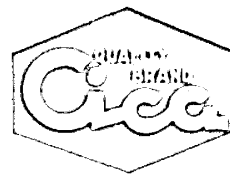


昭和四十九年四月一日 発行



1974 No. 2

(通巻第 72 号)

発行者 関東化学株式会社

CHEMICAL TIMES

目 次

(通巻ページ)

工業分析化学随説(XXXXII).....	東北大学名誉教授 理学博士	加藤 多喜雄.....1246
メンデル余話(II).....	茨城大学教授 理学博士	武井 信典.....1248
有機化合物の構造決定法最近の話題(II).....	山形大学理学部 理学博士	中沢 信午.....1250
麻薬および依存性薬物の化学分析に関する 円卓会議に出席して(I).....	電気通信大学教授 理学博士	大橋 守.....1253
含窒素共役ジェンに対する環化付加反応(I).....	科学警察研究所 医学博士	丹羽 口徹吉.....1255
Vitamin B ₁₂ の生合成研究(II).....	化学研究室長 医学博士	富松 祥郎.....1257
有機合成に於ける微生物の利用(s).....	明治薬科大学教授 薬学博士	梶 原 正 宏.....1259
関東化学創立30周年記念祝賀パーティー.....	東北大学薬学部 薬品製造学教室	黒 沢 雄 一 郎.....1260
編 集 後 記		

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 (XXXXII)

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

ガスクロマトグラフ法が複雑な混合系の分離、定性、定量のための手法として広く利用されていることは周知のことであるが、現在もなお、その利用範囲を拡げるため、種々様々の研究が行なわれている。そこで今回はそうした研究の中から興味深いものを二、三紹介することとする。

一般にガスクロマトグラフ法は気液分配型と気固吸着型に大別されているが、本随説において既に紹介したように、気液分配型にも固定相液体および担体表面における吸着の寄与のあることが明らかにされて居り、また、含酸素、含窒素の極性化合物の分離によく用いられる有機多孔性ポリマーによる分離機構を分配型あるいは吸着型に決めることは難かしく、したがって上に示した分類はかなり便宜的なものとなる。そこで、気液分配、気固吸着の双方を同時に分離に利用しようとする試みは当然考えられる訳で、ここではその一つとして Corcia 等による報告を紹介することとする。

まず Corcia等¹⁾ および Corcia²⁾ は平滑、非極性で均一な表面を持ち、非特異的な吸着性を示すとして分離されている³⁾ グラファイト化カーボンブラック (GCB) を担体とし、これにテトラエチレンペンタミン (TEPA)、グリセロール、 H_3PO_4 等の極性固定相液体を保持せしめて、有機酸、アルコール、アミン、 NH_3 、 SO_2 、 H_2O 等の極性試料の分離を試みている。そしてその一つとして 0.1~2.5% の FFA P (カーボワックス 20M と 2-ニトロテレフタル酸の反応生成物) を担持した GCB を用いると脂肪族炭化水素の保持容量は急激に減少した後ほぼ一定の僅かな値となるが、これは FFA P の担持により GCB の表面積が減少するとともに強い吸着活性点が除かれるためであり、また、FFA P の担持量の多いときに示される一定の小さな保持容量は固定相液体表面における吸着によるとして説明し得るとしている。一方安息香酸、サリチル酸等の有機酸の挙動は炭化水素とは著しく異なり、FFA P 0.1~0.3% の間では保持容量は急激に増加し、次で 0.3~0.8% の間で激減し、更に FFA P の量が増すと保持容量はほぼ直線的に増加する。この変化について、Corcia は 0.1~0.3% の間の変化は GCB 表面に吸着された有機酸および FFA P の相互作用が保持容量を増すものとし、0.3~0.8% の間の変化は裸の担体表面積の減少による効果が有機酸~FFA P 間の相互作用による効果より大きくなるためであり、更に

FFA P の量の多い領域における変化は FFA P による気液分配が支配的になるためと説明している。そして固定相液体 0.8% 以下の領域が気液分配および気固吸着の双方が利用されている領域であり、液体は吸着剤を用いたとき多く現われるテーリングを防止するための単なるテーリング防止剤以上の役割を果しているとしている。また混合成分の分離効果は試料の分極率あるいは液体との化学的相互作用の差に基づくとし、担持量の少ないときの液体は bulk の液体とは全く異なる性質を示している。この外 Corcia 等⁴⁾ は GCB にポリエチレングリコールを担持せしめたときの各種アルコールの吸着熱等の担持率の変化による変化を詳細に検討しているが省略して、Bruner等⁵⁾ の報告を見ることとする。Bruner等は GCB に強極性液体としてグリセロールを、無極性液体としてスクアランを、中間の極性を持つ液体としてフェナンスレンを 0.1~1.2% 担持せしめて種々の炭化水素、アルコールの保持容量、吸着熱、van Deemter プロットの変化を検討して、気-液・固クロマトグラフ法における液体の示す役割について種々論じているが、その中で異性体の分離について次のように述べている。異性体はその構造により吸着剤表面への吸着のされ方が異なるため、吸着型がスフロ法はその分離に効果的であるが、吸着剤表面における試料と液体の間に相互作用のあるときは分離効果を高め、吸着剤表面に液体の単分子膜が生成する直前においては試料分子は吸着剤表面において液体分子に完全に囲われるため特に分離効率が高い。単分子膜が形成された後はアルコール-グリセロール、炭化水素-スクアランのような同一系統の化合物間の相互作用は異性体の挙動に差を与えるようには働かない。炭化水素-グリセロールのように液体に対する試料の溶解度の小さいときは液体の単分子膜が形成されてからも液体表面への試料の吸着が起り、分離効果は下らない。しかし液膜の生成により吸着剤の影響は小さくなり、保持容量は次第に減少するので、極性のある液体の利用は非極性の異性体の分離には極めて効果的である。この外 Bruner 等は重水素、軽水素炭化水素の分離についても述べ、更に van Deemter プロットから、液相担持量の低い領域では van Deemter の式は成立しないとして、その理由について種々論じているが、省略する。

以上この方面における研究の一部について簡単に紹介したが、こうした研究によりガスクロ法の応用範囲はま

だまだ拡大し得る可能性は充分にあると考える。

次に新しい固定相液体の開発についての非常に変わった研究を紹介する。通常試料の保持容量はカラム温度の関数であり、したがってカラム温度は一定に保つ必要がある。そこで Mc Crea 等⁶⁾ はある温度範囲内で一定の保持容量を示すような固定相液体を次のようにしてつくった。まず液体 I を用いたときの比保持容量 V_g^T は次のように示せるとした。

$$\log V_g^T(I) = b + a/T \quad \dots\dots\dots(1)$$

定数 a は通常負の値であり、したがって dV_g^T/dT は負となる。そこで dV_g^T/dT が正であるようなカラムと組み合わせるか、あるいはそのような液体を混合して用いれば、 dV_g^T/dT は 0 となることになり、そのようなカラムは所要温度範囲で物理的あるいは化学的転移を示す液体を用いたときに得られるとした。そのような組合せ系については

$$\log V_g^T(II) = \alpha + C/T \quad \dots\dots\dots(2)$$

より

$$V_R^T(I, II) = W_I V_g^T(I) + W_{II} V_g^T(II) \quad \dots\dots\dots(3)$$

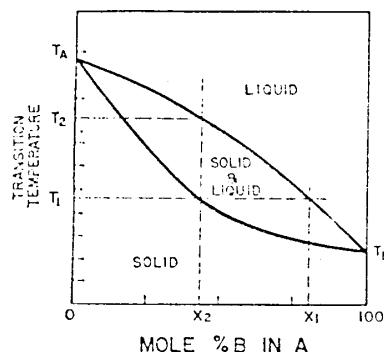
が得られ、 $\alpha V_g^T/aT = 0$ のときの両液体の重量比 W_I/W_{II} は

$$W_I/W_{II} = -(c/a) \left[10^{(a-b)} \cdot 10^{(c-a)/T} \right] \quad (4)$$

で与えられ、 $a \sim d$ の各定数が既知であれば、この値は求められることになる。そこで McCrea 等は液体 I としてスクアランを、液体 II としてオレイン酸—ステアリン酸混合物をそれぞれ選び、検討している。オレイン酸—ステアリン酸混合物は融点に幅があり、これを液相として用いたとき融点附近において脂肪族および芳香族炭化水素、アセトンの $dV_g^T/dT > 0$ の領域のあることが認められ、例えば 25 Mol% オレイン酸—ステアリン酸混合物を用いるときは $W_I/W_{II} = 1.29$ とすると各試料の V_g^T は $60 \pm 3^\circ\text{C}$ で $\pm 0.5\%$ 、 $60 \pm 5^\circ\text{C}$ で $\pm 2\%$ しか変化しない。そして、スクアランおよび酸混合物を担持した担体は別々のカラムに充てんしても、同一カラムに混合して充てんしても V_g^T 一定の温度範囲が得られるが、中心温度は若干異なるとしている。また W_I/W_{II} を決定するのはさ程難かしくはなく、この方法は例えば分取ガスクロ法で非常に太いカラムを用いるときは、試料が通過する際のカラム内の温度分布は必ずしも一様ではないので、そのようなときに用いると有効であろうとしている。

次に McCrea 等⁷⁾ は二つの液体混合系について下図のような関係のあるときは温度 $T_1 \sim T_2$ の間では液相、固相共に連続的に変化するので、例えば A が B より極性

