有機標識化合物

長谷川 賢*・横島 徹 薫*

Organic labelled compounds.

Masaru HASEGAWA* and Tetsuyoshi YOKOSHIMA*

I. はじめに

薬物の安全性の問題は最近特に関心のもたれているものの一つである。これは医薬品のみに限らず、食品添加物、農薬、化粧品など、直接間接人体に摂取される薬物すべてを含む問題である。そしてこれら薬物の安全性は毒性試験（急性、亜急性、および慢性毒性試験）とその薬物の代謝研究データによって確かめられるが、今日これらのデータなしに薬品の商品化は成立しない。このことは当然のなり行きであるが、この面の社会の動きは極めて急速であり、ドラマチックでさえある。

上記二つの試験のうち、薬物の代謝研究は今日アイソトープすなわち適切なアイソトープで標識した標識薬物の利用が常識化しつつある。以前標識化合物の利用は基礎的な生化学のための技術でしかなかった。しかし現在では上記のごとき急激な社会的変化からこの技術は化学薬品に関係した企業すべてについて不可欠のものとなってきている。今回の総説もこの観点にたどりまとめてみることにした。

II. 薬物代謝における標識化合物の利用

生体に投与、摂取された薬物が薬理作用を発見するには、まず吸収され、作用部位に到達、有効量が確保されなければならない。また解毒のためには代謝、排泄されなければならない。したがって薬物の有効性、毒性を論ずるにはその薬物の生体への吸収、分布、代謝、排泄を調べその動的、定量的把握—pharmacokinetic study—がぜひとも必要となる。

薬物代謝研究において標識化合物の使用が一般化してきているがそれは検出感度が高いことと、測定法が容

易、正確であることを利点として特に強調することができる。ことに最近進歩のいちじるしい各種クロマトグラフィーによる微量分離技術と組合せることにより、非常に少量の試料で感度よく微量成分を分析することができるようになった。放射能測定 of いろいろな技術を組合わせ物質代謝における動態を追うことや、薬物の経皮吸収の測定などに関してはアイソトープ以外に適格な実験方法がみつからない。

薬物代謝研究における標識化合物の利用範囲は広い。検出方法としては放射能測定という簡単な共通の方法を用い、薬物の吸収、体内各臓器、体液への分布、排泄をはじめ、これらの時間的経過、生体組織成分との結合、さらに代謝産物の検索などが実施できる。

もちろん薬物代謝の研究が標識化合物の利用、すなわち放射能測定だけでことたりるわけではない。それはトレーサー技術に共通する問題であるが、放射能測定で追跡しているものはアイソトープであり、物質そのものとは限らない。未変化のまま存在していれば放射能活性すなわち物質量と考えることができるが、代謝をうけたものが混ってくると、単にアイソトープの分布を測定しているにすぎなくなる。したがって常に他の化学的方法と組合わせて、その化学形を並行して検討してゆく必要がある。

標識化合物を用いて薬物代謝研究を行なううえでの技術の進歩もいちじるしい。液体シンチレーション測定装置、測定試料調製技術の進歩¹⁾などとともに凍結全身オートラジオグラフィーの導入がある。

標識化合物を投与した動物の全身切片のオートラジオグラフィーを作製するこの技術は、体内各臓器中の放射性物質の分布量を写真フィルムの黒化度という肉眼的レベルで把握することができる。一枚の全身オートラジオグラムから非常に多くの情報を得ることができるとともに、何匹かの動物を用いて、経時的に行なうことにより、薬物の分布、移行、蓄積などを動的に知ることがで

* 第一化学薬品株式会社東海研究所 ()

* Tokai Laboratories, Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd. ()

