215. 秋山知行, 藤原光雄: オキシシンの測定によるマグネシウム塩の間接定量法*

Tomoyuki Akiyama and Mitsuo Fujiwara: Indirect Quantitative Determination of Magnesium Salt Using the Estimation of Oxine.

(Kyoto College of Pharmacy**)

従来マグネシウム塩の定量法としては周知の如くピロリン酸塩としての重量法が正確とされている。容量分析法としてはマグネシウム塩溶液より $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を生ぜしめ酸標準液より滴定する Hibbard¹⁾ 法, Gooch 並びに Austin²⁾ の方法や酢酸ウラニールによる Springer³⁾ の滴定法がある。

著者等は溶液から析出させた $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を酸に溶解し Berg 等⁴⁾ に従ひ溶存のリン酸をオキシシン・モリブデン酸塩となし再び酸に溶解し生ずるオキシシンをブロマトメトリーに掛けてオキシシンを定量して間接にマグネシウムを定量し概して良好であった。本法はカルシウム塩を共存する際、これを分離することが可能である。なお別法としてオキシシン・マグネシウム錯塩を作り一定過剰の酸標準液に溶解の上、余剰の酸をアルカリ標準液で滴定する場合を検討したが誤差は比較的多いが利用し得るを知った。

実 験 の 部

I. 間接法 [A] 所要試薬 (1) 2% HNO_3 (2) 2.5% NH_4OH (3) 1% NH_4NO_3 (予めメチルレッドに対して少量のアムモニア水で中和する) (4) 10% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (5) フェノールフタレイン試液 (1%アルコール溶液とする) (6) 10% $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ (7) オキシシン塩酸液 ($d=1.17$ の HCl 10 cc に 6 g のオキシシンを溶解し水で全容を 1,000 cc とする) (8) 塩酸溶解液 ($d=1.17$ の HCl 20 cc 及び 96%アルコール 40 cc 並びに水 40 cc の混液)。

[B] 実験法 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 液 10 cc (Mg として 9.34 mg に当る) に 2% HNO_3 30 cc 並びに 10% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 20 cc を加え更に 10% NH_4Ac 25~35 cc とフェノールフタレイン試液 5 滴を加え 2.5% NH_4OH を添加して全溶液が微紅色を呈するに至らしめる。次に水浴上で約 90° に加熱し 1.5 時間溶液を同温度に保つ。なお必要に応じて更に加熱をつづけて $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ の沈澱が析出するように処理する。此処に生じた沈澱を分別してから 2.5% NH_4OH で洗い塩酸溶液で溶解する。次に $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ 液 20 cc 並びにオキシシン塩酸液 30 cc を加え水浴上に 70° で 30 分間加熱して生ずるオキシシン・リン・モリブデン酸塩 $3(\text{C}_9\text{H}_7\text{ON}) \cdot \text{H}_7[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を 1 時間放置して分別する。此の際濾液の pH 値は 6.5 附近である。この沈澱は 1% NH_4NO_3 の 6 cc 以内で洗い塩酸溶解液 70 cc を加え 80° で溶解し、1%インデゴカーミン溶液 5 滴を加え 1.6 g の KBr を添加後 $N/10 \text{ KBrO}_3$ ($F=1.005$) 50 cc を加え溶液が微黄色となるに至らしめる。次いで KI 1 g を加えて暫時放置するにオキシシンの沃素添加体と推定される赤褐色沈澱を生ずるから $N/10 \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ($F=1.003$) を加えて一旦溶解させて澱粉液を指示薬として更に滴定する。此の際の当量関係式を示すと次の如くである。

1. $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + 2\text{HNO}_3 + (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + 3\text{NH}_4\text{OH} + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + 4\text{NH}_4\text{NO}_3 + 3\text{H}_2\text{O}$
2. $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + 3\text{HCl} \rightarrow \text{H}_3\text{PO}_4 + \text{NH}_4\text{Cl} + \text{MgCl}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$
3. $3\text{C}_9\text{H}_7\text{ON} + \text{H}_3\text{PO}_4 + 12\text{MoO}_4^{2-} + 16\text{H}^+ \rightarrow 3(\text{C}_9\text{H}_7\text{ON}) \cdot \text{H}_7[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6] \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{H}^+ + 4\text{H}_2\text{O}$
4. $3(\text{C}_9\text{H}_7\text{ON}) \cdot \text{H}_7[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6] \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{H}^+ + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3(\text{C}_9\text{H}_7\text{ON}) + \text{H}_3\text{PO}_4 + 12\text{MoO}_4^{2-} + 16\text{H}^+$
5. $\text{C}_9\text{H}_7\text{ON} + 2\text{Br}_2 \rightarrow \text{C}_9\text{H}_5\text{ONBr}_2 + 2\text{HBr}$
6. $\text{Br}_2 + 2\text{KI} \rightarrow \text{I}_2 + 2\text{KBr}$
7. $2\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 + \text{I}_2 \rightarrow 2\text{NaI} + \text{Na}_2\text{S}_4\text{O}_6$

