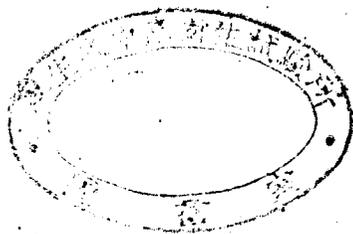


衛生試驗所報告

第六十七號



國立衛生試驗所

昭和二十五年三月

目 次

1. スルファミン等の國家檢定成績報告……………	技官 大岡増二郎 技官 中島辰己 技官 鍋島昇 技官 森秀將	助手 赤井陽一郎 副手 國東壽夫 副手 汐見信 副手 鈴木美代子 副手 小安知子	1
2. ビタミンB ₁ 結晶のプロム反應(プロム水素塩の夾雜)……………	技官 小川俊太郎	助手 塚本 秀子	13
3. ビタミンB ₁ の純度檢定法.(附)ビタミンB ₁ 結晶のプロム反應(結語)……………	技官 小川俊太郎 技官 河内 敬朝	助手 塚本 秀子	19
4. 馬鈴薯澱粉製造廢液よりビタミンB ₁ 回收……………	技官 小川俊太郎	技官 河内 敬朝	23
5. 市販ビタミンB ₁ 剤の調査……………	技官 小川俊太郎 技官 河内 敬朝	助手 塚本 秀子	25
6. 局方強ビタミンB ₁ 錠の重量……………	技官 小川俊太郎	助手 塚本 秀子	29
7. 市販ビタミンA剤の調査……………	技官 小川俊太郎	囑託 太幡 利一	31
8. 澱粉分解酵素の効力檢定に関する基礎的研究(第1報)局方ヂアスターゼ檢定法の反應速度論的研究……………	技官 寺山 宏	副手 菅山 修二	35
9. コロイド滴定法に依るパンクレアチンの蛋白消化力檢定に関する研究(第1報)……………	技官 寺山 宏 副手 細田 富子	臨職 寺山 るみ 研究生 山羽 力	39
10. 海人草夾雜物試験について……………	技官 下村 孟 副手 安部 壯平	副手 片山 顯民	45
11. 海人草局方試験成績について……………	技官 山口 一孝 技官 下村 孟	技官 金庭 延慶 副手 安部 壯平	49
12. 海人草のアルコールエキス含有試験項目の改良試案について……………	技官 山口 一孝	技官 金庭 延慶	53
13. マンダラ葉及類似生葉のアルカロイド含有試験法について……………	技官 山口 一孝	助手 庄司 初枝	61
14. 数種 Datura 属の葉(特に表皮組織)について(抄録)……………	技官 下村 孟		69
15. m-Nitroanilin 系甘味物質の新檢出法に就いて……………	技官 長澤 佳熊	助手 古屋 照江	73
16. 醬油防微剤ロダン醋酸エチルエステル ₂ の衛生上に及ぼす障害程度の研究……………	技官 池田 良雄	技官 横井 泰生	79
17. 齒科補綴用合金に就いて……………	技官 藤井 正道 臨職 山内 八束 臨職 堀部 隆	副手 樋浦 矩夫 副手 辻 楠雄	107
18. 中毒小麦粉の生物学的研究……………	技官 平山 重勝	技官 山本 昌木	117
19. ビリヂン及ヒノリンのγ-置換体の合成に関する研究……………	技官 板井 孝信		123

20.	フリルプロピオン酸の合成	技官 助手	丸田省三郎 遠藤完一郎	副手	太田 和男	157
21.	α -ナフチルチオ尿素の合成	技官	丸田省三郎			165
22.	2-サルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピ リミジンの合成	技官 助手	丸田省三郎 遠藤完一郎	副手	太田 和男	171
23.	スルフォンアミド耐性株に対するニトロ フラゾーン(邦製フラスキン)の作用	技官 助手	宮本 晴夫 越沼きみゑ	研究生 研究生	柳町徳三 大谷政衛	177
24.	コロイド滴定法による細菌の発育状態の 研究特にフラシンの作用型式について	技官 技官	寺山 宏 宮本 晴夫	副手 副手	越沼きみゑ 細田 富子	183
25.	正電解高分子化合物マクラミンの 抗菌性の機作に関する実験的並びに理 論的研究	技官 技官	寺山 宏 宮本 晴夫	副手 副手	越沼きみゑ 細田 富子	189
26.	コロイド滴定法による血清の電気化学 的研究	技官 技官	寺山 宏 宮本 晴夫	副手 副手	越沼きみゑ 細田 富子	197
27.	人屍の腐敗に関する法医細菌学的研究	技官	桑原 章吾		東大法医 松永英	203
28.	<i>Claviceps litoralis</i> Kawatani による 麥角の寄生的栽培に関する研究	技官	川谷 豊彦			219
29.	薬用植物の土壤肥料学的調査(第1報)	技官	永田 武雄	技官	岡島 秀夫	261
30.	水耕法による二三薬用植物の好適反応 について	技官	永田 武雄	技官	岡島 秀夫	275
31.	チョーセンアサガオの葉枯性細菌病に関 する研究(第2報)分類学的考察	技官	山本 昌木			279

スルファミン等の國家檢定成績報告

技官 大岡増二郎、技官 中島辰己、技官 鍋島昇、技官 森秀將、助手 赤井陽一郎
副手 小安知子、副手 國東寿夫、副手 汐見信、副手 鈴木美代子

Report of the official assay on Sulfanilamide Sulfathiazole etc.

by Masuzirō Ōoka. Tatsumi Nakazima
Noboru Nabeshima Hideyuki Mori
Yōichirō Akai Tomoko Koyasu
Hisao Kunitoo Shin Shiomi
Miyoko Suzuki

1. 緒 言

昭和22年1月連合軍總司令部の覚書によりスルファミン、同錠、スルファチアゾール、同錠純マフアルゾール、マフアルゾール及び次サリチル酸蒼鉛注射液の檢定を指令され昭和22年3月13日付藥事法施行規則第87條に依る命令に基いて當所分析試驗部が檢定を開始してから一年餘になるが醫藥品に就いて此の種國家檢定が施行されたのは本邦に於ては始めてのことであるので茲にその実施要領並びに昭和22年度に於ける檢定成績を報告する次第である。

2. 実 施 要 領

昭和22年3月13日付を以て次の様なスルファミン等検査要綱が公布された。

スルファミン等の製品検査要綱

(1) 本要綱により製品の検査を行ふ醫藥品は次の通りである。

スルファミン及スルファミン錠
スルファチアゾール及スルファチアゾール錠
次サリチル酸蒼鉛注射液
純マフアルゾール及マフアルゾール
將來決定する其の他の醫藥品

(2) 前項の醫藥品を製造する醫藥品製造業者(以下單に製造業者という)は同一條件(物理的・化学的)の下に製造した製品毎に別に定める規格に従ひ検査を行つた上その成績を記載した報告書(英文邦文各三通別記様式第一)に次記數量の製品を添付して厚生省東京衛生試験所長(以下單に試験所長といふ)に提出すること。

スルファミン20g スルファミン錠20錠

スルフアチアゾール20g スルフアチアゾール錠20錠

次サリチル酸苳鉛注射液4g

純マフアルゾール2g. マフアルゾール2g,

(3) 前項により検査を受ける医薬品はその製品を封印するに適當な容器に容れ製品名、數量、製造年月日及製品番號を記入した標紙を容器に貼付すること。

(4) 前項により容器に容れられた製品は製造所々在地を管轄する地方廳當該官吏の監視の下に前項の容器中から製品番號毎に検査に提出する製品（以下單に検査品といふ）を採取させその容器には製造業者名、製品名、製造年月日、數量及製品番號を記入した標紙を貼付し前項の容器及び検査品に當該官吏の封印を受けること。

(5) 前項により採取された検査品は第二項に従ひ製造業者より直接試験所長に送付すること。

(6) 試験所長は前項により提出された検査品を第二項に定めた規格に従ひ速かに検査を行ひその結果を記載した報告書（英文及邦文各二通別記様式第二）及第二項により製造業者より提出された報告書（英文及邦文各二通）を厚生省醫務局製藥課長に送付すること。

(7) 試験所長及び製造業者は検査の記録を作成してこれを保存し置き常時連合軍最高司令部又は日本政府官吏の監査に應じられるようにして置くこと。

(8) 試験所長は検査の結果を製造業者に通知し且つ所定の規格に適合するものに対しては併せて合格番號を通知すること。

(9) 製造業者前項の通知を受けたときは地方廳當該官吏監視の下に第四項により施された製品容器の封印を解き小分包装をなすこと。不合格品に付ては封印解除の上更に精製処理し本要綱により再び検査を繰返すこと。

(10) 本要綱により検査をなす医薬品はその容器又は被包に第八項による合格番號及び合の記號を記載しなければこれを販賣若は投與し又は販賣若は投與の目的を以て貯藏若は陳列することが出来ないこと。

(11) 本要綱は昭和22年4月1日からこれを実施する。

第二項に定めた規格（米國藥局方及び N.N.R を基準とした製品規格）省略。

検査は前記検査要綱によつて実施するのであるが連合軍總司令部の覺書に示された如くスルフアミン、同錠、スルフアチアゾール、同錠及び次サリチル酸苳鉛注射液は米國藥局方に準據し純マフアルゾール及びマフアルゾールはN.N.R. に據つて試験を実施し試験が終了すれば合否を判定し業者に判決書（合否及び合格番號—合格の場合—が記載してある。）を交付すると同時に厚生省製藥課長及 G.H.Q.（製藥課を経由して）に當所に於ける試験成績を送付する。一方判決書を受理した製造業者は合格した製品に就いては合の記號及び合格番號を付し

不合格となつたものは精製を施した後前記要領に従つて再提出し當所の検定を受ける。

次に昭和22年3月13日付スルファミン等の製品検査要綱は試験成績が良好となるに従つて屢次に互る変更を受けてゐるので之を略記しよう。

○昭和22年12月6日医發第201號により。

スルファミン錠及びスルファチアゾール錠については製造毎に実施する試験は止めて毎月一回以上の抜取試験を施行することに変更（但し試験成績の良好な七製造業者のみ）

○昭和23年3月1日医發第55號により。

マフアルゾール及び次サリチル酸苺鉛注射液は其の國家試験に連続して三回合格した製造業者の製品については其の國家検査を省略し管轄する地方廳の係官立会の下に毎月一回以上の抜取により試料を採取してスルファミン等の製品検査要綱の方式に準じて當衛生試験所に提出してその検査を受けることゝなつた。

○昭和23年4月27日医發第91號により。

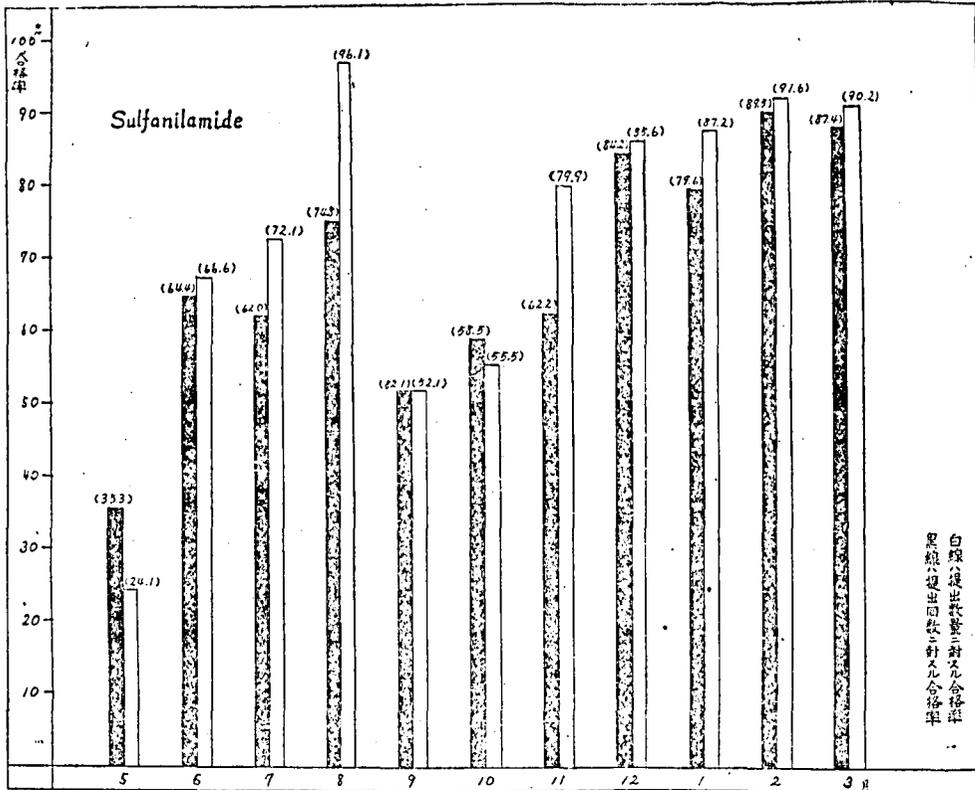
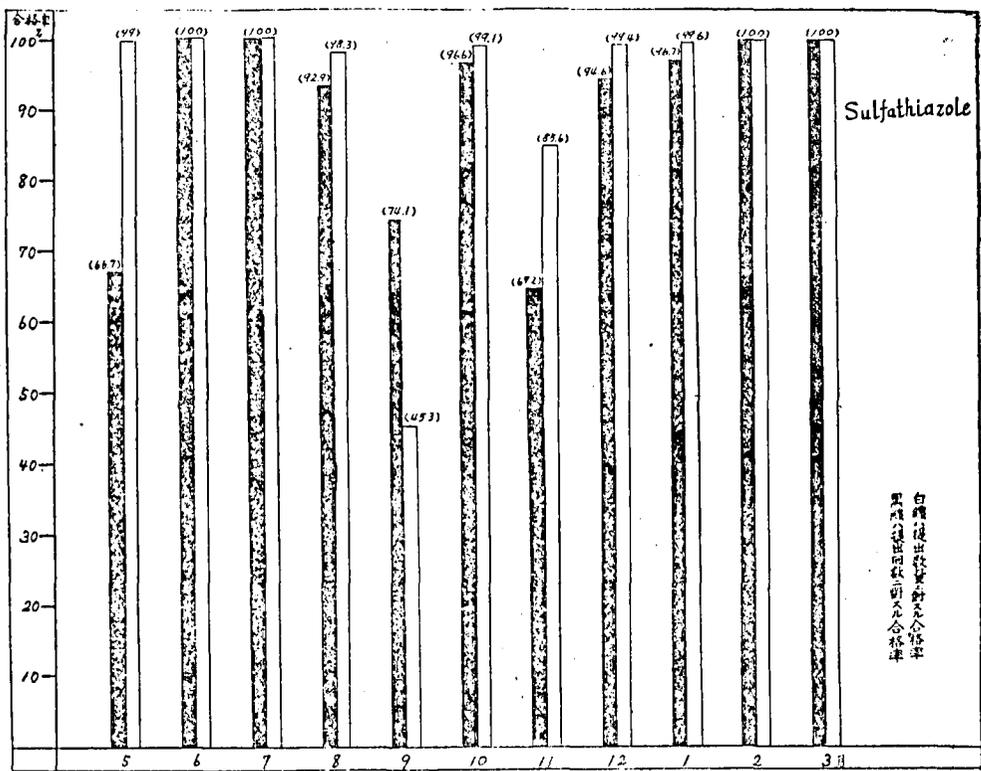
スルファミン、同錠、スルファチアゾール、同錠は其の國家検査に連続して五回（本年三月以降連続して合格した検査を含む）合格した製造業者の製品については其の後の國家検査を省略し管轄する地方廳の係官立会の下に毎月一回以上の抜取により試料を採取してスルファミン等の製品検査要綱に準じて當衛生試験所に提出し其の検査を受けることゝなつた。

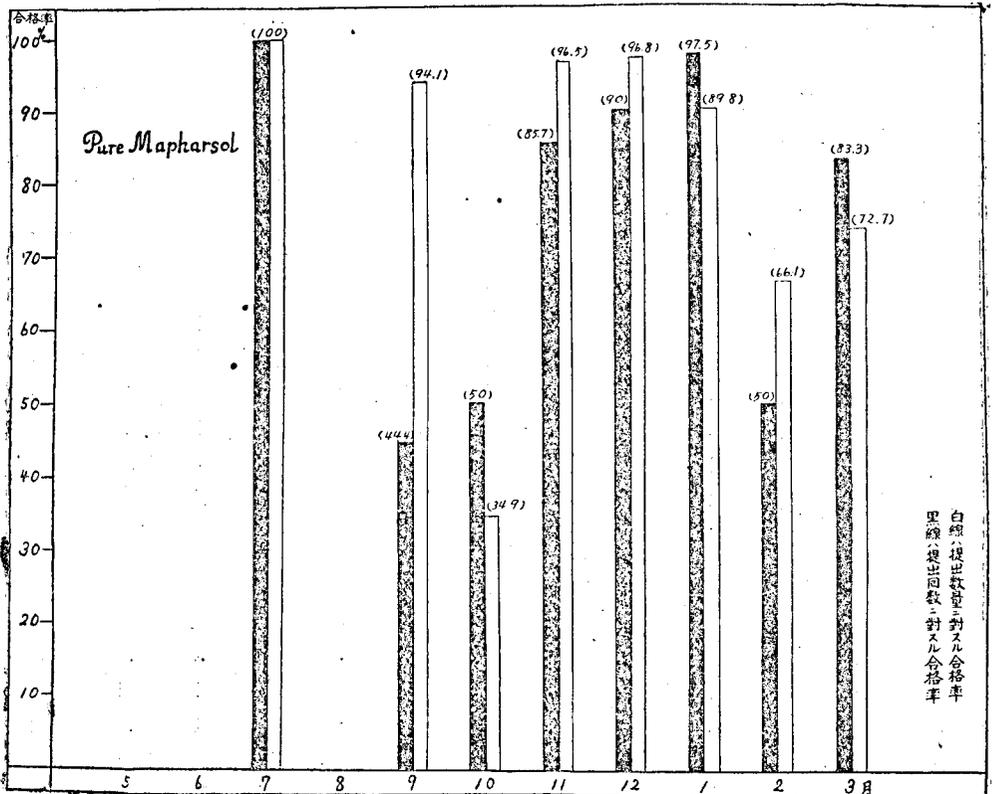
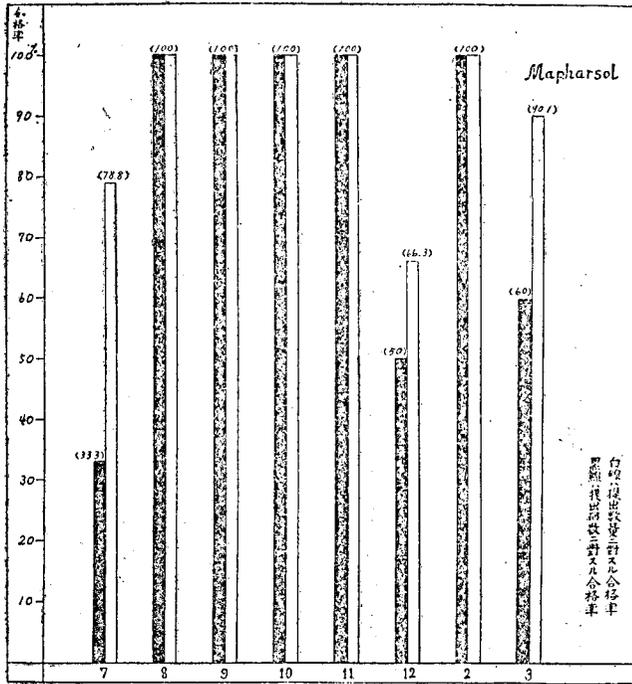
3. 試 験 成 績

前記要領によつて試験を実施し昭和22年4月より昭和23年3月に至る迄の成績は別表の通りであるが、此表に於ては各品目毎に提出回数、合格數、不合格數、提出回数に対する合格率並びに製造數量に対する合格率を月別に記載し不合格の理由を附記した。検査実施當初に於ては不合格となる製品が多かつたが、漸次成績は向上しスルファミンの如き最初合格率35.3%のものが、本年3月には87%を超える成績を示すに至つてゐる。スルファチアゾールは最初合格率66.7%であつたが、2~3月には100%合格を見るに至つた。純マフアルゾール及びマフアルゾールはその検査回数が少く、その成績が可成動搖しているが成績向上の跡は窺ひ得る。スルファミン及びスルファチアゾールの錠はそれ等の末の合格品を用いて製したもので含量試験が検査の主体である爲めか最初から成績は極めて良好であつた。次サリチル酸苺鉛注射液も同様好成绩を示している。スルファミン、スルファチアゾール、純マフアルゾール及びマフアルゾールに付いては上述の成績をグラフに示しておいた。グラフに明な如く提出回数に対する合格率と製造數量に対する合格率とは必ずしも一致しない。

不合格の理由は製法の異なるに従い又製造技術の異なるに従つて夫々相異なることは當然であるがスルファミン、スルファチアゾールについては概して精製過程の不充分に原因する外觀及び溶

スルファミン等の国家検定成績報告





解性の不良が主たるものであつた。純マフアルゾールもその溶解性は概してよくないが三價の砒素の過多、乾燥減量過多のものも相當に見受けられた。成績の詳細は表に譲る。

尙本検査に當つて検体を提出した製造業者を品目毎に記載すれば次の如くである。

スルファミン

保土谷化學工業株式會社	三井化學工業株式會社
大和化成株式會社	黒田製藥株式會社
日新化學工業株式會社	武田藥品工業株式會社
江東製藥株式會社	東洋製藥化成株式會社
日本藥品工業株式會社	協和化學工業株式會社
第一製藥株式會社	三和化學工業株式會社
日本曹達株式會社	横浜護謨製造株式會社
山之内製藥株式會社	八洲化學株式會社
荒川長太郎合名會社	八雲化學工業株式會社
ミクニ化學産業株式會社	三亞藥品工業株式會社
東洋曹達工業株式會社	中央化學株式會社
日黒藥品工業株式會社	日平産業株式會社
日本化藥株式會社	林製藥株式會社
富山化學工業株式會社	昭和化工株式會社
東京田邊製藥株式會社	萬有製藥株式會社

スルファミン錠

山之内製藥株式會社	日新化學工業株式會社
大和化成株式會社	東京田邊製藥株式會社
第一製藥株式會社	ウテナ藥品工業株式會社
黒田製藥株式會社	保土谷化學工業株式會社
協和化學工業株式會社	日本曹達株式會社
江東製藥株式會社	富山化學工業株式會社
日興化學工業株式會社	

スルファチアゾール

武田藥品工業株式會社	江東製藥株式會社
三井化學工業株式會社	日本藥品工業株式會社
吉富製藥株式會社	第一製藥株式會社
山之内製藥株式會社	三菱化成工業株式會社

スルフアチアゾール錠

山之内製薬株式会社 吉富製薬株式会社 武田薬品工業株式会社	三井化学工業株式会社 江東製薬株式会社 日本薬品工業株式会社
-------------------------------------	--------------------------------------

次ナリチル酸蒼鉛注射液

田邊製薬株式会社 三共株式会社 武田薬品工業株式会社 ゾンネボード製薬株式会社	萬有製薬株式会社 東洋製薬化成株式会社 第一製薬株式会社
--	------------------------------------

純マフアルゾール

萬有製薬株式会社 武田薬品工業株式会社 藤澤薬品工業株式会社	第一製薬株式会社 三共株式会社 田邊製薬株式会社
--------------------------------------	--------------------------------

マフアルゾール

三共株式会社 田邊製薬株式会社 萬有製薬株式会社	武田薬品工業株式会社 第一製薬株式会社
--------------------------------	------------------------

4. 結 語

本検査は昭和22年4月から実施されたが、1ケ年間の経過を見れば全品目を通じ逐次不合格品の出現率を減じ品質向上の跡を示した。此の種検査施行により優良な重要医薬品の製造を軌道に乗らしめその品質を國民に保証し得ることはその意義また少しとしない。

(昭和24年6月)

スルファミン等の提出回数及提出数量に対する合格率

検査項目	月												計
	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
検査総数	51	104	92	131	119	135	108	190	93	172	103	1308	
不合格数	18	67	57	98	62	79	78	160	78	154	90	941	
不合格率	33%	37%	35%	33%	57%	56%	30%	30%	20%	18%	13%	362	
不合格の理由	35.3%	64.4%	62.0%	74.8%	52.1%	58.5%	62.2%	84.2%	79.6%	89.5%	87.4%	72.2%	
(1) 外觀	12	5	4	11	4	6	12	4	2	4	1	53	
(2) 溶解度	18	27	20	15	27	44	10	21	4	6	4	198	
(3) 乾燥減失量			1	2					12	2	4	32	
(4) 外觀及溶解度	1	3	8	4	13	4	1	4	1	4	3	46	
(5) 溶解及乾燥減失量	1	1	2	1	5	2	3	1		1		17	
(6) 外觀及乾燥減失量							4				1	5	
(7) 融點及定量												0	
(8) 溶解灰分及定量	1											1	
(9) 外觀溶解減量					8				1			10	
製造数量	3376.9kg	6121.1kg	6893.2kg	57972.4kg	7698.6kg	9859.1kg	9610.4kg	14758.5kg	8851.6kg	14853.3kg	8686.4kg	158681.65kg	
合格数量	813.3kg	4074.5kg	4969.6kg	65342.3kg	4011.7kg	5476.7kg	7676.7kg	12639.6kg	7718.5kg	13600.5kg	7532.13kg	134155.58kg	
不合格数量	2553.6kg	2046.6kg	1923.6kg	2633.1kg	3683.9kg	4382.4kg	1933.7kg	2118.9kg	1133.1kg	1252.8kg	854.3kg	24526.07kg	
不合格率	24.1%	66.6%	72.1%	96.1%	52.1%	55.5%	79.9%	85.6%	87.2%	91.6%	90.2%	84.5%	

ス ル フ ア ミ ソ 錠
提出回数及提出数量に対する合格率

月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	計
検査合格数	3	15	9	38	50	65	37	47	40	13	20	13	350
検査不合格数	0	15	9	38	50	65	37	47	40	13	20	13	350
製造合格数	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
製造不合格数	309080錠	250764錠	1118937錠	5082217錠	7481823錠	9129886錠	5563166錠	6550121錠	6731060錠	1958527錠	3871489	2312574錠	54412327錠

ス ル フ ア ミ ソ 錠
提出回数及提出数量に対する合格率

月	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	計
検査合格数	3	18	16	14	27	29	26	37	30	21	40	261
検査不合格数	2	18	16	13	20	28	18	35	29	21	40	240
製造合格数	1	100%	100%	92.9%	74.1%	96.6%	69.2%	94.6%	96.7%	100%	100%	92%
製造不合格数	709.9kg	1555.5kg	2429.2kg	1501.0kg	2298.7kg	2257.6kg	2232.5kg	4379.9kg	3404.7kg	3509.7kg	5584.4kg	30213.3kg
(1) 熔渣の理由	1			1			1					1
(2) 外觀溶解度					2		7	1				1
(3) 溶解度及澄明度					5	1		1	1			14
(4) 溶解度及澄明度												1
(5) 溶解度及澄明度												2
製造合格数	703.0kg	1555.5kg	2429.2kg	1476.0kg	1040.7kg	2237.9kg	1953.4kg	4353.1kg	3392.3kg	3809.7kg	5584.4kg	28535.2kg
製造不合格数	6.9kg	0	0	25.0kg	1258.0kg	19.7kg	329.1kg	26.8kg	12.4kg	0	0	1678.1kg
合格率	99%	100%	100%	98.3%	45.3%	99.1%	85.6%	99.4%	99.6%	100%	100%	94.4%

スルヲテゾール錠
提出回数及提出數量に對する合格率

月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	計
檢合格	1	0	1	12	26	9	21	22	29	7	13	11	143
檢不合格	0	0	1	12	26	9	21	22	20	7	13	11	142
體格數	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
體格率	0%	0%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	99.3%
製造格數	1323340錠	0	567150錠	1215010錠	35313500錠	25444121錠	2183922錠	3074799錠	4765065錠	646189錠	2906187錠	991566錠	55380349錠
製造格率	0	0	567150錠	1215010錠	35313500錠	25444121錠	2183922錠	3074799錠	4765065錠	646189錠	2906187錠	991566錠	54207609錠
檢合格	1323340錠	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1323340錠
檢不合格	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
體格數	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
體格率	0%	0%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	97.6%

純 → → → → →
提出回数及提出數量に對する合格率

月	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	計
檢合格	1	1	3	7	9	8	7	10	8	4	6	64
檢不合格	0	0	3	0	4	4	6	9	7	2	5	40
體格數	0	0	0	0	5	4	1	1	1	2	1	24
體格率	0%	0%	100%	0%	44.4%	50%	85.7%	90%	97.5%	50%	83.3%	62.5%
① 燈の解	1	1	2	1	1	2	1	1	1	2	1	6
② 乾燥	1	1	1	1	4	2	1	1	1	2	1	4
③ 乾燥及	1	1	1	1	4	2	1	1	1	2	1	9
④ 乾燥及	1	1	1	1	4	2	1	1	1	2	1	9
⑤ 乾燥及	1	1	1	1	4	2	1	1	1	2	1	9
體格數	6.93kg	4.2kg	21.0kg	33.65kg	31.12kg	36.92kg	91.2kg	64.63kg	40.83kg	9.01kg	23.04kg	362.56kg
體格率	0	0	21.0kg	0	23.28kg	12.90kg	88.0kg	62.53kg	40.78kg	5.96kg	16.74kg	277.19kg
體格率	69.3kg	4.2kg	0	33.65kg	1.84kg	24.02kg	3.2kg	2.1kg	0.08kg	3.05kg	6.3kg	85.37kg
體格率	0%	0%	100%	0%	94.1%	34.9%	96.5%	96.8%	89.8%	66.1%	72.7%	76.4%

次サリナル酸蒼鉛注射液
提出回数及提出數量に對する合格率

月	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	計
檢合格數	1	1	6	2	12	8	12	24	4	13	3	86
檢合格率	100%	100%	100%	100%	100%	75%	100%	100%	100%	100%	100%	97.7%
製造數量	721	38.61	357.51	418.41	647.21	2921 (+275.9kg 2821 +275.4kg 99.8%)	304.31	566.51	246.51 (+300kg 246.81 +300kg)	85.14kg + 111620Amp 85.14kg + 111620Amp	722.7361	3865.9521 (+661.04kg 3856.9521 +660.54kg 99.7%)
製造合格數量	721	38.61	357.51	418.41	647.21	2921 (+275.9kg 2821 +275.4kg 99.8%)	304.31	566.51	246.51 (+300kg 246.81 +300kg)	85.14kg + 111620Amp 85.14kg + 111620Amp	722.7361	3865.9521 (+661.04kg 3856.9521 +660.54kg 99.7%)
檢合格率	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	99.9%

提出回数及提出數量に對する合格率

月	7	8	9	10	11	12	1	2	3	計
檢合格數	3	2	5	1	2	2	0	1	5	21
檢合格率	33.3%	100%	100%	100%	100%	50%	0	100%	60%	76.2%
(1) 溶解數量	1					1			2	2
(2) 溶解數量	1									1
(3) 溶解數量	16.86kg	29.05kg	33.08kg	29.0kg	13.55kg	16.9kg	1.16kg	67.59kg	207.19kg	191.14kg
檢合格數量	13.2kg	29.05kg	33.08kg	29.0kg	13.55kg	11.2kg	1.16kg	60.90kg	191.14kg	16.05kg
檢合格率	3.66kg	0	0	0	0	5.7kg	0	6.69kg	90.1%	92.2%
檢合格數量	78.8%	100%	100%	100%	100%	65.3%	100%			

ビタミンB₁ 結晶のプロム反應

(プロム水素酸塩の夾雜)

技 官 小 川 俊 太 郎

助 手 塚 本 秀 子

Detection of Thiamine-Hydrobromide in Thiamine-Hydrochloride

Shuntaro Ogawa

Hideko Tsukamoto

ビタミン B₁ (B₁-HCl塩) を Williams, Cline の方法, Andersag, Westphal の方法で合成する時には B₁ のプロム水素酸塩 (B₁-HBr塩) を経て B₁-HCl 塩に到達する。我々は我邦の B₁ 剤の原料と成つている B₁-HCl 塩の結晶及市販の注射剤の中に B₁-HBr 塩が残存しているかどうかを調査したので次の其結果を報告する。

(1) 検 体 と 標 準 品

結晶検体は製造者より寄贈によるもの等11種, 注射液検体には市販品12種と武田ビタミン B₁ 標準液 (100γ/cc) を用い標準品として科研佐橋博士より分与された B₁-HBr 塩 (比色法による純度は 94.4%) を使つた (No.11)。

(2) 試 験 方 法

プロムイオンの微量検出法として D. Ganassini (Chem. Zbl. I. 1172 (1904)) の方法を利用した。

器具 ; 一切特別な器具は不要

試薬 ; (イ) フルオレスセイン・ナトリウム 0.113g を 50v%アルコール 100cc に溶かす。

(ロ) 氷醋酸10容と強オキシドール (30%) 1容との混液。

操作 ; 滴色板上の凹みえ検液 1滴 (約0.05cc) をとり試薬 (イ) 1滴を加え混和後試薬 (ロ) 1滴を混和して, 水浴上 (又は恒温乾燥器内) で蒸發乾固して蒸發残渣の呈色を調べる。

判定 ; 検体中にプロムイオンが存在すればフルオレスセインはプロム化され, エオシンを生ずるので乾燥後の滴色板上にはその紅色が残る。陰性のときには淡黄乃至黄褐色を呈するに止まる。常に盲験を行い成績を比べて判定を下す。成績表中の+は反應陽性, ±は確認の限界點,

一は反應陰性をそれぞれ示す。

(3) 反應の確認限度

Feigl によると反應の確認限度は $6\gamma/\text{cc Br}$ であるというが我々が KBr 及 $\text{B}_1\text{-HBr}$ 塩を用いて行つた試験によると確認限度は $30\sim 40\gamma/\text{cc}$ であつた。そこで我々は後に計算を行う必要上確認限度を $35\gamma/\text{cc Br}$ と暫定し、表の内では最初の±を以て表すこととした。

(4) 結晶検体の試験成績

各検体を米局方に従い 100度に3時間乾燥し、 $70\text{mg}/\text{cc}$ の溶液となし（例外もある）試験した成績は第1表の如くである。

第一表 結晶検体のプロム反應表

No.	稀釋倍数 $\text{B}_1\text{-HBr}\%$	1	2	4	8	16	32	64	128	200	256	400	512	768	800	1600
1	34.2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	/	±	-		
2	$0.27>$	±	-													
3	0.53	+	+	±	±	-										
4	1.1	+	+	+	±	-										
5	$0.27>$	±	-													
6	0.27	+	±?	±	-											
7	0.53	+	+	±?	±	-										
8	B-HBr?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-
9	$0.27>$	±	-													
10	0.27	+	±	-												
11	$\text{B}_1\text{-HBr}$ 標準品	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-
/	$\text{Br}'/\text{cc } \gamma$ 數	26000	13000	6500	3300	1600	800	400	200	130	100	65	50	34	32	16

(5) 注射液検体の試験成績

(4) の結果より注射液中にも $\text{B}_1\text{-HBr}$ 塩の残存するであろうことが容易に予想し得るので注射液は其一定量を蒸發し残渣に水を加えて $\text{B}_1\text{-HCl}$ 塩の $70\text{mg}/\text{cc}$ に當る溶液を作り(4)と同じに試験したところ第二表の成績を得た。武田のビタミン標準液は陰性であつた。

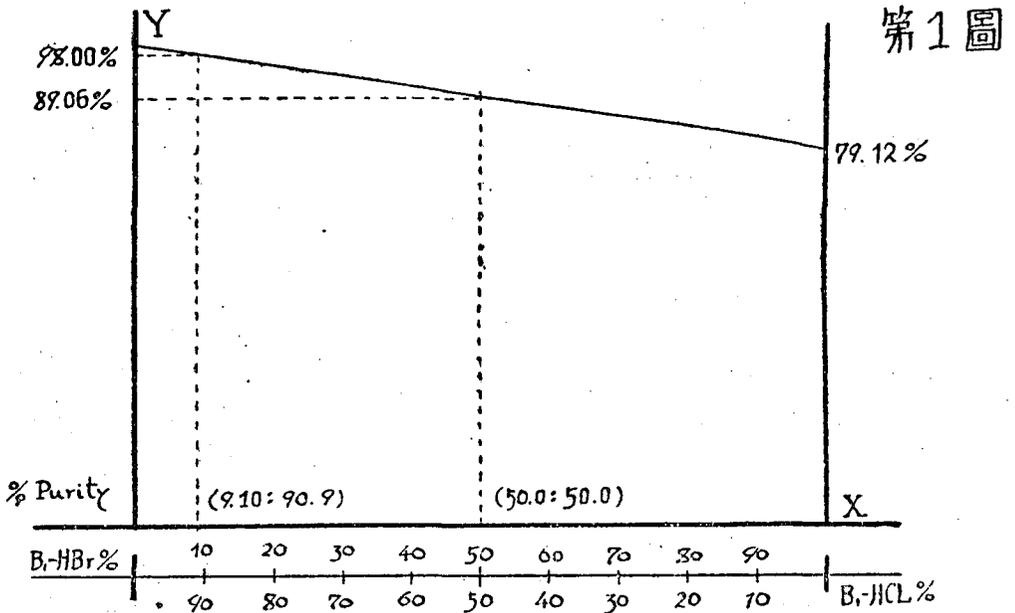
(6) 純結晶混合物の試験成績

(3) (4) 及 (5) の成績から検体中の $\text{B}_1\text{-HBr}$ 塩含有量が概測出来るが、一應純 $\text{B}_1\text{-HCl}$ 塩と純 $\text{B}_1\text{-HBr}$ 塩の混合物について (3) の試験を行つた結果 $\text{B}_1\text{-HCl}$ 塩中に 1~20% の

B₁-HBr 塩が混在しているときにも Br⁻ イオンの確認限度は 35γ/cc 程度に見做し得ること、
 即ち B₁-HCl 塩の多量の共存も確認限度に何等影響せぬことを確めた。

第二表 注射液検体のプロム反應表

No	cc/Amp	mg/Amp	1	4	8	15	32	64	120	倍數	
										稀釋	備考
1	1	5	+	+	+	+	±?	±	-	日	局
2	1	3	+	±?	±	-					"
3	1	5	+	+	±	-					"
4	2	4	±	-							-
5	1	1	±	-							-
6	1	5	±?	±	-					日	局
7	1	5	+	+	±?	±	-				"
8	1	3	+	+	+	±?	±	-			"
9	2	5	+	+	±?	±	-				-
10	1	2	+	+	+	+	±	-			-
11	1	2	+	+	+	±	-				-
12	1	10	±?	±	-						-
13	2	100γ	-								武田B ₁ 標準液



(7) 結晶中の $B_1\text{-HBr}$ 塩含有量

(4) 及 (6) で得た成績から結晶検体中に含有されていると思われる $B_1\text{-HBr}$ 塩の量を概算した結果を第1表第2欄に示した。

(8) 總 括

(イ) B_1 剤の原料として用いられている結晶及これを原料として作った注射液中には $B_1\text{-HBr}$ 塩が混在している。

(ロ) その概量を算出すると相當量に上るものもある。

(9) 考 察

(イ) 純 $B_1\text{-HCl}$ 塩と純 $B_1\text{-HBr}$ 塩とは現行の米國及日本の藥局方試験を以てしては定性的に辨別出来ぬ、兩者の混合した場合も同じである。

(ロ) 然し、 $B_1\text{-HBr}$ 塩 (M. W. 426.19) は $B_1\text{-HCl}$ 塩 (M. W. 337.27) に比べ 100:79.1の分子量比を有するから兩者の一定量について酸滴定、チオクロム反應乃至はジアゾ比色法等の定量試験を行うと前者は後者に比して 79.1% に當る成績を与える (即ち前者の $B_1\text{-HCl}$ 塩として見掛けの純度は 79.1% である) この關係を式に表すと $Y=100-0.22X$ に成る。式中 X は検体中の $B_1\text{-HBr}$ の%含量で Y は、検体の $B_1\text{-HCl}$ としての見掛けの純度 (%) である。それゆゑ定量的には辨別可能である、(第1圖参照)。では兩者の混合した場合はどうか?

(ハ) 混合しているとき (ロ) の様な定量成績上の數的差違は、 $B_1\text{-HCl}$ 塩中に可成大量の $B_1\text{-HBr}$ 塩の混在している際に限り、確認し得るであろう。例えば兩者の 50% 宛混合したものでは (ロ) に掲げた定量成績が見掛け上 89.06% の $B_1\text{-HCl}$ 塩と等價であるから、充分 $B_1\text{-HCl}$ 塩の混在を予想せしめるだけでなく、斯様な結晶は $B_1\text{-HCl}$ 塩としても餘りに純度が低いという理由で不合格品とされるであろう (米局方 $B_1\text{-HBr}$ 塩の純度は無水物として 98% 以上)

(ニ) 然し、 $B_1\text{-HBr}$ 塩の混合率が低い程 (ロ) の定量成績上の數的差違は僅少となつて、定量成績のみから $B_1\text{-HBr}$ 塩の混在は予想し難くなるであろう。例えば前出の式及第1圖に示す如く 2%の水分及 98%の純 $B_1\text{-HCl}$ 塩とより成つている $B_1\text{-HCl}$ 塩結晶と 9.1%純 $B_1\text{-HBr}$ 塩及 90.9% の純 $B_1\text{-HCl}$ 塩とより成つている $B_1\text{-HCl}$ 塩結晶とは (ロ) に掲げた定量成績上では明白に等價で區別出来ない。このことは $B_1\text{-HBr}$ 塩の混在するときは $B_1\text{-HCl}$ 塩として純度 90.9% の不純品が見掛け上純度 98% の品として局方に合格することを意味している (この

場合他の僅少な夾雜物は無視する)。

(ホ) B₁ の生理的效力のみに著眼すれば、もし B₁-HCl 塩と B₁-HBr 塩との各々1分子が同効果を有する確かな證據があれば B₁-HBr 塩の夾雜は必ずしも排除する必要がないとも云えよう。然し、B₁-HCl 塩と B₁-HBr 塩との效力比は未確定であり、臨床上の見地よりしても極量なども決定せぬ内に B₁-HBr 塩を局方薬品として直ちに採用するという事は難しいと思う。

- (ヘ) 現実として現在入手した結晶及注射液中から B₁-HBr 塩が検出されているから、我々はこの B₁-HCl 塩中の B₁-HBr 塩を夾雜成分と見做して、局方中に定性的試験を加えその夾雜量を制限すべきではなからうか？

(ト) もし、70mg/cc の検体溶液につき本反應を行うと、0.25% の B₁-HBr 塩の夾雜迄も發見し得るであろう。

(チ) 本試験に用いた結晶の純度を各種の定量的純度檢定法により求めた結果は別述する。検体を供与された科研佐橋博士及製造者各位に謝意を表す。

昭和24年3月

ビタミン B₁ の純度検定法

(附) ビタミン B₁ 結晶のプロム反応 (結語)

技官 小川 俊太郎

技官 河内 敬朝

助手 塚本 秀子

Chemical Standardization of Thiamine-Hydrochloride

Shuntaro Ogawa

Yoshitomo Kcchi

Hideko Tsukamoto

ビタミン B₁ 結晶の純度検定法としては次の方法がある。

(A) 標準品を用いない定量法

- (1) 構造中の總クロール定量法 (英局方)
- (2) " " " " 酸性クロール定量法 (米局方, 英局方及日局方)
- (3) " " " " 總窒素定量法 (米局方)
- (4) " " " " 硫黄定量法 (米局方)
- (5) Slotta のヨード法

(B) 標準品を用いる定量法

- (1) 標準結晶とチオクロム法で比べる法 (米局方)
- (2) 標準結晶とプレブルダ法で比べる法

之等の方法中 (B) に属するものは局方標準結晶 (Pharmacopoeial Reference Standard) のあつて始めて行い得る方法で、我國の現状では実行し難い。

我々はこういう状態の下で將來局方に収載されるであろうビタミン B₁ の結晶の純度を確保するためには (A) の中のどの方法によればよいかという問題を解くために本試験を行つた。

(1) 検 体

別報ビタミン B₁ 結晶のプロム反応の試験に用いたものと同じである。

(2) 試 験 方 法

總クロール定量法は検体 0.1g を採り水にとかし、之に過剰の N/10AgNO₃ を加え、AgCl を沈澱させ、残つた AgNO₃ 量を N/10 NH₄CNS で逆測し總クロール量を算出する。

酸性クロールの定量とはピリミジン核の 6' のアミノ基を中和している HCl を量すること
で検体 0.2g を水に溶かしフェノールフタレインを指示薬としてアルカリで滴定する。

總窒素量は米局方に準じマイクロキルダール法で求める。

(A) としては以上の三方法を行い、ヨード法は定量値が動搖するので採用しなかつた。

以上の外米局方の装置と渡辺氏の方法に準じ、各検体の融點を測つた。温度の補正も行つてある。

(A) と比べる標準を与える定量方法としてプレブルダ法による比色定量を行つた。標準は武田ビタミン B₁ 標準液である。

又、純度とプロム反應との關連を見るため別報ビタミン B₁ 結晶のプロム反應も行つた。

(3) 試 験 成 績

上述の試験成績は次表の如くになつた。

B₁ の純度とプロム反應

番號	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	参考標準
融 點	232°	249°	248°	242°	246°	244°	244°	229°	238°	242°	212°	
總 B.P. CL(%)	94.4	100.0	100.5	98.3	98.8	99.0	99.7	79.3	118.0	98.3	78.6	97.0~100.8 B.P.
酸滴定 J.P. (%)	95.1	101.2	96.3	98.6	98.2	101.2	101.2	74.5	112.6	95.8	80.4	94.4~101 J.P. 94.4~102.9 U.S.P. 98.0~102.8 B.P.
結合 CL(%)	93.8	98.8	104.6	97.8	99.8	99.8	98.1	84.0	93.1	100.5	76.6	
比色法 (%)	93.0	100.0	100.0	97.5	99.8	99.8	94.8	73.9	63.8	100.0	74.7	
U.S.P. 總N(%)	93.4	97.6	98.2	98.8	98.5	97.0	97.0	82.4	124.1	98.4	79.3	97.6~101.2 U.S.P.
Br反應	256	1	4	8	1	2	4	800	1	2	800	稀釋倍數 別報参照

(註) B.P. 英國藥局方. J.P. 日本藥局方. U.S.P. 米國藥局方.

考 察

(1) 考察に際しては比色法による純度を一應正しいものと見做す。

(2) 融點は純度をうかがう頼りに成り難い。高温と分解のため不正確で又 No.9 のように明らかに不純な検体でも著しい降下を現わさない。殊に B₁-HCl には高融點型、低融點型の二種があるといわれるので判定は一層困難である。例えば No.10 は 1948 年佐橋氏の測定した折には 215~216°C, 合成當時には 220°C あつたものであるが我々の測定では 212°C を超えない。然し、我々の検体中 B₁-HBr と覺しき No.8 は 229°C で融ける。

又、渡辺氏の記述によると B₁-HBr · ½H₂O の融點は 229~230°C であるという。

以上の結果から見ると、B₁-HBr にも高低兩融點型が共存するようにも思われ、結局融點による純否の判定は困難視される。

(3) 總クロール量の結果は大体比色法の値と並行し、不純のものは或いは高く(例 No.9) 或いは低く(例 No.8) 出ている。

(4) 塩酸 α 性クロール量の滴定も(3)と區じ傾向を示す。

(5) 結合クロール量は總クロールから酸性クロール量を控除したもので計算して出るが、チアツオール環中の4液Nに結合しているクロールの量に當り、その値は不純な検体(例 No.9) についてもやゝ良い値を示すので参考に成り難い。

(6) 總窒素量も比色法の値と並行している。

以上の結果を綜合し英、米及日各局方に掲げられた判定標準と比べると總クロール酸性クロール及總窒素の三定量値が共に合格する検体は大体比色法の値も又合格して来る。そして何か1種の定量値のみが合格しても(例 No.1) 必ずしも當てにはならないということが判明した。

結 論

局方標準品が得られず、標準品を用いない定量法によつて結晶の純度を確保するには總クロール、酸性クロール及總窒素量の三定量を行い、その結果を次の限界内にあらしめれば、大体98%の最低純度が保證出来るのではあるまいか？ 但し検体は100°C、3時間乾燥したものをを用いる。

(限界値表)

總クロール量	97~101%
酸性クロール量	95~102%
總窒素量	97~101%

(附) ビタミン B₁ 結晶のプロム反應(結語)

前報した定性反應の確認限度より算出した各結晶中の B₁-HBr 塩含量は No.1 について約34%であつたが、今回比色法で求めた見掛けの純度(%)を前報第1圖及之が表わす方程式に代入して B₁-HBr の含量を求めると約32%と成り大体一致した。然るに、斯様に B₁-HBr 塩の多量を含む検体でも酸性クロール量のみ定量すると純度95.1%で判定は合格と成り、比色法、總窒素量では大体93%の純度を示す。従つて定量値のみよりする見掛けの純度に再検討を加える意味からも B₁-HBr 塩の定性反應は重視されてよいと考える。

検出法及限度に關ししては前報を参照せられ度い。

検体を供与された科研佐橋博士及び製造者各位に謝意を表す。本結果は昭和24年3月学研ビタミンB研究特別委員会の席上發表した。 昭和24年3月

馬鈴薯澱粉製造廢液よりビタミン B_1 の回收

技 官 小 川 俊 太 郎

技 官 河 内 敬 朝

Recovery of Vitamin B_1 From Potato-Starch Waste

Shuntaro Ogawa

Yoshitomo Kochi

馬鈴薯のビタミン B_1 含量は 60~90 γ % であるが馬鈴薯より澱粉を製造する際此 B_1 は殆んど洗滌液中に移行してしまふと見られるので薯に由來する B_1 は洗滌液 (廢液) と共に現在廃棄されている譯である。我々は此 B_1 を白土による吸着を利用して回收出來ないものかどうかを検討する爲に次の様な実験を行つた。

實 験 法

1. 生薯をすり落し約三倍量の水を加えて洗滌し靜置して澱粉を沈着せしめ上澄 (洗滌液・廢液) を取り10%硫酸を加えて pH を 4.5 位になし靜置すれば再び帶褐色絮状の沈澱を生ずるから此沈澱を分ち残つた液に酸性白土を投入し5分間攪拌した後吸着物を濾別し之を乾燥し粉末とする。

2. 使用した馬鈴薯は本年7月末、埼玉縣にて購入。

3. 酸性白土は武田白土工業株式会社新潟縣北蒲原郡中條工場製アルコール脱永用白土で本年5月末分与された。

4. ビタミン B_1 は終始チオクロム法で定量した。

實 験 成 績

1. 泥を去つた馬鈴薯 500g を秤取し之より実験法に掲げた方法に據り上澄 (洗滌液・廢液) 1600cc を得た。

2. 上澄液 1600cc には 300 γ のビタミン B_1 が存在した。

3. 次は上澄各々 300cc宛 (ビタミン B_1 56 γ に該當する) を取り次表の様に種々なる量の白土を添加し吸着物を得た、其成績を一括する。

添 液 量	c. c	300.	300. ※	300.
添 加 白 土 の 量	g	1.0	0.5	0.2
廢液に對する白土の添加率	%	0.330	0.165	0.066
白土に吸着された B_1 量	γ	56.4	49.8	18.6
製 品 の 力 價	γ/g	56.4	99.6	93.0
B_1 の 回 收 率	%	略 100	89	33

4. 実験に使用した馬鈴薯の遊離型ビタミン B_1 は 59.8 γ % 同じく總ビタミン B_1 は 61.8 γ %

で馬鈴薯は遊離型ビタミン B₁ のみを含むと考えてよい。

總 括

1. 白土量が多い程被吸着 B₁ 量が増大する。殊に白土添加率 0.165% の時著しく向上する。
2. 然し添加率 0.33% の場合殆んど 100% の回収率を得ているから之以上白土を添加する必要はなかららう。
3. 回収率は従つて白土添加量の少い程低落するが白土添加率 0.066% に至つて其傾向が甚だ著明である。
4. 製品の力價は以上に述べた三つの現象に基いて白土添加率 0.165% の時最高に成つた。
5. 従つて回収率が比較的高く (89%) 併せて製品の力價の秀れた※の場合が一番実用的な回収方法であらう。

考 察

以上の実験成績により生馬鈴薯 500g より洗滌上澄液 1600cc を使用して約 100 γ /g程度の B₁ 吸着物 0.5g を製造し得るが此工業化に當つては尙次の諸點に就き検討せねばならぬ。

1. 原料馬鈴薯は普通泥土を附着した儘使用されるが此泥土が吸着物の製造に妨害を与えることが無いか。
2. 洗滌液は普通原料薯の 5~10 倍に昇る。然し吸着物製造上の都合よりすれば 3 倍内外を可とする。洗滌液の量を斯様に引下げられるかどうか。
3. 實際工場より廃棄される洗滌液の量は一晝夜に尨大なる量に及ぶ。之を腐敗せしむること無く吸着物製造用に利用する工夫。
4. pH を 4.5 に調節する爲に硫酸を使用する。酸を使用せずに吸着物は出来ぬか。
5. 洗滌液及之に酸を添加した後の液は何れも溷濁している。此溷濁を簡単に除く方法はないか。
6. 吸着用に最適の白土を確保すること。 昭和 20 年 8 月

市販ビタミンB₁剤の調査

技官 小川俊太郎

技官 河内敬朝

助手 塚本秀子

A SURVEY OF THE COMMERCIAL VITAMIN B₁ PREPARATIONS (1947)

Shuntaro Ogawa

Yoshitomo Kochi

Hideko Tsukamoto

我々は昭和17年度(1942)に於て日本薬局方制定の準備工作の一環として市販ビタミンB₁剤の調査を実施した。本報告は當時の成績を戦後現在(1947)のそれと比べようとして行つた調査の結果である。

(a) 試料

主として京浜地區に於て厚生省、東京都及我々自らの手により収集された。其内訳は第一表の通りである。

第一表

	今回	前回
注射液	56	182
液劑	4	43
錠劑	9	29
粉末劑	4	18
計	73	272

(b) 試験法

プレブルタ・マツカラム試薬による比色法(パラアミノアセトフェノン法)により行つた。

(c) 試験成績

一般成績は第二表の通りである。

(d) 結論及考察

全試料中注射液のみに關して実含量の標記含量に対する%を以て分類してみると第三表の如くに成る。

又実含量が標記の90%以上か未満かによつて試料を適否の二種に分類したのが第四表である。

又実含量を第五改正日本薬局方 Injunctio Vitamin B₁ の規格含量 (1mg/cc) 以上と比べて

適否の二種類に分類したのが第五表である。

第三表

注射液含量表 (実含量の標記含量に 對する%を以てす)		
含有量 %	例数	其の%
0~44.9	7	12
45~49.9	1	2
50~54.9	—	—
55~59.9	—	—
60~64.9	—	—
65~69.9	3	6
70~74.9	1	2
75~79.9	1	2
80~84.9	—	—
85~89.9	5	8
90~94.9	10	18
95~99.9	9	16
100~104.9	9	16
105~109.9	7	12
110~120.0	1	2
150~160	2	4
合計	56	100

第四表

判定	適	否	計
今回の成績	38	18	56
	68%	32%	100%
前回の成績	60	122	182
	33%	67%	100%

第五表

局方適否		
適否	適	否
例数	32	24
(%)	57	43

之等の表に現れた結果を夫々相對應する前回(昭和17年度調査)の成績と比べると品質の向上を認め得る。

但今回の成績は地域的に限定されているので尙今後に於て全国的に調査を続けたい。

昭和22年6月

第二表 市販ビタミン剤試験成績
(A) 注射液(厚生省・東京都・収集)

No.	一筒含量		標記含量(mg/cc)	実含量(mg/cc)	標記含量に對する%
	cc	mg			
1	1	1.0	1.0	0.91	91
2	2	3.0	1.5	1.6	108
3	2	5.0	2.5	2.9	114
4	1	1.0	1.0	1.1	110
5	1	3.0	3.0	3.1	103

No.	一筒含量		標記含量(mg/cc)	実含量(mg/cc)	標記含量に対する%
	cc	mg			
6	1	1.0	1.0	0.69	69
7	1	2.0	2.0	2.0	100
8	1	1.0	1.0	0.89	89
9	1	5.0	5.0	4.7	94
10	1	1.0	1.0	0.97	97
11	1	2.0	2.0	2.0	100
12	2	3.0	1.5	1.5	100
13	2	5.0	2.5	2.3	92
14	1	1.0	1.0	0.95	95
15	2	3.0	1.5	1.5	100
16	2	5.0	2.5	2.5	100
17	1	2.0	2.0	1.8	90
18	1	1.0	1.0	1.0	100
19	1	2.0	2.0	3.0	150
20	1	1.0	1.0	0.67	67
21	2	3.0	1.5	1.5	100
22	1	1.25	1.25	0.14	10
23	1	1.0	1.0	0.43	43
24	1	1.0	1.0	0.93	93
25	2	3.0	1.5	1.56	104
(B) 注射液 (国立衛生試験所収集)					
26	2	3.0	1.5	1.6	106
27	1	3.0	3.0	3.2	107
28	2	2.0	1.0	0.93	93
29	2	4.0	2.0	1.9	95
30	2	3.0	1.5	1.6	106
31	1	1.0	1.0	0.89	89
32	1	1.0	1.0	0.93	93
33	2	3.0	1.5	1.4	93
34	1	1.0	1.0	0.93	93
35	1	2.0	2.0	2.1	105
35	2	5.0	2.5	2.7	108
37	1	1.0	1.0	1.0	100
38	1	2.0	2.0	2.0	100
39	1	1.0	1.0	0.92	92
40	1	2.0	2.0	1.9	95
41	1.1	—	—	不含	—
42	1	1.0	1.0	0.46	46
43	1	1.0	1.0	0.67	67
44	1	2.0	2.0	0.89	45
45	1	1.0	1.0	0.76	76
46	1	1.0	1.0	0.33	33
47	2	2.0	1.0	1.1	110
48	1	3.0	3.0	4.6	153
49	1	1.0	1.0	1.0	100

No.	一筒含量		標記含量(mg/cc)	実含量(mg/cc)	標記含量に対する%
	cc	mg			
50	2	2.0	1.0	0.89	89
51	1	125 γ	125 γ	不含	—
52	1	1.0	1.0	0.71	71
53	2	3.0	1.5	0.32	21
54	1	2.0	2.0	1.7	85
55	1	3.0	3.0	3.0	100
56	1	3.0	3.0	2.8	93

(C) 液劑 (国立衛生試験所収集)

No.	標記含量 (γ /cc)	実含量 (γ /cc)	標記含量に対する%
1	70	93	140
2	70	24	34
8	70	56	80
4	70	66	95

(D) 錠劑 (厚生省・東京都収集)

No.	標記含量 (γ /tab)	実含量 (γ /tab)	標記含量に対する%
1	125	89	71
2	500	508	102
3	500	623	125
4	500	449	90

(E) 錠劑 (国立衛生試験所収集)

5	125	微量	—
6	500	178	36
7	—	微量	—
8	110~130	微量	—
9	10	微量	—

(F) 粉末劑 (国立衛生試験所収集)

No.	標記含量 (γ /g)	実含量 (γ /g)	標記含量に対する%
1	10	微量	—
2	30	全上	—
3	約250	159	64

局方強ビタミンB₁錠の重量

技官 小川 俊太郎

助手 塚本 秀子

WEIGHT OF TABELLAE VITAMIN B₁ J.P.V."

Shuntaro Ogawa

Hideko Tsukamoto

錠劑の筒重がどの程度に一定しているかという事は定量に携る者の知つて居る可きことである。我々は最近入手した日本薬局方強ビタミンB₁錠4種に就て其実状を調査した。其結果を茲に總括報告する。

1. 試料 市販強ビタミンB₁錠4種で其製造者は次記の如くである。之を順序不同に以下(イ)(ロ)(ハ)(ニ)と呼ぶこととする。

武田藥品工業株式会社 (強力メタボリン錠)

三共株式会社 (強ビタミンB₁錠(三共))

八州化学株式会社 (強力アクタミン錠)

塩野義製藥株式会社 (強力ネオパラストリン錠)

2. 試験 先づ各試料より任意の5, 10, 20及40錠を採つて其平均重量を求める。次に最後の40錠は其重量を一個宛に就て求め其測定値より平均重量(M)及σ等を算出した。

3. 成績

		(イ)	(ロ)	(ハ)	(ニ)	
1	公 稱 重 量 (g)	0.15	0.14	0.1	ナシ	
2	5 個 平 均 重 量 (g)	0.1577	0.1453	0.1173	0.1622	
3	10 個 平 均 重 量 (g)	0.1600	0.1429	0.1185	0.1594	
4	20 個 平 均 重 量 (g)	0.1601	0.1418	0.1205	0.1577	
5	40 個 平 均 重 量 (g)M	0.1518	0.1412	0.1159	0.1615	
6	a	±0.003832	±0.008033	±0.007817	±0.005350	
7	M ± a (g)	+	0.157652	0.149263	0.123717	0.166850
		-	0.145948	0.133137	0.103083	0.156150
8	M ± 2a (g)	+	0.163504	0.157326	0.131534	0.172200
		-	0.143096	0.125074	0.100265	0.150800
9	M ± 3a (g)	+	0.169356	0.165389	0.139351	0.177550
		-	0.134244	0.117011	0.092449	0.145450
10	最大平均値-最小平均値 最小平均値 × 100 (%)	1.5	3.6	3.9	2.85	
11	變 異 係 數	3.85	5.71	6.74	3.31	

(4) 結 論

(イ) 公稱重量より各平均重量の方が大きい値を示す。

(ロ) 平均重量間には大なく共差最大値と最少値の差の最少値に對する%値は何れも4%以下である。

(ハ) 製品の種類に據つて筒重の速い方に相當の開きがある。即ち σ に相當の違いがある。

(5) 考 察

(イ) 局方強ビタミン B₁ 錠は局方が別に規定する強ビタミン B₁ 末を原料として製造するよう指定されている。其故現在強ビタミン B₁ 錠が第三項“本品一筒ハ少クトモ「ビタミン B₁ 500 γ ヲ含有ス、”に合格する爲には其筒重が少く共 0.15g 以上なくては成らぬ。試料4種中(イ)(ロ)(ハ)の3種は上の局方改正以前の製造に係るものらしく従つて(ロ)(ハ)の筒重比は値より小さいのであろう。(イ)は明らかに改正後の旨で此點に合格している。

(ロ) B₁ 含量の試験に當つては筒重を知る必要がある。此場合何筒に據つて平均重量を求めたらよいか。本成績に據ると5筒でも10筒でも乃至40筒でも変りはない。結論の(ロ)によると此種度の平均重量の差はビタミン B₁ 定量時の誤差として許容出来よう。

(ハ) 結論の(ハ)に據ると σ に大小がある。 σ が大きい小さいかは製錠技術の巧拙、設備の優秀を表示していると考えられはしまいか。

昭和22年4月

市販ビタミンA剤の調査

技官 小川 俊太郎

技官 太幡 利一

A Survey of the Commercial Vitamin A Preparations (1947)

Shuntaro Ogawa

Toshikazu Tabata

我々は昭和17年度(1942)に於て日本薬局方制定の準備工作の一環として市販ビタミンA剤の調査を行った。(衛生試験所彙報 60 号, 52 頁, 昭和18年(1943))

本報告は當時の成績と戦後に於ける且は又日本薬局方ビタミンA剤制定後に於ける市販A剤の現況(1947)を比較しようと考へ実施したのである。

1. 試料

厚生省東京衛生試験所の手により収集された市販A剤である。

2. 試験法 分光光度計法(紫外線吸収スペクトル)に據つた。換算係数は1600を基本とし、参考値として米國に於て採用されている2000という値を併用して見た。溶媒は純エチルアルコールである。

含油量の測定はカプセル剤に關しては米國局方第12版所載の方法に従い、其他の製剤に対してはソクスレイ抽出器を用い抽出した。

3. 試験成績

一般成績は第一表及第二表(一)及(二)の如くである。

4. 結論及考察

(1) 標記含量は總ての試料が掲げている。

(2) 又總て試料はAD協会の検定をパスしている。

(3) 然し、我々の検定結果によると、若し製品の適否の限界を実含量が標記含量の90%という所に置くとすれば、全試料を(2)に述べるように適品とはなし得ないであろう。

(4) 斯様な食い違ひの原因は今後研討する必要がある、AD協会の手による製品の試験は今後より一層厳正に行うべきである。

(5) 戦前、戦後の成績を含量標記率及適否合格率によつて比べたのが第一表である。適否合格率に於て進歩が認められぬことは遺憾である。 昭和22年夏

第一表 含量標記率

	戦 前	戦 後
標記試験数	40試料中 22	16試料中 16
含量標記	55%	100%

適 否 合 格 率

	戦 前	戦 後
合格試料数	22試料中 12	16試料中 9
合格 率	55%	56%

第二表 市販ビタミンA剤試験成績(一)

(A) カプセル剤及之に準ずるもの

No	標記油量 (g/球)	実含油量 (g/球)	I.U./g 油分(C.F.=1600)	I.U./g 油分(C.F.=2000)
1	—	0.1493	35.500	44.400
2	—	0.1727	28.500	35.600
3	0.2	0.1766	3.000	3.750
4	—	0.1380	34.000	42.500
5	0.15	0.1450	12.000	15.000
6	0.2	0.1715	6.400	8.000
7	0.2cc	0.1835	11.500	14.400
8	—	0.1863	36.400	45.500
9	—	0.0350	15.000	18.800
10	—	0.0360	38.000	47.500

(B) 注 射 剤

標記油量(g/アンプル)	実含油量(g/アンプル)	(C.F.=1600) I.U./g (油分)	(C.F.=2000) I.U./g (油分)
0.5	0.6	74.000	92.500

(C) 肝油加工製剤

標記油量 (g/球)	実含油量 (g/球)	(C.F.=1600) I.U./g (油分)	(C.F.=2000) I.U./g (油分)
—	0.083	29.000	36.300
—	0.198	17.000	21.300
—	0.652	10.000	12.500
—	0.252	17.000	21.300

(D) 肝 臓 製 劑

—	—	—	—
---	---	---	---

第 二 表 市 販 ビ タ ミ ン A 剤 試 験 成 績 (二)

(A) カ プ セ ル 剤 及 之 に 準 ず る も の

No.	標記含量(I.U./球)	C.F. = 1600		C.F. = 2000	
		実含量(I.U./球)	含有量(%)	実含量(I.U./球)	含有量(%)
1	5,000	5,300	106	6,600	132
2	5,000	4,900	98	6,100	122
3	2,000	.530	26.5	.660	33
4	5,000	4,700	.94	5,900	118
5	2,000	1,700	85	2,100	105
6	1,000	1,100	110	1,400	140
7	2,000	2,100	105	2,600	130
8	5,000	5,700	114	7,100	142
9	700	.530	76	.660	94
10	5,000	1,400	28	1,750	35

(B) 注 射 剤

No.	標記含量(I.U./アンプル)	C.F. = 1,600		C.F. = 2,000	
		実含量(I.U./アンプル)	含有量(%)	実含量(I.U./アンプル)	含有量(%)
11	60,000	44,000	73	55,000	92

(C) 肝 油 加 工 製 劑

標記含量 (I.U./球)	C.F. = 1600		C.F. = 2000	
	実含量(I.U./球)	含有量(I.U./球)	実含量(I.U./球)	含有量(%)
2,600	2,400	92	3,000	115
5,000	3,600	72	4,500	90
15,000	6,500	130	8,200	160
3,400	4,300	126	5,300	156

(D) 肝 臓 製 劑

2,000	1,700	85	2,100	105
-------	-------	----	-------	-----

澱粉分解酵素の効力検定に関する基礎的研究 (第1報)

局方デアスターゼ検定法の反應速度論的研究

技官 寺 山 宏 副手 菅 山 修 二

Studies on the Estimation of Amylases. I.
Kinetic Studies on Diastase (Malt) Estimation
Prescribed in Japanese Pharmacopoeia.

by Hiroshi Terayama, Shuji Sugayama

(1) 緒 言

昭和16年改正局方デアスターゼの効力検定法の規格は、5gの乾燥馬鈴薯澱粉を100ccの水に溶かしたものに、酵素0.05gを働かせ、55°Cに1時間反應させたのち、反應液10ccをとり、之に40ccのフェーリング溶液を加へて、フェーリング溶液の青色が完全に消失する事を規定してゐる。

扱て、酵素の活性度を検定する方法は、一定時間後に生ずる反應生成物を定量するか、或は又、一定量の反應生成物を生ずるに要する時間を計るか、何れかに依る場合が多い。而して此の際前提になることは、斯様な検定に用ひる時間中に於ては、反應速度は酵素量乃至は活性度に比例しなければならない。一般に、酵素反應は、時間が長くなると、一分子反應より脱逸し反應速度と酵素量とは比例しなくなるのが通常である。従つて嚴密な意味で酵素の検定を行はうとする場合には、當然、速度恒数が酵素量に比例する様な反應條件を選定しなければならない。

以上の様な見地から、吾々は局方に記載された様な反應及び検定規格が、果して理論的に妥當なものであるか否か確める意味に於て、デアスターゼ検定についての反應速度論的研究を行つた次第である。

即局方試験と全く、同一のスケジュールで澱粉の酵素分解を行い時間的に一定量宛反應液をとつて、麦芽糖を定量した。

(2) 実験方法並びにその成績

100°Cに於て、3時間乾燥した局方馬鈴薯澱粉5gを200ccの共栓壺にとり、之に約40°の水を30cc加へ搖動しつゝ更に熱湯65ccを注加し、30分間水浴中で加熱したのち、55°Cに冷却し、之に55°Cの水5ccを注加し、之にデアスターゼを一定量加へて、一分間強く振盪して、55°Cの水浴中に保ち、時々該液を5cc宛ピペットで吸取り、之に $\frac{n}{10}$ ヨード溶液 20cc 及び $\frac{n}{10}$ 苛性カリ溶液 30cc を加へ、振り乍ら、5分間室溫に密栓放置後、稀硫酸(約20%)を2cc加へ、直ちに $\frac{n}{10}$ チオ

硫酸ソーダ溶液を以て、過剰のヨードを滴定する。(Willstätter 氏麦芽糖定量法による)

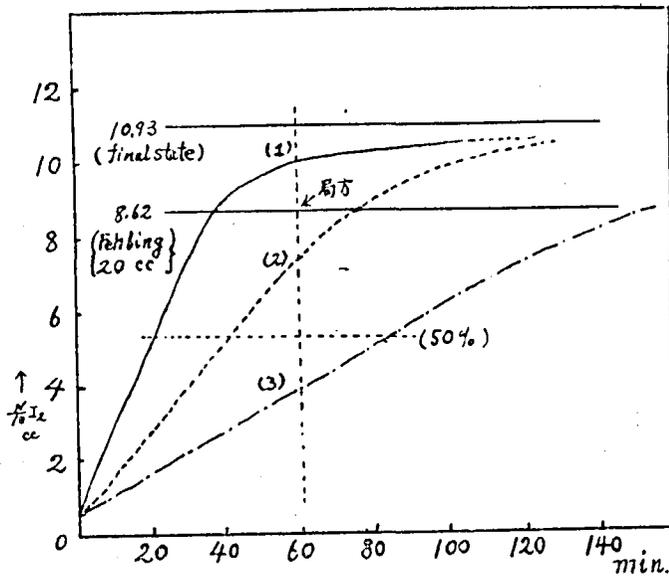
酵素試料は、市販の局方ヂアスターゼを用いた。(但し本品は吾々の検定に依ると局方規格を稍下廻ることが認められた。) 実験番号 1 は酵素を 0.1g, 2 は局方通り 0.05g, 3 は 0.025g 夫々使用したものである。反応速度恒数 K を求めるには次の如き計算に依つた。

検液 5cc 中には澱粉 0.25g が含まれる。ヂアスターゼにより澱粉が糖化される最大限を 75% とすれば、一次反応速度式に於ける初期濃度 (a) は 0.1875g の麦芽糖に相當する。

$\frac{n}{10} I_2$ 溶液の 1cc は 17.15mg の麦芽糖に相當するからこの a の値は 10.93cc の $\frac{n}{10} I_2$ 溶液に相當する。滴定に消費したチオ硫酸ソーダ溶液より逆に生成麦芽糖によつて還元されるヨード溶液の量が計算される。此のヨード溶液の量の時間的变化を示したものは第 1 圖である。時間 $t=0$ に於けるヨード溶液の量は即 對照値に一致するものである。此の値は 0.50cc であつて、上液のヨード溶液の量より 0.50cc を減じたものが、實際の還元糖の生成量 x に相當する訳である。実験 1, 2 び 3 の結果を一括して表示すれば第 1 表の如くなる。反応速度恒数 K の時間的变化を圖示すると第 2 圖となる。

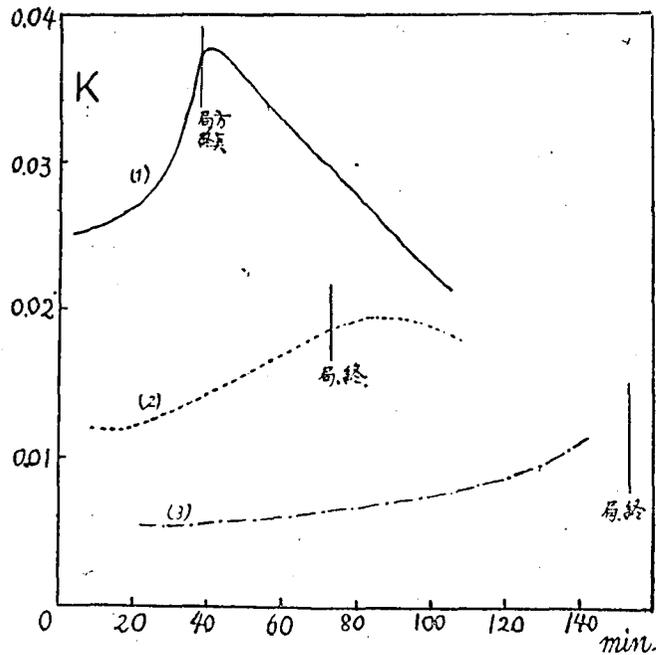
据局方の澱粉消化力試験は、反應液 10cc が 40cc のフェーリング液を還元することを規定してゐる。局方フェーリング溶液 1cc は麦芽糖 7.4mg に相當するものである。本実験に於ては反應液 5cc について試験してゐるから、フェーリング溶液は 20cc となり之に

第 1 圖



$$* \quad K = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$$

第 2 圖



相當する $\frac{n}{10}$ ヨード溶液は 8.62cc となり、最大加水分解時の 10.93cc に對して約 80% にあたる。

(3) 考 察

第1圖に於て見られる如く、50% の加水分解までは、還元糖の時間的增加は、殆ど一直線をなすがそれ以後ではやゝ減少する。局方合格の限界條件に於ては、此の 50% 分解に要する時間は、約35分である。即 35分以内では、還元糖の生成量と時間は比例するが、それ以後では嚴密に比例しない。局方所定 60 分に於ては、加水分解は 80% も進行した所であり、上述の如き意味に於て 60 分と云ふ時間は檢定條件としてはよくないと思ふ。

又第2圖に於て、速度恒數 K が、時間的に可成り変化してゐることが觀察される。一般の酵素反應に於ては、K は時間的に徐々に減少するのであるが、本局方條件では、むしろ逆に反應初期で K の顯著な増加が認められ、やがて一つの極大をへてのち、再び K が減少する傾向が示された。而もこの傾向は酵素の量の大なる程著しく、又極大の位置は、大凡加水分解82% の処にある。斯様な K の増加が何を意味するかは俄に斷定出來ないとしても、可溶性澱粉を 1% 位な濃度で基質として使用したときには斯る K の増加はなかつた事より考へて、局方條件が澱粉に馬鈴薯澱粉を、而も 5% の高濃度で使用してゐることによるのではないかと考へられる。斯様な状態では、反應初期では、ゲル状に近い凝状態を示し之が時間的に流

No	t 分	n/10 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	n/10 I_2	x	a - x	K
1 ヂ ア ス タ ー ゼ 0.1g 使 用	4.5	18.31	1.69	1.16	9.77	0.02523
	9	17.18	2.82	2.32	8.61	0.02655
	15	15.95	4.05	3.55	7.38	0.02613
	21	14.98	5.02	4.52	6.41	0.02555
	27	13.19	6.81	6.31	4.62	0.02834
	38	11.24	8.76	8.26	2.67	0.03707
	48	10.51	9.49	8.99	1.94	0.03600
	54	10.21	9.79	9.29	1.64	0.03511
	64	9.91	10.09	9.59	1.34	0.03280
90	9.71	10.29	9.79	1.14	0.02512	
2 ヂ ア ス タ ー ゼ 0.05g 使 用	10	18.25	1.75	1.25	9.68	0.01213
	20	16.88	3.12	2.62	8.31	0.01370
	30	15.95	4.05	3.55	7.38	0.01308
	40	14.72	5.28	4.78	6.15	0.01437
	50	13.50	6.50	6.00	4.93	0.01131
	60	12.57	7.43	6.93	4.00	0.01675
	70	11.64	8.36	7.86	3.07	0.01814
	80	10.93	9.07	8.57	2.86	0.01916
	90	10.52	9.48	8.98	1.95	0.01915
100	10.21	9.79	9.29	1.64	0.01897	
3 ヂ ア ス タ ー ゼ 0.025g 使 用	28	17.94	2.03	1.56	9.37	0.005502
	49	16.81	3.19	2.69	8.24	0.005765
	61	16.09	3.91	3.41	7.52	0.006131
	81	14.75	5.25	4.75	6.18	0.007038
	96	13.93	6.07	5.57	5.36	0.007419
	117	13.00	7.00	6.50	4.43	0.007720
	137	12.08	7.92	7.42	2.51	0.01073

動性に変化する。斯様な反應液の物理状態の変化が K の増大をもたらし、それが酵素の自然的不活性化又は基質の濃度減少量による減少傾向と拮抗して、一つの極大を生じたものと考へられる。

結論として吾々は局方ヂアスターゼ試験方法が、反應論的にみて如何なる性質のものであるかを検討することが出来た。而してこの検定法は理論的には必ずしも精密なるものではなく、その改良には時間の短縮酵素及び澱粉濃度の減少等が必要であらうと推察される。

(昭和 24 年 5 月 20 日)

コロイド滴定法に依るパンクレアチンの蛋白消化力 検定に関する研究 (第1報)

技官 寺山 宏 臨時職員 寺山 恵み
副手 細田 富子 研究生 山 羽 力

Studies on Estimation of Proteolytic Activity of
Pancreatin Using The Colloid-Titration-Method. 1

Hiroshi Terayama, Emi Terayama
Tomiko Hscda, Tsutomu Yamaha,

1) 緒 言

日本薬局方に依るパンクレアチンの蛋白消化力検定は、¹⁾ 基質として用いたカゼインがパンクレアチン中のプロテアーゼの作用によつて低分子(ペプトン乃至ペプチッド)となつて、醋酸=アルコール混液の添加に於てもはや沈澱乃至白濁しなくなる事を判定の基準に用ひてゐる。然し乍ら濁りの消失は極めて連続的であつて、その間に明確な判定をつけることが肉眼のみに頼る場合には甚だ困難である。従つて、斯様な蛋白質の様な高分子物質が次第に低分子物質に変化して行く過程がもつと客観的な數値によつて表はせ得るならば、反應終點を判定する上に極めて有効であることは論を俟ない處である。

茲にコロイド滴定法と云ふのは、²⁾ 正負コロイドイオン間の化学量論的な結合に基く新しい微量滴定法である。蛋白質、ヌクレイン酸又はアラビアゴム等の如き高分子電解質は何れもコロイド滴定法によつて定量及び定性が可能である。蛋白質が加水分解を蒙つて低分子化合物となると、次第にコロイドイオン性を失ひ、コロイド滴定の対象とならなくなるだらう事は容易に想像される處である。

吾々は斯様な方針のもとに、カゼインの加水分解反應をブオルモール滴定法、コロイド滴定法及び局方である醋酸=アルコール混液による濁り検査法の3方法を用ひて追求し、3者の間の結果を比較検討した結果、コロイド滴定法が斯様な蛋白消化力検定法として使用しうることを確信した次第である。

2) 実験成績

基質として、ハンマーステン法によるカゼイン(メルク)を用ひ、酵素としては豚膵臓乾燥粉末を用ひた。キナーゼは豚十二指腸より作つたものを使用した。反應 pH は 6.0、酵素溶液は調製後1時間半以上室温に放置してからのみ使用した、(活性が充分高まることを豫め確めておいた)

イ) 局方検定法とコロイド検定法との比較実験

局方と全く同一のスケジュールで兩者の比較を行つた。たゞ反應液の全量を 200cc とり、一

定時間後に反應液 5cc を豫め n/10 塩酸 1cc を入れた 50cc 容三角フラスコにとり、pH を酸性にして、酵素反應を止めると同時に、蛋白の荷電を正にし、標準負コロイドであるポリヴィニルアルコール硫酸カリ (P.V.S-K) (0.0005791n) でトリイデン青 (0.1% 1滴) を指示薬として、コロイド滴定を行ふ。別に又 5cc を試験管にとり、醋酸=アルコール混液を 2 滴加へて、潤濁の有無を検定する。反應温度 40°C に於て、約 35 分後に潤濁は消失した。尙コロイド滴定に要したポリヴィニルアルコール硫酸カリの數値は第 1 表に示す如くで、時間と共に減少し、遂に最終滴定値に近づく。

第 1 表

t 分	0	0.5	2	5	10	17	20	25	30	35	40	45	50	60
P.V.S-K -Δcc	0.00	0.34	0.36	0.80	1.29	3.14	3.58	4.56	4.79	5.24	4.84	4.84	5.18	5.48
0.0001n に換算	0.00	1.97	2.08	4.63	7.47	18.2	20.7	26.4	27.7	33.3	28.0	28.0	30.0	31.7

但し t=0 に於ける 0.0005791n P.V.S-K 滴定値は 7.90cc である。第 2 圖 (3) 参照

ロ) 局方検定法, コロイド滴定法及びフォルモール滴定法の比較実験

フォルモール滴定は、局方カゼイン溶液 (0.1%) では稀薄に過ぎるので、濃度を約 10 倍にとつて行つた。カゼイン 1% 溶液 (カゼイン 1gr + n/10 苛性ソーダ 8cc. 全量 100cc とす) 90cc を内容 250cc の共栓フラスコに入れ恒温水槽に浸す。

パンクレアチン 0.1gr に極少量のキナーゼを加へたものを 50cc のメスフラスコにとり、水を加へ、よく振つてとかす。1 時間半の後濾過し、濾液 10cc をとつて、前記カゼイン溶液中に加へる。一定時間後、反應液 1cc とり、一つは豫め蒸溜水 9cc と醋酸=アルコール混液 3 滴を入れた試験管にとつて、潤りをしらべ、一つは、豫め水 5cc と $\frac{N}{10}$ 塩酸 1cc を入れた三角フラスコにとつて前回と同様、コロイド滴定を行ふ。フォルモール滴定には、反應液を豫め $\frac{1}{5}$ 稀釋フォルマリリン液 (中性) 2cc を入れたフラスコに加へ、0.5% フェノールフタレン指示薬 3 滴を添加して、0.0629n 苛性ソーダで深赤色になる迄滴定した。之等の結果は第 2 表に示す如くである。又酵素 0.1g を 25cc にとかしたものを 10cc を加へて、反應を行つた。此の結果は第 3 表の如くである。以上を圖示すれば第 1 圖及び第 2 圖の如くなる。

第 2 表

コロイド滴定

t 分	0	0.5	2	5	10	15	20	25	30	35	40.25	45	50	55	63	63.5	84.5
P.V.S-K -Δcc	0	0.30	0.40	0.92	1.94	2.80	4.50	5.62	6.58	7.12	8.62	8.82	9.85	10.72	11.40	11.42	11.40
0.0001n に換算	0	1.74	2.32	5.33	11.2	16.2	26.1	32.5	38.1	41.2	50.0	51.1	57.0	62.0	66.0	66.0	66.0

但し t=0 に於ける 0.0005791n-P.V.S-K 滴定値は 13.5cc (第 2 圖 (1))

フォルモール滴定

t 分	0	½	2½	5¾	10¾	15¾	21	25¾	32	33	44¾	53¾	62
NaOH Δcc	0	0.01	0.05	0.16	0.24	0.35	0.45	0.57	0.77	0.77	0.82	0.93	1.04
0.01nに換算	0	0.06	0.31	1.01	1.51	2.21	2.84	3.59	4.85	4.85	5.17	5.86	6.55

但し t=0 に於ける 0.0629n-NaOH 滴定値は 0.62cc (第1圖(1))

第 3 表

コロイド滴定

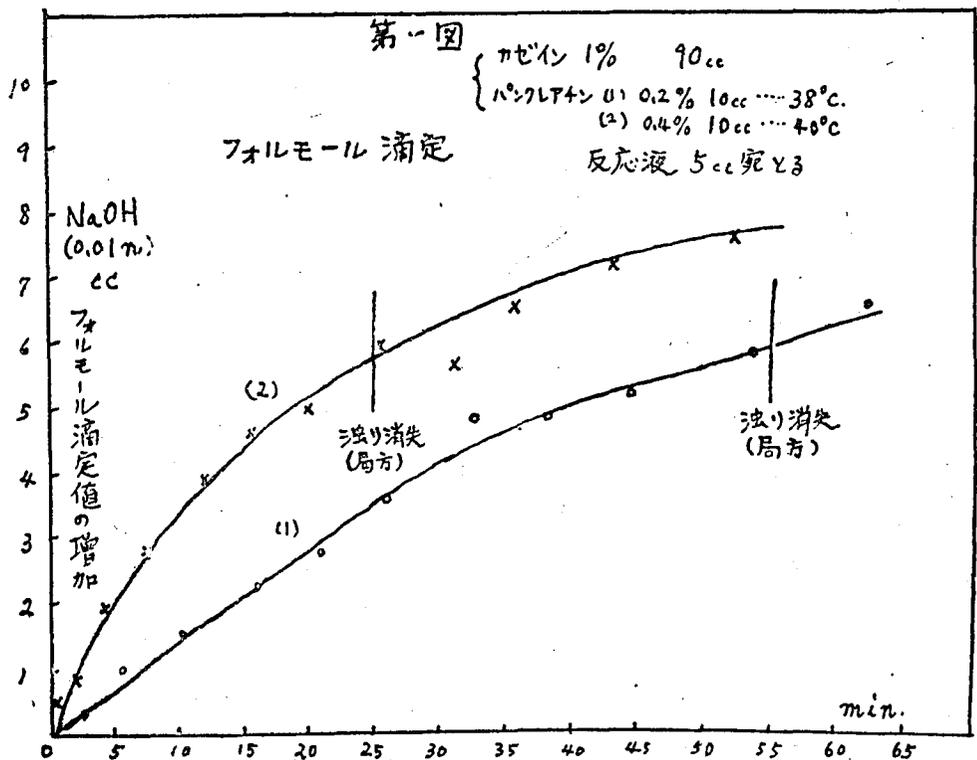
t 分	0	½	1½	3½	6½	11	13½	15	17½	19½	21½	24	27½	30	35	42	49	52½
P.V.S-K -Δcc	0	0.42	0.73	1.97	3.50	6.40	8.00	8.96	9.80	10.14	10.45	10.50	10.78	11.07	10.90	11.02	11.25	11.30
0.0031-n に換算	0	2.42	4.22	11.4	20.3	37.1	46.3	51.9	56.7	58.7	60.2	61.4	62.5	64.1	63.1	63.7	65.1	66.0

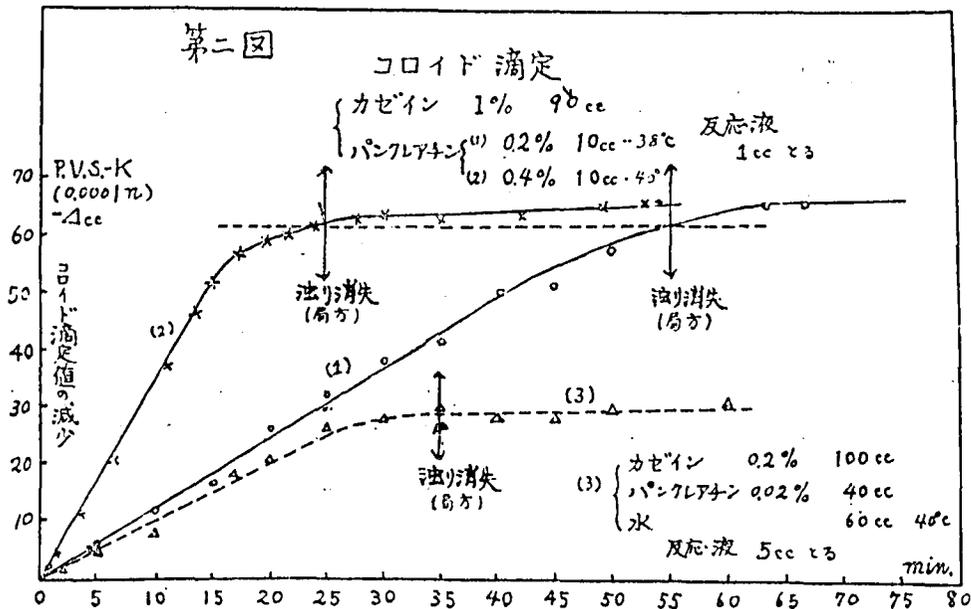
但し t=0 に於ける 0.0005791n P.V.S-K 滴定値は 12.60cc (第2圖(2))

フォルモール滴定

t 分	0	¾	2	4½	8	12	15½	20	25½	31	35½	43	52
NaOH Δcc	0	0.08	0.14	0.31	0.45	0.62	0.74	0.79	0.95	0.91	1.04	1.14	1.21
0.01nに換算	0	0.50	0.88	1.95	2.84	3.91	4.66	4.98	5.99	5.73	6.55	7.18	7.62

但し t=0 に於ける 0.0629n-NaOH 滴定値は 0.62cc (第1圖(2))





3) 実験結果に対する考察並びに結論

吾々は、パンクレアチンに依るカゼインの加水分解反応を、コロイド滴定法、フォルモール滴定法並びに、局方検定法によつて測定した以上の結果より考へて、次の如き結論に達した。

局方検定法と、コロイド滴定法とは、極めて興味ある相似性を示した。第2圖より分る如く時間と共にコロイド滴定値は殆ど直線的に減少する。而して或る程度迄減少すると、それ以後はコロイド滴定値は極めて徐々にしか減少しない。然して丁度此の2つの傾向の変わり目の所に局方検定法による、醋酸=アルコール混液による蛋白濁りの消滅が存在する。此の事は次の事を意味するものと考へられる。蛋白分解酵素によつて蛋白質の巨大分子は、続々と幾多の破片に分解せられる。従つて、コロイド滴定の対象となる様な高分子性分解物は時間と共に減少する。然して或る限度以下の分解生成体になると、標準コロイドイオン（此の場合には、ポリヴィニルアルコール硫酸イオン）と最早や化学量論的な結合をし得なくなる。従つてそれ以下ではコロイド滴定値の時間的減少は小さくなるものと考へられる。局方検定に於いてカゼイン消化液に醋酸=アルコール混液を添加する際、蛋白濁りを生ずるのは、尙存在する高分子性蛋白質に依るものであり、消化が完全に進んで凡て、低分子物になると、最早やにごりは生じないものである。斯く考へるとき、局方検定法による濁りの消滅が、コロイド滴定値の斯様な2つの傾向の変わり目に存在することの理由が納得されるわけである。第1圖に於て、フォルモール滴定値が濁りの消滅後も尙時間と共に増加してゐるのは、フォルモール滴定は分子の大小にはかゝらず、單に既裂ペプチド結合の増加を示すことを考へるとき當然のことであらう。即ち

素作用が、で最後の平衡に達したと云ふのではなく、たゞ、濁りやコロイド滴定の対象になる様な、比較的高分子性蛋白質が消滅したことを意味するにすぎない。

基質の量を一定にして、酵素量を変化させれば、それに應じて、コロイド滴定値の時間的減少の匂配も変化する。故に標準パンクレアチンについて、一定の匂配を測定しておき、ついで検体についてその匂配を測れば兩者の比較より、検体の標準品に対する力價が容易に求まる筈である。今後、斯様な方針のものに最も妥當と思はれる様な検定規格を、コロイド滴定法を用ひて定めたいと考へてゐる次第である。（昭和24年6月30日）

文 献

- (1) 第5改正 日本薬局方 臨時改訂版(昭和14年) 316頁
- (2) 寺山 宏：化学の研究：第1集(昭和23年6月) 朝倉書店
同：第2集(昭和24年1月) 同
同：現代醸造学の展望(監修鮫島実三郎) 第1集(昭和23年9月) 学術圖書出版社

海人草夾雜物試験について

技 官 下 村 孟

副 手 安 部 壯 平

副 手 片 山 顯 民

Test on Foreign organic matten in Digenea.

