

ISSN 0077-4715
CODEN: ESKHA 5

衛生試験所報告

第 101 号

昭和 58 年

BULLETIN
OF
NATIONAL INSTITUTE OF
HYGIENIC SCIENCES

No.101 1983

国立衛生試験所

衛生試験所
Eisei Shikenjo Hokoku

衛生試報 101 号 正誤表

ページ	位置, 行	誤	正
I	目次下, 7	内山 允	内山 充
23	上, 5	⁶⁰ CO	⁶⁰ Co
"	上, 8	⁶⁰ CO	⁶⁰ Co
38	上, 8	confirmed	confirmed
99	Fig. 2.	sampling cite	sampling site
110	Table 1. 上, 1	Manufacture	Manufacturer
"	Table 1. 上, 11	Creatine	Creatinine
112	Table 2. 上, 15	nu/ml	mu/ml
171	左上, 11	Tupts University	Tufts University
173	右上, 20	連 翹	連 翹
179	右下, 1	検 数	件 数
180	右上, 3	減 量	減 少
182	右上, 11	IRPT	IRPTC
190	左下, 2	引き継ぎ	引き続き
"	" 21	極性溶媒	極性溶質
191	" 5	違 犯	違 反
"	右上, 2	(→誌上発表 103)	(→誌上発表 94)
"	" 3	(→誌上発表 95)	(→学会発表 155)
"	" 16	(→学会発表 15)	(→学会発表 153)
192	左上, 18	脆 仔	胎 仔
193	" 4	<i>Corydalis</i>	<i>Corydalis</i>
"	" "	<i>Scopolis</i>	<i>Scopolia</i>
"	左下, 5	(科学技術特興調整費)	(科学技術振興調整費)
"	右下, 23	正の有意の相関	正の相関
212	右上, 18	奇形発現	奇形発現
"	" 20	無影響であった	無影響量であった
217	右下, 1	1 ppm 素添加	1 ppm 添加
"	" 8	Minuro OHASHI	Minoru OHASHI
218	左上, 11	過酸水素	過酸化水素
224	" 8	食糧自給	食糧自給
237	" 10	Masatake Toyodo	Masatake TOYODA
"	左下, 11	Sanstation	Sanitation
239	左上, 11	合 成	合 板

衛生試験所報告

第 101 号

昭和 58 年

BULLETIN
OF
NATIONAL INSTITUTE OF
HYGIENIC SCIENCES

No. 101 1983

Published by
National Institute of Hygienic Sciences
Tokyo, Japan

国立衛生試験所

目 次

報 文

- 高速液体クロマトグラフィー・オートアナライザーシステムによる混合製剤中の *dl*-塩酸メチル
エフェドリン及びノスカピンの定量……………江島 昭・立沢政義・松田りえ子・高井信治…… 1
- 逆相クロマトグラフィーにおけるイオン性医薬品の分離きょ動
……………江島 昭・立沢政義・松田りえ子・高井信治…… 7
- 覚せい剤の微量分析に関する研究(第2報)メタンフェタミンを投与したサル体液中の代謝物の
検出……………高橋一徳・島峯望彦・大野昌子・川崎 靖・関田清司・降矢 強……14
- エチレンビスニトロソ尿素の免疫担当細胞に及ぼす影響について
……………手島玲子・沢田純一・池淵秀治・寺尾允男……19
- 医療用具の放射線滅菌に関する研究(第9報) γ 線照射した血液回路からの可溶性剤の溶出について
……………辻 楠雄・新谷英晴・菊池 寛・大場琢磨・越村栄之助……23
- ヘッドスペースガスクロマトグラフィーによるエアゾル製品中のトリクロロエチレン及びテトラ
クロロエチレンの分析……………小嶋茂雄・鹿庭正昭・中村晃忠……27
- 染毛剤中の酸化染料の分析法……………木嶋敬二・斎藤恵美子・手代木直子・本田真理……32
- マイコトキシンの化学分析に関する研究(第9報)一超微量 Aflatoxin B₁ の確認に着目して一
……………五十畑悦子・斎藤行生・内山 充……38
- 天然色素の摂取量に関する研究(第1報)食品中のクルクミンの定量並びに推定摂取量
……………神藏美枝子・田中幸生……42
- Sodium dialkyl sulfosuccinate の妊娠全期間投与におけるマウスの胎仔及び出産仔に及ぼす影響
……………門馬純子・高田幸一・堀内茂友・鈴木康雄・戸部満寿夫……48
- Tris(2-chloroethyl)phosphate の妊娠期投与のラット胎仔及び出産仔の発育に及ぼす影響
……………川島邦夫・田中 悟・中浦根介・長尾重之・遠藤任彦・小野田欽一・高仲 正・大森義仁……55
- N-プロピル-N-ニトロソ尿素(PNU)投与開始週令の相違によるF344ラット胸腺リンパ腫発生
への影響……………松岡千明・荻生俊昭・小野寺博志・古田京子・佐倉康文・前川昭彦・林 裕造・中館正弘……61
- 胃癌移植系(SG2B)を用いた抗悪性腫瘍剤の効果判定法について
……………古川文夫・長野嘉介・小久保 武・岸本嘉夫・高橋道人・林 裕造……66
- ノ ー ト
- 抗腫瘍性複素環化合物の合成……………神谷庄造・丹野雅幸・宮原美知子……71
- 油脂性基剤の経時変化によるインドメサシン, アミノピリン, スルピリンの放出性への影響
……………江島 昭・立沢政義・緒方宏泰・青柳伸男・鹿庭なほ子・松田りえ子……75
- 酵素製剤の定量試験(第3報)トリプシンを配合したプロメライン製剤
……………谷本 剛・福田秀男・川村次良……79
- 酵素製剤の定量試験(第4報)カリジノゲナーゼ……………谷本 剛・福田秀男・川村次良……83
- 酵素製剤の品質に関する研究(第4報)セアプロゼS製剤……………谷本 剛・福田秀男・川村次良……88
- 酵素製剤の品質に関する研究(第5報)セラチオベプチダーゼ製剤……………谷本 剛・福田秀男・川村次良……92
- 人赤血球に対するモノクローナル抗体の作製……………手島玲子・寺尾允男……95
- テトラクロロエチレン含有洗剤を使用した洗濯時の暴露レベルについて……………小嶋茂雄・中村晃忠・鹿庭正昭……98
- ドレッシングの規格基準に関する研究……………三原 翠・近藤龍雄・内山 允……101
- 界面活性剤 SDS の添加による肝ホモジネートの TBA 値の pH 依存性の変化
……………三原 翠・近藤龍雄・内山 充……104
- エトキシキンのメタノール溶液中における光化学的变化について……………加藤三郎……106
- 実験動物の血清生化学値(VI)採血時における前処置及び採血量の影響について
……………金子豊蔵・鎌田栄一・池田康和・小川幸男・斎藤 実・鈴木幸子・中路幸男……109
- 薬用植物の栽培試験(第12報)ハナトリカブトの系統並びに収穫年次と生育, 収量, 品質について

.....堀越 司・坂東英雄・本間尚治郎・石崎昌吾	115
資 料	
1-(2-Chloroethyl)-3-(2-furylmethyl)urea 及び 1-(2-Chloroethyl)-3-(2-pyrazinylmethyl)urea	
のニトロ化について.....	神谷庄造... 119
国立衛生試験所ジゴキシン標準品 (Control 801).....	徳永裕司・木村俊夫・川村次良... 121
国立衛生試験所シアノコバラミン標準品 (Control 821).....	太田美矢子・木村俊夫・川村次良... 123
国立衛生試験所ウロキナーゼ標準品 (Control 821).....	川村次良・福田秀男・谷本 剛・木村俊夫... 125
国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品 (Control 821).....	谷本 剛・福田秀男・木村俊夫・川村次良... 128
食品中の有害金属の定量 (第11報) 即席離乳食中の鉛, カドミウム, ヒ素及びスズについて鈴木 隆・辰濃 隆・新山和人・内山 充... 132
食品中の有害金属の定量 (第12報) アノーディックストリップングボルタンメトリー及び原子吸	
光光度法による海藻及び貝類中の銅, 鉛, カドミウムの分析.....	辰濃 隆・鈴木 隆・内山 充... 136
食品汚染物モニタリングにおける有機リン農薬の残留実態—野菜・果実について河村葉子・高村きよみ・武田明治・内山 充... 138
ボルタンメトリーによるナイカルバジンの分析.....	神蔵美枝子・江口浩子... 142
鶏肉中の残留ナイカルバジンの分析 (第2報) ナイカルバジンの比色法について.....	神蔵美枝子・江口浩子... 143
規格基準設定のためのつくだ煮類の真菌試験.....	宇田川俊一・坂部フミ・鈴木明子・成田紀子・倉田 浩... 147
規格基準設定のための味噌, 醤油, 焼肉のたれ類の真菌試験宇田川俊一・坂部フミ・鈴木明子・成田紀子・倉田 浩... 150
家庭用品に使用される化学物質の急性経口毒性 (その1).....	鈴木康雄・内藤克司・戸部満寿夫... 152
等電点分画法を用いた各種ウロキナーゼの特性について.....	長谷川隆一... 156
昭和51~55年度日本産あへんのモルヒネ含量について持田研秀・岡田敏史・中原 裕・四方田千佳子・野口 衛・岡 恒... 159
輸入コーヒー豆中の硝酸塩の分析に関する研究中村恵三・小川俊次郎・鈴木英世・伊藤蒼志男・慶田雅洋... 161
業務報告.....	165
誌上发表.....	197
学会発表.....	228
衛試例会.....	238
昭和57年度に行った主な研究課題.....	243
国家検定及び検査等の処理状況.....	247
国立衛生試験所標準品.....	256

CONTENTS

Originals

A. EJIMA, M. TATSUZAWA, R. MATSUDA and N. TAKAI: Determination of <i>dl</i> -Methylephedrine Hydrochloride and Noscapine in Mixed Pharmaceutical Preparations by High Performance Liquid Chromatography-Autoanalyser System Separation	1
A. EJIMA, M. TATSUZAWA, R. MATSUDA and N. TAKAI: Separation Behavior of Ionogenic Drugs at Reversed phase Chromatography.....	7
K. TAKAHASHI, M. SHIMAMINE, M. ŌNO, Y. KAWASAKI, K. SEKITA and T. FURUYA: Microanalysis of Amphetamines. II Detection of Amphetamines in Methamphetamine administrated Monkey's Body Fluids	14
R. TESHIMA, J. SAWADA, H. IKEBUCHI and T. TERAŌ: Effects of Ethylenebisnitrosourea on the Functions of Murine Lymphocytes	19
K. TSUJI, H. SHINTANI, H. KIKUCHI, T. OBA and E. KOSHIMURA: Radio-Sterilization of Medical Products. IX Studies on Migration of Plasticizer from Blood Tubing Irradiated by γ -Ray of ^{60}Co	23
S. KOJIMA, M. KANIWA and A. NAKAMURA: Determination of Trichloroethylene and Tetrachloroethylene in Aerosol Products by Head Space Gas Chromatography	27
K. KIJIMA, E. SAITO, N. TESHIROGI and M. HONDA: Analysis of Oxidative dyes in Hair dyes	32
E. ISOHATA, Y. SAITO and M. UCHIYAMA: Studies on Chemical Analysis of Mycotoxin (IX)—With special attention on the confirmation analysis of aflatoxin B ₁ —	38
M. KAMIKURA and K. TANAKA: Studies on Intake of Natural Colors (I) Determination and Presumptive Intake of Curcumin	42
J. MOMMA, K. TAKADA, S. HORIUCHI, Y. SUZUKI and M. TOBE: Effect of Oral Administration of Sodium Dialkyl Sulfosuccinate on Pre- and Post-natal Developments in Mice	48
K. KAWASHIMA, S. TANAKA, S. NAKAURA, S. NAGAO, T. ENDO, K. ONODA, A. TAKANAKA and Y. OMORI: Effect of Oral Administration of Tris(2-chloroethyl) phosphate to Pregnant Rats on Prenatal and Postnatal Developments	55
C. MATSUOKA, T. OGIU, H. ONODERA, K. FURUTA, Y. SAKURA, A. MAEKAWA, Y. HAYASHI and M. NAKADATE: Influence of Age of Starting Treatment on Induction of F344 Rat Thymic Lymphoma by N-Propyl-N-nitrosourea (PNU)	61
F. FURUKAWA, K. NAGANO, T. KOKUBO, Y. KISHIMOTO, M. TAKAHASHI and Y. HAYASHI: Morphometric Evaluation of Nuclear size of Transplantable Gastric Adenocarcinoma (SG2B) After Antineoplastic Agents	66
Notes	
S. KAMIYA, M. TANNO and M. MIYAHARA: Synthesis of Antitumor Heterocyclic Compounds	71
A. EJIMA, M. TATSUZAWA, H. OGATA, N. AOYAGI, N. KANIWA and R. MATSUDA: Change of Physico-chemical Properties of Shelved Oreagenous Suppository Bases: The Effect on Indomethacin, Aminopyrine and Sulpyrine Release Rates	75
T. TANIMOTO, H. FUKUDA and J. KAWAMURA: Assay of Enzyme Preparations (III) Bromelain Preparation Containing Trypsin	79
T. TANIMOTO, H. FUKUDA and J. KAWAMURA: Assay of Enzyme Preparations (IV) Kalliginogenase	83
T. TANIMOTO, H. FUKUDA and J. KAWAMURA: Studies on the Quality of Enzyme Preparation (IV) Seaprose S Preparation	88
T. TANIMOTO, H. FUKUDA and J. KAWAMURA: Studies on the Quality of Enzyme Preparation (V) Serratiopeptidase Preparation	92
R. TESHIMA and T. TERAŌ: Monoclonal Antibodies to Human Erythrocytes.....	95
S. KOJIMA, A. NAKAMURA and M. KANIWA: An Estimate of Tetrachloroethylene Exposure Level during Washing with a Detergent Containing Tetrachloroethylene	98
M. MIHARA, T. KONDO and M. UCHIYAMA: Studies on the Valuation of Peroxide Value and Acid Value of Dressing for Establishing Food Standards	101

M. MIHARA, T. KONDO and M. UCHIYAMA: Effect of the SDS Addition on the pH Dependency of TBA Value obtained from Rat Liver Homogenate	104
S. KATO: Photochemical Conversion of Ethoxyquin in Methanol	106
T. KANEKO, E. KAMATA, Y. IKEDA, Y. OGAWA, M. SAITO, S. SUZUKI and Y. NAKAJI: Biochemical Values in Serum of Laboratory Animals (VI) Variation in The Biochemical Values of Rat Serum on Pretreatment and Sampling Volume	109
T. HORIKOSHI, H. BANDO, N. HOMMA and S. ISHIZAKI: Studies on the Cultivation of Medicinal Plants (XII) Growth, Yield and Quality on the Strain or Harvesting Annual of <i>Aconitum chinense</i> Sieb.....	115
Technical Data	
S. KAMIYA: Nitrosation of 1-(2-Chloroethyl)-3-(2-furylmethyl) urea and 1-(2-Chloroethyl)-3-(2-pyrazinylmethyl)urca	119
H. TOKUNAGA, T. KIMURA and J. KAWAMURA: Digoxin Reference Standard (Control 801) of National Institute of Hygienic Sciences	121
M. OHTA, T. KIMURA and J. KAWAMURA: Cyanocobalamin Reference Standard (Control 821) of National Institute of Hygienic Sciences	123
J. KAWAMURA, H. FUKUDA, T. TANIMOTO and T. KIMURA: Urokinase Reference Standard of National Institute of Hygienic Sciences (Control 821)	125
T. TANIMOTO, H. FUKUDA, T. KIMURA and J. KAWAMURA: Kalliginogenase Reference Standard (Control 821) of National Institute of Hygienic Sciences	128
T. SUSUKI, T. TATSUNO, K. NIYAMA and M. UCHIYAMA: Determination of Harmful Metals in Foods (XI) Determination of few Harmful Metals in Weaning Foods	132
T. TATSUNO, T. SUZUKI and M. UCHIYAMA: Determination of Harmful Metals in Foods. (XII) Analysis of Copper, Cadmium and Lead in Algae and Shelles with Anodic Stripping Voltammetry and Atomic Absorption Spectrometry	136
Y. KAWAMURA, K. TAKAMURA, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Organophosphorus Pesticide Residues in Food Contamination Monitoring—in Vegetables and Fruits—	138
M. KAMIKURA and H. EGUCHI: Analysis of Nicarbazin by Voltanmetry	142
M. KAMIKURA and H. EGUCHI: Analysis of Nicarbazin Residue in Chicken Tissue (II) The Colorimetric method of Nicarbazin	143
S. UDAGAWA, F. SAKABE, M. SUZUKI, N. NARITA and H. KURATA: Mycological Survey of "Tsukudani" (Food boiled down in soy) for Standardization Purpose	147
S. UDAGAWA, F. SAKABE, M. SUZUKI, N. NARITA and H. KURATA: Mycological Survey of Soybean paste, Soysauce and Barbecue sauce for Standardization Purposes	150
Y. SUZUKI, K. NAITO and M. TOBE: Acute Toxicity of Chemicals used in the Household (I)	152
R. HASEGAWA: Comparative Studies of Various Preparations of Urokinase on Isoelectric Focusing	156
K. MOCHIDA, S. OKADA, H. NAKAHARA, C. YOMOTA, M. NOGUCHI and H. OKA: Morphine Content of Japanese Opium, Harvested During 1976 and 1980	159
S. OGAWA, K. NAKAMURA, H. SUZUKI, Y. ITO and M. IWAIDA: On the Nitrate Contents in Imported Coffee Beans	161
Annual Reports of Divisions	165
Summaries of Papers Published in Other Journals	197
Titles of Speeches at Scientific Meetings Semminars	228
Semminars	238
Main Research Projects Carried Out in 1982	243
Survey of The Results of National Tests	247
Reference Standards Prepared by National Institute of Hygienic Sciences	256

高速液体クロマトグラフィー・オートアナライザーシステムによる混合製剤中の *dl*-塩酸メチルエフェドリン及びノスカピンの定量

江島 昭・立沢政義・松田りえ子・高井信治*

Determination of *dl*-Methylephedrine Hydrochloride and Noscaphine in Mixed Pharmaceutical Preparations by High Performance Liquid Chromatography-Autoanalyser System Separation

AKIRA EJIMA, Masayoshi TATSUZAWA, Rieko MATSUDA and Nobuharu TAKAI*

Analytical method of *dl*-methylephedrine HCl and noscaphine in mixed pharmaceutical preparations by HPLC-autoanalyser was established.

dl-Methylephedrine HCl was extracted from the pharmaceutical preparations with methanol-water mixture (1:1), and oxidized with $K_3Fe(CN)_6$ in alkaline medium.

Oxidized products were separated on Hitachi 3056 column with methanol-phosphate buffer mixture (40:60) as an eluting solvent, and detected at 254 nm.

Noscaphine was extracted from the pharmaceutical preparations with methanol-tartaric acid solution mixture (1:1) methanol-phosphate buffer (pH 2.5) (containing 1% sodiumaurylsulfate) mixture (60:40) as an eluting solvent, and detected at 264 nm.

(Received May 31, 1983)

ま え が き

混合製剤の代表的なものとして感冒剤がある。これは解熱鎮痛剤、抗ヒスタミン剤、鎮咳剤など多種の薬剤が配合され、これらの成分の定量も極めては複雑な操作を必要とした。

近年高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の急速な発展にともない、HPLC による混合製剤の分析例が多くなった¹⁻¹⁰⁾。また最近フローアナリシスによる分析法が普及したが感冒剤についての報告はない。筆者らは数年前より HPLC による感冒剤の系統的な分析法を検討して来たが¹¹⁻¹⁵⁾、さらに分析法の省力化のため自動分析法を検討し、HPLC・オートアナライザーシステムによる迅速分析法を確立した。

今回は製剤中の微量配合成分の *dl*-塩酸メチルエフェドリン (ME) 及びノスカピン (NS) の HPLC・オートアナライザーシステムによる定量法を検討した。前者は誘導体法により高感度化する方法を用い混合製剤中の微量成分の含量均一性試験も可能となった。

試薬及び装置

1. 試薬

dl-塩酸メチルエフェドリン、ノスカピンは日本薬局方適品、これらを配合した混合製剤 (錠剤、顆粒剤及びカプセル剤)

フェリシアン化カリウム、炭酸ナトリウム、酒石酸及びメタノールは試薬特級、アセトニトリル及びワリル硫酸ナトリウムは高速液体クロマトグラフ用

HPLC 用充てん剤は日立 3056 (オクタデシルシリル化した粒径 $5\mu\text{m}$ のシリカゲル) を用い内径 4 mm、長さ 26 cm のステンレス管にスラリー法で充てん。

2. 装置

テクニコン全自動 FULLY LC 型分析装置：テクニコン SPS-II 型固型試料溶解装置、比例定流量ポンプ、反心槽、及び高速液体クロマトグラフ装置

試 験 法

1. 混合製剤中の *dl*-塩酸メチルエフェドリンの定量

1.1 標準溶液

dl-塩酸メチルエフェドリンを 105° で3時間乾燥し、

* 東京大学生産技術研究所

Table 1. Analytical method of *dl*-methylephedrine HCl and noscapine by HPLC-autoanalyser system

Program of solid-prep-sampler (SPS-II)	
Homogenizing speed	6500 rpm
Homogenizing time	3-4 min
Diluent	(I) Methanol-H ₂ O (1 : 1) (II) Methanol-tartaric acid solution (0.1%) (1 : 1)
Flow diagram	Fig. 1
Condition of HPLC	Column: Hitachi 3056 (4 mm × 25 cm) Carrier: (I) MeOH-0.05M NH ₄ H ₂ PO ₄ (pH 2.5) (40 : 60) (II) MeOH-0.05M NH ₄ H ₂ PO ₄ (pH 2.5) (1 % Sodium laurylsulfate) (60 : 40)
Condition of oxydation	Detection: 254 nm Reagents: K ₃ Fe (CN) ₆ (1-10) Na ₂ CO ₃ (1-10) Temperature: 60° Time: 5 min

Diluent (I), carrier (I) and reagents were used for analysis of *dl*-methylephedrine HCl

Diluent (II) and carruer (II) were used of analysis for noscapine

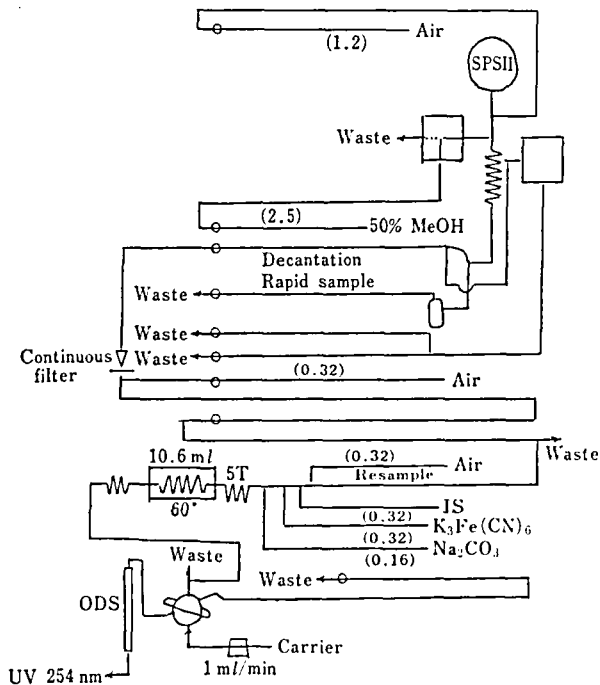


Fig. 1. Flow diagram for HPLC-autoanalyser system

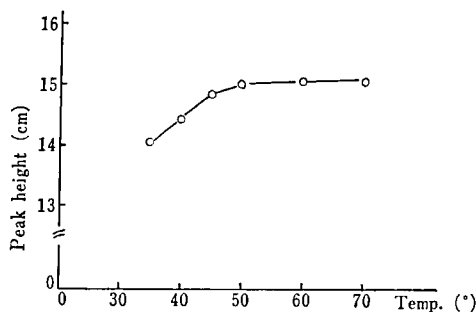


Fig. 2. Effect of reaction temperature

Reaction time: 5 min

Column: Hitachi 3056 (4 mm×25 cm)

Carrier: MeOH-0.05M NH₄H₂PO₄ (40:60)

その約 100mg を精密に量り、水・メタノール混液 (1:1) を加えて溶かし正確に 100 ml とし、標準溶液とする。

1.2 定量操作

Fig. 1 に示す装置の組合せ及び Table 1 の分析条件により、先づ SPS-II の試料カップに標準溶液 5 ml を入れて作動し、記録紙上のピーク高さが約 15 cm になるように検出器の感度を調節する。

次に製剤 (錠剤は 1 個、カプセル剤は 1 個の内容物) 10 個及び標準溶液 5.0 ml を各カップに入れ作動する。記録紙上の ME 及び標準物質のピーク高さ A_T 及び A_S を求め次式より定量する。

dl-塩酸メチルエフェドリン (C₁₁H₁₇NO₆HCl) の量

$$(\text{mg}) = \text{標準品の量}(\text{mg}) \times \frac{A_T}{A_S}$$

2. 混合製剤中のノスカピンの定量

2.1 標準溶液

ノスカピンを 105° で 4 時間乾燥し、その約 100mg を精密に量り、メタノール・酒石酸溶液 (1→500) 混液 (1:1) を加えて溶かし正確に 100 ml とし、標準溶液とする。

2.2 定量操作

Fig. 2 に示す装置の組合せ及び Table 1 の分析条件により、先づ SPS-II の試料カップに標準溶液 5 ml を入れ作動し、記録紙上のピーク高さが約 15 cm になるように検出器の感度を調節する。

次に製剤及び標準溶液につき 1.2 の方法と同様の操作を行い定量する。試薬、反応槽なし。

ノスカピン (C₂₂H₂₃NO₇) の量 (mg)

$$= \text{標準品の量}(\text{mg}) \times \frac{A_T}{A_S}$$

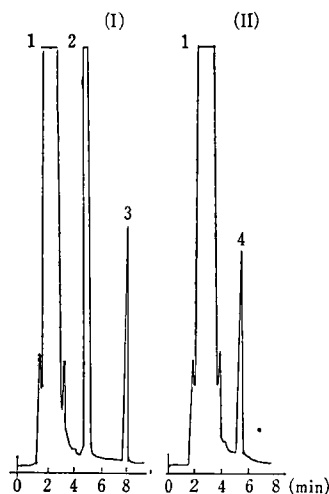


Fig. 3. Chromatograms of *dl*-methylephedrine HCl and nescapine in anti-cold drugs

Column: Hitachi 3056 (4 mm×25 cm)

Carrier: (I) MeOH-0.05M NH₄H₂PO₄ (pH 2.5) (40:60)

(II) MeOH-0.05M NH₄H₂PO₄ (pH 2.5) (1% sodium lauryl sulfate) (60:40)

Detection: 254 nm

1. Acetaminophen, Caffeine 2. Ethenzamide

3. *dl*-Methylephedrine HCl (benzaldehyde)

4. Nescapine

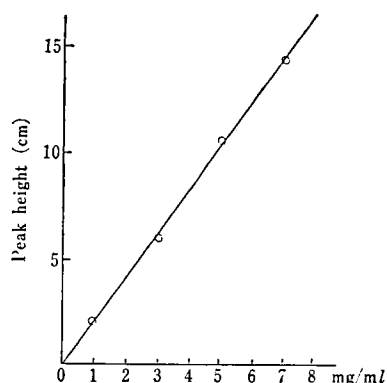


Fig. 4. Calibration curve of *dl*-methylephedrine HCl

定量条件の検討

1. *dl*-塩酸メチルエフェドリンの定量条件

1.1 酸化条件の検討

ME は分子吸光係数が小さくかつ混合製剤中の配合量は極めて少ないため測定波長 254 nm では (本装置の検出器は 254 nm 固定) 測定困難である。ME はアルカリ性でフェリシアン化カリウムで酸化することに

Table 2. Recovery of *dl*-methylephedrine HCl in model sample and commercial sample

Model sample	Commercial sample
101.7%	101.7%
101.9	100.4
100.7	100.4
97.0	99.5
97.7	99.4
98.4	98.3
99.7	97.0
99.7	99.5
99.8	98.7
99.5	99.6
\bar{X}	99.6
SD	1.58
	99.5
	1.22

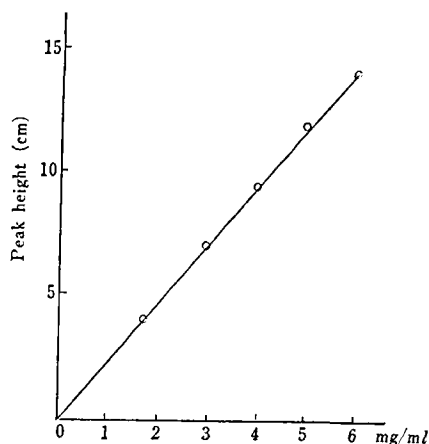


Fig. 5. Calibration curve of noscapine

Table 3. Results of content uniformity test of *dl*-methylephedrine HCl in commercial anti-cold drugs

	Capsule A (5 mg/1 cap)	Capsul B (5 mg/1 cap)	Tablet A (2.5 mg/1 Tab)	Tablet B (5 mg/1 Tab) Sugar coated	Tablet C (3.3 mg/1 Tab)
	113.5%	106.7%	108.6%	111.6%	102.4%
	113.1	101.5	106.3	110.7	100.2
	111.5	98.9	105.4	107.4	99.9
	108.3	98.3	103.3	106.4	99.7
	103.0	98.6	104.2	101.8	93.4
	101.3	97.6	104.2	102.4	100.1
	100.5	99.0	104.4	104.9	95.5
	105.6	99.7	105.0	110.1	95.2
	103.8	97.5	108.0	100.0	96.7
	110.5	97.5	108.2	105.6	101.3
\bar{X}	107.1	99.5	105.8	106.1	98.4
SD	4.65	2.70	1.81	2.75	2.84

Capsule A: Acetaminophen 500 mg, Ethenzamide 400 mg, *dl*-Methylephedrine HCl 30 mg, Caffeine 150 mg, Noscapine 3 mg, Chlorpheniramine maleate 7.6 mg/6 Cap

Capsule B: Bucetin 500 mg, Ethenzamide 700 mg, Chlorpheniramine maleate 7.5 mg, Noscapine 30 mg, *dl*-Methylephedrine HCl 30 mg, Caffeine 120 mg, Vitamin B₂ 3 mg/6 Cap

Tablet A: Acetaminophen 660 mg, Ethenzamide 400 mg, Noscapine 30 mg, *dl*-Methylephedrine HCl 30 mg, Caffeine 150 mg, Chlorpheniramine maleate 7.5 mg/12 Tab

Tablet B: Potassium guaiaacolsulfonate 37.5 mg, *dl*-Methylephedrine HCl 5 mg, Dihydrocodicine H₃PO₄ 45 mg, Vitamin B₁ 1 mg/1 Tab

Tablet C: Dextromethorphan HBr 15 mg, *dl*-Methylephedrine HCl 10 mg, Glycerylguaiacolether 65 mg, Carbinoxamine maleate 2.5 mg, Caffeine 30 mg, Vitamin B₁ 8 mg, Vitamin B₂ 4 mg/3 Tab

よりベンズアルデヒドとなることは知られており、その酸化条件を検討した。本装置に反応槽を組み合せ、Fig. 1 に示す条件でフェリシアン化カリウム溶液(1→10)及び炭酸ナトリウム(1→10)で5分で酸化が完了するに要する反応温度を検討した。

Fig. 2 に示すとおり 60° でほとんど反応が完結する

ことが判明したので以後この条件で行なうことにした。

1.2 検量線

ME の 2~7 mg/ml の溶液の 5 ml ずつをカップに入れ、溶解液の量を 95 ml として作動し、ピーク高さ法により測定し、検量線を作成した結果 Fig. 4 に示すとおり原点を通る直線性を示した。

Table 4. Recovery of noscapine in model sample and commercial sample

Model sample	Commercial sample				
	Method 3 (A)	Method 1 (B)	Method 2 (A)	Method 3 (A)	(B)
100.0%	101.2%	86.5%	108.4%	97.3%	
99.9	95.6	72.0	108.4	98.8	
99.8	88.0	64.4	108.0	98.9	
99.2	84.9	62.2	104.0	88.4	
99.0	82.0	57.2	108.5	88.5	
\bar{X}	99.6	92.3	68.5	107.5	94.4
SD	0.40	5.72	10.20	1.74	4.87

Method 1: MeOH-H₂O (1 : 1), Method 2: MeOH, Method 3: MeOH-H₂O (1 : 1)+Tartaric acid (pH 2.5)
 Mixing time: (A) 4 min, (B) 3 min

Table 5. Results of content uniformity test of noscapine in commercial sample

	Tablet A Ns 2.5 mg	Tablet B 2.5 mg	Granule A 10 mg	Granule B 10 mg	Capsule A 5 mg	Capsule B 5 mg
	114.0%	107.6%	97.4%	106.8%	108.6%	106.4%
	109.6	92.4	96.8	106.6	108.0	106.2
	102.0	104.8	96.6	104.8	104.8	104.3
	102.8	104.8	96.1	104.8	104.2	103.8
	108.4	104.0	93.6	97.2	99.4	99.8
	108.4	100.0	95.0	98.7	103.8	99.4
	108.4	101.6	94.5	101.5	101.0	102.8
	108.0	97.2	93.6	101.8	102.0	102.2
	108.0	95.6	95.5	102.9	102.6	101.8
	108.0	103.2	96.5	104.2	103.4	99.2
\bar{X}	107.8	101.1	95.6	102.9	103.8	102.2
SD	3.19	4.53	1.28	3.02	2.72	2.30

Tablet A: Acetaminophen 250 mg, Aspirin aluminum 900 mg, Ethenzamide 400 mg, Noscapine 30 mg, Chlorpheniramine maleate 7.5 mg, Caffeine 45 mg, *dl*-Methylephedrine HCl 30 mg/12 Tab

Tablet B: Acetaminophen 30 mg, Aspirin alminum 72.6 mg, Noscapine 2.5 mg, Chlorpheniramine maleate 0.5 mg, Caffeine 7 mg, Glycerylguaiacolether 15 mg, Benfotiamine 2 mg, Ascorbic acid 7 mg/1 Tab

Branule A: Acetaminophen 166 mg, Ethenzamide 220 mg, Noscapine 10 mg, Chlorpheniramine maleate 2.5 mg, Caffeine 25 mg, *dl*-Methylephedrine HCl 10 mg/1 Pack

Granule B: Aspirin 600 mg, Phenacetin 400 mg, Ethenzamide 300 mg, Noscapine 30 mg Chlorpheniramine maleate 7.5 mg, Caffeine 150 mg, *dl*-Methylephedrine HCl 30 mg/3 Pack

Capsule A: Acetaminophen 300 mg, Ethenzamide 900 mg, Noscapine 30 mg, *dl*-Methylephedrine HCl 30 mg, Chlorpheniramine maleate 7.5 mg, Caffeine 90 mg, Potassium guaiacolsulfonate 240 mg/6 Cap

Capsule B: Acetaminophen 270 mg, Ethenzamide 105 mg, Noscapine 30 mg, *dl*-Methylephedrine HCl 30 mg, Isothipendyl 7 mg, Ascorbic acid 150 mg/ 6 Cap

1.3 分析精度

ME錠20個以上をとり、その重量を精密に量り粉末とする。ME約5mgに対応する量を精密に量り、10ヶのカップにそれぞれ入れ同様の操作が作動して定量を行った結果 Table 2 に示すとおりで定量値は、モデルサンプル、市販サンプルでそれぞれ 99.44, 99.62, 標準偏差 1.58, 1.26 であった。

1.4 市販製剤の定量結果

ME配合の市販の感冒剤（錠剤及びカプセル剤）について確立した定量法で定量し、含量均一性を試みた結果は Table 3 に示すとおりで、5種の製剤の定量値は 99.54~107.09, 標準偏差は 1.90~4.9 であった。カプセル剤又は糖衣錠は個々のバラツキが比較的大であった。カプセル剤は製剤過程で顆粒又は粉末のカプ

セル充てんの不均一によるものと思われる。

2. ノスカピンの定量条件

2.1 抽出条件の検討

NS は水及エタノールに極めて溶け難いから製剤からの抽出条件を検討した。

SPS-II を用いメタノール (I), メタノール・水 (1:1) (II) 及びメタノール・0.1% 酒石酸溶液 (1:1) (III) の三種の溶媒につき検討した。Table 4 に示すとおり溶媒 (III) が最も抽出効率が良く、抽出時間は4分が良好であった。NS は酒石酸で塩を形成させることにより水又はメタノールに可溶化するため溶媒 (III) が良好であり、以後これを用いることにした。

2.2 検量線

NS 1~8 mg/ml の標準溶液 5 ml ずつをカップに入れ 1.2 と同様の操作を行ない検量線を作成した結果、Fig. 5 に示すと通りの原点を通る良好な直線性を得た。

2.3 市販製剤の定量結果

NS 配合の市販の感冒剤 (錠剤, カプセル剤及び顆粒剤) につき確立した方法で定量し、含量均一性を調べた結果 Table 5 に示すとおりであり、6種の製剤の定量値は 95.6~107.8%, 標準偏差は 1.35~4.77 であった。

結 語

HPLC・オートアナライザーシステムによる混合製剤中の *dl*-塩酸メチルエフェドリン及びノスカピンの定量法を確立した。

dl-塩酸メチルエフェドリンはメタノール・水混液 (1:1) で抽出し、アルカリ性でフェリジアン化カリウムで酸化する。酸化生績体 (ベンズアルデヒド) を日立 3056 (ODS) を充填剤とし、メタノール・リン酸塩緩衝液混液 (40:60) を移動相とし、254 nm を測定波長として定量する。

ノスカピンはメタノール・酒石酸溶液混液 (1:1)

で抽出し、日立 3056 (ODS) を充填剤とし、メタノール・リン酸塩緩衝液 (pH 2.05, 1% ラウリル硫酸ナトリウム含有) 混液 (60:40) を移動相として 254 nm を測定波長として定量する。

以上の操作をテクニコン社製固型試料溶解装置・HPLC 装置・反応槽組合せにより市販製剤中の微量配合成分の定量及び含量均一性試験法を確立した。

この方法は製剤の迅速分析法として有力な手段であり、分析の省力化が可能となった。今後、波長可変の検出器を用い混合製剤中の他の微量成分の分析の自動化を行なう予定である。

文 献

- 1) A. Yakobi, Z. M. Look, C. Lai: *J. Pharm. Sci.*, **67**, 1668 (1978)
- 2) T. R. Koziol, J. T. Jacob, R. G. Achari: *ibid.*, **68**, 1135 (1979)
- 3) D. R. Heidemann: *ibid.*, **68**, 530 (1979)
- 4) V. D. Gupita: *ibid.*, **69**, 110 (1980)
- 5) V. D. Gupita: *ibid.*, **69**, 113 (1980)
- 6) W. O. McSharry, I. V. E. Savage: *ibid.*, **69**, 212 (1980)
- 7) L. Carnevale: *ibid.*, **72**, 196 (1983)
- 8) V. D. Gupita: *ibid.*, **68**, 118 (1979)
- 9) E. J. Kubiak, J. W. Munson: *ibid.*, **69**, 1380 (1980)
- 10) G. W. Halsted: *ibid.*, **71**, 1108 (1982)
- 11) 立沢政義, 橋場茂子, 江島 昭: 分化, **26**, 706 (1977)
- 12) 立沢政義, 山宮卓二, 江島 昭, 高井信治: 分化, **27**, 753 (1978)
- 13) 立沢政義, 松田りえ子, 山宮卓二, 江島 昭: 衛生化学, **25**, 279 (1979)
- 14) 立沢政義, 松田りえ子, 山宮卓二, 江島 昭: 衛生化学, **25**, 284 (1979)
- 15) R. Matsuda, T. Yamamiya, M. Tatsuzawa, A. Ejima, N. Takai: *J. Chromatogr.*, **173**, 75 (1979)

逆相クロマトグラフィーにおけるイオン性医薬品の分離きよ動

江島 昭・立沢政義・松田りえ子・高井信治*

Separation Behavior of Ionogenic Drugs at Reversed phase Chromatography

Akira EJIMA, Masayoshi TATSUZAWA, Rieko MATSUDA and Nobuharu TAKAI*

The chromatographic behavior of acidic and basic drugs in the reversed-phase system was examined by means of ion suppression and ion pair techniques.

The retention time and capacity factors of the acidic compounds increased with pH decrease and that of the basic compounds increased with pH increase.

Increase in the retention times and capacity factors was observed under existence of the counter ion or decreased organic modifier concentration.

The optimum condition was achieved by adjusting the mobile phase with the organic modifier concentration and the alkyl chain length of the counter ion added.

(Received May 31, 1983)

近年高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の急速な進歩により多方面の研究及び業務には用いられるようになった。逆相カラムを用いた HPLC による製剤分析の報告も多く¹⁻¹⁰⁾、イオン性物質についての分離きよ動についての報告も二三あるが断片的なものが多し¹¹⁻¹⁴⁾。

我々は HPLC 法による混合製剤の分析法を検討して来たが、イオン性医薬品の分離性を系統的に確めるため、此の度は感冒剤配合成分のサリチル酸系酸性物質、ピラゾロン系及びアミン系塩基性物質の逆相カラムに対する pH 依存性、対イオン効果及び溶媒効果など検討し、分離きよ動についての知見を得たの報告する。

実験方法

1. 試薬及び試液

アスピリン (AS)、サリチル酸 (SA)、サリチルアミド (SAM)、エテンザミド (EB) のサリチル酸系医薬品、グリセリルグアヤコールエーテル (GG)、グアヤコールスルホン酸カリウム (PGS)、クレゾールスルホン酸カリウム (PCS) のグアヤコール系医薬品、塩酸パラブチルアミノ安息香酸ジエチルアミノエチル (テーカイン、T-C) 安息香酸、オルトメトキシ安息香酸、メチルパラベン、エチルパラベンの安息香酸系医薬品又は試薬、アセトアミノフェン (PA)、フェナセチン (Ph)、*o*-フェネチジン (OPT)、パラフェネチ

ジン (PPT)、ブセチン (Bu) のアニリン系医薬品又は試薬、イソプロピルアンチピリン (IP)、メチルアミノアンチピリン (MAT)、スルピリン (SP)、アミノピリン (Am)、アミノプロピロン (APR)、アンチピリン (AT)、4-アミノアンチピリン (4-AT)、ニコピロン (NP) のピラゾロン系医薬品又は試薬、メチルエフェドリン (ME)、ノスカピン (NS)、デキストロメトर्फファン (DX)、ジフェンヒドラミン (DH)、カルピノキサミン (CX)、トンジリアミン (TZ)、クロルフェニラミン (CP)、ブロムフェニラミン (BP) などアミン系医薬品は日本薬局方適品、リン酸アンモニウム、リン酸は和光純薬製、オクチルスルホン酸ナトリウム (SOS)、ラウリル硫酸ナトリウム (SLS)、ヘプタンスルホン酸ナトリウム (HP)、テトラブチルアンモニウムクロライド (TBA) は東京化成製、アセトニトリル、メタノール、テトラヒドロフラン (THF) は HPLC 用和光純薬製。

移動相はメタノール・0.01Mリン酸塩緩衝液混液 (2:8)、(1:1)、(45:55) 又はこれらに TBA を 0.5% 添加したもの、アセトニトリル・0.05Mリン酸塩緩衝液混液 (6:4)、THF・0.05Mリン酸塩緩衝液混液 (6:4)、(3:7) またこれらに SOS、SLS 又は HP それぞれ 0.5%~1% 添加したもの。リン酸塩緩衝液は 0.01M 又は 0.05M リン酸アンモニウム液にリン酸又はアンモニウム水を加えて pH 2.3~8 に調節したもの。

2. 装置

高速液体クロマトグラフ：島津 LC-3A, 検出器：

* 東京大学生産技術研究所

SPD-2 (波長可変) 及び日本分光 TRI ROTAR ポンプ, UVIDEC-100 II 型 (波長可変) HPLC 装置

3. カラム

化学結合型シリカゲル(μ -Bondapak C₁₈, TSK 410) をスラリー法により内径 4 mm, 長さ 30 cm のステンレス管に充てんした。

実験結果及び考察

1. 酸性及び中性物質

1.1 pH の影響

μ -Bondapak C₁₈ を充てん剤とし, 20%メタノール・リン酸塩緩衝液系の移動相で pH を 2.3, 3, 4, 5, 6 と段階的に変え EB, SA, Ph, AS, CF, SAM, PA, OPT 及び PPT についての分布比 (capacity factor; k') を測定した。Fig. 1 に示すとおり, SA 及び AS の如き酸性物質は, pH 2.3 で非解離型となり, ODS に対する親和性が大となるが, pH 6 では解離形となるためほとんど保持されない。逆に OPT 及び PPT の如き塩基性物質は pH 6 では k' が大となる。PA, Ph, CF, SAM の如き中性物質は pH の相異による k' の変動は極めて小さい。ODS の如き疎水性の充てん剤に対する親和性は, 類似の構造の場合, 側鎖に $-CH_3$ また $-C_2H_5$ を有するものは大となり, $-OH$ の如き親水性置換基を有するものは小となる。

1.2 対イオンの影響

一般にイオン性化合物は移動相中の pH の相異により充てん剤に対する親和性を変化させることが出来るが, 解離形として対イオンを形成させることにより疎

水性充てん剤に対し親和性を保持させることが出来る。酸性物質は TBA の如き塩基性の対イオンを用いイオンペアクロマトグラフィー (IPC) で分析することが多い。Fig. 1 に示すとおり AS 及び SA は移動相に TBA を添加することにより k' が極めて大となる。

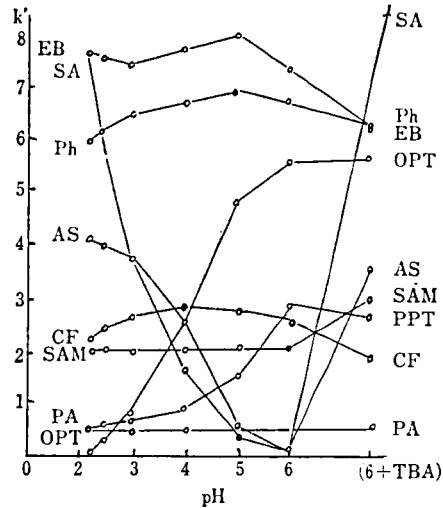


Fig. 1 Capacity factor vs. pH of carrier

Column: μ -Bondapak C₁₈ (4 mm \times 30 cm), Carrier: MeOH-0.01M Phosphate buffer (20:80), Flow rate: 1 ml/min, Detection: 254 nm

EB: Ethenzamide, SA: Salicylic acid, Ph: Phenacetin, AS: Aspirin, CF: Caffeine, SAM: Salicylamide, PA: Acetaminophen, OPT: o-Phenetidine, PPT: p-Phenetidine, TBA: Tetrabutylammonium chloride

Table 1. Influence of pH and counter ion on retention time

Drugs	side chain	(A) pH 2.3	(B) pH 6	(C) pH 6+TBA	(A)/(B)	(C)/(B)
o-Methoxybenzoic acid	-COOH -OMe	12.25	2.92	8.36	4.19	2.86
Aspirin	-COOH -OCOMe	12.95	2.87	11.28	4.51	3.93
Benzoic acid	-COOH —	—	3.01	13.49	—	4.48
Salicylic acid	-COOH -OH	13.17	3.34	53.21	3.94	15.93
Salicylamide	-CONH ₂ -OH	8.10	8.06	10.57	1.00	1.31
o-Phenetidine	-NH ₂ -OEt	4.83	17.89	16.44	0.27	0.92
Ethenzamide	-CONH ₂ -OEt	22.22	22.55	17.53	0.99	0.78
p-Aminophenol	-NH ₂ -OH	2.70	3.18	3.30	0.85	1.04
Acetaminophen	-NHCOMe -OH	4.08	4.07	4.42	1.00	1.09
p-Phenetidine	-NH ₂ -OEt	4.58	10.61	9.32	0.43	0.88
Phenacetin	-NHCOMe -OEt	20.51	20.68	17.68	0.99	0.85
Caffeine		9.98	9.78	6.60	1.02	0.67

Column: μ -Bondapak C₁₈ (4 mm \times 30 cm), Carrier: MeOH-0.01M Phosphate buffer (20:80)

Flow rate: 1 ml/min, Detection: 250 nm, TBA: Tetrabutylammonium chloride

Table 2. Influence of pH and basic counterion on retention time

Drugs	side chain		(A) pH 2.5	(B) pH 6	(C) pH 6+TBA	(A)/(B)	(C)/(B)
o-Methoxybenzoic acid	-COOH	-OMe	8.2	4.5	6.0	1.82	1.33
Aspirin	-COOH	-OCOMe	7.8	4.0	6.2	1.95	1.55
Benzoic acid	-COOH	—	12.2	4.8	6.6	2.54	1.38
Salicylic acid	-COOH	-OH	15.3	5.9	12.0	2.59	2.03
Salicylamide	-CONH ₂	-OH	7.8	6.8	6.5	1.14	0.96
o-Phenetidine	-NH ₂	-OEt	4.2	16.0	13.2	0.26	0.83
Ethenzamide	-CONH ₂	-OEt	11.2	11.2	8.9	1.00	0.79
p-Aminophenol	-NH ₂	-OH	3.3	2.9	3.9	1.13	1.34
Acetaminophen	-NHCOMe	-OH	3.5	3.5	3.5	1.00	1.00
p-Phenetidine	-NH ₂	-OEt	4.5	9.0	6.9	0.50	0.77
Phenacetin	-NHCOMe	-OEt	6.5	6.5	5.5	1.00	0.85
Methylparaben	-COOMe	-OH	12.5	10.9	10.0	1.15	0.92
Ethylparaben	-COOEt	-OH	19.2	19.0	16.0	1.01	0.84
Caffeine			6.5	6.5	5.5	1.00	0.85

Column: TSK 410 (4 mm×30 cm), Carrier: MeOH-0.01M Phosphate buffer (45:55)
Flow rate: 1 ml/min, Detection: 254 nm, TBA: Tetrabutylammonium chloride

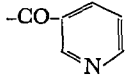
Table 1 及び 2 は pH 2.5 及び pH 6 における各成分の保持時間 (t_R) の変動及び TBA 添加による t_R の変動及び各条件における t_R の変動度 [(A)/(B), (C)/(B)] を示した。-COOH を有するイオン性化合物は pH の相異及び対イオンの添加による t_R の変動が大である。

1.3 メタノール濃度の影響

逆相クロマトグラフィーにおいては移動相としてメタノール・水系, アセトニトリル・水系又は THF・水系を用いるが, 一般に有機溶媒の量を増加することにより物質の充てん剤に対する保持能を弱め, 移動相に移行しやすくなり k' が小となる。Fig. 2 は pH 2 における各成分のメタノール濃度と k' の関係を示した。メタノールの増加と共に各成分の k' は小となる。

2. 塩基性及び中性物質

2.1 pH の影響

IP 以下7種のピラゾロン化合物につき, pH と k' の関係を検討した。AM, MAT, 4AT, APR の如くピラゾロン核の4位に -NH 又は -NH₂ を有するものは pH 6~8 で非解離形となり k' が大となる。また IP, AT の如く -NH を有しないもの又は SP, NP の如く N位に -CH₂SO₃ また  を有するものは pH の相異による k' の変動はない。

ピラゾロン類の逆相カラムに対する親和性は4位側鎖の末端に -CH₃ を有するものは大で MAT<AM<

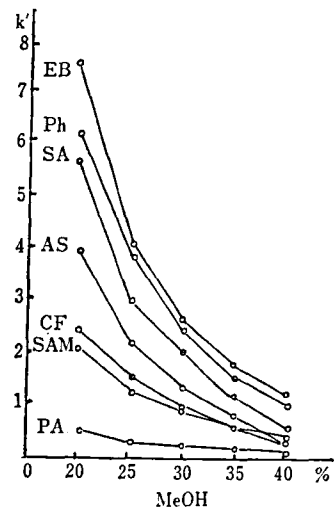



Fig. 2 Capacity factor vs. methanol concentration of carrier

Column: μ -Bondapak C₁₈ (4 mm×30 cm), Carrier: MeOH-0.01M Phosphate buffer (pH 2.5) (20:80), Detection: 254 nm, Flow rate: 1 ml/min
EB: Ethenzamide, Ph: Phenacetin, SA: Salicylic acid, AS: Aspirin, CF: Caffeine, SAM: Salicylamide, PA: Acetaminophen

APR<IP の順に大となる。また SP の如く末端に親水基を有するものは疎水性の充てん剤に対する親和性が極めて弱い。

Table 3. Influence of pH on retention time

Drugs	side chain	(A) pH 2.5	(B) pH 4	(C) pH 6	(C)/(B)	(A)/(B)
Sulpyrine	-N(Me)CH ₂ SO ₃ Na	3.6	4.0	3.1	0.78	0.90
Aminopropyronc	-NHCOCH(Me)N(Me) ₂	3.7	4.2	10.8	2.57	0.88
Nicopyronc	-NHCO- 	5.4	5.8	5.0	0.86	0.93
4-Aminoantipyryne	-NH ₂	3.7	6.3	6.0	0.95	0.59
Methylaminoantipyryne	-NH(Me)	3.5	6.5	7.8	1.20	0.54
Antipyryne	-H	7.1	6.9	6.1	0.88	1.03
Aminopyryne	-N(Me) ₂	3.6	8.5	9.8	1.15	0.42
Isopropylantipyryne	-C(Me) ₂	20.3	18.9	16.4	0.87	1.07

Column: TSK 410 (4 mm×30 cm), Carrier: MeOH-0.05M Phosphate buffer (1:1),
Flow rate: 1 ml/min, Detection: 254 nm

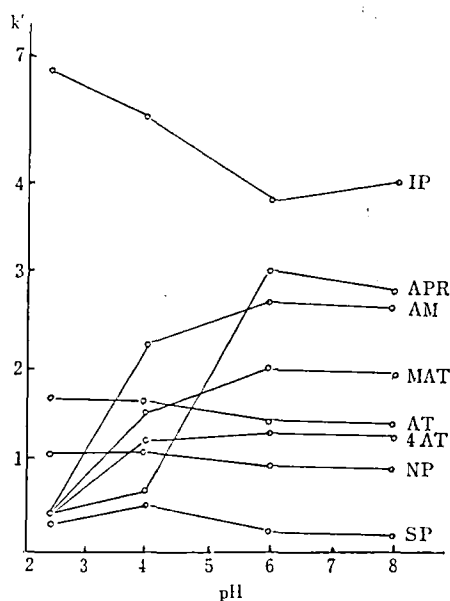


Fig. 3 Capacity factor vs. pH of carrier

Column: TSK 410 (4 mm×30 cm), Carrier: MeOH-0.05M Phosphate buffer (1:1), Flow rate: 1 ml/min, Detection: 254 nm

IP: Isopropylantipyryne, APR: Aminopropyronc, AM: Aminopyryne, MAT: N-Methylaminoantipyryne, AT: Antipyryne, 4AT: 4-Aminoantipyryne, NP: Nicopyronc, SP: Sulpyrine

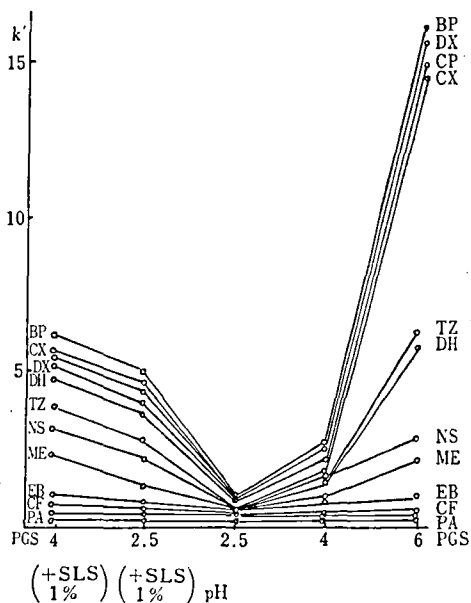


Fig. 4 Capacity factor vs. pH of carrier

Column: TSK 410 (4 mm×30 cm), Carrier: CH₃CN-0.05M Phosphate buffer (60:40), Flow rate: 1 ml/min, Detection: 230 nm, Column temp.: 40°

BP: Brompheniramine, DX: Dextromethorphan, CP: Chlorpheniramine, CX: Carbinoxamine, TZ: Thonzylamine, DH: Diphenhydramine, NS: Noscapine, ME: Methylephedrine, EB: Ethenzamide, CF: Caffeine, PA: Acetaminophen, PGS: Potassium guaiacolsulfonate, SLS: Sodium laurylsulfate

Table 4. Influence of pH and acidic counter ion on retention time

Drugs	side chain	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(E)/(D)	
		pH 2.5	pH 6	pH 2.5 +HP	pH 2.5	pH 2.5 +SLS		
Potassium guaiacolsulfonate	-OH -OMe -SOK	3.0	2.7	2.7	0.90	2.8	2.1	0.75
Guaiacolglycerylether	-OMe -OCHCH ₂ (OH)CH ₂ (OH)	5.7	5.5	5.7	1.00	3.0	2.9	0.97
Caffeine		6.1	6.1	6.0	0.98	3.2	3.5	1.09
Methylephedrine	-CH ₂ (OH)CH(Me)N(Me) ₂	4.0	17.2	5.6	1.40	3.2	7.7	2.41
Noscapine		6.5	6.7	8.1	1.25	3.2	10.2	3.19
Dextromethorphan		14.0	—	24.0	1.72	3.2	18.5	5.78
Diphenhydramine	-CHOCH ₂ CH ₂ N(Me) ₂	13.4	60.0	24.6	1.84	2.7	14.6	5.40
Carbinoxamine	-CHOCH ₂ CH ₂ N(Me) ₂ -Cl	8.0	60.0	13.3	1.66	3.4	29.5	8.68
Thonzylamine	-NCH ₂ CH ₂ N(Me) ₂	7.7	60.0	13.5	1.75	2.4	12.6	5.25
Chlorpheniramine	-CHCH ₂ CH ₂ N(Me) ₂ -Cl	8.6	60.0	15.5	1.80	2.9	15.0	5.17
Brompheniramine	-CHCH ₂ CH ₂ N(Me) ₂ -Br	10.3	60.0	18.8	1.83	2.8	40.0	14.29
Acetaminophen	-OH -NHCOME	3.9	—	3.8	0.97	—	3.0	—
Ethenzamide	-OEt -CONH ₂	9.8	9.9	—	—	—	4.0	—

Column: TSK 410 (4 mm × 30 cm), Carrier: A-C; MeOH-0.05M Phosphate buffer (1:1), D; CH₃CN-0.05M Phosphate buffer (6:4), Flow rate: 1 ml/min, HP: Sodium hepanesulfonate, SLS: Sodium laurylsulfate

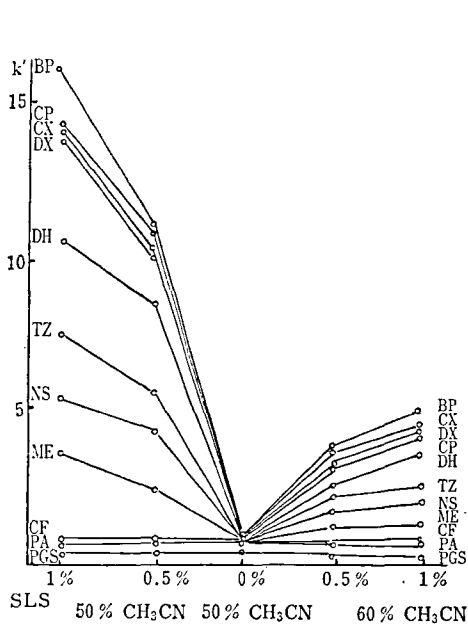


Fig. 5 Capacity factor vs. concentration of counter ion in carrier

Column: TSK 410 (4 mm × 30 cm), Carrier: CH₃CN-0.05M Phosphate buffer (pH 2.5)(60:40) and (50:50), Flow rate: 1 ml/min, Column temp.: 40°

DX: Dextromethorphan, BP: Brompheniramine, CX: Carbinoxamine, CP: Chlorpheniramine, DH: Diphenhydramine, TZ: Thonzylamine, NS: Noscapine, ME: Methylephedrine, CF: Caffeine, PGS: Potassium guaiacolsulfonate, SLS: Sodium laurylsulfate

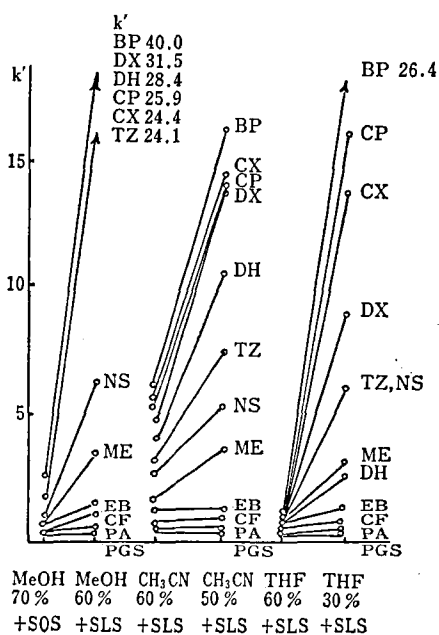


Fig. 6 Capacity factor vs. organic solvents in carrier

Column: TSK 410 (4 mm × 30 cm), Carrier: organic solvents-0.05M Phosphate buffer (pH 2.5), Column temp.: 40°, Flow rate: 1 ml/min, Detection: 230 nm

BP: Brompheniramine, CP: Chlorpheniramine, CX: Carbinoxamine, DX: Dextromethorphan, TZ: Thonzylamine, NS: Noscapine, ME: Methylephedrine, DH: Diphenhydramine, EB: Ethenzamide, CF: Caffeine, PA: Acetaminophen, PGS: Potassium guaiacolsulfonate, SOS: Sodium octylsulfate, SLS: Sodium laurylsulfate

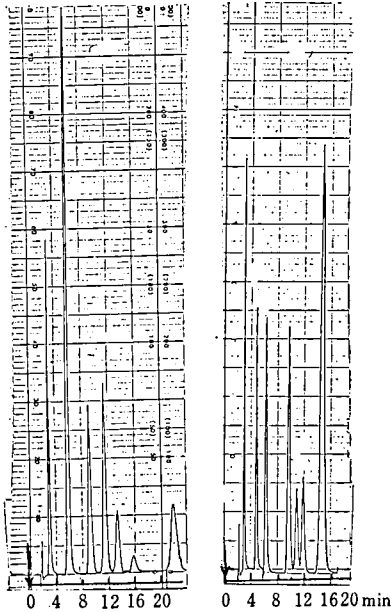


Fig. 7 Chromatograms of antipretics and expectorants

Column: TSK 410 (4 mm×15 cm), Carrier: CH₃CN-0.1 TBA (15:85), Flow rate: 1 ml/min, Column temp.: I; 25°, II; 50°, Detection: 280 nm
1. Acetaminophen, 2. Caffeine, 3. Salicylamide, 4. Potassium guaiacolsulfonate (4-S), 5. (5-S), 6. Potassiumcresolsulfonate, 7. Bucetin

次に ME 以下7種のアミン類, その他中性物質につき pH の相異と k' の関係を検討した。

Fig. 4 に示すとおり, アミン類は pH 6 において非解離形となり, k' が大となるが, EB, CF, PA, PGS などは変動しない。 k' は ME の如き単環系より BP, DX, CP, CX, DH の如き多環系の物質が大となり, 充てん剤に対する親和性は TZ 及び DH のジアミンまたエーテルアミンより BP, CP のモノアミンが大である。

類似の構造の CP と BP では側鎖の効果は Br>Cl となり BP の方が k' が大となる。また CX と DH はエーテルアミンであるが -Cl の効果が大きて CX の k' が大となる。

2.2 対イオンの影響

pH 2.5 又は4で SLS を対イオンとした場合の k' 変動を Fig. 4 に示した。

また Table 4 に pH 2.5 及び6における各成分の t_R 及び pH 2.5 における HP 及び SLS など炭素数の異った対イオンの効果を示した。 t_R の変動度は HP[(C)/(A)] より炭素数の多い SLS[(E)/(D)] を

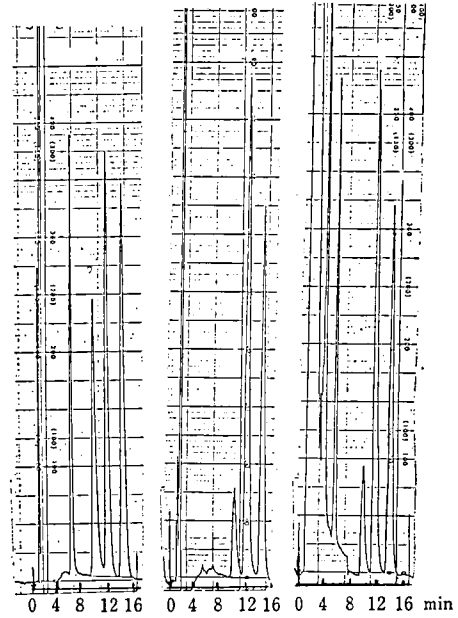


Fig. 8 Chromatograms of antihistaminic and expectorants

Column: TSK 410 (4 mm×15 cm), Carrier: CH₃CN-1 SOS (37:63), Flow rate: 1 ml/min, Detection: 223 nm, Column temp.: 50°
1. Noscapine, 2. Carbinoxamine, 3. Dextromethorphan, 4. p-Buthylaminobenzoyl diethylaminocethanol hydrochloride (T-caine)
I and II; Model sample, III; Commercial preparation

対イオンとした方が大となる。

2.3 有機溶媒の濃度の影響

pH 2.6 で SLS を対イオンとした場合のアセトニトリルの濃度の相異による k' の変動を Fig. 5 に示した。アセトニトリルの濃度の増加により各成分の k' が小となり, また対イオンの濃度の増加により k' が大となる。

2.4 有機溶媒の種類の影響

メタノール, アセトニトリル及び THF の3種の溶媒につき pH 2.5 が SLS を対イオンとした場合の各成分の t_R の相異を検討した。

Fig. 6 に示すとおりで THF<アセトニトリル<メタノールの順に大きな k' を示し, 親水性の大きな溶媒ほど k' が大となる。

3. イオンペアクロマトグラフィー (FPC) による混合薬物の分離

以上検討した結果に基づいて感冒剤中の解熱鎮痛剤, 抗ヒスタミン剤及び鎮がい剤の分離を行った。

TSK 410 (ODS) を充てんした内径 4mm, 長さ 15cm のカラムを用い, アセトニトリル・1% TBA 混液 (15:85) を移動相として PA, CF, SAM, PGS (4S, 5S) 及び Bu を分離した。

Fig. 7-I は室温でまた Fig. 7-II は 50° で分離した結果である。加温することにより各成分の t_R が小となり, 理論段数も大とすることが出来る。PGS はイオン抑制法ではほとんど保持されないが, IPC 法により充分に保持され t_R が大となり, かつ 4S 及び 5S の異性体の分離も可能となる。

次にアセトニトリル・1% SOS 混液 (37:63) を移動相として NS, CP, DX, T-CA CX, DX 及び T-C を分離した結果を Fig. 8 に示した。IPC 法を用いることにより非イオン性及びイオン性(酸性及び塩基性)薬物の混合製剤の分離が容易となる。

結 語

感冒剤配合成分の解熱鎮痛剤, 抗ヒスタミン剤, 鎮咳剤など酸性, 中性及び塩基性物質の逆相充てん剤に対するきよ動を検討した。

イオン抑制法と共にイオン対クロマトグラフ法によりイオン性化合物の選択性のある分離を行なうことが出来た。イオン性医薬品の系統的な分離性を検討した

結果により多成分系成分の効率的な分離定量法の作成が可能となった。

文 献

- 1) A. Yakobi, Z. M. Look, C. Lai: *J. Pharm. Sci.*, **67**, 1668 (1978)
- 2) T. R. Koziol, J. T. Jakob, R. G. Achari: *ibid.*, **68**, 1135 (1979)
- 3) D. R. Heidemann: *ibid.*, **68**, 530 (1979)
- 4) V. D. Gupta: *ibid.*, **69**, 110 (1980)
- 5) V. D. Gupta: *ibid.*, **69**, 113 (1980)
- 6) W. O. McSharry, I. V. E. Savage: *ibid.*, **69**, 212 (1980)
- 7) L. Carnevale: *ibid.*, **72**, 196 (1983)
- 8) G. W. Halstead: *J. Pharm. Sci.*, **71**, 1108 (1982)
- 9) E. J. Kubiak, J. W. Munson: *ibid.*, **69**, 1380 (1980)
- 10) 高萩英邦, ぶんせき, 810 (1978)
- 11) C. Horvath, W. Melander, I. Molnar: *Anal. Chem.*, **49**, 142 (1977)
- 12) E. Tomlinson, T. M. Jefferies, C. M. Riley: *J. Chromatogr.*, **159**, 315 (1978)
- 13) I. M. Johansson, K. G. Wallund, G. Schill: *ibid.*, **149**, 281 (1978)
- 14) T. Hanai, H. F. Walton, J. D. Navratil, D. Warren: *ibid.*, **155**, 261 (1978)

覚せい剤の微量分析に関する研究 (第2報)

メタンフェタミンを投与したサル体液中の代謝物の検出

高橋一徳・島峯望彦・大野昌子・川崎 靖・関田清司・降矢 強

Microanalysis of Amphetamines II

Detection of Amphetamines in Methamphetamine administrated Monkey's Body Fluids

Kazunori TAKAHASHI, Mochihiko SHIMAMINE, Masako ÔNO, Yasushi KAWASAKI,

Kiyoshi SEKITA and Tsuyoshi FURUYA

It is said the metabolic pathway of methamphetamine (MA) in monkey is very similar to that in human being, so that our study was done using monkey as the test animal.

3 mg/kg of MA-HCl was administered subcutaneously to three monkeys (*Macaca irus*) continuously for 5 days and the metabolites, MA and amphetamine (A), excreted into the saliva, sweat and urine were followed up for 20 days by gas chromatographic methods (GC) described in our previous report.

By means of FID-GC, 8 ng of MA and A were detectable and 8 pg of MA and 15 pg of A were also detected by NP-FID-GC.

MA was excreted into the saliva, sweat and urine very soon after administration and disappeared within 2 days by withdrawal in the case of saliva. In the sweat and urine, MA lasted 3 to 5 days more than that in saliva. After the disappearance of MA, prolonged excretion of A was demonstrated in all cases.

Apparently, continuous administration of the drug had influence upon the duration of its metabolites excreted into the sweat and urine.

As a results of our study, it is suggested that the urine collected within 5 days and the sweat within 7 days after withdrawal were the most suitable sample to be distinguished the addicts.

(Received May 31, 1983)

われわれは覚せい剤中毒者の体液等から、覚せい剤及びその代謝物を検出する確実な方法を確立するため、メタンフェタミン (MA) の代謝経路がヒトと類似しているサルを実験動物に選び、塩酸メタンフェタミン 3~5 mg/kg を 1 回投与した場合について、水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフィー (FID-GC) 及び熱イオン化検出器付ガスクロマトグラフィー (NP-FID-GC) による、MA 及びアンフェタミン (A) の唾液、汗、尿中への排せつ量及び排せつ持続時間の検討を行い、その結果を前報¹⁾で述べた。

今回は更に使用を繰り返す中毒者の場合を考慮して、サルに塩酸メタンフェタミンを連続投与した場合について、同様の実験を試み、代謝の状況を明らかにするとともに前回得られた結果との比較を行った。

実験方法

I 実験動物

カニクイザル (*Macaca irus*) オス, 3 頭
体重: M1 5.10 kg

M2 3.50 kg

M3 4.20 kg

II 塩酸メタンフェタミンの投与及び採取条件

投与量及び投与方法: 3 mg/kg, 1 日 1 回, 5 日間連続, 皮下

採取条件: 動物室の室温 $25 \pm 1^\circ$, 湿度 $55 \pm 5\%$

サルはいずれも四肢をギブス包帯で保定し、モンキーチェアに保定して投与する。投与期間中は毎回の投与時に保定し、投与後 3 時間保定したままで試料を採取したのち、保定をとき、平常飼育にもどす。5 日間の投与終了後はその翌日から隔日に、毎回同様に 3 時間保定して試料を採取し、保定を解除する方法を繰り返す。また投与前に、発汗、排尿を促進させるために適量の水を強制的に与える。

III 試料の採取

唾液: 3 時間の保定を解除するときに、ガーゼではほ袋を清拭して採取。

汗: 左右の手掌及び足底を消毒用エタノールで洗ったのち、約 10 cm × 10 cm のガーゼを握らせ、ビニー

Table 1. Amounts of saliva collected during 20 days and total amounts of methamphetamine and amphetamine in each sample

No. of test animal		M1			M2			M3		
Samples collected		amount of			amount of			amount of		
during administration	after withdrawal	sample	MA	A	sample	MA	A	sample	MA	A
day	day	mg	μg	μg	mg	μg	μg	mg	μg	μg
1 st		431.9	0.52	0.29	287.8	0.42	0.09	313.6	0.51	0.24
2 nd		417.1	0.11	0.18	430.2	0.27	0.20	370.4	0.23	0.30
3 rd		696.9	0.14	0.16	533.8	0.17	0.08	172.4	0.06	0.10
4 th		325.6	0.11	0.09	400.9	0.23	0.12	711.4	0.16	0.18
5 th		233.6	0.07	0.13	250.6	0.39	0.06	124.7	0.03	0.07
	1 st	141.7	—	—	229.1	—	0.04	182.4	—	0.02
	3 rd	233.1	—	—	273.6	—	—	262.4	—	—
	5 th	203.5	—	—	265.3	—	—	272.3	—	—
	7 th	227.0	—	—	258.0	—	—	222.1	—	—
	9 th	328.7	—	—	271.7	—	—	112.6	—	—
	11 th	303.2	—	—	304.8	—	—	196.5	—	—
	13 th	249.8	—	—	341.0	—	—	124.0	—	—
	15 th	267.9	—	—	194.1	—	—	124.1	—	—

ル袋で包み、前報¹⁾と同様にして採取。

尿：小児用採尿バック（アトム）を用いて、汗と同様に3時間にわたって排せつされる尿を採取。

IV ガスクロマトグラフィー

1) 溶液の調製

試料溶液：前報¹⁾と同じ方法によって試料から代謝物を抽出し、抽出物を無水トリフルオロ酢酸（TFA）でTFA化して、試料溶液を調製する。

標準溶液：前報¹⁾

内部標準溶液：前報¹⁾

2) 測定条件

Appratus: Yokokawa Hewlett Packard YHP-5710A

Detector: FID, NP-FID

Column: OV-101 2% (Chromosorb W HP, 100~120 mesh), glass, I. D. 2 mm, L. 4 ft.

Temp.: Injection port 250°

Column 160°

Detector 300°

Carrier gas: N₂ 30 ml/min

	FID	NP-FID
H ₂	30 ml/min	3 ml/min
Air	240 ml/min	60 ml/min

Sens.	10×8	1×16
-------	------	------

Digital integrator: Takeda Riken TR-2221

	FID	NP-FID
Slope sense	40 μV/min	150 μV/min
peak width	6 sec	1 sec
Valley time	3 sec	0
Height factor	10	0

3) 検量線の作成

FID-GC 及び NP-FID-GC による MA 及び A の検量線：前報¹⁾

実験結果

I 塩酸メタンフェタミンの投与及び試料の採取

3頭のサル，M1，M2，M3 からⅢの方法にしたがって唾液，汗，尿ともそれぞれ13回，20日間の試料採取を行った。採取し得た唾液量は Table 1，汗量は Table 2，尿量は Table 3 に示す。

サルから毎回得られた体液の量のうち，Table 2 に示した汗の場合では，その平均採取量は M1，M2，M3 それぞれ 162.7mg，123.9mg，121.4mg で個体差があるが，発汗量はいずれも投与後に比べ投与期間中に多く，とくに M1 にその傾向が強くみられた。

II 検量線及び検出限界について

1) FID-GC による検量線

前報¹⁾にしたがって得た MA 及び A の検量線はいずれも 110 μg/ml まで原点を通る直線性を示し，MA 及び A の検出限界はいずれも 8 ng であった。

Table 2. Amounts of sweat collected during 20 days and total amounts of methamphetamine and amphetamine in each sample

No. of test animal		M1			M2			M3		
samples collected		amount of			amount of			amount of		
during administration	after withdrawal	sample	MA	A	sample	MA	A	sample	MA	A
day	day	mg	μg	μg	mg	μg	μg	mg	μg	μg
1 st		220.2	0.10	—	157.3	0.10	0.04	122.5	—	—
2 nd		240.0	0.15	1.66	122.9	0.16	0.32	128.5	0.05	0.11
3 rd		255.1	0.23	1.92	116.4	—	0.55	127.5	0.51	0.61
4 th		182.3	0.05	0.76	193.5	0.11	0.54	109.2	0.19	0.46
5 th		239.9	0.08	1.07	136.4	0.24	0.46	129.3	0.03	0.74
	1 st	127.7	—	0.49	111.7	0.04	0.39	141.9	0.32	0.49
	3 rd	99.2	—	0.12	111.4	—	0.15	119.3	0.02	0.18
	5 th	115.2	—	0.14	109.7	—	0.11	117.1	—	0.12
	7 th	93.7	—	0.07	122.1	—	0.12	115.4	—	0.05
	9 th	101.8	—	—	105.4	—	0.03	124.8	—	0.06
	11 th	230.0	—	—	98.4	—	—	116.8	—	—
	13 th	98.4	—	—	121.4	—	—	113.4	—	—
	15 th	111.1	—	—	104.4	—	—	113.0	—	—

Table 3. Amounts of urine collected during 20 days and total amounts of methamphetamine and amphetamine in each sample

No. of test animal		M1			M2			M3		
samples collected		amount of			amount of			amount of		
during administration	after withdrawal	sample	MA	A	sample	MA	A	sample	MA	A
day	day	ml	μg	μg	ml	μg	μg	ml	μg	μg
1 st		9.3	516.2	316.2	2.5	51.3	77.5	21.0	819.0	577.5
2 nd		8.3	1174.5	1099.8	16.0	1584.0	800.0	11.5	724.5	621.0
3 rd		3.8	858.8	748.6	9.2	800.4	469.2	12.8	371.2	499.2
4 th		19.5	1355.3	1092.0	84.0	1512.0	756.0	19.0	760.0	513.0
5 th		8.5	1249.5	981.8	68.5	1061.8	753.5	18.0	360.0	522.0
	1 st	8.0	1.3	76.0	14.0	2.8	147.0	21.0	6.0	231.0
	3 rd	4.0	—	5.7	70.0	—	34.3	13.5	—	1.7
	5 th	18.5	—	2.3	30.5	—	2.2	10.3	—	1.8
	7 th	19.0	—	1.0	58.0	—	—	18.5	—	—
	9 th	6.5	—	0.7	72.0	—	—	10.7	—	—
	11 th	2.2	—	0.3	50.0	—	—	10.0	—	—
	13 th	50.0	—	—	44.0	—	—	13.0	—	—
	15 th	20.0	—	—	22.0	—	—	6.0	—	—

2) NP-FID-GC による検量線

前報¹⁾にしたがって得た MA 及び A の検量線はいずれも 1.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ まで原点を通る直線性を示し、検出限界は MA では 8 pg, A では 15 pg であった。

III 体液中への排せつ量

塩酸メタンフェタミンを投与後に得た3頭のサルの

唾液、汗、尿中に排せつされた MA 及び A の量について、IVの方法にしたがって測定した結果をそれぞれ Table 1, Table 2, Table 3 に示した。

これらの表から明らかなように、塩酸メタンフェタミンの1回目の投与後に採取した唾液及び尿中にはいずれも MA 及び A が含まれていたが、汗では、2頭

Table 4. Concentration of methamphetamine and amphetamine in saliva, sweat and urine obtained from monkeys

Sample	No. of test animal		M1			M2			M3			
	Samples collected		MA	A	A/MA	MA	A	A/MA	MA	A	A/MA	
	during administration	after withdrawal										
saliva	day	day	μM	μM		μM	μM		μM	μM		
	1 st		0.81	0.50	0.62	0.28	0.22	0.79	0.34	0.18	0.53	
	2 nd		0.18	0.32	1.78	0.42	0.34	0.81	0.15	0.22	1.47	
	3 rd		0.14	0.17	1.21	0.22	0.11	0.50	0.23	0.43	1.87	
	4 th		0.22	0.19	0.86	0.40	0.22	0.55	0.15	0.19	1.27	
	5 th		0.20	0.33	1.65	1.05	0.17	0.16	0.16	0.44	2.75	
		1 st	—	—		—	0.13		—	0.09		
		3 rd	—	—		—	—		—	—		
	sweat	1 st		0.29	—		0.42	0.17	0.41	—	—	
		2 nd		0.42	5.14	12.24	0.87	1.92	2.21	0.25	0.63	2.52
3 rd			0.61	5.57	9.13	—	3.52		2.66	3.53	1.33	
4 th			0.18	3.08	17.11	0.39	2.06	5.28	1.17	3.11	2.66	
5 th			0.22	3.31	15.05	1.17	2.51	2.15	0.17	4.22	24.82	
		1 st	—	2.87		0.26	2.59	9.96	1.51	2.54	1.68	
		3 rd	—	0.91		—	1.00		0.12	1.14	9.50	
		5 th	—	0.88		—	0.73		—	0.73		
		7 th	—	0.56		—	0.71		—	0.32		
		9 th	—	—		—	0.24		—	0.36		
		11 th	—	—		—	—		—	—		
urine	1 st		3.46	2.34	0.68	0.34	0.57	1.68	5.50	4.28	0.78	
	2 nd		7.88	8.15	1.03	10.63	5.93	0.56	4.86	4.60	0.95	
	3 rd		5.76	5.55	0.96	5.37	3.48	0.65	2.49	3.70	1.49	
	4 th		9.10	8.09	0.89	10.15	5.60	0.55	5.10	3.80	0.75	
	5 th		8.39	7.27	0.87	7.13	5.58	0.78	2.42	3.87	1.60	
		1 st	0.01	0.56	56.00	0.02	1.09	54.50	0.04	1.71	42.75	
		3 rd	—	0.04		—	0.25		—	0.01		
		5 th	—	0.02		—	0.02		—	0.01		
		7 th	—	0.01		—	—		—	—		
		9 th	—	0.01		—	—		—	—		
		11 th	—	0.002		—	—		—	—		
		13 th	—	—		—	—		—	—		

saliva, sweat: $\mu\text{M}/100\text{ g}$

urine: $\mu\text{M}/\text{total urine collected}$

において MA だけが認められ、A は検出されなかった。5 日間の継続投与後、MA 及び A はいずれの試料にも含まれ、時間の経過とともに減少するが、MA の消失速度は A に比べて早く、とくに唾液中の MA は急速に消失し、投与終了の翌日に、また尿では 3 日目に、汗では 5 日目に消失した。A は MA の消失後にも各試料中から検出されたが、唾液では、MA の場合と同様に早く、投与終了後、3 日目で全試料とも消失

しており、尿では 5 日目、長いものでは 11 日目まで、汗では 7 日目、長いもので 9 日目まで検出でき、汗で早く消失した例では尿中に長く認められた。

採取した唾液、汗、尿における A の MA に対する比 (A/MA) は Table 4 に示すが、投与期間中の A/MA は唾液及び尿とも 1.87 以下と同じ傾向を示したが、汗はこれらと異なり、ほとんどが 2 以上の値を示した。

考 察

ヒトの唾液、汗、尿を試料として覚せい剤中毒の有無を診断するために行う動物実験には、覚せい剤の代謝経路及び汗腺分布ができるだけヒトに類似している動物を選ぶことが必要である。われわれが扱うる範囲でサル(カニクイザル)を用いたが、薬物の投与、排せつ試料の採取には、保定する方法をとらなければならなかった。保定によるサルへの影響は大きく前回¹⁾、長時間保定で実験途中で死亡した例があったため、まず、汗 100mg~200mg を採取するため、保定時間を6時間とし、10日間連続して汗の採取を試みた。サルに疲労が認められ、目的を達することができなかった。サルの疲労の原因は6時間保定によるストレス及びMAに対する感受性等が考えられ、塩酸メタンフェタミン、1日1回、3mg/kg、5日間連続投与実験を行うためには、保定時間を1回3時間という方法を限度としなければならなかった。この条件下でも3頭はいずれも投与期間中に食欲減退の症状を示し、体重も減少したが、投与の中止により回復した、したがって、汗、尿については1日の排せつ全量を得ることが不可能なため、代謝物の総量を求めることができず、同一条件で得たそれぞれの試料を相互に比較し検討することにとどまらざるを得なかった。たとえば尿については1日の排せつ量が41ml~207mlという報告²⁾があるが、われわれが3時間に採取できた量は多いものでは84mlというのがあるが、少ないものでは10mlに満たないものもあるため、完全に1日全量が採取されれば、検出量も報告した値より大きくなり、検出持続日数への影響も考えられるが、尿量は投与中に比べて、投与後に多く得られているため、この日数については実験結果と実際との間に余り大きな差はないと思われる。また5日間連続投与によるMA及びAの唾液、汗、尿への排せつ持続時間は1回の投与実験の結果に比べて汗及び尿ではいずれも長くなること

が明らかになったが、唾液では逆に短い。この連続投与によって唾液中の濃度があまり増加しないことについて、われわれは足立らによるラットの実験でMAを1回投与しても、隔日に5回及び10回連続投与しても、諸臓器、血液中の濃度に有意差はないとされていること³⁾及びWanらがMA及びAの半減期についてヒトで得た唾液中の半減期は血液中のそれとはほぼ対応しているという結果⁴⁾から、サルにおいても、ラットのようなことがありうるし、代謝機能の亢進がある場合には逆に濃度が低くなる傾向を示す可能性も考えられるが、これまでの実験例数からみて断定はできない。

またわれわれの実験ではMAがAより早く消失しているが、宇根ら⁵⁾は覚せい剤中毒者の血液及び尿中のMA及びAの濃度を測定し、血中濃度の高い場合には、長期間にわたって尿中にMA及びAが排せつされる傾向があり、5名の中毒者のうち3名の尿中にAよりMAが長く排せつされると述べており、サルについても中毒症状を呈するまで連続投与すれば、異なる結果を示すのか、また類似するといわれている代謝傾向が異なるのかを明らかにすることができなかったが、今回までの実験結果から、われわれの方法は汗では投与終了後7日目、尿では5日目までのものが採取できれば、確実な中毒者判定手段として適用できるといえる。

文 献

- 1) 高橋一徳、島峯望彦、大野昌子、川崎 靖、岡田清司、降矢 強：衛生試験報，100，35 (1982)
- 2) 田嶋嘉雄：実験動物学各論，p. 224 (1973) 朝倉書店
- 3) 足立順子ら：日法医誌，36，No. 6，921 (1982)
- 4) S. H. Wan, S. B. Matin, D. L. Azarnoff: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 23, 585 (1978)
- 5) 宇根伊津子ら：日法医誌，36，No. 6，919 (1982)

エチレンビスニトロソ尿素の免疫担当細胞に及ぼす影響について

手島玲子・沢田純一・池淵秀治・寺尾允男

Effects of Ethylenebisnitrosourea on the Functions of Murine Lymphocytes

Reiko TESHIMA, Jun-ichi SAWADA, Hideharu IKEBUCHI and Tadao TERAO

Effects of ethylenebisnitrosourea (EBNU), which is known as a nitrosourea with an anti-tumor activity, on the functions of murine lymphocytes were studied.

When BDF₁ mice were injected i.p. with 200 mg/kg of EBNU, the number of circulating peripheral white blood cells, the weight of spleen and the ability to respond to sheep red blood cell antigens were reduced by day 7. The percentages of splenic T cells, determined by rabbit anti-mouse brain antisera did not differ between control and EBNU-treated mice. On the other hand, the weight of thymus was markedly decreased above 100 mg/kg of dose.

Although the ability of thymocytes to proliferate in response to a mitogen was markedly reduced when more than 50 mg/kg of EBNU was administered to mice, that of splenic cells was not influenced at doses less than 200 mg/kg. Higher sensitivity of T cells to EBNU than B cells was also shown by *in vitro* experiments.

In vivo administration of EBNU decreased the percentage of terminal nucleotidyl transferase-positive thymocytes.

These results suggest that EBNU preferentially inhibits the functions of thymocytes, especially immature thymocytes.

(Received May 31, 1983)

はじめに

われわれは、環境汚染物質¹⁾、薬剤等の免疫担当細胞に及ぼす影響を進めているが、今回は、抗腫瘍活性を有するアルキルニトロソ尿素剤のうちで、エチレンビスニトロソ尿素 (EBNU) について、研究を行った。現在知られている免疫機能を抑制する作用をもつ物質の中には、サイクロフォスファミド、6-メルカプトプリンのようなアルキル化剤、代謝拮抗剤のように抗腫瘍活性を有する物質が含まれている。一方、抗腫瘍活性を有するアルキルニトロソ尿素の中では、glucose の C-2 位に活性基を結合した chlorozotocin に関して、すでに免疫抑制剤としての可能性を示唆する報告²⁾ がなされているが、他のアルキルニトロソ尿素に関しては、ほとんど報告がなされていない。そこで、1分子中に2個の N-ニトロソ基を有する物質のうちで、最も抗腫瘍活性が高く、また、毒性が弱いといわれている EBNU³⁾ について主に検討を加えたところ、胸腺 Tリンパ球の活性を比較的によく抑えるという結果を得たので報告する。

実験材料及び方法

本実験において、薬剤の投与は、*in vivo* では、薬剤の 0.1% tween 80 を含む生理食塩水溶液を、*in vitro* では、ジメチルスルホキシドに溶かしたものを使用した。マイトージェン及び放射性物質は、培養液にとかしたものをを用いた。羊赤血球 (SRBC) は、生理食塩水に懸濁したものを投与した。細胞培養液は、5% FCS を含む RPMI 1640 をを用いた。

1. 実験動物

6-10週令の BDF₁ マウス (静岡実験動物より購入) をを用いた。

2. 血液検査

EBNU を、マウス 1 kg あたり 20~200mg 腹腔内投与し、7日目に、目より採血し、コーンターカウンタ (Model SP) をを用いて、血液中の赤血球数・白血球数・血小板数を測定した。

3. 脾臓細胞及び胸腺細胞の調製

EBNU を、20~200 mg/kg の割合で投与したマウスから、脾臓及び胸腺を無菌的に摘出し、培養液中でほぐし、残存している組織片を除いた後、1000回転で5分間遠心し、細胞の pellet とし、NH₄Cl-Tris 溶液

(140 mM NH₄Cl, 17 mM Tris-HCl (pH 7.2)) 1 ml を加え、室温にて、1 分間放置した、後、多量の培養液を加え、1000回転で5分間遠心し、赤血球を除去した。細胞の viability は、0.1% trypan blue にて測定し、最終的な細胞の viability は、いつも95% 以上のものを用いた。

4. 脾臓細胞中のT細胞の割合の決定

1 × 10⁶/ml の脾臓リンパ球溶液と、等量の抗マウス T細胞抗体 (rabbit anti-mouse brain associated Thy 1 serum, Cedarlane 社) 40倍希釈液を加え、4° にて1時間反応させ、洗浄後 1 ml の培養液に懸濁し、等量の low Tox-M-rabbit complement (Cedarlane 社) 20倍希釈液を加え、37° で、1時間放置してから、この操作で殺された細胞の割合を、0.1% trypan blue にて測定した。

5. マイトージェンによるリンパ球幼若化試験

脾臓及び胸腺リンパ球 2 × 10⁵ 個に、T細胞マイトージェンであるコンカナバリン A (Con A)⁴⁾ 2.5—5.0 μg/ml、又は、B細胞マイトージェンであるリポポリサッカライド (LPS, Difco 社) 12.5 μg/ml になるように加え、各種濃度の EBNU を加えたのち、マイクロタイタープレート (Falcon 3072) 中で培養した。48時間後、³H-チミジン を 0.5 μCi 加え、更に、24時間培養してから、オートハーベスタ (LABO Science 社) にて⁵⁾、細胞を、グラスファイバー上に捕集し、DNA にとりこまれた放射能を、液体シンチレーションカウンタにて測定した。

6. *in vivo* での一次免疫応答試験

マウスに、各種 dose の EBNU を投与する3時間前に、5 × 10⁸ 個の SRBC を、腹腔内投与し、7日後に採血し、血清を分取し、2% 羊赤血球に対する凝集試験を行い、血清中の抗体価を測定した。

7. 胸腺細胞中のターミナルトランスフェラーゼ (TdT) 陽性細胞の割合の決定

エタノールで固定した胸腺細胞に、Rabbit anti-calf TdT (P-L Biochemicals 社) 40倍希釈液を 37° で、30分反応させ、洗浄後、FITC labeled goat anti-rabbit IgG (Litton 社) 5倍希釈液を、37° で20分間反応させ、蛍光顕微鏡にて、TdT 陽性細胞の割合を調べた⁶⁾。

実験結果

1. 血液検査

各種 dose の EBNU 投与後、7日目の血液検査の結果を、Table 1 に示した。200 mg/kg 投与した時、白血球数の有意な減少が観察された。この濃度で、骨髄抑制作用を含め、cytotoxic な作用のあらわれるこ

Table 1. Peripheral blood cells of BDF₁ mice treated with EBNU (day 7)

Dose (mg/kg) ^{a)}	RBC × 10 ⁶ /mm ³	WBC /mm ³	PLT × 10 ³ /mm ³
0	10.1 ± 0.23	6650 ± 690	897 ± 43 ^{c)}
20	10.5 ± 0.19	7040 ± 865	1249 ± 574
50	10.1 ± 0.10	8000 ± 1360	1059 ± 620
100	9.3 ± 0.42	5130 ± 236	1076 ± 546
200	8.7 ± 0.92	3900 ± 160 ^{b)}	456 ± 221

(n=4)

a) Drug was administered intraperitoneally in a volume of 0.1 ml/10 g of body weight.

b) p < 0.05; p-values according to Student's t-test as compared to untreated control

c) mean ± S.D.

Table 2 Thymus weight and number of thymocytes of BDF₁ mice treated with EBNU (day 7)

Dose (mg/kg) ^{a)}	thymocytes (× 10 ⁸)	weight (mg)
		per animal
0	0.70	97
20	0.68	89
50	1.04	74
100	0.57	70
200	0.02	14

(n=4)

a) Drug was administered intraperitoneally in a volume of 0.1 ml/10 g body weight.

Table 3. Percentage of Tcells in spleen of EBNU-treated BDF₁ mice (7 day)

Dose (mg/kg) ^{a)}	total lymphocytes (× 10 ⁸)	weight (mg)	% of Tcells
			per spleen
0	0.72	108	36
20	0.60	103	30
50	0.69	105	36
100	0.78	105	28
200	0.10	34	20

(n=4)

a) Drug was administered intraperitoneally in a volume of 0.1 ml/10 g body weight.

とが示唆された。

2. 胸腺及び脾臓への影響

Table 2 及び Table 3 に、各種 dose の EBNU 投与後7日目の胸腺並びに脾臓重量、及び細胞数、及び

脾細胞中のT細胞の割合について示した。胸腺については、100 mg/kg 以上投与した場合、細胞数の減少が観察され、脾臓では、200mg/kg 投与した場合のみ、細胞数が減少した。また、脾リンパ球中のTリンパ球の割合は、どの用量で投与した場合でも、ほとんどかわらず、脾リンパ球においては、特定の population

Table 4. Effect of EBNU on primary antibody response to sheep red blood cells (day 7)

Dose (mg/kg)	hemagglutination titer
0	2 ¹⁰
20	2 ¹⁰
50	2 ¹⁰
100	2 ¹⁰
200	2 ⁷

(n=4)

BDF₁ mice were received 5 × 10⁸ sheep red cells and EBNU i.p. on day 0.

Table 5. Mitogen stimulation of splenic lymphocytes and thymocytes on day 7 after EBNU intraperitoneal administration

Dose (mg/kg)	Splenic lymphocytes		Thymocytes
	ConA	LPS	ConA
	(× 10 ⁴ dpm)		(× 10 ³ dpm)
0	3.4(100%)	4.1(100%)	1.0(100%)
50	3.0(88%)	4.4(107%)	0.1(10%)
100	2.8(82%)	4.3(104%)	0.1(10%)
200	3.2(94%)	1.9(46%)	0.3(30%)

2 × 10⁵ of splenic lymphocytes or thymocytes from individual animals were stimulated with 2.5 μg/ml of ConA or 25 μg/ml of LPS for 72 hr. [³H]-TdR incorporation after 24 hr pulse was determined.

に cytotoxicity が示されるということは観察されなかった。

3. 一次免疫応答に及ぼす EBNU の影響

Table 4 に、各種用量の EBNU と、羊赤血球投与後 7 日目の血中の羊赤血球に対する抗体価を示したが、200 mg/kg 投与した場合のみ、血中抗体価が、1/8 に減少し、この用量で、抗体産生の抑えられていることが示された。

4. EBNU 投与後の脾及び胸腺リンパ球のマイトージェンによる幼若化活性

Table 5 に、各種用量の EBNU 投与後 7 日目の脾臓リンパ球及び胸腺 T リンパ球の Con A 及び LPS による幼若化活性を示した。脾臓リンパ球の場合、200 mg/kg 投与したマウスから得た場合でも、LPS, Con A いずれによる幼若化活性の減少も観察されなかったが、胸腺 T リンパ球では、50 mg/kg 以上投与した場合、幼若化活性が、著しく減少していた。また、

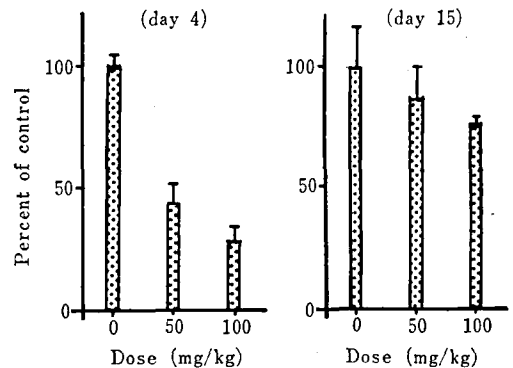


Fig. 1. Mitogen-stimulation of thymocytes on day 4 and day 15 after EBNU treatment 2 × 10⁵ of thymocytes from individual animals were stimulated with 2.5 μg/ml of ConA for 72 hr.

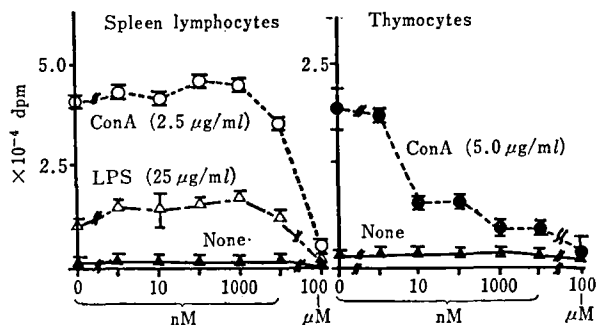


Fig. 2. Effect of EBNU on lymphocyte proliferation *in vitro*

2 × 10⁵ of splenic lymphocytes or thymocytes of BDF₁ mice were incubated with 2.5–5.0 μg/ml of ConA or 25 μg/ml of LPS and with various concentrations of EBNU for 72 hr.

Fig. 1には、各種用量のEBNU投与後、4日目及び15日目に得た胸腺Tリンパ球の幼若化活性を示した。投与後4日目では、7日目と、ほぼ同様の結果で、EBNUを、50 mg/kg以上投与した場合、胸腺Tリンパ球の幼若化の低下が観察されたが、投与後15日目には、その幼若化活性は、対照群と、ほぼ同様のレベルまで回復した。このことから、EBNUの胸腺に対する効果は、不可逆的ではないことが示された。

5. マイトージェンの *in vitro* でのリンパ球幼若化に及ぼす EBNU の影響

Fig. 2に、正常なマウスから得られた脾臓及び胸腺リンパ球を、各種濃度のEBNU及びマイトージェンを加えて培養し、リンパ球の幼若化への影響を、*in vitro* で調べた結果を示した。このように、脾臓リンパ球では、EBNU 1 μ Mまで、幼若化の減少は観察されなかったが、胸腺Tリンパ球は、10 nMで、すでに、幼若化活性が低下しはじめることが観察され、胸腺Tリンパ球のある population あるいは、ある分化段階にあるTリンパ球の活性をより強く抑える可能性が示された。

6. EBNU 投与による胸腺細胞中の TdT 陽性細胞の変動

各種用量のEBNUを投与後、3日目に胸腺を摘出し、TdT陽性細胞の割合を調べた。その結果、対照群では、70%の細胞が陽性であったが、50 mg/kg投与で、35%、100 mg/kg投与で20%、200 mg/kg投与で、14%にまで減少した。胸腺中のTdT陽性細胞は、主に、prothymocyte及びimmatureなTリンパ球に属する⁹⁾ことが示されているので、EBNUは、胸腺T細胞のうちで、immatureなTリンパ球を比較的良好に抑えることが示された。

考 察

EBNUは、抗体産生に対し、比較的抑制効果が少ないが、胸腺Tリンパ球のマイトージェンによる幼若化を、*in vivo* でも *in vitro* でも顕著に抑えることから、胸腺Tリンパ球のある population あるいは、ある分化段階にあるTリンパ球の活性を強く抑える可能性が考えられる。抗TdT抗体を用いた実験から、未

成熟なTリンパ球の減少が示されたが、今後は、Tリンパ球のうち、ある特定の population の活性を強く抑えるか否か等について検討を加える予定である。

また、同じアルキル化剤である cyclophosphamide (CY) は、B細胞により選択的に働き、抗体産生を顕著に抑えること^{9,10)}、及び、サプレッサーT細胞活性を抑えること^{11,12)}、が報告されているが、EBNUは、CYよりは、未成熟なTリンパ球に働く Hydrocortisone^{13,14)}に近い作用を有しているように思われる。

また、アルキル尿素系薬剤には、副作用として、骨髄抑制作用の強いことが問題となっているが、そのなかで、抑制作用の少ない Chlorozotocin²⁾は、LD₁₀の用量で脾臓中のT細胞の幼若化を選択的に抑え、免疫抑制剤としての可能性が示唆されているが、EBNUも比較的毒性が少なく、しかも胸腺Tリンパ球の機能をかかなり選択的に抑えるという点で興味深いと思う。今後、他のアルキルニトロソ尿素剤との比較検討も行う予定である。

なお、本実験に用いたEBNUは、当所化学物質情報部中館正弘博士によって合成されたもので、ここに深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) 手島玲子ら: 衛生試験, 100, 44 (1982)
- 2) R. I. Fischer et al.: *Clin. Exp. Immunol.*, **39**, 416 (1980)
- 3) M. Miyahara et al.: *Gann*, **68**, 573 (1977)
- 4) M. O. J. Olson et al.: *Biochemistry*, **6**, 105 (1967)
- 5) 大野竜三ら: 医学のあゆみ, **97**, 66 (1976)
- 6) F. J. Bollum: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **72**, 4119 (1975)
- 7) I. Goldschneider et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **74**, 734 (1977)
- 8) 杉本正信, 佐々木竜平: 蛋白質・核酸・酵素, **24**, 1239 (1979)
- 9) F. L. Shand: *Immunology*, **35**, 1017 (1978)
- 10) A. Winkelstein: *Immunology*, **46**, 827 (1982)
- 11) T. Diamanstein et al.: *J. Exp. Med.*, **150**, 1571 (1979)
- 12) H. Ozer et al.: *J. Exp. Med.*, **155**, 276 (1982)
- 13) I. L. Weissman: *J. Exp. Med.*, **137**, 504 (1973)
- 14) P. Rogers, A. M. Rogers: *Immunology*, **46**, 841 (1982)

医療用具の放射線滅菌に関する研究（第9報）
γ線照射した血液回路からの可そ剤の溶出について

辻 楠雄・新谷英晴・菊池 寛・大場琢磨・越村栄之助*

Radio-Sterilization of Medical Products. IX

Studies on Migration of Plasticizer from Blood Tubing Irradiated by γ-Ray of ⁶⁰CO

KUSUO TSUJI, HIDEHARU SHINTANI, HIROSHI KIKUCHI, TAKUMA OBA and Einosuke KOSHIMURA*

The effect of γ-ray sterilization on the amount of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) eluted from blood tubing of hemodialysis to human serum was studied. The tubings were irradiated by γ-ray of ⁶⁰CO at 1.5 and 2.5 Mrad. Three hundred milliliter of human serum was circulated in the tubing for 6 hr, and the amount of DEHP eluted into the human serum was determined periodically by HPLC method.

Consequently, the amount of DEHP eluted from irradiated tubings was almost the same as unirradiated tubings. However, after 4 and 15 months of storage, the former was more than the latter by 30-40%. Elution of DEHP from bilayer type tubing (inner; copolymer of ethylene and vinylacetate, outer; poly(vinylchloride)) was less than commercial PVC tubings.

Mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP), a hydrolysed product of DEHP, could not be detected in human serum circulated in the tubings.

(Received May 31, 1983)

まえがき

人工透析に用いられている血液回路は、その主要部分をメインチューブと血液ポンプ部で構成され、そのほとんどが軟質ポリ塩化ビニル (PVC) で作られている。これらの PVC チューブには可そ剤として、フタル酸ジ (2-エチルヘキシル) (DEHP) が用いられており、メインチューブで25~30%、血液ポンプ部で約45%を含有している。著者らは、すでにこの DEHP の一部が透析時に血液中に溶出されることを報告¹⁾した。このため、DEHP の溶出を減少させることを目的として、メインチューブを PVC が直接血液と接触しないように2層構造とした改良型の血液回路も試作されるようになった。そこで、これらの血液回路に放射線滅菌を行った場合に、DEHP の溶出量がどう変化するかを検討した。すなわち、血液回路に一定量の γ線を照射したのち、人血清を灌流して、DEHP の溶出量と照射線量との関係を求め、更に照射4箇月及び15箇月後の溶出量の変化を測定した。また、血液中において DEHP から生成するといわれているフタル酸モノ (2-エチルヘキシル) (MEHP) についても分析を

行ったので報告する。

実験の部

1. 実験試料

実験に用いた血液回路は次の通りである。

A, C, D: いずれも市販の透析用 PVC 製血液回路 (泉工医科工業製) で、ロット並びに製造年月日の異なったものである。

B: 透析中に溶出する DEHP を減少させる目的で、内層にエチレン-酢酸ビニル共重合体 (EVA) を、外層に PVC を用いた2層構造をもつメインチューブからなる改良型の血液回路の試作品である。

2. 照射線量

実験用血液回路は1個ずつ滅菌袋に入れ、コバルト 60の γ線を1.5及び2.5 Mrad 照射した。なお、Fig. 4及び5において、試料記号の後の数字は照射線量を示している。すなわち、A-0、B-1.5及びC-2.5は、それぞれ試料Aの未照射のもの、試料Bの1.5 Mrad 照射のもの、及び試料Cの2.5 Mrad 照射のものを表わしている。

3. 装置

DEHP の抽出並びに定量に用いた装置は、次の通りである。

* 東京都赤十字血液センター

血液ポンプ：日機装製，BP-22 型，
 恒温恒湿装置：タバイ製，PR-1 型。
 遠心機：国産遠心機製，H-108NA 型。
 高速液体クロマトグラフ (HPLC)：島津製，LC-3A 型。

HPLC 用検出器：島津製，SPD-2A 型。

データ処理装置：島津製，クロマトパック C-R1A 型。

4. 試薬

フタル酸ジ (2-エチルヘキシル)：東京化成製，特級品。

フタル酸モノ (2-エチルヘキシル)：和光純薬製，特級品。

フタル酸ジ *n*-オクチル：東京化成製，特級品。

アセトニトリル：関東化学製，液体クロマト用。

5. 実験方法

5-1. 血清中の DEHP 及び MEHP の抽出と HPLC による定量

人血清 1 ml を正確に 10 ml の共栓遠沈管にとり，1N 水酸化ナトリウム 1 ml 及びアセトニトリル 2 ml を加え，40 分間激しく振り混ぜる。一夜 5° で静置したのち，再び 10 分間振り混ぜ，4500 rpm で 15 分間遠心分離し，たん白質を分離する。

DEHP については，上澄液 1 ml をとり，これに内部標準物質としてフタル酸ジ *n*-オクチル (DnOP) を，DEHP の濃度に応じて，10~30 µg 正確に加えて振り混ぜる。これを試料溶液とし，その 10 µl を下記の条件の HPLC に注入し，内部標準法により定量する。MEHP については，遠心分離後の上澄液を試料溶液とし，その 10 µl を下記の条件の HPLC に注入し，絶対検量線法により定量する。

DEHP 及び MEHP の HPLC による分析条件は次の通りである。

DEHP の分析

カラム：Nuclcosil 5C18，4.6 mmφ×150 mm。

移動相：水-アセトニトリル (10 : 90)。

圧力：60 kg/cm²。

流速：0.9 ml/min。

検出器：UV (測定波長 254 nm)。

この条件での DEHP 及び DnOP の保持時間は，それぞれ 7.5 分及び 8.7 分であった。

MEHP の分析

移動相：5 mM リン酸二水素ナトリウム-アセトニトリル (87 : 13) 混液を，リン酸で pH 2.1 に調整したもの。

他の条件は DEHP の場合と同じ。

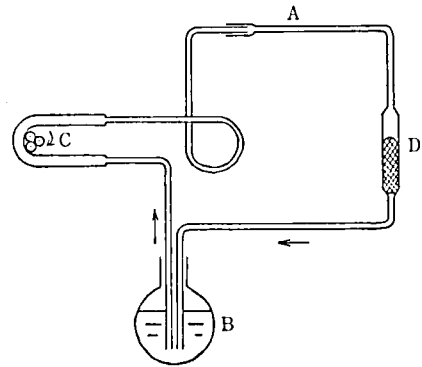


Fig. 1 Apparatus of circulation

A; PVC blood tubing, B; Human serum,
 C; Blood pump, D; Filter.
 Operated at 40°.

