- Chem.*, 32, 669 (1960).
- 5) E. Ivashkiv : *ibid.*, 33, 1051 (1961).
 - 6) C. C. Porter, R. H. Silber : *Experientia*, 15, 71 (1959).
 - 7) R. J. Block, E. L. Durrum, G. Zweig : "A Manual of Paper Chromatography and Electrophoresis", (1955), (Academic Press, New York).
 - 8) D. Abelson, R. V. Brooks : "Quantitative Paper Chromatography of Steroids", (1960), (Adlard and Son, LTD., Bartholomew Press, Dorking).

☆

Individual and total quantitative determination of prednisolone and hydrocortisone. Kyosuke TSUDA, Yoshihiro SATO and Sayoko TANAKA (Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo)

The individual and total quantitative determination of prednisolone and hydrocortisone was

made by a colorimetric method using triphenyl-tetrazolium chloride (TPTZ). The reaction of TPTZ with those steroids produces reddish solution with a maximum absorption at 485 μ . The absorbancy is influenced strongly by the concentration of ethyl alcohol and the reaction temperature.

In the recommended procedure, 5 ml of an alcoholic solution of the steroid, containing 15 to 150 γ of it, was treated with 0.5 ml of tetramethylammonium hydroxide reagent and 0.5 ml of TPTZ reagent for 40~45 min. at 25°C. The calibration curves for hydrocortisone and prednisolone were perfectly superimposable provided that they were obtained under the same reaction conditions as shown in Fig. 3. With the procedure thus developed, the individual and the total quantitative determinations of prednisolone and hydrocortisone mixture were effected.

(Received Feb. 21, 1962)

サブリマトグラフィーによる多価フェノール異性体の分離*

吉 村 清**

2価フェノール、3価フェノールのそれぞれの異性体混合物のサブリマトグラフィーによる分離を行ない、これらがどの程度に分離が行なわれるかを検討した。

2価フェノールにおいては、ヒドロキノンとピロカテキンはその混合物からよく分離され、ヒドロキノンとレゾルシン、レゾルシンとピロカテキンはそれぞれの混合物から完全に分離することはやや困難であった。

3価フェノールの異性体フロログルシンとピロガロールはよく分離された。

これらの結果はそれぞれ単独に測定された試料の加熱温度 t_h と凝縮帯の位置を示す V. C. P. の関係曲線から推定される分離性とよく一致した。

1 緒 言

2価フェノールであって異性体の関係にあるヒドロキノン、レゾルシン、ピロカテキンの混合物および3価フェノールであって異性体であるピロガロール、フロログルシンの混合物などの試料につき、前報¹⁾に述べたようなサブリマトグラフィー分離法により実験を行なった。

実験は、はじめ試料に含まれた各成分の個々につき試料の加熱温度 t_h と凝縮位置を示す V. C. P. の関係をしらべ、それら相互の関係から分離の可能性をあらかじめ推定し、次にそれらの結果と混合試料の実際の分離の結

果とが、どの程度合致するかを比較するという方法をとった。

2 実験装置

前報¹⁾に詳述したものと同一の装置を用いた。

加熱炉：磁製管にニクロム線を巻いたもの。スライドトランスで電流を加減して試料の加熱温度を変化させる。

温度コウ配炉：テレックス製二重管の外側にニクロム線を疎密に巻いて電流を調節し、一定の温度コウ配(1~3°C/cm)が得られるようになっている。

分離管：径 8~9mm、長さ 900mm の並ガラス管。

分離管の一端に試料を充テンし、更にこれを温度コウ配炉にそう入して管壁の温度を温度コウ配炉のそれと一致させ、管内を 10⁻⁴mmHg の真空中に排気しつつ試料充テン部を加熱炉で加熱し実験を開始する。

* サブリマトグラフィーによる混合系の分離(第4報)

** 上智大学：東京都千代田区紀尾井町

3 2価フェノールの分離

3.1 試 薬

ヒドロキノン, レゾルシン, ピロカテキンの市販特級試薬をそのまま使用した。

3.2 実 験

3.2.1 t_h -V. C. P. 曲線の作成 試料 50 mg, 真空度 10^{-4} mmHg の条件で, ヒドロキノン, レゾルシン, ピロカテキンの試料につき加熱部の種々の温度 t_h に対する V. C. P. をそれぞれ測定し, それらの関係を図示すると Fig. 1 のようになる。

