記録し、鉛の定量を試みた。この際の鉛の抽出率は約95%である事を知った。

(2) 上記塩酸抽出後、硝酸処理を行う事により、ジチゾン分解物の波を除去し得る事を知った。

(3) 上記方法によって試薬食塩4種につき鉛の定量を行うと共に、JISの硫化水素による比色試験法と対比した。

(4) 塩化カリ、塩化カルシウム等の如き中性塩に対しても、本法は適用可能であると思われる。

終りに臨み終始御指導を賜った京大理学部藤永太郎先生並びに御鞭撻下さった当所大石行理技官に対して深く感謝の意を表します。(日化第7年会にて発表)

文 献

(1) J. I. S., 試薬, 2, K8150 (1951)

(2) K. Heller, G. Kuhla, F. Machek : *Mikrochemie.*,

18, 193 (1935).

(3) K. Heller, G. Kuhla, F. Machek : *Mikrochemie.*, 23, 78 (1937).

(4) P. R. Stout, J. Levy, L. C. Williams : *Collection. Czechoslov. Chem. Comm.*, 10, 129 (1938).

(5) 黒田 : *Bull. Chem. Soc. Japan.*, 16, 69 (1941).

(6) 黒田 : *Bull. Chem. Soc. Japan.* 15, 153 (1940).

(7) A. Walkley : *C. A.*, 36, 4438 (1942).

(8) I. M. Kolthoff, G. Matsuyama : *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 17, 615 (1945).

(9) F. Takagawa, G. D. Sherman : *C. A.*, 41, 3564 (1947).

(10) 藤永 : 最新の分析化学., 第5集 p. 136.

(田辺製薬株式会社加島工場*) (昭和29年5月27日受理)

ポーラログラフ法によるテラマイシンの定量法

能 登 武 治・松 岡 学

Quantitative Determination of Terramycin by Polarographic Method

TAKEJI NOTO and GAKU MATSUOKA

(Kashima Plant of Tanabe Pharmaceutical Co.)

Quantitative determination of terramycin is made by colorimetric method with ferric chloride, spectrophotometric method or by microbiological method, but these methods require time and give larger allowable errors. In order to eliminate these effects, terramycin is converted into nitrosoterramycin by 100 % of its nitrosoation to make a product comparatively stable in NH_4OH-NH_4Cl , under the condition of measurement, and gives a relation, $id = K \cdot C$, and constant half-wave potential when the concentration range is $1 \times 10^{-5} \sim 2 \times 10^{-3}$ M/l. The nitrosoation of terramycin is carried out at room temperature with HCl and $NaNO_2$, neutralized with NH_4OH and its half-wave potential is determined in NH_4OH-NH_4Cl .

(Received May 28, 1954)

緒 言

抗菌性物質の一つであるテラマイシン¹⁾の定量法としては従来 Colorimetric ferric chloride method²⁾, Spectrophotometric method³⁾, Caustic degradation method⁴⁾, Turbidimetric method⁵⁾, Microbiological method⁶⁾, 等があるが何れも分析所要時間が長く且つ許容誤差の大きいものである。著者等はポーラログラフを

用いる事により此等の欠点を補い迅速適確なる結果が得られる様になった。即ちテラマイシンを塩酸酸性溶液中において亜硝酸ソーダを用いてニトロソ化し、定量的にニトロソ・テラマイシンに移す。此の物質は NH_4OH-NH_4Cl 溶液中において安定に存在し、そのポーラログラムは一定の半波電位を有する拡散電流を示し、且つ $1 \times 10^{-5} \sim 2 \times 10^{-3}$ M の間においてその濃度に正比例する。

以下にその定量について検討した結果をのべる。

〔1〕テラマイシンの定性分析 (並びにその安定性について)