Tutomu Shimomura, Sohei Abe, Akihito Katayama.

現行第五改正日本薬局方には海人草の夾雜物試験についてふれてゐないが、一般に夾雜物の非常に多いこと及び有効成分未知なることの二點からこの夾雜物試験は重要な意義をもつものと考へる。吾々は下記の夾雜物試験法試案を作成し、別報「海人草局方試験成績について」に於けると同一の資料を用ひ輸入品 7, 国内産 3, 産地不明 2, 合計 12 例について検討を行った結果について報告する。

1. 夾雜物試験案：

海人草 20g (資料の凡ゆる部分を均等に含む様に) を取り、ピンセットを用いて石灰藻類 (B), 他藻類 (C), 岩石・貝殻 (D) 及び他の混入物 (E) を撰別する。次に指先を用いてマクリ (A) に附着する砂等を軽くもむ様にしてふり落す。この操作までで得た粉状部を局方 4 號篩にかけて、篩上に残る殘部 (F) と通過する細粉部 (G) とに分け、(C), (D), (E) を合併して秤量しそれに (G) の重量の 50% を加算し、それより夾雜物の % を算出する。

〔第一表参照〕

この際 (A), (B), (F) 及び (G) の 50% を合併したものを有効部分とする。

2. 試案に対する解説

(1) 資料の採取量はなるべく多量が良いことは論を待たないが、資料の量に限度があり且普通の薬包紙を用いて上皿天秤上で一回に秤量するには 20g が便利である。

(2) 容器に入れてある資料は往々にして下部に相當量粉状となつて現存し、之より均等に資料をとり出すことは容易でないが、一旦紙上に容器から全部取り出してから、出来るだけ凡ゆる部分を含む様に 20g 取出すことが肝要である。

(3) マクリに附着する石灰藻類 (B) は主として *Jania* 屬のものであるが、之は折れ易いのでピンセットで丁寧に撰出する。この石灰藻は後でマクリに合併し有効部分とするが、後の操作でマクリに附着する砂、貝殻等を取り除く時の障害となるからこゝでこの操作を行った。

(4) 附着する他の紅藻類中トゲイギス及びウツググサは有效なりとする論があるが、吾々の資料には少量であつて、秤量するに足りず問題としていないが、この場合の他藻類 (C) とは容易にマクリと區別し得る他の藻類を云うこととする。

(5) 岩石・貝殻 (D) は一見してわかる。細かい貝殻はピンセットで出来るだけ取り集めるこの操作は (F) についても行う。

(6) 他よりの混入物 (E) とはマクリ採取後混入したものも指し、陸上植物の組織片及び其他異物を云う。

(7) マクリに附着する砂を指先でもむ様にしてふり落す時には、砂は勿論マクリの小枝、石灰藻類、貝殻等も混するが、之を局方 4 號篩にかけ篩過する時、残る残部 (F) は大体小枝及び石灰藻であるから (A) に合併する。この際出る貝殻及び岩石の小片は (D) に合する。

(8) (G) の中には小枝、石灰藻、貝殻、砂片及び砂等を含み、肉眼的に之等を區別することは困難な粉末である。

(9) (C), (D), (E) を合併して秤量し、之に (G) の重量の 50% を加えて夾雜物の重量を算出し、それを % に換算する。

3. 試験結果 上の試案に基いて各資料につき試験を行つた結果、第二表の如き成績を得た尚 (A), (B), (C), (D), (E), (F) 及び (G) に於ける數値は、實際この試験を行う際の便宜を考へ g にて表はし、夾雜物及び (G) の酸不溶性灰分は % に換算した。夫々の平均値は % を以て示した。

4. 結果に対する考察

(1) マクリの % 海人草なる生薬中のマクリそのものは平均 60.9% と云ふ結果を得たがこれには小枝の折れたものは含まれてゐないとは云へ、相當夾雜物の多いことは確である。従つて本試験の意義の重要性を喪付けるものと考へざるを得ない。

(2) 石灰藻類 (主に *Jania*) を殆ど附着しないものが 2 例 (4 及び 11) あり、^{*} 他は 0.1% 即ち 0.5% 附着してゐるものが大多数である。多いものとして東沙島及び鹿兒島縣産のものに 2% 及び 3.5% を認めるものがあつた。

尚その種類については「下山順一郎著：生薬学」に記載があるのでここではふれない。

(3) 他藻類 相當種類附着してゐる。この問題については東京都衛生研究所製薬部長の木村雄四郎博士の最近の研究があるので省略する。

(4) 岩石・貝殻 多い例として 8 があり、之は鹿兒島縣産のものである。同じ國內産の 6, 7, は少く、東沙島産には多少 2 例を見、沖繩以南の列島産は比較的少い結果を得た。

(5) 混入物 3 に於いてのみ 0.1g の混入物を得た。之は葉の破片及び他の陸上植物の葉の數片であり、他の資料よりは秤量し得る著明の混入物は見出さなかつた。

(6) 細粉部の組成 (G) について日局方の酸不溶性灰分を定量して見ると、第二表に附記した如く平均 1.8% の砂を含有することがわかつた。之は勿論別報「海人草局方試験成績について」中の酸不溶性灰分の一部と認められるが、(G) の組成を知る一助とした。

(7) (G) の 50% (G) を切半して有效部分と夾雜物とに加入することは、(G) 中の小枝、石灰藻類の合計が大體半量に達するものと認めた結果であり、之等の % を実測すること

は困難であるが、1.8%の砂はマクリに附いてゐる砂の一部しか定量していないことを考へた上での推定である。

(8) 夾雑物試験のもつ意義 夾雑物の量の多いものは大體他の試験成績も悪く不適となる。マクリの生育場所からも岩石・貝殻等の夾雑は極めて容易と考へられるので、是非この試験で抑へるべきものと考へる。

別報「海人草局方試験成績について」第三表に見る如く、アルコールエキスと生育状況の関係が平行しないものの中、4は他藻類を著量附着してゐるのでその他藻類のアルコールエキスをも定量してゐるものと認められる。6は夾雑物少い爲、アルコールエキス7.8%を示すものと考へられ、11は夾雑は少いが酸不溶性灰分殊に(G)中の砂が著量に存在することが原因と思考される。

5. 夾雑物試験の規格 以上の試験結果より平均23.7%の夾雑物を得たが、ここで行つた試験は極めて嚴に取扱つたものであり、実際上は20%の許容限度が適當と認められる。

最後に終始御鞭連を願ひた生薬部長山口一孝博士及び御援助を下された昭和女子薬専学生松岡洋子嬢に深謝します。(昭和24年6月) 緒方;金子;薬誌,昭.17,9.

第 一 表

資料番號	(A) マクリ g	(B) 石灰藻類 g	(C) 他藻類 g	(D) 岩石・貝殻 g	(E) 混入物 g	(F) 殘部 g	(G) 細粉物 g	夾雑物 %	(G)の酸 不溶性灰分 %
3	13.8	0.1	0.9	2.7	0.1	0.2	2.2	21.0	1.3
4	12.7	0.0	2.2	0.5	0.0	0.3	4.3	24.3	1.0
5	14.0	0.4	1.4	2.4	0.0	0.2	1.6	23.0	3.7
6	12.9	0.1	0.8	0.6	0.0	1.1	4.5	18.3	2.4
7	13.0	0.1	0.8	0.7	0.0	0.7	4.7	19.3	2.5
8	7.7	0.7	3.0	4.0	0.0	0.3	4.3	45.8	1.5
9	11.2	0.1	1.2	1.0	0.0	0.5	6.0	26.0	1.1
10	11.0	0.1	0.8	0.7	0.0	0.9	6.5	23.8	1.9
11	13.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.5	5.5	16.3	2.7
12	9.6	0.1	0.9	0.2	0.0	0.3	8.9	27.8	1.1
13	12.9	0.1	1.0	0.6	0.0	0.9	4.5	19.3	1.3
14	14.3	0.1	1.1	0.2	0.0	0.4	3.9	16.3	0.6
平均 %	60.9%	1.0%	5.9%	6.0%	0%	2.5%	23.6%	23.7%	1.8%

海人草局方試験成績について

技官 山口一孝 技官 下村 孟
技官 金庭延慶 副手 安部 壯平

Pharmacopoeial Tests on *Digenea*
kazutaka Yamaguchi, Tutomu Shimomura.
Nobuyoshi Kaneniwa, Sohei Abe.

昭和23年9月より同24年2月までの間に厚生省薬務局及び藤沢薬品工業株式会社より検査依頼を受けた輸入品9, 国内産3, 産地不明2, 計14例の海人草について, 現行第五改正日本薬局方に従つて局方試験を実施し, 併せて夾雑物, 石灰藻類, 生育状況, 外觀及び気味に關して検討を行つた結果, 第一表の如き成績を得た。

又之等の結果より局方規格に就いての結論及び試験項目間の關係に対する考察を行つたので, ここに報告する。

尙海藻につき東道太郎氏に種々御教示を得たことを深謝する。

表中の各項目に就いてその概略を説明すると,

(1) アルコールエキス, 水分, 灰分, 酸不溶性灰分: 現行日局方に従つて試験を行つた結果を%に換算したものである。尙アルコールエキスに就いては別報「海人草のアルコールエキス含量試験法について」を参照され度い。

(2) 現局方及び改正案に依る判定項中の適及び不適: 適とは略適を含み, 4項目中アルコールエキスを含み2項目以上適となるもの, 又はアルコールエキスを除き他の3項目適となるものを云い, 然らざるものを不適と云う。

(3) 夾雑物: 現局方にはこの項目はないが當局よりの要求があるので検査を行つた。詳細に就いては別報「海人草夾雑物試験について」を参照され度い。尙改正案としては20%以下を規定するのを妥當と考える。

(4) 石灰藻類: 主として *Jania* 属を対稱となし。前項夾雑物試験に従つて含量を測定した。石灰藻は有効部分として認められてゐる¹⁾ので, アルコールエキス含量を補足する意味で併記した。

(5) 生育状況: 海人草の原藻であるマクリ *Digenea simplex* Agardh の生育程度を全長及び生殖器の發育状況を基として良, 中等度, 不良の3つに分類した。良好とはマクリの全長約6cm以上に良く發育したもので, マクリの小枝末端の四分芽胞 (Tetrasporen) 良く

1) 緒方, 金子: 藥誌. 昭.17.9.

發育せるものを云ふ。中等度とは全長約 6cm 内外なれど、マクリの分枝も小數且四分芽胞の發育未熟なるものを云ふ。不良とは前二者ならざるものを云ふ。尙毛狀體 (Haarblätter) 及び胞果 (Cystocarpien) も生育程度を目安となるので併記したが、胞果は生藥に於いては發見稍々困難である。

(6) 外觀・氣味：色 マクリ本來の色はくらいあか (暗赤色) ~ くらいあかむらさき (暗赤紫色) と認められるので、年月を経たもの又は採取後處理不良なものは褪色してはい (灰白色) ~ はいき (灰黄色) に到ることがある點より、色の良、不良を判定した。(色名は新色名法による。)

臭：特異の海藻臭を有するが、中には若干腐敗臭を混へるものがあつたので良、不良に區別した。

味：特異な味を有し、辛味は塩辛いには相違ないが、食塩をなめる時の辛さとは異なる。塩辛さの抜けたもの及び處理悪く塩辛らすぎるものを見出したので良、不良に區別した。

結 論

(1) 局方規格に関して

第一表に示す如く各項目別に適、不適を判定すると

アルコールエキス	適 4	不適 10
水分	10	4
灰分	3	11
酸不溶性灰分	6	6
尙 外 觀	10	4
氣 味	9	5

となり、現局方に依り判定するときには、14 例中に適 4 例しか存在せず、現在の狀況より推して餘りに嚴重に過ぎると思考する。

従つて	アルコールエキス規格	8% より	6% に
	灰分	30% より	35% に
	酸不溶性灰分	7% より	8% に

夫々規格を引下げることが適當であると考え。

この改正案に従つて各試験項目を判定すると

アルコールエキス	適 9	不適 5
灰分	11	3
酸不溶性灰分	9	3

となり、従つて 14 例中適 10、不適 4 となる。

(2) 試験結果に対する考察

(1) 産地と海人草の品質との関係。 規格厳なる現局方に合格するもの4例中、1例は東沙島産、2例は熊本及び鹿児島縣産、他の1例は輸入品ではあるが産地不明のものであり。この點から國內産に優秀なものあつたことが一応認められる。而し改正案にも不合格となるもの4例あり、その1例は産地不明、1例は輸入品ではあるが産地不明、1例は鹿児島縣産、他の1例は東沙島となるので、之だけの資料から産地による海人草の品質の良否は判定の難い。

尙産地の判明してゐるものに八重山群島、沖縄、宮古島産の3例があるが、之等の列島産の海人草は大體中程度の品質のものとして認め得る結果を示した。

(2) 灰分と酸不溶性灰分との関係。 両者は第二表に示す如く略平行してゐることが判つた。VI及びVIIIの2例はに灰分、酸不溶性灰分とも多く、内地産のもの品質もこの點で批判する余地が充分ある。

(3) アルコールエキスと生育状況との関係。 有効成分未知の海人草を検定する場合、生育状況を觀察することは非常に有意義のことと思はれる。ここでアルコールエキスを一応有効部分と認めて、それと生育状況とを第三表に圖示した。第一表に示す生育状況の良、中等度、不良を高さで表はし3段階に分けて見ると、I, II, III, V, VII, VIII, IX, X, XII, 及び XIII, の各例では両者は略々平行してゐる。III, VI, XI, 及び XIII, に於いて稍差する生じてゐるが、III, VI, XI, に於いては他の條件が入つて來るものと認められ、このことについては別報「海人草夾雑物試験について」中に説明をのべてある。XIIIは未熟毛状體を認めるのみで生育状況中等度より稍悪い爲と考へられる。

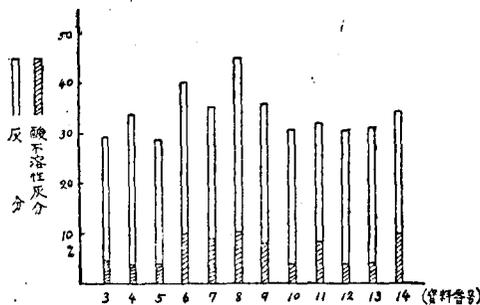
(4) 局方試験適否と外觀氣味との関係。 色、臭、味共に不良なものは局方不適である。(I, III,)又この3項の中で1項でも不良なものは大體不適又は略適に入る。(VIII, IX, XI, XII, XIII,)

従つて海人草局方試験に當つては外觀・氣味のもつ意義も又重大であることが明かとなつた

(昭和24年5月)

海人草局方試験

第二表 灰分と酸不溶性灰分との関係



海人草局方試験

第三表 アルコールエキス含量と生育状況との関係

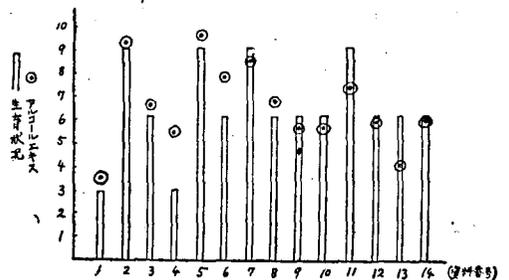


表 第 一

資 料 番 號	入 手 年 月 日	地 址	局 方 試 驗 成 績		現 局 方 = ヨル判定 適 不適	改 正 案 = ヨル判定 適 不適	夾 雜 物	石 灰 濃 類	生 育 狀 況		外 觀 氣 味
			水 分	灰 分					長 寸	生 殖 狀 況	
1	1948 9月	(輸入品)	3.5%	9.3	○	○		9	テリ	○	不
2	9	(輸入品)	11.0	34.1	○	○		9	テリ	○	不
3	9.10	不明	6.6	29.2	○	○	24.0%	10	毛狀體 テリ	○	不
4	9.12	不明	5.5	32.8	◎	○	24.3%	6	ナシ	○	不
5	9.14	(東 東島)	9.9	24.6	○	○	23.0	12	テリ	○	良
6	9.27	熊本縣 天深郡 鹿野町	7.8	22.8	○	○	18.3	8	(未)テリ	○	良
7	9.27	鹿児島縣 鹿野郡 久野町	8.4	20.3	○	○	19.3	10	テリ	○	良
8	9.27	鹿児島縣 川邊郡 西郷町	6.7	17.0	○	○	45.8	6	(未)テリ	○	不
9	10.1	(東 東島)	5.4	7.2	◎	○	26.0	6	(未)テリ	○	不
10	10.12	(輸入品)	5.4	12.5	○	○	23.8	6	(未)テリ	○	良
11	12.3	(輸入品)	7.3	7.0	◎	○	16.3	6	テリ	○	不
12	12.3	(津 浦島)	5.9	6.4	◎	○	27.8	6	(未)テリ	○	不
13	12.15	(宮 古島)	4.0	16.1	○	○	19.3	6	(未)テリ	○	不
14	1949 2.18	(輸入品)	5.9	10.6	○	○	16.3	6	(未)テリ	○	良
平均値			6.5%	15.6%	6.0%	4	23.7%			(2)	
備 考		○D× ハハ理 現局局 方方不 適取不 適適			案◎適正D 適取 案ハ 略改 略改	略適ヲ含ム	略適ヲ含ム				不ハ不良. 良ハ良好.
改 正 案		6.0% 以上	現局方= 同シ	35.0% 以下	8.0% 以下		20.0% 以下				

海人草のアルコールエキス含量試験項目の改良 試案に就いて

技官 山口 一 孝 技官 金 庭 延 慶

About Improving Test of Alcohol Extrat Method of Digenea
Simrex,

Kazutaka YAMAGUCHI.

Nobuyoshi KANENIWA

緒 言

我々は最近輸入海人草の依頼試験を擔當し、之を実施したが、尙其の一人は日本薬局方調査会生薬第一部会部員として海人草の項を擔當しているので、局方改正の見地から本品の試験法について検討を行つた。今回其一としてアルコールエキス含量試験項目に關して改良試案を得たので、之と現行法との比較等に関する実験成績を報告する。

改良試案、A案、本品の粗末約 2g を精密に秤り、アルコール 40c. c. を加え還流冷却器をつけて水浴上に 1 時間加熱し冷後直ちに濾過する、濾紙上の残留物をアルコール各 20cc をもつて 3 回洗い、洗液は濾液に合して、水浴上に蒸發し 100° で恒量になるまで乾燥するとき其の重量は 6% 以下であつてはならない。

B案、本品の粗末を 100° で恒量になるまで乾燥し、その約 2g を精密に秤り、アルコール 40c. c. を加え還流冷却器をつけて水浴上に 1 時間加熱し、冷後直に濾過する。濾紙上の残留物をアルコール各 20cc を以て 3 回洗い、洗液は濾液に合して水浴上に蒸發し 100° で恒量になるまで乾燥するとき、其の重量は 6% 以下であつてはならない。

〔註〕 現行局方海人草第四項

本品の粗末 2g を小壺に取りアルコール 38g を加へ還流冷却器を附し重湯煎上加熱すること 1 時間の後冷却し、アルコールを添加して全量を 42g となし濾過し、其 25g を蒸發し残留物を 100° に於いて乾燥するに其の量少くも 0.1g ならざるべからず。

此處に A. B 2 種の案を並記したが A 案は実験上假に定めたものであつて局方改正の原案として実際に提供するのは B 案である。

改良試案提出の理由。

(1) 局方改正の一般方針として成分含量の記載はすべて%で表す事に統一されてゐる。現行法によつて得られる結果を%に換算するには次の(2)又は(2')は、式によらなくてはならず煩雜である。又現在実施してゐる試験についても本項目の検査成績は%で提出する様依頼者から要求されてゐる然るに改良試案によれば蒸發残渣から直接%を算出出来る。

〔註〕 現行法による成績より%の算出

25cc の蒸発残渣 ag; 検体量 bg (現行法では 2g) bg 中のアルコールエキス含量xとすれば

$$\frac{25}{a} = \frac{40+x}{x} \therefore x = \frac{40a}{b(25-a)} \dots\dots(1)$$

検体 bg 中のアルコールエキス含量 (%) X は

$$X = \frac{x}{b} \times 100 = \frac{40a}{b(25-a)} \times 100 \dots\dots(2)$$

誤差の範囲内に於いて

$$X = \frac{40a}{25b} \times 100 \dots\dots(2)$$

(2) 現行法では検体は正確に 2g を秤量せねばならず、又使用するアルコールも天秤によつて正確に秤取しなければならぬ。改良試案によれば検体は約 2g を正確に秤取すればよく、アルコールは液量計で取ればよい。而し現行法、改良試案いづれにせよソクスレット抽出器等を用ひて検体からアルコールに可溶部分を完全に抽出しているのではない。

(3) 現行法では操作中のアルコール蒸發による誤差が考えられるが改良試案には之がない

(4) 現行法及び改良試案では検体の水分含有量の異動に基く誤差が考慮されていない。然し乍ら海人草検体 14 例について水分含有量を檢した結果では最高 26.5% 最低 6.4% と其差が甚だ大きい故、アルコールエキス含量を定量する目的には之による誤差を除く爲 100° に乾燥し恒量とした検体を用いて行ふか、又は同時に試験する水分含量から計算によつて (而し兩者は実験的には必ずしも等しくならぬであらう) エキス量を補正する必要がある。米國藥局方では生薬中の水分含量を除去したのものについてアルコールエキス分を算出しているが以上の點も考慮して B 案を提出する。

〔註〕 米局方では生薬のアルコールエキス含量及び Toluene distillation methode による水分定量法を通則に規定しているが日局方でアルコールエキス含量の規定のあるものは本品の他には削除に決定したヤラツバ根があるだけなので特に之を通則に規定する必要はないと考えられる。

(5) アルコールエキス含量項目が海人草の效力判定上如何なる程度に價値を有するかと云ふ事は別個の問題である。在來の文献を見るに本品の有効成分は未だ明かならず、アルコールエキス含有量の點より考えるも村山博士²⁾は水浸液よりアルコールで沈澱する部分に有りといふ緒方博士等³⁾が附帶する石灰藻について行つた実験成績では水浸濃縮液にアルコールを加えて生ずる沈澱を除いた残液に毒作用をあらわす部分がある事を報告している。等で一定していない。然し乍ら效力との關係は別としても刈米博士等⁴⁾の説の様に浸出残渣等の不良品を鑑別する見地からして此の項目が重要な意義を持つ事に変わりないと思ふ。將來效力の判定と云ふ目的に副い且、簡易な試験方法が局方項目中に盛込まれる様に研究が進められなくてはならない。

実験成績 (6) アルコールエキス含量は別報海人草局方試験成績について、1) を元として 8%

(現行法を換算) から 6% に引下げてゐる。同報告を参照されたい。

(1) 現行法の結果を%に換算する際の誤差の問題。

現行法アルコールエキス規定量 A は 0.1g, 之を(2)式によつて%に換算すると

$$\frac{40 \times 0.1}{2 \times (25 - 0.1)} \times 100 = 8.03 (\%)$$

若しも分母に於ける a の差を省略した場合については

(2)式によつて

$$\frac{40 \times 0.1}{2 \times 25} \times 100 = 8.00 (\%)$$

となり此の含量のものについては 0.03% の誤差を生ずる。

次に a の値の変化に伴う誤差を計算によつて求めると次の如くである。

a の値 (g) 1, 0.5 0.3 0.13 0.12 0.1 0.01

誤 差 (%) 3, 0.8 0.29 0.07 0.04 0.03 0.0003

現在迄試験した検体に於てはアルコールエキス含量 a の最高は 0.12g であつた。尙局方註解では刈米博士は優良な南支那産の品について 11.11% の含有量を示すもののある事を述べているが之でも尙 a = 0.15g 以下である。それ故我々は (2¹) 式を (2) 式の代用として 0.07% 以下の誤差範囲で用い得る事を知るのである。

次に (2¹) 式を用いる場合の秤量誤差の限界について考えて見る。化学天秤 (感度 0.1mg) を用いて検体を秤量した場合 2.0000g と 2.0001g との差に於ける (2¹) 式の値のちがいは 0.005% (a=0.1 として) に過ぎぬ故 0.07% の誤差限界に於ては小數點以下 4 位の記載は必要のない事がわかる。

(2) 現行法と改良試案 A 及 B との比較実験成績。

我々は現行法と A 案 B 案とを比較する場合次の順序によつて行つた。即ち現行法と A 案との操作の差違による変化を見。次いで現行法と B 案との關係を比較した各法の結果も比較するに當つて必要となつて来る乾燥檢體中のアルコールエキス% X¹ は次式によつて計算した。但し cg は檢體を 100° で恒量迄乾燥した爲の減量。

$$\text{現行法} \quad X^1 = \frac{40a}{25b} \times 100 \times \frac{b}{b-c} \dots\dots(3)$$

$$\text{A 案} \quad X^1 = \frac{a}{b} \times 100 \times \frac{b}{b-c} \dots\dots(4)$$

$$\text{B 案} \quad X^1 = \frac{a}{b-c} \times 100 \dots\dots(5)$$

而して案では (b-c) は直接測定される量であつて、別に定められる含水率 $\frac{b}{b-c}$ から算出する前二法より簡單である。

次に各法によつて得た実験成績は第 1 表及第 2 表の通りで之等の平均値を總括比較した結果

が第3表に示されてゐる。次に第3表について実験成績の概要を説明する。

(1) 第5, 7, 9, 3種の検体について現行法とA案との比較を行つた成績が第1表であるがそれらの平均値は第3表に於いてII項及VI項に示されてゐる。今第9検体を例にとつて説明すると兩法の平均値の差はII~IV項に示す0.46%でありA案の方が大きい。3種検体の平均差は0.50%である。次に此の検体の含水率10.10%から兩法による平均値を乾燥検体に対する値として換算したものがIII項(3.22)及V項(3.73)であつて之等の間の差がIII~V項(0.51)に示されてゐる。3種の検体についての平均はIII~Vは0.58%である。

(2) 改良試案Bによる実験成績が第2表であり。平均値は3.26%である。尙100°に恒量乾燥前の検体(含水物)に対するアルコールエキス%を実測した成績の平均が2.94%である。第3表に於いて現行法による第9検体の平均成績II(2.89%)とB案の平均成績IV(3.26%)を比較すると其差はII~IV項(0.37%)であるが此場合一方は含水検体について、他方は乾燥検体について成績を求めているので其儘では比較にならない數字である。そこでIIを乾燥検体に換算した値III(3.22%)とB案によるIV(3.26%)を比較すれば其差III~IV(0.04%)である。又B案の操作を行つて得たエキス量を未乾燥検体中の含量として計算した値の平均VII(2.94%)と現行法の成績II(2.89%)とを比較すれば誤差はII~VII0.05%であつて何れも誤差として認め得る範囲である。又先に述べた現行法とB案との誤差0.37%と言ふ値は次に述べる含水率から補正した10.10%に相當するアルコールエキスの誤差値0.38%と一致することによつて説明がつく。

(3) 3種の含水率を異にする検体について含水率1%に対するアルコールエキス含量の平均誤差を求めた。

現行法に於ける値IIを乾燥検体に換算した値IIIと比較した成績が第3表II~IIIであり。A案に於ける値IVを乾燥検体に換算した値Vと比較した成績がIV~Vである。そして各検体について此の値を含水率Iで除したものが1%に対するエキス分の誤差を示すもので。3種の平均値は0.048%即ち10%の含水率に対し約0.5%の誤差を生ずることがわかる。

(4) 乾燥試験について

(1) 恒量試験 100°で1.5~2時間乾燥し冷後秤量する(10分後)実験誤差0.20%以下の差を以て一定となる。

(2) 粗末に於て各回の実験誤差は0.20%以下となる。

(3) 粗末調製から試験を行つた時間によつて水分含量の変化には著しいものがある。(3月快晴時)薬研を用ひ粗末調製し直ちに試験した時……15.20%3日間風乾した時。4.94%

結 論

(1) 現行法の結果を%に換算する場合(2')式を用ひて差支ない。又検体の秤量限界は小數點

以下3位で充分である。

- (2) 3種の検体について行つた実験成績は乾燥度を考慮しない場合、現行法を%に換算した成績と改良試案によつて得た成績との間の平均誤差は 0.61% 0.43% 0.46% で之等の平均は0.50% であつて常に改良試案の方が大きい値を示す。
- (3) 含水率を換算した場合現行法と改良試案 A によつて得た成績を比較するとその平均誤差は 0.72, 0.50, 0.51% で之等の平均は 0.58% で常に改良試案 A の換算値が大きい値を示す。
- (4) 同種の検体について現行法によつて試験行つて得た値を含水率から乾燥検体に対する値に換算した値と改良試案 B による値との減の誤差は 0.04% (各 5 例) であり実験的に無視し得る。又現行法によつて得た値と改良試案によつて得た結果、を非乾燥検体に対する%として算出した値との間の誤差は 0.05% であり、実験的に無視し得る。
- (5) 現行法と改良試案 B との誤差は含水率から補正した乾燥誤差の値に一致する。
- (6) 含水率を異にする 3 種の検体について行つた改良試案 A による試験成績より含水率差 1% に対するアルコールエキス%の誤差を算出すると 0.058, 0.048, 0.038%であり之等の平均は 0.05% である。
- (7) 乾燥恒量となす場合 100%; 2 時間で充分である。
- (8) 粗末調製後直ちに試験を行はないと含水率に大きな差を生ずる。

引 用 文 献

- (1) 山口, 下村, 金庭, 安部: 本誌
- (2) 村山: 薬學39卷 (1919) 438.
- (3) 緒方: 薬學 62卷 (1942) 55-61.
- (4) 刈米, 大倉: 薬學 51卷 (1931) 931

第 1 表

検體番號	方法	檢體量(b)	アルコール + 檢體量	アルコール + エキス	アルコール エキス量(b)	水分含量% c/b×100	アルコール 檢體中	エキス 乾燥、檢體中	差	摘 要
5	現	2.0005	42.0094	25.0010	0.0573	15.20	4.58	5.07		10分冷却
5	"	2.0538	42.0103	25.0036	0.0520		4.15			45分 "
5	"	1.9995	41.9978	25.0031	0.0517		4.14			10分 "
5	"	2.0072	42.0128	25.0036	0.0540		4.32			10分 "
平均						15.20	4.30			
5	A	2.0006			0.1022	15.20	5.11	5.79		
5	"	2.0000			0.1004		5.02			
5	"	2.0040			0.1034		5.16			
5	"	1.9988			0.0368		4.35			
平均						15.20	4.91			

検体 番 号	方 法	検体量(b)	アルコール			水分含量% c/b×100	アルコールエキス含量%		差	摘 要
			+ 検体量	+ エキス	エキス量(a)		検体中	乾燥、検体中		
7	現	2.0000	42.0170	25.0020	0.0440	14.85	3.52	4.16		
7	"	2.0000	42.0070	25.0000	0.0470		3.75			
7	"	2.0000	42.0090	25.0020	0.0420		3.36			
平均						14.85	3.54			
7	A	2.0000			0.0760	14.85	3.80	4.66		
7	"	2.0000			0.0820		4.10			
7	"	2.0000			0.0800		4.00			
7	"	2.0000			0.0750	14.85	3.75	4.66		
7	"	1.9970			0.0800		4.00			
7	"	2.0030			0.0830		4.14			
平均						14.85	3.97			
9	現	2.0008	42.0006	25.0000	0.0355	10.10	2.64	3.22		
9	"	1.9992	42.0080	25.0135	0.0359		2.87			
9	"	2.0078	42.0062	25.0020	0.0350		2.79			
9	"	2.0000	41.9964	25.0040	0.0340	10.10	2.68	3.22		
9	"	2.0000	42.0986	25.0360	0.0403		3.28			
平均							10.10			2.89
9	A	1.9990			0.0083	10.10	3.41	3.73		
9	"	2.0070			0.0552		3.24			
9	"	2.0085			0.0705		3.51			
9	"	2.0085			0.0630	10.10	2.99	3.73		
9	"	1.9878			0.0780		3.92			
平均							10.10			3.35

第 2 表 B 案による試験

検体 番 号	検 体 量	乾燥体量	乾燥減量	乾燥度%	アルコール エ キ ス	アルコールエキス%	
						検体中	乾燥体中
9	2.0000	1.9888	0.2112	10.56	0.0588	2.94	3.28
9	2.0000	1.8002	0.1998	9.99	0.0532	2.66	2.95
9	2.0000	1.7966	0.2034	10.17	0.0554	3.29	3.64
9	2.0000	1.8080	0.1920	9.60	0.0636	3.18	3.51
9	2.0000	1.7998	0.2992	10.56	0.0525	2.63	2.92
平均				10.07		2.94	3.26

第 3 表 実験成績總括一覽表

試験方法	検 体 番 号	5		7		9		摘 要
		例	例	例	例			
I	含 水 率	15.20		14.85		10.10		
II	アルコール エキス %	現行法	4.30	4	3.54	4	2.89	5

Ⅲ	アル コ ー ル エ キ ス %	同乾燥物の換算	5.07		4.16		3.22		(3)式ニヨリ算出
Ⅲ		改良法 A	4.91	4	3.97	6	3.35	5	
V		同乾燥物に換算	5.79		4.66		3.73		(4)式ニヨリ算出
Ⅵ		改良法 B					3.26	5	(5)式ニヨリ算出
Ⅶ		同含水物トシテ					2.94		c/b×100
平 均 値 比 較	Ⅱ ~ Ⅲ		0.61		0.43		0.46		平均 0.05
	Ⅲ ~ V		0.72		0.50		0.51		// 0.53
	Ⅱ ~ Ⅲ		0.77		0.62		0.33		
	Ⅲ ~ V		0.83		0.69		0.38		
	Ⅲ ~ Ⅵ						0.04		
	Ⅱ ~ Ⅶ						0.05		
	Ⅱ ~ Ⅵ						0.37		
含水量1% に對する 乾燥差		Ⅳ ~ V I	0.058		0.048		0.038		// 0.048

マンダラ葉及類似生薬のアルカロイド含量

試験法について

技官 山口一孝 助手 庄司初枝

Alkaloid Determination Methods of Jimson weed and
its Similarities.

by Kazutaka Yamaguchi, Hatue Syoji

緒 言

マンダラ葉其の他に之に類するアトロピン系アルカロイド含有生薬のアルカロイド定量法は日局方と米局方とは甚だ相違してゐる。今ヒヨス葉 *Folium Hyosiami* を例にとつて兩者の記載を比較すると、次の如くである。

日局方一本品の中末 20g にエーテル 150cc を加へ良く振盪し次にアンモニア水 7cc を加へ屢々劇しく振盪しつゝ次に水 5cc を加へて復た 3 分間振盪しエーテル液の澄明となりたる後小乾燥爐紙を用ひて速かに濾過し其の濾液 75cc を蒸溜して約其の 2/3 を去り冷後分液ロートに移し、容器を逐次 3 回各 5cc のエーテルを用いて洗滌し、洗液を分液ロートの液に合し、次に n/10 塩酸 5cc 水 5cc を加へ 3 分間劇しく振盪し静置し次に下層の澄明酸性液を分取し、更にエーテル液に逐次 3 回各 5cc の水を加へて振盪し前の酸性液に合しメチルロート溶液 2 滴を加へ、n/10 苛性カリ液を滴加して中和するには該液を費すこと 4.76cc に過ぐべからず、

米局方一ヒヨス葉中末 25g を抽出筒管に入れ筒管をソグスレット或は同様の抽出器中に挿入する、生薬を濃アンモニア水 8cc アルコール 10cc 及エーテル 20cc の混液にて濕潤せしめ完全に混和する、混合物を一夜間浸漬した後、溶媒としてエーテルを使用し 3 時間以上（或はアルカロイドが完全に抽出されるまで）抽出する 或は次の操作法によるもよろし。

ヒヨス葉中末 25g（中末より細かい粉末で定量する時は抽出を容易にする爲洗滌した砂かアスベスト繊維を使用する）を小さい抽出器（その排出口を精製綿の Pladgett で填充したもの）の中に入れ濃アンモニア水 8cc エーテル 20cc 及クロロホルム 10cc の混液にて濕潤せしめる。

混和物を一夜浸漬した後、抽出器中に入れ（エーテル 3 容及クロロホルム 1 容の混合物をもつて徐々に Percolating をもつて抽出する、抽出は最後まで通過した抽出液の 3-4cc の蒸

發乾涸して得た残渣を約 $n/2$ 硫酸に溶解し、水銀ヨードカリ試薬によりわずかに混濁するに至るまで継続する、ソクレット抽出法又は Percolation 抽出法により得られた抽出液の量が大きなる時は、水浴上に蒸發して適度の容量にする。

抽出液を分液ロートに移し、容器を少量の溶媒にて洗滌し、洗液を分液ロート中の液に合し次に約 $n/2$ 硫酸を加へ逐次振盪抽出して溶媒よりアルカロイドを完全に分離する。毎回の硫酸液分は分取し第二の分液ロート中に注入する。合併せる硫酸はアンモニア水で明らかにアルカリ性となし、クロロホルムをもつて逐次振盪抽出してアルカロイドを完全に分離する。

合併したクロロホルム抽出液を水浴上にて蒸發乾涸した後 15 分間加熱する。此の操作を今一度行ふ。得た残渣を少量のクロロホルムに溶解し、 $n/50$ 硫酸 15cc を加へ蒸發して、クロロホルムを除去し冷後過剰の酸を $n/50$ 苛性ソーダで滴定する。

(指示薬メチルレッド)

$n/50$ 硫酸 1cc = 0.005787g ヒヨス葉アルカロイド。

此の兩方法を比較検討すると、次の諸點から米局方は日局方に比べて正確且つ實際的な方法であると考へられる。即ち。

(1) 日局方はアンモニアアルカリ性でエーテルと振盪し 1 時間放置しただけで抽出を終つてゐるが米局方ではソクレット其の他の抽出器を用いて完全に抽出してゐる。

(2) 日局方ではタルク及水と振盪する操作を行つてゐるが米局方では此の操作を必要としない。

(3) 日局方では過剰のアンモニアの分離が不完全で之による誤差を生ずる虞れがある。米局方では蒸發乾涸を繰返し之を防いでゐる。

(4) 日局方では 150cc のエーテル抽出液から不完全且つ煩雜な操作を行つた後に、其の濾液 75cc をとつて定量を行つてゐるが最も揮散しやすいエーテルを溶媒に用いてゐる場合。操作中の蒸發による誤差は決して少い値ではないと考へられる。

(5) 規定液として米局方は $n/50$ 日局方は $n/10$ を採用してゐる。規定液の消費量は日局方の場合 4.76cc とすると 対応量は 0.24cc であり、通常のピユレットを用ふる滴定量としては僅少に過ぎる。檢體のアルカロイド含量を 0.07% として米局方の場合を考へてみると、その対応量は 3cc となり適當である。

(6) 檢體量は日局方では 20g、米局方では 25g、となつてゐる。25g では通常のソクレット抽出筒管に一杯につめて 2 本分となる爲、改良試案では 10g を採用した。

然しヒヨス葉の様にアルカロイド含量の少いものについては原法通り 25g を用ふるのが良いかとも思はれる。

(7) 日局方は定められた條文の忠実な履行によつて得られた實驗結果のみが意味をもつ規

定液の消費 cc 数が定められて、融通がきかないが此の點米局方は當量關係が明記され、且つ採取檢體の全アルカロイド量を定量してゐるので%算出も簡單であり、合理的且つ普遍的である。

以上の見地から改正藥局方に於ては、マンダラ藥其の他類似生藥のアルカロイド含量定量法は是非米局方に準じたい。併し乍ら記載の原文はやゝ長すぎ、且つ使用する大型ソクスレット抽出器やパーコレクター等が我が國藥局の現状では整備困難と思はれるので米局方に準じ、此の點を考慮した次の改良試案を呈出し併せて實驗成績及び日局方との比較成績を報告する。

改良試案—本品の中未 10g をソクスレット抽出器筒管に入れ器中におさめた後、強アンモニア水 8cc アルコール 10cc エーテル 20cc の混液を加へてうるほし良く混和し一夜放置後、エーテルを用いて 3 時間以上抽出し筒管中のエーテルが殆んど無色となるに至らしめる。抽出液の其の量が餘りに多量の時は適量まで水浴上で蒸發濃縮して分液ロートに移し、容器を少量の溶媒で洗ひ洗液は分液ロート中に合併し、次に $n/2$ 硫酸約 30cc を數回に分けて加へ、ふりまぜて抽出し、アルカロイド溶媒から硫酸液に完全に移行させる。

毎回の硫酸液は合併し僅かの量の溶媒で洗つた後、アンモニア水でアルカリ性となし、直ちにクロロホルム約 30cc をもつて數回に分けてふりまぜ、アルカロイドを完全に抽出する、クロロホルム液は合併して水浴上に蒸發乾涸した後引き続き 15 分間加熱して再び少量のクロロホルムに溶かし 15 分間加熱する操作を反覆する、その残渣を數 cc のクロロホルムに溶かし、 $n/50$ 硫酸 10cc を加へて水浴上に蒸發しクロロホルムを除いた後放冷し過剰の酸を $n/50$ 水酸化ナトリウムで滴定する。

(指示藥メチルレッド)

$n/50$ 硫酸 1cc = 0.005787g ダツラアルカロイド。

〔I〕 實 驗 要 約……

檢體に開花時に採集したマンダラ葉 (*Datura Stramonium* Linne' 及びそれに、*Datura Tatula* Linne' の混合物) の二種を乾燥中未としたもの、*Datura Stramonium* Linne' 乾燥葉を中未としたもの及びマンダラ葉粉末製劑ダツラン (タケダ) を使用した。

日局方ではエーテル抽出振盪時間を 30 分とし、エーテル抽出液の操作中の蒸發による誤差を除くために濾液を 150cc に補正した他は、原法通りに處理した場合 (A法) と、殘存アンモニアによる誤差を知る爲に充分な水洗によつて此の除去を確めた場合 (B法) の比較を行つた

尙生藥中に實際に含有されるアルカロイドと定量の結果得られる値との間にどの位の差があるかを見極める爲の基礎實驗として文献上も實際的にもアルカロイドを含有しないことを確めた植物 (大根, *Raphanus acanthiformis* M, Morel) の乾燥葉中未を用い各方法の操作を行つて基本誤差を定めた後之に一定量の硫酸アトロピンを添加したものについて定量を行つた。

又日局方 A 法, B 法に於て抽出時間を 24 時間にした場合の定量成績を比較検討した。

〔Ⅲ〕 実 験 成 績

(a) 検 體

- (1) マンダラ葉 (東京都世田ヶ谷区野生) D. Stramonium. L' 及 D. Tatula. L' 混合物中末
- (2) 同 D. Stramonium. L' 中末
- (3) ダツラン (タケダ) No1.
- (4) 同 No2.
- (5) 大根葉 (乾燥葉中末)
- (6) 市販硫酸アトロピン結晶

(b) 日局方による試験成績

A 法—検體採取量を 10g としエーテル抽出液を脱脂綿を用い濾過した濾液をエーテルを以つて 150cc に補正する他は局方記載による。

B 法—検體採取量を 10g としエーテル抽出液を脱脂綿を用い濾過した濾液をエーテルを以つてに補正シタルク 1g を加へ 3 分間振盪した後完全に洗液が中性となるに至らしめる。他は局方記載による。

(C) 改良試案による試験成績

第一表参照

第 一 表

日 局 方							改 良 試 案						
No	検體	検體量	n/10 HCl	アルカロ イド%	方法	平均	No	検體	検體量	n/50 H ₂ SO ₄	アルカロ イド%	平均	
1	①	10.146	0.069	0.039	A		1	①	12.5	2.88	0.13	0.175	約n/2H ₂ SO ₄ 及 クロ、ホルムを 20cc使用した実 験成績
							2	〃	12.428	2.44	0.11		
							3	〃	12.553	3.71	0.17		
							4	〃	12.542	3.98	0.18		
2	②	10.120	0.617	0.35	A		5	②	10.055	2.37	0.14	0.14	A-C= 0.19
3	〃	9.910	0.542	0.31	〃	0.33	6	〃	10.052	2.35	0.14		
4	〃	10.551	0.260	0.14	B								A-B=0.20 C-B=0.01
5	〃	10.002	0.154	0.09	〃								
6	〃	10.4840	0.305	0.17	〃	0.13							
7	③	9.996	0.542	0.31	A		7	③	12.35	2.55	0.12		
8	〃	10.046	0.542	0.31	〃	0.31	8	〃	12.369	1.60	0.08		
							9	〃	12.515	1.82	0.09		
							10	〃	125551	2.56	0.10	0.10	A-C=0.21

目 方 局							改 良 試 案						
No	検體	検體量	n/10 HCl	アルカロ イド%	方法	平均	No	検體	検體量	n/50 H ₂ SO ₄	アルカロ イド%	平均	
9	〃	10.695	0.069	0.04	B								
10	〃	10.040	0.211	0.12	〃	0.08							A-B=0.23 C-B=0.02
11	④	11.585	0.807	0.40	A		11	④	10.0495	4.21	0.24		
12	〃	9.9100	0.844	0.49	〃		12	〃	10.0924	4.89	0.28	0.26	A-C=0.19
13	〃	9.942	0.459	0.29	〃	0.39							
14	〃	10.067	0.371	0.22	B								
15	〃	10.5225	0.441	0.24	〃	0.23							A-B=0.16 C-B=0.03
16	⑤	10.00	0.291	0.17	A		13	⑤	9.9895	0.156	+ 0.009		
17	〃	10.00	0.272	0.16	〃		14	〃	10.037	-0.235	- 0.013		
18	〃	10.0016	0.272	0.16	〃	0.163	15	〃	10.0001	- 0.14	- 0.008	0.004	
19	〃	10.0014	0.130	0.08	B								
20	〃	10.0012	0.177	0.10	〃								
21	〃	10.0006	0.177	0.10	〃								
22	〃	10.0012	0.025	0.01	〃	0.0732							A-B=0.09

(d) 硫酸アトロピン純度測定



改良試案定量法に準じて操作した、即ち。

市販硫酸アトロピン 2g を精密に秤り水 100cc に溶解した溶液 10cc をアンモニア水で完全にアルカリ性となしたる後クロロホルム 30cc を數回に分けて振盪抽出し完全にアルカロイドを分離する。

合併したクロロホルム溶液を水浴上で蒸發乾涸し更に 15 分間加熱した後少量のクロロホルムに溶解し水浴上で蒸發乾涸の操作を反覆する。

得た蒸發残渣を少量のクロロホルムに溶かし n/50 硫酸 10cc を加へ蒸發してクロロホルムを除去し冷後過剰の酸を n/50 苛性ソーダで滴定する。

(指示薬メチルレッド)

第二表 市販硫 n/50 アトロピンの純度検定

No	検 體 量	n/50H ₂ SO ₄	硫 酸 アトロピン	アトロピン	硫酸アトロ ピン純度	アトロピン 純 度
1	0.03954	4.98	0.0346	0.0288	87.54	72.91
2	〃	4.97	0.0345	0.0287	87.20	72.70
3	〃	5.00	0.0347	0.0289	87.67	73.12
4	〃	4.99	0.0347	0.0289	87.69	73.12
○					87.52	72.96

n/50 硫酸 1cc = 0.006945g アトロピン

第二表 参照

検體市販硫酸アトロピンのアトロピン含量は 72.96% とした。

(e) 硫酸アトロピン添加の乾燥大根葉末中のアルカロイド含量定量成績。

実験要約で述べた様にアルカロイド不含の大根葉末に一定量の硫酸アトロピンを添加して改良試案に據る定量法及日局方定量法での誤差成績を算出した。

第三表及第四表参照

第三表 改良法に據る実験成績

No	検 體	検 體 量	存在すべきアルカロイド%	n/50 H ₂ SO ₄	アルカロイド%	%差
1	⑤ + ⑥	12.5229 (12.5 + 0.02274)	0.133	2.73	0.126	0.007
2	"	"	"	"	"	"
3	"	"	"	"	"	"
平均	"		0.133	2.73	0.126	0.007

第四表¹ 日局方に據る実験成績

No	検 體	検 體 量	存在すべきアルカロイド%	n/10 HCl	アルカロイド%	% 差	方法
1	⑤ + ⑥	10.150 (10.134 + 0.01604)	0.157	0.205	0.117	-0.0396	A
2	"	10.168 (10.152 + 0.01604)	"	0.247	0.141	-0.0157	"
3	"	"	"	0.205	0.117	-0.0399	"
平均			0.157	0.329	0.125	-0.0314	"

(f) 乾燥大根葉中未を用いて抽出時間の差によつて得たる日局方 A 法, B 法の定量成績

(第五表)

抽出時間 1 時 間					2 4 時 間				
No	検 體 量	n/10HCl	アルカロイド%	方法	No	検 體 量	n/10 HCl	アルカロイド%	方法
1	10.00	0.312	0.18	A	1	10.0365	0.816	0.48	A
2	10.00	0.293	0.17	"	2	10.00	0.851	0.49	"
3	10.0016	0.293	0.17	"	3	9.862	0.826	0.48	"
4	10.0014	0.130	0.08	B	4	9.973	0.577	0.33	B
5	10.0012	0.177	0.10	"	5	9.032	0.684	0.43	"
6	10.0006	0.177	0.10	"					
7	10.0012	0.03	0.014	"					
平均	A 法		0.173		A 法			0.48	
	B 法		0.074		B 法			0.38	
	A法=於ケル平均差		0.31						
	B法=於ケル平均差		0.31						

結 論 及 考 察

(1) 日局方では原法通り処理した A 法と充分水洗し残存アンモニアの除去を行った B 法との間に平均 0.2% (3 種 15 例) の誤差を認めた

(2) 改良試案と日局 A 法との間の平均誤差は 0.2%。(3 種 15 例)

(3) 改良試案と日局 B 法との誤差は 0.02% (3 種 15 例) であつて実験的に無視し得る。

(4) 同一検體についての実験例間の誤差は改良試案が最少。

(5) 乾燥大根葉中未を用いて基本誤差を定めた結果は改良試案では実験的に無視し得る (-0.004% 3 例) 日局 A 法では +0.16% (3 例) B 法では +0.07% (4 例) である。

尙抽出を 24 時間行つた場合日局 A 法に於ては +0.48% (3 例) 日局 B 法では +0.38 (2 例) といふ大きな誤差値を示した。

(6) 乾燥大根葉中未に一定量の硫酸アトロピンを添加したものについて定量を行つた実験値と理論値の間の誤差は改良試案については実験上無視し得る (-0.007% 3 例)。

終りに昭和女子薬学専門学校橋本房子氏に此の実験の準備をお手傳して頂いたことを感謝致します。(昭和 24 年 6 月)

數種 *Datura* 屬の葉 (特に表皮組織) について (抄録)

技 官 下 村 孟

Studies on the Structures of Some *Datura* species Leaves (chiefly on Epidermal Tissues)

Tutomu Shimomura

シロバナヤウシユテウセンアサガホ *Datura Stramonium* L., ヤウシユテウセンアサガホ *D. tatula* L., テウセンアサガホ *D. alba* Nees, ケテウセンアサガホ *D. Metel* L., アメリカテウセンアサガホ *D. meteloides* DC. 及びハリナシテウセンアサガホ *D. inermis* Jacq. の 6 種の葉の構造を研究した所、夫々の特徴は主としてその表皮組織にあることがわかつた且市場には粉末又は乾燥して全形を止めぬまでに破壊し宛も剉切薬となつたものが多いので、之等を鑑別するに役立つことも併せ考へ、主として表皮組織を研究の対照とした。その結果の要點を第一表に示すことにする。

尙材料としては當試験所植物部で栽培したものを用了。

表中の各項目に関して簡単に説明すると。

(1) 表面色に関しては色名の基準として科学的に充分根據あるものを採用するべく、工業標準用語調査会色分科会で決定を見た新色名を用い、且実際に測色をした結果を示した。この表中では色相を問題としてゐるので、略號をもつて夫々の属する色相を表はした。

実測の結果、葉體の表及び裏の表面色は 6 種とも Y, YG 及び G の色相を示し、特に乾燥生薬では 6 種間に特徴たり得る色相の差は見出し得なかつた。

葉柄の上面に於いては獨特の色相を有してゐることがわかつた。この色相は Anthocyan に基因する R から P に至る色相を示し、少くとも 1 年間は大した変化を示さない。葉柄下面の色相は Y と YG に入つてしまふ。

粉末を測色して見ると Y と YG の色相間に 6 種とも入つてしまひ特徴たり得ない。この測色は將來粉末の程度を一定にして分光測色を行い、その結果を検討したい。

(2) 形状の差は主として鋸齒及びその彎入部にあるので鋸齒を検討した。

鋸齒の形を先づ先端部の角度を測定し検討してみると夫々或程度の差を認める。個々のものについてはこの角度は略々一定してゐる。但し④及び⑥はきわめて鈍い鋸齒である。

鋸齒の數はこゝでは平均値を示してある。この場合の鋸齒は第一級枝脈の達する鋸齒のみをかぞえた。

彎入部の深さとは兩鋸齒を結ぶ直線から彎入部の底に至るまでの距離である。

小鋸齒とは第二級枝脈の達する鋸齒を云ひ、こゝに示す數は二つの鋸齒の間に存在する小鋸齒の數である。

(3) 葉體、主脈及び枝脈上の毛茸の種類と數も檢鏡したが、こゝではその主なもののみを示した。こゝに云ふ

α 型とは表面やゝ顆粒状を呈する多細胞性の毛茸、 α' 型とは表面顆粒状 2 細胞性で先端の細胞が細くどがつた毛茸、 β 型とは頭状部 4 個細胞、柄細胞 2~3 個の腺毛、 γ 型とは多細胞性で先端部が略球状を呈する腺毛を指し、表中の數字は數を示してゐる。顯微鏡 Olympus 10×15 の視野は約 0.8mm² に相當するので、この面積内の數を測定して示した。

表及び裏について檢鏡すると、毛茸は④及び⑥が多く⑥は少數である。④には α 型はなく、 γ 型がある。⑥のみ α' 型が出て来る。 α 、 β 型は④を除いて全部にあるが、⑥の裏には α 型が認められない。㉔、㉕ 及び ㉖ とは 2 視野、3 視野及び 4 視野に 1 本の意である。一般に裏は表より毛茸の數が多い。

主脈及び枝脈の毛茸の種類は夫々の葉體におけると同一である。こゝに示す數は 1 mm 内の毛茸の數を云ふのであり、枝脈上の毛茸の數は主脈のそれと略々同數である。④及び⑥においては數へるに困難な程多數であるからのをもつて示した。

(4) 氣孔の數は毛茸と同様 0.8mm² 内の數を測定した。表は一般に裏より少數である。その數は平均値であり、葉體各部分において大體一定して居り大した異動は認められない。

(5) 表皮細胞を表面視した場合、その側膜は波状に屈曲してゐる。所謂 zig-zag をなしてゐるので、こゝでは 3 回以上 zig-zag をなしてゐるものを取上げた。3 回、4 回乃至 5 回及び全然 zig-zag しないものがあつた。zig-zag の強いものと弱いものとあり、特に弱いものは括弧内にそれを示してある。

この 1 側膜の zig-zag の回數を表裏について檢鏡すると、表は裏よりその程度は弱い。

⑥ においては表には全然認められない。

次に 1 表皮細胞の側膜中、この zig-zag をする側膜の數を測つて見ると、少いものは 1 辺だけ、多いものは 5 辺が zig-zag して居る。

結 論

以上の結果をまとめて見ると、破碎した葉又は剝切したものについてもその原植物を追究し得ることがわかつたので、簡明にする爲第 2 表を示して要點のみを掲げる。尙裏の場合は補足の意味で附記したものである。概略を記すと、

⑥及び④は毛茸の種類で容易に區別される。

①、②、③及び⑥は極めて近似であるが、表をたどれば區別出来る。

①、②においては zig-zag の回數及び 1 細胞内でのその側膜の數で大體區別される。葉

柄の破片があれば上面の色相の差から区別はより正確となる。

③, ⑥においては毛茸の數, 葉柄上面の色相及び鋸齒先端が存在すればその先端角度 110° と 50° の差を検討することにより区別は正確となる。

本研究に際して材料を提供された當試験所の植物部の諸氏並びに終始御鞭達を頂いた生薬試験部長山口一孝博士に深謝します。(昭和 24 年 6 月)

第 一 表

		①	②	③	④	⑤	⑥	
		<i>D. Stramonium</i>	<i>D. Tatula</i>	<i>D. alba</i>	<i>D. metal</i>	<i>D. meteloides</i>	<i>D. inermis</i>	
表面色	葉體表・裏	Y, YG, G						
	葉柄 { 上面 下面	YG	R~RP	YR	P~RP	P~RP	P~RP	
	粉末	Y	YR	Y	Y	Y	YR	
鋸齒(平均)	形 (先端部角度)	45°	55~70°	110°	(130°)	(110°)	50°	
	數	7	6	4	0	5	6	
	入部深サ	12mm	12	8	0	.4	18	
	小鋸齒數	0~1	1~2	0	0	0	4	
毛茸の種類及び數	葉體 0.8 mm ² 内	表	3~4	3~4	2~3	10~20	10~15	1/2~1
		α 型	1~3	1~3	1~1/2		1/2~1	1/3~1/2
		α' 型					8~5	
		β 型	1~2	1~2	2~3	2~3	1/2~1	1/3~1/2
		γ 型				7~15		
		裏	3~4	2~4	1	20~35	100~130	2~3
		α 型	1/2~1	1/2~1	1/2~1			1/2~1
		α' 型					100~130	
		β 型	2~3	2~4	1/2~1	2~5	1/2~1	2~3
		γ 型				18~30		
(平均)の氣孔數	主 1mm 脈内	表	10~15	10~15	30	∞	∞	30~40
		裏	2~6	2~6	5~10	∞	∞	5~8
表面視回数	zig-zagの回数	表	35	35	45	65	65	40
		裏	75	85	60	80	80	65
		表	3	3~5	3 (弱)	3 (弱)	0	3~4
		裏	3	3~5	3~(4)	3	3~5	3~5
		一表皮細胞内の zig-zag 膜の數	表	1~3	2~4	1~(2)	1~(2)	0
	裏	1~3	2~4	1~3	2~(3)	2~3	2~5	

第二表

破碎 } 資料
剝切 }

毛茸の種類

α'型 (5)
β型 (4)

気孔の数

[表] 45以下

[裏] 60以上

毛茸の数

気孔の数

葉体3~4
主脈10~15

2~3
30

1/2~1
30~40

85

75以下

zig-zagの回数及び表皮細胞内のzig-zagの側膜の数

3
1~3

3~5
2~4

3(5)
1~(3)

3~4
2~3

3~5
2~4

3
1~3

3~5
2~5

葉柄上面の色相

毛茸の数

YG

R~RP

YR

P~RP

(1)

(3)

(1)

(2)

(3)

(6)

(2)

(1)

(3)

(6)

(1)

(2)

(3)

(6)

m-Nitroanilin 系甘味物質の新検出法に就いて¹⁾

技官 長 沢 佳 熊

助手 古 屋 照 江

Detection of Artificial Sweet Matters Having a *m*-Nitraniline
Structure in Foods.

by Kakuma Nagasawa, Terue Furuya

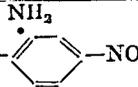
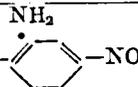
砂糖の代用品である甘味物質として、終戦後種々の合成物質を使用する傾向が生じた。Saccharin と Dulcin とは昭和 21 年 5 月と 8 月厚生省令によつて一般の使用を許されたがいずれも日本薬局方適格品を用い、販売時にはそのことを明記せねばならないことは衆知の通りである。²⁾

昭和 21 年頃爆弾糖或は原子爆弾糖と稱して市場に現われた強い甘味物質があつた。これは染料会社から流れた染料中間産物である *p*-Nitro-*o*-aminotoluol であることが明らかとなつたが、この物質は烈しい肝臓毒であるとのことで新聞紙上を賑わし甘黨に恐怖を与えるという事件が起つた。次いで昭和 21 年 U.P. 特電としてオランダにおける新甘味剤の発見という報道が新聞紙上に載り、更にこれは昭和 21 年より 22 年にわたつて、米國でも各種通俗科学雑誌や大衆雑誌に記載され、我國でも週刊紙への轉載、更に日本曹達会社や理化学研究所（現在の科学研究所）においてこの化合物が合成されたとの新聞記事、各所における合成の話が世間の話題となつた。米國の科学雑誌 Scientific American. 1947. April. 160 頁にも次の如き記事がある。

「オランダの Pieter Eduard Verkadt 教授が蔗糖より 4000 倍も甘い合成物として 1-n-Propoxy-2-amino-4-nitrobenzol の存在を紹介し、この化合物はオランダでは既に工業化され同國及び歐洲で甘味料として使用され、既に特許となり、米國に於ても特許が適用されるであろう。本物質は橙色結晶、蔗糖の 1200~2000 倍の甘味を有し、第二次的或は後味に残る甘味のない純粹な甘さ purely sweet taste with no secondary or after taste を有し熱湯、稀酸に安定、水に対する溶解度 136mg/l, 20°C, その飽和溶液は 50% 蔗糖溶液に相當する甘味がある」と。即ち Verkadt³⁾によると n-propoxy 化合物が甘味が最強でその飽和液 (136 mg/l) は 50% 蔗糖溶液と等しいという。

この化合物は既に 1940 年 J.J. Blanksma, P.W.M. van der Weyden⁴⁾ が報告したものでそれが事新しく米國で話題となつたのは米國における特許のことで先頭一般に知れたためであろうと推測される。この新しい甘味剤も前記の爆弾糖もいずれも *m*-Nitroanilin 系化合物であり、次に構造式、甘味の強さなどを表示して見る。

第 1 表

化合物の構造		融 點	甘 味 力*
(I) 			爆弾糖 (通稱)
(II) 	R = H		(330)
(III) "	R = CH ₃	117° 橙色	(1400)
(III) "	R = C ₂ H ₅	96° 淡黄色	(3300)
(V) "	R = n-C ₃ H ₇	32° 無色	
(VI) "	R = iso-C ₃ H ₇	64° 無色	

これ等はいずれも *m*-Nitroanilin の誘導体であるから、之に共通な特殊な検出法を必要とする。爆弾糖については既に東大秋谷教授等は β -Naphthol による Diazo 反応を以て死体中の本物質の検出法とした。その他松材反応も検出法として使用されることを著者は知り得たが然しこれ等は Amin の反応であり、Sulfonamid や Dulcin 其他生体内アミンの或種によつてもまた同様な呈色を行うので死體或は飲食物中の反応としてはある場合には非常に紛れ易い。

Nitro 化合物は生體中の常成分としては殆ど含まれないから著者は Nitro 基の反応によるのが最適であるとの見解の下に、種々な反応を探究したのであるが、その中で試薬が比較的入手し易く、操作も容易である次の方法を推奨する。即ち檢體の水溶液を亞鉛末で熱時に中性還元して後弱酸性として、赤色の色素を生ずることを目標とする。汁粉、ゼリー、ビスケット、シロップ、紅茶より、又は色素が夾雜しているシロップの檢體からでも檢出が可能である(実験の部参照)。この呈色反応がある 1 群の Nitro 基の反応に基ずくことは別の報告⁵⁾に示す他の化合物(例えば *m*-Dinitrobenzol, 2,4-Dinitrophenol, 2,4-Dinitrochlorbenzol 等の *m*-Dinitro 化合物)が陽性であることによつて明らかである。勿論 Dulcin, Saccharin, Sulfonamid はこの反応は陰性である。

實 験 の 部

一般方法

檢體の少量を試験管にとり(例えば檢體 2000 倍水溶液とすれば約 3cc)之に亞鉛末を耳かき

* () 内の数字は蔗糖を 1 とした場合の甘味力を示す。

表以外の物質の甘味力を参考までに次に示す。

Saccharin (200~700), Dulcin (70~250), *m*-Nitroanilin (40),

4-Nitroaminophenol (200).

1 ばいを加え、水浴上で約 30 秒加温し、冷後上澄液に 10% 硫酸少量を加えて微酸性とすると（直ちに呈色しないときは弱く加温する）次の如く呈色する。此の色調は 24 時間以上安定である。

4-Nitro-2-aminophenetol……櫻実紅色

4-Nitro-2-aminotoluol ………同上（但し色調が稍弱い）

例 1 ^{註1)} 汁粉約 20g に 10% NaOH 10cc を加えてアルカリ性とし、その約半をとりエーテル約 100cc を加えて攪拌抽出し、蒸溜によりエーテルを飛ばし残渣を少量に溶かし前記の試験を行うと桃色を呈する。

例 2 ^{註2)} ゼリー 2g を乳鉢でよくすり潰し、エーテル 10cc を加えて混合し抽出するとエーテルは淡黄色となる。エーテルの一部を試験管にとり水約 1cc を加えて二層とし之に Zn 末少量を加えて水浴中で約 30 秒加温し、エーテルを揮散させ上澄液を他の試験管にとり、10% H₂SO₄ 2~3 滴を加え、しばらく加温すると桃色を呈する。

例 3 ^{註3)} ビスケット 1g を乳鉢で粉末にし、エーテル 10cc を加えてよく振りまぜエーテルの一部を試験管にとり、Zn 末と水 1cc とを加え水浴中で約 30 秒加温し、エーテルを揮散させ上澄液を他の試験管に移し、之に 10% H₂SO₄ を 2~3 滴加え、水浴でしばらく加温すると桃色を呈する。

例 4 ^{註4)} シロップ 2cc を試験管に採り、Zn 末少量を加え、水浴上で約 30 秒加温し、上澄液を採り、之に 10% H₂SO₄ 2~3 滴を加え、しばらく加温すると桃色を呈する。又シロップ 2cc にエーテル約 5cc を加え、よく振りまぜ、淡黄色を呈したエーテル層を他の試験管に移し、水 1cc と Zn 末少量を加えて水浴上で加温しエーテルを揮散させ、上澄液に 10% H₂SO₄ 2~3 滴を加えると桃色を呈する。

例 5 ^{註5)} 紅茶 20cc を試験管に採りエーテル 10cc で抽出するとエーテルは淡黄色を呈する。エーテルの一部を採り Zn 末と水 1cc を加えて加温しエーテルを揮散させ上澄液に 10% H₂SO₄ 2~3 滴を加えると微紅色を呈する。

註1) この汁粉は小豆 20g を水と 4-Nitro-2-amino-phenetol の 1500 倍の弱 HCl 溶液 20cc を加えて軟かく煮たものである。

註2) このゼリーは粉末寒天 5g、シロップ ^{註4)} (2000倍水溶液) 25cc、水 10cc を混合し煮て之を冷して作った黄色のゼリーである。

註3) このビスケットは小麦粉 15g シロップ ^{註4)} (2000倍水溶液) 10cc をよく混ぜ薄くのぼして擻上げたものである。

註4) このシロップは 4-Nitro-2-amino-phenetol 0.5g に水 1000cc を加え稀 HCl で微弱酸性とし煮沸して作ったものである。

註5) この紅茶は紅茶 150cc に 4-Nitro-2-amino-phenetol の 2000 倍水溶液 50cc を加えたもので弱い甘味を感じる程度のものである。

417

例 6 色素が検体に夾雑している場合、この反応は食用色素によつてどんな程度に妨害されるかを実験したのが第 2~3 表である。検体としては着色シロツプを使つた。A 欄は色素名で主に通常使用される食用色素を例にとつた。但しそれらの内で * 印の最後の 2 物質は不許可のものである。従つて実際の検査上には * 印を含む色素であることが証明されたときには、そのことだけで既に食品としては不適となる。B 欄は蒸留水に溶かしたときの色で、溶解の割合は一定させてはいないが、なるべく稀薄に、丁度シロツプとして実用に供せられる程度の色を持つような濃度とした。C 欄は酸性、D 欄はアルカリ性溶液の色で、B, C, D をエーテルで抽出したときのエーテルの色を B', C', D' 欄で示した。結局 E 欄に示すように (1) ~ (9) の酸性色素である食用色素に対しては、アルカリ性水溶液としてエーテルで振りまぜ、この抽出液について呈色反応を行えばよく、(11) のマラヒットグリユンの場合は pH 3 で、ビスマルクブラウンの場合は強酸性の水溶液としてエーテル抽出を行えばよい。

実験操作

4-Nitro-2-amino-phenetol の 1500 倍の弱塩酸溶液をタルトラジンで市販のシロツプと同じ程度に着色した水溶液 20cc をとり、これを 10% 水酸化ナトリウム液で pH 約 9 とし、エーテル 10cc で抽出し、以下例 5 と同様に操作すると、紅色に呈色する。

第 2 表

	A 色素名称	B 水溶液の色	エーテルで抽出したときの色	C 酸性溶液の色**	C' エーテルで抽出したときの色
(1)	タルトラジン	黄色	着色せず	黄色	着色せず
(2)	フロキシソ P	緋色、緑蛍光	"	緋色 蛍光なし、稍難溶、混濁、沈澱せず	緋色 殆んど移行す
(3)	エオジン A	橙色、緑蛍光	"	橙色混濁、蛍光なし	着色せず
(4)	アマラント	赤色	"	赤色 混	"
(5)	アウラミン	レモン色	"	レモン色	"
(6)	ヨードエオジン (エリトロジン)	ばら色(稍難溶)	淡黄色	不溶	エーテルを加えると全部移行桃色
(7)	ノイコクシン	橙赤色	着色せず	紅色	着色せず
(8)	インジゴカルミン	藍色	"	青緑色	"
(9)	ナフトールゲルブ S	黄色	"	黄色	"
(10)	リヒトグリユーン SF 黄	青緑色	"	青緑色	"
(11)	マラヒットグリユーン*	紺色	"	紺色	"
(12)	ビスマルクブラウン*	褐色(稍難溶)	黄色	赤茶色	黄色 約 pH=1 にすると移行せず

** 酸性溶液とは pH=3 の 鹽酸溶液に色素を溶かしたもの

第 3 表

	A. 色素名稱	D. アルカリ性溶液の色**	D' エーテルで抽出した時の色	E
(1)	タルトラジン	レモン黄色	着色せず	アルカリ性 pH 約 9 でエーテル抽出
(2)	フロキシソ P	橙赤色, 緑蛍光	〃	
(3)	エオジン A	橙黄色, 緑蛍光	〃	
(4)	アマラント	深紅色	〃	
(5)	アウラミン	難 溶	〃	
(6)	ヨードエオジン (エリトロジン)	緋色 (易溶)	〃	
(7)	ノイコクシン	橙 色	〃	
(8)	インジゴカルミン	青 色	〃	
(9)	ナフトールゲルブ S	黄 色	〃	
(10)	リヒトグリユーンSF黄	青 色	〃	
(11)	マラヒットグリユーン*	混濁, 青色(一部難溶)	僅かに着色	酸性pH約3でエーテル抽出
(12)	ビスマルクブラウン*	黄褐色(稍難溶)	褐 色	強酸性でエーテル抽出

m-Nitroanilin 系甘味物質の検査法 (日本衛生化学會に標準衛生試験法の一として提出した案)

前 處 理 法

(イ) 固体の検體 (例えばビスケットなど) は 110° で 3 時間乾かした後, その 1g を乳鉢で粉末とし, エーテル 10cc を加え, よく振りませ, エーテル層 5cc をとり検體とする。

(ロ) 粘稠な液体の検體 (例えば濃厚な汁粉など) はその 20g をとり, これにエーテル 100 cc を加えて攪拌し, エーテル層を採取し, エーテルを約 10cc にまで濃縮し検體とする。

(ハ) ゼリー又はゼリー状物質はその 2g を乳鉢でよくすり潰し, エーテル 10cc を加えて混合し抽出する。このエーテル層約 5cc をとり検體とする。

(ニ) 液状の検體 (例えばシロップ, 紅茶など) はその 20 cc を小分液漏斗にとり, エーテル 10cc を加えて抽出し, エーテル層を採りこれを検體とする。

試 験 法

前処理法で得た検體のエーテル液 5~10cc を必要あらば濾過し, 無色か淡黄色の場合はそのまま次の操作に移るが検體中に色素を含むため着色している場合には, 次の甲, 乙のいずれかの方法を用いるか, あるいは併用することにより色素の大部分を除いてから, 次の操作に移る。

(甲) このエーテル液を pH 約 9 の水酸化ナトリウム溶液 5cc で 2 回抽出し, 水層は

** アルカリ性溶液とは pH=9 の水酸化ナトリウム溶液に色素を溶かしたもの

更にエーテル 3cc で 1 回抽出し、エーテル層を合わせる（酸性色素の場合）。

（乙）このエーテル液を n/10 塩酸 5cc で 2 回抽出し、水層は更にエーテル 3cc で 2 回抽出し、エーテル層を合わせる（塩基性色素含有の場合）。

かくして得られたエーテル層には、水 2~3cc を加え、之に亜鉛末を耳かき一杯加えて、煮沸水浴上で約 30 秒間加温し（エーテル層は全部蒸発する）冷後上澄液をとり、之に 10% 硫酸を 2 滴加えて弱酸性とする場合、桃色を呈するときには 4-Nitro-2-amino-phenetol 又は 4-Nitro-2-amino-toluol の存在を徴する。

結 論

有毒な合成甘味化合物である *p*-Nitro-*o*-aminotoluol, *p*-Nitro-*o*-aminophenetol の一新検出法を考案し、これを食用品より検出する方法を記述した。

この新検出法はこれらの化合物の水溶液を亜鉛末を用い中性で熱時に還元したときに生ずる呈色反応に基ずくものであつて、ある 1 群のニトロ化合物において認められるものである。

（昭和 24 年 1 月 31 日）

文 献

- 1) この研究の概略は昭和 22 年厚生省公衆保健局発行連絡報に述べた。
- 2) その後食品衛生法によつて規定された。
- 3) P.E. Verkadt : Food. Manuf. 1946, 21, 453~5 ; Chem. Abstr. 1947. 41, 1772,
- 4) J.J. Blanksma, P. W.M. van der Weyden : Recueil des travaux chimique des Pay-Bas, 1940, 5, 629~32 ; Chem Abstr. 1941, 35, 4744
- 5) 「分析と試薬」 通巻第11号に近く報告の豫定。

醬油防黴劑ロダン醋酸エチルエステルの衛生上 に及ぼす障害程度の研究

技官 池田 良雄 技官 横井 泰生

Studies on the Influence of Ethyl Rhodanacetate,
a Preservative of Soy, to the Sanitation.

