

## 医薬品イオンを対象とするイオン選択性電極

吉柳 節夫

### Ion-Selective Electrodes Sensitive to Drug Ions

Setsuo KIRYU

**ABSTRACT** In this review, ion-selective electrodes sensitive to 10 anionic and 40 cationic drug ions are listed. Applications of ion-selective electrodes to drug analyses, physicochemical studies of drug solutions and some other pharmaceutical studies are discussed.

#### I はじめに

近年種々のセンサー類が長足の進歩を遂げ、様々な分野で実用化されている。第五世代を目指すコンピューターが人間の頭脳に例えられるなら、センサーは五感に相当するものと言えよう。光、温度、圧力などのセンサーと並んで物質(分子やイオン)を識別感知してその量に応じた電気的信号に変換するデバイスすなわち化学センサーの開発も活発に行われている。上に述べた意味では大半の分析機器がその定義に当てはまることになるが、センサーという語感には、まず小形であること、また物質を認識する表面を有していること等のニュアンスが含まれているように思われる。その表面(センサー素子)が、いかに物質を区別して認識し得るか(選択性)、いかに微量の物質を感知し得るか(感度)、いかに定量的に再現性のある信号を発し得るか(安定性)、いかに速い速度で応答するか、等が優れた化学センサー素子として具備すべき基本的要件と言えよう。酵素反応や免疫反応などの生物学的反応は選択性という点で極めて特長的であり、現在物質センサーの開発研究の関心はこれらを素子として利用した酵素センサーや免疫センサーなどのいわゆるバイオセンサーに集中している観がある。これらについては既に邦文の総説も多く、また一、二の成書も出版されている<sup>1)</sup>。素子が捕えた物質情報を電気信号に変換する機構には大別して2種類あり、一つは反応電流を利用するアンペロメトリーであり、他の一つは電極電位変化を利用するポテンシオメトリーである。これらには最近の半導体技術の導入も盛んであり、そのことがセンサーの小形化、マイクロ化に一層の拍車をかけている。この小論ではこれらのセンサー

の中で歴史的に古く、また種々の発展形のセンサーの基本電極の役割をも果しているイオン選択性電極 (ion selective electrode, 以下 ISE と略称する), その中で有機医薬品イオンを対象としたものについて概観する。ただし説明に必要な最小限の部分を除き ISE 自体についての一般的事項 (起電力発生や選択性の理論, 具体的構造, 一般的用法など) には言及する余裕がないので, 既存の成書<sup>1a, 2)</sup>などを参照して頂きたい。

## II イオン選択性電極の原理

### 1. 膜電位

組成の異なる電解質溶液 I と II をイオンは通過させるが溶媒は通さない膜で隔てると両溶液の間に電位差が発生し, これを膜電位という。ここで膜がある特定のイオン種  $i$  のみを選択的に通過させ他種イオンを通過させない性質をもっている膜電位  $E_M$  は次式で表わされる。

$$E_M = -\frac{RT}{zF} \ln \frac{a_{II}}{a_I} \quad (1)$$

ここで  $R$  は気体定数,  $T$  は温度,  $a$  はイオン  $i$  の活量,  $z$  はその電荷数,  $F$  はファラデー定数である。溶液 II 中の目的イオンの活量 (したがって濃度) を一定に保つと,  $E_M$  は  $\ln a_I$  に対して 1 次の関係となる (添字 I を略す)。

$$E_M = E_M^\circ + s \log a \quad (2)$$

ここで  $E_M^\circ$  は  $-(RT/zF) \ln a_{II}$ , また  $s$  はネルンスト係数 (ネルンスト勾配)  $2.303 RT/zF$  で  $25^\circ\text{C}$  では 1 価の陽イオンに対し  $59.2 \text{ mV}$  である。そこで図 1 のような電極を構成すると, この電極は試料溶液中の目的イオンについて (1), (2) 式に従う応答をすることになる。



図 1 イオン選択性電極の基本構造

- 1) イオン感応膜, 2) 内部電極 (銀-塩化銀電極またはカロメル電極), 3) 内部液 (目的のイオン及び塩素イオンを含む水溶液)

