

## 〔総説〕

「非共有結合相互作用を利用したキラル超原子価ヨウ素触媒の開発：北スピロラクトン化反応への応用」

ウヤヌク ムハメット、安井 猛、石原 一彰 …… 2

「NMR を利用した SI トレーサブルな純度評価」

齋藤 剛、井原 俊英 …… 6

## 〈テクニカルレポート〉

「パラフィン切片を用いた骨関連酵素（TRAP、ALP）の二重染色法」

河原 元 …… 9

## 〔化学大家〕

「アメデオ・アヴォガドロ」

島尾 永康 …… 25

## 〔製品紹介〕

### 有機合成

キラル超原子価よう素前駆体……………	5
ハイドロタルサイト固定化金(0)ナノ粒子触媒 ……	12
光学活性アズレン誘導体……………	12
BINAP 系キラルホスフィン配位子 ……	13
テトラヒドロフラン（脱酸素）（安定剤不含）…………	13
超脱水溶媒……………	14

### 環境・分析

定量 NMR 用 内標準物質 ……	8
プレセップ®（ルアーロック）シリカゲル（HC-N）…………	14
PPCPs 分析用標準品 ……	15
生薬試験用標準品類……………	16
UHPLC 対応カラム「Wakopak® Ultra」 ……	28

### 培養

StemSure® LIF, マウス, 組換え体, 溶液 ……	20
N2 サプリメント ……	21

### 病理

TRAP/ALP 染色キット ……	11
-------------------	----

### 細胞生物・生化学

ランソプラゾール ……	17
β-セクレターゼ阻害剤 ……	18
ピオグリタゾン塩酸塩 ……	19

### 遺伝子

デオキシリボ核酸, サケ精液由来 ……	21
抗 PIWIL1, モノクローナル抗体 ……	22
pEBMulti ベクター ……	23
IPTG, ジオキサンフリー ……	24

## 〔お知らせ〕

抗生物質ガイドブック発行 …… 19

遺伝子工学用試薬カタログ 2011-2012 発行 …… 24

## 非共有結合相互作用を利用したキラル超原子価ヨウ素触媒の開発：北スピロラクトン化反応への応用

名古屋大学大学院工学研究科化学・生物工学専攻 ウヤヌク ムハメット、安井 猛、石原 一彰

### 1 はじめに

光学活性化合物を選択的に効率よく合成するためには、不斉触媒の開発が必要不可欠である。従来の不斉触媒の多くは金属錯体であり、その金属イオンには、しばしば、パラジウムやルテニウムなどのレアメタルや、クロム、マンガン、オスミウムなどの有毒な重金属が利用されてきた。しかし、近年、元素戦略や環境問題の観点から、希少元素や有害元素の使用を回避する環境調和型有機分子触媒の開発が強く求められている。既に、キラル酸・塩基触媒の分野では、有機分子触媒が従来の金属錯体触媒を凌駕しつつある<sup>1)</sup>。しかし、その一方で、遷移金属の特徴である酸化・還元機能をもったキラル有機分子触媒の開発は遅れている。現在、遷移金属の代替元素として注目されているのがヨウ素である。ヨウ素はハロゲンに属し、その中でも原子サイズが大きく、分極しやすく、電気陰性度が小さいため、その原子価を容易に拡張し、 $-1$ 価 ( $I^-$ ) や  $+1$  価 ( $I^+$ ) に留まらず、オクテット則を超える  $+3$ ,  $+5$ ,  $+7$  価の超原子価状態になることが知られている<sup>2)</sup>。日本では徳島大学の落合正仁博士、立命館大学の北泰行博士はこの分野をリードしてきたと言っても過言ではない。落合等

と北等はそれぞれ独自に、触媒量のヨードアレンと化学量論量のメタクロロ過安息香酸 (*m*-CPBA) から *in situ* で調製される3価の超原子価ヨウ素化合物を触媒に用いる酸化反応を、2005年に世界に先駆けて報告した。これ以降、超原子価ヨウ素触媒の開発研究が世界的に広がっていったことは言うまでもない<sup>3)</sup>。当研究室においても、2007年頃から超原子価ヨウ素の酸化・還元機能に着目し、レアメタルの代わりにヨウ素を用いた有機分子触媒の開発研究を行っている<sup>4)</sup>。因に、ヨウ素はうがい薬や消毒薬にも使われる身近な化学物質である。また、我が国はチリに続き、ヨウ素生産量第2位であり、資源小国の我が国にとっては貴重な輸出資源である。

2008年、北博士らは堅固なスピロ型炭素骨格を有するキラル超原子価ヨウ素化合物 **1** を酸化剤に用いて、1-ヒドロキシナフチルカルボン酸のエナンチオ選択的脱芳香型ラクトン化反応 (北反応) を報告した (図1)<sup>5)</sup>。78–86% ee の不斉収率で生成物が得られ、この不斉収率はキラル超原子価ヨウ素化合物による酸化反応の例としては当時最高であった<sup>6)</sup>。また、共酸化剤として *m*-CPBA 存在下、15 mol% のヨードアレン *pre-1* を用いて *in situ* で3価の **1** を発生させ、触媒的に反応を行い、65–69% ee の不斉収率で生成物と

えた (図1及び2)<sup>5)</sup>。この当時、生成物の絶対配置については明らかにされていなかった。

当研究室では、この北反応に触発され、非共有結合性相互作用を利用した<sup>7)</sup> 新たなキラル超原子価ヨウ素触媒の設計研究を行い、より少ない触媒量で、より高い不斉誘導に成功した<sup>8)</sup>。本稿では、この我々の研究成果について述べる。

### 2 超原子価ヨウ素触媒の設計

まず我々は触媒の合成しやすさを念頭に、北等とは対照的に立体配座に柔軟性を持たせる触媒設計を考案した (図3)。ヨードアレン部位 (**A**)、キラルリンカー部位 (**B**)、官能基部位 (**C**) の3つの部位から構成される  $C_2$  対称な光学活性ヨードアレン触媒前駆体 *pre-2* を設計した。キラル源には天然に豊富に存在する安価な乳酸を選んだ<sup>6g)</sup>。この触媒設計では、3つのユニットの組み合わせが豊富であり、わずかに三段階で合成可能なことから、触媒のスクリーニングが迅速にできた。また、当研究室が展開するパイオミメティックな触媒設計に基づき<sup>7)</sup>、3価の超原子価ヨウ素触媒 **2** の分子内に水素結合もしくは  $n-\sigma^*$  の弱い非共有結合相互作用を利用した不斉場の構築が可能ではないかと考えた。即ち、酵素反

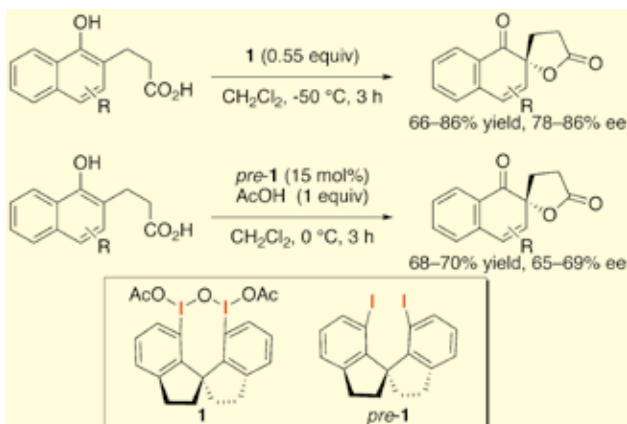


図1. 北等によるキラル超原子価ヨウ素化合物 **1** を化学量論量または触媒的に用いるエナンチオ選択的北スピロラクトン化反応<sup>5)</sup>

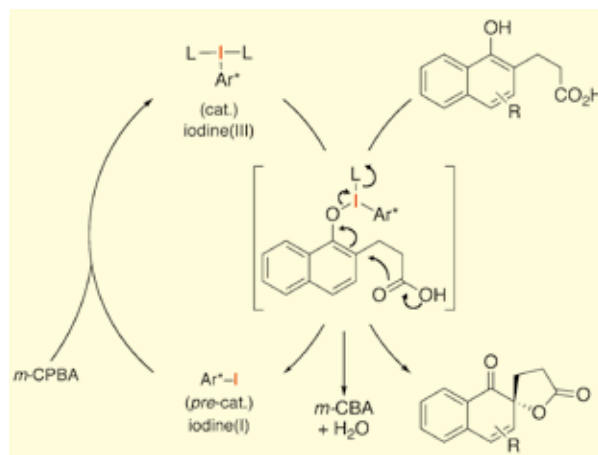


図2. 触媒的北スピロラクトン化反応の提唱された反応機構<sup>5)</sup>

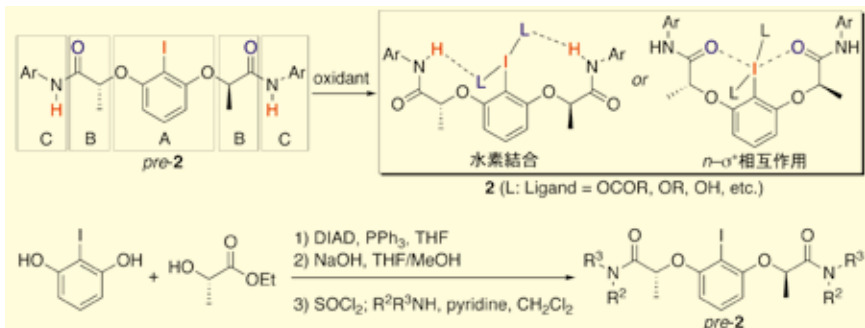


図3. 柔軟な立体配座を有するキラル超原子価ヨウ素2の触媒設計<sup>8)</sup>

応に見られる誘導適合 (induced fit) による不斉誘導を期待した。

### 3 触媒的不斉北スピロラクトン化反応

上述した触媒設計に基づき触媒前駆体 (*pre-2*) のライブラリーを合成し、共酸化剤として *m*-CPBA 存在下、1-ナフトールカルボン酸の北スピロラクトン化反応に有効な *pre-2* のスクリーニングを行った (図4)。官能基 (X) としてエステル (X = -OEt) を持つ *pre-2a* では23% eeと低い不斉収率でスピロラクトンが得られたが、カルボン酸 (X = -OH) を持つ触媒 *pre-2b* では43% eeと選択性に若干の改善がみられた。また、第1級のアミド (X = -NH<sub>2</sub>) を導入した *pre-2c* では、70% eeと高いエナンチオ選択性が発現した。さらにアミド部分を種々検討したところ、メシチルアニリンのアミドの触媒前駆体 *pre-2e* が最も良い結果を与え、60%収率、92% eeで目的のスピロラクトンを得た。一方、窒素上にプロトンをもたない第3級アミド *pre-2d* では不斉収率が低下した。また、C<sub>2</sub>対称性を崩した2-ヨードフェノール誘導体 *pre-2f* を用いても選択性は大幅に低下した。これらの結果から、高エナンチオ選択性の発現には超原子価ヨウ素2の分子内水素結合 (図3) とC<sub>2</sub>対称性が重要であることが分かった。もちろん、これらの結果だけでは、図3で示すような分子内 *n*-σ\* 相互作用の有無は判断できない。

最も良かった触媒前駆体 *pre-2e* を用いて *m*-CPBA 存在下、クロロホルムまたはクロロホルムとニトロメタンの混合溶媒中、触媒の北スピロラクトン化反応の基質一般性について検討した (図5)。その結果、様々な置換基を有する1-ナフトール誘導体の反応

では対応するスピロラクトンが良好な化学収率と高い不斉収率で得られた。基質の置換基によって収率に差がみられる大きな要因は、未反応の *m*-CPBA による生成物のエポキシ化反応が競争して起こるためである。つまり、電子求引性置換基であるハロゲンやベンゾイル基を持つ生成物はエポキシ化反応が抑制されるために収率が高くなっていると考えられる。また、これらのスピロラクトンは結晶性がよく、幾つかの生成物において一回の再結晶化により光学純度を98%~>99% eeまで高めることができた。1-ナフトールの4位にメトキシ基をもつ基質の酸化で得られた生成物はラセミ体であったが、これは北等の報告と同様の結果であり、4位のメトキシ基の電子供与によ

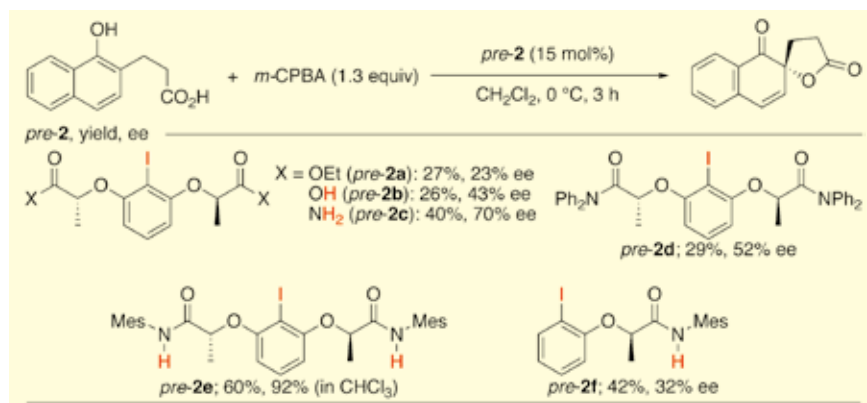


図4. 北スピロラクトン化反応に有効な触媒前駆体 *pre-2* の検討<sup>8)</sup>

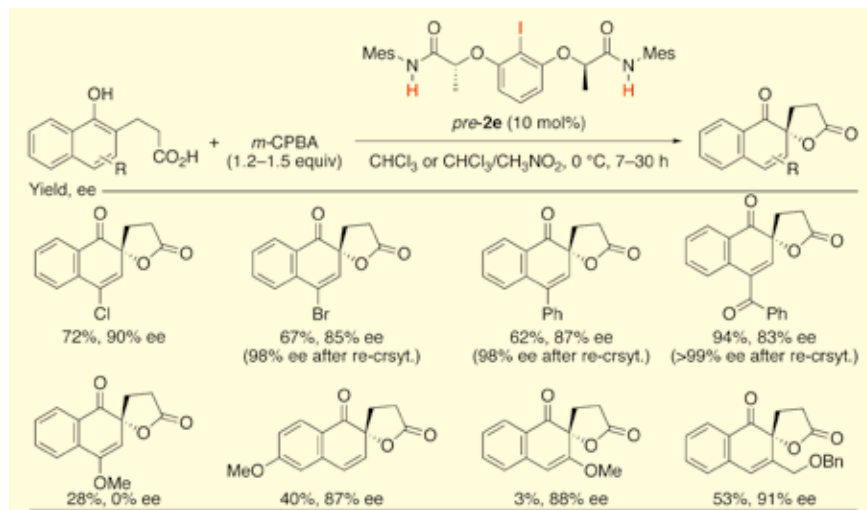


図5. 触媒的北スピロラクトン化反応の基質適応範囲<sup>8)</sup>



り基質の水酸基から触媒のヨウ素中心が離れてしまうためだと言われている(図2)<sup>5)</sup>。

#### 4 超原子価ヨウ素化合物の調製及び化学量論酸化反応

北等の方法に従って、キラルヨードアレン *pre-2e* と Selectfluor から3価の超原子価ヨウ素化合物 **2e** を90%の単離収率で合成し<sup>5)</sup>、化学量論量の **2e** を用いて1-ナフトール誘導体の脱芳香型酸化反応を行った(図6)。触媒条件で収率の低かった電子供与性置換基をもつ基質においても、反応は効率よく進行して、高い化学収率と不斉収率で対応するスピロラクトンが得られた(図6)。これは化学量論反応では、*m*-CPBAによる副反応が起こりえないためである。

#### 5 エポキシスピロラクトン及びプロモヒドリンスピロラクトンの不斉合成

先に述べたように、スピロラクトン化反応では基質によって *m*-CPBA による生成物のエポキシ化反応が競合する。このことは、基質によっては *m*-CPBA の使用量を制御することでスピロラクトンとエポキシスピロラクトンを選択的に作り分けることができることを示唆する。実際、過剰量(5当量)の *m*-CPBA を用いることで、無置換の1-ナフトール誘導体の脱芳香型酸化反応に続くエポキシ化反応がタンデムに進行した。ジアステレオ選択性は中程度であったが、シリカゲルクロマトグラフィーによって52%収率、88% ee でエポキシスピロラクトンを

単一のジアステレオマーとして単離することができた(図7)。北反応の生成物である不飽和スピロラクトンを酸化レニウム存在下、過酸化水素で処理したところ、エポキシドを高いジアステレオ選択性で得ることに成功した<sup>9)</sup>。また、不飽和スピロラクトンを THF/H<sub>2</sub>O 混合溶媒中、NBS で処理することにより、プロモヒドリンを良好なジアステレオ選択性と化学収率で得ることができた<sup>10)</sup>。さらに、得られたプロモヒドリンを塩基で処理することにより、エポキシドの立体化学が逆転したジアステレオマーを主生成物として得た。エポキシスピロラクトンの相対配置の決定はX線結晶構造解析により行なった。

#### 6 おわりに

我々は2,6-ジヒドロキシヨードベンゼンを基本骨格とし、乳酸をキラル源に柔軟な立体配座と C<sub>2</sub> 対称性を保持したキラルヨードアレン *pre-2* の合理的設計を考案した。この有効性を実証するため、*m*-CPBA 存在下、触媒量のヨードアレン *pre-2e* から超原子価ヨウ素(III)触媒 **2e** を *in situ* で調製し、1-ヒドロキシナフチルカルボン酸の北スピロラクトン化反応に試したところ、高い不斉収率で目的のスピロラクトンを得ることに成功した<sup>8)</sup>。現在、*pre-2e* は和光純薬から市販されている。本触媒技術で合成出来る光学活性スピロラクトンはさらに様々な合成変換が可能であることから、その応用範囲は広く、医薬品の製造技術としても期待される。

ごく最近、藤田等は乳酸をキラル源に用いたキラル超原子価ヨウ素酸化剤 **3** または **4** を設計し、BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O や TsOH などの強い酸の存在下、それらを化学量論用いる不斉オキシラクトン化反応において、非常に高い不斉収率で生成物を得ることに成功している(図8)<sup>11)</sup>。興味深いのは、ESI-MSに

