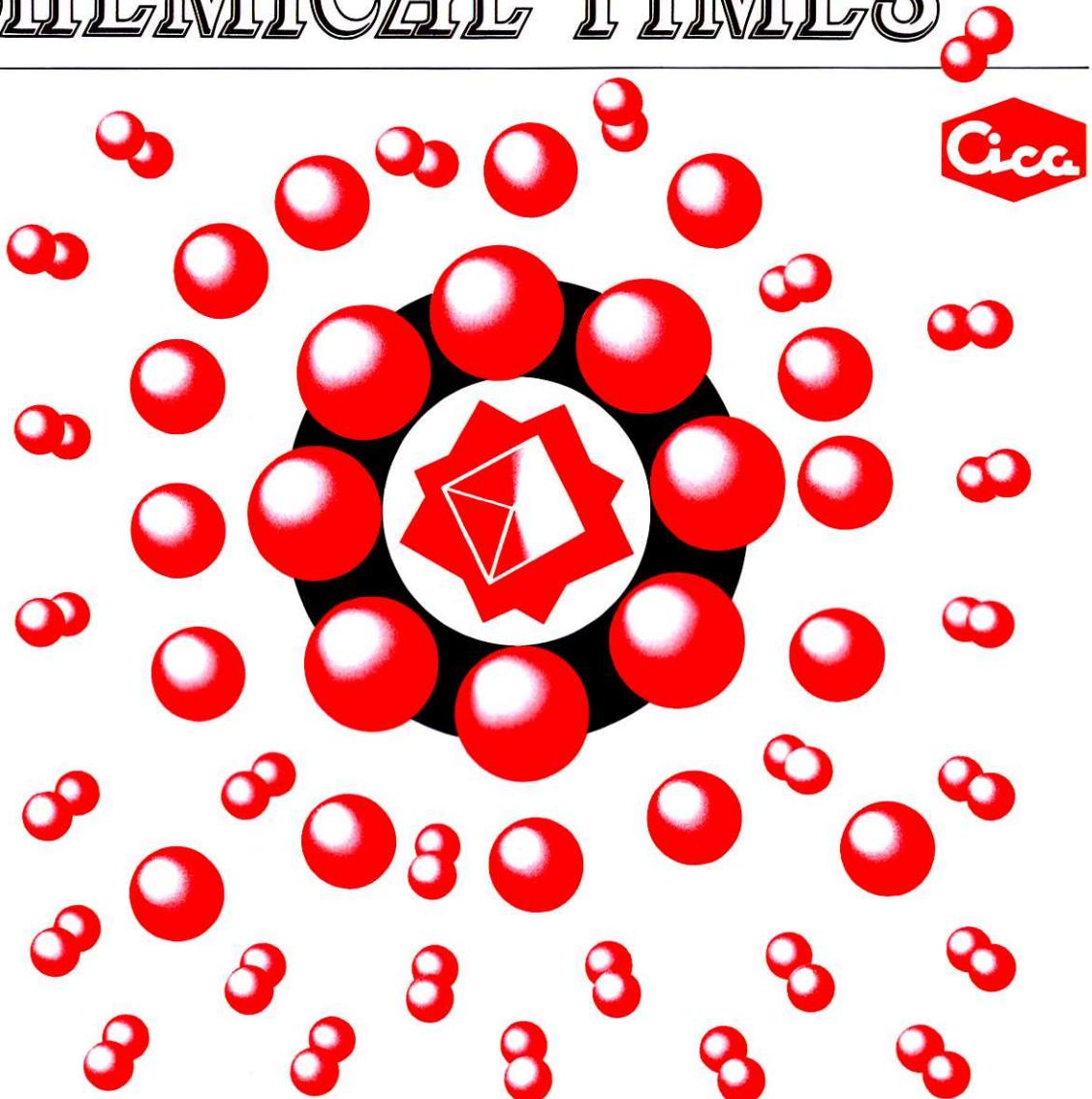


THE

CHEMICAL TIMES

ISSN 0285-2446
KANTO CHEMICAL CO., INC.
1995 No.2 (通巻156号)



目 次

新しい脂質研究を拓く TLC Blotting.....証 孝 雄.....2
—その原理と応用—
臨床化学並びに臨床化学検査への接近.....佐々木 稔一.....8
NMR シグナルのシフト試薬.....今 井 弘.....14
12. Glucose その他の糖—尿糖および醣液中の Glucose —
くすりの文化交流(32).....根 本 曾代子.....21
地球の真理
編集後記.....23

新しい脂質研究を拓く TLC Blotting

—その原理と応用—

東京医科歯科大学医学部・分子医化学教室 助教授 薬学博士 潤 孝 雄

1. はじめに

最近筆者らは薄層クロマトグラフィー(TLC)で分離した脂質成分をそのままプラスチック膜に転写し、この上で脂質を分析する方法を開発した。シリカゲルを担体として用いる TLC は分離精度が高い、簡便である、高価な装置を必要としない、化学的呈色反応が行えるなど多くの利点を備えていることから天然物化学、生体成分あるいは薬物代謝物などの分離、同定に広く用いられている。脂質生化学の分野においても TLC は必要不可欠の

分析法として最も汎用されている技術となっている。リン脂質あるいは糖脂質を一枚のプレートの上でほぼ完全に分離しその組成を目で確かめることができるのは TLC を除いてない。しかしながらプレート上で分離した脂質に酵素反応や結合実験あるいは構造解析を行うことは困難である。そこで、筆者らは HPTLC プレート(高性能 TLC プレート)で分離した脂質をそのまま膜に写しとって、この上で構造解析や酵素反応、生理機能の解析を行う方法の開発をすすめてきた。

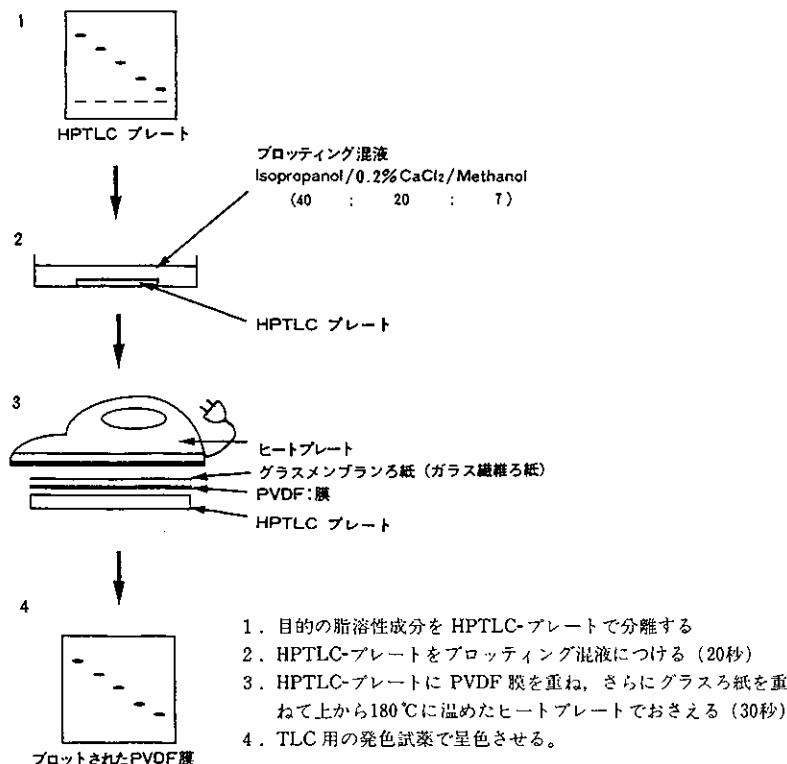


図 1. TLC Blotting 法

TAKAO TAKI Ph. D.

Associate Professor Department of Biochemistry
Faculty of Medicine
Tokyo Medical and Dental University.

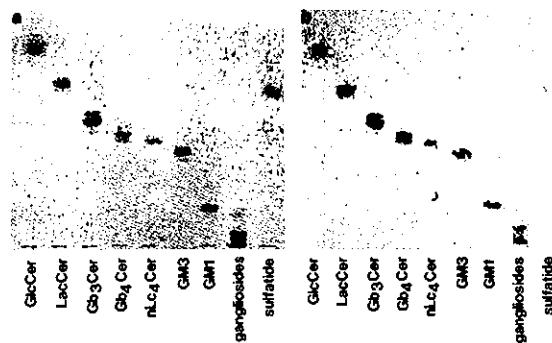
- 2 - TLC Blotting, A New Technology for Lipid Research
—Its Principle and Applications—

本稿では生体脂質特にリン脂質と糖脂質の HPTLC-プレートからの転写法とその応用について紹介する。

2. TLC Blotting 法の実際とその特徴

脂質を HPTLC-プレートから写しとするプラスチック膜として疎水性をもった膜を種々検討した結果、熱や酸に安定である、転写効率がよいことなどの理由から転写膜として PVDF 膜 (polyvinylidene difluoride membrane, ATTO 社製, Clear Blot membrane) を選んだ。以下に PVDF 膜への転写法を示す!

1. 脂質を HPTLC-プレート (MERCK 社製) 展開溶媒: クロロホルム／メタノール／0.2% CaCl_2 , (60:35:8, v/v) で分離する。
2. プレートを風乾し、転写溶媒: イソプロパノール／0.2% CaCl_2 ／メタノール (40:20:7, v/v) にプレートを浸す(20秒間)。
3. プレートを清浄なガラスの上にのせ、直ちに PVDF 膜とグラスフィルター紙 (Whatman 社製, GF/A) をのせる。
4. 180 度に熱したアイロンで30秒間、上から押さえつける。



a.) 図に示した糖脂質 (3 μg) の HPTLC-プレートによる分離。
b.) HPTLC-プレートで分離した糖脂質を TLC Blotting した結果。
発色はオルシノール- H_2SO_4 試薬

図 2. 糖脂質の TLC Blotting

3. PVDF 膜へのプロットの定量性

この技術では、HPTLC-プレートで分離された脂質は定量的に転写されるか、転写された脂質は化学変化を起こしていないか、の 2 点が問題となる。まず転写の定量性を明らかにするため、次の実験を行った。

2 枚の HPTLC-プレートに糖脂質を展開させ、その 1 枚を TLC Blotting 法に用いる。HPTLC-プレートおよ

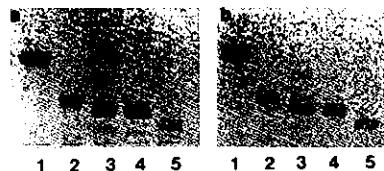
5. PVDF 膜をとりだす。

以上の操作で糖脂質およびリン脂質はほぼ定量的に HPTLC-プレートから、PVDF 膜に転写される。図 1 にその方法を示した。

PVDF 膜にプロットされた脂質の検出には TLC の発色用いる試薬を使用できる。HPTLC-プレートの場合には噴霧するのが一般的であるが、PVDF 膜の場合は発色試薬に浸すことができるので、均一な発色が得られる。しかし、PVDF 膜は疎水性なので発色試薬はメタノールなどを添加して試薬と PVDF 膜をなじみやすくする。HPTLC-プレート上でリン脂質や糖脂質を検出する場合、硫酸や塩酸など強い酸を含む試薬を用いるので発色した色は過剰な酸によって分解され、やがて退色するが、PVDF 膜の場合は水洗することによって過剰な酸を除去することができる。このため呈色した色は長期間安定に保存でき、ノート等にファイルすることも可能である。

我々はこのプロット法を "TLC Blotting" と呼んで脂溶性成分の転写に一般的に用いることにした。

図 2 には糖脂質の TLC Blotting の結果を、図 3 にはリン脂質の TLC Blotting の例を示した。



a.) それぞれのリン脂質 (5 μg) を HPTLC-プレートで分離した図。
b.) HPTLC-プレートで分離したリン脂質の TLC Blotting の結果。

