ろ紙電気泳動法の裁判化学領域への応用 (第2報¹⁾)アルカロイド並に類縁化合物の分離同定²⁾

福田照夫, 三村和子

昭和薬科大学³⁾Application of Paper Electrophoresis to the Field of Forensic Chemistry. II.¹⁾Identification of Alkaloids and the Related Compound²⁾

TERUO FUKUDA and KAZUKO MIMURA

Showa College of Pharmaceutical Sciences³⁾

(Received February 1, 1972)

The paper electrophoretic method for identification of alkaloids (nicotine, quinine, pilocarpine, atropine, scopolamine, strychnine, papaverine, brucine, narcotine, aconitine, berberine, caffeine) and a related compound (procaine) was investigated by using 5 N acetic acid, 0.1 N phosphoric acid and 0.1 N disodium hydrogen phosphate as the electrolyte. The mobilities of the compounds were expressed relative to auramine. It was found that all the alkaloids and the related compound tested in this study could be separated and identified by selecting one of the suitable electrolyte from the above three.

緒 言

従来, ろ紙電気泳動法によるアルカロイドの分離同定は, 植物化学領域では検討されている^{4,5)}が, 裁判化学的に興味あるアルカロイドの一斉分析法については試みがないようである. われわれは前回の“Stas-Otto 法で分離困難な合成医薬品およびその関連化合物の分離同定¹⁾”にひきつづき, 本検討を試みた.

実験方法

1. 試料 裁判化学および法医学の教科書⁶⁻⁸⁾中より次記のごとく, アルカロイド12種類, 類縁化合物1種類を検討した.

(1) アルカロイド——ニコチン, 塩酸キニーネ, 塩酸ピロカルピン, 硫酸アトロピン, 臭化水素酸スコポラミン, 硝酸ストリキニーネ, 塩酸パパベリン, ブルシン, ナルコチン (10倍散), アコニチン, 塩酸ベルベリン,

カフェイン.

(2) 類縁化合物——塩酸プロカイン.

試料濃度は, いずれも約0.5%とする. ブルシン, アコニチン, ナルコチンの3種のみは希塩酸に溶かし, 他はすべて水溶液とする.

2. ろ紙電気泳動操作法 1) 使用器具——東洋汙紙 K.K. 製 Toyo C 号.

2) 使用ろ紙——東洋ろ紙 No. 50 を Fig. 1 に示すように, タテ 16 cm, ヨコ 40 cm に切り, 両端より 6.5 cm の所にろ紙支持枠の止め具のくる線をひく. 原線として一端より 9.5 cm の所に線をひいて 2 cm 間隔で点をうっておき, ついで電解液に浸すところまでの線として両端より 3.5 cm の所に線をひく. なお, 原線より 7 cm の所にも線をひいておく.

3) 泳動条件——電解液: ① 5 N 酢酸, ② 0.1 N リン

- 1) 第1報: 福田照夫, 三上敬二, 衛生化学, **16**, 322 (1970).
- 2) 日本薬学会第91年会, 福岡, 1971で発表.
- 3) Location: Tsurumaki, Setagaya-ku, Tokyo (東京都世田谷区弦巻 5-1-8).
- 4) 刈米達夫, 橋本庸平, 森 五彦, 木村睦男, 薬誌, **73**, 805 (1953).
- 5) Gunter Zweig and John R. Whitaker, "Paper Chromatography and Electrophoresis," Vol. 1, Academic Press, 1967, p. 314.
- 6) 草味正夫, 中村勇蔵, 三橋 靖, 山村醇一, "裁判化学および実験書," 広川書店, 1960, p. 165-200.
- 7) 塚元久雄, 奥井誠一, "裁判化学," 南山堂, 1969, p. 124-161.
- 8) 上野正吉, "新法医学," 南山堂, 1962, p. 311-319.

Fig. 1. Filterpaper for Paper Electrophoresis

酸, ③ 0.1 N リン酸二ナトリウム溶液.

電圧: 18.2 V/cm.

泳動前放電時間: 15分間.

泳動時間: オーラミンが 7 cm 移動するまで行なう.

4) 操作法——2) に従って作ったろ紙をろ紙支持枠にとりつけ, 原線のある側を陽極, 他を陰極側とし, 両端より 3.5 cm の線まで電解液に浸るようにし, 600 V (すなわち 18.2 V/cm) の定電圧で, まず15分間放電する. その後, 原線の中央に基準色素として 0.1 % オーラミン溶液を, その両側に 2 cm 間隔で試料 (アルカロイド溶液) を 6 カ所スポットする. このようにして 600 V (18.2 V/cm) の定電圧で, 基準色素が原線より 7 cm の線に達するまで泳動する. 泳動終了後, ろ紙を乾燥し, ドラゲンドルフ試液を噴霧して発色させ, 発色色素斑点の中央と原線との距離をそれぞれのアルカロイドの泳動距離とし, これと基準色素 0.1 % オーラミン溶液の泳動距離との比をオーラミンに対する移動比 (RM_o) とする.