き、また病態動物を用い、薬物の患部への移行の追跡を行なうなど多くの興味ある応用分野を持っている。

図 1 は ^{14}C 標識薬物を経口投与したラットの全身オートラジオグラムの一例である。

図 1

この技術は 1954 年スウェーデンの Ullberg²⁾ により始められたものであるが、その後各国の研究者に利用され、興味のある報告がなされている。また当初体重 20 g 前後のマウスを用いて行なわれていたが、その後、より大型の動物、あるいは特殊な昆虫にまで応用できるよう改良された。ラットはもちろんのこと、サル、犬、モルモット³⁾、ゴキブリ⁴⁾などが実施されている。最近では体重 1~1.5 kg の中型動物の全身切片作成も可能となり⁵⁾、詳細な分布や、特定部位たとえば脳への取り込みなどを明確に把握することができるようになってきている。また標識化合物の生体での代謝による質的变化についての情報を得る目的で行なわれているダブルトレーサー技術にオートラジオグラフィーを検出手段として使用するカラー全身オートラジオグラフィーも試みられている^{6,7)}。

III. 標識薬物の合成

1. 核種、標識位置の選択 ある薬物の標識化を考える場合、標識に用いる核種と標識位置の選択によって幾通りもの標識化合物が考え得る。そしてこれらの中からどれを選ぶかは実用上きわめて重要な問題である。なぜなら一つには後述のように合成の難易が標識位置によって非常に影響されるからであり、また他方薬物が代謝を受けて構造の変化をきたす場合さらにはいくつかのフラグメントに分解する場合には、どの位置を標識するかによって代謝量の測定、代謝物の探索、同定に要する時間が大きく変わってくるからである。

薬物の標識はその構造のどの部分に着目するかによって標識位置の選択が行なわれる。この場合、無機化合物や、有機金属化合物では着目しなければならない元素は

はっきりしている。有機水銀の生体への取り込みの研究に用いられた $^{203}\text{HgRCl}$ ⁸⁾ や原子炉より排気される有機ヨードのトレースのために使用された $\text{CH}_3^{131}\text{I}$ ⁹⁾ のような場合はあきらかである。また含硫有機化合物や有機リン化合物の場合もイオウ、リンを標識することが最も適当である。しかし特別な着目すべき元素を含まない一般の有機化合物の場合には ^{14}C または ^3H による標識によらなければならない。

^{14}C での標識を行なう場合、合成的には構造の末端に結合しているメチル基やカルボキシル基を標識することは一般に容易である。

側鎖のカルボキシル基は次の反応

式のようにハロゲン誘導体のグリニャール試薬、またはリチウム誘導体に ^{14}C -炭酸ガスを反応させることによって得られる。

またメチル基はカルボキシル基の還元や種々の ^{14}C -メチル化剤によって容易に可能である¹⁰⁾。ところがこれらの側鎖が結合している骨格の炭素原子を標識しようとすると、その合成はいちじるしく困難となる。

たとえば簡単な例として、安息香酸、トルエンを考えてみると、側鎖の標識は次式にしたがい、高収率で得られる^{11,12)}。

一方ベンゼン環内を標識しようとする次の経路が考えられる¹³⁾。

この両者の合成を実際に行なってみるとその難易は反応式より受ける感じよりはるかに大きい。

しかしながら代謝実験の面から考えれば環状化合物の場合、側鎖の炭素より環内の炭素を標識することが優先する。なぜなら側鎖は代謝をうけて離脱する可能性が高く、この場合には基本骨格のフラグメントをトレースすることが不可能だからである。

ただし側鎖はすべて代謝をうけて脱離するわけではない。次にわれわれが経験した一例を示す。

1-4 (メトキシル-6-メチル-2-ピリミジル)-3-メチル-5-メトキシピラゾールは新合成抗炎症剤として開発された医薬品であるが、この薬物の生体内分布、代謝産物同定実験を行なう目的で ^{14}C 標識を行ない、次の反応式にしたがってピラゾール環の3位の炭素を標識した¹⁴⁾。

標識位置がどこでもよければ中間体(2)を ^{14}C -ジメチル硫酸または ^{14}C -ジアゾメタンでメチル化すれば、ピラゾール環5位の側鎖のメトキシル基を標識でき、最も簡単である。しかしこのO-メチル基はコデインなどの場合と同様、生体内で脱メチル化を受けてはざれることが予想されるので、標識化合物の対象から外し、上記のような長い行程を経て環内炭素の標識を行なった。(Ba $^{14}\text{CO}_3$ より約9%の収率であった)。これをウサギ、ラットに経口投与し、尿中代謝産物を調べた結果、ピラゾール環の3位の側鎖のメチル基がカルボキシル基に酸化された(3)が主代謝産物であった¹⁵⁾。