発色は Dittmer-Lester 試薬

1. ホスファチジルエタノールアミン
2. ホスファチジルイノシトール
3. ホスファチジルセリン
4. ホスファチジルコリン
5. スフィンゴミエリン

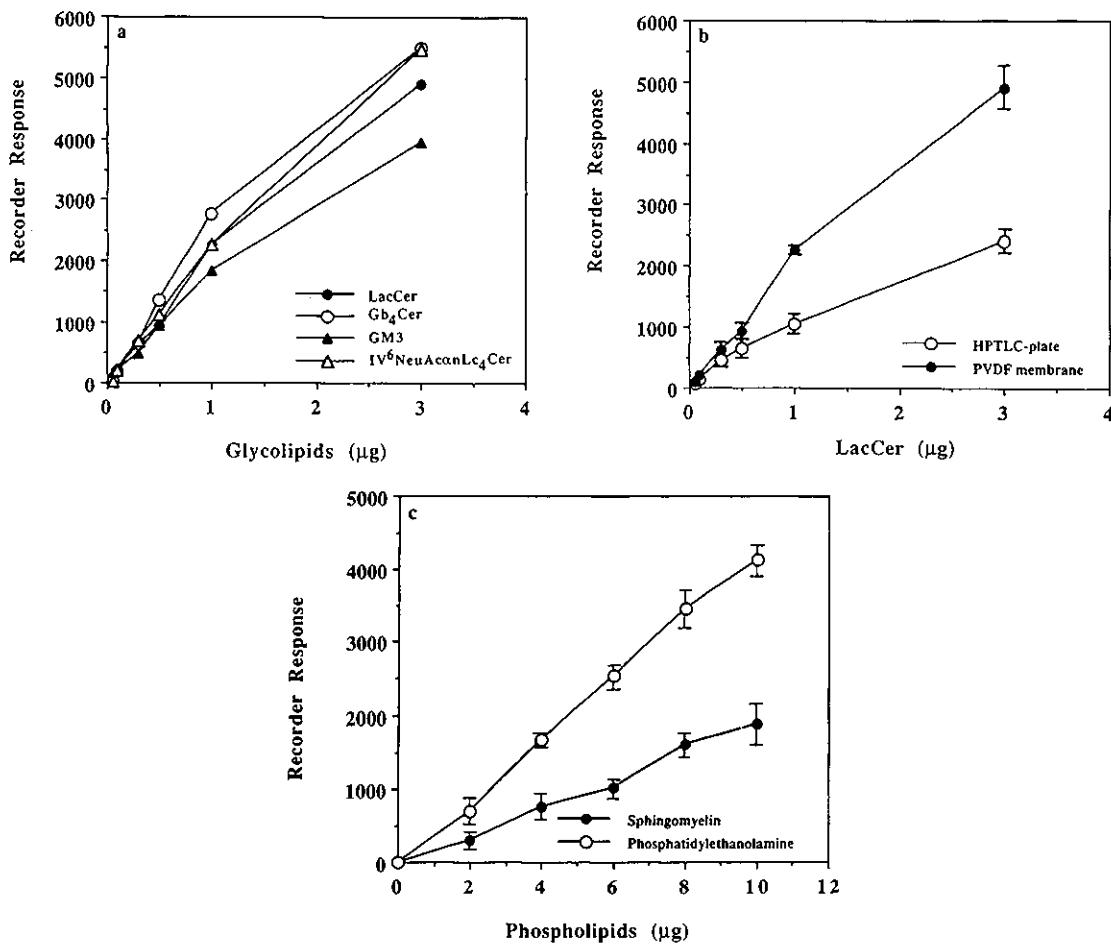
図 3. リン脂質の TLC Blotting

び PVDF 膜をオルシノール／硫酸試薬によって発色させた後、クロマトスキャナーにて定量、その結果を比較した。図 4 に結果の一部を示した。興味深いことに TLC Blotting 後、PVDF 膜で呈色したほうが高い測定値を示している(図 4 b)。この理由には次の 2 点が考えられる。
1) PVDF 膜では発色試薬液に浸すため糖脂質バンドが均一に呈色される。2) HPTLC-プレートでは分離され

た脂質は0.25 mmのシリカゲルの厚さの中に分布しているのに比べ、PVDF膜ではシリカゲル層に分布していた脂質がPVDF膜表面に濃縮される。

TLC Blottingした後、HPTC-プレートに発色試薬を噴霧して調べても、糖脂質はもはや検出されない。リン

脂質を用いて行った実験でも同様の結果が得られた。このことは、HPTLC-プレート分離された脂質は定量的にプロットされていること、プロットしたほうが定量感度がよいことを示している。



- 種々の糖脂質の濃度依存的転写（オルシノール-H₂SO₄ 試薬による呈色）
- HPTLC-プレート上と TLC Blotting 後 PVDF 膜に転写されたラクトシルセラミド (LacCer) の検出感度の比較
- リン脂質の濃度依存的転写 (Dittmer-Lester 試薬による呈色)

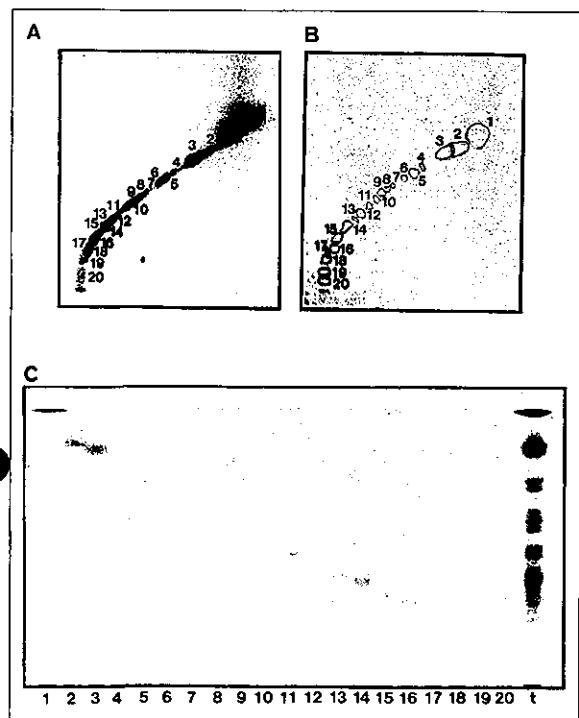
図4. TLC Blottingの定量性

4. "TLC Blotting" による脂質の分離精製

これまでの結果から脂質をHPTCプレートから定量的にPVDF膜に転写できることが明らかになった。そこで脂質の分離精製に本法を応用した。その方法を以下に示す。

1. 脂質をHPTLC-プレートで分離する。
2. ブリムリン試薬を噴霧する。
3. 風乾後、紫外線ランプ(365 nm)のもとで脂質の分離を確認するとともに、バンドの位置を色鉛筆でマークする。

4. 転写溶媒：イソプロパノール／0.2%CaCl₂／メタノール(40:20:7, v/v)に20秒間プレートを浸す。
5. プレートを取り出し直ちにPVDF膜、グラスフィルターをのせ180°Cに温めたアイロンを30秒間押付ける。
6. PVDF膜には脂質と共に色鉛筆のマークが転写される。
7. 風乾後、膜を水で洗う。
8. 膜を風乾し、色鉛筆の部分を切り取る。
9. 0.5mlのメタノールにて膜から脂質を抽出する。この方法で分離精製したヒト胎便の中性糖脂質およびリン脂質のTLCの結果を図5に示した。2次元TLCで検出した20の胎便糖脂質バンドがこの方法によって単一バンドにまで精製されているのがわかる。これまで不可能であった多種類の糖脂質成分を一度に精製することがTLC Blottingによって可能になった。



A. ヒト胎便糖脂質の二次元TLC(オルシノール試薬による呈色)
B. PVDF膜に転写した糖脂質
C. TLC Blottingによって精製した糖脂質(オルシノール試薬による呈色)

図5. ヒト胎便中性糖脂質のTLC Blottingによる分離精製

5. TLC Blottingの脂質分析への応用

TLC BlottingでPVDF膜に写された脂質の最大の利点は、PVDF膜上で構造解析、免疫反応、酵素反応、生理活性の検出など幅広い実験が行えることである。それにはPVDF膜に写された脂質が化学変化していないことが条件となる。ここではいくつかの応用例を紹介しながら転写された脂質が化学変化していないことを示す。

5-1. 質量分析による構造解析—TLC Blotting—FAB-MS分析—

TLC BlottingによってPVDF膜に転写した糖脂質の質量分析による構造解析を試みた。PVDF膜に転写されたガングリオンドGM3(NeuAc-Gal-Glc-Ceramide)を切り取って、これを直接質量分析した。その結果を図6に示す。種々の脂肪酸をもった分子イオンとともにそれらの分子種に対応するフラグメントイオンがみられる。種々の糖脂質を用いて検討した結果、約1μgで分析できることが明らかとなったが、この方法の大きな利点は、それぞれの脂質を精製することなくTLC Blottingしたものを直接解析できることである。

5-2. 免疫染色

HPTLC.プレート上で免疫染色によって抗原を検出する方法はほぼ確立している。しかしながらシリカゲルがはがれないようにポリイソブチルメタクリレート処理する必要があり、プレートのロットによっては、さらに細心の注意が必要となる。TLC BlottingしたPVDF膜の場合は、膜のサイズにあわせたビニールバッグに抗体とともにプロットしたPVDF膜を入れ、振とうさせながら反応できる。図7にはシアリルパラグロボシド(NeuAc-Gal-GlcNAc-Gal-Glc-Ceramide)に対するモノクローナル抗体を用いて免疫染色した結果を示す。TLC BlottingしたPVDF膜での染色のほうが感度がよい。

5-3. 酵素反応

糖脂質の合成は糖転移酵素、分解はグリコシダーゼによって触媒される。パラグロボシド(Gal-GlcNAc-Gal-Glc-Ceramide)に対するモノクローナル抗体(H-11)²¹を用いた免疫染色法によってガラクトース転移酵素とシアリグロボシドの酵素活性測定に応用することができる。その原理を図8に示した。

5-3-1. ガラクトース転移酵素活性^{3,4)}

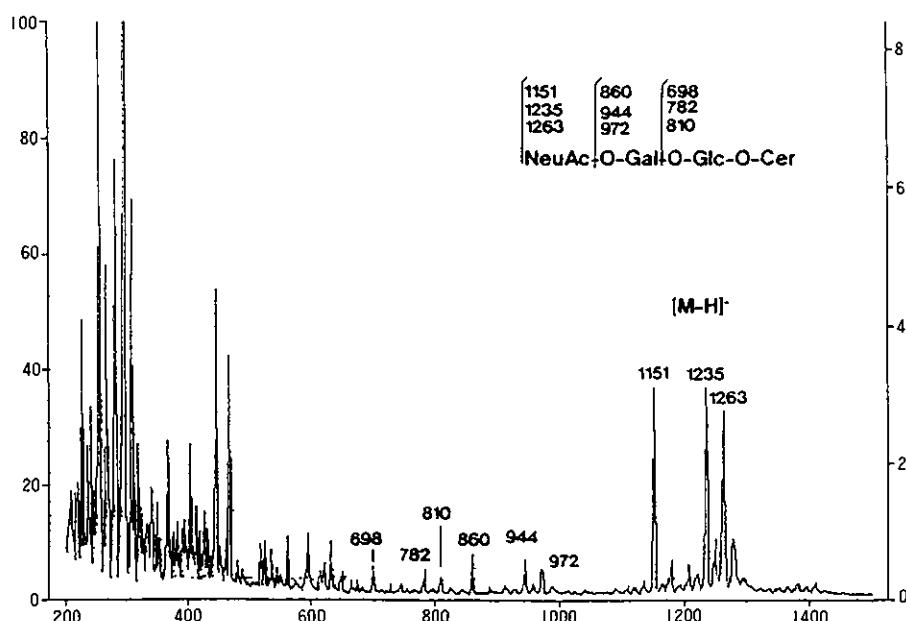
TLCでガラクトース転移酵素の基質となるアミノ-CTHを展開させた後TLC BlottingでPVDF膜に転写する。PVDF膜とUDP-Gal, MnCl₂さらに酵素をビニールバッグに添加して反応させる。生じたパラグロボシドをモノクローナル抗体を用いた酵素抗体法によって呈色させる。このように呈色させた後、デンシティグラフなどで定量

することができる。

5-3-2. シアリダーゼ活性³⁾

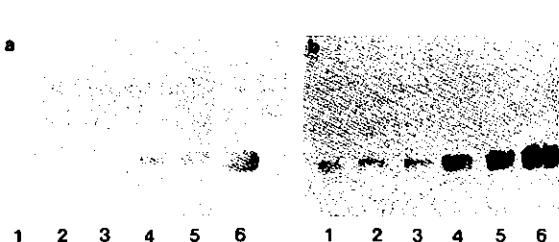
TLCでシアリルパラグロボシドを展開し、TLC Blotting

法でPVDF膜に転写する。ビニールバッグにPVDF膜とシアリダーゼを加えて反応させる。生じたパラグロボシドを酵素抗体法によって免疫染色する。



M/Z, 1151, 1235, 1263 は脂肪酸の長さを異にするGM3の分子種。
M/Z, 860, 944, 972 はそれぞれのGM3分子種からシアリル酸(NeuAc)がはずれたフラグメントシグナル

図6. PVDF膜にプロットしたガングリオシドGM3のFAB-MSスペクトル



シアリルパラグロボシド(1, 0.32ng; 2, 1.6ng; 3.8ng; 4, 40ng; 5, 200ng; 6, 1μg)を展開しHPTLC-プレート上で免疫染色した(a)。TLC Blotting後免疫染色した。

図7. 糖脂質抗体を用いた免疫染色

抗シアリルパラグロボシド抗体による免疫染色の例

GlcNAc-Gal-Glc-Ceramide (アミノ-CTH)

UDP-Gal → ガラクトース転移酵素

Gal-GlcNAc-Gal-Glc-Ceramide (パラグロボシド) → 生じたパラグロボシドを抗体で検出す。

NeuAc シアリダーゼ

NeuAc-Gal-GlcNAc-Gal-Glc-Ceramide

(シアリルパラグロボシド)

ガラクトース転移酵素の検出ではアミノ-CTHを基質に、シアリダーゼの検出ではシアリルパラグロボシドを基質に用いる。酵素反応の結果生じたパラグロボシドを抗体で検出す。

図8. 抗パラグロボシド抗体を用いるガラクトース転移酵素とシアリダーゼの検出の原理

6. おわりに

本稿では筆者らが研究の対象としている糖脂質を中心と TLC Blotting の方法と応用を紹介してきた。本法の特徴は

1. 簡単で迅速,
 2. 特殊な機械を用いない,
 3. 定量的に転写ができる,
 4. 分離した成分の回収が可能,
 5. 化学発色が TLC と同じようにできる,
 6. 保存が簡単で呈色した成分の退色がない,
- などである。

この方法は TLC で分離できる脂溶性のほとんどの分子に応用できるものと考えられる。生体成分、医薬品の代謝生成物、香粧品、食品添加物、海洋生物や植物から分離した天然物、そして環境物質などの微量成分の分離精製に TLC Blotting は大きな威力を発揮するものと思わ

れる。

応用面についても脂質分野の研究を中心に紹介してきたが、これらの例に加えてそれぞれの分野でユニークな研究が展開されるものと期待される。

参考文献

1. Taki T., Handa S. and Ishikawa D., *Anal. Biochem.* 221, 312-316(1994).
2. Myoga A., Taki T., Arai K., Sekiguchi K., Ikeda I., Kurata K. and Matsumoto M., *Cancer Res.*, 48, 1525-1516(1988).
3. Taki T., Nishiwaki S., Ishii K. and Handa S., *J. Biochem.*, 107, 493-498(1990).
4. Nishiwaki S., Taki T., Handa N., Hattori N., Takeshita K., Endo M. and Handa S., *Cancer Res.*, 52, 1875-1880(1992).