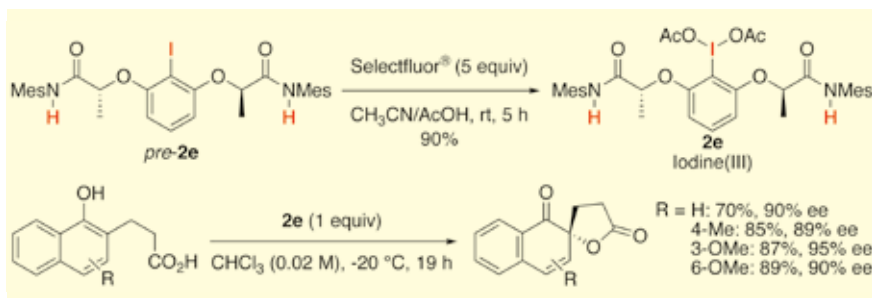


図6. キラル超原子価ヨウ素化合物 **2e** の合成及び化学量論北スピロラクトン化反応<sup>8)</sup>

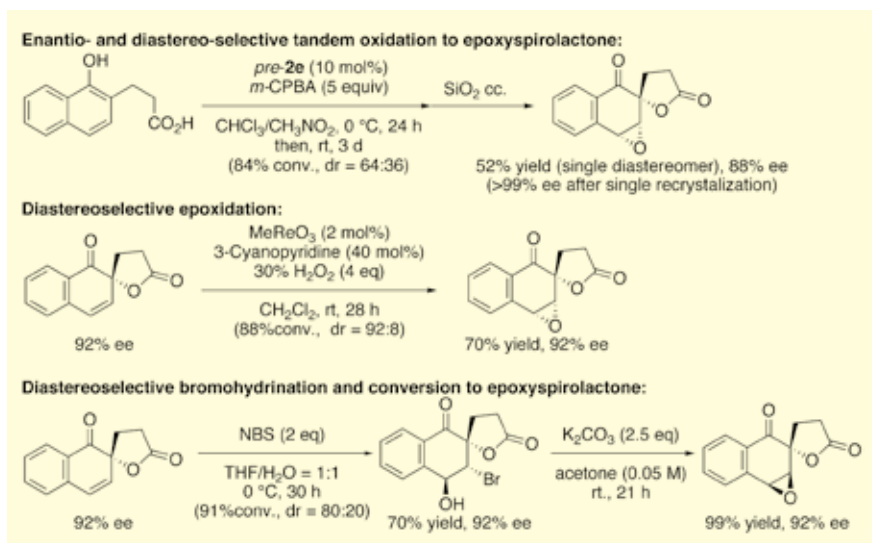


図7. 光学活性不飽和スピロラクトンからエポキシラクトンへの高ジアステレオ選択的変換方法<sup>8b)</sup>

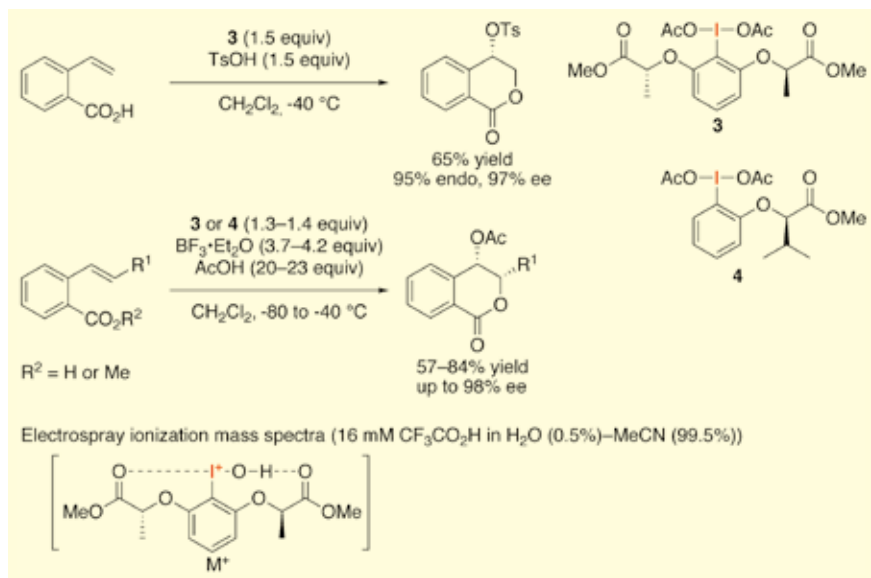


図8. 藤田等によるキラル超原子価ヨウ素化合物 **3** または **4** による不斉オキシラクトン化反応<sup>11)</sup>

よって、 $n-\sigma^*$ の相互作用を有するカチオン種を確認している点である。我々の触媒**2e**は第二級アミドであるのに対し、藤田らの反応剤はエステルであり強酸の存在が必要である。前者は水素結合が、後者は $n-\sigma^*$ 相互作用が不斉誘導の鍵になっている可能性が示唆される。

これらの結果は、キラル超原子価ヨウ素化合物の設計、及びエナンチオ選択的酸化的カップリング反応の発展に大きく寄与するものと思われる。

#### 【参考文献】

- 石原一彰：別冊化学「化学のブレークスルー【有機化学編】革新論文から見たこの10年の進歩と未来」, 化学, **64**(3), pp. 18–21 (化学同人) (2009).
- (a) Zhdankin, V. V. and Stang, P. J. : *Chem. Rev.*, **108**, 5299 (2008). ; (b) Ochiai, M. and Miyamoto, K. : *Eur. J. Org. Chem.*, 4229 (2008). ; (c) Dohi, T. and Kita, Y. : *Chem. Commun.*, 2073 (2009).
- (a) Ochiai, M., Takeuchi, Y., Katayama, T., Sueda, T. and Miyamoto, K. : *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 12244 (2005). ; (b) Dohi, T., Maruyama, A., Yoshimura, M., Morimoto, K., Tohma, H. and Kita, Y. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 6193 (2005).
- (a) Uyanik, M., Yasui, T. and Ishihara, K. : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **48**, 3848 (2009). ; (b) Uyanik, M., Akakura, M. and Ishihara, K. : *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 251 (2009). ; (c) Uyanik, M., Fukatsu, R. and Ishihara, K. : *Org. Lett.*, **11**, 3470 (2009). ; (d) Uyanik, M. and Ishihara, K. : *Chem. Commun.*, 2086 (2009). ; (e) Uyanik, M. and Ishihara, K. : *Aldrichim. Acta*, **43**, 83 (2010). ; (f) Uyanik, M., Okamoto, H., Yasui, T. and Ishihara, K. : *Science*, **328**, 1376 (2010). ; (g) Ishihara, K. and Uyanik, M. : 化学, **65**, 12 (2010). ; (h) Uyanik, M. and Ishihara, K. : *Chimica Oggi-Chemistry Today*, **29**, 18 (2011).
- Dohi, T., Maruyama, A., Takenaga, N., Senami, K., Minamitsuji, Y., Fujioka, H., Caemmerer, S. B. and Kita, Y. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **47**, 3787 (2008).
- (a) Imamoto, T. and Koto, H. : *Chem. Lett.*, **15**, 967 (1986). ; (b) Ray III, D. G. and Koser, G. F. : *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 5672 (1990). ; (c) Ochiai, M., Takaoka, Y. and Masaki, Y. : *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 9233 (1999). ; (d) Tohma, H., Takizawa, S., Watanabe, H., Fukuoka, Y., Maegawa, T. and Kita, Y. : *J. Org. Chem.*, **64**, 3519 (1999). ; (e) Hirt, U. H., Schuster, M. F. H., French, A. N., Wiest, O. G. and Wirth, T. : *Eur. J. Org. Chem.*, 1569 (2001). ; (f) Ladziata, U., Carlson, J. and Zhdankin, V. V. : *Tetrahedron Lett.*, **47**, 6301 (2006). ; (g) Fujita, M., Okuno, S., Lee, H. J., Sugimura, T. and Okuyama, T. : *Tetrahedron Lett.*, **48**, 8691 (2007). ; (h) Altermann, S. M., Richardson, R. D., Page, T. K., Schmidt, R. K., Holland, E., Mohammed, U., Paradine, S. M., French, A. N., Richter, C., Bahar, A. M., Witulski, B. and Wirth, T. : *Eur. J. Org. Chem.*, 5315 (2008). ; (i) Boppiseti, J. K. and Birman, V. B. : *Org. Lett.*, **11**, 1221 (2009). ; (j) Quideau, S., Lyvinec, G., Marguerit, M., Bathany, K., Ozanne-Beaudenon, A., Buffeteau, T., Cavagnat, D. and Chenede, A. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **48**, 4605 (2009).
- Sakakura, A. and Ishihara, K. : *Chem. Soc. Rev.*, **40**, 163 (2011).
- (a) Uyanik, M., Yasui, T. and Ishihara, K. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**, 2175 (2010). ; (b) Uyanik, M., Yasui, T. and Ishihara, K. : *Tetrahedron*, **66**, 5841 (2010).
- Copéret, C., Adolffson, H. and Sharpless, K. B. : *Chem. Commun.*, 1565 (1997).
- McManus, H. A., Fleming, M. J. and Lautens, M. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 433 (2007).
- Fujita, M., Yoshida, Y., Miyata, K., Wakisaka, A. and Sugimura, T. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**, 7068 (2010).

## Products



### キラル超原子価よう素前駆体

#### (2*R*, 2'*R*)-2, 2'-(2-ヨード-1, 3-フェニレン)ビス(オキシ)ビス(*N*-メシチルプロパンアミド)

本品は、名古屋大学の石原一彰教授らが開発したキラルヨードアレーンです。*m*-クロロ過安息香酸存在下、1-ヒドロキシナフチルカルボン酸に作用させると反応系中でキラル超原子価よう素を発生し、不斉酸化的カップリング反応が起こります。これにより、医薬品中間体に有用なスピロラクトンを高い光学純度で得られます。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
095-06051	(2 <i>R</i> , 2' <i>R</i> )-2, 2'-(2-Iodo-1, 3-phenylene) bis(oxy) bis	有機合成用	250mg	7,500
091-06053	( <i>N</i> -mesitylpropanamide)		1g	19,500

### はじめに

2003年に食品衛生法におけるポジティブリスト制度（2006年5月施行）の導入により、食品残留農薬に関する大幅な規制強化がなされた。この結果、国内外で流通する約800種類の農薬等が規制の対象となった。これらは我々の口にする食品の安全性と直結することは言うまでもないが、国際的な商取引と密接に関連する。このため、これらの分析値の信頼性への要求は高く、公的機関を含め各試験機関ではISO/IEC 17025の認定取得など分析精度管理の維持・向上に努めている。これらの分析値の精度管理においては検量線作成用の標準物質の使用が不可欠である。しかしながら、食品衛生法のみに着目しても多種多様な物質があり、標準物質の整備はやさしいものではない。

これまで有機化合物の純度を評価した標準品や、検量線作成用の標準液は市場に多く供給されてきた。しかしながら、これら化学物質の純度の評価は、多くの場合、クロマトグラフ法が用いられておりJIS規格に準拠した相対面積百分率<sup>1)</sup>で判断されている。これは、有機化合物の純度を国際単位系（SI）にトレサブルな方法で評価することが難しく、かつ適用できる化合物も限定されていることに起因する。面積百分率法では、検出されるすべての分子に対して一定の検出感度が得られることが前提条件であるため、検出感度が異なる不純物が含まれる試料では誤った純度評価をする可能性がある。差数法<sup>2)</sup>を用いることでこの問題をある程度解消することはできるが、すべての不純物の標準が必要となり、汎用的な方法とは言い難い。このようなことから、計量トレサビリティの確保された標準物質は供給されてこなかった。

これに対応するため、迅速かつ簡便でありながら計量学的に正確な測定法を導入した計量トレサビリティが表

明できる新たな残留農薬試験用標準物質を開発したことはすでに報告した<sup>3)</sup>。

本稿では、計量学的に正確な測定値が得られること、簡便であること、さらには適用範囲が広いことなどから、農薬原体の純度評価にきわめて有用であった核磁気共鳴（NMR）法について、高精度な定量測定に重要な条件設定の詳細を解説する。

### NMR の定量測定への応用

NMRは測定する核種によってスペクトルが異なるが、最も汎用的に有機化合物の構造解析に利用されるのは水素核（<sup>1</sup>H）のNMRスペクトルである。化合物中の官能基等によって異なる共鳴周波数を示す（化学シフト）ことから、ある化合物中の構成する官能基を区別できる。また、隣接する<sup>1</sup>H等の情報は、それぞれのピークの分裂（スピン-スピン結合（*J*-結合））で示される。そしてそれぞれのピーク面積は共鳴している<sup>1</sup>H核の数に比例する。これらの特徴がNMRを有機化合物の構造解析に欠かせない存在にしている。

高分子化合物に対しては異なる官能基からの信号強度比を正確に求めることで、タクチシチーや共重合体のモノマー連鎖の分析などに広く利用されてきた<sup>4)</sup>。一方、低分子量の有機化合物に対しては、面積の比を精密に求める必要性は低く、例えば、同じ分子中のメチル基の信号面積に対してメチレン基の信号面積が、3:2であることを確認できる程度の精度しか必要とされなかった。

高分子化合物の定量に必要とされる精度と、純度評価に必要とされる精度に差はあるものの、共重合体の異なるモノマーユニットから得られる信号強

度を比較することが出来ることは、同時に測定した異なる2つの有機化合物の信号の面積比からそれぞれの<sup>1</sup>Hの数の比を求めることができる可能性を示唆している。言い換えれば、ある溶液中に存在する2つの異なる分子の分子数を比較することが可能であることから、NMRはSIの一つである物質質量（モル）を直接比較する手法であり、これまで有機化合物には限定的だったSIトレサブルな定量を汎用的に実現できることを示唆している。

以下、この技術をSIトレサブルな定量技術として利用するために不可欠である正確なNMR信号面積の評価法に必要なポイントを整理したい。

### 純度評価を目指した NMR 測定条件の設定

NMR信号強度が定量的か否かは、一つの分子内に異なる化学シフトを示す複数の官能基を有する分子を用い、<sup>1</sup>H信号強度比が正確に測定されるかを確認することで達成できる。面積を比較するに当たり、窓関数をかけずにフーリエ変換したスペクトルの位相を厳密に補正し、可能な限りそれぞれのピーク幅に対応させた積分区間を設定して比較することが望ましい。

NMRで定量測定を行う場合、90°パルスで試料を励起した場合、定量したいピークのうちでもっとも長い縦緩和時間（ $T_1$ ）の5倍以上の繰り返し待ち時間（ $T_R$ ）を設定して積算することが必要であるといわれている<sup>5,6)</sup>。表1に $T_R/T_1$ と緩和した磁化の理論的な関係を異なるパルス角度ごとに示したが、この条件は、90°パルスを与えた後に平衡磁化の強度に対して99%程度の磁化が回復した状態を想定した

表1. 平衡磁化を1としたとき、 $T_R/T_1$ と緩和した磁化の理論的な関係とその $P_A$ に対する依存性

	3	5	7	9	11
90°	0.950 21	0.993 26	0.999 09	0.999 88	0.999 98
60°	0.974 47	0.996 62	0.999 54	0.999 94	0.999 99
30°	0.993 03	0.999 09	0.999 88	0.999 98	1.000 00



ものである。したがって、純度測定には $T_R$ をより長くして、バイアスが小さくなるよう設定することが望ましく、例えば、99.9%の磁化が回復している状態を想定すると、分子内で最も長いピークの $T_1$ の7倍を目安に $T_R$ を設定することが必要となる。90°パルス以外の小さい角度の励起パルスを利用した場合、90°パルスを与えた場合と比較して一回の積算で得られる信号強度が60°パルスで約87%、30°パルスでは50%しか得られない一方で、必要とされる $T_R$ はさほど短くならないため、純度測定には90°パルスを利用するのが好ましい。

繰り返し待ち時間設定に必要な $T_1$ の評価は多くの場合Inversion Recovery法が用いられる<sup>7)</sup>。これは

$T_R - \pi - T_D - \pi / 2 - \text{acquire}$ で示されるパルス系列で、 $\pi$ と $\pi / 2$ は180°と90°パルス、 $T_D$ は $T_1$ 測定のための変数であり、いくつか異なる $T_D$ を設定して繰り返し測定を行う。図1に*trans*-permetrinのスペクトルを示したが、 $T_D$ が十分短い場合 ( $T_D=6$  ms) と、十分長い場合 ( $T_D=25.6$  s) のスペクトルは、それぞれのピークの向きがすべて上下で逆転している。 $T_D$ を

変化させることで、これが短いときに下向きだったスペクトルが、 $T_D$ が長くなるにつれてピークの向きが反転する。 $T_1$ はピークが下向きから上向きに逆転するとき、すなわちスペクトル上でのピーク強度がゼロになるときの $T_D$ の約1.44倍 ( $1/\ln 2$ ) である事が知られているので、 $T_D=30$  sですべてのピークが $T_1$ の例えば7倍以上になっているかを確認したければ $30 \div 7 \div 1.44$ 、すなわち $T_D$ を約3sに設定した条件で、すべてのピークが上向きになっていることを確認すれば十分である。簡単かつ短時間で行える実験なので、NMR測定における定量性を保証するためにも確認することをお勧めする。

繰り返し待ち時間の設定と共に大切なのはスペクトル幅である。通常利用するスペクトル幅より広くとることが重要である。特にオーバーサンプリング機能とデジタルフィルタを備えていないNMR装置では特に注意が必要である。NMRデータをデジタル化する際に利用するオーディオフィルタを利用して、スペクトル外側のノイズの影響を排除しているが、この影響でスペクトルの中心付近の信号強度と比較して、スペクトル両端の

信号強度が低く評価されることが知られている。言い換えれば、スペクトル両端の信号強度は正しく評価できないので、スペクトル幅を広くとることでこれを回避する必要がある。

