薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
93 (11) 1415-1417 (1973)

UDC 547.728.2.08 : 543.544 : 615.322.011.4

ベンゾフラン誘導体のガスクロマトグラフィー (第 1 報) 内部標準
物質の検索と Benzarone の定量

杉山哲資, 佐藤重男, 山口一孝
鳥居薬品株式会社研究部¹⁾

Gas Chromatography of Benzofuran Derivatives. I. Detection of Internal
Standard Substances and Quantitative Analysis of Benzarone

SATOSHI SUGIYAMA, SHIGEO SATO, and KAZUTAKA YAMAGUCHI

Research Laboratories, Torii & Co., Ltd.¹⁾

(Received January 25, 1973)

p-Toluidine derivatives of saturated fatty acids were found to be suitable as an internal standard substance for gas-liquid chromatography available in a wide range. Benzarone was assayed within 1% of standard deviation by the use of one of them, under the conditions of 5.9% SE-30 on Chromosorb W at 250°.

Szent-Györgyi²⁾ はレモン汁などから毛細血管壁の透過性亢進を防ぐ効果をもついわゆるビタミン P を分離した。その後 Lavollay, Parrot³⁾ などによりビタミン P 様作用は単にフラボン構造をもつものだけに限定されず、その類縁構造物質にも認められ、Deltour ら⁴⁾ はフラボン類の異性体であるベンゾイルベンゾフラン類にも同様な作用を認めた。著者らはこれに属する 2-ethyl-3-(4-hydroxybenzoyl) benzofuran (Benzarone) (I) のガスクロマトグラフィーによる定量を試みるにあたり、まず用いる内部標準物質を検索した。その結果一般式 $p\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{NHCO}\cdot(\text{CH}_2)_n\text{-CH}_3$ ($n: 0-10$) で表わされる一連の飽和脂肪酸-*p*-トルイジドが内部標準物質の諸

TABLE I. Retention Time of *p*-Toluidine Derivatives

R	R-NH- -CH ₃ Compounds	mp (°C)	Retention time (min) column temp.		
			170°	210°	270°
CH ₃ CO	acetyl- <i>p</i> -toluidine	154	1.00		
<i>n</i> -C ₃ H ₇ CO	butyryl- <i>p</i> -toluidine	75	1.80		
<i>n</i> -C ₅ H ₁₁ CO	hexanoyl- <i>p</i> -toluidine	76	3.96		
<i>n</i> -C ₇ H ₁₅ CO	octanoyl- <i>p</i> -toluidine	70	8.98	2.05	
<i>n</i> -C ₉ H ₁₉ CO	decanoyl- <i>p</i> -toluidine	78		3.78	
<i>n</i> -C ₁₁ H ₂₃ CO	lauroyl- <i>p</i> -toluidine	88		7.03	
<i>n</i> -C ₁₃ H ₂₇ CO	myristoyl- <i>p</i> -toluidine	94		13.20	1.58
<i>n</i> -C ₁₅ H ₃₁ CO	palmitoyl- <i>p</i> -toluidine	100			2.42
<i>n</i> -C ₁₇ H ₃₅ CO	stearoyl- <i>p</i> -toluidine	104			3.62
<i>n</i> -C ₁₉ H ₃₉ CO	arachidoyl- <i>p</i> -toluidine	107			5.78
<i>n</i> -C ₂₁ H ₄₃ CO	behenoyl- <i>p</i> -toluidine	109			8.94

conditions: 5.9% SE-30 on Chromosorb W(AW-DMCS) 60-80 mesh, 1 m × 3 mm stainless steel column, N₂: 0.7 kg/cm²

1) Location: 3-14-3, Minami-Yawata, Ichikawa, Chiba.

2) A. Szent-Györgyi, S. Rusznyak, *Nature*, **138**, 27 (1936).

3) J. Lavollay, J. Parrot, J. Sevestre, *C.R. Acad. Sc.*, **217**, 540 (1943); J. Lavollay, J. Parrot, J. Sevestre, P. Galmiche, *C.R. Soc. Biol.*, **138**, 179 (1944).

4) G. Deltour, F. Binon, R. Charlier, *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **145**, 356 (1963).

