

Vol. 68.

Dec. 1950.

BULLETIN
OF THE NATIONAL



HYGIENIC LABORATORY

Yoga, Setagayaku, Tokyo, Japan.

衛生試験所報告

第六十八號

昭和二十五年十二月

國立衛生試驗所

東京都世田谷区玉川用賀町

衛 試

Bull. Hyg. Lab.

目 次

1. ヘキシルレゾルチン丸の崩壊度試験に対する統計的考察(第1報) 石田行雄, 持田研秀	1
2. ヘキシルレゾルチン丸の崩壊度試験に対する統計的考察(第2報) 石田行雄, 持田研秀	6
3. フォール酸の試験成績 小川俊太郎, 太幡利一, 塚本秀子	9
4. パラアミノ安息香酸(PABA)の比色定量法 小川俊太郎, 塚本秀子	12
5. 澱粉分解酵素の効力検定に関する基礎的研究(第2報)局方バンクレアチン検定法の反応速度論的研究 寺山 宏, 菅山修二	14
6. 局方ヂェスターゼを使用する α -化澱粉の α -化試験法とその試験成績について 寺山 宏, 菅山修二	17
7. 市販インシュリン製剤の試験成績(第2報) 長沢佳熊, 苗村徳次郎, 寺岡葉子, 三橋謙一	20
8. サルバルサン類の生物学的検定(毒力)に対する一考察 横井泰生	24
9. ロダン 醋酸エチルエテルの醤油に対する防黴試験成績報告 平山重勝, 山本昌木	27
10. 大根及沢庵に混入した Salicyl 酸の検出反応並に, 大根に現れる反応の妨害現象に関する知見 鹿間嘉久藏, 大熊誠一	37
11. 注射用硝子容器について 藤井正道, 堀部 隆	48
12. 歯科用合金について 藤井正道, 山内八東, 堀部 隆, 辻 福雄	54
13. 油性食用タール色素のビタミン安定作用について 大岡増二郎, 國東壽夫	57
14. 有機水銀化合物の合成ならびに其殺菌力試験(第5報) 田中 穰	63
15. フェノバルビタールの製造について 板井孝信	75
16. 溶性フェノバルビタールの製造について 板井孝信, 神谷正夫	80
17. 常圧液相接触還元における水素吸収量の決定について 館岡栄一	81
18. 高等植物の殺虫性に関する研究(第1報) 予試験的検索について 山口一孝, 鈴木 猛, 佐々 学, 飯田鈴吉	86
19. 高等植物の殺虫性に関する研究(第2報) 植物殺虫成分一般検索法の設定とこれによる殺虫試験成績 について 山口一孝, 鈴木 猛, 片山顯民, 佐々 学, 飯田鈴吉	88
20. 標準色名による生薬の色名記載 山口一孝, 下村 孟	90
21. 蓼科(Polygonaceae)植物を原料とする蛔虫驅除薬の製造研究(第一報) 市川重春, 小幡利勝, 鈴木繁, 宇田川秀雄,	95
22. Rutinの製造について(第1報) ソバ属(Fagopyrum Gaerten)植物を原料とするRutinの製造 市川重春, 鈴木 繁, 小幡利勝, 宇田川秀雄	104
23. 耳下腺中の血糖降下性物質について 長沢佳熊, 苗村徳次郎, 坂部フミ, 寺岡葉子	113
24. 合成培地における病原性細菌の栄養に関する研究 桑原章吾	120
25. 細菌性発熱物質に関する研究 特に發光学的にみた発熱物質の性状について 青山好作	127
26. アクリジンのスルフォニアミド誘導體(Sulfarivanol)に関する研究 八田貞義, 山口一孝, 青山好作, 丹治園枝, 安部壯平	138
27. 薬用植物の土壤肥科学的調査(第2報) 永田武雄, 岡島秀夫	144
28. <i>Claviceps litoralis</i> KAWATANIによる麦角の寄生的栽培に関する研究(其の2) 川谷豊彦	150
29. 日本に於ける <i>Phellodendron</i> の地理的分布(第1報) 岡部正義, 山縣恂, 高城正勝	161
抄 録	177

Contents.

1. Y. Ishida, K. Mochida : Statistical Review for Disintegration Times Test of Hexylresorcinol Pills (1) ...	1
2. Y. Ishida, K. Mochida : Statistical Review for Disintegration Times Test of Hexylresorcinol Pills (2) ...	6
3. S. Ogawa, T. Tabata and H. Tsukamoto : Assay of Folic Acid Preparation.	9
4. S. Ogawa, H. Tsukamoto : Colorimetric Assay of Para-aminobenzoic Acid.	12
5. H. Terayama, S. Sugayama : Studies on the Estimation of Amylase (2). Kinetic Studies on Pancreatic Amylase Estimation Prescribed in Japanese Pharmacopocia.	14
6. H. Terayama, S. Sugayama : On the Assay Method of α -Corn Powder Using Diastase (Jap. P.) and its Results.	17
7. K. Nagasawa, T. Naemura, Y. Teraoka and K. Mitsuhashi : The Test Result of Commercial Insulin Preparation in Japan.	20
8. Y. Yokoi : On the Toxicity Test of Arsphenamine and Neo-Arsphenamine.	24
9. S. Hirayama, M. Yamamoto : Experiments of Preservative Effect of Rhodanacetic Acid Ethylester on Soy Sauce.	27
10. K. Shikama, S. Ohkuma : Detective Reactions of Salicylic Acid mixed in the Garden Radish (Root of <i>Raphanus Satives L.</i>) and the Takuan (Pickled Radish), and on the Phenomena which Disturb those Reactions in the Garden Radish.	37
11. M. Fujii, T. Horibe : Research on the Glass Container for Injection.	48
12. M. Fujii, Y. Yamanouchi, T. Horibe and K. Tsuji : Research on Dental Alloys.	54
13. M. Ooka, T. Kunito : Stability of Vitamin A in Fish Liver Oil in Presence of Fat Soluble Coal-tar Dyes.	57
14. Y. Tanaka : Studies on the Synthesization of the Organic Mercury Compounds and Their Bactericidal Power (5).	63
15. T. Itai : On the Manufacturing of Phenobarbital.	75
16. T. Itai, M. Kamiya : On the Preparation of Soluble Phenobarbital.	80
17. E. Tateoka : On the Determination of Volume of Absorbed Hydrogen under the Catalytic Reduction in Liquid Phase at Normal Pressure.	81
18. K. Yamaguchi, T. Suzuki, M. Sasa and S. Iida : Studies on the Insecticidal Action of Japanese Plants (1). Screening Test for Insecticidal Plants.	86
19. K. Yamaguchi, T. Suzuki, A. Katayama, M. Sasa and S. Iida : Studies on the Insecticidal Action of Japanese Plants (2). A General Method of Detecting Effective Fraction and its Application to 24 Species of Insecticidal Plants.	88
20. K. Yamaguchi, T. Shimomura : Standard Color Names and Color Description of Vegetable Drugs.	90
21. S. Ichikawa, S. Suzuki, T. Obata and H. Udagawa : Research in the Preparation of Roundworm Vermicides from the Plants belonging to the Fam. Polyganaceae (1). Preparation of Roundworm Vermicides from the Plants belonging to the Genus <i>Fagopyrum</i>	95
22. S. Ichikawa, S. Suzuki, T. Obata and H. Udagawa : Preparation of Rutin from the Plants belonging to the Genus <i>Fagopyrum</i>	104
23. K. Nagasawa, T. Naemura, F. Sakabe and Y. Teraoka : The Blood Sugar Lowering Substance in the Parotid Gland.	113
24. S. Kuwahara : Studies on the Nutritional Requirements of Some Species of Pathogenic Microorganisms.	120
25. K. Aoyama : Studies on the Bacterial Pyrogenic Substances. Specially on their Nature from the Viewpoint of Fluorescens Reaction.	127
26. S. Hatta, K. Yamaguchi, K. Aoyama, S. Tanji and S. Abe : Experimental Studies on the Anti-bacterial Action of Sulfarivanol, a New Sulfonamide Derivative of Acridine.	138
27. T. Nagata, H. Okajima : Studies on the Soil and Manure of Medicinal Plants (2).	144
28. T. Kawatani : Studies on the Parasitic Cultivation of Ergot with <i>Claviceps litoralis</i> KAWATANI (2) ...	150
29. M. Okabe, M. Yamagata and M. Taki : The Geographical Distribution of <i>Phellodendron</i>	161
Abstracts.	177

ヘキシルレゾルチン丸の崩壊度試験に対する統計的考察

〔第 1 報〕

石田 行雄 持田 研秀

Statistical Review for Disintegration Times Test of Hexylresorcinol Pills (1)

Yukio ISHIDA and Kenshū MOCHIDA

ヘキシルレゾルチン丸(以下「H」丸と云う)の試験法中崩壊度試験は大切な試験法となつているが此の試験法に対して幾分の疑問を生じたので次の様な考察を行つて見た。其の前に一応試験法を述べて見ると『内容 200 cc ビーカーに人工胃液 100 cc を入れ 37° の恒温槽中に置き液温が 37° に達したとき検体 5 個を投じ試験が完了するまで恒温を保ち丸皮の剝離又は開孔し始める迄の平均所要時間は 20 分以上 30 分以内でなければならない完全崩壊までの平均所要時間は 60 分以上 150 分以内でなければならない』。今この剝離又は開孔し始める迄の平均所要時間が 20 分以上 30 分以内でそれ以外は不適格となるのである。平均と云ふ概念は簡單ではなく、例へば 9, 10, 11 の平均も 1, 10, 19 の平均も共に 10 で平均値としては同値である。「H」丸の平均所要時間を 20 分以上 30 分以内と定めたのも早く崩壊すると胃の粘膜を刺戟して悪い影響があると云ふ意味であるから、幾ら平均所要時間が規格の内にあつてもその中の一個でも特別早く崩壊するものがあれば意味がなく、平均値のみの試験では充分とは云えない。

実例として A, B, C 製品の 5 個の「H」丸の崩壊度及び平均値を比較検討して見る。

A 製品	18, 23, 23, 25, 25	平均 22.8	合格
B 製品	12, 17, 26, 29, 30	平均 22.8	合格
C 製品	17, 17, 18, 22, 25	平均 19.8	不合格 (単位分)

上の三者を見ると A と B は合格品、C は不合格品となつているが C が果して B より悪い製品であるとは思われない。即ち B は平均 22.8 分で其の意味では合格であるが 12 分と云う早く崩壊するものがあるのである。故に平均値のみを以て判定するのはよい事ではない。

〔I〕私達は此処で標準偏差及び変異係数の概念を入れて見た。此れも未だ完全ではないが、古典統計学として一応完成されたものである。現在は推計学を用いる方法があるが此れは「第2報」で述べる。

標準偏差 Standard Deviation とは変量 x の平均値 \bar{x} からの偏差 x' を $x' = x - \bar{x}_0$ で表はすと平均値の周りの標準偏差 σ は

$$\sigma^2 = \frac{1}{N} \sum f_i (x_i - \bar{x})^2 \quad \text{又は} \quad \sigma = \pm \sqrt{\frac{1}{N} \sum f_i (x_i - \bar{x})^2}$$

で表わされる。又平均に対する標準偏差の相対的な値

$$V = \frac{|\sigma|}{\bar{x}}$$

のことを変異係数 Coefficient of variation と云う。

例 B 製品:—

崩壊度 12, 17, 26, 29, 30 平均値 22.8

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{(12-22.8)^2 + (17-22.8)^2 + (26-22.8)^2 + (29-22.8)^2 + (30-22.8)^2}{5}} = \pm 7.1$$

$$V = \frac{|\sigma|}{\bar{x}} = \frac{7.1}{22.8} = 0.31$$

C 製品:—

崩壊度 17, 17, 18, 22, 25 平均値 19.8

$$\sigma = \pm 3.2 \quad V = \frac{|\sigma|}{\bar{x}} = \frac{3.2}{19.8} = 0.16$$

私達は合格品 51 製品及び不合格品 11 製品の崩壊度から各々の標準偏差と変異係数を求めた。此處で仮りに変異係数 V が 0.25 以上のものを不合格とすると今迄の合格品も相当不合格となる事がわかる。(別表 1 及び別表 2 参照)。

第 1 表 ヘキシルレゾルチン丸 5 個の検定実例 ・ 合格品 51 例

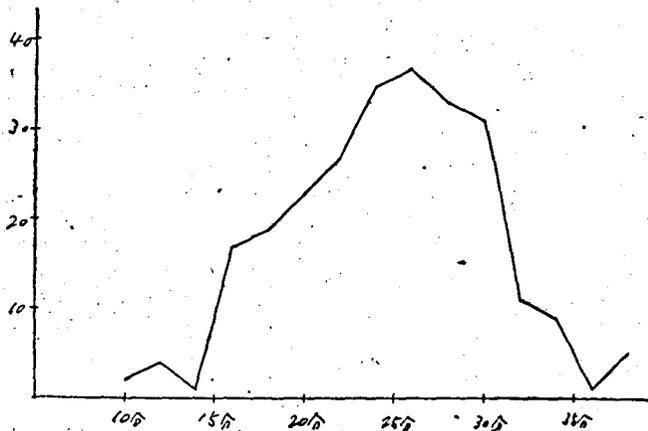
検 体 番 号	ヘキシルレゾルチン丸 5 個の崩 壊度 (単位分)					平 均 値 \bar{x}	標 準 偏 差 $ \sigma $	変 異 係 数 V	従 来 の 判 定	$V \geq 0.25$ を不 合格とする場合
(1)	16	23	29	30	32	26.0	5.8	0.22	合 格	合 格
(2)	15	20	22	25	25	21.4	3.7	0.17	合 格	合 格
(3)	15	25	30	30	31	26.2	6.0	0.23	合 格	合 格
(4)	9	12	17	28	38	20.8	10.8	0.52	合 格	不 合 格
(5)	11	15	15	31	37	21.8	10.2	0.47	合 格	不 合 格
(6)	25	27	28	30	31	28.2	2.1	0.07	合 格	合 格
(7)	25	28	29	33	33	29.6	3.1	0.10	合 格	合 格
(8)	15	22	22	28	30	23.4	5.3	0.23	合 格	合 格
(9)	12	15	24	28	30	21.8	7.1	0.33	合 格	不 合 格
(10)	17	20	22	23	26	21.6	3.0	0.14	合 格	合 格
(11)	23	27	29	29	37	29.0	3.1	0.16	合 格	合 格
(12)	25	28	30	33	33	29.8	3.1	0.10	合 格	合 格
(13)	18	25	25	26	29	24.6	3.6	0.15	合 格	合 格
(14)	23	24	26	30	33	27.2	5.0	0.18	合 格	合 格
(15)	20	21	24	28	29	24.4	3.9	0.16	合 格	合 格
(16)	22	23	27	28	31	26.2	3.3	0.13	合 格	合 格
(17)	19	19	19	21	24	20.4	1.9	0.09	合 格	合 格
(18)	18	30	31	32	32	28.6	5.8	0.20	合 格	合 格
(19)	16	19	25	30	33	24.6	6.4	0.26	合 格	不 合 格
(20)	20	26	29	29	33	27.4	4.3	0.16	合 格	合 格
(21)	18	22	26	29	31	25.2	4.7	0.19	合 格	合 格
(22)	10	25	27	28	28	23.6	6.9	0.29	合 格	不 合 格
(23)	19	20	21	21	28	21.8	3.2	0.15	合 格	合 格
(24)	19	23	28	28	29	25.4	3.8	0.15	合 格	合 格
(25)	16	23	24	28	29	24.0	4.6	0.19	合 格	合 格
(26)	21	22	24	24	28	23.8	2.4	0.10	合 格	合 格
(27)	24	25	26	26	29	26.0	1.7	0.07	合 格	合 格
(28)	15	20	21	23	28	21.4	4.2	0.20	合 格	合 格
(29)	22	23	23	25	28	24.2	2.2	0.08	合 格	合 格
(30)	15	20	21	24	25	21.0	4.4	0.21	合 格	合 格
(31)	16	18	19	24	28	21.0	4.4	0.21	合 格	合 格
(32)	18	21	23	25	29	23.2	3.7	0.16	合 格	合 格
(33)	17	22	24	25	26	22.8	3.2	0.14	合 格	合 格
(34)	15	18	24	29	31	23.4	6.1	0.26	合 格	不 合 格
(35)	15	23	27	29	34	25.6	6.4	0.25	合 格	不 合 格
(36)	18	22	26	28	29	24.6	4.0	0.16	合 格	合 格
(37)	16	18	23	25	28	22.0	4.2	0.19	合 格	合 格
(38)	14	22	22	23	27	21.6	3.7	0.17	合 格	合 格
(39)	18	19	20	21	23	20.2	1.7	0.08	合 格	合 格

検体番号	ヘキシルレゾルチン丸5個の崩壊度 (単位分)					平均値 \bar{x}	標準偏差 $ \sigma $	変異係数 V	従来の判定	$V \geq 0.25$ を不合格とした場合
(40)	20	21	25	26	28	24.0	3.0	0.13	合格	合格
(41)	12	17	26	29	30	22.8	7.1	0.31	合格	合格
(42)	18	23	23	25	25	22.8	2.2	0.10	合格	合格
(43)	20	24	24	27	33	25.6	4.3	0.17	合格	合格
(44)	20	20	25	29	32	25.2	4.8	0.19	合格	合格
(45)	19	22	27	37	37	28.4	7.5	0.26	合格	合格
(46)	16	18	19	24	28	21.0	4.4	0.21	合格	合格
(47)	18	21	23	25	29	23.2	2.4	0.10	合格	合格
(48)	17	22	24	25	26	22.8	3.2	0.14	合格	合格
(49)	20	21	25	28	35	25.8	5.4	0.21	合格	合格
(50)	18	22	26	28	29	24.6	4.0	0.16	合格	合格
(51)	16	18	23	25	28	22.0	4.4	0.20	合格	合格

第 2 表 ヘキシルレゾルチン丸5個の検定実例………不合格品11例

検体番号	ヘキシルレゾルチン丸5個の崩壊度 (単位分)					平均値 \bar{x}	標準偏差 $ \sigma $	変異係数 V
(1)	15	15	15	17	17	15.8	1.0	0.06
(2)	13	15	16	18	22	16.8	3.1	0.18
(3)	17	17	18	22	25	19.8	3.2	0.16
(4)	17	18	19	19	24	19.4	2.4	0.12
(5)	14	17	17	21	24	18.6	3.5	0.19
(6)	12	12	13	15	21	14.6	3.4	0.23
(7)	13	19	20	22	25	19.8	4.0	0.20
(8)	13	17	18	20	21	17.8	2.8	0.16
(9)	13	15	15	19	19	16.2	2.4	0.15
(10)	14	18	19	19	21	18.2	2.3	0.13
(11)	13	16	16	20	27	18.4	4.8	0.26

[II] 次に上例の合格品 51 例の全個数 (5×51=255 個) に就いて崩壊度の平均値と標準偏差を求めグラフを書いて見ると別表 3 及び第 1 図の如くなる。



第 1 図 平均値=24.7(分) 標準偏差 $\sigma = \pm 5.58$ (分)

第 3 表 51 製品 (5×51=255 個) の平均値と標準偏差

級 間	級間の中央値 \bar{x}	度 数 f	$x' = \frac{x-26}{2}$	fx'	fx'^2	$f(x'+1)^2$	fx'^3	fx'^4
9-11 分	10	2	-8	-16	128	98	-1024	8172
11-13 分	12	4	-7	-28	196	144	-1372	9604
13-15 分	14	1	-6	-6	36	25	-216	1276
15-17 分	16	17	-5	-85	425	272	-2125	10625
17-19 分	18	19	-4	-76	304	171	-1216	4864
19-21 分	20	23	-3	-69	207	92	-621	1863
21-23 分	22	27	-2	-54	108	27	-216	432
23-25 分	24	35	-1	-35	35	0	-35	35
25-27 分	26	37	0	0	0	37	0	0
27-29 分	28	33	1	33	33	132	33	33
29-31 分	30	31	2	62	124	279	248	496
31-33 分	32	11	3	33	99	176	297	891
33-35 分	34	9	4	36	144	225	576	2304
35-37 分	36	1	5	5	25	36	125	625
27-39 分	38	5	6	30	180	245	1080	6480
		255		-170	2044	1959	-4466	47740

別表 3 より歪度と尖度を求めて見ると、

今平均 \bar{x} の k 次のモーメント μ_k は次式で表はされる。

$$\mu_k = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N f_i (x_i - \bar{x})^k$$

然るとき歪度 $\alpha_3 = \frac{\mu_3}{\sigma^3}$, 尖度 $\alpha_4 = \frac{\mu_4}{\sigma^4}$ で表される。

又変量 x について x_0 の周りの k 次のモーメント V'_k で表せば

$$V'_k = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N f_i \left(\frac{x_i - x_0}{c} \right)^k \quad \text{但し } c \text{ は係数}$$

表中 $x_0=26, c=2$ であるから、

$$\left. \begin{aligned} V'_1 &= \frac{-170}{255} = -0.67 & V'_2 &= \frac{2044}{255} = 8.15 \\ V'_3 &= \frac{-4466}{255} = -17.51 & V'_4 &= \frac{47740}{255} = 187.21 \end{aligned} \right\} \dots\dots\dots (1)$$

μ_k と V'_k の関係は

$$\mu_3 = c^3 (V'_3 - 3V'_1 V'_2 + 2V_1'^3) \dots\dots\dots (2)$$

$$\mu_4 = c^4 (V'_4 - 4V'_1 V'_3 + 6V_1'^2 V_2' - 3V_1'^4) \dots\dots\dots (3)$$

(2) に (1) を代入すると、

$$\mu_3 = 2^3 [-17.51 - 3 \times (-0.67) \times 8.15 + 2(-0.67)^3] = -13.84$$

$$\alpha_3 = \frac{\mu_3}{\sigma^3} = -0.087 \approx -0.09$$

$$\mu_4 = 3144.93$$

$$\alpha_4 = \frac{\mu_4}{\sigma^4} = 3.26$$

α_3 ; $\alpha_3 > 0$ なるとき、左に偏している。 $\alpha_3 = 0$ なるとき左右対称。

$\alpha_3 < 0$ なるとき、右に偏している。

α_4 ; $\alpha_4 = 3$ を基準にして $\alpha_4 < 3$ なる場合に扁平 (platykurtic, broad)。

$\alpha_4 > 3$ なる場合扁鋭 (leptokurtic, narrow) であるという。

故に51例の「H」丸の崩壊度の分布表は $\alpha_3 = -0.09$ であるから正規分布に比し少し右に偏して、 $\alpha_4 = 3.26 > 3$ であるからやや偏長である。

結 論

以上により検定に際して平均値のみを持つて崩壊度を検定することは非常に危険であることが判る。今私達はは標準偏差及び変異係数を求めて或程度修正をした訳であるがこれのみでは充分でなく、「第2報」に述べる如く推計学を用いて母集団平均値の推定範囲を定めた方がよいと思う。けれども標準偏差及び変異係数を求めて見ると、丸皮の厚さ及び強度に対する知識が概括的に得られると思ふもし丸皮の厚さを測定したのと相比べて見ると、面白いと思う。此等の相関係も出来ればやりたいと思つている。製剤をする人達にとつて此等の値が少くなる様にするならば丸薬もよりよくなるであらう。

最後に統計学的な事に関し種々御指導戴いた植物園長平山先生に深く感謝の意を表し、此の資料を與へて下さつた北島、遠藤両技官又伊賀助手に感謝致します。

Statistical Review for Disintegration Times Test of Hexylresorcinol Pills (1)

(Yukio ISHIDA and Kenshū MOCHIDA)

Up to the present, disintegration times test of Hexylresorcinol Pills have so far been determined only by mean value. However, it has been found out that it is unsatisfactory to determine the result of such test only by the calculation of mean value after obtaining the standard deviation and coefficient of variation.

ヘキシルレゾルチン丸の崩壊度試験法に對する統計的考察

「第 2 報」

石田 行雄 持田 研秀

Statistical Review for Disintegration Times Test of Hexylresorcinol Pills (2)

Yukio ISHIDA and Kenshū Mochida

従來のヘキシルレゾルチン丸（以下「H」丸と云う）の檢定に於いては一つの製品から5個の「H」丸を取り出して檢定し、其の結果を以つて製品全体の崩壊度として判定している。此處で製品全体を母集団と云いその平均値及び標準偏差を母平均 m 、母標準偏差 σ とする。又取出した5個の檢体を標本と云い、標本の平均値及び標準偏差を標本平均値 \bar{x} 、標本標準偏差 s とする此の標本標準偏差の進歩した方法として近年使われているものは不偏分散（分散不偏推定量） u^2 である。一つの母集団から得られる標本平均値は取り出すごとに値が異なる訳で唯1回の値を以つて製品を判定することは非常に危険である。私達はそこで小標本理論を用いて1回の標本平均値から母集団である製品全体の母平均の信頼限界を求めて見た。其の結果信頼限界が15分から35分以外に出るものを一応不合格と定めて判定した。

母集団の平均値 m と標準偏差 σ は私達が知ることが出来ない。私達が知り得るのはいつも標本であつて標本平均値 \bar{x} 、標本標準偏差 s 及び分散不偏推定量 u^2 である。これ等は変量で次の様に現わされる。

$$\bar{x} = (x_1 + x_2 + \dots + x_N) / N = \sum_{i=1}^N x_i / N$$

$$s^2 = \left\{ (x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + \dots + (x_N - \bar{x})^2 \right\} / N = \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2 / N$$

$$u^2 = \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2 / (N - 1)$$

小標本理論により母集団の平均値 m が分らない場合に標本平均値 \bar{x} から m の存在範囲を適当な危険率 α の下に定めることが出来る。即ち信頼度 $1 - \alpha$ と自由度 $n_1 = 1$ 、 $n_2 = N - 1$ とから R. A. Fisher の F 分布表から F を定めると次式が利用出来る。

$$Pr\{\bar{x} + u\sqrt{F/N} \geq m \geq \bar{x} - u\sqrt{F/N}\} = 1 - \alpha \quad (1)$$

今危険率 α を 5% とすると母平均 m の信頼限界を $1 - \alpha = 0.95$ の信頼度で推定する。

【例】「第1報」の文中の例題を用いると、

A 製品	18, 23, 23, 25, 25	$\bar{x} = 22.8$	$u = 2.9$	従來の檢定に於いて合格
B 製品	12, 17, 26, 29, 30	$\bar{x} = 22.8$	$u = 7.9$	従來の檢定に於いて合格
C 製品	17, 17, 18, 22, 25	$\bar{x} = 19.8$	$u = 3.6$	従來の檢定に於いて不合格

$n_1 = 1$ 、 $n_2 = 5 - 1 = 4$ に対し $\alpha = 0.05$ の F は F -分布表から 7.71 であるから、

(1)式を用いて、

$$7.71 = F \geq N(\bar{x} - m)^2 / u^2 = 5(\bar{x} - m)^2 / u^2$$

$$\therefore \left(\sqrt{\frac{7.71}{5}} \right)^2 \geq (\bar{x} - m)^2$$

$$(1.24u)^2 \geq (\bar{x} - m)^2 \quad (2)$$

A 製品	$\bar{x} = 22.8$	$u = 2.9$	(2)式を用いて $(1.24 \times 2.9)^2 \geq (22.8 - m)^2$	$\therefore 19.2 \leq m \leq 26.4$
B 製品	$\bar{x} = 22.8$	$u = 7.9$	(2)式を用いて	$13 \leq m \leq 32.6$
C 製品	$\bar{x} = 19.8$	$u = 3.6$	(2)式を用いて	$15 \leq m \leq 24.3$

となり B 製品は平均値の信頼限界が廣くむしろ C 製品の方が B 製品より良品と思われる。

今従來の檢定法による合格品 20 例と不合格 5 例を掲げて批判し検討して見た。(別表参照) これによると従來の檢

定法によると、合格品であつても安心にならないことがよくわかる。又前報にのべた変異係数による方法も未だ完全ではなく、平均値の高いものには酷すぎて(例、別表中番号 5, 6 製品参照) 平均値の低いものには安すぎる(例別表中番号 18 の製品参照) 感がある。

合格品 20 例

別 表

番号	5個の「H」丸の各崩壊度(単位分)					平均値 \bar{x}	従来の ¹⁾ 検査による判定	標準偏差 s	変異係数 V	変異係 ²⁾ 数による判定	不偏推定量 u	母集団平均値の推定範囲	左項に ³⁾ よる判定
1	25	28	30	33	33	29.8	合格	3.1	0.10	合格	3.4	$25.6 \leq m \leq 34.0$	合格
2	18	22	27	37	37	28.2	合格	7.7	0.27	不合格	8.6	$17.5 \leq m \leq 38.9$	不合格
3	20	26	29	29	33	27.4	合格	4.3	0.16	合格	4.8	$21.5 \leq m \leq 33.4$	合格
4	15	25	30	30	31	26.2	合格	6.0	0.23	合格	6.7	$17.9 \leq m \leq 34.5$	合格
5	15	23	27	29	34	25.6	合格	6.4	0.25	不合格	7.1	$16.8 \leq m \leq 34.4$	合格
6	16	19	25	30	33	24.6	合格	6.4	0.26	不合格	7.2	$15.7 \leq m \leq 33.5$	合格
7	18	22	26	28	29	24.6	合格	4.1	0.17	合格	4.6	$18.9 \leq m \leq 30.3$	合格
8	10	25	27	28	28	23.6	合格	6.9	0.29	不合格	7.7	$14.1 \leq m \leq 33.1$	不合格
9	15	22	22	28	30	23.4	合格	5.3	0.23	合格	5.8	$16.2 \leq m \leq 30.6$	合格
10	15	18	24	29	31	23.4	合格	6.2	0.26	不合格	6.9	$14.8 \leq m \leq 32.0$	不合格
11	17	22	24	25	26	22.8	合格	3.2	0.14	合格	3.6	$18.3 \leq m \leq 27.3$	合格
12	12	17	26	29	39	22.8	合格	7.1	0.31	不合格	7.9	$13.0 \leq m \leq 32.6$	不合格
13	16	18	23	25	28	22.0	合格	4.4	0.20	合格	4.9	$15.9 \leq m \leq 28.1$	合格
14	11	15	15	31	37	21.8	合格	10.2	0.47	不合格	11.5	$7.5 \leq m \leq 36.1$	不合格
15	12	15	24	28	30	21.8	合格	7.1	0.33	不合格	7.9	$12.0 \leq m \leq 31.6$	不合格
16	14	22	22	23	27	21.6	合格	4.2	0.19	合格	4.7	$15.8 \leq m \leq 27.4$	合格
17	15	20	21	24	25	21.0	合格	3.5	0.17	合格	3.9	$16.2 \leq m \leq 25.8$	合格
18	16	18	19	24	28	21.0	合格	4.4	0.21	合格	4.9	$14.9 \leq m \leq 27.1$	不合格
19	9	12	17	28	38	20.8	合格	10.8	0.52	不合格	12.0	$5.9 \leq m \leq 35.7$	不合格
20	18	19	20	21	23	20.2	合格	1.7	0.08	合格	1.9	$17.8 \leq m \leq 22.6$	合格

従来の検定に於いて不合格であつたもの。

番号	5個の「H」丸の各崩壊度(単位分)					平均値 \bar{x}	従来の ¹⁾ 検査による判定	標準偏差 s	変異係数 V	変異係 ²⁾ 数による判定	不偏推定量 u	母集団平均値の推定範囲	左項に ³⁾ よる判定
1	17	17	18	22	25	19.8	不合格	3.2	0.16	不合格	3.6	$15.3 \leq m \leq 24.3$	合格
2	17	18	19	19	24	19.4	不合格	2.4	0.12	不合格	2.7	$16.1 \leq m \leq 22.7$	合格
3	14	17	17	21	24	18.6	不合格	3.5	0.19	不合格	3.8	$13.9 \leq m \leq 23.3$	不合格
4	13	16	16	20	27	18.4	不合格	4.8	0.26	不合格	5.4	$11.7 \leq m \leq 25.1$	不合格
5	12	14	16	19	21	16.4	不合格	3.3	0.20	不合格	3.6	$11.9 \leq m \leq 20.9$	不合格

- 1) 平均値 \bar{x} が 20 分以下及び 30 分以上のもの不合格。
- 2) 平均値 \bar{x} が 20 分以上及び 30 分以下のものでも変異係数 V が 0.25 以上のものは不合格。
- 3) 母集団平均値の推定範囲が 15 分以下或いは 35 分以上のものは不合格。

結 論

推計学的方法によつて母集団平均値の推定範囲を決定する方法を用いた。理論的に云つても検体の平均値を以つて製品の合格、不合格を決定することよりも検体の平均値から母集団である製品の平均値を推定する方がより合理的である。これにより、今迄「H」丸の胃腸崩の一部でも除去されれば幸いです。

最後に推計学に就いて指導下され又校閲下さつた平山重勝先生に感謝致します。

参 考 文 献

佐藤良一郎；数理統計学

小松勇作；生物統計学

増山元三郎；小教例の概め方と実験計画の立て方

Statistical Review for Disintegration Times Test of Hexylresercinol Pills (2)

(Yukio ISHIDA and Kenshū MOCHIDA)

As it is still unsatisfactory even by the above mentioned procedure, we have studied another calculation method which is done by determining the estimation limits for the population mean value with the application of stochastics.

フオール酸の試験成績

小川俊太郎 太幡利一 塚本秀子

Assay of Folic Acid Preparation

Shuntaro OGAWA, Toshikazu TABATA and Hideko TSUKAMOTO

フオール酸及び製剤の一般試験法は N. N. R. (1948)⁽¹⁾ 中に掲載されているが、其中心を成す純度検定はプラットン・マーシャル試薬を用いるグルタミル・安息香酸の比色法によつて行つている。^{(2)~(4)} 我々は今回入手した邦産フオール酸(試製品)2種について上記の一般試験及び別報津田試薬による比色的純度検定並びに分光分析的な試験を行つたので其結果を報告する。

試 験 ・ 法

1. 乾燥減量 試料 0.1 g を遮光した無水燐酸真空乾燥器内で 120 時間乾かす。
2. 灰分 試料 0.2 g を文火上で灰化後硫酸を加えて徹底的に灰化する。
3. 重金属 灰分に塩酸 2~3 滴を加え水浴上で乾涸後 2% HCl 20 cc で抽出し、濾過後水を追加して 25 cc とし硫化水素水 10 cc を添加し暗所に 10 分間放置後の呈色を鉛標準液と比べる (U. S. P. に準じて行ふ)。
4. 純度試験 (N. N. R. に準じ之に我々の改変を加えた) 試料 0.1 g をとり、N/10 NaOH に溶解して全量を 100 cc とし、その 1 cc に水 80 cc, 5 N-HCl 10 cc, 0.5% ゼラチン液 1 cc を加え更に水を加えて全量を 100 cc とする。液の 10 cc を分けその内 2~5 cc (フオール酸 20~50 μ , PABA の 4~10 μ に該当) につき別報 PABA の比色定量法に準じ呈色を行い(純粋であればここでは呈色しない)その E を測る (B とする)、一方残液 (約 90 cc) は 200 cc 位のメスフラスコに移し亜鉛末 0.5 g を加えて 10 分間時々振り乍ら還元分解後遠心又は濾過により透明な上清を得。この 2~5 cc (フオール酸 20~50 μ , PABA の 4~10 μ に該当) を前記と同様呈色せしめその E を A とする。次に $E' = (A - B)$ を算出し別報 PABA の比色定量法中の(1)式の E に代入し呈色液 10 cc 中の PABA の当量 (μ 数) を出し、之に 3.22 を乗じて呈色液 10 cc 中のフオール酸量とする。

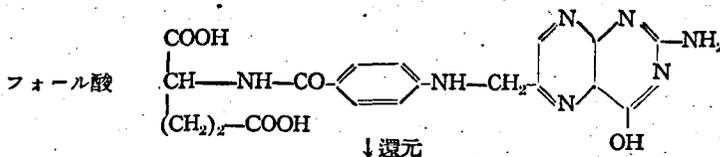
試 験 成 績

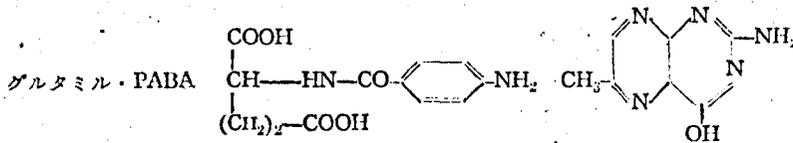
	試料 No. 1	試料 No. 2	N.N.R. の制限量
乾燥減量	5.3%	7.6%	10%
灰分	<0.5%	0.65%	0.5%
重金属	<50 p.p.m.	<50 p.p.m.	50 p.p.m.
比色法による純度(無水物より換算)	91.3%	96%	90%

試験成績に対する検討

乾燥減量は両試料共大体 96 時間目 (毎 24 時間目に測つたため) 頃より一定している。従つて N. N. R. の指示するよう (120 時間) 相当長時間の放置が必要と思ふ。又、星野 (1949) は嘗て本結晶が 2 モルの結晶水を有し 140° で 3 時間乾燥した際 9.4% (理論値は 2 モルの結晶水のみでも 7.4%) の減量を認めたというが我々の No. 1 による成績から見ると結晶水の存否は疑問と思ふ。

比色による純度試験に際しての B に該当する数値は殆んど 0 であつた。試料を酸性で還元すると次式の如くグルタミル・PABA が生ずる





従つて試料の呈色は PABA でなくグルタミル・PABA による呈色であるが、スペッカ光度計により両者の呈色の吸収スペクトルを比較したところ λ_{max} が相互に 10 $m\mu$ ズレている程度である。勿論呈色に至る迄の條件も違ふから当然でもあろうが肉眼を用いる光度計で S_{55} 濾光板を用いれば差支えない程度の差である。(第1図, 試料No.2)

フオール酸の吸収スペクトル

フオール酸を水酸化ナトリウム水溶液としたときの吸収スペクトルに関しては Stockstad (1948)⁽⁵⁾⁽⁶⁾ が天然及合成ラセミ *Lactobacillus casei* factor に就て発表している。我々はスペクトル分析によつて本品の純度を計りたいと考へ本実験を行つてみた。即ち試料を N/10NaOH にとかし、測定時の E が 1.0 に成るよう約 0.0025 % の濃度にし、スペッカ光度計、 $l=1$ cm で吸収スペクトルを撮影した。其結果を Stockstad の成績を比べたのが第1及2表で、試料の吸収曲線の一例が第2図である。

図及表に明かな如く邦産試料の λ_{max} の位置は殆んど文献値に一致し、Extinction Ratio はラセミ体にやや似ているが $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 値は可成り低い。桑田(1949)⁽⁷⁾、Stockstad(1948)⁽⁵⁾⁽⁶⁾によると 252, 255, 262, 365 $m\mu$ の吸収はプテリジン・6 カルボン酸或いは脱炭酸後生ずるプテリジン化合物等夾雑物質に由来することもありフオール酸に特有な λ_{max} は天然品の 282 $m\mu$ 、ラセミ体の 285~286 $m\mu$ であるという。今 286 $m\mu$ の $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 値より試料の純度を算出すると(勿論 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ と濃度の間にランベール・ベールの方則が成立するとして) 何れも約 78 % と成り比色法に比べ相当低い値を興えた。この結果は試料中に吸収スペクトルには余り影響せぬが、還元後 PABA 或いはグルタミル・PABA と同様の呈色を興えるような夾雑成分があるのではないかと想像させるが、我々はこういう検討を行う便を持たないので触れないこととし、結論として文献の $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 値を正しいと仮定するならば試料純度はまだ不足であること、又比色法と本法との食い違ひは今後微生物法を中心として解決すべきことを挙げるに止めたい。

結 語

フオール酸の試験法を検討し、邦産試製品に適用した成績を報告した。又分光学的にフオール酸の定量法を検討した。

本調査に当り試料を提供された武田薬工及塩野義製薬両会社に其御厚志を謝したい。本費用の一部は文部省科学研究費に仰ぎ、其結果の一部は日本學術会議ビタミンB研究特別委員会(昭和24年11月)の席上発表した。

(昭和24年12月)

第1表 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 値の表

試料名 波長	No. 1 No. 2		天 然 L. casei 因 子	合 成 ラセミ L. casei 因子
	257 $m\mu$	410	420	565 (255 $m\mu$)
285 $m\mu$	410	410	350 (282 $m\mu$)	575
365 $m\mu$	200	124	195	207

第2表 Extinction Ratio 表

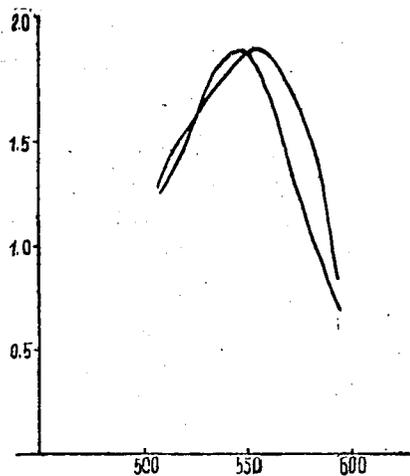
試料名 波長	No. 1 No. 2		天 然 L. casei 因 子	合 成 ラセミ L. casei 因子
	257 $m\mu$	99	102	161
285 $m\mu$	100	100	100	100
365 $m\mu$	48	30	56	36

文 献

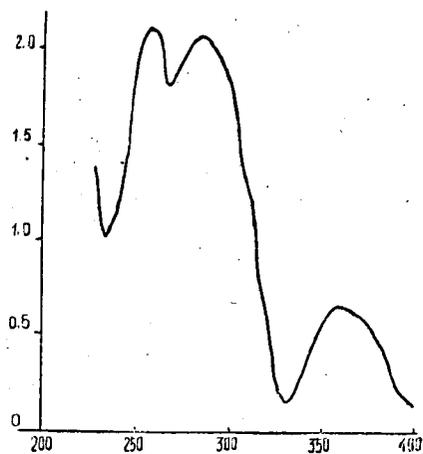
- 1) New and Nonofficial Remedies (1948).
- 2) E. L. R. Stockstad ; J. Biol. Chem., 168, 705 (1947)
- 3) L. M. Wolf ; Arch. Biochem., 21, 241 (1949)

- 4) 二宮; ビタミン B 研究特別委員会報告, 33 号 (1949)
- 5) E. L. R. Stockstad; J. Am. Chem. Soc., 70, 1 (1948)
- 6) *ibid.*, 70, 5 (1948)
- 7) 桑田; ビタミン B 研究特別委員会報告, 31 号 (1949)

第 1 図

PABA 当量 50 γ /10 cc, 4 cm.

第 2 図



N/10 NaOH, 1 mg/40cc, 2 cm.

Assay of Folic Acid Preparation.

(Shuntaro OGAWA, Toshikazu TABATA and Hideko TSUKAMOTO.)

Two commercial Folic Acid preparations were assayed of its purity by colorimetric method using Tsuda's reagent (See, report on the colorimetric assay of PABA in this issue), and also tested of other qualities according to the method of N.N.R.(1948) of American Medical Association.

As the result of the test, the loss on drying, the ash (residue on ignition), the heavy metals and colorimetric purity fell within the limits of N.N.R. Nevertheless, the ultraviolet absorption curves of the specimens, differed to some extent, from those of natural or synthetic *Lactobacillus casei* factor, which was previously reported by Stockstad et al, and purity may decrease considerably if spectrophotometric data were accepted as valid. Discrepancy may be discussed on further studies.

By reductive hydrolysis, Folic acid yields Glutamyl-para-aminobenzoic acid which can be assayed colorimetrically comparing with pure PABA by Tsuda's reagent.

パラアミノ・安息香酸 (PABA) の比色定量法

小川 俊太郎 塚本 秀子

Colorimetric Assay of Para-aminobenzoic Acid

Shuntaro OGAWA and Hideko TSUKAMOTO

PABA 製剤の定量は PABA 自体及び之を組成成分とするフォル酸の試験法を確立するため必要であるので我々の調査した結果を報告する。

PABA の理化学的定量法には Bratton (1937/8)⁽¹⁾⁻⁽²⁾ 以来多数の報告がありそのすべてが比色法で、既に N. N. R. (1948) 中のフォル酸の定量にこの手法が応用されている。我々はサルファ剤の呈色試薬として津田 (1948)⁽³⁾ の提供した N(1-ナフチル), N'(デエチル) エチレンジアミン (ブラットン試薬のデエチル誘導体で以下津田試薬とよぶ) とに着眼し之を応用し甚だ良好な成績を得た。

試 験 法

1. 試薬 この内(=)~(へ)は遮光冷蔵する。

イ. 50% アルコール

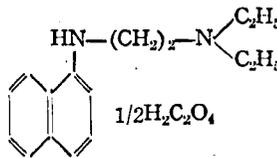
ロ. 5N-HCl

ハ. 0.5% ゼラチン液

ニ. 0.1% NaNO₂ 液

ホ. 10% 尿素液

ヘ. 0.1% 津田試薬溶液



1/2H₂C₂O₄

津田試薬 (酢酸塩)

2. 標準液 U. S. P. XIII R. Ed. に合格し純度 99.8% の PABA の 1g を 5% アルコール 100 cc にとかし、原液とする。本液 1 cc に水 200 cc, 5N-HCl 25 cc, 0.5% ゼラチン液 2.5 cc を加え更に水を追加して全量を 250 cc にしたもの或いは原液 2 cc を水で 50 cc に稀め、その 5 cc を水 35 cc, 5N-HCl 5 cc, ゼラチン液 0.5 cc と混和し水を追加して 50 cc にしたものを標準液とする。遮光冷蔵すれば原液、標準液共に 3 週間是不変であつた。

3. 操作法 検液 1~5 cc (PABA の 4~20 γ に当る) を 10 cc のメスフラスコにとり水で 6.6 cc とし、5N-HCl 0.4 cc, 0.1% NaNO₂ 液 1 cc を加えて混和し 10 分間デアゾ化後、尿素液 1 cc を混和し 25° (水浴) で 10 分間放置し N₂ ガスを充分泡立たせた後に津田試薬溶液 0.5 cc 及水を加えて全量を 10 cc とし混和し、生じた紅色を 15 分間後に測光する (S₂₅ 温光板), 対照液は水でよい。

試 験 法 の 検 討

デアゾ化時間の影響は 10 分間以上不変, 5 分間以下では不足である。

尿素による分解は 25° で充分振盪して行つ時 10 分間でよいが、N₂ ガスを完全に追出して置かぬと後に測光槽の壁に泡が附着して誤差を生ずる。

呈色時間は 15~120 分間は変らぬから比色, 測光等はゆつくり行つてよいが、濾紙で濾すと呈色物が吸着され損失が起るので、各試液が透明なことはもとより、操作中に呈色液に塵埃の混入せぬよう行つ必要がある。

ゼラチン液は一応 N. N. R. のフォル酸試験法に準じて使用したが、後にその有無が成績に無関係なことが分つたから省いてもよい。

呈 色 の 吸 收 曲 線 と 標 準 曲 線

スペッカ光度計により求めた可視部の吸収極大は 555 m μ , $E_{1\text{ cm}}^{0.00012\%}$ の値は 0.403 でブルフリヒ光度計による値より少し低かつた (別掲フォル酸の試験成績第 1 図)。

ブルフリヒ光度計で測光したところ PABA の 4~20 γ に就ては呈色の E と呈色液 10 cc 中の PABA の γ 数との間にランペール・ベールの法則が成立し、方程式は次の如くであつた。

PABA の γ 数/呈色液 10 cc \approx 26.8 \cdot E(1)

8 γ の PABA に対応する E の M は 0.299 で, 7 回測定 of E の σ は ± 0.006 に成つた.

我々は上記の方式に従い邦産品 1 種, 外国製品 2 種の純度を検したが何れも標準品と殆んど違わなかつた.

結 語

津田試薬を用いる PABA の比色定量法を検討し, 操作条件を決定した. 本法は PABA 製剤の検定に利用し得ると信ずる.

なお, 本調査に用いた PABA を提供された和光純薬株式会社及津田試薬を供與された山之内製薬株式会社に謝意を表したい.

本調査費用の一部は文部省科学研究費に仰ぎ其結果を日本学術会議ビタミン B 研究特別委員会(昭和 24 年 11 月)の席上発表した. (昭和 24 年 12 月).

文 献

- 1) A. C. Bratton ; J. Biol. Chem., 122, 263 (1937/8)
- 2) ibid., 128, 537 (1939)
- 3) H. W. Eckert ; ibid., 148, 197 (1943)
- 4) B. Kisch ; Exptl. Med. Surg., 1, 66 (1941)
- 5) K. C. Blanchard ; J. Biol. Chem., 140, 919 (1941)
- 6) R. Kirch; ibid., 148, 445 (1943)
- 7) H. Tauber ; J. Am. Chem. Soc., 63, 1488 (1941)
- 8) A. E. A. Werner ; Lancet., 237, 18 (1938)
- 9) C. J. Morris ; Biochem. J., 35, 952 (1941)
- 10) A. J. Fuller ; Lancet., 240, 760 (1942)
- 11) S. Ansbacher ; Vitamins and Hormones., Vol II, 215 (1944)
- 12) 津田 ; 薬学., Vol. II No. 1 (1948)

Colorimetric Assay of Para-aminobenzoic Acid

(Shuntaro OGAWA and Hideko TSUKAMOTO)

Para-aminobenzoic acid (PABA), one of the structural constituents of Folic acid, can be assayed colorimetrically, using Tsuda's reagent, a new diethyl derivative of Bratton-Marshall's reagent.

Method to be used is as follows : Transfer the solution to be tested, equivalent to 4~20 γ of PABA into a 10 cc volumetric flask, dilute with water to make 6.6 cc, mix well after adding 0.4 cc of 5 N-HCl and 1 cc of 0.1 % NaNO₂ solution, and then, let it stand for 10 minutes. Add 1 cc of 10 % urea solution, and after keeping it in a water-bath at 25° for 10 minutes, add 0.5 cc of Tsuda's reagent and sufficient water to make 10 cc., then mix well, and in 15 minutes later, measure the red color by Pulfrich's photometer using water for blank (Filter No. S₅₅).

The standard scale must be drawn against pure PABA.

澱粉分解酵素の効力検定に関する基礎的研究(第2報)

局方パンクレアチン検定法の反応速度論的研究

寺山 宏 菅山 修二

Studies on the Estimation of Amylases II.

Kinetic Studies on Pancreatic Amylase Estimation

Prescribed in Japanese Pharmacopoeia

Hiroshi TERAYAMA and Shuji SUGAYAMA

1. 緒 言

現在の局方パンクレアチン¹⁾の澱粉消化力の規格は、5gの馬鈴薯澱粉と、食塩 0.03gを、90ccの水にとおした澱粉糊に、酵素 0.01gを加へ、40°で屢々撹動し乍ら、1時間反応させたのち、直火で速に煮沸し、冷後全容量を、100ccとなしたるのち、此の溶液 20ccが、沸騰フェーリング氏液 40ccを脱色すべきことを定めている。之を局方ヂェスターゼに比すれば酵素の量は 1/5、40ccフェーリングを還元させるために使用する反応液量は2倍である。極めて大ざつぱではあるが、大体パンクレアチンの局方規格は、ヂェスターゼよりも2.5倍程高いといへる。第一報²⁾にも述べた如く、酵素活性度を、反応生成物を測定して検定する場合、その反応速度が、その条件のもとに於て、酵素の活性度に比例する場合でないと、正確な検定は行い得ない。

ヂェスターゼの場合は、基質に対して酵素量が大にすぎ、1時間後に反応生成物を定量するときは、既に、酵素反応は終りに近づいていて、反応型式は、酵素量に因して一次式より脱逸し、従つて、酵素量と速度恒数とは比例しない条件にあることが分つた。

今回吾々は、局方パンクレアチンの澱粉消化力試験法につき同様の実験を行ひ、その反応速度論的研究を行つてみた。

すなわち局方試験と全く同一のスケジュールで澱粉の酵素的分解を行はせ、時間的に一定量宛反応液をとつて、その麦芽糖の定量を行つた。

2 実験方法並びにその成績に就て

実験条件は、局方と同様である。即 100°に於て、3時間乾燥した馬鈴薯澱粉 5g、及び食塩 0.03g及び約 40°の水 30ccを内容約 200ccの共栓瓶にとり、撹動しつつ更に熱湯 60ccを注加し 30分間重湯煎中で熱したのち、40°に冷却し、均等となつた糊液に、パンクレアチンを一定量加へ、同温度で屢々撹動し乍ら反応を行わせる。時々反応液 5ccをピペットでとり、N/10 沃度 20cc、N/10 苛性ソーダ 30ccを加え、室温に 10分間放置後、稀硫酸 1ccを加へて酸性とし、N/10 ナオ硫酸ソーダで滴定して、之より N/10 沃度消費量を求めた。実験に使用したパンクレアチンは、市販の某社製品であるが、別に局方品ではない。吾々の試験によると局方の約 3分の1の澱粉消化力を示した。

第1表は、パンクレアチンの量を変化させた場合の沃度消費量の時間的变化を示すものである。

之を図示すれば、第1図となる。第1図に於て、時間0に外挿した値即ち 0.5ccは、使用せる澱粉自体による最初よりの消費量である。

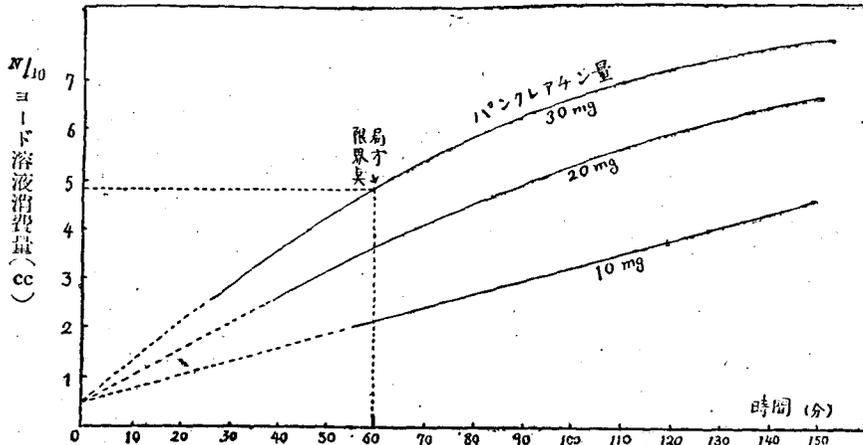
今 N/10 沃度液 1ccが麦芽糖 17.15mgに相当するとし又局方フェーリング溶液 1ccは麦芽糖 7.4mgに相当するものであるとする。然るときは、局方フェーリング溶液 1ccは N/10 沃度溶液 0.431ccに相当する。局方規定に於て反応液 20ccが 40ccのフェーリング液を還元するとしているから、反応液 5ccは 10ccフェーリング液にあたる。

しかし、本実験に於ては、反応全液量を最後に 100ccにしてそれから 20ccとるといふことなく、最初 90ccの水で

第 1 表

パンクレアチン量					
10 mg		20 mg		30 mg	
反応時間 (分)	N/10 ヌード消費 (cc)	反応時間 (分)	N/10 ヌード消費 (cc)	反応時間 (分)	N/10 ヌード消費 (cc)
48	1.83	22	1.13	25	2.30
60	2.08	31	2.14	36	3.37
70	2.49	41	2.69	46	4.02
80	2.80	59	3.65	56	4.65
139	4.49	83	4.70	75	5.75
151	4.79	110	5.71	84	6.18
		150	6.78	106	6.92
				152	7.90

第 1 図



とかしたままで、時間的に 5 cc 宛とつて、還元糖を測定している訳であるから、実際は、還元糖を測定する場合反応液の濃度は約 10/9 倍濃いことになる。即ち、局方規定の還元力を、この条件で反応液 5 cc について換算すれば N/10 沃度液を $0.431 \text{ cc} \times 10 \times 10/9 = 4.79 \text{ cc}$ 約 4.8 cc* 消費せねばならないことになる。

次に、本実験データに基いて、その反応速度恒数を計算してみた。最初の反応全液量を 90 cc とすれば、反応液 5 cc 中の基質の量は $\frac{5 \times 5}{90} \text{ g}$ である。糖化の最大限を 75% とすれば、基質の初濃度 a は、0.2083 g となる。之を N/10 沃度溶液に換算すると、12.15 cc となる。t=0 に於ける消費量 0.5 cc を補正して、11.65 cc を初濃度とみなす。同様に各時間に於ける沃度の消費量より夫々 0.5 cc を減じて、反応生成物濃度 x をうる。速度恒数 K は次の式によつて計算する。 $K = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ 此の K の計算値を示したものを第 2 表である。

之を図示すれば、第 2 図である。之より反応時間 60 分に於ける K を各々求めると、0.0079, 0.0053, 0.0026 となり、此の關係は酵素量の 30 mg, 20 mg, 10 mg と極めてよく一致する。又局方規定の條件に於ける K は 0.0079 であつて、今之を、局方ヂェスターゼにおける K の約 0.025 に比すれば約 3 分の 1 である。而も K の値の時間的変動が非常に少く、酵素量に関して比例的であることは、理論的にパンクレアチンの検定法が、ヂェスターゼのよりも正確であることを示すものである。このことは、パンクレアチン検定の場合は、消化反応の初期部を測つているに

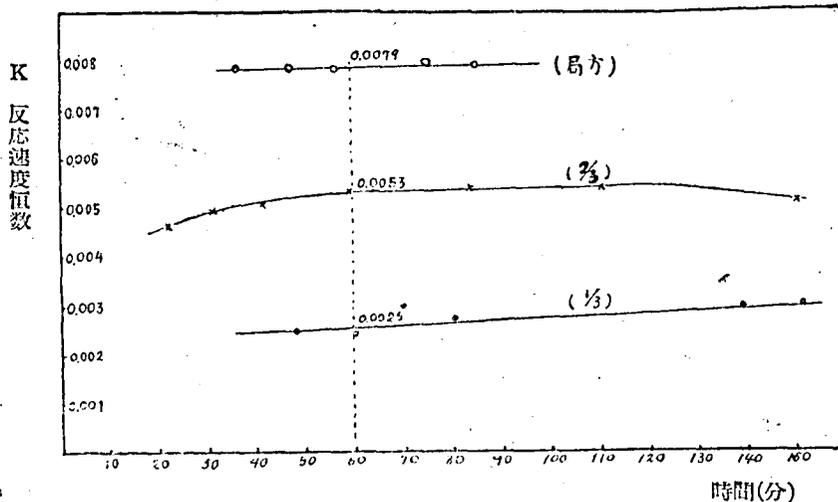
* この値は左程厳密なものではない。実際には之より少し高い値である様に思ふ。●吾々はのちになつて日局はフェーリング 1cc が麦芽糖 7.4 mg に相当するとかいてあるが之は誤りで 8.4 mg が正しいことに気がついた。この事は佐藤、小川 (薬誌、昭 4, 956) により述べられ又吾々も之を確認した。

対し、ヂェスターゼの場合は反応の終期部をはかっているからであると考えられる。故にヂェスターゼに於ても酵素量を少くして測定する事が出来る様に方法を改良する事が望ましいと思ふ。(25年2月15日)

第 2 表

パンクレアチン量					
10 mg		20 mg		30 mg	
反応時間 (分)	K	反応時間 (分)	K	反応時間 (分)	K
48	0.002526	22	0.004638	25	0.006715
60	0.002430	31	0.004896	36	0.007858
70	0.003005	41	0.005080	46	0.007822
80	0.002750	59	0.005344	56	0.007866
139	0.003017	83	0.005388	75	0.007988
151	0.003042	100	0.005390	84	0.007961
		150	0.005164	106	0.006614

第 2 図



文 献

- 1) 日本薬局方第五改正版。 2) 簡試. 67, 35 (昭和 25 年 3 月)

〔附 記〕

日局に於けるフェーリングの還元力の誤謬を訂正して計算を行くと、ヂェスターゼ検定の時は、反応液 5cc は N/10 ヨード 9.6cc を、パンクレアチン検定の時は 100cc にしたのちの反応液 5cc は N/10 ヨード 4.8cc を夫々消費しうる事が、局方の限界ということになる。(25年12月22日)

Studies on the Estimation of Amylases II.

Kinetic Studies on Pancreatic Amylase Estimation Prescribed in Japanese Pharmacopoeia

Hiroshi TERAYAMA and Shūji SUGAYAMA

The results of the kinetic studies on the estimation method of pancreatic amylase (Jap. Pharmacopoeia Ed. 5) show that the reaction is monomolecular.

The iodometric estimation is discussed as a preferable method than the one using Fehling's solution.

局方ヂェスターゼを使用する α -化澱粉の α -化試験法と その試験成績について

寺山 宏 菅山 修二

On the Assay Method of α -Corn Powder
using Diastase (Jap. P.) and the Results

Hiroshi TERAYAMA and Shūji SUGAYAMA

α -化澱粉と云ふのは、澱粉（主として米澱粉であるが）の中の澱粉質を所謂 α -化して、消化し易い形に保存し、乳幼児等の食餌に供せんとするものである。 α -化と云ふのは、生澱粉の状態の澱粉を β -澱粉とよんで区別するために設けられたものであつて、生澱粉を水分のある状態で熱処理して所謂糊化を行はせたのち、之を速に乾燥脱水することによつて得られるものである。 β -澱粉と α -澱粉の差異が最初に問題となつたのは、オランダの学者 Katz 等の X-線写真による研究以来である。即天然生澱粉（ β -澱粉）はそれぞれその起源によつて、A 型、B 型、及び C 型の 3 種の X-線図形を示すのである。例へば小麦、米、玉蜀黍、裸麦等は同一 A 型図形を示し、又、馬鈴薯、カンナ、粟等の澱粉は B 型図形を示す。処が之を、充分な水分の存在で、糊化温度以上（通常粳及び糯では 60~65° 以上）一定時間（温度が高い程短時間でよい、98° では 20~30 分でよいといふ）処理すると所謂糊化し、斯の様な状態では、澱粉は A、B、C 何れの図形も消失し、無定形化する。此の糊化澱粉を、無水アルコールの様なもので速に脱水すると、もとの如何にかかわらず、新しい X-線干渉図形即ち、Katz 氏の所謂 V-図型を示す様になるのであつて、学問的には斯様な V-図型を示す澱粉を α -澱粉と云ふのである。この様に X-線干渉図に著しい差異を示す α 、 β 両澱粉は、之を相律的にみれば、一つの転移温度をもつて相接する同質異形と考へられる。即低温度では β 澱粉が安定であり、高温度では α 澱粉が安定である。併し乍ら、前にも述べた如く、 $\alpha \rightarrow \beta$ の転移は水分が適度に存在する場合にのみ可能である。従つて、一旦高温度で α -化した澱粉を、可及的速に脱水（通常水 7.8.6% 以下では $\alpha \rightarrow \beta$ は起り得ないと云ふ）、或は又、極めて多量の水中に貯蔵する場合等は、 α -化の形を保ちうるものである。澱粉は、葡萄糖が長くつながつた構造を有するものであつて、セルローズと異なる処は、その高分子構造が、セルローズの如く、伸長した状態ではなくて、螺旋状にまいている事である。この状態は α -澱粉に殊に顕著であつて、 β -澱粉は、 α -澱粉よりも鎖がもつと伸びた形になつて配列していると考へられる。斯く考へる時は、 α -澱粉は β -澱粉に比し、ミセル構造をとり難いことが容易に納得されるのであつて、此の可は、 α -澱粉が β -澱粉と異なる幾多の物理化学的性質を示すことと一致するものである。即ち水に対する膨潤度、色素やアニリン等に対する吸着性、アミラーゼによる被分解性等何れも、 α -澱粉の方が β -澱粉に比して著しい。

以上の事から、澱粉の α -化試験は斯様な性質の差異を利用する事が考へられるのであるが、之が乳幼児用として利用される意義から考へても、アミラーゼによる被消化力試験を行ふことは最も適したものと考へられる。

α -澱粉のアミラーゼ被消化力試験については、最近食糧研究所（食糧庁）の報告が出ているが、之をもとにした農林省試案は、37° で、試料 1g（予め水分を測定し乾燥物に換算）に対し、1% 三共タカヂェスターゼ溶液 30 cc を作用させ、1 時間後に、ベルトラン氏法で生成還元糖を測定し、葡萄糖として、20% 以上なるべきことを規定している。吾々は、此の規格の根拠となると考へられる前記食糧研究所報告を吟味し、且つ補足的な二三の実験を行ひ、三共タカヂェスターゼに代るに局方ヂェスターゼを使用し、且つこの試験法に關する根本的データの一つを補足し得たのでこゝに、実際の試験例と共に、実験結果を報告する次第である。

1) 局方ヂェスターゼを使用すべき事について、

三共製タカヂェスターゼは現在吾國に於て、生産されていないし、又その効力に就いて、局方規定がないから、之を試験用を使用することについては、不統一の危険が起る。従つて、嚴密な局方試験に合格し、一定の効力を有する事が確認せられた、局方ヂェスターゼを使用するのがよいと考へられる。

2) 試験に於て使用するヂェスターゼの濃度は、還元糖の生成量に如何様な影響を及ぼすかという問題。

三共製タカヂェスターゼを使用するといふことが、不統一の危険があると同様、予め使用する酵素量の影響について、充分なる基礎的認識をもつていなければいけない。

吾々は之をたしかめる意味で次の如き実験を行つてみた。内容 200 cc の共栓三角フラスコに、約 37° の水 100 cc を加へ、試料 5 g (水分換算) 及び各種量 (100 mg より 1 g まで) の局方ヂェスターゼを加へ、直ちに密栓後、1 分間強く振つてのち、1 時間静置後 N-塩酸 1 cc を加えて作用をとめ、濾過し、濾液 5 cc に N/10 沃度溶液 20 cc、及び N/10 苛性ソーダ溶液 30 cc を加へ、室温に約 10 分間放置したのち、稀硫酸 (1:4) を加へて酸性とし、N/10 ナオ硫酸ソーダ溶液で過剰の沃度を滴定し、之より、沃度の消費量を計算する。(尙実験に使用した局方ヂェスターゼは局方試験に於て、フェーリング氏液 40 cc を還元し、42 cc では還元し得なかつたものである)。

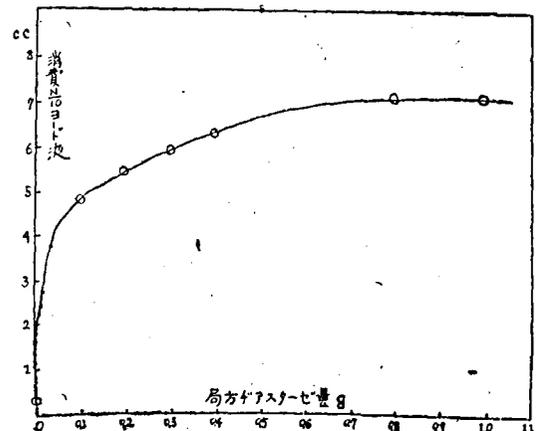
局方ヂェスターゼは稀釈剤としてデキストリンを使用する事がゆるがされているから、相当多量のヂェスターゼを使用する場合には、局方ヂェスターゼに起因する還元糖の生成を考慮しなければならない。そこで、吾々は、試料のみ加へないで、局方ヂェスターゼについてのみ、同條件で沃度の消費量を測定した処、酵素 200 mg 用ひたとき、N/10 沃度溶液 0.24 cc 消費し、酵素 1000 mg 用ひたときは 1.15 cc 消費した。之より大体この程度の酵素の使用量範囲に於ては、酵素 100 mg に就て、0.12 cc の消費があるとみなされる。之等の値は、上記試料の消化実験に於て、使用した酵素量に応じて差がかなければならない。

酵素量を種々に変化させた場合の、 α -化澱粉 (市販検体の 1 種) の被消化力は次に示す如くである (第 1 表)。

第 1 表

局方ヂェスターゼ 使用量 mg	消費 N/10 沃度溶液	
	補正前(cc)	補正後(cc)
0	0.30	0.30
100	4.98	4.86
200	5.70	5.46
300	6.32	5.96
400	6.80	6.32
800	8.05	7.09
1000	8.24	7.04

第 1 図



尙 N/10 沃度溶液 1 cc は麦芽糖 17.15 mg に相当する*ものとすれば、最高麦芽糖として原試料の約 50% となる。之を図示すれば第 1 図で示される。之より本実験の條件では、酵素量は 800 mg 以上は殆どその麦芽糖生成量に影響を與へない事が分かる。農林省試案に於ては、1 g の澱粉に対し、1% 三共タカヂェスターゼ 30 cc を使用している。即ち酵素量は 300 mg である。之を吾々の用ひた 5 g の試料に換算すれば、酵素量 1.5 g となり、若し、タカヂェスターゼと局方ヂェスターゼが同等の効力を有すると仮定しても、酵素は最大分解率を示すに充分以上に加へられていることとなる。

3) 局方ヂェスターゼを用いた、 α -化澱粉のアミラーゼ被消化力試験法。

試料 α -澱粉 2 g (水分換算) 及び局方ヂェスターゼを 0.5 g を 37° の水 40 cc 中に加へ、密栓して、1 分間強く振盪したのち、37° の恒温槽中に静置し、1 時間後、N-塩酸 1 cc を加へ、反応を停止させる。これをメスシリンダーに移し、水を加へて 100 cc とし、よく混ぜたのち濾過しその濾液 (若し試料が澱粉の α -化したものであるときは、仲々濾過が出来ないから、此の場合は遠心分離して上層液をとつて構ない) 20 cc をとり、Willstätter-Schudel 氏の沃度法によつて、生成還元糖を麦芽糖として測る。即ち反応液 20 cc に、N/10 沃度溶液 30 cc、N-苛性ソーダ 5 cc を加へ、10 分間室温に放置したのち、稀硫酸 (1:4) 1 cc を加へ、直ちに N/10 ナオ硫酸ソーダ溶液で滴定を行ふ。斯様にして求めた値は、ヂェスターゼによつて、分解されて出来た還元糖の外に、試料中に最初から存在して

*葡萄糖とすれば N/10 沃度液 1 cc は葡萄糖 9.005 mg に相当する。

いたもの並びに、酵素として加へられたものに起因するものが一緒に含まれているから、別に之等について夫々單獨にその還元量を測定して、之を補正しなければならない。即ち初めから *N*-塩酸 1 cc を加へ、ヂェスターゼは加えないで、前記同様処理、操作を施して、試料の最初から有する還元力を測る。又別に試料のみを加へないで、ヂェスターゼのみについて、同様実験して、使用するヂェスターゼについてその還元力を定量する。

以上の補正値を差引いた値は、ヂェスターゼによつて、分解された還元糖の量に相当し、之を各試料について比較し消化される程度を測り、もつて α -化澱粉の品質を判定せんとするものである。尙此の條件と同様にして、 α -化しない澱粉として、粳（7 部搗）の生澱粉及び生澱粉（馬鈴薯）について測定を行つた処、かかる條件では、生澱粉の場合は麦芽糖として、13.8% を生じ生馬鈴薯澱粉の場合は全然還元力を示さなかつた。之に対して、馬鈴薯澱粉を糊化し、直ちに、アルコールで脱水して作つた、 α -化馬鈴薯澱粉について同様に試験した結果は 60.0% の麦芽糖の生成を示した。

4) 市販 α -化澱粉の試験成績について、吾々は以上の如き方針に基いて、市販の α -化澱粉について局方ヂェスターゼによる被消化試験を行いたる結果は次に示す如くであつた。乾燥物質に対し麦芽糖(%)として示す。

検 体 数		45% 迄	50% 迄	55% 迄	60% 迄	60% 以上
総 数 34	内 訳	0	7	17	7	3

最低 45.4% 最高 63.0% 平均 53.7%

平均 54% 程度の消化率を示すこととなる。澱粉の最大被消化率を 75% とし澱粉中の蛋白質、灰分、脂肪、粗繊維等ヂェスターゼで消化されない成分の總和が 7% 前後とみるならば、最大 69% の消化率を示せば充分といふ事になる。

本測定は、当試験所生化学部と終始密接なる協力のもとに行つたものであつて、川田技官始め同試験部各位の御援助に対し深謝する次第である。（昭和 25 年 2 月 15 日）

On the Assay Method of α -Corn Powder using Diastase (Jap. P.) and its Results

Hiroshi TERAYAMA and Shūji SUGAYAMA

The fundamental experiments on the estimation method of degrees of alphanization of corn powder using "diastase" (Jap. Pharmacopoeia Ed. 5) were practised.