信頼性の証 ◀ 計量法トレーサビリティ制度適合品 ▶

pH標準液・金属標準液・イオン標準液

● pH 標準液(第 2 種) ●

しゅう酸塩 pH 標準液(1.68), フタル酸塩 pH 標準液(4.01), 中性りん酸塩 pH 標準液(6.86), りん酸塩 pH 標準液(7.41), ほう酸塩 pH 標準液(9.18), 炭酸塩 pH 標準液(10.01)

● 金属標準液(濃度: 1,000mg/l, 100mg/l 容量: 100ml, 250ml) ●

アルミニウム標準液, ひ素標準液, ビスマス標準液, カルシウム標準液, カドミウム標準液, コバルト標準液, クロム標準液, 銅標準液, 鉄標準液, カリウム標準液, マグネシウム標準液, マンガン標準液, ナトリウム標準液, ニッケル標準液, 鉛標準液, アンチモン標準液, 亜鉛標準液

● イオン標準液(濃度: 1,000mg/l, 容量: 100ml) ●

塩化物イオン標準液, ふっ化物イオン標準液, 亜硝酸イオン標準液, 硝酸イオン標準液, りん酸イオン標準液, 硫酸イオン標準液, アンモニウムイオン標準液

詳細につきましては、下記までお問い合わせ下さい。



関東化学株式会社 試薬事業本部

〒103 東京都中央区日本橋本町 3-11-5 03(3663)7631
〒541 大阪市中央区瓦町 2-5-1 06(222)2796
〒812 福岡市博多区山王 1-1-32 博多堀ビル 092(414)9361

臨床化学並びに臨床化学検査への接近

12. Glucose その他の糖—尿糖および髄液中の Glucose —

札幌医科大学附属病院 検査部 非常勤講師 佐々木 権一

I. はじめに

前報（その11）では、生体内の糖代謝の様相、その変調を知る目的で、日常広く測定の対象になっている、生体試料中の glucose の測定について解説した。

そして特に血液中の glucose, すなわち血糖を中心に、その生理的並びに臨床的意義、血糖を増減させる因子、血糖値の増減と診断的意義、糖質負荷試験並びに各種の血糖測定法—還元法、縮合法および酵素法—について、紹介した。

今回は尿中 glucose (尿糖 urinary sugar と呼ぶ) をテーマとして解説を加えたい。通常尿中には微量の glucose しか見出されない(従来尿糖陰性と判定)が、尿中 glucose が増量した場合(尿糖陽性), すなわち糖尿の状態となつた場合、その原因、尿糖陽性となる病態(状態)について解説をし、尿中 glucose を定量する主な測定法を紹介してみたい。

II. 尿糖—尿中 glucose

1. 生理的並びに診断的意義：

(1) 尿糖の出現機序 —

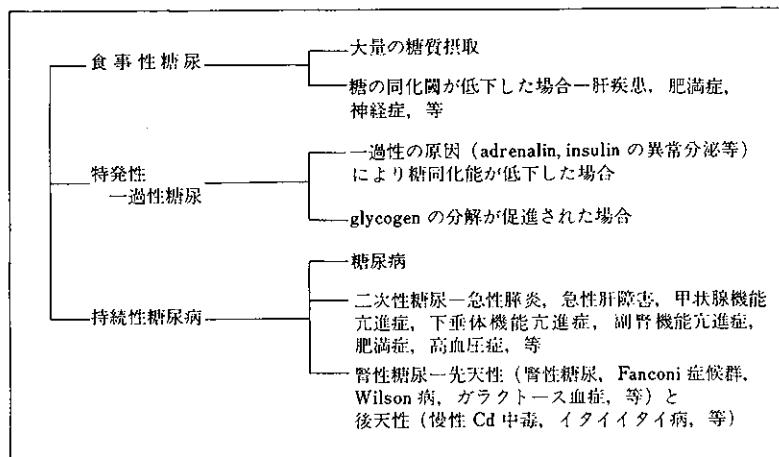
前報で述べたように、摂取した糖質は分解(消化)吸収され、血液中に含有される(血糖)が、その量は insulin や glucagon, 副腎皮質ホルモン、脳下垂体ホルモン、甲状腺ホルモン、adrenalin 等のホルモン作用により増減し、血中での濃度は一定範囲内に保たれている。しかし、その上限値(閾値)を上回る增量の場合には、余分の glucose は血中より腎を介して尿中に漏出し、糖尿となる。一方血糖値は正常範囲中にありながら、腎疾患のために糖尿が出現する腎性糖尿病もある。

(2) 糖尿の原因 —

糖尿はいわゆる糖尿病で代表される所見であるが、それ以外多くの原因によっても見出されることが多い。

表1に糖尿の原因をまとめて示したが、健常者でも大量の糖質を摂取した後には、糖尿(食事性糖尿)がみられることがあり、肝疾患、肥満症、神経症等でも、糖の同化閾が低下してその結果食事性の糖尿を示す。

表1. 糖尿の原因



また一過性の原因（例えば insulin, adrenalin 等の異常分泌等）により糖同化能が低下した場合や、glycogen の分解が促進した場合等には、特発性一過性糖尿がみられる。しかし糖尿病で代表される持続性糖尿が頻度が多く、重要である。この中には表 1 の様に各種疾患における二次性糖尿や、腎性糖尿も含まれている。従って尿中 glucose 測定による糖尿のチェックする例が、日常の診断、治療上かなり多い。

(3) 尿糖陽性になる病態或いは状態 —

前掲の内容（表 1）と若干重複するが、表 2 に尿糖（尿中 glucose）が陽性となる病態や状態を、血糖値の増加と対比して示した。これらのケースは、血糖が正常値でありながら尿糖がみられる場合と、高血糖に伴って出現する糖尿とに二分される。前群の中に含まれるのは①前述の腎性糖尿の場合の他、②尿細管上皮障害（重金属による障害も含む）、および③妊娠がある。一方後者の群に属する病態或いは状態としては、①糖尿病、②肝疾患、③各種の内分泌疾患、④代謝性疾患、⑤中枢神経系疾患（脳圧亢進時）、⑥食事性の一過性糖尿、⑦その他があげられる。これ等からも分かる様に、糖尿を呈する病態や生理的状態は、結構多種多様である。

通常尿中に含まれる glucose 量は、微量で從来から陰性と表現されてきたが、しかしゼロではない。以前の尿糖検出法は比較的感度が低く、特異性にも問題があり、これでは検出されないということで、日常診断的には多くの場合、この“尿糖陰性”という表現の方が実際的である。後述の試験紙では、この観点から陰性、陽性（±、+）、

表 2. 尿糖（尿中 glucose）陽性となる病態（状態）

1. 血清 glucose 値正常で尿糖陽性：

- ① 腎性糖尿
- ② 尿細管上皮障害—重金属（Cd, Hg, Pd, Cr, 等）の過剰摂取；ビタミン D 過剰；腎炎、ネフローゼ、腎硬化症、Fanconi 症候群等の腎疾患
- ③ 妊娠

2. 高血糖性糖尿：

- ① 糖尿症（島性糖尿病）
- ② 肝疾患—肝炎、肝硬変、脂肪肝、ヘモクロマトーシス
- ③ 内分泌疾患—末端肥大症、クッシング病、副腎皮質機能亢進症、褐色細胞腫、甲状腺機能低下症、ACTH 産生腫瘍、ステロイド剤長期投与時
- ④ 代謝性疾患—高脂血症、肥満症
- ⑤ 中枢神経系疾患（脳圧亢進時）—脳腫瘍、脳出血、脳外傷
- ⑥ 食事性一過性糖尿—胃切除後、糖質過剰摂取後
- ⑦ その他—麻酔、手術、精神的ストレス、心筋梗塞（発作時）

十、±、および+）と定性的或いは半定量的に、データを判読でき実用的である。

2. 尿糖の測定法：

尿糖の検査は、血糖測定法の場合と同じく、早くから実施されてきた。従って古くから多くの測定法が考案され利用されてきた。これ等の測定法を、古いものも含めて表 3 に示した。この表を参考に、各測定法について解説を加えてみよう。

(1) 尿糖測定法の概要 —

当初の尿糖の検査は、主に定性或いは半定量であったが、近年は定量的検査が中心である。そして血糖測定用に用いられた多くの方法が、すべてではないがかなり尿糖の測定に利用されている。

これ等の測定法は、表 3 に示した様に、還元法、アルカリカラメル法 (Somogyi の Na_2CO_3 法)、縮合法、酵素法（試験紙法も含まれる）、およびその他の特殊分析法に大別される。

還元法は古くから利用されてきたが、現在はほとんど使われておらず、アルカリカラメル法は簡単な定量法として、10数年前に愛用されていた。また縮合法は血糖測定の場合と同様に施行できる便利さもあり、 α -toluidine ホウ酸 (α -TB) 法等一時使われたことがあった。尿糖測定法の主流は酵素法で、特にその原理を利用した試験紙* であり、早くから screening 的目的で使用してきた。当初は定性～半定量法として位置付けられていたが、その後製品の品質も向上し、また以前の肉眼判定から機器による判読となり、かつ大量の検体の処理も可能となり、現在も広く用いられている。

その他の方法は特別な目的の際に用いられるが、日常検査室で使うことは多くない。

(2) 還元法 —

初期の頃は還元法を原理とした滴定法等に頼っていたが、その後比色法として利用され、その報告例も多い。これはもちろん glucose がアルカリ性下で加熱した際に示す還元力を調べる方法であるが、尿中に多く含まれる各種の還元性物質の反応もあり、特異性に問題がある。この原理に基いた 2、3 の簡易測定キットもあったが、これ等の製品も含め現在は還元法は使用されていないのが実情である。

(3) アルカリカラメル法 (Somogyi の Na_2CO_3 法) —

この反応の原理は表 4 に示したが、アルカリ性下 (10

* 初期は濾紙片の一端に試薬を染みこませたタイプの製品であったが、現在は支持部分は plastic 製となり、この点から試験紙という表現は適切でない。従って stix, strip の様な表現の方がよいと思われるが、従来通り“試験紙”という呼び方が今なお普及している。

