障害物の影響を除くためには補正法によるのが一般的であるが、この場合検体の必要量が滴定法と同程度になる。このように比色法としてはかなり多量の検体を用いなければならないのは、 NH_2OH と反応後その反応液を相当希釈する必要があるためである。勿論希釈量を制限することにより検体の必要量を $\frac{1}{10}$ 以下にすることは可能であるが、その場合には必ず標準品により同時に検量線を作成する必要があり定量誤差も若干大きくなる。

アセチル化が定量的に行なわれかつ強い揮発性のない限り、一、二の化合物によつて求められた定量式が、水酸基を有する多くの化合物に適用できることは、エステル酸成分が一定であればアルコール成分に関係なく一つの検量線が求められるという Bayer の考察が一般的には正しいことを示しているが、二級アルコール等のように適用できないものがある。

塩野義製薬株式会社研究所

UDC 615.778.25 : 543.253

260. 宇野豊三^{*1}, 岡崎雄交^{*2}: スルファニルアミド誘導体の

ポーラログラフ的研究 (第1報)

Toyozo Uno^{*1} and Yuko Okazaki^{*2}: Polarographic Studies on
Sulfanilamide Derivatives. I.

(Pharmaceutical Faculty, University of Kyoto,^{*1} and
Pharmaceutical Faculty, Kinki University^{*2})

Polarographic behavior of 15 kinds of commercial sulfanilamide derivatives was examined and the compounds were classified into four groups. The polarography was carried out with tetramethylammonium bromide as the supporting electrolyte. The compounds which showed one-step reduction wave in non-buffered solution containing 10% of dioxane were classed in Group 1 and it included N^1 -(3,4-dimethyl-5-isoxazolyl)sulfanilamide, N^1 -(1-phenyl-5-pyrazolyl)sulfanilamide, N^1 -(5-methyl-3-isoxazolyl)sulfanilamide, and N^1 -acetylsulfanilamide. Group 2 included the compounds which showed perfect wave in a solution containing around 80% of dioxane and these were N^1 -2-pyridylsulfanilamide, N^1 -2-thiazolylsulfanilamide, and N^1 -(3,4-dimethylbenzoyl)sulfanilamide. The compounds which showed one- to two-step waves in a solution containing 10% of dioxane and also a reduction wave in buffered solution were classed into Group 3 and included N^1 -(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)sulfanilamide, N^1 -(2,6-dimethyl-4-pyrimidinyl)sulfanilamide, N^1 -(2,6-dimethoxy-4-pyrimidinyl)sulfanilamide, N^1 -2-pyrimidinylsulfanilamide, N^1 -(4-methyl-2-pyrimidinyl)sulfanilamide, and N^1 -(6-methoxy-3-pyridazinyl)sulfanilamide. The compounds which failed to show reduction wave in any of these conditions were sulfanilamide and N^1 -amidinosulfanilamide, and these were classed in Group 4. Conditions for measurement of sulfanilamide derivatives in Group 1 were examined and it was found that their determination is possible within a concentration range of 0.2~1.0 mM. Method for this determination was also established.

(Received January 13, 1961)

スルファニルアミド誘導体のポーラログラフ的研究は現在までに、Korshunov¹⁾, 松谷²⁾ 等によつて行なわれているが、系統的には研究されていない。著者等は Korshunov, 松谷の報告を再検討するとともに最近市販されている 15 種のスルファニルアミド誘導体について、そのポーラログラフの挙動を調べ、Table I のように、4 グループに分類した。

^{*1} Yoshida-konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto.

^{*2} Kowakae, Fuse-shi, Osaka-fu.

1) I. A. Korshunov, A. S. Kirillova, *et al.*: Zhur. Obschei. Khim. 21, 565(1951).

2) 藤本, 松谷, 松永: 広島県衛生研究所報 5, 53(1955).

