

非バルビツール酸系睡眠剤 (パラミン) の 分析法について

昭和36年7月20日 受付

信州大学医学部法医学教室

(主任: 野田金次郎教授)

沼田 一 遠藤 育男

Analysis of Hypnotics (Valamin) in the non-substituted Barbituric acid

Hajime NUMATA and Ikuo ENDO

Department of Legal Medicine, Faculty of Medicine,

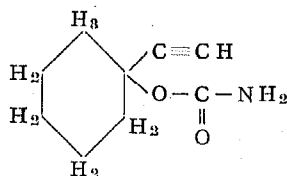
Shinshu University

(Director: Prof. Dr. K. Noda)

緒 言

睡眠剤による事故死は、近年益々増加の一途をたどり、自殺手段としてはその王座をしめている。これ等は主としてカルモチン、アダリン等のプロム尿素系、アドルム等のバルビツール酸系、次いで、パラミン、ドリデン等の非バルビツール酸系睡眠剤の順となっているが、最近非バルビツール酸系特に Ethinamate (パラミン) による中毒死例が激増し、前者をしのいで第2位を占めるにいたり、更に、本剤利用による強姦事件等犯罪事例も発生して居る事は、極めて注目に値する^{①-⑤}。

Ethinamate は次の構造を有する Urethane 系睡眠剤にして、1953年 Langecker 等により発見され、蓄積性、習慣性、嗜癖性等の作用が生じないということで登場して来た物質であり、Valamin (Schering) は、本物質を1錠中0.5g含有する製剤である。

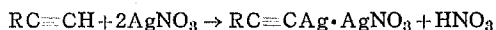


1-Ethynyl cyclohexyl carbamate

本物質については、Langecker 等により詳細に報告^⑥され、そのLD₅₀はラット及び家兎では1g/kg、犬では0.19g/kgとされているが、上野等^⑧は実際にパラミン単独服用で、死亡した人の服用量について10錠以下で死亡した例が、43例中14例(33%)即ち平均体重50kgとして0.1g/kg、平均死亡時間約10時間と

報告していることは、その薬用量1~3錠の点使用にあたつても、極めて嚴重な注意を必要とする。更にまた上村等は、パラミンによる慢性中毒例を報告^⑦し、法医学においても重要な課題となつている。

Ethinamate の測定法としては Langecker 等^⑥木村^⑨、本橋^⑩等により報告されているが、これ等は何れもエチニール化合物の銀化合物が水に不溶性であることを応用し、Ethinamate に銀塩を作用させ銀化合物として分別、この中に含まれている銀量を測定するものであり、Langecker 等は Dithizon 法により本橋はゼラチンローダニン試薬を用いて測定している。



一般に銀の定量法は、塩化銀としての比濁法、Dithizon 法、P. Dimethyl amino benzalrhodanine 法、その他の方法^⑪等が報告されているが、筆者等は、Dithizon 法中滴定法及び比色法を用いて Langecker 等の方法を追試すると共に、更に新たに鑑別及び定量法として、ワエリン硫酸試薬を用いる測定方法について考究したので報告する。

実 験

I Dithizon 法による測定法

(1) 試薬調整 ジチゾン10mgを精製四塩化炭素50ccに溶解、これに同量の稀アンモニア水(濃アンモニア水1cc+水200cc)を加え、振盪水層にあらたに同量の四塩化炭素を加え、稀硫酸にて酸性とし振盪する。四塩化炭素層を水洗後乾燥濾紙にて濾過し、滴定法にては150cc比色法にては100ccに四塩化炭素を用いて稀釈する。比色法にては使用時稀釈液20ccを

更に同様に稀釈 100cc (0.002%) とし試験に供する。

(2) 滴定法 検液 5cc を水にて 50cc 稀釈, この液 10cc を分液ロートに採取, 滴定用ジチゾン液にて滴定する。生成した黄色の銀-ジチゾン液は分離し, 水層は四塩化炭素少量を加えて洗滌, 同様操作を繰返し, ジチゾン液が緑色を呈するまで滴定する。

ジチゾン液力価: $N/100 AgNO_3$ 10cc に濃硝酸 2cc を加え, 水にて 200cc とした液 1cc を用いて同様に操作滴定し, その消費量より力価を測定する。

$N/2000 AgNO_3$ 1cc = 53.97 Ag = 41.77 Ethinamate

(3) 混色比色法 検液 25cc を分液ロートに採取, アンモニア水を用いて中和後, 硫酸 (1:1) 0.7cc を添加, 正確に 10cc のジチゾン液 (0.002%) を加え, 充分振盪後下層について 470m μ の消長を用い分光光度計にて測定を行つた。

