

Title	催眠薬の微量分析に関する研究(第2報) : バルビツール酸誘導体の濾紙上におけるスポットテスト
Sub Title	Studies on microanalysis of hypnotics. II. : spot test of barbituric acid derivatives on filter paper.
Author	友田, 正司(Tomododa, Masashi) 仁科, 照代(Nishina, Teruyo)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1962
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.6(1961)/7(1962) ,p.31- 34
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000006-0031

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Glycine	}	2	1	0.060	0.540	54.0
		2	2	0.084	0.756	37.9
		2	4	0.124	1.116	27.9
		2	5	0.141	1.269	25.4
		2	6	0.146	1.314	21.9
		2	8	0.155	1.395	17.4
		2	10	0.163	1.467	14.7
		3	5	0.152	1.368	27.4
		4	5	0.158	1.422	28.4

a) Converted into those of hexose.

Summary

Determination of various saccharides, albumin, and glycine by the hypiodite method was carried out and examinations were made on the effect of the quantities of sample, alkali, reaction time, and temperature. Determination was possible for D-glucose, D-galactose, D-mannose, L-arabinose, D-xylose, D-ribose, L-rhamnose, maltose, lactose, D-glucuronolactone, and L-ascorbic acid by adding 2 ml. of 0.1N iodine and 2 ml. of 0.1N sodium hydroxide to 4 ml. of the sample solution, allowing the mixture to stand at 15~30° for 20 minutes, acidification of the mixture with hydrochloric acid, and titration of residual iodine with 0.01N sodium thiosulfate. Determinable range of the sample was clarified for each of the sugars. Examinations were also made on the iodine consumption by ketoses, non-reducing sugars, albumin, and glycine. Reaction using 3 and 4 ml. of 0.1N sodium hydroxide made it impossible to determine D-mannose, D-ribose, and L-rhamnose, and iodine consumption by ketoses and non-reducing sugars also increased considerably.

催眠薬の微量分析に関する研究 (第2報)

バルビツール酸誘導体の濾紙上におけるスポットテスト

友田正司, 仁科照代

Studies on Microanalysis of Hypnotics. II.

Spot Test of Barbituric Acid Derivatives on Filter Paper.

Masashi TOMODA and Teruyo NISHINA

前報¹⁾ においてバルビツール酸誘導体の分析法として *nor*-ブチルアルコール : クロロホルム : アンモニア系, および *iso*-プロピルアルコール : クロロホルム : アンモニア系の両溶媒系によるペーパークロマトグラフィーについて検討した結果を報告し, 併せて検出試薬としては硝酸コバルト法, 硫酸銅ピリジン法, および硝酸銀法中では硝酸銀法が最も感度が優れていることを述べた. 本報ではこれらの検出試薬による方法と, その他にアルカリ噴霧後紫外線照射する方法および硝酸第2水銀試薬による方法について, 通常催眠薬として用いられるバルビツール酸誘導体の濾紙上におけるスポットテストを行ない, 各試薬の適当条件と各検体の確認限度を求めた

1) 友田, 神谷: 本年報, No. 4, 36(1958)

結果を報告する。

沔紙上における催眠薬のスポットテストについては既に塚元等²⁾の報告があり、硝酸銀法、硝酸コバルト法、および硫酸銅ピリジン法について各種の催眠薬の確認限度が記載されているが、著者等は検出方法によつて試薬の噴霧量が確認限度にかなり影響を与える場合とあまり影響しない場合とがあることを認め、この点についてもやや詳細に検討した。

Grieg³⁾は0.5*N*水酸化ナトリウム液を噴霧し風乾後紫外線照射によりバルビツール酸を検出している。この方法により水酸化ナトリウム液の噴霧量を変えて風乾後の沔紙を暗室で紫外線照射し、紫色のスポットとして観察される各検体の確認限度および最も高い鋭敏度を示した時の水酸化ナトリウム液の噴霧量を Table I に示す。

Table I. Confirmable Minimum and Suitable Amount of Reagent with UV Method.

