

$\alpha$ -ethyl-thioisonicotinamide-sulphoxide のポーラロ  
グラフィーに関する研究

古川 佳也・山崎 正保・奥田 良雄

国立療養所刀根山病院 (院長 山口 寿博士)

受付 昭和 39 年 7 月 10 日

POLAROGRAPHIC STUDIES ON  $\alpha$ -ETHYL-  
THIOISONICOTINAMIDE-SULPHOXIDE

Yoshiya FURUKAWA, Masayasu YAMAZAKI and Yoshio OKUDA\*

(Received for publication July 10, 1964)

We have reported in previous papers that  $\alpha$ -ethyl-isonicotinamide and  $\alpha$ -ethyl-isonicotinic acid were detected in rabbit urine orally administered with  $\alpha$ -ethyl-thioisonicotinamide (1314 Th).

Kane emphasized in his reports that 1314 Th-sulphoxide existed in human and rabbit serum treated with 1314 Th.

Therefore, in this report, we have studied on the polarographic properties and stability of 1314 Th-sulphoxide synthesized by Prof. H. Taniyama, and on the comparison of 1314 Th-sulphoxide-solution with the human urine administrated with 1314 Th, in which unknown waves appeared between  $-0.5$  v. and  $-1.0$  v. on the polarographic method.

Results :

1) As in the Kane's reports, 1314 Th-sulphoxide in water solution gave two waves with a separation of half wave potentials of  $-0.5$  v.  $\sim -1.0$  v., and with wave heights in ratio 1 : 2 (the ratio of the first wave : the second wave in 1314 Th-sulphoxide).

2) 1314 Th-sulphoxide is unstable for heating ; when its solution was incubated at  $37^{\circ}\text{C}$  for 3 weeks or at  $100^{\circ}\text{C}$  for 30 minutes, its specific waves were diminished and disappeared.

3) With the polarographic method, the  $\alpha$ -ethylisonicotinamide or  $\alpha$ -ethylisonicotinic acid is easily recognized in the mixture or rabbit liver homogenate with 1314 Th-sulphoxide incubated at  $37^{\circ}\text{C}$  for 15~30 minutes.

4) The polarographic waves in the mixed solution of 1314 Th-sulphoxide with the isonicotinic acid, isonicotinamide or isoniazide showed that the ratio of first half wave potential to second wave of 1314 Th-sulphoxide did not become 1 : 2.

5) From the fact that the polarographic waves of the human urine treated with 1314 Th are identical with those of 1314 Th-sulphoxide in the above experiments, it is considered that in the human urine treated with 1314 Th there exist  $\alpha$ -ethylisonicotinamide,  $\alpha$ -ethylisonicotinic acid and a small dose of  $\alpha$ -ethylisonicotinamide sulphoxide.

\* From National Sanatorium Toneyama Hospital, 5-1, Toneyama, Toyonaka, Osaka, Japan.

$\alpha$ -ethylthioisonicotinamide (以下 1314 Th と記す) の生体内代謝に関する研究は Kane<sup>1)</sup>, Bieder<sup>2)</sup>ら, 山本<sup>3)4)</sup>らおよびわれわれによつて検討されてきた。この代謝物についてはわれわれがすでに報告したように, 家兎

においてはその排泄尿中に  $\alpha$ -ethylisonicotinamide および  $\alpha$ -ethylisonicotinic acid の出現をみ, これをそれぞれ結晶状に単離した<sup>5)~7)</sup>。しかし Kane はさらに  $\alpha$ -ethylthioisonicotinamide-sulphoxide (以下 TH-sulpho-

xide と記す) の出現を想定し、かつポーラログラフイーによつて、このものの出現を確認している。また Bieder からもポーラログラフイー、ペーパークロマトグラフイーによつて TH-sulphoxide の性状を詳しく検討して、Kane の報告を認めている。われわれは人に 1314 Th を投与した場合、その排泄尿中に前記 2 物質のほか、さらに微量ながら 1 つの物質の出現することを認めていたが、Kane, Bieder らの報告を知るに及んで、このものが TH-sulphoxide であろうと考え、TH-sulphoxide の合成を長崎大学薬学部谷山教授の手によつてなされたのを機会に人尿中にみる不明物質とこの合成物との検討を行なつた。本報告はとくに TH-sulphoxide のポーラログラフ的態様について、その成績の一部を報告する。

