merin の同定は cryptomerin B の部分的脱メチル化反応によつて得られた合成品との IR スペクトルの比較, ならびに両者のアセテートの IR および NMR スペクトル⁵⁾ の比較と混融によりなされた. スギと近縁のヒノキの含有成分として cryptomerin A の位置異性体である isocryptomerin が発見されたことは植物酵素の特異性を如実に示すものであり甚だ興味あることである.

実 験 の 部^{*2}

ヒノキ葉中の isocryptomerin の抽出および単離 長崎市近郊で7月に採集せるヒノキ風乾葉 2 kg. を MeOH 15 L. ずつで2回 3~4 hr. 還流抽出. 熱時ただちに濾過して全量 3 L. に濃縮, 2 昼夜放置後析出した沈殿を吸引濾取. 沈殿に 3% KOH 水溶液を加えて不溶分を吸引濾去 (セライト使用) し, 濾液 (約 500 ml.) を HCl 酸性として析出物を吸引濾取. 約 150 ml. の EtOH と 3 hr. 還流, 放冷後約 600 mg. の粗ビスフボンを得. TLC で Rf 0.26, 0.37 および 0.41 (極微量). これを MeOH-ピリジン混液より4回再結晶. 各回の再結晶, 各回の収量は順次 430, 110, 60, 40 mg. である. 4回目の再結晶後の 40 mg. の結晶は TLC で Rf 0.37. cryptomerin B の部分的脱メチル化で合成された isocryptomerin と IR (KBr) が一致.

Isocryptomerin tetraacetate 上記の結晶 40 mg. を AcONa 50 mg., Ac₂O 0.5 ml. と 140° の油浴中, 1.5 hr. 還流してアセチル化. アセテートを AcOEt より1回再結晶すれば 20 mg. の白色結晶を得. NMR の5個分のメチルプロトンのシグナルは isocryptomerin tetraacetate のそれと完全に一致した. NMR 測定後回収し, AcOEt より1回再結晶すれば m.p. 210° (205° 付近より変化). 合成品と IR (KBr) が完全に一致し, 混融で融点降下を認めず.

本研究に際し終始御指導下さいました本学 河野信助博士に厚くお礼申し上げます. なお IR および NMR スペクトルの労をとられた川内清巳, 太田和子両氏に感謝致します.

長崎大学薬学部

^{*2} 融点は未補正. TLC の Rf 値はすべてトルエン-HCOOEt-HCOOH (5:4:1) を展開剤とした kieselgel G nach Stahl (Merck) の 250 μ の薄層板を用いて測定された.

5) 三浦: 本誌, 87, 466 (1967).

薬 学 雑 誌
YAKUGAKU ZASSHI
87 (7) 872 ~ 874 (1967)

UDC 543.422.4.062:547.466.2

大井尚文: 赤外線吸収スペクトルによる医薬品の分析研究 (第14報^{*1})

けん濁法による L-ロイシン, L-イソロイシン混合物の定量

Naobumi Ōi: Analyses of Drugs and Chemicals by Infrared Absorption

Spectroscopy. XIV.^{*1} Determination of L-Leucine and

L-Isoleucine in Mixture with Suspension Technique.

(Central Research Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd.^{*2})

A simple infrared spectrophotometric method is offered for determination of L-leucine and L-isoleucine in a mixture with suspension technique by the use of aluminum stearate as a dispersion material in carbon disulfide. The spectra of the optically active (L) compound and the racemic (DL) compound are identical in aqueous solution, but different in these suspensions. Therefore, this technique is available for the determination of optically active compounds. The key bands used for L-leucine and L-isoleucine are respectively 832 and 710 cm^{-1} in suspension, and two compounds are easily determined by the use of suitable base lines. This method gave good results in some standard mixed samples.

(Received September 3, 1966)

^{*1} 第 13 報: 本誌, 87, 743 (1967).

^{*2} Tsukahara, Takatsuki-shi, Ōsaka.

赤外線吸収スペクトルによるアミノ酸の研究は多いが定量分析の報告は少なく、Darmon 等¹⁾が蛋白加水分解物中の L-ロイシンと L-イソロイシンをアセチル体として油ペースト法で測定し、両者の比を求めているなどわずかの例があるにすぎない。著者は今回 L-ロイシンと L-イソロイシン混合物の定量を必要としたが Darmon 等の方法はアセチル化を必要とし日常分析法としては煩雑なので、前処理を要しない定量法を検討した。

一般に赤外定量分析における測定法としては再現性などの点から溶液法が最もすぐれているが、アミノ酸の場合には適当な溶媒がなく、しかも溶液中では光学活性体とラセミ体が同一のスペクトルを与えるのが普通である。一方油ペースト法や KBr 錠剤法では光学活性体とラセミ体との差異は認められるが測定精度に問題がある。そこでステアリン酸アルミニウムを分散剤として用いる懸濁法^{2,3)}を適用すれば溶液法と固相法の両方の利点を生かして測定できるのではないかと考え検討したところ好結果を得たので報告する。