これらの条件を設定したうえで、シムを十分上げた良い条件下で高い信号/ノイズ比のスペクトル測定を行うことが望まれる。

## 農薬の純度測定への適用

純度測定における不確かさを1%程度とすることを目標に設定して、農薬原体の<sup>1</sup>H NMRによる純度測定を行った。内標準物質には、産総研認証標準物質である1,4-dichlorobenzene (NMIJ CRM 4039-a) を利用してあらかじめNMRで純度校正を行った1,4-bis(trimethylsilyl) benzene-*d*<sub>4</sub> (1,4-BTMSB-*d*<sub>4</sub>)、3-(trimethylsilyl)-1-propanesulfonic acid-*d*<sub>6</sub> sodium salt (DSS-*d*<sub>6</sub>)、benzoic acid、もしくはdimethyl sulfoneを利用した。純度評価を行う農薬原体(以下、評価試料とする)と内標準物質は、それぞれ独立に精密に秤量した後、重水素化溶媒を加えて溶液を調製し、上述した定量測定条件下で測定を行った。得られたスペクトルの中から定量したい評価試料および内標準物質それぞれのピークについて面積を評価し、寄与する核の数と溶液中のモル比を勘案することで定量値を得た。当所で最適化した典型的な実験条件(表2)を用い、NMRの適用を試みた評価試料を表3にまとめた。ここでは、NMRの純度評価が可能であったかを示すとともに、示差走査熱量計(DSC)による凝固点降下法を用いた純度評価が適用できたかを合わせて示した。なお、PCPについては、分子中に純度測定に不適な-OH信号しかなかったため評価することができなかった。純度測定における不確かさとしては、内標準物質及び評価試料の秤量、評価に利用したピーク、NMR

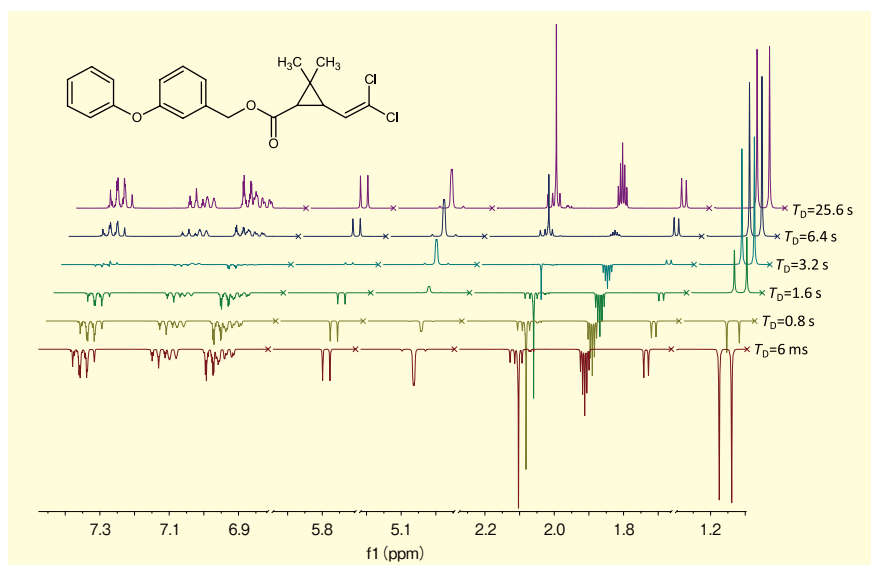


図1. Inversion-Recovery法で異なる $T_D$ で測定した*trans*-permetrinの $CD_3CN$ 溶液スペクトル。1.94 ppmと2.1 ppmのピークは溶媒と水由来の信号。 $T_1$ が短いピークは短い $T_D$ で反転し、 $T_1$ が長いものはなかなか反転しないことがわかる。

表2. 典型的なNMR測定条件

NMR装置	Varian UNITY INOVA	Varian NMR Systems*	JEOL JNM-ECS400
プローブ	Dual Broadband	Dual Broadband	TH5-ATFG2D
<sup>1</sup> H 共鳴周波数	599.90 MHz	599.90 MHz	398.78 MHz
観測スペクトル幅	59970 Hz	59523.8 Hz	39904.2 Hz
パルス幅	11 μs	11 μs	10 μs
パルス角	90°	90°	90°
取り込み時間	4 s	4 s	4 s
繰り返し待ち時間	60 s ~ 90 s	60 s ~ 90 s	60 s ~ 90 s
積算回数	8 or 32	8 or 32	8 or 32
ダミーキャン	2	2	2
温度	25°C	25°C	25°C
<sup>13</sup> C 核デカップル	取り込み時間中のみ	取り込み時間中のみ	取り込み時間中のみ
デカップルシーケンス	WURST40 <sup>8)</sup> or GARP <sup>9)</sup>	WURST40	MPF8 <sup>10)</sup>

\*UNITY INOVAの分光計を更新した装置

表3. NMR等による純度評価を行った評価試料の一覧

NMRと比較対象として、DSCによる凝固点降下法を適用できたかも合わせて示した。

No.	評価試料	純度評価法		No.	評価試料	純度評価法	
		NMR	DSC			NMR	DSC
1	Trichlorfon (DEP)	●	●	42	Glyphosate	●	
2	Procymidone	●	●	43	Pyributicarb	●	
3	EPN	●		44	trans-Permethrin	●	
4	Etofenprox	●		45	Flufenoxuron	●	
5	Propyzamide	●	●	46	NAC	●	
6	Benthiocarb	●	●	47	Bensulide	●	
7	Malathion	●		48	Chlorfluazuron	●	
8	Fenobucarb (BPMC)	●	●	49	Silafiuofen	●	
9	Atrazine	●		50	Isoxathion	●	
10	Echlomezol	●	●	51	Coumaphos	●	●
11	Pendimethalin	●	●	52	MCP	●	●
12	Bethrodine	●	●	53	Prochloraz	●	
13	Chloroneb	●	●	54	Triadimefon	●	●
14	Simetryne	●	●	55	Diazinon	●	
15	Thiuram	●		56	Flazasulfuron	●	
16	Isoprothiolane	●	●	57	Imazosulfuron	●	
17	Bifenox	●		58	Cyprodinil	●	
18	Probenazole	●		59	Diflubenzuron	●	
19	Pyridaphenthion	●		60	Famoxadone	●	●
20	2,4-PA	●	●	61	Trifloxystrobin	●	
21	DCMU	●	●	62	Tiadinil	●	●
22	Iprodione	●	●	63	Acephate	●	●
23	MCPP	●	●	64	Thiamethoxam	●	
24	Fenitrothion (MEP)	●	●	65	Tolclofos-methyl	●	●
25	Dithiopyr	●	●	66	Warfarin	●	
26	Mefenacet	●	●	67	Teflubenzuron	●	
27	Bensulfuron-methyl	●		68	Linuron	●	●
28	Esprocarb	●		69	Flusulfamide	●	●
29	Mepronil	●		70	Cymoxanil	●	
30	Thiophanate	●		71	Indanofan	●	
31	Metalaxyl	●		72	Pyrazoxifen	●	
32	Vinclozoline	●	●	73	Thiacloprid	●	●
33	Asulam	●		74	Chlorfenapyr	●	●
34	Flutolanil	●	●	75	CNP-amino	●	●
35	Dim Piperate	●	●	76	Chloro IPC	●	●
36	Molinate	●		77	Methyl Thioacetohydroxamate	●	
37	Cumyluron	●	●	78	Pyrimethanil	●	●
38	cis-Permethrin	●		79	Phosalone	●	
39	Anilofos	●		80	XMC	●	●
40	PCP	●	●	81	Bifenthrin	●	
41	Myclobutanil	●		82	Daminozide	●	

の繰り返し測定、内標準物質の純度にかかわるもののほかに、NMR信号の緩和や装置固有のばらつきを評価したが、これらを合成した不確かさはいずれの評価試料においても1%未満であり、十分な定量精度が確保できた。

## おわりに

SIトレーサビリティを確保した有機化合物の純度測定にNMRが幅広く利用できることを示した。NMRによる純度測定は、適切な国家標準を用いることでSIへのトレーサビリティが容易に実現可能であることから高い信頼性を得ることのできる分析法である。さらに、NMRは操作が簡便で適用範囲が広い定量法であることから、国内のみならず国際的にも有機化合物の含量確認を正確かつ迅速に行うことが出来る技術として期待が高まっており、本技術のさらなる発展が望まれている。

## 【参考文献】

- 1) JIS K0114 : 2000 ガスクロマトグラフ分析通則 (2000).
- 2) 久保田正明 : 「化学分析・試験に役立つ標準物質活用ガイド」(丸善株式会社) (2009).
- 3) 井原俊英、齋藤剛、前田恒昭 : 和光純薬時報, **76** (4), 6-8 (2008).
- 4) 高分子学会 編 : 「新高分子実験学5 高分子の構造 (1) 核磁気共鳴」2.2章 (共立出版社) (1995).
- 5) Saito, T., Nakaie, S., Kinoshita, M., Ihara, T., Kinugasa, S., Nomura, A. and Maeda, T. : *Metrologia*, **41**, 213-218 (2004).
- 6) Derome, A. E. : *Modern NMR Techniques for Chemistry Research*, Pergamon Press (1987). ; 竹内敬人、野坂篤子 訳 : 「化学者のための最新NMR概説」, 7.6.1章 (化学同人) (1991).
- 7) Sanders, J. K. M. and Hunter, B. K. : *Modern NMR Spectroscopy A Guide for Chemists*, Chapter 3.2, Oxford University Press (1987).
- 8) Kupče, E. and Freeman, R. : *J. Magn. Reson. A*, **115**, 273-276 (1995).
- 9) Shaka, A. J., Barker, P. B. and Freeman, R. : *J. Magn. Reson.*, **64**, 547-552 (1985).
- 10) Fujiwara, T., Anai, T. and Nagayama, K. : *J. Magn. Reson. A*, **104**, 103-105 (1993).

## 定量NMR (qNMR) 用内標準物質



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
024-17031	1,4-BTMSB-d <sub>4</sub> Reference Material	TraceSure™	50 mg	30,000
044-31671	DSS-d <sub>6</sub> Reference Material	TraceSure™	50 mg	30,000



## パラフィン切片を用いた骨関連酵素 (TRAP、ALP) の二重染色法

東京大学医学部附属病院 整形外科脊椎外科 第2研究室 河原 元

### 1. はじめに

生体の骨代謝状態を把握するために、関連細胞の生理活性を調べるのが有力な方法である。骨組織をアルカリ性ホスファターゼ (ALP) 染色すると骨芽細胞の骨形成能を、酒石酸耐性の酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色で破骨細胞の骨吸収能を知ることができる<sup>1)</sup>。かつ、同一切片上で二重染色すると、両者を同時に識別できる。また、脱灰した標本を用いて、両染色が可能であれば、特殊な機器を用いず、一般の施設で、簡単に、骨代謝を観察することができるという利点になる。このような背景のもとに、二重染色の可能性を検討した。

### 2. スタンダード標本作製

スタンダード標本として、既に確立している樹脂包埋法ないし凍結切片法の標本作製し、脱灰したパラフィン切片と比較した。すなわち、アルコール固定したマウスの肘関節をグリコールメタクリレート (GMA) 樹脂で包埋し、硬組織用ミクロトームで2 $\mu$ mの切片を作製し、TRAPとALPの染色を行った (図1)<sup>2)</sup>。また、脱灰凍結切片も作製し (図2)、スタンダー

表. 実験材料および方法

<p>材料の採取：生後1年マウスの上・下肢骨及び脊椎骨 (軟組織を切除)</p> <p>↓</p> <p>1次固定：4%パラホルムアルデヒド液・10%ホルマリン液</p> <p>2次固定：純エタノール</p> <p>脊椎骨の一部を非脱灰GMA樹脂包埋。その他は脱灰用</p> <p>↓</p> <p>脱脂、脱灰：脱灰液はZnSO<sub>4</sub>加EDTA液 (他法と比較検討)</p> <p>脱灰装置はHistra-DC (常光) 8~16°C連続作動</p> <p>↓</p> <p>脱水、包埋：ETP (サクラ) 16時間処理、融点58-60°C硬パラフィンで包埋。右上肢と腰椎の一部は脱灰GMA樹脂包埋。</p> <p>↓</p> <p>薄切、乾燥：4<math>\mu</math>m切片作製、43°C伸展30分間後、37°C乾燥。</p> <p>↓</p> <p>染色、封入：TRAP / ALP 染色キット (和光純薬) で染色、37°C乾燥後、キシレン透徹、マリノール封入。</p> <p>↓</p> <p>鏡検、染色性の評価</p>
--

ド標本とした。その後、固定、脱灰、染色の各段階で二重染色の可能性を検討ないし改良した。

### 3. 固定について

ALP染色では、ホルマリンでの固定をしない新鮮材料か、短時間固定でなければ、酵素活性は失われるので<sup>3,4)</sup>、

80%エタノール固定を推奨する<sup>5)</sup>。これを検証してみた。①マウスの膝関節を1次固定せず、2次固定液であるエタノールに直接浸漬した群。②マウス腰椎をホルマリン固定 (4%パラホルムアルデヒド液) 16時間固定後エタノールで2次固定した群。③マウス腰椎をホルマリン固定4日間後2次固定した群。④臨床例で、1ヶ月間ホルマリン固定した後、2次固定した群であ

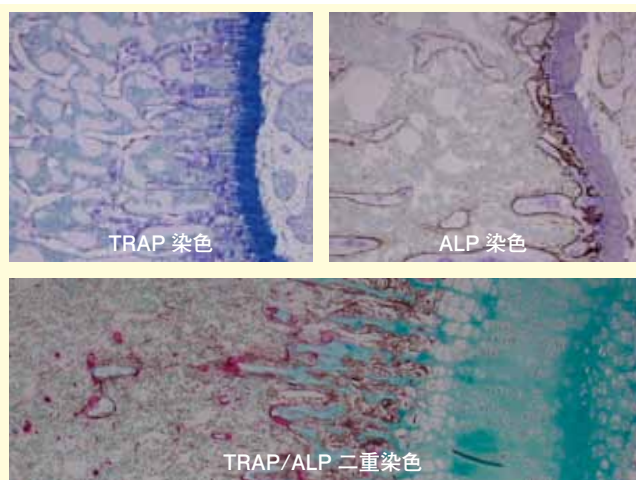


図1. スタンダード標本 (GMA樹脂包埋)

写真は本実験のスタンダード標本としてのマウス肘関節の染色標本である。左がTRAP染色・右がALP染色である。下は両者の二重染色である。いずれも良好に染色された。これを陽性コントロールとして、脱灰パラフィン切片と共に染色を行い、染色性の評価を行った。

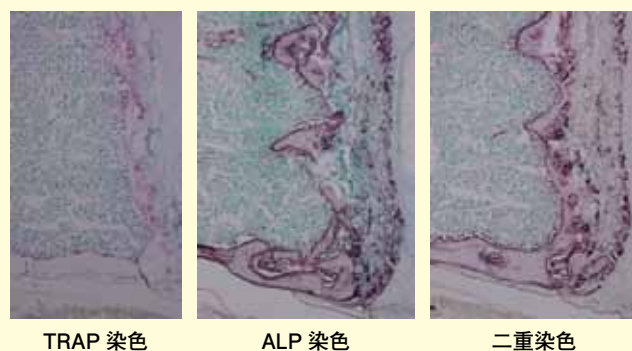


図2. 脱灰凍結切片を用いた酵素染色

クエン酸で脱灰したマウス腰椎と右上肢を、30%蔗糖液に浸漬し、OCTコンパウンド包埋し、ティッシュテックPINO (サクラ) で凍結し、Cryo 3 (サクラ) で5 $\mu$ m凍結切片を得た。これを用いて、酵素染色を行った。TRAP染色 (左：赤色) とALP染色 (中：褐色) の単染色のみならず、二重染色 (右) も陽性に染まった。

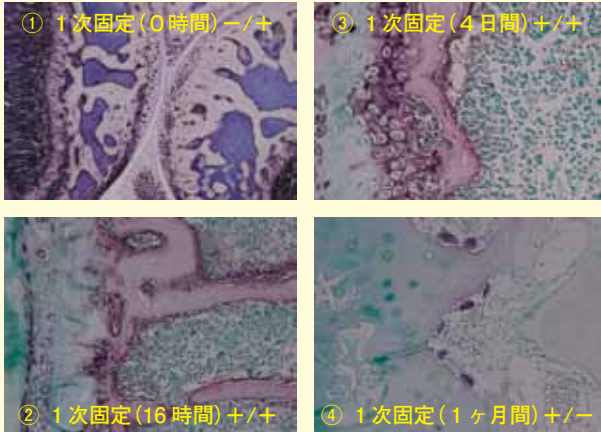


図3. ホルマリンでの1次固定の固定時間とTRAP/ALPの染色性の検討

①のホルマリン固定しないアルコールの2次固定のみでは、ALP染色が強陽性に染まった。TRAP染色が陰性であった。②のホルマリン16時間も③の4日間も共に、TRAPもALPも良く染まった。そして、ホルマリン1ヶ月間の臨床例（骨軟骨腫）では、TRAPは陽性であったが、ALPが染まらなかった。

る。各群にTRAP・ALPの二重染色を施し、染色の可否を検討した。図3は染色性の検討結果である。本実験でホルマリン固定が16時間から4日間まではTRAP、ALPの二重染色が可能であった。

#### 4. 脱灰について

ALP酵素は金属（Zn）含有蛋白で

ある。脱灰により、酵素の構成成分であるZnまで除去されてしまうため、酵素活性を失う<sup>6)</sup>。そこで、この欠損を補うために、硫酸亜鉛（ZnSO<sub>4</sub>）を添加し、ALPの賦活を行った<sup>5)</sup>。すなわち、脱灰液100mlに対して1%のZnSO<sub>4</sub>液を0.4ml添加し、Znを補充した。かつ、脱灰液として、クエン酸塩緩衝液にZnを添加した系を試す

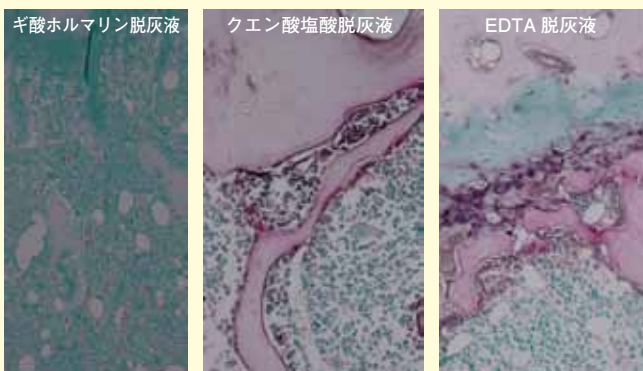


図4. 脱灰液の種類による二重染色の可否

左は、酸系脱灰液で、比較的組織障害が少ないとされているギ酸ホルマリン脱灰液で3日間（Histra-DC, 8~16℃）脱灰したラットの膝関節である。TRAPもALPもともに染まらない。これに対して、中のクエン酸塩脱灰液と右のEDTA脱灰液はともにTRAP/ALPの二重染色が可能であった。