2 g of alpha-corn powder, 0.5 g of diastase and 40 cc of water (37°) are mixed by vigorous shaking for one minute and stood at 37° in a thermostat for one hour. Then the reaction is stopped with the addition of one cc of *N*-HCl. The mixture is transferred into a messcylinder, filled to 100 cc, and filtered. The amount of maltose in 20 cc of the filtrate is determined iodometrically. The average amount of thus generated maltose was 54% (max. 63.0%, min. 45.4%)

市販インシュリン製剤の試験成績 (第2報)*

長澤佳熊 苗村徳次郎 寺岡葉子 三橋謙一

The Test Result of Commercial Insulin Preparations in Japan

Kakuma NAGASAWA, Tokujiro NAEMURA,

Yoko TERAOKA and Kenichi MITSUHASHI

著者の一人長澤は昭和17年、インシュリンは必ず国際検定法によつて試験すべきこと、その実施法について報告し¹⁾、次いで当時極めて不良なインシュリン製剤が市販されていることを指摘した²⁾。我國では独自の立場から魚類のスタニス小体を原料とするインシュリンの工業的製造に成功し(長澤)³⁾、当時においてもその芽生えがあつたのであるが、現在では欧米製品のような、牛、豚など屠殺際の臓腑を原料とするものは殆ど全く見られないになつた。従つて今回の試験は外國では存在しない魚類特にかつをのスタニス小体から得たインシュリン市販品の試験という点に新しい興味がある。

検体 全部魚類を原料とするインシュリン市販品で、市販名はイスジリン、インシュリン-田邊、インシュリン-日菜、サノシュリン、フィゼリン、ミニグリンである。この外に参考として米國製インシュリン (Insulin Injection, Squibb, 1 cc 中 40 單位含有, 有効期限: 1950 年 1 月 30 日………当所試験時日は 1949 年 6 月 18 日~25 日) をも使つて、当所の標準品と比較試験を行つた。

検体としては粉末製品と液体製品との2種類があり、液体は 1 cc 中 10 單位又は 20 單位含有と表記してあるもので、これ等が実際の市販品であり、粉末の方はこれ等の市販品を製造する原料となるものである。これ等の検体はいずれも当試験所で試験をするという前提で呈出されたものであるが、そのために特別に製造したものはないと思う。又、著者等が検定し、合格したものがそのまま市販品となつている場合もある。但し、かかる検体採取方法による今回の試験成績がそのまま現在のインシュリン市販品の一般成績であるとは云えまいが、これ等の成績によつて、製造会社が製品の効力の確実を期し市販品を改良した点も認め得るのである。更に改めて採取した検体についての試験実施の計画も進められ、その成績を近く報告し得ると思う。

標準品 は国際標準品インシュリン結晶 1 mg=22 單位のものを使つた。この標準品は 1939 年に当所に宛て国際聯盟衛生部より送られたものである。窒素ガスが充たされたアンプル中にインシュリン結晶粉末が密封されている。この状態では長年月の間安定であると思う。

方法 効力單位検定法と窒素量測定法の2方法を採用した。後者は特に液体の検体に対する原料インシュリンの精製度を察知するため、通常 100 單位についての窒素量 mg を測定した。粉末検体に対してはその單位重量例えば 1 mg 中の効力單位数を知り得れば精製度が察知されるので、若干例の外は一般に窒素を定量しなかつた。

効力單位検定法は著者の既に報告した方法¹⁾に準拠した。即ち試験前 24 時間絶食させた家兎にインシュリンを注射して、注射前後の血糖の降下量を調べる方法による。常時の飼料としては豆腐粕と雜草を充分に與え榮養状態の不良なものやインシュリンに対し鋭敏すぎるものや鈍感すぎるものは試験に使わないこととした。

試験日には朝家兎耳靜脈からの第 1 回採血を行い、インシュリン検体を注射して後、1.5, 3, 5 時間後に第 2, 第 3, 第 4 回の採血を行い、Hagedorn-Jensen 法によつて血糖量を測定する。この試験には家兎 8 匹を使い、4 匹ずつ甲、乙 2 群とし、甲群にはその体重 2 kg につきインシュリン標準品 0.8 單位を注射し、乙群にはそれと大体同じ効力を有すると思われるインシュリン検体を注射する。更に 1 週間後に同様の試験を同じ家兎を使つて施行するのであるが、この際には甲群には検体を、乙群には標準品をいずれも第 1 回と同量注射し第 2 回試験とする。

單位算出法 以上の方法により測定した血糖値から

$$\text{血糖減少率} = \frac{\text{注射前血糖(mg \% 数)} - \text{注射後 3 回採血時の血糖量平均(mg \% 数)}}{\text{注射前血糖量(mg \% 数)}} \times 100$$

* 第1報は文献 2)、この報告は長澤佳熊：インシュリンの薬化学的研究第7報。

を算出し、使用家兎中故障を起したものを除き最少6匹についての2回に互る試験結果を、検体、標準品のそれぞれを注射した場合について合計し、

$$\text{血糖減少率比(\%)} = \frac{\text{検体注射の家兎の血糖減少率の合計} \sim \text{標準品注射の家兎の血糖減少率の合計}}{\text{標準品注射の家兎の血糖減少率の合計}} \times 100$$

を算出し、これが5%以内であるときは注射した検体と標準品とは同じ力価を有するものとし、5%以上であるときは5%以内となるまで検体の濃度又は注射量を適当に増減して試験する。

窒素量測定は米國薬局方 XIII 又は XIV セミミクロケルダール法による方法⁹⁾で行つた。

第1表は原料粉末の検定成績であつて、最高純度 1 mg=14 單位、インシュリン協会の協定純度 1 mg=9 單位以下のもの、即ち不合格品は 12 例中 5 例である。

第2表はインシュリン注射液の検定成績であるが、6 例中表記單位に等しいもの 2 例、90% のもの 1 例、80% のもの 2 例、40% のもの 1 例であつて、昭和 17 年に於ける成績より遙かによいが、ここに試験した市販品は我國に於ける一流製品であることと、しかも著者等の試験を前提とした検体であることを考えれば、その他の一般市販品や二流製品(これ等の検体以外のものが必ずしも二流製品ということではできないか)の單位が如何であるかは想像に難くなく、寒心すべきものがある。

純度 については第1表の原料粉末の 1 mg 中の單位数及び第2表の 100 單位中の *N* 量から想像し得る如く、米國薬局方 (0.85 mg 以下 *N*/100 單位) 又は佛國薬局方 (0.80 mg 以下 *N*/100 單位) の純度に合格するものは少くとも粉末 1 mg=14 單位以上の製品であるから、第1表及び第2表を通じて検体総数 18 例中 1 例(第1表 C 製品)のみで、昭和 24 年度薬剤部長会決定規格案 1.0 mg 以下 *N*/100 單位に合格するもの 2 例(第1表 C, D), インシュリン協会の昭和 24 年 3 月の暫定基準 1 mg=9 單位以上(約 1.6 mg 以下 *N*/100 單位)に合格するものは 10 例(第1表 B₂, B₃, C, D, F₃, E₂, H, 第2表 D, D₂, D₃)である。ちなみに結晶インシュリンでは 0.65 mg *N*/100 單位である。

次に既述の米國製品の試験結果は検体量の不足から最終決定に至らなかつたが、第3表の如くで大体の推定では表記單位の約 85% と思われる効力を示した。有効期間内の試験ではあるが、我國では製品の貯法規定 2~10°(米局方 0~15°)の温度條件が守られていないからと思う。ともあれ現在の米國製品でも保存中適当な考慮が拂われないときは、効力が減弱することを知つた。従つてインシュリン注射液は理想的には独逸製品に見られた熱帯地向き包装インシュリンの如く、乾燥粉末として用時溶解するのがよいと思う。我國に於ては現在生産的に製造し得る技術標準は 1 mg=14 單位の純度を有するインシュリン製剤であつて、これが昭和 24 年度末現在に於ける経済的に採算上可能な最高技術であると思われる。然し、技術上の進歩は行詰つているわけではなく、設備の完成と伴つて一段の飛躍を見る可能性が多いから、今後我國に於けるインシュリンの生産見直しは明瞭である。但し、著者が幾度も警告しているように、我國の製業者の通弊である無益な競争による原料スタエウス氏小体の騰貴や、市場の擾乱を招くときは、二、三年前に現出した如きインシュリン生産の危機を再び招く心配が充分に存在するから、努めて留意しなければならない。生産業者の乱立時代であつた昭和 23 年始めのインシュリン生産業者数は約 17、昭和 24 年末現在実際に製造している業者数は 5 に過ぎず、それも経済上や精製技術上から成功している生産業者は 1~2 社を越えないのではないかとも思う。

インシュリンの精製法その他に関しては近く別に報告するとして、昭和 12 年以來この問題と関係し続けた著者としては、我國に於ける魚類インシュリンの將來に大きい期待と、同時に生産関係者の無理解に対する大きな不安とを感じている。

第 1 表 原料粉末検定成績

検体名	表記單位	検定成績 單位/mg	最終検定月日
A	ナシ	5.5 E	23-11-13
B ₁	ナシ	5.0 E	23-11-9
B ₂	ナシ	9.0 E	24-3-14
B ₃	ナシ	10.0 E	24-12-8
C	ナシ	14.0 E	24-3-31
D	ナシ	12.5 E	24-2-10

E_1	ナシ	3.0 E	23-9-8
F_1	ナシ	8.0 E	24-5-23
F_2	ナシ	8.5 E	24-6-5
F_3	ナシ	9.5 E	25-1-11
E_2	ナシ	9.0 E	25-1-9
H_1	ナシ	10.2 E	25-1-24
H_2	ナシ	11.3 E	25-3-3
H_3	ナシ	9.8 E	25-4-4

第 2 表 インシュリン注射液検定成績

検体	表記単位 単位/1cc	検定成績 単位/1cc	表記 100 単位に 対する N 量 mg	実際の 100 単位に 対する N 量 mg	検定/表記 単位/単位 × 100(%)	最終検 定月日
C	20	16			80	23-10-26
D_1	20	20	<1.5	<1.5	100	24-2-18
D_2	20	20	1.5	1.5	100	24-6-15
D_3	40	36		1.6	90	24-5-13
H	20	8			40	23-11-9
G	10	8			80	24-4-12
備考	アメリカ薬局方の規定			0.85 mg 以下	105~95	
	佛薬局方の規定			0.80 mg 以下		
	インシュリン結晶			0.65 mg		

第 3 表

家兎 番号	家兎体重	A 国際標準品 1cc=1 単位		B インシュリン—Spuibb 1cc=表記 1 単位				血糖減少率		
		注射 cc/2 kg 体重 (実際注射量)=単位(表記)		血糖 mg %						
		注射前	注射後	1.5 時間	3 時間	5 時間	A	B		
1	第1回 2.2	A 0.8 (0.88)=0.8 E	119	63	72	83	39.6			
	第2回 2.2	B 0.8 (0.88)=0.8 E	112	53	71	92.5		35.5		
34	第1回 2.0	A 0.8 (0.80)=0.8 E	113	38.5	45	46	62.0			
	第2回 2.1	B 0.8 (0.84)=0.8 E	113	34	79	99		37.4		
35	第1回 2.1	A 0.8 (0.84)=0.8 E	119	59	62	79	43.5			
	第2回 2.18	B 0.8 (0.86)=0.8 E	114	58	66	87		38.6		
41	第1回 2.25	B 0.8 (0.90)=0.8 E	106	57	61	97		32.0		
	第2回 2.2	A 0.8 (0.88)=0.8 E	100	44	58	73	42.0			
36	第1回 2.1	B 0.8 (0.84)=0.8 E	125	68	72	74		47.5		
	第2回 2.0	A 0.8 (0.80)=0.8 E	106	51	48.5	94	39.6			
37	第1回 1.9	B 0.8 (0.76)=0.8 E	117	74	85	94		27.5		
	第2回 1.9	A 0.8 (0.76)=0.8 E	121	40	67	73	45.5			

$$\text{血糖減少率比}\% = \frac{272.2 - 218.5}{272.2} \times 100 = 19.7\%$$

文 献

- 1) 長沢佳熊：日本内分泌学会雑誌，昭 17，18，123~143.
- 2) 長沢佳熊：薬業往來，昭 17，第 153 号，1~9.
- 3) 長沢佳熊：薬学雑誌，昭 17，68，287~291.

4) U. S. P. Pharmacopeia XIII, 672~674. U. S. P. Pharmacopeia XIV 740~742.

The Test Result of Commercial Insulin Preparations in Japan

(Kakuma NAGASAWA, Tokujiro NAEMURA, Yoko TERAOKA and Kenichi MITSUHASHI)

In Japan, insulin preparations have been made out of Stannius' corpuscles of bonito fish since the II World War, and the result of these tests draws much interest from the view-point of testing the qualities of fish insulin preparations.

The test method we used is the Marks' rabbit blood sugar lowering method, and we compared with the international standard. We indicated its purity by nitrogen contents per 100 international units (i.u.)

The result is as follows :

1. Insulin powder.

Number of samples tested.....14.

Units per mg of powder.....	3—5.5 i. u.	3 samples
	8.0—10.0 i. u.	6 samples
	10.0—14.0 i. u.	5 samples

2. Insulin Injections.

Number of samples tested.....6.

Units obtained by us (Labeled units 100 %)

40 %	1 sample
80 %	2 samples
90 %	1 sample
100 %	2 samples

サルバルサン類の生物学的検定(毒力)に對する一考察

横 井 泰 生

On the Toxicity Test of Arsphenamine and Neoarsphenamine

Yasuo Yokoi

アルゼノベンゾール、ネオアルゼノベンゾール等の駆梅毒剤は合成化学薬品であるが、毒力や効力に関する生物学的検定なしには医薬として安心して使うことが出来ない。各國の薬局方が化学的検査のほかに生物学的検定を要求しているのはこのためである。

第五改正日本薬局方では、アルゼノベンゾールは1/300溶液、ネオアルゼノベンゾールは1/150溶液(無菌生理的食塩水)を調製し、体重20gにつき1ccの割で、体重15g内外のシロハツカネズミの尾静脈内に注射すること6疋、3日間観察し4疋以上生存、即ち死亡2疋以下であれば合格とする。これすなわち同一操作で6疋中のあるものは生存、あるものは死亡と別の反応を認めている。極めて多数のシロハツカネズミを用いて一定の死亡率たとえばLD 50を得たとしても、それと同じ群の中から只6疋を取り出し注射するに $6 \times \frac{50}{100}$ 、すなわち3疋死亡するとは限らず、死亡数は4疋のことも2疋のこともある。ある検体を局方により毒性試験するに第1回は死亡2疋で合格、第2回は死亡3疋で不合格と試験のたびごと結果が異り判断に迷う場合がある。「確率論」よりすれば当然のことで一定

第 1 表

(A) 6疋ヲ用イテ試験シ死亡2疋以下ヲモツテ合格ト規定スル場合ノ死亡率LDxノモノノ合格スル確率。

LDx	LD 10	LD 17	LD 33	LD 50	LD 67
確率					
合格スル確率	0.984	0.938	0.681	0.344	0.100

(B) 30疋ヲ用イテ試験シ死亡10疋以下ヲモツテ合格ト規定スル場合ノ死亡率LDxノモノノ合格スル確率。

LDx	LD 10	LD 17	LD 33	LD 50	LD 67
確率					
合格スル確率	1.000	0.995	0.585	0.049	0.000

但シ、死亡率 $\frac{1}{6}$ ハ LD 17 死亡率 $\frac{1}{3}$ ハ LD 33 死亡率 $\frac{2}{3}$ ハ LD 67 ト記シタ。

の毒性LD Kのものは合格する確率は p 、従て不合格となる確率は $1-p$ と正確に計算することが出来る。若し p 又は $1-p$ が1又は0に充分近ずけば合格否の結論は試験毎に動くことなく大体一定で実地上差支えない。局方では6疋中死亡2疋以下は合格、3疋以上は不合格であるから、眞の死亡率が $1/3$ ($2/6$)と $1/2$ ($3/6$)の間、又はこれに近いとき判断が一定しないのはある程度止むを得ないとして、眞の死亡率がこれより遠ざかりたとせば $1/6$ 又は $2/3$ 、即ちLD 17 または LD 67 のとき試験結果が著しく動揺するのは望ましくない。第1表(A)は一定の死亡率をもつ検体が局方に合格する確率を示した。LD 17 では合格する確率は0.938、100回試験中94回合格となるに過ぎず、LD 67 では合格する確率は0.100で10回の試験中9回不合格となるに過ぎず、何れも結果は一定でない。前者は製薬業者に対し相当に無毒のものを有毒であるとして100回中6回まで販賣を禁止し、後者は相当に有毒のものを無毒であるとして10回に1回は販賣を許すという結果を招く。かゝる矛盾は使用動物数が極めて少数で僅か6疋に過ぎぬため、結果を一定にするためにはより多数の動物を使用せねばならない。

今、仮に30疋を使用し死亡10疋($30 \times \frac{2}{6}$)以下を合格とすれば、第1表(B)に示す通り事情はいくらか好転する。LD 17のものが不合格となるのは1000回中5回の割で、6疋使用の折100回に6回であつたに比して $1/10$ 以下の割である。LD 67で合格することは1000回に1度もなく、6疋使用の折100回に1度合格する割であつたに比すれば相当の開きである。またLD 50では6疋使用すれば大体3回に1回以上の割で合格、残りは不合格となり實際上取扱いに困るが、30疋使用では合格は20回に1度よりも少く結果は不満足ながら大体一定する。何れの場合

も 30 疋使用すれば 6 疋使用するよりは試験結果が相当に安定して来るが、理論的には更に多数の動物を使用することが望ましい。然し使用動物が有限である限り絶対的に一定な結果は保証されない。

伊東技師は嘗て市販のアルゼノベンゾール類の調査報告を行つた¹⁾。第五改正日本薬局方の規定に依つたが條件を

第 2 表 (1)

薬品名	検体 No. A																							試験開始	昭和 7 年 11 月 18 日	
試験目的	毒力試験																							試験終了	昭和 7 年 11 月 21 日	
動物番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
体重 (g)	15.0	15.5	13.5	14.0	14.8	15.5	13.8	17.0	13.8	15.0	15.0	15.0	15.0	14.6	14.0	14.0	16.0	15.0	14.0	15.5	15.5	14.5	15.5	15.0		
雌雄	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂		
検体稀釈度	1:350						1:325						1:300						1:275							
注射後 1 日目	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	死	生	生	生	生	生	生	生		
” 2 日目	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生		
” 3 日目	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生		
判定 生/6	6/6						6/6						5/6						6/6							

薬品名	検体 No. A																							試験開始	昭和 7 年 11 月 18 日	
試験目的	毒力試験																							試験終了	昭和 7 年 11 月 21 日	
動物番号	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48		
体重 (g)	15.0	14.5	15.5	17.5	15.0	16.0	16.5	15.0	15.0	15.0	16.0	16.0	14.0	14.0	15.0	15.0	14.5	15.0	15.0	14.0	15.0	15.0	15.0	15.0		
雌雄	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂		
検体稀釈度	1:250						1:225						1:200						1:175							
注射後 1 日目	死	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	死	生	死	生	死	死	死	死	死	死	死		
” 2 日目	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	死	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生		
” 3 日目	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生	生		
判定 生/6	5/6						5/6						3/6						0/6							

更に厳密にし、シロハツカネズミはすべて雄とし、約 12 g のものを購入し、15 g 内外となるに及び試験に使つた。その成績の一部を第 2 表として掲げる。検体 No. A はアルゼノベンゾール、検体 No. I はネオアルゼノベンゾールだから夫々 1/300 稀釈、1/150 稀釈だけやれば局方試験としては充分の筈であるが、その上下の濃度でもやつてある。同一検体では高濃度のものは低濃度のものよりも毒性は高く死亡率は大の筈であるが、検体 No. A に於て稀釈度 1/275 で死亡数 0、1/300 で死亡数 1 となり、検体 No. I に於て稀釈度 1/150 で死亡で 5、1/125 死亡 3 となり逆である。高濃度でやることはそれよりも毒性の強い別の検体を試験すること、低濃度でやることはそれよりも毒性の弱い別の検体を試験することに相当する。試験動物数を 6 疋に限つたとき僅か 15 検体中 2 例にかゝる逆転が起きたことは注目してよい。毒力の強い検体が合格し毒力の弱い検体が不合格となるに通じている。

致死量を示すに近時しばしば LD 50 が用いられる。サルバルサン毒性検定に於ても「6 疋中死亡 2 疋以下」とせず「6 疋中死亡 3 疋以下」と死亡数半数以下(即ち生存数半数以上)と半数を以て区切りとするも何等差支えないのでなからうか。注射液稀釈濃度の変更によつては同一内容を規定出来る筈である。此の際も「6 疋中死亡 3 疋以下」とするよりも「30 疋中死亡 15 疋以下」等、使用動物数は出来るだけ増加することが望ましい。

ロダン醋酸エチルエステルの醤油に対する防黴試験成績報告

平山重勝 山本昌木

Experiments of Preservative Effect of Rhodanacetic Acid Ethylester on Soy Sauce.

Shigekatsu HIRAYAMA and Masaki YAMAMOTO

I 緒 言

従来醤油の防黴剤としては芥子油、ベタナフトール、バラニトロアニリン、サリチル酸、バラオキシ安息香酸、及びそのエステル、桂皮酸、フルアクリル酸、バラクロール安息香酸、及びそのソーダ塩、脂肪酸其他多数のものが報告されている。

サリチル酸は 0.002 % で防黴作用を有する。安息香酸は石 113 g, 6 日で黴を生ずるが⁽⁶⁾、バラオキシ安息香酸のエステル類については、石尾、坪井、遠藤⁽³⁾、黒野、岩下、烏山⁽⁶⁾、黒野、岩下⁽⁹⁾ の防黴試験、伊藤、東、汪⁽⁴⁾ の毒性試験がある。昭和 12 年 6 月内務省令第 22 号でエチル、プロピル、ブチルエステルの 3 種を、醤油 1 L につき各 0.298 g, 0.323 g, 0.348 g の範囲内で混入する事を許可した。ベタナフトールは醤油に対し強力な防黴作用を有し、バラオキシ安息香酸ブチルエステルに匹敵、0.005 % で黴の発生を抑制し得るが、伊藤、柴田⁽⁵⁾ によると、ベタナフトールは毒性強く、この毒性の点より飲食物、特に醤油の防腐剤として不許可になった。芥子油は 1/2000 で防腐作用を現わし、衣笠、服部⁷ に依れば石 18 g (0.01 %) では 30 日を経ても変化はないと云う。又桂皮酸は石 18 g で 37 日以上、90 g で 43 日以上黴を生じないと云う。バラアミドアゾベンゾールは単独に使用する時は石 180 g より大量でも殆ど効果を認め難い⁽⁶⁾。バラクロール安息香酸は 0.02 % で防腐作用を有し、毒性はサリチル酸及び安息香酸と殆ど同一である。フルアクリル酸は石 50 g 以上で著しく防腐能力を高める。脂肪酸では炭素数 6~10 個のものが卓効を有する。殊に炭素数 10 のカプリン酸は 0.01 % で 30 日以上防黴作用を有する。藤川⁽⁴⁾ によれば、地衣酸から製したオルセリン酸のエチル、プロピル、ブチルエステルは各々 0.015, 0.005, 0.002 % で防黴作用があり、マイクロフィリン酸から得られるオリベトニドは 0.001 % で 100 日間防黴作用があつた。

最近東大薬学科の秋谷教授はロダン醋酸が飲食物防腐剤として卓効ある事を証明され、又京都薬専の藤川氏はラウリル硫酸エチルエステル及びロダン醋酸エチルエステルが 0.001 % で 80 日間黴の発生を防止したと報じている。⁽²⁾

小官等はロダン醋酸エチルエステルの醤油防黴試験を昭和 23 年 3 月より実施した。其の成績は未だ不備ではあるが、試験を中止したので一応現在迄に得た結果について報告する。実験を援助された藤本京子、古藤カヨ両女史に感謝する。

II 実験材料並に実験方法

実験に使用した薬剤はロダン醋酸エチルエステルを主とし、ベタナフトール、芥子油、バラオキシ安息香酸ブチルエステル、ロダンカリ、ロダンソーダ、シアンカリ等を対照として用いた。供試用醤油は醸造試験所より分譲を受けた標準醤油をボーメ 15° 即ち比重 1.152 に稀釈して滅菌し、これで上記の薬剤を種々の濃度に稀釈したものを各試験管に無菌的に 5 cc 宛分注し、これに 10 倍稀釈した腐敗醤油を一金耳量宛植付け、28°C の定温器に納めその発育の程度を調査した。各区共 4 本の試験管を用い、3 本は菌の植付を行い 1 本は標準区として菌の植付をしなかつた。

III 実験結果

1. ロダン醋酸エチルエステル

実験結果は第 1~第 5 表に示すが如くであるが、第 1 回は 0.1~0.00001 % の範囲内で試験を行い調査は 12 日で打切つたが、黴の発生は 0.0001 % 以上では認めなかつた。第 2 回は 0.0001~0.00001 % の間を細分して試験を行つたが 0.0001 % 以下では 6 日間で黴の発生を認めた。第 3 回は 0.001~0.00001 % の間を細分して試験を行い、0.0001 % は 3 日目では黴の発生を認めないが 6 日目には発育を認め、0.0002 % は 9 日目迄は発育しないが 12 日目には発育して来た。同様の試験を第 4、第 5 回と繰返したが、第 4 回では 3 日目より 0.0001 % で黴の発生を見、

18 日 日	植付		-	-							
	標準	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第 13 表 ベタナフトールの防微作用 (第 3 回試験)

		%	0	0.1	0.01	0.008	0.006	0.004	0.002	0.001	0.0001	0.00001
3 日 日	植付		-	-	-	-	-	±	±	+	+	
	標準	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+
6 日 日	植付		-	-	-	-	-	±	±	+		
	標準	-	-	-	-	-	-	+	+	+		
9 日 日	植付		-	-	-	-	-					
	標準	-	-	-	-	-	-					
12 日 日	植付		-	-	-	-	+					
	標準	-	-	-	-	-	+					
15 日 日	植付		-	-	-	-						
	標準	-	-	-	-	-						
18 日 日	植付		-	-	-	-						
	標準	-	-	-	-	-						

第 14 表 シアンカリ防微作用

		%	0	0.1	0.01	0.001	0.0001	0.00001
3 日 日	植付		-	±	+	+	+	+
	標準	-	-	+	+	+	+	+
6 日 日	植付		+					
	標準	-	-	-	-	-	-	-
9 日 日	植付							
	標準	-	-	-	-	-	-	-
12 日 日	植付							
	標準	-	-	-	-	-	-	-
15 日 日	植付							
	標準	-	-	-	-	-	-	-

5. シアンカリ

当所生物化学部横井技官からロダ
ン醋酸エチルエステルの動物試験の
結果シアンカリに類似の症状がある
との談話があつたのでシアンカリの
防微試験も併せて行つてみた。その
結果は第 14 表に示す如く 3 日目に
0.1% でその発育を阻止したが 6 日
目には微の発育を認めた。尚養液中
の水素イオン濃度の影響によつたも
のではあるまいかと考え、その pH
を N/10 HCl 及び N/10 NaOH で
5.0, 7.0, 9.0 と変じ、これに菌を
植付けたがアルカリ側に於ては発育
を阻止したようであるが、標準区も
発育を認めなかつたから水素イオン
濃度による関係とは考えられない。
(第 14, 15 表)

第 15 表 シアンカリ防黴作用に及ぼす水素イオン濃度の影響

水素イオン濃度 (pH)		pH 5						pH 7						pH 9									
		%		0	0.1	0.01	0.001	0.0001	0.00001	0	0.1	0.01	0.001	0.0001	0.00001	0	0.1	0.01	0.001	0.0001	0.00001		
3 日 目	植付	##	-	±	+	+	##	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	標準	##	-	-	+	+	##	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 日 目	植付	###	-	###	###	###	###	###	-	###	###	###	###	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	標準	###	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9 日 目	植付	###	+	###	###	###	###	###	+	###	###	###	###	+	±	±	±	±	±	±	±	±	
	標準	###	+	###	###	###	###	###	+	###	###	###	###	+	±	±	±	±	±	±	±	±	

第 16 表 ロダンカリ及ロダンソーダ防黴作用 (第 1 回試験)

薬 剤		ロダンカリ			ロダンソーダ		
		%			%		
		0	0.1	0.01	0	0.1	0.01
3 日 目	植付	##	##	##	+	##	##
	標準	##	##	##	+	##	##
6 日 目	植付	##	##	##	##	##	##
	標準	##	##	##	##	##	##

6. ロダンカリ及びロダンソーダ

尙ロダン基を含む化合物としてロダンカリ及びロダンソーダの防黴作用を試験したが、調査の範囲内では全く防黴作用を認めなかつた。

(第 16, 17 表)

第 17 表 ロダンカリ及びロダンソーダ防黴作用 (第 2 回試験)

薬 剤		ロダンカリ						ロダンソーダ					
		%						%					
		0	0.1	0.01	0.001	0.0001	0.00001	0	0.1	0.01	0.001	0.0001	0.00001
3 日 目	植付	###	+	##	##	+	+	###	+	##	##	###	###
	標準	###	##	##	##	##	##	###	##	##	##	###	###
6 日 目	植付	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###
	標準	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###
9 日 目	植付	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###
	標準	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###
12 日 目	植付	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###
	標準	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###
15 日 目	植付	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###
	標準	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###

IV 考 察

ロダン酢酸エチルエステルは0.0004%に於て何れも全実験期間を通じて微の発生を認めなかつた。藤川⁽²⁾は0.005%ではラウリル硫酸エチルエステルと同様80日に至るも微の発生を認めなかつた。ロダン酢酸エチルエステルの毒症状がシアンカリのそれに類似しているというので、その防微試験を行ったが9日目0.1%で微の発生を認めた。又ロダンカリ及びロダンソーダは何れも0.1%3日で已に微の発育を認めた。その防微効果に於て相当の開きがあるものと思われる。

芥子油は従来石18g(0.01%)で防微作用を有するといわれるが⁽⁷⁾、小官等の試験では0.01%6日、0.04%では15日で微の発生を認めた。

V 摘 要

本報告に於てはロダン酢酸エチルエステルの醬油に対する防微試験をベタナフトール、パラオキシ安息香酸ブチルエステル、芥子油、シアンカリ、ロダンソーダ、ロダンカリ等を対照として行つた結果に就て述べた。ロダン酢酸エチルエステルは0.0004%(12日後)、ベタナフトールは0.008%(12日後)、パラオキシ安息香酸ブチルエステルは0.004%(15日後)、芥子油は0.04%(12日後)シアンカリは0.1%(3日後)迄防微作用があつたが、ロダンカリ及びロダンソーダは防微作用がなかつた。

引 用 文 献

- (1) 藤川福二郎：有機性防腐剤に就いて 有機合成化学協会誌. 4: 10~13(1948)
- (2) 藤川福二郎：飲食物防腐剤の研究, (第35報, 第36報) 於京都薬学大会発表 昭24(1949).
- (3) 石尾正文, 坪井祿平, 遠藤興作：食品中パラオキシ安息香酸エステルの試験方法に関する調査報告 衛試. 50, 31~46, 昭13. (1938).
- (4) 伊藤幹愛, 東弘臣, 汪文滔：パラオキシ安息香酸エステル類の毒性試験報告 衛試. 45, 177~184, 昭10, (1935).
- (5) 伊藤幹愛, 柴田義雄：ベタナフトールの毒性に関する調査報告 衛試. 36, 25~32, 昭5. (1930).
- (6) 衣笠豊, 服部安藏：フルアクリル酸並にパラアミドアツォベンツォール外数種毒物の醬油に対する防微効力比較試験成績報告 衛試 32, 147~160, 昭3. (1928).
- (7) 衣笠豊, 服部安藏：醬油防腐アンゼン鏡の醬油に対する防腐効力試験成績報告 衛試. 73, 187~188, 昭4. (1929).
- (8) 黒野勘六, 岩下信雄, 烏山史郎：パラオキシ安息香酸及び其エステルの清酒防腐性並に醬油防腐性に就て 醸造試験所報告, 17, 1~5, 昭8. (1933).
- (9) 黒野勘六, 岩下信雄：パラオキシ安息香酸及び其エステルの清酒防腐性並に醬油防腐性に就て (第二報) 醸造試験所報告 119, 37~42 昭9. (1934).

Experiments of Preservative Effect of Rhodanacetic Acid Ethylester on Soy Sauce.

Shigekatsu HIRAYAMA and Masaki YAMAMOTO

In the present paper we report the result of the examination of the preservative effects of rhodanacetic acid ethylester on soy sauce, in comparison with that of β -naphthol, p-oxybenzoic acid butylester etc.

Rhodanacetic acid ethylester, β -naphthol, p-oxybenzoic acid, mustard oil and potassium (sodium) cyanate (for 3 days) showed the preservative action on soy sauce at the concentration of 0.0004%, 0.004%, 0.008%, and 0.1% respectively. On the contrary, both potassium and sodium rhodanate showed no preventive effect as far as at the concentration of 0.1%.

大根及沢庵に混入した Salicyl 酸の検出反応並に 大根に現れる該反応の妨害現象に関する知見

鹿間嘉久藏 大熊誠一

Studies on the Detective Reactions of Salicylic Acid mixed in the Garden Radish (Root of *Raphanus Satives*. L.) and the Takuan (Pickled radish), and on the Phenomena which disturb those Reactions in the Garden Radish.

Kakuzo SHIKAMA and Seiichi OHKUMA

I. 緒 言

沢庵の様な醗酵性の物質に防腐剤を添加することは、それ自体無意義であつて、現在まで沢庵に対し防腐剤試験の報告を聞かない。然し乍ら沢庵を海外に輸出する場合、これを罐詰とすれば樽詰で送るよりもより経済的であり、商品価値も高くなると云う見地から、沢庵の罐詰が輸出品として登場した。我々は沢庵の様な醗酵性の物質で、加熱処理により商品価値を落とすような物を罐詰とすることの可能性につき疑問を持つて、防腐剤の試験を行つたがたまたま Salicyl 酸の存在を検知した。罐詰に防腐剤を添加することは決してあり得ない事ではない。罐詰の目的には食品保存の為の真空加熱殺菌の為ばかりでなく、運搬の便、商品価値の向上等がある。圧搾罐詰、半乾燥野菜罐詰等は其の例である。

我々はここに本供試品について Salicyl 酸の検出試験を行い、微量化学的試験によつて其の存在を確認した。又、大根及沢庵中には Salicyl 酸検出反応中 Jorissen 反応に対する妨害現象が現れたことを検知し、それに就き若干の検討を加えた。尙大根の特殊成分としては、Rettichöl¹⁾、Raphanol²⁾、Methyl mercaptan、Sinapin 等が報告されている。又、Salkowsky³⁾ は p-Oxybenzylsenföl の存在を報告している。

II. 供試品に就いての Salicyl 酸検出試験

1. 検 體

本実験に使用した供試品は某社の製品であつて、輸出品として製造したものである。その製造工程の詳細は発表することは出来ないが、大体有機酸で処理して、Tartrazine 及ウコンで着色して罐詰とし、適当な温度で一定時間加熱処理したと称するものである。実験の結果、着色料としては Tartrazine 及ウコンの少量を使用し他の色素は使用していない。有機酸はクエン酸である。尙対称の為市販沢庵を使用した。これは Tartrazine 及 Auramine の少量を使用している。而して各検体とも人工甘味料及他の防腐剤は使用されていない。

2. 定性試験

Salicyl 酸検出法としては、A. O. A. C. 記載の過クロール鉄反応及 Jorissen 反応⁴⁾の他に Millon 反応を加えて試験を行つた。試験法の詳細は次の如くである。

(1) 検体処理 (Phenol 性物質共存の場合の Salicyl 酸抽出法⁵⁾)

検体を大根おろしでおろし、それを清浄な布片で圧濾し濾液をとる。残渣に適量の水を加えてよく攪拌圧濾し濾液をとる。この操作を3回繰返す。この濾液をあわせて10% 塩酸で明らかに酸性となした後、Ether にて4回抽出する。Ether 抽出液を飽和重曹溶液と3回振盪抽出した後、Ether 液を少量の水で1回洗滌し、洗液を重曹溶液に合せこれを塩酸酸性として再び Ether で4回抽出する。Ether 液を脱水芒硝で脱水し、室温で自然に蒸発させる。

(2) 過クロール鐵反應

蒸発残渣に0.5% 過クロール鐵溶液を最大の色調が出るまで(2~3滴)加え、そこに呈色する色調をみる。Salicyl 酸があれば莖紫色を呈する。

(3) Jorissen 反應

蒸発残渣を少量の温水中に溶解し、冷却し 10 cc として試験管にとり、5 滴の 10% 亜硝酸カリ溶液、5 滴の 50% 醋酸及 1 滴の 1% 硫酸銅溶液を加え、静かに混和し 30 秒煮沸し 2 分間放置する。そこに呈色する色調をみる。Salicyl 酸があれば Bordeaux 赤色を呈する。

(4) Millon 反應

蒸発残渣を少量の温水中に溶解し、冷却し 10 cc として試験管にとり、硝酸第二水銀溶液 5 滴を加え、重蒸餾中に 2 分間加温後冷却し、之に稀硫酸及亜硝酸ソーダ溶液各 1 滴を加え、再び重蒸餾中に 2 分間加温しその色調をみる。Salicyl 酸があれば櫻紅色を呈する。

以上の試験法に依り供試品及対称として市販沢庵を 3 種試験した成績は第 1 表の如くである。

第 1 表

番号	検 体	過クロール鉄反応	ジョリセン反応	ミロン反 応
1	供 試 沢 庵	重 紫 色 (卅)	黄 褐 色 (卅)	櫻 紅 色 (卅)
2	"	" (卅)	" (卅)	" (卅)
3	"	" (卅)	" (卅)	" (卅)
4	供試沢庵罐詰液汁	" (卅)	" (卅)	" (卅)
5	市 販 沢 庵 (A)	重 紫 色 (±)	黄 色 (+)	櫻 紅 色 (+)
6	" (B)	" (+)	" (+)	" (+)
7	" (C)	" (+)	" (+)	" (+)

註 呈色反應は檢體 100 g より抽出した割合に抽出物を取り、之に就いて行つた。又カッコ内はその色調の程度を示すもので反應の陰陽を示すものではない。以下各表これに準ずる

以上の試験に依れば過クロール鉄反応及 Millon 反應は対称試験にくらべて陽性であるが、Jorissen 反應は褐色を帯びているとは云え陽性であると断言することは出来ない。尙 Jorissen 反應を行う直前の検液は微に黄色を帯びている。又 Salicyl 酸の稀薄溶液を作成しその Jorissen 反應の呈色と、対称試験の Jorissen 反應呈色とを重ねて透視したれば、大體に於いて供試品の呈色と同様の色調を認めたので、略 Salicyl 酸の存在を推定することが出来たが、尙微量化学的試験を行つてその確定をはかつた。確定試験の方法としては比色計によつて呈色色調を分析する方法も考えられるが、この場合各種の不純物が混入していることは明らかであるから、より確実なる微量化学的方法を採用した。

3. 微量化学的定性試験

定性試験の項に述べた方法に依つて抽出した残渣を少しく加温しながら 2~3 滴の蒸溜水で処理し、これをスライドガラス上に滴下し、自然に蒸発して鏡檢し、次に下記の各試薬を滴下して試験を行つた。尙対称たる市販の沢庵についても同じ試験を行つた。

- (1) 硝酸第一水銀溶液 (約 10%) 1 滴を加え析出する結晶を鏡檢する。Salicyl 酸は総狀に集合した針狀結晶か又は短い柱狀品、又は板狀品の物質となる⁶⁾。
- (2) p-Nitrosodimethylanilin (約 10%) 1 滴を加え析出する結晶を鏡檢する。Salicyl 酸は褐色のプリズム品、又は柱狀結晶の物質となる⁶⁾。
- (3) 過クロール鉄溶液 (0.5%) 1 滴を加え反應を見、更に鏡檢する。

以上の試験を対称たる Salicyl 酸其のものと比較しながら行つた。其の結果は次の如くである。

(イ) 供試品抽出物其のもの鏡檢図は第 1 圖の如くである。市販沢庵の鏡檢図は第 2 圖の如くであり、Salicyl 酸の鏡檢図は第 3 圖である。明らかに Salicyl 酸と同様の結晶を供試品のみに発見した。

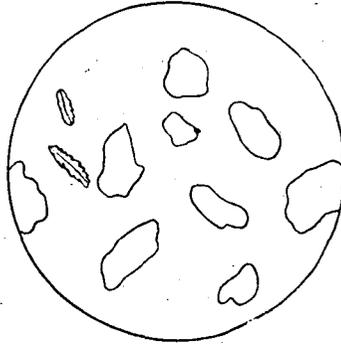
(ロ) 供試品抽出物に硝酸第一水銀を加えた鏡檢図は第 4 圖の如くである。市販沢庵及 Salicyl 酸はそれぞれ第 5 圖及第 6 圖である。明らかに Salicyl 酸におけると同様の結晶を供試品にのみ発見した。

(ハ) 供試品抽出物に p-Nitrosodimethylanilin 試薬を加えた鏡検図は第7図である。市販沢庵及 Salicyl 酸はそれぞれ第8図、9図であり、明らかに供試品にのみ、Salicyl 酸に於けると同様の結晶を認めた。

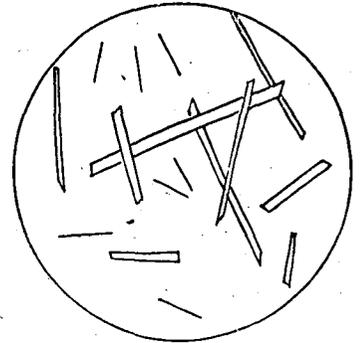
(ニ) 供試品抽出物に過クロール鉄溶液を加えた鏡検図は第10図である。市販沢庵及 Salicyl 酸はそれぞれ第11図及第12図であり、明らかに供試品にのみ、Salicyl 酸におけると同様の結晶を認めた。



第 1 図
300×
(供試品)



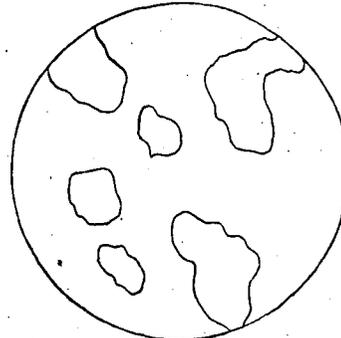
第 2 図
300×
(市販沢庵)



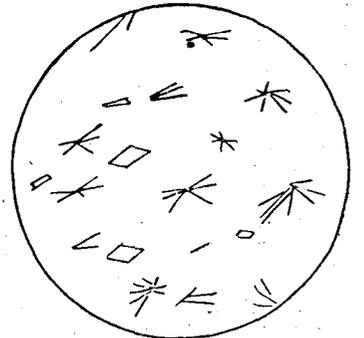
第 3 図
300×
(サルチル酸)



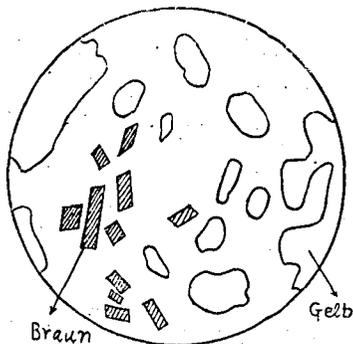
第 4 図
300×
(供試品+HgNO₃)



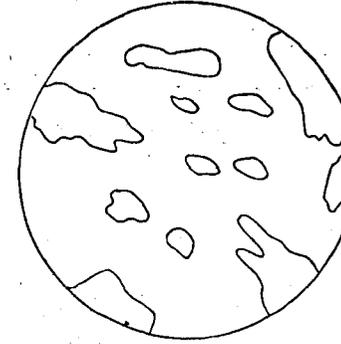
第 5 図
300×
(市販沢庵+HgNO₃)



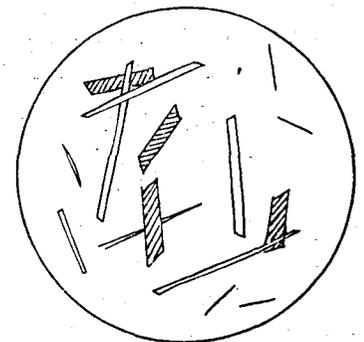
第 6 図
300×
(サルチル酸+HgNO₃)



第 7 図
300×
(供試品+p-Nitrosodimethylanilin)



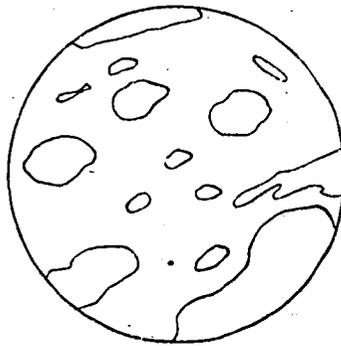
第 8 図
300×
(市販沢庵+p-Nitrosodimethylanilin)



第 9 図
300×
(サルチル酸+p-Nitrosodimethylanilin)



第 10 図
300×
(供試品+FeCl₃)



第 11 図
300×
(市販沢庵+FeCl₃)



第 12 図
300×
(サルチル酸+FeCl₃)

以上の試験に依れば供試品については、こゝに試みた全ての試験が明らかに陽性であり、対称たる市販沢庵については明らかに陰性であるので、供試品中に Salicyl 酸が含有するものと確定して誤りなからう。然して大根及沢庵中に Salicyl 酸が天然に含有されているという報告を聞かないし、又こゝに試みた対称試験がすべて陰性であったことより、供試品中の Salicyl 酸は故意又は偶然に添加されたものと考えてよからう。

4. 定量試験

Salicyl 酸の定量法としては直接定量法、ブロム化法及び比色法等があるが、この場合は Salicyl 酸の含量は極めて微量であると思われるので比色法を採用した。比色法には、W. Heinz 及 R. Limpricht⁷⁾ による過クロール鉄反応を応用したものと、F. Schott⁸⁾ による Jorissen 反応を応用したものとがあるが、Jorissen 反応を応用したものはこの場合利用出来ないで過クロール鉄反応を応用したものを用いる外はない。然しながら該法といえども此の場合は何等かの形で障害されることは以上の実験に依り明らかであるが、試みに供試品の過クロール鉄反応を全部 Salicyl 酸に依るものとして定量を行つた。茲に供試品としては、液汁を混ぜた罐詰内容全部を一検体とした。

(1) 試験法

呈色反応の項に述べた抽出法に従つて抽出した浸漬を、少量の熱湯に溶解し冷後過し洗滌して 10 cc となし、濾液に 0.5% 過クロール鉄溶液を滴下して最大の色調を出さしめ、その色調を標準 Salicyl 酸溶液 (1 mg の Salicyl 酸を 50 cc の水に溶解して調整する) を同様に処理したものの色調と比較 (Nessler 比色管を用う) 定量する。

(2) 試験成績

供試品 1 kg 中…………… 6 mg

上記の試験の信頼性には多大の疑問があるが、たとえ Salicyl 酸を含有していても極めて微量であることは明らかである。尙旨試験は現在の段階では、その正確性に疑問があるのでこれを行わなかつた。

III. 添加物及既知物質の影響及酸処理の影響並に Jorissen 反應の妨害性

1. 添加物及酸処理された添加物の影響

供試品及市販沢庵中には着色料として Tartrazine, ウコン及 Auramin を含有しているので、抽出操作中にそれ等のあるもの、又はその成分が入るか、又は実験誤差的に抽出物に混入して、反応に影響を與えるかもしれない、又これ等の酸処理されたものが影響を與えるかもしれない。又供試品にはクエン酸が添加されてあるので、これが反応に影響を與えるかも知れない。我々は此等の影響を確認するため、一応次の実験を行つた。即ち供試品と同程度の色調を示す此等 3 種の着色料水溶液並にそれ等をクエン酸処理したもの、及び pH 3 のクエン酸水溶液につき、前述の抽出操作を加えた抽出物につき、上記 4 種の反応を行つた。又此の抽出物に、市販沢庵の抽出物に Salicyl 酸 (極稀薄溶液 1~2 滴) を加えて、その過クロール鉄反応が供試品のそれと同程度になる様な Salicyl 酸の量を加え、これに就いて上記の各反応を行つた。その結果は第 2 表の如くである。この試験結果よりこの抽出操作に於て混入するおそれのあ

る微量の Tartrazine, ウコン, Auramin, 及クエン酸は、共に Salicyl 酸の検出反応に対して重大なる影響をあたえないことを確認した。

第 3 表

番号	添 加 物	過クロール鉄反応	亜硝酸ソーダ反応	ジョリセン反応	ミロン反応
8	タートラゼン	呈色しない	殆ど呈色しない	殆ど呈色しない	殆ど呈色しない
9	ウコン	同 上	同 上	同 上	同 上
10	オーラミン	同 上	同 上	同 上	同 上
11	クエン酸	同 上	同 上	同 上	同 上
12	タートラゼン +サルチル酸	堇紫色(±)	殆ど呈色しない	赤色(±)	櫻紅色(±)
13	ウコン +サルチル酸	同 上	同 上	同 上	同 上
14	オーラミン +サルチル酸	同 上	同 上	同 上	同 上
15	クエン酸 +サルチル酸	同 上	同 上	同 上	同 上
16	タートラゼン+ウコン +サルチル酸	同 上	同 上	同 上	同 上
17	タートラゼン+オーラ ミン+サルチル酸	同 上	同 上	同 上	同 上
18	酸処理タートラゼン +サルチル酸	同 上	同 上	同 上	同 上
19	酸処理ウコン +サルチル酸	同 上	同 上	同 上	同 上
20	酸処理オーラミン +サルチル酸	同 上	同 上	同 上	同 上
21	酸処理タートラゼン, ウコン+サルチル酸	同 上	同 上	同 上	同 上
22	酸処理タートラゼン, オーラミン+サルチル酸	同 上	同 上	同 上	同 上

註. クエン酸そのものが過クロール鉄反応を妨害することはすでに知られているが、この抽出法をほどこせば上記の如く影響はない。尚「殆ど呈色しない」は黄色(±)の程度であり、蒸留水のみについて行つた場合と同様である。

2. p-Oxybenzylsenföl の影響

本検出法によつて抽出物中に混入するおそれのある従来知られている物質には p-Oxybenzylsenföl (HO-C₆H₄-CH₂-NCS) があるが、理論的には抽出されない筈である。しかしながら実験誤差的に混入するおそれもあるので次の実験を行つた。即ち大根の抽出物を Alcohol に溶解し、水で稀釈し煮沸して Alcohol を揮発せしめ、濃塩酸を加えて酸性となし、煮沸して鉛糖紙を用いて硫化水素の発生を検した。その結果は次の如くである。

検 体	硫化水素試験(鉛糖紙反応)
大 根	陰 性

これについては尙微量化学的試験を行う必要があるが、これは他日にゆずつた。したがつて p-Oxybenzylsenföl が該抽出物中に存在しないと云うことを確認することは出来ないが、すくなくも抽出法よりして存在しないことを推定することは出来よう。

3. 酸 處 理 の 影 響

供試品, 市販沢庵, 市販沢庵をクエン酸で処理したもの及市販大根, 市販大根をクエン酸又は硫酸で処理したものにつき、定性試験の項で述べた抽出法により得た抽出物につき、過クロール鉄反応, Jorissen 反応, Millon 反応及亜硝酸ソーダ反応を行い、又市販沢庵及市販沢庵をクエン酸処理したものに Salicyl 酸を加え、上記の抽出を行つて

得た抽出物につき上述の反応を行つた。その結果は第3表の如くである。こゝに亜硝酸ソーダ反応は Jorissen 反応と同様に処理し最後の硫酸銅の添加を行わないものである(但し亜硝酸カリの代りに亜硝酸ソーダを使用した)。尙酸処理及 Salicyl 酸添加は次の方法に依つた。

- (1) クエン酸処理 定性試験の項の検体処理にのべた濾液に 10% クエン酸を濾液に対して約 10% 割合に添加し (pH 3), 沸騰水浴中で液量を一定に保ちつゝ 3 時間加温する。
- (2) 硫酸処理 同上濾液に 10% 硫酸を滴下して pH 3 とし, 沸騰水浴中で液量を一定に保ちつゝ 3 時間加温する。
- (3) Salicyl 酸添加 定性試験の項でのべた抽出法によつて得た抽出物に Salicyl 酸を加え, その過クロール鉄反応が供試品のそれと同程度になる様な Salicyl 酸の量を別の上記検体に加えた(番号 B はこの量の Salicyl 酸のみについて行つた)。

第 3 表

番号	検 体	過クロール鉄反応	亜硝酸ソーダ反応	ジョリセン反応	ミロン反応
23	供 試 沢 庵	重 紫 色(卅)	黄 色(卅)	黄 褐 色(卅)	櫻 紅 色(卅)
24	"	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)
25	"	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)
26	市 販 沢 庵 (A)	重 紫 色(±)	黄 色(+)	黄 色(+)	櫻 紅 色(+)
27	" (B)	同 上(+)	同 上(+)	同 上(+)	同 上(+)
28	" (C)	同 上(+)	同 上(+)	同 上(+)	同 上(+)
29	市 販 沢 庵 クエン酸処理 (A)	重 紫 色(卅)	黄 色(卅)	黄 色(卅)	櫻 紅 色(卅)
30	" (B)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)
31	" (C)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)
32	市 販 大 根 (A)	重 紫 色(±)	黄 色(±)	黄 色(±)	櫻 紅 色(±)
33	" (B)	同 上(+)	同 上(+)	同 上(+)	同 上(+)
34	" (C)	同 上(+)	同 上(+)	同 上(+)	同 上(+)
35	市 販 大 根 クエン酸処理 (A)	重 紫 色(卅)	黄 色(卅)	黄 色(卅)	櫻 紅 色(卅)
36	" (B)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)
37	" (C)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)
38	市 販 大 根 硫酸処理 (A)	重 紫 色(卅)	黄 色(卅)	黄 色(卅)	櫻 紅 色(卅)
39	" (B)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)
40	" (C)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)
41	市 販 沢 庵 + サルチル酸 (A)	重 紫 色(卅)	黄 色(+)	黄 褐 色(卅)	櫻 紅 色(卅)
42	" (B)	同 上(卅)	同 上(+)	同 上(卅)	同 上(卅)
43	" (C)	同 上(卅)	同 上(+)	同 上(卅)	同 上(卅)
44	市 販 沢 庵, クエン 酸 + サルチル酸 (A)	重 紫 色(卅)	黄 色(卅)	黄 褐 色(卅)	櫻 紅 色(卅)
45	" (B)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)	同 上(卅)

46	市販沢庵, クエン酸+サルチル酸 (C)	堇紫色(卅)	黄色(卅)	黄褐色(卅)	櫻紅色(卅)
47	市販大根+サルチル酸 (A)	堇紫色(卅)	黄色(+)	黄褐色(卅)	櫻紅色(卅)
48	" (B)	同上(卅)	同上(+)	同上(卅)	同上(卅)
49	" (C)	同上(卅)	同上(+)	同上(卅)	同上(卅)
50	市販大根, クエン酸+サルチル酸 (A)	堇紫色(卅)	黄色(卅)	黄褐色(卅)	櫻紅色(卅)
51	" (B)	同上(卅)	同上(卅)	同上(卅)	同上(卅)
52	" (C)	同上(卅)	同上(卅)	同上(卅)	同上(卅)
53	市販大根, 硫酸+サルチル酸 (A)	堇紫色(卅)	黄色(卅)	黄褐色(卅)	櫻紅色(卅)
54	" (B)	同上(卅)	同上(卅)	同上(卅)	同上(卅)
55	" (C)	同上(卅)	同上(卅)	同上(卅)	同上(卅)
B	サルチル酸	堇紫色(+)	黄色(±)	赤色(卅)	櫻紅色(+)

註、蒸留水に就いての亜硝酸ソーダ反応及ジョリッセン反応は黄色(±)である。

上記の試験成績から酸処理の影響に関しては、次の事が結論されるであろう。

- (1) Salicyl 酸が含有されていない場合、過クロール鉄反応は堇紫色、亜硝酸ソーダ反応及 Jorissen 反応は黄色に呈色し、その度合は酸処理に依つて増大する。
- (2) Salicyl 酸が含有されている場合、Jorissen 反応は黄褐色に現れ、その度合は酸処理によつて増大する。

4. Jorissen 反應の妨害性

以上の実験に於て、添加された量の Salicyl 酸そのものの Jorissen 反応は明らかに赤色であり(第3表 B)抽出物にそれを添加した場合は常に黄褐色であることより、この場合 Jorissen 反応は常に妨害されたと言つてよく、その妨害性には呈色の色調を赤色より黄色に導くものがある。而してそれは着色料其の他の添加剤の影響に基づくものではなく沢庵あるいは大根本來の成分に基因するものである。

IV. 妨害現象に関する試験

Jorissen 反応の妨害性については、これを仔細に検討すれば、大根と沢庵の間には若干の相違があるかも知れないが、以上の実験についてのみ見れば、略同様の現象を示して來たので、我々はこゝにより自然物である大根についてのみ、検討を進めることにした(尙こゝに使用した大根は市販の秋作大根であり 1~2ヶ月の貯藏期間をへたと思われれるものである)。

1. 試験方針

我々は以上の実験を通じて、次の事実を認識した。

- Ⓐ 大根に於いては過クロール鉄反応に対し、Salicyl 酸類似反応が現れる。
- Ⓑ 大根に於いてはそれに Salicyl 酸が混入されている場合、その検出反応に用いる Jorissen 反応は妨害される。
- Ⓒ 大根に於いてはそれに Salicyl 酸が混入されていない場合、Jorissen 反応及亜硝酸ソーダ反応が黄色に現れ、而もこの両者は常に略同程度に呈色する。
- Ⓓ ⒶⒷⒸの現象は大根を酸処理(pH 3)することによつて増大される。
- Ⓔ ⒶⒷⒸの現象は略平行的連関性を以て増減する。我々は之等一連の現象が酸処理によつて増大することを中心として如何なる抽出部分に現れ、又かゝる抽出部分に於てもなお平行して現れるかどうかにつき検討を加えた。こゝに抽出方法としては第4表に示す如く Salicyl 酸の抽出方法を参考とし、主として Carboxyl 基及 Phenol 性水酸基を中心とした方法を採用した。

しかして酸処理の方法としては、クエン酸を用いたものと硫酸を用いたものゝ両者につき行い、いずれも pH 3 と

して3時間沸騰水浴中に加温した。又この場合 Jorissen 反応は黄色を呈するものを (Salicyl 酸を加えた場合は黄褐色) 陽性と称することにす。尙本実験が、本実験の規模に於ける、各呈色反応の鋭敏度の範囲内の検討であることは言をまたない。

2. 水層部分の検討

検液を直接酸処理して第4表の分別を行つたものと、一旦酸性 Ether 可溶性物質を除いた水層を酸処理して、第4表の分別を行つたもの、及それ等に Salicyl 酸を加えたものにつき比較検討した。その抽出順序及び抽出部分の符号は第5表及第6表に示し、その呈色反応の成績は第7表に示す如くである。これに依れば C 部分は、 γ 及 β 部に Millon 反応が \pm の程度に現れた外は、全て陰性であつて、上記一連の現象は現れないことを示している。

第4表

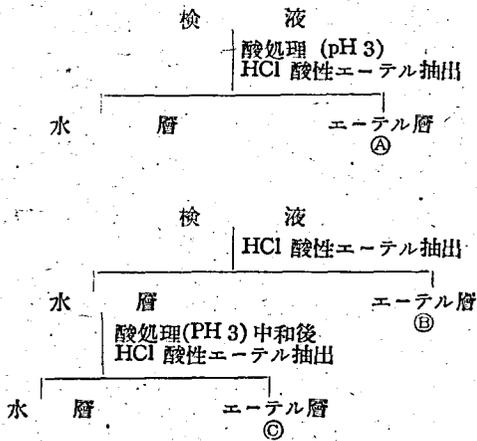
検 液	
HCl 酸性 エーテル抽出	
水 層	エーテル層
A. 酸性物質でエーテル不溶性物質	(1) $\begin{matrix} \diagup \\ \text{C-OH} \\ \diagdown \end{matrix}$ フェノール性物質
B. 中性物質でエーテル不溶性物質	(2) $\begin{matrix} \diagup \\ \text{C-OH} \\ \diagdown \\ \text{O} \end{matrix}$ カルボン酸類
C. 塩基性物質, 其の他	(3) エーテル可溶性中性物質, 其の他 飽和 NaHCO_3 抽出
(I) NaHCO_3 層 (カルボン酸類の Na 塩等) -	エーテル層
a) 単純カルボン酸類	(1) フェノール類
b) フェノールカルボン酸類	(2) エーテル可溶性中性物質
c) 強エノール性物質	3% NaOH 抽出
d) フェノール性水酸基の 水素原子が他の原子団 によつて置換された カルボン酸	(II) NaOH 層 (フェノール類等)
$\begin{matrix} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C-O-R}' \\ \diagdown \\ \text{C-OH} \\ \text{O} \end{matrix}$	a) 単純フェノール類
$\begin{matrix} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C-OH} \\ \diagdown \\ \text{C-O-R}' \\ \text{O} \end{matrix}$	b) 炭化水素 ケトン, アルデヒド等
e) 2 箇以上のカルボキシル基 の内いくつかがエステル化 されたカルボン酸類	(III) エーテル層 (中性物質等)
$\begin{matrix} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C-O-R}' \\ \diagdown \\ \text{C-OH} \\ \text{O} \end{matrix}$	a) 純中性物質 アルコール
$\begin{matrix} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C-OH} \\ \diagdown \\ \text{C-O-R} \\ \text{O} \end{matrix}$	b) 炭化水素
$\begin{matrix} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C-O-R}' \\ \diagdown \\ \text{C-O-CO-R}'' \\ \text{O} \end{matrix}$	c) 炭化水素
$\begin{matrix} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C-OH} \\ \diagdown \\ \text{C-O-CO-R}'' \\ \text{O} \end{matrix}$	d) 炭化水素
$\begin{matrix} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C-O-R}' \\ \diagdown \\ \text{C-O-CO-R}'' \\ \text{O} \end{matrix}$	

註: R はこの場合, 必ずしも純炭化水素類を示すものではない。

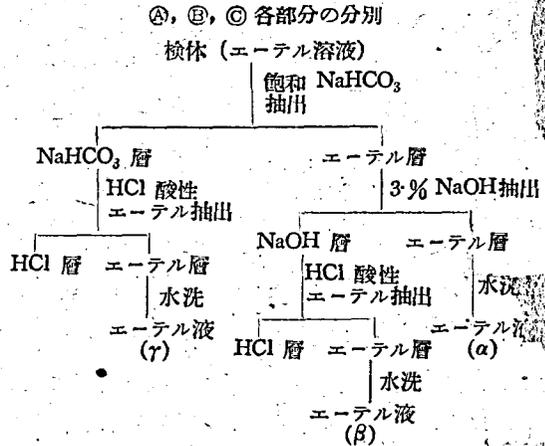
3. エーテル層部分の検討

検液の酸性 Ether 抽出 Ether 層を、第4表に従つて分別し、各抽出部分につき上述の酸処理したものと、しないものにつき酸性 Ether 抽出を行い、その抽出物及びそれ等に Salicyl 酸を加えたものにつき、各呈色反応を行つて比較検討した。その結果は第8表に示す如くである。即ち(I)部分に於て、酸処理したものの方がしないものより、各反応ともより陽性に現れ、しかも平行して現れた外は全て陰性であつた。こゝに Salicyl 酸の添加は III に述べた方法によつた。但し(II)部分に於て亜硝酸ソーダ反応、及 Jorissen 反応がそれぞれ酸処理によつて若干の増加を示し、

第 5 表



第 6 表



第 7 表

番号	検 体	過クロール鉄反応	亜硝酸ソーダ反応	ジョリセン反応	ミロン反応
55	C _γ	黄 色(±)	黄 色(±)	黄 色(±)	櫻 紅 色(±)
56	C _β	同 上(±)	同 上(±)	同 上(±)	同 上(±)
57	C _α	同 上(±)	同 上(±)	同 上(±)	黄 色(±)
58	B _γ	重 紫 色(+)	黄 色(+)	黄 色(+)	櫻 紅 色(+)
59	A _γ	重 紫 色(++)	黄 色(++)	黄 色(++)	櫻 紅 色(++)
60	B _β	黄 色(±)	黄 色(±)	黄 色(±)	同 上(±)
61	A _β	同 上(±)	同 上(+)	同 上(+)	同 上(±)
62	B _α	同 上(±)	同 上(±)	同 上(±)	黄 色(±)
63	A _α	同 上(±)	同 上(±)	同 上(±)	同 上(±)
64	C _γ +サルチル酸	重 紫 色(卅)	黄 色(±)	紅 色(卅)	櫻 紅 色(卅)
65	C _β +サルチル酸	同 上(卅)	同 上(±)	同 上(卅)	同 上(卅)
66	C _α +サルチル酸	同 上(卅)	同 上(±)	同 上(卅)	同 上(卅)
67	B _γ +サルチル酸	同 上(卅)	黄 色(+)	黄 褐 色(+)	同 上(卅)
68	A _γ +サルチル酸	同 上(卅)	黄 色(++)	黄 褐 色(++)	同 上(卅)
69	B _β +サルチル酸	同 上(卅)	同 上(±)	紅 色(卅)	同 上(卅)
70	A _β +サルチル酸	同 上(卅)	同 上(±)	同 上(卅)	同 上(卅)
71	B _α +サルチル酸	同 上(卅)	同 上(±)	同 上(卅)	同 上(卅)
72	A _α +サルチル酸	同 上(卅)	同 上(±)	同 上(卅)	同 上(卅)

第 8 表

番号	検 体	過クロール鉄反応	亜硝酸ソーダ反応	ジョリセン反応	ミロン反応
73	(I) の酸処理物	重紫色(卅)	黄色(卅)	黄色(卅)	櫻紅色(卅)
74	(I) の未酸処理物	同上(+)	同上(+)	同上(+)	櫻紅色(+)
75	(II) の酸処理物	黄色(±)	同上(+)	同上(+)	同上(±)
76	(II) の未酸処理物	同上(±)	同上(±)	同上(±)	同上(±)
77	(III) の酸処理物	同上(±)	同上(±)	同上(±)	黄色(±)
78	(III) の未酸処理物	同上(±)	同上(±)	同上(±)	同上(±)
79	(I) の酸処理物+サルチル酸	重紫色(卅)	黄色(卅)	黄褐色(卅)	櫻紅色(卅)
80	(I) の未酸処理物+サルチル酸	同上(卅)	黄色(+)	黄褐色(+)	櫻紅色(卅)
81	(II) の酸処理物+サルチル酸	重紫色(卅)	黄色(±)	紅色(卅)	櫻紅色(卅)
82	(II) の未酸処理物+サルチル酸	同上(卅)	黄色(±)	紅色(卅)	櫻紅色(卅)
83	(III) の酸処理物+サルチル酸	重紫色(卅)	黄色(±)	紅色(卅)	櫻紅色(卅)
84	(III) の未酸処理物+サルチル酸	同上(卅)	黄色(±)	紅色(卅)	櫻紅色(卅)

Millon 反応が ± の程度に出たが、過クロール鉄反応は陰性であった(これは第7表に於ける A_β 及 B_β の成色と対応するものである)。これは過クロール鉄反応の鋭敏度を考慮に入れれば、上記一連の現象が検体の量を多量にしたとき(II)部分に於ても現れるのではないかと云う印象をあたえる。

4. 結 論

我々は上記の実験に依つて、前述の一連の現象は本実験の規模における各反応の鋭敏度の範圍内に於ては、各抽出部分に於て略平行して現れ、Ether 可溶性 Carbon 酸類の抽出部分に主として現れることを認識した。

V. 結 語

本報告に於ける結果を要約すれば次の如くである。

- (1) 本供試沢庵中には Salicyl 酸が混入していることを確認した。
 - (2) 混入した Salicyl 酸の量は 1 kg 中 6 mg 以下である。
 - (3) 供試沢庵及市販沢庵中に含有する着色料及その他の添加剤は、本実験に於ける過クロール鉄反応、Millon 反応、亜硝酸ソーダ反応及 Jorissen 反応に対し影響を興えない。
 - (4) 沢庵及大根に Salicyl 酸が混入している場合、Salicyl 酸検出試験中 Jorissen 反応は妨害され、赤色に現れるべきものが黄褐色に現れる。
 - (5) 沢庵及大根に Salicyl 酸が混入していない場合、Salicyl 酸検出試験中過クロール鉄反応及 Millon 反応は Salicyl 酸類似反応を示し、Jorissen 反応及亜硝酸ソーダ反応は常に同程度の黄色を呈する。
 - (6) (4)及(5)の各呈色の程度は検体の酸処理によつて増大し、略常に平行的連関性を以て増減する。
 - (7) 酸処理によつて増大することを中心とする(4)(5)(6)の現象は、大根においては主として Ether 可溶性 Carbon 酸類の抽出部分に現れる。
 - (8) 上記の各認識は本実験の規模に於ける各呈色反応の鋭敏度の範圍内のものであり、所謂秋作大根で 1~2 ヶ月の貯蔵期間をへたと思われる大根及原料大根の収穫時期及製造工程の詳細不明なる沢庵についてのものである。
- 第4項乃至第7項の現象を示す本体に就いては、本報告に於ける実験成績よりしても、ある程度の推測を可能ならしめていようが、これが確言に就いては各呈色反応、ことに Jorissen 反応の性格の追及と共により大規模なる研究の成果に待つものである。

本報告は試験部長兼生化学試験部長、田中稔博士並に、前同部長大岡増二郎博士の格別の御配慮を賜つたものであることを記し、こゝに両先生に謹んで深謝の意を表する。

文 献

- 1) Gadamer : Arch. Pharm., 237, 507, (1899).
- 2) Bertraum. u. Walbaum : J. Prakt. Chem. 50, 555, (1894).
- 3) Salkowsky : Ber. 22, 2137.
- 4) H. C. Sherman. & A. Grass : J. Ind. Eng. Chem. 2, 24 (1910).
- 5) Ibid, 13, 47 (1930).
- 6) L. Rosenthaler. Toxikologische Mikroanalyse 128, 1935, Berlin.
- 7) W. Heintz, u R. Limprich : Z. 25, 706, 1913.
- 8) F. Schatt : C. 22, 727, 1911.

Studies on the Detective Reactions of Salicylic Acid mixed in the Garden Radish (Root of Raphanus Satives L.) and the Takuan (Pickled Radish), and on the Phenomena which disturb those Reactions in the Garden Radish.

(KaKuzo SHIKAMA and Seiichi OHKUMA)

We detected that salicylic acid was mixed in the Canned Takuan, of which amount was less than 6 mg. per 1 kg. of the material tested.

We have recognized the fact that the Jorissen test for salicylic acid was disturbed in case the salicylic acid was mixed in the Takuan and radish, and that the salicylic acid's like reaction occurred by iron trichlorid's and Millon's reagents, and Jorissen reaction and sodium nitrite reaction showed yellow color in case it was not mixed in them. Besides, we have also recognized that those phenomena were increased and decreased in parallel with acid treatment for the samples.

In case of garden radish, we have found out that above mentioned phenomena mainly occurred in the extracted fraction of ether soluble carboxylic substance group.

注射剤用硝子容器について

藤井正道 堀部 隆

Research on the Glass Container for Injections.

Masamichi FUJII and Takashi HORIBE

緒 言

現今注射剤は益々其種類を増加しつつあり、而して之等注射剤を保存する硝子容器は注射剤の需要の増加に伴つて増加し、その研究を等閑にする事は、衛生上危険を惹起する恐れあり。然るに之等硝子容器は、最近に於ては良質原料及燃料の入手は既に稍容易となり、材質の研究と製造技術の改善等により、滅菌時の破損率少く、アルカリ溶出度少なき良質なものを製造する事は比較的容易になりつつある現状にも拘わらず尙粗悪なる、並質硝子にて作製せる硝子容器が製造、使用され、之が注射剤の種類如何を問わず使用されるを見受けるのである。

注射剤の種類、性質、如何に無関係に只漫然と此等容器を使用せる場合は滅菌操作中破損多く且硝子成分は薬剤に混されて溶出し、爲めに注射剤が化学的に変化し、純度、力價に変化を與へ、甚だしきは液剤に混濁及沈澱を生ずる等の悪影響が少からざるものである。依つて著者は茲に之等市販の硝子容器を検査するに當り、米國藥局方第 13 版所載の注射剤用硝子容器及日本藥局方 (第 5 改正) 注射剤硝子容器試験法等に準拠して試験を施行し、市販注射剤用硝子容器を検査しつつ、併せて上記の検査規定をも検討し、現在に於て最も適切なる検査規定を定め危険を伴う粗悪なる硝子容器を市場より追放すると同時に、硝子容器の正しい使用方法即ち注射剤の性質に応じた硝子容器の使用を強調せんとするものである。

尙又厚生省業務局監視課に於ては注射剤用硝子容器の規格改正を企て、当所は市販資料 16 種 1177 本の送付を受けたので之等に付、米國藥局方、注射剤用硝子容器試験及之に準ずる試験を施行し、其結果を検討して、日本藥局方注射剤用硝子容器の規定改正に対する参考にも供する次第である。

試 験 之 部

I 米國藥局方による注射剤用硝子容器のアルカリ溶出度試験。

米國藥局方第 13 版所載、注射剤用硝子容器は 4 つの型 (型 I、型 II、型 III、型 IV) に分類され、型 I は總べての注射剤に対して使用され、型 II 以下は夫々注射剤の性質に応じて區別され使用されるものである。

試験方法の大略は次の通りである。

型 I—試験

洗滌、乾燥せる試料を粉碎し、40 番篩の篩下、50 番篩の篩上の粉末を蒸留水及アルコールにて洗滌したるもの 10 g を秤取し、硬質硝子製三角フラスコに入れ、水 40 cc を添加し、加圧釜に容れて 15 封度の水蒸気圧にて 30 分間加熱したる後、30 分以内に冷却し常圧とし、フラスコを取出し、溶出せるアルカリをフェノールレッドを指示薬として $N/50 H_2SO_4$ で滴定す。盲検補正を行い $N/50 H_2SO_4$ の消費量 0.6 cc を越ゆべからず。

型 II—試験

試料に夫々の容量に従つて、前もつて 3/4 に煮つめた水 1000 cc に対して 2 滴の割合にフェノールフタレインを含有せる水を充填し蓋を施し、加圧釜に容れ 15 封度の水蒸気圧にて 1 時間加熱したる後、30 分以内に冷却し常圧とし、取出して各容器より充填液を等容量づゝ集めたもの 100 c.c を採り $N/50 H_2SO_4$ にて滴定するに、その消費量 0.5 cc を越ゆべからず。

型 III—試験

型 I 試験と同様に処理せる粉末を 10 g 秤取し予め $N/50 H_2SO_4$ を入れ 24 時間 90° に加熱せる後洗滌、乾燥せる三角フラスコに入れ、 $N/50 H_2SO_4$ 50 cc を加え $90^\circ \pm 0.5^\circ$ に保ちたる湯浴中に 4 時間加熱したる後、メタルレッドを指示薬として $N/50 NaOH$ にて滴定し、同様の工程を経た $N/50 H_2SO_4$ を滴定する。両滴定の差、 $N/50 H_2$

SO₂ の5 cc 越ゆべからず。

型IV—試験

試料に夫々の容量に従つて水を填充し、蓋を施し、加圧釜に容れ 15 封度の水蒸気圧にて、1 時間加熱したる後、30 分以内に 100° に冷却し、取出し、内容液 100 cc 以上を正確に秤取し白金皿にて蒸発乾涸し、溶出せる硝子の重量を測定し、同量の水に就て盲検補正を行ひ、硝子成分の総溶出量、1 L に対し 3.5 mg を越ゆべからず。

上記の如き米國藥局方注射剤用硝子容器試験法に準拠し試験を施行したるに第1表に示す如き成績を得た。

第1表 米國藥局方に拠る試験成績

試料	型 I 試験	型 II 試験	型 III 試験	型 IV 試験
白色アンブル A20 c.c.	0.43 cc	0.26 cc	1.05 cc	— mg
5	0.99 不適	0.57 不適	1.29	—
1	0.79 不適	0.65 不適	2.05	—
B 20	—	—	2.10	—
10	0.41	—	0.89	—
5	0.32	0.04	0.78	—
1	0.49	0.45	1.00	—
C 20	0.33	0.30	0.58	—
5	0.28	0.13 以下	3.40	—
平底 1	0.15	0.50	1.08	—
丸底 1	0.45	0.10	5.00	—
D 2	0.29	0.13	2.25	—
1	0.31	0.13 以下	2.76	—
E 20	0.30	0.13 以下	1.69	—
5	0.45	0.13	1.78	—
2	0.56	0.13	1.83	—
1	0.33	0.13	1.82	—
F 50	0.64 不適	0.13 以下	0.75	—
20	0.55	0.13 以下	1.45	—
10	0.55	0.36	1.38	—
5	0.47	0.13	1.44	—
3	0.54	0.13	1.90	—
1	0.57	0.33	1.70	—
0.5	—	0.43	3.58	—
500	0.95 不適	—	3.60	3.25
褐色アンブル G20	0.36	0.07	3.39	—
10	0.43	0.14	3.00	—
5	0.46	0.38	3.50	—
1	0.49	0.42	3.82	—
H 5	0.31	0.48	4.69	—
1	0.28	0.18	2.80	—
I 20	0.51	0.13 以下	5.00	—
1	0.48	0.13 以下	3.90	—
J 250	0.72 不適	—	6.78 不適	3.10
100	0.39	0.20	1.89	2.85
50	0.43	0.07	1.89	—
コバルトアンブル 20	0.56	0.08	1.90	—
環 T.	7.63 不適	1.14 不適	5.95 不適	—
K.	1.35 不適	0.45	—	—

注射筒 Y. 米國藥局方規定	— 0.6 cc. 以下	0.5 cc 以下	7.13 不 適 5 cc 以下	— 3.5 mg 以下
-------------------	-----------------	-----------	------------------------	----------------

即ち白色アンプルに於て、A 5 cc 及 1 cc の型 I 及型 II 試験、E 50 cc 及 500 cc の型 I 試験、J 250 cc の型 I 及型 III 試験、壘 T 及 K の試験、注射筒 Y の型 III 試験に於て夫々アルカリ溶出度多く、不適であるが其等も試験に不適となつた型以外の型の試験に適合するものは他の型即ち例へば A 5 cc アンプルは型 I 及型 II には不適であるが型 III の使用には差支え無い。

II. 日本藥局方による注射剤用硝子容器のアルカリ溶出度試験。

日本藥局方に於ける試験方法は 10 分定規塩酸 1 cc に水及メチルロート溶液 0.5 cc を加えて 1 L としたる混液を硝子容器に注入して其 4 分の 3 容量を充し熔閉したる後 100 度に於て 1 時間加熱するに其赤色減褪することあるも全く消失すべからず、である。試験の結果第 2 表に示す如き成績を得た。

第 2 表 日本藥局方に拠る試験成績

試料	試験成績	判定
白色アンプル L. 5 cc	赤色僅かに減退す	適
20	同上	"
10	同上	"
M. 10	同上	"
5	10 本中殆ど減退するもの 9 本 } 僅かに減退するもの 1 本 }	?
3	10 本中殆ど減退するもの 8 本 } 全く褪色するもの 2 本 }	?
2	同上	?
1	10 本中殆ど減退するもの 7 本 } 全く褪色するもの 3 本 }	?
0.5	10 本中殆ど減退するもの 6 本 } 全く褪色するもの 4 本 }	?
N. 20(丸)	赤色僅かに減退す	適
20(角)	同上	"
5	同上	"
壘 T	全く褪色す	不適
K	赤色僅かに減退す	適

III 注射剤用硝子容器の試験に対する案

米國藥局方試験法は日本藥局方試験法に比して試験の種類が多く即ち型の分類あり且つ試験に際し試料粉末を多量に要し (10 g) 且つ加圧釜を使用する關係上、比較的試験は複雑であり、試料を多量に要する点が、現下の國內の各製造者間で実践し得るや否やに關し幾分の疑問あり、出来れば此等の点を幾分でも変え検査方法を簡單容易にして尙且不備なきものとする考へのもとに型の種類を A, B, C の 3 種とし A は米局の型 I に、B は型 III に、C は型 IV に準拠せしめ、A, B の検査に使用する試料粉末も 5 g とし且つ加圧釜の使用を排し実情に近く水浴による煮沸法を採用し、又指示薬もメチルレッドとして試験を施行したるに第 3 表の如き成績を得た。

試験方法は次の如し。

A. 米國藥局方型 I の試験中試料粉末採取量を 5 g とし、加熱方法を沸騰水浴中で 1 時間加熱と変え其他は米國藥局方と同一方法に拠る。

B. 米國藥局方型 III の試験中試料粉末採取量を 5 g とし其他は米國藥局方と同一方法に拠る。

C. 米國藥局方型 IV と同一方法に拠る。

第 3 表 案 に 拠 る 試 験 成 績

試 料	A 試 験		B 試 験		C 試 験	
	$(\frac{N}{100} \text{HCl 消費量 cc})$		$(\frac{N}{50} \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ 消費量 cc})$		(総溶出量 mg)	
白色アンプル F. 500 cc	0.61		—		3.25	
J. 250	0.44		2.34		3.10	
100	0.32		1.05		2.85	
L. 50	0.58		—		—	
20	0.43		2.00		—	
10	—		1.82		—	
M. 10	0.30		1.76		—	
5	0.35		1.68		—	
3	0.38		1.85		—	
2	0.37		1.05		—	
1	0.37		1.10		—	
0.5	0.28		1.52		—	
N (丸) 20	0.38		1.00		—	
(角) 20	0.43		1.05		—	
5	0.42		1.75		—	

即ち本試験成績よりして、アルカリ溶出度は A に於ては N/100 HCl 0.5 cc 以下、B に於ては N/50 H₂SO₄ 3 cc 以下にして、C に於ては硝子の総溶出量は米薬局方に等しく 1 L に付き 3.5 mg 以下が適当と思われる。

IV 耐熱耐寒及浸蝕試験

試料に各容器に従つて夫々その 4 分の 3 容量の水、N/10 苛性ソーダ溶液、10% 食塩溶液を充填密封したる後、沸騰水浴中にて 5 時間煮沸したる場合及加圧釜中にて 15 封度水蒸気圧にて 3 時間加熱したる場合とに付き夫々加熱後取出し直ちに氷水中に急冷して破損の状況を検し且つ水を充填したる場合には尙不溶解性物質又は硝子剥片を析出するや否やを眼下に検査せる結果第 4 表に示す如き成績を得た。

第 4 表 耐 熱、耐 寒 及 浸 蝕 試 験 成 績

試 料	試験方法	蒸 溜 水		N/10 NaOH		10% NaCl	
		100° 5 時間	120° (加圧釜) 3 時間	100° 5 時間	120° (加圧釜)3 時間	100° 5 時間	120° (加圧釜) 3 時間
白色アンプル	A	—	—	—	—	—	—
	B	—	—	—	—	—	—
	C	—	—	—	—	—	—
D	2 cc	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし
	1	"	"	"	"	"	"
E	20	—	—	—	—	—	—
	5	"	"	"	"	"	"
	2	"	"	"	"	"	"
	1	—	—	—	—	—	—
F	50	"	"	"	"	"	"
	20	"	"	加熱時破損あり	"	"	"
	10	"	—	変化なし	"	"	"
	5	"	"	"	"	"	"
	3	"	"	"	"	"	"

	1	"	"	"	加熱時破損あり	"	"	
	0.5	"	"	"	加熱時破損あり	"	"	
	500	—	—	—	—	—	—	
焼鈍加工	50	"	"	"	変化なし	"	"	
	20	"	"	—	"	—	"	
	10	"	—	"	"	"	"	
	5	"	"	"	"	"	"	
	3	—	—	—	—	—	—	
	2	"	"	"	加熱時破損あり	"	"	
褐色アンブル	1	"	"	"	加熱時破損あり	"	"	
	0.5	"	"	"	加熱時破損あり	"	"	
	G	20	"	"	急冷時破損あり	変化なし	"	"
		10	"	"	急冷時破損あり	—	"	"
		5	"	"	変化なし	"	"	"
	H	1	—	—	—	—	—	—
5		"	—	"	"	"	—	
I	1	—	—	—	—	—	—	
	20	"	"	"	"	"	"	
白色アンブル	L	1	—	—	—	—	—	
		50	"	—	—	—	—	
		20	"	—	—	—	—	
	M	10	"	—	—	—	—	
		10	"	—	—	—	—	
		5	"	—	—	—	—	
3		"	—	—	—	—		
	2	"	—	—	—	—		
	1	"	—	—	—	—		
	0.5	"	—	—	—	—		

結 論

当所に於て集めた注射剤用硝子容器は、白色、褐色共にアルカリ溶出度試験に於て米國藥局方をそのまま適用するも殆んど適合する。

而して同一製造者の製品に於ては大型容器即ち 50 cc 以上のものは小型のものに比較してアルカリ溶出度が大である。その原因は大型のものは小型のものに比較して加工成型困難なる為め歪が大となり加熱による破損率が大となる為め原料に於て或程度軟質硝子を使用するからであろう。

斯かる点を考慮するならば注射剤用硝子容器に対する試験方法に於て従来の日本藥局方は容器試験のみで簡單に行い得るのであるが硝子容器の形状、大きさの一定のものに就て比較する場合は稍々その意義もあるが形状及大きさを異にする硝子容器に就ての試験に対しては無意味である。即ち小型の硝子容器程、薬剤液の量に対する硝子の接触面が大となり、従つて試験は酷となり而も採取試料中燬本かの不適品を生ずる結果よりして、かゝる試験体採取せる製品を判定することは困難である、何となれば硝子の上面に或程度の変化を生ずる事は硝子の本質上及製造上よりして当然にして、例え同材質の硝子容器に於ても日本藥局方試験に於てはかゝる違つた結果を生ずる事があると同時に又良質の硝子容器中に不良材質の硝子容器が混入している場合にも亦同様の結果を生ずるが故に日本藥局方試験のみよりして硝子容器の良、不良を判定する事は無理である。

この点米國藥局法に於ては材質試験に重点を置いてゐる事は遙かに進歩したものである。

米國藥局方と日本藥局方とに於ける注射剤用硝子容器に対する試験方法の差異を表記すれば第5表の如し。

第5表 注射剤用硝子容器に対する日本薬局方と米國薬局方との比較

	日 本 薬 局 方	米 國 薬 局 方
試験方法	容器試験	材質試験
試験設備	簡 単	稍複雑
型の分類	1 種	I, II, III, IV の4種
加熱温度及方法	100° 水浴使用	121.5° 加圧釜使用
判定及比較	褪色による判定故個人差其他に依る誤差多し	定量的である故比較的正確であり且誤差少し

即ち米國薬局方は試料を粉末にしてアルカリ溶出度を測る材質試験を主とし、型I及型IIIの材質試験が一般に使用される型なるに対し型II及型IVの容器試験は特殊な用途のものである。又日本薬局方に示す如きメナレルドのアルカリ溶出による褪色検査は個人差を伴い易いが米國薬局方は溶出せるアルカリを中和するに要する酸の所要量により或は溶出物の重量等による定量的なる判定によるが故に良否の判定が容易で個人差が少い。但し型IIIの試験を除いて他はすべて加圧釜を使用するが故に幾分操作上の困難を伴うがしかし短時間に硝子容器中より多量のアルカリを溶出する事が出来、加熱時間が短時間にて足る。殊に型IVの大型硝子容器の試験には迅速に行う為めにも是非とも必要である。

而して米國薬局方試験の長所を取入れ、現下の我國に於て製造者自身が加圧釜等の如き特別の装置無くして行い得る当所の案に於ては従来の日本薬局方及米國薬局方に於ける型IIの試験を除外せり、その理由は上記の如く本試験に於て特に小型の硝子容器に於ては、本試験は容器の内面の上部と内容液との反応による試験なるが為めに実験誤差を生ずる事多きを以てむしろ材質試験に重点を置くべきなりと思惟するが故なり。但し試験方法として本案の規定は米國薬局方よりも稍緩やかな点はあるも本案に拠り注射剤用硝子容器の性質を区分し、不良品を排除し得る点は米國薬局法の検査に比較して遜色無きものと思惟す。

次に注射剤用硝子壺に就ては試験を施行せるもの僅か2検体であるが共にアルカリ溶出度多く、米國薬局方試験に於て不適になり、之等に就ては尙研究を必要とする。

又最近齒科用局所麻酔用注射剤容器として硝子管の両端をゴム栓にて封せるものが使用されているが、此等に就ては硝子の材質試験と共に、ペニシリン用硝子容器のゴム栓の如く、ゴム栓の試験も同時に施行する事が必要である。

又注射剤が光線の影響を受けるを防ぐ目的に琥珀色硝子容器が使用されているが、此等は使用の際その内容薬剤の変質、析出物の有無等の鑑識上不安の点あり、その事からしても使用を避け白色硝子容器を使用し遮光は包装等により為すべきものと思惟す。(昭和25年2月15日)

Research on the Glass Container for Injections

(Masamichi FUJI and Takashi HORIBE)

We made an investigation on the specifications of the glass containers for injections both in J. P. and U.S.P. and performed the tests on their Japanese products. As the results of these tests, we can confidentially declare that the specification of the glass container for injections in J. P. is "Nonsense" and the one in U.S.P. is 'Perfect'. But we think it is too strict for the Japanese products, so we present our suggestion i. e., our specification is to classify the containers into three types such as A, B and C.

