



## 【総説】

- 「スーパーオキシドアニオン検出用発光プローブ  
“Green Chemiluminescent CD”の開発」  
寺西克倫 …… 2
- 「ビス(*p*-ニトロフェニル)リン酸アジド(*p*-NO<sub>2</sub>DPPA)」  
塩入孝之 …… 6

## 〈テクニカルレポート〉

- 「アルデヒド類捕集及び誘導体化用カートリッジのブランク値測定  
方法について(2) ガラス器具の影響」 久保田守 ……10
- 〈Talking of LAL〉  
「第59話 SLP試薬の応用(その2)」 土谷正和 ……14
- 〈生薬のはなし〉  
「シコンと紫雲膏」 守安正恭 ……12

## 【化学大家】

- 「エミール・フィッシャー」 島尾永康 ……23

## 【製品紹介】

### 有機合成

- p*-NO<sub>2</sub>DPPA …… 9  
Fluorous社 フルオラス化学関連試薬…17  
三次元パラジウム錯体 …… 18

### 生化学

- グリーンケミルミネッセント CD…… 5  
Dojindo Molecular Technologies社  
ラベリングキット…… 21

### 遺伝子

- RNAスタビライザーを用いて精製した  
Total RNAのRT-PCR増幅例 (Data) …… 22  
アポトーシス *in situ* 検出キット クロー…… 28

### 環境・分析

- プレセップ® C DNPHシリーズ …… 11  
生薬試験用標準品 …… 13  
NMR溶媒 …… 16  
イオンクロマトグラフ用標準液 …… 18  
悪臭物質測定用 アンモニア標準液II …… 19  
日本薬局方適合 生薬有効成分(標品) …… 19  
マイコトキシン試験用 バツリン …… 20

### 細胞生物

- アジキシメタン …… 20  
リポポリサッカライド …… 20

### その他

- 医薬品原薬 Add-Spec Series…… 15

## 【お知らせ】

- 「遺伝子工学用試薬カタログ・マニュアル」発行のご案内……22

## スーパーオキシドアニオン検出用発光プローブ “Green Chemiluminescent CD”の開発

三重大学生物資源学部 生物圏生命科学科 寺西 克倫

### 1 はじめに

地球の誕生から現在の歴史における酸素の蓄積は、30億年以前の水の太陽光紫外線の光分解による酸素の生成、および、その後の光合成生物である藍藻類による酸素の急激な生成が基盤となり、現在の酸素濃度が作り上げられてきた。その間に生物は多様化し酸素を電子受容体とする酸素の利用能力を獲得してきた。

酸素<sup>3</sup>O<sub>2</sub>は三重項基底状態であり反応性は低く、生物は酵素等によって活性の高い酸素に変換し、それを利用して進化してきた。活性の高い酸素には、スーパーオキシドアニオン(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)、過酸化水素(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、ヒドロキシラジカル(・OH)、一重項酸素(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)などがあり、これらは活性酸素と呼ばれ、生体において能動的には酵素反応、受動的には自動酸化反応、光による反応など様々な化学反応によりつくり出されている。活性酸素は、生物の特定器官や細胞器官において能動的に生産され生体防御などの生体制御に使われるが、生体自身への攻撃による酸素障害も引き起こされる。このため、生体は、生体制御および酸素障害という活性酸素の機能を調節するために活性酸素濃度を制御している。このような活性酸素の機能を理解するためには、活性酸素の測定が必要となり、測定には活性酸素の種類に適した方法、例えば吸光度法、ESR法、発光法などが用いられている。

著者は、活性酸素を発光法で測定するための発光剤(発光プローブ)の開発を手掛けており、その中でスーパーオキシドアニオン検出用発光プローブ“Green Chemiluminescent CD”(図1. 化合物1)を開発した<sup>1)</sup>。本総説では、“Green Chemiluminescent CD”および他の発光プローブの開発について記載したい。

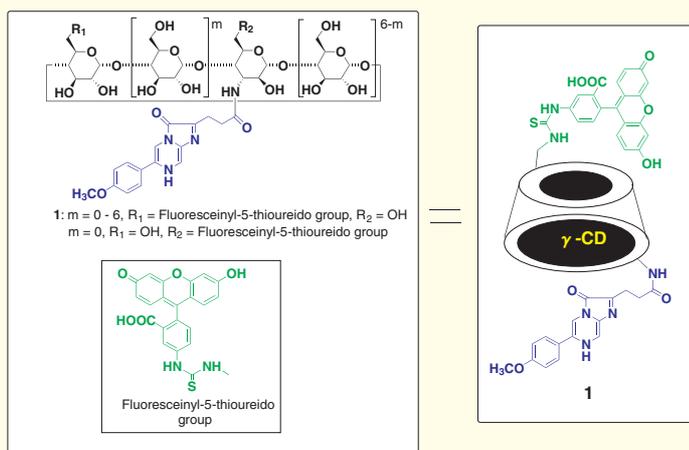


図1.

### 2 スーパーオキシドアニオン(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)の発光法による測定

発光による分析は、1) サンプルを破壊しない、2) ラジオアイソトープに匹敵、あるいはそれ以上の高感度である、3) ラジオアイソトープのように有害でない、4) 測定装置は安価である、5) 吸光度法、蛍光法のように光源を必要としない、などの利点を兼ね備えている。スーパーオキシドアニオンの発光法による測定では、ルミノールやルシゲニンなどの発光プローブが用いられてきたが、1980年代において後藤らによりイミダゾピラジノン系化合物のCLA<sup>2)</sup>およびMCLA<sup>3)</sup>が報告され、現在これらの発光プローブを用いた測定が多く報告されている。

これらのイミダゾピラジノン系化合物は、ウミホタルや発光クラゲなどの発光効率が高い生物の発光現象(生物発光)をもとに開発されたものである。ウミホタルは、発光基質*Cypridina luciferin*、酵素*Cypridina luciferase*および三重項酸素との化学反応により酸化反応が生じ、励起分子種が生成しこの分子が基底状態に緩和する際に発光が生じる<sup>4)</sup>。ウミホタルと同様に*luciferin-luciferase*反応で発光する発光ウミシイタケやヒオドシエビの発光基質は*Cypridina Luciferin*と同じイミダゾ

ピラジノン環を有する化合物(各々*Renilla Luciferin*<sup>5)</sup>、*Oplophorus Luciferin*<sup>6)</sup>と命名されている)であり、さらに、この基質は発光クラゲが持つ発光タンパク質aequorin<sup>7,8)</sup>の発光基質前駆体coelenterazineでもある。これらのイミダゾピラジノン系化合物は、酵素あるいは発光タンパク質が存在しない水溶液中でも酸化反応により発光(化学発光)をするが、その強度は著しく低い。これは、酸素との反応が遅く、さらに酸化反応によって生成した励起体の蛍光収率および一重項励起収率がさらに低いためである。後藤らは、*Cypridina luciferin*、coelenterazineの構造改変を行ない化学発光効率を高めることに成功し、スーパーオキシドアニオンとの反応においても三重項酸素と同様の化学発光が生じることを見出したのである。

### 3 シクロデキストリン結合型イミダゾピラジノン化合物

後藤らが開発したMCLAの水溶液中での発光効率をさらに高める研究が行なわれた<sup>9-16)</sup>。その中で、著者はグルコースのα-1,4結合からなる環状糖シクロデキストリンにMCLAを共有結合させることにより、三重項酸素およびスーパーオキシドアニオンに対する化学発光効率の向上に成功した。

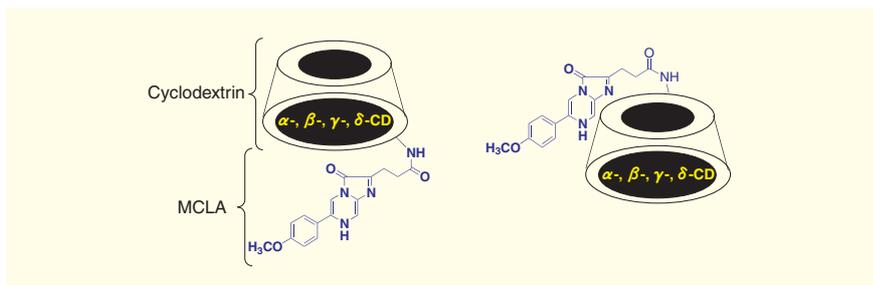


図2.

量的に実用できるシクロデキストリンには、グルコース数が6 ( $\alpha$ -CDと呼ぶ)、7 ( $\beta$ -CD)、8個 ( $\gamma$ -CD)のものがある。シクロデキストリンの分子形状は底の抜けたバケツ状であり、分子内部には疎水的な空洞が存在し分子外部は親水的となっている。グルコース数が多くなると分子内部の空洞は大きくなり、空洞の大きさに適した分子形状の疎水的分子をゲスト分子として取り込む(包接という)ことができる。

著者は、各種シクロデキストリンの空洞口の広い2級水酸基面に位置する2位水酸基の簡便な選択的スルホニル化を見出し<sup>17-19)</sup>、この化学反応を用いることにより2級水酸基面に発光分子となるMCLAを結合させることに成功した(図2)。また、空洞口の狭い1級水酸基面にもMCLAを結合させ、シクロデキストリンの種類( $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -CD)、空洞口の種類(1級水酸基面、2級水酸基面)およびシクロデキストリンとMCLAを結合させる鎖の鎖長などの分子構造と水溶液中での酸素に対する発光の発光効率との相関を検討した。その結果、 $\gamma$ -シクロデキストリンの2級水酸基面に結合した場合にMCLAの40倍以上の発光効率の向上を見出した。 $\alpha$ -シクロデキストリンに結合した場合には、ほとんど発光効率の向上はみられなく、 $\beta$ -シクロデキストリンあるいは $\delta$ -シクロデキストリンに結合した場合は約10倍の向上となった。

このようにシクロデキストリンの種類、空洞口の種類およびシクロデキストリンとMCLAを結合させる鎖の鎖長は、発光効率に大きく影響を及ぼすがど

のような機構で発光効率に影響しているのであろうか。これに対する答えは、発光スペクトル、誘起円二色スペクトルから推測できた。いずれのシクロデキストリン結合型MCLA分子では、MCLA部分は疎水的な性質でないため酸素との反応時はシクロデキストリンの空洞より離れて存在する。酸素と反応しベルオキシド分子およびそれが分裂して形成される励起アミド分子は疎水的の性質を持つためシクロデキストリン空洞に近づき包接される。この包接は、ゲスト部分の大きさとシクロデキストリンの空洞径がフィットする $\gamma$ -シクロデキストリンの2級水酸基側が良好となる。MCLAの化学発光においては、その発光場が疎水的である方が一重項励起効率が高まること示されており<sup>20)</sup>、シクロデキストリン空洞への包接は、一重項励起効率の向上に寄与したものと考えられる。なお、MCLAの化学発光においては、その発光場の疎水性は励起体の蛍光効率にあまり影響を及ぼさない<sup>20)</sup>。

#### 4 Green Chemiluminescent CD の開発

CLAおよびMCLAの極大発光波長はそれぞれ約380nm、460nmであり、光の透過性を向上させるためにさらに長波長発光を目指した。MCLA分子を $\gamma$ -シクロデキストリンの2級水酸基面に共有結合させる方法は、水溶液中での発光効率の向上に有効であることが見出されたので、次にこの方法を用い緑色の化学発光系の開発を

試みた<sup>1)</sup>。

$\gamma$ -シクロデキストリンの2級水酸基面にMCLAを、さらに1級水酸基面あるいは2級水酸基面に緑色蛍光分子であるフルオレセインを共有結合させ(次頁 図3. 化合物1,2)、MCLAの酸化反応から生ずるエネルギーをフルオレセインにエネルギー移動させる方法(Chemiluminescence Resonance Energy Transfer: CRET)を採用した。これらの化学合成した化合物の水溶液中( $1 \times 10^{-6}$  mol/L)でのキサントニンキサントニオキシダーゼ系スーパーオキシドアニオンに対する化学発光の発光効率を調べた。その結果、1級水酸基面にフルオレセインを結合させたGreen Chemiluminescent CD (1)は、2級水酸基面にフルオレセインを結合させた化合物2よりも約8倍発光効率が高く、後藤らにより開発された緑色発光を示すFCLA<sup>21)</sup>よりも約26倍発光効率が高いことが見出された(次頁 図4)。Green Chemiluminescent CD (1)の発光は、発光極大波長が約520nmであり、 $\gamma$ -シクロデキストリンを介しても良好にCRETが生ずることが見出された。

Green Chemiluminescent CD (1)は、 $1 \times 10^{-6}$  mol/L付近の濃度において、これまで多用されてきたMCLAの約4倍の発光効率を示し緑色発光でスーパーオキシドアニオンを検出できる。測定操作はMCLAの場合と同じであり、簡単にGreen Chemiluminescent CDを使用することができる。

#### 5 Green Chemiluminescent CD の発光機構

図3の化合物4に示すように2級水酸基面にフルオレセインを結合させた場合には、MCLAから生成する励起体とフルオレセインとの距離は近くエネルギー移動効率は良好であるが、励起体のシクロデキストリン空洞への包接がフルオレセインに妨害されるため、

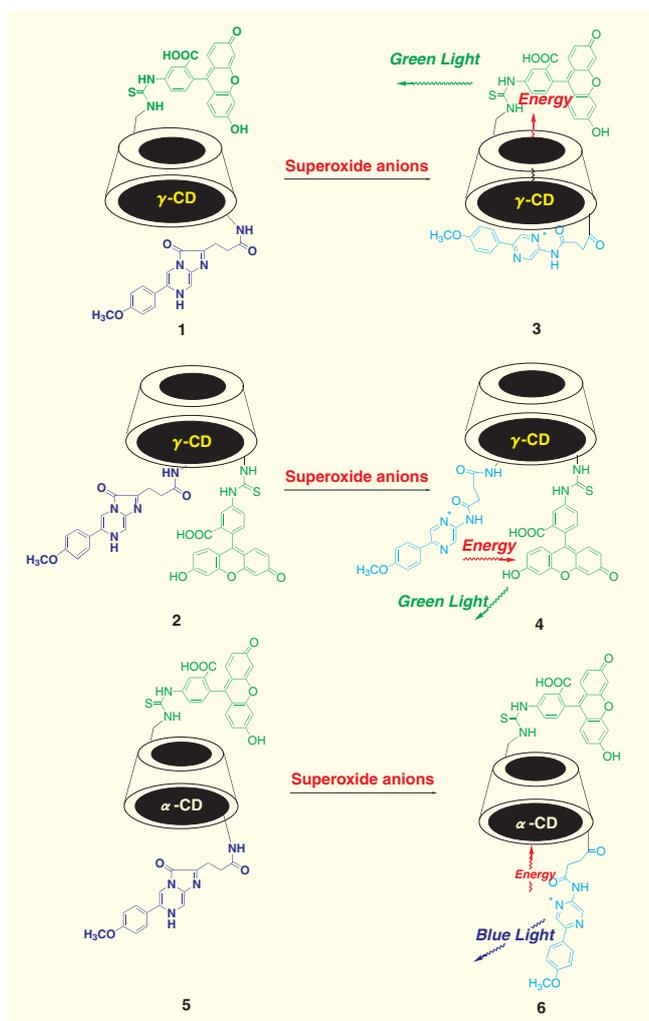


図3.

MCLAから生成する励起体の励起効率が低下するため発光効率が低いと推測された。それに対し、1級水酸基面にフルオレセインを結合させたGreen Chemiluminescent CD(1)では、図3の化合物3に示すように、MCLAから生成する励起体のシクロデキストリン空洞への包接が良好に起こるため励起効率が高く、さらに、シクロデキストリンを介してのフルオレセインへのエネルギー移動も良好に行なわれるものと推測された。

また、 $\alpha$ -シクロデキストリンを結合させた化合物5(図3)においては、発光はMCLAから生成する励起体からの青色発光が主でフルオレセインからの緑色発光は僅かであった。この現象は、 $\alpha$ -シクロデキストリンの空洞は

狭いためMCLAから生じる励起体は、シクロデキストリンの空洞に包接されずフルオレセイン部位から離れてしまうためエネルギー移動が起こりにくいものと推測された。興味深いことに、発光後の化合物6を別途化学合成し、スーパーオキシドアニオンによる発光反応と同じ条件下で330nmの励起光を照射し蛍光を観測すると、MCLAから励起体として生成するアミドピラジン部分からの青色の蛍光は観測されず、フルオレセイン部分からの緑色蛍光のみが観測された。この現象はFluorescence Resonance Energy Transfer (FRET)であり、スーパーオキシドアニオンによる発光後には、アミドピラジン部分は、 $\alpha$ -シクロデキストリンの空洞に包接されフルオレセイン部位に接近

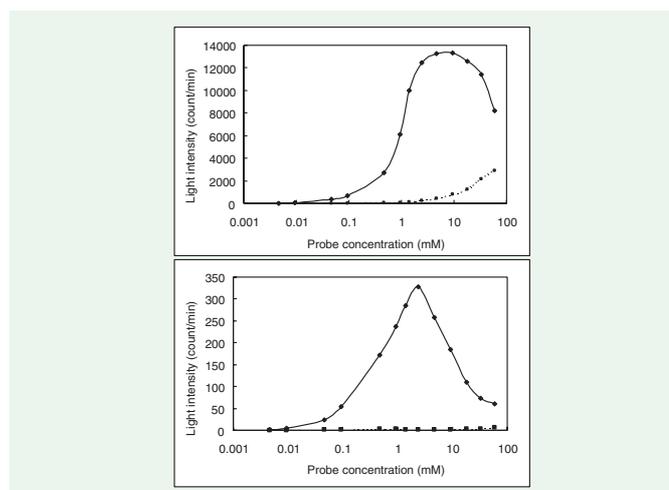


図4. ヒポキサンチン-キサンチンオキシダーゼ系におけるGreen Chemiluminescent CDおよびFCLAの発光強度(上図:Green Chemiluminescent CD、下図:FCLA、実線:スーパーオキシドアニオン誘起発光、破線:バックグラウンド発光)

したことを示し、スーパーオキシドアニオンとMCLAとの反応における発光に到達するまでの時間は、包接現象に必要な時間よりも短いと推測された。

Green Chemiluminescent CD(1)の $\gamma$ -シクロデキストリンは、MCLAから生成する励起体の励起効率を高めるとともに励起体とフルオレセインとの距離を短くしている役割をもち、高い発光効率をかもしたしていると考えられた。

## 6 赤色発光を示す発光プローブ

発光で測定する際には、色素が存在する検体がある。この場合、発光プローブから発生した光は色素に吸収され光透過性が低くなり検出が不可能なことも有る。このような問題を解決するために、より長波長域の発光が望まれる。しかし、これまで開発されてきた発光プローブでは、緑色発光が発光波長の最長であった。著者は、中性の水溶液においてCRETを適用せず赤色の自己発光を示すイミダゾピラジノン系化合物あるいは他の発光系の開発研究を現在行なっているが、未だ見出すことに成功していない。よって、赤色を示す自己発光化合物の開発までの中継ぎプローブとしてCRET

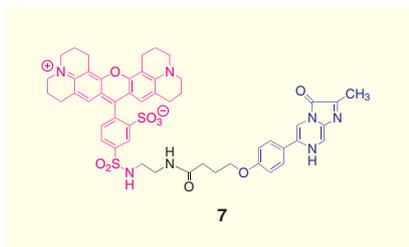


図5.

