Table I Determination of chlorine

Sample	Found (%)	Error (%)
DDT 50.00%	49.75	-0.50
	49.52	-0.96
	49.37	-1.26
	49.75	-0.50
	Av. 49.71	
Polyvinyl chloride 56.73%	56.70	-0.05
	56.81	+0.14
	56.97	+0.42
	56.66	-0.12
	Av. 56.79	
BHC 73.14%	72.62	-0.71
	72.55	-0.81
	72.37	-1.05
	72.95	-0.26
	Av. 72.62	

Table II Determination of chlorine

Sample	Found (%)	Error (%)
Monochloro benzene 31.50%	31.17	-0.33
	31.32	-0.18
	31.34	-0.16
	31.22	-0.28
	Av. 31.26	
<i>p</i> -Chloroaniline 27.79%	27.64	-0.54
	27.57	-0.79
	27.65	-0.51
	27.72	-0.26
	Av. 27.65	

みると、フラスコ法では高分子化合物でも容易に分解することができるが、試料が液状のときはカプセルに入れるなどの考慮が払われねばならない。また、液安法は高分子化合物の分解には適しないが、試料が液状であっても操作は変わりなく、多数の試料を同時に分解する場合に特に有利であるといえよう。

分析に要する時間は滴定を含めて、フラスコ燃焼法で

は約 30~40 分、液体アンモニア-金属ナトリウム法では約 20 分であった。この所要時間は分解の操作法を検討することによって、さらに短縮することができると考えられる。

この研究を行なうにあたって、適切な御指導を賜った横浜国立大学工学部河村文一教授ならびに本学荒木峻教授に深く感謝致します。

(1960 年 6 月、分析化学討論会にて一部講演)

文 献

- 1) W. Schöniger: *Mikrochim. Acta*, **1955**, 123.
- 2) 荒木 峻, 鈴木繁喬, 小林英吾: 日本分析化学会第 9 年会講演 (1960 年 11 月).
- 3) *Chem. Eng. News*, **37**, No.14, 34 (1959).
- 4) 鈴木繁喬: 本誌, **11**, 228 (1962).

☆

Determination of chlorine in organic compounds with coulometric titration. (Coulometric titration with externally generated silver ion. II.) Shigetaka SUZUKI (Faculty of Technology, The Tokyo Metropolitan University)

Coulometric titration with externally generated silver ion was successfully applied to the determination of chlorine in organic compounds.

Organic compounds were decomposed either with combustion in oxygen-filled Schöniger's flask or with liquid ammonia and metallic sodium. After the decomposition, chloride ion was titrated coulometrically with externally generated silver ion using the same procedure as reported previously by the author {S. Suzuki: this journal, **11**, 228 (1962)}.

The determination of chlorine was carried out with good results as shown in Table I or II after the decomposition either with Schöniger's method or with liquid ammonia and sodium, respectively.

(Received Oct. 10, 1961)

イオン交換クロマトグラフィーによるベルベリンとアトロピン、スコポラミンとの分離*

渡 辺 兵 蔵**

弱酸性陽イオン交換樹脂 (Duolite CS-101, 100~200 メッシュ) の NH_4^+ 形のカラムを用い、試料に塩酸ベルベリン、硫酸アトロピンおよび臭化水素酸スコポラミンを用いて、水を溶離剤としてスコポラミンを、塩化アンモニウム (0.2N) でアトロピンを、炭酸ナトリウム (1N) でベルベリンを溶離し、三者を分離することができた。ただし、アトロピンとスコポラミンの回収率はやや不良であった。

* 医薬品分析におけるイオン交換樹脂の応用(第7報)

** 山形県立山形工業高等学校: 山形市緑町

1 緒 言

前報¹⁾においてイオン交換クロマトグラフィーによるベルベリンとストリキニンの分離について述べたが、今回は同様な方法によりベルベリンとアトロピン、スコポラミンの分離について報告する。

