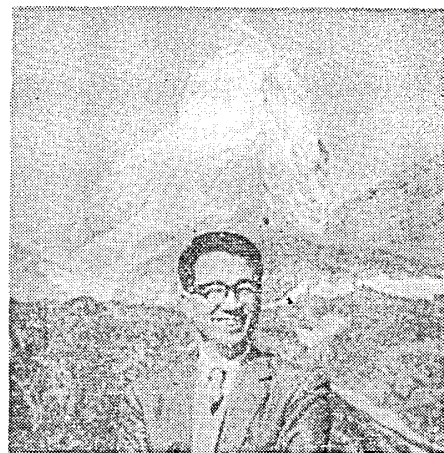
和 俊

私の参りましたのはもう4年も前のことになってまして、もはや回想いや追憶の遊学記になろうとしています。帰りましてしばらくのあいだはスイスやETH風有機化学に対して或種の批判もあり、風物に致ししても一家言あったのですが、なにしろ真島先生のETH時代のこととか、石川先生のZürich留学生活などを眼を輝やかして聞きほれたりしてすっかりホレこんで参った所ではありますし、それにいまだに時々スイス人と盃を交はらせていますと、もうトブラーのショコのような甘い追憶のみがよみがえるようになってきました。そのおつもりで老書生のつぶやきぐらいにお聞きのがし下さい。

文部省から留学費を戴きほつし、用意に忙殺された8月の東京をあとにSASに乗りますと、綺麗なシュワーズのブロンドに口をあけているうちに、トリナキウオノメニミダの感傷にひたる間もなくZürich空港になげだされました。ところが私の切符がZürichまでとなっていただけの話で、なんと着いた所はBasel。オタオタしている東洋の君子をスイス人は親切に目的地まで案内してくれたのですが、第一印象のこの親切さと安ホテルの清潔さはずっと良い印象として残りました。

アメリカ人を陽気な世話やき人とよく云いますが、スイス人はきまじめで無駄のない性格の人々が多いようです。少しおせっかいな人が多いようですが、これは相対的なものですので、小生よほど小供にみられたのかも知れません。チュリッヒゼーにほど近く、オペラ座の裏手に旅装を解き全留学生生活をこのFrauの世話になりました。かなり厳格なおばさんで、7時半きっちりにドクトール ビッテ アウフシュテーン!!、10分くらいするとカイネツアイト!!とまあこんな工合に毎日どなられていました。まあ部屋をきれいにしてくれるのは当然でしょうが、靴や服のブラッシングはてはネクタイまで揃えてあり、音楽会に行くともいおうものなら大変で、靴下まで変えさせられ、夕方学校からもう一度帰宅しひげそりを命令される始末でした。少し窮屈ではありましたが、感謝している人の一人です。とくに春や秋ユングフラウヨッホ近くにあるクスタートの彼女の別荘で過ごした週末は学校で見られない生の人々を観察出来て忘れられないものがあります。冬はまだ暗い8時より学校が始まりますので、スカイブルーの電車で丘の上の有機化学研究所まで登っていきます。約10分くらいですが、50万市民の足はこれとパスだけです。よくプレログ先生とお会したものです。

ETH(Eidgenössische Technische Hochschule)はスイス唯一の国立大学でして、古い歴史を誇るBasel大学(1460年創立)やZürich大学などの州立大学にくら



