



Title	イオン交換紙による第四アンモニウム塩基および関連化合物の迅速な分離検出〔イオン交換ペーパークロマトグラフィーの裁判化学への応用-3-〕
Author(s)	竹友, 一成
Citation	長崎大学教育学部自然科学研究報告. vol.22, p.53-63; 1971
Issue Date	1971-02-28
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10069/33056">http://hdl.handle.net/10069/33056</a>
Right	

This document is downloaded at: 2019-04-21T16:29:20Z

イオン交換紙による第四アンモニウム塩基および  
関連化合物の迅速な分離検出\*

竹 友 一 成\*\*

(昭和45年10月30日受理)

Rapid Separation and Identification of Quaternary  
Ammonium Bases and Related Compounds with  
Ion Exchange Paper\*

Kazushige TAKETOMO\*\*

(Received for Publication, October 30, 1970)

**Abstract**

In order to apply ion exchange paper chromatography to forensic chemistry, quaternary ammonium bases and related compounds, in the form of periodides, were examined whether they were chromatographically detected with the ion exchange paper. The ion exchange paper, amberlite SA-2 was used. A ethyl alcohol (or acetone) solution of the periodides was spotted at the starting point that was at a 4 cm distance from the bottom edge of the ion exchange paper strip. The strip was hung in a chamber at 30° C, the bottom edge of the strip was immersed in 1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaOH buffer solution (pH 13.30), and the ascending development was applied. During the run, stainish brown colour of the periodide was faded away. After the run was completed, the strip was dried and passed through a freshly prepared solution of 2% phosphomolybdic acid in 1 N hydrochloric acid. The presence of quaternary ammonium bases and related compounds was evidenced by the appearance of the yellow spot.

Under such a condition, R<sub>f</sub> values of quaternary ammonium bases and related compounds were as follows: 0.44 for choline chloride, 0.20 for neurine chloride, 0.18 for tetraethylammonium chloride, 0.00 for cetyltrimethylammonium bromide, 0.34 for caffeine, 0.11 (0.40) for antipyrine, 0.01 for ephedrine hydrochloride,

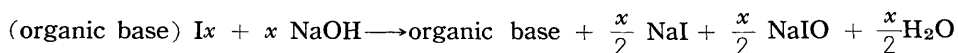
\* この報文をイオン交換ペーパークロマトグラフィーの裁判化学への応用 (第3報) とする。

\*\* 長崎大学教育学部化学教室 (長崎市文教町)

Chemical Laboratory, Faculty of Education, Nagasaki Univ. (Bunkyo, Nagasaki)

and 0.74 for creatinine. It was impossible to detect betaine and atropine sulfate by the above method.

It is presumed that the fading of the stainish brown periodide, during the run, may be mainly due to the following mechanism:



Besides, this method was applied to the detection of choline in human urine, human semen, human internal organs, and rabbit internal organs.

## 緒 言

先に、著者はイオン交換紙の優れた特長を生かして、イオン交換ペーパークロマトグラフィーの裁判化学への応用を意図し、カゼ葉成分<sup>1)</sup>、バルビツレートおよびアルカロイド<sup>2)</sup>の分離検出の基礎的実験を試みた。他方、著者は、ヒト精液予備反応としての Florence 法の研究を行ってきたが、その一連の研究のなかの一報文<sup>3)</sup>でコリン過ヨウ化物およびノイリン過ヨウ化物について、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaOH}$  系緩衝液を展開液としてイオン交換ペーパークロマトグラフィーを試みれば、コリンおよびノイリンが遊離再生され、かつその分離検出および定量が可能であることを報告した。この方法の場合、試料として過ヨウ化物を用いること、およびコリンやノイリンの遊離再生のための特別の操作を必要としないことを強調し、この方法は、水に難溶性の過ヨウ化物を生成し得る他の有機化合物への適用も充分可能であろうことを予言した。

そこで、今回は、水に難溶性の過ヨウ化物を生成する第四アンモニウム塩基およびその関連化合物（以下、有機塩基）のうち、特に裁判化学的に関連が深いと考えられるような若干数の化合物について、上記の方法（以下、本法）の適用を試みるとともに、応用例として、ヒト尿、腐敗ヒト精液、腐敗ヒト臓器組織および腐敗家と（兎）臓器組織からのコリンの分離検出を試み、かつ有機塩基の過ヨウ化物から有機塩基が遊離再生する反応機構について簡単な実験および考察を加えたのでこれらの成績と結果について報告する。

## 実験材料および方法

**供試化合物：**第四アンモニウム塩基類として、塩化コリン（半井化学，GR），塩化ノイリン（自家合成<sup>4)</sup>），塩化テトラエチルアンモニウム（半井化学，GR），臭化セチルトリメチルアンモニウム（石津製薬，ウズラ），およびベタイン（東京化成，GR）を用いた外，硫酸アトロピン（半井化学，GR），カフェイン（関東化学，Cica），アンチピリン（岩城製薬，局方），塩酸エフェドリン（岩城製薬，局方），およびクレアチニン（関東化学，EP）を供試した。