**TH-sulphoxide の性状**

共同研究者谷山の合成による TH-sulphoxide は黄褐色粉粒(板)状結晶で、軽度の硫黄臭がある。また水に可溶で、融点は 135~136.5°C である。

**TH-sulphoxide のポーラログラフ的態様**

実験方法：ポーラログラフは柳本式ペンポーラログラフ PB-105 を使用し、25±0.1°C の恒温槽中で、飽和

甘汞電極を対極として、特性 1.33 mg<sup>2/3</sup>, sec<sup>1/6</sup> (0 V にて) の水銀滴下電極で記録した。

また使用した緩衝液は日立 pH メーター M<sub>4</sub> にて測定調整した。

**実験成績**

1) 1314 Th と TH-sulphoxide のポーラログラフ波の比較

1314 Th と TH-sulphoxide のポーラログラフ的態様を各 pH において比較すると、Fig. 1, Table 1 に示すように、明らかに相違した性質のあることを認めた(ただし 1314 Th は所要量をエチレングリコールにて溶かし、蒸溜水にて一定量とす。TH-sulphoxide は所要量を蒸溜水にて溶解す)。すなわちたとえば pH 8.4 における 1314 Th は特異の陽極波を認めるが、TH-sulphoxide はこの陽極波を認めず、また還元波の半波電位 (-E 1/2) も異なり、-0.5 V. ~ -1.0 V. の間において、前者では 1 波の還元波を示すにすぎないが、TH-sulphoxide は 2 段の還元波を示し、しかも第 1 波と第 2 波の拡散電流値 (id) の比は 1:2 を示している。

2) TH-sulphoxide のポーラログラフイーによる定量について

Table 1 に記した TH-sulphoxide のポーラログラフの波形および拡散電流値より検討して、pH 7.8 におけるポーラログラフ波の第 2 波を利用することが、もつとも定量に適していることから、TH-sulphoxide 水溶液について、各濃度における拡散電流値をみると、Table 2 のように id/γ/ml を求めると、各濃度においてほぼ一定値を示し、検量曲線は直線状を示す。さらに Dubos および Kirchner 液体培地中における TH-sulphoxide の定量を行なうと、Table 3 に示すように、id/γ/ml はいずれもほぼ一定値を示し、この検量曲線は直線的で、定量の可能であることを確かめることができた。

3) TH-sulphoxide の水溶液あるいは Dubos, Kir-

Table 1. The Relationship between the pH of 1314 Th, 1314 Th-Sulphoxide-Solution, the Diffusion Current and the Half-Wave Potential (5×10<sup>-4</sup> M)

pH	Drug			
	1314 Th		1314 Th-sulphoxide	
	-E 1/2(V.)	id(μA)	-E 1/2(V.)	id(μA)
1.2	0.45	0.42		
	0.68	0.14		
2.2	0.50	0.44	0.25	0.18
	0.72	0.10	0.55	0.35
3.1	0.51	0.46		
	0.75	0.08		
4.2	0.56	0.46	0.35	0.20
	0.83	0.06	0.65	0.36
5.8	0.67	0.52	0.50	0.18
			0.74	0.38
6.4	0.72	0.52	0.57	0.18
	1.29	0.22	0.81	0.37
7.8	0.84	0.52	0.68	0.16
	1.48	0.20	0.95	0.35
8.4			1.68	0.10
			0.71	0.18
8.4	0.90	0.52	0.96	0.34
	1.53	0.20	1.64	0.10
9.4	0.98	0.52	0.75	0.17
	1.60	0.14	1.04	0.33
10.4			1.68	0.12
	1.30	0.47	0.80	0.18
10.4	1.71	0.06	1.10	0.26
	1.05	0.38	0.85	0.18
11.0	1.77	0.02	1.12	0.22
			1.02	0.13
13.5			1.21	0.16

Fig. 1. Typical Polarograms of 1314 Th (5×10<sup>-4</sup> M) and 1314 Th-Sulphoxide (5×10<sup>-4</sup> M) at pH 8.4

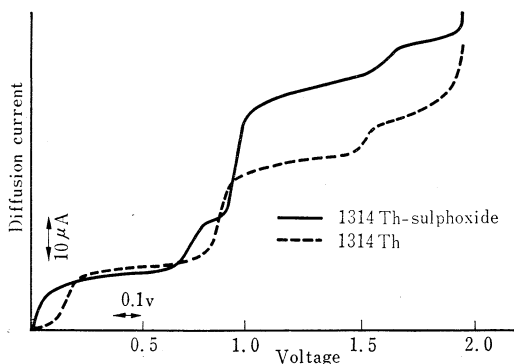


Table 2. The Relations between Diffusion Currents (id) of the Second Reduction Wave and the Concentration of 1314 Th-Sulphoxide at pH 7.8