が強ければ温度 $T_1 \sim T_2$ の間では A、B の混合比により液相だけを考えてもその性質は連続的に変ることになり、温度により特性の異なる液相が得られることを示している。



McCrea 等は混合系としてステアリン酸—1.9-ノナンニカルボン酸系を選び、種々の混合比における炭化水素、アルコール、ケトン、エステル保持容量の温度変化を検討し、図の $T_1 \sim T_2$ に当る温度範囲内で試料の溶離順序が変ってくることを認めている。例えばステアリン酸 10mole% 混合系を用いるときは $80 \sim 102.7^\circ\text{C}$ の間でヘプタンの保持容量を基準にしてアルカンは 13%、酢酸メチル 2-プロパノールは 175%、メチルプロピルケトンは 136%、トルエンは 51% の変化を示し、一様ではない。そしてこのような混合液相は外にも数多く考えられ、新しい型の液相として利用し得る範囲は広いと McCrea 等は述べている。

混合液相についてはこの外に三戸岡が極めて広い範囲に亘り検討しているが省略した。

文 献

- 1) A. Di Corcia, D. Fritz, F. Bruner; Anal. Chem., 42, 1500 (1970)
- 2) A. Di Corcia; ibid., 45, 492 (1973)
- 3) A. V. Kiselev; Discussions Faraday Soc., 40, 205 (1965)
- 4) A. Di Corcia, A. Liberti, R. Samperi; ibid., 45, 1228 (1973)
- 5) F. Bruner, P. Ciccioli, G. Crescentini, M. T. Pistolesi; ibid., 45, 1851 (1973)
- 6) P. F. McCrea, J. H. Purnell; ibid., 41, 1922 (1969)
- 7) R. Annino, P. F. McCrea; ibid., (1970)

大腸菌群の測定には

◆バクテスター® 1号

(大腸菌群簡易試験紙)

◆バクテロン 37

(バクテスター専用恒温器)

関東化学株式会社

メンデル 余話 (II)

山形大学理学部 生物学教室教授 理学博士 中 沢 信 午

スウェーデンの学者ブロンバーグ

1865年に発表されたメンデルの研究は、だれにもみとめられずに35年を打ち過ぎ、1900年になってはじめて独立に3人の学者がこれを再発見した話は有名である。しかしながら、実はその前に、何人かの学者がメンデルの論文を読み、これに批判を加えていることは近年になってようやく知られつつある。1972年はメンデル生誕150年祭がブルノで開かれた。ところが偶然にも、この年はまたスウェーデンの学者ブロンバーグ (A. Blomberg) が「種子植物の交雑について」という論文を発表してから100年目にあたっていた。この論文の原題は Om hybridbildning hos de fanerogama växterna で、ストックホルムで1872年に発表され、メンデルのエンドウの研究が7か所にわたって引用されている。この論文については1915年に Larsson がその存在を指摘したが、遺伝学上は何の反響もなかった。のち1965年に A. Gustafsson が英語で紹介し、はじめて注目をあびるに至った。

メンデルの論文は1900年以前にかならずしも注目されなかったのではない。いく人かの遺伝学者によって引用されている。なかでも1869年の Hoffmann, 1881年の, Focke, また1879年刊行の英国王立協会の科学論文目録にも掲載され、1881年版のエンサイクロペディア・ブリタニカ、また1892年のベイレイ園芸植物事典にも引用されている。さらに1874年にはロシアの学者 Smalgausen がメンデル論文の数学的あつかい方に注意している。

ブロンバーグ (1844—1922) はスウェーデン地質研究所員で、広くスウェーデンの国土を調査した有名人である。かれはただ一度だけ植物の論文を書き、1872年にそれが学位論文となっている。その論文の32ページにおい

図5 クラーツエル⁹⁾

て、メンデルの雑種の研究を Gärtner の研究と比較している。かれによると Mendel, Gärtner, Wichura, Nau-

din, Nägeli が同一実験結果を得たことをのべ、ことにメンデルが2対以上の形質のあいだに雑種をここみた点を実験錯誤としている。また39ページでは、雑種の形質が一定していない結果を得た研究者として Kölreuter, Gärtner, Mendel, Naudin, の名をあげ、また反対に雑種の形質が均一であるという結果を得た研究者として Wiegmann, Wichura Darwinなどを指摘している⁹⁾。

メンデルの研究発端

メンデルは1843年にオロムツ大学の哲学教室を卒業し、それからブルノ修道院に入った。この時すでに修道院の庭には植物実験場があり、ここで Klácel が植物の研究を行っていた。そしてメンデルはこの研究に参加することになった。これがおそらくメンデルの植物研究のはじまりと考えられる。ではなぜ修道院の中に植物の実験場があったのだろうか。これは院長 Napp が生物の遺伝と進化について研究の重要性を意識していたからにはほかならない。

当時ブルノ修道院は、名実ともにモラビアの科学の中心をなしていた。修道院長ナップは学術に非常な力をそそぎ、特に遺伝の研究のために、ブルノ大学教授 Thaler に依頼して植物の実験を行っていた。1843年にはその Thaler が死去し、かわって Klácel がこの実験にたずさわった。そこへメンデルが修道士としてこれに参加することとなったのである。Klácel は1808年にボヘミアの東南にある小都市チェスカ・トレボヴァに生まれ、幼少のころから秀才で、リトミシルの哲学院で Buzek 教授について哲学をまなび、1827年にブルノ修道院に入った。Buzek はチェコの出身で、はじめはウィーンの官吏養成学校として有名なテレジアヌムの教授であったが、自由思想家として職を追われ、チェコの田舎に帰っていたのである。そうした Klácel はブルノ大学教授となり、哲学を教えながら、修道院では植物の実験を行っていたわけである。しかし一方において、Klácel はまたチェコの独立運動に加わり、チェコは当時オーストリア領であったために、独立運動はウィーン政府から弾圧され、かれは教授の地位を追われた。こうしてプラハへのがれ、またブルノへもどり、詩集や新聞を刊行したりしていたが、ついに意を決して1869年に自由の国アメリカへ渡り、アイオワに住み、そこでもう一度植物実験を計画したが、貧困と失職のためにそれもかなわず、1882年にさびしく死去した。

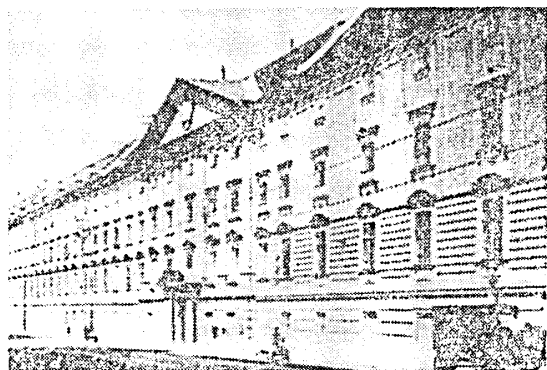


図 6 往時のオーストリア官吏養所テレジアースム。
現在もウィーン南駅の近くに残存¹²⁾

Klácelはメンデルの研究の最初の指導者として大きな功績があったというべきであろう。また当時のブルノ修道院は、院長の援助の下に、Thaler, Klácel Mendelという研究者たちが相つづいて、ついに遺伝の法則をメンデルが発見するに至った事実からみて、一つの徹底した研究体制があったのである⁶⁾⁷⁾。

メンデルと諸学会

現在ブルノのプルキニエ大学医学部のSajner教授の研究⁹⁾によると、メンデルは当時多くの学会に入っていた。

1. モラビア・シレジア農業会。この学会は1770年に創立され、6部会にわかれていて、メンデルは森林部会をのぞいては他の全部に入学していた。それらは自然科学部会(1849年発足)、農業部会(同年発足)、歴史・統計部会(1850年発足)、果樹・ワイン・造園部会(1850年発足)、養蜂部会(1854年発足)である。1882年にはメンデルがこの学会々長に推挙されたが、かれはこれを辞退し、単に役員として最後までその任にあった。

2. オーストリア動植物学会。1853年1月5日にウィーン大学へ留学した時にメンデルはこれに入会していた。これは友人カルル・メスラングの紹介によるものであった。同年6月9日にはこの学会誌に「イモムシによるダイコン畑の荒廃について」という報告をメンデルは発表している。

3. ブルノ自然研究会。モラビア・シレジア農業会の1部会からメンデルが中心となって1861年12月に独立分離したものである。この研究会において、メンデルの最も重要な研究論文「植物の雑種に関する研究」が出版されたのは1865年であった。

4. オーストリア気象学会。

5. 果樹園芸学会。

6. ブルノ養蜂学会。

そのほかメンデルは自然科学以外のいくつかの団体に加入していたことはもちろんである。

A. 宗教団体としてブルノ聖ヤコブ教会建設協会、ブ

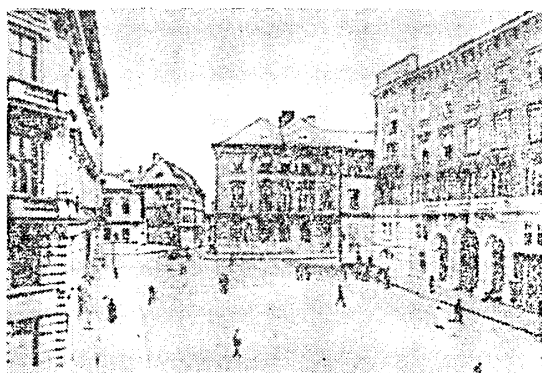


図 7 往時のブルノ自然研究会事務所
(正面の3階建て)¹²⁾

ルノ聖ヨゼフ・フラウエン協会、ブルノ聖トマス葬礼協会、プラハ寺院建設協会、スラブ・カトリック協会。

- B. 美術・文学に関するものとしてブルノ音楽協会、スラブ詩の会、オーストリア芸術協会その他。
- C. 産業に関するものとしてモラビア商業会、ブルノ婦人従業者会、モラビア商業博物館その他。
- D. 慈善関係として非行少年救護会、ブルノ料理研究会、モラビア戦争孤児・傷夷軍人救護連盟、その他。
- E. 保健衛生関係としてブルノ幼児病院維持協会、盲人保護協会、乳児保護施設その他。
- F. 教育関係としてモラビア・シレジア林学校協会、学校十字架連盟その他。

文 献

- 5) Orel, V.: Hereditas 73, 41 (1973).
- 6) 中沢信午: 生物科学 25, 53 (1973).
- 7) オーレル, V.: 遺伝 27, 8, 56 (1973).
- 8) Sajner, J.: Proc. Gregor Mendel Colloquium, 199 (1971)
- 12) Moravske Museum (ed.): Icpnographia Mendeliana (1965).