この条件での MEHP の保持時間は 18.8 分であった。

5-2. 人血清による血液回路からの DEHP 及び MEHP の溶出実験

血液回路の動脈側と静脈側とを結合したのち，血液回路のポンプ部を血液ポンプのローラー部にそう入する。次いで両端のシャント継手を 300 ml の血清の入っている丸底フラスコに入れ，250 ml/min の流速に調整した血液ポンプを用い，大型恒温器中で 40° に保ちながら，血清を連続循環させる。その回路の略図を Fig. 1 に示す，0，1，2，4 及び 6 時間後に血清 1 ml を正確に 10 ml の共栓遠沈管にとり，5-1 の方法で DEHP の定量を行った。また，同時に別の遠沈管に血清 1 ml をとり，5-1 の方法で MEHP の定量を行った。

実験結果

1. 検量線

DEHP 200mg を *n*-ヘキサン 100 ml に溶かして 2000 µg/ml とし，この溶液を用いて，血清 1 ml 中に 2.5，5，12.5，25 及び 50 µl を加え DEHP が，5，10，25，50 及び 100 µg/ml になるように調製する。5-1 の方法で，DEHP を抽出したのち，その 1 ml に内部標準物質 DnOP 10 µg を加え，その 10 µl を HPLC に注入して，DEHP の検量線を作成したところ，Fig. 2 の如く，良好な直線性を示した。

2. 添加回収実験

人血清に DEHP を 100 µg/ml となるように添加した後，5-1 の方法に従って添加回収実験を行ったところ，99.6%~100.3% (n=3) と良好な回収率が得られた。

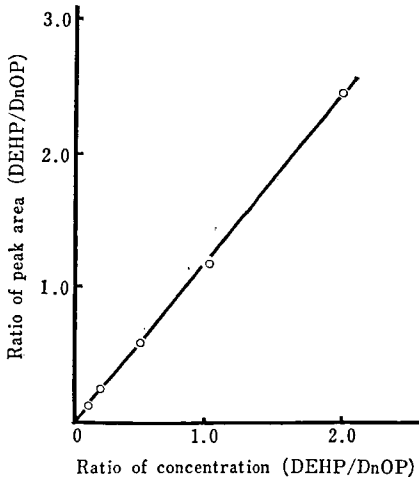


Fig. 2 Calibration curve for DEHP

Concentration of DEHP; 5, 10, 25, 50 100 $\mu\text{g/ml}$

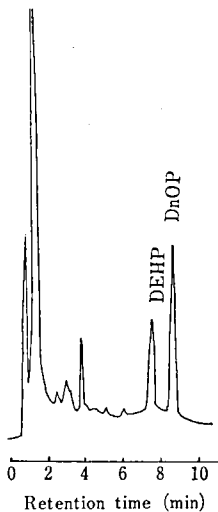


Fig. 3 Typical HPLC chromatogram of DEHP migrated from a commercial blood tubing into human serum

Retention time: DEHP; 7.5 min

DnOP (internal standard);
8.7 min

HPLC conditions:

column; nuclecil 5C18, 4.6 mm ϕ \times 150 mm.
 carrier; H₂O: CH₃CN (10:90).
 pressure; 60 kg/cm².
 flow rate; 0.9 ml/min.
 detector; UV (254 nm).

3. 照射線量の影響及び2層構造の効果

試料A (PVC製の市販品)及びB (2層構造の試作品)に γ 線を照射し、実験の部の5-2の方法で血

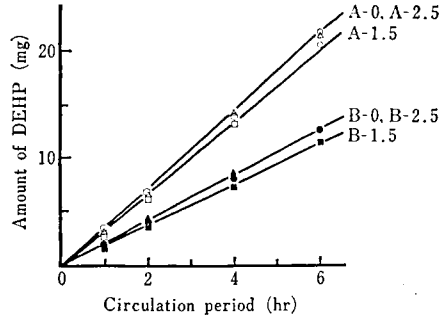


Fig. 4 Amount of DEHP migrated from γ -ray irradiated blood tubing into human serum immediately after irradiation

A; Commercial PVC tubing.

B; Bi-layer structure tubing.

Number indicates irradiation dose (Mrad)

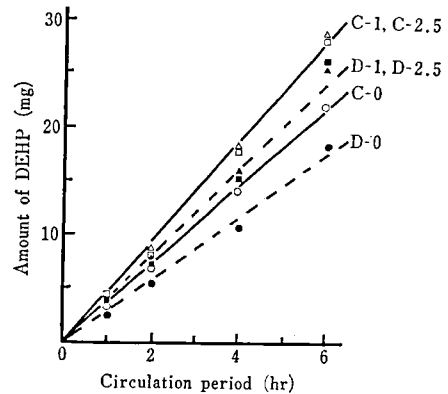


Fig. 5 Amount of DEHP migrated from γ -ray irradiated blood tubing into human serum after several months from irradiation

C and D; Commercial PVC tubing elapsed 4 and 15 months after irradiation respectively.

Number indicates irradiation dose (Mrad).

液回路からの DEHP の溶出量を測定した。市販品及び2層構造の試作品とも、未照射のものと同様に γ 線照射したものの間で、DEHP の溶出量に大きな差はみられなかったが、1.5 Mrad 照射のものがやや小さい値を示した。いずれも、灌流時間に比例して DEHP の溶出量が増加し、通常の透析時間である6時間では、市販品で約 21 mg、2層構造の試作品で約 12 mg の DEHP の溶出が認められた。

HPLC のクロマトグラムの一例を Fig. 3 に、また、溶出実験の結果を Fig. 4 に示す。

4. 照射後の経時変化

試料C及びD (いずれも PVC製の市販品)に γ 線を照射したのち、試料Cについては、4箇月後に、ま

た、試料Dについては15箇月後に、実験の部の5—2の方法で血液回路からのDEHPの溶出量を測定した。

DEHPの溶出量は、未照射の場合に比べて、照射後一定期間経過した場合の方が多ことがわかった。すなわち、試料C及びDに γ 線を照射後4箇月あるいは15箇月たったものから6時間の灌流で溶出したDEHPの量は、それぞれ約28mg及び約26mgで、未照射のものに比べてそれぞれ約7mg及び約8mg増加した。それらの結果をFig.5に示す。

5. MEHPの分析

DEHPの溶出試験の際には必ず5—2の方法でMEHPの生成量も測定したが、MEHPが検出されたものはなかった。

考 察

高分子材料に放射線を照射すると、高分子間の架橋あるいは分子間の解裂が生じる。PVCは、真空中で γ 線を照射すると架橋するが、空気中で行くと主鎖切断を生じ、その結果、塩化水素ガスを発生し分子量が低下するといわれている²⁾。

そこで、可そ剤として含まれているDEHPの溶出に対する γ 線照射の影響について検討したところ、次のような知見が得られた。

1) 試料A及びBの場合のように、血液回路に γ 線を1.5及び2.5Mrad照射した直後のものでは、いずれも未照射のものと同レベルのDEHPの溶出量を示した。ところが、試料C及びDの場合のように照射後一定期間を経過したものでは、いずれもDEHPの溶出量が未照射のものよりも増加した。このことは、照射後時間の経過にしたがってPVC分子の解裂が進行し、その結果がDEHPの溶出の増加につながったものと思われる。

肉眼による観察でも、照射線量が高いほど、また、経過日数の長いほど、PVCの色は淡褐色から褐色へと色調が濃くなる傾向にあった。

2) 可そ剤としてDEHPを含むPVC製の血液バッグ中で血漿を保存しておくと、MEHPが生成するという報告^{3,4)}があり、また、血清中に溶出したDEHP

がMEHPに変換する可能性もあるため、DEHPの溶出試験の際には必ずMEHPの定量も行ったが、MEHPを検出したものはなかった。

3) PVC-EVAの2層構造をもつ試料Bは、PVC製の試料Aに比べて、DEHPの溶出量が少なく、溶出防止効果が認められた。更に溶出防止効果を上げるためには、2層押し出し加工の際のDEHPの内層への滲透を防ぐとともに、血液ポンプ部にも防止処理を施す必要がある。

結 論

1. 人血清の灌流による血液回路からのDEHPの溶出量は、 γ 線照射の如何にかかわらず、いずれも6時間までは直線的に増加した。6時間後におけるDEHPの溶出量はPVC製の市販品においては20mg程度であった。

2. 照射直後には、 γ 線を1.5Mrad及び2.5Mrad照射したものは、いずれも未照射のものと同じレベルのDEHPの溶出量を示し、照射による影響ははっきりとは認められなかった。

3. 照射後4箇月及び15箇月経過したものでは、いずれの線量とも、DEHPの溶出量が未照射のものに比べて30~40%の増加率を示し、照射による影響が明確に認められた。

4. 内層にEVA、外層にPVCを用いた2層構造による改良型の血液回路では、PVC製の市販品に比べてDEHPの溶出を減少させる効果が認められた。

本研究は昭和57年度科学技術庁、国立研究機関原子力試験研究費によった。終りに本研究に試料の提供を頂いた泉工医科工業株式会社に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 大場琢磨, 辻 楠雄, 水町彰吾, 飯田和子: 人工臓器, 6, 48 (1977)
- 2) 岡村誠三(編): 放射線高分子化学, p. 200 (1966), 地人書館
- 3) G. Peck et al.: *Transfusion*, 18, 553 (1978)
- 4) G. Peck et al.: *Transfusion*, 21, 163 (1981)

ヘッドスペースガスクロマトグラフィーによるエアゾル製品中の
トリクロロエチレン及びテトラクロロエチレンの分析

小嶋茂雄・鹿庭正昭・中村晃忠

Determination of Trichloroethylene and Tetrachloroethylene
in Aerosol Products by Head Space Gas Chromatography

Shigeo KOJIMA, Masa-aki KANIWA and Akitada NAKAMURA

A simple and specific method for the determination of trichloroethylene (I) and tetrachloroethylene (II) in aerosol products is described: one gram of the content in an aerosol product is taken in a 100 ml vial bottle, to which 20 ml of ethanol and 1.0 ml of 0.12 w/v % internal standard (IS; 1,1,1,2-tetrachloroethane) solution are added. The bottle is then incubated at 30° for 30 minutes. Three μ l of head space gas is taken from the bottle and injected into gas chromatograph equipped with electron capture detector by a microsyringe. The contents of (I) and (II) in aerosol products are calculated using calibration curves based on peak height ratio of (I) and (II) to IS, respectively.

By this method, more than 0.01 w/w % of (I) and (II) in aerosol products can be determined. Several commercial products for household use were analysed.

(Received May 31, 1983)

ま え が き

トリクロロエチレン（トリクレン）及びテトラクロロエチレン（パークレン）はともに工業的に汎用されている溶剤であり、パークレンはドライクリーニングの溶剤としても用いられている。家庭用品への使用に関しては、厚生省環境衛生局家庭用品安全対策室がエアゾル製品のメーカーなどを対象として行った調査により¹⁾、トリクレンが防錆潤滑剤スプレーに30%程度、また、パークレンがスキーワックス除去剤、自動車ピッチクリーナー、洗濯助剤、しみ抜き剤、化学雑巾再生剤などのスプレーや一部の洗剤に3~50%程度使用されていることが明らかにされた。

しかしながら、トリクレン及びパークレンは、吸入・経皮などのルートから人の体内に取り込まれ、皮膚、肝臓、腎臓、あるいは中枢神経に障害を起こすことが過去の中毒症例などから知られている^{2,3)}。また、両者ともマウスに対して発癌性を示したことが、米国NCIにより報告されている^{4,5)}。従って、前述のエアゾル製品などが換気の悪い室の中で使われた場合には、使用者が高濃度のトリクレンあるいはパークレンに暴露されることとなり、各種の障害が惹き起こされる恐れがある。

そこで、これら2種の化合物を家庭用エアゾル製品

及び家庭用洗剤に実質的に使用させないようにするため、1983年に「トリクロロエチレン及びテトラクロロエチレンの含有量は0.1 w/w %を超えてはならない」という規制基準が設けられた⁶⁾。

著者らはこの規制基準の分析法としてヘッドスペースガスクロマトグラフィーの適用を試みた：ヘッドスペース法は、低沸点の化合物を抽出・精製などの前処理操作を省いて迅速・簡便に分析しうる方法として、最近よく用いられるようになってきており⁷⁻¹⁰⁾、水質中のトリハロメタンの公定試験法にも採用されている¹¹⁾。今回、ガスクロのカラム充填剤、内部標準物質、ヘッドスペースボルトに加えるべき溶媒、ガスクロへのヘッドスペースガスの注入量、あるいは測定値の再現性などについて検討を行った結果、エアゾル製品中の0.01 w/w %以上のトリクレン及びパークレンを簡便に分析しうる方法とすることができたので報告する。

実 験 の 部

1. 試料

市販のエアゾル製品——13種、1980年夏~1982年夏に東京都内あるいは神奈川県内で購入したもの。

2. 試薬及び器具

ハロゲン化炭化水素——Table I に示した8種の化

Table I Retention Time of Standard Compounds^{a)}

No.	Compound		B.P. ^{b)} (°C)	Retention time ^{c)} (min)
1	Dichloromethane	CH ₂ Cl ₂	40	1.92 (0.41)
2	1,1,2-Trichloro-1,2,2-trifluoroethane (Freon 113)	CCl ₂ F-CClF ₂	48	1.94 (0.41)
3	Chloroform	CHCl ₃	61	2.80 (0.59)
4	1,1,1-Trichloroethane	CH ₃ -CCl ₃	74	3.48 (0.74)
5	Carbon tetrachloride	CCl ₄	77	3.82 (0.81)
6	Trichloroethylene	CHCl=CCl ₂	87	4.72 (1)
7	Tetrachloroethylene	CCl ₂ =CCl ₂	121	10.10 (2.14)
8	1,1,1,2-Tetrachloroethane	CH ₂ Cl-CCl ₃	138	12.50 (2.65)

a) Gas chromatographic conditions: Apparatus; Shimadzu, GC-4CM-PFE type, detector; electron capture detector (⁶³Ni), column; glass column (3 mmφ×3 m) packed with 10 % DC-200 on Shimalite W (80-100 mesh), temperature; column 70°, injection port & detector 180°, carrier gas; N₂, 30 ml/min, attenuation; 100 MΩ-0.16 V.

b) Boiling point.

c) Values in the parentheses indicate relative retention time to trichloroethylene.

化合物 (いずれも純度99%以上のもの) を標準物質として用いた。このうち、No. 1, 2 及び 4 はトリクレンやパークレンの代替品としてエアゾル製品に使われつつあるもの、No. 3 及び 5 は水や空気から混入する恐れがあるもの、また、No. 8 は内部標準物質である。

ヘキサン及びエタノール——市販の特級品を用いた。

トリクロロエチレン (トリクレン) 標準液及びテトラクロロエチレン (パークレン) 標準液——トリクロロエチレンあるいはテトラクロロエチレン 1.0 g をヘキサンに溶かして 100 ml とした。この液をヘキサンで10倍に希釈して標準液として用いた。

内部標準溶液——1,1,1,2-テトラクロロエタン 1.2 g をヘキサンに溶かして 100 ml とした。この液をヘキサンで10倍に希釈して内部標準溶液として用いた。

バイアルびん——100 ml 用。

マイクロシリンジ——ヘッドスペースガスの採取には、液体用シリンジ (Hamilton 社製, 10 μl 用) を準用した。あらかじめヘキサンでよく洗浄したのち、筒の部分に通気して乾燥して用いた。

3. ガスクロマトグラフィー

島津製, GC-4CM-PFE 型を用い、下記の条件で行った。

カラム——ガラスカラム (内径 3 mm, 長さ 3 m) に 10% DC-200/Shimalite W (80-100メッシュ) を充填して用いた。

温度——カラム: 70°, 試料注入口及び検出器: 180°。

キャリアガス——高純度窒素を 30 ml/min の流速で用いた。

検出器——電子捕獲型検出器 (ECD; ⁶³Ni) を 100

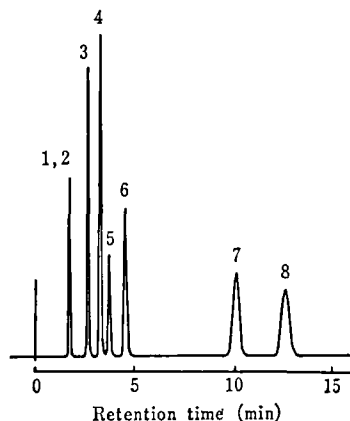


Fig. 1 Gas Chromatogram of Standard Compounds

Peaks: 1; dichloromethane, 2; Freon 113, 3; Chloroform, 4; 1,1,1-trichloroethane, 5; Carbon tetrachloride, 6; trichloroethylene, 7; tetrachloroethylene, 8; 1,1,1,2-tetrachloroethane.

Operating conditions were the same as those described in Table 1.

MΩ-0.16 V の感度で用いた。

以上の条件で Table I の 8 種の化合物は、Fig. 1 に示すクロマトグラムを与えた。

4. 定量法

エアゾル製品からの内容液の採取については、エアゾル製品中のメタノールの分析法¹²⁾の場合と同様に行った。すなわち、200 ml のフラスコを氷冷し、ドラフト内でエアゾル製品をフラスコ内に噴射して内容液を捕集した。

得られた内容液 1.00 g を 100 ml のバイアルびん

に秤り採り、エタノール 20 ml 及び内部標準液 1.0 ml を加える。ゴム栓をしたのち、アルミキャップで密栓する。このバイアルびんを 30° の水浴中で 30 分間インキュベートしたのち、マイクロシリンジでヘッドスペースガス 3 μ l を採り、ガスクロマトグラフに注入する。クロマトグラム上で、トリクレン及びパークレンに相当するピークの高さ（それぞれ、 H_T 及び H_P ）を求め、内部標準のピーク高さ（ H_{IS} ）との比（それぞれ、 R_T 及び R_P ）を計算する。同じバイアルびんについて、ガスクロマトグラフによる測定を 3 回以上繰り返し、平均値 \bar{R}_T 及び \bar{R}_P を求める。

トリクレン標準液 1.0 ml を用いて上記と同様に操作し、内部標準とのピーク高さの比の平均値 \bar{R}_{ST} を求める。また、パークレン標準液 1.0 ml を用い、同様にして \bar{R}_{SP} を求める。

以上の結果から、エアゾル製品中のトリクレン及びパークレンの含有量 C (C_T あるいは C_P ; w/w %) は次式により計算される

$$C = K \times \frac{\bar{R}}{\bar{R}_S} \times \frac{1}{W} \times D$$

ただし、 K ；標準液の濃度 (w/v %), \bar{R} ; \bar{R}_T あるいは \bar{R}_P , \bar{R}_S ; \bar{R}_{ST} あるいは \bar{R}_{SP} , W ；試料採取量 (g), D ；希釈度である。

実験結果並びに考察

1. ヘッドスペース法の諸条件の検討

1-1. 内部標準物質

トリクレン及びパークレンに近い沸点をもち、通常のエアゾル製品には使われていないハロゲン化炭化水素として、1,1,2-トリクロロエタン(Ⅲ), 1,2-ジクロロイソブタン(Ⅳ), 並びに 1,1,1,2-テトラクロロエタン(Ⅴ; Table I の No.8) を選んで検討を行った。

トリクレンの保持時間を 1 とした時の相対保持時間は、Ⅲ; 1.54, Ⅳ; 1.26, Ⅴ; 2.65 で、Table I の No. 1~7 の化合物との分離はいずれも良好であった。しかしながら、ⅢとⅣの場合、市販品にはトリクレンやパークレンが不純物としてかなり含まれており、このままでは内部標準物質として不適当であった。一方、Ⅴについては、かなり純度の高いものが市販されているので、これを内部標準物質として用いることにした。

1-2. 検出器の選択

エアゾル製品中のトリクレン及びパークレンを分析するためには、これらの塩素化合物に対して感度が低く、しかも、エアゾル製品の他の炭化水素類による妨害を受ける恐れのある水素炎イオン化検出器 (FID) は不適当であった。すなわち、装置の最高感度を用い、

本試験法のバイアルびんからヘッドスペースガス 0.1 ml を採って、ガスクロマトグラフに注入しても、FID では 1 w/w % レベルのパークレンを検出しえなかった。

そこで、これらの塩素化合物に対して感度が良く、特異性のある ECD を用いることにした。

1-3. ヘッドスペース法におけるエアゾル製品に対する最適溶媒

ヘッドスペース法で定量分析を行うには、気相と平衡にある液相の組成が標準の場合とほぼ同じで、かつ、均一とみなしうることが前提となる。ところが、エアゾル製品には用途に応じて水性・乳化性・油性のタイプがあり、内容液の組成も様々である。このため、内容液のまま分析した場合には、同じ含有量のものであっても、組成の違いから異なった気相-液相平衡が成立し、測定値に違いが生ずる可能性がある。従って、エアゾル製品の場合には、その内容液の一定量を組成の如何にかかわらず溶かすことができ、しかも、ECD-ガスクロマトグラフに適した溶媒をヘッドスペースボットルに加える必要があると考える。

種々の溶媒について検討した結果、本試験法の目的にはエタノールが適当であり、エアゾル製品の内容液 1 g にエタノール 20 ml を加えた時には、ほとんどの場合ほぼ均一な溶液となることが認められた。

1-4. ヘッドスペースガスの注入量

ECD を用い、ヘッドスペース法により定量を行うには、ガスクロマトグラフへ注入されるトリクレンあるいはパークレンの絶対量がそれぞれの注入量-ピーク高さ曲線の直線域（トリクレンは 800 pg まで、パークレンは 250 pg まで）に納まるように、ヘッドスペースガスの注入量を選ぶ必要がある。

そこで、トリクレン標準液あるいはパークレン標準液 1.0 ml を用い、以下実験の部の 4 に従って操作し、ガスの注入量を変えて検討を行ったところ、0.1 w/w % レベルのトリクレンあるいはパークレンを含むエアゾル製品を希釈操作を行わずにそのまま分析するには、ヘッドスペースガスの注入量を 3 μ l とするのが適当なことが明らかとなった。

1-5. インキュベート温度並びに時間

トリクレン標準液あるいはパークレン標準液 1.0 ml を用い、以下実験の部の 4 に従って操作して検討した。

まず、インキュベート時間については、内部標準とのピーク高さの比がいずれの場合も 25 分以上でほぼ一定となり、気相液相の平衡に達していると思われたので、30 分間とした。

次に、インキュベート温度の影響については、Fig.

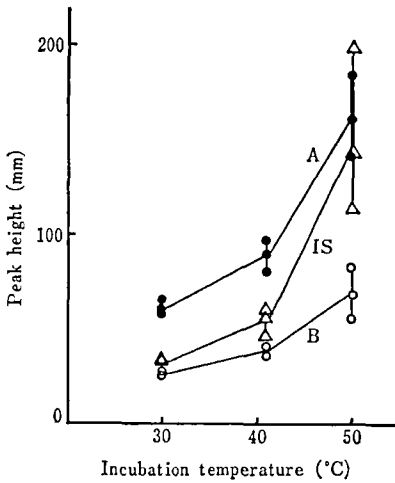


Fig. 2 Effect of Incubation Temperature

A; Tetrachloroethylene, B; trichloroethylene, IS; internal standard (1,1,1,2-tetrachloroethane). One ml of 0.1 w/v % standard solutions were used for the experiments.

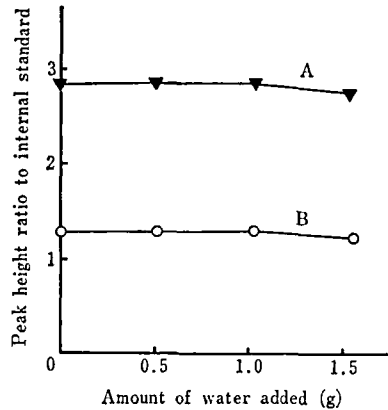


Fig. 3 Effect of the Addition of Water

A; Tetrachloroethylene, B; trichloroethylene. One ml of 0.13 w/v % tetrachloroethylene standard solution and 0.18 w/v % trichloroethylene standard solution were used for the experiments.

Table II Reproducibility of Analytical Results by This Method^{a)}

Compound	Peak height ratio to internal standard ^{b)}	Mean	Standard deviation	C.V. ^{c)} (%)
Trichloroethylene	0.77, 0.84, 0.76, 0.79, 0.71, 0.78, 0.81	0.78	0.041	5.3
Tetrachloroethylene	2.24, 2.29, 2.39, 2.25, 2.29, 2.26, 2.22	2.28	0.056	2.5

a) 1.0 ml of 0.1 w/v % standard solutions were used for the experiments.

b) Mean value of three repeated measurements.

c) Coefficient of variation.

2に示した如く、温度が高くなるとトリクレン、パークレン及び内部標準のいずれのピーク高さも大きくなるが、これにともなって測定値のバラツキもかなり大きくなることがわかった。そこで、バラツキの少ない30°をインキュベーション温度として選んだ。

1-6. 水の添加の影響

以上の検討は、標準液がヘキサンを溶媒としていることから、油性のものの場合に相当している。そこで、水性や乳化性のものの場合のように、水が含まれている時に測定値が影響を受けるかどうか検討を行った。

その結果、水の添加量を増すにしたがって、トリクレン、パークレン及び内部標準のいずれのピーク高さも大きくなっていくが、内部標準とのピーク高さの比をとってみると、トリクレン及びパークレンのいずれの場合もほぼ一定であることがわかった (Fig. 3)。したがって、含有量が同じであれば、油性のものも、水性のものも、ほぼ同じ測定値を与えるものと考えられる。

1-7. 検量線

0.01~0.20 w/w % の濃度の標準液を用い、実験の部の4にしたがって操作して、内部標準法による検量線を作成したところ、この範囲においては、トリクレン及びパークレンのいずれも原点を通る直線性を示した。

2. 測定値の再現性

トリクレン標準液あるいはパークレン標準液 1.0 ml を用い、以下実験の部の4にしたがって操作して、内部標準とのピーク高さの比の平均値を求めた。7回の繰り返し実験の結果から測定値の再現性について検討し、Table II に示した。

この結果から、本試験法により、0.1 w/w % レベルのトリクレン及びパークレンを、それぞれ変動係数 5.3 及び 2.5% で分析できることがわかった。

3. 添加回収実験

測定の際に妨害となりうるのは、トリクレンと保持時間が近く、代替品として数十%のレベルで使われる

Table III Results of the Determination of Trichloroethylene and Tetrachloroethylene in Commercial Aerosol Products for Household Use

No.	Purpose of use	found (w/w %)		1,1,1-trichloroethane
		trichloroethylene	tetrachloroethylene	
1	Spot remover	0.11	17.0	++ ^{a)}
2	"	ND ^{a)}	ND	++
3	Washing aid	0.01	28.0	ND
4	Corrosion inhibitor	ND	ND	ND
5	"	0.02	ND	++
6	Glass polishing	ND	ND	ND
7	"	ND	ND	ND
8	Static elimination for disk	ND	ND	ND
9	"	ND	ND	ND
10	Oven cleaner	ND	ND	ND
11	Water proofing	ND	ND	++
12	"	ND	ND	++
13	Insecticide (for scale insect)	ND	100.9 ^{b)}	ND

a) ++: detected, but not determined, ND: not detected.

b) Other ingredients in this aerosol product might be easy to evaporate.

可能性のある1,1,1-トリクロロエタン (Table I, No. 4) である。数十%の1,1,1-トリクロロエタンを含む製品中の0.1 w/w % レベルのトリクレンを測定すると、Fig. 4, a) に示したように、1,1,1-トリクロロエタンの頭打ちピークの肩にトリクレンのピークが現われる。

そこで、1,1,1-トリクロロエタン 1.0 g にトリクレン標準液 1.0 ml を添加し、以下実験の部の4にしたがって操作して、回収実験を行ったところ、平均97.4 % (n=5) と良好な回収率が得られた。

4. 市販のエアゾル製品の分析結果

Table III に市販のエアゾル製品13種中のトリクレン及びパークレンの分析結果を示した。

3種の製品から17.0~100.9 w/w % の高濃度のパークレンが検出され、これらの製品にはパークレンが溶剤 (Table III, No. 1 及び 3) あるいはカイガラムシの防除剤 (Table III, No. 13) として使われていることが判明した。一方、トリクレンは3種の製品から0.01~0.11 w/w % が検出されただけで、トリクレンを意図的に使用したものは認められなかった。このように少量のトリクレンが検出された理由は、①過去にトリクレンを使っていて、その後ほかの溶剤に切り替えた後も装置内に残っていて混入したもの (Table III, No. 5)、あるいは②パークレンの不純物として混入したもの (Table III, No. 1 及び 3) と考えられる。

なお、Fig. 4 に市販エアゾル製品のうちでパークレ

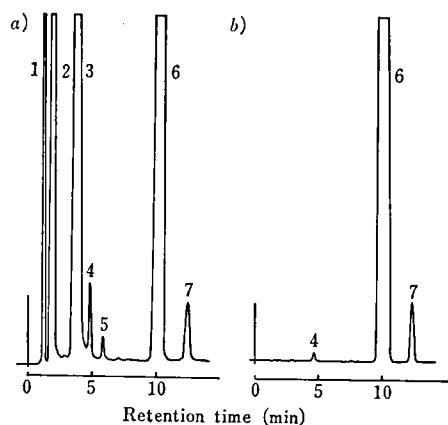


Fig. 4 Typical Gas Chromatograms of Commercial Aerosol Products Containing Halogenated Hydrocarbons

a) Spot remover, b) Washing aid.

Peaks: 1 and 2; Freons, 3; 1,1,1-trichloroethane, 4; trichloroethylene, 5; unknown peak, 6; tetrachloroethylene, 7; internal standard (1,1,1,2-tetrachloroethane).

ンを検出したもの2種のガスクロマトグラムを示した。

結 論

エアゾル製品中のトリクロロエチレン及びテトラクロロエチレンを、前処理なしに直接ヘッドスペースガスクロマトグラフィーを適用することによって、迅

速・簡便に分析することができた。

本試験法を用いて市販のエアゾル製品13種を分析したところ、しみ抜き剤、洗濯助剤、並びにカイガラミンの防除剤のスプレーから 17.0~100.9w/w% のテトラクロロエチレンを検出した。

文 献

- 1) 家庭用品安全対策行政担当係長会議資料, 1983. 3.24~5 (東京).
- 2) M. Bauer, S. F. Rabens: *Arch. Dermatol.*, **110**, 886 (1974)
- 3) H. Eberhardt, K. J. Freundt: *Archiv für Toxikologie*, **21**, 338 (1966)
- 4) National Cancer Institute: *Carcinogenesis Technical Report Series No. 2, Carcinogenesis Bioassay*

- of Trichloroethylene (1976).
- 5) National Cancer Institute: *Carcinogenesis Technical Report Series No. 13, Bioassay of Tetrachloroethylene for Possible Carcinogenicity* (1977).
- 6) 厚生省令第28号 (昭和58年5月27日).
- 7) J. J. Rook: *Water Treatment & Examination*, **23**, 234 (1974)
- 8) K. L. E. Kaiser, B. G. Oliver: *Anal. Chem.*, **48**, 2207 (1976)
- 9) 富田基郎, 浜田 昭: *衛生化学*, **25**, 315 (1979)
- 10) B. Kolb (ed.): *Applied Head Space Gas Chromatography* (1980), Heyden, London.
- 11) 厚生省環境衛生局水道整備課, 環水第47号 (昭和56年3月25日).
- 12) 中村晃忠, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭: *衛生試験*, **99**, 121 (1981)

染毛剤中の酸化染料の分析法

木嶋敬二・斎藤恵美子・手代木直子*・本田真理*

Analysis of Oxidative dyes in Hair dyes

Keiji KIJIMA, Emiko SAITO, Naoko TESHIROGI and Mari HONDA

The oxidative dyes in hair dyes were analyzed qualitatively and quantitatively by thin layer chromatography (TLC) and high speed liquid chromatography (HPLC).

Thirteen kinds of oxidative dyes were well separated with silica gel plate as adsorbent and $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{COOEt}:\text{EtOH}$ (7:2:1) as developer.

Two analytical methods of oxidative dyes in hair dyes were studied by HPLC.

The first method employs Nucleosil 5 CN as column and isooctane:dichloromethane:methanol (65:35:0.5-1.0) as mobile phase. The second method employs LiChrosorb RP-18 as column and aqueous methanol containing counter ion as mobile phase (0.2% sodium laurylsulfate/buff. (pH 4.0): methanol (6:4) or 0.2% sodium octanesulfonate/buff. (pH 2.2): methanol (6:4)).

These methods are very simple, rapid, highly reproducible and can be satisfactorily applied to the analysis of oxidative dyes in commercial hair dyes.

(Received May 31, 1983)

まえがき

染毛剤は今回の薬事法の改正により、指定成分の表示、使用期限の表示等が義務付けられた。これらのことから染毛剤中、特に酸化染料の簡易定量分析法の開発が必要となった。酸化染料の分析は、ペーパークロマトグラフィー (PC)¹⁻³⁾、薄層クロマトグラフィー (TLC)⁴⁻⁶⁾ などを利用して、定性分析が行われてきた

が、酸化分解などの問題もあり定量分析法の検討はほとんど報告をみることができなかつた。最近、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の開発により、一部定量分析法⁷⁻⁹⁾の報告もある¹⁰⁻¹³⁾。

今回、著者らは、染毛剤中の酸化染料の分析に基剤の影響を中心に TLC による定性分析法と併せて、化学結合形充てん剤を用いる HPLC を利用して、ほぼ満足する結果が得られたので報告する。

* 北里大学衛生学部

Table 1. Oxidative dyes

Oxidative dyes	abbreviation
<i>p</i> -phenylene diamine	PPDA
Toluene-diamine sulfate	TDA-S
<i>m</i> -phenylene diamine	MPDA
<i>p</i> -aminophenol	PAP
<i>p</i> -nitro- <i>o</i> -phenylenediamine	PNOPDA
<i>m</i> -aminophenol	MAP
Pyrogallol	Pyr
<i>o</i> -nitro- <i>p</i> -phenylenediamine	ONPPDA
<i>o</i> -aminophenol	OAP
Resorcine	Res
N-phenyl- <i>p</i> -phenylenediamine	NPPPPDA
Catechol	Cat
α -naphthol	NaP
2-amino-5-nitrophenol	2A5NP
1,5-naphthalenediol	NaPD
2-amino-4-nitrophenol	2A4NP

Table 2. Base of hair dyes

Formula A.	
polyoxyethylenelauryl ether (4 E.O)	11.0%
polyoxyethylenenonylphenylether (II E.O)	27.0
lauryl alcohol	14.0
coconut fatty acid diethanolamide	2.5
95% denatured alcohol (Geraniol)	37.5
28% NH ₃ Aq.	8.0
H ₂ O	Total 100.0
Formula B.	
coconut fatty acid diethanolamide	35.9
hexyldecanol	5.8
isostearic acid	9.7
polyoxyethyleneoleylether (2 E.O)	20.4
polyoxyethylenelauryl ether (9 E.O)	17.5
polyoxyethylenenonylphenylether (8 E.O)	7.8
28% NH ₃ Aq.	2.9
Formula C.	
cetanol	2.9
octadecanol	1.5
isostearic acid	9.8
polyoxyethyleneoleylether (4 E.O)	39.2
polyoxyethylenecethylether (10 E.O)	2.0
polyoxyethylenelauryl ether (9 E.O)	38.7
polyoxyethylene hydrogenated casteroil	3.9
28% NH ₃ Aq.	2.0

実験の部

1. 試料及び試薬

基礎実験に用いた酸化染料は、工業会染毛剤原料規格の適合品を用い、Table 1 に示す。以下表中の略号を用いることにする。また基剤は、Table 2 に示す3種の他に2種を用いたが省略した。これらに Table 1 の酸化染料を添加して実験を行った。市販品については、液状染毛剤（第1液）及び粉末染毛剤を用いた。TLC 及び HPLC に使用した試薬は和光純薬製試薬特級を用いた。なおカウンターイオンとして使用したオクチルスルホン酸ナトリウム (OSNa) は Aldrich 社製を用いた。

2. 装置及び条件

TLC: silica Gel (pre-coated TLC plate, メルク) 展開液, クロロホルム: 酢酸エチル: エタノール (7: 2: 1)

HPLC: 日本精密科学製高圧ポンプ, NSP-800-90X 同 UV 検出器, NS301 に Rhecodyne サンプルインジェクターを組合せて使用した。

シアノプロピル系充てん剤: カラム, Nucleosil 5CN (4 ϕ × 150 mm) 移動相, イソオクタン: ジクロルメタン: メタノール (65: 35: 0.5~1.25) ODS 系充てん剤: カラム, LiChrosorb RP-18 (4 ϕ × 150 mm) 移動相: 0.2% OSNa/McIlvaine 緩衝液* (pH 2.2): メタノール (6: 4) 又は 0.2% SLS (ラウリル硫酸ナトリウム)/McIlvaine 緩衝液* (pH 4.0): メタノール

(6: 4). (*クエン酸と第二リン酸ナトリウムから調製する)

3. 試験溶液の調製

モデル試料の場合、Table 2 に示した基剤に Table 1 に示した酸化染料を加え、メタノール: 水 (1: 1) を加えて1成分が約0.1%になるように調製する。この液に亜硫酸ナトリウムを約0.2%の割合になるように加える。

これをよくかき混ぜて静置後上澄液を HPLC 用試験溶液とする。市販品の場合も上と同じように調製する。また必要に応じて遠心分離を行い上澄液を使用する。

実験結果及び考察

1. TLC による分離条件の検討

常用されている酸化染料13種を選び試験溶液を調製し、①酢酸エチル: ベンゼン (1: 1) ②酢酸エチル: ベンゼン (2: 1) ③クロロホルム: エタノール (10: 1) ④クロロホルム: 酢酸エチル: エタノール (7: 2: 1) の各展開液を用いて検討した。基剤に Formula A を

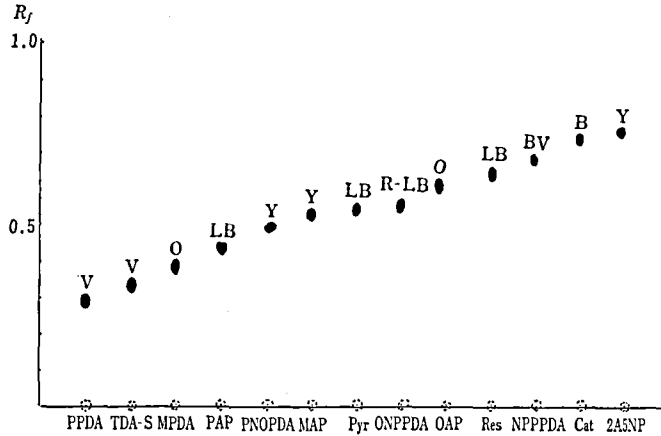


Fig. 1. Chromatogram of oxidative dyes

Condition, Adsorbent, Precoated Silica gel TLC plate
 Developing solvent, CHCl_3 : CH_3COOEt : EtOH (7:2:1)
 Color reagent, I_2 vapor
 V; violet, O; orange, LB; light brown, Y; yellow, R-LB; reddish light brown BV; Bluish light brown, B; brown

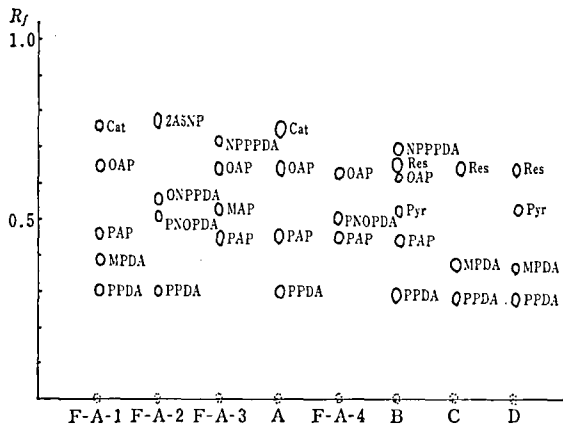


Fig. 2. Thin layer chromatograms of model sample and commercial hair dyes

Condition were the same as in Fig. 1
 F-A-1~4; Formula A+Oxidative dyes
 A~D; Commercial hair dyes

用いた場合の R_f 値と基剤に Formula C を用いた場合の R_f 値はほぼ等しく基剤の相異による R_f 値への影響はみられなかった。展開液④を用いた TLC を Fig. 1. に示す。

展開液①②及び③では R_f 値にあまり差のないもの、又は等しいものがいくつかあり、これらの展開液では R_f 値による定性は困難であると思われた。しかし展開液④を用いることにより、ほとんどの試料が定性できる。例えば TDA-S と MPDA, ONPPDA と MAP はそれぞれ R_f 値が非常に近いがヨウ素による発色が

異なるため区別することができる。Fig. 2 に基剤に Formula A を用い各々の酸化染料を加えた時のクロマトグラムを示す。A, B, C 及び D は市販品のクロマトグラムである。

2. HPLC による分離条件の検討

1) Nucleosil 5CN を用いる方法^{10,11)}

著者らは初め、順相系として用いられている代表的な充てん剤であるシリカゲルを用いて種々検討したが、極性が強すぎるため良好な結果が得られなかった。そこで Nucleosil 5CN を用いてその分離条件を検討

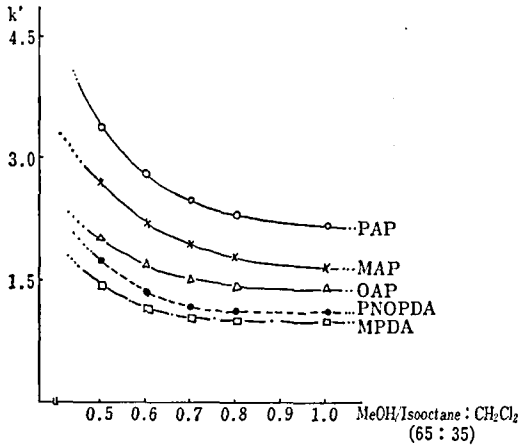


Fig. 3. Effect of MeOH concentration on K'

Condition: Column, Nucleosil 5 CN

($4\phi \times 150$ mm)

Eluent, Isooctane: Dichloromethane: MeOH
(65:35:0.5–1.0)

Flow rate, 0.9 ml/min, Detector, UV 254 nm

した。移動相はイソオクタン：ジクロロメタン：メタノール系を用い、初め組成比の変化が保持時間に及ぼす影響を調べた。まず、イソオクタン比の保持時間に及ぼす影響をみるために、ジクロロメタン：メタノール (35 : 0.5 v/v) と一定にしておき、加えるイソオクタン比を変えたところ、イソオクタン比が増すにしたがって保持時間が長くなり、イソオクタン比が65以下ではそれぞれの酸化染料の保持時間の差がわずかになり、ピークが重なると考えられる。そこで迅速に分析できることを目的とするため、イソオクタン比を65とし、次にメタノール比を変化させることにした。すなわち、イソオクタン：ジクロロメタン (65 : 35 v/v) と一定にしておき、加えるメタノール比を 0.5~1.0 と変えて保持時間を測定した。基剤に Formula A を用いた場合を Fig. 3 に示す。このようにメタノール比が個々の酸化染料の保持時間に大きく影響することがわかった。Fig. 4 に基剤に Formula A を用いた時の分離例を示した。

2) LiChrosorb RP 18 を用いる方法^{12,13)}

今回逆相系カラムとして用いた ODS 系充てん剤は、その一部に塩基に弱いエステル結合をもつので酸性溶液のみに用いられる。また、試料となるフェニレンジアミン類は塩基性化合物でアミノフェノール類も酸性状態においては塩基性化合物となることから対イオンとしてアルキルスルホン酸塩を用いた。対イオンとして2種類の炭素数の異なる OSNa 及び SLS を用いた。各々の対イオンを加えた移動相につき、pH 値、

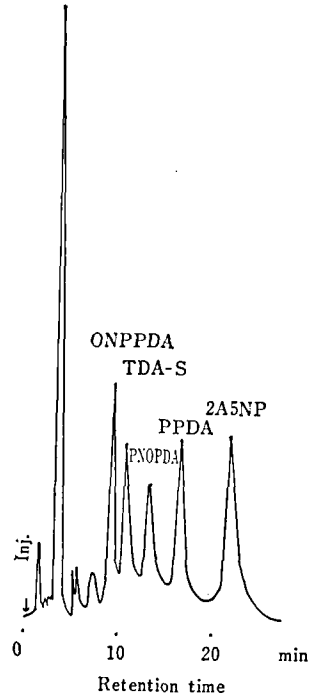


Fig. 4. Chromatogram of oxidative dyes

Condition: Column, Nucleosil 5 CN

($4\phi \times 150$ mm)

Eluent, Isooctane: Dichloromethane:

MeOH (65:35:0.5)

Flow rate, 1.0 ml/min, Detector, UV 254 nm

組成比、対イオンの添加量が保持時間に及ぼす影響を検討した。まず、OSNa を加えた移動相は McIlvaine の緩衝液でクエン酸と第二リン酸ナトリウムから調整した。移動相 (緩衝液：メタノール) の組成比を 6 : 4、OSNa の添加量を 0.2% とした時の結果を Fig. 5 に示した。縦軸に k' を横軸に緩衝液の pH を示し、pH 1.0 及び 3.0 では分離能が悪かった。このことから、分離能は pH 2.2 がよいことがわかった。

次に、組成比による影響を検討するために OSNa を 0.2% の割合で移動相に加え、緩衝液 (pH 2.2) とメタノールの組成比を 3 : 7, 4 : 6, 5 : 5, 6 : 4 と変化させ、保持時間と分離能に及ぼす影響を検討したところ水系が増すに従って保持時間が長くなり、分離能はよくなる。保持時間及び分離能の点から考え、緩衝液とメタノールとの組成比が 6 : 4 の場合に良好な結果が得られた。

次に対イオンの添加量による影響を検討したところ、0.2% がよいことがわかった。以上の分離条件をもとに、基剤 Formula B に酸化染料の7種類を加え調製

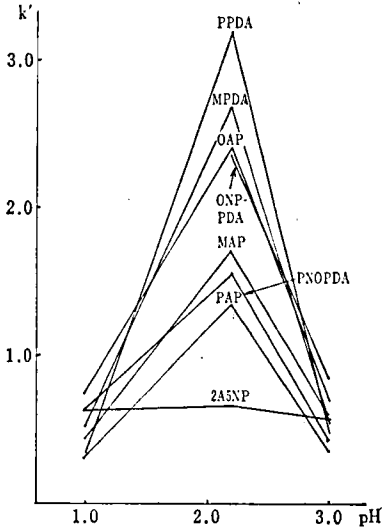


Fig. 5. Effect of eluent pH on K'

Condition: Column, LiChrosorb RP-18
 ($4 \phi \times 250 \text{ mm}$)
 Eluent, 0.2% OSNa/Buf. (pH 1.0-3.0):
 MeOH (6:4)
 Flow rate, 0.7 ml/min, Detector, UV 254 nm

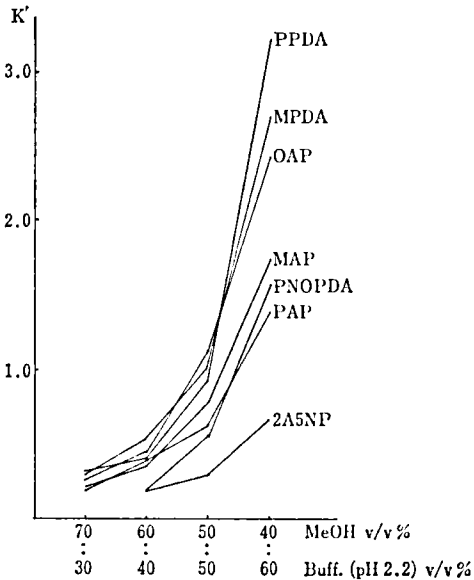


Fig. 6. Effect of MeOH concentration on K'

Condition: Column, LiChrosorb RP-18
 ($4 \phi \times 250 \text{ mm}$)
 Eluent, 0.2% OSNa/Buf. (pH 2.2): MeOH
 Flow rate, 0.7 ml/min, Detector, UV 254 nm

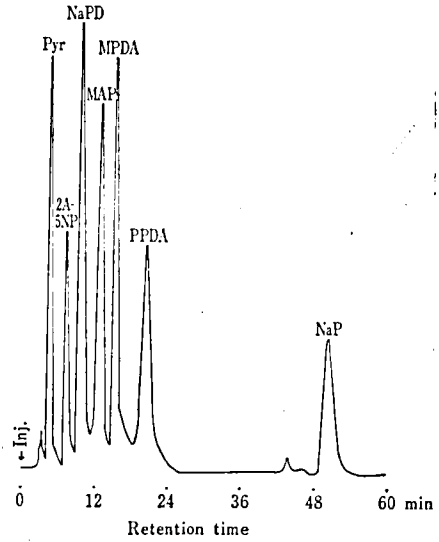


Fig. 7. Chromatogram of oxidative dyes

Condition: Column, LiChrosorb RP-18
 ($4 \phi \times 250 \text{ mm}$)
 Eluent, 0.2% OSNa/Buf. (pH 2.2):
 MeOH (6:4)
 Flow rate, 0.7 ml/min, Detector, UV 254 nm

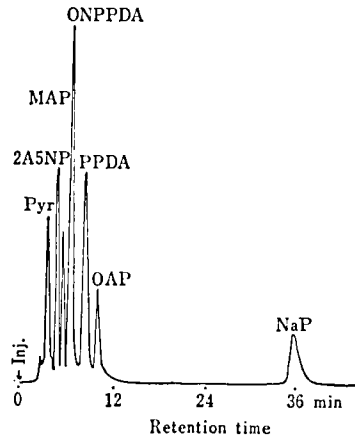


Fig. 8. Chromatogram of oxidative dyes

Condition: Column, LiChrosorb RP-18
 ($4 \phi \times 250 \text{ mm}$)
 Eluent, 0.2% SLS/Buf. (pH 4.0):
 MeOH (6:4)
 Flow rate, 0.7 ml/min, Detector, UV 254 nm

した試験溶液について分析したクロマトグラムの例を Fig. 7 に示す。

なお、対イオンに SLS を用いた場合について OSNa

と同様に分離条件を詳細に検討したところ、カラムに LiChrosorb RP-18、移動相に pH 4.0 の緩衝液：メタノール (6:4) に 0.2% SLS を使用すると分離がよかった。この条件におけるクロマトグラムの例を Fig. 8 に示す。

Table 3. I; Recovery (%) from model sample, II; Analytical results(%) of commercial products

Base	I					II				
	% Added	F*-A	F*-B		F*-C	A	B	C	D	E
Pyr	0.27	90.1	97.8	97.2	94.7					
Res	0.27				95.0	0.36	0.39	0.39		
2A5NP	0.10	97.4	95.2	99.4	97.5	96.9	94.0	98.9	0.22	
NaPD	0.63		94.4		98.1	94.4				
MAP	0.33		94.5		95.8					
PNOPDA	0.10	96.0				97.1				
PAP	0.33				99.0		0.34		0.47	9.9
2A4NP	0.10				94.0					
MPDA	0.23		91.2	96.0	92.0					
OAP	0.33		91.3		100.5	1.13	0.74		0.38	10.2
ONPPDA	0.17	91.0			99.0	99.5	0.52	1.64		
PPDA	0.30	90.0	100.1	98.8	96.6	99.0	99.4	94.0	1.18	5.6

F*: Formula

3. モデル製品からの回収率及び市販染毛剤の定量

まず、繁用される酸化染料12種類から数種を選び3種の基剤に加え各々試験溶液を調製した。次に各酸化染料の検量線は、Nucleosil 5CN及びLiChrosorb RP-18を用いる方法で得られたクロマトグラムからピーク面積を半値巾法により求め、これを用いて試験溶液中に含まれている各成分の量を求めた。その結果をTable 3に示す。

基剤 Formula B及びCについては、LiChrosorb RP-18を用いる方法で、Formula AについてはNucleosil 5CNを用いる方法で得られた回収率である。いずれも満足する回収率が得られた。

ついで市販染毛剤(液状及び粉末染毛剤)を数種購入し、各成分の定量を行った。Table 3のA~Dは液状染毛剤の第1液、Eは粉末染毛剤を分析した例である。

ま と め

市販の酸化染毛剤中の酸化染料を基剤の影響を中心にTLC及びHPLCにより定性定量する方法について検討した。まずTLC(シリカゲル、展開液にクロロホルム：酢酸エチル：エタノール(7:2:1)を用いて定性を行う。ついでHPLCによって定量分析を行う。カラムにNucleosil 5CN移動相にイソオクタン：ジクロロメタン：メタノール(65:35:0.5~1.0)を用いる方法と、カラムにLiChrosorb RP-18、移動相に0.2% OSNa/緩衝液(pH 2.2)：メタノール(6:4)又は0.2% SLS/緩衝液(pH 4.0)：メタノール(6:

4)を用いる方法を確立した。これらHPLCによる方法は溶出順位が異なり、これらの方法を組合せることにより、多種の酸化染料の分離が可能となった。この方法を用いて市販品に近い基剤を利用して酸化染料の回収実験を試みたところいずれも満足する値が得られた。またこれらを利用して2, 3の市販品の分析を行った。

文 献

- 1) J. Deshusses *et al.*: Mitt. Gebietz. Lebensmitt. u. Hyg., **49**, 335 (1958)
- 2) 田村健夫ら：衛生化学, **9**, 70 (1963)
- 3) R. B. Smyth *et al.*: *J. Chromatogr.*, **16**, 454 (1964)
- 4) 竹村 功：分析化学, **19**, 899 (1970)
- 5) L. Luciano *et al.*: *Ann. Chim.*, **66**, 451 (1976)
- 6) 青木晴美ら：第98回日本薬学会講演要旨集, p. 517 (1978.4)
- 7) O. Midler *et al.*: *Parfums, Cosmet. Aromes.*, **23**, 77 (1978)
- 8) V. Quercia *et al.*: 第11回 IFSCC イタリア大会講演要旨集 (1980)
- 9) 山田貞二ら：衛生化学, **28**, 335 (1982)
- 10) 木嶋敬二：有機合成協会関東支部シンポジウム講演要旨集, p. 44 (1981)
- 11) 木嶋敬二ら：日本薬学会第102年会講演要旨集, p. 140 (1982)
- 12) 木嶋敬二ら：第19回全国衛生化学技術協議会年会講演要旨集, p. 148 (1982)
- 13) 木嶋敬二：第13回日本化粧品技術者会研究討論会講演要旨集, p. 42 (1982)

マイコトキシンの化学分析に関する研究 (第9報)
—超微量 Aflatoxin B₁ の確認に着目して—

五十畑悦子・斎藤行生・内山 充

Studies on Chemical Analysis of Mycotoxin (IX)

—With special attention on the confirmation analysis of aflatoxin B₁—

Etsuko ISOHATA, Yukio SARITO and Mitsuru UCHIYAMA

Quasi-aflatoxin B₁ in beer could not be discriminated from aflatoxin B₁ by the current analytical methods. It was clearly distinguished by the voltammetric analysis, which could be also confirmed by use of multi-channel photodetector equipped with computer.

(Received May 31, 1983)

緒 言

食品に着生するかびの代謝物である Aflatoxin (Af.) B₁ は現存化学物質の中で最も強い発癌物質であるといわれている。第41回日本癌学会で岩村らは「ヒト血中より Af. B₁ を検出し、日本人の摂取する食品中にかなりの Af. の混入が考えられることを報告した。

われわれが食品の安全性を評価する目的で行った実態調査の食品群と市販ビール中の Af. B₁ の分析結果では一部の食品に食品由来の成分と思われる Af. B₁ 類似けい光物質が検出された。そこで今回 Af. B₁ の確認に着目し、Af. 分析と確認法について TLC と HPLC を利用する方法を検討したところ、特にビール中から検出した Af. B₁ 類似物質は従来法では非常に紛らわしい挙動を示した。このような物質の確認には HPLC を利用する方法が有効であり Af. B₁ と類似物質を 250 nm から 450 nm の吸収スペクトルで見分ける方法とツインエレクトロードの電気化学検出器を利用する方法で Af. B₁ が確認できた。

実験方法

1. 実験材料

実態調査食品：Totaldiet study の分類による食品群

ビール：国産品 4 銘柄 7 種類

輸入品 英, 独, 米各 1 種

2. 試薬と試液

Af. B₁, B₂, G₁, G₂ 標準品：makor chemicals 試薬類は市販の試薬特級品

クロロホルム：市販の試薬 1 級品を用時蒸留する。

2.1 TLC 用

薄層板：kieselgel 60 (Merck) 20×20 cm, 10×10 cm (HPTLC) 80° 1時間活性化。逆相用パイロットプレート C₁₈ (富士ゲル) 10×10 cm

2.2 HPLC 用

アセトニトリル：片山化学 HPLC 用

メタノール：和光純薬試薬特級品

0.2M 酢酸ナトリウム、酢酸緩衝液 (pH 4)：0.2M 酢酸ナトリウム試液 18 ml と 0.2M 酢酸 82 ml を加えて調製する。

Af. 標準液：Af. B₁ 10 ppb のベンゼン-アセトニトリル(98-2)溶液とメタノール溶液、Af. B₁, B₂, G₁, G₂ 各 10 ppb の混合溶液

3. 装置

3.1 TLC

spectrodensitometer：schoffel SD3000

TLC スポット装置：自家製

3.2 HPLC

ポンプ：日立 635 形、検出器：UV-日立 655 型、けい光-日立 650-10 型、UV-ユニオン技研 MCPD-350 型、VM(ボルタンメトリー)-Yanaco VMD 501型。

4. 実験操作

4.1 実態調査食品群

厚生省通達、環食第 128 号に準じて処理した後、残留物を一定量のベンゼン-アセトニトリル (98-2) に溶解し、TLC 用検液とする。この検液の一部を減圧下で濃縮し、残留物を一定量のメタノールに溶解し HPLC 用検液とする。

4.2 ビール

試料 150 ml をビーカーにとり、充分脱気した後、100 g を 300 ml の分液ろ斗に量り、*n*-ヘキサン 30 ml

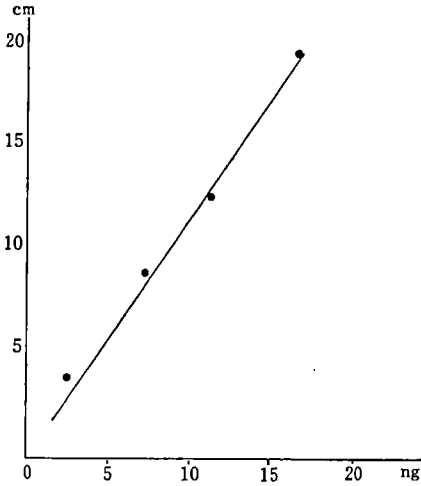


Fig. 1 Calibration curve for aflatoxin B₁ by TLC

を加え20分間振り混ぜる。ヘキサン層は捨てる。水層にクロロホルム 50, 30, 20 ml を加え振り混ぜる。全抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ろ過する。ろ液は減圧下で溶媒を留去する。残留物は 4.1 に準じて TLC と HPLC 用検液を調製する。

4.3 TLC

4.3.1 TLC 条件

展開溶媒：1) クロロホルム-アセトン-ヘキサン (85-15-20), 2) エーテル-メタノール-水 (96-3-1), 3) クロロホルム-アセトン-イソプロパノール (82-12.5-5), アセトニトリル-水-メタノール (33-62-5), 5) アセトニトリル-酢酸緩衝液 (52-48)

2.1 に示す薄層板 2 種類は何れも水を入れたコンディショントレー中に30分間保存した後 4.1 と 4.2 で調製した TLC 用検液 2-10 μ l を薄層板上の左端に、また、Af. 標準溶液を右端にスポットする。kieselgel 60 の薄層板による TLC は展開溶媒 1) で一次展開する。Af. B₁ の R_f 値付近に妨害物質がある場合は薄層板を右まわりに 90° 転回させ Af. 標準溶液を右端にスポットし、展開溶媒 2) で二次展開する。逆相用プレートによる TLC は展開溶媒 4) 或いは 5) によって一次展開をする。

4.3.2 定量

4.3.1 による Af. の TLC 上のけい光を、同様の方法によって得られた Af. 標準液の検量線 (Fig. 1) によって分析値を求める。検出波長 Ex 365 nm, Em 425 nm

4.3.3 Af. B₁ の確認

4.3.1 の一次展開 TLC を行った後に、Af. B₁ 標

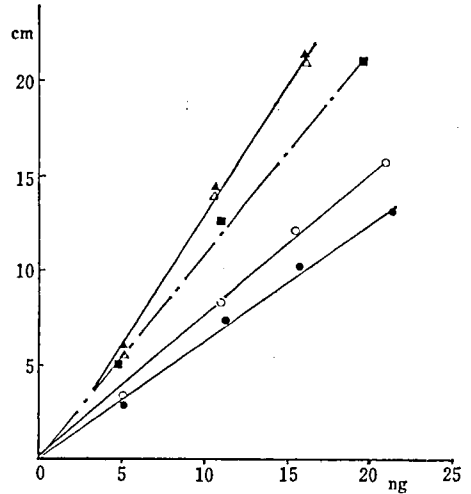


Fig. 2 Calibration curve for aflatoxin B₁ by HPLC

UV: Af. B₁ MeOH solution $\times 0.04$ OD, (○-○), Af. B₁ Benzene-CH₃CN solution $\times 0.01$ OD (△-△). FI: Af. B₁ MeOH solution $\times 1$ lrange (●-●), Af. B₁ Benzene-CH₃CN solution $\times 3$ lrange (▲-▲), Af. B_{2a} CH₃CN-water $\times 0.1$ lrange (■-■)

準液のけい光スポットと検液から得られた Af. B₁ と同一 R_f 値のけい光スポット上に、無水トリフルオロ酢酸 5 μ l をかさねてスポットし、TLC スポット装置上に10分間放置する。溶媒臭のないことを確認してから薄層板を右まわりに 90° 転回し展開溶媒 3) で二次展開する。

4.4 HPLC

4.4.1 定量

4.1 と 4.2 によって調製した HPLC 用の検液を下記の条件による HPLC を行う。カラムから溶出した Af. 類はそれぞれの標準液で作製した検量線 (Fig. 2) によって分析値を求める。

HPLC 条件

カラム: Yanapak ODS-T 4 mm ϕ \times 25 cm

移動相: アセトニトリル-水-メタノール (33-62-5)

検出波長: UV 360 nm; Ex 365 nm, Em 425 nm

4.4.2 Af. B₁ の確認

4.4.2.1 UV 法

4.4.1 で得られる Af. B₁ のピーク及び検液中から得られた類似けい光物質のピーク部分の吸収スペクトルをコンピューターの解析機能を活用して見易い波形に変換し両者のスペクトルを比較して確認する。

4.4.2.2 VM 法

4.1 と 4.2 によって調製した HPLC 用検液を下記

Table 1. Rf values of aflatoxins on TLC

aflatoxin		B ₁	B ₂	C ₁	C ₂
1	chloroform : acetone : hexane 85 : 15 : 20	0.55	0.47	0.42	0.37
2	chloroform : methanol 85 : 15	0.93	0.93	0.93	0.93
3	chloroform : acetone 9 : 1	0.38	0.31	0.27	0.22
4	chloroform : acetone : isopropanol 85 : 12.5 : 2.5	0.55	0.51	0.48	0.43
5	chloroform : acetone 85 : 15	0.60	0.55	0.49	0.44
6	ether : methanol : water 96 : 3 : 1	0.36	0.29	0.23	0.19
7	chloroform : methanol 95 : 5	0.71	0.67	0.62	0.57
8	chloroform : acetone : isopropanol 85 : 12.5 : 5	0.85	0.80	0.76	0.73
9	acetonitrile : water : methanol 33 : 62 : 5	0.22	0.26	0.26	0.33
10	acetonitrile : acetate buffer (pH 4.0) 52 : 48	0.42	0.44	0.49	0.53

の条件による HPLC を行い、Af. B₁ の VM のクロマトグラフによって確認する。類似けい光物質の保持時間は VM に直列に接続した UV 検出器がチェックする。

HPLC 条件

カラム : Yanapak ODS-T, 4 mmφ × 25 cm

移動相 : 0.2M 酢酸ナトリウム, 酢酸緩衝液-アセトニトリル (48-52)

検出電位と波長 : VM-1 極 -700 mV

2 極 +1300 mV

UV-360 nm

実験結果

1. TLC について

ビールを 4.1 で処理して得られた抽出液に Af. B₁, B₂, G₁, G₂ 標準液を添加した試料で, TLC 用展開溶媒を検討した結果を Table 1 に示す。

ビール抽出液の TLC は展開溶媒 1~8 の順相クロマトグラフィの一次展開法では類似けい光物質の R_f 値が Af. B₁ と同じであり, また妨害物質も分離しなかった。Af. B₁ は展開液媒 1 と 6 による 2 次展開法, Af. B_{2a} は展開溶媒 1 と 8 による二次展開法が妨害物質を分離し定量を有効にした。展開溶媒 9 と 10 による逆相クロマトグラフィは HPLC における当該ピーク部分の定性に利用した。

2. HPLC について

Af. 類の定量——i) UV とけい光

Af. B₁ の確認——ii) UV

——iii) VM と UV

HPLC については上記, 3 種類の方法を試みた。

i) による Af. B₁ の定量限界は, 0.05 ng であり, 試料溶液はメタノールが適していた。Fig. 3 に Af. B₁ と類似けい光物質を検出したビールのクロマトグラム

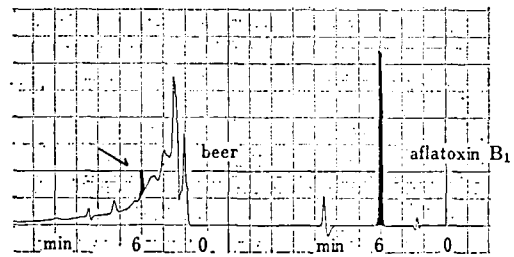


Fig. 3 High-performance liquid chromatograms of Aflatoxin B₁ and beer extract

HPLC conditions: Column 0.4 mmφ × 25 cm, Yanapak ODS-T Mobile phase CH₃CN:water:MeOH 33:62:5 UV 360 nm

を示す。

ii) は Fig. 3 にみられるビール中の Af. B₁ 類似物質の確認を目的として瞬間マルチ測光検出器の利用を試みたものである。Af. B₁ 標準液と Af. B₁ 類似物質を検出するビール抽出液を UV 360 nm でクロマトグラムをプロットしながら, クロマトグラム上に得られた各ピークの吸収スペクトルをコンピューターに記憶させた。ビールに含まれる問題のピーク部分, 即ち Af. B₁ と同じ保持時間に示すピークの吸収スペクトルと Af. B₁ 標準液で得られた Af. B₁ の吸収スペクトルは Fig. 4 に示すとおりであった。ビール中の類似物質の吸収スペクトルは Fig. 3 に示すようなテーリング上のピークなので, かなりの妨害成分が混入しているのでコンピューターによる補正が必要であった。

Af. B₁ の確認を目的として, 更に VM による方法を試みた。Fig. 5 に VM を利用した HPLC のクロマトグラムを示す。Af. B₁ はサイクリックボルタンメトリーで -700 mV から -950 mV にかけて還元波がみられたので設定電位を -700 mV と +1300 mV

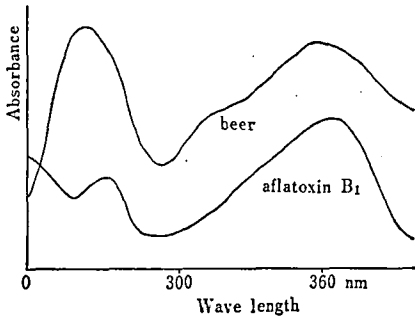


Fig. 4 Absorption spectra of Aflatoxin B₁ and beer extract with a spectra multi-channel photodetector

HPLC conditions: Column 0.4 mmφ×25 cm, Yanapak ODS-T Mobile phase CH₃CN:water: MeOH 33:62:5 UV 360 nm



Fig. 5 HPLC of Aflatoxin B₁ with voltammetry
HPLC conditions: Column 0.4 mmφ×250 mm, Yanapak ODS-T, Mobile phase CH₃CN-acetate buffer (pH 4.0) 52:48

にした。

類似けい光を含むビール抽出液のクロマトグラムを Fig. 6 に示した。UV 側に認められるピークは類似けい光物質である。

考 察

食品中の Af. B₁ 分析は食品成分由来の妨害物質と Af. B₁ 類似けい光物質の存在で誤った結果を与えることがある。これらを解消する目的で TLC と HPLC についての検討を試みた。

定量について

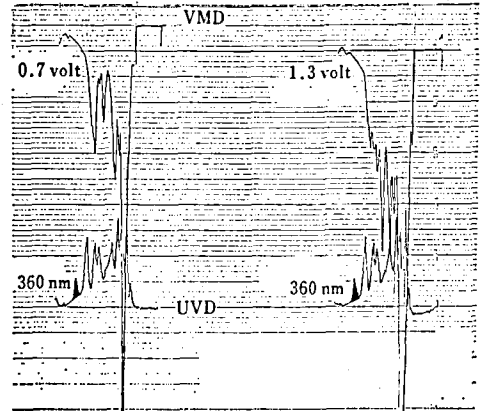


Fig. 6 High-performance liquid chromatograms of beer extract

HPLC conditions: Column 0.4 mmφ×250 mm, Yanapak ODS-T Mobile phase CH₃CN-acetate buffer (pH 4.0) 52:48

TLC: Af. B₁ の定量限界は 0.6 ng であった。

HPLC: Af. B₁ の微量分析に有効であり、定量限界は 0.05 ng であった。

確認について

食品中に存在する超微量マイコトキシンの確認は、従来 Af. B_{2a} に誘導し、TLC の R_f 値或は HPLC の保持時間で確認しているが特にビールの場合、これらの方法のみでは誤認のおそれがあった。今回利用した瞬間マルチ測光検出器の利用による方法は、検出器の感度において開発の必要が感じられたが、コンピューターを利用する解析機能の活用で、Af. B₁ の類似けい光を比較的容易に正しく確認することができた。本方法はこのような超微量のマイコトキシンの確認が容易で正確な結果を与えるものと思われる。更に VM を利用する方法は、物質特有の酸化、還元電位を利用できる分析法であり、Af. B₁ の確認法として充分利用できる。

文 献

- 1) D. T. Kissinger: *Anal. Chem.*, **49**, 452 (1977)
- 2) D. M. Takahashi: *J. Assoc. off Anal Chem.*, **60**, 789 (1977)
- 3) 五十畑悦子, 武田由比子, 内山 充: 食衛誌, **18**, 48 (1977)
- 4) D. E. Kaiser, A. Zlatkis: *Instrumental HPTLC* (1980), 産業図書
- 5) 五十畑悦子: 第45回分析化学会, 液体クロマトグラフ研究会要旨, p. 8 (1979)
- 6) 五十畑悦子: 第24回液体クロマトグラフ研究会要旨 102 (1981)

天然色素の摂取量に関する研究 (第1報)
食品中のクルクミンの定量並びに推定摂取量

神藏美枝子・田中幸生*

Studies on Intake of Natural Colors (I)
Determination and Presumptive Intake of Curcumin

Mieko KAMIKURA and Kouki TANAKA

Curcumin is the principal pigment of turmeric (the rhizome of *curcuma longa* L.), and the temporary acceptable daily intakes (ADIs) of 0.1 mg/kg body weight (curcumin) and 2.5 mg/kg body weight (turmeric) were established.

Therefore, determination and intake of curcumin were studied. Curcumin was extracted with methyl alcohol, cleaned up by Florisil column chromatography, eluted with glacial acetic acid+methyl alcohol (6:94) and determined spectrophotometrically. Identification of curcumin was carried out by means of visible absorption, fluorescence spectra and reacting with boric acid on silica gel thin layer.

The content of curcumin in commercial curry products with this method was 0.343-0.474% in curry powder, 0.093% in dry curry and 0.035-0.044% in instant curry. On the basis of these results, presumptive intake of curcumin may be calculated to 4.645-9.478 mg per a dish of curried rice.

(Received May 31, 1983)

天然色素は古くから経験的に食品の着色に使用されてきたが、近年、安全性の面からタール色素に代って、食品への利用が広く行われるようになった。FAO/WHOは天然色素について、どのような品質のものが食品へ使用されているのか、また、使用のレベル、製造方法等を含めた調査の必要性を指摘している。しかし、これらの問題についての研究報告はほとんどなされていない。そこでまず、ADI (Acceptable daily intake 1日摂取許容量) の設定されている天然色素のうち、クルクミンをとり上げ食品中からの分離、同定、更に定量方法につき種々検討を行い、いくつかの知見を得たので報告する。

実験の部

1. 試料

ウコン

ウコン抽出色素：天然食品添加物規格品

カレー製品：カレーライス調製用に使用される4社7製品(粉末状3社5製品、板状(即席)2社2製品)、スナック菓子2製品。

2. クルクミン標準品

ウコン粉末を用い、Srinivasan¹⁾の方法によって調

製した。

3. 使用機器

自記分光光度計 日本分光 UVDEC-505,
島津 UV-202

自記蛍光光度計 島津 RF-500LC

4. 試薬及び試液

エチルアルコール、メチルアルコール、*n*-プロピルアルコール、イソプロピルアルコール、ジオキサン、アセトニトリル、アセトン、エチルエーテル、エチレングリコールモノメチルエーテル、メチルエチルケトン、イソプロピルエーテル、ベンゼン、トルエン、ジクロルメタン、クロロホルム、石油エーテル、石油ベンゼン、*n*-ヘキサン、酢酸、塩酸、アンモニア水(比重約0.90)、ホウ酸は、いずれも試薬特級品を用いた。

シリカゲル カラムクロマトグラフィー用、メルク社

フロリジール カラムクロマトグラフィー用、Floridin社

シリカゲル薄層 メルク社 Art No. 5721

ホウ酸試液：ホウ酸 1g、塩酸 5ml、エチルアルコール 95ml を混和して調製する²⁾。

5. 分析法

5.1. クルクミンの安定性の測定

ウコン抽出色素を用い、吸光度が約0.5となるよう

* 川崎市衛生研究所，川崎市川崎区大島5-13-10

に溶媒で希釈し、実験室内で室温、室温で遮光並びに冷暗所（約5°）に放置し、一定時間毎に吸光度を測定する。

5.2. カレー製品中のクルクミンの同定

抽出液について、シリカゲル薄層を用い、酢酸エチル+メチルアルコール+アンモニア水の種々な混液、*n*-ブチルアルコール+氷酢酸+水（12：10：15）、クロロホルム+アセトン+氷酢酸（50：50：1）などを展開溶媒として薄層クロマトグラフィー（TLC）を行い、クルクミンの位置と色調を観察し、ついで、ホウ酸試液を噴霧し、100°で2分間加熱し、呈色を観察する。

5.3. クルクミンの測定

種々な抽出法を用いて食品中からクルクミンを抽出した後、抽出液を一定容となし、吸収極大波長における吸光度を測定し、クルクミンの $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 値を用いて含量を求める。

実験結果及び考察

1. クルクミンの安定性

ウコンの色素成分、クルクミンは光に弱いといわれているが、通常の分析条件でどの程度の光退色が起こるかの検討を行った。すなわち、ウコン抽出色素をエチルアルコールで希釈した後、室温、室温遮光、冷暗所の3条件下における変化を調べた（Fig. 1）。その結果、室温に放置するときは約4日で半減し、14日で約1/10程度に減少することがわかった。しかし、遮光した容器又は冷暗所に放置するときは、4週間後においても吸光度の変化は認められなかった。なお、BHTはクルクミンの光退色の防止のために効果がないことがわかった。

また、熱安定性については、エチルアルコール溶液につき、60°及び78°（還流冷却器を付けて還流）の加熱条件で、熱退色は認められなかった。

2. クルクミンの定量

ターメリック中のクルクミノイドについては、Srinivasan がカラムクロマトグラフィーによって種々検討しており、主色素成分は Diferuloyl methane (Curcumin) (I)（2ケのメトキシ基を含む）、*p*-Hydroxycinnamoylferuloyl methane (II)（1ケのメトキシ基を含む）、*p,p'*-Dihydroxy-dicinnamoyl-methane(III)（メトキシ基を含まない）であるとし、エチルアルコール溶液中の吸収極大波長並びに $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 値は、(I) 430 nm, 1560 (II) 425 nm, 1580 (III) 420 nm, 1640 としている。また、黒柳、名取²⁾はショウガ科植物のクルクミノイドの研究において、Srinivasan の示した (I), (II), (III) の構造が IR, NMR の結果からも支

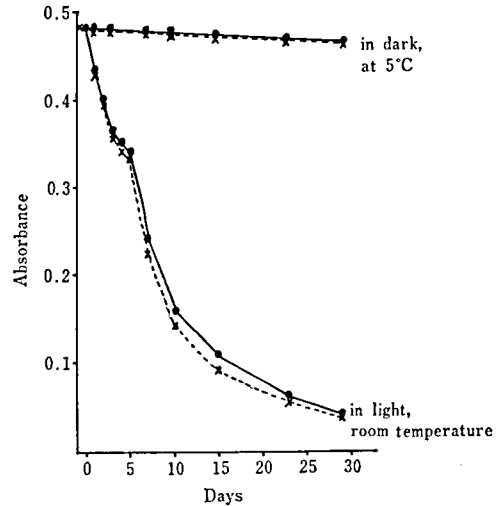


Fig. 1. Stability of Curcumin under several conditions

●—●: Ethyl alcohol solution
×—×: Ethyl alcohol solution containing BHT (50 µg/ml)

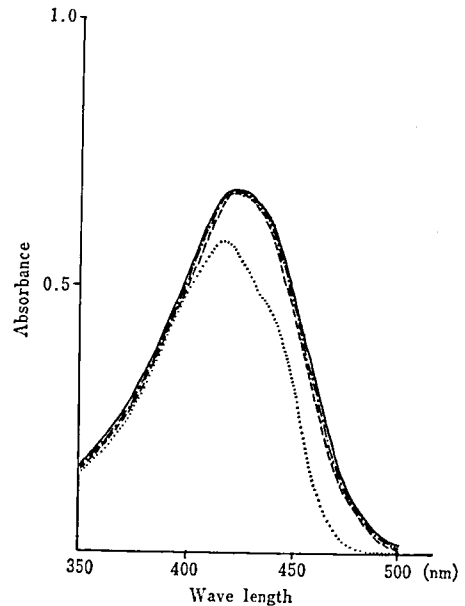


Fig. 2. Absorption spectra of pure curcumin

—: Methyl alcohol, - - - : Ethyl alcohol, ····: Glacial acetic acid+Methyl alcohol (6:94), ·····: Chloroform, Conc.: 4.5 µg/ml

持できることを示し、(I) 430 nm, $\log \epsilon$ 4.74 (II) 426 nm, $\log \epsilon$ 4.56 (III) 420 nm, $\log \epsilon$ 4.65 とし、*curcuma longa* 中に curcumin (I) は 0.02~0.05%含まれるとしている。

Table 1. Extraction of Curcumin in Turmeric-Containing Food

No.	Food	Solvent	Extract	
			λ_{max} (nm)	Absorbance
1	Turmeric-containing food 1 g	Methyl alcohol	10 ml 420	1.045
2	"	Ethyl alcohol	" 420	1.420*
3	"	<i>n</i> -Propyl alcohol	" 425	1.475*
4	"	<i>iso</i> -Propyl alcohol	" 425	0.879
5	"	<i>n</i> -Butyl alcohol	" 425	0.868
6	"	Dioxane	" 417	0.767
7	"	Acetonitrile	" 415	0.763
8	"	Ethylene glycol monomethyl ether	" 425	1.004
9	"	Methyl ethyl ketone	" 420	0.937
10	"	Acetone	" 419	0.968*
11	"	Ethyl ether	" 414	0.910
12	"	<i>iso</i> -Propyl ether	" 414	0.737
13	"	Benzene	" 417	0.621
14	"	Toluene	" 417	0.604
15	"	Chloroform	" 420	0.928*
16	"	Dichloromethane	" 417	0.828*

* Turbidity

FAO/WHO は種々な合成及び天然の食品添加物につき、規格及び試験法を示しているが、そのなかで、クルクミンにつき³⁾ 酢酸に溶解した後、ホウ酸及びシユウ酸の添加によって生成した赤色の呈色を波長 540 nm で測定している。その際、検量線の作成には純クルクミンを用いている。しかし、ターメリックのなかでは標準クルクミン溶液として、精製クルクミンの 0.0025 g/l エチルアルコール溶液を用い、波長 425 nm で測定している。すなわち、いずれの場合にも標準クルクミンが用いられている。しかし、一般には純品は得がたいため、純品についての $E_{1\%}^{1cm}$ 値を求めて、この値を用いて定量することが実際的であろうと考える。

$E_{1\%}^{1cm}$ 値としては、さきの Srinivasan の値のほか、黒柳らの値 ($I \log \epsilon$ 4.74、米国 Kalsoc 社の値 1650 (アセトン溶液) があり、標準品の項で得たクルクミンの実測値は $E_{1\%}^{1cm}$ 1530 を示し、文献値とほぼ近似の値を示したため、Srinivasan の $E_{1\%}^{1cm}$ 値 1560 を採用し、以下の実験の計算に使用した。Fig. 2 にクルクミン標準品のスペクトルを示す。

3. クルクミンの分析法

食品からのクルクミンの抽出法としては、アセトン⁴⁾、*n*-ブチルアルコール⁵⁾、エチルアルコール(ターメリック)³⁾ が用いられている。そこで、抽出用溶媒を決めるために、ターメリックが使用されている食品を

用い、種々な溶媒で色素を抽出し、抽出液の吸光度を調べた (Table 1)、その結果、抽出液の濁りの状態などを考慮すると、メチルアルコールの使用が適当と考えられた。

上記の食品と類似する食品 1g をとり、クルクミン 112 μ g を添加して、クルクミンの抽出状態を検討した。その結果、*n*-ヘキサン 20 ml を用いて脱脂すると、脂肪とともにクルクミンの約 80% が *n*-ヘキサン液へ抽出除去されることがわかった。このことは、クルクミン自体は *n*-ヘキサンに溶けないが、脂肪が共存することによって溶解性が変化することを示している。したがって、対象食品の実態を考慮すると、脱脂操作は不可欠の方法と考えられるが、上記の結果から、最初の段階で食品を *n*-ヘキサン処理することは好ましくない。また、溶媒抽出法としてジメチルホルムアミド (DMF) 法ではクロロホルム抽出液中にクルクミンの約 90% が回収されるが、DMF 層への水の添加量を多くすると回収率が低下し、*n*-ブチルアルコールによる抽出は脂肪を含む食品ではクルクミンの回収が良くないなど種々な問題点が存在した。

そこで、次にカラムによるクリーンアップ法を検討した。カラムの担体としては溶出液との関連でフロリジルカラムが適当と考えられた。すなわち、フロリジル 7g をベンゼンでつめたカラム (10 mm i. d. \times 300 mm) にクルクミンのメチルアルコール溶液

Table 2. Recovery of Curcumin from Florisil Column (Spectrophotometric Determination)

Condition		Curcumin			
		Added, μg	Found*1, μg	Recovery*1, %	
In light	30 min*2	181.41	146.32	80.66	Av. 75.80
		178.21	126.45	70.95	
	60 min*2	181.41	141.51	78.01	69.22
		178.21	107.70	60.43	
	90 min*2	181.41	139.10	76.68	64.38
		178.21	92.79	52.07	
In dark	30 min*2	181.41	154.17	84.98	86.38
		178.21	156.41	87.77	
	60 min*2	181.41	152.24	83.92	86.30
		178.21	158.01	88.67	
	90 min*2	181.41	150.00	82.69	84.33
		178.21	153.21	85.97	

*1 Values were given as mean of 2 determinations

*2 Curcumin on Florisil column was allowed to stand for 30 min, 60 min, 90 min and washed with 30 ml benzene, and then eluted with glacial acetic acid+methyl alcohol (6:94)

(181.41 $\mu\text{g/ml}$, 178.21 $\mu\text{g/ml}$) を加え、ベンゼン 30 ml を流して洗浄後、酢酸+メチルアルコール (6:94) で溶出させ、50 ml とし、波長 420 nm で吸光度を測定した。なお、この場合、洗浄液として *n*-ヘキサン、リグロインを用いると、カラムに気泡を生じクリーンアップ法として好ましくなかった。

クルクミンのカラムからの回収については、溶媒の流出速度 (ml/min) 並びにベンゼンの洗浄量を種々変えて検討したところ、流速による回収率の変動がややみられたが、さらに大きなファクターとしてはカラムの洗浄に用いるベンゼンの量のちがいが、すなわち、洗浄に用いるベンゼンの量は少ない方がクルクミンの回収は顕著に高く、その差は16%に達した。しかし、これらのデータの差は、その後の実験結果から、ベンゼン洗浄の良否によるよりも、むしろカラムにおけるクルクミンの光に曝露される時間と関係があることがわかり、クルクミンの光による退色と考えられた。実際には遮光下での操作は困難であろうから、通常の実験室内で操作した場合には遮光の程度 (光量と時間) にもよるが、30~90分間の露出で10~20%低い値として求められる。クルクミンの回収は、遮光下ではほぼ一定した値を示すが、通常の実験室内では光量が一定していないため、バラツキが大きく現われることがわかった (Table 2)。

以上の検討結果に基づき、食品中のクルクミンの分析法をつぎのように定めた。

試料 (カレー製品; カレー粉 0.1 g, ドライカレー

0.2 g, 即席カレー 1.0 g) をとり、メチルアルコール 100 ml を加え、60°の温湯中で1時間攪拌した後、急冷し、ろ過する。残留物はメチルアルコール 20 ml ずつを用いて2回同様に操作し、メチルアルコール液を集め、約 50 ml に濃縮した後、水 3~5 ml を加え、石油エーテル 100 ml を加えて振り混ぜる。メチルアルコール層を分離し、ハイフロスーパーセル 3 g を敷いたろ過器でろ過する。ろ液はロータリーエバポレーターで濃縮乾固し、残留物をメチルアルコール 10 ml に溶かす。その 5 ml をフロリジールカラム (7 g, 遮光) に加え、ベンゼン 100 ml で洗浄後、酢酸+メチルアルコール (6:94) で溶出し、溶出液を集め、50 ml とした後、波長 420 nm で吸光度を測定する。

4. 食品からクルクミンの回収

上記の分析法によるカレー製品からのクルクミンの回収は、試料 C, E 及び G について検討した結果、次のとおりであった。すなわち、試料 C は 0.050 g, E 0.100 g, G 0.500 g を用い、それぞれにクルクミン 97.12 μg を添加した場合、C 81.08%, E 83.81%, G 85.04% (いずれも3回の平均値) の回収率を得、満足すべき結果であった。

5. クルクミンの定性

クルクミンの定性法としては、ホウ酸による呈色、紫外線 (3660 Å) 下の緑黄色のけい光、塩化第二鉄による呈色等があり、更に、TLC は、先に述べたようにメトキシ基の含有数の異なる成分の分離、検出に有効であると考えられる。カレー製品のエチルアルコール

Table 3. Spectrophotometric, Fluorometric and Thin Layer Chromatographic Data of Commercial Turmeric Extract, Eluates of Commercial Curry Products

Sample	λ_{\max}^{*1} nm	EX_{\max}^{*1} nm	EM_{\max}^{*1} nm	R_f^{*2}	
Curry powder	A	420—422	420	517	0.71, 0.76, 0.83
	B	420—421	420	517	0.71, 0.76, 0.83
	C	420—421	421	517	0.71, 0.76, 0.83
	D	420—421	420	517	0.71, 0.76, 0.83
Dry curry	E	419—422	420	517	0.71, 0.76, 0.83
Instant curry	F	420—422	420	517	0.71, 0.76, 0.83
	G	420—422	421	517	0.71, 0.76, 0.83
Commercial turmeric extract	420—422	420	517	0.71 (I)* ³ 0.76 (II)* ³ 0.83 (III)* ³	

*1 λ_{\max} , EX_{\max} , EM_{\max} were measured in glacial acetic acid+methyl alcohol (6:94)

*2 Plate: Silica gel (Merck), Developing solvent: Ethyl acetate+Methyl alcohol+10% NH_4OH (3:1:1)

*3 Confer Figure 3

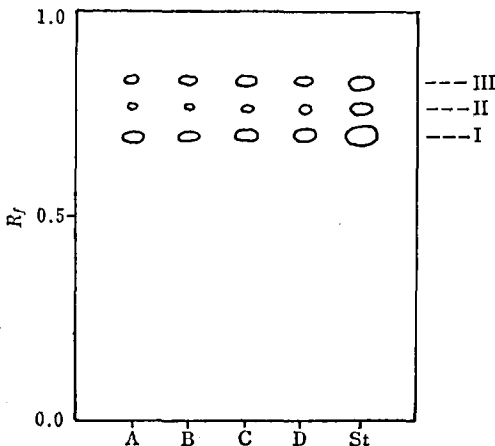


Fig. 3. Thin layer chromatogram of Turmeric extract and eluates of commercial curry products

A,B,C,D: Eluates of commercial curry products, St: Turmeric extract I: Diferuloyl methane (Curcumin), II: *p*-Hydroxy-cinnamoyl-feruloyl methane, III: *p,p'*-Dihydroxy-dicinnamoyl-methane

Developing solvent: Ethyl acetate+Methyl alcohol+10% NH_4OH (3:1:1) Silica gel plate (Merck)

抽出液は、すべて三成分を含むほか、トウガラシ中のカロチノイド色素も検出されるという⁶⁾。そこで、シリカゲル薄層を用い、酢酸エチル+メチルアルコール+10%アンモニア溶液(3:1:1)でウコン抽出色素を展開したところ、(I)は R_f 0.71、(II)は0.76、(III)

は0.83を示した。カレー製品の抽出液はすべて(I)、(II)、(III)のスポットが検出され、ホウ酸試液によって、赤かっ色に呈色した。Table 3 に吸収極大波長、励起、けい光極大波長並びに TLC の結果を示す。また、Fig. 3 にクロマトグラムを示す。

6. 市販カレー製品中のクルクミンの定量

市販カレー製品について、上記の分析法並びにソクスレー抽出法によってクルクミンを定量した。ソクスレー抽出法は、試料を石油エーテル 100 ml で 5 hr 還流後、エチルアルコール 100 ml で 8 hr 抽出し、抽出液を 100 ml とした後、波長 420 nm で吸光度を測定した。以上の抽出法により、 $E_{1\%}^{1cm}$ 値 1560 を用いて、市販カレー製品中のクルクミン含量を求めたところ、Table 4 に示す定量値が得られた。

一般に、遮光しないカラム法、ソクスレー法では定量値が低くなった。カレー粉の場合、クルクミン含量は 0.343~0.474%、ドライカレー 0.093%、即席カレー 0.035~0.044% で、甘口(F)より辛口(G)の方がクルクミン含量は高い値であった。

7. カレー製品からのクルクミンの摂取

ウコンはインド、中国、台湾などから我が国へ輸入されるが、その量は昭和54年度の大蔵省の調査によると、2429トンといわれ、粉末(ターメリック、Turmeric)として香辛料、食品の着色料として使用されている。仮りに、全量が食品関係に利用されるとして、1人1日の摂取量は 60.498 mg と計算される。FAO/WHO のターメリックの ADI は 2.5 mg/kg b. w. であるから、体重 50 kg のヒトに換算すると 125 mg と

Table 4. Contents of Curcumin in Commercial Curry Products

Sample	Curcumin (%)							
	Column method				Soxhlet method			
	In light		In dark		Av.			
Curry powder	A	0.050 g	0.279 0.293	0.286	0.340 0.347	0.344		
		0.102 g				0.268 0.308		0.288
	B	0.050 g	0.317 0.370	0.344	0.345 0.351	0.348		
		0.103 g				0.267 0.324		
	C	0.050 g	0.269 0.291	0.280	0.343 0.343	0.343		
		0.102 g				0.292 0.243		
	D	0.050 g	0.375 0.361	0.368	0.473 0.474	0.474		
		0.104 g				0.241 0.255		
Dry curry	E	0.102 g	0.064 0.070	0.067	0.091 0.095	0.093		
		0.205 g				0.007 0.095		0.051
Instant curry	F	0.500 g	0.026 0.024	0.025	0.035 0.035	0.035		
		1.038 g				0.019 0.019		0.019
	G	0.500 g	0.026 0.028	0.027	0.042 0.045	0.044		
		1.059 g				0.016 0.025		

なる。また、色素成分クルクミンの ADI は、このものがターメリック中に約 3% 程度含まれるものとして、0.1 mg/kg b. w. と設定されている。

一般に、カレーライス用に使用されるカレー粉の量は 1 人 1 箇月 1.0~1.5 g で、年間 4000 トンが消費されているという⁸⁾。ターメリックはカレー粉中に 5~32% の割合で使用され、特にインド風の場合には 30~32% といわれる。カレー粉の 1 人 1 箇月の喫食量を 1.5 g とし、その中のターメリックの含量を 30% とすると、ターメリックの 1 日の摂取量は 15 mg となる。また、試料 B の処方を見ると、6 皿分のカレーライスの調製に使用されるカレー粉の量は 8 g となっており、クルクミン含量 (Table 4) から計算すると 27.870 mg

のクルクミンが含まれており、1 皿分では 4.645 mg となる。同様にして、試料 D, F, G の場合には 1 皿分のクルクミン量はそれぞれ 9.478 mg, 6.507 mg, 8.065 mg となる。

家計調査では⁹⁾、カレー粉の 1 人 1 日の喫食量は 1.4 g で、Table 4 の定量値からクルクミン量を算出すると 4.808~6.635 mg となる。また、生産統計¹⁰⁾ から、即席カレーの喫食量は 2.0 g となるから、試料 F, G の値からクルクミン量を算出すると、0.071~0.088 mg となる。以上の結果を総括すると、実際の調理方法による場合と、家計調査の値はほぼ近似の値を示すが、生産統計の値は、レトルトカレーの量が含まれていないため、1/50~1/100 量にとどまった。

ま と め

食品、特にカレー製品中のクルクミンの定量はメチルアルコール抽出後、フロリジールカラムによるクローンアップ法が良好な結果を与えることがわかった。クルクミンの分析においては光による退色が定量値に影響を及ぼし、遮光下と通常の実験室内においての定量値との間には相当の差があり、後者の場合には低い値として求められる。光によるクルクミンの退色は、溶液中に BHT を加えても効果がなかった。

カレー製品のクルクミン含量は0.093~0.474%で、これらの結果に基づき、家計調査、生産統計のカレー粉、即席カレーの喫食量から算出されたクルクミンの摂取量は、前者では4.808~6.635 mg、後者では0.071~0.088 mg、カレーライスの調製法に基づき算出されたカレーライス1皿からのクルクミンの摂取量は4.645~9.478 mg となった。FAO/WHOによるクルクミンのADIは0.1 mg/kg b. w., すなわち、体重

50 kg のヒトに換算すると5 mg となり、カレーライス1皿分でADIに達することとなる。

文 献

- 1) K. R. Srinivasan: *J. Pharm. Pharmacol.*, **5**, 448 (1953)
- 2) 黒柳正典, 名取信策: *薬誌*, **90**, 1467 (1970)
- 3) FAO *Nutrition meeting report* No. 48, WHO, No. 462 (1970)
- 4) G. Lehmann, U. Gerhardt, P. Collet: *Z. Lebensmitt. Untersuch. u. -Forsch.*, **144**, 345 (1971)
- 5) A. B. Karasz, F. de Cocco, L. Bokus: *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, **56**, 626 (1973)
- 6) 松野隆男, 岡部達二, 横田和代, 吉水誠子: *食衛誌*, **11**, 480 (1970)
- 7) 食品製造ハンドブック刊行会編: *食品製造ハンドブック*, p. 85 (1963)
- 8) WHO *Technical report series* No. 631, p. 21 (1978)
- 9) 厚生省環境衛生局食品化学課: *食品添加物1日摂取量調査方法*, p. 50, 1982

Sodium dialkyl sulfosuccinateの妊娠全期間投与におけるマウスの胎仔及び出産仔に及ぼす影響

門馬純子・高田幸一・堀内茂友・鈴木康雄・戸部満寿夫

Effect of Oral Administration of Sodium Dialkyl Sulfosuccinate on Pre- and Post-natal Developments in Mice

Junko MOMMA, Koichi TAKADA, Shigetomo HORIUCHI, Yasuo SUZUKI and Masuo TOBE

Sodium dialkyl sulfosuccinate (DASS), a surfactant used as a softening agent for synthetic textiles, was examined for the effects on pre- and post-natal developments in mice. The material was daily administered by oral gavage during whole gestation stage at dose levels of 500 and 1500 mg/kg/day.

Weight gain retardation and decrease of fertility index were evident as maternal toxicity at a dose level of 1500 mg/kg/day. However, no evidences of an increase in fetal death or of malformation attributable to the treatment with DASS were recognized in any dose levels examined. No evidences in growth inhibition of fetuses and of offspring were also observed.

It is concluded that DASS has no teratogenic effect in mice under the present experimental conditions, although the maternal toxicity was shown at a dose level of 1500 mg/kg/day.

(Received May 31, 1983)

緒 言

近年、各種化学繊維の開発に伴い、織物あるいは編物製品等に、用途に適した風合を与えるため、種々の界面活性剤が使用されている。界面活性剤はその種類

も多く、また、用途も多方面にわたっている。しかし、その使用における安全性評価のための毒性については十分な検討がなされているものは少ない。今回、柔軟加工剤として用いられている Sodium dialkyl sulfosuccinate をとりあげ、妊娠マウスに妊娠全期間強制

経口投与し、胎仔発生及び出産仔の生後発育に及ぼす影響を検索した。

実験材料及び方法

1. 検体

Sodium dialkyl sulfosuccinate (以下 DASS と略す) は、三洋化成製 (商品名：サンソフナー) の工業品で、ジステアレート約66%、ジパルミテート約34%の混合物を用いた。その性状は、白色ペースト状で水溶性である。なお、検体の投与液の調製は、用時精製水に溶解して行った。

2. 使用動物及び飼育条件

ddY/SLC マウス (SPF, 静岡実験動物農業協同組合) を雌は9週令, 雄は10週令で購入した。1週間予備飼育した後、妊娠母体を得るために未経産雌と雄(2:1)を一夜同居させて交配し、翌朝陰栓を確認した雌を妊娠母体とし、その日を妊娠0日と起算した。なお、動物は、室温 $25 \pm 1^\circ$, 相対湿度 $55 \pm 5\%$, 点灯12時間, 消灯12時間の照明を施したコンベンショナルな動物で、ラット・マウス繁殖用固型飼料 (NMF, オリエンタル酵母製) と水を自由に与え飼育した。

3. 投与方法

DASS の投与量は、ラットの経口急性毒性試験の結果に基いた¹⁾。

DASS の経口急性毒性は、雄、雌とも 15 g/kg 投与では死亡は1例も認められなかったが、20 g/kg の投与で雌にのみ10例中2例の死亡が認められた。なお、15 g/kg の投与では投与1時間目頃より立毛、自発運動の抑制及び粘液性の下痢が認められており、この症状は雄に比べて雌に強く認められた。このことから、動物の死亡は認められないが、下痢などの症状の認められた 15000 mg/kg の 1/10 量に当る 1500 mg/kg とその 1/30 量の 500 mg/kg を一日量として選んだ。これらの用量を1群17~19匹のマウスに、妊娠0日から18日目までの妊娠全期間、1500 mg/kg の群では 7.5% 液、500 mg/kg の群では 2.5% 液をそれぞれ 0.2 ml/10 g の割合で、1日1回体重を測定して、マウス用胃ゾンデを用いて強制経口投与を行った。なお、対照群には精製水のみを 0.2 ml/10 g 経口投与した。

4. 観察方法

帝王切開による末期胎仔の観察には、対照群及び 500 mg/kg 群では各11匹の妊娠動物を、1500 mg/kg 群では8匹の全妊娠動物を用いた。自然分娩させた出産仔の観察は、対照群4匹、500 mg/kg 群5匹の妊娠母体をそれぞれ用いた。なお、1500 mg/kg 群では妊娠率 (着床痕の認められた雌数/陰栓の認められた雌

数) が低く、十分な妊娠動物数が得られないため、自然分娩させる出産仔の観察は行わなかった。

1) 母体の観察

母体については、各群とも妊娠全期間を通して毎日、一般症状の観察、体重及び摂餌量の測定を行った。更に、妊娠末期に帝王切開した母体については主要臓器を肉眼的に観察した。

2) 胎仔の観察

各群8~11匹の妊娠母体を分娩予定日の前日 (妊娠18日目) にエーテル麻酔下で開腹して子宮を摘出し、黄体数、着床数、生存胎仔数及び胎仔死亡数を調べた。

生存胎仔については、口腔内観察を含む外形検査を行った。更に胎仔は体重を測定した後、70%エタノール液で固定し、以後、Dawson 法²⁾に準じてアリザリンレッドS染色骨標本を作製して骨格検査を拡大鏡下で行った。なお、化骨状態は、中手骨、中足骨及び仙・尾椎の化骨数を調べて判定した。

3) 出産仔の観察

対照群4匹、500 mg/kg 群5匹の妊娠母体を自然分娩させ、出産仔数、生死仔数、出産仔の外形異常の有無及び一般症状を調べた。その後、出産仔を3週令時まで母体に哺育させ、哺育率を算出した。なお、母体はこの時点で屠殺し、剖検所見を記録した。

出産仔は、3週令時に離乳して雌雄分離し、生後8週令時まで飼育した。その間毎週1回離乳前のお産仔は雌雄を分けずに1腹ごとで、また、離乳後は1腹ごと雌雄別々に体重を測定するとともに死亡仔数の有無を調べて、生存率を算出した。8週令時に仔の全例を屠殺し、剖検所見を記録した。

出産仔の哺育及び飼育期間中の生後分化として耳介展開日、歯芽萌出日及び開眼日を、また、性分化として精巣下降日及び陰開口日を観察した。

5) 統計処理

性比、哺育率、生存率については χ^2 検定³⁾、胎仔死亡率、骨格異常の出現率については、Wilcoxon の順位和検定⁴⁾、その他の結果はすべて t 検定を行った。

実験成績

1. 母体に及ぼす影響

1) 一般症状並びに死亡

対照群及び各処置群とも一般症状に著変は認められず、また、死亡例も認められない。

2) 体重の推移

Fig. 1 に各群の母体平均体重の推移を示した。

500 mg/kg 群は対照群と差のない体重増加を示すが、1500 mg/kg 群では検体投与開始より対照群に比較し

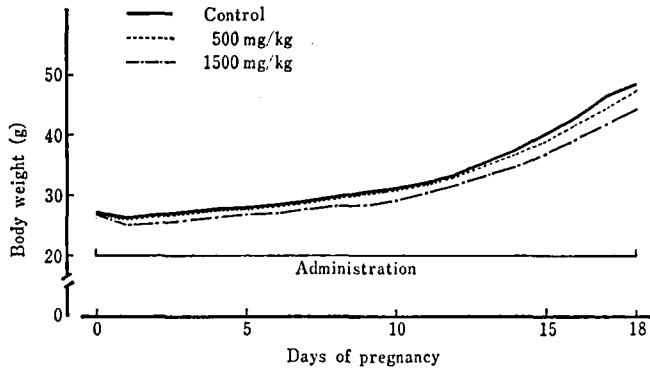


Fig. 1. Effect of oral administration of DASS on body weight of pregnant mice

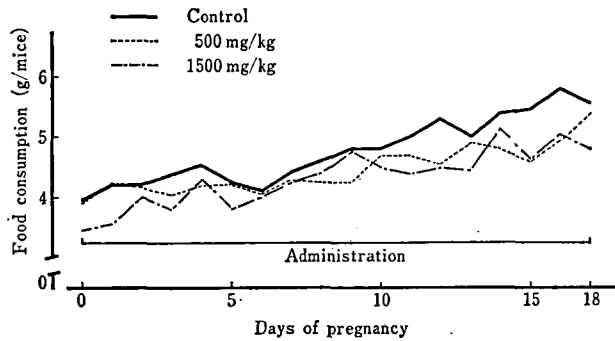


Fig. 2. Effect of oral administration of DASS on food consumption of pregnant mice

Table 1. Effect of oral administration of DASS on pregnant mice (mortality)

Dose (mg/kg)	0	500	1500
No. of dams examined	17	19	17
No. of pregnant dams (Fertility index)	15 (88.2)	16 (84.2)	8 (47.2)*
No. of dead dams	0	0	0
No. of dams with dead implant only	0	0	0
No. of dams with live fetuses	15	16	8
No. of dams fetal examination	11	11	8
No. of dams for postnatal examination	4	5	-

Numerals in the parentheses indicate the ratio(%) to number of dams examined

* : Significant difference from the control at 5 % level

て軽度な体重増加抑制が認められる。

3) 摂餌量の推移

Fig. 2 に示すとおりで、両処置群とも対照群に比較し、摂餌量の軽度な低下が認められる。なお、両処置群に差は認められない。

4) 妊娠率 (Fertility index)

Table 1 に示すように、対照群を含む各群に不妊動物が認められ、妊娠率は対照群で88.9%、500 mg/kg 群で84.2%を示し、1500 mg/kg 群では47.2%と対照群に比較して有意な低下を示す。

Table 2. Effect of oral administration of DASS on pregnant mice

Dose (mg/kg)	0	500	1500
No. of dams	11	11	8
Uterine weight with fetuses (Mean±S.D.) (g)	(16.6±2.81)	(17.0±2.49)	(14.7±3.44)
No. of corpora lutea (Mean±S.D.)	124 (11.3±2.05)	130 (11.8±1.66)	85 (10.6±1.60)
No. of implants (Mean±S.D.)	110 (10.0±2.10)	122 (11.1±2.02)	79 (9.9±1.55)

Table 3. Effect of DASS given orally in pregnancy on the fetal development

Dose (mg/kg)	0	500	1500
No. of dams	11	11	8
No. of total implants	110	122	79
No. of live fetuses (mean±S.D.)	106 (9.64±2.06)	116 (10.55±1.97)	72 (9.00±2.33)
Sex ratio (Male/Female)	60/46	48/68	40/32
Body weight (g)			
Male (mean±S.D.)	(1.35±0.11)	(1.27±0.09)	(1.31±0.14)
Female (mean±S.D.)	(1.33±0.11)	(1.24±0.10)	(1.21±0.14)
No. of fetuses with anomaly	0	0	1 (0.2) **
No. of dead fetuses *	4 (3.6)	6 (4.9)	7 (8.9)
Early death	3	6	6
Late death	1	0	1

Numerals in parentheses indicate the average of the incidence (%) in each litter

** : Club foot

5) 剖検所見

各群の母体を妊娠18日目に屠殺して得られた成績を Table 2 に示す。胎仔を含む総子宮重量 (Uterine weight with fetuses), 黄体数 (No. of corpora lutea) 及び着床数 (No. of implants) は両処置群とも対照群との間に差は認められない。また, 主要臓器の剖検所見では, 各群とも異常は認められない。

2. 胎仔に及ぼす影響

Table 3 に示すとおり, 生存胎仔数 (No. of live

fetuses), 性比 (Sex ratio), 胎仔体重 (Body weight of fetuses) 及び死亡率 (Dead fetuses), は両処置群とも対照群との間に差は認められない。

胎仔の外形異常としては, 1500 mg/kg 群に内反足 (Club foot), が1例認められる。

生存胎仔の骨格検査成績を Table 4 に示した。

骨格異常として, 後頭骨形成不全 (Incompletely ossified occipital bone) (分離, 染色性の低下), 頸椎椎弓の形成不全 (Incompletely ossified cervical verte-

Table 4. Effect of DASS given orally in pregnancy on skeletal development of the fetuses

Dose (mg/kg)	0	500	1500
No. of dams	11(2.5)	11(3.1)	8(1.6)
No. of fetuses examined	106	116	72
Incompletely ossified occipital bone	3(2.5)	4(3.1)	1(1.6)
Incompletely ossified cervical vertebral arches	0	1(1.0)	2(2.3)
Cervical rib	12(10.8)	28(23.6)	10(13.3)
Asymmetry of sternebrae	1(1.3)	2(1.7)	0
Incompletely ossified sternebrae	62(56.3)	86(74.9)	47(67.1)
14th rib	1(1.3)	4(2.8)	0
Fusion of ribs	0	0	1(1.4)
Average number of metacarpus (mean±S.D.)	7.6±0.92	7.1±0.37	6.9±0.60
Average number of metatarsus (mean±S.D.)	6.3±1.52	6.3±0.91	6.0±1.18
Average number of sacral and caudal vertebrae (mean±S.D.)	12.9±3.28	12.0±1.26	12.2±1.18

Numerals in parentheses indicate the average of the incidence (%) in each litter

Table 5. Effect of DASS given orally in pregnancy on postnatal development of the offspring

Dose (mg/kg)	0	500
No. of dams	4	5
No. of newborns at birth (Mean±S.D.)	36 (9.2±3.11)	51 (10.2±1.64)
No. of offspring at 1 week (Mean±S.D.)	36 (9.2±3.11)	51 (10.2±1.64)
Viability index	100%	100%
No. of offspring 3 weeks (Mean±S.D.)	35 (8.8±3.30)	50 (10.0±1.73)
Lactation index	97.2%	98.0%
No. of offspring 8 weeks (Mean±S.D.)	35 (8.8±3.30)	50 (10.0±1.73)
Survival index	100%	100%

$$\text{Viability index} = \frac{\text{No. of offspring at 1 week}}{\text{No. of newborns at birth}} \times 100$$

$$\text{Lactation index} = \frac{\text{No. of offspring at 3 weeks}}{\text{No. of offspring at 1 week}} \times 100$$

$$\text{Survival index} = \frac{\text{No. of offspring at 8 weeks}}{\text{No. of offspring at 3 weeks}} \times 100$$

bral arches), 頸肋 (Cervical rib), 胸骨核の非対称 (Asymmetry of sternebrae), 胸骨核形成不全 (Incompletely ossified sternebrae) (変形, 分離, 癒合, 欠損), 第14肋骨 (14 rib) あるいは肋骨の癒合 (Fusion of ribs) などの出現が対照群を含む各群に低頻度に認

められるが, これら骨格異常の出現率に群間で有意の差は認められず, また, 用量反応関係も認められない。化骨状態はいずれの化骨数においても両処置群と対照群との間に有意の差は認められない。

3. 出産仔に及ぼす影響

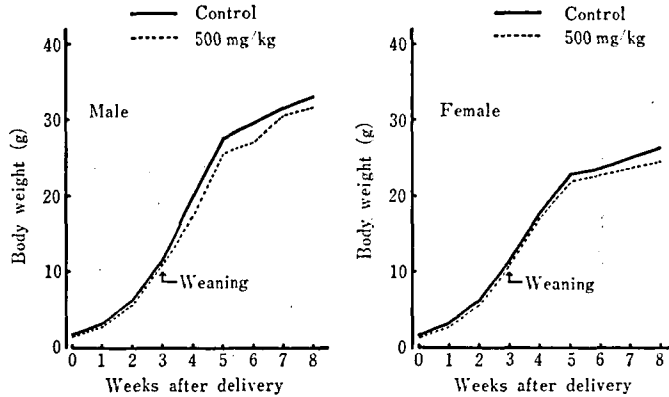


Fig. 3. Effect of DASS given orally in pregnancy on body weight of male and female offspring

対照群4匹, 500 mg/kg群5匹の妊娠母体を自然分娩させ, 出産仔の生後発育に及ぼす DASS の影響を調べた。

Table 5 に示すとおり, 出産仔数 (No. of newborns at birth) は群間で特に差を認めない。哺育率 (Lactation index) 及び実験終了時生存率 (Survival index) では各群間に差は認められない。

Fig. 3 に 8 週令時までの雌雄出産仔の平均体重の推移を示すが, 雌雄とも各群間に差を認めない。

8 週令時に屠殺した出産仔の剖検所見では各群に異常は認められない。なお, 生後分化及び性分化においても各群間に差は認められない。

考 察

Sodium dialkyl sulfosuccinate の毒性の報告としては, 1974年に Sodium dioctyl sulfosuccinate について WHO が食品添加物としての評価を行っており, その際の資料として, 急性, 亜急性及び慢性毒性, 世代試験等が集約されている。ラット, ウサギ, イヌ及びサルを用いた亜急性毒性では, ラット⁵⁾ の 1.0% (500 mg/kg 相当) 以上の群で体重抑制, ウサギ⁶⁾ では, 500 mg/kg/day の 24 週間連続投与で7匹中2匹が下痢, 食欲不振で死亡した。イヌでは, 1群3匹に 100 及び 250 mg/kg を添加飼料方式で24週間与えたが良好な健康状態を示した。ラットを用いた慢性毒性⁷⁾ では, 0, 0.25, 0.5 及び 1.0% を添加飼料で2年間与えたところ 1.0% (500 mg/kg 相当) 群で体重抑制及び下痢が見られたと報告している。0.5 及び 1.0% の添加飼料を用いたラットの3世代にわたる生殖試験⁸⁾ では, F₀ 及び F₂ で両処置群とも受胎率及び妊娠率は高く, また, 催奇形性はないとしているが, 未公表の報告でその詳細は不明である。これらの結果

は, 今回の 500 mg/kg の成績と比較し, 脂肪酸部分に若干の違いのある化合物での比較ではあるが, 本質的に殆んど差が認められない。また, これらの結果から本化合物の催奇形性については陰性と判断される。なお, 亜急性毒性のデータ⁵⁾ では, ラットへの 1.0%前後の投与量で, 体重抑制及び下痢が見られているが, ラットの生殖試験⁸⁾ では, それらの症状についてはふれられておらず今回の 1500 mg/kg を投与したマウスでもそのような症状は認められなかった。このことは, 用いた動物の種差によるものか, 投与期間の差によるものと考えられる。

界面活性剤投与による不妊 (着床阻害及び流産を含む) に関する報告については, 現在若干の知見があるにすぎない。

野村ら⁹⁾ は, 2%及び20%のナトリウムアルキルサルフェートを妊娠2日目から18日目まで毎日, 0.1 ml を背部皮膚に塗布したところ, 20%の塗布群で妊娠率の著明な低下を認めた。また, この場合20%塗布群を妊娠7日目に屠殺して子宮内を観察したが着床痕は認められなかった。しかし, 同用量を妊娠13日目から18日目まで皮膚塗布した場合には妊娠率の低下は認められなかった。これらのことから, ナトリウムアルキルサルフェートを妊娠初期に皮膚塗布すると着床阻害を起す可能性が強いと報告している。更にまた, 以前著者らの行ったナトリウムアルキルサルフェートのマウスでの催奇形性試験¹⁰⁾ では, 200 及び 800 mg/kg を妊娠0日から18日までの妊娠全期間強制経口投与したところ両処置群で著明な妊娠率の低下が認められた。しかし, 同用量を妊娠7日目から14日目までの器官形成期に強制経口投与したところ妊娠率の低下は認められなかった。なお, 野村らが用いたナトリウムアルキルサルフェートのアルキル基は炭素数で12及び13であ

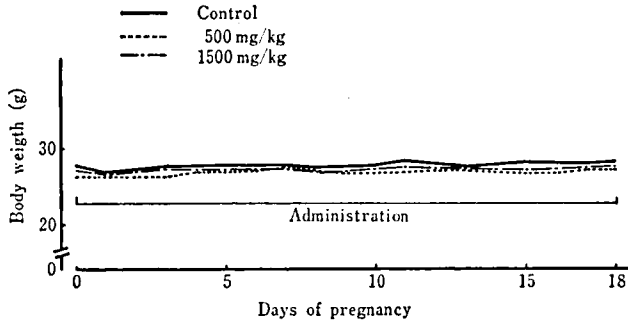


Fig. 4. Effect of oral administration of DASS on body weight of non-pregnant mice

り、著者らのナトリウムアルキルサルフェートのアルキル基の炭素数は16及び18で、著者らの方が若干長い炭素数を持つものであったが、両者とも同じような傾向を示しており、アルキルサルフェートの構造が不妊を生じさせる一つの要因をなしているものと考えられる。

また、西村ら¹¹⁾は、高級アルコールエステルサルフェート (AES) 洗剤の4%, 20%及び40%をマウスに妊娠0日から18日目まで、または妊娠8日から15日目まで毎日、0.25 ml を背部皮膚に塗布したところ、前者の40%群で妊娠率の著明な低下を認めたが、後者では認められなかった。このことから、高濃度の AES を妊娠初期よりマウスに皮膚塗布すると着床阻害または早期胚への致死作用を呈しうると報告している。これらの報告から、今回、著者らが行った DASS の妊娠全期間投与による著明な妊娠率の低下は、着床阻害に起因しているものと考えられる。

また、Palmer ら¹²⁾は、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩 (LAS) 及びアルコール硫酸塩 (AS) を、ラット及びマウスでは妊娠6日目から15日目まで、ウサギでは妊娠6日目から18日目まで、それぞれの動物の器官形成器に強制経口投与したところ、マウスでは、LAS を 300 及び 600 mg/kg、更にまた、AS を 600 mg/kg 投与した群に、一方、ウサギでは、LAS を 300 及び 600 mg/kg 投与した群にそれぞれ妊娠母体の死亡や流産 (又は全吸収胚) が認められたと報告している。

以上のことから、限られた種類の界面活性剤ではあるが、妊娠初期での界面活性剤の大量投与は着床阻害あるいは流産を引き起す可能性があることが十分考えられる。しかし、いずれも現象を捉えているにすぎないのでその成因については不明である。

今回、DASS の 1500 mg/kg 群で妊娠率が 47.2% と著明な低下を示した。対照群、500 及び 1500 mg/kg

群のそれぞれの不妊動物の体重を集計し、その推移を Fig. 4 に示したが、体重の増減はみられず、一定のレベルを維持していたことから、妊娠維持の中断がごく初期に生じたものと考えられる。また、このことは、18日目に屠殺して子宮内を観察したが何ら妊娠を示唆するような変化が認められなかったことから支持される。

内反足が 1500 mg/kg 群に 1 例観察されたが、その同腹仔に変化が認められないこと、また、当研究室の背景データ及び自然発生奇形に関する報告¹³⁾との比較においてもこのような変化は偶発的と考えられる所見であり薬物による直接的な影響とは考え難い。

ま と め

Sodium dialkyl sulfosuccinate (DASS) の 500 及び 1500 mg/kg をマウスの妊娠全期間に、毎日 1 回強制経口投与し、妊娠末期の胎仔及び出産仔の生後発育に及ぼす影響について検討した。

母体への影響として、1500 mg/kg 群で軽度な体重増加抑制及び妊娠率の著明な低下が認められたが、本実験条件下では胎仔及び出産仔への影響はほとんど認められず催奇形性作用も認められなかった。

文 献

- 1) 鈴木康雄ら: 衛生試験, 101, 152 (1983)
- 2) A. B. Dawson: *Stain. Technol.*, **1**, 123 (1926)
- 3) 佐久間昭: 生物検定法, p. 234 (1975) 東大出版
- 4) 佐久間昭: 簡便統計手法, p. 5 (1965) 日本レダリー
- 5) WHO: *WHO Food Additives Series*, No. 5, p. 178 (1974)
- 6) A. E. Benaglia et al.: *J. Ind. Hyg. Tox.*, **25**, 175 (1948)
- 7) O. G. Fitzhugh & A. A. Nelson: *J. American Pharm. Ass. Sci.*, **37**, 29 (1948)

- 8) WHO: *WHO Food Additives Series*, No. 5, p. 176 (1974)
- 9) 野村大成：厚生省食品化学レポートシリーズ, No. 7, p. 48 (1981)
- 10) 戸部満寿夫ら：厚生省報告
- 11) 西村秀雄ら：合成洗剤に関する研究成果報告書 (科学技術庁研究調整局), p.114 (1978)
- 12) A. K. Palmer *et al.*: *Toxicology*, **3**, 91 (1975)
- 13) 亀山義郎ら：先天異常, **20**, 25 (1980)

Tris (2-chloroethyl) phosphate の妊娠期投与のラット胎仔及び 出産仔の発育に及ぼす影響

川島邦夫・田中 悟・中浦慎介・長尾重之・遠藤任彦
小野田欽一・高仲 正・大森義仁

Effect of Oral Administration of Tris (2-chloroethyl) phosphate to Pregnant Rats on Prenatal and Postnatal Developments

Kunio KAWASHIMA, Satoru TANAKA, Shinsuke NAKAURA, Shigeyuki NAGAO,
Takahiko ENDO, Kin-ichi ONODA, Akira TAKANAKA and Yoshihito OMORI

Tris(2-chloroethyl)phosphate (TCEP) suspended in olive oil was given by oral intubation to Wistar rats consisted of 23-30 in each group at dose levels of 50, 100 and 200 mg/kg during days 7 through 15 of gestation, and its teratogenic effect was examined in the fetuses and offspring.