を適用したイミダゾピラジノン系のスーパーオキシドアニオン検出用発光プローブの開発を試みることにした。その結果、著者は、赤色(最大発光波長約610nm)の発光を示すスーパーオキシドアニオン検出用発光プローブ7(図5)の開発に成功した<sup>22)</sup>。この発光プローブは、MCLAやGreen Chemiluminescent CDと同様な測定操作でスーパーオキシドアニオンを検出することができる。

## 7 おわりに

以上、著者が行ってきたスーパーオキシドアニオン検出用発光プローブの開発について紹介した。この研究は、

発光クラゲの発光機構に関する研究およびイミダゾピラジノン系化合物の化学発光に関する研究の延長線上に有り、さらには、シクロデキストリン化学との融合により成り立ったものである。ここで取り上げた化学発光のスーパーオキシドアニオン分析においては、発光プローブのスーパーオキシドアニオンに対する発光選択性、すなわち三重項酸素による非特異的発光の抑制、発光感度の増強、水溶性、溶液状態での保存などが望まれているが、これらすべてを満たしている化合物は未だ開発されていない。今後、これらの目標を達成するために研究に励みたいと考えている。

### 【参考文献】

- 1) Teranishi, K., Nishiguchi, T.: *Anal. Biochem.*, **325**, 185-195 (2004).
- 2) Goto, T., Takagi, T.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **53**, 833-834 (1980).
- 3) Nishida, A., Kimura, H., Nakano, M., Goto, T.: *Clin. Chim. Acta*, **179**, 177-182 (1989).
- 4) Goto, T.: *Pure Appl. Chem.*, **17**, 421-441 (1968).
- 5) Hori, K., Nakano, Y. and Cormier, M. J.: *Biochim. Biophys. Acta*, **256**, 638-644 (1972).
- 6) Shimomura, O., Masugi, T., Johnson, F. H., Haneda, Y.: *Biochemistry*, **17**, 994-998 (1978).
- 7) Shimomura, O., Johnson, F. H., Saiga, Y.: *J. Cell. Comp. Physiol.*, **59**, 223-240 (1962).
- 8) Head, J. F., Inouye, S., Teranishi, K., Shimomura, O.: *Nature*, **405**, 372-376 (2000).
- 9) Toya, Y., Kayano, T., Sato, K., Goto, T.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **65**, 2475-2479 (1992).
- 10) Teranishi, K., Shimomura, O.: *Anal. Biochem.*, **249**, 37-43 (1997).
- 11) Shimomura, O., Wu, C., Murai, A., Nakamura, H.: *Anal. Biochem.*, **258**, 230-235 (1998).
- 12) Teranishi, K., Tanabe, S., Hisamatsu, M., Yamada, T.: *Luminescence*, **14**, 303-314 (1999).
- 13) Teranishi, K.: *ITE Letters on Batteries, New Technologies & Medicine*, **2**, 530-536 (2001).
- 14) Teranishi, K.: *Luminescence*, **16**, 367-374 (2001).
- 15) Teranishi, K., Nishiguchi, T., Ueda, H.: *Carbohydr. Res.*, **228**, 987-993 (2003).
- 16) Teranishi, K.: *ITE Letters on Batteries, New Technologies & Medicine*, **4**, C16-C20 (2003).
- 17) Teranishi, K., Watanabe, K., Hisamatsu, M., Yamada, T.: *J. Carbohydr. Chem.*, **17**, 489-494 (1998).
- 18) Teranishi, K., Tanabe, S., Hisamatsu, M., Yamada, T.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **62**, 1249-1252 (1998).
- 19) Teranishi, K., Nishiguchi, T., Ueda, H.: *ITE Letters on Batteries, New Technologies & Medicine*, **3**, 26-29 (2002).
- 20) Teranishi, K., Hisamatsu, M., Yamada, T.: *Luminescence*, **14**, 297-302 (1999).
- 21) Suzuki, N., Suetsuna, K., Mashiko, S., Yoda, B., Nomoto, T., Toya, Y., Inaba, H., Goto, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 157-160 (1991).
- 22) 日本特許: 出願番号2004-338145.

## Products



### スーパーオキシドアニオンの分析に有効な新規発光試薬!

### グリーンケミルミネッセント CD

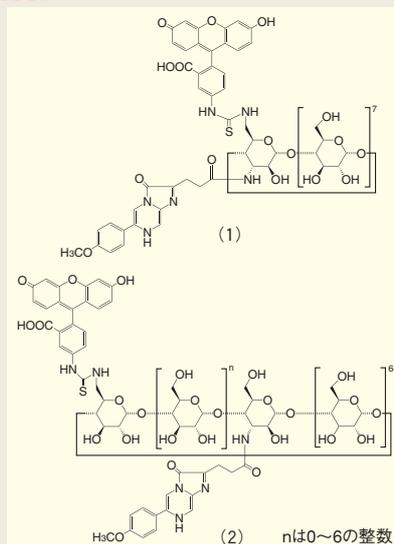
スーパーオキシドアニオンは、活性酸素の一種で、生体での解毒活性などの生理活性を有しています。しかし、過剰なスーパーオキシドアニオンは正常な部位を破壊するため、がん化や老化を招きます。そのため、スーパーオキシドアニオンの生体での分析は重要です。

本品は、一つのシクロデキストリン分子内に、スーパーオキシドと反応する分子と、そこで生じたエネルギーを受け取って発光する分子の両分子を含む構造をしており、スーパーオキシドアニオンを良好に分析できます。従来の発光試薬と比較して高い発光強度を有し、また、発光波長が長波長領域であるため、他の生体成分の影響を受けにくいなどの特長があります。

#### 特長

- 高い発光強度
- 長波長領域の発光波長 (530nm)

本品は、右記 (1) 及び (2) の混合物です。



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
075-05111	Green Chemiluminescent CD	細胞生物学用	1mg	9,800

### 1 はじめに

ビス(*p*-ニトロフェニル)リン酸アジド (*p*-NO<sub>2</sub>DPPA、Di-*p*-Nitrophenyl phosphorazidate、(*p*-NO<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>2</sub>P(O)N<sub>3</sub>)はChemical AbstractsのIndex NameではPhosphorazidic acid, bis(4-nitrophenyl) ester (Registry Number: 51250-91-0)と呼ばれ、すでに多目的有機合成反応剤として市販され様々な反応に使用されているジフェニルリン酸アジド (DPPA、Diphenyl phosphorazidate、(PhO)<sub>2</sub>P(O)N<sub>3</sub>)<sup>1)</sup>の*p*-ニトロ類縁体である (Figure 1)。

*p*-NO<sub>2</sub>DPPAは今から約30年以上前、DPPAとほぼ同時期に、DPPAのニトロ化により我々が始めて合成に成功した化合物であるが<sup>2)</sup>、DPPAに比べて大きな利点が当時見つからなかったことから、今日迄あまり利用されないで来た。しかし以下にのべるようにDPPAに比較して幾つかの利点のあることがわかって来た。本稿では*p*-NO<sub>2</sub>DPPAの合成的有用性を述べ読者の御批判をあおぎたい。

### 2 *p*-NO<sub>2</sub>DPPAの合成と物性

*p*-NO<sub>2</sub>DPPAはDPPAを0°Cに冷却して発煙硝酸で処理することによってほぼ定量的に得られる結晶性化合物である (Scheme 1)。IRスペクトルでは2200cm<sup>-1</sup>付近にアジドの吸収を示し、<sup>1</sup>H NMRスペクトルではベンゼン核のプロトンがABタイプで7.4、8.3ppmに

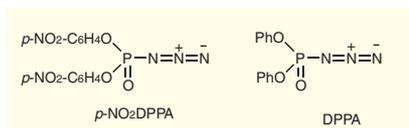
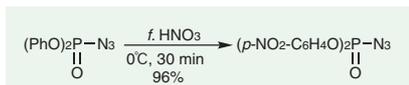


Figure 1.



Scheme 1.

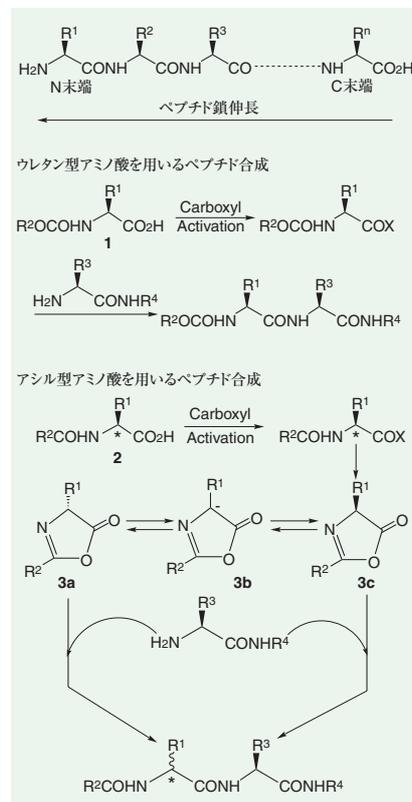
J=9Hzで観察される。DPPAが高沸点 (bp134-136°C/0.2mmHg)の液体であるのに対し*p*-NO<sub>2</sub>DPPAはmp110°C前後の結晶性化合物であるため取り扱いが容易である。一般にアジド化合物は爆発の危険性があるが、DPPAのようなリン酸アジドは非爆発性であることが知られている。*p*-NO<sub>2</sub>DPPAについて念のため示差走査熱量計 (Differential Scanning Calorimeter、DSC)を用いて熱分析を行い、その爆発の危険性を確めた<sup>3)</sup>。その結果発熱量が705J/gと自己反応性物質の指標である1,000J/gを下回っていた。また分解開始温度も317°Cと高く、これから200°C以下での取り扱いには大きな問題のないことがわかる。

### 3 ペプチド合成

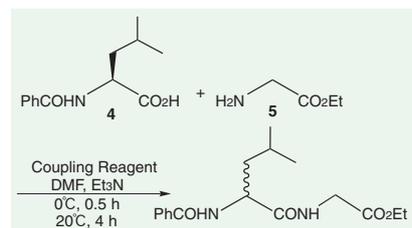
通常のペプチド合成では、アミノ酸のアミノ基を*tert*-ブトキシカルボニル基 (Boc)、9-フルオレニルメトキシカルボニル基 (Fmoc)、ベンジルオキシカルボニル基 (Cbz)などウレタン型保護基で保護しておき、カルボキシル基を何等かの縮合剤で活性化して、C末端からN末端へアミノ酸を伸長して行く (Scheme 2)。このアミノ基をウレタン型で保護したキラルアミノ酸 (1)は、極端ないい方をすれば如何なる縮合剤でカルボキシル基を活性化しても、縮合の際のラセミ化の心配はないといつてよい。現在汎用されている固相法によるペプチド合成は、このウレタン型アミノ酸を用いて行われている。しかしジペプチド、トリペプチドといったアシル型アミノ酸 (2)のカルボキシル基の活性化は、そのカルボキシル基のα位 (\*印)のキラル中心がオキサゾロン (3) 経由でラセミ化 (正確にはエピメリ化)する恐れがあり、これも極端ないい方をすれば、現在知られているどんな方法、縮合剤を使用しても全くラセミ化フリーというわけにはいかない。そ

のためラセミ化フリーのペプチド同士のカップリングを目指して極めて多数の縮合剤が開発されている。

このペプチド縮合におけるラセミ化をはかるモデルとして種々の系が開発されているが、我々はDPPA、*p*-NO<sub>2</sub>DPPA、その他縮合剤の縮合能をはかるために、まず古典的なYoungテストを行った (Scheme 3)。Youngテストというのはベンゾイル-L-ロイシン (4)にグリシンエチルエステル (5)を縮合し、その際のロイシン部のキラル中心のラセミ化を見るものである。DPPA、*p*-NO<sub>2</sub>DPPAを用いたYoungテストの結果の一部を<sup>2)</sup>、これまた我々が開発したジエチルリン酸シ



Scheme 2.



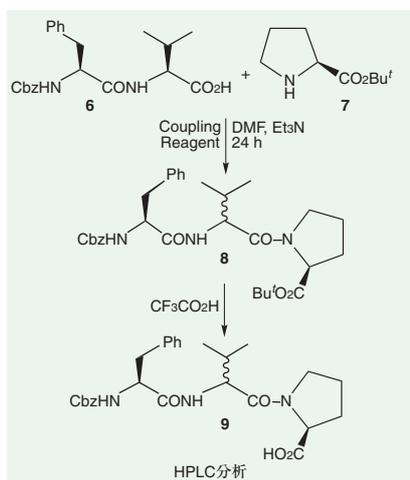
Scheme 3.

**Table 1.**

Coupling Reagent	Yield (%)	L-Isomer (%)
(PhO) <sub>2</sub> P(O)N <sub>3</sub>	81	92
( <i>p</i> -NO <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O) <sub>2</sub> P(O)N <sub>3</sub>	92	41
(EtO) <sub>2</sub> P(O)CN	86	96

アミド (DEPC、diethyl phosphorocyanidate、(EtO)<sub>2</sub>P(O)CN)<sup>4)</sup>を用いた場合と一緒にTable 1に示す。

当時(1970年初頭)はまだ高速液体クロマトグラフィー(HPLC)など普及していなかったため、Table 1に示す収率は単離収率であり、生成物の光学純度(L-異性体)は旋光度測定によって決定したものであるが、旋光度測定は正確さという点ではHPLCに劣るものがある。この表からわかることは*p*-NO<sub>2</sub>DPPAは収率的には優れているが、かなりラセミ化を伴っている。ペプチド合成におけるカルボキシル基活性化は微妙で、活性化が強いと収率は良好であるが、ラセミ化の危険が増大し、活性化が弱くとラセミ化はそうおきないが、収率が低下してしまう。その後約10年たって、1980年代に入るとHPLCが普及して来たため、今度はジペプチドであるベンジルオキシカルボニル-L-フェニルアラニル-L-バリン(Cbz-L-Phe-L-Val-OH, 6)とL-プロリン-t-ブチルエステル(H-L-Pro-OBu<sup>t</sup>, 7)の縮合時におけるラセミ化、正確にいうとキラ



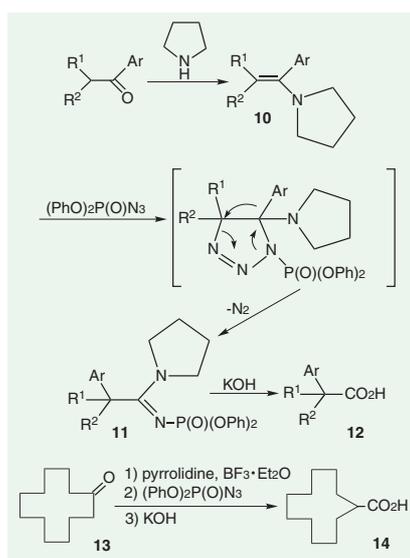
**Scheme 4.**

**Table 2.**

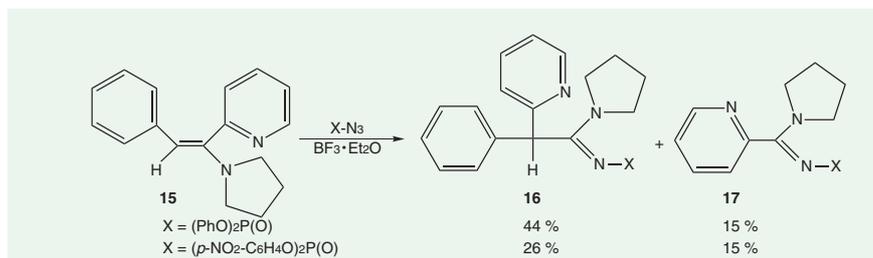
Coupling Reagent	Temp(°C)	Yield(%)	D-Isomer(%)
(PhO) <sub>2</sub> P(O)N <sub>3</sub>	0	75.4	3.2
	-20	71.6	2.5
( <i>p</i> -NO <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O) <sub>2</sub> P(O)N <sub>3</sub>	0	82.1	6.2
	-20	80.7	5.0
(EtO) <sub>2</sub> P(O)CN	0	76.7	3.0
	-20	71.4	2.0