このような構造の電極をイオン選択性電極という。参照電極や内部電極には通常の銀—塩化銀電極やカロメル電極が用いられる。ただ1種類のイオンに完全な選択性を有する膜は現実には存在せず、共存する類似イオンに多少とも感応するのが普通である。共存する他種イオン  $j$  の影響は次のニコルスキーの式で表わされる ( $z = z_i/z_j$ )。

$$E = E^\circ + s \log(a_i + k_{ij} a_j^z) \quad (3)$$

ここでは  $K_{ij}$  は選択係数と呼ばれ、この値の小さい程、イオン  $j$  の影響(妨害)は小さい。

イオン選択性電極として最も歴史の古いものに水素イオンに感応するガラス電極がある。ガラス電極は今世紀初頭 Cremer によってガラスの薄膜が水素イオンに感応することが発見されたことに始まり、今日 pH メーター用電極として広く実用に供されている。その後ガラス膜は組成によってはナトリウムイオンなどのアルカリ金属イオンにも感応することが見られ、一般的なイオン選択性電極の端緒となった。

## 2. イオン感応膜

ISE の成否はいかに優れた感応膜を発見するかにかかっている。膜の種類には次のようなものが挙げられる。

(a) **ガラス膜** 前述のガラス電極用膜で水素イオン測定用として登場したが、そのアルカリ誤差の研究からアルカリ金属イオンに感応するガラス膜が開発され、ナトリウム、カリウムイオン電極として実用に供されている。

(b) **難溶性塩膜** 主に重金属の難溶性塩の単結晶あるいは粉末を成形したもので、その金属イオンあるいはその対イオンとなる陰イオンに感応する。市販電極用として実用化されているものも多いが、とくにフッ化ランタン単結晶を用いたフッ素電極は評価が高い。ただ本論文の主題である有機物イオンについてはその例がほとんどない。

(c) **イオン交換体溶液膜** この膜は目的イオンを適当な対イオンと組み合わせて脂溶性イオン対化合物(イオン交換体)を形成させ、それを有機溶媒に溶かしたものである。対イオンとしては、カルボン酸などの陰イオンには長鎖アルキル基を含む四級アンモニウム塩、例えばクリスタルバイオレット、セチルトリメチルアンモニウム塩、メチルトリカプリルアンモニウム塩(商品名ドータイト・カプリコート)、テトラデシルジメチルベンジルアンモニウム塩(ドータイト・ゼフィラミン)などが用いられ、陽イオン用としてはテトラフェニルホウ酸塩、ジノニルナフタレンスルホン酸塩などが用いられる。また溶媒としてはイオン交換体の溶解性と溶液中での導電性の兼ね合いから、ニトロベンゼン、ジクロロエタン、デカノールなどが多用されている。比較的多くのイオン種について応用可能で医薬品を含む大半の有機イオン感応電極の報告例はこの型の膜(後述のプラスチック膜を含む)によっているが、反面選択性に劣るという難点がある。ま

た液体膜であるため電極の製作や使用は必ずしも便利ではない。

(d) ニュートラルキャリアー溶液膜 抗性物質バリノマイシン(図2)はそれ自身電氣的に中性であるが、カリウムイオンと選択的に錯イオンを形成し、かつ有機溶媒に可溶である。