検量線: $N/100 AgNO_3$ 10cc を水にて 50cc に稀釈した液 (1cc = 21.67 Ag = 16.77 Ethinamate) を分液ロートに夫々 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0cc を採

取水にて 25cc 稀釈した液について, 以下同様に操作し測定を行つた。

(4) 尿中よりの抽出法 (附図参照)

II Vanillin 硫酸法

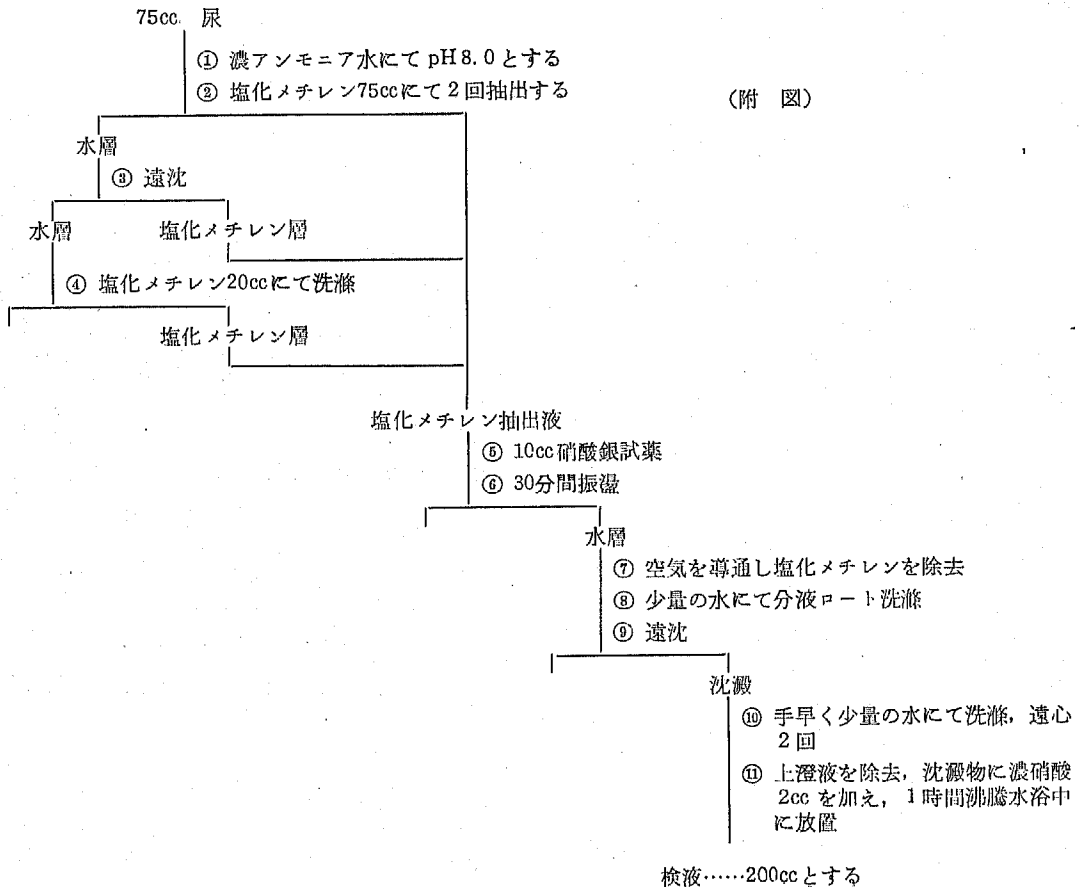
(1) 試薬調整 ワリリン 0.5g を濃硫酸 50cc に溶解する。

(2) 測定方法 試料の 10% メタノール液 1cc を正確に 10cc メスコルベンに採取, 水浴中にて発熱せざる様ワリリン硫酸試薬 2cc を壁を伝いて徐々に注加する。これを沸騰水浴中に移し, 正確に 20 分加熱後, 直ちに水浴中にて 5 分間冷却, 水にて標線近く迄稀釈, 再び 5 分間冷却後, 標線まで満たす。10% メタノール液について同様操作せるものを対照とし 530m μ にて測定する。

検量線: Ethinamate 0.25g をメタノール 50cc に溶解, この液 5cc を水にて 50cc に稀釈する。

(1cc = 5007 Ethinamate)