歯科用合金に就て

藤井正道 山内八東 堀部隆 辻楠雄

Research on Dental Alloys.

Masamichi FUJII, Yatsuka YAMAUCHI, Takashi HORIBE and Kusuo TSUJI

緒言

歯科補綴用合金として誰しも金合金の使用を望むものである。がしかし金合金と雖もそれを必要とする補綴部の諸要求に依つて、自ら物理的、機械的及化学的性質に限定された範囲があり、其の爲めには金合金を構成する成分の変化及熱処理方法等をも考慮しなくてはならない。

それ故に之を使用する爲めには之等の諸性質を熟知して技工操作し応用しなくてはならない。斯くしなくては決して満足すべき補綴物は出来ないのであつて、所謂金合金ならば安心して使用出来ると云う事は、かゝる上記の諸事項を等閑にして何れの補綴部にも安心して使用出来ると云う事では無い。而も現在歯科医師には純金が配給されている故に之を以て満足すべき補綴用合金を作製し之を臨床に應用する事は歯科医療上重大な事であり、歯科材料学の重要性がある所以である。しかし現在の状態に於て、例えば白金加金線の如きものは歯科医師が各自の技工室で作製する事は殆ど不可能である。又他の金合金に於ても成分不明の添加金属を純金に合金せしめて金合金を作製する事等は改められねばならない。

斯く金合金に対して注意を喚起する所以は米國歯科医師会に於て制定された歯科材料規格によるも明白である。即ち同規格に於て金合金に関しては、第5号インレー鑄造用合金規格、第7号合金線規格等が制定され、夫々に必要なる物理的、機械的諸性質が要求され猶之に附随して種々の臨床に及技工上の諸要求が規定されているのである。即ち歯科医学の先進國米國に於ては金合金に於て既に斯くの如き規格が制定され実践されているのである。かゝる金合金を補綴学の原理に基づいて使用してこそ満足すべき補綴物が出るのである。此点特に米國の歯科醫術に學ばねばならない。

斯くの如く金属を必要とする補綴物の諸要求が科学的に明瞭となるに従つて金合金に於てさへ所謂漫然と金合金ならば安全だと云う考えは是正されなくてはならなくなつて来るのである。又一方斯くの如く研究が進むに従つて必ずしも金合金を使用しなくとも良い、むしろ補綴の種類に依つては金合金よりも優秀な貴金属を含有しない合金が研究され、作製され、應用される事は必然的な事であり、猶又金の節約上からしても必要な事である。

又譬へ其合金の系統が、金合金系の如く全般的には無くとも、その中の或組成のものが、局部的にでも使用價值のあるものならば、むしろ或部に対しての補綴物には金合金を使用する必要は無い。

又局部的にでも使用される各種の合金を研究し、その諸性質を熟知するならば使用し得る合金の種類は実に多種である。水銀も之に銀—錫—銅—亜鉛合金の粉末と混和せしめた銀アマルガムは充填材料として既に歯科医療上永きにわたつて使用され、又口腔内で変色する可印によつて非難された銀も之に錫、亜鉛、カドミウム等を入れ合金せしめた鑄造用銀合金はインレー用合金として盛んに使用され又最も非難された黄色合金即黄銅系合金も歯科医療上の使用の歴史は殆んど金合金と等しく現在なお使用されている。

著者は茲に於て現在使用されている歯科用金属に就てその諸性質を研究発表し歯科医療上補綴物作製の参考に供せんとするものであり、茲に特にニッケル—クロム合金の諸性質及之が歯科医療上衛生材料としての適否を論ぜんとするものである。

實 験 之 部

ニッケル—クロム合金が歯科医療上應用し始められたのは既に十数年前よりの事であり、今日迄に其の使用上の可否に就ては種々議論されたものである。

当所に於て之が研究され発表されたのは昭和16年及17年であつて其等は当所の彙報第56号及57号に記載されて

いる。

又昭和8年に発足した日本歯科材料協会の歯科材料規格調査委員会も亦此問題を取上げて来たのである。

而して歯科用合金に関しては、規格制定及之が再検討に當つて、歯科医療上及技工上の環境に近接せる條件を具備して実験する事は殆んど不可能なるが故に上記の委員会に於て規定された規格を再検討しつゝ之に準拠して化学的及機械的性質の試験を施行して来たのである。

然るに其後既に8年の年月を経た今日に於ては自ら之が結論を下すに難くなく又何等矛盾其他を見出さない程の状態となつた次第である。

第1節 過去の試験結果

(イ). 昭和16年に於て検査せるニッケルクロム合金は9種にして何れも1% 乳酸溶液、37°、3日間の浸漬試験結果多少ともニッケルの溶出を看たるを以て此点は衛生的見地よりして更に考究の要あるものと信ずとの結論を得ている。

(ロ). 昭和17年に於て検査せるニッケルクロム合金は16種にしてその結論は次の如し。

1. 塩化水素溶液に対して規格に適合せざるものにして1% 乳酸溶液に対して規格に適合するものが口腔衛生的見地よりして歯科医療上之が使用を憂慮すべきや否やと云う可は甚だ疑問なり。この点に関しては再検討を要するものである。

2. ニッケルクロム合金に於て1% 乳酸溶液に対して耐蝕性を有するものは僅かである。耐蝕性に乏しいものはその溶出金属の何たるかを問わず口腔衛生的見地よりして一応その使用を考慮すべきである。

3. ニッケルクロム合金は硫化ソーダ試験に於て殆ど変化しない、此の点銀合金より遙にその性質が優るものである。

4. 1% 食塩溶液に対してニッケルクロム合金は殆ど総べてのものが耐蝕性を有す。

5. ニッケルクロム合金は熔融点高き為め鍛造操作による変質は銀合金程に非ずと思われるも表面の酸化により化学的性質に変化を來すものである。しかしながら概してニッケルクロム合金に於ては鍛による影響大なり。

6. 和硫試験に於てニッケルクロム合金は銀合金に遙に優る。

7. ニッケルクロム合金板は機械的性質が18K 金合金に類似す。故に正印牀用及非鍛造金鈎代用合金の性質の規定に適合す。

8. 鍛造試験に於て鍛造部剥離せず、而して鍛造後の抗張力40 kg/mm² 前後にして、伸張度は20% 前後なり然るに銀合金は抗張力20 kg/mm² 前後、伸張度15% 以下に減ずる故にかゝる銀合金が歯科技工操作に適するや否や或は口腔内の咬合其他による機械的力及磨耗作用に耐乏得るや否や疑問なるも、ニッケルクロム合金板は歯科技工操作は冠用合金よりも困難ならんも機械的性質に於ては銀合金よりも遙に強し。

以上の如くニッケルクロム合金が販賣された当初は、日本歯科材料協会の規格も決定されて間も無い時代であり又歯科医療上、特に口腔衛生上の見地よりしてかゝるニッケルクロム合金が使用に耐えるものなりや否やは全く疑問にしてその成行を静観する状況であつたのである。しかし昭和16年より17年へと研究が進むにつれて又一方ニッケルクロム合金の耐蝕性も亦機械的性質も改善されたのである。而して機械的性質に於ては歯科材料規格調査会に於て発表された如く、抗張力50 kg/mm² 以上伸張度15% 以下のものは金冠等の作製用としては困難にして、当初のものは抗張力50 kg/mm² 前後或はそれ以上のものが多く技工操作の困難、それに伴う補綴物の不完全が議論されたのである。勿論正印牀用等の材料としては問題は無かつたのである。

第2節 現在市販品の試験成績

日本歯科材料協会、歯科材料規格に準拠して試験せる現在市販されているニッケルクロム合金の試験成績は本誌第67号に記載せる如く、試験品中昭和16年以前より販賣されている名柄のものは数種にして、その殆ど総べてのものが1% 乳酸溶液に対する腐蝕試験成績が、1 mg/cm² 以下のものであり、機械的性質に於ては抗張力は40 kg/mm²、伸張度25% 前後のものであり、抗張力50 kg/mm² 以上のものは殆ど無い。而して1% 乳酸溶液に対する腐蝕試験成績が1 gm/cm² 以上のものは市販品として出るや否やその姿を消したものである。

又鈎用としての線に関しても不銹鋼18-8鋼と共に使用さるべきものである。

尙数種の歯科用合金に就て日本薬学会協定衛生試験法、飲食物用器具検査法に準拠し且つ試験片の形態は日本歯科

種 類	溶出金属量
黄銅系 板 1	2.3×10^{-4}
" 2	2.5×10^{-3}
" 3	1×10^{-2}
板, 鑄 4	5×10^{-3}
鑄 5	6.2×10^{-4}
白色 鑄 6	3.1×10^{-4}
洋銀系 " 7	1.2×10^{-3}
" 8	4.8×10^{-3}
板 9	0.2×10^{-4}
鑄 銀 10	5×10^{-3}
11	1×10^{-3}
銀アマルガム 12	1×10^{-5}
13	4.3×10^{-6}
14	4.6×10^{-6}
15	5.4×10^{-6}
ニッケルクロム 16	1×10^{-6}
17	7×10^{-7}
18	5×10^{-7}
19	7×10^{-7}
20	3×10^{-6}

材料協会、歯科材料規格に準拠し之を煮沸せる 4% 醋酸 50 c.c 中に浸漬し其儘放冷し 30 分経過後試験片を取出し液中に溶出せる金属の量を比色定量するに次に示す如き成績を得た。

即ちニッケル-クロム合金は本試験成績によれば溶出金属量は殆ど 10^{-6} 程度のものであり、溶出金属は殆どニッケルである。かかる程度のもを嚥下したとして人体に対する毒性反応を発見するや否やは他の歯科用合金に比較するも亦 A.O.A.C に於ける食品中の金属試験を参照するも全く疑問なり。

結 論

著者は茲にニッケル-クロム合金が歯科医療上衛生材料としての適否に関して、結論を下さんとするものである。

1. 日本歯科材料協会に於て規定された規格に準拠し化学試験を行い 1% 乳酸溶液に対して減量 1 mg/cm^2 以下にして食塩溶液及 0.1% 硫化ソーダ溶液に対して増減量 0.1 mg/cm^2 以下にして変色せず、0.05% 塩化水素溶液に対しては、 2 mg/cm^2 以下なるものは使用に耐えるものと信ず。

2. 1% 乳酸溶液に対して 2 mg/cm^2 以上腐蝕されるものに於て、勿論この全部を嚥下したとして人体に対する毒性反応を発見するに至るや疑問なるも、之等金属は口腔生理の支配下に在りその環境は複雑微妙にして前記の如き腐蝕試験の追従し難きものなるが故

に特殊なる用途、例へばインレー専用の如きものを除き口腔内に於て比較的廣く且口腔粘膜に接触して使用されるものに於ては可及的に溶出せざる 2 mg/cm^2 以下にして出来得れば 1 mg/cm^2 以下の如き合金を使用すべき事は口腔衛生的見地よりして可なりと信ず。

3. 鑲着後の化学的性質は鐵の影響が大なる故に鐵に対しては細心の注意を要す。

4. 機械的性質は金冠用其他のものに於ては抗張力が 50 kg/mm^2 以下、伸張度 15% 以上のものが望ましい。

以上の結論よりしてニッケル-クロム合金の使用の可否はその合金の材質上、上記の諸要求に適合するものに就ては臨床家自身の問題に属すべく既に物理的、機械的及化学的な問題では無い。

Research on Dental Alloys

(Masamichi FUJII, Yatsuka YAMANOCHI, Takashi HORIBE and Kusuo TSUJI)

Although it is a common concept that the gold alloy is the most satisfactory metal for dental prosthesis, it may be admitted to say that the gold is not always satisfactory, depending upon what portion the treatment is required. That is to say, some substances can be obtained after a careful and thorough-going study based on theory of prosthesis.

Therefore, if we find something which can be effectively applied locally, we do not need to use gold alloy for such particular part, keeping this viewpoint in our mind, let us turn our attention to the possibility of nickel-chrom alloy it is proved that we can confidentially declare that such metal has durability and is fitted to be used, as long as the metal has strength to stand with its corrosive degree less than 1 mg/cm^2 in 1% lactic acid solution and also less than 0.1 mg/cm^2 in salt solution and in 1% sodium sulphide solution, and also its color does not turn into dark in case for both solution, and also it is less than 2 mg/cm^2 in hydrochloric acid solution.

油溶性食用タール色素のビタミン A 安定作用について

大岡 増二郎 國 東 壽 夫

Stability of Vitamin A in Fish Liver Oil in Presence of Fat Soluble Coal-tar Dyes

Masujiro OKA and Toshio KUNITO

序 言

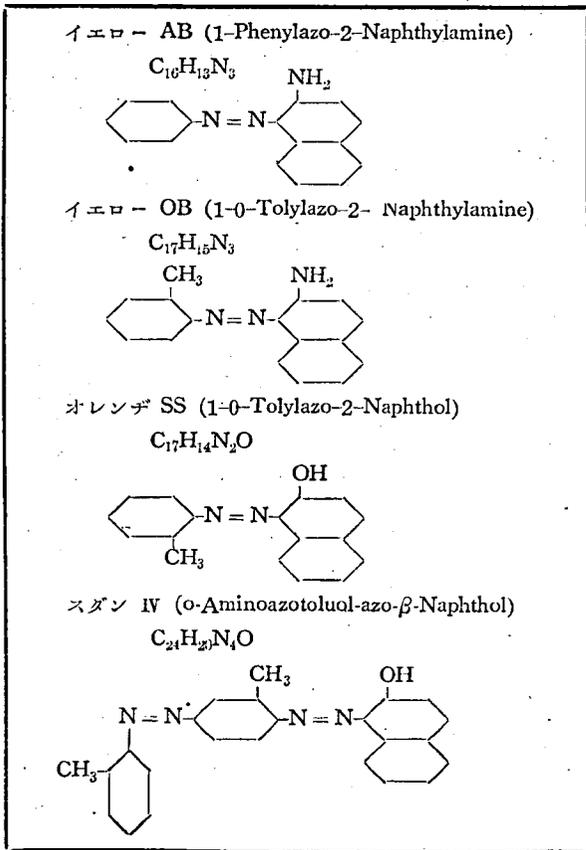
肝油の V. A は主として過酸化物次で光、熱によりて分解する、現在迄防酸化剤の研究は種々あり、ハイドロキノ
ン⁽¹⁾、V. E⁽²⁾、N. D. G. A.⁽³⁾⁽⁴⁾等あるが、食用油脂の防酸化剤として充分とはいえない。著者等は油性食用タール色
素による遮光効果が如何に V. A 保存の上に見られるかを調査中因らずも本品が肝油の V. A の空気により酸化分解
するのを防止することを見出した。以下其結果を報告する。

實 験 の 部

I 試 料

(1) 色 素

実験に供した色素 図表 I



イエロー AB:市販品を 70% アルコールより再結晶, 融点 103.9°.

イエロー OB:市販品を 70% アルコールより再結晶, 融点 125°~126°.

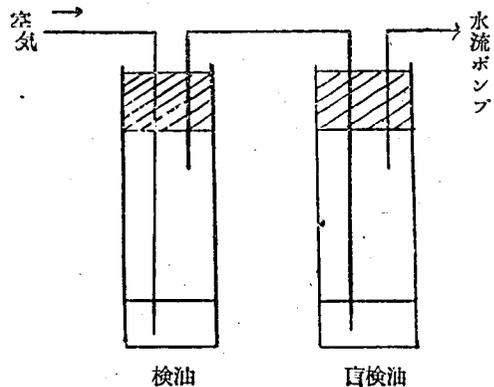
オレンジ SS:純アルコールより再結晶, 融点 132°.

スダン IV:ベンゾールとアルコールより再結晶 融点 186°.

(2) 肝油 メカデキ, 鯨の高單位肝油を綿絨濾過して使用した。

II 酸化方法

図表 II 急速酸化法



急速酸化⁽⁵⁾として盲検の肝油と色素を添加したる肝油とを夫々大試験管にとり、図表IIの如く直列に連結し、一端を水流ポンプに連結して空気を導入させた。但し試験管及び硝子管は同一内径を有するものを用いた。通気開始2時間後、対照管と可検管との順序を交代し、更に2時間通気する。酸化温度は40°(電気恒温水槽)、酸化後、検油及び対照油を室温に保存し、過酸化物の増量と、V. A の残存量とを測定した。又静置酸化としては検油及び盲検油を夫々、内径5cm、容量50ccのビーカーに20g宛とり、孵卵器内40°で放置し、其間過酸化物の増量と、V. A の残存量を測定した。

III 過酸化物及び V. A の測定法⁽⁵⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾

前者は Wheeler の灰化カリ法で後者は Sobel と Werbin の活性グリセロールデクロールヒドリン法で全油に就き測る。

色素の干渉は試料を0.03%クロロホルム溶液にすれば避け得る。即ち試料溶液1ccに呈色試薬4ccを加え1.5分間25°に保ち生ずる呈色を試薬添加後2~10分間にプルプリヒ光度計(S₇₇)で比光し、別に用意したV. A 標準品(分子蒸溜V. A 濃縮物)を用いて作った表に照してV. A (I. U.) 量を計算する。

IV 実験成績

(1) 色素の干渉

添加色素による呈色の干渉は予試験の結果試料をクロロホルムで0.03%以下の溶液とすれば、約25000単位迄の肝油ならば無視出来ることが判明したので此範圍で実験を行うよう立案した。

(2) 急速酸化

(i) メカヂキ肝油(87900 I. U.)に0.1%のイエローOBを添加したものと対照肝油とを比較した。

過酸化物：酸化前に、チオ硫酸ソーダのcc数1.24ccのものから13日経過後、対照は8.89cc(7.2倍)、色素含有肝油は4.23cc(3.4倍)となつた。(図表III参照)

V. A の残存量：87900 I. U. のメカヂキ肝油は13日後に対照は22900 I. U. に落ち、破壊された%は73.9%であるが、色素添加油は60900 I. U. に留まり、破壊%は30.7%である。(図表IV参照)

(ii) 鯨肝油(100000 I. U.)に0.1%イエローABを添加したものを検油とした。此場合酸化は非常に緩慢で防酸化力もイエローOBで試験した時の如く著明でない。但し、イエローOBに比べ肝油の種類、通気条件も異なる。又

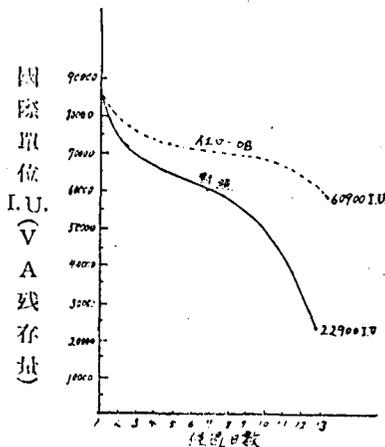
急速酸化(ii)に於ては、或る期間後、添加色素は酸化促進剤となる。(図表V参照)

V. A の破壊は或る期間内は抑制しているが、永く放置した場合は殆ど同様になる。(図表VI参照)

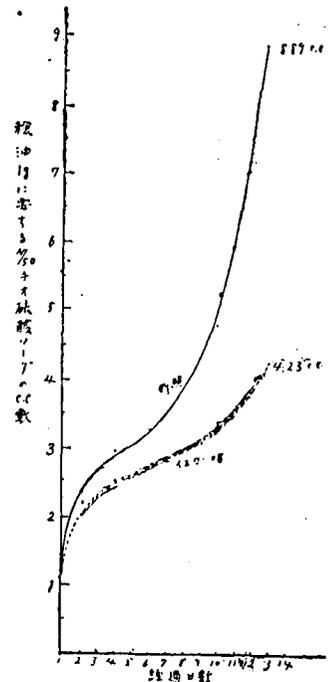
然し自然に貯える場合には空気を導入して急激に酸化するような状況とは著しく異なるから、色素が酸化促進剤として作用することは殆ど無いのではあるまいか。

(3) 静置酸化

(i) 白長須鯨肝油(119300 I. U.)を用い添加色素として、イエローAB、イエローOB、オレンジSS、スダンIVの4種を用い、濃度は0.1%と0.025%の割合に添加した。別に同濃度のハイドロキノンに肝油に加え、その効力を比較した。23日でV. A の測定は困難になつたので、



図表IV 急速酸化(ii)に於けるAの破壊



図表III 急速酸化(i)に於ける過酸化物の生成

Aの測定は止め過酸化物の測定のみ 35 日間経続した。実験成績中代表的なもののみ、図表 VII, X に示した。他の成績に就ては図表 VIII, IX を参照されたい。図表 VII, VIII に依れば、何れも或る期間迄は過酸化物が強力に抑えられるが後、急激に上昇する。図表 VII, VIII, IX 及び X, より見て 0.1% 添加の場合と 0.025% 添加の場合とでは当然のことではあるが濃度の高い方が強力であり、且有効期間が長い。同一検油に於ては、過酸化物の生成と A の破壊とは大凡平行しているが例外もある。

(ii) に於ては色素の濃度を上げた場合を検した。試料は白長須鯨肝油 100000 I. U.) を用い色素は 0.2% 及び 0.1% 添加した。都合により過酸化物の成績のみを掲げる。

0.1% と 0.2% では静置酸化 (i) の時の 0.1% と 0.025% 程の差は無く却つて 0.1% 添加の方が有効の如くである。(図表 XI, XII 参照)。

静置酸化 (i) (ii) から油脂の過酸化物の生成だけを考えればイエロー AB 0.1% が最も有効である。(図表 VII, XII 参照)。

總 括

油脂に色素を添加し、静置酸化を行つた場合イエロー AB, OB, を加えたものは対照に比し過酸化物の生成は $\frac{1}{2} \sim \frac{1}{3}$ 以下で有力な防酸化剤であるが、A の破壊防止力はそれ程は強くなく、ハイドロキノロンに及ばない。スダソ IV は酸化防止力はイエロー AB, OB に及ばないが、A の破壊防止力は寧ろ兩者より強いようである。オレンジ SS は油脂の酸化防止力及び A の破壊防止力共に弱い。静置酸化の場合同一検油に就ては過酸化物の増量と V. A の破壊は比例しているが、過酸化物を良く抑える色素が必ずしも強力な A の安定剤になるとは云えない。

急速酸化の場合、イエロー OB は油脂の酸化防止並びに V. A の破壊防止に何れも極めて有効であつたが、同程度の効力を予想したイエロー AB は初めは相当に有効であつたが、後過酸化物の生成、A の破壊共に急速に進行した。但し此の場合は勿論前回とは空気の導入状況も異つたであらうし、肝油の魚種が異なるので、之によつて急速酸化に於ける二者の優劣を決めることは出来ない。オレンジ SS は油脂に添加し急速酸化を行う場合変色し実用にならない。又此等の色素を添加して普通に貯蔵した場合に起るかどうかは疑問であるが、著者等が行つた酸化促進法に於ては或る有効期間を過ぎれば逆に酸化促進剤として働いた、此等安定剤としては防止力と同時に色素自身の酸化に対する抵抗力が重要である。

著者等が実験に供した色素は油脂の防酸化並びに V. A の破壊防止力を示したがその分子構造上の如何なる部分が有効であるかは一切不明である。

今回実験に採用した急速、静置の両酸化法は短時日に色素の効果を知る為の便宜上の方法であつて、普通貯蔵法の

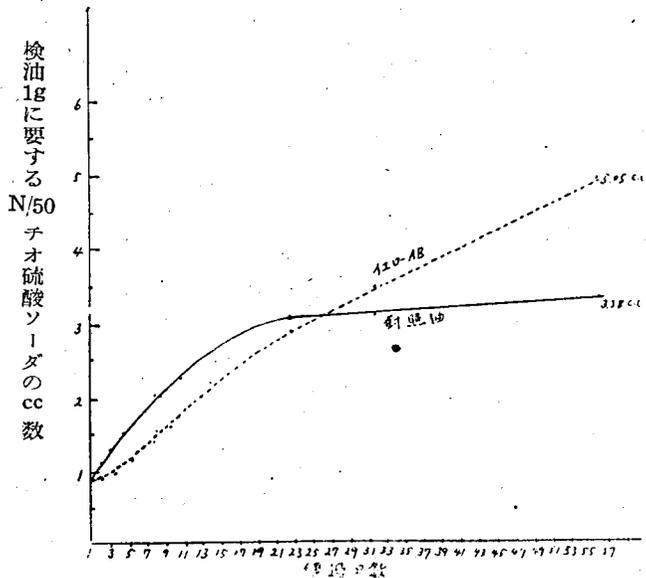
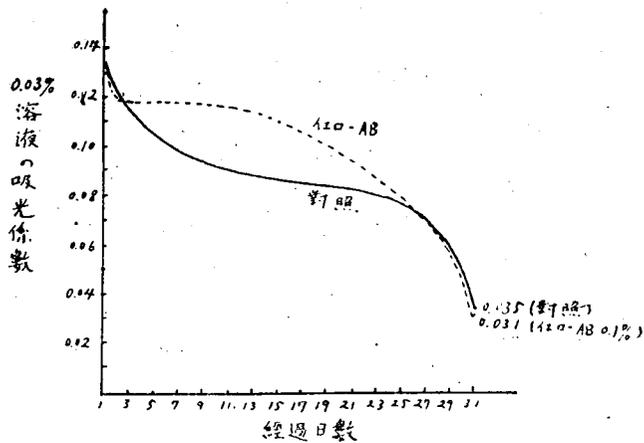
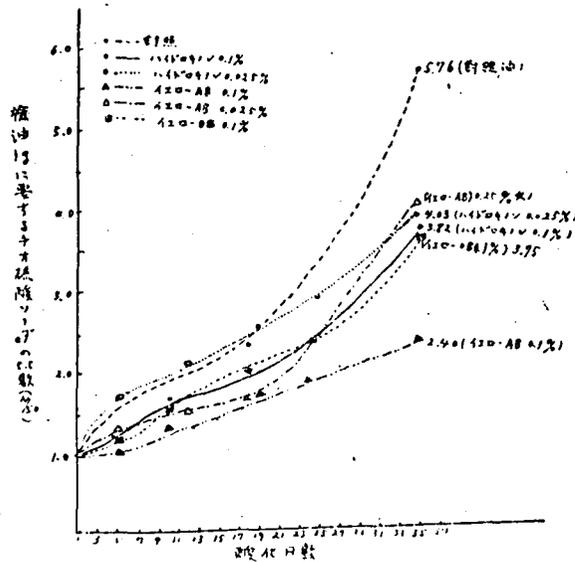


図 V 急速酸化 (ii) に於ける過酸化物の生成



図表 VI 急速酸化 (ii) に於ける A の破壊



図表VII 静置酸化(i)に於ける過酸化物生成

図表VIII 静置酸化(i)に於ける過酸化物の生成

酸化日数	酸化前	4	5	10	12	18	19	24	25	35
対照	0.97	1.41		1.93		2.33		3.41		5.76
イエロー AB 0.1%	"	1.00		1.39		1.67		1.93		2.40
" 0.025%	"		1.28		1.49		1.74		2.64	4.1
イエロー OB 0.1%	"	1.08		1.55		1.97		2.37		3.75
" 0.025%	"		1.46		1.79		1.69		2.84	4.27
オレンジ SS 0.1%	"	1.09		1.65		2.32		2.58		4.25
" 0.025%	"		1.52		1.84		2.14		3.26	5.2
スダソ IV 0.1%	"	1.02		1.58		1.61		2.86		4.59
ハイドロキノン 0.1%	"	1.17		1.66		1.68		2.58		3.82
" 0.025%	"		1.70		2.06		2.59		2.92	4.03

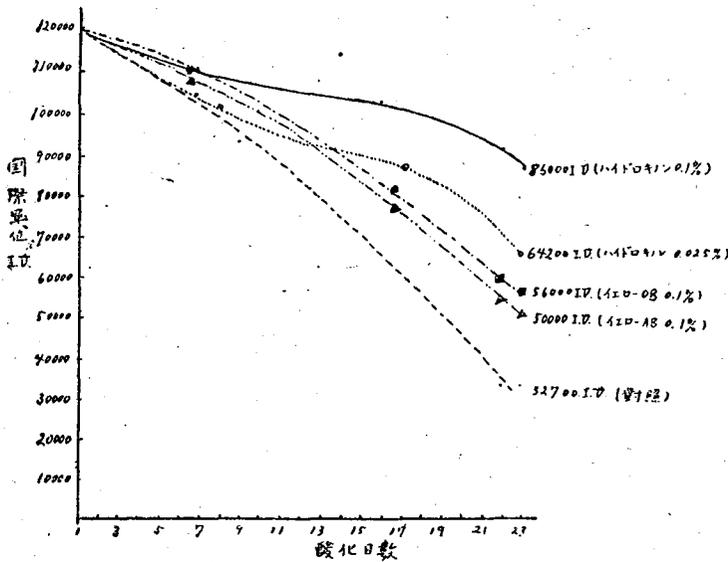
数値は検油 1g に要する N/50 チオ硫酸ソーダの cc 数

図表IX 静置酸化 I に於ける A の破壊

酸化日数	酸化前	8	9	16	17	22	23
対照	119300	101700	93300	63300	62500	32700	32700
イエロー AB 0.1%	"	105800		80000		54000	50000
" 0.025%	"		101700		74200		43300
イエロー OB 0.1%	"	103300		83300		58300	56000
" 0.025%	"		97300		77500		51700

オレンジ SS 0.1%	"	104300	86600	56600	51700
" 0.025%	"	86700	56700	47300	
スダシ IV 0.1%	"	105800	88300	63300	58300
ハイドロキノソ 0.1%	"	108300	102500	90800	86000
" 0.025%	"	98300	86700	64200	

数値は I.V./g を以て示した。

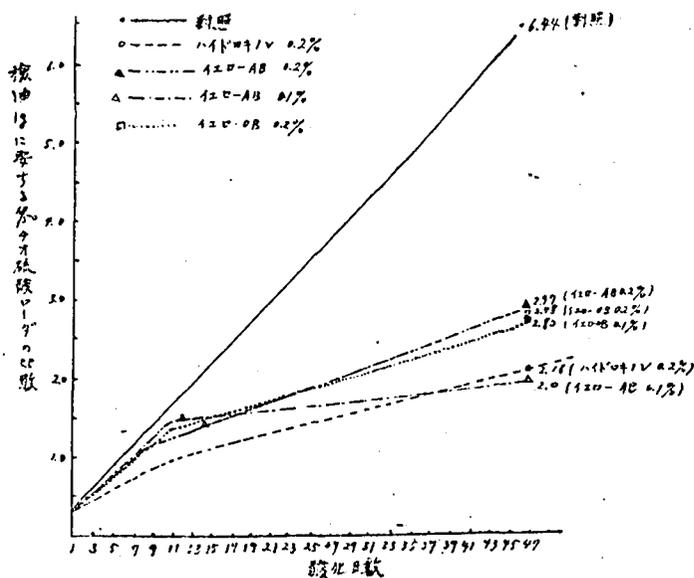


図表 X 静置酸化 (i) に於ける A の破壊

図表 XI 静置酸化 (ii) に於ける過酸化物の生成

酸化日数	酸化前	4	5	11	12	14	47
対照	0.31	0.76				1.80	6.44
イエロ-AB 0.2%	"	0.55		1.38		1.42	2.97
" 0.1%	"		0.63		1.50	1.45	2.00
イエロ-OB 0.2%	"	0.60		1.40		1.54	2.78
" 0.1%	"		0.69		1.52	1.34	2.80
オレンジ SS 0.2%	"	0.61		1.55		1.68	2.70
" 0.1%	"		0.73		1.54	1.89	2.91
スダシ IV 0.2%	"	0.53		1.37		1.59	2.98
ハイドロキノソ 0.2%	"	0.56		1.04		1.12	2.18
" 0.1%	"		0.60		1.26	1.57	2.95

数値は検油 1g に要する N/50 テオ硫酸ソーダの cc 数



図表Ⅱ 静置酸化(ii)に於ける過酸化物の生成

場合、必ずしも同様の経過をたどるとは云えないが、安定剤を加えない肝油のA含量が最初の $\frac{1}{3}$ 程度に減少する迄観察すれば、放置時の状態も大略この成績により察知し得ると思う。

終りに試料を提供された三栄薬品興業株式会社、保土ヶ谷化工江古田工場、池田化学株式会社及び林兼水産工業株式会社に深謝する。なお研究費は文部省科学研究費に仰いだ。

参 考 文 献

- 1) 櫻井：薬学 1, 88(1947).
- 2) A. Rene : J. Biol. Chem. 169, 323 (1947).
- 3) O. Gisvold : J. Am. Pharm. Assoc., 37, June (1948).
- 4) J. W. Stull : J. Dairy Sci 31, 449 (1948).
- 5) A. E. Sobel : J. Biol. Chem. 159, 681 (1945).
- 6) Ibid : Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 18, 570 (1946).
- 7) Ibid : Anal Chem. 19, 107 (1947).
- 8) 阿部：日本水産学会誌 14, 115 (昭和 23 年).

Stability of Vitamin A in Fish Liver Oil in Presence of Fat Soluble Coal-tar Dyes
(Masujiro OOKA and Toshio KUNITO)

Recently, the considerable attention has been concentrated on the stability of vitamin A in fish liver oil under the influence of irradiation and air-oxidation. During our researches on these phenomena, we found out that some azo-dyes, such as Yellow OB, possess a marked antioxidant property against air-oxidation of vitamin A.

According to the aeration and air-exposure test, Yellow AB, Yellow OB, Orange SS and Sudan IV, in a concentration of 0.025—0.2 %, acted as antioxidant, but so far as the stabilization of vitamin A in fish liver oil is concerned, hydroquinone has been proved to be more potent.

The attitude of vitamin A and peroxide in oil have been traced colorimetrically or iodometrically, and their relationship with antioxidation have also been discussed.

有機水銀化合物の合成ならびに其殺菌力試験 (第5報)

田 中 稔

On the Studies of the Synthesis of the Organic Mercury
Compounds and their Bactericidal Power. V.

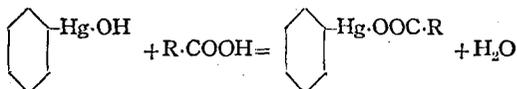
Yutaka TANAKA

前報¹⁾に於て著者等は有機水銀化合物中 Phenyl-mercury-nitrate, -acetate, -lactate, -tartrate の製法について研究し、又それ等化合物の諸種の細菌類に対する力を調べた。

著者は今回機を得て、 $C_6H_5 \cdot Hg \cdot OOC \cdot R$ なる型の多数の化合物を合成し、それ等化合物の性質を明かにしたので、一括して報告する。

其 1. $C_6H_5 \cdot Hg \cdot OOC \cdot R$ 型化合物の製法

既述の経験により、Phenyl-mercury-hydroxide を任意の有機酸をもつて中和すれば、次式の様に、相当する塩として目的の化合物を得ることを知つた。



よつて、この方法を応用し、次の 32 種の酸類を用いて反応を試み、いずれも相当する化合物を得た。すなわち

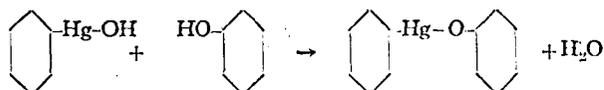
- | | | |
|-------------------------|--|------|
| (1) Formic acid | H·COOH | |
| (2) Acetic acid | CH ₃ COOH | 〔既述〕 |
| (3) Propionic acid | C ₂ H ₅ ·COOH | |
| (4) n-Butyric acid | C ₃ H ₇ ·COOH | |
| (5) iso-Butyric acid | (CH ₃) ₂ ·CH·COOH | |
| (6) n-Valeric acid | C ₄ H ₉ ·COOH | |
| (7) iso-Valeric acid | (CH ₃) ₂ ·CH·CH ₂ ·COOH | |
| (8) Caproic acid | C ₆ H ₁₁ ·COOH | |
| (9) Heptylic acid | C ₆ H ₁₃ ·COOH | |
| (10) Capric acid | C ₉ H ₁₉ ·COOH | |
| (11) Lauric acid | C ₁₁ H ₂₃ ·COOH | |
| (12) Palmitic acid | C ₁₆ H ₃₁ ·COOH | |
| (13) Stearic acid | C ₁₇ H ₃₅ ·COOH | |
| (14) Glycolic acid | (OH)·CH ₂ ·COOH | |
| (15) Amino-acetic acid | (NH ₂)·CH ₂ ·COOH | |
| (16) Chloro-acetic acid | Cl·CH ₂ ·COOH | |
| (17) Lactic acid | CH ₃ ·CH(OH)·COOH | 〔既述〕 |
| (18) Oxalic acid | (COOH) ₂ | |
| (19) Malonic acid | CH ₂ ·(COOH) ₂ | |
| (20) Succinic acid | (CH ₂ ·COOH) ₂ | |
| (21) Tartaric acid | [CH(OH)·COOH] ₂ | 〔既述〕 |
| (22) Glutamic acid | HOOC·CH(NH ₂)·CH ₂ ·CH ₂ ·COOH | |
| (23) Citric acid | HOOC
HO \diagup C = (CH ₂ ·COOH) ₂ | |
| (24) Benzoic acid | C ₆ H ₅ ·COOH | |

- (25) Phenylacetic acid $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot COOH$
 (26) Mandelic acid $C_6H_5 \cdot CH(OH) \cdot COOH$
 (27) Cinnamic acid $C_6H_5 \cdot CH=CH \cdot COOH$
 (28) Salicylic acid $C_6H_4 \cdot (OH) \cdot COOH$
 (29) p-Oxy-benzoic acid $(OH) \cdot C_6H_4 \cdot COOH$
 (30) Anthranilic acid $C_6H_4 \cdot (NH_2) \cdot COOH$
 (31) p-Amino-benzoic acid $(NH_2) \cdot C_6H_4 \cdot COOH$
 (32) Phthalic acid $C_6H_4 \cdot (COOH)_2$

以上の酸類を用いて得た化合物の性状を列記すれば第1表の様である。

(附) Phenyl-mercury-phenolate

次に著者は、前述の法を応用し、Phenyl-mercury-hydroxide に石炭酸及びフェノールを作用させた所、予期の如く、それぞれ相当する phenolate を結晶として得た。



それ等の性状は第2表にあげた様であるが、溶解度は概して低い。

第1表

	品名	化学式	結晶形	融点	溶解度 (飽和溶液 g中のg数)	溶解度 測定温度	備考
1	C ₆ H ₅ -Hg-Formiate	C ₇ H ₆ O ₂ ·Hg	無色針状	136.5°	0.201	23.0° ± 0.5°	不安定
2	“-Acetate	C ₈ H ₈ O ₂ ·Hg	無色針状	148—149°	0.50	23.0° ± 0.5°	
3	“-Propionate	C ₉ H ₁₀ O ₂ ·Hg	無色針状	76°	0.607	23.0° ± 0.5°	
4	“-n-Butyrate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂ ·Hg	無色細針状	92.5°	0.119	20.0° ± 0.5°	
5	“-iso-Butyrate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂ ·Hg	無色小鱗片状	117.5°	0.358	23.0° ± 0.5°	不安定
6	“-n-Valerianate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂ ·Hg	無色針状	72.5°	0.0439	20.0° ± 0.5°	
7	“-iso-Valerianate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂ ·Hg	無色針状	121°	0.08	20.0° ± 0.5°	
8	“-Caproate	C ₁₂ H ₁₆ O ₂ ·Hg	無色細針状	78°	0.036	23.0° ± 0.5°	
9	“-Heptylate	C ₁₃ H ₁₈ O ₂ ·Hg	無色針状	72°	0.0081	20.0° ± 0.5°	
10	“-Caprate	C ₁₆ H ₂₄ O ₂ ·Hg	無色針状	50°	0.0071	20.0° ± 0.5°	
11	“-Laurate	C ₁₅ H ₂₆ O ₂ ·Hg	無色細針状	75.5°	0.0061	20.0° ± 0.5°	
12	“-Palmiate	C ₂₂ H ₃₆ O ₂ ·Hg	無色微粒状	62°	0.006	20.0° ± 0.5°	
13	“-Stearate	C ₂₄ H ₄₀ O ₂ ·Hg	無色細柱状	88°	0.020	20.0° ± 0.5°	
14	“-Glycolate	C ₃ H ₅ O ₃ ·Hg	無色長板状	167° (分解)	0.689	22.0° ± 0.5°	
15	“-Amino-acetate	C ₆ H ₉ O ₂ N·Hg	無色鱗片状	247°	0.012	22.0° ± 0.5°	
16	“-Chloro-acetate	C ₆ H ₇ O ₂ Cl·Hg	無色針状	125.5°	0.159	24.0° ± 0.5°	
17	“-Lactate	C ₉ H ₁₀ O ₃ ·Hg	無色針状	153—153.5°	0.041	20.0° ± 0.5°	
18	“-Oxalate	C ₁₄ H ₁₀ O ₄ ·Hg	無色小板状	199°	0.022	20.0° ± 0.5°	有機溶 剤に不 溶
19	“-Malonate	C ₁₅ H ₁₂ O ₄ ·Hg ₂	無色細板状	266° (分解)	0.075	23.0° ± 0.5°	
20	“-Succinate	C ₁₆ H ₁₄ O ₄ ·Hg ₂	無色細鱗片状	220°	0.018	20.0° ± 0.5°	乾燥中 に着色
21	“-Tartrate	C ₁₆ H ₁₄ O ₆ ·Hg ₂	無色針状	235°	0.024	23.0° ± 0.5°	有機溶 剤に不 溶
22	“-Glutamate	C ₁₇ H ₁₇ O ₄ N·Hg ₂	無色鱗片状	245°	不溶	23.0° ± 0.5°	有機溶 剤に不 溶
23	“-Citrate	C ₂₄ H ₂₀ O ₇ ·Hg ₃	無色微粒状	209°	0.008	23.0° ± 0.5°	有機溶 剤に不 溶
24	“-Benzoate	C ₁₃ H ₁₀ O ₂ ·Hg	無色微粒状	88.5°	0.035	23.0° ± 0.5°	
25	“-Phenyl-acetate	C ₁₄ H ₁₂ O ₂ ·Hg	無色細針状	148°	0.034	23.0° ± 0.5°	

26	C ₆ H ₅ -Hg-Mandelate	C ₁₄ H ₁₂ O ₃ -Hg	無色針状	208°	0.014	20.0°±0.5°
27	"-Cinnamate	C ₁₅ H ₁₂ O ₂ -Hg	無色針状	178°	0.016	23.0°±0.5°
28	"-Salicylate	C ₁₃ H ₁₀ O ₃ -Hg	無色細板状	161.5°	0.014	20.0°±0.5°
29	"-p-Oxy-benzoate	C ₁₃ H ₁₀ O ₃ -Hg	無色針状	182°(分解)	0.017	24.0°±0.5°
30	"-Anthranilate	C ₁₃ H ₁₁ O ₂ N-Hg	無色微細板状	156°	0.017	20.0°±0.5°
31	"-p-Amino-benzoate	C ₁₃ H ₁₁ O ₂ N-Hg	無色長板状	162°	0.0202	20.0°±0.5°
32	"-Phthalate	C ₂₀ H ₁₄ O ₄ -Hg ₂	無色柱状	219°(分解)	0.013	23.0°±0.5°

第 2 表

品名	化学式	結晶形	融点	溶解度 (飽和溶液 100 g 中の g 数)	溶解度 測定温度	備考
C ₆ H ₅ -Hg-phenolate	C ₆ H ₅ -Hg-O-C ₆ H ₅	無色細針状	119.5°	0.0149	20.0°±0.5°	
C ₆ H ₅ -Hg-thymolate	C ₆ H ₅ -Hg-O-C ₆ H ₃ (CH ₃) ₂	無色針状	112.5°	0.0060	20.0°±0.5°	不安定

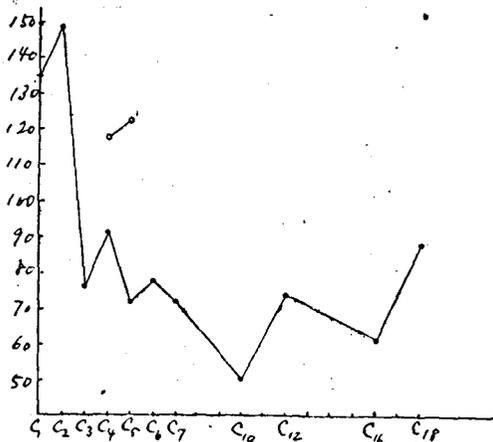
上掲第1表を通覧するに

(a) 融点：飽和脂肪酸の結合した化合物は概して芳香族酸を結合した化合物に比して融点の低いものが多い。しかし脂肪酸でも二塩基性酸の化合物は一般に融点が高い。醋酸系列において、その炭素数の増加と、融点との関係は平行しない。又実験の範囲においては、iso-化合物は概して n-化合物よりも高い融点を持つている〔第I図表〕。二塩基性酸化合物の場合も同様に、炭素数の増加と融点との関係は平行しない〔第II図表〕。

(b) 溶解度：一定温度において、飽和水溶液 100 g 中に溶存するその物質の g 数を以つてその温度についての溶解度として表示した。

これによると、脂肪酸化合物は概して、芳香族酸化合物より水に溶け易いものが多い。しかし、1000 倍以下の水に溶解するものは脂肪酸中低級のものに結合させたもののみで、著者の実験の結果によれば、醋酸-、酪酸-、プロピオン酸- 正酪酸及びイソ酪酸化合物の5種に過ぎない。しかし一般に iso-化合物が n-化合物より概して高い溶解度を有している〔第III図表〕。醋酸化合物は、それ自体、同族中溶解度の高いものであるが、その置換体中、水酸基置換体たるグリコール酸化合物はその母体たる醋酸化合物よりも溶解度が更に高い可なりは予期の通りであるが、メチル基置換体たるプロピオン酸化合物がその母体よりも溶解度の高い可なりは予期に反した。又、クロル醋酸化合物、アミノ醋酸化合物は共に母体より低い溶解度を有するが、アミノ醋酸の場合は殊に甚だしい。

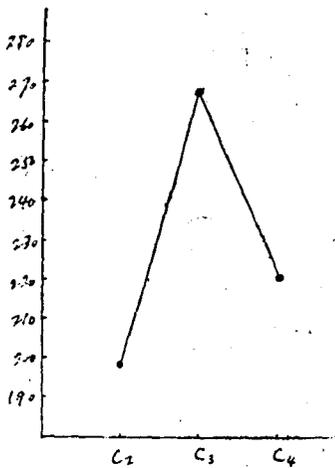
又、脂肪酸でも、多塩基性酸は一般に溶解度が低い〔第IV図表〕。殊に有機溶剤には溶解し難く、修酸-、酒石酸-、クエン酸化合物は殆んど溶解しない。



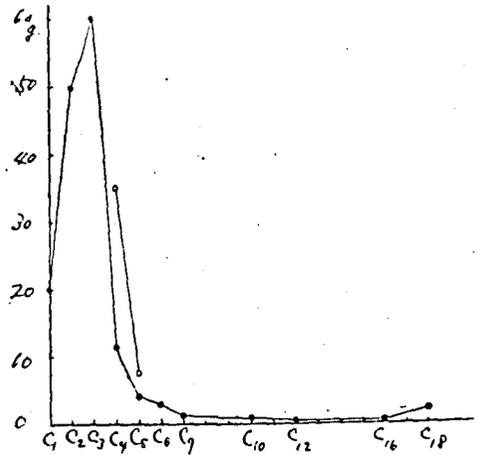
第 I 図表
融点比較図表 (醋酸系列)

芳香族酸化合物でも、低級酸化合物は高級のものに比して幾分溶解度が高い。

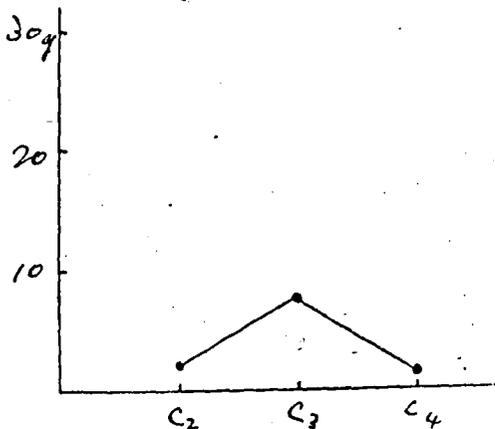
- C₁=Formiate
 - C₂=Acetate
 - C₃=Propionate
 - C₄=Butyrate
 - C₅=Valerianate
 - C₆=Caproate
 - C₇=Heptylate
 - C₁₀=Caprate
 - C₁₂=Laurate
 - C₁₀=Palmitate
 - C₁₅=Stearate
-n-Compound
○.....iso-Compound



第 II 図表
融点比較図表〔修酸系列〕



第 III 図表
水 10000 分に溶解する各種化合物の g 数
〔醋酸系列〕



第 IV 図表
水 10000 分に溶解する各種化合物の g 数
〔修酸系列〕

- C₂ = Oxalate
- C₃ = Malonate
- C₄ = Succinate

- C₁ = Formiate
 - C₂ = Acetate
 - C₃ = Propionate
 - C₄ = Butyrate
 - C₅ = Valerianate
 - C₆ = Caproate
 - C₇ = Heptylate
 - C₁₀ = Caprate
 - C₁₂ = Laurate
 - C₁₆ = Palmitate
 - C₁₈ = Stearate
- n-compound
○ iso-compound

其 2 C₆H₅HgOOC-R 型化合物の殺菌力

Phenyl-mercury-acetate の殺菌力については秋葉朝一郎氏²⁾の詳細な研究がある。それによると、該品の殺菌力は大抵 Phenyl-mercury-nitrate のそれと同様である。更に同氏は Phenyl-mercury-lactate 及び Phenyl-mercury-tartrate についても試験し、前者は大抵 -nitrate, -acetate と同等の殺菌力を有し、後者は幾分それよりも劣る旨報じている。なお、同氏の試験の成績に於て、細菌を 10 分間に滅殺する

Phenyl-mercury-acetate の最大稀釈倍数は、腸チフス菌に対しては 40,000 倍、大腸菌に対しては 10,000 倍、又ブドウ球菌に対しては 12,000 倍となっており、之を前述の Phenyl-mercury-nitrate の殺菌力試験の結果及び Weed, Ecker 両氏等の試験成績(既述)と比較するに相当の開きがあるが、秋葉氏は之を、試料薬品の精粗の差、試料薬品溶液の実際起り得る濃度の差、試験菌類の個性的差違例えは薬品に対する抵抗の差、その他、試験操作及び試験条件の僅かながらの差等の集積によつて起るものと説明している。

著者は今回製した多数の同型化合物中、比較的水溶性の高い数種のものについて、その殺菌力を調べ、之を Phenyl-mercury-acetate のそれと比較する事とした。すなわち試料としては、Phenyl-mercury-acetate を標準とし、次の 10 種を探つた。

- Phenyl-mercury-propionate
- ” -n-butyrate
- ” -n-valerianate
- ” -iso-valerianate
- ” -caproate
- ” -lactate
- ” -glycolate
- ” -chloro-acetate
- ” -malonate
- ” -benzoate

この外 Phenyl-mercury-phenolate 1 種を同時に試験した。

一方試験菌種としては大腸菌 (E. coli communis) 及び黄色ブドウ球菌の2種を用い、Reddish 法に従い所定の操作によつて殺菌力試験を行つた。今回使用した菌種は大腸菌、ブドウ球菌の両種共、薬品に対する抵抗強きものであつたため概して低い殺菌力の数値を得た。

先ず Phenyl-mercury-acetate について見るに、10 分間に菌を滅殺する最大稀釈倍数は、大腸菌に対しても、ブドウ球菌に対しても共に 10,000 倍で、前述の秋葉氏の得た成績に比して更に幾分劣つてゐるが、大体に於て大差のない成績を得た。その他のものに就ては、之を菌種別に見るに、大腸菌に対して、之を 10 分間に滅殺する最大稀釈倍数は、-lactate の 10,000 倍を除きその他は全部 5,000 倍である。しかして -phenolate は例外で、その最高濃度 10,000 倍に於て全然殺菌力がない。又ブドウ球菌に対しては、之を 10 分間に滅殺する最大稀釈倍数は -iso-valerianate が 10,000 倍、-malonate 及び -benzoate が 4,000 倍で、その他の7種の化合物は全部 5,000 倍である。なお、-phenolate はこの場合も最高濃度 10,000 倍に於て殺菌力がない。之等成績を一括表示すれば第3表のようになる。

以上、之を要するに、今回試験に供した各種化合物 ($C_6H_5.Hg.OOC.R$) は、Phenyl-mercury-acetate に比して幾分劣るが、いずれも、大腸菌及びブドウ球菌に対して各々殆んど同様の殺菌力を有する。すなわち、置換基が飽和脂肪酸であつても、芳香族酸であつても、二塩基性酸であつても、ハロゲン含有の酸であつても、その構造の差は、各種化合物の殺菌力に余り影響を及ぼさない事がわかつた。

第 3 表

供試薬劑	供試菌		大腸菌				ブドウ球菌			
	作用時間(分)		5	10	15	石炭酸係数	5	10	15	石炭酸係数
$C_6H_5.Hg$ acetate			5,000	10,000	20,000	142.8	5,000	10,000	10,000	166.6
$C_6H_5.Hg$ propionate			5,000	5,000	10,000	71.5	5,000	5,000	5,000	83.3
$C_6H_5.Hg$ -n-butyrate			5,000	5,000	5,000	71.5	5,000	5,000	5,000	83.3
$C_6H_5.Hg$ -n-valerianate			5,000	5,000	5,000	71.5	5,000	5,000	5,000	83.3
$C_6H_5.Hg$ -iso-valerianate			5,000	5,000	5,000	71.5	10,000	10,000	10,000	166.6
$C_6H_5.Hg$ -caproate			5,000	5,000	5,000	71.5	5,000	5,000	5,000	83.3
$C_6H_5.Hg$ -lactate			5,000	10,000	10,000	142.8	4,000	5,000	5,000	83.3
$C_6H_5.Hg$ -glycolate			5,000	5,000	5,000	71.5	4,000	5,000	5,000	83.3
$C_6H_5.Hg$ -chloro-acetate			5,000	5,000	5,000	71.5	5,000	5,000	5,000	83.3
$C_6H_5.Hg$ -malonate			5,000	5,000	10,000	71.5	4,000	4,000	5,000	66.6
$C_6H_5.Hg$ -benzoate			<5,000	5,000	5,000	71.5	4,000	4,000	5,000	66.6
$C_6H_5.Hg$ -phenolate			<10,000	<10,000	<10,020		<10,000	<10,000	<10,000	
石炭酸			70	70	80		60	60	70	

註 数字は殺菌最大稀釈倍数

総括

第1報以下に得た成績を一括要約すれば次の如くなる。

(1) Mercuric-diphenyl はエーテル中で昇汞と加熱すれば容易に Phenyl-mercury-chloride に変じ、文献記載の如く加圧加熱は必要でない。

(2) Phenyl-magnesium-bromide に昇汞を作用させる場合、前者 1 モルに対し後者を 1/2 モルを使用すれば、文献記載の如く、主として Mercuric-diphenyl を生成するが、必ず Phenyl-mercury-bromide を併生する。又、この際、昇汞を過剰に使用すれば、主として Phenyl-mercury-bromide を生じ、少量の Mercuric-diphenyl を副生する。

(3) 上記(2)に於て、Mercuric-diphenyl と Phenyl-mercury-bromide とは同時に生成するものと思われる。

(4) Phenyl-magnesium-bromide に昇汞を作用させて Phenyl-mercury-chloride を得たとの文献記載あるも、実験上 Phenyl-mercury-chloride は生成しない。

(5) Phenyl-mercury-hydroxide に任意の有機酸 (R·COOH) を作用させれば、それぞれ相当する化合物 ($C_6H_5 \cdot Hg \cdot OOC \cdot R$) が得られる。

(6) $C_6H_5 \cdot Hg \cdot OOC \cdot R$ 型化合物は概して良い結晶として得られる。醋酸系列に於ても、修酸系列に於ても、その融点は炭素数の増加と平行しない。

(7) $C_6H_5 \cdot Hg \cdot OOC \cdot R$ 型化合物は一般に、水に対する溶解度が低い。脂肪族低級酸結合体の少数が割合に溶解し易いが、1000 倍以下の水に溶解するものは僅かに 5 種に過ぎない。

(8) Phenyl-mercury-nitrate は一般の細菌類に対して強い殺菌力を有するが、ブドウ球菌に対して特に強力に作用する。その石炭酸係数は、チフス菌に対して 444、大腸菌に対して 222、ブドウ球菌に対して 1,000 である。

(9) 今回製した $C_6H_5 \cdot Hg \cdot OOC \cdot R$ 型諸種化合物の内、水溶性の高いものを取り、Phenyl-mercury-acetate を標準とし、Phenyl-mercury-propionate, -n-butyrate, -n-valerianate, -iso-valerianate, -caproate, -lactate, -glycolate, -chloro-acetate, -malonalonate, -benzoate の 10 種につき、大腸菌及び黄色ブドウ球菌を対象として殺菌力試験を行った結果、いずれも、標準品たる Phenyl-mercury-acetate より幾分劣るが大差のない殺菌力を有している。すなわち、置換酸基の構造の如何は、化合物の殺菌力の発現に余り影響を及ぼさない様である。

(10) Phenyl-mercury-phenolate はその最高濃度溶液に於ても、大腸菌及び黄色ブドウ球菌に対して殺菌力を示さない。

本文を終るに当り、研究中終始御懇篤な御指導に御教示を頂いた京都大学教授米達夫先生に謹んで感謝の誠を捧げる。

又研究遂行に多大の便宜を與えられた山之内製薬株式会社々長松島武夫氏、貴重な材料を多量に惠與せられた太陽製薬株式会社々長中山進一氏、御教示、御鞭撻を頂いた東京大学教授秋葉朝一郎博士、同秋谷七郎博士、国立衛生試験所長近藤龍博士、材料の惠與を受けた東京薬専女子部校長寺阪正信学士、厚生技官板井孝信博士、以上の方々に対し深き感謝と敬意を表する。又実験に助力せられた京田登氏、鏡味忠房氏、山崎喜三郎学士、吉沢孝氏、宮本文雄氏に対し深くその労を謝するものである。

実 験 之 部

(1) Phenyl-mercury-formiate

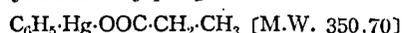


Phenyl-mercury-bromide 45 g, 50 % 硝酸銀溶液 80 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 40 cc より製した Phenyl-mercury-hydroxide のアセトン (500 cc) 溶液に蟻酸 7.6 g (計算量の 30 % 増し) を反応させて得た成績物を、アセトン 100 cc から脱色再結晶させた。収得量 25 g, 収得率は理論量の 61.55 % に相当する。本品は無色板状結晶で、融点 136.5°, 水 100 cc に 0.201 g 溶解し、[溶解度 (飽和溶液 100 g 中の物質の g 数) 0.201, 以下之に準ずる], アルコール、アセトンにも可溶である。本品は溶解の際加熱すると幾分解する。

試料 0.3590 g : HgS 0.2597 g $C_7H_6O_2 \cdot Hg$ 計算値 Hg 62.18, 実験値 Hg 62.37

(2) Phenyl-mercury-acetate [既述]

(3) Phenyl-mercury-propionate

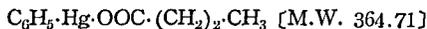


前項に準じ、Phenyl-mercury-bromide 45 g, 50 % 硝酸銀溶液 80 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 40 cc, アセトン 400 cc, プロピオン酸 12.1 g (計算量の 30 % 増し) より製す。粗製品 27 g. 之をアセトン 3000 cc から脱色再結晶し。

精製品 21.5 g を得。收得率は理論量の 48.72 % に相当する。本品は無色長針状結晶で、融点 76°, 溶解度 0.607, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3215 g : HgS 0.2098 g $C_9H_{10}O_2Hg$ 計算値 Hg 57.19, 実験値 Hg 56.26

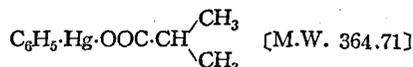
(4) Phenyl-mercury-n-butyrate



Phenyl-mercury-bromide 45 g, 50 % 硝酸銀溶液 80 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 40 cc, アセトン 500 cc, 正酪酸 14.4 g (計算量の 30 % 増し) より製す。粗製品 31 g. アセトン 3000 cc から再結晶し, 精製品 25 g を得。收得率は理論量の 68.57 % に相当する。本品は無色細針状結晶で、融点 92.5°, 溶解度 0.119, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3088 g : HgS 0.1938 g $C_{10}H_{12}O_2Hg$ 計算値 Hg 55.00, 実験値 Hg 54.12

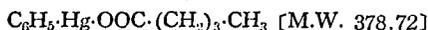
(5) Phenyl-mercury-iso-butyrate



Phenyl-mercury-bromide 45 g, 50 % 硝酸銀溶液 80 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 40 cc, アセトン 500 cc, イソ酪酸 13.4 g (計算量の 20 % 増し) より製す。粗製品 30.5 g. アセトン 1500 cc より再結晶し, 精製品 25 g を得。收得率は理論量の 54.46 % に相当する。本品は微細鱗片状結晶で、融点 117.5°, 溶解度 0.358, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3207 g : HgS 0.2009 g $C_{10}H_{12}O_2Hg$ 計算値 Hg 55.00, 実験値 Hg 54.01

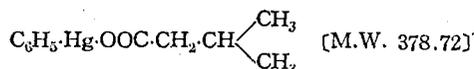
(6) Phenyl-mercury-n-valerianate



Phenyl-mercury-bromide 30 g, 50 % 硝酸銀溶液 54 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 27 cc, アセトン 300 cc, 正吉草酸 12.5 g (計算量の 30 % 増し) より製す。粗製品 38 g. アセトン 150 cc から再結晶し, 精製品 28 g を得。收得率は理論量の 88.12 % に相当する。本品は無色針状結晶で、融点 72.5°, 溶解度 0.0439, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.2590 g : HgS 0.1570 g $C_{11}H_{14}O_2Hg$ 計算値 Hg 52.97, 実験値 Hg 52.26

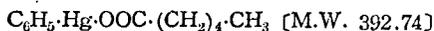
(7) Phenyl-mercury-iso-valerianate



Phenyl-mercury-bromide 30 g, 50 % 硝酸銀溶液 54 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 27 cc, アセトン 500 cc, イソ吉草酸 11.1 g (計算量の 20 % 増し) より製す。粗製品 23 g. アセトン 300 cc から再結晶し, 精製品 18.5 g を得。收得率は理論量の 58.22 % に相当する。本品は無色針状結晶で、融点 121°, 溶解度 0.08, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3102 g : HgS 0.1874 g $C_{11}H_{14}O_2Hg$ 計算値 Hg 52.97, 実験値 Hg 52.07

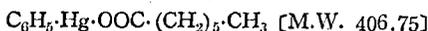
(8) Phenyl-mercury-caproate



Phenyl-mercury-bromide 30 g, 50 % 硝酸銀溶液 54 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 2.7 cc, アセトン 500 cc, カプロン酸 11.7 g (計算量の 20 % 増し) より製す。粗製品 24.5 g. アセトン 200 cc から再結晶し, 精製品 20 g を得。收得率は理論量の 62.10 % に相当する。本品は無色細針状の結晶で、融点 78°, 溶解度 0.036, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.2799 g : HgS 0.1629 g $C_{12}H_{16}O_2Hg$ 計算値 Hg 51.07, 実験値 Hg 50.19

(9) Phenyl-mercury-heptylate

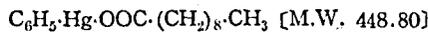


Phenyl-mercury-bromide 5 g, 50 % 硝酸銀溶液 9 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 4.5 cc, アセトン 100 cc, ヘプताल酸 1.8 g (計算量) より製す。粗製品 4.2 g. アセトン 30 cc から再結晶し, 精製品 3.3 g を得。收得率は理論量の

58.02% に相当する。本品は無色針状結晶で、融点 72°, 溶解度 0.0081, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3890 g : HgS 0.2189 g $C_{13}H_{15}O_2Hg$ 計算値 Hg 49.32, 実験値 Hg 48.53

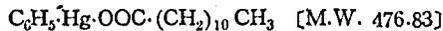
(10) Phenyl-mercury-caprate



Phenyl-mercury-bromide 5 g, 50% 硝酸銀溶液 9 cc, 30% 苛性ソーダ溶液 4.5 cc, アセトン 100 cc, カプリン酸 2.4 g (計算量) より製す。粗製品 4.8 g。アセトン 30 cc から再結晶し, 精製品 3.6 g を得。收得率は理論量の 57.36% に相当する。本品は無色針状結晶で、融点 50°, 溶解度 0.0071, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3500 g : HgS 0.1784 g $C_{16}H_{24}O_2Hg$ 計算値 Hg 44.69, 実験値 Hg 43.94

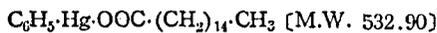
(11) Phenyl-mercury-laurate



Phenyl-mercury-bromide 0.9 g, 50% 硝酸銀溶液 1.6 cc, 30% 苛性ソーダ溶液 0.8 cc, アセトン 110 cc, ラウリン酸 0.5 g (計算量) より製す。粗製品 1.8 g。アセトン 20 cc から再結晶し, 精製品 0.7 g を得。收得率は理論量の 58.34% に相当する。本品は無色細針状結晶で、融点 75.5°, 溶解度 0.0061, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3190 g : HgS 0.1530 g $C_{14}H_{22}O_2Hg$ 計算値 Hg 42.07, 実験値 Hg 41.40

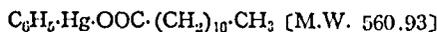
(12) Phenyl-mercury-palmitate



Phenyl-mercury-bromide 10 g, 50% 硝酸銀溶液 18 cc, 30% 苛性ソーダ溶液 9 cc, アセトン 400 cc, パルミチン酸 9.1 g (計算量の 30% 増し) より製す。粗製品 21 g。アセトン 300 cc から再結晶し, 精製品 12.5 g を得。收得率は理論量の 84.01% に相当する。本品は無色微細粒状結晶で、融点 62°, 溶解度 0.006, アセトン, アルコールにも溶解する。

試料 0.4230 g : HgS 0.1796 g $C_{22}H_{40}O_2Hg$ 計算値 Hg 37.64, 実験値 Hg 36.62

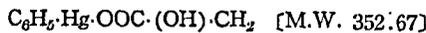
(13) Phenyl-mercury-stearate



Phenyl-mercury-bromide 45 g, 50% 硝酸銀溶液 80 cc, 30% 苛性ソーダ溶液 40 cc, アセトン 600 cc, ステアリン酸 47 g (計算量の 30% 増し) より製す。粗製品 90 g。アセトン 3500 cc から再結晶し, 精製品 65 g を得。收得率は理論量の 92.06% に相当する。本品は無色細柱状結晶で、融点 88°, 溶解度 0.020, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3142 g : HgS 0.1259 g $C_{24}H_{48}O_2Hg$ 計算値 Hg 35.76, 実験値 Hg 34.54

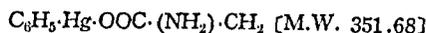
(14) Phenyl-mercury-glycolate



Phenyl-mercury-bromide 30 g, 50% 硝酸銀溶液 54 cc, 30% 苛性ソーダ溶液 27 cc, アセトン 500 cc, グリコール酸 8.2 g (計算量の 30% 増し) より製す。粗製品 19 g。アセトン 500 cc から再結晶し, 精製品 12.5 g を得。收得率は理論量の 42.26% に相当する。本品は無色長板状結晶で、融点 167° (分解), 溶解度 0.689, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.2351 g : HgS 0.1531 g $C_5H_8O_3Hg$ 計算値 Hg 56.90, 実験値 Hg 56.14

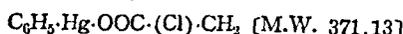
(15) Phenyl-mercury-amino-acetate



Phenyl-mercury-bromide 30 g, 50% 硝酸銀溶液 54 cc, 30% 苛性ソーダ溶液 27 cc, アセトン 550 cc, アミノ酢酸 8.1 g (計算量の 30% 増し) より製す。粗製品 39 g, アセトン 2000 cc から再結晶し, 精製品 30 g を得。收得率は理論的である。本品は無色鱗片状結晶で。融点 247°, 溶解度 0.012, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3022 g : HgS 0.1969 g $C_6H_9O_2NHg$ 計算値 Hg 57.07, 実験値 Hg 56.18

(16) Phenyl-mercury-chloro-acetate



得率は理論量の 70.73 % に相当する。本品は無色微粒状結晶で、融点 88.5°, 溶解度 0.035, アセトン, アルコールにも溶解する。

試料 0.1925 g : HgS 0.1106 g $C_{13}H_{10}O_2Hg$ 計算値 Hg 50.29, 実験値 Hg 49.53

(25) Phenyl-mercury-phenylacetate



Phenyl-mercury-bromide 15 g, 50 % 硝酸銀溶液 27 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 14 cc, アセトン 510 cc, フェニル醋酸 7.4 g (計算量の 30 % 増し) より製す。粗製品 15.6 g。アセトン 200 cc から再結晶し, 精製品 13.8 g を得。収得率は理論量の 79.71 % に相当する。本品は無色小針状結晶で, 融点 148°, 溶解度 0.034, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3510 g : HgS 0.1943 g $C_{14}H_{12}O_2Hg$ 計算値 Hg 48.61, 実験値 Hg 47.73

(26) Phenyl-mercury-mandelate



Phenyl-mercury-bromide 20 g, 50 % 硝酸銀溶液 36 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 18 cc, アセトン 550 cc, マンデル酸 8.6 g (計算量の 30 % 増し) より製す。粗製品 24.5 g。アセトン 3000 cc から再結晶し, 精製品 16.8 g を得。収得率は理論量の 70.06 % に相当する。本品は無色針状結晶で, 融点 208°, 溶解度 0.014, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3825 g : HgS 0.2041 g $C_{14}H_{12}O_3Hg$ 計算値 Hg 46.79, 実験値 Hg 45.99

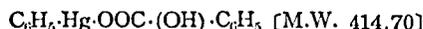
(27) Phenyl-mercury-cinnamate



Phenyl-mercury-bromide 20 g, 50 % 硝酸銀溶液 36 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 18 cc, アセトン 550 cc, 桂皮酸 10 g (計算量の 22 % 増し) より製す。粗製品 29.8 g。アセトン 1000 cc より再結晶し, 精製品 23.5 g を得。収得率は理論量の 96.81 % に相当する。本品は無色針状結晶で, 融点 178°, 溶解度 0.016, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3500 g : HgS 0.1881 g $C_{12}H_{12}O_2Hg$ 計算値 Hg 47.23, 実験値 Hg 46.34

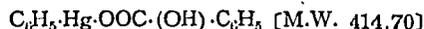
(28) Phenyl-mercury-salicylate



Phenyl-mercury-bromide 15 g, 50 % 硝酸銀溶液 27 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 14 cc, アセトン 510 cc, サリチル酸 7.5 g (計算量の 30 % 増し) より製す。粗製品 18.6 g。アセトン 200 cc から再結晶し, 精製品 16.5 g を得。収得率は理論量の 94.84 % に相当する。本品は無色細板状結晶で, 融点 161.5°, 溶解度 0.014, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.4115 g : HgS 0.2272 g $C_{13}H_{10}O_3Hg$ 計算値 Hg 48.38, 実験値 Hg 47.61

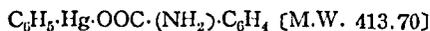
(29) Phenyl-mercury-p-oxy-benzoate



Phenyl-mercury-bromide 20 g, 50 % 硝酸銀溶液 36 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 18 cc, アセトン 550 cc, p-オキシ安息香酸 9.6 g (計算量の 30 % 増し) より製す。粗製品 27.5 g。アセトン 500 cc から再結晶し, 精製品 21.5 g を得。収得率は理論量の 92.88 % に相当する。本品は無色針状結晶で, 融点 182° (分解) 溶解度 0.017, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3710 g : HgS 0.2050 g $C_{13}H_{10}O_3Hg$ 計算値 Hg 48.38, 実験値 Hg 47.64

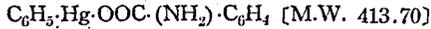
(30) Phenyl-mercury-anthranilate



Phenyl-mercury-bromide 20 g, 50 % 硝酸銀溶液 36 cc, 30 % 苛性ソーダ溶液 18 cc, アセトン 350 cc, アントラニル酸 9.6 g (計算量の 30 % 増し) より製す。粗製品 35 g。アセトン 500 cc から再結晶し, 精製品 21.5 g を得。収得率は理論量の 92.90 % に相当する。本品は無色微細板状結晶で, 融点 156°, 溶解度 0.017, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3920 g : HgS 0.2163 g $C_{13}H_{11}O_2NHg$ 計算値 Hg 48.49, 実験値 Hg 47.57

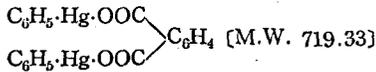
(31) Phenyl-mercury-p-amino-benzoate



Phenyl-mercury-bromide 20 g, 50% 硝酸銀溶液 36 cc, 30% 苛性ソーダ溶液 18 cc, アセトン 350 cc, p-アミノ安息香酸 7.6 g (計算量) より製す。粗製品 25 g. アセトン 300 cc から再結晶し, 精製品 15 g を得。収得率は理論量の 64.82% に相当する。本品は無色長板状結晶で, 融点 162°. 溶解度 0.0202, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.4100 g : HgS 0.2269 g $C_{13}H_{11}O_2NHg$ 計算値 Hg 48.49, 実験値 Hg 47.71

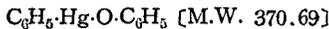
(32) Phenyl-mercury-phthalate



Phenyl-mercury-bromide 30 g, 50% 硝酸銀溶液 54 cc, 30% 苛性ソーダ溶液 27 cc, アセトン 600 cc, フタル酸 9 g (計算量の 30% 増し) より製す。粗製品 24 g. アセトン 700 cc から再結晶し, 精製品 20.5 g を得。収得率は理論量の 67.95% に相当する。本品は無色柱状結晶塊で, 融点 219° (分解), 溶解度 0.013, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3015 g : HgS 0.1923 g $C_{20}H_{14}O_4Hg_2$ 計算値 Hg 55.77, 実験値 Hg 54.99

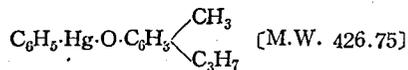
(33) Phenyl-mercury-phenolate



Phenyl-mercury-bromide 20 g, 50% 硝酸銀溶液 36 cc, 30% 苛性ソーダ溶液 18 cc, アセトン 200 cc, 石炭酸 5.2 g (計算量) (アセトン 15 cc に溶解使用) より製す。粗製品 10.5 g. アセトン 100 cc から再結晶し, 精製品 6 g を得。収得率は理論量の 28.95% に相当する。本品は無色細針状結晶で, 融点 119.5°, 溶解度 0.0149, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3018 g : HgS 0.1873 g $C_{11}H_{10}OHg$ 計算値 Hg 54.12, 実験値 Hg 53.52

(34) Phenyl-mercury-thymolate



Phenyl-mercury-bromide 20 g, 50% 硝酸銀溶液 36 cc, 30% 苛性ソーダ溶液 18 cc, アセトン 200 cc, チモール 8.4 g (計算量) (アセトン 20 cc に溶解使用) より製す。粗製品 8.6 g. アセトン 100 cc から再結晶し, 精製品 3.7 g を得。収得率は理論量の 15.5% に相当する。本品は無色針状結晶で, 融点 112.5°, 溶解度 0.006, アルコール, アセトンにも溶解する。

試料 0.3255 g : HgS 0.1744 g $C_{16}H_{13}OHg$ 計算値 Hg 47.00, 実験値 Hg 46.18

(35) $C_6H_5 \cdot Hg \cdot OOC \cdot R$ 型化合物の殺菌力試験

Phenyl-mercury-nitrate の殺菌力試験に準じて行う。すなわち, 各試料を可及的高濃度の溶液となし, 之を滅菌水で稀釈して各種濃度溶液となし, 各稀釈液 5.0 cc ずつを殺菌力試験用試験管にとり, 之を 20° の水槽に浸し, 検液が 20° になつた後, 之に可検菌種 (第 1 回は大腸菌, 第 2 回は黄色ブドウ球菌) の 37°, 24 時間ブイヨン培養 0.5 cc ずつを注加し, 作用時間 5 分, 10 分, 15 分毎に直径 4 mm の白金耳をもつて, 検液中より 1 白金耳量を 10 cc ブイヨンに移植し, 37° に 48—96 時間を培養して菌発育の有無を検した。〔昭和 23 年 12 月〕

文 献

- (1) 徳試. 44, 26 [昭和 9 年 3 月]; 46, 205 [昭和 10 年 3 月]; 48, 165 [昭和 11 年 3 月]; 51, 70 [昭和 13 年 3 月].
- (2) 秋葉・風間: 徳試, 51, 70 [昭和 13 年 3 月]

The Studies on the Synthesis of the Organic Mercury Compounds
and Their Bactericidal power (V)

(Yutaka TANAKA)

In the previous reports (1), we discussed about the synthetic methods of phenyl-mercury-nitrate, -acetate, -lactate and -tartrate, and tested their bactericidal power against several bacteria.

