薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
88 (7) 930 — 932 (1968)

UDC 615.31'853.3.074 : 543.422.5.062

スルファジアジンの 2-チオバルビツール酸による吸光光度定量¹⁾

内藤多喜夫, 永納秀男, 安井照代

名城大学薬学部²⁾

The Colorimetric Determination of Sulfadiazine with 2-Thiobarbituric Acid¹⁾

TAKIO NAITO, HIDEO NAGANO, and TERUYO YASUI

Faculty of Pharmacy, Meijo University²⁾

(Received December 4, 1967)

2-Thiobarbituric acid is known to produce red pigment having $\lambda_{\max}$ at 532 m μ , when reacted with sulfadiazine. Therefore, the determination of sulfadiazine using 2-thiobarbituric acid was attempted colorimetrically.

To 1 ml of sample, 3 ml of 2-thiobarbituric acid reagent (the pH being adjusted at 2 by citrate buffer) was added and it was warmed for 1 hour on a boiling water bath and then after, the absorbance at 532 m μ was measured. The calibration curve of sulfadiazine standard solution according to the same procedure showed linearity in the concentration of 1—10 μ g/ml. When compared with the method mentioned in J.P. VII, the value obtained in this method was almost the same to that obtained by the method mentioned in the pharmacopoea.

Shepherd³⁾ Kohn 等⁴⁾ は 2-アミノピリミジンのように 2 の位置に置換基を有し, 4, 6 の位置に置換基を有しないピリミジン誘導体が 2-チオバルビツール酸と反応して赤色物質を生ずることを報告している. そして反応機構について Feigl^{5,6)} は Chart 1 のように推定している.

Chart 1. Probable Reaction Mechanism of Sulfadiazine with 2-Thiobarbituric Acid

Shepherd⁴⁾ はこの呈色反応を応用してこれらのピリミジン誘導体の吸光光度定量について概要を報告している. 私達は本反応をスルファジアジンの吸光光度定量に応用するために種々条件を検討した結果比較的簡単に吸光光度定量ができることがわかった. そこで局方スルファジアジン, スルファジアジン錠, スルファジアジン注射液について実際定量を行なった. その結果は局方の定量法で行なった結果と近似の値を示した (Table I).

1) 日本薬学会東海支部大会で発表, 1967年11月.

2) Location: Tenpaku-cho, Yagoto, Showa-ku, Nagoya.

3) R.G. Shepherd, *Anal. Chem.*, **20**, 1150 (1948).

4) H.I. Kohn, M. Liversedge, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **82**, 292 (1944).

5) F. Feigl, "Spot Tests in Organic Analysis," Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1966, p. 541.

6) F. Feigl, V. Anger, V. Gentil, *Clin. Chim. Acta*, **5**, 153 (1960).

実験の部

装置 吸光度測定には日立パーキンエルマー 139 形分光光度計を使用し、吸収曲線の測定には島津マルチベース自記分光光度計 MPS-50L 形を使用した。

試薬 スルファジアジン標準液 (100 $\mu\text{g/ml}$): 局方スルファジアジンをアセトンより再結晶し、その 10 mg を 0.2N 塩酸または水酸化ナトリウム溶液の必要最少量に溶解し水を加えて 100 ml とする。

2-チオバルビツール酸試薬: 市販の 2-チオバルビツール酸を水から再結晶し、その 1 g を 4N 水酸化ナトリウム溶液の必要最少量に溶解し水を加えて 100 ml とする。これにクエン酸緩衝液を加えて pH 2 に調製する。(クエン酸緩衝液: クエン酸ナトリウム 37 g に塩酸 32 ml を加えこれに水を加えて 250 ml とする)。

定量操作の検討 スルファジアジン溶液に 2-チオバルビツール酸試薬を加えて加熱すると赤色を呈するが、pH、反応時間、試薬の濃度などの違いにより吸光度にかなりの差が認められた。しかし、呈色液の吸収曲線 (Fig. 1) の極大吸収波長は 532 $m\mu$ であり前に述べた諸条件の違いに関係のないことが認められたので吸光度測定には 532 $m\mu$ の波長を用い、以下のごとく定量の諸条件を吟味し標準法を確立した。

