UDC 547.587.51:535.372

167. 市村陽二：クマリン誘導体の螢光に関する研究(第3報^{*1}) フロクマリン類の螢光

Yoji Ichimura: Studies on Fluorescence of Coumarin Derivatives. III.

Fluorescence of Furocoumarins.

(National Hygienic Laboratory^{*2})

Fluorescence spectra of furo-coumarins were measured and relationship between fluorescence and chemical structure was examined. Fluorescence of furocoumarins is generally in a longer wave-length region than that of coumarins, is yellowish green in color, and the fluorescence was found to change according to the number, position, and kind of a side chain present. In general, the fluorescence of furo-coumarins is stable and the amount of total fluorescence was measured in consideration of application to fluorescence analysis. It was found that the fluorescence is generally weaker than that of coumarins but there seemed to be such a possibility.

(Received October 7, 1959)

著者は前報^{*1}において、クマリン類約 25 種の螢光スペクトルを測定し、化学構造との関係および螢光色について報告したが、本報においてはフロクマリン類の螢光スペクトルとその螢光強度を測定した結果、その化学構造との関係について知見を得たので報告する。

螢光スペクトル フロクマリン類 9 種について、その螢光スペクトルを測定した。フロクマリン類の螢光は一般に肉眼では黄緑色系の色相を呈し、液性による変化も少ない。また溶媒として用いた精製エタノールには微弱ながら螢光を認めたが、これについては前報で詳しく述べたので省略する。

Angelicin フロクマリン類中液性による螢光スペクトルの移動が多く、酸性液、中性液の螢光スペクトルの極大は紫外部にあり、407 m μ に小さなピークを有する。しかしアルカリ性液の極大は 510 m μ にあり、発螢光性も大となる。

Bergaptol 酸、中性液の螢光スペクトルは変化なく、470 m μ に極大を有し、580 m μ 付近にも小ピークがあるが、5 位の水酸基に基因するものと考えられる。アルカリ性液は中性液より 30 m μ red shift し、500 m μ に極大を有し、発螢光性はアルカリ性液より中性液が大である(約 2 倍)。

Bergapten bergaptol に比較して、液性による螢光スペクトルの変化は少なく、10 m μ であり中性液は 480 m μ 、アルカリ性液は 470 m μ に極大を有する。これは側鎖の相連によるものであり、後述する発螢光性は大である。

Imperatorin 側鎖の結合位置が発螢光上不適当な位置にあるため、発螢光性はあまり強くない。螢光スペ

*1 第2報：本誌 80, 771(1960).

*2 Tamagawa-yoga-machi, Setagaya-ku, Tokyo.

クトルの液性による変化が比較的大きく、80 m μ (480~560 m μ) である。

Auraptin (isoimperatorin)¹⁾ imparatorin と比較して側鎖の結合位置が異なるため発蛍光性ととも蛍光スペクトルも全く異なり、液性による蛍光スペクトルの変化はなく 490 m μ に極大を持つ。側鎖の位置が発蛍光上影響の大きな位置にあるためであると考えられる。

Fig. 2.
Fluorescence Spectra

- Bergapten; 1 neutral, 480 m μ
 2 alkaline, 470 m μ
 - - - Imperatorin; 3 neutral, 480 m μ
 4 alkaline, 560 m μ
 - · - · - Auraptin 490 m μ
 (neutral and alkaline)

Isopimpinellin 550m μ に極大を有し、液性による蛍光スペクトルの変化はなく、発蛍光性も安定である。

Pimpinellin isopimpinellin に比較して蛍光スペクトルの極大は 10 m μ 短波長にあるが、その蛍光スペクトルの形状は殆んど変化がなく、液性による変化も認められない。

Byak-angelicol, Byak-angelicin 両物質とも側鎖の種類に関係なく蛍光スペクトルは形状、極大とともに同一である。極大は 540 m μ で、これは側鎖の結合位置が発蛍光性にあまり強く影響しないためと考えられる。

Fig. 3.
Fluorescence Spectra

- Pimpinellin, byak-angelicol and
 byak-angelicin, 540 m μ
 (neutral and alkaline)
 - - - Isopimpinellin, 550 m μ
 (neutral and alkaline)

蛍光スペクトルと化学構造 フロクマリン類 9 種の各蛍光について述べたが、一般にフロクマリン類はクマリン類に比較して、その蛍光は長波長側にあり、クマリンのアルカリ性液の蛍光スペクトルの極大 500 m μ に対して長波長にずれる傾向が強い。故に蛍光スペクトルによりクマリン類とフロクマリン類とを大別することが可能である。

