chloracetamide, -benzamide, and acetamide which absorbed 1 mole each of water and changed respectively to β -chloroethyl- β' -chloroacetoxy-, -benzoxy-, and -acetoxy-ethylamine hydrochloride. Rearrangement velocity of N-bis(β -chloroethyl)acetamide in 80% acetone was measured.

(Received December 17, 1954)

112. 鈴木周一：無発熱性医薬品の製造に関する研究（第4報*） 各種 TBP 反応陽性物質のキノン処理反応について

Shuichi Suzuki: Studies on the Preparation of Non-pyrogenic Drugs for Injection. IV. On the Quinone Treatment Reaction of Various TBP-Reaction Positive Substances.

(Mizuguchi Laboratory, Tokyo Institute of Technology**)

前報で pyrogen^{x†} は水溶液においてキノンと反応し、活性炭に吸着除去され易くなることを報告すると共に、活性炭処理の条件如何によつては吸着 pyrogen^x が再び遊離される経緯について論じ、キノン処理反応による pyrogen^x 除去機構について推定を下した。本報では上記のキノンによる pyrogen^x 除去過程について広義の発熱性物質及び TBP 反応陽性物質が pyrogen^x の場合と同様に挙動するか否かを調べることを目的とした。

組成既知の発熱性物質¹⁾ (テルミン、カゼイン、スクレイン酸ナトリウム) 及び多くの TBP 反応陽性物質²⁾ (シンコニン、エチレンジアミン、8-オキシキノリン) はすべて NH₂ 又はそれに類する N を有している。又蛋白質³⁾、アミノ酸⁴⁾、有機含窒素化合物等はキノンと反応して着色する。更に構造既知の有機含窒素化合物、例えばアニン⁵⁾、ナフチルアミン⁶⁾、ピリジン⁶⁾、キノリン⁶⁾ 等とキノンとの結合物はその組成も既に知られている。又別にキノン化合物の抗菌作用⁷⁾ は蛋白質又はアミノ酸とキノンの結合が重要な役割を有するのではないかと考えられている。これらの事実は本研究におけるキノンによる pyrogen^x 除去過程に重要な示唆を与えるものと考ええる。

pyrogen の化学的本態は現在不明であるが、既報のように著者のキノン処理による pyrogen^x 除去過程については、第1段階として pyrogen^x とキノンとの結合物 P^xQ が生成され、これが更に活性炭に吸着されて CP^xQ の形となりその結果、pyrogen^x が除去されること並びに CP^xQ より一部の pyrogen^x の離脱が伴うことを認めた。この種のキノン処理反応がもし広く上記の諸化合物についても証明できるならば、上記のいわゆる PQ 反応は NH₂ 基又はそれに類する基を有する化合物全般に共通な反応であるものと判断することが許されるであろう。従つてその場合には pyrogen が PQ 反応を営むという見解は現在よりも確実になるであろう。幸村等⁷⁾ は蛋白分解物からペプチドを分離してその発熱性を認めた。又広義の発熱性物質としては有機含窒素化合物、蛋白質及びその分解中間物、又スクレイン酸等¹⁾ は発熱性を有することが知られているが、これらを考え併せて想像すれ

* 第3報：本誌 74, 90 (1954).

** Ookayama, Meguro-ku, Tokyo.

† Pyrogen^x は pyrogen 含有液中の TBP 反応陽性物質の意。

1) 浦口：臨床 30, 141 (1949).

2) 野上、堀岡：日本薬学会年会講演発表 (1952, 4月, 1953, 4月); 堀岡：薬局 4, 380 (1953).

3) E. A. Cooper: Biochem. J. 7, 186 (1913); G. T. Morgan, E. A. Cooper: J. Soc. Chem. Ind. 43, 352 (1924); J. C. Sotoves: Trans. Faraday Soc. 39, 301 (1943); E. R. Theis: J. Biol. Chem. 157, 23 (1945).

4) E. Fischer, H. Schrader: Ber. 43, 525 (1910); G. Woker, I. Antener: Helv. Chim. Acta 20, 1260 (1937).

5) 林：薬学 4, 60 (1950); E. A. Cooper, R. B. Haines: Biochem. J. 22, 317 (1928); F. Gonzalez: Science 101, 394 (1945).

6) O. Diels, H. Preiss: Ann. 543, 94 (1939). 7) 幸村、武田：“医学と生物学” 19, 187 (1951).