Recently I synthesized 32 compounds, which were the type of $C_6H_5 \cdot OOC \cdot R$, by neutralizing phenyl-mercury-hydroxyde with various organic acids. Almost all of them were colorless crystals.

In regard to the melting point of the compounds of acetic acid series except formic acid, the compounds which have carbon atoms of even numbers showed high melting points, and the compounds which have carbon atoms of odd numbers showed low melting points. The compound of 10 carbon atoms acid showed the lowest melting point (chart No. I).

But as to the oxalic acid series, on the contrary, the compounds of acids with carbon atoms of even numbers showed low melting point, and the compounds of acids with carbon atoms of odd numbers showed high melting points. (chart No. II).

The solubilities of the new compounds were generally low. The compounds of aliphatic acids with less than 4 carbon atoms, dissolved in water of 1,000 times of their weight, but the compounds of acids with more than 5 carbon atoms were almost insoluble in water.

I investigated the bactericidal power of compounds, which were comparatively soluble in the water against *Escherichia Coli communis* and *Staphylococcus aureus*. As the result, phenyl-mercury-acetate showed the most effective bactericidal power against the two bacteria, and the rest of 9 compounds were known to be a little less powerful, and were almost equally powerful with one another.

フェノバルビタールの製造について

板井 孝信

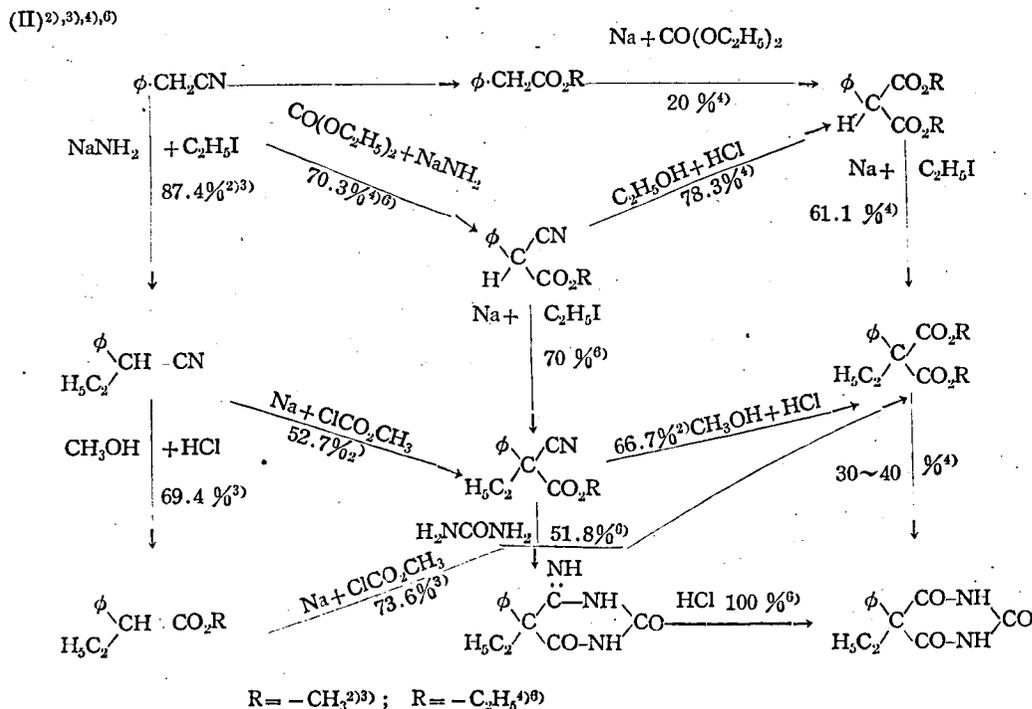
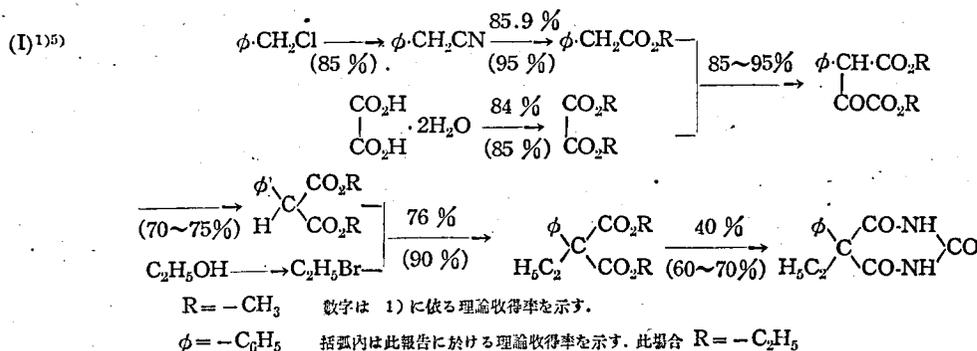
On the Manufacturing of Phenobarbital

Takanobu ITAI

持続性鎮静催眠剤であるフェノバルビタール（ルミナール）の製造を戦時中命ぜられた。製造試験及び製造の記録は戦火で焼失したが、戦災直前の記録が近藤所長のもとに残つたので当時の記憶を辿り乍ら知見を集めた。漸次國産品が現われた今日であるが御参考になれば幸である。

従 来 の 方 法

実に多くあるが主なものを示せば次のようである。



上記のように何れも Benzyleyanid を原料とし修酸エステル、クロル炭酸エステル又は Diäthylcarbonat の何れかで Phenylmalonsäurediester 又は Nitril を作りアルキルハロゲンでアルキル化して結局 Phenyläthylmalonsäurediester を尿素と結合するのが主たるものである。又 Phenyläthylmalonsäurenitril と尿素を縮合し Imidobarbitursäure を作り加水分解する方法もある。

製 造 実 験

我々は上記の報告を追試して見て、(I) 法が最も行い易く、收得率もよく、安価な方法であつた。

エステルを形成するアルコールの種類はメチル、エチルと比較して見た結果 Rising の記述に反してエチルの方が良好であつた。当時メタノールがエタノールに比べて格段廉價であつたが前者を用いた原價計算は高く出たし、多量の物質の精製には再結晶より蒸溜の方が簡單であつた。

(II) 法中には收得率から見ると良いものもあるが、当時ナトリウムアミド、クロル炭酸エステル等は入手し難く、又エーテル、ナトリウムアミドの使用のため危険を伴うなど欠点がある。もつともエーテルの代りにデカリンを用いれば相当な成績を挙げられる。

デエチルカルボナートも入手し難い薬品であり、他の点でも上のような事が言える。ナトリウムアミドの代りに粉末ナトリウムエチラートを用いて溶媒なしに行えばニトリルに Carbäthoxy 基を入れる事は相当な收率を挙げ得たが製造には用い得べき事でない。

上記の理由で結局(I)法を採用して更に細かく検討した。

(i) Benzyleyanid

原料の塩化ベンジルの品質が問題である。即ち相当正確な沸点を示すものが必要である。大体 Organic Syntheses⁷⁾の方法を採用して各薬品の量、反応条件を変えて試験した結果、製造例のような事となつた。手数を省く為蒸溜を省略した。此処に出来る粗製品は黒褐色の油で相当粘稠である。減圧蒸溜して見ると未反応の塩化ベンジルを少量含み Benzyleyanid の外に多量の樹脂様物質がある。此中から結晶も取出したが Benzyleyanid の重合したものらしく精査していない。然し之等を含む原料を次の段階の原料としても何等支障なく、エステルの初溜を除けばよい。反つてフェニル醋酸エチルの收量は良かった。

胃化カリ又はソーダは工業用の固い大きな塊を Stamp mill で碎いて用いるのが良い。つまり可及的炭酸塩等を含ませるものを用いる事である(純度 80% 以上)。反応後水洗するとき乳濁して分離しにくい事があつたが此際は其部分だけ分ち取つて食塩を加えて塩析した。未反応の胃化物を含む水溶液は高い廃気管を持った釜に密閉して硫酸を加えて数時間加熱後流出する事にして居た。之で中絶は起らなかつた。

溶剤のメタノールは可及的少量を用い、簡単に蒸溜するものだけ回収して後は捨てた。回収品は次の仕込に使い、不足分は尿素と縮合する段階で数回使つたアンモニア臭のかかり強いメタノールを以て補つた。

反応釜其他の装置の圖は今回時日のないため記さない。釜の材質は耐酸珪璃引鉄器を用いて好結果であつた。然し之は当時製造を急がされた関係上間違いないものを選んだわけでもつと廉價なよいものがある。

製造例：— 粗碎した胃化ソーダ 43.8 kg, 水 30 L を内容 400 L の釜に入れ攪拌加温して溶解し、之にメタノール 70 L 及び塩化ベンジル 80 kg の混合物を攪拌しつゝ滴加後 70~80° に 2 時間加温する。後常圧で 20 L のメタノールを回収し之に水 100 L を加え攪拌して食塩と胃化ソーダの混合物を溶解し分液する。油層は 2 回水洗し放置してよく水と分け貯蔵する。

食塩と胃化ソーダの混合溶液には濃硫酸 18 kg を滴加加熱して後、廃棄する。

(ii) Phenyllessigsäureäthylester

Organic Syntheses⁸⁾ 所載の方法を簡易化して行つた。Benzyleyanid は前述のような粗製品である。攪拌し乍ら濃硫酸を滴加すると少し後で発熱してアルコールが還流する。冷却器は相当容量の大きいものが望ましいが小さい時は外浴に水を通して冷してもよい(但し冷しすぎない事が肝心)。油層を炭酸ソーダ溶液で洗滌する事は特別の場合の外は必要がない。乾燥剤に塩化カルシウムを用いたが、使用しないでも初溜を除けば殆ど支障はなかつた。Benzylchlorid に対する理論收得率は約 80% である。

製造例：— Cyanid 150 kg, アルコール 202 L の混合物に攪拌しつゝ濃硫酸 192 kg を滴加し 1 夜放置した後、外浴を水蒸気で加温して 7 時間還流する。冷後水を加え、分液し油層(下層をなす)を 3 回水洗、塩化カルシウムで乾

燥。〔Phenyllessigsäureを生じた場合は 10 kg の炭酸ソーダを溶かしたもので洗滌する〕減圧蒸溜施行（少量の初溜を除けば定沸点で溜出する）。1 週間に 2 回以上仕込。

(iii) Oxalsäureäthylester

Organic Syntheses⁹⁾ その他の製法は皆無水の修酸を用い、アルコール塩酸、又は Benzol-四塩化炭素-水の共沸混合物を用いて反応せしめているが何れも手致、装置に於て煩わしい。著者等は四塩化炭素、トリクレン (Trichloräthylen) ベンゾール（此際火災の危険を考えて前者との混合物）を溶媒としてアルコール濃硫酸を用いるエステル化の常法を用いた。此際塩化カルシウム乾燥は使用しないでよい。可及的早く蒸溜して直後に使用する事が必要である。放置して酸性を呈したものは仕込前に必ず蒸溜し直して中性のものを使用する事が肝要である。1 度蒸溜したものは 3~5 日は使用に堪える。収得率 85% 附近 (1 週間に 3 回仕込)。

製造例：— 修酸（結晶水含有）50 kg, ベンゾール 300 L, 酒精 72 L の混合物に攪拌し乍ら 45 kg の濃硫酸を滴加後 45° で 7 時間反応、翌日下層の液を棄て炭酸ソーダ 5 kg を任意の水に溶かしたもので 1 回洗滌、更に水洗 2 回、常圧でベンゾール回収、減圧蒸溜。

(iv) Phenylmalonsäureäthylester

Organic Syntheses⁹⁾ の方法を簡易化した。即 Phenyloxalyllessigsäure ester のナトリウム塩が固化した後アルコールを減圧で充分溜去したものに酸を加えて遊離する油分を取つた。アルコール回収のため加温する操作は収量の向上に役立った。此反応は水分のない程収量を増す。製造の際は容器の外浴に水蒸気を通じ乍ら乾燥空気を通じて充分乾燥したので実験室の成績より更に向上した。此原料は無水である事が大切である。但局方純アルコールを用うる時は存在する水に相当するだけのナトリウムを過剰に加えて行えば充分間に合うものである。又メタノールを用いた事もあるが別に支障はなかつた。此等アルコール類の脱水には新品の時 1 L に付き 10 g, 回収品の場合は 2 g のナトリウム屑（ナトリウムの皮）を加えて蒸溜した。

ナトリウムの投入は早く行い、自熱で還流を起させ充分ナトリウムを溶解させる。此為には還流冷却器がよく働く事と廃水素の出る管を幾分太めにする必要がある。実際は 2 時のパイプを用い途中に塩化カルシウムを充填した塔を置いた。

Phenylmalonylessigsäureester から一酸化炭素を放出させるには 180~200° が必要である。減圧蒸溜釜の外浴の油浴をガスバーナーで 180~200° に加熱し、真空ポンプで引き乍ら釜の蓋に装備したパイプから断続的にエステルを吸込ませて分解する。マンメーターを見て減圧にある事を目安として之を続け全部を分解し終つてから蒸溜を開始する。全体を溜出させた後、溜液を再蒸溜する。初溜を除き（大部分 Phenyllessigester である）主溜を取れば無水のものを得られる。真空ポンプの廃気管は 2 階の屋上の高さとし一酸化炭素を放出した。之で中毒は起らなかつた。収得率は Phenyllessigsäureester に対し 70~75% である。

製造例：— 脱水メタノール又はアルコール 300 L にナトリウム 23.13 kg を加え Phenyllessigsäureester 150 kg, 修酸エステル 137 kg を加え攪拌する。1 夜放置翌日メタノールを回収し（常圧後減圧）乾溜する。之に 20% 硫酸 300 L を加え油層を分ち取り 3 回水洗（塩化カルシウムで乾燥後）減圧蒸溜す。(1 週 1 回仕込)。

(v) Phenyläthylmalonsäurediäthylester

M. Rising and J. Stieglitz¹⁾, Wislicenus¹⁰⁾, Conrad u. Limpach¹¹⁾ 等の記載の方法を参考とし多少の改良を加えた。然し反応時間の長い事 (30 時間以上) ブロムエテルが失われ易いことが欠点である。加圧下に反応させればよいようであるが容器の関係上実験して見なかつた。

此処に得られる油は定沸点を有するが原料と殆んど差がないので之から品質を判断する事が出来ない。それで一定条件の下に尿素と縮合せしめて、生じたバルビツール酸を爪曹で処理して（後述）フェニルバルビツール酸の有無をしらべて之から原料となつたフェニルエテルマロン酸エステルの純度を判定した。それによれば最小限度 30 時間は加温するを要し、40 時間以上の必要はなかつた。反応後アルコールを初め常圧に、終りは減圧で回収し残渣に可及的少量の水を加えてブロムソーダを溶解する。此回収アルコールの初溜はブロムエテルの原料とし後溜は此階程の溶剤に使う。ブロムソーダの濃厚水溶液には適量のブロムソーダを追加してブロムエテルの原料とした。油は減圧蒸溜で精製して収得率約 90% 附近である。

製造例：— 純アルコール 160 L にナトリウム 10.25 kg を加えフェニルマロン酸エステル 110 kg, ブロムエテ

ル 68 kg を加え攪拌後放置、翌日より 30 時間 (連続でなくてもよい) 加熱還流した後アルコールを溜去し約 100 L の水を加えて攪拌分液し、油層を 2 回水洗後塩化カルシウムで乾燥し減圧蒸溜する。(1 回仕込 9 日)。

(vi) Bromäthyl

大体普通の方法で作り水中に受けたものを分液して塩化カルシウムで乾燥したものをそのまま用いる。少しの酸性は支障がなかつた。

製造例：— 回収アルコール 100 L に水 40 kg を加え反応釜中の螺旋管にブラインを通し 10° 以下に冷却し且攪拌し乍ら 100 L の濃硫酸を滴加する。之にブromソーダ (又は回収濃厚水溶液) を加え攪拌後外浴に蒸気を通じ加熱し溜去する。(残渣は熱時に反応釜より取出さぬと芒硝が固結する) 之を塩化カルシウムで乾燥貯蔵する。

(vii) Phenobarbital

従来の文献⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾は他のバルビツール酸の製造に於けると同じく加圧下に 100° 以上に 3~6 時間加熱し、甚だしきに至つては加熱を中絶して内圧を抜き再三加熱して居た。收得率はバルビタルのような簡単なものでも 40% を出していない。著者等は試みに常圧で反応を行つた所溶解状態にあつた内容が加熱の継続により沈澱を増し且アンモニアを発生する事を認めた。之は加熱により尿素及び生じた製品が分解する為であると考えて先ず反応時間、及び温度を低減したところ收得率が約 50% に上つた。

次にアルコール類の検討を行つたがメタノール、ブタノールがよく、プロパノール、イソアミルアルコール、エチルアルコール等は好結果を興えぬ事を知つた。

尿素、ナトリウム、メタノールの量的関係、反応条件を種々変化し大体下記のようなところに落付いた。調子のよい時は粗收得率が 90% 近くに上る時もあり、平均 75% 附近は確實であつた。此反応にも水分は嚴禁である。反応釜の乾燥 (前述)、原料の水分夾雑は嚴重に注意せねばならない。尿素は融点の確實なものを選び減圧、60° に数時間乾燥し、メタノールも前述のように使用前ナトリウムを加えて蒸溜したのを用いた。回収品はアンモニア臭を發するが 10 回位はどうやら使用に堪える。此後はベンゼンチアミドの製造に廻した。

反応時間はメタノールを回収する時間を含めて長くならぬように注意する。(全体で 3~5 時間) 反応後冷水に溶かしベンゼン又はトリクレンで抽出して分解物を除く。之は活性炭の処理と共に必要で、かくしたものは精製が樂である。

製造例：— メタノール 200 L にナトリウム 8.89 kg を加え之にフェニルエチルマロン酸エチル 50 kg、尿素 45.5 kg を加え 71~72° (外浴は 105~110°) 1 時間還流せしめた後メタノールを回収し、(180~185 L、少くも其半分位は回収する) 之に氷水 165 L を加え 600 g の脱色炭を加え攪拌後トリクレンを初め 100 L、更に次の 2 回 80 L 宛を加えて洗滌後 27 L 宛バケツに取り 2% 硫酸 15 L 宛を加えて結晶を析出せしめる。一部を乾燥して水分の量を知り他は湿つたまゝ精製に廻す。(1 回仕込 7 日)

(viii) 精 製

再結晶法が望ましいが多量の処理には有機溶媒を用いる事は煩雜である。故に低温で炭酸ソーダに溶解し活性炭を加えて濾紙でよく濾過、稀硫酸を加えて結晶を析出させ遠心分水機で振切る。此際塩酸を用いるとクロロイオンの反応が鋭敏のため局方試験にかゝり易い。フェニルバルビツール酸の夾雑を除く為に可及的炭酸ソーダ不含の 2% 重曹溶液に浸して洗い再び遠心分水機で振切り水を注いで洗滌後振切る。結晶塊は可及的低温に減圧乾燥し漬して製品とする。此歩留は約 80%、製品は光沢のない軽い粉末状結晶で局方によく適合する。色、熔融点で不適になつた事はなく、アルコールの溶解度の項で不適になつた事はあつたが、水洗を完全にすればよい。

精製例：— 粗製品 4.2 kg を 2% 炭酸ソーダ 65L に溶かし脱色炭 100~120 g を加え攪拌濾過、之に 2% 硫酸 27 L を加える。

以上の実験、製造に於ては当時の製薬部長近藤龍博士の終始多大の御指導御鞭撻があつた。又此製造が可能になつたのは当時の部員堀内淳一郎、山本榮両氏に負う所大なるものがある。又昭和 13 年秋より昭和 20 年 3 月まで製薬部で次々と協力して下さつた伊藤孝司、王維嶽、大家大ニ、桑山孝男、篠崎好三、清水二郎、高山靖、田中早苗、鍋島昇、堀部正男、光富陽、渡辺順璋諸氏 (五十音順) 及び工手諸君がある。献身的な努力を回想感謝しつつ残つた 1 人として不完全な報告を綴つた次第である。(昭和 25 年 2 月)

引用文献

- 1) M. Rising and J. Stieglitz : J. Am. Chem. Soc. 40, 720~30.
- 2) M. Rising and Tsoh-Wuh Zee : J. Am. Chem. Soc. 49, 541, 1927.
- 3) M. Rising and Tsoh-Wuh Zee : J. Am. Chem. Soc. 50, 1203~1212. 1928.
- 4) W.L. Nelson and L.H. Cretcher : J. Am. Chem. Soc. 50, 2759.
- 5) 田中, 宮永 : 嚮試. 31, 117~125.
- 6) J. S. Chamberlain, J.J. Chap, J.E. Doyle and L. B. Spaylding : J. Am. Chem. Soc. 57, 352.
- 7) 邦訳 Organic Syntheses 合册 I, 103.
- 8) Organic Syntheses 合册II, 286.
- 9) " 572.
- 10) Wislicenus : Ber. 28, 815 (1895).
- 11) Conrad u. Limpach : Ann. 204, 129 (1880).

On the Manufacturing of Phenobarbital

(Takanobu ITAI)

I described our experience on manufacturing the phenobarbital at this laboratory during the last World War. Its method is such as shown in (I) and it is the one which those previous methods were simplified and improved. The figures in the brackets indicates the obtained yields by our experiments. All our results have been improved comparing to those previously reported, especially on the condensation progress of phenyl-ethyl-malonic ester with urea. The main points of improvement are that absolute methanol was used as the solvent and also shortening of the reaction times (including the times needed for distilling off the methanol).

溶性フェノバルビタール製造について

板井 孝信 神谷 正夫

On the Preparation of Soluble Phenobarbital

Takanobu ITAI and Masao KAMIYA

溶性フェノバルビタールは従来“ルミナルソーダ”として知られて居るフェノバルビタールのナトリウム塩であり、用時蒸留水に溶解して注射を行う。前篇のフェノバルビタールと共に戦時中年額 30~60 kg を製造した。此際の記録も戦火で失つたので僅か残つた 1 例の記録に記憶よりの知見を付して報告とする次第である。

溶性フェノバルビタールの製法に関する文献は殆どない。溶性バルビタールの製法に準じて水溶液で塩を作ろうとすると環の開裂を來して分解して終り。そこで無水エチルアルコール中ナトリウムエテラートと共に煮沸すると結晶性のナトリウム塩が析出するので放冷後吸引濾過して無水アルコール、無水エーテルで洗滌すると白色結晶がとれるが、放置するとべたべたとなり製品にならない。

溶媒にメタノールを使うと溶性フェノバルビタールは非常に溶け易く相当濃縮してもシラップ状を呈するが放置すると固化して結晶となる。之を湿気を避けて吸引濾過又は遠心分離して母液を充分に去り無水エーテルでよく洗滌するとさらさらの白色結晶となる。之を無水酢酸を入れた減圧乾燥器、又は 70° (5 mm) 位の加温減圧乾燥器で乾燥し軽く搗碎くと結晶性の粉末となる。

初期にはアンプル中に熔閉して貯藏したが乾燥器中に湿気、炭酸ガスを避けて貯えればよく、必要に応じゴム栓付の瓶に小分した。

器具、溶媒の無水であることは厳重に守らねばならぬ所である。従つて濾過の操作は防湿装置付きの器具内で行い、製造室も可及的乾燥状態にする。

ナトリウムは屢々食塩を含有するので良質のものを選ばねばならない。原料のフェノバルビタールは局方品を用いるが此中の塵埃、繊維等は厳密に除かねばならぬ。即東洋濾紙 131 号の 2~3 枚及びその外側に羽二重の袋をおけば上々である。濾紙の枚数は透明度と濾過速度をにらみ合せて決める。

結晶より母液の分離とナトリウムアルコラート、フェノバルビタールの除去を充分に行くと製品の水に対する溶解度がよくなり吸湿する事が少くなる。之にはエーテル洗滌及び乾燥は十分行うことが必要である。

母液及びエーテル洗滌液よりは溶剤を回収し更にフェノバルビタールを遊離せしめて原料となし得る。

此際エーテルの回収率のわるい事が欠点で更に適当な溶媒の探索が必要である。フェノバルビタールの利用率はよい。

製造例：— フェノバルビタール 1160 g, 無水メタノール 2,000 cc を混じて粥状とし、ナトリウム 110 g, 無水メタノール 1,500 cc より作つた溶液を徐々に加え、少し加温して溶解し之を硬質茄子型コルベン中に濾過する。之を約 40° の浴中に浸し減圧濃縮し溜液約 2,000 cc に達すれば相当に粘稠になる。直ちに肉厚コルベン（吸引瓶のよなもの）に入れ換え放冷すると結晶が析出し全体殆ど固結する。之を羽二重の袋に濾集又は遠心分離し、乾燥エーテル 3~5 L を用い 3~4 回洗滌を行う。直ちに減圧に加温乾燥すると結晶性の塊で得られるから軽く砕いて乾燥器中に貯える 1,016 g。

以上の実験、製造に際しては当時の製薬部長近藤龍博士の御指導御鞭撻を頂いた。又堀内淳一郎、鍋島昇諸氏の熱心な御協力による所多夫である。此処に記して感謝する次第である。(昭和 25 年 2 月)。

On the Preparation of Soluble Phenobarbital

(Takanobu ITAI and Masao KAMIYA)

The soluble phenobarbital was produced from phenobarbital using sodium-methanolate in methanol.

常圧液相接触還元における水素吸収量の決定に就て

館岡栄一

On the Determination of Volume of Absorbed Hydrogen
under the Catalytic Reduction in Liquid Phase at Normal Pressure.

Eiichi TATEOKA

I. 緒言

天然卵胞ホルモン、エストロンの接触還元によるエストラジオール標準品の製造に当り通常の測容法による接触還元装置を用いて常法により行つたのであるが当時冬季のため室温の変化著しく水素吸収量が明瞭ならず又其の還元も長時間を費したのであるがまず不成功に終つた。そこで今までに提出された水素吸収量を表す諸式を検討し特に試料が微量でしかも還元長時間を要する場合にも適用し得る式、換言すれば比較的廣範圍な温度変化に堪え得る実用的な一般式を決定して所期の目的を達することができたので、こゝに報告する。

II. 水素吸収量に関する諸式の検討

今までに提出された式は次の如くである。

$$A^{(1)} \quad x = \frac{M \cdot v \cdot p \cdot 1,604 \cdot 10^{-5}}{E(273.2+t)}$$

但し x ; 二重結合の数

E ; g.

M ; 分子量

v ; 水素吸収量

p ; 大気圧

$$B^{(2)} \quad V = V_0 \frac{T \cdot 760}{273 \cdot p}$$

V ; ある時間における水素の容積

V_0 ; 標準状態における水素の容積

T ; 絶体温度

$$C^{(3)} \quad v = \frac{22437 \times S}{M} \cdot \frac{760(1+0.003665 \times t)}{p-w}$$

v ; 一個の二重結合に対する水素の吸収量

S ; 物質(g)

M ; 分子量

w ; 室温に於ける蒸気圧

$$D^{(4)} \quad X = \frac{M \times 1.604 \times 10^{-5}}{E} \left\{ \frac{(v+V)p}{273.2+t} - \frac{(v'+V)p'}{273.2+t'} \right\}$$

X ; 二重結合の数

v, v' ; 測定前後の水素の量(cc)

p, p' ; " " 大気圧

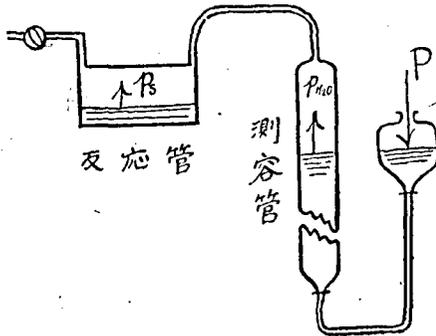
V ; 反応管及導管の全容積

式 A, B, C において v は一定の温度 t の函数として與えられている。式 A, C において V_t を $t^\circ\text{C}$ における測定前の水素の量(cc), V_t' を $t^\circ\text{C}$ における測定後の水素の量(cc) とすれば $v = V_t - V_t'$ であり従つて $v = v_t$ となる。即ち測定前と測定後の温度は同一として組立てられている。

式 D は $v=V_t-V_t'$ を基礎として式 A を変化したもので、温度差が大であれば当然誤差は大となる。然し此所に用いられた試料の多くは大休一時間以内即ち分単位にて反応完結する物が用いられ、かつその量も瓦の単位であつて水素の吸収量も又 100 cc のマクロであるゆゑ目的が達せられている。

III. 蒸気圧の問題

この場合一番問題になるのは試料の溶剤と測容管中の水の蒸気圧の変化であつて、これは可なり大きな数値を與える。今第一図において p_s, p_{H_2O} を溶剤、水の蒸気圧、 P を大気圧、 P_{H_2} を水素の圧力、 n を常数とすれば一定温度においては次の式が成り立つ。



第 1 図

$$P_{H_2} + n(p_s + p_{H_2O}) = P$$

$$\therefore P_{H_2} = P - n(p_s + p_{H_2O}) \dots\dots\dots (1)$$

ただし $n > 0$

今蒸気圧を分子運動説よりすれば、液面より飛び出す分子数と液面に入る分子数が等しくなり、平衡状態を成立した場合飽和蒸気圧を呈するものと考えて次の仮設が成立するものとする。「密閉器中で二成分の液体が各々独立に存在する場合無限の時間のあとには二成分の液体は同一成分の混合液体となる」混合液体の蒸気圧については古く Dukem-Margules⁽⁵⁾ の著名な熱力学的関係式があるが最近倉田、田村⁽⁶⁾ は次の様な実用的な理論式を誘導した。

$$P = \mu_A(w_A d_A) P_A + \mu_B(w_B d_B) P_B + 2(\mu_A \mu_B w_A w_B d^2 / d_A d_B)^{1/2} P_{AB}$$

P_A, P_B ; 液体 A 及 B が夫々単独に存在する時に示す飽和蒸気圧

μ_A, μ_B ; 夫々 A, B 成分のモル分率

w_A, w_B ; 夫々 A, B 成分の重量分率

d^A, d^B ; 各成分の比重

これは縦軸に P_{mmHg} 、横軸に A, B のモル分率をとる時はその混合蒸気圧曲線はあたかも A, B の沸点曲線のごとく A, B を直結した線の外時に内側に弧を描く。よつて(1)式の n を近似的に $n < 1$ とおいて差支えない。よつて次の様に制約することができる。

$$0 < n < 1 \dots\dots\dots (2)$$

IV. 大気圧に就て

実測の結果を第一表に示す。

第一表

時間 日限	8.35	9.35	10.35	11.35	12.35	13.35	14.35	15.35	16.53	$max \Delta_{mmHg}$	$\Delta, 760 \text{ atm}$
10.10 曇				756.1	755.5	755.1	755.1	755.2	755.4	1.0	0.001
10.12 曇	766.7	767.3	766.9	766.6	765.3	765.5	765.7	764.8	765.6	2.5	0.003
10.13 曇	762.8	762.7	763.0	761.8	760.8	760.6	760.5	760.5	760.7	2.3	0.003
10.14 曇	760.1	760.0	760.2	760.3	760.0	759.8	759.6	759.9	760.2	0.3	0.0003
10.15 雨	763.5	763.3	763.8	764.0	763.5					0.5	0.0006
10.18 曇	767.0	766.7	766.6	765.8	765.2	765.0	765.1	765.0	764.7	2.3	0.003

単位 mmHg

これによると大気圧はよほどの天候の激変がない限り大した変化がないことが解る。又吾々は測定時の絶体値を知る必要はなく、水素吸収量 (Δ_{cc}) を可及的正確に知ればたりののであるから大気圧の問題はさして重要な因子とはな

らない。

V. 式 の 誘 導

今水素ガスを理想気体とみなし絶対温度 T における n モルの水素の圧力及容積を P, V とし標準状態におけるそれらを P_0, V_0 とすれば

$$P_0V_0 = nRT_0 \dots\dots\dots (3)$$

$$PV = nRT \dots\dots\dots (4)$$

$$(3)/(4) \dots\dots\dots P_0V_0/PV = T_0/T \dots\dots\dots (5)$$

V_K を反応管及測容管えの導管の全容積とし (これは実測により求められる) v を測容管の読みとすれば

$$V_0 = V_K + v \dots\dots\dots (6)$$

$$V = V_K + v \dots\dots\dots (7)$$

式(1)(6)(7)を式(5)に代入して簡単にすれば

$$v_0 = \frac{273.2\{(P_{atm} - n\Delta p)(V_K + v) - V_K/273.2(273.2 + t)\}}{273.2 + t} \quad \text{但し } 0 < n < 1$$

室温の変化がほとんどない場合は次の様に簡略化せられる。

$$v_0 = \frac{273.2(v - V_K/273.2 \cdot t)}{273.2 + t}$$

VI. 式 の 検 討 及 n の 決 定

式の検討及 n の決定のために空白試験による水素の量の標準状態還算値と蒸気圧の補正値を加えた場合のそれとを比較した。実験は反応管に酸化白金触媒及溶剤としてエタノールを加え試料のみ加えず行つた。 n は蒸発面積の大小即ち反応管の大小形状及導管の長さなどによつて定まるから $0 < n < 1$ の範囲内の簡単な常数を入れてみて始点よりの平行線に一番近い値をとる。これは予め実験に先だち水素の漏洩試験の時に定めて置くことが出来る。本実験の場合は $n=1/2$ が適当であつた。次に測定値並に $n=1/2$ とした時の補正値を示す。実験条件としては P_{to_2} 25 mg, エタノール 50 cc, $V_K=388.3$ cc なり。

第 二 表

v	$t^\circ C$	$\Sigma Time(m)$	v_0	$v_0(n=1/2)$
92.5	16.7	0	64.8	
91.6	16.3	10	64.5	
90.4	16.4	20	63.2	
90.0	16.3	30	63.1	
89.8	16.3	40	63.0	
84.2	16.3	60	57.6	
75.3	16.2	70	49.3	
71.0	16.2	85	45.3	
68.1	16.2	100	42.6	
65.6	16.3	115	40.0	
63.8	16.0	150	40.3	
63.0	16.0	185	38.3	
62.8	15.9	200	38.0	
62.5	16.1	225	37.4	
62.3	16.1	245	37.3	23.5
62.3	16.0	265	37.3	23.5
62.4	16.1	290	37.3	23.4
一 夜 放 置				
56.9	14.2	0	36.2	22.6
62.4	16.5	40	36.7	22.8
62.6	16.6	50	36.7	22.6
63.6	17.0	95	37.2	23.8

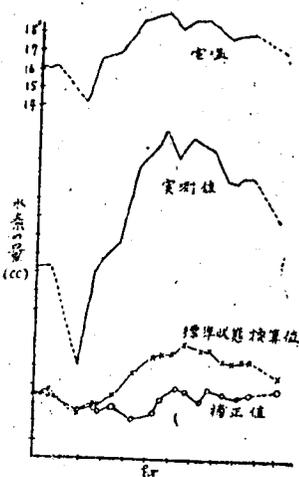
v	$t^\circ C$	$\Sigma Time(m)$	v_0	$v_0(n=1/2)$
67.6	18.6	145	38.5	22.2
69.0	19.0	200	39.3	22.5
69.8	19.1	220	39.5	23.2
68.2	18.2	265	39.6	23.9
69.4	18.7	290	40.1	23.7
69.0	18.8	330	39.7	23.2
60.8	18.5	350	39.8	23.8
67.1	17.8	390	39.2	23.6
67.0	17.9	415	39.0	23.4
67.3	18.0	430	39.2	23.4
67.3	18.0	460	39.2	23.6
一 夜 放 置				
64.8	17.0	0	38.3	23.9

計算は 10 吋計算尺を以てした。

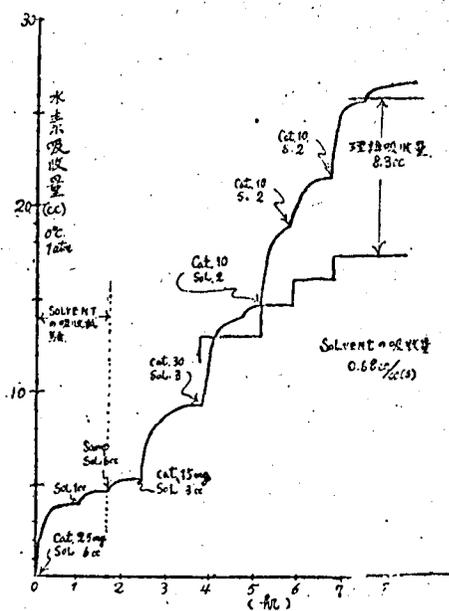
以上の内、溶剤が完全に還元されたあとの経過を第二図に示す。

VII. エ ス ト ロ ン の 還 元

エストロンの接触還元には Danielli, Marrian, Haslewood 法⁽⁷⁾ 及 Disscherl 法⁽⁸⁾ があるが何れも酸化白金を



第 2 図



第 3 図

触媒として 10~36 時間かゝつて還元している。本実験においては試料としてエタノールより再結晶した Fp. 251°C のもの 100 mg, 触媒としては Adams の酸化白金を用いた。之は $PtCl_4 \cdot 2HCl + 6H_2O$ (武田, 一級) を邦訳 Organic synthesis P. 506 に従つて製造したものを用いた。溶剤としてはエタノールを硫酸及硝酸銀にて精製し再溜したものを用いた。7 時間の還元後触媒を濾去しエタノールを減圧蒸溜し残留物をベンゾールより再結晶した。収量は Fp. 173~175°C のもの 87 mg, 之は米局適品である。還元経過は第三図に示す。

VIII. 摘 要

1. 常圧液相接触還元における水素の吸収量を定めるに際し、卵胞ホルモンの様に微量にしてかつ還元困難なる物質に対しては今までに呈出された諸式は適用困難なことを指摘した。
 2. 還元には長時間を要することは必然的に温度の変化を考慮に入れねばならない。よつて蒸気圧の問題を検討し二成分の混合液体の蒸気圧に及んだ。しかして n なる常数を與へ一つの仮定のもとに $0 < n < 1$ のごとく制約した。
 3. 大気圧を測定することによりその影響は余り大でないことが分つた。
 4. 蒸気圧の影響を入れた実用的な一般式を誘導し n の値を実験的に定めた。
 5. エストロンの還元を行い一般式の適用により其の還元経過を明確ならしめ、ために還元時間を 7 時間に短縮せしめ得た。収量も米局適品のエストラジョールが好収量に得られた。
- 最後に本製造試験を行うに當り御指導御鞭撻を蒙った長沢標準品製造部長に対し感謝の意を表したい。

IX. 文 献

- (1) Slotta u. Blanke; J. Prakt. Chem., 143 11. (1935)
- (2) L. Gattermann; Die prax. d. Org. Chemks; 1937, S. 374.
- (3) 刈米; 薬誌. (大 14) 1.
- (4) 前田; 薬誌 (昭 11) 517.
- (5) Dukem; Compt. rend., 102 1449. (1886)
- (6) 倉田, 田村; 物性論研究. 19 51. (1948)
- (7) Danielli; Bioch. J. 27 319. (1933)
- (8) Disscherl; Natv. 23 315. (1934)

On the Determination of Volume of Absorbed Hydrogen
under the Catalytic Reduction in Liquid Phase at Normal Pressure.

(Eiichi TATEOKA)

(1) It was pointed out that some formulas, which had been presented heretofore, regarding the determination of volume of absorbed hydrogen under the catalytic reduction in liquid phase at normal pressure, became impossible to be applied for the chemical substance such as oestrogenic hormone because of its resistance for reduction and its slight quantity.

(2) In case it requires long time for reduction, the change of room temperature must be naturally taken into consideration. Therefore, the problem of vapour pressure was debated, and further discussion was brought to the problem of mixed liquid consist of two components, and then, an ordinary number " n " was given to correct and its value was restricted hypothetically as $0 < n < 1$.

(3) The influence of atmospheric pressure was found to be not so much as a result of measurement. A practical general formula was induced, considering the influence of vapour pressure, and the value of " n " was determined experimentally.

(4) Reduction of oestrone was performed, and its reduction process was found to have become very clear by using the general formula so that the time needed for the reduction could be shortened to 7 hours.

Besides, the obtained oestradiol was in conformity with the U. S. P. and its yield was a satisfactory one.

高等植物の殺虫性に関する研究(第1報)——豫試験的検索について

(防虫科学第 15, 39 (1950) 掲載抄録)

山口 一孝 鈴木 猛
 東京大学伝染病研究所 佐々 学 飯田 鈴吉

Studies on the Insecticidal Action of Japanese Plants (Part I.)

Screening Test for Insecticidal Plants.

Kazutaka YAMAGUCHI, Takeshi SUZUKI,

Manabu SASA and Suzukichi IDA

(Institute for Epidemics Research, Tokyo University)

従来の文献又は民間伝承にとらわれず全く白紙の立場から本邦の野外植物を採集し、ショウジョウバエ幼虫を用いて簡単な殺虫試験を行い若干のデータをかきおいたのでここに報告する。

1948年3月より1949年11月に至る間関東地方全般とその周辺の地40数ヶ所の山野から辛夷植物門 (Pteridophyta) と種子植物門 (Spermatophyta) に属する植物を173科658属にわたり、1337種及び43品種を採集した。採集した植物は生草のまま直ちに根・莖・葉・花・果実・種子等の部分を別々に或はそのいくつかを一括にして5gをとり、乳鉢で30ccの水と共にすりつぶし、植物の碎片と共にその1ccをとつて検体とした。従つて水中に溶出してくる成分が噴毒または接触毒として作用する以外に水に不溶の部分も噴毒として或は時に接触毒として作用することになる。

殺虫試験の供試昆虫としては、25°の孵卵器内にて代々飼育をくりかえしたショウジョウバエ (*Drosophila hydei* Sturtevant) 3齢幼虫を用いた。直径約2.5cm高さ約5cmの管瓶に前記検体1ccを加え3齢幼虫10匹を入れ、4cmに1cmの扇形の濾紙を立て、コルク栓をする。この管瓶を25°孵卵器内に放置し24時間後及び48時間後にピンセットで虫体を檢しその生死をしらべ、死亡幼虫数の全幼虫数に対する Percentage を以て殺虫率と定める。その際幼虫が蛹化した場合にはこれを除外して残余の幼虫より殺虫率を定めた。なお実験のつど、水1ccを入れた Control をおいてその生存を確かめた。

結 論

1. 辛夷植物門 (Pteridophyta) 及び種子植物門 (Spermatophyta) に属する植物を173科658属にわたり1337種及び43品種を採集し、ショウジョウバエ3齢幼虫10匹を用いて殺虫試験を行いその殺虫性を檢した。
2. その結果、48時間後の成積についてみるに殺虫率0%以上49%のもの1147種37品種、50%以上74%のもの83種2品種、75%以上99%のもの37種、100%のもの70種4品種の結果を得た。
3. 植物分類によつて之を通観するにウマノアシガタ科 (Ranunculaceae) に属する植物の強い殺虫性が特異的に目立ち、又タデ科 (Polygonaceae)、バラ科 (Rosaceae)、スヒコヅラ科 (Caprifoliaceae)、イネ科 (Poaceae) の植物に著しく殺虫性の少いことが注目される。

研究に際し終始御指導御援助を頂いた東京大学伝染病研究所第二研究部長長谷川秀治教授、同研究部西川浩、田辺俊岡氏、植物分類採集について御指導御協力を得た檜山隆三先生に深謝する。

Studies on the Insecticidal Action of Japanese Plants (Part I.)

Screening Test for Insecticidal Plants.

(Kazutaka YAMAGUCHI, Takeshi SUZUKI, Manabu SASA and Suzukichi IDA)

A large scaled screening tests for the insecticidal effect were performed on 1330 species and forms (173 families genera) of plants collected by us from Tokyo district in Japan. Ten of the third instar larvae of *Droso-*

phyla hydei STURTEVANT were used as the test insects in each experiment. Plants which showed more than 75 % insecticidal effect in 5 times diluted water emulsion within 48 hours are listed in Table I, i.e. 170 species showed positive results. Of various families collected, Ranunculaceae and Alliaceae were found to have a great number of insecticidal plants, while Polygonaceae and Poaceae contained only a few species of the active ones.

Prunus Buergeriana Miquel, *Vicia Cracca* Linnaeus and *Erythronium japonicum* Decaisne were the positive insecticidal species which had never been reported before.

Reference : "Botyu-Kagaku" 15, 39 (1950).

高等植物の殺虫性に關する研究(第2報)

植物殺虫成分一般的檢索法の設定とこれによる殺虫試験成績について

山口一孝 鈴木猛 片山顯民
東京大学伝染病研究所 佐々学 飯田鈴吉

(防虫科学, 1562 (1950) 掲載抄録)

Studies on the Insecticidal Action of Japanese Plants Part II.

A general Method of Detecting Effective Fraction and its Application to 24 Species of Insecticidal Plants.

Kazutaka YAMAGUCHI, Takeshi SUZUKI and Akihito KATAYAMA,

Manabu SASSA and Suzukichi IIDA (Institute for Epidemics Research Tokyo University)

(1) 我々は殺虫性植物成分を系統的に檢索する為め一般檢索法を設定した。その目的とする處はなるべく少量の検体について簡易な一貫操作により数種のフラクションに分ち有効成分がその化学的性質によつてそれらの何れに来るかを確認すると共にその化学的性質を推知し次の段階としての有効成分の抽出、精製構造研究の手がかりとなし得るに必要な呈色反応実性反応を同時に行う事にある。我々は各種溶媒による逐次抽出法によらず、先ず植物検体(生品 12g, 乾燥品 6g)をアセトンで温浸又は冷浸し総アセトン抽出物 (Frac I) を得。抽出残渣は次いで 2% 酒石酸で温浸する。総アセトン蒸発残渣は酒石酸浸液に合併し、之にエーテルクロロホルム混液 (容量比 1:1 比重 1.117) を加え酸性水溶部分と溶媒を分離する。溶媒部分は 2% 炭酸ナトリウム液で抽出し酸性部分 (Frac III) と中性部分 (Frac II) とに分け、中性部分は必要あれば水蒸気蒸溜に附し、揮発部分 (Frac IIa) と不揮発部分 (Frac IIb) とに分ける。酸性水溶部分はアンモニアアルカリ性となしエーテル・クロロホルム混液で塩基性部分 (Frac IV) を抽出後、液性を中性に調節して水溶性部分 (Frac V) とする。各フラクションに包含さるべき植物成分としては大凡次の様なものが予想されるであらう。

Ia 揮発油 (非テルペン族, テルペン族, プロトアネモニン其の他)。

Ib 油脂, 臘, 樹脂, ステリン類, 不揮発性テルペン類, テルペノイド, フェノール類, 植物色素, 苦味質, 醣糖体, 其他不揮発性中性物質。

III 有機酸, カルボキシル基を持たないが酸性を示す物質。

IV アルカロイド其他の植物性塩基。

V 炭水化物, 蛋白質, サボニン醣糖体, タンニン, 苦味質, 其他水溶性高分子化合物。

各フラクションについては予想される物質を対照として次の様な呈色実性反応を採用した。検体量は 1~2 滴を規準とし時計皿又は小試験管で行う。カッコは適用すべきフラクションを示す。Meyer 試薬 (IV), 10% 水酸化ナトリウム液及これを加えて加熱 (II), Fehling 液をそのまゝ及 10% 塩酸と数分加熱後中和したものに加える (II, V), 1% 塩化第二鉄液 (II, III, V) α -Naphthol 試薬 (II, V), Lieberman-Burchard 反応 (II, V), 濃硫酸 (II, IV, V), アルコール製ビクリン酸液 (II, IV), 5% アルコール製硝酸銀液 (III)*, Fröde 試薬 (IV)*, マグネシウムと塩酸アルコール (II)*, 10% 氷醋酸ブロム (*印は今回実施しなかつた)。

(2) 殺虫試験方法としては直径約 1.5 cm, 長さ約 20 cm の中試験管に水 10 cc を入れその中に各フラクション 0.1 cc を滴下しよく振りまぜた後アカイエカ (*Culex pipiens* Pallens) 3~4 齢幼虫各 10 匹を加え 25° の孵卵器中に放置し 24 時間及 48 時間後の死亡幼虫数の全幼虫数に対する % を以て殺虫率と定めた。この際実験中に蛹化した幼虫は除外する。各フラクションの試験に於いて 24 時間及 48 時間の殺虫率が共に 50% 以上を示すものを有効フラクションとなし、その中 48 時間試験だけが 50% 以上を示す場合をやや有効なフラクションと見做した。試験実施中は常に水 10 cc に幼虫 10 匹を入れた対照をおき此の殺虫率 20% を超えるときは其データを切捨てた。此の殺虫試験による各フラクション間の殺虫性の比較は定性的なものに止まることを附言する。

(3) 高等植物 20 種, 茸 2 種について実験した結果を科別に整理しその殺虫効果を示すフラクション(Iは除く)そのフラクションで陽性な反応, 要因の推定, 文献上其の植物に特有と見做さるべき含有成分, 推定要因と文献上の含有成分との同異等を比較考察した。

(4) 其結果を有効フラクション別にすると (Frac II) ボタンヅル (a), タケニグサ, デリス, ミソナオシ, サンショウ果, イヌサンショウ果 (a, b), キハダ果, 同樹皮, ドクウツギ, ハナヒリノキ, エゴノキ, タバコ, ハイドクソウ, シロバナムシヨケギク, コバイケイソウ, ニシニク (a, b) テングダケ (Frac III) ドクウツギ, エゴノキ, シロバナムシヨケギク, テングダケ (Frac IV) トリカブト, クララ, タバコ, ビヤクブ, コバイケイソウ (Frac V) サンショウ樹皮, アセビ, エゴノキである。

(5) 実験から推定される殺虫性の要因と文献上に記されている其の植物の特有含有成分とを比較すると一致するもの 14 例 (中 1 例は推定), 一部一致するもの 3 例, 一致しないもの 1 例, 文献未記載の為疑問のもの 4 例, 有効フラクションを認め得ないもの 2 例であつた。

Studies on the Insecticidal Action of Japanese Plants (Part II.)

A general Method of Detecting Effective Fraction and its Application to 24 Species of Insecticidal Plants

(Kazutaka YAMAGUCHI, Takeshi SUZUKI, Akihito KATAYAMA, Manabu SASA and Suzukichi IIDA)

Resume

A generally applicable method of detecting effective fraction from a plant, of which whole extract showed insecticidal effect, was established. This is consisted in the systematic fractioning under the following procedure.

I. Whole part.

II. Neutral water insoluble, (a) volatile part.

(b) unvolatile part.

III. Acidic part.

IV. Basic part.

V. Water soluble part. (material, 6—12 g.)

The color reaction tests using Meyer's R., Fehling's R., 10 % NaOH, 1 % FeCl₃, α -Naphthol, picric acid, conc. H₂SO₄, Lieberman-Burchard R., and 5 % alcoholic AgNO₃ were tested in each fraction.

Twenty-four kinds of plants, which were reported in the first report, were further tested by this method. Insecticidal action of each fraction against *Culex pipiens* Pallens larvae were tested. Those which showed more than 50 % mortality after 24 to 48 hours were as follows: fraction II of 16 species, fraction III of 4 species, fraction IV of 5 species and fraction V of 3 species.

Of those positive fractions, fourteen cases had the results which were coincident with that reported in some literature, three cases partially coincident, one case not coincident, and four kinds of plants, which had not been studied for their special ingredients in any literature, were found to have insecticidal action. We could not recognize positive results in any of the fractions in two kinds of plants.

標準色名による生薬の色名記載

Standard Color Names and Color Description of Vegetable Drugs.

Kazutaka YAMAGUCHI and Tutomu SHIMOMURA

山口 一孝 下村 孟

従来一般に用いられている色名は勿論専門技術書等の科学的分野に採用されている色名も統一を欠き、勝手な命名法によつている。此様な状態を打開する為には戦後色に関係する各方面の専門家経験者によつて色名の統一について論ぜられていた。たまたま昭和 23 年 8 月商工省工業標準用語調査会化学学術用語委員会色分科会に於いて、当用漢字の制限を機会に色名の統一について提案があつた。爾來、日本規格協会と色彩科学協会の協力によつて 4 ヶ月に互つて各異の色名法について審議した結果、一応大多数が満足する新しい色名法を確立し（同年 12 月）同委員会に於いて之を標準色名法と名付ける事に決定した。

以後照明学会に於いては逸早く之を推賞し、工業技術庁標準部に於いても之を採用し、出来るだけ工業品の色の名付け方を此の方法に依る事に決定した。又文部省に於いても廣く一般の色彩教育に此の色名法を採用する段階に至つた。たまたま山口、下村両技官は薬事法公定書小委員会生薬第一部会部員として、局方改正調査の生薬事項を担当しているが、生薬色名の統一に関し調査、原案の作成を依頼されたので色分科会委員村上の協力を得て、此の新しい色名法を實際に生薬 83 種、粉末生薬 31 種に適用し標準色票について色名を決定し（第 1 表）更に其結果を色相、彩度、「明るさ」による分類を行つた成績（第 2 表）に関し報告する。標準色名法の理論記載方法、解説に関しては照明学会誌、32（昭和 23 年）p. 175；東鏡：色名法について、及び化学の領域、4（1950）p. 236；村上静男・山口一孝・下村孟：標準色名法と生薬資料の色名を参照されたい。

比色の條件は晴天時明るい室内の北側に面した場所で 10~3 時迄の間に測定した。

比色に用いた生薬は品種程度によつて上、中、下の 3 種に区分した。これらの資料は国立衛生試験所生薬試験部に於いて保管している。

尙資料の一部を恵賜された東京大学薬学科の柴田、藤田両博士に深謝の意を表する。

第 1 表

資料番号	資 料 (部分)	資料の品質程度	標準色表による新しい色名	日局方記載の色名を標準色名に直訳した色名	日局方記載の色名	備考
1	海 人 草	上等品	ごくくらいあか	ごくくらいきあか	暗褐色	
			くらいはいあか	くらいあか	暗紅色	
			はいきあか	あかはい	灰白色	
2	寒 天 (細)	上	ごくうすいきあか	しろ (透映)	類白色透映	透明
			3	麦 角 外面	中	
	破折面の外部	くらいはいあかむらさき	ごくくらいむらさき			黒 色
	破折面の内部	ごくうすいきあか	うすいはい~	紫黒色	灰白色~ 淡紫紅色	
		ごくうすいきあか	うすいあかむらさき			
4	茯 苓 破折面	中	ごくうすいきあか		淡黄色	
5	石 松 子	上	うすいき	うすいき	褐色	
6	綿 馬 根 (葉基) 外面	下	ごくくらいきあか	くらいきあか	類緑色	資料不良
			あかはいきあか	みどり		
7	桂 皮 外面	中	くらいはいきあか	くらいはいきあか	灰褐色	
			はいきあか	くらいきあか	褐色	
8	肉 桂 皮 (縮々) 外面	中	くらいきあか	くらいはいきあか	灰褐色	帶黄褐色
			はいきあか	きみのきあか	褐色	
9	カスカラサグランダ 外面	上	くらいはいきあか	うすいはい	灰白色	
			はいきみのきあか	き(?)	類黄色	
	内 面		くらいきあか	類褐色		

資料番号	資料 (部分)	資料の品質程度	標準色表による新しい色名	日局方記載の色名を標準色名に直訳した色名	日局方記載の色名	備考
10	石榴皮 外面 破折面	上	くらいはいきあか うすいき	きみのきみどり～ はいきあか, き(?) きあか, はい,	帯緑黄色～ 帯灰褐色 類黄色	
	" 外面 破折面	下	くらいはいきあか うすいきみのきあか		褐色, 灰色	
11	コンズランゴ皮外面 内面	中	くらいはいきあか あかるいはいきあか	くらいはいきあか あかるいはいきあか	帯褐灰色 淡灰褐色	
12	キナ皮 外面 (スクテルブラ)内面	中	ごくくらいきあか はいきあか	くらいきあか	褐色	
	"(カリサヤ) 内面	中	はいきあか			
13	牡丹皮 外面 破折面	上	くらいはいきあか ごくうすいきあか			
14	黄 柏 内面 破折面 外面	上	くらいきみのきあか はいきみのきあか			
15	五倍子 内面 外面	上	あかるいはい はいき	あかるいはい はいきあか	灰白色 帯灰褐色	
16	苦 木 外面 破折面	上	くろ ごくうすいき	ごくうすいき	黄白色	
17	イリス根 表面	上	しろ	しろ	白色	
18	菘 薺 外面	上	はいきみのきあか	はい	灰色	
19	生 姜 外面 破折面	上	あかるいはい ごくうすいきあか	はい あかるいはい	灰色 類白色～ 淡灰白色	
20	海 葱 外面	中	ごくうすいきあか	うすいき	帯黄白色	半透明
21	和 大 黄 外面 内面	中	ごくくらいきあか はいきあか			
22	黄 連 外面 横断面 皮部 木部	上	はいきみのきあか きみのきあか き	はいき くらいきみのきあか うすいき	帯黄灰色 暗橙黄色 淡黄色	
23	ロート根 外面 破折面	中	はいきあか ごくうすいきあか	ごくくらいきあか くらいはい～ ごくくらいきあか	暗褐色 暗類白色～ 暗褐色	
24	吉 草 根 外面	上	くらいはいきあか	はいきあか	灰褐色	
25	川 芎 外面	上	くらいはいきあか			
26	サルサ根 外面 (ホンジュラス)内鞘 皮部 内面	中	はいきあか うすいきあか ごくうすいきあか	はいきあか くらいきあか しろ	帯褐灰色 褐色 白色	
27	コロソ根 破折面 コルク層	上	うすいき くらいきみのきあか	き はいきあか	黄色 帯灰褐色	
28	黄獨葵根 外面	上	うすいきみのきあか	しろ	類白色	
29	セネガ根 外面	上	はいきあか	はいき	帯灰黄色	
30	遠 志 外面	中	あかるいはいきあか	あかるいはいきあか	淡灰褐色	
31	甘 草 外面 (中国産) 木部	上	くらいきあか うすいき	くらいあかみのきあか き	暗赤褐色 帯黄色	
32	大 黄	上	ごくくらいあか はいきみのきあか ごくうすいきあか	きみのきあか き しろ	黄褐色 類黄色 白色	
33	ゲンチアナ根 外面 内面	上	ごくくらいきあか きみのきあか	あかみのきあか～ ごくくらいきあか	類赤褐色～ 暗褐色	
34	竜 膽 根 根 莖	上	きみのきあか くらいはいきあか	きみのきあか くらいはいきあか	帯褐黄色 暗灰褐色	
35	桔梗根(晒) 外面	上	しろ～ごくうすいきあか	しろ～ごくうすいきあか	白色 淡褐色	

木類
根莖及び根類

資料番号	資 料 (部分)	資料の品質程度	標準色表による新しい色名	日局方記載の色名を標準色名に直訳した色名	日局方記載の色名	備考
36	吐 根 外 破折面	中	くらいはいきあか ごくうすいきあか	くらいはいきあか しろ	暗灰褐色 類白色	
37	荷 葉 外 破折面	上	くらいきあか			
38	半 夏 外 面	上	あかるいはいきあか しろ	しろ	純白色~ 白色	
39	サレップ根外面	上	はいき	はい~ き~	灰色~ 白色	
40	草 烏 頭 外 破折面	中上	くらいはいきあか ごくうすいきあか	くらいはいきあか	汚褐色	
41	ヤラッパ根 外 面	中	ごくくらいきあか ごくうすいきあか	ごくくらいきあか ?	暗褐色 類白色~ 暗褐色	
42	白川附子 外 面	上	あかるいはい			
43	ユーカリ葉 表 面	中	はいき	くらいはいみどり	暗灰緑色	
44	センナ葉 表 面	中	あかるいはいき	きみどり	類黄緑色	
45	ウワウルシ葉 表 面	中	くらいき	くらいみどり	暗緑色	
46	コケモモ葉 表 面	中	くらいきみのきあか	くらいみどり	暗緑色	
47	マンダラ葉 表 面	上	くらいみどり, はいき どり, はいき くらいき~はいき	くらいみどり	暗緑色	
48	デギタリス葉 表 面	中	はいみどり~ はいきみのきみどり	みどり~ うすいみどり	緑色~ 淡緑色	
49	薄 荷 葉 表 面	上	はいき			
50	睡 菜 葉 表 面	上	あかるいはいき	みどり	緑 色	
51	ヒヨス葉 表 面	下	はいきみのきあか			
52	サフラン	中	くらいあかみのきあか	くらいあかみのきあか	暗灰赤色 褐赤色	
53	丁 字 花 床 辨	中	ごくくらいきあか はいき	くらいきあか うすいきあか	褐 色 淡褐色	
54	ミナ花	中	きみのきあか	みどり	類緑色	
55	除虫菊花 舌状花冠	上	ごくうすいき き			
56	小豆蔻 果 皮 子	中	うすいきみのきあか くらいきあか	うすいき くらいきあか	淡類黄色 褐 色	
57	クベバ実 果 皮	中	ごくくらいきあか	ごくくらいきあか	暗褐色	
58	胡 椒 果 皮 子	中	ごくくらいきあか はいきあか	ごくくらいきあか くらいきみのきあか	黒褐色 帯褐黄色	
	" (白) 果 皮	中	うすいきみのきあか			
59	山 椒 外 内 面	中	くらいきあか ごくうすいき	ごくくらいきあか ごくうすいき	暗褐色 淡黄白色	
	" 外 内 面	中	くらいあかみのきあか	ごくくらいきあか	暗褐色	
60	橙 皮 外 内 面	上	くらいきあか ごくうすいきあか	くらいきあか しろ	類褐色 類白色	
61	茴 香 果 皮	上	はいきみどり~はいき どり	きみどり	帯緑黄色	
62	番 椒 果 皮	上	あか~ きあか~	あか	赤 色	
	" 果 皮 子	中	くらいあか くらいきあか	あかみのきあか	赤褐色	
	" 果 皮 子 毛	上	うすいきみのきあか	き	黄 色	
63	キササゲ実 果 種 子	上	くらいきあか はいきあか ごくうすいきあか	くらいきあか うすいきあか しろ	暗褐色 淡褐色 白	

葉類

花類

果実及び種子類

資料番号	資 料 (部分)	資 料 の 品質程度	標準色表による新しい色名	日局方記載の色名を標準色名に直訳した色名	日局方記載の色名	備考
64	肉豆蔻 外面	中	くらいきあか しろ	くらいきあか しろ	褐色 白色	
65	芥子(白) 外面 " (黒) 外面 " (日本産) 外面	中 中上	はいきみのきあか くらいあか はいきあか, うすいきあか うすいきみのきあか	くらいきみのきあか ごくくらいきあか	帯黄褐色 暗褐色	歐洲産 歐洲産
66	亞麻仁 外面	上	くらいきあか	くらいきあか	褐色	光沢あり
67	杏仁 外面	上	くらいきあか しろ	くらいきあか しろ	褐色 純白	研折面
68	苦扁桃 外面	上	くらいきあか ごくうすいきあか(しろ)			破折面
69	牽牛子(外) 外面 " (白) 外面	上 中	くろ はいあかみのきあか	くろ うすいきみのきあか	黒色 淡黄褐色	
70	ホミカ 外面	中	うすいきみのきあか	はいき	帯灰黄色	
71	ストロファンツ子	中	あかるいはいきあか	はいみどり~ はい	灰綠色~ 灰色	Kombe
72	伊豆縮砂 外面	上	ごくくらいはいきあか~ あかるいはいきあか			
73	吳茱萸 果皮	上	ごくくらいきあか		白色	
74	当 薬 花 瓣	上	き	しろ		
75	延命草 莖	中	くらいはいき~ はいきみのきあか ごくくらいきあか~ あかるいはいきあか			
76	アラビアゴム	上	ごくうすいき~ ごくうすいきあか	ごくうすいき	無色, 微黄色	透明
77	トラガント	中 上 中	しろ うすいきみのきあか	しろ	白色	半透明
78	ミルラ 表面	上	うすいきみのきあか, き あか, くろいあか	き, あか くらいきあか	類黄色 類赤色, 褐色	半透明
79	松 脂	中	きあか~ きみのきあか	き~ きみのきあか	黄色~ 帯褐黄色	透明
80	コロホニウム	上	きみのきあか~ きあか	き きあか	類黄色 淡褐色	透明
81	サンダラック	中	ごくくらいきあか			
82	安息香 実質 顆粒	上	うすいきみのきあか	うすいき	淡黄色	半透明
83	トルーバルサム	中	きあか~ くらいあかみのきあか ごくうすいきあか	くらいあかみのきあか~ くらいはいきあか しろ	赤褐色 灰褐色 類白色	スマトラ
84	ロカイ 表面 破碎面	中	ごくくらいきあか~ きあか~ ごくくらいあか	ごくくらいきあか あか~ はいきあか	暗褐色 類赤色~ 淡褐色	Lucida
85	阿仙葉	上	うすいきあか くらいきあか	ごくくらいきあか くらいきあか	暗褐色 類褐色	Pegu Gambir
86	ゼラチン	上	無色	しろ	純白色	透明
87	蜜 臘	上	ごくうすいきあか	うすいき~ くらいきみのきあか	淡黄色~ 帯褐黄色	
88	晒 蜜 臘	上	ごくうすいき	しろ	白色~ 類白色	
89	葛 澱 粉	上	しろ	しろ	純白色	
90	米 澱 粉	上	しろ	しろ	純白色	

草卉類

ゴム・糖類

樹脂類

動物生薬

粉末

資料番号	資 料 (部分)	資料の品質程度	標準色表による新しい色名	日局方記載の色名を標準色名に直訳した色名	日局方記載の色名	備考
91	小麦澱粉	上	しろ	しろ	純白色	
92	甘露澱粉	上	しろ	しろ	白色	
93	馬鈴薯澱粉	上	しろ			
94	黄 柏 末	上	き			
95	石榴皮末	上	あかるいはいき			
96	生 姜 末	上	ごくうすいきみのきあか			
97	甘 草 末	上	うすいきみのきあか			
98	小豆蔻末	中	あかるいはいきあか			
99	吐 根 末	中	あかるいはいきあか			
100	白胡椒末	中	はいきみのきあか			
101	龍 膽 末	上	うすいきみのきあか			
102	苦 木 末	上	ごくうすいき			
103	マンダラ葉末	上	はいき			
104	デギタリス葉末	中	はいき			
105	薄荷葉末	下	くらはいき			
106	当 薬 末	上	あかるいはいき			きみのきあかに寄っている
107	山 椒 末	上	はいきみのきあか			
108	胡 椒 末	中	くらはいきあか			
109	延命草末	中	くらいき			
110	丁 子 末	中	くらいきあか			
111	芥 子 末	中	うすいきみのきあか			日本産
112	ロカイ末	上	はいきみのきあか			Hepatica
113	カスカラサグラダ末	上	はいきみのきあか			
114	和 大 黄 末	中	きみのきあか			はいきあかに近い
115	ゲンテアナ根末	上	うすいきみのきあか			
116	肉桂皮末	上	はいきあか			
117	桂 皮 末	中	はいきあか			
118	蕃 椒 末	上	きあか			
119	トラガント末	上	はい			僅かにきみのはい

第 2 表 生薬資料の色による分類

色相による分類		彩度による分類		“明るさ”による分類		
色 相	%	彩度番号	%	Munsell value	%(有彩色) %(無彩色)	%(無彩色)
r.RP	1.0	1	0.0	9.5	6.5	63.0
R	4.0	2	22.0	8.5	17.5	0.0
r.YR	2.5	3	18.5	7.5	15.0	21.0
YR	43.5	4	26.5	6.5	0.0	0.0
y.YR	29.0	5	26.0	5.5	28.0	5.0
Y	17.5	6	1.0	4.5	4.5	0.0
y.GY	0.5	7	5.0	3.5	18.5	0.0
GY	1.5	8	0.0	2.5	9.0	0.0
g.GY	0.0	9	1.0	1.5	1.0	11.0
G	0.5	10	0.0	—	—	—

蓼科 (Polygonaceae) 植物を原料とする 蛔蟲駆除薬の製造研究 (第一報)

ソバ属 (Fagopyrum Gaerten) 植物を原料とする蛔蟲駆除薬の製造

市川重春 小幡利勝
鈴木繁 宇田川秀雄

Research in the Preparation of Roundworm Vermicides from the Plants
belonging to the Fam. Polygonaceae (I)

Preparation of Roundworm Vermicides from the plant
belonging to the Genus Fagopyrum (I)

Shigeharu ICHIKAWA, Toshikatsu OBATA, Shigeshi SUZUKI and Hideo UDAGAWA

緒 言

人糞を肥料として使用し、生野菜食や漬物を好む関係上戦前から我が國の農村では宿名的に蛔虫症の高率な点で世界一と云うかばしくない名声(?)を博していたが、戦争中都市から農村へ疎開した人々の多かつたことや都市でも家庭菜園の奨励の結果人糞を用いての蔬菜作りが盛に行われたので終戦後は都鄙の別なく蛔虫症は頗る高率となつた。これと反対に蛔虫駆除特効薬サントニンの輸入は杜絶し、又主として台湾から運ばれていたサントニン代用薬海人草の輸送も出来なくなつて蛔虫は全く全国的に蔓延し蛔虫対策は焦眉の急務となつた。

依つて吾々は昭和 21 年 4 月以來調査部員となり天然資源を原料とする寄生虫駆除薬の製造研究を命ぜられ之に着手した。

扱て蛔虫駆除薬としての理想的條件は効力のあることは勿論であるが、副作用のないこと、原料の豊富なこと、更に廉價なことも欠くことの出来ない條件である。

かような條件を満足させるに足るものという目標の下に調査を始め先ず寄生虫の駆除に有効な植物として成書に記載され又は口碑に伝えられているものを収録して一覧表を作成したところ第 1 表を得た。この中蛔虫駆除薬としては 12 種を数えることが出来た。この 12 種に就き先ず原料的に考察するに最も種類の多いのは蓼科植物であつて、牧野富太郎・根本完爾共著：訂正増補日本植物総覧に依れば蓼科植物は 7 属に分れ 143 種類もある。この中古來民間薬としてのみ地域的に使用されていた植物で未利用のものにつき科学的裏付けをせしやうと思ひ先づ原料的に豊富なソバ属植物を選び調査することにした。

成書に依るとソバの粉を生食すると蛔虫を駆除するとあるが、食糧不足の折柄ソバ粉を使用するのはもつたないことだし、静岡県や長野縣下ではソバ茎を小学校の児童に煎劑として使用しているという話であるから、ソバの種実脱穀及び選別の際に得られる落粒に脱落する未熟種実及び葉の部分(以下脱落葉と呼ぶ)を利用できれば実用的で而かも経済的であるから之等を原料として試験を行うことにした。

第 1 表 寄生虫の駆除に有効な植物一覧表

科名	名称	原植物名	有効部分	使用法	適応症	備考
菊科	黄花蒿	クソニンジン	葉	葉をもんで塗る	駆虫	
	攝綿支奈	セメシナ	未開花穂	煎用	蛔虫	
瓜科	南瓜仁	カボチャ	子仁	乳劑	線虫	ナタウリの種子は米局收載
	苦瓠	ニガヒサゴ	果実			
茄科	酸漿	ホホヅヤ	果実	生食	小兒の寄生虫	
唇形科	山紫蘇	ヤマジソ	全草	煎劑	十二指腸虫	オホヤマジソ ヤマジソ
	荊芥	ケイガイ	"	"	"	
龍膽科	龍膽	リンダツ	莖葉	煎劑塗布	毛虱	
	當藥	センブリ	"	煎用	駆虫	
	東雲草	シノノメグサ	"	煎劑塗布	毛虱	

MEISSNER) であるが、アキノバを夏ソバの播種期に臨時に播種したのも3種ある。各原料の播種、採集、処理方法、仕込日等を一覧表にすると第2表になる。

検体番号 No. 1 及 No. 2 は当所構内で吾々の栽培したもの、No. 3 は同じく前所長松尾博士の栽培品、No. 6 及 No. 7 は同じく植物部山縣技官の栽培したもの、No. 4 は千葉縣葛飾郡朝日村に於て遠藤興作氏の栽培品、No. 5 は

第2表 使用原料の明細表

検体番号	原料名	播種年月日	採集時期	採集年月日	採集後の処理方法	乾燥日数	仕込年月日	産地	備考
No. 1	アキノバ各部分	昭和 22. 8. 下旬	開花盛期	昭和 22. 10. 3	採集直後植物各部分に分離室内に払布し陰乾する	10	22.10. 9(花) 22.10.13(葉) 22.10.28(莖) 22.11.12(根)	用賀	自裁
No. 2	アキノバ脱落葉	22. 8. 下旬	完熟時	22.11. 月上旬	刈取後数日間陰乾後脱穀種実を篩別の際得たものを陰乾	10		"	"
No. 3	アキノバ	22. 8. 下旬	種実完熟時	22.10. 下旬	刈取即日脱穀種実を篩別の際得た脱落葉陰乾			"	松尾
No. 4	アキノバ生莖	23. 4. 下旬	開花盛期	23. 6. 25	刈取後翌日莖葉分離乾燥せず即日仕込む	—	23. 6. 26	朝日	遠藤
No. 5	ナツソバ脱落葉並莖	23. 4. 下旬	完熟時	23. 6. 下旬	刈取即日脱穀種実を篩別の際得た脱落葉を集積し翌日陽乾			玉川	
No. 6	アキノバ乾燥莖並葉	23. 5. 19	開花盛期	23. 7. 19	刈取後即日莖葉分離陽乾			用賀	山縣
No. 7	アキノバ乾燥莖並葉	23. 5. 19	"	23. 7. 26	"			"	"
No. 8	アキノバ脱落葉	23. 8. 下旬	完熟時	23.11. 月上旬	刈取後脱穀種実を篩別の際得た脱落葉				西生田
No. 9	赤地利ソバ生莖		開花前					用賀	

川崎市諏訪町六六〇大黒初太郎氏が玉川に於て栽培せるもの、No. 8 は川崎市西生田に於て農家の栽培品の脱落葉、No. 9 は前小石川植物園長松崎直枝氏より分與を受けし株を当所構内に移植したものより発芽したものである。

参考のためソバの栽培面積と収穫量を表示すると第3表となる。

第3表 原料ソバの栽培面積と収穫量表

検体番号	栽培面積 (坪)	播種容量 (台)	生重量 (kg)	乾燥葉 (kg)	乾燥莖 (kg)	備考
No. 5	15	不明	128.2*	1.80* (5.91%)	15.20 (15.54%)	ナツソバ
No. 6	19.4	4.8	46.9	2.76 (5.88%)	5.67 (12.09%)	アキノバ(臨時)
No. 7	20.9	5.2	56.5	3.85 (6.81%)	7.10 (12.56%)	"
特検	130	19.5	601.1	15.00*	125.00	アキノバ

註：*脱落葉，*生脱落葉 30.4 kg + 生莖 97.8 kg = 128.2 kg

特検は春日部圃場藤田技官に栽培を依頼して得た結果である。即ち昭和 23. 8. 25 播種，23.11. 6 採集完全種実 57 kg を収得した副産物である。

乾燥葉及乾燥莖の括弧内数字は生重量に対する乾燥歩留である。

第2章 ソバ属植物の蛔虫駆除力に就いての予試験

ソバ属植物の蛔虫駆除作用の有無についての予試験を行うため先ず検体番号 No. 1 の乾燥葉並 No. 2 及 No. 3 の脱落葉を原料として次の調製法に依り乾燥エキスを調製して豚蛔虫試験及び人体試験を行った。

予試験用検体調製法：

a) 豚蛔虫予試験用検体調製法：— 検体番号 No. 1 の葉の部分 420 g を熱湯 (4L; 3L; 3L 宛) で3回浸出し、各浸液は冷後析出した粗製 Rutin を濾取し、各濾液を夫々水浴上で蒸発乾固して乾燥エキス (合計 90 g) を得た (第4表参照)。

b) 人体予試験用検体調製法：—検体番号 No. 2 の脱落葉 280 g 宛 A, B 及び No. 3 の脱落葉 255 g を原料として夫々熱湯 (3.5 L; 2 L; 2 L) で3回浸出し A 及 No. 3 浸液は冷後析出した粗製 Rutin を濃取し、濃液を夫々水浴上に蒸発乾燥して乾燥エキス合計 29.8 g 及合計 48.5 g を得た。B 浸液は浸出液をそのまま水浴上に蒸発乾燥して乾燥エキス合計 44.7 g を得た (第5表参照)。

第1節 豚蛔蟲予試験：

a) 法で調製した乾燥エキスを使用し豚の蛔蟲を使用し次の方法で殺虫力を試験した。

試験方法：硝子円筒2個 (A, B) に *Ascaris suilla* 培養液 (Ringer Dale 液*) 600 cc 宛を容れ之に上記乾燥エキスを A に 12 g, B に 30 g を添加し攪拌して溶解してから豚の蛔蟲を9匹入れ恒温器中に約 37° に保ち3時間毎にその運動状態を観察したが、24 時間経過しても A は全部生存し、B は4匹のみ運動しなくなった。

*Ringer Dale 液処方：CaCl₂ 0.024 %; KCl 0.042 %; NaHCO₃ 0.05 %;

MgCl₂ 0.005 %; glucose 0.05 %; water 100 cc.

