ェンヒドラミンおよびそれと 8-クロロテオフィリンとの塩 (ジメンヒドリナート) が鎮咳剤として用いられるので、本実験でジフェンヒドラミンとカフェインの組合わせを行なつたが、鎮咳作用は強くならなかつた。

さらにコデインとクロルプロマジン、コデインとジフェンヒドラミンの組合わせについては投与割合を変えて実験を行ない (実験 II)、これら組合わせはこの方法において相乗作用が認められることを確認した。しかし、この組合わせにおいても亜硫酸ガス刺激法では相乗作用が明確には認められず (Table III)、併用効果の決定的な判定は困難なものと思われる。

結 論

鎮咳薬の併用効果を試験するため、モルモットを用い機械的刺激法でその作用を調べた。

1) コデインとヒドロコデイン、コデインとコデイン N-オキシドとの併用ではおおよそその効果は相加的である。

2) コデインとクロルプロマジン、ジフェンヒドラミン、クロルサイクリジン各々との併用効果では本方法に関する限り相乗的であり、コデインとナルコチンではある程度相乗作用が認められる。

本研究に当たり終始御懇篤なる御指導を賜つた高木敬次郎教授に厚く御礼申し上げます。また実験に協力された佐藤道子嬢に感謝します。

東京大学薬学部

UDC 612.54 : 615.417.2-012

60. 松本昌次: Pyrogen 除去に関する研究 (第3報^{*1}) 含窒素有機化合物 に対するキノン-活性炭処理

Shoji Matsumoto: Studies on the Removal of Pyrogen. III. Quinone-Carbon
Treatment of Various Organic Nitrogen Compounds.

(Research Laboratory of Resources Utilization, Tokyo Institute of Technology,^{*2}
and Tokyo Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.^{*3})

As a preliminary experiment for elucidation of the reaction mechanism of quinone-activated carbon treatment, reaction was carried out of *p*-benzoquinone, α -naphthoquinone, and chloranil with 25 kinds of nitrogen-containing organic compounds, including aliphatic and aromatic amines, nitrogen-containing heterocyclic compounds, amino acids, and proteins. Examinations were made on the isolation of products by adsorption on activated carbon and desorption from this activated carbon. As indicated in Table I, the results of these experiments showed that nitrogen-containing organic compounds in general, with the exception of a few, reacted easily with quinones and that the reaction products are separated by adsorption on activated carbon. It was found that a nitrogen-containing organic compounds are liberated from the adsorbed carbon according to the nature of such compounds or to reaction conditions with a quinone. The appropriateness of this quinone-activated carbon treatment was confirmed and the experiments made some important suggestions for elucidation of this reaction mechanism.

(Received September 15, 1959)

水口、鈴木¹⁾ は pyrogen を初めとする各種 TBP 反応²⁾ 陽性物質は、キノンと反応させた後に活性炭処理をすることによつて吸着除去し得ること、およびその活性炭を適当な方法で溶出すれば pyrogen を初め TBP 反

^{*1} 本研究は「キノン処理による含窒素有機物の除去ならびに分離に関する研究」および「無発熱性医薬品の製造に関する研究」の一部である。第2報: 薬剤学 20, (4), 36(1960)。

^{*2} Ookayama, Meguro-ku, Tokyo.

^{*3} Shimotoda, Toda-machi, Saitama-ken.

1) 水口、鈴木: 化学と工業 10, 212(1957); 鈴木: 本誌 73, 615, 619(1953); 75, 420, 1099, 1104, 1108 (1955).