この標準原液を夫々 0, 2, 4, 6, 8, 10cc 採取, 10



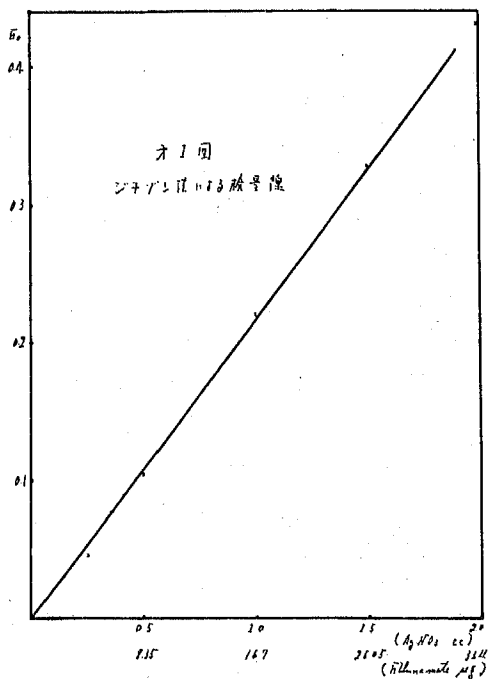
%メタノール液にて各々 10cc とした液 1cc 宛メスホルペンに採取，以下同様にして測定する。

(3) 尿中よりの抽出法 Dithizon 法と同様にして操作し得た塩化メチレン抽出液を水洗後濾過し，濾液を溜去する。残渣に一定量のメタノールを添加溶解後，この液 1cc に水 9cc を加えた液 1cc について同様に操作し測定する。

実験成績

I Dithizon 法について

Dithizon (Diphenylthiocarbazone) は，極めて多数の金属と反応しそれぞれ特有の呈色^⑩を行う。然しながら他の多くの金属と異なり，銀は pH 1.5 以上に於いて完全に反応し抽出され得る^⑩。この酸性の条件下において反応し得る金属は，水銀・銅・金・パラジウム及び2価の白金のみであり，随つて本法にてはこれ等金属については考慮する必要がなく，ローダニオン試薬が極めて不安定の点より，Dithizon 法による測定法は優れているものと考えられる。滴定法は簡易に測定し得るが，終末点が不鋭敏であり，微量の場合には比色法が適当と思はれる。(第1図)



Ethinamate 5, 10mg を夫々蒸留水に添加し，抽出法について検討を行うに第1表に示す如く比色法において良好な結果を得た。

第1表 ジチゾン法による回収率

添加量 mg	5		10	
	I	II	I	II
回収量 mg	4.84	5.07	10.19	11.20
回収率 %	99.8	101.5	101.9	112.0

II Vanillin 硫酸法について

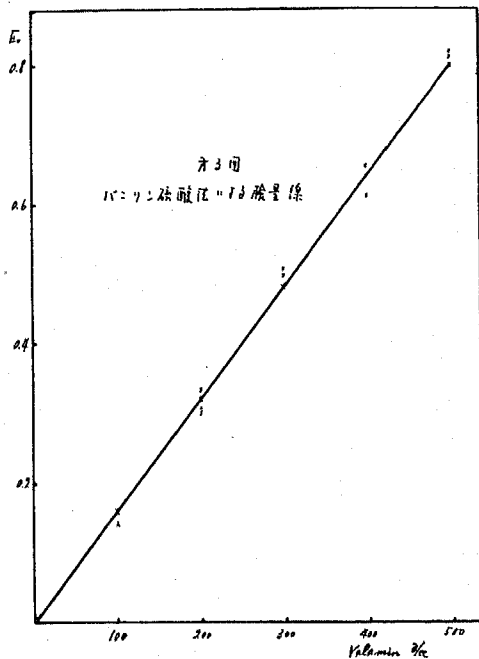
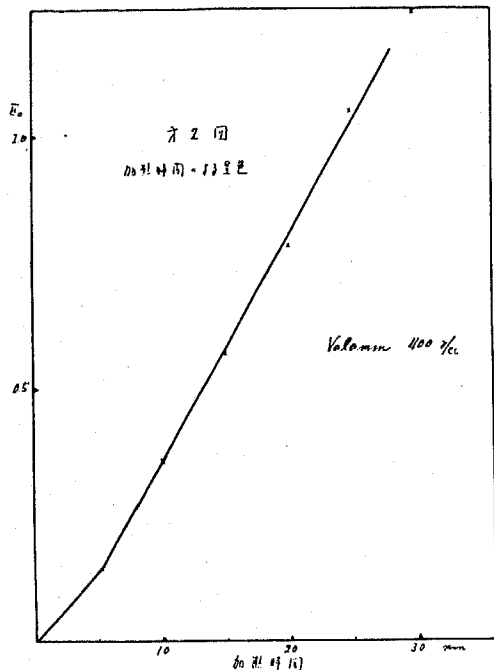
(1) Ethinamate はワニリン硫酸試薬により，加熱時褐赤色を呈し，冷後水にて稀釈するに微量にて，美麗なる紫赤色，多量にて赤紫色沈澱を生じ，液は赤色を呈する。この色調は安定にして 530m μ に最大吸収値を有する。(第4図) この呈色は加熱時間と共にその色調が増加するため，加熱時間は正確にする必要があり(第2図)，100~500 γ /cc Ethinamate の測定では20分が適当であり，且その色調は Lambert-Beer の法則に従う。(第3図)