No changes in maternal body weight gain, food consumption and general appearance were found in the groups of 50 and 100 mg/kg of TCEP. At the highest dose level of 200 mg/kg, maternal food consumption was markedly suppressed with the toxic symptoms such as piloerection and general weakness, and 7 out of 30 dams died. On the 20th day of gestation, there was no evidences of an increase in fetal death or of malformation attributable to the treatment with TCEP in any of dose levels examined. In the post-natal examination, the developments of the offspring in all groups examined were well maintained without any disorders attributable to the treatment in morphological examination and in some functional test such as open field, water maze, rota rod, sloop test, pain reflex and Preyer's reflex examinations.

It is concluded that TCEP has no teratogenic effect in rats under the present experimental conditions, though the compound, at a dose level of 200 mg/kg, elicited maternal toxicity.

(Received May 31, 1983)

緒 言

われわれは家庭用品に用いられている化学物質の安全性に関する研究の一環として、妊娠期に投与した化学物質の胎仔及び出産後の発育に及ぼす影響を催奇形性を中心に検索している。そのうちリン酸トリエステル系防炎加工剤の催奇形性に関しては、衛生試報98号(昭和55年)で繊維製品などの防炎加工に用いられていた Tris(2,3-dibromopropyl) phosphate(TDBPP)¹⁾、前報では使用が禁止された TDBPP の代替品として今後常用される可能性の高い Tris(1,3-dichloroisopropyl) phosphate (TDCPP)²⁾の成績をそれぞれ報告した。今回は TDBPP と類似の化学構造を有する防炎加工剤 Tris (2-chloroethyl) phosphate (TCEP) を妊娠ラット

に投与し、母体に及ぼす影響、胎仔での奇形発生、更に出生仔の成長及び発達について検索したので、その成績を報告する。

TCEP は、使用禁止になった TDBPP の代替品として、TDCPP とともに今後常用されると考えられる防炎加工剤であり、微生物に対する変異原性は極めて弱いといわれているが^{3,4)}、催奇形性に関する報告は認められない。

実験材料及び方法

ウィスター系ラット(日本ラット, 11~12週齢)を用い、妊娠ラットを得るために未經産雌を雄と終夜同居させた。翌朝陰垢中に精子が認められた雌ラットを実験に供し、この日を妊娠0日として起算した。妊娠

ラットは分娩用ケージ(夏目製作所製)に一匹ずつ収容し、固形飼料(オリエンタル酵母, MF)及び水道水を自由に摂取させた。

動物飼育室の条件は温度 $25 \pm 1^\circ$, 相対湿度 $55 \pm 5\%$, 換気回数 15/hour, 明暗交代12時間(明 6:00~18:00)とした。

TCEP(東京化成工業, ARO-1)は超音波破砕器(360W, 5分)を用いて4%オリーブ油懸濁液とし、50, 100及び200 mg/kg用量を各群23~30匹の妊娠ラットに胎子の器官形成期を含む妊娠7日から15日まで毎日1回胃ゾンデを用いて経口投与した。

妊娠ラットは毎日一般状態を観察し、体重及び摂餌量を測定した。

これらの妊娠ラットのうち、各群15~22匹は胎仔実験に用い、妊娠20日目にエーテル麻酔下で開腹して子宮を摘出し、黄体数、着床数及び胎仔死亡を調べた。生存胎仔については肉眼触手による外表異常の検索を行い、体重を測定した。各母体について生存胎仔数の約1/3を任意に抽出してブアン固定液で2週間固定した後、ウィルソンの方法⁵⁾にしたがって内部器官の検査を行った。残り約2/3の胎仔は80%エタノール液で固定後、アリザリン赤染色骨格標本⁶⁾を作製して骨格系の異常を拡大鏡下で調べた。

妊娠末期に解剖しなかった各群8匹の妊娠ラットについては自然分娩させ、出産仔の数、生死、外表異常の有無を調べ、出産仔の一般状態及び発育状態を観察し、毎週体重を測定して育成実験を行った。4日齢時において10匹以上の出産仔を哺育している母ラットについては仔数を10匹に制限し、4週齢時に離乳して雌雄を分離飼育した。6~7週齢時に母体あたり雌雄各2匹の出産仔を任意に抽出して自発行動(オープン・フィールド装置⁷⁾)、協調運動(ロータ・ロッド⁸⁾)、傾斜板⁹⁾)、痛覚(圧刺激式鎮痛効果測定装置¹⁰⁾)、聴覚(ガルトンホイッスルによる耳介反射¹¹⁾)並びに学習能(2単位T字形水槽迷路¹²⁾)の諸機能を検索した。10週齢時に母体あたり雌雄各2匹の出産仔を任意に抽出してと殺剖検し、器官重量を測定した。

実験成績は母体を評価の単位として、 χ^2 検定¹³⁾(母ラットの死亡率)、t検定¹⁴⁾(母ラットの体重、摂餌量、黄体数、着床数及び腎重量、胎子の数及び体重、出生仔の数、体重及び器官重量、水槽迷路とロータ・ロッドを除く機能検査成績)、及び順位和検定¹⁵⁾(胎子の死亡率、形態異常発生頻度、化骨数、分娩率、哺育率、出生仔の生存率、水槽迷路とロータ・ロッドの試験成績)を用いて $p < 0.05$ 及び $p < 0.01$ の水準で対照群と比較した。なお、t検定では等分散の場合には

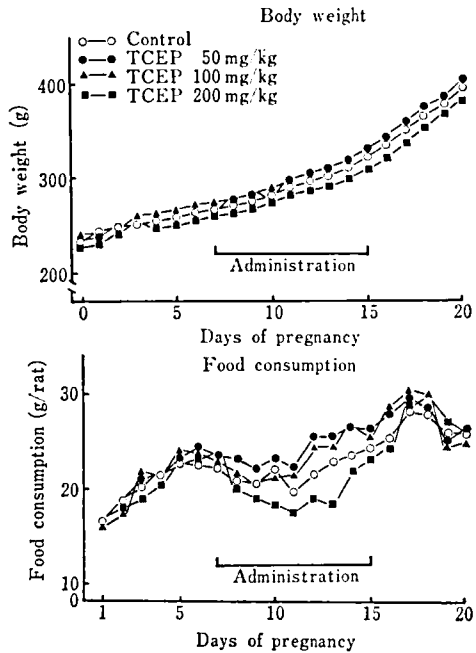


Fig. 1. Effect of oral administration of TCEP on body weight change and food consumption of pregnant rats

studentの方法を、不等分散の場合にはAspin-Welchの方法を用いた。

実験成績

1. 妊娠母体に及ぼす影響

妊娠期間中における各群の平均体重及び平均摂餌量の推移をFig. 1に示した。母体重において、50及び100 mg/kg群では対照群と同様な体重増加を示し、一般状態にも特に変化は認められなかった。200 mg/kg群では平均体重の推移に変化は認められなかったが、30匹中7匹の妊娠ラットが妊娠10日目から14日目の間に死亡した(Table 1)。これら死亡ラットでは軽度の立毛及び衰弱が観察された以外、明らかな中毒症状は認められなかった。摂餌量において、50及び100 mg/kg群は対照群と比較して特に変化を示さなかった。200 mg/kg群は投与期間中対照群より少くない摂餌量を示し、10日目と13日目の摂餌量は有意に少なかった。

黄体数、着床数及び着床率はともに対照群とTCEP投与群との間に有意差は認められなかった(Table 1)。

なお、前報²⁾のTDCPPの実験において妊娠ラットの腎重量が有意に増加する結果を得ているので、本実験でも妊娠ラットの腎重量を測定したが、対照群と

Table 1. Effect of oral administration of TCEP on pregnant rats

Dose (mg/kg)	0	50	100	200
No. of dams examined	23	23	23	30
No. of dead dams	0	0	0	7
Mortality (%)	0	0	0	23.3
No. of dams with total dead-implants	0	0	0	0
No. of dams with live fetuses	23	23	23	23
No. of dams for fetal examination	15	15	15	15
No. of corpora lutea (mean±S.D.)	215 (14.3±2.7)	216 (14.4±2.4)	215 (14.3±2.3)	212 (14.1±1.1)
No. of implants (mean±S.D.)	191 (12.7±2.3)	181 (12.0±2.4)	184 (12.2±2.6)	184 (12.2±2.7)
Implantation ratio (%)	90.0	84.8	85.6	86.6
Kidney weight (mean±S.E) (g) (g/100g B. W.)	2.06±8.6 0.51±0.01	1.99±0.04 0.49±0.01	2.06±0.06 0.51±0.01	2.07±0.03 0.55±0.03

Table 2. Effect of oral administration of TCEP on pregnant rats on fetal development

Dose (mg/kg)	0	50	100	200
No. of dams	15	15	15	15
No. of total implants	191	181	184	184
No. of live fetuses (mean±S.D.)	178 (11.8±2.7)	180 (12.0±2.5)	180 (12.0±2.5)	176 (11.7±3.1)
Sex ratio (male/female)	0.89	0.94	0.86	1.02
Body weight (g)				
male (mean±S.D.)	3.7±0.3	3.8±0.2	3.8±2.5	3.9±0.3
female (mean±S.D.)	3.5±0.3	3.6±0.2	3.5±0.2	3.7±0.2
No. of dead implants	13	1	4	8
Early death	13	1	4	8
Late death	0	0	0	0
Mortality (%)	6.3	0.6	2.0	7.5
No. of fetuses with malformation	1 (1.11) ^{a)}	0	0	0

a): Rachischisis.

Occurrence rate (%) in parentheses is the average of the incidence in each litter.

TCEP 群との間に有意差は認められなかった (Table 1).

2. 胎仔に及ぼす影響

Table 2 に示すとおり、生存仔数、性比、体重及び死亡率とも対照群と TCEP 群との間に有意差は認められなかった。

外表及び内部器官の検査では対照群に脊椎裂が1例認められたのみで TCEP 群に異常例は観察されなかった (Table 2)。

骨格検査成績は Table 3 にまとめて示した。頸肋(痕跡状)が対照群を含む各群に0.6~5.3%観察され

た。胸椎椎体の分離が各群に1.4~3.7%、胸椎椎体の変形(二連球状)が50 mg/kg 群に1.5%観察された。胸骨核の異常(変形、分離、欠損)が対照群を含む各群に40.7~54.9%観察された。仙椎弓の分離が200 mg/kg 群に2.8%観察された。しかしながら、これら骨格異常の発生率には対照群との間に有意差は認められなかった。

腰肋(痕跡状を含む)は対照群を含む各群に39.1~51.8%観察されたが、群間に有意差は認められなかった (Table 3)。

骨化状態については中手骨、中足骨及び仙・尾椎の

Table 3. Effect of oral administration of TCEP to pregnant rat on skeletal development of the fetuses

Dose (mg/kg)	0	50	100	200
Number of dams	15	15	15	15
Number of fetuses examined	128	133	135	131
No. of fetuses with variations				
Cervical ribs	1(0.7)	1(0.6)	2(1.7)	7(5.3)
Split thoracic centra	2(1.4)	5(3.7)	2(1.7)	2(1.4)
Varied thoracic centra	0	2(1.5)	0	0
Varied sternebrae	51(41.3)	54(40.7)	68(50.7)	76(54.9)
Split sacral archws	0	0	0	4(2.8)
Lumber ribs	49(39.5)	51(39.1)	56(43.0)	72(51.8)
rudimentary	47(37.9)	47(36.4)	56(43.0)	64(46.1)
extra	2(1.6)	4(2.7)	0	8(5.7)
Ossification state (average number)				
Metacarpus	7.6	7.7	7.5	7.6
Metatarsus	8.0	8.0	8.0	8.0
Sacro-caudal vertebrae	7.8	8.0	7.8	8.2

Refer to Table 2.

Table 4. Effect of oral administration of TCEP to pregnant rats on postnatal development of offspring

Dose (mg/kg)	0	50	100	200
No. of dams	8	8	8	8
No. of implantation site (mean±S.D.)	108 (13.5±1.0)	114 (14.2±1.6)	109 (13.6±1.5)	103 (12.8±1.1)
No. of newborn at birth (mean±S.D.)	102 (12.7±1.2)	106 (13.2±1.3)	106 (13.2±1.9)	102 (12.7±1.1)
Delively index (%)	94.3	93.2	96.8	99.0
No. of offspring at 4 days (mean±S.D.)	74 (12.3±1.2)	96 (12.0±3.1)	95 (11.8±2.7)	89 (12.7±1.2)
Viability index (%)	73.2	91.0	90.1	87.5
No. of offspring after selection at 4 days (mean±S.D.)	60 (10.0±0.0)	75 (9.3±1.7)	76 (9.3±1.4)	70 (10.0±0.0)
No. of offspring at 4 weeks (mean±S.D.)	60 (10.0±0.0)	73 (9.1±1.8)	75 (9.3±1.4)	69 (9.8±0.3)
Lactation index (%)	100	97.5	98.7	98.5
No. of offspring at 10 weeks (mean±S.D.)	59 (9.8±0.4)	73 (9.1±1.8)	75 (9.3±1.4)	69 (9.8±0.3)
Survival index (%)	98.3	100	100	100

Delivery index=(No. of offspring at birth/No. of implantation sites)×100

Viability index=(No. of offspring at 4 days/No. of offspring at birth)×100

Lactation index=(No. of offspring at 4 weeks/No. of offspring selected at 4 days)×100

Survival index=(No. of offspring at 10 weeks/No. of offspring at 4 weeks)×100

These indexes are the average of the incidence in each litter.

骨数を調べて判定したが、いずれの骨数においても対照群との間に有意差は認められなかった (Table 3).

3. 出産仔に及ぼす影響

Table 4 に示すとおり、着床数、分娩仔数及び分娩率に有意な変化は認められなかった。対照群の2匹の母体及び200 mg/kg 群の1匹の母体はそれぞれ3日

Table 5. Effect of oral administration of TCEP to pregnant rats on spontaneous motor behavior of offspring

Dose (mg/kg)	0		50		100		200	
No. of dams	6		8		8		7	
Sex of offspring	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
No. of offspring	12	12	16	16	16	16	14	14
No. of ambulation	51.8±21.5	63.3±12.8	52.5±18.0	50.3±20.0	52.8±13.6	46.7±13.5	46.7±13.5	56.6±15.3
No. of rearing	19.3±9.4	20.9±3.8	15.6±8.0	17.1±10.0	17.6±8.8	20.2±7.6	9.8±5.6**	18.8±7.5
No. of fecal bowl	3.8±3.1	2.5±2.4	4.0±2.8	3.2±2.8	2.9±2.8	3.4±2.8	2.1±2.2	2.1±2.2

Data are mean±S.D. The offspring were observed for 3 min. and counted number of ambulation, number of rearing and number of fecal bowls. **: Significant difference from control group (P<0.01).

Table 6. Effect of oral administration of TCEP to pregnant rats on water maze performance of offspring

Dose (mg/kg)	0		50		100		200	
No. of dams	6		8		8		7	
Sex of offspring	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
No. of offspring	12	12	16	16	16	16	14	14
Time required(sec) ^{a)}								
1st trial	102.4	87.6	99.8	76.6	96.3	79.4	119.9	94.4
2nd trial	71.6	82.2	55.4	74.5	63.1	64.4	75.4	45.0
3rd trial	56.5	81.6	52.9	80.1	54.5	44.9	75.1	58.9
4th trial	35.4	63.3	46.9	90.9	53.4	53.9	72.7*	62.4
No. of errors								
1st trial	5.0	4.1	5.4	3.5	4.7	5.3	5.6	6.1
2nd trial	3.8	4.5	3.1	3.1	3.6	4.2	2.6	2.1
3rd trial	2.4	3.5	1.9	3.4	3.0	1.8	2.8	2.4
4th trial	1.4	1.8	1.5	2.6	2.0	2.8	2.8	2.3

Data are average.

a): When the time was longer than 180 sec., it was calculated as 180 sec. Consequently the standard deviation was not calculated.

*: Significant difference from control group (P<0.05).

以内に出産仔全例を喰殺した。しかし、4日齢時生存率、哺育率及び10週齢時生存率のいずれにおいても対照群と TCEP の各群との間に有意差は認められなかった。

出産仔の体重は雄・雌ともいずれの測定時においても有意な変化を示さなかった。

オープン・フィールド試験の成績を Table 5 に示した。50 及び 100 mg/kg 群では雄・雌とも歩行量(ambulation)、立ち上り行動の回数(rearing)及び脱糞数(defecation)に特に変化は認められなかった。200 mg/kg 群では雄の rearing に有意な低下が認められ、雄・雌の defecation に低下の傾向が観察されたが、有意な変化ではなかった。

ロータ・ロッド、傾斜板法、痛覚及び聴覚の各検査

において、雄・雌とも特に TCEP 投与との関連性を示唆する変化は認められなかった。

水槽迷路を用いた学習能の試験成績を Table 6 に示した。雄において、50 及び 100 mg/kg 群では4回の試行を通してゴール到達までの所要時間に有意な変化は認められなかったが、200 mg/kg 群では第4試行目の所要時間に有意な延長が観察された。誤りの回数にはいずれの試行においても有意な変化は観察されなかった。雌では雄に比べて所要時間及び誤り回数にかなりのバラツキが観察された。所要時間において、50 mg/kg 群では第4試行目に所要時間の延長傾向が、100 及び 200 mg/kg 群では第2試行目及び第3試行目に所要時間の短縮傾向が観察された。しかし、いずれも有意な変化ではなかった。誤りの回数にはいずれの試

Table 7. Effect of oral administration of TCEP to pregnant rats on absolute organ weight of offspring

Dose (mg/kg)	0		50		100		200	
No. of dams	6		8		8		7	
Sex of offspring	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
No. of offspring	12	12	17	15	16	16	14	14
Brain (g)	2.1±0.07	2.0±0.15	2.2±0.11	2.1±0.10	2.1±0.13	2.0±0.09	2.0±0.07	1.9±0.07
Pituitary (mg)	15.3±5.69	15.5±5.10	14.2±3.41	17.5±4.03	13.5±3.48	13.6±4.10	11.1±2.44	11.5±1.85
Thyroid (mg)	31.3±6.03	26.1±7.18	31.5±8.38	27.7±6.06	28.6±8.78	23.8±6.09	26.6±6.55	21.5±5.19
Thymus (g)	0.7±0.13	0.6±0.10	0.7±0.15	0.6±0.11	0.8±0.28	0.6±0.11	0.7±0.23	0.6±0.14
Heart (g)	1.4±0.19	1.0±0.11	1.6±0.24	1.2±0.13	1.5±0.23	1.0±0.12	1.4±0.22	1.0±0.11
Lung (g)	1.8±0.18	1.4±0.18	1.9±0.22	1.6±0.26	1.8±0.28	1.5±0.17	1.8±0.26	1.4±0.17
Spleen (g)	0.9±0.17	0.7±0.10	1.0±0.13	0.8±0.25	1.0±0.30	0.7±0.18	0.9±0.11	0.6±0.11
Liver (g)	18.4±2.52	12.3±1.20	18.8±2.43	13.8±1.39	19.0±2.38	12.1±1.47	18.3±2.58	11.6±1.34
Kidney (g) ^R	1.6±0.11	1.0±0.10	1.6±0.18	1.2±0.13	1.6±0.20	1.1±0.14	1.5±0.21	1.0±0.08
L	1.6±0.12	1.0±0.12	1.6±0.21	1.2±0.10	1.6±0.23	1.1±0.19	1.5±0.19	1.0±0.11
Adrenal (mg) ^R	31.4±6.15	38.8±6.83	30.4±6.20	41.0±5.82	32.9±7.43	35.9±8.13	28.2±5.29	34.6±4.05
L	32.2±8.19	39.5±8.16	32.2±7.45	42.0±4.96	34.4±8.53	37.2±7.84	28.7±3.09	35.9±4.65
Ovary (mg) ^R		87.4±26.61		87.9±21.41		78.8±27.79		72.5±20.63
L		94.9±31.94		86.7±31.94		77.9±16.23		79.3±19.68
Uterus (g)		0.4±0.07		0.6±0.18		0.5±0.14		0.4±0.11
Testis (g) ^R	1.7±0.13		1.8±0.21		1.7±0.16		1.8±0.08	
L	1.7±0.15		1.8±0.21		1.7±0.14		1.8±0.14	

Data are mean±S.D. R: Right. L: Left.

行時においても有意な変化は観察されなかった。

10週齢時にと殺した出産仔の主要器官の実重量は Table 7 に示すとおりで、若干のバラツキは散見されたが有意な変化は認められなかった。体重に対する相対値の検索でも有意差はなかった。

考 察

TCEP を妊娠ラットに経口投与した場合、200 mg/kg 群では摂餌量の減少が認められ、30匹中7匹の妊娠ラットが死亡した。この成績から、200 mg/kg は妊娠ラットに対して中毒致死量であると考えられる。

TCEP と類似の化学構造を有する TDBPP 及び TDCPP では妊娠ラットの腎重量が増加すること^{1,2)}、TDBPP による腫瘍発生の標的器官は腎臓であること¹⁶⁾から、リン酸トリエステル系の防炎加工剤は腎臓に対して障害作用を有することが示唆される。しかしながら、TCEP を用いた本実験では妊娠ラットの腎重量に変化は観察されず、TCEP の腎臓に対する障害作用は TDBPP 及び TDCPP に比べて極めて弱い可能性が考えられる。

TCEP を投与した妊娠ラットから得られた胎仔に外表及び内部器官の異常例は観察されなかった。骨格異常として頸肋、胸椎椎体の分離及び変形、或いは胸骨核の異常が観察されたが、対照群との間に有意差は

認められなかった。一方、サリチル酸などの催奇形因子を妊娠ラットに投与した場合、腰肋の発生頻度が増加することが報告されている¹⁷⁻¹⁹⁾。本実験ではその発生頻度が TCEP 群において特に高くなるという成績は得られなかった。

出産仔の生後発育の観察において奇形発現、発育分化の状態、死亡率、体重の推移、解剖所見及び器官重量のいずれにおいても特に TCEP 投与によると考えられる変化は認められなかった。機能検査において、200 mg/kg 群では雄に立ち上り行動(オープン・フィールド)の有意な低下、及びゴール到達までの所要時間(水槽迷路試験)に有意な延長が観察された。しかしながら本用量は妊娠ラットに対する中毒致死量であり、その二次的影響がオープン・フィールド及び水槽迷路試験に反映されたものと考えられる。更に関連する他の指標である歩行量及び脱糞数(オープン・フィールド)あるいは誤りの回数(水槽迷路試験)には有意な変化は観察されず、雌ではいずれの指標においても有意な変化は認められなかった。これらのことから、TCEP が出産仔の機能発達に直接影響を及ぼしたとは考え難い。

ま と め

Tris (2-chloroethyl) phosphate (TCEP) の 50, 100

及び 200 mg/kg をラットに妊娠 7 日から 15 日まで毎日 1 回強制経口投与し、妊娠母体、胎仔及び出産仔に及ぼす影響を催奇形性を中心に検索した。

1) 妊娠母体：一般状態、摂餌量及び解剖所見において 100 mg/kg 以下の群では変化は認められなかった。200 mg/kg 群では摂餌量の低下が認められ、30 匹中 7 匹が死亡した。

2) 胎仔：生存数、性比、体重及び死亡率において全投与群とも変化は認められなかった。外形、内部器官及び骨格検査において TCEP 投与によると考えられる異常例は観察されなかった。

3) 出産仔：着床数、分娩仔数、分娩率、4 日齢時生存率、哺育率、10 週齢時生存率、体重及び器官重量に変化は認められず、外形検査及び機能検査でも TCEP 投与との関連を示唆する変化は認められなかった。

以上、本実験条件下では、TCEP が催奇形物質であるとの結論は得られなかった。TCEP の母体、胎仔及び新生仔に対する無影響量は 100 mg/kg/day 用量と考えられた。

文 献

- 1) 川島邦夫ら：衛生試験報, 98, 50 (1980)
- 2) 田中 悟ら：衛生試験報, 99, 50 (1980)

- 3) M. J. Prival *et al.*: *Science*, **195**, 76 (1977)
- 4) A. Nakamura *et al.*: *Mutation Research*, **66**, 373 (1978)
- 5) J. G. Wilson: *Teratology, Principles and Techniques*, J. G. Wilson and J. Warkany, eds., p. 262 (1965), Chicago Univ. Press, Chicago and London.
- 6) A. B. Dawson: *Stein Technol.*, **1**, 123 (1926)
- 7) C. S. Hall: *J. Comp. Psychol.*, **22**, 345 (1936)
- 8) M. B. Waller *et al.*: *Psychol. Rep.*, **7**, 99 (1960)
- 9) N. W. Dumham, T. S. Miya: *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, **46**, 208 (1958)
- 10) W. Kondziella: *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **152**, 277 (1964)
- 11) L. O. Randall and J. J. Selitto: *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **111**, 409 (1957)
- 12) 秋吉正豊ら：*Jap. J. Antibiotics*, **27**, 735 (1975)
- 13) 佐久間昭：生物検定法, p. 234 (1975) 東大出版
- 14) C. S. Weil: *Food Cosmet. Toxicol.*, **8**, 177 (1970)
- 15) 佐久間昭：簡便統計手法, p. 5 (1965) 日本レダリー
- 16) NCI: *Carcinogenesis Technical Report Series*, No. 76 (1973)
- 17) C. A. Kimmel, J. G. Wilson: *Teratology*, **8**, 309 (1973)
- 18) 安田峯生, 前田広由：先天異常, **13**, 25 (1973)
- 19) S. Tanaka *et al.*: *Cong. Anom.*, **13**, 73 (1973)

N-プロピル-N-ニトロソ尿素 (PNU) 投与開始週令の相違による F344 ラット胸腺リンパ腫発生への影響

松岡千明・荻生俊昭・小野寺博志・古田京子・佐倉康文*
前川昭彦・林 裕造・中館正弘

Influence of Age of Starting Treatment on Induction of F344 Rat Thymic Lymphoma by N-Propyl-N-nitrosourea (PNU)

Chiaki MATSUOKA, Toshiaki OGIU, Hiroshi ONODERA, Kyoko FURUTA, Yasufumi SAKURA*,
Akihiko MAEKAWA, Yuzo HAYASHI and Masahiro NAKADATE

Recently, a very useful method to induce thymic lymphoma by N-propyl-N-nitrosourea (PNU) in rats was established in our laboratory.

In this experiment, 5-week-old or 10-week-old female F344 rats were administered 400 ppm PNU solution as their drinking water until sacrificed. Incidences of thymic lymphoma were 89% and 95% in 5-week-old group and 10-week-old group, respectively. No significant difference was shown for the incidence of the thymic lymphoma between both groups. However, a significant difference was demonstrated between the average survival period of rats with thymic lymphoma in 5-week-old group (17.3 ± 2.1 weeks) and that in 10-week-old group (20.5 ± 2.7 weeks). Factors causing this difference were discussed.

(Received May 31, 1983)

* 武田薬工(株)生物研究所

従来、実験動物における白血病の研究にはマウスが好んで用いられて来た。これには、純系マウスの開発が早くから行われ、それらの遺伝子や抗原系あるいは血液細胞の機能がよく解析されて来た事があげられる。これに対しラットでは純系動物の開発が遅れた事のみならず、マウスに比べ有効に白血病を誘発する手段が無かった事も主な原因であったと考えられる。1960年代後半に到り、米国の Huggins 一派が dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) の間歇静脈内投与で¹⁾、また、小田嶋が N-butyl-N-nitrosourea (BNU) 水溶液の経口投与で²⁾ 白血病が高率に発生する事を報告して以来、ラットを使っての白血病研究も盛んになって来た。特に日本においては、我が部を中心にニトロソ尿素を用いての実験的白血病の研究が行われて来た³⁻⁶⁾。しかし、DMBA¹⁾あるいは trimethylbenz(a)anthracene⁷⁾ による白血病、また、ニトロソ尿素によるドンリュウラットの白血病²⁻⁴⁾ はほとんどが骨髄性あるいは赤芽球性でありラットではマウスに比べリンパ球系の腫瘍は発生しにくいと考えられて来た。その後、当部の竹内ら⁸⁾ が N-propyl-N-nitrosourea (PNU) を Fischer ラット (F344) に投与する事により thymic lymphoma が高率に発生する事を報告し、ラットでもリンパ球系腫瘍を誘発する手段が確立され、ようやくラットの lymphoma の研究が行われるようになって来た。現在までの研究の結果、発生して来る lymphoma は T cell 系細胞由来であり、precursor T cell, cortical T cell, medullary T cell 由来の性格を示すものが含まれる事が判っている^{9,10)}。更に、超微形態学的¹¹⁾にも、また免疫学的な抗原の検索の結果⁹⁾でも virus の関与は証明されていない。すなわち、マウスの lymphoma の発生においては常に virus の影がつきまとうのに対し化学物質によるラットの lymphoma の発生には virus は関与しないと考えられ、その発生機序を解析する上での利点であろうと思われる。

今回、この PNU-F344 ラットの系を用いて PNU 処置開始の週令の相違により thymic lymphoma の発生に差がでるか否かを検討した。

実験材料及び方法

動物

今回の実験には日本チャールス・リバー社(厚木)の雌 F344 ラット (SPF) を用いた。ラットは二群用意し、一群は5週令のもの、他の一群は10週令のものを各20匹、それぞれ4匹ずつチョップを敷いた plastic cage に入れ、室温 $25 \pm 1^\circ$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ の動物室で飼育した。飼料は CE-2 (日本クレア、東京) を用い、

自由摂取させた。

PNU 投与及び観察方法

PNU は従前の方法により合成され⁴⁾、使用までは冷蔵庫あるいは冷凍庫で保管された。PNU は毎日、400 ppm の濃度になるように蒸溜水に溶解し、遮光給水びんに入れ、投与した。PNU 溶液はラットに自由摂取させ、翌日、残量を測定し、PNU の摂取量を計算した。ラットは毎日観察し、腫瘍等により衰弱が著るしく、頻死の状態に到った時にエーテル麻酔により屠殺し、主な臓器をとり、10%緩衝ホルマリンで固定後、パラフィン包埋し、薄切後、hematoxylin-eosin 染色を行った。また、末梢血塗抹標本は、Wright-Giemsa 重染色を行ない、光学顕微鏡で観察した。

統計学的処理方法

統計学的処理方法として、腫瘍の発生率については χ^2 検定、生存期間については t 検定を用いた。

結 果

体重の変化及び PNU 摂取量

Table 1 に、実験開始後の体重と、残量より計算された1匹当りの累積 PNU 摂取量 (mg) 及び、摂取量を体重 100 g 当たりの量に換算した後に求めた累積 PNU 摂取量を示した。

5週令群では、実験開始時の体重は 81 g であったが、実験1~3週目には体重減少が見られ、その後、徐々に増加した。一方、10週令群では、実験開始時 149 g であった体重が PNU 投与開始後急速に減少し、実験3週目には最低値を示したが、その後、多少、回復し、135 g 前後の体重で、ほぼ横ばい状態であった。

1匹当たりの PNU 摂取量は、両群共に、初期には 22~25 mg/week くらいであったが、徐々に減少し、15週目頃からは5週令群では 14~15 mg/week、10週令群では 16~18 mg/week となった。累積量としては、実験18週目の時点で5週令群、303.9 mg、10週令群、333.7 mg であった。これを体重で補正した場合の18週目の累積摂取量は、5週令群では 332.1 mg/100 g 体重、10週令群では 245.9 mg/100 g 体重であった。

腫瘍発生率

腫瘍発生率を Table 2 に示した。5週令群の内、最初の腫瘍が発生した以前に死亡した1例を除外し、有効例数は5週令群、19匹、10週令群、20匹であった。

その中で、腫瘍がいくつかの臓器に見られたものは5週令群で17匹 (89%)、10週令群では20匹 (100%) で、thymic lymphoma の見られたものは、5週令群の17匹 (89%)、10週令群の19匹 (95%) であった。そ

Table 1. Average body weight and cumulative doses of PNU.

Experimental weeks	5-Week-old group			10-Week-old group		
	Average body weight (g)	Cumulative dose of PNU (mg/rat)	Relative cumulative dose of PNU (mg/100g B.W.)	Average body weight (g)	Cumulative dose of PNU (mg/rat)	Relative cumulative dose of PNU (mg/100g B.W.)
0	81	0	0	149	0	0
1	76	22.5	29.6	141	24.8	17.6
2	74	43.4	57.8	134	47.7	34.7
3	79	62.6	82.2	131	68.2	50.3
4	83	81.1	104.4	133	89.1	66.0
5	87	99.3	125.4	135	109.3	81.0
6	88	116.7	145.1	134	128.8	95.6
7	93	135.8	165.6	136	148.3	109.9
8	97	153.1	183.5	138	166.9	123.3
9	97	169.2	200.1	135	183.9	136.0
10	99	185.4	216.4	135	201.2	148.8

12	104	216.5	246.4	137	234.7	173.2
14	104	246.3	275.0	138	269.9	198.7
16	102	274.4	302.6	136	303.1	223.1
18	100	303.9	332.1	134	333.7	245.9

Table 2. Tumors in various organs induced by PNU

Age at start	No. of rats examined	No. of rats with tumors	No. of rats with tumors in		
			thymus	duodenum	others
5-wk-old	19	17 (89%)	17 (89%)	5 (26%)	0
10-wk-old	20	20 (100%)	19 (95%)	8 (40%)	0

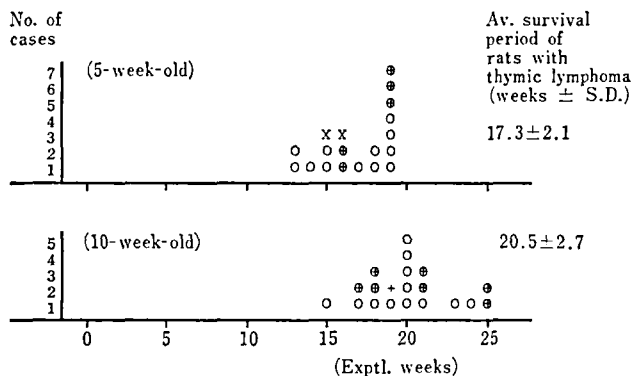


Fig. 1. Induction of thymic lymphoma and duodenal tumors by PNU
Thymic lymphoma (O) and/or duodenal tumor (+) were induced in many rats by PNU. Rats without tumors(x) were 2 in the 5-week-old group.

の他の腫瘍としては、十二指腸の adenoma あるいは adenocarcinoma が見られたが、それぞれの群で5匹 (26%) 及び8匹 (40%) であった。その他の臓器に腫瘍の発生は見られなかった。

Thymic lymphoma の組織学的分類

thymic lymphoma の組織形態を、悪性リンパ腫病理組織診断研究グループによる分類法 (LSG 分類)¹²⁾ に準拠して分類した。(この分類は AFIP の Rappaport 分類を基本にし、それを補足する目的で、近年、日本のリンパ腫を研究している病理学者のグループに

より提案されたヒトの lymphoma の分類法である)。この分類により、5週令群では、小細胞型、1例、中細胞型、1例、大細胞型、3例、リンパ芽球型、10例であり、10週令群では、中細胞型、7例、大細胞型、3例、リンパ芽球型、9例であった。

thymic lymphoma を有する動物の生存期間

Fig. 1 に、経時的な腫瘍の発生状況を示した。この図で縦軸には例数を、横軸には実験週令をとり、○印は thymic lymphoma を表わし、+印は十二指腸の腫瘍を示した。

5週令群で最初の thymic lymphoma は実験13週目の屠殺動物に見られ、実験19週目までには全例、死亡した。これに対し、10週令群では、実験15週目の屠殺動物に thymic lymphoma が最初に見られたが、全体に5週令群よりも生存期間が延長し、最後の動物は実験25週目に解剖された。thymic lymphoma を有する動物の平均生存期間を Fig. 1 の右側に記載した。5週令群では 17.3 ± 2.1 週 (平均 \pm S.D.)、10週令群では 20.5 ± 2.7 週で、t 検定により有意差が認められた ($p < 0.01$)。したがって、5週令群では、有意の差をもって thymic lymphoma を有する動物の生存期間は短縮したといえる。

考 察

PNU 投与開始時の週令が違っても、thymic lymphoma の発生率は、5週令時開始群、89%、10週令時開始群、95%と有意差がみられなかった。しかし、平均生存期間は、5週令群では17.3週、10週令群では20.5週であり、その間に有意差が見られた。

生存期間の長さに差が生じた原因と考えられる要因の1つに、PNU 摂取量の差が考えられる。すなわち、5週令群での1匹当たりのPNU 摂取量は10週令群よりも少ないが、体重100g当たりの摂取量に換算すると、実験18週目での累積摂取量では、5週令群の動物は10週令群よりも約35%多く摂取している事になる。ところで、北野ら¹³⁾によれば、40日令F344ラットにPNU水溶液を連続投与し経時的に屠殺、thymic lymphoma の発生過程を追跡した実験で、投与6週目頃に胸腺中に異型細胞が出現し、それ以後、明瞭な lymphoma の像を呈する。一方、10週令動物を使った我々の経時屠殺実験では、投与8週目頃に同様の所見を得ている¹⁴⁾。これらの所見から恐らく、この前後の累積PNU量が thymic lymphoma 発生の為の critical dose になると考えられる。もし5週令群の実験6週目の累積量145.1 mg/100g 体重を critical dose と仮定すると、10週令群がその量に達するのは実験9.7週目になり、

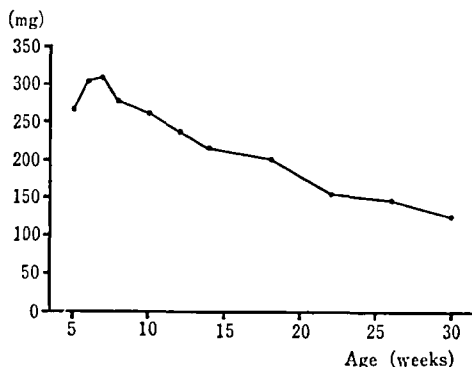


Fig. 2. Average weight of the thymus in female F344 rats

その間に3.7週の差が見られる。また、逆に本実験では平均生存期間に3.2週の差が見られたが、計算上、3.2週の差が見られる累積量は約127 mgであり、この量に達するには、5週令群では5.1週、10週令群では8.3週を必要とする。したがって、130 mg/100g 体重前後の累積量が thymic lymphoma の発生に重要な量であり、その量に達するまでの期間の差が、すなわち、平均生存期間の差となるのだろうと考える事ができる。しかし、この仮説を検討する為には、さらに実験を行う必要がある。

従来、動物の週令により臓器の化学物質に対する感受性に差がある事例が知られている。特に、methylcholanthrene によるSDラットの乳腺腫瘍の発生では50~60日令の動物を使うと最も高率であるが、それ以前、あるいはそれ以降の週令のものでは感受性が著しく低下している¹⁵⁾。胸腺でも動物の週令により生理的機能が大幅に変化しており、形態的に幼若のものは大きく、加齢と共に退縮する。生後5週令から30週令までの雌F344ラットの胸腺重量を Fig. 2 に示した。この図に見られるように雌F344ラットで胸腺が最大になるのは6~7週令であり、8週令時には既に退縮が始まっている。すなわち、5週令時と10週令時では胸腺重量はほぼ同じであるが、5週令時は胸腺が大きく行って行く時期に当たり、また10週令時は退縮が始まった後であり chemical carcinogen に対する感受性に差がある事が想定される。今後、さらに検討を要する問題である。

現在までの検索の結果、これらPNUによってF344ラットに誘発された lymphoma は、T cell の lineage に乗るものであり、その未分化な段階のものから分化したものであり、いろいろの段階のものが見られる^{9,10)}。しかし、PNU の target cell がどの段階のものか、す

なわち、骨髄中の precursor T cell が腫瘍化するのか、あるいは既に胸腺に流入した後の細胞が腫瘍化するのかは明らかにされていない。

一方、最近、ヒトの T cell leukemia において retrovirus がその原因として close-up されて来た¹⁶⁻¹⁸⁾。また、マウスでは従来から virus による leukemogenesis がよく調べられて来た。ラットの chemical leukemogenesis では virus の関与が全く否定されるのであろうか。現在までの所、virus の関与を否定するような傍証が多く出されているが、今後、更に検討する事が必要である。そして、もし virus の関与が全く無いという事であれば、T cell 系の腫瘍の発生で、virus 発癌に対する chemical carcinogenesis の model として発生機序を解明するためにも非常によい実験系を提供するものと考えられる。

ま と め

PNU 溶液を飲料水として長期間投与すると thymic lymphoma が高率に発生する。PNU 投与開始時の動物の週令が thymic lymphoma の発生に及ぼす影響を検討する目的で、5週令及び10週令の動物に 400 ppm PNU 溶液を飲料水として投与した。thymic lymphoma の発生率は5週令群、89%、10週令群、95%でその間に有意差はみられなかった。しかし、平均生存日数は5週令群、17.3週、10週令群20.5週で、その間に有意差がみられた。その差が生じた原因として、体重比による PNU 摂取量の差、あるいは、週令差による胸腺の感受性の差が考えられる。

文 献

- 1) C. B. Huggins, T. Sugiyama: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **55**, 74 (1966)
- 2) S. Odashima: *Gann*, **61**, 245 (1970).
- 3) T. Ogiu, M. Nakadate, S. Odashima: *Cancer Res.*, **36**, 3043 (1976)
- 4) T. Ogiu, M. Nakadate, S. Odashima: *J. Natl. Cancer Inst.*, **54**, 887 (1975)
- 5) S. Odashima, T. Ogiu, A. Maekawa, M. Nakadate: *Gann Monogr.*, **17**, 409 (1975).
- 6) T. Ogiu: *Acta Pathol. Jpn.*, **32(Suppl. 1)**, 223 (1982)
- 7) C. B. Huggins, L. Grand, H. Oka: *J. Exp. Med.*, **131**, 321 (1970).
- 8) M. Takeuchi, T. Ogiu, M. Nakadate, S. Odashima: *Gann*, **71**, 231 (1980)
- 9) N. Imamura, O. Saito, H. Dohy, T. Ogiu: *Experientia*, **37**, 1339 (1981).
- 10) T. Oikawa, N. Takeuchi, K. Yamashita, M. C. Yoshida, et al.: *Cancer Genet. Cytogenet.*, **7**, 327 (1982)
- 11) Y. Suzuki, M. Matsuyama, T. Ogiu: 投稿中
- 12) T. Suchi, K. Tajima, K. Nanba, H. Wakase, et al.: *Acta Pathol. Jpn.*, **29**, 755 (1979).
- 13) 北野元生, 志佐 満, 齊藤美智代: 日癌総会記事, **41**, 37 (1982).
- 14) 荻生俊昭, 佐倉康文, 小田嶋成和: 日癌総会記事, **41**, 82 (1982).
- 15) C. Huggins, L. C. Grand, F. P. Brillantes: *Nature*, **189**, 204 (1961).
- 16) Y. Hinuma, K. Nagata, M. Hanaoka, M. Nakai et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**, 6476 (1981).
- 17) I. Miyoshi, I. Kubonishi, S. Yoshimoto, T. Akagi, et al.: *Nature*, **294**, 770 (1981).
- 18) R. C. Gallo, M. S. Reitz, Jr.: *J. Natl. Cancer Inst.*, **69**, 1209 (1982).

胃癌移植系 (SG2B) を用いた抗悪性腫瘍剤の効果判定法について

古川文夫・長野嘉介*・小久保 武・岸本嘉夫・高橋道人・林 裕造

Morphometric Evaluation of Nuclear Size of Transplantable Gastric Adenocarcinoma (SG2B) after Antineoplastic Agents.

Fumio FURUKAWA, Kasuke NAGANO*, Takeshi KOKUBO, Yoshio KISHIMOTO, Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI

For the establishment of evaluation method for the effects of antineoplastic agents, quantitative changes of distribution of nuclear area after application of antineoplastic agents in transplantable gastric carcinoma (SG2B) was examined. Experimental groups were divided into following 4 groups. Group 1 (Control); 1 ml of saline was given intraperitoneally. Group 2; 30 mg/kg of 5-fluorouracil (5-Fu) was given intraperitoneally once a day for 5 days. Group 3; 40 mg/kg of 1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidyl) methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea (ACNU) was given intraperitoneally by a single injection. Group 4; 4 mg/kg of ACNU and 30 mg/kg of 5-Fu were mixedly injected at first day then from the second day only 5-Fu was given once a day for 4 days. Administration of the agents was carried out by single injection in Wistar rats which had been confirmed the growth of transplanted SG2B in their peritoneal cavities. Tumors were removed at 6 days after the administration and then weighed. Nuclear area in each tumor was measured with a semiautomatic image analyzer TAS-plus. Significant inhibition of tumor development were evident in Group 3 and Group 4, however no significant inhibition of tumor growth was demonstrated in Group 2 as compared with Group 1. In addition, apparent elevation of the nuclear area was demonstrated in Group 3 and Group 4. On the other hand, such as elevation was not shown in Group 2 as compared with Group 1. These facts indicate that the change of nuclear area for evaluating antineoplastic agents could be an effective marker.

(Received May 31, 1983)

はじめに

抗悪性腫瘍剤の効果判定には、従来より実験動物における各種腹水型及び固型移植腫瘍が用いられている。しかしヒトの各臓器癌に対するそれら薬剤の効果は個々の症例で様ではなく、確実性の点からも臨床家間での評価は一定でない。その意味でヒトの癌に対する効果を推測するための試験法の改良が望まれている。

今回、当所病理部で継代維持されている可移植性実験胃癌 (SG2B) を用い、抗腫瘍剤の効果判定法の確立を目指し、現在胃癌に対して有効性が示唆されている種々の抗腫瘍剤について SG2B の反応を形態学的な立場から検討した。SG2B は胃癌の生物学的特性を維持している事の確認も同時に実施した。効果判定の形態学的指標としては細胞核の面積の分布を特に重視した。なぜならば細胞障害の形態的表現は先づ細胞核の変形、腫大消失といった形で現われる事はよく知られて

おり、核面積の変動が薬剤による細胞の障害の程度を示す客観的指標の一つとなり得ると見なしたからである。

材料並びに方法

I SG2B の生物学的特性の検討

1) SG2B の継代移植

SG2B の腫瘍塊を無菌的に採取したのち細切し、移植針にて腹腔内に移植した。今回実験に供したのは74代である。

2) 組織学的並びに電子顕微鏡的検索

74代目の SG2B を中性ホルマリンにて固定し、通常的手法によりパラフィン包埋後、3 μ m の切片を作製し、ヘマトキシリンエオジン (H, E) 染色、pH 2.5 アルシアンブルー PAS 染色を施し組織学的検索を行った。

走査型電顕試料作製は採取組織を 2.5% グルタルアルデヒド溶液で固定し、アルコール脱水後、酢酸イソアミルにて置換した。その後臨界点乾燥装置にて

* 日本バイオアッセイ研究センター

液体炭酸ガス下で乾燥させ、イオンコーターにて金コーティングを行った。走査型電顕観察は日立社製 S-450 を用いた。

透過型電顕試料作製は3%グルタルアルデヒドと1%オスミウム酸による二重固定を行い、アルコール脱水後エポン812に包埋した。切片は酢酸ウラニルとクエン酸鉛にて染色した。透過型電顕観察は日立社製 H-300 を用いた。

3) 蛍光顕微鏡法

腫瘍組織を室温にて1~2日間カルノア固定、通常の手法によりパラフィン包埋を行った。これらのブロックは京都府立医科大学 病理学教室 藤田哲也教授の御好意により当教室において実施されている蛍光測定法を用い¹⁻⁴⁾ DNA 量の測定をしていただいた。

4) オートラジオグラフィ (3H-thymidine の取り込み)

腹腔内に1 μ Ci/g 体重の 3H-thymidine を投与し、1時間後にエーテル麻酔下にて屠殺した。速やかに腫瘍を採取し、中性ホルマリンにて固定後、通常の方法によりパラフィンに包埋、4 μ m の切片を作製した。これを脱パラフィン後、乳剤(サクラ NR-M2 小西六メデイカル社製)中に浸し、室温乾燥したのちシリカゲルを入れた暗箱内で4週間冷蔵庫内に保管し露出させた。その後 Rendol X にて現象、定着し H, E 染色を施し 3H-thymidine の局在を検索した。

II SG2B における抗悪性腫瘍剤による細胞核の計測

1) 抗悪性腫瘍剤

5-Fluorouracil (5-FU) (協和発酵社製) 及び 1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl) methyl-3-nitrosourea hydrochloride (ACNU) (三共製薬社製) を用いた。

2) 投与方法

腹部移植後4週目に体表面より触診し腫瘤を確認した60匹を選び、1群15匹から成る4群に分け、次の如き処置を実施した。1群は対照群として1ml の生理食塩液を腹腔内に1回投与し、2群には5-FUを30mg/kg 体重量を1日1回5日間腹腔内に投与した。3群にはACNU 40mg/kg 体重量を1回腹腔内に投与した。4群にはACNU 40mg/kg 体重量を1回腹腔内に投与、1時間後に5-FU 30mg/kg 体重量を投与、翌日から5-FUを同量4回腹腔内投与した。各群ともに抗悪性腫瘍剤投与後6日目に屠殺開腹、肉眼的に諸臓器の転移並びに浸潤を検索した。続いて腫瘍を摘出し10%ホルマリンにて固定、通常の手法により標本作製し、H, E 染色を実施した。

3) 腫瘍細胞の核面積計測

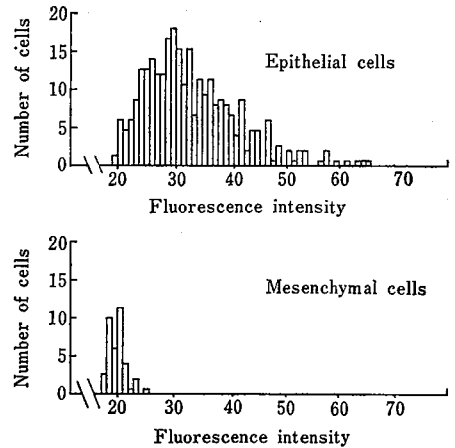


Fig. 1. Cytofluorometric DNA determination of epithelial cells and mesenchymal cells from SG2B

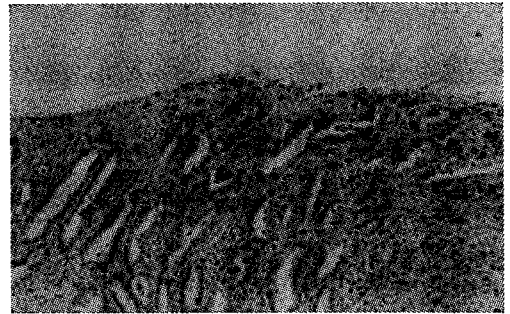


Fig. 2. Autoradiography of untreated SG2B adenocarcinoma. (Hematoxylin and eosin stain) $\times 40$

H, E 染色標本により任意の腫瘍細胞の核200~300個につき、核の面積を画像解析装置 (TAS, ライツ社製) を用い計測した。

結 果

I SG2B の生物学的特性の検討

1) 組織学的並びに電子顕微鏡的検索

SG2B は光学顕微鏡的には腺癌の像を呈し索状ないし乳頭状配列をなす。核は比較的大きさのそろった円型~た円型で分化型腺癌である。アルシアンブルーPAS 染色では腺上皮は陰性で結合組織は弱陽性であった。走査型電顕では明瞭な細胞境界が認められ細胞表面は短小な絨毛が豊富にみられ粘液分泌も認められた。透過型電顕では粗面小胞体の発育は良好であるが滑面小胞体は殆んど認められない。内腔表面には微小絨毛の発達も認められ上皮性の性格を表わしている。しかしこれらの絨毛は長さ、分布が様でなく大小様

Table 1. Effect of 5-FU/ACNU drug scheduling in SG2B

Drugs	No. of rats		Before treatment	After treatment	
	Initial	Survival (%)	Body weight (g)	Body weight (g)	Tumor weight (g)
Non treatment	15	15 (100)	32.6±6.2*	51.0±6.1	1.0±0.6
5-FU	15	13 (86)	32.0±4.5	40.9±4.3	0.9±0.7
ACNU	15	9 (69)	37.0±5.2	26.5±5.1	0.4±0.5
5-FU+ACNU	15	3 (20)	35.0±3.8	21.6±2.6	0.4±0.4

(*Mean±SD)

々であった。また隣接する細胞間には嵌合結合を呈していた。細胞内には少数の分泌顆粒を思わせる顆粒も認められた。

2) DNA 蛍光顕微測光法による DNA 量の測定

DNA 量測定のためのヒストグラムは Fig. 1 に示した。横軸は DNA 量すなわち fluorescence intensity (FI) を表わし、縦軸は細胞数 Number of cells (N) を示している。上段のヒストグラムは SG2B の上皮細胞、下段はその間質細胞の DNA 量である。間質細胞の DNA 量の分布は正常の DNA 量を示し 20FI (2n) にピークがある。一方上皮細胞の DNA 量は著しい増加ピークが 30FI (3n) に偏位し 60FI (6n) においても DNA 量が認められる。

3) オートラジオグラフィ

³H-thymidine の取り込みについては Fig. 2 に示したように周囲の腫瘍細胞に集中しており腫瘍塊中心部の腫瘍細胞及び間質や、周囲組織の間質には取り込みが認められなかった。

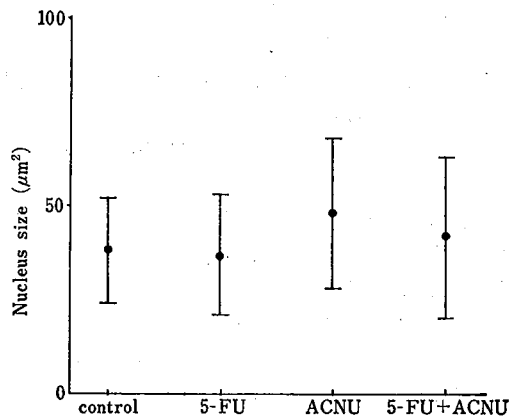


Fig. 3. Effect of untreated and carcinostatic agents on nucleus size. Bars; S.D.

II SG2B における抗悪性腫瘍剤の効果

1) 生存率、体重及び腫瘍重量

Table 1 に示したごとく実験開始時の動物数は各群

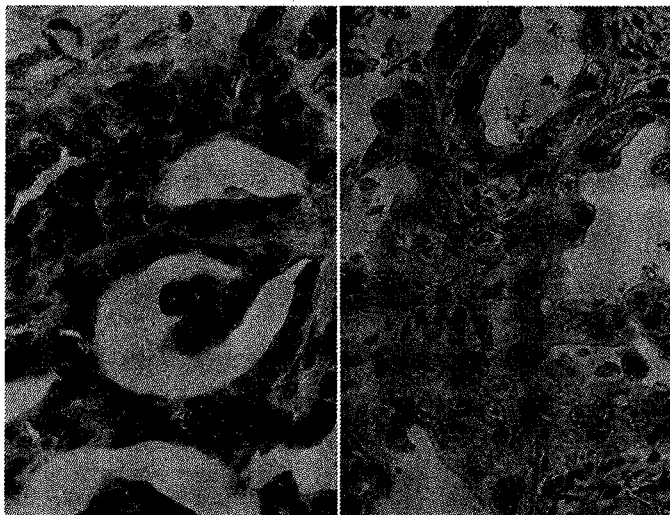


Fig. 4. Histology of untreated (left) and ACNU-treated (right) SG2B adenocarcinomas. (Hematoxylin and eosin stain) × 400

15匹であったが、実験終了時には対照群は全例生存したのに対し 5-FU 群は 13匹、ACNU 群は 9 匹、ACNU+5-FU 群はわずかに 3 匹であった。体重は対照群が実験開始時 32.6 ± 6.2 g、終了時 51.0 ± 6.1 g と順調な発育を示したのに対し ACNU 群においては開始時 37.0 ± 5.2 g、終了時 26.5 ± 5.1 g、また ACNU+5-FU 群では開始時 35.0 ± 3.8 g、終了時 21.6 ± 2.6 g と著しい体重減少を認めた。腫瘍重量においては対照群が 1.0 ± 0.6 g に対して ACNU 群 0.4 ± 0.5 g、ACNU +5-FU 群 0.4 ± 0.4 g と縮少傾向が認められた。

2) 組織学的検索

対照群及び実験群のいずれにも限局性の凝固壊死あるいは線維化が散在的に見られた。腺管構造は多様性を示し、腺細胞の多層化や核の極性の乱れ、分裂像などが多数認められた。これらの所見において対照群と実験群の間に質的、量的な差は認められなかった。

3) 腫瘍細胞の核面積計測

核の面積を測定した結果は Fig. 3 の如く対照群では $38.8 \pm 14.0 \mu\text{m}^2$ であったのに対し 5-FU 群では、 $37.6 \pm 16.2 \mu\text{m}^2$ 、ACNU 群では $48.4 \pm 20.4 \mu\text{m}^2$ 、ACNU+5-FU 群では $42.3 \pm 21.4 \mu\text{m}^2$ であった。Fig. 4 左は対照群の組織像で異型性の少ない円型の細胞核が認められる。右は ACNU 群でクロマチン構造が粗となり核小体の明瞭な大型な核を含み異型性が著しい、ACNU 群及び ACNU+5-FU 群においては細胞核面積の増加が認められた。

考 察

組織学的に SG2B は高分化型腺癌であり、生化学的分析結果から胃の粘膜の特性を供えている。すなわち SG2B はペプシノーゲン産生能があり⁵⁾、形態学的にも広瀬ら⁶⁾、そして小久保ら⁵⁾ の報告にみられるように 60代に至ってもなお大きな形態学的変化は認められていない。すなわち、腫瘍細胞は異型性に乏しく特に核の大きさ、形、クロマチン量等ではむしろ均等性を保っている。電顕的にも著明な核小体が認められている⁵⁾。

DNA 蛍光顕微測光法による核の DNA 量のピークは間質細胞で 20FI (2n) 周辺に集中しているのに対し上皮細胞ではピークは 30FI (3n) であり、40(4n) ~ 60(6n)FI においても DNA 分布が認められている。正常の胃粘膜についてはハムスター、ラット、ヒトでの研究があり年齢や背景病変にかかわらず常に安定した 20FI (2n) 周辺にピークを持ったパターンが示されている⁴⁾。したがってこの実験においてはピークが 30FI

(3n) の多倍体の特徴としており明確な DNA 量の異常を示している。このように組織学的には異型性の少ない腫瘍細胞であるにもかかわらず核内 DNA 量の結果から悪性腫瘍の特性を示しているものと思われる。

細胞動態の解析を目的として、オートラジオグラフィによる核 DNA 標識法での検索を行ってみると、³H-thymidine の取り込みは DNA 合成期にある細胞に多く認められる。正常の胃粘膜では取り込みが比較的少なく、増殖帯である腺頸部のみ見られるが、悪性腫瘍では散在的に分布して認められる。標識細胞が腫瘍周囲にのみ散在的に認められているのは固型腫瘍特有の現象と見なされ⁷⁾、中心部への ³H-thymidine の到達が困難なためと解釈されている。即ち、固型腫瘍において ³H-thymidine による標識細胞は細動脈周辺に最も多く末梢に行くに従って少くなる。これは末梢にいく程 ³H-thymidine の血中濃度が低くなるためである。したがって抗腫瘍剤の効果も移植腫瘍周辺部位に最も顕著に現われると思われる。

5-FU は Sarcoma 180, Adenocarcinoma 755, Eo 771, Walker carcinosarcoma, Ehrlich Ascite, Yoshida sarcoma 等でラット、マウスにおける移植系腫瘍に対して効果のあることが確認されており、その効果発現機序として DNA 合成阻害と RNA の機能障害が腫瘍細胞の中で起こるためと考えられている^{8,9)}。しかしながら今回の実験では SG2B に対して 5-FU は明らかな抗腫瘍効果を見せなかった。この結果は、5-FU の効果が移植系腫瘍の種類により著しく相違する事実を示している。

ACNU は 1974年荒川ら¹⁰⁾により開発されたアルキル化剤で、水溶性 Nitrosourea の一種である。作用機序としてアルキル化作用と、カルバモイル化作用を有し DNA, RNA の合成阻害作用を示すとされている¹¹⁾。この作用は X線による抗癌作用と類似し、分裂の盛んな癌細胞を特に障害するとともに、正常細胞にも影響を及ぼすと考えられている¹²⁾。移植系腫瘍において抗腫瘍効果が認められているが、SG2B のような臓器特性を保持する移植系腫瘍の抗腫瘍効果は認められていない。

今回の実験では核面積の測定は抗悪性腫瘍剤の効果の客観的判定に対して有効な方法の一つと考えられたが¹³⁾今後、いくつかの検討すべき問題も残されている。まず ACNU ではラットに対する毒性が強くと、ヒト常用量ではラットに対して毒性発現を来たした。今後投与量の検討が必要であろう。また ACNU と 5-FU との相乗毒性についての検討も必要である。核面積の増加は ACNU の抗腫瘍効果によるものか、宿主ラッ

トの栄養障害による二次的な反応なのか、あるいは循環障害に基づく変性所見なのか解明される必要がある。これらの解明のためには抗悪性腫瘍剤投与による核内DNA量の変動並びに核面積の変動の相関性を検討することにより形態学的に効果を、客観的に判定する方法が確立されるものと思われる。

文 献

- 1) T. Takamatsu *et al.*: *Histochemistry*, **71**, 161 (1980)
- 2) S. Fujita *et al.*: *Histochemistry*, **36**, 179 (1973)
- 3) S. Fujita *et al.*: *Histochemistry*, **40**, 59 (1973)
- 4) 藤田哲也ら: *医学のあゆみ*, **100**, 873 (1977)
- 5) T. Kokubo *et al.*: *Gann*, **72**, 583 (1981)
- 6) M. Hirose *et al.*: *Gann*, **67**, 365 (1976)
- 7) Zlatko P. Pavelic *et al.*: *Am. J. Pathol.*, **102**, 84 (1981)
- 8) C. Heidelberger *et al.*: *Nature*, **179**, 663 (1957)
- 9) C. Heidelberger *et al.*: *Cancer Res.*, **18**, 305 (1958)
- 10) M. Arakawa *et al.*: *Gann*, **65**, 191 (1974)
- 11) 横山正和: *癌と化学療法*, **7**, 339 (1980)
- 12) 森田 光ら: *癌と化学療法*, **8**, 1216 (1981)
- 13) K. Bjelkenkrantz *et al.*: *Virchows Arch [Pathol Anat]*, **398**, 129 (1982)

抗腫瘍性複素環化合物の合成

神谷庄造・丹野雅幸・宮原美知子

Synthesis of Antitumor Heterocyclic Compounds

Shozo KAMIYA, Masayuki TANNO and Michiko MIYAHARA

Synthesis of 23 heterocyclic compounds prepared in the studies other than the synthesis of antitumor agents is described. Among these compounds the following 3 compounds were active against rat ascites hepatoma AH-13 or mouse lymphoid leukemia L-1210.

2,5-Bis(4-pyridyl)-1,3,4-thiadiazole dihydrochloride (1) [AH-13: —; L-1210: +]

2,4-Dimethylbenzo[g]quinoline methiodide (7) [AH-13: +; L-1210: ±]

2-Azido-5-methyl-1,2,4-thiadiazole (21) [AH-13: —; L-1219: ±]

(Received May 31, 1983)

は し が き

合成化学研究部では昭和47年より昭和57年まで、抗腫瘍剤の合成研究を当所病理部の協力の下に実施した。抗腫瘍性のスクリーニングテストについては癌研、化学療法センターの桜井欽夫先生及び塚越 茂先生の御指導をいただき、当時主としてアルキル化剤の合成研究を行っていた関係でアルキル化剤に鋭敏な系のラット腹水肝癌 AH-13 とマウスリンパ白血病 L-1210 によるファーストスクリーニングを実施して来た。この間、ニトロソ尿素誘導体¹⁻³⁾、窒素複素環ニトロ化合物⁴⁾、2-oxazolidone 誘導体⁵⁾、2-acylamino-1,3,4-thiadiazole 誘導体⁶⁾、複素環アジド化合物などの合成と抗腫瘍性について報告した。

当部の抗腫瘍剤の合成研究以外の研究より出てきた化合物についてもこのファーストスクリーニングにかけ、その結果は衛生試験所報告^{7a-d)}に発表した。今回、これらの化合物の中で合成に関して未発表の複素環化合物についてまとめて報告する。

これらの化合物を構造より分類すると、bispyridyl 化合物及びそれらの四級塩 5 種、benzoquinoline 類及びそれらの四級塩 7 種、dimethylhydrazine 類 2 種、hydrazone 類 3 種、1,3,4-thiadiazole 類 5 種となる。これらの化合物の中で効果を示したものは次の 3 種のみであった。

2,5-Bis(4-pyridyl)-1,3,4-thiadiazole
dihydrochloride^{7e)} (1)

AH-13: — L-1210: +

1,2,4-Dimethylbenzo[g]quinoline
methiodide^{7d)} (7)

AH-13: + L-1210: ±

2-Azido-5-methyl-1,3,4-thiadiazole^{7f)} (21)

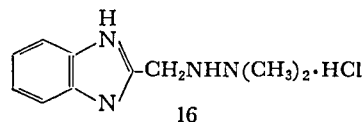
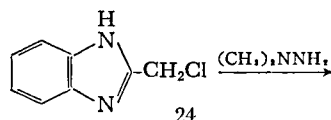
AH-13: — L-1210: ±

合 成 法

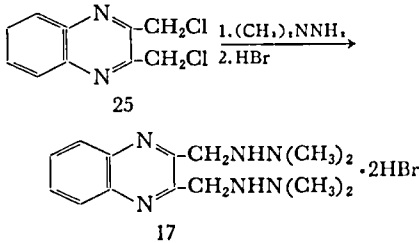
bispyridyl 化合物及び benzoquinoline 類の四級塩は、相当する塩基のクロロホルム溶液に等モル相当量の methyl iodide を加え、還流することによって得た。2 及び 12 の場合は元の塩基が methyl iodide と反応しにくいので dimethyl sulfate により四級化した。

8 は 6 の塩基をクロロホルム溶液中、*m*-chloroperbenzoic acid で処理することにより、また 9 は 8 をクロロホルム中、dimethyl sulfate で四級化することによって得た。

16 は 2-chloromethylbenzimidazole (24) と 1,1-dimethylhydrazine をエタノール中で加熱することによって得た。

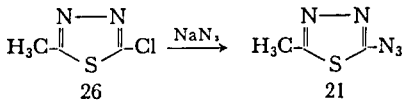


同様に 17 は 2,3-bis(chloromethyl)quinoxaline (25) と 1,1-dimethylhydrazine の反応によって得た。

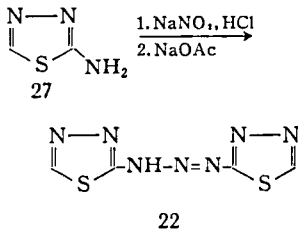


18, 19, 20 は 4-hydrazinoquinoline 1-oxide と相当する aldehyde をエタノール中で加熱することによって得た。

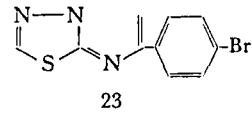
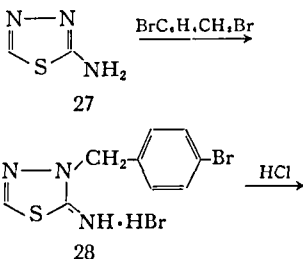
21 は 2-chloro-5-methyl-1,3,4-thiadiazole(26) とナトリウムアジドを60%エタノール中で加熱することによって得た。このもののクロロホルム溶液中での IR スペクトルは 2130 cm^{-1} に N_3 による強い吸収を示すことより azide-form を取っている。



22 は 2-amino-1,3,4-thiadiazole(27) を濃塩酸中でジアゾ化し、次に酢酸ナトリウムを加えることによって得た。



23 は 2-amino-1,3,4-thiadiazole(27) と 4-bromophenacylbromide をエタノール中で加熱し 2-imino-3-(4-bromophenacyl)-2,3-dihydro-1,3,4-thiadiazole hydrobromide(28) とし、28 を希塩酸で処理することにより得た。本品の NMR スペクトルは 9.33 τ に imidazole 環のプロトン (singlet) を示すとより閉環体である。



考 察

1 は L-1210 に対して T/C(%): 140 と活性を示したが、その四級塩である 2 は T/C(%): 107 と活性を失う事実より、1 は塩基性のセンターとしての 2 つの pyridine 環と 1,3,4-thiadiazole 環とがあいまって Anti-L1210 作用を示すものと考えられる。

一方、両端に pyridine 環を有する 1,2-bis(4-pyridyl)ethylene 及び 1,3-bis(4-pyridyl)propane は無効であった。

7 は AH-13 に対しては活性であるが、L-1210 に対しては borderline activity [T/C(%): 125] であった。

実 験

実験は各化合物群の代表例のみをあげた。スペクトル類は次の装置によって測定した。IR: JASCO A-102 spectrophotometer. NMR: Varian EM 360A spectrometer (内部標準: tetramethylsilane. 略号: s, singlet; d, doublet; m, multiplet; br, broad)

融点及び分解点は未補正である。

2,5-Bis(4-pyridyl)-1,3,4-thiadiazole dihydrochloride(1): mp 250° (Aldrich Chem. Co.)

2,5-Bis(4-pyridyl)-1,3,4-thiadiazole dimethosulfate(2): 1 の遊離塩基 2.40 g (0.01 mole) 及び dimethyl sulfate 2.52 g (0.02 mole) をクロロホルム中、室温で2日間攪はんする。溶媒を留去し、残留物をエタノールで再結晶する。淡褐色針状晶, mp $223\text{--}225^\circ$ dec. IR(cm^{-1} , nujol): 1210, 1055(CH_3SO_4^-). 収量, 4.61 g (94%). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{S} \cdot \text{C}_2\text{H}_6\text{O}_8\text{S}_2$: C, 39.02; H, 4.09; N, 11.38. Found: C, 38.95; H, 4.11; N, 11.55.

1,2-Bis(4-pyridyl)ethylene dimethiodide(3): 赤色針状晶 (エタノール), dp 300° . Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{I}_2$: C, 36.07; H, 3.46; N, 6.01. Found: C, 35.95; H, 3.41; N, 6.40.

1,3-Bis(4-pyridyl)propane dimethiodide(4): 淡黄色針状晶 (エタノール), mp $141\text{--}142^\circ$ dec. Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{I}_2$: C, 37.36; H, 4.18; N, 5.81. Found: C, 37.27; H, 4.09; N, 5.99.

α, β -Bis(4-pyridyl)glycol dimethiodide(5): 淡黄色粉末 (メタノール), dp $219\text{--}220^\circ$. Anal. Calcd. for

$C_{14}H_9O_2N_2I_2$: C, 34.24; H, 1.85; N, 5.71. Found: C, 33.96; H, 2.12; N, 6.02.

2,4-Dimethylbenzo[g]quinoline hydrochloride(6): 黄色粉末(エタノール), dp ca. 260°. 塩基: 淡褐色針状晶(benzene-*n*-hexane), mp 98°(lit.⁸⁾, 98-99°.

2,4-Dimethylbenzo[g]quinoline methiodide(7): 淡褐色針状晶(エタノール), mp 250°以上. Anal. Calcd. for $C_{16}H_{16}NI$: C, 55.03; H, 4.62; N, 4.01. Found: C, 54.81; H, 4.51; N, 3.88.

2,4-Dimethylbenzo[g]quinoline 1-oxide(8): 2,4-dimethylbenzo[g]quinoline 1.0 g をクロロホルム 50 ml に溶解し, *m*-chloroperbenzoic acid (含量, 80%) 1.0 g を加え, 一夜放置する. 反応液を飽和炭酸水素トリウム液で三回洗い, 無水硫酸ナトリウムで乾燥後, クロロホルムを留去する. エタノールで再結晶する. 黄色針状晶, mp 172-173°. Anal. Calcd. for $C_{15}H_{13}ON$: C, 80.69; H, 5.87; N, 6.27. Found: C, 80.52; H, 5.87; N, 6.32.

2,4-Dimethylbenzo[g]quinoline 1-oxide methosulfate (1-methoxy-2,4-dimethylbenzo[g]quinolinium methosulfate)(9): 褐色針状晶(エタノール), dp 181-182°. IR(cm^{-1} , *nujol*): 1250, 1215($CH_3SO_4^-$). Anal. Calcd. for $C_{17}H_{19}O_5NS$: C, 58.44; H, 5.48; N, 4.01. Found: C, 58.30; H, 5.29; N, 3.93.

Benzo[f]quinoline methiodide(10): 褐色針状晶(エタノール), mp 196°.

Benzo[h]quinoline hydrochloride(11): 無色針状晶(エタノール), mp 213°.

Benzo[h]quinoline methosulfate (12): 淡黄色立方晶(エタノール), mp 162°.

5H-Indeno[1,2-*b*]pyridine hydrochloride(13): 無色針状晶(エタノール), mp 230°位より徐々に分解し, 約 250°で分解する.

5H-Indeno[1,2-*b*]pyridine methiodide(14): 無色針状晶(エタノール), mp 250°以上.

Indolo[3,2-*b*]carbazole(15): 淡黄色葉晶(quinoline より再結晶), mp 250°以上⁹. IR(cm^{-1} , *nujol*): 3400(NH).

2-(2,2-Dimethyl-1-hydrazino)methylbenzimidazole dihydrochloride (16): 2-chloromethylbenzimidazole 1.67 g (0.01 mole) 及び 1,1-dimethylhydrazine 1.20 g (0.02 mole) をエタノール 50 ml 中で1時間還流する. エタノールを減圧で留去し, 残留物を塩酸・エタノールで再結晶する. 淡黄色針状晶, mp 223-224° dec. 収量, 1.26 g (48%). Anal. Calcd. for $C_{10}H_{14}N_4 \cdot HCl$: C, 45.63; H, 6.08; N, 21.30. Found:

C, 45.67; H, 6.03; N, 21.06.

2,3-Bis[(2,2-dimethyl-1-hydrazino)methyl]quinoxaline dihydrobromide (17): 淡褐色針状晶(エタノール), mp 195° dec. Anal. Calcd. for $C_{14}H_{22}N_6 \cdot 2HBr$: C, 38.55; H, 5.55; N, 19.26. Found: C, 39.03; H, 5.65; N, 19.68.

5-Nitro-2-furanylaldehyde 1-oxido-4-quinolylylhydrazone(18): 赤色葉状晶(エタノール), mp 235°. Anal. Calcd. for $C_{14}H_{16}O_4N_4$: C, 56.38; H, 3.38; N, 18.79. Found: C, 56.15; H, 3.30; N, 18.51.

2,4,6-Trimethoxybenzaldehyde 1-oxido-4-quinolylylhydrazone(19): 黄色葉状晶(エタノール), mp 236° dec.

4-Ethylsulfonylbenzaldehyde 1-oxido-4-quinolylylhydrazone(20): 黄色葉状晶(エタノール), mp 237° dec. Anal. Calcd. for $C_{18}H_{17}O_3N_3S$: C, 60.88; H, 4.82; N, 11.82. Found: C, 60.51; H, 4.78; N, 11.75.

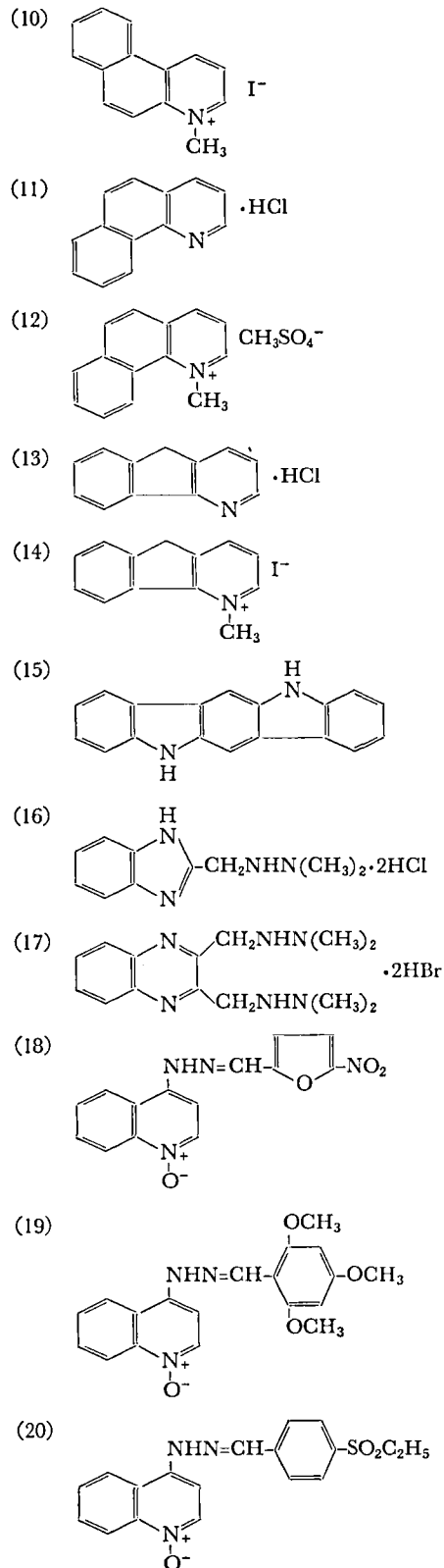
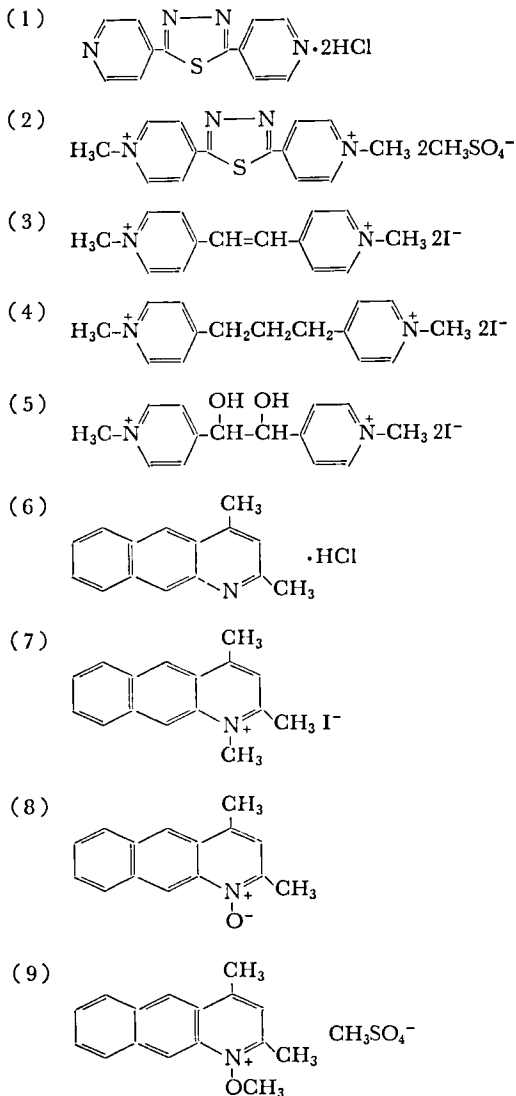
2-Azido-5-methyl-1,3,4-thiadiazole(21): 2-chloro-5-methyl-1,3,4-thiadiazole¹⁰ 1.35 g を60%エタノール 100 ml に溶解し, ナトリウムアジド 1.0 g を加え, 2時間還流する. 溶媒を減圧で留去し, 残留物をクロロホルムで抽出し, 無水硫酸ナトリウムで乾燥後, 溶媒を留去する. 残留物をエタノールで再結晶する. 黄色プリズム晶, mp 89-90°. IR(cm^{-1} , $CHCl_3$): 2130(N_3). Anal. Calcd. for $C_3H_3N_3S$: C, 25.52; H, 2.14; N, 49.62. Found: C, 25.45; H, 2.02; N, 49.52.

1,3-Bis(5-methyl-1,3,4-thiadiazole-2-yl) triazine (22): 2-amino-1,3,4-thiadiazole 2.3 g に濃塩酸 2.5 ml 及び水 10 ml を加えて溶解し, 0-5°で攪はんしながら亜硝酸ナトリウム 0.75 g を加え, 1時間攪はんを続ける. 反応液に sodium acetate 1.65 g を加え, 20°で40分攪はんする. 反応液に氷水を加え, 生じた沈殿を吸出し, エタノールより再結晶する. 黄色粉末, mp 243-244° dec. 収量, 0.6 g (13%). Anal. Calcd. for $C_6H_7N_7S_2$: C, 29.87; H, 2.92; N, 40.64. Found: C, 29.70; H, 2.93; N, 39.33.

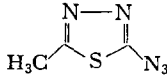
2,3-Dihydro-6-(4-bromophenyl)imidazo[2,1-*b*]thiazole(23): 1,2-imino-3-(4-bromophenacyl)-2,3-dihydro-1,3,4-thiadiazole hydrobromide: 2-amino-1,3,4-thiazole 2.30 g (0.02 mole) 及び 4-bromophenacylbromide 5.56 g (0.02 mole) をエタノール 30 ml 中で1時間還流する. 反応液を減圧で濃縮し, 析出する結晶を吸出し, エタノールで再結晶する. 無色針状晶, mp 236° dec. NMR (τ , DMSO- d_6): 6.02 (s, CH_2CO), 7.73, 8.00 (a pair of doublet, benzene 4H),

8.90(s, thiadiazole H), 10.0(br, NH). 収量, 3.28 g (41%). Anal. Calcd. for $C_{10}H_8ON_3SBr \cdot HBr$: C, 31.68; H, 2.39; N, 11.08. Found: C, 31.73; H, 2.36; N, 11.00. 2. 閉環: 上の化合物 1.97 g (0.005 mole) を水 150 ml 及び濃塩酸 5.0 ml の混合物中に加え, 30分間煮沸する. 冷後, 析出させる結晶を吸濾し, 水洗し, エタノールより再結晶する. 無色リンペン品, mp 184-186°. 収量, 0.92 g (66%). NMR(τ , DMSO- d_6): 7.73, 7.96(a pair of doublet, benzene 4H), 8.86(s, thiadiazole H), 9.33(s, imidazole H). Anal. Calcd. for $C_{10}H_6N_3SBr$: C, 42.87; H, 2.16; N, 15.00. Found: C, 42.82; H, 2.07; N, 14.98.

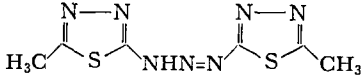
化合物



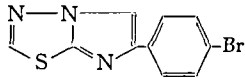
(21)



(22)



(23)



文 献

1) 神谷庄造, 宮原美知子, 末吉祥子, 鈴木郁生, 小田嶋成和: *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 3884 (1978)
 2) 宮原美知子, 神谷庄造, 前川昭彦, 小田嶋成和: *Gann*, **70**, 731 (1979)
 3) 宮原美知子, 宮原 誠, 中館正弘, 鈴木郁生, 小田嶋成和: *Gann*, **69**, 187 (1978)

4) 神谷庄造, 安齊美知子, 中島利章, 末吉祥子, 丹野雅幸, 鈴木郁生, 石館 基: *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 504 (1977)
 5) 宮原美知子, 宮原 誠, 神谷庄造, 前川昭彦: *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 2366 (1981)
 6) 宮原美知子, 中館正弘, 末吉祥子, 丹野雅幸, 宮原 誠, 神谷庄造: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4402 (1982)
 7) a. 安齊美知子ら: *衛生試験*, **94**, 148 (1976)
 b. 宮原美知子ら: *衛生試験*, **96**, 91 (1978)
 c. 宮原美知子ら: *衛生試験*, **97**, 107 (1979)
 d. 宮原美知子ら: *衛生試験*, **98**, 123 (1980)
 e. 宮原美知子ら: *衛生試験*, **99**, 111 (1981)
 f. 宮原美知子ら: *衛生試験*, **100**, 16 (1982)
 8) G. R. Clemo, N. Legg: *J. Chem. Soc.*, **1947**, 545
 9) B. Robinson: *J. Chem. Soc.*, **1963**, 3097
 10) 金岡又雄: *薬誌*, **75**, 1149 (1955); T. Bacchetii, A. Alemagna, B. Danieli: *Tetrahedron Letters*, **47**, 3569 (1964)

油脂性基剤の経時変化によるインドメサシン，アミノピリン，スルピリンの放出性への影響

江島 昭・立沢政義・緒方宏泰・青柳伸男
 鹿庭なほ子・松田りえ子

Change of Physicochemical Properties of Shelved Oreagenous Suppository Bases:
 The Effect on Indomethacin, Aminopyrine and Sulpyrine Release Rates

Akira EJIMA, Masayoshi TATSUZAWA, Hiroyasu OGATA, Nobuo AOYAGI,
 Nahoko KANIWA and Rieko MATSUDA

Change of some physicochemical properties of oreagenous suppository bases were measured and its effect on the release of drugs from suppository was discussed.

Suppositories made of Witepsol H-15, W-35, and S-55 containing aminopyrine (Am), indomethacin (Im) and sulpyrine (Sp) were used as the test formulations. They were stored at 30°, and the melting point, softening time, and release rate of the drug were measured. The change of these physicochemical properties of W-35 suppository, especially containing Im or Sp ones, were large, whereas the release of Am or Im from H-15 suppository was fast and their changes were small.

(Received May 31, 1983)

薬物の投与形態を坐剤とした場合，食事や Gastric Emptying の影響を受けず，直腸から吸収された薬物は肝臓を通過しないため薬物の不活性化が少ないなどの点から最近坐剤の使用頻度が大きくなってきている。直腸吸収を目的とする坐剤は，投与部位において薬物の分泌液中への放出がすみやかである必要があるがこれは基剤の影響が大である⁶⁻⁸⁾。最近坐剤の基剤とし

て広く用いられている Witepsol は坐剤製造後の保存条件により融点の上昇及び主薬の放出性の遅延を起すことが報告されている¹⁾。

筆者らは坐剤の品質管理上，坐剤の放出試験法を含めた理化学試験法を確立する必要があると考え，その基礎実験として油脂性坐剤基剤の経時変化による主薬放出上の影響を検討した。3種の Witepsol (H15,

W35, S55) を基剤とした坐剤の種々の物理化学的性質の経時変化を検査し知見を得たので報告する。

実験の部

1. 薬物及び坐剤基剤

スルピリン (Sp), アミノピリン (Am) 及びインドメタシン (Im) は局方品を用いた。また、坐剤基剤は市販の油脂性基剤で融点が37.0以下でヒドロキシル価の異なる Witepsol H15, W35 及び S55 を用いた。

2. 坐剤の調製

基剤を 50~60° に加温して融解し、室温で徐々に冷却し、約 35° で約10%の主薬 (Sp, Am 及び Im) の微粉末を加えて良く均等に混和する。プラスチック坐剤容器に 1.5 ml ずつ注入し、冷却固化する。調製坐剤は1個約 1 g 中に各主薬 50mg 含有する。直ちに冷蔵庫に保存し、調製後1週間以内に実験に用いた。

3. 融点測定：局方融点測定法

局方の融点測定法第2法により行なう。但し試料はあらかじめ融解させず、キャピラールを坐剤中に直接挿入し、約 10 mm の高さで試料をつめ測定する。坐剤基剤の経時変化による融点の上昇は結晶形が α 形から β 形に変わるためといわれ、あらかじめ融解させると α 形にもどることが考えられたので、基剤を直接挿入する変法を用いた。

4. 軟化時間測定法：針入度法

Fig. 1 に示す装置を用いる。あらかじめガラスシリンジ中に 5 ml の水を入れ、 $37 \pm 1^\circ$ の恒温槽中に垂直に設置する。シリンジ中の温度が $37 \pm 0.1^\circ$ になった時、坐剤の1個を先端を下にして入れ、直ちにステン

レス針を置き、坐剤が軟化し、針が下部に落下するまでの時間を測定する。

5. 放出試験^{3,5)}：メンブランフィルター法

坐剤放出試験器²⁾ (富山産業, TMS 10 型) を用い、放出相は pH 8.5 のリン酸塩緩衝液 500 ml を入れ約 100 rpm で攪拌し、この液にポアサイズ 5 μ m の人工膜 (マイクロフィルター FM-500) を固定したセル層を設け、両層の液面の高さを等しくする。放出相はガラスフィルター付テフロンチューブにより分光光度計 (日立 124 型) に直結し、ペリスタリックポンプにより放出相がフローセルを通りセル相に入り、液が循環するようにする。セル内が $37 \pm 0.1^\circ$ となった後、坐剤

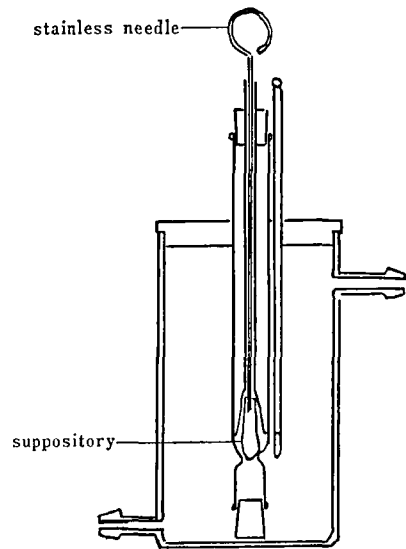


Fig. 1. Apparatus for measurement of softening time

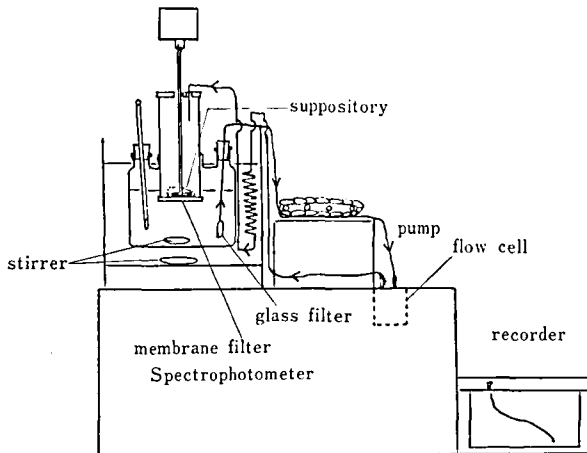


Fig. 2. Apparatus for the releasing test

1個を入れ、セル内を攪拌棒で 25 rpm で回転させる。装置を作動し、放出曲線を記録計で記録させる (Fig. 2)。

結果及び考察

1. 基剤の種類と薬物放出性

Witepsol H15, W35 及び S55 の三種の基剤を用いた Sp, Am 及び Im 坐剤につきメンブランフィルター法により放出性を検討した。

Sp 及び Am いずれも H15 及び S55 いずれの基剤も 30分～1時間でほとんど 100% 放出したが W35 ではいずれも放出性が悪かった。特に Sp は W35 では放出性が極めて悪く 2時間以上でも放出率約 80% であった。また、Im は H15 で 1時間以上また S55 及び W35 では 2時間以上でも放出率約 90% であった。Im がいずれの基剤でも放出性が悪いのは Im が疎水性が強いいため Witepsol の如き疎水性基剤との親和性が大きいためと思われる。Sp の如く親水性のもの

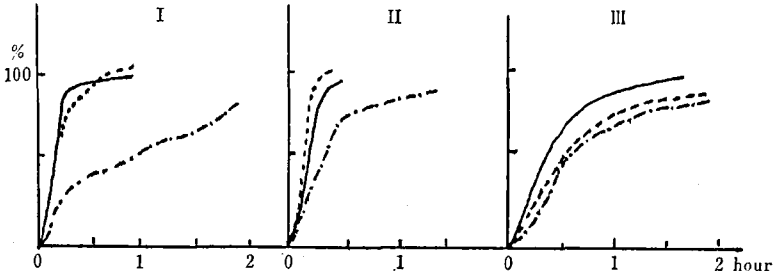


Fig. 3. Release of drug from suppository

I : Aminopyrine —: H-15
 II : Sulpyrine - - - : S-55
 III : Indomethacin - · - : W-35

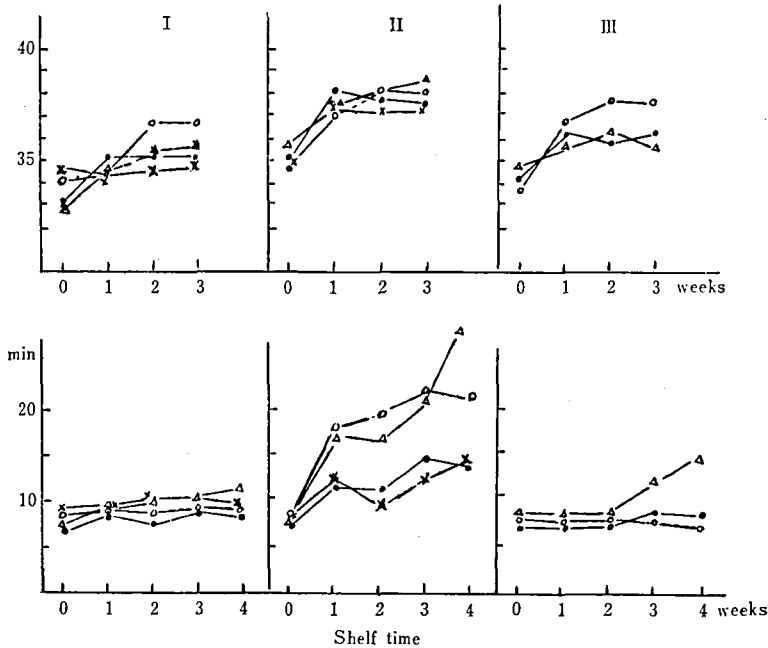


Fig. 4. Change of melting point and softening time of suppository

I : H-15 II : W-35 III : S-55
 —x— no drug —●— Aminopyrine
 —○— Indomethacin —△— Sulpyrine
 Upper figures: melting point (°)
 Lower figures: softening time (min)

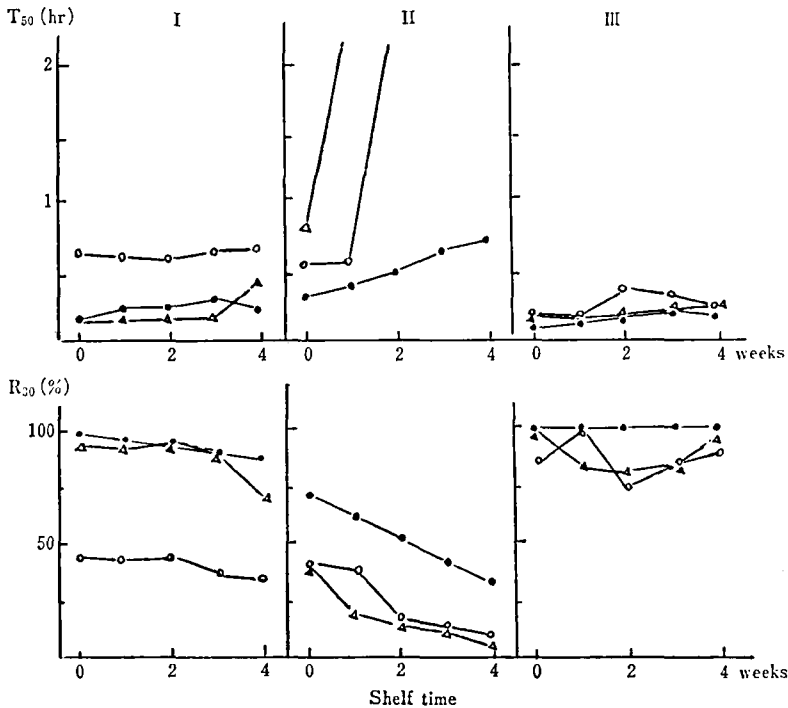


Fig. 5. Change of T_{50} (time for 50% release, upper) and R_{30} (release % at 30 min, lower) of suppository

I: H-15 II: W-35 III: S-55

●—Aminopyrine, —△— Sulpyrine, —○— Indomethacin

また Am の如く疎水性の弱い薬物は H15 の如くヒドロキシル価の小さい基剤では放出性が良好である。また S55 の如くヒドロキシル価が大でかつ界面活性剤の配合されたものはいずれの薬物も放出性が良好である。W35 はステアリン酸モノグリセリドが配合されているためか、いずれの薬物に対しても放出性が悪く、特に Sp はその影響が大である。丹野らはカカオ脂基剤にミツロウを加え、その増加により Sp の放出性が悪くなるとの報告をしている⁹⁾。

2. 融点及び軟化時間の変化

油脂性基剤の融点及び軟化時間の変化は保存温度依存性が大きく 20° 以上の条件では融点 (mp) の上昇及び軟化時間 (ST) の遅延が大となることは報告されている¹⁾。Sp, Am 及び Im の各薬物を配合した H15, W35 及び S55 の三種の基剤につき 30° で 1~3 週間保存し、それぞれの mp 及び ST の変化を検討した。いずれの基剤も mp 及び ST の上昇及び遅延を示した。

H15 及び S55 は mp の上昇率に比べて ST の遅延の度合いが少ないが、W35 は Sp の遅延度が極めて大である。基剤の mp 及び ST の変化は polymor-

phism に起因することが知られているが、薬物の種類により差があるのは経時変化による基剤と薬物の相互作用が原因となると思はれる。

3. 主薬の放出性の変化

上記の試料につき 30° で 1~4 週間放置したものにつき 50% 溶出時間 (T_{50}) 及び 30 分溶出率 (R_{30}) の変化を検討した。

Fig. 5 に示すとおり H15 では Im は Sp 及び Am に比べて T_{50} 及び R_{30} が悪いが S55 ではいずれの薬物も大差が無いのは、界面活性剤が S55 に配合されているためその効果により放出性が良くなっている。W35 ではモノグリセリドの影響と思はれるが、放出性が悪く Sp 及び Am はその影響も大でかつ経時変化も大となる。

結 語

3 種の薬物につきヒドロキシル価の異なる疎水性基剤との相互作用と経時変化を検討した。W35 は mp 及び ST の経時変化が大であり主薬の放出性も悪くなる。特に Sp 及び Im はその影響が大である。W35 における薬物の放出の遅延現象は基剤自身の物性変化

のみならず薬物相互作用に起因すると思はれる。S55の如くヒドロキシル価が大(50~65)でかつ界面活性剤の配合されたものは薬物の水層への分配が大となり、放出性が良好となる。H15の如くヒドロキシル価の小さい(15~20)基剤に対してはImの如き疎水性の大きな薬物の親和性が大であり、Sp及びAmに比べて放出性が悪くなる。油脂性基剤からの薬物の放出は薬物の疎水性及び基剤のヒドロキシル価また添加剤の影響が大である。また油脂性基剤は保存条件による経時変化が大であるから坐剤の保存に注意を要する。特にW35の如く経時変化も大きく、かつある種の薬物に対して放出性を極度に悪化させる基剤は製剤設計上注意を要する。今後、放出性と血中濃度変化との相関性を検討する予定である。

文 献

- 1) 吉野廣祐, 小林征雄, 鮫島政義: 薬剤学, **41**, 102 (1981)
- 2) 村西昌三, 大久保洋子, 瀬崎 仁: 薬剤学, **39**, 1 (1979)
- 3) 田部和久, 郡 孝子, 澤ノ井政美, 鎌田 皎, 山崎 勝: 病院薬学, **8**, 294 (1982)
- 4) 丹野慶紀, 今井明子: 病院薬学, **3**, 34 (1977)
- 5) 田部和久, 澤ノ井政美: 医薬ジャーナル, **17**, 65 (1981)
- 6) L. Krowczynski: *Acta Poln. Pharm.*, **22**, 149 (1965)
- 7) C. J. de Blaey, J. J. Rutten-Kingma: *Pharm. Acta Helv.*, **52**, 11 (1977)
- 8) A. Moes, F. Jaminat: *Pharm. Acta Helv.*, **51**, 119 (1976)

酵素製剤の定量試験（第3報）

トリプシンを配合したブロメライン製剤

谷本 剛・福田秀男・川村次良

Assay of Enzyme Preparations (III)

Bromelain Preparation Containing Trypsin

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA and Jiro KAWAMURA

The assay method of bromelain in bromelain preparation containing trypsin was studied. When aprotinin and soybean trypsin inhibitor (SBTI) were used as an inhibitor for trypsin, aprotinin completely inhibited trypsin and unaffected bromelain potency, while SBTI inhibited trypsin incompletely and slightly increased the potency of bromelain. Therefore, aprotinin may be preferably used as an inhibitor of trypsin for the assay of bromelain in the trypsin contained bromelain preparation. When this method was applied to the commercially available preparation, the satisfactory results were obtained.

