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(VI)ベルベリンの定量
Sub Title	
Author	西沢, 秀雄(Ishihara, Masao) 佐藤, 与司子 奥津, 陽子 今井, 和子 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.98- 99
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=AN00062898-00000014-0098

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.

が，これらは，盲螢光物質の分離の為の操作が繁雑であったり，あるいは，機器のこなせる数が制約される等の問題があり，日常分析として，これを行うにあたっては，更に迅速，且つ，簡便な方法が望まれる．そこで，産婦人科系における，臨床化学的応用を目的として，妊婦尿中の estriol の定量を，薄層クロマトグラフィーにより単離を行ったのち，螢光発色し，scanning fluorometer を用いて，直接定量する方法を試みた．

①薄層クロマトグラフィーによる，尿中 estriol の単離：試料としては，常法に従って尿 1ml に，10 倍量の N-塩酸を加え，1 時間還流して，加水分解したものを，冷後 16 ml のエーテルで抽出し，エーテル層を，1 %-$NaHCO_3$ 及び，精製水で洗浄後，減圧下に濃縮，乾固し，エタノール 0.1 ml で溶解したものを使用した．試料は，その 5μl を薄層に spot し，展開させる．

抽出溶媒については，酢酸エチルエステル，クロロホルムも試みたが，共に 10% 以下の抽出率であり，エーテルでは，約 70% の抽出率であったので，結局，エーテルを使用した．

展開溶媒は，アセトン：ジクロルエタン=3：2 の混合溶液を用いた．この溶媒は，共存螢光性物質を溶媒先端付近まで移動させ，estriol の spot は，ほぼ完全に，単離される．

②発色法の検討：クロマトグラム上の estriol を定量的に螢光性にするにあたって，液体試薬をスプレーする方法は，試薬の散布量が不均一になり易く，発色条件の再現性に問題を生じ易いので，これを避け，蒸気による方法を検討した．estriol を螢光性にする試薬として，硫酸，リン酸等が用いられるが，蒸気状態で作用させる目的で，発煙硫酸，塩化ホスホリル，クロルスルホン酸等を試みた．薄層板を試薬に曝すには，15×25×30 cm の密閉できるガラス製容器中に，小容器に入れた試薬と共に，薄層板を置く方法によった．次いで，薄層板を取出し，空気循還式恒温槽中で加熱したところ，クロルスルホン酸が，最も良い結果を示した．結局，展開後の薄層板を 110°C，30 分乾燥後，同時に処理する薄層板の数に応じて，クロルスルホン酸蒸気に 5～10 分曝し，次いで，140°C で 30～40 分加熱する事により，螢光強度が最大となったが，この螢光は，経時的に退色し，不安定なので，いろいろ試みたところ，更に，アミンに曝す事によって，経時的変化が少なく，且つ一段と螢光強度が増大する事を知り，アンモニア，ジエチルアミン，n-ブチルアミンについて検討した結果，ジエチルアミン蒸気に約 30 分曝すこととした．

上記の方法を，estriol NaOH 溶液を試料として，クロマトグラムに展開したものについて試みた結果，1-spot あたり，0.125～5μg の範囲で検量線に直線関係がみられた．また，正常尿 1ml を加水分解後，estriol を添加したものについて抽出定量した場合には，添加量 2.5～100μg の範囲で直線的な検量線が得られた．これは，妊婦尿中の estriol 濃度に対比される量であって，目的を達したものといえる．

螢光光度法によるクロマトグラム上の直接定量
(VI)　ベルベリンの定量

西沢秀雄，佐藤与司子，奥津陽子，今井和子，石原政雄

(日本薬学会第89年会 (1969. 4) にて発表)

〔目　的〕　螢光々度法による定量に際して最も繁雑な操作を要する盲螢光物質の除去に薄層クロマトグラフ法を利用し，単離した目的物をクロマトグラム上で直接螢光測定する方法の開発

を目的とし，螢光性を有するベルベリンを試料として検討した．

〔実験と結果〕　オウバク末の酢酸抽出液 5μl をメルク製シリカゲル H を用い常法に従がい調製した薄層板に直径約 7mm にスポットし，イソブタノール：ギ酸：水＝20：5：2 の混合溶媒で展開し，長波長ブラックライトによって紫外線を照射したところ Rf 0.50 に黄緑色のベルベリンの螢光が認められ，他に黄緑色及び青色の螢光が測定の障害とならない部位に認められた．ベルベリン部位の螢光は室内に放置すると 4 時間以上にわたって経時的に減少するが，110°C，1 時間の加熱により安定化したので，塩化ベルベリン標準液をスポットし上記の処理をして得たクロマトグラムをスキャンニング螢光々度計（ヤマト科学製 SFR-11 型）で走査測光し，この記録のベルベリン部分のピーク面積を ベルベリン量に対して プロットして検量線を描いたところ，1 スポットあたり 0.5～0.002μg の間に直線関係が認められた．ベルベリン濃度が低い場合には試料溶液を減圧下に濃縮乾固し，これを 100μl のギ酸で溶解することにより濃縮の目的を達することができた．この方法はきわめて簡単な操作で単離と測定が可能となると同時に溶液の螢光測定の場合のような溶媒の厳密な精製が必要でないと云う大きな利点を有している．

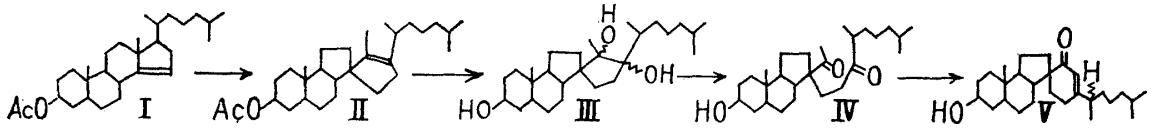
$\triangle^{14}$-Cholesten-3β-ol acetate の転位反応

伊沢弘子，片田好美，坂本由紀子，佐藤良博

（日本薬学会第89年会（1969. 4）にて発表）

〔目　的〕　$\triangle^{14}$-Cholesten-3β-ol acetate（I）は $BF_3 \cdot Et_2O$ の作用によりステロイドの骨格転位反応をおこすことを見い出したので，ここに報告する．

〔実験と結果〕　$\triangle^{14}$-Cholesten-3β-ol acetate（I）を無水ベンゼン—無酢中，$BF_3 \cdot Et_2O$ 1 当量で処理し，その生成物の カラムクロマト分離により，少量の $\triangle^{8(14)}$-Cholesten-3β-ol acetate と，油状物質（II）を 22% の収率で単離した．II は Mass, NMR, UV, IR スペクトルから I の異性体で，一つの四置換二重結合を有し，その二重結合上にメチル基を持つことが明らかとなった．II の構造決定は下式に示す如くで，II を先づ OsO_4 酸化し，ついで $LiAlH_4$



還元によりトリオール体（III）を得，III を更に $Pb(OAc)_4$ で酸化するとジケトン体（IV）mp 52.5-54° を得た．IV は NMR で τ 7.88 に吸収を持ち，アセチル基が新生したことを示す．IV は MeOH 中 MeONa で処理すると容易に 239.5mμ(ε=13,000) に吸収極大を持つ油状の α, β-不飽和ケトン体（V）を与え，その 3,5-dinitrobenzoate mp 168-170° として結晶する．

〔結　論〕　以上の反応から，II の構造は C 環が 5 員環となった spiro 体と決定できた．従って I は無水ベンゼン—無酢中 $BF_3 \cdot Et_2O$ の反応条件で C_{12}-C_{13} 結合が C_{13} 位から C_{14} 位に転位反応をおこすことが証明された．