結晶性粉末. Fp 214°. $C_{11}H_{12}O_2N_4S_2$ 計算値 N 18.92, 実験値 N 18.61.

京都大学医学部薬学科

Summary

1) By the application of mono-, di-, and trichloroacetyl- and O,N-diacetyl-*p*-aminosalicylyl chlorides on 2-allylmercapto-6-aminobenzothiazole, corresponding 6-acylamino-benzothiazoles were obtained. One of the latter compounds, 6-*p*-acetamino-*o*-acetoxym-benzamino derivative was saponified to the 6-*p*-amino derivative. Dimethyl- and diethylamine were respectively applied to 6-monochloroacetamino derivative and 6-dimethyl- and 6-diethylaminoacetaminobenzothiazoles were obtained.

2) By the application of sodium and ethyl monochloroacetate to 2-mercapto-6-nitro-benzothiazole, 6-nitrobenzothiazolyl-(2)-thioglycollic acid and its ethyl ester were prepared. Condensation of ammonia, dimethylamine, or hydrazine hydrate to this 6-nitro ethyl ester respectively yielded the amide, dimethyl amide, and hydrazide. Reduction of the foregoing 6-nitro ester to the 6-amino ester and derivation to the 6-acetamino ester, with subsequent application of hydrazine hydrate to the 6-amino and 6-acetamino esters yielded the respective hydrazides.

(Received June 1, 1953)

222. 刈米達夫*, 橋本庸平**, 森 五彦**, 木村睦男**: 塩基類の濾紙電気泳動及び電気クロマトグラフィー¹⁾ (植物成分の微量化学研究 第 12 報)

Tatsuo Kariyone, Yohei Hashimoto, Itsuhiko Mori, and Mutsuo Kimura:

Microchemical Studies of Plant Components. XII. Paper Electro-migration and Electrochromatography of Organic Bases.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyoto,* Laboratory of Phytochemistry, Kobe Women's College of Pharmacy**)

沝紙を用いる電気泳動法には従来種々の報告があるが例えばその代表的なものとして最近の報告に Durrum²⁾等³⁾のアミノ酸の報告がある。筆者等はアルカロイドにその応用を試みた。アルカロイド塩の沝紙クロマトに於ては結合している酸の種類、或いは遊離塩基の酸性溶液に於て酸の量により Rf 値に変動を来し易い欠点があり、又一つの塩基で酸性塩と中性塩を形成するため、2 個或いは 2 個以上のスポットとして出現する場合があることは既に報告した⁴⁾。Munier 等⁵⁾も著者とは別個にこれに着目し、ある種の塩基の鉍酸塩を沝紙で展開してゆくと塩基と酸の解離が起り、酸の一部が選択的に沝紙に吸着せられ塩及び遊離塩基の 2 種の物質となり、沝紙上に 2 個のスポットとなつて出現する場合が屢々あることを報告している。鶴飼等⁶⁾は塩基のヨードメチラートを沝紙上で展開した際ヨードのみが解離し、沝紙の出発線近くに止まつていと報告し、この防止法として塩酸酸性ブタノールを溶媒として使用することを推奨している。但し、筆者等が使用している酢酸酸性ブタノール系溶媒¹⁾

* Yoshida-konoe-cho, Sakyoku, Kyoto

** Motoyamacho, Higashinada-ku, Kobe.

1) 刈米, 橋本, 森, 木村: 日本薬学会近畿総会講演 (Nov. 1951).

2) E. L. Durrum: J. Am. Chem. Soc. **72**, 2943 (1950).

3) 鈴木, 前川: 本誌 **71**, 1298 (1951).

4) 刈米, 橋本: 本報第 5 及び第 7 報: 本誌 **71**, 436 (1950); 薬学研究 **22**, 468 (1950); Nature **168**, 739 (1951); 本誌 **70**, 721 (1950) 毛細管法による。

5) 古谷 潔訳: 薬学研究 8~9 号 (原報 R. Munier, et al.: Bull. soc. chim. biol. **31**, 1144 (1949)).

6) 鶴飼, 大橋: 本誌 **71**, 1393 (1951).

と同様、有機酸とブタノールとの混合溶媒を用いた際は溶液中に於けるブタノールエステルの生成は免れず、pH 又は溶媒の性質の変化により Rf 値が変動することがある⁷⁾。

電気泳動法を利用すれば塩基は遊離であつても或いは塩であつても、常に陰極側に移動することが認められ且つその泳動距離は同条件下では殆んど一定であり、上記した Rf 値の変動の如き問題は全く起らぬことを確かめた。且つ電気泳動の実験に要する時間は沝紙クロマトと比し著しく短縮され、2~4 時間で施行し得る。