したがってこの結果から考えれば側鎖のメトキシル基の標識でもよかったといえる。

このように側鎖を標識すべきか、骨格を標識すべきかは、その薬物に固有なものであるが、側鎖と骨格の標識難易の極端なちがいを考えると、まず容易に合成できる側鎖の標識を行ない、これを実際に使ってみるのが、賢明であろう。

そして今後の代謝研究においてはただ一種の標識化合物を用うのではなく、代謝されやすい位置とされにくい位置の少なくとも2種類の標識化合物を併用することが必要である。

次に標識元素としての ^{14}C と ^3H の比較であるが、それぞれ一長一短があり、にわかにその優劣を断じ難い。

合成面から考えればトリチウム標識の方が容易といえる。後述のように交換反応による標識が可能であり、また接触還元による場合でも一段階で非常に比放射能の高いものを得ることができる。これに比べると炭素14標識は簡単な側鎖の場合でもオーソドックスな化学反応を積み重ねて行かねばならず、トリチウムの場合における交換反応のような簡便な方法は存在しない。

一方炭素14はトレーサーとして実際に用いた場合、測定が容易で分析操作が簡便なこと、標識位置が確実で、かつ安定している長所があり、このことは代謝実験においてはかけがえのない要素である。

2. ^{14}C 化合物 炭素14化合物合成の基本的原料は ^{14}C -炭酸バリウムであるが、これより誘導される以下のような中間体、その他が市販されている。

1. メチルアルコール- ^{14}C $^{14}\text{CH}_3\text{OH}$
2. シアン化カリウム ^{14}C K^{14}CN
3. バリウムシアナミド- ^{14}C BaN^{14}CN
4. ギ酸- ^{14}C H^{14}COOH
5. ホルムアルデヒド- ^{14}C H^{14}CHO
6. メチルアミン- ^{14}C $^{14}\text{CH}_3\text{NH}_2$

これらは比放射能も充分高いので、これを利用することが便利である。特別な場合を除き、中間体そのものを自製することは、比放射能の問題から考えても時間的、金銭的にかえって不経済となる場合が多い。

炭素14化合物の合成については今までに多くの総説、図書¹⁶⁻²⁴⁾があるので、ここではわれわれの経験した特殊な一例をあげるにとどめる。

最近各種の多糖類にスルホン化、アルキル化、アシル

化などを行なった化合物が、医薬品、賦形剤として利用されている。これらの化合物では分子中の置換可能な場所が完全に置換されたものばかりでなく、一定の置換度の範囲のものの混合物であるものもある。ある置換度の割合のものを得ることは工業的には反応条件を調節することにより、再現性よく合成可成であろうが、これをそのまま標識化合物合成の小スケールに応用しても目的の置換度のものを再現性よく確保することはむづかしい。しかし置換度にある範囲があるから、やや低い置換度のものを原料としこれに高比放射能の標識物質を反応させ、置換度を規定内におさえながら標識化することが可能である。

たとえばヒドロキシプロピルメチルセルロース (TC-5®) は錠剤、顆粒剤のコーティング剤、バインダーとして開発されたもので、セルロースを構成する *d*-グルコース分子中の水酸基の一部がヒドロキシプロポキシル基、メトキシル基となっているものである。含有量はヒドロキシプロポキシル基 7~12%、メトキシル基 28~30% と規定されている²⁵⁾。このメトキシル基の ^{14}C 標識を次のように行なった²⁶⁾。

メトキシル基含有 28.7% の原料に 49.8 mCi/m mol の比放射能を持つ ^{14}C -ヨウ化メチルを反応させて ^{14}C メチル基を導入した。得られた ^{14}C -メチル-TC-5 は比放射能 8.31 mCi/g であり、このラジオメチル化により、メトキシル基の含有量は 0.5% 上昇したにすぎず、合計 29.2% と規定内であり、また比放射能も動物実験に使用するに充分の値であった。