先ずテラマイシン自身の種々 pH における波形について検討してみた。

pH 1~7 においては溶液調製後、直後、24, 48, 96, 168 時間後について、又 pH 8~14 においては、8, 24 時間後何れも室温で放置したものについて検討した結果、酸性溶液では24時間迄何ら変化は認められなかったがそれ以後 pH 3~5 では次第に淡赤色に、又 pH 7 附近の溶液では淡黄色になり波形もそれにつれて変化してくる。96 時間後では pH 1 の溶液でも淡褐

に基くものであらう。この事は pH 2 の曲線からも想像される。pH 11 ($E'_{1/2} = -1.22, -1.50$ 対 S. C. E.) の曲線と pH 2 ($E'_{1/2} = -1.06, -1.28$ 対 S. C. E.) の曲線が同様な波形の曲線を示していることは興味がある。

以上の実験からテラマイシンは pH 2 において最も安定であり、そのポーログラムはテラマイシンのキノン型酸素に基く特徴ある二段波を示し且つその半波電位はテラマイシン個有のものであるから、これによってテラマイシンの定性並びに確認を行う事が出来る。但し精確な定量に使える波形ではない。著者等はこの目的の為に活性基を導入して⁹⁾ 定量可能な波形を得た。

〔2〕 テラマイシンの定量分析

テラマイシンを塩酸酸性溶液において亜硝酸ソーダを作用させるとニトロソ・テラマイシンが出来る。

この物は後述するように、アルカリ性溶液中で安定な物質で定量に理想的な波形を示し、その拡散電流は濃度に比例し又一定の半波電位を有するから、更にそのニトロソ化の条件について検討してみた。

(1) ニトロソ化について

i) 塩酸, 亜硝酸ソーダの濃度及び時間

0.02 M テラマイシン溶液 (pH 2) 1 ml に対して稀塩酸 1 ml 亜硝酸ソーダ溶液 1 ml を加えてニトロソ化するに必要な時間を検討した。その際稀塩酸としては 0.1~7 N を、又亜硝酸ソーダ溶液としては 1~4 M L⁻¹ を使用し、ニトロソ化の時間は直後~180 分という風に

第 2 ☒

変化せしめて測定した。第3図に、(1:1)塩酸を添加した場合のニトロソ・テラマイシンの波高を亜硝酸ソーダの濃度とニトロソ化時間について測定した結果の一例を示す。

この結果からニトロソ化は 20 分で一定の値を示す事が判った。

ii) 温度

ニトロソ化における温度として $0\sim 50^{\circ}\text{C}$ について検討した結果第3図の如くである。

第 3 页

基に酸化せられその還元波が丁度重なる為である。

iii) ニトロソテラマイシンの安定性

テラマイシンを上記の条件でニトロソ化し、後述の様なアンモニヤ性基礎液について調製直後～120 分の間を検討した結果、210 分迄拡散電流及び半波電位に何ら変化が認められなかった。この様な事からしてニトロソ・テラマイシンはアルカリ性溶液中でキノノキシムの型をとって安定化しているものと思われる。

(2) ニトロソテラマイシンのポーラログラムについて

第4 ☒ Start voltage : -0.4 V vs. S. C. E.
pH : 7~10, Clark-Lube's buffer solution.
pH : 11~12, Kolthoff's buffer solution.
pH : 13, 0.1 N NaOH .
pH : 14, N NaOH .

i) 基礎液

ニトロソ化後中和し pH 7~14, 及び $N\text{-NH}_4\text{OH}$, NH_4Cl の基礎液を使用した場合の波形について検討した結果を第 4 図に示す。