**試料：**イオン交換ペーパークロマトグラフィー用試料として，上記各化合物の過ヨウ化物エチルアルコール溶液を用いたが，過ヨウ化物がエチルアルコールに難溶な場合にはアセトンに溶解して用いることも行なった。過ヨウ化物の調製は，ヨウ素試薬として Florence 試薬のろ過液を用いて第 1 図記載の術式により行なった。

**イオン交換紙：**イオン交換紙として，日本オルガノ商会販売のアンバーライト SA-2 (Na型) を未処理のまま使用した。

**展開用緩衝液：**展開液として，1M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaOH}$  緩衝液 (pH 13.30) を使用した。

**器具：**緩衝液 pH 測定のためには，ヒタチ・ホリバ pH メーター (Model M-3) を，また

試料溶液のイオン交換紙への付着には、柴田化学器機超微量ピペット(0.005ml)を用いた。

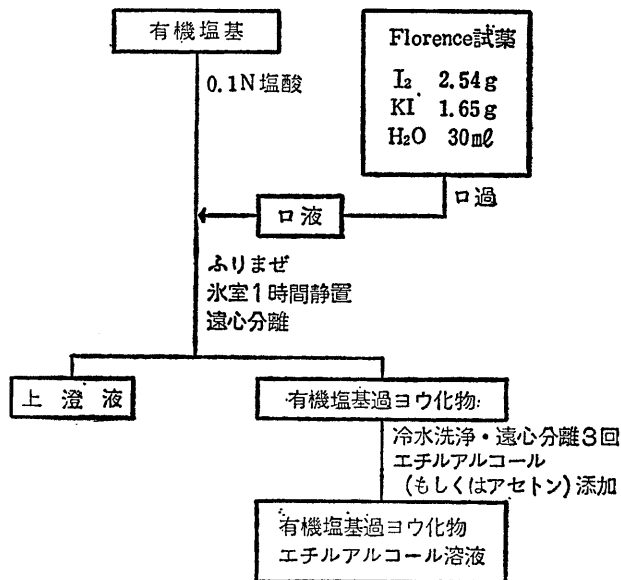
**イオン交換紙への試料の付着：**まず、イオン交換紙下端 4.0cm 部に鉛筆で薄く線を引いておき、この部を原点として、試料の過ヨウ化物溶液を超微量ピペット(0.005ml)にて直径0.9cmになるように付着せしめた\*。原点における過ヨウ化物の量は、目的とする化合物により異なるが、通常、塩化コリン過ヨウ化物で1.5mg、塩化ノイリン過ヨウ化物、塩化テトラエチルアンモニウム過ヨウ化物およびアンチピリン過ヨウ化物で、それぞれ0.7mg、カフェイン過ヨウ化物で0.5mgである。

**展開：**1M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaOH}$  (pH13.30) を展開液として、イオン交換紙の下端0.5cmが展開液中に浸るようにし、ペーパークロマトグラフィの上昇法に準じて、展開を行なっけ。しかし、展開槽中での気相とイオン交換紙を平衡状態に保つ必要は、イオン交換紙の特性としてあり得ないので、このための操作は行なわなかった。

展開は、通常30°Cで行なっけが、夏の期間は室温下で行ない、展開時間は通常1時間30分以内で展開長さは17cm(下端より21cm)である。

**発色および定量：**展開終了後、イオン交換紙を温風にて乾燥(あるいは室温下に風乾)し、2%リンモリブデン酸の1N塩酸溶液中を通過せしめることにより、有機塩基の発色を行なっけ。ついで、流水中2分間水洗後、イオン交換紙を吸収口紙上に置き水分を除去した。直ちに、スポットの輪郭を描き、同時にRf値を測定した。

定量は有機塩基の過ヨウ化物量として行なっけ。即ち、印画紙(三菱印画紙・月光R-2)をスポットの大きさに切り取り、その重量(mg)を測定し、過ヨウ化物重量(mg)との関係を求めた。



第1図 過ヨウ化物の調製

### 実験成績および説明

**発現スポットおよび Rf 値：**過ヨウ化物試料を展開し、風乾したイオン交換紙を2%リンモリブデン酸の1N塩酸溶液中を通過せしめることにより発現した供試化合物は、塩化コリン、塩化ノイリンの外、塩化テトラエチルアンモニウム、臭化セチルトリメチルアンモニウム、カフェイン、アンチピリン、塩酸エフェドリン、およびクレアチニンであった。これら化合物に

\* 試料が過ヨウ化物エチルアルコールで、かつ過ヨウ化物がエチルアルコールに難溶性である場合には0.005ml あて数回重ねて直径0.9cmになるように付着せしめた。

よる発現スポットは類黄色で、テイリング現象およびスポット拡大等、スポットの乱れは一部のものを除き、殆んど認められなかった。その Rf 値を示せば第1表のようであった。