Yoshio Ikeda, Yasuo Yokoi

目 次

1	緒 論
2	実 験 計 画
3	実 験 方 法
4	実 験 成 績 (附) 第一表, 第二表, 第三表, グラフ 1, 2, 3,
5	考 察
6	附 記
7	結 論 文 獻

醬油防黴劑としてロダン醋酸エチルエステルを使用する事の衛生上の害否に關しては、先に大橋博士及び君塚學士に依り研究が行われて居る。¹⁾(東京大学医学部薬理学教室小林教授指導) その動物実験に依れば經口投与の場合と雖も中毒作用の發現は迅速にして且つ激烈であつて而も致死量は相當に微量であり、慢性中毒作用は次の様になる。ラツテに三ヶ月に亘つてロダン醋酸エチルエステルを經口的に与えた所、體重當りに換算して大人の醬油防黴劑としての推定攝取量の 50 倍以下の量では慢性中毒作用を認めない。併し 500 倍では稍著名に體重増加が抑制せられるけれども一般症状には著変を認めない。尙お本実験に使用せられたラツテの一部について太刀川善彌氏は病理組織学的所見を發表された。²⁾(東京大学立地研究所三宅教授指導) 醬油防黴劑としての推定攝取量の 500 倍の場合は病理組織学的に強い変化が見られ(3例) 5 倍の時は変化が弱く(1例)、2.5倍では変化がない(1例)、それ以下の量でも同様である(2例)

以上の実験でロダン醋酸エチルエステルの急性中毒作用及び慢性中毒作用を知る事が出来るのであるが、偶々當試験所に醬油防黴劑としてロダン醋酸エチルエステルを用いる事の衛生上の障害程度を照会されて來たので防黴劑としての適否をより正確に判断するには、今日迄に実用化されている他の防黴劑とその慢性中毒の程度を比較するのが妥當であると考えて著者等は本実験を企てた。被檢物質に対して此れと詳細に比較するために次の 3 種の物質を選んだ。

第一にパラオキシ安息香酸ブチルエステルである。一般にパラオキシ安息香酸エステルは現在醬油防微劑として最も広く使われているのであるが、本邦では未だ嘗て醬油防微劑としての適否を知る目的を以て慢性中毒作用の研究はなされなかつた。第二に芥子の有力な成分であつて現在は使用して差支えないとせられている所、アリール芥子油（昭和4年11月14日衛發第372號 内務省衛生局長より各府府縣長官宛通牒）第三は現今使用禁止になつてゐるペータナフトールである。これは既に研究せられその結果使用不適と認められたものであるが、更に他の化合物と同一條件下に実験を重ねて比較検討し、ロダン醋酸エチルエステルの適否を判断する参考に資する事とした。

實 驗 計 畫

實際に知りたいのは人間の身體に及ぼす各種防微劑の障害程度の觀察であるが、なるべく多數の動物実験をやるためにラツテを用いる事とした。而して慢性中毒發現程度の測定目標としてラツテの成長抑制の具合を見る事、即ち體重測定法（body-weight method）を使用した事は大橋・君塚兩氏の場合と同様である。その外に死亡率（直接には肺炎その他で死ぬのが大部分であるが、それにしても一般の抵抗力減退の目標となろう）、並びに病理組織学的変化を以て慢性中毒程度を判断する材料とした。

実験動物としてのラツテは雑食性である事が人間と良く似てゐる事、又現在の栄養學が主として研究の基礎をラツテに置いてゐる事から考へて、慢性中毒実験に於て植物性機能（Vegetative Funktion）に及ぼす影響を論ずる限り他の動物を使用する場合に比し実験値は必ずしも劣るものではないが、動物性機能殊に神経系統や感覺器官に対する影響を知ろうとする限り実験値は相當に低いものと考えねばならない。

実験期間は諸種の都合上13~15週とした。此の期間は醬油の如き常用食品に添加する物質の慢性中毒作用を見るには一見極めて短期間の様に考えられる。然し Donaldson は人間とラツテの成長の有様や寿命や生涯の諸段階を比較してラツテは人間の $\frac{1}{30}$ とすると時間的に極めて良く一致するとしてゐる。果して然らば今回の実験期間も人間にすれば僅に7~8年に當る事になる。然し乍ら醬油防微劑の如きはともすれば一生涯、或いは更に數代に亘つて使用せられる可能性なしとしない。

前記の4種の物質の醬油防微劑としての人間の身體に与える長期に亘る障害の順位は如何であらうか。單なる物質としてではなく、防微效力を有する物質として、醬油防微に対して効果のある位の分量を醬油と共に日本人は常用して居る。今暫く實際の醬油使用量は別として、若し中に含まれる防微劑に依つて醬油使用量が変更する事がないとすれば（之は殆んど問題のない所であるが）結局人體に攝取せられる醬油防微劑の量は、そのものが防微力が大であればあ

る程少くて済む。而も反比例の関係が成立し、甲に対し 2 倍の防微力を持つ乙なる防微剤は実際醤油に対して半分しか添加せられないであろう。そこで防微剤としての慢性中毒作用を見ようとするれば、甲と乙を比較するに當つて同量を比較する事は無意味であり、甲に対して乙は半量を取つて比較すべき事となる。

當所彙報に依つて 4 種の物質の防微標準を求めると大體次の様になる。

パラオキシ安息香酸ブチルエステル	1 萬分の 1
アリール芥子油	1 萬分の 1
ベータナフトール	2 萬分の 1
ロダン醋酸エチルエステル	5 萬分の 1

(ロダン醋酸エチルエステルに関しては大橋君塚兩氏の用いた數字に従つた)

さて上記四種類の薬物の醤油に対する防微力さえ分れば、否之は其の時々に依つて(醤油の種類や微の種類で) 変わるであろうから、その大體の見當とそれに防微力さえ判明すれば各種防微剤の慢性中毒作用程度を比較するための実験は可能となるわけである。併し実験に多少の具體性を持たせるためと、又一方當試験所に於て故伊東技師以來踏襲せられた慣例に従つて、

日本人大人一日醤油消費量は 50cc としよう。⁴⁾ 大橋・君塚兩氏の研究もそうしてある。勿論比較実験であるから此の様に醤油消費量を規定しなくても本実験は成立する。嘗て全國醤油醸造組合長茂木敬三郎氏は大人 1 人 1 日の平均醤油消費量を 50cc とした。そこで 50cc の中に含まれるべき防微剤の量を計算し、之を體重當りに換算して動物にその體重に依つて与えるのである。50kg の人が 50cc の醤油を毎日攝取するとすれば體重 1kg につき 1cc となる。その中に含まれるべき防微剤の量を上記の防微標準に従つて計算すれば、丁度防微効果を發揮するだけ防微剤が含まれてゐる時は

ロダン醋酸エチルエステル	0.02mg
パラオキシ安息香酸ブチルエステル	0.10mg
ベータナフトール	0.05mg
アリール芥子油	0.10mg

となる。pro kg これだけの量の薬劑を夫々毎日ラツテに體重比で計算して内服させれば、人間が醤油と共に攝取する薬劑をラツテは薬劑のみを體重に比して同量の割合に攝取する事となる。

本実験は此の常用量に相當するよりも多量に与えた。(1)即ち 4 種薬劑の夫々の上記常用量の 2.5 倍(2)更に此の 200 倍に當る所の常用量の 500 倍の薬劑が動物體に与える障害程度を夫々比較して見る事とした。而してかゝる大量は水溶液としては溶解度の關係上与える事は不可能な薬劑が多いので、溶媒としては何れの場合も pro kg 5cc の大豆油を用いた。

實 験 方 法

被験物質は體重 100g 當り 0.5cc の大豆油を溶媒として経口ゾンデを以て内服せしめる。而して

(1) 比較的少量ずつの場合 (常用量の 2.5 倍)

(2) 比較的大量ずつの場合 (常用量の 500 倍)

とに分けて行い、(1) の場合は大豆油のみを興えるものを対照として附加した。(1) の実験を《実験 1》、(2) の実験を《実験 2》と呼ぶ事とする。

《実験 1》の爲めには四種防黴劑を大豆油に次の様に加えたものを作つた。(e) は対照とする。

- | | | | |
|----------------------|------|-----|-----|
| (a) パラオキシ安息香酸ブチルエステル | 50mg | 大豆油 | 1 l |
| (b) ロダン醋酸エチルエステル | 10mg | 大豆油 | 1 l |
| (c) ベータナフトール | 25mg | 大豆油 | 1 l |
| (d) アリール芥子油 | 50mg | 大豆油 | 1 l |
| (e) 添加薬劑 | 0 | 大豆油 | 1 l |

《実験 2》のためには四種防黴劑を大豆油に次の様に加えたものを作つた。

- | | | | |
|----------------------|-----|-----|-----|
| (f) パラオキシ安息香酸ブチルエステル | 10g | 大豆油 | 1 l |
| (g) ロダン醋酸エチルエステル | 2g | 大豆油 | 1 l |
| (h) ベータナフトール | 5g | 大豆油 | 1 l |
| (i) アリール芥子油 | 10g | 大豆油 | 1 l |

上述の如く準備した大豆油を内服せしめる爲、體重や發育の具合の揃つたラツテを數匹ずつ當てた。然し準備の都合上全く揃つたラツテで全部整える事は出来なかつた。そこでラツテは二團に分ち (a) - (e) と (f) - (i) とは系統の違ふものを使つた。2 團は購入の時も違ひ実験開始の昭和 22 年 8 月 14 日には前半は何れの群も、平均體重 85~90g であるに對し、後半は何れの群も平均體重 105~110g である。1 匹ずつの體重の詳細は第一表、第二表の 0 週の所が実験開始時の體重であるから之を参照ありたい。個々の體重も比較的揃つた積りであり、その中でも後半のもの即ち《実験 2》に於てよく揃つてゐる筈である。而してこちらの方が前半即ち《実験 1》に用いたものよりも健康状態は良かつたと考えられる。因みに《実験 1》に使用したラツテは 7 月 24 日購入した 50g 前後のもの 60 疋を 1 疋ずつ分離して飼育し、週に 2 回體重を測定し健康にして成長具合の割に等しいもの 41 疋を選択し 8 月 14 日各群に分配した。《実験 2》に使用したラツテは 7 月 16 日購入した矢張り體重 50g 前後のもの 50 疋の中から 8 月 14 日同様の注意の下で 36 疋を選択して各群に分配したので

ある。

かく準備した上で (a) から (i)迄の薬剤添加の大豆油を夫々に配属せられたラツテに pro 100g 0.5cc の割合で経ロゾンデにて與えた。ラツテは日々成長して体重増加するため週に2回(火曜及び土曜日)体重を測定して投與の大豆油の量を体重に応じて増加せしめる事とした。実際の体重増加は第一表及び第二表に示す通りである。但し之には一週間毎の体重の変化だけを記載した。使用した経ロゾンデは筒の部分は 2cc ツベルクリン注射筒で実験目的には適う程度の精密の物を用いた。尙お飼育は一疋ずつ別々の箱でした。

実験開始後病理組織学的変化追究の目的で時々各群揃つて計画的に殺してある。尙お(実験2)に於ては投薬中止に依る影響を見るため、第13週で経ロ投與を中止した。又実験期間中散發的に肺炎その他で死亡したのも一々第一表及び第二表に記載した。又死亡見込と記載のあるのは病変を確認するため等に屍体保存の目的で殺した上で解剖したのであるが、放置すれば當然死亡すると考えられるものである。

実験成績

〔I〕体重増加に対する影響

(実験1)も(実験2)も、その体重増加の具合は詳細に第一表及び第二表に記載し、実験開始時8月14日を基準としてそれ以後の時間の経過(週)に伴う体重増加(瓦)の關係は「グラフ1」及び「グラフ2」に夫々描いた。

各種防黴劑を夫々少量ずつで比較する場合、即ち常用量の2.5倍で比較をする所の「グラフ1」ではアリアル芥子油は最初の6~7週間は成績がよい様に見えるが、それ以後は対照も含めて皆その曲線は入り亂れて来る。

各種防黴劑を比較的何れも大量に与えて比較する場合即ち常用量の500倍で比較するのは「グラフ2」であり、之では前の場合に反し、極く初期に只一度交叉するのを除けば何れも皆4本の成長曲線はハツキリと平行的關係を示してゐる。即ちその順位關係は時間に依つて大体変らない。尙お統計学的取扱いで推計学上の Student's test を行うに、実験開始後の各個のラツテの体重増加を第二表から計算してその數字について見る時は、

1° 4週間後の有意義な差は

(1) パラオキシ安息香酸ブチルエステルとアリアル芥子油の間に存し、その危険率は5%である。

(2) ロダン醋酸エチルエステルとアリアル芥子油との間に存し、その危険率は1%である。

2° 7週間後の有意義な差は

第一表 ラツテ体重表。(実験一)

パラオキシ安息香酸ブチルエステル 毎日経口 投与 Pro kg 0.25mg

経過時間 ラツテ番號	0 週	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週	6 週	
I	89	87	95	108	124	122	113	
II	75	76	87	93	108	124	123	
III	92	98	108	125	137	115.5	122	
IV	89.5	89	95	101	119	145	149	
V	93	96	101	107	124.5	125.5	131	
7 週	8 週	9 週	10 週	11 週	12 週	13 週	14 週	15 週
127.5	127 →	解剖						
141.5	150.5	165	170	177	201	212 →	解剖	
129	131	140	150	154	153	150	142	161
162.5	166.5	178.5	184	188	196	194 →	解剖	
136	149.5	165	167	171	173	175	168	174

ロダン醋酸エチルエステル 毎日 経口投与 pro kg 0.05mg

経過時間 ラツテ番號	0 週	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週	6 週	
I	100	102	110	115	134	逃亡		
II	87	82	90	106	124.5	127.5	129	
III	95	97	106	115	127	134.5	135	
IV	98	100	108	123	137	131	129	
V	99	102	105	120	135	143	143	
VI	104.5	100	110	124	136.5	140	138	
VII	92	91	103	116.5	138	137	138	
VIII	91.5	94	99	113	120	118.5	118	
7 週	8 週	9 週	10 週	11 週	12 週	13 週	14 週	15 週
139	139.5	144.5	151	159	161	157	145	160
146	147	148	150	147	157	160	157	169
145.5	157	177	197	204	210	216 →	解剖	
151	148	148.5	151	148	150	147	141	151
147	150	159	159	168	166	165	173	183
159.5	170	179.5	180	171	170	172.5 →	解剖	
131	125 →	解剖						

ベータナフトール 毎日経口投與 Pro kg 0.125mg

経過時間 ラツテ番號	0 週	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週	6 週	
I	82	81	83	95	109	108.5	106	
II	92	99	103	110	122.5	120	114.5	
III	91.5	90	100	117.5	129	133	132.5	
IV	73	78	86	94	108	110.5	死亡	
V	85	86	90	98	114	118	119.5	
VI	99	100	110	122	132	131	136	
VII	84	92	102	114	127	130	133.5	
VIII	94	104	111	122	139	148	147	
7 週	8 週	9 週	10 週	11 週	12 週	13 週	14 週	15 週
114	117	126	125	133	134	131	123	135
131	144	149	151	153.5	156	152	156	163.5
150.5	160 →	解剖						
125	128.5	133	137	135	133	127	111	死亡
138	146	153	142	死亡				
158	167	178.5	188	190	181	186 →	解剖	
158	162	169.5	173	170	171	186 →	解剖	

アリール芥子油 毎日経口投與 Pro kg 0.25mg

経過時間 ラツテ番號	0 週	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週	6 週	
I	84	84	96	104	120	125	128	
II	86	88	105	118	138	140	143	
III	90	93	105	117	131	136	145	
IV	87.5	89	99	127	149	151	159	
V	85	89	100	108	119	123.5	128	
VI	100	103	109	130	144.5	144	144	
VII	94.5	90	101	114	125.5	132	133.5	
VIII	95	97	105	126	146	141	145.5	
IX	94	92	104	117	122	130	125.5	
X	90	91	99	111	122	132	135	
7 週	8 週	9 週	10 週	11 週	12 週	13 週	14 週	15 週
138	143	159.5	163.5	170	169	164	154	163.5
152	161.5	182.5	185.5	192	192	193 →	解剖	
151	157	167	170	173	179	175	173	185
173	172	183.5	197	201	202	197 →	解剖	
132.5	131	136.5	142	146	141	141	135	148
147	147	死亡見込	(解剖)					
140.5	140.5	156.5	160	161	160	160	162	166
160.5	160	163.5	174	166	173	170	165	199
132.5	136.5 →	解剖						
143.5	149.5	158.5	157	161	157	161	163	164

ロダン醋酸エチルエステル 毎日 経口投與 Pro kg 10mg

経過時間 ラツテ番號	0 週	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週	6 週	
I	116	116	124	145	167	178	190	
II	97	99	106	118	139	142	146.5	
III	112	115	120	128	144	148	148	
III	111.5	121	126	141	161	158.5	165	
V	102	113	125	134	156.5	164	168	
VI	117	124	129	135	148 →	解剖		
III	94.5	104	119	124	140.5	150	155	
VII	103	115	129	142	160	165	176	
IX	105	103	120	133	146.5	147	150	
7 週	8 週	9 週	10 週	11 週	12 週	13 週	14 週	15 週
207								
149.5	159.5	161	166	163	173	169	163	166
155	166.5	169	171	172	174	173	168	175
176	189	197.5	202 →	解剖				
177	189.5	184	186	192	193	195 →	解剖	
168	179	178	190	196	194	191 →	解剖	
189.5	204	214	221					
165	178	189.5	191	死亡				

ベータナフトール 毎日 経口投與 Pro kg 25mg

経過時間 ラツテ番號	0 週	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週	6 週	
I	103.5	105	110	122	137	140	144.5	
II	100	105	109	115	122 →	解剖		
III	97.5	101	113	127.5	146	154.5	160	
III	101	109	115	126	143	148.5	151	
V	120	125	134	154	176	178.5	184	
VI	94	98	97	111	125	124	118	
VII	111	120	133	147	164	171	177	
VIII	116	117.5	127	146	154	151	149	
IX	127	123	130	139	161.5	155	155.5	
7 週	8 週	9 週	10 週	11 週	12 週	13 週	14 週	15 週
144	154.5	156	163	161	154	155	144	164
174.5	死亡							
162	173.5	178	186	187	199	193 →	解剖	
202 →	解剖							
死亡見込(解剖)								
180	189	196	196 →	解剖				
166.5	176	172	177	180	182	180		
170	185.5	189	193 →	解剖				

アリール芥子油 毎日 経口投與 Pro kg 50mg

経過時間 ラツテ系統	0 週	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週	6 週	
I	115.5	118	125	132	143.5	134	132	
II	110.5	118	121	136	152	150.5	147	
III	106.5	110	102	113	131	129	133	
III	111	103	111	125	146.5	146	131	
V	107.5	103	97	110	121 →	解剖		
VI	107	106	117	129	149.5	149	140	
VII	123.5	123.5	127	137	159	154	152.5	
VIII	114	105	112	127	150	153	152	
IX	106.5	110	109	120	134	141.5	死亡見	
7 週	8 週	9 週	10 週	11 週	12 週	13 週	14 週	15 週
149.5	162.5	169.5	173	162.5	173	159	134	129
159	170.5	172	179	182	178	177 →	解剖	
145.5	152	156.5	161	158	162	153	133	141
136	150.5	154	158	150	170	167 →	解剖	
170 →	解剖							
169	191	206	210 →	解剖				
161.5	177	186	194 →	解剖				

(註) 0 週ハ実験當初ヲ示ス

- (1) パラオキシ安息香酸ブチルエステルとアリール芥子油との間に存し、その危険率は0.1%である。
- (2) ロダン醋酸エチルエステルとアリール芥子油との間に存し、その危険率は1%である。
- (3) ベータナフトールとアリール芥子油との間に存し、その危険率は5%である。

3° 10 週間後有意な差は

- (1) パラオキシ安息香酸ブチルエステルとアリール芥子油との間に存し、その危険率は5%である。

尙おパラオキシ安息香酸ブチルエステルとベータナフトールとの間には有意水準を5%を一寸外せば差は存在する。

第三表 死亡率表

(実験1)

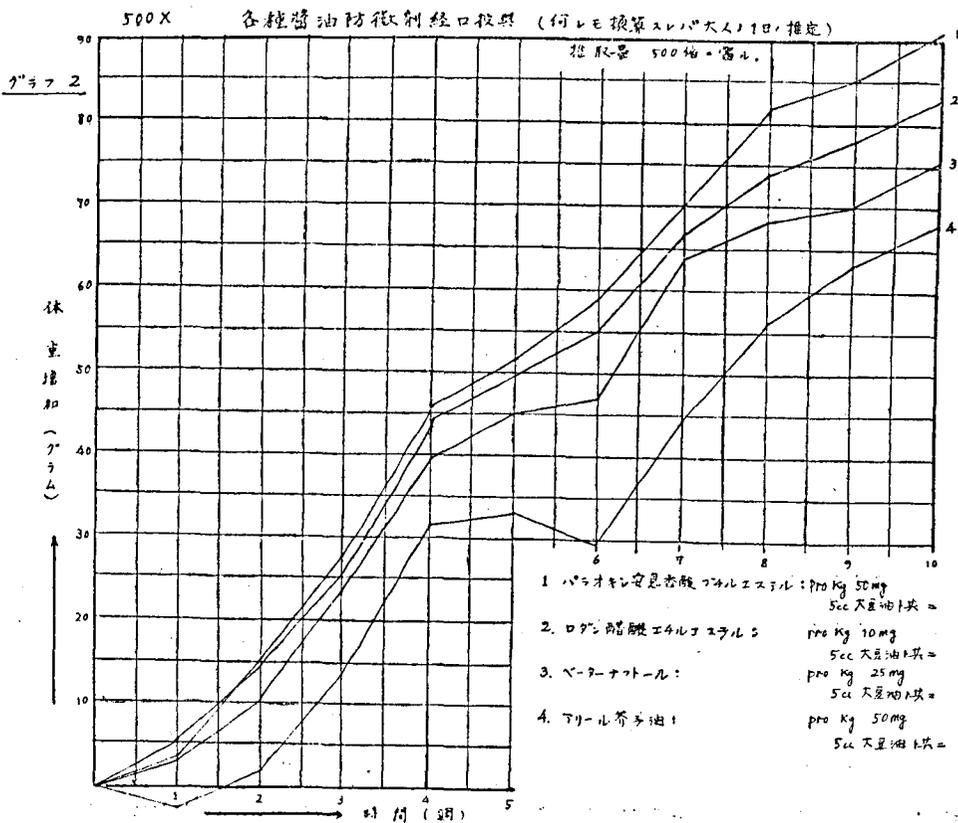
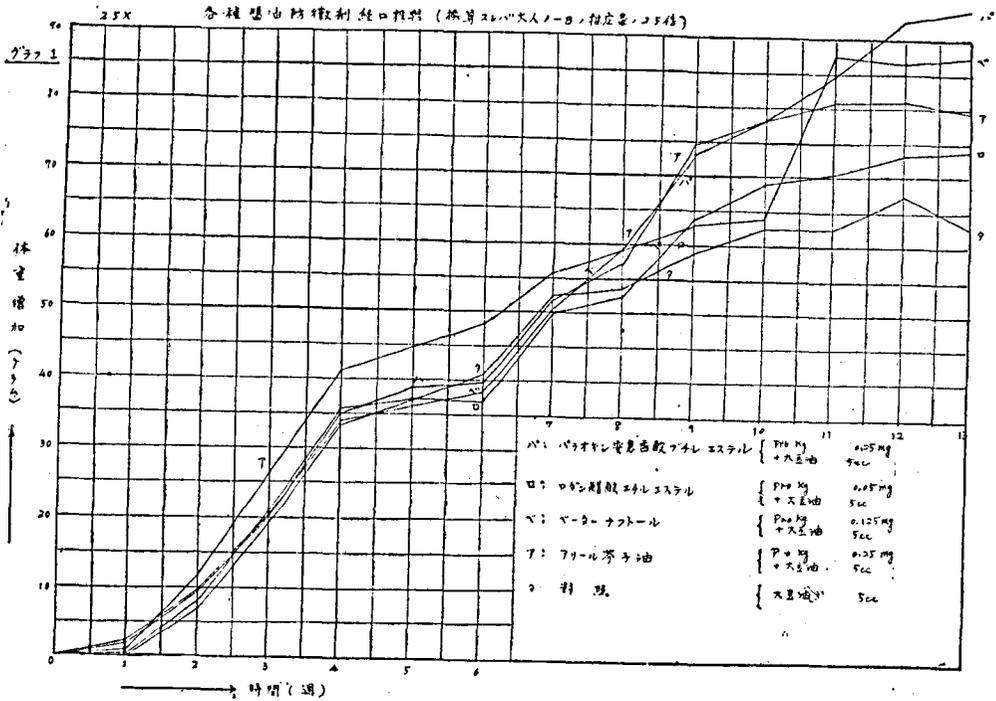
2.5×

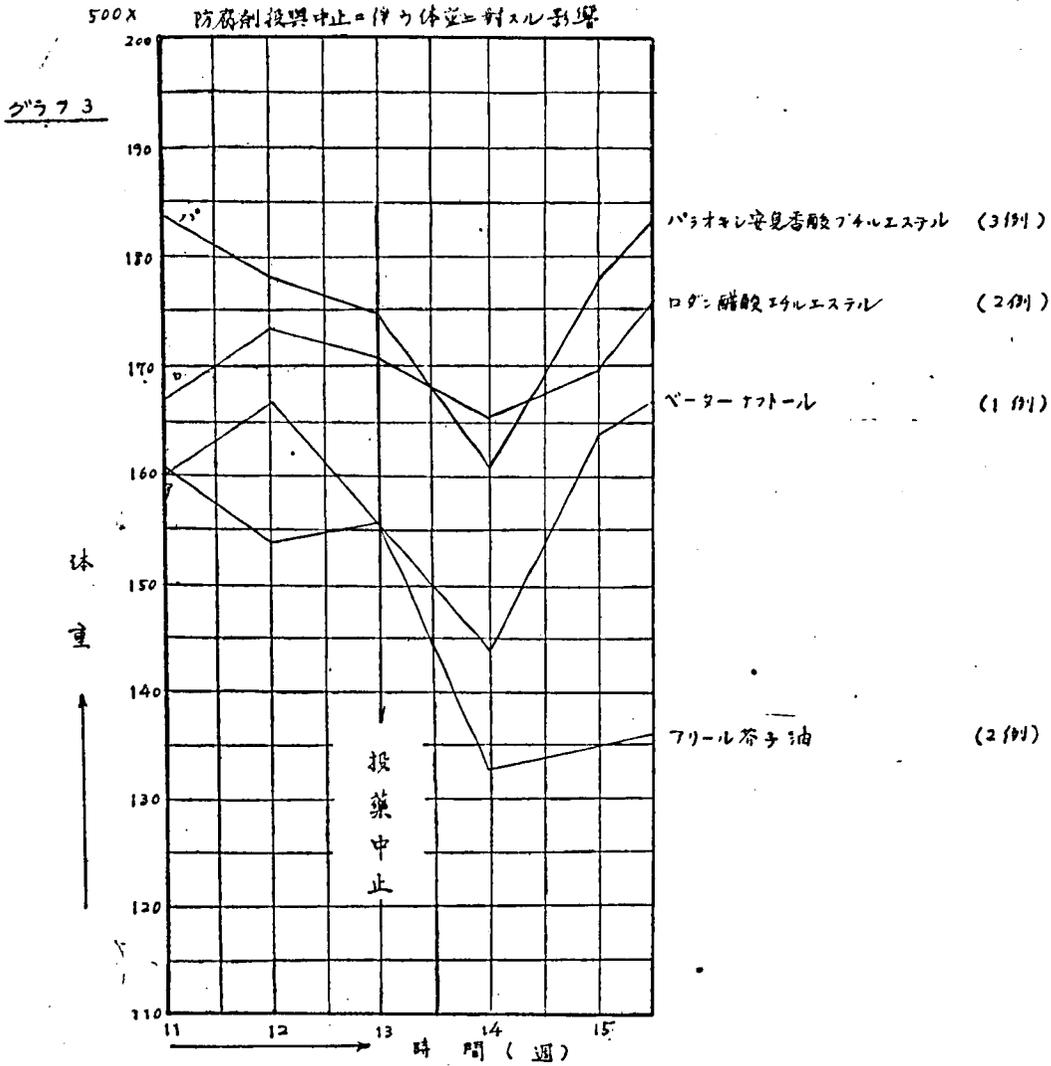
パラオキシ安息香酸ブチルエステル.	5 例中 死亡 0
ロダン醋酸エチルエステル.	7 例中 死亡 0
ベータナフトール.	8 例中 死亡 3 例
アリール芥子油.	10 例中 死亡 2 例
対 照	10 例中 死亡 0

(実験2)

500×

パラオキシ安息香酸ブチルエステル.	9 例中 死亡 0
ロダン醋酸エチルエステル.	9 例中 死亡 1 例
ベータナフトール.	9 例中 死亡 2 例
アリール芥子油例.	9 例中 死亡 1 例





時間の経過と共に病理組織学的變化追究のためラツテを殺して行つたので、Student's test に於て自由度が少なくなり行き統計上或はハツキリと掴める差をも逃してゐるかも知れない。

(II) 死亡率並びに一船健康状態に対する影響

第一表及び第二表から自然に死亡したものを拾い出すと第三表が出来上る。尙おこのほか時折各群から同數ずつを選び出し病理組織研究のため殺したものがあるので、嚴密には死亡率と

して取扱えないが二つ分を寄せ合せて見ると次の様になる。

パラオキシ安息香酸ブチルエステル	14 疋中死亡 0
ロダン醋酸エチルエステル	16 疋中死亡 1
ベータナフトール	17 疋中死亡 5
アリール芥子油	19 疋中死亡 3
対 照	10 疋中死亡 0

因みに第三表の示す所では高濃度のもの、即ち〔実験 2〕の方が低濃度のもの、即ち〔実験〕よりも死亡率が低かつたかの如くであるのは、前者のために用いたラツテの方が最初からより健康であつた爲めであろう。とに角、上に記した数字も之のみにて各薬剤の慢性中毒を惹起する力の差を論じても推計学上 5% の危険率では有意義でない。

一般症状についても、一定の大きさの箱の中に個々に分離して飼育すると云う特殊条件下で認知され得る様な變化が起きた群は一つもない。それよりも散發的に發生する鼻からの血性分泌物や肺炎のためのゼラゼラいう音が目立つた。要するに外觀上薬剤のための變化と思われる様な點は見受けることが出来なかつた。

〔Ⅲ〕病理組織学的變化

組織学的検査の対象臓器としては一般に中毒現象の最も著明に現はれる肝臓、腎臓、脾臓を主眼とし動物はエーテル麻酔の下に胸腹部を開き、先づ心臓を剔出して死に至らしめ諸臓器を取出して直ちに 10% ホルマリン水にて固定し、パラフィン包埋、ヘマトキシリンエオジン重染色を施して検鏡する。

(1) 常用量の 500 倍濃度の場合

(A) 4 週間投与せる例

	體 重	心 臓	肺 臓	肝 臓	腎 臓	脾 臓
ロダン醋酸エチル	148g	0.7g / 0.48%	0.8 / 0.45	6.0 / 4.5	1.2 / 0.81	0.7 / 0.48
パラオキシ安息香酸ブチル	138	0.7 / 0.51	0.9 / 0.65	4.2 / 3.04	1.0 / 0.73	0.5 / 0.36
ベータナフトール	122	0.5 / 0.65	0.8 / 0.66	4.9 / 4.01	1.0 / 0.82	0.5 / 0.41
アリール芥子油	121	0.6 / 0.5	1.1 / 0.83	4.7 / 3.88	1.0 / 0.83	0.5 / 0.41

注意 臓器の項の上段は g で表はした重量、下段は臓器の體重に對する百分率を示す。以下同様。

ロダン醋酸エチルの例では肝臓左葉前面に黍粒大の寄生虫囊腫あり。

(B) 顯微鏡的所見

(I) ロダン醋酸エチルエステル

肝臓：所々の細胞に空泡變性を認め核一般に水泡性であるが所々濃縮性の核もある。クツプヘル氏細胞は一般に紡錘状である

腎臓：糸球体はやゝ充血性であるがむしろ核は少くて虚脱してゐる。細尿管は中等度の潤濁腫脹を示す。

脾臓：リンパ濾胞は一般に増殖性である。髄は充血性で細胞豊富である。

(II) パラオキシ安息香酸ブチル

肝臓：原形質は場所に依つて核の廻りに軽度の空泡変性僅に認められる。核は一般に水泡性である。

腎臓：糸球体はやゝ萎縮しバウマン氏嚢は開いている。細尿管は軽度の變性を示し中に円柱様のものを入れている部分がある。

脾臓：リンパ濾胞は増殖していて髄は細胞豊富である。

(III) ベータナフトール

肝臓：一般に空泡變性があつて中等度のものより高度に至る。殆んど全部の細胞体に見られる。

腎臓：バウマン氏嚢は拡張している。糸球体は充血強く核がやゝ少くなつている。細尿管は可成強い潤濁腫脹がある。

脾臓：リンパ濾胞、髄は増殖性で質は広くなつている。

(III) アリル芥子油

肝臓：細胞体の空泡變性殆んど無く細胞はむしろ増殖している。

腎臓：著変なし。

脾臓：リンパ濾胞は増殖性で髄に軽度の充血あり。

(B) 8 週間投与せる 3 例

(a) 肉眼的所見

	體 重	心 臓	肺 臓	肝 臓	腎 臓	脾 臓
ロダン醋酸エチル	208g	0.9g / 0.45%	1.1 / 0.53	7.4 / 3.64	1.6 / 0.77	0.8 / 0.38
パラオキシ安息香酸ブチル	202	0.8 / 0.4	1.0 / 0.5	7.8 / 3.85	1.5 / 0.74	0.4 / 0.2
ベータナフトール	202	0.8 / 0.4	1.0 / 0.5	6.8 / 3.37	1.4 / 0.69	0.4 / 0.2
アリル芥子油	170	0.7 / 0.14	1.2 / 0.71	8.2 / 4.82	1.4 / 0.82	0.8 / 0.47

ベータナフトールの例では胃、小腸に充血あり、アリル芥子油の例では肺に充血を認める。

(b) 顯微鏡的所見

(I) ロダン醋酸エチル

肝臓：原形質にエステル主として核の廻りに軽度の空泡變性を認める。核は正常で核仁は一つ認められる。

腎臓：バウマン氏嚢はやゝ腫れていて糸球体の核は比較的少く細尿管は大して變性を示さ

ないが所々は脂肪化がある様に思はれる。

脾臓：胚中樞は明瞭で全體として充血性である。髓細胞は肥大している。巨大核細胞を認める。

(II) パラオキシ安息香酸ブチル

肝臓：大部分の細胞に空泡変性を認め、細胞は腫張している。細葉周辺部に正常細胞は點狀に残っている。原形質がエオジンで濃染する細胞が極く稀に散在する。核が一般に濃縮性である。

腎臓：バウマン氏嚢はやゝ腫れて嚢内腔に赤血球を認める所もある。糸球體は充血性であるがあまり腫張したものは認められない。一般に輸入血管が著明に認められる。細尿管上皮はやゝ腫れてある。

脾臓：淋巴濾胞は良く發達し、網狀細胞の軽度の増殖がある。髓は細胞に富みやゝ充血性である。

(III) ベータナフトール

肝臓：一般に原形質が空泡変性に陥る。細葉周辺部に変化が強い。本例では特に核膜に原形質塊が附着して核膜が厚くなり核は所々水泡性で核仁が明瞭であるものが多い(1~2個)非常に腫張した細胞では核仁は更に數を増してある(4個)。それに関連して二核性の細胞も存在する。

腎臓：バウマン氏嚢は開いている。糸球體は充血性である。細尿管に中等度の変性を認め上皮細胞中に有絲核分裂像を示せるものあり。

(III) アリル芥子油

肝臓：細葉中間部及び周辺部に相當高範囲の空泡変性を認める。

腎臓：バウマン氏嚢はやゝ肥大し赤血球が内腔に出ているものもある。糸球體が嚢に癒着した所が認められる。細尿管は中等度の変性を示す。

脾臓：胚中樞が明瞭である。髓は充血性で細網が増殖している。

(C) 10 週間投与せる例。

(a) 肉眼的所見

	體 重	心 臓	肺 臓	肝 臓	腎 臓	脾 臓
ロダン醋酸エチル	205g	0.7g / 0.34%	1.0 / 0.49	6.5 / 3.17	1.4 / 0.68	0.6 / 0.29
パラオキシ安息香酸ブチル	216	0.8 / 0.37	1.1 / 0.51	6.7 / 3.1	1.3 / 0.6	0.5 / 0.23
ベータナフトール	200	0.7 / 0.35	1.4 / 0.7	7.1 / 3.55	1.4 / 0.7	0.9 / 0.3
アリル芥子油	195	0.7 / 0.36	1.3 / 0.67	7.1 / 3.64	1.4 / 0.72	0.7 / 0.36

ベータナフトールの例では肝臓左葉に豌豆大の寄生虫嚢腫あり。

(b) 顯鏡的所見.

(I) ロダン醋酸エチル

肝臓：細葉中心部に軽度の空泡変性を認める。一個所小出血を起せる部分あり、核は濃縮性のものあり、又水泡性のももある。グリソン氏鞘に円形細胞浸潤あり。

腎臓：バウマン氏嚢はやゝ腫れていて嚢内腔に血球の出ている所がある。糸球體はやゝ充血している。

脾臓：肺中樞が明瞭である。

(II) パラオキシ安息香酸ブチル

肝臓：細胞は一般に顆粒変性を示し場所に依つては僅の空泡性を示す。核は正常である。

腎臓：異常なし。

脾臓：淋巴濾胞は増殖し肺中樞は明瞭である。髄は可成増殖している。

(III) ベータナフトール

肝臓：所々軽度の空泡変性を示す。核が濃縮性で原形質がエオジンで濃染する細胞が散在する。

腎臓：バウマン氏嚢はやゝ腫れていて糸球體は軽度の充血を示す。

脾臓：淋巴濾胞は増殖している。髄はやゝ充血性である。

(III) アリル芥子油

肝臓：所々軽度の空泡変性を示す。核には濃縮性のものがある。エオジンで濃染する細胞がある。

腎臓：バウマン氏嚢は拡張していて糸球體のあるものは嚢に癒着している。細尿管は潤潤腫張を示す。

脾臓：淋巴濾胞は増殖し肺中樞にヘモジデリンが沈着してゐる。髄は充血してゐる。

(D) 13 週間投与せる例

(a) 肉眼的所見

	體 重	心 臓	肺 臓	肝 臓	腎 臓	脾 臓
ロダン醋酸エチル	191g	0.6g / 0.31%	0.9 / 0.47	9.9 / 3.61	1.4 / 0.73	0.5 / 0.26
パラオキシ安息香酸ブチル	224	0.9 / 0.4	1.2 / 0.54	7.0 / 3.12	2.0 / 0.89	0.7 / 0.31
ベータナフトール	180	0.7 / 0.39	0.8 / 0.44	10.2 / 5.67	1.2 / 0.67	0.7 / 0.39
アリル芥子油	177	0.8 / 0.45	1.1 / 0.62	8.3 / 4.59	1.5 / 0.85	0.5 / 0.28

ロダン醋酸エチルの例では肝臓中葉に扁豆大の寄生虫嚢腫一個、ベータナフトールの例では肝臓左葉に豌豆大の寄生虫嚢腫四個、アリル芥子油の例では肝臓充血していて扁豆大の寄生虫嚢腫一個あり、

(d) 顕微鏡的所見

(I) ロダン醋酸エチル

肝臓：血管周囲に軽度の空泡変性あり，肝細胞索は一般にやゝ萎縮性である。

腎臓：異常なし。

脾臓：胚中樞は明瞭で髄はやゝ充血している。被膜下はやゝ鬆粗で浮腫状を呈する。

(II) パラオキシ安息香酸ブチル

肝臓：大部分の細胞は正常であるが，被膜下の細胞に僅に空泡変性あり。

腎臓：糸球體はやゝ鬆粗で貧血性である。皮質，被膜に円形細胞浸潤がある。

脾臓：リンパ濾胞は明瞭である。

(III) ベータナフトール

肝臓：一般に空泡変性があつて軽度のもより中等度に至る。核のクロマチンが溶けて明るい大きな核となつているものもある。

腎臓：糸球體は虚脱していて核は少くて濃い。

脾臓：リンパ濾胞は増殖して胚中樞は明瞭である。髄は充血性である。

(III) アリル芥子油

肝臓：一般に空泡変性が強く中等度のもより高度に至る，高度のものでは細胞の境界が判らない。核仁は赤く染まり概ね一個なるも二，三個のものもある。エオジンで濃染する細胞が可成ある。

腎臓：糸球體が腫れていて囊と癒着している所もある。稀に囊内腔に赤血球が出ている。細尿管は腫張している。

脾臓：リンパ濾胞は増殖して胚中樞は明瞭である。髄は充血性である。

(2) 常用量の 2.5 倍濃度の場合

(A) 2ヶ月投与の例

(a) 肉眼的所見

	體重	心臓	肺臓	肝臓	腎臓	脾臓
ロダン醋酸エチル	130g	0.7g / 0.54%	1.8 / 1.1	4.8 / 3.4	1.0 / 0.77	0.5 / 0.39
パラオキシ安息香酸ブチル	131	0.6 / 0.46	1.1 / 0.84	4.4 / 3.36	1.0 / 0.76	0.5 / 0.39
ベータナフトール	152	0.6 / 0.4	0.8 / 0.53	4.4 / 2.9	1.2 / 0.79	0.5 / 0.18
アリル芥子油	127	0.7 / 0.55	0.9 / 0.71	5.4 / 4.25	1.2 / 0.95	0.5 / 0.4

ベータナフトールの例では肝臓右葉に豌豆大の寄生虫嚢腫一個あり。

(d) 顕微鏡的所見

(I) ロダン醋酸エチル

肝臓：軽度の顆粒変性あり。空泡変性は認めない。細胞體は一般に大きくて結節状増殖と考へられる様な像が所々に認められる。核は水泡性である。

腎臓：糸絨體に軽度の充血がある。細尿管は軽度の顆粒変性を示す。

脾臓：胚中樞は明瞭で有絲核分裂像を認めるものあり。髓は充血性で細胞豊富である。

(II) パラオキシ安息香酸ブチル

肝臓：原形質，核共に正常。

腎臓：異状なし。

脾臓：淋巴濾胞良く發達し胚中樞は著明である。

(III) ベータナフトール

肝臓：細葉の中心部及び中間部に限局的に空泡変性に陥っている細胞がある。核は正常。

腎臓：糸絨體の核は濃縮で細尿管は潤濁腫張を示す。

(III) アリル芥子油

肝臓：可成強い空泡変性を示し。細葉周辺部に正常な細胞が残つてゐる。核もやゝ変性して核膜が多少不明瞭である。

腎臓：糸絨體は多少大きくなり充血強し。細尿管に潤濁腫張あり。

脾臓：淋巴濾胞はやゝ萎縮性で胚中樞は明瞭である。髓は細胞増殖して充血強し。

(B) 3ヶ月投与の例

(a) 肉眼的所見

	體 重	心 臓	肺 臓	肝 臓	腎 臓	脾 臓
ロダン醋酸エチル No1	213g	0.7g / 0.34%	1.1 / 0.52	7.5 / 3.52	1.8 / 0.85	0.5 / 0.23
同 No 2	172	0.7 / 0.42	1.2 / 0.7	6.1 / 3.55	1.4 / 0.81	0.3 / 0.17
パラオキシ安息香酸ブチル No1	211	0.7 / 0.34	1.0 / 0.47	7.1 / 3.36	1.4 / 0.66	0.6 / 0.28
同 No 2	190	0.7 / 0.38	1.4 / 0.74	6.4 / 3.37	1.4 / 0.74	0.5 / 0.26
ベータナフトール No 1	180	0.7 / 0.4	1.2 / 0.67	6.3 / 3.50	1.4 / 0.78	0.6 / 0.33
同 No 2	180	0.8 / 0.44	1.3 / 0.72	5.8 / 3.22	1.5 / 0.83	0.5 / 0.28
アリル芥子油 No 1	188	0.7 / 0.38	0.9 / 0.48	6.5 / 3.45	1.8 / 0.96	0.4 / 0.21
同 No 2	194	0.9 / 0.46	3.2 / 1.7	6.6 / 3.4	1.6 / 0.82	0.6 / 0.31

パラオキシ安息香酸ブチル No 1 の例では肝臓左，中各葉に椶豆大の寄生虫囊腫各一個あり，アリル芥子油 No 1 にも中葉に豌豆大のもの一個ある。アリル芥子油 No 2 の兩側肺臓に強度の充血を見る。

(d) 顯微鏡的所見

(I) ロダン醋酸エチル No 1

肝臓：軽度の顆粒変性を示す。稀に軽い空泡変性のももある。核は比較的大きくて良く染まる。

腎臓：一般に充血性で細尿管はやゝ腫張している。

脾臓：淋巴濾胞は明瞭でヘモジデリンが沈着している。

(II) ロダン醋酸エチル No 2

肝臓：一般に空泡変性に陥り細葉周辺部に正常細胞が島嶋状に残っている。エオジンで濃染する細胞が散在し2核性細胞もある。門脈枝には充血あり。

腎臓：糸球體は充血性でやゝ腫張している。囊内腔に赤血球が出ている所もある。

脾臓：淋巴濾胞は發達していて髓は充血性である。

(III) パラオキシ安息香酸ブチル No 1

肝臓：軽度の空泡変性を示す。肝細胞は一般に萎縮性で細胞索は薄くなっている。グリソン氏鞘は充血性である。

腎臓：糸球體の基礎膜に均等性の物質が沈着し糸球體の核はやゝ減少している。細尿管には潤濁腫張あり。

脾臓：淋巴濾胞は増殖していて胚中樞は明瞭である。髓は充血性であるがあまり増殖して居ない。

(III) パラオキシ安息香酸ブチル No 2

肝臓：主として細葉中心部に中等度の空泡変性がありその部分の核も空泡状になつているものもある。エオジンで濃染する細胞が散在し細葉中心部の細胞は多少萎縮性である。門脈枝には充血あり。

腎臓：糸球體はやゝ充血して細尿管は所々潤濁腫張を示す。

脾臓：胚中樞は明瞭で髓の細胞は豊富である。

(V) ベータナフトール No 1

肝臓：細葉中心部に軽度の空泡変性あり。肝細胞は一般に肥大している。

腎臓：一般に充血性で間質には円形細胞の浸潤がある。細尿管は腫張している。

脾臓：淋巴濾胞は明瞭で細網組織は増殖している。髓は充血性である。

(VI) ベータナツトール No 2

肝臓：中心静脈より続いて肝静脈の周壁に沿つて軽度の空泡変性あり。核は一般に水泡性である。

腎臓：糸球體はやゝ充血性で細尿管は腫張している。

脾臓：淋巴濾胞は良く發達していて髓はやゝ充血性である。

(VII) アリル芥子油 No 1

肝臓：肝細胞は殆んど正常。グリソン氏鞘に細胞浸潤あり。

腎臓：糸球體が腫張して核が増加している。間質に細胞浸潤あり。

脾臓：淋淋巴濾胞は明瞭であるがやゝ鬆粗である。

(Ⅶ) アリル芥子油 No 2

肝臓：細葉中心部に軽度の空泡変性あるも可成強い所もある。肝細胞索は萎縮している。

腎臓：糸球體は充血強く囊内腔に赤血球が出ている所もある。核の中に有絲核分裂を営んでいるものがある、細尿管は潤濁腫張を示す。

脾臓：淋巴濾胞は良く發達し髓は充血性である。

(C) 100 日間投与の例

(a) 肉眼的所見

	體 重	心 臓	肺 臓	肝 臓	腎 臓	脾 臓
ロダン醋酸 エチル No 1	157g	0.8g / 0.51%	1.3 / 0.83	7.0 / 4.46	1.2 / 0.76	0.4 / 0.25
同 No 2	168	0.8 / 0.48	1.4 / 0.83	6.8 / 4.06	1.6 / 0.95	1.3 / 0.77
同 No 3	185	0.8 / 0.43	1.8 / 0.97	8.7 / 4.71	1.8 / 0.97	0.5 / 0.27
同 No 4	157	0.8 / 0.38	1.8 / 1.15	7.6 / 4.84	1.2 / 0.76	0.7 / 0.45
パラオキシ安 息香酸ブチル No1	180	0.6 / 0.39	1.1 / 0.61	6.2 / 3.45	1.2 / 0.67	0.3 / 0.17
同 No 2	164	0.7 / 0.43	0.9 / 0.66	7.2 / 4.39	1.3 / 0.79	0.5 / 0.31
ベータナフ トール No 1	136	0.7 / 0.59	1.3 / 0.96	6.9 / 5.07	1.4 / 1.02	0.5 / 0.37
同 No 2	136	0.8 / 0.44	1.0 / 0.74	6.5 / 4.78	1.2 / 0.83	0.4 / 0.29
アリル芥子油 No1	182	0.8 / 0.44	1.1 / 0.6	6.6 / 3.63	1.4 / 0.77	0.3 / 0.16
同 No 2	167	0.6 / 0.36	1.0 / 0.6	6.5 / 3.89	1.3 / 0.78	0.4 / 0.24

ロダン醋酸エチル No1 には肝臓左葉に扁豆大の寄生虫囊腫一個あり、同 No2 には盲腸部に拇指頭大の硬い腫瘍あり、検鏡の結果炎症性の肉芽組織である。脾臓は非常に大きい。同 No 3 の肝臓は充血強し、パラオキシ安息香酸ブチル No1 には肝右葉に豌豆大のが1個、ベータナフトール No2 には左葉に扁豆大及び豌豆大のもの各一個、アリル芥子油 No1 の右葉に豌豆大一個、同 No2 には左葉に扁豆大のもの一個各寄生虫囊腫存在する。

(b) 顕微鏡的所見

(I) ロダン醋酸エチル No1

肝臓：軽度の空泡変性あり、核は正常。グリソン氏鞘に細胞浸潤あり。

腎臓：糸球體は腫れているが核は少く充血あり、細尿管には軽度の潤濁腫張あり。

脾臓：淋巴濾胞は良く發達して脾中樞は明瞭なり。髓は充血性である。

(II) ロダン醋酸エチル No2

肝臓：一般に軽度の空泡変性あり。所々局所的に可成強い空泡変性を認む。グリソン氏鞘に多少の細胞浸潤あり。

腎臓：パウマン氏囊が拡張していて糸毬體は腫れている。囊内腔に赤血球が出ているものもある。

脾臓：淋巴濾胞は不明瞭で髓は細胞豊富である。

(III) ロダン醋酸エチル No3

肝臓：空泡変性强く中等度より高度に至る。核は濃縮性のものが多くグリソン氏鞘に軽度の細胞浸潤がある。

腎臓：糸毬體は充血あり。囊内腔に血球の出ているものもある。皮質の毛細血管にも充血あり、細尿管は軽度の溷濁腫張あり。

脾臓：髓は充血性で細胞豊富である。

(III) ロダン醋酸エチル No4

肝臓：一般に空泡変性ありて中等度より高度に至る核は一般に大きくて水泡性である。所々濃縮性の核とエオジンで濃染する原形質を持つ細胞がある。

腎臓：糸毬體は充血性で細尿管には溷濁腫張あり。

脾臓：胚中樞は明瞭である。

(V) パラオキシ安息香酸ブチル No1

肝臓：肝細胞は殆んど正常、細胞索はやゝ萎縮していてグリソン氏鞘に軽い細胞浸潤がある。

腎臓：糸毬體の核がやゝ増加している。

脾臓：淋巴濾胞は良く發達している。髓はやゝ充血している。

(VI) パラオキシ安息香酸ブチル No2

肝臓：軽度の空泡変性がある。又所々に中等度の変性がある。核は一般に水泡性でエオジンで濃染する細胞が散在する。グリソン氏鞘に細胞浸潤がある。

腎臓：糸毬體が腫れて核は多少増加している。充血あり。

脾臓：淋巴濾胞は發達していて胚中樞中明瞭である。髓はやゝ充血している。

(VII) ベータナフトール No1

肝臓：一般に中等度の空泡変性あり核は大小不同で濃縮性のものが多い。

腎臓：糸毬體は腫れて充血強い。

脾臓：淋巴濾胞發達して胚中樞は明瞭である。髓は充血性である。

(VIII) ベータナフトール No2

肝臓：一般に空泡変性があつて軽度のもより中等度に至る。所々エオジンで濃染する細

胞がある。核は濃縮性のものが多い。グリソン氏鞘の門脈枝の周囲に結締組織が増殖して細胞浸潤強き部分が見られる。この部にヘモジデリンが沈着している。

腎臓：糸球体が腫れて核が増加し充血あり。嚢内腔に赤血球が出ているものも稀にある。皮質の毛細血管にも充血あり。

脾臓：髄は細胞豊富である。

(IX) アリル芥子油 No1

肝臓：所々肝静脈枝の周囲に軽度又は中等度の空泡変性あり。核は一般に大きい。グリソン氏鞘に細胞浸潤あり。

腎臓：異常なし。

脾臓：淋巴濾胞は発達していて髄は充血性である。

(X) アリル芥子油 No2

肝臓：一般に空泡変性があつて軽度のものより中等度に至る。グリソン氏鞘に細胞浸潤あり。

腎臓：糸球体は腫れて核が増加している。細尿管は溷濁腫脹を示す。

脾臓：淋巴濾胞はやゝ浮腫状である。

(3) 上記薬剤の溶媒たる大豆油 0.5cc を 40 日間 (No1) 及び 72 日間 (No2) 投与した例。

(a) 肉眼的所見

	體 重	心 臓	肺 臓	肝 臓	腎 臓	脾 臓
No 1	124g	0.6g / 0.48%	0.8 / 0.65	4.5 / 3.63	1.0 / 0.81	0.3 / 0.24
No 2	187	0.7 / 0.37	0.8 / 0.43	7.1 / 3.8	1.3 / 0.7	0.3 / 0.16

No1 では肝臓左葉に扁豆大の寄生虫嚢腫 1 個あり。

(d) 顕微鏡的所見

No1

肝臓：一般に顆粒変性を示し一部軽度の空泡変性あり。エオジンで濃染する細胞も散在する。

腎臓：糸球体がやゝ腫れて核が軽度増加する。

脾臓：巨細胞可成多くて赤血球貧食の像が見られる。

No2

肝臓：一般に顆粒変性を示し一部軽度の空泡変性あり。エオジンで濃染する細胞がある。グリソン氏鞘に造血の像が見られる。

腎臓：正常

脾臓：淋胞細胞は良く発達していて髄はやゝ充血性である。

(4) 上記 4 種薬剤の高濃度（常用量の 500 倍）13 週間投与した後中止し、16 日間飼育して剖検した例。

肝臓所見

(I) ロダン醋酸エチル No1

一般に軽度の空泡変性がある。核は濃縮性のものが可成ある。グリソン氏鞘に細胞浸潤あり。

(II) ロダン醋酸エチル No2

軽度の空泡変性があつてエオジンで濃染する細胞が散在する。グリソン氏鞘に軽度の細胞浸潤がある。

(III) パラオキシ安息香酸ブチル No1

所々に軽度の空泡変性あり。細胞索はやゝ萎縮している。

(III) パラオキシ安息香酸ブチル No2

肝細胞殆んど正常。

(V) ベータナフトール

肝細胞概ね正常であるが所々核の周囲に空泡が見られるものあり。核は正常。グリソン氏鞘に軽い細胞浸潤あり。

(VI) アリル芥子油 No.1

肝細胞殆んど正常であるが稀に軽度の空泡変性あり。肝細胞索はやゝ萎縮していてグリソン氏鞘に細胞浸潤がある。

(VII) アリル芥子油 No.2

軽度の顆粒変性があり稀に軽い空泡変性がある。核は正常でグリソン氏鞘に細胞浸潤がある。

考 察

〔I〕 體重増加に及ぼす影響

醤油 0.1cc に対して丁度防微効果を發揮する分量の防微剤を毎日ラツテに（體重 100g に対し）内服させる事、之は體重 50kg の人が毎日醤油を 50cc 消費するとし、その中に含有される防微剤のみの人體に対する影響を觀察する代りとして、之を実験的にラツテに試みる事になる。

所で《実験 1》は之の 2.5 倍量の醤油防微剤を試みて居り、此の際のラツテの成長に及ぼす影響を「グラフ 1」が示している。前記 4 種の防微剤を与えた時の成長曲線及び対照の成長曲線はハツキリどれが成長具合が良いかを示して居ない様である。但しアリアル芥子油を与えた群は最初の 7 週間位の間は成長がよいように見える。それ以後は何れの群が特に成長が

よいと云うこともない。此のグラフでは終り頃の第 12~13 週間の成績は病理組織学的研究に犠牲にしたため生存ラツテ数も少く信頼し難い。何れにするも推計学上有意義な差は示さない。又、全體として見れば対照群は比較的低位にある様であるが之は acetanilid のラツテの成長に及ぼす研究で比較的少量の時は却て體重が増加すると言う曲線が得られていることと符號する如くでもある (Paul K. Smith & P. W. E. Hamburger; E. J. Stantons V. W. R. R. Agricola⁶⁾)。防黴剤を与えた方の 4 本の成長曲線は五に入り亂れてゐて餘りハツキリした結果を示してない様に見える。然し平均として概括的に見られた結果ではあるが、6 週間位後からはパラオキシ安息香酸ブチルエステルがロダン醋酸エチルエステルに対して優位の成長曲線を示してゐる事が注目される。

常用量の 2.5 倍量の各種防黴剤を加えた場合では成長曲線から判断して動物體に対する障害の差を餘りハツキリ出す事は出来ないので、之をそのまま 200 倍して見た濃度、即ち常用量の 500 倍に當る防黴剤を人が攝取するに相當する影響をラツテについて見て、4 種の防黴剤の衛生上に及ぼす障害程度の順位を知るため (実験 2) を行つた。此の常用量の 500 倍の所で行つた実験順位が其のまま常用量を与えられた場合を比較するに妥當であるか否かにつき疑問が起きるかも知れない。即ち消化管に及ぼす直接作用が劇しく之が食欲等に及ぼす影響はどうなるか。自然の食餌の時と事情が異り経口ゾンデに依て与える爲め大豆油に依り直接刺激は相當弱められてゐるものゝ、実際の場合よりも実験条件下では消化管に対し影響が強過ぎはしまいかと云う疑問は解消するわけではない。之はアリアル芥子油について特に問題となる。然しとも角も「グラフ 2」を見ると、之は既述の様にハツキリした平行的關係を示したものと見てよい。ラツテの成長しようとする内的要因は 4 群に於て同等であるとすると、之が実現しないのは之を抑えようとする外的要因が働いた事となる。之では 4 種の防黴剤にしてその各々の障害作用に差があると認めねばならない。成長曲線から見てアリアル芥子油が最も悪い事になるのであり、之は消化管に対する影響かと思われるのであるが、そればかりではない事は病理組織学的研究でもアリアル芥子油の群が最も大きな変化を示してゐる。即ち體重測定法が相當程度の妥當性を持つことを示すのではあるまいか。此の 4 本の成長曲線のみから判断して醤油防黴剤として適當な順位を記せばパラオキシ安息香酸ブチルエステル、ロダン醋酸エチルエステル、ベータナフトール、アリアル芥子油となる。此の中でロダン醋酸エチルエステルは被檢定體で、ベータナフトールは禁止品である。最下位のアリアル芥子油を除いて他の三つの間の關係を見るに障害の少い順位に云えばパラオキシ安息香酸ブチルエステル、ロダン醋酸エチルエステル、ベータナフトールとなる。ロダン醋酸エチルエステルはベータナフトールよりも下位にはないので直ちに不合格とは勿論ならない。然しベータナフトールよりもどれだけ上位に来るか問題とならう。ベータナフトールは合否の決定線と云うわけではない。パ

ラオキシ安息香酸ブチルエステルよりも上位に来れば此のグラフからすれば當然合格とすべきである。然し事實は然らずしてパラオキシ安息香酸ブチルエステルとベータナフトールとの中間あたりに来てゐる様に見える。此處に問題がある。

〔II〕死亡率

実験結果から得られた死亡率は、

パラオキシ安息香酸ブチルエステル	14 例中死亡 0
ロダン醋酸エチルエステル	16 例中死亡 1 例
ベータナフトール	17 例中死亡 5 例
アリール芥子油	19 例中死亡 3 例
対 照	10 例中死亡 0

病理組織学的研究の爲めに殺したものが別にある事は既述の通りであるが、ベータナフトールとアリール芥子油が逆になるだけで「グラフ 2」の成績に大體一致して居る。推計学上有意義とは言えない数字であるが「グラフ 2」の成績の妥當性を暗示するかの如くである。

〔III〕病理組織学的変化

(1) 臓器重量と組織変化との間には明確なる關係は得られないが唯肝臓に於てはその組織変化強きものに於て重量（但し體重に対する百分率）が増加している傾向がある。

(2) 濃度高きもの必ずしも低濃度の例より変化が強いとは言へない。

(3) 解剖した動物の例数少き事、又個體差の問題等より考へて上記薬剤投与の各動物群の組織障碍度の順位より薬物の毒性度を考量するのは當を得ないかも知れないが強いて之を列挙すれば次の様になる。（以下ロダン醋酸エチルは R, パラオキシ安息香酸ブチルは P, ベータナフトールは B, アリール芥子油は A, と略す。）

(A) 高濃度（常用量の 500 倍）の場合

(I) 4 週間投与の例

弱 $A < P \leq R < B$ 強 (\leq は強弱の差少きを示す)

(II) 8 週間投与の例

弱 $R < A < B < P$ 強

(III) 10 週間投与の例

弱 $P < R \leq B < A$ 強

(III) 13 週間投与の例

弱 $P < R < B < A$ 強

(B) 低濃度（常用量の 2.5 倍）の場合

(I) 2 ケ目投与の例

弱 $P < R < B < A$ 強

(II) 3ヶ月投与の例

弱 $A < R < B < B \leq P \leq A \leq P < R$ 強

(III) 100日間投与の例

弱 $P < R < A < P < R < B \leq A < B < R \leq R$

以上の順位より薬剤の組織に与へる障害度を比較するに高濃度に於てはロダン醋酸エチル (R) はパラオキシ安息香酸ブチル (P) よりやゝ強く、ベータナフトール (B), アリル芥子油より弱い様である。低濃度に於ては強弱の度は論ぜられない。

(4) 実験成績(4)に見られる如く薬剤投与を中止して16日後に検索したものでは肝臓の空泡変性が可成弱く見られるに依り、空泡変性は原因が去れば容易に恢復し得るものゝ様である。

(5) 空泡は対照側にも存在し得る事、該変性可成強き動物でも生前は生長も行われ何等の臨床症状を示さなかつた事、又肝細胞の核には核崩壊や核消失等強度な退行変性を認めない事、容易に恢復し得る傾向にある事、等より考へて空泡変性は生理的に左程重大なる障害に非ざるものと考へられる。

(6) 溶媒たる大豆油のみにも肝臓に軽微な変化が起つている。

(7) 空泡変性强き例では核が濃縮性で原形質がエオジンで濃染する細胞、所謂 Stifftzelle が見られる。

附 記

(1) 使用した薬剤

ロダン醋酸エチルエステルは与えられた品であり、パラオキシ安息香酸ブチルエステル並びにベータナフトールは局方品、アリール芥子油は東京大学医学部薬学科塚元助教授作製の品で沸點は $146 \sim 152^{\circ}\text{C}$ である。

(2) 急性症状並びに致死量の問題

大橋・君塚兩氏の報告に依ると微量にて致死作用があり、経口投与の場合でも作用の發現は迅速で劇しい。其の詳細は兩氏の報告を参考とせられる事を望む。尙お當試験所にて苗村囑託の試みた所でも同様であり、且つ東京大学医学部生化学教室の報告の致死量も同一數字を示してゐる。

以上の所見よりしてロダン醋酸エチルエステルは將來醬油防黴剤等として食品に混ざる様な事が行われる場合は、慢性中毒問題とは別個に急性中毒を防ぐ立場から之が取扱いや操作等に関しては充分周到な用意が必要である事を強調したい。一度之を誤る時は由々しき事件の發生

が豫想せられる。

(3) 醤油に対する防黴力の問題

実験に際して想定した防黴力はパラオキシ安息香酸ブチルエステル、ロダン醋酸エチルエステル、ベータナフトール及び、アリール芥子油について既述の如くであつて、その防黴力比は1:5:2:1と考えたのである。之は実験開始に先立つて立てた想定であつて実際と違えば上記の実験結果も之に基いて訂正して実際の場合に則する様改めて解釈せねばならない。

最近出願者側(塚元久雄、梅田勇雄、飯倉善一郎)各氏の実験に依れば防黴力は

パラオキシ安息香酸ブチルエステル	0.01%以上
ロダン醋酸エチルエステル	0.015%以上
ベータナフトール	0.005%以上
アリール芥子油	0.005%以上

でありその防黴力比は1:6.7:2:2であつてロダン醋酸エチルエステルは実験量よりもやや少量を用いれば良かった事になり、アリール芥子油は半量でよい。今當試験所に於てはこの4種の薬剤の防黴力を比較試験中であつて之の結果は實際問題の解決に資し得るものと思ふ。

結 論

ロダン醋酸エチルエステルの醤油防黴剤として人體に及ぼす障害程度を知る目的を以て、他の醤油防黴剤と共に実験動物ラツテについて慢性中毒程度の比較実験を行つた。ラツテ慢性中毒の程度よりして醤油防黴剤の衛生上に及ぼす障害程度を推定する事を許されるならば、ラツテの成長、死亡率並びに病理組織学的変化に対する影響から考察するに、個々の觀點からは必ずしもその差は推計学上の誤差範囲を超えないが、何れの點から見ても食品衛生上醤油防黴剤としてロダン醋酸エチルエステルは、パラオキシ安息香酸ブチルエステルより有害にして、アリール芥子油やベータナフトールよりも無害であると推論せられる。但しパラオキシ安息香酸ブチルエステル、ロダン醋酸エチルエステル、ベータナフトール、アリール芥子油の醤油に対する防黴力の比は、1:5:2:1とした。

尙おロダン醋酸エチルエステルの急性中毒作用の激しさを考えると、その事故防止の爲めには餘程の注意を要する。

本研究は藥理的学方面は著者の一人横井が擔當し、病理的方面は著者の一人池田が擔當した終りに御懇篤な御指導を賜り、御校閲の勞をとられた恩師東京大学医学部藥理学教室小林教授(藥理学事項)並びに病理学教室三宅教授(病理学事項)に深謝の意を表する。

(昭和23年2月)

文 獻

- 1) 大橋茂, 君塚通雄: 醬油防黴劑ロダン醋酸エチルエステルの衛生上の害否に関する報告.
(未發表. 昭 22. 1. 31.)
- 2) 太刀川善爾: $\text{CH}_2(\text{SCN})\text{COOC}_2\text{H}_5$ 混入食餌にて飼育せる白鼠の所見 (未發表)
- 3) 小山良修: ラツテ P:5 [厚生の日本社]
- 4) 伊東幹愛: 衛生試験所彙報 36 號
- 5) Paul K. Smith & W.E. Hamburger: J. Pharm. Exp. Therap. 57, 34 (1936)
- 6) E.J. Stanton & W.R. Agricola: J. Pharm. Exp. Therap. 59, 437 (1937)

齒科補綴用合金に就て

技官 藤井正道 技術員 山内八東
 助手 堀部隆 副手 樋浦矩夫
 副手 辻楠雄

Research on Dental Alloys for Prosthesis.

Masamichi Fujii Yatsuka Yamauchi
 Takashi Horibe Norio Hiura
 Kusuo Tsuji

緒 言

齒科補綴用合金としては口腔衛生及齒科補綴の見地からも亦齒科技工操作の見地からしても貴金屬合金を使用する事が望ましい。がしかし齒科医療上、金屬を必要とする部分のその金屬に対する齒科医師の諸要求が物理的、化学的に明瞭となるに従つて、全般的で無くとも局限的にでも使用価値のある、而も貴金屬を含有しない合金を見出し之を以て代用する事は可能であり、又現下の如く金の使用が制限されるべき際には殊に必要な事である。

著者等が此等の合金に就て調査研究に當つたのは昭和7年以來の事であつて、今日迄に可成りの種類の合金が齒科界に姿を現はしたが其の中には數年ならずして姿を消したものもあり細々と姿を消さんとして消さるものもあり又今日尚ほ盛んに使用されてゐるものもある。

アルミニウム、錫等を主體とする、主として鑄造用合金は殆んどその姿を消したものであらう。

姿を消さんとしては又現はれるものには黄金色の銅合金がある。

鉄を主體とする、主として線用及鈎用合金及ニツケルを主體とする板用及線用の合金は既に10數年の年月を経て今日尚ほ盛んに使用されてゐるものである。

金代用合金としての銀合金に関しては本報第66號(昭和23年11月)に報告した如く此種の合金は數年を経過せる今日も尚ほ何等金屬学的に進歩の跡を示さずその缺點は改善されないうゝに非難されつゝも存続し、使用されつゝある状態である。而して板用としてのニツケルクロム合金板はその腐蝕試験結果よりして或は齒科技工操作上の缺點に依る口腔内爲害作用等が懸念されつゝも既に十數年來使用され今日なほ盛んに使用されつゝあり、又線用及鈎用合金としてはコバルトクロム合金は未だ殆んどその姿を見せず目下は主として鉄を主體とする18.8鋼及ニツケルクロム主體のものが使用されてゐる状態である。

又極僅かながら使用されてゐた黄金色の銅合金が再びその姿を現はし、板用、鑄造用として使用されてゐるも之が銅合金の故を以て先入主的に衛生的爲害作用の懸念よりして非難され、

一方又之等銅合金にニツケルを添加して、白色を呈した洋銀の変態である、所謂鑄造用ニツケル合金なるものが販売されてゐる。而して黄金色合金は一見して銅が主成分をなす事が判明されるが、此種の白色合金は外觀白色にして鑄造用銀合金に類似し外觀上銅を含有せざる如く見え、銅合金よりも衛生的に感ぜられる。

著者等は茲に最近當所に於て調査試験せる此等各種の齒科用合金に就て機械的試験及主として口腔衛生の見地よりして腐蝕試験を行い、その結果を總括して報告するものである。

當所に於て試験せる此等合金の件数は次に示す如きものである。

- | | | |
|-----------------------|-----|------|
| 1. 黄金色銅合金 | 板用 | 46 件 |
| | 鑄造用 | 18 件 |
| 2. 白色ニツケル—銅—亜鉛（或は錫）合金 | | 8 件 |
| 3. ニツケル—クロム合金 | | 14 件 |
| 4. 線用及鈎用合金 | | 8 件 |

實 験 之 部

試験片の採取及試験方法等はすべて日本齒科材料協会所定の齒科材料規格に於ける一般試験法に準據した。

I 腐 蝕 試 験

腐蝕試験は 1% 食塩溶液、0.05% 塩化水素溶液、1% 乳酸溶液及 0.1% 硫化ソーダ溶液中に約 37° に於て 3 日間浸漬せるものである。而して試験成績に關しては茲には主として腐蝕増減量に就て記載することとし金屬表面の変化に就ては必要な場合にのみ記載することとした。

a. 銅 合 金

第 1 表及第 2 表は板用及鑄造用銅合金の腐蝕試験成績である。

第 1 表板用銅合金の腐蝕試験成績

試験材料番號	浸漬液	1%食塩溶液 (mg/cm ²)	0.05%塩化水素溶液 (mg/cm ²)	1%乳酸溶液 (mg/cm ²)	0.1%硫化ソーダ (mg/cm ²)
1		-0.05	-1.42	-1.82	+0.17
2		-0.05	-0.38	-1.14	-0.10
3		-0.02	-0.59	-1.56	+0.14
4		0	-0.42	-1.55	-0.32
5		-0.13	-0.44	-1.73	-0.27
6		0	-1.68	-1.77	+0.35
7		-0.05	-0.88	-1.06	+0.17
8		-0.05	-1.11	-1.30	+0.46

9	-0.06	-1.41	-1.57	+0.19
10	-0.16	-1.49	-1.58	+0.08
11	-0.36	-2.37	-1.97	-0.09
12	-0.10	-2.47	-1.55	+0.24
13	+0.07	-1.22	-1.31	+0.15
14	+0.08	-1.35	-1.20	+0.14
15	-0.07	-1.15	-1.18	+0.23
16	+0.03	-1.17	-1.25	+0.34
17	+0.16	-0.90	-1.36	+0.31
18	+0.09	-0.78	-1.23	+0.43
19	-0.10	-1.41	-1.70	+0.10
20	-0.30	-1.55	-1.58	+0.10
21	-0.07	-1.40	-1.60	+0.17
22	-0.03	-0.88	-1.38	-0.10
23	0	-1.83	-1.77	+0.21
24	-0.07	-0.71	-1.50	-0.09
25	-0.17	-4.75	-1.17	+0.05
26	-0.15	-0.88	-1.01	+0.12
27	-0.08	-3.17	-1.37	-0.47
28	+0.10	-2.72	-1.25	+0.80
29	-2.70	-4.77	-1.78	+0.53
30	-0.08	-1.31	-1.79	+0.18
31	+0.06	-1.60	-2.05	+0.19
32	-0.22	-1.25	-1.76	+0.05
33	-0.06	-1.41	-1.73	+0.10
34	-0.06	-1.45	-2.01	+0.33
35	-0.09	-0.95	-1.41	+0.16
36	-0.06	-1.41	-1.57	+0.19
37	+0.03	-1.17	-1.25	+0.34
38	-0.07	-1.15	-1.18	+0.23
39	+0.08	-1.35	-1.20	+0.14
40	+0.07	-1.22	-1.31	+0.15
41	-0.10	-2.47	-1.55	+0.24
42	-0.36	-2.37	-1.97	-0.09
43	-0.16	-1.49	-1.58	+0.08
44	-0.13	-6.14	-1.16	+0.80
45	+0.12	-6.66	-0.95	+1.21
46	-0.03	-0.84	-1.47	+0.06

第2表 鑄造用銅合金の腐蝕試験成績

試験 材料番號	浸漬液 1% 食鹽溶液 (mg/cm ²)	0.05% 鹽化水素 溶液 (mg/cm ²)	1% 乳酸溶液 (mg/cm ²)	0.1% 硫化ソーダ 溶液 (mg/cm ²)
1	0	-3.83	-3.06	-0.92
2	-0.06	-3.07	-2.52	-0.03
3	-0.22	-3.14	-2.98	0
4	+0.66	-1.75	-1.44	-0.19

5	-0.10	-3.35	-2.69	-0.07
6	-0.07	-2.74	-1.42	+0.16
7	-0.14	-2.94	-1.56	+0.13
8	-0.09	-2.79	-1.63	+0.16
9	0	-2.85	-1.24	+0.48
10	-0.79	-1.84	-1.47	+0.16
11	-0.20	-1.78	-1.32	-0.03
12	-0.24	-1.83	-1.54	-0.14
13	+0.44	-1.64	-1.18	+0.13
14	-0.13	-1.49	-1.59	+0.02
15	-0.04	-2.63	-1.24	+0.30
16	0	-2.98	-1.63	-0.34
17	-0.52	-7.12	-3.29	-2.71
18	+0.12	-0.87	-1.60	+0.12

此等銅合金は特殊なものを除いて、主として銅、亜鉛、アルミニウム、錫、鉄等よりなるものであつて何れも分析の結果は亜鉛 20~40% アルミニウム 0.1~10% 残り銅よりなる銅合金である。

而して第 1 表及第 2 表よりして腐蝕試験成績は板用に於ては 0.05% 塩化水素溶液に対して減量 $6\text{mg}/\text{cm}^2$ を超えるものもあるが大體に於て $1\text{mg}/\text{cm}^2$ 程度のものであり、1% 乳酸溶液に対しては同様 $1\text{mg}/\text{cm}^2$ 程度であつて、 $2\text{mg}/\text{cm}^2$ を超えるものは殆んど無く、1% 食塩溶液に対しては $0.1\text{mg}/\text{cm}^2$ 程度である、硫化ソーダ試験に於ては、その増減量は金屬の硫化に依る変色の度合と平衡しないが本合金は変色速度に多少の違ひはあるが何れも黄褐乃至黒色に変色する。

鑄造用銅合金は殆んど板用銅合金と同程度の腐蝕減量を示してゐる。

b. 白色ニッケル-銅-亜鉛 (或は錫) 合金

第 3 表は鑄造用白色ニッケル-銅-亜鉛 (或は錫) 合金の腐蝕試験成績である。

第 3 表ニッケル-銅-亜鉛 (或は錫) 合金の腐蝕試験成績

試験材料番號	浸漬液	1% 食鹽溶液 (mg/cm^2)	0.05% 塩化水素溶 液 (mg/cm^2)	1% 乳酸溶液 (mg/cm^2)	0.1% 硫化ソーダ 溶液 (mg/cm^2)
1		+0.07	-4.49	-1.83	+0.11
2		-0.41	-4.86	-1.60	-0.75
3		0	-0.46	-1.44	+0.06
4		-0.14	-3.24	-2.08	+0.05
5		-0.21	-4.22	-2.76	+0.03
6		-0.09	-2.21	-1.04	+0.18
7		-0.80	-2.81	-0.60	+0.49
8		-0	-1.70	-0.88	+0.02

本合金は主としてニッケル、銅、亜鉛、錫、を主體とする合金であり、銅 20~45%、ニッ

ケル 10~30% 亜鉛 20~45% 或は錫 20~45% よりなる合金であり、之にコバルト、マンガン、鉄等を含有するものもある、が何れもその組成上、板にはなり難く殆んど總べてのものが鑄造専用である。而して之等の合金の分析結果を示せば第 4 表の如きものである。

第 4 表 白色ニッケル-銅-亜鉛(或は錫)合金の組成

成分 試験 材料番號	Cu	Ni	Zn	Sn	Fe	Co	Mn
1	43.2	32.4	21.8	—	2.6	—	—
2	21.8	32.4	43.2	—	3.5	—	—
3	40.6	15.2	痕跡	42.8	0.8	—	—
4	42.3	11.3	44.8	—	0.5	5.3	—
5	40.3	10.4	40.8	3.0	—	—	—
6	42.5	12.5	33.6	痕跡	2.6	—	8.5

而して腐蝕試験成績は、0.05% 塩化水素溶液に対しては減量は大体に於て $4\text{mg}/\text{cm}^2$ 程度であり、1% 乳酸溶液に対しては $2\text{mg}/\text{cm}^2$ 程度、1% 食塩溶液及 0.1% 硫化ソーダ溶液に対しては殆んど前記の黄金色銅合金と同程度である。

c. ニッケル-クロム合金板

第 5 表はニッケル-クロム合金板の腐蝕試験成績である。之等の合金は主としてニッケルよりなり、之にクロムを 10% 前後添加したものが主體をなすものである。

第 5 表 板用ニッケル-クロム合金の腐蝕試験成績

浸漬液 試験 材料番號	1% 食鹽溶液 (mg/cm^2)	0.05% 鹽化水素 溶液 (mg/cm^2)	1% 乳酸溶液 (mg/cm^2)	0.1% 硫化ソーダ 溶液 (mg/cm^2)
1	-0.03	-1.27	-0.90	0
2	0	-3.64	-2.20	0
3	-0.08	-2.83	-3.20	0
4	0	-0.21	-0.64	0
5	-0.14	-2.18	-2.04	0
6	-0.08	-1.73	-1.54	+0.10
7	-0.10	-2.10	-2.05	+0.03
8	-0.12	-1.44	-0.95	-0.15
9	-0.06	-1.32	-0.52	-0.11
10	0	-0.88	-0.28	+0.03
11	+0.06	-1.44	+0.09	+0.21
12	0	-0.27	-0.10	-0.03
13	-0.10	-1.04	-1.59	-0.03
14	0	-3.11	-2.44	0

而して腐蝕試験成績は 0.05% 塩化水素溶液に対して減量、 $1\text{mg}/\text{cm}^2$ 以下で $0.21\text{mg}/\text{cm}^2$ のものもあり、又逆に $3\text{mg}/\text{cm}^2$ を超えるものもある。1% 乳酸溶液に対しても亦同様に減量のものもあり、 $3\text{mg}/\text{cm}^2$ を超えるものもある。

又 1% 食塩溶液及 0.1% 硫化ソーダ溶液に対しては殆んど侵されないものもあり、之等に対しては何れも大體に於て 0.1mg/cm² 以下であつて変色するものは殆んど無い。

d. 線用及鈎用合金

現在市販されてゐるものは殆んどその組成は 18.8 銅か或はニッケルクロム或は之にコバルト、鉄、マンガン等を添加したものであり、當所に於て試験せるものも亦然りである。

第 6 表は此等線用及鈎用合金の腐蝕試験成績である。

第 6 表 線及鈎用合金の腐蝕試験成績

試験材料番號	1% 食塩溶液 (mg/cm ²)	0.05% 鹽化水素溶液 (mg/cm ²)	1% 乳酸溶液 (mg/cm ²)	0.1% 硫化ソーダ溶液 (mg/cm ²)
1	+0.06	-2.41	-2.30	+0.16
2	+0.03	-2.09	-1.49	+0.10
3	-0.05	-0.90	-0.30	-0.27
4	+0.09	-2.22	-1.88	+0.06
5	0	-2.29	-0.07	0
6	0	-0.69~0.96	-0.42	0
7	+0.07	-0.28	-0.14	-0.07
8	0	-0.03	-0.03	+0.06

而して腐蝕試験成績は、0.05% 鹽化水素溶液に対しては減量 1mg/cm² 以下のものもあり 2mg/cm² 程度のものもある。1% 乳酸溶液に対しても亦 1mg/cm² 以下であつて 0.03~0.07mg/cm² のものもある。1% 食塩溶液及 0.1% 硫化ソーダ溶液には殆んど侵されないものがあり、腐蝕の程度は何れも殆んど 0.1mg/cm² 以下であり之により金屬表面の変色するものは殆んど無い。

機 械 試 験

上記の腐蝕試験せる各種合金中機械試験を行ひ得るものに付き試験を施行した結果第 7 表に示す如き成績を得た。

第 7 表 機械的性質

試験材料		黃金色銅合金 (板用)	ニッケルクロム合金板	線用及鈎用合金							
				1	2	3	4	5	6	7	7'
抗張力 (kg/cm ²)	熱處理せざるもの	—	—	84.5	118.4	97.5~100.09	—	102.4	—	96.2	73.4
	熱處理せるもの	27~40	40.4~55.5	—	73.7	—	57.4	—	—	61.6	52.3
伸張度 (%)	熱處理せざるもの	—	—	5	6.7	3.7~5	—	0.67	—	5	7.3
	熱處理せるもの	20~30	26~30.5	—	27.6	—	24.7	—	—	43.5	24.6

即ち機械的性質は黄金色銅合金の板用のものは何れも抗張力 50kg/mm^2 以下であり、伸張度は 15% 以上である。

此の成績よりして、齒科技工上の操作に於て、此等の銅合金は K22 金合金よりは幾分硬く弾力はあるが大體に於て金合金同様に加工する事が容易である。

又ニツケルクロム合金板に於ても稍同様の事が云ひ得られる。即加工は金合金程には容易でない。

次に線用及鈎用合金に於ては何れも加工のまゝの原品は抗張力大であり、伸張度は小である。しかし之を 850° にて 30 分間熱處理せるものは何れも抗張力は低下し、伸張度は増大する。例へば第 7 表中、7 番及 7' 番の 18.8 鋼線に於ては、原品の抗張力 96.2kg/mm^2 及 73.4kg/mm^2 は 850° にて 30 分間の熱處理によつて夫々 61.6kg/mm^2 及 52.3kg/mm^2 に下り伸張度は逆に 5% 及 7.3% のものが夫々 43.5% 及 24.6% と増大してゐる。

ニツケルクロム線に於ても同様原品のまゝの抗張力 102.4kg/mm^2 は 57.4kg/mm^2 に下り、伸張度 0.67% は 24.7% に増大し、ニツケルクロムコバルト線に於ては原品の抗張力 118.4kg/mm^2 は 73.7kg/mm^2 に下り、伸張度 6.7% は 27.6% に増大してゐる。

又此等の線用及鈎用合金は何れも白金加金の如く熱處理による硬化は望み得ない。

結 論

本試験は齒科補綴用合金中貴金屬合金以外のもので既に十數年來使用されてゐる合金及最近市販されつゝある合金等に関して、物理的、化学的に比較検討せんが爲めに施行したものである。而して口腔内衛生の見地よりして腐蝕試験に就て比較検討するに、0.05% 塩化水素溶液及 1% 乳酸溶液に対して 37° 、3 日間に黄金色銅合金は板用及鑄造用共に腐蝕の特に著しいものを除いて大體に於て約 $1\sim 2\text{mg/cm}^2$ の腐蝕をなし、白色ニツケル銅-亜鉛（或は錫）合金は前者に対しては約 $3\sim 4\text{mg/cm}^2$ 、後者に対しては約 2mg/cm^2 の腐蝕をなし、ニツケルクロム合金板及線は共に 1mg/cm^2 以下のものもあり之を超えるものもある。

今茲に比較の爲めに銀合金の腐蝕試験成績を再録すれば第 8 表の如きものである。

第 8 表中 1~6 番迄は板用銀合金、7~10 番迄は鑄造用銀合金である。即ち板用に於ては 0.05% 塩化水素溶液及 1% 乳酸溶液に対する腐蝕は殆んど零に近い、即ち板用銀合金は口腔内衛生上、爲害作用は考へられないが、しかし硫化による変色は著しく何れも褐色乃至黒色に変色するの缺點は防ぎ得ない。又鑄造用銀合金中 9 及 10 番の如きは 0.05% 硫化水素溶液及 1% 乳酸溶液に対して腐蝕減量 2mg/cm^2 を超えてゐる。

鑄造専用の 9 及 10 番の銀合金の組成は、銀 64.4~69.5%、亜鉛 0~4.61%、錫 2.08~24.5%、カドミウム 7.0~10.28% である。

試験材料番号	1% 食鹽溶液 (mg/cm ²)	0.05% 鹽化水 素溶液(mg/cm ²)	1% 乳酸溶液 (mg/cm ²)	0.1% 硫化ソーダ 溶液 (mg/cm ²)
1	0	0	0	+0.07
2	0	0	0	+0.07
3	0	0	0	+0.07
4	-0.07	-0.03	-0.07	+0.03
5	+0.03	0	0	+0.06
6	-0.03	-0.06	-0.06	+0.49
7	0	-0.09	-0.92	-0.40
8	0	-0.13	-0.06	0
9	+0.12	-2.33	-2.52	+0.11
10	+0.10	-2.14	-2.50	+0.13

然るに本合金は硫化による変色は板用銀合金程著しく無く、口腔内で幾分変色はあるがその程度が著しく目立たない爲めに一時は盛んに使用されてゐたが、その機械的性質が脆弱なる爲めと熔融温度が低い爲めに、その応用範囲が狭く、加ふるに貴金属としての煩はしさからして殆んど使用されず、最近之を代用し而も脆弱性を改善し、弾性を有するものとして所謂白色鑄造用合金=ツケルー銅-亜鉛(或は錫)或は之にコバルト、マンガ、等を入れたものが出現したのである。

然るにその腐蝕試験成績よりすれば腐蝕減量は鑄造用銀合金と同程度か又はそれ以上であつて、黄金色の銅合金よりも著しい。たゞ硫化による変色の程度が黄金色銅合金よりも比較的の低い爲めに鑄造用銀合金に代つて使用されてゐる状態である。しかし腐蝕試験成績より推察するに永く口腔内で固有の色沢を保つ事は不可能であり、遅かれ速かれ灰色に変色するものが大部分である。

次に黄金色銅合金は之等の白色鑄造用合金よりも概して腐蝕減量は僅かながら少いのであるが、硫化による変色は防ぎ得ず褐色乃至黒色に変色する。

口腔内に於ても同様に黄褐色乃至黒褐色に変色する。

以上の試験成績及臨床所感よりすれば、腐蝕減量 1mg/cm² を超えるものであつても変色の程度が著しく無いもの或は変色の速度の遅いものは或程度使用されてゐる傾向があるが、かゝる合金は例へば本試験に於ける硫化試験のみは硫化の程度僅かであつて試験に適合するも口腔内に於ける長期間の腐蝕には耐え得ず腐蝕変色し遂に使用されざるに至るものである事はアルミ=ニウム主体、錫主体の合金が次第にその姿をひそめた事よりして推察されるものである。

たゞ第 3 表中 3 番及 8 番の如き合金は腐蝕減量が可成り僅かであるが 3 番は脆弱にして弾性に乏しい。

然るに=ツケルークロム合金に於ては硫化による変色は殆んど無く、その點以上の諸合金よりも遙かに優秀である。

而して他の試薬による腐蝕減量が例へば 0.05% 塩化水素溶液に対して $1\text{mg}/\text{cm}^2$ 以下であつて $0.21\sim 0.27\text{mg}/\text{cm}^2$ のものもあり、 $3\text{mg}/\text{cm}^2$ を超えるものもあり。1% 乳酸溶液に対しても同様に $1\text{mg}/\text{cm}^2$ 以下のものもあり、 $3\text{mg}/\text{cm}^2$ を超えるものもある。かかる酸類による腐蝕減量の多いものは口腔内に於て暗灰色に変色するものであり、本合金中既に十數年來使用されてゐるものは第 5 表中 10 番及 12 番であつて、此等の合金が同種類の合金中で最も腐蝕減量の僅かな事を見ても理解される事である。

此等の合金は口腔内に於ても殆んど変色してゐない。

以上の事柄からして推察するに本試験に於て硫化ソーダ試験に於て殆んど変色せず、他の試薬に対する腐蝕減量が $1\text{mg}/\text{cm}^2$ 以下のものは大体に於て口腔内に於て変色せずと云ふべきであらう。

勿論口腔衛生の見地からしても腐蝕減量は $1\text{mg}/\text{cm}^2$ 以下である事は望ましい事である。

次に又比較検討の爲めに銀アマルガム合金の腐蝕減量を示せば第 9 表の如きものである。

第 9 表 銀アマルガム合金の腐蝕試験成績

試験材料番號	1% 食鹽溶液 (mg/cm^2)	0.05% 鹽化水 素溶液(mg/cm^2)	1% 乳酸溶液 (mg/cm^2)	0.1 硫化ソーダ溶 液 (mg/cm^2)
1	+0.52	+0.07	-2.37	-2.73
2	+0.28	-0.44	-2.14	-0.57
3	+0.92	-0.34	-3.25	-0.29
4	+0.57	+0.52	-1.39	-0.32

銀アマルガム用合金はその組成は銀 65% 以上、銅 6% 以下亜鉛 2% 以下、錫 25% 以上よりなる合金の粉末状細片であつて之を製造者の指示に従ひ水銀にて練和し試験片を作製し腐蝕試験を施行したものである。

本合金は硫化により変色し、1% 乳酸溶液に対する腐蝕減量は $2\text{mg}/\text{cm}^2$ を超えるもの多く、その腐蝕試験成績は黄金色銅合金以下である。がしかし更に白色鑄造用ニッケル-銅-亜鉛 (或は錫) 合金の多くのものは銀アマルガム合金よりも劣る。

即ち衛生上の見地よりして此等諸合金の腐蝕試験成績を以て検討するに、鉄主体の 18.8 銅ニッケル-クロム合金等は其他のものよりも概して優秀である。しかし各系の合金中にも良いものもあり比較的劣るものもある故に漠然と何々系の合金は善し或は悪しと推断する事無く夫々試験の上その成績如何によつて判断すべきであり、又此等の試験成績を参考の上で歯科医師は其等合金の使用範囲及量を誤まらない様注意すべきである。

次に機械的性質は殆んど問題となるべきもの無いが、既に本報第 59 號 (昭和十七年三月) に記載せる如く抗張力 $50\text{kg}/\text{mm}^2$ を超えず、伸張度 15% 以上のものは板用としての使用に適し、抗張力 $60\text{kg}/\text{mm}^2$ 以上、伸張度 15% 以上のものは鈎用としての使用に適すものである。

る。

而して米國齒科醫師會規格第 7 號，齒科用合金線規格によれば補綴及矯正用合金線に對して機械的性質は，爐中冷却即ち此の場合硬化せる場合，抗張力 105.5kg/mm^2 以上，降伏點 87.9kg/mm^2 以上，伸張度 4% 以上但し伸張度は急冷即ち此の場合軟化せる場合 15% 以上なる事を要求してゐる，但し此の規格は金合金に就ての規格である。

しかし當所に於て試験せる上記の合金線は何れも金合金では無く熱處理による硬化は望み得ず，加工のままの機械的性質をそのまま利用するものであり，之が爲めには鐵著其他による加熱により機械的性質の著しく低下しない事が望ましい。かゝる事柄からして此等の合金線を使用する場合は出來得れば鐵著後に其の後の屈曲等の齒科技工操作を加ふべきである。

(昭和 24 年 6 月)

中毒小麦粉の生物學的研究 (第2報)

技官 平山重勝 技官 山本昌木

Biological Studies on the Poisonous Wheat Flour (2)

Shigekatsu HIRAYAMA and Masaki YAMAMOTO

緒 言

昭和 21 年 8 月より 10 月に亘つて、東京都内に發生した小麦粉の集團中毒の原因に就ては、培養の結果に依るも、細菌の存在を認めず、アトロピン或はコリン中毒とかいわれたが判然としなかつた。³⁾ 筆者等は中毒小麦粉、同玄麦、製粉の際出來た麩等から *Fusarium* 屬菌を分離し、その形態、培養上の性質、動物試験等を調査した。¹⁾ 本報告に於ては、これら *Fusarium* 屬菌の小麦穂に対する病原性に就て行つた実験結果を述べる。尙実験を援助された湯川良夫、廣田修一兩氏、藤本京子、大坂他家子、古藤カヨ三女史に感謝する。

實驗材料及び方法

供試菌は次の如くである。

- | | |
|--|--------------------------|
| F ₁ , F ₂ | 無消毒玄麦から分離 |
| F ₄ , F ₁₂ , F ₁₃ | 表面消毒を行つた玄麦から分離 |
| F ₇ , F ₈ , F ₉ | 製粉時破碎した玄麦から分離 |
| F ₁₁ | 麩から分離 |
| GM ₅ , GM ₃ | 中野 6 丁目町会配給の中毒小麦粉から分離 |
| S ₂ , S ₁ | 杉並区天沼 1 丁目町会配給の中毒小麦粉から分離 |
| Y ₁ | 和歌山縣日高郡矢田村産小麦穂より分離 |

Waksman 培地に上記の菌を植付け、28°C に 14~20 日間培養したものより滅菌蒸溜水で分生孢子懸濁液を作り、滅菌ガーゼで濾過、之を注射器又は霧吹で開花期前後の小麦穂に接種を行つた。尙注射器で接種したものは分生孢子懸濁液を 1 滴宛穎の内部に滴下し、紙袋で覆つた。

實 驗 結 果

〔昭和 22 年〕 5 月 14 日霧吹で圃場に育成した小麦に接種試験を行い、7 月赤黴病の病徴を示したものを調査したが、第1表のような結果を得た。

病原性の比較的強かつたのは F₄, F₆, F₇, F₉, F₁₁, F₁₂ Y₁, GM₆ 等であつた。

〔昭和 23 年〕 5 月 8 日及び 18 日、注射器で、鉢植した小麦及び開花中又は乳熟期の小

第 1 表 中毒小麦其他より分離した *Fusarium* 属菌の小麦穂に対する病原性

	F ₁	F ₄	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	F ₁₁	F ₁₂	Y ₁	GM ₅	GM ₆	S ₂
接種穂總數	2386	4417	1914	1833	2089	2123	2641	2474	2087	2484	3104	1105
罹病穂數	6	20	20	6	2	17	9	25	10	1	7	0
罹病率	0.25	0.45	0.52	0.33	0.10	0.80	0.34	1.01	0.48	0.04	0.23	0

穂に接種を行い、5月11日には圃場に懸濁液を霧吹で撒布した。

前者は7、14日後に調査を行ったが、何れのものも、小麦の穂に対して病原性を有するが、特に著しい病徴を示したものはF₆、F₁₂、F₁₃、GM₅、GM₆で、F₇、F₈、F₉も可成り明らかな病徴を呈するが、F₁、F₂、F₄、S₂、S₁は、あまりはつきりした病徴を示さない。F₁₂とF₁₃とは略々類似の病徴を示し、内外穎の周辺が赤色～赤褐色を呈するが、F₁₃の方が、病原性は強いようであった。GM₅、GM₆は類似の病徴を示す。内外穎の周辺は赤褐色を帯びるがF₁₂、F₁₃程はつきりしない。又14日後には鮭肉色の分生胞子を露出する。

圃場に撒布接種を行ったものも略々同様の結果を得たが、注射器で接種したものの程判然と病徴はあらわれなかつた。尙観察の全期間を通じて、子嚢殻の形成は認められなかつた。

圃場で接種を行ったものを、脱殻調製し、表面消毒を行い、内部に潜在する菌の分離を行ったが、その結果は次表の如くである。

第 2 表 *Fusarium* 属菌の接種を行った小麦玄麦の内部より分離した菌類

		F ₁	F ₂	F ₄	F ₆	F ₇	F ₉	F ₁₁	F ₁₂	F ₁₃	GM ₅	GM ₆	Y ₁	S ₂	S ₁
第 1 回	分離菌總數	3	8	2	10	4	8	13	6	2	3	4	6	14	11
	<i>Fusarium</i>	2	3	2	5	2	2	3	3	2	2	3	4	9	4
	<i>Alternaria</i>	1	0	0	5	2	2	1	2	0	0	0	2	2	3
	其 他	0	5	1	0	0	4	9	1	0	1	1	0	3	4
第 2 回	分離菌總數	12	5	5	9	5	6	7	3	1	3	7	3	8	0
	<i>Fusarium</i>	5	2	1	4	3	2	4	1	1	1	5	1	3	0
	<i>Alternaria</i>	0	1	0	1	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0
	其 他	7	2	4	4	0	4	3	2	0	2	0	2	5	0

〔昭和24年〕 本年も昨年と同様、小麦穂に5月2、4日注射器で、又5月9、11日霧吹で圃場に撒布接種を行った。

何れのものも、5月12日迄は変化を認めなかつたが、5月13、14と降雨が続き、5月17日には注射器で接種を行ったものは病徴を表わした。その調査結果は第3表の通りである。

第 3 表 中毒小麦其他より分離した *Fusarium* 属菌の小麦穂に対する病原性

5 月 17 日 調 査	<p>F₁ 殆ど變化がないが小穂の所々淡赤色に變じた部分がある。</p> <p>F₂ 殆ど變化がないが小穂の所々白色菌絲が表面にみられる。</p> <p>F₄ 殆ど變化がないが、小穂の所々内外穎の周縁部淡赤褐色に變ず。</p> <p>F₆ 殆ど變化がないが、小穂の所々内外穎の邊縁極く僅か變色。</p> <p>F₇ 同 上</p> <p>F₈ 同 上</p> <p>F₉ 内外穎の邊縁より薄く綿毛狀で淡鮭肉色の菌絲をみる。</p> <p>F₁₁ 相當明らかな病徴を認める。穎の内部赤色に變ずる。内外穎の縁邊部鮭肉色の菌絲が蔓延し、同色の分生胞子も見受けられる。</p> <p>F₁₂ 相當著しい病徴を呈する。白色～鮭肉色の菌絲が穎の表面を覆い、小穂の中央部褐色に變じ、所々から鮭肉色の分生胞子を露出する。</p> <p>F₁₃ 相當著しい病徴を呈する。小穂の所々褐變し鮭肉色の胞子を露出する。</p> <p>GM₅ 大した變化を認めないが、内外穎の邊縁部若干赤色に變ずる。</p> <p>GM₆ 同 上</p> <p>S₂ 殆ど變化をみない。</p> <p>S₄ 同 上</p> <p>Y₁ 同 上</p>		
	5 月 24 日 調 査	<p>F₁ 穎の膜を通じて内部が石竹色を呈するものがある。</p> <p>F₂ 殆ど病徴を表わさないが所々穎の内部が石竹色を呈する。</p> <p>F₄ 殆ど病徴を表わさないが所々内外穎の周縁部淡赤色に變ずる。</p> <p>F₆ 所々鮭肉色の分生胞子を露出穎の變色をあまり見受けられない。</p> <p>F₇ 所々より鮭肉色の分生胞子を露出、穎の變色はあまり見受けられない。</p> <p>F₈ 所々穎が石竹色に變色。</p> <p>F₉ 所々から鮭肉色の分生胞子を露出。</p> <p>F₁₁ 相當著しい病徴を呈する。内外穎の邊縁褐色に變じ鮭肉色～赤色の分生胞子を露出</p> <p>F₁₂ 最も著しい病徴を示す。持種した穎の大部分黄褐色に變じ表面に鮭肉色の分生胞子を露出する。</p> <p>F₁₃ F₁₂ と殆ど同じ病徴であるが、F₁₂ よりも輕微である。</p> <p>GM₅ 穎の所々橙赤色に變ずるが、それほど判然としない。</p> <p>GM₆ 内外穎の邊縁部褐色に變じ所々から白色～鮭肉色の分生胞子を露出する。</p> <p>S₂ 所々黄褐色に變色、分生胞子の形成はわからない。</p> <p>S₄ 殆ど病徴を示さないが、一二ヶ所淡褐色に變じた部分がある。</p> <p>Y₁ 穎の所々橙赤色に變ずる。</p>	
		5 月 31 日 調 査	<p>F₁ 穎の變色は認められないが、所々鮭肉色の分生胞子を露出する。</p> <p>F₂ 同 上</p> <p>F₄ 穎の變色は認められないが、所々帯赤色の分生胞子を露出する。</p> <p>F₆ 穎の先端部に鮭肉色の分生胞子を露出。</p> <p>F₁ 穎の先端部に帯赤白色の分生胞子を露出。</p>

5 月 31 日 調 査	F ₈ 病徴は、さほど著明ではないが、穎の先端部に白色~帯状白色の分生胞子を露出するが、所々穎の褐變がある。
	F ₉ 所々鮭肉色の分生胞子を露出する。
	F ₁₁ 内外穎の周縁、褐色に變じ、この部分に鮭肉色の分生胞子を露出する。
	F ₁₃ 穎の變色著しく鮭肉色の分生胞子を露出する。
	F ₁₃ 同上
	GM ₅ 鮭肉色の分生胞子を露出するが、穎の變色はさほど判然としない。
	GM ₆ 内外穎の周縁部に變色があり、鮭肉色の分生胞子を露出する。
	S ₂ 穎は黄褐色に變じ特に内外穎の周縁部に於て著しい。
	S ₄ 内外穎の周縁部黄褐色に變じたものが若干あるが、胞子の露出は認められない。
	Y ₁ 穎の所々橙赤色に變ずる。

標準区は最後迄變化が認められなかつた。

尙圃場に霧吹で撒布接種したものは、5月24日 F₁₂, F₁₃ に穎の赤褐色に變じたものが若干認められた。

又觀察の全期間を通じて、何れのものにも子囊殻の形成は認められなかつた。

以上の実験結果より見るときは、F₁₂, F₁₃ は最も病原性が強く、病徴も *Gibberella saubinetii* による赤徴病のそれに類似する。次いで GM₅, GM₆、次に F₁₁, S₂ の順序で F₇, F₈, F₉ 等は比較的弱い病原性を示すが、F₁, F₂, F₄, S₄ 等は、殆ど病原性はないものようである。

考 察

F₁₂, F₁₃ はその培養基上の性質が、*Gibberella Saubinetii* に類似していたのであるが、今回の接種試験の結果もその病徴が、*G. Saubinetii* の場合に酷似する。GM₅, GM₆ もかなり強い病原性を示すが、F₁₂, F₁₃ とは全く異つた病徴である。F₁₁, S₂ も病徴を示したが、F₁, F₂, F₄, S₄ 等は殆ど病原性はないものようである。逸見・瀬戸・池屋等によると(2)、稻馬鹿苗病菌、赤徴病菌 (*Gibberella Saubinetii* (MONT.) SACC.) は兩菌共に稻稈に病原性を示すが、其の被害稈は必ずしも赤徴病状を示さないという。筆者等は赤徴病徴を示したのもも又之を明瞭に示さないものも *Fusarium* 菌を接種した小麦の玄麦から *Fusarium* 菌を再分離する事が出来た。逸見・瀬戸・池屋²⁾によると、稔実外觀共に異常のない玄米組織中からも *Fusarium* 菌を容易に分離し得るといふ。

以上の結果より、中毒小麦から分離された *Fusarium* 菌と赤徴病とは關聯性があるといつても過言ではないように思われる。

摘 要

本報告に於ては、中毒小麦粉、同玄麦、製粉の際出来た麩等から分離した *Fusarium* 属菌

の小麥穂に対する病原性に関する試験結果に就て述べた。これらの *Fusarium* 属菌は何れも小麥穂に対し、病原性を有する事が明らかとなつた。F₁₂, F₁₃, > GM₅, GM₆, F₁₁, S₂ > F₇, F₈, F₉ > F₁, F₂, F₄, S₄ の順序で病徴をあらわし、ことに F₁₂, F₁₃ の病徴は *Gibberella Saubinetii* による赤徴病のそれに酷似する。又病徴を判然と示さないものも、その内部にはやはり *Fusarium* 属菌が潜在する。(昭和 24 年 6 月 10 日)

引 用 文 獻

- (1) 平山重勝・山本昌木：中毒小麥粉の生物学的研究(第 1 報)，衛生試験所彙報 第 66 号：85~98, 1948.
- (2) 逸見武雄・瀬戸房太郎・池屋重吉：稻馬鹿苗病の研究 第 2 報，稻開花期に於ける馬鹿苗病及び赤徴病の感染に就て，植物病害研究，第 1 輯：99~108, 1936.
- (3) 山田康：中野穀粉集團中毒に就て，綜合医学 3 (19)：587~588, 1946.