ル中心がフェニルアラニン部とバリン部の二つあり、そのうちバリン部のキラルセンターが動く可能性があるためエピメリ化を検討した(Scheme 4)<sup>5)</sup>。生成したトリペプチドエステル(8)をトリフルオロ酢酸で脱保護して9としHPLC分析した。バリン部がエピメリ化したもの(D-Isomer)はジアステレオアイソマーになるので、HPLC上分離定量できる。結果の一部をTable 2に示す。この系でも*p*-NO<sub>2</sub>DPPAは収率は優れているが、ラセミ化の度合が若干大きいことがわかる(Table 2)。

以上のことから*p*-NO<sub>2</sub>DPPAは通常のアミド結合を形成する場合には問題



**Scheme 5.**



**Scheme 6.**

ないが、エピメリ化の危険のあるペプチド同士の縮合の際、エピメリ化にはDPPA、DEPC以上に充分注意する必要がある。

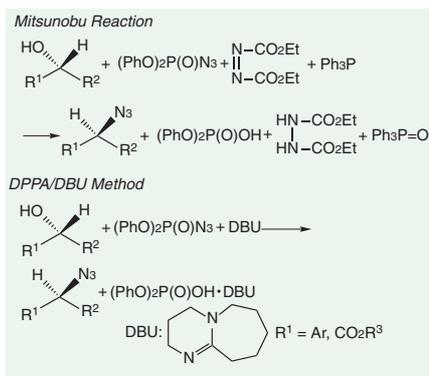
## 4 エナミンとの反応

一般にアジドは、エナミンと1,3-双極子付加反応をすることが知られている。我々はDPPAを用いてアルキルアールケトンのエナミン(10)から、1,3-双極子付加-脱窒素-転位反応により生成したホスホリルアミジン(11)を加水分解することにより、非ステロイド系抗炎症薬の骨格である2-アールアルカン酸(12)を合成するルートを開発し<sup>6)</sup>、また環状ケトン(13)由来のエナミンからは縮環を伴って対応するカルボン酸(14)を合成する一般法を開発した<sup>7)</sup>(Scheme 5)。

更にベンジル2-ピリジリルケトンのピロリジンエナミン(15)とDPPA及び*p*-NO<sub>2</sub>DPPAの反応を検討した<sup>8)</sup>。反応は三フッ化ホウ素の存在下行ったが、共に1,3-双極子付加-脱窒素-転位反応の成績体ホスホリルアミジン(16)が主生成物で、1,3-双極子脱離反応で生成したアミジン(17)が副生した(Scheme 6)。

## 5 アルコールの一行程アジド化

一般にアルコールをアジドに変換する反応は、アジドが還元により容易にアミンへ変換できることから、有機合成上有用な反応である。通常この反応はアルコールを一旦ハロゲン化ある

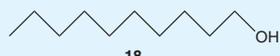
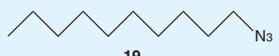
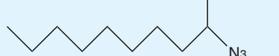


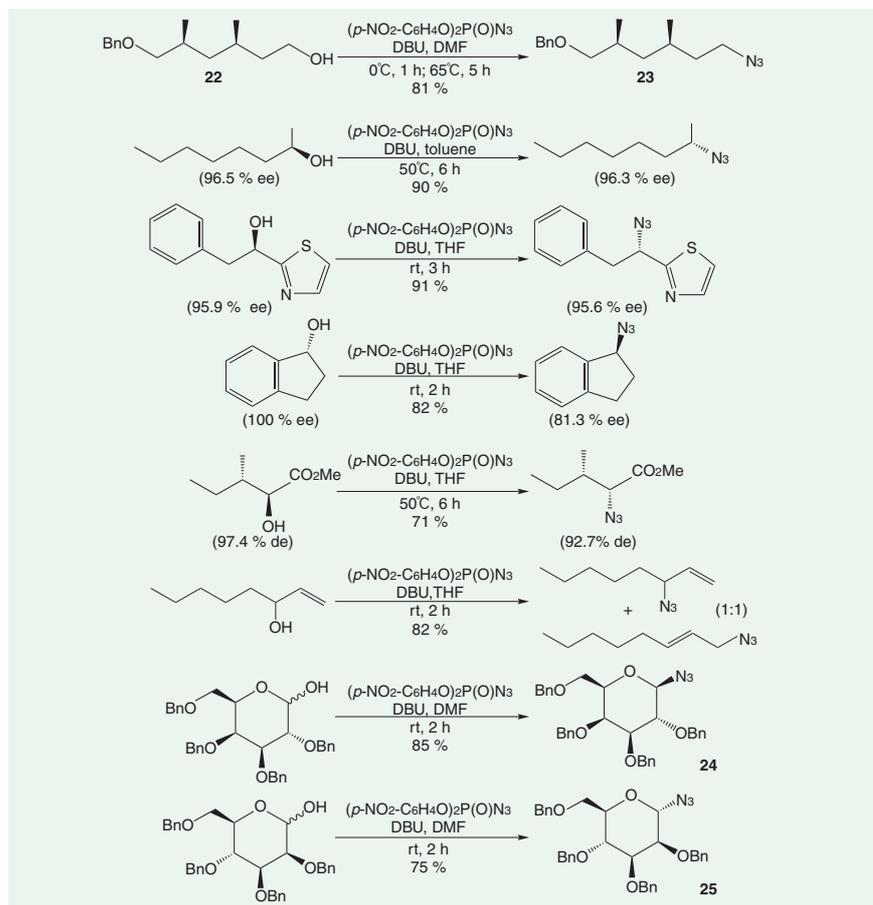
**Scheme 7.**

いはスルホン酸エステル化した後、アジドイオンを反応させてアジドに導く二行程による合成法が一般的である。勿論アルコールを一工程でアジドに誘導できれば、その方が効率的である。そのための方法としては窒化水素酸またはDPPAを用いる光延反応とDPPA/DBU法が知られている(Scheme 7)。光延反応は応用性の広い反応であるが、反応後に生成するヒドラジノエステルやホスフィンオキシドの除去は必ずしも容易ではない。これに対しDPPA/DBU法は、反応の際に生成するジフェニルリン酸がDBUの塩として水洗により容易に除去できるが、一般にベンジルアルコールや $\alpha$ -ヒドロキシエステルのような活性なアルコールしか効率よくアジドに変換できない。後者の反応は、アルコールがDPPAのリン原子を攻撃し、生じたホスフェートにアジドイオンが背面から攻撃して、立体反転したアジドを与えるものと考えられる。そこでDPPAのフェニル基のかわりに、より電子吸収性の高い

-ニトロフェニル基にかえれば、もっと反応は円滑に進行するものと推測された。

**Table 3.**

R-OH		(ArO) <sub>2</sub> P(O)N <sub>3</sub> (1.2 eq)		DBU (1.2 eq), toluene		R-N <sub>3</sub>	
Alcohol	(ArO) <sub>2</sub> P(O)N <sub>3</sub>	Temp (°C)	Time (h)	Azide	Yield (%)		
 <b>18</b>	DPPA	25	24	 <b>19</b>	5		
	<i>p</i> -NO <sub>2</sub> DPPA	25	16		76		
 <b>20</b>	DPPA	50	6	 <b>21</b>	3		
	<i>p</i> -NO <sub>2</sub> DPPA	50	6		81		



**Scheme 8.**

まず1-及び2-デカノール(18、20)を用いてDPPAと

-NO<sub>2</sub>DPPAの反応性を検討した。その結果Table 3に示すように、*p*-NO<sub>2</sub>DPPAの方がはるかに反応性に富み、対応するアジド(19、21)を好収率で与えることがわかった。また塩基としてはDBUが最も好結果を与えた。この

-NO<sub>2</sub>DPPA/DBUによるアルコールの一行程アジド化は、かなり一般性があり、種々の一級乃至2級アルコールのアジド化に有効で、また立体反転の効率も極めて高いこと

が確認された<sup>3,9)</sup>。結果の一部をScheme 8に示す。22から23への変換は、海洋に棲息する藍藻から単離されたカルキトキシン全合成の一工程に活用された<sup>10)</sup>。

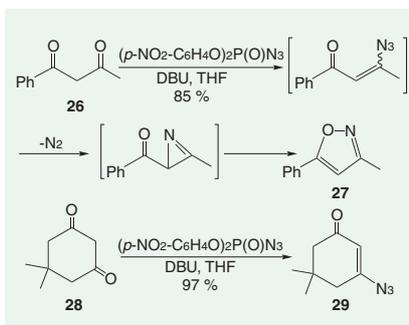
本法はアミノ糖合成における重要中間体であるグリコシルアジド(24、25)の合成にも適用できる。すなわち上記

-NO<sub>2</sub>DPPA/DBU法をヘキソピラノースに適用すると、円滑に1,2-*trans*-グリコシルアジドが生成することが判った<sup>3,9)</sup>。

## 6 その他の反応

上述の

-NO<sub>2</sub>DPPA/DBU法を1,3-ジケトンに適用したところ、1-フェニル-1,3-ブタンジオン(26)ではイソオキサゾール誘導体(27)が、5,5-ジメチル-1,3-シクロヘキサンジオン(イソフロロン、28)では $\beta$ -アジドビニルケトン(29)が高収率で生成することが判明した<sup>3)</sup>(Scheme 9)。



Scheme 9.

## 7 おわりに

以上  $p$ -NO<sub>2</sub>DPPA の今日迄に判明している合成的有用性を解説した。 $p$ -NO<sub>2</sub>DPPA を用いた有機合成反応は今日迄のところ上記につきる。しかし冒頭で述べたように、液体で取り扱いにくい DPPA に比べ結晶性で取り扱い易い  $p$ -NO<sub>2</sub>DPPA は、反応性も一般的に DPPA より高く、DPPA を用いた諸反応に適用可能であると考えられ、いわば第 2 世代の DPPA として DPPA に見られない反応性が開拓されることを期待したい。

終りに  $p$ -NO<sub>2</sub>DPPA を用いる有機合成反応を遂行した共同研究者諸氏、

特に水野正則博士(エーザイ)に感謝の意を表したい。

### 〔参考文献〕

- 1) a) Shioiri, T., Ninomiya, K., Yamada, S.: *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 6203-6205 (1972). b) Thomas, A. V.: "In Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis", Paquette, L. A., Ed., John Wiley & Sons, Chichester, Vol. 4, p. 2242-2245 (1995).
- 2) Shioiri, T., Yamada, S.: *Chem. Pharm. Bull.*, **22**, 855-858 (1974).
- 3) 水野正則学位論文(名古屋市立大学大学院薬学研究科)2000年.
- 4) a) Yamada, S., Kasai, Y., Shioiri, T.: *Tetrahedron Lett.*, 1595-1598 (1973). b) Patel, H. H.: "In Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis", Paquette, L. A., Ed., John Wiley & Sons, Chichester, Vol. 3, p. 1851-1854 (1995).
- 5) a) Takuma, S., Hamada, Y., Shioiri, T.: *Peptide Chemistry 1981*, 13-18 (1982). b) Takuma, S., Hamada, Y., Shioiri, T.: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 3147-3153 (1982).
- 6) a) Shioiri, T., Kawai, N.: *J. Org. Chem.*, **43**, 2936-2938 (1978). b) Kawai, N., Shioiri, T.: *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 2564-2573 (1983). c) Kawai, N., Kato, N., Hamada, Y., Shioiri, T.: *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 3139-3148 (1983).
- 7) a) Yamada, S., Hamada, Y., Ninomiya, K., Shioiri, T.: *Tetrahedron Lett.*, 4749-4752 (1976). b) Hamada, Y., Shioiri, T.: *Org. Syntheses.*, **62**, 191-195 (1984).

- 8) Kato, N., Hamada, Y., Shioiri, T.: *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 2496-2502 (1984).
- 9) Mizuno, M., Shioiri, T.: *Chem. Commun.*, 2165-2166 (1997).
- 10) Yokokawa, F., Asano, T., Okino, T., Gerwick, W. H., Shioiri, T.: *Tetrahedron*, **60**, 6859-6880 (2004).

## Products

### $p$ -NO<sub>2</sub>DPPA

#### 規格

外観：白色～わずかにうすい黄色、粉末  
 含量(HPLC)：97.0%以上

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
023-15281	Bis( $p$ -nitrophenyl) Azidophosphonate 【 $p$ -NO <sub>2</sub> DPPA】	有機合成用	5g	8,500
021-15282			25g	30,000

#### 関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
043-16383	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene 【DBU】	和光一級	25ml	1,570
049-16385			500ml	15,700
320-54342	Diphenylphosphoryl Azide 【DPPA】	Wケミカル	25g	5,000
324-54345			500g	25,000

Wako

## アルデヒド類捕集及び誘導体化用カートリッジのブランク値測定方法について(2) ガラス器具の影響

和光純薬工業株式会社 試薬研究所 久保田 守

ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドは、大気汚染防止法(環境省)、室内空気汚染に係るガイドライン(厚生労働省)により規制され、測定法が定められている<sup>1,2,3,4)</sup>。

その手法の一つとして、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(DNPH)含浸シリカゲルが充てんされたカートリッジに大気や室内空気を通気させることによりアルデヒドやケトン類を捕集、DNPHと誘導体化後、HPLC法により目的成分を定量する方法が採用されている。

アルデヒドの測定値は、試料を捕集したカートリッジの実測値から成分毎にブランク値を差し引いて求める。このためブランク値はその値が十分低く、かつ安定した値であることが要求される。Presep<sup>®</sup>-C DNPH、Presep<sup>®</sup>-C DNPH(Short)はこの目的に適合されるように設計、開発されたカートリッジであるが、抽出からHPLC測定に

至る過程で使用する器具類及び試薬からの汚染を受ける場合があり、本誌Vol.73、No.1にてHPLC用試料容器がブランク値を上昇、変動させる原因になりうることとその予防策について

報告した。今回は、抽出操作に用いるガラス器具の洗浄法及び保管条件がブランク値に与える影響について比較検討したので報告する。

表1. 使用器具と試薬

(ガラス器具)		(試薬)
ガラス製シリンジ(容量30ml)		DNPH精製品(試薬特級DNPHを再結晶法により精製した)
ガラス製パスツールピペット(容量2ml)		
ガラス製メスフラスコ(容量5ml)		アセトニトリル(アルデヒド分析用、HPLC用)
HPLC用ガラス製試料容器(容量1.9ml、アルミシート/シリコン製O-リング、ポリプロピレン製スクリューキャップ)		
(その他の器具)		りん酸(試薬特級)
グローブボックス		
高純度N <sub>2</sub> ガスボンベ		
ステンレス製スパテル		
ピペッター		

表2. 使用器具の洗浄及び保管方法

(第1法)
メタノール洗浄 → アセトニトリル溶液に一晩以上含浸 → メタノール洗浄 → 室内で乾燥及び保管
(第2法)
アセトニトリル洗浄 → アセトニトリル溶液に一晩以上含浸 → アセトニトリル洗浄 → 加熱真空乾燥(60℃×1時間) → ガラス製デシケター内で保管

表3. ブランク値の測定方法と定量下限値(10s)

### 1. 操作手順

- N<sub>2</sub>ボンベのガス出口にPresep<sup>®</sup>-C DNPHを1本取り付け、グローブボックスに接続してボックス内をN<sub>2</sub>ガスで置換させる。
- 容量5mlのメスフラスコに再結晶DNPHをスパテルで2.0mg量り取った後、グローブボックス内に移す。
- 上記のメスフラスコにパスツールピペットを用いてりん酸を約100μl入れた後、別のパスツールピペットでアセトニトリルを加えて全量を5mlとする(各洗浄法で準備した器具を用いて10本ずつ、計20本を調製した)。
- DNPHが溶解したらパスツールピペットでHPLC用試料容器に約1.5ml分注後、開口部にアルミシール、シリコン製O-リングの順に静かにのせて、最後にスクリューキャップできつめに締め付ける。
- 順次HPLCによりブランク値を測定する。

### (HPLC Conditions)

Column: Wakosil-II 5C18RS, 4.6×250mm  
 Eluent: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40(v/v)  
 Flow Rate: 1.0ml/min at 40℃  
 Detection: UV 360nm, 0.005AUFS  
 Injection vol.: 10μl  
 (オートサンプラーは、ニードル洗浄液としてHPLC用アセトニトリル100%を使用した。)

### 2. 定量下限値(10s)

各成分のピーク面積値より、1)ブランク値(μg/5ml)、2)環境省より公示されている有害大気汚染物質測定マニュアル<sup>1)</sup>ならびに厚生労働省の室内空気中化学物質の測定方法<sup>2,3)</sup>に記載されている大気中のアルデヒド濃度換算式をもとに、1で調製した試料溶液の10μlをHPLCに注入して各アルデヒド類のブランク値(ng)を測定し、以下の計算式①より大気濃度(μg/m<sup>3</sup>)に換算した。各ブランク成分について、10本(n=10)測定した時の大気濃度の標準偏差(s)から計算式②により定量下限値(10s: μg/m<sup>3</sup>)を求めた。

#### (大気濃度換算式)

$$\text{計算式① } C = (A \times E \times 1,000) / (v \times V \times 293 / (273 + t) \times P / 101.3)$$