第1表より明らかなように、ベタインおよび硫酸アトロピンの過ヨウ化物を試料とする場合には、該当するスポットの発現を認めることができなかった。

そこで、過ヨウ化物でなく、ベタインおよび硫酸アトロピン水溶液そのものを試料とし、1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaOH 緩衝液 (pH 13.30) を展開液として、イオン交換ペーパークロマトグラフィーおよび参考データーを得るためのペーパークロマトグラフィーを試みたところ、第2表に示される結果を得た。

即ち、ベタインおよび硫酸アトロピンの過ヨウ化物を試料とするイオン交換ペーパークロマトグラフィーでは、両化合物において、その発色検出が極めて困難であることが認められた。この検出困難性の原因は、第2表より明らかなように、イオン交換紙アンバーライト SA-2 にあるものと考えられる。

第1表 有機塩基の Rf 値

有機塩基*1)	Rf 値
塩 化 コ リ ン	0.44
塩 化 ノ イ リ ン	0.20
塩化テトラエチルアンモニウム	0.18
臭化セチルトリメチルアンモニウム	0.00
ベ タ イ ン	-
硫 酸 ア ト ロ ピ ン	-
カ フ ェ イ ン	0.34
ア ン チ ピ リ ン*2)	0.11 (0.40)?
塩 酸 エ フ ェ ド リ ン	0.01
ク レ ア チ ニ ン	0.74

展開液：1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaOH 緩衝液 (pH13.30)

\*1) 試料は有機塩基の過ヨウ化物

\*2) テイリングの傾向あり

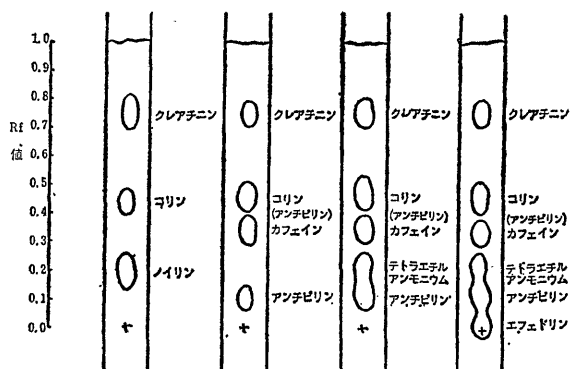
第2表 ベタインおよび硫酸アトロピンのクロマトグラフィー

有機塩基 (mg)	ベ タ イ ン*				硫酸アトロピン			
	0.5		1.0		0.5		1.0	
クロマトグラフィー	イオン 交 換	ペーパー	イオン 交 換	ペーパー	イオン 交 換	ペーパー	イオン 交 換	ペーパー
Rf 値	—	0.90	0.95(?)	0.90	—	0.79	0.09	0.79

\* ベタイン 2.5mg 付着の場合には、イオン交換ペーパークロマトグラフィーでも明らかにベタインに起因する黄色スポット (Rf 値0.95) を得た。しかしこのスポットは流水洗浄により容易に消失した。

過ヨウ化物混合溶液のクロマトグラム：  
若干数の過ヨウ化物を混合せしめた溶液について、上記イオン交換ペーパークロマトグラフィーを試みるに、これら混合過ヨウ化物の分離識別は、Rf 値差が比較的大きい化合物ではもとより、Rf 値差の比較的小さい化合物間でも、一応満足すべき成績を得た。その代表的数例のクロマトグラムを示せば第2図のようである。

定量：スポットの大きさに切り取った印画紙の重量 (スポット重量) と過ヨウ化物

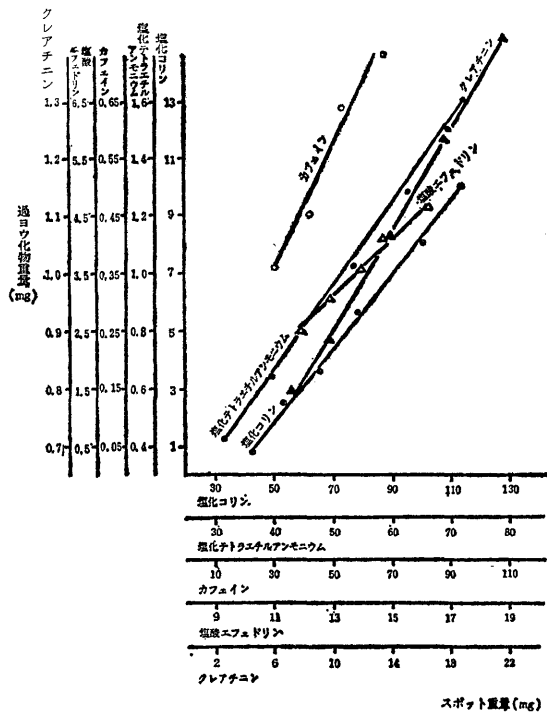


第2図 混合有機塩基過ヨウ化物試料のクロマトグラム

重量との関係は、第3図に示されるように、塩化コリン過ヨウ化物0.82~9.95mg、塩化テトラエチルアンモニウム過ヨウ化物0.43~1.60mg、カフェイン過ヨウ化物0.36~0.69mg、塩酸エフェドリン過ヨウ化物2.51~4.52mg、およびクレアチニン過ヨウ化物0.79~1.41mgの範囲内で略直線関係が認められた。したがって、この検量線より、これら化合物の定量は略可能であろうと推定された。