これ等の波形中 pH 12, 14, 及びアンモニア緩衝液の波形が良好である。pH 13 では二段波が現われているがこの現象は pH 13 に特有であるのは興味がある。これ等の中定量に最も理想的な波形は $N\text{-NH}_4\text{OH}$, NH_4Cl を使用した場合であってその半波電位は -0.86 対 S. C. E. である。第二波 ($E'_{1/2} = -1.50$ 対 S. C. E.) はキノン型酸素の還元波であると考えられる。

ii) 波形

ニトロソ・テラマイシンは $N\text{-NH}_4\text{OH}$, NH_4Cl 溶液中で極大波を生じない。これは不純物として共存する微量の蛋白質, 糖類等が極大抑制剤として作用している様に思われる。然しゼラチンを共存さす方が定量においては良い波形を与える。この意味において 0.4% ゼラチン溶液 0.5 ml 加えることにした。

iii) 濃度と拡散電流の関係

テラマイシンの濃度を $1 \times 10^{-5} \sim 2 \times 10^{-3} \text{ ML}^{-1}$ の間に変化せしめて拡散電流との比例性を検討した結果全範囲に亘って良好な比例性が認められた。この拡散電流の測定に当り従来の切線法によれば中心線, 切線, 又二等分線等を求める事により相当の作図誤差が入ってくる。然しながら一定の拡散電流から残余電流を差引く事によってそのものの拡散電流値としてあらわすならばこれ等の作図誤差から免れる事が出来る。これは基礎液のみの残余電流を差引く法もあるが, 特定加電圧における残余電流を差引いても同様である。この様な残余電流を差引く法を I. F 作図法 (Substraction method) と称せられるものでこの方法では拡散電流と残余電流における電圧の定め方が重要な問題となってくる。テラマイシンの場合は加電圧 -0.9 V と -0.4 V (ドラムの両端電圧は 4 V) が最も適当であった。この方法と従来の切線法とを比較検討する為め拡散電流の濃度に対する直線回帰を求め, その標準偏差から両者の比較を試みた。即ち濃度範囲を $2.0 \sim 1.1 \times 10^{-3}$, $1.0 \sim 0.1 \times 10^{-3}$, $0.1 \sim 0.01 \times 10^{-3} \text{ ML}^{-1}$ の三つに分けその各々について検討した。その一例を示

すと第 1 表の如くである。

第 1 表における回帰理論値: $\hat{Y}$ は次式によって求められる。

$$\hat{Y} = \bar{Y} + S_{xy}/S_x^2 (X - \bar{X}) = 57.556X - 10072$$

次に回帰からバラツキを標準偏差で表わせば

$$\text{標準偏差} = (S_{dy} \cdot x^2 / n - 2)^{1/2} = 0.41$$

以上の様な方法で各濃度範囲において両法について計算する。次いで切線法を $S_{dy} \cdot x^2$, I. F 法を $S'_{dy} \cdot x^2$ とすれば $S_{dy} \cdot x^2 / S'_{dy} \cdot x^2$ は自由度 8 と 8 の F- 分布をする。これを利用して両法の有意差検定を行った結果とを第 2 表に示す。

〔第 2 表〕

	濃度範囲(ML^{-1})	切線法による標準偏差	I. F 法による標準偏差	F	$F_8(0.05)$
1	$2.0 \sim 1.1 \times 10^{-3}$	0.91	0.41	5.62	3.44
2	$1.0 \sim 0.1 \times 10^{-3}$	1.11	0.31	10.97	"
3	$0.1 \sim 0.01 \times 10^{-3}$	0.13	0.07	3.55	"

第 2 表から分る如く何れも 95% の信頼度を以て同一濃度範囲内において両法の誤差間には差があると云える。

iv) 溶存酸素の除去

一般に溶存酸素の除去には水素, 窒素ガス等の不活性ガスの通気によって行われるが, アルカリ性溶液において亜硫酸ソーダが脱酸素剤として作用する事を利用し飽和亜硫酸ソーダ溶液を加えて行った結果, 溶存酸素は完全且つ敏速に除去せられる。これは工場における大量分析には殊に有効な方法である。又何よりも重要な事は定量において誤差を少なくする事である。但し脱酸素剤としての作用は pH 8 以上のアルカリ性においてしか使用出来ない。

v) 分析操法

テラマイシンのポーラログラム法による定量の理想的条件は試料溶液 ($2 \times 10^{-2} \sim 10^{-4} \text{ ML}^{-1}$ に調製せる pH 2 の溶液) 1 ml. に 1:1 塩酸 1 ml. 3 M 亜硝酸ソーダ溶液 1 ml. を加えて室温で 30 分間ニトロソ化し 1:1 NH_4OH 1 ml. で大体中和後, $4N\text{-NH}_4\text{OH}$, NH_4Cl 5 ml. 0.4% ゼラチン溶液 0.5 ml. 飽和亜硫酸ソーダ溶液 2 ml. を順次加えて蒸留水で 20 ml. にしてポーラログラムを

