

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
87 (4) 455 ~ 457 (1967)

UDC 615.778-092.21 : 612.396.21

74. 上田道広, 村上則彦, 厚村治身, 古木和子: 医薬品の体内変化に関する研究
(第7報^{*1}) スルファモノメトキシンの体内変化物について

Michihiro Ueda, Norihiko Murakami, Harumi Atsumura, and Kazuko
Huruki: Studies on Metabolism of Drugs. VII.*¹ On the
Metabolite of Sulfamonomethoxine in Human.

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Toyama*²)

Three kinds of biological products were found in the human urine after administration of sulfamonomethoxine (I). The unchanged I and N⁴-acetylsulfamonomethoxine were identified by comparison with authentic samples by paper chromatography. The other was extracted by the following procedure and identified as sulfamonomethoxine-N¹-glucosiduronic acid, N¹-[N¹-(4-methoxy-6-pyrimidinyl)sulfanilamido]glucopyranosiduronic acid, which was synthesized by a separate method.

Extraction of the biological product of I was made by adsorption on activated charcoal, its elution with ammonia alkaline solvent, and concentration of the extract solution. The extract solution was treated consecutively with Dowex 50W-X8 and Amberlite IRA-68, by precipitation with lead acetate and basic lead acetate, paper partition chromatography, and further treatments with Duolite C-10 and Dowex 4, finally affording a crystalline residue. For the synthesis, potassium salt of I was condensed with methyl (2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-bromo)glucopyranosiduronate, the condensate was hydrolyzed with ammonia, and purified by treatments with Dowex 50W-X8, Amberlite IRA-68, Duolite C-10, and Dowex 4. The extracted crystals and the synthesized products agreed well in elemental analytical values, paper chromatographic results, and ultraviolet and infrared spectral data. Absorption band of SO₂ at 1160 cm⁻¹ in their infrared spectra indicated that the glucuronic acid is bonded at N¹-position.

(Received August 29, 1966)

持続性サルファ剤として開発し繁用されている N¹-(4-methoxy-6-pyrimidinyl)sulfanil amide すなわち sulfamonomethoxine (I) については大島等^{1,2)}が抗菌性、毒性について検討しており、かねて体内においては遊離体と N⁴-アセチル体ができると報告しているのみで、他のものについては記載されていない。中沢等³⁾も人体に投与した際 60% は遊離型ではかは N⁴-アセチルであると報告している。著者等は I を服用した人尿を用いてペーパークロマトグラフィー (PPC) を前報⁴⁾に準じて行なったところ、Table I に示すように3種のスポットが認められたので、この解明を試み検索した。

スポット No. 1 は Ehrlich 試薬、ジアゾ化後津田試薬によりただちに呈色し、スポットも大きく Rf はいずれも標品と合致したので未変化の I と同定した。

スポット No. 2 は芳香族アミン検出試薬により呈色しないが、5% HCl を噴霧し加熱加水分解後呈色し、Rf はいずれも合成した N⁴-acetylsulfamonomethoxine⁵⁾ と一致した。また 40×40 cm. 沓紙に試料を塗布し 2N NH₄OH 飽和 BuOH を用いて展開後、該当部を切り取り抽出し、Table I の溶媒を用いて再展開を行ない Rf はいずれも合成品と合致したので N⁴-acetylsulfamonomethoxine と確認した。

スポット No. 3 は種々検討した結果、グルクロン酸結合物が予想され単離を試みたが、前報の sulfisomezole の方法が適用できず、かつ、より不安定であった。抽出には活性炭、Dowex 50-X8, Amberlite IRA-68, 酢酸鉛

*¹ 第6報：本誌，87，456 (1967)；日本薬学会第86年年会で発表 (1966年4月，富山)。

*² Gofuku, Toyama.