ば、pyrogen はキノンと作用し得る特有な官能基、恐らくは NH_2 又はそれに類するものを有し、キノンはその官能基と結合的に作用して、その界面的性質が変化し活性炭に吸着され易くなるもののようである。

そこで広義の発熱性物質及び各種の TBP 反応陽性物質 32 種を選び、これらの試料に対するキノン処理反応について検討した。

1) TBP 反応陽性物質とキノンとの反応 Table I に示すように採用した試料は 32 種の TBP 反応陽性物質で、即ち pyrogen 培養液、発熱性葡萄糖液、アルブミン、ペプトン、その他の蛋白質；スクレイン酸、チミン等の生体構成物；テルミン、グアニジンその他の有機アミン等である。先ず上記の各試料溶液にキノンを加えると、すべて赤色乃至赤褐色に着色し、多くの場合赤褐色の沈澱が生成した。上記の試料の内、グアニジン、アニリン等については特にキノン結合物を合成して見た。要するに本報において採用した 32 種の TBP 反応陽性物質はすべてキノンと反応して、 P^*Q を生成するもののように考えられた。

2) TBP 反応陽性物質のキノン処理による陰性化 上記 32 種の試料につき、先ずキノンを添加せずに、活性炭吸着のみを試みたところ、前報 pyrogen^x の場合と同じく全試料を通じて TBP 反応の陰性化は認められず活性炭のみによる被吸着性は微弱であることが示された。

次いでキノン処理即ち水溶液の形の試料にキノンを加え、加温して著しく着色したキノン処理液をとり、これに活性炭を加えて過剰のキノン及び着色物を除いて無色透明液とした。これらについて TBP 反応を試みた結果によれば、これら一連の TBP 反応陽性物質のキノン-活性炭処理液はいずれも TBP 反応陰性となつた。要するに供試 32 種の TBP 反応陽性物質のキノン処理に関しては $\text{P}^* + \text{Q} \rightarrow \text{P}^*\text{Q}$ 及び $\text{P}^*\text{Q} + \text{C} \rightarrow \text{CP}^*\text{Q}$ の反応に従い除去過程が行われるものと考えられる。この知見は前報に述べた pyrogen^x の挙動とよく一致するものである。

3) キノン処理に用いた活性炭よりの TBP 反応陽性物質の溶出 上記 32 種の試料のキノン処理に使用したそれぞれの活性炭 (CP^*Q) をとり、これを温蒸留水で浸出を試みたところ、TBP 反応陽性物質はいずれも液中に再び移行した。この事実から見れば、これら TBP 反応陽性物質はすべて $\text{CP}^*\text{Q} \rightarrow \text{CQ} + \text{P}^*$ の反応に従つた挙動を示すものと考えられた。

以上の諸成績を総合すれば、本報において採用した 32 種の TBP 反応陽性物質はすべてキノン処理反応に際しての挙動について軌を一にすることが明白となつた。この知見は pyrogen の化学的性質の一端を示すものであり、更にキノンによる pyrogen^x 除去機構に関する著者の見解、即ち PQ 反応の推定を類例的に裏付けるものである。

本研究遂行に当り終始御指導戴いた東京工業大学水口純先生に深謝する。種々御懇篤な御指導、御鞭撻下された東京大学医学部小林教授、浦口助教授及び同大学薬学科野上教授に感謝する。又有益な御討議をされた同大学薬学科堀岡正義氏に感謝する。実験に協力された吉沢和子氏に感謝する。

本研究は昭和 29 年度文部省科学試験研究“発熱性物質の除去並びに検定”(主任東大、小林教授)の一部である。

実 験 の 部

TBP 反応陽性物質とキノンとの反応 pyrogen^x 培養液、発熱性葡萄糖注射液を始めとする 32 種の TBP 反応陽性物質 (Table I) を再留水にてそれぞれ溶解してこれを原液とした。各試料別に原液 100 cc をとり、それぞれ μ -キノン細末 0.5 g を加え浴温 $62 \sim 67^\circ$ で 5 時間加温すれば溶液は Table I に示すように赤色乃至赤褐色に着色し、一部のものでは沈澱を生じた (P^*Q の生成)。なお別にアニリン、グアニジン等については文献に従つて、それぞれキノン結合物を合成した。anilinoquinone⁸⁾ 赤褐色粉末, mp $127 \sim 129^\circ$, 2,5-bisguanidinoquinone⁵⁾ 黒赤色粉末, md $156 \sim 159^\circ$ 。

TBP 反応陽性物質のキノン処理による陰性化 前項に用いた既知試料について、それぞれ所定の TBP 呈色試験による極小確認濃度を予め実測して定めておいた。そして除去操作後の液が TBP 反応陽性の場合には、原液の既知濃度の各希釈液の呈色度と対照して残留する試料の濃度を求めた。A) 先づ比較実験として各試料別に原液 50 cc をとり、キノン処理を施すことなく、各 0.5 g の活性炭を加え 19° , 15 分後濾過して液を調製した。B) 1) と同様に原液をキノン処理して 1 夜放置した後、その際生じた赤色乃至赤褐色の沈澱を濾去した。この濾液 ($\text{Q} + \text{P}^*\text{Q}$) 液 50 cc に活性炭 0.5 g を加え時々振盪しつつ 19° , 15 分間放置後、濾過して無色透明の処理液を得た。このように A), B) の 2 種の処理液 (64 種) について所定の TBP 反応を検し、TBP 反応陽性物質の除去された度合を比較した。各試料については少くとも 4 回以上同種の実験を行つて確かめた。その結果単に活

8) H. Suida, W. Suida: Ann. 416, 113 (1918).