C: 20℃における大気中の各アルデヒド類の濃度(μg/m<sup>3</sup>)

A: ブランク値(ng) [HPLCへ注入した試料10μlに含まれる各ブランク成分重量(ng)]

E: 試験液量(ml) [抽出液量=5ml]

v: HPLCへの注入量(μl) [v=10μl]

V: ガスメータで測定した捕集量(l) [ℓ=144ℓとする]

t: 試料採取時の平均気温(℃) [t=20℃とする]

P: 試料採取時の平均大気圧(kPa) [P=101.3とする]

$$\text{計算式② } \text{定量下限値} = 10s (\mu\text{g}/\text{m}^3)$$

#### (大気汚染防止法における基準値及び目標定量下限値<sup>1)</sup>)

物質名	目標定量下限値(μg/m <sup>3</sup> ) (基準値の1/10)	基準値(μg/m <sup>3</sup> )
ホルムアルデヒド	0.08 (*0.8)	0.8
アセトアルデヒド	0.5	5
*印:暫定値		

#### (室内空気汚染に係るガイドラインにおける指針値及び目標定量下限値<sup>2,3,4)</sup>)

物質名	目標定量下限値(μg/m <sup>3</sup> ) (指針値の1/10)	指針値(μg/m <sup>3</sup> )
ホルムアルデヒド	10	100 (0.08ppm)
アセトアルデヒド	4.8	48 (0.03ppm)

表4. ブランク値と定量下限値(10s)

	ホルムアルデヒド		アセトアルデヒド		アセトン	
	平均値	10s	平均値	10s	平均値	10s
従来法	0.024	0.337	0.004	0.203	0.028	0.161
新規洗浄法	0.020	0.109	0.006	0.203	0.026	0.163

平均値:  $\mu\text{g}/5\text{m}\ell$  10s:  $\mu\text{g}/\text{m}^3$

実験に用いたガラス器具、試薬を表1に示した。ブランク値はアセトニトリルをカートリッジに通液させ、その抽出液に含まれるアルデヒド類の含有量から求めるが、今回カートリッジに代わりDNPH精製品及び酸触媒としてりん酸を用いた。表2に示した洗浄、乾燥及び保管条件で処理した器具を各々用いて、表3に記載した手順でホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アセトンのブランク値ならびに定量下限値(10s)を求めた。公定法ではホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの2成分について、定量下限値や操作ブランク値などの許容性を判断する基準として目標定量下限値が導入されている。目標定量下限値は原則として基準値(環境省)または指針値(厚生労働省)の1/10の濃度で、環境省ではブランク値の低減が極めて困難なために目標定量

下限値の達成が厳しい物質の場合、暫定値を当面の目標定量下限値と定めている。定量下限値(10s)の値が小さいほどブランク値のばらつきが小さくなる。

測定結果を表4に示した。第1法で処理した器具を用いた場合、ホルムアルデヒドの定量下限値(10s)は $0.337\mu\text{g}/\text{m}^3$ で、厚生労働省の目標定量下限値より低い、大気汚染防止法の目標定量下限値に対して約4倍高い値を示した。一方、第2法で処理した器具を用いたときのホルムアルデヒドの定量下限値は $0.109\mu\text{g}/\text{m}^3$ で、第1法の約1/3まで低下した。第2法で取り入れた洗浄、保管方法は、ガラス器具類からのホルムアルデヒドの汚染を低減する効果があることが示唆された。しかしながら大気汚染防

止法におけるホルムアルデヒドの目標定量下限値である0.08より高い状況にある。今後さらに検討を継続し、定量下限値の低減化を達成させるとともに、より簡便な洗浄、保管方法を見いだしたいと考えている。今回の事例が、アルデヒド類の測定に用いる器具の洗浄、保管方法の参考になれば幸いである。

【参考文献】

- 1) 有害大気汚染物質測定方法マニュアル、環境庁(現環境省)。
- 2) 室内空气中化学物質の室内濃度指針値及び標準的測定方法について、厚生省(現厚生労働省)、生衛発第1093号通知。
- 3) シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会中間報告-第6回~第7回のまとめについて、厚生労働省。
- 4) シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会中間報告-第8回~第9回のまとめについて、厚生労働省。

Products



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
291-43951	Presep <sup>®</sup> -C DNPH (Short)	試料前処理用	20個	24,000
290-34251	Presep <sup>®</sup> -C DNPH	試料前処理用	20個	29,000
293-40351	Presep <sup>®</sup> -C Ozone Scrubber	試料前処理用	20個	13,500
017-17743	Acetonitrile	アルデヒド分析用	100mℓ	2,200
011-17741			200mℓ	4,000

品名	カラムサイズ	カラムタイプ	記号	希望納入価格(円)
Wakopak <sup>®</sup> Wakosil DNPH- II	4.6φ×150mm	デュボン	W I D	60,000
		ウォータース	W I W	
Wakopak <sup>®</sup> Wakosil- II 5C18RS	4.6φ×250mm	デュボン	T I D	48,000
		ウォータース	T I W	

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
236-02181	Wakosil <sup>®</sup> DNPH- II 溶離液A	HPLC用	1ℓ	6,000
233-02191	Wakosil <sup>®</sup> DNPH- II 溶離液B	HPLC用	1ℓ	6,000

■各種標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
062-03481	ホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン標準液 (ホルムアルデヒドとして $40\mu\text{g}/\text{m}\ell$ in acetonitrile)	排ガス分析 (HPLC)用	2mℓ×5	10,500
012-17391	2種アルデヒドDNPH混合標準液 (ホルムアルデヒド-DNPH, アセトアルデヒド-DNPH, 各アルデヒドとして $0.1\mu\text{g}/\mu\ell$ in acetonitrile)	大気汚染物質測定 (HPLC)用	2mℓ×5	12,000

上記以外にも各種標準液を取揃えておりますのでお問合せ下さい。

## シコンと紫雲膏

神戸薬科大学 守安 正恭

シコンはムラサキ科 (Boraginaceae) のムラサキ (*Lithospermum erythrorhizome*, 硬紫根) の根で、その名が示すように根に紫色の色素を含み、古来、医薬品や染料として用いられてきた。シコンはその用法に大変特徴がある生薬で、熱傷時などに内服用に用いるわずかな処方例以外は、ほとんどが火傷をはじめとする皮膚疾患に、紫雲膏という軟膏として用いられる。紫雲膏は江戸時代後期の名医華岡青州によって発明された製剤である。華岡青州は古法派の漢方と蘭法(オランダ医学)の両方を学び、チョウセンアサガオ抽出物を含む生薬製剤「通仙散」を用いて世界最初の全身麻酔法による乳ガンの摘出手術に成功したことは有名であるが、彼の発明した製剤の中で紫雲膏は十味敗毒湯とともに現在も広く用いられる処方である。

華岡青州の時代、ムラサキは日本では全国に自生していたと考えられるが、現在は激減し、レッドデータブックに載り、近い将来野生種の絶滅が危惧されている。現在シコンはほとんどが中国よりの輸入品で、従来は野生品を採集したものが用いられてきたが、中国においても近年資源の枯渇

が進行し、栽培品も使用されるようになった。しかし天然品は二年生であるのに対し、栽培品は一年生で小さく見劣りし色も悪い。紫色の色素が有効成分のため、品質の差が一目瞭然のため栽培品は低品質とされ好まれない。

紫雲膏はシコンとトウキの2つの生薬にゴマ油、ミツロウ、豚脂を加えて熱抽出した製剤で、製法が簡単なので紫雲膏の製造が薬科大学の生薬の学生実習の題材となったりする。また種々の生薬製剤メーカーから紫雲膏が市販されているが、製法に各社で特徴(秘伝)がありバリエーションが大きく各社とも自社のものが最もよく効くと主張されている。通常は局方品の硬紫根を使用するが、同じムラサキ科で中国産の別の属の植物 (*Arnebia euchroma*, 軟紫根) をよとする人もいる。またヨーロッパではやはりムラサキ科のセイヨウムラサキ (*Alkanna tinctoria*, アルカンナ) の根がシコンとよく似た用途で用いられる。

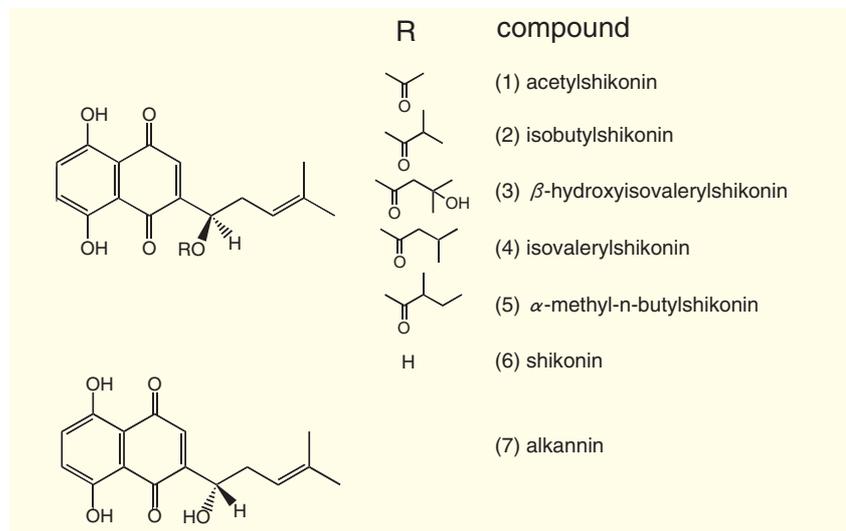
シコン(硬紫根)の薬効成分はシコンニン(6)やその誘導体のアセチルシコンニン(1)などのナフトキノン類で、創傷治癒促進や肉芽形成の促進(火傷、凍傷、湿疹、水疱などのときに下か

らの皮膚の盛り上がりを助ける)、浮腫抑制、抗炎症作用、殺菌作用などを有することが知られている。また植物からの抽出ではなく、カルスを用いてシコンニンを製造する技術が完成し、口紅をはじめとする化粧品に配合することが行われている。きれいな紫色の色素であり、抗菌作用を有すること、紫外線を吸収することなど、化粧品の材料としても有用な性質をもっているからであろう。シコンを抽出しHPLCで分析してみるとシコンニン(6)のピークは痕跡程度で、ほとんどがアセチルシコンニン(1)などのエステル類である。シコンニンは光や熱に対してかなり不安定な化合物である。そこでシコンの成分の研究を行う際エステル類を加水分解して研究したため、シコンニンが最初に報告され有名になったためであろう。

前述の軟紫根やアルカンナ根にはシコンニンではなくアルカンニン(7)とそのエステル類を含んでいるとされる。シコンニンとアルカンニンは光学異性体であり、よく似た植物に*d*-体と*l*-体が別々に含有されるのは極めて珍しく興味のあることである。医薬品では*d*-体と*l*-体で薬効が異なることはよくあるが、果たしてシコンの場合とアルカンニ



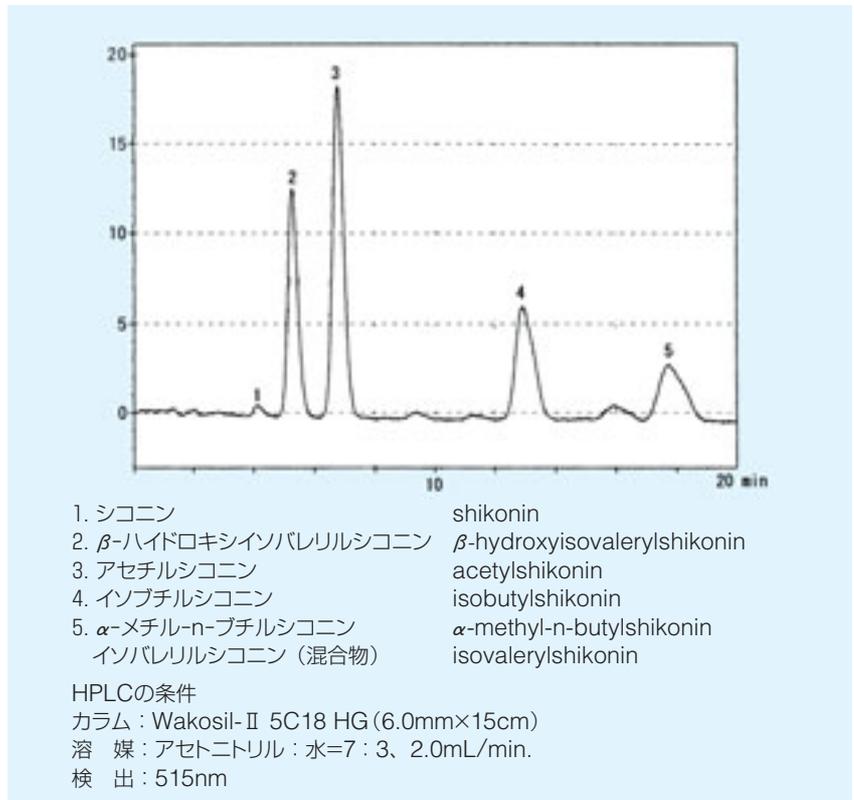
ムラサキの花



Structures of shikonin derivatives

ンで何か薬効に差はあるのだろうか？またシコニンやアルカンニンおよびそのエステル類の間に薬効に差があるのであろうか？そしてもし差があるのなら紫雲膏のなかで最も有用な成分は何であろうか？硬紫根にはシコニン類、軟紫根にはアルカンニン類が含まれているとされているが、光学純度はどの程度であろうか。硬紫根にはシコニンが多く含まれているのは正しいであろうが、アルカンニンも混在していると思われる。さらにシコニンはアセチルシコニンなどのエステルが加水分解して生成した可能性があるが、加水分解時に一部ラセミ化する可能性もある。そうだとすると元のアセチルシコニンをはじめとするエステル類は光学的にピュアなのであろうか。疑問はまだまだつきない。シコニン類は不安定なため製造から年月を経た紫雲膏をHPLCで分析するとシコニン類がほとんどなくなっていることがある。しかし紫色はあまり退色していない。つまり何か未知の色素に変わっていることになる。当然古い紫雲膏は効き目が悪くなると思われるのだが、古い紫雲膏のほうがよく効くと主張する人もいる。硬紫根がよいのか軟紫根がよいのか？新しい紫雲膏がよいのか

古いほうがよいのか？これらの疑問は硬紫根や軟紫根のそれぞれの色素成分の薬効を詳細に検討し、また熱や光でシコニン類がどのような化合物に変化し、その分解物にどのような薬効があるかを調べて初めて明らかになるのかもしれない。



Products



生薬試験用標準品

コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
191-13331	Shikonin Standard	生薬試験用	10mg	30,000
198-13581	Shikonin (mixture of optical isomers, about 6:1)	生薬試験用	10mg	14,000
198-13601	Shikonin (mixture of optical isomers, about 1:1)	生薬試験用	10mg	22,000
013-19901	Alkannin Standard	生薬試験用	10mg	30,000
018-19191	Acetylshikonin	生化学用	10mg	24,000
083-07891	$\beta$ -Hydroxyisovalerylshikonin	生化学用	10mg	24,000
093-04891	Isobutylshikonin	生化学用	10mg	24,000

## 第59話 SLP試薬の応用(その2)

SLP試薬は、細菌のペプチドグリカンに反応する試薬です。SLP試薬は、 $\beta$ -1,3-グルカンにも反応するため、使用時にその特異性を考慮する必要がありますが、ペプチドグリカンを簡単に検出する試薬としては唯一のものです。最近、SLP試薬を用いてペプチドグリカンを検出する応用例がいくつか報告されています。今回はこの中から一つの論文<sup>1)</sup>をご紹介します。

腹膜透析は、透析膜を使った血液透析と共に、末期腎不全に対する重要な治療法です。日本では血液透析が主流ですが、腹膜透析の方が簡便で安価であるとの理由で、世界各国で腹膜透析が採用されています。透析療法のうち、メキシコでは90%、英国では50%、カナダでは40%、欧州と米国では10%から20%が腹膜透析を行っているとのことです<sup>1)</sup>。腹膜透析の原理は、患者さんの腹腔内に高浸透圧の液を入れ、腹膜を介した拡散で体内の水分と溶質を除去するというものです。腹膜透析用の透析液を高浸透圧にするためにブドウ糖が使われていましたが、性能のよい水溶性ブドウ糖ポリマーとして、デンプンを原料としたアイコデキストリンが開発されました。アイコデキストリンを用い

た腹膜透析液は生体適合性もよく、ブドウ糖ベースの腹膜透析液にはない良さを持っています。

2002年に欧州でアイコデキストリンが原因と考えられる無菌性腹膜炎が多発しました。メーカーの報告では2001年1月以前の無菌性腹膜炎の発生率は1%以下であったとのことですが、2002年の最初の6か月間の発病率は10%以上に達しました。メーカーは、この原因を特定ロットの製品へのペプチドグリカン汚染としています。この無菌性腹膜炎の発生率は、メーカーの汚染ロット回収によって、再び1%以下に回復したそうです。

この論文の著者Toureaらは、アイコデキストリンが原因と思われる無菌性腹膜炎5例と同時期に発生した細菌性腹膜炎7例について比較を行っています。アイコデキストリンによる無菌性腹膜炎は、ペプチドグリカンによる汚染によって引き起こされ、細菌性腹膜炎に比べて、腹腔内のサイトカイン量が高くなること、活性化好中球の腹腔内への浸潤が少ないこと、腹腔のダメージが少ないことを報告しています。

さて、アイコデキストリンのペプチドグリカン汚染は、SLP試薬で測定されており、回収が行われたもので3から10ng/ml、汚染のないものは0.6ng/ml以下とされています。原因菌は*Bacillus acidocaldarius*で、原料のデンプン中に認められるとのことです。これらの情報は、アイコデキストリンのメーカーから得たとのことです。

これまで、ペプチドグリカンによる生物活性や生体への影響は、数多く研究され、報告されてきました。しかし、症状が報告され、その原因がペプチドグリカンであったことが明らかにされた例はほとんどないのではないのでしょうか。今回ご紹介した例は、いくつかの教訓を示唆していると思います。一

つは、通常問題にされないペプチドグリカンの汚染がある病態を引き起こしたことです。これは、ペプチドグリカンの汚染も、ある種の医薬品や医療用具では管理する必要があるかもしれないことを示唆しています。また、ペプチドグリカンの引き起こした症状がエンドトキシンに比べて非常にマイルドな症状を示したことは、これまでの研究結果通り、ペプチドグリカンの生物活性がエンドトキシンに比べて低いことを示唆しています。汚染アイコデキストリンが原因と思われる無菌性腹膜炎患者の中には、アレルギー反応のために、アイコデキストリンの使用を中止せざるを得なかった例もあったとのことですから、マイルドであるから安全と考えることはできません。このマイルドな症状がさらにどのような病態に結びついていくかは、今後の課題です。

今回SLP試薬による測定値が指標として有用だったようですが、その要因の一つに汚染源が単一の細菌(*Bacillus acidocaldarius*)であったことが挙げられます。すなわち、SLP試薬の反応性は菌種によって異なりますし、 $\beta$ -グルカンによる反応も考慮する必要がありますが、今回の例では汚染源がほぼ単一と考えられるため、定量が可能であったということです。

SLP試薬は、その特異性や反応性に注意する必要がありますが、試料の性質を考慮して使用すれば、まだまだ有用な使用方法があるように思われます。

## [参考文献]

- 1) Tourea, F. et al. *Kidney International*, 65, 654 (2004).