1) 大島，長崎，館：日薬理誌，58，50 (1962)。

2) 大島，笠原，柴田：同誌，58，59 (1962)。

3) 中沢，小川，岡等：治療，44，171 (1962)。

4) 宇野，上田：本誌，80，1785 (1960)。

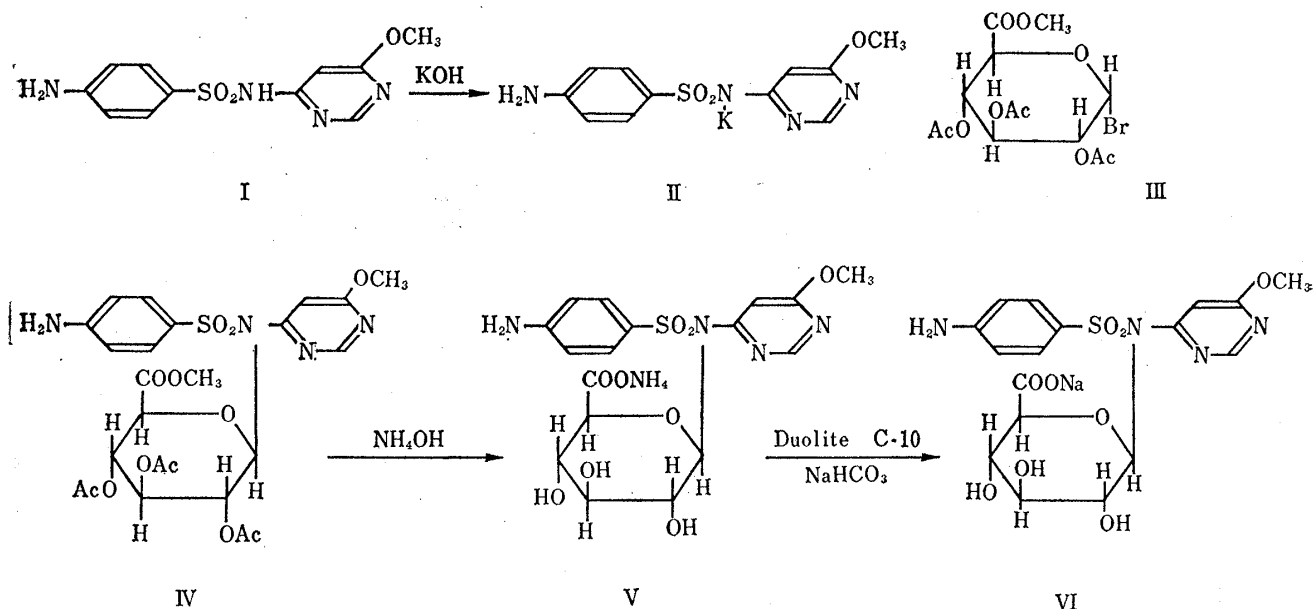
5) R. G. Shepherd, W. E. Taft, H. M. Krazinski: J. Org. Chem., 26, 2764 (1961)。

TABLE I. Rf Values of Excrements in Human Urine after Administration of Sulfamonomethoxine

Solvent	BuOH MeOH H ₂ O (3:1:1)	BuOH PrOH H ₂ O (2:1:1)	BuOH AcOH H ₂ O (5:1:4)	BuOH MeOH 2N NH ₄ OH (3:1:1)	BuOH satd. with 2N NH ₄ OH	
No. 1	0.82	0.73	0.88	0.53	0.25	Sulfamonomethoxine
No. 2	0.87	0.78	0.93	0.61	0.36	N ⁴ -Acetylsulfamonomethoxine
No. 3	0.41	0.23	0.33	0.45	0.12	Sulfamonomethoxine- N ¹ -glucopyranosiduronate

塩基性酢酸鉛, PPC 分離, Amberlite IRP-64, Duolite C-10, Dowex 4 などを用いて精製し無色結晶性粉末を得た. 最初アンモニウム塩を作ったが N の元素分析値が小となり, 酸性を呈し放置すると分解のおそれも生じたので Na 塩に変えたところ合致した. 本品は水, メタノールに易溶でエタノール, エーテルに不溶で水より再結晶した. 本品は Ehrlich 試薬により, またジアゾ化後津田試薬によりただちに呈色する. グルクロン酸の naphthoresorcinol 反応および carbazole 反応を呈する. N HCl と加温して加水分解すると I とグルクロン酸が得られる.

Chart 1.



元素分析値は1分子の結晶水を含む sodium sulfamonomethoxine-N¹-glucosiduronate C₁₇H₁₉O₉N₄SNa·H₂O に一致する.

合成法はアミノ基を保護しないで I の K 塩を作り, methyl (2,3,4-tri-O-acetyl-α-D-bromo)glucopyranosiduronate⁶⁾ を加え含水アセトン中で縮合させ, NH₄OH 水で加水分解し Duolite C-10 を通し NaHCO₃ 液で中和し精製する Chart 1 の経路により合成し結晶性粉末が得られた. 元素分析値は1分子の結晶水を含む sodium sulfamonomethoxine-N¹-glucopyranosiduronate に一致する.