と同時に、同じキレート剤であるEDTA液についても検討した。また、酸系脱灰液（ギ酸ホルマリン液）での酵素反応の可否も検討した。その結果、脱灰液はクエン酸と同様に、EDTA液で良好に染色できた。反面、ギ酸ホルマリン液では酵素染色ができなかった（図4）。また、脱灰方法は超音波脱灰装置（Histra-DC, 常光）を用い、8~16℃の低温下で、3~6日間連続作動し脱灰した。脱灰後はグリシン加ベロナル緩衝液（pH7.4）で洗浄し、リン酸カルシウムが組織上に吸着、沈澱するのを防止した<sup>5)</sup>。

#### 5. 染色について

染色法はLorchはGomori法によったが<sup>5,7)</sup>、今回はアゾ色素法の同時カップリング法<sup>8)</sup>を利用したTRAP/ALP染色キット（和光純薬, コードNo.294-67001）を用いた。切片厚についてLorchは8μmの切片を推奨するが<sup>5)</sup>、通常の4μm切片で染色できないかも合わせて検討した。また、二重染色の順序はTRAPとALPのいずれを先に染めるべきか、封入は水溶性封入剤でなければならないかを検討した。

染色法の結果はアゾ色素法では、切

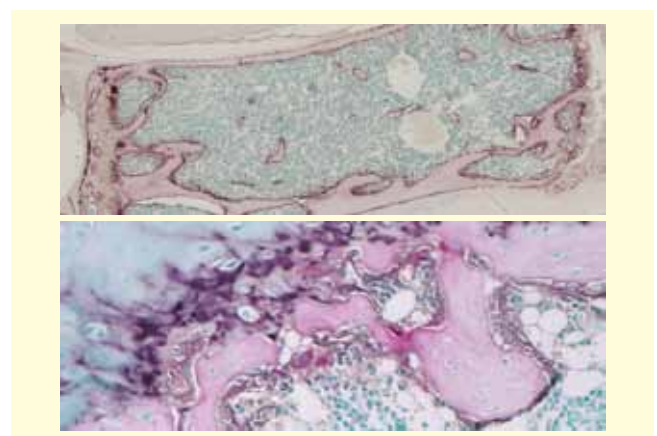


図5. 脱灰パラフィン包埋切片のTRAP/ALP二重染色

1年マウス腰椎のEDTA脱灰パラフィン切片を用いて、TRAP/ALPの二重染色を行った。破骨細胞がTRAP陽性で赤色に染まり、細胞活性の強い細胞（骨芽細胞、軟骨細胞）がALP陽性で褐色に染まった。（上：弱拡大、下：強拡大）

片が厚すぎると酵素拡散像すなわち骨基質がTRAP染色で赤染する傾向があったが、4 μmでも反応条件を増強（反応温度と反応時間）することにより、十分に染色できた。すなわち、TRAP染色では反応温度を室温から37℃にし、反応時間を30分から45分ないしは60分間にする。ALP染色では37℃、45分間から3時間ないしは室温（10～15℃）で1晩と反応条件を増強した。その結果、両者の色調のバランスが良い染色ができた（図5）。しかし、反応条件の増強はALP染色で切片上に、色素顆粒が多く産生する結果になった（図2）。また、TRAPとALPの染色順序はいずれを始めても染色は可能であった。ただし、ALP染色を始めて行うとTRAP陽性部位が明瞭な赤色を呈し、鮮やかに破骨細胞が染まり、コントラストの良い標本が得られる。しかし、ALPの反応産物がTRAP液により、白色の混濁顆粒状となり、組織上に沈着してしまう。したがって、始めにTRAP

染色を行い、つぎにALP染色する方が良好である。封入法はメチルグリーンで数秒間核染色し、水洗後、37℃で乾燥させ、キシレン透徹し、マリノールで永久封入した。透徹前にアルコール脱水を推奨する文献があるが<sup>9)</sup>、反応産物の溶失、拡散を生ずる。

## 6. おわりに

TRAPとALPの両酵素の染色は固定、脱灰、染色につき、若干改良すると、脱灰したパラフィン標本で染色が可能である。しかし、酵素拡散像がとくにTRAP染色において目立った。種々の要因が考えられるが、固定による影響として、固定が不十分であると、脱灰による障害を受けやすく<sup>5)</sup>、酵素の拡散をも生ずる可能性がある。また、脱灰自体の影響も留意する必要がある。すなわち、非脱灰標本と比較すると、脱灰標本では拡散像が多く観察される。脱灰による酵素拡散が強く示唆された。また、切片の厚さや二重染色の順番による影響も考慮すべきで

ある。今後、検討したい。

## 【参考文献】

- 1) 須田立雄、小澤英浩、高橋栄明著：「骨の科学」（医歯薬出版）（1985）。
- 2) 河原元：技術講座、続・病理組織標本作製完全マニュアルシリーズ第2回硬組織検査法、*Medical Technology*, **24** (12), カラーアトラス、1213-1222 (1996)。
- 3) 「骨形態計測ハンドブック」第1版、p.67 (1983)。
- 4) 末吉徳芳ら：技術講座、組織固定法—より良い固定を目指して、*Medical Technology*, **37** (8), 857-864 (2009)。
- 5) Localization of Alkaline Phosphatase in Mammalian Bones by I. JOAN LORCH <http://jcs.biologists.org/cgi/reprint/s383/3/367.pdf>
- 6) Conyers, R. A. J. : *Biochem. Biophys. Acta (Amst)*, **139**, 363-371 (1967)。
- 7) Gomori, G. : *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **42**, 23(1939)。
- 8) Barka, T. and Anderson, P. J. : *J. Histochem. Cytochem.* **10**, 741 (1962)。
- 9) 影山圭三、渡辺陽之輔：「病理組織標本の作り方」, 慶応義塾大学医学部病理学教室編、第5版（医学書院）（1986）。

## Products

### 骨代謝の研究に!

#### TRAP/ALP 染色キット

##### 特長

- 2液を混合するだけで、酸性ホスファターゼの酵素活性の染色に必要な発色基質液が調製できる（酒石酸耐性評価を行う場合は3液を混合）
- アルカリホスファターゼの酵素活性の染色はプレミックス基質液を使用し、簡単に行うことができる
- 酸性ホスファターゼの活性存在部位を赤紫色に、アルカリホスファターゼの活性存在部位を青色～茶色がかかった青色に2重染色できる
- 培養細胞、骨組織切片（非脱灰GMA樹脂包埋切片）に使用できる

##### キット内容 (60回用<sup>\*</sup>)

- 酒石酸溶液 (×10) 3ml × 1本
- 酸性ホスファターゼ基質液A 30ml × 1本
- 酸性ホスファターゼ基質液B 0.3ml × 1本
- 核染色試薬 10ml × 1本
- アルカリホスファターゼプレミックス基質液 30ml × 1本

<sup>\*</sup>本品は培養細胞では24ウェルマルチプレート5回用、96ウェルマルチプレート6回用、骨組織スライド(1スライドあたり500μl使用として)で60枚用に相当

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
294-67001	TRAP/ALP Stain Kit	病理研究用	60回用	25,000





## 有機合成用固定化触媒

Wako

### ハイドロタルサイト固定化金(0)ナノ粒子触媒 [Au/HT]

本品は、ハイドロタルサイトに金を固定化した触媒で、酸化反応に有用です。従来の金属試薬を用いた反応条件に比べ、より穏和な条件でご利用いただけます。

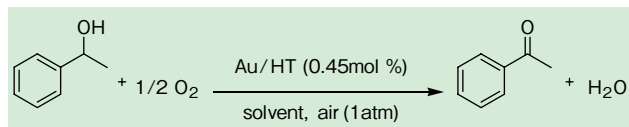
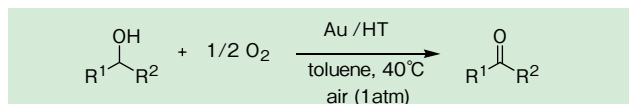


表1. Au/HTによる、1-フェニルエタノールの酸化<sup>[a],1)</sup>

Entry	Catalyst	Solvent	Temp. [°C]	Time [h]	Conv. [%] <sup>[b]</sup>	Yield [%] <sup>[b]</sup>
1	Au / HT	toluene	27	6	99	99
2	Au / HT	toluene	40	3	99	99
3	Au / HT	toluene	80	0.33	99	99
4	Au / HT	heptane	40	3	86	83
5	Au / HT	THF	40	3	66	66
6	Au / HT	ethyl acetate	40	3	47	47
7	Au / HT	acetonitrile	40	3	18	18
8	Au / HT	DMA	40	3	8	8
9	Au / HT	water	40	10	99	95

[a] Reaction conditions : Au/HT (0.1g, Au : 0.45mol%, 1-phenylethanol (1mmol), solvent (5mℓ)

[b] Determined by GC using internal standard technique.

表2. Au/HTによる、アルコール類の酸化<sup>[a],1)</sup>

Entry	Time[h]	Conv. [%] <sup>[b]</sup>	Yield [%] <sup>[b]</sup>
1	3	99	99 (97)
2	6	98	98
3	15	91	90
4	12	83	83
5	24	90	93
6	24	81	81

[a] Reaction conditions : Au/HT (0.1g, Au : 0.45mol%, alcohol (1mmol), toluene (5mℓ)

[b] Determined by GC or HPLC using internal standard technique. Isolated yields were shown in parentheses.

## 【参考文献】

- 1) Mitsudome, T., Noujima, A., Mizugaki, T., Jitsukawa, K. and Kaneda, K. : *Adv. Synth. Catal.*, **351**, 1890-1896 (2009).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
083-09231	Hydrotalcite-Supported Gold (0)	有機合成用	250mg	13,000
089-09233	Nanoparticle Catalyst[Au/HT]		1g	42,000

## 光学活性アズレン誘導体

Wako

(S)-3-(1,5-ジメチル-4-ヘキセニル)アズレン-1-カルボン酸

(R)-3-(1,5-ジメチル-4-ヘキセニル)アズレン-1-カルボン酸

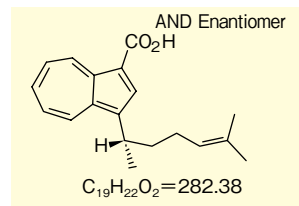
(S)-3-(1-フェニルエチル)アズレン-1-カルボン酸

(R)-3-(1-フェニルエチル)アズレン-1-カルボン酸

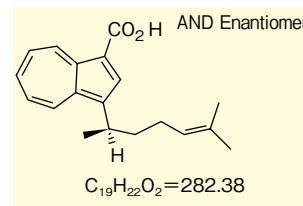
アズレンは、「アズレンブルー」と称される紫紺色の化合物です。アズレン誘導体は、置換基の種類や位置に依存した色を示すことが知られています。アズレン誘導体は各種医薬品、電子工業用原料として利用されています。光学活性化合物としてご利用下さい。

また、本化合物を酸塩化物に誘導した後、紫外・可視領域に吸収を有さないラセミ化合物と反応させることで、ジアステレオマー混合物が紫紺色に着色し、目視で確認することができます。光学分割剤としてご利用下さい。

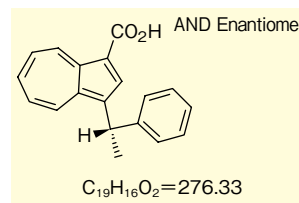
■ (S)-3-(1,5-Dimethyl-4-hexenyl)azulene-1-carboxylic Acid



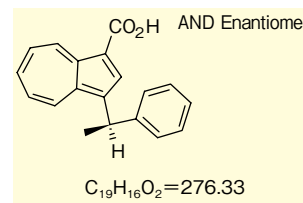
■ (R)-3-(1,5-Dimethyl-4-hexenyl)azulene-1-carboxylic Acid



■ (S)-3-(1-Phenylethyl)azulene-1-carboxylic Acid



■ (R)-3-(1-Phenylethyl)azulene-1-carboxylic Acid



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
045-31461	(S)-3-(1,5-Dimethyl-4-hexenyl)azulene-1-carboxylic Acid	光学分割用	100mg	16,000
048-31451	(R)-3-(1,5-Dimethyl-4-hexenyl)azulene-1-carboxylic Acid	光学分割用	100mg	16,000
164-24651	(S)-3-(1-Phenylethyl)azulene-1-carboxylic Acid	光学分割用	100mg	16,000
167-24641	(R)-3-(1-Phenylethyl)azulene-1-carboxylic Acid	光学分割用	100mg	16,000

## 不斉水素化反応に有用

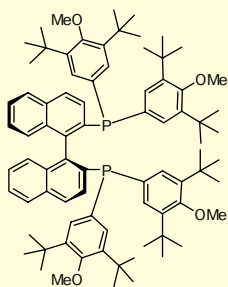


### BINAP 系キラルホスフィン配位子

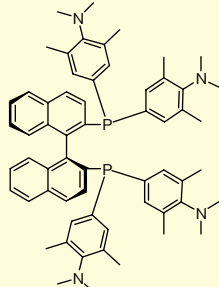
本品は、光学活性物質の合成に使用する BINAP 系のキラルホスフィン配位子です。多くの基質に対して BINAP に優る不斉誘起を示します。ロジウムやルテニウム触媒を用いた場合には、オレフィンの不斉還元を使用することができます。空気中でも比較的安定で、さまざまな溶媒において利用する事ができます。

■ (S)-(-)-2,2'-Bis[bis(3,5-di-tert-butyl-4-methoxyphenyl)phosphino]-1,1'-binaphthyl  
【(S)-(-)-DTBM-BINAP】

■ (S)-(-)-2,2'-Bis[bis(4-dimethylamino-3,5-dimethylphenyl)phosphino]-1,1'-binaphthyl  
【(S)-(-)-DADMP-BINAP】



C<sub>80</sub>H<sub>104</sub>O<sub>4</sub>P<sub>2</sub>=1191.63

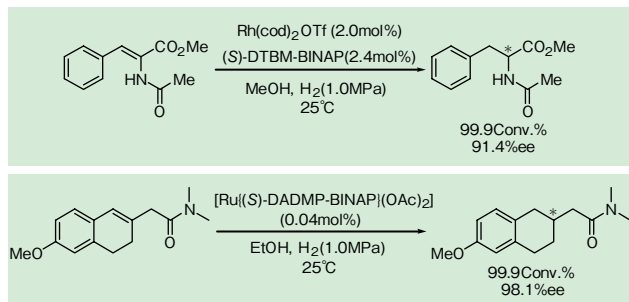


C<sub>60</sub>H<sub>68</sub>N<sub>4</sub>P<sub>2</sub>=907.16

● CAS No. : 541502-07-2

● CAS No. : 930784-40-0

### 反応例



### 【参考文献】

- 1) 後藤充孝, 山野光久, 川口信治: 特許第4489416号.
- 2) 後藤充孝, 山野光久, 川口信治: 特許第4523227号.
- 3) 後藤充孝, 山野光久, 川口信治: WO 2007/034975 A1.

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
028-16951	(S)-(-)-2,2'-Bis[bis(3,5-di-tert-butyl-4-methoxyphenyl)phosphino]-1,1'-binaphthyl	有機合成用	250mg	15,000
024-16953			1g	43,000
025-16961	(S)-(-)-2,2'-Bis[bis(4-dimethylamino-3,5-dimethylphenyl)phosphino]-1,1'-binaphthyl	有機合成用	250mg	16,000
021-16963			1g	49,000

本品は、武田薬品工業株式会社よりライセンスを受けて販売しております。

### 関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
027-16661	(R)-BINAP-TMPTA Polymer	有機合成用	100mg	11,000
023-16663			500mg	40,000
024-16671	(S)-BINAP-TMPTA Polymer	有機合成用	100mg	11,000
020-16673			500mg	40,000
025-16461	(R)-(+)-2,2'-Bis(diphenylphosphino)-5,5'-diiodo-1,1'-binaphthyl	有機合成用	100mg	8,000
021-16463			1g	45,000
022-16471	(S)-(-)-2,2'-Bis(diphenylphosphino)-5,5'-diiodo-1,1'-binaphthyl	有機合成用	100mg	8,000
028-16473			1g	45,000
325-91691	(±)-2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl	-	1g	8,000
321-91693			5g	18,000
328-91701	(R)-(+)-2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl	-	1g	9,000
324-91703			5g	27,000
325-91711	(S)-(-)-2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl	-	1g	9,000
321-91713			5g	27,000
028-16071	(R)-(+)-1,1'-Bi-2-naphthol	有機合成用	5g	7,000
026-16072			25g	21,000
025-16081	(S)-(-)-1,1'-Bi-2-naphthol	有機合成用	5g	7,000
023-16082			25g	21,000
048-30611	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> )-(+)-1,2-Diphenylethyl-enediamine	有機合成用	1g	3,900
044-30613			5g	12,000
046-30612			25g	42,000
045-30621	(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> )-(-)-1,2-Diphenylethyl-enediamine	有機合成用	1g	3,900
041-30623			5g	12,000
043-30622			25g	42,000

### 溶存酸素含量 1ppm以下! 脱酸素溶媒、発売開始!!



### テトラヒドロフラン (脱酸素) (安定剤不含)

本品は、溶存酸素含量を 1ppm 以下、水分含量 10ppm 以下を保証した高品質な有機合成用溶媒です。酸素・水分を嫌う有機合成反応にご使用下さい。

本品は、開栓せずにシリンジで直接溶媒を採取できる特殊キャップを使用しています。



### 規格例

規格項目	規格値
含量 (キャピラリーカラム GC)	99.5% 以上
密度 (20°C)	0.884 ~ 0.889g/ml
溶存酸素	1ppm 以下
水分	10ppm 以下

コードNo.	品名	溶存酸素量	水分含量	容量	希望納入価格(円)
208-18535	Tetrahydrofuran, Deoxidized, Stabilizer Free	1ppm 以下	10ppm 以下	500ml	4,800