前報^{*1}において、クマリン類は側鎖の数が増える程液性の変化による蛍光スペクトルの移動は少なくなると論じたが、フロクマリン類はクマリンにフラン核が結合したものであるため、著者の測定した 9 種のフロク

1) 松野：本誌 76, 1136(1956)。

マリン類は 7, 8 位, あるいは 6, 7 位に側鎖のついたものと見なし得るので, 一般に液性による蛍光スペクトルの変化が少なく, 側鎖の数と蛍光スペクトルの関係はフロクマリン類についても同様であると考えられる。

すなわち, angelicin よりも bergaptol が, あるいは bergaptol, bergapten よりも pimpinellin, isopimpinellin が液性による蛍光スペクトルの移動が少ない。

側鎖の種類による蛍光スペクトルの変化はその側鎖の極性 (polarity) の有無により変化をうけることもクマリン類と同様であるが, フラン核の結合のため, 一般に蛍光スペクトルの移動は少ない。angelicin はクマリンに比して, アルカリ性溶液において 10 m μ red shift しており, 酸性液においても相当 red shift しているように見受けられるが, 紫外蛍光スペクトル測定不可能のため, 確かめることが出来ない。また, 側鎖の位置は側鎖の種類と同様発蛍光性に大きく影響し, 蛍光スペクトルに関してはクマリン類と同様であるが, 著者の測定した範囲内では 7 位に常に側鎖が結合しているためにあまり変化がみられず, 一般に位置の影響はほとんど受けないものと考えられるが, 8 位に側鎖の結合した場合はその蛍光スペクトルは長波長にずれる傾向にあるものとおもわれる。

総蛍光量 蛍光相対強度についての断片的な研究²⁻⁴⁾は見受けられるが, 著者はフロクマリン類の蛍光分析への一助として, その総蛍光量を測定した。

蛍光基準物質として精製硫酸キニーネの硫酸酸性溶液 (1 γ /cc) を用い, 日立製分光光度計により測定した結果, フロクマリン類の発蛍光性はクマリン類のそれと比較して, 一般に弱い安定であり, 液性による強度変化があまり認められないので蛍光分析が可能であると推察する。その測定値を Table I に示す。

Table I. Fluorescence Intensity of Furocoumarins
(Standard: quinine sulfate, 1 γ /cc., intensity=40%)

Compound	Fluorescence intensity (%)		Color (alkaline)
	Neutral	Alkaline	
EtOH (blank)	0.4	1.0	violet
Angelicin	1.5	6.0	bluish green
Bergaptol	6.8	3.6	bluish green
Bergapten	68.0	73.0	bluish green
Imperatorin	5.0	5.0	yellowish green
Auraptin	69.5	79.5	bluish green
Isopimpinellin	5.0	5.2	greenish yellow
Pimpinellin	3.0	4.0	greenish yellow
Byak-angelicol	4.8	5.0	greenish yellow
Byak-angelicin	3.8	4.2	greenish yellow

実 験 の 部

使用機器 日立製分光光度計 EPU-2 A 型, 同機付属蛍光測定装置 L-3 型. 受光部: RCA 製 1928 二次電子増倍管, 励起光源: 東芝製 SHL-100 UV₂, 超高圧水銀燈, 蛍光励起フィルター (一次): 東芝製 UV-D_{1b}, 励起光遮断フィルター (二次): 日立製 Y₁

蛍光スペクトルの測定 第2報と同様に操作測定した。Fig. 1~3 に示した蛍光スペクトルは絶対曲線である。

総蛍光量の測定 蛍光スペクトルの測定と同じく, 日立製分光光度計および蛍光測定装置を用いた。しかし分光光度計のモノクロ部は使用しない。すなわち, 分光光度計のモノクロ部をとりはずし, 蛍光測定装置を直接受光部に接続する。

励起光により発した蛍光を励起光遮断フィルターにより励起光を遮断し, 蛍光のみを直接受光部 (1928) に導びき, アンメーターの振れを読みとつた。蛍光相対強度の基準物質として硫酸キニーネを用いた。

溶媒および試薬 EtOH: 試薬一級品を conc H₂SO₄ (1 L 中 5 cc) で処理したのち, AgNO₃, KOH を加えて数時間煮沸し, これを蒸留, 無 aldehyde EtOH としたものを直ちに使用した。

KOH: 試薬特級品を使用し, 上記 EtOH により 0.5N 溶液を調製した。

HCl: 試薬特級品を使用し, 0.5N HCl を調製。

quinine sulfate standard: 局方品を再結晶し, 融点確認の上 1 γ /cc 水溶液 (H₂SO₄ 酸性) を調製し

2) R. H. Goodwin: Arch. Biochem. Biophys. **27**, 152(1950); **36**, 442(1952).