ピリジン及びキノリンの γ -置換体の 合成に関する研究

技官 板 井 孝 信

Studies on the Syntheses of γ -substituted Pyridine and Quinoline

Takanobu Itai

目 次

緒 言

第1章 Pyridin- 及び Chinolin-N-oxyd の γ -位ニトロ基のイオン反応 補遺

第2章 4-Nitropyridin-N-oxyd 及び 4-Nitrochinolin-N-oxyd に対する酸ハロゲン酸の反応

第3章 4-Chloropyridin-N-oxyd の交換分解

第4章 4-Chloroquinolin-N-oxyd の交換分解

第5章 Pyridin-, Chinolin-N-oxyd の γ -位 -OR, -O ϕ , -S ϕ 基の活性

第6章 γ -位 Arylsulfon 誘導体の合成

結 論

緒 言

1943年落合教授及び其協力者は Pyridin-N-oxyd をニトロ化すると極めて好収量で 4-Nitropyridin-N-oxyd を生じ、且 2-Nitropyridin を副生する事を発見された。之は直ちに Chinolin-N-oxyd にも適用されて、之を極めて好成績で 4-Nitrochinolin-N-oxyd を主反応成績体として得て居る。此 γ -位の Nitro 基は其後の研究から極めて反応性に富み他の基に誘導し得る許りでなく置換し得る事が明らかにされた。即ち還元されては⁴⁾ Amino 基となり、之は更に種々の基に変化されるし、又 Natriumalkoholat, Natriumphenojat, Amin 等を反応させれば γ -位に Alkoxy-, Phenoxy-, Amin 基の入つたものが得られる。⁶⁾⁷⁾ 又 4-Nitrochinolin-N-oxyd に於ても Natriumalkoholat と反応させて γ -Alkoxy- 体を得て居る。⁸⁾

著者は落合教授御指導の下に此ニトロ基のイオン反応、酸ハロゲン酸に対する反応を吟味し其結果得られた γ -置換ハロゲン化合物、Alkoxy-, Phenoxy-, Thiophenoxy- 体の γ -位置置換基の活性を吟味するに何れも活性に富み他の基と交換し得る事を明らかにし、ピリジン及びキノリン核の γ -位に各種の置換基を導入する合成路を開拓する事に成功した。之等の方法は医薬品の合成に利用価値を有するので其第一着手として10種の γ -置換スルホン化合物を比較的容易に合成した。之等の化学療法剤としての試験結果は別途発表の豫定である。以下6章に分つて之等の実験結果を記述する。

第 1 章 Pyridin-及びChinolin-N-oxydの γ -位ニトロ基のイオン⁸⁾反應補遺

落合, 堅田⁶⁾は 4-Nitropyridin-N-oxyd と Natriumalkoholat, Phenolat, Amin の交換分解を吟味し前 2 者に於ては好收率を以て γ -Alkoxy-, γ -Phenoxxy- 体を得て居り, Amin に於ても僅か乍ら交換の起る事を認め⁷⁾た. 又堅田は更に種々の Alkoholat, Phenolat に就て反應を吟味して居る.

一方, 落合, 石川, 崔⁸⁾は 4-Nitrochinolin-N-oxyd と Natrium-äthylat の反應を行い 4-Aethoxychinolin-N-oxyd を得て其のニトロ基の位置を定めて居る. 著者はそれに引き続き 4-Nitropyridin-N-oxyd と Natriumthiophenolat, Amin (Mcrpholin) との反應, 及び 4-Nitrochinolin-N-oxyd と Natriumphenolat, Natrium-thiophenolat 及び Amin との反應を吟味した.

4-Nitropyridin-N-oxyd を熔融 *p*-Thicresol 中 Natriumthiocresolat と水浴溫度で反応さ

塩基	板 晶 Fp 80~82°	筒	針 晶 Fp 103~4°
Pikrat	針 晶 Fp ca. 142°	針 晶 Fp 168°	柱 晶 Fp 151,5~3,0°
塩基	針 晶 Fp 87~90°	筒	筒 KPo ⁰² 145~160° KPo ⁰¹⁵ 200~4°*
Pikrat	長針 晶 Fp 168~9°	長針 晶 Fp 203~5°	長針 晶 Fp 222~4°

* 此 2 溜分共同じ Pikrat を與える. 前者は反應中脱酸素を起したもので後者は減壓蒸溜中 200° 附近 (浴) に加熱された爲脱酸素を起したものと思われる.

せると亜硝酸ソーダを析出して γ -(*p*-Thiocresyl-)pyridin-N-oxyd を約65%の收得率で得る。

Amin として Morpholin を取り 150° に加熱すると γ -Morpholinopyridin-N-oxyd を生ずる。然し副反応多く Pikrat として証明し得たのみである。

4-Nitrochinolin-N-oxyd を Phenol 中 Natriumphenolat と水浴に加熱すると 4-Phenoxychinolin-N-oxyd を生ずるが、此反応を無水酒精中に行うと更に容易に反応が進行する。然し後者の場合は 4-Phenoxy 体 80.7% の外に 4-Aethoxy 体を 14.8% 傍生した。

同様 Thiophenol 中 Natriumthiophenolat を作用させると極めて徐々に反応して 4-Thiophenoxy- 体を生ずる。收得率約 50%、副産物として 4-Thiophenoxychinolin が Pikrat として取出された。此際酒精溶液中に反応を行うと 4-Thiophenoxychinolin-N-oxyd のみ 90.8% の得量で生じ Aethoxy 体は少しも得られなかつた。

Morpholin とは 150~160° で反応して 62% の收率で 4-Morpholinochinolin を得る。

以上 Pyridin- 又は Chinolin-N-oxyd とも 4-位のニトロ基は Alkoxy, Aryloxy, Arylthio 及び Amin 基と置換可能であるが Pyridin 系に於ては Amin と反応し難く副反応を起すに反し Chinolin 系に於ては円滑に反応を起す差異が認められる。

次に上記の反応により得られた γ -置換体の性質を前頁に一括した。

第 2 章 4-Nitropyridin-N-oxyd 及び 4-Nitrochinolin-N-oxyd に對する

酸ハロゲン⁸⁾⁹⁾ニドの反應

4-Nitropyridin-N-oxyd を酸塩化磷と 70° に加熱すれば亜硝酸ガスを發生して約 70% の收率で 4-Chlorpyridin-N-oxyd を得る。本品は無色鱗片晶 (Aceton), 無色針晶 (醋エス) Fp 170° (發泡)である。更に反応条件を強めて 100° 10 時間, 又は 17 時間加熱すると 4-Chlorpyridin-N-oxyd の收率は夫々 64% 又は 22% に減退し 2,4-Dichlorpyridin (Kp₂, 76~78°) を約 20~5% の收率で得る。之は Natriumäthylat と封管中に加熱して Diäthoxypyridin を与える事により証明した。此外に毛状晶 (メタノール) Fp 231° を得た。Beilstein 反応陽性, 塩化鉄で呈色しないで C 39.2%, H 1.7%, N 10.3% を与え接觸還元で脱ハロゲンするが判然とした物質を捉み得なかつた。4-Nitropyridin-N-oxyd 10g より 0.1g 位なので之以上精査しなかつた。**

上記の反応に於て酸塩化磷の代りに Acetylchlorid を用うれば 90% の收量で 4-Chlorpyridin-N-oxyd を生成し、且殆ど精製を要しない純度を有する點でも最好適な合成法である。

** 藥雜. 65, 70 に於て著者は Fp 74.50° の針晶を得て之を 4,4'-Dichloridpyridyläther (2,2') のような物質ではないかと推定したが其後の吟味で此物は捕捉出来なかつた。

** 此 Fp 231° の毛状晶は 4-Nitropyridin-N-oxyd 製造の際 2-Nitropyridin の外に副生する Fp 3° の鹽化鉄に呈色する物質 C₁₀ H₈ N₂ O₃ (落合: 化學の研究第 2 集 4 頁) に何か関連あるように思われる。

此際も Beilstein 反応を示す油, 塩化第二鉄で呈色する針晶を捉えたが餘り少い爲精査しなかつた。

同様の反応を 4-Nitrochinolin-N-oxyd に行うと Pyridin に於けるより活性大で既に冷時に反応する事が認められる。⁹⁾

先づ 4-Nitrochinolin-N-oxyd と酸塩化磷は 0° 附近で反応し主として 4-Chlorchinolin-N-oxyd を生ずるが此外に 2,4-Dichlorchinolin¹¹⁾ と 4-Chlorcarbostyryl¹¹⁾ を副生する。4-Chlorchinolin-N-oxyd は黄色針晶 (Aceton) Fp 128° で 4-Aminochinolin-N-oxyd の Sandmeyer 反応⁵⁾によつて得たものと混融して降下がなかつた。又 4-Chlorcarbostyryl は接觸還元により 2-Carbostyryl を得る事により確めた。反応温度の上昇により 4-Chlorchinolin-N-oxyd の収量が減退し, 2,4-Dichlorchinolin の得量が增大するし反応時間を長くすると 4-Chlorcarbostyryl を多く生成する。*

五塩化磷, Surfurylchlorid の併用も 2,4-Dichlorchinolin を多く生成する許りであつた。

Surfurylchlorid 中には 4-Nitrochinolin-N-oxyd は難溶であるが少し加温すると反応して大部分 2,4-Dichlorchinolin となり極少量の 4-Chlorchinolin-N-oxyd 及び 4-Chlorcarbostyryl が得られる。

Benzoylchlorid とは 0° で反応して主反応物として 4-Chlorcarbostyryl が得られ少量の 4-Oxychinolin-N-oxyd が得られた。此外極少量の芳香油を得たが精査しなかつた。

Acetylchlorid とは冷時既に激しく反応して約 83% の収率で 4-Chlorchinolin-N-oxyd を生成し副産物の生成を認めない。之も製法として優秀である。

四塩化錫とは煮沸しても全然反応しなかつた。

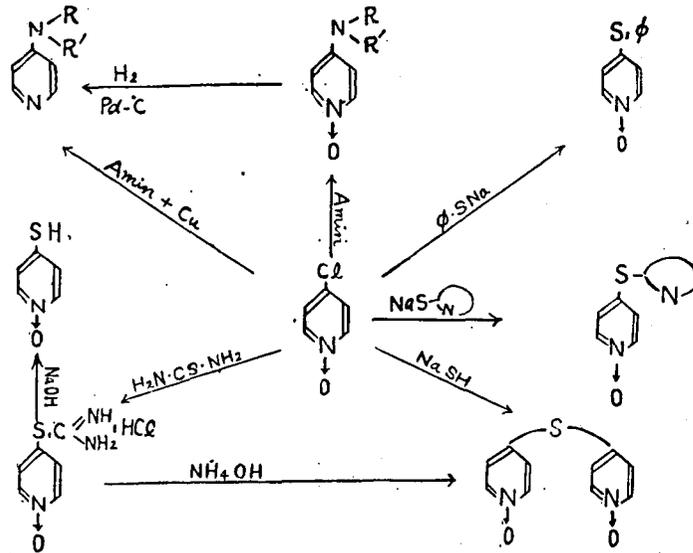
之を要するに 4-Nitrochinolin-N-oxyd と酸塩化物との反応は 4-Nitropyridin-N-oxyd に於けると原則的に同様に進行するが前者は著しく反応性大で低温で反応が進行する事及び Carbostyryl に轉位する傾向大なる點を異にする。

第 3 章 4-Chlorpyridin-N-oxyd の交換分解⁸⁾

4-位のクロル基は Pyridin 核の α -位 にあり且核窒素は N-oxyd の形成により之に大なる極性効果を及ぼすと考えられるので 4-Chlorpyridin に於ける以上に活性に富む事が推定出来る。此推定の下に Natriumäthylat を作用せしめた所容易に 4-Aethoxypyridin-N-oxyd を生じたので此推定は確められ且 Säurechlorid を Nitropyridin-N-oxyd に反応させた時のクロル基の位置も確定されたわけである。

註 * 藥雜. 65, 70 に於て 2-Chlor-4-nitrochinolin らしいものを捉えたと報告したが其後再三の實驗に拘らず該當する物質を生成しなかつた。

此ようにクロル基が活性を呈するので先づ Amin 類との反応を吟味した。Diäthylamin と種々の條件で作用させると 135° 位で反応を起して 4-Diäthylaminopyridin-N-oxyd が得られる。觸媒として Kupferbronz を用いて加熱すると N-oxyd が還元される。

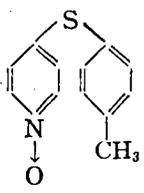
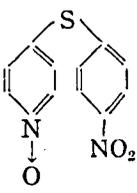
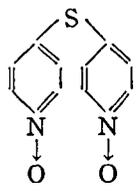
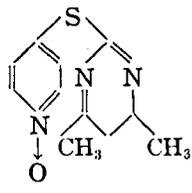
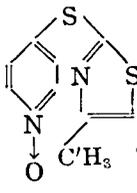
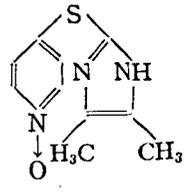


又 Amin として Morpholin を用うると 4-Morpholinopyridin-N-oxyd を生成し收率約 53% である。之は塩酸性でパラヂウム活性炭觸媒で接觸還元すると 4-Morpholinopyridin が得られる。之等 Amin 類との交換分解は 4-Nitropyridin-N-oxyd の場合に比べて著しく円滑に進行するので γ -アミノ置換体の合成には好適である。

塩 基	—	—	柱 晶 Fp 74~8°	板 晶 Fp 101~4°
塩	HCl-塩：針晶 Fp 184~6°	Pikrat：鱗片晶 Fp 169~70.5°	Pikrat：柱 晶 Fp 168~9°	Pikrat：鱗片晶 Fp 186~7°

次に Thiocresol 中 Natriumthiocresolat を作用させると 4-(β -Thiocresyl-) pyridin-N-oxyd を生成するが同じ反応を無水酒精中に行えば遙かに円滑に進行し收率も向上する。此

故に *p*-Nitrothiophenol, 2-Mercapto-4, 6-dimethylpyrimidin, 2-Mercapto-4-methylthiazol, 2-Mercapto-4, 5-dimethylimidazol と同様反応させて夫々対応する Sulfid を得た。

			
塩基	鱗片晶 Fp 80~82°	黄色六角板晶 Fp 154~5°	柱晶 Fp 232~3°
Pikrat	針晶 Fp ca. 142°	長針晶 Fp 161~4°	
			
塩基	長針晶 Fp ca. 84°	油	柱晶 Fp ca. 190°
Pikrat	板晶 Fp 191°	針晶 Fp 161~2°	—

唯 *p*-Nitrothiophenol を反応させる時兩者 1 モル宛をナトリウムを用いずに沸騰水浴中に反応させれば容易に *p*-Nitrophenyl-pyridyl(4)-sulfid-N-oxyd を得るが、過剰の *p*-Nitrothiophenol 及びナトリウムを用いて反応した時は *p,p'*-Dinitro-diphenylsulfid と *p*-Nitrophenyl-pyridyl (4)-sulfid-N-oxyd と 4,4',-Dipyridylsulfid-N-N'-dioxyd を得た。念の爲 4-Nitrophenyl-pyridyl (4)-sulfid-N-oxyd を無水酒精中 1 mol の Natriumalkoholat と水浴中に加温して見た。加温後間もなく深赤色に溶解し *p*-Nitrothiophenol の生成を思わせる。之より *p*-Nitrothiophenol, 4-Aethoxy-pyridin-N-oxyd, *p*-Nitrophenetol を取出した。殊に *p*-Nitrothiophenol の量が多い。又之等の分離中 4-Mercaptopyridin-N-oxyd のあるべき部分を塩酸性で加温した時明かに硫化水素の發生を認めた。此実験に於て *p*-Nitrothiophenol の *p,p'*-Dinitrodiphenylsulfid への移行が示されていないが Zinke u. Lenhardt¹⁸⁾ の報告の事実よりしても此反応の生起を認めてよいように思う。

之等の事実より考へ前記 Alkoholat 存在下に於ける反応に際しては先づ生成する 4-Nitro

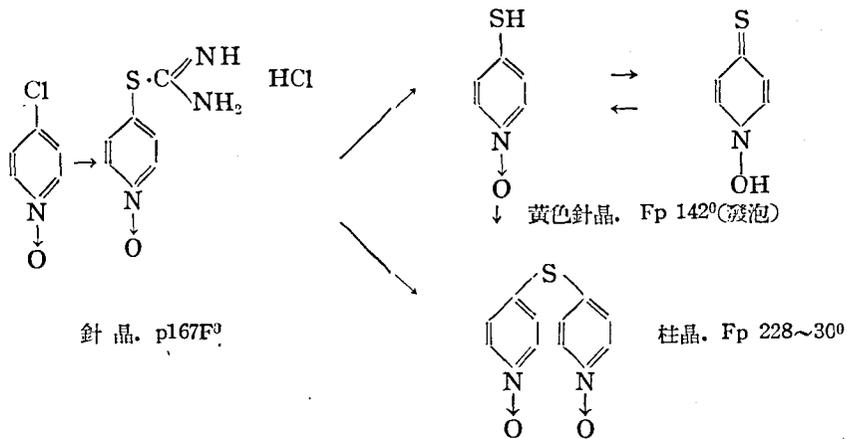
phenyl-4-pyridylsulfid-N-oxyd が過剰の Natriumalkoholat により二次的に分解した事確実である。

次に Thiobarnstoff と 4-Chlorpyridin-N-oxyd を作用させると 1 mol 宛の附加体が得られる。

此附加体を水に溶解して冷時又は温時に10%苛性ソーダを滴加して分解すると 4-Mercaptopyridin-N-oxyd のナトリウム塩を殆ど定量的に得る。之は塩化第二鉄で赤く呈色し Nitroprussidnatrium では呈色しない。此塩を酸で中和すると游離塩基が得られるが加温すると硫化水素を放つて 4, 4', -Dipyridylsulfid-N, N'-dioxyd へ移行する。

附加体をアンモニア水で温時に分解すると 4, 4'-Dipyridyl-sulfid-N, N'-dioxyd のみを生成する。

4-Mercaptopyridin-N-oxyd が不安定で Sulfid に移行する傾向大なる事は次の 4-Chlorpyridin-N-oxyd と NaSH の反応に於ても認められた。



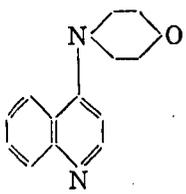
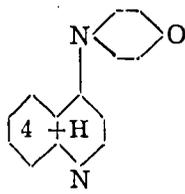
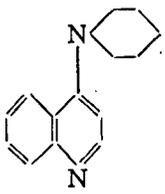
即ち Methanol 溶液中に 4-Chlorpyridin-N-oxyd と Natrium-hydrosulfid を加温すると 4, 4'-Dipyridylsulfid-N, N'-dioxyd が得られる。此反応は上述のように先づ 4-Mercaptopyridin-N-oxyd を生じ此 2 分子より硫化水素を放つて Sulfid に移行せる事が明らかである。

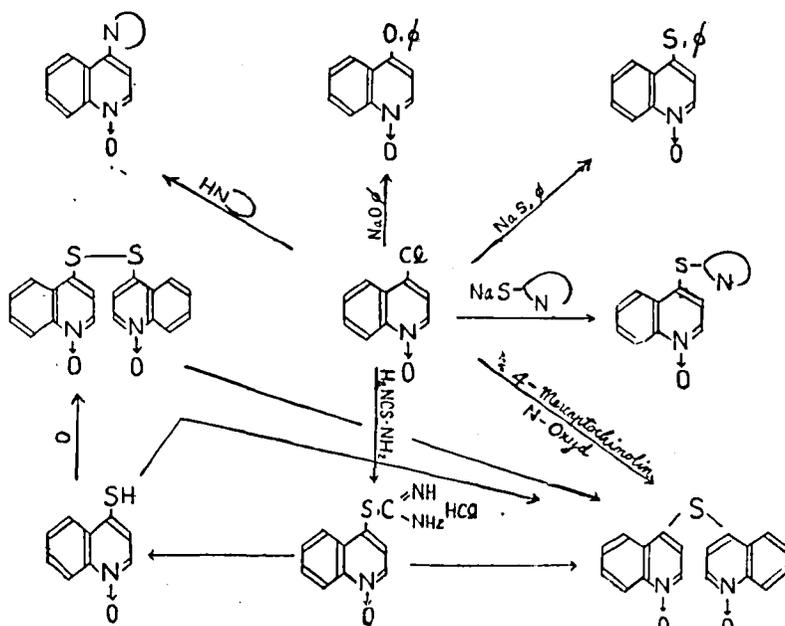
第 4 章 4-Chlorchinolin-N-oxyd の交換分解⁵⁾

第三章に述べたような事を Chinolin 系に行つて見た。此處に於ても 4-位のクロル基は活性である。

Amin として Morpholin, Piperidin を選り 4-Chlorchinolin-N-oxyd と加熱すると各 4-位に入つた物質を生成する。何れも減壓蒸溜で精製すると脱酸素を起して 4-Morpholino- 又 4-Piperidincchinolin が得られた。

4-Morpholincchinolin をパラジウム炭で接觸還元すると 4-Morpholinetetrahydrochinolin になる。

			
塩基	Kp ₇ 230° (溶) Kp ₁₀ 190° (溶)	Kp ₇ 205~15° (溶) 板晶. Fp 76~8°	Kp ₁₀ 190~200° (溶) 板晶. Fp 81°
Pikrat	針晶 Fp 220°	針晶 Fp 162~3°	長針晶 Fp 212~3°

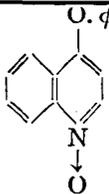
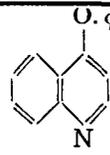
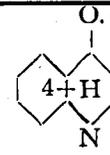


次に Natriumphenolat を Phenol 溶液中に 4-Chlorochinolin-N-oxyd と反応させると 4-Phenoxychinolin-N-oxyd を生じ無水酒精中に行えば尙円滑に進行する。此際は 4-Phenoxy 体 60.5% の外に 4-Aethoxychinolin-N-oxyd を 38.1% 得てゐる。

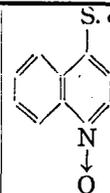
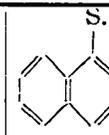
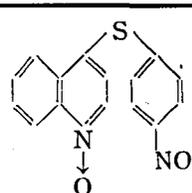
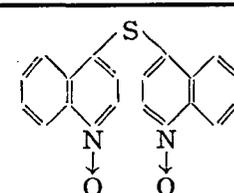
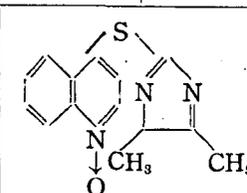
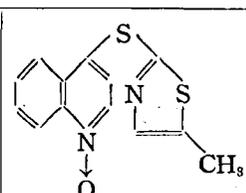
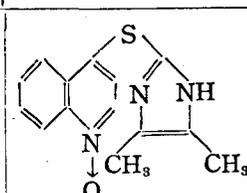
斯くして得た 4-Phenoxychinolin-N-oxyd を接觸還元すると 4-Phenoxytetrahydrochinolin に還元される。4-Phenoxychinolin は第5章に述べるように Phenol 中に 4-Phenoxychinolin-N-oxyd を 200° に加熱した時に得られて居る。

同様 Natriumthiophenolat を Thiophenol 中に反応させると 4-Thiophenoxychinolin-N-oxyd の外 Thiophenol により還元された N-oxyd を失つたものが得られる。若し無水酒精

を溶媒とすると全然副産物は得られない。

			
鹽基	針晶 Fp 103~4 ⁰	油 Kp ₆ 150 ⁰ (溶)	油 Kp ₆ 175~85 ⁰ (溶)
Pikrat	柱晶 Fp 151.5~3.0	針晶 Fp 174~6 ⁰	針晶 Fp 142~3 ⁰

此外 Mercapto 化合物として *p*-Nitrothiophenol, 4-Mercapto-chinolin-N-oxyd, 2-Mercapto-4,6-dimethylpyrimidin, 2-Mercapto-4-methylthiazol, 2-Mercapto-4,5-dimethylimidazol, と反応させて夫々の 4-置換 Sulfid 類を得た。

				
鹽基	微黄色針晶 Fp 87~90 ⁰	—	黄色針晶 Fp 211~20 ⁰	黄色柱晶 Fp 230~10 ⁰
Pikrat	長針晶 Fp 168~9 ⁰	長針晶 Fp 203~5 ⁰	—	—
				
鹽基	—	—	—	
Pikrat	柱晶 Fp 174~5 ⁰	板晶 Fp 123~4 ⁰	針晶 Fp 233 4 ⁰	

Thioharnstoff とは 1 分子宛の附加体, Zp 165.5⁰ の微黄色柱晶を生ずる. 之を水に溶解して冷時にアンモニア水又は苛性ソーダで分解すると赤橙色結晶である 4-Mercaptochinolin-N-oxyd (Fp 140~140.5⁰) を析出する. 之は塩化第二鉄で赤色. Nitroprussidnatrium では徐々に赤色を呈する. 此際副産物は全然ない.

4-Mercaptochinolin-N-oxyd を過酸化水素で酸化すると Fp 177~8⁰ (發泡) の Disulfid を得る. 此物は再結晶しようとして Benzol と加温すると菊花状結晶となり 4,4'-Dichinolyli-

sulfid-N, N'-dioxyd に変る。

4-Mercaptochinolin-N-oxyd のナトリウム塩を加温しても変化はないが游離塩基の溶液を加温すると盛んに硫化水素を發生して 4,4'-Dichinolysulfid-N, N'-dioxyd に移行する。

Thioharnstoff 附加体をアンモニア水、又は苛性ソーダで温時分解すれば前と異り 4,4'-Dichinolysulfid-N, N'-dioxyd 許り生成する。

第 5 章 Pyridin-, Chinolin-N-oxyd の γ -位の -OR, -O ϕ , -S ϕ の活性^{8) 9) 13)}

Acridin の 9- 位に於ける -OR, -O ϕ , -S ϕ がイオン反応に活性を呈し屢々工業上の置換合成反応に用いられるのに倣つて Pyridin-, Chinolin-N-oxyd の此等の基に対して Amin との交換分解を吟味し併せて酸クロリドに対する -OR の活性を調べて見た。

4-Thiophenoxy- 又は 4-Phenoxy-pyridin-N-oxyd を Morpholin と加熱すると 200° 附近で反応を起し 4- 位に Morpholino- 基を置換する。前者では還元を起し 4-Morpholinopyridin を、後者では其 N-oxyd を 77% の收率で得られる。

Chinolin 系に於ても大体同じような條件下に置換が起る。4-Phenoxychinolin-N-oxyd と Morpholin で 4-Morpholinochinolin を 65% 得る。Acridin 系でよく行はれるように常壓に Phenol 溶液中 Morpholin 塩酸塩と加熱還流しても大体同じように進む。此際 4-Phenoxychinolin が副産物として捉えられた。

4-Thiophenoxychinolin-N-oxyd と Piperidin とは同様 67% の收率で置換する。唯 4-Aethoxychinolin-N-oxyd は加熱的脱酸素が 180° 位で起り置換に N-oxyd 基の極性効果が及ぼさるためか置換が起らない。

以上 γ -Phenoxy-, Thiophenoxy 基が N-oxyd 基の存在によつて活性を呈し Amin との交換分解を行ふ反応は γ -アミノ置換體の合成上利用可能である。

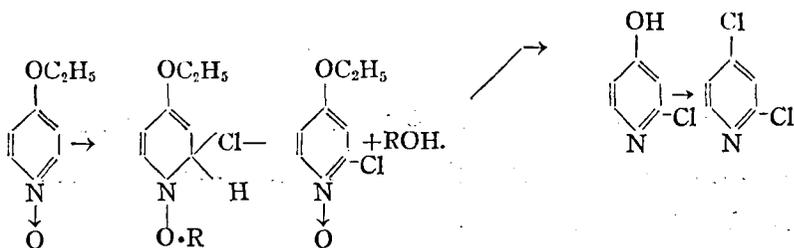
次に 4-Aethoxy- 体と酸クロリドの反応を吟味した。

4-Aethoxypyridin-N-oxyd を酸塩化磷と反応させると 4-トロピ体の場合に比して非常に反応し難い。100° 長時間の反応で 2,4-Dichlorpyridin と思われる油を極少量と 2-Chlor-4-äthoxypyridin を得、多量の原料を回収した。*

4-Aethoxychinolin-N-oxyd では Pyridin 系より稍起り易く 2-Chlor-4-äthoxychinolin を約 70% 位得て居る。

斯くの如く γ -位の Aethoxy 基は酸クロリドには不活性で N-oxyd 基の反応が主として起る。

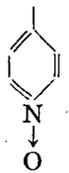
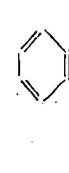
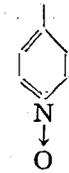
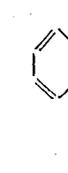
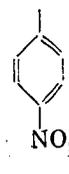
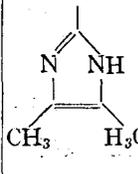
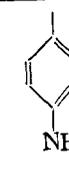
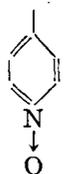
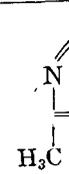
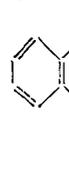
* 藥雜. 65, 70 に著者は此反應を行い Dichlordipridyläther のような物質を得たと報告したが其後全然得られなかつた。



第6章 γ -位 Arylsulfon 誘導體の合成

第3章, 第4章で *p*-Nitrothiophenol, 4-Mercaptochinolin-N-oxyd, 2-Mercapto-4, 6-dimethylpyrimidin, 2-Mercapto-4-methylthiazol, 2-Mercapto-4, 5-dimethylimidazol, 等と 4-Chlor-pyridin- 又は chinolin-N-oxyd と反応せしめて夫々対応する Sulfid を得た. 之等を酸化して Sulfon 化合物とすれば細菌の發育抑制作用を現はすかの期待の下に次のような化合物を合成して見た.

反応は氷醋酸溶液中 30% 過酸化水素水を加えて常温又は幾分加温して放置した. 之等の Sulfon 誘導體中 *p*-Nitrophenylsulfon 化合物は更に還元して *p*-Aminophenylpyridyl- 又は chinolyl-sulfon とした. 化合物は細菌試験中である. $R-SO_2-R'$

R		R'			
R			R		
	微黄色針晶 Fp 186~70	淡黄色柱晶 Fp 186~70		柱晶 Zp 2390	柱晶 Zp 2390
	(N-oxydなし) 柱晶 Fp 234-60(發泡)	(N-oxydなし) 粉末状結晶 Fp 225~60		針晶 Fp 2430	—
	柱晶 Fp 169~70	柱晶 Fp 205~60		—	柱晶 Fp 213~50

結 論

1. Pyridin- 又は Chinolin-N-oxyd の γ - 位の Nitro 基は活性大で Alkoxy 基のみならず Aryloxy-, Arylthio- 基とも好收量で置換する事が出来る。Amin との交換分解も可能であるが得量不満足で殊に前者に於て著しい。

2. 4-Nitropyridin- 又は chinolin-N-oxyd は酸クロリドと反応し緩和な條件では Nitro 基のみ Chlor と置換され、條件を強めれば 2,4-Dichlor 置換體を生成する。後者は前者に比べ反応性大で且つ 4-Chlorcarbostyryl を副生する傾向を示す。Nitro 基の Chlor 置換には Acetylchlorid と處理する事が純度もよく得量も極めて良好である。

3. Pyridin- 又は Chinolin-N-oxyd の γ - 位のクロルは活性大で Amin, Alkoholat, Phenolat, Thiophenolat, NaSH, Thioharnstoff 等と交換分解する。之等の場合 Chinolin 系は屢々 N-oxyd 基の脱酸素化を來す。 γ - アミノ誘導體の合成は本法によるのが最も有利である。 γ - 位の SH 基は不安定で Sulfid に移行する傾向が大で特に Pyridin 系に於て著しい。

4. Pyridin- 又は Chinolin-N-oxyd の γ - 位の Aryloxy- 又は Arylthio- 基は Amin との交換分解に活性大で好收量で γ - アミン置換體を生成する。此場合にも後者は脱酸素化される傾向大である。

5. 以上の反応により Pyridin- 又は Chinolin 核の γ - 位に一般的 Amin 基, Alkoxy-, 基等の置換する方法が確立し、之等置換體の合成は格段に容易になつた。其一部として著者は 10 種の γ -Sulfon 誘導體を合成する事に成功した。

以上の研究は落合教授の終始御懇篤な御指導御鞭達によつて行つたもので謹で感謝申上げる。又此研究に終始温い御配慮を賜つた所長近藤龍博士、一部の原料を提供された菅野三郎君、実験の一部を擔當された大場琢磨、井下田浩の諸君に衷心感謝の意を表する。

又元素分析は東大薬化学教室分析係の方々を煩わしたので御礼申上げる。

實 験 の 部

γ -(*p*-Thiocresyl)pyridin-N-oxyd : 熔融した *p*-Thiocresol 3.0g 中にナトリウム 0.08g を投入, γ -Nitropyridin-N-oxyg 1.0g を加え水浴上 3 時間加温後 Thiocresol を減壓で溜去しクロロホルムで抽出する. 微黄色板晶 (Benzol より再結晶). Fp 80~2°.

試料: 3.610mg, CO₂ 8.640mg, H₂O 1.575mg.

試料: 3.650mg, N₂ 0.205ccm (13.5°, 768mm).

C₁₂H₁₁ONS 計算値 C 66.3, H 5.1, N 6.5,

実験値 65.3, 4.9, 6.8,

Pikrat : - 黄色結晶 (Aceton), Fp ca. 142°.

試料: 3.560mg, CO₂ 6.280mg, H₂O 1.030mg.

試料: 3.495mg, N₂ 0.362ccm (1335°, 768mm).

C₁₈H₁₄O₈N₄S 計算値 C 48.4, H 3.1, N 12.6,

実験値 48.1, 3.2, 12.5,

γ -Morpholinopyridin-N-oxyd (γ -Nitropyridin-N-oxyd と Morpholin の反応) : -

γ -Nitropyridin-N-oxyd 1.0g, Morpholin 2.0g を閉管中 150° 3 時間加熱する. 赤褐色油を Aceton 等で再結晶し Pikrat とし確認. 黄色針晶. Fp 168°, γ -Chlorpyridin-N-oxyd と Morpholin より作ったものの Pikrat と混融. 同一物である. 収得率は極めて悪い.

4-Phenoxychinolin-N-oxyd (4-Nitrochinolin-N-oxyd と Phenolat の反応) : -(i) 4-Nitrochinolin-N-oxyd 5.0g をナトリウム 0.6g, Phenol 25g の温溶液に加えると橙→黒褐色となる. 水浴上 1 時間加温, Phenol を減壓で溜去し Benzol で温浸後 Benzol を殆ど溜去して Aether を加える. 淡褐色結晶. Fp 101~4°. 5.2g 再結晶母液を稀塩酸と振盪し減壓濃縮した後炭酸ソーダで遊離し Chloroform で抽出する. 淡褐色結晶. Fp 103~4° 0.7g 計 5.9g (94.2% d Th.).

之を Benzol + Aether で再結晶し無色結晶. Fp 103~4°.

試料: 3.365mg, CO₂ 8.615mg, H₂O 1.595mg

試料: 2.947mg, N₂ 0.135ccm (14°, 762mm).

C₁₅H₁₁O₂N + H₂O 計算値 C 70.6, H 5.1, N 5.5,

実験値 69.9, 5.3, 5.5,

Pikrat : 黄色長柱晶 (酒精). Fp 151.5~3.0°

試料: 3.060mg, CO₂ 6.080mg, H₂O 0.830mg,

試料: 3.584mg, N₂ 0.330ccm (14°, 767mm)

$C_{13}H_{11}O_2N \cdot C_6H_5O_7N_3$ 計算値 C 54.1, H 3.0, N 12.0.

実験値 54.2, 3.0, 11.1.

(ii) ナトリウム 0.12g, 無水酒精 5.0cc より Natriumalkoholat を作り、之に Phenol 0.5g, 4-Nitrochinolin-N-oxyd 1.0g を加へれば極めて徐々に白沈を析出する。水浴上に 1 時間加温後溶媒溜去。Benzol に溶かし稀塩酸と振盪し塩酸溶液を減圧で濃縮する。白色長針晶(Fp 222~5°)を集め炭酸ソーダで游離すると無色長針晶。Fp 100°。4-Phenoxychinolin-N-oxyd と混融降下なし。1.0g (80.7% d. Th.) 塩酸母液を減圧乾涸すると微細な針晶が析出する。ピクリン酸ソーダを加へて Pikrat にする。黄色針晶。Fp 163~4°, 0.3g (14.8% d. Th.)。4-Aethoxychinolin-N-oxyd Pikrat と混融一致。

4-Thiophenoxychinolin-N-oxyd (4-Nitrochinolin-N-oxyd と Thiophenolat との反応):

(i) Thiophenol 5.0g, Natrium 0.15g より Natriumthiophenolat を作ると固結する。之に Thiophenol 5.0g, 4-Nitrochinolin-N-oxyd 1.0g を加へると極めて徐々に白沈を生ずる。水浴上に 4 時間 20 分加温後溶媒を減圧溜去する。Benzol に溶かし 10% 苛性ソーダで洗い焼芒硝乾燥する。之より淡褐色針晶, Fp 84.5~6° 0.65g (48.8%) を得る。精製して微黄色針晶。Fp 87~90°。

Pikrat : 黄色長針晶 (酒精)。Fp 168~9°。

試料 : 3.200mg, CO₂ 6.000mg, H₂O 0.900mg.

$C_{13}H_{11}ONS \cdot C_6H_5O_7N_3$ 計算値 C 52.1, H 2.9.

実験値 51.1, 3.1.

再結晶母液よりの餾は Pikrat とし黄色長針晶, Fp 203~5°。

試料 : 3.290mg, CO₂ 6.430mg, H₂O 1.160mg.

$C_{13}H_{11}NS \cdot C_6H_5O_7N_3$ 計算値 C 54.0, H 3.0.

実験値 53.3, 3.9.

(ii) Natrium 0.12g, 無水酒精 5.0cc より作つた溶液中に Thiophenol 0.6g, 4-Nitrochinolin-N-oxyd 1.0g を加へると冷時反応が起り白沈を析出する。水浴上に 1 時間加温後溶媒溜去, Benzol に溶し 10% 塩酸と振盪し析出する針晶を濾取し母液は更に減圧濃縮して難溶の針晶を濾取する。此 2 つを合し炭酸ソーダで游離させる。淡黄色針晶。Fp 90°。母液は更に減圧濃縮するも何も析出しない。

Benzol 溶液は更に 10% 苛性ソーダと振盪後 Benzol を溜去する。淡黄色針晶 (Aether) Fp 90° を得る。計 1.1g (82.9% d Th.)。 (i) より得たものと混融して同一物である。再結晶母液は Pikrat とし黄色長針晶 (酒精)。Fp 168~9°, 0.2g (7.9%)。4-Thiophenoxychinolin-N-oxyd Pikrat と混融同一物である。以上総計 90.8%。

4-Morpholinochinolin (4-Nitrochinolin-N-oxyd と Morpholin の反應) :-

4-Nitrochinolin-N-oxyd 1.0g, Morpholin 2.0cc を封管中 150~160° 6 時間加熱後溶媒溜去。水、炭酸ソーダを加へクロ、ホルムで抽出して減圧蒸溜する。

第一溜分 Kp 0.01 145~160°, 黄色油。0.45g. Pikrat: 黄色長針晶(酒精). 0.3g(16.0%)
Fp 222~4°.

第二溜分 Kp 0.015 200~215°, 0.6g (51.3%). Pikrat: 黄色長針晶(酒精). Fp 222~4°.
第一溜分の Pikrat と共に 4-Morpholinochinolin Pikrat と混融して降下がない。(4-Chlorchinolin-N-oxyd と Morpholin より合成したもの). 計 0.75g (67.3%).

4-Nitropyridin-N-oxyd と酸塩化磷の反應 :- (i) 4-Nitro 体 10g 酸塩化磷 50cc を冷時に混じ徐々に加温し 70° の水浴中 3 時間加温すればガスを発生し乍ら溶解する。減圧に酸塩化磷を溜去後氷で分解してクロ、ホルムで抽出し焼芒硝乾燥。之より赤褐色油 0.9g を得る。抽出母液は炭酸ソーダアルカリ性としクロ、ホルムで抽出し炭酸カリで乾燥。之より得たものをアセトンで再結晶する。Zp 170° の無色鱗片晶。6.2g (67.4%).

(ii) 4-Nitropyridin-N-oxyd 10g, 酸塩化磷 50cc を 70° 附近に加温溶解させて後沸騰水浴上に 17 時間加温後減圧溜去し氷で分解して析出する結晶を濾取する。毛狀晶 (Methanol), Fp 231°. 0.07g. 塩化第二鉄で呈色しない。Beilstein 反應陽性。4-Oxypyridin-N-oxyd と混融すれば降下する。

試料 : 3.664mg, CO₂ 4.409mg, H₂O 0.459mg.

試料 : 2.095mg, N₂ 0.190ccm (28°, 762mm).

C₅H₄O₂NCl 計算値 C 41.4, H 2.8, N 9.7.

実験値 39.2, 1.7, 10.3.

酸性水溶液をエーテルで抽出して焼芒硝で乾燥。之より Kp₂₃ 76~8° の無色油。2.3g (2,4-Dichlorpyridin として 21.9%)。残溜より毛狀晶 (Aceton) Fp 221~4° を得た。上記のものと混融して一致する。

酸性水溶液を Chloroform で抽出して焼芒硝乾燥。毛狀晶 (Methanol). Fp 226~8°. 前の毛狀晶と混融降下なし。

炭酸ソーダアルカリ性とするると赤褐色となり一部樹脂を析出するが Chloroform で抽出して炭酸カリで乾燥。之より鱗片晶 (Aceton). Zp 170° 1.0g (10.9%)。4-Chlorpyridin-N-oxyd と混融降下なし。

(iii) 同様に原料を混じ 80° より反應開始する。10 時間沸騰水浴中に加温して後前回と同様に処理する。毛狀晶 (Methanol). Fp 230° 0.10g. 前回のものと混融一致。

酸性水溶液のエーテル抽出液より Kp₁₈ 63~7° の油 2.0g を得た。之は 2,4-Dichlorpyridin

に相当。

酸性水溶液の Chloroform 抽出液より 0.2g の褐色結晶を得たが融点一定とならず。

炭酸ソーダアルカリ性溶液の Chloroform 抽出液より鱗片品 (Aceton), Zp 170° のもの 4.1g Zp 164° のもの 1.5g. 計 5.9g を得た。両者とも 4-Chlorpyridin-N-oxyd と混融一致。

Dichlorpyridin と Natriumäthylat との反応 :- Dichlorpyridin 1.0g を純アルコール 5.0cc, Natrium 0.35g より作った溶液と封管中沸騰水浴に 2 時間余加温後取出す。Kp₂₀130 ~ 135° (浴) の油 0.81g, Beiletein 反応 強陽性。原料の回収と思われる。

回収品 0.78g を純アルコール 5.0cc, Natrium 0.35g より作った液中に加へ封管中 150 ~ 60° の油浴中に加温, 開管後酒精, 塩酸で洗い出し減圧乾溜し水少量を加へてエーテルで抽出するが痕跡の油を得るのみ。母液を苛性アルカリ性としエーテルで抽出して焼芒硝で乾燥。之より Kp₁₈ 135° (浴温) の無色油 0.33g を得た。

Pikrat : 黄色針晶 (酒精). Fp 138.5 ~ 9.5°.

試料 : 3.215mg, CO₂ 5.350mg, H₂O 1.090mg.

試料 : 3.295mg, N₂ 0.444ccm (14°, 765mm).

C₉H₁₃O₂N · C₆H₃O₇N₃ 計算値 C 45.4, H 4.1, N 14.1.

実験値 45.4, 3.8, 16.1.

4-Nitropyridin-N-oxyd と塩化アセチルとの反応 (4-Chlorpyridin-N-oxyd) :- 4-Nitro 体 1.0g を塩化アセチル 5.0cc に混じ 50° に加温 30 分で全体固化する。氷水に注ぎ分解し炭酸ソーダアルカリ性としエーテル抽出をして炭酸カリで乾燥する。之より刺戟臭のある油 0.05g. 水溶液はクロ、ホルムで抽出し炭酸カリで乾燥。鱗片品 0.85g (92.2%). Zp 169° Aceton より再結晶。無色鱗片品。Zp 169.5°. 4-Chlorpyridin-N-oxyd と混融一致。

抽出母液は塩酸、醋酸で pH 5.6 附近とし Aether で抽出して焼芒硝で乾燥。針晶 0.01g.

4-Nitrochinolin-N-oxyd と酸塩化磷の反応 :- (i) 4-ニトロ体 1.0g, 酸塩化磷 10cc を常温に混じ 40 ~ 60° に 2 時間加温後氷水に注加して分解し水蒸気蒸溜すると微黄色長針晶を溜出する。Chloroform で抽出。Fp 65 ~ 67°, 0.43g (41.3%) 残溜を冷却し析出した針晶を濾取。0.36g. Fp 245 ~ 6°. Aceton より再結晶すると長針晶。Fp 247°. Beilstein 反応強陽性。酒精溶液に塩化第二鉄を加へれば赤橙色。結晶を濾去した溶液を Chloroform で抽出すれば淡黄色針晶 0.01g, Fp 238 ~ 40°. Fp 247° の結晶と混融同一物。計 0.37g (39.3%)。

試料 : 3.090mg, CO₂ 6.780mg, H₂O 1.090mg.

試料 : 3.380mg, N₂ 0.260ccm (24°, 756mm).

C₉H₆ONCl 計算値 C 60.1, H 3.4, N 7.8.

実験値 59.9, 3.9, *8.8.

(ii) 上と同じ量を 0° で混じ 30~40° 2時間加温後氷水で分解し析出した結晶を濾取. 0.82g Aceton より再結晶すれば淡黄色針晶. Fp 66~9°. 濾液は Aether で抽出し炭酸カリ乾燥. 之より黄色針晶 (Aceton). Fp 128° 0.15g を得た. Beiletin 反応強陽性. 母液を Chloroform で抽出すると赤褐色樹脂様塊, 0.05g. Fp 128° のものは 4-Aminochinolin-N-oxyd より合成した 4-Chlorochinolin-N-oxyd (Fp 134°) と混融同一.

試料: 3.095mg, CO₂ 6.810mg, H₂O 0.995mg.

試料: 3.375mg, N₂ 0.251ccm (25°, 760mm).

C₉H₆ONCl 計算値 C 60.1, H 3.4, N 7.8.

実験値 60.1, 3.6, 8.5.

(iii) 上記の 2 つを 2° で混合し外部より冷却しつゝ 5° 以下 5 分反応後氷水に注加して分解. 水蒸気蒸溜する. 溜出物は Chloroform で抽出して取出すと微黄色針晶, Fp 64~6°. 0.13g (12.5%). 残溜液は冷却するも何も析出しない. アルカリ性として Chloroform で抽出すると黄褐色針晶, Fp 123~5°. 0.79g (84.1%).

(iv) 4-Nitro 体 1.0g を Chloroform 2.0cc に溶解し酸塩化磷 5.0cc を滴加し 3~8° 1 時間反応後同上の如く取出す. 2,4-Dichlorochinolin Fp 62~4° 0.34g (30.9%), 4-Chlor-carbostyryl 0.2g (21.3%), 4-Chlorochinolin-N-oxyd 0.35g (37.2%).

(v) 4-Nitro 体 1.0g を五塩化磷 1.1g, 酸塩化磷 5.0g の混液に 0~10° 5 分間反応して上記のようにして取出す. 微黄色針晶. Fp 66.5~67.5°, 0.68g (65.2%). 淡黄色針晶. Fp 12.°, 0.15g (15.4%) 及び微に着色した結晶, Fp 237~41° 0.07g (7.2%).

(vi) 4-Nitro 体 1.0g. 酸塩化磷 0.48cc, Surfurylchlorid 5.0cc を 5~15° 30分反応, 同上のように取出す. Fp 65.5~6° の微黄色長針晶, 0.48g (46.2%); 微黄色針晶, Fp 246° 0.15g (16.0%). 淡黄色針晶 Fp126~9.5°, 0.39g (41.5%).

C₉H₆ONCl (Fp247°) の脱ハロゲン反応 :- 物質 0.2g, メタノール 25cc 中に 7% パラデウム-炭酸カルシウム 0.2g を予めメタノール 5.0cc 中に還元したものを加へ水素気流中に振盪し乍ら 10% 苛性カリ 1.0cc, メタノール 4.0cc の溶液を滴加すれば水素 25cc を吸収飽和するので触媒を濾去, 炭酸ガスを通じて後蒸発乾燥し少量の水を加へエーテルで抽出し焼芒硝で乾燥. 之より淡褐色針晶 (Aceton), Fp 196° を得る. 減圧蒸溜すれば Kp₆225° (浴) で溜出し無色柱晶に固化する. Fp 196° M.Henz 法 (B. 69, 1566) に依つて作つた α-Carbostyryl と混融して降下なし.

4-Nitrochinolin-N-oxyd と Surfurylchlorid との反応 :- (i) Surfurylchlorid 10cc 中に水冷し乍ら 4-Nitro 体 1.0g を加へ 35~40° で 1 時間反応後減圧 45° で乾燥し水で分解し

て水蒸気蒸溜する。淡黄色針晶。Fp 62~2.5° の 2,4-Dichlorchinolin 0.84g (80.7%) 残溜液は Chloroform で抽出し 0.25g の黄色柱晶 Fp 102~11° を得た。Beilstein 反応は微。

(ii) 4-Nitro 体 1.0g, Sulfurylchlorid 10cc を封管中に沸騰水浴に浸し 5 時間反応し上記のように分離する。Fp 63~4° の淡黄色針晶。0.77g (74.1%)。残液は Chloroform で抽出し Aceton から再結晶して淡黄色針晶。Fp 236~40°。0.03g, 淡黄色針晶 Fp 124° 0.09g。

Benzoylchlorid との反応 :- Benzoylchlorid 5.0cc を 0° に冷却した中に 4-Nitrochinolin-N-oxyd を加へ 3 時間 0° に放置後氷で分解, Aether で抽出するとべたべたの淡黄色結晶を得るので水蒸気蒸溜すると 0.13g の芳香油を得る。Beilstein 反応強陽性。残溜は Chloroform で抽出し Aceton より再結晶する。Fp 244~6° の 4-Chlorcarbostyryl 0.39g (41.5%)。Chloroform 抽出の際両者に不溶の微黄色結晶を濾取, 酒精より再結晶して微黄色長針晶 Zp 236°, Beilstein 反応 陰性, 酒精溶液は塩化第二鉄で赤色を呈す。4-Oxychinolin-N-oxyd と混融同一。

試料 : 3.225mg, CO₂ 7.880mg, H₂O 1.330mg.

試料 : 4.090mg, N₂ 0.209ccm (28°, 758mm).

C₉H₇O₂N 計算値 C 67.1, H 4.4, N 8.7.

実験値 66.7, 4.6, 5.8.

Acetylchlorid との反応 :- (i) Acetylchlorid 5.0cc を 2° に冷却し 4-Nitrochinolin-N-oxyd を一時に加へると 15° に上昇する。氷冷し乍ら 10 分後氷で分解, 炭酸アルカリ性で Aether で抽出し炭酸カリで乾燥。之より淡黄色柱晶。Fp 130~2° のもの 0.78g (83.0%) を得た。母液は Chloroform で抽出するも何も移行せず。

(ii) 4-Nitro 体 10g を 0° に冷却した Chlorid 50cc 中に加へ徐々に温度を高め 45°, 40 分反応せしめ氷水に注加分解, 炭酸ソーダで中和し水蒸気蒸溜する。之より 0.11g の Fp 62~65.5° の無色針晶を得る。2,4-Dichlorchinolin と混融降下なし。残溜液はアルカリ性とし Chloroform で抽出する。黄色針晶。9.35g (98.9%)。Fp 130°。Aceton より再結晶すれば Fp 133~3.5°。

4-Chlorpyridin-N-oxyd と Diäthylamin の反応(4-Diäthylaminopyridin-N-oxyd):-4-Chlor 体 1.0g, Diäthylamin 4.0cc, 水 4cc を封管中 5 時間 135° に加熱。Kp 0.12180° 附近(浴温)の飽。

塩酸塩 : 無色針晶 (Aceton). Fp 184~6° 0.6g.

試料 : 3.100mg, CO₂ 5.485mg, H₂O 2.135mg.

試料 : 3.865mg, N₂ 0.397ccm (15°. 766mm).

C₉H₁₄ON₂.HCl.H₂O 計算値 C 49.0, H 7.8, N 12.7.

実験値 48.3, 7.7, 12.3.

Diäthylaminopyridin :- 0.1g の 4-Chlorpyridin-N-oxyd, Di-äthylamin 0.4cc, Kupferbronz 0.2g, 水 0.4cc を封管中 130° 3 時間加熱. 内容に炭酸カリを加へ Chloroform で抽出. 之より微黄色油. Kp $_{0.004}$ > 100° (浴). 0.07g を得た.

Pikrat : 黄色針晶 (酒精). Fp 169~70°.

試料 : 3.035mg, CO₂ 5.290mg, H₂O 1.295mg.

試料 : 2.845mg, N₂ 0.442ccm (18.5°, 763mm).

C₉H₁₄N₂, C₆H₃O₇N₃ 計算値 C 47.5, H 4.5, N 18.5.

実験値 47.6, 4.8, 18.2.

4-Morpholinopyridin-N-oxyd :- 4-Chlorpyridin-N-oxyd 1g, Morpholin, 水 1.5cc を封管中 130~40° 5 時間加熱後炭酸ソーダアルカリ性とし Chloroform で抽出する. 無色柱晶 (Aceton). Fp 75~78° 0.74g (53.2%).

試料 : 3.330mg, CO₂ 6.750mg, H₂O 2.290mg.

試料 : 3.495mg, N₂ 0.439ccm (13.5°, 768mm).

C₉H₁₂O₂N₂·H₂O 計算値 C 54.5, H 7.4, N 14.1.

実験値 54.5, 7.7, 15.1.

Piktat : 淡黄色柱晶 (Aceton). Fp 168~9°

試料 : 3.700mg, CO₂ 6.015mg, H₂O 1.320mg.

試料 : 3.480mg, N₂ 0.490ccm (13.5°, 768mm).

4-Morpholinopyridin :- 4-Morpholinopyridin-N-oxyd 0.3g を 10% 塩酸 1cc, 水 10cc, 1% 塩化パラジウム 3cc, 0.05g の活性炭を用いて接触還元する. 六角板晶. Fp 101~4°.

Pikrat : 黄色鱗片晶 (酒精). Fp 186~7.0°

試料 : 3.520mg, CO₂ 5.910mg, H₂O 1.195mg.

試料 : 3.470mg, N₂ 0.54°ccm (14.5°, 762mm).

C₉H₁₂ON₂·C₆H₃O₇N₃ 計算値 C 45.8, H 3.8, N 17.8.

45.8, 3.8, 18.8.

4-(*p*-Thiocresyl)-pyridin-N-oxyd :- (i) *p*-Thiocresol 3.0g 中にナトリウム 0.08g を溶かし 4-Nitropyridin-N-oxyd 0.5g を加へ 3 時間水浴上に加温後 *p*-Thiocresol を減圧で溜去し Chloroform で温浸濾過する. 之より微黄色鱗片晶 (Benzol) Fp 80~82° 0.5g (64.2%) を得た.

試料 : 3.610mg, CO₂ 8.640mg, H₂O 1.575mg.

試料 : 3.650mg, N₂ 0.205ccm (12.5°, 768mm).

$C_{12}H_{11}ONS$ 計算値 C 66.3, H 5.1, N 6.5.

実験値 65.3, 4.9, 6.8.

Pikrat : 淡黄色長針晶 (Aceton). Fp ca. 142°.

試料 : 3.560mg, CO_2 6.280mg, H_2O 1.030mg.

試料 : 3.495mg, N_2 0.362cc (13.5°, 768mm).

$C_{18}H_{14}O_8N_4S$ 計算値 C 48.4, H 3.1, N 12.6.

実験値 48.1, 3.2, 12.5.

(ii) 無水酒精 10cc, ナトリウム 0.18g の溶液中に *p*-Thiocresol 0.96g を溶解, 4-Chlorpyridin-N-oxyd 1.0g を加へ 3 時間水浴上加温後酒精を溜去し Chlorofom で抽出する. 無色鱗片晶 (Benzol) Fp 79°, 1.3g (77.5%).

p-Nitrothiophenol と 4-Chlorpyridin-N-oxyd の反應 [4-(*p*-Nitrothiophenyl)-pyridin-N-oxyd:] :- (i) 無水酒精 10.0cc, ナトリウム 0.45g の溶液に *p*-Nitrothiophenol 2.9g

(1.2Mol) を加へる. 難溶のため無水酒精 10cc を加へ 4-Chlorpyridin-N-oxyd 2.0g を加へ 2 時間還流すると細かい白色沈澱を生じ後から橙色結晶を析出する. 放冷後濾取醋酸エチルで温浸し之より淡黄色柱晶. Fp 158° 0.85g. 母液は反應母液と共に溶媒を溜去すれば赤褐色飴状物質を残し醋エス, 酒精より再結晶を繰返し淡黄色柱晶. Fp 158°. 0.25g (計1.1g). 黄色六角板晶, Fp 154~5.0° 1.03g, 淡黄色柱晶 Fp 232~3.0° (発泡) 0.32g を得た.

Fp 158° の物質 :-

試料 : 3.83mg, CO_2 7.200mg, H_2O 0.980mg.

試料 : 3.451mg, N_2 0.309cc (15°, 771mm).

$C_{12}H_8O_4N_2S$ 計算値 C 52.1, H 2.9, N 10.1.

実験値 51.3, 2.9, 10.5.

即 *p, p'*-Dinitrodiphenylsulfid に一致し. *p*-Nitrothiophenol と *p*-Nitrochlorbenzol より合成した *p, p'*-Dinitrodiphenylsulfid と混融して降下がない.

Fp 154~5° の物質 :-

試料 : 3.930mg, CO_2 7.535mg, H_2O 1.290mg.

試料 : 3.655mg, N_2 0.380ccm (14.5°, 762mm).

$C_{11}H_8O_3N_2S$ 計算値 C 53.2, H 3.2, N 11.3.

実験値 52.3, 3.7, 12.4.

即 4-(*p*-Nitrothiophenyl)-pyridin-N-oxyd に一致する.

Ep 233°(発泡)の物質 :-

試料 : 3.210mg, CO_2 5.905mg, H_2O 1.195mg.

試料：3.680mg, N₂ 0.385cc (18°, 759mm).

C₁₀H₈O₂N₂S·H₂O. 計算値 C 50.4, H 4.2, N 11.8.

実験値 50.2, 4.2, 12.8.

(ii) 4-Chlorpyridin-N-oxyd, *p*-Nitrothiophenol 1.2g を 94% 酒精 10cc に溶解して水浴上に 2 時間還流後溶媒を溜去すれば黄色結晶を残す。水を加へて 10% 苛性ソーダでアルカリ性とし吸濾する。再結晶しても一定の融点を示さないから稀塩酸に温時溶解し不溶物を濾取。之を醋エスより再結晶すれば橙色菱形板晶。Fp 181°, *p*, *p'*-Dinitrodiphenyldisulfid と混融して降下がない。稀塩酸溶液を濃縮して難溶の塩酸塩を取り炭酸ソーダアルカリとして結晶を濾取。Fp 151.5~4.5° 1.45g (75.7%)。Pikrat：淡黄色長針晶。前回のものと混融して同一。

p-Nitrophenyl-pyridyl (4)-sulfid-N-oxyd の Natriumäthylat による分解 :-

ナトリウム 0.08g, 無水酒精 13cc よりの溶液中に N-oxyd 1.0g を加へ約 3 時間煮沸後酒精を溜去し水を加へ不溶物を濾取。其沈澱を塩酸, Aether と振盪抽出する。

Aether 溶液は焼芒硝で乾燥後 Benzol に溶解して Chromatograph を行ふ (Al₂O₃)。落下した方より淡黄色柱晶, Fp 57° 約 0.1g. *p*-Nitrophenethol と混融降下なし。アルミナ層に赤褐色に吸着した部分は取出さなかつた。

初めの水溶液に塩酸を加へると赤褐色沈澱を生じる。Fp 65~67° 0.33g. *p*-Nitrothiophenol (Fp 77°) と混融して Fp 67~9°。之を氷醋 3.0cc に溶かし 30% 過酸化水素水 0.5cc を加へ微に加温して放置後濾取する。Fp 175~6° の黄色結晶 (醋エス)。*p*, *p'*-Dinitrodiphenyldisulfid (Fp180~1°) と混融。Fp 177~9°。濾液は減圧に乾涸して炭酸ソーダで抽出した液を塩酸酸性とし Aether で抽出するも何も析出しない。

p-Nitrothiophenol を除いた水溶液は水浴上に加温濃縮すると硫化水素を発生する (硝酸鉛紙を黒変する)。炭酸アルカリ性とし Chloroform で抽出し炭酸カリで乾燥。之より黒褐色餡が得られるので Benzol で温浸すると多量の不溶性樹脂があり Benzol を溜去したものを塩酸塩を経て Pikrat とすると黄色長針晶 (酒精) Fp 125° を 0.1g 生成し之は 4-Aethoxypyridin-N-oxyd Pikrat と混融して降下がない。

母液は活性炭で脱色, 乾涸, Methanol で抽出すると樹脂を伴ふ結晶が得られる。塩酸塩を経て Pikrat とし粒状晶 (酒精) Fp 118°, 4-Aethoxypyridin-N-oxyd (Fp 125°) と混融 (Fp 119~20°), Pikrinsäure と混融すれば降下する。

4',6'-Dimethylpyrimidyl(2')-4-pyridylsulfid-N-oxyd:- (i) ナトリウム 0.18g, 純酒精 10cc の溶液に 2-Mercapto-4,6-dimethylpyrimidin 1.1g, 4-Chlorpyridin-N-oxyd 1g を加へて水浴上 4.5 時間加温還流させて後溶媒を減圧で溜去し水を加へクロ、ホルムで抽出し炭

酸カリで乾燥。Benzol より再結晶すると無色鱗片晶 Zp 168~70°, 4-Chlorpyridin-N-oxyd と混融降下がない。再結晶母液より無色長針晶。Fp 82~84.5° (Benzol)。醋エスより再結晶すると Fp 84~115° の六角板晶となり水を加へれば又長針晶となるので結晶水の関係と思はれる。何れも同一の Pikrat 黄色板晶 (酒精) Fp 191° を作る。

(ii) ナトリウム 0.18g, 純酒精 5.0cc の溶液に 4-Chlorpyridin-N-oxyd 1.0g, 2-Mercapto-4,6-dimethylpyrimidin 1.1g を加へ封管中 9 時間 130~40° の油浴中に加熱後開管し溶媒を溜去し水を加へ Chloroform で抽出し炭酸カリで乾燥。Benzol より再結晶。Fp 90~104°, Fp 78~84° (何れも Pikrat は Fp 191°) の結晶。1.06g (58.8%)。母液より 4-Chlorpyridin-N-oxyd と思われるものを少量得た。(Pikrat: 黄色針晶。Fp 167°)。

(分析値を紛失)

[4-Methylthiazolyl (2)]-pyridyl (4)-sulfid-N-oxyd :- ナトリウム 0.18g, 無水酒精 10cc の溶液に 2-Mercapto-4-methylthiazol 1.0g, 4-Chlorpyridin-N-oxyd 1.0g を加へ 4 時間水浴上に加温後溶媒を溜去し Benzol で温浸濾過, 脱色濃縮するも結晶せず。塩酸塩も吸湿性。

Pikrat : 黄色針晶 (酒精)。Fp 161~2°。2.52g (71.8%)。

試料 : 4.810mg, CO₂ 7.000mg, H₂O 0.980mg。

C₁₅H₁₁O₈N₅S₂ 計算値 C 39.7, H 2.4。

実験値 39.7, 2.3。

4',5'-Dimethylimidazolyl-(2)-pyridyl-(4)-sulfid-N-oxyd :- ナトリウム 0.9g, 無水酒精 50cc より溶液に 2-Mercapto-4,5-dimethylimidazol 5.0g, 4-Chlorpyridin-N-oxyd 5.0g を加へ 3 時間水浴上に加温。前述の如く処理。無色柱晶 (酒精)。Fp ca. 190°。

(分析値を紛失)。

4-Chlorpyridin-N-oxyd と Thioharnstoff との附加体 :-

(i) 4-Chlorpyridin-N-oxyd 1.0g を無水酒精 10cc に溶解, Thioharnstoff 0.59g を無水酒精 25cc に稍加温して溶解, 両者を合して 1 ヶ月放置すれば無色針晶を析出。メタノールより再結晶。1.27g (80%)。Zp 167°。Beilstein 反応, 硫黄の反應陽性。

試料 : 3.080mg, CO₂ 3.990mg, H₂O 0.985mg。

試料 : 3.600mg, N₂ 0.620ccm (22°, 761mm)。

C₆H₅ON₃ClS 計算値 C 35.0, H 3.9, N 20.4。

実験値 35.4, 3.6, 20.0。

(ii) 4-Chlorpyridin-N-oxyd 5.0g, Thioharnstoff 3.0g, 無水酒精 50cc を水浴上 1 時間還流せしめて放冷。析出した結晶を濾取。Zp 165.5~7.0°。5.8g (73.4%)。

Pyridin-N-oxyd-4-thiuroniumchlorid の温時アンモニア水による分解 (4,4'-Dipyridylsulfid-N, N'-dioxyd) :- Thiuroniumchlorid 1.0g を冷水少量に溶解, 10% アンモニア水を加へてアルカリ性とし水浴上に蒸発すれば漸次黄色を呈し赤褐色餡を析出する. Benzol で温浸抽出後醋エス, 醋エスメタノールで再結晶する. 微黄色板晶. Fp 228~30°, 0.23g (42.6%).

Pikrat : 黄色針晶 (酒精). Fp 232°.

試料 : 3.520mg. N₂ 0.480cc (21°, 754mm).

C₈H₈O₂N₂S·C₆H₅O₇N₃ 計算値 N 15.6, 実験値 N 15.7.

ベンゾール温浸残渣は無色柱晶. Fp >320° 硫黄なし.

Pyridin-N-oxyd-4-thiuroniumchlorid の冷時苛性ソーダによる分解 (4-Mercaptopyridin-N-oxyd) :- Thiuroniumchlorid 1.0g を水 4.0cc に溶解, 10% 苛性ソーダ 3.0cc を滴加すれば黄色透明, 5 分後 10% 苛性ソーダ 1.0cc を追加水浴上に乾涸する. 微黄色結晶塊を Benzol ca. 70cc で温浸, Benzol を溜去すれば微量の黄色油. 次に醋エス約 200cc で温浸抽出. 微黄色柱晶 0.2g. Methanol より再結晶. Fp 200° 附近. 次に其残渣を純アルコールで温浸抽出 (約 40cc), 淡黄色結晶 0.8g. 酒精より 2 回再結晶すると柱晶となる. 吸湿性である. 塩化第二鉄で赤橙色. 水に溶解し塩酸で中和すれば黄色針晶, Fp 142° (発泡) を析出する.

試料 : 3.626mg, CO₂ 5.196mg, H₂O 0.977mg.

試料 : 2.102mg N₂ 0.200cc (14°, 755mm).

C₅H₆ONS 計算値 C 47.2, H 4.0, N 11.0 実験値 C 46.8, H 3.7, N 11.2

Pyridin-N-oxyd-4-thiuroniumchlorid の温時苛性ソーダによる分解

(4-Mercaptopyridin-N-oxyd) :- Thiuroniumchlorid 1.0g を水 4.0cc に溶解して煮沸し乍ら 10% 苛性ソーダ 4.0cc を 4 分間に滴加して更に 5 分煮沸後水浴上に乾涸する. 結晶塊を Benzol 約 250cc で温浸する. 微量の褐色餡. 残渣を醋エス約 250cc で温浸し淡褐色餡 0.4g. 結晶せず, Pikrat も結晶しない. 残渣を純アルコール約 50cc で温浸抽出して黄色結晶 0.7g を得た. 純アルコールで再結晶して無色柱晶.

4-Chlorpyridin-N-oxyd と Natriumhydrosulfid との反應

(4,4'-Dipyridylsulfid-N, N'-dioxyd) :- 4-Chlorpyridin-N-oxyd 1.0g を Natriumhydrosulfid 0.5g とメタノール溶液中に 7 時間水浴に加温する. 無色柱晶 (Benzol). Fp 230~1°.

試料 : 3.135mg, CO₂ 7.950mg, H₂O 5mg.

試料 : 3.400mg, N₂ 0.338cc (25.5°, 759mm).

$C_{10}H_8N_2O_2S \cdot H_2O$ 計算値 C 50.4, H 3.4, N 11.8.

実験値 50.3, 3.9, 11.4.

4-Chlorchinolin-N-oxyd と Morpholin の反応 (4-Morpholinochinolin) :-

4-Chlorchinolin-N-oxyd 3.0g, Morpholin 6.0cc を封管中 120~30° 6 時間加熱後溶媒溜去。水、炭酸ソーダを加へて Chloroform で抽出。減圧蒸溜。

第一溜分 : Kp₇ 230°(浴)の赤褐色油。Pikrat : 黄色長針品(酒精)。Fp 217° 第二溜分の Pikrat と混融同一。

白金塩 : 橙色板品。

第二溜分 : Kp_{0.002} 190°(浴)の赤褐色結晶。Pikrat : 黄色針品(酒精) Fp 220°。

試料 : 3.225mg, CO₂ 6.060mg, H₂O 1.270mg.

$C_{13}H_{14}ON_2 \cdot C_6H_5O_7N_3$ 計算値 C 51.5, H 3.9.

実験値 51.3, 4.4.

本塩基は安息香酸, 酒石酸, フタル酸, Mecon 酸, Oxycinchonin 酸, *d*-Alaboascorbin 酸等と塩を作つて見たが皆飴状を呈し, 過塩素酸, 蔞酸, サリチル酸等とは一度結晶となるも再結晶し得ず, タンニン酸塩は淡黄色粉末となる。

4-Morpholinochinolin の還元 (4-Morpholinotetrahydrochinolin) :-

4-Morpholinochinolin 1.1g を 30% 塩酸 1.5cc, 水 10cc 及びパラジウム炭 (1% 塩化パラジウム 27cc, 活性炭 0.3g より作つたもの) と一緒にし接触還元する (外より水蒸気で加温し乍ら) 水素 140cc を吸収して飽和したので触媒濾去, 減圧濃縮, 炭酸ソーダで游離せしめエーテルで抽出し焼芒硝で乾燥。

Kp₇ 150°(浴温)の極少量の淡黄色油。Pikrat : 黄色針品(酒精)。

Kp₇ 205~15°(浴温)の淡黄色結晶→板品に固化。Fp 76~8°。0.7g (68.6%)。Pikrat : 黄色針品 (Aceto)。Fp 162~3°。

試料 : 3.195mg, CO₂ 5.920mg, H₂O 1.490mg.

$C_{14}H_{18}ON_2 \cdot C_6H_5O_7N_3$ 計算値 C 51.0, H 4.7.

実験値 50.6, 5.2.

4-Chlorchinolin-N-oxyd と Piperidin の反応 (4-Piperidinochinolin) :-

4-Chlorchinolin-N-oxyd 1.0g, Piperidin 2.0cc を封管中 135~45° 5 時間加熱後溶媒溜去し炭酸ソーダを加へ Chloroform で抽出し減圧蒸溜する。淡黄色油 : Kp_{0.05-0.04} 190~200°(浴)放置すれば板品に固化する。0.8g (63.0%)。無色板品(酒精)。Fp 84°。

Pikrat : 黄色長針品(酒精)。Fp 212~13°。

試料 : 3.290mg, CO₂ 6.585mg, H₂O 1.080mg.

$C_{14}H_{16}N_2 \cdot C_6H_5O_7N_3$ 計算値 C 54.4. H 4.3.

実験値 54.6, 3.7.

4-Phenoxychinolin-N-oxyd :- (i) Phenol 5.0g, ナトリウム 0.13g より Natriumphe-
nolat を作り 4-Chlorchinolin-N-oxyd を加へる. 7 時間加温後 Phenol を減圧溜去し塩酸
で抽出しエーテルで洗滌した溶液を炭酸ソーダアルカリ性とし Chloroform で抽出焼芒硝で
乾燥. 之より得たものを Benzol-Aether で再結晶し原料 0.05g 及び 4-Phenoxy-chinolin-
N-oxyd を約 0.5g 得た. 後者は混融及び Pikrat Fp 150° なる事より確認した.

(ii) ナトリウム 0.13g, 無水酒精 5.0cc より作つた溶液に Phenol 0.52g, 4-Chlorchimo-
lin-N-oxyd 1.0g を加へ水浴上加温すると直ちに反応する. 2 時間水浴上加温後溶媒溜
去, 塩酸で抽出し其液を Aether で洗滌後濃縮して析出する針晶を集めアルカリ性として結
晶を濾取. Fp $106\sim 7^\circ$. 0.75g (60.5%). 4-Phenoxychinolin-N-oxyd と混融同一.

針晶 (塩酸塩) を濾去した母液を濃縮すれば四角板晶を得る. ピクリン酸ソーダを加へれば
Pikrat : 黄色針晶. Fp $163\sim 4^\circ$. 0.9g (38.1%)を得る. 4-Aethoxychinolin-N-oxyd Pikrat
と混融して同一である.

4-Phenoxytetrahydrochinolin :- 4-Phenoxychinolin-N-oxyd 0.5g, を 30% 塩酸 0.5cc
水 20cc 及びパラヂウム炭 (1% 塩化パラヂウム 20cc, 活性炭 0.2g より予め作る) と共に
接触還元する (水蒸気で加温し乍ら). 水素飽和した後常法で取出し減圧蒸溜する.

Kp₆ $175\sim 185^\circ$ (浴温) の無色油. Pikrat : 黄色針晶 (酒精). Fp $142\sim 3^\circ$

試料 : 3.220mg, CO₂ 6.520mg, H₂O 1.165mg.

$C_{21}H_{18}O_8N_4$ 計算値 C 55.5, H 4.0.

実験値 C 55.3, H 4.0.

4-Phenoxychinolin 第 5 章参照

4-Thiophenoxychinolin-N-oxyd :- ナトリウム 0.12g, 無水酒精 5.0cc より作つた溶液中
に Thiophenol 0.6g, 4-Chlorchinolin-N-oxyd 1.0g を加へると直ちに反応する. 1 時間水浴
上加温後溶媒溜去, Benzol に溶解し 10% 塩酸と振盪し析出した針晶を濾取, 炭酸ソーダ
で游離する. 微黄色長針晶. Fp 90° 1.2g (86.1%). 4-Thiophenoxychinolin-N-oxyd
(4-Nitrochinolin-N-oxyd から合成) と混融同一.

尙塩酸母液は減圧乾涸するも何も析出せず.

4-(*p*-Nitrothiophenoxy)-chinolin-N-oxyd :- (i) ナトリウム 0.15g, 無水酒精 10cc の溶
液に 4-Nitrothiophenol 0.9g, 4-Chlorchinolin-N-oxyd 1.0g を加へ 30 分加温後溶媒溜去
し残渣を 15% 塩酸で温浸抽出, 炭酸ソーダアルカリ性として結晶を吸濾, 母液は Chloro-
form で抽出し兩者を合して再結晶する. 黄色針晶 (酒精). Fp $211\sim 12^\circ$ 0.9g (53%).

(ii) 4-Chlorchinolin-N-oxyd 1.0g, *p*-Nitrothiophenol 0.9g, 無水酒精 10cc を混じ水浴中に加温還流 1 時間後放冷して結晶を濾取。黄色針晶 (酒精)。Fp 211°, 1.2g (70.6%)。前回のものと混融同一。反應母液より溶媒溜去後塩酸で抽出, 濾過, ソーダアルカリ性とし Chloroform で抽出し之より得たものを再結晶して淡褐色針晶。Fp 206° 少量を得。前のものと混融中間にとける。

試料: 3.139mg, CO₂ 6.984mg, H₂O 1.109mg.

C₁₅H₁₀O₃N₂S 計算値 C 60.4, H 3.4, 実験値 C 60.7, H 4.0.

4,4'-Dichinolylsulfid-N,N'-dioxyd :- 無水酒精 5.0cc 中にナトリウム 0.07g を加へ之に 4-Mercaptochinolin-N-oxyd 0.5g, 4-Chlor-chinolin-N-oxyd 0.5g を加へ水浴上に 1 時間煮沸還流後放冷吸引濾過水洗する。黄色柱晶, Fp 230~1° 0.7g. 母液より溶媒溜去し Benzol, 醋エスで再結晶。黄色柱晶 (醋エス)。Fp 230~1° 約 0.8g (90%)。

試料: 3.247mg, CO₂ 8.060mg, H₂O 1.300mg.

試料: 2.324mg, N₂ 0.196ccm (27°, 761mm).

C₁₈H₁₂O₂N₂S 計算値 67.7, H 3.7, N 8.7.

実験値 67.5, 3.8, 9.4.

4,6-Dimethylpyrimidyl-(2)-chinolyl (4)-sulfid-N-oxyd :- ナトリウム 0.13g, 純酒精 10cc より溶液に 2-Mercapto-4,6- dimethylpyrimidin 0.8g, 4-Chlorchinolin-N-oxyd 1.0g を加へ 130~45° 6.5 時間加熱 (封管中) 後溶媒溜去。水を加へ Chloroform で抽出し炭酸カリで乾燥する。之より無色板晶 (Benzol) Fp 174~5° 1.37g (86.7%)。Pikrat: 淡黄色毛状品 (酒精)。Fp 210~11° (発泡)。

試料: 4.120mg, CO₂ 9.591mg, H₂O 1.553mg.

C₁₅H₁₃ON₂S 計算値 C 63.6, H 4.6.

実験値 63.5, 4.2.

4-Methylthiazolyl(2)-chinolyl-(4)-sulfid-N-oxyd :- ナトリウム 0.13g, 無水酒精 10cc より溶液に 2-Mercapto-4-methylthiazol 0.73g, 4-Chlorchinolin-N-oxyd 1.0g を加へ 2 時間水浴上加温後酒精を溜去し水を加へて Chloroform で抽出し炭酸カリで乾燥。之より微黄色板晶 (Benzol) Fp 123~4° 1.32g (86.3%)。 (分析値を紛失)。

4,5-Dimethylimidazolyl-(2)-chinolyl-(4)-sulfid-N-oxyd :- ナトリウム 0.13g, 無水酒精 10cc より溶液に 2-Mercapto -4,5-dimethylimidazol 0.72g, 4-Chlorchinolin-N-oxyd 1.0g を加へ 2 時間水浴上加温。前述の如く処理する。赤褐色飴。醋エスで温浸すると粉末状となり無水酒精で再結晶すると微黄色針晶。Fp 233~4° (発泡)。0.80g.

試料: 4.620mg, CO₂ 10.230mg, H₂O 2.130mg.

$C_{14}H_{13}ON_3S$ 計算値 C 62.0, H 4.8.

実験値 62.0, 5.2.

Pikrat : 黄色長針晶 (酒精). Zp 228~9°.

4-Chlorchinolin-N-oxyd と Thioharnstoff との附加体 :-4-Chlorchinolin-N-oxyd 1.0g, Thioharnstoff 0.45g を無水酒精 10cc と水浴上に加温還流 1 時間後放冷して吸引濾過すれば微黄色細針晶. Zp 165.5°, 1.28g (89.0%). メタノールより再結晶しても同一.

試料 : 3.190mg, CO_2 4.680mg, H_2O 1.240mg.

$C_{10}H_{10}ON_3ClS+2H_2O$ 計算値 C 41.2, H 4.8.

実験値 41.0, 4.4.

Chinolin-N-oxyd-4-thiuroniumchlorid の冷時苛性ソーダによる分解 (4-Mercaptochinolin-N-oxyd 及び 4,4'-Dichinolyldisulfid-N,N'-dioxyd):- 附加体 1.0g を水 10cc に懸濁し 10% 苛性ソーダ 3.0cc を滴加すれば赤橙色を呈し漸次溶解する. 僅かに溶け残るものを濾去し約 1 時間放置すれば黄濁するので濾過後醋酸酸性とすれば黄濁し赤橙色結晶を析出するので濾過水洗. Fp 140~40.5° (発泡). 0.55g (80%).

試料 : 2.917mg, CO_2 6.453mg, H_2O 1.157mg.

試料 : 3.153mg, N_2 0.238ccm. (28°, 759mm).

C_9H_7ONS 計算値 C 61.0, H 4.0, N 7.9.

実験値 60.3, 4.4, 8.5.

母液は黄色で放置すれば徐々に混濁する. 22% H_2O_2 を過剰に加へて約 30 分放置すれば初め析出した黄橙色樹脂様物質はさらさらに固化する. Fp 177~8° (発泡). 約 0.1g (14%). 之は Aceton, 醋エス, Chloroform, 酒精に難溶, メタノールに稍容易に, 氷醋に易溶である. 之は上記の Fp 140~40.5° のもの 0.1g を氷醋 1cc に溶かし 22% H_2O_2 1.0cc を加へて 1 時間放置し後水でうすめて析出した淡黄色舟形結晶 Fp 177~8° と混融して同一である.

之を Benzol より 2 回再結晶すると黄色菊花状結晶 Fp 217° (発泡) となる. 之は 4,4'-Dichinolylsulfid-N,N'-dioxyd と混融して中間で熔融する.

Chinolin-N-oxyd-4-thiuroniumchlorid の冷時アンモニア水による分解 (4-Mercaptochinolin-N-oxyd) :-附加体 1.0g を水 6.0cc に懸濁し 10% アンモニア水 2.0cc を滴加すれば赤橙色を呈し結晶が析出する. 30 分放置後吸濾し 10% 苛性ソーダ 2.0cc とすり合はせれば無色板晶となる. 水 4.0cc を加へれば全溶する. 濾過, 10% 塩酸で中和すれば白濁し赤橙色針晶を析出する. Fp 138.5~40° 前回のものと混融すると同一に熔融. 0.5g (72.5%).

前記 2 つの母液を合せて苛性ソーダアルカリ性とし Chloroform で抽出するも僅かの黄色樹脂のみ.

4-Mercaptochinolin-N-oxyd のナトリウム塩 :-Mercapto 体 0.5g を 10% 苛性ソーダ 3.0cc, 水 6.0cc に溶かし水浴上に乾涸する事 2 回。毎回水に全溶する。もう一度乾涸する。之は Methanol に易溶。Benzol を加へて乾涸し無水酒精に溶解, エーテルを滴加して針品を得る。一部を水に溶かし塩酸で中和すれば赤橙色針品を析出する。Fp 140°。之は過剰の塩酸に溶解する。

4-Mercaptochinolin-N-oxyd より 4,4'-Dichinolylsulfid-N,N'-dioxyd への変化 :-4-Mercapto 体 0.5g を無水酒精 7.5g に懸濁し水浴上に 2.5 時間還流すれば盛んに硫化水素を発生する(硝酸鉛紙を黒変する事及び臭気による)。反応後酒精を溜去し 10% 苛性ソーダ 1cc, 水 2cc を加へてよく磨合せ吸引濾過すると約 0.05g の黄褐色結晶。Fp 218~20°。之は 4,4'-Dichinolylsulfid-N,N'-dioxyd と混融すれば降下がない。母液を酸性とすれば赤橙色樹脂を析出する。再び苛性ソーダを加へてアルカリ性とすれば一部不溶の黄褐色結晶を残し Fp 225° ca. 0.0 g, 之は 4,4'-Dichinolylsulfid-N,N'-dioxyd と混融, 同一物と認める。一緒に再結晶。Fp 228~8.5° の黄色板晶 0.1g. 濾液は塩酸で中和。之より Fp 137~8° の 4-Mercaptochinolin-N-oxyu を得る。0.3g.

Chinolin-N-oxyd-thiouroniumchlorid の温時アンモニア水による分解 (4,4'-Dichinolylsulfid-N,N'-dioxyd) :-附加体 1.0g を少量の水に加温して溶解, 10% アンモニア水を加へてアルカリ性とし水浴上に蒸発乾涸すると赤→黄→赤褐色餡となる。Benzol で繰返し温浸後溶媒をとばし醋エスより再結晶する。淡黄色板晶。Fp 220~23° 0.28g (44.4%) 之は (ii) より得たものと混融中間でとける。

同上の温時苛性ソーダによる分解 (4,4'-Dichinolylsulfid-N,N'-dioxyd) :-附加体 1.0g を少量の水に溶解。煮沸し乍ら常にアルカリ性を呈するように 10% 苛性ソーダ 3.0cc を滴加する。赤褐色→黄色結晶を析出する。30 分煮沸し放冷後濾取。母液を醋酸性として乾涸し 2 つを合して醋エスより再結晶する。黄色板晶。Fp 230~1°, 0.42g (66.7%)。

試料 : 3.180mg, CO₂ 7.710mg, H₂O 1.120mg.

C₁₈H₁₂O₂N₂S 計算値 C 67.5, H 3.8.

実験値 66.2, 3.9.

4-(p-Thiocresyl)-pyridin-N-oxyd と Morpholin の反応 :- N-oxyd 0.7g, Morpholin 1.0cc を封管中油浴 200° に 3 時間半加熱後内容を減圧蒸発し Chloroform で抽出する。淡褐色鱗片品。Fp 101~4°。油状のものと共に Pikrat とする。黄色鱗片品(酒精).Fp 181~5°。4-Morpholinopyridin-Pikrat と混融一致。

4-Phenoxy-pyridin-N-oxyd と Morpholin の反応 :- N-oxyd 1.0g, Morpholin 1.0cc を封管中 190~205° (浴温) に加熱約 4 時間後 Chloroform で溶出して減圧蒸発すれば固化す

る。Aceton より 3 回再結晶する。0.5g. Pikrat : 黄色針晶。Fp 166~8°。再結晶母液より Pikrat Fp166~8° のもの 0.5g. 合計収量 77.1 %。両者共 4-Morpholinopyridin-N-oxyd Pikrat と混融同一。

4-Phenoxychinolin-N-oxyd と Morpholin の反應 (4-Morpholinochinolin) :-

(i) 4-Phenoxychinolin-N-oxyd 1.0g, Morpholin 2.0cc を封管中 160~170° (浴) に 3 時間加熱後溶媒溜去, 残溜を塩酸塩を経て Pikrat とするも Fp 150° 附近の不鮮明な融点を示す。

(ii) (i) と同様のものを 170~80° (浴) 5 時間加熱後溶媒を溜去し残溜を減圧蒸溜する。

第一溜分 : Fp_{0.005} 120° 附近(浴)。無色油で針晶に固結するもの。Phenol を混するから塩酸塩を経て Pikrat とする。黄色針晶。Fp 220~1°。

試料 : 3.225mg, CO₂ 6.060mg, H₂O 1.270mg.