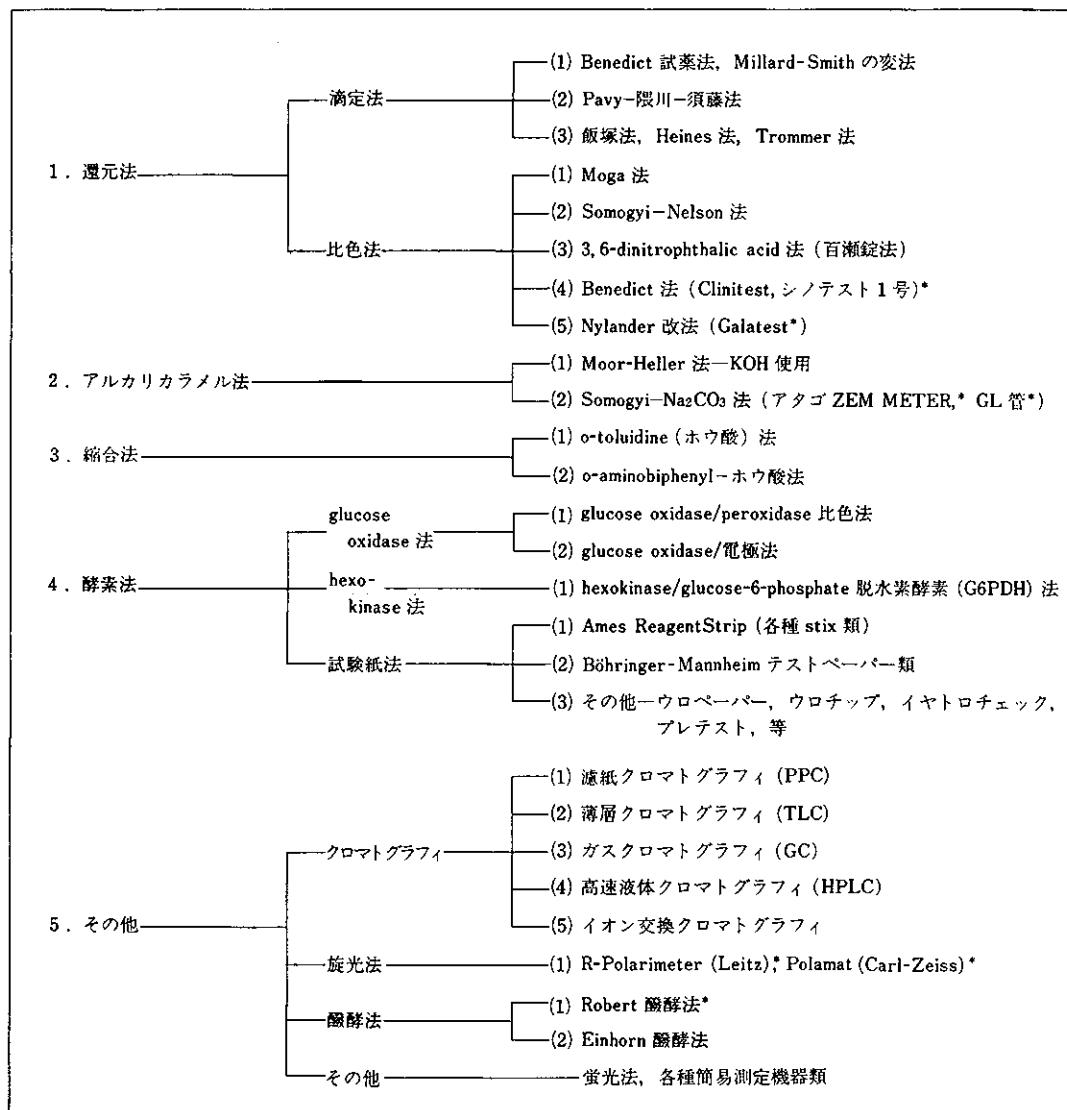
%程度の Na₂CO₃ 水溶液を利用)で加熱煮沸すると、尿中の glucose はいわゆるカラメル反応の結果 aldehyde 重合体を生成し褐色を呈す。この吸光度は glucose の濃度に比例するので、比色測定で定量する。しかし glucose 以外の多くの糖も同様の呈色を示し、特異性に乏しいが、逆に多くの還元性物の影響はない利点がある。直線性を示す範囲も広くない(0.2~6.0 g/dl)が、自動化測定系に適用して広い濃度範囲にわたり直線性を示すことも知ら

れている。簡便さと試薬が低価格である点から、一時期検査の現場で愛用されていた。

(4) 総合法

血糖測定に一時期使われていた総合反応を原理とした o-toluidine ホウ酸(o-TB)法が、失張り尿糖の定量に使われていたこともあった。glucose を酸性条件下(サク酸酸性)で加熱すると、脱水縮合反応の結果 5-hydroxymethylfurfural を生成し、これが芳香族アミン類(例

表3. 尿糖測定法の分類



* 現在製品としてはほとんど使用されず、また製造中止のものも多い

えば o-toluidine) と反応して青色を呈するというのが、この反応の原理と考えられていたが、 D-glucose と o-toluidine との間で N-D-glucosyl-o-toluidine を形成、それが最終的に緑青色の混合反応生成物を生成するのが

原理らしい（前報および表 4 参照）。glucose 以外の aldohexose 等も呈色し、また刺戟性の氷サク酸を用いる等の欠点があり、矢張り現在はほとんど用いられない。

表 4. 主な尿糖測定法の測定反応原理

1. Somogyi-Na ₂ CO ₃ 法	glucose $\xrightarrow[\text{煮沸加熱}]{\text{アルカリ下}}$ アルデヒド重合体（カラメル化）の褐色を比色 (500 nm)
2. o-TB 法	glucose $\xrightarrow[\text{(縮合反応)}]{\text{酸性下着油}}$ N-D-glucosyl-o-toluidine の形成 $\rightarrow \rightarrow$ 緑青色化合物質、これを比色 (640 nm)
3. 酵素法	
(1) GOD/POD 法	glucose + O ₂ $\xrightarrow{\text{GOD}}$ gluconolactone + H ₂ O ₂ H ₂ O ₂ + AH ₂ (水素供与体) $\xrightarrow{\text{POD}}$ 2H ₂ O + A \longrightarrow 比色
(2) GOD/catalase	glucose + O ₂ $\xrightarrow{\text{GOD}}$ gluconolactone + H ₂ O ₂ H ₂ O ₂ + CH ₃ OH $\xrightarrow{\text{catalase}}$ HCHO + 2H ₂ O HCHO + NH ₃ + acetylacetone \longrightarrow 3,5-diacyl-1,4-dihydrolutidine \longrightarrow 黄色比色
(3) HK/G6PDH 法	glucose + ATP $\xrightarrow{\text{HK}}$ G6P + ADP G6P + NADP ⁺ $\xrightarrow{\text{G6PDH}}$ 6-PG + NADPH ₂ \downarrow 340 nm
(4) 電極法	glucose + O ₂ $\xrightarrow{\text{GOD}}$ gluconolactone + H ₂ O ₂ ① GOD で消費される O ₂ 量を O ₂ 電極で測定 ② 生成される H ₂ O ₂ 量を H ₂ O ₂ 電極で測定する

(註) o-TB 法 : o-toluidine ホウ酸法、GOD : glucose oxidase, POD : peroxidase, HK : hexokinase, G6P : glucose-6-phosphate, G6PDH : glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6PG : 6-phosphogluconate

(5) 酵素的測定法

尿中の glucose を測定する目的で開発され、現在も広く用いられている試験紙は、glucose oxidase (GOD) を利用する酵素的測定法である。表 4 に示した様に、glucose は GOD により gluconolactone と H₂O₂ とを生成するので、その H₂O₂ の量を例えば peroxidase (POD) を共役酵素とし、水素供与体 (AH₂) と反応させ、その結果定量的に生成した A の吸光度を比色測定する。この供役反応には phenol (或いは aniline) の誘導体と、4-aminoantipyrine とを用いた酸化的縮合反応により生成した quinoneimine dye の比色定量をする反応例が多い。

しかし前報でも言及した通り、後半の反応は還元物質の影響を受け易く、例えば尿中に含まれる諸種の還元性物質、特に ascorbic acid の干渉による偽陰性反応が大きな欠点である。このため現在ほとんどの glucose 測定用の試験紙には、主な尿中干渉成分である ascorbic acid を消去するため、ascorbate oxidase を含む様に改良されている(表 5 参照)。また GOD で生成した H₂O₂、或いは消費した O₂ の量を電極法(表 4 参照)で測定すると、これ等干渉物質の影響は回避できる。正確なデータ

を出し得る方法として評価されている。

また試験紙法の成績解読の客觀性を高め、同時多数検体の処理を目標に、肉眼判定から機器分析（各種の尿自動分析装置による）に変りつつある。また GOD 反応の後半の共役反応に catalase を用いる方法も利用されているが、その反応原理は表 4 に示した様に、catalase 反応で生成した HCHO を、acetylacetone を用いる Hantsch 反応で lutidine 誘導体とし、その黄色を比色測定するというものである。

もう一つの酵素的測定法としては、hexokinase (HK)/glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) 反応系を用いる方法があり、尿中の微量の glucose を正確に測定する際に利用されている。すなわち ATP の存在下で glucose は HK の作用により、glucose-6-phosphate(G6P) となり、さらに G6PDH により 6-phosphogluconate(6PG) となるが、この際共役反応により共存する NADP⁺ は NADPH₂ に還元される。この反応に伴う 340 nm における吸光度の増加をモニターする方法である。

(6) その他の測定法

表 3 に示した様な特殊な尿糖測定法もある。しかしこ

れ等は分析化学的には、大いに魅力ある方法もあるが、臨床検査の分野で使うことはほとんどない。ただし目的によっては他の糖成分等と一緒に分別測定ができる方法として、イオン交換クロマトグラフィや高速液体クロマトグラフィ(HPLC)が適切であり、特にHPLCは研究的面も含めて使うことが多くなってきている。

(7) 主な尿糖測定法における干渉物質の影響(表5参照)――すでに述べた様に、尿検体中の物質で測定成績に影響を与えるものが多い。特にglucose以外の還元性物質(glucose以外の還元糖, creatinine, ascorbic acid, glutathione, 尿酸, 還元性を示す投与薬剤等)により、顕著な干渉作用を受ける。GOD反応を利用した試験紙法では、尿中のascorbic acidの影響を受けることが多い。そのため最近の試験紙では、ascorbate oxidaseを含ませてその回避に成功している。表5には代表的測定法における干渉物質の影響をまとめて示した。

表5. 還元法、縮合法および酵素法に対する干渉物質の影響

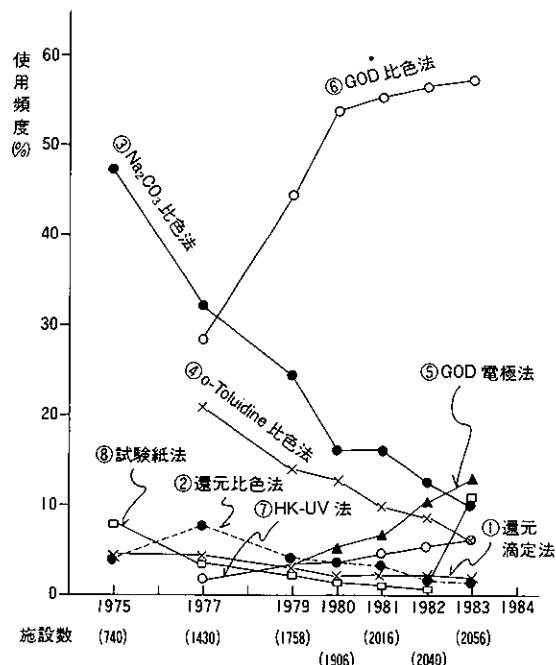
干渉物質	測定法		o-TB法	酵素法(試験紙法)	
	還元法 (除蛋白法)	Diastix法		従来法	Diastix法
グルコース以外の糖類	galactose mannose 果糖 pentose glucuronic acid 乳糖 maltose	↑ ↑ ↑ ↑ (+) (±) (±)	↑ ↑ (±) (±) — (±) (±)	— — — — — — —	— — — — — — —
尿中の還元性物質	creatinine 尿酸 glutathione ascorbic acid アルカブタン尿	↑ ↑ ↑ ↑ ↑	— — — — —	—(±) (±) (±) ↓ —	— — — — —
還元性薬剤	—	↑	—(±)	—	—

(註) o-TB法: o-toluidineホウ酸法, Diastix法: ascorbate oxidaseを含み, ascorbic acidの干渉を回避できる。

3. 尿糖測定法の変遷:

これ等多くの尿糖測定法の使用状況は、当然ながら時代と共に変遷を示した。図1には少々古いデータであるが、1975年から1985年の間の各尿糖測定法の使用頻度を例示した。以前多く使われていたSomogyiのNa₂CO₃比色法や、或る程度用いられていたo-toluidine比色法は、この10年間に激減し、GOD比色法(試験紙法で自動化機器による判読の場合も含む)が、非常に増加していることがわかる。この様な調査は毎年実施されているが、現在この傾向はさらに顕著になっている。

図1. 尿糖検査法の変遷(～1983年)



III. 髄液中のglucose

1. 生理的並びに診断的意義:

髄液 cerebrospinal fluid(CSF)のglucose量は正常人で約50～75mg/dlで、血漿中glucoseの約2/3の量であるが、通常血糖値と平行して増減する。病的状態においては、脈絡叢およびクモ膜下腔毛細管の透過性、CSFの糖分解速度等の変化により増減する。

CSF中glucoseはすべての髄膜炎(例えは細菌性および結核性髄膜炎、等)で、細菌や細胞による糖分解作用により減少する。ウイルス性髄膜炎では一般に減少しないが、マンドリス髄膜炎の1/4、帯状ヘルペス脳炎では、低下することがある。一方CSF中glucoseは糖尿病で著明に増加し、また脳腫瘍、脳出血、尿毒症、てんかん発作等では増加する。

2. CSF中glucoseの測定法:

原則的には血糖測定に用いられる代表的測定法を、そのまま利用することができる。最近まで概して古いglucose測定法が用いられていたが、o-TB法や酵素的測定法が用いられる様になり、測定精度は大幅に上昇した。一般に血液や尿試料に比べて干渉成分は少なく、測定面ではあまり問題はない。