アトロピンとスコポラミンとの分離については、Freeman²⁾は酸化繊維素をイオン交換剤として分離しており、吉野ら³⁾は弱酸性陽イオン交換樹脂 (Duolite CS-101, H 形+Li 形, Li 形が約 15%) を用い、塩化リチウムと塩化カリウムを溶離剤として両者を分離している。また、山口ら⁴⁾はロ紙電気泳動法によりアトロピンとスコポラミンを分離後、Freeman 法²⁾により発色させて吸光度を測定し、両者を定量している。このようにアトロピンとスコポラミンとの分離についてはかなり研究されているが、これらのアルカロイドとベルベリンとの分離については今のところ報告は見当らない。

著者は弱酸性陽イオン交換樹脂 (Duolite CS-101) の NH₄ 形を用いて、水を溶離剤としてスコポラミンを塩化アンモニウムでアトロピンを、炭酸ナトリウムでベルベリンを溶離後、ケイタングステン酸を沈殿試薬とする電流滴定法によりこれらのアルカロイドを定量した。

2 実験方法

2.1 実験試料

塩酸ベルベリン：オウバク皮 (角約 1 cm) を水酸化カルシウム (原料の 20%) 水溶液で、室温で 24 時間抽出したものをろ過し、ろ液に塩化ナトリウム (3% W/V) を加えてベルベリンを塩酸塩として沈殿させ、ろ取した沈殿を水より再結晶し、さらにメタノールより 2 回再結晶を繰り返して得た黄色針晶を、60~65°C で恒量になるまで乾燥したのち、一部をとり約 2 mg/ml 水溶液として用いた。融点 (分解) 204~205°C, 実験値 C 58.69%, H 5.68%, N 3.61%, C₂₀H₁₈O₄NCl·2H₂O としての計算値 C 58.90%, H 5.44%, N 3.44%。

実際の濃度はケイタングステン酸を沈殿試薬として電流滴定法⁵⁾によって決定した。

硫酸アトロピン：局方品を 110°C で 4 時間乾燥したのち、約 1 mg/ml の水溶液として用いた。実際の濃度は電流滴定法⁶⁾によった。

臭化水素酸スコポラミン：局方品 (ドイツ製) を 105°C で 4 時間乾燥したものを、約 1 mg/ml 水溶液として用いた。純度は非水滴定法 (U. S. P. VI) によって決定したが、分離のさいは電流滴定法⁷⁾によった。

なお、試薬の濃度を一括して Table I に示した。

イオン交換樹脂：弱酸性陽イオン交換樹脂 Duolite CS-101 (100~200 メッシュ) の Na 形および NH₄ 形を使用した。処理方法は前法と同様である。

Table I Concentration of reagents

Alkaloids	Molecular formulae	Results† (mg/ml)	As free base (mg/ml)
Berberine hydrochloride	C ₂₀ H ₁₈ O ₄ NCl·2H ₂ O	1.91	1.65
Atropine sulfate	(C ₁₇ H ₂₃ O ₃ N) ₂ ·H ₂ SO ₄	0.92	0.79
Scopolamine hydrobromide	C ₁₇ H ₂₁ O ₄ N·HBr	0.84	0.67

† Mean of three determinations

2.2 分離操作

硫酸アトロピン、臭化水素酸スコポラミンおよび塩酸ベルベリンの各水溶液の一定量をピペットでとり、よく混合してから約 0.5 ml/min の流速でカラム (NH₄ 形, 8×280mm) に通ずる。試料が全部通じ終わったらろ液は捨てないでとっておく (スコポラミンの一部がもれる場合がある)。つぎに水でカラムを洗浄すると、スコポラミンが溶離してくる*。流出液はサイフォンピペット (10 ml) で分取し、その 1 ml をとり希塩酸を加えて微酸性とし**、ケイタングステン酸試液 (1%) を加えてアルカロイドの反応を呈しなくなるまで溶離をつづけ、全流出液を集めたのちつぎの溶離に移る。

スコポラミンの溶離が完了したら、0.2N の塩化アンモニウム水溶液を通ずると、流出液にはアトロピンが含まれる。アトロピンの反応が呈しなくなったら、つぎに 1N 炭酸ナトリウム水溶液にきりかえると、ベルベリンが黄色を呈して溶離してくる。各アルカロイドごとの流出液を集め、その一部をとって電流滴定法によって各アルカロイドを定量した。ただし、溶離図作製の場合は 1 フラクションごとに定量した。