**有機塩基の遊離再生の反応機構**：前報<sup>3)</sup>において、コリンおよびノイリンの過ヨウ化物を  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaOH}$  緩衝液で展開すれば、これら過ヨウ化物の色調が展開操作中に退色し、かつ、もとのコリンおよびノイリンが遊離再生されることを報告したが、この反応機構を知る目的で、次の簡単な実験を試みた。まず、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaOH}$  緩衝液の成分化合物、リン酸水素二ナトリウムと水酸化ナトリウムのいずれがこの退色に関与しているかを検討するために、0.2Mリン酸水素二ナトリウム水溶液および0.8M水酸化ナトリウム水溶液を、それぞれ展開液とするコリン過ヨウ化物のイオン交換ペーパークロマトグラフィーを行なった。その成績を示せば第3表のようであった。

即ち、コリン過ヨウ化物は、0.2Mリン酸水素二ナトリウム水溶液による展開で、過ヨウ化物量の少ない場合に僅かにその色調の退色が認められたが、過ヨウ化物量が増大するにしたがって、その退色の程度は



第3図 有機塩基の過ヨウ化物検量線

第3表 コリン過ヨウ化物のイオン交換ペーパークロマトグラフィー

コリン過ヨウ化物 展開液 (mg)	1.0	2.0	3.0
0.2M リン酸水素二ナトリウム水溶液	① 過ヨウ化物僅かに退色しテイリング ② 黄色スポット(-) ③ Rf 値 -	① 過ヨウ化物僅かに退色しテイリング ② 黄色スポット(+) ③ Rf 値 0.17	① 過ヨウ化物殆んど退色せずテイリング ② 黄色スポット(+) ③ Rf 値 0.17
0.8M 水酸化ナトリウム水溶液	① 過ヨウ化物すみやかに退色 ② 黄色スポット(卍) ③ Rf 値 0.55	① 過ヨウ化物すみやかに退色 ② 黄色スポット(卍) ③ Rf 値 0.55	① 過ヨウ化物すみやかに退色 ② 黄色スポット(卍) ③ Rf 値 0.55

(-)：スポット発現せず (＋)：スポット僅かに発現 (卍)：スポット顕著に発現

減弱し、かつ過ヨウ化物の僅かなテイリング現象が観察された。そして、極く僅かに、コリンに起因する黄色スポットの発現が認められた。一方、0.8M水酸化ナトリウム水溶液による展開では、過ヨウ化物の量の多寡によらず、過ヨウ化物の退色はすみやか、かつ完全であった。

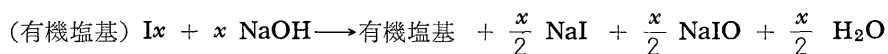
そしてコリンに起因する黄色スポットの発現も1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaOH 緩衝液 (pH 13.30) による展開の場合と変るところは殆んど認められなかった。

これらの実験成績から、コリン過ヨウ化物の退色、即ちコリンの遊離再生の主な原因は水酸化ナトリウムにあるものと推定した。

なお、東洋口紙 No.51をイオン交換紙に代えて用い、上記と同様の実験を試みたところ、過ヨウ化物の退色のみについては大略同様の結果が得られた。ただし、0.2M リン酸水素二ナトリウム水溶液による展開の場合、イオン交換紙の使用に比し、過ヨウ化物のテイリングが極めて顕著であった。

以上の実験成績からして、アンバーライト SA-2は過ヨウ化物の退色、即ちコリンの遊離再生に大きな直接的関与をなしていないものと推定した。

これらのことを総合勘案して、有機塩基過ヨウ化物の退色にともなう有機塩基の遊離再生は、主として次の反応機構によるものであらうと推定した。



したがって、展開後の発色は、こうして遊離した有機塩基をリンモリブデン酸で“phosphomolybdate”としてキャッチすることにほかならないことになる。

**沈殿試薬**：Florence 試薬に代え、Reinecke 試薬を有機塩基の沈殿試薬として用いた場合の有機塩基の遊離再生の有無を検討したところ(“Reineckate”の溶媒としてはアセトンもしくはジメチルスルホキシドを使用)、塩化コリンおよび塩化テトラエチルアンモニウムの“Reineckate”に関する限り、充分満足すべき結果は得られないようであった。即ち、塩化コリンでは、コリンの遊離再生は認められるが、過ヨウ化物を試料とする場合より多量の試料を必要とするようであり、かつ発現するスポットは不鮮明のようであった。塩化テトラエチルアンモニウムでは、塩基の再生が不完全であり、かつ中等度のテイリング現象が認められた。