次回は、第60話「エンドトキシン試験法への適応」の予定です。



将来はカイコ試験紙で  
微生物汚染がわかる？

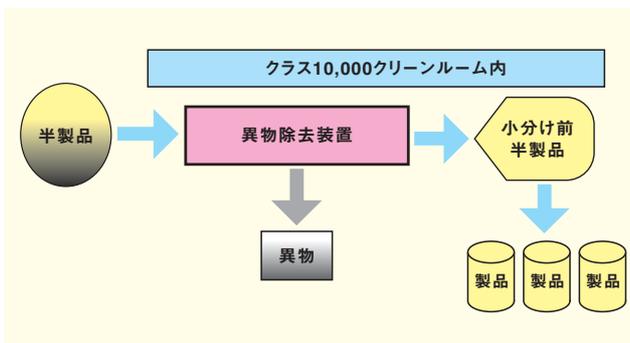
## 新しいコンセプトの医薬品原薬 Add-Spec Series

今お使いの医薬品原料を、「試薬」から「局方」に代えませんか？

長年の試薬製造で培った技術でGMPガイドラインに従って製造した医薬品「製造専用」原料を発売しました。

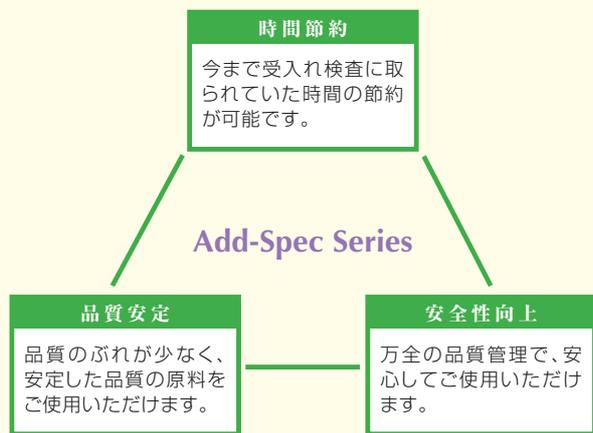
### 特長

- GMP管理されたクリーンルーム内での製造。
- 最終小分け工程直前で異物除去装置を導入。
- 多岐にわたる品質保証。
- 医薬品の研究開発用に500g包装品もラインアップ。

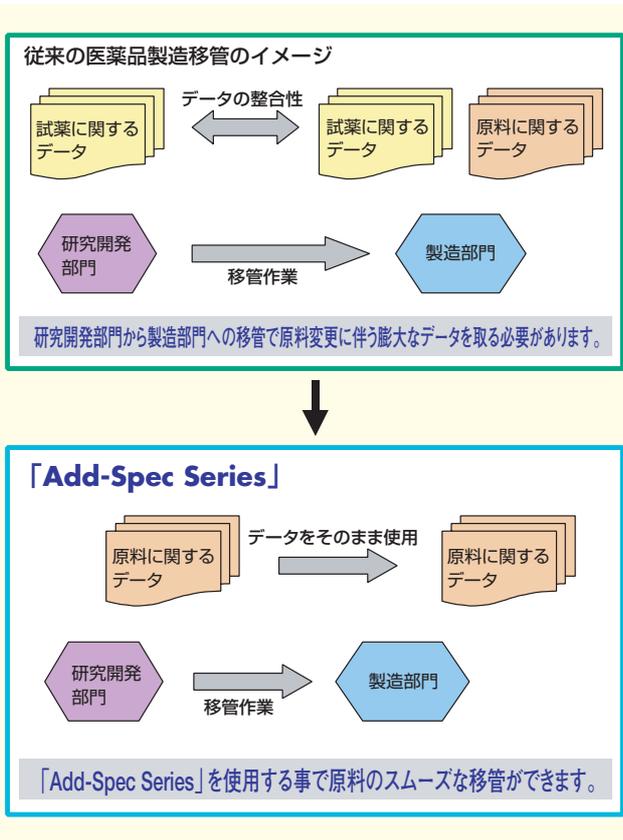


異物除去装置を最終小分け工程直前に導入しました。これにより、今まで混入が懸念されていたさまざまな異物がほぼすべて除去されています。

### 受入れ検査のご負担を軽減



多岐にわたる項目について品質保証しており、受入れ試験のご負担を軽減します。試験項目など詳細は当社営業員までお問合せ下さい。



大入り包装品に加え500g包装品もご用意しましたので、研究開発段階から本生産まで、安定した高品質の局方「製造専用」品のご使用が可能です。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
198-13265	亜硫酸水素ナトリウム「製造専用」	日本薬局方	500g	2,000
194-13267			20kg	照会
037-19185	クエン酸「製造専用」	日本薬局方	500g	3,000
033-19187			20kg	照会
194-13245	クエン酸ナトリウム「製造専用」	日本薬局方	500g	3,600
190-13247			10kg	照会
030-19175	グルコン酸カルシウム「製造専用」	日本薬局方	500g	6,000
036-19177			10kg	照会
197-13235	酢酸ナトリウム「製造専用」	日本薬局方	500g	3,300
193-13237			20kg	照会
204-16055	酸化チタン「製造専用」	日本薬局方	500g	3,600
200-16057			10kg	照会
191-13255	水酸化ナトリウム「製造専用」	日本薬局方	500g	2,400
197-13257			20kg	照会
133-14495	D-マンニトール「製造専用」	日本薬局方	500g	5,000
263-01815	硫酸亜鉛「製造専用」	日本薬局方	500g	2,800
207-16045	トロメタモール「製造専用」	局外規	500g	6,500
203-16047			10kg	照会
136-14485	リン酸二水素カリウム「製造専用」	局外規	500g	3,000
132-14487			25kg	照会
047-29015	リン酸二カリウム「製造専用」	局外規	500g	3,600
043-29017			20kg	照会

## 価格改訂しました!



### NMR溶媒

ご好評頂いておりますNMR溶媒の品揃えを充実しました。  
従来品と同様の品質で、より安価な設定となっております。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
013-18421	Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> , 100% (min.99.95%)	NMR用	0.8mℓ×10 1mℓ×5A	20,000 18,000
012-11931			10g	6,800
017-19862	Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> , 99.9%	NMR用	25g	8,500
018-11933			50g	16,000
019-17161	Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> , 99.9%		10g	6,500
014-18412	containing 0.05v/v% TMS	NMR用	25g	11,000
015-17163			50g	21,000
011-17361	Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> , 99.8%	NMR用	1mℓ×5	8,800
018-17371	Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> , 99.8%, containing 0.05v/v% TMS	NMR用	1mℓ×5	8,800
010-18431	Acetonitrile- <i>d</i> <sub>3</sub> , 100% (min.99.95%)	NMR用	0.8mℓ×10	21,000
010-17314			1mℓ×5	15,000
016-17311	Acetonitrile- <i>d</i> <sub>3</sub> , 99.8%	NMR用	10g	11,000
012-17313			50g	34,000
028-14251	Benzene- <i>d</i> <sub>6</sub> , 100% (min.99.95%)	NMR用	0.8mℓ×10	20,000
024-13511	Benzene- <i>d</i> <sub>6</sub> , 99.8%	NMR用	1mℓ×5	12,000
025-14261			50g	23,000
021-15081	Benzene- <i>d</i> <sub>6</sub> , 99.6%	NMR用	100g	28,000
036-18011			50g	3,600
032-18013	Chloroform- <i>d</i> , 99.8%	NMR用	100g	5,700
035-19201			100g×10	35,000
039-19221	Chloroform- <i>d</i> , 99.8%, containing 1v/v%TMS	NMR用	50g 100g	3,200 4,800
032-19211	Chloroform- <i>d</i> , 99.8%, containing 0.05v/v% TMS	NMR用	50g 100g	3,200 5,700
038-19213			100g×10	35,000
034-17211	Chloroform- <i>d</i> , 99.7%, containing 0.05v/v% TMS	NMR用	100g	5,600
030-16691	Chloroform- <i>d</i> , 99.7%, containing TMS	NMR用	50g 100g	3,100 5,600
040-26423	35% Deuterium Chloride Soln. in D <sub>2</sub> O, 99.5%	NMR用	50g	13,000

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
043-26413	20% Deuterium Chloride Soln. in D <sub>2</sub> O, 99.5%	NMR用	50g	13,000
046-29041	Deuterium Oxide, 100% (min. 99.95%)	NMR用	0.6mℓ×10	5,000
048-26843			10g	3,300
040-26842	Deuterium Oxide, 99.9%	NMR用	25g 100g	5,800 16,500
042-26841			1kg	照会
046-26844				
040-18831			10g	3,250
048-18832	Deuterium Oxide, Min. 99.75%	NMR用	25g 100g	5,750 16,400
045-23411			1kg	照会
044-18834				
043-29051	Dichloromethane- <i>d</i> <sub>2</sub> , 99.9%	NMR用	1g×10 5g	17,800 14,000
048-27781			25g	42,000
046-27782				
046-22961	Dichloromethane- <i>d</i> <sub>2</sub> , 99.75%	NMR用	1mℓ 10mℓ	4,400 17,500
042-22963				
045-27791	Dimethyl Sulfoxide- <i>d</i> <sub>6</sub> , 100%(min. 99.95%)	NMR用	0.8mℓ×10 1mℓ×5A	19,000 15,700
049-22711				
046-29063	Dimethyl Sulfoxide- <i>d</i> <sub>6</sub> , 99.9%	NMR用	0.6mℓ×10 10g	3,700 3,800
040-29061				
048-29062			25g	7,500
049-29092	Dimethyl Sulfoxide- <i>d</i> <sub>6</sub> , 99.9%, containing 1v/v% TMS	NMR用	25g	7,500
048-29084	Dimethyl Sulfoxide- <i>d</i> <sub>6</sub> , 99.9%, containing 0.05v/v%TMS	NMR用	10g 25g 50g	3,200 7,500 13,500
042-29082				
044-29086				
047-29071	Dimethyl Sulfoxide- <i>d</i> <sub>6</sub> , 99.9%(septam)	NMR用	10g	3,800
135-14531			0.6mℓ×10	8,200
130-10402	Methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 99.8%	NMR用	25mℓ 10g 50g	23,000 10,500 48,000
131-14533				
134-13641				
135-12951	Methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 99.8% containing 0.05v/v% TMS	NMR用	10g	12,000
202-15071	Tetrahydrofuran- <i>d</i> <sub>8</sub> , 100%(min.99.95%)	NMR用	0.8mℓ×10	72,000
206-16071	Tetrahydrofuran- <i>d</i> <sub>8</sub> , 99.5%	NMR用	10g	40,000
200-14271	Toluene- <i>d</i> <sub>8</sub> , 99.6%	NMR用	10g	14,500
201-16082			25g	20,000

## フルオラス化学を始めませんか



Fluorous社は、アメリカのふっ素誘導製品のメーカーであり、コンビ化学の精製系でユニークな製品が注目されています。一般にフルオロアルキル基でタグ化された有機分子はfluorous solid phase extraction (F-SPE)と呼ばれる手法により容易に他の有機分子から分離することが可能です。固相試薬とは異なりフルオラス試薬は通常の液相反応として取り扱うことができます。そのためクロマトグラフィーでの単離や、各種スペクトル装置での同定が可能な独特の物性を持っています。

製品は、フルオラス標識合成試薬とカラム精製系に分けられます。

### 特長

- 対象化合物のフルオラス標識により、通常のシリカゲルカラムで精製が行える。
- さらにフルオラス化されたシリカゲルカラムにより独特な分離条件でフルオラス化合物を精製できる。
- フルオラス化されたシリカゲルは、繰り返し使用できる。

### F-SPE (パッケージドカラム)

フルオラス化されたシリカゲルカラムをあらかじめカラムにパッケージしたものです。このパッケージドカラムF-SPEの一般操作は下記のとおり非常に簡単です。

- 1: 反応混合物をフルオラスシリカゲルのチューブもしくはカラムクロマトにチャージする。
- 2: Fluorophobicな溶媒を流すことでノンフルオラスな有機化合物のフラクションを得る。
- 3: Fluorophilicな溶媒を流すことでフルオラス化合物のフラクションを得る。

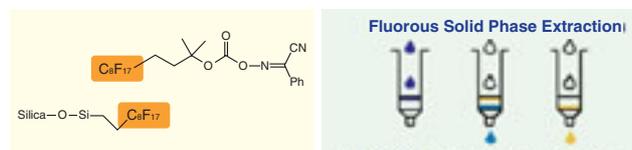


Figure 1. Fluorous Compounds

1. Reaction mixture containing organic and fluorous components.
2. Elute organic fraction
3. Elute fluorous fraction

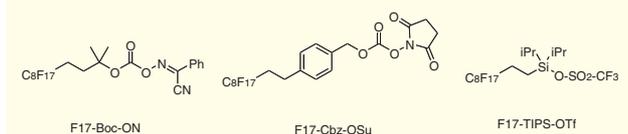
Figure 2. Fluorous Solid Phase Extraction (F-SPE)

この簡単かつ有益なF-SPEに関する詳細な実験方法及び使用溶媒の情報はwebにて容易に入手可能です。(パッケージドカラムの動画による説明が["http://fluorous.com/start.html"](http://fluorous.com/start.html)でご覧になれます)

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
583-79751	801-0027S-5	FluoroFlash® SPE Cartridges, 2 grams, 8 cc tube - Flanged	5pack	17,800
—	801-0027S	8 cc tube - Flangeless	20pack	69,000
586-79741	801-0027FL	FluoroFlash® SPE Cartridges, 2 grams, 8 cc tube - Flangeless	20pack	67,700
—	801-00027RL	FluoroFlash® SPE Cartridges, 2 grams, 8 cc tube - Rimless	20pack	69,000
586-79763	801-0058S	FluoroFlash® SPE Cartridges, 5 grams, 10 cc tube	2pack 10pack	28,600 75,000
587-79771	801-0109S-1	FluoroFlash® SPE Cartridges, 10 grams, 60 cc tube	1pack	19,300
—	801-0109S	60 cc tube	5pack	75,000
584-79781	801-0209B	FluoroFlash® SPE Cartridges, 20 grams, 60 cc tube	2pack	67,700
—	801-0209A	60 cc tube	5pack	120,000

### フルオラス保護基 (フルオラスタグ)

通常の固相による合成反応では反応速度の低下や、反応が完結しないといった問題がありますが、フルオラス保護基(タグ)を用いる合成反応では、液相反応なので上記のような問題はなく、また簡単に合成反応進行状況を薄相クロマトグラフィーもしくはGC、HPLCなどで確認できます。加えてF-SPEにより容易な化合物の精製を可能にします。これらの保護基は通常のふっ素鎖を有しない保護基と同様の方法で保護、脱保護が可能です。



標識試薬例

上記製品以外にも、TLC、HPLCカラム、シリカゲルやスカベンジャーなど様々なフルオラス化学関連試薬が提供可能です。合成反応において目的物の分離に問題点が生じた場合には、それを克服する1つの手法としてフルオラス性を利用したこれらの製品を是非お試しください。フルオラス化学は精製系をはじめ広範囲な領域での利用が予想されるので、各種修飾基を備えた多くのフルオラス化試薬を提供しており、品揃えを充実させています。Fluorous社のwebサイト["http://fluorous.com"](http://fluorous.com)には各種製品情報が豊富に掲載されており最新情報がダウンロードできますので、ご参照下さい。