Fig. 1 t_h -V. C. P.-curve

Fig. 1 において, a, a', a'' はそれぞれ各試料の昇華が開始される点を示し, b, b', b'' は昇華が有効的に行なわれはじめる点である。したがって, 第2報²⁾に述べたようにそれぞれの凝縮帯はこれらの点の縦軸(V. C. P.)に対する投影像 C-D, C'-D', C''-D'' の示す温度の位置に現われるわけである。すなわち, ヒドロキノンとレゾルシンの凝縮帯は互に重なり合い, レゾルシンとピロカテキンのそれは接近しており, また, ヒドロキノンとピロカテキンについてはその凝縮帯は十分はなれていると推定される。そこで実際の混合試料ではどのように分離が行なわれるか, ヒドロキノンとレゾルシン, レゾルシンとピロカテキン, ヒドロキノンとピロカテキン, それぞれ2成分の混合物について実験を行なった。

3.2.2 ヒドロキノンとレゾルシンの分離 試料として試薬を次のような比率に混合させたものを作って使用した。

	I	II	III
hydroquinone(mg)	80	50	20
resorcinol(mg)	20	50	80

分離管の一端に試料を充てんして封じ, これを温度コ

ウ配炉にそう入し, 管内を 10^{-4} mmHg の真空に排気しながら試料充てん部を徐々に加熱して行く。 t_h が 78°C になるとわずかに認められる程度のレゾルシンの結晶が析出しはじめ, t_h が 90°C に上昇すると2成分の混合物と思われるものが帯状に凝縮をはじめる。 t_h が更に上昇すればレゾルシンの昇華は終り, t_h 115°C でヒドロキノンのみの凝縮帯が形成される。

各試料の分離された状態は Fig. 2 のとおりである。

Fig. 2 hydroquinone と resorcinol の分離結果

分離管を各凝縮帯部分で切り取りそれぞれをヒョウ量する。その結果は Table I のとおりである。Table I のフラクション a, b, c は Fig. 2 の凝縮帯 a, b, c の部分である。

Table I hydroquinone と resorcinol の分離結果

試料	フラクション	回収量 (mg)	mp (°C)	成分比		回収成分量 (mg)	
				hydro.	resor.	hydro.	resor.
I	a	70.5	170	100	—	70.5	—
	b	15.2	100~106	45	55	6.8	8.4
	c	12.3	98~101	25	75	3.0	9.3
	計	98.0				80.3	17.7
II	a	36.4	170	100	—	36.4	—
	b	45.5	97~99	30	70	13.6	31.8
	c	16.2	100.5	15	85	2.4	13.8
	計	98.1				52.4	45.6
III	a	17.0	102~110	40	60	6.8	10.2
	b	77.0	98~101	15	85	11.6	65.4
	計	94.0				18.4	75.6

各フラクション中に含まれている成分の比率は赤外吸収スペクトルを用い, ratio method³⁾ によって分析を行なった。すなわち, ヒドロキノン, レゾルシンの key band としてそれぞれ 830 cm^{-1} , 963 cm^{-1} を選んで行なった。分析結果は Table I の第5欄のとおりである。なお, 試料 I, II のフラクション a は赤外吸収曲線が純物質と一致し, かつ融点もヒドロキノンと全く一致することから 100% ヒドロキノンとみなし, これから各成分の回収量を算出すると Table I 第6欄となり, それらの合計したものは用いた試料の混合量に一致する。

3.2.3 レゾルシンとピロカテキンの分離 試料は次の混合比の3種である。

	I	II	III
resorcinol(mg)	50	80	20
pyrocatechol(mg)	50	20	80

分離操作は前回同様に行なった。すなわち、真空度 10^{-4} mmHg に排気し試料を徐々に加熱して行く。 t_h 58°C でピロカテキンが昇華を開始し、78°C で第2の凝縮帯が現われる。この温度でピロカテキンの昇華はほとんど終了、ついで t_h 90°C でレゾルシンの凝縮帯が形成される。各試料の分離された状態は Fig. 3 のとおりである。

各試料の分離結果を Table II に示す。

Fig. 3 resorcinol と pyrocatechol の分離結果

Table II resorcinol と pyrocatechol の分離結果

試料	フラクション	回収量 (mg)	mp (°C)	成分比		回収成分量 (mg)	
				resor.	pyroc.	resor.	pyroc.
I	a	45.5	110.5	100	—	45.5	—
	b	37.2	96~100.5	10	90	3.7	33.5
	c	11.6	96~100.5	10	90	1.0	10.6
	計	94.3				50.2	44.1
II	a	74.3	110	100	—	74.3	—
	b	9.0	75~78.5	50	50	4.5	4.5
	c	13.6	96~98	10	90	1.3	12.3
	計	96.9				80.1	16.8
III	a	10.4	110.5	100	—	10.4	—
	b	84.1	96~101	10	90	8.4	75.7
	計	94.5				18.8	75.7