此等の関係式からオキシシン 2 分子はリン酸 1 分子に対応し更に Mg に対応する。即ち、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \equiv \text{KBrO}_3 \equiv 1/4$ オキシシン又は $1/12 \text{ Mg}$ となる。それ故 $N/10 \text{ KBrO}_3$ 1 cc = 0.203 mg マグネシウム。

[C] 実験結果

* 日本薬学会年会 (1953) で発表。

** Yamashina-misasagi, Higashiyama-ku, Kyoto.

1) Hibbard: Ind. Eng. Chem. **11**, 754 (1919).

2) Gooch: Z. anorg. Chem. **20**, 135 (1899).

3) Springer: Angew. Chem. **32**, 192 (1919).

4) R. Berg: Angew. Chem. **41**, 619 (1928); K. Scharrer: Biochem. Z. **211**, 444 (1933).

検液 (cc)	N/10 KBrO ₃ (cc)	N/10 Na ₂ S ₂ O ₃	求めたマグネシウム (mg)	誤差 (mg)
10	50	4.43	9.30	-0.04
"	"	4.44	9.30	-0.04
"	"	4.46	9.29	-0.05
"	"	4.50	9.27	-0.07
"	"	4.47	9.29	-0.05
"	"	4.49	9.29	-0.05
"	"	4.51	9.26	-0.08

本定量法では結果は何れも低いが各実測値は 0.4%乃至 0.8%過少の誤差を生じた。

〔D〕考察 1) オキシシン—隣—モリブデン酸の添加体は多量の NH₄NO₃ 液で洗滌すれば沈澱体の減少を伴い定量結果を過少に導く傾向を認めた。 2) Mg として 10 mg 以上含有試料液にあつては誤差が増大し定量を不可能にする傾向を認めた。

II. 沈澱法併用中和滴定 既に Hahn⁵⁾ は中性とせるマグネシウム塩溶液に中性のオキシシン溶液を加える際オキシシンマグネシウム錯塩を生ずると共に当量の酸を遊離するから、これを中和法によつて間接にマグネシウムを定量し得ると提唱した。

著者等は Hahn の方法に従つて追試するにその適確性を欠き実用に供せられぬを知つたので、次の如く検討した結果を述べる。

〔A〕所要試薬 (1) 飽和酒石酸カリウムナトリウム液 (2) 3%メタノール製オキシシン液 (3%の割にオキシシンをメタノールに溶解する) (3) フェノールレッド試液 (フェノールレッド 100 mg をアルコール 100 cc に溶解する) (4) N/10 HCl (F=0.9482) (5) N/10 NaOH (F=1.0036)。

〔B〕実験法 Mg(NO₃)₂ 液 10 cc (Mg として 9.34 mg に当る) に水を加えて 100 cc となしフェノールレッド試液 5 滴を加え更に飽和酒石酸カリウムナトリウム液 10 cc を加え更に N/10 NaOH 15 cc を添加して溶液が微紅色 (pH 8.4 附近) を呈するに至らしめる。次いでオキシシン液 15~20 cc を加え沸騰水浴上で 15 分間放置し生ずる Mg(C₉H₆ON)₂·4H₂O を放冷後暫時沈着させてから傾斜法によつて大部分の上澄液を去り、円心分離して得たる沈澱は蒸留水でよく洗滌しアルカリ性を呈しなくなるまでにする。次いで N/10 HCl 30 cc により水浴上で 5 分間加温して全く溶解させたなら溶液を放冷させ、フェノールレッド試液を加え N/10 NaOH で中和滴定する。(C₉H₆ON)₂Mg·4H₂O + 2HCl → 2C₉H₇ON + MgCl₂ + 4H₂O この反応式より 1/2(C₉H₆ON)₂Mg·4H₂O ≡ HCl ≡ NaOH 従つて 1/2Mg ≡ HCl ≡ NaOH 即ち N/10 HCl 1000 cc = 1/20 Mg (1.216 g) 又は N/10 HCl 1 cc = 1.216 mg, Mg 計算 1.216 (a-b) = mg Mg 但し a...N/10 HCl cc 数, b...N/10 NaOH cc 数。

〔C〕実験結果

検 液 (cc)	N/10 HCl	N/10 NaOH	求めたマグネシウム (mg)	誤差 (mg)	誤差 (%)
10	30	20.68	9.35	+0.01	+0.106
"	"	20.70	9.32	-0.02	-0.22
"	"	20.72	9.30	-0.04	-0.42
"	"	20.74	9.28	-0.06	-0.67
"	"	20.78	9.23	-0.11	-1.06
"	"	20.76	9.25	-0.09	-0.96

