

もって代替せられる。また酢酸アルミニウム、塩化 Cd をもっても代えられるが、この場合には呈色がやや不鮮明である。

(3) グアヤック 呈色反応は色素が触媒剤となるが、「青」または「紺」の色彩を目標とする場合、血色素の他に次に列挙する塩類が媒体となる。

KI, CdeI₂, AgNO₃, CoCl₂, Pb acetate, Na-molybdate, KMnO₄, MnO₂, CuCl, CuSO₄, K-bichromate K-chromate, Ferro-chloride, Ferri-chloride, Ferro-sulfate, Ferro-Ammon-citrate, 黄血塩、赤血塩、Alumen-Ferricum これらのうち AgNO₃, KMnO₄, CuCl, Ferri-chloride 黄血塩、赤血塩、Alumen-Ferricum などは H₂O₂ などの酸化剤を必要としない。

(4) グアヤックの呈色反応には水素イオン濃度が関係

する。グアヤック呈色反応の典型的な色彩である「紺」または「青」は PH4.2 からまでの間にある(酢酸亜鉛との複合体について)。それ以外の PH では緑色または黄色が現われるが故に判定上注意を要する。

文 献

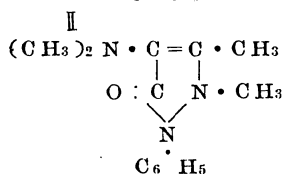
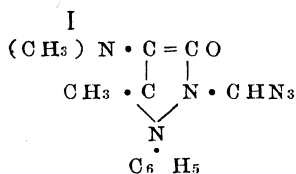
- (1) Lye and Cutman: J. Biol. Chem. 33: 1, 1918
- (2) 児玉栄一郎: 秋田県衛生研究所報、第 1 輯、昭和 29 年度同誌、第 2 輯、昭和 29 年度
- (3) Hawk, P. B and Bergeim, O.: Practical physiological Chemistry, 10ed, 1931
- (4) 柿内三郎: 実験生化学, 1931

★ ピラミドン試験法の発色について ★

児 玉 栄 一 郎

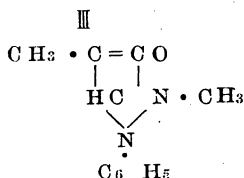
I 緒 言

ピラミドン試験法は Théverson-Rolland 氏試験法とも言われ、臨床上血液または血色素の存在を証明するために用いられている。Pyramidon は現在 Aminopyrin と言われ、解熱作用と共に鎮痛作用が著しいため臨床上欠くべからざる薬品であるが、ベンチジンやグアヤック樹脂などと異り、薬品戸棚から引き出して簡単に役立てることができる利点がある。このピラミドンは化学的に dimethylamino-antipyrin で、次に示す構造式が与えられている(I または II)。



Antipyrin は 1—phenyl—2, 4—dimethy —3—py—

razolon (III) で、ピラミドンはアンチピリンよりメチル基が 2 回多いだけの差で、そのメチル基の 1 個がピラツオロン核の 5 の位置の水素と置換されただけである。



Antipyrin は水にもエタノールにも溶解するがこの溶液について後で述べるような方法で呈色反応を試るとき、血色素に対してピラミドン液の如

く「青色」または「堇色」を呈することがないのである。なお既に報告(1)(2)したようにベンチジンについて「青」発色を目標とする場合、触媒剤としては血色素のみならず、諸種の金属塩にも触媒作用のあるものがあり、臨床検査上紛らわしいことがあることを述べておいたが、ピラミドン試験法ではかかる事情がないかどうかについて次の実験を企てた。

II 実験方法

実験に使用した材料並びに実施方法は次に示すとおりである。

- (i) ピラミドン液…………… 2 g ピラミドンを % エタノール 100ml に溶解す。

- (ii) 氷酢……………化学用氷酢
 (iii) 過酸化水素……………30%液
 (IV) 塩類液……………諸種金属塩は1%水溶液とし、難溶のものは刀尖で微量を投じた。1%水溶液で濃すぎるものは適宜稀釈して用いた。なお血色素液は赤血球を Ag, dest、で溶血せしめ、その濾液を使用した。
 (V) 実施方法……………ピラミドン液 2.0ml を試験管にとり、次に駒込ピペットで氷酢酸を滴、次に過酸化水素を2滴加えて振盪混合、その後に塩類液を1~2滴投じ、出現する色彩を観察した

Ⅱ 実験成績

ピラミドン試験法が陽性なる場合は色彩が青または紺であるが、紫色の色調が強く出るとはベンチジンや、グアヤック樹脂試験と異なるところである。兎も角ピラミドン試験法の紫紺色が判別した場合を程度によって $\pm$ 、 $+$ とし、疑わしい場合を $\pm$ 、陰性の場合を一なる符号をもって表わすと次のように分けられる。

- $\pm$ …… Ferri-chloride, CoCl_2 , KMnO_4 ,
 AgNO_3 , HbCl ,
 $+$ …… Ferro—chloride, K—chromate,
 K—chromate, 鉄明礬 CuCl , CuSO_4 ,
 KCNS , ZnSO_4 ,
 $\pm$ …… K—Ferricyanate, K—Ferrocyanate,
 Alumen chronicum, FeSO_4 , MnO_2 ,
 $-$ …… Fe—phosphate, Fe—Ammonium citrate,
 KI , Pb—acetate , Ammonium molybdate
 Mn sulfate , CdCl_2 , Tin—chloride, NaCl
 KCl , CaCl_2 , $(\text{NH}_4)\text{Cl}$, $(\text{NH}_4)_2$,
 CO_3 , KBr , $(\text{NH}_4)\text{NO}_3$, MgSO_4 ,