上記予試験の結果はソバの葉のエキスは豚蛔蟲に対しては作用しないか作用するにしても甚だ弱いのを認めた。即ちソバの葉のエキスは蛔蟲に対しては接触毒ではないらしい。

第2節 人体予試験

ソバの葉のエキスは前節の予試験の結果豚蛔蟲に対しては接触毒でないことを認めたが吸収毒であるかも知れないと考え、b) 法で調製した各種の乾燥エキスを検体として当所細菌部長八田技官に依頼し人体試験を行つた結果は駆虫作用を有すとの報告を得た。

第3章 ソバ植物体中有効部分の決定試験

人体の蛔蟲に対する予試験の結果ソバ脱落葉の乾燥エキスの駆虫効力を確認したから、次にソバ植物のどの部分が有効であるかを決定するために検体番号 No. 1 より分離選別した植物体の各部分より、次の調製法に依り製造した各種乾燥エキス (第4表参照) を検体として人体試験を八田技官に依頼したところ、各種エキスとも大同小異の駆虫効力を有すとの報告に接した。

有効部分決定用検体調製法：

検体番号 No. 1 の開花最盛期に採集した全草 (生重量約 10 kg) を採集直後、植物各部分 (花、葉、莖及根) に分離選別し、室内に掛けて陰乾し、6 日後に秤量するに花 400 g, 葉 490 g, 莖 1520 g, 根 190 g を得た。これらを原料として次の処理法で乾燥エキスを調製した (第4表参照)。

a) 花 400 g (6 日目) を熱湯 (3 L; 2 L; 2 L; 2 L) で4回浸出し、各浸出液は冷後析出した粗製 Rutin を濃取し、各濃液は夫々水浴上に蒸発乾燥して乾燥エキス (合計 77.9 g) を得た。

b) 葉 490 g は 10 日目に秤量するに 420 g になつた。これを熱湯 (4 L; 3 L; 3 L) で3回浸出し、各浸出液は冷後析出した粗製 Rutin を濃取し、各濃液は夫々水浴上で蒸発乾燥して乾燥エキス (合計 90 g) を得た。

c) 莖 1520 g は 25 日目に秤量するに 900 g となつた。これを約 1 cm の長さに細切して、熱湯 (9 L; 6 L; 6 L) で3回浸出し、各浸液は濃縮し冷後析出する粗製 Rutin を濃取し、各濃液は夫々水浴上で蒸発乾燥し乾燥エキス (合計 159.8 g) を得た。

d) 根 190 g を 40 日目に秤量するに 120 g となつた。これを熱湯 (2 L; 1.5 L; 1.5 L) で3回浸出し、各浸液を夫々水浴上で蒸発乾燥して乾燥エキス (合計 19.3 g) を得た。

第4表 ソバ植物各部分の収穫量並各部分より乾燥エキス調製試験成績表

検体番号 No. 1		No. 1 抽出液	No. 2 抽出液	No. 3 抽出液	No. 4 抽出液	計	備 考
a) 花 400 g	エキス得量 g	32.0	20.0	14.5	7.4	77.9	熱 湯
	エキス全量に 対する %	46.2	25.7	18.6	9.4		No. 1 : 3 L No. 2 : 2 L No. 3 : 2 L No. 4 : 2 L
	仕込量に對す る %	9.0	5.0	3.625	1.85	19.475	
b) 葉	エキス得量 g	42.5	30.0	17.5	—	90.0	熱 湯

検体番号 No. 1		No. 1 抽出液	No. 2 抽出液	No. 3 抽出液	No. 4 抽出液	計	備 考
490 g (420 g)	エキス全量に 対する %	47.2	33.3	19.4	—		No. 1 : 4 L No. 2 : 3 L No. 3 : 3 L
	仕込量に對する %	8.67	6.12	3.57	—	18.36	
c) 莖 1520 g (900 g)	エキス得量 g	85.0	55.2	19.6	—	159.8	熱 湯 No. 1 : 9 L No. 2 : 6 L No. 3 : 6 L
	エキス全量に 対する %	53.2	34.5	12.3	—		
	仕込量に對する %	5.592	3.630	1.288	—	10.512	
d) 根 190 g (120 g)	エキス得量 g	12.8	4.2	2.3	—	19.3	熱 湯 No. 1 : 2 L No. 2 : 1.5 L No. 3 : 1.5 L
	エキス全量に 対する %	66.83	21.23	14.50	—		
	仕込量に對する %	6.73	2.21	1.21	—	10.15	

第 5 表 ソバ脱葉葉より乾燥エキス調製試験成績表

検体番号 No. 2		No. 1 抽出液	No. 2 抽出液	No. 3 抽出液	計	備 考
脱落葉 A 280 g	エキス得量 g	15.7	8.5	5.6	29.8	Rutin を分離後 エキスを調製す
	エキス全量に 対する %	52.68	28.52	18.79		
	仕込量に對する %	5.6	2.31	2.0	9.91	
脱落葉 B 280 g	エキス得量 g	25.1	13.6	6.0	44.7	Rutin を分離せ ずエキスを調製 す
	エキス全量に 対する %	56.15	30.42	1.34		
	仕込量に對する %	8.96	4.85	2.14	15.95	
脱落葉 255 g	エキス得量 g	24.6	14.5	9.4	48.5	Rutin を分離後 エキスを調製す
	エキス全量に 対する %	50.7	29.9	19.4		
	仕込量に對する %	9.6	5.7	3.7	19.0	

第 4 章 畑虫駆除効力試験用検体調製に就いて

第 3 章の植物体中有効部分の決定の結果は其効力は各部分とも大同小異であるのを認めたから、植物体を各部分に分離選別するような煩雑な処理を行わなくとも実際問題としては、乾燥莖や脱落葉を原料として駆虫剤を調製するを得策と考え、集團試験用検体として次の様な種々の製剤を調製することにした。

(I) 各種製剤の効力比較用検体調製法：

A 煎劑：——検体番号 No. 5 の脱落葉 1 kg に水 10 L を注加し、加熱して時々攪拌しつつ 1 時間煮沸後布袋で濾過し、袋を軽く圧搾して煎汁約 6 L を得る。残渣は更に水 4 L を加え 30 分間煮沸後同様に濾過圧搾して煎汁約 4 L を得る。前後の煎汁を合併すると約 10 L となるから、1 回の用量を 200 cc 宛 (=原料 20 g) とすると 50 回分の煎劑が得られる。これを 1 回 200 cc 1 日 1 回宛 3 日間連用させる。

B 煎劑：——検体番号 No. 7 の莖を仕込み A と同様にして調製する。

C 煎劑：——検体番号 No. 5 の脱落葉 3.6 kg を熱浸 (No. 1~No. 3) した煎汁を貯蔵するために水浴上で蒸発乾燥し乾燥エキス (296 g) とし、これに乳糖 244 g を添加し 540 g とし 1 回 3 g (=原料 20 g) とし 180 回分とする。

a-エキス：——検体番号 No. 5 の脱落葉 600 g に水 6 L を加え 1 時間煮沸し、濾過し濾液 4 L を蒸発して乾燥エキス 47.5 g を得。これに乳糖 42.5 g を添加し 90 g とし 1 回 3 g (=原料 13.3 g) 宛 30 回分とする。

b-エキス：——検体番号 No. 4 の生莖 3.7 kg に水 5 L を加え、1 時間煮沸し、濾過し、濾液を蒸発して乾燥エ

キス 56 g を得。これに乳糖 34 g を添加し 90 g とする。1 回 3 g (=生薬 123 g =乾燥薬 20 g) 宛 10 回分とする。

c-エキス：—検体番号 No. 6 の乾燥薬 600 g を熱湯 (5 L; 3 L) で 2 回 30 分間宛煮沸し、濾液を放冷後析出した粗製 Rutin を濾別し、母液を合して水浴上に蒸発濃縮し、稠厚エキス状となした時これに乳糖 10 g を加え更に水浴上に蒸発乾固し乾燥エキス 75 g を得。これを 1 回 2.5 g (=原料 20 g) 宛服用する。

d-エキス：—c エキス調製と同一の原料 600 g を冷水 (5 L; 3 L) で 2 回冷浸 (毎回 24 時間浸漬) し、得たる浸出濾液を水浴上に蒸発し乾燥エキス (55 g) とし、これを粉末となし澱粉を混和し全量 90 g とし 1 回 3 g (=原料 20 g) 宛服用する。

e-エキス：—検体番号 No. 6 の乾燥薬 600 g を熱湯 (5 L; 3 L) で 2 回 1 時間宛煮沸し濾過し、濾液を水浴上で蒸発濃縮し稠厚エキス状となつた時乳糖 15 g を添加し、更に蒸発して乾燥エキス 75 g を得。之を 1 回 2.5 g (=原料 20 g) 宛服用する。

f-エキス：—e エキス調製と同一の原料 600 g を冷水 (5 L; 3 L) で 2 回冷浸 (24 時間浸漬) し得たる浸出濾液を水浴上に蒸発して乾燥エキス 50 g を得。これを粉末とし澱粉を混和して全量 90 g にし、1 回 3 g (=原料 20 g) 宛服用する。

(II) 冷浸製劑と熱浸製劑の効力比較用検体調製法：

No. 19 乾燥薬の冷浸エキス調製 (冷浸パーコレーション法)。

検体番号 No. 7 の乾燥薬を原料とし米國薬局方第 13 版の流動エキスの調製法 Process C. Fractional Percolation に準拠して次のようにして抽出後乾燥エキスとする。

乾燥薬 1 kg を 3 分して A. 500 g; B. 300 g; C. 200 g とする。

A. 500 g に水 400 cc を加えて 15 分間放置して湿潤させてから Percolator に入れ、上部に多数の細孔を穿つてある板及び重錘をのせて水を加へて葉の上に薄く液層を作る程度とし (水 3 L を要す)、1 夜浸漬放置した後、毎分 2.5 cc の速度で percolate し、最初の 200 cc は別に保存し、次に得る抽出液を順次に 300 cc 宛別々に捕集して A. No. 1~No. 5 とする。

B. 300 g に A. No. 1: 300 cc を加えて湿潤させた後 A. No. 2, No. 3, No. 4, No. 5 及び水を用いて A. の場合と同様に Maceration 及び Percolation を行う。Maceration には A. No. 2~No. 4 の大部分合計 850 cc を要した。毎分 2 cc の速度で Percolation を行い、最初の 300 cc を別に保存し、次に得る抽出液を順次に 200 cc 宛別々に捕集して B. No. 1~No. 5 とする。

C. 200 g に B. No. 1: 200 cc を加えて湿潤させた後 B. と同様に処理する。Maceration には No. 2~No. 5 の一部 650 cc を要した。毎分 1.5 cc の速度で Percolation を行い Percolate 500 cc を捕集した。

A. 及 B. の最初の Percolate 及び C の Percolate 合計 1000 cc を水浴上に蒸発して稠厚エキスとなつた時乳糖 40 g を添加し更に蒸発し乾固し粉末とする (96 g)。これを 1 回 2 g (=原料 21 g) 宛服用。

No. 20 熱浸乾燥エキス調製 (Rutin 分離)

No. 19 の Percolation 終了後の残渣を水 2.5 L 宛 3 回 30 分間煮沸浸出し、浸出濾液を冷後析出した粗製 Rutin を濾集し、母液を水浴上で蒸発して乾燥エキス 130 g を得。この中 98 g に乳糖 10 g を混和し 108 g となし 1 回 3 g (=原料 22 g) 宛服用する。

No. 22 乾燥薬の冷浸エキス調製 (冷浸パーコレーション法)

検体番号 No. 5 の乾燥薬を長さ約 1 cm に細切したもの 1.8 kg を A. 0.9 kg, B. 0.5 kg, 及び C. 0.36 kg に 3 分し No. 19 を少しく改変して次の様に浸漬抽出を行つた。

A. に水 4.7 L を注加し、1 夜浸漬後濾過して浸出液 (A. No. 1) 2.6 L を得。残渣を 0.8 L の水で洗い、浸液及洗液合計 3.4 L を使用して B. を浸漬し、又 A. を新しい水 4 L で浸漬し、1 夜放置後濾過して夫々浸出液 (A. No. 2) 3.5 L; (B. No. 1) 1.85 L を得た。

更に B. を (A. No. 2) 3.5 L で浸漬し、C. を (B. No. 1) 1.85 L で浸漬し、1 夜放置してから濾過し、浸出液 (B. No. 2) 3.1 L 及び (C. No. 1) 1 L を得た。全浸出液を水浴上で蒸発して稠厚なエキスとなし、之に乳糖 100 g を混和し更に蒸発乾固して、全量 190 g の乾燥エキスを得た。この中 95 g に乳糖 10 g を混和し 105 g となし 1 回 2.5 g (=原料 20 g) 宛服用する。

No. 23 乾燥莖冷浸終了残渣より熱浸エキス調製

No. 22 の冷浸終了残渣に熱湯 10 L を加え 30 分間煮沸後濾過し、残渣は更に水 10 L を加え同様処理し前後の濾液を合して水浴上に蒸発して乾燥エキス 65 g を得る。この中 33 g を取り乳糖 9 g を混和し 42 g となし 1 回 1 g (=原料 20 g) 宛服用する。

No. 24 赤地利ソバの生莖より熱浸乾燥エキス調製

検体番号 No. 9 の生莖 2.4 kg を約 1 cm の長さに細切したものを熱湯 (2 L; 2.5 L) で 1 時間宛 2 回煮沸浸出し、濾液を合して水浴上で蒸発して乾燥エキス 36 g を得。1 回 1.5 g (=原料 113 g) 宛服用する。

No. 25 乾燥葉を熱浸し Rutin 分離後乾燥エキス調製

検体番号 No. 6 の乾燥葉 1.4 kg を沸騰水 (14 L; 8.5 L; 8.8 L; 8.5 L) で 4 回毎回 30 分間煮沸浸出し、冷後折出した粗製 Rutin を濃集し、母液を水浴上で蒸発して乾燥エキス 285 g を得。之に乳糖 3 g を混和し 288 g となし、1 回 4 g (=原料 20 g) 宛服用する。

No. 26 乾燥脱落葉を熱浸し Rutin 分離後乾燥エキス調製

検体番号 No. 5 の脱落葉 1 kg を原料とし No. 25 と同様に処理して乾燥エキス 80 g を得。之に乳糖 19 g を混和し 99 g となし 1 回 1.5 g (=原料 15 g) 宛服用する。

No. 27 乾燥脱落葉の煎剤

検体番号 No. 8 の乾燥脱落葉を A. 煎剤と同様に処理して調製し煎汁 200 cc (=原料 20 g) 宛服用する。

第 5 章 ソバ属植物製剤の蛔虫駆除効力試験

第 4 章の(I)及び(II)の調製に依り試製した各種製剤につき蛔虫駆除効力の試験を当所細菌部長八田技官に依頼したところ同氏は群馬縣新田郡郷戸村小学校 (I)検体使用) 並川崎市西生田小学校 (II) 検体使用) の学童に対し、集團試験を行い、その結果を已に公衆衛生学雑誌 Vol. 5 No. 2 December 1948 (ソバの駆虫効果について) 及び日本

第 6 表 (I)各種製剤による蛔虫駆除成績表

供試駆虫剤	成 虫							卵 陰 性	完全駆虫率 %
	報告者数	排虫者	排虫率 %	排虫総数	一人平均排虫数	検査例数	陰性数		
ソバ煎剤	A	60	40	66.7	131	3.5	57	12	21.1
	B	83	55	66.3	116	2.1	83	24	28.9
	C	51	31	60.8	83	2.6	51	12	23.5
ソバエキス	a	10	6	60.0	7	1.1	9	2	22.2
	b	9	7	77.8	15	2.1	6	1	16.7
	c	9	5	55.6	10	2.0	9	3	33.3
	d	8	5	62.5	8	1.6	8	3	37.5
	e	6	4	66.7	4	1.0	6	2	33.3
	f	9	5	55.7	7	1.4	9	3	33.3
リスター錠 市販品○○○○ ヘキシルレゾルシン錠		1310	650	49.6	2160	3.3	988	206	20.9
		121	58	47.9	208	3.5	92	14	15.2
		80	61	76.3	144	2.3	96	41	53.9

第 7 表 (II)冷浸並熱浸製剤による蛔虫駆除成績表

検体	服用者数	服用量	排虫者数	排虫率 %	排虫総数	一人当り排虫匹数
No. 19	8	1 日 1 回 2 g 宛 6 日	8	100	102	12.8
No. 20	3	" 3 g "	2	66	17	8.5
No. 22	4	" 2.5 g "	4	100	58	14.5
No. 23	7	" 1 g "	6	86	55	9.2
No. 24	8	1 日 1 回 1.5 g 宛 3 日	8	100	43	5.4
No. 25	13	1 日 1 回 4 g 宛 6 日	11	85	135	12.3
No. 26	10	" 1.5 g "	8	80	17	2.1
No. 27	44	" (20 g) "	36	82	334	9.3

医科大学雑誌第 16 卷 4 号 (ソバの駆虫効果について (第 2 報)) に報告されたので、ソバ属植物製剤の蛔虫駆除薬としての批判は前記報文を参照願うことにし、ここには試験成績表 (第 6 表並第 7 表) のみを掲げることとする。

第 6 表並第 7 表の試験成績表を閲覧するとソバ属植物各種製剤とも従來の市販の蛔虫剤に遜色のない効果を発揮することが認められる。

以上記述した試験の結果を総括して結論とする。

結 論

1. ソバ属植物の蛔虫駆除力は接触毒ではなく吸収毒と思われる。
2. ソバ属植物の各部分とも蛔虫駆除効力に差を認めなかつた。
3. ソバ属植物を駆虫剤として使用する際は各部分に分離選別する煩雜な処理をしないで、ソバの種実を脱穀及び選別の際に得られる莖莖に脱落する未熟種実及び葉の部分を利用するのが得策である。
4. ソバ属植物は学童に対しては乾燥莖は 1 回 20 g, 脱落葉は 1 回 15 g を煎剤又はエキス剤として 3 日間又は 6 日間連用させるのが適当と認めた。
5. ソバ属植物は煎剤として使用してもエキス剤としても駆虫効力には大差ないが、農村などでは煎剤を用うるのが経済的であろう。但し煎剤は貯蔵に耐えないから貯蔵のためには乾燥エキスに賦形薬を加え錠剤とすると一層便利である。
6. ソバ属植物の蛔虫駆除成分は冷浸でも熱浸でも殆んど差を認めなかつた。
7. ソバ植物体は蛔虫駆除用として使用する目的には收穫後雨に晒らさぬ様に、又かびの生ぜぬ様一般の生薬管理と同様の管理が望ましい。

なおソバ属植物の有効成分の究明については、目下各種の製剤につき試験続行中であるから、次稿で発表する考である。

本研究は前所長松尾仁博士御指導の下に行つたものである。

本研究に際し効力試験を御担当せられた当所細菌部の各位並植物部各位の原料ソバ栽培の御協力に対し深厚な謝意を表する次第である。(昭和 25 年 1 月)

引 用 文 献

- 刈米達夫・木村雄四郎共著：和漢薬用植物。
 牧野富太郎・根本完爾共著：日本植物総覧。
 國訳本草綱目。
 木田正次編：日本植物名彙。

Research in the Preparation of Roundworm Vermicides from the Plants belonging to the Fam. Polygonaceae(I)

Preparation of Roundworm Vermicides

from the Plants belonging to the

Genus Fagopyrum (1)

(Shigeharu ICHIKAWA, Toshikatsu OBATA, Shigeshi SUZUKI and Hideo UDAGAWA)

We made an research on the preparation of roundworm vermicides using such raw materials as Fagopyrum vulgare HILL var. aestivum NEMOTO, var. autumnale and Fagopyrum cymosum MEISSNER. We produced decoctions, powdered extracts of decoctions, cold water extracts, and mother liquid which was obtained by removing the precipitated crude rutin, etc., from their leaves and stems, and tested their vermicial effect against roundworms.

As a result of these experiments, we came to the following conclusions :

1. Roundworm vermicial factors contained in above mentioned plants considered to belong to the absorption-poison, but not to the contact-poison.
2. Leaves and stems of these plants do not differ each other in their vermicial effect.
3. It had better to utilize leaves and stems obtained in case of thrashing seeds as a raw material of the vermicide.

4. It is proper for school children that the decoction or the powdered extract prepared from 15 gm of leaves or 20 gm of stems, as one dose, is given once a day for three to six days.

5. There is almost no difference in the vermicial effect of decoctions and powdered extracts made from them. In rural districts, it is economical to use decoction, but tablets made from powdered extracts are more suitable to be stored for long time, because the decoction cannot be preserved for a long time.

6. There is almost no difference in the vermicial effect between the cold water extracts and hot water extracts.

7. It is not desirable to expose these plants belong to the Genus *Fagopyrum* to the rutin because they become mouldy, in case of airing and storing them in order to use them as the raw materials for roundworm vermicide.

Rutin の製造に就いて (第1報)

ソバ属 (*Fagopyrum Gaerten*) 植物を原料とする Rutin の製造

市川重春 鈴木 繁
小幡利勝 宇田川秀雄

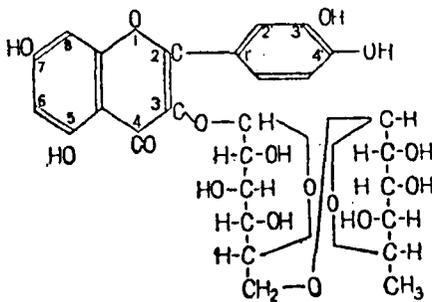
The Preparation of Rutin (1)

Preparation of Rutin from the Plants belonging to the Genus *Fagopyrum*

Shigeharu ICHIKAWA, Shigeshi SUZUKI, Toshikatsu OBATA and Hideo UDAGAWA

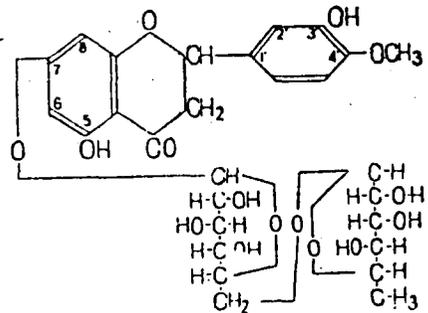
緒 言

1842年 WEISS¹⁾ は芸香 (*Ruta graveolens* L.) の全草から結晶性の一成分を抽出分離して Rutin と名づけた。其後此物質は多数の研究者に依り各種の植物から抽出分離され、今日迄の研究では約 50 種の植物中に含まれているらしく、研究者の異なるに従いその名称も区々で Rutinsäure, Melin, Phytomelin, Violaquercitrin, Sophorin, Myrticolonin, Osyritin, Eldrin, Globulariacitrin 及び Quercetinglucosorhamunosid 等の名で呼ばれている。その組成や構造についても幾多の化学者の手により研究され、BORNRACER²⁾ は $C_6H_6O_4$ を與え、ZWENGER 及び DRONKE³⁾ は $C_{27}H_{30}O_{16}$ を提案したが、1910年 PERKIN⁴⁾ は従来の分子式は何れも誤りで $C_{27}H_{30}O_{16}$ が正しい事を決定した。HLASIWETZ⁵⁾ は Rutin を稀硫酸と煮沸するときは Quercetin と Zucker に分解することを報告し、次いで SCIMIDT⁶⁾ は Rutin は加水分解により Quercetin と Glucose 及び Rhamnose の各一分子を與えることを確めた。更に 1935 年に至り ZEMPLEN 及び GERECS⁷⁾ は Rutin は Rutinose の結合した配糖体で非糖質がフラボノールの一種 Quercetin (5,7,3',4'-tetrahydroxyflavonol) である所謂 Quercetin-glucosid と確認し Rutinose の結合位置をも決定し茲に始めて図の様な構造式を與えた。



Rutin

3,5,7,3',4'-Pentaoxyflavon-3-rutinosid
(rhamnoglucosid)



Hesperidin

5,7,3'-Trioxo-4'-methoxyflavanonglucosid

然るに Rutin の用途に関しては何ら研究者の間に関心を呼び起さず、何も知られていなかったが、研究者の一人 COUCH⁸⁾ は Rutin の構造式が Hesperidin (Vitamin P の一因子)に酷似していることに気づき Rutin を GRIFFITH に送り臨床試験を依頼したので同氏は之を始めて人体に使用したところ毛細血管の脆弱性を回復することを認め臨床報告⁹⁾を発表し、又 SHANNO⁹⁾は更に之をくわしく追試して Rutin の効果を確め、Rutinこそ恐らく Vitamin P 因子であろうと示唆した。

茲に前世紀から知られており植物界に廣く分布している Rutin が Vitamin としての重要性をもちまた治療上にも大きな期待がかけられるようになり、各方面の臨床報告¹⁰⁾が発表された。それに依ると Rutin は毛細管の脆弱性を

回復し滲透性を減弱させる特殊な性能を発揮するので高血圧症に頻発する脳溢血、網膜出血等に血圧降下剤、出血防止剤として高血圧や脳溢血を心配する人々の間に大変な人気を呼んでいる外、血管性紫斑病、肺出血、糖尿病、消化管性出血症、緑内障、その他に応用され、United States Dispensatory 24th Edition p. 1574 に収録される様になった。又ビタミン P 因子としてビタミン C や Epinephrin の酸化防止剤として賞用され最近 NNR は Rutin-Vitamin C をも受諾収載することになった。最近サウス・カリホルニア大学のウィリアム・クラーク博士の研究結果 Rutin を原子爆弾にさらされた動物に與えると症状を回復することが出来るというので原爆症の治療にも一役買うものとして“原子病の妙薬ルチン”等と称してその効能が紹介されている。

吾々は昭和 21 年 3 月より蓼科植物の蛔虫駆除薬としての効力試験に着手したのであるが、蓼科植物中先づソバ属 (Fagopyrum Gaerten) 植物より駆虫効力試験検体調製中副生物として Rutin を収得したのでその試験成績に就て報告する。

第 1 章 ソバ属植物と Rutin に就いて

文献を徴するにソバ属植物は第 19 世紀以來屢々化学者の研究の目標となつていたらしい。1849 年 C. NACHTIGEL¹⁾ はソバの茎 (Buchweizenstroh) 中に黄色の色素を発見し之を木綿染物工場で使用することを提案している。又 1854 年 W. H. v. KURRER²⁾ はロシアでは 1852 年以來木綿糸を染めるのに Quercitronrinde の代用として安価なソバの茎を使用していると報告している。

1959 年 E. SDHUNCK³⁾ はソバ (Polygonum Fagopyrum) の葉の中から黄色の結晶性物質を分離し、この物質は WEISS⁴⁾ の Rutin 並に ROCHLEDER 及び HLASIWETZ⁴⁾ の Rutinsäure と同様の性質を有することを認めた。

1908 年 A. WUNDERLICH⁵⁾ はソバ (Fagopyrum esculentum) の完全に開花した花の乾燥品から黄色の結晶を分離し之を Fagopyrum-Rutin と名づけ芸香 (Gartenraute) の Rutin と同一であることを証明した。

1912 年に至り J. BRAND 及び G. SCHÄRTEL⁶⁾ は Fagopyrum-Rutin の研究という題目でソバのどの部分が Rutin を含むかを決定するために植物の各部分をアルコールで抽出して得た Rutin 含有量を新鮮な葉 1.78 %、新鮮な花 0.71 %、新鮮な茎 0.09 %、乾燥した全草 1.02 % として発表した。

フィラデルフィアの米國農務省の Eastern Regional Research Laboratory の DR. J. F. COUCH 及びその協力者⁷⁾ は安価な Rutin 原料の探求に着手し従來知られている Rutin 含有植物を分析の結果ソバが最も有望であることを認め、更に研究を進めソバの中の Rutin の含量と成育期について調べたり、採取後の処理条件を種々変化して試験した結果次の結論を下している。

“ソバは発芽後 25 日から 30 日で Rutin の含有率は最高に達する。更に 10 日から 14 日待つとソバは一層よく成長するので段当の最大収量はその時に得られる。

未熟なソバは刈り獲つたら 24 時間以内処理してしまわないと Rutin は速かになくなつてしまふ、乾草のように屋外で乾燥したりするとそれこそ本当に Rutin は破壊される。乾燥を適度に早めても相当量の有効成分は失われる。

そこで瞬間的乾燥法とも云うべき方法を提案した。これは一定の温度と流通空気の条件の下に葉と花を 45 分間で乾燥するのであつて、こうすれば Rutin の減失を最少限に止めることが出来る。この方法では茎は乾燥することなく葉や花と分け捨てようである。

ソバを収穫後 3~4 時間でアルコールに浸けると Rutin の減失が僅ですむ”

1948 年 R. K. ESKEW⁸⁾ はソバから Rutin を分離する方法に関する特許を得た。

上記諸氏のソバ植物からの Rutin 製造法を抄録して参考とする

第 2 章 従來のソバ属植物より Rutin の抽出製造法

[I] E. SCHUNCK 法：——ソバ (Polygonum Fagopyrum) の葉を水と共に煮沸し煎液を麻布で濾過し、濾液に少量の鉛糖溶液を加えクロロフィルその他の物質を注意して沈澱させ、溶液が透明になる迄煮沸してから濾過すると黄金色の液を得る。之を醋酸々性として淡黄色になつた液を放置して黄色の結晶 (Rutin) を析出させる。

[II] A. WUNDERLICH 法：——ソバ (Fagopyrum esculentum) の花を 10 倍容量の水で 3 回煮沸して抽出し、圧搾濾過した浸出濾液に卵白溶液を注加し透明になる迄煮沸してから濾過し濾液を放置して Rutin を結晶せしめ析出した結晶は Kolicren 又は吸引濾過して分離し、熱湯から数回再結晶して精製する。尙少量の不純物をも除去する

ためには熱ベンゾールで処理して精製を行う。

(III) J. BRAND 及び G. SCHÄRTEL 法：—Fagopyrum 植物を充分な量の 98 % アルコールで数日間室温で浸漬し、浸液を分離し残渣は更に新しいアルコールで再び数日間浸漬し抽出する。合併浸液からアルコールの大部分を溜去した濃縮液に 3 倍容量の水を加えるとコロイド状溶液となる。之に 15~20 % の食塩溶液を濃縮液の 1/6 容量注加した後エーテルを添加し振盪してクロロフィル、樹脂様物質等の不純物を転溶させてからエーテル層を分離する。茲に得たクロロフィルを含まない溶液を一日間放置して Rutin を析出させ吸引濾過して精製品を得る。尙之を 40~50 % アルコールで再結晶すると純品となる。

(IV) J. F. COUCH 法：—乾燥した原料は熱湯、65 % アルコール、変性アルコール、又は Isopropanol を溶剤として抽出する。

ソバを收穫と同時に生のまゝ原料とするときは全草をバットに入れたアルコールに浸漬し一晝夜放置して翌日アルコール溶液を分取し新にアルコールを加え更に一晝夜浸漬してから分取する。アルコール溶液は合してアルコールを溜去すると蒸溜器中に Rutin 及びその他の可溶性成分が生草から来た水に一部溶解した状態で残る。これを取り出して冷却すると粗製の Rutin が析出するから之を濾集する。更に此結晶を溶媒を用いて不純物を除去し純粹となる迄再結晶を行つて精製する。

(V) R. K. ESKEW 法：—本法はソバ（新鮮品又は乾燥品）をエチルアルコール又は稀酒精で常法に従い抽出し、抽出液はアルコールを駆除する迄蒸発してから Rutin の完全に結晶するに先立ち水を注加する（水は混合物を沸騰させるときに Rutin を全部溶解させるに足るだけの量を使用する）。此混合物を約 5 分間沸騰させると脂肪、樹脂質及びタール質は凝固する故此熱水溶液を濾過するとタール質等の混合物は大部分除去され、濾液を冷却すると Rutin は析出する。茲に析出した Rutin を吸引濾集し沸騰水から再結晶する処理法（水溶液を毎回 5 分間沸騰させて濾過する）を繰り返すと残留する脂肪や樹脂質は漸次に除去され精製 Rutin を得る。

もし又此精製品から不純物の痕跡をも除去する必要がある時は乾燥した Rutin の結晶を少量宛のベンゾール（ベンゾール結晶弱となる程度）で洗滌すればよい。

第 3 章 従來のソバ属植物より Rutin 抽出製造法の批判

(I) 法は不純物の除去の目的で鉛甕を使用しているが、Rutin の含有量の異なる時は鉛甕による不純物除去操作中に Rutin が結晶となり析出して来る恐れがあるばかりでなく沈澱する不純物と一緒に Rutin も亦吸着されるから之を回収せねばならぬ欠点がある。

(II) 法は卵白精製法を行うが之は工業的には不経済である。

(III) 法はアルコールで冷浸するから酵素による Rutin の分解を防止する*) のには役立つが、クロロフィル其の他の樹脂質を除去するため引火性の危険あり且回収率の悪いエーテルを使用せねばならぬ欠点がある。

アルコールで冷浸するから一見熱源を要しない様であるが後で抽出液からアルコールを蒸溜回収せねばならぬので相当の熱源を要する。

アルコール浸出終了後の原料残渣中に著量のアルコールが残留するのでアルコールの損失が大きい。

(IV) 法は有機溶媒を多量に使用するから、現在の日本の国情では成算がとれないばかりでなく (III) 法と同様の欠点がある。

(V) 法は簡単な操作で不純物除去の目的を達しているが、アルコールを溶媒とする故 (III) 法と同じ長所もあるが欠点もある。

第 4 章 ソバ属植物より Rutin 抽出製造私案

吾々は上述の従來のソバ属植物より Rutin を抽出する製造法に就いて一応追試を行い比較試験を行つた結果従來

*) 文献によるとアルコールは 50 % 程度で最もよく酵素を破壊する力があるが、之より % が上下するに従い酵素破壊力は減退する。而して 20 % 以下又は 90 % 以上では殆ど破壊力を認めない。依つて酵素による Rutin の分解を完全に防止しようと思えば新鮮な原料には濃厚アルコールを使用し、乾燥原料抽出には稀薄アルコールを使用するよりしてアルコール含量を 50 % 程度に調節する様に心がけるべきものと信ずる。

実際には 90~95 % アルコールを煮沸させながら生葉を少量宛添加（煮沸の中止しない程度に）して酵素の死滅を行つている。

の諸法は上記批判のように何れも一長一短があり、工業的製法として現下の國情ではそのまゝ之を採用出来ないのを認めた。よつて吾が國の現状でも何等支障なく実施出来るような方法を目標とし、先づ有機溶媒や特殊薬品の使用を極力避けて而かも簡単な操作で精製品を得ようと種々比較研究した結果次の様な非常に簡単で而かも速かに Rutin を製造する方法に到達した。

私案法 A (熱湯抽出法) :

ソバの乾燥葉 1.5 kg に沸騰水 7.5 L を注加し 30 分間煮沸後直ちに濾過し、圧搾し、残渣は同様に沸騰水 4.5 L 宛 2 回処理する。

各浸出液は 4 日間放置すると粗製 Rutin が析出し沈降する。上澄液をサイフォンで分取し、残液中の粗製 Rutin を布袋で自然濾過し、水洗後 70° 以下で乾燥する。

乾燥した粗製 Rutin を粉末として丸底コルペンに入れ、3 倍容量のメタノールを加え還流冷却器を附し加温煮沸し 30 分間煮沸後吸引濾過する。不溶分は再びコルペンに戻し、メタノール 1.5 倍容量を加えて同様処理して濾過する。前後の濾液を合せて氷室中に 1 週間放置して結晶を析出させる**)。

茲に析出したメタノール再結晶品を吸引濾集し、最初風乾して附着せるメタノール分を揮散させてから 70° 以下で乾燥し粉末とする。

乾燥粉末を熱蒸溜水 200 倍量中に攪拌しつゝ添加し 5 分間加熱沸騰させてから濾過し、濾液を放冷すると精製 Rutin が析出する。依つて之を吸引濾集し、洗液が殆ど無色となる迄水洗し 50° 以下で乾燥する。

メタノール再結晶を濾別したメタノール母液は濃縮して約 1/5 容量として氷室に放冷すると更に稍々不純なメタノール第二再結晶品を析出する。之を濾集し前と同様に熱蒸溜水再結晶法を繰り返へして精製品とする。

メタノール再結晶の最後の母液はもはや結晶が析出しなくなれば水で稀釈して放置し溶存せる Rutin を結晶析出せしめ回収する。

私案法 B (有機溶媒抽出法) :

ソバの乾燥葉 1.5 kg に 60~70% メタノールを上方より圧力を加えて原料の表面に溶剤の薄層を生ずる程度に加え (溶剤必要量 6 L) ——生葉を仕込む場合には 90~95% メタノールを生葉の量の 1.5~2 倍容量使用する——1 夜浸漬した後、濾過圧搾し、残渣は同様に 60~70% メタノール 4 L 宛 2 回処理する (毎回の浸液各 4 L を得る)。各浸液を合併して、水浴上で溶剤を蒸溜回収し得たる濃縮液に必要な量の水 (析出した Rutin を熱時溶解するに必要な量) を加え、一度煮沸して、不溶性の樹脂様物質を大きな塊に集合させた後、直ちに濾過して放冷する。1~2 日後析出した Rutin を濾集し、乾燥してから私案法 A に述べたようにメタノール処理を行い、メタノール再結晶品を蒸溜水より再結晶して精製する。

第 5 章 Rutin の製造試験に使用した原料に就いて

吾々が Rutin の製造試験に原料として使用したソバ属植物はナツソバ (*Fagopyrum vulgare* HILL var. *aestivum* NEMOTO), アキソバ (var. *autumnale* NEMOTO) 及びシヤクチソバ (*Fagopyrum cymosum*, MEISSNER) の 3 種であるがアキソバをナツソバの播種期に播種したものもある。

検体番号 No. 1~No. 4 は当所構内で吾々が栽培したもの、No. 5 は当所構内で松尾前所長の栽培品、No. 6 及び No. 7 は同じく杉田佐一郎氏の栽培品、No. 8~No. 9 は千葉縣葛飾郡朝日村に於て遠藤興作氏の栽培せるもの、No. 10 は玉川に於て大黒初太郎氏の栽培品、No. 11~No. 12 は当所構内で当所植物部山縣技官の栽培品である。

検体番号 No. 13 は小石川植物園の栽培品、No. 14~No. 22 は小石川植物園栽培品の株を前小石川植物園長松崎直枝氏より分與を受け当所構内に移植したものより翌年発芽したものである。

***) 茲に析出した結晶を蒸溜水より再結晶して得られる Rutin は極めて純粋なものであるが、粗製 Rutin の Rutin 含有量の少い場合には、メタノール浸出濾液を相当濃縮して放冷しても結晶を析出しない。このような場合には濃縮液に 2~3 倍容量の水を加えて稀釈して放置すると含量の多少により直ちに或は徐々に稍々不純な Rutin を析出するから、これを吸引濾集し、乾燥後粉碎して先づ 180 倍容量の蒸溜水から再結晶し、更に 200 倍容量の蒸溜水から再結晶を繰り返へすと或る程度の純品が得られる。又粗製 Rutin の品質が良い場合でも、メタノール浸出濾液から段階的に Rutin を析出させずに、直接濃縮し 2~3 倍容量の水を添加し、上記同様の操作を行うと品質の均一な精製 Rutin が得られる。

各種検体番号の播種、採集時期、採集後の処理方法、仕込日等を一覧表にすると第1表になる。

第1表 Rutin の製造試験の原料明細表

検体番号	原料	播年 月 日	採集 時期	採年 月 日	採集後の処理	乾燥 日数	仕込 年月日	産地	備考
No.1	乾燥葉	昭和 22. 8. 下旬	開花盛期	昭和 22.10. 3	刈取後即日莖葉分離陰乾	10	昭和 22.10.13	用賀	自栽
No.2	乾燥花	"	"	"	"	6	22.10. 9	"	"
No.3	乾燥莖	"	"	"	"	20	22.10.26	"	"
No.4	脱落葉	"	完熟時	22.11. 上旬	刈取後数日間陰乾後脱穀種実を篩別の際得たものを陰乾	10	23. 3.25	"	"
No.5	"	"	種実完熟時	22.10. 下旬	"	6	22.11.15	"	松尾
No.6	"	"	"	22.11. 上旬	刈取後数日間陽乾後脱穀種実を篩別の際得たものを陽乾	3	23.12.15	"	杉田
No.7	"	"	"	"	"	"	24. 3.15	"	"
No.8	生葉	23. 4. 下旬	開花期	23. 5.25	刈取後翌日莖葉分離乾燥せず即日仕込	—	23. 5.26	朝日村	遠藤
No.9	"	"	開花盛期	23. 6.25	"	—	"	"	"
No.10	脱落葉	23. 4. 上旬	完熟時	23. 6. 下旬	刈取即日脱穀種実を篩別の際得た脱落葉を集積し翌日陽乾	3	23. 7.15	玉川	大黒
No.11	乾燥葉	23. 5.19	開花盛期	23. 7.19	刈取後即日莖葉分離陽乾	1	23.10.19	用賀	山縣
No.12	"	"	"	23. 7.26	"	"	23.11. 1	"	"
No.13	"	"	開花前	22. 9. 中旬	採集後室内に拭布陰乾	7	22.10. 2	小石川 植物園	
No.14	"	"	開花盛期	23.10. 7	採集1時間後陽乾	3	23.10.11	用賀	
No.15	"	"	"	"	採集1時間後少時焙炒後陽乾	"	"	"	
No.16	"	"	"	"	採集1時間後 100° に加熱乾燥	1時間	"	"	
No.17	生葉	"	"	"	採集1時間後仕込	—	23.10. 7	"	
No.18	"	"	"	23.10.13	"	—	23.10.13	"	
No.19	"	"	"	"	"	—	"	"	
No.20	生花	"	"	"	"	—	"	"	
No.21	"	"	"	"	"	—	"	"	
No.22	生葉	"	開花末期	23.10.26	"	—	23.10.26	"	

第6章 私案法 A 並に B に依る Rutin の製造試験

上記の諸原料を使用して私案法 A 並 B に記述した方法で Rutin の抽出製造試験を行つたところ第2表の成績を得た。

第 2 表 私案法に依る Rutin 製造試験成績表

検 体 番 号	原 料	仕 込 量 (kg)	抽 出 剤		粗製ルチン		精製ルチン	
			種 類	使用量 (L)	收得量 (g)	收得率 (%)	收得量 (g)	收得率 (%)
No. 1	乾燥葉	0.42	沸騰水	10.0	12.9	3.1	5.2	1.3
No. 2	乾燥花	0.40	"	9.0	13.7	3.4	4.0	1.0
No. 3	乾燥莖	0.45	"	10.5	2.7	0.6	0.2	0.04
No. 4	脱落葉	0.28	"	7.0	2.0	0.7	0.8	0.3
No. 5	"	0.25	"	7.0	3.0	1.2	1.2	0.5
No. 6	"	1.00	"	16.0	0	0	0	0
No. 7	"	0.45	冷メタノール	4.8	3.8	0.8	1.4	0.3
No. 8	生葉	1.34	沸騰水	5.5	10.1	0.75	4.1	0.31
No. 9	"	2.85	"	7.5	29.4	1.03	9.2	0.36
No. 10	脱落葉	4.80	"	112.0	30.0	0.6	12.2	0.25
No. 11	乾燥葉	2.32	"	42.0	128.5	5.5	49.0	2.1
No. 12	"	2.10	"	55.7	174.0	8.3	71.4	3.4
No. 13	"	0.6	"	18	21.8	3.63	6.0	1.00
No. 14	"	1.7 (=生10kg)	冷メタノール	22	6.2	0.365 (0.062)	3.0	0.18 (0.03)
No. 15	"	"	"	"	15.1	0.89 (0.151)	8.5	0.50 (0.085)
No. 16	"	"	"	"	14.2	0.84 (0.142)	8.3	0.49 (0.083)
No. 17	生葉	10.0	"	36	22.0	0.220	12.0	0.120
No. 18	"	"	冷エタノール	"	45.0	0.450	21.6	0.216
No. 19	"	"	沸騰水	"	39.9	0.399	16.8	0.168
No. 20	生花	"	冷メタノール	"	126.3	1.263	86.0	0.860
No. 21	"	"	沸騰水	"	116.9	1.169	70.1	0.701
No. 22	生葉	1.6	"	4.8	11.7	0.731	3.0	0.188

註: No. 14~16 は生葉 10 kg を乾燥して乾燥葉 1.7 kg を得た。括弧内数字は生葉 10 kg に對する百分率。

第 7 章 私案法により製造した精製 Rutin の性状

上記私案法によつて得られる精製 Rutin は無味無臭、鮮淡黄色の微細な針狀結晶で結晶水 3 分子を含み、1 分子は 100° 以下で加熱しても又デシケーター中に放置しても失われ易く、真空乾燥又は 110~120° の加熱乾燥により結晶水全部を失つて無水物となる。これを空气中に放置すれば徐々に結晶水を取つて復元する。

無水物は 188~196° で透明な油流狀となり、214~215° で分解する。冷水に 0.013 %、沸騰水に 0.5 %、熱メタノール及び熱エタノールに 20 % 溶解する。アミルアルコール、醋酸、グリセリン、ピリジンに可溶、エーテルに僅に溶解し、アセトン、クロロホルム、ベンゾールには不溶である。又アルカリ性の水に溶解し易いが不安定となつて徐々に分解され、數日間放置後溶液を酸性にしても最早 Rutin を析出しない。

尙上記の精製品は稀酸と共に煮沸すれば Quercetin, Glucose, Rhamnose 各 1 分子宛を生じ、又成書に記載の次の反応に合致した。

- 1) 本品の稀アルコール溶液 (1:1000) 5 cc は苛性ソーダ溶液 1 滴により強黄色を呈する。
 - 2) 本品の稀アルコール溶液 (1:1000) 5 cc は塩化第二鉄溶液 1 滴により濃緑色を呈し、之を加熱すれば褐色に変わる。
 - 3) 本品の稀アルコール溶液 (1:1000) 5 cc に塩酸 0.5 cc 及び水銀小粒を加えた後、金属マグネシウム末 0.1 g を添加して振盪すれば桃赤色を呈する。
 - 4) 本品の稀アルコール溶液 (1:1000) 5 cc にアンモニア性硝酸銀溶液 2~3 滴を加えれば、徐々に金属銀を析出して暗色となる。
 - 5) 本品の稀アルコール溶液 (1:1000) 5 cc に次醋酸鉛溶液 2~3 滴を加えれば強黄色を呈し、徐々に橙黄色膠状の沈澱を生ずる。
- 以上製造試験の成績を総括して結論とする。

結 論

- 1) 吾々の私案法に依れば特殊な薬品や特別の処理をしなくともソバ植物から精製 Rutin が得られる。
- 2) Rutin の收得量は使用した原料により著しく左右される。
- 3) Rutin 製造原料としてはソバ属植物の各部分 (花、葉及莖) と同様役立つが、莖の部分は含量が少ないから不経済である。葉の部分は駆虫剤の原料として利用した方が得策である。
- 4) Rutin 製造の原料としてはソバ属植物を開花最盛期に採集して葉の部分を分離し花と葉の部分を直ちに仕込むのが最も理想的である。
- 5) ソバ属植物を乾燥してから仕込む場合は COUCH 氏の言うように 45 分間以内に乾燥とまでは行かなくともなるべく早く乾燥させる様に注意し決して堆積して発熱させぬ様に薄層に拡布して乾燥することが必要である。
- 6) 花や葉の乾燥は 100° 1 時間又は焙炒乾燥でも差支えない。
- 7) ソバ植物を完熟時に採集する時は採取後直ちに種実を脱殻して得る所謂脱落葉も乾燥その他管理さえ良ければ Rutin 含量は少いが Rutin が收得出来る。但し收穫後永らく放置して種実を脱殻して得られる脱落葉にはもはや Rutin は含まない。
- 8) Rutin の抽出剤としては熱湯、有機溶媒の何れでも良いが何れも一長一短がある。即ち花を原料とするときは有機溶媒が適当であるが、乾燥葉を原料とするときは濃厚な溶媒を使用するとクロロフィル、樹脂等の不純物が溶解して来る故後の精製処理が厄介となるから 65~70 % 濃度を使用するのが望ましい。

本研究に際し終始懇篤なる御指導をいただいた前所長松尾仁博士に深厚なる謝意を表す。又試料を恵與せられた前小石川植物園長松崎直枝先生並びに試料栽培に御協力をいただいた当所植物園の各位に深謝する。

又御々御御言御禮をいただいた木村雄四郎博士並岡部正義技官に深謝する。(昭和 25 年 1 月)

引 用 文 献

- 1) A. WEISS : Pharm. Centralbl., 1842. Nr. 57. 903.
 - 2) A. BORNTRÄGER : Ann. 53. 385~389.
 - 3) C. ZWENGER und F. DRONKE : Ann. 123. 145.
 - 4) G. PERKIN : J. Chem. Soc. London, 97. 1766~77.
 - 5) HLASIWETZ : Ann. 1855. 96. 123.
 - 6) E. SCHMIDT : Arch. Pharm. 242. 210.
 - 7) G. ZEMPLÉN and A. GERECS : Ber. 1935. 68 [B], 1318—1321.
 - 8) GRIFFITH, COUCH and LINDAUER : Effect of rutin on increased capillary fragility in man. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 55., 228, 1944.
 - 9) SHANNO : Rutin, a new drug for the treatment of increased capillary fragility. Am. J. Med. Sci. 211 : 539, 1946.
 - 10) COPE and GROTES : The use of rutin in hereditary hemorrhagic teleangiectasia, Case report. J. Invest. Dermatol. 10. 39, 1948.
- RECKERS and FIELD : Control of hemorrhagic syndrome, and reduction in X-irradiation mortality with a

flavanone. Science. 107. 16, 1948.

SYMPOSIUM : Rutin in capillary fragility. Brit. Med. J. 31, 771, May. 1948.

- 11) C. NACHTIGAL : Jahresbericht 1849. 713 ; Verh. Gew. Bef. Pr. 1849, 123 ; Dingl. pol. J. 115, 157.
- 12) W. H. v. KURRER : Chem. Zentralbl. 25, 1854, 448.
- 13) E. SCHUNCK : Chem. Zentralbl. 1859. 911 ; Chemic Gaz. 1859. 303~305.
- 14) ROCHLEDER and HLASIWETZ : Ann. 1852, 82. 197.
- 15) A. WUNDERLICH : Chem. Zentralbl. 1908, 252 ; Arch. Pharm. 246 (1908), 241.
- 16) J. BRAND und G. SCHÄRTEL : Chem. Zentralbl. 1912. II, 1653 ; Arch. Pharm., 250, 414~17.
- 17) COUCH, NAGHSKI and KREWSON : Sci. 1946. 103, 197 ; also JOHNSON. Am. J. Pharm., 1946, 118, 164
- 18) K. ESKEW : Drug Trade News Vol. 23. No. 20. p. 52. Oct. 4. 1948.

The Preparation of Rutin(1)

Preparation of Rutin from the Plants belonging to the Genus Fagopyrum

(Shigeharu ICHIKAWA, Shigeshi SUZUKI, Toshikatsu OBATA and Hideo UDAGAWA)

Experimental tests were performed on the preparation of *Fagopyrum vulgare* HILL var. *aestivum* NEMOTO, var. *autumnale* and *Fagopyrum cymosum*, MEISSNER. We performed the comparative tests on many preparation methods of extracting rutin from the plants belonging to the Genus *Fagopyrum*, which has been already described in the literatures, and as the result, we decided to take up the following two methods.

Method I. The dried leaves are put into the boiling water for extraction, then, the crude rutin, which has been precipitated by leaving the extracted liquid for 1—2 days, is collected by filtration and put into the boiling methyl alcohol for extraction. This alcohol extract is then concentrated and added with water to precipitate rutin, or let it stand in an ice-box for several days to separate rutin. The mother liquid, from which the rutin is removed, is repeatedly concentrated to collect the crystal of rutin. The collected rutin is then purified by repeated crystallization from the boiling water.

Method II. The dried leaves are macerated in the 60—70 % cold methanol to obtain the extract, which is then concentrated and the water is added to the residuals, then dissolve rutin after boiling and the tarry matters are removed from the hot solution by filtration. Then, after it is cooled, the crude rutin is separated. This is, then, purified by recrystallization process such as described in Method I above (boiling methyl alcohol and boiling water method)

As the results of many experimental tests, which were carried out in order to find out the points of attention to be paid on extracting the rutin from the plants by above two methods, the following conclusions were obtained.

1. The rutin can be prepared without using any special purifying materials or process, if above methods are used.
2. The amount of rutin to be obtained is very changeable by the quality of raw materials.
3. Every part of buckwheat plant (flowers, leaves and stems) can be used for the raw material of rutin. But stems are more suitable for a raw material of vermicide than for that of rutin, because they contain only a little of rutin.
4. As the raw material for rutin, the plants had better be reaped in the season of their full blossom and the extracting had better be done as soon as the leaves and flowers were separated from the stems.
5. The process for drying the leaves and flowers must be carried out as rapidly as possible and they must be scattered in thin layers before drying in order to prevent fermentation which might occur in case of thick layers.

6. It is permitted to dry leaves and flowers at 100° for 1 hour or to air-dry them after parching for a short time.

7. When the seeds of the plants belong to buckwheat species are thrashed soon after reaping, the rutin can be obtained from their leaves, though they contain a little amount of rutin. But those leaves, which obtained many days after cropping, do not contain rutin any more.

8. As the extracting solvents, either boiling water or alcohol will do, but each one has its merit and demerit. That is to say, the strong alcohol is suitable for fresh and dried flowers, but it is no good for dried leaves, because it dissolves out some impure matters such as chlorophyll, fat and resin and 65—70 % alcohol will be necessary.

耳下腺中の血糖降下性物質について

長 沢 佳 熊 苗 村 徳 次 郎
坂 部 フ ミ 寺 岡 葉 子

The Blood Sugar Lowering Substance in the Parotid Gland

Kakuma NAGASAWA, Tokujiro NAEMURA,

Fumi SAKABE and Yoko TERAOKA

膵臓性糖尿病においては唾液腺(耳下腺, 顎下腺及び舌下腺)ホルモンが欠乏している方がよいとの考え方(緒方知三郎その他¹⁾)とその反対に耳下腺は膵臓ホルモンのインシュリンのようなホルモン分泌し(Takacs²⁾, Goljanitzki³⁾)糖尿病の初期には耳下腺が腫れる患者があり, 耳下腺が膵臓の代償作用を行うとの説(高岡⁴⁾, その他¹³⁾)もある。耳下腺の抽出物についても, 従来の研究には血糖降下性物質を含むという実験(Takacs²⁾, Goljanitzki³⁾, 前原⁵⁾)と含まない(緒方, 伊藤⁶⁾, 但し Parotin についての実験)という実験とがある。著者はこの点を確かめようと以下の実験を行った。

血糖降下作用の判定と試験法 インシュリン定量法の主旨に基づき, 24 時間絶食した体重なるべく 1.7~2.3 kg の家兎の耳静脈から採血後直ちに検体を皮下注射し(特に静脈注射を行った2例がある), 注射後 1.5 時間, 3 時間, 5 時間更に必要に応じて適当な時刻に採血し, それらの血糖量を Hagedorn-Jensen 法により測定した(文献⁷⁾参照)

血糖降下作用の有無の判定には, 注射前血糖量を 100 とし, 注射後の血糖量をその % であらわすとき, 最低血糖が 95 % 以上のとき無効, 86~94 % のとき効果不明, 76~85 % のときやや有効とし, 75 % 以下のとき有効であるとした。これは著者の多年のインシュリン研究の際の抽出部分について血糖降下作用の有無を判定した経験から, 以上の判定方法によれば, 無効物質を有効であると誤認する心配はないと思う。クレアチニン, クレアチン, グアニジン, 尿酸(10 mg/体重 2 kg の皮下注射)などはこの判定によると無効~不明の範囲に属する。⁸⁾ 検体量の表示方法としては抽出に使った原料酸器の相当量 g に換算した数を家兎体重 2 kg に対する注射量 cc の次に () で示した。

耳下腺中のインシュリンの定量 Best, Jephcott, Scott⁹⁾法による(実験1参照)。その成績によると, 家兎に耳下腺 9.95 g/体重 2 kg の皮下注射は血糖降下作用なく(第1表 検体 I), 29 g 注射で始めて微弱な作用を認める。これは膵臓の場合の約 1/50 以下の血糖降下性物質を含むに過ぎない。その作用は緩慢でやや持続的で, インシュリンの場合とは異なる(但しインシュリンにある物質が結合し, 又はある物質が夾雑すると, これと似た作用を呈するからこれだけではインシュリンとの相違を断言することはできない)。人血液 1 cc 中にインシュリン 0.002 単位を含むとの報告(Gellhorn, Feldman, Allen¹⁰⁾)から考えて耳下腺中の血液から導かれたインシュリンに夾雑物が加わつたものとしては少し作用が大き過ぎる。

耳下腺中の血糖降下性物質の探究 Takacs²⁾ の報告を参照し, これに少しく考案を加え実験 2~4 を行った。実験 2 によると, 大体 IV D 部分に有効成分が移ると思われるので, 実験 3 では特にこの部分を抽出し, この際の D 部分(VD)の動物試験(第3表)により, 明かにこの部分(原料耳下腺 15~30 g でやや有効, 40 g で有効)が有効である。

Takacs²⁾ (1933 年) は 24 時間絶食した家兎に耳下腺抽出物 0.5~5 g 原料相当量を体重 1 kg につき皮下又は静脈内に注射し, 8~24 時間に及ぶ著しい血糖降下を認め, Goljanitzki (1920 年) も耳下腺抽出物が著明な血糖降下作用を有することを認めたが製法が明かでない。前原⁵⁾ は耳下腺の酸性抽出液(耳下腺 0.4 g 相当量)で平均 15.3 %, 顎下腺では 14.5 % の血糖降下を見た(注射後 1 時間以内)。著者の実験では注射後 5~7 時間後に, 原料腺 37 g 相当量以上で始めて最低血糖降下量 16~26 % を示し, Takacs の場合より多量の原料を必要としている。Parotin (緒方, 伊藤⁶⁾) は原料腺に換算すると大そう少量となり, 製法の差もあり, 比較の対照にはならないと思う。

実験 4 では精製法を考究した, VD 部分に活性炭を加えると, 有効成分の大部分は吸着されるらしい……(VG 部

分が効力不明か、やや有効な点から推論する……第4表) 吸着した活性炭からメタノール又は水との煮沸によつて有効成分を溶離させることができる。……(この方法は著者及び坂井¹¹⁾が血圧下降性物質の研究について考案した方法で、各種のアミノ酸の分離も行った。戦時中独自の Shaaf, Reinhard¹²⁾ は活性炭によるアミノ酸の吸着分離を行っている)。こゝで検体不足のため一応研究を打切つたが、以上の実験を通じて、各部分に効力が分散し、一見無効部分と有効部分との分離に不明瞭な点があるのは、検体の洗滌とか選別とかの不完全に基因する場合も多く、これは初回の実験で一応の分離操作を行い、以後有効成分が明かとなつたとき完全に分離する方針を採つたからである。又少数の動物で実験を終えた例もあるが、この際の結果の判定には細心の注意を拂つた。

以上の実験によると、有効成分はエタノールで抽出され、エタノール、メタノール、水に溶け易く、活性炭に吸着され、これからメタノール又は水を用いて溶離することができる。加熱に対してはかなり安定である。その血糖降下作用はインシュリンより緩慢、持続的で、弱い。

前原⁹⁾は血糖降下性物質は耳下腺以外の各種臓器中に含まれ、特に肝臓が最も著しく、生肝臓 0.2 g 相当の抽出物の注射で最低血糖降下 38 % に達し、犬盲腸、耳下腺抽出物もこれに次ぐと報告しているので、肝臓と、効力が弱いと思ふ腎臓から、耳下腺 VD 部分の製法に従つて製した抽出物につき実験した(実験5参照)。実験第5表に示す如く、肝又は腎の VD 部分に相当する抽出物は原料 40 g/体重 2 kg 相当量の注射で比較した結果は、耳下腺の VD 部分より血糖降下作用は明かに弱く、殊に腎臓については殆ど効力はない。対照として dl-メチオニン 0.2 g/体重 2 kg を、5 % 液として注射した結果は無効であつた。

以上の実験により、耳下腺は肝臓や腎臓より多量の血糖降下性物質を含むが、脾臓と比べると極めて微量である。この物質は熱に安定な点からインシュリンとは異なると考えたい。

実験の部

実験 1. 耳下腺中のインシュリンの定量

検液の製法 新鮮な牛耳下腺をすり潰し、その 199 g にエタノール 75 分、水 25 分、濃塩酸 1.5 分の抽出液 500 cc を加え、2 日間放置した後 36° で 2 時間ときどきふりまぜながら抽出し、二重ガーゼで濾過し、濾液をアンモニアで微アルカリ性とし混濁した液を濾過し、澄明な濾液を 10 % 塩酸で pH=2 とし、この溶液を浴温 35° 以下、蒸溜温度 19~20° で減圧蒸溜しエタノールを溜去した後(蒸溜時間約 2.5 時間)、残液 130 cc に水を加えて 750 cc とし、これに塩化ナトリウム 187 g を加え氷室中に 2 日間放置した後、底に浮遊している沈澱を吸引濾過し、混濁している濾液を更に硬化濾紙で濾過し、沈澱を合せ N/100 塩酸 1 L 中に塩化ナトリウム 5 g を含む液 10 cc に溶かし、濾過し、やや混濁している濾液を検体 I とする、

第 1 回の酸性エタノール抽出の残りは更に同様に酸性エタノールで抽出し以下同様の操作によつて検体 II を得た。検体 I 2.5 cc に検体 II 2.5 cc を加えて 5 cc とし、これを検体 III とした。検体 III は 2 回抽出分を含み、その 1 cc は耳下腺 9.95 g に相当する。

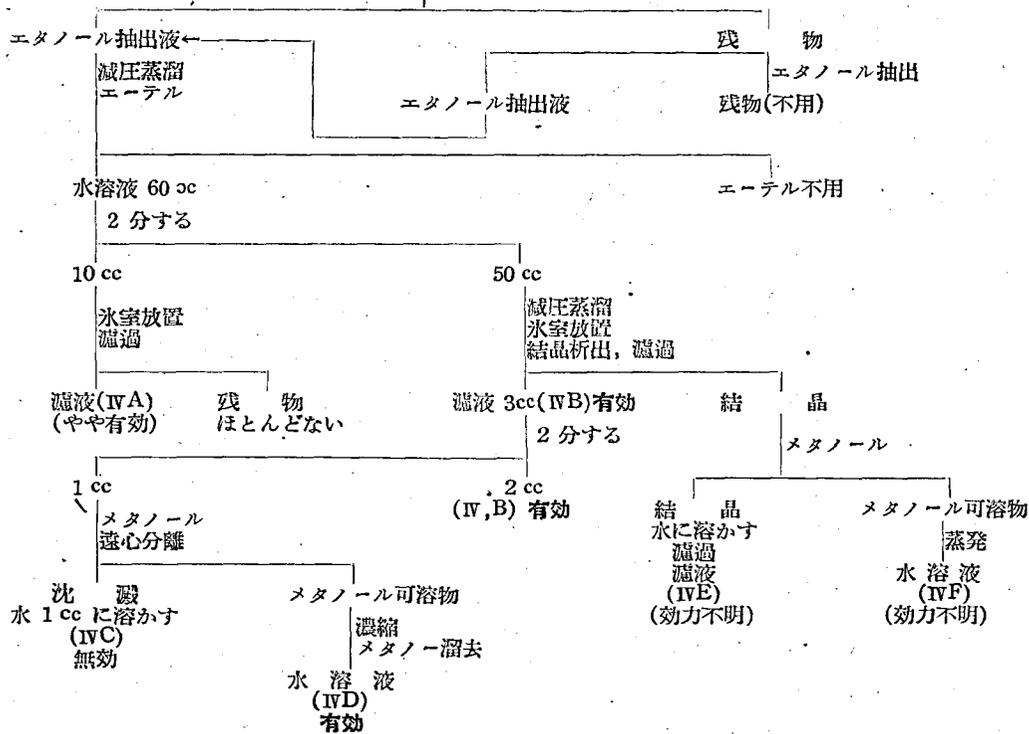
検体及び II の血糖降下作用の検定成績を第 1 表に示す。耳下腺 9.95 g 相当量以下で無効、29 g 相当量の検体 III の注射でやや血糖の下降があると思われる程度である。

第 1 表

家兎 体重 kg	検体 名	稀釈 倍數	皮下注射量 cc		血 糖 ** mg % 数							効力 判定	
			体重 2 kg につき *	實際 の量	注射前	注 射 後				24 時間			
						1.5 時間	3 時 間	5 時間	7 時間		8 時間		
2.7	I	X1	0.5 (9.95)*	0.66	101.5(100)	102(100)	101.5(100)	102(100)					無効
2.4	I	X10	1.0 (1.99)	1.2	106 (100)	94(89)	97 (92)	105 (99)					無効
2.2	I	X10	1.0 (1.99)	1.1	102 (100)	104(102)	102 (100)	102(101)					無効
2.25	I	X20	1.0 (0.995)	1.1	94 (100)	93(99)	92.5 (98)	96(102)					無効
2.35	II	X1	2.97 (29)	3.5	100 (100)	100(100)	88 (88)	90 (90)	101.5 (102)	100(100)	98 (98)		不明

備考 *()内の数字は相当する原料(耳下腺)量 g 数を示す。
 **()内の数字は注射前血糖量を 100 としたときの % 数を示す。

第 1 図 実験 2 の抽出法の説明図
牛耳下腺 235 g エタノール抽出



実験 2. 耳下腺中の血糖降下性物質の探究

検液の製法 新鮮な牛耳下腺 (2頭分4個)を、附いている脂肪をできるだけ分離した後すり潰した得た 235 g に 90% エタノール 1175 cc を加え氷室に一夜放置し、よくふりまぜて抽出し、二重ガーゼで濾過し、濾液を更にひだ付濾紙で濾過して得た黄色澄明な濾液を減圧蒸溜 (浴温約 32°, 蒸溜温度約 19~20°) する。抽出残留物は更にエタノール 1175 cc を加え第 2 回の抽出を第 1 回と同様に行い減圧蒸溜する。第 1 回、第 2 回の抽出液からエタノールを完全に溜去した残液は 75 cc で、卵黄色の脂肪が析出したのでエーテル 180 cc と静かに搖動して脱脂しエーテルを除いた溶液 60 cc を 2 分し、その 10 cc (IV1) を加温してエーテル臭を除き、水を加えて再び 10 cc とした後氷室に 1 日半放置し、混濁した液をひだ付濾紙で濾過し、濾液を検液 IV A とし、残りの 50 cc (IV2) は 25° 以下で減圧蒸溜し、白濁した残液を氷室中に放置すると、無色透明の細小結晶がかなり析出したので濾過する。淡褐色澄明な粘稠濾液 3 cc (検液 IV B) を得る (1 cc=原料 65.3 g に相当)。

濾取した結晶はメタノールで集め、遠心分離し、得た結晶は更に数回メタノールで洗い、最後にエーテルで 2 回洗って後減圧乾燥する。結晶の收得量 140 mg. この半量 70 mg に蒸溜水 2 cc を加え、可溶物を検体 (IV E) とする。(1 cc=原料 49 g に相当)。不溶部分は白色粉末で通常の臓器の処理の場合には一般に難溶性のアミノ酸 (クレアチン、ロイチン等) の部分であるが、この場合も昇華性と融点から Leucin の多量が存在すると考えた。

メタノール可溶部分として前記の遠心分離の上澄液及びメタノール洗液を合せ、メタノールを溜去した残留物を水 4 cc に溶かし検液 IV F とする (1 cc=原料 49 g に相当)。

動物試験の結果を第 2 表に示す。IV B, IV E, IV F 中で IV B が最も作用が明瞭なので、動物実験に使ったその残りの 1 cc にメタノール 10 cc を加えるとゲル状の沈澱を生じたので遠心分離する。沈澱はメタノールで数回、エーテルで 2 回洗滌し減圧乾燥し、得た褐色物質を蒸溜水 1 cc を加えて溶かす。液は不溶物を含み混濁していたがそのまま動物試験に用いた (IV C, 1 cc=原料 65.3 g に相当)。

上澄液と洗液とを合せた水性メタノール可溶性物質は常温でメタノールを蒸発し 0.85 cc とし検液 IV D とする

(その 1 cc は原料腺 76.8 g に相当する), IV D 部分が明かに有効である (第 2 表)。

実験 3. 耳下腺中の血糖降下性物質の探究 (その 2)

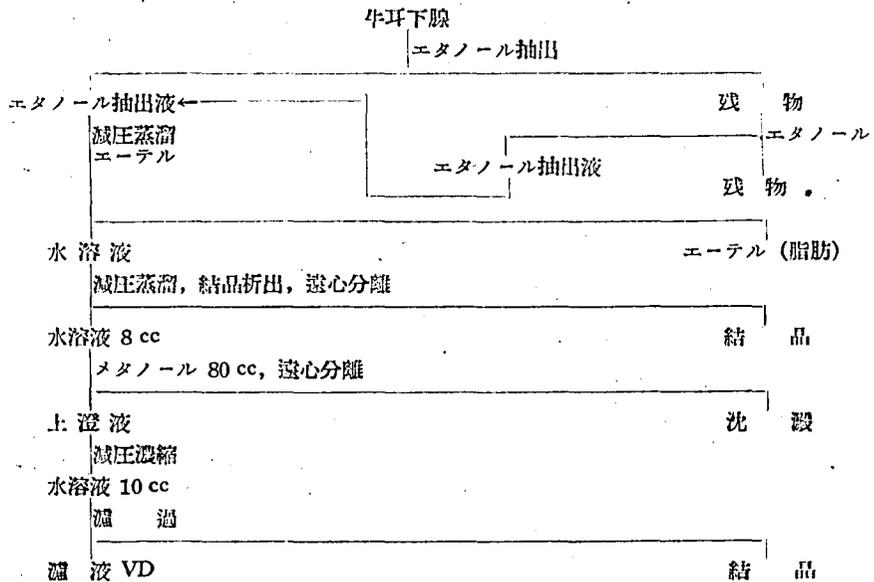
実験 2 によつて IV D 部分に有効物質が移行することが分つたので, 直接にこの部分を製し, 更に精製を試みることにした. 牛耳下腺 3 頭分 6 個からすり潰した原料 310 g を得, これを 90% エタノール 1500 cc で抽出し, 更に残物をエタノール 1500 cc ずつで 2 回抽出し, 浴温 35° 以下, 蒸溜温度 19~20° で減圧蒸溜し, エタノールを溜去し

第 2 表

家兎 体重 kg	検体名	皮下注射量 cc		血 糖 ** mg % 数							効力 判定
		体重 2 kg に つき*	実際の量	注射前	注 射 後						
					1.5時間	3時間	5時間	7時間	8時間	24時間	
2.0	IVA	7.15 (28 g)	7.15	92(100)	79 (86)	73 (79)	84 (91)	88 (96)	90 (99)		やや 有効
2.0	IVB	0.61 (約 40 g)	0.61	93(100)	93(100)	92 (99)	86 (80)	88 (95)	95(102)	93(100)	やや 有効
2.3	IVC	0.755 (50 g)	0.87	108(100)	102 (95)	102 (95)	101 (94)	105 (97)			無効
2.2	IVE	1.82(約 90 g)	2.0	99(100)	93 (94)	86 (87)	92.5(94)	95 (96)			不明
2.4	IVF	1.75(約 85 g)	2.1	95(100)	90 (95)	86 (90)	85 (89)	93 (98)			不明
2.2	IVD	0.77(約 60 g)	0.85	120(100)	121(101)	122(102)	109 (91)	94 (78)	*** 102 (85)		やや 有効

備考 * ()内の数字は相当する原料耳下腺量 g 数を示す.
 ** ()内の数字は注射前血糖量を 100 としたときの % 数を示す.
 *** 注射後 9 時間.