(2) ワニリン硫酸試薬は，またバルビツール系睡眠剤とも反応し，その鑑別法として報告^⑩されているが，筆者等は試料 10mg を用いて本法による反応を試みた所第2表に示した如く特有な呈色を行い，その稀釈液について，吸収スペクトルを測定するに，夫々特有な吸収曲線を得た。(第4, 5図) 尚この色調は安定であり，本法によるバルビツール系睡眠剤定量法について更に検討中である。その他フェナセチン・アミノピリン・カフェインは陰性，アセチルサリチル酸は，加熱時橙赤色稀釈により無色であつた。

(3) 一般に法医化学的な有機毒物抽出法としては STAS-OTTO 法により分離するのが普通である。即ち試料を酒石酸々性にて，アルコール抽出して得たエキスを，エーテルを抽出溶媒として，酒石酸々性水溶液，水酸化ナトリウムアルカリ性次いでアンモニアアルカリ性にて夫々エーテル層に移行させる。Ethinamate 10mg を水 50cc に添加抽出溶媒として，エーテル並びに塩化メチレンを用い，各液性について抽出，残渣をメタノール 5cc に溶解その 1cc について測定を行うに Ethinamate は，液性に関係なく抽出され得るが，アンモニアアルカリ性塩化メチレン使用の場合，高い回収率を得た。(第3表) バルビツール系睡眠剤は，苛性ソーダアルカリ性にては，エーテルに移行しない点より，Ethinamate と分離することが可能である。

III 動物実験について

アラビヤゴムにて懸濁した Ethinamate を夫々 0.2, 0.5g/kg 宛家兎に経口的に投与観察するに



第 2 表

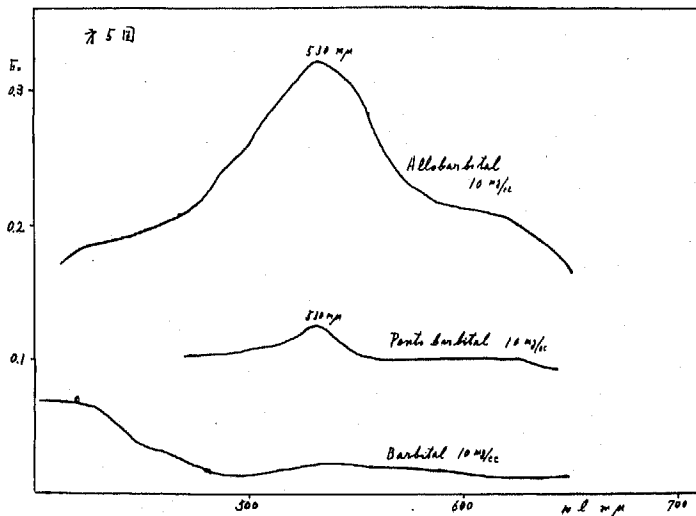
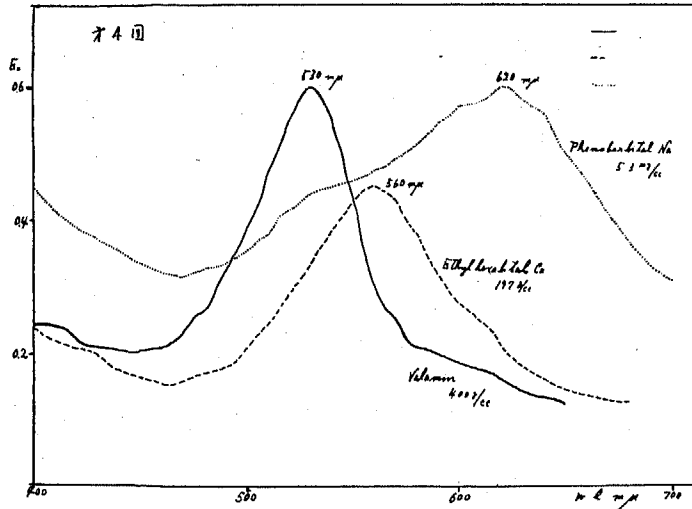
パニリン硫酸法による呈色反応