3 実験結果

3.1 アトロピンとベルベリンの分離

Na 形のカラムを用いて、アトロピンの溶離剤に塩化ナトリウムを、ベルベリンの溶離剤に炭酸ナトリウムを用いた場合の溶離の状態を Fig. 1 に示した、最初 0.5 N の塩化ナトリウム水溶液を通ずると、0~60 ml の間にアトロピンが溶離されてくる。アトロピンが検出され

* スコポラミンは水で溶離されるが、アトロピンは水では溶離されないことを単一の塩基について確かめてある。

** 塩酸濃度が高いと沈殿が溶解するから注意を要する。

なくなったら、少量の水で洗ったのち 1*N* 炭酸ナトリウム水溶液を通ずると、流出液の 140 ml 付近からベルベリンが黄色を呈して溶離してくる。

つぎに NH_4 形のカラムを用いて分離した例を Fig. 2 に示した。この場合にはアトロピンの溶離剤には塩化アンモニウム (0.2*N*) を、ベルベリンの溶離剤には同じく炭酸ナトリウム (0.5*N*) を使用した。

このようにアトロピンとベルベリンとは、Na 形または NH_4 形のカラムを用いて分離することができる。その結果を Table II (No. 1, 2) に示した。

なお、H形のカラムを用いた場合は、アトロピンは酸による溶離は容易であるが、ベルベリンは困難であるので、この場合はむしろ Na 形や NH_4 形の方が適当である。

Fig. 1 Elution diagrams of atropine and berberine (I)
Duolite CS-101, Na form
Column 8×360mm Flow rate 1.0 ml/min

Fig. 2 Elution diagrams of atropine and berberine (II)
Duolite CS-101, NH_4 form
Column 8×225mm Flow rate 0.45 ml/min

3.2 スコポラミンとベルベリンの分離

NH_4 形のカラムにスコポラミンとベルベリンを含む

水溶液を通ずると、スコポラミンの一部は吸着の過程ですでもれてくる。つぎにカラムを水洗すると、樹脂中に残っているスコポラミンは溶離してくる。溶出液の一部をとりスコポラミンが検出されなくなってから、0.2*N* の塩化アンモニウム水溶液を通じても、スコポラミンはほとんど検出されなかった。このような現象は Na 形のカラムを用いても同様で、スコポラミンは水により溶離してくることがわかった。 NH_4 形のカラムを用いた場合の溶離の状態を Fig. 3 に示した。また、分離例を Table II (No. 3, 4) に示した。

このようにスコポラミンとベルベリンの分離には、 NH_4 形または Na 形のカラムを用いて、水を溶離剤としてスコポラミンを、炭酸ナトリウムでベルベリンを溶離して両者を分離することができる。

Fig. 3 Elution diagrams of scopolamine and berberine
Duolite CS-101, NH_4 form
Column 8×255mm Flow rate 0.5 ml/min

3.3 スコポラミン、アトロピン、ベルベリンの分離

これまでの実験結果を参考にして、スコポラミン、アトロピンおよびベルベリンの分離を試みた。 NH_4 形のカラムを用いて分離した場合の溶離の状態を Fig. 4 に示した。この場合もスコポラミンは吸着の過程でかなりもれてくることがわかった。カラム中に残存しているスコポラミンは水で溶離してから、0.2*N* 塩化アンモニウムに切りかえると、アトロピンが溶離してくる。溶出液の一部をとりアトロピンが検出されなくなったら、1*N* の炭酸ナトリウムを通ずると、最後にベルベリンが溶離してくる。分離の成績を Table II (No. 5~7) に示した。