性炭のみで吸着処理した場合にはいずれも TBP 反応陽性即ち除去不充分であつた。これに反してキノン処理した場合はいずれの場合も原物質は除去せられ、TBP 反応陰性とすることが出来た。これらの結果を Table I に示す。

キノン処理に用いた活性炭よりの TBP 反応陽性物質の溶出 前項におけるキノン処理後の活性炭 (32 種の CP×Q) を各別にとり、これにそれぞれ再留水 20 cc 宛を加え、62~67° で 3 時間加温した後、濾過して無色の液を得た。この溶出液について所定の TBP 反応を検したところ、程度の差はあるがいずれも TBP 反応陽性を示した。この事実は TBP 反応陽性物質が遊離せられて再び液中に溶出したことを証するものである。これらの結果を Table I に示す。

Table I. Fixation and Liberation of TBP-Positive Substances

	TBP-positive substances employed	Limit of detection by TBP-color reaction (γ /cc.)	Content in original solution (γ /cc.)	Removal of TBP-positive substances from the solution				Liberation of TBP-positive substance from the carbon*	
				treated with carbon (quinone is not employed)		treated with quinone and carbon			
				detection of TBP-positive substance	content (γ /cc.)	color of solution before carbon treatment	detection of TBP-positive substance	detection of TBP-positive substance	content (γ /cc.)
Pyrogenic substances	Pyrogenic culture filtrate	0.5**	20	+	5	red	—	+	3
	Pyrogenic glucose solution	"	"	+	"	"	—	+	1
	Casein	0.5	100	###	70	blackish red	—	++	10
	Egg albumin	0.3	1000	###	500	brownish ppt.	—	++	1
	Peptone	1	"	##	"	"	—	+	10
	Sodium nucleate	30	5000	++	"	brown	—	++	500
	Ribonucleic acid	50	500	+	350	reddish brown	—	+	350
	Thermine	10	1000	+	100	brownish ppt.	—	+	70
Substances from known compound with quinone	Caffeine	700	"	+	1000	yellowish red	—	+	1000
	Guanidine	10	1000	++	500	brownish black	—	+	100
	Aniline	20	500	+	50	brownish ppt.	—	+	50
	β -Naphthyl-amine	"	1000	+	"	"	—	+	100
	Pyridine	3	"	+	"	"	—	###	500
	Quinoline	5	"	+	30	"	—	+	30
	Ethylenediamine	20	2000	##	1400	brownish black ppt.	—	+	100
	Diethylaniline	60	6000	+	400	"	—	++	3000
	Histamine	10	1000	+	300	reddish brown	—	+	300
	Cysteine	"	"	+	50	blackish ppt.	—	+	40
	Creatinine	50	"	+	500	"	—	+	500
	p-Aminosalicylic acid	100	2000	++	1400	reddish black ppt.	—	+	200

Substances react with quinone	Tyrosine	70	1000	+	80	red	—	+	100
	Brucine	10	5000	≡	350	reddish brown	—	≡	350
	Cinchonine hydrochloride	0.5	200	+	10	brown	—	+	1
	Benzidine	25	2500	+	125	brownish ppt.	—	≡	700
	Piperidine	20	1000	≡	100	"	—	≡	100
	8-Hydroxy-quinoline	"	500	+	50	"	—	≡	250
	Quinaldine	1	1000	+	10	brownish black ppt.	—	+	30
	Thymine	30	"	+	70	red	—	+	100
	Uric acid	50	"	+	700	reddish yellow	—	+	300
	Uracil	5	"	+	7	red	—	+	10
	Calcium pantothenate	50	500	+	150	reddish yellow	—	+	150
	Anilinoglucose	"	1000	+	70	brownish ppt.	—	+	100

* Carbon employed after quinone treatment.

** Content of pyrogen^x in the pyrogenic culture filtrate and the glucose solution are represented as casein.

東京工業大学水口研究室

Summary

In order to prove the reaction course of the quinone treatment against pyrogen, 32 kinds of substances giving positive TBP reaction were submitted to quinone treatment as described in the preceding paper.* It was thereby clarified that substances containing pyrogen, as well as many of the structurally known pyrogenic substances and TBP-positive substances behaved in the same manner as pyrogen against the quinone treatment, as evidenced by the following results:

1) Thirty-two kinds of TBP-reaction positive substances, such as the pyrogen culture filtrate, pyrogenic glucose parenteral solution, organic amines such as pyridine and guanidine, and biological constituents such as thymine and pantothenic acid, were removed by the quinone treatment, as in the case of pyrogen.

2) Digestion of the activated carbon used for the quinone treatment with warm water showed that the TBP-positive substances were invariably transited to the aqueous phase and this has confirmed that there is no inconsistency in the writer's assumption regarding the liberation reaction of pyrogen^x.

(Received December 18, 1954)