C₁₃H₁₄ON₂·C₆H₅O₇N₃ 計算値 C 51.5, H 3.9.

実験値 51.3, 4.4.

第二溜分 : Kp_{0.005-0.03} 175~205° (浴)。淡赤褐色飴。0.6g (63.8%)。

Pikrat : 黄色長針晶。Fp 220~1°。4-Morpholinochinolin Pikrat と混融同一。

(iii) N-oxyd 0.5g, Morpholin 塩酸塩 0.3g, Phenol 3.0cc を油浴中 130~40° 2時間加熱。原料回収。

(iv) 同上のもの 150~160° 2.5 時間加熱。原料回収。

(v) N-oxyd 1.0g, Morpholin 塩酸塩 0.5g, Phenol 6.0cc を浴温 185~200° 3.3 時間加熱後溶媒溜去, Chloroform で抽出して 10% 苛性ソーダで洗滌し焼芒硝で乾燥。減圧蒸溜

第一溜分 : Kp₆ 150° (浴)。微黄色油。0.05g (極めて徐々に溜出する)。Pikrat : 黄色針晶 (酒精)。Fp 170~212° 分割結晶すると次の 2 つに分かれた。

黄色針晶 (酒精)。Fp 174~6°。

試料 : 3.310mg, CO₂ 6.770mg, H₂O 0.940mg.

C₂₁H₁₄O₈N₄ 計算値 C 56.0, H 3.1.

実験値 55.8, 3.2.

黄色長針晶。Fp 218~20°。4-Morpholinochinolin Pikrat と混融同一。

第二溜分 : 黄色油。0.6g (63.8%)。Kp₅ 195~210° (浴)。再溜 Kp₆₋₇ 185~200° (浴) の黄色油。Pikrat : 黄色長針晶。Fp 219~221°。4-Morpholinochinolin Pikrat と混融同一。

再結晶母液より黄色針晶 (酒精)。Fp 175° 4-Phenoxychinolin Pikrat と混融同一。

第三溜分 : Kp_{0.002} 200° 附近(浴)。黄色精稠油。ca. 0.05g.

Pikrat : 黄色長針晶(酒精). Fp 217~220°. 4-Morpholinochinolin Pikrat と混融同一.

4-Thiophenoxychinolin-N-oxyd と Piperidin の反應 (4-Piperidino-chinolin): 4-Thiophenoxychinolin-N-oxyd 1.0g, Piperidin 2.0cc を封管中 195~205° (浴) 5 時間加温後塩酸で抽出しエーテルで洗滌し炭酸ソーダを加へて Chloroform で抽出して焼芒硝で乾燥. 減圧蒸溜. Kp₁ 165~180°(浴). 淡黄色油でやがて板晶に固化する. Benzol より再結晶して板晶. Fp 86°. 0.6g (66.7%). 4-Chlorochinolin-N-oxyd と Piperidin より合成した 4-Piperidinochinolin と混融して同一.

Pikrat : 黄色長針晶(酒精) Fp 210°. 4-Chlorochinolin-N-oxyd よりの 4-Piperidinochinolin Pikrat と混融して同一.

4-Aethoxychinolin-N-oxyd と Morpholin の反應:- N-oxyd 1.0g, Morpholin 3.0g を封管中 200~210° 5 時間加熱後溶媒溜去, 減圧蒸溜. 橙色油. Kp₆ 175~185°, Pikrat : 黄色針晶(酒精). Fp 201~2°.

試料 : 3.230mg, CO₂ 6.020mg, H₂O 1.110mg.

C₁₁H₁₁ON·C₆H₅O₇N₃ 計算値 C 50.7, H 3.5.

実験値 50.9, 3.8.

白金塩 : 淡橙色柱晶. Zp 167~70°.

試料 : 3.110mg, CO₂ 3.790mg, H₂O 1.080mg, Pt 0.800mg.

(C₁₁H₁₁ON)₂·2HCl·PtCl₄ 計算値 C 34.9, H 3.2, Pt 25.8.

実験値 33.3, 3.9, 25.9.

4-Aethoxypyridin-N-oxyd と酸塩化磷の反應 :- 4-Aethoxy 体 10.0g を酸塩化磷 50cc 中に加へ沸騰水浴上加温 19 時間. 初め軟化し溶解する. 反應後酸塩化磷を溜去し氷で分解すると水に不溶の結晶が少量析出する. エーテルで抽出し焼芒硝で乾燥. Aether を溜去し減圧蒸溜. Kp₂₃ 100° 附近(浴)の無色油. 極少量. Kp₂₄ 105~110° の油で Fp 54.5~55.5° の柱晶に固化するもの 0.6g.

エーテル抽出母液を炭酸ソーダアルカリ性とする と柱晶が析出するから Aether で抽出し炭酸カリで乾燥. Kp₂₅ 105~120° 1.1g. 之は柱晶に固化し Fp 52.5~4.5°. 前のものと混融同一.

試料 : 3.090mg, CO₂ 6.050mg, H₂O 1.390mg.

試料 : 3.608mg, N₂ 0.272cc (15.5°, 766mm).

試料 : 3.715mg, AgCl 3.600mg.

C₇H₈ONCl 計算値 C 53.4, H 5.1, N 8.9, Cl 22.5.

実験値 53.4, 5.0, 9.0, 24.0.

母液は Chloroform で抽出し淡褐色結晶。4.9g, 共 0.5g を取り Pikrat とすると 1.1g, Fp 125°. 4-Aethoxy-pyridin-N-oxyd Pikrat と混融して同一。

水溶液は乾涸し無水酒精で抽出し乾涸すれば針晶となる。3.5g. Pikrat : 黄色針晶。Fp 121~2°. 原料の Pikrat と混融し中間で熔融。

4-Aethoxychinolin-N-oxyd と酸塩化磷の反應 :- 4-Aethoxy- 体 1.7g, 酸塩化磷 10cc と常温に混じ 80°. 3 時間加温後氷水に投じて分解しソーダ灰で pH 1.2 附近とし Aether で抽出し焼芒硝で乾燥。Kp_s 170~80°(浴)。Fp 79~82° の無色針晶。1.27g. Beilstein 反應強陽性, Pikrat を作らず。

試料 : 3.150mg, CO₂ 7.365mg, H₂O 1.280mg.

試料 : 3.420mg, AgCl 2.495mg.

C₁₁H₁₀ONCl 計算値 C 63.8, H 4.8, Cl 16.9.

実験値 63.8, 4.5, 18.1.

母液は更に pH 7.0 附近とし Aether で抽出する。Kp_s 130~40° の無色油。0.21g. Pikrat : Fp 203~4° の黄色柱晶。

試料 : 3.160mg, CO₂ 5.890mg, H₂O 0.910mg.

試料 : 3.795mg, N₂ 0.444cc (13°, 753mm).

C₁₁H₁₁ON·C₆H₅O₇N₃ 計算値 C 50.7, H 3.5, N 13.9.

実験値 50.9, 3.2, 13.8.

母液は更にクロ、ホルムで抽出するも痕跡の針晶及び樹脂のみ。

p-Nitrophenyl-pyridyl-(4)-sulfon-N-oxyd :- Sulfid 0.14g, 30% 過酸化水素水 1.0cc, 氷醋 2.0cc を混じ常温に放置。1 週間後二酸化マンガンを加へて分解後減圧で乾涸し醋エス。Aceton から再結晶。殆ど無色針晶。Fp 186~7° (Aceton).

試料 : 3.490mg, CO₂ 6.065mg, H₂O 1.100mg,

試料 : 3.380mg, N₂ 0.317cc (13.5°, 762mm).

C₁₁H₈O₅N₂S 計算値 C 47.1, H 2.9, N 10.0.

実験値 47.4, 3.5, 11.2.

p-Aminophenyl-pyridyl(4)sulfon :- 4-Nitrophenyl-pyridyl(4)sulfon-N-oxyd 0.17g, 94% 酒精 10cc では溶解しないので氷醋 2.0cc を加へ 1% 塩化パラジウム 3.0cc, 活性炭 0.05g を加へて接触還元すると極めて徐々に水素 70cc を吸収する。触媒濾去, 減圧で溶媒溜去後炭酸ソーダを加へて析出する結晶を Methanol より再結晶。淡橙色柱晶。Fp 234~6° (発泡)。

試料 : 3.240mg, CO₂ 6.470mg, H₂O 1.150mg.

試料 : 2.520mg. N_2 0.253cc (21.5°, 760mm).

$C_{11}H_{10}O_2N_2S \cdot \frac{1}{2}H_2O$ 計算値 C 54.3, H 4.6, N 12.0.

実験値 54.5, 4.0, 11.6.

p-Nitrophenyl-chinoly(4)-sulfon-N-oxyd :- (i) Sufid 0.5g, 20% 過酸化水素水 4.0cc, 氷醋 6.0cc を混じ水浴中 75~85° 2 時間加温すると溶解して柱品が析出する。放冷吸濾。酒精で洗滌。黄橙色柱品, Fp 181° 0.45g (81.8%)。Aceton より 2 回再結晶して Fp 181°。反應母液を濃縮して出た結晶を Aceton で再結晶。黄褐色柱品。Fp 175° 少量。前のものと混融同一。

試料 : 2.984mg, CO_2 5.938mg, H_2O 1.048mg.

試料 : 1.824mg, N_2 0.161ccm (27.8°, 760mm).

$C_{15}H_{10}O_5N_2S$ 計算値 C 54.5, H 3.0, N 8.5.

実験値 54.3, 3.9, 10.0.

(ii) Sulfid 0.5g, 30% 過酸化水素水 1.0cc, 氷醋 5.0cc を混じ 40° 位に加温溶解せしめ常温に放置,翌日結晶が析出する。6 日目に濾取し酒精で洗滌する。淡黄色柱品。0.45g (81.8%)

p-Aminophenyl-chinoly(4)-sulfon-N-oxyd :- Nitro 化合物 0.5g を氷醋に懸濁し 50% Pd-炭 0.3g と共に接触還元する。水素 190cc を吸収するから常法により取出し Methanol で再結晶する。黄色結晶。Fp 225~26° (発泡)。

試料 : 2.683mg. N_2 0.196cc (13.4°, 752mm)

$C_{15}H_{12}O_2N_2S \cdot 2H_2O$ 計算値 N 8.7, 実験値 N 8.6.

4-Methylthiazoly(2)-pyridyl(4)-sulfon-N-oxyd :-Sulfid 2.4g, 30% 過酸化水素水 7.5cc, 氷醋 10.0cc の混液を約 2 年放置,乾潤して居るものに水,炭酸ソーダを加へ Chlorform で抽出し炭酸カリで乾燥。之より無色柱品 (Aceton). Fp 169~76°

試料 : 3.180mg, CO_2 5.033mg, H_2O 0.750mg.

試料 : 1.978mg, N_2 0.151cc (17°, 771mm).

$C_9H_8O_3N_2S_2$ 計算値 C 42.2, H 3.1, N 9.2.

実験値 43.2, 3.0, 9.1.

4-Methylthiazoly(2)-chinoly(4)-sulfon-N-oxyd :-Sulfid 6.0g, 30% 過酸化水素水 36cc の混液を約 2 年常温放置。内容乾潤して居るので水,炭酸ソーダを加へて Chloroform で抽出して炭酸カリで乾燥。Aceton, 醋エスで再結晶。微黄色柱品。Fp 205~6°。此色はアルミナによる Chromatograpn で精製するも除去出来ない。

試料 : 3.031mg, CO_2 5.789mg, H_2O 1.051mg.

$C_{13}H_{10}O_3N_2S_2$ 計算値 C 51.0, H 3.3.

実験値 52.1, 3.9.

4, 5-Dimethylimidazolyl (2)-pyridylsulfon-N-oxyd :- Sulfid 10.4g, 30% 過酸化水素水 32.0cc, 氷醋 40cc を約 2 年放置, 内容は飴状を呈し中に結晶がある. 水を加へて吸濾, Methanol より再結晶. 柱晶. Zp 239° (発泡).

試料 : 2.765mg, CO_2 4.444mg, H_2O 1.117mg.

$C_{10}H_{11}O_3N_2S \cdot H_2O$ 計算値 C 44.3, H 4.7.

実験値 43.8, 4.5.

4,5-Dimethylimidazolyl(2)-chinolyl-(4)-sulfon-N-oxyd :- Sulfid 5.0g, 30% 過酸化水素水 7.5cc, 氷醋 15.0cc の混液を約 2 年間放置, 内容乾涸して半固体. 水, 炭酸ソーダを加へて Chloroform で抽出すると非常に難溶である. 且炭酸カリで乾燥の時黄色結晶が附着する. Chloroform 溶液より溶媒をとばし Benzol 溶液としてアルミナ層の Chromatograph を行ふ (アセトンで展開), 黄色柱晶. Zp 236°. 炭酸カリは Aceton で温浸しアルミナ層を通して精製. Zb 232° の黄色柱晶. 此 2 者は同一. (混融). 一緒に精製して淡黄色柱晶 Zp 239°.

試料 : 2.955mg, CO_2 5.914mg, H_2O 1.170mg.

試料 : 2.378mg. N_2 0.255cc (16.0°, 759mm).

$C_{14}H_{13}O_3N_2S$ 計算値 C 55.4, H 4.3, N 13.9.

実験値 54.6, 4.4, 12.7.

4,4'-Dipyridylsulfon-N,N'-dioxyd :-Sulfid 0.5g を少量の氷醋に溶解, 30% 過酸化水素水 0.4g を加へ室温に 10 日間放置. 針晶 (Methanol). Fp 243° 0.3g.

試料 : 3.460mg, CO_2 6.140mg, H_2O 1.125mg.

試料 : 3.800mg, N_2 0.358cc (21°, 771mm).

$C_{10}H_8O_3N_2S$ 計算値 C 47.6, H 3.2, N 11.1.

実験値 48.4, 3.6, 11.1.

4,4'-Dichinolylsulfon-N,N'-dioxyd :-Sulfid 2.0g, 氷醋 4.0cc, 30% 過酸化水素水 2.0cc を室温に 4 日放置. 淡黄色柱晶. (酒精). Fp 213~5° (発泡).

試料 : 2.293mg, N_2 0.138cc (15°, 749mm).

$C_{13}H_{12}O_4N_2S \cdot H_2O$ 計算値 7.6, 実験値 N 7.0.

(昭和 24 年 1 月)

引用文献

- 1) 落合, 石川, 有馬 : 薬雑 63, 79 (1943).

- 2) 落合, 林, 堅田 : 薬雑. 67, 79 (1947).
- 3) 落合, 石川, 崔 : 薬雑. 63, 280 (1943).
- 4) 落合, 堅田, 薬雑. 63, 186 (1943).
- 5) 落合, 勅使川原 : 薬雑. 65 (甲) 5; 落合, 内藤 : 薬雑. 65 (甲) 5等.
- 6) 落合, 堅田 : 薬雑. 63, 265 (1943).
- 7) 堅田 : 薬雑. 67, 61 (1947).
- 8) 落合, 板井, 吉野 : Proc. Imp. Acad. Tokyo XX. 141 (1944).
- 9) 板井 : 薬雑. 65, 70. (1945).
- 10) Bayer, Blöm : B. 15, 2150 (1882).
- 11) Bayer, Blöm : B. 15, 2148 (1882).
- 12) Zincke u. Lenhardt : A. 400, 2.
- 13) 板井 : 薬雑. 66, 8 (1946).

フリルプロピオン酸の合成

技 官 丸 田 省 三 郎

助 手 遠 藤 完 一 郎

副 手 太 田 和 男

Synthesis of Furylpropionic acid

Seizaburo Maruta, Kanichiro Endo, Kazuo Ota

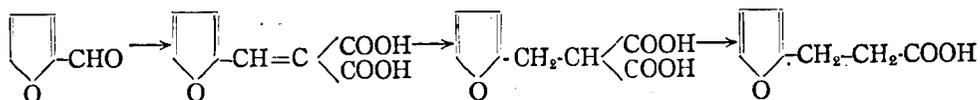
フリルプロピオン酸が植物生長ホルモン剤として優れた発根促進作用を有することは昭和13年志村¹⁾、昭和16年玉利²⁾により発表された所である。即ち志村は在來系統のS. 31号、S. 42号に就きフリルプロピオン酸、 β -インドール醋酸及びフェニルプロピオン酸其の他を用いて試験し0.01%、24時間処理に於ては標準区の発根歩合70%に対して何れも100%の発根歩合を示し又0.005%、24時間処理に於てはフリルプロピオン酸及び β -インドール醋酸は100%、フェニルプロピオン酸は90%の発根歩合を示したと云う。又発根量に就ては β -インドール醋酸は0.005%処理区が最も良く標準区に比し約6倍フリルプロピオン酸では0.005%処理区が最良で標準区に比し約3倍又フェニルプロピオン酸では0.01%、0.005%何れも大差なく約2倍の発根量を示したと云う。又玉利の研究に依ると20数種の発根促進物質を合成してその効力を試験したる結果0.01%、24時間処理では α -ピロール醋酸、フリルプロピオン酸、ヒダントインプロピオン酸、フェニルプロピオン酸、 β -インドール醋酸及び α -ナフタリン醋酸が各々優れた作用のあることを報告して居る。かくの如くフリルプロピオン酸が今日植物生長ホルモン剤として定評ある β -インドール醋酸及び α -ナフタリン醋酸に比し其の発根促進作用に於てしかく遜色なきのみならずフルフラールより経済的にしかも多量に生産し得られることは注目に値するものと思われる。尙又フルフラール誘導体は近時新しき合成香料として世人の注目を引きフリルアクリル酸及びフリルプロピオン酸のエステルはリンゴ、オレンジ等のエッセンスの香料としてすこぶる有望視されて居る。著者等は今般本品の製造法に就き調査する機会を得文献既知の方法にいささか改良を加え良好なる収率を挙げ得たるが故に茲に之を報告する次第である。

フリルプロピオン酸の製造法として従來発表せられたるものうち主なるものを挙げれば次の如くである。

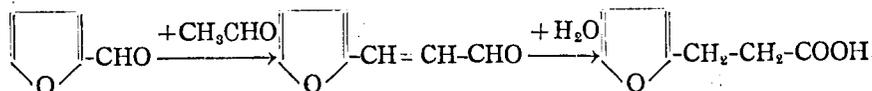
(1) フルフラールよりフルフリデンマロン酸若しくはフルフリデンアルデヒドを経てフリルプロピオン酸を製造する方法。

a) フルフラールにマロン酸を作用せしめてフルフリデンマロン酸を製し之よりフリルプロ

ピオン酸となす³⁾。

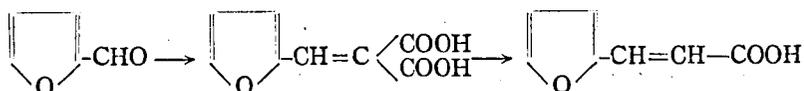


b) フルフラールとアセトアルデヒドを苛性ソーダアルカリ性に於て作用せしめてフルフリデンアルデヒドを製し之に Ag_2O を作用せしめてフリルプロピオン酸となす⁴⁾

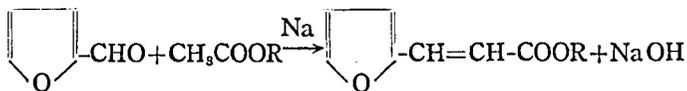


(2) フルフラールより次の如き諸法により先づフリルアクリル酸を製し之より電解還元、接触還元若しくはナトリウムアマルガムに依る還元等によりフリルプロピオン酸を製造する方法。

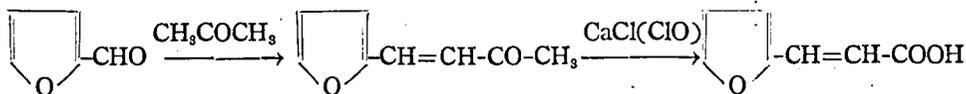
a) フルフラールに無水醋酸、ピリジン、赤血塩、アルコール性アンモニア、アラニン等の存在下にマロン酸を作用せしめてフリルアクリル酸となす⁵⁾。



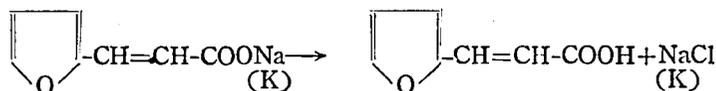
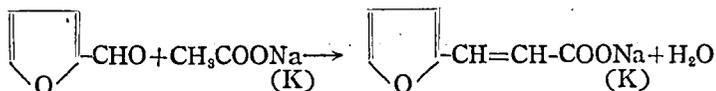
b) フルフラールに金属ナトリウムの存在の下に醋酸エステルを作用せしめてフリルアクリル酸エステルとなす⁶⁾。



c) フルフラールにアセトンに作用せしめてフルフリデンアセトンに製し之に漂白粉、赤血塩又は次亜塩素酸ソーダ等を用いてフリルアクリル酸となす⁷⁾



d) 所謂 Perkin 反応の応用法であつてフルフラールに無水醋酸及び無水醋酸ソーダ若しくは無水醋酸カリを作用せしめてフリルアクリル酸となす⁸⁾。



本報告に於ては以上の諸法中第 2 法 c 及び d 兩法を経済的でもあり又工業化の可能性ある方法として検討した。

I. フリルアクリル酸の製造

前述の第 2 法の c 法は藪田，神戸がフリルアクリル酸の経済的製造法⁹⁾として発表しているものでその報文中にも Perkin 反応による方法よりも得量良く且つ経済的であると記載されて居る而して本方法の特徴は比較的熱源を要せざる点にあると思われるが現今に於ては高價でもあり又時局柄入手困難なアセトンの如き溶剤を多量に使用するの寧ろ経済的には不得策であると思はれる。著者等は最初この藪田，神戸法と無水醋酸及び無水醋酸ソーダとを使用する Perkin 反応の應用法とは比較追試して見たがその得量の点に於ても操作の簡易なる点に於ても又得られる製品の品質の点に於ても Perkin 反応の應用法は藪田，神戸法よりも遙かに優れた方法であると云う確信を得ることが出来た。Perkin 反応の應用法によるフリルアクリル酸の製造法に就ては従来多くの人々により種々なる観点から詳細なる研究が進められている。無水醋酸及び無水醋酸ソーダを使用する方法は文献記載の実験報告によれば反應溫度約 150°C，反應時間約 11 時間にて得量は理論数の 63~70% と報告されている。尙又反應時間の短縮，得量の上昇を企図して種々なる改良法が試みられて居る。即ち 1940 年の Organic Synthesis¹⁰⁾ によると無水醋酸ソーダの代りに無水醋酸カリを使用し反應時間 4 時間にてその得量は理論数の 65~70% と記載されて居る。更に昭和 17 年 5 月八浜，井本¹¹⁾ は醋酸ソーダの代りに炭酸カリを使用しこの場合炭酸カリが無水醋酸と作用して醋酸カリを生じ之がフルフラールに作用するものと説明しているが反應時間は始め 100°C にて 6 時間次いで 140°~150°C にて 8 時間加熱しその得量は最高理論数の 60.5% であると報告して居る。次いで昭和 17 年 6 月に由良，山本，原及び小田¹²⁾ 等は無水醋酸及び無水醋酸ソーダを使用し之に少量のピリヂンを添加して反應せしめ反應時間 2 時間にて得量理論数の 63% を得たと報告している。この場合ピリヂン添加の効果に関しては由良等の報告に於ては詳細なる実験報告が無い為め充分その効果を認めることが出来ないが之を添加することにより脱水作用を促進し反應時間を短縮せしめ得るばかりでなくその收得率も之を上昇せしめ得るものと想像される。著者等は上述の如き多数先人の研究結果を綜合しフルフラールに少量のピリヂンの存在下に無水醋酸及び無水醋酸カリを作用せしめて反應を行いたる所反應時間 2 時間にては得量理論数の 69% 反應時間 4 時間にては得量理論数の 75% に及ぶフリルアクリル酸を製造することが出来た。

II. フリルプロピオン酸の製造

フリルアクリル酸よりフリルプロピオン酸の製造法には前述の如く 1) 電解による方法¹³⁾

2) 接触還元による方法¹⁴⁾，3) ナトリウムアマルガムによる方法¹⁵⁾ の 3 種がある。

1) の電解還元による方法はヒドロ肉桂酸の製造法と同様の方法によりて得られその得量

は60~70% でありよくない。2) の接触還元による方法は、大正 14 年刈米により報告されているが之には接触剤として白金黒を使用するものと膠状パラジウムを使用するものとある。前者は得量は記載されて居らず後者は殆んど定量的に得られると報告されて居る。この方法に就いては目下研究中に就き後日改めて報告したいと思う。3) のナトリウムアマルガムによる方法は最も實際的に価値ある方法と思考されるものであつて今回は之に就いて研究を行つた。即ち常法によりフリルアクリル酸のナトリウム塩溶液に 3% ナトリウムアマルガムを加えて攪拌しつつ還元を行い反応終了後反応液を塩酸にて酸性となしエーテルにて抽出する。このエーテルにて抽出する場合塩酸酸性弱きに過ぐる時は之を長日間放置する時生成品は徐々に潮解し著しく褐色を呈する傾向がある。依つて著者等は之を強酸性となしてエーテルにて抽出したる処この潮解現象を避け得たるのみならず比較的着色も軽度にとどむることが出来た。尙最近の研究によりこのフルフラール誘導体の着色性は微量のヒドロキノン若しくは α -ナフチルアミンの混入により避け得られると云われて居る。

實 験 の 部

1. フリルアクリル酸の製造

(A) 無水醋酸及び無水醋酸ソーダを用いて行いたる実験。

新たに蒸溜せるフルフラール (b.p. 166°C) 20g., 精製無水醋酸 40g. 及び予め熔融して調製せる無水醋酸ソーダ 40g. を冷却器, 温度計を附したる三頸フラスコに入れ油浴中にて所要時間加熱反応せしめる。反応液に 500~800cc の水を加えて水蒸気蒸溜に附し未反応のフルフラール及び無水醋酸を除去母液を塩酸 (1:1) にてコンゴレッド試薬を用い酸性となせば冷却後淡黄色の針状結晶を得る。m. p. 139°C. 之を熱湯より再結晶すれば m. p. 140°C のものが得られる。本品は冷水には殆ど不溶。熱湯, アルコールには可溶。二硫化炭素, リグロイン, エーテル, 醋酸並びにベンゼンには易溶である。今本方法による実験成績を記載すれば次の如くである。

実験番号	フルフラール (g)	無水醋酸ソーダ (g)	無水醋酸 (g)	反応温度 (°C)	反応時間	フリルアクリル酸の得量 (g)	理論数に対する収率(%)
1	20	40	40	150°	11	19	65
2	20	40	40	150°	11	19	64

尙前記と同様の操作にてピリヂンを添加して行いたる実験成績は次の如くである。この場合使用せるピリヂンは水蒸気蒸溜の際未反応フルフラール, 無水醋酸と共に溜出される。

実験番号	フルフラール(g)	無水醋酸ソーダ(g)	無水醋酸(g)	ピリヂン	反応温度(c)	反応時間	フリルアクリル酸の得量(g)	理論数に対する収率(%)
1	15	30	30	6滴	150°	8	15.3	70
2	15	17	26	6滴	150°	8	15.0	69

以上の実験成績に於て明かなる如くピリヂンを添加したる場合は添加せざる場合に比しその収率に於て約5%上昇し反応時間に於て3時間之を短縮することが出来た。

(B) 無水醋酸及び無水醋酸カリを用いて行いたる実験。

前記(A)の実験方法に従い醋酸ソーダの代りに醋酸カリを用いて実験を行つた。その成績は次の如くである。

実験番号	フルフラール(g)	無水醋酸カリ(g)	無水醋酸(g)	ピリヂン	反応温度(c)	反応時間	フリルアクリル酸の得量(g)	理論数に対する収率(%)
1	15	30	30	6滴	150°	4	15.3	70
2	15	12	23	6滴	140°(油浴温度)	4	16.4	70
3	15	12	23	6滴	140°(油浴温度)	2	15.0	69

以上の実験によれば無水醋酸カリの使用量はフルフラール 15g に対し 12g にて充分なことが知り得られる。又その反応温度に就いては無水醋酸カリを使用したる場合は反応が速かに進行し 150°C にては高きに失するものと認められる。而して実験番号2及び3に於ては油浴の温度を調節して 140°C に保ち実験を行つたものである。

II. フリルプロピオン酸の製造

(A) ナトリウムアマルガムの製法

本実験に於て使用したナトリウムアマルガムは Fisher: "Experiments in Organic Chemistry" 418 に記載しある方法に従い次の如くにして調製した。即ち 6.9g の金属ナトリウムを 250cc のエルレンマイヤーフラスコに取りトルエン 10~15cc にて覆い注意深く加熱熔融せしめる。金属ナトリウム熔融後乾燥せる水銀 340g を始めの 2~3cc は少量宛振盪しながら滴下し振盪を絶えず継続しつゝ成るべく早く残りの水銀を加え終る。反応終了後トルエンを蒸溜すれば 3%のナトリウムアマルガムが得られる。

(B) フリルプロピオン酸の製造

フリルアクリル酸 15g を苛性ソーダ 4g 水 75cc に溶解し之を内容 250cc の三頸フラスコに移し之に 3% ナトリウムアマルガム 350g を添加攪拌して還元を行ひ約 6 時間にて反応を終了する。反応終了後一週間放置水銀を分離したる後塩酸にて強酸性となしエーテルにて抽出する。エーテル蒸溜残渣は即ち粗製フリルプロピオン酸であつて m.p. 49°C. 之を石油エーテルより再結晶すれば m.p. 50~51°C となる。かくして得られる製品は長日間放置するも幾

分茶褐色に変色する程度にて潮解しない。本品は水及びエーテルに可溶、濃硫酸により黄色を呈する。

実験番号	フリルアクリル酸 (g)	3%ナトリウムアマルガム (g)	苛性ソーダ (g)	水(cc)	反応時間	フリルプロピオン酸の得量 (g)	理論数に対する収率 (%)
1	15	350	4	75	6	12.7	84
1	15	350	4	75	8	12.9	85.0

本研究に際しては所長近藤竜博士の御援助を得た。茲に謹んで感謝の意を表する。

昭和 23 年 10 月

文 献

- 1) 志村：農林省茶試〔昭和 13 年〕
- 2) 玉利：農化 17, 333〔昭和 16 年〕
- 3) Marckwald : Ber. 21, 1083 ; Liebermann : Ber. 27, 285〔1894〕 ;
Knoevenagel : Ber. 31, 2614〔1898〕 ; D.R.P. 164296 ; Chem. Zentr. 11
1702〔1905〕
- 4) Schmidt : Ber. 13, 2342〔1880〕
- 5) Marckwald : Ber. 21, 1081 ; Liebermann : Ber. 27, 285〔1894〕 ;
Knoevenagel : Ber. 31, 2614〔1898〕 ; Sikhibhnsan Dutt : Quart J.
Chem. Soc. 1, 297~301〔1925〕 ; Dutt : Chem. Zentr. 22, 1853〔1925〕 ;
Dakin : J. biol. Chem. 7, 54 ; Kurien, Pandya, Surange : Chem. Zentr. 1,
3925〔1935〕
- 6) Claisen : Ber. 4, 144〔1891〕
- 7) Claisen : Ber. 4, 2468〔1881〕 ; Claisen und Ponder : Ann. 223, 146
〔1884〕 ; Schmidt : Ber 14, 574, 1459〔1886〕 ; 柏木 : 日化 47, 159〔昭和 2
年〕 ; 藪田, 神戸 : 農化 4, 214〔昭和 3 年〕 ; 日特 71065〔昭和 3 年〕 Brown :
Iowa State Coll. J. Sci. 11, 227 ; Hurd, Thomas : J. Am. Chem. Soc. 55,
1646〔1933〕
- 8) Baeyer : Ber. 10, 357〔1887〕 ; Marckwald : Ber. 20, 2812〔1887〕 ; Gibson,
Kahnweller : J. Am. Chem. Soc. 12, 314〔1890〕 ; Moureu, Dufraisse,
Jonson : Ann. (10) 7, 14〔1927〕 ; Gilmann, Brewn, Wright, Hewelett :
Iowa State Coll. J. Sci. 4, 355〔1931〕 ; Gaimberti : Chem. Zentr. 1, 2107
〔1941〕

- 9) 藪田, 神戸 : 農化 4, 214 [昭和 3 年] ; 日特 71065 [昭和 3 年]
- 10) Allen : Org. Synth. 20, 55 [1940]
- 11) 八浜, 井木 : 工化. 45, 474~476 [昭和 17 年]
- 12) 由良, 山本, 原, 小田 : 工化. 45, 578 [昭和 17 年]
- 13) 邦訳. "Organic Synthesis" (丸善) 訂正版. 332
- 14) 刈米 : 薬学 17, 甲 525~526 [大正 14 年]
- 15) Bayer : Ber, 10, 357 ; Marckwald : Ber. 20, 2812 ; Sudborough Gittins :
J. Chem. Soc. 95, 320.

α -ナフチルチオ尿素の合成

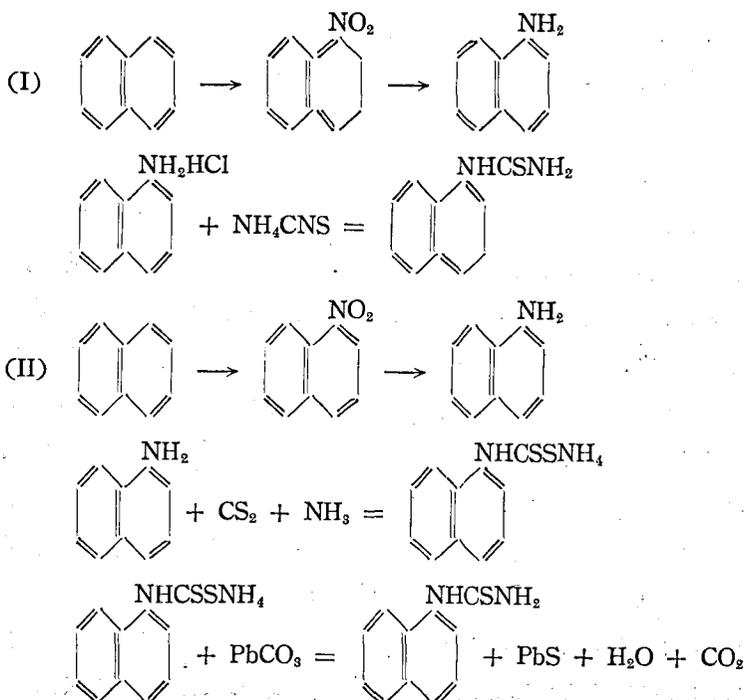
技 官 丸 田 省 三 郎

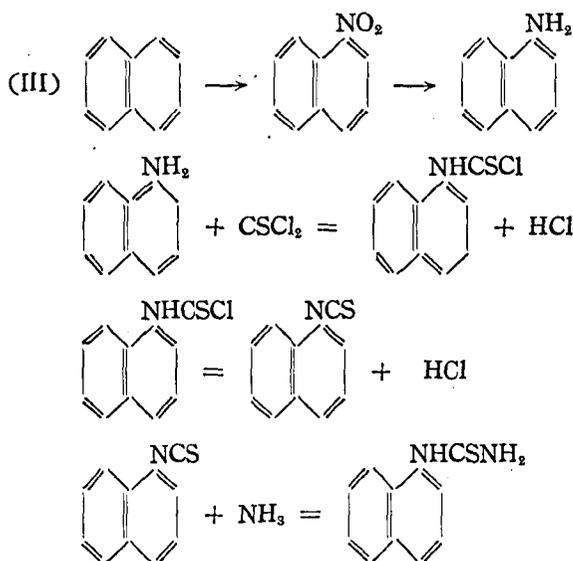
Synthesis of α -Naphylthiourea

Seizaburo Maruta

α -ナフチルチオ尿素は之を略して俗に ANTU と呼ばれ齧齒類動物に対し猛烈なる毒性を発揮し殊に之が殺鼠剤として優れた効力を有することは定評のある所である。伝えられるところによれば 1 匹の鼠 (体重大約 150 g 前後のもの) に対しては亜硫酸が 17~32 時間内に 6mg., 燐が同時間内に 3mg にて之を斃死せしむるに對し ANTU は優に 1.5mg にて百發百中之を斃死せしむることが出來ると云う。然かも人体に対しては殆ど無毒である為めその取扱も樂であると云う利点を有している。 α -ナフチルチオ尿素に関しては嘗て 2, 3 の雑誌に掲載紹介されたことがあるがその製造法に就いてはナフタリンよりの一貫した詳細なる発表はない。著者は此の度ナフタリンを原料とする本品の合成法に就き調査し從來の文献に改良を加え良好なる收率を挙げ得たるが故に茲に之を報告する次第である。

α -ナフチルチオ尿素の製造法に就き著者が 1946 年に入手することを得た H. H. Hatt 及び W.J.Troyahn (Melbourne. Fishermen's Bond Industrial Chemistry Laboratory) の報告によると次の 3 種の方法が挙げられている。





以上の3方法のうち一般に應用されているのは専ら (I) の方法であり本報告に於てもこの方法に就てのみ研究を行つた。

1. α-トロナフタリンの製造

ナフタリンをニトロ化して α-トロナフタリンを製造する方法に就ては之まで多くの人々により研究されたがその主なるものを挙げれば次の如くである。

- (1). 硝酸を数日間冷所に放置して作用せしむる方法¹⁾。
- (2). 電氣を通じて行方方法²⁾。
- (3). 硫酸と硝酸との混液を作用せしむる方法³⁾。

以上のうち (3) の方法が従來最も実用的價値あるものとされていた。著者も之に就き實驗を行つて見たが反應生成物は融点低く之を水蒸氣蒸溜により未反應のナフタリンを除去後精製しなければ純良なるものが得られず予期した好結果を得ることが出来なかつた。赤星,玉井⁴⁾は先頃 α-トロナフタリンの製造反應と題し詳細なる研究を發表しているが之は (3) の方法の改良法であつて著者も之に就き追試を行つて見たが本法は得量もよく生成品も純良なるものが得られるがナフタリンを固形体のまま硫酸と硝酸との混液に反應せしむるものであつてその際攪拌下に溫度を低温に保つことは困難であり操作上不便な点があることを痛感した。よつて著者はナフタリンを先づ同量の氷醋酸と混合し之に攪拌しつゝ発煙硝酸 (83%) を滴下して反應せしめたる所ナフタリンは低温に於て容易に氷醋酸と発煙硝酸との混液中に溶解し短時間にて反應を終了之をそのまま放置して α-トロナフタリンの美麗なる黄色長針狀結晶を得た。従來ナフタリンをニトロ化して α-トロナフタリンを生成せしめんが爲めには成るべく低温に於て反應せしめるのが原則とされていたが實際の操作に當つては前述の如く溫度を低温

に保つことは困難であり操作上不便な点が多かつた。然し著者の方法によると温度は 40°C 以下にて充分であり然かもナフタリンを溶液状態に於てニトロ化し得ると云う利点を有し又その反応時間も (1) の方法に於けるが如く長時間を要せず発煙硝酸の滴下を終るや否や直ちに之を冷却して結晶せしめても既に純良なる α -ニトロナフタリンを生成し得られその生成品も (3) の方法により製造し得たるものに精製の操作を施したるものと同様の純品を得ることが出来た。

II. α -ナフチルアミンの製造

α -ニトロナフタリンより α -ナフチルアミンへの還元法に就いては従来文献には種々なる方法⁵⁾が記載されているが工業的には専ら鉄粉と塩酸による方法⁶⁾が最も経済的であるとして之まで一般に採用されている。本方法に於て使用する塩酸の使用量に就いては原料として用いられる α -ニトロナフタリンに対し大約 $1/10$ 量の塩酸 (30%) を用うるのが普通であるが之は理論的数量の大約 $1/40$ に相当する。この塩酸の使用量がかく少量にてすむことに関しては A. Wohl⁷⁾並びに Witt⁸⁾により又 P. H. Groggins : „Unit Process in Organic Synthesis”

66 にもその反応機構の説明がなされているが著者の実験によると之に食塩を添加して還元を行うときは反応が速かに進行しその塩酸の使用量も之を添加せざる場合に比しその約 $1/5$ 量にて足りることを確かめることが出来た。尙又その反応温度並びに反応時間も通常は $70\sim 80^{\circ}\text{C}$ にて 4~8 時間と云うのが従来文献に記載されている条件であるが著者の実験では食塩添加の場合には $80^{\circ}\sim 90^{\circ}\text{C}$ で 2.5 時間にて充分であるということを知ることが出来た。以上の如くにして還元を行つた反応成績物は之を苛性ソーダアルカリ性に於てベンゼンに轉溶、ベンゼン蒸溜残渣より塩酸塩として捕集した。

III. α -ナフチルチオ尿素の製造

α -ナフチルアミンより α -ナフチルチオ尿素の製造法に就いては前記 H. H. Hatt 及び W. J. Troyahn の報告にも掲載されているが得量に就いては記載がない。昭和 22 年柴田⁹⁾は α -ナフチルアミンとロダナンモンによる α -ナフチルチオ尿素の製造方法に就いて報告しているが之によると m.p. $165^{\circ}\sim 170^{\circ}\text{C}$ のものを理論数の 91%、之をアルコールより再結晶して m.p. 190°C のものを 75% 收得したとある。著者は純粹なる α -ナフチルアミンの塩酸塩に約 2.5 倍量の水及び約 $1/2\sim 1/3$ 量のロダナンモンを加えて加熱反応せしめ m.p. 182°C のものを理論数の約 90~93% を得た。而して之をアルコールにて再結晶したものは m.p. 184°C であつた。尙前記 H. H. Hatt 及び W. J. Troyahn の報告によると本製造に際し加熱の温度高きに失する時は β - α -ナフチルチオ尿素を副生するとあり之は通常の α -ナフチルチオ尿素に比し融点高く (m.p. $196^{\circ}\sim 198^{\circ}\text{C}$) 又そのアルコールに対する溶解度も後者は前者に比し遙かに難溶性 (α -ナフチルチオ尿素は 99% 沸騰アルコール 100g 中に 5.3g., β -

α -ナフチルチオ尿素は 100g. 中に 0.34g を溶解する) であり且又このチ α -ナフチルチオ尿素は鼠に対しては毒性が弱いと記載されている。著者の実験によれば前述の方法により製造した α -ナフチルチオ尿素中にはこのチ α -ナフチルチオ尿素の共雑は認められなかつたが本品は未だ少量の不純物を含有している故之をアルコールにて再結晶し容易に純粹なる α -ナフチルチオ尿素を得ることが出来た。尙實際の工業的作業に於て多量のアルコールを使用して再結晶を行うことは不得策であると思われるがこの場合は可及的少量のアルコール又はメタノールを以て加温洗滌するのみにて充分精製の目的を達し得ることを確かめることが出来た。

實 験 の 部

I ナフタリンより α -ニトロナフタリンの製造

ナフタリン 15g を同量の氷醋酸に溶解し攪拌しつゝ温度を 40°C に保ち之に 9.17g. の発煙硝酸 (83%) を滴下する。発煙硝酸の滴下終了後之をそのまま放冷すれば黄色長針状の α -ニトロナフタリンの結晶を析出する。之を濾過し水にてよく洗滌すれば m. p. 55° の純品を得る。得量 18.2g. 収率理論数の 90%。

II α -ニトロナフタリンより α -ナフチルアミンの製造

α -ニトロナフタリン 15g. を三頸コルベンに入れ之に鉄粉 15.6g. 水 4.5g. 30% 塩酸 0.3g. 及び食塩 2g. を加え強く攪拌しつゝ温度を $80^{\circ}\sim 90^{\circ}\text{C}$ に保ち還元を行う。(所要時間 2.5 時間)。反応生成物は之に苛性ソーダ溶液を加えてアルカリ性となしベンゼンに轉溶ベンゼン蒸溜残渣を可及的少量のアルコールに溶解し之に塩酸を添加し塩酸塩となして捕集した。得量 13.9g. 収率理論数の 90%。この塩酸塩は之を直ちに α -ナフチルチオ尿素を製造する為めの原料として使用し得べく之を塩基となしたるものは m. p. 48°C 更に之をアルコールにて再結晶したものは m. p. 50°C を示した。

III α -ナフチルチオ尿素の製造

純粹なる α -ナフチルアミンを可及的少量のアルコールに溶解し之に約半量の濃塩酸を加えて得られる α -ナフチルアミンの塩酸塩 15g. に約 2.5 倍量の水を加えて加熱溶解せしめ之に約 $\frac{1}{2}\sim\frac{1}{3}$ 量のロダアンモンを加え 105°C にて 5 時間加熱し析出する α -ナフチルチオ尿素の結晶を熱時濾過する。母液を更に加熱すれば尙少量の α -ナフチルチオ尿素を捕集し得る。得量 15.7~16.2g. 収率理論数の 90~93% m. p. 182°C . 之をアルコールより再結晶したるものは m. p. 184°C であつた。本品は白色無味無臭の結晶で不純品は多少灰白色を呈している。

本研究に際しては前所長松尾仁博士並びに現所長近藤竜博士の御援助を得た。茲に謹んで感謝の意を表する。

昭和 23 年 10 月

文 献

- 1) Weil : "Die Method. d. Org. Chem." 1142 [1911]; Gassmann : Ber. 29, 1243; Friedländer : Ber. 32, 3531.
- 2) Triller : D. R. P. 100417.
- 3) Witt : Chem Ind. 10, 216 [1887]; Cain : "Int. prd. Dyes" 181 [1819]; E.P. 133918 [1919]; Ullmann : "Enz. Tech. Chem." 7, 789, Fierz David : "Farben Chemie" 122 [1938]
- 4) 赤星, 玉井 : 有化, 3, 報 37~40 [昭和 20 年]
- 5) Beilstein (4) 12, 1212; Ullmann : "Enz. Tech. Chem." 8, 322; D. R. P, 205076; Grandmougin : Rev. Prod. Chim., 20, 196 [1917]
- 6) Ullmann : "Enz. Tech. Chem.", 8, 323.
- 7) A. Wohl : Ber. 27. 1815.
- 8) Witt : Chem. Ind, 218 [1887]
- 9) 柴田 : 有化, 5, 76 [昭和 22 年]

2-サルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミチンの合成

技 官 丸 田 省 三 郎

助 手 遠 藤 完 一 郎

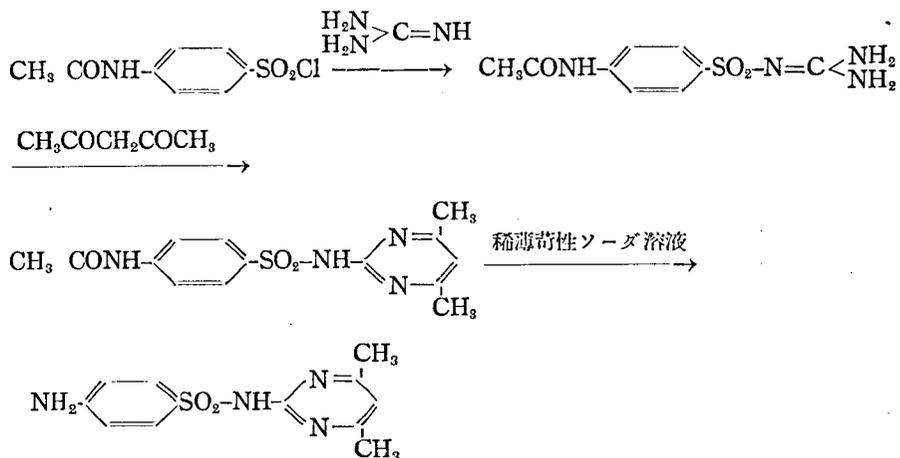
副 手 太 田 和 男

Synthesis of 2-Sulfanilamino-4, 6-dimethyl pyrimidine

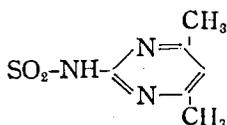
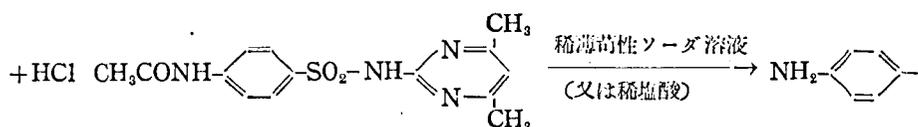
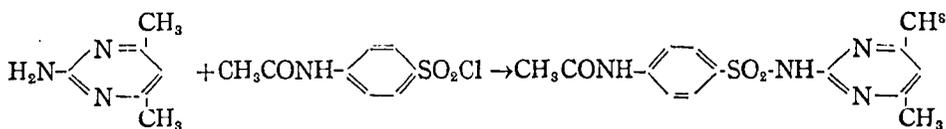
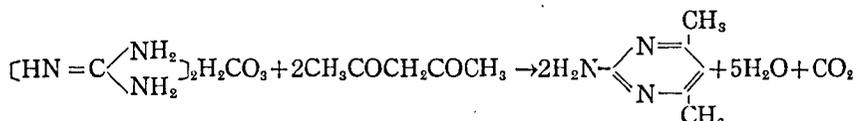
Seizaburo Maruta Kaichiro Endo Kazuo Ota

2-サルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミチンは別名をサルファメサチン又はサルファメザチンとも云い 1941 年以來英國に於て臨床上に廣く應用されている化学療法剤¹⁾であつてサルファグアイアチン及びサルファメラチンと並んで肺炎双球菌に対して効力が強くしかも副作用が少ないと云うので頗る好評を得ているものである。又本品は溶解度が大なる為めサルファグアイアチン及びサルファメラチンよりも危険性が少く従つて患者の大量服用に堪え得ると云われている。本邦に於てもサルファグアイアチン及びサルファメラチンは既に工業化されて治療界に提供されているがサルファメサチンは未だ企業化されるに至つて居らない様である。著者等は官命に依り本品の製造法に就き調査したるが故にこゝにその結果を報告する。

サルファメサチンの製造法についてはシェーリング会社の日本特許²⁾に詳細に發表されている。即ち次式の如く *p*-アセトアミノベンゼンスルホン酸クロライドにグアニチンを作用せしめて得られる2-アセチルサルファニルグアニチンにアセチルアセトンをオートクレーヴ中にて 100~110° C にて 2~3 日間加熱して縮合せしめ 2-アセチルサルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミチンを製し之を稀薄苛性ソーダ溶液にて加水分解してサルファメサチンを製造するものである。



著者等は本特許法に依る事なく常法に依り先づ炭酸グアニジンとアセチルアセトンとを縮合せしめて2-アミノ-4, 6-ジメチルピリミジン³⁾を製し之に p-アセトアミノベンゼンスルホン酸クロライドを作用せしめて 2-アセチルサルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジン⁴⁾を製し之を稀薄苛性ソーダ溶液又は稀塩酸にて加水分解して 2-サルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジンを製造する事が出来た。



I. アセチルアセトンの製造.

アセチルアセトンの製造法には次の諸法がある.

- A) アセトンとアセチルクロライドを塩化アルミニウムの存在に於て縮合せしむる方法⁵⁾
- B) 醋酸エステルとアセトンをナトリウムアミドの存在に於て縮合せしむる方法⁶⁾.
- C) 醋酸エステルとアセトンを金属ナトリウムの存在に於て縮合せしむる方法⁷⁾. 収率23~25%.
- D) アセトンと無水醋酸を弗化硼素の存在に於て縮合せしめる方法⁸⁾. 収率 80~85%
- E) 醋酸エステルとアセトンをナトリウムエトキシサイドの存在に於て縮合せしめる方法⁹⁾. 収率 38~45%.

而してA法は所謂フリーデルクラフト反應を應用したものであるが収量が非常に悪い. 又B法もC法も得量はあまり良くない. 残るはD法及びE法であるがD法は収率 80~85% と云う記載があつて非常に良い方法と思はれるが本邦に於ては弗化硼素が得られず工業化は困難である. 上述の理由に依り本報告では E 法を採用し大体に於て Organic Synthesis 記載の方法

に準拠し実験を行つた。得量は理論的数量の 32% であつた。2-サルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジンの製造にはこのアセチルアセトンの製造が最も重要であつてその工業化に当り最も難点とされる所はこのアセチルアセトンの製造であるが収量良き簡單なる製造法が見出さるゝ場合に於てはその工業化は容易であると思ふ。

II. 2-アミノ-4, 6-ジメチルピリミジンの製造.

2-アミノ-4, 6-ジメチルピリミジンの製造法については A. Combes, C. Combes. の報告¹⁰⁾があるが収量は記載されていない。而して W. Caldwell 等¹¹⁾に依ればその収率は理論数の 78% であると報告されている。本報告に依れば 1mol. のアセチルアセトンと 1mol. の炭酸グアニデンを混合する時は常温に於て炭酸ガスを発生して反応し又水浴上にて軽度に温むるならばその反応は甚だ活潑となり反応終了後之を冷却し析出する白色の結晶塊を分離し之を水から再結晶すると記載されている。著者等も本方法を追試して見たが猛烈に炭酸ガスを発生して反応するが反応成績物を檢するに未だ相当量の未反応炭酸グアニデンが残留する事を認めた。依つて著者等は 60% アルコールを溶媒として反応を行いたる所反応は円滑に進行し好結果を得た。此處に得られる白色の結晶を水にて 2 回再結晶すれば立方体の結晶を得る。此の物質は m.p. 149°~150°C, 収率理論数の 70% であつた。

III. 2-アセチルサルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジンの製造.

2-アセチルサルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジンの製法に就ては 文献には明確なる記載はないが 2-アセチルアミノピリミジン類の製法として W. Caldwell の報告¹²⁾が有りそれには 2-アセチルアミノピリミジン類の収率として 67~97% と報告して有る。著者等の実験に依れば文献記載の製法中ピリミジンを溶媒として 60°C の温度にて 1 時間反応を行うという条件よりも室温 (15°~25°C) にて 12 時間放置するという条件の方が好成績を示した。収率理論数の 77%. m.p. 247.9°C (補正)。

IV. 2-サルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジンの製造.

2-サルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジンの製造に當つては大体に於て W. Caldwell 等の 2-サルファニルアミノピリミジン類の製法¹³⁾に準拠して実験を行つたが原報には 2-サルファニルアミノピリミジン類は苛性ソーダの 2.5 当量を含有する 0.5~1mol の水溶液に 2-アセチルサルファニルアミノピリミジンを入れ 3 時間加熱することにより加水分解しその収率は理論数の 80~99% と記載されている。然し乍ら著者等の実験に依ればその所要時間は文献記載のものよりも遙かに長時間を要した。又稀塩酸によりても同様に加水分解し得た。而して著者等の得た 2-サルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジンの結晶の融点は 176°~177°C であつてシェーリング会社日本特許¹⁴⁾に記載されている サルファメサジンの融点に一致している。収率理論数の 85%。

實 験 の 部

I. アセチルアセトンの製法

金属ナトリウム 1.5 g を乾燥キシロール 67 cc. を入れたるフラスコ中に加え油浴中にて熔融させる。熔融後フラスコを強く振盪しつつ徐々に冷却すれば粉末ナトリウムが得られる。この内容物を予め乾燥して準備せる三頸フラスコ中に移し、傾瀉してキシロールを除き無水エーテルにて充分に洗滌後之に無水エーテル 170 cc. を加え攪拌器、還流冷却器及び分液漏斗を附し水浴上に装置する。而してこの冷却器、分液漏斗の上部にはカルシウム管を附し湿気の浸入を完全に防ぎ分液漏斗より無水アルコール 23 g を徐々に滴下しつつ静かに攪拌する。而して無水アルコールを入れた後尙 6 時間攪拌加熱を継続する時は反応フラスコ中には白色塊状のナトリウムエトオキサイドの結晶が析出する。之を一夜間放置後水浴上にて出来るだけ完全にエーテルを除去する。次にこの析出したナトリウムエトオキサイドに分液漏斗を通して無水醋酸エチル 230 cc. を出来るだけ早く加える。之に直ちにアセトン 29g. を 10~20 分間攪して加える時は此の液は褐赤色となる。その後尙 1 時間加温攪拌したる後室温 (20°~25°C) にて一夜間放置すればアセチルアセトンのナトリウム化合物の結晶が析出する。之を傾瀉して分取し 400 cc. の氷水中に溶解させ析出せるエステル層をエーテルにて分取する。かくして得たるアセチルアセトンを溶存する水層を稀硫酸にてリトマス酸性となしエーテルにて数度浸出する。浸出したエーテル層に約 20g, の芒硝を加え冷蔵庫にて一夜間放置後濾過し無水エーテルにて芒硝を洗いこの洗液と濾液を合併し水浴上にてエーテルを溜去するときは茲に着色せる粗製のアセチルアセトンが得られる。之を普通の分溜管を用いて蒸溜し 130°~139°C の部分を取り之に少量の炭酸カリを加えて乾燥したる後再蒸溜し 134°~136°C の部分を取る。本品は無色又は類黄色の液体で b.p. 136° C である。前記の実験結果を表示すれば次の如くである。

アセトン(g)	醋酸エステル(cc)	金属ナトリウム(g)	キシロール(cc)	無水アルコール(g)	得量(g)	収率(%)
29	230	12	67	23	16	32

II. 2-アミノ-4, 6-ジメチルピリミヂンの製法.

アセチルアセトン 9.5g. を 60% アルコール 25cc. に溶解し之に充分乾燥し粉末となした炭酸グアニチン 8.2g を加え水浴上にて 60°~70°C に加温し約 3~4 時間反応せしめる。この際盛んに炭酸ガスを発生する。冷後アルコールを蒸溜し残留物を無水アルコールと共に加熱する。この際に未反応の炭酸グアニチンは不溶解物として残留する故之を濾過し濾液を濃縮し

て生ずる結晶を採取する。之を水又はアルコールより再結晶すれば立方体の結晶を得る。m.p. 149°~150°C 得量 7.5g. 収率は理論数の 70%。その実験結果は次の如くである。

アセチルアセトン (g)	炭酸グアニジン (g)	無水アルコール (g)	時間	得量 (g)	収率 (%)
9.5	8.2	20	4	8.2	70

III. 2-アセチルサルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジンの製法。

2.1g の p-アセトアミノベンゼンスルホン酸クロライド (mp. 149°C) を 5cc. のピリジンに溶解させるとピリジンと結合して液は黄色となる。之に 1g. の 2-アミノ-4, 6-ジメチルピリミジンを加える。之を室温にて 12 時間放置後ピリジンを減圧にて溜去し之に水を加え再度減圧蒸溜して大部分の水を溜去する時は 2-アセチルサルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジンの結晶が析出する。之を無水メタノールから再結晶して m.p. 247.9° C (補正) の物質を得た。その実験成績は次の如くである。

2-アミノ-4, 6-ジメチルピリミジン (g)	p-アセトアミノベンゼンスルホン酸クロライド (g)	ピリジン (cc)	時間	2-アセチルサルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジンの得量 (g)	収率 (%)
1	2.1	5	一夜放置	2	77

IV. 2-サルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジンの製法。

2-アセチルサルファニルアミノ-4, 6-ジメチルピリミジン 2.8g. に苛性ソーダ 0.87g. 及び水 8.7 cc を加え水浴上にて長時間加温して加水分解を行う。この反応液に活性炭を加え脱色後濾過し濾液を稀塩酸にて中和し pH 6.5~6.8 にて析出する結晶を無水アルコールより再結晶する。m.p. 176°~177°C. 得量 2.3 g. 収率理論数の 85%。稀塩酸にて同様に加水分解を行うことが出来る。本品は白色又は淡黄色の結晶で水に易溶である。

本研究に際しては所長近藤竜博士並びに板井技官の御指導、御援助を得た。茲に謹んで感謝の意を表する。

昭和 23 年 10 月。

文 献

- 1) Morgan, T. N. and Wylie-Smith, R., Lancet, 2, 731~733.
- 2) Shering 日本特許 170154.
- 3) A. Combes, C. Combes : Bull. Soc. Chim. (3) 7, 791 [1900].
- 4) W. Caldwell : J. Am. Chem. Soc. 63, 2188 [1941].
- 5) Combes : Ann. Chim. Phys. (9) 12, 207 [1887].

- 6) Claisen : Ber. 38, 695 [1905].
- 7) Claisen : Ann. 277, 168 [1893].
- 8) Meerwein, Vossen : J. prakt. Chem. 141. 149 [1934] ; Allen : "Organic Synthesis" 20, 6 [1940].
- 9) Claisen, Ehrhardt : Ber. 22, 1010 [1889] ; Claisen : Ber. 38, 695 [1905] ; Sprague, Beckham, Adkins : J. Am. Chem. Soc. 56, 2665 [1934] ; Allen : "Organic Synthesis" 20, 6 [1940].
- 10) A. Combes, C. Combes : Bull Soc. Chim. (3) 7, 791 [1900].
- 11) W. Caldwell : J. Am. Chem. Soc. 63, 2188 [1941].
- 12) W. Caldwell : J. Am. Chem. Soc. 63, 2188 [1941].
- 13) W. Caldwell : J. Am. Chem. Soc. 63. 2188 [1941].
- 14) Schering 日本特許 170154.

スルホンアミド耐性株に対するニトロフラゾーン (邦製フラシン)の作用

技 官 宮 本 晴 夫 副 手 越 沼 き み る
研 究 生 柳 町 徳 三 研 究 生 大 谷 政 衛

On the Action of Nitrofurazon (Furacin) against the
Sulfonamide-tolerant Strains

Haruo Miyamoto Kimie Koshinuma
Tokuzō Yanagimachi Masae Otani

I ま え が き

スルホンアミド剤(以下 S 剤と略す)を連用すると、細菌がこれに抵抗性を獲得してきて S 剤が効かなくなるという事実は日常吾々の経験するところである。そして菌が抗スルホンアミド性を帯びてくるこの現象は in vivo のみならず、in vitro の実験に於ても S 剤を含んだ培地に菌を継代培養することによつて観察される¹⁾⁻⁵⁾。さきに宮本等は *Aerobacter aerogenes* が S 剤に抵抗性を獲得することの機作については、菌がより多くのパラアミノ安息香酸を生産するようになることも一役を買っているのではなからうかと推論し、⁶⁾ 更に尿素が菌の抗スルホンアミド性獲得を妨害する in vitro の実験よりして、⁷⁾ S 剤と尿素との併用療法は両者の間の顕著な協同作用に期待することのほかに、菌が S 剤に耐性になるのをさまたげるであらうと予想した。

しかして今回は Dodd & Stillman 等⁸⁾の報告以来、新化学療法剤として注目されてきたニトロフラゾーン(フラシン) NO_2  $\text{CH}=\text{N}\cdot\text{NH}\cdot\text{CO}\cdot\text{NH}_2$ は、S 剤に耐性となつた菌株に対しても、無耐性の菌株と殆んど変りのない抗菌性を発揮するのを認めたので、さきの八田⁹⁾等⁹⁾のマウスを使用した感染防禦実験の成績と相まつて、S 剤とフラシンとを併用或は交互に與えることは菌の抗スルホンアミド性から逃れるという意味に於ても、その効が充分に期待されるであらうとの推論に達した。こゝにその実験大要を述べる。

II フラシンの S 剤耐性株に対する抗菌力

S 剤耐性株としては in vitro で S 剤を含む培地に 30 代継代培養することによつて耐性を得た *Aerobacter aerogenes* (耐性を得ていないもとの菌株と較べると、S 剤に対する抵抗力が 20~30 倍増強している)と都立駒込病院で S 剤の全く効の無かつた吉田・大浦の 2 人の

赤痢患者の糞便中より分離された赤痢菌箕田の2菌株(東京大学微生物学教室より桑原章吾技官を経て分譲をうけた)を使用した。まずこの吉田及び大浦の2菌株が、耐性を得ていない箕田赤痢菌と比較してS剤に対しどれだけの抵抗性を示すかをカゼイン加水分解液を使用した半合成培地(Na₂HPO₄ 2.5g, KH₂PO₄ 0.35g, NaCl 2.0g, カゼイン塩酸加水分解液 1.0g [カゼインとして], d-グルタミン酸 0.5g, L-tryptophane 0.01g, L-cystin 0.01g, MgSO₄ 7H₂O 0.1g, glucose 1.0g, ニコチン酸 1×10⁻⁴ M, ビタミンB₁ 1×10⁻⁴ M, 蒸留水 1l. pH7.2)を用いて観察した。S剤としてはスルファチアゾール(以下S.T.と略す)を用い、S.T.をカゼイン培地で希釈して500, 1,000, 2,000……5126,000までの倍数希釈液を作り、これに無耐性の箕田菌及び耐性を獲得している吉田, 大浦の各菌株の菌数1,000~5,000個宛を接種して37°Cに培養し、1~7日にわたって毎日混濁度を指標としてS.T.の抗菌力をしらべた。1日, 4日, 7日の成績は第1表の如くで、7日後の判定では無耐性の箕田菌はS.T.の256,000倍の希釈液でその発育が完全に阻止されるのに、吉田, 大浦ともにS.T.の1,000倍希釈で始めてその発育が阻止される程度であつた。無耐性株に比較すると $\frac{256,000}{1,000} = 256$ 倍の抵抗性の増強を認めた。

第1表 カゼイン培地に於けるS.T.の箕田赤痢菌(無耐性株及び耐性株)に対する抗菌力

判定日	S.T.希釈倍数 使用菌株	S.T.希釈倍数													
		500	1千	2千	4千	8千	1万 6千	3万 2千	6万 4千	12万 8千	25万 6千	51万 2千	102万 4千	204万 8千	509万 6千
1日	箕田赤痢菌(無耐性)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+
	吉田株(耐性)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
	大浦株(耐性)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	±	+	±	±	±
4日	箕田赤痢菌(無耐性)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	±
	吉田株(耐性)	-	-	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	大浦株(耐性)	-	-	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±
7日	箕田赤痢菌(無耐性)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	±	±
	吉田株(耐性)	-	-	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	大浦株(耐性)	-	-	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±

註 - ……菌の発育せざるもの

±~±± ……菌の発育程度を示す

そこでつぎにこれらの菌株に対するフラシンの抗菌力をカゼイン加水分解液培地を用いてしらべた。フラシンを培地で希釈して10,000から2560,000倍までの倍数希釈液を作り、これらの各々に無耐性の箕田赤痢菌と耐性を得た吉田, 大浦の2菌株との菌数約1,000~5,000個づつを接種して、37°Cに培養後1~7日にわたって観察した。1日, 4日及び7日の成績は第2表の如くであつて、S剤に対して256倍も抵抗力を獲得した菌株も、フラシンに対して

は殆んどその威力を示していないことがつきりと解る。さらに *Aerobacter aerogenes* の無耐性株と耐性株に対するフラシンの抗菌力をしらべた。フラシンを合成培地 (K_2HPO_4 1.0g, Na-citrate 2.5g, $(NH_4) H_2PO_4$ 1.5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2g, 蒸溜水 1l pH7.4) で稀釈して

第 2 表 カゼイン培地に於けるフラシンの箕田赤痢菌(無耐性株及び耐性株)に対する抗菌力

判定日	使用菌株	フラシンの株稀釈倍数								
		1万	2万	4万	8万	16万	32万	64万	128万	256万
1日	箕田赤痢菌(無耐性)	-	-	-	-	-	-	+	卅	卅
	吉田株(耐性)	-	-	-	-	-	-	卅	卅	卅
	大浦株(耐性)	-	-	-	-	-	-	卅	卅	卅
4日	箕田赤痢菌(無耐性)	-	-	-	-	-	-	卅	卅	卅
	吉田株(耐性)	-	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅
	大浦株(耐性)	-	-	-	-	-	±	卅	卅	卅
7日	箕田赤痢菌(無耐性)	-	-	-	-	-	-	卅	卅	卅
	吉田株(耐性)	-	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅
	大浦株(耐性)	-	-	-	-	-	+	卅	卅	卅

註 前表と同じ

50,000 から 640,000 倍までの倍数稀釈液を作り、これらの各々に無耐性株と耐性株とを接種し(菌量は前の実験と同様 1,000~5,000 個とした)1~7日にわたつて観察した。1日、3日、5日及び7日の成績は第3表の如くであつて、1日後の判定では無耐性及び耐性株ともフラシンの40万倍稀釈液、3日では10万倍稀釈液でその発育が完全に阻止され、5日及び7日では無耐性株はフラシンの10万倍、耐性株は5万倍であつて2倍の増強となつており、

第 3 表 合成培地に於けるフラシンの *Aerobacter aerogenes* (無耐性株及び耐性株)に対する抗菌力

判定日	使用菌株	フラシンの株稀釈倍数							
		5万	10万	20万	40万	80万	160万	320万	640万
1日	無耐性株	-	-	-	-	+	+	+	+
	耐性株	-	-	-	-	+	+	+	+
3日	無耐性株	-	-	±	卅	卅	卅	卅	卅
	耐性株	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅
5日	無耐性株	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	耐性株	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
7日	無耐性株	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	耐性株	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

註 前表と同じ

箕田赤痢菌を用いた場合と同様S剤に耐性を得た。Aerobacter aerogenes もフラシンに対しては、その抵抗性を殆んどあらわさなかつた。そしてこの事実はまたS剤とフラシンとは作用機序の全く異なるものであることを示唆している。

なおこの実験終了後 New and nonofficial Remedies 誌 (1948年)¹⁰⁾ に於てもS.T. ペニシリン、ストレプトマイシンに抵抗性を獲得した菌株に対して、フラシンはもとの無耐性の菌株と同様の効を示すことの記載に接した。これは吾々の実験結果と一致するものである。

Ⅲ 耐性株に対するフラシンと S. T. との併用

以上の実験よりしてS剤に抵抗性を獲得した菌株は、フラシンに対してはその威力を示さないことを確認することが出来たので、フラシンとS剤とを併用した場合に耐性株に於て協同作用が認められるかどうかを観察した。

カゼイン加水分解液培地を用いて、箕田赤痢菌の耐性株吉田及び大浦についてしらべた。S. T. の 500, 1,000, 2,000, 4,000, 8,000. 倍稀釈液の各々にフラシンを 20万, 40万, 80万 160万, 10^7 , 10^8 , 10^9 倍稀釈となるように加え、換言すれば S. T. とフラシンとの全部の組合せ液を作り、対照として S. T. だけの稀釈液とフラシンだけの稀釈液とを作つて、S.T. とフラシンとの組合せ液の抗菌力を S. T. 単独の抗菌力と比較した。勿論この場合フラシンの単独では菌発育阻止力はなかつた。フラシンを添加した効果は認められず、S.T. とフラシンとの組合せ液の抗菌力はフラシンを加えない S. T. だけの抗菌力と同一であつた。故に耐性株に対する併用効果は両者の相乗的な協同作用ではなく、単独にフラシンが耐性株に効力を示すことに期待されるわけである。

Ⅳ 抗スルフォンアミド性に及ぼすフラシンの影響

一度S剤に強力な抵抗性を獲得した菌株は、S剤を含まない培地に継代培養されても容易にその性質を失なわないことが知られているが、Aerobacter aerogenes の耐性株をフラシンを含む培地に継代培養して、フラシンと接触せしめることによつて或はこの抗スルフォンアミド性が障碍されはしないかとも考え、フラシンの 100万倍稀釈液に 38 代継代培養して、この菌株について抗菌力をしらべたが、もとの耐性株と同様の力價を示して、フラシンの影響は認められなかつた。即ちS剤耐性株がS剤に対して示す抵抗性を、フラシンは破壊乃至は妨害しないものであることを知つた。

V む す び

フラシンはS剤に耐性を獲得した菌株に対しても、無耐性の菌株と殆んど同様の抗菌性を示し、フラシンの力價は抗スルホンアミド性によつて減弱されなかつた。しかし耐性株ではS. T. とフラシンとの間には相乗的な協同作用が認められず、またフラシンは抗スルホンアミド性を障害乃至は破壊出来なかつた。

終りに終始御指導と御校閲を賜つた細菌部部長八田貞義博士に深く感謝致します。

(昭和 24 年 3 月 10日)

文 献

- 1) Boak, R. A. & Carpenter, C.M. : J. Bact., 37, 226, 1939.
- 2) Lankford, C. E., Scott, V., Cooke, W. R., & Hoyt, R. E : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 42, 649, 1939.
- 3) Bank, F. B. & Bank, B. : Paoc. Soc. Exp. Biol & Med., 46, 527, 1941.
- 4) Kirby, W. M. & Rantz, A. ; J. Exp. Med. 77, 29, 1943.
- 5) 宮本晴夫, 越沼きみゑ : 医学と生物学. 15 卷 (5 号) 258 頁, 昭 24.
- 6) 宮本晴夫, 越沼きみゑ : 医学と生物学. 15 卷 (6 号) 312 頁, 昭 24.
- 7) 宮本晴夫 : 基礎と臨牀, 2 卷, 170 頁. 昭 24.
- 8) Dodd, M. C. & Stillman, W. B. : J. Pharmacol. & Exp. Therap., 82, 11, 1944.
- 9) 八田貞義, 青山好作, 春日齊, 丹治園枝 : 未発表
- 10) N. N. R., P. 84, 1948.

コロイド滴定法による細菌の發育状態の研究 特にフラシンの作用型式について

技 官 宮 本 晴 夫 技 官 寺 山 宏
副 手 越 沼 き み る 副 手 細 田 富 子

Studies on the Bacterial Growth Using Colloid-Titration-Method,
Especially Concerning to the Reaction Type of "Furacin."

Haruo Miyamoto Hiroshi Terayama
Kimie Koshinuma Tomiko Hosoda

本研究にあたり、種々御援助並びに御助言を賜つた細菌部部長、八田貞義博士に謹んで謝意をあらわします。

I) ま え が き

寺山はすでに正コロイドイオンと負コロイドイオンとの迅速且つ化学量論的な反応を利用するコロイド滴定法を創案し、蛋白質、ヌクレイン酸、アラビアゴムその他の高分子電解質のコロイドイオンの性状を述べ¹⁾、²⁾更に最近コロイド滴定法よりみた細菌及びゾーンの性状について興味ある知見を發表した。³⁾

細菌はそれをコロイドと見做すのにはやゝ大きいのが、細菌の表面の負荷電とマクラミンの正荷電とが結合し、しかも菌量とその結合量との間に平行的關係の存することが明にされているので、細菌の發育過程並びにそれに及ぼす化学療法剤殊にフラシンの作用型式を、このコロイド滴定法を用いて観察してみた。

フラシン (5-Nitro-2-furfuraldehydesemcarbazon, Nitro-furuzone.  $\text{CH}=\text{N}-\text{NH}\cdot\text{CO}\cdot\text{NH}_2$) が *in vitro* に於て、グラム陰陽両性菌に対し殺菌的に作用し、且つ血液、血清、膿汁その他蛋白質等の存在のもとに於てもその抗菌性を減少しないし、且つ毒性、刺激性も比較的少ないから創傷感染、皮膚疾患に應用して著効を収めている。⁴⁾ ⁷⁾ また当試験所細菌部に於ても尿素及び他の各種スルホンアミド剤とフラシンとを併用してその効果の増大することを認めており、⁸⁾ ⁹⁾ 更にチフス性疾患に対するマウスの感染防索実験に於ても顯著な治効率をあげている。¹⁰⁾

しかしながら 1946 年 Cramer & Dodd 等はブドウ球菌に対する各種のフラン誘導体の作用型式について報告している他には、このものゝ作用機序の本態についての精しい観察は未だ見当らないようであつて、新しい化学療法剤として最近登場してきたフラシンの作用機作を

かがらことは誠に興味ある問題である。

さきに田宮、柳田等は DoddPulfrich の比濁計を用い、ペニシリンその他の抗菌物質の作用型式について系統的な観察を行い¹²⁾ 宮本は光電池式比濁計を用いてスルファミド剤と尿素との協同作用の機序に検討を加えているが¹³⁾ 今回は正負コロイドイオン間の量論的結合に基づきコロイド滴定法によつて細菌の増殖状態を追跡した。

II) 実験方法

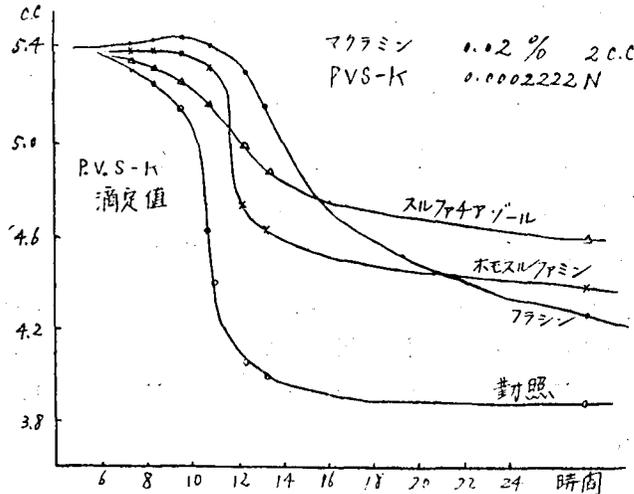
供試菌として *Aerobacter aerogenes* (327)を用い、合成培地 (K_2HPO_4 1.0g, Na-citrate 2.5g, $(NH_4) H_2PO_4$ 1.5g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2g PH 7.4) でフラシンの所要稀釈濃度液を作り、1 l 入りコルベンに 500cc 宛分注した。100°C 30 分間 3 回滅菌後、合成培地の 24時間培養液 1cc 宛を接種して 37°C の恒温槽内に静置培養し、一定時間後 5cc 宛を無菌的に取り出して、それについてコロイド滴定を行つた。即ち滴定用コルベンに予め正コロイドイオンとしてマクラミンの 0.02% (又は 0.002%) 濃度溶液を 2cc と $\frac{N}{10}$ 苛性ソーダ 0.5cc を加えておき之に上記の無菌的にとり出した菌液 5 cc を加える。然るときは負の表面荷電を有する細菌とマクラミンとの結合を生ずる。 $\frac{N}{10}$ NaOH 0.5cc を加えるのはこの程度のアルカリ側では対照及び細菌のコロイド滴定曲線は常に一定値をとつて多少の pH の変動によつてもその値は殆んど変動しないからである。過剰のマクラミンを負コロイドイオンとしての 0.000 2223 N のポリヴィニールアルコール硫酸カリで (以下 P. V. S. K と略す) Toluidin blue を指示薬としてマイクロビューレットを用いて滴定した。反応終点では赤紫色となり菌とマクラミンとの結合した沈澱を認める。細菌の発育が盛んとなつて菌量が多くなればそれと結合するマクラミンの量も多くなり、従つて遊離のマクラミンが減少するから、P. V. S. K. で滴定した場合、このマクラミンと結合する P.V.S.K. も少くなるわけである。滴定に要する P.V.S.K. の値より菌の発育程度更に薬剤の作用型式を推察することが出来る。

III) 実験成績

(1) フラシン、スルファチアゾール及びホモスルファミンの作用型式。

フラシンの 20 万倍稀釈液、スルファチアゾールの 100 万倍稀釈液及びホモスルファミンの 1000倍稀釈液を上記の合成培地を用いて作り、これらに菌を接種してからコロイド滴定法によつて菌の発育状態を追跡した。成績は第 1 図に示す如くであつて P.V.S.K. の消費滴定数(cc)をそのまま縦軸に、培養時間の経過を横軸にとれば菌の発育曲線を得る。薬剤を加えない合成培地だけに菌を接種した場合には 7 時間目頃から菌は著明に増殖し始めて対数期に入り (増殖開始の時間の遅いのは振盪せず静置培養したこと、ブイヨン培地のかわりに合成培地を用い

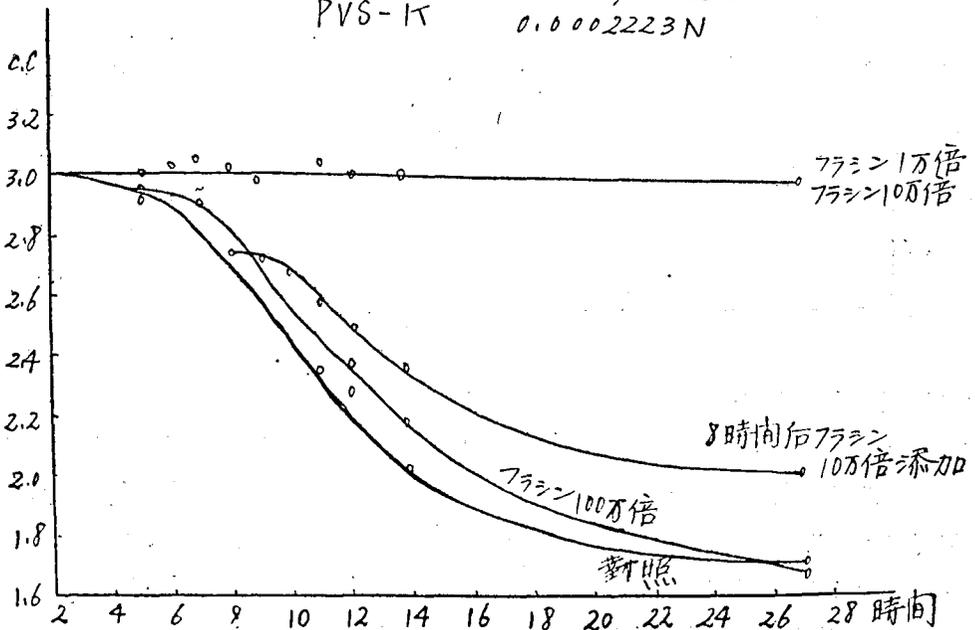
第 1 圖



たことによるものであらう)。13 時間目頃より定常期に入り増殖が緩慢乃至は殆んど停止の
状態となつて、菌発育の典型的な型式をとる。また スルファチアゾールは菌の対数期を著明に
抑制し、ホモスルファミンは誘導期を延長せしめることが示されているが、この成績は Pult-
rich の比濁計による田宮、柳田及び光電池式比濁計による宮本等の結果と一致するものであ

第 2 圖

マクラミン 0.012% 2.CC
PVS-K 0.0002223N

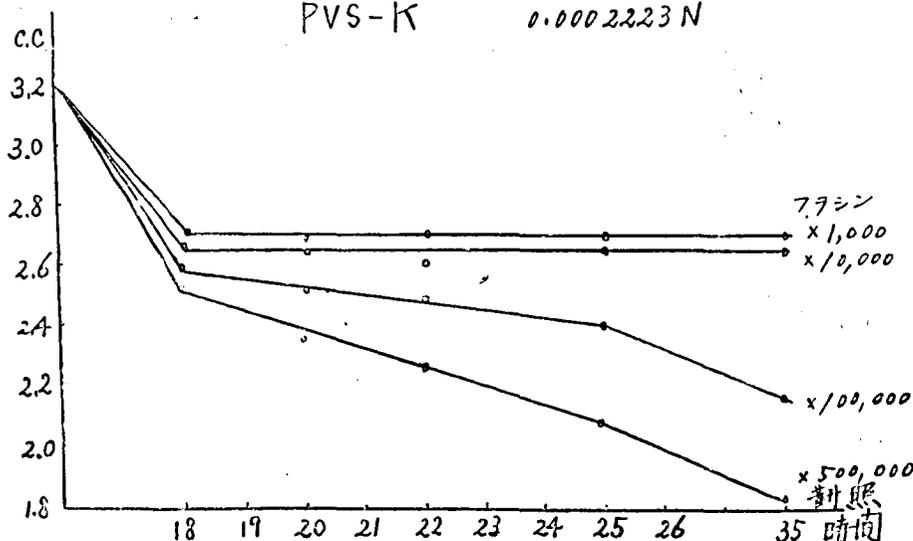


る。しかしてフラシンは菌の誘導期を著明に延長せしめ、スルファチアゾールよりもむしろホモスルファミンに似た型式をとるということが出来よう。

(2) 菌の対数期に於けるフラシンの作用 (第2図参照) フラシン 1 万倍, 10 万倍及び 100 万倍稀釈液を作り, これに菌を接種して培養し, この濃度に於ける菌発育阻止曲線を見ると, フラシン 1 万倍及び 10 万倍稀釈液では菌の発育を全く阻止するから直線となり, 100 万倍稀釈液では殆んどその作用があらわれてこない。薬剤を加えないでまず合成培地だけで菌を培養して対数期に入つたと思われる時即ち培養 8 時間後に, 始めてフラシンを 10 万倍稀釈濃度となるように加え, 菌発育にどんな影響を及ぼすかを観察したところ, 直ちに菌の増殖を阻止せしめるのはフラシンが菌の誘導期に作用することによるものであらう。しかして 3 時間後には再び増殖し始めて対数期が現われ, フラシンを加えない対照と比較してあまり大差のない発育型式を示した。

第 3 圖

マクラミン 0.012% 2.00
PVS-K 0.0002223 N

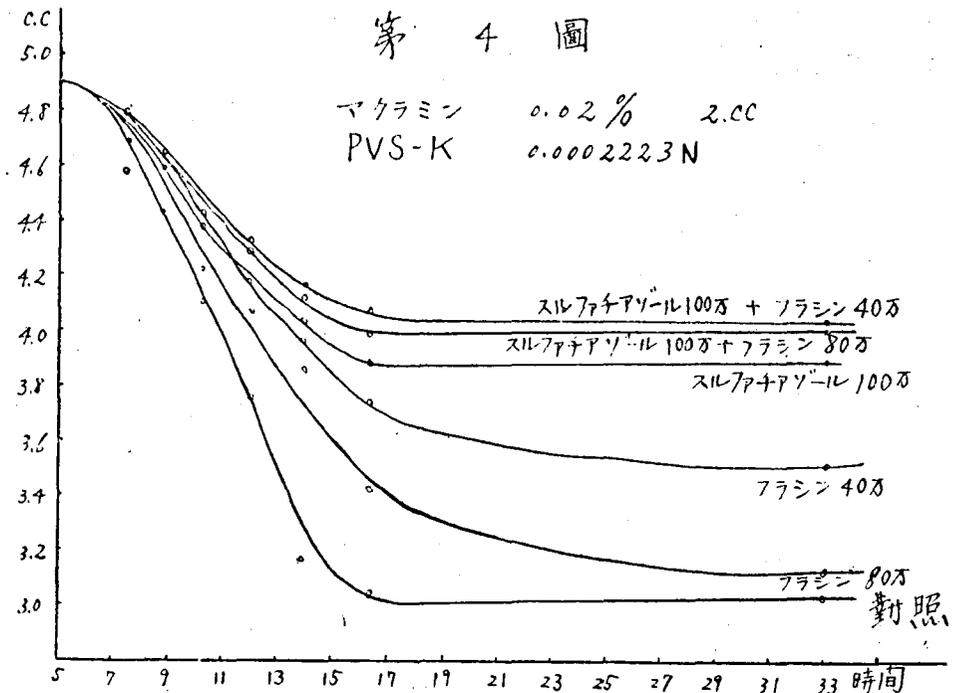


(3) 菌の定常期におけるフラシンの作用 (第3図参照)。

フラシンを加えない合成培地に菌を接種培養して, 対数期より定常期に入つたと思われる時, 即ち培養 18 時間後にフラシンを 1 千倍, 1 万倍, 10 万倍及び 50 万倍稀釈濃度となるように加えて, その影響をフラシンを加えない対照の合成培地と比較してみた。フラシン 50 万倍稀釈では殆んどその作用があらわれなかつたが, 10 万倍稀釈では定常期が抑制されて, 更にフラシン 1 千倍及び 1 万倍稀釈では全く菌の増殖を阻止した。

(4) フラシンとスルファチアゾールとの協同作用 (第4図参照).

八田等は試験管内に於てフラシンとスルフォンアミド剤とを併用した場合、両者の間に協同作用が成り立ち、スルフォンアミド剤の抗菌力並びに殺菌力の増大することを認めているから、⁹⁾ 菌の発育曲線の上からもこの方面に検討を加えてみた。即ちスルファチアゾール 100万とフラシン 40 万、スルファチアゾール 100 万とフラシン 80 万倍稀釈との組合せ液を作り、これらの菌発育阻止曲線をスルファチアゾール 100 万、フラシン 40 万及び 80 万倍稀釈液の各単独の場合のそれと比較してみた。



フラシンの 20 万倍稀釈液ではフラシンを加えない対照だけの曲線と比較すると明かに誘導期を延長せしめ、且つ対数期を抑制しているのがみられるが、フラシン 80 万倍稀釈ではその効が殆んど認められなくなる。しかるにスルファチアゾール 100 万倍稀釈液にフラシンを 80 万倍稀釈濃度となるように加えた場合には、フラシンを加えないスルファチアゾール 100 万倍稀釈液のみよりも菌の発育抑制が著明にあらわれてくる。フラシン 40 万倍稀釈液をスルファチアゾールと併用した場合も殆んど同様な結果を示し、菌の発育阻止並びに殺菌を指標として観察した八田等の実験と一致している。これらの協同作用の機点として、フラシンは主として菌の誘導期に、スルフォンアミド剤は主として菌の対数期に作用するから、これらの両者を併用した場合に菌の発育の各期に薬剤が別々に作用して、相加的に働くものと考えるのが最も妥当ではなからうか。

IV) じ す び

吾々はコロイド滴定法を用いて細菌の発育状況を追跡することに成功し、スルホンアミド剤とフラシンの作用型式について述べ、更にこれらの協同作用機序を論ずることが出来た。

昭和 24 年 4 月 10 日

引 用 文 献

- 1) 寺山宏：化学の研究，1 集，75 頁，昭 23.
- 2) 寺山宏：化学の研究，4 集，31 頁，昭 24.
- 3) 寺山宏，荒川清二：日本生化学雑誌掲載予定，傳染病研究所，予防衛生研究所学術集談会，昭和 23 年 12 月口述.
- 4) Dodd, M. C., & Stillman, W.B. : J. Pharmacol. & Exp. Therap. 82, 11, 1944.
- 5) Meleney, F. L. & Tohnson, B. A : J. A. M. A. 130, 121, 1946.
- 6) Meleney, F. L. : J. A. M. A. 124, 1021. 1944.
- 7) Dowing, T. G, Hanson, M. C. & Lamb, M. : J. A. M. A. 133, 299, 1947.
- 8) 八田貞義，宮本晴夫，越沼きみゑ：化学療法とホルモン療法掲載予定.
- 9) 八田貞義，青山好作，丹治園枝：衛生試験所彙報掲載予定.
- 10) 八田貞義，青山好作，春日齊，丹治園枝：未発表.
- 11) Cramer, D. L. & Dodd, M. C. : J. Bact. 51, 1946.
- 12) 田宮博，柳田友道，鈴木芳雄：ペニシリン，1, 257, 昭 22.
- 13) 宮本晴夫：東京医事新誌，66, 222, 昭 24.