3. ^3H 化合物 トリチウム化合物の合成は他の核種に比べると容易である。すなわち適当な前駆物質を選べば 1~2 段階で標識が可能である。また交換反応が実施でき、Wilzbach 法²⁷⁾ のように試料をトリチウムガスと接触させるだけあるいはトリチウム化溶媒と加熱するだけで標識することができる。交換反応は手軽に実施でき原理的にはどのような複雑な化合物でも標識できる。最近の薬物代謝研究報告においても用いられている例は少なくない^{28~31)}。しかし交換反応によるトリチウム標識は実際に行なってみるといろいろ問題のあることに気づく。ことに Wilzbach 法による標識では十分と思える精製を行なった後にも、はたしてこれで完全なのだろうかとの疑問が常につきまとう。

i. Wilzbach 法 われわれは多くの化合物を Wilzbach 法で標識してきたが、照射し、不安定トリチウムを除去しただけで、ただちにトレーサー実験に使用できる純度のよいものは一度も得られていない。目的物の標識と同時に不飽和結合への付加、置換による別化合物の

生成、標識、非標識分子の放射線分解による放射性、非放射性不純物の混入などにより純度が悪くなるからである。不純物生成の割合は交換反応の条件、標識物質のちがいにより大きく異なるが、場合によっては放射性物質の全てが不純物のことも希ではない。

交換反応直後のクロマトグラムをいくつか示す。

図2 TLC展開溶媒
n-ブタノール：酢酸：水

図2はあるステロイド化合物 400 mg をトリチウムガス 20 Ci で5日間照射し、得た 19 mCi の生成物のクロマトグラムである。比較的 目的物質がよく標識され、不純物の生成割合も少ない例である。呈色を行なうと目的物質の位置のみに1個スポットが現われる。原点付近の不純物ピークは呈色による物質の確認は出来なかった。このように交換反応後のクロマトグラムではラジオピークに比例した物質量の確認ができないものが多い。すなわち生成した放射性不純物は非常に高い比放射能を持っている。物質量が少ないためいろいろの物理化学的手段で検出がむづかしく、融点、UV、IR スペクトラム、などのデータだけから純度を判断することがむづかしい。しかし物理量が少ないということは再結晶による精製が容易であることであり、また次のような精製も可能である。

交換反応によって得たもののクロマトグラムが図2のように原点にとどまる不純物を示すことは多い。これは主として重合物であろうと考えられるが、物質量が少ないため活性炭吸着で除去できる場合もある。

図3は安息香酸誘導体 500 mg を 20 Ci で10日間照射し得た 37.7 mCi の生成物のクロマトである。原点および目的物よりやや R_f の低い部分に展開される不純物が認められる。いずれも物質量としては確認できないほど微量である。これを少量の活性炭で処理したものが図4である。放射能量は 24.5 mCi に低下したが原点の不

図3 TLC展開溶媒
メタノール：水

図4 TLC展開溶媒
メタノール：水

純物はほとんど除かれている。しかし Rf が接近して存在する不純物は全く除かれていない。

交換反応の結果生成する不純物には化学構造のわずかに異なる物質も生成し、これはクロマトグラフィー上の

パターンや溶解度がもとの化合物に類似し、精製に際し同じような行動をとり一見精製されたかにみえるものが、よく調べてみると全く精製されていないことがある。

アサロン (2,4,5-トリメトキシ-1-プロペニルベンゼン) 500 mg を

20 Ci で5日間照射し、次のように精製していった。

試料 500 mg

↓ トリチウムガス 20 Ci 5日間照射

↓ ガス回収

↓ エタノールに溶解

↓ 乾涸、再溶解をくり返し不安定トリチウム除去

P 1 200 mCi 0.4 mCi/mg

↓ エタノール・水より再結晶

P 2 97 mCi 0.24 mCi/mg

↓ 再びエタノール・水より再結晶

P 3 80 mCi 0.2 mCi/mg

P 3 を逆同位体希釈分析でその含量を測定すると 94% でこの値は再結晶をくり返しても変わらなかった。したがって P 3 の純度は 94% 前後と考えられる。次にこれをいろいろの種類の溶媒系で薄層クロマトグラフィを行なった。そのクロマトグラムを 図 5~8 に示す。溶媒 A では、このクロマトグラムをみる限りはほぼ純品とみなされる。しかし溶媒 B では 65% 前後であり、溶媒 C, D ではわずか 2% 程度の純度しか示していない。