#### 動物臓器組織等への適用

ヒトの1日間排泄尿中には2~5.5mgのコリン<sup>5)</sup>が、またヒト精液には比較的多量のコリン<sup>6)</sup>が存在すると云われる。他方、類コリン物質としてのノイリンは臓器組織が例えば腐敗のような特殊条件下におかれた場合に生成すると云われている<sup>7)</sup>。

そこで、ヒト尿、腐敗ヒト精液および腐敗臓器への本法の適用を試み、本法によるコリンおよびノイリン検出の可能性の有無を検討した。

**ヒト尿**：健康なる成人新鮮尿を口過し、この口過尿を用いて次のような実験を試みた。ま

第4表 尿中コリンの検出

添加塩化コリン濃度 %(w/v)	過ヨウ化物付着量 (mg)	Rf 値*
0	2.20	-
0.0011	2.20	-
0.0106	2.20	-
0.1064	2.20	0.44
1.0636	2.20	0.44

\* 展開液：1MNa<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaOH 緩衝液 (pH 13.30)

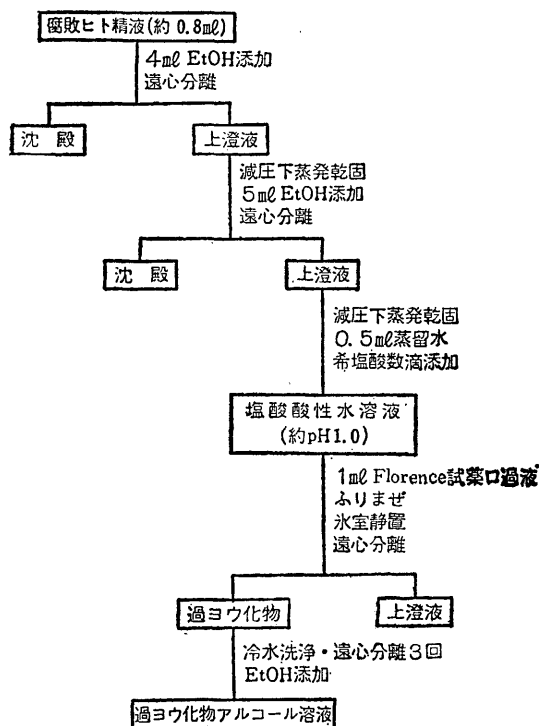
ず、口過尿20mlを試料とし、これに直接過剰のヨウ素試薬を加え、生成沈殿した過ヨウ化物を第1図記載の術式にしたがって処理し、得られた過ヨウ化物アセトン溶液について、イオン交換ペーパークロマトグラフィー(過ヨウ化物付着量2.2mg)を行なった。他方、口過尿に塩化コリンを加え、この塩化コリン口過尿液20mlを試料とし、これに直接過剰のヨウ素試薬を加

え、過ヨウ化物を生成沈殿せしめた。これを上記口過尿の場合と同様に処理し、コリンの検出を試みた。これらの成績を第4表に示す。

第4表より明らかなように、口過尿からはコリンに起因するスポットは得られず、0.1064%以上の添加塩化コリン濃度を有する口過尿のみから、コリンの検出を行なうことが可能であった。この成績からして、尿中に微量に含まれるコリンを検出するためには、尿の前処理、例えば脱タンパク等の操作が必要で、ある程度の不純物の除去、特に過ヨウ化物を生成沈殿する物質を除去する必要性があるものと思料された。

**ヒト精液：**健康なる3供試者に用手法により採取せしめ、それぞれの精液をスピッツグラスに4等分して(約0.8ml) 30°C水蒸気飽和下に腐敗せしめ、3, 7, 15および30経過日に、その1を採り実験に供した。

この腐敗ヒト精液の1滴をスライドグラス上に取り、いわゆる Florence 反応を試み、同反応陽性を示すものについて、第4図に示される術式により過ヨウ化物エチルアルコール溶液を作製した。これを試料としてイオン交換ペーパークロマトグラフィーを試みた結果を第5表に示す。



第4図 腐敗ヒト精液からの過ヨウ化物の分離

第5表より明らかなように、2例のヒト精液において腐敗7日まで、1例のヒト精液において腐敗15日まで、それぞれコリンを検出し得た。しかしノイリンに起因すると推定されるスポットは認められなかった。したがって、このような条件下のヒト精液の腐敗においては、少なくとも検知可能な量のノイリンは生成しないものと思料された。

**ヒト臓器組織：**45年女性性(屍)、栄養中等、死因不明、剖検開始時死後経過時間約18時間(夏季、推定)の肝臓(右葉部約50g)、心臓(左心室部約50g)じん臓(左じん縦割半片約50g)を採り、これに、それぞれ海砂を各臓器重量の約1/4量を加え、乳ばち内で粉碎泥状とした。これら各臓器泥を約20gあて2分し(残余量は他種の実験に供試)、それぞれをシャーレに納め、厚さ約0.4cm、径約7.5cmの円盤状に塗布し、これらを30°C水蒸気飽和下に腐敗せしめ、3および7経過日にそれぞれの腐敗臓器の1を採り実験に供した。