(Received May 31, 1983)

消炎酵素剤としてのブロメライン製剤には単味製剤とトリプシン配合した複合製剤との2種がある。単味製剤の定量試験における問題点は以前に述べており¹⁾、今回はトリプシンを配合した製剤のそれについて述べる。

トリプシン配合ブロメライン製剤中のブロメライン力価を正しく測定するには配合されたトリプシンによる影響を何らかの方法で除く必要があり、実際には、例えば、i) トリプシンをジイソプロピルフルオロホスフェイト (DFP) で阻害してブロメライン力価を測定する、ii) 過酸化水素でブロメラインを失活させて測定した値をトリプシンの力価としこの値を総力価か

ら差し引きその値をブロメライン力価とする、あるいはiii) 家兎血清でトリプシンを阻害してブロメライン力価を測定する、などの方法が各メーカーの規格試験法として採用されている。ところが、i)の方法はDFPのロットの相違によってトリプシンに対する阻害度が異なったり、ブロメラインの力価に影響したり²⁾、ii)の方法は過酸化水素がトリプシンを活性化し、しかもブロメラインを完全に阻害しない³⁾。またiii)の方法は科学的根拠が不明であり、実際に実験を行ってみてもまったくバラバラの結果しか得られない。このように各メーカーの採用している試験方法は良好な結果を与える方法とはいいい難く、品質管理の面からみて

も好ましい試験法とはいえない。そこで、トリプシンを特異的に阻害しプロメラインを選択的に定量することのできる方法を確立するための基礎的検討を行った。

実験方法

1. 試料

トリプシン配合プロメライン製剤は5社から入手し、いずれの製剤も腸溶錠であった。製造承認書によれば1錠当たりプロメラインを20000~25000単位含み、トリプシンはいずれの製剤も2500NF単位含有していた。製剤原料であるプロメライン及びトリプシンはB社から供与されたものである。

2. 試薬・試液

i) アプロチニン：市販品「レパルゾン」(5000 KIE/ml) (持田製薬製)を用いた。

ii) 大豆トリプシンインヒビター：Sigma社から購入した。この1mgは1.7mgのトリプシンを阻害した。

iii) 酵素希釈液：塩酸システイン5.27g、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム2.23g及び塩化ナトリウム23.4gを水に溶かし、1N水酸化ナトリウム試液を加えてpHを4.5に調整した後、水を加えて全量を1000mlとする。用時製する。

iv) 基質液：ハンマーステン法による精製カゼイン0.6gを0.05Mリン酸一水素ナトリウム液80mlに懸濁し、60°で20分間加熱して溶解し、冷後、1N塩酸でpH7.0に調整し、水を加えて100mlとする。用時製する。

v) 沈殿試薬：トリクロル酢酸1.8g、酢酸ナトリウム2.99g及び酢酸1.98gを水に溶かして全量1000mlとする。

vi) チロジン標準品：日本薬局方標準品チロジンを用いる。

3. プロメラインの力価測定法

i) 試料溶液の調製

プロメライン原末の場合、その一定量を量り、酵素希釈液を加えて溶かし、必要があれば遠心分離してその上澄液を得る。これに酵素希釈液及び阻害剤の溶液を加えて1ml中に30~50プロメライン単位を含む液を調製し試料溶液とする。錠剤の場合は、既報の方法⁴⁾のA法に従って試料抽出液を調製し、この試料抽出液に酵素希釈液及び阻害剤の溶液を加えて1ml中に30~50プロメライン単位を含む液を調製し試料溶液とする。

ii) 操作法

試料溶液1mlを正確に量り、試験管に入れ、37±0.5°に5分間保つ。別に37±0.5°に予温した基質液5mlを試験管中の試料溶液に速やかに加え、酵素反応を開始する。正確に10分間経過後、沈殿試薬5mlを加えてよく振り混ぜ、37±1°に40分間放置した後、定量用ろ紙を用いてろ過する。初めのろ液3mlを除き、次のろ液につき、2時間以内に水を対照として波長275nmにおける吸光度Aを測定する。別に試料溶液1mlを正確に量り、沈殿試薬5mlを加えてよく振り混ぜた後、基質液5mlを加え、以下同様に操作して吸光度A₀を求める。更に別にチロジン標準品を精密に量り、0.1N塩酸試液に溶かし、その1ml中にチロジン50.0μgを含む液を調製し、この液につき、水を対照として波長275nmにおける吸光度A_Sを測定する。

1錠中のプロメライン力価

$$= \frac{A - A_0}{A_S} \times 50 \times \frac{11}{10} \\ \times \frac{\text{試料抽出液の希釈倍数} \times 200}{20}$$

結果と考察

1. プロメライン力価測定条件下でのトリプシンのカゼイン分解能

プロメライン力価の測定原理はプロメラインの蛋白分解酵素活性によるカゼインの加水分解から生じた酸可溶性画分のチロジンに対応する量を275nmの吸光度から求めるものであり、その具体的操作法は実験方法の項で述べてある。この操作法によって得られる吸光度AとA₀の差からプロメライン力価を算出するが、

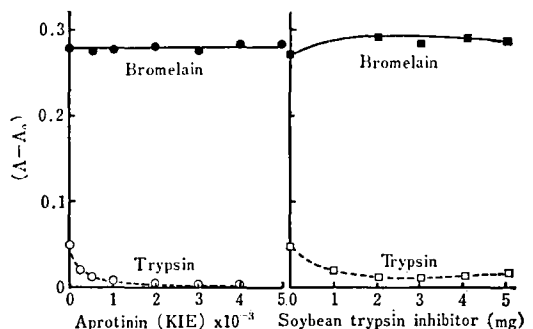


Fig. 1. Effect of aprotinin and soybean trypsin inhibitor on the potencies of bromelain and trypsin

Bromelain (2100 U) + Inhibitor →
50 ml [Bromelain: 42 U/ml]
Trypsin (600 NFU) + Inhibitor →
50 ml [Trypsin: 12 NFU/ml]

Table 1. Effect of aprotinin and soybean trypsin inhibitor on the potencies of bromelain on the absence of trypsin

Inhibitor	n	(A-A ₀)±S.D.	%
—	11	0.271±0.0078	100
Aprotinin (4000 KIE)	12	0.272±0.0088	100.4
SBTI* (4 mg)	12	0.280±0.0073**	103.3

Bromelain (2100 U)+Inhibitor → 50 ml

* soybean trypsin inhibitor

** p<0.01

トリプシンが共存すればこの酵素も蛋白分解酵素であるのでカゼインに作用し、Aの値を高める可能性がある。そこでブロメライン力価測定条件下でのトリプシンのカゼイン分解能を検討した。市販のトリプシン配合ブロメライン製剤は1錠当たりブロメライン 25000~20000単位に対してトリプシンが 2500NF 単位配合されており、ブロメライン力価測定に用いる試料溶液は1ml当たり30~50単位のブロメラインを含むように調製するので、試料溶液1ml当たりトリプシンを3~6.25NF 単位含むことになる。3~6.25NF 単位のトリプシンによる(A-A₀)の値は約0.019~0.027となった。一方、1ml当たり30~50単位のブロメラインを含む試料溶液の(A-A₀)の値は約0.225~0.375であった。したがって、トリプシンの活性を阻害しない場合はトリプシンによるカゼインの分解によってブロメラインの力価がみかけ上7~10%高くなる。

2. ブロメライン及びトリプシンの力価に対するアプロチニン及び大豆トリプシンインヒビターの影響

上述の結果から明らかのようにトリプシン配合ブロメライン製剤のブロメライン力価を正確に測定するにはトリプシンを完全に阻害する必要がある。トリプシンの阻害剤としては蛋白分解酵素インヒビターとしてのアプロチニンや大豆トリプシンインヒビター(SBTI)が考えられるが、これら阻害剤がブロメラインの力価に影響を与えてはならない。そこで、まずアプロチニン及びSBTIのブロメライン力価への影響を検討した。その結果、Fig. 1に示すように、600NF単位のトリプシン(12NF/単位ml)は2000KIEのアプロチニンではほぼ完全に阻害され、ブロメラインの力価は5000KIEのアプロチニンによってもなんらの影響も受けなかった。一方、SBTIは5mgを用いても600NF単位のトリプシンを完全には阻害せず、またブロメラインの力価に対してはそれを若干増加させる傾向にあった。Table 1に示すようにSBTIを添加した系と添加しない系でのブロメライン力価ではp<0.01で有意の差が認められたが、アプロチニンについては有意の

差は認められなかった。

3. トリプシン共存下でのブロメライン力価へのアプロチニン及び大豆トリプシンインヒビターの影響

トリプシンとブロメラインの共存下でのブロメライン力価へのアプロチニン及びSBTIの影響を検討した。Table 2に示すように、ブロメラインとトリプシンが共存する場合の(A-A₀)の値はそれぞれの単独での値の和にほぼ等しいが、2000~5000KIEのアプロチニンを添加するとその値はブロメライン単独での値とほぼ等しいものとなり、Table 3に示すように、4000KIEのアプロチニンをういたとき、ブロメライン単独の値とブロメラインとトリプシンが共存するものの値との間には有意の差は認められなかった。一方、SBTIでは2~5mgの添加によってブロメライン単独での値より8~4%高い値を与え(Table 2)、4mgのSBTIを用いたときのブロメライン単独での値とブロメラインとトリプシンとが共存するものの値との差はp<0.001で有意であった(Table 3)。

4. 市販トリプシン配合ブロメライン製剤のブロメライン力価

以上の結果から、トリプシン配合ブロメライン製剤のブロメライン力価はその試料抽出液をアプロチニンで処理することによって正しく測定することが可能となった。そこで、次のようなアプロチニンをトリプシンの阻害剤として用いる測定法を作成し、市販トリプシン配合ブロメライン製剤に適用してみた。

測定法

錠剤20個を乳鉢にとり、酵素希釈液2mlを加えて粥状にした後、更に酵素希釈液を加えて正確に200mlとし、遠心分離して得た上澄液の1mlにアプロチニン4000KIEを加え5分間放置後、酵素希釈液を加えて正確に50mlとした液を試料溶液とする。この試料溶液を用いて実験方法の部に示した操作法に従い定量を行う。

この方法に基づいた市販製剤5種のブロメライン力価及び阻害剤を添加しない場合、SBTIを阻害剤とし

Table 2. Effect of aprotinin and soybean trypsin inhibitor on the potency of bromelain in the presence of trypsin

Enzyme	Inhibitor	(A-A ₀)	%
Bromelain	—	0.267	100
Trypsin	—	0.023	—
Bromelain+Trypsin	—	0.295	—
Bromelain+Trypsin	Aprotinin (2000 KIE)	0.262	98.1
Bromelain+Trypsin	Aprotinin (3000 KIE)	0.264	98.9
Bromelain+Trypsin	Aprotinin (4000 KIE)	0.266	99.6
Bromelain+Trypsin	Aprotinin (5000 KIE)	0.265	99.3
Bromelain	—	0.268	100
Trypsin	—	0.022	—
Bromelain+Trypsin	—	0.304	—
Bromelain+Trypsin	SBTI* (2 mg)	0.290	108.4
Bromelain+Trypsin	SBTI (3 mg)	0.280	104.4
Bromelain+Trypsin	SBTI (4 mg)	0.281	104.9
Bromelain+Trypsin	SBTI (5 mg)	0.279	104.1

[Bromelain (2100 U)] + Inhibitor → 50 ml [Bromelain: 42 U/ml]
 [Trypsin (300 NFU)] [Trypsin: 6 NFU/ml]

* soybean trypsin inhibitor

Table 3. Effect of aprotinin and soybean trypsin inhibitor on the potency of bromelain in the presence of trypsin

Inhibitor	n	(A-A ₀) ± D. S.	%
—*	15	0.258 ± 0.0030	100
Aprotinin (4000 KIE)**	14	0.261 ± 0.0033	101.2
SBTI (4 mg)**	15	0.272 ± 0.0054**	105.4

* Bromelain (2000 U) → 50 ml

** Bromelain (2000U) + Trypsin (300NFU) + Inhibitor → 50 ml

*** p < 0.001

Table 4. Potencies of bromelain in commercially available bromelain tablets containing trypsin found by several methods

Tablet (Bromelain potency per tablet)	Potency of bromelain; units/tablet, (%)*			
	No inhibitor	+Aprotinin	+SBTI	Approved method
A (25000U)	28750(115.0)	27650(110.6)	27770(111.1)	25330(101.3)
B (20000U)	37110(185.6)	34940(174.7)	35450(177.3)	28840(144.2)
C (25000U)	25580(102.3)	22390(89.6)	22900(91.6)	23300(93.2)
D (20000U)	30140(150.7)	28160(140.8)	29030(145.2)	20780(103.9)
E (20000U)	16170(80.9)	13780(68.9)	13950(69.8)	15380(76.9)

* % against labeled amount

た場合あるいは試造承認書に記載の阻害方法を用いた場合の力価を Table 4 に示したが、アプロチニンを阻害剤としたときの値が各製剤の承認された阻害方法での力価や表示力価と大きく異なるものが4検体あった。このうち3検体は高い値を示し1検体は低い値を示した。これらの原因は各製剤の承認された測定方法における試料溶液の調製法、トリプシンの阻害方法、測定条件などの差異によるものと考えられる。

Table 4 の阻害剤を添加しないで得た値はプロメラインとトリプシンの両力価の和と考えられるが、この値はトリプシンが完全に阻害されていると考えられるアプロチニン添加の系の値より3~12%高く、このことは1で述べたモデル実験の結果とよく一致した。ま

た、SBTI 添加の系の値がアプロチニン添加の系の値より1~4%高い値を示したことも3で述べたモデル実験の結果とよく一致している。1~4の結果を総合して考えると、アプロチニン添加の系で測定した値が他の系で測定した値よりも製剤中のプロメライン力価をより正確に示していると考えられる。

文 献

- 1) 谷本 剛ら：衛生試験報, 98, 91 (1980)
- 2) 私信
- 3) 西崎 征夫ら：衛生試験報, 90, 89 (1972)
- 4) 谷本 剛ら：衛生試験報, 100, 141 (1982)

酵 素 製 剤 の 定 量 試 験 (第 4 報)

カリジノゲナーゼ

谷本 剛・福田秀男・川村次良

Assay of Enzyme Preparations (IV)

Kalligenogenase

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA and Jiro KAWAMURA

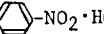
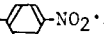
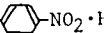
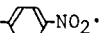
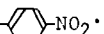
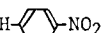
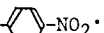
The enzymatic assay method of kalligenogenase was established. Kalligenogenase activity was determined spectrophotometrically at $30 \pm 0.5^\circ$ by measuring the increase in absorption of *p*-nitroaniline resulting from the hydrolysis of H-D-valyl-leucyl-arginine-*p*-nitroanilide (S-2266) at 405 nm. The reaction mixture contains, in a final volume of 3.0 ml, the following components: S-2266 solution (10 mg in 50 ml of 0.1 M Tris-HCl buffer, pH 8.0), 2.5 ml and sample solution (4 international units of kalligenogenase in 10 ml of 0.05 M phosphate buffer, pH 7.0, containing 0.5 mg soybean trypsin inhibitor), 0.5 ml. The reaction is started by the addition of sample solution, and the absorptions at 2 and 6 min after the start of the reaction are measured. These absorptions for kalligenogenase standard are also measured in the same manner. The potency is calculated from the ratio of both differences in the absorptions at 2 and 6 min obtained by sample and standard solution. When this established assay method was applied to the some kalligenogenase sample, the satisfactory results were obtained.

(Received May 31, 1983)

従来、カリジノゲナーゼ製剤の定量試験にはイヌ血漿増加測定法を用いる生物学的測定法が採用されていた。しかし、この方法は操作が繁雑であるためにこれに代るべき方法としてカリジノゲナーゼのもつ触媒活性性を利用した酵素活性測定法の確立を試みた。ブタすい性カリジノゲナーゼは現在までに開発されているアルギニンエステル類¹⁾やペプチドの *p*-ニトロアニリド類²⁾ のいくつかの合成基質に対して作用するが、これら合成基質はトリプシンやプラスミンなど他のプロテ

アーゼによっても作用を受け、ブタすい性カリジノゲナーゼに特異的な合成基質はまだ開発されていない。しかし、ブタすい性カリジノゲナーゼ標品に混在する可能性のあるプロテアーゼ、特にトリプシンを阻害することによってこれら合成基質を用いてもブタすい性カリジノゲナーゼのみを特異的に測定することは可能であるので、種々ある合成基質のうちでも比較的ブタすい性カリジノゲナーゼに対して特異性の高い H-D-バリル-ロイシル-アルギニン-*p*-ニトロアニリド (S-

Table 1. Substrate specificity of pancreatic and plasma kalliginogenase²⁾

Substrate	Structure	Relative activity (%) [*]	
		Pancreatic kalliginogenase	Plasma kalliginogenase
S-2160	Bz-Phe-Val-Arg-NH-  -NO ₂ ·HCl	0.9	3
S-2238	H-D-Phe-Pro-Arg-NH-  -NO ₂ ·2HCl	18	18
S-2222	Bz-Ile-Glu-(r-OR)-Gly-Arg-NH-  -NO ₂ ·HCl	0.5	0.8
S-2251	H-D-Val-Leu-Lys-NH-  -NO ₂ ·2HCl	67	24
S-2302	H-D-Pro-Phe-Arg-NH-  -NO ₂ ·2HCl	143	270
S-2444	Pyro-Glu-Gly-Arg-NH-  -NO ₂ ·HCl	0.2	0.2
S-2266	H-D-Val-Leu-Arg-NH-  -NO ₂ ·2HCl	118	6

* relative activity against the activity of trypsin on each substrate.

2266) (Table 1) を基質にしたカリジノゲナーゼ測定法を検討し、その測定法試案を作成したので報告する。

実験方法

1. 試料

バイエル薬品株式会社から購入した精製プタすい性カリジノゲナーゼの凍結乾燥標品 (表示単位: 107 国際単位/アンブル) を用いた。本試料は 1 アンブル中に乳糖を 5mg 含有している。なおこの試料は国立衛生試験所標準品に相当するものである。

2. 標準品

WHO から分与された国際標準品 (22.5 国際単位/アンブル) を使用した。

3. 試薬・試液

i) リン酸塩緩衝液: pH 7.0 の 0.1 M リン酸塩緩衝液 500 ml に水を加えて 1000 ml とする。

ii) トリス塩酸緩衝液: トリスヒドロキシメチルアミノメタン 2.42 g に水 100 ml を加えて溶かし、これに塩酸を加えて pH 8.0 に調整した後、水を加えて 200 ml とする。

iii) トリプシンインヒビター溶液: 大豆トリプシンインヒビター 5mg にリン酸塩緩衝液を加えて溶かし全量を 10 ml とする。

iv) 基質液 A: H-D-バリン-ロイシル-アルギニン-p-ニトロアニリド・2 塩酸塩 (S-2266) 9.8mg にトリス塩酸緩衝液を加えて溶かし全量を 50 ml とする。

v) 基質液 B: S-2266 の 19.6mg を量り、トリス塩酸緩衝液を加えて溶かし全量を 50 ml とする。

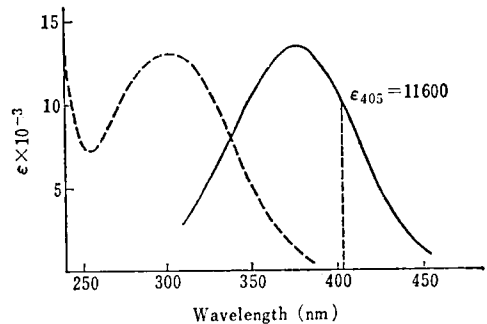
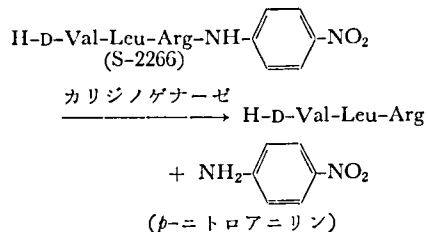


Fig. 1. Absorption spectra of H-D-Val-Leu-Arg-p-nitroanilide and p-nitroaniline³⁾
 -----: H-D-Val-Leu-Arg-p-nitroanilide
 ———: p-nitroaniline

4. カリジノゲナーゼの酵素活性測定法



測定原理は基質、S-2266 にカリジノゲナーゼを作用させると上の式に示す反応が進行し、遊離した p-ニトロアニリンの量を分光学的に測定し、分解した基質の量を求めるものである。p-ニトロアニリンの極大吸収は 380 nm にあるが、この波長では基質も吸収をもつので (Fig. 1), 未反応基質の影響のない 405 nm

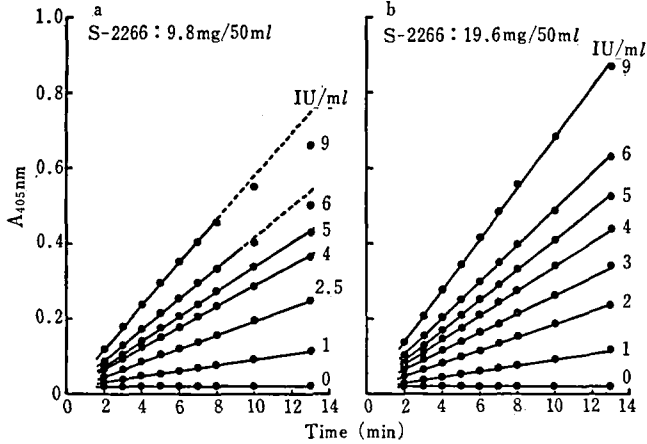


Fig. 2. Correlation between the absorbance at 405 nm and the reaction time on the various kalliginogenase concentrations

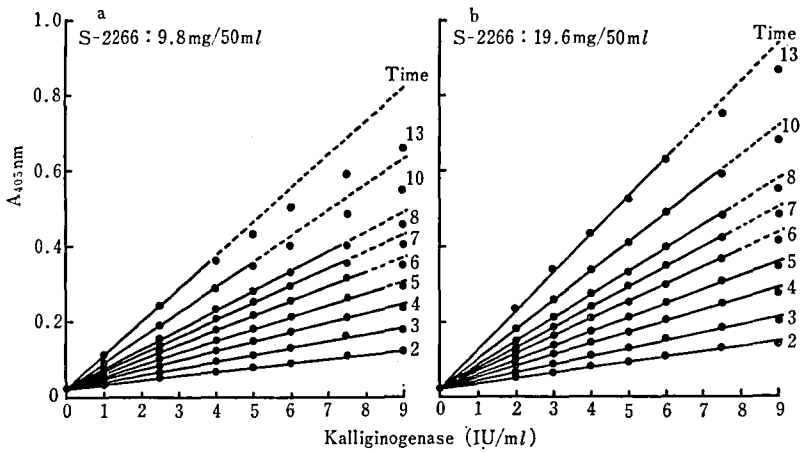


Fig. 3. Correlation between the absorbance at 405 nm and the concentration of kalliginogenase on the various reaction times

で測定する。

操作法は、30°で5分間予温した基質液 2.5 ml に同じく 30°で5分間予温した試料溶液 0.5 ml を加えて酵素反応を開始し、波長 405 nm における吸光度の変化を経時的に追跡する。なお、基質液に試料溶液を加え反応を開始したのち分光光度計で吸光度変化を測定するため、反応初期の吸光度変化は正確に測定できない可能性があるため、正確に反応開始 2 分後の吸光度を記録しその後経時的に吸光度を記録し、吸光度の変化を追跡していった。

結果と考察

カリジノゲナーゼ濃度、基質濃度及び反応時間の決定

試料を表示単位に従ってリン酸塩緩衝液に溶かし 1 ml 中に 1~9 国際単位を含む溶液を調製し、試料溶液とした。基質液 A を用いて酵素活性測定操作法に従って操作し、波長 405 nm における吸光度の変化を追跡すると、Fig. 2a に示すように 1~5 国際単位/ml の範囲のカリジノゲナーゼ濃度では少なくとも 13 分間は直線的に反応が進行した。しかし、それ以上の酵素濃度では時間の経過とともに反応の進行は鈍化し、反応の直線性は 7~8 分間しかみられなかった。一方、

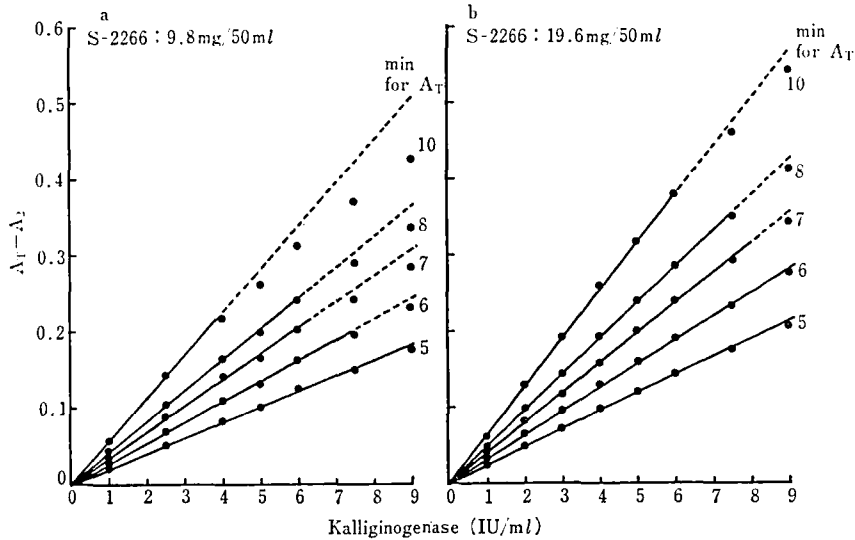


Fig. 4. Correlation between the value of ($A_T - A_2$) and the concentration of kalligenogenase on the various reaction times

基質液Bを用いたときは、9国際単位/mlのカリジノゲナーゼ濃度でも13分間は直線的に反応が進行した (Fig. 2b).

基質液Aを用いて種々の反応時間における吸光度の変化量の酵素濃度依存性を調べてみると、反応時間3分間までは0~9国際単位/mlの範囲で吸光度変化量は酵素濃度に比例しており、0~6国際単位/mlの範囲では反応時間8分間までは酵素濃度に比例していた (Fig. 3a). 基質液Bを用いれば、0~6国際単位/mlの範囲では反応時間13分間まで酵素濃度に比例した (Fig. 3b). なお、カリジノゲナーゼを含まない反応液、すなわち基質液のみでは吸光度の変化はまったく認められなかった。

基質液A及びBを用いたときの各酵素濃度における反応開始10, 8, 7, 6あるいは5分後の吸光度 (A_T) と反応開始2分後の吸光度 (A_2) の差を求めてみると Fig. 4 のようになり、 $A_T - A_2$ の値は基質液Aでは反応開始8分後までは0~6国際単位の範囲で酵素濃度に比例し、基質液Bを用いると0~6国際単位の範囲では反応開始10分後でも酵素濃度に比例した。

同じ酵素濃度で比較したときの $A_T - A_2$ の値は基質液Bを用いた方が基質液Aの場合よりも大きい値を示したが、基質濃度には比例しなかった。このことは基質液A及びBの濃度が十分に過剰量でないことを示すものであるが、測定条件を一定にした標準品を用いる試験法においては、この点は問題とはならないと考えられる。

ところで、製剤の定量法としては、吸光度の変化量が酵素濃度や反応時間に比例する条件を設定したとしても $A_T - A_2$ の絶対値が小さすぎることは好ましいことではなく、0.3~0.4の値になることが望ましいと考える。しかし、この値を得るには基質濃度及び酵素濃度を著しく高くする必要があり、本定量法に用いようとする基質 S-2266 は極めて高価な試薬であること、製剤からカリジノゲナーゼを抽出したときに得られる酵素濃度にはある限度があることなどから、このような値を得るような測定条件を設定することは避けざるを得なかった。そこで、 $A_T - A_2$ の値が少なくとも0.1以上の値になることを許容の限界とし、この条件と上で述べた実験結果とから総合的に判断して、標準溶液及び試料溶液の濃度は4国際単位/ml、反応時間は6分間と決定し、この条件に基づくカリジノゲナーゼの定量法を作成した。

カリジノゲナーゼの定量法

「試料の表示単位に従い、その適量を精密に量り、リン酸塩緩衝液を加えて溶かし、その1ml中に10単位を含む液を製し、これを試料原液とする。試料原液4mlを正確に量り、10mlのメスフラスコに入れ、これにトリプシンイヒビター溶液1mlを正確に加え^{注1)}、更にリン酸塩緩衝液を加えて10mlとし、試料溶液とする。あらかじめ $30 \pm 0.5^\circ$ に5分間加温した。基質溶液^{注2)} 2.5mlを層長10mmのセルに入れ、これに $30 \pm 0.5^\circ$ で5分間加温した試料溶液0.5mlを加えると同時に秒時計を始動させ、 $30 \pm 0.5^\circ$ で水を対

照として2分及び6分後の波長405nmにおける吸光度 A_{T2} 及び A_{T6} を測定する。別に、カリジノゲナーゼ標準品1アンプルをとり、リン酸塩緩衝液を加えて溶かし、正確に10mlとし、この液4mlを正確に量り、10mlのメスフラスコに入れ、これにトリプシンインヒビター溶液1mlを正確に加え、更にリン酸塩緩衝液を加えて10mlとし、標準溶液とする。標準溶液0.5mlにつき、試料溶液の場合と同様に操作して、2分及び6分後の吸光度 A_{S2} 及び A_{S6} を測定する。別に、トリプシンインヒビター溶液1mlを正確に量り、10mlのメスフラスコに入れ、リン酸塩緩衝液を加えて10mlとした液0.5mlにつき、試料溶液の場合と同様に操作して、2分及び6分後の吸光度 A_{02} 及び A_{06} を測定する。これらの得られた値から、次式により試料1mg当たりの単位数を計算する。]

試料1mg当たりの単位数

$$= \frac{(A_{T6} - A_{T2}) - (A_{06} - A_{02})}{(A_{S6} - A_{S2}) - (A_{06} - A_{02})} \times \frac{a}{10} \times \frac{1}{b}$$

a: 標準品の採取量 (単位)

b: 試料原液1ml中の試料の量 (mg)

注1) 実験方法の部の3. 試薬・試液 iii) トリプシンインヒビター溶液を用いる。

注2) S-2266 (H-D-パリル-ロイシル-アルギニン-p-ニトロアニリド) 10.0mg にトリス塩酸緩衝液を加えて溶かし全量を50mlとする。

なお、上記定量法でトリプシンインヒビターを添加したのは製剤原料中にトリプシンあるいはトリプシン様物質が混在している危険性が指摘されており³⁾このトリプシンの影響を除去する目的である。

ここに述べた定量法に基づいて、バイエル薬品株式会社から購入した試料の定量を、国際標準品をカリジノゲナーゼ標準品として行ってみた。ここで用いた試料は国立衛生試験所標準品に相当するものであり、アンプルに充てんされており、1アンプル当たりの表示量は約107国際単位であった。したがって、試料1アンプルをリン酸塩緩衝液に溶かし正確に10mlとしたものを試料原液とした。また、カリジノゲナーゼ標準

品として国際標準品を用いたが、国際標準品は1アンプル中に22.5国際単位を含むために、この1アンプルをリン酸塩緩衝液4mlで溶かしこれにトリプシンインヒビター溶液0.5mlを正確に加え、更にリン酸塩緩衝液を加えて正確に5mlとしたものを標準溶液とした。

定量結果をTable 2に示したが、20回の測定で1アンプル中の平均単位は113.0国際単位であり、標準偏差(S.D.): ±1.603, 標準誤差(S.E.): ±0.3584,

Table 2. Assay of kalliginogenase potency

Exp. No.	$\frac{(A_{T6} - A_{T2}) - (A_{06} - A_{02})}{(A_{S6} - A_{S2}) - (A_{06} - A_{02})}$	IU/Ampoule
1	1.017	114.4
2	1.000	112.5
3	1.000	112.5
4	1.009	113.5
5	1.009	113.5
6	0.991	111.5
7	1.043	117.3
8	1.017	114.4
9	0.991	111.5
10	0.983	110.6
11	1.009	113.5
12	1.000	112.5
13	1.000	112.5
14	0.983	110.6
15	1.000	112.5
16	1.017	114.4
17	1.017	114.4
18	1.000	112.5
19	0.991	111.5
20	1.017	114.4
	Mean	113.03
	S.D.	1.603
	S.E.	0.3584
	Range of confidence(95%)	112.3-113.8 (±0.664%)
	C.V.	1.42%

Table 3. Stability of kalliginogenase standard solution

Sample	Storage	Remaining potency (%)			
		0 day	3 day	7 day	12 day
Sample original solution	Room temperature	100	96.5	93.6	91.1
	Cold place	100	100.7	99.6	100.0
Sample solution	Room temperature	100	98.9	97.6	94.1
	Cold place	100	100.3	98.7	98.7

信頼限界 (95%) : 112.3~113.8 ($\pm 0.664\%$), 変動係数 (C. V.): 1.42% であり, きわめて満足すべき結果が得られた。

カリジノゲナーゼ水溶液の安定性

「カリジノゲナーゼの定量法」の項で述べた試料原液及び試料溶液を冷所 (冷蔵庫内) 及び室温 (約23°) に放置し, 3, 7, 12日後にそれらの力価を上述の定量法に基づいて測定した。試料原液及び試料溶液ともに冷所保存では少なくとも3日間はまったく力価の低下はみられなかった。一方, 室温保存では3日後で若干の力価の低下がみられ, 以後時間の経過に伴って力価は低下していった (Table 3)。なお, 試料原液の方が試料溶液より力価の低下の程度が大きい傾向にあったが, これは試料溶液にはトリプシンインヒビターが含まれ

ており, 試料原液の方が全蛋白質量が少ないためであろうと考えられる。

ここで得た結果から, 本報で述べた方法で調試したカリジノゲナーゼの水溶液は冷所で保存するかぎりにおいてはある程度は安定であると思われ, 少なくとも実験中における力価の低下は無視することができると考えられる。

文 献

- 1) 守屋 寛, 阿部主志: カリクレイン・キニン, p. 241 (1982), 講談社サイエンティフィック
- 2) 藤巻道男ら: 医用酵素, 3, 557 (1980)
- 3) I. Witt: *New Methods for the Analysis of Coagulation using Chromogenic Substance*, Walter de Gruyter (1977)

酵素製剤の品質に関する研究 (第4報)

セアプローゼ S 製剤

谷本 剛・福田秀男・川村次良

Studies on the Quality of Enzyme Preparation (IV)

Seaprose S Preparation

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA and Jiro KAWAMURA

The results of the assay for Seaprose S, the disintegration test, the weight variation test and polyacrylamide gel electrophoresis carried out on commercially available Seaprose S preparations (enteric coated preparations) (tablet: 5 samples, capsule: 3 samples and granula: 1 sample) were described. Each preparation was found to contain 100-110% of the labeled amount. The preparations tested were all complied with the disintegration test for enteric coated preparation defined in J.P. IX. The weight variation test was just applied to the Seaprose S preparations for fact-finding, though this test in J.P. is not defined for any coated preparation, and all of the samples were found to be in the deviation range for "Tablet" or "Capsule" in J.P. X. The same electrophoresis pattern containing one main and two minor bands was showed in three preparations (sample number 6, 7 and 8). Two minor bands may be due to the degradation products owing to autolysis of Seaprose S.

(Received May 31, 1983)

セアプローゼ S は *Aspergillus melleus* 産生の蛋白分解酵素, semi-alkaline proteinase であり, 消炎酵素剤として臨床に広く使用されている。本酵素の至適 pH は 8, 安定 pH は 5~9 であり, アミノ酸 314 個から成る分子量約 30000 の蛋白質であって, その等電点は 6.5 である¹⁾。本酵素の活性中心はセリン残基であり, トリプシンなどと同じセリン-プロテアーゼに属する酵素である¹⁾。今回, このセアプローゼ S を含有する製剤の品質を主に製剤学的立場から検討したの

で, その結果を報告する。

実 験 方 法

1. 試料

カプセル剤: 3 種類 (検体番号, 1~3), 錠剤: 5 種類 (検体番号, 4~8), 顆粒剤: 1 種類 (検体番号, 9) の合計 9 種類を試料として使用した。なお, いずれの検体も腸溶性製剤であった。

2. 重量偏差試験

日局10. 重量偏差試験法、錠剤及びカプセル剤の項に準じて試験した。

3. 崩壊試験

日局9. 崩壊試験法（6）腸溶性の製剤1の項に従って試験した。

4. 定量試験

i) 試験溶液の調製

錠剤：試料10個を乳鉢にとり、0.02 M リン酸緩衝液（pH 8.0）（以下リン酸緩衝液と称す）2 ml を加えてすりつぶし、かゆ状とした後、200 ml のメスフラスコに移す。乳鉢をリン酸緩衝液でよく洗い、洗液はメスフラスコに合せ、リン酸緩衝液を加えて200 ml とする。この液を遠心分離し、得られた上澄液を試料抽出液とする。試料抽出液適量を正確に量り、リン酸緩衝液を加えて1 ml 中に10 μ g のセアプローゼS（セアプローゼS 1mg は2000単位に相当する）を含む液を調製し、試料溶液とする。

カプセル剤：試験20個の内容物の重量を精密に量り、セアプローゼS 25mg に対応する量を精密に量り取り、乳鉢に入れ、リン酸緩衝液適量を加えてすりつぶし、かゆ状とした後、200 ml のメスフラスコに移す。以下、錠剤と同様に操作して試料溶液を調製する。

顆粒剤：試料1gを精密に量り、乳鉢に入れ、以下カプセル剤と同様に操作して試料溶液を調製する。

ii) 操作法

試料溶液1 ml を正確に量り、試験管に入れ、37 \pm 0.5 $^{\circ}$ に5分間保つ。別に37 \pm 0.5 $^{\circ}$ に予温した基質液5 ml を試験管中の試料溶液に速やかに加え、酵素反応を開始する。正確に10分間経過後に沈殿試薬5 ml を加えてよく振り混ぜ、37 \pm 1 $^{\circ}$ に40分間放置した後、定量用ろ紙を用いてろ過する。初めのろ液3 ml を除き、次のろ液2 ml を正確に量り、炭酸ナトリウム溶液（3 \rightarrow 50）5 ml 及びうすめたフォルイン試液1 ml を加えて振り混ぜ、37 \pm 1 $^{\circ}$ で30分間放置した後、660 nm における吸光度Tを測定する。別に試料溶液1 ml を正確に量り、沈殿試薬5 ml を加えてよく振り混ぜた後、基質液5 ml を加えて、以下同様に操作して吸光度T₀を求める。更に別にチロジン標準品を精密に量り、0.1 N 塩酸試液に溶かし、その1 ml 中にチロジン20.0 μ g を含む液を調製し、この液2 ml を正確に量り、炭酸ナトリウム溶液5 ml 及びうすめたフォルイン試液1 ml を加えて振り混ぜ、37 \pm 1 $^{\circ}$ で30分間放置した後、660 nm における吸光度Sを求める。別に0.01 N 塩酸試液2 ml を正確に量り、以下チロジン標準液と同様に操作して吸光度S₀を求める。

iii) 力価の算出

上記条件で1分間に1 μ g のチロジンに対応するフォルイン呈色物を生成する酵素量を1単位とし、次の式によって算出する。

$$\begin{aligned} & \text{試料1錠あるいは1カプセル当たりの単位} \\ & = \frac{T-T_0}{S-S_0} \times 40 \times \frac{11}{2} \times \frac{1}{10} \times 200 \times \left(\frac{\text{試料原液の}}{\text{希釈倍数}} \right) \end{aligned}$$

試料1g当たりの単位

$$\begin{aligned} & = \frac{T-T_0}{S-S_0} \times 40 \times \frac{11}{2} \times \frac{1}{10} \times 200 \times \left(\frac{\text{試料原液の}}{\text{希釈倍数}} \right) \\ & \times \frac{1000}{\text{試料の採取量}} \end{aligned}$$

iv) 試薬・試液

沈殿試薬：トリクロル酢酸18g、酢酸ナトリウム30g及び酢酸19 ml に水を加えて1 l とする。

基質液：ハンマーステン法による精製カゼイン1.2gを0.1 M リン酸緩衝液（pH 8.0）100 ml に加え、60 $^{\circ}$ で20分間加熱して溶かし、pH を8.0に調整したのち、水を加えて200 ml とする。

うすめたフォルイン試液：フェノール試薬（和光純薬株式会社製）を水で3倍に希釈して用いる。

5. ポリアクリルアミドゲル電気泳動

Davis の方法²⁾に従って、pH 9.4 用ゲルを調製して電気泳動を行った。検体（6, 7, 8）1錠を7.5 ml のリン酸緩衝液で抽出し、遠心分離して得た上澄液0.1 ml をゲルに慣らし、1管当たり2 mA で100分間泳動した。泳動後、ゲルはアミドブラック10Bで染色した。

結果と考察

1. 重量偏差試験

セアプローゼS製剤は腸溶性の製剤であり、しかも糖衣を施したのもあった。日局には腸溶性膜や糖衣などの剤皮を施した製剤についての重量偏差試験法の規定はないが、剤皮を施した製剤の重量偏差の実態を把握する目的で日局の試験法に準じて試験を行った。

Table 1 に示すように、カプセル剤3検体、錠剤5検体のいずれにおいても偏差の基準を越えるものはまったく存在しなかった。また、変動係数（C.V.）はすべての検体で2以下であった。これらの結果から、今回入手したセアプローゼS製剤は、剤皮を施した製剤であるにもかかわらずその重量偏差はよく管理されているものと思われた。

2. 崩壊試験

錠剤のみを試験した。いずれの錠剤も第1液による120分間の上下運動では腸溶性膜の開口や崩壊は認め

Table 1. The weight variation test for Scaprose S preparations

Sample No.	Form ^{a)}	Average weight (mg)	Range of weight (mg)	Number of tablet or capsule having the deviation of more than 10 or 7.5%	C.V. ^{b)}
1	C	255.2	245.9~264.5	0 (>10%)	1.68
2	C	347.7	341.3~355.3	0 (>10%)	1.12
3	C	248.6	242.8~254.8	0 (>10%)	1.47
4	T	90.5	88.0~92.5	0 (>10%)	1.39
5	T	120.7	117.7~125.9	0 (>7.5%)	1.72
6	T	150.2	147.4~152.5	0 (>7.5%)	0.83
7	T	121.4	116.5~125.4	0 (>7.5%)	1.96
8	T	167.8	163.3~173.5	0 (>7.5%)	1.82

a) C: capsule, T: tablet

b) coefficient of variation: (standard deviation/average weight) × 100

Table 2. Effect of 1st fluid (JP IX) on the content of Scaprose S

Sample No.	No treatment		Shaking for 2h in 1st fluid	
	units/tablet, capsule or g	(%)*	units/tablet, capsule or g	(%)*
1	22440	(112.0)	19400	(97.0)
2	22210	(111.0)	20330	(101.7)
6	31030	(103.4)	31810	(106.0)
7	32410	(108.0)	33720	(112.4)
8	31620	(105.4)	31500	(105.0)
9	20430	(102.2)	19720	(98.6)

* % against labeled amount

Table 3. Contents of enzyme activity in Scaprose S preparations

Sample No.	Form ^{a)}	Labeled amount (units/tablet, capsule or g)	Range of permissible content (%)	Enzyme activity	
				units/tablet, capsule or g	(%)
1	C	20000	90~125	22440	(112.2)
2	C	20000	80~120	22210	(111.0)
3	C	10000	80~120	10100	(101.0)
4	T	10000	90~110	10590	(105.9)
5	T	20000	90~110	21520	(107.6)
6	T	30000	90~110	31030	(103.4)
7	T	30000	80~120	32410	(108.0)
8	T	30000	90~110	31620	(105.4)
9	G	20000	80~120	20430	(102.2)

a) C: capsule, T: tablet, G: granule

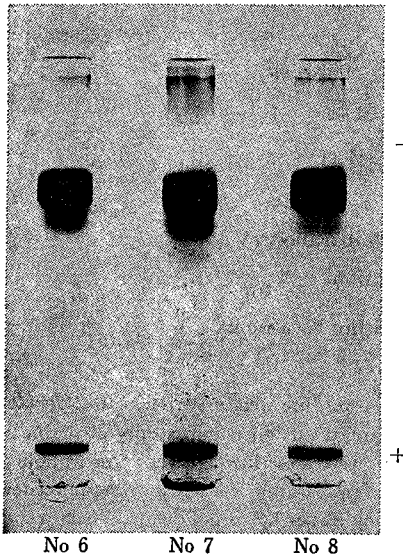


Fig. 1. Polyacrylamide gel electrophoresis of commercially available Seaprose S preparations

られなかった。引き続きに行った第2液による試験で全検体とも30分以内に試料6個がすべて崩壊した。

また、第1液で120分間振盪したのちの検体のセアプローゼS活性の含量を測定したところ、Table 2に示すように、錠剤（検体番号：6, 7, 8）ではまったく含有量に変化は認められなかった。カプセル剤（検体番号：1, 2）の内容物及び顆粒剤（検体番号：9）については約10%程度の含量低下がみられたが、なお表示量に対して97~102%の含有量を示し、大きな問

題ではなかった。このことから、これら製剤の腸溶皮膜の性状は良好なものと考えられた。

3. 定量試験

セアプローゼS製剤の定量結果をTable 3に示した。含量規格値が80~120%のものが4検体、90~110%のものが4検体、90~125%のものが1検体あったが、各検体の定量値はそれぞれの含量規格値にすべて適合した。

4. ポリアクリルアミドゲル電気泳動

3種の検体（検体番号：6, 7, 8）とも同様の泳動像を示した（Fig. 1）。つまり、3検体とも主蛋白染色帯の他に移動度の大きい2種の蛋白染色帯が認められた。

セアプローゼ製剤はその原料である酵素として単一結晶酵素を使用していることが添付文書に記されているが、電気泳動的には単一酵素であることは証明できなかった。しかし、移動度の大きい2種の蛋白は原末由来の不純蛋白ではなく、おそらく試料液の調製中あるいは泳動中にセアプローゼSの自己消化によって生じた分解物であろうと思われる。

まとめ

以上の結果から、今回入手したセアプローゼS製剤に限れば、これらは製剤学的には良好な製剤であると推察された。

文 献

- 1) 伊藤万蔵, 杉浦 衛: 薬学雑誌, 88, 1583 (1968)
- 2) B. J. Davis: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121, 404 (1964)

酵素製剤の品質に関する研究 (第5報)

セラチオペプチダーゼ製剤

谷本 剛・福田秀男・川村次良

Studies on the Quality of Enzyme Preparation (V)

Serratiopeptidase Preparation

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA and Jiro KAWAMURA

The results of the assay for Serratiopeptidase, the disintegration test, the weight variation test, polyacrylamide gelelectrophoresis and agar gel immunoelectrophoresis carried out on commercially available Serratiopeptidase preparations (enteric coated tablet: 3 samples) were described. Each preparation was found to contain 100-120% of the labeled amount. All of the preparation complied with the criterion of the disintegration test in J.P. IX. Although the weight variation test in J.P. is not defined for any coated preparation, this test was just applied to the Serratiopeptidase preparations for fact-finding, and the all preparations were found to be in the deviation range for "Tablet" in J.P. X. Polyacrylamide gel electrophoresis of Serratiopeptidase preparations indicated the presence of a single protein. However, immunoelectrophoresis have shown that all preparations contain some protein impurities, which were different in each preparation.

(Received May 31, 1983)

セラチオペプチダーゼ (国際一般的名称: セラペプターゼ) は *Serratia* 属の菌種から産生される蛋白分解酵素であり, 消炎酵素剤として広く臨床に使用されている。本酵素は沈降係数: 3.8S, 分子量: 約 60000, 等電点: 5.0~5.5の一本鎖の蛋白質であり, メチオニンやシステインなどの含硫アミノ酸を含まず, N末端はアラニンである¹⁾。また, 本酵素の最適 pH は 9, 安定 pH は低温では 5~10 である¹⁾。今回, このセラチオペプチダーゼを含有する製剤を入手する機会を得たので, この製剤の品質を検討した。本報では製剤学的品質の検討結果を中心に述べる。

実験方法

1. 試料

今回入手した試料は 3 種類であり, いずれも腸溶性の錠剤である。

2. 重量偏差試験

日局10, 重量偏差試験法, 錠剤の項に準じて試験した。

3. 崩壊試験

日局 9. 崩壊試験法 (6) 腸溶性の製剤 1 の項に従って試験した。

4. 定量試験

i) 試料溶液の調製

検体 10 錠を乳鉢にとり, 塩酸-ホウ酸緩衝液 (pH 9.0) 2 ml を加えてすりつぶし, かゆ状としたのち, 200 ml のメスフラスコに移す。乳鉢を塩酸-ホウ酸緩衝液でよく洗い, 洗液はメスフラスコに合せ, 塩酸-ホウ酸緩衝液を加えて 200 ml とする。この液を遠心分離し, 得られた上澄液を試料抽出液とする。試料抽出液適量を正確に量り, 塩酸-ホウ酸緩衝液を加えて 1 ml 中に 5 µg のセラチオペプチダーゼを含む液を調製し, 試料溶液とする。

ii) 操作法

試料溶液 1 ml を正確に量り, 試験管に入れ, 37±0.5° に 5 分間保つ。別に 37±0.5° に予温した基質液 5 ml を試験管中の試料溶液に速やかに加え, 酵素反応を開始する。正確に 20 分間経過後に沈殿試薬 5 ml を加えてよく振り混ぜ, 37±1° に 40 分間放置した後, 定量用ろ紙を用いてろ過する。初めのろ液 3 ml を除き, 次のろ液 2 ml を正確に量り, 炭酸ナトリウム溶液 (3→50) 5 ml 及びうすめたフォリン試液 1 ml を加えて振り混ぜ, 37±1° で 30 分間放置した後, 660nm における吸光度 T を測定する。別に試料溶液 1 ml を正確に量り, 沈殿試薬 5 ml を加えてよく振り混ぜた後, 基質液 5 ml を加えて, 以下同様に操作して吸光度 T₀ を求める。更に別にチロジン標準品を精密に量り, 0.1 N 塩酸試液に溶かし, その 1 ml 中にチロジ

Table 1. The weight variation test for Serratiopeptidase preparations

Sample No.	Average weight (mg)	Range of weight (mg)	Number of tablet having the deviation of more than 7.5%	C.V.*
1	151.9	147.3~157.1	0	1.79
2	163.7	160.6~166.1	0	0.79
3	151.0	144.9~157.5	0	2.55

* coefficient of variation: (S.D./average weight) × 100

Table 2. Contents of enzyme activity in Serratiopeptidase preparations

Sample No.	Labeled amount (units/tablet)	Range of permissible content (%)	Enzyme activity units/tablet (%)
1	10000	80~130	10660 (106.6)
2	10000	80~130	10280 (102.8)
3	10000	80~130	11620 (116.2)

ン 20.0 μ g を含む液を調製し、この液 2 ml を正確に量り、炭酸ナトリウム溶液 5 ml 及びうすめたフォルン試液 1 ml を加えて振り混ぜ、37 \pm 1° で 30 分間放置したのち、660 nm における吸光度 S を求める。別に 0.1 N 塩酸試液 2 ml を正確に量り、以下クロジン標準液と同様に操作して吸光度 S₀ を求める。

iii) 力価の算出

上記条件下で 1 分間に 1 μ g のクロジンに対応するフォルン呈色物を生成する酵素量を 1 単位とし、次の式によって算出する。

検体 1 錠当たりの単位

$$= \frac{T - T_0}{S - S_0} \times 40 \times \frac{11}{2} \times \frac{1}{20} \times 200 \times \left(\frac{\text{試料抽出液}}{\text{の希釈倍数}} \right)$$

iv) 試薬・試液

塩酸-ホウ酸緩衝液 (pH 9.0): ホウ酸ナトリウム (Na₂B₄O₇ · 10H₂O) 19.0 g に水 900 ml を加えて溶かし、1N-HCl で pH を 9.0 に調整したのち、水を加えて 1 l とする。

基質液: ハンマーステン法による精製カゼイン 1.2 g にホウ酸ナトリウム溶液 (19→1000) 160 ml を加え、60° に 20 分間加温して溶かし、1N-HCl で pH を 9.0 に調整したのち、塩酸-ホウ酸緩衝液 (pH 9.0) を加えて 200 ml とする。

沈殿試薬: トリクロル酢酸 18 g, 酢酸ナトリウム 30 g 及び酢酸 19 ml に水を加えて 1 l とする。

うすめたフォルン試液: フェノール試薬 (和光純薬株式会社) を水で 3 倍に希釈して用いる。

5. ポリアクリルアミドゲル電気泳動

Davis の方法²⁾に従って、pH 9.4 用ゲルを調製し

て電気泳動を行った。検体 2 錠を 5 ml の 20 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) で抽出し、遠心分離して得た上澄液 0.1 ml をゲルに積層し、1 管当たり 2 mA で 100 分間泳動した。泳動は同一検体を同時に 2 本行い、泳動後、1 本はアミドブラック 10B で染色し、他の 1 本はアゾコールを用いて酵素活性染色³⁾を行った。

6. 寒天ゲル免疫電気泳動⁴⁾

A 社の製剤用原料セラチオペプチダーゼ末 10 mg を生理食塩液 1.5 ml に溶解し、これに Freund's complete adjuvant (IATRON LABORATORIES 製) を同量加えて乳化し、その 2 ml を家兎に 2 週間間隔で 4 回皮下投与し、最終投与後 2 週間日に全血を採取して抗血清を得た。泳動用試料溶液はポリアクリルアミドゲル電気泳動で用いた上澄液を使用した。寒天ゲル板は常法に従って 5 × 13 cm のガラス板にゲルの厚さ 2 mm になるように作製し、寒天ゲル板 1 枚当たり 15 mA を通電して 1.5 時間泳動した。泳動終了後、溝に抗血清を注入し、約 40 時間後に沈降線を観察した。

結果と考察

1. 重量偏差試験

セラチオペプチダーゼ製剤は腸溶性製剤である。日局には剤皮を施した製剤についての重量偏差試験法の規定はないが、剤皮を施した製剤の重量偏差の実態を把握する目的で過去の研究⁵⁻⁷⁾においても実施しているので、今回も日局の試験法に準じて試験した。

Table 1 に示すように、3 検体とも偏差の基準を越えるものはまったく存在しなかった。また変動係数 (C.V.) は最低で 0.79%、最大で 2.55% もにすぎなか

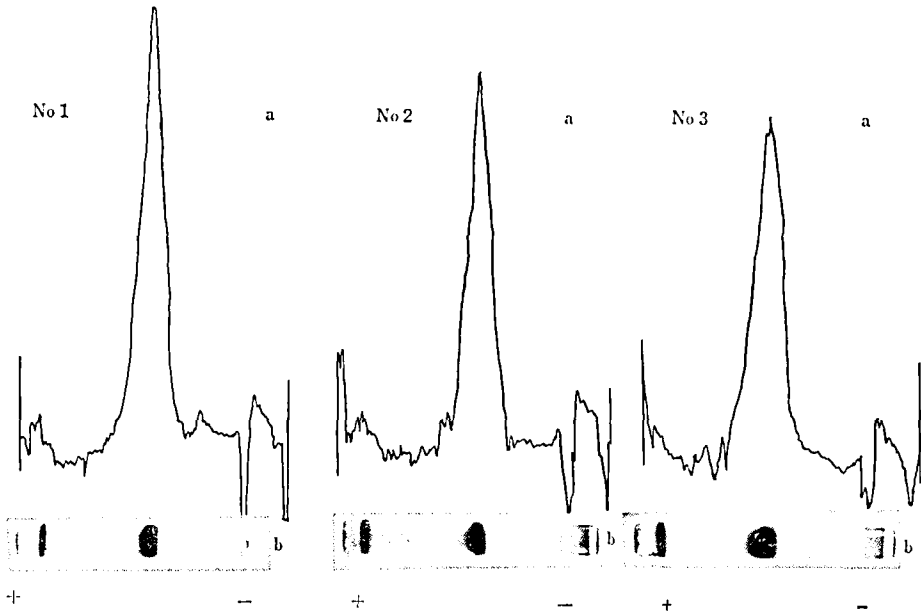


Fig. 1. Polyacrylamide gel electrophoresis of commercially available Serratiopeptidase preparations
a: dye of activity; b: dye of protein

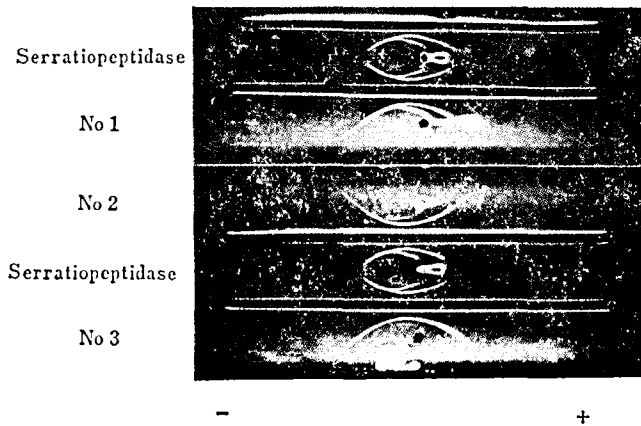


Fig. 2. Agar gel immunoelectrophoresis of commercially available Serratiopeptidase preparations

った。今回入手したセラチオペプチダーゼ製剤は剤皮を施した製剤であるにもかかわらず、その重量偏差はよく管理されているものと思われた。

2. 崩壊試験

いずれの検体も第1液による120分間の上下運動では腸溶皮膜の開口や崩壊は認められなかった。引き続き行った第2液による試験で全検体とも20分以内に試料6個がすべて崩壊した。

3. 定量試験

セラチオペプチダーゼ製剤の定量結果を Table 2 に示した。全検体とも含量規格値は80~130%であるが、すべての検体がこの規格値内の値を示した。

4. ポリアクリルアミドゲル電気泳動

電気泳動後、アミドブラック10Bによる蛋白染色とアゾコールによる酵素活性染色を行ったところ、全検体とも単一の蛋白染色帯を示し、活性染色帯もそれぞれの蛋白染色帯に一致して認められた (Fig. 1)。

5. 免疫電気泳動

検体1は少くとも4本の沈降線を生じ、セラチオペプチダーゼ原末(A社製)と同じ免疫電気泳動像を示したが、検体2及び3は1~2本の沈降線しか生じなかった。このことは検体1, 2, 3に用いた原料のセラチオペプチダーゼには共通の成分(おそらくセラチオペプチダーゼ本体)が含有されてはいるが、セラチオペプチダーゼ原体中の不純夾雑物に相違のあることを示している。不純夾雑物が検体によって異なるのはおそらくセラチオペプチダーゼ原末の製造方法の相違によるものであると推察される(Fig. 2)。

まとめ

今回入手したセラチオペプチダーゼ製剤は3検体と

その検体数は少なかったが、この3検体に限れば、その製剤学的品質は良好なものであることが推察された。

文 献

- 1) 宮田孝一：武田研究所報, 31, 375 (1972)
- 2) B. J. Davis: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121, 404 (1964)
- 3) K. R. Lunn and N. A. Clevette-Radford: *Anal. Biochem.*, 117, 280 (1981)
- 4) 山岸安子, 河谷 忠：臨床病理, 臨増 30, 152 (1977)
- 5) 谷本 剛ら：衛生試験, 97, 29 (1979)
- 6) 谷本 剛ら：衛生試験, 99, 84 (1981)
- 7) 谷本 剛ら：衛生試験, 100, 141 (1982)

人赤血球に対するモノクローナル抗体の作製

手島玲子・寺尾允男

Monoclonal Antibodies to Human Erythrocytes

Reiko TESHIMA and Tadao TERAO

We established two hybridomas which produced monoclonal antibodies against human erythrocytes. The class of these antibodies was IgM. These antibodies agglutinated human erythrocytes regardless of blood group type, but did not agglutinate the erythrocytes of other animal species so far tested. Results of hemagglutination tests with protease-treated human erythrocytes suggest that the antigens of these antibodies are not proteins but glycolipids of human erythrocyte membranes.

(Received May 31, 1983)

はじめに

現在, Köhler, Milstein 等により¹⁾, 開発されたモノクローナル抗体は, 癌の診断用, 細胞の分離用(特に免疫担当細胞の分離用)等, 種々の用途に用いられている。われわれは, 人赤血球に対するモノクローナル抗体の作製を試みたところ, 2種の抗体が得られたので, ここに報告する。

実験方法

1. 免疫

8週令の Balb/c マウスに, $1 \times 10^8/0.2 \text{ ml}$ saline のO型人赤血球を投与し, 1週間後に, 同数の赤血球を腹腔内投与した。

2. 細胞融合²⁾

最終免疫の3日後に, 脾臓をとりだし, teaser でほ

ぐし, single cells suspension を得た。0.83% NH_4Cl で赤血球を溶血させ, 次いで培養液(RPMI 1640, Gibco 社)で洗浄した。一方, NS-1(P3-NS-1/1-Ag 4-1, HGPRT⁻, Flow 社より購入)³⁾を同時に培養液で洗浄した。 1×10^8 個の脾細胞と, 2×10^7 個のNS-1細胞を混合し, 遠沈後, 細胞 pellet をほぐし, 45%ポリエチレングリコール 4000(Sigma) 溶液 1 ml を加えて, 7分間 37° で細胞融合を行った。反応後多量の培養液を加えて反応を停止し, 遠心後, 上清を除去した。10% FCS を含む培養液を加え, 24穴のプレート(Falcon 3047)に, 5×10^5 NS-1/ml/well の割合で, seeding した。融合後, 1, 2, 3, 6, 9, 12日後に, それぞれ半量ずつ培養液を HAT 培地⁴⁾ ($1 \times 10^{-4} \text{ M}$ Hypoxanthine- $4 \times 10^{-7} \text{ M}$ Aminopterin- $1.6 \times 10^{-5} \text{ M}$ Thymidine) と交換し, 融合細胞のみ増殖させた。(Fig. 1) 2~3週の間, HT 培地で, 培養液を半量

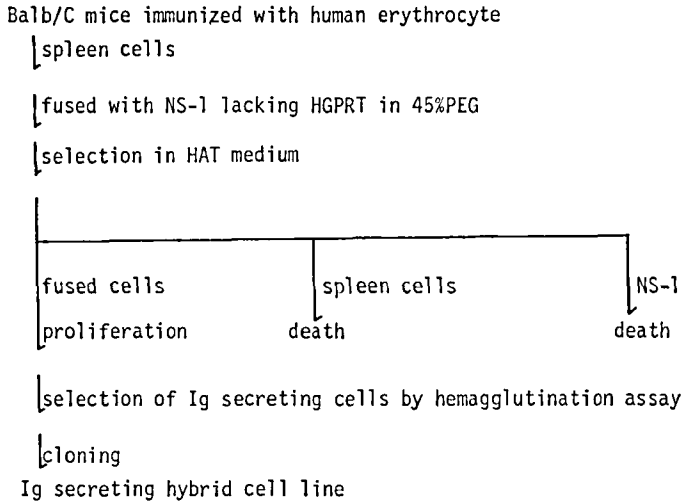


Fig. 1. Production of hybrid cell line

ずつ交換した。

2. クローニング

2%人赤血球凝集活性で、抗体産生細胞を含むwellを選び、limiting dilution法²⁾にて、クローニングを行った。増殖期にある細胞を、0.1% trypan blueにて生存率を確かめ、0.5 viable cells/0.2 ml RPMI 1640-10% FCS になるように希釈し、96穴プレート(Falcon 3072)に、0.2 ml/wellで seedingする。一週間、CO₂ incubator内に静置後、倒立顕微鏡下で、コロニー数を確認した。seedingして、10~12日目程度で、赤血球凝集法により抗体産生株を選びだした。

4. 細胞のメタボリックラベル³⁾

抗体産生細胞 1×10^6 個を、Leucine free RPMI 1640-10% FCS-[¹⁴C]Leucine 5 μ Ci 0.1 mlに、suspendし、37°で、24時間培養し、遠心後上清を採取し、そのうち、10 μ l 及び 20 μ l を、電気泳動用の標品とし、Faibanks³⁾らの方法に従って、7.5% SDS-ポリアクリルアミド電気泳動を行い、ゲルを乾燥させてから、オートラジオグラフィを行った。

5. 抗体の腹水化

抗体産生株の培養上清中には、数 μ g/ml の抗体が含まれるが、抗体を大量に必要とする時は、約1週間前に、0.5 ml pristane(2, 6, 10, 14, Tetramethylpentadecane)/head(i. p.)を投与した8~12週令のBalb/cマウスに、細胞数 $0.3-1 \times 10^7$ /head を腹腔内に投与し、約2週間後に腹水を採取した。

6. 人赤血球の酵素処理⁴⁾

約 1×10^9 個の赤血球に、各種酵素 [2 mg/ml トリプシン(Worthington社)、または、500 units/ml ノイラ

ミニダーゼ(半井化学)、又は、1 mg/ml プロナーゼ E(科研化学)、又は、10 mg/ml パパイン(Sigma社)]を加え、前者3種の酵素の場合は、37°で30分、パパインの場合のみ、室温で5分処理をした。

実験結果

約200個のクローンのうち、2個のクローンの培養上清が、人赤血球を凝集させた。そのクローンを、16-8、19-7と命名した。培養上清の凝集活性でみた抗体価は、それぞれ2及び8であった。A型、B型、O型どの血液型の人赤血球も同じ程度に凝集させた。

1. 抗体のクラスの決定

培養上清を、0.1 M 2-メルカプトエタノールで、37°、2時間処理を行うと、凝集活性が全く失われることから、産生されている抗体のクラスは、IgMであることが予想された。抗体のクラスを、さらに確かめるため、[¹⁴C] Leucineにて、メタボリックラベルし、上清中に分泌される抗体を、電気泳動法にて、同定した。その結果を、Fig. 2に示す。このように、クローン16-8、19-7ともに産生される抗体のクラスはIgMであることが判明した。

2. 抗体の腹水化

この2種のモノクローナル抗体を腹水化したところ、赤血球凝集活性は、16-8では256に、19-7では、128に上昇した。以下、この腹水を用いて実験を行った。

3. 赤血球膜蛋白の免疫沈降⁵⁾及び、赤血球の各種酵素処理について

ラクトパーオキシダーゼ法にて、赤血球表面のみを、

Table 1. Reactivity of monoclonal antibodies (mAb) with enzyme-treated human erythrocytes

mAb	Enzyme treatment				
	none	trypsin	neuraminidase	papain	pronase
16-8	256	64	256	512	512
19-7	128	32	64	128	258

The table illustrates the titer of agglutination obtained for mAb 16-8 and 19-7. They were tested against human red cells, both before and after treatment with trypsin, neuraminidase, papain, and pronase.

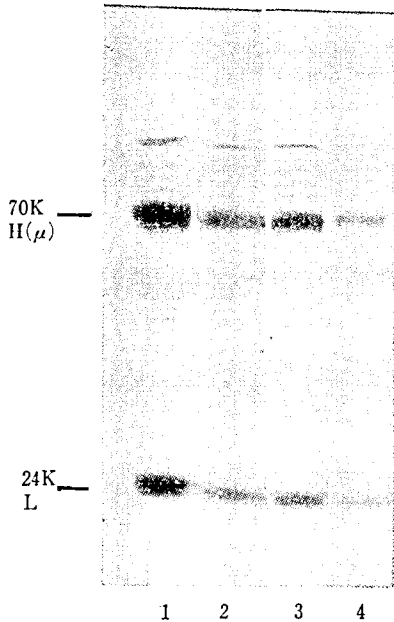


Fig. 2. SDS-PAGE pattern of the separated ^{14}C -labeled chain of products secreted by hybrid lines.

Samples were reduced in 2% SDS, 50 mM 2-ME prior to application. Electrophoresis was carried out in 7.5% polyacrylamide gel. ^{14}C -labeled chains from hybrid 16-8 are shown in 1 and 2 (sample volume; 1.20 μl , 2. 10 μl), and those from hybrid 19-7 are shown in 3 and 4 (sample volume; 3. 20 μl , 4. 10 μl)

^{125}I ラベルした後、膜画分を、1%デオキシコール酸にて可溶化し、作製したモノクローナル抗体及び、ウサギ抗マウス Ig 血清で、免疫沈降物を形成し、電気泳動法で、沈降物の分析を行ったが、この方法で標識された蛋白は、免疫沈降されなかった。次に、各種酵素による処理を行った結果を、Table 1 に示す。どちら

の抗体も、どの酵素処理を行っても、ほとんど凝集活性は変化しなかった。

4. 各種動物赤血球との反応性

この2種の抗体について、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、ヒツジ及びブタの赤血球を用いて、凝集実験を行ったが、どの動物の赤血球も全く凝集させなかった。

考 察

われわれの作製した人赤血球に対するモノクローナル抗体 16-8 及び 19-7 は、ともに、抗体のクラスは、IgM であった。この抗体は、人赤血球は、血液型に関係なく凝集させたが、今回調べた限りでは、他の哺乳動物の赤血球は凝集させなかった。

これら抗体は、人赤血球を凝集させるので、抗原は、人赤血球膜にかなり特異的な蛋白質、または、糖脂質であろうと考えられるが、各種酵素処理で、凝集活性がほとんど変化しないこと、及び、 ^{125}I ラベルされた蛋白質がこの抗体で、免疫沈降されてこないことから、蛋白質が抗原である可能性は少なく、むしろ、糖脂質が抗原である可能性の方が強いと考えられる。今後、更に、解析を行う予定である。

文 献

- 1) G. Köhler, C. Milstein: *Nature*, **256**, 495 (1975)
- 2) 渡辺 武, 海津 務: 免疫実験操作法, **X**, 2963 (1980)
- 3) G. Köhler *et al.*: *Eur. J. Immunol.*, **6**, 292 (1976)
- 4) J. W. Littlefield: *Science*, **145**, 709 (1964)
- 5) G. Fairbanks *et al.*: *Biochemistry*, **10**, 2606 (1971)
- 6) P. A. W. Edwards: *Biochem. Soc. Trans.*, **8**, 334 (1980)
- 7) D. J. Anstee, P. A. W. Edwards: *Eur. J. Immunol.*, **12**, 228 (1982)

テトラクロロエチレン含有洗剤を使用した洗濯時の暴露レベルについて

小嶋茂雄・中村晃忠・鹿庭正昭

An Estimate of Tetrachloroethylene Exposure Level during Washing with a Detergent Containing Tetrachloroethylene

Shigco Kojima, Akitada NAKAMURA and Masa-aki KANIWA

Tetrachloroethylene is used in a part of detergents to give them "Dry cleaning effect." In order to assess the risk accompanied with the use of such detergents, some experiments to make clear the exposure level of the user to tetrachloroethylene during washing, were carried out under the designed conditions shown in Fig. 1 and 2. The temperature of the water in the washing machine was adjusted to 17 or 37° before washing, and 30 or 60 g of the detergent was added. After starting washing, 0.5 ml of air at the sampling site was taken periodically by a gas-tight syringe, and injected directly into gas chromatograph equipped with hydrogen flame ionization detector.

From the results of the experiments, it can be concluded that man might be exposed to high level of tetrachloroethylene when washing would be performed using this type of detergents.

(Received May 31, 1983)

まえがき

家庭用洗剤には、テトラクロロエチレン（パークレン）を20%程度含有するものがある¹⁾。

しかしながら、こうしたパークレンを含む洗剤を使って洗濯を行った時に、使用者がどの程度パークレンによる暴露を受けるかは明らかではない。家庭用品に使用されるパークレンについて安全評価を行う上で、こうした暴露レベルを明らかにすることは不可欠である。

そこで、洗濯機を用い、運転開始後30分間洗濯槽の上にかかみ込んでいる状態を想定して、その鼻先でのパークレンの気中濃度の経時変化を測定した。その結果、パークレンを含有する洗剤の使用時の暴露レベルについて、若干の知見が得られたので報告する。

実験の部

1. 試料

家庭用のパークレン含有洗剤——ペースト状で、ラベルに「ドライクリーニング効果」がうたわれているもの一種を用いた。標準使用量は約30 lの水に添付の大きじ2杯（約30 g）となっている。前報²⁾の方法を準用して測定したパークレンの含有量は 20.1 w/w%であった。

2. 器具及び装置

ガス用シリンジ——テルモ製、MS-GAN100型(1.0 ml用)を用いた。

洗濯機——東芝製、銀河(VH-7816型)を用いた。運転方法として、[強]（綿・化学繊維用）あるいは[弱]（羊毛・絹用）の2種の反転渦流が選択できる。なお、Fig. 2に示したように、コントロールパネルが洗濯槽の上部にあるため、このままではパネルを操作する時にガス採取位置の空気をかき乱す恐れがある。そこで、タイマー部分及び運転の[強]・[弱]切り替えスイッチ部分をパネルからはずし、洗濯機の横に引き出して使用した。

3. ガスクロマトグラフィー

島津製、GC-4CM-PFE型を下記の条件で使用した。

カラム——ガラスカラム（内径 3 mm, 長さ 2 m）に 10% DC-200/Shimalite W (80-100メッシュ)を充填して用いた。

温度——カラム 70°, 試料注入口及び検出器 180°。

キャリアガス——高純度窒素を 30 ml/minの流速で用いた。

検出器——水素炎イオン化検出器 (FID) を 1000 MΩ-0.04 Vの感度で用いた。また、水素は 0.6 kg/cm², 圧縮空気は 0.4 kg/cm² で用いた。

以上の条件でのパークレンの保持時間は10.4分であ

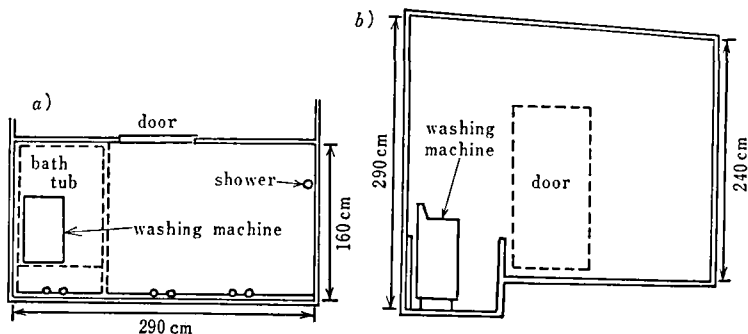


Fig. 1. Sketches of the Room Used for the Experiments
a) Plane view, b) elevation view.

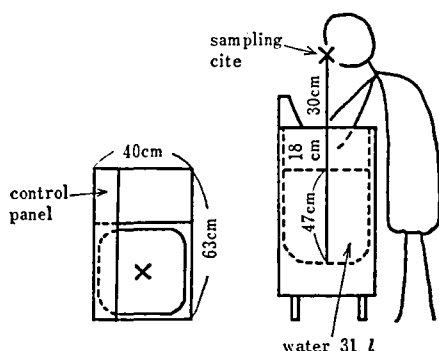


Fig. 2. Washing Machine Used for the Experiments and Sampling Site of Air
Sampling site was assumed to be the position of the nose of users.

り、ピーク高さは 250 ng までの範囲で注入量に対して原点を通る直線性を示した。

4. 実験条件

一般家庭においては、浴室など換気の悪い狭い室で、お風呂の残り湯を利用して洗濯を行うことも多い。こうした条件の下でパークレン含有洗剤が使われた場合には、使用者が高濃度のパークレンに暴露される可能性がある。

そこで、実験室として当所本館1階和室の風呂場を選んで発散実験を行うこととした。風呂場の平面図及び立面図を Fig. 1 に示す。室の内容積は 11.0m³ であった。また、洗濯機の形状及び発散実験の際のガスの採取位置を Fig. 2 に示した。ガスの採取位置を洗濯槽の中心の真上 30cm の点 (Fig. 2 の×印の点) としたのは、洗濯をする人が前かがみになって洗濯槽をのぞき込んだ時の鼻の位置がこの辺りになるものと考えられるためである。

なお、実験期間 (1982年12月9日~20日) を通して、室内の気温は暖房のため 18~21° の範囲にあった。

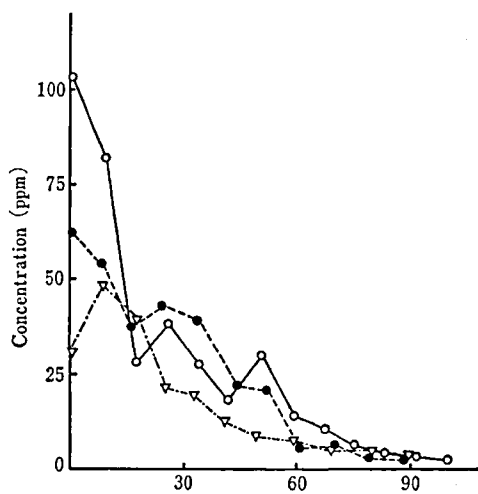


Fig. 3. Change of the Concentration of Tetrachloroethylene at the Sampling Site Shown in Fig. 2

Condition: temperature of water; 37°, amount of detergent; 60 g.

5. 実験方法

あらかじめ洗濯槽に約31 lの水 (あるいは湯) を入れ、水温を 17° (あるいは 37°) に調節しておく。パークレン含有洗剤を 30 g あるいは 60 g 洗濯槽に加えたのち、[強] の反転渦流により運転する。運転開始後の鼻先 (Fig. 2 の×印の点) におけるパークレンの気中濃度の経時変化は、×点の空気をガス用シリンジで 0.5 ml 採取し、直接ガスクロマトグラフに注入して、絶対検量線法により求めた。

実験結果

水温と洗剤添加量の組み合わせを、Table I の条件 I~IV のように変えて発散実験を行ったが、Fig. 3 に

条件IVにおける実験結果を、また、Fig. 4に各条件における3回の繰り返し実験のデータを経過時間毎に平均してプロットしたものを示した。

Table 1には、条件I~IVにおける最高気中濃度 C_{\max} (ppm)、最高気中濃度の出現時間 t_{\max} (min)、及び30分までの平均気中濃度 C_{0-30} (ppm)をまとめて示した。

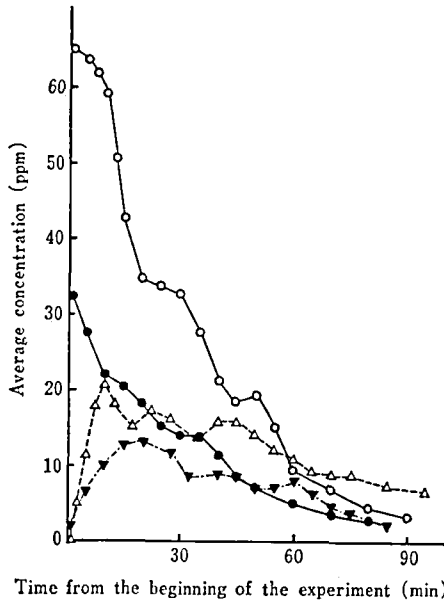


Fig. 4. Change of the Average Concentration of Tetrachloroethylene at the Sampling Site Shown in Fig. 2

The data from three repeated measurements are averaged.

Condition: ▼; temperature of water 17°, amount of detergent 30 g, △; 17°, 60 g, ●; 37°, 30 g, ○; 37°, 60 g.

考 察

Fig. 3 に一例を示したように、条件I~IVにおける測定データはバラツキがかなり大きく、このままでは水温あるいは洗剤の添加量がパークレンの発散に与える影響を明確に把握することは難しい。このバラツキの原因は、次のように考えられる：この実験では、特に明記した点を除いて、実験条件のコントロールをそれほど厳密には行っておらず、そのため、例えば、(実験者を含めた)人の出入りやガス採取の操作などによるガス採取位置の空気のかき乱し、洗剤中のパークレン含有量のバラツキ、あるいは洗濯機の作動状態や室内の温度・湿度の変動などの因子によって測定値が影響を受けたものと思われる。

ところで、上述の因子によるバラツキが何らの偏りもなく、ランダムに起こるものと仮定すれば、繰り返し実験の回数を多くし、得られたデータを経過時間毎に平均することにより、バラツキが解消され、設定した条件がパークレンの発散に与えている影響が明確になると考えられる。Fig. 4はこの観点から作製したものであり、これから次の点が明らかとなった：

i) 洗剤の添加量が増すと、いずれの温度においても、パークレンの発散量が増すが、経時的な発散のパターンは変わらない。

ii) 水温を高くすると、パークレンの発散量が増すとともに、 C_{\max} の位置が前にずれて、発散が速やかに進むようになる。

Table 1にまとめたように、綿や化学繊維洗い用の[強]の反転渦流を用いて洗濯を行った場合に予想されるパークレンへの暴露レベルは次の通りである：

① 水温 17°で、ラベルの標準使用量の指示通りの大きさ2杯(約30g)を添加して運転すると、30分までの平均気中濃度として、10 ppm、最高気中濃度と

Table 1. Summary of the Results

	Condition		$C_{\max}^a)$ (ppm)	$t_{\max}^b)$ (min)	$C_{0-30}^c)$ (ppm)
	temperature of water (°C)	amount of detergent (g)			
I	17	30	18	17	10.4
II	17	60	48	9	15.3
III	37	30	41	1	20.6
IV	37	60	103	1	46.3

a) Maximum concentration observed in three repeated measurements.

b) Time that C_{\max} appeared.

c) Average concentration during 0-30 minutes from the beginning of the experiment.

して 18 ppm 程度のパークレンへの暴露を起す恐れがある。

② お風呂の残り湯（水温 37° と仮定した）を使い、ラベルの指示の倍量の大きさ 4 杯（約 60 g）を添加して運転すれば、30 分までの平均気中濃度は 46 ppm (①の 4.6 倍)、最高気中濃度は 103 ppm (①の 5.7 倍) にも達し、かなり高濃度のパークレンに暴露される可能性がある。

結 論

テトラクロロエチレン（パークレン）含有洗剤を使って洗濯を行った場合、使用者がかなり高濃度のパークレンに暴露されることがわかった。パークレンは、経皮や吸入のルートからも人体内に取り込まれ、中枢

神経、肝臓、腎臓あるいは皮膚に障害を与えると報告されており^{3,4)}、このように高濃度の暴露を起しうる製品が一般家庭内で使われるのは好ましくないと考えられる。

文 献

- 1) 家庭用品安全対策行政担当係長会議資料, 1983. 3. 24-5 (東京).
- 2) 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 中村見忠: 衛生試報, 101, 27(1983).
- 3) M. Bauer, S. F. Rabens: *Arch. Dermatol.*, 110, 886 (1974).
- 4) H. Eberhardt, K. J. Freundt: *Archiv für Toxikologie*, 21, 338 (1966).

ドレッシングの規格基準に関する研究

三原 翠, 近藤龍雄, 内山 充

Studies on the Valuation of Peroxide Value and Acid Value of Dressing for Establishing Food Standards

Midori MIHARA, Tatsuo KONDO and Mitsuru UCHIYAMA

As the reference for establishing food standards, peroxide value and acid value of dressing were measured. The peroxide value of separable dressing was higher than that of emulsified one. Contrary, the acid value of separable dressing was smaller than emulsified one.

In leaving both dressings under air at an ambient temperature, the beginning times of their peroxide developments were similar, although peroxide value of separable dressing was always higher than that of emulsified one.

(Received May 31, 1983)

緒 言

著者らは食品の規格基準設定のための基礎的検討の一環として、先にマヨネーズ、マーガリン及びショートニングの油脂の変敗について報告したが¹⁾、今回はドレッシングをとりあげて、検討を行ったので報告する。

日本農林規格によると、ドレッシングはその形体から半固体状ドレッシングと液状ドレッシングにわけられ、液状ドレッシングは更に乳化液状と分離液状にわけられ、また、成分的にはこしょう、パプリカ等を使用したものをフレンチドレッシングと定義している。半固体状ドレッシングは、卵黄卵白を含有するサラダドレッシングとこれらを含まない半固体状ドレッシング

ともわけられている。

市販品の実態調査のためのサンプリング法は、これらの区分毎について検体を集めると、実際に使用されている頻度や量を反映できないため、店頭に多く並んでいるものを採る事とし、それをあとで分類した。したがって区分毎の検体数やメーカーの種類はそろわず、かなり片寄ったものとなった。

方 法

試料の調製：分離液状ドレッシングの場合は、検体の油脂部分のみ 40 g を採り、精製エチルエーテル²⁾ 40 ml を加えて分液漏斗に移し、水 50 ml を加えてよく攪拌し、放置した後水層を捨てる。この水洗操作を 3~4 回行い、洗液がメチルオレンジで赤変しなくな

Table 1. Peroxide value and acid value of various dressings

Dressing	Maker	Period after manufacture (Month)	Type of packing	Peroxide value	Acid value
Emulsified type	Q	3	Poly bottle	1.66	0.30
	Q	3	"	3.32	0.59
	Q	3	Glass "	1.09	0.26
	Q	3	"	1.35	0.29
	Q	1	"	1.11	0.13
	Q	2	"	1.39	0.34
	Q	2	"	2.11	0.42
	Semisolid type	N	1	Poly tube	2.90
N		1	"	4.05	0.11
A		4	"	5.79	0.34
A		1	"	3.63	0.29
Salad dressing	Q	12	Poly tube	2.49	0.44
	Q	6	"	2.90	0.24
	Q	0	"	0.80	0.10
	Q	0	"	1.11	0.13
Separable type	Q	3	Glass bottle	5.70	0.06
	Q	3	"	5.72	0.05
	Q	4	"	5.40	0.07
	Q	1	"	4.48	0.07
	Q	6	Poly bottle	6.43	0.10
	Q	6	"	6.67	0.11
	N	4	Glass bottle	2.57	0.15
	N	2	"	3.18	0.15

Values are represented as means of two determinations.

ったら、エーテル層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下 35° 以下で濃縮する。濃縮終了後は窒素ガスを吹き込み、残査を試料油脂とする。

その他のドレッシングについては、検体80gをビーカーに採り、無水硫酸ナトリウム 120g、精製エチルエーテル 100mlを加えて、時々攪拌しながら10分間放置する。次にデカンテーションにてエーテル層を採り、分液漏斗に移す、残査に精製エーテル 40mlを加えよく攪拌後、同様にエーテル層を採り、先きのエーテル層にあわせる。この操作を更に1回繰り返した後、分離液状ドレッシングと同様に水洗操作を行い、脱水後濃縮し試料油脂とする。

過酸化物質の測定：上記の方法で抽出した油脂について、即席めん過酸化物質測定法に準じた²⁾。

酸価の測定：同上の酸価の測定法に準じた²⁾

経時変化の条件：同一製造元で同一原材料より成る分離型と乳化型のドレッシングを、それぞれ 1l の試薬ビンに入れ、実験室内の机上に置き、1日1回激しく攪拌すると、1回開栓する事を続けた。

薄層クロマトグラフィー(TLC) 条件³⁾：展開溶媒はヘキサン：エチルエーテル (7:3) を用い、シリカゲルプレート(0.25mm厚)に試料を塗布して展開した。発色方法は、50%硫酸噴霧後、150° 10分間加熱したA法(有機物全般検出)と過酸化物質を検出するB法(エタノール：酢酸：クロロホルム=5:3:2に10%となるようヨウ化カリウムを溶かしたものを噴霧)、更にカルボニル化合物検出のためのC法(2N塩酸に0.5%となるよう2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを溶かしたものを噴霧)の3種を用いた。

結果と考察

各種市販ドレッシングの過酸化物質・酸価の測定結果を Table 1 に示す。

表より明らかなように、酸価はいずれの検体も低く問題とはならない。しかも分離型では酸価は更に小さくなっており、ドレッシングの水溶性部分が共存する方が、加水分解が促進される可能性が示唆された。

過酸化物質についてみると、値はすべて1以上であ

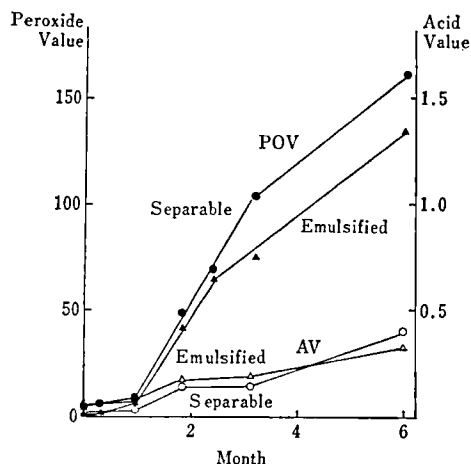


Fig. 1. Time course of peroxide value of dressing during storage at ambient temperature

Dressings were shaken once a day.

り、しかも製造後の時間との相関は認められない。また、分離型の方が乳化型に比べ、過酸化値が高めの傾向が認められる、分離型で比較的低い値を示す2検体(Nメーカー)はゴマ風味としてゴマ油やゴマの添加があり、そのため天然抗酸化剤の影響を受けている可能性がある。

マヨネーズの場合²⁾に比べ、ドレッシングにおいては、製造後の時間の影響や部位別による値の変化があまり認められなかった。これは検体の流動性や包装形態の違い、あるいは成分の違い等に起因しているものと考えられるが、詳細は不明である。

次に分離型ドレッシングにおいて過酸化値が高いのは、酸化の進行が始まっているためなのかあるいは成分的に値が高くなっているだけなのかを知るため、開栓後の指標の変化を観察した。即ち、同一成分(乳化剤以外)の乳化型と分離型のドレッシングを室温に放置し、更に通常食用に供する時の特殊性を考慮して1日1回振とうをする事とした。

その結果、Fig. 1 に示したように乳化型・分離型共に、放置1箇月後から過酸化値・酸値の上昇が認められた。従って Table 1 で観察された分離型の過酸化値が高目の値である事は、酸化の進行のためではないと思われる。3箇月以後の両ドレッシングの過酸化値の差は、はじめの値の差の影響も考えられるが更に両者の物性の差、つまり分離型では油同士の接触が密で酸化の連鎖反応が進行しやすい事に関連しているのではないかと考える。

Fig. 1 からドレッシングの食用に適する期間を考察

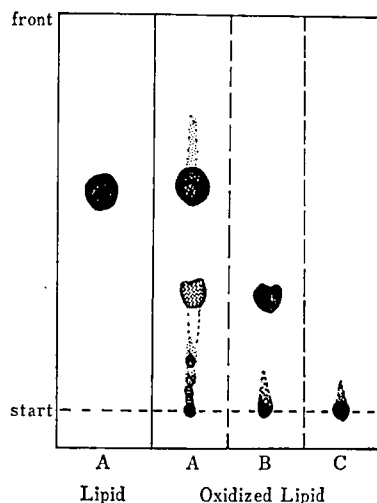


Fig. 2. Thin layer chromatograms of oxidized separable dressing exposed to room temperature for 6 months

solvent: hexane: ethyl ether=7:3, plate: kieselgel GF₂₅₄, 0.25 mm

A plate detection: brown spots after spraying 50 % sulfuric acid and heating at 150° for 10 min.

B plate detection: yellow spots after spraying a KI solution (10% potassium iodide in ethanol: acetic acid: chloroform=5:3:2)

C plate detection: orange spots after spraying 0.5% 2,4 dinitrophenylhydrazine in 2 N hydrochloric acid solution

すると、開栓後1箇月間は過酸化値が10以下と全く問題とならないが、2箇月後では40~50となり、即席めん規格30よりも高くなっている。したがって、ドレッシングを室温に置いて使用する場合は、開栓後2箇月以内に使いきる事が必要である。

通常、油脂の変敗は低級アルデヒドやカルボニル化合物の生成を伴い、悪臭を放つ事が知られているが、ドレッシングの場合は過酸化値が150前後になったものでも、酢酸臭のため悪臭を感知する事ができなかった。念のため、6箇月後の分離型ドレッシングの油脂部分を TLC にかけてところ、Fig. 2 に示したように多くの酸化物の生成が確認された。

以上述べたように、ドレッシングにおいては、使用時に激しく攪拌する必要性と酢酸臭で悪臭を感知できないという特殊性がある事から、開栓後箇1~2月以内に使いきるか、冷蔵庫に保存するという注意が必要である。

なお、酸値は変敗の指標としては鈍感である事も (Fig. 1 より) 明らかとなった。

文 献

- 1) 三原 翠, 近藤龍雄, 内山 充: 衛生試験報, 98, 135 (1980)
- 2) 食品衛生法, 食品, 添加物の規格基準, 第一, 食品D (昭和52年2月18日厚生省令第3号)
- 3) M. Mihara, M. Uchiyama: *Chem. Pharm. Bull.*, 31, 605 (1983)

界面活性剤 SDS の添加による肝ホモジネートの TBA 値
の pH 依存性の変化

三原 翠・近藤龍雄・内山 充

Effect of the SDS Addition on the pH Dependency of TBA Value
obtained from Rat Liver Homogenate

Midori MIHARA, Tatsuo KONDO and Mitsuru UCHIYAMA

Effect of sodium dodecyl sulfate (SDS) addition on the pH dependency of TBA reaction of liver homogenate was studied.

The TBA value of liver homogenate (control and CCl_4 -intoxicated) was enhanced by the addition of 7% SDS (0.2 ml) with the optimum pH shifted from 3 to 2. Further addition of SDS lost the enhancement on CCl_4 -intoxicated liver. Therefore, it was assumed that SDS did not act merely as a solubilizing agent.

(Received May 31, 1983)

緒 言

著者らは前報¹⁻³⁾までに、生体組織中の過酸化脂質の測定法であるチオバルビツール酸 (TBA) 法について検討を行い、反応時の pH が TBA 値に大きく影響を与える事を報告してきた。更に過酸化脂質の TBA 法で使われる界面活性剤の添加が、生体組織の場合には適当ではないのではないかと指摘も行った³⁾。しかし、界面活性剤としてドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を添加して TBA 法を行い、生体の脂質過酸化の変化を反映できるという報告^{4,5)}もある。それ故、SDS の添加量が TBA 値に影響を及ぼしている可能性を考え、SDS 量をかえると共に種々の pH 条件下での TBA 値の測定を試みた。即ち組織ホモジネートとしてはラット肝を用い、過酸化脂質の量の違いによる反応性の違いを考慮し、正常ラット肝と共に四塩化炭素 (CCl_4) を投与したラット肝を試料とした。

方 法

動物とその処理: ウィスター系雄性ラット 6 週令を用い、 CCl_4 をそのまま、0.1 ml/100 g 体重、0.05 ml/100 g 体重となるよう胃ゾンデを用いて投与した。投与 24 時間後に断頭にて殺し、既報¹⁾に従って 1.15%

塩化カリウム液 (KCl) にて 10% ホモジネートとした。

TBA 反応条件: 10% 肝ホモジネート 0.1 ml に 20% 酢酸緩衝液 (pH 1.0~4.5) 1.5 ml, 0.6% TBA 1.0 ml を加え、7% SDS を 0~0.3 ml 添加して全量を 4 ml とする。加熱操作や測定法は既報³⁾に従った。

結果と考察

SDS の添加が肝ホモジネートの TBA 値にどのように影響を与えているのかを知るため、pH 1.0~4.5 までの領域における TBA 値を、SDS を加えた場合と加えない場合で比較したのが Fig. 1 である。Fig. 1 A は SDS を加えない場合の pH 依存性を示したが、至適 pH は 3.0 と脂質単独の場合の 3.5、著者らの条件 (10% ホモジネート 0.5 ml 使用)¹⁾ の場合の 2.5 とは異なっている。今回の使用組織量は 10% ホモジネート 0.1 ml としたので、至適 pH の相違は前報³⁾ で述べたようなたん白質の共存による影響と思われる。即ち、過酸化脂質の TBA 反応は脂質単独では至適 pH 3.5 であるが、たん白質が共存すると酸性側に移動し、たん白質量が多い程その傾向が強くなる事である。

7% SDS 0.1 ml を添加する事により、明らかに TBA 値の増大が認められると同時に、pH 依存性の

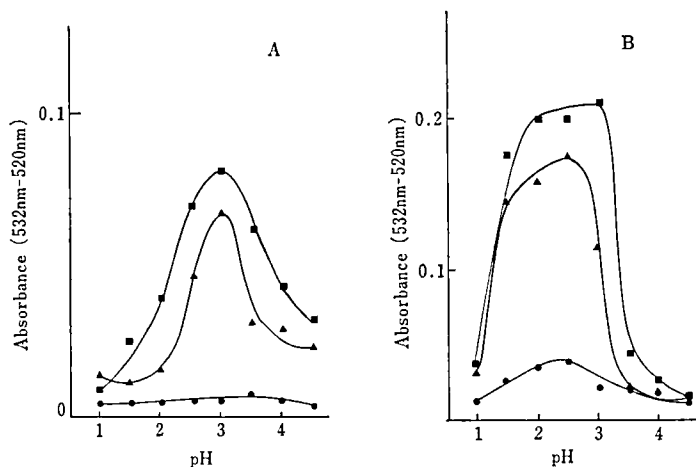


Fig. 1. Effect of SDS addition on the pH dependency of TBA reaction

A: No SDS addition, B: 7% SDS 0.1 ml addition

●—●: Control, ▲—▲: CCl_4 , 0.05 ml/100 g, p.o. ■—■: CCl_4 , 0.1 ml/100 g, p.o.

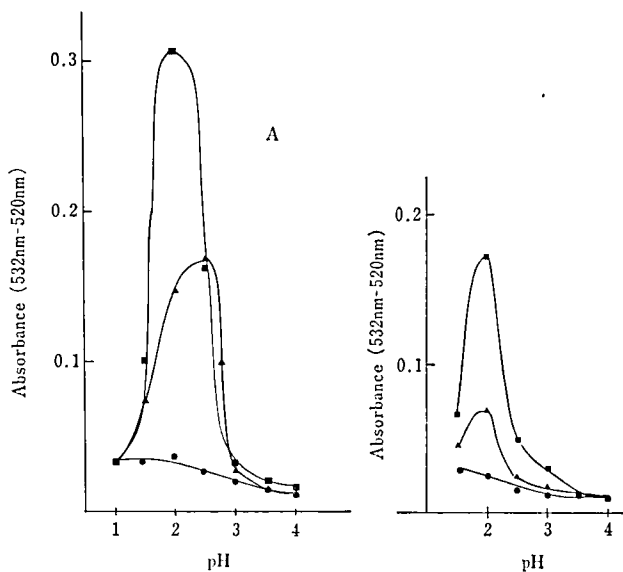


Fig. 2. Effect of SDS addition on the pH dependency of TBA reaction

A: 7% SDS 0.2 ml addition, B: 7% SDS 0.3 ml addition

●—●: Control, ▲—▲: CCl_4 , 0.05 ml/100 g, p.o. ■—■: CCl_4 , 0.1 ml/100 g, p.o.

パターンも大きく変る事が Fig. 1B より明らかである。

更に SDS 量を増加し 0.2 ml を添加すると, Fig. 2A に示したように, TBA 値の増加は促進され, 至適 pH も 2 付近にせばまる傾向が認められた。しかしこの変化は過酸化脂質量が少ないと考えられる

CCl_4 , 0.05 ml 投与のものでは認められず, Fig. 1B の SDS 0.1 ml 添加の場合とあまり変わらない。正常肝では酸性側の TBA 値の増加が認められるが, いずれも大きな変化ではない。

SDS 量の添加を更に増やし 0.3 ml とすると Fig. 2B に示したように, 2A に比べ強い TBA 値の抑制

が、いずれの組織でもあるいはどの pH 領域でも起っている。しかし至適 pH が 2 である点は、0.2 ml 添加でも 0.3 ml 添加でも同じであった。図には示さなかったが、SDS を更に添加すると TBA 値はもっと抑制され、SDS 無添加の場合よりも小さくなるものさえあった。したがって前報³⁾で述べた SDS 添加効果 (TBA 値が無添加の場合より抑制される事があるという点) は、添加量の多い場合の現象である事がわかった。

以上の結果から組織ホモジネートの TBA 反応に SDS を加える事は、至適量を添加する場合には、値の増加が起るものの、至適 pH 領域が変わり、しかも組織中の過酸化脂質量の多少によっても、この変わり方が異なる事が明らかとなった。したがって CCl₄ 投与でない過酸化脂質の増加 (老化、ビタミン E 欠乏症等) では、SDS 添加の影響が更に異なっている可能性もあり、一概に SDS の添加が良いとは言えないと思われる。

SDS 添加の理由は、多くは TBA 値を増加させるためであり、その原理を内膜にある過酸化脂質の露出としている⁶⁾。しかし今回の結果から、SDS の作用が単なる過酸化脂質の露出とは思われず、このような SDS の作用の複雑さが、TBA 法を種々の条件に応用

した時の結果のばらつきや矛盾に関連しているのかもしれない。

SDS を添加しない方法でも、過酸化の原因の異なるものが、それぞれ異なった至適 pH を有する場合がある事は前報³⁾で指摘したが、その異なりかたは SDS を添加した場合よりは少なく、pH を 2 付近にする事でどの条件でも満足いく値が得られる²⁾。

しかし臓器によっては TBA 値の値が低く有意な値を得るためには、SDS を添加する必要のある場合もあり⁴⁾、過酸化の条件あるいは測定臓器によって、より良い方法を選択する事も TBA 法を活用するためには必要な事と考える。

文 献

- 1) M. Uchiyama, M. Mihara: *Anal. Biochem.*, **86**, 271 (1978)
- 2) M. Mihara, M. Uchiyama, K. Fukuzawa: *Biochem. Med.*, **23**, 302 (1980)
- 3) 三原 翠, 内山 充: *薬誌*, **102**, 670 (1982)
- 4) M. Sagai, T. Tchinese, H. Oda, K. Kubota: *J. Toxicol. Environ. Health*, **9**, 153 (1982)
- 5) K. Sasaki, S. Furusawa, G. Takayanagi: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4159 (1982)
- 6) 真杉文紀, 中村哲也: *ビタミン*, **51**, 21 (1977)

エトキシキンのメタノール溶液中における光化学的变化について

加藤三郎

Photochemical Conversion of Ethoxyquin in Methanol

Saburo KATO

Ethoxyquin (EQ) dissolved in methanol was converted to other substance by exposure to daylight for a few hours or standing in the room for several days. The photochemical conversion resulted in the loss of UV absorption at 380 nm and fluorescence characteristic of EQ. The substance converted from EQ eluted prior to EQ by reversed phase HPLC, and eluted posterior to EQ by normal phase HPLC. The peaks of EQ and the substance are close in both cases. By GC, the peak of this substance appeared just after EQ, but both peaks could not be separated.

(Received May 31, 1983)

エトキシキン(6-Ethoxy-1, 2-dihydro-2, 2, 4-trimethyl-quinoline)の分析は従来は蛍光定量法¹⁾が行われていたが、最近では GC 法²⁾あるいは HPLC 法^{3,4)}が検討されている。この酸化防止剤は特に変化し易く、分析上もその再現性に疑問があるといわれることが多い。著者はこの物質の HPLC を試みるうち、その時

時により、また検出器の種類によって、保持値が異なったりあるいは感度に著しい差異を生じたりすることから、まず標準溶液の安定性を検討するうち、これが物質の光化学的变化であり、特にメタノール溶液中において特異的に起こることがわかった。そこで、その典型的な実験を行って報告する。

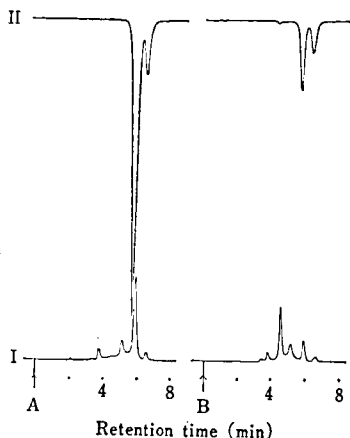


Fig. 1. Reversed phase high performance liquid chromatograms of EQ stored in various conditions

Column: TSK LC410, $\phi 4 \times 250$ mm, mobil phase: methanol-water (80:20), flow rate 1 ml/min, detector I: UV254 nm (Shimadzu UVD-2, AUFS 32×10^{-2}), detector II: fluorescence (E_x 340nm- E_m 440 nm, Hitachi 650-10, sens. 0.1) Samples; 0.1% EQ in methanol (A: stocked in the refrigerator, B: stood by in the room for 3 days)

実験方法

1. 試料及び試薬

エトキシキン：エトキシキン「コーキン100」(精工化学製, 98.8%)

メタノール及びその他有機溶剤：試薬特級品を用いた。

2. 装置

高速液体クロマトグラフ：島津 LC-3A, 検出器：島津 LCD-2(UV 254 nm), 島津 SPD-2 (可変波長) 及び日立分光蛍光検出器 650-10 型, カラム：TSK LC410 (東洋曹達) 及び Lichrosorb Si-100(5 μ) (メルク社) をそれぞれ常法により $\phi 4$ mm, 長さ 25 cm のカラム管に充てんした。

ガスクロマトグラフ：島津 GC-6A, 検出器：FID, カラム：2% OV-101 (担体ガスクローム Q) を $\phi 3$ mm, 長さ 100 cm のガラス管に充てんした。

分光光度計：島津 UV-240 型

ガスクロマトグラフ・マススペクトロメーター(GC-MS)：デュボン社製 Dimaspec 321 型及びデータシステム 320 型。

3. 光照射

原則として 0.1% としたメタノール溶液を, 内径

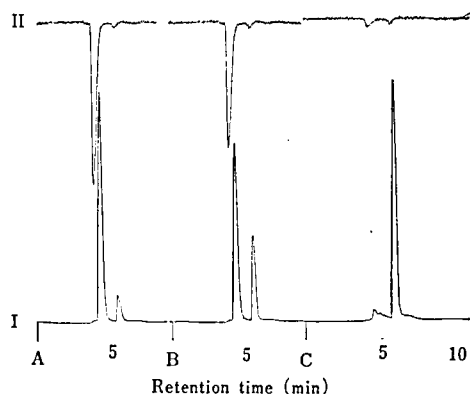


Fig. 2. Normal phase high performance liquid chromatograms of EQ stored in various conditions

Column: Lichrosorb Si-100 (5 μ), $\phi 4 \times 250$ mm, mobil phase: dichloromethane (0.1% methanol) flow rate: 2 ml/min, detector I: UV254 nm (Shimadzu UVD-2, AUFS 16×10^{-2}), detector II: UV 380 nm (Shimadzu SPD-1, AUFS 4×10^{-2}) Samples; 0.1% EQ in methanol, 1 μ l (A: stocked in the refrigerator, B: stood by in the room for 3 days, C: exposed to daylight for 2 hr)

1.5 cm の試験管に入れて密栓し, 実験室の中央に放置し, またスリガラスを経て直射日光にさらした。標準溶液は褐色試験管を用いて冷蔵庫内に保存した。

実験結果及び考察

エトキシキン (EQ) は公定分析法¹⁾として蛍光法が用いられており, HPLC においても主として蛍光検出が行われている。そこで, 蛍光検出器を用いた逆相分配型カラムにおける溶離例を Fig. 1 に示したが, 移動相としてメタノール, 水 (80:20) を用いるとき, EQ の標準溶液からは約 6 分に EQ のピークが現われるが, 同じ溶液を数日間室内に放置したもののピークは著しく小さく, 約一週間後にはほとんどピークを示さない。これは, UV 254 nm の吸収によって検出するとき, 約 4.5 分に現われる物質に変化したためと考えられる。Fig. 1 には 0.1% 溶液の室内放置 3 日後の変化を示したが, この溶液を明るい窓際におくときには数分後から変化が認められはじめ, 1~2 時間後にはほとんど完全に変移する。

順相型 HPLC においては, EQ の直後に, この光化学的に変化した物質のピークが現われる。Fig. 2 には順相用カラムとして Lichrosorb Si を用い, ジクロルメタン (メタノール 0.1% 含有) で展開し, UV 254 nm と 380 nm の両波長の吸収によって検出した

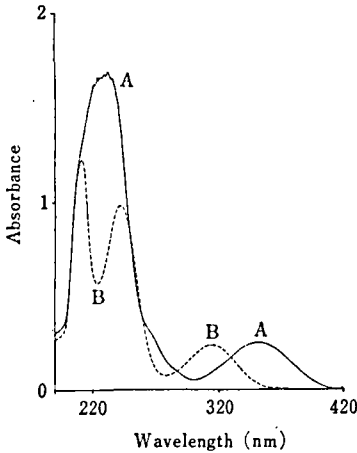


Fig. 3. Absorption spectra of EQ stored in various conditions

Sample; 0.004% EQ in methanol (A: stocked in the refrigerator, B: exposed to daylight for 30 min)

クロマトグラムを示した。新たに生成する物質は 380 nm には吸収を示さず、したがってこの波長によって検出されていた EQ のピークは、EQ の光による変化に伴って減少しさらに消失する。

Fig. 3 には、このような EQ の光照射による UV 吸収スペクトルの変化を示した。UV 吸収が測定できるような希薄溶液では、光による変化はより迅速であり、数分後よりスペクトルの変化が認められ、30分から2時間ぐらまではほぼ安定し、点線で示したスペクトルを示した。この領域における λ_{max} は EQ では 354 nm であり、生成物では 292 nm であった。

Fig. 2 と同じ試料について行ったガスクロマトグラムを Fig. 4 に示した。HPLC の結果からはほぼ完全に变化したと思われる試料 (C) についても、GC では単独ピークとならず、EQ のピークに相当する約5分から約7分にわたる3個の頂点をもつ複合ピークとして現われた。この複合ピークのパターンは注入口温度によって若干変化し、高温ほど第3頂点(約7分)が大きく第2頂点(約6分)が低くなる傾向がみられた。OV-101のほかOV-17, DEGS, Thermonなどのカラムにおいてもほぼ類似した結果であり、極性の高いカラムの場合にはEQに相当するピークがより大きい傾向がみられた。

HPLCにおいて、新たに生成したピーク部分を分取してGCに注入したときも同様な結果を示した。これらのことから、光により生成した物質がGCでは注入口あるいはカラム内において再び変化し、その一

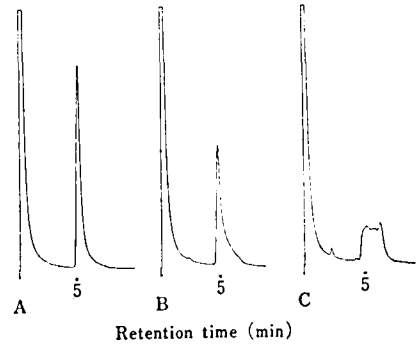


Fig. 4. Gas chromatograms of EQ stored in various conditions

Column: 2% OV-101 on Gaschrom Q, $\phi 3\text{ mm} \times 100\text{ cm}$, carrier flow: 60ml/min, column temp.: 130°, injection temp.: 180°, detector: FID (Shimadzu GC-6A, sens. 4×10^{-2}).