マッターホルンを背景にして 筆者

べ新しい学校で1855年創立となっています。こゝは、教授陣の優秀さと裕福な財政、それに戦争による被害がまったくないということと相まって、常にヨーロッパの一方の雄として君臨してきているわけですが、特に有機化学では、ウィルシュテッター・クーン・ルツィカと歴代の主任教授がすべてノーベル賞に輝いているのには驚く外ありません。学生にも外国留学生が非常に多いのですが、研究者も多くの国々から集ってきておりまして、とくにアメリカと北欧・中近東ではETH生活をした学者が多いと聞いております。日本からも戦前戦後を通して多くの先生方がこゝでコルベンを振られていることも当然だといえます。The World of Learning (1965)によりますと教授陣は409名で学生数5,000名となっており工科大学ですので女子学生の比率は小さく約5%くらいようです。外の州立大学は高校(男子高校と女学校にわかれておりますが公式には両者の教育内容は違わないといわれています。)卒業試験にパスしますと自然に入学を許可されるわけで男女比は50/50に近いようでした。ETHでは原則としては州立大学と同様なのですが希望者が多いので選抜を行っているようです。外国留学生にも当然選抜試験は適用されています。独語が完全でない場合は附属の語学施設で一年間教育致しているようです。もっともスイスには、お金さえ出せばもっと完全な全寮制の語学校がアルプスのふもとなどにありますのでそこで勉強してくる者が多いようです。友人のP. Kerrer (ETH. Dr. ガイギー社) 君に聞きますと、彼はZürich子ですが小学校は半日でPestalozziの国らしくかなり楽なカリキュラムを組んであるようですが、次のGymnasium入学は一寸骨らしく、さらにGymnasiumも高学年になりますと文科と理科とにわかれてくるようです。教課書をみますと化学についてもかなり

現代的な記述があるようですし数学は日本と同程度か一寸高いくらいだと思います。英国の教育制度を見ましても感じるのですが、小学校高学年で一度大きなふりにかけているようで、ヨーロッパ風とでもいえる方法です。中等学校が複式になっていまして大学をめざさない子供達は実業学校や働きながら学ぶ職業学校に通い、それぞれの道に進むわけです。ETHには多くの Laborant や -tine が実験の手伝いをしていますが、彼や彼女らの多くはこの職業学校の生徒のようでした。このような制度ですと Gymnasium を通らないで ETH に入学することは無理らしく、アインシュタインですら一寸ひっかかっていることから想像出来ようというものです。

化学部 (Abteilung für Chemie) に入学しますと一年生から Dipl. Inorganieur-Chemiker, Dipl. Chemiker と Dipl. Chemiker-Metallurge を目指して三つにわかれて教育が行なわれています。私のいたのは Institute für Org. Chem. ですが、これには最終学年の学生が卒業研究にくる以外は全部大学院学生と我々のようなポスドクでこれは日本と変わらないようです。この研究所は有機化学専攻の教室の集りで、正教授として Prelog 先生がいます。この外に無機部にはキレート滴定で有名な錯塩学者である Schwarzenbach 教授らが、また有機工学部には親日家である Zollinger 教授などがいてそれぞれの部で教育にあたられています。この二つの部は有機部とは別になっていまして Zollinger 先生の下で当時工大の飯島助教授がいられましたので中食時よくおじゃましたのですが、学部の内容は有機部(やゝ理学的)とあまり違はないようでした。

さて有機研究所ですが、Prelog を始めとして、Arigoni, Dunitz, Eschenmoser, Hardegger, Heilbronner, Simon と、私が直接指導して戴いた Jeger の 8 人の教授がいられ、従って 8 つの教室にわかれています。Prelog 先生はまだ第一線で研究の指揮をとっており、精力的な——学生にいわせるとせかせかと実験室を廻っています。学部長のような仕事をなさり、外国からの訪問者、さては小生のような留学生の世話までなさながらあれだけの研究が出来るのには頭の下る思いがします。不斉合成における Prelog 則や微生物の利用などは不朽の金字塔です。最近は大環状化合物の立体化学とかコングレソンの合成とか幅広い研究活動を続けています。二階の Prelog 研の下に有機化学研究所全体共用の分析機器がおかれて、Simon 教授研究室が管理にあたっています。オープンとオペレーター機器にわかれているのはどこでも同じですが、オープン機器の管理は良くなされており、たとえば IR の溶液セルまで共用ですが、測定前と測定後洗滌後に各自測定用紙に零点ラインを引くことを義務づけておりました。X線関係機器と小型のコンピューターは別館の Dunitz 教室にあり、必要に応じて助けてくれます。Dunitz 教授は中員環化合物の三次元解析やテルペン類の構造決定などを外の教授と協力して進めていた。コンピューターは入力 5 KW くらいのは、有機以外にも二、三台あって自由に使うことが出来ました。私は自分の直接のテーマに関してはあまり