イーストマン・クロマグラムシート

薄層クロマトグラフィの

ご研究には!

(特 徴)

- 1. 吸着剤
シリカゲル、アルミナ、セルローズ、ポリアミド、ポリカーボネートの各種がある。
- 2. フレキシブルな200ミクロン厚のポリエチレン、テトラフタレート上に均一にコーティングされている。
- 3. 分離が極めて良い。
- 4. 裁断が容易である。
- 5. 展開装置も便利に出来ている。

関 東 化 学 株 式 会 社

有機化合物の構造決定法最近の話題 (II)

その 2 パルス・フーリエ変換NMR

電気通信大学教授 理学博士 大 橋 守

2. パルス・フーリエ変換 (PFT) NMR

前報高速液体クロマトグラフィーによってやっと1ミリグラム足らずの純物質を得たとしよう。構造を決定するために常道に従ってまずこの物質の各種物理定数を測定することになる。そのとき紫外線吸収スペクトルや質量スペクトルは問題なく測定できる。しかし構造に関して最も多くの情報を与える核磁気共鳴吸収スペクトルは従来の方法ではすくなくとも数ミリグラムは必要であって、まずお手上げである。積算計をつけたとしても、長時間の走査を必要とするので、磁場の安定性などから必ずしも満足すべきスペクトルは期待できない。ましてプロトンだけでなく、有機化合物の骨格を形成する炭素に関する情報を得ようとするのは全く不可能である。この厳しい条件下でNMRスペクトル測定を可能にするものがここに登場するPFT・NMRであって、現実に0.1ミリグラムのコレステリンでも30分足らずの測定時間で満足すべき ^1H NMRスペクトルが得られている。以下この方法を簡単に紹介しよう。

(1) NMR 測定原理*: PFT法に入る前に周波数掃引あるいは磁場掃引NMRスペクトルの測定原理に触れておこう。 ^1H , ^{19}F , ^{31}P あるいは ^{13}C のような原子核種はスピン量子数 $1/2$ を有し、自転している。正電荷を有する核の自転により小さな磁石に相当する磁気モーメントを生ずる。その磁気モーメント μ の大きさは自転の角運動量に比例する。この比例定数は各原子核により一定で磁気回転比 γ と呼ばれ、大体 e/MC (e は電荷, M は質量, C は光速)である。この μ を有する原子核を外部磁場 H_0 の中に入れると、回転するコマに重力がかかって首振り運動(才差運動)をするように、外部磁場の方向を軸として才差運動をおこなう。これをラーモアの才差運動という。この回転方向は H_0 の方向からみると時計まわりで、その角速度 ω_L は H_0 に比例し $\omega_L = \gamma H_0$ である。

磁場の中に入れて暫くすると、 H_0 と同方向の磁気モーメントをもつ核と、逆方向の核が熱平衡に達し、同方向をもつ核の方がエネルギーが低いので、その数が僅かに多くなり、全体として H_0 方向に磁化 M を有すること

になる。今 H_0 の方向を Z 軸にとり、直角方向に、 X , Y 軸をとれば、一つ一つの原子核はラーモアの才差運動をしているので瞬間的には磁気モーメントの X , Y 成分はゼロではないが、多数の核の総和としてみた時には、各核の回転の位相がばらばらなので X 成分も Y 成分もゼロとなる。すなわち磁化 M は Z 軸上にあつて ω_L の角速度で回転をしていることになる(図1)。話を簡単にするために H_0 方向を軸とした回転座標系に乗って観測するとしてしよう。座標系の回転数が ω_L に近付くにつれ、みかけ上 M の回転はおそくなる。すなわちみかけ上外部磁場が弱くなることになり、 ω_L に等しくなった時には M の回転はない、つまり外部磁場 H_0 はみかけ上なくなることになる。今 H_0 のほかに X 軸にコイルをまき交流電流を流して、 X 軸方向に振動磁場 H_1 を与える。この振動磁場は XY 面上で時計回りと逆時計回りに回転する二つの回転磁場の重なりとして表現できる。この時計回りの回転磁場を常に X 軸とする上述回転座標系に乗って観測してみる(実験室の座標軸を X , Y , Z , 回転座標系の座標軸を x , y , z とする)。こうすると回転座標系上の磁場はみかけの外部磁場 $(H_0 - \frac{\omega}{\gamma})$ と H_1 がベクトル合成された有効磁場 H_{eff} となる(ω は回転座標系の角速度)。磁化 M はこの合成された磁場の方向に傾くことになる。普通の高分解NMR装置では数ヘルツの差に ω_L と ω が近づいても H_1 はミリガウスの桁なので H_{eff} は殆んど H_0 方向と一致している。回転座標系の角速度がラーモアの周波数に等しくなった時には、前

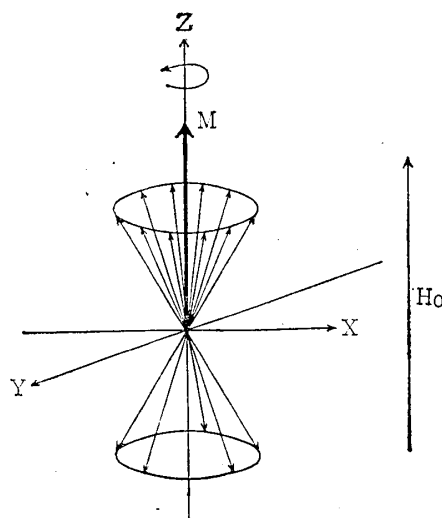


図1 H_0 をかけた時核の磁気モーメントの方向

*本誌43, No.1 (1967) "物理的測定法による有機化合物の構造解析法入門(1)"も参照されたい。

述のようにみかけの外部磁場はゼロとなり、 H_1 の交替磁場だけのこる。すなわち H_{eff} は H_1 だけとなるので M は回転座標系の x 軸方向に倒れることになる。普通の高分解NMRの装置では H_1 を掃引 (周波数掃引) したり、 H_0 を掃引 (磁場掃引) したりしてこの共鳴点に達するようにする。この時実験室の座標系にもどってみれば、 M は X 、 Y 軸の平面上をラーモア周波数 ω_L でぐるぐる回ることになる。そこで Y 軸に受信用コイルをおけば、 M がこのコイルを横切り、高周波がコイルに誘導され、シグナルが観測されるということになる。共鳴点を過ぎれば H_{eff} が $-Z$ 方向を向くことになるのでシグナルが消失し、スペクトルが与えられるというわけである。

2) パルス方式：今 H_1 を除々に変えて ω_L に近づけるのではなく、始めから ω_L をもつ強い H_1 をかける場合を考える。前述の回転座標系にのってみれば、 M は H_1 をかける前には Z 軸方向を向いているが、かけた瞬間にみかけの外部磁場はゼロとなり、有効磁場は H_1 だけとなるので M は x 軸を軸として H_1 の角速度でラーモアの才差運動をするようになる。 M は Y Z 面上を $Z \rightarrow Y \rightarrow (-Z) \rightarrow (-Y) \rightarrow Z$ 方向へとぐるぐるまわることになる。 H_1 が60ガウスだと 10^{-6} 秒位で Z 方向から回転して Y 方向を向く。ここで H_1 を打切る。これを 90° パルスと呼ぶ。このとき実験室の座標系からみれば、 M は X 、 Y 面上にあってラーモアの周波数で回転していることになる。従って Y 軸上にコイルをおけば強いシグナルがえられる。このシグナルの強度は指数関数 (e^{-t/T_2}) 的に時間 t と共に減衰する。この過程を自由誘導 (FID; Free Induction Decay), T_2 を横緩和 (Transverse relaxation) またはスピンスピン緩和) 時間と呼ぶ。これを個々の原子核にもどって考えてみると、 Y 軸上に磁化 M を生ずる程度に各原子核のラーモア周波数の位相がそろっていることを意味し、 T_2 はその位相が再びばらばらになる時間といえる。一たん Y 軸に倒れた M が H_1 を切った後再び Z 軸方向を向く現象を縦緩和 (longitudinal relaxation, スピナー格子緩和) といい、要する時間を T_1 で表わす。

時間の関数として与えられる FID をフーリエ変換して周波数の関数に変換すると1本のシグナルがえられる。図2にその様子を示した。フーリエ変換とは一つの関数を多くの三角関数の級数の和であらわす数学上の手法である。実際の化合物は共鳴点の異なる多数の核を含むので、この核の共鳴点を全部カバーする強いパルス (パルス幅; 数 μs ~ 数十 μs) を与えたとすれば、各核の FID は合成されて複雑な FID を与えることになる。例えば10ヘルツ離れた2本のシグナルがあったとして、その平均のラーモア周波数の回転座標系にのって観測すれば、 90° パルスを与えた時両者共 90° 倒れるが、それ