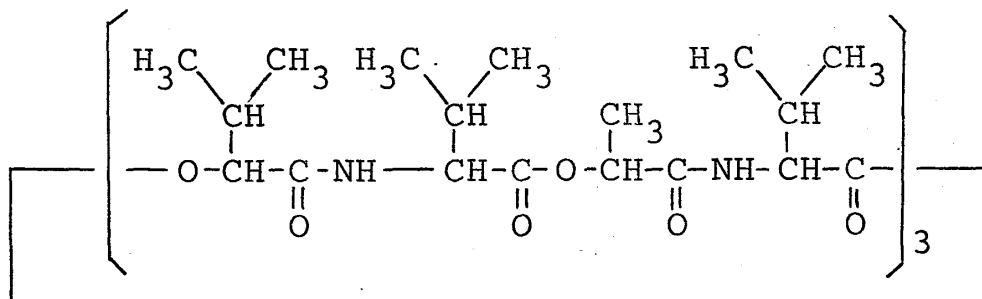


図2 バリノマイシンの構造

D-ヒドロキシイソ吉草酸, D-バリン, L-乳酸, L-バリン各3分子よりなる36員環の環状ペプチドでカリウムイオンを包みこみ膜物質に溶解する。

同様にノナクチン, モナクチンはアンモニウムイオンに対して選択的に結合する。これらのイオンとキャリアー(イオノホア)との結合は単にイオン—イオン間, イオン—双極子間相互作用のみでなく, キャリヤー分子の立体構造と目的イオンの大きさや形状との適合性に支配されるので, 特定イオンに対して極めて優れた選択性を示すことになる。キラルなキャリアーを用いることによってエフェドリンの光学異性体の一方により大きく感応する電極も発表されており<sup>4)</sup>, 将来光学活性イオンの一方のみに感応する膜の可能性が期待される。このようにISEとしては最も将来性が期待されており, クラウンエーテル類などの新しいキャリアー化合物の合成研究も盛んである。ただ現在のところ, 開発研究の対象となっているイオンは水素, アンモニウム, アルカリ金属, アルカリ土類金属などのイオンが主で少数のアミン類を除き有機物イオンを対象とした研究例は少ない。

(e) 高分子膜 上述の液膜類がそれを用いる電極の製作や使用が不便なことから, イオン交換体やニュートラルキャリアーをポリ塩化ビニル, エポキシ樹脂などの高分子マトリックスに溶解させて固体膜化したものである。また高分子マトリックス自身に対イオン物質として利用される場合もある(有機溶媒を含浸させた親油性イオン交換樹脂膜<sup>5)</sup>など)。

### 3. 電極の構成

原理的には図1に示す通りに構成し, これと参照電極を試料溶液に浸すことによって次のような電池が構成されることになる。

参照電極 | 試料液 | 感応膜 | 内部液 | 内部電極 (4)

この電池図で感応膜より右側全体が図1の電極に相当する。最近は内部液と内部電極を省き、感応膜に直接リード線を接続した次のような構造のものも増加している。

参照電極 | 試料液 | 感応膜 | 金属線 (5)

このような電極での電位差発生メカニズムはもはや前述の膜電位理論では説明できないが、同様なネルンスト電位を発生する。現在ほとんどの難溶塩型電極はこの構造をとっており、また高分子膜で金属線先端やグラファイト棒表面を被覆したものは coated wire electrode (以下CWE) と呼ばれ微小電極としての有用性が期待される。ISEはその構造上微小化が容易であって、液膜を毛細管先端部分に形成させることによって、生体内挿入可能なアセチルコリン電極<sup>6)</sup>、また合成ニュートラルキャリア液膜を用いた細胞内ナトリウムイオン<sup>7)</sup>、水素イオン<sup>8)</sup> 測定用の微小電極も考案されている。また試料液を小濾紙片に浸み込ませたものを平板状電極にはさんで測定する例<sup>9)</sup>なども報告されている。

#### 4. イオン選択性電界効果トランジスタ

電界効果トランジスタ (field effect transistor, FET) のゲート表面にイオン感応膜を形成させたもので、小形センサーとしての将来性が期待されている。医薬品関連のものとしては、ペニシリン FET<sup>10)</sup>、フェノバルビタール FET<sup>11)</sup> が発表されている。ペニシリン FET はペニシリン感応酵素電極の FET 化であり、フェノバルビタール FET はフェノバルビタール感応 PVC 膜を応用したもので  $10^{-1} \sim 10^{-4}$  M の間で直線応答が得られている。