Conc. of 1314 Th-sulphoxide ( $\gamma/ml$ )	Diffusion current id ( $\mu A$ )	id/ $\gamma/ml$
10	0.032	0.003
20	0.063	0.003
30	0.093	0.003
40	0.122	0.003
50	0.185	0.003

Table 3. id/ $\gamma/ml$  Value of 1314 Th-Sulphoxide in Dubos and Kirchner Liquid Media at pH 7.8

Conc. of 1314 Th-sulphoxide ( $\gamma/ml$ )	Diffusion current id ( $\mu A$ )	id/ $\gamma/ml$
25	0.075	0.003
250	0.748	0.003
2,500	7.495	0.003

Table 4. Degradation of 1314 Th After Incubation at 37°C for Three Weeks

Conc. of 1314 Th $\gamma/ml$	Diffusion current of the first reduction wave id ( $\mu A$ )	id ( $\mu A$ ) after incubation at 37°C for 3 W
5	0.001	0.0006
10	0.012	0.009
100	0.128	0.118
500	0.642	0.640

cherner 液体培地中における温度の影響

TH-sulphoxide を蒸留水, Dubos, Kirchner 液体培地中に, それぞれ  $5 \gamma/ml$ ,  $10 \gamma/ml$ ,  $100 \gamma/ml$ ,  $500 \gamma/ml$  の濃度を含むように作製し, これを  $37^\circ C$  の恒温室中に 1 昼夜, 3 週間放置したのち, 各濃度の変化をポーログラフイーによつて検討した。

1 昼夜放置後の各溶液中の TH-sulphoxide の濃度は全く変化を認めないが, 3 週間放置後の溶液中の TH-sulphoxide は Table 5 に示すように, 低濃度ほど TH-sulphoxide の id ( $\mu A$ ) 値は著明に減少している。一方 1314 Th においては Table 4 にしめすように TH-sulphoxide に比べて, その減少度は小さい。

したがつて TH-sulphoxide は 1314 Th に比較して, 比較的不安定であるといえる。また TH-sulphoxide を Dubos, Kirchner 液体培地中で,  $100^\circ C$  30 分加熱した場合の濃度の変化をみると, Table 6 に示すように低濃度においては id 値は著明に減少し, 分解しやすいことを示している。

4) Isonicotinamide, Isonicotinic acid あるいは Isoniazide の存在下における TH-sulphoxide のポーログラフ波の変化について

Fig. 1, Table 1 にすでに示したように, TH-sulpho-

Table 5. Degradation of 1314 Th-Sulphoxide after Incubation at  $37^\circ C$  for Three Weeks

Conc. of 1314 Th-sulphoxide ( $\gamma/ml$ )	Diffusion current of the seconde re-dation wave id ( $\mu A$ )	id ( $\mu A$ ) after incubation at $37^\circ C$ for 3 W
5	0.016	0.004
10	0.032	0.029
100	0.324	0.320
500	1.632	1.615

Table 6. Degradation of 1314 Th-Sulphoxide by Heating ( $100^\circ C$  for 30 min.) in Kirchner, Dubos Liquid Media

Liquid media	Conc. of 1314 Th-sulphoxide ( $\gamma/ml$ )	id ( $\mu A$ ) before heating	id ( $\mu A$ ) after heating
Kirchner	2.5	0.008	—
	25	0.082	0.048
	250	0.815	0.702
	2,500	8.172	8.082
Dubos	2.5	0.008	—
	25	0.082	0.043
	250	0.816	0.705
	2,500	8.174	8.078

xide 水溶液のポーログラフ波は第 1 波 : 第 2 波の比が 1 : 2 に等しい拡散電流値を示すが, TH-sulphoxide 溶液に他の薬剤ことに 1314 Th の代謝物質である  $\alpha$ -ethylisonicotinamide,  $\alpha$ -ethylisonicotinic acid と同様のポーログラフ波を示す Isonicotinamide, Isonicotinic acid あるいは Isoniazide 溶液を混在させた場合の TH-sulphoxide の 2 段波の変化を検討した。すなわち各水溶液中の濃度は  $5 \times 10^{-4} M$  とし, pH 8.4 において, 混液の示すポーログラフ波をみると, Fig. 2 に示すように, TH-sulphoxide の還元第 2 波が後に続く Isonicotinamide, Isonicotinic acid あるいは Isoniazide の還元波のために減少し, 第 1 波 : 第 2 波の比は 1 : 2 とはならない。