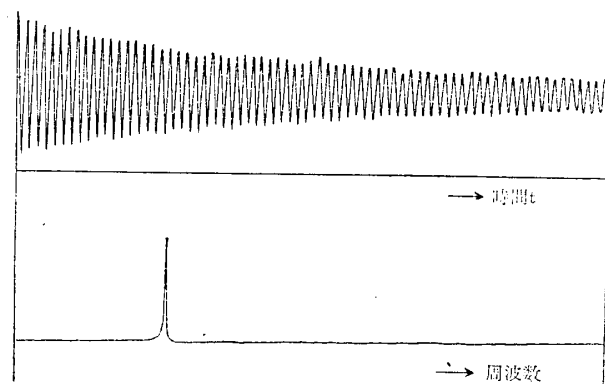


図2 FIDの変換

からはそれぞれのラーモア周波数にあわせて、回転座標系より速い角速度を有する磁化 M_1 は右まわり、遅い M_2 は左まわりに回転することになり、その合成された FID は波をうつことになる (図4)。

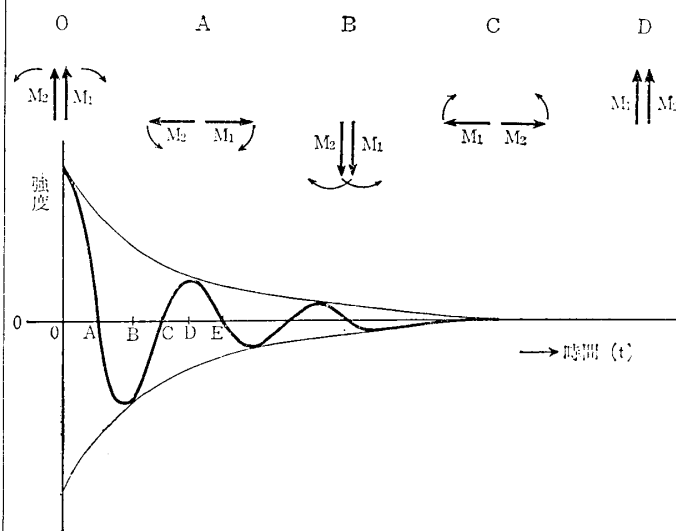
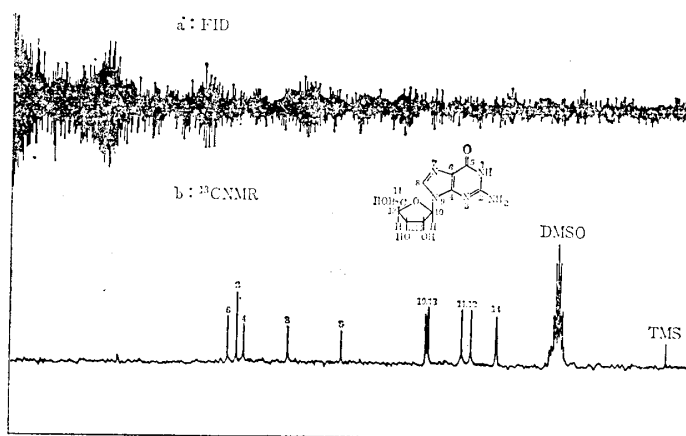


図3 2本のシグナルのFID

図4 グアノシンのFIDと ^{13}C NMRスペクトル (Jeol 技術資料パルス・フーリエ変換NMRより)

この複雑な FID を電子計算機を用いてフーリエ変換すればみだれた NMR スペクトルを与えることになる。図 4 にグアノシンの ^{13}C NMR の FID とスペクトルを例示した。

今仮りに通常の測定時間 500 秒で磁場掃引したスペクトルをパルス法で測定したとすれば数秒で完成する。たとえば 0.5 秒間隔のパルスを用いて 0.5 秒の FID を変換すれば、500 秒間に 1,000 回の積算が可能で、S/N 比は $10 \cdot \sqrt{10}$ 倍に上昇することになる。

3) スピンエコー Spin-echo 法: 上述の方法では一度 Y 軸を向いた M が再び Z 軸を向く時間 (T_1 : 数秒以内) の間隔をおかなければ次のパルスをかけられないという制約がある。通常数千回以上の積算を必要とする ^{13}C N

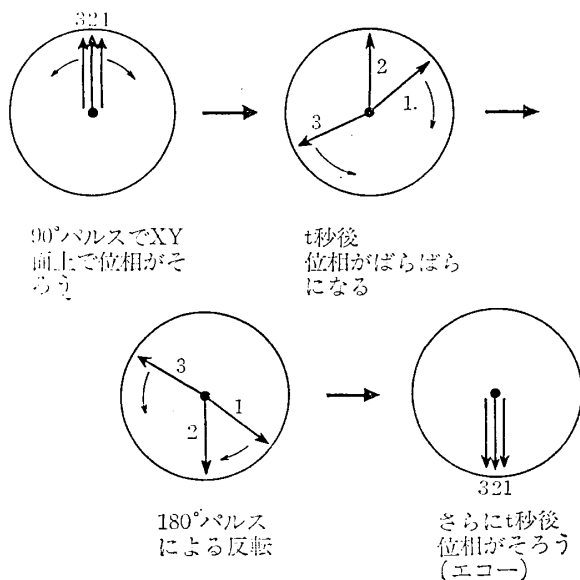


図 5 スピンエコー

MR スペクトルの測定にはこれでは時間がかかり過ぎる。この制約を解消するのにスピンエコーと呼ばれる現象を利用する。今 90° パルスをかけた後 t 秒後に 180° パルスをかける。図 5 に示すように或程度バラバラになった磁気モーメントが回転座標系の x 軸を中心に 180° 回転してまわり出すので、その t 秒後に再び位相がそろうようになる。これをスピンエコーと呼ぶ。こうしておいて再び 90° パルスをかければ XY 面上にあった M を強制的に Z 軸に向けることができる。 ^{13}C NMR スペクトル測定ではこの $90^\circ-180^\circ-90^\circ$ パルスの一回転は 1 秒以内 0.4~0.5 秒で、パルス幅は 25μ 秒以下数マイクロ秒程度で可能である。この技術により今や ^{13}C NMR スペクトルは構造研究の前面におどりでたと言える。

PFT-NMR は 1966 年 Anderson と Ernst により初めて高分解 NMR に応用されたが、コンピューター技術の開発とあいまって実用の段階に入ったのは 1970 年代に入ってからであり、まだそれ程普及しているとはいえない。しかし数千万円もする機器ながら優秀な国産品も生産されており、NMR 討論会の話題や、天然物の構造決定、生合成の研究にもこの方式による ^{13}C NMR スペクトルが華やかな話題をまきおこしており、現在の ^1H NMR と同様に不可欠の物理測定法となるのは時間の問題である。この方法による研究例を次回に紹介しよう。

参考文献を次にあげておく。

文 献

- E. Breitmaier, G. Jung, W. Voetter, *Angew. Chem. Internat. Edit.* **10**, 673 (1971); 中川直哉, *現代化学* **3**, No. 6 P. 17 (1971), 日本電子 KK. JEOL 技術資料; J. B. Stothers "Carbon-13 NMR Spectroscopy" Academic Press 1972.

関 東 化 学 (株) 創 立 30 周 年 記 念 祝 賀 パ ー テ ィ ー

当社は去る 3 月 15 日午後 5 時から東京芝のプリンスホテルで創立 30 周年記念祝賀パーティーを開催した。席上安保社長から当社の現況を説明し来賓各位から賜わったご厚意に感謝し、つづいて島根県選出の大橋武夫代議士、通産省工業試験所平石所長、中外製薬(株)上野社長および東海銀行谷専務からご鄭重なる祝辞があり、守随東部試薬協会長の乾杯の音頭にて酒宴に入る。なお千葉県選出の伊能繁次郎代議

士、東大薬学部田村善蔵教授、東京薬科大学長瀬学長、明治薬科大学久保学長および東北大名誉教授加藤多喜雄博士など関係学界業界から約 380 名が出席され、いろいろ沢山の余興もあつて盛会をきわめ、協賛(株)三橋部長の中締めのもと午後 7 時野沢専務の閉会の辞で散会した。

(昭和 49 年 3 月 21 日 稲垣)

麻薬および依存性薬物の化学分析に関する円卓会議

(ハンガリー化学会主催) に出席して (I)

科学警察研究所 医学博士 丹羽 口 徹 吉
化学第1研究室長

昭和48年1月中旬、突然ハンガリー化学会分析化学会
長 Dr. Pungor から、「本年10月4～6日、ブタペスト
で開催される麻薬および依存性薬物の化学分析に関する
円卓会議にあなたを招待したい。特にあなたは、LSD
の蛍光分光分析について講演されたい。」という主旨の
手紙が舞いこんできた。そして講演要旨の原稿枚数や締
切などが細かに述べられ、入国に必要な手続や、滞在中
の世話などはハンガリー化学会が責任をもってあたるな
どと言ったことが鄭重に述べられてあった。しかしなが
ら、会の規模や、出席者、予定されている講演や討論テ
ーマなどについては全く不明であったし、私自身ハンガ
リーの化学界、ことにハンガリーにおける麻薬、依存性
薬物の分析・代謝などの研究者との交流も全くなかった
ので、大いに戸惑った。考えたあげく、とにかく「有難
くお受けする」旨の返事を送るとともに、会の概要につ
いて問い合わせをしておいた。講演要旨原稿を送り、相変ら
ずの雑事におわれているうち8月に入り、円卓会議の概
要について知らせを受け、やがて講演要旨集も送られて
きた。一方、9月初めには科学技術庁から往復の旅費が
支給されることも定まり、何となくその気になって、あ
わただしい日が続いた。当初は、北海道の学会にでも出
かけるつもりで比較的のんびりしていたが、あと1ヶ月
たらずと言うことで手続きや準備に忙殺された。