を第2属とした。またジオキサン 10% 含有溶液で 1~2 段波を示し、緩衝液においても還元波を示す N^1 -(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)sulfanilamide, N^1 -(2,6-dimethyl-4-pyrimidinyl)sulfanilamide, N^1 -(2,6-dimethoxy-4-pyrimidinyl)sulfanilamide, N^1 -2-pyrimidinylsulfanilamide, N^1 -(4-methyl-2-pyrimidinyl)sulfanilamide, N^1 -(6-methoxy-3-pyridazinyl)sulfanilamide の 6 種を第3属とし、以上いずれの測定条件においても還元波を認め得ない sulfanilamide, N^1 -(diaminomethylene)sulfanilamide を第4属とした。

さらに著者等は第1属スルファニルアミド誘導体の還元波に対する有機溶媒の種類と含量、酸アルカリの影響、溶存酸素および水銀圧の影響などを検討し、その最適測定条件によりスルファニルアミド誘導体の濃度と波高の関係を調べ、各スルファニルアミド誘導体の波高が 0.2~1.0 mM 溶液の濃度範囲において定量的に変化し、これらの濃度範囲において定量が可能であることを認め、その定量法を確立した。なお本測定法による最小確認濃度は 20~30 γ /cc である。

装置および試薬

本研究に用いたポーラログラフ装置は島津製作所製自記録計 SHP-2 型およびその加電圧装置で滴下水銀電極は $m=2.52 \text{ mg} \cdot \text{sec}^{-1}$, $t=2.70 \text{ sec}$, $m\%t\% = 2.185$ のものを使用。外部基準電極は標準飽和甘汞電極を用い、飽和 KCl 寒天橋で、ポーラログラム記録後、電解液と液絡し、 $40 \pm 0.2^\circ$ の恒温槽中で両者間の電位差を測定、半波電位を補正。

試料のスルファニルアミド誘導体は市販品を EtOH により再結晶、融点測定、元素分析などにより同定ならびに純度を確認した標品。また EtOH, dioxane, Me_2CO は特級試薬をさらに精製して使用。

操作法 第1属スルファニルアミド誘導体のジオキサン溶液 1 cc を 10 cc メスフラスコにとり、1M Me_4NBr 0.5 cc を加え、さらに蒸留水を加えて 10 cc とする。この電解液約 5 cc を電解びんに移し、 H_2 を 20 min 以上通入して溶存 O_2 を完全に除き、 $40 \pm 0.2^\circ$ の恒温槽中で記録計感度 (full scale) 10 μA 前後において 0 V よりポーラログラムを記録。

実験結果

(A) 有機溶媒の種類と含量の影響 スルファニルアミド誘導体(サルファ剤)は一般に水に難溶のため有機溶媒を用いるがポーラログラフに使用する有機溶媒としては水と任意の割合に混合し得るものであることが必要である。著者等は dioxane, EtOH, Me_2CO を用いて検討したが、サルファ剤の溶解度および溶媒があまり低沸点のものは取り扱い中に誤差を生ずる点などを考慮し、dioxane が最も適していることを知った。また dioxane の濃度と波高の関係を検討し、その結果は Fig. 1 に示したが、溶媒の濃度が増加するにしたがつて半波電位 ($E_{1/2}$) は負電位に移行し、波高 (i) は減少。ただし 80% でふたたび増加。この現象は主として有機溶媒の物理的性質によるものと考えられる。以上の結果より明らかなように本測定にはなるべく溶媒の低濃度溶液を用いるべきであるが、第2属のように溶媒の低濃度溶液で測定できない場合は 80% 程の高濃度溶液で測定した。

Fig. 1.

Effect of Concentration of Dioxane and Ethanol

Concn. of N^1 -Acetylsulfanilamide: 1 mM
 Supp. electrolyte: 0.05M Me_4NBr
 Temp.: $30^\circ \pm 0.2^\circ$

(B) 酸およびアルカリの影響 HCl の混入は dioxane 濃度 10% 溶液においては Fig. 2 で明らかなように HCl の水素波とサルファ剤の還元波が重なり、サルファ剤還元波の測定は困難となる。しかし dioxane 80% を含む溶液においては Fig. 3 のように両者の還元波が分離して現われ、また HCl の濃度が 0.1 mM 以下の溶