正電解高分子化合物マクラミンの抗菌性の 機作に関する實驗的並びに理論的研究

技 官 寺・山 宏 技 官 宮 木 晴 夫
副 手 越 沼 き み ゑ 副 手 細 田 富 子

The Experimental and Theoretical Studies on the Anti-bacterial
Mechanisms of the Highmolecular Positive Ion "Macramin"

Hiroshi Terayama Haruo Miyamoto
Kimie Koshinuma Tomiko Hosoda

本研究にあたり、種々御援助と御助言を賜つた細菌部部長、八田貞義博士に謹んで謝意をあらわします。

(1) ま え が き

さきに寺山及び寺山により、マクラミンがキチン質より誘導され、¹⁾ 且つこれが極めて高い抗菌性を有することが、当試験所細菌部八田博士等によつて確認された。²⁾

細菌表面が負荷電を有することは、電気泳動その他により確められるところであるが、寺山及び傳染病研究所荒川博士によつてもコロイド滴定により精細に研究され、各種の細菌についてコロイド滴定曲線が求められ、pH と表面荷電（直接にはマクラミン結合当量）の間の関係が調査された。³⁾ これらの結果によると、細菌は殆んど pH の全領域に涉つて負荷電を有し、pH 5~6 よりアルカリ性側に於て特にその荷電が増大することが明にせられた。即ち細菌は斯様な pH 範囲に於て、負コロイドイオンとしてマクラミンの如き正コロイドイオンと反應し、強固に結合することが示される。

斯様な事柄は、恰も細菌に対する抗体グロブリンの如く、結合によりその細菌を不活性化し遂に死滅せしめることが予想される。事実百日咳菌の如きはマクラミンと強固に結合し極めて鋭敏なる凝集沈澱を示すものである。抗体グロブリンとマクラミンでは細菌に対する結合形式に於て必ずしも同一ではないけれども、その結合によりて起る結果よりみて、兩者の間に極めて密接な機構の類似が存するものと考えられる。

吾々は主として、大腸菌群の一種 *Aerobacter aerogenes* を供試菌としてマクラミンの抗菌性の作用機序に関する 2,3 の實驗を行い、且つこれに基いてその理論的考察を試みた。

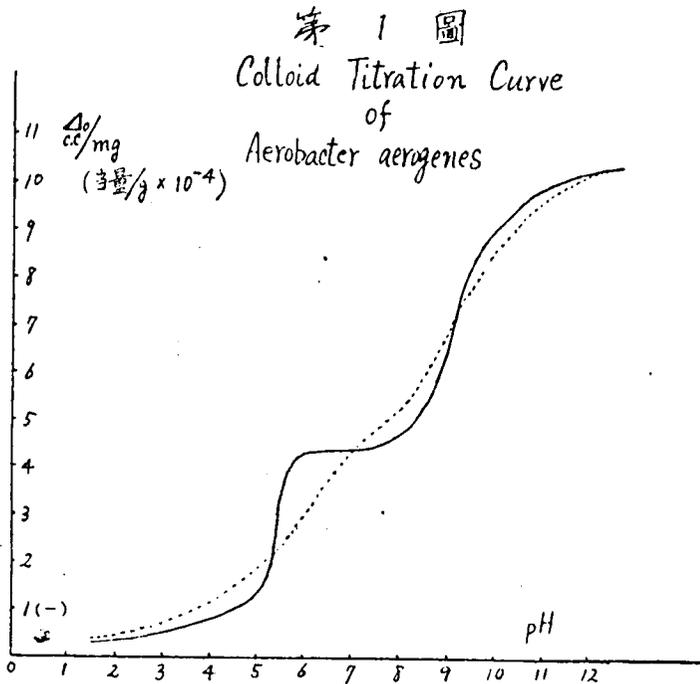
(2) *Aerobacter aerogenes* のコロイド滴定曲線.

寒天斜面培地に培養した *Aerobacter aerogenes* の菌体を 2mg/cc の割合に生理食塩水及び合成培地 (K_2HPO_4 1.0g, $(NH_4) H_2PO_4$ 1.5 g, Na-citrate 2.5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2g,

蒸留水 1000cc) に平等に懸濁し、60°C, 30 分間加熱処理したものを用いた。滴定法は一般のコロイド滴定曲線⁴⁾を求める場合と同様である。即ちマクラミン 0.02% 溶液 5 cc に種々濃度の HCl 又は NaOH を加えて、pH を変化さし、これに菌浮游液 1 cc を加えてトルイジン青を指示薬としてコロイド滴定を行つた。

標準負コロイドとしてポリヴィニールアルコール硫酸カリを用い、その濃度は 0.0004767N である。

コロイド滴定の結果は第 1 図の如くである。図に於て実線は生理食塩水懸濁試料を、点線は合成培地懸濁試料を用いたものを示している。これによると *Aerobacter aerogenes* は pH 5.5 及び 9.0 附近に於て、二段の解離変化を示し pH ≈ 12 に於ける最大マクラミン結合当量数 (一般に負荷電値と考えられるもの) は大約 10×10^{-4} 当量 / g である。即ち本菌 1g は 10×10^{-4} 当量のマクラミンと結合する。マクラミンの瓦当量を 340 (pH ≈ 12) とするならば *Aerobacter aerogenes* 1g は最大 0.34 g のマクラミンと結合するという計算になる。



(3) 各種濃度のマクラミン溶液中に於ける *Aerobacter aerogenes* の生存時間の測定 (マクラミンの殺菌力)

予め合成培地に *Aerobacter aerogenes* を培養しておく。37°C, 24 時間後で菌液 1cc は約 10^7 個の菌数を含む様になる。別に同じ合成培地でマクラミンの各種の稀釈液を作り、各

9cc づつ中型試験管に分注し、100°C. 30 分間の滅菌操作を 3 回行つた。マクラミンの濃度は、これに上記菌培養液 1 cc を添加し、計 10 cc となつた時その稀釈倍数が丁度 1,000, 2,000, 4,000, 8,000, 16,000, 32,000 及び 64,000 倍となるように予め作つておいた。菌液 1cc を接種したのち、直ちに 37°C のフランキに入れ、1 時間おきに 1 白金耳づつブイオンに後培養し、37°C に保ち 48 時間後ブイオンの潤濁の有無をみて、菌の生死即ちマクラミンの殺菌性を判定した。また 1 白金耳のかわりに 1cc づつピペットでとつてブイオンに後培養をしてみたが、その結果は 1 白金耳の場合と全く同様であつた。その成績は第 1 表の如くなる。これによるとマクラミンと菌との作用時間 9 時間までは、マクラミンの 1,000 倍稀釈の如き高濃度に於てさえ充分殺菌することが出来ず、作用時間が 10.5 時間に至つて漸く 1,000 倍稀釈に於て菌が完全に死滅するようになる。マクラミンの 8,000 倍稀釈では 12 時間、16,000 倍稀釈では 14 時間後において始めて、菌が死滅することが解る。即ちマクラミンの抗菌性は、菌体組織に化学的変化をあたえる（例えば酸化、加水分解、菌蛋白と塩を作る、菌

第 1 表

Macraminの 作用時間	稀釈倍数	10 ³	2×10 ³	4×10 ³	8×10 ³	1.6×10 ⁴	3.2×10 ⁴	6.4×10 ⁴
0~9 h.		+	+	+	+	+	+	+
10.5		-	+	+	+	+	+	+
12		-	-	-	-	+	+	+
13		-	-	-	-	+	+	+
14		-	-	-	-	-	+	+
15		-	-	-	-	-	+	+

註 - ……菌の發育を認めないもの。

+ ……菌の發育せるもの。

蛋白の凝固等) 一般の殺菌剤の如く、短時間内に作用を示すようなものではなく、菌の表面にマクラミンが結合して菌体を取りつゝむことによつて菌の生理機能が徐々に抑圧せられ、遂に死滅に至るものではないかと想像せられる。マクラミンを 1,000 倍稀釈より更に濃くすると死滅時間も更に短縮され、500 倍稀釈では 9.5 時間であつた。なお一定時間、菌にマクラミンを作用させたあと、ブイオン培地で後培養する際、菌と結合していたマクラミンが化学的(ブイオン成分)或は物理的な影響(稀釈)によつて菌と離れ、そのために菌が再び復活現象をおこして發育するようになるのではなからうかとも考え、後培養をブイオンのかわりに合成培地を用いたが、ブイオンの場合と大差を認めなかつたし、またブイオンにポリヴィニールアルコール硫酸カリを 0.1% の割に加えたものに後培養して、菌と結合せるマクラミンを全部ポリヴィニールアルコール硫酸カリと結合せしめて、菌の發育の有無を検したが、ポリヴィニ-

ルアルコール硫酸カリを加えないブイヨンの場合と殆んど同様な成績を示した。即ち後培養に於てマクラミンと結合した菌が、マクラミンの存在しない培地に移された場合、菌と結合したマクラミンは徐々に解離し、辛じて生き残っていた菌があれば次第に活力を回復して増殖するものであらう。

(4) マクラミンの濃度及び菌量を種々に変化させた場合のマクラミンの抗菌性の消長 (マクラミンの抗菌力と菌量との関係)

前回の実験と同様にして作製したマクラミンの合成培地稀釈液に接種する菌液の濃度を種々の割合に変え、即ち原液 1cc (約 1 億個) 10, 100, 1,000, 10,000 倍………と稀釈した液 1cc づつを接種して 37° C に培養後、1 日~7 日にわたつて混濁の有無を検して抗菌力を判定した。成績は第 2 表の如く接種菌量が大なる程、これの發育を阻止するに必要なマクラミンの濃度も大になる。即ち接種菌数を 10^3 とするとき、その發育阻止に必要なマクラミンの濃度は 16,000 倍稀釈であるが、接種菌数が $10^3 \sim 10^2$ になると 128,000 倍稀釈液で、その發育が殆んど完全に阻止される。(通常のスルフォンアミド剤の抗菌力試験には、この程度の少量の菌数を接種して行ふものである。)

第 2 表

判定日	1 日	3 日	5 日	7 日
接種菌液稀釈率				
原液 1cc (菌数約 10^8 個)	16000	16000	16000	16000
×10	64000	32000	32000	32000
× 10^2	64000	64000	64000	32000
× 10^3	64000	64000	64000	32000
× 10^4	64000	64000	64000	32000
× 10^5	128000	64000	64000	64000
× 10^6	128000	128000	128000	64000

註 欄内の数字は菌の發育を阻止せるマクラミンの稀釈濃度を示す。

つぎにマクラミンを合成培地で 500 倍、1,000 倍及び 2,000 倍稀釈となるように作製した溶液 9cc に菌数約 10^8 , 10^7 及び 10^6 個の *Aerobacter aerogenes* を含む菌液を 1cc づつ夫々に接種し (即ちマクラミンの 500 倍稀釈液には菌数約 10^8 , 1,000 倍稀釈液には 10^7 , 2,000 倍稀釈液には 10^6 個), 前回と同様に 1 白金耳づつをブイヨンに後培養してマクラミンの殺菌力と菌量との関係をしらべた。

マクラミンの 500 倍稀釈液では完全殺菌に 9.5 時間, 1,000 倍稀釈液では 7.5 時間, 2,000 倍稀釈液では 5.5 時間であつた。即ちこの成績についてみるに、マクラミンの濃度がうすくても接種される菌数が少なければ殺菌時間の短縮されることが示されている。

故にマクラミンの如き抗菌性物質の抗菌價を論ずる場合には、その接種する菌量によつて大いに影響を蒙るものであることが了解出来、しかもその影響は接種菌量の大なる場合に殊に著しい。また斯様なことはマクラミンと細菌体との間に量論的な結合の存在を示唆するものであることは論を俟たない所である。

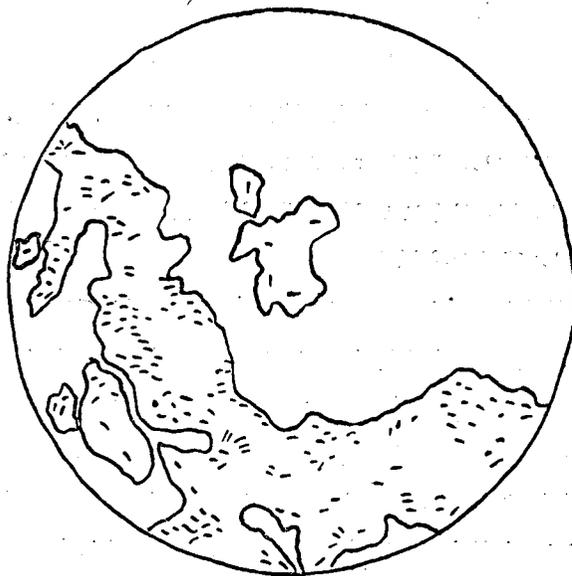
(5) 染色によるマクラミンと菌との結合状態の観察。

寒天斜面に培養した赤痢菌(箕田)の白金耳量を蒸溜水 2cc に平等に浮遊せしめ、これにマクラミン 0.1 g を加えた後、1 分間 3,000 回転のもとに 30 分間遠心沈澱すると、菌と結合したと思われるマクラミンは沈澱し、菌と結合しないと思われる余分のマクラミンは上清に存するから、上清をすて去り沈澱を再び蒸溜水 2cc に懸濁して、その 1 白金耳量をとつて型の如く塗抹、乾燥、固定、染色を行い、菌とマクラミンとの結合の有無、状態を観察した。

染色にあつては最初 Löffler のアルカリ性メチレン青液で染色後、静かに水染して濾紙で水分を良く吸収し、再びエオデン(アルコール飽和溶液を蒸溜水で 10 倍に稀釈したもの)で染色した。検鏡すると菌は塩基性色素であるメチレン青の色素をとり、マクラミンは酸性色素のエオデンに染り、菌の周囲には赤く染つたマクラミンが存在して菌を完全にとりかこんで

第 2 圖 a

検鏡下に於ける菌とマクラミンとの結合状態



いる状態を示し、これが一つの集りとして検鏡下の各視野に点々として存在し、菌の存しないところには又マクラミンも存しなかつた。(第2図 a 及び b 参照)

この事実よりするもマクラミンの抗菌性は菌と結合することによるものであらうことが、はつきりと証明出来たと思う。

第 2 圖 b

検鏡下に於ける菌とマクラミンとの結合状態



(6) マクラミンと細菌との結合に関する分子論的考察.

細菌の表面に負荷電が存在し、それにマクラミンの正荷電が結合することは今まで述べてきたところより明かである。吾々は今こゝで細菌表面と結合するマクラミンについて、その結合状態を分子論的に考察してみたいと思う。

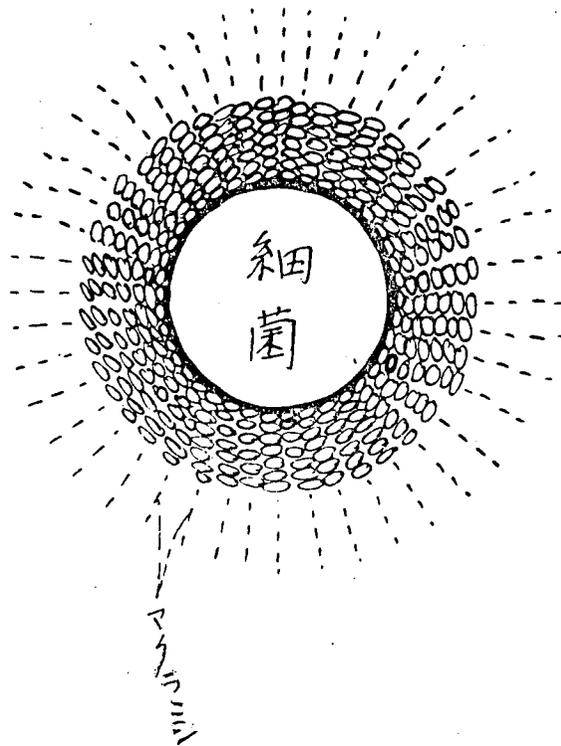
細菌の形状のうちで簡単なブドウ状球菌について論ずることとする。この球菌の直径を仮りに 1μ とし比重を 1.2 とすれば本球菌 1 個についての数値は次の如くである。全表面積 = $314 \times 10^{-10} \text{cm}^2$, 体積 = $523 \times 10^{-15} \text{cm}^3$. 重量 = $630 \times 10^{-15} \text{g}$, またブドウ状球菌をコロイド滴定すると, $\text{pH} \approx 12$ に於てその 1g は約 2.2×10^{-4} 当量のマクラミンと結合することが示される。よつて、本球菌 1 個は 1386×10^{-19} 当量のマクラミンと結合する。細菌の様な表面にマクラミンがコロイドイオンの結合をする場合は、マクラミンとポリヴィニールアルコール 硫酸カリの如き相互に糸状高分子イオン同志間の結合に比し、相当立体的な無理のあることも想像

せられるけれど、今仮りにコロイド滴定によつて示される値を、そのまま細菌に結合したマクラミンとして計算してみることにする。マクラミンの単位分子は N-メチルグルコサミンであつて、これが長くつながつたものである。キチンの x-線解析の結果に基づいて単位グルコサミン残基の占める大体の空間的大さを考えると、 $9.5\mu \times 5.2\mu$ である。pH=12 に於けるマクラミンの瓦当量を 340 とするならば、マクラミンの単位分子の質量は之を Avogadro 数で除した値即ち $56 \times 10^{-23}g$ となる。また単位分子の占める面積は大凡 $49.4 \times 10^{-6}cm^2$ となる。

さきの計算に於て本球菌 1 個は 1386×10^{-19} 当量のマクラミンと結合する。従つて本球菌 1 個に結合するマクラミンの量は $4.71 \times 10^{-14}g$ となり、菌体 1 個につき得るマクラミンの単位分子の数は 8.4×10^7 となる。これより菌体 1 個につくマクラミン単位分子の占める全面積は約 $39.5 \times 10^{-8}cm^2$ となる。前の計算では菌体の全表面積は $314 \times 10^{-10}cm^2$ であるから此の値は約 10 倍以上である。即ちコロイド滴定より計られる値に基づいてブドウ状球菌に結合

第 3 圖

菌とマクラミンとの結合模型圖



するマクラミンの関係をみると、約 7.5 % 重量比であるが表面積から言えば却つて 10 倍以上となる。マクラミン単位分子の占める面積を出すにあつては、キチン質の X-線解析結果を用いているのであつて、嚴密にマクラミンについて行つたものではないから、10 倍というのは左程嚴密な意味を持たぬとは言え、それでも尙細菌体表面より遙かに多くなつてゐる。これに関してはマクラミンと細菌との結合に於て、Steric な妨害のためにコロイド滴定によつて、マクラミンとの結合が實際よりも多い様に出過ぎてゐること、或は又、細菌の表面が一様な球面ではなくて細い凹凸があり、ために球面として計算されるより大きな表面積を實際に持つてゐること等が考えられる。しかし何れにせよ菌体の全表面をマクラミンがとりかこんでしまふだらうことは、想像に難くないところであつて恐らくかなりの厚さをもつて菌体全表面をとりかこみ、ついで細菌の生活機能を破壊するのではないかと思ふ。その模型を書けば第 3 図の如くである。

Aerobacter aerogenes の如き程この場合は纖毛も考慮に入る。菌は球菌に比して取扱いが複雑であるが、此の場合長さを 3.5μ 、巾を 0.6μ として計算すると、大体菌体につくマクラミンの量は重量で約 50%、面積では約 70 倍近くなつてゐる。

(7) む す び

吾々はマクラミンの抗菌性の機作について、その作用のあらわれかた、接種菌量との関係染色等の方面より論じ菌とマクラミンとが結合することによつて、菌の生理機能が徐々に抑圧され、遂に死滅に至るものであらうとの結論に達し、更にこれらの結合について分子論的に興味ある考察を試みた。

昭和 24 年 5 月 10 日

文 献

- 1) 寺山宏, 寺山ゑみ : ペニシリン, 2 卷, 45 頁, 昭 23.
- 2) 八田貞義, 桑原章吾, 宮本晴夫, 青山好作, 宇都宮則久, 丹治園枝 : ペニシリン, 2 卷, 43 頁, 昭 23.
- 3) 寺山宏, 荒川清二 : 日本生化学雑誌並びに日本細菌学雑誌掲載予定 (傳染病研究所 予防衛生研究所学術集會談, 昭和 23 年 12 月口述)
- 4) 寺山宏 : 化学の研究, 1 卷, 75 頁, 昭 23.

[26] コロイド滴定法による血清の電気化学的研究

技 官 寺 山 宏 副 手 細 田 富 子
技 官 宮 本 晴 夫 副 手 越 沼 き み る

Electro Chemical Studies on Serum Using Colloid-Titration-Method

By Hiroshi TERYAMA, Haruo MIYAMOTO,
Tomiko HOSODA, Kimie KOSHINUMA,

(1) 緒 言

血清の構成成分の中、主体を成すものは血清蛋白質である。血清蛋白質の定量に関しては、窒素測定法、粘度測定法、屈折率測定法及び比重測定法等が挙げられる。窒素測定法とは、血清の総窒素と、除蛋白後の残余窒素を夫々キエルダール法に依つて定量し、両者の差より、血清蛋白窒素を求め、之を 6.25 倍して、血清蛋白の概量を求めんとするものである。後二者は、血清の有する物理的性質と蛋白含量との間の実験的關係に基いて、之等物理的性質より逆に、血清の蛋白含量を測定せんとするものである。先に、寺山に依つてコロイド滴定法が発表され、蛋白質を初め、高分子電解質を含む水溶液は、何れもマクラミン及びポリヴィニルアルコール硫酸カリを以てする、コロイド滴定法によつて、定性、定量の両方面に涉つて研究される事が示された。^{1),2)} 従つて、血清の如き蛋白質を主体とする溶液は当然コロイド滴定の好個の対象となるべきものである。

蛋白質は水溶液中に於て、両性イオンに解離するために、pH を種々に変へ乍らコロイド滴定を行へば、一定のコロイド滴定曲線を得る。即等電点より酸性側では、血清は正荷電を示し、負コロイドイオンであるポリヴィニルアルコール硫酸と結合する。又等電点よりアルカリ性側では、血清は負荷電を過剰に示し、マクラミンと結合する。然して此等の結合量は血清の有する電荷に比例するものであるから、同一血清では pH に應じて変化し、又血清の蛋白含量その他によつても変化する。故に血清のコロイド滴定曲線は、その血清の化学的成分に密接に關係あるのは当然のことである。

若し血清が單純な蛋白質溶液であれば、蛋白含量とコロイド滴定値とは、平行する訳であるが、血清の電気化学的性質に影響するものとしては、蛋白質の外に、リポイド等もあるから、その増長は、多少とも血清のコロイド滴定に変化を與へるものと考へられる。

「本研究に當り、種々御援助並びに御助言を賜つた。細菌部部長、八田貞義博士に謹んで謝意を表する次第である。」

吾々は多数の人々の血清に就て、コロイド滴定を行ひ、その電気化学的性状を調査し、併せて、硫酸銅法³⁾を用ひて比重を測定し、之等の成績を比較検討した結果、コロイド滴定により血清蛋白含量の消長が窺知しえられ、且つ疾病その他に於ける、血清の電気化学的性質の異常変化がみとめられることを知つた。本研究は今尚続行中であるが、此の機に臨み、取敢へず今迄の結果の大要を報告し、諸家の御批判を仰がんとする次第である。

(2) 実験方法

血清は之を 75 倍乃至 150 倍に、蒸留水で稀釈したものに就て、その 1cc 乃至 2cc をとつてコロイド滴定を行つた。滴定法は一般のコロイド滴定曲線を求める方法と同様である。正標準コロイド液として、マクラミン 0.02% 溶液 5cc をとり、之に種々濃度の塩酸又は苛性ソーダを 0.1~1.0cc 加へたのち、上記血清稀釈液を 1~2cc 加へ、よく振つたのち、指示薬として、トルイデン青 0.1% 溶液 1 滴を加へ、ポリヴィニルアルコール硫酸カリ(P.V.S-K)の 0.0004766~0.0006666 n 溶液を、負標準コロイドとして滴定を行ふ。別に対照として、血清を加へないで、正負標準コロイドイオン間のみでコロイド滴定を行ひ、対照滴定曲線を描く各種の pH に於ける両滴定値の差 Δ cc より、之を 0.0001n P.V.S-K. 値に換算し、且つ之に血清の稀釈度を乗じて、原血清 1cc あたりのコロイドイオン結合量を求める。

血清の比重は、硫酸銅法に従つて求めた。

(3) 血清のコロイド滴定曲線の一般的性状

血清のコロイド滴定曲線の一般的性状を記述するに先立つて、その実例を一二紹介する。第 1 表、第 1 図より解る如く、血清のコロイド滴定曲線は次の如き一般的特性を有する。

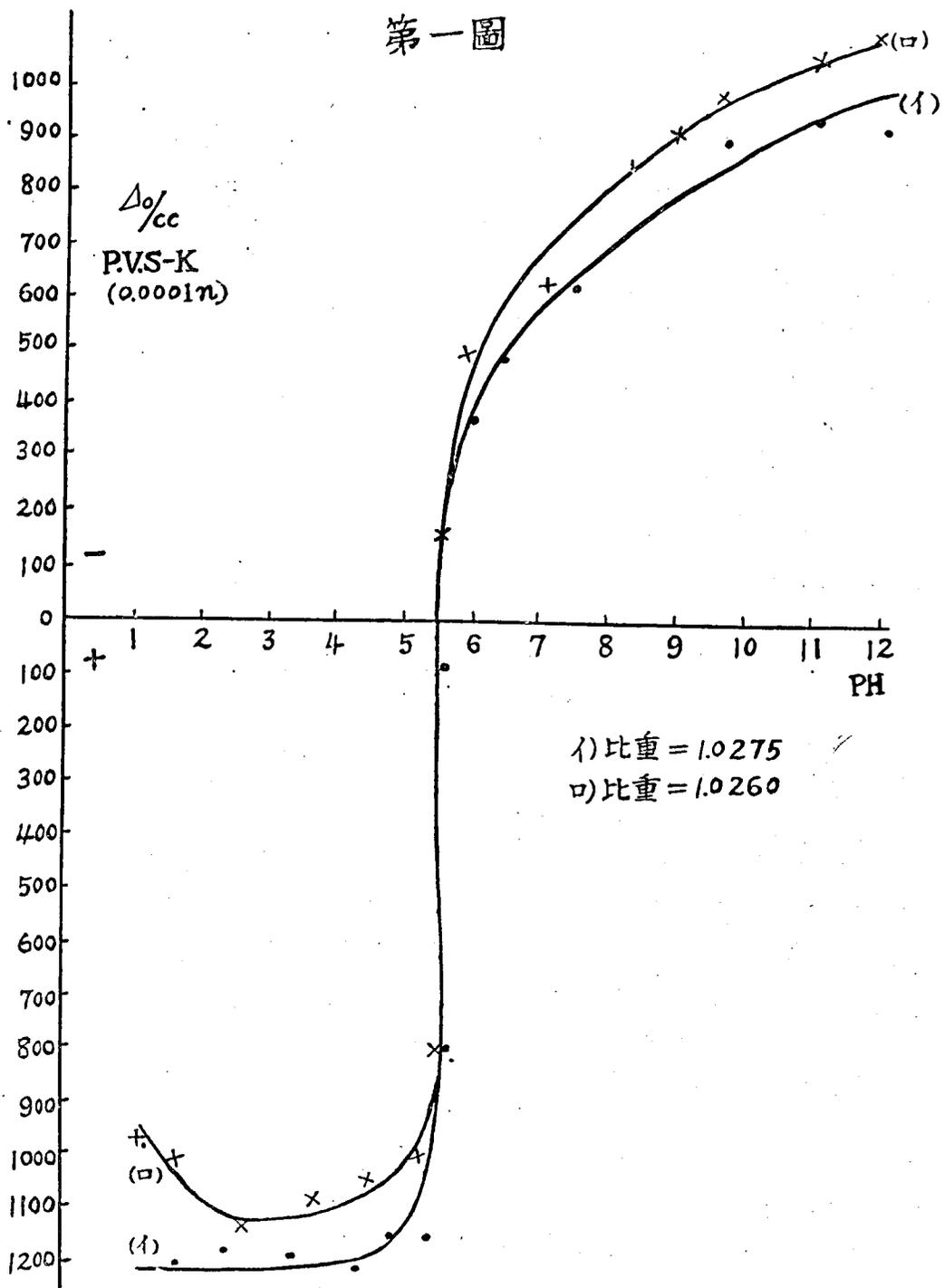
a) 血清のコロイド滴定曲線は、蛋白質の滴定曲線に極めて類似してゐる。此事は、血清中のコロイドイオンが大部分蛋白質に基くものである事を意味する。

第 1 表 イ) 健康, ♀. 比重=1.0275 血清 150 倍稀釈, 2cc 使用

pH	1.0	1.5	2.2	3.2	4.2	4.7	5.3	5.5	5.6	5.9	6.4	7.5	8.7	9.6	11	12
P.V.S-K 滴定値cc	6.39	6.44	6.48	6.52	6.56	6.40	6.16	5.24	3.78	2.87	2.56	2.28	1.93	1.70	1.56	1.49
対照値cc	3.92	4.02	4.12	4.12	4.12	4.10	3.86	3.65	3.60	3.57	3.54	3.50	3.46	3.44	3.36	3.24
Δ cc	2.44	2.42	2.36	2.40	2.44	2.30	2.30	1.59	0.18	0.70	0.98	1.22	1.53	1.74	1.80	1.75
$\Delta_0(\Delta \times 6.67) \times 75$	1220	1210	1180	1200	1220	1150	1150	795	90	350	490	610	765	870	900	875

Macramin 0.02% 5cc, P.V.S-K 0.0006666n.

第一圖



ロ) 梅毒, ♀. 比重=1.0260 血清 75 倍稀釈 1cc 使用

pH	1.0	1.5	2.5	3.6	4.4	5.1	5.4	5.5	5.9	7.0	8.8	9.6	11	12
P.V.S-K 滴定値cc	9.09	9.06	9.18	9.06	8.96	8.70	8.14	5.32	3.89	3.52	2.71	2.46	2.26	2.09
対照値cc	6.40	6.25	6.04	6.04	6.04	5.90	5.90	5.72	5.25	5.19	5.14	5.12	5.11	5.10
Δ cc	2.69	2.81	3.14	3.02	2.92	2.80	2.24	0.40	1.36	1.67	2.43	2.66	2.85	3.01
$4_0(\Delta \times 4.77) \times 75$	962	1004	1122	1080	1040	1001	801	143	486	597	868	951	1019	1076

Macramin 0.02% 5cc. P.V.S-K 0.0004766n.

b) コロイド滴定に依る等電点は大体 pH 5.5 附近にあり, その左右に於て, 極めて顯著なるコロイドイオン結合量の変化が観測される。

c) 血清の正荷電は pH=4.0 より以下では余り変化しない。一般に pH=2.5 に於て, 極大値が示される。

d) 血清の負荷電の増加は pH=6.0 で, 急激なる上昇はやみ, それ以上に於ては徐々に増加する。而して, 此際には, 酸性に於てみられた様な極大はみられなかつた, pH=12 より上は, コロイド滴定の性質上行ひ得なかつた。

(4) 血清の比量とコロイド滴定値との間の関係

血清の比重は, その中に含まれる血清蛋白質の量に比例する。コロイド滴定値も又, 蛋白質含量と密接な関係のあることは容易に推測される処である。扱て, 正負の荷電の最も多い。pH=2.5 と pH=12 について, コロイド滴定値と, 比重より求められる蛋白質含量との間の関係を求めたところ, pH=2.5 に於けるコロイド滴定値は, 該血清の蛋白含量と平行関係を示したが, pH=12 に於ける値は, 必ずしも平行的ではないことが判明した。此の原因には種々考へられるが, フォスファチドの様なリポイドの存在が, 之に相当関係する様に考へられる。リポイドはコロイド滴定に於て, 負イオンの行的に行動し, 蛋白質にレンチンの様なものを加へると。著しく負荷電を増加することが別に認められた。

血清の比重より血清 100cc 中の蛋白量 (g) を求めるには次式を用ひた。g/dl=386×(比重-1.0077)。今大ざつぱにみて, pH=2.5 に於ける血清の正荷電量を, 血清中の蛋白によるものと仮定して, 血清蛋白 1g についての荷電に換算してみる。例へば, 前例 イ) に於て pH=2.5 の 4_0 は 1215 である。然して比重=1.0275 であるから, 該血清 1cc 中の蛋白質量は 0.07662g となり, 之より該血清蛋白 1g あたりの正荷電値は 158×10^{-5} 当量となる。同様にして ロ) では血清蛋白 1g あたりの正荷電当量は $1120/7.064 = 159 \times 10^{-5}$ 当量 1g となる。此の値は, 血清蛋白を構成するアルブミンやグロブリンの割合によつても変化すべきは当然で

ある。即血清アルブミンの方が血清グロブリンよりも塩基性アミノ酸に富み、従つて、アルブミンが増す程正荷電当量は増し逆にグロブリンが増せば、正荷電当量は減少するであらう。故に特殊な生理状態にあつて、特に、アルブミン又はグロブリンが消長する場合は別として、正常の血清蛋白組成に於ては、此の値は、ほぼ一定となるべきは、想像にかたくない所である。多数例について、此の値を求めると 155×10^{-5} 当量 / g となる。従つて、正常血清に於ては、コロイド滴定値より直ちに、血清蛋白濃度が求まる。或は又比重とコロイド滴定値より、血清蛋白の組成の変動が窺ひ得られるであらう。アルブミン対グロブリン比については、未だ実験的証拠をもつてゐないのであるが、今後之等の問題についても研究してゆきたいと思ふ。

(5) 血清のコロイド滴定値と臨床的知見との関係

健康人及び患者の血清について、コロイド滴定曲線を求めた。その全貌をこゝに収録する必要がないと考へられるから、たゞ、之に基いて考察を行ふに必要なデータを次に纏めることにする。即原血清についての、 $\text{pH}=2.5$ 及び 12 に於ける 0.0001n のコロイドイオン結合当量、及び兩者の和、兩者の比、蛋白含量と、蛋白 1g あたりの、正解離当量をのせておく。

(第 2 表)

第 2 表

No.	病名	性別	比重	pH2.5	pH12	pH2.5 +12	pH12 25	蛋白 g. dl	pH2.5 / 蛋 -5 (当量/g×10)	備考
1	梅毒	♀	1.2060	1120	1070	2190	0.96	7.064	159	
2	梅毒	♀	1.0290	1263	940	2205	0.74	8.264	153	
3	梅毒	♂	1.0260	1115	720	1835	0.65	7.064	153	
4	梅毒	♂	1.0260	1130	770	1900	0.68	7.004	160	
5	梅毒	♀	1.0250	9180	1100	2070	1.13	6.678	145	
6	梅毒	♀	1.0245	970	1000	1770	1.03	6.485	149	
7	梅毒	♂	1.0265	1059	1124	2183	1.06	7.257	146	
8	梅毒	♂	1.0260	1007	1021	2028	1.01	7.064	143	
9	梅毒	♂	1.0230	954	825	1779	0.86	5.906	161	
10	梅毒	♂	1.0220	852	713	1515	0.84	5.519	145	
11	梅毒	?	1.0250	1001	871	1872	0.87	6.675	150	
12	梅毒	♂	1.0240	1001	908	1909	0.89	6.291	159	
13	梅毒	♂	1.0250	898	886	1784	0.98	6.68	133	
14	妊婦	♀	1.0250	970	685	1635	0.68	6.678	145	
15	妊婦	♀	1.0340	1320	1000	2320	0.76	10.15	130	
16	子宮癌	♀	1.0260	980	1070	2050	1.09	7.064	139	手術前後 7日
17	子宮癌	♀	1.0230	850	1010	1860	1.17	5.906	144	手術後 1年
18	子宮癌	♀	1.0260	850	1100	1950	1.29	7.064	120	
19	結核	♂	1.0265	1078	1288	2366	1.16	7.257	149	

20	正 常	♂	1.0285	1135	1381	2516	1.21	8.029	141
21	正 常	♂	1.5280	1225	1268	2493	1.04	7.643	160
22	正 常	♀	1.0260	1305	1316	2621	1.01	7.836	166
23	正 常	♂	1.0260	1280	1199	2476	0.94	7.064	181
24	正 常	♂	1.0250	1150	1177	2327	1.02	6.678	172
25	正 常	♂	1.0270	1150	1167	2317	1.01	7.449	154
26	心 臓 肥 大	♀	1.0235	765	650	1415	9.85	6.100	125
27	胃腫瘍	♀	1.0400	950	920	1870	0.97	6.292	151

pH=12 に於ける負荷電と、pH=2.5 に於ける正荷電の比は、健康人に於ては約 1.0 前後であるが、癌、結核等では 1.2 前後に増大し、逆に梅毒患者血清では 0.8 前後に減少してゐる。此の事は血清蛋白の性質のみならず、フォスファチドの量等にも依る所が大であらうと思つてゐる。蛋白 1g あたりの正荷電値が、健康人の方が、結核、妊婦又は梅毒患者に比し大きいことが認められてゐる。

(6) 結 語

吾々は多数の血清について、コロイド滴定を行ひ、その滴定値に基づいて、血清の電気化学的性状を研究した。しかして、血清の上述する様な性状は、血清中のアルブミン、グロブリン及びフォスファチドに起因することの可能性について、2, 3 考察を試みた。尙亦一般に pH = 2.5 に於ける血清のコロイド滴定値は、その蛋白量に比例するから之より血清蛋白含量の大体の測定は可能であるとの結論に達した。

昭和 24 年 6 月 30 日

文 献

- 1) 寺山宏：化学の研究，1 集，75頁，昭 23.
- 2) 寺山宏：化学の研究．4 集，31頁，昭24.
- 3) 吉川春壽：硫酸銅法（学術書院）

〔27〕 人屍の腐敗に関する法醫細菌學的研究

技 官 桑 原 章 吾

松 永 英 (東大法医)

Bacterio-legal Investigation on the Putrefaction of human Carcasses

Syōgo Kuwahara

Ei Matsunaga (Med. Fac., ToKyo Imp. Univ)

〔I〕 ま え が き

屍体の分解は、一方には臓器組織の消化酵素による自家融解と、他方には種々の細菌酵素による分解作用とが互に結びついて営まれ、その結果として起る腐敗現象は非常に複雑な細菌化学的現象なのであるから、屍体现象の研究に当つてはこの両者は恒に平行して検討されねばならないはずである。屍体腐敗の化学的な方面についてはわが國でも遠藤(中節)教授とその門下によつてくわしく研究され、多くの貴重な知見が得られている。ところが細菌学的な方面についてはまことに研究の数が少く、又それらの研究も單に屍体臓器から分離した細菌群の分類所属を決めるという点に止まつて、これらの細菌群と腐敗現象とのつながりについては殆んど考慮がはられていない。然し、現在の吾々にとつて必要なことは、屍体に繁殖する細菌の性状をくわしく調べることよりも、むしろ屍体腐敗とにらみ合せた細菌学的研究、即ち人屍の腐敗がどんな細菌に由來して起るか、又腐敗の進行につれてそれがどんな風に消長するか、更に腐敗現象の発現及び進行を左右する内外の諸條件が腐敗菌の作用にどんな影響を及ぼすかというような、謂はば多角的にみた細菌動態の描写でなくてはならない。著者らはこの点に注目して、100例の人屍体について、一方にはその死因、年齢、気温、屍体のあつた場所と保存の状況等の内的、外的の諸要因、及び屍体现象をできるだけくわしく記載して腐敗の程度をしらべ、他方無菌的にとつた屍体臓器、特に心血を、好氣的及び嫌氣的に培養して分離した細菌の性状を検査し、腐敗現象と屍体臓器の細菌群との間の関係を種々の角度から検討し、併せてその細菌がどこから由來したものを推定してみた。この論文では屍血に現われる細菌群を中心として検討してみたいと思う。

〔II〕 屍體細菌についての従來の研究とその批判

屍体に関係する細菌についての研究は Billroth (1874) に初まると云はれるが、その中比較的詳細な記載に接し得るのは Strassmann-Strecker (1889)、Bordoni-Uffrducci (1890)、

Otto-Jenghi (1891), Klein (1899), Strauch (1910), Rassfeld (1921), 黒田 (1927), 等比較的少数に止まつている。主な研究について次に簡単にその要点を述べてみよう。

Strassmannu Strecker (1889) は、(1) 腸カタルで死亡した死後 4 日、半才の乳兒の *V. cavaiinf.* (2) 射殺後時間の成人の *V-Poplitea* (3) 死後 4 日のアルコール中毒者の *A. poplitea* の血液を、Bouillon, Pepton 水, gelatin 培地に好気性培養し、何れからも *B. albus cadaveris*, *B. Citreus Cadaveris* の 2 桿菌を得た。

Bordoni-Uffreducci (1890) は結核、膀胱炎、腸疾患で死亡し 24~48 時間を経過した屍体の大動脈血液に *B. Prote s Vulgaris* を認めた。

Ottolenghi (1892) は死後 18~48 時間の人屍 (4~14°C) 3 屍体、死後 50 時間の犬 (15~20°C), 死後 50 時間程度の家兎 (18~22°C) 2 匹の心耳から、主として *Micrococcus Candidans*, *B. mesentericus Vulgatus*, *B. mesentecirus ruber*, *B. mesentericus fuscus*, *Micrococcus albus liquefaciens*, *Micrococcus Aurantiacus* などを分離してゐる。

Klein (1899) はモルモットの屍体を地中に埋めておくと大腸菌、変形菌は速かに消失し、*B. cadaveris Sporogenes* (*B. put: ificus*) が優位を占め蛋白分解にあづかること、これらの菌は生存時大腸内に存し、死後嫌気性腐敗の主位を占めることを述べて屍体細菌の腸管由来説の口火を切つた。

Strauch (1910) は屍体の生前の病源菌の検索を主目標として、2000 例の屍体血液を検査した。従つて彼は死後屍体を氷室内に保存し腐敗の進んだものは除外している。彼の結論の中で最も注目すべきものは「よく保存された屍体で死後時間までに心血中に認められる菌は生存時血中にいたものであつて、死後細菌が血中に入るという仮定は当らない」としていることである。

Rassfeld (1921) も亦 Strauch 同様に屍体細菌の腸管由来説に反対の立場をとつている。彼は 400 例の屍体について好気性及び嫌気性培養を行つて連鎖球菌、肺炎双球菌、葡萄状球菌、インフルエンザ菌、チフス菌、パラチフス A,B 菌、フリードレンデル菌、緑膿菌、大腸菌、変形菌、放線状菌、糸状菌、Welch 菌、破傷風菌、炭疽菌、*B. putrificus tenius*, *B. amylobacter*, *Str. putridus* を分離し死後血中の細菌増殖は生前又は死戦期に血中を循環していたものが原因となるらしいこと、周囲の温度、脂肪含量、含血量が増殖の速さを左右するといつてゐる。

黒田 (1927) は 7 人の人屍、2 匹の猫の屍体を検査して分離された菌種は主として空中菌と一致すると述べている。更に秋枝 (1942) はモルモト屍体の細菌を検査し、腸球菌と *L. acidophilus* が主位を占めることから、大腸菌は死後急速に死亡するらしいと云つてゐる。

以上を眺めて見ると、死体細菌の由来は、1. 腸管に由来する、2. 生前乃至死戦期に菌が

臓器に入っている。3. 空中菌に由来する。という3つの観方があるようである。従つて屍体細菌の検索は、まづその菌が腸管由来であるかないかという点に重点を置くのが当然だといえよう。ここで Strauch, Rassfeld の採つた 2) の考へ方において生きていた間に臓器に入つた菌は何処に由来するかということになると全く触れられていないが、この点が追求されなければこの説は意味のないものになる。なお Strauch, Rassfeld を除いた他の研究者は何れも人屍と動物屍とを同列にして論じているが、これは腸内細菌の腐敗に與る役割を問題にする場合誠に奇妙なことで、人も他の動物も同じように大腸菌族が腸内細菌の主位を占めていていると思ひ込んで仕事をしたところに大きな誤りが潜んでいるのではないかと思う。

この問題に關聯して臓器が生前無菌であるかどうかの問題になるが、これについても Von Fodor, Hauser, Neisser, Opilz, Selter, Mecssner, Zwick u. Weichel, Grunt らは臓器の無菌説を, Sasaki (1908), Conradi (1908), Wolbach u. Saeki (1909), Bierott u. Machida (1910), Bugge u. Kiessig (1911) らは有菌説を主張し、こゝでも兩者五分五分の成績である。しかし消化、呼吸系、泌尿生殖系を除いた他の臓器に生存時少数の菌が生体の殺菌力と拮抗しつゝ生体機能にかゝりわりなく一定数寄生しているといふことはかなり考へにくいように思う。これらの問題に対しても著者らの実験はある程度の答えを與へるであらう。

〔Ⅱ〕 検査材料と検査方法

著者らが実験に供した屍体 100 例はすべて東京大学法医学教室で昭和 22 年 5 月から昭和 23 年 1 月にわたる期間行政又は司法解剖に附せられたものである。細菌学的検査の対象は主に心血であり、時には肝臓、脾臓、心臓などをもつかつた。この種の實驗については菌種の記載と同時に單位量についての菌数増加の状況の觀察が必要であると思われるので、この實驗でも常に菌数計算を平行して行つた。すなわち心血についてはスパートルをよく焼いて右心房の壁を焼き、滅菌注射器で血液を吸引し、その一定量を普通寒天と共に平板に混和培養し、37°C. 24 時間培養後血液 1cc 当りの菌数を求め、一方集落をなるべく多数鈎菌し、その生物学的性状を検査し大体の分類所属を決める。しかし屍体が古くて血液がなかつたり、失血多量で心臓が空になつてゐるような場合は、肝臓、脾臓、心筋を用いた。この場合は焼いたメスで臓器に割を加え、内部から 1g 量の小片をとりこ、れをすりつぶして滅菌生理食塩水に浮遊し前と同じようにして検査を行つた。各別についての平板計算による菌数の誤差の範囲は大體 5~10% の間であつた。嫌気性菌の検査については、上記の材料を稀釈してとけた葡萄糖高層寒天に混和し冷却して固まつた後、更に寒天をつぎ足して、37°C. 72時間培養し、發育した集落を拾つて性状を検査した。嫌気性菌については菌数計算は行わなかつた。

一方非常にこみいつた連続現象である屍体腐敗に一定の区切りをつけてその程度を比較することは、なかなか面倒なことであるが細菌検索との比較にはぜひとも必要なことであるから、かりに著者らは(+), (-)の記号によつて各腐敗現象群の段階の表示を試み、腐敗度の表現を次のように9つに分けてみた、

上記上記のように連続的な変化としての腐敗現象は著者らの考へた9つの模型に必ずしも常にはつきりあてはまるとは行かなかつたが、局所的な個々の腐敗現象群とは別個に、全体としての腐敗度を表示するかなり良いパラメーターになつた。(第1表)

第1表 腐敗現象と腐敗度

腐敗現象 腐敗度	自家融解	Hb 浸潤	S-met Hb	腐敗ガス	水 泡	静脈怒脹	腐敗所見の摘要
I	-	-	-	-	-	-	死後少時にして未だ全く腐敗起らず
II	+	-	-	+	-	-	脳血管ガス気泡少許、脾、肺、稍軟。
III	+	+	-	+	-	-	漿液の内淡赤色のものあり。大動脈内膜軽度、著色。
IV	++	++	-	+	-	-	漿液全部濃赤色透明。
V	++	+++	+	++	-	-	血液、下側 Hb 浸潤、結締織気腫、肝、脾、下面緑色。
VI	+++	+++	++	++	-	-	胸腹部又は、上肢緑色。
VII	+++	+++	++	++	-	+	静脈怒脹の部あり。
VIII	+++	+++	+++	+++	+	++	表皮下に水泡あるも尙巨人様の観には至らず。
IX	+++	+++	+++	+++	++	++	全く巨人様に全身腫大せるもの。

〔IV〕 死後経過時間、気温と腐敗度の関係

著者らは死亡時の気温が 20°C 及び 30°C の近傍にあり、しかも成人屍で、死後解剖まで大体屋内にあつた例をえらび、又失血死屍、外傷による挫滅の甚しいものは後に述べるように腐敗経過がちがつてくるのでこの標本群からとり除いた 35 例について死後経過時間、気温と腐敗度の相関関係をしらべてみた。(図 1)

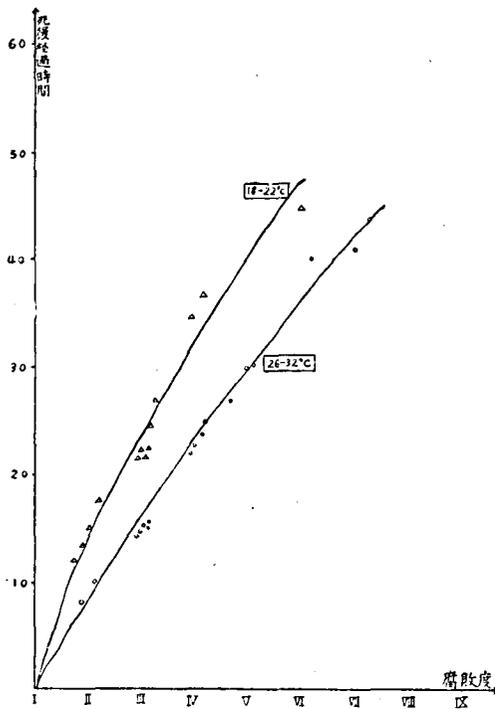
(1) 気温その他の外的条件が大体同一であれば、腐敗度は死後の時間経過に平行して高くなる。

(2) 気温の変動範囲内では、温度の上昇につれて、同一程度の腐敗度に到る時間は短縮する。即ち腐敗速度は著しく早くなる。たとえば死後経過日では、20°C 近くで大休腐敗度はV度であるが、30°C 近傍では VII 度に達してゐる。

[V] 屍血の細菌数と腐敗現象

著者らは、まづ屍体の心血 1 cc 中の菌数を計算し、その平均概数と、血液を介して起ると考へられる内からの腐敗現象との間に、どんな相関関係があるかを検討してみた。

第1図 死後経過時間、気温と腐敗度の関係



(A) 死後何時間すれば、心血内に細菌が出現するか。

著者らの取扱つた屍体は死後短時間以内の新鮮なものは甚だ少なかつたから、この点充分な検索とは云ひ難いが、死後 10 時間以内のもののみを選び、その成績を第 2 表に示した。即ち外界の気温によつて差があるが、春秋で気温が 10~15°C の時は死後 5~6 時間まで屍血は無菌的であるが、その時間を経過すると徐々に繁殖して増すが、夏季 28~30°C 近くなると、死後 2~3 時間までは無菌的であり、それを過ぎると菌は急速に増加するもの様である。しかしてこの知見は、細菌性感染で死亡した屍体の心血について病原菌の検索をする場合、吾國

の様に Morgue の設備のない処では、特に留意すべき必要事項であらう。

第 2 表. 死後 10 時間以内の心血内の細菌

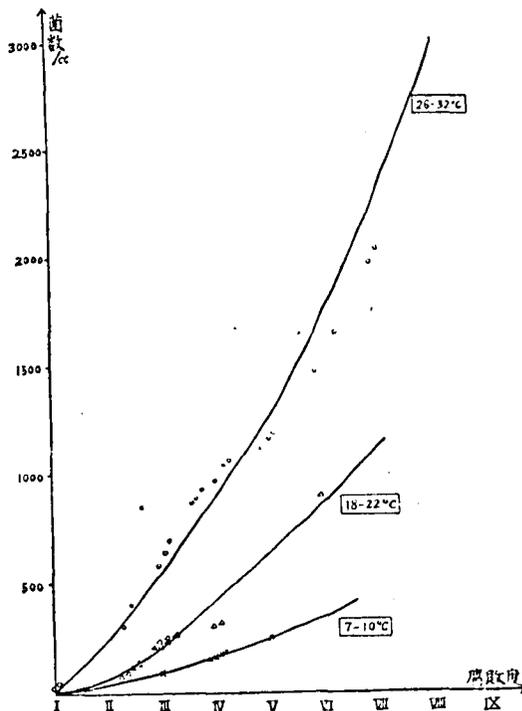
死体番号	年齢	性別	死因	屍体の場所	気温	死後時間	腐敗度	菌数 / cc	菌の種類
81	22	♂	CN—中 毒	屋内	9	7	I	2±0	C.
82	1	♀	肺 炎	//	10	10	I	13±0	
80	53	♀	肺 射 創	//	15	5	I	0	
45	7	♀	肺 炎	//	28	3	I	0	
44	28	♂	燐 中 毒	//	27	4	I	3±1	C.
30	21	♂	燐 中 毒	//	28	7.5	II	305±16	C, E, Se.
64	56	♀	急性胃腸炎	//	26	10	II	376±30	

C=大腸菌群, E=腸球菌, Se=Serratia

(B) 細菌数, 気温と腐敗度の関係.

次に気温の影響によつて, 屍血の細菌数と腐敗度とがどんな変動を受けるかを検討する為に気温が 10°C, 20°C, 30°C 附近の時の検査成績を図に表はした。(第 2 図)

第 2 図 細菌数, 気温と腐敗度の関係



ただし乳幼児、失血死、溺死、敗血症などで死亡したものはこの標本から除外した。

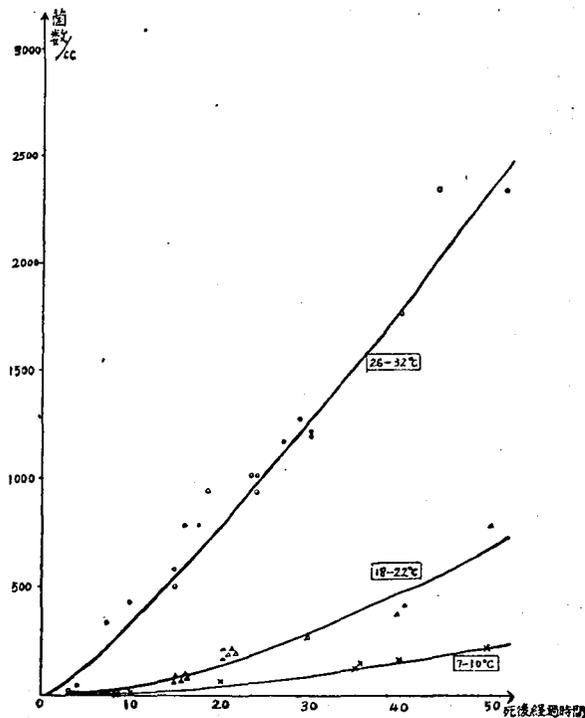
(1) 気温が一定の条件下では、腐敗の程度が強くなるに従つて屍血の細菌数もこれと平行して増加してゐる。それ故、屍血の細菌数は一定の気温の下では屍体の腐敗度を細菌学的に表はす量的な指標と見做すことが出来よう。

(2) 気温の変動内(0~36°C)では、同じ程度の腐敗度の屍体でも、温度の高くなるのに平行して屍血の細菌数は著しく増加している。このことは温度の上昇と共に、腐敗細菌の営む諸種の生活現象が盛んになるが、それよりも寧ろ、菌自身の繁殖の方が遙かに旺盛になることを示すものであらう。

(C) 細菌数、気温と死後経過時間の関係。

次に第4表の中で、屍体が死後野外に放置されていた No. 95. No. 48. マンホール内にあつた No. 3 の 3 例を除いた残りの屍体について、気温の影響のもとに、死後の時間の経過につれ細菌数がどんな変動を示すかを第3図に表はした。

第3図 細菌数、気温と死後経過時間の関係



(1) 気温の変動の範囲内では、温度が高くなるにつれて、死後同一時間を経過した屍体でも、屍血の細菌数は急激に増加している。このことは、気温の上昇に従つて細菌の繁殖する速

度が早くなることを示すものである。

(2) 屍血の細菌数は気温によつてその増し方に差はあるが、死後2日位までの間は、同一の温度の下で、時間の経過に比例して多くなる。この関係から逆に、気温の一定の時に屍血の細菌数を計算し、これによつて死後経過時間を測定しうるかどうかを検討したが、気温が10°C以下で、屍血 1cc 中の菌数が比較的少い時には、或る程度の時間の推定もなしうる可能性が見られるが、気温がそれよりも高い場合には菌数も著しく多くなり、従つて、実験上の誤差や個体差が大きくなるので、菌数の信憑性は減少し、死後経過時間を推定することは困難となる。

(D) 幼児及び失血死屍における屍血の細菌数。

(1) 幼児における屍血の細菌数。

後1ヶ月乃至4年の、体重以下の屍体6例について、著者らの検査した成績を第3表に示した。この場合にも、気温、腐敗度、細菌数の間には、成人屍におけると同様な相関関係を見出しうるが、注目されることはいづれの幼児の心血の菌数も、気温、腐敗度が同じ場合の成人屍の菌数を、遙かに凌駕していることである。このことは幼児の方が成人よりも細菌の繁殖に特に好条件だとは考へ難く、それよりも寧ろ、幼児は全血液量が成人に比し遙かに少いか

第3表 幼児における屍血の細菌数

死体番号	年齢	体重	死因	死体の場所	死後時間	気温	腐敗度	菌数 / cc
73	1月	3kg	窒息死	屋内	33	21	II	560±32
5	3//	5	頭腔内出血	//	19	19	II	600±25
20	8//	5	窒息死	//	32	20	II	725±86
71	12//	3.5	窒息死	//	33	23	IV	1960±86
43	4年	10	燐中毒	//	22	28	IV	1950±178
31	1月	2.5	窒息死	//	60	28	IV	2490±160

ら、却つて血液当りの細菌数が結果として多く計算されたのではないかと思はれる。兎に角一定の温度の条件の下では、菌数の多寡によつてその進む生活現象は或は旺盛となり、或は衰微してくるから、この検査成績から間接に、気温その他の諸条件が同じ場合、成人に比較して幼児の屍体は腐敗し易い傾向にあることが想像されるわけである。

(2) 失血死における屍血の細菌数。

次に死因のうち特別な位置を占める失血死の死体8例の検査成績を第4表に示した。但しいづれも成人屍である。

すなはち、No. 6を除き他は総て胸腔又は腹腔に多量の出血のあるものであるが、これらの菌数はいづれも第4表に掲げた気温、腐敗度の同じ場合の屍体の菌数を遙かに凌駕してお

第 4 表 失血死屍における屍血の細菌数

死体 番号	死 因	出 血 状 況	屍体 場 所	死後 時 間	気 温	腐敗 度	菌種 / cc
11	胸 部 刺 創	胸 腔 1000cc	屋内	17	22	II	115±21
66	腹 部 射 創	腹 腔 1100cc	//	17	22	II	1685±59
18	内 臓 破 裂	腹 腔 50cc	//	20	22	III	163±25
6	頸 部 切 創	外 出 血 多 量	//	32	17	III	30±4
35	腹 部 射 創	腹 腔 600cc	//	13	23	IV	1040±89
4	内 臓 破 裂	腹 腔 670cc	//	19	19	IV	>1500
7	腹 部 刺 創	腹 腔 1000cc	//	36	18	V	>1500
50	内 臓 破 裂	{ 胸 腔 760cc 腹 腔 750cc	//	22	31	V	1855±104

り、之に反して、頸動脈切創によつて外出血して死亡した No. 6 では逆に菌数が遙かに僅少であると云うことである、特に腹腔内に多量の出血のあつた No. 66, No. 35, No. 4, No. 50 は腐敗度の割に比して菌数は著しく増加しているが、これは腸内細菌叢が死後容易にしかも多量に血液内に侵入して繁殖した為であらう。又この検査成績から間接に、気温その他の諸条件が同じ場合には、一般に外出血によつてその血液の大部分を失つた屍体は腐敗し難く、反対に内出血、特に腹腔内に多量の出血のある屍体は腐敗し易い傾向にあることが想像される。

[VI] 屍血の細菌の種類と腐敗現象

屍血の細菌には勿論好気性及び嫌気性菌の両種があるから、この両者を平行して検索してゆくのが一番よいわけであるが、手不足な著者らの状態ではこれは不可能であつたので、まづ好気性菌について検査をすゝめ、嫌気性菌についてはごく一部に止めなくてはならなかつた。はじめに述べたようにもし屍血から出た細菌をできるだけ細かく調べたら恐らく随分多数の種類が記載されるであらう。しかしそれでは屋上屋を重ねるに止まることはいうまでもあるまい。

A. 屍血の好気性菌と腐敗現象.

屍血の好気性菌としては、100 例の中 35 例について菌の大まかな性状を多数しらべ、似かよつた株の中代表的なものの性状をしらべて所属を決めた。それらの菌の生物学的性状は第 5 表に示す通りであるが、ここでは主にどんな菌種が多く現われたかを各種の要素と照し合せて表にしてみた。(第 5 表)

(1) 腐敗現象の初期屍血にみとめられる細菌は主として大腸菌族、腸球菌族で大体腸内にすむ細菌と一致してゐる。

(2) 屍血細菌の種類は時の経過と共に複雑になり、大腸菌は次第にその優位を他の菌にゆづる傾向を示す。季節によつてかなりの開きはあるが、死後 24 時間前後を経過すると次第に葡萄球菌、八聯球菌, Serratia, 変形菌などの数が増し、大腸菌族は比率的にはむしろ減少の傾向を辿る、勿論これらの菌とても何れも腸管内に常住する菌である。

(3) 屍体が巨人様観を呈し又はそれに近い状態になると、好気性菌の主位は大体変形菌族によつて占められ、大腸菌、葡萄球菌、八聯球菌, Serratia その他がこれに次で五にせり合う形になる。

第 5 表 屍血細菌の濃度と腐敗現象(好気性菌)

屍体番号	死 因	気 温	経 過 時 間	菌数/cc	腐 敗 度	細 菌 群 の 濃 度				
						cli-acrogen	Enterococ.	Staph.	Proteus	その他
44	磷中毒、肋骨骨折	27	4	3±1	I	+				
30	磷 中 毒	28	7.5	205±16	II	卅	+			Serratia
24	心 臓 麻 痺	20	15	22±4	II	卅	+			
23	Methanol 中毒	20	19	42±6	II	卅	+			
14	CN-中毒	20	13	21±3	II	卅	+			
11	胸 部 刺 創 (胸腔出血)	22	17	115±21	II	卅	+	+		
97	頸 部 切 創	4	21	31±5	II	卅	卅	+		Serratia
58	食 中 毒	29	11		III	卅	+			
47	CN-中毒	32	15	873±42	III	卅	+			
26	CN-中毒	20	22	159±24	III	卅	+	+		
10	窒 息	21	25	120±18	III	卅	+	+		
29	硬膜外血腫	31	26	713±26	III	卅	+	+	+	
6	外 出 血	17	32	30±4	III	卅	+			
2	菱形窩出血	16	38	120±10	III	卅	+			
4	内 臓 破 裂 (胸腔出血)	19	19	>1500	IV	卅	+	+		
95	Methanol 中毒	7	53	62±8	IV	卅	卅	+	+	
98	胸 部 射 創	8	41	92±7	IV	卅	卅	+		
88	外 失 血	8	42	138±20	IV	卅	+	+		Serratia
41	Aconit 中毒	26	28	1250±96	V	卅	+	+	+	//
21	Methanol 中毒	20	36	>1500	V	卅	+			
7	腹 腔 出 血	18	36	>1500	V	卅	+	卅		
72	CN-中毒	20	57	2160±259	V	卅	+	卅	+	
12	溺 死	20	6日?	1120±47	VII	卅	+	卅	卅	Hefe(?)
48	内 臓 破 裂	32	27	3203±143	VIII	卅	+	卅	卅	
3	窒 息 (マノホール内)	18	4日	>1500	IX	卅	+	卅	卅	Hefe
15	CN-中毒	21	6日	//	IX	卅	+	卅	卅	//
74	腹 破 裂	20	3-4日	3890±271	IX	卅	+	卅	卅	//
51	(5月胎児)	32	2週		>IX	+	+	卅	卅	Subtils Mycoides Hefe

(4) Ottolenghi の云うような腸内よりも空中，土壤中にはるかに多い枯草菌，馬鈴薯菌などの有芽胞大桿菌群がほとんど見られなかつたことは注目に値する。

(5) 全体から見て腐敗現象の初期から巨人様観を示すに至るまで，好気性菌の中で強力な蛋白分解菌としては，上記のように晩期における変形菌が目立つだけで他の細菌にはこれといつて蛋白分解性の強いものがない。しかも腐敗現象の進行と変形菌の増し方の不一致から見て特に初期腐敗現象を主演する菌群は好気性菌の中からは捉えられなかつたと見てよからう。

B. 屍血の嫌気性菌と腐敗現象。

(1) 芽胞を有する菌群については7例の屍体で検査を行つた。分離は Zeissler 平板又は葡萄糖高層寒天を用ひた。7例の中すべての場合 Welch 菌が検出され，腐敗がかなり進行すると Sporogenes 菌，Putrificus 菌などが現はれる。1例には Histolyticus 菌も見られた。

(第9表)

即ち Welch 菌は好気性菌における大腸菌と同じく初期に優位を占め腐敗の進行と共に次第に蛋白分解性菌と入れかわること前と全く同様である。

第6表 屍血の嫌気性有芽胞菌

死 体 番 号	死 因	気 温	死 後 時 間	腐 敗 度	嫌気性有芽胞菌			
					Welch	Sporogenes	Putrificus	その他
68	心 臓 麻 痺	25	23	III	+			
69	窒 息	23	30	IV	+			
71	窒 息	23	33	IV	+	+	+	
72	CN-中 毒	21	57	V	+	+	+	Histolyticus
74	膽 破 裂	20	3-4日	IX	+	+	+	
50	肝 破 裂	31	22	V	+			
61	Methanol 中毒	27	28	VII	+	+		

(2) 芽胞のない菌群については3例の屍体で検査を行つた。何れの例にも Str. putridus, Staph, Anaerobicus, Neisseria 族の菌が見られ，1例には Str. anaerobicus に属するものがかなり多く認められた。3例ともかなり早期の屍体で，変形菌，Sporogenes 菌Putrificus 菌はそれほど多く認められない状態であるから，上記の中 Str. anaerobicus, Str. putridus, は初期蛋白分解に主役を果すと見てよからう。

なお屍血を嫌気性に培養した培地，特に Sporogenes, Putrificus, Str. anaerobicus, Str. putridus の培液がそれぞれ元の屍体と似た悪臭を放つことは，屍臭の主因について示唆を興えると共に，これらの菌の腐敗に果す役割の大いさをはつきり物語るものである。

〔VII〕 血液以外の臓器の細菌の種類と腐敗現象

心血以外の臓器の細菌検査はわづか 10 例にすぎずそれも好気性の検索に止つているが、肝臓、脾臓からも大体心血と同じ菌群が出てゐる。(第 7 表)。たゞ No 51 は 5 ヶ月の胎児で浸軟、融解のため全身紙状に扁平となり、腐敗高度のため内臓が露出してゐたが、この場合は芽胞を持つた大桿菌が大多数を占め、大腸菌その他のものはごく少数になつてゐた。このように外表が融解する程になつた屍体が空中菌に侵されてゐるのは全く当然のことである。

以上の例から見て、少くも健全な外皮で被われた人屍が外來菌によつて侵されるのは、既に腐敗が高度に進行してからであつて、それまでの、内から起る腐敗現象を決定するものは体内特に腸内細菌に一致する菌群であると考へられる。

第 7 表 心血以外の臓器の細菌の糖類と腐敗現象

死体番号	臓器	死後の時・間	腐敗現象群						腐敗度	主な細菌の種類
			自融	家解	Hb 浸潤	S-met Hb 浸	腐敗ガス	水胞		
30	肝	8	+	-	+	-	-	-	II	C, E, Sc
29	肝	26	+	+	+	-	-	-	III	C, E, P
47	肝	15	+	+	+	-	-	-	III	C, E, Sc
41	肝	28	++	++	+	++	-	-	V	C, E, Sc, St
41	脾	28	++	++	+	++	-	-	V	C, E, Sc, St
34	肝	Ca100	+++	+++	+++	+++	+	++	VIII	C, E, Sc, T, P, St
48	肝	27	+++	+++	+++	+++	+	++	VIII	C, E, Sc, T, P, St
48	脾	27	+++	+++	+++	+++	+	++	VIII	C, E, Sc, T, P, St
38	肝	Ca 2週	+++	+++	+++	+++	++	++	IX	C, E, Sc, T, P, St Hefe
51	心	Ca 2週							>IX	C, E, P, S, T { Subtilis Mycooides

〔VIII〕 腐敗現象の進行と細菌群の消長

以上の断片的な腐敗現象の観察と細菌検索の成績とに基いて、次に著者らは腐敗の経過に伴つて起る細菌群の消長について、細菌の生活機能からみてある程度の理論的考察をこころみてみよう。

死亡直後の屍体ではまづ大腸菌属、Welch 菌、嫌気性連鎖球菌族などが血中に増殖する。この中前者はどちらかといえば含水炭素分解性の菌であるが、Str. anaerobicus, Str. faetidus Str. pusridus. 等はいづれも血清乃至臓器加(凝固しないもの)培地で悪臭あるガスを多量に発生し、臓器の溶解、黒変を示すことから見て腹部膨満、腐敗気泡の発生、更には H₂S 発生による硫化ヘモグロビン又は硫化メトヘモグロビンの形成等初期腐敗にかなり大きな役割

を果すものと見られる。溶血作用による血色素の游出は Welch 菌、大腸菌によつて行われると考えるよからう。各種の含水炭素分解性菌によつて糖原が消費されて腐敗が進行し晩期に入ると、Cl. Sporogenes, Cl. putrificus, 変形菌族などが主役を演じ、蛋白を基材として繁殖を続けるようになる。非芽胞性嫌気性菌については晩期の屍体についての調査はまだない。臓器が全く融解する程度に腐敗が進行するとこれらの好気性菌群はむしろ減少の傾向を辿り、更に外表を破れて外からの腐敗が加わると菌種も次第に外來の枯草菌、馬鈴薯菌及び変形菌が好気性菌の主位を占めるのではないかと思はれる。これらはいづれも蛋白分解能の強い菌である。(第 4 図)。吾々はこの点を追求すべく気温 30°C の環境で絞殺モルモットの屍体細菌の変遷を調査してみた。この実験は気温が高すぎたため腐敗速度が早く確実な消長曲線を掴むことはできなかつたが、好気性菌群は 24 時間(臓器は既に全く融解し泥状になつていた)の後には著しい減少を示していた。

第 4 図 腐敗現象の進行と細菌群の消長

腐敗度	好気性菌	嫌気性菌	
		無芽胞	有芽胞
II	Coli 其他	Str. putr. Str. anaer. 其他	Welch 其他
↓	↓	↓	↓
V	Coli Staph Prot	?	Welch Spor. Putr.
↓	↓	↓	↓
IX	Coli Staph Prot	?	Welch Spor. Putr.
	↓	↓	↓
	Meseri. Subt. Prot.		?

〔IX〕 屍血細菌の由來についての考察

第 7 章において著者らは初期の腐敗から巨人様觀を呈するにいたるまでの屍体の心血から、数種の好気性並びに嫌気性菌を分離証明したが、それらはいづれも大体腸内に常住する細菌と一致しており、たしかにそれ以外から入つたと思はれる根拠は一つもない。従つて吾々は

これらの菌のもつとも自然な山來として手近な腸管からの移行を考えても何の不思議もさはない。ちなみに秋枝 (1941) はモルモットの屍体臓器の細菌を検査し、腸球菌と *Lactobacillus acidophilus* が圧倒的に多いことを証明し、その原因として死後腸内細菌の中大腸菌族は比較的早く死滅し、前記菌種が残つて血中に移行するのだと考えている。しかし水中にあつてもかなり長く生きていられる大腸菌族がそんなに早く死滅する理由があるであらうか。この仮定は大腸菌がモルモットの腸内細菌の主位を占めるということを既定の事実としたために起つたものである。Creelius & Rettger (1943) によれば、モルモットの腸内細菌は *Lactobacillus* 族が 80% を占め、その他 20% が Gram (+) 小桿菌、同大桿菌、球菌からなるというから、あえて上記の仮定をしなくても、腸内細菌がそのまま移行した形と考えれば充分説明のつくはずである。

次にこれらの腸内細菌が、どういう仕方で血液中に侵入するのであらうかということが問題になる。死後心血の無菌な時期は前に述べたように 2, 3~5, 6 時間であるが、これだけの菌の拡散速度が單に増殖だけから起るとは考へにくい。腐敗初期の細菌群の中、大腸菌、Welch 菌は鞭毛による運動性をもつているからこれらの菌は直接自分の運動によつて拡散する可能性がある、腸チフス菌の運動速度は大體 15r/cc であるから大腸菌群も大體これと同じだとすると 1 時間に約 5 cm の距離を移動できることになる。その他の球菌等は自らは運動し得ないが、これらの菌が常に桿菌群と共に証明されることから、運動性のある菌につれられて受動的に移動するものであらう。勿論腐敗ガスの内圧が高まれば、それらの運動を促進するであらう。

〔X〕 結 論

著者らは法医細菌学的の観点に立つて、100 例の人屍体について、その腐敗現象と屍体臓器特に心血の細菌群との間の関係を種々の角度から検討し、併せてこれらの細菌がどこから山來したかを推定してみた。その成績を要約すると次の通りである。

(1) 局所的な臓器組織に現われる諸種の腐敗現象群を詳細に観察比較した結果、総合的に屍体全体の腐敗の程度を表す為、死後時間のまだ腐敗の現われていない状態 (第 1 度) から、互人様觀を呈しているもの (第 IX 度) までを便宜上 9 つの段階に分けてみた。

(2) 気温その他の外的條件が大體同じであれば、腐敗度は死後の時間経過に平行して高くなり、気温の変動域内では温度の上昇につれて腐敗の速度は著しく早くなる。

(3) 春秋で気温が 10~15°C の時は死後 5~6 時間まで屍体の心血は無菌的であるが、その時間を経過すると徐々に菌は繁殖して増加する。夏季 28~30°C 近くになる死後 2~3 時間迄は無菌的であるが、それを過ぎると菌は急速に増加する。

(4) 気温の変動域内では、同じ程度の腐敗度の屍体でも、温度の上昇に平行して屍血 1

cc当りの細菌数は著しく増加している。しかして気温の一定の時、腐敗の程度が強くなるにつれて、屍血の細菌数もこれと平行して増加している。従つて屍血の細菌数は一定の気温の下では、屍体の腐敗度を細菌学的に表わす大凡の量的な指標と見做することができる。

(5) 気温の上昇に従つて屍血細菌の繁殖する速度は早くなる。同一温度の下では、死後2日位までの間屍血の細菌数は時間の経過に比例して多くなる。逆にこの関係から、屍血 1cc 当りの細菌数を計算して死後経過時間を推定することは、気温が 10°C 以下で低く菌数も少ない時には或程度可能であるが、気温が高くなり、菌数も著しく多くなると困難である。

(6) 幼児の心血の菌数は、気温、腐敗度が同じ場合の成人屍のそれを遙かに凌駕している。従つて気温その他の諸条件が同じ場合には、成人に比較して幼児の屍体は腐敗し易い傾向にある。

(7) 失血死屍のうちで、内出血特に腹腔内に多量の出血のあるものの屍血の菌数は、気温・腐敗度の同じ場合の屍体の菌数を遙かに凌駕しており、逆に外出血で死亡したものは菌数が遙かに僅少である。従つて気温、その他の諸条件が同じ場合、外失血で死亡した屍体は腐敗し難く、内出血特に腹腔内に多量の出血のある屍体は腐敗し易い傾向にある。

(8) 死後まもない初期の腐敗から、数日経過して巨人様に腐敗した状態に到る屍体の臓器特に心血に証明される細菌は

(イ) 好気性菌では大腸菌族、腸球菌族、葡萄球菌、八聯球菌、*Serratia*、変形菌、*Mycoides*、*Hefe*、等で。

(ロ) 嫌気性菌では *Welch* 菌、*Sporogeres* 菌、*Putrificus* 菌、*Histolyticus* 菌、*Str. putridus*、*Staph. anaerobicus*、*Neisseria* 族、*Str. anaerobicus* 等である。

腐敗が更に進行して外表が破れ、外からの腐敗の起つている状態の屍体では、*Mesentericus*、*Subtilis* 等の有芽胞大桿菌群も認められる。

(9) 以上の諸菌のうちで初期の腐敗に與るものは、大腸菌族、*Welch* 菌、嫌気性連鎖球菌族であるが、中でも *Str. anaerobicus*、*Str. foetidus*、*Str. putridus* は蛋白分解の主役を演ずるものと見られる。更に腐敗が進み外表が融解する程度になると、外來の枯草菌、馬鈴薯菌及び変形菌が好気性菌の主位を占め、嫌気性菌では *Sporogenes* 菌、*Putrificus* 菌などが腐敗の主役を演ずるらしいと思われる。特にこれらの嫌気性菌の液体培養が放つ強い腐敗臭はこの点をよく物語るものである。

(10) 死後まもなく、内からの腐敗の起つている屍体の心血に認められる以上の諸菌は、いづれも屍体の腸内細菌叢に由來し外からの腐敗の起つている屍体に認められる有芽胞大桿菌群は空中又は土壤から由來するものと考へられる。(昭 24.3.20)

本研究の一部は文部省科学試験研究費によつた。

[28] *Claviceps litoralis* KAWATANI による麥角の寄生的栽培* に関する研究 (其の1)

川 谷 豊 彦

Toyohiko KAWATANI : Studies on the parasitic cultivation of ergot with
Claviceps litoralis KAWATANI (I)

目 次

第1章 緒論	220
第1節 麥角の医薬品としての重要性	221
第2節 研究史	224
第3節 本研究の端緒及び其の経過	227
第2章 ハマニシク麥角菌 <i>Claviceps litoralis</i> KAWATANI	233
第1節 ハマニシク麥角菌 <i>Cl. litoralis</i> の形態	234
第2節 ハマニシク麥角菌 <i>Cl. litoralis</i> の生態	244
第3節 ハマニシク麥角菌 <i>Cl. litoralis</i> の寄生時期	251
第4節 ハマニシク麥角菌 <i>Cl. litoralis</i> 胞子の傳播	259
第3章 ハマニシク <i>Elymus mollis</i> TRIN.	以下(其の2)
第1節 一般性狀	
第2節 開花	
第3節 稔実	
第4章 ハマニシクを寄主とする <i>Cl. litoralis</i> 麥角の寄生的栽培	
第1節 接種源の造成	
第2節 接種法の種類	
第3節 接種時期と寄生率	
第4節 接種時期と発生麥角重量	
第5節 接種源としての胞子の密度	
第6節 胞子浮遊液の酸性度	
第7節 養分等添加せる胞子浮遊液	
第8節 貯藏分生胞子を接種源とする場合	
第9節 菌核を接種源とする場合	
第10節 樺太(新聞)における寄生的栽培実験	
第11節 寄生的栽培麥角の形態と薬理作用並に有効成分含量	
第5章 麥類を寄主とする <i>Cl. litoralis</i> 麥角の寄生的栽培	

* HECKE(1921—22) は die Kultur des Mutterkorns, 及び (1922) Mutterkornkultur, 刈米 (1923) は麥角の人工栽培, 大谷 (1928) は麥角人工栽培, McCREA (1931) は field culture of ergot 及び Parasitic cultivation, BARGER(1931) は Cultivation of ergot in the field, BÉKÉSY (1938) は Parasitische Mutterkornkultur と言つてゐる。邦語としては寄生的栽培と言ふを適當と考へる。

第 1 節	麥類に対する <i>Cl. litoralis</i> の寄生性と其の寄生的栽培……………
第 2 節	自然状態に於て大麥(有稈大麥・稈麥)に対する <i>Cl. litoralis</i> の寄生性……………
第 3 節	大麥(有稈大麥・稈麥)に寄生的栽培されたる <i>Cl. litoralis</i> 麥角の有効成分含量……………
第 6 章	麥類を寄主とする <i>Cl. purpurea</i> 麥角の寄生的栽培……………
第 1 節	麥類に対する <i>Cl. purpurea</i> の寄生性と其の寄生的栽培……………
第 2 節	大麥(有稈大麥・稈麥)・小麥・ライ麥に寄生的栽培されたる <i>Cl. purpurea</i> 麥角の有効成分含量……………
第 7 章	結論……………
第 8 章	摘要……………
	引用文献……………

第一章 緒 論

多くのイネ科植物は麥角菌 *Claviceps* によつて胃され、それによつておこる疾病は所謂麥角病として知られてゐる。其他少数のタケ科、カヤツリグサ科、キ科のものも *Claviceps* に胃されるものがある。^{*} この *Claviceps* の内最も普通で古くより知られ研究されてゐる種は *Claviceps purpurea* (FR.) TULASNE であつて、他の種はあまり研究されてゐない。實際、麥角に関する文献は殆どすべて *Cl. purpurea* に関するものであるといふも敢て過言ではない位である。麥角病は禾穀類及び牧草、特にライ麥の重要な疾病であるが、小麥・大麥・燕麥ではあまり重要視されてゐない。麥角は次の二つの観点よりして重要視される。其の第1の理由は禾穀生産上、食物衛生上の重要性である。即ち穀物及び乾草の収量品質を損じ、且つ胃されたる穀物・乾草を食物乃至飼料とするに於ては人畜に非常に有害となる事である。SEYMOUR & McFARLAND⁽¹⁵⁾ (1921) によればライ麥の麥角病 (*Cl. purpurea*) による減収は、穀粒が麥角によつて置換される事によつておこるのみでなく、糞を生ずる事にも原因するといふ。即ち麥角発生したる 730 穂の内、小花総数の 47% が秕となり 10% が麥角となつて居た。又、麥角発生せざる 651 穂の内、小花総数の 31% が秕となつて居たといふ。然して胃されたる穂は然らざるものに比し穂長は短く重量も軽いといはれる。KIRCHHOFF⁽¹⁶⁾ (1929) によれば、胃されたる穂に由來するライ穀粒の千粒重は健全なる穂に由來する其れに比し 3.2—8.3% 劣るといはれる。然して減収は *Cl. purpurea* の寄生によりて麥角にて置換されるといふ直接的影響よりも、菌寄生によりて穀粒の重量を減ずる等間接的影響の方が大きいといふ。實際、減収高は年により氣候により異なるのは勿論で、1917 年ウィスコンシン州で大発生の際は⁽¹⁶⁾、殆どす

* 著者の研究“麥角菌 *Claviceps* の寄主植物”未発表⁽¹³⁾によれば、イネ科・カヤツリグサ科・キ科・タケ科を通じて寄主植物の総数は 88 属 347 種(内本邦産 35 属 74 種)の多きに達する。*Claviceps* の種類としては 24 種 2 変種(内本邦産 5 種)が知られてゐる。

べての穂に一つ以上の麥角を着生してゐたといふ事であり、欧米にては 20—50% の穂が胃されたといふ事も左程珍らしくはないのである。ATANASOFF⁽¹⁶⁾ (1920) によれば、1894 年の湿润期にドイツに大発生がおこつた際ライ麥の減收は年平均 0.3% なるに対して 1.6% であつたといふことであり、又 1917 年コネクチカット州で発生の際の減收は 1—5% であつたといふ。JACZEWSKI⁽⁷⁸⁾ (1913) によればロシアでは減收 20% にも達した事があると言はれる。

牧草も *Cl. purpurea*, *Cl. microcephala*, *Cl. Paspali* 等によつて胃され乾草の收量・品質等を損じこれによつて飼養される場合家畜の麥角中毒 ergotism を生ずるのである*。

麥角はライ麥刈取前に一部は地上に落下するが他は穂に附着せる儘脱穀の際も穀粒に混じそのまゝ製粉されてパン中に混ざる為屢々麥角中毒を生ずる。中世より近世に至る迄麥角中毒の発生は枚挙に遑のない処である⁽¹⁵⁾⁽¹⁷⁾⁽⁶³⁾。現今は、ライ麥栽培法の進歩と製粉技術の向上により麥角中毒は激減してゐるが、それでも 1926 年東部ロシアに麥角の大発生⁽³⁶⁾ があり Sarapoul 州では 11,319 人の中毒者を生じ、内 0.8% は死亡し、14.3% は重症であつた。大人より子供の方が激しく胃され、主として神経性障害であつた。その害は 1927 年 5 月迄連続した。当時ライ麥への麥角の混入は重量で 1—26.7% であつたから致死量 7% を越えてゐたものも多かつた。ロシアは中毒者の屢発に驚き麥角の混入歩合は 0.15% 迄許可と法令で定めた。1927 年の夏には英國のマンチェスターのユダヤ人部落（中欧より移民）に大発生し⁽⁴²⁾ 多数の中毒者を出した。ライ麥半ポンドに対し 22.85 gr の麥角が混じてゐた由であるから中毒は当然の結果であらう。

第 1 節 麥角の醫藥品としての重要性

麥角の重要性を有する第 2 の理由は、麥角は他方に於て、重要な医薬品であるといふ点である。即ち子宮收縮剤として主として陣痛促進・分娩誘導の目的に、又流産後の子宮出血止血の目的に、産婦人科領域に於て古來繁用されてゐる。

アルゼンチン (1928), オーストリー (1906), ベルギー (1930), 英國 (1926), デンマーク (1933), オランダ (1926), フランス (1937), 独乙 (1926), ギリシア (1924), ハンガリー (1933), イタリア (1929), 日本 (1932), ノールウェー (1913), ルーマニア (1926), ロシア (1926), スペイン (1930), スウェーデン (1925), スイス (1933), 米國 (1936) の薬局方を通覧するに、すべて麥角とは *Cl. purpurea* の菌核として定義し明白にライ麥に生ぜるものと述べてゐるか（英國・米國・日本の如き）又は單に *secale cornutum* 又は *fungus secalis*（例へばオース

* 中毒症状は麥角菌の種類（寄主植物の種類）、攝取量、飼養期間、当時の氣候状態によつても異なる。牛属は馬属よりも中毒し易く⁽¹⁶⁾⁽⁶³⁾、騾・羊・豚・犬・猫・鶏・モルモット・鼠等について自然的に又実験的に麥角中毒が証明されてゐる。又麥角は古くなるにつれて有毒性が弱くなる事が知られてゐる⁽¹²⁷⁾。

トリー)の如き名称を以て、その起源がライ麥である事を明記してゐるのである。然して他の寄主植物に発生した *Cl. purpurea* の麥角は假令その國の局方に於て規定されたるすべての條件を満足したとしても、何れの國の局方にても許容されてゐないのである。

第1表 ライ麥及び小麥の相対的重要性

	ラ	イ	麥	小	麥	比				
ポ	ー	ラ	ン	ド	246	60	4.1			
ド		イ		ツ	321	123	2.6			
オ		ラ	ン	ダ	13	4.7	2.1			
オ	ー	ス	ト	リ	19	11.6	1.6			
チ	エ	コ	ス	ロ	バ	キ	ア	64	48	1.3
ロ		シ		ア	756	783	0.93			
ス	エ	ー	デ	ン	16	19	0.87			
デ	ン	マ	ー	ク	10	12	0.87			
ノ	ー	ル	ウ	ニ	0.56	0.73	0.77			
ベ		ル	ギ	ー	11	16	0.68			
ポ		ル	ト	ガ	ル	5.3	11	0.48		
ハ		ン	ガ	リ	ー	33	72	0.46		
ス		ベ	イ	ン	23	149	0.15			
ル	ー	マ	ニ	ア	13	100	0.13			
フ		ラ	ン	ス	39	320	0.12			
米				國	41	807	0.050			
カ		ナ		ダ	13	294	0.045			
イ		タ	リ	ー	6.8	261	0.025			
英				國	0.65	46.5	0.014			
(イギリス及ウエイルズ)										

BARGER (1931) Ergot and ergotism, p.3.