2) 石館、坂口: 本誌 60, 642(1940); 石館、岡部、桑田: 本誌 72, 982(1952)。

応陽性物質はすべて溶出されることを報告した。

この反応を適当に応用すれば、微量の含窒素有機化合物を吸着除去することも可能である。その応用例としては、澱粉糖化液中の蛋白様物質の除去³⁾、アルギン酸ナトリウム注射液中の pyrogen 除去⁴⁾ 等があげられる。

著者は pyrogen 除去を究極の目的として各種の含窒素有機化合物にキノン-活性炭処理反応を行ない、いわゆるキノン-活性炭処理法の適用範囲および条件等をより詳しく知るためにつぎのような実験を行なった。すなわち *p*-ベンゾキノン、 α -ナフトキノン、あるいはクロラニルに対して Table I に示す 25 種の含窒素有機化合物を選び、キノン-活性炭処理における除去、溶出の現象について総括的に観察し上記目的達成の一助とした。

一般に水溶液において含窒素有機化合物はキノン類と反応して赤褐色を呈し、ある場合には沈殿を生ずる。本報においては、原則として反応液中に遊離の含窒素有機化合物が検出されなくなるまで充分キノンを反応させた後に、この液に活性炭を加え、吸着後濾過を行ない、得られた無色透明な濾液について含窒素有機化合物の存否を調べ、所期物質が除去されるか否かを検討した。この際後記するようにキノンと反応し難い含窒素有機化合物も数種類存在することを知った。

つぎに含窒素有機化合物を完全に除去し得た場合の活性炭をとり出し、新たに水、あるいは微酸性液を加えて溶出を行なった。含窒素有機化合物の種類および反応条件によつては、この濾液中に再びもとの含窒素有機化合物が溶出されて来る場合と溶出されて来ない場合とがあることを初めて確かめた。

これらの結果をつぎに記す。

I キノンと反応し難いもの

メチルアミン、エチルアミン、L-アスパラギン酸、グアニジン、尿素、アセトアミド、ビタミン B₁₂ (ただしビタミン B₁₂ は反応条件を苛酷にすると B₁₂-キノン混液は赤褐色に着色し一応反応したように見え、活性炭を入れて吸着させ、これを溶出した液は明らかに含窒素有機化合物の存在が確認されたが、B₁₂ の実性反応は全く認められなかつた。この事実は B₁₂ 自体は反応に与らないが、B₁₂ の分解産物はキノンと反応し、吸着され溶出もされるためと考えられる)。

II a) キノンと反応し活性炭で吸着除去され、その吸着活性炭から溶出し難いもの

アニリン、*o*-, *m*-, *p*-ニトロアニリン、ヒスタミン、インドール、*p*-フェニレンジアミン、ビタミン B₁、ビタミン B₂、グリコロール、グリコロールエチルエステル、L-リジン、 γ -グロブリン。

b) キノンと反応し活性炭で吸着除去され、その吸着活性炭から溶出し易いもの

ピリジン、ピペリジン、キノリン、ベンジルアミン、ストレプトマイシン。

以上の結果を検討すると、pyrogen は吸着活性炭から溶出される事実⁵⁾ にてらして、含窒素有機化合物は pyrogen と似て吸着活性炭より溶出するものが少なくなく、吸着除去、溶出の現象は pyrogen のみでないことを知り、かつ含窒素有機化合物の種類によつてキノンとの反応性がそれぞれ異なる現象が認められた。

したがつてこの反応を適当に利用すれば含窒素有機化合物と非含窒素有機化合物の分離はもちろん、二種の含窒素有機化合物の混合液から所期含窒素有機化合物、例えばストレプトマイシンとヒスタミンとの混合液からストレプトマイシンのみを分離することも可能であると思う。

実 験 の 部

試料液 Table I に示した 25 種の含窒素有機化合物の 1000 γ /cc 水溶液。

キノン類 *p*-ベンゾキノン mp 115~115.5°, α -ナフトキノン mp 123°, クロラニル mp 285°, いずれも乳鉢で細末にして用いた。

含窒素有機化合物の確認法⁶⁾ 全部の試料について TBP 呈色反応²⁾ で検し、個々には実性反応として Ehrlich 反応、dinitrochlorobenzene 反応、Dragendorf 反応、1,2-ナフトキノンスルホン酸ナトリウム反応、MeI と 1,2-ナフトキノンスルホン酸ナトリウム反応、坂口反応、Maltol 反応、ジアゾ反応、Phenylene Blue 反応、CuCl₂ 反応、チオクローム反応、螢光反応、fluorescein chloride 反応、 β -ナフトール反応、松材反応等を用いた。また紫外部可視部吸収スペクトルも用いた。

3) 水口、鈴木、松本：工化 60, 914(1957).