### III 医薬品イオン感応電極

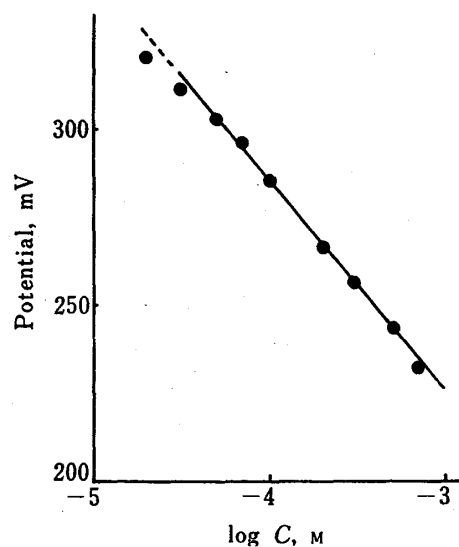
1980年までに発表されたものの多くは Cosofret の成書<sup>3)</sup> に集録されているが、1984年9月までに発表されたものを表1, 2 にリストアップした。表に伺われるように大多数がイオン交換体溶液を用いる液膜型あるいは高分子膜型 (coated wire 型を含む) で構成されており、ネルンスト応答の下限濃度は  $10^{-4} \sim 10^{-5}$  M、とくに高感度のもので  $10^{-6}$  M 程度である (図3, 4)。

表1 陰イオン性医薬品感応電極

	型*	文献		型	文献	* LM イオン交換液膜型, NC ニュートラルキャリア型, PVC ポリ塩化ビニル膜型, CWE 被覆線型, FET 電界効果トランジスタ型, SM 難溶性塩膜型。
サリチル酸	LM	28, 33	ナプロキセン	LM	32	
	PVC	29	バルビタール	LM	33	
パラアミノサリチル酸	LM	28	フェノバルビタール	CWE	13	
ニコチン酸	LM	30		FET	11	
	SM	30	スルファメラジン	LM	34	
メフェナム酸	PVC	31	スルフイソミジン	LM	34	
フルフェナム酸	PVC	23				

表2 陽イオン性医薬品感応電極

型	文献	型	文献
エフェドリン	LM, PVC 35	チアミン	LM 28, 36
	LM 36	ピリドキシン	LM 28, 36
	NC 4	ジフェンヒドラミン	LM 28
メチルエフェドリン	LM, PVC 35	クロルフェニラミン	PVC 45
モルヒネ	LM 37	クロルプロマジン	LM 36
ジオニン	LM 37		PVC 46
コデイン	LM 37	プロメタジン	PVC 46
パパベリン	LM 36	ペルフェナジン	PVC 46
メサドン	CWE 39	プロカイン	LM 36
コカイン	CWE 39	ノボカイン	CWE 38
アトロピン	LM 41		LM 40
ノバトロピン	LM 41	アミロカイン	LM 36
スコポラミン	LM 42	アンフェタミン	LM 36
ニコチン	LM 43	メチルアンフェタミン	CWE 39
キニジン	LM 36	プロプラノロール	CWE 47
ストリキニーネ	LM 44	phencyclidine	PVC 48
エメチン	LM 36	protriptyline	CWE 39
アコニチン	CWE 38	Acebutalol	CWE 49
ネオスチグミン	LM 28	Verapamil	CWE 49
コリン	LM 6	Diltiazem	CWE 49
アセチルコリン	LM 6	Nicardipine	CWE 49
	CWE 38	Lidoflazine	CWE 49
メタコリン	LM 28		

図3 フルフェナム酸感応電極の応答<sup>23)</sup>

フルフェナム酸のカプリコート塩をイオン交換体として含むPVC膜型電極。

#### Ⅳ イオン選択性電極の応用

##### 1. 分析化学における応用

分析手段としてのイオン選択性電極の長所としては次のような点があげられる。1) 小形簡便であり、電極を検液に浸すだけで目的イオンの分析が可能である。2) (2)式に示されるように濃度（正確には活量）の対数に対して直線的な応答が得られるので、極めて広い濃度範囲にわたって希釈の必要がないこと。これらは戸外の環境分析などにも適した利点といえる。さらに、3) 微小化が可能なこと。すなわち前述のように細胞内適用可能な微小電極の製作が可能であり、ISFETは電極のマイクロ化に大きく寄与するものと思われる。