Wilzbach 法は植物成分や抗生物質のような複雑な化合物で、他に適当な標識方法が見当たらないものにとって是有効であって、構造未知のものや、単なる抽出物のような混合物まで照射、標識が試みられているが、概して悲観的なデータしか得られていない 図 9, 10, 11, は

図5 展開溶媒
(A) n-ブタノール：酢酸：水

図 6 展開溶媒
(B) シクロルメタン：アセトン

図 7 展開溶媒
(C) ヘキサン：エーテル

図 8 展開溶媒
(D) クロロホルム

最近行なった抗生物質の例である。図 9 では呈色位置付近にも放射能活性はあるが、この部分が目的物のトリチウム化されたものであるかどうか疑わしい。図 10 については目的物は全く標識されていない。わずかに図 11 のものは含量は少ないが標識されているようである。

図 9 TLC 展開溶媒 n -ブタノール：酢酸：水
照射重量 500 mg
トリチウムガス 20 Ci
照射時間 5 日
生成量 15 mCi

図 10 TLC 展開溶媒 メタノール：酢酸アンモニウム：アンモニア水
照射重量 50 mg
トリチウムガス 20 Ci
照射時間 5 日
生成量 20 mCi

図 11 TLC 展開溶媒 エタノール：アンモニア水

照射重量 1000 mg
トリチウムガス 20 Ci
照射時間 5 日
生成量 19 mCi

マイクロウェーブ³²⁾、高圧³³⁾などの放電下に標識を行ない短時間で効率よく交換させることや、液体チソ浴で冷却しながら照射し分解物の生成を少なくする試み³⁴⁾、活性アルミナ上にコーティングして照射する³⁵⁾ことなど、より効率のよい、交換反応を行なわせるための努力がなされ、効果をあげている。

ii. トリチウム化溶液中での触媒交換反応 触媒を用いトリチウム化溶媒中での交換反応によるトリチウム標識は、触媒、溶媒を選ぶことにより多くの種類の化合物が標識可能である³⁶⁾。本法は加熱により交換を促進させるため熱に弱い化合物には利用できないなどの制限はあるが、交換反応のメカニズムは重水素の場合と同じであり、交換可能かどうかを非放射性的な重水を用いて調べることができ、また NMR スペクトルにより標識位置を予測することができる。

トリチウム化溶媒との交換標識は Wilzbach 法と異なり、交換反応を行ない、一応の精製を行なっただけで純品に近いものが得られることもしばしばある。

図 12 はキノリン誘導体 100 mg を白金触媒下 10Ci、3 ml のトリチウム水、および 5 N カセイソーダ 0.3 ml と封管中 130°C、7 時間加熱して得た生成物 16 mCi のクロマトグラムで、単一スポットであり、このほか 2 種の溶媒系でも単一スポットを示し高純度であった。

図 13 はフェノール誘導体で 100 mg をパラジウム炭素触媒下トリチウム水 1 Ci、1 ml と 100°C 6 時間加熱し得た生成物 33 mCi のクロマトグラムである。純度は

図 12 TLC 展開溶媒

ベンゼン：エタノール

図 13 TLC 展開溶媒

クロロホルム：ベンゼン

90% 前後である。

もちろん交換の割合が非常に小さい場合や、分解のはげしいものもある。図 14 はベンゾフラン誘導体 500 mg を酸化白金触媒下トリチウム水 10 Ci、2 ml、ジオキサ