必要がなく、傍証くらいに用いるくらいであったから多く日曜日に借りて使用したが、プログラマーやパンチャーのサービス制度には見習う所が多い。数学に弱い小生などにとって日本でのコンピューター使用にはかなりの不便があります。もはや π 電子を相手にする有機化学者にとっては必要機器となっているのですから、プログラムの相談にのってくれる人とか、ライブラリーについての知識について教えて下さるような制度とかを考えて戴きたいものです。実験時間と計算に要する諸時間とを考え前者が小さくないと有機化学者はコルベンに手をのばしがちなのですから。4 階は Eschenmoser 教室でもっとも学生に人気の高い先生です。こゝには東大の山田講師がいらしています。V₁₂ の合成を試み、また非常によいアイディアの仕事をたくさん発表している室だと思えます。講義の格調の高さと Uebunger の面白さは格別だと学生は皆ほめております。私も暇の時間きましたがよく整理された話しぶりのようで好感のもてる講義風景で、後の席は特別(なにしても)自由席というどこかの学校とは大ちがいです。つぎは最年少の Arigoni 教室ですが、イタリア風の明るい雰囲気のある教室で天然物とくにアルカロイドの構造決定やトレーサーを用いる生合成の研究を行っていました。Jeger 教授の下で Privat-Dozent をしていたので初期はトリテルペンの研究を協同で多く出しています。Hardegger および Heilbronner 教室は理論有機化学研究を主力としていまして、とくに Heilbronner 研の仕事はアゾベンゼンのねじれ角などについて我々にとって面白いそして少しなじみやすい理論研究が多いようである。勿論小生などには完全に理解することは無理だとしても。

最後になりましたが、私のお世話になりました O. Jeger 教室は三階にありまして、全教室員約 20 名くらいでステロイドを用いました光化学反応を研究しています。研究態度は先生の性質を反映しまして実に重厚です。Helv. Chem. Acta を開いていきまして上下に少しつまったステロイドがづらりとならんだ論文はまずこの研究室のものだといっても過言ではありません。又うっかり読んでいますと前の論文とどこが違っているのかわからなくなるほどです。sicher という言葉そのまゝの学風です。dienon 系ステロイドの光反応や epoxy ketone の開裂反応また 10-位アルデヒド化合物の転位光反応など多くの注見すべき業績をあげています。全教室員がステロイドの光反応という狭い領域に投入されて研究を進めているさまはお見事という外ありません。先生は Ruzicka. Prelog 両教授の教室員・Privat-dozent としてテルペン類の構造決定に非常に多くの仕事をなしてあげており、論文集はぶ厚い本で 5, 6 冊にもなっていました。今はコルベンこそ手ばなしでおられますが、朝 8 時半と夕方 6 時頃の二回必ず教室の全員の所にお出になり "etwas neues" とまわっていらっしゃいます。これは教室員にとっては大変つらいことで、毎日新しいことのあろうはづもありませんが、先生はあってもなくてもにこやかに二言三言話して行かれるのですが、小生にも身のすくむ思いをしたことが二、三度ありました。

この室の特色の一つは、外人部隊の多いことでポーランド、アメリカ、日本、オランダ、スペインと半数近く占めておりました。日本人も多く小生と前後した人をみましても群大の飯塚助教授、東大の岩崎博士などがいました。常時一人は居るようです。研究室の設備なども使いやすく出来てはいますが、小生昔しの理研にいましたので非常によく似た点が多いのと、現在はあちこちにモダンな実験室が日本にもありますので特筆すべきことはないと思います。要は人にあるようできれいに部屋を保つのはスイス人の特色と思はれますので、実験台やサンプル保存棚の整理の行きとよっているのは当然だと考えられます。と強がりを書いてみましたが、ETHの方が仕事の能率が上ったのは否定出来ない事実ですのでこれはやはり研究システムの違いによるものでしょう。たとえば Nacht Lab. の問題があります。有機に終夜実験はつきものであると、学部で一室をそれ用に於て窓のまったくない防火扉のついた出来れば自動消火器を設備した実験室を作ることはさほどむづかしいことではないと考えるのですが、現状は人の命と引き替えの泊り込みをやっている状態で、これは早急に解決をつけないければなら