体外診断用医薬品
承認番号(02E)第0024号

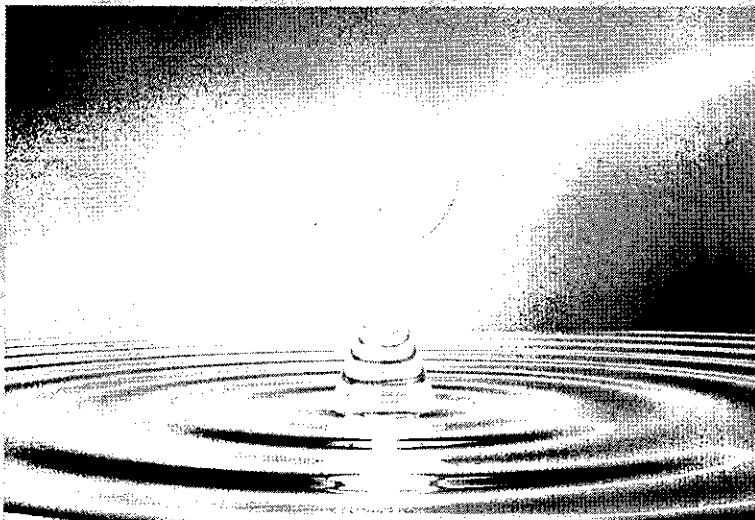
C-反応性蛋白測定用試薬

サイアスCRP(N)

TIA法の問題点を改善し、CRPをより精度よく、より正確に測定できる試薬です。

特長

- ◆クロプリン高値検体、RF高値検体にみられる異常値の出現がありません。
- ◆非衡化による測定値の変動がありません。
- ◆ラテックス法との相関は良好です。
- ◆1点キャリブレーターで測定できます。
- ◆測定感度、再現性、特異性及び直線性に優れています。



自動分析装置用試薬

製品名	分類	製品番号	内 容	包装容量	適応機種	貯 法
サイアスCRP	NL	77457	試薬1 緩衝液	300ml×3本	日立 736, 7250, 7350 東芝 TBA-Mシリーズ他	2~8°C
		77458	試薬2 反応開始剤	75ml×2本		
	NS	77459	1 梱 術 液(R1) 2 反応開始剤(R2)	70ml×2本 10ml×2本	日立 7050, 7150, 7070 東芝 TBA-20R, 30R, FR他	2~8°C
	NW	77460	1 梱 術 液(R1) 2 反応開始剤(R2)	90ml×2本 15ml×2本	東芝 TBA-60R コパスミラ他	2~8°C

*各種自動分析装置へのアフリケーションシート(ハラメーター)は、弊社までお問い合わせ下さい。



関東化学株式会社

本社 〒103 東京都中央区日本橋木町3-11-5 マルサンビル2F ☎03(3667)8061
大阪 〒541 大阪市中央区瓦町2-5-1 ☎06(222)3709
福岡 〒812 福岡市博多区山王1-1-32 博多堀池ビル ☎092(414)9361

Diagnistica Cica-MERCK

NMR シグナルのシフト試薬

関西大学工学部 教養化学 教授 工学博士 今井 弘

1. はじめに

天然物のような複雑な構造をした物質の PMR スペクトルは、シグナルが重なるために、解析が困難である。このような場合、高い周波数を用いて、分解能をよくすると、解析しやすくなる。しかし、装置や経費の面で種々の問題が生じてくる。そこで、通常の周波数によって分解能が優れた PMR スペクトルを得ることができれば、非常に好都合である。

たまたま、Hinckley¹⁾は1969年に四塩化炭素中でコレステロールと $[Eu(dpm)_3 \cdot 2py]$ (dpm: dipivaloylmethano, py: pyridine) が結合するかどうかを PMR によって調べたとき、微細構造はそのままで、シグナルの位置のみがいちじるしく低磁場側へ移動し、各シグナルは明瞭に分離することが発見された。その後、このような現象は $[Eu(dpm)_3]$ 錯体以外に、多くの常磁性錯体でも起こることがわかつてき。彼はこのような性質をもつ化合物をシフト試薬 (SR: shift reagent) と名づけた。このことから、通常の周波数によってシグナルの位置を移動させるには、常磁性の金属錯体を用いればよいことがわかる。

では、SR にはどのような金属錯体があるのか、どのような金属錯体がシグナルを高磁場側あるいは低磁場側へ移動させるのか、また SR を用いると、どのようなことが解明されるのか、などについてまとめてみた。

2. 基本原理

反磁性の有機化合物（これを基質という）の溶液に常磁性の金属錯体を加えると、NMR スペクトルに変化が生じる。この原因は、(1) 基質と常磁性の金属錯体間において新しい錯体の生成、(2) 金属錯体を形成している配位子と基質間での配位子交換、などによるものである。これはランタニド系の錯体の特異な現象であるで、常磁性シフト (LIS: lanthanid induced shift) という。

LIS は常磁性誘起シフト (PIS: paramagnetic induced

shift) と錯体形成シフト (CFS: complex formation shift) からなっている。

$$LIS = PIS + CFS \quad (1)$$

また、PIS はコンタクトシフト (CS: contact shift) 成分と擬コンタクトシフト (PS: pseudocontact shift) 成分に分けられる。

$$PIS = CS + PS \quad (2)$$

CS は、金属錯体中の電子スピン（不対電子）と基質中の核スピンが Fermi 相互作用により、化学結合を通して生じるものである。常磁性錯体の磁気モーメントは核磁気モーメントよりもはるかに大きいので、核スピンは電子スピンによっていちじるしく攪乱される。このため、常磁性の緩和時間は短くなり、化学シフトに影響をおよぼすことになる。したがって、この CS の大きさから基質の電子密度分布に関する情報が得られる。

PS は、金属錯体の電子スピンと基質の核スピンが双極子-双極子相互作用（これを磁気双極子相互作用という）により、空間を通して生じるもので、双極子シフトともいう。通常、ランタニド系の SR は主として PS によるものである。

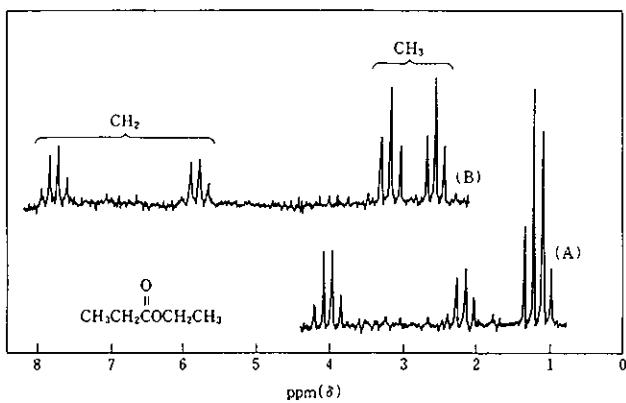


図 1. プロピオン酸エチルの PMR スペクトル (60 MHz)

CFS は SR と基質間で生成する新しい錯体によって、基質内の電子状態が変化して生じるもので、反磁性シフトともいう。

以上のことからわかるように、不对電子をもつ金属錯体が基質に配位すると、均等に分布していた電子スピントリニティが攪乱されて不均等になり、LIS が生じることになる。その一例として、 $[\text{Eu}(\text{fod})_3]$ (fod : 6, 6, 7, 7, 8, 8-hepta-fluoro-2, 2-dimethyl-3, 5-octanedionato) によるプロピオン酸エチルの PMR スペクトルを図 1 にあげる。

CS または PS を求めるには、CS と PS によって LIS

があらわれる金属錯体と、CS または PS のいずれかによって LIS があらわれる金属錯体を用いて得られた化学シフトの差から求める。たとえば、基質である γ -picoline-N-oxide の PS を求めるには、CS のみである $[\text{Ni}(\text{acac})_2]$ (acac : acetylacetone) に基質が配位したときの化学シフトと、PS と CS をもつ $[\text{Co}(\text{acac})_2]$ に基質が配位したときの化学シフトとの差をとれば求められる。それを図 2 にあげる。

PS は電子スピントリニティの g 値、スピン状態、温度に依存する。とくに、PS の温度依存性は T^{-1} に比例する。

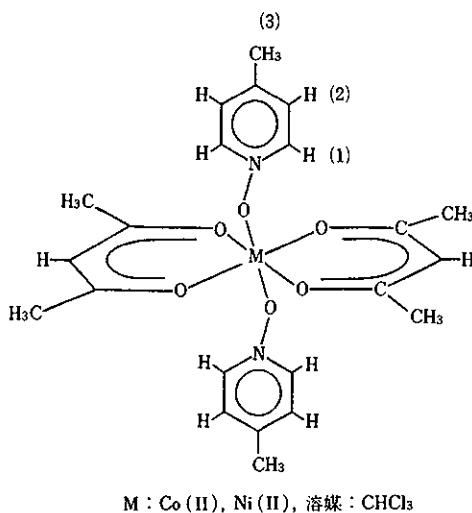


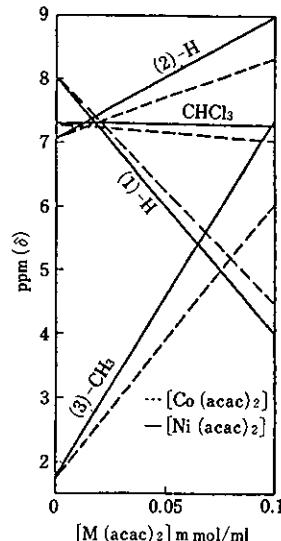
図 2. γ -ピコリン-N-オキシドの LIS

3. シフト試薬

すでに述べたように、SR は主として常磁性の金属錯体であって、それらの中で β -ジケトン類の金属錯体がよく用いられる。金属錯体が SR として用いるには、つきの諸条件を満足させる必要がある。

- (1) シグナル幅を広げることなく、大きなシフトが生じること。
- (2) 溶液中で多種類の基質と錯形成し、その結合が化学量論的に明らかであること。
- (3) シフト値が基質の構造と関係づけられること。
- (4) 基質のシグナルを妨害する他のシグナルがあらわれないこと。
- (5) 金属錯体の溶解度が大であること。
- (6) 利用が簡単で、容易に入手できること。

最もよく用いられるのがランタニド (Ln) 系の錯体である。ただし、La(III), Lu(III) 錯体は反磁性であるので用



いられない。また、Gd(III), Sm(III) 錯体は磁気異方性がないので、基質との間で新しい錯体ができても PS が生じない。これらの四元素を除いた他の元素には、磁気異方性があるので、PS があらわれる。ここで、よく用いられる β -ジケトン類の配位子を図 3 に示す。

SR としての $[\text{Ln}(\text{dpm})_3]$ は Ln の種類によって、つきのように分類される。

高磁場側へシフトさせる錯体。Ln : Dy > Tb > Ho > Pr > Nd > Sm

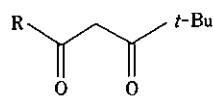
低磁場側へシフトさせる錯体。Ln : Tm > Yb > Er > Eu

シグナル幅を広げる錯体。Ln : Gd > Dy > Tb > Tm > Er = Ho > Yb > Pr > Eu > Sm = Nd

高磁場側へのシフトが最も大きいのは、Dy(III), Ho(III) 錯体であるが、シグナル幅を広くするのであまり用

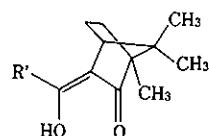
いられない。好ましいのは Yb(III), Pr(III), Eu(III)錯体である。

一般に, $[Ln(dpm)_3]$ は吸湿性が強く, 水分の存在によってシフトの状態を乱すので, 十分に脱水して無水和物にする必要がある。また, 溶解度が低く, *t*-Bu のシグナルがやや広領域にわたるので, 基質のシグナルを妨害する場合がある。dpm の錯体について, fod を配位子とした $[Eu(fod)_3]$, $[Eu(fod-d_{27})_3]$, $[Pr(fod)_3]$, $[Pr(fod-d_{27})_3]$, $[Yb(fod)_3]$ が用いられる。一般に, $[Ln(fod)_3]$ は強い Lewis 酸であるので, 弱い Lewis 塩基の基質にも有用である。有機溶媒に対する溶解性は大であるが, $[Yb(fod)_3]$ を除いた他の $[Ln(fod)_3]$ は吸湿性である。以上のはかに, $[Ln(pta)_3]$, $[Ln(pfd)_3]$ (Ln : Eu(III), Pr(III)) などがある。さらに, $[Ln(tfmc)_3]$, $[Ln(hfpc)_3]$ (Ln : Eu(III), Pr(III)),



R : *t*-Bu (dpm)
CF₃ (pta)
CF₃CF₂ (pfd)
CF₃CF₂CF₂ (fod)

dpm : dipivaloyl methane
pta : pivaloyl-trifluoro acetone
pfd : 6,6,7,7,7-pentafluoro-2,2-dimethyl-3,5-heptanedione
fod : 6,6,7,7,8,8,8-heptafluoro-2,2-dimethyl-3,5-octanedione



R' : *t*-Bu (tbc)
CF₃ (tfmc)
CF₃CF₂CF₂ (hfpc)

tbc : *t*-butyl hydroxymethylene camphorate
tfmc : 3-trifluoromethyl-hydroxymethylene camphorate
hfpc : heptafluoropropyl hydroxymethylene camphorate