図 14 TLC 展開 溶媒
クロロホルム：アセトン：酢酸

ン 4ml と 120°C 48 時間加熱したものである。約 50 mCi の粗製品を得たが、多くの分解物が認められる。しかしこのクロマトパターンを Wilzbach 法の分解物のクロマトグラムと比較してみると、後者では不純物がクロマトグラム全体に分布したり、原点、溶媒先端に局在するようなパターンを示すの多いのに比べ、前者では不純物が一つ一つはっきりピークとなって現われている場合が多い。このようなクロマトグラムを示すものは仮に不純で含量は少なくとも精製しやすく、一回だけのクロマトグラフィー精製で純化することも可能である。

最近のドイツ特許によるとトリチウム化アンモニヤを用い、-30°C 前後で触媒を用いることなく交換反応を行なわせ、副反応物、分解物の生成が少なく、効率よく高比放射能のものが得られる方法が発表されている³⁷⁾。

iii. 接触還元 不飽和結合、カルボニル基、ニトリル基、ハロゲン基など、還元しうる基を持つ化合物をトリチウムガスを用いて還元し、トリチウム化する方法は収率がよく、高比放射能製品が得られ、実用上重要な方法である。

われわれはカタログに収載している製品をほとんどこの方法で得ている。カタログ製品は比放射能をできるだけ高くするためトリチウムガスは希釈することなく使用する。このため一部放射線分解により不純となることもあるが、概して純度はよい。われわれはまた外部より前駆物質の提供をうけてその接触還元を行なっているが、これらの還元ではそれほど高比放射能のトリチウムガス

の必要はなく、また使用量も少なくてよいため、還元中の分解はほとんど起こらない。効率よく高純度製品を得ることができる。

図 15 TLC 展開 溶媒
イソアミルアルコール：メタノール：アンモニヤ水

図 15 にその 1 例を示す。ハロゲン誘導体（クロル化合物）をトリチウムガスで置換する反応であるが、3 Ci のトリチウムガスを用いて行ない還元後不安定トリチウムを除いただけでほとんど純粋な標識化合物が 1710 mCi 得られている。

接触還元法では効率よく標識されるため、非常に多量の生成物が得られる。したがって仮に不純な場合でも、ごく一部を精製すれば、必要量が確保できる。大抵、巾数センチの口紙、薄層プレート一枚で十分ことができる。

このような利点からトリチウム標識化合物の合成にあたってはまず接触還元が適用できる前駆物質の入手の可否を検討すべきである。既知の前駆物質がない場合には適当な方法でハロゲン化を行ない、得られたハロゲン化合物を普通の水素で接触還元してみる。還元によりもとの化合物に返っておれば、そのハロゲン化合物はトリチウム化の原料として使用しうるわけである。

接触還元法では交換反応の場合とちがってトリチウムの標識位置がはっきりしていることも有利である。しかしトリチウム化合物では標識位置に万全の信頼を置いて実験を行なうのは危険な場合がある。それは接触還元などにより特定位置を標識する際交換反応によって目的位に

外の場所の標識がおこるからである。この交換反応は避けられず、またこの割合は時として驚くほどの数字となるものがある。次の反応でウリジン-5 T を合成すると、

6 位にもわずかに交換による標識がおこる。その割合は普通 2% 前後であるが、還元条件の変化により 10% 近くにも達するといわれている³⁸⁾。

また次式によって 3', 5'-ジブロム葉酸をパラジウム炭酸カルシウム触媒存在下トリチウムガスで接触還元し、

葉酸 3', 5'-T を合成する反応では、再現性よく 60% 近くものトリチウムが 9 位のメチレン基に交換標識されている³⁹⁾。

(昭和46年1月18日受理)