何はともあれ、アンカレッジ、ハンブルグ経由でフラ
ンクフルトに飛び、そこから Hungarian Air Line でブ
タペスト入りをしたが、折り悪しく、ドイツでは航空管
制官の順法スト中で、約2時間半おくれ、10月2日の午
後7時半に到着した。パスポートを検査する所で、係官
が私のパスポートの写真と名前を見るといきなり「一寸
待て」と言って席を立ったので一瞬心細い思いをした
が、やがてにこやかに笑いながら「Dr. Niwaguchni!!」
と駆けよる3人に囲まれ、安堵の胸をなでおろした。円
卓会議の組織委員で、National Institute for Pharmacy
の要職にある Dr. Majlát 等の出迎えであった。おかげ
で、荷物もフリーパスで受けとり、車に案内されホテル
へ向かった。ブタペスト市について全く予備知識のもち
あわせもなく、東欧圏入りと言うことでやや緊張してい
た私は、車中で「人口200万、地下鉄も古くから四通八
達している東欧第1の都市で、ホテルのナイトクラブは
朝4～5時まで開かれている」と聞かされ、その街の大
きなことに驚くとともに、気分もほぐされてきた。車
は、わざわざ遠廻りして繁華などと言っても、すでに閉店
し、ショーウィンドーだけあかあかと輝き、人々がウイ

ンドー・ショッピングを楽しみながら散策しているいく
つかの中心街を通った。市内には鉄道の終着駅が数ヶ所
あってその周囲が繁華街になっていると言うことであ
った。繁華街でもケバケバしたネオン灯は見あたらない
が、街路樹の並ぶゆったりした歩道は街灯で明るく、車
道は渋滞を知らない自動車の流れにまじって、2～3輛
連結の比較的きれいな、適当に乗客を乗せた市電や、市
バスが頻繁に行きかい、清潔な感じの、ちょっと歩いて
みたくなるような街々を通りぬけホテルに着いた。

本会議の前日は、午後から registration がおこなわ
れ、午後8時から、市の中心を流れるドナウ川のほとり
のレストランで、Dr. Pungor 主催の宴会が開かれた。
参加者は、イギリス、西ドイツ、スウェーデン、オース
トリア、チェコスロバキヤ、日本、地元ハンガリーから
の招待講演者11名の他、ユーゴスラビヤ、ポーランド、
ルーマニア、ブルガリア、ハンガリーなどのオブザーバ
ーや夫人を加え、総勢40人ばかりであった。コニャック
と幾種かのワインをさしつ、さされつ、どちらかと言
うと、隣のあいているグラスには注いであげると言った日
本式のやりとりを重ねながらハンガリー料理に舌つづみ
をうった。

Dr. Pungor は京都で行なわれた国際分析化学会に来
日され、京都、奈良を尋ねられた話をされ非常になつか
しんでおられた。そして、最近の古都の毒され方をなげ
く私に、まだまだ日本には日本のものが残っているで
はないかと、むしろなぐさめて下さった。宴たけなわ
で、Hungarian Gypsy の衣装をした弦楽奏者が入り、
各国の民謡を奏で、ある者は歌い、ある者はおどり、ヨ
ーロッパに国境のあるのが不思議に感ぜられるくらいと
けあい、活気にみちみちていた。突然、静かなメロディ
と思うと、荒城の月が流れ、一同はいっせいに私に向い
盃をあげ遠来の客の健康を祝してくれるのだった。しか
し、一方では、ハンガリーの化学者が、皆の持っている
煙草の箱を卓上に出してくれと言うので出し合うと、ハン
ガリー人ですら自国のものでなく、アメリカやドイツ
産のものが多かったことから、「これが現在のハンガリー
の状態だ。すべてがそうなのだ。化学の世界においても……」と、意味慎重な話題を提供する場面もあった。
とにかく、この陽気な宴は夜半過ぎまで続き、「とうとう
会議の日は今日になってしまった。」と言う Dr. Pungor
の結びの言葉で閉会となった。

会議はドナウ川のほとりにある、ブタペストにしては
珍しく新しい科学技術協会のビルの小ホールで、9時か

ら Dr. Pungor の開会の辞について始められた。会議はすべて英語で行なわれ、11人の各演者が講演し、それぞれ討論があつて、最終日はさらに general discussion が行われるよう計画されていた。最初はハンガリーの National Inst. for Pharmacy 所長 Dr. Bayer, 次いでチェコスロバキヤの State Inst. for the Control of Drugs の所長 Dr. Parrak より、麻薬・依存性薬物の分析に関する技術的なことよりむしろ、分析者としての Philosophy と言うか、心がけと言うか、そうしたことについての講演があつた。即ち、これらの薬品の実際の分析にあたっては、迅速な分析法が必要であると同時に、正確な結果をもたらす精密な分析法が要求される。また、機器を必要としない簡便な方法と同時に、完全な機器による分析方法が必要である。この相反する要求をどう受けとめて行くか、麻薬の分析は、すべて routine work ではなく、research work と心がけ、検体毎に計画をねって事を運ばなければならないだろう、といくつかの実例を引用して説明された。

次に、西ドイツの Stuttgart 大学の Barchet 教授と、私が LSD の分析法について講演した。TLC, 呈色, spectroscopy, 質量分析などによる定性分析, 比色法, 蛍光法による定量分析法について述べ、それらの実際あるいは研究面での応用例について紹介した後、それぞれの方法の特長や欠点について討議があつた。私の研究室で開発した、LSD の薄層クロマトグラム直接蛍光定量法については応用例がいくつかあるので後の討論の際、改めて紹介してほしいと言うことで次に移った。大麻のガスクロマトグラフィー (GC) による分析法についてイギリス Strathclyde 大学の Fish 教授と、スウェーデンの National Laboratory of Forensic Science の Dr. Strömberg から発表があつた。この2人は数年来協同で仕事をすすめておられ、Dr. Fish は大麻の生理活性のある成分、THC, CBD, CBN の GC について、また Dr. Strömberg はそれ以外の揮発性成分の GC について検討を積み重ねていた。この2人の最終的な目的は、有効成分の含有比およびその他の微量成分の含有比を詳細に検討することにより大麻の産地を明らかにしようとするものであるが、現在のところ未だ完全ではないとのことであつた。オーストリアの graz 大学の Dr. Hiermann からは、TLC の開拓者で昨年日本薬学会年会にも招待講演された Dr. Stahl が新しく開発された TAS 法を紹介し、本法を麻薬、大麻の分析に応用し好結果を得た例について報告があつた。この方法は、試料の蒸気化したものを直接薄層上に導く方法で、簡単な装置を必要とするが、特別な抽出濃縮の前操作を必要としないのが特長である。

ついで、ハンガリーの Dr. Valovics, Dr. Gyamati, Dr. Kovács, Dr. Szasz より、それぞれ阿片アルカロイド、依存性薬物特に催眠剤、トランキライザーの TLC, GC, ポーラログラフィーなどによる分析法について講演、討論があつた。これらの中では、特に血液、尿、胃内容物など生物体試料からの薬物およびその代謝物の分析法についての報告が多く、特にブタペストの Semme-

lweis 大学の Gyamati 教授は「ハンガリーの偉大な薬物消費量を考えると、ハンガリー人の血液や尿は小さな薬局である。従つてこれらと中毒原因物質とを同定するためには非常に慎重にならざるを得ない」として実例をひいて報告があつた。また、種々の薬品の TLC の結果をまとめて light punched card system をとり入れ、実際的に大いに役立った例についても報告された。

一般討論では、まず、LSD について服用者の尿から未変化物もしくは代謝物が発見できるかどうかの問題が提起されたが、この点 Dr. Barchet も私も、LSD は非常に微量の 100 μ g 前後の服用量であることから、未だ尿中からは検出した例がなく、また RI 標識化合物を用いた動物実験の結果からその排泄率が少ないことがわかっているので尿からの検出は無理であろうとの意見を示した。ただし、私どもの研究室では、ラット肝 9,000 $\times$ g ホモジエネートを用いた in vitro の実験で、代謝物として脱アルキル化を受けた lysergic acid monoethylamide と N⁶-demethyl-lysergic acid diethylamide を得ていることを述べた。

また、薄層クロマトグラム直接蛍光定量法の応用例として、光に弱い LSD の光分解速度を測定した例や、先述の代謝における代謝速度を測定した例、さらに実際の密売錠剤中に含まれている LSD と不純物、(iso LSD, 光分解物など)とを分離定量した例などについて報告した。大麻の分析に関連して、大麻喫煙者の指や、歯を紙でふきとり抽出して GC を行くと、喫煙後 2~3 時間以内であれば検出できることが紹介された。また、smoking machine を使って大麻煙草の煙をフィルターに集め GC による分析を試みたところ、THC は 50% 減じたが、CBD, CBN はかわらなかったと言う報告があつた。しかし、実際の大麻の鑑定にあたっては GC 法だけでなく、鏡検によって植物学的な検査を行うことや、TLC による方法などを併用しなければ満足な結果は得られない、と言うことについて討論された。また、裁判化学の分野に質量分析法を導入することについて質疑応答がくり返された。質量分析は、微量 (10 μ g) の試料で十分確認できること、他の方法と違い、直接的に分子量が測定でき、構造の解析も可能であると言う利点があるので、この分野においても極めて重要と言うよりは必須の分析機器であるとの結論に達した。しかしながら夾雑物の多い試料であれば単離精製の必要があること、またある種の化合物、例えば amphetamine に代表されるフェネチルアミン類などのように親イオンピークが検出され難いものがあると言う欠点もあるので、さらに、GC-Mass, Mass Fragmentgraphy, CI-Mass などもと入れなければならないであろうと言うことも討論された。

試験器具の洗浄には!