4) 松本：薬剤学 20, (4), 34(1960),

5) 鈴木：本誌 74, 90(1954).

6) F. Feigl: "Spot Tests," vol. II, 4th (1956), Elsevier Publishing Co.

船久保：“有機化合物確認法”下巻(1954)養賢堂；藤井：“生化学実験法”定性篇(1948)南山堂、など

1) 含窒素有機化合物とキノンとの反応 各試料液 100 cc にそれぞれ *p*-ベンゾキノン細末 0.5 g を加え、浴温 60~65° で原則として未反応の含窒素有機化合物が検知されなくなるまで反応させた。なおアニリンについては *p*-ベンゾキノンの外に α -ナフトキノン 0.7 g あるいはクロラニル 1.0 g を用い、 γ -グロブリンについては α -ナフトキノン 0.5 g を用いて上記実験同様に行なった。

2) 含窒素有機化合物とキノンとの反応物の吸着除去 前項の各試料のキノン反応液 50 cc に活性炭 1~2 g を加え、時々振盪しつつ、室温で 15 min 放置後、濾過して無色透明の濾液を得た。この処理濾液について所定の TBP 呈色反応および実性反応を試みた。

Table I. Reaction of Various Organic Nitrogen Compounds with Quinones
(Adsorption of these reaction products by and desorption of the original substance from activated carbon)

Org. N compds. used	Quinone ^{a)}	Duration (hr.)	Reaction solution	Detection of org. N compds.			
				Filtrate separated from carbon	Eluate solution from carbon		
					H ₂ O	0.01N HCl	0.1N HCl
Aniline	B	3	—	—	—	—	—
	N	5	—	—	—	+	+
	Cl	5	+	—	/	/	/
<i>o</i> -, <i>m</i> -, <i>p</i> -Nitroaniline	B	5	—	—	—	—	—
Benzylamine	B	5	—	—	±	+	+
<i>p</i> -Phenylenediamine	B	3	—	—	—	—	—
Pyridine	B	5	—	—	+	+	+
Piperidine	B	5	—	—	—	+	+
Quinoline	B	5	—	—	—	—	+
Indole	B	5	—	—	—	—	—
Histamine	B	5	—	—	—	—	—
Methylamine	B	10	+	+	/	/	/
Ethylamine	B	25	+	+	/	/	/
Glycocoll	B	15	—	—	—	—	—
Glycocoll ethyl ester	B	3	—	—	—	—	—
L-Lysine	B	10	—	—	—	—	—
L-Aspartic acid	B	50	+	+	/	/	/
Vitamin B ₁ ·HCl	B	5	—	—	—	—	—
Vitamin B ₂	B	5	—	—	—	—	—
Vitamin B ₁₂	B	5	—	—	/	/	/
Streptomycin·H ₂ SO ₄	B	5	—	—	+	+	/
γ -Globulin	B	3	—	—	—	—	—
	N	5	+	/	/	/	/
Guanidine carbonate	B	35	+	+	/	/	/
Urea	B	15	+	+	/	/	/
Acetamide	B	15	+	+	/	/	/

a) B=*p*-Benzoquinone, N= α -Naphthoquinone, Cl=Chloranil

Table II. Elimination of Histamine from Streptomycin and Histamine Mixture by the Quinone-Carbon Treatment

Identification	Solution for elution	
	H ₂ O	0.01N HCl
TBP reaction	+	++
Diazo reaction	—	—
Sakaguchi reaction	++	+
Maltol reaction	++	+

3) 吸着活性炭より原物質の溶出 上記 2) に用いた吸着活性炭全量を採り、蒸留水、あるいは 0.01N HCl、または 0.1N HCl 50 cc を加え、60°, 3 hr 時々振盪しつつ加温後濾過し、無色の溶出液を得た。この溶出液について所定の TBP 呈色反応およびそれぞれの実性反応を行なった。またアニリン、ビリジン試料の場合の溶出液について UV スペクトルを測定して確認した。