#### フルオラスとは

フルオラスとは親フルオロカーボン性という意味です。ふっ素を含む化合物を取り扱う利点は容易な分離精製能にあります。含む化合物は有機溶媒にも水にも混ざりにくいという性質を持っています。ターゲットとなる化合物にこのふっ素のタグを付けてやれば、フルオラス溶媒を用いる抽出操作やフルオラスシリカゲルカラムクロマトで簡単にタグなしの化合物群と分離することができます。

## 三次元空孔を持つ 水溶性パラジウム錯体

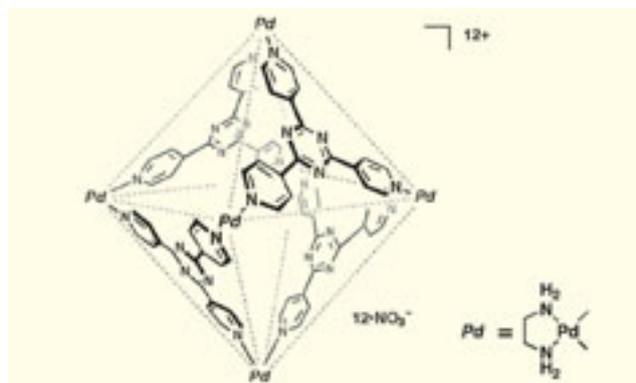
Wako

Pd-ナノケージ

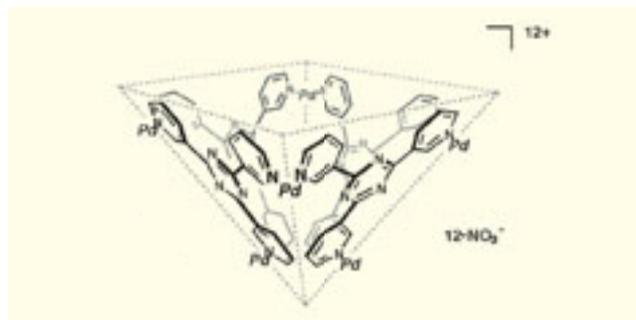
Pd-ナノボール

[(en)Pd](ONO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>

三次元的に閉じた構造を持つ化合物は骨格の内部に外界から孤立した特異な空間を有しており、このような空間に取り込まれた分子には、新規な物性や反応性が期待されます。Pd-Nanocage及びPd-Nanobowlは、遷移金属への配位結合を駆動力とする自己集合によって、瞬時にかつ定量的に構築されたナノサイズの空孔を持った新しいタイプの三次元錯体です。この三次元錯体空孔では、孤立空間の形状や大きさを利用した特異な反応、有機分子の特異的な抱接、水中での有機合成反応場としての利用などが可能です。ご好評をいただいておりますPd-NanocageにPd-Nanobowlと三次元錯体を構築するためのビスの役割をもつ[(en)Pd](ONO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>の2品目を追加しました。



Pd-Nanocage



Pd-Nanobowl

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
160-20471	Palladium-Nanocage	有機合成用	1g	23,000
165-21761	Palladium-Nanobowl	有機合成用	200mg	10,000
161-21763			1g	35,000
052-07341	(Ethylenediamine) dinitratopalladium(II)	有機合成用	200mg	8,000
058-07343			1g	30,000

## イオンクロマトグラフ用 標準液

Wako

イオンクロマトグラフィーは、イオン類、特に微量の無機イオン類やアルカリ金属、アルカリ土類金属などの分析に、有効な分析法です。

少量の試料で複数のイオンを同時に測定できることから、環境分析の分野ではJIS K 0102工場排水試験法、水道法などの公定法で、分析法のひとつとして採用されています。

当社では、これら環境分析での一斉分析に使用可能な混合標準液を追加発売しました。

### 混合標準液

#### 陰イオン混合標準液

コードNo.	品名	混合イオン種(mg/l)	規格	容量	希望納入価格(円)
133-11891	Multianion Standard Solution I	Br <sup>-</sup> :100 Cl <sup>-</sup> :20 F <sup>-</sup> :20 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> :100 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> :100 PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> :200 SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> :100 in H <sub>2</sub> O	イオンクロマトグラフ用	50ml	6,800
136-11881	Multianion Standard Solution II	Cl <sup>-</sup> :200 F <sup>-</sup> :50 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> :N:10 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> :N:20 in H <sub>2</sub> O	イオンクロマトグラフ用	50ml	4,900
134-14621	Multianion Standard Solution III	Br <sup>-</sup> :50 Cl <sup>-</sup> :10 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> :50 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> :50 SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> :100 in H <sub>2</sub> O	イオンクロマトグラフ用	50ml	4,900

#### 陽イオン混合標準液

コードNo.	品名	混合イオン種(mg/l)	規格	容量	希望納入価格(円)
136-14561	Multication Standard Solution I	Ca <sup>2+</sup> :100 Mg <sup>2+</sup> :100 Na <sup>+</sup> :100 in 0.02mol/l HNO <sub>3</sub>	イオンクロマトグラフ用	50ml	4,900
130-14601	Multication Standard Solution II	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> :100 Na <sup>+</sup> :100 K <sup>+</sup> :100 in 0.02mol/l in HNO <sub>3</sub>	イオンクロマトグラフ用	50ml	4,900
137-14611	Multication Standard Solution III	Li <sup>+</sup> :5 Na <sup>+</sup> :20 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> :25 K <sup>+</sup> :50 Mg <sup>2+</sup> :30 Ca <sup>2+</sup> :50 in 0.02mol/l in HNO <sub>3</sub>	イオンクロマトグラフ用	50ml	4,900

### 塩素酸イオン、亜塩素酸イオン

平成16年4月より改正された水道法の水質基準項目の臭素酸イオンに加え、管理目標項目の塩素酸イオン及び亜塩素酸イオンの測定にご使用いただける標準液も発売しました。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
028-15091	Bromate Ion Standard Solution (BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup> :2,000mg/l in Water)	イオンクロマトグラフ用	50ml	4,000
037-19401	Chlorate Ion Standard Solution (ClO <sub>3</sub> <sup>-</sup> :1,000mg/l in Water)	イオンクロマトグラフ用	50ml	4,000
034-19411	Chlorite Ion Standard Solution (ClO <sub>2</sub> <sup>-</sup> :1,000mg/l in Water)	イオンクロマトグラフ用	50ml	4,000

## 悪臭物質測定用標準液 アンモニア標準液Ⅱ



大気中の有害成分を規制する法律のひとつに、悪臭防止法があります。悪臭防止法施行規則第5条には、アンモニア、アルデヒド類、トルエン、キシレンなどが特定悪臭物質としてあげられ、その測定方法も定められています。

この度、当社では現行の測定法に対応したアンモニア標準液を発売しました。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
012-20081	Ammonia Standard Solution II (100μg/ml Water Solution)	悪臭物質 試験用	5ml	3,200

### 関連商品

下記、既存商品 アンモニア標準液も、引き続き販売します。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
012-08241	Ammonia Standard Solution (0.2μg/μl Water Solution)	悪臭物質 試験用	5ml	3,200

## 日本薬局方適合 生薬有効成分(標品)

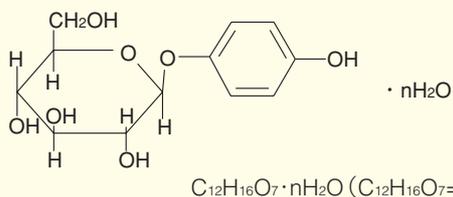


第十四改正日本薬局方に収載されている生薬有効成分の試験に使用されます。本品は、日本薬局方一般試験法試薬・試液の規格「成分含量測定用及び薄層クロマトグラフ用」に適合しています。

## アルブチン

本品はウワウルシ、コケモモの葉に含有される有効成分です。大腸菌増殖阻止作用の抗菌作用、マウスの塩化ピクリルによる接触性皮膚炎に対する治療効果増強などの薬理作用があります。

起 源： *Arctostaphylos uva-ursi* (Linné) Sprengel (*Ericaceae*)  
化学名： 4-Hydroxyphenyl-β-D-glucopyranoside  
CAS No. : 497-76-7



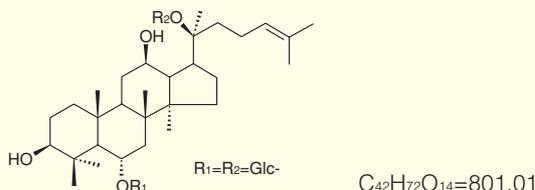
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
011-20291	Arbutin	局方生薬試験用(成分含量測定用・薄層クロマトグラフ用)	20mg	12,000

## ギンセノシド Rg<sub>1</sub>

本品はオタネニンジン根に含有される有効成分です。ラット大脳皮質刺激、脳内シナプスの神経伝達物質の分泌促進作用があります。

起 源： *Panax ginseng* C. A. Meyer (*Panax Schinseng* Nees) (*Araliaceae*)

CAS No. : 22427-39-0

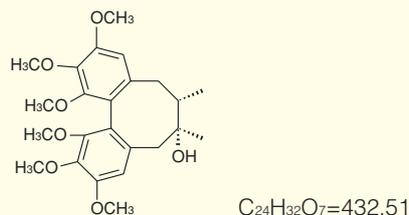


コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
076-05021	Ginsenoside Rg <sub>1</sub>	局方生薬試験用 (薄層クロマトグラフ用)	10mg	30,000

## シザンドリン

本品はチョウセンゴミシ果実に含有される有効成分です。マウス、ラット、ウサギに対し鎮咳作用、肝障害防止作用があります。

起 源： *Schisandra chinensis* Baillon (*Schisandraceae*)  
CAS No. : 7432-28-2

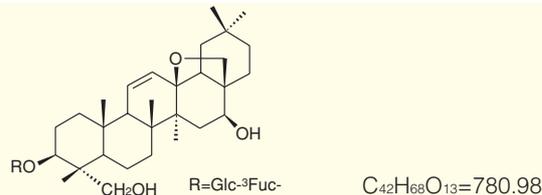


コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
197-13551	Schizandrin	局方生薬試験用 (薄層クロマトグラフ用)	20mg	18,000

## サイコサポニン a

本品はミシマサイコの根に含有される有効成分です。モルモットに対する鎮咳作用など中枢抑制の作用があります。

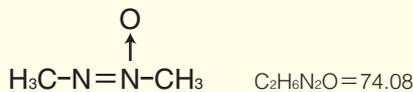
起 源： *Bupleurum falcatum* Linné (*Umbelliferae*)  
CAS No. : 20736-09-8



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
190-13541	Saikosaponin a	局方生薬試験用 (薄層クロマトグラフ用)	10mg	23,000

## マウス・ラットのモデル大腸がん誘発剤 **アゾキシメタン [AOM]**

本品はマウスやラットにおける大腸がんを強力に誘発させる物質で、大腸がんモデル作製物質として発がん予防物質の探索やがん発生メカニズムの研究に広く用いられています。今後も結腸がんの増加が危惧される中で、発がん予防物質の探索がますます盛んに行われるものと考えられ、本品が果たす役割は重要となってきています。本品の平均的な投与量は、ラットで皮下注射15mg/kg(体重)を週1回、約3週間行う事で数週間後には前がん病変(ACF)が認められます。



CAS No.: 25843-45-2

含量(GC): 95.0%以上

### 【参考文献】

- 1) 広瀬善信、田中卓二 他: 日本癌学会総会記事, p269(1996).
- 2) Tanaka, T., Sumida, K. and Ogawa, H.: *Foods & Food Ingredients J. Jap.*, 177, 43(1998).
- 3) Orii, S. *et al.*: *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 22, 41(2003).
- 4) Nakanishi, S. *et al.*: *Microbiol. Immunol.*, 47, 951(2003).
- 5) Kishimoto, Y. *et al.*: *J. Gastroenterol.*, 37, 186(2002).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
011-20171	Azoxymethane	細胞生物学用	100mg	50,000

### 関連商品 **がん誘発物質**

コードNo.	品名	誘発がん	規格	容量	希望納入価格(円)
042-02801	7,12-Dimethylbenz[a]anthracene	乳腺がん	和光特級	1g	29,000
049-24891	DMIP	大腸がん	生化学用	20mg	26,000
147-03421	4-Nitroquinoline 1-Oxide	卵巣腫瘍、白血病	和光特級	1g	13,000
163-15951	PhIP Hydrochloride	口腔がん(舌がん)	生化学用	100mg	36,000

## マイコトキシン試験用試薬 **パツリン**

パツリンは、*Penicillium*属や*Aspergillus*属などの真菌によって産生されるマイコトキシンで、汚染の可能性の高い主要食品としてリンゴ果汁が良く知られており、公定規格でリンゴジュースや原料用リンゴ果汁中のパツリンは50ppb以下と定められています。

本品は、リンゴジュースや原料用リンゴ果汁中のパツリン検査用標準品として使用できます。

含量(HPLC): 98.5%以上

融点: 110~111°C

起源: *Penicillium expansum*

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
168-21631	Patulin	マイコトキシン試験用	10mg	30,000

### 関連商品

#### マイコトキシン試験用試薬

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
013-10361	3-Acetyldeoxynivalenol	マイコトキシン試験用	10mg	22,000
010-17691	Aflatoxin G <sub>2</sub>	生化学用	10mg	58,000
024-07761	Butenolide	マイコトキシン試験用	10mg	15,700
033-08011	Citrinin Standard	—	10mg	27,000
048-18631	Deoxynivalenol Standard	マイコトキシン試験用	10mg	24,000
046-20401	Diacetoxyscirpenol	マイコトキシン試験用	10mg	16,000
060-03563	Fumonisin B <sub>1</sub>	生化学用	1mg	10,000
064-03561			10mg	42,000
063-03411	Fumonisin B <sub>2</sub>	生化学用	10mg	39,900
063-01711	Fusarenon-X Standard	マイコトキシン試験用	10mg	22,000
141-04661	Neosolaniol Standard	マイコトキシン試験用	10mg	20,000
144-04651	Nivalenol Standard	マイコトキシン試験用	10mg	21,000
150-02111	Ochratoxin A	生化学用	5mg	42,000
209-08251	T-2 Toxin Standard	マイコトキシン試験用	10mg	14,500

## 生体防御機能研究

### LPS(リポポリサッカリド)

LPSは、グラム陰性細菌の細胞壁の最外層を構成している成分です。本品は、*E. coli*より粗LPSをフェノール-水抽出法(Westphal法)にて抽出した製品と(→フェノール抽出品)、さらに、超遠心法で精製し2回洗浄した製品があります(→超遠心品)。各種炎症反応の誘発実験などにご使用下さい。

### 規格

起源: *E. coli*

形状: 凍結乾燥品

コードNo.	品名	菌株	精製	規格	容量	希望納入価格(円)
120-05131	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O26 (by phenol extraction)	O26	フェノール抽出	細胞生物学用	25mg	10,000
127-05141	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O55 (by phenol extraction)	O55	フェノール抽出	細胞生物学用	25mg	10,000
125-05201	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O111 (by phenol extraction)	O111	フェノール抽出	細胞生物学用	25mg	近日発売
124-05151	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O127 (by phenol extraction)	O127	フェノール抽出	細胞生物学用	25mg	10,000
121-05161	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O26 (by ultracentrifugation)	O26	超遠心	細胞生物学用	5mg	12,000
128-05171	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O55 (by ultracentrifugation)	O55	超遠心	細胞生物学用	5mg	12,000
125-05181	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O111 (by ultracentrifugation)	O111	超遠心	細胞生物学用	5mg	12,000
122-05191	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O127 (by ultracentrifugation)	O127	超遠心	細胞生物学用	5mg	12,000

DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

## 簡単、迅速なラベリングキット

### Dojindo ラベリングキット

本品は活性化試薬とFiltration Tubeにより抗体などを簡単に標識するキットです。前処理、反応、精製まですべて一つのFiltration Tube上で行う事ができ、3時間以内で標識する事ができます。

#### 特長

- 短時間で標識が可能  
従来の標識法では標識に2日要していたが、本品を用いる事でわずか3時間に短縮できる。
- 高分子から低分子まで  
分子量50,000以上の高分子の標識ができる。また、PeroxidaseとAlkaline Phosphataseのラベリングキットに関しては、さらに分子量5,000以下の低分子の標識も可能である。
- 豊富なラインアップ  
Peroxidase、Alkaline Phosphatase、BiotinはそれぞれSHタイプとNH<sub>2</sub>タイプ、また蛍光物質ではFluoresceinのラベリングキットをラインアップしている。各種用途にあわせてご利用下さい。