Sample	Confirmable Minimum. (μ g)	Most Sensitive Amount of 0.5 <i>N</i> -NaOH (μ l/cm ²)
Barbital	0.15	0.2 ~ 5
Phenobarbital	0.15	0.2 ~ 5
Allobarbital	0.3	1 ~ 5
Amobarbital	0.15	1 ~ 10
Pentobarbital	0.15	1 ~ 5
Ethylhexabital	0.15	1 ~ 5
Methylhexabital	0.3	0.2 ~ 5
Thiopental	0.15	0.2 ~ 5

バルビツール酸誘導体は紫外部に特有の吸収スペクトルを有し、pH 9.8~10.5で240 $m\mu$ に極大吸収、pH 13~14で255 $m\mu$ に極大吸収を示し、その定性および定量分析にも応用されている。^{4,5)}従つて水酸化ナトリウム液の噴霧は鋭敏度を高めるために必要であるが、過剰の場合はスポットがにじみ拡がる傾向がある。噴霧量が非常に少ない場合は正確な測定は困難なので、バルビタール、フェノバルビタール、メチルヘキサビタール、チオペンタールの場合はアルカリは Table I 記載より少量でもよい可能性はある。全般的にバルビツール酸誘導体の紫外線照射による検出には0.5*N*水酸化ナトリウム液の噴霧量は1~5 μ l/cm²が適当である。

バルビツール酸誘導体は硝酸銀によつて銀塩を形成し、0.05*M*硝酸銀エタノール溶液を噴霧後加熱乾燥するとバルビツール酸塩は褐色の背景に白色のスポットとして検出される。²⁾この方法で硝酸銀試薬を噴霧して定温乾燥器中100°C、15分加熱乾燥し、その直後および30分後の呈色を観察して数段階の各試薬量についての各検体の確認限度を求めた結果を Table II および III に示す。

硝酸銀試薬の噴霧量による確認限度の変動はあまりみられないが全般的に過剰は避けた方がよく、1~5 μ l/cm²が適当であるといえる。加熱終了直後より30分後の方が鋭敏度が増しているものが多い。アロバルビタールおよびメチルヘキサビタールに対する感度はやや劣るがチオペンタールに対しては鋭敏な検出法であるといえる。

2) 塚元, 吉村: 薬誌 78, 27 (1958)

3) A. Grieg: Nature 170, 845 (1952)

4) L. R. Goldbaum: Anal. Chem. 24, 1604 (1952)

5) P. M. G. Broughton: Biochem. J. 63, 207 (1956)

Table II. Confirmable Minimum ($\mu\text{g.}$) with AgNO_3 Method. (immediately after Heating.)

Amount of 0.05 M- AgNO_3 ($\mu\text{l/cm}^2$)	1	5	10	15	20
Sample					
Barbital	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Phenobarbital	5	5	5	5	5
Allobarbital	10	10	10	10	10
Amobarbital	2.5	2.5	2.5	5	5
Pentobarbital	5	5	5	5	5
Ethylhexabital	5	5	5	5	5
Methylhexabital	10	10	10	10	10
Thiopental	0.6	0.6	1.2	1.2	2.5

Table III. Confirmable Minimum ($\mu\text{g.}$) with AgNO_3 Method. (30 min. after Heating.)

Amount of 0.05 M- AgNO_3 ($\mu\text{l/cm}^2$)	1	5	10	15	20
Sample					
Barbital	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
Phenobarbital	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Allobarbital	10	10	10	10	10
Amobarbital	2.5	2.5	2.5	2.5	5
Pentobarbital	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Ethylhexabital	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Methylhexabital	5	5	5	5	5
Thiopental	0.6	0.6	0.6	0.6	1.2

バルビツール酸誘導体は硫酸銅ピリジン水溶液により紫色の錯塩の形成が認められ、また $\begin{matrix} \text{H} \\ | \\ \text{N}-\text{C}-\text{N} \\ | \quad | \end{matrix}$ 構造を有するため塩基の共存で硝酸コバルトと反応して有色錯塩を形成する。⁶⁾ 塚元等²⁾の方法によるこれらの試薬を用いた濾紙上のスポットテストについても検討し Table IV の結果を得た。

Table IV. Confirmable Minimum ($\mu\text{g.}$) with CuSO_4 -Pyridine Method & $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ Method.