備考 初めの2欄は單位百万ブツセル。アメリカ農務省のYear Book of Agriculture (1930)による。但し英國のものは英國農務省のものによる。何れも1929年の数字(ロシアのみ1928)。

ライ麥は歐洲に廣く栽培され特にオランダ・獨乙(特に北獨乙)・チェコスロバキア・オーストリー・ポーランド・及び中央ロシアからウラル山脈一帯迄栽培されそれらの國々の主穀物をなしてゐる。(第1表参照)

一方之に対し、商品たるライ麥麥角の二大産地は、一つは東部歐洲(主としてロシアとポーランド)の廣大なる地域であり、他はイベリア半島の北西部濕潤地方(スペイン及びポルトガルを含む)であり、前者は後者に比し遙かに廣域である。ロシア産は殆ど大部分レニングラードより、ポーランド産はダンチヒより、スペイン産はヴィゴより、ポルトガル産はリスボンより積出される。尙少量はエストニア、ラトヴィア、リトアニアにも産出があり、又ドイツ、オーストリーにも若干の産出があり海外へはハンブルグより積出されるが、麥角の世界市場に於

ける價格に左右されて輸出されぬ事もある。スエーデンでは自國に消費に充分なだけの産出があり、價格関係によつては若干輸出される事がある程度である。尙ルーマニア、ブルガリアより麥角が輸出される事もあるが、此は自國産のものかロシア産に由來するものかは疑はしい⁽¹⁷⁾。

麥角の産出量は年により氣候により異なる事は勿論である。麥角菌感染の量を左右する一般的气候條件に加ふるに、ライ麥收穫の直前に強風とか豪雨の有無と密接な関係がある。即ちさなきだに落下し易い麥角が穂を離れて落下してしまふからである。一時 100 トンと見積られたスペイン産麥角がこの理由によつて、一日二日の内に 30 トンに減少した事があつた。VLADIMIRSKY⁽¹⁹³⁾ (1939) はロシアにおける麥角発生地の分布と氣象條件との関係を詳細に調べてゐる。BARGER⁽¹⁷⁾ (1931) によればイベリア地区(イベリア半島西北部のスペイン及びポルトガル産のものを総称する。以下同じ)の産出額は、1920—29 年の 10 年間総計 725 トンとの事であるから、普通年額 70—80 トンと思はれる。(1919 年と 1920 年は 100 トンを超え、1929 年と 1930 年は 35 トンであつた。1928 年は 70—80 トンの平年作であつた。) 又ロシア産は年額 100—150 トン位と思はれる。ロシア産のものも年により氣候により著しく異なる。BARGER (1931) によれば、1897—99 年の産出は例外的に大量であつた。第 1 次大戦前は輸出年額 150 トンと言はれイベリア地区の其れの約 2 倍であつた(1906 年 190 トン、1913 年 100 トン)。ANERUD⁽¹⁵⁾ (1939) によれば 1926 年のロシアの大発生時は実に 4,000 トンと称されたといふ。

かくて麥角の産出は、ライ麥栽培國に限られるのは勿論であるが、概して農業の發達してゐない國において多いと言ひ得るであらう。スペイン・ポルトガル産麥角は前記の如く商業的に重要であるが、之に対しライ麥産出は兩國を合してもハンガリー、フランス、米國よりも少くロシアの $\frac{1}{27}$ であり、麥角発生に好條件を具へたる事情があるにもせよ。この感(農業の發達してゐないこと)を深うするのである。世界の最大の消費國は米國で、BONNS⁽²⁹⁾ (1922) によれば、1913—1917 年の輸入は年当り 58—112 トンであり、BARGER (1931) によれば 1919—1921 年平均 78 トン、1922—26 年平均 89 トン、1927 年 80 トン、1928 年 134 トン、1929 年 102 トンを輸入して居り、世界麥角産出額の略々半分を消費してゐる事となる。(米國は第 1 表に示す如くかなりライ麥産出があり栽培は北ダコタ州に最も多いが、商品たる麥角の産出は皆無である。)

本邦に於ては、ライ麥栽培は殆ど無く、従つて局方(商品)麥角の産出は皆無である為* 年々ロシア・スペインより多量に輸入してゐた。正確なる統計に乏しい為詳細なる輸入量は不明であるが、最近の輸入量は⁽²⁰⁵⁾、1935 年約 20 トン、1936 年約 10 トン、1937 年約 5 トン、

* 出田⁽⁷⁵⁾(1911)によれば明治 38 年(1905)長野縣下のライ麥に夥しく発生した事がある。後述

1938 年約 4 トン (但し 5 月迄) となつて居り, 1941 年 (昭和 16 年) 以降は輸入皆無となつてしまつた。本邦に於ては, 少くも年額 20 トンを必要とするであらう。

第 2 節 研 究 史

近時スペインに於ける農業の改善進歩* 及びロシアに於ける國內事情** は麥角の發生を愈々少なからしめ麥角の産出に減少の一途を辿りつゝあり, 爲に麥角の人為的生産が問題となるに至つた。然してこの問題解決の方法として二つの場合が考へられる。即ち第 1 は純粹培養により試験管内に於て有効成分を含有するところの麥角 (菌核) を形成せしめるか或は有効成分自体を産製せしめる方法即ち人工培養法であり, 第 2 は圃場に於て寄主植物に人為的に接種し麥角を發生せしめる方法即ち寄生的栽培法である。先づ人工培養法に就き先人の研究の跡を辿つて見よう。

I 人工培養法

TULASNE⁽¹⁹¹⁾ (1853), KÜHN⁽⁹⁸⁾ (1863) は水で稀釈せる蜜滴 (Honey dew ; Honlgtau) の中で分生胞子が発芽して菌糸をつくり二次的に分生胞子をつくる事を初めて実験したが, 人為的条件下に実験室において麥角菌の培養を研究した最初の人 は BREFELD⁽³¹⁾ (1881—1908) である。彼はパンに液体培養基を含ましめその上に子嚢胞子を発芽せしめた。MEYER⁽¹²¹⁾ (1888) は蜜滴の分生胞子より出発して人工培養を行つた。然して BREFELD, MEYER 共に試験管内に於て菌核を形成せしむるには至らなかつた。

ENGELKE⁽⁴¹⁾⁽⁴²⁾ (1902, 1905) は無菌的にとれる子嚢胞子より出発して人工培養し所謂“microsclerotia”を形成せしめ得たが然し彼は之に関して図説してゐない。

BONNS⁽²⁹⁾ (1922) は第 1 次歐洲大戰後當時米國は麥角の價格高騰し, 彼は純粹培養によつて菌核を形成せしめる事を目的として実験を行つたが, 結局菌核を得る事は出来なかつた。然して分生胞子をつけたる菌糸は, histamine を含むも ergotoxine は証明されず, 實際的に医学的に價値の無い事を見出し, 且つ菌核形成の方向への変化とアルカロイドの存在とが関連のある事を認めた。彼はよく發育せる未熟の麥角より分離出發してゐる。

HECKE⁽⁶⁴⁾ (1921--22), FALCK⁽⁴⁴⁾ (1922) は寄生的栽培に於て接種源を得る目的の爲の純粹培養に貢献した。

KIRCHHOFF⁽³⁶⁾ (1929) は生物学的に生理学的に詳細に研究し, 初めて saprophytic に菌核を得たが, 然しアルカロイド含量に就ては実験してゐない。

* 1) 清潔なる種子の使用 2) 篩別法又は浮遊水洗法による麥角除去法の普及 3) 深耕法の普及 4) 合理的輪栽法 5) 開花時期齊一で開花期間短き品種の選択。

** 1) 麥角に関する民衆の教化 2) 穀粒の清潔化を目的とする近代式機械器具の供給 3) 麥角の國家買上の実施 4) 麥角菌に目されるたライ麥穀粒を健全なる穀粒と交換すること等を目的とする法令の發布。

McCrea⁽¹⁰⁷⁾(1931)は純粹培養に及ぼす諸種の物理学的生理学的要素の影響を主として研究し、彼女の所謂“pseudosclerotia”は得られたが眞の菌核は得る事が出来なかつた。然して培養菌糸に ergotoxine, histamine, tyramine をつくる事を示してゐる。

KREITMAIR & KÜSSNER⁽⁹⁵⁾(1931), JARETZKY⁽⁷⁹⁾(1935)は、純粹培養にアルカロイドを証明してゐるけれども、菌核を得てゐない。SCHWEIZER⁽¹⁴³⁾(1941)は低温殺菌の培養基を用ひて眞の菌核を得た。そしてこの中に自然産の菌核(0.087—0.270%, 平均 0.178%)に劣らぬアルカロイドを含有してゐる事を証明(0.219—0.314%, 平均 0.279%)した。

茲に於て、人工培養法による麥角有効成分の生成化は一應完成したかの観があるけれども、其の實際的大量生産化の点に於ては尙將來の研究に俟たねばならない現状である。*

次に第2の寄生的栽培の研究史を繙いて見よう。

II 寄生的栽培

ライ麥に人工接種をなすに DURIEN (1856)**は子嚢胞子を以て、BONORDEN⁽³⁰⁾(1858)は分生胞子を以て初めて接種を行つてゐるか何れも生物学的実験の範圍を出でないものである。

麥角を寄生的に栽培しようと言ふ考へはかなり古くからあつた。BÉKÉSY⁽²¹⁾(1938)によれば前世紀の末頃既にこの問題に関する質問が専門家にむけられてゐたのであるが、当時の見解では斯くの如き栽培は穀物の収量及び住民の健康を損する惧れがあるといふ理由の下に忌避されたのであつた。然しながら STÄGER (1900—23)⁽¹⁶⁰⁾⁽¹⁶¹⁾⁽¹⁶²⁾⁽¹⁶³⁾⁽¹⁶⁴⁾⁽¹⁶⁵⁾⁽¹⁶⁶⁾⁽¹⁶⁷⁾⁽¹⁶⁸⁾⁽¹⁶⁹⁾により *Cl. purpurea* は数種の生態種に分かれる事が明らかとなり、各々のイネ科植物に寄生する麥角菌は必ずしもライ麥の其れとは同一でない(従つて必ずしもライ麥を冒すとは限らない)のであるから、傳染の惧れは減少したわけである。

寄生的栽培を行つた最初の人ハHECKE⁽⁶⁴⁾⁽⁶⁵⁾⁽⁶⁶⁾(1921—23)である。彼は寄生的栽培を行ふに分生胞子の浮游液を以つて行つたのであるが、その目的に蜜滴の10滴を稀釈して1立の程度となし噴霧器を以つて開花中のライ麥に接種する方法であり、一飛抹中に少くとも2—3の胞子を含まねばならぬとした。又、彼は発芽せる子座より射出されたる子嚢胞子より出發して培養を行ひ、然して液体培養基即ち麥芽汁エキスを使用时5—20倍に稀釈し25°—30°Cにて培養する方法を推賞してゐる。此は寄生的栽培に於ける接種源を得る目的の爲の培養である。彼は TSCHERMAK に従ひライ麥に手指を以て人為的刺戟を與へて人工的に開花せしめて接種す

* 以上に於ける如く從來人工培養基上では麥角有効成分の生成する事実を認め得なかつたか或は認め得ても微量にのみ生成せしめ得たに過ぎないのであるが、最近、阿部⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾は本邦産、滿洲産及び外國産の寄主植物24種に寄生してゐた多数の麥角菌株について、形態学的、生理学的、化学的研究を行つた結果、彼は培養基中にも麥角有効成分の生成する事実及び菌叢中に麥角有効成分を多量に生成する培養條件、即ち Sphacelia の菌糸が菌核化の方向を辿る様な培養條件の下では培養基中にも其れを多量に生成する事実を認めてゐる。然し数字的に明示してゐない。

** ATANASOFF⁽¹⁶⁾(1920)による。

る hand inoculation によつた。後の実験⁽⁶⁶⁾(1923)においては、ライ麥を極めて密植し單に穂を棒を以て集團的に撓める事によつて開花せしめる方法をとつて簡易化した*。開花数を多からしむる第2の可能性は受精が妨げられたる場合である。即ち未授精の花は屢々1週間も開いてゐる。彼(1922)は、*Secale montanum* は栽培ライ麥よりも授精状態悪く、開花期間長く cross pollination の度合高き為、*Secale montanum* にて好結果を得た。TSCHERMAK⁽¹⁸⁹⁾⁽¹⁹⁰⁾(1921, 22)は *Secale montanum* と *S. cereale* との雜種をつくり HECKE⁽⁶⁶⁾(1923)はこの雜種を用ひて好成绩を収めた。

尙 TSCHERMAK⁽¹⁸⁹⁾⁽¹⁹⁰⁾(1921, 22), FALCK⁽⁴⁴⁾(1922)も寄生的栽培実験を行つてゐる。

FRON⁽⁴⁾(1926)も寄生的栽培を行ひ、20%の穂に感染せしめ得た。接種の時期はライ麥の穂の出た許の時がよいと言つてゐる。尙 FRON は“有効アルカロイドたる ergotinine 含量の高いものを得る事が重要で、燕麥は ergotinine 含量高いものを産出する”といふ。

本邦の大谷⁽¹³⁶⁾(1928)は富山で実験を行つてゐるのであるが、此の方面の研究では本邦最初であつた。麥角は瑞西産及びシベリア産麥角を用ひた。大体 HECKE の方法と同じく、ライ麥に噴霧法によりて蜜滴分生胞子を接種する方法である。

KIRCHHOFF⁽⁶⁶⁾(1929)は概ね HECKE の方法に従ひ噴霧法によりライ麥 16 品種につき麥角菌に対する抗抵性品種比較試験を行つてゐる。彼は成熟せる子座の頭部を摺潰し(子座球200を1立の割合の水に摺潰し之に2%の蔗糖を加へる)方法をとつた。尙接種源として蜜滴分生胞子をも使用した。此によれば100小花当りの麥角数は0.47—1.30であり、普通0.7—0.9で、ライ麥の発育条件に大きい差異がなければ、麥角菌に対するライ麥の感染性には本質的の差異は無いと言つてゐる。

以上の方法はすべて人力による hand inoculation であるが、大型の噴霧装置を以て畜力(馬)を用いて大規模に行つたのは米國の McCREA⁽¹⁰⁷⁾(1931)である。然し氣候条件の悪かつた為成功に至らなかつた。

BARGER⁽¹⁷⁾(1931)は適當の実験室設備のある処では、噴霧用接種源は容易につくり得られるから、ライ麥を寄生的栽培の目的に合致するやう栽培し、人為的開花を行はずして適當なる機構の強力なる噴霧器を用ふる事が適當であらうと述べてゐるが、此の開花の有無に無關係に大規模に機械的にライ麥に接種し得る如き器械の考案は遂にハンガリーの BÉKÉSY⁽²¹⁾(1938)によつて完成された。この器械を馬にのせて接種するのであるが、1時間50アールを接種し得ると言ふ。彼は接種源の製法について詳細に論述してゐる。尙、周囲の圃場に対する傳染の危

* HECKE は summer rye にて好結果を得た。KREBS⁽⁹⁴⁾(1936)によれば、winter rye は栽植距離が増す程分蘖不規則となり開花期間を延長して麥角收量多く、summer rye は密に播く程麥角收量がよいと言ふ。

險に就ても実験したがその惧れはない事を結論してゐる。

SCOSSIROLI⁽¹⁴⁹⁾ (1939)も寄生的栽培の目的を以つて、開花中のライ麥に子嚢胞子を以て接種する数種の方法について論じてゐる。

BÉKÉSY⁽²²⁾⁽²³⁾⁽²⁴⁾ (1939-40)は前実験(1938)に引續いて実験を進め、菌株を選択することにより寄生的栽培麥角の有効成分含量を増加し得ると言つてゐる。

ふりかへつて本邦のこの方面の研究の跡を見るに、緒方及び大谷⁽¹³⁵⁾ (1932)は前記第1報(1928)による“人工栽培麥角”はアルカロイドは化学的には陽性なるも含量少く(但し含量は明記してゐない)、生理的試験にては殆ど其の反應を示さないとの結論に達してゐる。熊谷⁽⁹⁹⁾ (1940)によれば樺太産寄生的栽培麥角には非水溶性アルカロイド及び水溶性アルカロイドを全く含有せず問題とならない。又寺田・苗村⁽¹³⁰⁾ (1941)によれば樺太産寄生的栽培麥角はKELLER-FROMMEのCornutine反應無く、動物実験の結果も問題とならない。(後述)竹本は昭和12年産寄生的栽培ライ麥麥角に就き、著者は昭和19年産の其れに就き、何れもアルカロイドを含有してゐない事を確めた。(後述第5章第3節及び第6章第2節参照)要するに本邦における従來の寄生的栽培は悉く未成功に終つてゐる*。

之を要するに、従來の人工培養法はすべてライ麥麥角菌 *Cl. purpurea* に関するものであり、従來の寄生的栽培法はすべてライ麥を寄主とするライ麥麥角菌に関するものであつたと言ふ事である**。

第3節 本研究の端緒及び其の経過

第1節に詳述せし通り本邦に於てはライ麥の栽培は殆どなく、従つてライ麥麥角菌を得る

* 滿洲に於ては松岡⁽¹¹⁵⁾ (1940)は1938年滿洲産栽培ライ麥に麥角を発見し、杉本・松岡⁽¹⁷³⁾ (1941)は其の効力を動物実験によりて検定し、ライ麥發生のものは局方品の $\frac{1}{2}$ であると言ふ。然して松岡⁽¹¹⁶⁾ (1942)は之をライ麥に“人工栽培”して20アール当り3.5kg, 13アール当り2.0kgの麥角を得た。而して竹内・松岡・木田⁽¹⁷⁶⁾ (1942)によればライ麥麥角は野生、栽培共にアルカロイド含量には大差を認めず何れも局方麥角(0.094%)の $\frac{1}{2}$ 程度であるといふ。後において松岡⁽¹¹⁷⁾ (1943)は注射及び噴霧法によりha当り33.620kgの麥角を得た。彼は孢子飛散の時期に“果休”を乳鉢にすりつぶして井水にて稀釈し其の1白金匙を檢鏡して孢子少くとも2個以上とならしめた。彼は純粹培養による分生孢子をも接種源として用ひてゐる。尙其の効力は市販麥角(局方品)と同程度なる模様である事を附記してゐる。

** 戦時中、諸外國に於ける寄生的栽培の研究の大要に就いて最近知る機会があつた。今次戦争により各國とも麥角の輸入が杜絶し、自國生産を余儀なくされて、特に此の寄生的栽培が藏つて研究されたやうで、インドではANONYM.⁽²⁰⁸⁾ (1945), MUKERJI & BOSE⁽²¹³⁾ (1942), SAHA & BHATTACHARJEE⁽²¹⁵⁾ (1945), THOMAS & RAMAKRISHNAN⁽²¹⁷⁾ (1942)の研究があり、滿洲ではHYNES⁽²¹⁰⁾ (1941)、ニュージーランドではNEILL⁽²¹⁴⁾ (1941)、米國ではLEWIS⁽²¹¹⁾ (1943), LEWIS⁽²¹²⁾ (1945), SCHWARTING⁽²¹⁶⁾ (1943)の研究がある。何れも皆、ライ麥を寄主とするライ麥麥角菌の寄生的栽培である。尙、LEWIS (1945)によれば手動の接種装置がHECKT⁽²⁰⁹⁾ (1941)により考案されてゐるといふ。

可能性は殆ど無い。従来外国で行はれた様なライ麥を寄主とするライ麥麥角菌の寄生的栽培は、第2節で述べた如く、本邦に於ては未だ成功してゐないのである。日華事變の後昭和12—13年(1937—38)の頃より國際狀勢悪化と共に麥角の輸入量は漸減の一途を辿りつゝあつたが、今次第2次世界大戰突入によりて輸入は全く不可能となつてしまつた。因つて其の対策として代用薬品又は麥角の國內産の研究を行ふ必要を生じ、學術振興会第50小委員会(輸入医薬品補充対策研究)で此の麥角問題を取り上げ厚生省東京衛生試験所長松尾仁博士は其の委員となり著者は其の研究担当者となつた。(昭和17年2月)

著者がハマニソク麥角を研究対象としたる端緒は次の通りである。

1. 熊谷は昭和15年(1940)第14回薬理学会に於て本邦産麥角10種について非水溶性及び水溶性アルカロイド*の無麻酔犬子宮運動に及ぼす影響について比較研究しハマニソク麥角は非水溶性アルカロイド含量最大、水溶性アルカロイド含量も最大であり、且つ水溶性アルカロイドがその作用より見て Ergometrine 様物質と見做しうると発表してゐること。
2. 昭和16年日本薬学会総会に於て朝比奈・竹本はハマニソク麥角が総アルカロイド及び Ergometrine 作用を有するアルカロイドを比較的少量に含有すると発表してゐること。
3. 寄生的栽培は人工培養に比し利点を有すべき可能性のあること。一般に麥角菌は、自然の狀態に於て、寄主植物の相違によりて質的に其れに特有なる有効成分**を含有し得るのであるが、此の菌株の当該有効成分生成能力は少くとも当該寄主植物上に於ける限り遺傳的であると著者は考へたのである。且つ、この場合この菌株の当該有効成分生成に及ぼす氣候風土等の外的條件の影響は單に量的關係のみに止まるものと考へたのである。

* HENRY(71)(1939)によれば麥角アルカロイドとして12種が知られてゐる。要するに生理的有効なるアルカロイドは Ergotoxine 系に属する Ergotoxine, Ergotamine を主としこの外 Ergometrine, Ergosine, Ergocristine 等がある。Ergotinine 系のアルカロイドたる Ergotinine, ϕ -Ergotinine, Ergotaminine, Ergometrinine, Ergosinine, Ergocristinine は生理的効果は極めて弱力である。尙この外、インドール色彩反応を呈せぬ Ergomonamine がある。其他麥角特有の成分ではないが adreline に似た有効成分として Tyramine, Ergothioneine, Histamine, Agmatine 等が知られてゐるが麥角特有の生理的効果は其のアルカロイドによるものとされてゐる。Ergometrine は DUDLEY & MOIR (1935) によつて発見された。此は産科医 MOIR (1932) が麥角総浸剤が個々の有効成分の総合よりも産褥子宮に対し迅速且つ強力に作用するといふ経験が出发点となつたものである。此のアルカロイドは結晶性で、他のアルカロイドと非常に類似してゐるが水に甚だ可溶性であり、薬理的には他の Ergotoxine 系アルカロイドに比し作用が迅速強力であり毒性も弱く経口的にも強力であるといふ特長がある。Ergometrine の発見によりて麥角有効成分に関する考へ方は一新せられた感がある。尙 DUDLEY & MOIR と同時頃 KUJARASCI & LEGAULT (1935) は Ergotocine を、THOMPSON (1935) は Ergostetrine を、STOLL & BURCKHARDT (1935) は Ergobasine を分離してゐるが、此等は Ergometrine と同一物なる事が知られた(1936)。

4. ハマニソクは旧本邦領樺太・千島（以下單に樺太・千島と云ふ）・本邦北部（北海道青森・岩手・秋田）に豊富に自生がある。然してその自生地は海岸に限られてゐること。即ち周囲の栽培麥類に対する傳染の問題を考慮して比較的安全ではないかと考へたこと。

5. 且つ此れに發生するハマニソク麥角はライ麥麥角に比し重量に於て若干の遜色あるも商品價値に影響ある程度でないこと。

【第 2 表 ハマニソク麥角とライ麥麥角の形態比較】

	長 径	幅 径	重 量	測 定 数
	mm	mm	mg	
ライ麥麥角	11.53±0.096	2.54±0.020	47.22±0.963	500
ハマニソク麥角	11.02±0.085	2.27±0.010	37.77±0.623	500

（誤差は確率誤差にて示した。以下倣之。）

註（1）ライ麥麥角 市販の外國產麥角にして日本薬局方の適品とす。

（2）ハマニソク麥角 樺太自生地に於て人夫の採集したるものにして、後述の小麥角を含まず（眞の意味に於ける菌核形態に就いては第 2 章第 1 節参照）。

6. 樺太ハマニソク自生地に於て自然發生せる麥角の効力に就ては、前記熊谷⁽⁹⁹⁾ (1940) の報告の外、寺田・苗村⁽¹⁸⁰⁾ (1941) の報告がある*。即ち樺太產ハマニソク麥角、人工接種によりて得たる樺太產ライ麥麥角を市販の外國產麥角と比較するに、ハマニソク麥角流動エキスは KELLER-FROMME の cornutine 反應を呈するも他 2 者の其れは然らず、又、米國薬局方より單鷄冠白色レグホンの雄（体重 1.5—2.5kg）を用ひて比較するにハマニソク麥角は鷄 1kg に就き 0.5cc を筋肉内注射せる場合に鷄冠に確實なる作用を現はし、外國產麥角は 2cc 注射せざれば確實なる作用無し。人工接種によるライ麥麥角は 5cc 注射によりても尙作用無く、問題とならない。従つてハマニソク麥角は外國麥角よりも遙かに強烈なる作用を有するが如く見えるけれども、先例によれば鷄 1kg に就き 0.2 cc 注射せし場合に早くも不明確ながら作用出現を見たる由にて、供試せる外國產麥角は陳旧ならざりしやが疑はれると言ふ。

** 例へば SMITH & TIMMIS (156) (1930—31) によれば、多数の國々の市販麥角を検したる結果は、スペイン産・ポルトガル産・ロシア産・ポーランド産・スカンデナビア産・ハンガリー産ライ麥麥角は Ergotaxine と Ergotinine のみを含むに對し、ニュージーランド産 *Festuca elatior* の麥角は Ergotamine と Ergotaminine を含むと言ふ。又 BARGER (Analyst 62(1937) : 340) によれば、Ergotamine 大規模抽出用にはハンガリー産麥角がよいであらうと言つて居り、CHINOIN & WOLF によれば sensibamine (ergotamine と ergotaminine の等分子混合物) は生産的にはハンガリー産麥角のみより製し得るだらうと述べてゐる。又、sensibamine はポーランド産麥角には少量証明されるのみであると。

* 辻野 (1942) もハマニソク麥角を医療用麥角として供用し得る事を結論してゐる。（北海道薬学講演会誌 8 : 81—84）

以上によりてハマニシク麥角を以つて従來輸入の麥角に代替せしめ得る事を確信して本研究に着手し、昭和 17 年 (1942) より本格的に開始せられた*。即ち、麥角菌の人工培養及び寄生的栽培に関する研究は前述の如く従来よりライ麥麥角 *Cl. purpurea* に関するもの総べてを占め、ハマニシク麥角に関するものは皆無であるから寄生的栽培を行ふに当り寄主たるハマニシクの麥角発生に関係ある性状に就き調査する必要があるを認め、新聞、同本斗郡内帆町地主、同栄浜郡栄浜村に於て行つた。〔以上昭和 16 年 (1941)〕

1. 昭和 17 年(1942)

ハマニシクの出穂・開花・結実に就き更に詳細なる調査を行ふと共に、ハマニシク麥角菌の生活史・寄生の状況・寄生の時期に就ての観察研究及び寄生的栽培実験に力を注いだ。青森縣上北郡百石町及び樺太新聞に於て実験を行つた。

(1) 接種源の造成

ハマニシク麥角菌の寄生径路は自然の状態に於ては主として子嚢胞子によるものと考へられるのであるが、ハマニシクの開花期間と分生胞子の発生時期とを比較する時は、分生胞子による寄生も起り得べく、胞子浮游液となして寄生的栽培する場合に於ては、分生胞子の方が胞子自体として寧ろ自然に近き状態に於て接種し得るのであるから分生胞子を接種源とする事は極めて有意義と思はれるのである。

a 子嚢胞子的人為的発生

自然の状態においては著しく開花期を異にする地を有するのでなければ、實際問題として分生胞子は時間的に之を使用し得ないわけであるので、分生胞子の産成は実験室内に於て之をなすを要し且つ此れが為には子嚢胞子的人為的発生を企図しなくてはならない。

b 分生胞子の培養

自然の状態に於ては普通接種後 7—14 日にして蜜滴の発生を見る。此の蜜滴中には巨量の分生胞子が存在するのであるから、開花に適當の期間を距てたる地に於ては蜜滴を採集して接種に用ふる事が出来る。故に蜜滴の採集・保存の方法を究明し、且つ培養の方法を研究した。

c 接種源としての菌核の利用

ライ麥麥角に就ては GIBELLI⁽⁵⁴⁾(1877) は菌核を以て接種源となし得る事を唱へ McFARLAND⁽¹⁰⁸⁾(1921), KIRCHHOFF⁽⁶⁶⁾(1929) はこの実験に成功してゐるので、ハマニシクの場合に就きその可能性を検索した。

(2) 接種液

子座中の子嚢胞子又は蜜滴中の分生胞子を以て接種するには、胞子を液体中に浮游せしむ

* 若干の予備的試験は昭和 16 年(1941)より着手せられた。

る事を以て便利とする。依つて適當なる接種液をつくり該液体中に胞子の発芽を助け若しくはハマニシク穂上に長く展着する事を助ける如き物質の混入により接種の効果を増大せしむる目的を以て蔗糖其他の糖類、植物ホルモン等を添加し、又酸性度異なる浮游液となし、胞子発芽に適當する條件竝に浮游液中の胞子必要量を調査した。

(3) 接種時期

ハマニシクの開花状態による接種に好適なる時期を実験的に調査した。

(4) ハマニシク麥角菌の自然寄生の時期の觀察

ハマニシクが自然の状態に於てハマニシク麥角菌に感染する時期を自然發生地(樺太)に於て觀察し併せて分生胞子の自然寄生の頻度も觀察した。

2. 昭和 18 年(1943)

前年に於て研究判明したる処を基礎とし、専ら寄生的栽培実験に力を注いだ。本年は培養分生胞子を主として使用し、秋田縣南秋田郡船越町及び当所圃場(埼玉縣春日部町)に於て実験を行つた。

(1) 胞子浮游液を以て接種するには、注入、噴霧、塗沫、浸漬の4方法が考へられる。前年に於ては浸漬法を主としたのであるけれども、本年は以上の4方法により接種し各々を比較検討した。

(2) 接種時期

第1小花盛花期、第3小花盛花期に接種予措、接種源、接種方法を異にして接種に好適なる時期を知らんとした。

(3) 接種液の酸性度

PH 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 8.5 の緩衝液を子嚢胞子・分生胞子を浮游せしめたるものを以て接種し、好適なる PH を見出さんとした。

(4) 接種液中の胞子密度

(5) 貯藏分生胞子による接種

前年樺太に於て蜜滴を採取し乾燥状態に保存し置きたるものを以つて接種し、貯藏分生胞子による接種法を検討した。

(6) 接種源としての菌核の利用

以上の大要は既に昭和 19 年 7 月(1944) 衛生試験所彙報第 65 号にハマニシク麥角に関する研究(第 1 報)として發表されてゐる。(114)

尙昭和 17 年(1942) 秋期よりハマニシク麥角菌の麥類に対する寄生性の研究、麥類に対する傳染の可能性、麥類を寄主とする寄生的栽培の研究に着手した。

3. 昭和 19 年(1944)

ハマニソク麥角菌に就て詳細なる菌学的研究を行つた。

然してハマニソク麥角菌は従來 *Cl. purpurea* として取扱はれ來つたのであるが著者は形態学的性質及び寄生性に就て精査したる結果、之を新種とするを適當と認め *Cl. litoralis* KAWATANI と命名発表* した(1944)⁽⁸⁰⁾。

尙前年に引続き麥類に対する *Cl. litoralis* の寄生性に就て更に詳細なる研究を行ひ、これと関連して有稈大麥・稗麥の開穎性と寄生性との関係、授粉と寄生性との関係、有稈大麥・稗麥に寄生的栽培されたる *Cl. litoralis* 麥角アルカロイド含量等に就て詳細なる研究を行つた。然して其の概要に就ては“麥類に対する *Cl. litoralis* KAWATANI の寄生性に就て”と題して日本作物学会第 65 回講演会(昭和 19 年 12 月 23 日)に於て発表**された⁽⁸¹⁾。

4. 昭和 20 年(1945)

麥類に対する *Cl. purpurea* の寄生性に就て再検討を行ひ、麥類に対する *Cl. litoralis* の寄生性と比較研究を行つた。これらに関しては、日本作物学会第 69 回講演会(昭和 20 年 10 月 20 日)に於て“麥類に対する *Cl. purpurea* (Fr.) TULASNE の寄生性に就て”と題して講演により発表***された⁽⁸²⁾。

5. 昭和 21 年(1946)

有稈大麥・稗麥を寄主として *Cl. litoralis* の寄生的栽培をなし得るとの結論に達し、地方各府縣より代表的品種有稈大麥 67 品種、稗麥 48 品種計 115 品種を蒐集播種し(昭和 20 年 11 月)、此等の開穎性等開花の特性に就き詳細なる観察を行つた。

尙昭和 19 年 7 月より昭和 20 年 6 月迄、ハマニソク種実は食用となし得ざるやの問題に就いて、青森・秋田兩縣の海岸自生のものについて実地調査を行ひ且つ *Cl. litoralis* 麥角の混入の問題を研究したのであるが、之に関しては、日本作物学会第 71 回講演会(昭和 21 年 4 月 6 日)に於て“野草食糧化の一例——ハマニソクの場合に就て”と題する講演発表を行つた。

6. 昭和 22 年(1947)

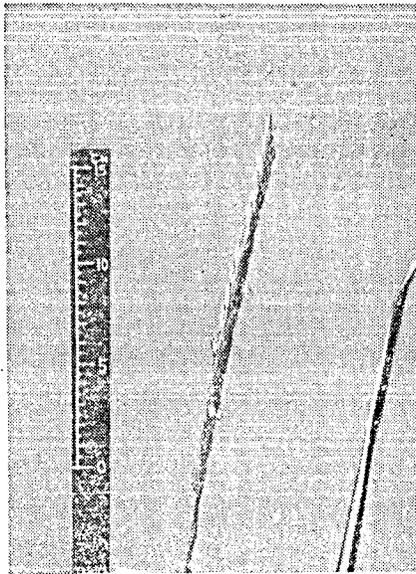
前年に引続き、地方各府縣より代表的品種、有稈大麥 64 品種、稗麥 64 品種計 128 品種を蒐集播種し(昭和 21 年 11 月)、此等の開穎性等開花の特性に就き詳細なる観察を行つた。

本研究に対し懇篤なる御指導と御校閲の勞をとられたる恩師東京大学農学部教授佐々木喬博士、並に同学部明日山教授に対し深甚なる敬意を表する。尙屢々有益なる助言を賜りたる同大学立地自然科学研究所東條教授、神奈川青年師範学校長兼盛岡農林専門学校教授富樫博士、アルカロイド分析試験に就き便宜を與へられたる大阪薬学専門学校教授(当時東京大学医学部薬

* ハマニソク麥角に関する研究(第 2 報) ** ハマニソク麥角に関する研究(第 3 報)

*** ハマニソク麥角に関する研究(第 4 報)

理学教室) 竹本博士に向つて謝意を表する。



第1図 蜜 滴
(蜜滴5個が認められる)



第2図 蜜 滴
(湿润状態の蜜滴を鋤が飛來して舐めて居るところ 別に蜜滴1個認められる)

第2章 ハマニンク麥角菌 *Claviceps litoralis* KAWATANI

本邦のハマニンク麥角に就ては、宮部・三宅⁽¹²⁵⁾(1907)が樺太にて、“本島野生禾本科植物及牧草チモシーにして此菌に侵さるゝもの多しと雖も殊にテンキグサに寄生するもの最も大形なり”として報告されたものを嚆矢とするものと思はれ、其の後分類学的研究として平塚・小谷⁽⁷²⁾(1930)、徳永⁽¹⁸³⁾(1934)、富樫⁽¹⁸²⁾(1942)の研究があり*、この外出田⁽⁷⁵⁾(1911)、伊藤⁽⁷⁶⁾(1939)、嶋田⁽¹⁵²⁾(1939)、木本⁽⁸⁴⁾(1943)、竹本⁽¹⁷⁴⁾⁽¹⁷⁵⁾(1944)、橋本⁽⁵⁹⁾⁽⁶⁰⁾(61)(1944, 46)の研究がある。尙、北樺太産ハマニンク麥角に関しては、工藤⁽⁵⁶⁾(1924)の報告がある。北米産のものに就ては、SEYMOUR⁽¹⁵⁰⁾(1929)のlistに記載があるが FARLOW & SEYMOUR⁽⁴⁵⁾(1888—91)には見当らない。然して、宮部・三宅(1907)、工藤(1924)、SEYMOUR(1929)、平塚・小谷(1930)、木本⁽⁸⁵⁾(1943)は *Cl. purpurea* として取扱つてゐる。著者(1944)は、既に述べた如く、之を精査したる結果形態学的(子嚢胞子・分生胞子の大きさ、菌核の色彩・形態)並に寄生的性質により、之を新種とするを適當と認めて、*Claviceps litoralis* KAWATANI と命名発表した⁽⁸⁰⁾。

以下本菌の形態並に生態に就て述べる事とする。

* 最近、阿部(3)(4)(5)(6)(7)(8)(9)(10)(1944—46)も分類学的研究を行つてゐる。

ハマニソク麥角菌の生活史は次の3期に分つ事が出来る。

- (1) 分生胞子期 (Sphacelia stage)
- (2) 菌核期 (Sclerotium stage)
- (3) 子嚢胞子期 (Ascigerous stage)

今その生活史を見るに最初の寄生は子嚢胞子が開花中の若きハマニソク子房に附着しておくるものにして、胞子は発芽して菌糸となり盛に繁殖して子房表面に蔓延し子房基部より内部に侵入し漸次子房内部に充滿し遂に子房を破壊するに至り、菌糸塊は略々子房の形状をとるに至る。次いで円されたる子房の表面は皺襞を生じ短き conidiophore よりなる菌層によりて覆はれこの者は分生胞子を産出す。分生胞子期に所謂蜜滴 (Honey dew; Honigttau) 分泌せらる。而して蜜滴中には conidiophore より絞断せられたる分生胞子多数浮遊す。斯くて分生胞子の産出は漸次減退し、先づ子房 (菌糸塊) の先端部より終息しはじむ。菌糸塊は次第に緻密となり、その表層は淡赤紫色となり、且つ長径を急激に増加して漸次濃色となる。斯くてその質初め軟骨質なれども漸次角質に變じ終に乾燥せる堅実肥大の保続性菌体即ち菌核となる。完全なる麥角即ち菌核を取りて之を見るに先端に帽狀の附着物 (Sphacelia cap; Sphacelia-Mütchen) がある。これ円されたるハマニソク子房及び柱頭の萎縮乾燥せる残留物である。斯くて菌核は越冬し翌春適當なる條件を得て子座を發生す。子座中に子嚢殻を生ず。

第1節 ハマニソク麥角菌 (*Cl. litoralis*) の形態

1. 蜜滴*

実験 (a) 昭和 17 年 6 月百石に於て行ひたるもの 5 月 27 日—31 日 子嚢胞子にて接種し、6 月 11 日蜜滴發生ありたるものを其の後引続き 6 月 17 日蜜滴分泌の認められなくなる迄観察した。又、6 月 1 日、2 日子嚢胞子にて接種し、6 月 17 日迄観察した。

実験 (b) 昭和 17 年 8 月新間に於て行ひたるもの 麥角自然發生地に於て 7 月 27 日より 31 日迄の間に於て自然發生したる蜜滴を其の後引続き 8 月 12 日迄蜜滴分泌の認められなくなる迄観察した。又、7 月 19 日より 7 月 25 日迄、子嚢胞子又は蜜滴分生胞子にて接種し、引続き 8 月 12 日蜜滴の認められなくなる迄観察を行つた。

実験 (c) 昭和 19 年 5 月—6 月当所圃場 (埼玉縣春日部町) にて行ひたるもの 昭和 19 年 5 月 15 日培養分生胞子 (胞子密度 $800/\text{mm}^3$) にて注入法にて 500 小花 (1 穂 10 小花宛 50 穂) に接種を行ひ、6 月 15 日 蜜滴の認められなくなる迄 (午前 6 時より終日) 毎日観察を行ひ、実験 (a)(b) より更に詳細なる調査を行つた。(成績 235 頁参照)

蜜滴分泌の有無は、観察によりて額外に認められるものを分泌とした。

* 蜜滴は従來露滴、甘露等と言はれてゐるが著者は Honey dew ; Honigttau の訳語として蜜滴と稱するを適當と考へる。

蜜滴発生したもの 139 小花	I 蜜滴発生を認むるも麥角にならなかつたもの II 蜜滴発生し、其の後観察中麥角形成の認められしもの III 蜜滴発生したるも、其の後観察中外観上は麥角の形成を認め得なかつたが、後、小花を解剖検査したる結果麥角の形成を認めたもの	6 小花	102 小花 31 小花 19 小花	麥角形成 152 小花	
蜜滴発生を認めずして麥角を形成したもの					

(1) 一般性状 蜜滴は甘味ある無色乃至黄褐色、茶褐色の粘稠なる液体である。稀に特に麥角形成後に於て分泌される蜜滴は往々にして紫色を帯ぶる事がある。初め穎花中に満ち遂に滴状をなして溢出する。(第 1—2 図) 滴状をなす場合は、大きさ $0.5-85\text{mm}^3$ であるが、分泌少き時は單に湿润状態として認めらるゝのみである。甘味を求めて昆虫集り、これのみにても遠方より蜜滴の存在位置をよく察知し得る。(第 2 図) 尚滴状をなす場合、含まれる分生胞子は重力によりて三日月状をなして滴の下部に沈下し、白色乃至黄褐色を呈してゐる事が多い。(第 1—2 図) 勿論、分散質たる分生胞子と分散媒たる液体とが上述の如く明瞭なる 2 相として認められず、一様に白濁を呈し、乃至は黄褐色筒状を呈する場合もある。蜜滴は晝間の蒸発によりて粘稠となり、更にひからびてしまふ場合もあり、後者の場合はてかてかした光沢を示す。蜜滴は特有の臭気を有してゐる。又時として、醱酵をおこして、アルコール臭のする事もある。KIRCHHOFF⁽⁸⁶⁾(1929)によれば、ライ麦麥角 (*Cl. purpurea*) の観察にては、この者は Isobuttersäure であるといひ、SCHWEIZER⁽¹⁴⁸⁾(1941)は Trimethylamine であるといふ。

蜜滴は胃されたるハマニニク小花の内・外穎の外面又はその属する小穂の護穎の外面又は外縁に 1 滴又は稀に 2 滴をなして附着し、場合によりては流下し、正しく胃されたる小花の位置を知り得ない事もある。稀に麥角形成後も、表面特に麥角の中部又は下部にて両穎の間に露出する部分に小い滴状をなして認められる事がある。又偶然的に麥角の折れたる割面、表面の裂隙、虫に喰はれて生じた空洞の部分に認められる事がある。

蜜滴は晝間も夜間も分泌するが、夜間の方が分泌著しい。蜜滴を最もよく認め得る時刻は朝 6—8 時の頃である。晝間は蒸発量が大きい為、に旺盛な分泌は見難い事が多い。然し曇天にして無風であり湿度の高い時は晝間でも旺盛な分泌を認め得る。

分泌旺盛で、大きく滴状をなして分泌する小花には概して大きい麥角を形成する傾向を認める。

(2) 含有糖分 蜜滴 (*Cl. purpurea*) 中に還元糖を含有する事は既に KIRCHHOFF(1929)等

により認められてゐる。Cl. litoralis の蜜滴にても實際甜めてみて確かに甘く感ずる程度である。著者は、蜜滴の定性分析を行ひ、蔗糖・葡萄糖・果糖・麦芽糖の存在を認めた。糖分含有量 (Fehling 液還元力) は、麥角形成前の蜜滴分泌最盛時に於て最も多く、麥角形成後に分泌される蜜滴には少い。尙後者の場合、胞子密度少い程糖分含有量少き傾向が見られた。一般に、糖分含有量は胞子密度の高低に比例する傾向が存在する。

(3) 蜜滴の PH 蜜滴の認められし初期に於いては、4.2—4.4 を示すが、漸次 PH 値増加し麥角体の漸く認めらるゝ頃に至れば 5.0—5.2 を示す。麥角の表面に小滴をなして附着する蜜滴、又は虫喰ひによる空洞乃至偶然的に折れたる割面に分泌される蜜滴等後期に分泌される蜜滴の PH は 5.4—5.8 であつた。尙、因にハマニソニク植物体汁液の PH は 5.7 であつた。ハマニソニク麥角は蜜滴中に酸を産成する事が認められるのである。

KÜHN⁽⁵⁸⁾(1863), SORAUER⁽¹⁵³⁾(1874) は蜜滴は菌より分泌したものである事を唱へたが、WILSON⁽¹⁹⁰⁾(1875), は之に反対した。而して MEYEN⁽¹²⁰⁾(1841), BONORDEN⁽³⁰⁾(1858), ENGELKE⁽⁴¹⁾(1902), KIRCHHOFF⁽⁸⁶⁾(1929) は寄主植物 (ライ麥) よりの分泌なりと言つてゐる。尙人工培養の際にも、斯くの如き分泌物が KIRCHHOFF (1929), SCHWEIZER⁽¹¹⁸⁾(1941) により認められてゐる。著者は、上述の如く、蜜滴中に¹⁾酸の存在すること²⁾糖分を多量に含有すること³⁾麥角の割面又は表面の空洞・裂隙等よりも蜜滴分泌あることによりて、蜜滴は菌 (Cl. litoralis) の側より分泌される事を主張するものである。

(4) 蜜滴中の分生胞子密度 春日部 (実験 (c)) に於ける観察 (毎日早期定時に同一個体 (同一小花) より採集検鏡) によれば、分泌の認められた当初は 1mm³ 中 200,000—2,000,000 個であるが、漸次増加し、1—5 日にして最高となり 1,000,000—5,300,000 個程度となり其後は漸次減少する。麥角の形成後に見られる蜜滴中の分生胞子は非常に少く、10,000—100,000 個程度であり、糖分も少く、分生胞子には発芽せるものがあつた。尙日中蒸発盛にして粘稠状態となれる時は最高 10,000,000 個に昇つた。百石に於ける成績にては、400,000—42,000,000 個であつた。

濃厚なる蜜滴中には分生胞子の発芽を認むる事は絶対にない。

(5) 蜜滴の分泌持続日数

百石 (実験 (a)) の成績にては持続日数最短 1 日最長 4 日、3 日のもの最も多く (モード)、平均 2.77±0.11 日 (観察個体数 30) であつた。新聞 (実験 (b)) にては、最短 1 日最長 6 日、1 日のもの最も多く (モード)、平均 2.42±0.12 日 (観察個体数 66) であり、百石のものとの差異を認めない。

春日部に於ける成績 (実験 (c) II) にて、蜜滴発生し其の後観察中麥角の形成の認められしものにては、最短 1 日最長 19 日、7 日持続のもの最も多く (モード)、平均 7.11±0.272 日

(観察個体数 102) であり、同じく春日部に於ける成績 (実験(c) III) にて、蜜滴発生したるも其の後観察中外観上は麥角の形成を認め得なかつたが、後、小花を解剖検査したる結果麥角の形成を認めたものにては、最短 1 日最長 10 日、4 日持続のもの最も多く (モード)、平均 4.00 ± 0.303 日 (観察個体数 31) であつた。この場合 (実験(c) III) 形成された麥角は小麥角 (後述第 2 節参照) であつた。以上春日部に於ける成績にて、II III を総括すれば、最短 1 日最長 19 日、6 日持続のもの最も多く (モード)、平均 6.38 ± 0.232 日 (観察個体数 133) となる。概して同一地区にては、分泌持続短きものは小なる麥角を生ずる傾向がある。

百石 (実験(a)), 新聞 (実験(b)) の成績は夫々青森、樺太に於ける海岸自生地のものであり潮風強く乾燥し易い条件にある為調査は困難の事情にあつたが、暖地 (春日部) にては概して持続日数の長い傾向が見られる。

(6) 接種後蜜滴を分泌するに至る迄の日数

(a) 百石にて子嚢胞子にて接種したるものは、最も早きものは接種後 8 日最も遅きものは 13 日、10 日のもの最も多く (モード)、平均 10.57 ± 0.162 日 (観察個体数 35) であつた。

(b) 新聞における実験にては、子嚢胞子にて接種せるものは、最も早きものは接種後 6 日最も遅きものは 17 日、9 日のもの最も多く (モード)、平均 9.75 ± 0.224 日 (観察個体数 48) であつた。蜜滴分生胞子にて接種せるものは、最も早きは接種後 6 日最も遅きは 15 日、9 日のもの最も多く (モード)、平均 9.13 ± 0.254 日 (観察個体数 43) であつた。この結果より見れば接種後蜜滴を分泌するに至る迄の日数は、接種源として子嚢胞子を用ふるも分生胞子を用ふるも、両者の間に差異を認めない。

(c) 春日部に於ける実験 (実験(c) II) にては、最も早きものは接種後 8 日最も遅きものは 17 日、10 日のもの最も多く (モード)、平均 11.13 ± 0.133 日 (観察個体数 102) であつた。又、(実験(c) III) にては、最も早きものは接種後 8 日最も遅きものは 20 日、11 日のもの最も多く (モード)、平均 11.68 ± 0.309 日 (観察個体数 31) であつた。両者 (II 及び III) の間に差異は認められない。然して以上春日部の成績にて II, III を総括すれば、最も早きものは接種後 8 日最も遅きものは 20 日、10 日のもの最も多く (モード)、平均 11.26 ± 0.129 日 (観察個体数 133) となる。

以上 3 個所のものを比較するに顯著なる相違は存在しない事がわかる。

(7) 蜜滴分泌と麥角発生との関係

蜜滴分泌を経過して麥角を形成するを普通とするのであるが、春日部に於ける実験 (c) I にて明らかなる如く、蜜滴の分泌認めらるゝも麥角発生に至らない事がある。又、蜜滴の分泌を認むることなくして麥角を発生する事もある。この場合は小麥角 (後述第 2 節参照) とな

ることが多い。此は蜜滴分泌少くして穎外に溢出すること無く従つて吾人の眼に蜜滴として認めらるゝ事なく麥角に移行発生せしものと考へられるのである。之を要するに蜜滴の分泌がありとしても必ずしも麥角となるものではない。

(8) 分生胞子の大きさ

長さ 3.1—18.5 μ , 幅 2.3—7.1 μ にして, 無色, 楕円形なるを普通とする。内部に小油滴を含む。然して屢々大油滴を兩極性に有してゐる。分生胞子の大きさは蜜滴の濃度によりかなりの伸縮がある。(第 3—4 表)

第 3 表 分生胞子の長さの変異

(單位 μ)

材料	範 囲	モード	平均値	標準偏差	変異係数	測定値
C ₁	4.9—12.6	7.7	7.70 \pm 0.042	0.88 \pm 0.030	11.50 \pm 0.39	200
C ₂	5.3—9.6	7.2	6.80 \pm 0.032	0.67 \pm 0.023	9.82 \pm 0.33	200
C ₃	5.9—15.4	9.2	9.37 \pm 0.064	1.35 \pm 0.045	14.36 \pm 0.49	200
C ₄	3.1—18.5	8.5	9.09 \pm 0.120	2.51 \pm 0.085	27.58 \pm 1.00	200

材料：—

- C₁ 蜜滴発生当日, 蜜滴をその儘檢鏡したもの。(蜜滴の PH 4.4 胞子密度 800,000/1mm³)
- C₂ 濃厚なる蜜滴をその儘檢鏡したもの。(蜜滴は白濁し粘稠)
(蜜滴の PH 5.0 胞子密度 10,000,000/1mm³)
- C₃ 蜜滴を蒸留水にて十分稀釈測定したもの。
- C₄ 培養菌岩を蒸留水に搗碎し, 分生胞子を浮遊せしめたもの。

第 4 表 分生胞子の幅の変異

(單位 μ)

材料	範 囲	モード	平均値	標準偏差	変異係数	測定数
C ₁	2.8—5.3	3.5	3.68 \pm 0.023	0.49 \pm 0.017	13.32 \pm 0.46	200
C ₂	2.6—4.3	3.3	3.39 \pm 0.017	0.35 \pm 0.012	10.36 \pm 0.35	200
C ₃	2.6—7.1	4.6	4.19 \pm 0.027	0.57 \pm 0.019	13.57 \pm 0.47	200
C ₄	2.3—6.5	3.9	4.23 \pm 0.049	1.03 \pm 0.035	24.21 \pm 0.86	200

* C₄は阿部(3)(1944)の成績と一致してゐる。阿部(3)(4)(5)(1944)は分生胞子の大きさは、麥角菌の形態的差別を示す微標となし得る事となへ、且つハマニシク麥角菌の分生胞子を他群より區別してゐる。Cl. purpurea 分生胞子の大きさに就ては、TULASNE(191)(1853)は 4—6 \times 2—3 μ , STÄGER(161)(1903)は 6—7 \times 3—4 μ , STÄGER(162)(164)(1905, 1908), ATANASOFF(16)(1920)は 7 \times 3.5 μ , HEALD(63)(1926, 33), 中田(132)(1937)は 0.7—3.5 μ , 小林(91)(1939)は 4—6 \times 2—3 μ , VOGLINO(154)(1905)は 5—7 μ , KIRCHHOFF(86)(1929)は稀薄なる蜜滴中のものは 6.5—7.5 \times 4.2—4.8 μ , 濃厚なるもの 3.5—6 \times 2.5—3 μ とあり何れも一致してゐない。これは、分生胞子の大きさは外的條件により變化し易いからで、この故に従來種の決定には分生胞子の大きさはあまり重要視されなかつた。

C₃ と C₄ には大きい差異は認められない。唯 C₄ に於ては、長さ・幅共に変異の大きい事がわかる。尙数種の液体及び固体培養基による場合分生胞子の大きさには変化は認められなかつた*。

(9) 分生胞子の生命 第 4 章第 8 節参照

II 菌 核

ハマニシク麥角菌 (*Cl. litoralis*) の菌核即ち麥角は円筒状にして細長く眞直なるか又は稍々彎曲する。中央部に於ける断面は概して略々円形なるも、卵形、楕円形及び相互の移行型を認め不明瞭なる鈍き 2—4 稜を具ふ。新鮮なるものは弾力性を有し稍々屈撓し得べしと雖も乾燥するに従ひ堅脆となり粉碎し得るに至る。表面に極く浅き縦溝 1—4 を有することあり。稀に横裂あるものあれども一般には無し。

横断面は平坦にして色彩は淡赤褐色の皮部と灰白色乃至帯淡紫白色の髓部とを区別し得る。特有の微臭を有する。頂部に向つて漸細し又は尖頭をなし、基部は丸味を帯ぶるを普通とするも、稀に両端共に漸細して尖頭に終ることあり又丸味を帯ぶる事もある。頂部は表面稍々粗糙である。頂部には通常ハマニシクの子房及び柱頭の萎縮乾燥せる残留物が帽状をなして附着せるを見る。所謂 *Sphacelia cap*; *Sphacelia-Mützchen* 之である。菌核は一般に一側に稍々彎曲するを普通とすれども彎曲の度は極めて輕微にして直線状のもの多し。

色彩は初めは表面粉質にして淡黄褐色であるが、漸次粉質物を脱して濃色となり平滑堅脆となる。今菌核の頂部、中部、基部の 3 部に分ちて RIDGWAY (141) によりて色彩**を見るに次の如くである。

頂部 Tilleul-Buff—Pallid Brownish Drab—Pale Brownish Drab

中部 Light Brownish Drab—Brownish Drab—Deep Brownish Drab—Dusky Drab

基部 Dusky Drab—Blackish Brown(1)—Blackish Brown(2)—Blackish Brown(3)

一般に頂部に近き程色淡く基部に至るに従ひて濃色となる。特に穎花内にある部は挺出部より濃色にして、新鮮なるもの程この区別は明瞭であり、年月を経れば稍々不明瞭となる。

春日部に於ける実験(前項 I 蜜滴実験(c))によれば、麥角は接種後最も早きは 16 日最も遅きは 28 日、18 日のもの最も多く(モード)、平均 19.45 ± 0.187 日(観察個体数 102)にして発生を認めた***。然して麥角の成熟には接種後 30 日—40 日を要する。自然発生の麥角の成熟時期は、(ハマニシクの開花時期に従ひ)北海道にては 6 月下旬—7 月下旬、樺太にては 7 月下旬—8 月下旬の頃である。

** 昭和19年実験(前項 I 蜜滴実験(c)II)にて、全然色素を有せざる白色の所謂 *leucosclerotium* 3 個の発生を認めた。然してこれらにはアルカロイドは含有されてみなかつた。

*** 蜜滴の分泌を認めてから麥角の認められる迄の日数は、最も早きは 1 日最も遅きは 17 日、8 日のもの最も多く(モード)、平均 8.32 ± 0.209 日(観察個体数 102)であつた。

成熟せる菌核の大きさの平均値は次の如くである。(測定数 500)

長径 $7.40 \pm 0.079 \text{mm}$

幅径 $1.85 \pm 0.013 \text{mm}$

重量 $17.28 \pm 0.416 \text{mg}$ (第 4 章第 11 節参照)

Cl. litoralis 菌核は表面平滑であり一般に丸味があり、縦溝も極めて浅く、横裂は一般に存在しない。ハマニンクと同じく *Hordeae* 族に属するライ麥・カモジグサの麥角は外形甚だ不規則であり表面は極めて粗糙の感があり、且つ角ばつたものが多く、極めて深い縦溝があり、屢々横裂があるのと好対照をなしてゐる。又色調はライ麥・カモジグサ・ケカモジグサの麥角は何れも、Light Vinaceous-Drab—Vinaceous-Drab—Dark Vinaceous-Drab—Dark Grayish Brown—Blackish Brown (2) であり、色調の分析は (Red 60: Orange 40) 10: Neutral Gray 90 であり、ハマニンク麥角は (Red 20: Orange 80) 10: Neutral Gray 90 であつて、前者より褐色の度がつよく、特有の色彩をなしてゐる。

以上の如く、菌核の外部形態 (一般形状・表面の状態及び色彩) はハマニンク麥角菌 *Cl. litoralis* の特徴であり、他種より區別さるべき点である。富樫⁽¹⁸²⁾ (1942) もハマニンクの麥角はその外部形態よりして他群より區別するを至當と言つてゐる。

尙、麥角表面の平滑・粗糙といふ性質は *Sphacelia* 期に産成された分生胞子の残存附着の問題と相関がある。即ち *Sphacelia cap* に於て観察される分生胞子は *Claviceps* がその *Sphacelia* 期を通じて産成する分生胞子のうち特に寄主植物の子房の柱頭部に於て産成されたものが萎凋した子房の部分と共に麥角に附着残存してゐるものであるが、同様に *Sphacelia* 期を通じて産成された分生胞子は、一部分ではあるが麥角表面にも附着残存する。然して何れもその数は *Sphacelia* 期を通じて産成された分生胞子の総数に比較すれば極めて小部に過ぎず、又外的条件特に風雨等の自然的影響を考へればその存在は極めて不定である。今、新鮮なるクサヨシ、カモジグサ、ケカモジグサ、ライ麥の麥角をとりて見るに、麥角表面及び *Sphacelia cap* に極めて多数の分生胞子を附着せしめて概観粗糙であるが、ハマニンク麥角にては附着せしめてゐる分生胞子は極めて少く概観平滑であり前者に比し極めて美麗なる感を與へる。即ちハマニンク麥角菌の分生胞子産成の能力は他種に比し劣る事に基くものである*。

III 菌核の発芽及び生命

菌核は越冬して翌春適當なる条件の下に発芽する。ライ麥麥角 (*Cl. purpurea*) の発芽に関

* 事実、阿部⁽⁶⁾ (1944) は、實驗的に各種の人工培養基に純粋培養し、“麥角菌は分生胞子形成上菌株により固有の能力を有し、‘*Sphacelia Mützchen*’ に於ては該麥角菌の分生胞子形成能力に応じた数の分生胞子を留めてゐる” 事を見出し、且つハマニンク麥角菌を他群より區別してゐる。

しては, GRANEL⁽⁵⁶⁾(1883), BELZUNG⁽²⁵⁾(1889), ROSTOWZEW⁽¹⁴³⁾(1902), ZIMMERMANN⁽²⁰⁶⁾(1906), BREFELD⁽³¹⁾(1908), WHETZEL & REDDICK⁽¹⁹⁸⁾(1911), FALCK⁽⁴⁴⁾(1922), McFARLAND⁽¹⁰⁹⁾(1922), KIRCHHOFF⁽⁸⁶⁾(1929), ANONYM.⁽²⁾(1935), KREBS⁽⁹⁴⁾(1936), PETCH⁽¹³⁹⁾(1937), SCHWEIZER⁽¹⁴⁸⁾(1941)の研究がある。然して BREFELD(1908), FALCK(1922), KIRCHHOFF(1929), KREBS(1936), SCHWEIZER(1941)は, 低温は菌核の発芽を促進する事を言ひ, KLEBAHN*は乾湿の交代が効果的であると言つてゐる。

A ハマニシク麥角の発芽に関する実験

著者は *Cl. litoralis* 麥角に就き低温処理の菌核の発芽に及ぼす影響に関して実験を行つた。

(a) 昭和 16 年 8 月採集の樺太産ハマニシク麥角をデシケーター中に乾燥状態に保存し置き, 翌年 3 月 26 日取り出し予め水道水中に室温に於いて 2 時間浸漬して膨潤せしめよく水をきりたる後, 低温恒温器 (-4~4°C) 中に 12 日間平均 -1.8°C に保ち 4 月 10 日に置床した。

(b) 水にて膨潤せしめずして, (a) と同様に低温処理せるもの。

(c) 水に浸漬せる儘 (a) と同様に低温処理せるもの。

(d) 低温処理を行はざるもの, デシケーター中に乾燥状態に保存しありしものを直ちに置床した。

(b)(c)(d) は何れも 4 月 10 日に置床した。床は植木鉢を用ひ之に土を 8 分目に入れその上に砂を 3cm 厚みに入れて麥角をその上に撒布し麥角の表面が僅かに見ゆる程度に砂を以つて覆ひ鎮圧する。鉢は室内に置いて管理し隨時水を補給して砂表面の乾燥するを防止した。

(a)区は 5 月 12 日(置床後 32 日)子座を出し初めた。子座の発生最も多きは 5 月 23 日--5 月 26 日であつた。5 月 24 日, 及び 6 月 4 日に発芽率を検査した。

実験結果は下の様である。

第 5 表 *Cl. litoralis* 麥角の低温処理と発芽

	供試総菌核数	発芽数	発芽率	調査月日
a	1032	113	10.95%	17-24/V
a	3206	1033	32.23	17-4/VI
b	488	132	27.05	"
c	332	92	27.71	"
d	506	18	3.56	"

低温処理 [(a), (b), (c)] の菌核の発芽に及ぼす影響は極めて促進的にして顯著である。然して予め膨潤せしめて低温処理せる方, 膨潤せしめずして低温処理せる方より発芽率高き傾

* BARGER⁽¹⁷⁾(1931) Ergot and ergotism, p. 88. 参照

向が見られる。尙菌核の発芽に関しては第4章第1節参照。

B 菌核の生命

菌核の生命に就ては, TULASNE, ROSTOWZEW (1902), ADERHOLD⁽¹²⁾ (1905), ZIMMERMANN (1906), BREFFELD (1908), FALCK (1922), KIRCHHOFF (1929) 等の研究があり何れもライ麥麥角 (*Cl. purpurea*) に就て行はれたものである。然して ROSTOWZEW によれば発芽力は1年間のみであると言ひ, LUTZ⁽¹⁰⁵⁾ (1904), ZIMMERMANN は2回越冬の後も発芽力あるを認め, KIRCHHOFF は菌核の生命は2-3年と言ひ得ると結論してゐる。橋本⁽⁶²⁾ (1941) は, 菌核は乾燥状態で貯蔵する時は7-8年目にもなほ生命があると言つてゐる。

著者はハマニソク麥角 *Cl. litoralis* に就いて, 昭和16年より今年(昭和22年)迄毎年発芽試験を行つてゐる。実験方法はその年及びその年以前に採集の麥角(予めデシケーター中に保存し, 又は風乾状態に放置しありたるもの)を毎年12月下旬置床し越冬せしめる(発芽床は前記の如くして植木鉢を用ひ建物北側の軒下に置く。尙, 発芽床は植木鉢を倒にかぶせ, 随時水を補給して砂表面の乾燥を防ぐ。)斯くて翌春発芽を検するのである。以上の方法による発芽試験の結果は, 2回以上越冬の後発芽を示すものは皆無であり, ハマニソク麥角の生命は1年との結論を得た。而して越冬中特に早春菌類に付されたもの及びその結果腐敗のおこりしものは, 其の発芽は認むるを得なかつた。又麥角採集後菌類特にアラカビ類に付されたものは翌春の発芽は極めて不良であつた。斯くて菌核の発芽を効果的に行ふには, 置床前菌核の表面消毒を行つて雑菌の寄生をなくする方法をとらねばならないとの結論に達してゐる。

IV 子座

子座は初め菌核の皮部を破つて蠟白色の小疣状隆起物として現はれ, 次第に発達して頭部と柄部を区別し得るに至る。人工発芽せるもの(前項IIIa)に就ての観察によれば, 1菌核に形成された子座数は1-33にして稀に40にも及ぶものがあるが, 5-20が普通である。

第6表 ハマニソク麥角の1菌核上に形成された子座数

子座数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
個体数	3	5	13	21	28	18	25	27	23	14	17	10	9	5	9	4	2	4	2
%	1.2	2.0	5.1	8.3	11.0	7.1	9.8	10.6	9.1	5.5	6.8	3.9	3.5	2.0	3.5	1.5	0.8	1.5	0.8
子座数	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	総個体数				
個体数	2	1	3	3	1	3	0	0	0	0	1	0	0	1	254				
%	0.8	0.4	1.2	1.2	0.4	1.2	0	0	0	0	0.4	0	0	0.4	100%				

子座の頭部は球形或は稍々扁平なる球形にして, 未熟なる時は表面平滑にして稍々赤味あ

る橙黄色を呈すれども、成熟するに従ひて漸次濃色となり終に赤褐色を呈し表面は粗糙の感を呈し細疣状の突起認めらるゝに至る。これ、子囊殻の開口部である。子囊殻中には多数の子囊を含む。子囊は無色稍々彎曲するを普通とし、その中に8個の子囊胞子がある。子座老熟すれば暗赤褐色を経て暗赤紫色となり遂に萎縮乾燥して枯死する。頭部の横径は0.8—2.5mmにして普通1.5—2.2mmである。頭部の高さは0.6—2mmにして横径の $\frac{2}{3}$ — $\frac{3}{4}$ なるを普通とする。頭部より柄部に移行する部分は凹入する。屢々畸形をなして数個の子座が相癒合して柄部は帯状をなし頭部は楕円体状をなせるものがある。柄部は繊弱にして淡赤褐色を呈し頭部と同一色調であるけれども一般に淡色である。柄部も頭部と同様に老熟すれば暗赤紫色となり遂に萎縮乾燥する。一般に子座特に柄部の色彩は光線の強弱によりて濃淡を呈し、強き光線に曝露せるものは濃色を呈するけれども土中に埋没せられてゐたものは淡色である。柄部は平滑、屢々浅い縦溝がある。柄部の長さは3—25mmにして8—15mmを普通とする。土中に埋没せられる事深きもの程、長さを増す傾向が認められる。柄部の直径は0.4—1.3mmにして0.7—1.0mmを普通とし頭部の横径の $\frac{1}{3}$ 程度である。

子座は向光性、背地性を有する。

子座の柄部は屢々捻曲せるものを見る。これは ROSTOWZEW⁽¹⁴³⁾(1902)によれば子囊胞子を鉛直線の方に弾出せんとする適應現象であるといふ。子座の發育初期にして柄部の明瞭でない程度のもものでは子囊胞子は未だ形成されてゐない。子座老熟して暗赤紫色に変化せるものを檢鏡するに子囊胞子の存在は認められるけれども成熟せる胞子は極めて少い。

子囊殻は梨子状又は長卵形・楕円形・紡錘形にして短い頂部を有し外面に開口する。開口部に向つて尖り、開口部は乳頭様をなしてゐる。高さ135—250 μ 、横径75—150 μ である。

子囊は子囊殻内に無数に形成される。形は円筒状をなして細長く両端に向つて漸細する。一側又は両側に彎曲するものが多いが、眞直のものもある。頂部には球状部があり、その厚さ1.5—3 μ である。無色にして内に8個の子囊胞子を藏する。長さ75—160 μ 、直径2.2—4.2 μ である。

子囊胞子は繊細にして極めて細長く糸状をなし、無色、両端特に下端に向つて細まり、彎曲又は屈曲するを普通とし、稀に眞直のものもある。子囊内に平行して藏されてゐる。長さ65—140 μ 、直径0.4—1.2 μ である。成熟せる子座1個体中にある子囊胞子の総数は50,000—1,000,000である。

Cl. purpurea の子囊胞子の大きさに就ては、TULASNE⁽¹⁹¹⁾(1853)の記載では0.1mmとあるのみで明確でなく、ATANASOFF⁽¹⁶⁾(1920)、HEALD⁽⁶³⁾(1933)、中田⁽¹³²⁾(1937)、SACCARDO⁽¹⁴⁵⁾(1883)、VOGLINO⁽¹⁹⁴⁾(1905)、WINTER⁽²⁰⁰⁾(1887)等は50—76 μ 、BROOKS⁽³²⁾(1928)は60—70 \times 2 μ 、FALCK⁽⁴³⁾(1911)は50—75 \times 0.6—0.7 μ 、FRANK⁽⁴⁸⁾(1897)及び出田⁽⁷⁵⁾(1911)は50—

60 μ , 小林⁽⁹¹⁾(1939)は50—75 \times 1 μ , MASSEE⁽¹¹³⁾(1899)は 50—70 μ \times 1.5 μ , STEVENS⁽¹⁷¹⁾(1913)は 60—70 μ , 安田⁽²⁰⁴⁾(1914)はカモジグサのもの (*Cl. purpurea*) につき 50—75 μ として居り, ハマニシク麥角 *Cl. litoralis* のものは以上のものとは異つてゐる事がわかる。

第2節 ハマニシク麥角菌 (*Cl. litoralis*) の生態

ハマニシク麥角の自然発生多きは北海道北部, 千島, 及び樺太にして, 殊に樺太にては各地にて蒐集し得る状態である。著者が樺太(新聞)に於て行ひたる採集成績は第7表の如くである。

第7表 ハマニシク麥角の採集調査

昭和16年(ABCD 4人採集)

採集人	A	B	C	D	1人平均
採集量					
5時間10分当り	55.6 ^g	65.2	104.5	34.6	
1時間当り	10.8	12.6	20.4	6.7	12.6

昭和17年(甲乙丙丁 4人採集)

採集人	甲	乙	丙	丁	1人平均
採集量					
4時間当り	118.0 ^g	89.0	133.7	118.8	
1時間当り	29.5	22.2	33.4	29.7	28.7

新聞に於ては1時間当り採集量は7—33gにして, 発生多き地域にては1日採集量として100—500gを挙げ得と考へられる。尙前記の単位時間当り採集可能量と自然発生の状況より考察する時は, 樺太全島よりの採集可能量は少くも1年150kgと推定される。

A 生態の概要

一般に冬期嚴寒にして, 開花期湿润であり日照少き時は, 麥角の発生が多い。此等の條件は菌核の発芽を容易ならしめ子嚢胞子の傳播に好適である。開花期乾燥せる時は一般に発生が少い。これは, ハマニシクの開花は急速に一齊におこり開花は短期間を以て終了するが爲である。開花期間を長からしめる條件はハマニシク麥角の発生を多くする事は言を俟たない。又ハマニシク群落地の地表面は乾燥せるよりは湿润なる時発生が著しい。斯くの如きは菌核の発芽に好條件である。

樺太にてはハマニシク麥角の発生著明であるが本州にはまだ知られてゐない*。ハマニシク

* 尤も昭和19年実施のハマニシク穎果の食糧化に関する調査(第1章第3節, 第3章第3節III)によれば, 宮森縣百石地方の一局部に穎果1000gにつき小麦角0.05gを発見した。他には未だ知られてゐない。

ニク自生せる本州の海岸は一般に砂浜をなし、砂は乾燥し潮風が強い（著明なる砂丘を形成してゐる地方がある）。若し麥角の發生ありと仮定しても、ハマニク穂を離れて砂上に落下した菌核は、砂の乾燥せる為と強き潮風によりて埋没せられ寄生を完うする事が無い。之に対し樺太自生地にはハマニクは非常によく繁茂し年々腐朽したる葉は地表面を被ひ砂面を露出する事は少い。又よく湿润状態に保たれる。樺太は冬期寒さ厳しく、春期・夏期は本州に比し湿度高く、日照少く、麥角發生に好適してゐる。

B 樺太(新聞)に於けるハマニク麥角の寄生状況

著者はハマニク麥角の自然發生多き樺太(新聞)に於て、相離れたる代表的2箇所を択び詳細なる調査を行つた。調査項目の概要は下の如し。

- (1) 試験穂(総本数・総小花数・総穎果数)
- (2) ハマニク麥角菌寄生穂, 大麥角個数・重量, 小麥角個数・重量
- (3) 稔実率
- (4) 不稔実率
- (5) 着花位置による小花数比率
- (6) " 穎果数比率
- (7) " 稔実率
- (8) 寄生率
 - 大麥角發生率
 - 小麥角發生率
- (9) 1穂当り發生麥角個数の頻度
- (10) " 大麥角個数の頻度
- (11) 着花位置による大麥角發生個数・重量
- (12) " 麥角發生個体数比率
- (13) " 大麥角發生個体数比率
- (14) " 小麥角發生個体数比率
- (15) 麥角平均1個体重量
- (16) 大麥角平均1個体重量
- (17) 着花位置による大麥角平均1個体重量
- (18) " 100小花当り發生大麥角重量
- (19) 100小花当り發生麥角重量
- (20) " 大麥角重量
- (21) " 小麥角重量

- (22) 着花位置による寄生率
 (23) ” 100 小花当り発生大麥角個数
 (24) ” 100 小花当り発生小麥角個数

1. 試験穂・ハマニシク麥角菌寄生穂

第 8 表 ハマニシク麥角菌の寄生状況に関する調査

1. 試験穂・麥角発生穂

大麥角とは長径7mm幅径 1.5mm 以上のものをいふ
 小麥角とは長径7mm幅径 1.5mm 以下のものをいふ
 以下倣之

試験区名	試 験 穂			麥 角 発 生		
	総本数	総小花数	総穎果数	本 数	大麥角総個数	小麥角総個数
N	396	64157	38441	383	2317	3124
S	191	36579	20512	169	784	795

茲に大麥角とは長径 7mm, 幅径 1.5mm 以上のものを言ひ, 小麥角とは長径 7mm, 幅径 1.5 mm, 未滿のものを言ふ. 大麥角は兩穎を押し開きその間に夾まれたる状態をなして存在し又は額外に挺出するを以つて一見して麥角なる事を認め得る. 而して兩穎より離脱し易きを以つて採集亦極めて容易である. 之に反し小麥角は兩穎の内部にありて丁寧に兩穎を除去するに非ざれば認むるを得ない. 従つて採集に多大の勞力を要する. ハマニシク麥角を大小に区分して考察したのは以上の如き理由による.

麥角菌寄生穂率はN区, 96.72%, S区 88.48% である. 発生總麥角数の内大麥角・小麥角の割合は

N区 大麥角 42.58%〔100〕 小麥角 57.42%〔134.83〕

S区 ” 49.65%〔100〕 ” 50.35%〔101.40〕

にして大麥角は小麥角より少い. 次項参照

2. 稔実率・不稔実率・寄生率

第 9 表 ハマニシク麥角菌の寄生状況に関する調査

2. 稔実率・不稔実率・寄生率

試験区名	稔 実 率	不 稔 実 率	大麥角発生率	小麥角発生率	寄 生 率
	%	%	%	%	%
N	59.92	31.61	3.61	4.86	8.47
S	56.08	39.61	2.14	2.17	4.31

寄生率とはハマニシク麥角菌寄生によりて発生した麥角数の總小花数(麥角発生の有無稔実の有無を問はず. 但し不完全花を除く)に対する百分率である.

大(小)麥角発生率とはハマニシク麥角菌寄生によりて発生したる大(小)麥角数の総小花数に対する百分率である。従つて、

寄生率 = 大麥角発生率 + 小麥角発生率 となる。

同一地域にても場所 (N区, S区) によりて寄生率を著しく異にする。樺太に於ては一般に全島各地のハマニシク自生地一面に一樣に寄生することなく、同一地域にても場所によりて疎密がある。

3. 1 穂当り発生麥角・大麥角個数の頻度

第10表 ハマニシク麥角菌の寄生状況に関する調査

3. 1 穂当り発生の麥角個数・大麥角個数頻度表

大 麥 角 発 生			麥 角 発 生					
1 穂当り 大麥角個数	穂 数	%	1 穂当り 麥角個数	穂 数	%	1 穂当り 麥角個数	穂 数	%
0	96	16.35	0	41	6.98	56~60	3	0.51
1~5	256	43.61	1~5	169	28.79	61~65	0	0
6~10	153	26.06	6~10	119	20.27	66~70	0	0
11~15	60	10.22	11~15	106	18.06	71~75	2	0.34
16~20	13	2.22	16~20	51	8.69	76~80	0	0
21~25	5	0.85	21~25	43	7.33	81~85	1	0.17
26~30	3	0.51	26~30	18	3.07	86~90	0	0
31~35	0	0	31~35	12	2.04	91~95	1	0.17
36~40	1	0.17	36~40	11	1.87	96~100	1	0.17
			41~45	4	0.68			
			46~50	3	0.51			
計	587	100%	51~55	2	0.34		587	100%

1 穂当り発生の麥角個数は 1—96 個にして 1—5 個なること最も多く (28.79%), 6—10 個之に次ぐ (20.27%)。然して 1—10 個発生のは総穂数の殆ど半を占めてゐる (49.06%)。

1 穂当り発生の大麥角個数は 1—37 個にして、1—5 個なること最も多く殆ど半を占め (43.61%), 6—10 個之につぐ (26.06%)。

穂の部位別寄生率は、中部 $\frac{1}{3}$ が最も高い傾向が見られ、上部 $\frac{1}{3}$ ・下部 $\frac{1}{3}$ 間には差異を認め得ない。

斯くの如くハマニシク麥角菌の寄生率が場所により、個体により著しく異なる事實は (1) 寄主たるハマニシクが個体により感染に難易あること (2) 寄生の機会の問題 (胞子附着量及び胞子附着の時期) によるものと考へられる。

4. 着花位置による小花数比率・穎果数比率・及び稔実率

着花位置による小花数は第 1 小花最も多く小穂先端の小花に至るに従ひて少となる。而して第 1 小花・第 2 小花・第 3 小花・第 4 小花が主要なる部分を占む。第 2 小花は第 1 小花に匹

敵する。

第 11 表 ハマニシク麥角菌の寄生状況に関する調査

4. 着花位置による小花数比率・穎果数比率・及び稔実率

試験地区	小 花						穎 果					
	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花
N	18329	18002	16002	9916	1871	37	11943	12037	9665	4350	428	17
	% 28.57	28.06	(64157) 24.94	15.46	2.92	0.06	% 31.07 [65.16]	31.31 [66.86]	(38440) 25.14 [60.40]	11.32 [43.87]	1.11 [22.88]	0.04 [45.95]
S	9846	9779	8862	6088	1880	124	6483	6431	4869	2234	459	36
	26.92	26.73	(36579) 24.23	16.64	5.14	0.34	31.61 [65.84]	31.35 [65.76]	(20512) 23.74 [54.94]	10.89 [36.70]	2.24 [24.41]	0.18 [29.03]

[] 稔実率を示す

着花位置による穎果数比率は小花数の関係に全く平行的である。

着花位置による稔実率は第 1 小花最も高く小穂先端の小花に至るに従ひ低下する。第 1 小花・第 2 小花の稔実率は殆ど同じである。

5. 着花位置による麥角発生比率

第 12 表 ハマニシク麥角菌の寄生状況に関する調査

5. 着花位置による麥角発生比率

試験区名	麥角数	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花
N	5441	2349	1802	1029	251	10	0
		% 43.17	33.12	18.91	4.61	0.18	—
S	1579	595	492	356	112	24	0
		37.68	31.16	22.55	7.09	1.52	—

第 1 小花に発生すること最も多く、小穂先端の小花に至るに従ひて少となる。之を着花位置による小花数比率と対照する時は、小穂基部の小花に於けるもの程寄生の能率高き事即ち寄生率の高き事を想像し得るのである。

6. 着花位置による大麥角・小麥角発生比率

大麥角は第 1 小花に発生するもの最も多く略々半数以上を占め、小穂先端の小花に至るに従ひ少となる。

小麥角の場合は稍々趣を異にし、第 2 小花に発生するものが最も多い。然して第 1 小花・第 2 小花・第 3 小花発生のもので主要なる部分を占めてゐる。

第 13 表 ハマニシク麥角菌の寄生状況に関する調査

6. 着花位置による大麥角・小麥角発生比率

試験区名	大 麥 角						小 麥 角					
	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花
N	1396 % 60.25	675 29.13	208 (2317) 8.98	38 1.64	— —	— —	953 % 30.51	1127 36.08	821 (3124) 26.28	213 6.82	10 0.32	— —
S	396 50.01	218 27.81	128 (784) 16.33	39 4.97	3 0.38	— —	199 25.03	274 34.47	228 (795) 28.68	73 9.18	21 2.64	— —

7. 着花位置による大麥角発生個数・重量

第 14 表 ハマニシク麥角菌の寄生状況に関する調査

7. 着花位置による大麥角発生個数・重量

試験区名	大 麥 角									
	第1小花		第2小花		第3小花		第4小花		第5小花	
	重量 mg	個数	重量 mg	個数	重量 mg	個数	重量 mg	個数	重量 mg	個数
N	41313.5	1396	(16834)	675 (674)	4637	208	758	38	—	0
S	12286	396	5862	218	3012	128	800	39	87	3

試験区名	大 麥 角		大 麥 角				小 麥 角			
	第6小花		計				計			
	重量 mg	個数	重 mg 量		個 数		重 mg 量		個 数	
N	—	0	(63542.5)		2317 (2316)		(27951)		3124 (3116)	
S	—	0	22042		784		6605		795	

() は測定個数及び重量なり。

着花位置による大麥角発生個数・重量共に第1小花最も多く小穂先端の小花に至るに従ひて少となる。発生麥角総数よりすれば、小麥角は寧ろ大麥角より多けれども、重量よりすれば大麥角の方が遙かに重い。これは1個平均の麥角の重量は大麥角の方が遙かに重いが為である。

8. 着花位置による大麥角平均1個体重量

第 15 表 ハマニシク麥角菌の寄生状況に関する調査

8. 着花位置による大麥角平均1個体重量

試験区名	着花位置による大麥角平均1個体重量						大麥角平均	麥角平均
	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花	1個体重量	1個体重量
N	mg 29.59	mg 24.98	mg 22.29	mg 19.95	mg —	—	mg 27.44	mg 16.84
S	31.02	26.89	23.53	20.51	27.33	—	28.11	18.14

発生せる麥角の平均1個体重量は 15—18mg 程度にして、大麥角のみの平均1個体重量は 26—28mg 程度である。

着花位置による大麥角平均1個体重量は第1小花に発生せるもの最も重く、小穂先端の小花に至るに従ひて軽き傾向がある。

9. 着花位置による100小花当り発生大麥角重量

第1小花に発生最も多く小穂先端の小花に至るに従ひて少となる。

第16表 ハマニソク麥角菌の寄生状況に関する調査

9. 着花位置による100小花当り発生大麥角重量

試験区名	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花	各小花合計 100小花当り	
N	総小花数	18329	18002	16002	9916	1871	37	64157
	総重量	41314 _{mg}	16834 _{mg}	4637 _{mg}	758 _{mg}	0	0	63543 _{mg}
		225.40	93.51	28.98	7.64	—	—	99.04
S	総小花数	9846	9779	8862	6088	1880	124	36579
	総重量	12286 _{mg}	5862 _{mg}	3012 _{mg}	800 _{mg}	82 _{mg}	0	22042 _{mg}
		124.78	59.94	33.99	13.14	4.36	—	60.26

10. 100小花当り発生麥角・大麥角・小麥角重量

第17表 ハマニソク麥角菌の寄生状況に関する調査

10. 100小花当り発生麥角・大麥角・小麥角重量

試験区名	総小花数	大 麥 角		小 麥 角		麥 角	
		重 量	重量/小花 ×100	重 量	重量/小花 ×100	重 量	重量/小花 ×100
N	64157	63542.5 _{mg}	99.04	27951 _{mg}	43.57	91493.5 _{mg}	142.61
S	36579	22042	60.25	6605	18.06	28647	78.32

発生麥角総重量の内、大麥角・小麥角の割合は

N区 大麥角 69.45%〔100〕 小麥角 30.55%〔44〕

S区 ” 76.94%〔100〕 ” 23.06%〔30〕

となり、発生麥角重量の内 70—80% が大麥角によりて占めらるゝを知る。

11. 着花位置による寄生率

第18表 ハマニソク麥角菌の寄生状況に関する調査

11. 着花位置による麥角寄生率

試験区名	第1小花 %	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花	寄生率
N	12.83	10.01	6.43	2.53	0.53	—	8.47
S	6.04	5.03	4.01	1.84	1.28	—	4.31

第1小花の寄生率最も高く、小穂先端の小花に至るに従ひ低下する。

12. 着花位置による100小花当り発生大麥角個数(着花位置による大麥角発生率)

第19表 ハマニシク麥角菌の寄生状況に関する調査

12. 着花位置による100小花当り発生大麥角個数

試験区名	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花	各小花合計 100小花当り
N	大麥角個数	1396	675	208	38	0	2317
	小花数	18329	18002	16002	9916	1871	64157
		7.62	3.75	1.30	0.38	—	3.61
S	大麥角個数	396	218	128	39	3	784
	小花数	9846	9779	8862	6088	1880	36579
		4.02	2.23	1.44	0.64	0.16	2.14

第1小花に発生最も多く小穂先端の小花に至るに従ひ少となる。

13. 着花位置による100小花当り発生小麥角個数(着花位置による小麥角発生率)

第20表 ハマニシク麥角菌の寄生状況に関する調査

13. 着花位置による100小花当り発生小麥角個数

試験区名	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花	各小花合計 100小花当り
N	小麥角個数	953	1127	821	213	10	3124
	小花数	18329	18002	16002	9916	1871	64157
		5.20	6.26	5.13	2.15	0.53	4.87
S	小麥角個数	199	274	228	73	21	795
	小花数	9846	9779	8862	6088	1880	36579
		2.02	2.80	2.57	1.20	1.12	2.17

前項に述べた大麥角の場合と異なり、第1小花・第2小花・第3小花に何れも発生多く就中第2小花に最も発生が多い。

第3節 ハマニシク麥角菌 (*Cl. litoralis*) の寄生時期

著者はハマニシク麥角菌の寄生時期に関して、昭和17年7月—8月樺太(新聞)に於て実験を行つた。

次の各時期にパラフィン紙にて被覆し其の後麥角菌胞子附着を人為的に遮断した。

A 開花前日 7月20日実施

B 第1小花盛花期を終了せるもの。

7月20日実施

第1小花盛花期の翌日にして当日開花の直前に被覆し、第1小花盛花期に寄生の機会を與

へたるもの。

C 第3小花盛期を終了せるもの。

7月25日実施

第3小花盛花期の翌日にして当日開花の直前に被覆し、第3小花盛花期迄寄生の機会を與へたるもの。

D 第4小花盛期を終了せるもの。

7月28日実施

第4小花盛花期の翌日にして当日開花の直前に被覆し、第4小花盛花期迄寄生の機会を與へたるもの。

E 終花後5日 8月3日実施

開花終了してより5日後に被覆し、全開花期間を通じて寄生の機会を與へたるもの。

以上5区に対する対照区として前節のN区、S区を示した。

1. 試験穂・ハマニソク麥角菌寄生穂

第21表 ハマニソク麥角菌の寄生時期に関する実験

1. 試験穂・麥角発生穂

試験区名	試 験 穂		麥 角 発 生		
	総 本 数	総 小 花 数	本 数	大麥角總個数	小麥角總個数
A	37	5637	0	0	0
B	42	8353	33	309	102
C	36	6823	35	174	956
D	53	9558	53	439	717
E	34	5696	34	90	135
N	396	64157	383	2317	3124
S	191	36579	169	784	795

麥角菌寄生穂%はB区 78.57% にしてC区以下にて殆ど 100% となる。即ち寄生は第1小花盛花期にその過半がおこるものである事を知る。

2. 稔実率・不稔実率・寄生率

稔実率に就て見るに、開花の初期に被覆せるもの程、其の影響著しく、D・E 両区には被覆の影響は認められない。

寄生率に就て見るに、A 区には寄生無し。(開花中に寄生のおこるものである事を示すものである。) B, C, D, E 各区には何れも寄生があるが、E区はD区より却て少くB区はE区より却て多し。開花期間中に於て絶えず均等に寄生がおこるものとすれば、開花の進行と共に寄生率は増加すべき筈であるのに、斯く不同であるのは(1)ハマニソクが個体によりて感染

第 22 表 ハマニシク麥角菌の寄生時期に関する実験

2. 稔実率・不稔実率・寄生率

試験区名	稔 実 率	不 稔 実 率	大麥角発生率	小麥角発生率	寄 生 率
	%	%	%	%	%
A	0.56	99.44	—	—	0
B	6.57	88.51	3.70	1.22	4.92
C	30.34	53.10	2.55	14.01	16.56
D	57.49	30.42	4.59	7.50	12.09
E	63.94	32.11	1.53	2.37	3.95
N	59.92	31.61	3.61	4.86	8.47
S	56.08	39.61	2.14	2.17	4.31

に難易あること (2) 土地により孢子発生に疎密あること (3) 土地によりハマニシクの開花と孢子附着の機会との間の時間的距たりに差異あること によるものと考へられる。

尙本表にて注意すべき事は C, D, E 各区は何れも小麥角は大麥角より多く発生してゐるのであるが, B区は大麥角の方小麥角より発生多く, 発生総麥角数の 75.18% (大麥角 100:小麥角33) を占むる事である。

3. 着花位置による麥角発生比率

第 23 表 ハマニシク麥角菌の寄生時期に関する実験

3. 着花位置による麥角発生比率

試験区名	麥角数	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花
A		288	113	10	0	0	0
B	411	% 70.07	27.49	2.43	—	—	—
C	1130	539	405	157	27	2	0
		47.71	35.84	13.89	2.39	0.18	—
D	1156	425	425	252	52	2	0
		36.76	36.76	21.80	4.50	0.17	—
E	225	95	84	39	7	0	0
		42.22	37.33	17.33	3.11	—	—
N	5441	2349	1802	1029	251	10	0
		43.17	33.12	18.91	4.61	0.18	—
S	1579	595	492	356	112	24	0
		37.68	31.16	22.55	7.09	1.52	—

