〔衛 生 化 学〕
EISEI KAGAKU
31 (5) 348—351 (1985)

裁判化学における薬毒物の系統的分析法に関する研究 (第1報)
薄層クロマトグラフィーによる分族法について

庄山正敏, 佐野敏幸
愛知県警察本部科学捜査研究所

Studies on Systematic Analysis of Poisonous Compounds
in Forensic Chemistry. I. Classification Procedure
by Thin Layer Chromatography

MASATOSHI SYOYAMA and TOSHIYUKI SANO
Criminal Science Laboratory, Aichi Prefectural Police H.Q.
2-1-1, Sanno-maru, Naka-ku, Nagoya 460, Japan

(Received May 1, 1985)

One hundred poisons and their related compounds including pesticides, hypnotics, psychotropics, narcotics, local anesthetics *etc.*, have been classified into four divisions by relative R_f values to standard maker on silica gel thin layer chromatography, by use of four developing solvents and seven chromogenic reagents. The markers used were methyl yellow, methyl red, tetrabromophenol phthalein ethylester, malachite green and rhodamine B. It is decided that the first division is pesticides and some psychotropics, the second is hypnotics and some pesticides, the third is psychotropics, local anesthetics, narcotics and others and the fourth is sympathomimetics and others.

Keywords—poisonous compounds systematic analysis; poisonous compounds classification; forensic chemistry; silica gel TLC

結 論

薬毒物の系統的分析法は、古くは Stas-Otto 法に代表される抽出方法による分析で、裁判化学の基礎をなしているものであるが、実試料の分析では残存試料等から予測できる場合が多く、全薬物を対象とする系統的分析は実施していないのが実情である。しかし、複合して薬物を服用したケースも指摘され、¹⁾ また薬物が存在しないことを証明する必要性も考慮すると、一定の方法で主な薬毒物全てを対象とする検査法を設定することは有意義と思われる。

すでにこの目的に沿った多くの報告²⁻¹²⁾や、これを目的とした薄層クロマトグラフィー (TLC) のセットが市販されているが、わが国の服毒事案の特異性は農薬の割合が高いこと¹⁾にあり、これと医薬品等を同時に検索する独自のシステムを作る必要性が考えられる。この観点から著者らは関係の深い薬毒物 100 種を選択し、最も普遍的に行われている TLC による検索を第一段階とし、ガスクロマトグラフィーまたは高速液体クロマトグ

ラフィーによる同定をシステムとする検査法の確立のため、今回は TLC による分族法を検討したので報告する。

実 験 の 部

標準試料及び試薬 対象とする薬毒物は「薬物による中毒事故等の発生状況」,¹³⁾ 局方掲載品、市販医薬品で販売量の多いもの、及びその関連化合物等の中から 100 種類を選択した (Table I)。標品は市販製品より精製したもの、原体、局方品、市販試薬等で、一定量をエタノール又はアセトンに溶解し使用した。

標準色素溶液 (マーカー) は、メチルイエロー (A)、メチルレッド (B)、テトラブロモフェノールフタレンエチルエステル (TBPE, C)、マラカイトグリーン (D) 及びローダミン B (E) を適量エタノールに溶解し使用した。その他の試薬は和光純薬の一級又は特級を用いた。

TLC 及び発色液 TLC 板は既製シリカゲルプレート (Kieselgel 60, F₂₅₄, メルク社製) を常法通り活性化後、デシケーターに保存し使用した。展開槽は縦型とし、