Samples; 0.1% EQ in methanol (A: stocked in the refrigerator, B: stood by in the room for 3 days, C: exposed to daylight for 2 hr)

部はEQに戻ると考えられる。

GC-MSも試みたが、約5分に現われる頂点はEQと同一であり、約7分に現われる頂点附近はEQのスペクトルのうえに微弱な他のスペクトルが重なったと考えられる複合ピークであって、充分な解析ができなかった。

他の有機溶剤について同様に試みたところ、エタノール溶液において徐々に類似の変化がみられたが、メタノール溶液の場合に新たに生成するピーク位置には僅かに生成し、それとEQとの間に特異的な新たなピークが生成することが認められた。イソプロパノールあるいはヘキサン溶液では日光下数日間には特に明らかな変化はみられなかった。ジクロルメタン溶液では光によるEQの減少が比較的早く、溶液は暗褐色を帯びてきて、HPLCでもGCにも多数の副ピークが現われてくるが、メタノール溶液にみられるような特異的なピークの生成はみられなかった。

ま と め

エトキシキンにはメタノール溶液中で特異的に迅速に光によって他物質に変化し、EQの特性であるEm 440 nm 附近の蛍光、あるいは380 nm 附近のUV吸収が消失する。

この新物質は、逆相型HPLCではEQの直前に、順相型HPLCではEQの直後に、いずれもEQと近接した新たなピークとして現われ、254 nm 附近のUV吸収で検出される。

GC においては EQ の後に現われるが、EQ と連続して 3 頂点を示す複合ピークとなり、少量の生成では EQ のテーリングの如くみられる。

これらの結果は、エトキシキンの GC 分析に用いる試料溶剤はヘキサンが望ましいといわれている²⁾ことを裏付けている。しかし、HPLC では移動相と近似した溶剤を用いることが望ましいとされているので、その場合には保存に十分な注意を要する。

終りに、GC-MS に関して御協力を戴いた食品部斎藤行生技官に謝意を表します。

文 献

- 1) *Official Method of Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 13th ed., **41**, 024 (1980)
- 2) J. U. Skaare, H. K. Dahle: *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 1091 (1975)
- 3) G. F. Ernst, S. Y. Verued-roder: *J. Chromatogr.*, **174**, 269 (1979)
- 4) 藤沼賢司, 冠 政光, 中沢久美子, 中里光男, 有賀孝成, 直井家寿太: *食衛誌*, **23**, 67 (1982)

実験動物の血清生化学値 (VI)

採血時における前処置及び採血量の影響について

金子豊蔵・鎌田栄一・池田康和・小川幸男
斎藤 実・鈴木幸子・中路幸男

Biochemical Values in Serum of Laboratory Animals (VI)

Variation in The Biochemical Values of Rat Serum on Pretreatment and Sampling Volume

Toyozo KANEKO, Eiichi KAMATA, Yasukazu IKEDA, Yukio OGAWA,
Minoru SAITO, Sachiko SUZUKI and Yukio NAKAJI

Biochemical values of rat serum are known to be affected by various factors related to the laboratory procedures before the samples are subjected to estimation. The present experiment was conducted to investigate the effect on estimation of 2 factors, the time interval between the blood collection from animals and the serum preparation as well as the blood volume collected from animals. Throughout the study, 7 or 8 week-old male Wistar rats were used, and blood samples were collected from orbital venous plexus by use of capillary tube for biochemical estimation.

The value of creatine kinase, aldorase and lactate dehydrogenase were shown to be significantly higher in the serum prepared from blood samples kept at a room temperature for 30 minutes than in freshly-prepared serum. The values of these items were practically the same in the serum freshly prepared and the one prepared from blood samples kept at a room temperature for 10 minutes to allow coagulation.

To examine the effect of collected blood volume, blood samples were fractionated successively from a rat 1.5 ml each for estimation. There were no significant changes in biochemical values among the samples collected until the total amount reached to near 1.7% of the body weight of animals. However, the samples collected after this limit showed a significantly higher values in following items; uric acid, isocitrate dehydrogenase and magnesium.

(Received May 31, 1983)

小動物を用いた毒性試験における血清生化学検査では、一個体の値を問題にすることは少なく、多くの場合対照群と処置群の標本集団を統計学的に比較するのであるが、しばしば、非常に僅かの差でありながら有意差が生じたり、逆に得られた値の変動が大き過ぎることによって有意の差が認められなくなり、その評価を困難にする。また、実施される生化学検査はその項

目が多種にわたり、各検査施設でさまざまな方法を用いていることから得られた値を単純に相互に比較することが出来ない。このような理由で検査法の標準化が望まれるが、それ以前に検査値の生理的、外的変動要因を十分に把握し、的確さを欠いた実験結果から誤まった結論を導かないようにしなければならない。

著者らは、検査値の変動要因について、これまで血

清成分の安定性, また全血の放置, 絶食時間, 採血部位, 麻酔あるいは溶血による影響について検討し, すでに報告¹⁻⁵⁾した。

今回, 検査材料の採取法に関する問題点のうち, 採血後の血清分離までの室温放置時間及び採血量の影響について検討し, 若干の知見を得たので報告する。

実験材料及び方法

動物はウィスター系, SPF, 雄ラット (静岡県実験動物農協, Wistar-Slc) を使用した。4週令の動物を購入し順化飼育の後, 7及び8週令で実験に供した。飼育は室温 $24 \pm 1^\circ$, 湿度 $55 \pm 5\%$, 点燈午前6時~午後6時の barrier system の動物室で行った。飼料は固型飼料 (船橋農場, F-2) を与え, 水と共に自由に摂取させた。

ラットからの採血は各実験とも採血前16時間絶食させて眼窩静脈叢より行った。無麻酔下あるいはエーテル麻酔下に採取した血液については Table 1 に掲げる血清成分を多項目自動分析装置 (Nucleo Electronics 社, GEMSAEC IV 型) 及び電解質自動測定装置 (日立製作所, 702 型) により測定した。

1. 血清成分に及ぼす血液室温放置の影響

採取した血液の室温放置時間の差に基づく血清成分の変化を検討するために, 8週令, 体重200~236gのラットを次の5群 (1群5匹) に分け, 眼窩静脈叢より無麻酔下に約 3.5 ml を採血し, 各群に定めた処置の後, 3000 rpm, 10分間, 遠心分離して得た血清について成分量を測定した。

第1群: 血液を直ちに遠心分離した。

第2群: 血液を室温 (25°) に30分間放置後, 遠心分

Table 1. Test and reagent kit

Test (Abbreviation)	Manufacture (Code number)	Test (Abbreviation)	Manufacture (Code number)
Total protein (T-PRO)	WAKO (274-24301)	Creatine kinase (CK)	BMJ (126322)
Albumin (ALB)	WAKO (274-24301)	Glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT)	Eiken (89049)
Albumin-Globulin ratio (A/G)	-	Glutamate-pyruvate transaminase (GPT)	Eiken (89079)
Blood urea nitrogen (BUN)	Shinotest (97016)	Isocitrate dehydrogenase (ICDH)	BMJ (125989)
Creatine (CRN)	BMJ (124192)	Leucine aminopeptidase (LAP)	WAKO (279-34001)
Uric acid (UA)	BMJ (124753)	Lactate dehydrogenase (LDH-P)	Shinotest (SVR)
Glucose (GLU)	BMJ (166391)	Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH)	BMJ (124672)
Phospholipids (PL)	WAKO (275-54001)	Glycylprolyl dipeptidyl aminopeptidase (GPDAP)	FUZI ZOHKI (FS-113)
Triglycerides (T-GLY)	BMJ (126012)	Calcium (Ca)	WAKO (272-21801)
Total cholesterol (T-CHO)	BMJ (172626)	Inorganic phosphorus (Pi)	WAKO (278-23101)
Free cholesterol (F-CHO)	BMJ (310328)	Magnesium (MG)	WAKO (279-32801)
Aldorase (ALD)	BMJ (123838)	Sodium (Na)	Daiichi
Alkaline phosphatase (ALP)	WAKO (279-3390)	Potassium (K)	"
Amylase-DS (AMY)	KAINOS (AU-3203)	Chlorine (Cl)	"
Cholinesterase (CHE)	BMJ (124125)		

The concentration of an enzyme in solution is expressed as milliunits per milliliter (μ u/ml) at 30°C .

BMJ : Boeringer Mannheim Yamanouchi, Daiichi : Daiichi Pure Chemical Co.Ltd.,
EIKEN : Eiken Kagaku Co.Ltd., KAINOS : KAINOS Co.Ltd.,
SHINOTEST : Shinotest laboratory, WAKO : Wako Pure Chemical Industries

離した。

第3群：血液を直ちに氷冷した(60~90分)。

第4群：血液を室温に10分間放置後、氷冷した(60~90分)。

第5群：血液を室温に30分間放置後、氷冷した(60~90分)。

2. 血清成分に及ぼす採血量の影響

動物からの採血量により血清成分がどのように影響するか、採血可能最大量の異なる約 180 g の体重のラットと約 220 g の体重のラットを用い、眼窩静脈叢より流出する血液を 1.5 ml ずつ、ほぼ採血可能最大量まで分取して、最初に流出する血液とそれぞれの成分量を比較した。また、エーテル麻酔ラットにおいても、体重約 220 g のラットを用いて同様に検討した。

まず、7週令、体重 169~192 g (平均約 180 g) のラット 16 匹それぞれから無麻酔下に右眼窩静脈叢より 1.5 ml ずつ 2 回、更に左眼窩静脈叢より 1.5 ml、計 4.5 ml のほぼ採血可能最大量まで、ガラス毛细管を用いて 3 本の遠心管に分取採血し、室温に 10 分間放置した後、氷冷し 2 時間以内に 3000 rpm、10 分間遠心分離した血清について、成分量を測定し、流出順ごとに比較した。なお、血液 1.5 ml から 28 の全項目を測定する血清量が得られないので、14 項目ずつに分け、各項目に 4~8 匹ずつを充てた。

また、8週令、体重 213~232 g (平均約 220 g) のラット 12 匹それぞれから無麻酔下に 1.5 ml ずつ右眼より 3 回、次いで左眼より 1 回、計 6 ml、略々採血可能最大量に分取採血し、分離した血清についてそれぞれの成分差を比較するとともに、7週令のラットの結果とも比較した。また、同様な 8週令のラット 12 匹をエーテルで軽く麻酔し、同じ方法で麻酔ラットの流出分取した血清の成分差を比較するとともに無麻酔ラットの結果と比較した。なお、7週令ラットの実験と同様の理由で各測定項目とも 5~6 匹の血清について測定を行った。

実験結果及び考察

1. 血清成分に及ぼす血液室温放置の影響

マウスあるいはラットを用いた毒性試験では、通常 30~40 匹について一匹ごとに血清生化学検査のための採血、続いて病理組織学的検査のための解剖が行われる。このため、最初の一匹から採取する血液と、最後の一匹のそれまで 60~90 分程度の時間的な差を生じ、必然的にその間に採取した他の血液と共に放置されることになる。前報²⁾において、血液を室温 (27°) に 6 時間放置すると、その血清中の UA, NEFA, CK,

GOT 及び LDH が増加し、GLU が減少し、また氷冷 4 時間では CK, LDH 及び K が増加し、GLU 及び Pi が減少することを報告した。このような血清成分の変化は採血してから血球分離に至るまでの時間及び温度が大きな影響因子となっているように思われる。このため採取した血液は血球をできるだけ早く除去することが好ましいことは言うまでもない。第 1 群は採血後直ちに血球を分離除去したものであり、第 3 群は直ちに氷冷したものであるが、両群とも血清中にフィブリンが析出し再度の分離を必要とした。この第 1 群に対して、室温に 30 分間放置した第 2 群では ALD, CK, GOT, ICDH, LDH, Pi 及び Mg が増加し、GLU が減少した。逆に、採血後直ちに氷冷した第 3 群では、第 1 群と比べて殆んど差が見られなかった。また、第 4 群及び第 5 群は室温にそれぞれ 10 分及び 30 分間放置後氷冷したものであるが、この二つの群の間には放置時間が長びくに従って、ALD, CK, LDH 及び Mg の増加、並びに GLU 及び T-GLY の減少が見られ、特に LDH の増加は著しかった。また、採血後直ちに氷冷した第 3 群と室温放置 10 分後に氷冷した第 4 群との間には大きな差がなかった。(Table 2) これらの事実は、血液を採取後直ちに血球を除くか、あるいは血球が共存していても、氷冷すれば少くとも 90 分間以内では、その血清成分値に大きな差はなく、氷冷する以前の室温に放置する時間が長びく程血清成分値に著しい変化をもたらすことを示唆している。

血液を室温に放置すると、血球はなお代謝能を有しているため、エネルギー生成系としての解糖反応は維持され、結局は血清中の GLU の減少、ピルビン酸及び乳酸さらに無機リン酸の増加が起こる⁶⁾。一方、血液を氷冷すると、血球中の解糖反応は抑制され、更に能動輸送の停止が起こると血球膜を通して濃度差による拡散が起こり、K⁺ は血球外へ、また Na⁺ は血球内へ浸透する⁶⁾とされている。今回の実験で、室温に 30 分放置した第 2 群及び第 5 群は GLU の減少及び Pi の増加が認められ、この点でこれらの説とよく一致している。また、氷水中に放置した第 3 群では GLU 及び K に大きな変化が見られるに至っていないが、これは恐らく氷冷時間が短いことによるものであろう。

ヒト、イス、ウサギ及びラットの血清 LDH 活性を比較すると、特にラットでは採血から血清分離までの放置時間の延長と共に増加し、その原因が血液凝固過程で崩壊される血小板からの放出に起因するといわれている^{7,8)}。このような LDH の増加は第 3~5 群の成績から、室温放置時間を短縮し氷冷することによりかなり抑制されていることがわかる。これらのことか

Table 2. Quantitative biochemical changes in serum components associated with time interval between blood collection and serum preparation

Test	Units	Group 1	H	Group 2	H	Group 3	N	Group 4	N	Group 5
T-PRO	g/dl	7.22 ± 0.22	5	7.19 ± 0.21	5	7.12 ± 0.23	5	7.03 ± 0.29	5	7.01 ± 0.16
ALB	g/dl	4.62 ± 0.07	5	4.69 ± 0.07	5	4.65 ± 0.08	5	4.62 ± 0.06	5	4.55 ± 0.07
A/G		1.78 ± 0.10	5	1.88 ± 0.11	5	1.89 ± 0.11	5	1.93 ± 0.20	5	1.85 ± 0.05
BUN	mg/dl	17.7 ± 1.5	5	17.7 ± 1.5	5	19.1 ± 3.3	5	23.8 ± 1.5**	5	22.0 ± 1.0**
CRN	mg/dl	0.79 ± 0.04	5	0.74 ± 0.12	5	0.66 ± 0.29	5	0.65 ± 0.03**	5	0.63 ± 0.05**
UA	mg/dl	2.04 ± 0.74	5	1.62 ± 0.17	5	2.29 ± 0.22	5	1.17 ± 0.52	5	2.06 ± 0.86
GLU	mg/dl	130 ± 10	5	106 ± 6**	5	125 ± 5	5	128 ± 3	5	113 ± 13*
PL	mg/dl	167 ± 9	5	164 ± 11	5	161 ± 9	5	161 ± 19	5	151 ± 15
T-GLY	mg/dl	149 ± 24	5	144 ± 14	5	135 ± 14	5	127 ± 43	5	100 ± 27*
T-CHO	mg/dl	38 ± 6	5	35 ± 4	5	36 ± 3	5	39 ± 6	5	36 ± 4
F-CHO	mg/dl	13.3 ± 2.6	5	11.0 ± 1.3	5	12.4 ± 1.0	5	13.6 ± 3.5	5	10.2 ± 2.0
ALD	mu/ml	14.1 ± 2.9	5	24.1 ± 4.7**	5	13.0 ± 2.7	5	14.9 ± 3.1	5	20.1 ± 2.5**
ALP	mu/ml	447 ± 25	5	481 ± 36	5	457 ± 27	5	464 ± 42	5	418 ± 20
AMY	nu/ml	506 ± 40	5	559 ± 100	5	478 ± 32	5	514 ± 45	5	477 ± 39
CHE	mu/ml	666 ± 92	5	649 ± 38	5	676 ± 72	5	671 ± 167	5	611 ± 142
CK	mu/ml	247 ± 90	5	482 ± 152*	5	225 ± 141	5	338 ± 210	5	426 ± 106*
GOT	mu/ml	70 ± 4	5	91 ± 10**	5	71 ± 7	5	68 ± 8	5	75 ± 11
GPT	mu/ml	37 ± 5	5	35 ± 6	5	37 ± 4	5	34 ± 2	5	35 ± 6
ICDH	mu/ml	3.29 ± 0.91	5	6.32 ± 2.37*	5	3.79 ± 0.99	5	2.72 ± 0.65	5	5.14 ± 2.42
LAP	mu/ml	56 ± 1	5	58 ± 2	5	58 ± 2	5	54 ± 5	5	52 ± 2**
LDH-P	mu/ml	214 ± 41	5	1114 ± 290**	5	217 ± 19	5	443 ± 106**	5	1007 ± 273**
G6PDH	mu/ml	6.15 ± 1.48	5	8.53 ± 4.23	5	8.47 ± 2.88	5	4.61 ± 1.96	5	8.44 ± 6.25
GPDAP	mu/ml	41 ± 2	5	40 ± 3	5	42 ± 3	5	42 ± 2	5	40 ± 2
Ca	mg/dl	9.8 ± 0.4	5	10.2 ± 0.5	5	10.2 ± 0.5	5	9.9 ± 0.2	5	10.0 ± 0.5
Pi	mg/dl	8.1 ± 0.6	5	9.1 ± 0.4*	5	8.2 ± 0.4	5	8.3 ± 0.6	5	8.7 ± 0.7
Mg	mg/dl	2.13 ± 0.11	5	2.62 ± 0.12**	5	2.36 ± 0.14*	5	2.48 ± 0.10**	5	2.78 ± 0.23**
Na	meq/l	150 ± 7	5	146 ± 2	5	146 ± 7	5	143 ± 1	5	145 ± 6
K	meq/l	5.8 ± 0.3	5	5.6 ± 0.3	5	6.4 ± 0.6	5	5.9 ± 0.2	5	5.7 ± 0.3
Cl	meq/l	112 ± 5	5	108 ± 2	5	110 ± 6	5	106 ± 1	5	108 ± 4

Each value represents mean ± S.D.:

* (p<0.05), ** (p<0.01) : Significant difference from group 1

N : Number of animals

Group 1 : Centrifuged immediately after blood collection

Group 2 : Centrifuged after kept standing for 30 min. at a room temperature

Group 3 : Centrifuged after stored 30-90 min. in ice-cold water

Group 4 : Centrifuged after kept standing for 10 min. at a room temperature and then stored for 30-90 min. in ice-cold water

Group 5 : Centrifuged after kept standing for 30 min. at a room temperature and then stored for 30-90 min. in ice-cold water

Table 3. Quantitative biochemical changes of serum components associated with collection volume of blood from 7 weeks old rats

Test	Units	N	Group 1	N	Group 2	N	Group 3
T-PRO	g/dl	7	5.94 ± 0.18	7	5.90 ± 0.19	7	6.00 ± 0.16
ALB	g/dl	7	4.05 ± 0.07	7	4.01 ± 0.08	7	4.08 ± 0.12
A/G		7	2.14 ± 0.10	7	2.14 ± 0.12	7	2.13 ± 0.12
BUN	mg/dl	8	17.2 ± 2.4	8	16.4 ± 1.9	8	16.5 ± 2.5
CRN	mg/dl	8	0.48 ± 0.04	8	0.50 ± 0.05	6	0.55 ± 0.03**
UA	mg/dl	8	1.77 ± 0.17	8	1.89 ± 0.15	4	2.76 ± 0.63*
GLU	mg/dl	7	110 ± 11	7	102 ± 12	7	87 ± 12 **
PL	mg/dl	8	136 ± 10	8	142 ± 11	7	142 ± 9
T-GLY	mg/dl	7	100 ± 11	7	104 ± 17	7	106 ± 17
T-CHO	mg/dl	7	43 ± 4	7	42 ± 4	7	42 ± 3
F-CHO	mg/dl	8	12.2 ± 1.8	8	12.0 ± 2.0	8	11.9 ± 1.7
ALD	mu/ml	8	18.7 ± 2.2	8	20.0 ± 2.9	8	23.1 ± 2.7 **
ALP	mu/ml	7	972 ± 86	7	972 ± 88	7	1010 ± 100
AMY	mu/ml	8	442 ± 18	8	447 ± 19	7	449 ± 20
CHE	mu/ml	8	566 ± 102	8	548 ± 111	7	535 ± 118
CK	mu/ml	7	287 ± 92	7	313 ± 80	7	437 ± 81 **
GOT	mu/ml	8	65 ± 6	8	65 ± 9	8	71 ± 8
GPT	mu/ml	8	23 ± 3	8	24 ± 4	7	25 ± 3
ICDH	mu/ml	8	2.57 ± 0.41	8	3.23 ± 1.15	8	4.57 ± 1.33**
LAP	mu/ml	8	59 ± 3	8	60 ± 3	7	62 ± 3
LDH-P	mu/ml	7	393 ± 90	7	406 ± 104	7	491 ± 107
G6PDH	mu/ml	8	6.81 ± 1.21	8	7.98 ± 3.04	7	10.84 ± 3.61*
GPDAP	mu/ml	8	44 ± 2	8	44 ± 2	7	45 ± 2
Ca	mg/dl	7	11.2 ± 0.4	7	10.7 ± 0.6	7	11.5 ± 0.7
Pi	mg/dl	7	8.9 ± 0.4	7	9.2 ± 0.5	7	10.5 ± 0.7 **
Mg	mg/dl	7	2.07 ± 0.13	7	2.16 ± 0.08	7	2.46 ± 0.16**
Na	meq/l	7	139 ± 1	7	139 ± 1	7	141 ± 1 *
K	meq/l	7	6.4 ± 0.5	7	6.2 ± 0.4	7	6.7 ± 0.3
Cl	meq/l	7	104 ± 2	7	104 ± 1	7	106 ± 2 *

Each value represents mean ± S.D..

* (p < 0.05), ** (p < 0.01) : Significant difference from group 1

N : Number of animals (7 weeks old)

Group 1 : First 1.5 ml of fluxional blood from orbital venous plexus of a rat

Group 2 : Second 1.5 ml of fluxional blood from orbital venous plexus of the same rat

Group 3 : Third 1.5 ml of fluxional blood from orbital venous plexus of the same rat

ら採血時における血液の室温放置は血清成分の変動の比較的少ない5~10分が適切な時間であろうと思われる。

2. 血清成分に及ぼす採血量の影響

生体中の全血液量は体重の約1/13といわれている。しかし実際に採血する量は採血部位が何処であれ経験的にさらにその1/3程度、結局体重の1/39位であろうと思われる。さて、採血の初期には勢い良く流れ出す血液も時間の経過と共に次第にその速度を弱め、この時なお残りの血液を得るためにラットの体を圧迫することがある。このようにして得た血液が生体内に正常な状態で存在していたものと同一と言えるか否か疑問である。つまり、血清成分に変化をきたす恐れを否定しえない。そこで動物の状態を観察しながら採血を分割し、それぞれの血清成分の量的変化について検討した。

体重約 180 g のラットでは、最初に流出する血液

1.5 ml を採取した第1群に対し、2回目の第2群では各項目に殆んど変化が見られなかったが、3回目では CRN, UA, ALD, CK, ICDH, G6PDH, Pi, Mg, Na 及び Cl が増加し、GLU が減少した。(Table 3)

更に、体重約 220 g のラットでエーテル麻酔時と無麻酔時を比較すると、3回目すなわち 4.5 ml までは麻酔の有無にかかわらず大きな変化は認められない。しかし、4回目では無麻酔群で UA, CK, ICDH, Pi 及び G6PDH が、麻酔群では UA 及び ICDH が著しく増加した。(Table 4)

すなわち、無麻酔群では CK, Pi 及び G6PDH の増加が特異的に認められた。このように採血が進んだ時点で成分の変化が生ずるが、この原因として、180 g の動物では約 3 ml, また 220 g の動物は約 4 ml を採取した時点で痙攣が生じ、それと期を同じくして成分の変化が生ずるところから、少くとも痙攣の発現が何んらかの影響を与えていることが考えられた。一方、

Table 4. Quantitative biochemical changes of serum components associated with collection volume of blood and anesthesia from 8 weeks old rats

Test	Units	N	Group 1	N	Group 2	N	Group 3	N	Group 4	
unesthesia	T-PRO	g/dl	6	6.80 ± 0.12	6	6.76 ± 0.18	6	6.57 ± 0.25	6	6.20 ± 0.61
	ALB	g/dl	6	4.43 ± 0.13	6	4.46 ± 0.04	6	4.37 ± 0.03	6	4.06 ± 0.28*
	A/G		6	1.88 ± 0.22	6	1.94 ± 0.12	6	1.99 ± 0.11	6	1.93 ± 0.19
	BUN	mg/dl	6	16.7 ± 1.6	6	16.5 ± 1.8	6	17.3 ± 1.9	6	17.6 ± 1.5
	CRN	mg/dl	6	0.54 ± 0.05	6	0.55 ± 0.03	6	0.52 ± 0.07	6	0.65 ± 0.16
	UA	mg/dl	6	1.28 ± 0.12	6	1.14 ± 0.17	6	1.47 ± 0.35	6	4.38 ± 1.44**
	GLU	mg/dl	6	114 ± 11	6	106 ± 13	6	96 ± 12 *	6	131 ± 75
	PL	mg/dl	6	160 ± 12	6	163 ± 11	6	160 ± 10	6	152 ± 10
	T-GLY	mg/dl	6	131 ± 21	6	128 ± 19	6	120 ± 18	6	114 ± 20
	T-CHO	mg/dl	6	57 ± 10	6	56 ± 10	6	53 ± 11	6	51 ± 11
	F-CHO	mg/dl	6	17.5 ± 3.8	6	16.9 ± 3.8	6	16.0 ± 4.4	6	14.5 ± 4.6
	ALD	mu/ml	6	13.2 ± 2.9	6	12.6 ± 1.3	6	15.7 ± 3.3	6	15.3 ± 1.9
	ALP	mu/ml	6	517 ± 33	6	513 ± 30	6	503 ± 36	6	488 ± 55
	AMY	mu/ml	6	473 ± 39	6	476 ± 46	6	466 ± 55	6	430 ± 61
	CHE	mu/ml	6	576 ± 120	6	556 ± 152	6	505 ± 127	6	385 ± 179
	CK	mu/ml	6	225 ± 126	6	216 ± 40	6	355 ± 170	6	426 ± 162 *
	GOT	mu/ml	6	58 ± 5	6	56 ± 3	6	69 ± 18	6	69 ± 10 *
	GPT	mu/ml	6	31 ± 2	6	29 ± 3	6	30 ± 3	6	32 ± 4
	ICDH	mu/ml	6	2.22 ± 1.38	6	1.75 ± 1.07	6	7.00 ± 6.14	6	7.70 ± 3.55*
	LAP	mu/ml	6	54 ± 1	6	53 ± 2	6	51 ± 2 *	6	51 ± 2 *
	LDH-P	mu/ml	6	415 ± 237	6	429 ± 94	6	603 ± 191	6	424 ± 89
	G6PDH	mu/ml	6	4.65 ± 1.48	6	4.56 ± 1.47	6	10.54 ± 8.82	6	13.26 ± 5.11**
	GPAP	mu/ml	6	40 ± 3	6	39 ± 2	6	38 ± 2	6	36 ± 5
	Ca	mg/dl	6	9.8 ± 0.5	6	9.7 ± 0.4	6	9.7 ± 0.5	6	10.5 ± 0.7
	Pi	mg/dl	6	6.5 ± 0.6	6	6.6 ± 0.6	6	7.0 ± 0.7	6	11.4 ± 2.8 **
	MG	mg/dl	6	2.30 ± 0.10	6	2.32 ± 0.12	6	2.40 ± 0.12	6	2.89 ± 0.18**
	Na	meq/l	6	156 ± 3	6	155 ± 2	6	154 ± 1	5	157 ± 2
	K	meq/l	6	6.8 ± 0.5	6	6.3 ± 0.4	6	6.3 ± 0.2 *	5	7.1 ± 0.3
Cl	meq/l	6	117 ± 3	6	116 ± 2	6	115 ± 2	6	118 ± 1	
anesthesia	T-PRO	g/dl	6	6.34 ± 0.16	6	6.25 ± 0.16	6	6.16 ± 0.15	6	6.04 ± 0.16**
	ALB	g/dl	6	4.12 ± 0.06	6	4.09 ± 0.11	6	3.98 ± 0.14	6	3.99 ± 0.08**
	A/G		6	1.87 ± 0.17	6	1.90 ± 0.18	6	1.85 ± 0.22	6	1.94 ± 0.15
	BUN	mg/dl	6	19.5 ± 1.0	6	19.3 ± 1.1	6	20.2 ± 1.4	6	21.1 ± 1.4
	CRN	mg/dl	6	0.43 ± 0.06	6	0.46 ± 0.08	6	0.48 ± 0.07	6	0.56 ± 0.06**
	UA	mg/dl	6	1.06 ± 0.13	6	1.23 ± 0.20	6	1.43 ± 0.30*	6	3.09 ± 0.88**
	GLU	mg/dl	6	160 ± 12	6	159 ± 14	6	159 ± 16	6	160 ± 24
	PL	mg/dl	6	154 ± 9	6	153 ± 9	6	152 ± 10	6	153 ± 10
	T-GLY	mg/dl	6	144 ± 29	6	144 ± 29	6	138 ± 30	6	132 ± 31
	T-CHO	mg/dl	6	52 ± 4	6	50 ± 6	6	49 ± 5	6	47 ± 6
	F-CHO	mg/dl	6	14.8 ± 2.2	6	14.5 ± 2.4	6	14.2 ± 2.1	6	12.9 ± 2.4
	ALD	mu/ml	6	13.1 ± 1.5	6	12.7 ± 1.2	6	14.6 ± 2.8	6	15.4 ± 4.9
	ALP	mu/ml	6	510 ± 45	6	526 ± 64	6	490 ± 36	6	494 ± 42
	AMY	mu/ml	6	472 ± 23	6	476 ± 28	6	462 ± 23	6	460 ± 30
	CHE	mu/ml	6	608 ± 69	6	568 ± 74	6	569 ± 98	6	568 ± 81
	CK	mu/ml	6	229 ± 50	6	205 ± 42	6	283 ± 93	6	379 ± 293
	GOT	mu/ml	6	52 ± 2	6	50 ± 3	6	55 ± 5	6	69 ± 15 *
	GPT	mu/ml	6	27 ± 2	6	27 ± 2	6	27 ± 1	6	30 ± 2
	ICDH	mu/ml	6	2.34 ± 0.64	6	2.09 ± 0.51	6	3.07 ± 0.89	6	7.21 ± 3.25*
	LAP	mu/ml	6	50 ± 1	6	49 ± 1	6	48 ± 1 **	6	48 ± 1 *
	LDH-P	mu/ml	6	422 ± 124	6	393 ± 130	6	560 ± 217	6	466 ± 164
	G6PDH	mu/ml	6	2.71 ± 0.46	6	2.58 ± 0.41	6	2.72 ± 0.66	6	5.61 ± 3.60
	GPAP	mu/ml	6	36 ± 2	6	36 ± 2	6	35 ± 2	6	35 ± 2
	Ca	mg/dl	6	9.2 ± 0.8	6	8.9 ± 0.6	6	8.9 ± 0.5	6	8.8 ± 0.6
	Pi	mg/dl	6	6.1 ± 0.3	6	6.2 ± 0.4	6	6.3 ± 0.3	6	7.0 ± 0.5 **
	MG	mg/dl	6	2.05 ± 0.17	6	2.11 ± 0.16	6	2.17 ± 0.17	6	2.57 ± 0.27**
	Na	meq/l	6	150 ± 2	6	150 ± 1	6	151 ± 1	6	153 ± 2 *
	K	meq/l	6	5.0 ± 0.2	6	5.0 ± 0.3	6	5.1 ± 0.1	6	5.5 ± 0.3 **
Cl	meq/l	6	113 ± 1	6	114 ± 1 *	6	114 ± 0 **	6	116 ± 2 **	

Each value represents mean ± S.D..

* (p < 0.05), ** (p < 0.01) : Significant difference from group 1

N : Number of animals (8 weeks old)

Group 1 : First 1.5 ml of fluxional blood from orbital venous of a rat

Group 2 : Second 1.5 ml of fluxional blood from orbital venous of the same rat

Group 3 : Third 1.5 ml of fluxional blood from orbital venous of the same rat

エーテルによって痙攣の発現を抑えた 220 g の動物群では、CK、Pi 及び G6PDH の増加が認められなかった。CK についてはその由来が筋肉収縮と関連すると見られるところから、痙攣の抑制によってその増加が抑えられることは充分考えられるところである。しかし、麻酔群で UA 及び ICDH の変化が痙攣によってのみ招来されるものでないことも示唆された。いずれにしてもこれらのことから自然に流出してきた血液と体内から絞り出した血液とは、その血清成分に違いを生ずる恐れがある。今回の成績から、採血量は麻酔の有無にかかわらず体重の 1.7% 程度に止めるべきであると考えられる。

ま と め

毒性試験における採血法に基づく血清成分の変化について検討した。採取した血液はその凝固性を高め血清成分の量に変化をもたらさない条件として、採血後

10分以内の室温放置の後、氷水中に90分以内の保存が可能である。また、採血に際して、その量にも限度があり、殊に動物が痙攣を起した以降の血液は血清成分を変化させると見られるので、体重の 1.7% 以内に採血量を止めるべきであろう。

終りに臨み、本報告の御校閲を賜った戸部満寿夫部長に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) 中路幸男他：衛生試験報，97，141 (1979)
- 2) 中路幸男他：衛生試験報，97，148 (1979)
- 3) 中路幸男他：衛生試験報，97，150 (1979)
- 4) 鈴木幸子他：衛生試験報，98，116 (1980)
- 5) 齊藤 実：衛生試験報，99，107 (1981)
- 6) 清水文彦：衛生検査技術講座，11 巻，p. 182 (1970) 医歯薬出版
- 7) R. Fridel et al.: *Clin. Chim. Acta*, 30, 37 (1970)
- 8) 江守利博他：*Exp. Anim.*, 27(2), 167 (1978)

薬用植物の栽培試験（第12報）

ハナトリカブトの系統並びに収穫年次と生育，収量，品質について¹⁾

堀越 司・坂東英雄²⁾・本間尚治郎・石崎昌吾

Studies on the Cultivation of Medicinal Plants (XII)

Growth, Yield and Quality on the Strain or Harvesting Annual of *Aconitum chinense* Sieb.

Tukasa HORIKOSHI, Hideo BANDO, Naojiro HOMMA and Shogo ISHIZAKI

This experiments were carried out at Hokkaido Experiment Station of Medicinal Plants in Nayoro, Hokkaido from Nov. 1975 to Oct. 1979.

1. Date No. 1-No. 4 introduced from Date district of southern Hokkaido, and Mizutani pedigree reared at Hokkaido Exp. Sta. of Medicinal Plants, were used for comparative studies between five pedigrees.

On the growth, yield and quality, Mizutani and Date No. 2 pedigrees were excellent and stable than other pedigrees. It was considered that the two pedigrees were suitable for root tuber production.

2. The time of harvesting was observed using Mizutani pedigree seedlings. In the case intended to harvest root tuber, it was considered that the harvesting at two years after planting was profitable for the purpose.

(Received May 31, 1983)

ま え が き

ハナトリカブト *Aconitum chinense* Sieb. の生育，収量と増殖については、衛生試験報第 95 号 (p. 56~63) にて報告したが、今回は系統比較と収穫年次について検

討し若干の知見を得たので、その概要について報告する。

材料及び方法

i) 系統比較 北海道名寄 (北薬試) 畑地 (沖積性砂質壤土) にて、'77. 10. 30 に定植し、'79. 10. 22 に掘り上げ調査検討した。

¹⁾ 日本生薬学会第26回年会 (東京) にて一部発表

²⁾ 北海道薬科大学生薬学教室

Table 1. Growth of *Aconitum chinense* Sieb. ('79. 10. 22)

Strain	Plant height (cm)	Number of stem	Fresh weight of aerial part (g)	Root length (cm)	Fresh weight of root (g)
Mizutani	79.3	6.5	497.4	22.3	599.3
Date 1	85.1	6.9	528.1	18.6	594.8
" 2	92.6	8.3	562.2	22.1	544.3
" 3	80.9	6.6	545.0	21.3	599.7
" 4	65.0	5.8	350.1	19.4	414.7

Table 2. Yield of *Aconitum chinense* Sieb. ('79. 10. 22)

Strain	Total (g)	Root tuber Dry weight (g)			Number of Root tuber	Mother tuber	
		L	M	S		Dry weight (g)	Number
Mizutani	142.2	14.1 (10)	109.6 (77)	18.5 (13)	30.2	40.1	6.7
Date 1	153.3	12.8 (8)	122.9 (88)	17.7 (12)	29.4	38.5	6.9
" 2	132.0	50.2 (38)	72.0 (55)	9.8 (7)	19.0	39.5	8.4
" 3	123.2	4.6 (4)	99.5 (81)	19.1 (16)	28.4	43.1	6.6
" 4	81.1	3.2 (4)	61.5 (76)	16.4 (20)	21.3	26.6	6.2

註. ()内の数値はブシ (子根) の大きさ別収量の全重比である

(イ) 系統 北薬試 (水谷系), 伊達1号 (福島系), 伊達2号 (丸葉早生 (実生育成)), 伊達3号, 伊達4号計5系統

(ロ) 苗の基準 根径 21.5~25.7 mm, 根長 5.1~6.7 cm, 根重 15.5~19.0 g

(ハ) 肥料 基肥 kg/2a 堆肥 1000, IB 化成20, 追肥 '78 年変化化成 15.2, いも化成 15.0 施用

(ニ) 畦巾 60 cm, 株間 30 cm に植付け, 中耕1回, 薬剤散布2回, 除草5回実施

なお伊達1~4号は元, 西胆振花キセンターの伊藤正一氏より入手したものである。

ii) 収穫年次比較 北薬試の畑地にて, '75. 11. 1に定植し, '78. 10. 20 まで1年次, 2年次, 3年次に掘り上げ調査検討した。

(イ) 収穫年次 1年次 ('76. 11. 2), 2年次 ('77. 10. 27), 3年次 ('78. 10. 20)

(ロ) 供試苗 北薬試 (水谷系)

(ハ) 肥料 基肥 kg/10a 堆肥 200, IB 化成 109.7, 追肥 764 化成 500, 堆肥 4800 (2, 3 年次)

(ニ) 畦巾 60 cm, 株間 30 cm に植付け, 苗 (いも) にはベンタゲンを粉衣した。中耕除草は適宜実施。

結果及び考察

1) 系統比較

i) 生育 Table 1 のとおり地上部の生育は, 全般に伊達2号 (丸葉早生 (実生育成)) が他に優っており, 伊達4号は最も劣る傾向を示した。地下部の生育は, 地上部と同様に伊達4号が最も劣っており, 他はほぼ類似の傾向を示した。

ii) 収量 Table 2 のとおり1株当たりのブシ (子根) の収量 (乾重) は, 伊達1号 (福島系), 北薬試 (水谷系), 伊達2号 (丸葉早生 (実生)), 伊達3号, 伊達4号の順であって, 伊達4号は伊達1号の53%収量であり, 生育と同様な傾向であった。特記すべきことは, 伊達2号 (丸葉早生 (実生)) はブシ (子根) の数は最も少く, ブシ (子根) の大きさの割合が最も高いことが確認されたことである。以上のことからハナトリカブトの栽培には, 北薬試 (水谷系) と伊達2号 (丸葉早生 (実生)) の2系統が望ましいものと考えられる。

なお伊達1号, 3号は北薬試 (水谷系) と同じ系統ではないかと考えられるし, 伊達4号は実際栽培すなわち, ブシ (子根) 生産には不適と思われる。

iii) 品質 定量は北海道薬科大学生薬学教室で実施

Table 3. Quality of *Aconitum chinense* Sieb. ('79. 10. 22)

Strain	Root tuber (%)			Mother tuber Total (%)		
	Total Alkaloid	Aconitine	Mesaconitine	Alka.	Aco.	Mes.
Mizutani	0.73	0.010	0.07	0.23	0.001	0.01
Date 1	0.69	0.006	0.04	0.32	0.001	0.01
" 2	0.74	0.010	0.06	0.25	0.001	0.01
" 3	0.81	0.008	0.04	0.28	0.001	0.02
" 4	1.02	0.005	0.03	0.24	0.001	0.01

Table 4. Growth of *Aconitum chinense* Sieb. ('76.11.2-'78.10.20)

Time of harvesting	Plant height (cm)	Hill spread (cm)	Number of stem	Diam of main stem (mm)	Fresh weight of aerial part (g)
'76. 11. 2	21.0	18.0×13.7	1.1	5.4	34.2
'77. 10. 27	68.8	39.5×31.2	4.8	12.9	438.0
'78. 10. 20	73.4	41.0×28.9	14.7	18.8	577.0

Table 5. Growth of *Aconitum chinense* Sieb. ('76.11.2-'78.10.20)

Time of harvesting	Root length (cm)	Root spread (cm)	Fresh weight of root (g)
'76. 11. 2	22.7	15.3×9.9	122.6
'77. 10. 27	22.9	22.5×15.6	551.4
'78. 10. 20	20.2	23.7×17.9	954.6

Table 6. Yield of *Aconitum chinense* Sieb. ('76.11.2-'78.10.20)

Plot	Time of harvesting	Number	Diam Length (cm)		Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Yielding percentage (%)
			(cm)	(cm)			
Mother tuber	'76. 11. 2	1.0	2.7	8.4	18.3	4.6	25.1
	'77. 10. 27	4.9	3.4	9.6	103.0	23.4	22.7
	'78. 10. 20	15.5	4.0	5.9	532.3	159.4	29.9
Root tuber (L) (40 g)	'76. 11. 2	1.0	3.1	12.0	41.0	11.2	27.3
	'77. 10. 27	2.2	3.4	7.8	97.9	29.6	30.2
	'78. 10. 20	1.9	3.7	5.4	77.3	35.7	46.2
Root tuber (M) (11-39 g)	'76. 11. 2	2.6	2.4	10.4	49.7	16.6	33.4
	'77. 10. 27	15.5	3.0	6.8	316.0	89.5	28.3
	'78. 10. 20	16.0	2.9	4.0	255.0	110.2	43.2
Root tuber (S) (10 g)	'76. 11. 2	2.7	2.7	4.2	12.0	3.7	29.4
	'77. 10. 27	6.7	1.9	4.0	34.5	9.4	27.4
	'78. 10. 20	33.4	1.8	2.1	120.0	44.0	36.7

Table 7. T-R ratio of *Aconitum chinense* Sieb. ('76.11.2-'78.10.20)

Time of harvesting	Fresh weight of aerial part (g)	Fresh weight of root (g)	T-R ratio (%)	Fresh weight of root tuber (g)	T-R ratio (%)
'76. 11. 2	34.2	122.6	358.5	104.3	305.0
'77. 10. 27	438.0	551.4	125.9	448.4	102.4
'78. 10. 20	577.0	954.6	171.4	452.3	81.2

した。Table 3によれば、ブシ(子根)の総アルカロイド、アコニチン、メサコニチン含量は、生育・収量とはほぼ同様な傾向を示したが、伊達4号のみ特異な傾向を示した。すなわち総アルカロイド含量は最も高く、反対にアコニチン、メサコニチン含量は最も低かった。

2) 収穫年次比較

i) 生育 Table 4,5 のとおり、地上部の生育では、収穫年次が進むに従い増加の傾向が顕著となる。地下部の生育では、地上部のような大差は認められないが、地下重では地上部と同様な傾向が認められた。

ii) 収量 Table 6,7 のとおりである。

(i) ウズ(母根)の数については年次変化が見られ、1年次に比して2年次は4.9倍3年次は15.5倍となることが認められた

(ii) ブシ(子根)の数については、大きさによって異なるが、大の数は2,3年次ともに1年次の約2倍、中では同じく約5倍となるが、小では、2年次が2.5倍、3年次では10倍以上となることが判明した。また

ブシ(子根)の総重量(Table 7)についてみると、2年次では1年次に比し約4倍、3年次ではほぼ同じで増加は認められない。なお歩留りでは年次差は認識し、以上のことから、ハナトリカブトの栽培は2年次収穫が、ブシ(子根)生産を目的とした場合有利なように考えられる。

摘 要

本試験は北海道名寄市、北薬試において、'75.11.1~'79.10.22に実施したものである。

1. 系統比較は北海道南の伊達地方より4系統(伊達1~4号)を入手し、北薬試(水谷系)の5系統を用いた。生育、収量、品質ともに優り安定していたのは、北薬試(水谷系)、伊達2号(丸葉早生(実生))の2系統であった。この2系統はブシ(子根)生産の面から望ましいものと考えられる。

2. 収穫年次比較は、供試苗北薬試(水谷系)を用いて、年次変化について検討した。ブシ(子根)生産を目的とした場合、2年次収穫が有利と思われる。

1-(2-Chloroethyl)-3-(2-furylmethyl)urea 及び 1-(2-Chloroethyl)-
3-(2-pyrazinylmethyl)urea のニトロソ化について

神谷庄造

Nitrosation of 1-(2-Chloroethyl)-3-(2-furylmethyl)urea and
1-(2-Chloroethyl)-3-(2-pyrazinylmethyl)urea

Shozo KAMIYA

Nitrosation of 1-(2-chloroethyl)-3-(2-furylmethyl)urea with sodium nitrite and 10% hydrochloric acid gave a 1:3 mixture of the N¹-nitrosourea and N³-nitrosourea. The same nitrosation of 1-(2-chloroethyl)-3-(2-pyrazinylmethyl)urea gave a 1:1 mixture of the N³-nitrosourea and N¹-nitrosourea. However, these N¹- and N³-nitrosoisomers could not be separated by means of column chromatography.

(Received May 31, 1983)

は し が き

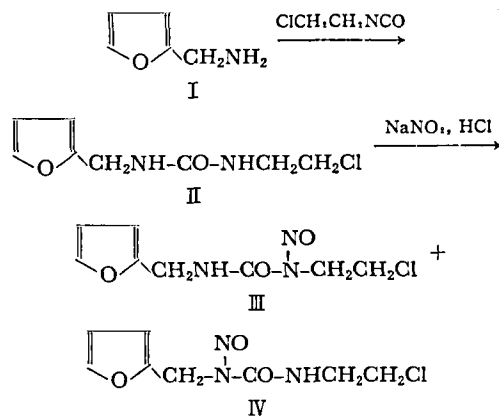
われわれは 1-(2-chloroethyl)-1-nitrosourea 誘導体 [RNHCON(NO)CH₂CH₂Cl] が mouse lymphoid leukemia L-1210 に対して強い抗腫瘍性を示すことより、2-chloroethylnitrosoureido 基を有する各種複素環化合物を合成して来た^{1,2)}。その間、1-置換 3-pyridylmethylurea 類 [P_YCH₂N²HCON¹HR] をニトロソ化すると R の種類によって N¹ ニトロソ体のみを生成する場合と、N¹ ニトロソ体と N³ ニトロソ体の混合物を生成する場合のあること、またこれらのニトロソ異性体の混合物はシリカゲル・カラムクロマトグラフィーによって分離出来ることを報告した^{3,4)}。

目 的 ・ 結 果

今回、抗腫瘍剤を合成する目的で 1-(2-chloroethyl)-3-(2-furylmethyl)urea (II) 及び 1-(2-chloroethyl)-3-(2-pyrazinylmethyl)urea (IX) のニトロソ化を行ったのでその結果を報告する。

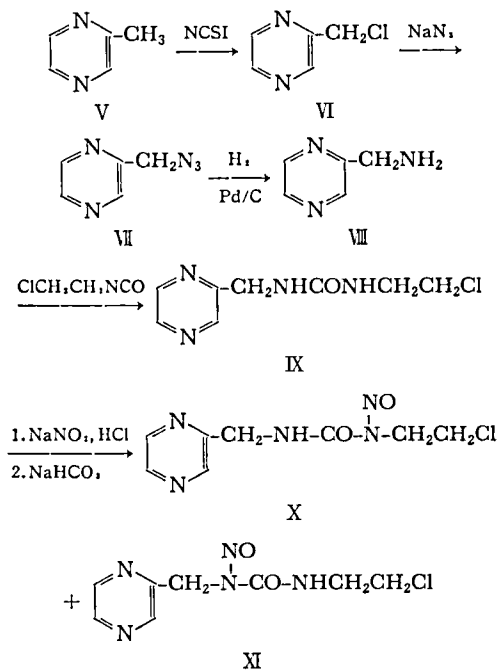
2-furylmethylamine (I) と 2-chloroethylisocyanate を diethyl ether 中で反応させると 1-(2-chloroethyl)-3-(2-furylmethyl)urea (II) となる。II をギ酸中、亜硝酸ナトリウムでニトロソ化すると油が得られる。このものの重クロホルム中の NMR スペクトルは 5.36τ に furyl-CH₂-NH による doublet を、また 5.05τ に furyl-CH₂-N(NO) による singlet を示すことよりこのものは N¹ ニトロソ体 (III) と N³ ニ

トロソ体 (IV) の混合物である。III と IV の生成比は 1:3 であり、フラン環に近い方の窒素にニトロソ基の入った N³-ニトロソ体の方が多く生成した。この混合物をシリカゲル、フロロジル、アルミナなどのカラムクロマトグラフィーによる分離を試みたが成功しなかった。



次にフラン環の代りにピラジン環を有する尿素体 (IX) のニトロソ化を試みた。原料の 2-aminomethylpyrazine (VIII) は次のようにして合成した。2-methylpyrazine (V) を四塩化炭素中、N-chlorosuccinimide でクロル化し 2-chloromethylpyrazine (VI) とし、VI にアジ化ナトリウムを反応させ 2-azidomethylpyrazine (VII) とし、VII を接触還元することにより 2-aminomethylpyrazine (VIII) とした。VIII に 2-chloroethyliso-

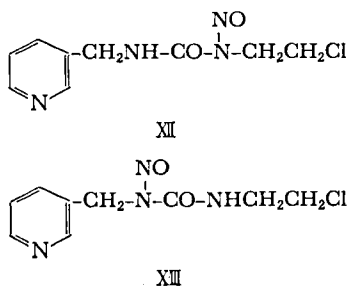
cyanate を反応させ 1-(2-chloroethyl)-3-(2-pyrazinylmethyl)urea (IX) とした。



IXを10%塩酸と亜硝酸ナトリウムでニトロソ化し、炭酸水素ナトリウムで中和するとニトロソ体が油として得られる。本品の重クロロホルム中での NMR スペクトルは 5.15 τ に Pyraz-CH₂-NH による doublet を、また 4.82 τ に Pyraz-CH₂-N(NO) による singlet を示すことよりこのものは N¹ニトロソ体(X)と N³ニトロソ体(XI)の混合物である。XとXIの生成比は1:1であった。この混合物をフロロジル、シリカゲル、アルミナなどのカラムクロマトグラフィーにより分離を試みたが不成功であった。

考 察

フラン環を有するII及びピラジン環を有するIXのニトロソ化によって得られる N¹ニトロソ体と N³ニトロソ体の混合物は分離出来なかつたが、一方、すでに



報告したように 1-(2-chloroethyl)-3-(3-pyridylmethyl)urea のニトロソ化によって得られる N¹ニトロソ体(XII)と N³ニトロソ体(XIII)の混合物の場合はシリカゲル・クロロホルムのカラムクロマトグラフィーによって分離出来る。これはピラジン環の塩基性が高いので N¹ニトロソ体と N³ニトロソ体の分配率の差が分離可能な程生じるためと考えられる。

実 験

1-(2-chloroethyl)-3-(2-furylmethyl)urea (II) のニトロソ化—1. 1-(2-chloroethyl)-3-(2-furylmethyl)urea (II): 2-furylmethylamine (I) 9.7 g (0.1 mole) を diethyl ether 200 ml に溶かし、氷冷、攪拌下に 2-chloroethylisocyanate 10.6 g (0.1 mole) を滴下する。析出した結晶を吸濾し、diethyl ether で洗い、乾燥する。収量、18.5 g (91%)。di (i-propyl) ether で再結晶する。無色針状品、mp 94-95°。IR (nujol, cm⁻¹): 3120, 1625 (NHCONH)。Anal. Calcd. for C₈H₁₁O₂N₂Cl: C, 47.41; H, 5.47; N, 13.83. Found: C, 47.22; H, 5.54; N, 13.83. 2. ニトロソ化: 化合物II 1.01 g (0.005 mole) を酢酸 4 ml 中にけん濁し、氷冷、攪拌下に亜硝酸ナトリウム 0.69 g (0.02 mole) を水 1 ml に溶かした液を滴下する。析出した油をクロロホルムで抽出する。クロロホルム層を水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、クロロホルムを留去する。収量、0.92 g。本品はその NMR スペクトルより N¹ニトロソ体(III)と N³ニトロソ体(IV)の1:3混合物である。

1-(2-chloroethyl)-3-(2-pyrazinylmethyl)urea (IX) のニトロソ化—1. 2-azidomethylpyrazine (VII): 2-methylpyrazine (V) 50.0 g (0.5 mole), N-chlorosuccinimide 90.0 g (0.68 mole) 及び benzoylperoxide 0.8 g を四塩化炭素 1500 ml 中で加熱、還流する。反応液を減圧で約 100 ml まで濃縮する。(粗生成物の NMR スペクトルより、原料(V), 3-chloromethylpyrazine (VI), 3-di-chloromethylpyrazine の生成比は1:4:1である) この濃縮液をアセトニトリル 500 ml 中に加え、ナトリウムアジド 30 g (0.5 mole) を水 150 ml に溶かした液を加え、約 10 時間還流する。反応混合物を約 200 ml まで濃縮し、水 100 ml を加え、更に約 100 ml まで濃縮する。diethyl ether で3回抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、diethyl ether を留去する。残留物は 2-azidomethylpyrazine (VII) である。IR (cm⁻¹, liq.): 2140(N₃)。収量、8.4 g (IIより13%)。2. 2-aminomethylpyrazine (VIII): 化合物VII, 6.3 g (0.05 mole) をメタノール 50 ml 中に溶かし、

1%塩化パラジウム液 20 ml 及び炭末 1.0 g より製したパラジウム炭を用いて接触還元する。触媒を濾去し、濾液よりメタノールを留去する。残留物はアミン臭があり、結晶化しないが、精製することなく直ちに次の反応に使用した。収量, 5.1 g (94%)。3. 1-(2-chloroethyl)-3-(2-pyrazinylmethyl)urea (IX): 化合物Ⅷ 3.3 g (0.03 mole) をメタノール 50 ml に溶かし、氷冷、攪拌下に 2-chloroethylisocyanate 2.8 g (0.03 mole) を滴下する。一夜放置し、diethyl ether を加えると結晶を析出する。吸濾し、メタノールで再結晶する。淡黄色葉状晶, mp 124-125°. IR (cm⁻¹, nujol): 3300, 1630(NHCONH). 収量, 2.8 g (44%). Anal. Calcd. for C₈H₁₁ON₄Cl: C, 44.76; H, 5.17; N, 26.10. Found: C, 44.71; H, 5.25; N, 26.54. 4. ニトロソ化: 化合物Ⅸ 0.86 g (0.004 mole) を10%塩酸 10 ml に溶かし、氷冷、攪拌下に亜硝酸ナトリウ

ム 0.41 g (0.006 mole) を 2 ml 水に溶かした液を滴下する。炭酸水素ナトリウムで中和し、クロロホルムで抽出する。クロロホルム層を水洗後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、クロロホルムを留去する。残留物は結晶化しない。本品はその重クロロホルム中の NMR スペクトルより、N¹ ニトロソ体 (X) と N³ ニトロソ体 (XI) の 1:1 混合物である。

文 献

- 1) 神谷庄造, 宮原美知子, 末吉祥子, 鈴木郁生, 小田嶋成和: *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 3984 (1978)
- 2) 宮原美知子, 神谷庄造, 前川昭彦: *Gann*, **70**, 731 (1979)
- 3) 神谷庄造: *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 1121 (1977)
- 4) 末吉祥子, 神谷庄造: *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 1267 (1981)

国立衛生試験所ジゴキシン標準品 (Control 801)

徳永裕司・木村俊夫・川村次良

Digoxin Reference Standard (Control 801) of National Institute of Hygienic Sciences

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

A material of digoxin was tested for the preparation of "Digoxin Reference Standard." Analytical data obtained were as follows; loss on drying: 0.15%, optical rotation: $[\alpha]_{546.1}^{25} = +13.9^\circ$, melting point: 223° (decomposition), infrared spectrum: same as International Chemical Reference Substance, thin-layer chromatography: two contaminants, gitoxin and its related substances: 0.07%, assay: 101.3% (Raymond method), 103.0% (Keller-Kilian method), and 99.6% (fluorometric method). This material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard.

(Received May 31, 1983)

第十改正日本薬局方 (JP X) ジゴキシン, 同錠及び同注射液の純度試験及び定量に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) "ジゴキシン標準品" (control 801) を製造したので報告する。

1. 原料 パロースウェルカム社製のジゴキシンを購入した。

2. 参照物質及び試薬 国際化学参照物質 (control 167011), 英国薬局方標準品 (batch R 42) 及び日本薬局方標準品 (control 791) を用いた。試薬は試薬特級品, 薄層板はメルグ社製プレコーテッドシリカゲル 60 を用いた。

3. 装置 日立製 139 型分光光度計, 応用電気製

MP-1T 型旋光計, 日立製 650-10 S 型けい光光度計及び日本分光製 A-102 型赤外分光光度計を用いた。

4. 試験方法

i) 乾燥減量及び旋光度は JP X ジゴキシンの方法を準用し, 融点 (分解点) は JP X 一般試験法を用いた。

ii) 赤外吸収スペクトル: 臭化カリウム錠剤法を用いた。

iii) 薄層クロマトグラフ法: 原料, 国際化学参照物質, 英国薬局方標準品及び日本薬局方標準品の各 100 µg ずつを 1 cm の巾にスポットする。クロロホルム・メタノール・ジクロロメタン・水混液 (50:10:39:

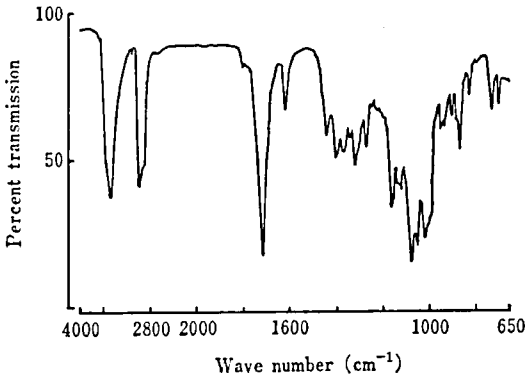


Fig. 1 Infrared spectrum of digoxin

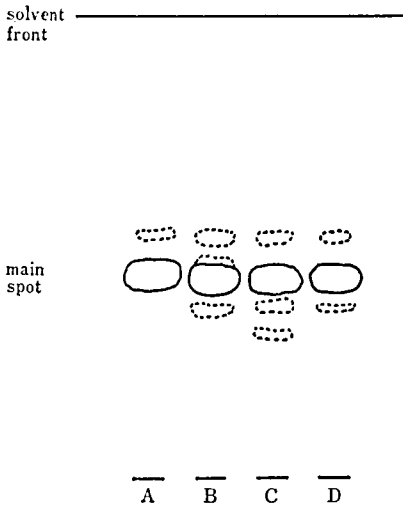


Fig. 2 Thin-layer chromatogram of digoxin

A: BPS, B: JPS, C: ICRS, D: material conditions; TLC plate: Merck silica gel 60 plate (0.25 mm), solvent: chloroform/methanol/dichloromethane/water (50:10:39:1), detection: heat at 100° for 10 min and observe fluorescent spots under ultraviolet irradiation at 366 nm

i) を展開溶媒として約 12 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに希硫酸を均等に噴霧した後、110°で10分間加熱する。長波長紫外線 (366 nm) 照射下におけるけい光部分の観察を行う。

iv) ギトキシン及びその類縁物質: JP X ジゴキシンの純度試験を準用した。

v) 定量法 I: JP X ジゴキシンの定量法を準用した (Raymod 法)。

vi) 定量法 II: JP X ジゴキシン錠の定量法を準用した (Keller-Kiliani 法)。

vii) 定量法 III: JP X ジゴキシン錠の含量均一性試

Table 1. Amounts of gitoxin and its related substances in International Chemical Reference Substances (ICRS), British Pharmacopoeia Standard (BPS), Japanese Pharmacopoeia Standard (JPS), and material

	amount (%)
ICRS	0.28
BPS	0.04
JPS	0.80
material	0.07

Table 2. Amounts of digoxin in ICRS, BPS, JPS, and material by the assay methods I, II, and III

	amount (%)		
	method I	method II	method III
ICRS	100.0	100.0	100.0
BPS	102.1	101.3	99.5
JPS	100.7	98.6	99.8
material	101.3	103.0	99.6

a) assay methods: I; Raymond method, II; Keller-Kiliani method, III; fluorometric method

験法を準用した (けい光定量法)。

5. 試験成績

i) 性状: 白色の結晶性粉末ではない。

ii) 赤外吸収スペクトル: Fig. 1 に示す。国際化学参照物質と同一のスペクトルを与えた。

iii) 旋光度: $[\alpha]_{D}^{25} = +13.9^\circ$ (乾燥後, 0.2 g, ピリジン, 10 ml, 100 mm)。

iv) 乾燥減量: 0.15% (0.2 g, 減圧, 105°)。

v) 融点: 223° (分解)。

vi) 薄層クロマトグラフ法: クロマトグラムを Fig. 2 に示す。原料では 2 個の不純物のけい光スポットを認めた。

vii) ギトキシン及びその類縁物質: Table 1 に示すように、以前の標準品 (control 791) 中の量 0.8% に比べ、今回の原料は 0.07% と非常に小さい値を与えた。

viii) 定量: 定量法 I, II, 及び III で得た値を Table 2 に示す。

結 論

標準品原料として購入したジゴキシンを国際化学参照物質、英国薬局方標準品及び日本薬局方標準品と比較検討した。薄層クロマトグラフ法により 2 個の不純

物のけい光スポットを認め、またギトキシン及びその類縁物質として0.07%を検出した。定量試験において国際化学参照物質に対して、101.3%(定量I)、103.0%(定量II)及び99.6%(定量III)の各定量値を得た。

試験結果より、今回購入した標準品原料が国立衛生

試験所標準品(日本薬局方標準品)に適した品質を有することを認めた。

終わりに、標準品製造にあたり協力いただいたパロースウェルカム社、英国薬局方コミッション及びWHO化学参照物質センターに感謝いたします。

国立衛生試験所シアノコバラミン標準品 (Control 821)

太田美矢子・木村俊夫・川村次良

Cyanocobalamin Reference Standard (Control 821) of National Institute of Hygienic Sciences

Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

The "Cyanocobalamin Reference Standard (Control 821)" for the Japanese Pharmacopoeia was prepared. The following analytical data were obtained; infrared spectrum: same as Japanese Pharmacopoeia Standard (control 801), loss on drying: 10.7%, assay: 100.2% by JPX method (UV: $\lambda_{361\text{nm}}$). Three contaminants were detected by thin-layer chromatography. On the basis of these results, the material of cyanocobalamin was authorised as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 821).

(Received May 31, 1983)

第十改正日本薬局方(JP X)のシアノコバラミン、同注射液の定量に用いる国立衛生試験所標準品(日本薬局方標準品)(Control 821)を製造したので報告する¹⁾。

1. 標準品原料 日本メルク万有株式会社より購入した(JPRS-M)。
2. 試料及び試薬 日本薬局方標準品(Control 801, JPRS)。他の試薬は試薬特級を用いた。
3. 装置 分光光度計(島津製 QV-50 型)、高感度自記分光光度計(ユニオン技研製 SM-401 型)、赤

外分光光度計(日本分光製 A-102 型)。

4. 試験方法 特に記すもののほかは、JP X の一般試験方法及び医薬品各条“シアノコバラミン”の試験方法を準用した。

薄層クロマトグラフ(TLC)法 吸着剤:メルクプレコーテッドシリカゲル 60, 溶媒:(A)プロパノール・水・10%アンモニア水混液(7:2:1), (B)n-ブタノール・水・クロロホルム・酢酸・メタノール(25:11:10:9:5)をよく混和したのち、静置して分層させ、その下層をとったもの、試料溶液:未乾燥

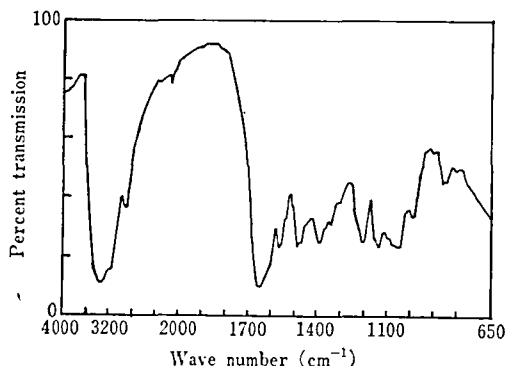


Fig. 1. Infrared spectrum of material for "Cyanocobalamin Reference Standard"

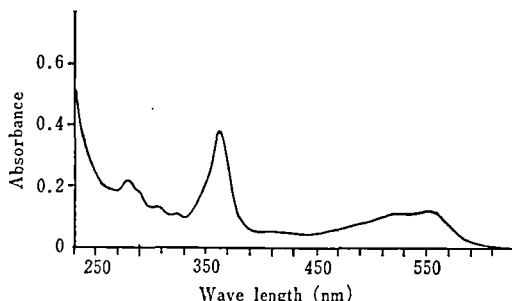


Fig. 2. Ultraviolet and visible spectrum of material for "Cyanocobalamin Reference Standard"

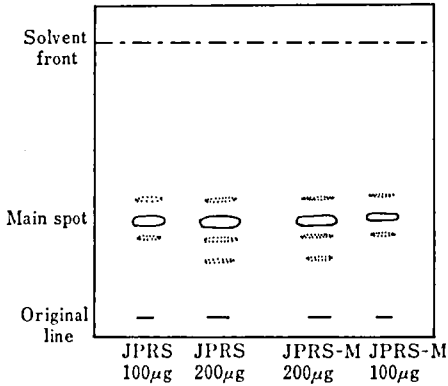


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of cyanocobalamin

Conditions: silica gel 60 (Merck, pre-coated, 0.25 mm); propanol-water-10% ammonia (7:2:1); detected by the light irradiated from the back of the plate.

JPRS: Japanese pharmacopocia standard (control 801), JPRS-M: Material for cyanocobalamin reference standard.

の JPRS-M 及び JPRS の乾燥物にして 5mg 相当量を 0.5 ml のメタノールに溶かしたものを、検出方法: プレートの裏面より光を照射し、観察する。

5. 試験成績 1) 性状 暗赤色結晶性の粉末で、においはない。

2) 赤外吸収スペクトル 臭化カリウム錠剤法で測定した JPRS-M の赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。これは JPRS の赤外吸収スペクトルとよく一致した。

3) 紫外及び可視吸収スペクトル JPRS-M 20.4 mg (乾燥物換算量 18.2mg) を蒸留水 1000 ml に溶かしたときの紫外及び可視スペクトルを Fig. 2 に示す。Fig. 2 でも明らかなように、279 nm, 361 nm, 550 nm に吸収極大をもち、それぞれの波長における吸光度を A_1 , A_2 及び A_3 とするとき、 A_1/A_2 は 0.54, A_3/A_2 は 0.30 であった。

4) 乾燥減量 10.7% (0.05 g, 減圧, 5 mmHg 以下, 5酸化リン, 100°, 4時間)。

5) TLC 法 溶媒 A 及び溶媒 B で展開した結果をそれぞれ Fig. 3 及び Fig. 4 に示す。不純物のスポッ

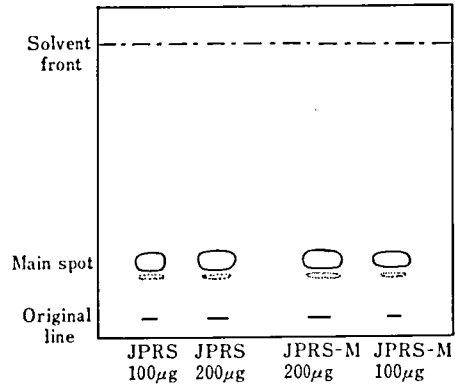


Fig. 4. Thin layer chromatogram of cyanocobalamin

Solvent: the lower layer solution of a mixture of *n*-butanol, water, chloroform, acetic acid and methanol (25:11:10:9:5).

Other conditions were the same as those in Fig. 3.

トを明確に検知できるように、プレートの裏面より光を照射して観察した。JPRS-M 200 µg の塗布で、溶媒 A では 3 個の不純物の小さなスポットが、また溶媒 B では 1 個の不純物の小さなスポットが認められた。不純物のスポットの数は JPRS 同じであった。

6) 定量 JPRS-M を JP X の定量法により、JPRS と比較するとき、100.2% (n=4, 変動係数 0.31%) であり、 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ は 207.9 であった。

結 論

標準品原料として入手したシアノコバラミンを JPRS (Control 801) と比較検討した。各種試験の結果は良好であり、特に定量値は JPRS とよく一致した。これらの試験結果により、今回入手した標準品原料は国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品質を有することを認め、Control 821 として配布した。終りに、標準品を製造するに当たりご協力いただいた日本メルク万有株式会社に感謝いたします。

文 献

- 1) 太田美矢子, 木村俊夫, 川村次良: 衛生試験報, 99, 113 (1981)

国立衛生試験所ウロキナーゼ標準品 (Control 821)

川村次良・福田秀男・谷本 剛・木村俊夫

Urokinase Reference Standard of National Institute of Hygienic Sciences (Control 821)

Jiro KAWAMURA, Hideo FUKUDA, Tsuyoshi TANIMOTO and Toshio KIMURA

The National Institute of Hygienic Sciences Standard for Urokinase (Control 821) was established in collaboration with five laboratories.

This standard contains 1050 international units of urokinase, and about 1.17 mg each of human serum albumin and sodium chloride as stabilizers in each ampoule. Urokinase used for the standard is constituted of 1 part of high molecular weight (M.W. 53000) and 3 parts of low molecular weight (M.W. 33000) urokinase.

(Received May 31, 1983)

綿溶系酵素であるウロキナーゼ(UK)は血栓症の治療薬及び最近では制癌剤との併用薬として今日広く利用されている。この酵素製剤の単位表示は現在では国際単位に統一されているが、過去にはその統一性を欠く時期もあり、市販後問もなく、この製剤の主メーカーであった2社の製品間で、測定法によって酵素活性、すなわち力価が大きく異なることが指摘された¹⁻⁵⁾。現在ではその主な原因は両社のウロキナーゼ間の分子タイプの相違と考えられている⁶⁻⁹⁾。当時、この問題が契機となって両社及び衛試の間で共同研究が行われ、その結果として両社共通の暫定的なUK標準品(Control MM001)とUK製剤の力価測定法(二段法)が設定された¹⁰⁾。以来、この標準品並びに力価測定法は本製剤の製造承認規格の基準となり、今日に至っている。この標準品MM001は、1968年WHOによって制定された国際標準品に基づいて、1000国際単位/アンプルと定められ、これを基にしてTable 1に示すように順次更新され、現在のMM005に至っている。

今回、この標準品MM005に代え、国立衛生試験所ウロキナーゼ標準品(Control 821; 新標準品)を制定することとし、1983年1月よりその準備を開始した。新標準品の力価の決定に際しては、我が国におけるウロキナーゼ活性単位の継続性を考慮し、現在まで用いられてきた標準品(MM005)を対照として単位を決定することとした。また、力価の測定法(二段法)が統一されているとはいえ、検定場所や実験者による誤差も考慮する必要がある。そこで、新標準品を確立するに当たっては、新標準品(原料)についてMM005を標準物質とし、当所の他に、ウロキナーゼ技術懇話会加盟各社のうち、株式会社ミドリ十字、興和株式会社、大五栄養化学株式会社及び持田製薬株式会社(50音順)の4社に協力いただいて共同検定を行った。以下にその結果を報告する。

1. 試験材料、試薬及び試験方法

UK標準品(Lot No. MM005): ウロキナーゼ技術懇話会配布のもの、1000国際単位/アンプル。

新標準品(原料): 持田製薬株式会社に特に依頼して

Table 1. List of Urokinase Sub-reference Standards of the Urokinase Konwakai

Lot No.	Labelled potency (IU/ampoule)	Actual potency (IU/ampoule)	Year of establishment
MM001	1000	1000**	1973
MM002	1100	1100*	1976
MM003	1000	1015*	1977
MM004	1000	975*	1978
MM005	1000	982*	1980

* obtained by the assay using each former lot No. as standard

** obtained against the International Standard of Urokinase

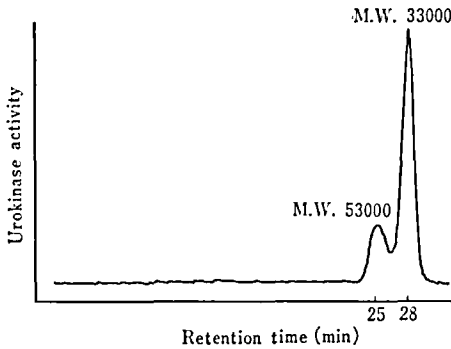


Fig. 1. Molecular weight distribution of activity in the urokinase used for the Urokinase Reference Standard (Control 821)

Urokinase activity was determined fluorometrically by the method based on enzyme reaction in HPLC process (Ref. 11).

HPLC conditions: column; TSK-GEL G 3000SW (7.5×600 mm), mobile phase; 0.2 M phosphate buffer containing 0.5% gelatin (pH 3.0), flow rate; 0.5 ml/min, reaction mixture; 0.5 M Tris-HCl buffer (pH 8.5) containing 0.5 M NaCl and 0.02 mM 7-(glutaryl)glycyl-L-argininamido)-4-methylcoumarin, observed wave length; excitation 365 nm, emission 460 nm.

調製したもの、1アンプル中に比活性 120260 国際単位/mg, 高分子量 UK (M. W. 53000) と低分子量 UK (M. W. 33000) の含有比約25:75 (Fig. 1 参照) のヒト尿由来 UK を約 0.01 mg, 及び安定剤として人血清アルブミン及び塩化ナトリウムをいずれも 1.17mg ずつ含む凍結乾燥品。

フィブリノーゲン (Lot No. F004): UK 力価測定用ウシフィブリノーゲン, 持田製薬株式会社より入手, 15.0mg/バイアル。

プラスミノーゲン (Lot No. P064): UK 力価測定用ウシ血漿プラスミノーゲン, 持田製薬株式会社より入手, 397 カゼイン単位/アンプル。

トロンビン (Lot No. T007): UK 力価測定用ウシトロンビン, 持田製薬株式会社より入手, 50単位/アンプル。

ゼラチン: 各試験機関で適当と思うものを選択して使用。

UK 力価の測定: 上記試験材料及び試薬を用い, 二段法¹⁰⁾により測定。

2. 試験結果

2-1. 新標準品の充填誤差の検討 本品のアンプル中の含有量の均一性を調べるため, 本品に安定剤として添加されている人血清アルブミンを含めたたん白質

Table 2. Variation in protein contents of 20 ampoules of the Urokinase Reference Standard (Control 821)

Protein contents ($\mu\text{g}/\text{ampoule}$)			
1037	1068	1016	1005
1010	1076	1043	1015
1008	1006	1069	1049
1006	1036	1036	986
1019	1014	1066	1013

Protein was determined by the method of Lowry, *et al.* (Ref. 12). Bovine serum albumin was used as standard substance.

Mean: 1029 $\mu\text{g}/\text{ampoule}$

S.E.: 5.78

Range of confidence (95%): $\pm 1.18\%$

量及び UK 活性を指標として, 各アンプル間のバラツキを検討した。

2-1-1. たん白質量の測定 新標準品20アンプルにつき, 牛血清アルブミンを標準物質として, Lowry 法¹²⁾によりたん白質量を測定したところ, Table 2 に示した結果を得た。これより, そのバラツキは5%の危険率で $\pm 1.2\%$ 以内と推定された。

2-1-2. UK 活性の測定 新標準品10アンプルにつき, MM005 を標準物質として, Johnson らの方法¹³⁾を準用してその力価をそれぞれ3回ずつ測定した。その結果を Table 3 に示す。5%危険率でこのバラツキを推定すると $\pm 1.6\%$ 以内であった。

2-2. 新標準品の力価検定 各試験機関において, 同一の試薬及び試験法により5回ずつ検定を行った。その結果をまとめて Table 4 に示す。全測定値の算術平均値は1086単位/アンプルであったが, 各試験機関で得られた測定値間には5%有意水準で有意差が認められた。やや高い試験機関Eの測定値を除くとき, 試験機関A~Dで得られた測定値間には有意差を認めなかった。そこで試験機関A~Dで得られた全測定値の算術平均値及びその95%信頼限界を求めると, それぞれ, 1076単位/アンプル, 1063-1089単位/アンプルであった。ここに得られた新標準品の力価は MM 005 を基準としたものであり, 国際標準品を基準とした力価に換算してどの程度かを知る必要がある。国際標準品を基準として MM001 が設定された後, MM 002 以後はロットの更新に際し常に前回のロットを基準として単位が決定されてきた。従って国際標準品を基準としたときの新標準品の力価は Table 1 のデータを用いて, $1076 \times 1100 / 1100 \times 1015 / 1000 \times 975 / 1000 \times 982 / 1000 \div 1046$ 国際単位/アンプルと推定される。

Table 3. Variation in urokinase contents of 10 ampoules of the Urokinase Reference Standard (Control 821)

Ampoule No.	Urokinase activity (IU/ampoule)			Mean
1	1090	1087	1080	1086
2	1071	1067	1067	1068
3	1050	1052	1051	1051
4	1112	1120	1115	1116
5	1120	1132	1122	1125
6	1112	1104	1097	1104
7	1137	1117	1124	1126
8	1105	1087	1076	1089
9	1115	1102	1114	1110
10	1104	1083	1088	1092

Urokinase was determined by the method of Johnson *et al.* (Ref. 13) with a little modification.

Overall mean: 1097 IU/ampoule

Range of Confidence (95%): $\pm 1.59\%$

Table 4. Results of collaborative assay for the Urokinase Reference Standard

Laboratory	Urokinase activity (IU/ampoule)					Mean	S.D.*
A	1090	1094	1054	1039	1062	1068	23.6
B	1051	1042	1104	1086	1014	1059	35.8
C	1094	1096	1136	1098	1075	1100	22.2
D	1072	1094	1064	1105	1058	1079	20.1
E	1108	1112	1124	1133	1137	1123	12.7

*: standard deviation

Overall mean activity: 1076 IU/ampoule

Range of confidence (95%): 1063-1089

(Data of Laboratory E are excluded)

以上の結果から、新標準品の力価を1050単位/アンプルと定めることとした。

終りに、新標準品を設定するに当たり、原料、試薬等の製造及び共同検定を行われた持田製薬株式会社、並びに共同検定に協力された株式会社ミドリ十字、興和株式会社及び大五栄養化学株式会社に対し、感謝の意を表します。

文 献

- 1) 山田外春: *Clinical Report*, 5, 16 (1971)
- 2) 山田常道: *Clinical Report*, 5, 1 (1971)
- 3) 長沢佳熊: *新薬と臨床*, 20, 1307 (1971)
- 4) 岩崎由雄ら: *薬局*, 23, 233 (1972)
- 5) 浅田 洸ら: *月刊薬事*, 14, 163 (1972)
- 6) T. Suyama *et al.*: *Thromb. Haemostas.*, 38, 48 (1977)
- 7) 土岐尚親, 須見洋行: *医学のあゆみ*, 112, 762 (1980)
- 8) 須見洋行ら: *日本血液誌*, 44, 93 (1981)
- 9) R. D. Philo and P. J. Gaffney: *Thromb. Res.*, 21, 81 (1981)
- 10) 西崎笹夫, 川村次良: *医薬品研究*, 5, 295 (1974)
- 11) 照井隆義ら: *日本薬学会第102年会講演要旨集*, p. 308 (1982)
- 12) O. H. Lowry *et al.*: *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951)
- 13) A. J. Johnson *et al.*: *Thrombos. Diath. Haemorrh.*, 21, 259 (1969)

国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品 (Control 821)

谷本 剛・福田秀男・木村俊夫・川村次良

Kalligenogenase Reference Standard (Control 821) of National Institute of Hygienic Sciences

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

The first "Kalligenogenase Reference Standard" (Control 821) of National Institute of Hygienic Sciences was prepared. The kalligenogenase potency of the standard was assayed against first "Kininogenase International Standard" (1982) by the bioassay method based on vasodilator activity in dog and the enzyme assay method using benzoyl arginine ethyl ester and H-D-valyl-L-leucyl-L-arginine-*p*-nitroanilide as substrates in collaboration with seven laboratories. The potency of the kalligenogenase reference standard thus obtained was defined as 110 International Units per ampoule.

(Received May 31, 1983)

現在、循環系作用物質としてのブタすい性カリジノゲナーゼ製剤が多種類市場に出回り、臨床にも広く用いられている。しかし、それら製剤の品質や試験法に関しては多くの問題が指摘されており、これら製剤を試験するためにあるいは製剤の統一的試験法の確立のために公的標準品の制定が強く望まれていた。

WHO では1982年、当生物化学部を含めたカリジノゲナーゼ国際標準品制定のための共同研究を行い、第1回の国際標準品を確立した²⁾。これに伴い、我国でもカリジノゲナーゼ標準品を制定することになり、標準品製造のための準備を開始した。

カリジノゲナーゼの活性単位は、イスの血圧上昇又は血流増加を基としたいわゆるカリクレイン単位と、酵素としてのカリジノゲナーゼを酵素基質に作用させたときの酵素単位が用いられてきた。そこで、我国の標準品制定のための検定もカリクレイン単位と酵素単位の両単位を測定することによって行うことにした。また、標準品を製造するにあたり、実験室間誤差を少くし、検定の回数を多くすることが単位の正確さを期すためには必要であると考え、当部を含めて7機関による共同検定を行うことにした。共同検定には東京理科大学、株式会社三和化学研究所、大蔵製薬株式会社、帝国臓器製薬株式会社、生化学工業株式会社及びバイエル薬品株式会社（順不同）の1大学、5社に参加を依頼し、共同検定に用いる国際標準品及び国立衛生試験所標準品用原料を参加各機関に配布した。各機関の検定結果は当部において、集計された。その結果、国立衛生試験所標準品原料の力価を1アンブル当り 110

国際単位と定め、第1回の国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品を制定することができたので報告する。

実験方法

1. 国際標準品

カリジノゲナーゼ国際標準品（ブタすい性、WHO では porcine pancreatic kininogenase と称している）は WHO から供与されたものであり、その1アンブルは22.5国際単位を含むものである。

2. 国立衛生試験所標準品用原料

国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品用原料は高度に精製したブタすい性カリジノゲナーゼ（アイソザイムA及びBを含む）を乳糖と共に水に溶かした後、アンブルに分注し、凍結乾燥したものをバイエル薬品株式会社より購入した。同社による試験成績は Table 1 に示す通りであり、各アンブル間での内容重量、活性のバラツキは極めて小さいものであった。

3. 検定方法

カリジノゲナーゼ標準品制定のための検定方法としては、バイオアッセイ法と合成基質を用いる酵素活性測定法の両法を併用した。バイオアッセイ法にはイス血流増加測定法^{4,5)}を用い、合成基質を用いる方法にはベンゾイルアルギニンエチルエステル (BAEE) を用いるエステラーゼ活性測定法^{6,7)}と、ペプチド合成基質 (D-パルル-ロイシル-アルギニン-*p*-ニトロアニリド, S-2266) を用いる活性測定法⁸⁻¹¹⁾の2法を用いた。各検定機関はこれら3方法のうちから任意に検定方法を選択した。各測定法の細部におたる条件、例え

Table 1. Results of analysis of "Kalliginogenase Reference Standard" material

	Contents weight** (mg/ampoule)	Lactose 1H ₂ O*** (mg/ampoule)	Activity**** (KU/ampoule)
n*	10	10	31
Mean	5.118	5.032	106.7
S.D.	±0.511%	±0.406%	±0.989%
Range of confidence (95%)	±0.366%	±0.291%	±0.340%

- * number of ampoule.
- ** On account of the hygroscopicity of lactose, the weight control of contents of the open ampoules is only possible in an atmosphere without humidity (therefore P₂O₅ in the balance compartment and in desiccator).
- *** Lactose determination was carried out with Dinitro-salicylic acid as described by Sumner (Ref. 3).
- **** Obtained titrimetric assay method using BAEE as substrate. KU: kalliginogenase unit.

ば試料の溶解液の種類, 反応 pH, 反応温度, 反応時間などは必ずしも統一されていないので, 以下に標準的測定操作法あるいは測定原理を述べることにし, 各検定機関が採用した具体的な測定条件等は Table 2 の備考欄に記した。

i) イス血流増加測定法

イ) 試験動物

体重 10~15 kg の健康な雑種成犬を用いる。

ロ) 標準溶液及び試料溶液の調製

国際標準品及び国立衛生試験所標準品(衛試標準品)用原料のそれぞれ 1 アンプルを生理食塩液に溶解し, 使用動物の反応性に従って生理食塩液で希釈しこれらをそれぞれ高用量標準溶液 (S_H) 及び高用量試料溶液 (T_H) とする。更にこれらの溶液に生理食塩液を加えて 1.5~2.0 倍量に希釈し, それぞれ低用量標準溶液 (S_L) 及び低用量試料溶液 (T_L) とする。

ハ) 注射量

注射量は 0.05~0.3 ml で予試験に基いて定める。その注射量は 1 組の試験を通じてすべて等用量とする。

ニ) 操作法

ペントバルビタールナトリウム (30 mg/kg) をイスの静脈内に投与して麻酔した後, 固定台に背位に固定し, 後肢大腿動脈を露出し, カニューレを挿入し, 電磁流量計を装着して, その血流量をキモグラフに記録する。標準溶液及び試料溶液を 5 分間隔でカニューレから動脈内にすみやかに注入し, 血流量の増加を測定する。注射順位は S_H, S_L, T_H 及び T_L を用いて, 第 1 対: (S_H, T_L), 第 2 対: (S_L, T_H), 第 3 対: (T_H, S_L), 第 4 対: (T_L, S_H) の 4 対を作り, 各対中においては示された順序とし, 各対の順序は任意とする。この試験は同じ試験動物を用いて 4 対をもって 1 組の試験とし, 通例 2 組を行う。

ホ) 計算法

各組の第 1 対, 第 2 対, 第 3 対及び第 4 対における高用量と低用量の起した血流増加の差をそれぞれ y₁, y₂, y₃ 及び y₄ とする。更に, 各組の y₁, y₂, y₃ 及び y₄ をそれぞれ合計し, Y₁, Y₂, Y₃ 及び Y₄ とする。

衛試標準品用原料の 1 アンプル中の単位

$$= \text{antilog } M \times (\text{高用量標準溶液 } 1 \text{ ml 中の単位})$$

× a

ただし, $M = \frac{I \cdot Y_a}{Y_b}$

$$I = \log \frac{S_H}{S_L} = \log \frac{T_H}{T_L}$$

$$Y_a = -Y_1 + Y_2 + Y_3 - Y_4$$

$$Y_b = Y_1 + Y_2 + Y_3 + Y_4$$

a: 試料 1 アンプルを生理食塩液でうすめ高用量試料溶液を製したときの全容量 (ml)

但し, 日局「オキントシン注射液」の定量法(7)の計算法に記された式によって L(p=0.95) を計算するとき L は, 0.15 以下である。もし, この値を越えるときはこの値以下になるまで試験の組数を増加し, あるいは実験条件を整備して試験を繰り返す。

ii) エステラーゼ活性測定法の原理

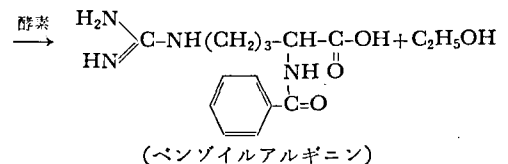
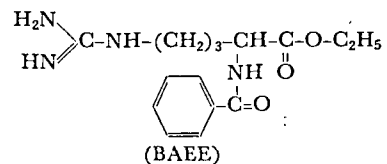


Table 2. Potency of "Kalligenase Reference Standard" material

Assay method	Lab.	IU/Ampoule (n)	Remarks
Bioassay (Vasodilator activity in dog)	A	123.7 (—)	
	B	106.1 (5)	
	C	99.8 (5)	
	D	112.7 (1)	
	F	99.5 (2)	
	average	103.4	
Enzyme assay (Amidolytic activity on S-2266)	A	106.2 (40)	pH 8.0, 30°, rate
	B	104.6 (16)	pH 8.2, 37°, end point
	C	116.1 (8)	pH 8.5, 30°, rate pH 8.5, 37°, end point
	G	113.0 (15)	pH 8.0, 30°, rate, SBTI
	average	110.0	
	Enzyme assay (Esterase activity on BAEE or BAME)	A	123.3 (22)
D		113.5 (4)	pH 7.0, 35°, end point, SBTI
E		101.7 (16)	pH 8.0, 25°, rate, SBTI
F		105.9 (—)	pH 8.0, 25°, rate
G		112.9 (15)	pH 7.0, 8.0, 8.5, 25°, rate, SBTI
average		111.5	

S-2266: H-D-Valyl-L-leucyl-L-arginine-*p*-nitroanilide dihydrochloride

BAEE: N α -Benzoyl-L-arginine ethylester

BAME: N α -Benzoyl-L-arginine methylester

SBTI: Soybean trypsin inhibitor

BAEE にカリジノゲナーゼを作用させると、上の式に示すように BAEE はベンゾイルアルギニンとエタノールに加水分解される。この加水分解によって生じる 253 nm における吸光度の変化量を測定し、1 分間当たりの吸光度変化量を求め、1 分間に分解された基質の量 (μmol) から次の式によりカリジノゲナーゼの酵素単位を算出する。

$$\text{標準溶液あるいは試料溶液 } 1 \text{ ml 中の単位} = \frac{\Delta A \times V \times 10^3}{\epsilon_{\text{max}} \times v}$$

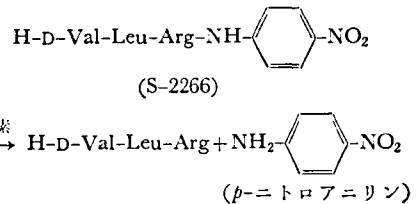
ただし、 ΔA : 1 分間当たりの波長 253 nm における吸光度の変化量

V : 反応液の全量 (ml)

v : 反応に用いた標準溶液あるいは試料溶液の量 (ml)

ϵ_{max} : 波長 253 nm における 1M BAEE と 1M ベンゾイルアルギニンとの吸光度の差 (1150)

iii) ペプチド合成基質 (S-2266) を用いる測定法の原理



S-2266 にカリジノゲナーゼを作用させると上の式に示すように *p*-ニトロアニリンが遊離してくる。*p*-ニトロアニリンは波長 380 nm に極大吸収をもつが、未分解基質の影響をさけるために、その影響を受けない波長 405 nm の吸光度の増加を分光学的に測定し、1 分間当りに分解された基質の量 (μmol) から次の式によりカリジノゲナーゼの酵素単位を算出する。

$$\text{標準溶液あるいは試料溶液 } 1 \text{ ml 中の単位} = \frac{\Delta A \times V \times 10^3}{\epsilon_{405\text{nm}} \times v}$$

ただし、 ΔA : 1 分間当りの波長 405 nm における吸光度の変化量

V : 反応液の全量 (ml)

v : 反応に用いた標準溶液あるいは試料

溶液の量 (ml)

$\epsilon_{405\text{nm}}$: 波長 405 nm における *p*-ニトロアニリンの分子吸光係数 (11600).

いずれの酵素活性測定法においても標準溶液の酵素単位に対する試料溶液の酵素単位の比から、国立衛生試験所標準品用原料 1 アンプル中に含まれるカリジノゲナーゼの“国際単位”を算出した。

結果とまとめ

カリジノゲナーゼ国際標準品を標準品として行った 7 機関による検定結果を Table 2 に示した。イヌ血流増加測定法による検定は、A, B, C, D 及び F の 5 機関が行い、それぞれの結果の単純平均値は 1 アンプル当たり 108.4 国際単位であった。酵素活性測定法のうち、ペプチド合成基質 (S-2266) を用いた方法は A, B, C 及び G の 4 機関が行い、単純平均した力価は 1 アンプル当たり 110.0 国際単位であった。また BAEE あるいは BAME を用いたエステラーゼ活性測定法は A, D, E, F 及び G の 5 機関が行い、それぞれの値を単純平均したところ 1 アンプル当たり 111.5 国際単位となった。

これらの結果を総合して単位を決定するに当っては、各機関ごとの実験回数、精度、実験室内あるいは実験室間のデータの分散の均一性などを考慮しなければならないが、統計学的処理を行うことができる程度のデータ数がないこと、及びいずれの検定法においてもよく類似した平均値が得られたことから、3 方法の結果の算術平均値である 1 アンプル当たり 110.0 国際単位を国立衛生試験所標準品用原料の単位に採用した。そし

てこの原料を初回の国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品 (Control 821) とし、昭和 58 年 5 月より配布を開始した。

終りに、共同検定に快く参加していただいた各試験機関並びに原料の製造等に御尽力下さったバイエル社に対して深く感謝いたします。また国際標準品を分与された WHO に感謝いたします。

文 献

- 1) 早川堯夫, 川村次良: 医薬品研究, **9**, 799 (1978)
- 2) WHO/BS/82.1367
- 3) J. B. Sumner: *J. Biol. Chem.*, **47**, 5 (1921); **62**, 287 (1925)
- 4) S. J. Sarnoff, R. B. Cose and R. Macruz: *Circulation Res.*, **6**, 522 (1958)
- 5) H. Moriya, K. Yamazaki and H. Fukushima: *J. Biochem.*, **58**, 201 (1965)
- 6) G. W. Schwert and Y. Takenaka: *Biochim. Biophys. Acta*, **16**, 570 (1955)
- 7) I. Trautschold and E. Werle: *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **325**, 48 (1961)
- 8) L. Svendsen, B. Blomback and P. Olsson: *Thromb. Res.*, **1**, 267 (1972)
- 9) L. E. Mattler and N. U. Band: *Thromb. Haemost.*, **38**, 776 (1977)
- 10) I. Witt: *New Methods for the Analysis of Coagulation Using Chromogenic Substrates*, Walter de Gruyter (1977)
- 11) E. Amundsen, J. Putter, P. Friberger, M. Knos, M. Larsbraten and G. Claeson: *Adv. Exp. Med. Biol.*, ed. S. Fujii, H. Moriya and T. Suzuki, **vol. 120A**, p. 83, Plenum Press (1979)

食品中の有害金属の定量 (第11報)
即席離乳食中の鉛, カドミウム, ヒ素及びスズについて

鈴木 隆・辰濃 隆・新山和人*・内山 充

Determination of Harmful Metals in Foods (XI)
Determination of few Harmful Metals in Weaning Foods

Takashi SUZUKI, Takashi TATSUNO, Kazuhito NIYAMA and Mitsuru UCHIYAMA

The commercially available weaning foods were investigated on the contents of arsenic, cadmium, lead and tin.

The results show that arsenic was often found in the cooked foods which contained the sauces made from a sea weed, tangle, so it is acceptable to consider that the origin of arsenic is tangle.

Lead and tin were found mainly in some canned fruits, but not in the non-fruit products, so it is conceivable that they (lead & tin) have their origin in containers used for the preservation of fruits in the process of production.

Cadmium was frequently found in the products which contained rice.

Considered from the point of the packaging form, it was deduced that the products were not contaminated with harmful metals which derived from the packaging materials.

(Received May 31, 1983)

結 言

即席食品や調理済食品の開発が広く行われている現在, 乳児の離乳食 (通称ベビーフード) も数多くのものが市販されている。その形態も乾燥物, 半流動状, 液状と多種多様であり, 包装様式も缶詰, ビン詰, 袋物などがある。

食品中の有害金属について, WHO 及び 2~3 の国では, 食品によって規制しようとする動きがあり, このような現状から, わが国でも数年前から, 食品中の有害金属について検討を行っている。

本報は, わが国で市販されている「ベビーフード」の一部について, ヒ素, 鉛, カドミウム及びスズについて検討したものである。

実験器具, 試薬

1. 試料

試料としては, 市販ベビーフード35検体 (缶詰13検体, ビン詰8検体, 袋物14検体) で, 1983年1~3月間に購入したものである。

2. 試薬類

硫酸, 硝酸, 塩酸, アンモニア水(1→2), 飽和シュ

Table 1 Operating conditions in atomic absorption spectrometry for lead and cadmium

	metals	
	lead	cadmium
wave length (nm)	217.0	228.8
lamp current (mA)	5	3.5
slit width (nm)	1	0.5
air (l/min)	10	10
acetylene	0.9	0.9

Table 2 Operating conditions in differential pulse polarography

cell selector: 3E (Ag/AgCl, Pt and DME)
modulation amp.: 50 mV
current range: free
pulse interval: 0.5 sec
scan rate: 20 mv/sec
Hg pressure: 70 cm

ウ酸アンモニウム溶液, 9.5% 酢酸鉛溶液, 臭化第2水銀紙, 無ヒ素亜鉛粒, 塩化第1スズ溶液, 亜ヒ酸標準溶液, 飽和硫酸アンモニウム溶液, 10%クエン酸アンモニウム溶液, 10%塩酸ヒドロキシルアミン溶液,

* 北海道立衛生研究所

Table 3. Analytical results of commercially available improvised weaning foods

sample	form	packaging form	metals			
			lead	cadmium	arsenic	tin
			ppb	ppb	ppm	ppm
(Cereal group)						
rice gruels A	dry	bag	nd	45	nd	0.5
" B	dry	bag	54	49	nd	nd
" C	dry	bag	nd	26	nd	nd
" D	dry	bag	nd	25	0.2	nd
" (high protein)	dry	bag	46	41	nd	nd
" (added cheese) A	dry	bag	67	38	nd	nd
" B	dry	bag	71	42	nd	nd
" C	dry	bag	41	37	nd	nd
chicken rice	wet	bottle	nd	9	nd	3.4
ojiya (rice and vegetable)	wet	bottle	—	—	0.1	nd
macaroni grutane	wet	bottle	nd	2	0.1	nd
corn milk soup	liquid	can	nd	nd	nd	0.8
can corn cream soup	dry	bag	57	7	nd	nd
		M	32.9	26.8		0.55
		SD	±24.3	±17.1		±0.84
(Vegetable group)						
tomato	dry	bag	nd	25	nd	2.3
consome of vegetable	dry	bag	25	6	0.8	2.8
cooked vegetable and fish A	dry	bag	nd	35	0.2	nd
" B	wet	bottle	62	35	0.1	nd
cooked carrot	wet	bottle	nd	13	nd	nd
cooked liver and vegetable	wet	bottle	31	9	nd	0.6
vegetable soup A	liquid	can	nd	nd	nd	nd
" B	liquid	can	nd	2	nd	nd
" C	liquid	can	nd	3	nd	0.5
chicken soup A	liquid	can	nd	nd	nd	nd
" B	liquid	can	nd	nd	nd	nd
		M	18.0	11.8		0.66
		SD	±15.6	±13.0		±0.91
(Fruit group)						
apple juice A	dry	bag	60	2	nd	0.9
" B	dry	bag	23	2	nd	0.8
fruit mix juice	wet	bottle	64	nd	nd	20.0
fruit yoghourt	wet	bottle	nd	nd	nd	nd
mandarin juice	liquid	can	nd	nd	nd	0.7
fruit mix juice	liquid	can	250	nd	nd	1.3
apple juice A	liquid	can	130	nd	nd	1.0
" B	liquid	can	75	nd	nd	nd
orange juice	liquid	can	37	1	0.1	2.3
mixed fruit and vegetable A	liquid	can	300	6	nd	3.9
" B	liquid	can	nd	1	nd	0.7
		M	88.1	1.36		1.08*1
		SD	±95.1	±1.59		±1.08*1
	Total	M	46.0	13.9		0.74*1
		SD	±64.0	±16.6		±0.98*1

*1 value of 20 ppm of tin (fruit mixed juice in bottle) was excluded.

Table 4. Relation between form of packaging and contents of harmful metals in foods

metal	form of packaging	frequency of detection	range	M and SD	total M and SD
lead	bag	9/14	nd-71 ppb	35.3±22.8 ppb	ppb
	bottle	3/7	nd-64	28.1±23.2	46.0±64.0
	can	5/13	nd-300	67.1±95.6	
cadmium	bag	14/14	2-49 ppb	27.1±16.1 ppb	ppb
	bottle	5/7	nd-35	9.9±11.2	13.9±16.6
	can	5/13	nd-6	1.3±1.6	
arsenic	bag	3/14	nd-0.8 ppm	0.13±0.2 ppm	ppm
	bottle	3/8	nd-0.1	0.06±0.03	0.07±0.13
	can	1/13	nd-0.1	0.04±0.02	
tin	bag	5/14	nd-2.8 ppm	0.68±0.8 ppm	ppm
	bottle	3/8	nd-20	3.5±6.8 (0.66±1.13)*1	0.74±0.98*1
	can	8/13	nd-3.9	0.91±1.05	

*1 Value of 20 ppm of tin (fruit mix juice in bottle in Table 3) was excluded.

メタクレゾールパープル試液, 1%ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム溶液 (DDTC), メチルイソブチルケトン (MIBK), N-塩酸・N-塩化アンモニウム等量混液, 銅, 鉛, カドミウム標準溶液など。

以上の試薬類は精密分析用, 特級又はそれらと同等以上の品質のもので, 定量しようとする金属分析に支障の来たさないと確認したものをを用いる。

3. 装置

原子吸光光度計: VARIAN 社製775型, double beam, 重水素放電管によるバックグラウンド補正付

ボルタンメトリックアナライザー: YANACO P-1000型

実験方法

1. 試験溶液の調製

a) ヒ素, 鉛及びカドミウム

試料 10~20 g を 300 ml の長頸分解フラスコにとり, 乾燥物, 半流動体試料には水を 50~100 ml 加える。硝酸 10~20 ml を加え, 穏やかに加熱する。反応がおさまリ, 亜硝酸ガスの発生がほとんどなくなった時点で硫酸 3~5 ml を加えて, 再び加熱する。炭化しないように, とときどき硝酸を滴加する。内容液がほとんど澄明になり, 硫酸の白煙が生じたならば, 加熱を止めて, 冷却する。飽和シュウ酸アンモニウム溶液 10 ml を加え, 加熱し, 硫酸の白煙が生じたときを終末とする。水を加えてうすめ, 全量を 50 ml とする。ただし, 鉛, カドミウムの場合は 10 ml とする。

b) スズ

試料 5~20 g を 100 ml のピーカー (JIS 1級以

上) に精秤し, 上部より赤外線ランプをもって加熱する。試料表面が炭化し始めたならば, 下部からも加熱, 炭化させる。ついで電気炉に移し, 500°以下で灰化する。完全に灰化が終了したならば, 希塩酸で灰分を潤し, 水浴上で乾固する。乾固物を N-塩酸・N-塩化アンモニウム等量混液で溶かし, 5 ml とする。

2. 各金属の定量

a) ヒ素

薬学会協定衛生試験法注解に記されているグッアイト法¹⁾により行う。

b) 鉛, カドミウム

鉛, カドミウムは試験溶液全量を用い, 常法に従って²⁾, DDTC-MIBK 抽出操作を行い, この抽出液を用いて, 原子吸光光度法により定量する。その条件を Table 1 に示す。

c) スズ

スズの定量は微分パルスポーラログラフ法に依った。その測定条件は Table 2 に示す。

結果及び考察

1. 種類別による比較

試験結果を Table 3 に示す。

a) ヒ素

ヒ素の検出限界は As_2O_3 として 0.1 ppm (乾燥食品) 及び 0.03 ppm (その他のもの) である。

全試料のうち, ヒ素が検出された数は穀類を原料とするものから3, 野菜を原料とするものから3, 果実を原料とするものから1, 計7検体 (20%) であった。

このうち, 味付けした調理済食品が5検体あり, 味

付けの「ダシ」にコンブ抽出液が多く用いられることから、ヒ素の含有される由来はコンブからと推定した。

b) 鉛

鉛の検出限界は 10 ppb である。

鉛は全試料の半数から検出され、その量は ~300 ppb であり、平均 46.0 ± 64 ppb であった (ND のものは検出限界の半量, 5 ppb をもって計算した)。

食品の種類から見ると、穀物群 6 (41~71 ppb) 平均 32.9 ± 24.3 ppb, 野菜群 4 (18~62 ppb) 平均 18.0 ± 15.6 ppb, 果実群 8 (23~300 ppb) 平均 88.1 ± 95.1 ppb で、果実を含むものに圧倒的に多かった。

c) カドミウム

カドミウムの検出限界は 1 ppb である。

カドミウムは全試料のうち 24 検体から見出されている (70%)。その最高値は穀物群の 49 ppb であった。また穀物群の平均値は 31.4 ± 15.7 ppb (ND のものは検出限界値の半量をもって計算した)、検出された食品は 11 検体である。野菜群では 8 検体 (2~35 ppb, 平均 11.0 ± 13 ppb) 果実群では 5 検体 (1~6 ppb, 平均 1.36 ± 1.6 ppb) であった。

穀類群の主体は米であり、多く含有されるとは当然であろう。一方果実群は果汁で水分の多いことから他の群に比較して少いと考えられる。野菜群でのカドミウム含有量の多いものは魚やレバー類を含んでいるためと考えられる。

d) スズ

スズの検出限界は乾燥食品で 0.2 ppm, 他の食品は 0.05 ppm である。

スズの検出された食品は 16 検体で、その最高値はビン詰製品の 20 ppm (フルーツミックス) である。その他のものの平均は 0.75 ppm であった (ND のものは検出限界値の半量をもって計算した)。

穀類群の最高はチキンライス (ビン詰) であり、3.4 ppm の含有であった。また平均値は 0.55 ± 0.84 ppm である。

野菜群では、平均値は 0.66 ± 0.91 ppm, 果実群では、フルーツミックスの異常値を除けば 1.08 ± 1.08 ppm であった。

以上の三つの群を比較すると果実を原料として用いる群が他の群の約 2 倍を含有していた。

2. 包装形態による比較

袋物、ビン詰、缶詰の三包装形態によって有害金属含有量が異なるかを比較した (Table 4)。

a) ヒ素

袋物群の平均は 0.13 ± 0.2 ppm (ND のものは検出

限界値の半量で計算した)。で、他の群に比較して約倍量を示した。しかし、袋物群の内容は米を主体とした穀類であり、乾燥、濃縮されているので、倍量というのは当然な結果であろう。

b) 鉛

鉛の含有された食品は袋物群に多く見られるが、その平均含有量は 35.3 ± 22.8 ppb で缶詰群の 67.1 ± 95.6 ppb の半量である。缶詰群の平均値の高いのは 300, 250, 130, 75 ppb など全体の平均値を上まわるものが多いためである。しかし、検出されないものもあり、必ずしも缶に由来するとはいききれない。

びん詰群の平均含有量は 1 番少なかった。

c) カドミウム

カドミウムの含有量は米を原料とした製品を包装した袋物群に高く、ついでびん詰群、缶詰群であった。包装材料からカドミウムの汚染は考えられず、前述したように米類中に常在するカドミウムから袋物群に多く見られたと考える。

d) スズ

スズの含有量の一番多かったものはビン詰群のフルーツミックスで 20 ppm であった。一般的には缶詰群が高く (0.91 ± 1.05 ppm), 他群は共に小さかった。しかし、缶詰群中でも果実を含まないものでは、スズを検出していない、一方他群中でトマトとかリンゴを原料とする食品にはスズが多く見られていることから、果実やトマト原料が何らかの形、例えば容器に無塗装缶を用いるとかスズが汚染しやすい状態に接していたのではないかと推定した。

結 語

市販されている乳児の離乳食 (ベビーフード) 中の銅、カドミウム、鉛、スズを分析したところ、微量ではあるがほとんどのものから検出された。

ヒ素が検出された食品は調理済食品に多かった。

鉛は果実を原料とした缶詰食品に多く見られている。

カドミウムは米を原料とする食品群に多く見られている。

スズは果実を原料とする群に多く見られた。

包装形態からの金属汚染は無関係と見られ、原料による由来の方が金属の存在に関係があると判断した。

文 献

- 1) 薬学会協定：衛生試験注解, p.44 (1980) 金原書店
- 2) 鈴木 隆, 武田明治, 内山 充: 衛生試験, 100, 186 (1982)

食品中の有害金属の定量 (第12報)

アノードックストリッピングボルタンメトリー及び原子吸光度法
による海藻及び貝類中の銅, 鉛, カドミウムの分析

辰濃 隆・鈴木 隆・内山 充

Determination of Harmful Metals in Foods (XII)

Analysis of Copper, Cadmium and Lead in Algae and Shells with Anodic
Stripping Voltammetry and Atomic Absorption Spectrometry

Takashi TATSUNO, Takashi SUZUKI and Mitsuru UCHIYAMA

Copper, cadmium and lead in sea weeds and shellfishes were determined by two methods, Anodic Stripping Voltammetry (ASV) and Atomic Absorption Spectrometry (AAS).