条件を満たし、かつ広範囲に利用できることを認めた。Table I にこれら *p*-トルイジン誘導体の融点と保持時間を示す。また I の定量には保持時間の関係から myristoyl-*p*-toluidine を内部標準物質として用い、半値幅法によるピーク面積比から試料量 4—12 μg で標準偏差 1% 以内で定量可能なことを認めた。ついで製剤中の I の本法による定量結果と非水滴定法による結果とを比較し、 $\pm 1.3\%$ で一致することを認めた。

Fig. 1. Gas Chromatogram of I and Internal Standard Substance

製剤の定量——製剤は 1 錠 300 mg 中約 100 mg の I を含有する。微粉末とした錠剤約 150 mg を精密

実験の部

内部標準物質の合成法 (Myristoyl-*p*-toluidine) Myristic acid 0.025 mole に SOCl_2 0.05 mole を加えて溶かし、常法により酸塩化物を得る。別に *p*-toluidine 0.03 mole をエーテル 50 ml に溶かし、10% NaOH 10 ml を加え、氷冷下かき混ぜながら酸塩化物のエーテル溶液を滴下したのち、常温で 2 時間かき混ぜる。この間液性が常にアルカリ性であるように 10% NaOH で調整する。ついで反応液のエーテル層を分離し、水、1N HCl、水、3% NaHCO_3 、水の順で洗い、 MgSO_4 で乾燥後エーテルを留去し粗結晶を得る。含水エタノールから再結晶。mp 94° . IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 2800, 2600 (CH_2), 1658 (CO), 812 (arom.). Anal. Calcd. $\text{C}_{21}\text{H}_{35}\text{ON}$: C, 79.50; H, 11.04; N, 4.42. Found: C, 79.71; H, 10.98; N, 4.29.

定量 装置および測定条件——装置：日立 K53 形ガスクロマトグラフ（水素炎イオン化検出器付），カラム：5.9% SE-30 on Chromosorb W (AW-DMCS) 60—80 mesh, 1 m $\times$ 3 mm, stainless steel column, oven temp.: 250° , injection & detector temp.: 280° , carrier gas: N_2 , 0.6 kg/cm 2 .

試料——Benzarone (Labaz 社) (I)⁵⁾: mp 125° . Anal. Calcd. $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_3$: C, 76.69; H, 5.26. Found: C, 76.63; H, 5.21.

検量線——I の標準試料 20, 30, 40, 50, 60 mg をそれぞれ正確に秤り、1.2% myristoyl-*p*-toluidine クロロホルム-エタノール (1:1) 溶液 5 ml ずつ正確に加えて溶かし標準溶液とする。この 1—2 μl をガスクロマトグラフに注入する。得られたクロマトグラムから内部標準物質 (I.S.) のピーク面積に対する I のピーク面積比を半値幅法により求める。I の濃度とピーク面積比の関係を Table II に示す。

TABLE II. Results obtained for I and Their Standard Deviations

I	4 mg/ml	6 mg/ml	8 mg/ml	10 mg/ml	12 mg/ml
Peak area ratio	0.271	0.408	0.542	0.672	0.825
	0.269	0.411	0.540	0.674	0.813
	0.272	0.402	0.548	0.677	0.810
	0.275	0.407	0.547	0.687	0.827
	0.270	0.403	0.539	0.681	0.818
Mean	0.2714	0.4062	0.5432	0.6782	0.8186
Standard deviation	0.0023	0.0037	0.0040	0.0059	0.0073

5) Société des Laboratoires LABAZ, Belg. patent, 553921 (1957).

TABLE III. Determination of I in Preparations

Sample No.	GLC method	Titration method
1	100.8 mg	99.6 mg
2	98.9	99.6
3	99.4	99.5
4	100.3	99.7
5	99.1	99.6

expecting value of I in each sample: 100 mg

に量り、クロロホルム 20 ml を加えて良く振り混ぜ、ガラスろ過器でろ過する。不溶物をさらにクロロホルム 10 ml ずつ 4 回洗う。ろ液と洗液を合し、減圧留去した残留物に 1.2% myristoyl-*p*-toluidine クロロホルム-エタノール溶液 (1:1) 5 ml を正確に加えて溶かし、その 1—2 μ l につきガスクロマトグラフィーを行ない Fig. 1 に示すクロマトグラムを得る。1 錠中の I の含有量は Table II から得られる検量線から求める。

本法による定量値と JP VIII の非水滴定法で得た定量値とを比較した結果を Table III に示す。

謝辞 実験に協力された当研究部 佐々木信行氏に感謝します。