第5表 腐敗ヒト精液から得られた過ヨウ化物のイオン交換ペーパークロマトグラフィー

ヒト精液	腐敗 3 日		腐敗 7 日		腐敗 15 日		腐敗 30 日	
	Rf 値	Florence 反応	Rf 値	Florence 反応	Rf 値	Florence 反応	Rf 値	Florence 反応
No. 1	0.44	卅	0.44	+	-	(+)	-	(+)
No. 2	0.44	卅	0.44	+	-	(+)	-	(+)
No. 3	0.44	卅	0.44	卅	0.44	卅	-	±

対照：コリン過ヨウ化物試料の Rf 値 0.44

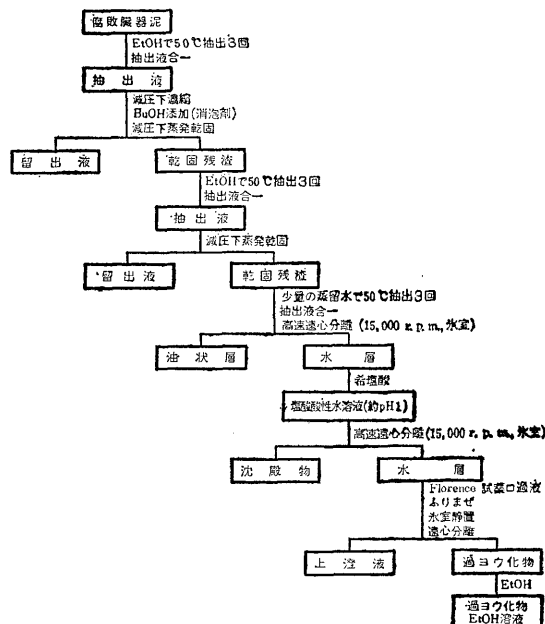
Florence 反応：卅強陽性，卅中等度の陽性，+弱陽性，±微に陽性，(+)非典型的 Florence 反応弱陽性



この腐敗臓器泥を第5図に示される術式により処理して過ヨウ化物エチルアルコール溶液を作製した。これを試料としてイオン交換ペーパークロマトグラフィーを試みた結果を第6表に示す。

第6表にみられるように、Rf 値は対照としてのコリン過ヨウ化物試料の Rf 値0.43よりやや小さく、かつスポットにテイリングの傾向が認められた。しかし、発色処理を行わないイオン交換紙ストリップにおいて相当する Rf 値 部位から、Florence 試薬によりコリン過ヨウ化物結晶と形状、色調その他の点で極めて類似する結晶が形成されることから、同スポットがコリンに起因するものであろうと推定した。上述の Rf 値の不一致は、試料とした過ヨウ化物中に恐らくやテイリング現象を誘起せしめるような物質が比較的少量に存在するものと考えられ、この点、腐敗臓器からの有機塩基の抽出方法に今一つの配慮が必要かと思料された。なお、ノイリンに相当するスポットは、これを確認し得なかった。

**家と(兎)臓器組織：**雄性成熟家と(体重2,700g, 空気せんそく死)の肝臓(60g), 心臓(5.5g), じん臓(17.6g), こう丸(2.2g)をヒト臓器の場合と同様に処理して臓器泥とした。この臓器泥全量(ただし肝臓は20g)を採り、シャーレに厚さ約0.4cmになるよう円盤状に塗布後、30°C 水蒸気飽和下に腐敗せしめた。腐敗臓器泥からの過ヨウ化物の作製分離はヒト臓器組織の場合と同様の術式(第5図)により行なった。そしてそのエチルアルコール溶液を試料としてイオン交換ペーパークロマトグラフィーを試みた。その結果を第6表に示す。第6表から明らかのように、その成績はヒト臓器組織のそれと大略同一であった。



第5図 腐敗ヒト臓器泥から過ヨウ化物の分離

第6表 腐敗臓器組織から得られた過ヨウ化物のイオン交換ペーパークロマトグラフィー

試 料	Rf 値*		
	腐 敗 3 日	腐 敗 7 日	
ヒト臓器組織	肝 臓	0.38 (0.22?)	0.37?
	心 臓	0.38	
	じん臓	0.40 (0.21?)	
	こう丸	0.43 (0.50?)	
家と臓器組織	肝 臓	0.41	0.39
	心 臓	0.39	0.39
	じん臓	0.39	0.40