前回と同様、ratio method により各フラクションの分析を行なった。すなわち、レゾルシン、ピロカテキンの key band としてそれぞれ 963, 1038 cm^{-1} の band を選び、各フラクションの成分比を求めると Table II の第5欄に示すようになる。なお、試料 I, II, III のフラクション a は赤外吸収曲線が純物質と一致し、かつ融点もレゾルシンと全く一致することから 100% レゾルシンとみなし、各成分の回収量を算出すると Table II の第6欄となり、その合計は試料の混合量に一致する。

3.2.4 ヒドロキノンとピロカテキンの分離 次に示す3種類の混合比の試料につき分離実験を行なった。分離操作は前回と同様である。

	I	II	III
hydroquinone(mg)	50	80	20
pyrocatechol(mg)	50	20	80

t_h 58~78°C の間でピロカテキンの凝縮帯が現われ、 t_h 95~110°C で第2のヒドロキノンの凝縮帯がはるかにはなれた高温側に現われる。この場合は2成分の重複した帯が現われず、各成分が完全に分離したことを示している。

各試料の分離された状態を Fig. 4 に示す。

Fig. 4 hydroquinone と pyrocatechol の分離結果

分離結果は Table III のとおりであり、フラクション a, b の融点および赤外吸収曲線はそれぞれ純ヒドロキノン、純ピロカテキンのそれと一致するので、各試料ともよく分離されたものと考えられる。また、各成分の回収量も用いた試料の混合量によく一致する。

Table III hydroquinone と pyrocatechol の分離結果

試料	フラクション	回収量 (mg)	mp (°C)	成分比		回収成分量 (mg)	
				hydro.	pyroc.	hydro.	pyroc.
I	a	49.1	170.5	100	—	49.1	—
	b	50.0	105	—	100	—	50.0
	計	99.1				49.1	50.0
II	a	79.7	170.5	100	—	79.7	—
	b	18.1	105	—	100	—	18.1
	計	97.8				79.7	18.1
III	a	18.3	170.5	100	—	18.3	—
	b	80.4	105	—	100	—	80.4
	計	98.7				18.3	80.4

4 3価フェノールの分離

4.1 試薬

フロログルシン、ピロガロールの市販特級試薬をそのまま使用した。

4.2 実験

4.2.1 t_h -V. C. P. 曲線の作成 前回と同様の条件 (試料 50 mg, 真空度 10^{-4} mmHg) でフロログルシン、ピロガロールそれぞれにつき、加熱温度 t_h に対す

る V. C. P. を測定し、 t_h -V. C. P. 曲線を描けば Fig. 5 のとおりである。

Fig. 5 t_h -V. C. P.-curve

Fig. 5 において a, a' は昇華開始温度, b, b' は昇華を実際に行なう温度とすれば各成分の凝縮位置はかなりのはなれており、これらの混合物は容易に分離されるものと推定される。

4・2・2 分離の実験および結果 試料として次の3種の混合比のものを使用した。

	I	II	III
pyrogallol(mg)	50	80	20
phloroglucinol(mg)	50	20	80

分離の操作は前回と同様に行なった。 t_h 86~100°C の間でピロガロールの第1の凝縮帯が現われ、 t_h 150~170°C の間でフロログルシンの第2の凝縮帯が現われ、これら2成分はよく分離されたとみられる。これらの分離された状態は Fig. 6 のとおりである。

Fig. 6 phloroglucinol と pyrogallol の分離結果

各試料の分離結果を示すと Table IV のとおりである。2成分は赤外吸収曲線からも完全に分離されていることが示され、それぞれの回収成分量も、用いた試料の混合量に大体一致している。

5 実験結果の考察

各混合物の分離の結果は次のとおりである。

(1) 2価フェノールについて

i) *p*-化合物、ヒドロキノンと *o*-化合物、ピロカテ

Table IV phloroglucinol と pyrogallol の分離結果

試料	フラクション	回収量 (mg)	mp (°C)	成分比		回収成分量 (mg)	
				phloro.	pyrog.	phloro.	pyrog.
I	a	35.0	134	100	—	44.3†	—
	b	47.3		—	100	—	47.3
	計	82.3				44.3	47.3
II	a	12.4	133.5	100	—	15.7†	—
	b	76.4		—	100	—	76.4
	計	88.8				15.7	76.4
III	a	54.1	133.5	100	—	68.4†	—
	b	18.3		—	100	—	18.3
	計	72.4				68.4	18.3

† 無水となったものとして換算

キノは混合物からよく分離された。

ii) *p*-化合物、ヒドロキノンと *m*-化合物、レゾルシンの場合は高温側に凝縮するヒドロキノンの含量が多い試料からは純ヒドロキノンとして単離され、少ない場合は単離できない。また、低温側に凝縮するレゾルシンについてはその純度を 85% まで上昇せしめるのが限度であった。

iii) *m*-化合物、レゾルシンと *o*-化合物、ピロカテキンの混合物では、高温側に凝縮するレゾルシンはかなりの収量で単離され、低温側に凝縮するピロカテキンについては 90% の純度まで分離することができた。