5) TH-sulphoxide の肝ホモジネートによる分解について

新鮮家兎肝をリンゲル液にてよく洗滌したのち, ガラスホモジナイザーにて, 少量の pH 7.4 の磷酸緩衝液 ( $MgCl_2 10^{-4}$  を含む) を滴下しつつ, ホモジネートし, 1314 Th ( $5 \times 10^{-4} M$ ) 1 ml に肝ホモジネート 1 ml を加え,  $37^\circ C$  にて, 0 分, 15 分, 30 分間それぞれ incubate したのち, 無水アルコールにて除蛋白後, その上清に pH 7.4 の磷酸緩衝液と飽和 KCl (1 ml) に加えて, 全量 10 cc として, ポーログラフイーを行なつた。

Fig. 3 に示すように, 30 分間の incubate によつて, TH-sulphoxide は全く分解し, そのポーログラフ波は著しく変化し, 半波電位は  $\alpha$ -ethylisonicotinamide あるいは  $\alpha$ -ethylisonicotinic acid に等しい値を示す。

Fig. 2. Polarograms of  $^{131}\text{I}$ Th-Sulphoxide in the Existence of Isonicotinamide, Isonicotinic acid and INH at pH 8.4

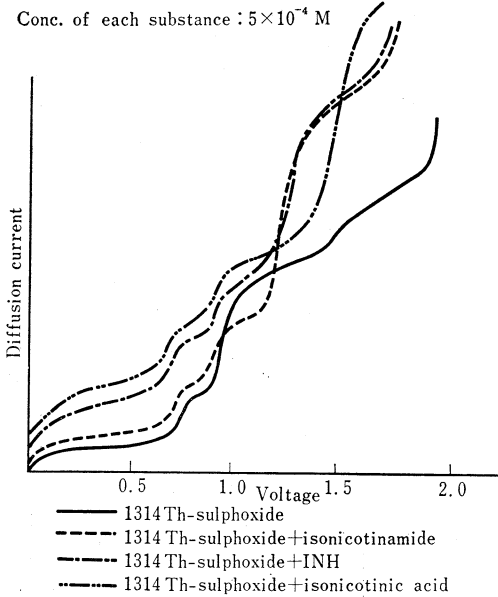
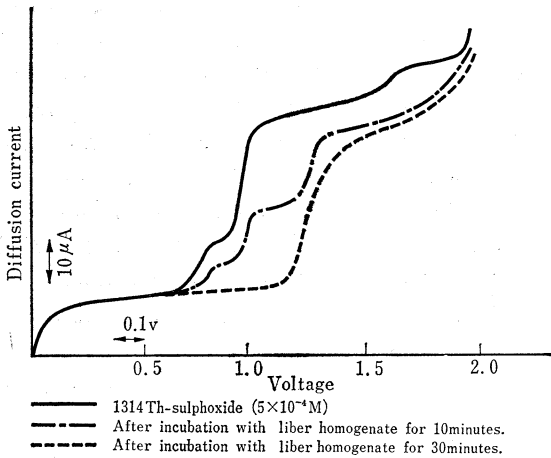


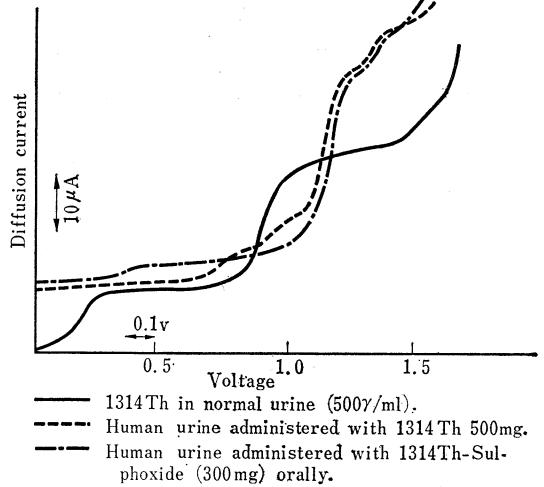
Fig. 3. Polarograms of  $^{131}\text{I}$ Th-Sulphoxide after Incubation (at  $38^\circ\text{C}$ ) with the Rabbit Liver Homogenate at pH 7.4



考案ならびに総括

われわれは  $^{131}\text{I}$ Th を家兎に服用させて、その 24 時間の排泄尿中から  $\alpha$ -ethylisonicotinamide と  $\alpha$ -ethylisonicotinic acid の二つの物質を単離証明した。しかし人に  $^{131}\text{I}$ Th を服用させて、その 24 時間尿についてみると、前記 2 物質のほか、Fig. 4 に示すように微量ではあるが、pH 8.4 において半波電位  $-0.70$  V,  $-0.96$  V 付近にポーラログラフ波を示す物質の存在することをしばしば認めていた。このものについては不明のまま今日まで経過してきたが、TH-sulphoxide の合