脱酸素溶媒には使用期限がございます。

## 品目を追加しました!



### 超脱水溶媒

水分含量を 10ppm 以下に抑えた超脱水グレード溶媒のラインアップが充実しました。

使いきりの 500ml 容量から大入り 18l 容量まで、幅広く品揃えております。用途に合った容量をお選び下さい。

コード No.	品名 (安定剤)	水分含量	容量	希望納入価格 (円)
010-22905	Acetonitrile, Super Dehydrated	10ppm	500ml	4,800
016-22907			18l	照会
044-31235	Dichloromethane, Super Dehydrated (2-Methyl-2-butene 0.0005-0.005%)		500ml	3,800
040-31237			18l	照会
NEW 045-31645	Diethyl Ether, Super Dehydrated (BHT 0.0003%)		500ml	6,100
NEW 043-31641			9l	照会
NEW 041-31647			18l	照会
057-08175	Ethyl Acetate, Super Dehydrated		500ml	3,400
088-09105	Hexane, Super Dehydrated		500ml	3,600
084-09107			18l	照会
NEW 135-16775	Methanol, Super Dehydrated	500ml	3,550	
NEW 131-16777		18l	照会	
164-24391	Pentane, Super Dehydrated	9l	照会	
207-17905	Tetrahydrofuran, Super Dehydrated, with Stabilizer (BHT 0.03%)	500ml	4,300	
203-17907		18l	照会	
207-17765	Tetrahydrofuran, Super Dehydrated, Stabilizer Free	500ml	4,200	
205-17761		9l	照会	
203-17767		18l	照会	
204-17915	Toluene, Super Dehydrated	500ml	3,500	
200-17917		18l	照会	

超脱水溶媒には使用期限がございます。

9l、18l 容量は容器にキャニスター缶を使用しています。キャニスター缶はリンク容器です。ご使用後は当社代理店までご返却下さい。

キャニスター缶をご使用の際は別途接続配管が必要です。当社代理店へご連絡下さい。

## 高サンプル負荷を実現!



### プレセップ®(ルアーロック)シリカゲル(HC-N)

ご好評いただいております、分取クロマトグラフ用プレセップ® シリーズに新たなシリカゲルを充てんしたプレセップ® (ルアーロック) シリカゲル (HC-N) が加わりました。

本品は、比表面積の大きな球状シリカゲルを用い、従来のシリカゲルの分離能を維持したまま、より多くのサンプルを負荷できるようにしました。したがって、分取操作回数の削減が可能です。



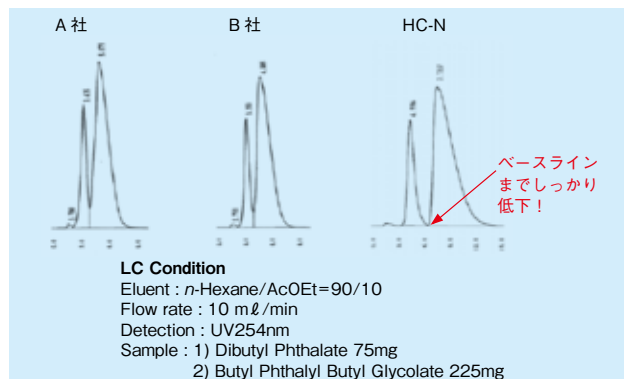
## 特長

- 比表面積が大きい
- サンプルの保持が強い
- 高分離能
- 高サンプル負荷

## シリカゲル物性

	新製品 (HC-N)	従来品 (SP)
形状	球状	球状
粒子径	35-63 μm	40-64 μm
細孔径	3 nm	6 nm
細孔容量	0.6 ml/g	0.7 ml/g
比表面積	780 m <sup>2</sup> /g	475 m <sup>2</sup> /g
pH	6.9	7.0

## 他社 M サイズカラムとの負荷量比較例



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
291-34041	Presep® (Luer Lock) Silica Gel	分取クロマトグラフ用	20 本	35,000
297-34043	(HC-N) Type M (13g/25ml)	100 本	照会	
295-34061	Presep® (Luer Lock) Silica Gel	分取クロマトグラフ用	20 本	45,000
291-34063	(HC-N) Type L (35g/70ml)	100 本	照会	
292-34071	Presep® (Luer Lock) Silica Gel	分取クロマトグラフ用	20 本	60,000
298-34073	(HC-N) Type 2L (50g/100ml)	100 本	照会	
294-34031	Presep® (Luer Lock) Silica Gel	分取クロマトグラフ用	5 本	28,000
290-34033	(HC-N) Type 3L (115g/200ml)	30 本	照会	

## 関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
292-33591	Presep® (Luer Lock) Silica Gel	分取クロマトグラフ用	10 本 × 2	20,000
298-33593	Type M (11g/25ml)	10 本 × 10	照会	
295-33601	Presep® (Luer Lock) Silica Gel	分取クロマトグラフ用	10 本 × 2	25,000
291-33603	Type L (30g/70ml)	10 本 × 10	照会	
292-62801	Presep® (Luer Lock) Silica Gel	分取クロマトグラフ用	5 本	22,000
298-62803	Type 3L (110g/200ml)	30 本	照会	
293-33401	Presep® (Luer Lock) Silica Gel	分取クロマトグラフ用	20 本	29,000
299-33403	(SP) Type M (12g/25ml)	100 本	照会	
290-33411	Presep® (Luer Lock) Silica Gel	分取クロマトグラフ用	20 本	39,000
296-33413	(SP) Type L (31g/70ml)	100 本	照会	
293-33901	Presep® (Luer Lock) Silica Gel	分取クロマトグラフ用	5 本	25,000
299-33903	(SP) Type 3L (124g/200ml)	30 本	照会	
297-33421	Presep® (Luer Lock) NH <sub>2</sub>	分取クロマトグラフ用	20 本	40,000
293-33423	Type M (14g/25ml)	100 本	照会	
294-33431	Presep® (Luer Lock) NH <sub>2</sub>	分取クロマトグラフ用	20 本	70,000
290-33433	Type L (34g/70ml)	100 本	照会	
290-33911	Presep® (Luer Lock) NH <sub>2</sub>	分取クロマトグラフ用	5 本	45,000
296-33913	Type 3L (140g/200ml)	30 本	照会	



## 水環境中の医薬品暴露の解析に Wako

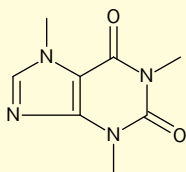
### PPCPs 分析用標準品

本品は、水環境中に存在する生理活性物質である PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products) 分析用標準品です。

#### ■ カフェイン

下水処理過程でほぼ 100% 除去されるため、未処理排水による人為汚染のマーカースとして提案されています<sup>1)</sup>。

● CAS No. : 58-08-2

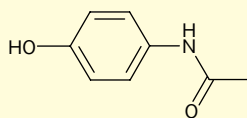


$C_8H_{10}N_4O_2 = 194.19$

#### ■ アセトアミノフェン

多くの解熱鎮痛剤に含まれる薬効成分であり、カフェイン同様、下水処理により除去されやすい汚染物質です。

● CAS No. : 103-90-2

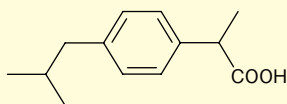


$C_8H_9NO_2 = 151.16$

#### ■ イブプロフェン

解熱鎮痛作用を有し、医薬品として幅広く使用され水環境において検出報告<sup>2,3)</sup>のある化合物です。

● CAS No. : 15687-27-1

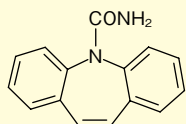


$C_{13}H_{18}O_2 = 206.28$

#### ■ カルバマゼピン

抗てんかん薬として流通量、生産量ともに多い化合物であり、河川などで検出報告<sup>3)</sup>のある化合物です。

● CAS No. : 298-46-4

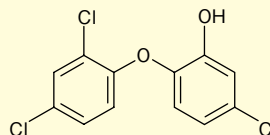


$C_{15}H_{12}N_2O = 236.27$

#### ■ トリクロサン

薬用石鹸などに含有されています。藻類の成長に対し強い阻害作用を有しており、生態系への影響が懸念されています。

● CAS No. : 3380-34-5

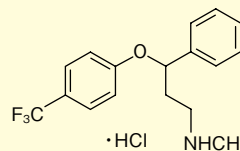


$C_{12}H_7Cl_3O_2 = 289.54$

#### ■ フルオキセチン塩酸塩

抗うつ作用を有しており、排水中の残留物がエビなどの水生生物に影響を及ぼす可能性が示唆されています。

● CAS No. : 56296-78-7



$C_{17}H_{18}F_3NO \cdot HCl = 345.79$

#### 【参考文献】

- 1) 独立行政法人土木研究所平成19年度重点プロジェクト研究報告書, 13. 7.
- 2) 地方独立行政法人北海道立総合研究機構環境・地質研究本部 環境科学研究センター「平成22年度調査研究成果発表会」発表要旨集, 環境保全部.
- 3) 独立行政法人土木研究所平成19年度重点プロジェクト研究報告書, 8. 3.

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
037-21111	Caffeine Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	10,000
015-22651	Acetaminophen Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	10,000
091-05931	Ibuprofen Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	10,000
036-21441	Carbamazepine Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	10,000
202-17771	Triclosan Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	15,000
NEW 062-05681	(±)-Fluoxetine Hydrochloride Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	20,000

#### 関連商品

### プレセップ® RPP-SAX タイプ3S (60mg/3mℓ)

「Presep® RPP-SAX Type 3S (60mg/3mℓ)」は、親水性と疎水性基を併せ持つポリマーに陰イオン交換基を導入したポリマー樹脂を充てんしたシリンジ型カラムです。薬物分析などの前処理用カラムとしてご使用いただけます。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
297-33301	Presep® RPP-SAX Type3S (60mg/3mℓ)	試料前処理用	10本×10	45,000

## 品目追加



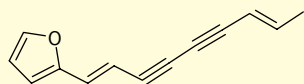
### 生薬試験用標準品類

局方生薬試験用、生薬試験用に追加しました新製品をご紹介します。生薬成分の分析にご利用下さい。

#### ■アトラクチロジン標準溶液

本品は、アトラクチロジンのメタノール溶液です(2mg/1,000mℓ)。アトラクチロジンは「ソウジュツ(蒼朮)」に含まれている成分です。本品は、ソウジュツの分析などに使用できます。

- 起源： *Atractylodes lancea* De Candolle  
*Atractylodes chinensis* Koidzumi (Compositae)
- CAS No. : 55290-63-6



C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O = 182.22

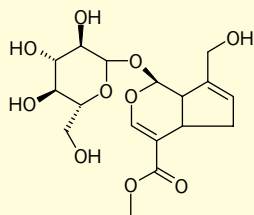
使用上の注意：本品は光によって異性化することがありますので、なるべく光を避けて取扱って下さい。

#### ■ゲニボシド

本品は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液のゲニボシド、定量用及び薄層クロマトグラフィー用に適合しています。「サンシシ(山梔子、クチナシ果実)」の確認試験、定量法に用いられます。

ゲニボシドは、サンシシに含まれているイリドイド配糖体です。ラット消化管内ではゲニピンとなって胆汁分泌作用を促進します。

- 起源： *Gardenia jasminoides* Ellis (Rubiaceae)
- CAS No. : 24512-63-8

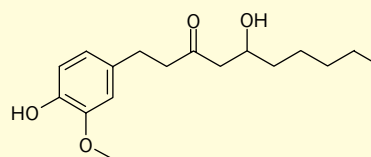


C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub> = 388.37

#### ■[6]-gingerol

本品は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液の [6]-gingerol、定量用及び薄層クロマトグラフィー用に適合しています。「ショウキョウ(生姜)」の確認試験に用いられます。[6]-gingerolは、バニロイドレセプターのアゴニストであり、ラットでは胃損傷を抑制します。

- 起源： *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae)
- CAS No. : 23513-14-6

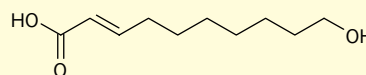


C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub> = 294.39

#### ■10-Hydroxy-2-(E)-decanoic acid

本品は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液の 10-Hydroxy-2-(E)-decanoic acid、定量用及び薄層クロマトグラフィー用に適合しています。「ローヤルゼリー」の確認試験、定量法に用いられます。10-Hydroxy-2-(E)-decanoic acidは、ローヤルゼリーの指標物質です。

- 起源： *Apis mellifera* Linné  
*Apis cerana* Fabricius (Apidae)
- CAS No. : 14113-05-4

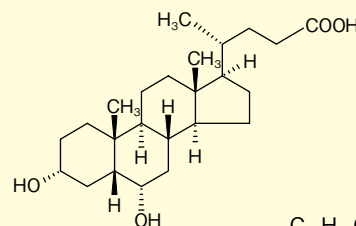


C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub> = 186.25

#### ■Hioデオキシコール酸

本品は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液のヒオデオキシコール酸、薄層クロマトグラフィー用に適合しています。「ブタ胆汁末」の確認試験に用いられます。また、ブタ胆汁末は、「ユウタン(熊胆)」の純度試験に用いられています。

- 起源： Swine bile
- CAS No. : 83-49-8



C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>4</sub> = 392.57

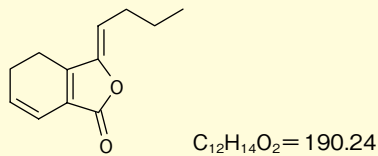
[次頁に続く]

## ■(Z)-リグスチリド標準溶液 (0.1mg/ml メタノール溶液)

本品は、(Z)-リグスチリドのメタノール溶液です(0.1mg/ml)。(Z)-リグスチリドは「トウキ(当帰)」に含まれる成分です。本品は、「加味逍遙散エキス」や「補中益気湯エキス」のトウキ確認試験に使用できます。

- 起源： *Angelica acutiloba* Kitagawa  
*Angelica acutiloba* Kitagawa var. *sugiyamae* Hikino (Umbelliferae)

●CAS No. : 4431-01-0

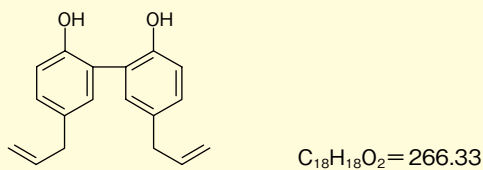


## ■マグノロール

本品は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液のマグノロール、定量用及び薄層クロマトグラフィー用に適合しています。「コウボク(厚朴)」の定量法試験に用いられます。マグノロールは、コウボクに含まれているジフェニル化合物であり、健胃消化薬、瀉下薬、鎮咳去痰薬とみなされる漢方処方に含まれています。

- 起源： *Magnolia obovata* Thunberg  
(*Magnolia hypoleuca* Siebold et Zuccarini)  
*Magnolia officinalis* Rehder et Wilson  
*Magnolia officinalis* Rehder et Wilson var. *biloba* Rehder et Wilson (Magnoliaceae)

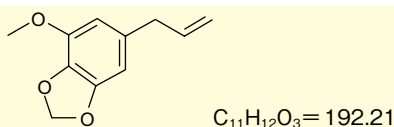
●CAS No. : 528-43-8



## ■ミリスチシン

本品は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液のミリスチシン、薄層クロマトグラフィー用に適合しています。「ニクズク(肉豆蔻、ナツメグ)」の確認試験に用いられます。ミリスチシンは、ニクズクに含まれている、香りの主体となる成分です。健胃作用があります。

- 起源： *Myristica fragrans* Houttuyn (Myristicaceae)
- CAS No. : 607-91-0



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
016-23541	Atractylodin Standard Solution	生薬試験用	1ml×5A	照会
073-05891	Geniposide	局方生薬試験用(定量用・薄層クロマトグラフィー用)	20mg	照会
076-05901	[6]-Gingerol	局方生薬試験用(定量用・薄層クロマトグラフィー用)	20mg	照会
081-09271	10-Hydroxy-2-(E)-decanoic Acid	局方生薬試験用(定量用・薄層クロマトグラフィー用)	20mg	照会
089-09211	Hyodeoxycholic Acid	局方生薬試験用(薄層クロマトグラフィー用)	50mg	12,000
121-05801	(Z)-Ligustilide Standard Solution (0.1mg/ml Methanol Solution)	生薬試験用	500μl×5A	16,000
130-16781	Magnolol	局方生薬試験用(定量用・薄層クロマトグラフィー用)	20mg	照会
137-16291	Myristicin	局方生薬試験用(薄層クロマトグラフィー用)	20mg	75,000

### 関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
168-24311	Powdered Swine Bile	局方生薬試験用(薄層クロマトグラフィー用)	1g	10,000

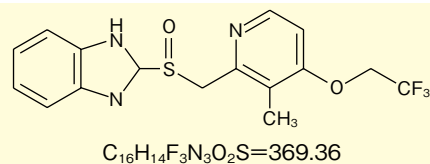
## プロトンポンプ阻害剤



### ランソプラゾール

本品は、 $H^+$ 、 $K^+$ -ATPase(プロトンポンプ)の阻害剤です。胃酸の産生を抑制し、消化性潰瘍の形成を抑制します。またアモキシシリン、メトロニダゾール、クラリスロマイシンの併用によるヘリコバクター・ピロリの除菌に使用されています。

- 含量(HPLC) : 97.0%以上
- N, N-ジメチルホルムアミド溶状 : 試験適合
- CAS No. : 103577-45-3



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
123-05861	Lansoprazole	薬理研究用	250mg	5,500
129-05863			1g	15,000

### 関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
150-02091	Omeprazole	生化学用	10g	16,000
158-02092			25g	34,000
017-14161	Amoxicillin Trihydrate	生化学用	5g	4,800
015-14162			25g	13,500
138-12583			5g	3,500
130-12582	Metronidazole	生化学用	25g	9,000
132-12581			100g	25,000
032-17871	Clarithromycin	生化学用	100mg	7,000
038-17873			500mg	25,000



## *in vivo* 研究に有効な $\beta$ -セクレターゼ阻害剤

KMI-429

KMI-574

KMI-1027

KMI-1303

アルツハイマー病の原因の一つとして注目されるアミロイド  $\beta$  タンパク質 ( $A\beta$ ) は、アミロイド前駆体タンパク質が  $\beta$ -セクレターゼ (BACE 1) と  $\gamma$ -セクレターゼによるプロテアーゼ切断を受けて40アミノ酸残基もしくは42アミノ酸残基の形で産生されます。

本品は、京都薬科大学木曾良明先生によって開発された  $\beta$ -セクレターゼの阻害剤です。家族性アルツハイマー病で見られるスウェーデン変異型 APP のアミノ酸配列を基に分子設計し、細胞膜透過性を高め低分子化しました。