対照：コリン過ヨウ化物試料の Rf 値0.43

\* 各スポットにテイリングが認められる

## 考 察

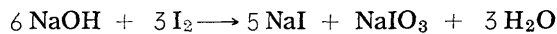
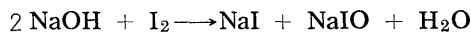
**イオン交換ペーパークロマトグラフィー用試料：**一般に、クロマトグラフィー用試料としては目的とする化合物を用いることが多く、その誘導體を使用し、展開液により、もとの化合物

を遊離再生せしめ、これを発色検出することは殆んどない。誘導体を使用したこのような珍しい例としては、Bregoff *et al.*<sup>8)</sup> が、第四アンモニウム塩基およびその関連化合物のペーパークロマトグラフィーで、それらの化合物の“Reineckate”をペーパークロマトグラフィー用試料として用いている。彼らの場合でも、コリンに関しては、その“Reineckate”からコリンを遊離再生せしめるためには、展開に先だち0.1M 硝酸銀液で処理しなければならない。またBregoff *et al.* も結論づけているように、展開操作中に、誘導体からもとの化合物が遊離再生されることは、クロマトグラフィーのためには極めて望ましいことである。しかるに、本法においては、コリン、ノイリン、テトラエチルアンモニウム、セチルトリメチルアンモニウム、カフェイン、アンチピリン、エフェドリン、およびクレアチニンの各過ヨウ化物は、展開操作中、容易にもとの塩基を遊離再生した(第1表)。この点は、Bregoff *et al.* がコリンの“Reineckate”からのコリンの遊離再生が彼らの方法によっては不可能であるということから、特に注目に値するであろう。

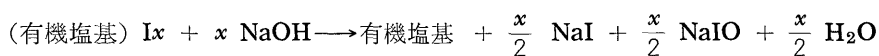
一方、試みとして、コリン過ヨウ化物に代えてコリンの“Reineckate”を調製し、これを試料として本法を試みたところ、過ヨウ化物の場合ほど顕著ではないようであったが、展開操作中“Reineckate”からコリンの遊離再生が認められた(実験成績および説明の部、沈殿試薬)。このことは、展開液に多少の改良を加えれば、“Reineckate”からのコリンの遊離再生が、より完全に行なわれ、かつスポットの発現も顕著になることを示唆するものであろう。

有機塩基をクロマトグラフィー用試料とせず、その過ヨウ化物を試料とすれば、生物体から有機塩基を分離する場合、水に難溶性の過ヨウ化物として沈殿分離せしめ得るので、迅速、かつより純粋に分離可能である。例えば、約0.1%のコリンを含むヒト尿では、尿に直接ヨウ素試薬を添加し、コリンを過ヨウ化物として沈殿分離せしめ、得られた過ヨウ化物についてイオン交換ペーパークロマトグラフィーを試み、コリンを容易に分離検出することができた(動物臓器組織等への適用の部、ヒト尿)。即ち、迅速性という点で非常に大きな特長を有する。この迅速性、ならびに尿を実験材料としてこのような成績を得たことは、臨床化学上あるいは裁判化学上、特に利用価値がある如くである。なお、本実験においては、特に迅速性を大きな狙いの一つとして、可及的に操作の簡略化を意図した。例えば、イオン交換紙の無処理、あるいは展開後の温風乾燥等がそれである。

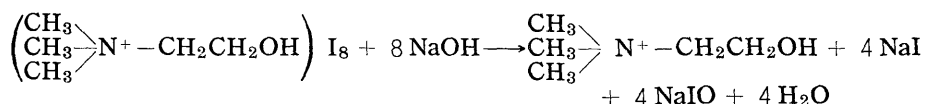
**有機塩基の遊離再生の機構：**ヨウ素と水酸化ナトリウムとの反応には、次の2反応が知られている<sup>9)</sup>。



前者の反応は、50°C においては瞬時に起り、生じた次亜ヨウ素酸塩は次に分解してヨウ素酸塩を生ずる<sup>10)</sup>。他方、本実験において、有機塩基の遊離再生には主として展開液中の水酸化ナトリウムが原因しており、かつイオン交換樹脂は大きな直接的原因となっていないという実験成績(実験成績および説明の部、有機塩基の遊離再生の反応機構)が得られている(間接的原因は考えられる)。これからして、有機塩基の遊離再生の反応機構は、上記のヨウ素と水酸化ナトリウムとの反応を充分考慮すれば、主として次の反応で示されるものと考えられる。



これを、例えば有機塩基をコリンとしてあらわせば、



となるであろう。

**ベタイン、硫酸アトロピンおよびアンチピリン**：本法によるベタインおよびアトロピンの検出は困難であるが、過ヨウ化物溶液でなくベタインおよび硫酸アトロピン水溶液を試料とする場合には、それぞれ Rf 値0.95および0.09が得られた（第2表）。前者の Rf 値0.95部位は、有機塩基の過ヨウ化物を試料とする本法で、リンモリブデン酸による発色処理に際して生ずるヨウ素(?)と考えられる類黒かっ色物質があらわれるところである。したがって、ベタインの過ヨウ化物を試料とすれば、仮令、ベタインの遊離再生があり、かつ Rf 値0.95にベタインに起因する黄色スポットが発現したとしても、それを認めることは困難であろう。また、ベタインに起因するこの黄色スポットは、水洗により容易に消失する<sup>11)</sup>ので、発色後の水洗処理により、この黒かっ色物質を除去しても、ベタインの存在を認めることは同じく不可能であろう。なお、アトロピンについては、更に各方面からの検討が必要であろう。