抽出品および合成品を比較するに PPC で一致し, 元素分析値は1分子の結晶水を有するものに合致し, UV スペクトルではいずれも 270 mμ に1個の吸収極大を有し, IR スペクトル

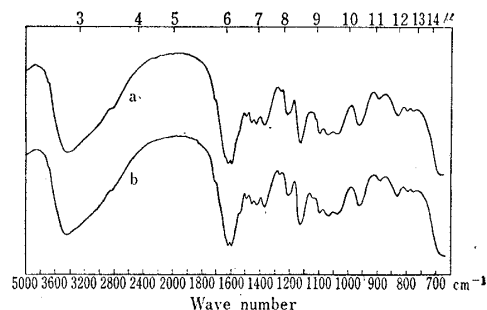


Fig. 1. Infrared Absorption Spectra (KBr)

a : synthetic sample
b : extracted sample

6) G. N. Bollenback, J. W. Long, D. G. Benjamin, J. A. Lindquist : J. Am. Chem. Soc., **77**, 3310 (1955).

も Fig. 1 に示すように合致した. IR スペクトルにおいて著者等は SO_2 対称伸縮による吸収がアミド型では $1170\sim1145\text{ cm}^{-1}$ にあり, イミド型では $1145\sim1120\text{ cm}^{-1}$ にあることを報告⁷⁾したが, 抽出した本品は 1160 cm^{-1} に強い吸収のあることよりアミド型で N^1 位結合であることを支持する. また合成の経路よりも N^1 位結合物と思われる. したがって No. 3 の本品は1分子の結晶水を含む sodium sulfamonomethoxine- N^1 -glucopyranosiduronate であると考えられる.

実験の部

試料の調製 I を 1 g. 内服後 3~24 hr. の人尿を 37° 以下で減圧濃縮, 約 1/30 容とし同量の MeOH を加え攪拌脱塩後遠心分離し上澄液を試料とした. なおこの試料にはかなりの塩類や常尿成分が含有され, Rf 値を變動させるおそれがある PPC に際してはつぎのように行なった. 1) 内服時の尿を前記のように処理して得た試料, 2) 1) に標品を添加溶解したもの, 3) 常尿を同じ操作で濃縮脱塩した試料, 4) 3) に標品を添加溶解したもの. この4種を濾紙に塗布し同時に展開した.

グルクロン酸結合物の抽出 I を 1.5 g. あて 12 hr. ごとに6回服用した3人分の尿 (12 L.) を集め, AcOH を加えて pH 4.5 とし活性炭 (Norit SX II) 360 g. を加えて攪拌吸着後濾取水洗し, この活性炭部を MeOH- $\text{NH}_4\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$ (5:1:20) の溶出溶媒を 3, 2, 1.5 L. の順に3回, 25 min. あて 40° で抽出し減圧濃縮. 以下濃縮操作はすべて 40° 以下にて N_2 気流中で行なう. 析出する I を除去しながら約 100 ml. まで濃縮. Dowex 50W-X8 100~200 メッシュ H 型を充填 (直径 3 cm., 長さ 38 cm.) したカラムに吸着させ, 水洗し, 流出液が中性となった後, さらに 2 hr. 水洗し $\text{N NH}_4\text{OH}$ にて溶出する. 減圧濃縮し Amberlite IRA-68 20~50 メッシュ (直径 5 cm., 長さ 110 cm.) にゆっくり吸着させ十分に水洗後, $0.01\text{N NH}_4\text{OH}$ にて溶出し減圧濃縮約 70 ml. とする. AcOH で pH 4.5 とした液にマグネチックスター-攪拌下 50% $(\text{AcO})_2\text{Pb}$ を沈殿の生じなくなるまで滴下し濾去. 攪拌下濾液に NH_4OH を加え pH 7 とし, 沈殿の生じなくなるまで 10% 塩基性酢酸鉛を滴下し濾取. 沈殿を数回水洗し MeOH で洗い乾固粉末とする. $1\text{N NH}_4\text{OH}$ を加え H_2S を通じほぼ中性に保つ. PbS を濾去し減圧濃縮約 7 ml. とする. 水洗済みの東洋濾紙 No. 50, $40\times40\text{ cm.}$ の濾紙 15 枚に塗布し BuOH-MeOH- H_2O (3:1:1) で PPC を行ない, 風乾後 Rf 0.52 の本品含有部を切り取り, 水で3回溶出し減圧濃縮約 40 ml. とする. Amberlite IRP-64 100~200 メッシュ (直径 0.4 cm., 長さ 10 cm.) を通し, Duolite C-10 50~100 メッシュ (直径 2.5 cm., 長さ 4 cm.) に吸着させ水洗を続けると芳香族アミン陽性部が流出し始めこれを集め 0.1N NaHCO_3 で中和, 減圧濃縮約 40 ml. とする. Dowex 4 100~200 メッシュ (直径 0.4 cm., 長さ 10 cm.) を通した後減圧濃縮し乾固. 少量の無水 MeOH に溶解し2倍量の無水 EtOH を加え析出する沈殿を濾取, 少量の水を加えて溶解後 P_2O_5 上で乾固結晶化する. 無色結晶性粉末 1 g. を得. $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_9\text{N}_4\text{SNa}\cdot\text{H}_2\text{O}$ Anal. Calcd.: C, 41.13; H, 4.26; N, 11.29. Found: C, 40.93; H, 4.03; N, 11.14. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ m μ (log ϵ): 270 (4.23). IR cm^{-1} : ν_{SO_2} 1160.