#### 各種データ

##### ELISA

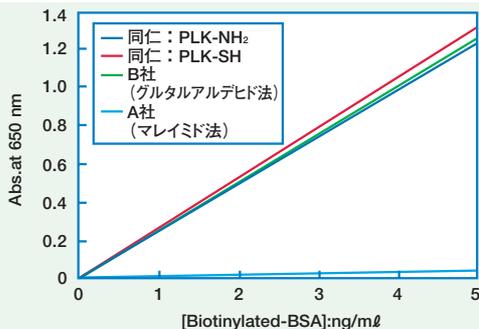


Fig.1. プレートに固相化したビオチン標識BSAを、各種方法でHRP標識した抗ビオチン抗体を用いて測定

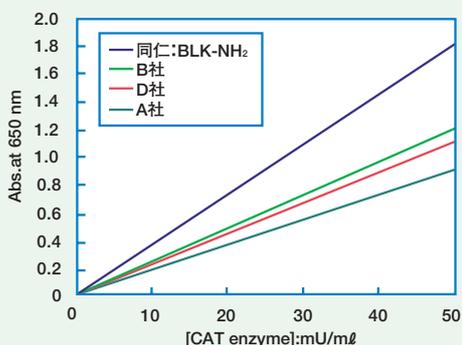


Fig.2. プレートに固相化したCATを、各社ビオチンラベリングキットで標識した抗CAT抗体を用いて測定

#### ウェスタンブロット

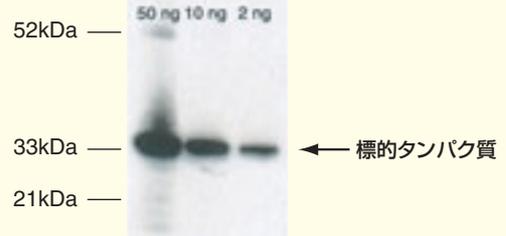


Fig.3. 抗原タンパク質をSDS-PAGE後、ニトロセルロース膜に転写し、ALPラベリングキットで標識したALP標識抗体を用いて検出

#### 免疫組織染色

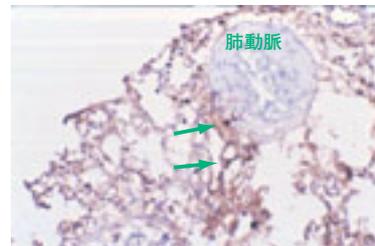


Fig.4. ビオチン標識Anti-Nitroguanosineモノクローナル抗体を用いて染色した、肺高血圧剤投与ラット肺動脈凍結切片の免疫組織染色 (熊本大学医療衛生学部微生物学教室 北里英郎教授提供)

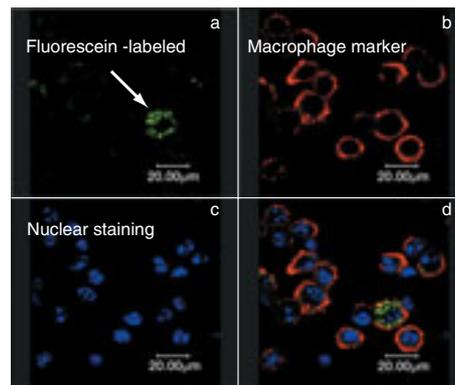


Fig.5. マウス肺の蛍光染色

- マクロファージに発現するレセプターの抗体をフルオレセインラベリングキットで標識した抗体で染色
  - マクロファージのマーカーで染色
  - 核染色
  - 多重染色
- (熊本大学医学部細胞病理学講座 寺崎泰弘先生提供)

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
348-90821	LK11	Peroxidase Labeling Kit-NH <sub>2</sub>	3samples	17,000
345-90831	LK09	Peroxidase Labeling Kit-SH	3samples	17,000
343-90871	LK12	Alkaline Phosphatase Labeling Kit-NH <sub>2</sub>	3samples	21,000
346-90861	LK13	Alkaline Phosphatase Labeling Kit-SH	3samples	21,000
347-90891	LK03	Biotin Labeling Kit-NH <sub>2</sub>	3samples	12,000
348-90941	LK10	Biotin Labeling Kit-SH	3samples	12,000
347-90911	LK01	Fluorescein Labeling Kit-NH <sub>2</sub>	3samples	21,000

## RNAスタビライザーを用いて精製したTotal RNAのRT-PCR増幅例



シリカ担体によるRNA精製キットとRNAスタビライザーを併用して精製したTotal RNAについて、その性能を検討しました。試料としてマウス肝臓を用い、RNAスタビライザーを添加及び未添加で、その精製したTotal RNAの安定性及び、それぞれのサンプルを鋳型としたRT-PCR増幅について検討しました。結果として、RNAスタビライザーを用いて精製したTotal RNAは、37℃、一晩インキュベートしても分解が認められず、また、RT-PCRで増幅断片を得ることができました。この実験結果より、RNAスタビライザーを添加して精製したRNAは非常に安定で、他の酵素へ影響を与えないことが判明しました。



### RNA精製

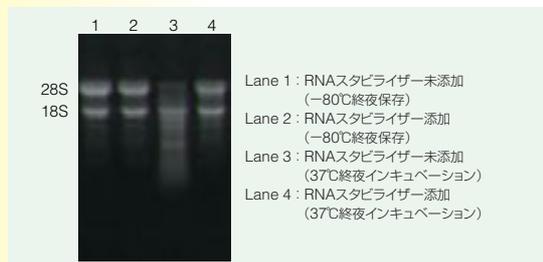
市販のRNA抽出キットのマニュアルに従って行った。洗浄工程の最初の洗浄液に対し、RNAスタビライザーを1/10容量入れた後、室温で20分間インキュベートした。他の操作は、マニュアルに従って行った。

### RT-PCR

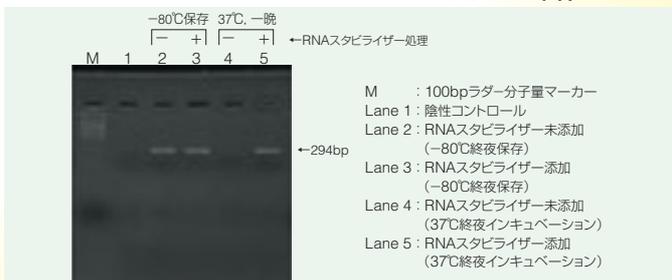
精製したTotal RNA 0.2μgに対してβ-アクトチン遺伝子(294bp)をRT-PCR増幅した。

50℃ 20min.  
↓  
85℃ 1min. } ×28cycles  
52℃ 1min.  
72℃ 1min.

### RT-PCR条件



精製したRNAのアガロース電気泳動写真



RT-PCR増幅後のRNAのアガロース電気泳動写真

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
180-01891	RNAstabilizer, Irreversible RNase Inactivation Reagent	遺伝子研究用	50回用	12,000

## 遺伝子工学用試薬カタログ・マニュアル 2005 発行!

### 特記事項

- 新製品約200品目追加
- 新規無細胞タンパク質合成キット-WakoPUREシステムを掲載
- カスタム合成や合成キットまでsiRNA関連試薬を新たに掲載
- ECOS™ Competent *E. coli*、Ligation-Convenience Kit、Blunting-Convenience Kit、Bac'n'Roll Beadsなど短時間、高効率クローニング試薬を新たに掲載
- 土壌DNA抽出キット「ISOIL (アイソイル) シリーズ」を新たに掲載
- バッファー類もさらに充実
- DNA、RNA抽出からプロテオーム、さらに学生実習用キットまで幅広く掲載
- Evrogen社 蛍光タンパク質発現ベクターシリーズを新規追加

### 目次

- siRNA PCR
  - PCR
  - qPCR
- Buffer
- Cloning and Modification
  - Restriction Endonuclease
  - Modifying Enzyme
  - DNA Substrate and Vector
  - Other
- Gene Transfer
  - Gene Transfer
  - amaxa
- DNA Sequencing
- Primer
- Electrophoresis
  - Marker
  - Agarose
  - Polyacrylamide and Dye
  - Apparatus
- DNA Array
- Hybridization
- DNA and RNA Extraction
- Library
  - CapSite® Technology
  - RNA and DNA
  - BioChain, GeBA, Cybrdi, ILSbio
- DNA and RNA Synthesis
- Cell free protein synthesis

- Apoptosis
- Custom Service
- Biotechnology Educational Kit
- GMO Detection
- Trial Series
- Molecular Biology Grade Reagents
- Proteome Analysis
  - Protein Extraction
  - Protein Purification
  - Protein Refolding Reagent
  - Protein Analysis
  - Structural Analysis

- Others
- Manuals
- Appendix
- Index and Price List



カタログをご希望の方はご請求下さい。

## エミール・フィッシャー (1852.10.9~1919.7.15)

科学史家 島尾 永康

## ドイツ大学の競争原理

エミール・フィッシャーはボンの近くのオイスキルヘンで、豊かな商人の8番目の末っ子として生まれた(図1)。上の男児は亡くなっていたので唯一人の男児だった。5人の姉たちが争って弟を関心の的としたので、エミールはちょっとした女性嫌悪症に陥った。ボン大学でケクレから化学、クラウジウスから物理の講義を聴いたが、これら有名な学者からとくに影響は受けなかった。翌年、普仏戦争後の1872年にドイツ政府が開いたストラスブルグ大学に移り、そこで真の師匠、アドルフ・フォン・バイヤーに出会い(図2)、かれをドクターファーター(博士課程の指導教授)として22歳で博士となり、直ちにその助手に採用された。1875年、バイヤーがリービッヒの後継者としてミュンヘン大学に移ったときこれに従い、員外教授となり、分析化学を担当した。超一流の実験家バイヤーに学んだフィッシャー自身も高度に熟練した実験家となった。小さな大学町エアランゲンの大学教授

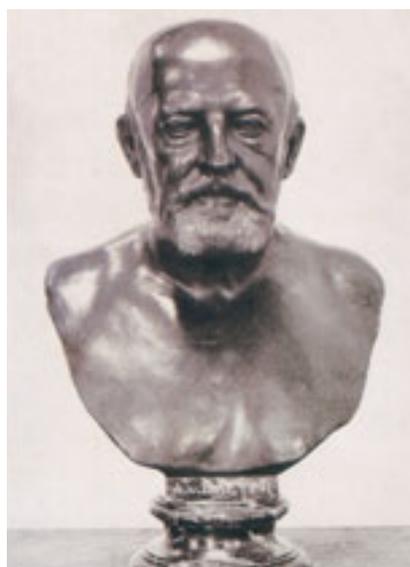


図2. アドルフ・フォン・バイヤー。40年間のミュンヘン大学教授時代、バイヤーを凌駕する有機化学者はなく、門下から多くの優れた有機化学者が輩出した。インディゴの合成はとくに有名。1905年、ノーベル化学賞受賞。

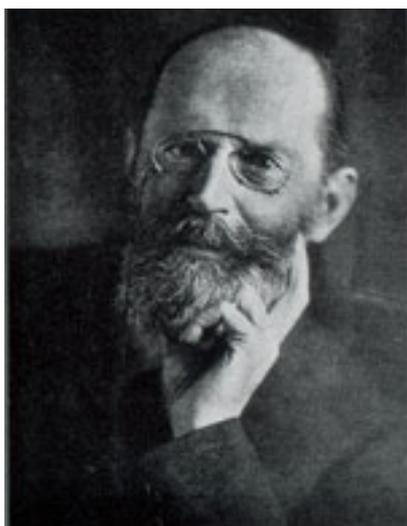


図1. エミール・フィッシャー。

(1882~1885)だった31歳のとき、バーデン・アニリン・ソーダ社から、大学教授の年俸の数倍に当たる、年俸10万マルクで研究部長に迎えたいという申出があつたが、「思考の自由と研究の自由は、いかなる富や権力とも替えがたい貴重なものだ。身に沁みついた学者気質は産業には役に立たないと思う」といって辞退した。しかし産業界との関係は保った。その後ウエルツブルグ大学教授となった(1885~1892)。エアランゲンからウエルツブルクへ移ったところからフィッシャーをドクターファーターとしたいという志願者が急増した。チューリッヒ工科大学からもハイデルベルク大学からも教授職への招きがあつた。 Hofmannの後継者としてベルリン大学教授という招きがあつたとき、南ドイツの大学ばかりで過ごしたフィッシャーにはプロイセン気質になじめないものを感じたが、帝国の首都の与えるさまざまな利点を考えると、抗し難い魅力であつた。こうしてドイツ大学の競争原理が機能して、40歳のフィッシャーはベルリン大学化学教授兼化学科長の地位を獲得した(1892~1919)。しゃんと

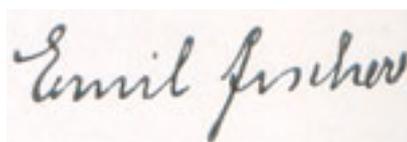


図3. フィッシャーの署名。

した姿勢、敏捷な身のこなし、それが行動人フィッシャーの印であり、一つの目標を目指して脇目もふらず進むのがかれの人生の顕著な特色だった(図3)。

## 生体に関する合成化学

フィッシャーは、理論や仮説はうつろいやすいものとして重視せず、重要なのはもっぱら事実であり、事実的な研究成果こそ永久不変なものを見た。徹底した経験主義者だったが、原子論や立体化学の概念は疑わなかった。オストヴァルトやマッハのように原子論を否定する大家もいた時代である。最初の研究発表はヒドラジン化合物についてだった(1875)。未知の新しい化合物グループを発見し、それをヒドラジンと命名した。フェニルヒドラジンがアルデヒドとケトンの試薬として役立つことを発見した1884年は、実り多い年だった。しかしそれが糖類の合成実験で有力な武器となることが分かったのは10年ものちのことである。 Hofmannが作った染料、ロザリニンの構造決定の研究に気をとられたからである。

エアランゲンにいたころ、メルカプタンの臭いの研究に関連して、フィッシャーは人間の嗅覚はときに分光分析よりも鋭敏であることを量的に検証した。嗅覚を重視したフィッシャーは、ある種の化学物質を最も鋭敏に検知するのはやはり嗅覚であると1907年にも言明している。

カフェインの研究に引き続いて、尿酸とその関連物質の研究を始めたのは1881年で、これらはある仮説的物質の酸化物であることを明らかにし、その物質をプリンと命名した。その研究の頂点はプリン自体の発見である(1898)。尿酸の研究はそれを発見したシェーレに始まり(1776)、フルクロワ、プラウト、リービッヒ、ヴェーラー、ミッテレルリッヒ、ジェラール、シユトレッカー、バイヤーなど多くの名前が化学史を飾つ

ているが、その輝かしい星群の中でひととき輝かしい光芒を放っているのがフィッシャーである。1900年までにかれが合成したプリン誘導体は130に達し、この分野の研究の第一人者となった。プリンの知識のすべてはフィッシャーによる。プリン研究と平行しておこなった炭水化物の研究を結び付けて、最初のヌクレオチドを合成したのは1914年で、尿酸の研究から実に33年間続いた研究である。メルク社、バイエル社、ヘキスト社はフィッシャーのプリン研究にもとづいて、催眠薬ヴェロナル、バルビタール、ドルミナル、ルミナルなどを製造販売した。またバーリンガー社、バイエル社はカフェイン、テオフィリン、テオプロミンを製造した。「商売に向かないと父に愛想をつかさされた私だが、いささかの発明によって、商人だった父さえ手にすることもできなかったような収入を得る身となった。」(『自伝』)。製薬特許権によってかれは当時のドイツの学者のうち最も富めるものとなった。

炭水化物の研究は1884年に始められ、尿酸の研究と平行しておこなわれた。最初の糖の合成は1887年におこなわれた。糖類の研究で、果糖、ブドウ糖などの異性体を合成し、ファント・ホフ、ル・ベルの説を確証した。グルコースの光学異性体が16通りあることを証明した。糖類の発酵にかかわる酵素の研究をおこない、酵素化学の基礎を作った。酵素と糖類の関係を錠と鍵に喩えた(1894)。糖とプリン族の合成に対してノーベル化学賞を受けた(1902)。炭水化物の研究の延長としてタンニンの研究を始めた(1908)。マルトースの誘導体として合成した物質の分子量は、それまでの合成物質中最大の4021であった。

1899年、タンパクの研究を開始した。アミノ酸とタンパクの関係は、ヘキソースと多糖類の関係であり、フィッシャーはまずアミノ酸の研究から始めた。アミノ酸の分離法を改良し、ポリペプチ

ドを合成した。1907年にはオクタデカペプチド(18のアミノ酸からなり、分子量1213)を合成した。この年、ベルリン科学アカデミーからヘルムホルツ賞を受賞した。これは物理学と生物学に関する優れた業績に与えられるもので、フィッシャーの化学研究の生物学への貢献を評価されたのである。1916年には、約100のポリペプチドの合成に関する自身の研究をまとめた。フィッシャーの有機化学研究は、生体中に存在する物質の構造と合成に関するものが主であり、糖、酵素、プリン、タンパクの研究で生化学の基礎を築いた。ベルリン時代の門下生から、アドルフ・ヴァインダウス(1928)、ハンス・フィッシャー(1930)、オットー・ワールブルク(1931)、オットー・ディールス(1950)のノーベル賞受賞者が出ている。( )内は受賞年。

### 深刻な薬物中毒

フィッシャーは暴飲と過度の喫煙でしばしば体調を崩したが、実験による薬害も甚大だった。手は薬品で汚れ、一見して化学者と分かった。ひどい悪臭に悩まされたこともある。エアランゲン時代に始めたフェニルヒドラゾンからインドール誘導体を作る実験で、多量のスカトールを作ったが、そのつよい悪臭が衣服、髪、皮膚にくっついて、フィッシャーとその共同研究者たちはオペラ劇場、レストラン、自宅、あるいは旅先のホテルなど、いたるところで苦情を引き起こした。

ミュンヘン時代に酸化水銀とヒドラジンの反応を扱ったとき水銀中毒にかかったが、3ヶ月で直った。フェニルヒドラジンの発見は大ヒットだったが、その慢性中毒に悩まされた。「私はこの化学の初恋の対象と15年間も仲良くしたが、それは慢性的な、執拗な中毒をもたらして私を不幸にした。それを取り除くのに12年もかかった」と述べているが、実際は終生これより回復し

なかった。このため1891年には指から手のひらまで湿疹を生じ、腸の機能に障害がおこり、下痢を伴う腹痛があった。1892年冬はとくにひどく、いかなる治療法も効かなかった。中毒は薬物の蒸気にもよったが、皮膚からの侵入によるが多かった。神経系統も悪影響を受けた。ウエルツブルクの換気の悪い個人実験室で、2年間、塩化リンを弄ったときは咽喉の炎症をおこした。実験室の換気の良し悪しはかれの最大関心事だった。