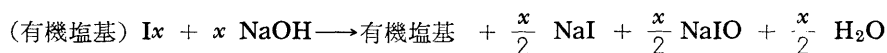
アンチピリンの Rf 値として、0.11, 0.40の2種のスポットを得たが、これについては試料アンチピリンの純度その他多くの点で再検討を必要とするものである。その結果については、他の機会に報告の予定である。

## 要 約

イオン交換ペーパークロマトグラフィーの裁判化学への応用を意図し、有機塩基の過ヨウ化物を試料とするイオン交換ペーパークロマトグラフィー（新法）を試み、次の成績を得た。

(1) イオン交換紙としてアンバーライト SA-2を、展開液として1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaOH 緩衝液(pH13.30)を用いて、有機塩基の過ヨウ化物からもとの塩基を遊離再生せしめるための特別の操作を行なうことなく、有機塩基の分離、検出および定量を迅速かつ簡単に行なうことができた。

(2) 展開操作中における有機塩基の過ヨウ化物からの塩基の遊離再生は、主として、次の反応によるものであろう。



(3) Rf 値として、塩化コリン0.44, 塩化ノイリン0.20, 塩化テトラエチルアンモニウム0.18, 臭化セチルトリメチルアンモニウム0.00, カフェイン0.34, アンチピリン0.11(0.40), 塩酸エフェドリン0.01, およびクレアチニン0.74の値が得られた。また、各種有機塩基過ヨウ化物の混合溶液についても、上記 Rf 値と大略一致する値を得た。

(4) ベタインおよび硫酸アトロピンの本法による検出は困難であった。

(5) 本法を塩化コリン含有ヒト尿、腐敗ヒト精液、腐敗ヒト臓器組織（肝、心、じん）および腐敗家と臓器組織（肝、心、じん、こう丸）に適用して、それぞれコリンを迅速かつ簡単に検出することができた。

本研究実験の一部は、岩本文年氏のご協力を得た。稿を終るにのぞみ深謝の意を表します。

本論文の要旨は日本化学会中国四国支部20周年記念大会・中国四国支部九州支部合同大会（1970）において口頭発表した。なお、同要旨集D10における腐敗条件37°Cは30°Cのあやまりにつきこの紙面をかりて訂正します。

## 文 献

- 1) 竹友一成, 遠藤裕子, カゼ薬成分のイオン交換ペーパークロマトグラフィー (その1), 高松工業高等専門学校研究紀要, 第1号, 47~49 (1965).
- 2) 竹友一成, バルビツレート及びアルカロイドの分離検出に関する知見補遺, 長崎大学教育学部自然科学研究報告, 第19号, 63~72 (1968).
- 3) 竹友一成, Florence 氏結晶形成の機序に関する研究 Ⅲ-2. 第四アンモニウム塩基——塩化コリン及び塩化ノイリンのイオン交換ペーパークロマトグラフィー, 山口医学, 14 [3・4], 16~18 (1965).
- 4) K. Taketomo, On the Mechanism of Florence's Crystal Formation. I. Preparation of Neurine Chloride, *Bull. Yamaguchi Med. School*, 6 [3], 59~65 (1959).
- 5) M. Guggenheim, *Biogene Amine*, 4 Aufl., Basel, New York (1951); c. f. K. Hinsberg and K. Lank, *Medizinische Chemie*, 3 Aufl. s. 634, Urban and Schwarzenberg, München (1957).
- 6) F. Lundquist, Studies on the Biochemistry of Human Semen, *Acta Physiologica Scandinavica*, 13, 322 (1947).
- 7) 下田亮一, 腐敗アミンに関する研究, 科警研報告, 12, 448~461 (1959).
- 8) H. M. Bregoff, E. Roberts, and C. C. Delwiche, Paper Chromatography of Quaternary Ammonium Bases and Related Compounds, *J. Biol. Chem.*, 205, 565~574 (1953).
- 9) J. W. Mellor, *Comprehensive Treatise on Inorganic and Theoretical Chemistry*, 2, 93, Longmans, Green and Co Ltd, London (1960).
- 10) J. W. Mellor, *Comprehensive Treatise on Inorganic and Theoretical Chemistry*, Supplement 1, 2, 85, Longmans, Green and Co Ltd, London (1962).
- 11) K. Taketomo, Paper Chromatographic Determination of Nitrogen Compounds Giving Similar Florence's Crystal with Florence's Reagent, *Takamatsu Kōgyō Kōtōsenmongakkō Kenkyū Kiyō*, No. 1, 35~46 (1965).