実験法の概要を述べると幅 5 mm, 長さ 40 cm の東洋沝紙 No. 50 の中央に試料の数 γ 乃至十数 γ を含有するメタノール溶液等を点じ、この沝紙を 5 N 酢酸 (約 30%) で十分に湿らせ、その両端を夫々陽極及び陰極の挿入された 5 N 酢酸槽中に浸す。全体は密閉器中に置き沝紙上の液の蒸発を防止する。この両極に 450~750 V の定電圧を与え、沝紙 1 本につき 0.5~1.0 mA の電流を通じ 2~4 時間電気泳動を行ふ。電気泳動の実験には定電圧発生装置を用いた (Fig. 1 参照)。

Components: Tr_1 : 100 V.-1300 V.-o-1300 V. transformer 100 mA. Tr_2 : 100 V. a. c. 2.5 A., 10 A Tr_3 : 100 V. a. c. 6.3 V., 3 A Tr_4 : 100 V. a. c. 6.3 V., 3 A R_1 : 100 ohm 2 watt resistor R_2 : 40,000 ohm 10 watt r. R_3 : 500,000 ohm 1 watt r. R_4 : 500,000 ohm 1 watt r. R_5 : 25,000 ohm 10 watt r. R_6 : 30,000 ohm 10 watt variable r. R_7 : 50,000 ohm 10 watt r. C_1 : 4 mfd. 7000 V oil condenser C_2 : 4 mfd. 7000 V oil condenser C_3 : 0.25 mfd. 600 V paper c. C_4 : 2 mfd. 2000 V oil c. C_5 : 2 mfd. 3000 volt oil c. VT_1, VT_2 : HX 968 Mazda tube VT_3 : 807 RCA tube VT_4 : 6 SL 7 RCA tube VT_5, VT_6 : VR 150 V : 1000 V meter P_1 : 100 V red pilot P_2 : 100 V green pilot Ch_1, Ch_2 : 10 henry 150 mA.

Fig. 1 Wiring Diagram of Constant Voltage Current Source

アルカロイドの泳動距離は次表の如く、電圧が高い程泳動速度が大で短時間に実験が終了する。緩衝液としては酢酸又は種々の有機酸を使用してよいが、ナトリウム或いはカリウム等のアルカリイオンを含有する塩類溶液は電気伝導度が高いため、電流が過大に流れ著しい発熱が起り沝紙の局部的乾燥を来しその部分が焼切れる場合が屢々ある⁸⁾。この点有機酸の水溶液は一般に好結果を与え、前記の酢酸又は乳酸等を使用して成績良好であつた。2 時間後に電流を止め、沝紙を乾燥して後、ドラージェンドルフ試薬⁹⁾を噴霧して塩基の存在する部位を検し、その中央部と出発線との間の距離の mm を測り泳動距離とした。尙エフェドリンの如きドラージェンドルフ試薬に反応し難い塩基の場合は予め著者等既報の N メチル化⁴⁾を行い、しかる後試薬を噴霧して塩基の存在部を確めた。ベルベリン、ヒドラスチン、キニーネの如く紫外線で螢光を発するものは必ずしもドラージェンドルフ試

7) 刈米, 橋本, 木村: 本報第 11 報。

8) 筆者等は次の処方推奨する。局方次硝酸蒼鉛 1 g を少量の濃塩酸に溶解し、アンモニヤアルカリ性となし、水酸化蒼鉛を沈澱せしめ、沈澱をよく水洗して硝酸イオンを除去した後少量の塩酸を加え、得た塩化蒼鉛溶液に 3 g のヨードカリを少量の水に溶解したものを加え、70%酢酸を加え全量を 50 cc とする。

薬の噴霧は必要ない。

Table I Paper Electromigration of Alkaloids

	I	II	III		I	II	III
1. Aconitine	17	29	32	22. Solanine	22	29	34
3. Aneurine	45	65	72	23. Strychnine	—	—	48
3. Atropine	—	—	45	24. Sparteine	50	71	76
4. Aureomycin	—	28	—	25. Acetylcholine	—	69	—
5. Berberine	23	36	41	26. Acrinol	—	—	39
6. Brucine	20	38	40	27. Atabrin	—	—	50
7. Caffeine	—	—	5	28. Banthine	—	—	64
8. Chelerythrine	—	—	37	29. Benadryl	32	42	46
9. Cinchonine	57	62	80	30. Guanofuracine	—	44	—
10. Coniine	—	51	105	31. Isonicotinic acid hydrazide	—	28	—
11. Emetine	—	—	46	32. Neoheteramine	—	—	46
12. <i>l</i> -Ephedrine	32	42	52	33. Neuspa (1-Piperonyl-3-methyl-6,7-methylene-dioxyisoquinoline	—	—	28
13. Hydrastine	56	71	73	34. Oxine	32	55	74
14. Hyoscyamine	31	42	46	35. Pandryl [N-methyl-N-(diphenylmethoxyethyl)-1-phenyl-2-aminopropanol]	—	28	—
15. Lobeline	—	—	46	36. Plasmochin	—	—	65
16. Nicotine	63	76	99	37. Procaine	—	—	47
17. Pelletierine	51	73	80	38. Tibione (<i>p</i> -Acetylaminobenzaldehyde thiosemicarbazone)	—	4	—
18. Pilocarpine	—	48	—				
19. Quinine	51	61	74				
20. Sanguinarine	—	—	34				
21. Sinomenine	31	36	43				

I : 450 V., 0.3 mA./cm. II : 550 V., 0.3 mA./cm. III : 750 V., 0.4 mA./cm.,
Toyo Filter Paper No. 50, 2 hrs.