### ベルリン大学化学教室の新築

ミュンヘン大学では新築されたばかりの化学教室で、フィッシャーは師のバイヤー教授と同じ大きさの個人実験室を与えられた。エアランゲン大学でも、化学教室は新しく、設備はかなり良かった。ウエルツブルク大学では設備は悪く、教室の新築について文部当局と数年にわたって粘り強く折衝したが、完成したのはフィッシャーが去った後だった。見事な化学教室が新築されることになっていたチューリッヒ工科大学からの誘いは魅力的だったが、健康上の理由で断った。ハイデルベルクからブンゼンの後任にという誘いもあったが、実験室の老朽ぶりを見て辞退した。ベルリン大学からの招聘を受諾したときの最大の条件は化学教室の新築だった。しかしフィッシャーの指図通りの化学教室が完成したのは赴任後8年の1900年7月であり、「研究手段の多様性と豊富さにおいて、世界のどの化学教室・研究所にも引けを取らない、」とフィッシャーが開設時に誇らしげに挨拶したのはその翌年である。

ベルリン大学にはゲオルク通りにホフマンが設計した第一化学教室と、ブンゼン通りにランドルトがいた第二化学教室があった。1900年にヘッセン通りに移転して新築されたのは第一化学教室である。後にこれはたんに化学教室、第二化学教室は物理化

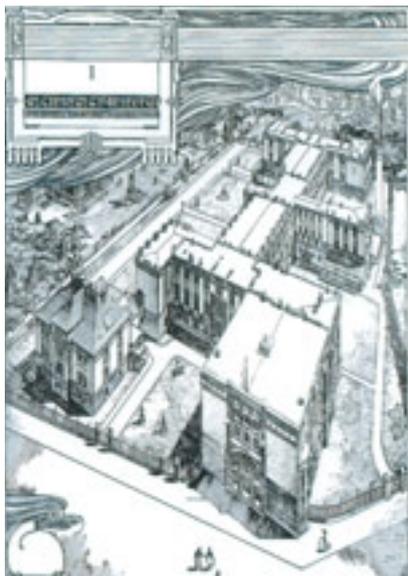


図4. ベルリン大学化学教室の鳥瞰図（フィッシャー、グート共著、『ベルリン大学第一化学教室の新築』、1901）。手前の左側に学科長邸宅、右側に大講義室がある。

学教室と呼ばれることになる。地階つき3階建ての化学教室に、豪壮な化学科長邸宅が隣接していた(図4)。各階の高さは一様でなく、高さの順に言えば、2階5.48m、3階5.15m、1階3.73m、地階2.53mとなっていた。2階には有機化学の大実験室が2室あり、各室には12の実験台に48の座席がある(図5)。科長邸宅から渡り廊下で化学教室に入るとすぐ科長個人実験室になっている(図6)。フィッシャーはベルリン大学ではそれまでのどの大学よりも多くの雑用に忙殺されたが、なおかつ化学教室で最大の個人実験室を作らせてタンパクの研究に没頭したことが見てとれる。科長天秤室と科長面談室も隣接している。他の研究者用の天秤室は2室ある。大講義室は2階と3階にまたがる、高さ9.5m、幅18m、長さ15mの大空間に、12段の階段教室となっており、座席数は490である(図7)。ベルリンはしばしば霧がかかって部屋が暗くなるので、大講義室の窓は普通より大きくしてある。この他、図書室、光学室、有機化学・分科長個人実験室、助手個人実験室、物理化学作業室、燃焼室などがある。



図5. 有機化学大実験室(前掲書)。



図6. 化学科長の個人実験室(前掲書)。



図7. 大講義室(前掲書)。正面の壁には元素記号表と周期表が掲げられている。

3階には2階のと同じ大きさの無機化学の大実験室が2室ある。他に、悪臭室、電気分解室、座席数110の中講義室と34の小講義室、天秤室2、送風機室、分光分析室、ガス・容量分析室、分科長個人実験室などがある。1階には蒸留水室、工場、倉庫3室、木工・精密機械作業室、電気化学室、変電器室、鍛工室、長時間加熱室、顕微鏡研究室、ガス分析室、カロリメトリ室、液体空気製造室、殺菌室、生理化学室、熱化学と冶金室、光化学室3室などがあり、地階には恒温室と孵化室がある。

フィッシャーが、ラムゼーの推薦状をもってやってきた若いオットー・ハーン(1906)と、その共同研究者マイトナーを1階の木工室で研究させたのはすで

に伝説的だが、カイザー・ヴィルヘルム化学研究所が開設されると、放射化学を独立の部門としてハーンをその主任とした。フィッシャーはベルリン大学にファント・ホッフとヴァルター・ネルンストを招聘するのにも尽力した。

開校した年の10月、京都帝大の初代有機化学教授、久原躬弦が早くも見学に来ている。その『独逸国大学巡覧記事』(1901)に、「実験室ノ清潔名状シ難シ」とあるが、ドイツ人の清潔好きに加えて開校早々であるから清潔なのは当然であろう。久原が旅の最後に見たロンドン大学のラムゼーの「実験室ノ穢キト其ノ設備ノ不充分ナルニハ誠ニ驚クノ外ナシ」と好対照をなしている。フィッシャーの個人助手、「アームストロング氏ノ案内ニテ残ル限

ナク実験室内ヲ一見セリ」、「少シデモ特殊ノコトニハ必ズ一室アリ。トエバ油バスノ部屋ニハ通常ト攪拌ノ区別アリ。光学室アリ、生理化学ノ実験室アリ。蒸留室ニモ通常ト真空ノ区別アリ。低温ノ室アリ、液体空気ノ室アリ。天秤室ハスベテ五六個アリ。毒性ガスマ実験スル室アリ。ソノ他備レリ、尽クセリ、実ニ筆紙ニ尽クシ難シ」とある。「フィッセル(フィッシャー)氏ノ講義ヲ聴聞ス」とも記している。大講義室のフィッシャーの講義はつねに満員で、化学者、医師、薬剤師、教員志望者のほかに法科や神学科から聴きにくるものもいた。鈴木梅太郎がフィッシャーの許に留学したのは1903～1906年であるから新築の化学教室である。化学教室は1945年、空襲で破壊されたが、戦後、再建され、1953年に大講義室は「エミール・フィッシャー講堂」と命名された。

## カイザー・ヴィルヘルム協会

19世紀末葉では物理のヘルムホルツがそうだったように、20世紀初頭では化学のフィッシャーがドイツの最高の



図8. アドルフ・フォン・ハルナック。ベルリン大学教授、教会史研究の権威。カイザー・ヴィルヘルム協会の創始者で初代会長。大戦後にはドイツ科学緊急協同体を創案した。夫人は19世紀の大化学者リービヒの孫娘。

科学者だった。4たびドイツ化学会会長を務めたフィッシャーは、学界と産業界と政府を結ぶ重要な存在だった。1909年、神学者で自然科学にも造詣の深いアドルフ・フォン・ハルナック(図8)は、フィッシャーの助言にもとづいて、ドイツが基礎科学の研究所設立では英、米、仏、スウェーデンなどに立ち遅れていること、そこでベルリン大学創立百年を記念して複数の研究所を設立することを皇帝ヴィルヘルム2世に進言した。翌年、カイザー・ヴィルヘルム科学振興協会が設立され、ハルナックが会長、フィッシャーが実行委員長となり、1912年10月23日、その最初の二つである、カイザー・ヴィルヘルム化学研究所とカイザー・ヴィルヘルム物理化学および電気化学研究所が設立された(図9)。所員は教育の義務なく、基礎研究に打ち込み、研究の自由が

保障された。建物と装置を民間の個人または企業が提供し、維持費を文部省が負担した。管理は政府または民間人の単独ではなく、両者の合同でおこなわれる点が英米流と異なっていた。化学研究所はエルンスト・ベックマンを所長とし、独立の三部門からなっていた。無機および物理化学(ベックマンが主任)、有機化学(リヒャルト・ヴィルシュテッターが主任)、放射能(オットー・ハーンが化学、リーゼ・マイトナーが物理の主任)である(図10)。物理化学研究所は、物理化学がフリッツ・ハーバー、毛細管化学がヘルベルト・フロイントリッヒが主任である。のちにボラニとラーデンプルクが加わって四部門となった。しかし開所後すぐ大戦となったので、基礎研究どころか、毒ガス研究の拠点となった。したがって研究所としての最盛期は第一次大戦



図9. カイザー・ヴィルヘルム研究所の開所式に臨む皇帝ヴィルヘルム2世(左)と、ハルナック、フィッシャー、ハーバー(右)。



図10. カイザー・ヴィルヘルム化学研究所の図書室。手前の机の左側にベックマン、右側にヴィルシュテッター、奥の机にハーンとマイトナーが並んでいる。(フィッシャー、ベックマン共著、『ベルリン・ダーレムのカイザー・ヴィルヘルム化学研究所』、1913)。



図11. カイザー・ヴィルヘルム化学研究所。左から順に所長邸宅、門衛住宅そして本館である。(前掲書)。

後の再建からヒットラーの台頭までの間である(図11)。

フィッシャーは戦時中、化学に関するありとあらゆる問題の行政にかかわった。チリ硝石に代わる合成硝酸、コークス炉からのアンモニア増産、ベンゼンとトルエンの増産、ナフタレンからの重油の生産、コールタールからフェノールとクレゾールの抽出、石膏とキーゼルの含有イオウの利用、油脂の鹼化の制限のため他のグリセロール資源の調査、食料不足の対策などである。

カフェインを用いてコーヒーの完全な代替品を作る問題に、フィッシャーは戦前から特別の関心をもっていた。コーヒー豆による純正コーヒーの輸入にドイツは年間2億マルクの巨費を費やしたので、それを節約するという国民経済的な問題にかかわっていたのである。コーヒーのかおりの性質とその合成の研究も戦前から努めてきた。しかし戦時中は軍の衛生局と戦時食料管理庁の抵抗を受けて人造コーヒー作りは進展しなかった。

カイザー・ヴィルヘルム協会は第二次大戦後、1948年2月26日、オットー・ハーンを会長としてマックス・プランク協会として再建され、現在は60の研究所を運営する、世界最大の、権威ある、政府支援の研究組織となっている。化学研究所は1949年にマイnitzに移り、1959年からオットー・ハーン研究所と改

称され、物理化学研究所は1953年、フリッツ・ハーバー研究所と改称された。

## 晩年

ウエルツブルクでフィッシャーは解剖学教授の娘アグネス・ゲルラッハと結婚した。わずか7年後、妻は中耳炎から脳膜炎を起こして33歳で3児をのこしてベルリンで亡くなった(1895)。妻の早逝後は社交生活を避けて研究室に引きこもった。長男ヘルマンはケンブリッジ大学に留学し、ベルリンで父の指導を受けて生化学者となり、後年パークレーのカリフォルニア大学教授となった(1948)。次男ヴァルターは医学を修めて軍医となったが、強度のうつ病にかかって入院し、平癒したのち大戦に参加したが、上官と衝突して精神病を再発し、うつの発作中に自殺した(1916)。三男アルフレッドも軍医として出征したが、ルーマニアの野戦病院で発疹チフスに感染して23歳で死んだ(1917)。フィッシャーはイタリアのロカルノで保養中(1918年春)、未完の『自伝』(1921)を執筆した。両親に始まり、姉、従兄弟、妻、息子、学校や大学での師、同僚、門下生、内外の各分野の学者など言及された人物の数は300名近くにもなろう。その一人一人に論評を加えているから、フィッシャーが生涯に出会った人間の

観察記録となっている。

フェニルヒドラジンの慢性中毒のほかに、絶えず咳がとれず、しばしば気管支カタルをおこし、消化器の不調と不眠症に悩まされた。1917年には、胆嚢に異常があり、肺炎とパラチフスを併発した。家族の不幸と自身の病気と敗戦後のドイツの虚脱状況にフィッシャーは疲れきった。長年にわたって腸障害に悩まされたが、しばしば激痛によって起床できなくなったのは1919年7月のことである。医師たちは手術不能の腸ガンと診断した。7月15日の朝、公証人を呼んで遺言状を作成し、その中、75万マルクをフィッシャー基金としてドイツの若い化学者に役立てようベルリン科学アカデミーに託した。同日の夜、青酸によって自ら命を絶った。

## 【参考文献】

エミール・フィッシャー著、桑田智訳、『一化学者の想い出』、平凡社、(1943)；鳥尾永康、「久原躬弦の『独逸国大学巡覧記事』」、『科学史研究』、36、(1997)；鳥尾永康、『人物化学史』、朝倉書店、(2002)；M.O.Forster, "Emil Fischer Memorial Lecture," *J.Chem.Soc.*, 117, (1920) 1157; F.Herneck, "Emil Fischer als Mensch und Forscher," *Z.Chem.*, 10, (1970), 41; G.B.Kauffmann and P.M.Priebe, "Emil Fischer's Role in the Founding of the Kaiser Wilhelm Society," *J. Chem. Edu.*, 66, (1989), 394; Emil Fischer und Ernst Beckmann, *Das Kaiser-Wilhelm -Institut für Chemie Berlin-Dahlem*, Verlag von Friedr. Vieweg & Sohn, Braunschweig, (1913).

# TUNEL法によるアポトーシス検出キット



## アポトーシス *in situ* 検出キット コー

アポトーシスの研究の基本となる形態学の一手段として、TUNEL法が利用されています。DNAの3'-OH末端をターミナルトランスフェラーゼを用い、フルオレセインdUTPで標識することによって、組織及び培養細胞中のアポトーシス細胞が検出でき、組織中のどの部位にどれだけのアポトーシス細胞が存在するかを知ることができます。本キットは、最適化されているため、簡便、迅速にアポトーシスを検出することが可能です。

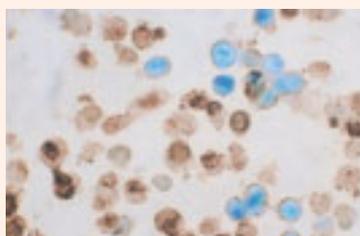
### 特長

- **簡便な操作性**  
最適化した試薬をプロトコールに従って使用するだけできれいなアポトーシス像が得られる。
- **迅速な検出**  
例えばパラフィン包埋組織切片の場合、脱パラフィンから顕鏡までの一連の操作は、約2時間である。

### 対象試料

- パラフィン包埋組織切片
- 培養細胞 (中性ホルマリン固定)
- 凍結切片

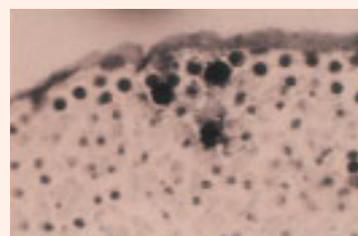
### 染色例



培養細胞CHO-K1:アポトーシス誘導後 (クロルプロマジン処理) (×400)  
核:メチルグリーン染色



ラット小腸(×400)  
核:メチルグリーン染色



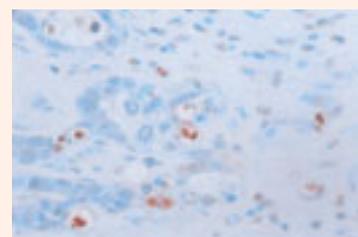
ラット精巣:DAB増感染色(×200)



ヒトT cellリンパ腫:HE染色(×200)



ヒトB cellリンパ腫:HE染色(×200)



ヒト胃がん(×200)  
核:メチルグリーン染色

### キット内容

40回用

● Protein Digestion Enzyme	1ml	1本
● TdT	40μl	1本
● TdT Substrate Solution	4.4ml	1本
● 100×POD-Conjugated Antibody	44μl	1本
● DAB Solution	4.4ml	1本
● DAB Enhancer	200μl	1本
● DNase I	4μl	1本
● 10×DNase I Reaction Buffer	40μl	1本

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
298-60201	Apoptosis <i>in situ</i> Detection Kit Wako	アポトーシス研究用	40回用	60,000

### 関連商品

291-53204	Apoptosis Ladder Detection Kit wako	アポトーシス研究用	24レーン用	36,000
297-53201			96レーン用	58,000
297-55901	Annexin V-Fluorescein Staining Kit	アポトーシス研究用	50回用	40,000
122-03991	Lemosol <sup>®</sup>	病理研究用	1ℓ	3,300
120-04411	Lemosol <sup>®</sup> A	病理研究用	1ℓ	5,500
162-19321	1×PBS (-) Powder	組織洗浄用	1ℓ用×20	4,000
138-12701	Methyl Green Solution	アポトーシス研究用	100mℓ	4,800

記載されている試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるものであり、家庭用、医療用など他の用途には用いられません。  
(本号15頁掲載の局方「製造専用・Add-Spec Series」は医薬品原料としてご利用いただけます)

記載希望納入価格は本体価格であり消費税などが含まれておりません。

和光純薬時報 Vol.73 No.2

2005年4月15日 発行

発行責任者 松田知憲

編集責任者 大西礼子

発行所 和光純薬工業株式会社

〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号

TEL.06-6203-3741 (代表)

URL <http://www.wako-chem.co.jp>

印刷所 株式会社 林欧文堂

● 和光純薬時報に対するご意見・ご感想はこちらまでお寄せ下さい。

E-mail [jiho@wako-chem.co.jp](mailto:jiho@wako-chem.co.jp)

● 製品に対するお問合せはこちらまでお寄せ下さい。

フリーダイヤル 0120-052-099

フリーファックス 0120-052-806

E-mail [labchem-tec@wako-chem.co.jp](mailto:labchem-tec@wako-chem.co.jp)