Analytical results show that the method of ASV gave a little higher values than AAS but there are not significant differences between two results.

(Received May 31, 1983)

緒 言

実 験 方 法

最近, アノードックストリッピングボルタンメトリー (Anodic Stripping Voltammetry, ASV) が水中¹⁾, 食品中²⁾などの微量金属分析に広く用いられるようになってきた。本報は ASV と原子吸光度法 (Atomic Absorption Spectrometry, AAS) を用いて, 海藻中や貝類中の銅, カドミウム, 鉛について分析を行い, その測定結果について, 2方法を比較, 検討した。

試薬類及び試料について

測定に用いた試料は市販の海藻6種類と貝類3種類の都合9検体である。

試薬類は精密分析用又は分析に支障のきたさないことを確認したものを用いた。

硫酸, 硝酸, 塩酸, アンモニア水, シュウ酸アンモニウム, クエン酸アンモニウム, 硫酸アンモニウム, メチルイソブチルケトン (MIBK), 塩酸ヒドロキシルアミン, ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム (DDTC)。

装置

原子吸光度計: VARIAN 社製775型, double beam, 重水素放電管によるバックグラウンド補正付

ASV 装置: 柳本製 YANACO P-1000 型並びに AST-100 を連結したもの

1. 試料の前処理

試料 10 g を 100 ml の硬質ガラス (JIS 1 級以上) 製ビーカーに採り, 赤外線ランプ照射下におき, 乾燥, 炭化させる。次に電気炉 350° で 3 時間, 次いで 480° で完全に灰化させる。

2. 定量操作

a) AAS による定量

灰分を熱濃塩酸で溶かし, 更に容器を希塩酸で洗い, 100 ml の分液ロートに合わせる。水 10 ml, 10% クエン酸アンモニウム溶液 10 ml, 10% 塩酸ヒドロキシルアミン溶液 2 ml を加えたのち, メタクレゾールパープル試液 2 滴を指示薬として加え, アンモニア水 (1→2) を液が微紅色を呈するまで加える。次に飽和硫酸アンモニウム溶液 10 ml 及び 1% DDTC 溶液 10 ml を加えて軽くゆり動かす。10 分間そのまま放置したのち, MIBK 10 ml を加えて激しく振とうする。二層が分離したならば, MIBK 層を分取し, Table 1 に調整した AAS 装置を用いて, 吸光度を測定する。同時に空試験溶液を同様に操作して得た MIBK 層の吸光度を求め, これらの値の差を用いて, 別に作成した検量線から濃度を求める。

b) ASV による定量

灰化した残渣を少量の希塩酸で潤したのち, 水浴上で蒸発乾固させる。この乾固物を 0.1N 塩酸 5 ml を加え, 一夜放置して溶解させる。

Table 1 Operating conditions in atomic absorption spectrometry

	Metals		
	copper	cadmium	lead
wave length (nm)	342.8	228.8	217.0
lamp current (mA)	3.5	3.5	5.0
slit width (nm)	0.5	0.5	1.0
air (l/min)	9.5	9.5	9.5
acetylene (l/min)	1.0	1.0	1.0

Table 2 Operating condition in anodic stripping voltammetry

electrode: 3E. (Ag/AgCl, Pt, HDME)
pulse interval: 0.1 sec
modulation amp.: 50 mV
scan rate: 20 mV/min
initial volt.: -1.4 V.
scan: -0.1~-1.4 V.
deoxygation: 60 sec
pre-elect.: 30 sec
rest: 10 sec
conditioning: 10 sec

Table 3 Analytical result of a few metals in algae

sample	copper		cadmium		lead	
	AAS	ASV	AAS	ASV	AAS	ASV
Hijiki	0.07	0.15	0.1	0.15	0.11	0.14
Ogonori (green)	0.24	0.25	0.2	0.14	0.03	0.03
ogonori (white)	0.30	0.35	0.2	0.15	0.02	0.01
Ceylon moss	1.10	0.70	0.1	0.13	0.01	0.02
Tosakanori (green)	0.20	0.33	0.1	0.14	0.09	0.19
Tosakanori (red)	0.13	0.39	0.1	0.10	0.01	0.02

(ppm)

Table 4 Analytical result of a few metals in shells

sample	copper		cadmium		lead	
	AAS	ASV	AAS	ASV	AAS	ASV
Short necked clam	1.10	1.40	0.08	0.07	0.3	0.22
Vivipora	2.80	2.60	0.01	0.01	0.2	0.12
Corb shell	3.90	4.10	0.81	1.03	0.4	0.29

(ppm)

この溶液を ASV 用セルに移し、Table 2 の条件に調整した ASV で、ボルタングラムをとり、あらかじめ同条件で作製した検量線から、各金属量を求める。

結果及び考察

1. 回収率について

AAS による回収率は試料 10 g に対して 5 μ g の銅、1 μ g の鉛、カドミウムを添加したとき、銅は 91.5%、カドミウムは 87.5%、鉛は 98% であった。一方 ASV による回収率は銅 92~94% (93.2%)、カドミウム 96~99% (98.2%)、鉛は 94~97% (96.3%) であり、いずれも僅かであるが、ASV による定量値が大きかった。これは AAS で溶媒抽出操作が行われることによ

ると考えられる。

2. 海藻中の銅、カドミウム、鉛含有量について

海藻中の銅、カドミウム、鉛量についての測定値を Table 3 に示す。銅は天草 (1.10 ppm) が一番多く含有していた。カドミウムはヒジキ (0.14 ppm) が多く、他はあまり大きくない。鉛はいずれの場合も 0.1~0.2 ppm 程度の含有であった。

2つの方法を t 検定したところ、銅では 0.07、カドミウムは 0.16、鉛は 0.56 という値が求められ、有意の差は認められなかったが、いずれの場合も僅かながら ASV 測定値の方が大きかった。

3. 貝類中の銅、カドミウム、鉛について

貝類についての測定結果を Table 4 に示す。銅含

有量はしじみ>たにし>あさりの順であり、鉛はしじみ>たにし=あさり、カドミウムにしじみ>あさり>たにしの順であった。

しじみ中の金属量は他のものより高く、川口などの汚れたところで育ったものではないかと推定した。

結 語

AAS 及び ASV の 2 方法で海藻類及び貝類中の銅、カドミウム、鉛の 3 金属について含有量を測定した。両者の測定結果は ASV の方が僅かに高かったが、t 検定を行ったところでは有意の差は認められなかった。

AAS は試料を灰化、溶解、抽出、測定といった工程を経るが、ASV は抽出という工程が 1 つ少ない。

感度的にも銅、カドミウムは ASV、AAS と同程度であるが、鉛に関しては ASV の方が 10~100 倍程度よかった。

今後、ASV は AAS と同様広く用いられると考える。

文 献

- 1) T. M. Florence: *Talanta*, **29**, 345-364 (1981)
- 2) R. J. Gajan, S. G. Capar, C. A. Subjoc and M. Sanders: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **65**, 970 (1982)
- 3) 鈴木 隆, 武田明治, 内山 充: 衛生試報, **100**, 186 (1982)

食品汚染物モニタリングにおける有機リン農薬の残留実態 —野菜・果実について—

河村葉子・高村きよみ・武田明治・内山 充

Organophosphorus Pesticide Residues in Food Contamination Monitoring —in Vegetables and Fruits—

Youko KAWAMURA, Kiyomi TAKAMURA, Mitsuharu TAKEDA
and Mitsuru UCHIYAMA

In the national food contamination monitoring data collected from 1972 to 1980, analytical data of organophosphorus pesticides in vegetables and fruits amounted to 43,916. The detectable residue data more than the detection limit accounted for 615 (1.4%) of all the data, 188 (0.6%) of the vegetable and 427 (2.8%) of the fruit.

The major organophosphorus pesticides detected in fruits were fenitrothion and diazinon which were detected mainly in peach, pear, grape, apple and cherry. On the other hand, those detected in vegetables were dichlorvos, diazinon and EPN which were detected mainly in parsley, udo, shungiku and spinach. Most of these residues were less than 0.1 ppm, but a few of them were over the tolerance regulated by the Japanese Food Sanitation Law.

(Received May 31, 1983)

食品中の汚染物質の実態を全国規模で明らかにするために、現在 2 つのプログラムが進行中である。1 つは全国 68 箇所の試験機関より食品汚染物分析データを収集し、電算機に入力・処理を行う“食品汚染物モニタリング計画”であり、もう 1 つは毎年全国約 10 箇所の試験機関が Total diet study 法によって食品を収集・調理したのち 13 群に分類し種々の汚染物質について分析を行う“日常食中の汚染物摂取量調査計画”である。それらの詳細についてはすでに多くの報告がなされている¹⁻⁵⁾。

食品汚染物モニタリング計画における有機リン農薬の残留実態については食品汚染物モニタリングデータ集⁶⁾に一部が収載されている。しかしそれは 2~3 種類の有機リン農薬のごく一部の農作物に関するデータのみであり、有機リン農薬の残留実態を明らかにするのに十分ではない。また他には全国規模で有機リン農薬の残留実態を明らかにした報告はみられない。一方モニタリング計画では検出限界以下の分析データについては検出限界の 1/2 を分析値として入力する方式をとっている。然しながら有機リン農薬では検出限界以

下は残留量ゼロとみなした方がよい事例が多く、また検出限界は分析機関により大きな差があるため、算出された統計値が十分に実態を反映しているとはいえない。

そこで今回、野菜・果実中の有機リン農薬のモニタリングデータのうち、検出限界以下のものは残留値をゼロとみなし、有機リン農薬が検出されたデータのみを抽出して、その残留実態の検討を試みた。

方 法

電算機に入力されている食品汚染物モニタリングデータ1971～1980年度分の約63万件から、野菜・果実中の有機リン農薬でしかもその分析値が検出限界以上のデータ、つまり有機リン農薬を実際に検出したデータのみを抽出を新たに作成したプログラムにより行った。なお1971年度分は有機リン農薬に関するデータ数が十分でないため集計には除外した。それらを分析年度、食品、農薬別に分類し検討を行った。

結果及び考察

1. 年次推移

食品汚染物モニタリングデータ1972～1980年度分における野菜・果実中の有機リン農薬分析数は43916件、そのうち有機リン農薬を実際に検出した事例は615件、検出頻度1.4%であった。Fig. 1は野菜・果実別の総分析数及び検出数、Fig. 2は検出頻度を示している。分析数は1972年度は2346件であったが、1980年には7268件と約3倍に増加している。これは分析検体数の増加だけでなく有機リン農薬の多成分同時分析法等により1検体あたりの分析対象農薬数が増加したためと思われる。野菜の分析数は果実の約2倍であるが、検出件数は年平均野菜21件及び果実で47件、検出頻度は各々0.6%及び2.8%で果実の方が高い。検出頻度は野菜・果実ともに1972年より暫時上昇してきたが1976年の各々1.1%及び4.6%を最高にやや減少傾向にある。

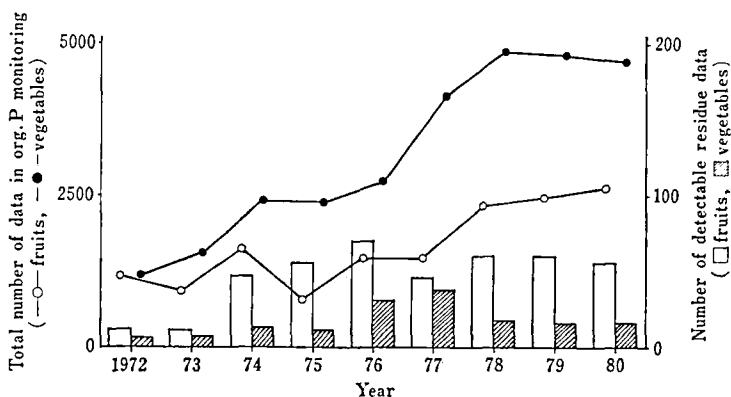


Fig. 1. Yearly trend of the number of monitoring data on organophosphorus pesticides in fruits and vegetables

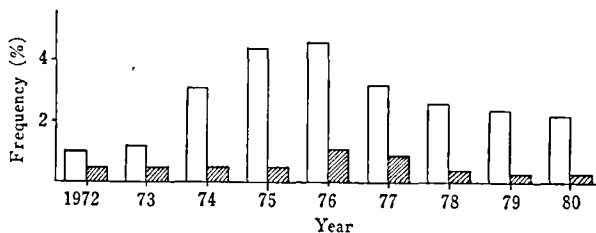


Fig. 2. Frequency of detectable residue of organophosphorus pesticides in fruits and vegetables

□ fruits, ▨ vegetables

$$\text{Frequency} = \frac{\text{number of data showed the detectable residue}}{\text{total number of the monitoring data}} \times 100$$

Table 1. Distribution and frequency of detectable residue of major organophosphorus pesticides in fruits

	Total number of data	Number of detectable residue data				Frequency (%)
		~0.01	~0.1	~1.0 ppm	total	
Fenitrothion	1611	122	60	7	189	11.7
Diazinon	1905	59	60	0	119	6.2
Salithion	75	69	3	0	72	—
EPN	1817	2	8	2	12	0.7
Dichlorvos	812	1	6	0	7	0.9
Malathion	1584	4	3	0	7	0.4

Table 2. Distribution and frequency of detectable residue of major organophosphorus pesticides in vegetables

	Total number of data	Number of detectable residue data					Frequency (%)
		~0.01	~0.1	~1.0	~10 ppm	total	
Fenitrothion	2474	15	3	2	5	25	1.0
Diazinon	3326	20	16	4	0	40	1.2
EPN	3389	15	13	8	0	36	1.1
Dichlorvos	1614	33	6	2	0	41	2.5
Malathion	3344	13	4	3	1	21	0.6
Palathion	3840	6	1	1	5	13	0.3

2. 農薬別の検出状況

Table 1 は、主要な有機リン農薬について各農薬毎の分析数、残留量の分布及び検出頻度を示している。

なおサリチオンは分析数が非常に少ないため検出頻度は算出しなかった。野菜・果実とも検出頻度は1%程度であったが、果実のフェニトロチオン、ダイアジンは11.7%及び6.2%と特に高く、野菜ではジクロロボスが2.5%とやや高い検出頻度を示した。

その残留量は、検出したデータのうち果実で97%、野菜で85%が0.1 ppm以下であった。残留基準値はダイアジノン、サリチオン、EPN (化学名: *O*-ethyl *O*-*p*-nitrophenyl phenyl phosphorothioate)、及びジクロロボス 0.1 ppm、フェニトロチオン 0.2 ppm、マラチオン 0.5 ppm である。これを超えたものは果実で5件、野菜で26件であり、各々総検出数の1.2%及び13.8%でまた総分析数の0.03%及び0.09%であった。検出頻度は果実の方が高いが、残留値は野菜の方に高い傾向がみられた。

なおこの6種類以外に検出された有機リン農薬は果実ではバラチオン8件、ジメトエート4件、フェンチオン4件、フェントエート3件及びダイシストン1件、野菜では ESTP (化学名: *S*-benzyl *O*-ethyl *p*-tolyl-

phosphonothioate) 5件、フェントエート3件、ダイシストン2件、フェンチオン、ホサロン各1件であった。

3. 農作物別の検出状況

Fig. 3 は農作物別にみた検出頻度及びその農薬の種類である。総データに対する検出頻度が高いのは果実に多くみられ、特にもも6.0%、なし5.9%が高く、次にぶどう3.6%、りんご3.4%、さくらんぼ3.1%の順であった。野菜では検体数がやや少ないがパセリ7.6%、うど3.7%が高く、次いで春菊1.7%、ほうれんそう1.3%であった。

農薬別にみると果実類ではフェニトロチオンが最も検出頻度が高く、なし、ぶどう、ももに多く検出された。2番目はダイアジノンでなし、りんごに多く、次いでサリチオンであるがこれはすべてももから検出された。他にEPN、ジクロロボス、マラチオンなどが検出された。一方野菜では、全体としては、ダイアジノン、ジクロロボス、EPN が検出事例の1/5 ずつを占め、次いでフェニトロチオン、マラチオンであった。ダイアジノンは特にパセリで多く検出された。またジクロロボスはほうれんそう、きうり及びびなす、EPN はほうれんそう、大根葉、トマト及び白菜、フェニト

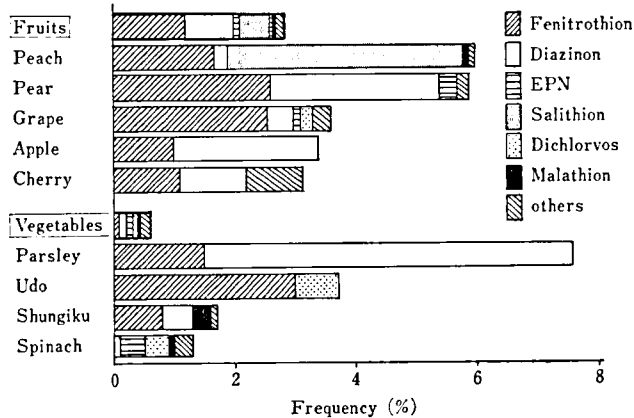


Fig. 3. Detectable residues of organophosphorus pesticides in some fruits and vegetables

ロチオンは春菊及びうど、マラチオンは大根に多く検出された。

Fig. 3 に示された検出頻度は総分析データに対する比率であるため、有機リン農薬分析の場合のように1検体で10種類近くの農薬を分析するが大部分検出されないと全体としての検出頻度は低くなることになる。そこで検出頻度が高いものについて作物-農薬の組合せ毎にデータ数を検索しそれに対する検出頻度、つまりある作物からある特定の農薬を検出する頻度を求めてみると、なしのフェニトロチオン21.8%、ダイアジノン23.0%、ぶどうのフェニトロチオン23.2%、もものフェニトロチオン21.8%、リンゴのダイアジノン16.1%となる。つまりなし5検体の分析を行うとフェニトロチオンとダイアジノンが1回ずつは検出される計算になる。

結 論

食品汚染物モニタリングデータ1972～1980年度分よりみた国内産野菜・果実中の有機リン農薬の残留実態は検出頻度は果実が高く、また高い残留濃度を示すも

のは野菜に多くみられるが、全体としては検出頻度も低く、検出しても大部分が残留基準以下であり、良好な状態にあると考えられる。

しかし、モニタリングデータにおける分析対象農薬は大部分が残留基準の設定された一部の農薬に限られており、一方これら以外の有機リン農薬も毎年大量に生産・出荷され、その大部分が国内で消費されていると考えられるがその残留実態は掌握されていない。

今後分析対象農薬を拡大していくとともに検出された未知ピークの同定を行うことにより、より広範な有機リン農薬の残留実態を明らかにする必要がある。この事は我国の食品衛生上重要な課題であると考えられる。

文 献

- 1) 内山 充: 衛生試報, 97, 1 (1979)
- 2) 内山 充: 化学と生物, 19, 784 (1981)
- 3) 内山 充: ぶんせき, 1982, 465 (1982)
- 4) 内山 充: 食品衛生研究, 33, 343 (1983)
- 5) 内山 充: 食品衛生研究, 33, 519 (1983)
- 6) 厚生省汚染物質研究班: 食品汚染物モニタリングデータ I [1971～1980] (1982)

ボルタンメトリーによるナイカルバジンの分析

神藏美枝子・江口浩子

Analysis of Nicarbazin by Voltammetry

Mieko KAMIKURA and Hiroko EGUCHI

Differential pulse polarographic determination of Nicarbazin was studied. Detection limit of Nicarbazin by this method was 0.05 ppm (Fig. 1 and 2).

(Received May 31, 1983)

ナイカルバジンは飼料添加物として鶏の飼料に使用基準にしたがって用いることのできる合成抗菌剤である。本物質の分析法としてはアルカリ比色法、ポーラログラフ法が用いられているが¹⁾、更にボルタンメトリーによる分析法につき検討を行ったので、それらの結果について報告する。

実験の部

1. 使用機器

柳本ボルタンメトリックアナライザー P-1000, XY 記録計 WX 4401 型。

2. 試薬及び標準溶液

過塩素酸テトラエチルアンモニウム (和光特級)

ジメチルスルホキシド (DMSO) (特級)

ナイカルバジン標準溶液: ナイカルバジン 10mg を正確にとり、ジメチルスルホキシドに溶かして 100 ml とする。本液 1 ml はナイカルバジン 100 μ g を含む。

ジメチルスルホキシド支持電解液: 過塩素酸テトラエチルアンモニウム 2.3 g 及び安息香酸 0.024 g をとり、ジメチルスルホキシドに溶かし、正確に 100 ml とする。

3. 分析条件

微分パルスポーラログラフ法によった。

Initial voltage: -0.7 V vs. Ag-AgCl

Scan rate: 20 mV/sec

Modulation amplitude: 50 mA

Current range: 0.05 μ A/V

XY recorder Y-sens: 10 mV/cm

Lowpass filter: Off

Cell selector: 3E

Working: D. M. E. (C type capillary)

Reference: Ag-AgCl

Counter: Pt-wire

Pulse interval: 0.5 sec/drop (= Drop time)

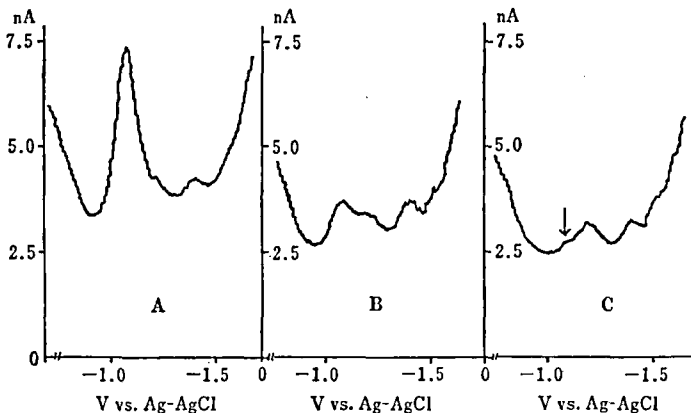


Fig. 1. Differential pulse polarograms of Nicarbazin standard and reagent blank

A: Nicarbazin standard 2 ppm, B: Nicarbazin standard 0.05 ppm, C: Reagent blank

実験結果及び考察

ナイカルバジン標準溶液を用い、ナイカルバジン濃度が 0.05, 0.10, 0.15 及び 2.0 ppm となるように試験溶液を調製し、3. 分析条件にしたがって操作した。得られたポーログラムを Fig. 1 A 及び B に示す。なお、ブランクは -1.08V 付近に波高を示さなかった (Fig. 1 C)。また、検量線は原点を通る直線性を示した (Fig. 2)。これらの結果から、本法によるナイカルバジンの検出限界は 0.05 ppm と考えられた。

直流ポーログラフ法によるナイカルバジンの検出限界は 2 ppm (10 µg/5 ml 支持電解液) であるから、本法によれば、その約40倍の感度でナイカルバジンの分析ができ、微量分析法として極めて有効であると考ええる。なお、畜肉中の分析へ応用した場合、0.1 ppm レベルの分析が可能であるという²⁾。

ま と め

ナイカルバジンは比色法、ポーログラフ法よりもポルタンメトリー検出器の使用によって微量分析できることがわかった。すなわち、本法によればポーログラフ法の約40倍の感度をもってナイカルバジンをつ

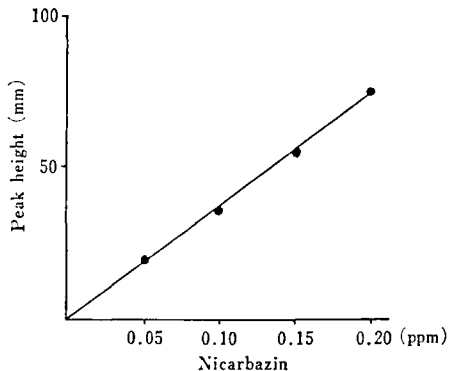


Fig. 2. Calibration curve of Nicarbazine with differential pulse polarographic method

析することができる。検出限界は 0.05 ppm であった。

謝辞：本研究を行うに際し、種々御協力いただいた柳本製作所分析機器部山西桂氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 神蔵美枝子, 江口浩子: 衛生試報, **96**, 124(1978)
- 2) J. S. Wood, Jr., G. V. Downing: *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 452 (1980)

鶏肉中の残留ナイカルバジンの分析 (第2報) ナイカルバジンの比色法について

神蔵美枝子・江口浩子

Analysis of Nicarbazine Residue in Chicken Tissue (II) The Colorimetric method of Nicarbazine

Mieko KAMIKURA and Hiroko EGUCHI

The sensitivity of Nicarbazine with colorimetric method was increased at last 1.28-fold by substituting acetone for ethyl alcohol (Fig. 6). Background absorbance of non medicated chicken tissue with this method is shown in Table 1.

(Received May 31, 1983)

合成抗菌剤ナイカルバジンの分析法については比色法並びにポーログラフ法があり、それぞれ鶏肉中の残留分析法として用いられている^{1,2)}。特に比色法は簡便な方法として利用されている。そのため、この方法における他の合成抗菌剤の妨害の有無、並びに呈色条件の検討を行ったので、それらの結果について報告

する。

実 験 の 部

1. 使用機器

光電分光光度計：島津 UV-200.

ホモジナイザー：超高速ホモジナイザー（スイスバ

イオトロナ社製バイオトロン (Biotron)).

2. 試薬及び試液

前報¹⁾を準用する.

3. 分離用カラム

前報¹⁾を準用する.

4. 分析法

前報¹⁾を準用する.

5. 標準品及び標準溶液

ナイカルバジン

ニトロフリルアクリルアミド(Z-フラン)

2-(2-フリル)-3,5-(5-ニトロ-2-フリル)-アクリルアミド (AF-2)

フラゾリドン

ニトロフラゾーン

ナイヒドラゾーン

ナイカルバジン標準溶液: 前報¹⁾の比色用標準溶液の調製法を準用する.

実験結果及び考察

1. アルカリ比色法における妨害物質の検討

比色法については前報¹⁾で述べたが, ナイカルバジンはアルカリ性で黄色を呈し, 吸収極大波長が426 nmにある. この溶液に酢酸を加えると, 426 nmの吸収は消失するため, 酢酸添加前と後の吸光度を測定し, 前後の吸光度の差を用いて定量することができる.

妨害物質としては合成抗菌剤の鶏への使用状態並びにその特性からニトロフラン剤が考えられる. Fig. 1に種々なニトロフラン系合成抗菌剤のアルコール製水酸化ナトリウム溶液の吸収スペクトル並びに吸収極大波長を示す. なお, ナイカルバジンの吸収スペクトルについては前報¹⁾で示したので, ここでは省略することとした.

その結果, Z-フランはナイカルバジンの吸収極大波長426 nmに吸収がなく, 比色法において妨害しないことがわかった. しかし, フラゾリドン, ニトロフラゾーン, AF-2, ナイヒドラゾーンは, いずれも426 nmに吸収があるため比色法において妨害することが考えられる.

ナイカルバジンは鶏肉から酢酸エチルで抽出後, アルミナカラムを用いてクリーンアップし, 10%メチルアルコール含有クロロホルム溶液でカラムから溶出させ, 溶出液を用いて定量される²⁾. したがって, 上記4種のニトロフラン剤について上記の方法により, 溶出液を集め, 濃縮後, 残留物にアルコール製水酸化ナトリウム溶液を加えてスペクトルを測定した. その結果を Fig. 2に示す. すなわち, フラゾリドンは溶出

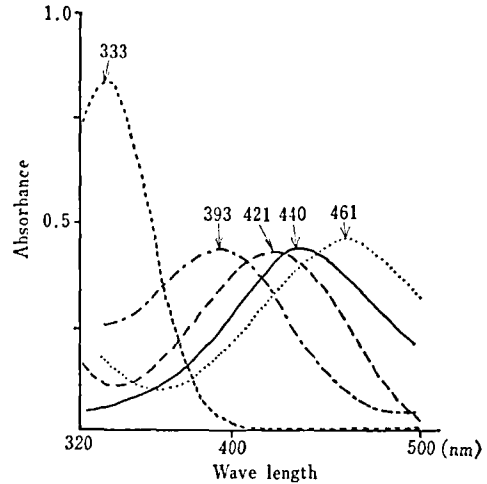


Fig. 1. Absorption spectra of nitrofuran compounds

- Nitrofuryl acrylamide (Z Furan)
- - - 2-(2-Furyl)-3, 5-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide (AF2)
- Furazolidone
- Nitrofurazone
- Nihydrazone

Solvent: 50% Sodium hydroxide soln. + Ethyl alcohol (0.5:99.5) (Volum ratio)

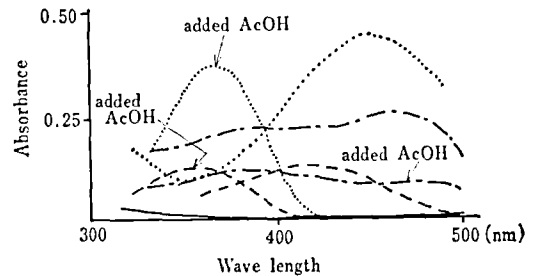


Fig. 2. Absorption spectra of nitrofuran compounds eluted from alumina column with chloroform containing 10% methyl alcohol as eluent (confer Figure 1)

液中に移行せず, ナイカルバジンの比色法を妨害しないことがわかった.

ニトロフラゾーンは溶出液のアルコール製水酸化ナトリウム溶液の吸収極大波長が461 nmにあり, この溶液に酢酸を添加することによって, この吸収は367 nmにシフトし, 426 nmの吸収は消失する. したがって, 本物質はナイカルバジンの測定を妨害することを認めた. AF-2は溶出液のアルコール製水酸化ナトリウム溶液の吸収極大波長が426 nmにあるが, 本来

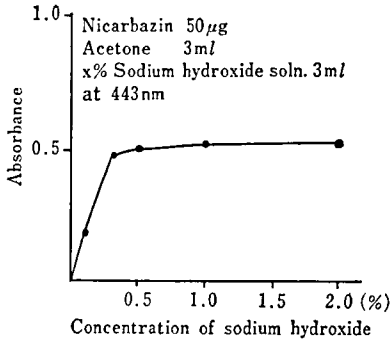


Fig. 3. Effect of concentration of sodium hydroxide on color developing of Nicarbazine

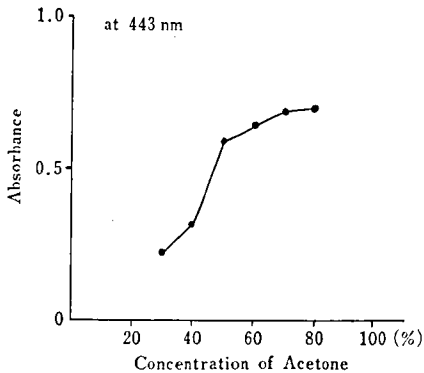


Fig. 4. Effect of acetone on color developing of Nicarbazine

Nicarbazine: 6 μ g/10 ml
 Solvent: 1.5 Sodium hydroxide soln. 1.5 ml
 Acetone.....x ml
 Waterx ml } 10 ml

の吸収極大波長 393 nm と異なり、またスペクトルもブロードであることから、操作中に変質したことが考えられる。この溶液に酢酸を添加することによって、その吸収は減少することから、ナイカルバジンの測定を妨害することが考えられる。ナイハイドラゾーンは溶出液のアルコール製水酸化ナトリウム溶液の吸収極大波長が 421 nm にあり、この溶液に酢酸を添加することによって吸収極大波長は 358 nm にシフトし、426 nm の吸収は認められない。したがって、ナイカルバジンの測定を妨害することを認めた。

以上の検討結果から、アルカリ性比色法によるナイカルバジンの測定を妨害する物質として、ニトロフラゾーン、AF-2、ナイハイドラゾーンがあげられた。これらの物質につき、妨害の程度を考察すると次のようになる。すなわち、

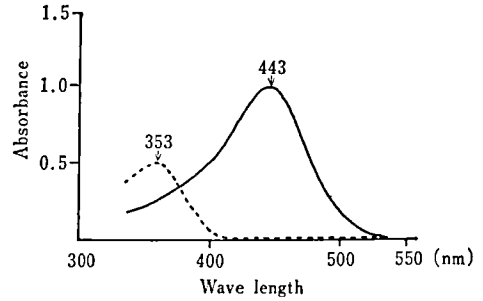


Fig. 5. Absorption spectra of Nicarbazine
 — 8 μ g/ml 0.5% sodium hydroxide soln. + acetone (30:70) solution
 - - - 0.05 ml glacial acetic acid added to the above solution

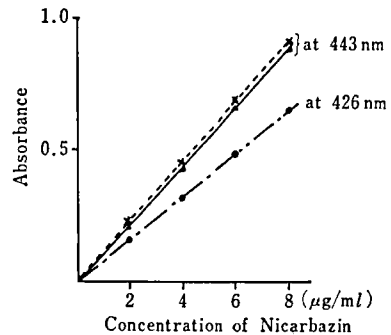


Fig. 6. Calibration curves of Nicarbazine

- 0.5% Sodium hydroxide soln. + Acetone (30:70)
- - - 0.25% Sodium hydroxide soln. + Acetone (20:80)
- · · 50% Sodium hydroxide soln. + Ethyl alcohol (0.5:100)

ニトロフラゾーンについては、その 50 μ g を用いてアルミナカラム法を適用させたところ、10%メチルアルコール含有クロロホルム溶出液中に約 30 μ g (60%) が移行することがわかった。ニトロフラゾーンの量を 2 μ g (添加レベル 0.08 ppm) とした場合、カラムからの溶出量は 1.2 μ g で、この吸光度から、ナイカルバジンの吸光度を用いてナイカルバジンの量として求めると 0.82 μ g (約41%) に相当する。したがって、試料中にニトロフラゾーンが 2 μ g 存在する場合には、ナイカルバジンの測定値は約40%高い値となるものと推定される。

AF-2 については、その 50 μ g を用いてアルミナカラム法を適用させた結果、10%メチルアルコール含有クロロホルム溶出液中に移行する量は約 26 μ g (52.6

Table 1. Background Absorbance of Nonmedicated Chicken Tissue with Colorimetric Method

Tissue	Background absorbance			
	NaOH/EtOH*1 (A)	NaOH/Acetone*2 (A)	Added AcOH to (A) (B)	(A)-(B)
Nonmedicated chicken	25 g	0.214	0.180	0.034
	25 g	0.236	0.182	0.054
Commercial chicken	25 g*3	0.075	0.063	0.012
	25 g*3	0.128	0.100	0.028
	25 g	0.187	0.108	0.079
	25 g*3	0.045	0.008	0.037

*1 Absorbance was measured at 426 nm

*2 Absorbance was measured at 443 nm

*3 Extracts were centrifuged twice at 3000—3500 rpm for 5 min

%)であった。AF-2の量を2 μ gとした場合、カラムからの溶出量は1.04 μ gで、ナイカルバジン0.24 μ g (11.9%)に相当する。したがって、試料中にAF-2が2 μ g存在する場合、ナイカルバジンの測定値は約12%高い値となるものと思われる。

ナイハイドラゾーンについては、その50 μ gを用いてアルミナカラム法を適用させたところ、10%メチルアルコール含有クロロホルム溶出液中に移行するナイハイドラゾーンは約13 μ g (26%)で、ナイハイドラゾーンの量を2 μ gとした場合、カラムからの溶出量は約0.5 μ g、ナイカルバジン0.28 μ g (13.94%)に相当する。したがって、試料中にナイハイドラゾーンが2 μ g存在する場合、ナイカルバジンの測定値は約14%高い値となるものと推定される。

以上の結果を考察すると、ニトロフラゾーンでは、酢酸添加によって426 nmの吸収が消失するため、溶出量すべてがナイカルバジンとして定量されるが、AF-2では酢酸添加によって吸収が減少するが、なお、426 nmに吸収があるため、溶出量は多くてもナイカルバジンとしての換算値は低くなるものと思われる (Fig. 2)。

2. 比色法における呈色条件の検討

ナイカルバジンはアルカリ性で黄色を呈するため、この呈色によって定量することが可能である。呈色試薬として、一般にアルコール製水酸化ナトリウム溶液が用いられているが、この溶液は放置すると、徐々に白濁を生じ、調製後1時間を経た時点で、その濁りは吸光度で0.109の値を示しナイカルバジンの測定を妨害する。したがって、使用直前に遠心分離する必要がある。そのため、エチルアルコールの代りにアセトンを用いた呈色法について検討を行った。その結果、アルカリ性アセトン溶液の至適条件として、水酸化ナト

リウム溶液の濃度は0.5~2% (Fig. 3)、アセトン濃度は50~80%で良好な呈色を示し (Fig. 4)、吸収極大波長は443 nmにあることがわかった (Fig. 5)。検量線は2~8 ppmの範囲で直線性を示し、アルコール製水酸化ナトリウム溶液のそれと比較するとき、1.28倍の感度の上昇を示した (Fig. 6)。ただし、本呈色は1分後に安定するため、その時点で吸光度を測定する。

3. 比色法における鶏肉のブランク値について

鶏肉25gを用い抽出法に従って操作して得た残留物にアルコール製水酸化ナトリウム溶液、アルカリ性アセトン溶液1 mlを加え、それぞれの吸収極大波長において吸光度を測定した (Table 1)。その結果、鶏肉からのブランク値は比色法では完全に除去することができなかった。しかし、一般に抽出液の遠心分離の回数をふやせばブランク値は減少する傾向がみられた。また、アルカリ性アセトン法ではアルコール製水酸化ナトリウム溶液を用いた場合よりも、ブランク値は低いことを示した。しかし、非投薬標準試料の鶏肉についてのブランク値は、市販鶏肉の値とほぼ一致することを認めた。

ま と め

合成抗菌剤であるニトロフラン剤のうち、ニトロフラゾーン、AF-2、ナイハイドラゾーンは比色法におけるナイカルバジンの測定を妨害し、その程度は12~40%と考えられた。したがって、測定値はこの分だけ高い値を示す。呈色試薬として用いるアルコール製水酸化ナトリウム溶液はアルカリ性アセトン溶液に代えることにより、感度は1.28倍高められることがわかった。また、鶏肉から移行するアルカリ性呈色物質は非投薬標準試料の鶏肉についても、吸光度で0.034~0.054の値を示し、ナイカルバジンとして0.24~0.38

μg に相当する。したがって $2 \mu\text{g}/25 \text{g}$ (0.08 ppm 添加レベル) で、12~19%程度高い値が得られることとなる。ブランク値の問題を解決するには高速液体クロマトグラフ法の適用が良好と思われる³⁾。

文 献

- 1) 神蔵美枝子, 江口浩子: 衛生試験, 96, 124(1978)
- 2) 厚生省環境衛生局乳肉衛生課: 畜産物中の残留物質検査法 第2集の2, p.23 (1978)
- 3) 荒木恵美子, 渡井正俊, 山本万里, 上野順士, 神蔵美枝子: 日本食品衛生学会第42回学術講演会講演要旨集. p.35 (1981.11.18)

規格基準設定のためのつくだ煮類の真菌試験

宇田川俊一・坂部フミ・鈴木明子
成田紀子・倉田 浩

Mycological Survey of "Tsukudani" (Food boiled down in soy) for Standardization Purpose

Shun-ichi UDAGAWA, Fumi SAKABE, Meiko SUZUKI, Noriko NARITA
and Hiroshi KURATA

A total of 20 retail cooked foods (the Japanese name: tsukudani), which were composed of 13 sea foods boiled down in soy and 7 vegetable foods boiled down in soy or with sugar, were examined for total number of fungi.

Of the 4 positive samples in the sea foods, three were boiled mysids and their total counts were varied from 4.6×10 to $1.6 \times 10^2/\text{g}$. The highest fungal population ($8.5 \times 10^2/\text{g}$) was found on cooked short-necked clam. Likewise in the case of miso (soybean paste), the sea foods boiled down in soy may contain mainly halophilic yeasts.

The survey on vegetable foods has shown that half of market samples of beans boiled with sugar had total counts of $< 1 \times 10$ to $9.3 \times 10^2/\text{g}$. The beans were contaminated mainly with osmophilic yeasts, e.g. *Saccharomyces* and *Torulopsis*. *Cladosporium* species were sometimes found as air-borne and comprised together with the osmophilic yeasts.

Besides the addition of preservatives, tsukudani may be made microbiologically stable by pasteurization, coupled with strict plant sanitation of cooling processing in the factories. According to the previous information, the pasteurization can be achieved by additional heat treatment in water at 90° for 20 min after proper packing.

(Received May 31, 1983)

つくだ煮は、こんぶ、のり、貝類、小魚類、えび、するめなどを醤油、砂糖、水あめ、化学調味料などを配合した調味料で煮込んだものである。また、大豆、そら豆、いんげん、えんどうなどの煮豆類もつくだ煮として販売されている。最近では煮込みの程度の浅い甘口品や低塩、低糖の製品が出廻っているため、つくだ煮類の保存性を見直す必要に迫られている。河西ら¹⁾はつくだ煮の保存性に対するソルビン酸の有効性について再検討結果を報告しているが、合成保存料の添加による微生物の制御は最近疎まれる傾向にあり、むしろ製造加工段階での微生物学的な品質管理と包装

技術の開発及び低温流通によって安全度を高めることが期待されている。

今回の調査は、このようなつくだ煮製造加工の傾向に対応して市販つくだ煮類の微生物学的な品質がどのような実情となっているかを真菌検査の面から捉え、規格基準設定のための基礎資料を得ることを目的とした。

試 験 方 法

1. 試料：市販の水産物つくだ煮13銘柄（あみ、かつお、こんぶ、のり、えび、はぜ、ふな、あさりな

Table 1. Summarized results on mycological examination of sea foods boiled down in soy

Food and commercial brand		Fungal counts(per g)	Kind of fungi detected
Ami (mysids)	MD	1.1×10^2	yeasts
Ami (mysids)	FT	4.6×10	yeasts
Ami (mysids)	IW	1.6×10^2	yeasts
Asari (short-necked clam)	TA	8.5×10^2	yeasts
Goma Konbu (sesame seed & kombu)	MA	0	
Haze (goby)	TA	0	
Denbu (mashed & seasoned fish)	MI	0	
Katsuo Konbu (bonito & kombu)	MI	0	
Katsuoshibuki (bonito flake)	MI	0	
Kobuna (roach)	KA	0	
Ko-ebi (shrimp)	EB	0	
Nori (laver)	YA	0	

Table 2. Summarized results on mycological examination of vegetables boiled down in soy or with sugar

Food and commercial brand		Fungal counts(per g)	Kind of fungi detected
Hatôgarashi (<i>Capsicum</i> pepper leaves)	KI	0	
Fuki Mame (broad bean)	EB	2.9×10^2	yeasts, unidentified molds
Konbu Mame (soybean & kombu)	DA	0	
Shirokintoki Mame (Azuki bean)	FJ	0	
Tora Mame (kidney bean)	TA	0	
Uguisu Mame (green peas)	EB	9.3×10^2	yeasts, <i>Cladosporium</i> , yeast-like fungi
Uzura Mame (mottled kidney bean)	KI	$<1 \times 10$	yeasts

ど), 農産物つくだ煮7銘柄(各種の煮豆類及び菜とうがらし)を購入し, 合計20試料を供試した。保存料無添加の表示は4銘柄, また合成保存料添加の表示は4銘柄, いずれとも表示されていないもの12銘柄であった。

包装形態は過半数がパック商品で低温流通のものであったが, 計量販売されている商品も7点ほど供試した。

2. 真菌生菌数測定法: 真菌の生菌数測定は1973年発行の食品衛生検査指針〔I〕検査法別²⁾に準拠した。主要な処理条件は以下のようである。

試料の各10gをはかり取り, 滅菌生理食塩水液中に均一に分散させた後, 希釈試料液を調製した。培地は塩化ナトリウム(50g/l)及びクロラムフェニコール(100mg/l)添加ポテト・デキストロース寒天を使用した。作成した寒天平板上に試料を塗抹し, 表面を無菌的に乾燥後, 23°, 7日間培養し, 発生した真菌コロニー数を計測した。

結果及び考察

1. 水産物つくだ煮

結果をTable 1にまとめて示した。表にみられるように供試13銘柄中の9銘柄は真菌非検出で, 残りの4試料に真菌の発生が認められ, その検出率は31%を示した。とくに, あみのつくだ煮は供試3試料のいずれからも真菌が検出されたのは注目される。最も菌数が多かった品目はあさりで, g当り 8.5×10^2 個が計測され, その内容は上記あみの3試料とともに酵母菌であった。小えびや海産魚などの生鮮魚介類からも酵母の報告があるが, 水産物つくだ煮に発生する酵母は本質的に味噌, 醤油などの“わき酵母”と同種類, 若しくは近縁のものであろう³⁾。すなわち, つくだ煮の製造工程中で煮炊きされているため, 生鮮魚介類の酵母が生残している可能性はないものとみなされる。これらの酵母菌が調味料から由来したのか, 製造環境からの二次汚染菌であるのかは製造工程での微生物調査によらなければ解明できないが, 他の類似品で全く真菌の発生が認められない以上, 微生物学的品質管理

の徹底をはかる必要がある。

2. 農産物つくだ煮

結果を Table 2 にまとめて示した。調査の重点を煮豆類においたため、他の農産物つくだ煮の実態については不十分であるが、煮豆では供試6銘柄の半数に真菌の発生が認められ、しかもそのうちの2点では $10^2/g$ 以上の真菌数が計測された。検出真菌の内容は酵母とカビであり、カビの場合は一部が *Cladosporium* と同定された。この属は空中浮遊菌として知られ、製品への混入が二次汚染による可能性が大きいことを示唆した。

上記水産物の場合と同様に、農産物でも製造時の煮炊きがあることを考慮すれば、これらの真菌の由来は製造環境であろう。ただし、煮豆類に発生する酵母菌は、好濃性であるが耐塩性ではない種類、例えば *Saccharomyces* 属の数種（好濃・耐塩性の *S. rouxii* を含む）、*Torulopsis*、及び *Candida* などの数種が考えられる⁴⁾。いずれにしても、煮豆類の製造加工はまだ微生物学的品質管理が不十分であると推測された。

ま と め

市販つくだ煮製品の真菌試験から、水産物加工品の一部（あみ及びあさり）、煮豆類の半数に酵母菌を中心とする真菌の陽性検体が発見された。酵母菌には病原性のあるものがあるといっても、細菌類やカビにおいて起こるように、酵母自身が食物を通して感染症や中毒症の原因になることはない⁴⁾。しかし、流通・消費段階で食品中の酵母が増殖すると変敗を起こす。

一般に酵母菌は大部分のカビと同様に熱に弱く、 65° 、 $10\sim 20$ 分間の加熱処理で完全に死滅する⁵⁾。前述したように、つくだ煮中の酵母や大部分のカビは一次煮炊時に死滅している筈であるが、煮炊後の放冷工程で二次汚染されることが多いと報告されている⁶⁾。これを防止するためには、放冷作業場のクリーン化と、それに伴う二次殺菌工程時の初発菌数の低減、包装加熱殺菌による二次殺菌効果の確保などが検討されねばならない。山本ら⁶⁾によれば、低塩化浅炊きつくだ煮の二次殺菌は品温 90° 、達温 20分間で十分のことであるから、つくだ煮類の真菌生菌数を g 当り 100 個以下に抑えることも技術上困難ではなく、このレベルでの規格基準設定も考慮されるべきであろう。

本調査研究は昭和57年度厚生省環境衛生局食品衛生調査費によって実施した。

文 献

- 1) 河西 勉ら：衛生試報, 96, 140 (1978)
- 2) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針 [I] 検査法別, p. 615 (1973), 日本食品衛生協会, 東京
- 3) 増井正幹ら：好塩微生物, p. 313 (1979), 医歯薬出版
- 4) H. J. Phaff *et al.*: *The Life of Yeasts*, 2nd Ed., p. 231 (1978), Harvard University Press, Cambridge
- 5) H. M. C. Put *et al.*: *J. Appl. Bact.*, 40, 135 (1976)
- 6) 山本吉朗ら：香川県発酵食品試験場報, 71, 60 (1979)

規格基準設定のための味噌、醤油、焼肉のたれ類の真菌試験

宇田川俊一・坂部フミ・鈴木明子・成田紀子・倉田 浩

Mycological Survey of Soybean paste, Soysauce and Barbecue sauce
for Standardization PurposesShun-ichi UDAGAWA, Fumi SAKABE, Meiko SUZUKI, Noriko NARITA
and Hiroshi KURATA

A total of 58 commercial seasonings, which were composed of 10 soybean paste (the Japanese name: miso), 20 soysauce (the Japanese name: shoyu) and 28 barbecue sauce, were examined for total number of fungi. The results of the examination on the soysauce and the barbecue sauce indicated a better overall mycological quality. Of the 4 positive samples in the soybean paste tested, two contained more than 1.0×10^3 fungi in the population per gram. Yeasts were the most dominant group in their mycoflora. Presumably these yeasts were often present in fermentation process of the soybean paste and transferred into packages without the sterilization.

The results obtained from this survey support the suggestion that further improvement of processing procedures in soybean paste is very efficient for mycological quality of the commercial seasonings.

(Received May 31, 1983)

代表的な発酵食品である味噌・醤油は食塩によって適度の味つけと保存性が保たれている調味料である。

したがって高い濃度の食塩中でも生育する耐塩性、好塩性の微生物が存在することはあっても、変敗や変質を起こしやすい耐塩性の低い微生物は増殖しないことが常識とされてきた¹⁾。ところが最近では高齢化の社会とともに食塩の摂取量が制限される傾向となり、これらの発酵食品が低塩・減塩化に向っている。一方、食品の多様化に伴って香辛料など種々の風味を加えた焼肉のたれが盛んに市販されるようになった。

今回の調査は、これらの市販調味料を対象として真菌試験を行い、微生物学的品質についての実情を把握し、規格基準設定のための基礎資料を得ることを目的とした。

試験方法

1. 試料：市販の味噌10銘柄、醤油20銘柄、焼肉のたれ類28銘柄を購入し、合計58試料を供試した。味噌の塩分は5.1~9.8%と表示され、少なくとも6銘柄が低塩・減塩を強調していた。醤油については食塩濃度の表示はなかったが、6銘柄が低塩・減塩を名称としていた。また、醤油では16銘柄にアルコール添加が、1銘柄に味りんの添加が表示されていた。焼肉のたれ類では2銘柄が要冷蔵と指示され、その賞味期間は2週間であった。他の26銘柄は常温流通であり、そのう

ちの22銘柄が賞味期間として6箇月~2年を表示していた。焼肉のたれ類には、味りん、食酢の添加されているものが少なからずあり、そのpHは3.9~5.0の範囲であった。

2. 真菌生菌数測定法：真菌の生菌数測定は1973年発行の食品衛生検査指針〔I〕検査法別²⁾に準拠した。主要な処理条件は以下のようである。

試料の各10g又は醤油の場合のみ1mlを秤取りし、滅菌生理食塩水液中に均一に分散させた後、希釈試料液を調製した。使用した培地はクロラムフェニコール添加(100mg/l)ポテト・デキストロース寒天であり、味噌及び醤油の試験にはこれに塩化ナトリウム(50g/l)を添加した。作成した寒天平板上に試料液を塗抹し、表面を無菌的に乾燥後、23℃、7日間培養し、発生した真菌コロニー数を計測した。

結果及び考察

1. 味噌及び醤油

Table 1に示すように、供試味噌10試料中4試料に真菌の発生が認められ、検出率40%は調査品目中でも高率であった。しかも、Table 2のように 10^3 /g及び 10^4 /gの酵母菌が発生した試料が2銘柄あり、これらの酵母は味噌の発酵製造、若しくは熟成に関与する*Saccharomyces rouxii*, *Torulopsis versatilis*³⁾がそのまま製品包装中に移行したものではないかと思われる。

Table 1. Summarized results on mycological examination of soybean paste, soy sauce and barbecue sauce

Food	No. of tested samples	No. of negative samples	No. and percentage of positive samples	
Soybean paste	10	6	4	40%
Soysauce	20	20	0	0%
Barbecue sauce	28	22	6	21%
Total	58	48	10	17%

味噌には、そのほか産膜性酵母として *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Pichia*, *Saccharomyces rouxii* var. *halomem-branis* の存在が知られている¹⁾。いずれにしても、このように多量の酵母が製品中に含まれていることは、変敗現象として“ふくれ”、“わき”、容器の膨脹、破裂などの事故を招く恐れがある。酵母菌を多量に検出した試料のうち、1銘柄は減塩製品（塩分5%）であったが、他のものは塩分11%であり、減塩が酵母菌の検出と直接関係があるとはいえないが、製造管理上の問題として原因を追及する必要がある。

醤油に関しては全試料が真菌非検出であり（Table 1）、微生物管理上問題となる製品は認められなかった。醤油の場合、保存料としてほとんどすべての製品にアルコールが添加されているため、真菌の発生が制御されているものと考えられる。このような製品では、開栓後にアルコールの効果が徐々に減少することが予測されるので、合成保存料無添加の商品は開栓後、なるべく短期間に消費するか、冷蔵庫に保管することが望まれる²⁾。

2. 焼肉のたれ類

Table 1 のように、真菌検出率は21%であったが、真菌の発生をみた銘柄でも $7.6 \times 10^6/g$ を計測した1点を除き、ほとんど $10^6/g$ 以下の真菌数で微生物学的品質管理は真菌に関して良好であった。Table 2 に検出真菌を示した。

ま と め

市販製品の真菌試験から、味噌、醤油、焼肉のたれ

Table 2. Fungal counts and their identification in soybean paste and barbecue sauce

Food and commercial brand	Fungal counts per g	Kind of fungi detected
Soybean paste		
“Saikyo miso”	$< 1 \times 10^4$	unidentified mold
“Gen-en miso”	2.4×10^4	yeasts
“Amakuchi miso”	4.6×10^4	yeasts
“Misokoshi miso”	1.5×10^3	yeasts, <i>Aspergillus</i>
Barbecue sauce		
“Misoaji” K	$< 1 \times 10^4$	unidentified mold
“Chukara” T	$< 1 \times 10^4$	unidentified mold
“Karakuchi” S	$< 1 \times 10^4$	unidentified mold
“Gomadare” R	7.6×10^4	<i>Eurotium chevalieri</i> , <i>E. herbariorum</i>
“Nama” pack M-1	1×10^4	yeasts, unidentified mold
“Nama” pack M-2	$< 1 \times 10^4$	<i>Botrytis cinerea</i>

類など調味料についての真菌を対象とした微生物学的規格基準設定の必要性は少ないものの、味噌の製品では一部にやや真菌数の高いものが認められたこと、しかも検出された真菌が酵母菌であったことから製品の流通・消費段階での増殖により変敗事故要因となる可能性が大きく、これらについては製造工程における微生物制御を中心とした衛生管理に一段の改善が必要と思われる。

以上の諸品目では、現状からみて真菌生菌数はg当り10個以下に抑えることが望ましいと思われる。

本調査研究は昭和56～57年度厚生省環境衛生局食品衛生調査費によって実施した。

文 献

- 1) 増井正幹ら：好塩微生物，p.313 (1979)，医歯薬出版
- 2) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針〔I〕検査法別，p.615 (1973)，日本食品衛生協会，東京
- 3) 坂上正人ら：食品衛生研究，31，215 (1981)

家庭用品に使用される化学物質の急性経口毒性(その1)

鈴木康雄・内藤克司・戸部満寿夫

Acute Toxicity of Chemicals used in the Household (I)

Yasuo Suzuki, Katsuji Narro and Masuo Tobe

Oral dosages of 8 chemicals (2 fire retardants, 1 sterilizer, 1 fluorescent whitening agent, 4 surfactants) were administered by stomach tube to the rats.

Animals were observed usually for 2 weeks after the administration. The acute LD₅₀ of each compound was determined.

(Received May 31, 1983)

家庭用品に使用される化学物質の安全性評価のために、各種の毒性試験が実施されている。今回は、防災加工剤2種、殺菌剤1種、蛍光増白剤1種、柔軟剤4種についてラットを用いた急性経口毒性試験を行った。

実験方法

動物は Wistar 系ラット(静動協)雄、雌を、4週令で購入し、動物室で馴化したのち、5週令で、体重雄 100-110g、雌 80-90g を各々1群10匹とし、各検体の投与に際し、投与15時間前より、投与後6時間目まで除餌し絶食させた。その間飲水は自由に摂取させた。なお、動物はコンベンショナルな動物室で飼育し、環境条件は、室温 22±2°、湿度 60±10%、照明は点灯12時間、消灯12時間で行った。

検体に用いた化学物質は、N-methylol dimethylphosphonopropionamide (防災加工剤, Pyrovatex CP, 油状液体, Ciba-Geigy 社), 1,3-di[tris(hydroxymethyl)phosphonium-methyl]urea (防災加工剤, Proban TPU-210, 50%水溶液, Proban 社), phenylmercuric oleate (殺菌剤, 白色ワックス状, 東京化成工業 KK), N-methyl-4-methoxynaphthalimide (蛍光増白剤, Mikawhite AT, 白色粉末, 日本化薬 KK), sodium dialkylsulfosuccinate (柔軟剤, Sunsofner, 白色ペースト, 三洋化成 KK), sodium alkylsulfate (柔軟剤, 水分40%を含むペースト, Pansofner F, 第一工業製薬 KK), distearyl dimethylammonium chloride (柔軟剤, 帯電防止剤, Quartamin D86P, 白色粉末, 花王石鹼 KK), stearic acid diethylenetriamine と urea との縮合物 (柔軟剤, Ahcovel F, 20%水溶液, 一方社油脂 KK) の8種で、各検体は Table 9 に示す投与濃度で、投与容量を変えて、ラットに胃管を用いて

1回強制経口投与した、各検体の投与時の、対照群は検体の最高投与容量で各溶媒を投与した。検体投与後の症状観察ならびに死亡動物数の記録は、動物の回復の認められる1週間日あるいは2週間日まで行った。死亡動物並びに観察終了時の生存動物はすべて剖検所見を記録した。なお死亡動物数より LD₅₀ 値は Litchfield-Wilcoxon 法により算出した。

実験成績

1. N-Methylol dimethylphosphonopropionamide

雄、雌ともに投与直後より検体投与全群に立毛、自発運動の抑制がみられる。低用量群(9100-10400 mg/kg)では3時間日より水様性の下痢、腹這い状態が認められる。12000 mg/kg 以上の群では1時間日より低用量群に認められた症状に加えて、体温下降、粗毛、流涙、眼出血などが認められる。死をまぬがれた動物は5日目ないし7日目までに回復を示す。動物の死亡は腹這い状態のまま雄、雌とも1時間日より始まり雄では3日目までに、雌では2日目までに終了する(Table 1)。死亡動物の剖検所見は、脳、肺、内臓器官の軽度な充血、小腸の弛緩がみられる。7日間生存動物の剖検所見では特に変化は認められない。

なお、7日間の死亡動物数より算出した LD₅₀ 値並びにその信頼限界は、雄では 13000 (11400-14800) mg/kg、雌では 13200 (12300-14200) mg/kg である。

2. 1,3-Di[tris(hydroxymethyl)phosphonium-methyl]urea

雄、雌ともに検体投与全群で、投与30分ごろより、自発運動の抑制、立毛、軟便あるいは下痢がみられる。1時間目以降では流涙、鼻出血、腹這い状態が高用量

Table 1. Mortality of N-methylol dimethylphosphonopropionamide

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of deaths										Total No. of deaths			
			Hours					Days								
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7		14		
Male	9100	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10400	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12000	10	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	13800	10	0	0	1	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	8
	15900	10	4	1	0	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	10
	18300	10	4	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
	Female	9100	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10400		10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12000		10	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
13800		10	0	2	2	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	8
15900		10	2	3	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9
18300		10	7	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10

Table 2. Mortality of 1,3-di[tris(hydroxymethyl)phosphonium-methyl]urea

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of deaths										Total No. of deaths			
			Hours					Days								
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7		14		
Male	260	10	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	300	10	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	345	10	0	0	2	3	2	0	1	0	0	0	0	0	0	8
	396	10	0	0	5	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	10
	456	10	0	0	4	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	10
Female	179	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	197	10	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	226	10	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	3
	260	10	0	0	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	7
	300	10	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
	354	10	0	0	0	9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	10
	396	10	0	0	0	5	2	1	0	1	0	0	0	0	0	9

群になるに従い例数も多く、症状も強く認められる。死をまぬがれた動物は低用量群では5日目までに、また高用量群では10日目までには回復を示す。動物の死亡は腹這い状態のまま、雄では6時間目より始まり6日目に終了し、雌では1日目より始まり7日目には終了する (Table 2)。死亡動物の剖検所見は、肝の横隔膜面に黄斑 (3×5 mm) が散在し、胃壁の肥厚並びに粘膜面の点状出血、内臓器官及び生殖器の充血、腹腔内の湿潤過多がみられる。12日間生存した動物の剖検所見は雄、雌とも投与量に関係なく多数例に肝の横隔膜面に散在性の黄斑 (3×5 mm) が認められる他に変化はみられない。

14日間の死亡動物数より算出した LD₅₀ 値とその信頼限界は雄では 308 (283-335) mg/kg、雌では 245 (208-289) mg/kg である。

3. Phenylmercuric oleate

雄、雌ともに検体投与群で投与2時間目より自発運動の抑制、立毛、軟便、腹這い状態がみられ、高用量群ではさらに体温下降、粘液性の下痢、粗毛が認められる。症状の回復は低用量群で6日目までに、高用量群では死をまぬがれた動物は12日目にはそれぞれ回復を示す。動物の死亡は腹這い状態で、雄では3日目より始まり5日目に終了し、雌では1日目より始まり5

Table 3. Mortality of phenylmercuric oleate

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of deaths										Total No. of deaths			
			Hours					Days								
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7		14		
Male	23.2	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	27.9	10	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	33.5	10	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	4
	40.2	10	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0	4
	48.2	10	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	3
	57.9	10	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	3
	69.4	10	0	0	0	0	0	0	6	1	0	0	0	0	0	7
	83.3	10	0	0	0	0	0	0	6	3	0	0	0	0	0	9
	Female	33.5	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40.2		10	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	3
48.2		10	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	4
57.9		10	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	3
69.4		10	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0	6
83.3		10	0	0	0	1	0	2	2	0	0	0	0	0	0	5
100.0		10	0	0	0	2	3	1	0	4	0	0	0	0	0	10

Table 4. Mortality of N-methyl-4-methoxynaphthalimide

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of deaths										Total No. of deaths			
			Hours					Days								
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7		14		
Male	10000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15000	10	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	20000	20	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3
Female	10000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15000	10	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2
	20000	20	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	4

日目に終了する (Table 3)。死亡動物の剖検所見は小腸の弛緩、腎退色、内臓器官の充血がみられる。14日間生存動物の雄では 57.9 mg/kg 以上の群で、雌では 48.2 mg/kg 以上の群で、それぞれ腎の腫大が認められる他に変化はみられない。

14日間の死亡動物数より算出した LD₅₀ 値とその信頼限界は雄では 48.4 (40.0-58.6) mg/kg、雌では 63.5 (48.8-82.6) mg/kg である。

4. N-Methyl-4-methoxynaphthalimide

雄、雌ともに 10000 mg/kg 群では投与2時間目より、15000 mg/kg 以上の群では30分目より自発運動の抑制、立毛がみられ、15000 mg/kg 以上の群ではさらに3時間目より流涙、腹這い状態、粗毛が認められる。症状の回復は 10000 mg/kg 群は1日目には、15000 mg/kg 以上の群では死亡する動物を除いては7日目には回復を示す。動物の死亡は、雄、雌ともに腹這い状態のまま、1日目より始まり4日目には終了する。死亡動物の剖検所見では小腸に弛緩がみられる他に変化は認められない、また、7日間生存動物の剖検所見に変化は認められない。

なお、7日間の動物の死亡例は、10000 mg/kg 群では雄、雌ともに認められず、20000 mg/kg 群で、雄は20例中3例、雌では20例中4例の死亡が認められた (Table 4)。したがって LD₅₀ 値は雄、雌ともに 20000 mg/kg 以上である。

Table 5. Mortality of sodium dialkylsulfosuccinate

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of deaths										Total No. of deaths
			Hours			Days							
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7	
Male	10000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	10000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20000	10	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2

Table 6. Mortality of sodium alkylsulfate

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of deaths										Total No. of deaths
			Hours			Days							
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7	
Male	3600	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4300	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5200	10	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	6200	10	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	5
	7500	10	0	0	5	3	0	0	0	0	0	0	8
Female	3000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3600	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4300	10	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	5200	10	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	3
	6200	10	0	0	3	1	1	0	0	0	0	0	5
7500	10	0	0	4	4	1	0	0	0	0	0	9	

5. Sodium dialkylsulfosuccinate

雄、雌ともに検体投与群で投与1時間目より自発運動の抑制、立毛、粘液性の下痢が認められる。これらの症状は雄より雌で強くみられる。症状の回復は雄の10000 mg/kg 群では6時間目までに、雄の他の群及び雌の各投与群でも5日目までには回復を示す。動物の死亡は雌の20000 mg/kg 群にのみ1日目及び2日目に各1例、いずれも腹這い状態のまま死亡する。この動物の剖検所見は小腸の弛緩、肝退色が認められた。7日間生存動物の剖検所見では、いずれの動物にも変化は認められない。

7日間の動物の死亡は、雄では20000 mg/kg 群では認められず、雌では20000 mg/kg 群で10例中2例の死亡であった (Table 5)。したがって LD₅₀ 値は雄、雌ともに20000 mg/kg 以上である。

6. Sodium alkylsulfate

雄、雌ともに低用量群 (3000-3600 mg/kg 群) で投与1時間目より自発運動の抑制、立毛、軟便がみられるが、24時間目までには回復を示す。一方4300 mg/kg 以上の群では投与30分目より立毛、軟便あるいは粘液性の下痢、腹這い状態、体温下降がみられる。死亡する動物は雄、雌ともに腹這い状態のまま、6時間目より始まり、雄では1日目までに、雌では2日目までに終了する (Table 6)。死をまぬがれた動物は6日目には回復を示す。死亡動物の剖検所見は小腸の弛緩、内臓器官の充血及び腹腔内の湿潤過多がみられる。7日間生存動物の剖検所見では変化は認められない。

Table 7. Mortality of distearyl dimethylammonium chloride

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of deaths												Total No. of deaths
			Hours			Days									
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7	12		
Male	6900	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	8300	7	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	
	10000	10	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	
	12000	9	0	0	0	0	1	3	1	0	1	0	0	6	
	14400	8	0	0	0	1	1	3	2	0	0	0	0	7	
Female	8300	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	10000	9	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2	
	12000	8	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	
	14400	9	0	0	0	1	3	2	0	0	0	0	0	6	

Table 8. Mortality of the condensate between stearic acid diethylenetriamine and urea

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of deaths										Total No. of deaths
			Hours			Days							
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7	
Male	5000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	5000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

7日間の死亡動物数より算出した LD₅₀ 値とその信頼限界は、雄では6600(5500-7900)mg/kg、雌では5800(5100-7900)mg/kg である。

7. Distearyl diethylammonium chloride

雄、雌ともに検体投与群で投与30分ごろより自発運動の抑制、立毛、軟便が、さらに高用量群になるに従い水様性の下痢、腹這い状態、粗毛、腹部膨隆が認められる。症状の回復は雄雌ともに低用量群では5日目までに、高用量群では死をまぬがれた動物は10日目までに回復を示す。死亡する動物は腹這い状態のまま、雄では1日目より始まり、7日目までに、雌では1日目より始まり4日目までに終了する (Table 7)。死亡動物の剖検所見は消化管の充血、胃粘膜に点状出血斑の散在、小腸の弛緩、肺の充血が認められる。12日間の生存動物の剖検所見では変化は認められない。

12日間の死亡動物数より算出した LD₅₀ 値とその信頼限界は、雄では11300(9600-13200)mg/kg、雌では13000(11200-15100)mg/kg である。

8. Stearic acid diethylenetriamine と urea の縮合物

雄、雌ともに検体投与群で投与30分ごろより自発運動の抑制、立毛が、更に高用量群 (15000 mg/kg 群) では粘液性の下痢、体温下降がみられる。これらの症状は、雄、雌ともに低用量群では6時間目までに、高用量群では2日目までには回復を示す。

雄、雌ともに各検体投与群で動物の死亡は1例も認められず (Table 8)、7日間生存動物の剖検所見でも

Table 9. Summary of acute oral toxicity of chemicals in rats

Material	Concentration and Vehicle	Observation period	Sex	LD ₅₀ with 95% Confidence Limits (mg/kg)	Death time	Toxic signs
N-Methylol dimethylphosphono-propionamide	50% aqueous soln.	7 days	Male Female	13000 (11400-14800) 13200 (12300-14200)	1 hr. -3 days	Depression of spontaneous movement, piloerection, diarrhea, hypothermia, bloody lacrimation
1,3-di[tris(hydroxymethyl)phosphonium-methyl]urea	5% aqueous soln.	14 days	Male Female	308 (283-335) 245 (208-289)	6 hrs.-7 days	Depression of spontaneous movement, piloerection, lacrimation, chromo-rhinorrhea, diarrhea
Phenylmercuric oleate	2% susp. in olive oil	14 days	Male Female	48.4 (40.0-58.6) 63.5 (48.8-82.6)	1 day -7 days	Depression of spontaneous movement, piloerection, mucous diarrhea, hypothermia
N-Methyl-4-methoxynaphthalimide	40% susp. in 5% gum arabic soln.	7 days	Male Female	>20000 >20000	1 day -4 days	Depression of spontaneous movement, lacrimation, piloerection Male, 3/20 and Female, 4/20 died at 20000 mg/kg
Sodium dialkyl sulfosuccinate (66%:distearate, 34%:dipalmitate)	30% aqueous soln.	7 days	Male Female	>20000 >20000	1 day -2 days	Depression of spontaneous movement, mucous diarrhea, piloerection Male, no death at 20000 mg/kg Female, 2/10 died at 20000 mg/kg
Sodium alkylsulfate (55%:oleate, 45%:palmitate)	20% aqueous soln.	7 days	Male Female	6600 (5500-7900) 5800 (5000-6700)	6 hrs.-2 days	Depression of spontaneous movement, mucous diarrhea, piloerection, hypothermia
Distearyl dimethylammonium chloride	20% aqueous soln.	12 days	Male Female	11300 (9600-13200) 13000 (11200-15100)	1 day -7 days	Depression of spontaneous movement, diarrhea, piloerection, abdominal distension
The condensate between stearic acid diethylenetriamine and urea	undiluted (20% aqueous soln.)	7 days	Male Female	>15000 >15000	---	Depression of spontaneous movement, mucous diarrhea, piloerection, hypothermia No death at 15000 mg/kg

変化は認められない。したがって LD₅₀ 値は雄、雌ともに 15000mg/kg 以上である。

を選び、急性経口毒性試験をラットで行った成績は Table 9 に示す通りである。

ま と め

家庭用品に使用される化学物質のうちから、防炎加工剤2種、殺菌剤1種、蛍光増白剤1種、柔軟剤4種

文 献

- 1) J. T. Litchfield, F. Wilcoxon: *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **96**, 99 (1949)

等電点分画法を用いた各種ウロキナーゼの特性について

長谷川隆一

Comparative Studies of Various Preparations of Urokinase on Isoelectric Focusing

Ryuichi HASEGAWA

Physico-chemical properties of various preparations of urokinase were studied by isoelectric focusing technique. It was observed that urinary high molecular weight urokinase showed a single but broad peak. However, the treatment of this preparation with mercaptoethanol or trypsin, or the autolysis gave the multiple isoelectric subforms. Urinary low molecular weight urokinase had the multiple isoelectric subforms before and after mercaptoethanol treatment. On the other hand, tissue culture low molecular weight urokinase showed a sharp single peak even after the treatment of mercaptoethanol.

(Received May 31, 1983)

ウロキナーゼ (EC[3.4.99.26]) は線維素溶解を活性化する酵素であり、分子量3万及び5万の二つが知られている。通常人尿より得られる尿ウロキナーゼが血栓症の治療薬として使用され、各種の標品が市販されている。

ウロキナーゼはドデシル硫酸ナトリウム (SDS)-ポリアクリルアミドゲル電気泳動では均一性を示すが、Walasek¹⁾によれば、等電点分画を行うとそれらの成分は数種のピークに分画されることが報告されている。したがって、著者は各種ウロキナーゼについて等電点分画を行ったとき、それらの間に質的な差異が認められるか否かについて検討を行った。

実験材料及び方法

1) 実験材料 人尿高分子ウロキナーゼはA社供与の28000国際単位/mgたん白を、人尿低分子ウロキナーゼはA社標品(60000国際単位/mgたん白)を、組織培養低分子ウロキナーゼはB社供与の54000国際単位/mgたん白を用いた。ウロキナーゼ活性測定用のGln-Gly-Arg-MCA及び7-amino-4-methyl-cumarin (AMC) はペプチド研究所より入手した。ま

た、アンホライト (pH 3-10) は LKB Produkter AB sweden より入手した。

2) ウロキナーゼ活性の測定²⁾ 1 ml の基質溶液 (0.1 mM Gln-Gly-Arg-MCA, 0.1% ジメチルスルホキサイド, 100 mM 塩化ナトリウムを含む 50 mM トリス-塩酸緩衝液, pH 8.0) を 37° でブレインキュベーションし、酵素液を 10~20 μ l 添加して、10分間反応させ、17%酢酸 1.5 ml を加えて反応を停止させた。測定は遊離した AMC を励起波長 380 nm, 蛍光波長 460 nm で行い、WHO 国際標準品 (4800 国際単位/バイアル) を対照として国際単位を算出した。

3) ウロキナーゼの精製³⁾ A社供与の尿高分子ウロキナーゼ (約 1.7mg) を *p*-アミノベンザミジンセファロース 4B カラムに 0.4M 塩化ナトリウムを含む 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で吸着させ、0.4M 塩化ナトリウムを含む 0.1M 酢酸緩衝液 (pH 4.0) で溶出させた。

4) SDS 電気泳動 Weber and Osborn の方法⁴⁾ に従い、0.1% SDS, 10%ポリアクリルアミドゲルを作製した。ただし、mercaptoethanol (ME) は示した実験以外は添加しなかった。標準物質としてキモトリプ

シノーゲンA (分子量 25000), オパールブミン (分子量 43000), ウシ血清アルブミン (分子量 67000) を用いた。酵素液はたん白量として 20~50 μg を用い、濃縮時の電流は 3 mA/ゲル, 分離時は 5 mA/ゲルで行った。染色は 1% アミドブラックで, 100°, 15 分間行った。

5) 等電点分画 松尾らの方法⁵⁾ によって行い, 4° で 72 時間, 900 V で電気泳動した。泳動終了後, 1 ml ずつ分画して pH を測定し, さらにウロキナーゼ活性を測定した。

実験結果及び考察

1. ウロキナーゼの精製

ウロキナーゼの最終段階の精製にはアフィニティークロマトグラフィーが用いられている^{3,6-9)}。中でも α -アミノベンザミジンを CH セファロース 4B にカップルさせたものが最も分離能がよいので, この方法によりウロキナーゼを精製した。

A 社供与の高分子ウロキナーゼをこのアフィニティークラムにのせた後, pH 7.0 で溶出したところ, ウロキナーゼを全く含まない未吸着のたん白が溶出され, pH 4.0 でウロキナーゼが溶出された。これら 2 つの分画を SDS 電気泳動すると, 未吸着分画は主として分子量 75000 のたん白であった。ウロキナーゼ分画は高分子ウロキナーゼに相当する分子量約 50000 のたん白がほとんどで, 低分子ウロキナーゼに相当する部分はわずかしか検出されなかった。また, ほかにたん白バンドは全く検出されなかった。比活性は 90000~100000 国際単位/mg たん白であり, これがほぼ最高純度の高分子ウロキナーゼと考えるとよいと思われる^{10,11)}。

更にこの高分子ウロキナーゼを 0.1% ME で 37°, 30 分インキュベーションすると, 総酵素活性は全く変化しないが, すべての高分子ウロキナーゼが低分子ウロキナーゼになった¹⁰⁾。

2. 等電点分画

精製高分子ウロキナーゼを等電点分画すると, pI 9.65 にピークを持ったブロードなパターンを示した (Fig. 1)。Soberano ら⁶⁾ 及び Miwa ら¹¹⁾ は尿高分子ウロキナーゼが数個の pI を持つと報告しているが, 本実験は Nobuhara ら¹⁰⁾ の結果と一致した。

一方, A 社低分子ウロキナーゼ標品は pI 7.6, 8.7, 9.4, 9.6, 9.8 にピークを持つブロードなパターンを示し (Fig. 2), 以前の報告と一致した^{6,10-11)}。しかし, 組織培養低分子ウロキナーゼの等電点分画は pI 9.9 に非常に鋭い 1 つのピークを持っていた (Fig. 3)¹²⁾。

次に精製した尿高分子ウロキナーゼを ME 処理し

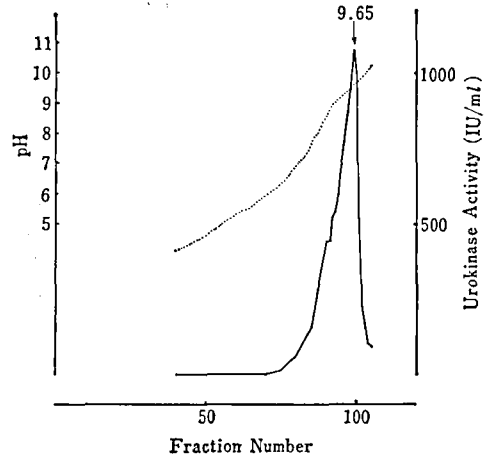


Fig. 1. Isoelectric focusing of purified high molecular weight urokinase

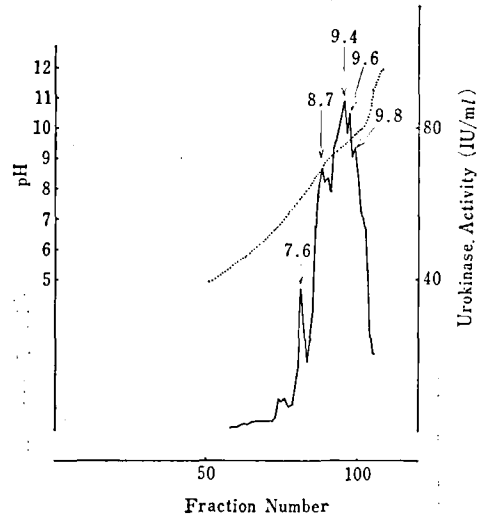


Fig. 2. Isoelectric focusing of urinary low molecular weight urokinase

て低分子に分解したものの等電点分画を行ったところ, pI 7.2, 8.3 に鋭いピーク及び pI 9.4~9.6 にブロードなピークを持ったパターンを示した (Fig. 4)。尿高分子ウロキナーゼは分子量約 34000 と約 17000 の 2 つのたん白分子が S-S 結合によって結合しており, 還元剤によって 2 つに分解することが知られている¹⁰⁾。したがって, この精製高分子ウロキナーゼは S-S 結合の開裂により, 少なくとも, 3 つ以上の異った物理的特性を持つ低分子ウロキナーゼになったことを示している。

一方, A 社低分子ウロキナーゼ標品の ME 処理では pI の顕著な変化は観察されなかった。また組織培

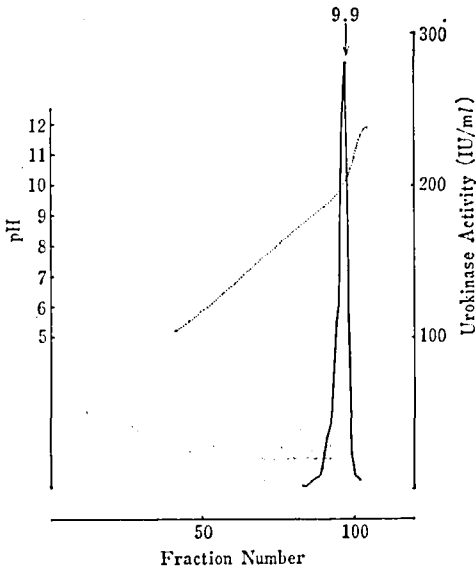


Fig. 3. Isoelectric focusing of tissue culture low molecular weight urokinase

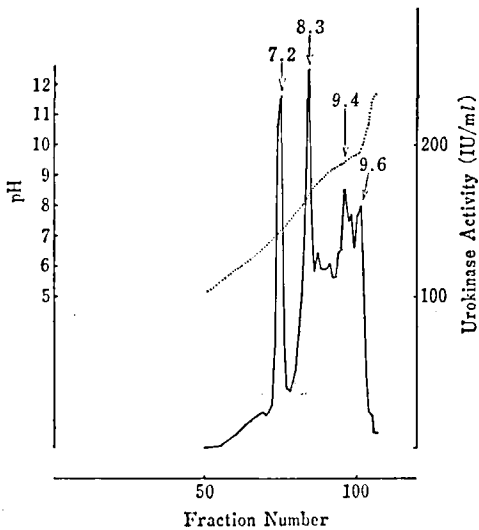


Fig. 4. Isoelectric focusing of purified high molecular weight urokinase after treatment with mercaptoethanol

養低分子ウロキナーゼも ME 処理によって pI パターンは全く変化しなかった。

尿高分子ウロキナーゼは 37°, 72時間インキュベーションすると、約半分が低分子ウロキナーゼに分解すること、またその酵素液中にはカゼイン分解活性の存在しないことが報告されている¹⁰⁾。そこで、この自己分解により生じる低分子ウロキナーゼについて検討す

るため、精製尿高分子ウロキナーゼを 1 mM のナトリウムアジド存在下、37°, 100時間インキュベーションしたところ、50~60%が低分子ウロキナーゼに分解した。この複合体の等電点分画は未処理尿低分子ウロキナーゼの pI パターンと類似していた。

高分子ウロキナーゼは、トリプシンによっても、酵素活性の減少を伴わず、低分子ウロキナーゼに限定分解される¹³⁾。そこで自己分解の場合と比較するために、精製高分子ウロキナーゼをトリプシン (0.14 µg/ml) と 30°, 4時間インキュベーションした。この条件では約70%が低分子ウロキナーゼに分解し、その等電点分画は自己分解の場合と同様のパターンを示した。

これらの実験結果から、自己分解とトリプシン処理による高分子ウロキナーゼの、分解部分は不明であるが、少なくとも数個の物理的特性の異なった低分子ウロキナーゼが生成すると思われた。また逆に尿低分子ウロキナーゼは尿高分子ウロキナーゼの自己分解あるいはトリプシン処理類似の限定分解によって生じたものであることも示唆された。一方、尿高分子ウロキナーゼは ME 処理で数個の pI パターンを示すようになるが、その不均一性については詳細な検討が必要である。組織培養低分子ウロキナーゼについては、本実験結果から均一な酵素たん白と考えられる。

文 献

- 1) O. F. Walasck: *Fed. Proc.*, **34**, 677 (1975)
- 2) T. Morita, H. Kato, S. Iwanaga, K. Takada, T. Kimura and S. Sakakibara: *J. Biochem.*, **82**, 1495 (1977)
- 3) L. Holmberg, B. Bladh and B. Astedt: *Biochim. Biophys. Acta*, **445**, 215 (1976)
- 4) K. Weber and M. Osborn: *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406 (1969)
- 5) 松尾雄志, 堀尾武一: 蛋白質 核酸 酵素, **12**, 736 (1967)
- 6) M. E. Soberano, E. B. Ong, A. J. Johnson, M. Levy and G. Schoellmann: *Biochim. Biophys. Acta*, **445**, 763 (1976)
- 7) B. Astedt, L. Holmberg, G. Wagner, P. Richter and J. Ploug: *Thrombs. Haemostas.*, **42**, 924 (1979)
- 8) H. Sumi, K. Sasaki and M. Muramatu: *Acta Haem. Jap.*, **41**, 766 (1978)
- 9) Y. Tamura and S. Fujii: *J. Biochem.*, **80**, 507 (1976)
- 10) M. Nobuhara, M. Sakamaki, H. Ohnishi and Y. Suzuki: *J. Biochem.*, **90**, 225 (1981)
- 11) N. Miwa, H. Takayanaki and A. Suzuki: *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 463 (1981)
- 12) 荒井安洋, 高橋和雄, 庄野辰彦, 遠藤信夫: 医

薬品研究, 12, 52 (1981)
13) A. Lesul, L. Terminiello and J. H. Traver:
Science, 147, 880 (1965)

14) N. Toki, S. Takasugi and H. Sumi: *Enzyme*,
26, 221 (1981)

昭和51～55年度日本産あへんのモルヒネ含量について

持田研秀*1・岡田敏史・中原 裕・四方田千佳子
野口 衛*2・岡 恒*3

Morphine Content of Japanese Opium Harvested During 1976 and 1980

Kenshu MOCHIDA*1, Satoshi OKADA, Hiroshi NAKAHARA, Chikako YOMOTA,
Mamoru NOGUCHI*2 and Hisashi OKA*3

Morphine contents of Japanese opium harvested during 1976 and 1980, were determined. Total number of samples was 62. The morphine contents were ranged from 9.04 to 20.27%, and the average content was 14.64%.

(Received May 31, 1983)

あへん法32条により、昭和51～55年度に収納された岡山県、和歌山県及び香川県産あへん62検体中のモルヒネ含量について報告する。

実験材料及び方法

岡山県、和歌山県及び香川県のけし耕作者から収納されたあへん、並びに和歌山県甲種研究栽培者が研究用に栽培したけしより得られたあへんについて、第九改正日本薬局方「アヘン末」定量法¹⁾に従ってモルヒネの定量を行った。

結果及び考察

年次別、県別収納あへんの平均モルヒネ含量とその範囲について Table 1 に示した。また、Table 2 にはモルヒネ含量による頻度分布を示した。

Fig. 1 には最近10年間におけるあへん中モルヒネ含

量の推移を各県別に示した。

昭和51～55年度に岡山県、和歌山県、香川県のけし耕作者及び甲種栽培研究者より収納されたあへんのモルヒネ含量は平均 14.64% であり、その範囲は 9.04～20.27% であった (Table 1)。モルヒネ含量の頻度をみると 12～17% 付近に集中しており、10% 以下あるいは 20% 以上という試料は極めて少なく例外的である (Table 2)。

平均モルヒネ含量の年次別推移をみると、岡山県産あへんと和歌山県産あへんのそれはほぼ平行しており、モルヒネ含量が気象及び土壌条件に左右されていることが示唆される。また、岡山県産あへんのモルヒネ含量が和歌山県産のものより平均して 1～2% 高い値が得られており、昭和44～45年度産あへんの収納試験成績と一致する²⁾。

文 献

- 1) 厚生省編：第九改正日本薬局方，p. 816 (1976)
- 2) 持田研秀，金田吉男，野口 衛，中村恵三：衛生試験報，89，162 (1971)

*1 現フナイ薬品工業備

*2 現生薬部

*3 現大阪府薬剤師会保健衛生センター

Table 1. Morphine content of Japanese opium harvested from 1976 to 1980

Crop Season	Prefecture	Number of samples	Aver. morphine content (%)	Range of morphine content (%)
1976	Wakayama	3	14.89	13.10—16.39
	Wakayama*	1	15.07	
	Okayama	10	15.60	
1977	Wakayama	2	10.20	9.04—11.36
	Wakayama*	1	13.00	
	Okayama	9	12.93	
1978	Wakayama	1	12.10	12.11—17.55
	Wakayama*	1	12.36	
	Okayama	8	14.40	
1979	Wakayama*	1	13.75	9.46—16.55
	Okayama	7	13.61	
	Kagawa	7	15.46	
1980	Wakayama*	1	14.85	15.18—20.27
	Okayama	7	17.03	
	Kagawa	3	17.06	
		Total 62	Average 14.64	Range 9.04—20.27

* Samples cultivated only for research works

Table 2. Classification of Japanese opium samples according to morphine content harvested from 1976 to 1980

Prefecture	Morphine content (%) and number of samples											Total
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	>19	
Wakayama	1		1	2	3	1	2	1				11
Okayama	1		3	6	5	8	7	5	4	1	1	41
Kagawa				1	1	2	1	1	2	2		10
Total	2	0	4	9	9	11	10	7	6	3	1	62

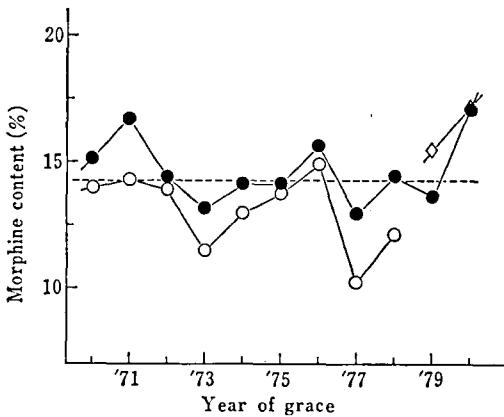


Fig. 1. Change of morphine content in Japanese opium harvested in last 10 years

Key: —○—, Wakayama; —●—, Okayama; —◇—, Kagawa

Broken line indicates average morphine content of all samples.

輸入コーヒー豆中の硝酸塩の分析に関する研究

小川俊次郎*1・中村恵三・鈴木英世*2

伊藤誉志男・慶田雅洋*3

On the Nitrate Contents in Imported Coffee Beans

Shunjiro OGAWA*1, Keizo NAKAMURA, Hideyo SUZUKI*2,

Yoshio Ito and Masahiro IWADA*3

An investigation was carried out on the nitrate contents of imported coffee beans. Beans were treated under two procedures, i.e., (A) Elution method: Forty grams of bean were eluted with a mixture of 20 ml of 0.2 N potassium hydroxide and 180 ml of water for one hour at room temperature, and (B) Whole extraction method: Twenty grams of ground bean were homogenized with a mixture of 10 ml of 2 N potassium hydroxide and 100 ml of hot water. Use after filtration. Nitrate was determined gas liquid chromatographically by use of a concentrate of each test solution.

Background nitrate contents of coffee beans were 1.3—11.7 ppm NO_3 by method (A), while 2.4—17.5 ppm NO_3 by method (B). One sample from Columbia was found to be contaminated with small white granules its nitrate content being 10430 ppm by the method (A) while 12640 ppm by the method (B). The white granules were identified to be sodium nitrate. Nitrate contents of some beans decreased to the background level after removal of the filth, while still higher values were observed on the other samples. White granules might have migrated during unloading.

(Received May 31, 1983)

昭和56年6～7月に神戸港を通じて輸入されたコーヒー豆中に直径1～5mmの白色の粒状塊で汚染したものが、荷役中に窒素肥料硝酸素(硝酸ナトリウム)が混合し、汚染した疑いが生じたので、コーヒー豆の硝酸塩含量を測定し、鑑別した結果についてここに報告する。

試料及び実験方法

1. 試料

コーヒー豆は、核皮を除去した未焙煎の淡緑色の半乾燥品の形で輸入されたものを使用した。また、汚染豆については、ふるいにかけて豆と剥皮かすなどの部分に分け、かすの部分に混入している直径1～5mmの白色の粒塊を異物試料として試験に供した。

2. 実験方法

2.1 前処理法：浸漬法と完全抽出法の2法によって行った。

(A) 浸漬法：本法は主として豆表面に付着した硝酸塩の定量を目的とする。豆40gに0.2N水酸化カ

リウム溶液20ml及び水180mlを加え、室温で1時間浸漬した後、浸出溶液を濃縮して測定に供した。

(B) 完全抽出法：コーヒー豆中の天然由来の硝酸根をも含めた総硝酸塩の定量を目的としたものである。粉砕物20gに2N水酸化カリウム溶液10ml及び80°の熱水100mlを加えてワーリングブレンダーでホモジナイズして温抽出し、ホモジネートを吸引ろ過した後、ろ液を濃縮して測定に供した。

2.2 硝酸塩の測定：2,4-キシレンオールと硫酸 α 性下で反応させ、生成した6-ニトロ-2,4-キシレンオールを有機溶剤で抽出した後、ガスクロマトグラフィーを行った¹⁾。結果は硝酸根(NO_3 ppm)で示した。

2.3 硝酸ナトリウムの同定：食品添加物²⁾公定書記載の方法によりナトリウム塩及び硝酸塩の確認試験を行った。

実験結果

昭和56年7月1日付及び同3日付で厚生省神戸食品監視員事務所より送付された検体についての測定値はTable 1に示したとおりである。コーヒー豆の硝酸根含量は2.4～17.5 ppmの範囲でそのうち表面部分に存在して浸出性のものは検体No. 1～8では全量の

*1 現京都薬科大学

*2 現生薬部

*3 現ネスル日本

Table 1 Nitrate contents of imported coffee beans

Sample	NO ₃ (ppm)		Imported from
	(A) Elution method	(B) Whole extraction method	
No. 1	3.1	10.1	Columbia
No. 2	5.5	17.5	"
No. 3	1.3	4.7	"
No. 4	1.4	4.8	"
No. 5	3.4	11.1	"
No. 6	1.3	3.1	Honduras
No. 7	1.5	6.1	Yemen
No. 8	1.6	3.3	Indonesia
No. 9	11.7	15.4	"
No. 10	1.4	2.4	"

Table 2 Nitrate contents of contaminated coffee beans (imported from Columbia)

Sample	NO ₃ (ppm)		Note
	(A) Elution method	(B) Whole extraction method	
No. 1	10,428.6	12,641.7	Filth contained
No. 2	26.0	82.8	} Filth sieved out
No. 3	1.3	9.5	
No. 4	6.0	37.6	
No. 5	1.5	6.3	
No. 6	2.8	6.3	

24~49%の1.3~5.5 ppmであるが、インドネシア産のNo.9は全量の78%の11.7 ppmが表面浸出性、同No.10は全硝酸量が2.4 ppmと極端に低く、その58%が表面浸出性であることがわかった。

異物の混入したと思われるコーヒー豆についての測定結果をTable 2に示した。No.1は、わらくず、もみがら様のゴミと共に直径1~5 mmの白色粒が含まれており、測定値はこれらの異物をも含めた全量中の値である。No.2~6は異物をふるい分けて除去したものについての測定値を示す。No.1の総硝酸根含量は約12640 ppmであり、その82.5%の10430 ppmが表面浸出性であり、完全抽出法による結果を全量中の硝酸ナトリウム(NaNO₃)含量として示すと1.73%に相当することがわかった。また、白色粒をよりわけて確認試験を行ったところ、ナトリウムと硝酸の反応を示すことを確かめた。一方、選別を行った豆についての測定値は、硝素による汚染の割合によって異なるが、Table 1のデータと比較するとNo.3, 5及び6は硝酸含量はバックグラウンド値とほとんど差がないことがわかった。No.2では表面溶出性の硝酸根は26 ppm、

総硝酸根は83 ppmに達しており、明らかに硝素による汚染を示しており、硝酸塩は内部にまで浸透していることがわかった。No.4は総硝酸根含量は37.6 ppmであったが、表面浸出性のものは6 ppmと低いレベルに留った。

要 約

1. 荷役中に硝素(硝酸ナトリウム)によって汚染したと考えられるコーヒー豆の硝酸塩含量を測定した。
2. 試料の前処理は浸漬法(全粒アルカリ浸出法)と完全抽出法(粉碎物についての温アルカリ抽出)の2法で行い、ガスクロマトグラフィーで硝酸含量を求めた。
3. 輸入コーヒー豆の硝酸塩のバックグラウンド値は硝酸根として浸出法で1.3~11.7 ppm、完全抽出法で2.4~17.5 ppmであった。
4. 白色粒で汚染したコーヒー豆からは完全抽出法で12640 ppmの硝酸根を検出した。これはNaNO₃として1.73%に相当する。また、白色粒について確認試験を行った結果、ナトリウム塩と硝酸塩の反応を示

すことを確めた。

5. 異物を除去した後のコーヒー豆 5 検体について測定したところ、3 検体の硝酸塩含量はバックグラウンド値と変わらないことを知ったが 1 検体は完全抽出法で 83 ppm の値を示した。

文 献

- 1) M. Toyoda, H. Suzuki, Y. Ito, M. Iwaida: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **61**, 508 (1978)
- 2) 厚生省編纂：第四版食品添加物公定書, p. 446, 448 (1974)

業 務 報 告

Annual Reports of Divisions

昭 和 57 年 度 業 務 概 況

所 長 下 村 孟

最近の社会、経済情勢の変化に対応した行政の確立を図る行政改革は、昭和56年3月に発足した第2次臨時行政調査会において国民の期待と関心の中で2年間にわたって審議が行われ、昭和57年度予算編成に向けて当面の行財政改革方針を示した第1次答申(56年7月)、許認可事務の整理、合理化の第2次答申(57年2月)、行政改革の基本理念及び基本的方策の第3次答申(57年7月)及び行革推進体制の在り方の第4次答申(58年2月)の4回にわたる中間的答申のあと、本年3月、①増税なき財政再建、②行革推進体制の整備、③行政組織の再編、整理、④特殊法人の整理、合理化、⑤地方出先機関の統合、廃止、⑥情報公開等を骨子とする最終答申(第5次)が政府に提出された。

この最終答申を受けて、5月20日に臨調答申を實行させるための臨時行政改革推進審議会設置法が国会で可決され、更に5月24日には「新行政改革大綱」が閣議決定されるなど行政改革は本格的にスタートしたところである。

当所における行政事務等の改善については、行政サービス及び検定・検査業務の改善を図るほか、その合理化の方策等について検討を進めているが、第1次答申を受け、昭和56年8月に閣議決定された歳出額の抑制、定員削減計画の強化等の「行財政改革に関する当面の基本方針」による昭和57年度予算のゼロ・シーリング、昭和58年度予算のマイナス・シーリング及び昭和57年度から5年間で20名(年4名)の第6次定員削減計画の決定等は、業務遂行上極めて厳しい状況となっている。

今後、行政改革の推進は「新行政改革大綱」により進められるわけであるが、試験研究機関については「附属機関等の組織及び事務、事業等の見直しを速やかに年次計画を作成して行う」ことが予定されている。

当所においても、科学技術の進歩、社会、経済情勢の変化、行政とのかかわり合い、内外の研究、学術等の動向を踏まえて、常に業務の見直しを行い、能率化を図るとともに、21世紀に向けての体制整備を図って行く必要が考えられる。昭和57年度は、10月1日から化学物質情報部に室の新設と室長1名の増員が認められたことから、国立衛生試験所組織細則の一部改正を行い、同部の1室2係を2室2係(情報第1室、情報第2室、情報加工係、図書係)に改組したところである。昭和58年度についても最先端の生物科学の応用技術である遺伝子組換え、組織培養、細胞融合等の生物工学技術(バイオテクノロジー)部門の試験研究体制を強化するため、生物化学部に生物工学製剤室(仮称)の新設と室長1名の増員が10月1日から認められているが、今後ますますこの分野の発展が予想されるので、これに対応する体制の強化を図る必要がある。

最近、我が国の国際社会における地位向上にふさわしい積極的な貢献が求められている状況の中で、所並びに所員の国際的な活躍も年々活発化している。国際機関会議、国際学会への参加、国連環境計画(UNEP)及びWHOの国際化学物質安全性計画(IPCS)の業務も年々増加しているが、昭和57年度は日米科学技術協力事業による米国立環境衛生研究所(NIEHS)との技術協力業務、国際協力事業団の協力事業によるチュニジアの薬品品質管理プロジェクト、インドネシアの国立医薬品食品管理試験所強化プロジェクト及びバングラデシュの必須医薬品製剤工場建設計画事業等へ積極的な協力活動を行ったところである。また、外国の技術研修生についても積極的に受入れを図り、昭和57年度はバングラデシュ、中国、ガボン、タイ、チュニジア、アメリカの6カ国から計15名が関係各部で研修を受けている。

衛生行政に関連した試験研究機関の衛生化学に関する技術の向上と相互の連絡、調整を図る全国衛生化学技術協議会の第19回年会は、昭和57年9月21日・22日の両日に京都市(社会教育総合センター)で約340名が参加して盛大に開かれた。なかでも、WHOの長谷川豊先生(環境衛生部医官)の「世界保健機構(WHO)の環境汚染モニタリング活動及び化学物質安全対策」及び当所の内山 充食品部長の「有害物の作用強度と作用量をめぐる食品衛生学における問題点」についての特別講演は、参加者から多大の評価を受けた。

昭和57年度における当所の業務報告の概要は以上のとおりであるが、最後に、種子島薬用植物栽培試験場長高城正勝氏が昭和57年7月18日脳出血で倒れた後、8月26日薬石効なく心不全で亡くなられたことを報告しなければならないのは甚だ残念である。当所としては永年にわたる功績に報いることとして、9月14日種子島の中種子町中央公民館において、多数の参列者を得て衛生試験所葬を執り行ったところである。

総 務 部

部 長 渡 邊 登

1. 組 織

昭和57年10月1日から、化学物質情報部に室の新設が認められたことに伴い国立衛生試験所組織細則の一部改正(情報調査室を情報第1室に変更、情報第2室の新設)が行われた。また、昭和58年度組織定員要求において、生物化学部に生物工学製剤室(仮称)の新設(58年10月1日より)が認められた。

2. 定 員

昭和56年度末の定員は306名であったが、第6次定員削減計画に基づき行政職(一)1名、行政職(二)1名、研究職2名、計4名の定員削減と情報第2室の新設に伴う研究職1名(6カ月)の増員により、昭和57年度末の定員は、指定職2名、行政職(一)50名、行政職(二)38名、研究職213名、計303名となった。

なお、昭和58年度はさきに述べた、生物工学製剤室(仮称)の定員として研究職1名(6カ月)の増員が認められている。

3. 予 算

昭和57年度予算総額は、2,666,704千円で前年度の2,502,254千円に比較して164,450千円の増額となっている。

増額の主な内容としては、化学物質情報部の研究職1名の増員分として2,368千円の増額、光熱水料の下

水道料金値上げによる増額(安全性生物試験研究センター運営費1,363千円、施設管理事務経費6,315千円)が認められた。

国立機関原子力試験研究費においては、新規テーマ1課題(標識化合物の利用による医薬品等の生体免疫機能に及ぼす影響に関する研究5,093千円)が認められた。

国立機関公害防止等試験研究費においては、新規テーマ3課題(①環境汚染物質の発癌促進作用の評価に関する研究30,399千円、②大気汚染物質の哺乳動物細胞に及ぼす細胞遺伝学的影響に関する研究10,434千円、③環境汚染物質の生体機能障害に関する研究16,780千円)が認められた。

なお、昭和57年度事項別予算額は別表のとおりである。

4. 施設整備

(1) 施設整備費

昭和57年度予算施設整備費は、47,293千円で、11号館給水給湯改修工事(便所の一部改修も含む。)を施工した。また、同工事の関連工事として、11号館内壁塗装工事、氷室冷凍機、屋上純水装置など7項目の改修工事も併せて行った。

(2) 各所修繕費

昭和57年度予算各所修繕費(特別修繕費)は4,318千円で、動物舎(10号館)屋上防水改修工事を施工した。

5. 検定医薬品等の改正

(1) 国家検定医薬品等の改正

当所が検定することとされている医薬品(44品目)及び検定手数料について、昭和57年6月30日付厚生省告示第118号で避妊剤等20品目を国家検定品目から削除及び2品目について国家検定手数料の改定が行われ、同年7月1日から適用されることになった。

また、昭和57年10月7日付厚生省告示第180号で避妊剤1品目が国家検定品目に追加された。

(2) 標準品交付規程の一部改正

当所が製造し、申請者に交付している医薬品試験用標準品(53品目)及び色素試験用標準品(37品目)について、昭和58年4月1日付厚生省告示第76号で医薬品2品目が削除され、新たに2品目が追加された。

6. その他

(1) 昭和57年度における部長職以上の人事異動は次のとおりである。

(57.4.1 付)

大阪支所長 加納晴三郎(大阪支所薬理微生物部長)

資料 昭和 57 年度 予算額

区 分	昭和56年度 (A)	昭和57年度 (B)	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)	備 考
	(千円)	(千円)	(千円)	
(組織)厚生本省試験研究機関	2,332,097	2,457,076	124,979	
(項)厚生本省試験研究所	2,146,904	2,277,189	130,285	
人 当 経 費	1,489,848	1,614,803	124,955	化学物質情報部 1 名増員
一般事務経費	47,556	45,117	△ 2,439	
研 究 費	234,768	234,549	△ 219	
特別研究費	17,204	17,102	△ 102	1. 医薬品、食品添加物等 安全性評価のための新技 術利用と評価基準の確立 に関する研究 (7,484千円) 2. 遺伝子組換え等の新技 術により生産される高分 子医薬品の品質試験法の 開発研究 (9,618千円)
標準品製造費	7,219	7,126	△ 93	
安全性生物試験研究センター運営費	223,731	225,094	1,363	下水道料金増額
薬用植物栽培試験場運営費	110,985	110,966	△ 19	
情報活動運営費	14,869	15,061	192	
施設管理事務経費	724	7,371	6,647	下水道料金増額
(項)血清等製造及検定費	132,055	132,016	△ 39	
一般事務経費	13,172	13,133	△ 39	
事 業 費	118,883	118,883	0	
(項)厚生本省試験研究所施設費	53,138	47,871	△ 5,267	11号館給水給湯改修工事
(組織)厚生本省試験研究機関	170,157	209,628	39,471	
(項)国立機関原子力試験研究費	70,434	61,357	△ 9,077	
(項)放射能調査研究費	1,661	6,996	5,335	
(項)国立機関公害防止等試験研究費	98,062	141,275	43,213	
計	2,502,254	2,666,704	164,450	

大阪支所薬理 加納晴三郎 (大阪支所長)
微生物部長事
務取扱

辞 職 宮崎幸男 (筑波薬用植物栽培試験場
長)

(57.8.26 付)

総 務 部 長 渡邊 登 (厚生省薬務局企画課課長
補佐)

種子島薬用植 鈴木郁生 (副所長)
物栽培試験場
長事務取扱

生薬部長併任 原田正敏 (千葉大学薬学部教授)

環境衛生化学 義平邦利 (生薬部生薬第二室長)
部長

死 亡 退 職 高城正勝 (種子島薬用植物栽培試験
場長)

環境衛生化学 谷村顕雄 (食品添加物部長)
部長併任解除

(57.12.1 付)

辞 職 井上哲男 (大阪支所長)

大阪支所食品 原田基夫 (療品部家庭用品第二室
部長)

辞 職 北原敦美 (総務部長)

北海道薬用植 畠山好雄 (北海道薬用植物栽培試験
物栽培試験場 場栽培管理室長)
長

(医薬品副作用被害救済基金総務部長就任)

辞 職 名取信策 (生薬部長)

辞 職 慶田雅洋 (大阪支所食品部長)

(57.7.1 付)

辞 職 本間尚治郎 (北海道薬用植物栽培試
験場長)

筑波薬用植物 大野忠郎 (伊豆薬用植物栽培試験場
栽培試験場長 長)

(2) 防災対策について

伊豆薬用植物 西 孝三郎 (筑波薬用植物栽培試験
栽培試験場長 場栽培研究室長)