アルツハイマー病発症メカニズムの研究にご利用下さい。

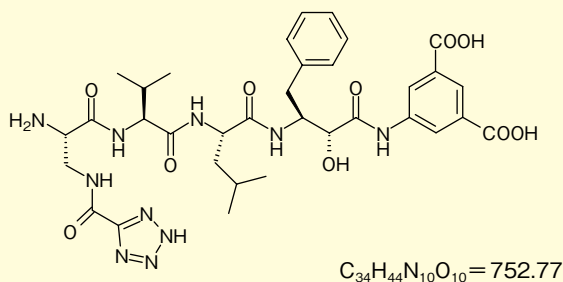
### 【 $\beta$ -セクレターゼを阻害ターゲットにする理由】

- $\gamma$ -セクレターゼはAPP以外のタンパク質にも作用することが知られており、 $\gamma$ -セクレターゼの活性を抑制することで副作用の発現が予想される
- $\gamma$ -セクレターゼは複数のタンパク質の複合体であるため立体構造解析が困難であるのに対し、 $\beta$ -セクレターゼは立体構造が判明しているため *in silico* での構造設計が可能
- $\beta$ -セクレターゼノックアウトマウスは生存が可能であり、 $\beta$ -セクレターゼの活性を阻害しても生命を脅かさない

### ■ KMI-429

スウェーデン変異型 APP を基に分子設計したペプチド型の  $\beta$ -セクレターゼ阻害剤です。

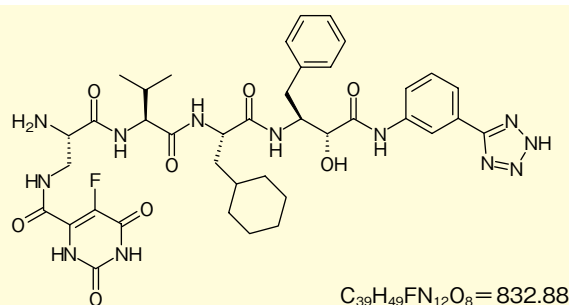
- ペプチド型阻害剤
- 従来のペプチド型阻害剤より低分子化、細胞膜透過性向上
- $IC_{50} = 3.9 \text{ nmol}/\ell$  (*in vitro*)



### ■ KMI-574

血液脳関門の透過性を上げるために KMI-429 の側鎖を生物学的等価体で置換したペプチド型の  $\beta$ -セクレターゼ阻害剤です。

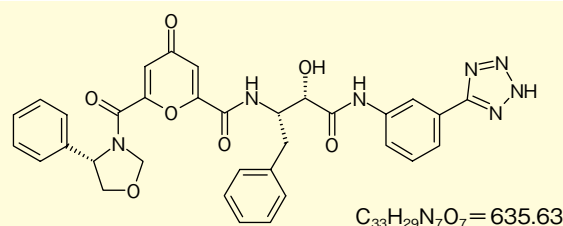
- ペプチド型阻害剤
- 血液脳関門透過性を向上
- $\beta$ -セクレターゼ発現培養細胞において、 $\beta$ -セクレターゼのラフトへの局在性に作用
- $IC_{50} = 5.6 \text{ nmol}/\ell$  (*in vitro*)



### ■ KMI-1027

*in vivo* での酵素安定性の向上及び血液脳関門の透過性を上げるために低分子化した非ペプチド型の  $\beta$ -セクレターゼ阻害剤です。

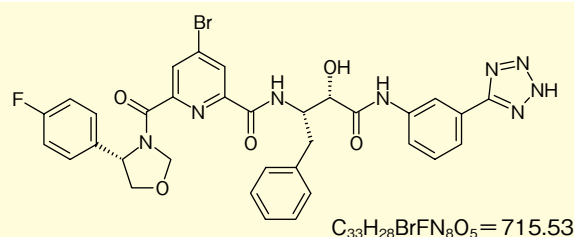
- 非ペプチド型阻害剤
- $IC_{50} = 50 \text{ nmol}/\ell$  (*in vitro*)



### ■ KMI-1303

KMI-1027 を基にして、 $\beta$ -セクレターゼの活性ポケットへの親和性を高めるためにハロゲン分子を導入した非ペプチド型の  $\beta$ -セクレターゼ阻害剤です。

- 非ペプチド型阻害剤
- $A\beta$  産生阻害活性が向上
- $IC_{50} = 9 \text{ nmol}/\ell$  (*in vitro*)



[次頁に続く]

## 【参考文献】

- 1) Kimura, T. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **15**, 211 (2005).
- 2) Asai, M. *et al.* : *J. Neurochem.*, **96**, 533 (2006).
- 3) Hamada, Y. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 4354 (2006).
- 4) Ebina, M. *et al.* : *J. Neurosci. Res.*, **87**, 360 (2009).
- 5) Hamada, Y. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**, 1654 (2008).
- 6) Hamada, Y. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **19**, 2435 (2009).
- 7) 木曾良明：特許第4540606号。
- 8) 木曾良明：再公表特許，WO 2009001730。
- 9) 濱田芳男、木曾良明：和光純薬時報，**79** (1), 5 (2011)。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
115-00901	KMI-429	細胞生物学用	1mg	45,000
112-00911	KMI-574	細胞生物学用	1mg	45,000
119-00921	KMI-1027	細胞生物学用	1mg	45,000
116-00931	KMI-1303	細胞生物学用	1mg	45,000

## PPAR $\gamma$ アゴニスト

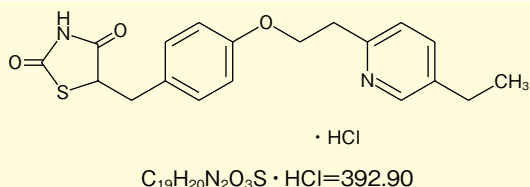


### ピオグリタゾン塩酸塩

PPAR (Peroxisome proliferators-Activated Receptor) は、核内受容体の一つで、RXR とヘテロダイマーを形成し、標的遺伝子のプロモーター領域に結合することにより遺伝子発現を制御している転写因子です。PPAR には  $\alpha$ 、 $\beta$  ( $\delta$ )、 $\gamma$  の3つのサブタイプが存在します。PPAR  $\gamma$  の活性化は、インスリン感受性の増強、動脈硬化の抑制、抗炎症などの作用を示すことが知られています。

ピオグリタゾンは、チアゾリジン系の PPAR  $\gamma$  アゴニストで、インスリン抵抗性を改善し、血糖低下作用を示します。

- 含量 (HPLC) : 98.0% 以上
- CAS No. : 112529-15-4
- $EC_{50} = 0.5 \mu\text{mol}/\ell$



## 【参考文献】

- 1) Lecka-Czernik, B. and Suva, L. J. : *PPAR Res.*, **2006**, 27489 (2006).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
162-24831	Pioglitazone Hydrochloride	薬理研究用	100mg	照会
168-24833			500mg	照会

## 関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
<b>PPAR<math>\alpha</math>アゴニスト</b>				
022-16091	Bezafibrate	薬理研究用	5g	10,000
028-16093			100g	照会
033-21191	Ciprofibrate	細胞生物学用	25mg	9,500
039-21193			100mg	27,000
039-10603	Clofibrate	生化学用	25ml	7,000
060-05361	Fenofibrate	細胞生物学用	5g	7,400
068-05362			25g	19,500
066-05363			100g	64,000
209-18141	Tetradecylthioacetic Acid	細胞生物学用	10mg	7,000
205-18143	WY-14643	細胞生物学用	100mg	42,000
231-02371			10mg	6,000
237-02373			50mg	20,000
<b>PPAR<math>\alpha</math>アンタゴニスト</b>				
130-13001	MK-886	生化学用	5mg	14,000
<b>PPAR<math>\gamma</math>アゴニスト</b>				
030-20981	Ciglitazone	細胞生物学用	5mg	19,000
184-02651	Rosiglitazone	細胞生物学用	5mg	4,500
180-02653			25mg	16,000
207-17601	Troglitazone	薬理研究用	5mg	10,000
203-17603			50mg	55,000
<b>PPAR<math>\gamma</math>アンタゴニスト</b>				
075-05611	GW9662	細胞生物学用	5mg	8,500
071-05613			25mg	29,000
<b>PPAR<math>\delta</math>アンタゴニスト</b>				
205-17881	TIPP-703	細胞生物学用	10mg	20,000

## 抗生物質ガイドブック発行のご案内

ライフサイエンス研究における主要な抗生物質を集約した〈和光純薬工業のガイドブックシリーズ〉の第二弾として「抗生物質ガイドブック」を発行しました。約140種の抗生物質を掲載しております。特にオススメは溶液タイプのシリーズです。作用機序、特長、用途、溶解性をわかりやすくまとめた、持ち運びにも便利なB5サイズで研究活動において実用にご活用頂けます。ガイドブックシリーズ第三弾「サイトカインガイドブック」も発行予定！  
カタログ請求先：<http://wako-chem.co.jp/siyaku/catalog.htm>



## ES 細胞の培養に



### StemSure<sup>®</sup> LIF, マウス, 組換え体, 溶液

マウス LIF (leukemia inhibitory factor) は、マウス白血病由来細胞である M1 細胞を分化させる因子として発見され、その後胚性幹細胞 (ES 細胞) の分化阻害活性を持つことが報告されました。現在、マウス ES 細胞の未分化能を維持させる因子として、マウス ES 細胞培養時に用いられています。

本品は、マウス LIF を大腸菌で発現させた組換えタンパク質です。C 末端に 6 × His タグを含みます。StemSure<sup>®</sup> シリーズは、マウス ES 細胞 D3 株を用いて、実用試験 (細胞増殖試験またはコロニー形成試験) とアルカリホスファターゼ (ALP) 染色を行い、細胞増殖と未分化能を品質保証した製品群です。

#### 試験項目

- 実用試験 (マウス ES 細胞)
- ALP 染色 (マウス ES 細胞)
- 無菌試験
- マイコプラズマ試験
- エンドトキシン試験 など

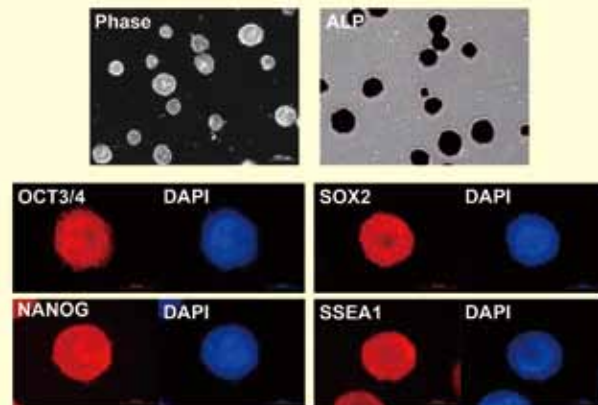
#### 製品概要

- 由来: *E. coli* expressed mouse leukemia inhibitory factor
- 活性: 10<sup>6</sup> units/ml
- 単位の定義: マウス ES 細胞株 (D3 株) を用いた細胞増殖促進アッセイにおいて、最大増殖度の 50% の増殖度を与える量の 1/20 を 1 unit とする。
- 使用濃度: マウス ES 細胞株 (D3 株) の培養では、終濃度 1,000 units/ml でのご使用を推奨します。
- 形状: D-PBS, 1% BSA
- 0.2 μm フィルター滅菌済み
- 保存条件: -20℃ 保存。融解後は 2~10℃ 保存の上、なるべく早くご使用下さい。



## データ

### 細胞形態・未分化マーカーの発現



1 × 10<sup>6</sup> cells / 10 cm Dish で 5 日または 6 日毎に継代を 11 回繰返し、位相差顕微鏡 (Phase) で撮影、ALP 染色、免疫染色 (各種未分化マーカー)、DAPI 染色を行った。

〈培地組成〉

D-MEM + 15% KSR + 4mmol/l L-Glutamine + 2 × Non-essential Amino Acid + 1 × Penicillin-Streptomycin + 0.1mmol/l StemSure<sup>®</sup> 2-Mercaptoethanol + StemSure<sup>®</sup> LIF

#### 【参考文献】

1) Williams, R. L. et al.: *Nature*, **336**, 684 (1988).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
199-16051	StemSure <sup>®</sup> LIF, Mouse, recombinant, Solution	細胞培養用	10 <sup>6</sup> units	30,000

#### 関連商品

### StemSure<sup>®</sup> シリーズ

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
198-15781	StemSure <sup>®</sup> 10mmol/l 2-Mercaptoethanol Solution (×100)	細胞培養用	100ml	7,000
195-15791	StemSure <sup>®</sup> 50mmol/l Monothioglycerol Solution (×100)	細胞培養用	100ml	8,000
190-15805	StemSure <sup>®</sup> 0.1w/v% Gelatin Solution	細胞培養用	500ml	7,000

#### ヒト LIF

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
129-05601	LIF, Human, recombinant,	細胞培養用	1ml	25,000
125-05603	Culture Supernatant	細胞培養用	1ml × 10	130,000



## 神経系細胞の培養に



### N2 サプリメント

本品は、神経系細胞の培養に使用する汎用の血清代替品です。初代神経細胞や神経幹細胞の培養に適しています。神経幹細胞はFBSに含まれる成分により分化誘導が引き起こされます。未分化状態を維持したまま培養するため、本品をはじめとする血清代替品が使用されています。

#### 品質試験

- 無菌試験
- pH
- 浸透圧
- エンドトキシン試験
- マイコプラズマ試験
- 細胞培養試験

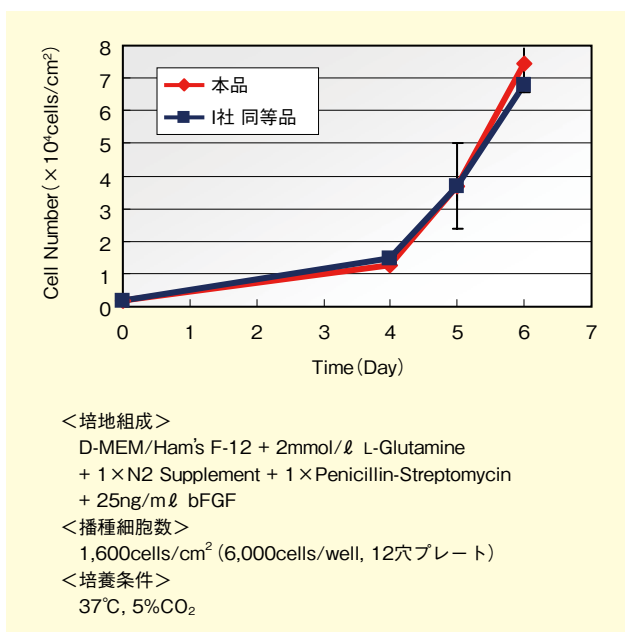
#### 組成

成分	CAS No.	濃度(μg/ml)
インスリン, 組換え体	11061-68-0	500.00
トランスフェリン(ホロ), ヒト由来	11096-37-0	10,000.00
プロゲステロン	57-83-0	0.63
プトレスシン	333-93-7	1,611.00
亜セレン酸ナトリウム	10102-18-8	0.52

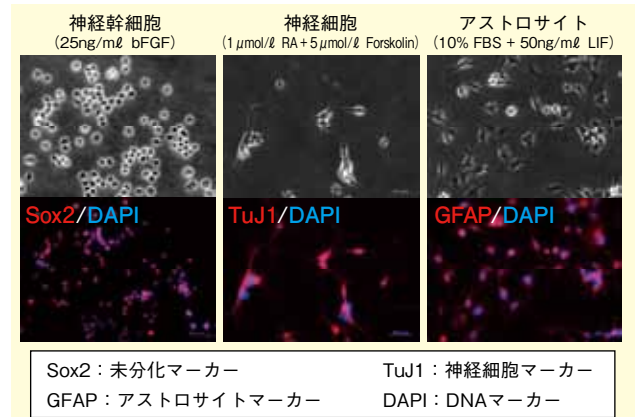
※：本品はD-PBS(-)で調製されています。

#### データ

### ラット海馬由来神経幹細胞の培養



### ラット海馬由来神経幹細胞の維持・神経分化・グリア細胞分化



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 141-08941	N2 Supplement with Transferrin (Holo) (×100)	細胞培養用	5ml	18,000

注：-20°C保存中に沈殿が生じることがありますが、使用上差し支えありません。

### ハイブリダイゼーション用試薬 Wako

#### デオキシリボ核酸, サケ精液由来

本品は、サザンハイブリダイゼーションやノーザンハイブリダイゼーション時のメンブレンへの非特異的吸着防止に用いられます。サケ精液由来のDNAを超音波破碎により断片化(500-1,000bp)し、フェノール・クロロホルムで抽出した凍結乾燥品です。分子生物学用グレードとして、DNase、RNase活性を確認しています。

#### 特長

- フェノール・クロロホルム抽出した凍結乾燥品
- DNA断片サイズ 500bp~1,000bp
- DNase、RNase活性確認済み

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
043-31381	Deoxyribonucleic Acid, from Salmon Sperm	分子生物学用	1g	8,000
049-31383			5g	30,000

#### 関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
040-31031	Deoxyribonucleic Acid Solution, from Herring Sperm	遺伝子研究用	10mg	6,100
046-31033			10mg×5	22,000
049-27191	5mg/ml Deoxyribonucleic Acid Solution, from Salmon Testes (Heat Denaturation)	遺伝子研究用	10ml	13,000
047-27511	10mg/ml Deoxyribonucleic Acid Solution, from Calf Thymus (Phenol-chloroform extracted)	遺伝子研究用	1ml	15,000
043-27513			1ml×5	59,000
043-21871	50×Denhardt's Solution	ハイブリダイゼーション用	50ml	7,000

## piRNA の精製に使用できます **抗 PIWIL1, モノクローナル抗体 (2C12)**

本抗体は、ヒトとマウスの PIWIL1 (HIWI と MIWI) を特異的に認識するマウスモノクローナル抗体です。ヒトやマウス由来の細胞及び組織サンプルから内在性 PIWIL1 タンパク質を免疫沈降できます。また、免疫沈降画分から RNA を精製することで PIWIL1 結合 piRNA を取得できます。

PIWI サブファミリータンパク質は、生殖細胞や幹細胞の一部で発現しており、piRNA による細胞の分化・発生制御機構に重要な役割を担っていると考えられています。

### [AGO サブファミリーと PIWI サブファミリー]

	Argonaute family	
	AGO subfamily	PIWI subfamily
Human	AGO1, AGO2, AGO3, AGO4	PIWIL1/HIWI, PIWIL2/HILI, PIWIL3, PIWIL4/HIWI2
Mouse	AGO1, AGO2, AGO3, AGO4	PIWIL1/MIWI, PIWIL2/MILI, PIWIL4/MIWI2
結合する RNA の種類	microRNA, siRNA など	piRNA など