第 3 図 実験 3 の抽出法の説明図



た後, 水溶液をエーテルとふりませ脱脂し更に減圧濃縮し析出した結晶を濾去し, 濾液 8 cc を得, これにメタノール 80 cc を加えて遠心分離し沈澱を除き, 上澄液を減圧濃縮し 10 cc となし, 析出する結晶を濾去し澄明な濾液を検体 VD とする (1 cc=原料 31 g に相当) VD 部分はエキス分 31.66%, 黄褐色やや粘稠の澄明な溶液である. 動物実験の成績は第 3 表に示す如く, 原料 40 g (家兎体重 2 kg につき) 相当量では明かに血糖低下作用を認める.

実験 4. 耳下腺中の血糖降下性物質の精製

実験 3 によつて得た有効部分 VD 5.1 cc に良質の活性炭末 0.8 g を加え, 1.5 日間氷室中に入れ, 時々ふりませで脱色した後濾過し, 微に黄色を帯びた澄明な濾液 2.7 cc を得た. これを VG 部分とする (1 cc=原料 31 g に相

第 3 表

家兎 体重 kg	検体 名	注射法	注射量 cc		注射前	血 糖** mg % 数						効力 判定
			体重 2kg につき*	實際 の量		注 射 後						
						1.5時間	3 時間	5 時間	7 時間	9 間時	24時間	
2.1	VD	皮下	1.29 (40g)	1.35	103(100)	84 (82)	100 (97)	95 (92)	76 (74)	91 (88)	96 (93)	有効
2.2	VD	皮下	0.96 (30g)	1.06	126(100)	113 (90)	110 (87)	108 (86)	111 (88)	105 (83)	112 (88)	やや有効
1.8	VD	静脈	0.65 (20g)	0.59	89(100)	89(100)	83 (93)	79 (89)	89(100)	74.5(84)	84 (94)	やや有効
2.1	VD	静脈	0.48 (15g)	0.50	92(100)	82 (89)	79 (86)	74 (81)	82 (89)	85 (93)	98(107)	やや有効

備考 * ()内の数字は相当する原料(耳下腺)量g数を示す。
** ()内の数字は注射前血糖量を 100 としたときの % 数を示す。

当)脱色に使用した活性炭にメタノール 15 cc を加え還流冷却器を附し数時間加熱し活性炭を濾別し、活性炭に更にメタノール 15 cc を加え同様に操作し、メタノール液を合し、メタノールを溜去すると結晶状の残留物少量を得、これを蒸留水 2.6 cc に溶かすと淡褐色溶液となる (VHM 部分)。残った活性炭は更に水 20 cc ずつで3回数時間加熱沸騰させ、水に溶離する部分を合せて得た水溶液から水を蒸散させ淡褐色のエキス少量を得、これを蒸留水 2.1 cc に溶かすと淡褐色溶液となる (VHW 部分)。

VG, VHM, VHW 部分を動物試験した成績は第 4 表に示す。有効部分は活性炭に吸着しない VG 部分にも少し認められるが、主にメタノールで溶離した VHM 部分に移行し、VDW 部分にも少量移行している。従つて有効成分は活性炭に吸着されるものと考えられてよからう。検体の不足によつて精製を続けることは一応これで中止した。

第 4 表

家兎体重 kg	検体名	皮下注射量 cc		注射前	血 糖** mg % 数					効力 判定
		体重 2kg につき*	實際 の量		注 射 後					
					1.5時間	3 時間	5 時間	7 時間	9 時間	
1.7	VG	0.96(30g)	0.82	110.5(100)	103 (93)	93 (84)	107 (97)	97 (88)	106 (96)	やや有効
2.45	VG	0.96(30g)	1.18	106(100)	110.5 (104)	95 (90)	92 (87)	110.5 (104)	110.5 (104)	不明
2.15	VHM	2.42	2.6	119(100)	97 (82)	99 (83)	95 (80)	95 (80)	95 (80)	やや有効
2.2	VHW	1.9	2.1	111(100)	94 (85)	93-(84)	95 (86)	93 (84)	96 (87)	やや有効

試験時日 昭和 24 年 6 月 30 日、天気雨、室温 25°。
備考 * ()内の数字は相当する原料(耳下腺)量g数を示す。
** ()内の数字は注射前血糖量を 100 としたときの % 数を示す。

實驗 5. 肝臓及び腎臓中の血糖降下性物質の試験

牛肝臓抽出液の製法 新鮮な牛肝臓をすり潰し、その 500 g に 95 % エタノール 1500 ccc を加え、時々ふりまぜながら一夜氷室に放置して後布片で濾し、次に濾紙で濾過する。残物は再びエタノールで同様な抽出を行い、ここに得た黄色透明のエタノール抽出液を合し、減圧蒸溜し残液 157 cc (黄色の脂肪析出) にエーテル 560 cc を 9 回に分け静かにふりまぜて脱脂する。最後のエーテル抽出液は殆ど無色となる。水層は帯白黄色の半透明の液で、これを更に減圧濃縮して 20 cc となし、ひだ付濾紙で濾過し橙黄色澄明な液 17.2 cc を得た。これを数日間氷室中に放置すると沈澱を生じたので再び濾過し、濾液 15.5 cc を得。これを LA 部分 (LA 20 cc を原料肝臓 500 g に相当するものとし、1 cc=原料 25 g に相当) とする。

LA 11 cc にメタノール 100 cc を加えると、始めは液全体が白濁し、ふりまぜると白濁がうすくなり、壁に光沢ある樹脂状物質が附着し、液は黄色半透明である。ひだ付濾紙で濾過し黄色澄明な液とし、これを減圧濃縮して 85 cc とし、LB 部分 (1 cc=原料 43.13 g に相当) とする。

牛腎臓抽出液の製法、新鮮な牛腎臓をすり潰し、その 260 g に 93 % エタノール 960 cc を加え、時々ふりまぜな

から氷室に 15 時間放置して後布片で濾し、次に濾紙で濾過する。残物は再びエタノールで同様に抽出し、こゝに得た黄色透明のエタノール抽出液を合し、減圧蒸留してエタノールを溜去後、エーテル 650 cc を 10 回に分けて加え静かにふりまぜて脱脂する。水溶液は 105 cc、これを減圧蒸留し、残液をひた付濾紙で濾過し澄明な濾液 RA 16.5cc を得る (RA 1 cc=原料 15.75 g に相当)。

RA 10 cc をとり、メタノール 100 cc を加え、白濁した液を氷室中に一夜放置し、遠心分離する。上澄液を減圧濃縮して 8.5 cc とし、これを RB とする (1 cc=原料 17.9 g に相当する)。

これらの液及び対照として 5% メチオニン液を家兎に注射した成績を第 5 表に示す。

第 5 表

家兎 体重	検体名	皮下注射量 cc		血 糖** mg % 数							効方 判定
		体重 2 kg につき*	実際の 量	注射前	注 射 後						
					1.5時間	3 時間	5 時間	7 時間	8.5時間	9 時間	
2.0	LA	1.86 (60g)	1.87	113(100)	111 (98)	101.5 (90)	97 (86)	102 (90)		104 (92)	不明
1.9	LA	1.24 (40g)	1.18	113(100)	111 (98)	100 (88)	95 (84)	97 (86)		110 (97)	やや 有効
2.15	LA	0.93 (40g)	1.0	107(100)	98 (92)	98 (92)	96 (90)	98 (83)	96 (90)		やや 有効
2.15	RA	2.54 (4g)	2.73	123(100)	124.5 (101)	123(100)	114 (93)	113 (92)	118 (96)		無効
2.2	RB	2.23 (40g)	2.45	114(100)	113 (99)	100 (88)	100 (88)	98 (86)	106 (93)		不明
1.75	メチオ ニン	4.0 (0.2g)	3.50	92.5 (100)	94(102)	91 (98)	92.5 (100)	92.5 (100)	91 (98)		無効

備考 * ()内の数字は相当する原料量 g 数を示す。
** ()内の数字は注射前血糖量を 100 としたときの % 数を示す。

結 論

1. 牛耳下腺中には血糖降下性物質を含むが、著者の現在までの実験では膵臓に比べると問題にならぬ程度に微量である。然し耳下腺中の血液中のインシュリンによる量よりは大きいと思われる。

2. この物質は耳下腺につきインシュリンの定量的抽出法を行うときほとんど抽出されないし、又その血糖降下作用はインシュリンに比べると後発性且つ持続性で遙かに弱い。然し著者等の得た血糖降下性物質はまだ不純な状態の物質であるから、これ等の点でインシュリンと全く異なる物質であるとは断言できない。

3. この物質は水、含水エタノール、含水メタノールに頗る易溶性であり、炭末に吸着され、メタノール又は沸騰水によつて炭末から溶離する。

4. 肝臓中にもこの物質と似た血糖降下性物質が含まれるが、その量は耳下腺より小さい。腎臓中にはほとんど含まれない。

終りに臨み助言を頂いた恩師、緒方章博士、東京大学医学部沖中内科中山光重博士、高岡善人博士、八川宗一学士、小坂種樹学士並びに原料臓器を提供された帝塚臓器製薬株式会社社長山口八十八氏、工場長早津清二氏に感謝する。

文 献

- 1) 緒方知三郎：医学綜報。第 1 巻第 5 册 (昭 21) 唾液腺の内分泌に就て。
- 2) L. Takacs : Zeitschr. f. gesamt. exp. Med., 1933, 90, 547.
- 3) J. A. Goljanitzki : Ergebnisse d. Gesamt. Med. 1929, 13.
- 4) 高岡善人：総合医学。5, 22 号 10 頁 (昭 23), 日本医事新報。昭 24. 1328 号 8~9.
- 5) 前原勝樹：日本内分泌。昭 9 (1934) 10, 433~503, 606~644.
- 6) 緒方章, 伊藤四十二, 岡部佐七：薬学雑誌, 昭 19.64, 79~88.
- 7) 長沢佳館：日本内分泌。昭 17. 18, 123~143 8) 未発表。
- 9) C. H. Best., D. A. Scott, C. M. Jephcott : Am. J. Physiol. 1925, 150. 285, 緒方章臓器薬品化学上巻。
- 10) E. Gellhorn, J. Feldman, A. Allen : Endoc. 1941, 29, 137.
- 11) 長沢佳館, 坂井実：未発表。

- 12) E. Shaaf, O. Reinhard : Ber. 1943, 76, 1171~75.
- 13) G. Zuelzer : M. Hirsches Handb. Inn. Sekret. BdII, (1929), 918~920.

The Blood Sugar Lowering Substance in the Parotid Gland

(Kakuma NAGASAWA, Tokujiro NAEMURA, Fumi SAKABE and Yōko TERAOKA.)

The authors extracted the blood sugar lowering substance from the ox parotid gland, but it was found that its content is very small comparing with that of ox pancreas, and its action is too slight to be thought by us that it is caused by the insulin contained in blood in the parotid gland. This substance cannot be extracted by Best, Scott and Jephcott's insulin assay method. Its action is slower, weaker but more lasting than that of insulin. This is easy to solve in the water, aqueous ethyl alcohol or methyl alcohol and is absorbed by charcoal and is eluted by methyl alcohol or boiling water.

Such blood sugar lowering substance can be extracted also from the ox liver, but its content is smaller than that of parotid gland, and there is almost no such substance in the ox kidney.

合成培地における病原性細菌の栄養に関する研究

桑原章吾

Studies on the Nutritional Requirements of Some Species
of Pathogenic Microorganisms.

Syōgo KUWAHARA

I. ま え が き

最近 10 年間病原性細菌の栄養についての知見はいちぢるしい進歩のあとを見せている。私も 3 年この方致種の病原菌の栄養を合成培地をつかつて追究してみたのでその要点を以下に報告することにする。

II. 数種病原菌の発育素についての実験

a) 実験の方法

1. 基本培地 基本培地としては主として窒素源の加え方によつて次の各種の培地を区分した。

培地 A : KH_2PO_4 4.5g; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5g; NH_4Cl 0.5g; FeSO_4 0.001g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.001g; ブドウ糖 1.0g; 蒸留水 1000 cc; pH: 7.0~7.4

培地 B : 上の培地に次のアミノ酸を加える。

グリシン, α -アラニン, バリン, *l*-ロイシン, *l*-トリプトファン, *l*-ヒスチジン塩酸塩, *d*-アルギニン塩酸塩, *dl*-メチオニン, アスパラギン, *d*-グルタミン酸, 各 10^{-3} M 濃度. *l*-チスチン, *l*-チロシン各 10^{-4} M.

培地 C : Na_2HPO_4 2.5g; KH_2PO_4 0.35g; NaCl 5.0g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1g; ブドウ糖 1.0g; *d*-グルタミン酸 0.5g; グリシン 0.2g; アスパラギン 0.2g; *l*-ロイシン 0.15g; *d*-アルギニン炭酸塩 0.075g; α -アラニン 0.05g; *dl*-メチオニン 0.01g; *l*-チスチン 0.01g; *l*-ヒスチジン塩酸塩 0.02g; *l*-トリプトファン 0.01g; 蒸留水 1000 cc.

培地 D : C の組成中グリシン 0.25g; *d*-グルタミン酸 1.0g; *l*-チロシン 0.05g; *d*-バリン 0.02g; *l*-チスチン 0.05g; *l*-トリプトファン 0.025g とする。

培地 E : Na_2HPO_4 2.5g; KH_2PO_4 0.35g; 10% カゼイン水解液 100 cc; *l*-チスチン 0.01g; *d*-グルタミン酸 0.5g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1g; FeSO_4 0.1g; ブドウ糖 1.0g; 蒸留水 900 cc; pH: 7.6.

滅菌は 100° , 30 分, 3 回, 又は蒸過によつた。最終培地量は 5 cc. カゼインの水解は 20% 硫酸を用いた。

2. 使用した菌, 株接種の方法 実験に使つた菌株はブドウ球菌 (黄色 3 株, 白色 1 株). 溶連菌 (3 株). 肺炎球菌 (I, II, III, XVI, XXII 型各 1 株). 淋菌 (6 株). 赤痢菌 (志賀 5 株, 大野及び箕田各 1 株). コレラ菌 (各型 1 株). ジフテリア菌 (4 株). ブルセラ (3 株). 百日咳菌 (1 株). ウェルシュ菌, 破傷風菌, 悪性水腫菌, ヒストリチクス菌, セブチクス菌の各 1 株で 16 種, 41 株である。

接種には固型培地新解培養の食塩水浮游液, 又はブイオンをうすめたものを用い, 接種菌数は 10,000—250,000 程度とした。

b) 実験の成績 発育素として使つたのは合成物質 11 種, 浸出液 3 種である。浸出液のつくり方は次の通りにしてある。

酵母エキスピーール酵母の中試験管寒天斜面 24~48 時間培養を 5 cc 蒸留水に浮游, 100° 30 分加温浸出後蒸過したもの。

組織エキスを牛の肝, 脾, 筋を用い, 100° 30 分加温浸出後 1g の組織分が水 2 cc に含まれるようにしたもの。実験の結果は第 1 表に示されている。一般にビタミン B 族が最も有効なのは, 糖代謝につながりをもつ醗補素の構成因子としてたやすくうなづけることである。バラアミノ安息香酸, 植物ホルモンの一部にはほとんど発育作用がみられなかつた。組織水浸液はかなり強い発育促進作用を示すが, 筋肉の発育作用がよわい点が注目された。

第一表

菌種	培養地	培地の種類	C	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB	AC	AD	AE	AF	AG	AH	AI	AJ	AK	AL	AM	AN	AO	AP	AQ	AR	AS	AT	AU	AV	AW	AX	AY	AZ	BA	BB	BC	BD	BE	BF	BG	BH	BI	BJ	BK	BL	BM	BN	BO	BP	BQ	BR	BS	BT	BU	BV	BW	BX	BY	BZ	CA	CB	CC	CD	CE	CF	CG	CH	CI	CJ	CK	CL	CM	CN	CO	CP	CQ	CR	CS	CT	CU	CV	CW	CX	CY	CZ	DA	DB	DC	DD	DE	DF	DG	DH	DI	DJ	DK	DL	DM	DN	DO	DP	DQ	DR	DS	DT	DU	DV	DW	DX	DY	DZ	EA	EB	EC	ED	EE	EF	EG	EH	EI	EJ	EK	EL	EM	EN	EO	EP	EQ	ER	ES	ET	EU	EV	EW	EX	EY	EZ	FA	FB	FC	FD	FE	FF	FG	FH	FI	FJ	FK	FL	FM	FN	FO	FP	FQ	FR	FS	FT	FU	FV	FW	FX	FY	FZ	GA	GB	GC	GD	GE	GF	GG	GH	GI	GJ	GK	GL	GM	GN	GO	GP	GQ	GR	GS	GT	GU	GV	GW	GX	GY	GZ	HA	HB	HC	HD	HE	HF	HG	HH	HI	HJ	HK	HL	HM	HN	HO	HP	HQ	HR	HS	HT	HU	HV	HW	HX	HY	HZ	IA	IB	IC	ID	IE	IF	IG	IH	II	IJ	IK	IL	IM	IN	IO	IP	IQ	IR	IS	IT	IU	IV	IW	IX	IY	IZ	JA	JB	JC	JD	JE	JF	JG	JH	JI	JJ	JK	JL	JM	JN	JO	JP	JQ	JR	JS	JT	JU	JV	JW	JX	JY	JZ	KA	KB	KC	KD	KE	KF	KG	KH	KI	KJ	KK	KL	KM	KN	KO	KP	KQ	KR	KS	KT	KU	KV	KW	KX	KY	KZ	LA	LB	LC	LD	LE	LF	LG	LH	LI	LJ	LK	LL	LM	LN	LO	LP	LQ	LR	LS	LT	LU	LV	LW	LX	LY	LZ	MA	MB	MC	MD	ME	MF	MG	MH	MI	MJ	MK	ML	MM	MN	MO	MP	MQ	MR	MS	MT	MU	MV	MW	MX	MY	MZ	NA	NB	NC	ND	NE	NF	NG	NH	NI	NJ	NK	NL	NM	NN	NO	NP	NQ	NR	NS	NT	NU	NV	NW	NX	NY	NZ	OA	OB	OC	OD	OE	OF	OG	OH	OI	OJ	OK	OL	OM	ON	OO	OP	OQ	OR	OS	OT	OU	OV	OW	OX	OY	OZ	PA	PB	PC	PD	PE	PF	PG	PH	PI	PJ	PK	PL	PM	PN	PO	PP	PQ	PR	PS	PT	PU	PV	PW	PX	PY	PZ	QA	QB	QC	QD	QE	QF	QG	QH	QI	QJ	QK	QL	QM	QN	QO	QP	QQ	QR	QS	QT	QU	QV	QW	QX	QY	QZ	RA	RB	RC	RD	RE	RF	RG	RH	RI	RJ	RK	RL	RM	RN	RO	RP	RQ	RR	RS	RT	RU	RV	RW	RX	RY	RZ	SA	SB	SC	SD	SE	SF	SG	SH	SI	SJ	SK	SL	SM	SN	SO	SP	SQ	SR	SS	ST	SU	SV	SW	SX	SY	SZ	TA	TB	TC	TD	TE	TF	TG	TH	TI	TJ	TK	TL	TM	TN	TO	TP	TQ	TR	TS	TT	TU	TV	TW	TX	TY	TZ	UA	UB	UC	UD	UE	UF	UG	UH	UI	UJ	UK	UL	UM	UN	UO	UP	UQ	UR	US	UT	UU	UV	UW	UX	UY	UZ	VA	VB	VC	VD	VE	VF	VG	VH	VI	VJ	VK	VL	VM	VN	VO	VP	VQ	VR	VS	VT	VU	VV	VW	VX	VY	VZ	WA	WB	WC	WD	WE	WF	WG	WH	WI	WJ	WK	WL	WM	WN	WO	WP	WQ	WR	WS	WT	WU	WV	WW	WX	WY	WZ	XA	XB	XC	XD	XE	XF	XG	XH	XI	XJ	XK	XL	XM	XN	XO	XP	XQ	XR	XS	XT	XU	XV	XW	XX	XY	XZ	YA	YB	YC	YD	YE	YF	YG	YH	YI	YJ	YK	YL	YM	YN	YO	YP	YQ	YR	YS	YT	YU	YV	YW	YX	YY	YZ	ZA	ZB	ZC	ZD	ZE	ZF	ZG	ZH	ZI	ZJ	ZK	ZL	ZM	ZN	ZO	ZP	ZQ	ZR	ZS	ZT	ZU	ZV	ZW	ZX	ZY	ZZ	AA	AB	AC	AD	AE	AF	AG	AH	AI	AJ	AK	AL	AM	AN	AO	AP	AQ	AR	AS	AT	AU	AV	AW	AX	AY	AZ	BA	BB	BC	BD	BE	BF	BG	BH	BI	BJ	BK	BL	BM	BN	BO	BP	BQ	BR	BS	BT	BU	BV	BW	BX	BY	BZ	CA	CB	CC	CD	CE	CF	CG	CH	CI	CJ	CK	CL	CM	CN	CO	CP	CQ	CR	CS	CT	CU	CV	CW	CX	CY	CZ	DA	DB	DC	DD	DE	DF	DG	DH	DI	DJ	DK	DL	DM	DN	DO	DP	DQ	DR	DS	DT	DU	DV	DW	DX	DY	DZ	EA	EB	EC	ED	EE	EF	EG	EH	EI	EJ	EK	EL	EM	EN	EO	EP	EQ	ER	ES	ET	EU	EV	EW	EX	EY	EZ	FA	FB	FC	FD	FE	FF	FG	FH	FI	FJ	FK	FL	FM	FN	FO	FP	FQ	FR	FS	FT	FU	FV	FW	FX	FY	FZ	GA	GB	GC	GD	GE	GF	GG	GH	GI	GJ	GK	GL	GM	GN	GO	GP	GQ	GR	GS	GT	GU	GV	GW	GX	GY	GZ	HA	HB	HC	HD	HE	HF	HG	HH	HI	HJ	HK	HL	HM	HN	HO	HP	HQ	HR	HS	HT	HU	HV	HW	HX	HY	HZ	IA	IB	IC	ID	IE	IF	IG	IH	II	IJ	IK	IL	IM	IN	IO	IP	IQ	IR	IS	IT	IU	IV	IW	IX	IY	IZ	JA	JB	JC	JD	JE	JF	JG	JH	JI	JJ	JK	JL	JM	JN	JO	JP	JQ	JR	JS	JT	JU	JV	JW	JX	JY	JZ	KA	KB	KC	KD	KE	KF	KG	KH	KI	KJ	KL	KM	KN	KO	KP	KQ	KR	KS	KT	KU	KV	KW	KX	KY	KZ	LA	LB	LC	LD	LE	LF	LG	LH	LI	LJ	LK	LM	LN	LO	LP	LQ	LR	LS	LT	LU	LV	LW	LX	LY	LZ	MA	MB	MC	MD	ME	MF	MG	MH	MI	MJ	MK	ML	MM	MN	MO	MP	MQ	MR	MS	MT	MU	MV	MW	MX	MY	MZ	NA	NB	NC	ND	NE	NF	NG	NH	NI	NJ	NK	NL	NM	NN	NO	NP	NQ	NR	NS	NT	NU	NV	NW	NX	NY	NZ	OA	OB	OC	OD	OE	OF	OG	OH	OI	OJ	OK	OL	OM	ON	OO	OP	OQ	OR	OS	OT	OU	OV	OW	OX	OY	OZ	PA	PB	PC	PD	PE	PF	PG	PH	PI	PJ	PK	PL	PM	PN	PO	PP	PQ	PR	PS	PT	PU	PV	PW	PX	PY	PZ	QA	QB	QC	QD	QE	QF	QG	QH	QI	QJ	QK	QL	QM	QN	QO	QP	QQ	QR	QS	QT	QU	QV	QW	QX	QY	QZ	RA	RB	RC	RD	RE	RF	RG	RH	RI	RJ	RK	RL	RM	RN	RO	RP	RQ	RR	RS	RT	RU	RV	RW	RX	RY	RZ	SA	SB	SC	SD	SE	SF	SG	SH	SI	SJ	SK	SL	SM	SN	SO	SP	SQ	SR	SS	ST	SU	SV	SW	SX	SY	SZ	TA	TB	TC	TD	TE	TF
----	-----	-------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

第 2 表

菌種	培地に興えた菌株	アミノ酸 発育素	グリシン	アラニン	ウロリン	ロイシン	チロシン	チロシン	トリプトファン	ヒスチジン	メチオニン	アスパラギン	グルタミン	以上のアミノ酸 全部を含む培地 での発育			
			(α)	(d)	(l)	(l)	(l)	(l)	(dl)	(d)	酸	酸					
黄色ブドウ球菌	寺島	ニコチン酸	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	卍	かなり良			
	Heatley		-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-		卍		
白色ブドウ球菌	M13		-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	卍				
肺炎球菌	XXVI	ニコチン酸, アセチル コリン, パントテン酸	-	+	-	卍	-	-	卍	-	-	+	-	卍	不良		
志賀本型菌	花・房	ニコチン酸	-	+	-	-	-	±	-	-	-	+	-	卍	極めて良		
	竹内		-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	卍			
	惣次		-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-		卍	
	吉田		-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-		卍	
	富雄		-	+	-	-	-	-	±	-	-	-	+	-		卍	
大野菌	府中		-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	卍			
箕田菌	九大X		-	±	-	-	-	-	卍	-	卍	-	卍				
コレラ菌		ナフタリン醋酸カリ	-	卍	-	-	-	-	卍	-	卍	-	卍	極めて良			
ジフテリヤ菌	1015	ニコチン酸 パントテン酸 酵母エキス	-	-	-	-	-	-	卍	-	-	-	-	+	卍	1015のみ極めて良 他はやゝ良	
	西山		-	-	-	-	卍	-	卍	-	-	-	-	-	+		卍
	石原		-	-	-	-	卍	-	卍	-	-	-	-	-	+		卍
	p 2		-	-	-	-	卍	-	卍	-	-	-	-	+	卍		
Br. melt		ニコチン酸 ビタミンB ₁	-	卍	-	卍	卍	-	卍	-	-	-	-	卍	やゝ良		
Br. suis			-	+	-	卍	卍	-	卍	卍	-	-	-	-		卍	
Br. abort			-	+	-	卍	卍	-	卍	-	-	-	-	-		卍	
百日咳菌		ニコチン酸酵母エキス	-	+	-	卍	卍	-	卍	-	-	-	-	+	卍	不良	
ウェルシュ菌		ニコチン酸 パントテン酸	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	卍	極めて良	
悪性水腫菌			-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	卍		
セブチクス菌			-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+		卍
ヒストリクス菌		ニコチン酸	-	-	-	卍	卍	卍	-	卍	+	卍	-	-	卍	良	
破傷風菌		肝エキス	-	-	-	卍	卍	卍	卍	-	卍	-	-	-	卍		

III. 数種病原菌の窒素源要求度について

次に著者は上に実験した菌群の一部についてどのアミノ酸が栄養源として大切であるかをアミノ酸ぬきとり実験によつてしらべてみた。実験に使つたのはブドウ球菌、肺炎球菌、大野菌、箕田菌、コレラ菌の各1株 Br. melitensis, 1株、志賀菌5株、ジフテリヤ菌4株で、培地 D に必要な発育素群を加えたものを基本とした。

実験の結果は第2表に示してある。表に示された結果からみると、一般的に発育に有効なアミノ酸はグルタミン酸、アルギニン、アスパラギン、ロイシン、チスチン、トリプトファンなどであるが、これらの必要度の関係はアミノ酸と発育素の組合せ方によつても一部は変り得るようであつた。これは水素の供受、アミノ基の転移などの反応経過のずれによるものであろうが、この点については更に完全な合成培地をつかつていろいろな面から検討する必要がある。同じ菌種の中でも菌株による要求の差もいくらか認められた。

IV. 淋菌の栄養源について

淋菌は各種栄養源に対する反応がかなり他の菌と異なるので全く別に実験を行つてみた。

1. 基本培地 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 3.0 g; KH_2PO_4 0.35 g; NH_4Cl 0.3 g; NaCl 0.1 g; FeSO_4 0.001 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g; CaCl_2 0.1 g; ブドウ糖 2.0 g; *d*-グルタミン酸 1.0 g; *l*-チスチン 0.01 g; 蒸溜水 1000 cc; pH: 7.2.

2. 発育促進物質と窒素源との関係 これまでブイヨンの主成分であるペプトン中のある物質が淋菌の発育を妨げることが報告されている。このものが果して窒素源そのものであるかどうかはまだはつきりしないのでこの点について著者は2, 3の実験を行つてみた。すなわち上記培地中の *d*-グルタミン酸とチスチンの代りに、各種のアミノ酸、カゼイン水解液及び濃度のうすいペプトンを加え、発育素物質をあたえた時の発育のようを調べてみた。アミノ酸混液としては *d*-グルタミン酸、*l*-ロイシン、*d*-アルギニン炭酸塩、*l*-ヒスチジン塩酸塩、*d*-メチオニン、グリシン、*l*-チスチンの7種を混ぜたものが使つてある。結果は第3表に示す通りで、アミノ酸混液とカゼイン水解液の場合、発育促進物質を加えても、0.3% ペプトン添加の場合に比べて発育がわるい。これは栄養源中のあるアミノ酸が菌の発育に不利益に作用することを示すものではなからうか。

2. 合成培地でアミノ酸相互が示す拮抗作用

第3表

	酵母	肝	脾	腎	血(兔)清	ヘモグロビン
基礎培地	0/6	0/6	0/6		0/6	
グルタミン酸ソーダ	5/6	6/6	4/6	3/6	6/6	0/6
アミノ酸群		2/6	2/6		2/6	
カゼイン水解液	2/6	4/6	3/6	0/6	4/6	0/6
ペプトン 0.3%	5/6	6/6	6/6		6/6	1/6

1. 基礎培地は VI. a, 1 からアミノ酸をとつたものを用いた。

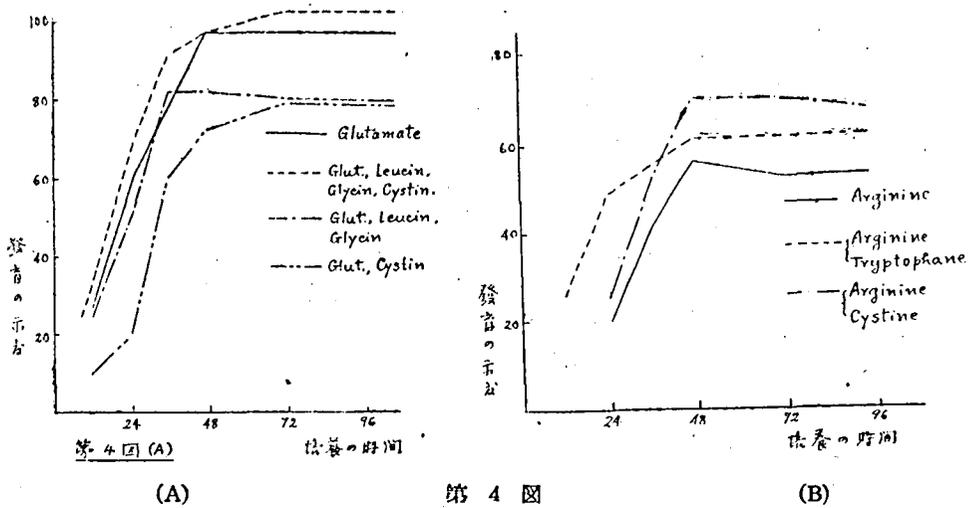
2. 数字の分母は試験した株数、分子はその中発育した数を示す。

著者は前項にのべたアミノ酸の作用を更にくわしく検討するため肝浸液添加基本培地(アミノ窒素なし)に種々のアミノ酸を加えてその効果をしらべてみた。

イ) 一種のアミノ酸を加えた場合、発育に有効なものは *d*-グルタミン酸と *d*-アルギニンだけで、他の10種のアミノ酸(グリシン、 α -アラニン、バリン、ロイシン、チスチン、チロシン、*l*-トリプトファン、*l*-ヒスチジン、*dl*-メチオニン、アスパラギン)には発育効果が認められなかつた。同じモル濃度では *d*-グルタミン酸の発育能力は、*d*-アルギニンのその約2倍であつた。

ロ) *d*-グルタミン酸を含む基本培地に他のアミノ酸を更に1種添加したところ、多くのアミノ酸が無関係であつた中に、2, 3のものはかえつて発育を害するという現象がみられた。すなわちチスチン 0.5 mg%, *l*-ロイシン 10 mg%、グリシン 20 mg%, アスパラギン 50 mg% はいづれも多少の差はあれ確実に発育を抑制する。しかもグルタミン酸、ロイシン、グリシンの共存する培地ではチスチンがかえつて著しい発育促進作用を示した。

ハ) *d*-アルギニンを含む培地では *l*-チスチン 0.1~10 mg%, *l*-トリプトファン 2 mg% でやゝ発育が促進された(第4表 A, B 参照)。



発育源としてのアミノ酸相互にみられる拮抗作用はたとえば炭疽菌, *Streptococcus bovis* について報告があるが、それらと対比して更に検討するならば、菌の発育代謝をしらべる何かのてがかりが得られるかもしれない。

V. 合成培地とス剤の抗菌作用の関係

病原細菌の合成培地についての知見の進歩は、その一半をス剤の作用機作の検討に負うといえよう。著者は上にのべた合成培地をつかつてス剤の抗菌作用についての 2, 3 の実験を行った。

1) ス剤の抗菌価と菌種 まづ著者はブドウ球菌, コレラ菌, 大腸菌, 変形菌, 緑膿菌, 志賀菌, 大野菌, 箕田菌に対する 28 種のス剤の完全発育阻止モル濃度をしらべてみた。その結果特に強調すべき点は一般にス剤は菌種にかゝりなく共通の抗菌性をもつということである。つまりある菌に対して他のス剤よりも高い抗菌価を示すス剤は、他の菌に対しても濃度の差はとにかく比率的には高い抗菌力を示している。これはス剤の作用点が病原細菌に共通の代謝機作に向けられていることを示すものであろう。(第 5 表略)

2) 合成培地の示す抗菌価と生体内効果 われわれが合成培地でこれまで調べたところでは化膿菌群と腸内細菌群との間の抗菌価はあまり大しき差がないようである。この抗菌価と臨床治療成績との差は生体側のいろいろの条件によるものであろう。しかし抗菌価を求めると当つて問題になるのは、各菌種がそれぞれ栄養要求の度を異にすること、特に腸内細菌が比較的かんたんなアンモン培地に発育するのに、化膿菌の多くは複雑なアミノ窒素を必要とする点である。そのため菌種により合成培地の含む拮抗物質、発育の速度と量はそれぞれ異つてくることになる。それで著者は同一菌種について培地組成の変化と抗菌価の関係を追究してみた。

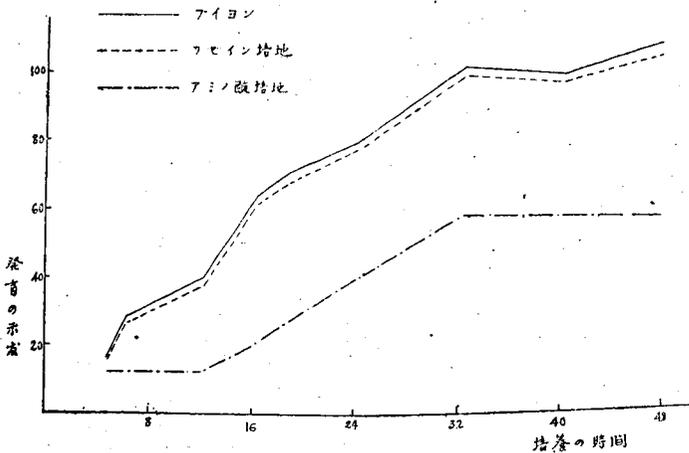
菌種：白色ブドウ球菌 M13 株。接種は培地 5 cc に対して生菌 5,000~20,000。

培地：イ。水解カゼイン培地 培地 E にニコチン酸、ビタミン B₁ を加えたもの。

ロ。アミノ酸培地 培地 B にアスパラギン酸、ニコチン酸、ビタミン B₁ を加えたもの。

ハイオン

この培地における菌の発育を濁度計でしらべた結果と 2, 3 のス剤に対する抗菌価が第 6 図と第 7 表に示してある。この表からわかるように水解カゼイン培地とハイオン培地はほとんど差がないから抗菌価の差は全く拮抗物質の含まれ方にあるとみてよい。しかしカゼイン培地とアミノ酸培地では発育の速さにも量にもかなりの差があり、従つて両者が示した抗菌価のちがいは何によるものかはにわかには決められない問題である。培地から拮抗物質を完全に除くことはきわめて必要なことではあるが、そのため菌の発育が低下したのでは抗菌価を無意味に高くするのに役立つだけである。このように考えてみるといろいろの菌種や菌株の抗菌価を調べる場合、その培地組成、いゝかえれば栄養要求の限界がどこにあるかを充分考え合せねばならないであらう。今後ス剤の抗菌価をしらべる場合には、理想的には 1 種のなるべく拮抗物質を含まない、しかもその発育と量が自然培地に対してひげをとらない程度の合成培地が工夫されることが望ましい。



第 6 図 ブドウ球菌の各種培地に於ける発育

第 7 表

	ブイ ヨン	カゼイ ン培地	アミノ 酸培地
スルファミン	20	100	20— 40
スルファピリヂン	5.0	10	5.0
スルファチアゾール	2.5	2.5	1.35
スルファダイアゼン	2.5	5.0	2.5

数字は完全発育阻止の mg % を示す。
但しブイヨンの場合 50 % 阻止の数字
を示す。

VI) 結 び

著者はこの論文で、病原菌の一部のものの発育素及び窒素源要求度を中心に合成培地における発育を検討し、あわせて薬剤の抗菌作用との関係を論じてみた。

終りに御親切な御指導をいただいた秋葉朝一郎先生に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) Altire-Werber, B., : J. Bact., 47. 399—400, 1944.
- 2) Badger, E., : J. Bact., 47. 509—518, 1944.
- 3) Ball, E., : J. Bact., 36. 559—565.
- 4) Bass, A., Berkman, S., Saunders, F., & Koser, S.A., : J. Inf. Dis. 68. 175—183. 1941.
- 5) Berkman, S., Saunders, F., & Koser, S.A., : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 44. 68—70, 1940.
- 6) Bernheimer, A.W., Gillman, W., Hottle, G.A., & Pappenheimer, A.M., : J. Bact., 43. 495—498, 1942.
- 7) Bernheimer, A.W., & Pappenheimer, A.M., : J. Bact., 43. 481—494, 1942.
- 8) Bohonos, N., Hutchings, B.L., & Peterson, W.H., : J. Bact., 44. 479—485, 1942.
- 9) Bohonos, N., & Subbarow, Y., : Arch. Biochem., 3. 257—259. 1943.
- 10) Burrow, W., : J. Inf. Dis., 76. 126—130, 1942.
- 11) Clifton, C.E., : Bact., 44. 179—183, 1942.
- 12) Cohen, S., & Mueller, J. H., : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 45. 244—255, 1940.
- 13) Doudoroff, M., : J. Bact. 44. 451—459, 1942.
- 14) Doudoroff, M., : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 53. 73—75, 1943.
- 15) Evans, W.C., Happold, F.C., & Handley, W.R.C., : Br.t. J. Exp. Path., 20. 396—408. 1939.
- 16) Fildes, P., Gladstone, G.P., & Knight, B.C.J.G., : Brit. J. Exp. Path., 14. 189—196, 1933.
- 17) Fildes, P., Richardson, G.M., Knight, B.C.J.G., & Gladstone, G.P., : Brit. J. Exp. Path., 17. 481—484. 1936.
- 18) Frantz, I.D., : J. Bact., 43. 757—761, 1942.
- 19) Gladstone, G.P., : Brit. J. Exp. Path. 20. 189—200, 1944.
- 20) Gould, R.G., Kane, L.W., & Mueller, J.H., : J. Bact., 47. 287—292, 1944.
- 21) Grossowicz, N., : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 49. 8—11, 1942.
- 22) Hornibrook, J.W., : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 45. 598—599, 1940.
- 23) Hottle, G.A., Lampen, J.O., & Pappenheimer, A.M., : J. Biol. Chem. 137. 457—458, 1941.

- 24) Hughes, T.P., : J. Bact., 23. 437—447, 1932.
- 25) Knight, B.C.J.G., : Biochem. J., 31. 731—737, 966—973, 1938.
- 26) 桑原 : 日新医学. 35—36. 519—522, 1949.
- 27) 桑原 : 薬学. 3. 48—55, 1949.
- 28) Lwoff, A., & Querido, A., : Compt. Rend. Soc. Biol., 130. 1569—1575. 1939.
- 29) Mc Ilwain, H., : Brit. J. Exp. Path., 21. 25—38, 1940.
- 30) Mueller, J.H., : Bact. Rev., 4. 97—134, 1940.
- 31) Pelczar, M.J.Jr., & Porter, J.R., : Arch. Biochem., 2. 41—58, 1943.
- 32) 柴田 : 薬学. 2. 41—58, 1948.

Studies on the Nutritional Requirements of Some Species of Pathogenic Microorganisms.

(Syōgo KUWAHARA)

The vitamin and amino acid requirements for 19 species of pathogenic bacteria were investigated. For most species of bacteria the vitamin B group and several amino acids are very essential for their growth. On a strain, of *N. gonorrhoea* antagonistic phenomenon between amino acids was observed. Employing these investigated synthetic media, the author discussed the inter-relationship between the composition of synthetic media and the antibacterial effect in vitro of sulfa drugs.

細菌性発熱物質に関する研究

特に螢光学的にみた発熱物質の性状について

青山好作

Studies on the Bacterial Pyrogenic Substances

Specially on their Nature from the View-point of Fluorescence Reaction

Kōsaku AOYAMA

I. ま え が き

薬液の脈管内注射後に、不測の事実として偶発される発熱や悪感、戦慄等の副作用発症の原因は化学的欠陥以外に細菌学的汚染が重要な因子となることが、Seibert¹⁻²⁾ (1923) によつて報告されて以来、細菌学の新しい観点から研究されるようになり、従来臆説の域を脱しなかつたこの方面の研究分野は著しく鮮明さをますに至つた。しかし細菌性発熱物質の化学的本態についての論及はつい最近のことで、Robinson³⁾ (1944) は含水炭素系なりと論じ、小林⁴⁻⁶⁾ (1948) は蛋白性物質のものと報告しているが、そのいずれもが未だ確認されるに至っていない。

著者⁹⁻¹²⁾は先きに注射用葡萄糖中よりの分離菌及び陽チフス菌、パラチフス菌などの培養濾液より、或は発熱性ジフテリア免疫血清中よりなど、数種のものより結晶或は粉末状に細菌性発熱物質をとり出すことに成功した。次いでこの数種の細菌性発熱物質について光化学的に検討した結果、脈管内注射薬の良否は紫外線照射による選別が甚だ容易であることを始めて公けにするにいたつた¹³⁾。しかして細菌性発熱物質の個々におたる物理化学的性状は相違するが特記すべき共通点として、1) 蛋白反応は例外なく陰性である。2) 紫外線照射により美しい螢光(主として青色)を発する。3) 吸収スペクトルの吸収極大はいずれも 2650 Å で一致する。4) 吸光係数の比率と発熱量の比率とはほぼ平行する。5) 血液像(家兎)は発熱現象に平行して赤血球数及び血色素量の減少をみるが、白血球は顕著な増多現象を來すなどの一通の試験結果をあげるにいたつた。そこで著者は更に本研究の一步前進を期すべく各種の細菌性発熱物質について動物性蛋白質とその初期分解産物、アミノ酸などの螢光と対比すると共に、それが化学的影響により種々に変り行く螢光性を物質の構造との関係に結びつけて追究する一方、細菌免疫学的な検討をも併せ行い、本態の究明に関し、いさゝか検討を加えたので報告する。

II. 細菌性発熱物質と紫外線による検出

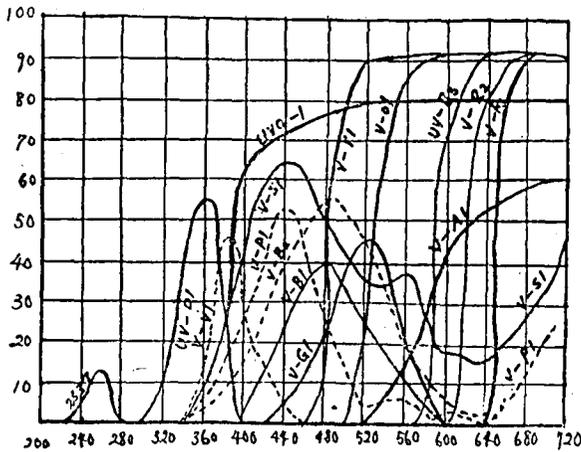
1. 紫外線透過波長と細菌性発熱物質

細菌性発熱物質(以下單に発熱物質と呼ぶ)に紫外線を照射すると、いずれも、青色乃至紫色の螢光を発するが、この際の螢光の強さは、紫外線透過波長と透過率によつて影響される。したがつて発熱物質のもつ螢光性も時として不明瞭に或は鮮明に検出される。このことは本法実施の上に至大な影響を及ぼすものと思われたので、発熱物質及び市販注射薬(20%葡萄糖注、5%チトラート注)中の螢光性アンプル(アンプルのまま照射してその内容液に螢光のみられる場合を仮に名づけた。以下これによる)とについて、紫外線透過波長(透過率)と検出の関係について検討を加えた。

ここに供試した発熱物質は、著者が発熱株の培養濾液或は菌体内より、結晶または粉末状に抽出精製したもので GH12 (*Macrosporium* sp.), G10 (*Micrococcus* sp.), G66 (*Subtilis* sp.), S58 (*S. typhi*), S1 (*S. paratyphi* A), Java (*S. paratyphi* B) 及び N (発熱性ジフテリア免疫血清中より分離精製したもの) の 7 種である。

実験に用いた紫外線透過波長は 250~680 mμ の間のもので 2537, UVD1, V-V1, V-S1, V-P1, V-B2, V-B1, V-G1, V-Y1, V-O1, V-A1, V-R3 及び V-R1 の 13 種類である。これの個々の紫外線透過波長と透過率については第 1 表に図示した。

発熱物質及び螢光物質は透過波長が 360 mμ (3600 Å) の時が最も鮮明に認知され、透過波長がこれより長い或短いと、これにともなつて鮮明さを減じ不明瞭となる。たとえば波長が 480 mμ 以上となると視野は著しく暗



第 1 表 紫外線透過波長と透過率

360 mμ 前後ではほとんど無色であるがこれより長い 380~480 mμ では紫色から淡紫色となり、順次変り 520 mμ では緑色、560 mμ では黄色、600 mμ 以上では赤色となつた。

更にこのUVD1 (360 mμ) のフィルターを基体として、これに V-V1, V-S1, V-P1……等と順次に組合せて、紫外線フィルターを二枚合せにして照射し、UVD1 の照射感度を更に高めようと試みたが一般に視野は暗くなり、かえつて不明瞭となつて微量蛍光物質検出等には不適なることを知つた。

2. 紫外線の鋭敏度

発熱物質には蛍光があるので、紫外線照射により容易にその存在を認知出来るが、どの位の濃度にまで検出出来るか、即ち紫外線の鋭敏度¹⁵⁾の実態を知るべく、先きの実験において最も良好な成績の得られた、UVD1 (紫外線透過波長 3600 Å, 透過率 50~60%) のフィルターを用いて各種の発熱物質、蛋白質、アミノ酸、ペプトン及び有機酸について、溶媒には蒸留水を用い、本紫外線で認知し得る最大稀釈濃度について検討を加えた。同時にこの溶液に濃硫酸或は 50% 苛性ソーダ液を 2~3 倍量になるまで滴々と滴加し、この間の蛍光色調の変化を追究する一方、本法が感度高上乃至は微量検出の上を持つ意義について検討を加えた。その結果は第 2 表に示した。

第 2 表 紫外線照射による蛍光とその鋭敏度

区分	試 験	対照(試薬加えず)	濃 硫 酸	50% 苛性ソーダ
発 熱 物 質	腸チフス菌 (S58)	青白 (1:120.000)	灰紫白 (1:50)	灰青白 (1:120.000)
	バラチフスA菌 (S1)	青白 (1:100.000)	灰紫白 (1:50)	淡青白 (1:100.000)
	バラチフスB菌 (Java)	青白 (1:100.000)	灰青白 (1:50)	灰青白 (1:100.000)
	N (ジフテリア血清より得たもの)	青白 (1:100.000)	—	淡灰青 (1:100.000)
	Macrosporium sp. (GH12)	青白 (1:10.000)	—	灰微青 (1:10.000)
蛋 白 質	血 清 (兔)	青白 (1:500)	黄 (1:10.000)	
	血 清 (馬)	青白 (1:1.000)	淡黄 (1:10.000)	
	卵 白 -Na	淡青白 (1:50)	淡緑 (1:10.000)	
	卵 アルブミン	青白 (1:50.000)	淡緑 (1:10.000)	
ペ プ ト ン	卵 グロブリン	青白 (1:10.000)	淡緑 (1:10.000)	
	照 内	淡青 (1:150.000)	黄緑 (1:50.000)	灰青白 (1:100.000)

く蛍光は全く認知し得なくなる。また紫外線波長が 310 mμ (3100 Å) 以下の場合には、波長はガラスに吸収され、アンプル等のガラス器内の溶液中の蛍光物質を検出し得なくなるから、紫外線を蛍光学的定性反応に応用するための条件としては、310 mμ 以上のものでなければならないことになる。なお波長透過率は 50% 以上あれば反応には何等の支障も来たさないようである。2537 Å の波長のものを用いた場合は蛍光反応は見られなかつた。一方別途の試みとして 315 mμ 以下の波長を陶製の蒸発皿に溶液を入れたものの上から照射してみたが、その結果は鮮明な蛍光は認められなかつた。即ち 256 mμ 附近の波長では発熱物質及び蛍光物質の検出には不適当である。紫外線の色調も波長によつて異なり、360

トシ	ウ エ ハ ラ	淡青(1:200.000)	黄緑(1:100.000)	灰青白(1:200.000)
ア	トリプトファン	青白(1:10.000)	橙黄(1:20.000)	
ミ	ロイシン	淡青白(1:200)	青白(1:200)	
ノ	チスチン	青緑(1:5.000)	淡青(1:200)	
酸	チロデシン	青白(1:10.000)	淡緑(1:20.000)	
その他	核酸	青白(1:50.000)	淡青(1:50.000)	
	ケファリン	青白(1:50.000)	青白(1:50.000)	
	インドールプロピオン酸	淡青緑(1:10.000)	淡緑(1:20.000)	

註 1. ()内数値は鋭敏度を示す。 2. -は蛍光消失を示す。

即ち発熱物質は青白色の蛍光でその鋭敏度は 100,000 倍、検出限度は 0.5 γ である。蛋白質では卵グロブリンは青白色蛍光、濃硫酸処置後は淡緑色でその鋭敏度は 50,000 倍、検出限度は 1 γ であり、ペプトンの検出限度は 200,000 倍で 0.25 γ 。アミノ酸中、チロデシンは 150,000 倍、検出限度は 5 γ 、有機酸のケファリンでは検出限度は 500,000 倍で 0.1 γ ということになり、紫外線は発熱物質その他の物質を相当低濃度に於ても検出し得ることを知った。

III. 蛍光学的にみた発熱物質の化学的性状

1. 物理化学的性状

著者の得た細菌性発熱物質は一般性状として、1. 糸状菌より得られたものは細菌より得られたものより、比較的熱に対し安定している。2. 超音波曝振作用(水晶板発振装置、周波数 300 KC、第1次電圧 85 V)の結果は加熱の場合と相反し、細菌よりのものに較べると、糸状菌よりのものは短時間作用で不活性化される。3. pH 4 (酸性側)及び pH 9 (アルカリ側)においては 24 時間以上放置すると、発熱性が消失する。4. 発熱物質は半透膜を透析する比較的分子量なものと、透析しない高分子なものと二様の種類の存在を認めるなどである。

これらについての定性試験成績は第3表に示した。

第 3 表 定 性 反 応

反 応	試 料	Micrococcus		Macrospor-	S. typhi	S. para	S. para	N
		第 1 層 部	非 吸 部	ium sp. (GH12)	(S 58)	typhi A (S 1)	typhi B (Java)	(発熱性ジフテリア血清)
呈 色 反 応	Tetrabromphenolphthalein	-	-	-	-	-	-	-
	Biuret	-	-	-	-	-	-	-
	Xanthoprotein	-	-	-	-	-	-	-
	Millon	-	-	-	-	-	-	-
	Hopkins Cole	-	-	-	-	-	-	-
	Liebermann	-	-	-	-	-	-	-
	坂 口	-	±	-	-	-	-	-
沈 澱 反 応	Tannic acid	-	-	-	-	-	-	±
	1% CuSO ₄	-	-	-	-	-	-	-
	中性 100° 60 分加熱	-	-	-	-	-	-	-
	Trichloroacetic acid	-	-	-	-	-	-	-

Fehling	水解前	-	-	-	-	-	-
	水解後	-	-	-	-	-	-
Molisch		-	-	-	卅	卅	卅
螢光試験		+	+	+	+	+	+

2. 元素分析及び吸収スペクトル測定値

発熱物質は定性反応の結果からすると蛋白性物質とは異なるものとされるが、或るものは炭水化物系の存在を予想させるものがある。しかし大部は糖類とも異り、質的な系統については明確な存在を知り得ないが、元素分析の結果(第4表参照)は先きに Robinson 等が報告した分析値とやや類似した興味ある成績が得られた。著者により得られたもの(以下 A と略す)と Robinson 等の分離せるもの(以下 B と略す)との比較は第4表に示した。

第4表より発熱物質は各々の化学的成分の間に幾分差異のあることが認められた。

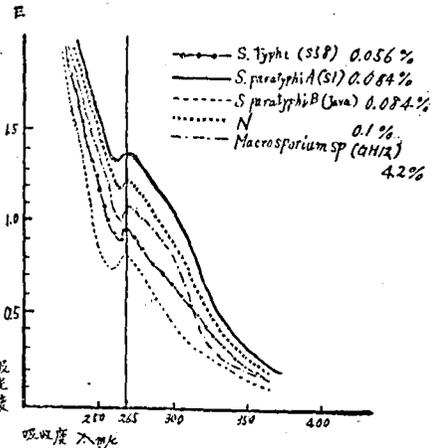
第4表 発熱物質の分析値

発熱物質成分元素	S. paratyphi A (S. 1)	S. paratyphi B (Java)	S. typhi (S.58)	Macrosporium sp. (GH12)	Pseudomonas aeruginosa	Proteus vulgaris
C	39.28	37.45	40.72	37.70	38.75	35.83
H	6.95	6.87	7.93	8.12	6.53	6.06
N	5.35	4.80	7.03	0	0	0
P	0	0	1.43		2.38	0.29
S	0	0	1.38			
Ash				痕跡	12.18	8.33

註: 1) Pseudomonas aeruginosa 及 Proteus vulgaris についての成績は Robinson 等の報告せるもの。

2) 表中数値は分析値を示す。

3) 表中の斜線は実験未了。



第5表 発熱物質の吸収スペクトル曲線

ついでこれを吸収スペクトルで測定してみると、発熱物質はいずれも吸収曲線が類似し、吸光係数も動物実験の発熱量とほぼ一致するという甚だ興味ある知見¹⁰⁾が得られた。

吸収スペクトル測定の際としては、各発熱物質の所要量を蒸留水に溶解し、分光光度計でこの吸収スペクトル写真をとった。この吸収曲線は第4表に示す如く、横軸に吸光度 ($\lambda\mu$)、縦軸に吸光度をとると、各発熱物質の吸収(波長)極大は 265 $m\mu$ で全く一致している(第5表参照)。吸収は 265 $m\mu$ のところで初めて起るが、これに附加する母体自身はこの基(265 $m\mu$)が作用する範囲内では、吸収スペクトルに影響を表さない。この 265 $m\mu$ の波

第6表 発熱物質と吸光係数

区分	測定濃度 (%)	吸光係数 1% E/cm 265 $m\mu$	吸光係数比率 (%)	発熱度比率 (%)
S. typhi (S. 58)	0.056	12.00	364	300
S. paratyphi A (S1)	0.084	17.40	250	300
S. paratyphi B (Java)	0.100	13.00	200	300
N	0.084	11.00	160	200
Micrococcus sp. (G10)	4.200	0.07	1	1
Macrosporium sp. (GH12)	4.200	0.07	1	1

長に於ける発熱物質の吸光係数を算定すると(第6表参照)吸光係数の比率と発熱量との比率とはほぼ平行した。この発熱量は供試動物(家兔)に注射し、その際の体温の昇降度、発熱度等の平均値を算出したものである。この吸光係数の比率及び発熱量の比率の算出についてはすでに報告したので省略する¹⁰⁾。

3. 螢光學的定性反應

発熱物質を所要濃度に溶解した水溶液について、そのままの状態と、或は種々の試薬を加えて化学反応を起さしめた後との両者に、紫外線(UV-D1)

を照射して観察した。一方各種のアミノ酸、蛋白質及びペプトン等を対照にとり同様手技で試み比較した。

この実験に用いた試薬は、諸物質の螢光発現に何等妨げないものとした。ただし試薬中ニヒドリンが淡青色、T. B. P. が淡黄色に螢光を発した(第7表参照)。

第7表 螢光学的定性反応

区分	発熱物質					アミノ酸		蛋白質(ペプトン)並に試薬						
	GH12	S. 58	S. 1	Java	N	トリプトファン	チロジン	血清	卵白	卵グロブリン	ペプトン ウエハラ	テルウチ	試薬	
Biuret	青白	青紫白	青紫	青紫	灰青	—	淡青白	—	—	淡青	青乳	青乳	—	
Ninhydrin	濃青白	濃青白	濃青紫	青紫	灰青	汚黄	青白	青白	青白	青白	青紫白	青紫白	淡青白	
T. B. P.	青黄	濃青黄	青黄	灰黄	淡灰黄	淡青	青緑乳	青紫	—	橙赤	濃青黄	濃青黄	淡黄	
T. chlor. acet.	青白	濃青白	青白	青白	灰白	青白	青白	灰青	灰青	青白	帶黄青白	帶黄青白	—	
Fehling	青白	藍灰	青白	濃青白	暗青灰	—	青紫白	—	—	淡青	暗青白	暗青白	—	
Molisch	黒紫	暗紫	黒紫	黒紫	暗青灰	緑黄	緑青	紫	*紫	*紫	黒紫	黒紫	—	
試薬加えず	淡青白	青白紫	青白紫	青白	青白紫	青白	青白	青白	青白	青白	青乳白	青乳白	—	
H ₂ SO ₄	A	緑→淡青白	青白紫→暗紫	青白紫→暗紫	青白→青白	青→灰青	黄緑→橙黄	青白→青緑黄	青緑→黄金	緑→緑青黄	青白→黄	黄金	黄金	—
	B	淡青(-)	淡黄(-)	淡青(-)	淡青(-)	淡青(-)	黄緑(-)	青白→淡緑	青白→黄	青白→淡黄緑	青白→淡暗緑	淡黄(-)	淡黄(-)	—
0.5% HgCl ₂	A	青白→淡青	青白→乳青	青白→灰青	青白→淡灰青	青→灰青紫	淡青白→緑	青白→黄緑	青緑→緑黄	緑→黄緑	青白→黄	黄金	黄金	—
	B	淡青(-)	青白→淡青(-)	淡灰青(-)	青白(-)	淡青(-)	淡青白→黄緑	青白→淡青緑	緑黄(-)	青白→淡黄緑	青白→淡黄青	黄緑(-)	黄緑(-)	—
1% FeCl ₃	A	青白→淡青	青白緑→暗緑	青白→灰青	青白→淡灰青	青→青白黄	青白→橙黄緑	青白→緑	青白→青緑→黄緑	青白→黄	青白→黄	黄緑→黄金	黄緑→黄金	—
	B	淡青(-)	青白(-)	青白→灰青	青白(-)	淡青(-)	青白→橙黄	青白→淡青緑	青白→汚黄	青白(-)	青白→淡黄	黄金	黄金	—
1% Cu-SO ₄	A	青白→淡青	青白→青紫	青白→灰青	青白→淡灰青	青→淡青白	青白→青緑	青白→青緑	青緑→黄緑	緑→黄緑	青白→黄	黄緑→黄金	黄緑→黄金	—
	B	淡青(-)	青白→淡青(-)	淡青(-)	青白(-)	淡青(-)	青白→淡緑	青白→淡緑	青白(-)	青白→緑	青白→淡黄	淡黄青	淡黄青	—
KMnO ₄	A	青白→淡青	青白→緑	青白→灰青	青白→淡灰青	青→淡青白	青白→黄緑	青白→黄褐	青緑→黄緑	青白→黄	青白→黄緑	黄緑→黄金	黄緑→黄金	—
	B	淡青(-)	青白→淡青(-)	淡青(-)	青白(-)	淡青(-)	青白→青	青白→淡緑	青緑(-)	淡青→緑	青白→藍青	淡黄	淡黄	—
濃度	A	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:500	1:500	1:10	1:10	1:100	1:30	1:30	
	B	1:1,000	1:500	1:500	1:5,000	1:100	1:1,000	1:10,000	1:10,000	1:10,000	1:10,000	1:50,000	1:100,000	1:100,000

註: 1. Aは濃厚溶液, Bは稀薄溶液で大々の濃度は表示した。
 2. (-)は螢光陰性或は消失を示す。
 3. T.B.P.はTetra brom phenol phthaleinの略。
 4. T. chlor acet.はTrichlor acetic acidの略。
 5. →印は螢光色調の段階的變移を示す。*印は微細な沈澱を生じそれが螢光を發するもの。

第7表に示した如く発熱物質と蛋白質, アミノ酸及びペプトンの螢光学的定性反応を, 主として濃硫酸を試薬として用い, この際におこる色調變化を觀察したところ, 発熱物質は青白色が最後に暗紫色となつたが, 純蛋白質, ペプトンは黄金色, トリプトファン, チロジンでは黄緑色となり, 発熱物質は光化学的にも蛋白性の物質とは全く別個のものとの成績を得た。

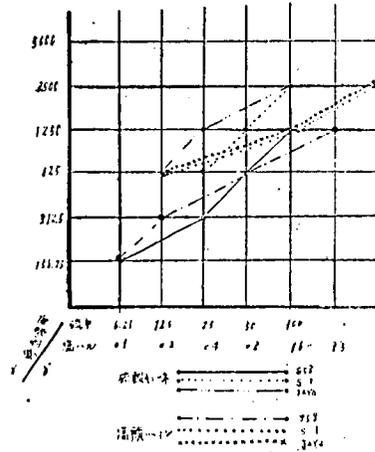
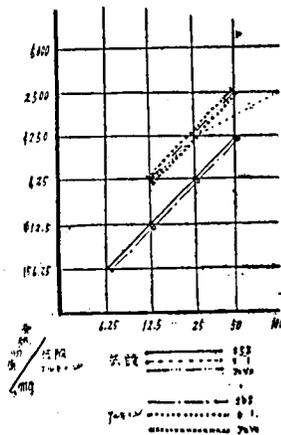
4. 螢光の強さと發熱量との關係

市販の尿管内注射薬中螢光反応陽性のものは, 副作用の發現と関連性がある。但しその螢光の強さには段階があり,

あるものは強く鮮明に、あるものは弱く不鮮明にあらわれる。そこでこの螢光色調の度合と発熱性特に発熱量との関係について検討して見ることにした。対照には発熱物質と全く同色系を示す核酸(以下 NS. と略す)とアルギニン(以下 A.G. と略す)を、また比較的類似した螢光のみられる硫酸キニーネと塩酸ハルミンとを用いた。

測定方法は溶媒として蒸留水を用い、これに各試薬の一定量を溶解して検体とし、その際の螢光を予め所要量の発熱物質の溶解してある蒸留水を対照にとつて、その各々に紫外線を照射して肉眼的に比較観察した。その詳細は第 6 表その 1、その 2 に示した。

発熱物質は使用量と螢光色の間に直線関係を認めるが、N.S. 及び A.G. は発熱物質と同色系の色調を出すに要する調製量は、かならずしも比例的とはならないものがあるが大体に於て直線関係が得られた。そこで仮にこの両者の関係が、螢光色調及び個々の使用量に於て比例したとし、発熱物質の螢光色調を出すに要する既知螢光物質(N.S. 及び A.G.) の使用量との値は一直線上に集るとすれば、これより次の関係式が成立つ。



第 3 表 螢光色調と発熱量との関係

その 1. 核酸及びアルギニンと発熱物質

その 2. 硫酸キニーネ及び塩酸ハルミンと発熱物質

即ち発熱物質及び螢光物質の稀釈を倍數稀釈即ち等比級数に行くと、稀釈倍數 $r=2$ 、発熱物質の表示最低螢光濃度 $=a$ 、供試螢光物質の最低螢光濃度 $=b$ 、発熱物質が螢光物質と同じ色調を呈する最高濃度に達する倍數 $=n$ 、螢光物質の発熱物質と同色調を呈する最高濃度に達する倍數 $=n'$ とすれば、その公式は $\frac{a(1-r^n)}{1-r} : \frac{b(1-r^{n'})}{1-r} = R$ となる。したがつて発熱物質の量 Y は、既知螢光物質 X を使用した場合、 $R(X-b)+a=Y$ となる。

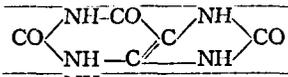
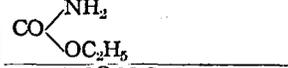
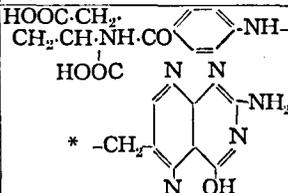
次に発熱物質と硫酸キニーネ(以下硫キと略す)及び塩酸ハルミン(以下塩ハルと略す)との関係についてみると、これは N.S. 及 A.G. の場合に較べると、両者の間に顯著に相似した平行関係は余り認められないが、個々の場合の量的関係では大体平行する曲線がみられた。

以上の如く発熱物質の螢光色と、既知螢光物質の螢光色との間に一定の類似螢光色並に一部のものでは、等比級数的な関係式の成立がみられる。このうち発熱物質と N.S. と A.G. とはかなり正確な実験式が成立するも、それらは量的にも物質にもそれ自身のもつ螢光は弱い為、発熱物質と同程度の類似した螢光を出す為には、相当量の N.S. 及び A.G. が必要となる。

更に著者が市販アンプル中より検出した螢光性不良アンプル中にも、螢光の強いものかならずしも強烈な発熱作用ありとはかぎらず、螢光色調と発熱性との一致した成績は認められなかつたから、螢光色調の強弱と発熱物質との関係は一応上述のような相関的成績は成立するとしても、実際的にはかなりの例外の出現が予想されるわけである。

5. 各種アミノ酸(有機酸及びその他)の螢光と發熱試験¹⁷⁾

蛋白質とかアミノ酸を生体に注射した場合、發熱原因となるかどうかについては従来より種々の疑問がもたれておるが、健康家兔に健康血清を Pro-kg 3 cc 宛靜脈内注射しても發熱その他の特記すべき副作用は何等認められない¹⁸⁾¹⁴⁾。たゞ免疫血清中に石炭酸が防腐濃度に加えられある場合には、注射直後数分間、クランプの起るのを認め

び そ の 他	タウリン	$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$	0.1	-	1	-0.1	-
	尿素	$\text{H}_2\text{N}\cdot\text{CO}\cdot\text{NH}_2$	2.0	-	2	+0.4	-
	チオ尿素	$\text{H}_2\text{N}\cdot\text{CS}\cdot\text{NH}_2$	0.1	-	1	-0.8	±
	グアニジン	$\text{HN}\cdot\text{C}\cdot(\text{NH}_2)_2$	0.1	淡黄	1	+0.6	±
	グアニド醋酸		0.1	-	1	+0.3	-
	尿酸		0.1	-	1	+0.4	-
	ウレタン		0.1	-	1	-0.7	±
	N-メチル-N-アセチル-ウレタン	$\text{H}_3\text{C}_2\text{O}\cdot\text{CO}\cdot\text{N}\cdot\text{CH}_3$ COCH_3	0.1	-	1	+0.9	±
	葉酸		0.1	-	1	+0.4	-

以上の実験よりアミノ酸、脂肪酸、グアニジン及び尿素誘導体等は著明な発熱源とはならないが、屢々疑陽性を示すものが認められる。構造上からは明解な説明をなす根拠は得られなかつたが時として分子量の大きいものゝ方が小さいものよりもむしろ発熱は陰性を示す成績がみられ興味深い。

IV. 発熱物質の抗原性について

従来細菌性伝染性疾患に見られる発熱現象は生体対細菌間の特異的反応現象としてみられ、いわゆる特定の細菌毒素がその要因として指摘されてきたところであるが、著者の研究によつて、更に菌体内毒素以外に確たる発熱物質なる存在が想定されるに至つた。かかる発熱物質を頻回に家兎に注射すると発熱不感状態となることが認められたのでこの発熱物質の抗原性について二、三の検討を試みた。

1. 實驗材料

使用した菌種は *S. typhi* (S. 58), *S. paratyphi A* (S. 1), *S. paratyphi B* (Java) の3種である(これよりの発熱物質の精製法は先きに報告したので省略する)。培養濾液 5 L より腸チフス菌は 70~100 mg, パラチフス A 菌は 50~80 mg, パラチフス B 菌は 160~200 mg に淡褐色粉末として得られる。

発熱量は *S. 58*, *S. 1* は家兎に対して pro. kg 50 γ で発熱陽性, 25 γ で発熱疑陽性, 10 γ で陰性である。Java は Pro. kg 50 γ で疑陽性, 75 γ で陽性となつた。なお *S. 58* は健康馬及び伝染性貧血病馬に対し Pro. kg 30~50 γ で発熱陽性となつた。

毒性は体重 12 g マウスに対し、静脈内注射による最少致死量は Java は 10 mg の注射で7日間以上生存したが、*S. 58*, *S. 1* は 5 mg であつた。

2. 家兎と発熱不感状態

健康家兎3匹を一群としこれに発熱物質 (*S. 58*) を Pro. kg 100 γ 宛注射した。体温は注射直前及び注射後30分1時間, 2時間, 3時間の5回にわたつて測定し、この間体温が 1° 以上、上昇した場合を発熱陽性とし、便宜上 0.9° 以下は陰性とした。実験の総日数は60日間での間、注射の間隔は連日注射或は1日, 2日, 3日, 4日, 5日, 7日及び10日おき注射の8群とした。その結果は第10表に示す如く1回使用した家兎は5日間以上休養させれば次の発熱試験に用いて支障ないようである。これに反して頻回に注射した場合はそれに比例して顯著に発熱不感状態が認められた。したがつて発熱試験に一度使用した家兎は最少限5日以上の休養期を必要とするものと思われる。

3. 免疫學的性質

第 10 表 家兎の発熱耐性状態

日数(日)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	
連日	$\frac{4}{1}$	$\frac{3}{2}$	$\frac{4}{1}$	$\frac{3}{2}$	$\frac{2}{3}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{2}{3}$	$\frac{2}{3}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{3}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{27}{33}$
1日	$\frac{3}{0}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{2}{1}$	$\frac{0}{2}$	$\frac{3}{0}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{16}{14}$
2日	$\frac{2}{0}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{14}{6}$
3日	$\frac{2}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{11}{4}$
4日	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{10}{2}$
5日	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$		$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$		$\frac{10}{0}$
7日	$\frac{1}{0}$	$\frac{1}{0}$		$\frac{8}{0}$									
10日	$\frac{1}{0}$		$\frac{6}{0}$										

注：分母は発熱陰性、分子は発熱陽性を示す。以下の表もこれに準ず。

1) 発熱物質と菌体免疫血清との反応

S. 58 及び S. 1 の発熱物質と Salmonella 菌及び赤痢菌属の菌体免疫血清との間の沈降反応をみるために、S. paratyphi A. S. paratyphi B. S. typhi murium. S. thompson. S. narashino. S. anatum S. senftenberg. 志賀菌、駒込 B III 菌、箕田菌、西貢菌等の菌体家兎免疫血清を使用した。成績は第 11 表に示した。

第 11 表 発熱物質と Salmonella 属、赤痢菌属 免疫血清との沈降反応

1. S. paratyphi A (S1) よりの発熱物質

2. S. typhi (S58) よりの発熱物質

免疫血清の種類	沈降元稀釈度									
	500	1,000	5,000	10,000	50,000	100,000	250,000	500,000	1,000,000	1,000,000
S. paratyphi A	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
S. paratyphi B	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-
S. typhi	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
S. senftenberg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S. typhi murium	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
S. thompson	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S. narashino	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S. anatum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
赤痢菌(志賀)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
〃 (KBIII)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
〃 (箕田)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
〃 (西貢)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
健常血清	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

かく発熱物質は該当する菌体免疫血清との間の沈降反応は陽性となるが、それは抗元構造と結びつけて考えられる

ようなものではなく寧ろ非特異的の反応と見られるもので、菌体内毒素に見られるような特異的の反応とはその意義を異にするものと思われた。

2) 免疫元性

細菌性発熱物質の頻回注射後における発熱不感状態の発現は免疫の成立と関係するかどうかをまず凝集反応により確かごとくして、発熱物質 S. 58, S. 1 及び Java の各々を各別の家兎に毎日 0.2 mg 宛 60 日間連続注射し、その注射全量は 12 mg に達した。

第 12 表 家兎免疫と凝集反応

発熱物質	区分	日 数																	
		10			20			30			40			50			60		
		発熱度	発熱度	凝集反応															
S. paratyphi A	(S 1)	$\frac{8}{2}$	$\frac{6}{4}$	(-)	$\frac{5}{5}$	$\frac{2}{8}$	(-)	$\frac{3}{7}$	$\frac{2}{8}$	(-)									
S. paratyphi B	(Java)	$\frac{8}{2}$	$\frac{7}{3}$	(-)	$\frac{7}{3}$	$\frac{2}{8}$	(-)	$\frac{7}{8}$	$\frac{2}{8}$	(-)	$\frac{7}{8}$	$\frac{1}{9}$	(-)	$\frac{7}{8}$	$\frac{1}{9}$	(-)	$\frac{7}{8}$	$\frac{1}{9}$	(-)
S. typhi	(S. 58)	$\frac{7}{3}$	$\frac{9}{1}$	(-)	$\frac{6}{4}$	$\frac{7}{3}$	(-)	$\frac{6}{4}$	$\frac{6}{4}$	(-)									

第 12 表に示した如く細菌性発熱物質による免疫家兎血清中には凝集素の産生は見られなかつたので、免疫学的には完全抗原ではなく haptens 様のものと解される。

V. む す び

著者は発熱物質の化学的並に細菌免疫学的本態について二、三の考察を試みた。その結果 1) 著者の得た 7 種の発熱物質について試みた定性反応、元素分析の結果からは、蛋白質的なものを肯定する何等の成績も得られず、むしろ時としては多糖類の含有を想像せしめたが、明確な本態についてはなお検討を重ねる必要がある。

2) 紫外線照射試験による蛍光反応の有無と吸収スペクトル測定値、就中吸収曲線の類似と吸収極大(2650 Å)の一致、更にこの吸光係数の比率と発熱量との比率との相関性などについて再確認を行った。これらは今後この方面の研究のよりどころとなると思う。

3) 明確な蛍光反応を得る紫外線の波長は 3600 Å の透過波長(透過率 50~60%)のところが最適で、その鋭敏度は発熱物質では 1,000~120,000。蛋白質では 10,000~50,000 アミノ酸(トリプトファン、チロジン)では 20,000~200,000 である。

4) 発熱物質、蛋白質、ペプトン及びアミノ酸等の濃厚或は稀薄溶液について、蛍光学的に定性試験を試み、同時に発熱試験を行った。濃厚溶液に濃硫酸を添加すると、発熱物質では青白色→淡青白色→暗紫色の蛍光色調の変化がある。蛋白質では青白色→桃紫色→黄緑色→黄白色となり、アミノ酸中トリプトファンでは青白色→黄緑色→橙黄色に、ペプトンは青乳白色→黄緑色→紫黄色→黄白色と段階的に蛍光色調は変化した。その本態は不明であるが、物質構造の差異並にその分解過程の推移の差によるものと思われる。

5) 市販注射薬中に存在する蛍光アンプルの蛍光色調の強弱と発熱度の関係については、発熱物質の適当量を無蛍光葡萄糖液(20% 葡液)に加え発熱量と蛍光色調について吟味した。なお核酸、アルギニン、塩酸ハルミン、硫酸キニーネ等を用い、発熱とは無関係に発熱物質と同系類似色調を出す標示品の調製が可能なることを知った。

6) 腸チフス菌、パラチフス A 及び B 菌より得られた 3 種の発熱物質とサルモネラ菌及び赤痢菌属の菌体免疫血清との間の沈降反応は、パラチフス A 菌免疫血清と発熱物質(S. 58)は 10,000 倍、発熱物質(S. 1)は 50,000 倍、パラチフス B 菌免疫血清とは S. 1 は 1,000 倍、鼠チフス菌免疫血清とは S. 58 は 50,000 倍、S. 1 は 10,000 倍、腸チフス菌免疫血清とは、S. 58 は 10,000 倍迄陽性で他のものはいずれも 500 倍で反応は陰性であった。即ち発熱物質をもつてする免疫血清との間の沈降反応は非特異的の反応と見るべきで、体内毒素に見られる特異的の反応とは異なるものと思われる。

7) 腸チフス菌、パラチフス A 菌及び B 菌より得られた 3 種の発熱物質は、その発熱量を一定日数(5 日間以上)休止期なく頻回にわたり家兎に注射すると、家兎は発熱不感状態となり遂には発熱陰性率は陽性率よりも高くなる。また 1 日 0.2 mg 宛 60 日間連続注射(注射総量 12 mg)すると、日時の経過と共に発熱陽性率は低下し逆に陰性率

は一層高度を示すようになる。このような状態の家兎より採血し、凝集反応を試みたが陰性であつた。即ち発熱物質は免疫学的には完全抗原ではなく haptene 様のものと解される。

終りに臨み御懇篤なる御指導及び御校閲をたまわつた恩師入田貞義博士に深甚の謝意を表します。また本実験をなすに当り御援助をいただいた東北大学黒屋教授並にサルモネラ菌属等の免疫血清を御分與下された、国立予防衛生研究所副所長小島三郎博士に衷心より深謝致します。なお本研究は昭和24年度文部省科学研究費補助によつてなされた。

引用文献

- 1) Seibert F. B. : Am. J. Physiol., 67, 90, 1923.
- 2) Siebert. F. B. : Am. J. Physiol., 71, 121, 1925.
- 3) Robinson, S. Flusser A : J. Biol. Chem., 153, 529, 1944.
- 4) 小林, 浦口 : 総合医学. 5(11), 4, 1948.
- 5) 小林, 浦口 : 総合医学. 6(2), 6, 1949.
- 6) 浦口 : 生体の科学. 1 (2), 23, 1949.
- 7) 浦口 : 総合医学, 6(17), 4, 1949.
- 8) 浦口 : 総合医学. 6(18), 11, 1949.
- 9) 入田, 青山, 丹治 : 総合医学. 6(17), 7, 1949.
- 10) 入田, 青山, 丹治, 田中 : 公衆衛生学雑誌. 5(1), 26, 1948.
- 11) 入田, 青山, 丹治, 春田 : 公衆衛生学雑誌. 5(7), 20, 1949.
- 12) 入田, 青山, 丹治, 春田 : 公衆衛生学雑誌. 5(7), 27, 1949.
- 13) 入田, 青山, 丹治 : 総合医学. 6(16), 4, 1949.
- 14) 入田, 青山, 丹治, 菊地 : 最新医学. 4(12), 32, 1949.
- 15) 志方 : 医学研究. 19(5), 29, 1949.
- 16) 入田, 青山, 丹治 : 日本医事新報. 1326, 9, 1949.
- 17) 入田, 青山, 丹治, 春田 : 日本医事新報. 1365, 13, 1950.
- 18) 入田, 青山, 丹治, 牧野 : 総合医学. 7(13), 18, 1950.