〔第 1 表〕 $2.0 \sim 1.1 \times 10^{-3} \text{ ML}^{-1}$ における I. F 法による濃度に対する拡散電流値の回帰及回帰直線からの標準偏差

濃度 ($\times 10^{-3} \text{ ML}^{-1}$)	拡散電流値 ($\times 10^{-2} \mu\text{A}$)	平均からの偏差 x	偏差の平方 y	偏差の平方 x^2	偏差の平方 y^2	偏差の積 xy	回帰理論値 $\hat{Y}$	回帰からの偏差 ($Y - \hat{Y} = dy \cdot x$)	平方 $(Y - \hat{Y})^2 = dy \cdot x^2$
2.0	105.49	0.45	26.351	0.2025	694.375	11.8579	105.04	0.45	0.2025
1.9	99.37	0.35	20.231	0.1225	409.293	7.0809	99.28	0.09	0.0081
1.8	93.53	0.25	14.391	0.0625	207.101	3.5978	93.53	0	0
1.7	87.41	0.15	8.271	0.0225	68.409	1.2406	87.77	-0.36	0.1296
1.6	81.66	0.05	2.521	0.0025	6.355	0.1261	82.02	-0.36	0.1296
1.5	76.17	-0.05	-2.969	0.0025	8.815	0.1484	76.26	-0.09	0.0081
1.4	70.42	-0.15	-8.719	0.0225	76.021	1.3078	70.51	-0.09	0.0081
1.3	64.93	-0.25	-14.209	0.0625	201.896	3.5522	64.75	0.18	0.0324
1.2	58.45	-0.35	-20.689	0.1225	428.035	7.2412	58.99	-0.54	0.2916
1.1	53.96	-0.45	-25.179	0.2025	633.982	11.3305	53.24	0.72	0.5181
和	15.5	791.39		$S_x^2 = 0.825$		$S_{xy} = 47.4835$			$S_{dy} \cdot x^2 = 1.32$
平均	$X = 1.55$	$Y = 79.139$		$S_y^2 = 2734.283$

〔第5図〕 テラマイシン分解生成物のポーラログラム
 No. 1 0.02 ML^{-1} テラマイシン溶液 1 ml . をそのままニトロソ化するもの。
 No. 2 同様に 1 ml . を 1 時間加熱後ニトロソ化。
 No. 3 同様に 1 ml . に $N\text{-HCl}$ 1 ml を加え 1 時間加熱後ニトロソ化。
 No. 4 $N\text{-NaOH}$ 1 ml . を加え 1 時間加熱後ニトロソ化。
 No. 5 No. 1 + No. 2
 No. 6 No. 1 + No. 3
 No. 7 No. 1 + No. 4

記録せしめ標準列法により定量する。

〔3〕 応用分析

ニトロソ化によるテラマイシンの定量法を各種製剤に
 応用する為種々の検討を行ってみた。

(1) レタマイシンの分解生成物

先ず問題になるのはテラマイシン分解生成物の共存である。分解物としては、炭酸ガス、アンモニア⁹⁾、ジメチルアミン、安息香酸⁹⁾、テラシノイン酸⁹⁾、テリノライド⁹⁾、等多くの化合物が認められておりこれ等の中には構造式から当然ニトロソ化を受けるべき化合物も存する。これ等を検討する為テラマイシンの熱分解、酸及びア