3) M. Fujita: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) **6**, 511(1958).

4) 藤田, 古谷: 本誌 **76**, 535(1956).

試 料 bergapten, imperatorin は京都薬科大学松野隆男博士, その他は刈米達夫博士の御厚意により, 京都大学薬学部生薬教室より, それぞれ精製品を分与して頂き, 融点を確認の上使用した. これらの試料をメトラー直示天科で秤取し (5~10 mg), 前記の EtOH に溶解, それぞれの蛍光強度に応じて 50~100 γ /cc とし, 蛍光スペクトルを測定した.

総蛍光量の測定は各試料の 50 γ /cc EtOH 溶液を調製し, 蛍光基準物質, quinine sulfate 溶液のアンメーターの振れを 40% に調節し, これに対する各試料の相対蛍光強度により算出した. なお, 蛍光スペクトル, 総蛍光量測定のアルカリ性溶液は 0.5N KOH 液 (EtOH) を添加し, 0.02N 濃度とした.

本研究の終りに臨み, その細部に亘り終始御懇切なる御指導を賜わった刈米達夫所長, ならびに下村 孟博士, 西本和光技官に衷心より深謝し, 本研究の機会を与えられた田中 稔副所長, 山本展由, 板井孝信両部長に併せて感謝致します. また試料を分与された京都薬科大学松野隆男博士, 京都大学生薬教室ならびに測定機器を貸与された日立製作所に深く御礼申し上げます.

国立衛生試験所

UDC 547.587.51 : 535.371

168. 市村陽二 : クマリン誘導体の蛍光に関する研究 (第4報^{*1})

クマリン誘導体の蛍光分析

Yoji Ichimura : Studies on Fluorescence of Coumarin Derivatives. IV. Fluorometric Analysis of Coumarin Derivatives.

(National Hygienic Laboratory^{*2})

Since majority of coumarin derivatives exhibit fluorescence, a series of fluorescence analysis of these compounds was planned. Fluorescence ability and stability of fluorescence were examined in 21 kinds of coumarins and 9 kinds of furocoumarins, and it was found that fluorescence analysis is possible with most of them. Selective fluorescence filter suitable for each of these compounds was determined and the concentration range at which linear relationship was established between the sample concentration and relative fluorescence intensity, i.e. concentration range in which fluorescence determination was possible, was established.

(Received October 7, 1959)

著者は第1報¹⁾において Warfarin の蛍光分析について報告し, 第2²⁾, 3報^{*1}においてはクマリン類, フロクマリン類の蛍光スペクトルを測定し, 化学構造と蛍光について論じたが, クマリン誘導体の蛍光は一般に強く, また安定なものが多い. 本報はこれらクマリン誘導体の発蛍光性を利用した蛍光分析の可能性について検討した結果, そのほとんどが蛍光分析可能であり, また吸収法に比較して, 微量, かつ簡単に定量出来る点が優れているので報告する.

クマリン類の総蛍光量

吉田等³⁾は有機化合物の発蛍光性と側鎖の数および位置との関係について論じ, クマリン類は2位のカルボニル基に対して2, 4, 5, 7, および9位に側鎖の結合した場合が発蛍光上好ましく, その他は不適当であると述べ Goodwin⁴⁾等はクマリン誘導体の蛍光強度と pH の関係について述べている. 著者は第2報で報告したクマリン類の蛍光スペクトルと化学構造の関係を究明する一助としてまた

クマリン類の蛍光分析への応用のために総蛍光量を測定した.

クマリン類の発蛍光性は一般に強いが, 側鎖の数, 位置および種類によつて大差がある. アルカリ性溶液にお

^{*1} 第3報 : 本誌 80, 775(1960).

1) 市村 : 本誌 79, 1079(1959).

3) 吉田 : 有機合成化学 9, 230(1951).

4) R. H. Goodwin : Arch. Biochem. Biophys. 27, 152(1950); 36, 442(1952).

^{*2} Tamagawa-yoga-machi, Setagaya-ku, Tokyo.

2) 本誌 80, 771(1960).