Studies on the Bacterial Pyrogenic Substances.

Specially on their Nature from the View-point fo Fluorescence Reaction

(Kosaku AOYAMA)

1. The author isolated 7 sorts of pyrogenic substances from various microorganisms. According to the qualitative and elementary analysis, it seems that they may be polysaccharide nature rather than protein substance, but the nature of these substances are to be furtherly studied in detail.
2. The fluorescence reactions and absorption spectra of these substances are investigated, and the interrelationships between the pyrogenicity and these reactions are quantitatively studied.
3. Fluorescence tests are performed on pyrogenic substances, protein, pepton and several amino acids, and on the relations between chemical structure and fluorescence.
- 4 Using nucleic acid, arginine, harmine hydrochloride or chinine sulfate, the author succeeded to prepare the indicator of fluorescence of pyrogenic substances.
- 5 The precipitation reaction, between 3 sorts of pyrogenic substances from typhoid and paratyphoid A or B bacilli and anti-protein-serum obtained from salmonella or shigella, are considered to be non-specific.
- 6 According to the repeated injections to rabbits, the pyrogenic substances seem to be haptene nature immunologically.

アクリチンのスルフォニアミド誘導体 “Sulfarivanol” に關する研究 (第一報)

八田 貞 義 山口 一 孝 青山 好 作
丹 治 園 枝 安 部 壯 平

Experimental Studies on the Anti-bacterial

Action of Sulfarivanol,

a New Sulfonamide Derivative of Acridine

Sadayoshi HATTA, Kazutaka YAMAGUCHI, Kosaku AOYAMA

Sonoë TANJI and Sohei ABE

I. ま え が き

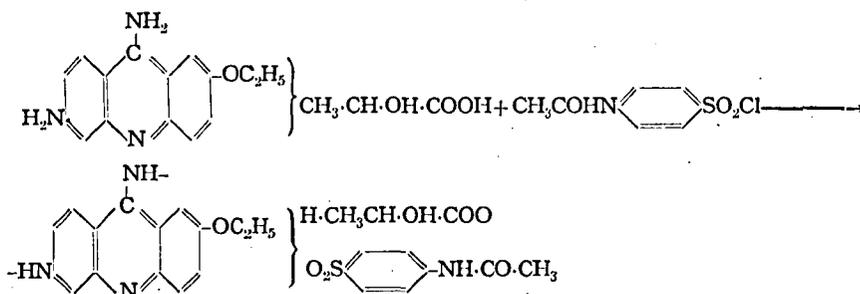
Ehrlich のサルバルサンに端を発した化学療法は、かの Domagk による Prontosil の発見とそれにつよく各種の Sulfonamide 誘導体の合成、Fleming に始まる抗生物質による新たな化学療法への展開と、飛躍的進歩を遂げ、グラム陽性菌による疾患に対しては、ほぼ満足すべき効果を示している。更にグラム陽性及び陰性菌に対し効果のある、ニトロフラン誘導体がアメリカ及びわが國に於て合成され¹⁾、新たに注目をひくに到つた。

入田等⁷⁻¹⁰⁾も同一製剤を調製して実験し、ほぼ同様の成績を確認した。

こゝに報告する新合成薬 “Sulfarivanol” (以下 S. R. と略す) なる新合成薬は、好気性菌及び嫌気性菌に対し甚だ有効なる抗菌性をもつばかりでなく、化学療法剤研究への新たな展開を招来するものとして興味深いものがある。

II. “Sulfarivanol” の構造並びに合成について

草味、山口等により創製された新合成薬 S. R. は融点 313° の淡黄色微細鱗片状品でアクリチンの誘導体である。Rivanol (以下 R と略す) は Acetamino benzene sulfamyl 置換体で分子式は $C_{20}H_{20}O_7N_4S$ に一致するが其の合成法は次の通りである。



即ち Ethoxy 6,9 diamino acridin lactate (Rivanol) に p-Acetaminobenzene sulfochloride を重碳酸ソーダアルカリ性で Acetone 溶媒中で縮合させる。

本化合物の Sulfonamide 基が6位に結合しているか或は9位に結合しているかは今のところ明らかでないが後日山口等によつて詳細に報告されるであろう。

【實 験】

攪拌器、冷却器、溫度計を附した三ケイフラスコに良く乾燥した中性の acetone 100 cc を入れ水浴上に攪拌を始めながら p-Acetamino-benzene-sulfochloride 11 g を加えて溶解させる。これを徐々に加熱しながら Ethoxy 6, 9. diamino acridine lactate 17.1 g, 重碳酸ソーダ 6.5 g を加える。溫度は 40° を超えることなく約1時間攪拌加熱を続けると、反応の結果生成した黄色結晶性沈澱を以てフラスコ中は充されて来る。引続き溫度に注意しながら2時

間反応を継続する。反応終了後冷えてからす早く acetone を瀧し、生成物は水を以てアルカリを洗う。(この際アルカリのついているまま永く空気中に放置すると生成物は褐色となるから、注意する)

濾別した成績物を乾燥すると融点 297° を有する粗製品が得られる。これを無水酒精から再結晶して 310~313° の黄色鱗片晶 8 g を得た。

[元素分析]

試料 3.143 mg CO₂ 6.570 mg H₂O 1.660 mg

C₂₀H₂₀O₇N₄S として 計算値 C 56.46, H 5.18; 実験値 C 57.01 H 5.87

試料 2.480 mg 0.220 cc (13.° 758 mm)

計算値 N 10.37 実験値 N 10.34 (元素分析は伝染病研究所第7研究部分析室に依頼した)

上記の実験結果を得るまで前後5回行つた実験を簡単に第1表にまとめると次の如くである。

第 1 表

	原 料				反応 温度	反応 時間	粗製 品收 量	粗製 品融 点	再結 晶收 量	反 応 状 況
	R	A. C	NaHCO ₃	Aceton						
1	g 17.1	(粗) g 11.0	g 6.5	cc 100	56°	時間 3	g 10	297°		反応温度をアセトンの沸点まで上げて行つた A.C は粗製を用いた (含水) 水より再結晶し m.p. 308~309° のものを得た。
2	17.1	(粗) 11.0	6.5	(無水) 100	56°	3	10	297°		アセトンは無水を用いたが反応の進行につれて橙色となる。水より3回再結晶して m.p. 310° のものを少量得た。
3	17.1	(再結) 11.0	6.5	(無水) 100	56°	3	10	297°		A. C は再結晶したるものを用い且無水であつたが今回もアセトンが橙色となつた (高温のためらしい) 然し反応温度 40° 位で反応が著しく活潑なることを発見した。
4	17.1	(再結) 11.0	6.5	(無水) 100	40°	2	20	307°	g 5	今回は温度を 40° 以下にしたためアセトンも橙色とならず粗製の収量は多かつたが短時間のため未反応物が多分にあつた。水より1回再結晶せるものをアルコールより再結晶して黄色鱗片状晶 m.p. 313° のものを得た。
5	17.1	(再結) 11.0	6.5	(無水) 100	40°	3	22	307°	g 8	時間を3時間にし温度 40° 以下としたので収量がよかつた。無水アルコールで再結晶し m.p. 313° のものを得。得量もよい。

註) 1. 表中 R は Rivanol.

2. 表中 A. C. は p-Acetoamino-benzene-sulfochloride.

III. 普通培地に於ける抗菌力

好気性菌は普通ブイオンを (肺炎双球菌, 溶血性連鎖球菌, 淋菌は 2% 血清ブイオン). 嫌気性菌にはチオグリコール酸塩培地を用いて検体を所要濃度に稀釈した。

被検菌の培養液を 10 万倍に稀釈し、(嫌気性菌は 10 倍稀釈) その 0.1 cc 宛を S.R. の稀釈液に移植して培養し、168 時間後観察時に於ける菌完全増殖阻止の最低濃度をもつて殺菌濃度とした。この成績は第 2 表に示した。

第 2 表の成績を要約するとブイオン培地に於ける S.R. の好気性菌に対する抗菌力を R. と比較すると、2, 3 の菌を除く他はほぼ同程度か或はそれより低い力價であつたが、S.T. と比べると約 100 倍前後の力價のひらきを示した。嫌気性菌に対しては逆に R よりも高い値を示して注目された。なお対照として用いた H.S. に比すると類似した成績であつたが、2, 3 の菌株に対してはむしろ高い値を示した。

IV. 合成培地に於ける抗菌力

黄色葡萄球菌 (寺島株, Heatley 株, 及び F.D.A. 209 p 株) 赤痢菌 (志賀菌及び箕田九大 X 菌), コレラ菌に対し

第 3 表 培 地 処 方

1. カゼイン水解培地		2. Kirchner 培地	
Na ₂ HPO ₄	2.5(g)	Na ₂ HPO ₄	3.0(g)
KH ₂ PO ₄	0.35	KH ₂ PO ₄	4.0
Tryptophan	0.02	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.6
Cystine	0.05	Sodium Citrat	2.5
Dextrose	1.00	Asparagin	5.0
Nicotin acid	10 ⁻⁴	Glycerin	20(cc)
VB ₁	10 ⁻⁴	Distilled water	1000(cc)
Distilled water	1000(cc)		pH 7.0
	pH 7.2	4. 大腸菌 (Aerobacter aerogenes)	
3. 大腸菌 (Coli Communis)		NH ₄ H ₂ PO ₄	1.5(g)
KH ₂ PO ₄	5.0(g)	K ₂ HPO ₄	1.0
NH ₄ Cl	0.5	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5	Sodium Citrat	2.5
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.001	Distilled water	1000(cc)
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.001		pH 7.2
Dextrose	1.0	6. 鼠チフス菌 (S.9)	
Distilled water	1000(cc)	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5(g)
	pH 7.2	NaCl	0.05
5. 腸チフス菌 (S.57)		K ₂ HPO ₄	0.2
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5(g)	Dextrose	0.1
NaCl	0.05	Distilled water	100(cc)
K ₂ HPO ₄	0.2		pH 7.2
Dextrose	0.1	7. 黴 菌	
Tryptophan	0.05	Asparagin	10.0(g)
Distilled water	100(cc)	Dextrose	5.0
	pH 7.0	KH ₂ PO ₄	2.0
		Na ₂ HPO ₄	2.5
		Mg ₂ SO ₄ · 7H ₂ O	0.4
		Distilled water	1000(cc)
			pH 7.2

で、実験応用上の意義も勘案して、毒性の点について、R. との比較検討を試みた。

毒性を知る為に、体重約 15g 前後のマウス 3 匹を一群とし S.R. 及び R. の 5・8・10・15 及び 20 mg を経口投與したところ S.R. の 8 mg では全頭生存したが、10 mg では 1 匹、15 mg では 2 匹 20 mg では全頭斃死し、S.R. の経口投與に依る最小致死量は 10 mg であつた。R. は 5 mg では全頭生存したが、8 mg では全頭斃死し、最少致死量は 8 mg であつた。すなわち S.R. の毒性は比較的僅少で且つ R. より毒性の弱いことは、Sulfonamide 基結合の意義を証するものとして興味深い。

2) 生体内に於ける抗菌力價

S.R. は普通培地及び合成培地に於て、赤痢菌及びコレラ菌に対し特に有効に作用したので、Marshall, Braton 等の方法にならい、腸内限局性疾患に対する効果のめやすとして、マウス糞便内大腸菌群数の減少状況をうかがつてみた。即ち 15g 前後のマウス 7 匹に 2 日間、午前と午後の 2 回、S.R. は 6 mg、S.T. 及び S.G. は 10 mg を胃内に経口投與し、31 日目の午前にマウスの糞便 0.1g をブイヨンにて 1 万倍稀釈し、この 1cc を遠藤平板に混積培養して菌数を測定した。第 3 表に示す如く供試薬投與前の菌数と投與後のそれとの平均菌数比較は、S.R. は 1/40、S.T. は

2/5, Sulfaguanidine は 1/4 となり, S.R. は実に Sulfaguanidine の 10 倍に達する効果を示している。

第 4 表 合成培地に於ける抗菌力

供試菌	S.R.	R.	S.	S.T.
黄色葡萄球菌(寺島)	$\times 10^{-4}$	$\times 10^{-4}$		
" " (Heatley)	10^{-4}	10^{-4}		
" " (F.D.A.209P)	10^{-4}	10^{-4}		
赤痢菌(志賀)	10^{-5}	10^{-5}	$\times 10^{-3}$	$\times 10^{-5}$
" " (箕田九大X)	10^{-5}	10^{-5}	10^{-3}	10^{-5}
" " (駒込BⅢ)	10^{-5}	10^{-5}	10^{-3}	10^{-5}
コレラ菌(稻葉原型)	10^{-5}	10^{-5}	10^{-3}	10^{-5}
" " (浦賀3号)	10^{-5}	10^{-5}	10^{-3}	10^{-5}
大腸菌(Aerobacter aerogenes)	10^{-4}	10^{-5}	10^{-3}	10^{-5}
" " (Coli communis)	10^{-4}	10^{-5}	10^{-3}	10^{-5}
腸チフス菌 (S.57)	10^{-4}	10^{-5}	10^{-3}	10^{-5}
鼠チフス菌 (S.9)	10^{-4}	10^{-5}	10^{-3}	10^{-5}
盤菌	10^{-4}	10^{-5}	10^{-3}	10^{-5}
人型結核菌 (Frankfrt)	$<10^{-4}$	$<10^{-4}$		
鳥型結核菌 (Flaming)	$<10^{-4}$	$<10^{-4}$		
抗酸性菌	$<10^{-4}$	$<10^{-4}$		

第 5 表 マウス糞便内菌数による効果測定

SR		ST		SG	
投與前	投與後	投與前	投與後	投與前	投與後
62	0	27	12	90	76
24	1	60	32	12	0
601	11	81	57	840	51
56	0	94	40	476	222
31	0	191	16	122	5
66	4	174	45	41	6
588	19	229	98	8	1
平均値	1/40		2.5		1/4

VII. む す び

新合成薬 "Sulfarivanol" は各種病原菌中赤痢菌、コレラ菌に対し特に有効に作用し、その他の菌に対しては R. よりも抗菌力が弱かったが、嫌気性菌に対しては 2, 3 の菌を除き R. よりも高く、ほぼ H. S. と類似した力価を示して注目された。

マウスに対する経口投與による最小致死量は 10 mg で R. の最小致死量 8 mg に比較すると幾分減弱するのがみられたのは Sulfonamide 基導入の意

義を示すものとして興味深く感ぜられた。マウスに本剤を経口投與して、その前後に於ける大腸菌群数の減少を比較すると S.R. は実に S.G. の 10 倍に達する効果を示した。この事実は腸内限局性疾患に本剤を用いた場合、優秀な治療効果を示すであろうことを示唆するものである。

本研究は學術研究会議伝染性疾患研究特別委員会の研究費援助によつてなされた。科会長小島三郎博士に感謝します。

引用文献

- 1) Dodd and Stillman : J. Pharmacol. 82. 11, 1914.
- 2) D. L. Cramer. M. C. Dodd : J. Bact. 51. 293, 1945.
- 3) D. L. Cramer : J. Bact. 54. 2, 1948.
- 4) 西海枝 : 薬学研究. 20. 24, 1948.
- 5) 東, 五井, 西海枝 : 薬学研究. 20. 30, 1948.
- 6) 木村, 東, 五井, 西海枝 : 第 21 回日本細菌学会演説 (昭和 23 年 5 月 3 日).
- 7) 入田, 青山, 丹治 : 衛試. 69 掲載予定 (昭和 26 年).
- 8) 入田, 青山, 丹治 : 東京医事新誌. 66. (10), 8, 1949.
- 9) 入田, 青山, 丹治, 春田 : 総合医学. 7. (12), 25, 1950.
- 10) 入田, 青山, 丹治 : 伝染性疾患研究特別委員会細菌性伝染性疾患科会研究会議にて口演 (昭和 23 年 10 月 1 日)

Experimental Studies on the Anti-bacterial Action of Sulfarivanol,
a New Sulfonamide Derivative of Acridine

(Sadayoshi HATTA, Kazutaka YAMAGUCHI, Kosaku AOYAMA, Sonoe TNAJI and Sohei ABE.)

The anti-bacterial action of rivanol and sulfarivanol, a new synthetic drug sulfonamide derivative of rivanol are compared In Vitro and In Vivo. Sulfarivanol acted more effectively than rivanol on Shiga dysentery bacilli and cholera Vibrio, but less potent to some different strain. It showed a little higher effect to strict anaerobes than rivanol, and almost same potency as homosulfamine. The M. L. D for mice by oral administration was 10 mg and that of Rivanol was 8 mg. The decrease of the lactose-fermenting flora of intestine was compared with rivanol for the purpose of measuring their effects within animal body by the oral administration. The effect of sulfarivanol was 10 times higher as that of sulfaguanidine. This suggests that this will be a utilizable therapeutic agent, when administrated for the localized disease of intestine.

薬用植物の土壤肥料學的調査 (第2報)

永田 武雄 岡島 秀夫

Studies on the Soil and Manure of Medicinal Plants (Part II)

Takeo NAGATA and Hideo OKAJIMA

著者等は第1報に於て衛生試験所構内土壤の性質を明かにし、又水稻の肥料試験の結果から窒素及磷酸の有効態成分量が著しく不足する土壤である事を確めた。猶本土壤を供試して朝顔、アメリカアリタソウの三要素試験を行い肥料の要求性を明かにしたが、本報は之に引續いて多作植物である大麦、ペニバナ、サフラン、コルヒクムの三要素試験を一応済ませたので茲に第2報として報告する。

第1章 大麦の三要素試験

従来水稻は磷酸の欠乏に対する抵抗性が可成り強いが、大麦は弱いと云われる代表的な作物であり、之等と薬用植物の抵抗性を比較対照する事は有意義と考えたので本試験を施行した次第である。

(1) 栽培試験の要領

供試土壤	試験所構内表土、ガラス室栽培。
容 器	5万分の1ワグナーポット。
肥 料	硫酸アムモニア、磷酸1石灰、硫酸カリを各要素として鉢当 0.40 g, 炭酸石灰 4.0 g, 慣行法に従い全量基肥。
品 種	虎の尾崎1号。
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。
播種月日	11月13日。鉢当 2 粒播種。
收穫月日	6月25日。

(2) 生育経過

播種1週間後の11月19日より発芽を始め21日発芽揃したので24日に第1回間引をし10本立とし、更に12月4日に第2回間引をして5本立とした。この第2回目に間引いた5本の幼植物上部の平均草丈及重量は第1表の通りであつた。

即ち要素欠除区は発芽後約半ヶ月で既に完全区に較べ稍劣つて居り特に無窒素区、無肥料区に明かであつた。この養分欠乏の徴候は12月6日頃より外観にあらわれ、無肥料区、無窒素区は葉が黄色を帯び、無磷酸区は緑色が稍強かつた。

12月下旬より1月上旬にかけて無磷酸区、無肥料区、無窒素区は葉の尖端が黄化し、草丈の生育も不良であつた。又完全区、無加里区は前記各区が直立型であるに對し横に扶がる匍匐型であつた。1月10日頃より完全区、無加里区は分けつを始めた。2月初旬より3月中旬にかけて無肥料区、無窒素区、無磷酸区は下葉1~3枚が白化した。又收穫期の葉は普通薄黄色であるが無磷酸区と無肥料区は帯緑色で磷酸不足の特有の徴候が見られた。

(3) 收穫成績

6月25日即ち播種後225日目に收穫した鉢当りの全本数、出穂本数、草丈、稈重量、子実粒数、子実重量、子実100粒当重量、地上部計重量、根部重量、地上部對根部の割合及び完全区を100とした場合の各区の收量指数は第2表の通りになる。

即ち本成績からすると無肥料区、無窒素区、無磷酸区、は全然分けつせず間引当時そのまゝの一木立ちであり、又この葉は收穫期に至るも穂朶みの儘で、出穂し得なかつたものが無磷酸区で9割、無肥料区で5割、無窒素区で2割

第1表 大麦発芽16日後の草丈及重量

	無肥料区	無窒素区	無磷酸区	無加里区	完全区
草 丈 (cm)	7.58	7.68	8.34	8.20	8.54
生重量 (g)	0.50	0.55	0.65	0.80	0.85

第2表 大麦の收穫成績

	無肥料区	無窒素区	無磷酸区	無加里区	完全区
全木数	5.0	5.0	5.0	12.0	17.5
出穂本数	2.5	4.0	0.5	5.0	5.5
草丈 (cm)	20.0	23.3	18.6	56.7	66.3
草体重量 (g)	1.09	1.04	1.00	5.88	7.83
同指数	13.9	13.3	12.8	75.1	100.0
子実粒数	0.5	12.5	0	207.0	233.0
子実重量 (g)	0.01	0.34	0	6.73	7.35
同指数	0.1	4.6	0	91.6	100.0
子実100粒当重量 (g)	2.00	2.72	—	3.25	3.15
地上部全重量 (g)	1.10	1.38	1.00	12.61	15.18
同指数	7.3	9.1	5.7	83.1	100.0
根部重量 (g)	1.30	1.35	1.15	5.93	6.22
同指数	20.9	21.7	18.5	95.4	100.0
地上部/根部	0.85	1.02	0.87	2.13	2.44

の多きに達した。無加里区、完全区も分けつは通常であつたが、無効分けつに終つたものが多かつた。肥料要素の影響は稈も子実の粒数重量も同様な傾向であるが子実の収量に特に顕著であり、無磷酸区、無肥料区の如きは出穂したものも殆んど全部が批で終つた。これは水稻の場合にも見られた現象で磷酸が子実の成熟に必要な事を如実に示すものと云い得よう。子実100粒当りの重量成績もこれを裏書きする。又根部の重量も地上部と略同様な傾向であるが、無肥料区、無磷酸区、無窒素区は地上部に対する根部の割合が完全区に比し大であつた。

水稻及麦類の日本全国の平均成績と衛生試験所構内土壤を用いて著者等が行つた第1報の水稻と本報告の大麦の比較対照表をつくると第3表の様になる。

第3表 水稻及麦の全国平均と構内土の成績比較

	無肥料区	無窒素区	無磷酸区	無加里区	完全区	
水稻	全国平均	52.4	54.4	88.3	91.1	100.0
	用賀土	10.7	16.5	5.7	79.8	100.0
大麦	全国平均	25.7	23.2	58.1	81.0	100.0
	用賀土	0.1	4.6	0	91.6	100.0

数字は完全区の子実収量を100とした場合の指数。本表からすると用賀土は加里の肥効は全国平均と大きな差はなく、概して低いが磷酸と窒素に著しく欠乏し殊に磷酸を施さないと分けつが行われず出穂率も低く

又たとえ出穂しても充実せず完全な子実の収量は皆無であつた。窒素も亦同様で完全区の5%にも達しなかつた。

(4) 大麥三要素試験成績要約

用賀土を用いた大麦の三要素試験の結果からすると、発芽後約20日で早くも外観上磷酸、窒素の不足の徴候があらわれ、生育は不良で分けつもせず收穫期に至るも出穂しない茎があり、又たとえ出穂しても批となり充実した子実の収量指数は無磷酸区0、無窒素区僅かに4.6であつた。

これを水稻に較べると無加里区は寧ろ高い収量指数を示したが磷酸、窒素の要求性は顕著に高い。又全国平均と比較すると有効態加里成分量は大差ないが磷酸、窒素に極めて欠乏した土壤である事が更に裏付けされた。

第2章 ベニバナの三要素試験

ベニバナ (*Carthamus tinctorius*. L. 英 Safflower) の紅花は管状花の花冠を乾燥したもので、花はサフロール黄 Safflor yellow $C_{21}H_{30}O_{15}$ (黄色素) とカルタミン Carthamin $C_{21}H_{32}O_{10}$ (紅色素) を含有する。紅花は婦人病に効あると云われ賣薬原料、又之より「ベニ」を製し食品の着色(菓子、かまぼこ)に用い、又婦人の口紅にも用いられ、紅花法なる一種の民間療法に多量に使用されるという。

稍乾燥した温暖な所を好み著しく肥沃な土地は莖葉のみ繁茂するから良くないと云われる。肥料は三成分中窒素を主とすべきであるが、肥沃な所は莖葉が繁茂し易いから、その用量を節減して適当に磷酸、加里を加用し肥料としては堆肥、厩肥、人糞尿、油粕類、過磷酸石灰、米糠、草木灰等が良い。地力中等な畑地の施肥量の一例は次の通りである(2)。

堆肥 150 貫、人糞尿 200 貫、過磷酸石灰 3 貫、炭灰 5 貫。

筆者等は用賀土を用いて三要素試験を行つたので以下その大要を述べる、

(1) 栽培試験の要領

供試土壤 試験所構内表土。ガラス室栽培。

容器	2 万分の1 ワグナーポット。
肥料	硫酸アンモニア、燐酸石灰、硫酸加里を各要素として鉢当 1g、炭酸石灰 10g を慣行法により基肥として施用。
試験区	無肥料、無窒素、無燐酸、無加里、完全区で第1章と同様。2 組制。
播種	10 月 23 日、鉢当 16 粒播種。
株摘	11 月 24 日、間引いて4本立とす。
收穫	開花当初の花弁は黄色であるが、漸次紅色に変わり遂には暗紅色となり後萎凋するもので花冠が鮮紅色を呈する頃を適期として其の都度頭花上の小花を指で摘み取り下方の白色部を除き風乾して試料にした。尙全草の收穫は6月6日に行つた。

(2) 生育経過

10 月 23 日に播種し、1 週間後の 11 月 1 日に発芽を始め、11 月 24 日に間引し、4 本立とした。当初の生育は各区共遅々として進まず、2 月中旬迄は甲乙ない状態であつた。其後区別に差を生じ完全区の生育最もよく次いで無加里区、無窒素区、無肥料区、無燐酸区の順位であつた。

開花は5月16日より始まり同27日迄続いたが一覧表として示すと第4表の通りであつた。

第4表 ベニバナの開花調

	5月16日	17日	18日	19日	20日	21日	22日	23日	24日	25日	26日	27日	計
無肥料区 { a						1					2		3
	b					2							2
無窒素区 { a		1			1				2				
	b	2			2								
無燐酸区 { a							1						
	b										1		1
無加里区 { a			1		1		1		1		2		2
	b	2			2		1		2				
完全区 { a					2		1		2		1	1	1
	b		1		1		1		3		1	1	1

各区の開花の平均日は無肥料区5月23日、無窒素区5月19日、無燐酸区5月24日、無加里区5月23日と成り、無窒素区の開花が早く次で無加里区、無肥料及完全区、無燐酸区の順位であつた。

(3) 收穫成績

紅花の收穫は適期に達した都度採花したが其の月日は第5表の通りであつた。

第5表 紅花採花調

	5月23日	24日	25日	26日	27日	28日	29日	30日	31日	6月1日	2日	3日	6日	平均
無肥料区 { a					1			1			1			月日 5.28
	b			2										
無窒素区 { a		1			1						2			5.26
	b	2			2									
無燐酸区 { a									1					6.3
	b											1		
無加里区 { a		1		1	1			1	1		1	2		5.27
	b	3		1	1	1		1	1					
完全区 { a				1	2	1			3			1		5.28
	b	1		1	1		2	2			1			

即ち無窒素区、無加里区、無肥料区及完全区、無燐酸区の順に平均採花された事になり、開花の平均順位と同一であつた。猶開花後5~10日で採花された事になる。全草の收穫は6月6日に行い風乾燥後調査した收穫成績は第6表

のようになる。

第 6 表 ベニバナの収穫成績

	無肥料区	無窒素区	無磷酸区	無加里区	完全区
草丈 (cm)	25.2	59.8	24.2	66.5	75.7
莖葉重量 (g)	0.41	2.35	0.30	5.74	6.12
同指数	6.7	38.4	4.9	93.8	100.0
紅花数	3	4	1	7	8
同重量 (g)	0.09	0.34	0.06	0.57	0.63
同指数	14.3	53.9	9.5	90.5	100.0
地上部重量	0.50	2.69	0.36	6.31	6.75
同指数	7.4	39.9	5.3	93.5	100.0
根部重量 (g)	0.05	0.28	0.02	0.56	0.71
同指数	7.0	39.4	2.8	78.9	100.0
地上部/根部	10.0	9.6	18.0	11.3	9.5

とした場合の各区の収量指数を水稻、大麦と比較すると第8表の様になる。

第 8 表 紅花の水稻、大麦との収量比較表

	無肥料区	無窒素区	無磷酸区	無加里区	完全区
水稻	10.7	16.5	5.7	79.8	100.0
大麦	0.1	4.6	0	91.6	100.0
紅花	14.3	53.9	9.5	90.5	100.0

るから肥料要素の要求性は余り強くなく、中でも窒素は普通の肥沃土と称せられる所には施用の必要はあるまい。適量の磷酸を水稻程度か又は多少少な目に施用すればよからう。

次に紅花の色素の強さを比較するために紅花をガーゼに包み最初蒸溜水中で黄色素の出なくなるまでよくもみ、この色の強さを比色管を用い、完全区を標準として比色し、次いで 5% の炭酸曹達溶液中で前と同様に紅色素の出なくなるまでもみ、色の強さを完全区と比較した所、第9表の成績を得た。数字は完全区を 100.0 とした場合の指数で示した。

第 9 表 紅花色素含量比較表

	無肥料区	無窒素区	無磷酸区	無加里区	完全区
Safflor yellow	60.5	47.1	27.3	101.9	100.0
Carthamin	76.2	101.3	35.5	11.30	100.0

かつたが Safflor yellow は少なかつた。

(4) ベニバナの三要素試験要約

ベニバナは当初の生育は肥料要素による差異は明瞭でないが、2 月中旬以降より確然とした影響を生じ、無磷酸、無窒素区は不良であつた。然し磷酸特に窒素の要求性は水稻、大麦に較べ強いので多肥する必要はなく普通の土壌では水稻程度の磷酸に少量の窒素を補給する程度でよからう。加里は特に不足した所を除き先ず施用の必要なからう。

磷酸の欠乏した場合は紅花の収量が低だけでなく開花、採花期が遅れ又 Carthamin の含量が著しく低いので注意を要する。

第 3 章 サフランの三要素試験

サフラン (*Crocus Sativus* L. 英 Saffron) は蕃紅花とも呼ばれ、この雌蕊の α -Crocin, β -Crocin, γ -Crocin の 3 種のカロチノイド色素を含有し鎮痙、通経或は芳香薬とされ、又食品、化粧液の着色料に用いられる。

冬期の寒冷に堪え積雪下にも生育するから東北地方の寒地にも栽培可能である。強粘の多湿地を除いて大方の土地に栽培される。排水不良地では病害に侵され易い。種球を作る場合には 1箇 4~7g 程度の小球を植付けてもよいが蕊の収穫を目的とする場合は少くとも 8g 以上の大球を植付ける必要があり、球の大なるもの程開花数も收量も多く、球莖の増殖率も亦球重に比例すると云う⁽³⁾。又サフランは養料攝取の度が少ないから栽培地が肥沃であるか或は

即ち肥料要素の影響は磷酸、窒素、加里の順位に減収したがその減収程度を莖葉部、花部、根部に分けてみると根部に最も強く影響し次いで莖葉部、花部の順位であつた。

地上部対根部の割合は正常に近いものは大麦では 2.3、ベニバナでは 10.0 内外であつたが収量の特到低い無磷酸区は大麦では 0.9 であつたが、ベニバナでは却つて 18.0 と増大した。即ち無磷酸区は地上部の割合に根部が著しく小であつた。

目的とする紅花の完全区を 100.0

即ち本成績からすると紅花の用賀土に於ける最小要素は水稻、大麦と同様磷酸であり、次で窒素であるが之等の収量指数は共に水稻、大麦に比し大で特に窒素は格段の差異がある

即ち無加里区は完全区に比し遜色なく寧ろ優つた成績であつたが両色素共に無磷酸区は少なかつた。無窒素区は Carthamin は殆んど差異な

前作に施した肥料の残効がある場合には施肥量を節減し得、時には無肥料にて栽培出来る。球莖中の成分含量は西ヶ原農研試験場の分析結果によると新鮮物百分中窒素 0.49, 燐酸 0.22, 加里 0.32 である。普通施肥期は収穫後 2 月末頃までに追肥として行われる。尚サフランの肥料は主として新たに形成される球莖の発育に利用され、開花期前に施用した場合も其の収穫量には殆ど関係がないと云われる⁽³⁾。

筆者等も前章と同様サフランの 3 要素試験を行つたので以下其の概要を報告する。

(1) 栽培試験の要領

供試土壌 試験所構内表土。ガラス室栽培。

容 量 植木鉢。

肥 料 硫酸アンモニア, 燐酸一石灰, 硫酸加里を要素として 2 万分の 1 ポットに換算し 1 g. 炭酸石灰 10 g の物に基肥として施用。

試験区 無肥料区 (Ca), 無窒素区 (Ca+P+K), 無燐酸区 (Ca+N+K), 無加里区 (Ca+N+P), 完全区 (Ca+N+P+K)。2 連制。

植 付 予め秤量した種球を鉢当 3 個宛 10 月 22 日に植付けた。種球の重さは 2.5~8.8 g の範囲にあり、和歌山分場で生産した普通の肥栽培管理によつたものである。

球莖の収穫 葉の尖端から漸次黄変を初め全葉の過半が枯黄したので 5 月 2 日収穫した。

(2) 生育経過

10 月 22 日植付けたものは 11 月初旬簇葉を発生し 11 月 20 日無窒素区に 1 球, 無加里区に 1 球, 完全区に 1 球開花したが他は開花しなかつた。開花球莖は重量 5.3 g 7.0 g 4.8 g のもので概して大きな種球であつた。

(3) 収穫成績

5 月 2 日収穫したが其の成績は第 10 表の通りである。(鉢当)

第 10 表 サフランの収穫成績

	無肥料区	無窒素区	無燐酸区	無加里区	完全区
植付球数	3	3	3	3	3
収穫球数	13.5	9.5	13.5	14.5	15.0
同増殖率	4.5	3.2	4.5	4.8	5.0
植付球莖重量(g)	12.0	10.0	13.4	14.5	12.0
収穫全球莖重量(g)	17.0	14.1	19.1	18.7	20.5
同増加率	1.4	1.4	1.4	1.3	1.7
同指数	82.9	68.8	93.2	91.2	100.0
全葉重量(g)	0.93	0.59	1.15	1.28	1.18
同指数	78.8	50.0	96.7	108.5	100.0
根群重量(g)	1.53	1.48	1.93	1.38	1.68
同指数	91.1	88.1	114.9	82.1	100.0

本成績からすると球莖数の増殖率は 3~5 倍で無窒素区に稍低い様であり、重量の増加率は 1.3~1.7 倍で完全区に稍高い。簇葉及根群重量は無窒素区に稍低い傾向はあるが今迄の 3 要素試験程大きな影響はなかつた。又球莖の増殖率は 3~5 倍であつたが、重量の増加は 1.3~1.7 倍程度であつた。栽培前後の種球の重さを個々に比較すると中には栽培前よりかえつて減少していたものもあつた。

以上要するに窒素欠除区は稍劣つた傾向はあるが今迄試験した作物の様に要素による差異は大きくない。これはサフランが養分の要求性が元來低いのか、それとも球根中の養分が利用され、土壌中の成分に余り依存しないで済むのに因るからであろうか、若し後者が主として原因するとすれば種球の大きな株からは収穫球莖量も亦多くなる筈であるから、試験の区別には無関係に全区を通じて植付球莖の重量と其の収穫球莖の重量との相関関係を見た所、 $r=+0.44$, $P<0.05$ となり、相関係数は余り高くないが、大きな球莖を移付けると収穫球莖量も一般に多く成るといふ稍信頼するに足る関係が認められた。

(4) サフランの 3 要素試験成績要約

サフランの開花は其の年施した肥料には無関係で、種球の一般に大きいものが開花する様で本実験では 5 g 程度以上のものが開花した。無窒素区は稍劣る傾向はあつたが、今迄行つた作物の様に要素の肥効は顕著でなかつた。これはサフランの成分が施した肥料成分又は土壌中の有効態の養分に余り依存しないで種球中の成分を利用する為と思われ。従つて種球の大きな株は収穫球莖量も一般に多く $r=+0.44$, $P<0.05$ という相関係数が得られた。

本試験に用いた種球は普通の肥栽培管理を一樣にしたものであるが、各区から生産した球莖を同一な区の種球として試験を更に繰返したならばいつかは肥効が顕著に出ようと思われるが、これは將來の研究を要する問題であろう。

第4章 コルヒクムの3要素試験

コルヒクム (*Colchicum autumnale* L.) は種中にコルヒチン Colchicin $C_{22}H_{25}NO_6$ を含有する植物でイヌサフランとも呼ばれ通常球茎によつて栽種される。本植物の3要素試験の結果は以下の通りである。

(1) 栽培試験の要領

- 供試土壤 試験所構内表土。ガラス室栽培。
 容器 2万分の1ワグナーポット。
 肥料 硫酸アンモニア、磷酸1石灰、硫酸加里を要素として各1g 炭酸石灰 10g を慣行法に従い基肥として施用。
 試験区 無肥料区、無窒素区、無磷酸区、無加里区、完全区、2連制。
 植付 各種球は重量測定後9月22日鉢当2球宛植付けた。1球の重量は11~38gの範囲であつた。
 收穫 6月23日、葉部の大部分が黄化し枯れ初めて居た。

(2) 生育経過

植付翌日の9月23日より早くも発芽を初め同月25日より9月初旬にかけて各株開花した。其後蘭様の葉を発生したが其の生育は外観上からは区別出来ない程度であつた。

(3) 收穫成績

6月23日收穫した成績は第11表の通りである。成績は鉢当りで示した。

	無肥料区	無窒素区	無磷酸区	無加里区	完全区	本種球は春日部同場で普通の肥培管理の下に生産したものである。球数及重量の栽培による増加は前章のサフランに較べ低かつた。又サフランと同様に肥料による差異は少なかつた。種球の重量とその株の收穫球茎の重量との相関係数を区別に関係なく算出すると $r=+0.38$, $P<0.1$ となり確かな相関はないが、種球の大きさに影響された傾向は覗われる。
植付球数	2	2	2	2	2	
收穫球数	4.0	4.0	3.5	2.5	3.0	
植付球重量(g)	26.7	24.1	26.3	26.1	32.7	
收穫球重量(g)	28.6	29.5	39.3	35.6	35.8	
球重増加率	1.1	1.2	1.6	1.4	1.1	
完全区を100とした場合	79.9	82.4	110.1	99.4	100.0	
葉部重量(g)	3.20	2.63	4.30	2.98	3.53	
根群重量(g)	2.40	2.05	1.97	0.75	0.85	

(4) コルヒクムの3要素試験成績要約

コルヒクムの開花は勿論球茎の数も収量も肥料要素による差異は少なく又種球の大きさと收穫球茎量の関係も明瞭でなく相関係数は $+0.38$, $P<0.1$ でサフランの場合より小さかつた。即ちコルヒクムの球茎の収量は肥料にも種球の大きさにも大した関係がない事になるが、これに就て次の様に考察出来まいか。本試験に使用した種球は概して大きく而もコルヒクムの全生産物中葉部及根群の占める割合は1~2割程度にしか達しないので之等の部位に消費される成分は僅かですむと見做し得る。従つて球茎中の成分で十分足りて猶余り有る場合は肥料にも種球の大きさにも大した影響が生じないと見られよう。依つて此種の試験はサフランの所でも述べた様に長年月繰返してみる必要がある。

要するに球根植物の肥料要素に対する影響は普通の種苗作物と異なり、其の成育は土壤及肥料の養分のみ依存する必要はなく、自体の球茎中の貯蔵成分を利用出来るので顕著な肥効が出ない様である。換言すると完全な球茎を植付ければ少くも其の年の肥料は余り問題視しなくても良い様である。

終りに臨み本試験の施行に當つて終始御指導御鞭撻を賜つた平山重勝部長、調査に手を煩わした兒島美津子嬢に厚く感謝の意を表する次第である。又研究費の一部は文部省科学研究費によつた。

文 献

- 1) 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)。
- 2) 刈米, 若林。薬用植物栽培法。33 (1913)。
- 3) " " 399~405 (1913)。

Claviceps litoralis KAWATANI による麥角の 寄生的栽培に関する研究 (其の 2)

川谷 豊彦

Toyohiko KAWATANI: Studies on the parasitic cultivation of ergot with *Claviceps litoralis*
KAWATANI (II)

目 次

第3章	ハマニンニク <i>Elymus mollis</i> TRIN.	150
第1節	一般性狀.....	150
第2節	開 花.....	152
第3節	稔 実.....	157

第3章 ハマニンニク *Elymus mollis* TRIN.

第1節 一般性狀

ハマニンニクはイネ科に属する多年生植物で、テンキ・テンキグサ・クサドウ・ブナ・ムリツ・ムレツ* 等と云ひアイヌ名にてはライムン・モロチ等と言ふ。

I 形 態**

ハマニンニクは群落をなして繁茂し、株は叢生し基部は広楕形の鱗片に擁せられ、根茎は砂中を匍匐横走し、粗強なる鬚根を發出する。莖は直生、単一にして、草高 60—120cm (時として 200cm⁽¹⁷²⁾) に及び、其の質強剛にして円柱形、中空、上部に密軟細毛を布く。葉は質厚く強靱、幅広き線形にして深緑色を呈しニンニクの葉に酷似してゐる。(春期萌芽時に特にその観がある。ハマニンニクの名のある所以である。) 葉は先端尖り旱天では内巻し刺状様をなし裏面平滑なれども上面稍々粗糙にして縦脈多し。長さ 10—60cm、幅 1—2cm である。節部は膨大にして無毛、細縦理多し。舌片は短く截頭である。穂狀花序は略々円柱形、直立、単一にして、長さ 15—30cm、初め緑色後緑白色となり、更に黄灰色となる。芒無く、中軸は有毛、17—40 節(平均 25.11±0.08 節)をつける。(第 33 表)

第 33 表 ハマニンニク (1 穂当) 節数の変異

材 料	節 間	モ ー ド	平 均 値	標 準 偏 差	変 異 係 数	測 定 数
E-1	18—40	26	27.45±0.18	3.76±0.13	13.69±0.47	200
E-2	20—36	26	26.78±0.16	3.28±0.11	12.25±0.42	200
E-3	18—27	23	23.12±0.09	1.80±0.06	7.77±0.26	200
E-4	19—26	23	22.98±0.09	1.94±0.07	8.45±0.29	200
E-5	17—37	25	25.21±0.20	4.25±0.14	16.86±0.58	200
総 括	17—40	25	25.11±0.08	3.65±0.06	14.53±0.22	1,000

材 料 :—	採 集 地	採 集 年 月 日
E-1	青森縣上北郡石町	7/VII, 1942
E-2	”	2/VIII, 1944
E-3	秋田縣南秋田郡船越町	8/VII, 1943

* 譯太では普通モロツと稱される。秋田縣南秋田郡船越地方ではトドクサと言ふ。

** 衛生試験所定報第 65 號(1944) 6 頁に發表されたハマニンニクの性狀に関する記述に訂正補正を行つた。訂正の箇所には下線を附してある。

E-4 ” 20/VII, 1944
E-5 樺太元泊郡泊岸村新聞 30/VIII, 1942

各節に対をなす2小穂、稀に3小穂を付く・小穂は4-7花よりなるも稀に9小花に及ぶものがある。1穂当り83-264小花(平均 173.64 ± 0.67 小花)を付く。(第34表)小穂は長さ2-3cmにして扁平である。

第34表 ハマニソク(1穂当)小花数の変異

材・料	範 囲	モ ー ド	平 均 値	標 準 偏 差	変 異 係 数	測定数
E-1	83-212	(156-160)	158.26 ± 1.42	29.82 ± 1.01	18.84 ± 0.66	200
E-2	86-221	(156-160)	153.75 ± 1.40	29.43 ± 0.99	19.14 ± 0.67	200
E-3	85-239	(186-190)	190.15 ± 0.94	19.78 ± 0.67	10.40 ± 0.35	200
E-4	88-231	(191-195)	194.70 ± 1.01	21.08 ± 0.71	10.83 ± 0.37	200
E-5	85-264	(166-170)	171.35 ± 1.51	31.68 ± 1.07	18.49 ± 0.64	200
総 括	83-264	(171-175)	173.64 ± 0.67	31.42 ± 0.47	18.09 ± 0.27	1,000

材料：一 第33表のものと同じ

小穂に2護穎あり。護穎は革質、線状披針形、鋭尖頭、通例3-7脈、背面に長軟毛密生し、辺縁膜質である。護穎は小穂よりも短い。外穎は線状楕円形、鋭尖頭にして7脈あり、背面に短軟毛を生じ其の質比較的軟し。内穎には2竜骨ありて上部に縁毛を有し、上端は小さく2裂す。雄蕊3個、子房は有柄、頂端有毛である。柱頭は2個にして毛状である。

穎果は長楕円形である。(後に詳述す)

II 生態

樺太・千島・北海道の海岸に豊富に自生する。然して本州に於ては青森・岩手・秋田の諸縣に多く、南に行くに従ひ少くなり本田⁽⁷⁴⁾(1930)によれば日本海方面では鳥取縣(大谷)地方迄太平洋側にては茨城縣(平磯)地方迄自生がある。牧野・與世里⁽¹¹⁾(1932)は九十九里ヶ浜銚子地方(千葉縣海上郡)に見出してゐるが、著者の昭和21年(1946)の实地踏査によれば同縣南白亀川以北の長生郡・山武郡海岸にも見られ、九十九里ヶ浜の南部にも分布される事が明らかとなつた。著者はこれが太平洋側の南限ではないかと考へてゐる。

一般に、ハマニソクは海岸砂地及び海岸に近き川口の濕潤地に生じ樺太・千島・及び本邦北部地方(北海道・本州東北地方)にては概してハマニソクを優占種とするハマニソク群叢 *Elymus mollis* association を現出するが、それ以南にては他の植物と共に群叢をなす事が多い。一般に海岸礫地及び崖には自生は少い。特殊の地形をなす場合を例外として*、自生は一般に海岸より30mを限度として内陸には自生を見ない。

III 自生密度

群落地に於ける $10m^2$ 内の穂数は35-100である。然して樺太の自生地にては、同一群落内では海岸線に偏りて密生する傾向が認められる。

IV 外國に於ける分布

北極海に面せるシベリア地方、チュクチ半島、カムチャツカ半島、オホーツク海に臨むシベリア地方(オホーツク・アヤン)、樺太(南・北)、千島、滿洲(遼東半島方面)、黒龍江流域、黒龍江河口より豆満江河口に至る日本海に臨む沿海州、アリューシアン列島、アラスカよりサンタクルーズ(カリフォルニア州)に至る北アメリカ洲の太平洋岸、北極海に臨む北アメリカ洲、グリーンランド、ラブラドルよりマサチューセツ州に至る大西洋岸、スベリオル湖及びミンガン湖畔となつてゐる。

尙朝鮮には本種の変種たるテウセンテンキ *Elymus mollis* TRIN. var. *corensis* (HACKEL) HONDA がある⁽⁷⁴⁾(129)(131)。

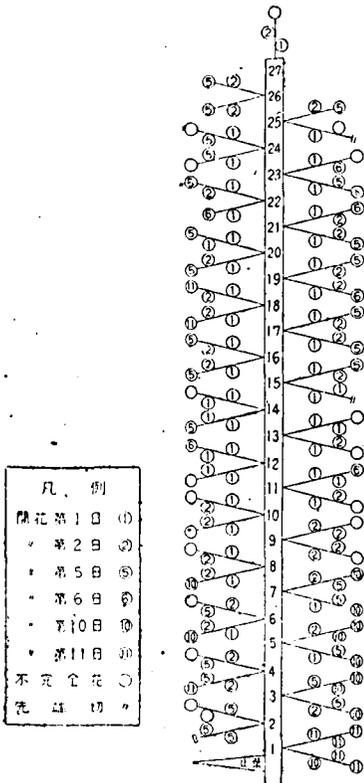
V 利用

ハマニソクは種々の方面に利用されてゐる。即ち、北海道アイヌは葉を以て蓆を、千島アイヌは袋・帽子・畚箕・

* 著者の昭和21年(1946)の实地踏査によれば、九十九里ヶ濱(千葉縣山武郡白里海岸)の如きは、海岸線より50mを隔てた内陸側に幅50-70m位の範圍内に處々に群叢をつくつてゐる。

魚籠其他の器具を編製する⁽¹²⁹⁾。アリーシヤン土人は Tiriyoho と称し、葉の未だ幼く卷いてある時採集し細く裂いて乾燥せしめたものを以て籠を製しアツツ島に於ては Attu Basket と称し名物の一となつてゐる⁽⁸⁹⁾。又全草は飼料として利用される⁽⁷⁰⁾⁽⁸⁹⁾。尙 HITCHCOCK⁽⁷³⁾(1935) によればアメリカインヂヤンは本植物の種実を食物として用いてゐると言ふ。(後述第3節 III 参照)

第3図 ハマニソクの開花順序



第2節 開花*

花穂の構造に就ては第1節に於て述べた処であるが、本論文に於ては便宜上花穂の最下の節を第1節とし上端に向つて順次第2節、第3節、……と名付ける。同一小穂内の小花は穂軸に近き基部のものより順次第1小花、第2小花、……と名付ける。観察は個体観察と群落観察に分つ。

個体観察は樺太(榮浜)の自生地で行つた。

I 個体観察

1. 開花順序 花穂の中央部より稍々上部の節の第1小花より開花し初め、次第に其の上下の節の第1小花に及ぶ。各節の第1小花の過半を開花して第1小花盛花期たらんとする頃第2小花開花し初め、次いで第2小花盛花期となり、以下同様にして第3小花、第4小花の順に開花して花穂の上部及び下部の節の小穂最先端の小花を以て花穂全小花の開花を終る。

花穂の部位別に見れば、花穂の中央部の各節及び最上節は開花最も早く、これに隣接したる上下の數節稍々遅れ、最下部の節は開花最も遅し。

1 花穂の開花期間は 7—12 日である。

代表的なる 1 花穂に就て開花順序を観察したるものを図示すれば第3図の如し。

自然の状態に於て、代表的なる 6 穂に就ての開花の調査は第35表の如し。

第35表 ハマニソクの開花調査

		日											計
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
第1小花	A	6	23	0	0	13	1	0	0	0	2*		45
	B	29	19	0	0	3*							51
	C	37	11	0	0	3	0	0	0	0	1	1*	53
	D	35	13	0	0	5*							53
	E	52	0	0	1	1	1*						55
	F	42	9	0	1	8	0	0	0	0	0	1*	61
	計	201	75	0	2	33	2	0	0	0	3	2	318
第2小花	A	0	7	0	0	28	7	0	0	0	0	2*	44
	B	1	30	0	3	10	2	3*					49
	C	8	23	0	0	15	1	0	0	0	2	2*	51
	D	2	34	0	0	9	2	0	0	0	2	1*	50
	E	39	7	0	3	3	0	0	0	0	0	1*	53
	F	21	10	0	0	20	3	0	0	0	1	1*	56
	計	71	111	0	6	85	15	3	0	0	5	7	303

* 著者の研究と殆んど時を同じくして、木本⁽⁸⁵⁾(1943)も密生的栽培目的を以て、ハマニソクの開花に就き研究し、發表してある。著者の研究は彼のものと獨立無關係で、別々に研究され殆んど時を同じくして偶然發表されたに過ぎない。

第 3 小花	A	0	0	0	1	6	5	0	0	0	12	3*	27
	B	0	0	0	0	2	14	11	0	0	0	2*	29
	C	0	0	0	0	11	6	0	0	0	8	5*	30
	D	0	0	0	0	9	13	0	0	0	13	7*	42
	E	1	5	0	1	34	7	0	0	0	0	1*	49
	F	0	0	0	0	30	6	0	0	0	1	11*	48
	計	1	5	0	2	92	51	11	0	0	34	29	225
第 4 小花	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1*		1
	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2*	2
	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0*	0
	D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12*		12
	E	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1*		3
	F	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1*		2
	計	0	0	0	0	1	2	0	0	0	15	2	20
總 計	273	191	0	10	211	70	14	0	0	57	40	866	

* 開花終了を示す

2. 1 小穗内の小花の開花順序 1 小穗の小花は第 1, 第 2, 第 3 小花……の順に開花するを普通とする。

3. 日別開花率 第 35 表より小花毎の日別開花率を算出すれば第 36 表の如し。

第 36 表 小花毎の日別開花率 (6 總合計)

開 花 日	開 花 日												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	計	
第 1 小花	開花数	201	75	0	2	33	2	0	0	0	3	2	318
	%	63.2	23.6	—	0.6	10.4	0.6	—	—	—	0.9	0.6	100
第 2 小花	開花数	71	111	0	6	85	15	3	0	0	5	7	303
	%	23.4	36.6	—	2.0	28.1	5.0	1.0	—	—	1.6	2.3	100
第 3 小花	開花数	1	5	0	2	92	51	11	0	0	34	29	225
	%	0.4	2.2	—	0.9	40.9	22.7	4.9	—	—	15.1	12.9	100
第 4 小花	開花数	0	0	0	0	1	2	0	0	0	15	2	20
	%	—	—	—	—	5	10	—	—	—	75	10	100
總 計	開花数	273	191	0	10	211	70	14	0	0	57	40	866
	%	31.5	22.1	—	1.2	24.3	8.1	1.6	—	—	6.6	4.6	100

尙第 35 表より各穗毎, 小花毎の日別開花率を図示すれば第 4 図の如し。

各穗毎全小花の日別開花率は大体に於て 3 頭曲線を示しその内特に 2 頭が顯著である。

これは下に述べる如く第 2 小花は第 1 小花と相接して盛花期をなす為、第 1・第 2 小花の開花を主とする日、及び第 2・第 3 小花の開花を主とする日の 2 頭が著しい故である。

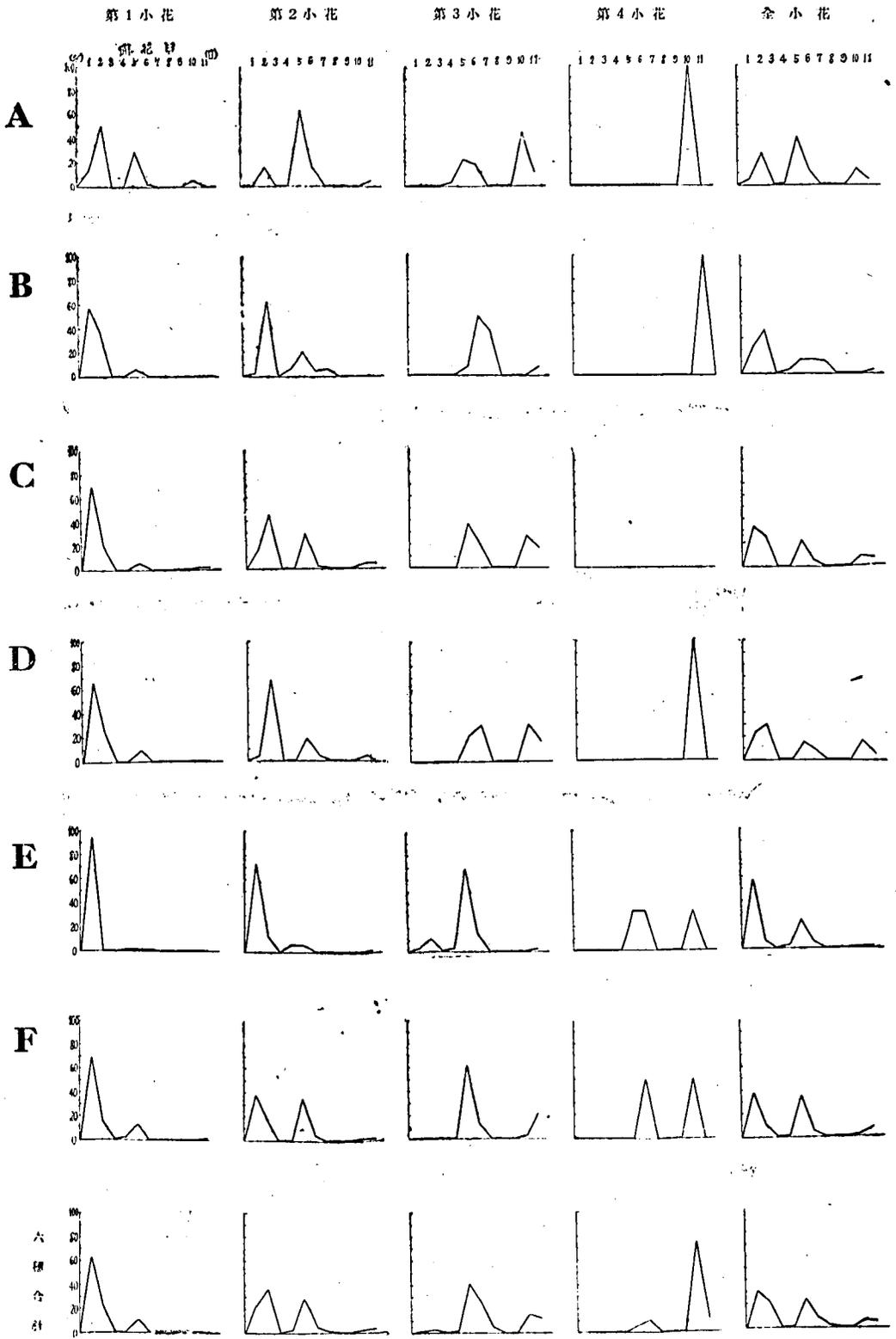
(1) 第 1 小花 2 頭(第 1, 第 5 日開花)が著しい。この内第 1 日は開花の過半数を占め特に著しく、第 1 小花盛花期をなす。

(2) 第 2 小花 2 頭(第 2, 第 5 日開花)が著しい。この内第 2 日の開花は大体に於て最も多く第 2 小花盛花期をなす。

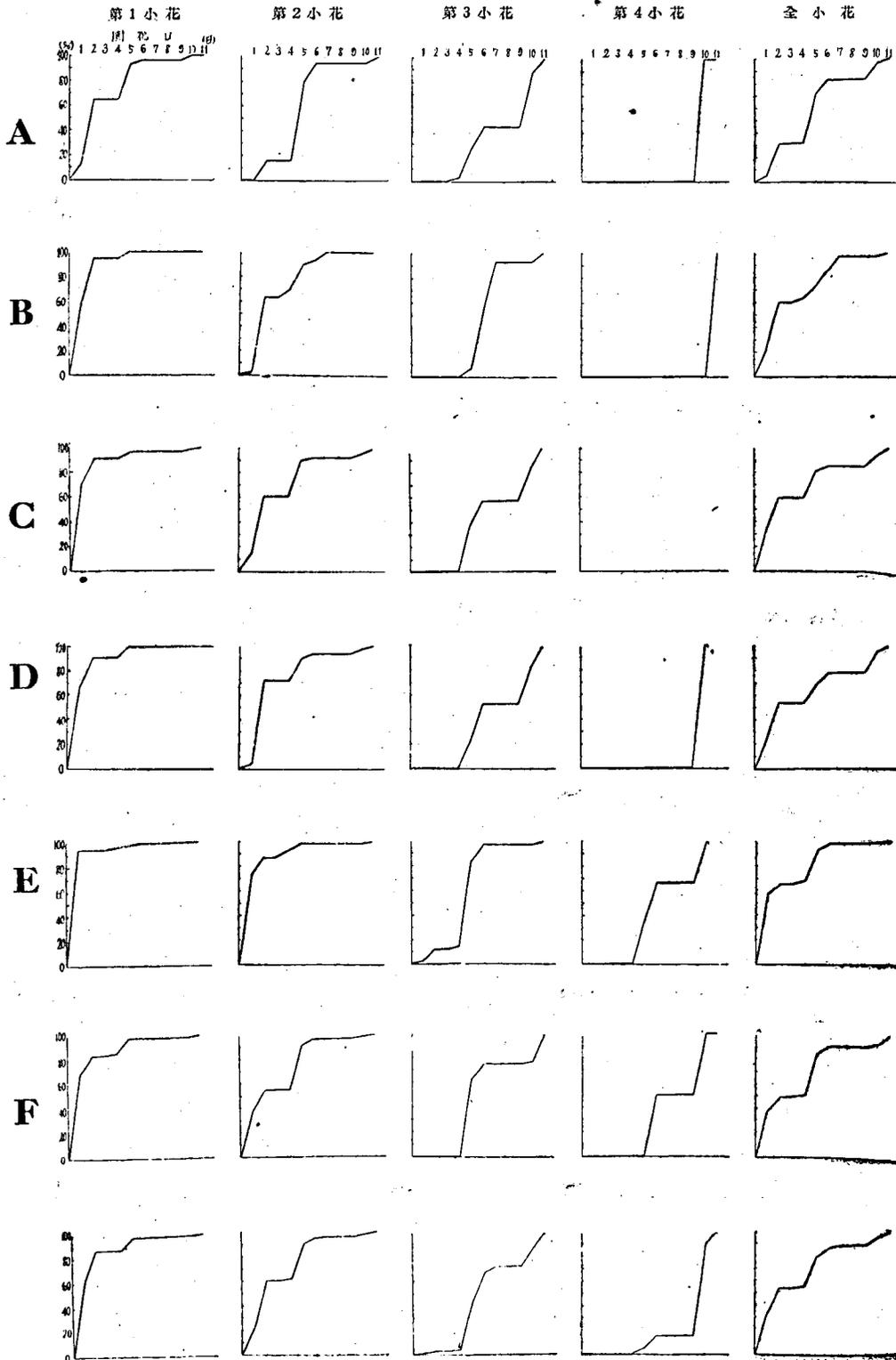
(3) 第 3 小花 大体に於て 3 頭(第 2, 第 5, 第 10 日開花)を示し、その内第 5, 第 10 日の開花が著しい。特に第 5 日は開花最も多く、第 3 小花盛花期をなす。

(4) 第 4 小花 2 頭(第 6, 第 10 日開花)を示し、第 10 日は開花過半数を占め特に著しく、第 4 小花盛花期をなす。

第4図 穂毎、小花毎の日別開花率



第5図 穂毎, 小花毎の開花進度



4. 開花進度 第 35 表より各穂毎、小花毎の開花進度を図示すれば第 5 図の如し。茲に開花進度とは其の日に開花を終りたる小花数の全小花数に対する百分率を言ふ。

各穂毎の全小花の開花進度は大体に於て 3 階段を示す。これは前項の所論によりて明らかな如く、第 1・第 2 小花を開花する日、第 2・第 3 小花を主として開花する日に続いて各々開花せざる日の存在するが為である。即ち、大体に於て、第 1 日(30%程度)より開花し初め、第 2 日にて 50%程度となり、第 5 日にて 80%程度となる。(第 37 表、第 5 図参照)

各小花の開花進度は第 5 図の如し。即ち、

- (1) 第 1 小花 第 1 日(60%程度)より開花し初め、第 2 日にて 80%程度となり、第 5 日にて殆ど 100%となる。
- (2) 第 2 小花 第 1 日(20%程度)より開花し初め、大体に於て第 2 日にて 60%程度となり、第 5 日にて 90%程度となる。
- (3) 第 3 小花 大体に於て第 5 日(40%程度)より開花し初め、第 6 日にて 70%程度となり、第 11 日(最終開花日)にて 100%となる。
- (4) 第 4 小花 第 5 日(5%)より開花し初め、第 6 日にて 15%となり、第 10 日にて殆ど 100%となる。

5. 開花日毎の各小花の開花数比率 第 35 表より開花日毎の各小花の開花数比率(6 穂合計)を表示すれば第 37 表の如し。

第 37 表 開花日毎の各小花の開花数比率 (6 穂合計)

開花日	第 1 小花	第 2 小花	第 3 小花	第 4 小花	開花数計	開花率	開花進度
1	73.6	26.0	0.4	0	100	31.5	31.5
2	39.3	58.1	2.6	0	100	22.1	53.6
3	0	0	0	0	—	0	”
4	20	60	20	0	100	1.2	54.8
5	15.6	40.3	43.6	0.5	100	24.3	79.1
6	2.9	21.4	72.9	2.9	100	8.1	87.2
7	0	21.4	78.6	0	100	1.6	88.8
8	0	0	0	0	—	0	”
9	0	0	0	0	—	0	”
10	5.3	8.8	59.6	26.3	100	6.6	95.4
11	5	17.5	72.5	5	100	4.6	100

尙第 37 表を図示すれば第 6 図の如し。

- (1) 第 1 日 第 1 小花過半数(73.6%)を占む。第 1 日に第 1 小花盛花期あり。
 - (2) 第 2 日 第 2 小花過半数(58.1%)を占む。第 2 日に第 2 小花盛花期あり。
 - (3) 第 5 日 第 2 小花(40.3%)・第 3 小花(43.6%)を主とする。第 5 日に第 3 小花盛花期あり。以後にては第 1・第 2 小花は漸減する。
 - (4) 第 6 日以後 第 3 小花の開花を主とする。第 4 小花は第 10 日に最も多く開花するも第 3 小花よりは少し。これ第 4 小花の絶対数少きによる。
6. 開花時刻 午前 9 時より午後 6 時迄なり。開花最も多きは午前 11 時—午後 2 時迄なり(穎開き薔を額外に露はす時を以て開花とした)。夜間は開花しない。
 7. 開花時間 120—240 分にして 150—210 分を普通とする。開花は 1 回限りなり。
 8. 開花角度 20—35°, 平均 23.25° である。
 9. 開花と人工刺戟 花穂に人工刺戟例へば手指にて軽く摩擦する事により開花期に近き小花(本来ならば当日及び翌日開花すべき小花の一部)を人為的に開花せしめ得る。(夙に TSCHERMAK⁽¹⁸⁴⁾(185)(189)(1904, 1921) はライ麥に就き人工刺戟による人為的開花の現象を認め報告がある。)斯くの如くして人為的に開花せしめ得る時刻は午前 8 時—午後 6 時 30 分頃迄である。人工刺戟に鋭敏なるは午前 10 時—午後 3 時頃迄にして、早朝及び夕刻に偏るに従ひて困難となる。されど風強き日は既に風によりて開花を促進せられる為か上述によりて人工刺戟を興ふるも顕著でない。人工刺戟を興へて開花に至る迄の時間は環境によりて異なるも 3—10 分にして、4—6 分を普通とする。早朝及び夕刻に偏るに従つて時間を多く要する傾向がある。

II 群落観察

1. 開花時期 自生地の位置・地形・気候的條件により異なるも、本邦東北地方(青森・岩手・秋田)方面では5月下旬である。北海道にては5月下旬より7月上旬に亘る。即ち、5月下旬最暖部たる西南部*渡島半島方面先づ開花し漸次北進して6月中旬一下旬東北部*の日本海沿岸地方及び太平洋沿岸地方開花し、東北部の根室湾一帯及びオホーック海沿岸地方の6月下旬—7月上旬開花を最終とする。樺太に於ては6月下旬より7月下旬に亘る。即ち、6月下旬最暖部たる西海岸南部・本斗方面より開花し初め漸次西海岸を北進し、相前後して(6月下旬—7月上旬)亞庭湾一帯、稍遅れて東海岸南部地方開花し、漸次北進して新聞地方に於ける7月下旬開花開始を最も遅しとする。東海岸にて新聞以北の多末加湾一帯・オホーック海沿岸地方(旧國境線迄)は7月下旬開花し、西海岸中部(旧眞岡支庁北半・旧泊居支庁南半)地方は7月上旬—中旬、西海岸北部(旧泊居支庁北半)地方は7月中旬一下旬開花する。尙樺太(新聞)より当所圃場(埼玉縣春日部町)に移植栽培したものは4月下旬—5月上旬開花する。

2. 開花期間 樺太に於ける観察によれば18—23日、青森・秋田・岩手にては14—20日に亘るを認めた。

3. 開花と氣象的條件 群落としての開花も、多数開花ある日、極く少数の開花ある日乃至全然開花なき日の存在すること個体観察に於ける開花と同様である。開花は氣象的條件に支配される事多く、晴天にして日照あり気温高き日には多数開花あるも、曇天にして日照なく気温低き日は開花は少きか又は開花しない。天候不順なる時は、既に開花期に達してても開花殆んど無く、天候回復すれば一斉に開花する。特に雨天にして気温低き日続く時は、既に開花期に達せるに拘らず開花殆んど無く、後晴天高温となれば大多数の小花は一斉に開花し其後の開花に異変を來す。即ち、其の後数日順調なる天候続くとするも開花は却て少い傾向がある。これ、開花期に達せるも天候不順の爲未開花の儘にて待機の状態にありしものが天候好変の際、盡く開花せる為と考へられる。人工接種をなすに当り注意すべき事である。

群落としての開花は、開花ある日と雖も一日中絶えず連続して開花するに非ずして、或時刻に全群落一斉に開花する傾向がある。気候的條件の変化が衝撃をなすものと考へられるのである。

第3節 稔実

I 稔実率

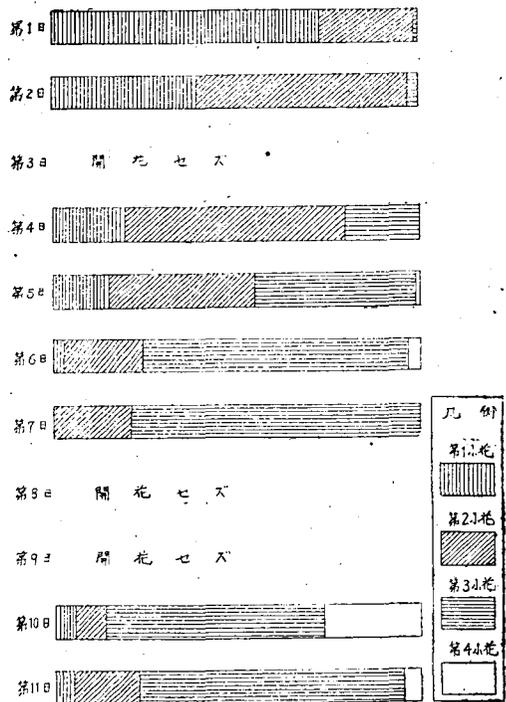
ハマニシクの稔実率(稔実せる総穎果数の総小花数に対する百分率)は自生地の位置・気候的條件により、同一地方にても場所により異なる。(第38表)

II 着花位置による小花数比率・穎果数比率・稔実率

麥角の発生なきハマニシク百石139穂、新聞35穂、船越22穂を選び、着花位置による小花数比率・穎果数比率・稔実率を調べ次の成績を得た。(第39表)

即ち着花位置による稔実率は第1小花最も良好にして小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。尙同表による時は小花・穎果共に第1小花に最も多く小穂先端の小花に至るに従ひ少くなる事を知り得た。この傾向は樺太(新聞)にて

第6図 開花日毎の各小花の開花数比率 (6穂合計)



* 本論文に於ては便宜上、日本海側諸島と太平洋側諸島とを劃する線の内側を西南部と言ひ、その東側を東北部と稱する事とする。

第 38 表 ハマニソニク (1 穂当) 穎果数の変異 (附: 稔実率)

材料	範囲	モード	平均・値	標準偏差	変異係数	稔実率	測定数
E-1	47-143	(96-100)	104.10±1.18	24.72±0.83	23.74±0.84	65.78±0.95	200
E-2	43-140	(91-95)	96.18±1.29	27.00±0.91	28.07±1.02	62.56±1.01	200
E-3	46-128	(81-85)	84.76±0.93	19.57±0.66	23.09±0.82	44.57±0.54	200
E-4	40-130	(81-85)	80.21±1.01	21.10±0.71	26.30±0.95	41.20±0.56	200
E-5	21-175	(96-100)	104.42±1.54	32.19±1.09	30.82±1.13	60.94±1.04	200
総括	21-175	(91-95)	93.93±0.58	27.13±0.41	28.88±0.47	54.09±0.39	1,000

材料:— 第 33 表のものと同じ

第 39 表 ハマニソニクの稔実

試験区名	小 花 数						穎 果 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	第 1 小花	第 2 小花	第 3 小花	第 4 小花	第 5 小花	第 6 小花
百石	6927	6906	5549	1066	15	0	5594	4666	1903	164	2	0
	%		(20463)				%		(12329)			
	33.85	33.75	27.12	5.21	0.07	—	45.37	37.85	15.44	1.33	0.02	—
新・間	1598	1566	1381	871	277	24	1112	1114	777	340	79	10
			(5717)						(3432)			
	27.95	27.39	24.16	15.24	4.85	0.42	32.39	32.45	22.63	9.90	2.30	0.29
船越	968	973	962	933	419	3	554	647	431	130	18	0
			(4258)						(1780)			
	22.74	22.84	22.59	21.91	9.84	0.08	31.13	36.35	24.22	7.32	0.98	—
						[57.23]	[66.50]	[44.80]	[13.93]	[4.30]	—	—