本年 5 月 26 日に秋田県沖を中心に発生した日本海中
部地震は、各地に甚大な被害をもたらし、防災対策の

重要性を改めて認識させられたところであるが、当所の防災対策については、「消防計画」、「地震防災応急対策」等の制定、薬品戸棚等の転倒防止、避難障害物の撤去等のソフト・ハードの両面にわたって毎年度対策の強化に努めており、昭和57年度も転倒防止、避難障害物撤去等の徹底を図るとともに、薬品類の適正保管量を確保するため、少量危険物貯蔵所(1カ所)及び防火扉(6カ所)を新設するなどの改善措置を講じたところである。また、かねてから懸案となっていた消防訓練を昨年12月15日玉川消防署用賀出張所の指導のもとに、多数の所員が参加して通報訓練、避難訓練、消火器による消火訓練及び消火栓による消火訓練を実施した。今後も災害の発生に備えて更に防災対策の推進に努める必要がある。

合成化学研究部

部長 神谷 庄造

概要

昭和57年8月1日付をもって、併任となっていた中館正弘第一研究室長が化学物質情報部第一情報室長に専任となり、同日付で東京大学薬学部、薬品代謝化学教室より宮田直樹が第一研究室長に就任した。

部長は57年12月11~23日の間、バングラデシュ人民共和国へ同国必須医薬品製剤センター建設にかかわる基本設計調査団、団長として、ついで58年4月18~27日の間、同計画の基本設計調査団、団長として出張した。わが国の貿易黒字の増大にともなう今後ますます増加する無償資金協力や技術援助に因って当所も十分対応策を考えなければいけない時点に来ている。

55年度より始った厚生科学研究(審査課)、「医薬品原料規格整備に関する研究」は江島部長、川村部長、持田部長、東西両医薬品協会技術委員会の方々の熱心な御協力により「日本薬局方外医薬品成分規格、1982」を刊行することが出来た。(57年6月)今後、本研究課題以外の起原の医薬品の品質規格もこのシリーズに収載して行くことになった。

研究業績

1. 生理活性物質の合成と化学反応に関する研究

抗腫瘍剤を合成する目的で2-置換1,3,4-thiadiazole誘導体を20種合成しスクリーニングを実施した。この中、2-acylamino-1,3,4-thiadiazole類はマウスリンパ白血病 L-1210 に対してだけ有効であり、2-nitrosoureido-1,3,4-thiadiazole 類は L-1210 及びラット腹水肝癌 AH-13 の両方に有効であった。2-acylamino-

1,3,4-thiadiazole 類は nicotinamide と拮抗して NADPH の合成を妨げ、GMP 生合成の中の IMP から xanthosine-5'-phosphate への変換に影響を及ぼして抗腫瘍効果を発揮することが分った。(→誌上発表1)

ニトロソ尿素系抗腫瘍剤の合成研究の途上で、1)ニトロソ基の1,3-転位反応、2) triazene 誘導体への変換反応、アルコール類による carbamate 誘導体への変換反応、C-ニトロ体の生成反応などの新反応を発見した。

ガス状ニトロソ化剤に関する研究において、1,3-diarylurea 類の nitrosyl chloride, dinitrogen trioxide, dinitrogen tetroxide によるニトロソ化を試みた。いずれの試薬も相当する N-ニトロソ体(59~96%)を与えるが、1,3-bis(4-methoxyphenyl) urea の場合は N-ニトロソ体は得られず、C-ニトロソ体の1,3-bis-(4-methoxy-2-nitrophenyl)urea が得られた(→誌上発表2)。また、これら、1,3-diaryl nitrosourea 類のベンゼン中での熱分解反応についても検討し、carbamic acid diazoester を経る一般的な反応経路を明らかにした(→誌上発表3)。更に、1,3-diaryl nitrosourea 類から得られる1-phenylazo-2-naphthol 類の構造を¹³C-NMR スペクトルによって解析した。〔衛生試験、100, 135 (1982)〕

1-(4-tolyl)-3-methyl-3-(3-pyridylmethyl)-1-nitrosourea がクロロホルム中、室温で相当する triazene (10%)の他に、4-tolyl 環の2位にニトロ基の入った尿素体(20%)を与えることを見出した。これらのニトロソ尿素誘導体の¹³C-NMR スペクトルよりニトロソ基によるE体、Z体の存在、またこのコンホメーションをもとにして反応機構を推定した。(→学会発表1)

ある種の alkyltriazenes 類が抗腫瘍性を示すことから、alkylarylcyanotriazene 類を合成する目的で arylcyanotriazene 類のカリウム塩のメチル化を検討した。すなわち、用いるメチル化剤の種類(dimethyl sulfate-methanol, dimethyl sulfate-methylene chloride-dicyclohexyl-18-crown ether)によってN¹位又はN³位にメチル化が起きる。本メチル化における置換基効果並びに反応機構についても検討した。(→誌上発表3)

当部では昭和47年より抗腫瘍剤の合成研究を当所病理部の協力の下に実施し、当部で合成された化合物をラット腹水肝癌 AH-13 及びマウスリンパ白血病 L-1210によるファーストスクリーニングにかけて来た。この間、235種の化合物のスクリーニングを行ったが、

最近の動物代の値上りのために、当部で多額の経費を要するスクリーニングシステムを常備しておくことが困難になって来たのでスクリーニングは一時休むことになった。〔衛生試報, 100, 135 (1982)〕

新らしく合成した codeine-7,8-oxide 及び morphine-7,8-oxide の薬理作用をウイスター系雄ラットを用いて検討したところ、いずれも有効な薬物となりうる可能性があることが分った(→誌上発表 5, 6; 学会発表 3, 4)。また, morphine-7,8-oxide は morphine の μ -受容体に対する特異的な光化学的親和標識化合物として有用であることが分った。(→誌上発表 7)

2. 生理活性物質の作用発現に関する研究

ホルムアルデヒドの毒性発現に関する分担研究課題「タンパク質並びに核酸関連化合物とホルムアルデヒドの反応」について、本年度はジペプチドの L-carnosine 及び核酸関連化合物として adenine と adenosine を取上げた。L-carnosine とホルマリンの反応では L-carnosine 1 分子に対し 4 分子ものホルムアルデヒドの反応したものを単離しその構造を推定した。一方, adenine 及び adenosine の場合は、いずれも 6 位アミノ基のヒドロキシメチル化されたものが得られたのでその構造を推定した。現在、これらの N-ヒドロキシメチル体と活性水素を有する生体関連化合物とのメチレン橋の生成を確認中である。(毒性病部、環境衛生局家庭用品安全対策室へ報告)

1,3-diarylnitrosourea 類 ($\text{R}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{NO})\text{CONHC}_6\text{H}_4\text{R}'$) の中には AH-13 に対して抗腫瘍性を示すものがあるが、その抗 AH-13 作用機作の解明を目的としてこれらの化合物と核酸関連化合物及び α -アミノ酸などとの反応を検討した。1,3-diphenyl-1-nitrosourea と guanine との反応では 8-phenylazoguanine が得られた。lysine との反応では、 α -アミノ基及び ϵ -アミノ基とも phenylcarbonyl 化された化合物が得られた。また、この化合物の活性中間体と考えられる phenyldiazonium 塩類と各種修復阻害剤との併用実験では多少の延命がみられたが、phenyldiazonium 塩類と phenyl isocyanate の併用の場合程延命は見られなかった。(→学会発表 2)

多環芳香炭化水素類のニトロ化における配向性を明らかにする目的で anthracene, phenanthrene, acridine, fluorene などのニトロ化を検討した。特に NO_x ガスを用いて、その分離・精製・構造決定法を確立し、選択的な配向性を明らかにした。

薬 品 部

部 長 江 島 昭

概要

昭和52年度から5年間実施して来た厚生省薬務局審査課の生物学的同等性判定基準作成に関する研究は、昭和57年3月末で一応終了したが、研究項目中で未了の部分があったため、昭和57年度においても若干研究を継続した。またこの研究は完成したものではないが、ヒトでのバイオアベイラビリティ及びこれとの相関性が証明されている場合で、処方の変更がある条件内であれば、溶出試験をもって代用可能とする通知が薬審第452号(昭和57.5.31)で出された。予算上厚生省薬務局としての事業は上記のように昭和57年3月末で終了したが、研究としては適用範囲の拡大などの分野が残っており、当部としては研究班を事実上継続させて、生物薬剤学分野の問題に携って行く方針である。

昭和57年度から新たに開始した事項としては、国家検定の避妊薬にフィルム状の剤型が追加になったことによる業務と、科学技術庁が昭和57年度から開始した振興調整費による生体膜機能の解析・利用技術の開発に関する研究の中で単クローン性抗体の臨床治療への応用研究などがある。

昭和57年8月23日から同年8月29日まで7日間部長は第9回アジア薬学大会出席のため韓国、ソウルへ出張した。

昭和57年9月26日から11月25日まで2箇月間柴崎利雄室長及び青柳伸男技官は、薬力学指導のため(化学・機器分析の指導を兼ね)、在テュニスのテュニジア国立栄養研究所へ出張した。テュニジア国への医薬品の品質管理に関する技術援助プロジェクトは、昭和57年度末で終了したが(昭和53年4月から4年間)、更に約1年半のフォローアップが実施されることとなった。テュニジア国からの化学・機器分析の研修生として Miss Samira OUANES を昭和58年3月28日から同年12月3日まで約8箇月間の予定で受け入れた。

業務成績

1. 国家検定

総件数は821件で、前年度より26件の増加であった。主としてブドウ糖注射液と避妊薬による。件数の内訳は、ブドウ糖注射液661件、リンゲル液8件、塩酸エタンプトール45件、同錠84件、プロチオナミド1件、避妊薬22件である。ブドウ糖注射液は前年度の減少が平年並みに回復し、避妊薬は新剤型(フィルム)の導

入による増加と考えられる。

2. 特別審査試験

総件数 181 件で前年度とほぼ同じである。内訳は解熱鎮痛薬 85 件、新薬 91 件、殺虫剤 5 件である。

3. 特別行政試験

総件数 85 件で前年度より増加した。国産あへん 26 件、輸入あへん 50 件、殺虫剤 7 件である。

4. 一斉取締試験

総件数 145 件で、内訳はジアセバム錠及び同カプセル 36 件(うち 1 件不適)、抗ヒスタミン薬、鎮咳薬配合シロップ剤中の塩酸メチルエフェドリン 109 件である。シロップ剤中、通常の抽出方法では主薬の回収が充分でないものがあつたが、検討を行ったところ満足すべき結果が得られた。

5. 標準品製造

アンフェタミン及び DMHP(1-Hydroxy-3-(1',2'-dimethylheptyl)-6,6,9-trimethyl-7,8,9,10-tetrahydro-6-dibenzopyran, 大麻成分 tetrahydrocannabinol の誘導体) 各 20 g ずつを合成した。

6. その他

生物学的同等性判定基準作成に関する研究(シクランディラートカプセル, シンナリジンカプセル, 審査課), 医薬品の原料規格集の作成に関する研究(第 4 年次, 審査課), 医薬品添加物の使用基準に関する研究(昭和 56 年度分の品目マクロゴール 20000 他合計 11 品目及び昭和 57 年度分品目メチルメタアクリレートメタアクリル酸コポリマー他合計 13 品目, 審査課), 厚生省がん特別研究(固形飼料中のナリジクス酸, フェニトイン及びエテンザミドの含量及び安定性), 輸入熱帯病の薬物治療法に関する研究(デヒドロエメチン, リン酸クロロキニン, リン酸ブリマキン, 塩酸キナクリン, フアンシダールの各錠の安定性, 審査課), 不安定薬品の純度向上に関する研究(インドメタシン製剤の安定性, 安全課), 医薬品製剤の迅速分析法作成に関する研究(グルタチオン錠, 注射用グルタチオン, 監視指導課), ステロイドホルモン製剤の製造管理及び品質管理の向上に関する研究(監視指導課)及び日本薬局方の改正(有害試験薬使用の試験法の改正ほか, 安全課)などについて協力した。

研究業績

1. 規格及び試験法の作成に関する分析化学的研究

i) 日本薬局方医薬品

エタノール含有製剤中の成分エタノールに起因する不純物(メタノール, アセトン, イソプロピルアルコール, ノルマルプロパノール, 第三ブタノール)の GLC ヘッドスペース法による検出と定量法(→学会

発表 10), インドメタシンカプセル, 同坐剤, クロフィブラートカプセル及び 2 部製剤ナファゾリン・クロルフェニラミン液, 同ヒドロコルチゾン・ジフェンヒドラミン軟膏中の純度試験及び定量法への TLC-HPLC 法の適用(→学会発表 13), インドメタシン坐剤の含量均一性試験法(→学会発表 14), アヘン末, アヘントコン散の確認試験法, HPLC 法による解熱鎮痛薬配合製剤の定量法(→誌上発表 16), ワルファリンカリウム錠の自働含量均一性試験〔衛生試験, 100, 138 (1982)〕

ii) 日本薬局方外医薬品

グルタチオン錠及び注射用グルタチオンの分析(→誌上発表 17)

2. 医薬品の安定性に関する研究

塩酸メクロフェノキサートの原末及び市販錠剤の分解に及ぼす温湿度の影響(→誌上発表 15), セファレキシンの固体状態における安定性(→学会発表 12)

3. 医薬品の有効性に関する研究

i) バイオアベイラビリティと溶出速度

メトロニダゾール糖衣錠(→学会発表 5), インドメタシンカプセル(→学会発表 8), グリセオフルビン素錠(→誌上発表 10, 11), ジアセバム素錠(→誌上発表 12), フルフェナム酸カプセル(→誌上発表 13)

ii) 直腸吸収

ラットでのニトログリセリンの直腸吸収(→誌上発表 8), ポリペプチドの吸収促進剤としての 5-メトキシサリチル酸ナトリウム(→誌上発表 14)

iii) 生物学的同等性の評価と試験法

医薬品固形製剤の生物学的同等性について〔衛生試験, 100, 1 (1982)〕, 実験動物の有用性(→学会発表 7), 同等性の試験方法(→誌上発表 113, 115), 病院薬局における生物薬剤学的試験(→誌上発表 114), グリセオフルビン他 4 製剤のヒト及びビーグル犬でのバイオアベイラビリティ(→誌上発表 9)。

iv) 生理的条件とバイオアベイラビリティ

メトロニダゾール糖衣錠と胃液酸度(→学会発表 6), 胃内容排泄速度と製剤の粒子径, 比重及び食餌の影響(→学会発表 9)

4. 生体膜利用に関する研究

リポソーム膜の透過性に及ぼす血中成分の影響。(→学会発表 11)

5. 麻薬及び習慣性薬物に関する研究

向精神薬のマイクロクリスタルテスト(→学会発表 15), 覚せい剤の微量分析法に関する研究〔衛生試験, 100, 35 (1982)〕

生 物 化 学 部

部 長 川 村 次 良

概 要

遺伝子組換えによって生産される医薬品、特にインシュリン製剤の規格、試験法設定のための基礎的研究、ステロイドホルモン製剤の液体クロマトグラフ法による試験法及びプロメライン製剤の試験法に関する研究を中心に業務を行った。また、標準品はウロキナーゼ及びカリジノゲナーゼ標準品を新たに製造配付した。

昭和57年10月から早川堯夫主任研究官は、米国ボストンの Tufts University, School of Medicine へ食細胞機能に関する生化学的研究のため出張している。

業 務 成 績

1. 国家検定

インシュリン製剤96件及び脳下垂体後葉関係製剤55件について検定を行ったが、オキシトシン注射液に含量不足による不合格品が1検体あった。

2. 特別審査試験

ステロイドホルモン剤、豚皮、ペプチド製剤及び多糖類製剤など31件について審査を行った。

3. 一斉収去試験

セアプローゼS又はセラチオペプチダーゼを含有する内服固形剤について試験を行った。結果、いずれも合格品であった。

4. 標準品製造

昭和57年度の標準品製造品目及びその出納状況については、巻末の表を参照されたい。

5. その他

DNA 関連技術の保健・医療分野への応用に関する研究(厚生省ライフサイエンス室)、組換え体大量培養実験ワーキンググループの研究(科学技術庁)、医薬品の原料規格集作成に関する研究(薬務局審査課)、臨床診断薬懇談会の基準作成(東西医薬品工業協会)などについて協力した。

研究業績

1. 医薬品の規格及び試験法に関する研究

i) ステロイドホルモンの定量法に関する研究

ピロールを用いるけい光定量法を血清中のコルチゾールの定量に応用した。(→誌上発表18)

ii) ステロイドホルモン製剤の製造管理及び品質管理の向上に関する研究

液体クロマトグラフ法を用いてヒドロコルチゾンなどの糖質コルチコイドを含有する軟膏及び眼軟膏の定

量について検討した。(厚生科学研究, 薬務局監視指導課)(→誌上発表19, 学会発表19)

iii) 不安定性医薬品の純度の向上に関する研究

液体クロマトグラフ法を用いてマレイン酸エルゴメトリン及びマレイン酸メチルエルゴメトリン製剤の定量について検討した。(厚生科学研究, 薬務局安全課)(→学会発表20)

iv) 医薬品製剤の迅速分析法作成に関する研究

プロメライン混合製剤について、混在トリプソンの影響を調べ、プロメラインの分別定量法を検討した。(委託研究, 薬務局監視指導課)(→学会発表21)〔衛生試報, 101, 79(1983)〕

v) 遺伝子組換え等の新技術により生産される高分子医薬品の品質試験法の開発研究

遺伝子組換えにより生産されたインシュリンを含め、基原動物種の異なるインシュリンの分離分析を液体クロマトグラフ法を用いて検討した。(特別研究)(→学会発表22)

vi) 医薬品の規格及び試験法に関する研究

カリジノゲナーゼ製剤の定量法について検討した。〔衛生試報, 101, 83(1983)〕

2. 医薬品の有効性及び安全性に関する生化学的研究

i) ペプチド及びタンパク質製剤の純度に関する研究

液体クロマトグラフ法によりインシュリン製剤の定量法及び製剤中の不純物・分解物について検討した。(→誌上発表20, 学会発表23)

ii) 遺伝子組換えを利用して生産される医薬品に対する承認審査のための基礎的研究

遺伝子組換えを利用して生産されるヒト成長ホルモンに対する承認審査のための基礎的研究を行った。(厚生科学研究, 薬務局審査課)(→誌上発表116)

iii) DNA の抽出・解析・合成技術の開発に関する研究(科学技術振興調整費)

iv) 標識化合物の利用による医薬品等の生体免疫機序に及ぼす影響に関する研究

動物及びヒト多形核白血球の食作用を標識化合物を利用して測定する系の基礎的研究を行った。(原子力研究費)

v) 多形核白血球機能の分子機構並びに各種薬剤の有害作用発現機構に関する生化学的研究

フルフェナム酸, メフェナム酸, イブプロフェン等の抗炎症薬の作用を生化学的に検討した。

vi) 酵素製剤の品質に関する研究

セアプローゼS及びセラチオペプチダーゼの品質に

ついて検討した。〔衛生試報, 101, 88, 92 (1983)〕

3. 生体内活性物質の作用機序に関する研究

i) 糖尿病合併症の発症に関する酵素化学的研究

アロキサン家兎水晶体中の単糖類の含有量及びそれらの代謝酵素活性量を調べ、正常家兎のそれらと比較した。また、精製家兎水晶体アルドース還元酵素 I の性状を検討した。(→誌上発表21, 学会発表24)

ii) ステロイドホルモンの代謝及びその作用機序に関する研究

20 β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素の活性発現に関与するヒスチジン残基の局在部位を修飾剤のジエチルピロカーボネイトを用いて推定した。(→誌上発表22)

4. 標準品に関する研究

i) 化学分析用標準品の品質規格に関する研究

ジゴキシン及びシアノコバラミン標準品の品質規格について検討した。〔衛生試報, 101, 121, 123(1983)〕

ii) 生物活性等の試験用標準品設定に関する研究

新たにウロキナーゼ及びカリジノゲナーゼ標準品を設定するため、共同検定などを行い、国際標準品に対応した力価を有する標準品を製造、配付した〔衛生試報, 101, 125, 128 (1983)〕。また、ヒトインシュリンを含むインシュリン国際標準品設定のため、共同検定を行っている。

放射線化学部

部長 寺尾 允男

概要

昭和57年度も、主として、放射性医薬品の品質試験や安全性についての試験研究業務、重金属の生体内動態、薬物の代謝及び免疫に関する研究を行った。

業務成績

1. 放射性医薬品の特別審査試験

In vitro テスト用 RIA キット及び *in vivo* に適用して診断に供するキットなど9品目について試験あるいは書類審査を行った。その結果6品目について試験方法又は表現等に問題が認められ、再度検討することが要求された。

審査対象となった製品別品目数は以下の通りである。

¹²⁵I 標識 RIA キット 9品目

研究業務

1. 放射性医薬品の標的臓器の生化学的機能に及ぼす影響

腎造影剤であるジメルカプトコハク酸テクネチウム

(^{99m}Tc) の腎機能に及ぼす影響をたん白の尿への漏出等について検討した。その結果、常用量の50倍の投与量においても、正常ラットと比較して、何ら変化が認められなかった。(原子力成果利用報告書23集)

2. 放射性医薬品の品質試験法に関する研究

^{99m}Tc 標識放射性医薬品キットについて前年度と同様、迅速品質試験法について検討した。

3. 依存性薬物の生物学的研究

モルヒネをラットに投与し、その胆汁排泄について検討したところ、モルヒノンのグルタチオン抱合体を見いだした。(→誌上発表23)

4. 鉛化合物の生体内動態に関する研究

酢酸鉛をラットに投与した場合、肝臓に低分子量の鉛結合たん白質が誘導され、この誘導は *de novo* 合成によるものであることが明らかとなった。このたん白質は Zn-チオネインに先だって合成されてくることも判明した。

5. 家庭用品に含まれる化学物質の代謝に関する研究

i) 4-クロロキシレノールの代謝に関する研究

医薬品あるいは化粧品に殺菌剤あるいは防腐剤に使用されている 4-クロロ-3,5-クロロキシレノールのラットにおける吸収、分布、排泄及び代謝について検討した。

4-クロロキシレノールは皮下投与した場合、特定の臓器への蓄積性は観察されなかった。経皮吸収の場合は、正常皮膚から比較的吸収されやすいが、表皮をはく離すると吸収量は3.5倍増加した。排泄は尿：糞中へ約8:1の割合であった。尿中代謝物は約9割が未変化体とその抱合体であり、残りはメチル基の酸化を受けた代謝物が数種類存在すると思われる。(環境衛生局行政研究)

ii) *p*-*sec*-ブチルフェノールの代謝に関する研究

³H 標識 *p*-*sec*-ブチルフェノールを合成し、ラットに経口投与後、吸収、分布、排泄について調べた。この化合物は、特に特定の臓器に集まるということはない。また、一旦、蓄積されたものは、比較的ゆっくりと排泄される傾向があることが判明した。(環境衛生局行政研究)

6. 免疫担当細胞の機能に関する研究

i) T細胞機能に及ぼす薬物の影響

エチレンビスニトロソ尿素(EBNU)の免疫系細胞に対する影響を調べ、この化合物は、immature T細胞に比較的選択的に作用することを明らかにした。(→学会発表26)

ii) 家庭用品に使用される各種化学物質のアレルギー

一反応増強効果に関する調査研究

PCA 法にかわる IgE の *in vitro* 簡易測定法を開発する目的で、³H-セロトニンをとり込ませたラット塩基球白血球細胞 2H3 からの ³H-セロトニンの放出法を検討した。この方法は RAST と同等以上の感度で IgE 量を測定できることが明らかとなった。(厚生科学研究)

iii) 抗体産生系に及ぼす薬物等の影響

種々の *in vitro* 抗体産生系を確立し、リンパ球由来因子の役割を検討した。(→学会発表27)

7. 生体膜の構造と機能に関する研究

i) 生体膜結合性酵素の活性に対する有害物質の効果に関する研究

水銀やカドミウムイオンのヒト赤血球膜タンパクリン酸化促進機構について検討し、これら重金属イオンは、膜におけるたん白の配列に何らかの影響を与えることを明らかとした。(→学会発表25)

ii) 赤血球表面抗原に関する研究

ヒト赤血球に対するモノクローナル抗体を調製し、その抗体の性質及び抗原について検討した。

iii) 生体膜機能を利用した生理活性物質の分離精製技術等の開発

インターロイキン 2(IL-2) のアッセイ法を確立し、ラット IL-2 の調製及び部分精製を行った。(科学振興調整費、生体膜機能の解析、利用技術の開発に関する研究)(→学会発表27)

8. DNA の抽出、解析、合成技術の開発に関する研究

遺伝子組み換え技術により生産されるヒト成長ホルモンの菌体抽出物中の濃度を RIA により測定するための基礎実験を行った。(科学振興調整費、DNA の抽出、解析、合成技術の開発に関する研究)

9. 放射性医薬品の品質確保に関する研究

体外適用放射性医薬品の品質試験法として、高速液体クロマトグラフィーの利用の可能性につき検討し、良好な結果を得た。(厚生科学研究)

10. 遺伝子組み換え等の新技術により生産される高分子医薬品の品質試験法の開発研究

大腸菌リポポリサッカライドに対する抗体を調整した。

11. 遺伝子組み換えを利用して生産される医薬品に対する承認審査のための基礎研究

遺伝子組み換え技術により生産されるたん白の承認審査にあたって、どのようなデータが必要か検討した。(厚生科学研究)

生 薬 部

部長 原田 正 敏

概要

生薬及び漢方エキス剤の規格試験法の基礎的研究と生薬・食品の薬理活性と成分に関する研究を単独あるいは他部との共同で遂行した。

本年4月1日に原田正敏部長(併任中であった)と尾崎幸敏主任研究官が千葉大学薬学部から転入し、江崎勝司技官が採用された。

業務成績

1. 特別審査 従来と同様、生薬又は漢方エキス剤を含む製剤(かぜ薬58件)について審査を行った。この審査により、これら製剤中のマオウアルカロイド及びグリチルリチン酸の定量法が整備され、また、定量に用いるグリチルリチン酸標品の純度も向上しつつあり、審査の効果があつたものと思われる。

研究業績

1. 生薬・生薬製剤の規格・試験法の基礎研究

i) 生薬の規格試験法の研究

前年度に引き続き、荊芥、連翹、黄耆、人参、葛根、茵陳蒿、山梔子の品質評価法について検討を行った(→誌上発表 117, 118, 119, 120)。また、3-aminopropyltriethoxysilane 処理薄層を用いるニンジンサポニンの分離法を確立し、市販ニンジンエキスの分析を行った。(→誌上発表28) 芍薬の主成分 paeoniflorin の標準品調製を検討した。(→学会発表28)

ii) 漢方製剤の薬理学的研究

黄連と大黃あるいは甘草との漢方湯液中での沈殿形成反応を解析し、その薬理的な意義を検討した。(→誌上発表29, 30)

漢方エキス剤の品質評価に関する基礎的検討を行った。(厚生科学研究費、薬務局へ報告)

2. 植物資源の医薬的利用に関する研究

i) 東洋薬物の成分検索とその生物活性の研究

前年度に引き続き駆瘀血生薬の化学・薬理研究を行った。70%メタノールエキスを班員に供給するとともに、川芎に認められた筋弛緩効果の成分的追求を行った。(→学会発表29)(科学技術振興調整費、研究調整局へ報告)

なお、台湾産植物から抗腫瘍成分の単離を目標とした研究(鈴木英世技官が米国ノースカロライナ大薬学部留学中に K. H. Lee 教授らと共同で行った。(55.8.31 から約1箇年))が完成した。(→誌上発表31, 32,

33)

ii) 熱帯・亜熱帯の微生物・植物の総合開発に関する研究

クルクマ属植物由来の生薬、*Curcuma xanthorrhiza* と *Curcuma domestica* の根茎の精油成分の利胆作用を検討した。(インドネシアバンドン工科大学, 理化学研究所との共同研究, 科学技術振興調整費, 研究調整局へ報告)

3. 天然有害物質の化学的研究

i) マイコトキシンの研究

chaetoglobosins A~G. J の ^{13}C -NMR 測定をし, すべての炭素シグナルを帰属した。それをもとに ^{13}C 標識化合物の取り込み実験を行い chaetoglobosins の生合成経路を検討した。(一誌上发表34)

ii) オゴノリの研究

オゴノリの中毒原因物質の文献的及び化学的検討を行った。(厚生科学研究費, 環境衛生局へ報告)

iii) 新開発食品の安全性評価に関する研究

新開発食品とみなされるものうち, 諸種茶剤, グランドレス綿種子, 鉱物・植物混合剤の安全性の考察を行った。(環境衛生局へ報告)

療 品 部

部長 大場 琢 磨

概要

昭和57年3月, セルロース・アセテートを中空糸に使用した日本医工製透析器の虹彩炎もしくは強膜炎等の眼障害事故が報道された。厚生省監視指導課は, 当所に原因究明を依頼したため, 当部を中心として関連各部と協力体制を組織し, 当部は透析器の構成材料の溶出物の分析を担当し, 毒性部は溶出物の動物への注入による反応を, 衛生微生物部は透析器の無菌試験を, 薬理部は溶出物の溶血性を, それぞれ分担し検討を進めた。当部では一日も早く解決するために, 療品室以外の部員も協力し究明を急いだ結果, 9月末にセルロース・アセテートの低重合物が溶出したものであると厚生省へ報告した。これに基づいて10月12日厚生省はこの結論を発表し, 11月20日メーカーに対し20日間の業務停止の処分が行なわれた。

この様な事故例は世界で初めてのことであり, しかも原因物質の毒性も全く未知であったが, 当衛生試験所だけの力で解明できたことは特筆すべき業績である。

11月1日付で家庭用品第二室長に小嶋茂雄技官が発令された。

業務成績

1. 特別行政試験 透析器事故原因解明

セルロース・アセテート中空糸は東洋紡績(株)が紡糸したものであるが, この中空糸の溶出液は激しいあわ立ちを示した。このあわ立ち原因物質は, これに含まれていたセルロース・アセテートの低重合物であることが判明した。この溶出物は 200mg 以上をウサギに静注すると虹彩炎をおこし, 犬に 1350mg を静注すると虹彩炎とともに強膜炎もおこした。これが透析中に血液中に溶出され, 患者に眼障害を与えたものと結論した。

このほか中空糸の接着に使用したウレタン系接着剤も硬化反応が不十分で, メチレンジイソシアネート(MDI)とグリセリンの付加物が生成され, これが透析器1本当たり 15mg 溶出されたが, 4~5倍量をウサギに投与しても反応はみられなかった。

また中空糸に塗布されているグリセリン中には通常ほとんど検出されないポリプロピレングリコール(PPG)が約 1000 ppm も検出された。この PPG はガスクロにより透析器1本当たり 10~12mg で, 平均分子量約 275 のものと確認された。しかし MDI・グリセリン付加物も PPG も事故の補助的な役割を果たしていたと考えられるが, 主要原因物質ではなかった。

2. 一斉取締り試験

昭和57年度はコンタクトレンズが選ばれ, 95件(試験品数ソフト54件, ハード68件, 計122件)(18社)について, 頂点屈折力を主とした品質試験を行った。その結果輸入3件(1社)のソフトコンタクトレンズは白濁があり不適となった。

3. 家庭用品の試験検査

テトラクロロエチレンあるいはトリクロロエチレンを含む家庭用洗剤及び家庭用エアゾール製品が, 一般家庭で洗濯の際に使われる場合, この2物質の安全性に問題ありとの指摘を受けて, 本年度はこの2物質の分析方法を検討し, 規制基準の試験法を作成した。したがって近く告示される予定である。

年次計画による試験検査は防災加工剤に使われる有機燐化合物2品目及び染色助剤2品目について行った。

4. 理化学試験室のスペクトル測定

NMR 分析装置は順調に作動し, 依頼試料数はプロトン, 炭素核をあわせて約60件であった。そのほか生薬部, 合成化学部, 環境衛生化学部, 医化学部でそれぞれ測定日をきめてフルに利用されている。

質量分析計は昭和47年に購入されたもので, 昭和52年以来6年ぶりにオーバーホールを行ったが, 意外

に手間どり4箇月かかり、また昨秋3箇月にわたる水道管新設工事のため、実働期間がわづかで、依頼測定試料数は23件であった。

その他の共通機器で利用率の高いものは、自記濃度計、自記蛍光光度計であり、逆に低温灰化装置は一度も利用されなかった。

研究業績

1. 軟質塩化ビニル製血液回路の可溶性溶出防止に関する研究

昨年に引続いて、軟質塩ビチューブの内面処理、二層成型、可溶性樹脂の利用などの各方法で人工腎臓用血液回路を日本医療用プラスチック協会の協力で試作した。この回路に血清を40°で6時間循環したとき、溶出されるフタル酸エステル(DEHP)の量を液体クロマトグラフィにより測定した。溶出量は従来品の約1/5に減少することができたが、ポンプ部チューブの改良により尚一層減らすことが可能と思われる。(厚生科学研究、都立アイソトープ研と共同、薬務局へ報告)

2. イオン交換樹脂混床を用いた尿毒症患者の血液のpHバランス

強酸性カチオン交換樹脂の水素型とナトリウム型の混床が、尿素などの尿毒症成分の除去効果並びにpH変化の成績から優れていたが、更にカチオン交換樹脂の混床のうちナトリウム型を塩型に変えることによってpHバランスと同時にイオンバランスも保たれた。(科学技術庁特別研究、放射線化学部と共同)

3. 人工腎臓用血液回路の放射線滅菌に関する研究

PVC製血液回路に1.5及び2.5Mradのコバルト60によるγ線を照射し、照射後15箇月における可溶性ジ(2-エチルヘキシル)フタレート(DEHP)の溶出量の変化を検討した。日赤医療センター、武蔵野日赤医療センターから供給されたヒト血清を回路に循環し、DEHPの溶出量を測定したところ、照射品は未照射品にくらべて、照射後経時的に増加し、15箇月で約40%の増加がみられた。モノ(2-エチルヘキシル)フタレート(MEHP)は照射により生成されないことが判った。(原子力研究費)

4. 家庭用品に含まれる化学物質の分析化学的研究
カーペットなどの防炎加工剤として使用されているビス(2,3-ジプロモプロピル)ホスフェートを分析する際に、トリス体などが共存するとき定量の妨害となるため、陰イオン交換カラムを用いる方法を検討し、解決することができた。

また昨年に引続いて厚生省のモニター病院においてアレルギー性接触皮膚炎をおこした患者が使用したゴ

ム手袋、塩ビ手袋に含まれる老化防止剤の分析法を確立し、これら市販品の分析調査を行った。(東邦大医学部と共同)(→誌上発表35, 36, 学会発表32, 33, 34)

5. 機器分析におけるコンピュータ利用に関する研究

当所のFX-200で測定したNMRスペクトルデータをNOVAの磁気テープに収納するシステムが稼動し、あわせてディスク・ベースによる検索システムに測定データを登録させることも可能となった。(→学会発表35, 36)

環境衛生化学部

部長 義平 邦利

概要

本年度の主な業務内容は昨年度とほとんど変動はないが、化粧品等に含有する許可物質の分析化学的研究、化粧品原料中のヒ素試験法の検討、化粧品用タール色素中の未反応中間体などの分析と安全性に関する研究、標識化合物による化粧品の安全性を予測する*in vitro*試験法の研究を新たに着手した。

一方、人工放射性核種の分析に関する研究、化粧品中のニトロソ化合物に関する研究、低沸点有機塩素化合物の生体影響に関する研究、水道水中非イオン界面活性剤の管理手法に関する研究、飲料水中の低沸点有機塩素化合物の定量的解析、地下水有機汚染物質に関する文献学的研究については本年度で終了した。

中室克彦技官は昭和57年1月12日よりタイ国 National Environmental Board で1年間技術指導を行った。

業務成績

1. 空気関係

前年に引続き東京都内3箇所の国設自動車排出ガス測定所で、各種の自動計測器を用いて大気汚染物質の常時測定を実施した。また、昨年霞ヶ関測定所に引続いて、北の丸測定所においても測定値の統計処理を簡素化するために、コンピュータを組込んだデータ収集装置を製作し、仕事の効率化をはかった。3箇所の調査は、次の11項目である。一酸化炭素、一酸化窒素、二酸化硫黄、オゾン、アルデヒド、浮遊粒子状物質、メタン、非メタン、全炭化水素、交通量。(環境庁大気保全局へ報告)

2. 化粧品関係

i) 一斉取締試験：薬事法の改正によって成分表示

をすることになった殺菌剤、グルコン酸クロルヘキシジン、トリクロサン、又はハロカルパンを含有する薬用石けん、8件について、試験を行った結果、申請書と相違する検体はなかった。

ii) 化粧品原料基準の収載追加品目を試験し、化粧品原料基準第二版(58.12.27告示)の改訂に関する研究を行い、新たに107品目を追加した。(薬務局審査課へ報告)

iii) 56年度に引き続き、室温における経時安定試験を行ったが、化粧水、固型白粉については特に問題はなかった。(薬務局審査課へ報告)

iv) 化粧品原料中のヒ素試験法の検討を行った。(薬務局、監視指導課)

研究業績

1. 建築物内における空気質の衛生管理基準の設定に関する研究

i) 一般住居内の空気汚染物質を大気汚染状況、室内発生源との関連において検討した。(一学会発表37)

ii) 大規模建築物、一般住居内のホルムアルデヒド汚染の実態解明及び各種建材などから放散されるホルムアルデヒドの放散量について検討した。(一学会発表38)

2. 空気中に含まれるガス状及び粒子状物質の微量分析の開発に関する研究

呼吸器疾患等の原因物質の一つである大気中の硫酸ミストをテフロンフィルターに捕集したのち、アセトンを用いて抽出後、ジアゾメタンでメチル化し、GC-FPDを用いて定量する方法について検討した。(一学会発表39)

3. 秋田県八幡平の温泉水について天然放射性核種の調査を行った。また岐阜県東濃地方の井水について ^{226}Ra 及び ^{228}Ra の調査を行った(一学会発表40)。土壌については、 ^{238}U 及び ^{234}U の含有量について調査を行った。(一誌上発表38, 学会発表41)

4. 化粧品原料基準の追加改訂に関する研究
化粧品原料基準第二版(58.12.27告示)の改訂、並びに、追加品目の試験及び規格に関する研究を行った。(薬務局審査課)

5. 化粧品用タール色素の規格及び試験方法に関する研究

化粧品や医薬品に使用出来るタール色素の規格について、内外の公定書を調査し、繁用されるタール色素30品目について、一般試験法を検討した。(厚生科学研究, 薬務局審査課へ報告)

6. 染毛剤の分析法に関する研究
逆相イオン対高速液体クロマトグラフィーを確立し、

順相と組合せ、染毛剤の分析法を開発した。この分析方法を用いて、市販染毛剤の長期保存試験を実施した。(一学会発表42, 43)

8. 化粧品等に含有する許可物質の分析化学的研究
HPLCを用いて、化粧品中の卵胞ホルモン、イソプロピルメチルフェノール、ビタミンEアセテート、パラオキシン安息香酸エステル試験法を確立した。(一学会発表44)

9. 化粧品中のニトロソ化合物に関する研究
前処理法としてアセトニトリル抽出法、シリカゲルカラム法、イオン交換樹脂法及び、セップバック法を検討しHPLC及びGC法を用いる方法を確立した。(薬務局安全課へ報告)

10. 化粧品用タール色素中の未反応中間体などの分析と安全性に関する研究

タール色素、緑色201号及び紫色401号中に含有する1,4-ジチオンアントラキノンなど未反応中間体の分析法を確立した。(一学会発表45)

11. 水道水中の標準分析法の開発に関する研究
水道水質基準の追加、改定の実施にあたり、水道水中の残留塩素分析方法の基礎的研究を行った。(水道環境部水道整備課)

12. 陸水域の有機ハロゲン化合物の分析手法に関する研究

水道水中の全有機塩素化合物のクロマトリーによる試験方法の開発と代替試験法及び低沸点有機塩素化合物の生成機構に関する研究を行った。(環境庁公害防止等試験研究, 大沢班)(一誌上発表40, 41, 42, 学会発表46, 47, 48, 49)

13. 水道水中における微量有機物質の変異原性に関する研究

水道水中から検出される有機化合物10種について変異原性を検討した。(環境庁公害防止等試験研究, 大森班)

14. 水道水中の非イオン界面活性剤の管理手法に関する研究

非イオン界面活性剤の浄水処理過程における存在状況及びその除去特性について研究を行った。(水道環境部水道整備課へ報告)

15. 水道用品等規格設定に関する研究
石綿セメント管、アスファルト系塗装剤及びステンレス管の成分及び溶出試験を行った。(水道環境部水道整備課)

16. 建築物維持管理資材の衛生安全性確保手法の策定に関する研究

洗浄剤、充てん剤、塗料、防錆テープの使用時の溶

出試験とトリエチレンテトラミンの毒性評価を行った。(環境衛生局企画課)

17. 飲料水中の低沸点有機塩素化合物の定量的解析
低沸点有機塩素化合物の地下水、水道水、河川水中の汚染の実態把握を継続研究し、ヒトへの摂取量を調べ、環境汚染物質と発がんの関係を検討した。(厚生省がん研究助成金、内山班)

18. 地下水中有機汚染物質に関する文献学的研究
地下水中有機汚染物質について生産高、用途、分布、毒性、処理技術、測定法などについて、内外の文献の整理検討を行った。(環境庁水質保全局水道管理課)

19. 温泉の衛生化学的研究
飲用泉汚染の調査方法の検討及び汚染実態を泉質ごとに検討を行った。

食 品 部

部 長 内 山 充

概要

アフラトキシンが人間の血液中に数 ppb の濃度で検出されたという学会報告や、除草剤由来の TCDD が魚介類に ppb 以下のレベルで検出されたという報告などは、食品衛生行政研究における絶えざる分析技術の向上と新技術導入の努力の必要性を痛感させる。それと同時に、分析試料の選定や検出下限の設定に、より広い視野からの判断も要求されるようになった。一方近年の食品産業の中から生まれまた新しい問題、新開発食品の安全性評価が、食品衛生における大きな課題となりつつある。

米留学中の内山貞夫技官が9月下旬に帰国し、第三室に所属換となった。本年も国内外よりの研究者を対象に随時研修を行った。

業務成績

1. 輸入食品検査

加工食品(パイ)から安息香酸を分析した。中国茶3件からは異物(ダニなど)を多数検出した。中国産原そば中の BHC 24 検体を分析し各異性を定量した。

国の食品衛生監視官3名の化学検査研修を2箇月間行い、別に短期の異物試験研修を東京、大阪、門司において行った。

2. 特別行政試験

食用油脂中の過酸価価値、及び Pb, Cd を試験した(規格・基準)。ベビーフード中の Pb, As, Cd, Sn, Hg 及び異物試験を行い、包装からの移行よりも原料中の

金属の影響の大きいことを示唆した。〔衛生試報 101, 132(1983)〕しょう油については異物試験を行った(衛生規範)。天然抽出調味料中の Pb, As, Cd, Hg 及び異物を試験した(新形態食品)。外国産農産物残留農薬実態調査は輸入サヤエンドウ、タマネギ、コーヒー豆につき4機関と共同して調査した。その他、アフラトキシン類の試験を輸入コーヒー豆11検体、市販コーヒー8検体、しょう油8検体、ビール13検体につき行った。すべて検出下限(0.1 ppb)以下であった。

研究業績

1. 食品中の人工汚染物

i) 人工汚染物の分析及び試験法

農作物中の各種農薬の標準分析法の設定を終了した(厚生科学研究)。食品中の有機リン系農薬の分析法の改良、特にプロチオホス汚染の追跡調査を行った。(環境衛生局へ報告)。EDB くん蒸後の輸入生鮮果実中の EDB 残留分析法と経時変化を明らかにした(→誌上発表 43)。果実、果菜類中のフェノキシ系農薬の多成分残留分析法を確立し、合わせて輸入柑橘類中の 2,4-D 残留の実態を明らかにした(→誌上発表 44)。香辛料中のエトキシキンの分析法を開発した。

ii) 人工汚染物の代謝及び動態

トリスリン酸エステル系汚染物の魚体及び哺乳動物体内代謝の比較研究を行い、ラットにおけるトリブチルリン酸の代謝経路を明らかにし(→学会発表50)、魚体における代謝物と比較して酸素添加反応及び GSH 関与の転位反応の関与を考察した。ワキン体内でのフェニトロチオンのアミノ体への還元反応を見出し、環境条件や肝臓成分による本反応の変動などを明らかにした。(→学会発表51)

iii) 人工汚染物の作用

有機リン系農薬の体内作用としての膜変性検討のため、多種類の有機リン剤を用いて赤血球膜への影響を溶血と変形を指標として調べ、性状との関連を解析した(→学会発表52)。ヘキサクロロベンゼン投与による生体内脂質過酸化の経緯、及びその機構について検討した(→誌上発表45)。脂質過酸化促進作用の評価法としてのチオバルビツール酸(TBA)法及びその応用と意義づけを研究した。(→誌上発表124)

2. 食品中の天然汚染物

i) 天然汚染物の分析及び試験法

オクラトキシンAを化学修飾した後 ECD-GC で高感度分析する方法を開発した(→学会発表53)、各種食品群中のアフラトキシン類の微量確認分析法を設定した。(→学会発表54)。その際に見られる類似けい光物質との分離定量に TLC 及び HPLC を応用した(→

学会発表55)〔衛生試報, 101, 38(1983)〕. FAO/WHOの分析精度管理調査に参加しアフラトキシン M₁ を分析した (WHO へ報告). 生物異物としての昆虫の混入時期判定に虫体酵素測定を検討しロイシンアミノペプチダーゼが目的に適合することを知った.

ii) 天然汚染物の代謝及び動態

経口投与したステリグマトシステチンの各臓器内分布, 乳汁中への移行を検討, 更に消化管内での変化をモデル実験などで検討し変化生成物を単離した. コナダニの防除法開発のための基礎実験として白色光に対する走光性につき検討した.

iii) 天然汚染物の作用

オクラトキシン A と生体高分子化合物との結合及び相互作用につき基礎的検討を行った.

3. 食品中の重金属

各種の食品群につき原子吸光法による分析法とアノーディック・ストリッピング・ボルタンメトリーによる方法とを検討し, 数種の金属の妨害回避と感度の上昇をなし得た. [衛生試報, 101, 136 (1983)]

4. 食品成分の変質と安全性

i) 成分及び変性物の分析

エネルギー負荷 (加熱又は照射) により食品中に生じる遊離基の安定性と, その消長に及ぼす成分の影響などにつき検討した. 放射性医薬品投与による組織内遊離基生成を追跡観察した (原子力試験研究費, 科学技術庁へ報告). TLC けい光濃度法における増けい光の機序を実験的に証明し, 更に一般化へ向けて検討を行った. (→誌上発表46)

油脂過酸化と組織内過酸化脂質との相違を, 各種条件下における TBA との反応性の差から解析し (→誌上発表47), 更に TBA 反応における触媒としての各種の鉄の役割を明らかにし (→誌上発表48), また界面活性剤の共存 [衛生試報, 101, 104(1983)] 及び生体内又は合成抗酸化成分の共存による TBA 値の変動について検討した. ドレッシング中の油脂の酸敗につき実験的検討を加えた. [衛生試報, 101, 101(1983)]

ii) 成分及び変性物の動態

野菜の塩漬加工の経過中におけるフェオホルバイド及びピロフェオホルバイドの消長とその機序の解明を行った.

iii) 新開発食品の安全性

新開発食品の現状調査, 安全性に関する問題点の抽出, 及び安全性評価手法の検討を行った. (環境衛生局へ報告)

5. 食品汚染物の検知, 実態, 人体暴露

i) 未検知汚染物の検知システム

魚介類の汚染物又は正常成分や, 酵素活性の変動から, 環境汚染の変化を知ろうとするもので, 重金属含有海水による貝の酵素変動を検討した (国立機関公害防止総合研究).

ii) 食品汚染物の実態に関する研究

モニタリングデータベースは総計69万件に達し各種の解析及びデータ提供を行った (→誌上発表125, 126) [衛生試報, 101, 138 (1983)]. 日常食中の汚染物摂取量調査 total diet study を行い, 全国11機関のデータとも合わせて解析した. (厚生科学研究)

iii) 発がん性汚染物質の定量的解析

発がん物質の経口摂取量を実測し発がん危険度を予測 (厚生省がん研究), 更に定量的リスクアセスメント手法について検討した. (→学会発表56, 57) (厚生科学研究)

iv) 化学物質の経口摂取量の予測

化学物質の物理化学的性状から人体暴露を予測する手法を研究した. (厚生科学研究)

6. 食中毒の化学的解明

致死中毒を起こしたオゴノリの成分につき ¹³C-FT-NMR 分析を行い異常成分の検索を行った.

食品添加物部

部長 谷村 顕雄

概要

当所病理部及び名古屋市立大学において, 臭素酸カリウムと BHA のがん原性が証明されたため, これらの使用規制強化に伴う緊急の業務を行った. タイ国に対する保健活動向上計画の一環として, 昭和57年3月より2箇月間, 石綿肇主任研究官が食品中の N-ニトロ化合物の分析法指導のため, 医科学局食品分析部 (バンコク) に出張した. 原田基夫第一室長は昭和57年12月1日付で大阪支所食品部長に就任した.

業務成績

1. 製品検査

食用色素: 検査件数 270, 合格 270, 不合格 0

2. 食品添加物標準分析法の作成

食品中のグリチルリチン酸について, ガスクロマトグラフ法による定量法を作成した. (食品化学課)

3. 天然添加物の成分規格の設定

クチナン色素, ベニバナ黄色素などの天然着色料について規格を設定した. (食品化学課)

4. 器具容器包装の長期溶出試験

発泡ポリスチロール, 塩化ビニル, ポリプロピレン,

ポリエチレン、塩化ビニリデン、各4種類の市販製品について、冷凍、高温、室温の保存条件で、短期長期の溶出試験を行った。またメラミン、フェノール製器具についても規格試験に基づいて短期、長期の溶出試験を行った。(食品化学課)

研究業績

1. ニトロソ化合物に関する研究

i) 医薬品のニトロソ化反応について

三級アミン型医薬品を中心に亜硝酸との反応による揮発性ニトロソアミンの生成について、WHOが recommend した反応条件を用いて検討した。28種類の医薬品のうち24種類から揮発性ニトロソアミンの生成が認められたが、アスコルビン酸はこれら医薬品からのニトロソアミン生成抑制に有効であったが、その有効性には医薬品による差が認められた。(→学会発表59)

ii) ニトロソウレアによるニトロソ基転移反応について

エチレンチオウレアと亜硝酸からの反応生成物であるN-ニトロソエチレンチオウレア(NETU)の2級アミンへのニトロソ基転移について検討した。モルホリンをニトロソ化する速度をみた時、NETUは NaNO_2 に比べてpH3では2~3倍、pH5では5~10倍速かった。

iii) 食品中の揮発性ニトロソアミンの分析

魚介、食肉製品、ビール、チーズその他ニトロソアミン(NA)を含む可能性が考えられる食品についてNA含量を分析した。魚介類は焼くことによりNA量が増加する傾向がみられた。またイカ加工品、けずりぶしにはニトロソジメチルアミンが数ppb~数十ppbレベル検出された。サラミソーセージはニトロソピペリジンを含むものが多かった。これらの分析結果と国民栄養調査による各食品の1日摂取量とから揮発性NAの1日の摂取量を計算すると約500mg/日となった。(→学会発表60)

iv) ニトロソ化合物前駆物質の代謝研究の一環としてジメチルアミンの生体内挙動について検討した。胃内投与したジメチルアミンは主として尿中に、また一部は胆汁や腸管内に分泌された。(→誌上発表49)

v) 保水乳化安定剤のコンドロイチン硫酸ナトリウム中に混在する物質がニトロソアミンの生成を強く促進すること。その促進の強さはチオシアン酸イオンの約20倍であることを見出した。(→学会発表61)

vi) HPLC-蛍光法による食品中の2級アミンの分析

2級アミンをBHD-クロライドと反応させ、HPLC-

蛍光法による定量法を検討し、食品中の2級アミンの分別定量を行った。(→学会発表62)

2. 食品添加物に関する研究

i) 臭素酸カリウムの経皮吸収

一定条件下においてコールドパーマ第2液又は6.5%臭素酸カリウム溶液を用い、人表皮からの同イオンの吸収について検討を行った。

ii) パンに含まれる臭素酸塩について

イオンクロマトグラフィーで定量する際の妨害物の除去を試み、塩素イオンによる妨害を銀コーティングしたイオン交換樹脂を用いることにより除去し得た。

iii) クチナン色素につき、原料果実からの色素成分並びに不純物の、種々な条件における抽出量を明らかにし、分析法を確立するとともに、製品中の色素成分と含量並びに不純物の混在量を検討した(→学会発表63)。また、食品中のクルクミンの分析法として、カラム法一分光測光法を用いる定量法を確立した。〔衛生試報, 101, 42 (1983)〕

iv) 食品添加物の1日総摂取量調査に関する研究

厚生省調査方式により、10機関の調査試料を対象として、グリチルリチン酸の摂取量を調査した。(厚生科学研究, 食品化学課)

v) 畜水産食品中の残留物質の検査法に関する研究

動物、水産用合成抗菌剤につき、HPLC法による畜肉、魚肉からの分析法を確立した(厚生科学研究, 乳肉衛生課)。また、飼料添加物の分析に新しい手法を導入することの検討〔衛生試報, 101, 142 (1983)〕、並びに既設の試験法における妨害物質の問題等につき検討した。〔衛生試報, 101, 143 (1983)〕

vi) エトキシキンの酸化生成物について

主としてHPLCを用いてエトキシキンの酸化生成物について検討した。〔衛生試報, 101, 106 (1983)〕

3. 容器包装に関する研究

ゴム添加剤の熱履歴による分解物質のうち有機過酸化化物及びその分解物をGC法により検討し、残在量を測定した。また飲食用器具などのゴム製品から溶出する2級アミンを測定した。

衛生微生物部

部長 倉田 浩

概要

輸入食品の微生物試験は、各輸入港の検疫所の業務が統合、整備されたので、当部で検査する検体は特別のものに限られるかたちとなり検数は減少した。これ

に伴って、当部は食品微生物検査法の確立のために必要な基礎資料を得るための生態学的な研究にその主力を向け、食品微生物コントロールのための規格策定をめざし新たな進展をみせ始めている。

近年、医療用具の審査件数が急激に増加しているにもかかわらず、人手不足から業務が遅れ勝ちという状況を解決するために、当部の栗栖弘光主任研究官が昭和58年4月1日付で本省薬務局医療用具審査室に併任となった。

小島満子技官が酵母の分類同定に関する国際研修、ユネスコプログラムに参加並びに協力研究のためポルトガルの Gulben Kian Institute of Science に5箇月間出張した。

チュニジア国医薬品管理プロジェクトの援助の研修生として Miss Mahjoubi Leila を昭和58年3月より10箇月の予定で受入れている。なお、インドネシア医薬品品質管理プロジェクトの援助が新たに加わった。

業務成績

1. 国家検定

検査（輸出検査を含む）

ブドウ糖、リンゲル、インシュリン、ホルモン、避妊薬等、総計1662件（うち細菌試験842件、真菌試験820件）を行ったが不適品はなかった。

2. 一斉取締試験

大腸菌群並びに緑膿菌の検出を目的とした細菌試験をメチルニフェドリン内服剤109件、アイライナー138件にいつて実施したが、アイライナーに1件不合格品が認められた。

3. 輸入食品試験

冷凍食品類（魚介、液卵、食肉など）、レトルト食品など総計151件の細菌試験が行われ、うち13件(8.6%)が陽性検体であった。本年度も真菌を対象とする検体はなかった。

4. 規格・基準試験、行政試験等

焼肉のたれ類(28件)について細菌、真菌試験、つくた煮(20件)、みそ(10件)、しょう油(20件)等についての真菌試験を行ったが、特筆することはなかった。また輸入コーヒー豆(11検体)の真菌試験を行ったが、その2件から *Aspergillus flavus* の検出を認めたが、その菌数は僅少であった。また発酵乳及び乳酸菌飲料中の *Bifidobacterium* の試験法の検討を行った。次いで、冷凍食肉中の抗菌物質の残留簡易微生物テストを66件行ったがすべて陰性の結果を得た。

研究業績

1. 放射線照射による医薬品、化粧品微生物汚染防止に関する研究

昨年度に引き続き、生薬類(陳皮、桂皮、甘草など)に対する放射線滅菌の効果を検討したが、各試料の一般細菌数を 1.0×10^2 以下に減量させるに要する線量は 200~500 Krad であり、この線量でも有効成分の低減は認められなかった。

2. 各種医薬品、化粧品製剤に用いられる防腐殺菌剤に関する研究

非イオン界面活性剤と有機酸類の併用による累積殺菌効果の検討を行った。

3. 血液回路の放射線滅菌による材質変化とそれに対する品質改良並びに滅菌効果に関する研究

PVC 製血液回路に *Bacillus pumilus* E601 を接着させ、これにγ線照射滅菌を行い 2.5 KmrD で完全滅菌が行えることを証明した。

4. 液卵、凍結卵、乾燥卵等の細菌学的規格基準設定に関する基礎研究

ブドウ球菌の食中毒株と市販卵焼、液卵と鶏糞由来株の三者間の生物型の特徴を調べた結果、食中毒株は特定の A4 型、市販卵焼では、一部に同一菌型 A4 が、液卵では、本型が更に少くなる一方で B 型菌が多くなり鶏糞株では殆んどが B 型であった。

5. *Bacillus cereus* の毒素原性及び毒素検出法に関する研究

下痢型毒素は、今日までの生理活性研究結果から生体内毒素型であることを示唆する成績を得ているが、今1つの嘔吐原性毒素の解明をネコを用いて進行している。(→学会発表70, 71)

6. 畜水産食品中の残留抗生物質検査法に関する研究

水産食品中の抗生物質の個別検査法としてマイクロバイオオートグラフィーを応用する試験法の实用化について検討を行っている。

7. スパイラルシステムによる食品の菌数測定

スパイラルシステムのコロニーカウントの性能とその経済性の検討を進め実用化の可能性をテストしている。(→誌上発表53)

8. 食品の微生物制御のための適正技術の確立に関する調査研究

食品の衛生微生物的規格基準の策定のための一般概念を再検討し、新しく多次元方式を取り入れた数値評価様式を立案し、食品の微生物的危険度の判定を行った。(→学会発表69, 128)

9. ニトロソジメチルアミン (NDMA) の生体内挙動

NDMA をウサギの十二指腸、耳静脈に注入し、かつ肝門部結紮、非結紮などの処理がその生体内の挙動

にいかなる影響を及ぼすかの検索を行ったが、NDMAは小腸上部から速やかに吸収されることが明らかにされた。(→誌上発表52, 学会発表66, 67, 68)

10. 酵母の食品衛生学的研究

主として、魚介類由来の酵母のフローラとそれら菌株の生理活性、新たに分離された未知の種属の同定等を進めている。(→学会発表81)

11. 医薬品汚染真菌に関する研究

医薬品及びその原料由来菌94株(主として生薬類)の同定を行った。

12. 国産ムギ類のトリコテセン汚染に関する研究

前年度に引続き、特に北海道産コムギ(56, 57年度産)より検出された *Fusarium* 菌株のデオキシニバレノール(DON)並びにニバレノール(NIV)の産生性を調査した。またこれに併せて農水省農業研究センターとの協同研究で、新たに土壌由来の *F. graminearum* とそのトリコテセン産生能を検定した。北海道産ムギ由来菌には NIV の産生菌は見出されなかった。本菌の完全型との産生性の比較を進めている。(→学会発表77, 78, 80)

13. 真菌の分類・同定, 培養

眼科, 皮膚科, 獣医公衆衛生領域からの臨床材料由来の真菌の同定, そのほか他研究機関よりの分譲依頼に応ずるべく菌株の植替保存などを行っている。*Chaetominum* 生産マイコトキシン研究用の培養を行った。(→誌上発表54, 学会発表73, 74, 76)

14. 変異原検出に適用するストレプトマイシン依存性大腸菌の研究(→学会発表65)

医 化 学 部

部 長 山 羽 力

概要

昭和43年医化学部がビタミン化学部の振替の形で誕生して以来、ビタミン剤に関する業務(特別審査, 一斉取締試験, 特別行政試験等)を引き続き代行してきたが、当時からの人達もほとんどいなくなったため、昭和57年4月以降その業務を薬品部でやっていただくことになった。

佐藤道夫技官はニコチンに関する代謝研究のため、昭和57年11月28日より1年間の予定で米国ケンタッキー大学へ出張中である。

研究業績

1. 食品添加物の代謝に関する研究(環境衛生局行政研究)

i) チアベンダゾール(TBZ)の代謝

¹⁴C-TBZを合成し、これをオリーブ油及びアラビアゴムに懸濁し、妊娠マウス及び非妊娠マウスに経口投与し、その吸収、排泄、臓器分布について検討したところ、用いた溶剤により臓器分布パターンにかなりの差異があることがわかった。

ii) デヒドロ酢酸の代謝

代謝試験に用いる¹⁴C-デヒドロ酢酸の合成に関するcoldでの予備実験を行った。

iii) オルトフェニルフェノール(OPP)及びオルトフェニルフェノールナトリウム(OPP-Na)の代謝

OPP及びOPP-Naを2%含有する餌をFischer系雄性ラットに6箇月間投与し、その尿中代謝物の消長を比較検討した。

iv) ソルビン酸(SA)及びソルビン酸カリウム(SA-K)の代謝(環境衛生局食品化学課へ報告)

前年度に引き続きIPC系雄性マウスにSA及びSA-Kを1%, 5%, 15%含有する餌を1年間投与し、その腸内容物の酸性分画中の変異原性物質の出現を調べたところ、15%SA群のS-9処理したものが最も顕著であった。この期間中肝臓のGSHは減少し、その程度はSA-Kの投与量に依存した。(→誌上発表56, 学会発表82, 83)

2. 家庭用品に含まれる化学物質の代謝に関する研究(環境衛生局行政研究)

i) ゴム加硫促進剤の代謝

① 2-(morpholiniothio)-benzothiazole(MTBT)の代謝(環境衛生局家庭用品安全対策室へ報告)

¹⁴C-MTBTを合成し、ウィスター系雄性ラットに経口投与し、その吸収、排泄、臓器分布、尿中代謝物について調べた。(→学会発表84)

② N-cyclohexyl-2-benzothiazolsulfenamide(CBS)の代謝(環境衛生局家庭用品安全対策室へ報告)

¹⁴C-CBSを合成し、ウィスター系雄性ラットに経口投与し、その吸収、排泄、臓器分布、尿中代謝物について調べた。(→学会発表85)

ii) 助染剤 1,2,4-トリクロルベンゼン(TCB)の代謝

TCBをラット腸内容物と嫌氣的にインキュベートすると、ジクロル体及びモノクロル体に還元的に脱クロルされることがわかった。この反応は分離菌体の上清画分の酵素により触媒され、H₂及びある種のピリジンスクレオチドを要求することが明らかとなった。(→誌上発表57)

iii) 防炎加工剤 tris(1-chloro-2-propyl) phosphateの代謝

^{14}C -標識化合物を合成し、ウィスター系雄性ラットに経口投与し、吸収、排泄、臓器分布について調べ、既に報告した tris(1,3-dichloropropyl)phosphate 及び tris(2-chloroethyl)phosphate と比較検討した。

iv) ニトリロトリ酢酸 (NTA) の代謝 (環境衛生局家庭用品安全対策室へ報告)

合成洗剤の binder である NTA の代謝に関する文献調査を行った。

3. 既存化学物質の代謝に関する研究 (薬務局行政研究)

i) 2-ニトロバラクレゾール (NPC) の代謝 (東邦大学伊藤隆太教授へ報告)

^{14}C -NPC を合成し、Sprague-Dawley 系雌性ラットに経口投与し、その吸収、排泄、臓器分布について調べた。

4. 医薬品、食品添加物等の安全性評価のための新技術と評価基準の確立に関する研究 (特別研究)

器機を用いた生体成分の直接分析法を医薬品、食品添加物等の代謝研究に導入するため、 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR、 ^{31}P -NMR などによる関連文献の検討を行った。また加硫促進剤 MTBT をモデルに、尿中での ^{13}C -NMR スペクトルを検討した。

5. 異物代謝における酵素化学的研究

i) エステル型化合物の酵素分解に関する研究

前年度に引き続き tris(2,3-dibromopropyl)phosphate 及びその関連物質のラット臓器酵素による分解、反応機構について検討した。

ii) 脂環族一級アミンの酸化的脱アミノ機構の研究

LiAlD_4 でオキシム体を還元し、脂環族一級アミンの D 置換体を合成した。これを用いて脱アミノ反応での同位体効果の有無を検討し、代謝機構を調べる。

6. 発癌性、制癌性物質の生化学的研究

N-ニトロソ尿素及び関連化合物のラット肝クロマチンの核タンパク質へのカルバモイル化に伴う DNA-ヒストン相互作用の変化を、铸型活性及び DNA 分解酵素を用いて調べた。(→誌上発表58, 学会発表86)

7. 放射性腎診断薬に関する研究

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMP (ジメルカプトプロピオン酸) のラット、ウサギ、ヒトでの腎イメージの描出を行った。(→誌上発表59, 学会発表87)

化学物質情報部

部長 竹中 祐典

概要

昭和57年12月1日付で従来の情報調査室を情報第一室、新室を情報第二室として発足させ、情報第一室長には中館正弘情報調査室長が振り替え就任し、情報第二室長には関沢純氏が新しく着任した。なお、中館情報調査室長は、1982年6月23日から28日までソ連・キエフで開かれた第3回 IPCS 計画諮問委員会にオブザーバーとして参加し、帰路ジュネーヴの IPCS 並びに IRPT と本部を訪ね情報交換を行った。

業務成績

1. 国際有害化学物質登録 (IRPTC) 制度

IRPTC データプロファイルに収録されているわが国の関連データのうち、特に規制の対象となった化学物質について詳しい調査を行い、正しいデータを提供した。

照会・回答サービスとして、「メチルプロマイドの燻蒸剤としての使用規制」、「クロロナフタレンの規制」、「グルタルアルデヒドとトリルトリアゾールの輸入と使用規制」、「クロロホルムの規制」、「産業廃棄物中の重金属類の濃度規制」などについて調査し、回答した。

昭和57年度 IRPTC 国内協力委員会を昭和58年2月28日に委員20名の参加のもとに開き、IRPTC の活動報告、ナショナルコレスポンデントの業務報告を行うとともに全般的討議を行った。情報流通の一層の強化が特に話題となった。

なお、「毒物、劇物指定令の整備に関する研究」の参考資料として、データプロファイル収録物質のうち、各国の法令で禁止又は制限されている物質リストが IRPTC 計画実施センターから本部に提供された。

2. 国際化学物質安全性計画 (IPCS)

環境保健基準「LAS と関連化合物」の第1次ドラフトを補完するため、特に「ヒトへの影響」の項の再調査を行った。

環境保健基準「トリコテセン」の第1次ドラフトを補完するため、特に外国における有毒トリコテセンの規制情報などを調査した。

環境保健基準「合成ピレスロイド」の第1次ドラフト作成に関連し、ピレトリン以下12品目の物理化学的性質、分析法、分解性、代謝、哺乳類毒性、ヒトへの影響、生態系への影響などの文献検索を完了し、文献

リストを作成し、必要な原著論文を収集し、ドラフト執筆者に提供した。なお、ドラフト執筆責任者は宮本純之氏（住友化工、生物科学研究所）でドラフト作成委員には同氏の他に山本出教授（東京農大）、当所の大森センター長、内山部長、戸部部長並びに当部担当者を含む。

その他に、各国のリード機関が作成した環境保健基準第1次ドラフト「ステレン」、「DDT 以外の有機塩素系農薬」、「カルバメート及びチオカルバメート系農薬」及び「アクリロニトリル」について国内コメントを提出するための調査を行った。

IPCS リード機関としての当所の関連事業について助言を求める IPCS ヘルスクライテリアドキュメント原案検討委員会を昭和58年3月8日に開き、作成中の環境保健基準ドラフトについて種々の見解を得るとともに、今後の事業の進め方を協議した。

第3回計画諮問委員会（PAC）は1982年6月23日から28日までソ連・キエフで開かれ、大森センター長が委員として出席した。

食品添加物合同専門家委員会（JECFA）の第26回委員会は1982年4月19日から28日までローマで行われ、テンボラリーアドバイザーとして林部長が、残留農薬合同会議（JMPR）は1982年11月22日から12月1日までローマで行われ、テンボラリーアドバイザーとして戸部部長が、また、遺伝毒性と癌原性の短期試験法に関する共同研究（CSSTT）の臨時運営委員会（1982年8月31日～9月1日、ジュネーブ）と運営委員会（1982年12月15日～17日、ジュネーブ）には石館部長が参加した。

3. オンライン情報検索と情報誌作成

オンライン情報検索は、JOIS の利用が 111 件、DIALOG が 155 件、NIH-EPA-CIS が 4 件となっている。利用度の高いファイルは CAS (104 件)、MEDLINE (55 件)、TOXLINE (40 件) などである。利用の傾向としては、1 つの質問に対して複数のファイルで検索する例が増えており、また、検索上の制約が少なくデータの遡及年限の長いデータベース（例えば JOIS よりも DIALOG）が当然のことながら使用され勝ちである。

衛試情報は No. 4 を編集、発行、所内外の関係者に配布し、情報調査室ニュース（No. 20 から情報室ニュースに改題）は No. 16 から No. 21 までを作成し所内研究者に配布した。

4. 図書係業務と衛生試験所報告の発行

i) 図書係業務

昭和57年度の図書購入状況は次のとおり。()内は

昭和56年度分を示す。

外国図書	1,391千円	(1,337千円)
外国雑誌	12,420	(11,786)
国内図書	—	(—)
国内雑誌	809	(797)
合計	14,620	(13,920)

図書購入費は前年度より 700 千円増額したが、主に外国雑誌の値上り分に充当され、国内図書購入の余裕はなかった。

所内各部からの依頼により 136 種の和洋雑誌からのコンテンツサービスを雑誌受け入れごとに行った。

図書館ニュース No. 15 及び No. 16 を作成して所員に配布した。

図書係への外来閲覧者数は 250 名、外部からの文献複写依頼は 58 箇所からの 300 件であった。

日本薬学図書館協議会関東地区会（昭和57年7月6日、慶応大学）には部員 1 名が参加した。

4 回にわたって開かれた図書委員会の事務局を担当した。その主な議題は図書購入予算、衛生試験所報告第100号の編集、衛生試験所報告総索引（第78号～第100号）の作成について、などであった。

ii) 衛生試験所報告とその総索引の発行

図書委員で構成される衛生試験所報告編集委員会及び図書委員の一部で構成される衛生試験所報告総索引編集委員会に協力し、衛生試験所報告第100号及び衛生試験所報告総索引（第78号～第100号）を編集、発行し、所員並びに所外、外国の関連機関にそれぞれ配布した。

研究業績

1. バイオロジカルデータベース作成検索システムの研究

バイオロジカルデータベース基本設計に新たに癌原性データファイルを追加するとともに、用量-反応関係の一覧リスト作表のための試験データ用サブファイルを設定することとし、データ項目に若干の変更を加え詳細設計を行った。（科学技術振興調整費、変異原性部、薬理部、病理部と共同、科学技術庁振興局へ報告）

2. 化学物質の構造-活性相関に関する研究

化学物質の構造と変異原性との関係について構造の骨格、官能基別に定性的な解析を行った上、変異原性判別のための構造因子を検討し、75コの判別要因を決め電算機で判別分析を行った。（労働省労働基準局安全衛生部へ報告）

3. 化学物質の評点法に関する調査研究

安全性点検を優先的に実施すべき環境化学物質の選

択に評点法を導入するための手法を検討した。(環境庁環境保健部保健調査室へ報告)

4. 毒物、劇物指定令の整備に関する研究

毒物劇物判定基準の国際間の整合性を検討するため関連資料について比較調査を行い、わが国の毒物劇物取締法における毒物劇物判定基準に該当しまた規制措置のとられていない48品目を国連危険物輸送専門家委員会危険物リストから抽出した。(毒性部と共同、厚生省薬務局安全課へ報告)

安全性生物試験研究センター

センター長 大森義仁

当センターが活動を開始してから4年を経過したが、昭和57年度に特に感じられたことは、各部における業務の増加傾向であり、更にセンター以外の各部との協力体制がより緊密になってきたことである。人工透析用具による障害、海藻による中毒並びに生薬成分の試験研究等にこの実績があげられ、今後ともこのような協力が望まれるところである。

国家検定のほか、厚生省薬務局、環境衛生局並びに環境庁、科学技術庁からの委託試験研究業務への対応も順調に経過して居り、厚生省や文部省などの各種特定、特別並びに科学研究の補助も増えつつあり、国内外との研究面での協力も進み、各部主催の外人講師講演会、国外学術集会への出張も多くなった。

国際機関の専門家委員会への参加も増え、WHO/FAO 合同の残留農薬評価会議(JMPR)及び食品添加物評価会議(JECFA)の専門委員として毒性及び病理部長が、また OECD と IPCS/WHO 発がん物質短期試験法確立の分担には変異原性部長が同様に協力し、また日米の発がん研究の情報交換と日独の肺がん研究の協力のため病理部の部長と室長が欧米に出張した。更に食品添加物 BHA の発がん問題に関しては、日、英、米及び加の4箇国会議が持たれた。

今年度は、WHO マニラ事務局の要請により、日中協力事業が急激に増加し、北京ワークショップに病理及び変異原性部長が招聘され、また研修の目的で中国研究員が長期にわたり各部で活躍している。

昨年度より開始された日米毒性研究協力事業の一環として、本年度も毒性部及び薬理部長が渡米し、米国側のコンタクトポイントである国立環境保健衛生研究所(NIEHS)をはじめとして NIH, FDA その他大学等を歴訪して、米国毒性学の現状を視察するとともに専門家間の意見の交換を行い、また米国側からも NIEHS

の職員が来所し今後の協力体制につき協議を行った。

今年度に、厚生省薬務局よりの通知でわが国における医薬品の GLP が決定され、58年4月以後に実施されることになった。当センターにおいてもこれに対応した措置を講じている。

毒性部

部長 戸部満寿夫

概要

予定された業務は略々順調に推移した。前年度終了間際に始った人工透析器の一種であるニプロホローファイバー型ダイアライザーによる障害事故の原因究明のための研究を療品部との協同で進め、幸い年度内に一応初期の目的が達せられた。

また、年度後半に、毒物・劇物取締法及び指定令の整備に関する研究を急遽実施することになった。現在、同法に基づいて規制される物質数は原体数として 247 品目に達するが、実際には十分指定される資格を有する物質で未指定の儘のものが可成り存在すると考えられる。今回先ずカタカナ書の同法別表(品目リスト)の英名リストを作成して基礎固めをした上、国連危険物輸送規制基準の別表から約 400 種を選びそれらの毒性を検討した。短期間ではあったが、化学物質情報部関沢室長の協力を得て多大の成果を得た。

川俣一也技官が年度末に退官した。

また、57年12月から4箇月間、中国から王秀文君が在籍した。

研究業績

1. 医薬品

i) 注射剤の安全性に関する研究(薬務局委託研究)
陽性対照として用いる酢酸溶液の濃度及びその調整法を再検討し、「注射剤の局所障害性に関する試験法(案)」の若干の修正を提示した。(薬務局へ報告)(→学会発表97)

ii) 放射性医薬品の毒性試験

腎シンチグラフィ用診断薬である^{99m}Tc-ジメルカプトコハク酸のラット及びイスによる毒性試験を行った。(原子力研究、科学技術庁へ報告)

2. 照射食品の安全性に関する研究

i) 電子線照射みかんのサルによる慢性毒性試験
ii) 照射ウインナーソーセージのマウス及びサルによる慢性毒性試験(原子力研究、科学技術庁へ報告)
上記の報告で、照射食品の安全性に関する研究は全て終了した。

3. 食品添加物

i) デヒドロ酢酸とソルビン酸の相乗毒性に関する研究

ラットによる6箇月の亜急性相乗毒性試験について最終的に検討し、報告した。(食品化学課へ報告)

ii) オルトフェニルフェノール (OPP) とチアベンダゾール (TBZ) の相乗毒性に関する研究

ラットによる6箇月間の相乗毒性試験について最終的整理を行った。

iii) オルトフェニルフェノール (OPP)、チアベンダゾール (TBZ) 及びジフェニル (DP) の3箇月間の三剤併用毒性試験をラットを用いて実施した。(食品化学課へ報告)

4. 家庭用品

i) ゴム加硫促進剤のメルカプトベンゾチアゾール、ジフェニルグアニジン、メルカプトイミダゾリン、2-(モルホリノ)ベンゾチアゾール及びN-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェニアシドのマウスによる慢性毒性試験を実施した。

ii) 消炎加工剤のトリス(2,3-ジクロロプロピル)ホスフェイト及びトリス(2-クロロエチル)ホスフェイトのマウスによる経口慢性毒性試験、また後者についてマウスによる経皮慢性毒性を行った。

また、ビス(2,3-ジクロロプロピル)ホスフェイトマグネシウム及び2,4,6-(トリプロモフェニル)2-メチル-2,3-ジプロモプロピルエーテルの慢性毒性試験のうち、組織学的検査を実施した。

iii) 防菌・防霉剤の α -プロモシナムアルデヒド及び p -クロロ- m -キシレノールの経皮慢性毒性試験をマウスで行った。また、PCP-Baについて組織学的検査を行った。54年度より開始したホルムアルデヒドの吸入毒性試験のうち28箇月の暴露期間を終了した。中間成績であるが、15 ppm 群で鼻腔の腫瘍が認められた。

iv) 厚生科学研究として、ラットを用いて「化学物質の吸入による気道及び肺の毒性学的研究」を合成化学研究部と協同で行った。(家庭用品安全対策室へ報告)

v) セルローズアセテートの溶剤等に用いられるジクロロメタンの急性吸入毒性試験を行った。

5. 既存化学物質

ポリ臭素化ビフェニルのマウスによる慢性毒性試験、ビス(2,3,3,3-テトラクロロプロピル)エーテル及びペンタクロロエタンのラットによる慢性毒性試験を各々継続して実施した。

また、パラ-*sec*-ブチルフェノールのラットによる亜

急性毒性試験を終了し、慢性毒性試験を開始した。

更に、2,4,4-*tert*-ブチルフェノールのラットによる亜急性毒性試験を行った。

6. その他

i) 低沸点有機塩素化合物の生体機能に及ぼす影響に関する研究(環境庁・公害防止)

プロモホルム、ジプロモクロロメタン及びプロモジクロロメタンのラットによる慢性毒性試験のうち2年間の飼育が終了した。

ii) オゴノリ類海藻による食中毒の解明に関する研究

愛媛県下で発生した中毒の原因物質として収去したオゴノリ、及び中毒発生後に同海域より採取したオゴノリを用いて、マウス及びイスによる毒性試験を行った。(厚生科学研究、食品衛生課へ報告)

iii) 銅酸化物の生体に及ぼす影響に関する研究

緑青の主成分とされている塩基性炭酸銅のラットによる慢性毒性試験を開始した。(厚生科学研究、食品衛生課へ報告)

iv) 人工腎臓透析器の品質確保に関する研究(厚生科学研究、薬務局へ報告)

v) 駆瘀血剤の毒性に関する研究

桃仁、当帰、川芎及び芍薬のメタノールエキスについて毒性試験を行った。この研究は、薬理部及び生薬部との協同研究である。

vi) ジャコウ代替品に関する研究

牛黄の急性毒性試験を行った。(厚生科学研究、薬務局へ報告)

vii) 小型霊長類等の実験動物化と特性

—マーモセットの特性に関する研究—

マーモセットが毒性試験用実験動物として使用し得るか否かを検討するため、血液学的並びに臨床生化学的立場からの検討を開始した。(科学技術振興調整費)

viii) 毒物・劇物取締法及び指定令の整備に関する研究(厚生科学研究、安全課へ報告)

ix) 毒性試験の検査材料の中、特に血液について検査に伴う諸々の条件の一定化を検討した。

薬 理 部

部 長 高 仲 正

概要

生化学薬理研究室大野泰雄技官はスウェーデン国カロリンスカ研究所法医学教室オレニウス教授の下で研究を行うため、昭和57年8月3日より1年間の予定で渡

航した。また、中枢薬理研究室遠藤任彦主任研究官は昭和58年3月31日付で退官した。

中華人民共和国衛生部薬品生物制品検定所の黄念君さんが昭和57年4月12日より6月10日まで後世代影響研究室で、北京医学院の保疏書さんが昭和58年1月10日より4日10日まで後世代影響研究室及び中枢薬理研究室でそれぞれ研修を行った。

本年度は新たに9課題について研究に着手すると共に、単年度研究として3課題を行った。また、1課題が研究を終了した。したがって継続分を含めると、厚生省関係9、科技厅関係4、環境庁1、文部省3及び特別研究2課題について研究を行った。

業務成績

1. 国家検定

昭和57年度はブドウ糖注射液 661 件、リンゲル液 8 件について発熱性物質試験を行い、そのうちブドウ糖注射液 1 件が不適と判定された。

2. 一般依頼試験

対照試験用標準品とするためのポリエチレン 1 件につき、輸液用プラスチック容器試験法移植試験を行い、適と判定された。

研究業績

1. 医薬品等の薬理作用に関する研究

i) 駆瘀血剤の薬理学的研究(科学技術振興調整費)
ii) ジャコウ代替品の開発に関する研究(厚生科学研究費、薬務局へ報告)

iii) 環境汚染物質の生体機能障害性に関する研究
本年度より5年計画で研究を開始した。(国立機関公害防止等試験研究費、環境庁へ報告)(一誌上発表65, 68)

iv) 放射性医薬品の生体解毒機能に及ぼす影響に関する研究(原子力試験研究費、科学技術庁へ報告)

v) 医薬品の中樞作用に関する基礎的研究(一学会発表103)

vi) 注射剤の溶血性に関する研究(厚生科学研究費、薬務局へ報告)

vii) ジチオカルバメート系化合物による赤血球障害に関する研究

本年度より3年計画で研究を開始した。

viii) 腎における薬物代謝活性を変動させる要因に関する研究(一誌上発表72)

ix) 芳香族アミン類の代謝及び毒性発現の動物種属差に関する研究

x) 多剤併用療法の安全性に関する研究(厚生科学研究費、薬務局へ報告)(一学会発表99, 誌上発表66)

xi) 肝ミクロソーム中の芳香族アルデヒド還元酵素

の研究

本年度より3年計画で研究を開始した。(一学会発表102)

xii) 医薬品の *in vivo* におけるニトロソ化に関する研究(がん研究助成金、厚生省へ報告)(一学会発表105)

xiii) ニトロソアミン類の臓器障害及び毒性発現機序に関する研究(一学会発表100)

xiv) 既存化学物質の毒性に関する研究(家庭用品等試験検査費、薬務局へ報告)

xv) 海藻(オゴノリ類)による原因不明の食中毒の解明に関する研究

本年度より3年計画で食品部、毒性部、生薬部、山形衛研、愛媛衛研と共同研究を開始した。(厚生科学研究費、厚生省へ報告)

2. 医薬品、食品添加物等の後世代に及ぼす影響に関する研究

i) 出産前後の肝薬物代謝酵素系に及ぼす誘導剤メチルコラントレン及びフェノバルビタールの効果に関する研究

本年度をもって終了した。(学会発表104, 誌上発表71)

ii) 胎仔期を含む発育期の肝薬物代謝酵素の特性とその役割に関する研究

本年度より3年計画で研究を開始した。(一誌上発表67)

iii) ステロイドホルモン剤の男性化作用に関する研究(一学会発表101)

iv) 食品添加物の次世代に及ぼす影響に関する研究(食品等試験検査費、環境衛生局へ報告)(一誌上発表69)

v) 家庭用品に用いられる化学物質の次世代に及ぼす影響に関する研究(家庭用品等試験検査費、環境衛生局へ報告)

vi) 中枢アミン神経機能の発達に及ぼす胎仔期に投与したメタアンフェタミンの影響

本年度より2年計画で研究を開始した。(文部省科学研究費、文部省へ報告)(一誌上発表70)

vii) 出生仔の機能発達に及ぼす化学物質の妊娠期投与の影響に関する行動薬理学的研究

単年度で研究を行った。(文部省科学研究費、文部省へ報告)

viii) 胎仔の肝臓におけるヘム蛋白の生合成及び分解系の特性について

単年度で研究を行った。(文部省科学研究費、文部省へ報告)

3. 安全性評価のための科学技術開発に関する研究

i) 遺伝子組み換え等の新技術により生産される高分子医薬品の品質試験法の開発研究

本年度より3年計画で研究を開始した。(特別研究)

ii) 医薬品、食品添加物等の安全性評価のための新技術利用と評価基準の確立に関する研究

54~56年度で第一次研究を終了し、その成果をふまえて本年度より3年計画で第2次研究を開始した。(特別研究)

iii) 標識化合物による医薬品、食品添加物等の安全性を予測する *in vitro* 試験法の開発研究(原子力試験研究費)

iv) 発熱性物質の効率的検索法に関する研究

単年度で研究を行った。(厚生科学研究費、厚生省へ報告)

v) スンクスの特性と有用性に関する研究

本年度より3年計画で研究を開始した。(科学技術振興調整費、科学技術庁へ報告)

病 理 部

部 長 林 裕 造

概 要

昨年8月来米国 Fels(フェルス)研究所に留学中であった荻生俊昭君が本年6月に帰国した。

厚生省癌研究助成金による指定研究においてブチルヒドロキシアニソール(BHA)がラット前胃に発癌性を示す事が認められ(名市大伊藤班員担当)、この問題について日、米、英、加の4箇国会議を開催した(7月19日~20日、東京、11月15日~17日名古屋)。

本年は海外出張の多い年であった。先づ林が日米において実施された発癌試験に関する情報交換を目的としてウインズコンシン大学、国立環境衛生研究所(NIEHS)、食品衛生庁(FDA)、マサチューセッツ工科大学に(日本学術振興会派遣、3月17日~4月1日)、食品添加物協同専門家会議(4月17日~4月30日)に出席のためローマに、WHOの要請により北京市薬品生物製剤検定所において実験動物の飼育管理及び発癌試験の方法についての講演のため北京に(12月1日~12月11日)出張した。又一般病理研究室長(高橋道人)がドイツ癌研究センター Prof. Dr. Bannaschと実験的腫瘍の初期病変の電顕的並びに酵素組織化学的研究の共同研究を目的として西ドイツハイデルベルクに出張した(6月15日~7月8日)。この結果は Carcinogenesis に発表される。

その他研究業務において特別の変化はなく順調に継続、進展しつつある。

研究業績

1. 環境汚染物質の発癌促進作用の試験に関する研究

i) Diethylnitrosamine(DEN)をイニシエーターとして各種重金属(亜鉛、クロム、ニッケル、カドミウム、水銀)の肝癌発生過程におけるプロモーター作用の検索

ii) N-methyl-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(イニシエーターとして各種重金属(ニッケル、亜鉛、クロム、カドミウム)の胃癌発生過程におけるプロモーター作用の検索

iii) 7,12-dimethylbenz(a)anthracene(DMBA)をイニシエーターとして各種重金属(ニッケル、亜鉛、クロム、カドミウム)の皮膚発癌過程におけるプロモーター作用の検索

iv) N-ニトロビス(2-オキソプロピル)アミン(BOP)をイニシエーターとして各種重金属(ニッケル、亜鉛、クロム、カドミウム)の肺癌発生過程におけるプロモーター作用の検索(以上環境庁国立機関公害防止等試験研究費)

2. 日常環境下に存在する発癌プロモーター(寺田班)、胃癌におけるプロモーター(厚生省がん研究助成金)

3. 毒性試験法ガイドラインに関する基礎的研究(林班)、局所刺激性試験並びに総括(厚生省科学研究費)

4. 抗悪性腫瘍剤の安全性に関する研究(高橋班)、アドリアマイシンの毒性作用の研究(厚生省科学研究費)

5. 塩化第二鉄の慢性毒性試験並びに癌原性試験(厚生省食品添加物安全性再評価費)

6. 食用黄色四号の慢性毒性試験並びに癌原性試験(厚生省食品添加物安全性再評価費)

7. 臭素酸カリウムの慢性毒性試験並びに癌原性試験(厚生省食品添加物安全性再評価費)

8. 医薬品、食品添加物等安全性評価の為の新技術利用と評価基準の確立に関する研究、経胎盤発癌試験の検討(厚生省特別研究費)

9. 環境化学物質の動物発癌試験に関する研究(林班)

i) トリエタノールアミンの慢性毒性並びに癌原性試験

ii) フェニトインの慢性毒性並びに癌原性試験

iii) ナルジック酸の慢性毒性並びに癌原性試験(以

上厚生省がん研究助成金)

10. 放射性医薬品の各種臓器に及ぼす組織変化に関する研究, ジメルカプトコハク酸テクネチウムの障害腎に与える影響(科学技術庁原子力試験研究費)

11. 無機及び有機酸化剤の毒性並びに発癌性に関する研究, (1)臭素酸カリウムの毒性の種差について, (2)システイン及びグルタチオンの臭素酸カリウムの毒性に対する影響, (3)臭素酸カリウム投与ラット腎の過酸化脂質及びグルタチオン値の変化(癌振興会費)

12. N-ニトロソ化合物の構造, 代謝と標的臓器の相関(岡田班), N-ニトロソ化合物の化学構造と発癌標的臓器との相関並びにそれに及ぼす動物系統差の影響(文部省がん特別研究費)

13. 複数癌原因子の相互作用(北川班), 異種の動物及び遺伝的背景を異にする動物における複数癌原因子の相互効果の比較検討(文部省がん特別研究費)

14. 実験動物特別委員会: がん研究のための実験動物の維持と開発(西塚班), がん研究の基礎資料としてのラット自然発生腫瘍の評価(文部省がん特別研究費)

15. 機能を維持した培養細胞の発癌の生化学的初期変化(市原班), 胃腸細胞の培養と発癌における促進因子(文部省がん特別研究費)

16. 毒性発現機構に関する基礎的研究(粕谷班), 食品の毒性評価に関する基礎的研究(文部省特定研究)

17. 胃腸粘膜癌化におけるプロモーションの意義(長与班), 胃十二指腸粘膜の発癌における促進要因(文部省がん特別研究費)

変異原性部

部長 石 館 基

概要

医薬品等の生活関連諸物質の安全性を評価する上で、微生物あるいは動物細胞を用いる短期試験法の開発は、ますます重要視されるようになった。当部では、食品化学課の要請により、現在使用されている食品添加物の安全性再評価の一環として、前年に引続き変異原性試験を実施した。更に、安全課の要請により、フェナセチンを主とする解熱消炎鎮痛剤に関する変異原性試験を担当した。その他、公害防止に関連し、ガス状物質の試験法を新たに開発中である。

国際協力方面では、日米医学協力事業に参加するほか、WHOを通じ、日中両国間における技術協力事業に参加した。特にWHO/IPCS事業にあっては、短期試験法の技術開発を目的とする国際協力事業(CSSTT)

に参加し、現在、その実験の一部を担当している。

研究業績

1. 食品添加物の変異原性に関する研究

i) 食品添加物33種について、サルモネラ菌6株(TA92, TA94, TA98, TA100, TA1535, TA1537)を用いる突然変異試験(Ames試験)、並びに、チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験を行った。

ii) 天然添加物30種について培養細胞を用いる染色体異常試験を行った。

iii) 前年度に上記2試験で陽性の結果が得られた6検体について、マウス骨髄を用いる小核試験を行った。(i) ii) iii) いずれも厚生省環境衛生局食品化学課へ報告)

2. 放射性医薬品の突然変異原性に関する研究

腎診断薬ジメルカプトコハク酸テクネチウムについて、大腸菌及びサルモネラ菌を用いる突然変異試験、並びに、培養細胞を用いる染色体異常試験を行った。(科学技術庁へ報告)

3. 環境汚染化学物質の変異原性試験

i) 大気汚染物質の哺乳動物細胞に及ぼす細胞遺伝学的影響に関する研究

開発したガス暴露システムを用いて、培養細胞を種々の大気汚染物質に暴露し、実際にガスクロでモニターした濃度と、その時の染色体異常出現頻度との相関性を検討した。(環境庁企画調整局へ報告)

ii) ディーゼル排ガスの変異原性に関する研究(結核研究所と共同)

ディーゼル排ガスの有機溶媒抽出物について、培養細胞による、代謝活性化系を併用した染色体異常誘発試験を行った。更に、ディーゼル排ガスの6箇月暴露をうけたラットの骨髄、並びに、3箇月及び6箇月暴露のラットの末梢血液を用いる小核試験を行った。(環境庁大気保全局へ報告)

iii) 低沸点性有機塩素化合物の変異原性に関する研究

プロモジクロロメタンについて、マウス骨髄を用いる小核試験を行い、投与量と小核出現の経時的変動並びに連投の効果について検討した。更に、変異原高感受性マウス及びラットを用いる小核試験を行った。(環境庁企画調整局へ報告)

iv) 水道水中における微量有機物質の変異原性に関する研究

トリメチルベンゼンその他水道水中の微量有機化合物及び関連物質10種についてAmes試験並びに染色体異常試験を実施。(一学会発表134)

4. サルモネラ菌を用いる突然変異原性試験の代謝活性化に関する研究

PCB あるいは PB+BF 前処理 マウス (BALB/c, C3H/He) の肝 S9 について、間接変異原物質の代謝的活性化能並びに薬物代謝酵素活性を比較検討し、Ames 試験に用いられる適切な肝 S9 について検討した。

5. 突然変異物質の DNA 損傷型に関する研究

過酸化水素から生ずるスーパーオキシド、ヒドロキシラジカルの枯草菌形質転換に対する不活化作用について検討した。

6. 化学構造と変異原性との相関性に関する研究

i) Dimethylaniline 及び phenetidide の代謝的活性化体である N-水酸化体(dimethylphenyl-hydroxylamine 及び N-hydroxyphenetidide) を S9mix 中から単離、同定した。(→誌上発表88)

ii) 解熱鎮痛剤フェナセチンについて、ラット及びハムスター肝 S9 の代謝活性化能を比較検討した。(→学会発表131, 誌上発表87)

7. 培養細胞の染色体異常による発癌物質短期検索法の改善と評価(厚生省がん研究)

種々の生活関連物質について哺乳動物培養細胞を用いる染色体異常誘発試験と体細胞突然変異試験及び生体における小核試験について定量的比較を行った。(→学会発表129, 130, 135, 誌上発表145)

8. マウスを用いる小核試験法の開発に関する研究

小核誘発機構に関する細胞遺伝学的な基礎的研究、スクリーニングにおける最適実験条件に関する検討、データ評価のための統計処理方法、アクリジンオレンジ蛍光染色法、小核試験の機械化についてフローサイトメトリー法等の導入の可能性などについて基礎的な検討を行った。(→学会発表133, 136, 誌上発表86)

9. 化学物質誘発ラット白血病の発生と増殖過程における染色体分析(文部省がん特別研究, 病理部と共同)

メチルネトロソ尿素によって誘発されたラット神経膠腫の染色体構成について G-分染法を用いて解析した。

10. 変異原物質の情報収集

i) バイオリジカルデータベースの詳細設計について検討した。(科学技術庁委託研究)

ii) 染色体異常誘発試験及び小核試験のデータ集積のためのデータベースの改良を行った。

11. IPCS/WHO 計画に基づく国際協力

発がん性が知られているにもかかわらず、Ames テストで陰性となる物質10検体(o-toluidine など)につ

いて、培養細胞を用いる染色体異常誘発性試験を開始した。(→誌上発表146)

大 阪 支 所

支所長 加 納 晴 三 郎

大阪支所においては、国家検定、製品検査、一斉取締試験、特別行政試験、輸入食品検査などを行っているが輸入食品検査を除いてほぼ例年なみの件数を処理している。

これらの業務のほか、特別研究、厚生科学研究及びその他の研究について、薬品部、食品部及び薬理微生物部に述べるような内容のものが採りあげられ、それぞれに成果を挙げている。

以下各部別に詳述する。

薬 品 部

部 長 持 田 研 秀

概 要

当部の業務も支所全体の活性化を反映して、着々と研究内容の充実を図りつつある。

業 務 成 績

1. 国家検定

本年度のブドー糖注及びリンゲル液の処理件数は964件あり、不適件数なし、プラスチック容器のブドー糖注の容量別総数に対する比率は、500ml以上31.75%、20ml以上65.1%、と昨年に比べ減少の傾向にある。別にプロチオナミド8件の理化学試験を実施し、いずれも適品であった。

2. 一斉取締試験

β-ブロッカー・ビンドロールを含有する内服固型剤4件につき、定量試験及び重量偏差試験を実施し、全品適であった。

3. 特別行政試験

国内産収納あへん10件(内訳、和歌山2件、岡山4件、香川4件)のモルヒネ含有量の試験を実施した。

4. その他

11局改正の準備(安全課)、医薬品の原料規格集の作成に関する研究(第3年次、審査課)、不安定医薬品の純度向上に関する研究(安全課)及び医薬品の試験法・規格の作成に関する研究(公定書協会)に協力した。

研究業績

1. 医薬品と高分子物質の相互作用に関する研究

i) 消化酵素リパーゼの脂肪消化力試験法を作成するにあたり、BP、USP など諸外国の公定書収載の試験法を整理し、その問題点を指摘するとともに、リパーゼ活性測定法にミセル系の導入を提起した(→誌上発表149)。デオキシコール酸ミセルに鎖長の異なる脂肪酸ビニルエステル(C₈-C₁₄)を可溶化し、これをリパーゼの基質として用いた時の鎖長による加水分解挙動の差異を速度論的に解析し、DCミセル-酵素-基質間の相互作用の観点より考察した。(→誌上発表90、学会発表137)

ii) アラビン酸の油/水界面における吸着状態を顕微鏡電気泳動法を用いて検討し、第一層の不可逆的吸着層とそれを取巻く第二層の可逆的吸着層より成ることを明らかにした(→誌上発表91)。また、アラビン酸塩の高分子電解質としての性質について対イオンの結合性を中心に検討してきたが、そのNa塩、Ca塩水溶液の輸率の測定から、アラビン酸イオンに対する対イオンの結合性、対イオン及び高分子イオンの電気伝導性への寄与を明らかにした。(→学会発表138)

2. 製剤の安全性に関する分析化学的研究(昭和57年度厚生科学研究)

プロカインとその加水分解物であるパラアミノ安息香酸の油/水間分配における溶媒の役割について検討し、極性溶媒の分配においては溶媒の極性のみならず、溶媒和の影響が大きく、溶媒-溶質間相互作用の大きなものほど高い分配性の得られる事を明らかにした(→学会発表139)。また、プロカインを含む5種の局所麻酔薬のn-ペンタノール/水間におけるpH依存性の分配挙動について検討し、中性分子種だけでなく、緩衝液成分を含む対イオンとのイオン対の形で分配も起こり得ることを明らかにした。

3. 薬物への標識イムノアッセイの応用

抗炎症性ステロイド剤のデキサメタゾンの生体中の微量分析を目的として架橋剤の導入位置を検討し、特異性の高い抗体を得た。更にアフィニティクロマトグラフィーを用いて抗体を精製し、近縁化合物の16位メチル基の立体異性体であるベタメタゾンとの交叉反応率の低い抗体を調製してデキサメタゾンの酵素標識イムノアッセイを確立した。(→学会発表141)

4. 医薬品の規格試験法の作成に関する研究(昭和57年度公定書協会：滝谷班)

i) 輸液用注射剤の不溶性微粒子試験の指針(案)(→誌上発表92)の作成に引き継ぎ、小容量注射剤への不溶性微粒子試験の適用を試みた。ダイヤモンドベ

ン危裂法を利用することにより、アンプル開封時のガラス片の混入を防いだ。市販の小容量注射剤に混在する不溶性微粒子の粒度分布は両対数プロットにより良好な直線関係を示すが、粒度分布の特性値よりも粒子数(2μm以上及び5μm以上)による方がロット間の差を検出することが出来、光しゃへい型自動微粒子測定法は製造工程管理上有用であることを明らかにした。

ii) β-ブロッカーのピンドロールを2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-β-D-グルコピラノシルイソチオンアネートにより誘導体としたのち、逆相HPLCにより、S(-)及びR(+)の鏡像異性体分割定量法(ヒト血漿レベル10~100ng/ml)を確立した。更にHPLCの分離度は2.22で、ヒト血漿中のピンドロールに適用した。(→学会発表140)

食 品 部

部長 原 田 基 夫

概要

慶田雅洋部長が昭和57年12月1日付で退職され、後任に原田基夫本所家庭用品第二室長が昇任した。タイ国へ派遣されていた外海泰秀主任研究官が1年間の技術指導を終えて57年8月5日帰国した。小川俊次郎技官が58年3月31日付で京都薬科大学へ転出した。

環境汚染物質の魚毒に関する研究(国立機関公害防止研究)が終了し(→学会発表146、誌上発表101)、また当部の主要な業務であった食品中の合成添加物の標準分析法が完結し、57年9月に成書として発刊された。パーソナルコンピュータ(NEC、PC-8801)を購入し、データ処理に活用している。

業務成績

1. 製品検査

食用タール色素500検体について検査した。不合格0であった。

2. 輸入食品検査

着色料14件、亜硫酸9件、安息香酸3件、過酸化水素5件、シアン化合物3件、重金属(鉛)18件の化学検査を行った。

3. 残留農薬実態調査

外国産農産物(大麦12件、グレープフルーツ5件、そば5件、こしょう5件)についてカルバメート系農薬(デナボン、ランネット、トップジンM、ベンレートとその分解物)の検査を行ったがいずれも検出なかった。(食品化学課へ報告)

4. 規格試験等

食用タール色素の規格中副色素の定量に液体クロマトグラフィーを導入するための基礎調査を行った。(食品化学課へ報告)

5. 研修について

国際協力事業団にかかる昭和57年度輸出入食品検査技術コース(研修生13名)の研修を10月~11月に、農業技術コース(研修生8名)の研修を58年4月に行った。また国内研修生として2名の研修を行った。

研究業績

1. 食品・添加物等の安全性に関する研究

i) 食品添加物の1日摂取量調査に関する研究では、昨年(→学会発表142, 誌上発表99)に引き続き、5種類の添加物について国民栄養調査及び陰膳の二方式による平均摂取量を求めた。今回は更に改良マーケットバスケット方式を追加し、この平均摂取量を求めた。結果はプロピレングリコール 43mg, ソルビン酸 36.3mg, 硝酸 35.5mg, 安息香酸 1.44mg, グリチルリチン酸 1.39mg, サッカリンナトリウム 0.91mg, プロピオン酸 0.6mg, パラオキシ安息香酸エステル類 0.23mg, デヒドロ酢酸 0.19mg, 合成着色料 0.096mg, 亜硫酸 0.073mg, BHT 0.023mg, 亜硝酸 0.018mg, BHA 0.001mg であった。

ii) 天然添加物の分析法作製に関する研究では、液体陰イオン交換樹脂アンバーライト LA-2 を用いる液・液分配法による食品中の合成及び天然着色料の系統的分析法を確立した(→誌上発表 96)。また各種の色素を分析する前処理としてセライトカラム法について検討し、この方法はとくに天然色素により結果が得られた(→誌上発表 97)。更に液・液分配法とセライトカラム法を各種食品について比較したところ、合成色素ではわずかに液・液分配法がすぐれ、天然色素ではセライトカラム法がより高い値を示した。(→誌上発表98)

iii) 輸入食品の検査法に関する研究では①けい酸アルミン酸ナトリウム, ②タウリン, ③有機多塩基酸, ④デナボン(農薬)の各分析法を設定した。(昭和57年度厚生科学研究)

iv) 食品添加物の規格試験法の改良の目的で、高速液体クロマトグラフを用いて食用タール色素の原料物質, 反応中間体及び付随色素の確認並びに同定を行った。(→学会発表143, 誌上発表102)

v) 輸入冷凍えびに違反の多いハウ酸塩の微量迅速定量法として、2-エチル1,3-ヘキサンジオールを用いるキレート抽出法及びグルクミン発色法を組み合わせた従来の方法を更に改良して簡易化し、同時発色による多数検体の処理方法を開発した。(→学会発表151)

vi) その他 ミルク中の過酸化水素の微量測定法(→誌上発表 103), チーズ中の遊離及び結合安息香酸の分析法(→誌上発表95)を確立した。

2. 食品中の生体有害作用物質に関する研究

i) 魚介類の腐敗の指標となる各種アミンの分別定量法を確立した。トリメチルアミンはヘッドスペース-GC法で、プトレスチン及びカダベリンは NBD-F(7-Fluoro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole)を反応させたのちけい光検出 HPLC 法で測定し、それらの分析至適条件を決定した。(→学会発表152)

ii) 油脂の劣化による有害性については、各種加熱油について家兎の赤血球に対する溶血作用 C_{50} (50% 溶血に必要な試料濃度, mg/5ml) の挙動を観察した。最も劣化した油脂では C_{50} は負の相関々係にあり、この原因物質は極性層に移行することがわかった。(→学会発表15)

iii) その他シガテラ, フグ毒素を検査し(→誌上発表103), 液体性食品の魚に及ぼす影響を観察した。(誌上発表151)

薬理微生物部

部長 加納 晴三郎

概要

昭和58年3月31日付をもって、永年当部の研究、業務補助に尽力された三宅末子氏が退職された。57年7月施行以来、人手と時間を要するメンブランフィルター法による無菌試験の実施が軌道に乗った。部員一同協力して業務、研究両面に精励努力し、後述のような成果をあげた。

業務成績

一般業務としては、ブドー糖及びリンゲル注射液の国家検定が964件あったが、発熱及び無菌試験には、いずれも全件数が合格した。輸入食品検査の細菌試験は行われなかった。

研究業績

研究面では、前年に引き続き発熱物質に関する研究と胎生薬理学に関する研究とが、2つのグループによって行われた。

発熱物質に関する研究グループは、前年度に続いて、厚生科学研究班の簡易内毒素試験法(Limulus test)に関する研究を国立予防衛生研究所、九州大学及び大阪市立大学などの機関と協同で行い、標準内毒素の製剤化に成功し、我国における内毒素の量的表現に統一性を与え得ることとなった。更に、標準内毒素について

その物性並びに生理活性の相関性を検討し、毒素シロポジウム及び薬理学会総会で報告した。(一学会発表160, 163)

胎生薬理学研究グループも、前年に引き続いて、内毒素によるアスピリンの胎仔毒性の増強作用の機序について、血清蛋白とサリチル酸との結合性の面より検討され、内毒素による増強効果は、母体血清蛋白の薬物結合能の低下によることを示した。(一学会発表161) また、妊娠ラットに対する絶食の影響が、胎盤及び小腸のアルカリホスファターゼ(ALP)の活性が低下することが明らかにされ、妊娠後期の絶食は、母体臓器、胎盤及び胎仔重量や胎仔の化骨進行度の低下とともに胎盤のALPの低下を引き起こすことを明らかにし、ALPがカルシウム輸送系への関連を示唆した。(一誌上発表108) 更に前年に引き続いて、トリパンプルー(TB)による胎仔毒性の発現機序について検討し、投与方法により毒性発現に差のあることを明らかにした。胎仔に対する毒素がTB直接の影響か否かについて目下詳しく検討中である。(一学会発表162) この他、2, 3の薬物についてのラットにおける胎仔毒性に関する報告が行われた(一誌上発表104, 105, 106, 107及び110)。この中で重要な点は、硝酸カルウムを二世代にわたって妊娠ラットに与えたとき、F₁に対する毒性は認められないが、F₂においては毒性が発現することを明らかにした。

以上の研究実績の他に、本年度は、家庭用品安全対策の一環として、ジエチレングリコールのラットに対する催奇形性試験を行い、実験の範囲内では催奇形性を認めないことを報告した。(厚生省報告、58年3月)

北海道薬用植物栽培試験場

場長 山 好 雄

前場長 木 間 尚 治 郎

概要

57年12月1日付をもって木間尚治郎場長、石崎昌吾作業長が退官され、後任に山好雄室長、三浦忠一技官がそれぞれ場長、作業長に昇任した。

研究業務は、昨年を引き続き、科学技術振興調整費による実証及び生薬資源の確保に関する特定総合研究の一部、優良品種の選抜に関する研究の分担としてトウキの品種育成に当たっている。

麻薬課の委託試験としてケンの系統保存及び技術保存に関する研究も続行している。

業務成績

1. 種子交換

採種	158種	(筑波試験場へ送付)
受入れ	108件	581種
分譲	27件	80種

2. 薬用植物の栽培・自生調査

山室長は日本生薬研究者第3次訪中団の一員として昭和57年6月13日～6月25日の間中国を訪問し、生薬の基源植物・生産・流通の調査及び学術交流を行った。

野生薬用植物の北海道における自生調査については、道東に局在するエゾウコギの分布を調べ、無刺株の発見に努めた。

研究業績

1. トウキ(科学技術振興調整費)

2年生抽苔株のうち前年分離した種特有の形態形質を具備した個体、易抽苔個体及び低温伸長性個体より採種、1個体1系統として育苗し、各隔離圃場に定植して第2代選抜に供試した。

3年生抽苔株については、開花期に草姿・葉形・葉色・葉柄色を基準にして選抜を行い、個体別に採種した。しかし、各個体とも稔実粒が非常に少なかったため、ホッカイ系統、ヤマト系統にまとめた。

なお、開花時における特性調査より、開花期・葉色・主茎長・節間長がホッカイ・ヤマト両種の明確な相異点であることが判明した。

栽培上最も難点である抽苔について基礎資料を得るため、花芽分化に対する低温の影響を調べた所、正常な開花には自然条件下での低温経験日数が約120日要し、約100日でも50%以上の株が抽苔した。

2. ケン

寒冷地における最適栽植密度の決定及びアヘン収量の年次間変動の原因を究明する一環として、今年は、栽植密度が収量及び収量構成要素に及ぼす影響を調べた。(業務局麻薬課へ報告)