(2) 3価フェノールについて

フロログルシンとピロガロールの混合物はよく分離される。

以上の分離結果はあらかじめ各成分につき作成した t_h -V. C. P. 曲線より推定されたとよく一致し、各成分についてその分離の難易を判定するために、 t_h -V. C. P. 曲線がよい指針となることがわかった。

文 献

- 1) 吉村 清：本誌，11，488 (1962)。
- 2) 吉村 清：同上，11，400 (1962)。
- 3) 倉谷健治：“最近の物理化学実験法”，p. 66 (1957)，(南江堂)。

☆

Sublimatographic separation of the mixtures of polyhydric phenol isomers. (Sublimatographic separation of mixed system. IV.) Kiyoshi YOSHIMURA (Sophia University)

Sublimatographic separations of polyhydric phenol isomers were studied, whereby:

1) Hydroquinone(*p*-compound) and pyrocatechol(*o*-compound) were separated completely from each other.

2) The separation of hydroquinone(*p*-compound) and resorcinol(*m*-compound) was incomplete, although hydroquinone could be isolated partly

from the mixture.

3) The separation of resorcinol (*m*-compound) and pyrocatechol (*o*-compound) was incomplete, while the most part of resorcinol could be isolated.

4) Phloroglucinol and pyrogallol were separated completely.

The results were in good agreement with those expected from t_h -V. C. P. curves.

(Received Feb. 12, 1962)

サブリマトグラフィーによるベンゼンジカルボン酸の異性体；バニリンとイソバニリン； α -, β -, γ -BHC； α -, β -ナフトール混合物の分離*

吉 村 清**

サブリマトグラフィーによる有機化合物異性体の分離実験を更に数種の例について行なった。

ベンゼンジカルボン酸において、*o*-フタル酸とテレフタル酸はよく分離された。イソフタル酸とテレフタル酸の混合物からテレフタル酸をかなりよい収量で分離できるが、2成分完全分離は困難であった。BHCの異性体においては α -BHCと β -BHCはよく分離されるが、 α -BHCと γ -BHCの分離は困難であった。バニリンとイソバニリン、 α -ナフトールと β -ナフトールはそれぞれ完全分離は困難であるが、かなりの程度まで分離することができた。

以上の結果は試料の加熱温度 t_h と凝縮位置を示す V. C. P. の関係曲線から推定される分離性とよく一致した。

1 緒 言

著者は第3報¹⁾、第4報²⁾においてサブリマトグラフィーによる有機化合物混合系の分離の実際について数種の例を述べたが、比較的性質の近似した異性体、近縁化合物の混合物においてもかなりよく分離を行なうことができ、また、その分離結果はそれら各成分についての試料の加熱温度 t_h と凝縮帯の位置を示す V. C. P. との関係曲線から推定される分離性とよく一致した結果を示した。同様の方法によってベンゼンジカルボン酸の異性体(テレフタル酸、イソフタル酸、*o*-フタル酸、無水フタル酸)；バニリンとイソバニリン； α -, β -, γ -BHC； α -, β -ナフトールのそれぞれの混合物の分離実験を行ない、その結果と t_h -V. C. P. 曲線より推定されるところと対比してみた。

2 試薬および実験装置

2.1 試 薬

イソバニリン：農技研諏訪内技官より譲渡いただいた

* サブリマトグラフィーによる混合系の分離(第5報)

** 上智大学：東京都千代田区紀尾井町

ものを再結晶により精製した。

α -, β -, γ -BHC：同上諏訪内技官よりいただいたものを粗製 BHC から溶剤法により分離精製した。

その他の試薬には市販特級試薬を使用した。

2.2 装 置

第3報¹⁾に詳述したとおりであるが概略次のとおりである。

加熱炉：磁製管にニクロム線を巻いたもの。電流を加減して試料の加熱温度を変化させることができる。

温度コウ配炉：テレックス製二重管の外側にニクロム線を疎密に巻いて電流を調節し、一定の温度コウ配(1~3°C/cm) が得られるようになっている。

分離管：径 8~9mm の並ガラス管。

一端に試料を充テンした分離管を温度コウ配炉にそう入し、管内を 10^{-4} mmHg に排気しつつ試料充テン部を加熱炉で加熱し実験を開始する。

3 ベンゼンジカルボン酸の分離

3.1 t_h -V. C. P. 曲線の作成

これら各異性体について前報²⁾同様の条件(試料 50mg, 真空度 10^{-4} mmHg)のもとで加熱温度 t_h に対するそれぞれの V. C. P. を測定し、これから t_h -V. C. P. 曲線を描けば Fig. 1 のとおりである。