液では HCl の水素波が現われないため 0.1 mM 以下の HCl を含む場合には大きな影響はない。なお AcOH などの弱酸類はサルファ剤と同じ挙動を示すため弱酸の混入は絶対に避けるべきである。

Fig. 2. Effect of pH (A)

Supp. electrolyte: 0.05M Me₄NBr
Concn. of N¹-acetylsulfanilamide: 1 mM
Concn. of dioxane: 10%
Temp.: 30°±0.2°

pH 4.6 and 5.5: N¹-Acetylsulfanilamide+HCl
-----: The wave of HCl
pH 5.8: N¹-Acetylsulfanilamide
pH 6.4: N¹-Acetylsulfanilamide+Me₄NOH

Fig. 3. Effect of pH (B)

Supp. electrolyte: 0.05M Me₄NBr
Concn. of N¹-acetylsulfanilamide: 1 mM
Concn. of dioxane: 80%
Temp.: 30°±0.2°

pH 3.1 and 3.6: N¹-Acetylsulfanilamide+HCl
pH 6.4: N¹-Acetylsulfanilamide
pH 7.2: N¹-Acetylsulfanilamide+Me₄NOH

また水酸化アルカリの混入は Table II で明らかなようにサルファ剤と等モルの存在により還元波が完全に消失する。また第1属サルファ剤の Na 塩は還元波を示さない。

Table II. Effect of pH on the Wave Height

Concn. of N¹-(3,4-dimethyl-5-isoxazolyl)sulfanilamide: 1 mM, Temp.: 30°±0.2°

80% dioxane			10% dioxane		
pH	Composition of supp. electrolyte	<i>i</i> (μA)	pH	Composition of supp. electrolyte	<i>i</i> (μA)
7.0	50 mM Me ₄ NBr +20 mM Me ₄ NOH	0.00	6.3	50 mM LiCl +1.0 mM LiOH	0.00
6.3	50 mM Me ₄ NBr	2.05	6.0	50 mM LiCl +0.8 mM LiOH	0.42
5.7	50 mM Me ₄ NBr +0.1 mM HCl	2.05	5.8	50 mM LiCl +0.6 mM LiOH	0.83
4.5	50 mM Me ₄ NBr +0.3 mM HCl	1.98	5.7	50 mM LiCl +0.4 mM LiOH	1.24
3.6	50 mM Me ₄ NBr +0.5 mM HCl	1.85	5.5	50 mM LiCl +0.2 mM LiOH	1.65
2.7	50 mM Me ₄ NBr +2.0 mM HCl	1.25	4.7	50 mM LiCl	2.05

以上の結果より明らかなように第1属サルファ剤の還元波測定には酸および水酸化アルカリの混入を避け、非緩衝液で測定するのが望ましい。

(C) 溶存酸素の影響 電解液中に溶存する O₂ は第1属サルファ剤の還元波に対し、著しい影響を与える。Fig. 4 で明らかなように、H₂ を通入しない場合は、サルファ剤 1 mM 溶液において還元波を認め得ないほどで、完全な還元波を得るためには 20 min 以上 H₂ を通入しなければならない。この現象は溶存 O₂ がサルファ剤の還元電位よりも正電位で還元を受けて OH⁻ を生成し、この OH⁻ がサルファ剤の還元を妨害すると考えられる。

Table I. Half-wave Potential (—volt *vs.* S.C.E.) and Limiting Current (μ A) of Sulfanilamide DerivativesSupp. electrolyte : 0.05*M* Me₄NBr, Conc. of compound : 1 mM, Temp. : 40°±0.2°.

Sulfanilamide derivatives	Concn. of dioxane (%)	$E_{1/2}$	i_d
	10	1.57	2.80
	10	1.66	2.46
	10	1.69	2.45
	10	1.69	2.70
	80	1.80	2.15
	80	1.89	2.64
	80	2.21	2.30
	10	1.50	2.84
	10	1.52	1.56
	10	1.67	2.25
	10	1.21 1.61	0.95 1.75
	10	1.07 1.48	1.08 1.04
	10	1.15 1.48	1.66 2.33
	10~80	—	—
	10~80	—	—