〔D〕考察 1) 定量結果が過少に傾むくのはオキシシンマグネシウム錯塩の洗滌の不完全に基づく。 2) 各実測値は最低 -0.2%, 最高 -1.0%と動搖があるが前記実験途上オキシシンマグネシウム錯塩の生成と洗滌効果を上げる様にし、且つ実験回数を多くしてその平均値を取れば除去出来ると推定される。 3) 本実験に用いた指示薬を他に適当なものを選ぶことは将来の課題であるが一応実用分析範囲で利用し得ると信ぜられる。

終りに臨み御指導下された京都大学石橋教授に感謝し、御援助を賜つた藤井学長及び佐野教授に謝意を表する

京都薬科大学

5) Hahn: Z. anal. Chem. **86**, 153 (1931).

6) Berg: Pharm. Ztg. **71**, 1542 (1926); Z. anal. Chem. **89**, 112 (1932).

Summary

Indirect quantitative determination of magnesium was carried out by dissolving $\text{Mg NH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, precipitated from a magnesium salt solution, in acid and the phosphoric acid thereby formed was led to oxine phosphomolybdate which was again dissolved in an acid and the oxine in the solution submitted to bromatometry. A good result was obtained by this method. Another method was the preparation of magnesium oxinate which was allowed to dissolve in a definite excess of an acid and the excess of the acid was titrated with the standard alkali solution. The error in this method was found to be comparatively large.

(Received May 12, 1953)

216. 福田幸平*, 小島 淳**: 蛋白酵素分解物の薬学的研究 (第5報****)

各種蛋白加水分解物中のヒスタミン, チラミン****

Kouhei Fukuda* and Atsushi Kojima**: Pharmaceutical Studies on Enzymatic Hydrolysates of Proteins. V. Analysis of Histamine and Tyramine in various Protein Hydrolysates by Paper Chromatography.

(Pharmaceutical Faculty, University of Kanazawa* and Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyoto**)

蛋白加水分解物は総合アミノ酸製剤として非経口的な蛋白源の補給に近來広く臨床的に用いられているが、その静脈注射等に於ける発熱、嘔吐、皮膚の紅潮発疹等の副作用の原因としては、種々の有害物質が蛋白加水分解物中に存在する事が考えられている¹⁾。ヒスタミン、チラミンもその一つと考えられており、Hopps, Campbell 等²⁾は1943年にモルモットの筋肉による試験によつて、カゼインの酸分解物或は酵素分解物の何れにもヒスタミン、チラミン又はペプトンに類似する物質が存在する事を推定している。そこで著者等はカゼインの酵素分解物、酸分解物、アルカリ分解物並びに市販の静脈注射用総合アミノ酸製剤のそれぞれについてペーパークロマトグラフィーによるヒスタミン、チラミンの検出及び概略の定量を試みた。ヒスタミン或はチラミンに関するペーパークロマトグラフィーによる従来の研究としては K. F. Urbach 等³⁾の血液或は尿中のヒスタミンに関する報告、又宮城、佐竹等⁴⁾の腐敗過程に於けるヒスタミン、チラミンについての報告等がある。然して現在、蛋白加水分解物製剤中のヒスタミン、チラミン等の試験は麻酔せる猫等を用いる血圧試験、或はモルモット等を用いる筋肉試験によつて行われているのであるが、ペーパークロマトグラフィーによる方法はその定量値の精度において此等の生物的試験より若干劣るが、微量のヒスタミン或はチラミンの存在に対しても特異的な化学的証明を与え得ると共に方法が簡単である点において優れていると考えられる。著者等は Urbach 等の方法を参照して多少の改良を加えたペーパークロマトグラフィーによつて本研究を行つた。又本研究に於て試料として用いた蛋白加水分解物及びその製法は次の如くである。(A) 脾臓のプロテアーゼ抽出液によるカゼイン酵素分解物……第3報⁵⁾で述べた方法によりカゼインの5%溶液を12日間酵素分解したもので $\alpha\text{-Amino-N/Total-N}$ は63%。(B) 市販ペ

* Tsuchitoriba-nagamachi, Kanazawa.

** Yoshida-konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto.

*** 第4報: 本誌 73, 329 (1953). **** 1952年5月, 第5回日本薬学会大会(大阪大学)に於て発表.

1) R. Elman: "Advances in Protein Chemistry" III, 270 (1947).

2) Hopps, Campbell: J. Lab. Clin. Med. 28, 1203 (1943).

3) K. F. Urbach: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 68, 430 (1948); 70, 146 (1949); 72, 626 (1949).

4) 宮城, 佐竹: 日新医学 37, 256 (1950).

5) 福田: 本誌 73, 328 (1953).