まずロイシンとイソロイシンの L 型および DL 型各標準品について、ステアリン酸アルミニウムを分散剤とし二硫化炭素を溶媒とした懸濁液を作成して赤外吸収スペクトルを測定したところ Fig. 1 および Fig. 2 に示すように L 型と DL 型では異なるスペクトルが得られ懸濁法による測定が固相法による測定の長所を有していることを認めた。

Fig. 1. Infrared Absorption Spectra of Leucine (Al-stearate suspension technique)

A: L-leucine B: DL-leucine

Fig. 2. Infrared Absorption Spectra of Isoleucine (Al-stearate suspension technique)

A: L-isoleucine B: DL-isoleucine

そして L-ロイシンは 832 cm^{-1} 、L-イソロイシンは 710 cm^{-1} に互いに重ならない強い吸収を有するのでこれらを両者混合物の定量の key band に選んだ。key band における吸光度は定量法に記すベースラインを 100% 透

TABLE I. Analyses of Weighed Mixtures

	L-Leucine (%)		L-Isoleucine (%)	
	Taken	Found	Taken	Found
1	30.0	28.3	70.0	68.5
2	30.0	30.2	70.0	70.6
3	30.0	29.1	70.0	69.7
4	50.0	50.0	50.0	50.3
5	50.0	50.8	50.0	51.4
6	50.0	49.1	50.0	49.5
7	70.0	70.0	30.0	30.2
8	70.0	69.8	30.0	31.4
9	70.0	69.0	30.0	30.9

1) S. E. Darmon, G. B. B. M. Sutherland, G. R. Tristram: Biochem. J., **42**, 508 (1948).

2) M. Dolinsky: J. Assoc. Offic. Agr. Chemists, **34**, 748 (1951).

3) 田中: 分析化学, **5**, 216 (1956).

過率線として求めることとし、両成分の標準品を用い各 key band における検量線を作成したところ、いずれもほぼ原点を通る直線が得られ (L-ロイシン: $y_1 = 0.0297x_1 - 0.0008$, 回帰からの標準偏差 0.001, L-イソロイシン: $y_2 = 0.0571x_2 - 0.005$, 回帰からの標準偏差 0.005), 層長 1.0 mm. のとき 5 mg./ml. の濃度までベールの法則にしたがうことを認めた. そこで実際に両標準品を秤量混合した試料について定量したが Table I に示すとおりほぼ満足すべき結果を得た. なお本法において用いた懸濁液は調製後約 30 分間は安定で均一であるが測定はすべて調製直後に行なった.

本研究から明らかなように分散剤としてステアリン酸アルミニウムを用いる懸濁法によって測定すればアミノ酸の光学活性体とラセミ体の差異が赤外吸収スペクトルに認められ, しかも溶液に準じた状態なので再現性よく測定でき, アミノ酸の赤外定量に有効である.

実 験 の 部

装 置 測定装置としてはパーキンエルマー 125 型赤外分光光度計を使用し, 試料セルには NaCl の窓をもつ層長 1.0 mm. のものを用いた.

標準品, 溶媒など L-ロイシン, L-イソロイシン, DL-ロイシン, DL-イソロイシン各標準品および溶媒の二硫化炭素はいずれも特級試薬を, ステアリン酸アルミニウムは一級試薬を用いた. またガラス球は直径約 4 mm. のものを用いた.

定 量 法 約 200 メッシュ程度に粉碎した試料約 100 mg. を精密に測り, 50 ml. 共栓つき三角フラスコに入れ, ステアリン酸アルミニウムの 1% 二硫化炭素溶液にガラス球を少し入れて約 10 min. しんとう機で振り混ぜた液 20 ml. を正確に加え, ガラス球約 15 ml. を加えてしんとう機で 40 min. 振り混ぜ試料溶液とする. 試料溶液につき層長 1.0 mm. で $900 \sim 650 \text{ cm}^{-1}$ 間の IR スペクトルを, ステアリン酸アルミニウムの 1% 二硫化炭素溶液にガラス球を入れてしんとう機で 40 min. 振り混ぜた液を対照液として測定 (試料, 対照両液を同時に調製し, 調製後ただちに測定) し, 832 および 710 cm^{-1} における吸光度をそれぞれ 810 および 730 cm^{-1} 付近における吸収極小点に接し 0% 透過率線に平行にひいたベースラインを 100% 透過率線として求める. 別に L-ロイシンおよび L-イソロイシン各標準品を試料と同様に操作して測定を行ない, 各 key band において作成した検量線を用いて両成分を定量する.

終わりに本研究の発表を許可された 当社の上司のかたがたに, また実験に協力された 宮崎慧一郎, 増井秀行, 松本米蔵, 白神昇の諸氏に感謝します.

住友化学中央研究所