すなわち支持電解質に tetramethylammonium bromide を使用し, スルファニルアミド誘導体の溶解剤としてジオキサンを用いてポーラログラムを記録し, 10% のジオキサンを含む溶液において著明な1段の還元波を示す N¹-(3,4-dimethyl-5-isoxazolyl)sulfanilamide, N¹-(1-phenyl-5-pyrazolyl)sulfanilamide, N¹-(5-methyl-3-isoxazolyl)sulfanilamide, N¹-acetylsulfanilamide の4種を第1属とし, ジオキサン 10% 含有溶液においては還元波の測定が困難であり, 80% 程度のジオキサンを含む溶液において測定可能な還元波を示す N¹-2-pyridylsulfanilamide, N¹-2-thiazolylsulfanilamide, N¹-(3,4-dimethylbenzoyl)sulfanilamide の3種

Fig. 4.

Relationship of the Wave Height and
Passing Time of H_2

Supp. electrolyte: 0.05M Me_4NBr

Concn. of N^1 -acetylsulfanilamide: 1 mM

Temp.: $30^\circ \pm 0.2^\circ$

Concn. of dioxane: 10%

(D) 温度の影響 サルファ剤は溶解度および解離度が小さいため還元波を測定する際、好結果を得るためには常温以上に加温して測定するのが望ましく、著者等は本測定法において 40° を採用した。なお $30 \sim 50^\circ$ において 40° 近くの温度係数を求め、Table III に示したが、拡散電流に対する Ilkovič の理論的係数に近い値を示している。

Table III. Temperature Coefficient ($t.c. = 100\Delta i/i\Delta t$) of the Wave Height of Sulfanilamide Derivatives

Supp. electrolyte: 0.05M Me_4NBr , Concn. of dioxane: 10%,
Concn. of Compound: 1 mM, Temp.: $30 \sim 50 \pm 0.2^\circ$

Sulfanilamide derivatives	$t.c.$
1.55
1.61
1.76
1.63

(E) 水銀圧と波高の関係 第1属 サルファ剤還元波の限界電流が拡散電流支配であるか否かを調べるため水銀柱の高さと波高の関係を調べた。その結果は Table IV のようにサルファ剤の波高が水銀柱の高さの平方根にはほぼ比例して変化し、温度係数も前項で明らかなように拡散電流に対する Ilkovič の理論的係数に近いことより、第1属サルファ剤の還元波が主として拡散電流支配であることを認めた。

Table IV. Effect of Mercury Head (h) on the Wave Height (μA) of Sulfanilamide Derivatives (1 mM)

Supp. electrolyte: 0.05M Me_4NBr , Concn. of dioxane: 10% Temp.: $40^\circ \pm 0.2^\circ$.

Sulfanilamide derivatives	h (cm.)	i (μA)	$i/\sqrt{h}$
50	2.60	0.367
	60	2.80	0.361
	70	2.99	0.357
50	2.15	0.303
	60	2.46	0.317
	70	2.78	0.332

50	2.21	0.312
60	2.46	0.317
70	2.76	0.293

50	2.40	0.339
60	2.70	0.348
70	2.81	0.335

(F) サルファ剤の濃度と波高の関係 以上の測定条件の検討結果より見出した最適条件において第1属サルファ剤の濃度と波高の関係を調べ, その結果は Fig. 5 に示したが, 各サルファ剤とも 0.2~1.0 mM の濃度範囲においてその波高は定量的に変化し, これらの濃度範囲において定量が可能であることを認めた. なお本測定法による最小確認濃度は 20~30 γ /cc である

Fig. 5.

Linear Relationship between Reduction
Wave-height and Concentration of
Sulfanilamide Derivatives

Supp. electrolyte: 0.05M Me₄NBr

Concn. of dioxane: 10%

Temp.: 40° ± 0.2°

- N¹-(3,4-dimethyl-5-isoxazolyl)-sulfanilamide
- △— N¹-acetylsulfanilamide
- N¹-(1-phenyl-5-pyrazolyl)-sulfanilamide
- N¹-(5-methyl-3-isoxazolyl)-sulfanilamide

京都大学薬学部
近畿大学薬学部