〔 〕は稔実率を示す

も本州 (百石・船越) にも同様である。自然寄生により又は人工接種により萎角発生したる場合にも、着花位置による小花数比率・穎果数比率・稔実率は第 1 小花に最も高く、小穂先端の小花に至るに従ひ低下する事は萎角発生せざる場合と同様である。

III 穎果

穎果は長楕円状にして、淡茶褐色乃至淡赤褐色を呈する。基部に向つて漸細し尖頭をなす。頂部は黄色を呈し稍々膨大し、有毛にして、2 個の柱頭の残基を有する。腹側は凹面にして舟状高様をなし、正中線に濃褐色を呈する小縦隆起認めらる。背面下端に胚あり。粒面には小皺がある。

ハマニソニクの 1 穂当りの穎果数は 21-175, 平均 93.93±0.58 である。(第 38 表)

ハマニソニク穎果の大きさは、(第 40-43 表)

長径 4.45-9.30 mm 平均 7.262±0.0095 mm

幅径 0.95-2.20 平均 1.764±0.0024

厚径 0.35-1.30 平均 0.866±0.0020

重量 1.1-9.6 mg 平均 5.50±0.020 mg

著者はこの穎果を食糧化する事を目的として研究を行ひ既に発表 (1946) した事は第 1 章第 3 節 (衛報 67: 232) に述べたところである。昭和 17 年産ハマニソニク穎果 (全粒) を当所に於て分析したる結果は次の通りである。

水分 12.25%, 粗蛋白質 18.43%, 含水炭素 59.42%,

粗脂肪 2.20%, 粗繊維 4.81%, 灰物質 2.87%

(本品 100g のカロリーは 339.6 である。)

第 40 表 ハマニシニク穎果の長径の変異 (単位 mm)

材 料	範 囲	モード	平 均 値	標 準 偏 差	変 異 係 数	測定数
E-1	4.40-8.90	7.20	7.271±0.0243	0.804±0.0172	11.06±0.24	500
E-2	4.80-9.30	7.40	7.410±0.0236	0.783±0.0167	10.57±0.23	500
E-3	5.40-8.40	7.10	7.157±0.0183	0.607±0.0129	8.48±0.18	500
E-4	4.45-8.20	7.10	7.108±0.0175	0.581±0.0124	8.17±0.17	500
E-5	5.45-9.20	7.40	7.363±0.0198	0.656±0.0140	8.91±0.19	500
総 括	4.45-9.30	7.25	7.262±0.0095	0.701±0.0067	9.65±0.09	2,500

材料：— 第 33 表のものと同じ

第 41 表 ハマニシニク穎果の幅径の変異 (単位 mm)

材 料	範 囲	モード	平 均 値	標 準 偏 差	変 異 係 数	測定数
E-1	1.30-2.20	1.75	1.787±0.0054	0.178±0.0038	9.96±0.21	500
E-2	1.30-2.15	1.85	1.803±0.0055	0.181±0.0039	10.02±0.22	500
E-3	1.40-2.05	1.75	1.783±0.0044	0.147±0.0031	8.23±0.18	500
E-4	1.20-2.15	1.75	1.718±0.0047	0.157±0.0033	9.14±0.19	500
E-5	0.90-2.20	1.75	1.729±0.0062	0.205±0.0044	11.86±0.26	500
総 括	0.90-2.20	1.75	1.764±0.0024	0.178±0.0017	10.08±0.10	2,500

材料：— 第 33 表のものと同じ

第 42 表 ハマニシニク穎果の厚径の変異 (単位 mm)

材 料	範 囲	モード	平 均 値	標 準 偏 差	変 異 係 数	測定数
E-1	0.40-1.30	0.85	0.859±0.0039	0.129±0.0028	15.04±0.33	500
E-2	0.40-1.30	0.95	0.921±0.0050	0.165±0.0035	17.90±0.39	500
E-3	0.35-1.20	0.80	0.817±0.0048	0.158±0.0034	19.33±0.43	500
E-4	0.45-1.10	0.80	0.826±0.0044	0.145±0.0031	17.55±0.39	500
E-5	0.55-1.20	0.90	0.909±0.0038	0.127±0.0027	13.99±0.30	500
総 括	0.35-1.30	0.85	0.866±0.0020	0.152±0.0014	17.49±0.17	2,500

材料：— 第 33 表のものと同じ

第 43 表 ハマニシニク穎果の重量の変異 (単位 mg)

材 料	範 囲	モード	平 均 値	標 準 偏 差	変 異 係 数	測定数
E-1	2.7-8.6	5.7	5.77±0.045	1.48±0.032	25.66±0.58	500
E-2	2.8-9.6	6.1	6.19±0.049	1.63±0.035	26.27±0.60	500
E-3	1.3-7.8	5.5	5.38±0.041	1.37±0.029	25.43±0.58	590
E-4	2.8-9.2	5.0	5.07±0.043	1.42±0.030	28.10±0.64	500
E-5	1.1-7.3	5.0	5.08±0.035	1.17±0.025	22.95±0.51	500
総 括	1.1-9.6	5.5	5.50±0.020	1.48±0.014	26.98±0.28	2,500

材料：— 第 33 表のものと同じ

IV ハマニシク麥角菌寄生と稔実

麥角発生によりて稔実に影響を及ぼすや否やに就て見るに第 44 表の如し。

第 44 表 ハマニシク麥角菌寄生と稔実

試 験 区		本数	総小花数	総穎果数	稔実率	麥角数	寄生率	不稔実率
百 47	麥角菌寄生穂	22	3467	1438	% 41.48	56	% 1.62	% 56.90
	„ 無寄生穂	6	816	402	49.26	0	0	50.74
船 36	麥角菌寄生穂	77	15090	4856	32.18	353	2.34	65.48
	„ 無寄生穂	22	4258	1780	41.80	0	0	58.20

上表は同一地区内に於て麥角発生せる穂と然らざる穂に就て不稔実率を比較せるものである。百 47 区は浸漬法により、船 36 区は噴霧法により接種せる試験区である。茲に不稔実率とは下式によりて算出せるものである。

$$\text{不稔実率}\% = \frac{\text{総小花数} - \text{総穎果数} - \text{総麥角数}}{\text{総小花数}} \times 100\%$$

$$= 100\% - [\text{稔実率} + \text{寄生率}]\%$$

麥角菌寄生によりて不稔実率を増加する。麥角菌寄生によりて稔実率を低下せしめる。

V ハマニシク麥角菌寄生と種子重

次の各区に就き、稔実せる種子の千粒重を求めた。

- (a) 麥角多量発生のもの 5 穂 (寄生率 1 穂平均 25.40%)
- (b) 麥角少量発生のもの 5 穂 (" 1.00%)
- (c) 麥角発生無きもの 5 穂

千粒重を見るに (a) 3.873 g, (b) 4.904 g, (c) 6.642 g にしてハマニシク麥角菌寄生によりて種子重を軽減せしめること明らかである。

尙ハマニシク麥角菌の寄生と種子重との関係を着花位置によりて見れば第 45 表の如く寄生の影響著明である。

第 45 表 ハマニシク麥角菌寄生と種子重 (着花位置による千粒重)

	第 1 小花	第 2 小花	第 3 小花	第 4 小花	第 5 小花	第 6 小花
	g					
(a) 麥角多量発生のもの	4.201	4.354	3.250	2.796	1.300	—
(b) 麥角少量発生のもの	5.459	5.218	3.668	3.005	—	—
(c) 麥角発生無きもの	7.531	6.504	4.381	4.350	—	—

日本における *Phellodendron* の地理的分布

岡部正義 山縣 恂 高城正勝

The Geographical Distribution of *Phellodendron*
in Japan

Masayoshi OKABE, Makoto YAMAGATA and Masakatsu TAKI

I. 緒 言

キハダ (*Phellodendron* 属) は古來より黄蘗或は黄柏として健胃強壯薬とされ (寺島良安氏の和漢三才図絵に此の薬効の細説あり), 殊に水エキスより製したるはダラスケ或はダラスケと称し盛に販賣されたものであるが, 今回伝研の浮田忠之進博士, 水野伝一氏, 田村トミ江氏の三氏に依りベルベリンの抗菌作用が研究せられ, 其の結果グラム陽性菌は勿論陰性菌にも作用があり又淋菌に対する抗菌作用も認められ, 且此のベルベリンは黄柏より比較的簡単に分離することができ, 然も原料的に豊富な関係から世人の注目を引き其の増殖の機運漸く旺となりつゝある現状に鑑み之れが天然分布区域を闡明にし, 以て資源増殖の参考に, 又各種類の形態及構造其他を探究して學術研究資料の一端に資せんとするものである。

尙本調査は文献並全國主要の営林署, 試験場, 各大学演習林, 村役場其他に依頼して調査編纂したるもので, もとより完璧を期し難く將來漸次改訂せんとするもので不備又は誤謬に対しては御示教の榮を賜わらん事を希う次第である。

II. *Phellodendron* 属の種類並其の検索

現在迄発表せられたる種類は次の如くである。

- | | |
|---|----------------------|
| 1) <i>Phellodendron amurense</i> RUPRECHT | キハダ |
| 2) <i>Ph. japonicum</i> MAXIMOWICZ | { オホバノキハダ
フジキハダ |
| 3) <i>Ph. Kodamanum</i> MAKINO | チウゴクキハダ |
| 4) <i>Ph. Nikkomontanum</i> MAKINO | ニツコウキハダ |
| 5) <i>Ph. Lavalleyi</i> DODE | ミヤマキハダ |
| 6) <i>Ph. sachalinense</i> SARGENT | { カラフトキハダ
ヒロハノキハダ |
| Syn. <i>Ph. amurense</i> RUPR. var. <i>sachalinense</i> FR. SCHMIDT | |
| 7) <i>Ph. Wilsonii</i> HAYATA et KANEHIRA | タイワンキハダ |
| 8) <i>Ph. insulare</i> NAKAI | { シマキハダ
タケシマキハダ |
| 9) <i>Ph. Molle</i> NAKAI | ピラウドキハダ |
| 10) <i>Ph. sinense</i> DODA | 黄皮樹, 小黃連樹 |
| 11) <i>Ph. macrophyllum</i> DODA | |
| 12) <i>Ph. Fargesii</i> DODA | |

以上十二種類に及ぶも現在我國土に生育しているものは *Ph. amurense*, *Ph. japonicum*, *Ph. Kodamanum*, *Ph. Nikkomontanum*, *Ph. Lavalleyi*, *Ph. sachalinense* の六種にして, 是等の内, 杉本順一氏の検索によれば, チウゴクキハダ *Ph. Kodamanum* はヒロハノキハダ *Ph. sachalinense* と同じもので, 又ニツコウキハダ *Ph. Nikkomontanum* はオホバノキハダ *Ph. japonicum* に同じものであると論じている。

筆者等は是等各種の細胞・組織・根・葉・莖の外部並内部形態及花の構造果実種子稚苗等の角度より調査研究を行い, 其の相違並各種の特徴を明かにせんとしているもので目下材料の蒐集に努め研究中である。

現在資料の一部 (腊葉, 材端, 並種子) 入手したるものは, キハダ (和歌山縣・東京都・埼玉縣), ニツコウキハダ

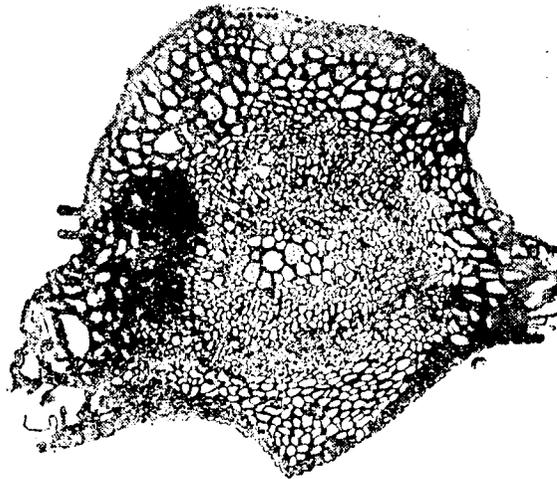
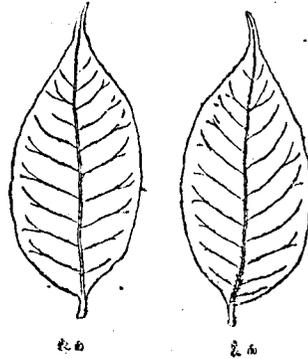
(栃木縣産), ヒロハノキハダ (北海道雨龍産) の3種と国立科学博物館所蔵のミヤマキハダにして調査せる結果は次の如くである。

(1) キハダ *Phellodendron amurense* RUPRECHT

和歌山縣東牟婁郡七川村北海道大学演習林産

小葉は卵状楕円形にして長さ平均 (十葉) 9.38 匁 (最大 10.2 匁, 最小 8.7 匁), 幅平均 4.08 匁 (最大 4.5 匁, 最小 3.6 匁) 鋭尖頭, 葉縁は細鈍鋸齒にして裏面に反張す。表面葉脈に密毛少く裏面葉脈に沿いて有するも特に主脈の基部に多し。基部は歪形及円形 (四十七葉中歪形四十一葉, 円形三葉) 狭脚, 葉柄は平均 1.06 匁 (最長 1.3 匁 最短 0.9 匁) 少しく細毛あり。基部肥大筒状にして新芽を包む。(第一図参照)

第一図 キハダ小葉及葉脈断面



Phellodendron amurense Ruprecht

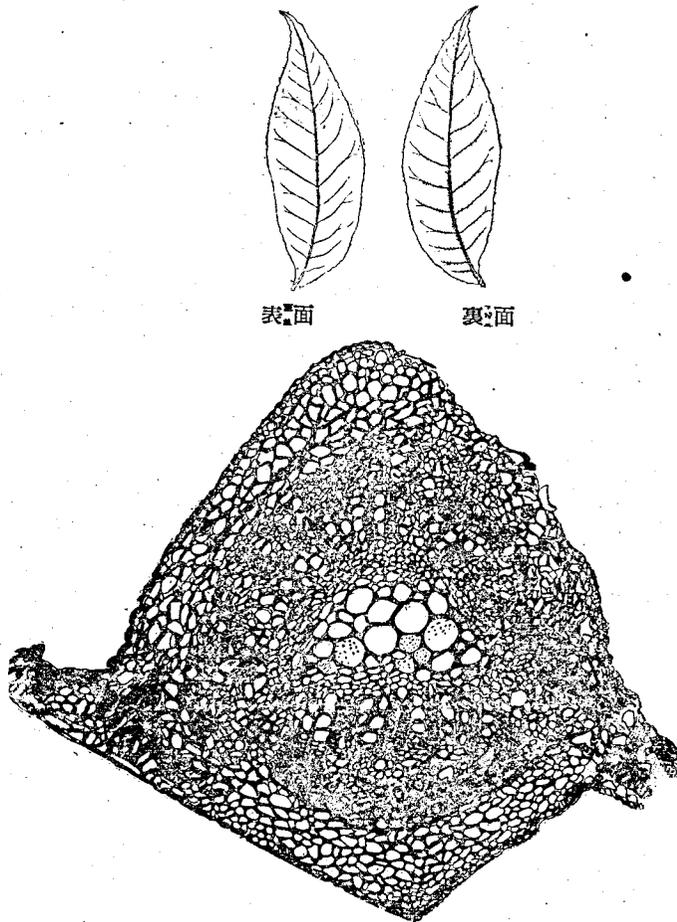
和歌山縣東牟婁郡七川村産

(2) ニツコウキハダ *Ph. Nikkomontanum* MAKINO

栃木縣下都賀郡寺尾村産

小葉は長楕円形にて長さ平均 11.02 匁 (最大 12.0 匁, 最小 9.5 匁) 幅平均 3.85 匁 (最大 4.1 匁, 最小 3.4 匁) 鋭尖頭, 葉縁細鈍鋸齒にして裏面に反張す。葉の両面脈上及葉柄羽軸に短毛密布す。葉柄は平均 0.27 匁 (最長 0.4 匁, 最短 0.2 匁) にしてキハダ並ヒロハノキハダに比し遙に短し。(第二図参照)

第二図 ニツコウキハダ小葉及葉脈断面



Phellodendron Nikkomontanum Makino
栃木縣下都賀郡寺尾村産

(3) ヒロハノキハダ *Ph. sachalinense* SARGENT

北海道石狩國幌加内村北海道大学演習林添牛内事業区産

小葉は長楕円形にして長さ平均 10.17 匁(最大 12.4 匁, 最小 8.8 匁) 幅 4.45 匁(最大 5.2 匁, 最小 3.7 匁) 先端鋭尖頭, 縁辺細鋸齒裏面に反張す。基部歪形。円形或は鈍形。表裏脈上に微毛あるもの又は無毛のものあり。葉柄は長さ平均 0.74 匁(最長 1.0 匁, 最短 0.5 匁)にして柄細く微毛あり。(第三図参照)

(4) ミヤマキハダ *Ph. Lavalley* DODE

静岡縣安部郡安部峠産

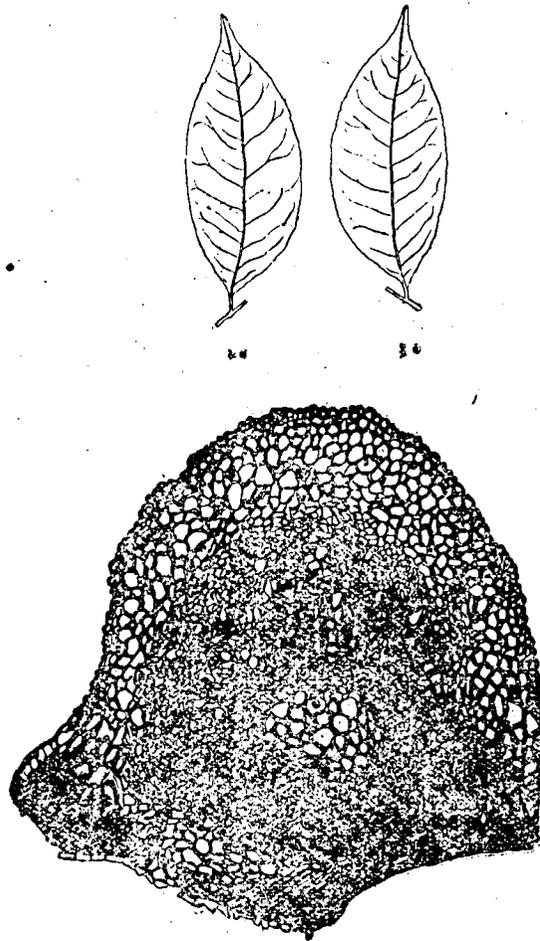
小葉は長楕円形にして長さ 7.0 匁, 幅 2.7 匁, 先端尖頭, 細鋸齒縁, 基部歪形, 鋭楔形, 裏面灰白色を呈し, 葉脈葉縁に短毛密布, 葉柄短く有毛, 葉脈及羽軸他の種に比し濃褐色を呈す。(第四図参照)

III. 調査に依る結果

(1) 世界に於ける分布概況

Phellodendron 属は寒帯南部より温帯に亘りて分布し即ち分布図に示す如く日本・樺太・千島・沿海州・東蒙古・

第三圖 ヒロハノキハダ小葉及葉脈断面



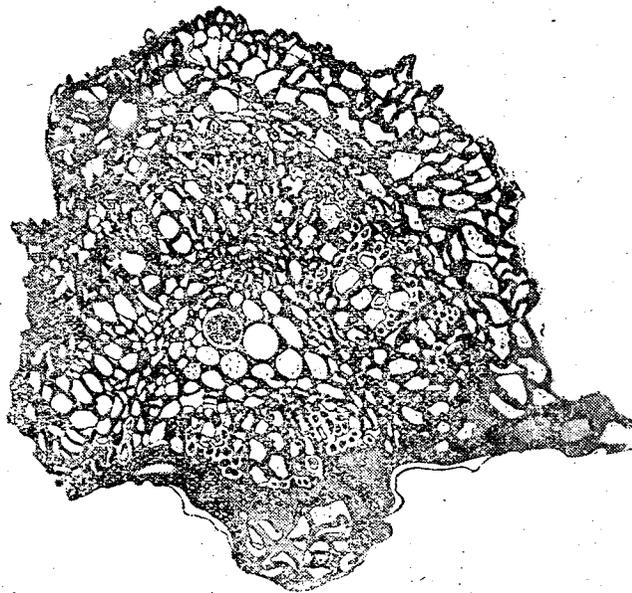
Phellodendron sachalinense Sergent

北海道大学幌加内演習林産

朝鮮・滿洲・シベリア・支那・台湾等の東亞圏内にも分布す。而して其の種類に依る分布状況を示せば次の如くである。(第五圖参照)

種類	分布区域
<i>Phellodendron amurense</i>	日本、樺太、滿洲、沿海州、東蒙古、シベリア
Ph. <i>japonica</i>	日本(本州中部)
Ph. <i>Kodamanum</i>	日本(中國地方)
Ph. <i>Nikkomontanum</i>	日本(日光及中部地方)
Ph. <i>Lavallei</i>	日本(中國地方)
Ph. <i>sachalinense</i>	日本・樺太・千島(南部)
Ph. <i>Wilsonii</i>	台湾
Ph. <i>insulare</i>	朝鮮(鬱陵島)
Ph. <i>molle</i>	朝鮮(咸南)

第四図 ミヤマキハダ小葉及葉脈断面



Phellodendron Lavalleyi Dode

国立科学博物館，腊葉標本ニヨル

- Ph. sinense* 北支那及西支那（湖北四川省）
- Ph. macrophyllum* 支那（四川省）
- Ph. Fargesii* 支那（四川省）

(2) 日本に於ける分布状況

一般にシヒ群系よりモミ，ツガ及ブナ群系に亘りて分布するもシヒ群系内には少くモミ，ツガ群系よりブナ群系に多く分布するを見る。即ち北海道にありては比較的廣範圍に亘りて分布しこれより漸次南部に至るに従い其の分布が少い。

品種別に依る分布状況を示せば別表の如くである。

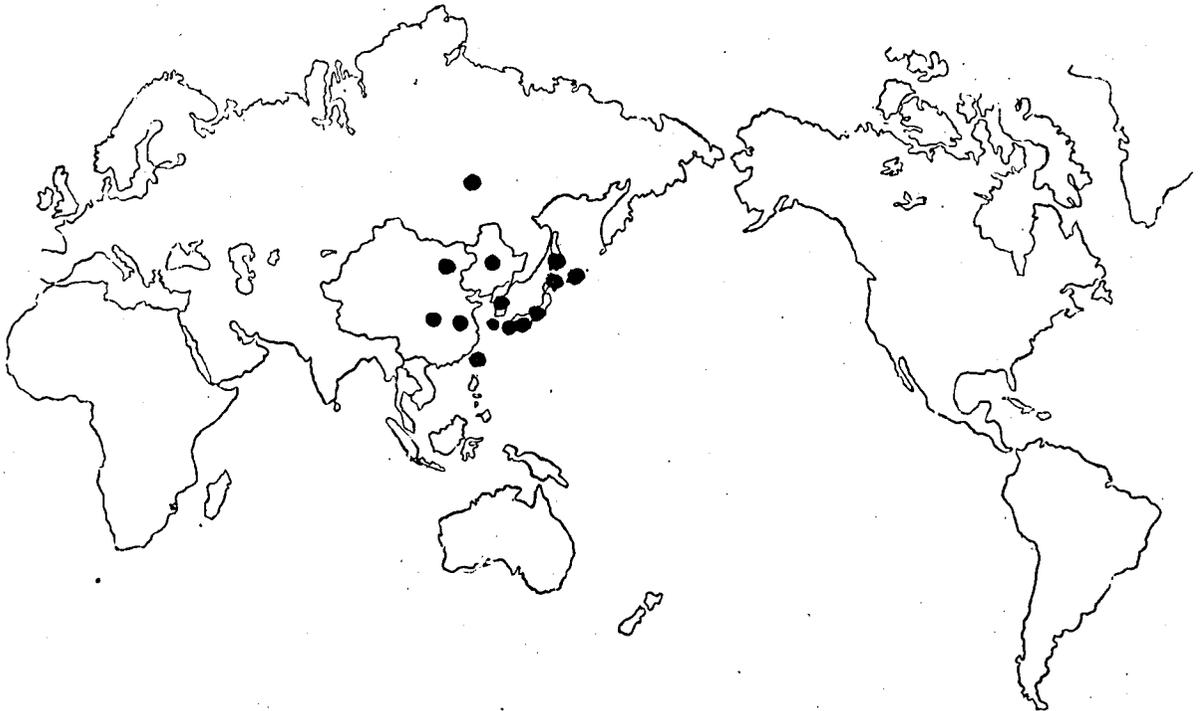
(イ) キハダ

殆ど全国に分布す。

(ロ) ヒロハノキハダ

北海道にありては至る処に分布し青森・秋田・宮城・福島・栃木・埼玉・東京・山梨・長野の各縣にありては局所的に分布し長野縣以南には生育を見ない。

第5圖 世界に於ける分布概況



(ハ) オホバノキハダ

栃木縣(日光), 神奈川縣(大山・塔ヶ岳・丹波山・蛭ヶ岳), 東京都(高尾山), 靜岡縣(志太郡・岡知郡)に分布しそれ以南には見えず。

(ニ) ニツコウキハダ

栃木縣日光の特産。

(ホ) ミヤマキハダ

北海道(日高國様似郡アポイ山中腹), 福島縣雙葉郡野上・赤菜区, 栃木縣日光, 埼玉縣秩父郡, 山梨縣南郡留郡にのみ分布す。

分 布 表

(イ) キハダ

青 森	中津軽・上北・三戸・北津軽・下北・南津軽各郡。下北郡一吹越山(508米), 恐山。
秋 田	南秋田郡一五城目, 仁別, 旭川村。山本郡一八森, 豊村, 岩館町。北秋田郡一上小阿仁・山瀬各村, 荒瀬。鹿角郡一花輪。仙木郡一檜木内村八幡平(1641米)。南秋田・河辺。北秋田各郡界太平山(1171米)。仁嗣。山本嶺山。
岩 手	下閉伊郡一門馬村。岩手・和賀・稗貫・上閉伊・九戸各郡。盛岡市。
山 形	北村山郡一葉山(1462米), 瓶山(1016米), 赤砂山, 北村山。莊内一泉坂峠。最上郡一東小國・古口・戸沢・角川・大藏各村。西置賜郡一津川村。西村山郡一白岩村。
宮 城	本吉・宮城・名取・柴田各郡。柴田郡一藏王山下。
福 島	双葉郡一津島・葛尾・大塚各村。西白河郡一西郷村。岩瀬郡一牧本・湯本各村。石城郡一犬野・上小川・川前・水戸・三阪各村, 鮫川。耶麻郡一檜源・吾妻各村, 喜多方。東白河郡一宮本・高城各村, 石川。相

- 馬郡一金房・石神・飯曾・大館・山上・玉野各村。信夫郡一中野・上湯各村。伊達郡一盞山村。南会津郡
檜原町。大沼郡一西山・宮下・川口・昭和各村。山口。只見。磐梯山(1819米), 吾妻山(2024米), 八溝山
(1022米), 盞山(805米), 阿武隈高原。
- 群馬 碓氷郡, 長野縣界鼻曲山(1654米)。北甘栗郡妙義山(1104米)。北甘栗郡, 長野縣界荒船山(1423米)。群馬
・碓氷郡界碓氷峠。勢多・利根郡界赤城山(1828米)。碓氷郡白井町小根山。山田郡一梅田村。利根郡一片
品村外五。赤城村外一。碓氷郡一坂本・白井町。多野郡一上野村。東・黒保根各村。中五條。
- 埼玉 秩父郡一大滝村。
- 千葉 安房・夷隅・君津郡界清澄山。
- 茨城 多賀郡一花園山(802米), 高萩。久慈郡一大子。西茨城郡一笠間。那珂郡一檜沢・薩郷各村, 筑波山(876米)。
栃木 上都賀郡一足尾町。安芸郡一飛駒村。塩谷郡一塩原町。那須。鬼怒川。
神奈川 足柄上郡一中川・三保・玄倉・寄各村。
- 山梨 南巨摩郡一河内, 早川, 身延山(1143米)。北巨摩郡一塩川。南巨摩郡一野呂川, 大菩薩, 西部地方。
長野 西筑摩郡一奈川・檜川・木租・開田・新開・三岳・白叢・王滝・上松・大桑・読書各村。駒岳(2956米)。
坊主岳(1911米)。
- 新潟 南魚沼郡一苗場山(2145米), 上樽村。南魚沼郡, 群馬縣界朝日岳(1820米)。岩船郡一保内・三面各村。北
浦原郡一黒川村, 胎内山, 他。東浦原郡一東川村。妙高。戸隠高原。五十嵐川。北魚沼。
- 静岡 志太郡一梅地。周知郡一水窪, 熊切, 氣多。
- 愛知 北設楽郡定光寺山。
- 岐阜 大野郡一飛騨黒部立山, 白山(2702米)。吉城郡一古川, 槍岳。益田郡一乗鞍岳(3026米)。惠那郡一惠那山。
郡山郡一大日嶽(1709米)。揖斐郡一伊吹山(1377米)。本巢郡一懸田谷。
- 富山 中新川郡立山(3015)。黒部。
- 福井 大野郡一寺西谷村平泉寺, 上穴馬村。南條郡一堺村。敦賀郡一粟野村黒河谷山, 愛発村肥洞谷。白山。
石川 能美郡。
- 京都 北桑田郡一知井村。
- 三重 名賀郡一赤目峽, 治田山。鈴鹿郡一鈴鹿峠。多氣郡一大杉谷。
- 奈良 吉野郡一大台ヶ原山(1566米), 洞川, 十津川・上北山・下北山村。宇陀郡一室生山。
- 和歌山 伊都郡一高野山。東牟婁郡一七川村。田辺。
- 滋賀 滋賀郡一比叡山。東浅井郡一伊吹山(1377米)。伊香郡一三國岳。
- 兵庫 美方郡一氷山。宍粟郡一奥谷村。播磨雪彦。
- 岡山 阿哲郡一新見・豊永村。上房郡一千尾村。苫田・勝田各郡。津山市。
- 広島 神石郡。芦品郡一藤尾村。
- 鳥取 西伯郡一大山・逢坂村。東伯郡一旭村, 西鶴。
- 島根 鹿足郡一日原。仁多郡一船通山(1143米)。安濃郡一三瓶山(1126米)。邑智郡一都賀行村。
- 徳島 麻植郡一高越山(1123米)。美馬郡一東祖谷山村。三好郡一黒滝山(1210米)。美馬・名西・那賀郡境剣山(1955米)
愛媛 周桑郡一石槌山(1981米)。
- 高知 幡多郡一江川崎村, 佛森田野。安芸郡一魚梁瀬山。高岡郡一横倉山(1336米)。長岡郡一東本山。伏立山(1
133米)。
- 山口 玖珂郡一廣瀬村。
- 福岡 八女郡一矢部村。八ヶ滝。
- 佐賀 藤津郡一能古見・古田各村。
- 宮崎 南那珂郡一小松山。北諸縣郡一高崎町, 山田・西岳村。兒湯郡一都農町, 三納村。西諸縣郡一須木・眞幸・
加久藤各村, 飯野町, 小林, 高原。東諸縣郡一高岡。西白杵郡一高千穂。
- 長崎 北高木郡一多良岳(983米)。下縣郡一対馬, 神崎。
- 大分 直入郡一九重山(1764米)。玖珠郡一飯田村。
- 熊本 天草郡一染岳。鹿本郡一國見岳(1018米), 他。八代郡一五ヶ庄山犬岳。上・下益城郡。阿蘇・菊池郡界一

- 深草山。球磨郡一五木村，市房山(1722米)。
- 鹿児島 始良郡一霧島山(1426米)。出水郡一矢獄。
- (ロ) ヒロハノキハダ
- 北海道 渡島・後志・石狩・天塩・十勝・釧路・根室・北見諸地方。札幌郡一江別町，廣島村。雨瀧郡一幌加内村
阿寒郡一雌阿寒岳。日高國樺似郡一樺似村。千歳郡一千歳。斜里郡一斜里山。紋別郡一湧沸村。利尻岳。
色丹島。函館山。夕張山(1668米)。藻岩山(636米)。札幌近郊。室蘭・札幌間沿道。由仁・苫小牧間。
- 青森 上北・東津軽・西津軽(日本海沿岸及南部)各郡。八甲田山(1551米)，十和田湖附近新場，奥入瀬，大川岳
(900米)，大間越。
- 秋田 南秋田郡一男鹿山(732米)。
- 宮城 柴田郡一笹岳。
- 福島 雙葉郡一野上，小塚，小塚入，玉ノ湯。大沼郡一尾岐村。
- 栃木 上都賀郡一前白根山(2377米)，馬返。
- 埼玉 秩父郡一大滝村。三峰山(1921米)中腹。
- 山梨 東入代郡一迫分・奥院間。南巨摩郡一身延山。西山梨郡一御岳。
- 長野 西筑摩郡一奈川・木祖・楢川・福島・吾妻各村，駒岳，上赤沢，興川，柿其。御嶽(3603米)。三浦山(2394米)。
小川。田立。隠。諏訪郡一金沢東俣。上伊那郡一浦，黒河内，小野，川島及東・南部。下伊那郡一遠山，
飯田。上水内郡一阿寺，伊奈川，湯松沢。北佐久郡一浅間山(2542米)，軽井沢。松本市附近。蓼科山(2530米)
- (ハ) オホバノキハダ
- 栃木 中禪寺湖附近日光，太平，湯坂，千手，菅蒲ヶ浜。
- 神奈川 足柄上郡一三保。足柄下郡一箱根。中・愛甲郡界大山(1253米)。足柄上・愛甲・中郡界塔ヶ岳(1492米)。
愛甲津久井。足柄上郡界丹波山(1567米)。津久井。足柄上郡界蛭ヶ岳(1673米)。中郡一國府村，黒岩。
- 東京 南多摩郡一高尾山(600米)。
- 静岡 富士山大宮新道一合附近。
- (ニ) ニツコウキハダ
- 栃木 下都賀郡一寺尾村，出流山。上都賀郡一男休山(2434米)下麓。那須山(約2000米)。上都賀・塩谷郡界女峰
山(2464米)，太郎山(2368米)下麓。
- (ホ) ミヤマキハダ
- 北海道 渡島・石狩・釧路・日高・天塩・北見・根室・色丹島諸地方。樺似郡アボイ山(811米)。
- 福島 双葉郡一野上。
- 栃木 上都賀郡一湯ノ湖附近中禪寺阪，千手，湯元，中宮祠。
- 埼玉 井戸沢，赤沢，入川。
- 山梨 南都留郡一谷村，迫分・奥ノ院間。北都留郡一椋川。
- 静岡 安部郡一駿河安部峠。

(第六圖——第十二圖参照)

(3) 生育状況並蓄積量の概略

比較的高地に少く又群落的には存在せず点生するに過ぎざるも從喬木階以上に現れて生育す。光線に対しては陽性にして常に更新地及疎開する森林内の充分陽光を受くる処に生育し水分に対しては稍湿性なるを以て多くは溪間或は之に接する斜面又は河岸等の稍水湿を帯びる沃土を好んで生育する。

而して全國主要営林署並試験場其の他に照会及び文献による調査結果の概略を示せば次の如くであるが、生育状況並蓄積量共適確を期し難く加うるに照会先の回答詳細は紙数の都合により一々詳述出来ないので各府縣別に其の概略を取纏めたものである。

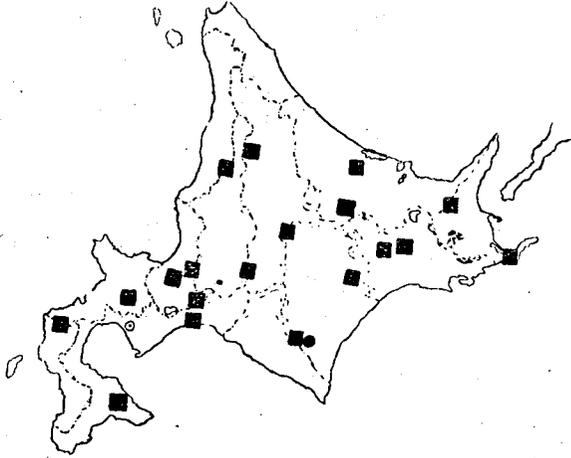
北海道

渡島より択捉島に至る迄全道に生育し、殊に石狩国内に多い。潤葉樹林若くは針潤混生林の隨所に生育して居り、アカダモ・イタヤカヘデ・ネマガリダケ群落の標準地に含まれる。キハダは面積 $\frac{1}{4}$ 、ヘクタール中直径 6 ㎝~2 本、8 ㎝~1 本、10 ㎝~1 本 計四本である。(北大雨竜演習林植物調査)

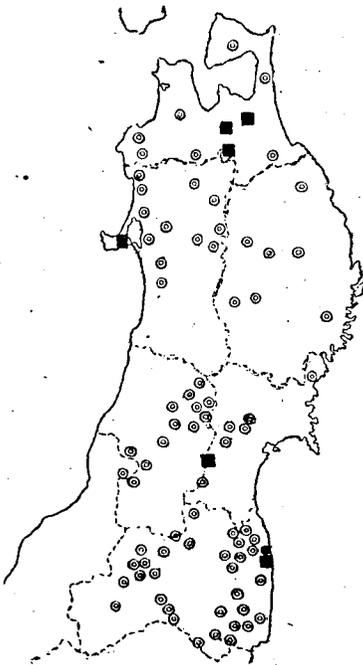
日本に於ける分布概況

凡例 (○キハダ ■ヒロハノキハダ △オホバノキハダ ●ミヤマキハダ ×ニツコウキハダ)

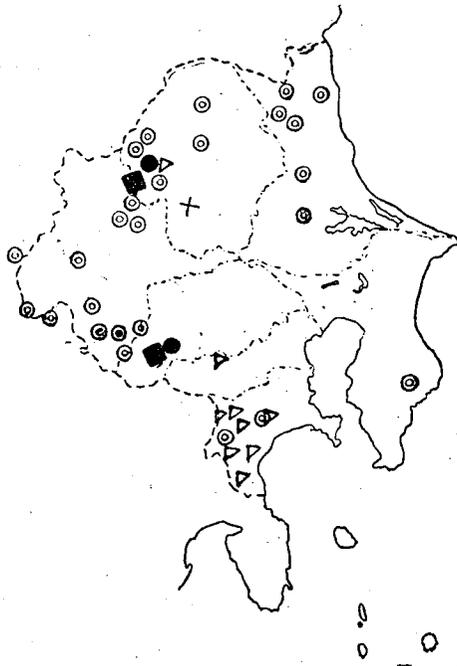
第 6 図



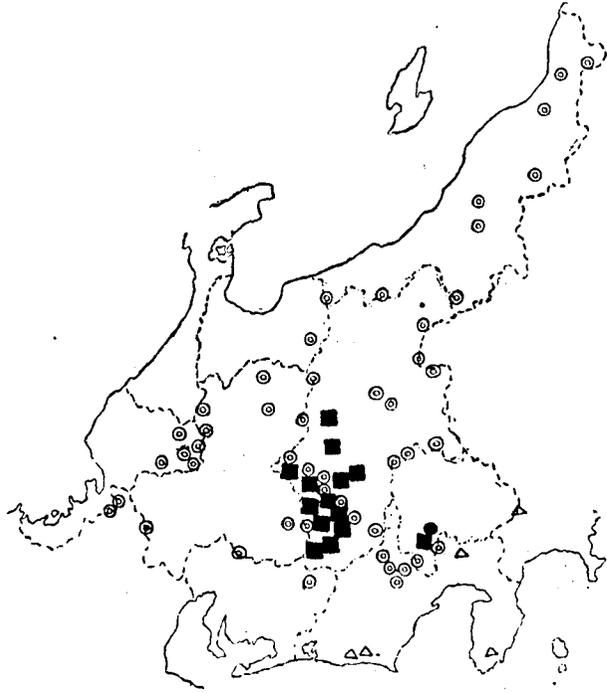
第 7 図



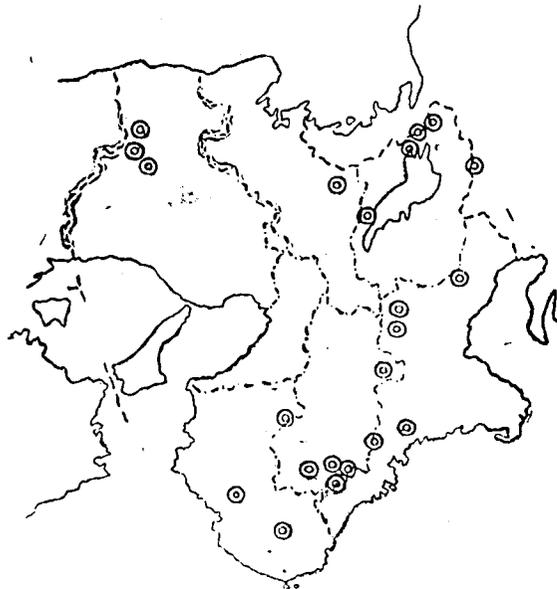
第 8 図



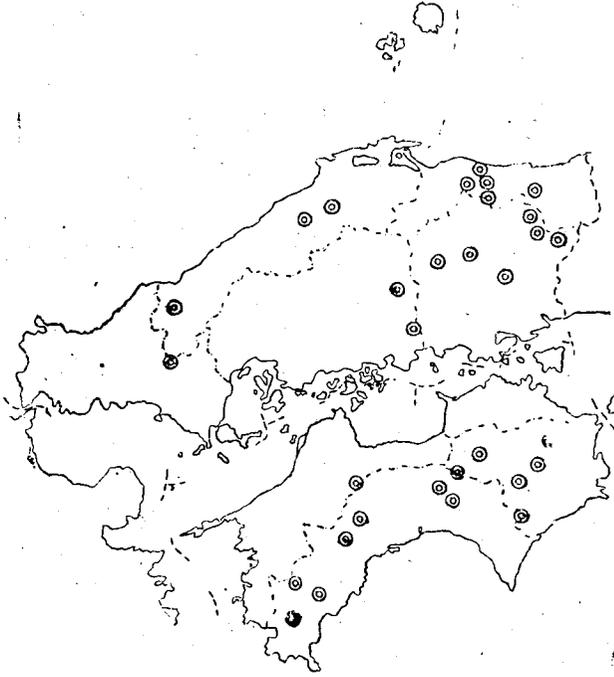
第 9 圖



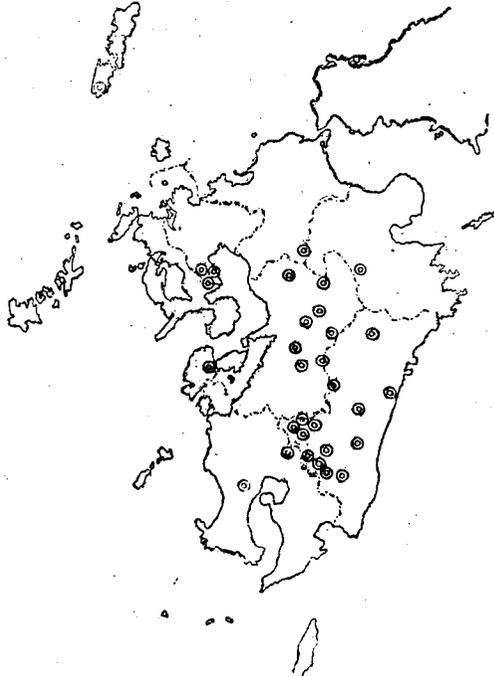
第三十圖



第 11 図



第 12 図



日高國様似郡アボイ山(811 米)中腹大凡 250~500 米にミヤマキハダ生育す。北見國利尻島及色丹島にも生育す。館脇博士の説に依れば北海道に於てはヒロハノキハダの分布は肥沃地に多しと。(北大演研報九ノ一)

青森縣

中津輕・北津輕・西津輕・南津輕・三戸・上北・下北各郡に又入甲田山(1551 米)の 900 米の個所及大間越にヒロハノキハダ生育す。

岩手縣

上閉伊・下閉伊・岩手・和賀・稗貫・九戸各郡に生育し、岩手北部にては果実を煮食すと。(三陸植物誌)

秋田縣

山本・鹿角・北秋田・南秋田・仙北の各郡に、ヒロハノキハダは男鹿山(732 米)に生育す。

山形縣

北村山・西村山・西置賜・最上各郡内に生育するも少く点生し見込蓄積量 3,000 石。

宮城縣

本吉・宮城・名取・柴田・各郡に生育し、ヒロハノキハダは柴田郡笹谷に見る。

福島縣

信夫・伊達・石城・相馬・石川・西白河・岩瀬・田村各郡の阿武隈高原 400~500 米の処に生育し雙葉郡にはミヤマノキハダ、野上・小塚入・玉ノ湯にはヒロハノキハダ生育す。一般に海拔の高い中腹以下に多いも量的に少く又耶麻・大沼・河沼・南会津各郡にも全般に生育し多くは中腹以下の沢筋に点在す。

見込数量 6,800 石。

栃木縣

ニソウキハダは下都賀郡出流山・女峰山(2464 米)・太郎山(2368 米)・男体山の下麓那須山に、オホバノキハダは日光・太平・湯坂・千手・湯元・菅浦ヶ浜に、ミヤマキハダは中禪寺坂・千手・湯元・中宮祠に、ヒロハノキハダは馬返・前白根山に生育す。

那須・上都賀・塩谷の各郡内に散在するも少く見込数量 450 石。

群馬縣

利根・碓氷・多野・吾妻・山田各郡に生育するも少く見込数量 4350 石。大間々當林畧部内にありては 10 町步当 1 石程度の蓄積量である。

茨城縣

多賀・久慈・那珂・西茨城各郡に生育するも大體 1 町步に 1~2 木点在する程度にて少い。見込 500 石。筑波山(876 米)花園山(802 米)潮來にも生育す。

埼玉縣

秩父郡三峰山(1921 米)の中腹にヒロハノキハダ、井戸沢・赤沢・入川にミヤマノキハダ生育す。

千葉縣

安房郡清澄山

東京都

南多摩郡高尾山(600 米)にオホバノキハダ生育す。

神奈川縣

キハダは足柄上郡内に、オホノキハダは大山(1253 米)塔ヶ岳(1492 米)、丹波山(1567 米)、蛭ヶ岳(1673 米)中郡黒岩・足柄下郡内に生育す。

山梨縣

一般に数量少きも全縣下山林に点生し見込蓄積 540 石。キハダは南巨摩郡身延山(1143 米)・北巨摩・中巨摩に、ミヤマキハダは身延山(追分=奥ノ院間)・南都留・北都留郡に、ヒロハノキハダは身延山、東入代・西山梨・東山梨の各郡並片房沢御料林に生育す。

長野縣

全縣下に生育するもキハダは西筑摩郡に多く、ヒロハノキハダは西筑摩・上水内・上伊那・下伊那・諏訪・北佐久の各郡に生育す。

新潟縣

南魚沼・北蒲原・東蒲原・岩船・北魚沼の各郡に生育点在し稀に発見するに過ぎず。見込蓄積量 5,890 石。

静岡縣

キハダは賀茂・田方・志太・周知の各郡に、オホバノキハダは富士山一合附近・小笠郡に、ミヤマキハダは安部郡に生育するも少し。

愛知縣

北設樂郡段戸御料林・定光寺山。

岐阜縣

大野・吉城・本巢各郡に生育す。

富山縣

富山営林署黒部経営区一分布少い。混交歩合 0.0005% 見込 510 石。立山経営区一少い。混交歩合 0.0006% 見込 345 石。

福井縣

大野・南條・敦賀の各郡に生育。

石川縣

金沢営林署白山事業区。

京都府

北桑田郡知井村京大芦生演習林に生育するも僅少。

三重縣

多賀・鈴鹿・多氣の各郡に生育す。

奈良縣

宇陀・吉野郡に生育するも少い。往年吉野郡北山地方に多数生育せしもダラニスケの原料として採集せる為現在僅少となる。

和歌山縣

伊都・東牟婁・西牟婁の各郡に生育す。

滋賀縣

滋賀・東浅井・伊香の各郡に生育。

兵庫縣

美方・宍粟郡に生育するも少く見込 200 石。

岡山縣

阿哲・上房・苫田・勝田の各郡に生育。

廣島縣

芦品・神石郡に生育。

鳥取縣

西伯郡逢坂村民有林に直径 5~6 寸のもの約 30 本位、大山村民有林に直径 6~7 寸のもの約 10 本位、倉吉営林署部内・東伯郡内には直径 2~3 寸のもの約 40 本、3~4 寸のもの約 100 本、5~6 寸のもの 20 本位。

島根縣

日原・川本営林署部内に生育するも少くヘクタール当り 40 本程度、其の他仁多・安濃郡内にも生育す。

山口縣

玖珂郡廣瀬村。

徳島縣

麻植・三好郡内並美馬郡に生育するも少く見込 30 石。

愛媛縣

周桑郡石槌山。

高知縣

幡多・多芸・高岡・長岡の各郡内に生育す。

福岡縣

八女郡矢部郡山岳地方・筑波後國入ッ滝(極稀)。

佐賀縣

藤津郡及武雄營林署部内に生育するも少く見込 800 石。

宮崎縣

北諸縣・南那珂各郡並美々津・高岡・高千穂・綾・加久藤の各營林署部内の標高 400~700 米の天然林中に点在するも少く見込 5,600 石。

長崎縣

北高木郡多良岳並対島・下縣郡神崎に生育。

大分縣

森營林署部内の九重山。散生，少く見込三石。

熊本縣

天草・入代・阿蘇・菊池・鹿本・球磨・上益城・下益城の各郡に生育。

鹿児島縣

始良郡霧島山・薩摩郡矢野に生育す。

IV. 方言

方言	方言の行はるゝ地方
オホバリ	岩手縣(気仙郡)
オヒキ	岩手縣(気仙郡)
オウシキ	岩手縣(和賀郡)
オホヘギ	鳥取縣(東伯郡)
オヲヒキ	秋田縣(鹿角郡)
オヘギ	岡山縣(美作地方), 広島縣
オイヘギ	岡山縣(美作地方)
オホバク	岐阜縣(飛騨地方), 三重縣(紀伊地方), 和歌山縣(紀伊地方), 新潟縣(東蒲原, 中蒲原郡)
オホバコ	栃木縣(今市營林署湯西川担当区部内)
オホバツ	群馬縣(多野郡)
オホツキ	鳥根縣
カネツキ	新潟縣(南蒲原郡)
キハダ	岩手縣(気仙郡), 宮城縣(本吉郡), 山形縣(酒田地方), 福島縣(会津地方, 相馬郡), 茨城縣(多賀郡), 東京都(郡部), 福井縣(越前地方), 三重縣(紀伊地方), 静岡縣(伊豆地方), 富山縣, 滋賀縣, 和歌山縣(紀伊地方), 宮崎縣(西諸縣郡)。
キガカハ	鳥取縣(因幡地方)
コウチン	富山縣
サンセンサウ	静岡縣(駿河, 遠江地方)
サンゼンサウ	岐阜縣(飛騨地方), 埼玉縣, 山梨縣(南巨摩郡河内)
シコ	青森縣(上北郡, 三戸郡), 岩手縣(岩手郡)
シコウ	青森縣(三戸郡)
シコノキ	岩手縣(稗貫, 下閉伊, 和賀各郡), 新潟縣(北蒲原郡)
シコノヘ	青森縣(北津軽郡), 秋田縣
シコノヘイ	岩手縣(上閉伊郡)
シコロ	青森縣(東・南・北・中各津軽郡及上北・下北兩郡), 岩手縣(九戸, 和賀, 上閉伊, 三戸, 岩手, 東磐井各郡), 秋田縣(鹿角, 北秋田, 仙北, 山本, 雄勝各郡), 山梨縣, 滋賀縣, 北

	海道.
シツコ	岩手縣(岩手郡)
シツコウ	青森縣(三戸郡)
シツコノキ	青森縣(三戸郡), 山形縣(北村山郡)
シロツベ	秋田縣(北秋田郡)
シコロベ	秋田縣
スコロ	岩手縣(九戸, 稗貫郡)
スウバク	熊本縣(上益城郡)
タンバ	秋田縣(雄勝, 平鹿郡)
タンバ	秋田縣
ニガキ	島根縣(石見地方), 茨城縣(多賀郡)
ヒコ	岩手縣(岩手郡)
ヒコノキ	岩手縣(稗貫郡)
ヒコロ	岩手縣(岩手郡)
ヘギ	秋田縣(仙北郡檜木内村)
ハウチン	富山縣
ミヨウセン	長野縣(松本及安曇郡), 新潟縣(東・中頸城及刈羽郡)
メギノキ	静岡縣(遠江地方)
メグサリノキ	青森縣(下北郡)
モヘ	青森縣(南津軽・中津軽郡)
ヤツクハ	秋田縣
リュウセン	新潟縣(岩船郡)
シケレバニ	アイヌ
シケレベニ	アイヌ
ボアンポーローム	滿州
ボアユー	滿州
フワングキヨングナム	朝鮮
フワンキヨンピナム	朝鮮
黄蘗	東三省
黄被樺	東三省
黄柏栗	吉林
川黄蘗又は硬皮蘗木	薩哈爾
黄皮樹又は小黃連樹	湖北, 四川
灰皮蘗	湖北興山
Amur Cork-tree	英國

V. 結 言

本研究は未だ結論を得るに至らず調査研究を続行中であるが一応現在迄の研究調査の結果を報告する次第である。この後は各種別の細胞・組織・並に葉・幹・根の外部内部形態, 花の構造, 果実, 種子, 稚苗等を比較研究して各種の特徴を明かにし且成分, 含有量等を検出して優良品種を決定せんとするものである。

終りに臨み本研究に文献の閲覧並種々助言を賜はりたる国立科学博物館植物部, 東大理学部並農学部, 農林省林業試験場各位及御協力を得たる全国主要営林署, 試験場, 各大学演習林, 村役場に対し深謝の意を表する次第である。

(昭和二十五年二月十五日稿)

The Geographical Distribution of *Phellodendron*
in Japan

(Masayoshi Okabe, Makoto Yamagata and Masakatsu Taki)

We examined and studied the spontaneous distribution and the nature of *Phellodendron* for the purpose of its increasing cultivation.

According to the results of the studies on varieties, special features, distribution in the world and in Japan, condition of growth, dialects and etc., it was found out that these plants grow naturally in eastern Asia only, and in Japan they are many in the northern parts.

抄 録

異項環ズルホンの合成 (第1報) (ベンツチアゾリール化合物) 板井孝信, 山本 栄:

20種のベンツチアゾリール基を持つ Sulfid 又は Sulfon を合成した。此大部分はチフスの化学療法剤として試験した。(薬誌, 68, 128, 1948)

異項環ズルホンの合成 (第2報) (ヒノリール化合物) 板井孝信, 菅野三郎: 薬誌, 68, 131, 1948.

芳香族異項環に対する p-Nitrophenylsulfenyl chlorid の作用に就て (第1報)

Thiazolylsulfon 類の合成 (其 1) 菅野三郎, 大野昌子: 薬誌. 69. 503, 1949.

4-Aminophenyl-2'-amino-4'-methyl-5'-sulfon (Methylpromizol) 及び 4-Aminophenyl-2'-oxy-4'-methyl-5'-sulfon を p-Nitrophenylsulfenyl Chlorid 及び 2-Hydroxy-4-methylthiazol より合成した。此收率は Bambas による原法よりよかつた。

耳下腺は血糖降下性物質を含むや 長沢佳熊, 苗村徳次郎, 坂部フミ: 日本内分泌学会雑誌, 昭24.4~5.

「カタラーゼ」「高分子電解質」複合系の研究 寺山宏: 日化, 70 (8-9) 昭 24.

第二報: カタラーゼ-セルローゼ硫酸カリ. 複合系の活性度に及ぼす pH 緩衝塩及びセルローゼ硫酸カリの濃度の影響. 寺山 宏, 山羽 力, 草間慶一: 日化, 71 (3) 昭 25 219.

第三報: カタラーゼ-セルローゼ硫酸カリ複合系の濁濁度の測定と, 該複合系の活性度に関する理論的考察. 寺山宏, 山羽力, 草間慶一: 日化. 71, (4) 昭 25 248.

コロイド滴定法によるバクテリアの研究 (第一報) 寺山宏, 荒川清二: 生化学第 22 (3) 125, 昭 25.

On the Nature of Metachromasy (H. Terayama, The Japanese Medical Journal: 2, No. 3, 137 (1949).

コロイド滴定法に依るバクテリアの発育状態の研究 (速報) 寺山宏, 宮本晴夫: 化学と工業 2 (6) (1949)

植物バイラスの種子及び汁液による伝搬 平山重勝 農学 3. (1) 705-709, 1949.

モザイク病タバコ組織の呼吸 平山重勝: 植物病理学会報 14. (1) 29-32, 1950.

細菌に対するグアノフラシン (塩酸塩及び乳酸塩) の in vivo 効果について 越沼きみゑ, 大谷政徳, 宮本晴夫, 柳町徳三, 桑原章吾: 東京医事新誌. 67 (2), 14~16, 1950.

マウスの溶連菌. 鼠チフス菌実験感染に対してグアノフラシンがいくらか死期を延長できることを実証した。

グアノフラシンについての 2~3 の基礎実験. 宮本晴夫, 越沼きみゑ, 柳町徳三, 大沢弘.: 東京医事新誌 66.580~582, 1949.

5-Nitro-2-furfurylidene-aminoguanidine HCl の浸透及び接触抗菌力, 殺菌力, 耐 pH 性, その他について調査し, この薬品の臨床応用を論じた。

細菌の薬剤耐性についての知見補遺 ス剤耐性と糖代謝のつながりについて 桑原章吾, 小山源太郎, 大淵令子, 大沢弘, 大林達: 医学と生物, 17. 37-41, 1950.

ス剤耐性の進捗と培地の炭素源との関係を抗菌価を指標として追究し, 糖代謝の変位は耐性になるための要因の一つではあつても, 主役を演ずるものではないことを推論した。

キチンを原料とする高分子抗菌性物質「マクラミン」についての研究 入田貞義, 寺山弘, 寺山ゑみ, 桑原章吾, 宮本晴夫, 青山好作, 宇都宮則久, 丹治園枝, 越沼きみゑ. 基礎と臨床 1 (2). 10, 1948

I. 一般的性状及び各種好気性菌に対する抗菌作用について。

キチンを原料とする高分子抗菌物質マクラミン (Trimethyl Chitosanium-iodide) の性状, 抗菌作用の検討を試み, その結果毒性は比較的僅少で, 物質の抗菌作用は大体スルファミンとスルファチアゾールの中間に位した。

II. 殺菌力及び殺菌作用に対する拮抗物質について 日本細菌学雑誌 (1) 27, 1949.

Macramin は黄色葡萄球菌に選択的殺菌力を有し, その作用は殺菌的で発育阻止の要素は少い。パラアミノ安息香酸とは拮抗しないが, 腸内の有機物, ペプトン及び内エキス等により力價は著しく低下した。

III. 動物実験及び局所療法剤としての価値について

Macramin はマウス糞便中の大腸菌減少の試験では大した効果を認めず。又溶血性連鎖球菌、肺炎双球菌を用いた感染防禦実験では 2~4 日の死期延長を認めたにすぎない。しかし種々模擬実験の結果からみると膿痂疹、熱性膿瘍等の局所療法剤としての効果が期待される。

ホモスルファミン (マルファニール) に関する二三の実験 入田貞義, 宮本晴夫, 青山好作, 塩田輝重, 最新医学 3(12)1, 1948.

スルフォンアミド剤と尿素との併用効果を観察中ホモスルファミンと尿素とは逆に拮抗して抗菌力がかえつて低下するという新事実を発見し, この作用機序について究明する一方局所療法剤としての価値を生体拮抗という観点から基礎実験を行った。

ホモスルファミンの作用機序についての一考察 宮本晴夫, 塩田輝重 医学と生物 14 (2), 1949.

ホモスルファミンと尿素とは加熱操作により容易に縮合したが, 生体内の複雑な機構による諸種の刺激のため起る可能性を考慮し, 肺炎双球菌に感染したマウスに投与治療したが, 試験管内におけるような拮抗現象は認めなかつた。

菌 (aerobacter aerogenes) のスルフォンアミド剤抵抗性に獲得することの機作について

I. 耐性株の各種スルフォンアミド剤に対する態度 医学と生物 15. (5) 258, 1949. 宮本晴夫, 越沼きみゑ.

一般に P.A.B.A. によつて拮抗される S 剤に対しては菌が抵抗性を獲得し, P. A. B. A. によつて拮抗されない S 剤に対しては菌が抵抗性を獲得し難いから, 菌の抵抗性の獲得と P.A.B.A. とは密接な関係にあることが窺はれた。

II. 抵抗性とパラアミノ安息香酸との関係 医学と生物 15. (6). 312, 1949.

aerobacter aerogenes を供試菌とした場合にこの菌が, S 剤に抵抗性を獲得することの機作については, P.A.B.A. と密接な関連性において考察され, この菌がより多くの P.A.B.A. を生産するためによるものであることを知つた。

III. ビタミン B₂ 合成能の相違 総合医学 7 (4). 28, 1950. 入田貞義, 宮本晴夫, 越沼きみゑ, 太幡利一, 試験管内に於て S 剤に耐性を獲得した aerobacter aerogenes の生産する量は耐性を獲得していないもの菌株のそれに比して約 1/2 量であることを確認した。

抗濾過性病毒剤「フェノスルファゾールの抗菌作用について」入田貞義, 青山好作, 大林達, 春田正氣, 石井進, 清水武彦: 日本衛生学雑誌 4 (4). 17, 1950.

フェノスルファゾールの抗菌作用を, これと構造の近似した従来のスルフォンアミド剤と比較し, 次いで抗ウイルス性を日本脳炎ウイルス (中山株) について検討を加えた。フェノスルファゾールは, 脳炎ウイルスに対しては in vitro ではこれの活性化を阻止したが, in vivo による実験では活性化を阻止し得なかつた。

ニトロフラゾーン (邦製フラスキジ) とスルフォンアミド剤との協同作用並にその作用機作について 入田貞義, 青山好作, 丹治岡枝: 東京医事新誌, 66 (9), 1949

ニトロフラゾーンの難溶性打開として試みた S 剤との併用は in vitro の実験で顕著な協同作用を認め, S 剤力価は約 10~1000 倍, ニトロフラゾーン 2~3 倍効力が増強され, 斯様な協同作用は S 剤構造の比較的簡単な分子小なるもの程強い。また S 剤と P.A.B.A. と菌との拮抗関係は, ニトロフラゾーン存在により著しく変動した。

コロイド滴定によるフラシンの作用形成の観察 宮本晴夫, 寺山宏, 医学と生物 16 (2). 100, 1950

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, フラシン作用形成について述べ, さらにスルフォンアミド剤との協同作用機序を論じた。

病理学的にみたニトロフラゾーンの毒性について 入田貞義, 青山好作, 丹治岡枝, 春田正氣: 総合医学 7 (12). 25, 1950.

ニトロフラゾーンの毒性を肉眼的のみならず, 病理学的にも検討を加えた。その結果ニトロフラゾールは致死量 (pro kg 0.5g) の 10 分の 1 量以上では長期連続投与した場合慢性中毒が実験細胞の変性或は循環障碍となつてあらわれるが, これが 25 分の 1 量以下では 35 日間投与によつても肉眼的にも病理学的にも何等のみるべき変性が認められず, 毒性は一般の想像に反して軽度な事を確認した。

新ニトロフラン誘導體 Z-Furan の抗菌作用に関する研究 入田貞義, 青山好作, 丹治岡枝, 中島富子: 東京医事新誌 67 (7), 15, 1950

新に合成された Z-Furan の抗菌性について、*in vitro* と *in vivo* とに分けて効果をしらべその応用価値について検討を加えた。このものは従来の Nitrofuran 誘導体特に Furacin に載べるとその毒性が幾分減弱している点、好気性菌は勿論、嫌気性菌に対しても顕著な抗菌性が認められ、また鼠チフス菌感染マウス、並に破傷風毒素接種マウスの死期を 1~2 倍に延長し、*in vivo* に於ても治効力を有することを知った。

ヘキシールレゾルシン及びイソアミールレゾルシンに就いての細菌学的基础研究 入田貞義, 青山好作, 大林達, 大野エイ子: 東京医事新誌 67 (1) 24, 1950

1. 局所化学療法剤としての意義について

ヘキシールレゾルシン及びイソアミールレゾルシンを局所療法剤として表在及び深部創傷に応用した場合の効果について二三の模擬実験を行つた。その結果このものが創傷剤として幾多の特性を具備していることを知った。

入田貞義, 青山好作, 丹治園枝, 中島富子, 林長男。

II. 皮膚病原菌に対する *in vitro* 抗菌作用とその作用機作について 東京医事新誌 67(8) 12, 1950.

駆虫剤。殺菌消毒剤として注目されるヘキシールレゾルシン, イソアミールレゾルシンは病原性糸状菌, 放線状菌に対し抗菌性を有した故 *in vitro* 抗菌作用を検す一方作用機作について検討を加えた。

尿素及びその誘導体とスルフォアミド剤との協同作用並にその機序に関する研究 宮本晴夫: 化学療法とホルモン療法 1. (7) 261, 1948.

ブイオン培養について尿素及びウレタンとスルフォアミド剤の間には著明な協同作用が認められ、その細菌に対する作用は尿素よりウレタンの方が強いが、スルフォアミド剤との協同作用は逆に尿素の方が著明であり、尿素及びウレタンと抗スルフォアミド物質にしての P.A.B.A 肉エキス; ペプトン, 血清及び細菌数との間には一定の濃度と一定時間の範囲内において拮抗現象が認められる。

尿素をスルフォアミド剤と併用することの効果について 宮本晴夫: 医学と生物 13 (5), 344, 1948

尿素の添加は合成培地に於て腸内細菌に対するスルフォアミド剤の抗菌力を 10~100 倍に腸管内投與による方法では乳糖分解菌に作用を 3 倍がた増強せしめ得る。

スルフォアミド剤と尿素との併用効果についての動物実験 宮本晴夫: 最新医学 4 (3). 169, 1949.

鼠チフス菌及び肺炎双球菌感染に対するスルフォアミド剤の活効力は尿素の適量を生体内濃度に留意し分割投與すると 1.4~2 倍にまで増強されることを生体内に証明出来る。

スルファミンとパラアミノ安息香酸と尿素及びチオ尿素との「せりあい」について 宮本晴夫, 化学療法とホルモン療法 2(4) 145 1949 S.A と P.A.B.A との拮抗比は一定時間内で P.A.B.A の添加時間の相違により影響されないから P.A.B.A の細菌の酵素等に対する親和力は S.A のそれよりも可なり強いものと思はれる。又 S.A と尿素との共存する培地に後から P.A.B.A を加えた場合も P.A.B.A が存在する場合と同様の拮抗比が認められる。これより P.A.B.A の菌体の親和力は S.A 尿素あるいは菌体と尿素との親和力よりもはるかに大であることが実証される。

光電池式比濁計による尿素及びウレタンとスルフォアミド剤との協同現象の観察 宮本晴夫: 東京医事新誌 66. (5), 222, 1949.

光度計を使用して S.A, S.T に尿素, ウレタンを併用して菌の発育を観察して見ると單獨に用いた時より菌の誘導期が延長され、対数期, 定常期が抑制されて併用効果が著明にあらはれる。又 H.S に尿素, ウレタンを併用してみると誘導期が延長されるが対数期, 定常期には作用がなく結局併用効果が見られない。それ故ウレタン, 尿素の如く作用型の異つた薬剤を併用すると菌の発育の各期に別個に作用して協同現象を示すことになる。

ホモスルファミン (マルファニール) と尿素との拮抗現象の本態 宮本晴夫: 日本医科大学雑誌 16. (10). 364, 1949.

H.S と尿素との拮抗現象の本態は加熱操作りよ両者が結合して新化合物を形成することを明にし。この化合物の化学的性状抗菌性について述べ、加熱の温度及び時間による拮抗のあらはれかたについて論じた。

細菌の抗スルフォアミド性獲得の妨害に対する尿素の影響 宮本晴夫: 基礎と臨床 2 (5). 30, 1949.

aerobacter aerogenes を S.A を含む培地に継代培養することにより、S.A に対する抵抗力が大になり、抵抗力を

増大せしめ得るが、尿素はこの菌株の抵抗力の獲得を障害するのが認められる。故に S 剤に尿素を併用すると協同作用を示し、菌が S 剤に対する耐性を獲得しがたくなるから S 剤を連用すると使用当初よりも効力がなくなつたよ
うな従来の S 剤の欠点を補ふことが出来る。

尿素療法特にスルフォアミド剤との併用意義 入田貞義, 宮本晴夫: 日本医事新報 1335. 6, 1949.

ス剤と尿素併用は *in vitro* に於いてペニシリン, ス剤の単独では何等効を奏しない。グラム陰性菌及びス剤耐性菌
に対し著効を示した。このことは *in vivo* に於ても同様の効果が期待されるし、ストレプトマイシン等とともに新し
い治効分野を開拓してゆくことであろう。

スルフォアミド及びスルフォン誘導体と尿素との協同作用機序についての一考察 宮本晴夫, 日本衛
生学雑誌 4. (4) 13, 1949.

スルフォアミド剤の N' の脂肪基, 異項環で置換された誘導体, N⁴ の水素原子をフタル酸で置換された誘導
体は尿素との協同作用を認め得るかスルフォアミド剤の N⁴ の NH₂ 基を原子環で置換された誘導体ではこのよう
な現象は存在しなかつたから協同作用の機序として N⁴ の NH₂ 基が主要な役割を演じているものと思はれる。又尿
素と逆の関係になつているパラアミノ安息香酸と拮抗されるから深いつながりがあることが推測される。

ソバの駆虫効果について (第 1 報) 各種駆虫剤との比較 入田貞義, 乗木秀夫, 宮本晴夫, 高橋信将: 公
衆衛生 5 (2). 72, 1949

ソバの煎汁及エキスはヘキシールレゾルシンより劣るが市販駆虫剤のリスターアスカリヂンに比較して排虫率及び
完全駆虫率ともすぐれた結果を示しヘキシールレゾルシンには 45% に一時的副作用を認めたがソバにはらにらの特
記すべき症状もなく服用方法の考案により一層良い成績があげられ得る。

生ソバの駆虫効果について (第 2 報) 特に作用本態の考察 入田貞義, 乗木秀夫, 宮本晴夫, 依田源次。
日本医科大学雑誌 16 (4). 26, 1949.

ソバのエキス煎剤の排虫率 80~90% の優秀成績をあげた。

これは蛔虫の興奮及び痲痺により駆虫効果をあらわすものであり完全駆虫率は 10% 足らずであつた。

葡萄球菌性中毒に関する研究 入田貞義, 宇都宮期久, 春日齐, 依田源次: 食品衛生 1 (1) 9, 1949.

食物中毒症の原因究明について中毒を起す原因を大別し腐敗菌の種類及び葡萄球菌中毒に関する実験的調査である
食品の新鮮保持に関する研究 宮本晴夫, 依田源次, 中尾基久, 柳町徳三, 越沼きみお: 日本衛生学雑誌 4
(4). 14, 1950

フランシを入れて食品の新鮮保持に関する実験を行い抗菌力作用型式毒性の諸点から栄養価細菌増殖に関する実験
である。

その結果フランシ 10 万倍稀釈より濃度の濃いものは腐敗させるまでの時間を延長させることが出来る。

繁用医薬品の細菌汚染度及び有害物質に関する研究 (第 1 報) 粉末薬剤中の細菌について 入田貞義,
青山好作, 丹治園枝, 田中万千子, 公衆衛生 5 (1), 26, 1948.

四種の薬物につき衛生細菌学的な検討を加へたところいづれも多数の微生物が生存し。特にエビオス及びゲアスタ
ーゼからは *Escherichia* 型の大腸菌の存在はなかつたが, *Aerogenes* 型及び中間型の大腸菌が多数に検出され, 又数
多い蛋白及び糖等の分解菌の存在が証明された。このことはこの種薬剤の製造取扱ひが著しく非衛生的であつたこと
の証明ともなるうし, 医薬品の取締が單に化学的のみでなく, 細菌学的にも併せ行ふべきことを示唆するものと思ふ。
更に薬物中の汚染菌数をいかほどまでとおさへて取締るかの薬品衛生の問題は, 公衆衛生上当然起らなくてはなら
ない大切な問題であると思はれる。

医薬品の細菌汚染度及び有害物質 (第 2 報) 入田貞義, 青山好作, 丹治園枝, 春日正久: 公衆衛生学雑誌 5
(7). 20, 1949.

医薬品の細菌汚染度及び有害物質 第 3 報 入田貞義, 青山好作, 丹治園枝, 春日齐. 公衆衛生学雑誌 5.
(7), 27, 1949

葡萄糖よりの分離菌について家兎に対して発熱試験を行つたところ細菌より 2 株, 糸状菌より 3 株の発熱陽性株を
得た。これ等よりの発熱物質はいづれも耐熱性であるが, 酸及びアルカリに対しては弱い, 細菌に因するものはセロ

ファン膜を通過するので主体は低分子化合物と見られるが、糸状菌の場合はセロファン膜を通過しない部分にも発熱性を認めるので、主体を低分子化合物のみに帰することは出来ない。

紫外線照射による不良注射薬の迅速発見法 入田貞義, 青山好作, 丹治園枝. 総合医学 6 (16). 4, 1949,

蛋白説または含水炭素説と世界の医学界に大きな議題となつている注射液中の発熱物質を紫外線照射に依る蛍光反応の有無により簡単迅速にその存在を知る方法に成功した。種々の濃度の葡萄糖液をドイツ製 Y 型ハノピア型常圧水銀燈で照射すると多くの場合は青, 若干に黄または赤い蛍光が発せられ, これらの大部分 (75%以上) に発熱作用陽性となることが家兎の実験並に人体実験により確認された。葡萄糖ばかりでなく転化糖, チトラート液などについても同様蛍光反応と発熱関係は並行した。

腸チフス菌パラチフス菌及び菌の産生する発熱物質について 入田貞義, 青山好作, 丹治園枝. 日本医事新報 1326. 9, 1649.

著者らは S. typhi, S. paratyphi A 及び B の培養液より発熱物質を分離した。このものゝ化学的本態は未だ不明であるが, 化学的性反応の結果からは Purmann 等の主張する含水炭素系物質に類似する。これらの発熱物質は紫外線照射によりいずれも青色の蛍光を発した。この三種の発熱物質と 8 種の蛍光物質 (蛍光反応陽性の 20%葡萄糖注) 及びさきに分離発表した 2 種の発熱物質 (GH₁₂, GH₁₀) とにつき吸収スペクトルで測定した結果は, 吸収波長極大はいずれも 256m μ (2650 Å) で一致しその吸収係数は動物実験の発熱量 (発熱反) とほぼ平行した。発熱物質は産生菌種によつて, 一般的な物理, 化学的性状及び化学構造は異なるが母体に附随した発熱基は低分子のものではその数が少く高分子のものほど其の数は多いようである。この詳細については目下実験続行中である。

発熱物質の生体特に血液像に及ぼす影響葡萄糖液等の発熱物質の研究 入田貞義, 青山好作, 丹治園枝, 菊地滋: 最新医学 7. (12). 32, 1949.

発熱物質の生体特に血液像に及ぼす影響を家兎について試験した。発熱物質を注射すると, 発熱現象に平行して赤血球数及び血色素量の減少がみられる。しかし白血球に対しては発熱時に於ける白血球総数は GH₁₂ (糸状菌) では一時減少を見たが, 第 1 層部, 非吸着部 (細菌) 発熱物質では次第に増加し, 体温平常復帰後に於ても増加の傾向がみられ, この増加は注射前に比較すると約 1.5~2 倍に及んだ。個々の白血球に於ては発熱から回復時にかけて中性嗜好白細胞の顕著な増多を, リンパ及び大単核白細胞の減少が見られる。塩基及びデオキシ核糖核酸嗜好細胞に於ては著変が見られない。しかしこの血液像の変化も 24 時間後には大体常値に復帰している。発熱起因物は発熱物質とやゝ類似した成績を示した。20%葡萄糖, 生理食塩水, 蒸留水の脈管内注入は赤血球に影響を與えないが, 白血球は幾分量的に影響された。

ジフテリヤ血清中に産生せる発熱物質並にその除去法 入田貞義, 青山好作, 丹治園枝, 牧野正顕: 総合医学 7. (13), 18, 1950

有機吸着剤 (イオン交換樹脂) を用いて, ジフテリヤ血清中の抗毒素にさしたる影響をあたえることなく血清中に産生された発熱物質を完全に除去することに成功した。更にこの血清中より発熱物質を精製分離し, 物理, 化学的性状について検討した。