Sample	CuSO_4 -Pyridine Method	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ Method
Barbital	10	10
Phenobarbital	10	10
Allobarbital	20	20
Amobarbital	20	10
Pentobarbital	20	10
Ethylhexabital	20	10
Methylhexabital	40	10
Thiopental	5	10

硫酸銅ピリジン試薬はピリジン 25% を含む 2% 硫酸銅水溶液を用い試薬噴霧直後および更に 90°C に 10 分間加熱した直後の呈色を観察したが確認限度には明瞭な差は認められなかった。バ

6) J. J. L. Zwikker : Pharm. Weekblad 68, 975 (1931)

ルビツール酸誘導体は赤紫色のスポットとして認められるがチオペンタールは黄色スポットとなる。また1%硝酸コバルト・メタノール溶液を噴霧し風乾後アンモニア蒸気にさらすとバルビツール酸誘導体は赤紫色のスポットとして認められる。これらの両試薬についても噴霧量をかえて鋭敏度に及ぼす影響を検討したが、大過剰の場合を除いては殆んど差は認められなかつた。これらの試薬では一般に沱紙に対する噴霧量は $5\sim 15\ \mu\text{l}/\text{cm}^2$ 程度が適当と思われる。

木下等⁷⁾は硝酸々性硝酸第2水銀液を噴霧後更に次亜ブrom酸ナトリウム液を噴霧してバルビツール酸誘導体の検出を行なつている。この試薬についても噴霧量と確認限度を検討した。0.5N硝酸に溶解した0.25M硝酸第2水銀溶液を噴霧し直ちに4%臭素水:N水酸化ナトリウム液:水(1:2:3)の混液を噴霧すると黄褐色地に白色のスポットとして検出される。ただしメチルヘキサビタールは黄色スポットとして認められ、またこの試薬は他の呈色試薬に比して褪色が速やかである。この場合も大過剰を除いては噴霧量は鋭敏度に影響しない。確認限度はバルビタール、フェノバルビタール、アモバルビタール、チオペンタールは $1.2\ \mu\text{g}$ 、アロバルビタールは $0.6\ \mu\text{g}$ 、エチルヘキサビタールは $5\ \mu\text{g}$ 、メチルヘキサビタールは $2.5\ \mu\text{g}$ であつた。

以上5種の検出試薬について検討した結果最も鋭敏な方法は紫外線照射法であり、アルカリの過剰噴霧を避ければ非常に微量のバルビツール酸誘導体の検出が可能である。これについて硝酸第2水銀-次亜ブrom酸法と硝酸銀法がよく、特に前者はアロバルビタール、後者はチオペンタールの検出によい。この両法では試薬量はあまり影響なく、沱紙がやや湿める程度で適当といえる。硫酸銅ピリジン試薬および硝酸コバルト試薬は全般的に感度が劣つている。

実 験 の 部

試料および器具：Barbital, Phenobarbital, Allobarbital, Amobarbital, Pentobarbital, Ethylhexabital, Thiopental は各2%エタノール溶液、Methylhexabital は2%クロロホルム溶液を原液とした。紫外線照射はManaslu-light UVS1型を使用し暗室で観察した。

操作：東洋沱紙 No. 51 に溶液を $2\ \mu\text{l}$ づつ一列にスポットし、風乾後各試薬を噴霧し既述の操作によつて確認限度を求めた。試料溶液はそれぞれの溶媒を用いて順次倍数希釈を行なつた。

Summary

Spot tests of barbiturates on filter paper with the reagents of NaOH-UV, AgNO_3 , CuSO_4 -Pyridine, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ - NH_3 , and $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ -NaBrO were examined. It was concluded that the method using NaOH-UV was the most sensitive for detection of each substance. By this method, the confirmable minimums of barbital, phenobarbital, amobarbital, pentobarbital, ethylhexabital and thiopental were $0.15\ \mu\text{g}$, and of allobarbital and methylhexabital were $0.3\ \mu\text{g}$. Next to this method, $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ -NaBrO and AgNO_3 reagents were suitable for the respective detections of allobarbital and thiopental. CuSO_4 -Pyridine and $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ - NH_3 reagents has lower sensitivity in general.

7) 木下, 森山: 薬誌 75, 795(1955)