以上のように水、塩化アンモニウムおよび炭酸ナトリウムを溶離剤として三者を分離できるが、アトロピンとスコポラミンの回収率はやや不良であった。

Table II Recovery test for scopolamine, atropine, and berberine

Expt. No.	Samples used (mg)			Detected alkaloids (mg)			Recovery (%)		
	Scop.	Atr.	Berb.	Scop.	Atr.	Berb.	Scop.	Atr.	Berb.
1†		20.1	33.0		16.4	30.0		81.5	91.0
2		20.1	33.0		17.8	31.5		88.5	95.5
3	13.4		33.0	11.8		32.4	88.0		98.0
4	13.4		33.0	12.2		32.7	91.5		99.2
5	13.4	15.8	41.4	11.1	13.8	40.7	82.5	87.5	98.5
6	13.4	15.8	41.4	11.6	14.8	40.4	86.5	93.5	97.5
7	16.8	19.8	33.0	15.4	18.5	32.9	91.9	93.5	99.7

Duolite CS-101, 100~200 mesh R-COONH₄ († Na form) Column 8×225~360mm

Fig. 4 Separation of scopolamine, atropine and berberine

Duolite CS-101, NH₄ from
Column 8×280mm Flow rate 0.5 ml/min

4 考 察

著者はベルベリンのイオン交換についての基礎研究を行ない、カルボン酸型の弱酸性交換体の NH₄ 形が最も適していることを知った⁹⁾。ベルベリンとアトロピン、スコポラミンを含む水溶液を、弱酸性交換体のカラム (NH₄ 形) に通じていったんこれらのアルカロイドを吸着させた場合、スコポラミンは水で溶離されるが、アトロピンは溶離されずまた、アトロピンは塩化アンモニウムで溶離されるが、ベルベリンは溶離されないことを利用して三者を分離することができた。

アトロピンとスコポラミンとは同族体で構造が非常によく似ているにもかかわらず、スコポラミンは水で溶離されるが、アトロピンは溶離されないのは興味ある事実である。スコポラミンの一部は吸着の過程ですでにもれてくるが、その程度は実験を始める前の樹脂の水洗が関係するようである。そこで一定量の樹脂に対して水洗の量をきめておくことがのぞましい。

吉野ら¹⁰⁾は有機塩基を弱酸性交換体に吸着させて、水による溶離を研究し、カラムを水で洗浄すると加水分解のため流出液の pH は樹脂形によってことなり、当然、

有機塩基の解離の状態に変化を与えることが予想される。そして有機塩基の水による溶離の難易はその pH における解離状態と $K(B/M)^*$ (選択係数) によって決定されることを推論している。スコポラミンとアトロピンの場合も、カラムを水洗すると溶液層の pH に変化を生じ、両アルカロイドの解離状態ひいては $K(B/M)$ が変化し、溶離されやすさに差を生ずるものと思われる。

アトロピンとスコポラミンとは水以外の溶離剤を用いた場合、ほとんど同時に溶離されて分離できなかった。ただ、スコポラミンは水で溶離されるが、tailing の現象が見られるところからすると、ごくわずかながら樹脂中に残存するのではないと思われる。そのほか、アトロピンとスコポラミンの回収率が悪いのは定量誤差も考えられる。アトロピンとスコポラミンの電流滴定は、微量の場合にはバラッキが大きくよい結果が得られなかった。

ベルベリンの回収率は比較的良好であり、ベルベリンとトロパンアルカロイドを分離することは容易である。

終りにのぞみ、本研究を助成された共立薬品工業株式会社山崎正信社長、および御指導をいただいた大阪市立工業研究所吉野俊雄博士に深甚の謝意を表する。

文 献

- 1) 渡辺兵蔵：本誌，10，271 (1961)。
- 2) F. M. Freeman：J. Pharm. and Pharmacol. 8，42 (1956)。
- 3) 吉野俊雄，杉原瑞穂：薬誌，80，396 (1960)。
- 4) 山口一孝，伊藤巳代子：同上，81，179 (1961)。
- 5) F. M. Freeman：Analyst，80，520 (1955)。
- 6) 渡辺兵蔵：本誌，10，268 (1961)。
- 7) 小川忠彦：日化，77，540 (1955)。
- 8) 渡辺兵蔵：未発表。
- 9) 渡辺兵蔵：日化，82，461 (1961)。
- 10) 吉野俊雄，長柄 諄，杉原瑞穂：科工，33，150 (1959)。

☆

* $K \frac{B}{M} = \frac{(RB)}{(RM)} : \frac{(B)_s}{(M)_s}$ ，Mは金属
Bは有機塩基

Separation of berberine, atropine, and scopolamine by ion exchange chromatography. (Application of ion-exchange resins in medicinal analysis. VII.) Hyozo WATANABE (Yamagata Technical High School)

Attempts have been made to separate berberine, atropine, and scopolamine by use of weak cation-exchange resin (Duolite CS-101, 100~200 mesh).