試 料	加 熱 時		稀 釈 液		群
	呈 色	鑑 別	無 色	鑑 別	
Control	帯黄赤		殆んど無色		
Brom valeryl urea	帯黄赤	—	殆んど無色	—	I
Barbital	淡紫赤	±	無色～淡黄色	±	
Ammo barbital	紫赤	+	淡紫	++	II
Allo barbital	帯褐赤	+	紫	++	
Pento barbital	紫赤	+	淡紫	++	
Thio pental	濃赤褐 (帯褐赤)	++	帯青濁濁 (無色) 芥子油臭 (芥子油臭)	+++	III
Pheno barbital	緑黒	+++	藍	+++	IV
Methyl hexabital	濃赤褐	++	紫色・沈澱	++	V
Ethyl hexabital	濃赤褐	++	紫色・沈澱	++	
Valamin	濃褐赤	+++	赤色・赤紫沈澱	+++	VI

第 3 表

パニリン硫酸法による回収率

溶 媒	液 性	酒 石 酸 々 性 (pH 1.8)	苛性ソーダアルカリ性	アンモニアアルカリ性 (pH 8.0)
エーテル		79.37 %	73.81 %	90.91 %
塩化メチレン		86.36 %	81.82 %	92.42 %



第 4 表。 バラミン投与家兎の尿中排泄量

No.		I	II	III			
家兎重量	kg	2.85	2.55	3.3			
バラミン投与量		0.57 g (0.2 g/kg)	1.28 g (0.5 g/kg)	1.65 g (0.5 g/kg)			
尿量(24時間)	cc	110	60	220			
回収量	ジチゾン法	5.12mg	0.90%	3.69mg	0.29%	7.72mg	0.46%
	バニリン硫酸法	10.56mg	1.85%	5.80mg	0.45%	15.84mg	0.96%

0.2g/kg には 4 時間後に覚醒 0.5g/kg には 2 例とも弊死した。各々の 24 時間尿について Dithizon 法及び Vanillin 硫酸法にて測定した結果は第 4 表に示

した如く、Ethinamate としての排泄量は極めて少なく、またバニリン硫酸法は、ジチゾン法に較べて何れも高値を示した。

結 論

1) Ethinamate の測定法中銀化合物による方法にては、Dithizon 法による比色法が適当と認められた。

2) ワニリン硫酸試薬は Ethinamate と加熱時特異的に反応し、その稀釈液の色調は 530m μ に最大吸収値を有し 100~500 γ /cc の範囲に於いて直線を示し、簡易定量法として測定し得る。

抽出法として、アンモニアアルカリ性塩化メチレン使用が適当と認められた。

3) ワニリン硫酸試薬は、バルビツール系睡眠剤と特異な呈色反応を示した。

4) Ethinamate 投与家兎の尿中排泄量は、ヂチゾン法では、投与量の1%以下、ワニリン硫酸法では2%以下にして、後者は前者に較べて何れも高値を示した。

本研究の一部は文部省科学研究費(総合研究班)によつた。ここに記して感謝の意を表する。

文 献

- ①吉村三郎:中毒と其の処置 p.265 (昭32) ②朝倉了:日本法医学雑誌 12 448 (昭33) ③上野正吉・百瀬隆人:日本医事新報 No.1805 19 (昭33)
 ④桑島直樹・広瀬一郎・菅原 皓:第45次日本法医学会総会 (昭36) ⑤船尾忠孝:第45次日本法医学会総会 (昭36) ⑥Langecker, Schumann, Junkmann: Arch. exper. Path. Pharmac. 219 130 (1950) ⑦上村忠雄・上条知四夫・竹内輝博:日本医事新報 No.1879 10 (昭35) ⑧木村武司:科学と捜査 11 (1) 10 (昭33) ⑨衛生化学 6 (1) 69 (昭34) ⑩F. D. Snell & C. T. Snell: Colorimetric Methods of Analysis II 53 (1949)
 ⑪内藤多喜夫:有機試薬による分析法 (昭23) ⑫H. J. Wichmann: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed 11 66 (1939) ⑬山村醇一:科学と捜査 7 (1) 59 (昭29)