図 3. β -ジケトン類の配位子

トルエンのプロトンシグナルは $[Ln(fod)_3]$ (Ln : Pr(III), Yb(III)) を添加してもシフトしないが, これに $[Ag(fod)]$ または $[Ag(tfa)]$ を加えると図 5 のようにシフトして, シグナルの分離が良くなる³⁾。また, ジフェニルベンゼンについても同じような結果が得られている。このようなシフトの原因は, (1) Ag(I) がオレフィンまたはアルキル基部分に結合して Ag(I) の付加錯体になる, (2) $[Ag(fod)]$ または $[Ag(tfa)]$ は β -ジケトンの酸素原子で SR に配位する, などが考えられる。

有機化合物の立体的な立場から, このような $Ln(III)-Ag(I)$ の二核錯体からなる SR について, Wenzel は詳細に解説している⁴⁾。

つぎに, ¹³C のシグナルに対する SR について述べよう。

不対電子をもたない反磁性の $[La(dpm)_3]$ を用いた場

Yb(III)) は光学活性を示す配位子からなる錯体であって, 特にこれらを不斉シフト試薬 (CSR : chiral shift reagent) という。CSR によるシグナルのシフトは CSR と光学活性な基質との配位によって, 基質内の磁気的環境が変化すること, さらに配位能力が光学活性な基質間で異なること, などによるものである。したがって, CSR は光学対掌体の分離や光学純度の決定などをを行うときに用いられる。

オレフィンやアルキル基をもつ芳香族炭化水素に対する SR が Lindoy ら²⁾ によって見つけだされた。それは, すでに知られている SR と他の金属錯体との付加錯体, たとえば図 4 に示したような $[Eu(fod)_3]$ と $[Co(acac)_3]$ の付加錯体である。相手の金属錯体として $[Co(acac)_3]$ のほかに, $[Ag(fod)]$ や $[Ag(tfa)]$ (tfa : trifluoroacetonato) も用いられる。

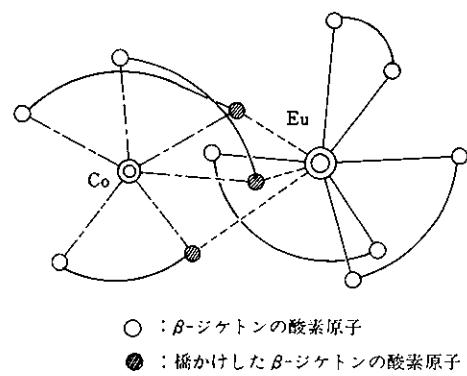
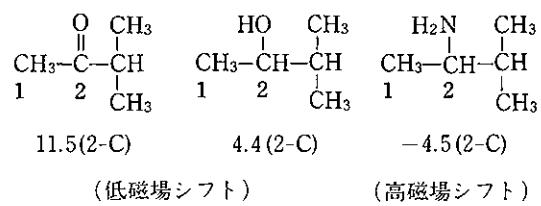


図 4. $[Co(acac)_3]$ と $[Eu(fod)_3]$ の付加錯体

合, ¹³C の LIS は CFS の寄与によるものであり, 一方, 常磁性の $[Eu(fod)_3]$ や $[Pr(fod)_3]$ を用いた場合の LIS は PS と CS の寄与によるものである。 $[Yb(fod)_3]$ による LIS は, CS よりも PS の寄与の方が大きいので, ¹³C NMR スペクトルの測定に適した SR である。

一例として, 反磁性の $[La(dpm)_3]$ を用いて, つぎのような化合物の ¹³C のシフトが調べられている。



これによると、カルボニル炭素が大きく低磁場側へシフトし、ついでヒドロキシリル基が結合した炭素が低磁場側へシフトする。一方、NH₂が結合した炭素に隣接したメチル基炭素は高磁場側へシフトする。

また、4-メチルアニリンと4-メチルピリジンについて、¹³Cのシフトが[La(fod)₃], [Eu(fod)₃], [Pr(fod)₃]を用いて調べられている⁵⁾。それを表1に示す。

SRは両化合物ともN原子に付加するために、4-メチルアニリンでは(1)-Cが、4-メチルピリジンでは(2)-Cがそれぞれいちじるしく低磁場側または高磁場側へシフトする。

以上のようなLn(III)錯体のほかに、つぎのような性質を利用したSRがある。

- (1) 環状π電子系の鉄-フタロシアニン錯体やゲルマニウム-ポルフィリン系錯体における大きな環電流効果の利用⁶⁾。
- (2) フタロシアニン類の化合物のように、アミン類と選択的に配位する性質の利用⁷⁾。
- (3) テトラフェニルホウ酸塩のように、陽イオン性のSRと形成したイオン対の利用⁸⁾。
- (4) UO₂²⁺との錯形成の利用。

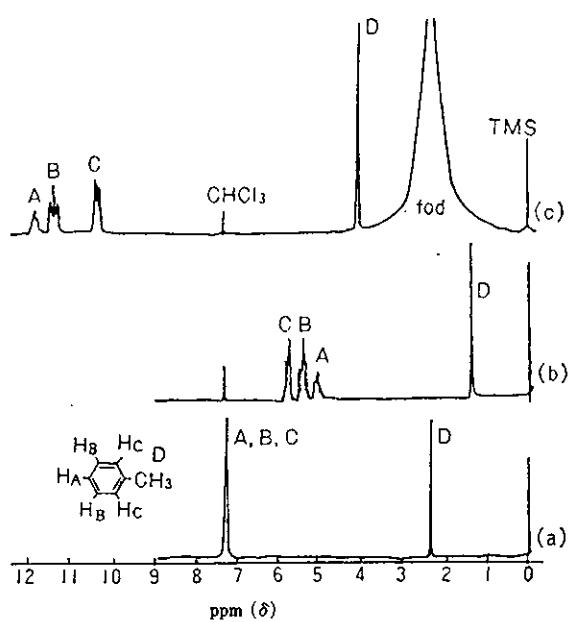
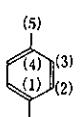
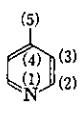


図5. 付加錯体をSRとしたトルエンのPMRスペクトル

表1. SRによる¹³Cシグナルのシフト

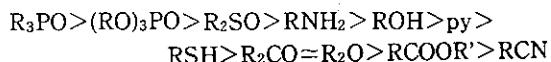
化合物	SR	¹³ Cシグナル[ppm]				
		(1)-C	(2)-C	(3)-C	(4)-C	(5)-C
 NH ₂	無添加	143.4	114.8	129.2	127.1	20.5
	[La(fod) ₃]	141.8 (-1.6)	117.6 (+2.8)	129.9 (+0.7)	130.4 (+3.3)	20.8 (+0.3)
	[Eu(fod) ₃]	212.6 (+69.2)	128.0 (+13.2)	144.7 (+15.5)	132.9 (+5.8)	26.2 (+5.7)
	[Pr(fod) ₃]	44.0 (-99.4)	91.3 (-23.5)	113.4 (-15.8)	127.1 (0.0)	14.0 (-6.5)
	無添加		149.4	124.5	146.9	21.0
	[La(fod) ₃]		148.5 (-0.9)	124.7 (+0.2)	149.1 (+2.2)	21.1 (+0.1)
	[Eu(fod) ₃]		232.9 (+83.5)	105.3 (-19.2)	180.5 (+33.6)	24.2 (+3.2)
	[Pr(fod) ₃]		38.8 (-110.6)	99.7 (-25.0)	116.5 (-30.4)	9.4 (-11.6)

カッコ内の値はSR無添加の場合との差である。+は低磁場側、-は高磁場側へシフトしたことを示す。

4. シフト試薬と基質との結合

基質を四塩化炭素または重クロロホルム（ベンゼン、二硫化炭素なども用いられる）に溶かした溶液に適量のSRを加えると、両者間に新しい錯体ができる。一般に、

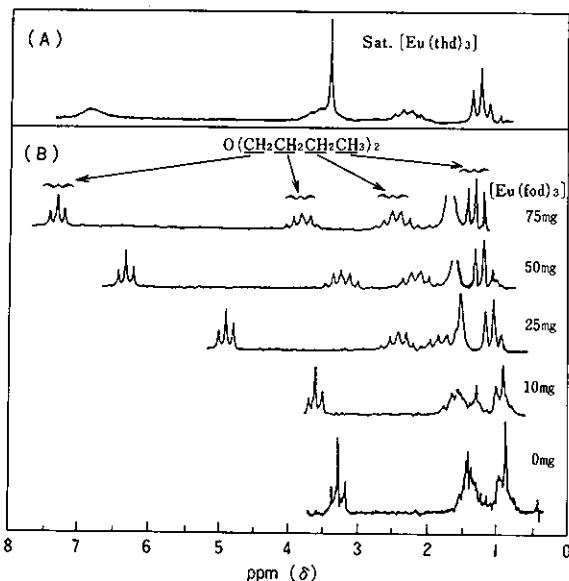
基質中の官能基とSRとの相互作用の強さは



である。一方、SR とほとんど相互作用しない官能基または化合物には、つぎのようなものがある。

- (1) アゾ基は cis 型の SR と反応するが、trans 型の SR とは反応しない。
- (2) 二重結合、炭化水素のハロゲン化物、チオエーテル、チオケトン、ニトロ基は SR と反応しない。

β -ジケトンの末端アルキル基をフルオロ化した配位子からなる金属錯体の溶解度はフルオロ化していない配位子からなる金属錯体よりも増大し、また F の強い電子求引性によって、強い Lewis 酸になるので、基質に対する配位能力が強くなる。その一例として SR の種類ならびに濃度による di-n-butyl ether の PMR スペクトル⁹を図 6 にあげる。



試料溶液：(A) CCl_4 0.5ml 中に試料 1.0×10^{-4} mol (13mg) と飽和 $[\text{Eu}(\text{thd})_3]$ を含む。(B) CCl_4 中に試料 1.0×10^{-4} mol (13mg) と $[\text{Eu}(\text{fod})_3]$ $0 \sim 7.5 \times 10^{-5}$ mol (0~75mg) を含む。

図 6. ジ-n-ブチルエーテルの PMR スペクトル(60MHz)

$[\text{Eu}(\text{thd})_3]$ (thd: 2,2,6,6-tetramethyl-3,5-heptanedionato) は溶媒に溶けにくく、また弱い Lewis 酸であるので、配位能力も弱く、PMR スペクトルに効果的な変化を期待することができない。それに対して、 $[\text{Eu}(\text{fod})_3]$ はその濃度の増加とともに、シグナルは低磁場側へシフトし、分離もよくなる。このようなシグナル位置の変化は $[\text{Eu}(\text{fod})_3]$ と錯形成したエーテルと、錯形成していな

いエーテルとの間で急速な交換反応が起こるためであるといわれている。

一般に、付加錯体の結合比は 1 : 1 である。しかし、四塩化炭素中における $[\text{La}(\text{tta})_3]$ (tta: thenoyl trifluoroacetonato) と MIBK の付加錯体は、そのうちの約 50% が $[\text{La}(\text{tta})_3(\text{MIBK})_2]$ で、残りは 1 : 1 錯体であり、また $[\text{La}(\text{tta})_3]$ と (Bu_3PO_4) や Bu_2SO との付加錯体は 1 : 2 である。このほかに、 $[\text{Eu}(\text{fod})_3]$ は基質と 1 : 2 錯体を、 $[\text{Pr}(\text{fod})_3]$ は基質と 1 : 3 錯体を形成する。

5. 応用

SR によるプロトンシグナルの LIS を利用して、有機化合物の分析や立体構造の研究、さらに光学異性体について種々の研究がなされている。ここでは、これらに関する若干の研究例を紹介する。

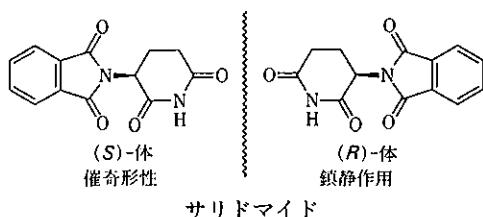
SR として、 $[\text{Pr}(\text{tpip})_3]$ (tpip: tetraphenylimidodiphosphinato) を用いて飽和ならびに不飽和脂肪酸の分析が行われている¹⁰。これは、試料と SR 間で 1 : 1 の付加錯体が生成することを利用して、末端メチル基のシグナル数とシフトの相対値から混合物中の飽和脂肪酸を確認する方法である。

また、アキラルとキラルな SR を用いた光学異性体の研究が多数報告されている。ラセミ化した mepafynol (3-methyl-1-pentyn-3-ol) の PMR スペクトルが CDCl_3 中でアキラルな $[\text{Eu}(\text{fod})_3]$ とキラルな $[\text{Eu}(\text{hfpc})_3]$ を用いて調べられた¹¹。その結果、 $[\text{Eu}(\text{hfpc})_3]$ を用いることによって、3 位のメチル基から生じる鏡像異性シフトの相違から mepafynol の光学純度が決定されている。また、mepafynol と $[\text{Eu}(\text{hfpc})_3]$ の CDCl_3 溶液に $[\text{Ag}(\text{fod})]$ を加え、その濃度を順次増加させると、シフトの大きさやシグナルの強度が変化することが報告されている。