TABLE I. A List of One Hundred Poisonous Compounds

No.	Compounds (Use)	RRf value ^{a)}	No.	Compounds (Use)	RRf value ^{a)}	No.	Compounds (Use)	RRf value ^{a)}
1	Chlorfenethol (P)	1.64	35	Ethinamate (Hp)	0.32	68	Benactyzine (Ps)	0.74
2	ESP (P)	1.59	36	Clothiazepam (Ps)	0.29	69	Diphenhydramine (AA)	0.72
3	Dichlofenthion (P)	1.34	37	Diazepam (Ps)	0.29	70	Perlapine (Ps)	0.66
4	Chlorpylifos (P)	1.32	38	Vamidothion (P)	0.27	71	Nicotine (A)	0.63
5	EPBP (P)	1.24	39	Pyridaphenthion (P)	0.27	72	Caffeine (C)	0.62
6	Leptophos (P)	1.17	40	Oxazolam (Ps)	0.25	73	Antipyrine (At)	0.52
7	Thiometon (P)	1.09	41	Dimethoate (P)	0.25	74	Procaine (L)	0.52
8	Proclonol (P)	0.08	42	Salithion (P)	0.21	75	Perazine (Ps)	0.50
9	Mecarbam (P)	0.86	43	Hexobarbital (Hp)	1.10	76	Haloxazolam (Ps)	0.46
10	Fenthion (P)	0.82	44	Methomyl (P)	0.90	77	Thiothixene (Ps)	0.39
11	Parathion (P)	0.80	45	Amobarbital (Hp)	0.84	78	Hydroxyzine (Ps)	0.39
12	Isoxathion (P)	0.74	46	Allylisobutylbarbital (Hp)	0.84	79	Thiopropazine (Ps)	0.35
13	Chlorbenzilate (P)	0.74	47	Pentobarbital (HP)	0.76	80	Haloperidol (Ps)	0.35
14	Phenthoate (P)	0.72	48	Allobarbital (Hp)	0.69	81	Estazolam (Ps)	0.33
15	EPN (P)	0.70	49	Cyclobarbital (Hp)	0.65	82	Spiperone (Ps)	0.32
16	Malathion (P)	0.64	50	Barbital (Hp)	0.58	83	Chlorpheniramine (AA)	0.28
17	Phosalone (P)	0.61	51	Phenobarbital (Hp)	0.56	84	Pilocarpine (Pa)	0.28
18	Cyanofenphos (P)	0.60	52	Chloxazolam (Ps)	0.53	85	Strychnine (A)	0.26
19	Fenitrothion (P)	0.60	53	Nitrazepam (Hp)	0.42	86	Chlordiazepoxide (Ps)	0.22
20	Dialifor (P)	0.59	54	Dibrom (P)	1.35	87	Carpipramine (Ps)	0.21
21	Methidathion (P)	0.59	55	Dichlorvos (P)	1.11	88	Perphenazine (Ps)	0.21
22	Benzoximate (P)	0.56	56	Bromvalerylurea (Hp)	0.63	89	Bulcine (A)	0.20
23	Cyanophos (P)	0.54	57	Trichlorfon (P)	0.43	90	Opipramol (Ps)	0.18
24	Medazepam (Ps)	0.48	58	Bupibacaine (L)	1.10	91	Propericiazine (Ps)	0.13
25	Diazinon (P)	0.46	59	Lidocaine (L)	1.04	92	Oxazepam (Ps)	0.09
26	Tetrachlorvinphos (P)	0.46	60	Chlorprothixene (Ps)	0.99	93	Codeine (N)	0.09
27	XMC (P)	0.46	61	Ketamine (An)	0.93	94	Methylephedrine (Sm)	1.07
28	Isoproc carb (P)	0.44	62	LevomEPROMAZINE (Ps)	0.90	95	Methamphetamine (Sm)	0.92
29	MTMC (P)	0.41	63	Glutethimide (Hp)	0.87	96	Sulpilide (Ps)	0.65
30	MPMC (P)	0.41	64	Aminopyrine (At)	0.79	97	Ephedrine (Sm)	0.61
31	Propoxur (P)	0.39	65	Dibucaine (L)	0.78	98	Atropine (As)	0.53
32	Methaqualone (Hp)	0.39	66	Chlorpromazine (Ps)	0.76	99	Morphine (N)	0.33
33	Carbaryl (P)	0.34	67	Thioridazine (Ps)	0.74	100	Theophylline (C)	0.15
34	Benzocaine (L)	0.33						

a) See Table II.

P; pesticides, Ps; psychotropic agents, Hp; hypnotics, L; local anesthetics, At; antipyretics, C; cardiotonics, An; general anesthetics, AA; antiallergic agents, N; narcotics, A; alkaloids, Pa; parasympathomimetics, Sm; sympathomimetics, As; antispasmodics.