またゼロ電位差法（2本の同種の電極を試料溶液と濃度既知の標準溶液とに浸して両液を塩橋で連絡し、標準溶液の濃度を変化させて両液間の電位差が0となったとき、両液の濃度が等しくなったとする方法）を応用すると微小容量の検液濃度を滴定によって求めることができる<sup>12)</sup>。ISEの欠点としては、1) 応答下限濃度  $10^{-5}$  M程度は通常の分析手段としては十分な感度とは言い難い。ISEの感度を定める要因は目的イオンの膜と溶液間の分配であるから、イオン交換体の膜内濃度を小さくすれば感度は良くなるが、そのことは同時に膜のイオン導電性を低下させることになる。ISFETは表面膜の導電性を必要としないので、この点もISFETの利点の一つとされている。2) (2)式に示されるように起電力は正確には濃度ではなく活量の対数に対して直線的である。イオン溶液は本質的にかなりの低濃度まで理想溶液に近似できないので濃度測定を目的とする場合にはこの点の考慮が必要である。3) 電位が濃度の対数に対して直線的であることは電位測定から計算される濃度の値について高精度が期待できない。例えば1価のイオンについて電位1mVの誤差は濃度に対して約4%の誤差となる。4) 安定性についてはとくに低濃度で良好でない場合が多い。また低濃度では応答速度も遅くなり分単位となる。このことは流れ系の検出器としての応用をはばむことにもなる。このような点から、検量線法や標準添加法による直接ポテンシオメトリーは一般的な定量法としては優秀な方法とは言えない。それにもかかわらず、簡易な方法でありながら、錠剤中のフェノバルビタールの定量に応用して、分光光度法によるUSP法に

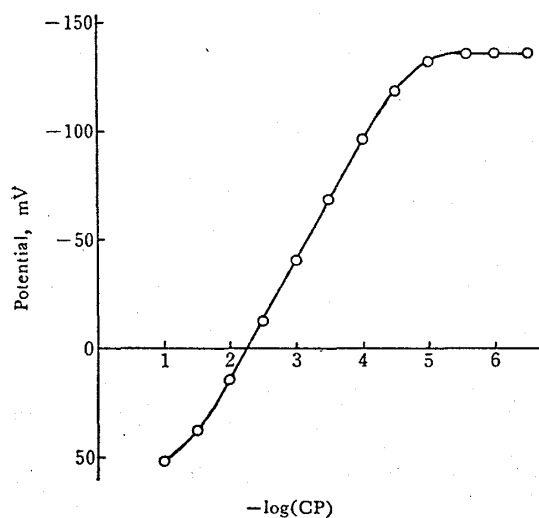


図4 クロルフェニラミン電極の応答<sup>45)</sup>

クロルフェニラミンのテトラフェニルホウ素塩をイオン交換体とするPVC膜型電極。

匹敵する結果が得られている<sup>13)</sup>。分析機器としてのISEの応用は滴定での指示電極としての利用が最も効果的であり、分析化学的応用に関する報告の多くは指示電極としての応用例である。指示電極としては必ずしも目的イオンのイオン交換体を含有するものでなく、可塑剤(フタル酸ジオクチルなど)のみを含有するPVC膜を用いたCWE型電極でアミン類の定量が可能な場合もあり、メサドン<sup>14)</sup>、デキストロメトルファン、ジフェンヒドラミン<sup>15)</sup>、mefloquin<sup>16)</sup>、cyclidine、procyclidine、diethylcarbamazine<sup>17)</sup>などへの適用例が報告されている。

## 2. 溶液の物理化学への応用

(a) 活量の測定 溶液濃度が希薄になれば活量は濃度と一致するというのが溶液を取り扱う場合の通念で

あるが、イオン溶液の非理想性はかなり低濃度まで顕著である。ISEの応答が活量の対数に対して直線的であることは活量あるいは活量係数の測定に本質的に適しており、無機イオンの活量測定には利用されているが<sup>18)</sup>、有機物イオンへの応用例はない。しかしながら比較的高濃度の医薬品イオンを取り扱う際には当然活量を考慮に入れるべきであり、そのための手段としてISEの応用が検討されてしかるべきである。