シカクリーン MI を

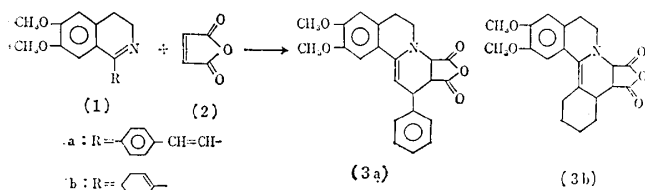
関東化学株式会社

含窒素共役ジェンに対する環化付加反応 (I)

明治薬科大学教授 薬学博士 富 松 祥 郎

1. まえがき

いわゆる Diels-Alder 反応¹⁾ は従来主として炭素共役系とエチレンあるいはアセチレン結合を有する化合物 (Dienophile) との間の環化付加反応としてぼう大な数の研究がなされ、炭素 6 員環の合成に多くの貢献をしたが、共役系にヘテロ原子を含む系に関する報告は比較的少ない。筆者はとくに含窒素共役系にこの反応が可能ならば医薬品との関連において重要な含窒素複素環の合成に新しい道を開き得るのではないかという点に興味を持ち、先に本誌²⁾ にもその研究の一部を紹介した。すなわち、つぎのイソキノリン誘導体 [(1a)³⁾ および (1b)⁴⁾] と無水マレイン酸 (2) より収率は良好といえないが、それぞれ 1,4-環化付加した (3a) および (3b) を得ている。



しかしその後の研究によって炭素共役系と含窒素共役系では性質にかなりの違いがあることがしだいに判明してきたので、まず両者の基本的相違点を明確にすることが先決であると考え、必ずしも Diels-Alder 型反応 (以下、正規反応と略称) を達成することのみを主目的とせず、C=N 共役系の付加反応に対する特性を追及することに方針を転換した。したがって反応試薬も通常の Dienophile に限定せず、双極環化反応にしばしば用いられるケテン誘導体、イソシアナート類などのヘテロケムレンをも導入することとした。

1 個または 2 個の窒素原子を含む共役ジェンを型によって分類すると (A) ~ (F) のようになる。

- (A) $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{N}$ (B) $\text{C}=\text{C}-\text{N}=\text{C}$
 (C) $\text{C}=\text{N}-\text{N}=\text{C}$ (D) $\text{N}=\text{C}-\text{C}=\text{N}$
 (E) $\text{C}=\text{N}-\text{C}=\text{N}$ (F) $\text{C}=\text{C}-\text{N}=\text{N}$

前記の例は (A) 型であるが、その他のそれぞれの型についても文献上にはかなりの報告例が見られるが、今回は従来もっとも注目されている (D) 型を主として取りあげ、筆者の教室で得られた知見を中心として紹介したい。

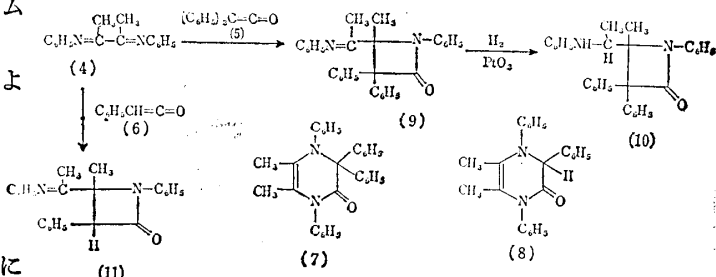
* (以下、紙面の関係上、複雑な化合物については化合物名を記さず、構造式に付記した番号で示すこととする。)

2. 鎖状共役の D 型化合物

この系列についてまず注目すべきものは Pfleger⁵⁾ らにより報告された (4)* とジフェニルケテン (5) およびフェニルケテン (6) との反応である。それによるといずれの場合も両者は Diels-Alder 型付加を行ない、それぞれ (7) および (8) を得るとしている。この報告は成書^{1b)} にも引用されている興味深いものである。しかし本報告には構造的証明がなんら記載されていないこと、ケテン類の一般反応形態などから筆者らはこの報告に疑問を持ち追試検討を加えた⁶⁾。

すなわち報告⁵⁾ にしたがって、(4) と (5) を酢酸エチル中、3 時間加熱還流すると mp 192~193° (文献値⁵⁾ 187°) の無色針晶が得られ、その元素分析値および分子量 (MS より) は両者の等モル付加体に一致するが、IR スペクトルには 6 員環のカルボニルにしては異常に高波数と思われる 1747cm^{-1} に強い吸収があらわれていること、 1658cm^{-1} に $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ によると思われる吸収が認められることから、本物質の構造は Pfleger らのいう 1,4-付加体 (7) ではなく、1,2-付加した 4 員環 (9) と推定されたが、これを確証するため酢酸中、酸化白金を触媒として接触還元を行なった結果、得られた物質 (10) の IR スペクトルには $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ によると思われる吸収が消失し、あらたに 3340cm^{-1} に ν_{NH} によると考えられる吸収があらわれた。

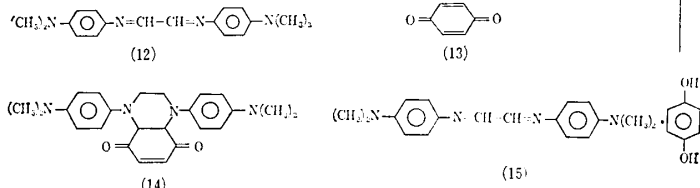
この事実ならびに NMR スペクトル測定結果をも総合して本反応生成物の構造は (7) ではなく、(9) であることを確定した。



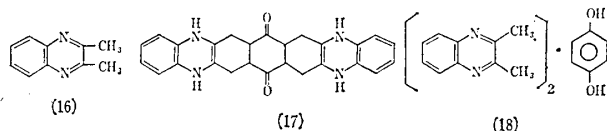
同様の方法により (4) と (6) の付加体も (8) ではなく (11) であることを決定し得た。

これとよく似た例としてかつて筆者⁷⁾ は (12) と p-ベンゾキノン⁽¹³⁾ をベンゼン中封管を用いて加熱し、分析値が両者等モルの付加体にほぼ一致する mp. 208~209°

の紫褐色結晶を得て、その構造を(14)と推定したが、そのIRスペクトルにおけるカルボニル吸収が 1614cm^{-1} と異常に低波数であることから当時も多くの疑問を残していた。その後MS, UV, IRスペクトル, TLCなどを用いて詳細に検討した結果、本物質は(14)ではなく、(12)とハイドロキノンの等モル錯体(15)であることが判明したので訂正発表した⁹⁾



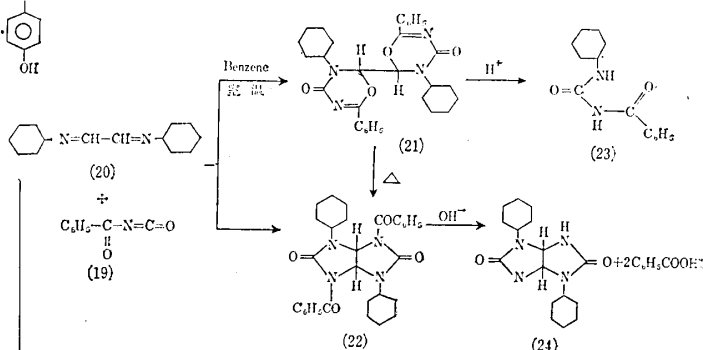
ハイドロキノンの生じていることは(13)が(12)によって還元されたと考えられるが、その機構は明らかでない。しかし同様の例は過去において既に報告されている。すなわち Schönberg ら⁹⁾は(16)と(13)から1:2付加体を得、その構造を(17)と発表した。のちに Taylor ら¹⁰⁾によってこの生成物は(17)ではなく、(16)とハイドロキノンの2:1錯体(18)であると訂正されている。



つぎにヘテロクムレンのうちでも活性と考えられているベンゾイルイソシアネート(19)を反応試薬に選び、鎖状D型共役系のN, N'-bis (Cyclohexyl) ethylenedimine (20)との反応を試みた¹¹⁾。その結果、この場合は反応条件により異なる生成物を与えることが明らかとなった。すなわち(20)と(19)を無水ベンゼン中、室温で放置すると(19)自身の1,4-極性構造の寄与によって(20)に対して1,2-付加形式をとった(20):(19)の付加体(21)を生じたが、(20)と(19)を無水キシレン中、加熱還流すると、いわゆる Criss-Cross型付加形式の1:2付加体(22)を与えた。これらの構造はMS, NMR, IRなどの各スペクトルによる検討、ならびに

(21)を少量の硫酸を加えて放置することにより(23)を生じ、別途合成した(23)の標品と比較したこと、また(22)をアルコール性水酸化カリウムで加水分解して(24)と安息香酸を生成したことなどの事実から決定した。