Fig. 4. Polarograms of Human Urine Administered with  $^{131}\text{I}$ Th and  $^{131}\text{I}$ Th-Sulphoxide at pH 8.4



成に及んで、Kane, Bieder らの報告の追試の意味もかねて、とくに人尿中の不明物質の検討を試み、このものが TH-sulphoxide であろうと推論するにいたつた。すなわち  $^{131}\text{I}$ Th を服用させると、pH 8.4 の磷酸緩衝液によるポーラログラムの半波電位  $-0.70$  V,  $-0.96$  V の物質は TH-sulphoxide のそれと全く一致すること、また人尿中の  $-0.96$  V に示す波は  $-0.70$  V に示す波との間に 2 : 1 の比は成立たないが、これは Fig. 2 からも明らかのように、 $^{131}\text{I}$ Th の代謝物である  $\alpha$ -ethylisonicotinamide,  $\alpha$ -ethylisonicotinic acid の波が  $-0.96$  V に示す波高を減少させるためと考えられることから、上記のごとく推論することができる。

なお TH-sulphoxide を人あるいは家兎に服用させた場合、その排泄尿中にはもはや TH-sulphoxide は認められず、 $\alpha$ -ethylisonicotinamide,  $\alpha$ -ethylisonicotinic acid を認める (Fig. 4) こと、および TH-sulphoxide と肝ホモジネートをとともに incubate することによつて容易に前 2 物質に変化することから、TH-sulphoxide の分解は容易であつて、 $^{131}\text{I}$ Th の代謝の過程において TH-sulphoxide を経て、 $\alpha$ -ethylisonicotinamide および  $\alpha$ -ethylisonicotinic acid にいたるものと考えられる。そこで人尿中にしばしば認める TH-sulphoxide はごく微量であるか、ときには全く認められないことから  $^{131}\text{I}$ Th の代謝過程に一部が出現するもので、ここにわれわれは肝障害と  $^{131}\text{I}$ Th の代謝の関係を追求せねばならない必要がある。事実動物実験にて  $^{131}\text{I}$ Th を連続大量投与を続けると死亡前に  $^{131}\text{I}$ Th そのものが尿中に出現することはすでに報告したところであるので、人尿における TH-sulphoxide の出現があるいは肝機能障害とも関係があるものと考え、鋭意追求中である。

さらに TH-sulphoxide の抗結核菌作用は次報に報告するが、一般に 1314 Th とほぼ同様の抗菌力を有することは明らかであるが、このさい TH-sulphoxide は加熱および 37°C にて長期に incubate すると低濃度では比較的分解しやすいことから、抗菌力の検定には培地を比較的低い温度で処理する必要がある。

### 結 論

1. TH-sulphoxide は水に可溶にして、1314 Th とはそのポーラログラフ波は全く異なる。すなわち TH-sulphoxide は 1314 Th の示すような陽極波は認めない。しかも還元波は 2 段波を示し、第 1 波：第 2 波の拡散電流値は 1 : 2 である。

2. TH-sulphoxide は 37°C, 3 週間の incubate によつて、低濃度ではその分解度は高い。また 100°C 30 分間の加熱によつても、同様の傾向を示す。

3. TH-sulphoxide は Isonicotinamide, Isonicotinic acid あるいは Isoniazide の共存によつて、還元第 2 波は低下する。

4. TH-sulphoxide は肝ホモジネートとともに incubate すると比較的容易に分解する。そして  $\alpha$ -ethyl-

isonicotinamide あるいは  $\alpha$ -ethylisonicotinic acid に等しい分解産物を認める。

5. 1314 Th 服用人尿中には  $\alpha$ -ethylisonicotinamide,  $\alpha$ -ethylisonicotinic acid のほかに一部 TH-sulphoxide を認める場合がある。

6. 1314 Th の生体内代謝の過程は TH-sulphoxide を経て、終末産物にいたるものと推論される。

稿を終わるに当たりご指導、ご校閲を賜りました院長山口寿博士に深謝いたします。また TH-sulphoxide の合成ならびにご校閲を賜りました長崎大学教授谷山博士に厚くお礼申し上げます。

### 文 献

- 1) Kane : Nature, 195 : 495, 1962.
- 2) Bieder et al. : Ann. pharm. fr., 21 : 375, 1963.
- 3) 山本 : 胸部疾患, 6 : 1036, 1962.
- 4) 山本 : 胸部疾患, 7 : 1325, 1963.
- 5) 山崎・奥田・古川 : 最新医学, 18 : 913, 1963.
- 6) 山崎他 : 胸部疾患, 7 : 99, 1963.
- 7) Okuda : Rev. Polarogr., 10 : 222, 1963.