すなわち, $RM_o = \frac{\text{試料の泳動距離}}{\text{オーラミンの泳動距離}}$

この RM_o を各試料について 5 コ ($n=5$) ずつ求め, 信頼度 95% ($\alpha=0.05$) の信頼限界値を算出し, これによって各試料を分離同定する.

結果および考察

アルカロイドおよびその類縁化合物のオーラミンに対する移動比 (RM_o) の信頼度 95% の信頼限界

1. 5 N 酢酸を電解液とした場合 Table I にみるように, ニコチン, キニーネ, ナルコチン, アコニチン, ベルベリン, カフェインの 6 種は分離同定できるが, 他のものは A グループ (ピロカルピン, プロカイン), B グループ (アトロピン, スコポラミン, ストリキニーネ), C グループ (パパベリン, ブルシン) の 3 グループに分けることができたが, グループ内の各構成メンバー個々については分離同定できなかった.

2. 0.1 N リン酸を電解液とした場合 Table II にみるように, A グループ中のプロカインとピロカルピンの分離同定ができた.

TABLE I. Confidence Limit of Relative Mobilities of Alkaloids and the Related Compound to Auramine with 5 N Acetic Acid as the Electrolyte

Confidence limit of RM_o		
Nicotine	$1.74 \leq RM_o \leq 1.80$	A group
Quinine	$1.48 \leq RM_o \leq 1.54$	
Pilocarpine	$1.19 \leq RM_o \leq 1.23$	
Procaine	$1.18 \leq RM_o \leq 1.22$	
Atropine	$1.04 \leq RM_o \leq 1.06$	B group
Scopolamine	$1.02 \leq RM_o \leq 1.06$	
Strychnine	$1.03 \leq RM_o \leq 1.05$	
Papaverine	$0.93 \leq RM_o \leq 0.97$	C group
Brucine	$0.92 \leq RM_o \leq 0.96$	
Narcotine	$0.87 \leq RM_o \leq 0.91$	
Aconitine	$0.83 \leq RM_o \leq 0.86$	
Berberine	$0.63 \leq RM_o \leq 0.65$	
Caffeine	$0.35 \leq RM_o \leq 0.40$	

TABLE II. Confidence Limit of Relative Mobilities of Alkaloids (A group) to Auramine with 0.1 N H_3PO_4 as the Electrolyte

Confidence limit of RM_o		
A group	procaine	$1.38 \leq RM_o \leq 1.42$
	pilocarpine	$1.19 \leq RM_o \leq 1.35$

TABLE III. Confidence Limit of Relative Mobilities of Alkaloids (B group and C group) to Auramine with 0.1 N Na_2HPO_4 as the Electrolyte

Confidence limit of RM_o		
B group	atropine	$1.80 \leq RM_o \leq 1.90$
	scopolamine	$1.62 \leq RM_o \leq 1.70$
	strychnine	$1.41 \leq RM_o \leq 1.55$
C group	brucine	$1.24 \leq RM_o \leq 1.30$
	papaverine	$0.69 \leq RM_o \leq 0.77$

TABLE IV. Confidence Limit of Relative Mobilities of Alkaloids (difficult to identify with 5 N Acetic Acid) to Auramine with 0.1 N Na_2HPO_4 as the Electrolyte

Confidence limit of RM_o		
Narcotine	$0.18 \leq RM_o \leq 0.24$	
Aconitine	$1.57 \leq RM_o \leq 1.77$	

3. 0.1 N リン酸二ナトリウム溶液を電解液とした場合 Table III にみるように, B グループ中のアトロピン, スコポラミン, ストリキニーネ, および C グループ中のパパベリン, ブルシンがそれぞれ分離同定できた.

なお、この場合、さきの5N酢酸を電解液とした場合に RM_0 値の近接していたナルコチンとアコニチン間の分離同定も、Table IV にみるように、 RM_0 値の差が著しく大となり容易となった。

以上にみるように、電解液として、まず5N酢酸を用いて、ニコチン、キニーネ、ナルコチン、アコニチン、ベルベリンおよびカフェインと、Aグループ（プロカイン、ピロカルピン）、Bグループ（アトロピン、スコポラミン、ストリキニーネ）、Cグループ（パパベリン、

ブルシン）とを分離同定し、ついで0.1Nリン酸を用いてAグループ、0.1Nリン酸二ナトリウム溶液を用いてBグループおよびCグループ各グループ内相互の分離同定を行なうことにより、本検討に用いた13種類のアルカロイド類すべてが分離同定できた。

結 論

電解液として5N酢酸、0.1Nリン酸、0.1Nリン酸二ナトリウム溶液を使い分けることにより、本検討に用いたアルカロイド類13種類すべてが分離同定可能である。