医薬品に対する最近の NMR スペクトルの研究として、骨格筋弛緩剤である mephenoxalone¹² をはじめ、5-methyl-5-phenylhydantoin¹³ や α -ethyl- α -phenylsuccinimide¹⁴ は $[\text{Eu}(\text{fod})_3]$ と $[\text{Eu}(\text{hfpc})_3]$ によって LIS があらわれ、鏡像異性シフトの相違が観察されている。とくに、 $[\text{Eu}(\text{hfpc})_3]$ を用いると、鏡像異性体過剰率を直接測定することができる。また、薬禍事件で有名になった thalidomide には、催奇性を示す (S)-体と鎮静作用を示す (R)-体がある。

この thalidomide の PMR スペクトルが $[\text{Eu}(\text{fod})_3]$ と $[\text{Eu}(\text{hfpc})_3]$ を用いて CD_3CN 中で測定されている¹⁵。とくに、 $[\text{Eu}(\text{hfpc})_3]$ を用いると、鏡像異性シフトの相違がメチルプロトン (NCH) に観察されることから、このシグナルによって (S)-体と (R)-体を直接定量することができる。

きる。



つぎに、tetra-*p*-tolylporphine の Ln 錯体についての研究がある¹⁶⁾。Ln(III) (Ln : Eu, Yb) は図7に示したように、4N-2O によって六配位している。この錯体の SR としての挙動が調べられている。

PMR スペクトルによると、Yb(III) 錯体は Eu(III) 錯体よりもポルフィン核のプロトンをいちじるしく低磁場側へシフトさせることができることがわかる。錯形成していない場合、アリル基における α 位の a と a' 、さらに m 位の b と b'

のプロトンはそれぞれ等価であるが、錯形成するとポルフィン核に配位した Ln(III) による常磁性の影響を受けて非等価になり、個々に分かれあらわれる。また、Yb(III) 付加錯体における dpm 部分の *t*-butyl プロトンは Eu(III) 付加錯体のそれよりも高磁場側へシフトしている。これらのシフトは PS によるものである。この付加錯体のポルフィン核プロトンの PS 値を用いて、ポルフィン核平面から Ln(III) 間ならびにポルフィン核の N から Ln(III) 間の結合距離が求められている。

また、[Pr(fod)₃] を用いて N, N-dimethylformamide と N, N-dimethylacetamide の PMR スペクトルが測定され、CH₃ による LIS の観測から CH₃ 基の立体配置を調べた報告がある¹⁷⁾。

一方、¹³C NMR スペクトルの研究として、ランタニド系錯体の SR を用いて水溶液中における L-lysine-ランタニド系の付加錯体の構造が調べられている¹⁸⁾。

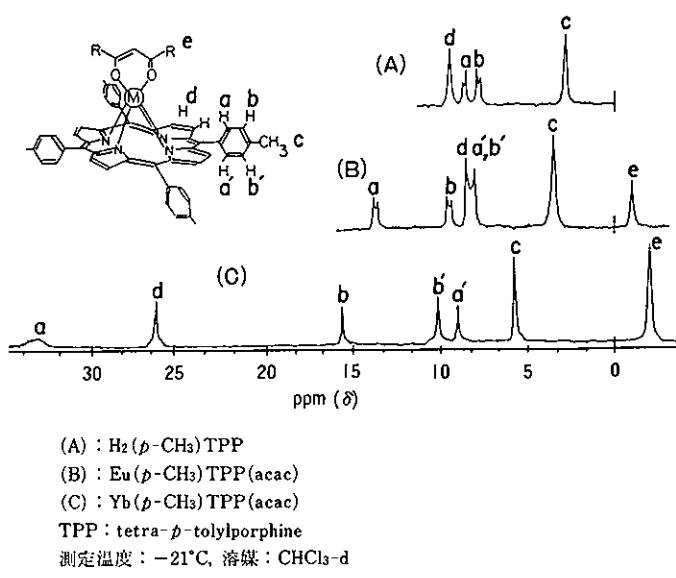


図7. テトラ-*p*-トルイルポルフィンとその金属錯体の PMR スペクトル

6. おわりに

本稿では、主として β -ジケトン類を配位子とした金属錯体の SR について述べた。このような SR を用いて基質の NMR スペクトルを測定すると、¹H や ¹³C のシグナルはいちじるしく高磁場側または低磁場側へシフトして、重なりあったシグナルは個々に分かれるので、容易に帰属することができる。

このような NMR スペクトルから δ 値や J 値を求める

と、混合物の定性や定量ができるので、分析手段の一つとして用いられる。また、各シグナルについて SR と基質のモル比を化学シフトに対してプロットした曲線（これをシフト曲線という）が直線であれば、生成した錯体は一つであるが、曲線であれば、複数の錯体が生成していることから、SR と基質が結合した付加錯体の構造を推定することができる。さらに、このシフト曲線の初めの直線部分の勾配から相対的な配位の強さやシフト能を

知ることができる。そのほかに、熱力学的パラメーターの測定などがおこなわれていて、種々の利用が期待される。

引用文献

- 1) C. C. Hinckley, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 5160(1969).
- 2) L. P. Lindoy, H. C. Lip, H. W. Louie, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1977, 1778.
- 3) T. J. Wenzel, T. C. Betters, J. E. Sodlowski, R. E. Sievers, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 5903(1980).
- 4) J. T. Wenzel, *Methods Stereochem. Anal.*, **5**, 151(1986).
- 5) K. Tori, Y. Yoshimura, *Tetrahedron Letter*, **33**, 3127(1973).
- 6) H. P. Fritz, W. Gretner, H. J. Keller, K. E. Schwarzhans, *Z. Naturforsch.*, **B25**, 174(1970).
- 7) J. E. Maskasky, J. R. Mooney, M. E. Kenney, *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 2134(1972).
- 8) G. P. Schiemenz, H. P. Hansen, *Angew. Chem.*, **85**, 404(1973).
- 9) R. E. Rondeau, R. E. Sievers, *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 1522(1971).
- 10) C. Alvarez, N. Goasdoue, N. Platzer, I. Rodriguez, H. Rudler, *J. Chem. Soc. Commun.*, 1988, 1002.
- 11) M. Carol, R. Robert, *Spectrosc. Lett.*, **20**, 899(1987).
- 12) R. Robert, V. Kunisi, B. Shari, S. Kerry, T. Stacey, *Spectrosc. Lett.*, **26**, 271(1993).
- 13) R. Robert, B. Shari, T. Stacey, V. Kunisi, *Spectrosc. Lett.*, **26**, 411(1993).
- 14) K. Lorraine, R. Robert, *Spectrosc. Lett.*, **25**, 1177(1992).
- 15) R. Rothchild, K. Sanders, K. S. Venkatasubban, *Spectrosc. Lett.*, **26**, 597(1993).
- 16) W. D. Horrocks, Ching-Ping Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 7157(1976).
- 17) J. A. Ladd, *Magn. Reson. Chem.*, **27**, 483(1989).
- 18) Wang Jianjun, Wang Xiaochun, Ouyang Yishan, You Yujian, Dai Anbang, *Wuli Huaxue Xuebao*, **8**, 647(1992).

有機合成用脱水溶媒

新発売!! 脱水ジエチルエーテル……水分含量 0.005%以下!!
新発売!! 100ml 包装……100ml 包装品を追加致しました。

Cat. No.	製 品 名	含 量	水 分 含 量	包 装
01837-05 01837-95	Acetonitrile, Dehydrated アセトニトリル(脱水)	min. 99.5%	max. 0.005%	500ml 3L
04978-05 04978-95	Benzene, Dehydrated ベンゼン(脱水)	min. 99.5%	max. 0.003%	500ml 3L
08097-05 08097-95	*1 Chloroform, Dehydrated クロロホルム(脱水)	min. 99.5%	max. 0.003%	500ml 3L
11338-05 11338-95	*1 Dichloromethane, Dehydrated ジクロロメタン(脱水)	min. 99.5%	max. 0.003%	500ml 3L
14547-05	Diethyl ether, Dehydrated ジエチルエーテル(脱水)	min. 99.5%	max. 0.005%	500ml
11339-05 11339-95	N,N-Dimethylformamide, Dehydrated N,N-ジメチルホルムアミド(脱水)	min. 99.5%	max. 0.005%	500ml 3L
11337-05 11337-95	*2 1,4-Dioxane, Dehydrated 1,4-ジオキサン(脱水)	min. 99.5%	max. 0.005%	500ml 3L
14599-05 14599-95	Ethanol, Dehydrated エタノール(脱水)	min. 99.5%	max. 0.005%	500ml 3L
18636-05 18636-95	Hexane, Dehydrated ヘキサン(脱水)	min. 96.0%	max. 0.003%	500ml 3L
40993-05 40993-95	*2 Tetrahydrofuran, Dehydrated テトラヒドロフラン(脱水)	min. 99.5%	max. 0.005%	500ml 3L
40500-05 40500-95	Toluene, Dehydrated トルエン(脱水)	min. 99.5%	max. 0.003%	500ml 3L

*1…stabilized with Amylene *2…stabilized with BHT



関東化学株式会社 試薬事業本部

〒103 東京都中央区日本橋木町3-11-5 03(3663)7631
〒541 大阪市中央区瓦町2-5-1 06(222)2796
〒812 福岡市博多区山王1-1-32 博多堀池ビル 092(414)9361

くすりの文化交流(32)

地球の真理

日本薬史学会 薬学博士 根本曾代子

西欧の東洋進出の執念

近世世界史の特筆すべき現象は、16世紀から17世紀にかけて、莫大な利潤をもたらす東洋貿易の独占をねらう西欧諸国が、死線をさまよう海上権の制覇をめぐって、しのぎを削り、相次いで新航路を発見した。ちなみに古代の東西文化交流は、シルクロードの難路の踏破であった。

幼稚な航海術で、膨大な代償を投じ、先を争って東洋航路開拓の冒険に挑んだ最大の目的は、インドの胡椒 Pepper, 肉桂 cinnamon・cassia, 生姜 ginger, モルッカ諸島の丁香 clove, 肉豆蔻 nutmeg などの東洋原産の香料類を占有する野望の的であった。

コロンブスの胡椒の夢と不滅の功

今では“香辛料” spice として世界に普遍して実感がわかないが、肉食を中心とする中世のヨーロッパには、産出しない希少価値から、莫大な利潤が得られた。必然的に地中海沿岸の貿易商人にとって、一攫千金の夢につながった。

周辺の王侯貴族も、自国の繁栄につながる稀少価値から、膨大な投資を要する新航路開拓に、競って援助を惜しまなかつた。

イタリヤの貿易商人コロンブス Christopher Columbus (1446~1506?) は、スペインのイサベラ女王の絶大な援助を受けた。3隻の帆船に多数の乗員を満載して、巨利を博するインド原産の第一目標の胡椒を始め、保寿を期待する初の東洋貿易に胸を躍らせて、インド航路の初航海の途に上つた。

初めて大西洋を南下し、西進して上陸した地点をインドと直感した。時に1480年(頃)、彼は40歳前後であった。裸の島民は言葉が通じないので、島内を入念に探索したが、目標の胡椒は皆無の期待はずれで落胆も大きく、同行者のコロンブスへの反発が募った。彼は後から来航したアメリカ・エスティグチが素早く登録したため、新大陸・アメリカ発見者の記録は譲ったが、コロンブスの名譽は世界的に永遠である。

彼は3回の渡航で、アメリカ特産の帰国みやげは多彩

に上っている。中でもタバコは、1世紀余りの間に地球を一周した速度で、世界の人びとに愛好された。江戸時代にもその煙害から、幕府はしばしば“禁煙”的布令を出したが無視された。

コロンブスの新大陸みやげは多種多様にわたる。主な栽培植物は、筆頭のタバコのほか、コカ、トウガラシ、トウモロコシ、ジャガイモ、サツマイモ、ナンキンマメ、カボチャ、インゲンマメ、トマト、カカオ、パインアップル、イチゴなどが記録される。

伝説によると、ポルトガルの植民地、ブラジル駐在大使 Nicot が、インディアンがタバコの葉を、スリ傷やタダレの治療に使用しているのを知り、タバコを自国王室に献上した。

18世紀半ば、スウェーデンの近代植物分類学の祖、リネ Carl von Linne が、Nicot の功を記念して、タバコの学名を、“Nicociana tabacum L.” と命名した。

東洋貿易の先取権

ポルトガルは東洋貿易の制覇をめぐって、スペインとしのぎを削っていた。コロンブスのアメリカ大陸発見に呼応して1497年、ヴァスコ・ダ・ガマ Vasco da Gama が、ポルトガル国王の特命を受けて160人を乗せた4隻の船団を率い、インド航路開拓の初航海に出発した。

アフリカ大陸を迂回して翌年、インドの西海岸カリカットに上陸して、東洋貿易の先取権を独占した。航海中、2隻の船と105人の乗組員を失う痛手をこうむったが、それでもなおかつ、持ち帰った薬物の莫大な利益が、損失を補って余りがあった。