ルカリ分解生成物について検討してみた。即ち 0.02 ML^{-1} テラマイシン溶液 1 ml 、及び $N\text{-HCl}$ 、 $N\text{-NaOH}$ 、各々 1 ml 。加えたものを 1 時間湯浴中で加熱した後ニトロソ化せるポーラログラムは第5図の如くである。

No. 2, 3, 4. の波形からテラマイシンは完全に分解している事が分る。又分解生成物は殆んどニトロソ化に対して影響ないが残余電流の影響で No. 5, 6, 7. において何れも $+1 \sim 3\%$ の誤差を生じている。

(2) 錠剤、散剤の賦形薬。

一般に錠剤、散剤の賦形薬として使用されている乳糖、澱粉、白陶土、炭酸カルシウム、マグネシヤ、ベントナイト等はニトロソ化には影響を及ぼさない¹⁰⁾。又薄荷も影響しない。

(3) その他の安定剤

第6図 グリシン塩共存のニトロソ・テラマイシンポーラログラム

No. 1 $20 \times 10^{-3} \text{ ML}^{-1}$ グリシン酸ソーダ
 No. 2 $1 \times 10^{-3} \text{ ML}^{-1}$ テラマイシン
 No. 3 No. 1 + No. 2

製剤によっては塩化ナトリウム、硼酸塩、グリシン塩等が使用されているがこれ等の中グリシン塩はニトロソ化によって $E^{1/2} = -0.57 \text{ V}$ に波を与える。これの影響を検討してみた結果第6図の如きである。No. 3においてNo. 1の波が現われているが -0.5 V における残余電流値で I. F 法により作図すればテラマイシンの拡散電流には何ら影響を及ぼさない。

〔第 3 表〕

No.	Represented Potency.	Codition of diluted	Spectrophotometric method(mg)	Polarographic method(mg)
1	Dental cones	5 mg/cone	10 cone/10 ml	4.6
2	Vaginal tablets	100 mg/tablet	1 tablet/20 ml	97.7
3	Soluble tablets	50 mg/tablet	2 tablets/20 ml	50.3
4	Oral suspension	1.5 g/bottle	1.3 g/30 ml	1.6
5	Intravenous	250 mg/bottle	1 bottle/50 ml	243.5
6	Sugar coated tablet	50 mg/tablet	2 tablets/20 ml	52.6
7	Capsules	100 mg/capsule	1 capsul/20 ml	104.6
8	Terramycin-base	890 γ /mg	100 mg/10 ml	90.2

Spectrophotometric method; final concentration : $10 \gamma/\text{ml}$.
 length of wave : at $3530 \text{ \AA}$.

〔第 4 表〕

分 析 法	第 1 回	第 2 回	所 要 日 数
Cup method (Sarcina 菌)	900	908	3(日)
Turbidimetric method (菌肺炎桿)	892	896	2~3
Colorimetric ferrichlorid method	893	896	1~2
Spectrophotometric method (N. N. R 法)	931	902	1
Caustic degradation method	932	933	1~2
Polarographic method	890	892	1

Represented Potency : $890 \gamma/\text{mg}$

(4) 他法との比較検討

テラマイシン製剤中 8 種のものについて吸収スペクトル (Beckman-DU 使用) による法とポーラログラフ法とを比較検討した結果第 3 表の如くである。

更に第 3 表における No. 8 の Terramycin-Base について他法と比較した結果は第 4 表の如くである。

以上の結果からテラマイシンの定量法としてはあらゆる点においてポーラログラフ法が優れている事が分った。

結 言

テラマイシンは pH 2 において特徴ある二段波を示しこの波形は定性分析には適当であるが定量分析には適さない。しかしニトロソ化してニトロソ・テラマイシンにする事によりその目的を達し従来の何れの方法よりも優れている事が分った。このニトロソ化の条件はオーレオマイシンには適用出来ない。