文 献

- 1) 樫田義彦, 岩倉哲男, *Radioisotopes* **19** 27 (1970)
- 2) S. Ullberg, *Proc. 2nd. UN Intern. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy* **24** 248 (1958)
- 3) 高橋忠男, 木村哲男, 佐藤善重, *ビタミン* **39** 236 (1969)
- 4) 中島栄一, 進藤英世, 栗原紀夫, 藤田稔夫, *Radioisotopes* **18** 365 (1969)
- 5) 佐藤善重, *応用薬理* **4** 535 (1970)
- 6) 松岡理, 第8回日本アイソトープ会議報文集 p. 463 (1967)
- 7) 進藤英世, 中島栄一, 桑原義美, 平田明, 杉田定男, *Radioisotopes* **17** 433 (1968)
- 8) 浮田忠之進, 武田寧, 佐藤善重, 高橋忠男, *Radioisotopes* **16** 439 (1967)
- 9) 田中茂, 望月義夫, 篠本栄三, 山根昭子, 松本徹, *Radioisotopes* **18** 44 (1969)
- 10) R.E. McMahon, F.J. Marshall, *Advances in Tracer Methodology* **4** 29 (1968) Plenum Press.
- 11) W.G. Dauben, J.C. Reid, P.E. Yankwich, *Anal. Chem.* **19** 828 (1947)
- 12) C.W. Bills, A.R. Ronzio, AEC Reports, AEC-U-1005, 1007
- 13) M. Fields, M.A. Leaffer, S. Rothchild, J. Rohan, *J. Am. Chem. Soc.* **74** 5498 (1952)
- 14) 南保俊雄, 吉原丈夫, 未発表
- 15) E. Takabatake, R. Kodama, Y. Tanaka, R. Dohmori, H. Tachizawa, T. Naito, *Chem. Pharm. Bull.* **18** 1900 (1970)
- 16) 島村修, 野口照久, “アイソトープ実験技術” 第一集, p 157 (1955) 南江堂
- 17) 池田長生, 他, 実験化学講座 Vol. 13 p 127 (1957) 丸善(株)
- 18) M. Calvin et al., *Isotopic Carbon* (1949) John Wiley
- 19) F. Weygand, H. Simon, *Methoden der Organische Chemie* 4th. ed. Vol. IV (1955) Georg Thieme
- 20) A. Murry, D.L. Williams, *Organic Syntheses with Isotopes* Part 1. (1958) Interscience
- 21) J.R. Catch, *Carbon-14 Compounds* (1961) Butterworth; 長谷川賢訳, 炭素 14 化合物 (1963) 東京化学同人
- 22) M. Bubner, L. Schmidt, *Die Synthesen Kohlenstoff-14-Markierter Organische Verbindungen* (1966) George Thieme
- 23) H.R. Schutte, *Radioactive Isotope in der Organischen Chemie und Biochemie* (1966) Verlag der Wissenschaften.
- 24) V.F. Raaen et al., *Carbon-14* (1967) Mc-Graw-Hill
- 25) 信越化学工業(株), TC-5® パンフレット
- 26) H. Kitagawa, T. Satoh, T. Yokoshima, T. Nanpo 投稿準備中
- 27) K.E. Wilzbach, *J. Am. Chem. Soc.* **79** 1013 (1957)
- 28) 辰巳淳, 大和千靱, 有馬徳行, 塚本久雄, *薬学雑誌* **88** 925 (1968)
- 29) 丸山幸一, 田中彰, 浦久保五郎, 入野理, 府川和永, *薬学雑誌* **88** 1516 (1968)
- 30) 今村博, 岡田忠夫, 松井英一, 加藤安之, *薬学雑誌* **90** 613 (1970)
- 31) 中西豊, 貴志昌高, 三奈木康夫, *薬学雑誌* **90** 683 (1970)
- 32) T. Gosztony, *J. Labelled Compd.* **5** 196 (1969)
- 33) 下島光, 長尾博之, 鎌田敏正, *Radioisotopes* **13** 287 (1964)
- 34) C.T. Peng, *J. Pharm. Sci.* **52** 861 (1963)
- 35) N. Uehara, Y. Kawazoe, *Chem. Pharm. Bull.* **18** 203 (1970)
- 36) E.A. Evans, *Tritium and its Compounds* p 121 (1966) Butterworth
- 37) Euratom, *Ger. P* 1817637 (1970)
- 38) E.A. Evans, 第9回日本アイソトープ会議報文集 p. 652 (1969)
- 39) S.F. Zakrzewski, E.A. Evans, R.F. Phillips, *Anal. Biochem.* **36** 197 (1970)