本実験に御指導を賜った恩師東京大学薬学部 石館守三教授ならびに中外製薬 龍居五郎研究所長に謹謝します。なお実験に協力された大久保一衛氏に感謝します。

また実験に東京大学放射性同位元素総合研究室を使用させて戴いたので併せて感謝します。

中外製薬株式会社研究所

UDC 615.783.1 : 547.94 : 543.544.4

郡 定之, 河野通文: 分配クロマトグラフィーによるアヘンアルカロイドの分離定量
(第5報^{*1}) コデインとヒドロコデインの分離定量

Sadayuki Kori and Mitihumi Kono: The Chromatographic Analysis of
Opium Alkaloids. V. Quantitative Separation of Codeine
and Hydrocodeine from their Mixture.

(Osaka Plant, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.*²)

Chromatographic separation of a combination of codeine and hydrocodeine was attempted in continuation of earlier works on codeine and ephedrine, codeine and methylephedrine, hydrocodeine and ephedrine, hydrocodeine and methylephedrine, and ephedrine and methylephedrine^{*1}. The two bases were found to be separated quantitatively by the partition column chromatography over Celite, using phosphate buffer of pH 6.4 as the stationary phase and benzene-acetone mixture (50:1 by volume) and chloroform as the mobile phase.

(Received August 28, 1960)

コデイン (C), ヒドロコデイン (HC), エフェドリン (E) およびメチルエフェドリン (ME) の4種のアルカロイドにつき, 2成分ずつの組み合わせを作ると, (i) C+E, (ii) C+ME (iii) HC+E (iv) HC+ME (v) E+ME (vi) C+HC の6通りとなる。このうち (i)~(iv) の組み合わせは家庭麻薬製剤などの処方によくみられるもので, 第4報^{*1} で分配クロマトグラフィーを用いる分離定量法を述べた。しかし前報の分離条件 (固定相: pH 5.3, 移動相: クロロホルム) では, 溶離曲線から明らかな通り, エフェドリンとメチルエフェドリンおよびコデインとヒドロコデインは互いに重なり合つて定量的分離は困難である。

このうちエフェドリンとメチルエフェドリンについては, 著者等が別に報告¹⁾ したように固定相: pH 6.3, 移動相: クロロホルムの条件ですでに分離は可能である。

本報ではこれら4成分の分離を完結するため, 残る組み合わせのコデインとヒドロコデインにつき分配クロマトグラフィーによる分離条件を検討することとした。

まず第4報の分配係数の測定結果から, 各種溶剤のコデインとヒドロコデインに対する分離能を推定すると, クロロホルム, ベンゼン, 四塩化炭素, テトラクロロエタン, メチレンクロライドおよびトリクロロエタンはほぼ同程度 ($\log K$ の差 0.4~0.6), エーテル, 石油ベンジンではやや劣るものと思われる ($\log K$ の差約 0.2)。

つぎにこのうち2~3の溶剤を用い, 両アルカロイド別々にクロマトグラフィーを行ない, それぞれ単独の溶離曲線を作製してみた。その結果は Fig. 1 に示す通りでクロロホルム, ベンゼン, エーテルのいずれの場合も両者の溶離曲線が重なり分離ができない。そこでベンゼンにアセトン少量を添加し, コデインの tailing を抑えることにより分離の改良を試みたところ, ベンゼンのみの場合に比しコデインの溶離はシャープになつたが, なお分離は充分とはいえない。一般に溶離の始まる点およびその極大の位置は試料量が大きくなるほど前進するが, 溶離の終点は試料量にほとんど関係がない。したがつてさきに溶出するコデイン量を加減しても分離効果の向上はそれほど期待できない。それでヒドロコデイン量を 10 mg に抑ええ実験を試みたところ, はじめて両者の完

*1 第4報: 本誌 81, 728(1961).

*2 Ebie-kami 2-chome, Fukushima-ku, Osaka.

1) 本誌 81, 166(1961).

Fig. 1.
Elution Curves under various
Conditions

Celite : 15 g. Buffer : 5 cc.

Sample : 20 mg. (* 10 mg.), at 20°

- pH 5.0 Solvent : CHCl_3
- - - pH 7.0 Solvent : Et_2O
- · - · pH 6.4 Solvent : benzene
- pH 6.4 Solvent : benzene
+ Me_2CO (50 v : 1 v)

全分離をみた。しかし定量を目的とする分離には、ヒドロコデインの溶離範囲をさらにせばめることが望ましいが、このためコデインの溶離が終わったところで移動相をクロロホルムに替えて溶離を行なうと、Fig. 2 のように短縮できた。しかしその溶離曲線ははなはだ不規則な形を呈し、同一条件で行なつた実験の結果も一致しない。このような乱れの原因は移動相の切り替えのとき生ずる急激な濃度勾配にあるものと考えられる。事実 *gradient elution* の装置²⁾ を用いて展開剤の組成を連続的に変化させて溶離を行なうと、Fig. 3 のように対称性のよい溶離曲線となる。

コデインとヒドロコデイン—定量ずつをとり混合して標準試料を作り、実験の部の分離操作により分離を行な

Fig. 2.
Chromatogram of a Mixture of
Codeine and Hydrocodeine
by Stepwise Elution

Fig. 3.
Chromatogram of a Mixture of
Codeine and Hydrocodeine
by Gradient Elution

↓ Beginning of gradient elution.
Benzene-acetone mixture (50 v : 1 v)
and chloroform in increasing amount
were used as mobile phase.