ない問題ではないでしょうか。

七時になりますと全館完全に閉ってしまいます。小使いが廻ってきて時間外の許可（鍵）をもっているかどうかを調べていきます。この頃三三五五教室員はおやすみを交しながら家路へ散っていきます。私も友人と約束のあるときは学生食堂に、ワインの恋しい夜はレストランにと急がねばなりません。なにしろ静かなこのムーディな Zürich の夜はあまりにも短かいのですから……。

〔山田 和俊先生 略歴〕

- 1955 教育大・理学部卒
- 1957 教育大大学院修士卒
- 1957 理研・有機第一研・研究員
- 1961 教育大・理学部・助手
- 1964 E. T. H. 有機化学研究所員
- 1967 千葉大・工学部・助教授

〔論文 業績〕

- 1) 有機光化学と反応性指数 20報
- 2) フラバン系化合物の合成 10報
- 3) トリテルペンの研究 5報

《編集 後 記》

科学警察研究所の丹羽口博士は犯罪と分析化学と題して本誌前号まで連載されたことは読者のよくご存じの通りであるが、今回は植物の幻覚成分特に Ololiugui 中のリゼルグ酸アルカロイドについて解説していただいた。これはメキシコのインディアンが今日でも宗教的儀式に幻覚のキノコを用いており、これをパリー大学教授ロジャ・エイム博士とアメリカの民族学者ワッソン博士が実際に調査して幻覚作用のある数種のキノコを同定し、その栽培したものについてスイスのホフマンらと共同研究して、幻覚成分プシロチビンとプシロチンを単離し、

構造式も決定して1957年スイスの化学誌に発表された。さきにホフマンは麦角アルカロイドの研究中自ら試して LSD に幻覚作用のあることを発見した。1943年のことである。これは精神分裂病に似た症状を呈するので精神科医の注目するところとなった。パリーのロジャ・エイム博士は1957年、ワッソン博士は1963年来日され、日本菌学会で講演された。日本にも幻覚作用のあるキノコがある。山形、群馬、岩手、千葉に多いオオワライタケ、東京、松戸附近にあるワライタケ、本州、北海道にあるシビレタケなどが知られているが、その幻覚成分については不明である。（稲垣）

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) TELEX 222-3446 (CICAKANTO TOK)
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
湘南出張所	埼玉県草加市稲荷町 2048 番地 電話 草加 (24) 1331 (代表)
京浜出張所	平塚市八幡下高間 1300 番地 電話 平塚 (21) 2051・2052
札幌出張所	横浜市鶴見区駒岡町四ツ田742番地 電話 鶴見 (581) 3386 (代表)
九州出張所	札幌市北九条東 1 丁目 電話 札幌 (73) 6181 (代表)
国分寺営業所	北九州市戸畑区天神 2 丁目 2 番 14 号 電話 戸畑 (88) 3961・3962
千葉営業所	東京都国分寺市東元町 3 丁目 4 番 19 号 電話 国分寺 (21) 3489 (代表)
大宮営業所	千葉市今井町 2 丁目 14 番 15 号 電話 千葉 (61) 1303・1304
三島営業所	大宮市大和田町 2 丁目 1473 番地 電話 大宮 (41) 9260・(84) 8903
仙台営業所	静岡県三島市中央町 4 番 6 号 電話 三島 (71) 1832
大阪関東化学株式会社	仙台市鈎取字薬師堂 33 番 1 号 電話 仙台 (48) 4241~2
	大阪市東区瓦町 3 丁目 1 番地 電話 大阪 (231) 1672~1674