各区何れも第1小花に発生すること最も多く, 小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

4. 着花位置による大麥角・小麥角発生比率

着花位置による大麥角発生比率は各区何れも第1小花最も高く小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する事は標準区と同じ。

第 24 表 ハマニシク麥角菌の寄生時期に関する実験

4. 着花位置による大麥角・小麥角発生比率

試験 区名	大 麥 角						小 麥 角					
	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花
A												
B	237 % 76.70	67 (309) 21.68	5 1.62	—	—	—	51 % 50	46 (102) 45.10	5 4.90	—	—	—
C	133 76.44	36 (174) 20.69	5 2.87	—	—	—	406 42.47	369 38.60	152 (956) 15.90	27 2.82	2 0.21	—
D	242 55.13	146 33.26	48 (439) 10.93	2 0.46	1 0.23	—	183 25.52	279 38.91	204 (717) 28.45	50 6.97	1 0.14	—
E	56 62.22	27 (90) 30	7 7.77	—	—	—	.39 28.89	57 (135) 42.22	32 23.70	7 5.19	—	—
N	1396 60.25	675 (2317) 29.13	208 8.98	38 1.64	—	—	953 30.51	1127 36.08	821 (3124) 26.28	213 6.82	10 0.32	—
S	396 50.51	218 27.81	128 (784) 16.33	39 4.97	3 0.38	—	199 25.03	274 34.47	228 (795) 28.68	73 9.18	21 2.64	—

着花位置による小麥角発生比率は、B・C 両区に於ては第 1 小花最も高く小穂先端の小花に至るに従ひ漸減することは標準区と趣を異にする。

5. 着花位置による大麥角発生個数・重量

第 25 表 ハマニシク麥角菌の寄生時期に関する実験

5. 着花位置による大麥角発生個数・重量

試験 区名	大 麥 角											
	第1小花		第2小花		第3小花		第4小花		第5小花		第6小花	
	重量mg	個数	重量mg	個数	重量mg	個数	重量mg	個数	重量mg	個数	重量mg	個数
A												
B	(10582)	237 (233)	2048	67 (34)	(110)	(4)	—	0	—	0	—	0
C	(3671)	133 (129)	(955)	36 (34)	(79)	(4)	—	0	—	0	—	0
D	(7559)	242 (236)	(3643)	146 (141)	1117	48	58	2	40	1	—	0
E	1644	56	539	27 675	127	7	—	0	—	0	—	0
N	41313.5	1396	(16834)	675 (674)	4637	208	758	38	—	0	—	0
S	12286	396	5862	218	3012	128	800	39	87	3	—	0

試験区名	大 麥 角		小 麥 角	
	重 量 mg	個 数	重 量 mg	個 数
A		309		102
B	(12740)	(304)	(1073)	(96)
C	(4705)	174 (167)	8065	956
D	(12417)	439 (428)	(7466)	717 (706)
E	2310	90	(1196)	135 (130)
N	(63542.5)	2317 (2316)	(27951)	3124 (3116)
S	22042	784	6605	795

()は測定個数及び重量なり。

着花位置による大麥角発生個数・重量共に第1小花最も大にして小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

6. 着花位置による大麥角平均1個体重量

第 26 表 ハマニシク麥角菌の寄生時期に関する実験

6. 着花位置による大麥角平均1個体重量

試験区名	着花位置による大麥角平均1個体重量						大麥角平均1個体重量	麥角平均1個体重量
	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花		
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
A								
B	45.42	30.57	27.50	—	—	—	41.91	34.53
C	28.46	28.09	19.75	—	—	—	28.17	11.37
D	32.03	25.84	23.27	29	40	—	29.01	17.53
E	29.36	19.96	18.14	—	—	—	25.67	15.94
N	29.59	24.98	22.29	19.95	—	—	27.44	16.84
S	30.02	26.89	23.53	20.51	27.33	—	28.11	18.14

麥角平均1個体重量・大麥角平均1個体重量共にB区最も重し。着花位置による大麥角平均1個体重量は何れの区に於ても第1小花最も重く、小穂先端の小花に至るに従ひ軽し。

第1小花発生の大麥角平均1個体重量を各区に就て見るにB区のもの最も重し。即ち第1小花盛花期にのみ寄生の機会のあるものは重量大なる大麥角となる。

第2小花、第3小花に発生せる大麥角もB区のもの最も重し。この事は人工接種を行ふ上に於て重要な意義を有する。

7. 着花位置による100小花当り発生大麥角重量

着花位置による100小花当り発生大麥角重量は、何れの区に於ても第1小花に最も多く、小穂先端の小花に至るに従ひ少となる。第1小花の100小花当り発生大麥角重量を各区に就い

第 27 表 ハマニクニク麥角菌の寄生時期に関する実験

7. 着花位置による 100 小花当り発生大麥角重量

	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花	各小花合計 100小花当り
A							
{ 総小花数							
{ 総重量							
B	2053	2046	2035	1874	341	4	8353
{ 総重量	10582mg	2048mg	110mg	0	0	0	12740 mg
	515.44	100.10	5.41	—	—	—	152.52
C	1784	1777	1754	1334	174	0	6823
{ 総重量	3671mg	955mg	79mg	0	0	—	4705mg
	205.77	53.74	4.50	—	—	—	68.96
D	2554	2543	2434	1629	391	7	9558
{ 総重量	7559mg	3643mg	1117mg	58mg	40mg	0	12417 mg
	295.97	143.26	45.89	3.56	10.23	—	129.91
E	1510	1401	1448	1106	231	0	5696
{ 総重量	1644mg	539mg	127mg	0	—	—	2310mg
	108.87	38.47	8.77	—	—	—	40.55
N	18329	18002	16002	9916	1871	37	64157
{ 総重量	41314mg	16834mg	4637mg	758mg	0	0	63543 mg
	225.40	93.51	28.98	7.64	—	—	99.04
S	9846	9779	8862	6088	1880	124	36579
{ 総重量	12286mg	5862mg	3012mg	800mg	82mg	0	22042 mg
	124.78	59.94	33.99	13.14	4.36	—	60.26

て見るにB区最も重し。

各小花合計の100小花当り発生大麥角重量を各区に就いて見るにB区最も重し。第1小花盛花期に寄生せしものは全開花時期を通じて寄生の機会ありしものより却つて大麥角の発生多し。人工接種をなす上に重要な意義を有する。

8. 100 小花当り発生麥角・大麥角・小麥角重量

第 28 表 ハマニクニク麥角菌の寄生時期に関する実験

8. 100 小花当り発生麥角・大麥角・小麥角重量

試験 区名	総小花数	大 麥 角		小 麥 角		麥 角	
		重 量	重量/小花 ×100	重 量	重量/小花 ×100	重 量	重量/小花 ×100
A		mg	mg	mg	mg	mg	mg
B	8353	12740	152.52	1073	12.85	13813	165.37
C	6823	4705	68.96	8065	118.20	12770	187.16
D	9558	12417	129.91	7466	78.11	19883	203.02
E	5696	2310	40.55	1196	21.00	3506	61.55
N	64157	63542.5	99.04	27951	43.57	91493.5	142.61
S	36579	22042	60.26	6605	18.06	28647	78.32

100 小花当り発生麥角重量は B, C, D 区の順に増加してゐる。即ち寄生の機会を増加すると共に発生重量も亦増加することを示すものである。(E 区は例外をなし、地域的に発生少かりしによるものと考へらる。) 然してその増加率は少く、第 1 小花盛花期にのみ寄生の機会ありしものと、全開花期間を通じて寄生の機会ありしものととの差は僅少である。この事実も人工接種をなす上に於て重要な意義を有する。

9. 着花位置による寄生率

第 29 表 ハマニンニク麥角菌の寄生時期に関する実験

9. 着花位置による寄生率

試験区名	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花	寄生率
A	%						0
B	14.02	5.52	0.5	—	—	—	4.92
C	30.22	22.80	8.96	2.02	1.15	—	16.56
D	16.65	16.71	10.35	3.19	1.52	—	12.09
E	6.29	6.00	2.69	0.63	—	—	3.95
N	12.83	10.01	6.43	2.53	0.53	—	8.47
S	6.04	5.03	4.01	1.84	1.28	—	4.31

第 30 表 ハマニンニク麥角菌の寄生時期に関する実験

10. 着花位置による100小花当り発生大麥角個数

試験区名	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花	各小花合計 100小花当り
A	大麥角個数						
	小花数						
B	大麥角個数	237	67	5	0	0	309
	小花数	2053	2046	2035	1874	341	8353
C	大麥角個数	11.54	3.27	0.25	—	—	3.70
	小花数	133	36	5	0	0	174
D	大麥角個数	1784	1777	1754	1334	174	6823
	小花数	7.46	2.03	0.29	—	—	2.55
E	大麥角個数	242	146	48	2	1	439
	小花数	2554	2543	2434	1629	391	9558
N	大麥角個数	9.48	5.74	1.97	0.12	0.26	4.59
	小花数	56	25	7	0	0	90
S	大麥角個数	1510	1401	1448	1106	231	5696
	小花数	3.71	1.93	0.48	—	—	1.58
N	大麥角個数	1396	675	208	38	0	2317
	小花数	18329	18002	16002	9916	1871	64157
S	大麥角個数	7.63	3.75	1.30	0.38	—	3.61
	小花数	396	218	128	39	3	784
S	大麥角個数	9846	9779	8862	6088	1880	36579
	小花数	4.02	2.23	1.44	0.64	0.16	2.14

何れの区に於ても第1小花の寄生率最も高く小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

10. 着花位置による 100 小花当り発生大麥角個数 (着花位置による大麥角発生率)

着花位置による 100 小花当り発生大麥角個数は、何れの区に於ても第1小花最も多く小穂先端の小花に至るに従ひて漸減する。第1小花の 100 小花当り発生大麥角個数を各区に就て見るにB区のもの最も多し。

各小花合計 100 小花当り発生大麥角個数を見るに B,C,D,E, N, S の各区は大差無し。之によりて 100 小花当り発生大麥角個数は、第1小花盛花期に寄生の機会ありしものも全開花期間を通じて寄生の機会ありしものも殆ど区別無し。

11. 着花位置による 100 小花当り発生小麥角個数 (着花位置による小麥角発生率)

第 31 表 ハマニシク麥角菌の寄生時期に関する実験

11. 着花位置による 100 小花当り発生小麥角個数

試験区名	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花	各小花合計 100小花当り
A { 小麥角個数							
A { 小花数							
B { 小麥角個数	51	46	5	0	0	0	102
B { 小花数	2053	2046	2035	1874	341	4	8353
	2.48	2.25	0.25	—	—	—	1.22
C { 小麥角個数	406	369	152	27	2	—	956
C { 小花数	1784	1777	1754	1334	174	0	6823
	22.76	20.77	8.67	2.02	1.15	—	14.01
D { 小麥角個数	183	279	204	50	1	0	717
D { 小花数	2554	2543	2434	1629	391	7	9558
	7.17	10.97	8.38	3.07	0.26	—	7.50
E { 小麥角個数	39	57	32	7	0	—	135
E { 小花数	1510	1401	1448	1106	231	0	5696
	2.58	4.07	2.21	0.63	—	—	2.37
N { 小麥角個数	953	1127	821	213	10	0	3124
N { 小花数	18329	18002	16002	9916	1871	37	64157
	5.20	6.26	5.13	2.15	0.53	—	4.87
S { 小麥角個数	199	274	228	73	21	0	795
S { 小花数	9846	9779	8862	6088	1880	124	36579
	2.02	2.80	2.57	1.20	1.12	—	2.17

着花位置による 100 小花当り小麥角個数は、B・C 両区は第1小花が最も多いけれども、D・E 両区は第2小花が最も多い。

附 ハマニシク麥角菌の寄生と授粉との関係

一般にハマニシク麥角菌胞子の寄生(感染)はハマニシクの開花中におこるものである事は上記の実験及び第4章第3節の実験によりて明らかな処である。KIRCHHOFF⁽⁸⁶⁾(1929)

によれば、ライ麦にては授粉前(5-6日)にても、授粉後にても寄生可能にして極端なる場合は授粉後 13-15 日にても尙寄生可能にして穀粒の基部に 1-2mm の麥角が附着する。KIRCHHOFF は之を Teil-körner (Kombinierte Mutterkorn-Roggenkörner) と名付けた。授粉後 3 日迄に寄生のおこつたものは正常なる形態の麥角となるけれども其れ以後の寄生にては Teil-körner となると言ふ。著者はハマニシク麥角に就き種々なる程度の Teilkörner を認めた。これハマニシクにても授粉後成長しつゝある子房に対して寄生し得る事を証明するものである。一般にハマニシクの開花は 120-240 分開穎持続せる後閉穎するものであるから寄生はこの間に行はれるを通例とするのであるが、偶々例外的に閉穎不完全のものがあつてこれに寄生するものが Teil-körner となつたものと考へられる。又閉穎の後も柱頭の先端がしめ出された儘露出の状態にあるものが比較的が多いのであるがこれらも授粉後の寄生可能であると考へられる。尙 Teil-körner の存在する事実は *Cl. litoralis* がハマニシク子房の基部に於て感染(ハマニシク子房の基部より内部に侵入)することを証明するものである。

第 4 節 ハマニシク麥角菌 (*Cl. litoralis*) 胞子の傳播

I 子嚢胞子

風による場合・昆虫による場合の 2 方法が考へられるけれども、一般に風による傳播が主たるものと考へられる。

II 分生胞子

蜜滴即ち分生胞子による傳播は、子嚢胞子による其れの第 1 次感染と呼ばれるに對し、第 2 次感染と呼ばれる。分生胞子の傳播は一般に昆虫の媒介によるものとせられてゐる。(STÄGER⁽¹⁶⁶⁾ (1910), MERCIER⁽¹¹⁹⁾ (1911), ATANASOFF⁽¹⁶⁾ (1920), LEACH⁽¹⁰³⁾ (1940).) 蓋し分生胞子は蜜滴中に浮遊するから、子嚢胞子の如く彈出せられる事無く、蜜滴の流下・ハマニシク花穂が相互に接触する等機械的原因によるものゝ外は昆虫によるものと思料せられるのである。

著者はハマニシクに就き分生胞子の寄生頻度を知らんとし実験を行つた。(昭和 17 年 7 月-8 月樺太新聞)

將に開花して第 1 小花盛花期たらんとする穂 90 を採り、その内 60 は正確にパラフィン紙にて被覆し(7 月 20 日)、他 30 は 7 月 21 日 TSCHERMAK に従ひ刺戟して人為的に開花せしめ子嚢胞子を以て接種した。7 月 28 日蜜滴發生を認めたから前記 60 内半数(30)のみ被覆紙を除き分生胞子の寄生頻度を調べたのである。他の半数(30)は最後迄被覆せる儘とし、对照区となした(内 9 は途中にて折損して 21 となつた)。本試験区を K と略称する。実験結果は第 32 表の通りである。

K(袋掛)は寄生なく K(蜜滴發生時袋除去区)は 0.08% の寄生がある。而して本実験を行つた地方は麥角自然發生多く子嚢胞子による寄生もあり得るのであるから K(蜜滴發生時袋

第 32 表 分生胞子の寄生頻度

1. 試験穂・麥角発生穂

試験区名	試 験 穂			麥 角 発 生		
	総本数	総小花数	総穎果数	本 数	大麥角総個数	小麥角総個数
K(袋 掛)	21	3656	36	0	0	0
K(蜜 滴 発 生 去)	30	4607	34	4	2	2
K(接 種 穂)	30	4943	1851	27	74	126

2. 稔実率・不稔実率・寄生率

試験区名	稔 実 率	不稔実率	大麥角発生率	小麥角発生率	寄 生 率
K(袋 掛)	% 0.98	% 99.02	% —	% —	0
K(蜜 滴 発 生 去)	0.74	99.18	0.04	0.04	0.08
K(接 種 穂)	37.44	58.51	1.50	2.55	4.05

3. 着花位置による麥角発生比率

試験区名	麥角数	第1小花	第2小花	第3小花	第4小花	第5小花	第6小花
K(袋 掛)	4	2	0	1	1	0	0
K(蜜 滴 発 生 去)		% 50	—	25	25	—	—
K(接 種 穂)	200	57	62	66	14	1	0
		28.5	31	33	7	0.5	—

除去区)の寄生率 0.08% が総て分生胞子によるものであるとは遽かに断言し難い。

亦、昭和 17 年百石(麥角の発生未だ知られず処女地と考へらる)に於て、総ての接種試験区(第 4 章末尾別表 I 参照)を交互にとつてその間に对照区として全然接種を行はざる区を設け、全对照区の花穂を調査したのであるが寄生は全然認められなかつた。

1 花穂の開花期間は 7—12 日、1 群落の開花期間は 14—23 日である。一方蜜滴は接種後 6—17 日にして発生するから、理論上よりすれば分生胞子による寄生はあり得る理であるが、以上を要するに、樺太、青森のハマニソク自生地には分生胞子による感染は殆ど認むるを得なかつたのである。

薬用植物の土壤肥料學的調査 (第1報)

技 官 永 田 武 雄 技 官 岡 島 秀 夫

Studies on the Soil and Manure of Medicinal Plants (Part 1)

by Takeo NAGATA and Hideo OKAZIMA

薬用植物とはかく野生植物なみに扱われ勝ちであり近代農学の総合的な研究は殆んどなされて居らず、栽培法の調査研究で事足りるとされた傾向がある。或る栽培試験がいかにか綿密に行われた成績であつてもその栽植した土壤の性質がわからず、用いた肥料が適量でなければ、それはその場限りの成績であつて普遍性を欠き、利用價値の低いのは亦当然である。

著者等は試験所構内土壤の性質を先づ明らかにし、次いでアサガオ (*Pharbitis Nil* CHOIS) アメリカアリタリウ (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminticum* A. GRAG) の三要素試験が一應完了したので以下其の概要を述べよう。

第 1 章 構内土壤の理化學的性質

I 土層断面の記載

本土壤は地理的にみて南部関東に位し所謂関東ロームと云はれる火山灰土である。関博士⁽¹⁾は関東ロームの鑛物學的及化學分析を行ひ関東ロームは富士火山の噴灰であり、その粘土質物は褐鉄にそめられたアロファンに近い膠質粘土であることを明らかにして居る。

当地の土層断面は次の通りである。

A₁ 0~14cm 膨軟で腐植に富み團粒組織。乾くと灰色を帯びるが、湿めると暗色を増す。

A₂ 14~32cm A₁層より漸変し稍密。黒味稍弱し、

B₁ 32~49cm 黄褐色。A₂層より流れ込んだ腐植斑あり。昆虫による孔隙あり。雑草根は本層の中央に達す。

B₂ 49~81cm B₁層より漸変。稍堅密。鉄銹斑あり。

B₃ 81cm以下 B₂層より漸変。可なり堅密。鉄銹斑B₂層より多し。

本土層断面からすると褐色土に属する様に思われる。

II 理學的性質

(1) 淘汰分析

A.S.K 法による土層別の器械的組成は第 1 表の通りである。

第1表 淘汰分析(礫無し乾細土百分中)

	粗 砂	細 砂	微 砂	粘 土	土 性 名
A ₁	2.21	16.73	37.57	43.49	埴質壤土
A ₂	3.09	17.90	40.26	38.75	〃
B ₁	16.22	29.27	26.63	27.88	壤 土
B ₂	23.67	37.14	15.12	24.67	砂 壤 土
B ₃	24.53	32.05	14.74	28.68	壤 土

即ち上層は粘土分に富み埴質土に属すが下層は砂分が増し砂壤土乃至壤土である。

(2) 比重及容重

常法により測定した比重, 容重, 孔隙量は第2表の様になる。

第2表 比重, 容重及孔隙量

	真 比 重	容積比重		孔隙率(%)	
		粗	密	粗	密
A ₁	2.25	0.726	0.870	67.73	65.78
A ₂	2.23	0.676	0.759	70.99	67.43
B ₁	2.46	0.767	0.896	68.73	66.58
B ₂	2.45	0.748	0.850	69.47	65.31
B ₃	2.44	0.618	0.718	74.68	70.58

本土壤は後から述べる様に腐植に富むので真比重も容積比重も低く, 又孔隙率は高く理學性は概して良好と云える。

III 化学的性質

(1) 風乾物水分, 反應及炭素率

風乾細土の水分, キンヒドロソ電極による pH, 大工原酸度, 加水酸度, 改良クロム酸法による全炭素, これに 1.724 を乗じた腐植, ケルゲー法による全窒素及炭素率は第3表の通りである。

第3表 風乾物水分, 反應及炭素率

	風乾物水分 (%)	pH	大工原酸度	加水酸度	全炭素 (%)	腐 植 (%)	全窒素 (%)	炭素率
A ₁	9.04	6.15	0.19	8.52	6.63	11.43	0.441	15.03
A ₂	13.22	6.21	0.20	8.23	6.55	11.29	0.439	14.92
B ₁	14.09	6.39	0.19	4.53	3.39	5.84	0.323	10.46
B ₂	16.06	6.32	0.18	2.51	1.43	2.47	0.178	8.04
B ₃	17.60	6.36	0.16	2.68	1.15	1.98	0.127	9.05

本表によると粘土分, 腐植は表層に多いにかゝらず風乾物水分は下層に漸増している。

これは恐らく下層の火山噴出に由来した微細礦物は多孔質であり、且つ加水物が包含されて居る為めであろう。

pH は微酸性を示し下層に稍高く、酸度は何れも高くないが上層に稍多い。即ち火山灰土の多くは普通可成強い酸性を呈するが、本土壤は反應的には中性に略近い。

腐植は表層に頗る富み 11% 程度存在したが、下層に漸減し 1% 余りとなる。全窒素もこれと同様な傾向で、表層わ44%以上であつたが下層に減少した。

(2) 熱塩酸可溶成分及分子比

風乾土の常法による熱塩酸可溶成分及分子比は第 4 表の通りである。

第 4 表 熱塩酸可溶成分及分子比

	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	B ₃
灼熱損失量	25.70	22.47	19.36	16.28	15.66
塩酸不溶解物	43.45	38.81	35.09	30.84	30.28
可溶 SiO ₂	0.29	0.27	0.51	0.87	0.59
Na ₂ CO ₃ 可溶SiO ₂	15.05	15.75	18.17	28.29	30.77
計 S.O ₂	15.34	16.02	18.68	29.16	31.36
Al ₂ O ₃	11.30	12.81	14.76	13.33	13.45
Fe ₂ O ₃	14.45	17.50	16.25	17.00	17.75
FeO	6.52	7.87	7.31	7.65	7.95
CaO	0.68	0.43	0.25	0.14	0.33
MgO	0.52	0.29	0.25	0.11	0.18
K ₂ O	0.35	0.34	0.22	0.17	0.19
Na ₂ O	0.97	0.83	0.54	0.47	0.39
P ₂ O ₅	0.25	0.19	0.11	0.17	0.15
SO ₃	0.26	0.23	0.19	0.13	0.08
SiO ₂ /Al ₂ O ₃	1.58	1.45	1.46	2.54	2.91
SiO ₂ /R ₂ O ₃	0.87	0.78	0.96	1.40	1.43
Base/Al ₂ O ₃	0.35	0.25	0.15	0.12	0.13

本表によると可溶性の SiO₂, Al₂O₃, Fe₂O₃ は何れも多く下層に稍増して居り、Base は上層に多く下層に減少した。P₂O₅ は表層は中位程度であるが下層に減少する。

SiO₂ / Al₂O₃ は A₁ ~ B₁ 層は 1.5 程度で低く B₂ 以下は 2.5 ~ 3.0 程度であつた。又 SiO₂ / R₂O₃ は A₁ ~ B₁ 層は 1.0 以下、下層は 1.4 程度であり、Base / Al₂O₃ は 0.35 ~ 0.12 で低く下層に特に著るしい。関博士⁽²⁾ は関東ロームは准珪礬質と准礬土質の中間的のものであると述べて居るが本成績もこれに一致する。

(3) 遊離礬土及鉄

上記分子比からすると複合体に関係のない遊離礬土、鉄の存在が考えられる。関博士の10%

Na_2CO_3 可溶成分及原田氏⁽³⁾の矽酸矽酸加里液に可溶する成分と遊離態の Al_2O_3 , Fe_2O_3 は第5表の通りである。

第5表 10%炭酸曹達, 矽酸矽酸加里液可溶成分

	10%炭酸曹達				矽酸矽酸加里液		
	SiO_2^*	Al_2O_3^*	$\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$	遊離 Al_2O_3 (%)	SiO_2	遊離 Fe_2O_3	同塩酸可溶 Fe_2O_3 との割合
A ₁	2.38	25.51	0.093	2.44	4.23	6.50	44.98
A ₂	2.27	25.30	0.089	2.42	3.72	4.15	33.71
B ₁	2.49	23.64	0.105	2.24	3.22	2.80	17.23
B ₂	2.27	22.07	0.102	2.08	2.20	1.52	8.94
B ₃	2.49	24.07	0.101	2.33	0.56	0.59	3.22

* $\pm 100\text{g}$ 当り mg. eq. $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ を2:1とした場合

本表からすると遊離 Al_2O_3 2% 余りと熱塩酸可溶 Fe_2O_3 に対し 3~45% の遊離 Fe_2O_3 が存在した。

(4) 置換容量及置換石灰

KELLEY 氏等⁽⁴⁾の方法により測定した置換容量及石灰は第6表の通りである。

第6表 置換容量及石灰飽和度

	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	B ₃
置換容量乾 $\pm 100\text{g}$ 当 mg. eq.	29.21	23.64	16.42	15.14	15.59
置換性石灰	5.89	4.47	3.91	2.52	2.15
石灰飽和度	20.16	18.91	23.81	16.64	13.79

即ち腐植, 粘土分に富む割合に置換容量は低く, 下層に漸減する。置換石灰も下層に減少する傾向があり, 又百分率も著しく小で, 前の分子比と合せ考へると不飽和土壤である。

MENCHIKO VSKY 氏等⁽⁶⁾は置換性石灰が多いと活性礫土が減少し礫土の害作用が緩和されると報告して居るがこの点から見ても本土壌の礫土の形態は良好とは云えない。

(5) 窒素及磷酸の吸収係数

常法により測定した窒素及磷酸の吸収係数は第7表の通りである。

第7表 窒素及磷酸吸収係数

	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	B ₃
窒素	773	889	795	909	914
磷酸	1,952	2,486	1,837	2,127	2,167

窒素の吸収係数も高い方であり, 又腐植及粘土分の少ない下層に稍多い傾向があるがこれ

は第3表の風乾物水分の所で述べたと同様に火山に由来した特性である様に思われる。磷酸の吸収係数は頗る大であるがこれは火山灰土の顯著な特徴である。

(6) 1% 枸橼酸可溶成分

常法により定量した 1% 枸橼酸可溶成分は第 8 表の通りである。(乾土100g 中mg数)

第 8 表 1% 枸橼酸可溶磷酸及加里

	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	B ₃
P ₂ O ₅	0.77	0	0	0	0
K ₂ O	11.26	7.00	9.32	1.94	0.78

即ち可給態の磷酸はA₁層のみ僅かに存在するが下層にはなく、加里は相当量存在した。

VI 構内土壌の成績要約

本土壌は所謂関東ロームに属し従来の命名をすると腐植に頗る富む火山灰質軽地壤土であり、断面の観察からすると褐色土に分類される。置換容量も概して小さく、石灰の百分率も低く、塩基比も小で吸収的に未飽和土壌である。遊離の酸化鉄、礬土特に後者は 2% 余り存在し関博士の云われる様に塩基の吸収的未飽和性を中和し反應を比較的中性近くに保持せしめている。磷酸の吸収係数は著しく高く有効態の磷酸に不足する。即ち一言に云えば酸性は強くないが珪礬比が小さくてその礬土が活性になり易い礬土質の一種の不良土であり肥培管理としては石灰の施用の外に磷酸と堆肥の併用が望ましい様に土性調査から考察された。

V 水稻の 3 要素試験

以上の土性調査によつて土壌の性質は略判定し得たのであるが、この土壌を使用して行つた肥料試験の成績を日本各地の土壌にどの程度適應し得るか、又日本の隅々まで栽培され、理論は別としても農民の総てが熟知する水稻の肥料に対し葉用植物の肥料要求程度がいか様であるかを比較対照する事は本土壌を使用した試験成績を一層有意義にならしめるものと信じ水稻の三要素試験を行つた。

(1) 栽培試験施行要領

農林省指定の調査施行方法に従つて行つた。

苗 イバラギ 8 号種、草丈 15cm. 各鉢 1 株 3 本植。

供試土 試験所構内表土

鉢及施肥量 5 万分の 1 ワグナーポット。肥料は化学用硫酸アムモニア、磷酸 1 石灰。

硫酸加里を各要素として鉢当 0.40g, 炭酸石灰 4.0g.

試験区 無肥料区(Ca), 無窒素区(Ca+P+K), 無磷酸区(Ca+N+K), 無加里区(Ca+N+P), 完全区(Ca+N+P+K). 3 連制

挿秧月日 6月12日 ガラス室内栽培

收穫月日 10月1日

(2) 生育経過

挿秧後1週間目あたりより葉色に差異を生じ無肥料区、無窒素区は黄色を帯び無磷酸区は暗色を帯び初め養分欠乏の徴候が現われた。生育調査成績は第9表の通りである。

第9表 水稻生育調査表

(鉢当, cm, 本数)

月日 項目	7.1		7.8		7.15		7.22		7.29		8.5		8.12		8.19	
	草丈	莖数	草丈	莖数	草丈	莖数	草丈	莖数	草丈	莖数	草丈	莖数	草丈	莖数	草丈	莖数
無肥料	37	38	42	42	45	3	48	3	49	3	51	3				
無窒素	36	38	45	47	48	3	50	3	52	3	55	3				
無磷酸	42	44	44	42	42	3	42	3	44	3	46	3				
無加里	42	47	53	62	72	7	74	8	75	8.5	74	8.5				
完全	47	56	64	76	83	11	87	11	92	11	93	11.5				

月日 項目	8.26			9.2		9.9		9.16	9.24	9.30	9.2
	草丈	莖数	出穂	草丈	出穂	草丈	出穂	出穂	出穂	出穂	出穂率
無肥料	56	3	1.5	64	1.5	63	2	3	3	3	50
無窒素	59	3	0.5	67	3	69	3	3	3	3	100
無磷酸	47	3	0.5	50	0.5	54	2.5	3	3	3	17
無加里	78	9	1.5	83	2.5	90	5.5	7.5	8.0	8.5	29
完全	99	11.5	5	100	6.5	99	9.5	11	11.5	11.5	57

備考 9月2日の出穂率各區の出穂数莖数÷莖数(8.26)×100

即ち草丈は全生育期間を通じて完全区最も長く無加里区、無窒素区、無磷酸区の順位に低い。無肥料区、無窒素区、無磷酸区は全然分けつかず行はれない。出穂の開始は完全区が早かつたが、出穂率を9月2日について見ると最後の数字の通りで磷酸加里の不足特に前者の不足は出穂が遅れる。

收穫は各區の穂の完熟した10月1日に行つたが無磷酸区、無加里区の葉は青味を多少帯びていた。

(3) 收穫成績

10月1日即ち挿秧後110日目に收穫した稻藁、粃。玄米の収量は第10表の通りである。(指数は何れも完全区を100.0とした場合)

前にも述べた通り無肥料区、無窒素区、無磷酸区は全然分けつせず又草丈も短かつたが、これが収量成績によく顯われ、極めて不良である。窒素及磷酸の不足は稻藁の生産が減少する以上に粃が減收し又玄米100粒当り重量を見てもわかる様に玄米の充実度が悪くなる。

この事は無磷酸区に於て一層顯著である。批の数も同様な傾向で、無磷酸区の過半は批であ

第 10 表 水稻收穫成績表 (鉢当風乾物)

	藪		籾 数			籾 重			地上部		玄 米		
	重量	指数	枇	籾	枇割合	枇g	籾g	籾指数	全重量	指数	重量	指数	100粒当重量g
	g								g		g		
無肥料	2.8	12.4	8	68	11.8	0.03	1.68	11.5	4.51	12.3	1.34	10.7	1.85
無窒素	3.9	17.3	5	113	4.3	0.02	2.62	7.9	6.54	17.4	2.06	16.5	1.68
無磷酸	3.1	13.7	23	43	53.5	0.07	0.98	6.7	4.15	11.1	0.71	5.7	1.43
無加里	15.6	69.0	64	512	12.5	0.24	11.09	76.1	26.93	71.8	9.97	79.3	1.52
完 全	22.6	100.0	111	672	16.5	0.31	14.58	100.0	37.49	100.0	12.49	100.0	1.65

り、籾が充実し得なかつたのを示している。

第 10 表の玄米収量指数を日本全国各地の 1.000 点近い総平均⁽⁶⁾と比較してみると第11表の様になる。

第 11 表 玄米収量指数比較表

	無 肥 料	無 窒 素	無 磷 酸	無 加 里	完 全
全 國 平 均	52.4	54.4	88.3	91.1	100.0
試 験 所 土 壤	10.7	16.5	5.7	79.8	100.0

本表でわかる通り試験所土壌は各要素共不足するが、特に磷酸と窒素に極めて欠乏した土壌であり、磷酸が最小養分である事がわかつた。

(4) 水稻 3 要素試験成績要約

筆者等は供試上の土性調査に於て本土壌は遊離礫土が存在し磷酸の吸収力が強く、有効態の磷酸が極めて少ない事を指摘したが、本栽培試験の結果、養分的に貧弱な土壌であり特に磷酸と窒素に著しい遜色のある事を確認した。然し之等の肥料を施せば何等支障なく植物は生育し得るから肥料試験用土壌としては却つて好都合な土壌と云える。

筆者等の後章で述べる薬用植物の肥料試験は何れも本土壌を供試しての成績であるので予め養分に劣つた所での結果である事を念頭に置いて吟味する必要がある。

第 2 章 朝顔の 3 要素試験

朝顔 (*Pharbitis Nil*, CHOIS) の種子は生薬名で牽牛子 (*Semen Pharbitidis*) と呼び灰白色と黒褐色の 2 種があり薬用には灰白色のものが貴ばれるが薬効には両者大差ない様である。

朝顔の肥料は観賞用を目的とした場合と薬用採種を目的とした場合とによつて大変異なつてゐる。即ち前者の場合は葉及花の出来栄を競うので肥培管理は集約となり土壌といふより寧ろ人の作つた土と肥料の混ぜ物に栽培すると云う方があてはまる程であり練り肥、置肥、埋肥玉

肥などと呼ばれ⁽⁷⁾時には秘傳とさえされて居る。一方後者の場合は此の植物が元來強健なので、殆んど風土を選ばず、中等地或は少しく瘠地が良いと云われる程であり、其の上経済上の收支関係もあるので、いきをい肥培管理は粗放となり、普通は少量の人糞尿を施す程度である。窒素は莖葉は良く繁茂するが果実の成熟が不同となり收穫期が遅延するので過多の施用は不可とされ時には無肥料栽培さえ行われている。⁽⁸⁾

筆者等は薬用を目的とした場合の施肥標準調査の必要を感じたので農林省指定による調査施行方法の要領に従い 3 要素試験を行つたので以下其の成績を報告する。

(1) 試験施行要領

品種 御賞川大輪種 (黒褐色の種子)

播種期 6 月 18 日

移植期 6 月 25 日。子葉 2 葉の時。各鉢 1 本。

供試土 約 5 万分の 1 鉢。試験所構内表土。

肥料 慣行法により 2 万分の 1 鉢に換算し炭酸石灰、硫酸アムモニア、磷酸 1 石灰、硫酸加里を要素として各 1g. 石灰は炭酸石灰として 10g. を施用す。

試験区 無肥料区 (Ca), 無窒素区 (Ca+P+K), 無磷酸区 (Ca+N+K), 無加里区 (Ca+N+K), 完全区 (Ca+N+K) を設けた。

支柱 7 月 1 日高さ 1 米の 2 段式支柱をなす。

摘心 莖が支柱の最上部に達したものは其の都度摘心した。

種子の收穫 外側の果皮が黄変し種子の黒褐色になつたものは成熟したものとし其の都度收穫保存した。

全收穫月日 10 月 23 日、莖葉は全部收穫した。

(2) 生育経過

当初の生育は各区順調であつたが 7 月中旬頃より肥料による差が生じ、完全区が生育旺盛であり次いで無加里、無磷酸、無窒素区の順に劣つた。生育の良い区は莖の伸張が早いだけでなく、莖が太く地際の太さは收穫時に完全区 0.33cm., 無加里区 0.32cm., 無磷酸区 0.30cm., 無窒素区 0.26cm., 無肥料区 0.14cm. であつた。又この順位に葉も一般に廣く大で花も大輪であつた。

鉢当りの開花、結実の経過は区別で大きな差異があり第 12 表の通りであつた。

即ち開花の開始は無窒素区完全区が移植後 40 日目で最も早く次いで無加里、無磷酸区で無肥料区が一番遅れた。これから見ると磷酸、加里は開花を早める効果がある。又花の咲き終りは無肥料区が早く次いで無磷酸、無窒素区であり無加里区と完全区は遅く迄花を開いた結局開花日数は無肥料区の約半月、無磷酸区の 1 箇月、無窒素区、無加里区の 1 箇月半、

第 12 表 朝顔の開花種実の成熟調

	開 花					果実成熟					
	鉢当 全数	開始 (H)	終了 (H)	期間 (H)	中心 (H)	鉢当 全数	開始 (H)	終了 (H)	期間 (H)	中心 (H)	結実率
無肥料	11(15)	54	71	17	62	8	91	113	22	98	72.7
無窒素	12(17)	40	84	44	55	11	82	92	10	87	91.7
無磷酸	13(18)	49	78	29	62	13	92	120	29	101	100.0
無加里	63(87)	44	93	49	65	21	82	120	40	98	33.3
完 全	72(100)	40	104	64	70	27	82	120	40	98	37.5

備考 日数は総て移植日より起算

中心日は統計的な散布度中心日

結実率は全開花数に対する成熟果数の割合

開花鉢当全数の()は完全区を 100 とした各区の指数

完全区の 2 箇月余りとなり養分的に恵まれる程開花期間は永引く様である。

株当りの開花総数は無肥料区，無窒素区，無磷酸区は共に少く完全区の 15~20 % 程度であり無加里区は約 90% 弱であつた。

成熟果数は完全区最も多く次いで無加里，無磷酸，無窒素，無肥料区と減少し開花数と略同様な傾向であるが，開花数に対する成熟果数即ち結実率は無磷酸，無窒素，無肥料区の 100~70% に対し完全区，無加里区は 40~30% に過ぎず無効開花が多かつた。この原因ははつきりしないが開花期の遅れたものは結実歩合が悪い為と思う。又果実の成熟は磷酸によつて早められ窒素によつて遅れる傾向のある事は花の場合と同様である。

次に無肥料区，無窒素区，無磷酸区の蔓は概して赤味が強く又収穫時に於ける根群は無加里区，無窒素区は稍暗い黄色を帯びたが之等も肥料要素の影響によりものと思われる。

(3) 収穫成績

第 13 表 朝顔の鉢当収量と各部百分率

	地上部		根部 (g)	総 重量 (g)	種子收 量指数 (a)	地上部			根 部 (%)
	莖葉 (g)	種子 (g)				莖葉 (%)	種子 (%)	計 (%)	
無 肥 料	2.00	1.40	0.45	3.85	24.4	51.9	36.4	88.3	11.7
無 窒 素	2.50	1.95	1.70	6.15	34.0	35.0	27.3	62.3	37.7
無 磷 酸	4.15	3.13	0.85	8.13	54.5	51.0	38.5	89.5	10.5
無 加 里	9.12	4.97	2.40	16.49	86.5	55.3	30.1	85.6	14.4
完 全	11.30	5.74	3.25	20.29	100.0	55.7	28.3	84.0	16.0

備考 種子収量指数は完全区を 100.0 とした場合の指数

前述の通り成熟に達した都度収穫保存した朝顔の種子及 10 月 23 日に収穫した莖葉と根部重量並びに之等の百分率は第 13 表の通りである。

各部の百分率を見ると最も特異性のあるのは無窒素区で地上部に対し根部の割合が著しく高い。又全生産量に対し種子の割合は無窒素区と完全区に低いが、これは窒素が多くても少くても種子の収量割合が減少する事を意味する。種子の収量指数を第 11 表の水稲玄米の収量指数との比較表をつくると第 14 表の様になる。

第 14 表 水稲, 朝顔の 3 要素試験比較

	無肥料	無窒素	無磷酸	無加里	完全
水稲 { 全国平均	52.4	54.4	88.3	91.1	100.0
試験所土壌 ^(a)	10.7	16.5	7.5	79.8	100.0
朝顔 試験所土壌 ^(b)	24.4	34.0	54.5	86.6	100.0
(a) をと 1.0 した場合 の(b)	3.2	2.1	9.6	1.1	1.0

即ち水稲の場合は最小要素は試験所土壌では磷酸であり、次いで窒素、加里の順位であつたが、朝顔は水稲に比し各要素共要求度は低いが窒素が最小要素で次いで磷酸、加里の順位であつた。水稲の各区の指数を仮りに 1.0 にとした場合の朝顔の指数の割合は表記した通りになる。この数字は一日安的な数字にしか過ぎないが、朝顔の要素吸収力は水稲に比し何れも強く磷酸は約 9.6 倍、窒素は約 2.1 倍、加里は 1.1 倍であると云ふ傾向が窺われる。即ち本土壤の如く有効性の磷酸が極めて乏しい土壌では磷酸を施さないと朝顔の種子の収量は約半減するが、元來磷酸の吸収力は強いから普通程度以上に磷酸や加里を含む土壌であれば適量の窒素肥料を施すのみでよからう。窒素も水稲に比し要求性は低いから、過多の施用は莖葉が繁茂し種子の生産が減少するから注意すべきであり、水稲の約半量程度の施肥で大きな間違はないと思ふ。

次に種子を乳鉢で粉碎しベンゾールを用ひて浸出定量した脂肪油と朝比奈博士⁽¹⁰⁾の方法で定量したファルピチン (Pharbitin) の成分量は第 15 表の通りである。

第 15 表 種子中のファルピチン及脂肪油成分

	無肥料	無窒素	無磷酸	無加里	完全
ファルピチン (%)	2.19	2.24	2.44	2.42	2.38
脂肪油 (%)	13.85	13.99	14.42	14.05	140.1
鉢当ファルピチン (m.g.)	30.7	43.7	76.4	120.3	136.6
同指数 (完全区100.0)	22.5	31.9	55.9	88.1	100.0

即ち成熟種子中のファルピチン及脂肪油の含量は窒素を欠いた区に稍少ないが大きな差は

ないから株当フアルビチンの収量は種子の収量に左右された。但し之等成分は完熟した種子のみにつき分析した結果であるが薬用として栽培採種する場合は一般に大方の成熟を持つて一度に收穫を済ますので中には未熟種子も混入してくるから成熟が遅れたり、揃わない様な条件例へば窒素の過多施用、磷酸の不足等は実際問題として成分含量の低下は免れないと思はれる。

(4) 朝顔 3 要素試験成績要約

無肥料区、無窒素区、無磷酸区は移植後約半月程すると養分欠乏の徴候が現われ生長は不良となり、莖も細く葉も小さくなる。又開花数も完全区の 2 割以下であつた。磷酸が欠乏すると花の咲き初めが遅れ、種子の成熟も遅れた。窒素が多いと開花総数は多いが晩く迄咲き無効開花率を増す傾向がある。

水稻に較べ土壤の養分吸収は強く、完全区を 100 とした場合、無肥料区 24、無窒素区 34、無磷酸区 55、無加里区 87 であつた。本供試土は前章に述べた様に極端に磷酸、窒素に乏しい土壤の成績であるから、普通の肥沃土で採種を目的とする栽培には適量(水稻の約半量程度)の窒素質肥料の單用でよからうと思ふ。

成熟種子中の脂肪油、フアルビチンの含量は窒素の欠乏区に稍少ない傾向はあるが大差はなかつた。採種を目的として畑地に栽培する場合は成るべく種子が揃つて早く成熟しないと未熟種子が收穫され混入する。この場合は成分含量も減少しよう。窒素の多用は子実の成熟期間が永引くのでこの意味からも慎むべきである。

第 3 章 アメリカアリタソウの 3 要素試験

アメリカアリタソウ (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminticum* A. GRAG.) は駆虫薬であるヘノボヂ油の含有植物であり、有効成分であるアスカリドール (*Ascaridol* $C_{10}H_{16}O_2$) は精油中に 40~70% 含有される。(9)

元來強健な植物で風土を選ぶこと少なく地味も肥沃に過ぎるよりは却つて幾分劣つた所がよいとされ、向陽の地で温暖稍乾燥地に適すとされている。肥料は普通畑作物の栽培されている所では殆んど施用の必要もないが、與えるにしても肥料の種類を選ばないから各地得易いものを用うればよい。尙窒素肥料が多過ぎると莖葉は良く繁茂するが成熟が遅れ、乾草中の精油の含量を減じ品質が低下すると云う。(8.P. 377~381)

筆者等も前章に準じ 3 要素試験を行ひ 2, 3 の成績を得たので以下報告する。

(1) 栽培試験の要領

供試土壤 試験所構内表土

容 器 2 万分の 1 ワグナーポット、3 連制。

肥料 硫酸アムモニア, 燐酸 1 石灰, 硫酸加里を各要素として 1g. 予め炭酸石灰 10g を施用す. 全量基肥.

播種期 4 月 30 日

株揃え 5 月 19 日. 1 鉢 2 本立.

害虫駆除 アブラムシが発生したのでネオデリゲン 400 倍液により駆除 2 回.

(2) 生育経過

4 月 30 日播種したものは 5 月 8 日大体一様に発芽揃いし 6 月上旬よりの生育調査成績は第 16 表の通りである. 即ち無肥料区, 無燐酸区特に後者は殆んど伸びず下葉の落葉も早く, 収穫時には莖のみ一本立するという状態のものであつた. 無窒素区は当初の発育は稍良かったが 7 月 7 日頃より葉は黄色を帯び, 下葉の落葉もあり 7 月下旬頃より窒素飢餓の徴候を現

第 16 表 アメリカアリタソウの草丈調査 (cm)

月 日	6.3	6.10	6.17	6.24	7.1	7.8	7.15	7.22	7.29	8.5	8.12	8.19
無肥料	1.2	1.5	2.3	2.8	3.2	3.8	3.7	4.0	5.8	7.0	7.6	8.3
無窒素	5.3	9.2	15.7	21.6	26.7	34.3	45.7	56.9	66.6	72.0	74.0	75.5
無燐酸	1.5	1.5	3.0	2.4	2.3	2.8	2.3	2.3	3.3	3.6	3.7	3.8
無加里	3.6	8.1	14.9	18.0	25.0	34.3	40.8	55.7	76.1	91.5	101.7	106.2
完全	4.8	8.7	16.5	22.7	28.7	40.2	50.2	65.6	81.3	95.8	107.5	115.2

わした. 無加里区は完全区に次いで良好で加里欠乏の症状は認めなかつた.

7 月 7 日頃無窒素区の大部分と完全区の一部に花芽の発生を認めたが, 無加里区は稍遅れ 7 月 16 日頃であつた. 無窒素区は下葉の黄変落葉が完全区, 無加里区に較べ稍早く, 9 月下旬頃各区共下葉が黄変し初めたので 9 月 28 日に収穫したが, 無窒素区を除き 胞果は完熟してゐなかつた憾がある.

(3) 収穫成績

9 月 28 日地際より刈取り草丈, 莖径と莖葉及子実の重量を陰乾後調べたが其の結果は第 17 表の通りである.

第 17 表 アメリカアリタソウ収穫成績 (鉢当り)

	草丈 (cm)	莖径 (cm)	葉 莖 (g)	種実 (g)	計 (g)	地上部 指 数	種実 指数	各部百分率		
								葉	莖	種実
無肥料	9.5	0.13	0.11	0	0.11	0.32	0	100		0
無窒素	76.8	0.44	1.20 3.63	2.69	7.52	21.91	29.3	15.9	48.3	35.8
無燐酸	4.3	0.10	0.02	0	0.02	0.06	0	100		0
無加里	114.8	0.63	0.05 13.97	9.47	29.49	85.92	103.2	20.5	47.4	32.1
完全	118.1	0.66	8.42 16.72	9.18	34.32	100.00	100.0	24.5	48.7	26.8

前にも述べた通り無肥料区、無磷酸区の草丈は極端に短く収量も亦極めて不良であり、周到な鉢栽培で初めて生残つて居たという程度であり、実際問題として収量皆無と同様であり、圃場で磷酸を施さず栽培すると途中で殆んど消えてしまった事実が裏書する。又この両区は全然花芽も出来なかつた。斯様に木供試土では磷酸が最小要素であり、次いで窒素である。窒素の不足は草丈が短く、莖は細く、地上部の収量も低かつたが、種実の地上部総量に対する割合は高く、又成熟は早かつた。無加里区は開花は稍遅れたが、草丈、収量共に完全区に近く、地上部の収量指数は完全区の 100 に対し 86 であり、種実の割合は稍大であり指数も 103 であつた。完全区は収量最良であつたが、種実の割合は稍低く莖葉部が大で水つぼい傾向があつた。前章の水稻、朝顔の収量指数と比較対照すると第 18 表の様になる。

第 18 表 水稻, 朝顔, アメリカアリタソウ収量指数比較

		無肥料	無窒素	無磷酸	無加里	完 全
水 稻 玄 米	全國平均	52.4	54.4	88.3	91.1	100.0
	試 驗 所	10.7	16.5	5.7	79.8	100.0
朝 顔	開 花 数	15.0	17.0	18.0	87.0	100.0
	種 実	24.4	34.0	54.5	86.6	100.0
アメリカアリタソウ	全 草	0.3	21.9	0.1	85.9	100.0
	種 実	0	29.3	0	103.2	100.0

前章で朝顔は磷酸の吸収力が強く本土壤では要素の要求順位は窒素、磷酸、加里であると述べたが、アメリカアリタソウは磷酸を欠くと殆んど生育せず、窒素と加里は水稻に較べ多少要求度が低い。

次に 3 連の收穫物を合せてヘノボチ油を薬局法により定量したが其の結果は第 19 表の通りになつた。

第 19 表 ヘノボチ油含量

	葉部(%)	莖部(%)	種 実 部 (%)	全草(%)	同 指 数	鉢当 (g)	同指数
無肥料	—	—	—	—	—	—	—
無窒素	0.14		4.35	1.645	224.1	0.124	48.5
無磷酸	—	—	—	—	—	—	—
無加里	0.04	0.06	2.80	0.930	125.2	0.274	107.6
完 全	0.10	0.29	2.33	0.743	100.0	0.255	100.0

無肥料区、無磷酸区は試料不足のため分析し得ず、又アスカリドールも精油不足の爲め測定し得なかつた。之等は後日圃場の栽培試験によつて究めたいと思う。

ヘノボチ油の含量は果皮の毛茸中に多いから、種実の生産の不良な磷酸欠乏区は精油の生産にも遜色があらうと想像する。無窒素区は種実の油分に富み無加里区、完全区はこれより劣つ

ていた。莖葉特に莖部は全草の過半に達するが精油分少なく、全草よりのヘノボヂ油の収量は種実の重量割合と其の含油率に左右される。従て表に示す様に完全区を100とした場合無窒素区は224、無加里区は125となり、窒素の十分な施用は莖葉が繁り又成熟が遅れ精油の含有率が減少したものだと思ふ。これに収量を加味した鉢当りのヘノボヂ油の収量指数は表記の通りで、無窒素区49無加里区108であつた。即ち無窒素区は精油の含有率は完全区の2倍余りであるが収量が2割程度に過ぎないので油分の収量は約半減するといふ結果であつた。

(4) アメリカアリタソウ3要素試験成績要約

窒素と加里は水稻に較べ稍少くてすむが磷酸は極めて必要であり、これが欠乏すると殆んど生長せず又種実も出来なかつた。磷酸が十分施用されると種実の割合が増し成熟も促進されてヘノボヂ油の含量を増した。窒素は増収の上に必要であるが過多の場合は莖葉が繁茂し種実の割合を減じ又成熟が遅れ勝ちとなり、ヘノボヂ油の含有率が減少する傾向がある。従て施肥は水稻に比し磷酸を多めにし、窒素を控目に行えばよからう。加里は吸収力が強いから普通の土壌では余り考慮する必要がないと思ふ。

本実験施行に当つては平山部長の終始懇切なる御指導と御鞭撻を賜り、厚く謝意を表する。又研究費の一部は文部省科学研究費によつた。 (昭和24年6月)

文 献

- (1) 関, 土 24. (1944)
- (2) 関, 日本農化誌. 253~269 (1924)
- (3) 原田. // 1037 (1921), 383 (1922).
- (4) KELLEY W. P & BROWN, S.M., Calif. Agr. Exp. Sta. Tech. Paper., 15. 36. (1924)
- (5) MENCHIKOVSKY, F. & PUFFELES, M., Soil Sci., 45. 25~128. (1938)
- (6) 東大農学部, 日本内地に於ける作物養分天然供給力に関する研究 (1913)
- (7) 穂坂, 花卉園芸 116~117 (1942)
- (8) 刈米, 若林, 薬用植物栽培法 190. (1934)
- (9) 刈米, 渥美, 木村, 若林, 薬学雑誌 462. 736(大正9年). 511. 722(大正13年).
- (10) 朝比奈, 中西, 薬学雑誌 504(大正3年2月), 520(大正14年6月)

水耕法による二. 三薬用植物の好適反應に就て

技 官 永 田 武 雄 技 官 岡 島 秀 夫

Effect of pH on some Medicinal Plants in Solution Culture.

by Takeo NAGATA and Hideo OKAZIMA.

ドクダミ (*Hottuynia cordata* THUNB.), ハトムギ (*Coix Lacryma-Jobi* L. var. *frumentacea* MAKINO) とアメリカアリタソウ (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminticum* A. GRAY) の水耕試験, 主として PH に関する調査を一應完了したので取まとめて報告する.

水 耕 栽 培 の 要 領

春日井氏蔬菜用培養液⁽¹⁾ を使用し NaOH と HCl を以て培養液の反應を調整し pH 4 区 (4.0~4.3), pH 5 区 (5.0~5.3), pH 6 区 (6.0~6.3), pH 7 区 (7.0~7.3) と pH 8 区 (8.0~8.3) を設けた.

ドクダミは 1,000 cc のガラス瓶に培養液を入れ容器は首まで土に埋め込み, これにドクダミの幼植物 (草丈 10cm. 重量 4.0g 程度のよく揃つた苗) の根部分が大部分液に浸る様に中央に孔をあけたコルク栓に脱脂綿を以て固定し栽培した. 試験は 5 月 21 日に開始し 9 月 3 日に終了した.

ハトムギは 2 万分の 1 ヲグネルポットを使用し所謂ざる栽培を行い 6 月 30 日に 18cm 程度の均一な苗を鉢当たり 5 本移植し 10 月 5 日に收穫した.

アメリカアリタソウは 2 万分の 1 ポットに草丈 12cm, 8g 程度の均一な苗を鉢当たり 2 本宛 6 月 15 日に移植し 9 月 6 日に收穫した.

以上何れも栽培の初期と末期は養分半減液を用いガラス室内で栽培した.

生 育 經 過

ドクダミは各区共大体正常な發育を遂げ米麥に見られる様な特異な症候は認められなかつた.

ハトムギは 7 月 20 日頃より pH 7~8 区は稍見劣りがし初め生育は緩慢になり葉は黄色を帯び根部は銹色に着色し分けつも少く出穂も遅れた. pH 4~5 区は 8 月 15 日頃より出穂を初めたが pH 6 区は 8 月 20 日頃, pH 7 区は 9 月初め, pH 8 区は中旬で pH 價の高い程遅れた.

アメリカアリタソウは 6 月 25 日頃より主として若い葉に 1 種の黄化現象が起りこの症状は葉脈は普通の緑色であるが葉肉の部分は斑紋状に緑色を失い黄色を帯び其の程度は大体 pH 4>8>7>5>6 区の順位であつた。この病因は不明であるが従來の要素欠乏の症状とは異なる様で当時雨天が続き日照不足勝ちであつた上、ガラス室内は相当高温であつたのが主な原因であつた様に思ふ。厩肥、満俺の施用或は養分濃度の加減等試みたが何れも大した効果はなかつたこの黄化現象も 7 月 9 日頃より追々恢復に向ひ常態に復した。この為めに葉の枯死する事はなかつた。恢復順位は大体 pH 6>5>7>4>8 で被害の軽かつた区程早かつた。

草丈の生育は pH 5, 6, 7 区は大差なく pH 7, 8 区の根はハトムギに見られた様に銹色に着色し根量も亦少なかつた。花芽の着成、開花、結実は pH 5, 6 区に稍早く pH 4, 8 区は遅れた。

收 穫 成 績

ドクダミの収穫成績は第 1 表の通りである。

第 1 表 ドクダミ収穫成績

PH区別	分茎本数	生葉枚数	生葉重量 (g)	生莖根重 量 (g)	部別割合		総重量 (g)	同指数
					葉	莖 根		
4	5	21	2.56	8.85	22.4	77.6	11.41	18.6
5	11	48	8.10	15.05	25.0	75.0	23.15	35.8
6	18	76	17.70	27.45	39.2	60.8	45.15	69.8
7	17	76	23.35	28.85	44.7	55.3	52.20	81.1
8	16	70	25.55	39.10	39.5	60.5	64.70	100.0

即ち pH 8 区が最も好適である。然し本実験は初期は 1 週間に一回、生育旺盛期は 2 回培養液を更新したのであるが猶其の間に反応の変化が著しく 8 月中旬数回に亘つて調査した 1 例を示すと第 2 表の通りである。

第 2 表 ドクダミ培養液反応の時間別変化

pH区別	更新液 pH	12	24	36	48	60	72時間後
4	4.01	3.98	3.98	3.79	3.79	3.75	3.75
5	5.25	4.67	4.32	4.03	3.93	3.84	3.82
6	6.34	6.15	5.70	5.46	4.74	4.29	4.25
7	7.00	6.34	6.29	6.17	6.10	6.32	6.22
8	8.02	7.07	6.51	7.46	6.50	6.70	6.65

即ち外液を強く酸性化するがそれも液更新後 1~2 日間が甚しい。又 pH 低下の度合は pH

4,5,6 区と順次大きくなり pH 7 区に減じ 8 区に再び大となつてゐるがこれは植物体の大きさと培養液が pH 6~7 に緩衝能をもたせてある為であろう。従つて pH 8 区が好適と云つても実は 6.5~8.0 に大部分生育した事になりこの附近が適すると見るべきである。ハトムギの収穫成績は第 3 表の通りである。

第 3 表 ハトムギ収穫成績表

PH 区別	莖長 (cm)	莖数	出穂率	出穂数	穀粒数	同重量 (g)	同指数	100 粒重量 (g)	莖葉部		割合		地上部計重量 (g)	同指数	根部長さ (cm)	同重量 (g)	同指数
									重量 (g)	同指数	穀粒	莖葉					
4	150	14	13	92.8	603	67.4	100.0	11.2	411	100.0	14.1	85.9	478.4	100.0	41.0	192.0	100.0
5	154	13	12	92.3	580	60.4	89.3	10.4	295	71.8	17.0	83.0	355.4	74.3	38.0	181.0	94.3
6	117	13	10	76.9	193	18.9	28.0	9.8	171	41.6	10.2	89.8	189.9	39.7	25.0	85.0	44.3
7	89	11	3	27.3	38	3.9	5.8	9.5	49	11.9	3.9	96.4	52.9	11.1	23.0	25.2	13.1
8	54	5	1	20.0	2	0.2	0.3	9.0	23	5.6	0.9	99.1	23.2	4.9	21.0	6.6	3.4

pH 4 区が最良で中性アルカリ側に向うに従い草丈も短く分蘖莖数も出穂率も低下し穀粒は数も少く重量も減じ又充実度も悪くなる。穀粒の莖葉に対する割合は pH 5 区が最も高かつた。根部も地上部と同様な傾向にあるが穀粒や莖葉部に較べ影響は稍小さい。ドクダミと同様 8 月中旬の生育旺盛期に於ける培養液反応の変化を調べた 1 例を示すと第 4 表の通りである。

第 4 表 ハトムギの培養液反応の変化

pH 区別	更新液	12	24	36	42	60	72時間後
4	4.01	4.05	3.96	3.98	4.01	4.05	4.00
5	5.25	5.16	4.67	4.48	4.44	4.38	4.01
6	6.34	6.20	6.15	6.01	6.12	6.12	6.06
7	7.00	6.98	6.98	7.01	7.00	7.05	7.08
8	8.02	7.74	7.57	7.57	7.40	7.55	7.54

即ち pH 5 区の低下は稍大きいが 4 区は実際問題として殆ど変化ないと見てよくこの実験は pH 4 区が好適と云つてよい。

アメリカアリタソウの収穫成績は第 5 表の通りである。但し駆虫薬アスカリドール (Ascaridol) の主成分をなすヘノボジ油の定量は水蒸気蒸溜法によつた。

全草重量は pH 5 区が最高であつたが種実の割合は pH 6 区に高かつた。全草中のヘノボジ油の含量は種実割合の高く成熟の進んだ pH 6, 5 区に多く、ポット当りのヘノボジ油の収量も pH 6 区が最高で次いで pH 5 区であつた。培養液反応の変化はハトムギより更に小で問題視する程度でなかつた。

第 5 表 アメリカアリタソウ收穫

PH 區別	草丈	葉径	地上部風乾物			計	地上部対 種実割合	收量指数		根部		ヘノボテ油		
			葉	莖	種実			地上部	種実	長さ	生重量	全草中 (%)	ポット 当(mg)	同指数
4	75.3	0.50	2.05	5.05	3.00	10.10	29.7	77.4	58.8	14.4	6.96	0.44	45	50
5	78.0	0.50	1.40	6.55	5.10	13.05	39.1	100.0	100.0	15.2	6.20	0.46	60	67
6	76.7	0.36	0.83	4.47	4.05	9.35	43.3	71.6	79.4	15.3	4.66	0.96	90	100
7	77.1	0.33	1.70	4.40	2.75	8.85	31.1	67.8	53.9	13.4	5.40	0.51	45	50
8	53.2	0.24	1.00	2.05	0.90	3.95	25.3	30.3	17.6	13.3	2.80	0.25	10	11

成 績 の 要 約

(1) ドクダミ、ハトムギ、アメリカアリタソウは春日井氏の蔬菜用培養液の反應を調節することによつて略正常に近い生育を遂げる。これ等の好適反應はドクダミ pH 6.5~8.0, ハトムギ pH 4.0, アメリカアリタソウ pH 5.0~6.0 附近である。

(2) これ等好適反應より遠ざかるに従つて生育は不良になるがその被害の程度はハトムギに最も顯著でありドクダミ、アメリカアリタソウの順位であつた。

(3) ハトムギ、アメリカアリタソウは pH 7~8 の培養液で根部が銹色に着色するがドクダミの根は健全色であつた。

(4) ハトムギ、アメリカアリタソウの地上部に対する種実の割合が最も高い反應は地上部收量の好適反應より pH 價で約 1 高い所にあつた。

(5) 反應が植物体に及ぼす影響は種実に強くあらわれ次いで莖葉部、根部の順位であつた。

(6) ドクダミの様に反應を強く変化する植物の反應試験には流液栽培によるか又は少くも毎日液を更新する必要がある。

猶木実験を行ふに当り御指導御鞭撻を賜つた平山部長に厚く謝意を表す。又研究費の一部は文部省科学研究費によつた。(昭和 24 年 6 月)

文 献

- (1) 春日井., 日本土壤肥料誌 8. (1934)

チヨウセンアサガオの葉枯性細菌病に関する研究

(第2報) 分類學的考察*

技 官 山 本 昌 木

Studies on the bacterial leaf spot of Jimson weed (*Datura* spp.) (II).

On the taxonomical consideration.

Masaki YAMAMOTO.

前報に於いて⁽⁷⁾著者はチヨウセンアサガオ葉枯性細菌病に就いてその病徴、病原細菌の細菌学的、生理学的性質に関する調査の結果を報告したが、本報告に於いては病原性に関する実験結果を述べ、病原細菌に對する分類學的考察を加えたい。

尙本研究の遂行に当り、松尾前所長は種々の便宜を與えられ、平山重勝植物部長には終始懇篤な御指導と御教示を賜つた。共に謹んで衷心より敬意と謝意を捧げたい。又実験を援助された大坂他家子、古藤カヨ両女史に深く感謝する。

〔病原性〕 本細菌がナス科植物に對して病原性のある事は既に報じたところであるが⁽⁷⁾、甚だ不完全であつたので接種試験を繰返し行い、略々その範囲を確めることが出來た。

普通寒天 24 時間培養より滅菌水で懸濁液を作り、空気ポンプで圧力を一定とした噴霧器で植物体になるべく一様になるように撒布し、24 時間温室に保つた後、温室内に放置し観察を行つた。尙供試植物は 1 鉢 3 本宛移植し、10~20cm に生育したものをを用いた。実験結果は次の如くである。

第1回実験 (8 月 14 日 接種 8 月 17, 18, 20, 23 日調査)

ケチヨウセンアサガオ 葉先萎凋し淡黄灰色の病斑となり、次いで灰褐色となり、大部分の葉は萎凋するに至る。

アノリカチヨウセンアサガオ 一本は水浸狀病斑を生じ、次いで黄褐色となる。二本は倒伏する。

トゲナシチヨウセンアサガオ 一本の中一葉萎凋し、一葉は水浸狀病斑を生じ、一本は倒伏し、他の一本は黄褐色の病斑を多数生じ融合する。中央部は白色。

チヨウセンアサガオ 発病しない。

ヨウシュチヨウセンアサガオ 三本の中二本に水浸狀病斑を生じ、葉縁より萎凋、病斑は漸次灰褐色となる。1 本は倒伏する。

* 邦産薬用植物病害に関する研究 第 5 報

シロバナヨウシュチョウセンアサガオ 淡褐色の病斑を生ずる。

トマト 葉柄より萎凋して倒伏する。

トウガラシ 二木は萎凋して倒伏, 他の一本は明らかな病斑を生じて落葉した。

ナス(ヤマナス) 発病しない。

ナス(ナガナス) 発病しない。

ツクバネアサガオ 二木の中一本は一葉萎凋し, 一本は葉柄褐色, 水浸状病斑を生じ, 根際より倒伏した。

ヒヨス 莖に褐色水浸状病斑を生じ, この部分より倒伏する。

第II回実験(8月25日 接種, 8月26日, 28, 30, 9月3日 調査)

ケチョウセンアサガオ 灰褐色の小点若干個生じ, これは夫々拡大し, その中一個は葉縁にかゝり水浸状を呈し, 中央部稍々褐色を帯びる。その他のものは周囲黄化し葉縁にかゝり, 中央部に帯褐色の楕円部が認められる。又葉の先端より内部へ水浸状斑を形成し, その中央部は灰褐色楕円形をなし, 更に拡大萎凋するものもある。

アメリカチョウセンアサガオ 一葉黄化, 葉縁に沿ひ水浸状病斑を形成, 萎凋, 先端部水浸状を呈し, 後枯死する。一葉褐色小点を作り, 周囲黄化次第に水浸状となり, 後褐色に変わる。又葉縁より楕円形病斑の出来るものもあるが, 之等のものは何れも枯死する。

トゲナシチョウセンアサガオ 葉縁帯白褐色の半円形病斑を生じ, その周囲茶褐色となる葉縁又は先端部に半円形水浸状病斑を生じ凋落する。

チョウセンアサガオ 二葉葉縁より半円形水浸状病斑を生ずる。

ヨウシュチョウセンアサガオ 一葉の先端水浸状となり萎凋する。新に二葉葉縁に沿ひ細長い水浸状病斑を生じ, 一葉は中央に可成廣い水浸状病斑を生ず。

シロバナヨウシュチョウセンアサガオ 二葉の葉縁略々半円形水浸状病斑を生じ, その中央部は汚白色を呈する。又他の一葉は主脈に沿ひ帯白褐色の不整形病斑を作り, 更に二葉は葉縁より帯褐白色の細長い病斑を生ずる。

トマト 二葉暗色を呈し, 一葉萎凋, 他の一葉は葉縁に沿ひ水浸状となり, 他の二葉も先端部水浸状となる。

トウガラシ 一葉先端部より略々 $\frac{1}{2}$ 茶褐色となり萎凋, 二葉の先端暗褐色の不整形病斑を生じ, 全体水浸状となり萎凋し, 次いで枯死する。

ナガナス 一葉先端部二ヶ所より水浸状不整形病斑を生じ, 拡大融合する。

ツクバネアサガオ 一葉葉縁に沿ひ水浸状病斑を生じ萎凋, 一葉先端より $\frac{1}{3}$ 位水浸状を呈す。他の一葉先端近くに楕円形水浸状病斑を生ず, 之等の葉は何れも落葉する。

第III回実験(8月31日 接種, 9月4, 7, 10, 14日 調査)

ケチョウセンアサガオ 葉の両側葉縁に沿い細長い水浸状病斑を呈し、何れも萎凋するもの三葉、又他の水浸状病斑を示した一葉は、先端褐色に変じ反轉する。

アメリカチョウセンアサガオ 葉縁に沿い細長い水浸状を呈するもの二葉他の二葉、も先端部より水浸状病斑を生じ、半分以上侵される。

トゲナシチョウセンアサガオ 二葉の両側葉縁に沿い細長い水浸状病斑を生ずるが後萎凋する。二葉縁にかゝる不整形病斑を生ず。他の一葉は主脈に沿い不整半円形水浸状病斑を生じ、その中央は帯灰白色であるが、後これは葉の大部分を侵す。他の二葉も同様の病斑を生ずる。之等の病葉は皆落葉する。

チョウセンアサガオ 一葉の先端水浸状となり落葉する。

ヨウシュチョウセンアサガオ 一葉の主脈より一方へ略々円形水浸状病斑を生ずる。又他の一葉の先端及び中央に、不整形水浸状病斑を生ずる。

シロバナヨウシュチョウセンアサガオ 四葉に不整形水浸状病斑、その中央部は帯灰白色で、後凋落する。一葉は葉縁に沿い細長い水浸状病斑を生ずる。他の一葉は先端部が侵されこの部分のみ萎凋する。

ト マ ト 一葉枯死

トウガラシ 二葉の先端部水浸状となり、その部分のみ凋れ、更に基部に向い黄化する。之等は何れも落葉する。

ヤマナス 一葉枯死。一葉葉縁に沿い水浸性病斑を生じ、一葉は先端部が褐変し、他の一葉は葉縁より褐色化する。

ツクバネアサガオ 一葉落葉す。

第IV回実験(9月3日 接種 9月7, 10, 14日調査)

ケチョウセンアサガオ 葉の先端部水浸状となり、幾分褐色化し、拡大する。

アメリカチョウセンアサガオ 二葉葉縁に沿い細長い水浸状となり周囲黄化、枯死する。一葉の先端部葉縁に沿い暗褐色を呈し、その部分のみ凋れる。二葉の先端部帯褐色となり、裏側へ僅かに反轉する。

トゲナシチョウセンアサガオ 三葉主脈と支脈の分岐に沿い、水浸状病斑を生ずる。

チョウセンアサガオ 二葉落葉す。

ヨウシュチョウセンアサガオ 葉縁の一部僅かに黄化、後之が拡大。暗褐色に変ずる。二葉黄化した小点を有する。

シロバナヨウシュチョウセンアサガオ 一葉の葉縁僅かに褐色化する。先端部に水浸状病斑を認め得るもの三葉。

ト マ ト 二葉茶褐色に変じ、中一葉は枯死する。

トウガラシ 一葉の先端楔形に水浸状となり、落葉する。

ナガナス 二葉の先端部水浸状となり、葉縁に沿い細長く基部に至り、何れも枯死する。一葉黄化萎凋する。

第V回実験 (9 月 17, 20 日調査)

ケチョウセンアサガオ 褐色化して萎凋する。

トゲナシチョウセンアサガオ 一葉の先端半分位迄水浸状病斑を形成し、落葉する他の一葉は葉縁に沿い不整形水浸状病斑を生じ、中央部帯褐色を呈し拡大する。主脈に又は葉縁に半月形水浸状病斑が形成されるが、何れも拡大する。

ヨウシュチョウセンアサガオ 一葉の葉縁に沿い半月形、半楕円形水浸状病斑を生じ、黄化萎凋する。他の一葉は主脈と支脈との分岐点に沿い不整形水浸状病斑を生ずる。

シロバナヨウシュチョウセンアサガオ 一葉片側に半月形病斑を生じ、葉縁に沿い半長円形水浸状病斑を生ずる。

トマト 二葉茶褐色に変ずる。中一葉は枯死する。

トウガラシ 二葉の先端茶褐色に変ずる。

ナガナス 一葉葉縁に沿いケ所より細長い半長円形水浸状病斑を作る。

ツクバネアサガオ 一葉葉縁に沿って細長い不整形水浸状病斑を生ず。

尙メヒジワ (*Digitaria ciliaris* PERS.) オヒジワ (*Eleusine indica* GAERTN.) マツヨクグサ (*Oenothera odorata* GAERD.) ヒメジョオン (*Erigeron annuus* L.) ヒメムカシヨモギ (*Erigeron canadensis* L.) アレチノギク (*Erigeron linifolius* WILLD.) タケニグサ (*Macleya cordata* R. BR.) シロツメクサ (*Trifolium repens* L.) ドクダミ (*Houthuynia cordata* THUNB.) ハハコグサ (*Gnaphalium multiceps* WALL.) チンバリ (*Lactuca stolonifera* MAXIM.) チジミザサ (*Oplismenus undulatifolius* ROEM et SCHULT.) オオイヌタデ (*Polygonum Blumei* MEISM.) オナモミ (*Xanthium Strumarium* L.) ヤブガラシ (*Cissus japonica* WILD.) 等に 8 月 23 日, 9 月 6 日の 2 回にわたり接種試験を行つたが, 2 週間後になつても発病を見なかつた。

以上の実験結果から見ると本細菌は、ナス科植物に可成りの病原性を有し、略々ケチョウセンアサガオ (*Datura Metel* L.), アメリカチョウセンアサガオ (*D. meteloides*), ツクバネアサガオ (*Petunia hybrida* VILM.), トマト (*Lycopersicum esculentum* MILL.) トゲナシチョウセンアサガオ (*Datura inermis* JACQ.) ヨウシュチョウセンアサガオ (*D. Tatula* L.) シロバナヨウシュチョウセンアサガオ (*D. Stramonium* L.), チョウセンアサガオ (*D. alba* NEES) トウガラシ (*Capsicum annum* L.), ナス (*Solanum Melongena* L. var. *esculentum* NEES) の順序に病原性は弱まるものようであるが、各種のナス科以外の雑草には、

病原性はないようである。

〔病原細菌の分類学的考察〕 本細菌は單純，又は分化しない形態を有し，眞正の分枝を有せず，桿菌であつて硫黄や鉄は目に見える程度には貯藏されていないから Eubacteriales 綱に入るもので，芽胞を有せず heterotrophic のものであるが無機の窒素を利用する能力がある桿菌で，1~数本の極生鞭毛を有するので Pseudomonaceae に入る。又直生の桿菌であるから Pseudomonadeae に属する。更に植物病原菌で黄白色を呈する点より *Phytomonas* に属する。*Phytomonas* は BERGEY (1) に依れば桿菌で黄又は白色，運動性又は非動性，單生又は束生鞭毛を有つている。多くの種類は水溶性綠色螢光を發す，大抵のものは，グラム陰性である。

BERGEY が *Phytomonas* 中にあげた種類中菌体は白色乃至クリーム色で，ゼラチンを液化，澱粉を加水分解し，硝酸塩より亞硝酸塩を生成する点など *P. panici* (ELLIOT) BERGEY et al. 及び，*P. proteomaculans* (PAINE & SEANSFELD) BERGEY et al. に類似するが，前者はインドールを形成せず proso millet (*Panicum milaceum*) に寄生，又後者はグラム陽性で，*Proteocymaroides* に寄生するを相異点とする。

又菌体黄色でゼラチンを液化，澱粉を加水分解し，硝酸塩より亞硝酸塩を作る点よりすれば，*P. papavericola* 及び *P. alfalfa* に類似するが前者はヒナゲン (*Papaver Rhoeas*)，後者はムラサキウマゴヤシ (*Medicago sativa*) に寄生するから異種と思われる。

ナス科植物に寄生する *Phytomonas* 属細菌は，*P. solaniolens* (PAINE) BERGEY et al. (*Pseudomonas solaniolens* PAINE), *P. solanacearum* (ERW. SMITH) BERGEY et al. (= *Bacillus solanacearum* ERW. SMITH), *Pseudomonas solanacearum* ERW. SMITH, *Bacterium solanacearum* ERW. SMITH), *P. solanacearum* var. *asiatica* (ERW. SMITH) MAGROU (= *Bacterium solanacearum* var. *asiaticum* ERW. SMITH, *Pseudomonas solanacearum* var. *asiatica* STAPP), *P. heterocea* VZOROFF, (= *Bacterium heteroceanum* BURGWITZ), *P. tabaci* (WOLF et FOSTER) BERGEY et al. (= *Bacterium Tabacum* WOLF et FOSTER, *Pseudomonas tabaci* STAPP), *P. tomato* (OKABE) MAGROU (= *Bacterium tomato* OKABE), *P. angulata* (Fromme et Murray) Bergey et al. (= *Bacterium angulatum* FROMME et MURRAY, *Pseudomonas anuglata* STAPP), *P. polycolor* CLARA (= *Pseudomonas polycolor* CLARA, *Bacterium polycolor* BURGWITZ) 等があるが，*P. solaniolens* (PAINE) BERGEY et al. はゼラチン上の colony は pale buff, 硝酸塩より亞硝酸塩は形成されない。葡萄糖から酸は形成されるが，瓦斯の形成はない，蔗糖から瓦斯の發生を見ない等の点が異なる。*P. solanacearum* (ERW. SMITH) BERGEY et al. 及び *P. solanacearum* var. *asiatica* (ERW. SMITH) MAGROU はゼラチンを液化せず，寒天上の聚落は褐色化する。又 Broth は褐色に変じ，インドールは形成され

ず、葡萄糖、蔗糖、乳糖から酸、瓦斯の形成が無く、澱粉は加水分解されない点が異なる。

P. heterocea VZOROFF は牛乳を凝固せず、インドールを形成しない。*P. tabaci* (WOLF et FOSTER) BERGEY et al. は硝酸塩より亜硝酸塩を形成せず、インドールを形成せず、澱粉を分解しない点が異なる。

P. tomato (OKABE) MAGROU は培養中緑色蛍光を發し、牛乳はアルカリ性となり、インドール、 H_2S の形成はない。

P. angulata (FROMME et MURRAY) BERGEY et al. はある培地上で、緑色の蛍光を發し、牛乳をアルカリ性とし、硝酸塩から亜硝酸塩を形成しない。又インドールを形成せず、 H_2S の発生はない。

P. polycolor CLARA は牛乳をアルカリ性とし、硝酸塩から亜硝酸塩を形成せず、インドールも、 H_2S も出ない。葡萄糖から酸を形成するが瓦斯は出ない。澱粉は分解されない点が異なる。

以上の理由により本細菌は未記載のものと考へられるから (1), (2), (3), (4), (5), (6), (7), (8), (9) 新種と認め恩師逸見教授を記念して *Phytomonas Hemmianus* YAMAMOTO と命名する。

本菌の記載は次の如くである。

Phytomonas Hemmianus YAMAMOTO sp. nov.

The organism is a large rod with rounded ends, occurring singly or in pairs; 1.3 to 2.2 by 0.3 to 0.7 μ ; motile by means of 1 to 3 polar flagella; no capsules; no spores; aerobic; stains readily with anilin dyes; Gram negative; not acid fast; moderate clouding of a beef extract in 24 hrs. at 28° C on beef extract agar colonies white to pale yellowish, circular, smooth flat or raised with regular margin; liquefies gelatine in napiform; milk cleared after coagulation; litmas becomes red in milk; produces acid and gas from dextrose, sucrose and glycerin, but not gas from lactose; strong diastatic action on starch; nitrates reduced to nitrites; ammonia, hydrogen sulphide and indol are produced; grows moderately in Uschinsky's solution but poorly in Cohn's solution; optimum temperature for growth 32°C, thermal death point 55°C; resistant to NaCl by 8%; cannot grow below pH 3.0; group number 211.1211011.

摘 要

本論文に於ては、チョウセンアサガオ葉粘性細菌病菌の各種ナス科植物及び雑草に対する接種試験の結果、並びに分類学的考察の結果を記述した。

本細菌は各種ナス科植物、特にケチョウセンアサガオ、アメリカチョウセンアサガオ、トゲナシチョウセンアサガオ、トマト、ツクバナアサガオに強い病原性を呈するが、メヒジワ、オヒジワ、ヒメジョオン、アレチノギク、クケニグサ、シロツメクサ、ドクダミ、ハハコグサ、ジシバリ、チジミザサ、オオイヌタデ、オナモミ、ヤブガラシ等の雑草には病原性はないようである。研究の結果、本細菌を新種と認め、*Phytomonas Hemmianus* YAMAMOTO と命名する。
(昭和 24 年 6 月)

引 用 文 献

- (1) BERGEY, D.H., BREED, R.S., MURRAY, E.G.D., HITCHENS, A.P.: Bergey's manual of determinative bacteriology. 5th Ed. pp 1032, 1939.
- (2) CLARA, F.M.: A comparative study of the green-fluorescent bacterial plant pathogens. Cornell. Agric. Exp. Sta. Memoir, 159, 1934.
- (3) GARDNER, H. W. & KENDRICK, J. B.: Bacterial spot of tomato and pepper. Phytopath., Vol. 13, p307~315, 1923.
- (4) 石山信一, 向秀夫: 植物病原細菌誌: pp 760, 1941.
- (5) JOHNSON, J.C., SLAGGY, M. & MURWIN, H.F.: Host plants of *Bacterium tabacum*. Phytopath., Vol. 14, p 175~180, 1934.
- (6) OKABE, N.: Bacterial diseases of plants occurring in Formosa II 熱帯農林学会報, Vol. V, No. p 26~36, 1933.
- (7) 山本昌木: テウセンアサガオ葉枯性細菌病 (第 1 報) 衛生試験所彙報 第 66 号 p 63~71, 1948.
- (8) WELLES, C. G. & ROLDAN, E. F.: Another economic host of *Bacterium solanacearum*. Phytopath., Vol. 13, p 488~491, 1923.
- (9) WOLF, F. A. : Additional hosts for *Bacterium solanacearum*. Phytopath., Vol. 12, p 98~99, 1922.

〔追記〕 Bergey's Manual of determinative bacteriology. 第 6 版 1948. では *Phytomonas* なる属は抹殺され、*Pseudomonas* 及び *Xanthomonas* の二属に分けられているが、著者はまだ之を通読する機会を得ない。従つて将来本種の属名に関しては変更されるかも知れない。

BULLETIN
OF
THE NATIONAL HYGIENIC LABORATORY

(NO. 67)
MARCH 1950

DETECTION OF ARTIFICIAL SWEET MATTERS HAVING A
M-NITROANILINE STRUCTURE IN FOODS.

BY KAKUMA NAGASAWA, TERUE FURUYA

SUMMARY

The authors hereby sum up the method of detecting poisonous artificial, synthetic sweet matters such as *p*-nitro-*o*-amino-toluene or *p*-nitro-*o*-ami no-phenetol in foods. The water solution of such sweet matters is reduced by zinc powder on the point of boiling, being thereby coloured red. It is found that this reaction is characteristic of this series of nitro-compounds.

Biological Studies on the Poisonous Wheat Flour (2)

by Sigekatsu HIRAYAMA and Masaki YAMAMOTO

SUMMARY

In the present paper, the results of experimental investigations of the pathogenicity of *Fusaria*, isolated from the poisonous wheat flour and the rest of the wheat grains, to the spikes of wheat for three years, were described.

According to the results of the inoculation experiments, carried out by the writers these fungi possess the power of infecting the seed of wheat in the flowering period. Wheat seeds infected with these fungi show not only symptoms developing as a reddish appearance in accordance with the production of conidia, but also, in most cases, a visible discoloration of the surrounding of the glumes. Among them, F_{12} , F_{13} , GM_3 , GM_4 , F_{11} , seem to have strong pathogenicity. From the inoculated seeds, the writers were able to reisolate the same fungi in pure culture. The writers should like to consider the *Fusaria*, in question, have relation to the scab of wheat.

Abstract

Studies on the Soil and Manure of Medicinal Plants.

(Part I)

by Takeo NAGATA and Hideo OKAZIMA

Chapter I : On the Soil of Tokyo Government Hygienic Laboratory.

Observations of the profile and chemical analysis were made on the soil of Tokyo Government Hygienic Laboratory. The soil is derived from volcanic ash of Mt. Fuji, and belongs to brown earth (so-called Kanto loams).

The upper horizons (A₁, A₂) are rich in clay and humus, and stained dark grey. The lower horizons (B₁~B₃) are loams or sandy loams, and usually of yellowish brown colour. The physical properties are generally good.

The molecular ratios of silica (1.9~2.9) and alkaline bases (0.4~0.1) to alumina are deficient, and the reactions are nearly neutral notwithstanding they are extremely "unsaturated" throughout the profile. 2 or 3% of Al₂O₃ are dissolved in 10% sodium carbonate solution. This Al₂O₃ can practically be regarded as free from silica. Therefore, the weak acidity and almost neutrality of this soil are explained, chiefly as the effect of action of colloidal Al₂O₃ on "unsaturated" colloidal clays.

The absorptive coefficient of P₂O₅ are high (about 2,000), and the nutrients are poor, especially in the available forms of P₂O₅ and N.

Chapter II : Fertilizer Experiments on *Pharbitis Nil*. CHOIS.

Fertilizer experiments of the 3 essential nutrients of *Pharbitis Nil* CHOIS were carried out on this surface soil.

These results are as follows : --

	O	-N	-P	-K	C
	(Ca)	(Ca+P+K)	(Ca+N+K)	(Ca+N+P)	(Ca+N+P+K)
No. of flowers*	15.0	17.0	18.0	87.0	100.0
Yield of seed*	24.4	34.0	54.5	86.6	100.0
Pharbitin %	2.19	2.24	2.44	2.42	2.38
Fat %	13.85	13.99	14.42	14.05	14.01

* indexes when the complete plot is 100.0.

Chapter III : Fertilizer Experiments on *Chenopodium ambrosioides* L. var.
antelminiticum A. GRAY. (worm seed)

These results are as follows ;-

	O	-N.	-P	-K	C
Yield* {total grass	0.3	21.9	0.1	85.9	100.0
{seed	0	29.3	0	103.2	100.0
Ch. oil% {total grass	—	1.65	—	0.93	0.74
{seed	—	4.35	—	2.80	2.33

*indexes when the complete plot is taken as 100.0.

Ch. oil = Oleum Chenopodi.

Abstract

Effect of pH on some Medicinal Plants in Solution Culture.

by Takeo NAGATA and Hideo OKAIZMA

In these experiments, the following results were obtained ;

- (1) *Houttuynia cordata* THUNB (Dokudami), *Coix Lacryma-Jobi* L. var. *frumentacea* MAKINO (Job's tears) and *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminticum* A. GRAY (American worms seed) were grown up successfully in the KASUGAI 's solution (for vegetable crops) by adjusting the reaction. And the optimum pH of these plants were as follows :-

Dokudami	6.5~8.0
Job 's tears	4.0
American warms seed	5.0~6.0

- (2) These plants were broken in growth in proportion to the distances from these optimum pH. And the tolerances of pH on Job's tears were more pronounced than on Dokudami or American worms seed.
- (3) When pH was above 7, the roots of Job's tears and American worms seed were tinged with reddish rust, but in Dokudami were healthy appearance.
- (4) The highest ratio of seed to the total yield of Job's tears or American worms seed was about 1 range higher than the optimum pH of the total yield.
- (5) The harmful effects of pH on the Parts of plant were noticed in the following order - seed, stem, leaf and root.

Studies on the bacterial leaf spot of Jimson Weed (*Datura* spp.)

II, On the taxonomical consideration, MASAKI YAMAMOTO

SUMMARY

For inoculation the suspension of the causal organisms of bacterial leaf spot of Jimson weed were sprayed over the upper surface of the leaves of Jimson weed (*Datura* spp.), tomato, red pepper, egg plant, petunia and various weeds (*Digitaria ciliaris* PERS., *Eleusine indica* GERTN., *Oenothera odorata* JACQ., *Erigeron annuus* L., *E. canadensis* L., *E. linifolius* WILD., *Maclaya cordata* R. BR., *Trifolium repens* L., *Houthuynia cordata* THUMB., *Gnaphalium multiceps* WALL., *Lactuca stolonifera* MAXIM., *Oplismenus undulatifolius* ROEM et S., *Polygonum Blumei* Meism., *Xanthium Strumarium* L. and *Cissus japonica* WILLD). The best results were obtained in *Datura Metel*, *D. meteloides*, *D. inermis*, tomato and petunia, but no pathogenicity was proved to various weeds.

The causal bacteria in question do not coincide with any of the species already recorded. The writer would like to consider the present one as new species *Phytomonas Hemmianus* YAMAMOTO sp. nov.

Postscript: The genus *Phytomonas* is erased and divided into two genera *Pseudomonas* and *Xanthomonas* in Bergey's Manual of determinative bacteriology 6th Ed. 1948., nevertheless the author has not the opportunity to consult it in the present time, so as for the genus name of the present species a change might be undertaken in the near future.

昭和二十五年三月二十日印刷

昭和二十五年三月二十五發行

著 者 國 立 衛 生 試 驗 所

東京都中央區入船町一ノ八

印 刷 者 小 林 光 次

東京都中央區入船町一ノ八

印 刷 所 明 石 印 刷 株 式 會 社