慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

| | |
|---|---|
| Title | 螢光光度法によるクロマトグラム上の直接定量(螢光デンシトメトリー)(IV)塩酸エメチンの定量 |
| Sub Title | |
| Author | 西沢, 秀幸(Nishizawa, Hideyuki)<br>高瀬, 玲子( Ishihara, Masao)<br>石原, 政雄 |
| Publisher | 共立薬科大学 |
| Publication year | 1969 |
| Jtitle | 共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.14 (1969. ) ,p.96- 97 |
| JaLC DOI | |
| Abstract | |
| Notes | 学会講演要旨 |
| Genre | Technical Report |
| URL | https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000014-0096 |

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.

る場合には，その操作が短縮され，かつ盲螢光による測定障害が減じる筈である．一般の螢光定量法においても，これが有効手段となると思われたので，レセルピンについてこの装置を用いる螢光定量法の開発を検討した．

レセルピンの螢光定量法を[1] Bechene は抽出されたレセルピンを 5N 酢酸溶液とし過酸化水素水との加熱で生ずる螢光物質を螢光定量する方法をとっている．これに従って過酸化水素水量と加温時間を再検討し，5N 酢酸溶液 10 ml に対し 3 %過酸化水素水 0.15 ml 使用し 45 分間沸騰水浴中での加温により更に強い螢光が得られた．この方法は溶液法であるから盲螢光物質の障害を受け易く実用的には，単離操作を経ねばならない．これに薄層クロマトグラフ法による単離操作を付加するには，溶液を濃縮し，含まれている螢光物質の出来るだけ多量を定量的に薄層板上にスポットすることが必要であり，その濃縮法を検討した．

濃縮は減圧下で行ったが螢光量の減少が見られ，原因と思われる残存過酸化水素水の影響を除く為，チオ硫酸ナトリウム或はシスティン添加を試みたが成功せず結局，減圧濃縮時の水浴温度を 30°C 以下に保つことで螢光減少を見ることなく濃縮が出来た．濃縮は最終濃度を知る為乾固するまで行い，これを 0.1 ml の 5N 酢酸で溶解した液を薄層板にスポットする方法を採用した．

展開溶媒は，n-ブタノール：氷酢酸：水を 4：1：3 とした．レセルピンは Rf 値 0.55 に紫外線照射で，青色の 1 つのスポットとして検出された．

展開，風乾後の螢光値のバラツキは時間の経過と共に減少し 4.5 時間以後は安定となったが．溶媒揮散後，直ちに 110°C で 30 分間加熱すると定常状態に達することがわかった．

薄層板上に存在する物質量と螢光量の関係は，レセルピン標準溶液の発螢光操作した溶液を希釈し 1 スポット (5$\mu$l) 当り 10$\mu$g～0.01$\mu$g を塗布し，展開後測定した結果 1$\mu$g～0.005$\mu$g の間に直線関係が存在した．これより高濃度では濃度に起因する消失，又これ以下では原因不明の螢光増大が見られ定量には不適当となることがわかった．

以上の結果に基いて，レセルピンの 5N酢酸溶液に 3 %過酸化水素水 0.15 ml と，5N酢酸溶液を加えて全量 10 ml とし，45 分間沸騰水浴中で加温後 30°C 以下で減圧濃縮乾固に至らせる．これを 0.1 ml の 5N酢酸溶液で溶かして，その 5$\mu$l を薄層板上にスポットし前記の溶媒で 1.5 時間展開し，溶媒揮散後 110°C で 30 分間加熱し冷後測定することを定量法とした．これに従いメルク社製レセルピンを標準試料とし作製した検量線は 1$\mu$g～0.05$\mu$g 間で，直線関係を有し，定量法として利用出来ることを示した．又 0.05$\mu$g 以下の量と製剤中の定量については，検討中である．

1) Bechene, E.B., J.Am Pharm. Asssc., Sci. Ed. **44**, 659 (1955).