なお(21)はこれを無水キシレン中、加熱還流すると(22)を生ずるので(20)と(19)から(21)への反応は可逆で(21)は加熱により、いったん(20)と(19)に解離したのち熱に安定な(22)になるものと考えられる。



文 献

- 1) 総説
 - a) K. Alder: Newer method of preparative Organic Chemistry, Interscience publisher, Inc., New York (1948). pp. 381-511
 - b) M. L. Tamayo, J. L. Soto: 1,4-Cycloaddition Reactions, ed. by Hamer, Academic Press, New York and London: (1967) pp. 179-204
 - c) J. Sauer: Diels-Alder Reaktionen: Zum Reaktionsmechanismus, Angew. Chem. 79, 76-94 (1967)
 - d) M. C. Kloetzel, H. L. Holmes: Organic Reactions 4, John Wiley & Sons Inc. New York pp. 1-173
- 2) 本誌: 568 (1964) No. 4
- 3) 富松: 薬誌 77, 7 (1957)
- 4) 富松: 同誌 77, 186 (1957)
- 5) R. Pfeiffer, A. Jäger: Chem. Ber. 90, 2460 (1957)
- 6) 坂本, 富松: 薬誌 90, 1386 (1970)
- 7) 富松: 薬誌, 77, 286 (1957)
- 8) 富松, 坂本: 薬誌, 92, 514 (1972)
- 9) A. Schönberg, A. Mustafa: J. Chem. Soc., 1943, 654
- 10) E. C. Taylor, E. S. Hand: J. Org. Chem., 27, 3734 (1962)
- 11) 坂本, 富松, 宮沢, 所: 薬誌, 92, 1462 (1972)

吸収スペクトル測定用溶媒 UV, IR の測定に是非ご使用下さい

アセトン
アセトニトリル
イソオクタン
(2,2,4-トリメチルペンタン)
イソブチルアルコール
イソプロピルアルコール
エチルエーテル
ギ酸メチル
m-キシレン
クロロホルム

グリセリン
酢酸エチル
酢酸ブチル
四塩化炭素
1,1,2,2-四塩化エチレン
(パークロールエチレン)
シクロヘキサン
ジクロルメタン
(塩化メチレン)
1,2-ジクロロエタン

N, N-ジメチルアセトアミド
N, N-ジメチルホルムアミド
デカヒドロナフタリン
トルエン
ニトロメタン
ピリジン
ブチルアルコール
プロモホルム
プロモトリクロロメタン
ヘキサン類 (n-ヘキサン)

n-ヘプタン
ベンゼン
ベンゾニトリル
メチルアルコール
メチルシクロヘキサン
メチルスルホキシド
1-メチル-2-ピロリドン
2-メトキシエタノール
2,6-ルチジン
ドデカン

関 東 化 学 株 式 会 社

Vitamin B₁₂ の生合成研究 (II)

——コリン核の生合成研究——

東北大学薬学部 梶 原 正 宏
薬品製造学教室

ビタミン B₁₂ のコリン核における生合成研究は先駆者、D. Shemin¹⁾ の活躍が著しく、種々の位置に「¹⁴C」でラベルした *δ*-aminolevulinic acid (A.L.A) および ¹⁴C-methionine の取り込み実験を行って、ビタミン B₁₂ のコリン核部分は A.L.A 8 分子、また methionine から 6 個のメチルが取り込まれると報告している。さらに A.L.A 2 分子より生成する porphobilinogen (PBG) も 1959 年 ¹⁴C-PBG 投与実験によって PBG がビタミン B₁₂ の中間体であることが明らかになった。

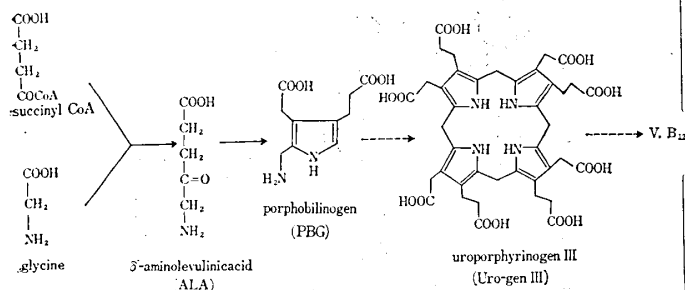


図 1

1958 年 L. Bogorad³⁾ はホウレン草, Wheat germ より酵素を抽出し, PBG 4 分子縮合させて, Uroporphyrinogen (I) (Uro-gen I), および Uro-gen (III) を生成した。PBG を酸で化学的に処理した場合は四つの isomer になり, その比は Uro-gen (III) 50%, Uro-gen(IV)25%, Uro-gen (I), (II) 各12.5%である⁴⁾。普通 Uro-gen は空気中では酸化されて porphyrin として存在する。1960 年 Cobyric acid からビタミン B₁₂ の合成が, K. Bernhauer らの西ドイツグループによって報告されている。

ビタミン B₁₂ のコリン核部分の生合成はその後多くの仮説が提出されたが, 実験的な証明には多くの時間を必要とした。1971 年, 1972 年酵素のあるいは化学的に合成した ¹⁴C-Uro-gen(III) の投与実験が propionibacterium shermanii 菌体を用いて行われた。

G. Müllers⁵⁾, B. Franks⁶⁾ の二つのドイツグループは実験結果として Uro-gen (III) はコリノイドの中間体ではないと結論している。一方 A. I. Scott^{7) 8)} らは ¹⁴C-Uro-gen (III), ¹³C-Uro-gen で実験を行って, Uro-gen (III) がビタミン B₁₂ の中間体であることを実験的に証明している。Scott らの実験は P. Shermanii を 7 日間 casein medium で嫌気的に培養し洗滌菌体と

し Co⁺⁺, methionine DMBI. Glucose を含む degas したリン酸バッファーに懸濁させ 8-¹⁴C-PBG より化学的に合成した ¹⁴C-Uro-gen (I ~ IV, III は 50%), または酵素的に合成した Uro-gen (I), Uro-gen (III + I, III は 50 ~ 70%) を pH を保ちつつ 40 ~ 70 時間 Feeding を行い表 1 の結果を得た。

表 1

実験	基 質	Fed mg	Fed 時間	Spec. (%) Incorp/Carbon
1	PBG	21	70	5.1
2	Uro'gen(I - IV)	25	70	0.91
3	Uro'gen(I)	7	40	0.000
4	Uro'gen(I)	25	70	0.017
5	Uro'gen(III + I)	0.1	70	0.0052
6	Uro'gen(III + I)	24	70	0.40
7	Uroporphyrin(I - IV)	34	60	0.000

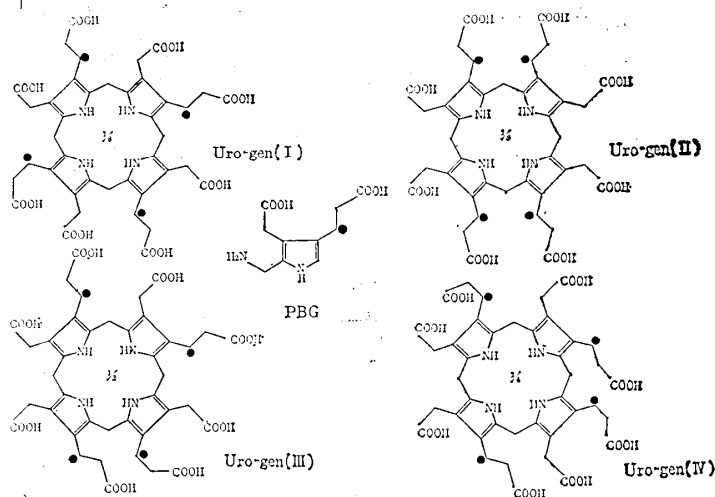


図 2

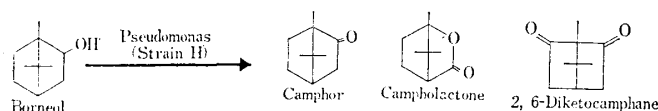
しかし Uro-gen (III) がビタミン B₁₂ の中間体であることを明らかにするにはそれが特異的に取り込まれたことを示さなければならない。ビタミン B₁₂ を完全に分解することが不可能であるため, このことは非常に難しいことである。そこで実際には Feeding より得られたビタミン B₁₂ を加水分解して得られたヌクレオチド部分および Kuhn-Roth 酸化より得られた酢酸に isotope が認められなかったことは特異的に取り込まれたことを支持するものであった。

有機合成に於ける微生物の利用 (5)

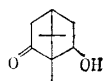
理学博士 黒 沢 雄 一 郎

(5) 竜腦 (Borneol) の変換^{6) 7)}

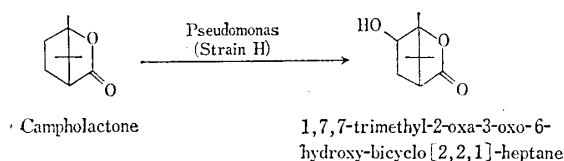
前回同様、竜腦を炭素源とする培地を用い、土壌から *Pseudomonas pseudomallei* に属すると思われる株 (Strain H と仮称) を分離し、これを竜腦0.5%含有の培地に接種し、pH 7.4, 温度 28°C で振盪培養した。培養物を遠沈して菌体を除き、中和後、エーテル抽出し、脱水後、濃縮し、シリカゲルカラムクロマトで分画し、Product A, B, D, F を単離した。水層は酸性にした後、エーテル抽出し、Product 2 とした。培養4日目の pH は 6.6 で、この時の主生成物は Product A で、6日目の pH は、5.8, この時の主生成物は Product D, 8日目の pH は 6.8 に上昇し、この時の主生成物は Product B であった。Product A は IR から樟腦に、Product D は campholactone に各々一致した。Product B は IR から 2,6-diketocamphane と推定した。この化合物は、Mass スペクトルから分子量 166, NMR よりジケトン化合物が推定され、一方、樟腦よりクロム酸酸化して得られた 2,6-diketocamphane と IR が一致し、混融降下も認められなかった。