1. pH の影響——2-チオバルビツール酸溶液に緩衝液を加え pH 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0, 7.7, 10.0 にそれぞれ調製した試薬をスルファジアジンの 2 $\mu\text{g/ml}$ と 8 $\mu\text{g/ml}$ 標準液に加え加熱し反応させたものの吸光度を測定したところ Fig. 2 に示すように pH 2 前後において安定した呈色度を示すことがわかった。

Fig. 1. Absorption Spectrum of the Colored Solution Produced from 8 $\mu\text{g/ml}$ of Sulfadiazine by the Standard Procedure

Fig. 2. Effect of pH on Absorbance

sulfadiazine: —●— 2 $\mu\text{g/ml}$
—○— 8 $\mu\text{g/ml}$

2. 反応時間の影響——スルファジアジンの 2 $\mu\text{g/ml}$ と 8 $\mu\text{g/ml}$ 標準液に 2-チオバルビツール酸試薬を加え沸騰水浴中で 15 min から 180 min 加熱した後それぞれの加熱時間後における反応呈色液の吸光度を測定し Fig. 3 のような結果を得た。この Fig. 3 からわかるように 60 min 以上加熱すれば呈色度は一定となる。

3. 試薬の濃度による影響——2-チオバルビツール酸の 0.05, 0.1, 0.5, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0% 溶液をそれぞれ pH 2

Fig. 3. Effect of the Heating Time on Absorbance

sulfadiazine: —●— 2 $\mu\text{g/ml}$
—○— 8 $\mu\text{g/ml}$

Fig. 4. Effect of the Concentration of 2-Thiobarbituric Acid on Absorbance

sulfadiazine: —●— 2 $\mu\text{g/ml}$
—○— 8 $\mu\text{g/ml}$

に調製した試薬をスルファジアジンの $2\text{ }\mu\text{g/ml}$ と $8\text{ }\mu\text{g/ml}$ 標準液に加え沸騰水浴中で加熱した後その反応呈色液の吸光度を測定し Fig. 4 のような結果を得た. これから試薬の濃度が 0.8% 以上であれば一定の吸光度を示すことがわかった.

反応呈色液の経時変化 スルファジアジンの $2, 8\text{ }\mu\text{g/ml}$ 標準液に 2-チオバルビツール酸試薬を加え沸騰水浴中で 1 hr 加熱した反応呈色液をそれぞれ 5, 15, 30, 60, 120, 180 min 放置したのちの吸光度を測定してもその吸光度にあまり変化はなかった (Fig. 5).

定量操作 スルファジアジンとして $3\text{--}7\text{ }\mu\text{g/ml}$ を含む試料 1 ml に 2-チオバルビツール酸試薬 3 ml を加え沸騰水浴中で 1 hr 加熱した後その呈色液を $532\text{ m}\mu$ の波長を用いて吸光度を測定する. 対照液としては水に呈色試薬を加え同一操作を行なったものを用いる.

検量線の作成 スルファジアジン $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ から $10\text{ }\mu\text{g/ml}$ までの標準液を用いて定量操作にしたがって吸光度を測定し, 検量線を作成する.