## 螢光光度法によるクロマトグラム上の直接定量 (螢光デンシトメトリー) (IV) 塩酸エメチンの定量

西沢秀幸，高瀬玲子，石原政雄

(日本分析化学会第17年会 (1968.10) にて発表)

先に試作されたスキャンニング螢光々度計は，クロマトグラム上に存在する螢光性物質の定量

を目的とするものであるが，これを用いて螢光分析の操作を簡易化することを目的として塩酸エメチンの定量を検討した．

塩酸エメチンはヨウ素4モルを消費して黄色の強い螢光を生ずることが知られ，これを利用する螢光定量法が報告されている[1]が，試料中に螢光性の物質が共存する場合の分離手段として薄層クロマトグラフ法を用い，更に直接定量する操作法については未検討である．

エメチンにヨウ素を作用させて得た螢光性溶液をクロマトプレートにイソブタノール，酢酸，水（4：2：3）の溶媒を用いて展開すると黄色のスポットと他の3ツの青色のスポットに分れるが，黄色の螢光が最も強いのでこれを測定対象とした．このスポットの現われ方は反応に使用するヨウ素の量によって変化し，ヨウ素量を増すことによって青色の螢光が減少し黄色の螢光が強まるが，ヨウ素量を著しく増した場合には黄色の螢光も減じる．しかし塩酸エメチン 0.8μg/ml エタノール溶液 10 ml に対し 0.6% ヨウ素エタノール溶液を 0.01～1.0 ml の範囲で使用し 30～60 分沸騰水浴中で還流した場合には黄色螢光の量はほぼ同一で，煮沸時間がこの範囲以上，以下では螢光が減じることが知られた．この溶液は極めて安定で一週間室温で放置してもその螢光強度は変化しなかった．薄層板にこれをスポットするには濃縮が必要とされるので，この液を減圧下に 35～40° の水浴中で乾固させ，これを 0.1 ml のメチルエチルケトンで溶解して，その 5μl を薄層板上に直径約 5 mm のスポットとし，前記溶媒により展開を行った．展開後クロマトグラム上の螢光は溶媒の揮散直後は著しいバラツキを示すが，一般的には経時的に増加し安定化に約3時間を要する．しかし展開後のプレートを 110° の恒温槽中で加温したところ，加温時間と共に螢光強度が増大し，約 15 分で安定状態に至り以後 60 分まで変化しないこと，また加温終了後約 10 分で安定化し以後3日間変化しないことが知られた．

以上の結果に従って定量条件を下記の如く定めた．塩酸エメチンのエタノール溶液 10 ml に 0.6% ヨウ素エタノール液 0.2 ml を加え，1時間煮沸後 35～40° で減圧下に乾固させ，0.1 ml のメチルエチルケトンを加えて溶解し，その 5μl を薄層板上にスポットして前記溶媒で展開後 110° の恒温槽中で 20 分加温し冷後螢光強度を測定する．

この場合，塩酸エメチン 0.02～2μg/ml の濃度間で直線的な検量線を得た．又，製剤である酸塩エメチン注射液について標準添加法で定量したところ満足し得る結果をみた．

また薄層板上にスポットとして存在する螢光量と測られた螢光量の関係については，塩酸エメチンの濃い溶液について螢光性化処理を行い，その希釈液をスポットして上記処理をして測定したところ，スポットあたり 1μg より少い範囲で直線関係が得られたが，1μg 以上を含むスポットは直線関係から外れ，濃度による消光が起きたことを示している．

1）市村陽二：分析化学，**10**，623（1961）．

## 螢光光度法によるクロマトグラム上の直接定量（螢光デンシトメトリー）（V）Estriol の定量

西沢秀幸，丸島功子，石原政雄

（日本分析学会第17年会（1968.10）にて発表）

Estriol の定量法として，螢光光度法や，ガスクロマトグラフ法によるもの等が知られている