次に、Product F については、IR より第2級水酸基、カルボニル基を有し、Mass スペクトルより分子量 168, NMR より

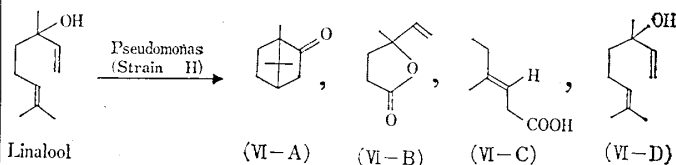


1,7,7-trimethyl-2-oxo-6-hydroxy-bicyclo [2, 2, 1]-heptane と推定した。また、campholactone について Strain H による変換を試みた結果、IR, NMR より下図と推定できる化合物を得た。

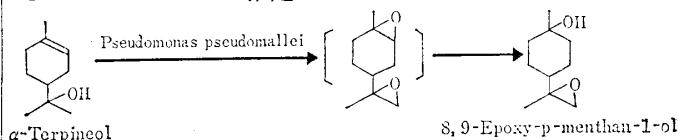
(6) リナロール (Linalool) の変換⁸⁾

リナロールを単一炭素源として、土壌より *Pseudomonas Pseudomallei* の近縁株と思われる細菌 (Strain A と仮称) を分離した。前回同様、リナロール0.8%含有の基礎培地に接種し、pH 7.2, 30°C で30~48時間培養

した。培養物を硫酸酸性とし、エーテルで抽出したものを、中和後再びエーテルで抽出し、抽出物をシリカゲルカラムクロマトで分画し、product VI-A を得た。この化合物は、樟腦と一致した。水層を酸性とした後、エーテル抽出し、抽出物をシリカゲルカラムクロマトにより Product VI-B, C, D, を単離した。VI-Bは、IRから γ -ラク톤の強い吸収(1770 cm^{-1})を示し、Mass スペクトルから、分子量126, 分子式 $\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{O}_2$, NMR は1置換オレフィンの典型的なパターンを示すことから、この化合物を 4-methyl-4-vinylbutyrolactone と推定した。この化合物を、更に 4-methyl-4-ethylbutyrolactone に誘導し、合成物との IR が一致したことから同定することができた。VI-Cは、IRからカルボン酸の吸収がみられ、元素分析、Mass スペクトルから分子量123, 分子式 $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_2$, NMR からオレフィンのシグナルがみられ、4-methyl-trans-3-hexenoic acid と推定した。VI-D は、IR から、水酸基、カルボン酸の吸収がみられ、分子量184, 分子式 $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_3$, NMR から同様に1置換オレフィンの特徴を示し、2, 6-dimethyl-6-hydroxy-trans-2, 7-octadienoic acid と推定した。

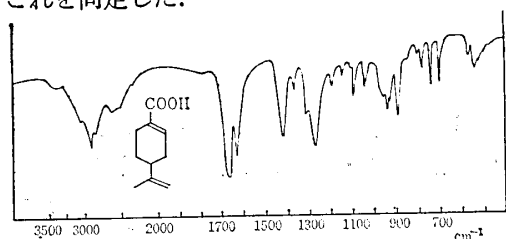
(7) α -テルピネオール (α -Terpineol) の変換⁹⁾

monocyclic monoterpene である α -テルピネオールの変換を試みた。培養終了後、菌体を除いた培養液を中和して、エーテルで抽出し、抽出液を脱水、濃縮後、シリカゲルカラムクロマトを行なった。単離された化合物は元素分析、Mass スペクトルから分子式 $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_2$ と推定、IR からエポキシ化合物であることを認め、(3015, 1225, 900, 840 cm^{-1})、また NMR より δ 2.45 ppm シグナルはエポキシメチレンを示し、変換物は 8,9-epoxy-p-menthan-1-ol と推定した。

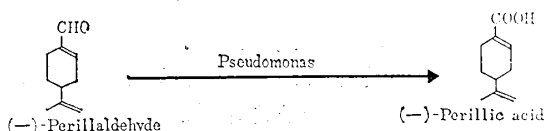
(8) ペリラルデヒド (Perillaldehyde) の変換¹⁰⁾

新たに土壌から分離した細菌 *pseudomonas* を用い、酸性部分のエーテル抽出物から、m. p. 125°C の化合物

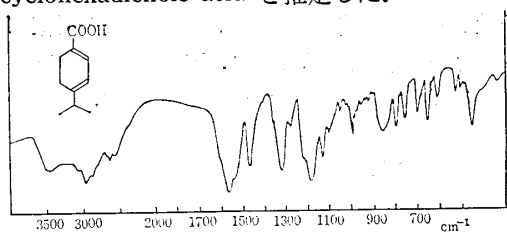
を単離した。収率32%, IR, NMRでカルボン酸の存在を認め、アルデヒドが酸化された Perillic acid と推定し、これを同定した。



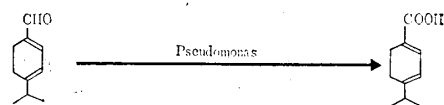
IR spectrum of perillic acid (KBr).



また、同菌株を用い、p-mentha-1, 3-dien-7-al の変換を試み、収率45%で m. p. 127°C の酸性物質を単離した。この化合物は、IR から不飽和カルボン酸 (1670, 2300~3500 cm^{-1}) を、また、1570 cm^{-1} の強い吸収はカルボン酸を伴った $\alpha\beta$, $\gamma\delta$ の共軌二重結合の存在を示し、更に NMR から δ 5.8 ppm 及び 7.05 ppm の doublet は、 β , γ 位のオレフィンプロトン、 δ 11.8 ppm はカルボン酸の存在を示すことなどから、4-isopropyl-1, 3-cyclohexadienoic acid と推定した。



IR spectrum of 4-isopropyl-1,3-cyclohexadienoic acid (KBr).



以上数種のテルペン化合物について、土壌から分離した *Pseudomonas* 属の細菌で変換反応を行なった結果、その主なものを化学反応別にまとめてみると、

- i) アルデヒド、アルコールの酸化
- ii) 水酸化
- iii) ラクトン化
- iv) エポキシ化
- v) 水素添加(二重結合の還元)
- vi) 環の開裂
- vii) 閉環

などで、ステロイド化合物の場合と同様な反応がみられた。今後種々の菌類を巧みに利用して、新しい化合物または、合成上困難と思われる部分にその本領を発揮して、合成化学、天然物化学に貢献できるよう期待している。

終わりに、本稿を発表する機会を与えられた稲垣清二郎先生に、感謝の意を表する。

文 献

- 6) 林, 柿本, 上田, 辰巳: 農化誌, **43**, 583 (1969).
- 7) 林, 柿本, 上田, 辰巳: 農化誌, **44**, 401 (1970).
- 8) 水谷, 林, 上田, 辰巳: 農化誌, **45**, 368 (1971).
- 9) Hayashi, Uedono, Tatsumi: Agr. Biol. Chem., **36**, 690(1972).
- 10) Kayahara, Hayashi, Jatsumi: J. Ferment. Technol., **51**, 254 (1973).

《編集後記》

1974年度第2号をお届けいたします。

本誌のためご多忙のところわざわざご執筆下さいましたのに紙面の関係で全部掲載することができず分割または次号にいたしましたことをお詫び申し上げます。(稲垣)

関 東 化 学 株 式 会 社

本 社

〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目7番地
電話 03 (279) 1751(大代表) TELEX 2223446 (CICAJ)

草 加 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

伊勢原工場

〒340 埼玉県草加市稲荷町2048番地 電話 草加 (24) 1331 (代表)

大阪支店

〒259-11 神奈川県伊勢原市鈴川21番地 電話 伊勢原 (94) 8531

札幌出張所

〒541 大阪市東区瓦町3丁目1番地 電話 大阪 (231) 1672 ~ 1674

仙台出張所

〒065 札幌市東区北九条東1丁目 電話 札幌 (731) 6181 (代表)

埼玉出張所

〒983 仙台市日の出町1丁目7番9号 電話 仙台 (94) 0175 ~ 0176

国分寺出張所

〒336 埼玉県北本市大字北中丸字上手2152 電話 鴻巣 (92) 2361 (代表)

京葉出張所

〒186 東京都国分寺市東元町3丁目4番19号 電話 国分寺 (24) 5331 (代表)

京浜出張所

〒280 千葉県市川市今井町2丁目14番15号 電話 千葉 (61) 1303・1304

湘南出張所

〒222 横浜市港北区新羽町2055番地 電話 横浜 (542) 0801 (代表)

九州出張所

〒254 平塚市大神2153番地 電話 平塚 (55) 2051 (代表)

静岡営業所

〒804 北九州市戸畑区天神2丁目2番14号 電話 北九州 (881) 3961・3962

中京営業所

〒420 静岡市中村町393番地 電話 静岡 (81) 2010

〒451 名古屋市中区志摩町1丁目32番 電話 名古屋 (565) 1752