An aqueous solution containing a mixture of berberine hydrochloride, atropine sulfate, and scopolamine hydrobromide was passed through a column of Duolite CS-101 (NH_4 -form) for ad-

sorption of the alkaloids. A portion of scopolamine was eluted unadsorbed and the rest of it was liberated by washing the column with water. The column was then treated with 0.2N NH_4Cl for liberation of atropine and finally with 1N Na_2CO_3 for liberation of berberine.

Each alkaloid thus liberated was determined by the amperometric titration.

The recovery was above 85% for atropine and scopolamine and above 95% for berberine.

(Received July 31, 1961)

Griess Romijn 試薬に対する新しい試み

萩 野 堅*

(1) 抽出法：試料溶液 50 ml に Griess Romijn 試薬 (GR 試薬) を加えて発色させ、次に塩酸を加えて約 1.5N としブタノール・シクロヘキサノール (7:3) 混合溶媒 10 ml でこれを抽出して 0.002~0.07 ppm NO_2^- -N の超微量が感度よく定量できた。

(2) アルカリ添加法：中性の試料溶液に GR 試薬を加えて充分発色したのち、アルカリ溶液を加えてアルカリ性になると橙黄色の溶液が得られる。これを波長 480 m μ で吸光度を測定すれば 0.05~1.0 ppm NO_2^- -N の定量ができる。

1 緒 言

著者はさきに亜硝酸イオンの呈色試薬 (Griess Romijn 試薬, 以下 GR 試薬という) に対する新しい試みとしてエタノールの添加法¹⁾について報告した。

亜硝酸と GR 試薬によって生ずるアゾ色素がエタノールに可溶性であることから、上限の定量範囲が広げられて 0.01~0.35 ppm NO_2^- -N の検量線が直線となった。本報ではエタノールの代わりにブタノール・シクロヘキサノール混合溶媒を用いてこのアゾ色素を抽出する方法について実験した。

種々検討の結果、塩酸の濃度を約 1.7N として抽出を行ない、0.002~0.07 ppm NO_2^- -N の超微量が感度よく定量できた。

上述の抽出をアルカリ性溶液で行なうと水層は透明になりやすいが、有機溶媒層は透明になりにくく抽出法としては成功しなかった。しかし、これらが機因となって水溶液中でこのアゾ色素にアルカリを添加すればかなりよく溶解し橙黄色の溶液を生ずる。波長 480 m μ でその

吸光度を測定して 0.05~1.0 ppm NO_2^- -N が定量できる。

2 抽 出 法

2.1 試 薬

GR 試薬：酒石酸 (特級) 8.9 g, スルファニル酸 (特級) 1 g, α -ナフチルアミン (特級) 0.1 g をメノー乳鉢でそれぞれこまかく砕いてからよく混ぜ合わせ、広口ビン中に保存する。

ブタノール、シクロヘキサノール：いずれも特級品を用いた。

塩酸溶液 (6.0N)：炭酸ナトリウム標準溶液 (0.1N) で標定した。

亜硝酸イオンの標準溶液：亜硝酸ナトリウム (特級) 5 g/l の溶液をつくり、この一定量を過マンガン酸カリウム標準溶液 (0.1N) の一定過剰量に加え、この過剰の過マンガン酸カリウムをヨウ素法で定量して、亜硝酸ナトリウムの濃度を定めた。これを適当にうすめて 1000 ppm NO_2^- -N の溶液をつくり、これから各種濃度の標準溶液をつくった。

2.2 装 置

日立 EPU-2 型分光光度計, 1 cm セル。

* 東京工業大学分析化学教室：東京都目黒区大岡山