成績は以上のとおりであるが、すなわちピラミドン法は血色素についてのみ色彩反応が陽性（青紫色）となり得る唯一のものではないので、従ってもしも検体にこの方法で陽性となる物質が紛れて混在する場合には勿論陽性ということになるのであるから、これらのことを一応考慮しておく必要があると思う次第である。

Ⅲ ピラミドン法と水素イオン濃度

次にピラミドンの色彩反応には水素イオン濃度を考慮する必要があるかどうかについて実験を重ねた。

ピラミドンは2%エタノール液、酸化剤としては30% H_2O_2 水、触媒体としては血色素を使用した。反応体液のPH値を変えらるためにはN/10 HCl 、N/10 NaOH を使用した。水素イオン濃度は酸化剤及び触媒体を加え

る以前にPH紙（東洋濾紙会社）をもって測定した。なおピラミドンの2%エタノール液はPH値が5.6~5.4であった。その成績は第1表に示すとおりである。

すなわちピラミドン試験法ではピラミドン液のPH値が5.2以下にある場合呈色が明確である。この反対にN/10 NaOH などをもってPH値を5.6以上に導くときは全然呈色がない。

なお実験上の差異であるが、ピラミドン液をより酸性にする場合 HCl 液を使用する時はPH 4.2またはそれ以下となると触媒体の有無に拘らず、 H_2O_2 を添加するのみで青紫色を呈して来る。また H_2SO_4 液では過酸化に素のみで呈色することはないが、 HNO_3 液では黄色水着色し、呈色反応も弱い。また H_3PO_4 液の場合には着色はないが硝酸同様反応が弱い。しかし酢酸酸性の場合はPH値が4.2のみならず、更に低下して、となっても H_2O_2 の添加のみで呈色することがない。従ってピラミドン試験法で酸を加える必要がある場合には酢酸を使用すべきである。

V 溶媒に無水酢酸を使用した場合

ピラミドンは酒精に溶解するのみならず、無水酢酸、 $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ にも溶解する。この溶液について試験すると血色素に対してエタノール溶液と同様に明確な青紫色を呈して来るのであるが、他の塩類の態度を観るとかなり異ったものがある。

すなわちCr化合物ではK—chromateでもK—bichromateでも青紫色が判別し、CO化合物(COCl_2)、Cu化合物(CuSO_4 , CuCl)でも陽性まぎれない。しかし銅化合物でも1価のものがより明確である。

Ferri-chloride、Ferro-chlorideには青紫色が現われないし、K—Ferri-cyanate、K—Ferro-cyanateでは最初僅かに緑色となるのみでやがて董色に移行し、 AgNO_3 やK MnO_4 では全然呈色がなくして白濁を生ずるのみである。 ZrSO_4 も同様である。

IV 結 論

ピラミドン試験法は血色素の定性に優秀な試験法であるが、臨床検査上

第1表 ピラミドン発色試験と水素イオン濃度との関係

PH	色 彩
5,6	青 紫 (+)
5.2	" (H)
4.8	" "
4.6	" "
4.4	" "
4.2	青 紫 (H)
4.0	" "

次の諸点を考慮する必要がある。

(i) 反応が陽性(青または青紫呈色)なるためには色素のみならず、次の塩類も触媒的に働き、陽性となり得る。

(a) Ferri-chloride, CoCl_2 , KMnO_4 , AgNO_3 ,
Ferro-chloride, K-chromate, K-bichromate,
AlumenFerricum, CuSO_4 , CuCl , KCNS ,
 ZnSO_4 ,

(b) K-Ferri-cyanate, K-Ferro-cyanate, Alumen-chromate, MnO_2 ,

以上のうち(a)群は明かで、(b)群のものは明かではなく、(±)の程度である。

(ii) ビラミドン試験法には酸の少量添加が望ましいが、鉍酸(HCl , HNO_3 , H_2SO_4)は不適當である。酢酸の添加は呈色の邪魔にならない。止むを得ず HCl を使用する場合溶液の酸度 PH 4.2以下の際は呈色してもその成績は疑わしい。

(ii) 以上と反対に PH 5.6 以上となる場合も注意を要す。色素が実存しても呈色反応が陰性に終るからである。

(iii) ビラミドンの溶媒が無水酢酸である場合にも色素に対して特異な色彩を呈するが、この場合においても Cr 化合物、CO 化合物、Cu 化合物は色素同様呈色して来る。

< ————— ★ ————— >

文 献

- (1) 児玉栄一郎：秋田県衛生研究所報、第1輯、昭和29年度
- (2) 児玉栄一郎：秋田県衛生研究所報、第2輯、昭和30年度

編 集 後 記

本年はいろいろな事情が錯綜して所報の編輯も思うように進捗しなかったのが、普通ならば4月末にはできしものが5月漸く編輯が終えたということになってまことに申訳ないこととたどお恕しをひたすら願う次第である。年間の業務を展望することができ、また足りないところに気がつくことは苦しいが、皆様のお叱りと激励の言葉を戴くことは更に嬉しい。

衛生研究所の仕事などは全く縁の下の礎石のようなも

ので、じみであり、映えないものであるが、それでいて公衆衛生の基本を受け持た、またひとりびとりの健康と治療につらなることであるから責任は重大である。褒められることまで望む訳ではないがせめて法律の基礎の上に立って歩むことができれば、困難な事柄と取組む根気も湧いて来るのではないかしら、文化国家として自負も生じて来るものではないかしら、と思う次第である。この欄を借りて日夜業務に営む所員並びに関係各位に深謝すると同時に今後も御支援の程を重ねて希う次第である。

(児玉記)