い、非水滴定法で定量してそれぞれの回収率を求めた結果は Table I に示す通りであつて、定量のための分離法としては *stepwise elution* で充分良い成績が得られることがわかる。

Table I. Recovery Test on Control Samples

Added		Recovered			
Codeine (mg.)	Hydrocodeine (mg.)	Codeine (mg.)	Codeine (%)	Hydrocodeine (mg.)	Hydrocodeine (%)
10.9	10.6	10.9	100.0	10.5	99.1
10.5	10.1	10.5	100.0	10.1	100.0
10.7	10.5	10.6	99.1	10.1	97.1

実 験 の 部

試料および試薬 第4報^{*1}に同じ。

カラムの調製 精製した Celite 15 g に 1M リン酸緩衝液 (pH 6.4) 5 cc を加えてよく混合, 外筒管を有するクロマト用管 (内径 16 mm, 長さ 330 mm) にベンゼン・Me₂CO (50 v : 1 v) を用いて湿式法により詰め, 上辺を汚紙片で押さえる。

分離操作 試料約 20 mg をベンゼン・Me₂CO (50 v : 1 v) 少量に溶かし, カラムの上端に添加, 管の内壁を同じ混液で数回洗う。移動相は前記混液 130 cc, ついで CHCl₃ を用い, 1.5 cc/min の速度で溶離。溶離液は初めの 60 cc を捨て, つぎの溶離液 90 cc (コデイン) およびこれに続く溶離液 90 cc (ヒドロコデイン) を別々の容器に集める。操作中外筒管に 20±1° の水を通しカラムを恒温に保つ。

滴定 各溶離液はビーカーに移し水浴上で注意して蒸発乾固, 残留物を約 80° で 15 min 乾燥。冷後 AcOH に溶かし 0.01N HClO₄ で滴定 (指示薬: クリスタルバイオレット試液)。

0.01N HClO₄ 1 cc = 2.994 mg コデイン (C₁₈H₂₁NO₃)

= 3.014 mg ヒドロコデイン (C₁₈H₂₃NO₃)

終わりに本研究に当たり, 御指導を賜わった京都大学 宇野教授, 御激励いただいた加藤支店長, 檜山工場長に深謝します。

大日本製薬株式会社大阪工場

UDC 577.164.1

綾田 渙: Carnitine の研究 (第2報^{*1}) *d*- および *l*-Carnitine Hydrochloride の合成^{*2} ,

Akira Ayada: Studies on Carnitine. II. Synthesis of
d- and *l*-Carnitine Hydrochloride.

(Osaka Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.*3)

Resolution of *dl*-(2-hydroxy-3-cyanopropyl)trimethylammonium chloride (III) was carried out with *d*-tartaric acid or dibenzoyl-*d*-tartaric acid, and dextro- and levo-rotatory compounds of (III) were obtained. Hydrolysis of these optically active (III) with conc. hydrochloric acid by heating in a boiling water bath afforded the corresponding *d*- and *l*-(2-hydroxy-3-carboxypropyl)trimethylammonium chloride (VII). Of these, the levorotatory (VII) was found to correspond to the hydrochloride of natural carnitine (VIII). Infrared spectra of these compounds are given.

(Received September 2, 1960)

l-carnitine (ビタミン B₁₂) は昆虫 *Tenebrio molitor* の発育因子として注目された化合物であるが生物組織中に広く存在する点から見て生物の代謝に重要なものと考えられる¹⁾。本合成研究はすでに Tomita^{2,3)}, Bergmann⁴⁾, Carter⁴⁾, Engeland⁵⁾, Strack⁶⁾ 等によつて行なわれたものであるが著者もまた本化合物に興味を持ち carnitine (VIII) の hydrochloride と考えられる (2-hydroxy-3-carboxypropyl)trimethylammonium chloride (VII) (carnitine hydrochloride と略) の合成法の検討を行ない *l*- および *d*-(VII) を合成した。合成法は Chart 1 に示すようにまず Culvenor⁷⁾ 等の方法にしたがつてエピクロルヒドリン (I) と NaCN より 3-hydroxy-4-chlorobutyronitrile (II) を合成し, ついで Engeland⁵⁾, Strack⁶⁾ 等の方法にしたがつて (II) とトリメチル

*1 Part I: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) に投稿中。 *2 本研究は第 80 回日本薬学会年会に報告 (1960)。

*3 Kashima-cho, Higashi-yodogawa-ku, Osaka. 1) 深野: ビタミン 7, 317(1954)。

2) M. Tomita: Z. physiol. Chem., Hoppe-Seyler's 124, 253(1923)。

3) M. Bergmann, E. Brand, F. Weinmann: Ibid. 131, 1(1923)。

4) H. E. Carter, P. K. Bhattacharyya: J. Am. Chem. Soc. 75, 2503(1953)。

5) R. Engeland: Ber. 43, 2705(1910). 6) E. Strack, H. Röhnert, I. Lorenz: Ber. 86, 525(1953)。

7) C. C. J. Culvenor, W. Davies, E. G. Haley: J. Chem. Soc. 1950, 3123;

R. Rambaud, M. M. Vessiere: Bull. soc. chim. France 1956, 783。

8) M. Tomita, Y. Sendju: Z. physiol. Chem., Hoppe-Seyler's 169, 263(1927)。