(b) 溶液中でのイオン会合の測定 ISEに感応するのは遊離のイオンのみであるから、イオン解離や会合は直接起電力に反映する。同一イオン種では界面活性物質のミセル形成現象の解析が代表的なもので、山内らはアルキル硫酸イオンのミセル形成への各種共存イオンの影響を調べており<sup>19)</sup>、またRyuらは胆汁酸イオンのミセル形成について、対イオンであるナトリウムイオンの影響、共存するリン脂質の影響などを解析した<sup>20)</sup>。薬学分野で関心が高いのは血清アルブミンなどの高分子物質を含む他分子と医薬品イオンとの相互作用であるが、既に1974年にBirshらはドデシル硫酸イオンと血清タンパク及び合成水溶性高分子との結合等温線が滴定によって簡単に得られることを示した<sup>21)</sup>。医薬品ではないが市販銅イオン電極を用いた滴定から、銅イオンと血清アルブミンの結合曲線が得られ、2種の結合点での結合パラメータが得られている<sup>22)</sup>。生体高分子との相互作用としては、その他に、フルフェナム酸—血清アルブミン<sup>23)</sup>、けい光試薬 ethidium—DNA<sup>24)</sup>、また合成高分子としてデキストラン硫酸イオンやポリスチレン硫酸イオンとアルキルアンモニウムイオンの結合<sup>25)</sup>測定に應用されている。いずれの場合にも分離操作が必要でなく、簡

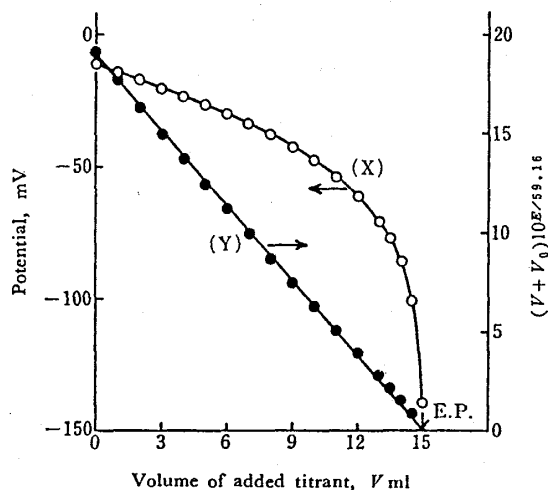


図5 クロルフェニラミン電極を指示電極とする滴定曲線<sup>45)</sup>

テトラフェニルホウ素液によるクロルフェニラミンの滴定曲線(X)及びそのグランプロット(Y)。E. P.: 終末点。



単な滴定操作で測定が行えるというのが特長的である。

3. その他 興味あるバイオセンサー的利用として、カリウムイオンキャリアーの分子構造の一部にジゴキシンを含むものを合成し、ジゴキシン抗体と結合したキャリアーが膜透過能を失なうことから、カリウムイオン添加溶液中でのジゴキシン抗体感応電極の例が報告されている<sup>26)</sup>。また免疫反応によって破壊されるリポソームの内部にマーカーとしてアルキルアンモニウムイオンを含有させたものとそのイオンに感応するISEとを組み合わせた免疫電極的应用も試みられている<sup>9)</sup>。

変わった応用例として、薬物の定量的構造活性相関への応用<sup>27)</sup>が試みられている。構造活性相関にはしばしば線形自由エネルギー関係が応用され、基本構造の化合物に各種置換基を導入した場合に、例えば分配係数などの物性値に基づきそれぞれの置換基に固有なパラメータを定め、薬効(多くはその対数)とパラメータ間の線形関係を導くことが行われる。電極としては硝酸イオン電極を用いているが、起電力より求めたモルギブズエネルギー変化 $\Delta G^\circ$ に同様な置換基パラメータを定義し、各種置換安息香酸の毒性や直鎖アルキル脂肪酸の芽胞発育抑制効果に線形関係を見出している。