Methyl {2,3,4-tri-O-acetyl- N^1 -[N^1 -(4-methoxy-6-pyrimidinyl)sulfanilamido]} β -D-glucopyranosiduronate(IV) I 28 g. をとり KOH 5.8 g. を含有する水 25 ml. アセトン 100 ml. を加えて溶解し, methyl (2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-bromo)glucopyranosiduronate 40 g. を加え溶解し 25° で3日間放置. 1 L. の水をコルベンにとり攪拌しながら徐々に反応物を注入し減圧下アセトン除去. 析出物を濾取水洗後乾燥し無水 MeOH に溶解. あらかじめ MeOH 洗浄した 150 ml. の Amberlite IRA-68 20~50 メッシュをカラムに充填した後, MeOH に溶解した液を徐々に通す. 続いて MeOH 約 200 ml. を流し通過したアミン陽性部を集め, 析出物を濾取しながら 35° 以下で減圧濃縮, 乾固して 31 g. を得. MeOH から再結晶し m.p. 187° の無色微細プリズム晶を得. $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_{12}\text{N}_4\text{S}$ Anal. Calcd.: C, 48.32; H, 4.73; N, 9.39. Found: C, 48.16; H, 4.80; N, 9.15.

Sodium N^1 -[N^1 -(4-methoxy-6-pyrimidinyl)sulfanilamido]glucopyranosiduronate (VI) IV 25 g. をとり 400 ml. の MeOH に溶解し $3.5\text{N NH}_4\text{OH}$ 600 ml. を加え, 室温で3日間加水分解し減圧濃縮約 70 ml. とする. Dowex 50 W-X8 100~200 メッシュ (直径 3.4 cm., 長さ 29 cm.) に吸着, 水洗後 $1\text{N NH}_4\text{OH}$ で溶出し減圧濃縮. Amberlite IRA-68 20~50 メッシュ (直径 4 cm., 長さ 88 cm.) に吸着. よく水洗後 $0.01\text{N NH}_4\text{OH}$ にて溶出し減圧濃縮約 50 ml. とする. 精製した Duolite C-10 50~100 メッシュ (直径 3.4 cm., 長さ 5 cm.) に吸着, 水洗を続けるとアミン陽性部が流出し始める. これを集め 0.1N NaHCO_3 で中和し減圧濃縮. Dowex 4 100~200 メッシュ (直径 0.8 cm., 長さ 4 cm.) を通した後減圧濃縮し P_2O_5 上乾固し結晶化する. 無色微細結晶性粉末 4 g. を得. $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_9\text{N}_4\text{SNa}\cdot\text{H}_2\text{O}$ Anal. Calcd.: C, 41.13; H, 4.26; N, 11.29. Found: C, 41.13; H, 4.05; N, 11.11. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ m μ (log ϵ): 270 (4.23). IR cm^{-1} : ν_{SO_2} 1160.

終わりにのぞみ本研究に御援助賜った富山大学薬学部長 志甫伝逸先生, 桜井謙之介先生に感謝致します. また元素分析を担当された森腰正弘君に謝意を表する.

富山大学薬学部

7) T. Uno, K. Machida, K. Hanai, M. Ueda, S. Sasaki: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 11, 704 (1963).