### Argonaute family

small RNA を介する遺伝子発現制御機構に関与するタンパク質で、アミノ酸配列の相同性から AGO サブファミリーと PIWI サブファミリーに分類されることが知られています。

### 特長

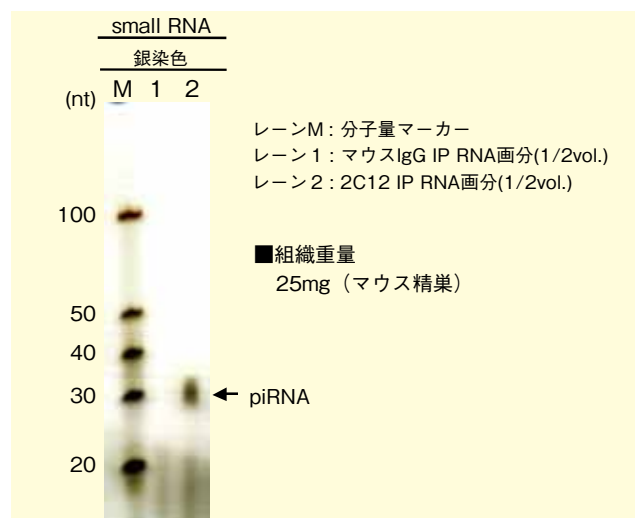
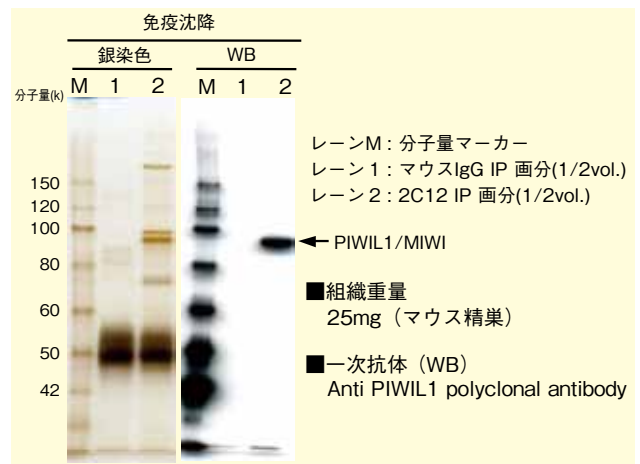
- 内在性 PIWIL1 タンパク質を免疫沈降できる
- PIWIL1 結合 piRNA を免疫沈降できる
- ヒト、マウスの細胞及び組織で使用できる

### 性状

- 濃度：ラベルに記載
- 組成：0.05% Sodium Azide, 50% Glycerol, TBS 溶液 (pH 7.4)
- クローン No.：2C12
- サブクラス：IgG<sub>3</sub>・κ
- 保存条件：- 20℃
- 使用量：5-10 μg/10% Protein G beads slurry (免疫沈降)

### 使用例

#### 内在性 PIWIL1 の免疫沈降と PIWIL1 結合 piRNA の精製 (マウス精巢)



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
017-23451	Anti PIWIL1, Monoclonal Antibody (2C12)	免疫化学用	100μl	照会

### 関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-22401	Anti Ago1, Monoclonal Antibody (1F2)	免疫化学用	50μl	30,000
015-22411	Anti Ago1, Monoclonal Antibody (2A7)	免疫化学用	50μl	30,000
011-22033	Anti Human Ago2, Monoclonal Antibody (4G8)	免疫化学用	50μl	30,000
015-22031	Anti Human Ago2, Monoclonal Antibody (4G8)	免疫化学用	100μl	50,000
014-22023	Anti Mouse Ago2, Monoclonal Antibody (2D4)	免疫化学用	50μl	30,000
018-22021	Anti Mouse Ago2, Monoclonal Antibody (2D4)	免疫化学用	100μl	50,000
018-23241	Anti Human Ago3, Monoclonal Antibody (1C12)	免疫化学用	50μl	30,000

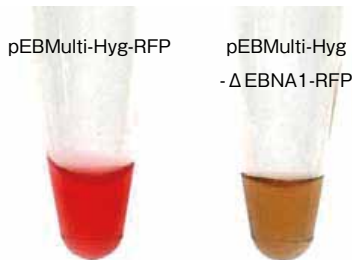
## 簡単に安定発現株が樹立できる Episomal 型複製ベクター



### pEBMulti ベクター

本品は、霊長類（ヒト、サル）、イヌなどの細胞に導入可能な遺伝子発現ベクターです。

本品は、Epstein-Barr Virus (EBV) 由来の複製起点 OriP と EBV Nuclear Antigen 1 (EBNA1) 遺伝子の働きにより、遺伝子導入細胞中において Plasmid が娘細胞に分配される Episomal 型ベクターです。



短期間で  
安定発現株が  
樹立できます!!

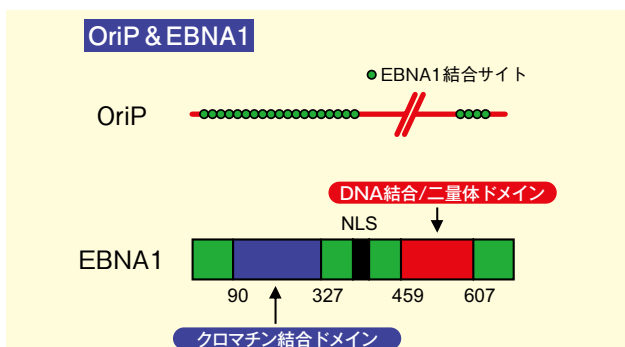
Hygromycin B 選抜 8 日目の RFP 発現細胞懸濁液  
ΔEBNA1…EBNA1 配列を含まない pEBMulti を示します。

### 特長

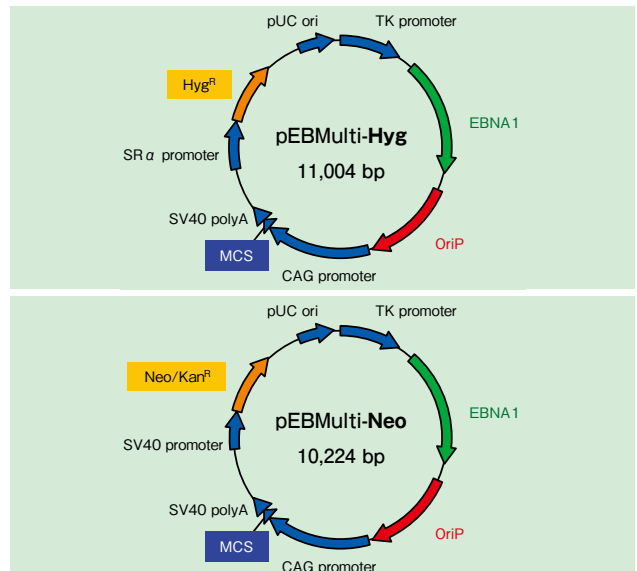
- 簡単に安定発現株を樹立できる
  - 宿主ゲノム DNA に組込まれない
  - シャトルベクター\*として使用できる
- \*: 1 種類の抗生物質で大腸菌・動物細胞のクローンを選抜できるベクター

### 性状

- ベクターサイズ: 約 11 kbp
- 精製法: 塩化セシウム密度勾配遠心法
- 組成: 10 mmol/l Tris-HCl (pH 8.0), 1 mmol/l EDTA
- 濃度: 1 μg/μl
- 大腸菌・動物細胞選抜抗生物質:
  - pEBMulti-Hyg…Hygromycin B
  - pEBMulti-Neo…G 418, Geneticin®, Kanamycin
- Nuclease 混入チェック: 電気泳動で確認済み
- MCS プロモーター: CAG



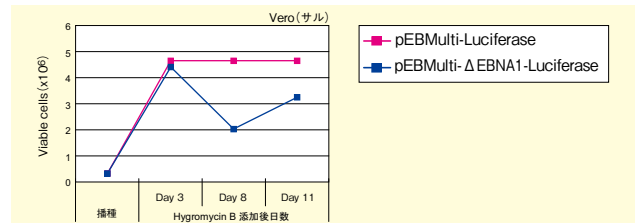
### ベクター概要



配列詳細情報は、当社ホームページ (<http://wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/pebmulti/index.htm>) をご参照下さい。

### データ

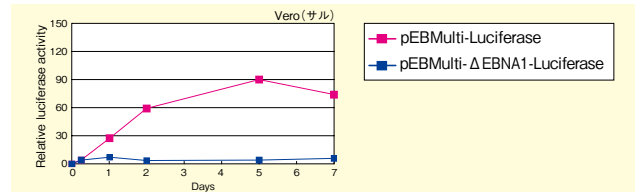
#### ■ 短期間で安定発現株を樹立



EBNA1 によって短期間で安定発現株を樹立した。

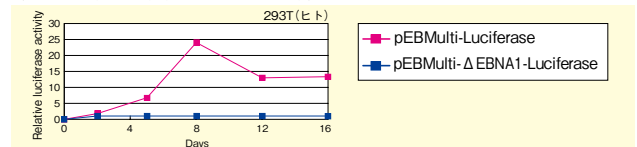
#### ■ Luciferase の発現持続性

〈短期間 (7 日) (継代操作なし)〉



EBNA1 による短期間 (7 日) の Luciferase の発現を確認した。

〈長期間 (16 日) (継代操作あり)〉



EBNA1 による長期間 (16 日) の Luciferase の発現を確認した。

上記データは、コントロール Luciferase 発現ベクターに対する相対活性を示しています。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
050-08121	pEBMulti-Hyg	遺伝子研究用	20μg	60,000
057-08131	pEBMulti-Neo	遺伝子研究用	20μg	60,000



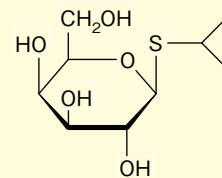
## 遺伝子発現誘導剤



### IPTG, ジオキサンフリー

本品は、Lac オペロン発現の誘導剤として使用されます。ラクトースリプレッサーに結合してその働きを阻害し、ラクトースを分解するβ-ガラクトシダーゼの発現を誘導します。これらの性質を利用して大腸菌における組換えタンパク質の大量生産や、遺伝子クローニングのブルーホワイトセレクションに使用できます。本品は生体に有毒なジオキサンを含みません。ジオキサンにより細胞機能が阻害される細胞への使用に適しています。

- 含量(HPLC) : 99.0% 以上
- 水溶状 : 試験適合
- CAS No. : 367-93-1



C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>S = 238.30

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
096-05861	Isopropyl-β-D(-)-thiogalactopyranoside	遺伝子研究用	1g	7,000
092-05863	【IPTG】、Dioxane-free		10g	30,000

## 遺伝子工学用試薬カタログ 2011-2012 発行!



- 約 200 品目の新製品を追加
- miRNA の機能解析ツール、マニュアルを掲載  
(microRNA 精製キット、クローニングキット、標的 mRNA スクリーニングキット)
- DNA シークエンス、マイクロアレイなど、受託サービスを充実ラインアップ
- エピジェネティクス自動化装置、等温増幅蛍光測定装置を新たに掲載

### 【掲載内容】

<b>1. small RNA</b> siRNA カスタム合成 蛍光修飾 siRNA コントロール siRNA microRNA 抽出キット 標的 mRNA クローニングキット 抗 Argonaute 抗体	<b>10. DNA シークエンス受託</b> 高速シークエンス (FLX、GAII) 次世代シークエンス関連情報処理 CUGA シークエンス DNA シークエンス (ABI3730xl)	<b>18. 無細胞タンパク質合成</b> 再構成系 無細胞タンパク質合成 昆虫培養細胞由来 無細胞タンパク質合成
<b>2. エピジェネティクス</b> エピジェネティクス研究用抗体 クロマチン免疫沈降 (ChIP) 解析用試薬 ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤 DNAメチル化解析用試薬 エピジェネティクス自動化システム	<b>11. 電気泳動</b> 核酸分子量マーカー アガロース ポリアクリルアミド、核酸染色用試薬、ウエスタンプロット	<b>19. アポトーシス</b> <b>20. 教育用パイオ実験</b> Dr.ジーンシリーズ ISOHAIR Jr.
<b>3. PCR</b> スタンダード PCR 用酵素 Hot-Start PCR 用酵素 高正確性酵素 関連製品	<b>12. マイクロアレイ</b> 3D-Gene DNA チップ マイクロアレイ解析 マイクロアレイデータ解析	<b>21. GMO 検出</b> 公定法準拠試薬 GMO 核酸抽出用試薬 食品衛生検査指針 理化学編 2005 記載法準拠試薬 LAMP 用 GMO 検知用試薬
<b>4. 定量 PCR</b> ファストプロトコル対応 qPCR キット スタンダード qPCR キット 関連製品	<b>13. ハイブリダイゼーション</b> ハイブリダイゼーション用試薬	<b>22. 受託サービス</b> Buffer 調製 核酸合成 cDNA ライブラリー作製 アプタマー合成・探索 FISH プローブ作製 FISH 法による染色体解析 8-OHdG 解析 微生物同定 組換えタンパク質発現
<b>5. 等温遺伝子増幅反応</b> 鎖置換型酵素 等温遺伝子増幅検出システム	<b>14. 核酸抽出/精製</b> RNA 抽出用試薬 DNA 抽出用試薬 プラスミド抽出試薬 自動核酸抽出装置 DNA クリーンアップ 核酸抽出・精製用試薬 RNase 阻害剤 関連製品	<b>23. その他</b> ATP 測定試薬
<b>6. 分子生物学用試薬</b> バッファー 分子生物学用試薬	<b>15. ライブラリー</b> CapSite Technology cDNA、mRNA、Total RNA	<b>24. Basic Protocol</b> <b>25. Appendix</b> 制限酵素地図および切断部位 受託サービス見積依頼書
<b>7. 遺伝子クローニング</b> 制限酵素 修飾酵素 クローニング用コンピテントセル DNA、ベクター、プライマー 関連製品	<b>16. 核酸合成受託</b> オリゴヌクレオチド合成 修飾オリゴヌクレオチド合成 siRNA 合成 Double-Dye Probe LNA 修飾オリゴ合成 Molecular Beacons リライアブルオリゴ	
<b>8. cDNA サブトラクション</b> DsDD cDNA Subtraction Kit	<b>17. 核酸合成試薬</b> DNA 合成用試薬 RNA 合成用試薬 DNA 合成装置	
<b>9. 遺伝子導入</b> 遺伝子導入試薬 遺伝子導入装置 酵母トランスフォーメーションキット レポーターアッセイ用試薬		

カタログの請求は、当社販売代理店、営業員までお問合せ下さい。

## アメデオ・アヴォガドロ (1776.8.9 - 1856.7.9)

科学史家 島尾 永康

## アヴォガドロの出自

アメデオ・アヴォガドロは、法律家、高級官僚、ピエモンテの上院議員だったフィリッポ・アヴォガドロ伯爵を父として、イタリアのトリノで生まれた。始めは教会法の専門職の家業についていたが、1800年ごろ(24歳)から数学と物理学を学び始め、ヴォルタの発見に刺激されて電気の実験をおこなった。1806年、トリノ・アカデミー付属のカレッジの実験教示者となり、1809年、ヴェルチェリ・カレッジの自然哲学教授、1820年、トリノ大学でイタリア最初の数理物理学教授に任命された。この大学は政治的理由で1822年から1832年まで閉鎖され、再開後フランスの有名な数学者コーシーが1年間その職にいた。アヴォガドロは1834年から1850年の定年までその職にいた。職は物理であるが、化学について多くの研究をおこなった。最大の業績は、思弁的なドルトン原子説と、完全に実験的なゲーリュサックの法則の双方を補完するアヴォガドロ仮説(1811)——現在では法則になっている——である。これは理論化学の基礎となった重要な仮説である(図1)。

## ゲーリュサックの気体反応の法則

ラヴォワジエの元素のそれぞれに異なる原子を対応させ、それに実験観測値から相対的重量を与えたドルトンの原子説は1808年に発表された(『化学哲学の新体系』第1部)。同じ年に、精密実験家ゲーリュサックは、「一般に気体反応では、一つの成分の体積を1とすれば、他は1、2、またはせいぜい3という、きわめて簡単な体積比で化合し、生成物も気体ならば簡単な比になる。……物質が同じ状態になり、規則的な法則に従うのは気体状態だけである、」という気体反応の法則を口頭で発表し、翌年論文を発表した(1809)。19世紀前半の化学に大きな影響を与えた気体反応の法則は、ゲーリュサック



図1. アメデオ・アヴォガドロ

の最大の業績の一つである(図2)。

ドルトンの原子説には同時代の化学者の多くは慎重だった。ゲーリュサックも、原子と原子の化合を考えるドルトンの「巧妙な説」は、ウラストンとトムソンの実験によって確認されていることに注目してはいたが、結局、原子説は思弁に過ぎないとした。ドルトンの原子説をいち早く世に紹介したトーマス・トムソンは、ゲーリュサックの論文はあなたの原子説にきわめて重要なものだとドルトンに告げたが、ドルトンはゲーリュサックを批判し(『化学の新体系』、第2部、付録)、生涯を通じてこの法則に反対した。精密実験家とはいええないドルトンが、ヨーロッパきっての精密実験家ゲーリュ



図2. ジョーセフ・ルイ・ゲーリュサック (1778-1850)

サックの精度を非難したのは奇妙なことだった。ドルトンは、「ゲーリュサックやフランスの化学者たちは原子やその化合を認めない。かれらは事実を表現するだけで、それ以上のことはできないのだ、」と批判した。

## アヴォガドロの仮説

ゲーリュサックの気体反応の研究を認めようとしなかったドルトンとは異なり、アヴォガドロはゲーリュサックの正にその論文から出発し、「原子の相対的重量と、化合物におけるその比率の決定法についての論考」と題する古典的な論文をフランスの『ジュルナル・ド・フィジック、ド・シミー、ディストアール・ナチュレル、デ・ザール』(1811)で発表した。題名は原子量と化合物中の原子数に関する研究であることを示している。ここに定温定圧ですべての気体の同体積は同数の粒子を含むという第一の仮説が提案される。この仮説はこの50年前にベルヌイによっても出されたことがあり、とくに新しいものではない。ドルトンも一度はこれを考え、棄てている。

重要なのは第二の仮説である。ゲーリュサックは、水素と酸素が100℃以上で反応して水蒸気を生成する反応の体積比は、2:1:2であることを示した。定温定圧ですべての気体の同体積は同数の粒子を含むとすれば、この反応は酸素粒子が2分されることによるのみ可能である。アヴォガドロは水素も酸素も二原子分子であるとして、この困難を克服した。この偶数の多原子分子の要請がアヴォガドロ仮説のきわめて独創的な貢献である。ドルトンは原子の分割は考えられないとして、結局、同体積・同数の仮説をも否定したのである。