ポルトガルは1510年、インド西海岸のゴアを占領して総督府をおき、東洋経営の拠点とした。セイロン、マラッカ、スマトラ、モルッカ諸島を次々に領有したが、偶然、暴風に流されたポルトガル船が、ブラジルに漂着して、ブラジルの植民地政策の機縁となる。

天文12年(1543)、種子島にポルトガル船が漂着して、鉄砲を伝來したことは歴史に明らかである。

近世史の序幕となる西洋との交渉の始まりであるが、

島国日本が原始的生活を嘗む未開の国であったら、たちまち、前出の国々と同様の運命をたどったであろうことは否定できない。

マゼランの世界一周航海のさきがけ

ポルトガル人マゼラン Ferdinand magellan は、ガマの東方進出に同行した友人からヒントを得て、モルッカに至る世界一周を企画した。

スペイン王室の支援を受けて、1519年、60トン余りの5隻の船団を列ねて、スペインを出帆した。大西洋を渡航して1520年、南米のマゼラン海峡（発見者の栄誉記名）の開発に寄与した。

太平洋を横断し、難航を重ねて1521年、フィリピンに到着した時は、船は3隻を失っていた。

マゼランが原住民に殺害されたので、同志のデル・カノが遺志をつぎ、セレベスとニューギニヤの間に散在するモルッカ諸島（香料諸島）のチドールを発見した。

時すでに1隻を失い、わずかに残った1隻に、丁香、胡椒、肉豆蔻などの貴重薬を満載して帰航の途についた。

インド洋を渡り、喜望峰を経て、1522年帰国して、世界一周航海の壮挙に先鞭をつけた。

これらの三者三様の地理学上の発見によって、競って広大な植民地を獲得したポルトガルとスペイン両国は、近世初期に世界を制覇した富強国の地歩を築いた。その余勢を駆って、相次いで、ジバング日本に触手を伸ばしてきたのは、逃れ得ぬ地球上の地理的運命といえよう。

西洋医薬伝来と南蛮文化

事の起りは天文12年（1543）8月、暴風雨で針路を誤ったポルトガル船が種子島に漂着して、船長が領主に鳥銃2挺を贈った。初めて鉄砲の偉力に驚いた領主は、2千両を与えて入手し、技法を家臣に習わせた。

統いて天文18年（1549）、宣教師フランシスコ・ザビエルが渡来して、キリスト教の布教を行なった。

翌天文19年、ポルトガル船が長崎平戸に来航して、交易を願い出た。領主は戦術に革命をもたらす鉄砲や薬種類と引き替えに許可するとともに、いわゆる南蛮貿易に発展した。

南蛮船は珍らしい貿易品と共に、バテレンと称した宣教師が多数渡來した。彼らは布教の手段として、諸侯に珍奇な時計、楽器、眼鏡、ガラス、珍陀酒（ブドウ酒）などを献上する一方、医薬の素養のある者は、治療に従事して歓心を買ひ、布教の手段に努めた。

豊後國（大分県）の領主、大友宗麟は、弘治2年（1556），領内に初めて洋式病院を創設して、ポルトガル人・アルメイダが診療を開始した。この年をもって、『西洋医薬伝来』の起原としている。

洋種薬草栽培ルーツ

鉄砲を最大限に使って、国内統一に寄与して、最初の覇者となった織田信長は、一向宗徒の根強い反発に対して、バテレンの要請に応じて、キリスト教に保護を与えた。

京都と本拠の安土城下にキリスト教（キリスト教）学校や南蛮寺の建設を許した。南蛮寺には親にも見捨てられて路頭に迷う癪患者や貧しい病人を収容して救済した。

信長はさらに江州伊吹山の50町四方の土地を与えたので、薬園を開設し、ポルトガルから3千種に及ぶという多数の薬草を移植して、治療薬の自給をはかった。これが西洋種の薬草栽培の草分けで、伊吹モグサ、イブキヤコウソウなどが、伝来のルーツを偲ばせる。

医療は南蛮流が当時の初步の西洋流医薬であったが、戦乱による負傷の応急手当に力を入れた。膏薬類や軟膏が重視された。

このほか、南蛮渡来の薬種としては、胡椒、丁香、砂糖、ミイラ、ウニコウル、シャボン（石鹼）、タバコなどがあげられる。

胡椒、丁香、砂糖は、正倉院薬物（756）の記録に明記される。

南蛮文化の影響

南蛮貿易は、寛永10年（1633）の鎖国令で打ち切られるまで、約90年間継続した。その間、南蛮文化が日本人の生活に浸透したのは、宣教師が全国的に布教活動の輪を広げ、積極的に諸侯をはじめ、民衆に親しく接触して、精神面だけでなく、異国の医薬や技術や風習を伝えるなど、文化面での寄与を見のがせない。

その証拠に、今日でもポルトガル語に由来している言葉が、多少のずれはあるても定着して、南蛮文化の遺風を偲ばせる。

たとえば、食品類では、パン Pão, カステラ castel, ビスカウト biscuento (ビスケット), カルメラ calmela, アルヘイ糖 alfeitoa, 金平糖などで、菓子類の製法も、もっぱら宣教師が伝授したという。

衣料関係では、ラシャ raxa, ビロード veludo, ジバン（襦袢）giban, 合羽 capa, サラサ（更紗）saraca, メリヤス meias, ポタン botão などが、日常何げなく使われている。ラシャは武将の陣羽織などに好んで使用された。

ビードロ vidro（ガラス）で作ったギヤマンなどは、宣教師が諸侯に贈って喜ばれる高級品であった。ギヤマンはガラスに切子細工を施した装飾品で、フラスコは酒や油類の容器として渡來した。

ビードロの製法は、元亀元年（1570），長崎領主大村純忠（切支丹名、ドン・バルメロトウ）が、長崎港を貿易

港としたとき、ポルトガルから来たビードロ工が伝えたといわれる。

この開港も宣教師の要望によるもので、彼らは布教の手段として、医療のほか、出版物を発行するため、印刷機を輸入して、印刷技術を教えるなど、文化面に寄与する一方、産業の開発にも一役買った。

佐渡の金山の產金額が非常に増大したのも、彼らの指導によって、金の產出方法が改良され、慶長大判金、小判金が大量に鋳造されたといわれる。

その間にも布教活動が続けられた。諸大名をはじめ、洗礼を受ける信者が急増した。

豊臣秀吉は彼らの領土の野心を恐れて、天正17年、(1589)キリスト教を禁止し、京都のヤソ会寺院を焼き払った。信者の処刑も相次いだ。

1602年頃、宣教師がポルトガル本国に報告した日本全国の信者は、70万以上と伝えている。

鎖国の必然性

徳川家康もキリスト教を禁止したが、外国貿易は大いに奨励した。ところが、慶長17年(1612)オランダ国王から家康に、ポルトガルの日本侵略の密書によって、徳川幕府はキリスト教弾圧を強行すると共に、鎖国の方針に切り替えることになった。

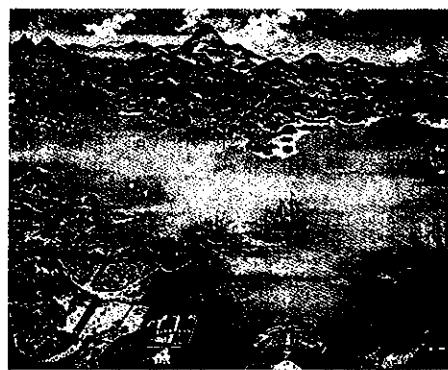
段階的に準備を進めて、寛永12年(1635)の3度目の鎖国令で、日本船の海外渡航を禁止した。翌年の鎖国令では、長崎奉行所裏の海岸埋立地に、4千坪の扇形の出島に南蛮館を建造して、ポルトガル人を収容した。

三代将軍徳川家光は、寛永16年(1639)最後の鎖国令で、キリスト教徒のポルトガル人を追放した。キリスト教に無関係のオランダと日蘭貿易を開き、出島を拠点とした。

清国は旧称の日唐貿易を継続した。輸入薬種の中では、當時、薬種の砂糖の輸入が筆頭で、人参、厚朴、犀角、熊胆、蘆薈、芍藥等も、諸事節約のため、唐船の入港も70隻に制限された。

〈編集後記〉

◇1月17日早朝に発生した阪神大震災から2カ月余が過ぎました。被災されました皆様に対しまして改めて心よりお見舞申し上げますと共に、一日も早く復旧されますようお祈り申し上げます。



円山応挙 画 長崎港 出島 寛政4年

出島のオランダ商館には、商館長と医師のほか、商館員が常駐していた。商取引は、長崎奉行所役人の厳重な監視の下で、日本商人とオランダ商館員との間で、入札形式で行われた。入札の権利を持っていたのは、長崎、大阪、江戸、京都、堺の商人で、落札した輸入薬種は、すべて大阪に送られ、一定の手続を経て市場に出された。

オランダ貿易も初期には年間6~7隻も来航して、利益も潤沢であったが、17世紀末にはバタビヤのオランダ東インド会社が不振であった。

元禄3年(1690)、東インド会社から派遣された医師、エンゲルト・ケンペル著「日本誌」によると、当時の貿易額は30万両と定められた上、15%の関税がかけられるので、正味25万5千両の売上高となる。

オランダ船の商品の中で売上の多いのは、シナ製の綿織物や、オランダ、イギリス製の毛織物のほか、薬種は朱、丁香、胡椒、阿仙薬などで、規定の売上額を超えると、役人が封印をして、オランダ商館の倉庫に没収してしまうので、抜け荷(密貿易)が跡を絶たなかった。発覚すれば、容赦なく斬首刑に処せられる。税引きの売上高25万5千両の大半は、日本産銅の買入に当てられた。

◇さて、ケミカルタイムス156号をお届けします。本号には新たに瀧先生の“新しい脂質研究を拓く TLC Blotting”をはじめ、今井先生、佐々木先生、根本先生よりの興味あるお話を掲載させていただきました。諸先生方には厚くお礼申し上げます。
(山田記)



関東化学株式会社

〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号
電話 (03) 3279-1751

編集責任者 山田 和夫 平成7年4月1日 発行

50th
Anniversary

おかげさまで50年



技術を駆使して明日への創造

昭和19年に創立以来、皆様の温かいご指導とご支援によりここまで歩んでくることができました。
これからも、皆様とのきずなをより深め、次への時代へ向けて力強く突き進んでいく覚悟です。
どうか、尚一層のご指導、ご愛顧のほどお願い申しあげます。

「50年の歩み」

1944・11	試薬4社が合併し、大東亜化学工業株式会社を設立。	1982・2	大牟田市に大牟田工場を新設。
1945・10	社名を関東化学会株式会社と改称。	1982・5	新事業部制をとり、試薬、電子材料、化成品、臨床検査薬の四事業部制が発足。
1949・6	日本橋室町に試薬相談所を開設。	1984・2	岩手県江刺市に江刺中核工業団地に岩手工場建設着工。
1949・9	鹿印を動物の跡から Cicca に変更。	1987・9	草加市に本拠地物流センター完成。
1950・3	季刊『ケミカルタイムス』を発行。	1989・9	オレゴン州ポートランド市にアメリカ事務所を開設。
1953・9	東京電力株式会社で人工降雨実験開始。当社のウ化銀アセトン溶液が、全国各地の実験に使用された。	1990・6	アメリカ事務所を発展的解消し、Kanto Corporation を設立。
1959・7	草加工場(埼玉県草加市)において有機・無機試薬のJIS表示許可取得。	1991・10	半導体用製品分野で台湾に合弁会社(MKAC=メルク・カントニアード・バンスド・セミカル)を設立。
1960・10	第5次雨季観測隊の使用する試薬にCicca試薬が指定され、宗谷丸に積み込まれた。	1992・11	MKAC(台湾)の半導体用高純度蒸着装置工場が完成。
1965・4	電子工業用高純度薬品に「EL」の規格表示。	1992・12	兵庫県小野市に小野物流センター完成。
1968・6	本社社屋新築落成。	1993・3	大牟田新工場が完成。これにより流通と生産に関する5ヵ年計画の整備を完了。
1972・4	草加工場に総合処理施設完成。	1993・12	四事業部制→事業部制(試薬事業本部、電子材料事業本部)に組織変更。
1972・5	ZD運動を導入し、5・5運動と名付け「キックオフ大会」を開催。	1994・6	オレゴン州ポートランド市に工場用地を取得。
1972・8	神奈川県伊勢原市の工場開拓に伊勢原工場建設着工。	1994・10	草加工場において、品質システム ISO 9001認証取得。
1973・9	大阪関東化学会株式会社を合併。		
1977・6	草加工場敷地内に中央研究所が新築落成。		
1979・9	岡山県柳原町に横原工場建設着工。		
1980・3	E・メルク社との協業を発表。		
1981・9	伊勢原工場に医薬品製造工場新築落成。同時に伊勢原研究所を新設。		

関東化学株式会社

〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号
TEL (03) 3279-1751 FAX (03) 3279-5560