展開溶媒——1) *n*-ヘキサン：アセトン=4：1, 2) クロロホルム：アセトン=9：1, 3) クロロホルム：アセトン：28% アンモニア水=9：1：1/2 飽和, 4) クロロホルム：ジオキサン：酢酸エチル：28% アンモニア水=25：60：10：5 を用いた。

検出法——1) 紫外線下観察, 2) 塩化パラジウム溶液,¹⁴⁾ 3) バニリン-硫酸溶液,¹⁴⁾ 4) N,2,6-トリクロロ-*p*-ベンゾキノノイミン溶液,¹⁵⁾ 5) 塩化白金酸-ヨウ化カリウム溶液,¹⁴⁾ 6) 2,7-ジクロロフルオレセイン溶液,¹⁴⁾ 7) ドラージェンドルフ溶液,¹⁴⁾ 8) ローダミンB

溶液,¹⁴⁾ 9) *o*-トリジン溶液¹⁴⁾ を用いた。

分析方法 試料溶液をシリカゲル TLC 板の下端より 3 cm の位置に約 5 μ l 塗布し、マーカー A 及び B と共に展開溶媒 1) で 10 cm 展開し、検出法 1, 2, 3 の順に観察し、マーカー B より上部に成分 (スポット) が確認されるものを第 I 族薬物とし、マーカー A に対する相対移動率 (RRf) を測定した。スポットが該当位置に確認されない場合はマーカー B, C と共に展開溶媒 2) で同様に操作し、検出法 1, 4, 9 の順に観察し、マーカー B と C の間にスポットの確認されるものを第 II 族薬

物とし、マーカーBに対するRRf値を測定した。同様に該当しない場合はマーカーDと共に展開溶媒3で同様に操作し、検出法1, 5, 3の順に観察し、原点より上部にスポットが確認されるものを第III族薬物とし、マーカーDに対するRRf値を測定した。これ以外を第IV族薬物とし、マーカーEと共に展開溶媒4で同様に操作し、検出法1, 7の順に観察し、マーカーEに対するRRf値を測定した

結果及び考察

展開溶媒

全薬物を農薬の分離に多用されている⁹⁾展開溶媒1で分析した結果、ほとんどの農薬を含むグループと催眠薬を主とするグループ及び塩基性薬物に大別された (Fig. 1)。そこで次に催眠薬の分析に用いられている展開溶媒2を、精神安定剤の分析に使用されている同3を、覚せい剤の分析に使用されている同4を順次用いることとし、これにマーカーである色素の位置を基準として分族することとした。

マーカーの選択

選択した展開溶媒を用い、族わけ及びRRf値の基準となる色素を検索した結果、マーカーA—Eはいずれも良好な形状のスポットとなり、かつAは農薬グループの中間に位置し、RRf値測定の基準によいこと、マーカーBは農薬グループと催眠薬グループの中間に位置し、族分けの基準となること、及び展開溶媒2で催眠薬グループの上部に位置すること、マーカーCは催眠薬グループの下部に位置し、族分けの基準となること、マーカーD, Eは展開溶媒3, 4においてRRf値測定の基準に適していることが判明し、これらをマーカーとして選択した。

検出法の検討

全薬物について1—9の検出法を検討した結果、いずれ

も多種類の化合物の検出が可能であったが、検出限界を10 µg以上と定めたところ、6, 8はスポットが見にくいため除外し、他の方法を組合せて使用することとした。この結果を用い、各展開溶媒で全薬物を分析したところ、化合物1—42は検出法1, 2, 3で、化合物43—53は1と4で、化合物54—57は9で、化合物58—93は1, 5, 3で、化合物94—100は1と7でそれぞれ検出できた。ただ、化合物49及び97は検出限界30 µg以上であった。

分族

分析方法に従い全薬物を分析した結果 (Table II), 化合物1—42はマーカーB ($R_f=0.08$) の上部, 43—57

Fig. 1. Classification Procedure of One Hundred Poisonous Compounds by Mean of Silica Gel Thin Layer Chromatography

1—4: developer (see Table II).

●: position of marker, A; methyl yellow, B; methyl red, C; tetrabromophenolphthalein ethylester, D; malachite green, E; rhodamine B.

—○—: position of each division.

TABLE II. Results of Classification

Compounds (No.)	Division	Developer	R_f Value	RRf Value (Marker=1.00)	Detection method
1—42	I	1	0.11—0.89	0.21—1.64 ^{a)}	1, 2, 3
43—53	II	2	0.26—0.68	0.42—1.10 ^{b)}	1, 4
54—57	II'	2	0.27—0.84	0.43—1.35 ^{b)}	9
58—93	III	3	0.07—0.90	0.09—1.10 ^{c)}	1, 5, 3
94—100	IV	4	0.11—0.78	0.15—1.07 ^{d)}	1, 7

Developer: 1; *n*-hexane: acetone=4:1, 2; chloroform: acetone=9:1, 3; chloroform: acetone: ammonia water=9:1:1/2 saturated, 4; chloroform: dioxane: ethylacetate: ammonia water=25:60:10:5.