#### IV おわりに

化学センサーの中で歴史の古いISEはすでに評価も定まり、より高感度、高選択性を求めて、大方の関心は酵素電極、免疫電極などのバイオセンサーに移った感がある。今後のISEの発展の方向は、ハードウェアの面では新キャリアー物質の合成による高選択性のニュートラルキャリアー型膜の開発、またISFETに代表されるマイクロ化などであろう。それにもかかわらず感度向上の点では今後とも他の高感度分析機器に対して優位に立つとは考え難い。しかしISEには高い濃度範囲までのイオン活量を *in situ* で測定できることなど、他の方法の追随を許さない特長もっている。今後は新しい応用分野の開発、すなわちソフトウェア面の開発研究が一層望まれる。

## 文 献

- 1) 単行本としては、例えば、a) 鈴木周一編，“イオン電極と酵素電極”，講談社，東京，1981；b) 清山哲郎ほか編，“化学センサー”，講談社，東京，1982；c) 鈴木周一編，“バイオセンサー”，講談社，東京，1984；総説としては、例えば，化学，**36**，508-542 (1981) のバイオセンサー特集。
- 2) a) “Ion-Selective Electrodes in Analytical Chemistry, 1 and 2”, ed. by Freiser, Plenum Press, New York, 1978; b) Morf, W.E., “The Principles of Ion-Selective Electrodes and Membrane Transport”, Elsevier, Amsterdam, 1981; c) Koryta, J., Stulik, K., “Ion-Selective Electrodes”, Cambridge University Press, GBR, 1983; d) Ma, T.S., Hassan, S.S.M., “Organic Analysis Using Ion-Selective Electrodes, 1 and 2”, Academic Press, London, 1982.
- 3) Cosofret, V.V., “Membrane Electrodes in Drug Substances Analysis”, Pergamon Press, London, 1982.
- 4) Bussman, W., Simon, W., *Helv. Chim. Acta*, **64**, 2101 (1981).
- 5) a) Imato, T., Jyo, A., Ishibashi, N., *Anal. Chem.*, **52**, 1893 (1980); b) Jyo, A., Imato, T., Kohno, H., Ishibashi, N., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **56**, 3177 (1983).
- 6) Jaramillo, A., Lopez, S., Justice Jr. J.B., *Anal. Chim. Acta*, **146**, 149 (1983).
- 7) Steiner, R.A., Oehme, M., Amman, D., Simon, W., *Anal. Chem.*, **51**, 351 (1979).
- 8) Amman, D., Lanter, F., Steiner, R.F., Schulthess, P., Shijo, Y., Simon, W., *Anal. Chem.*, **53**, 2267 (1981).
- 9) Shiba, K., Watanabe, T., Umezawa, Y., Fujiwara, S., *Chem. Letters*, **1980**, 155.
- 10) Caras, S., Janata, J., *Anal. Chem.*, **52**, 1935 (1980).
- 11) Covington, A.K., Harbinson, T.R., Sibbald, A., *Anal. Letters*, **15**, 1423 (1982).
- 12) Durst, R.A., Taylor, J.K., *Anal. Chem.*, **39**, 1483 (1967).
- 13) Carmack, G.D., Freiser, H., *Anal. Chem.*, **49**, 1577 (1977).
- 14) Srianujata, S., White, W.R., Higuchi, T., Sternson, L.A., *Anal. Chem.*, **50**, 232 (1978).
- 15) Higuchi, T., Illian, C.R., Tossounian, J.L., *Anal. Chem.*, **42**, 1674 (1970).
- 16) Mendenhall, D.W., Higuchi, T., Sternson, L.A., *J. Pharm. Sci.*, **68**, 746 (1979).
- 17) Campbell, M.J.M., Demetriou, B., Jones, R., *Analyst*, **105**, 605 (1980).
- 18) a) Bates, R.G., Dickson, A.G., Gratzl, M., Hrabeczy-Pall, A., Lindner, E., Pungor, E., *Anal. Chem.*, **55**, 1275 (1983); b) Uematsu, I., Umezawa, Y., *Anal. Chem.*, **55**, 386 (1983).
- 19) Yamauchi, A., Kunisaki, T., Minematsu, T., Tomokiyo, Y., Yamaguchi, T., Kimizuka, H., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 2791 (1978).