この論文でアヴォガドロは世界で初めて水を、2原子の水素と1原子の酸素からなる $H_2O$ とした。ただし言葉で述べただけであって、このような分子式を出したのではない。同様にして水素は $H_2$ 、酸素は $O_2$ 、アンモニア

は $\text{NH}_3$ 、エタンは $\text{C}_2\text{H}_6$ 、樟腦は $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$ であるとした。

アヴォガドロは1811年の論文で、水、二酸化窒素、亜酸化窒素、アンモニア、一酸化炭素、塩化水素の分子中の原子数をだした。1814年の論文では、炭酸ガス、二硫化炭素、二酸化イオウ、硫化水素や、水銀、鉄、マンガンなど17種の元素の化合物中の原子数を出し、それにもとづいて分子量を出した。1811年から1821年まで何度もくりかえして、アヴォガドロ仮説を説明した。しかし投稿したフランスの雑誌が無名だったことや、その後の発表がすべてイタリアだったことでアヴォガドロ仮説は永らく認められなかった。二原子分子のアイデアは、アヴォガドロ仮説と同年に発表された当時最高に権威があった化学者ベルセリウスの電気化学的二元論と相容れなかったからである。

### アヴォガドロ仮説の反響と、原子量、分子式、当量に関する混乱

アヴォガドロ仮説が全面的に容認されたのは発表から50年後であるが、それまでもそれはときおり再発見されていた。アヴォガドロの3年後に電気学の研究で有名になるアンペールが、定温定圧で同体積の気体には同数の分子があるという仮説を独立に導きだしている(1814)。したがってこれ以後フランスでは、アヴォガドロ・アンペールの気体仮説またはたんにアンペールの仮説と呼ばれる。ただしかれはアユイの結晶学の影響を受けて、すべての分子を多面体と仮定し、そこから酸素分子や水素分子を4原子分子とした。とくに深く化学とかかわらなかった。その影響を受けたのはマルク・アントワヌ・ゴードン(1804-1880)だけである。ゴードンは分子は多面体という仮定は不要とし、単一元素の気体は二原子分子、水銀は単原子、水、アンモニア、それぞれ3原子分子、4原子分子とした。ゴードンはパ

リの経度局の計算者であり、いかなる教授職にも研究職にもつかなかった。したがってかれの論文はアヴォガドロ仮説の承認に何の影響力もなかった。

1814年、優れた分析家ウラストンは、ドルトンの化合物中の原子数の決め方は不確定で任意的なものであり、原子量は仮説的な数である。したがって採用すべきではない。当量こそ用いられるべきであるとした。これは多くの化学者に支持された。1818年、ベルセリウスが最初の原子量表を発表した。1819年、デュロンとプティが原子量と比熱の積は一定という法則を発見した。これは原子量の決定や、分子中の原子数の訂正に有効なことが明らかになった。同じ1819年、ベルセリウスの門下生ミッチェルリッヒが同形の法則による原子量決定法を発表した。これらにもとづいて改訂されたベルセリウスの『教科書』(1826)の原子量表は、現代のそれに近いものになった。

1826年、優秀な、若きデュマは、アンペールとアヴォガドロの仮説を熱心に支持し、蒸気密度決定法を発展させ、それによって正確な原子量が得られるとした。デュマの蒸気密度法はベルセリウスの原子量体系に混乱を引き起こした。同時代の化学者たちはベルセリウスが苦勞して作り上げた値を信頼せぬようになった。しかし水銀とイオウとリンの場合に変則が生じた。デュマは1836年には態度を変えて、原子にかかわるすべての概念に深い不信感をもつようになり、有名な『化学哲学講義』(1837)で、「自分の流儀でいけば、原子という語を化学から削除したい。それは実験の領域を超えるからである。化学は実験の領域を超えてはならないのだ、」と述べるにいたった(図3)。すでに大家となっていたデュマのこの言葉は化学者たちに影響を与えずにいなかった。ゲーリュサクやリービッヒさえも相対的原子量を確定的に決定することはできるのだろうか?と疑い始めた。ハンドブックの著

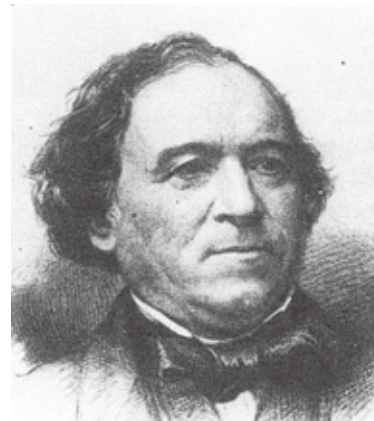


図3. ジャン・バチスト・アンドレ・デュマ(1800-1884)

者グメリンは、化合重量を優先した。ほとんどの化学者は相対的原子量は思弁であると考えようになった。しかし1842年、ベルセリウス原子量を支持するジュラルが現れた。ジュラルの考えは最初はやや混乱していたが、原子と分子をはっきり区別したローランと共同研究の結果、明快で簡単なものになった。かれはアヴォガドロの仮説を支持していたが、その名前に言及はしなかった。アヴォガドロの仮説を明快に名指しで著書(1844-46)で述べたのは、ポルドーの化学教授ボードリモン(1806-1880)である。

### カールスルーエ化学者国際会議

1860年9月3日から三日間、カールスルーエで化学者国際会議がおこなわれた。カールスルーエでは2年前、ドイツ科学者・医師協会の会合がもたれたが、今度は科学界で初の国際会議だった。とくに大きな出来事もない化学の歴史で、1860年のこの国際会議は重大な出来事として際立っている。カールスルーエはバーデン公国の首都で当時の人口は3.4万、化学工業で栄えていた。1825年にはドイツで最初の工科大学が設立された。会議を提案したのは、炭素の4原子価説を提唱した、31歳の気鋭のケクレと、カールスルーエ工科大学の47歳の無機化学教授ウェルツァインと、パリのデュマの後



継者、43歳のウエルツである。会議の目的は、原子、分子、当量などの基礎的概念についての化学者たちの理解を深め、統一を求めるというものである。英仏独語で書かれた趣意書が、バラール、ブンゼン、カニッツァーロ、リービヒ、ヴェーラー、ミッチェルリッヒ、オドリング、パストゥール、ロスコー、ヴィル、ツイニン、ウィリアムソンなど有名な化学者45人に送られた。このうち20人が出席した。

当日、14カ国から127人の化学者が出席した(ウエルツの記録)。その半数以上がドイツ人であった。有機化学が最も盛んに研究されたドイツでは、19世紀を通じてフランスとイギリスで激しくおこなわれた原子論論争が、全くなかった。カールスルーエ会議にドイツの若い有機化学者が多く参加したのは、原子量の問題への十分な関心を示すものであった。ヨーロッパ中に原子量への関心が盛り上がったときに、この会議がおこなわれたのである。この会議以後の20年間に名を成す研究者、たとえばバイヤー、バイルシュタイン、エルレンマイヤー、フレゼニウス、ランドルト、メンデレーエフ、ローター・マイヤー、ウィセリチェヌスらは、ほとんど出席していた。

### 発表の50年後に受容されたアヴォガドロ仮説

カニッツァーロ(1826-1910)はイタリアのパレルモ出身。ゼノア、パレルモ、ローマの各大学で化学教授となったが、いずれも実験設備が悪かった。この実験設備の悪さを補うためか、化学講義の改革にとくに力を入れた。「カニッツァーロ反応」で知られるが、オリジナルな研究よりも教育に才能があった。82歳まで教えたから、天性の教育者であろう。そのカニッツァーロの名を不朽にしたのは、アヴォガドロの仮説を強く擁護した、『化学哲学講義概要』(1858)(以下、概要と略述する)という冊子である。

アヴォガドロ仮説は近年の科学の進歩によって確認された、という声明でこの講義は始まる。19世紀前半の化学教育は経験主義を重視して、原子説は思弁的であるとして避けたが、原子説の演繹的な使用を化学教育の早い時期に導入すべきであるとしたのである。

アヴォガドロ仮説が直ちに多数の化学者に認められなかった理由を化学史的に説明し、とくにベルセリウスがそれを認めなかった理由を詳しく述べた。最後にその仮説からの分子量の導き方を説明した。この冊子は出版時には、ほとんど注目されなかったが、カールスルーエの化学国際会議以後しばしば再刊され、翻訳された。会議の3日目、カニッツァーロは、ジェラルムがアヴォガドロ仮説にもとづいて分子量の体系を立てたことを高く評価する、有名な演説をおこなって、アヴォガドロ仮説の価値を説き、ベルセリウスの体系がそれを考慮していないことを示した。カニッツァーロのスピーチは詳細で、3日間の他のスピーチ全部を集めたものと同じ長さだったことで目立った。

閉会にあたって、パヴィア大学のパヴェシがカニッツァーロの『概要』を配布したのも大きな効果があった。会議からの帰途、これを読んだローター・マイヤーは「目から鱗が落ちる」思いがして、アヴォガドロ仮説に転向した。アヴォガドロの死後4年である。ローター・マイヤー著、『化学の近代的理論』(1862)は、カニッツァーロが提唱した化学教育に見合った、演繹的に組織された、最初の化学教科書だった。会議以後アヴォガドロ仮説は急速に容認され、化学界の全員が一致する原子量体系が初めてできた。原子量の順に並べて、同じ族の元素が周期的に現れる周期表が可能になったのも原子量の統一があったればこそである。ローター・マイヤーの短周期型周期表は1870年に発表された。メンデレーエフも会議に出ていたが、その有名な教科書、『化学の原理』、第

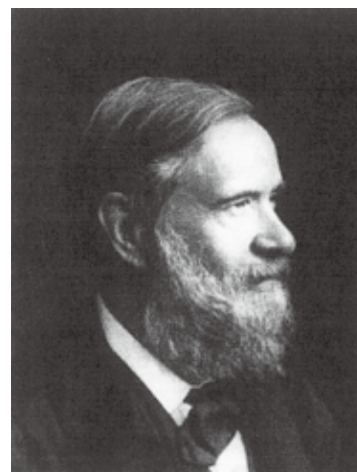


図4. スタニスラオ・カニッツァーロ(1826-1910)

5版(1891)で、「アヴォガドロの法則(すでに法則と呼ばれていた)に従ったジェラルムの原子量と分子式の支持を先導したのはカニッツァーロである。1870年代にはこの新しいジェラルムの原子量は確立された、」と述べている(図4)。

### 【参考文献】

*Foundations of the Molecular Theory*, Papers by Dalton, GayLussac and Avogadro, (1808-1811), *Alembic Club Reprints*, No. 4 (1969). ; Cannizzaro, S.: *Sketch of a Course of Chemical Philosophy*, (1858), *Alembic Club Reprints*, No. 18 (1969). ; Tilden, A.: "Cannizzaro Memorial Lecture", *J. Chem. Soc.*, **101**, 1677-1693 (1912). ; De Milt: "Carl Weltzein and the Congress at Karlsruhe", *Chymia*, **1**, 153-169 (1948). ; Nash, L. K.: *The Atomic-Molecular Theory*, Harvard University Press (1950). ; Pauling, L.: "Amedeo Avogadro", *Science*, **124**, 710-713 (1956). ; Partington, J. R.: "Amedeo Avogadro", *Nature*, **178**, 8-9 (1956). ; Ihde, A. S.: "The Karlsruhe Congress: A Centennial Retrospect", *J. Chem. Edu.*, **38**, 83-86 (1961). ; Coley, N. G.: "The Physico-Chemical Studies of Amedeo Avogadro", *Annals of Science*, **20**, 195-210 (1964). ; Maukopf, S. H.: "The Atomic Structural Theories of Ampère and Gaudin: Molecular Speculation and Avogadro's Hypothesis", *Isis*, **60**, 61-74 (1969). ; Knight, D. M.: *Atoms and Elements*, Hutchinson of London (1967). ; Crosland, M. P.: "Avogadro, Amedeo", *Dic. Sc. Biogr.* Vol. I, 343-350 (1970). ; Leicester, H. M.: "Cannizzaro, Stanislao", *Dic. Sc. Biogr.* Vol. III, 45-49 (1971). ; Brooke, J. H.: "Avogadro's Hypothesis and its Fate: A Case-Study in the Failure of Case-Studies", *History of Science*, **19**, 235-73 (1981). ; Fisher, N.: "Avogadro, the Chemists, and Historians of Chemistry: Part I", *History of Science*, **20**, 76-102, 212-231 (1982).

# UHPLC対応カラム



## Wakopak® Ultra

近年、高速かつ高分離能の分析を行うための手段として超高速液体クロマトグラフィー (UHPLC) が広く利用されています。この度、超高速液体クロマトグラフィーにご使用いただける新製品 Wakopak® Ultra C18-2 の販売を開始しました。

本品は、高耐圧シリカゲルの採用により、75MPa以上で高圧充填されたカラムです。ODSを高圧充填することでカラム耐圧が高くなり、ポイドが発生しにくくなるため耐久性に優れています。また、精密分級により粒度分布の幅が狭く、低カラム圧で高理論段数が得られます。テーリングの起こりやすいアセトニトリル/りん酸緩衝液移動相においても、ほとんどテーリングのないピークが得られます。

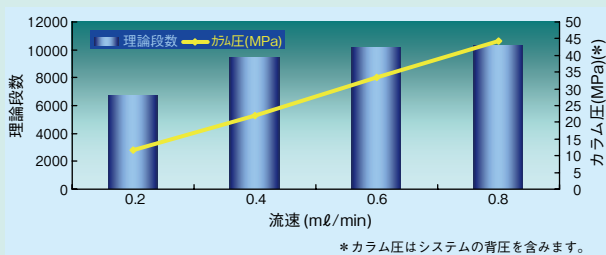
### 特長

- 塩基性化合物をシャープに分離
- 幅広いpH領域で使用可能
- シャープな粒度分布により低圧力・高理論段数



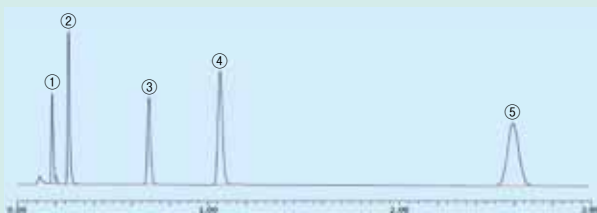
### データ

#### 流速とカラム理論段数、カラム圧力



UPLC Conditions  
 Column : Wakopak® Ultra C18-2 (2.1 × 50mm)  
 Eluent : CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40 (v/v) Temp. : 40°C  
 Detection : UV 254nm Sample : Naphthalene

#### 塩基性化合物の分析例



試料 : ①uridine 2mg ②procainamide HCl 5mg ③phenol 20mg ④2,4,6-trimethylpyridine 10μl ⑤methyl benzoate 50μl in 100ml 30%CH<sub>3</sub>CN  
 注入量 : 1μl  
 カラム温度 : 40°C  
 溶離液 : CH<sub>3</sub>CN 30+10mmol/l K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH 7.6) 70 (体積比)  
 流量 : 0.6ml/min  
 検出器 : UV 254nm

コード No.	品名	カラムサイズ (mm)	容量	希望納入価格 (円)
NEW 232-63483	Wakopak® Ultra C18-2	Φ2.1 × 30 (W)	1本	58,000
NEW 239-63493		Φ2.1 × 50 (W)	1本	58,000
NEW 232-63503		Φ2.1 × 75 (W)	1本	60,000
NEW 239-63513		Φ2.1 × 100 (W)	1本	60,000
NEW 236-63523		Φ3.0 × 30 (W)	1本	59,000
NEW 233-63533		Φ3.0 × 50 (W)	1本	59,000
NEW 230-63543		Φ3.0 × 75 (W)	1本	65,000
NEW 237-63553		Φ3.0 × 100 (W)	1本	65,000

### 関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
214-01301	Ultrapure Water	LC/MS 用	1ℓ	2,200
210-01303			3ℓ	4,200
016-19854	Acetonitrile	LC/MS 用	100ml	2,300
012-19851			1ℓ	7,000
018-19853			3ℓ	16,500
132-14524	Methanol	LC/MS 用	100ml	1,450
138-14521			1ℓ	1,700
134-14523			3ℓ	3,600

※LC/MS用溶媒の製品規格に、新たに「パーティクル (0.5μm以上) : 100個/ml以下」の試験項目を追加しました。

掲載されている試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるものであり、「医薬品」、「食品」、「家庭用品」などとしては使用できません。

記載希望納入価格は本体価格であり消費税などが含まれておりません。

和光純薬時報 Vol. 79 No. 2  
 2011年4月15日発行  
 発行責任者 糸博之  
 編集責任者 大西礼子  
 発行所 和光純薬工業株式会社  
 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号  
 TEL.06-6203-3741 (代表)  
 URL <http://www.wako-chem.co.jp>  
 印刷所 共進社印刷株式会社

●和光純薬時報に対するご意見・ご感想はこちらまでお寄せ下さい。  
 E-mail [jiho@wako-chem.co.jp](mailto:jiho@wako-chem.co.jp)

●製品に対するお問合せはこちらまでお寄せ下さい。  
 Please contact us to get detailed information on products in this journal.

■和光純薬工業株式会社 (Japan) <http://www.wako-chem.co.jp>  
 フリーダイヤル (日本のみ) 0120-052-099 / Tel 81-6-6203-3741  
 フリーファックス (日本のみ) 0120-052-806 / Fax 81-6-6201-5964  
 E-mail [labchem-tec@wako-chem.co.jp](mailto:labchem-tec@wako-chem.co.jp)

■Wako Overseas Offices :  
 ・Wako Chemicals USA, Inc. <http://www.wakousa.com>  
 Toll-Free (U.S. only) 1-877-714-1920  
 Head Office (Richmond, VA) : Tel 1-804-714-1920 / Fax 1-804-271-7791  
 Los Angeles Sales Office (Irvine, CA) : Tel 1-949-679-1700 / Fax 1-949-679-1701  
 Boston Sales Office (Cambridge, MA) : Tel 1-617-354-6772 / Fax 1-617-354-6774

・Wako Chemicals GmbH <http://www.wako-chemicals.de>  
 European Office (Neuss, Germany) : Tel 49-2131-311-0 / Fax 49-2131-311100