Detection method: 1; ultra violet visualization, 2; palladium chloride solution, 3; vanilline-sulfuric acid solution, 4; TCBI solution, 5; iodoplatinate solution, 7; Dragendorff's reagent, 9; *o*-tolidine solution.

^{a)} Methyl yellow ($R_f=0.54$); ^{b)} Methyl red ($R_f=0.62$); ^{c)} Malachite green ($R_f=0.82$); ^{d)} Rhodamine B ($R_f=0.73$).

はマーカー C ($R_f=0.23$) の上部, 58—93はマーカー D ($R_f=0.82$ に対し $RR_f=0.10$) 以上にあり, 94以降と区別され, Table II に示す族分けが可能となった. ただ化合物54—57は R_f 値では第II族に入るが, 検出法 1,4 では確認されず, 9 によってのみ確認されるため, 別の TLC 板で確認する必要がある, 第II族亜種 (II') とした. 化合物43, 45—47, 54, 55, 58, 59, 63, 94及び95は定められたマーカーの位置をはずれ, それぞれ Table II に示す該当族の1つ前の族に入る R_f 値を示すが, 前の族で指定された検出法では確認されないため, 繰り下げて扱うこととした. また第2族の2,3のものではマーカーBのわずかに上部に位置するが, 指定された検出法によってのみ確認されるため, 第II族に加えた. 各族の境界にある化合物は繰り返し分析の結果でも分族をあやまることはなかった. また各分族された化合物の, それぞれの展開溶媒における分布はほぼ全面に均

等にあり, 分族とともにその RR_f 値が化合物識別の指標に利用できると考えられた (Table I).

結 語

農薬, 催眠薬, 精神安定薬, 麻薬, 覚せい剤, 麻酔薬及び関連化合物等, 日常薬毒物鑑識において関係の深い化合物 100 種類を選択し, 4 種類の展開溶媒, 7 種類の検出法及び5種類のマーカーを用いるシリカゲル TLC により4族の薬毒物に分族できた. 本法は抽出法の差によることなく, 試料の一括検索が可能で, 本来未知試料の分析をたてまえとする裁判化学の分析法簡便化の一助となるものと思われる. ただ, 実試料では混在する物質の影響を受けることが充分考えられ, 引き続きこの分族法に適する抽出法, クリーンアップ等について検討する予定である.

(この研究は日本分析化学会第33年会において一部発表した)

引 用 文 献

- 1) 丹羽口徹吉, 衛生化学, **28**, 184 (1982).
- 2) a) K. Suzuki, K. Miyashita, H. Nagayoshi, T. Kashiwa, *Agric. Biol. Chem.*, **37**, 1959 (1973).
b) K. Suzuki, H. Nagayoshi, T. Kashiwa, *ibid.*, **38**, 279 (1979).
- 3) 庄山正敏, 分析化学, **26**, 499 (1977).
- 4) 市山孝久, “鑑識科学研究発表会講演集,” 科学警察研究所, 東京, 1983, p.1.
- 5) H. Goebel, H.J. Stan, *J. Chromatogr.*, **279**, 523 (1983).
- 6) B.D. Ripley, H.E. Braum, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **66**, 1084 (1983).
- 7) I. Sunshine (ed.), “Analytical Toxicology,” CRC Press, Ohio, 1969, pp.761—808.
- 8) Wolfgang Sad'ee, Geertruida C.M. Beelen (斎藤正行, 田村善蔵 監訳), “ドラッグレベルモニタリング,” 広川書店, 東京, 1983, pp.1—82.
- 9) 日本薬学会編, “薬毒物化学試験法注解,” 南山堂, 東京, 1974, pp.13—25.
- 10) B.J. Perrigo, H.W. Peel, *J. Chromatogr. Sci.*, **19**, 219 (1981).
- 11) H.W. Peel, B.J. Perrigo, *J. Forensic Sci.*, **26**, 352 (1981).
- 12) R.E. Ardrey, A.C. Moffat, *J. Chromatogr.*, **220**, 195 (1981).
- 13) 科学警察研究所編, “薬物による中毒事故等の発生状況,” 16—25巻, 1973—1982.
- 14) E. Stahl, “Thin Layer Chromatography,” 2nd ed., Springer-Verlag, Berlin, 1967, pp.885—908.
- 15) J.A. Vinson, J.E. Hooyman, *J. Chromatogr.*, **105**, 415 (1975).