終りに臨み本研究の遂行に当り終始御指導を賜りたる京都大学石橋雅義教授、藤永太郎講師に対し厚く感謝の意を表すると共に御鞭撻下された当社児玉国美氏、伊

東祐一氏、並びに実験において御協力戴いた田坂誠男氏、後藤平八氏、大阪市大の神前健次氏に深甚の謝意を述べ

文 献

- 1) A. C. Finlay, G. L. Hobby, et al: *Science*, III, 85 (1950).
- 2) F. Monastero, John A. Means, T. C. Grenfell: *J. A. P. A.*, Vol. XL, No. 52. 41, (1951).
- 3) R. C. Kersey: *J. A. P. A.*, 39, No. 2, 552, (1950).
- 4) R. C. Kersey: *ibid.*
- 5) 松本和夫: 薬学雑誌 72, 1393 (1952).
- 6) Regna, et. al.: *J. A. C. S.* 73, 2400 (1951).
- 7) Kuhn Dury: *Chem. Ber.* 84, 563 (1951).
- 8) Pasternack, et al: *J. A. C. S.* 74, 1923 (1952).
- 9) Hochstein, et al: *ibid.* 74, 3706 (1952).
- 10) 松本和夫: 薬学雑誌 72, 1936 (1952).

昭和二十八年十一月、同二十九年四月の分析化学討論会及び日化年会において発表。

(京都大学医学部薬学科*) (昭和 29 年 6 月 10 日受理)

加熱滅菌時におけるブドウ糖注射液の変化について

高 木 誠 司・前 川 義 裕

'The Change of Glucose Injection by Sterilization with Heating

SEISHI TAKAGI and YOSHIHIRO MAEKAWA

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyoto)

Estimation of pH of commercial glucose injections by use of glass electrode showed to be pH 3.5~4.3. These lower pH values are attributed to the decomposition of glucose by heating to 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde, its further decomposition gives an equimolar mixture of formic acid and levulinic acid and glucose injection's buffer action are very slight and cause much error when estimated by pH indicating papers. The concentration of formic acid and levulinic acid, respectively, is 5×10^{-6} to 5×10^{-4} M. The acidity can be estimated by high frequency titration or it can be estimated by making a graph from relations of concentration of acid and pH values. Although these lower pH values are considered to be harmless for injection due to its weak buffer action, it is rather striking to note such lower pH values and a suggestion for revision of Pharmacopoeia Japonica VI is made, since it specifies to be pH 5.0~7.0.

(Received, June 10, 1954).

第六改正日本薬局方のブドウ糖注射液 (以下ブドウ糖注と略記) の性状の項には pH 値は 5.0~7.0 であると記載されている。然しながら市販ブドウ糖注 pH の値を種々の測定法で測定すると夫々異った値を示し、且つ規定より酸性を呈することが多い。例えば著者等が測定した値の一例を示すと第 1 表のようである。

即ちガラス電極法による値が最も低い pH 値を与える。そして各種の pH 測定法中でブドウ糖注のように緩衝性

第 1 表 A 社製 20% ブドウ糖注の pH 値

pH 測定法	ガラス電極法	キンヒドロソ 電極法	pH 試験紙	
			C. P. R.	B. C. G.
pH	4.00	4.20	5.4	5.2

* 京都市左京区吉田近衛町

の少ない。しかも還元性物質を含む液の pH 測定に最も正しい値を与えると思われるのはガラス電極法あるので、著者等の製作した直示 pH 計を用いて以下すべての pH 値の測定を行うこととした。

第 2 表には各種濃度のブドウ糖注の pH 値実測の数例

第 2 表 各種濃度ブドウ糖注の pH 値

試料 番号	ブドウ糖 濃度 %	pH 値	ギ酸及レブリン酸 濃度 $\times 10^{-4}$ M	
			第 2 図曲 線 III より	第 2 図曲 線 VI より
1	5	4.3	0.45	0.8
2	10	4.0	1.1	1.9
3	20	4.15	0.71	1.1
4	20	4.0	1.1	1.9
5	25	3.7	3.2	4.8
6	50	3.55	6	2.5