- 20) Ryu, K., Lowery, J.M., Evans, D.F., Cussler, E.L., *J. Phys. Chem.*, **87**, 5015 (1983).
- 21) Birsh, B.J., Clarke, D.E., Lee, R.S., Oakes, J., *Anal. Chim. Acta*, **70**, 417 (1974).
- 22) Mohanakrishnan, P., Chignell, C.F., *J. Pharm. Sci.*, **71**, 1180 (1982).
- 23) Kiryu, S., Oda, Y., Sasaki, M., *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1089 (1983).
- 24) Blanton, T.N., Justice, J.B., Trowbridge, C.G., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **102**, 219 (1981).
- 25) a) Hayakawa, K., Kwak, J.C.T., *J. Phys. Chem.*, **86**, 3866 (1982); b) Hayakawa, K., Kwak, J.C.T., *ibid.*, **87**, 506 (1983).
- 26) Keating, M.Y., Rechnitz, G.A., *Anal. Chem.*, **56**, 801 (1984).
- 27) Hirsch, R.F., Rachlin, E.M., *J. Med. Chem.*, **26**, 1235 (1983).
- 28) Kina, K., Maekawa, N., Ishibashi, N., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **46**, 2772 (1973).
- 29) Ishibashi, N., Jyo, A., Matsumoto, K., *Chem. Letters*, **1973**, 1297.
- 30) Campanella, L., De Angelis, G., Ferri, T., Gozzi, D., *Analyst*, **102**, 723 (1977).
- 31) 吉柳節夫, 小田裕子, 水野 智, 日本薬学会第101年会, 熊本, 1981.
- 32) Hogue, E.R., Langdorf, W.C., *Anal. Letters*, **14**, 1757 (1981).
- 33) Hopirtean, E., Veress, E., *Rev. Roum. Chem.*, **23**, 273 (1978); *CA*, **89**, 122645x (1978).
- 34) Hazemoto, N., Kamo, N., Kobatake, Y., *J. Pharm. Sci.*, **65**, 435 (1976).
- 35) 深町和美, 中川礼子, 森本昌宏, 石橋信彦, 分析化学, **24**, 428 (1975).
- 36) Luca, C., Baloescu, C., Semenescu, G., Tolea, T., Semenescu, E., *Rev. Chem. (Bucharest)*, **30**, 72 (1979); *CA*, **90**, 210186z (1978).
- 37) Goina, T., Hobai, S., Rosenberg, L., *Farmacia (Bucharest)*, **26**, 141 (1978); *CA*, **90**, 76618m (1979).
- 38) Vytros, K., Dajkova, M., Remes, M., *Cesk. Farm.*, **30**, 61 (1981); *CA*, **95**, 12854f (1981).
- 39) Cunningham, L., Freiser, H., *Anal. Chim. Acta*, **139**, 97 (1982).
- 40) Negoiu, D., Ionescu, M.S., Cosofret, V.V., *Talanta*, **28**, 377 (1981).
- 41) Diamandis, E.P., Athanasiou-Malaki, E., Papastathopoulos, D.S., Hadjiioannou, T.P., *Anal. Chim. Acta*, **128**, 239 (1981).
- 42) Ionescu, M.S., Negoiu, D., Cosofret, V.V., *Anal. Letters*, **16**, 553 (1983).
- 43) Efstathiou, C.E., Diamandis, E.P., Hadjiioannou, T. P., *Anal. Chim. Acta*, **127**, 173 (1981).
- 44) Hassan, S.S.M., Elsayes, M.B., *Anal. Chem.*, **51**, 1651 (1979).
- 45) 深町和美, 石橋信彦, 分析化学, **27**, 152 (1978),

- 46) Cosofret, V.V., Buck, R.P., *Analyst*, **109**, 1321 (1984).
- 47) Yamada, T., Freiser, H., *Anal. Chim. Acta*, **125**, 179 (1981).
- 48) Martin, C.R., Freiser, H., *Anal. Chem.*, **52**, 1772 (1980).
- 49) Cunningham, L., Freiser, H., *Anal. Chim. Acta*, **157**, 157 (1984).