以上の方法は有機塩基含有薬品類の成分検出にも応用することが出来る。沝紙クロマトの場合と同様に使用する試料は精製する必要なく濃縮したものを出発線上に点じたのみで充分である。アルカロイド等のビクラートのエタノール溶液も亦そのまま点じてよく、その際にはビクリン酸が陽極に向い移動する。アルカロイド生薬のア

Table II Paper Electromigration of Crude Drug Extracts.

Crude Drug	M. D.	A. A.	M. D.
1. Aconitum	34	Aconitine	32
2. Phellodendron	42	Berberine	41
3. Uragoga	44	Emetine	46
4. Ephedra	55	<i>l</i> -Ephedrine	52
5. Hydrastis	42	Berberine	41
	75	Hydrastine	73
6. Hyoscyamus	46	Hyoscyamine	46
7. Lobelia	48	Lobeline	46
8. Nicotiana	95	Nicotine	99
9. Punica	78	Pelletierine	80
10. Cinchona	72	Quinine	74
11. Spartus	75	Sparteine	76
12. Strychnos	45	Strychnine	48

M. D. : Migration distance A. A. : Authentic alkaloid

Voltage and current : 750 V., 0.5 mA./cm., 2 hrs. Electrolyte : 5N Acetic acid.

ルコールエキス、チンキ等の場合濃縮したものをそのまま点じ純品と対照させ実験を行えば Table II の如く殆んど泳動値に差がない。例えばヒドラスチス根中ヒドラスチン及びベルベリンは対照により確認し、又本法により容易に分離検出された。アルカロイド生薬及び製剤類の試験法として迅速且つ簡単な点に於て本法は推奨出来る。

Fig. 2 は生薬の浸液を試料とし泳動により得られた濾紙を紫外線で検した場合を示すもので、種々の螢光物質の存在することがわかる。

Fig. 2 アルカロイド生薬浸出物の濾紙電気泳動による試験

Table III

Auramin	4	Tartrazine	38
Amaranth	5	Aconitine	125
Indigocarmine	9	Burcine	120
Guinea green	25	Berberine	105
Newcoccine	34

Fig. 3

以上述べた方法は沝紙電気泳動 paper electromigration であるが, 本法に更に分配クロマトグラフィーの溶媒による展開を同方向に加える方法を筆者等は試みたが, この様な方法を paper electrochromatography と呼称することにした. この実験には筆者等の一人橋本が考案した図の如き装置 (Fig. 3) を用いる⁹⁾. 実験法は 30% 酢酸を固定相とした沝紙を (7) (10) の鈎爪にかけ, 展開溶媒ブタノールを (1) (2) (4) を経て (8) の皿へ入れる. かくして下降法により出発線上の試料を展開する一方, 沝紙の最下端を陰極を挿入した 30% 酢酸槽に浸し, 塩基を溶媒による展開と同方向に展開する, 電極としての炭素棒は各々 (6) の孔を経て (8) 及び最下端の酢酸槽に浸す. 使用電流及び電圧は前記の場合と同様にして行つた.

Table III の食用色素は固定相として 5% 重曹溶液, 移動相としては 5% 重曹水溶液: ブタノール (1:1) の容量比に混ぜて振り上層をとつたものを用い, 上部シャーレ中に入れる. 沝紙 (東洋沝紙 No. 50), 2 時間, 泳動距離 mm で表わしたものである. アルカロイドは固定相 5 N-AcOH, 移動相 5 N-AcOH: BuOH (1:1) の上層利用, 5 時間の移動値で陰極に移動した (mm).

京都大学医学部薬学科
神戸女子薬科大学

Summary

Alkaloids were found to be more easily and rapidly separable by paper electromigration than by paper chromatography. The distance of migration to the cathode is always constant, whether in the free state or in a salt form. The alkaloids can, therefore, be identified directly from the extracts of crude drugs by using paper electromigration. Good results were also obtained by the combined use of chromatography and electromigration.

(Received June 2, 1953)

9) 東洋沝紙クロマト C 号装置: 本装置は一次元上昇法, 下降法, 二次元法, 多重沝紙クロマト (Multiple paper chromatography) 及び沝紙電気クロマトの 5 種を行い得る特徴を有する (特許出願中).