Fig. 5. Stability of the Colored Solution

sulfadiazine: —●— $2\text{ }\mu\text{g/ml}$
—○— $8\text{ }\mu\text{g/ml}$

Fig. 6. Calibration Curve

TABLE I. Analysis of Sulfadiazine Crystals, Tablets and Injections by J.P. VII Method and Colorimetric Method

Dosage form	Sample taken	Found	
		J.P. VII method (mg)	Colorimetric method (mg)
Crystal	{498 mg 393	{492 382	{494 382
Tablet (79%)	{634 625	{503 494	{501 492
Injection (10 w/v%)	{5.0 ml 5.0	{499 526	{498 525

TABLE II. Analysis of Sulfadiazine Tablets and Injections

No.	Analytical value tablet			Analytical value injection		
	Sample soln. (mg)	Found after addition of 100 mg of sulfadiazine (mg)	Recovery (%)	Sample soln. (mg)	Found after addition of 100 mg of sulfadiazine (mg)	Recovery (%)
1	493	593	100	492	593	103
2	496	594	98	490	587	97
3	496	592	96	499	598	99
4	491	583	92	491	595	104
5	495	593	98	492	586	94
Mean	494	591	97	493	592	99

検量線はこの濃度範囲では直線性を示し (Fig. 6), 反応呈色液は安定であるからこの方法はスルファジアジンの定量法として十分成立すると考えられる。

錠剤および注射液の定量 錠剤——粉末にしたもの約 600 mg を秤取して 2N 塩酸または 2N 水酸化ナトリウム溶液の必要最少量に溶解し水を加えて 100 ml とした後不溶物を汙去し汙液の 1 ml をさらに 1000 ml に希釈したものを検液とする。これは検液 1 ml 中に約 5 μ g/ml のスルファジアジンを含むように希釈したものである。この検液につきさきに述べた定量操作により吸光度を測定し、同時に作成した検量線からスルファジアジンの量を求める。

注射液——注射液を水で適当に希釈し、1 ml 中に約 5 μ g/ml のスルファジアジンを含むようにした検液につき定量操作を行ない、同時に作成した検量線よりその量を求める。

以上のようにして求めた錠剤および注射液の定量結果は Table I のように局方による分析値とよく一致し、Table II のように回収率は良好であった。

なお錠剤の賦形剤として考えられるデンプンおよび乳糖についてその影響を検討した結果、それぞれスルファジアジンの 50 倍量が共存していても呈色反応に影響はなかった。

〔薬学雑誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
88 (7) 933 — 936 (1968)

UDC 615.31'298.5.015.43

2-Aminoethylisothiuronium (AET) 関連化合物の薬理作用 (第 4 報¹⁾) 2-Aminoethylisothiuronium の N',N''-置換体を中心とした関連化合物の酵素阻害作用

小澤 光, 原 洋一

東北大学医学部薬学科²⁾

Pharmacological Actions of 2-Aminoethylisothiuronium (AET) Derivatives. IV.¹⁾ Inhibitory Activity of N',N''-Substituted-2-Aminoethylisothiuronium Derivatives on Enzymes

HIKARU OZAWA and YOICHI HARA

Pharmaceutical Institute, Tohoku University School of Medicine²⁾

(Received December 22, 1967)

Inhibitory activities of N',N''-substituted-AET on rat liver monoamine oxidase and on cholinesterase of mouse plasma and rabbit red cell were investigated.

Among the tested compounds, N'-arylated-AET markedly inhibited monoamine oxidase and plasma cholinesterase, but these compounds did not inhibit red cell cholinesterase.

Relationship between the inhibitory activities of the enzyme and the pharmacological actions was discussed.

すでに著者等³⁾は一連の amidine 系化合物の構造活性相関の研究の一環として、2-aminoethylisothiuronium (AET) の N',N''-置換体を中心とした 11 種の関連化合物を合成し、その薬理作用について検討したが、本報は特に酵素に対する作用として、シロネズミ肝臓 monoamine oxidase (MAO) とハツカネズミ血漿およびウサギ血球の cholinesterase (ChE) に対する阻害作用を検討し、すでに報告した薬理作用との関連性を考察した。

実 験 の 部

実験材料

試験化合物は第 1 報³⁾と同じく Table I に示す 11 種である。

1) 第 3 報: 小澤光, 原洋一, 薬誌, 88, 747 (1968).

2) Location: Kitayobancho, Sendai.

3) 小澤光, 原洋一, 薬誌, 88, 156 (1968).