4) ストレプトマイシンとヒスタミン混合液からストレプトマイシンの分離 ストレプトマイシン·H₂SO₄ 溶

液 (1000 γ /cc) 60 cc とヒスタミン・HCl (1000 γ /cc) 60 cc との混合液に *p*-ベンゾキノ 0.3 g, あるいは α -ナフトキノ 0.3 g を加え, 60°, 5 hr 加温後, 3) の場合と同様に処理して得られた溶出液についてそれぞれの実性反応を行なった。その結果 Table II に示すように溶出液中にはヒスタミンは見られず, ストレプトマイシンのみが存在することを認めた。

終りに御校閲御指導を賜わった東京大学 野上教授, 御指導御鞭撻を賜わった東京工業大学 水口教授, ならびに鈴木博士に深謝いたします。

東京工業大学資源化学研究所水口研究室, 田辺製薬株式会社東京研究所

UDC 612.54 : 615.417.2-012

61. 松本昌次：Pyrogen 除去に関する研究 (第4報^{*1}) キノン-活性炭処理
による Pyrogen 除去の反応機構

Shoji Matsumoto: Studies on the Removal of Pyrogen. IV. Mechanism
of the Removal of Pyrogen by Quinone-Carbon Treatment.

(Research Laboratory of Resources Utilization, Tokyo Institute of Technology,^{*2}
and Tokyo Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.^{*3})

Elucidation of the reaction mechanism of quinone-activated carbon treatment was attempted in order to establish fundamental conditions for complete elimination of pyrogen by such a treatment.

Reaction of pyrogen and quinone, and experiments on adsorption and desorption of the reaction product by activated carbon were carried out with ribonucleic acid, having similar nature to pyrogen, and pyrogenic sodium alginate injection as test samples. It was thereby revealed that pyrogen (P) and quinone (Q) formed a reversible compound (PQ) like a molecular compound at the initial stage of the reaction and that this compound changed into an irreversible compound PQ like a condensation compound. This was confirmed mainly through the adsorption-desorption curve of these compounds on activated carbon and a reaction sequence illustrated in Chart 1 was presumed.

(Received September 15, 1959)

キノ-活性炭処理による pyrogen 除去については, 今までその反応機構は明らかにされていないにもかかわらず, その効果があることはすでに第1報¹⁾で報告した通りである。

さらに著者はキノ-活性炭処理による pyrogen 除去の反応機構を究明する一助として, 25 種の含窒素有機化合物に対して本反応を適用した結果, 多くの含窒素有機化合物はキノと反応した後活性炭に吸着除去されることを確認し, またその際含窒素有機化合物の種類あるいは条件の如何により, 吸着活性炭から含窒素有機化合物溶出の有無が一樣でない事実^{*1}をも見出した。

今まで pyrogen 除去に関するキノ活性炭処理の反応機構としては, まず pyrogen とキノとが反応して両者の結合物が生成し, それが活性炭に吸着除去されて, pyrogen は溶液中に來なくなると簡単に考えていた。²⁾ところがその後同一試料で行なつた pyrogen 除去操作において, 多くの場合 pyrogen は完全に除去されるが, ある場合には溶液中に pyrogen が検出されることがあることをしばしば見出した。この現象はこれまでの考え方では説明できなかった。

その後著者はたまたまキノ処理後の活性炭吸着の処理時間, すなわち反応液と活性炭との接触時間と溶液中に pyrogen を見出すことは関係があることを見出した。すなわち活性炭と反応液との接触時間が短い方がかえ

^{*1} 本研究は「キノ処理による含窒素有機物の除去ならびに分離に関する研究」および「無発熱性医薬品の製造に関する研究」の一部である。第3報：本誌 81, 274(1961)。

^{*2} Ookayama, Meguro-ku, Tokyo.

^{*3} Shimotoda, Toda-machi, Saitama-ken.

1) 松本：薬剤学 20, (4), 34 (1960)。

2) 鈴木：本誌 74, 90(1954)。