3. ジャクヤク

前年個体収量及び成分含量の調査を終えた53系統を供試し、系統比較試験を開始した。種苗法において品種の類似性と区別性が定義されているので、第一年次より形態形質、生理形質について多項目の調査を行っている。また、保存中の基礎集団より特異な形質(ブラインド・極早生・強勢・多茎)をもつ個体を選抜し、増殖圃に移植した。

4. その他

優良系統の選抜、予備的栽培試験、品種保存等のためダイオオ・トリカブト・キバナオウギ・ゲンチアナ

・ハマボオフウ・ハシリドコロ・ハトムギ・ホソバオケラ・センキュウ等が試作されている。

また、優良種探索のため *Gentiana* 属, *Paeonia* 属, *Rheum* 属, *Aconitum* 属, *Corydalis* 属, *Scopolis* 属等を蒐集・保存し特性を調査している。

筑波薬用植物栽培試験場

場 長 大 野 忠 郎
前場長 宮 崎 幸 男

概要

本年度の主な業務は下記の研究業績及び業務成績の項で述べるような研究並びに調査に関する業務で、前年度よりの継続のものが大部分であった。

昭和57年7月1日付で当场初代の場長として多大の功績を遺された宮崎幸男場長が退官され、後任に伊豆薬用植物栽培試験場の西孝三郎場長が就任した。また同日付で栽培研究室の西孝三郎場長が伊豆薬用植物栽培試験場長に昇任された。

業務成績

1. 薬用植物の自生地調査

ツクバトウキの自生地を調査した。また当场周辺の自生薬用植物の分布について調査を行った。

2. 植物採集調査

種子交換を主な目的とし、日本産薬用植物及び日本固有植物の分布調査を行うとともに、採種を行った。本年度は茨城県内の小貝川近辺、加波山、高萩市、筑波山、足尾山、大竹海岸、当场周辺、及び長野県の菅平を調査対象区域とし、520種について調査し、種子256種、苗34種を採集した。

3. 種子交換の実績

種子の保管 約1410種(昭和56年及び57年分)

受入れ 198件 延べ約2990種

配布 151件 延べ約2900種

なお本年度も薬用植物関係の種苗法にかかわる業務として、ミシマサイコが取り上げられ、新品種登録審査規準の作成について厚生省側より当场の大野場長、佐竹室長並びに伊豆薬用植物栽培試験場の西場長が参画し、同規準案の策定に当たった。

研究業績

1. ミシマサイコ(科学技術特興調整費)

i) 優良系統の選抜、育成に関する研究

産地別収集系統の特性調査 圃場栽培1年生の下妻(昭和56年茨城県下妻地区で栽培の種子を導入したもの)、ホソバミシマサイコ(中国産)、平尾台(以下5

種は野生種)、秋吉台、高知、えびの高原、石廊崎の7系統の特性を調査した。昭和57年10月27日各区とも抽苔株を無作為に20株抽出し調査した。下妻、ホソバミシマサイコの2系統が、生育、主根重ともに他系統に比し優れた結果を示した。草丈、莖長、分枝数において優れた系統は主根重も重い傾向が認められた。

ii) 個体選抜によって育成した系統の特性調査

供試種子は春日部試験場在来種を筑波試験場で栽培した2年株より個体ごとに昭和56年秋に採種したものである。播種は昭和57年3月9日畦幅1m、1条すじ播、種子消毒はベンレート水和剤1000倍液に16時間浸漬。施肥は化成肥料(15-15-15)10a当たり50kgを3月9日全量基肥として施用、1区面積3m²、間引は本葉5~6葉期に株間10cmになるように行った。昭和57年10月18~29日、57系統(採種の1個体を1系統とする)について収穫調査を行った。収穫は1.5mの畦長の全個体について行った。草丈、主莖長、分枝数(第一次)、節数、主根風乾重のすべてに系統間に0.1%の危険率で有意差が認められDuncanの範囲検定によって系統間の差異を明らかにした。また主根風乾重と、草丈、分枝数、節数、苗条数(分けつ数)、最大葉幅(最大葉の葉幅)、莖の太さ(第1節の太さ)、地上部風乾重、複散形花序数の各々との間にそれぞれ有意の正の有意の相関が認められた。草丈、分枝数、節数、最大葉幅、莖の太さ等を指標とする選抜は収根量の多い系統の育成に有効であると思われる。

iii) 受精様式に関する研究

開花の各時期に走査型電子顕微鏡によって花を観察し、雄ずいと雌ずいの成熟の時期が全く異なり、雄ずい先熟であることを前年と同様に確認した。

iv) 組織培養で再分化させた個体の特性について

当场産の系統を用いて新潟薬科大学で組織培養を行い、再分化された植物を栽培し、培養材料を取った元の系統と比較した。供試系統(1)春日部試験場在来種を組織培養で増殖した株。(2)同じ春日部試験場在来種を昭和57年3月直植したもの。(3)春日部試験場在来種を移植栽培したもの。仮植(1)(3)は本圃移植に先立ち本葉2~3枚の幼苗を径12cmのビニールポットに仮植し温室内の寒冷紗下で約1箇月間管理した。移植は昭和57年6月12日、畦幅60cm、株間10cmにして行った。施肥は化成肥料(15-15-15)10a当たり46.3kgを全量基肥として移植前に全面散布した。主根風乾重は組織培養再分化系統の方が元の系統に比し0.1%の水準で有意に優れていた。

v) 栽培条件と生育との関係についての研究

気温の相違が生育と品質に及ぼす影響について予備

試験を行った。また土性の相違及び肥料の施用量が生育と品質に及ぼす影響についてコンクリートポットを使用し栽培試験を行ったが、全般的に生育不良であったので、昭和58年度において再試験を行いつつある。

2. トウキ (科学技術振興調整費)

i) 優良系統の選抜、育成に関する研究

栽培品の中より文献的に優良といわれるものを選抜した。

ii) 受精様式に関する研究

隔離栽培して採種することによる系統保存法を検討した。

3. ケシ

系統保存として低温種子保存法について検討し、また技術保存の立場から、寒害防止策としての被覆法について検討した。

4. ハトムギ類

個体選抜及び系統選抜による優良品種の育成について。

前年に引き続いて各系統の特性を明らかにした。また交配種の F₂ の採種を行った。

5. オウレン

優良系統の選抜を目的として、各地 (兵庫県、福井県、鳥取県、和歌山県、茨城県、山形県) のオウレンを集めて1年生の特性調査を行った。

6. カラスビシャク

大粒のハンゲを生産するための栽培法について検討した。

7. カノコソウ属植物

優良系統の選抜を目的として、栽培法の検討及び成分の検索を行った。

8. 薬用植物の品種保存に関する研究

i) ヒロハセネガ 種子の採取を行った。

ii) ボタン 薬用種中に赤花系と桃色花系とが区別された。

iii) シャクヤク 白花八重種の株分け及び導入系統の植付けを行なった。

iv) センナ ファイトトロンを用いて好適温度条件を検討した。

v) ズボイシア 冬期の保護の検討 (霜よけ) を行った。

vi) ステビア 保存栽培

vii) アカヤジロウ 筑波における栽培法の確立を目的として、試作を行った。

viii) チョウセンニンジン 2年生及び1年生苗の育成を行った。

ix) ムラサキ 栽培中のものから採種を行った。

伊豆薬用植物栽培試験場

場長 西 孝三郎

概要

当場の圃場に関する青野川の河川改修工事が昭和57年度の静岡県中小河川改修工事として行われ、昭和57年11月末までに補償用地 (廃川敷) への農具舎の移築をはじめ植物の移植等を無事完了した。この改修工事に伴い当場の敷地形態が変わったため、盗難防止等を考慮し、正門及び周辺囲障等の工事も行った。したがって本年度は工事に付帯する作業等が多く、また場内の環境整備に重点がおかれたため、研究業務としては科学技術庁の振興調整費及び本省薬務局のあへん特別会計にかかわる ミシマサイコとケシの栽培試験のみにしぼらざるを得なかった。

一方、植物の生育期には台風10号 (8月2日) 及び台風18号 (9月12日) の接近に伴う塩風のため、試験作物や標本植物が甚大な被害を受けるという災難に見舞われた。

なお本年度は7月1日付の人事異動により大野忠郎場長が筑波試験場の場長となり、その後任として筑波試験場の西孝三郎室長が着任した。

研究業績

1. ミシマサイコ

伊豆地域に自生している数箇所 (石廊崎、天子山、浅間山、大室山、長者ヶ原) の野生ミシマサイコの種子を採集し、採集地別に圃場及びポットで栽培を行い、それらの生育特性について比較検討した。その結果、供試した範囲内では石廊崎の系統が生育・収量ともに最も優れており、他の4系統はいずれもほぼ同様な生育・収量を示した。また8月と9月の台風による塩害の程度も石廊崎の系統が最も軽微であったことも合わせ考えると石廊崎の系統は今後新品種の育成を行う際、育種材料として利用し得るものと推察される。

2. ケシ

昭和57年度から新規に伊豆地方における栽培法の確立、農作業省力化のための技術開発並びに優良品種の育成に関する研究を行うことにした。本年度は10月22日 (圃場) と10月27日 (ポット) に播種し、ポットはビニールハウス内で育成した。ハウス内のポットは4月15日に、圃場は5月1日にそれぞれ開花した。その間生育調査を行ったほか、主茎の着蕾期には腋芽抑制のため MH-30 及び B ナインの各濃度液を散布した。腋芽抑制の程度についての調査及び収穫物調査は5月

中に行う予定である。

和歌山薬用植物栽培試験場

場 長 堀 越 司

概要

ケンは56年11月中旬に播種し、下旬には適当な降水量もあり発芽良好で、2～3月の最高最低気温は平年よりも高く、生育良好であった。

4月中旬に気温は一時低下し晩霜に見舞われ、早生系統に被害（生長停止株の出現）が出て懸念されたが、4月下旬～5月には気温の上昇と降水量は平年より少く、好天候に恵まれ、生育も回復しアヘン採取も順調であった。トウキ、ミシマサイコの特調費試験、ミシマサイコの開花順位、トウキ、トウスケボウフウ、サジオモダカなどの掘り上げ調査、調製、見学、栽培指導など来場者も前年より多く多忙を極めた。なおプレハブ式低温恒温室（サンヨー1.5坪）を購入した。

業務成績

1. 薬用植物栽培文書応答 45件
2. 植物（種苗舎）入手 46件 103種
配布 28件 141種
3. 植物調査 テンダイウヤク、ニッケイ、シラカン、フィリウラシマソウ、バイカオウレン、ヤマホトトギス、チクセツニンジン、ヤマトリカブト、ヤマアイ、ワサビ、キハダ、センブリ。
4. 種子交換 89種を採種調製して、筑波薬試に送付。
5. 大阪農協中央会教育部主催婦人部講習会（'83.2.7）、和歌山農協中央会有田地区婦人部講習会（'83.2.10）、大阪農協中央会中河内地区婦人部講習会（'83.2.16）にて講演、57年度特殊農産物新規導入事業（高野町富貴地区）、印南町薬草栽培研究会に対し指導協力、来場者は1099名であった。

研究業績

1. ケン
品種及び系統保存並びに技術保存を目的に育成管理し、開花調査、アヘン採取、種子の保存を行った。
 - i) 開花調査
インド系極早生が4月13日開花始、順次開花し、早中晩の最盛は4月24日～28日となり、開花終了は4月28日～5月10日であった。
 - ii) アヘン採取
早生系は5月11日より開始し、18日まで4回、晩生系は5月24日より6月1日まで4回実施した。

- iii) 種子保存
 - 1 系統5果9区72系統を乾燥調製し保管した。
2. オウレン
 - i) '80年11月美山村串本地区より入手したセリバオウレン（丹波系）、植付本数、株間の相異。
 - ii) '81年3月上記地区より入手したセリバオウレン（丹波系）、杉林、柿畑、みかん畑、水田あと（土付、水洗、エビスグサ下）。
上記 i) ii) は目下、試験続行中である。
3. ミシマサイコ
 - i) 優良品種の育成に関する試験（優良系統の選抜）'82年12月筑波薬試に報告した。
 - ii) 開花順位と生育収量（採種法の改良、個体選抜）
イ）開花中（'82.7.23～9.4）特性調査を7回実施した。その概要は、母株が（先代）早い開花を示したのに、子株（次代）では必ずしも早く開花するとは限らない（交雑性）、即ち一定の傾向は認め難く、個体差も大きく選抜の困難性を痛感した。
ロ）生育、収量、種子生産については特記事項は認められない。
4. トウキ（大和）
 - i) 優良品種の育成に関する試験（優良系統の選抜）'82年12月筑波薬試に報告した。
 - ii) 種子の大きさと生育収量について、大きいものは中、小に比し、優る傾向を示した。
 - iii) 苗の大きさと生育収量について、大苗芽くりは、中小極大に比し優り、芽くりの効果を確認した。
5. トウスケボウフウ
開花時に特性調査を実施、開花順序、規則性の有無について検討したが、特記事項は認められなかった。なお品質については、掘り上げ後の経時変化のあることが認められた。
6. サジオモダカ
秋期に水田の落水（水切り）といも重との関係があることが判明した。即ち栽培期間中常時灌水状態を保持したために、いも重は軽くなったものと考えられる。調製法は金ブラシ使用が、サンドペーパー、ガラス破片に比し能率的であった。
7. キハダ
 - i) タイワンキハダのさし木試験
緑化率は89.2%～64.6%で、発根率は36.4%～9.2%であった。緑化率と発根率は必ずしも一致しないが、概して緑化率上位のものは、発根率も上位を占めるようである。〔日本生薬学会第29回年会（札幌）'82.9.29〕にて発表〕
 - iii) 系統の収集

'83. 1. 22~28に和歌山市紀の川河川敷内栽培中のキハダ(鳥取系11年生)より種子を採取したの他に東京都薬用植物園、岐阜県(エーザイ植物園)より種子を入手した。

8. その他 ニッケイ、センブリの育苗を実施したが、ニッケイは発芽不良であったが、センブリはカンレイシヤ被覆下に播種し、発芽して(春播~秋66本'83. 3. 25) 47本生存中である。

種子島薬用植物栽培試験場

場長事務取扱 鈴木郁生

高城正勝場長は昭和57年7月18日場長室において倒れ、脳出血と診断され、急遽鹿児島市立病院に運ばれ治療につとめられたが、8月26日容体が急変し急性心不全で逝去された。

高城場長は昭和23年10月当所植物部に助手として採用されて以来、職務に精励され、薬用植物園伊豆分場において、また、種子島分場長心得として活躍され昭和36年7月1日に種子島薬用植物栽培試験場長に昇任された。この間薬用植物栽培等に関する試験研究に従事、多大の功績をあげ当所の発展に尽くされた。ここに高城場長の業績を讃え、心から御冥福をお祈りする。

9月14日、下村所長を葬儀委員長として国立衛生試験所葬を種子島でとり行った。各方面から多数の方々が参列され、高城場長の死を悲しんだ。薬務局からは黒木企画課長が参列し、局長の弔辞を代読した。

なお8月26日付で鈴木郁生副所長が場長の事務取扱いを命ぜられた。

概要

気温は平年に比べて冬期に高く、夏期に低かったため植物の生育に異常を来たした。また8月に13号台風、9月に19号台風が通過し、植物及び宿舍等に被害をもたらした。特に北西の防風林が昭和56年の台風による塩害で枯れたため、従来被害のなかった温室のガラス及び宿舍の屋根瓦に被害があった。降雨量は年間2673.3mmであったが、例年多い4~6月が少なく8月、9月の台風に豪雨で例年並の雨量となった。

栽培試験は、ミシマサイコ、ニッケイ属植物、ウコン属植物について行った。系統保存植物としては、インドジャボク属植物、ウコン属植物、ニッケイ類、ココノキ、キナ、ステビア、及びクミスクチンなどである。

1. ウコンの栽培法の検討

南西諸島における栽培法を確立するために、入手可能な4系統の(ジャワ、インドネシア、台湾、当场保存株)を用いて、昨年度に引き続き調査した。

生育は台湾系及び当场保存株が良好で、インドネシア、ジャワ系はやや劣った。

2. ニッケイ属植物の栽培法の検討

南九州及び南西諸島における栽培法を確立するために3種類(ニッケイ、セイロンニッケイ、シナニッケイ)を栽培し調査した。セイロンニッケイはビニールハウス内露地植えて、6年生で樹高2~2.5m、幹径4.5~5.0cm、シナニッケイは10年生で3.4m、幹径5.0cmで、ニッケイについては継続調査中である。

またシナニッケイは22粒が採種出来たので、播種し初期生育調査した。樹高3.4~7.8cmで葉数は3~12枚であった。

業務成績

1. 薬用植物自生地調査

種子島に自生するクスノキ属、ハナミョウガ属、ハマボウフウ、クサスギカズラ及びハマゴウ等の分布を調査し、採取した。採取した一部を筑波薬試に栽培依頼した。

2. 交換用種子の採種

島内全域を調査し完熟した種子152種を採種し、筑波薬試に送付した。

3. その他

本年見学者は1142名で標本園及び温室を中心に見学させ薬用植物の知識の普及をはかった。

研究業績

1. ミシマサイコの優良系統の選抜(科学技術庁特別研究)

1) 隔離栽培法の検討

55年及び56年に蒐集したミシマサイコの系統保存のため、2つの隔離法で実験した。

針植えの植物を寒冷沙で覆う方法及び遠隔地に植栽して、保存する方法を検討した。その結果寒冷沙で覆ったものは生育が不均一で、結実が悪く、採種の出来ない系統もあった。一方遠隔地植栽区は生育も結実も良好であったが、台風及び除草等に労力がかかった。今後は交雑しない、最短距離で隔離し、防風雨及び除草が効率的に出来る地域を選ぶ必要がある。

2) 系統別特性試験

えびの高原(宮崎県)、平尾台(福岡県)、高知市、秋吉台(山口県)の特性調査を行った。平尾台及び高知産の植物は葉が従来栽培種とは異なる形態を示した。

1 Antitumor Activity of 2-Acylamino-1,3,4-thiadiazoles and Related Compounds

Michiko MIYAHARA, Masahiro NAKADATE, Shoko SUEYOSHI, Masayuki TANNO, Makoto MIYAHARA and Shozo KAMIYA: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4402 (1982)

2-Nitrosoureido-1,3,4-thiadiazole 類はマウスリンパ様白血病 L1210 とラット腹水肝癌 AH13 の両腫瘍に対し有効であった。2-Acylamino-1,3,4-thiadiazole 類は L1210 に対してだけ有効であった。2-Acylamino-1,3,4-thiadiazole 類の抗 L1210 作用は Nicotinamide の投与により失活することがわかった。2-Acylamino-1,3,4-thiadiazole 類は Nicotinamide と拮抗して NADPH の合成を妨げ、Guanosine monophosphate 生合成経路の中の Inosine monophosphate から Xanthosine-5'-phosphate への変換の過程に影響を及ぼして抗腫瘍効果を発揮することがわかった。2-Propanoylamino-1,3,4-thiadiazole は L1210 に最大 T/C% 166 を示し、特に有効であった。

2 Nitrosation of 1,3-Diaryleureas with Nitrosyl Chloride, Dinitrogen Trioxide and Dinitrogen Tetroxide in Dimethylformamide

Makoto MIYAHARA, Shozo KAMIYA and Masahiro NAKADATE: *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 41 (1983)

1,3-ジアリル尿素類 [R-C₆H₄-NHCONH-C₆H₄-R'] をニトロシルクロライド、三酸化二窒素、四酸化二窒素でニトロ化する、相当する N-ニトロソジアリル尿素類 [R-C₆H₄-N(NO)CONH-C₆H₄-R'] が 59~96% の収率で得られた。ただし、1,3-ビス(4-メトキシフェニル)尿素 [*p*-CH₃O-C₆H₄-NHCONH-C₆H₄-*p*-OCH₃] は相当する N-ニトロソ体は得られず、オルト位がニトロ化された1,3-ビス(4-メトキシ-2-ニトロフェニル)尿素が得られた。

3 Thermal Decomposition of 1,3-Diaryl-1-nitrosoureas in Benzene

Makoto MIYAHARA and Shozo KAMIYA: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 3466 (1982)

数種の N-ニトロソジアリル尿素類 [R-C₆H₄-N(NO)CONH-C₆H₄-R'] をベンゼン中で熱的に分解し

たところ、脱ニトロソ尿素体 [R-C₆H₄-NHCONH-C₆H₄-R'] (12~13%)、ベンゼン誘導体 [R-C₆H₅] (5~7%)、ビフェニル [R-C₆H₄-C₆H₅] (25~53%)、及び再生したジアリル尿素類 [R'-C₆H₄-NHCONH-C₆H₄-R'] (32~45%) が得られた。これらの結果と化学的、分光学的手法により、N-ニトロソジアリル尿素類はフェニルカルバミン酸フェニルジアゾエステル [R-C₆H₄-N=N-O-CO-NH-C₆H₄-R'] を経て、フェニルジアゾニウムイオン [R-C₆H₄-N₂⁺] やフェニルイソシアネート [R'-C₆H₄NCO] を生じ、更に、二次生成物に変化することを明らかにした。

4 Syntheses of Arylcyanotriazenes and Related Compounds

Masayuki TANNO, Shoko SUEYOSHI and Shozo KAMIYA: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 3125 (1982)

ある種のアルキルアリルtriazen類が制癌効果を示すことから、アルキルアリルシアノtriazen類を合成することを目的として、アリルシアノtriazenのカリウム塩のジメチル硫酸によるメチル化を検討した。その結果、メタノール中では、シアノtriazenの N¹ 位だけにメチル化が起こった。一方、塩化メチレン中、ジシクロヘキシル-18-クラウンエーテルの存在下では、N¹ 位または N³ 位にメチル化が生じ、2種の異性体 (1-アリル-3-シアノ-1-メチルtriazen及び 1-アリル-3-シアノ-3-メチルtriazen) を与えたが、アリのパラ位に電子供与基がついた場合には、N³ 位の異性体を得ることはできなかった。これらの事から、電子求引基を有する時には、クラウンエーテルとカリウムイオンがコンプレックスを生成することによってシアノtriazenのアニオンは非局在化すると推定される。更に、アルキルシアノtriazenのパラ位の置換基定数とシアノ基の炭素のケミカルシフトとの間に直線関係がみられた。

5 Pharmacological Properties of Codeine-7,8-oxide (Codeine Epoxide), a New Metabolite of Codeine

Issei TAKAYANAGI,*¹ Fukio KONNO,*¹ Naoki MIYATA, Keizo WATANABE*² and Masaaki HIROBE*²: *Japan. J. Pharmacol.*, **32**, 387 (1982)

すでに我々は、コデインの7,8位エポキシ誘導体、すなわちコデイン-7,8-オキシドがコデインの新活性

代謝物であることを明らかにしている。今回、ウィスター系雄性ラットを使用し、コデイン-7,8-オキシドの薬理作用を精査し、エポキシドがコデインより約2倍強い鎮痛作用を有すること、耐性形成の程度がコデインやモルヒネに比べて有意に小さいこと、身体依存性形成も少ないことを明らかにした。

以上の知見は、コデインの7,8-オキシドへの代謝変換が鎮痛作用を増強し、しかも好ましくない副作用を減弱することを示す。

*1 東邦大学薬学部, *2 東京大学薬学部

6 Some Pharmacological Properties of Morphine-7,8-oxide (Morphine Epoxide)

Issci TAKAYANAGI,*1 Reiko SHIBATA,*1 Fukio KONNO,*1 Naoki MIYATA and Masaaki HIROBE *2: *J. Pharm. Dyn.*, 5, 505 (1982)

モルヒネの7,8-エポキシ誘導体(モルヒネ-7,8-オキシド, 日本特許, 公開 昭57-2288)の薬理作用をウィスター系雄性ラットを用いて検討した。その結果, モルヒネ-7,8-オキシドはモルヒネと同程度の抗侵害作用(鎮痛作用)を有するが, 連続投与による耐性形成が非常に小さいこと, また体重の減少を指標とした身体依存性形成(モルヒネの代替効果)も明らかに少ないことなどから, モルヒネ-7,8-オキシドが有効な薬物となりうる可能性が明らかとなった。

*1 東邦大学薬学部, *2 東京大学薬学部

7 Photoaffinity Labeling of Opioid Receptor with Morphine-7,8-oxide (Morphine Epoxide)

Issci TAKAYANAGI,*1 Reiko SHIBATA,*1 Naoki MIYATA and Masaaki HIROBE*2: *J. Pharmacol. Method*, 7, 185 (1982)

モルヒネ-7,8-オキシドがモルヒネ受容体に直接作用していることはすでに明らかにしている。今回, 光照射下で, モルヒネ-7,8-オキシドによりモルモット摘出回腸を前処置すると, モルヒネによる回腸の電気刺激に対する twitch 反応が非可逆的に阻害されることを見出した。ε-受容体や κ-受容体を用いた実験ではこのような現象は起きない。それゆえ, モルヒネ-7,8-オキシドは, モルヒネの μ-受容体に対する特異的な光化学的親和標識化合物として有用であることが明らかとなった。

*1 東邦大学薬学部, *2 東京大学薬学部

8 Rectal Absorption of Nitroglycerin in the Rat: Avoidance of First-Pass Metabolism as a Function of Rectal Length Exposure

Akira KAMIYA,* Hiroyayu OGATA and Ho-Leung FUNG*: *J. Pharm. Sci.*, 71, 621 (1982)

ニトログリセリンを経口投与すると, 肝臓での first-pass effect により, その大半は代謝され, 体内循環血中には投与量の数%しか到達しない。他方, 直腸投与では, その first-pass effect を回避出来るとの指摘がある。そこで, ラットを用いたニトログリセリンの直腸投与実験を行った。直腸投与(3.5 mg/kg)での bioavailability は $26.7\% \pm 7.0\%$ で, 経口投与の bioavailability ($1.8 \pm 0.9\%$) とくらべ高くなったが, なお, first-pass effect の関与が考えられた。そこで, 直腸投与の際に投与液が拡散しない様にした方法で投与したところ, 投与部位を肛門から 3.5 cm に固定した場合の bioavailability は $83.5 \pm 74.5\%$, 又, 2 cm の場合は $91.2 \pm 30.4\%$ の値を示し, 肛門部近くの直腸に部位を限った場合に first-pass effect を回避出来ることがわかった。

* School of Pharmacy, State University of New York at Buffalo

9 Comparative Studies on Bioavailabilities of Griseofulvin, Diazepam, Nalidixic Acid, Indomethacin and Pyridoxal Phosphate from Their Products in Humans and Beagle Dogs

Akira EJIMA, Hiroyasu OGATA, Toshio SHIBAZAKI, Nobuo AOYAGI, Nahoko KANIWA, Yasushi WATANABE,* Naoichi HAYASHI,* Masayoshi ARUGA,* Iwao AMADA,* Kaname SUWA,* Sadao BESSHO,* Yu IMAZATO,* Yasushi TAKAGISHI,* Tsugio SHIMAMOTO,* Masayoshi SAMEJIMA* and Toshiyuki KITAUURA*: *J. Pharm. Dyn.*, 5, S-68 (1982)

同数(10-12)のヒト及びビーグル犬を対象に, 物性及び剤型が異なる5種の薬剤, グリセオフルビン素錠, ジアゼパム素錠, ナリジクス酸素錠, インドメタシンカプセル, リン酸ピリドキサル腸溶錠について生物学的同等性試験を行い, ビーグル犬の有用性について検討を行った。ヒトとイヌの間ではいくつかの製剤で異なる結果が得られたが, これらはヒトとイヌの生理的な差, 特に薬物の消化管内通過速度, 胃内容排出速

度に起因していることが示唆された。

* 厚生省生物学的同等性研究班

10 Bioavailability of Griseofulvin from Tablets in Humans and the Correlation with its Dissolution Rate

Nobuo AOYAGI, Hiroyasu OGATA, Nahoko KANIWA, Masanobu KOIBUCHI, Toshio SHIBAZAKI and Akira EJIMA: *J. Pharm. Sci.*, **71**, 1165 (1982)

グリセオフルビンの市販微粒子錠 3 銘柄及びポリエチレングリコール分散型超微粒子製剤 1 種の 4 製剤を用い、ヒトにおける生物学的同等性試験及び溶出試験を行い、両者間の相関性について調べた。薬物投与後の最高血中濃度 (C_{max}) における製剤間の最大の差は約 40% で、超微粒子製剤は予想以上に低い値 (最高の製剤より 25% 劣る) を示した。

製剤間の統計的な有意差は C_{max} , $AUC_{0-47.5hr}$ にみられたが、 T_{max} , $AUC_{0-\infty}$ にはみられなかった。これら *in vivo* パラメータは錠剤を少量の水とプラスチックビーズで前処理する方法で求めた溶出速度とのみ良く相関し、生体内における薬物溶出機構の複雑さが示唆された。

11 Bioavailability of Griseofulvin from Tablets in Beagle Dogs and Correlation with Dissolution Rate and Bioavailability in Humans

Nobuo AOYAGI, Hiroyasu OGATA, Nahoko KANIWA, Masanobu KOIBUCHI, Toshio SHIBAZAKI, Akira EJIMA, Noriyasu TAMAKI,* Hidetaka KAMIMURA,* Yoshio KATOUGI* and Yukio Omi*: *J. Pharm. Sci.*, **71**, 1169 (1982)

ヒトで用いた 4 種のグリセオフルビン製剤について、12 頭のビーグル犬を用い生物学的同等性試験を行い、ヒトの結果と比較した。市販微粒子 3 製剤については、ヒトとイスの同等性試験の結果が良く一致し、*in vivo* パラメータ間の相関性も良かったが、ポリエチレングリコール分散型超微粒子製剤においては、ヒトでは吸収速度が小さかったのに対してイスでは吸収速度が大きいという結果が得られた。これは *in vitro* におけるこれらの製剤の溶出挙動から類推して、イスはヒトより製剤を崩壊・分散させる力が強いと考えられる。

* 山之内製薬研究所

12 Correlation of the bioavailability of diazepam from uncoated tablets in beagle dogs with its dissolution rate and bioavailability in humans

Hiroyasu OGATA, Nobuo AOYAGI, Nahoko KANIWA, Masanobu KOIBUCHI, Toshio SHIBAZAKI, Akira EJIMA, Tsugio SHIMAMOTO,* Takashi YASHIKI,* Yasusuke OGAWA,* Yoshiaki UDA* and Yoko NISHIDA*: *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, **20**, 576 (1982)

ヒトでの試験に用いたのと同じ製剤を用いてビーグル犬で Bioavailability 試験を行った。ヒトにおいては吸収の速度においてのみ、製剤間の差が認められたのに対し、イスでは速度と共に吸収量においても製剤間の差が認められた。しかし、投与初期の血中濃度以外の Bioavailability のパラメータについてはヒトとイスで製剤間の順位が異なった。又、ヒトとイスの間で有意な相関性を示したパラメータはなかった。

イスの胃液酸度は中性付近の値を示すため、イスの Bioavailability パラメータとよく相関した関係を示した *in vitro* 溶出速度は、pH 1.2 で測定したものでなく、pH 4.6 で測定したものであった。

* Takeda Chemical Industries, Ltd.

13 The bioavailability of flufenamic acid and its dissolution rate from capsules

Nahoko KANIWA, Hiroyasu OGATA, Nobuo AOYAGI, Toshio SHIBAZAKI, Akira EJIMA, Yasushi WATANABE,*¹ Kiyoshi MOTOHASHI,*² Kunihiko SASAHARA,*³ Eiichi NAKAJIMA,*³ Tadashi MORIOKA*³ and Takashi NITANAI*³: *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, **21**, 56 (1983)

市販フルフェナム酸カプセル 5 製剤について、ヒト及びビーグル犬で生物学的同等性 (BE) 試験を行い、又種々の溶出試験をも行った。Bioavailability が標準製剤に比べて有意に低い製剤がヒト試験にもビーグル犬試験にも存在したが、その銘柄は両試験間で異なっていた。従って両試験の結果の間の相関性はあまりよくなかった。酸性溶液中で前処理を行った場合の溶出試験における溶出速度は、ヒト BE 試験の結果と良い相関性を示した。

*¹ 国立療養所東京病院薬剤科, (現) 明治薬科大学,

*² 国立療養所東京病院薬剤科, (現) 国立国府台病院, *³ 三共株式会社

14 **Enhanced Rectal Bioavailability of Polypeptides Using Sodium 5-Methoxysalicylate as an Absorption Promotor**

Sumie YOSHIOKA, Larry CALDWELL* and Takeru HIGUCHI*: *J. Pharm. Sci.*, **71**, 593 (1982)

Pentagastrin 及び Gastrin の直腸投与における Sodium 5-methoxysalicylate の吸収促進効果をラットで検討した。Bioavailability は静注投与時との薬理効果の比較によってあらわした。Sodium 5-methoxysalicylate は、モデルポリペプチドとの同時投与によってその直腸吸収を促進し、ポリペプチド製剤の新しいタイプの吸収促進剤となりうる事が示された。

* Department of Pharmaceutical Chemistry, University of Kansas

15 **Stability of Solid Dosage Forms. I. Hydrolysis of Meclofenoxate Hydrochloride in the Solid State**

Sumie YOSHIOKA, Toshio SHIBAZAKI and Akira EJIMA: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 3734 (1982)

塩酸メクロフェノキサート(MF)の固体状態における加水分解機構を温湿度の影響の観点から検討した。分解速度は、初期には時間に関してべき関数であらわされたが、後半は1次速度式に従った。MFの分解は、固体表面における固気相反応で始まり、つづいて吸湿性の高い分解物(塩酸ジメチルアミノエタノール)の生成とともに固体表面に形成される吸着水層中での溶液相反応によって進むことが示された。

16 **クロマトグラフ法による製剤の試験法について**
松田りえ子, 立沢政義, 江島 昭: 医薬品研究, **14**, 37 (1983)

高速液体クロマトグラフ法による解熱鎮痛剤配合製剤の定量法を確立した。

錠剤中のアスピリンは、メタノール・リン酸混液(100:0.2)で抽出し、オクタデシルシランを充てん剤として、移動相にメタノール・リン酸(1→1000)混液(40:60)を、内部標準にエチルパラベンを、又、測定波長に280nmを用いて定量する。分解物として共存するサリチル酸は同時にけい光検出器(励起波長310nm, けい光波長400nm)を用いて定量する。

坐剤中のアスピリンは、温時メタノールで抽出し、冷後析出した基剤を除去して上記の方法で定量する。別法として、クロロホルムで基剤と共に溶解し、シリ

カゲルを充てん剤とし、移動相にクロロホルム・酢酸混液(99.2:0.8)、内部標準にプロピルパラベンを用いて定量する。

17 **医薬品迅速分析法—グルタチオン錠および注射用グルタチオン**

立沢政義: 月刊薬事, **25**, 83 (1983)

グルタチオンは肝疾患、薬物・自家・妊娠中毒、アレルギー症、白内障の進行防止などの治療薬としては用いられている。その製剤の品質管理上の試験法として滴定法による定量が行われているが、この方法では酸化防止剤などが配合された場合妨害となる。我々は製剤中の本品の高速液体クロマトグラフ法による迅速分析法を確立した。試料にアスコルビン酸溶液及び内部標準溶液(D-フェニルグリシン)を加えて遠心分離した上澄液について、オクタデシルシランを充てん剤とし、移動相にpH3のリン酸塩緩衝液(ヘプタンスルホン酸0.2%含有)・メタノール混液(97:3)を、測定波長に210nmを用いて定量する。本法によれば、添加剤や酸化型グルタチオンなどの分解物の妨害なくグルタチオンの定量が可能である。

18 **Determination of Corticoids using Pyrorole. IV. Fluorometric Determination of Cortisol in Serum**

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2228 (1982)

血清中のコルチゾール(CS)の定量にCSの17位の側鎖を酢酸銅で酸化してケトアルデヒドとした後、ピロールと反応させるけい光定量法を確立した。CSの0~50ngの範囲においてけい光強度との間に原点を通る直線性が成立した。この方法をヒト血清中のCSの定量に応用し、得られた値(x)をラジオイムノアッセイ法で得られた値(y)と比較検討した。両者の方法での14検体のCS濃度は6.78~14.56μg/dlの範囲にあり、その回帰方程式は $y=1.29x-0.44$ で、相関係数は0.967であった。

19 **液体クロマトグラフ法による糖質コルチコイドの定量 I. プレドニゾロン含有軟膏及び坐剤への応用**

徳永裕司, 木村俊夫, 川村次良: 医薬品研究, **14**, 31 (1983)

軟膏及び坐剤中に含まれるプレドニゾロンを高速液体クロマトグラフ(HPLC)法で定量することを検討

した。軟膏等から溶媒抽出した液を直接充てんカラムに注入して分離定量する場合、溶解した軟膏基剤等のため HPLC カラムの目づまり、劣化が激しくなる。そのため、基剤等の除去にシリカゲルカラムを使ったプレスクリーニング後、得られた溶離液を HPLC 法で定量する方法を確立した。

この方法を市販の軟膏等に適用し、得られた定量値をけい光定量法と比較した。両者の定量値の間には良好な一致が認められた。

20 高速液体クロマトグラフィーによるインシュリン製剤の分析

太田美矢子, 徳永裕司, 木村俊夫, 佐藤 浩,
川村次良: 薬誌, 102, 1092 (1982)

最近、逆相充てん剤を用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によるインシュリンの分離の報告は多いが、市販製剤を定量した例はほとんどない。著者らは、逆相充てん剤としてスクレオシル 5CN を、移動相としてアセトニトリル・水・酢酸(33:67:2) 混液に 20 mM のオクタンスルホン酸ナトリウムを加えたものを用い、市販製剤を HPLC 法で定量するための条件を検討し、製剤の定量を行った。

7 製剤を定量した結果は、表示単位 40 IU/ml に対して、測定値は 37.9—41.2 IU/ml で、変動係数も 0.83—2.10% (n=3) と良好な値を得た。

21 Sorbitol Pathway in Lenses of Normal and Diabetic Rabbits

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA and
Jiro KAWAMURA: *Chem. Pharm. Bull.*, 31, 204
(1983)

正常及びアロキサン糖尿家兎の水晶体中の各種単糖類含量、及びソルビトール経路を構成する酵素(アルドース還元酵素とソルビトール脱水素酵素)の活性量を測定した。糖尿家兎水晶体中のソルビトール、フルクトース含量は正常家兎のそれに比べて著しく増加しており、*myo*-イノシトール含量は著しく減少していた。酵素活性量は正常及び糖尿家兎の間に有意の差は認められず、酵素活性量は糖尿状態には影響されなかった。しかし、アルドース還元酵素の水晶体内での分布は正常家兎と糖尿家兎とで異なり、糖尿家兎では核内の分布量が減少し、上皮組織及び皮質部分の分布量が増加した。

22 Carboxylation and pH Profiles of Kinetic Parameters of 20 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase from *Streptomyces hydrogenans*

Tsuyoshi TANIMOTO, Takao HAYAKAWA,
Hideo FUKUDA and Jiro KAWAMURA: *Chem. Pharm. Bull.*, 30, 2874 (1982)

20 β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素にヒスチジン残基(His)の修飾剤であるジエチルピロカーボネート(DEPC)を作用させると、酵素1分子当り2分子のHisが修飾されて失活した。反応動力学的パラメータのpH依存性の検討からも本酵素の活性発現にHisの関与していることが示唆された。DEPCで修飾されたHisは徐々に加水分解され、それに伴って活性は回復してきた。この活性回復は基質であるステロイドには影響されなかったが、補酵素であるNADHによって抑制された。これらのことから、本酵素の活性発現に関与しているHisは補酵素結合部位あるいはその近傍に局在しているものと推察した。

23 Studies on the Mechanism of Covalent Binding of Morphine Metabolites to Proteins in Mouse

Kunisuke NAGAMATSU, Yasumasa KIDO,
Tadao TERAU, Takashi ISHIDA* and Satoshi
TOKI*: *Drug Metab. Dispos.*, 11, 190 (1983)

[N-¹⁴CH₃, C-6-³H] 標識モルヒネを用いて、マウスにおける代謝実験を行った。

皮下投与後の体内分布を検討した結果、¹⁴C放射能は³H放射能に比べて排泄が遅く、生体高分子と酸不溶性の結合物を形成することが判明した。[N-¹⁴CH₃, C-6-³H]モルヒネを投与したマウスの肝タンパク質を酵素的に消化し、タンパク質と共有結合的に結合した代謝物を検索した結果、モルヒノン-システイン抱合体を検出した。肝可溶性画分中で、モルヒネはモルヒノンに代謝され、更にグルタチオンと反応し、モルヒノン-グルタチオン抱合体に変化することが認められた。

* 福岡大学薬学部

24 Effect of Morphinone on Opiate Receptor Binding and Morphine-elicited Analgesia

Kunisuke NAGAMATSU, Yasumasa KIDO,
Tadao TERAU, Takashi ISHIDA* and Satoshi
TOKI*: *Life Sci.*, 31, 1451 (1982)

モルヒネの代謝物であるモルヒノンのオピエートレ

セプターに対する反応性並びにモルヒネ鎮痛活性に及ぼす影響について検討した。

モルヒネはオピエートレセプターへの³H 標識ナロキソンの結合を阻害することが認められた。又、モルヒネで前処置したマウスではモルヒネの鎮痛活性を阻害することが判明した。この機序は、モルヒネがSH化合物と高い反応性を示すため、レセプター中に存在するSH基と不可逆的に結合し、レセプターを不活性化するため、鎮痛作用発現が阻害されるものと考えられる。

* 福岡大学薬学部

25) *In vivo* and *In vitro* Metabolism of 2-Methylnaphthalene in the Guinea Pig

Reiko TESHIMA, Kunisuke NAGAMATSU, Hideharu IKEBUCHI, Yasumasa KIDO and Tadao TERAO: *Drug Metab. Dispos.*, **11**, 152 (1983)

モルモットでの2-メチルナフタレン(2-MN)の代謝を*in vivo*及び*in vitro*の両方で検討した。モルモットでの2-MNの排泄は速く、最初の24時間で経口投与された³H]-2-MNのおよそ80%が種々の代謝物の形で尿中に排泄され、およそ10%が糞中に排泄された。尿中の主な代謝物は、2-MNのメチル基の酸化された代謝物(ナフト二酸と、そのグリシン及びグルクロン酸抱合体)で、全尿中代謝物中の76%に相当した。minorな代謝物として、S-(7-Methyl-1-naphthyl)-cysteinと7-Methyl-1-naphtholのグルクロン酸及び硫酸抱合体が同定された。

*In vitro*の代謝物としては、S-(7-Methyl-1-naphthyl)-glutathioneの存在が示された。又、2-MNを500 mg/kgの割合でモルモットに経口投与すると、肝臓中のTCA可溶性のSH化合物の量が低下した。

26) Purification and Some Properties of a Cyclic AMP-Binding Protein from Human Erythrocyte Membranes

Kazuhiro SUZUKI, Sumiko SUZUKI,* Tadao TERAO and Toshiaki OSAWA*: *J. Biochem.*, **92**, 845 (1982)

Cyclic AMP (cAMP) 結合蛋白質をヒト赤血球膜から、0.3% Triton X-100, 10 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 7.4), 4° で可溶化し、DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィー及びcAMPの誘導体をセファロース4Bに固定したカラムを使ったアフィニティークロマトグラフィーで精製した。

精製したcAMP結合蛋白質はSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動で単一のバンドを与え、分子量は49000と推定された。またそれは、cAMPの光化学標識用アナログである、8-N₃-[³H]cAMPで特異的に標識された。

この蛋白質は分子当たり1.6モルのcAMPを結合し、その結合定数は $3.8 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、結合の至適pHは7.4であった。また、この蛋白質はヒト赤血球膜から精製したある種の蛋白質リン酸化酵素(K. SUZUKI, T. TERAO, and T. OSAWA: *J. Biochem.*, **89**, 1(1981))を阻害したが、その酵素活性はcAMPにより回復した。この蛋白質のアミノ酸組成は水溶性のcAMP結合蛋白質のそれとは異なっていた。

これらの結果から、本研究で精製したcAMP結合蛋白質は、膜結合性のcAMP依存性蛋白質リン酸化酵素の調節サブユニットと考えられた。

* 東京大学薬学部

27) Studies on Endogenous Phosphorylation of Chicken Erythrocyte Membranes. Calcium-dependent Phosphorylation of Specific Proteins

Sumiko SUZUKI*, Kazuhiro SUZUKI, Motowo NAKAJIMA,* Tadao TERAO and Toshiaki OSAWA*: *Biochim. Biophys. Acta*, **692**, 263 (1982)

ニワトリ赤血球膜のリン酸化反応について検討した。この膜蛋白質は、ミリモル濃度のマグネシウムイオンが存在する生理的条件下で、膜内在性の蛋白質リン酸化酵素により短時間のうちにリン酸化された(1/2最大反応時間は30秒)。外来性基質としては、プロタミンが最も速くリン酸化され、ヒストン、カゼイン、牛血清アルブミンは良い基質ではなかった。サイクリックヌクレオチドは膜内在性の反応には効果がなかった。EGTAは分子量43000の膜蛋白質のリン酸化を阻害したが、この阻害はEGTAと等量のカルシウムイオンを添加することにより回復した。更に、カルモジュリンの阻害剤であるトリフルオペラジンもEGTAと同一の効果を有していた。リン酸化された分子量43000の蛋白質は、高塩濃度条件で膜から可溶化され、抗アクチン抗体で特異的に沈降した。これらの結果から、ニワトリ赤血球膜のアクチン様蛋白質(分子量、43000)のリン酸化反応は、膜結合性の蛋白質リン酸化酵素により、カルシウムイオン及びカルモジュリン依存性に起こることが示唆された。

* 東京大学薬学部

28

3-Aminopropyltriethoxysilane 処理薄層クロマトグラフィー用プレートの評価。ニンジンエキス分析への応用

野口 衛, 岡本光美*¹, 山田不二造*¹, 松井建次*²: 薬誌, 102, 1099 (1982)

3-Aminopropyltriethoxysilane(3APTS) 処理薄層プレートを自製し, ニンジンサポニン5種を分離(展開溶媒: CHCl₃-BuOH-MeOH-水, 40:20:30:10), クロマトスキャナーにより市販ニンジンエキス5品目中の含量を測定した。

3APTS を処理すると未処理プレートを用いた場合に比べ定量精度が良くなるが, これは処理プレートにおいてはプレートの活性化の相違による影響がほとんどないためと思われる。

*¹ 岐阜県衛生研究所, *² 一丸ファルコス(株)

29

漢方製剤の薬剤学的品質評価をめぐって—とくに黄連甘草配合製剤を中心に—

野口 衛: 現代東洋医学, 3(3), 102 (1982)

漢方煎剤の調製時に黄連中のベルベリン形アルカロイドと大黄中のタンニン様物質あるいは甘草中のグリチルリチンがイオン性の結合物を生成することを見出し, この生成物の化学構造・結合様式を明らかにするとともに, その漢方薬剤学的な意義について考察した。なお, アルカロイドとグリチルリチンの沈殿反応はアルカロイドの化学構造及び pKa と密接に関係し, 漢方で繁用される生薬のうち, 黄連・黄柏以外には, 呉茱萸・延胡索が沈殿反応陽性であるのに対し, 麻黄・防己・附子などはまったく沈殿を生成しなかった。

30

Studies on Pharmaceutical Quality Evaluation of Crude Drug Preparations Used in Oriental Medicine "Kampo" V. Physico-chemical Properties of the Ion-pair Compound of Berberine and Glycyrrhizin Formed in Kampo Decoctions Prepared from Glycyrrhiza Root and Coptis Rhizome

Mamoru NOGUCHI and Yōhei HASHIMOTO*: *Shoyakugaku Zasshi*, 37, 56 (1983)

黄連甘草配合漢方煎剤中で生成する沈殿の主成分はベルベリン(B), コプチシン, パルマチン及びグリチルリチン(G)であり, 煎剤の調製直後にガーゼろ過した場合には, 懸濁状の析出物の大部分はろ液中に移行するが, 放置時間が長くなると析出物が成長し, ろ過

時に大部分が除去された。これは, アルカロイドとGの反応物の水への溶解度が温度により大きく変化するためである。

上記沈殿のモデル化合物 B₂G は pH 6.0以上で溶解度が急激に増大する。B は, 単独ではすべての pH 領域で 1-octanol 層に分配されないが, Gの共存下では pH 5.5 付近で容易に有機層に転溶する。又, 黄連甘草配合煎剤の pH は 5.5 付近で, 強い緩衝能を有している。

以上の結果から, 従来, 単独では消化管から吸収されないと言われていたB及びGがイオン対形成により吸収促進される可能性が示唆される。

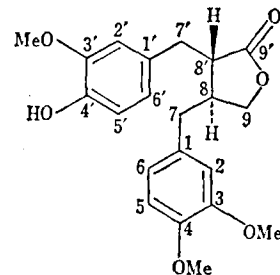
* 神戸女子薬科大学

31

(+)-Arctigenin, A Lignan from *Wikstroemia indica*

Hideyo SUZUKI, Kuo-Hsiung LEE,*¹ Mitsumasa HARUNA,*² Toshiyuki IIDA,*² Kazuo IRO*² and Huan-Chang HUANG*³: *Phytochemistry*, 21, 1824 (1982)

Wikstroemia indica C. A. Mey の全草から新しい lignan を単離した。本化合物は従来既知の Arctigenin のエナンチオマーであり, (+)-Arctigenin と仮称して発表した。



*¹ School of Pharmacy, University of North Carolina, U. S. A.

*² 名城大学薬学部

*³ School of Pharmacy, Kaohsiung Medical College, Taiwan

32

Antitumor Agents 60. Maytansine, An Antileukemic Principle from *Maytenus diversifolia*

Kuo-Hsiung LEE,*¹ Hiroshi NOZAKI,*¹ Iris H. HALL,*¹ Ryoji KASAI,*¹ Teruhisa HIRAYAMA,*¹ Hideyo SUZUKI, Rong-Yang WU*¹ and Huan-Chang HUANG*²: *J. Natural*

Products, 45, 509 (1982)

台湾産 *Maytenus diversifolia* の地上部のメタノールエキスは BDF₁ マウスの p-388 リンパ性白血病に対し、強い作用を示したので、その成分検索を行った。その結果、抗腫瘍活性を持つ ansa macrolide 型の Maytensine を、乾燥植物から 0.00002% の収率で単離した。

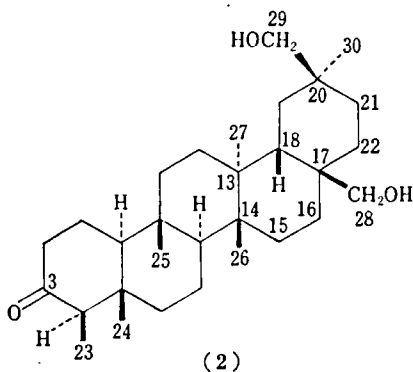
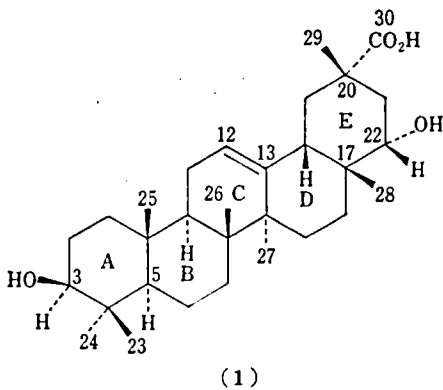
*1 School of Pharmacy, University of North Carolina, U. S. A.

*2 School of Pharmacy, Kaohsiung Medical College, Taiwan

33 **Structure and Stereochemistry of Maytenfolic Acid and Maytenfoliol, Two New Antileukemic Triterpenes from *Maytenus diversifolia***

Hiroshi NOZAKI,*¹ Hideyo SUZUKI, Kuo-Hsiung LEE*¹ and Andrew T. McPHAIL*²: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1982, 1048

M. diversifolia の地上部から二種類の新しいトリテルペンを単離し、化学的構造変換、スペクトルデータ並びに X線解析の結果、化学構造式を下図のように決定し、それぞれ Maytenfolic acid (1), Maytenfoliol (2) と仮称した。いずれも BDF₁ マウスの p-388 リンパ性白



血病に対し有意な抑制効果 (T/C ≥ 120%) が認められた。又、2 は *in vitro* の KB 細胞に毒性 (ED₅₀ = 4.56 μg/ml) を示した。

*1 School of Pharmacy, University of North Carolina, U. S. A.

*2 Paul M. Gross Chemical Laboratory, Duke University, U. S. A.

34 **Chaetoglobosins, Cytotoxic 10-(Indol-3-yl)-[13]cytochalasans from *Chaetomium* spp. IV. ¹³C-Nuclear Magnetic Resonance Spectra and Their Application to a Biosynthetic Study**

Setsuko SEKITA, Kunitoshi YOSHIHARA and Shinsaku NATORI: *Chem. Pharm. Bull.*, 31, 490 (1983)

天然に得られた 8 種の Chaetoglobosin A~G, J の ¹³C-NMR を測定し、すべての炭素シグナルを帰属した。 *Chaetomium globosum* に [1-¹³C]-, [2-¹³C]-, [1, 2-¹³C₂]-acetate, [¹³C-methyl]-L-methionine, [1-¹³C]-, [2-¹³C]-DL-tryptophan を投与した結果、Chaetoglobosins は、tryptophan 1 モル、acetate/malonate 9 モル、C₁ 単位 1 モルから生合成されることを明らかにした。

35 **家庭用品による接触皮膚炎の原因化学物質の追求 (第一報) 作業用ゴム手袋中の N-Isopropyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine について**
鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 石原 勝* : *衛生化学*, 28, 137 (1982)

作業用厚手ゴム手袋による男性作業員のアレルギー性接触皮膚炎の原因化学物質を追求した。患者の使っていた手袋のうち、ゴム手袋のみに患者は陽性を示した。ゴム添加剤のパッチテストでは N-イソプロピル-N'-フェニル-p-フェニレンジアミン (IPPD) だけに陽性を示した。ガスクロマトグラフィー (GC) 及び GC・マススペクトロメトリーによって、手袋中に 177 μg/g の IPPD が検出された。これらの事実より、本例の原因物質は IPPD と推定した。

* 東邦大学医学部皮膚科学教室

36 **Mutagenicity of Bis- and Mono-(2,3-dibromopropyl) phosphate, and Their Salts Used as Flame Retardants, in the Salmonella/Microsome System**

Akitada NAKAMURA, Noriyuki TATENO*, Tomoko IWATA*, Shigeo KOJIMA, Masa-aki KANIWA and Taro KAWAMURA*: *Mutation Res.*, 117, 1 (1983)

合成して得た bis(2,3-dibromopropyl) phosphate (bis-BP) 及び mono(2,3-dibromopropyl) phosphate (mono-BP) の TA100 株による Ames テストを行った。bis-BP も mono-BP も S9 mix の存在で変異原性を示したが、tris(2,3-dibromopropyl) phosphate よりも非常に弱く、mono-BP 及び bis-BP が tris-BP の代謝活性化体とはいえない。防炎剤として使われた DB-1 及び DB-2 は mono-BP 及び bis-BP の混合物の Mg 塩及び NH₄ 塩である。純粋な mono-BP, bis-BP からそれぞれの Mg 塩及び NH₄ 塩を作り、変異原性を検討したところ、mono-BP でも、bis-BP でも、NH₄ 塩 > Mg 塩 > 遊離酸の順の強さであった。しかし、mono-BP の塩、bis-BP の塩、及びその混合物より DB-1 及び DB-2 が有意に強い変異原性を示したので、DB-1, DB-2 には他に強い変異原物質が存在することが疑われる。

* 横浜市衛生研究所

37 **合板・家具のホルムアルデヒドの発散性試験に関する基礎的検討**

小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 中村晃忠: *衛生化学*, 28, 205 (1982)

合板・家具から発散するホルムアルデヒドの測定法としてデンケータ法及びシャーレ法が使われている。しかし、両方法による測定値を統一的に解釈しうるものかどうか明確にされていなかった。その点について基礎的な検討を加え、次の結論を得た。

1) 発散は温度の上昇で指数関数的に増大するので、測定は恒温で行う必要がある。

2) 空間の大きさは測定値に影響を与えない。

3) 合板の面積 (S_p) が吸収液(水)の表面積 (S_w) に比べて充分大きい時、次式が成り立つ:

$$C_w W \approx (m/a_p) a_w S_w t$$

ただし、 $C_w W$ —水に吸収された HCHO 量

m —合板単位面積当りの HCHO 発散量

a_p, a_w —合板及び水への HCHO の吸収係数

t —放置時間

4) 上の式が成立する条件 ($S_p \gg S_w$) では、温度、水の量、放置時間を一定にすれば、測定値は空間の大きさにも、合板の表面積にも無関係で、 m/a_p という合板に固有な係数にのみ依存する。この場合には、合板についてのデンケータ法の測定値と、その合板でできた家具のシャーレ法による測定値とは等しくなるものと考えられ、両者を統一的に解釈することが可能である。

38 **山陰地方の温泉水中の ²³⁸U, ²³⁴U, ²²⁶Ra および ²²⁸Ra 含有量について**

亀谷勝昭, 村松年郎: *Radioisotopes*, 32, 18 (1983)

山陰地方三瓶山附近の温泉及び三朝温泉について、²³⁸U, ²³⁴U, ²²⁶Ra 及び ²²⁸Ra の分析調査を行った。三瓶山附近の温泉水の ²³⁸U 及び ²³⁴U 最大値は、それぞれ 0.44 Bq/l 及び 0.91 Bq/l を示し、²³⁴U/²³⁸U は 1.50~2.37 であった。又、²²⁶Ra 及び ²²⁸Ra の最大値は 1.95 Bq/l 及び 0.76 Bq/l であり、平均の ²²⁶Ra/²²⁸Ra は 0.49 であった。一方、三朝温泉では、²²⁶Ra 及び ²²⁸Ra の最大値は 0.60 Bq/l 及び 0.41 Bq/l であり、平均の ²²⁶Ra/²²⁸Ra は 0.55 であった。三朝温泉については、²³⁸U 及び ²³⁴U の分析は行わなかったが、²²⁶Ra の存在から温泉起源となる岩石にかなりのウランが存在することが予想された。また ²²⁸Ra/²²⁶Ra の値から考えると、三瓶山及び三朝温泉の温泉起源となる岩石には、いずれもトリウムが含まれることが予想された。

39 **化粧品学の最近の動向——特に衛生学的見地より**

垣原高志*1, 石田達也*2, 木嶋敬二: *衛生化学*, 28, 305 (1982)

我が国においては化粧品は薬事法で規制されているが、ここでは特に衛生学的見地から化粧品学の最近の動向を論述した。化粧品の機能効果に関しては皮膚科学的アプローチによる評価技術について述べ、毒性学的立場からは化粧品の安全性についての試験法、及び製品、原料などの安全性に関する文献を紹介し、微生物汚染に関する防止対策などを論述した。又、安全性に関しては経皮吸収という現象が特に重要であるので、これに関する文献について紹介するとともに、化学的立場から化粧品及びその原料の分析法を述べた。

*1 明治薬科大学

*2 北里大学

40) 低沸点有機塩素化合物の生成機構に関する研究
(II) フミン酸の塩素処理時におけるクロロホルム生成に対する共存金属の影響について

佐谷戸安好, 中室克彦, 石塚美恵子*, 入口政信*, 佐野 仁*, 頭木藤雄*: 水質汚濁研究, 5, (2), 83 (1982)

水道の塩素処理過程におけるトリハロメタン生成機構の解明の一環として, 低濃度フミン酸の塩素処理時におけるクロロホルム生成に及ぼす共存金属の影響について検討を行った。その結果, Fe^{2+} , Sn^{4+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , SeO_4^{2-} , $Cr_2O_7^{2-}$ は 3~100 mg/l 共存でもクロロホルム生成反応に影響を及ぼさないことを認めた。一方, Mn^{2+} , Co^{2+} , ScO_3^{2-} などはクロロホルム生成を抑制するが, Cu^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} はフミン酸の塩素処理によるハロホルム反応に対して触媒の効果を有し, クロロホルム生成量を増大させることを認めた。

* 川崎市衛生研究所

41) 低沸点有機塩素化合物の生成機構に関する研究
(III) フミン酸の塩素処理によるクロロホルムおよびクロロピクリンの生成機構について

佐谷戸安好, 中室克彦, 松井啓子: 水質汚濁研究, 5(3), 127 (1982)

フミン酸の塩素処理によって生成する未知低沸点有機塩素化合物を GC-MS で同定を行うとともに, これら物質の生成反応機構について, クロロホルム生成と関連して比較検討を行った。その結果, フミン酸の塩素化反応によって, クロロホルム以外にクロロピクリン及び四塩化炭素が生成することを GC-MS によって同定した。クロロピクリンはフミン酸の構成因子と考えられるアラニン, スレオニン, オルニチン, グルタミン酸, グリシンなどのアミノ酸, あるいはニトロ, ニトロソ-フェノール類, ニトロ, ニトロソ-レゾルシノール類, 及びニトロメタン, ニトロエタンなどの塩素化反応によって生成するが, 亜硝酸イオン共存時のフミン酸及びレゾルシノールの塩素化反応によっても生成することを認めた。

アラニンの塩素化反応によるクロロピクリンの生成機構は, アラニン分子中の $COOH$ 基が酸化的脱炭酸を起こし, 又, NH_2 基が NO_2 基に酸化され, ニトロメタンあるいはニトロエタン構造を経てクロロピクリンが生成すると考えられる。また, 亜硝酸イオン共存下におけるレゾルシノールの塩素化反応によるクロロピクリンの生成機構は, レゾルシノールが亜硝酸によってニトロソ化され, 生成したニトロソレゾルシノールが塩素によって酸化されニトロレゾルシノールが

ールが塩素によって酸化されニトロレゾルシノールができ, これから, レゾルシノールの塩素化反応によるクロロホルム生成反応と同様の経路を経て, クロロピクリンを生成すると考えられる。

42) 多摩川水系地下水中の低沸点有機塩素化合物の分布と塩素化反応生成物の消長について

佐谷戸安好, 中室克彦, 安藤正典, 石塚美恵子*, 佐野 仁*, 頭木藤雄*: 水質汚濁研究, 6(1), 39 (1983)

多摩川水系地下水中の低沸点有機塩素化合物としてトリハロメタンをはじめ, トリクロロエチレン, テトラクロロエチレン, 1,1,1-トリクロロエタン, 四塩化炭素などの分布の実態と地下水の塩素化反応における低沸点有機塩素化合物の生成能などについて検討を行った。その結果, 多摩川水系の地下水にクロロホルム, 1,1,1-トリクロロエタン, 四塩化炭素, トリクロロエチレン, テトラクロロエチレンなど5種類の低沸点有機塩素化合物による汚染が認められた。また, 調査地域の地下水の塩素化反応の結果から, トリハロメタン以外にも1,1,1-トリクロロエタン, テトラクロロエチレン, 四塩化炭素, クロロピクリンの生成する可能性が示唆された。一方, 低沸点有機塩素化合物生成能と地下水質との相関性をみると, $KMnO_4$ 消費量: 総トリハロメタン生成量間及び $KMnO_4$ 消費量: クロロホルム生成量の間に高い相関性を有することが認められた。

* 川崎市衛生研究所

43) Ethylene Dibromide (EDB) くん蒸後の輸入生鮮果実類中の EDB 残留量とその経時的減衰**

関田 寛, 武田明治, 内山 充: 食衛誌, 24, 57 (1983)

1) EDB くん蒸後に輸入された生鮮果実類中の EDB の簡易迅速な残留分析法を検討し, Dean-Stark 蒸留装置を用いて留出した EDB をヘキサソランに移行させ, これを直接 ECD-GC により分析することにより, 簡便・迅速に, しかも高感度・高精度に EDB を定性・定量する試験法を確立した。本法における EDB の検出限界は 0.005 ppm であった。

2) 今回検討した果実類のうちで, パパイヤ以外の果実由来の夾雑ピークは, 検液中に直接活性化したフロリジルを添加することにより, EDB のピークにはまったく影響を与えることなく消去させることができ

た。これによって、EDB の GC による分析の所要時間を大幅に短縮することができた。

3) 今回の調査結果では、1981年10月に米国から輸入されたレモンから 0.045~0.617 ppm, ネーブルオレンジから 0.042~1.890 ppm, パパイヤから 0.084~0.465 ppm の範囲で EDB が検出され、これらの一部には厚生省が定めた EDB の暫定残留許容値 (0.13 ppm) を超えているものがあった。他方、同時期にメキシコから輸入されたグレープフルーツからは、EDB は 0.040 ppm 以下の極めて低い残留が認められたに過ぎず、また、82年3月にフィリピンから輸入されたマンゴーからは、EDB はまったく検出されなかった。

4) 生鮮果実類中に残留する EDB は、果実の種類、果実の保管貯蔵場所の室温あるいは通風換気の状況によって、その経時的減衰の動向が大きく異なることが認められた。

* 食品中の残留農薬分析に関する研究 (第39報)

44 食品中の残留農薬分析に関する研究 (第36報) 果実類中のフェノキシ系農薬 (2,4-D, 2,4,5-T および 2,4,5-TP) の多成分残留分析法

関田 寛, 武田明治, 斎藤行生, 内山 充: 衛生化学, 28, 219 (1982)

1) 果実類中の 2,4-D, 2,4,5-T 及び 2,4,5-TP の3種のフェノキシ系農薬の多成分残留分析法を検討し、これらの農薬のメチルエステルを ECD-GC により分析する方法を応用して、日常的業務に適した簡便な残留分析法を確立した。本法における3農薬の検出限界は、2,4-D が 0.005 ppm, 2,4,5-T が 0.001 ppm, 2,4,5-TP が 0.0005 ppm であった。

2) 2,4-D が検出されたレモン由来の ECD-GC 用検液について GC-MS-COM により検討した結果、保持時間が 2,4-D (メチルエステル) と一致するピークの成分の化学構造は、2,4-D であることが確認された。

3) 1979~81年の3箇年にわたり、市販の輸入柑橘類 (米国産グレープフルーツ 8, ネーブルオレンジ25, レモン13) 計 46 検体について、2,4-D 残留の実態を調査したところ、グレープフルーツ及びネーブルオレンジからは、2,4-D はまったく検出されなかったが、試験したレモンの全検体から 0.010~0.21 ppm の範囲で検出された。これらの残留値は米国で柑橘類中の 2,4-D 残留に対して定められているトレランス (5 ppm) と比較すると 1/25~1/500 程度の低濃度であった。

45 TLC-fluorometry of Ethoxyquin using Triton X-100

Sadao UCHIYAMA and Mitsuru UCHIYAMA:
J. Chromatogr., 262, 340 (1983)

TLC 法及び Triton X-100-ベンゼン混液 (1:2) を噴霧した後、けい光を測定する方法を併用することによってエトキシキンの高感度で簡便な分析法を開発した。上記混液は薄層上のエトキシキンを 200 倍増けい光させるが、同様にけい光性のあるアフラトキシン_{B₁} についてはけい光を減少させるなどの発けい光特性を示した。

従来の噴霧法を改良した均一増けい光法を用いて、薄層上のエトキシキン 40 ng を肉眼で検出可能とし、更に 30~120 ng の範囲で定量可能とした。この方法を香辛料中のエトキシキンの分析に利用した。

46 Hexachlorobenzene 投与ラットの肝臓中の過酸化脂質の上昇と生化学的变化について

三原 翠, 内山 充: 衛生化学, 29, 13 (1983)

雄性ラットに Hexachlorobenzene (HCB) をオリーブ油に懸濁して、体重当たり 300 mg/kg となるよう週 2 回、3 週間腹腔内投与を行い、肝の過酸化脂質量と生化学的指標を検討した。

その結果、HCB は肝重量、肝脂質量、チオバルビツール酸反応値 (TBA 値)、チトクローム P450 及び b₅ 量、及び NADPH 依存チトクローム c レダクターゼ活性を増加した。TBA 値の増加は肝分画中の 105000 g 沈渣に局在しており、しかも分画中の HCB 含量とは無関係であった。HCB 含量は肝脂質量当りでは、どの分画沈渣もほぼ等しかった。

HCB の連続投与に対する TBA 値の上昇は、脂質量や P450 量の上昇とよく相関した (相関係数 0.99 以上)。

47 Properties of Thiobarbituric Acid-reactive Materials obtained from Lipid Peroxide and Tissue Homogenate

Midori MIHARA and Mitsuru UCHIYAMA:
Chem. Pharm. Bull., 31, 605 (1983)

ラット肝ホモジネート中のチオバルビツール酸 (TBA) 反応物質の性質を知るため、酸素の存在下あるいは脱酸素下での TBA 反応を行い、リノール酸メチルヒドロパーオキシド (MLHPO) やマロンアルデヒドの場合と比較した。その結果、肝ホモジネートの TBA 反応は脱酸素下では CCl₄ 投与肝でさえ強く抑制されたが、マロンアルデヒドの場合には酸素の

有無にはまったく影響されなかった、肝ホモジネートを *in vitro* で過酸化を促進させた場合には、TBA 反応が脱酸素の状態でも起こるようになり、MLHPO の場合も、酸化の進行に伴う TBA 値の上昇が認められた。

48 脂質ヒドロパーオキシドのチオバルビツール酸 (TBA) 反応における分解触媒の役割

三原 翠, 内山 充: 薬誌, 102, 1046 (1982)

脂質ヒドロパーオキシドの TBA 反応は分解触媒として鉄を必要とするので、この反応における鉄触媒の役割を明らかにするため、過酸化脂質としてリノール酸メチルヒドロパーオキシドを用い、種々の鉄(FeCl₃、フェリチン、ヘミン及び組織ホモジネート)を触媒とした TBA 反応を行って検討した。その結果、

1) 非ヘム鉄(FeCl₃、フェリチン)の触媒力は広い濃度範囲で有効であったが、ヘミンには至適量があり、過剰投与は反応を抑制した。又、組織ホモジネートの触媒力は両者の中間であった。

2) 非ヘム鉄の触媒作用は EDTA の添加で抑制され、BHT の添加ではあまり抑制されない。一方、ヘム鉄及び組織ホモジネートの触媒作用は EDTA で抑制されず、BHT で抑制された。

3) 無機鉄を触媒とした TBA 反応は酸素がなくても進むが、ヘミンや組織ホモジネートを触媒とした場合には脱酸素により反応が抑制された。

4) ラット肝中の触媒活性の分布は各分画ほぼ同じであるが、蛋白質量当たりでは 105000 g 沈渣が最も高い活性を示した。

49 ラットにおけるジメチルアミンの尿及び糞中への排泄

石綿 瑛, 岩田良一, 谷村頭雄: 食衛誌, 23, 360 (1982)

雄性的ウイスターラットを代謝ケージで飼育し、ジメチルアミン(DMA)の尿、糞中への排泄をみた。市販飼料(23.6 ppm DMA 含有)又は精製飼料(1.0 ppm DMA 含有)を与えた場合、両者ともに DMA の摂取量よりも尿中排泄量が多かった。又糞中排泄量は非常に少なかった。消化管内の DMA 濃度は、市販飼料区のラットでは胃内で最も高く、下部になるほど低くなった。精製飼料区では胃内で最低値、小腸上部で最高値を示した。精製飼料区のラットに DMA 1000 µg を胃内投与したところ、24時間以内に 63.2 ± 14.3% が尿中に排泄された。これらの結果は、摂取された DMA は速やかに吸収され、生体内で生成され

た DMA とともに主として尿中に排泄される事を示している。

50 硝酸塩及び亜硝酸塩の生体内運命

石綿 瑛, 谷村頭雄: 衛生化学, 28, 171(1982)

亜硝酸塩とアミン類やウレイド類との反応によって発ガン性物質である N-ニトロソ化合物が生成するという観点から、硝酸塩及び亜硝酸塩の人及び実験動物における摂取、吸収、代謝、排泄について述べた。硝酸塩は動物にとって活性のない物質であり、摂取された量の大部分は尿中に排泄される。一方、亜硝酸塩は微生物の作用によって消化管で硝酸塩から生成し、生物に対する活性は高い。体内でのニトロソ化の可能性や硝酸バランスの問題についても述べた。

硝酸塩は体内で容易に亜硝酸に還元されうるという点で人の健康に強い影響をもっていると考えられる。

51 シクラミン酸変換菌を投与した無菌マウス及びコンベンショナルマウスにおけるシクラミン酸ナトリウムからシクロヘキシルアミンの生成

松井道子, 谷村頭雄, 倉田 浩, 尾崎 明*, 弁野毅己*, 光岡知足*: 食衛誌, 23, 270(1982)

我々はさきの *in vitro* の実験において、シクラミン酸ナトリウム(CHS-Na)をシクロヘキシルアミン(CHa)に変換する能力をもつ3種の菌株、*C. sordellii*, *P. acnes* 及び *Campylobacter* sp. を分離し得たが、今回は *in vivo* におけるこれらの菌株の CHS 変換性を最終的に確認する目的で、無菌マウス及びコンベンショナルマウスに菌株を投与し、それらの定着性並びに尿、糞便中の CHa 排泄を調べたところ、CHS-Na を CHa に変換する能力を有することを確認できた。

* 理化学研究所

52 サル (*Macaca irus*) 胃内から分離される嫌気性ニトロソジメチルアミン生成菌の同定

林 長男, 牛嶋峰子*, 寺岡葉子, 谷村頭雄, 倉田 浩: 食衛誌, 23, 444 (1982)

サル胃内から分離同定された49菌株のうち、嫌気性ニトロソジメチルアミン(NDMA)生成菌種は、*Bacteroides coagulans* (2株), *B. melaninogenicus* ss. *melaninogenicus* (2株), *B. corrodens* (1株); *Fusobacterium nucleatum* (5株), *Bacteroidaceae* spp. (5株), *Eubacterium lentum* (2株), *Peptostreptococcus* sp. (1株) の7菌種、18菌株であった。嫌気性並びに好気性 NDMA 生成菌種の NDMA 生成率(NDMA 生成濃度とブランクの比率)と pH との関係と比較検討し

たところ、嫌気性菌では好気性菌に比べ、NDMA 生成及び pH の下降現象が顕著でなかった。ブドウ糖添加による NDMA 生成効果の検討では、NDMA 生成とブドウ糖利用の間に相関関係は見出し得なかった。

* 実践女子大学

53 **Improved Stomacher 400 Bag Applicable to the Spiral Plate System for Counting Bacteria**

Hiroataka KONUMA, Akira SUZUKI and Hiroshi KURATA: *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 765 (1982)

食品中の細菌数を計測するために開発されたスパイラルプレート装置の欠点を補う目的で改良ストマッカー 400 Bag を考案し、その適用性を検討した。その結果、改良ストマッカー 400 Bag を用いた方法の精度は、標準法と同等 (相関係数 $r=0.987$, 誤差率 $e=1.54\%$) であった。そこで、この改良 Bag をスパイラルプレート装置に応用したところ、通常の Bag を用いた場合に比較し操作時間 (通常の Bag を使用した場合: 1時間当り52検体処理, 改良 Bag を使用した場合: 1時間当り69検体処理) を短縮することができた。又、改良 Bag は、ろ過機構を備えているため、ろ過に必要な滅菌ガーゼ、ピペット及び試験管をすべて節約することができた。

54 **A new species of *Achaetomium***

Shun-ichi UDAGAWA: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, **23**, 287 (1982)

Achaetomium 属は子う菌類の核菌類ケタマカビ科に所属し、主として熱帯土壌、農産物(香辛料など)、生薬から分離され、現在までに17種が報告されている。ここで述べる *A. hamadae* は高知県香美郡土佐山田町の水田土壌から1971年に分離されたもので、半透明のつぼ形をした子う殻中に楕円形、卵形、アーモンド形、三角形など種々の形をした暗かっ色の子う胞子を形成する特徴を示す新種である。分生子は認められない。他の多くの種と同様に耐温性をそなえ、37°, PCA 培地上で子実体を形成する。

55 **輸入食品におけるマイコトキシン生産菌の検出**
宇田川俊一: *マイコトキシン*, **14**, 6 (1982)

輸入食品検査の現況は、年々増加している輸入件数に対して監視体制が追いつかず、検査率は10%に満たない低さに甘んじている。輸入農産物のカビ汚染の特徴は生産地の自然環境由来の一次汚染が主体といわれ

ている。しかも加工食品原料のかなりのものが開発途上国からのものであることに鑑み、輸入食品検査におけるマイコトキシン生産菌の検出状況に関心が高まっている。ここでは輸入香辛料 284 試料を対象とした 1976~1980年の調査結果を例として、真菌数の比較、*Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *A. fumigatus*, *A. versicolor*, *Emericella* などのマイコトキシン生産菌種の出現状況、*A. flavus* 分離 74 株におけるアフラトキシン生産性についてまとめた。

56 **The Production of Mutagens in the Intestine of Mice Fed on a Diet Containing 15% Sorbic Acid (I)**

Toshie TSUCHIYA and Tsutomu YAMAHA: *J. Toxicol. Sci.*, **8**, 15 (1983)

Sorbic acid(SA)を15%添加した飼料で、マウスを長期間飼育すると、hepatoma が発生する原因を究明することを目的とした。

15% SA 添加飼料で、1週、1箇月、3箇月及び6箇月間飼育したマウスの腸内容物をそれぞれ採取し、エーテルで抽出した。このエーテル抽出物を *S. typhimurium* TA98 で assay (Ames Test) した結果、変異原性は見だせなかった。次に、エーテル抽出物を酸性、中性及び塩基性分画に分けた結果、酸性分画に S-9 存在下で変異原性を検出できた。

したがって、15% SA 飼料を摂食し続けることにより、腸管内に変異原性物質が徐々に生成し、吸収後肝で活性化され、ひいては hepatoma 誘発の一因となったものと考えられる。

57 **Reductive Dechlorination of 1,2,4-Trichlorobenzene on Incubation with Intestinal Contents of Rats**

Toshie TSUCHIYA and Tsutomu YAMAHA: *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 1163 (1983)

種々の気相下で、染色助剤 1,2,4-trichlorobenzene (TCB) を腸内容物と incubate し、蓄積した monochlorobenzene (MCB) 及び dichlorobenzenes (DCBs) 量を比較した結果、 H_2 下で脱クロル体が蓄積し、中でも *o*-DCB 量が多かった。一方、 N_2 , CO_2 や混合気相 (Air と H_2) 下では、ほとんど脱クロル体を見だせなかった。3種の DCBs (*o*-, *m*-, *p*-体) を腸内容物と H_2 下で incubate したとき、MCB の蓄積量は $m \rightarrow p \rightarrow o$ -体の順に多かった。

更に、腸内容物中に蓄積した DCBs や MCB は GC-MS で確認された。

腸内容物の実験から、TCB は還元的に脱クロルされ、主に *o*-DCB に転換後、MCB にまで代謝されることが、初めて明らかになった。

58 **1,1'-Ethylene-bis(1-nitroso-urea)(EBNU)の生化学的研究 (第8報) EBNU および関連化合物によるラット肝臓クロマチンのカルバモイル化とその影響**

森本和哉, 山羽 力: 薬誌, 102, 859 (1982)

EBNU[carbonyl-¹⁴C], ENU[carbonyl-¹⁴C], ¹⁴C-KCNO, 及び無水酢酸 [1-¹⁴C] のラット肝臓クロマチンに対する結合性を *in vitro* で比較したところ、無水酢酸 ≧ EBNU > ENU > KCNO の順であった。次にラット肝臓クロマチンに対する種々のアシル化剤の効果を DNA 依存 RNA ポリメラーゼを用いて比較した。無水酢酸によって鋳型活性は強い上昇を認めた。一方、KCNO やある種のアルキルイソシアネート(メチル, エチル, *n*-プロピル, *n*-ブチル) の場合はわずかに活性の上昇を認めた。また、EBNU や KCNO で処理したクロマチンは未処理クロマチンに比して D Nase I や *staphylococcal* nuclease に対する分解性が少し上昇した。更に、EBNU や KCNO 処理クロマチンの MgCl₂ や CaCl₂ 中での溶解性をしらべたところ、未処理クロマチンに比して明らかに溶解性の上昇が認められた。

59 **Basic Studies on New Renal Scanning Agents Labelled with Technetium-99m**

Akira TANAKA, Toyohci MACHIDA* and Makoto MIKI*: *Radionuclides in Nephrology*, p. 19 (1982)

良好な腎イメージ、被曝線量の軽減を指向して、新しい腎診断薬 ^{99m}Tc-DMP(dimercaptpropionic acid) の合成を行った。ラット、マウス、ウサギを使って腎への親和性を調べた結果、特異的に腎へ集積し、最高 51% の分布が投与後 3 時間目のラットでみられた。シンチカメラでウサギ腎のイメージを描くと、静注後 30 ~ 40 分で極めて明瞭な腎イメージが描出され、排泄もかなり速いことが分った。^{99m}Tc-DMP は現在使われている DMS(dimercaptosuccinic acid) より構造が簡単で、安定性もよく、腎描出に必要な最低必要条件である化学構造をもつことが明らかになった。すなわち、隣接した SH 基とその α 位に少くとも一つの配位子をもてば、腎スキャン剤として使用できることを示している。

* 東京慈恵会医科大学泌尿器科

60 **Dibutyl Phthalate および Monobutyl Phthalate による実験的睾丸障害**

池本 庸*, 小寺重行*, 桂井清人*, 稲葉善雄*, 町田豊平*, 田中 彰: 日本不妊会誌, 28, 159 (1983)

35日令雄ラットにフタル酸ジブチルとフタル酸モノブチルを1週間経口投与し、雄性性腺への影響を検討した。睾丸組織は精細管を主とする著明な萎縮がみられた。すなわち、精細管内はほとんど精細胞が消失し、Sertoli 細胞にも空胞化や脂肪顆粒の増大がみられ、更に間質組織にも軽度の Leydig 細胞の萎縮や細胞質内オルガネラの減少がみられた。精囊腺、前立腺は萎縮し、肝、腎、下垂体には変化を認めなかった。また、同時に測定された血清テストステロン値は低下していた。以上フタル酸ジブチルは1日 2.4 g/kg, モノブチルは1日 0.8 g/kg で7日間で雄性性腺障害を起こすことが動物実験で認められた。

* 東京慈恵会医科大学泌尿器科

61 **Distribution and Metabolism of 1-Propyl-1-nitroso-urea in Rats**

Akira TANAKA and Mitsuo WATANABE*: *Cancer Res.*, 42, 3837 (1982)

発癌剤 1-[¹⁴C]Propyl-1-nitroso-urea(PNU) はラット腸管から容易に吸収され、放射能は主として尿と呼吸中に排泄された。PNU の尿中代謝物はプロピル尿素と尿素であり、呼吸中には炭酸ガスのほかイソプロパノールが検出された。

¹⁴C-PNU の経口投与後、特に高濃度の臓器分布は 24 時間後には認められなかった。PNU の尿素炭素は血中にかなり存在するが、プロピル炭素は肝臓中にかなり残存する。

妊娠ラットの全身ラジオグラフィーでは、母体と胎児に均一に放射能が分布し、又、母体の血中に尿素炭素が高濃度に残留し、プロピル炭素は胎児の背椎と胸骨のような骨格系に局在することが、投与後 6 時間目に見られた。又、PNU のラット体内での代謝経路について論じた。

* 帝京大学薬学部

62 **没食子酸プロピルのラットにおける代謝: イアトロスキャンによる尿中代謝物の定量及び代謝に及ぼす絶食の影響**

新村寿夫*1, 兼俊明夫*2, 中島久男*1, 山羽 力: 食衛誌, 24, 166 (1983)

没食子酸プロピル 100mg を摂食及び絶食ラットに経口投与し、尿中代謝物をイアトロスキャンにより定量した。代謝物の尿中排泄は3日以内に完了し、投与量に対する総排泄量の平均は摂食ラット及び絶食ラットで、それぞれ71及び82%であった。摂食ラット、絶食ラットともに主要代謝物は4-O-メチル没食子酸及び没食子酸であった。未変化の没食子酸プロピルは尿中に排泄されず、そのグルクロニドが約5%排泄された。没食子酸及び4-O-メチル没食子酸には絶食の影響はみられなかったが、没食子酸の抱合が絶食により抑制された。微量代謝物として、ピロガロールが多くこのラットに検出された。

*1 東横学園女子短期大学

*2 北海道立衛生研究所

63 ラット肝及び腎の分離細胞による没食子酸プロピルの代謝：肝細胞による代謝とアルコール添加の影響

新村寿夫*1, 兼俊明夫*2, 土屋利江, 山羽 力: 食衛誌, 24, 174 (1983)

主としてラット肝分離細胞を用い、没食子酸プロピル (PG) の代謝及びその代謝に及ぼすアルコール添加の影響を検討した。10⁻³M PG と肝細胞を1時間培養したとき、多量の没食子酸 (16%が抱合体) と微量の4-O-メチル没食子酸 (MG) を生成した。この際メチオニン添加により MG は増量した。なお全腎由来細胞による PG 加水分解率は肝細胞に比べて低く、抱合体の生成は認められなかった。5×10⁻³M エタノールを加えて肝細胞と PG を培養すると、エタノールを加えないときには認められない代謝物が生成し、GC-MS などにより没食子酸エチルと同定された。PG の没食子酸部分は C₁~C₅ のアルコールのうちエタノールに最も転移しやすかった。

*1 東横学園女子短期大学

*2 北海道立衛生研究所

64 自動血球分類装置 MICROX の実験動物への応用 I. サルおよびイヌ白血球の分別

萩埜恵子, 落合敏秋, 松本清司, 川崎 靖, 降矢 強: 実験動物, 31, 259 (1982)

サル及びイヌの血液について MICROX による白血球の分類を行い、MICROX の判定結果と著者らの結果との一致性を検討した。

1) サルの白血球4971細胞について検討したところ、一致率は97.0%であった。イヌ (7189細胞) については96.4%であった。

2) 光学顕微鏡による日視法との相関では、分葉核好中球及びリンパ球に高い相関性が見られた。

3) 異型リンパ球及び赤芽球はほとんど unknown と判定され、その細胞数は100細胞当りサルで平均15.5、イヌで平均16.5であった。

以上 MICROX によるサル及びイヌの白血球分類の一致率は95%以上であり、本装置は健康なサル及びイヌの血液に応用出来るものと考えられた。

65 Comparison of Brain Discrete Area Distributions of Chlordecone and Mileyx in the Mouse

Kannosuke FUJIMORI, Helen BENET,* Harihara M. MEHENDALE* and Ing K. Ho*: *Neuro Toxicology*, 3, 125(1982)

クロルデコンとマイレックスを単回経口投与し、経時的に脳内各領域中の各化合物濃度を測定した。50 mg/kg 投与後の血中及び全脳中の濃度はいずれもクロルデコンの方がマイレックスより高く、クロルデコンは特異的に脳内、特に線条体と延髄部分に高く分配し、より長く留まるようであった。

* ミシシッピ大学, 医, 薬理・毒性学教室

66 毒性試験における腎機能検査-尿検査を中心に-高橋 惇, 大幡久之: 変異原と毒性, 5, 297 (1982)

臨床及び毒性試験において用いられている腎機能検査法について、尿検査を中心に概説した。現在実施されている毒性試験において、薬物及び化学物質の腎障害性の検索は病理学的検索、BUN・血清クレアチニンなど血液成分の分析及び色素排泄試験が主である。尿検査としては尿量、尿比重、浸透圧などの測定及び尿蛋白の定量などが主に実施されており、酵素尿を検索している例はあまり多くない。測定する酵素の種類によってはその活性の上昇が一過性であるので、酵素尿検査の有用性はそれぞれの酵素で異なっており、検討を要する所である。今後、尿蛋白成分の電気泳動法などによる分離法、LZM をはじめとする低分子蛋白の測定法及びアイソエンザイムの分離を含めた酵素尿の検索法を確立させ、これらの方法を組み合わせて用いることによって薬物性腎障害の早期発見あるいは障害部位の推定が可能になると思われる。

67 **3-Methylcholanthrene induces phenobarbital-induced cytochrome P-450 hemoprotein in fetal liver and not cytochrome P-448 hemoprotein induced in maternal liver of rats**

Keinosuke MIZOKAMI, Kazuhide INOUE, Momoko SUNOUCHI, Kannosuke FUJIMORI, Akira TAKANAKA and Yoshihito OMORI: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **107**, 6 (1982)

ラット胎仔肝のミクロゾーム画分にも、チトクロム P-450 が存在し薬物を代謝することが知られている。本研究では、アミノピリン、ヘキソバルビタールを基質として、それらの代謝活性に及ぼす誘導効果とチトクロム P-450 分子種の関連性を調べた。3-メチルコラントレンを妊娠 18, 19日に腹腔内投与した妊娠 21日令ラットの胎仔肝ミクロゾームのアミノピリン、ヘキソバルビタールの代謝活性には誘導効果が認められた。一方、母体肝の代謝活性は、いくぶん減少した。次に 3-メチルコラントレンで誘導される P-450 の特性を検討したところ、ラット胎仔肝の P-450 の CO 差スペクトルのピーク位置は 450 m μ であり、更にエチルイソシアニド差スペクトルを測定した結果、455/430 比並びにピーク位置ともに、フェノバルビタールで誘導される P-450 に相当し、母体肝の P-448 とは異なることを確認した。

68 **Effects on Oral Administration of Chlordecone and Mirex on Brain Biogenic Amines in Mice**

Kannosuke FUJIMORI, Toshitaka NABESHIMA,* Ing K. Ho* and Harihara M. MEHENDALE*: *NeuroToxicology*, **3**, 143(1982)

クロルデコンとマイレックス (10, 25, 50 mg/kg 3 用量) をマウスに連続経口投与し、経目的に脳内ノルエピネフリン、ドパミン、セロトニン及びその代謝物 5 HIAA を測定した。振せんを示すクロルデコン投与マウスでは全脳及び線条体中のドパミン濃度が有意に減少していたが、マイレックス群では変らなかった。ノルエピネフリンはいずれの群においても変わらず、セロトニンは動物が激しい振せんもしくは下痢の時のみ両化合物投与群で減少した。したがってクロルデコンの神経毒性には抑制系のドパミン神経系機能の低下が一部関与していることが示唆された。

69 **Effect of Dietary administration of Thiabendazole on Pregnant Rats and Fetal Development (Studies on the Teratogenicity of Food Additives .VI)**

Satoru TANAKA, Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA, Akira TAKANAKA and Yoshihito OMORI: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **23**, 468 (1982)

チアベンダゾール (TBZ) の 0.125, 0.25, 0.5 及び 1% 添加固形飼料を妊娠ラットに妊娠 7 日から 17 日まで与え、妊娠ラット及び胎仔発達に及ぼす TBZ の影響を調べた。0.25% 以上の濃度では母ラットの摂餌量及び体重増加が有意に抑制された。0.5 及び 1% 濃度では胎仔体重が有意な低値を示し、1% 濃度では胎仔死亡率及び骨格変異発現率が増加した。また、0.25% 以上の濃度で胎仔の骨化遅延を示唆する成績が得られた。しかし、これら胎仔の変化は母ラットに対する中毒影響を反映した二次的なものと考えられるとともに、本実験条件下では TBZ によると考えられる奇形現発は認められなかった。なお、0.125% 濃度は妊娠ラット及び胎仔に対して無影響であった。

70 **Cytotoxic Effects of Methylnitrosourea on Developing Brain**

Kannosuke FUJIMORI, Momoko SUNOUCHI, Kazuhide INOUE, Masahiro NAKADATE, Akira TAKANAKA and Yoshihito OMORI: *Neurochemical Research*, **8**, 193 (1983)

メチルニトロソウレア (MNU) をラット新生仔に皮下投与し、生後 12 日令迄の脳、小脳中の DNA, RNA 含量及びリボソーム酵素 (酸性 DNase, RNase, フォスファターゼ・ β -グルクロニダーゼ), 2', 3'-サイクリックスクレオタイド 3'-フォスフォハイドラーゼ活性の発育に伴う変動に対する MNU の影響を検討した。MNU 新生仔投与を受けたラット大脳中の諸パラメーターの発育に伴う変動は対照と殆んど変らなかったが、小脳では小脳重量, DNA, RNA 含量, 蛋白質の発育に伴う増加が強く抑制され、DNase, RNase 活性は逆に増加していた。MNU は発育脳では神経細胞増殖期に限り、細胞傷害と細胞分裂の阻害をひき起こすことが示唆された。

* ミシシッピ大学, 医, 薬理・毒性学教室

71 **Simultaneous determination of aminopyrine-hydroxylation and aminopyrine-N-demethylation in liver microsomes by high-performance liquid chromatography**

Kazuhide INOUE, Kannosuke FUJIMORI, Keinosuke MIZOKAMI, Momoko SUNOUCHI, Akira TAKANAKA and Yoshihito OMORI: *J. Chromatogr.*, **274**, 201 (1983)

アミノピリン及びその代謝物(アミノピリンの3位メチル基水酸化体を含む)の分離定量を逆相系 C8 ラジアルバックカラム, 移動相として30%メタノール, 1%トリニチルアミン水溶液を酢酸にて pH 5.40 に調整したものを 1 ml/min の流速で流すという条件で行った. 同定は UV detector で 254 nm にて行った. この簡単な方法を用いて, 肝ミクロソームでのアミノピリン水酸化反応とアミノピリン脱メチル化反応を同時に定量することが可能となった.

72 **A New Device for the Determination of Microsomal Cytochrome P-450 in Renal Tissue Preparations from Various Species Contaminated with Mitochondria and Hemoglobin**

YASUO OHNO, Toru KAWANISHI, Atsushi TAKAHASHI, Yutaka KASUYA and Yoshihito OMORI: *Japan. J. Pharmacol.*, **32**, 679 (1982)

マイクロコンピュータ付自記分光光度計を用いて, 腎チトクローム P-450(P-450) の CO 差スペクトルを測定した. ミトコンドリアのチトクローム類及びヘモグロビン共存下でも, これらの CO 差スペクトルをコンピュータによって差し引くことによって P-450 を定量的に測定することができた. 数種の動物の腎 P-450 を比較検討し, P-450 の吸収極大はラットでは 452 nm, マウス, ハムスター, ウサギ, モルモット, イス及びブタでは約 450 nm であることを認めた. 腎 P-450 の含量を比較すると, ラット, ハムスター及びウサギではほぼ同程度であり, ブタ, イス及びマウスではラットより多く, モルモットではラットより少なかった.

73 **Induction of Renal Cell Tumors in F-344 Rats by Oral Administration of Potassium Bromate, A Food Additive**

Yuji KUROKAWA, Yuzo HAYASHI, Akihiko MAEKAWA, Michihito TAKAHASHI and Takeshi KOKUBO: *Gann*, **73**, 335 (1982)

食品添加物(小麦粉改良剤, 魚肉ねり製品品質改良剤)として広く用いられている臭素酸カリウムの癌原性試験を行った. F-344 ラット雌雄各群50頭に, 臭素酸カリウムを飲料水中濃度 500, 250, 0 ppm で2年間投与した. その結果, 腎腫瘍が雄 500 ppm 群(90%), 250 ppm 群(59%), 0 ppm 群(6%), 雌 500 ppm 群(69%), 250 ppm 群(50%), 0 ppm 群(0%)に発生し, 有意の差を示した. したがって, 臭素酸カリウムはラットにおいて癌原性を有するものと結論された.

74 **Pancreatic Tumors by 4-Hydroxyaminoquinoline 1-Oxide in Rats**

Yuzo HAYASHI and Hiro KATAYAMA*: *Toxicology Letters*, **9**, 349 (1981)

4-ヒドロキシアミノキノリン1-オキシドの投与によるラットの膵腫瘍の発生が雄にのみみられる事実から, 男性ホルモンが同腫瘍の発生に対し促進的に働いている可能性を推定し, テストステロンの投与並びに性腺摘除の併用実験により上記仮定を実証した.

* 埼玉医科大学

75 **Comparative Carcinogenicities of Model Compounds of Metabolically Activated N,N-Dibutylnitrosamine in Rats**

Michihito TAKAHASHI, Yuji KUROKAWA, Akihito MAEKAWA, Takeshi KOKUBO, Fumio FURUKAWA, Masataka MOCHIZUKI,* Takako ANJO* and Masashi OKADA*: *Gann*, **79**, 687 (1982)

雌雄の F-344 ラットの皮下に, 6種の α -oxidized N-nitroso 化合物を週1回計10回投与し, 1年後までに発生してくる腫瘍について検索した. 化合物は, N-butyl-N-(1-acetoxybutyl) nitrosamine (BABN), N-butyl-N-(1-hydroperoxybutyl)nitrosamine (BHPBN), N-nitroso-N-butylbutylamide (NBBA) など DBN の活性化物のほか, BCPN の活性化物である 4-(N-butylnitrosamino)-4-hydroxybutyric acid lactone (BBAL), N-(3-carbomethoxypropyl)-N-(1-acetoxybutyl)nitrosamine (CMPABN), ethyl N-butyl-N-nitrososuccinamate (EBNS) である. いずれも皮下肉腫の発生が見られたが, EBNS, NBBA, CMPABN, BABN, BHPBN, BBAL の順で発生率が高かった.

* 東京生化学研究所

76 **Vascular tumors of the spleen and other neoplasms induced in syrian golden hamsters by 1-propyl-1-nitrosourea**

Michihito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Yasushi KURATA, Kasuke NAGANO, Takeshi KOKUBO, Yuzo HAYASHI and Masahiro NAKADATE: *Gann*, **73**, 695 (1982)

1-propyl-1-nitrosourea (PNU) を 400 ppm, 100 ppm の濃度でシリアンゴールデンハムスターに飲料水中に混じて投与したところ、脾臓に血管系腫瘍が高率に発生した。脾臓腫瘍の発生率は、400 ppm で雄36匹中33例(91.7%)、雌37匹中34例(91.9%)であり、100 ppm においても、雄40匹中32例(80%)、雌34匹中26例(76.5%)であった。その他、前胃や十二指腸にも、腫瘍発生が見られた。また雌では腔の腫瘍が認められた。PNU にはラットにおいて、系統差があることが知られているが、本実験によって、種差もあることが判明した。脾の血管系腫瘍の発生は、ハムスターにおいても稀な疾患であり、これが高頻度に発生したことは極めて興味深い。

77 **Effect of high salt diet on rat gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine**

Michihito TAKAHASHI, Takeshi KOKUBO, Fumio FURUKAWA, Yuji KUROKAWA, Masae TATEMATSU* and Yuzo HAYASHI: *Gann*, **74**, 28 (1983)

実験胃癌における食塩の影響について検討した。実験には雄ウィスター系ラットを用い、N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) を 100 ppm の割合に飲料水に溶かし20週間投与した。一方、10%食塩含有食を、MNNG 投与中、投与後20週間、全実験期間中のそれぞれに投与し、全ての動物を40週目に屠殺剖検し、胃を中心に病理組織学的に検索した。その結果、MNNG 投与期間中に高食塩食を投与した群では、胃癌の発生率が増加し、発生した腫瘍も極めて大きかった。MNNG 投与後に高食塩食を与えた群では腫瘍発生の増加は明確に示されなかった。この実験によれば、高食塩食はMNNGによる実験胃癌発生においてco-initiator として働くことが示された。

* 名古屋市立大学医学部

78 **Independent Induction of Intestinal Metaplasia and Gastric Cancer in Rats Treated with N-Methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine**

Masae TATEMATSU,*¹ Chie FURUHATA,*² Tsutomu KATSUYAMA,*³ Ryohei HASEGAWA,*¹ Junichi NAKANOWATARI,*¹ Daizo SAITO,*³ Michihito TAKAHASHI, Taijiro MATSUSHIMA*² and Nobuyuki Ito*¹: *Cancer Research*, **43**, 1335 (1983)

ウィスター系ラットを用いた実験胃癌で認められる幽門腺粘膜の腸上皮化生や、胃癌の腸上皮型腫瘍細胞につき、パラドキシカル・コンカナバリンA染色や、生化学的ペプシノーゲン・アッセイ法を用いて検討した。動物にはMNNG(50µg/ml)を給水瓶にて投与し、投与後8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72, 80の各週に屠殺剖検して検索した。その結果、MNNGによって生じた胃癌の腫瘍細胞は、主に胃型のものが多かった。即ち、胃癌が発生するgerm cellは主に胃型細胞となり、時に腸型細胞を生ずることが明らかとなった。

*¹ 名古屋市立大学医学部

*² 東京大学医科学研究所

*³ 信州大学医学部

79 **Chronic effects of 1,3-di(4-sulfamoylphenyl) triazene on Male ICR Mice**

Masao HIROSE,* Michihito TAKAHASHI, Shoji FUKUSHIMA,* Michiko SHIBATA* and Nobuyuki Ito*: *Nagoya Med. J.*, **73**, 173 (1982)

人間の胃液中に見出される1,3-di(4-sulfamoylphenyl)triazene(DSPT)の発癌性をICRマウスを用いて検討した。マウスに1.0%及び0.5%のDSPTを含有する飼料を連続的に投与した。実験群と対照群の間に、体重、肝、脾、腎など各種臓器重量の差は認められなかった。動物の死亡原因は、肺炎やアミロイドーシスが主であった。腫瘍発生は、白血病や大腸の腫瘍が見られたが、実験群と対照群との間に発生率の差はなかった。以上の結果より、DSPTはICRマウスに発癌性を示さないことが明らかとなった。

* 名古屋市立大学医学部

80 **Carcinogenicity of N-alkyl-N-(acetoxymethyl)Nitrosamines After Subcutaneous Injections in F-344 Rats**

Akihiko MAEKAWA, Toshiaki OGIU, Hiroshi ONODERA, Kyoko FURUTA, Chiaki MATSUOKA, Masataka MOCHIZUKI, Takako ANJO,* Masashi OKADA* and Shigeyoshi ODASHIMA: *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **104**, 13 (1982)

ジアルキルニトロサミンの代謝活性化モデルとして、N-メチル、N-エチル、N-プロピル、N-ブチル、N-イソブチル-N-(アセトキシメチル)ニトロサミン等5種類のN-アルキル-N-(アセトキシメチル)ニトロサミンを合成し、F-344ラットに皮下投与癌原性を検討した。投与群全群には皮下腫瘍が高率に発生した他、肺及び甲状腺の腫瘍も好発し、これらの化合物はいずれもジアルキルニトロサミンの代謝活性化モデルとして有用である事が判った。

* 東京生化学研究所

81 **Induction of rat leukemias and thymic lymphoma by N-nitrosoureas**

Toshiaki OGIU and Shigeyoshi ODASHIMA (Deceased): *Acta Pathol. Jpn.*, **32** (Suppl. 1), 223 (1982)

最近のラット白血病研究の発展は、N-ニトロソ尿素の利用によりもたらされた。この論文は我々の行なったN-ニトロソ尿素による白血病発生実験をまとめ、総説したものである。N-ニトロソ尿素の化学構造と白血病発生の相関性、誘発されたラット白血病の生物学的特徴、更に、その発生機序について述べた。また、最近の実験から、N-プロピル-N-ニトロソ尿素によるF344ラットの胸腺リンパ腫の発生についても簡単に成果をのべた。

82 **Studies on Metabolism and Toxicity of Styrene. V. The Metabolism of Styrene, Racemic, (R)-(+)-, and (S)-(-)-Phenyloxiranes in the Rat**

Tadashi WATABE,* Naoki OZAWA* and Kunie YOSHIKAWA: *J. Pharm. Dyn.*, **5**, 129 (1982)

Styrene, ラセミ体の phenyloxirane, (R)-(+)-phenyloxirane 及び (S)-(-)-phenyloxirane の代謝を、ラット腹腔内投与を行って調べた。その結果、尿中から phenylethanediol, mandelic acid, phenylglyoxylic acid 及びアイソマーとして2種の mercapturic

acid(MA) が分離され、MA は N-acetyl-S-(1-phenyl-2-hydroxyethyl)-cysteine(MA-1) 及び N-acetyl-S-(2-phenyl-2-hydroxyethyl)-cysteine(MA-2) として同定された。尿中に排泄される MA-1 及び MA-2 と他の代謝物の生成比は、styrene を投与した時に、1:1.8, ラセミ体を投与した時に 1:1.5, (R)-(+)-phenyloxirane を投与した時に 2.5:1, (S)-(-)-phenyloxirane を投与した時に 1:2.5 であった。また、MA-1 は MA-2 より高い比率で排泄され、styrene あるいは (S)-phenyloxirane を投与した時に、その差は著しかった。

* 東京薬科大学

83 **Differences in liver homogenates from Donryu, Fischer, Sprague-Dawley and Wistar strains of rat in the drug-metabolizing enzyme assay and the Salmonella/hepatic S9 activation test**

Kunie YOSHIKAWA, Takehiko NOHMI, Rumiko MIYATA, Motoi ISHIDATE, Jr., Naoki OZAWA,*¹ Masakazu ISOBE,*¹ Tadashi WATABE,*¹ Tuncuo KADA*² and Takashi KAWACHI*³ *Mutation Res.*, **96**, 167 (1982)

4系統のラットの肝ミクロゾーム及びS9の差を比較検討するために、PCBあるいはphenobarbital+5,6-benzoflavoneで誘導をかけて実験を行った。各ミクロゾーム分画については5種の基質の代謝酵素活性を測定した。S9については、サルモネラ菌を用い、4種のチトクロムP450阻害剤存在下あるいは非存在下で、9種の間接変異原の代謝活性化能を比較した。その結果、PCB誘導のミクロゾーム酵素活性のうち、benzo(a)pyrene水酸化能は系統差があり、Fischer及びWistarがより高かった。この他の知見も考え合わせて、PB+5,6-BF誘導のS9を用いてAmes試験を行う時はFischerが適切と考えられる。

*¹ 東京薬科大学

*² 国立遺伝学研究所

*³ 国立がんセンター研究所

84 **Clastogenic potential of heavy oil extracts and some aza-arenes in Chinese hamster cells in culture**

Atsuko MATSUOKA, Koichi SHUDO,* Yikio SAITO, Toshio SOFUNI and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Mutation Res.*, **102**, 275 (1982)

シリカゲルカラムクロマトグラフィー及び液-液分配によって得られたB重油分画について、チャイニーズハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験を行った。B重油と塩基性窒素化合物分画とが、ラット肝マイクロゾーム分画 (S9 mix) 存在下染色体異常を誘発した。さらに塩基性窒素化合物分画にその存在が示唆される8種の含窒素多環芳香炭化化合物についても同様の試験を行った。acridine, benzo [f] quinoline, pyrenoline 及び pyrenoline 4,5-oxide は S9 mix 存在下, 非存在下にかかわらず染色体異常を誘発した。benzo [h] quinoline は S9 mix 存在下, dibenz [c, h] acridine 及び dibenz [a, j] acridine は S9 mix 存在下に染色体異常を誘発した。

* 東京大学薬学部

85 Comparison of Type and Frequency of Chromosome Aberrations by Conventional and G-staining Methods in Hiroshima Atomic Bomb Survivors

Kazuo OHTAKI,* Hachiro SHIMBA,* Akio A. AWA* and Toshio SOFUNI: *J. Radiat. Res.*, **23**, 441 (1982)

23例の広島原爆被爆者の培養リンパ球について、放射線誘発染色体異常の型と頻度を、通常の染色法とG-分染法を用いて解析した。調べた896細胞中342細胞が染色体異常を有し、うち31細胞についてはG-分染法でも異常を同定できなかった。同定された376個の異常の大部分(76.6%)は染色体内及び染色体間の対称型交換であった。同一細胞について通常染色法とG-分染法とで比較検討したところ、78個の異常はG-分染法でのみ識別可能であった。その中には、偏動原体逆位(14個)、同長転座(11個)やその他の相互交換が含まれており、これらは通常法では形態的に正常範囲とみなされるものであった。

* 放射線影響研究所

86 High-sensitivity in micronucleus induction of a mouse strain (MS)

Makoto HAYASHI, Toshio SOFUNI and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Mutation Res.*, **105**, 253 (1982)

H. U. Aeschbacher らは小核試験高感受性を示すマウスの系統 (MS) を、Swiss CD-1 マウスより分離した。この MS マウスと従来より使用してきた ddY マウスとの間での小核試験における薬剤感受性について比較検討した。用いた検体は ^{60}Co γ -線, mitomycin

C, 4-nitroquinoline 1-oxide, N-ethyl-N-nitrosourea, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene, 3-methylcholanthrene, potassium bromate, potassium chromate 及び vincristine sulfate であった。3-methylcholanthrene を除く検体については、MS の方が ddY より高い感受性を示した。また無処理群でも MS は ddY より有意に高い小核出現頻度を示した。

87 Species Difference in the Metabolic Activation of Phenacetin by Rat and Mamster Liver Microsomes

Takehiko NOHME, Kunie YOSHIMAKA, Masahiro NAKADATE and Motoi ISHIDATE Jr.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **110**, 746 (1983)

フェナセチンは、PCB 処理のラットではなく、ハムスターの肝マイクロゾーム存在下でサルモネラ菌 TA 100 に対して突然変異原性を示す。フェナセチンの変異原性に及ぼすこの種差について調べた。HPLC 分析から、フェナセチンはハムスター肝マイクロゾームによるN-水酸化及び脱アセチル化を経て直接作用性変異原に活性化されることがわかった。N-水酸化能についてはラットとハムスターで有意な差は認められなかったが、脱アセチル化能はハムスターの方が9から150倍高かった。このことから、フェナセチンの変異原性に及ぼす種差は、ラット及びハムスター肝マイクロゾームの脱アセチル化能の違いによると考えられる。

88 Metabolic Activation of 2,4-Xylidine and its Mutagenic Metabolite

Takehiko NOHMI, Rumiko MIYATA, Kunie YOSHIKAWA, Masahiro NAKADATE and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Biochem. Pharmacol.*, **32**, 735 (1983)

化学工業原料として用いられている 2,4-xylidine は実験動物に肝毒性をおこす。2,4-xylidine の代謝活性化と変異原性について検討した。2,4-xylidine をラットの肝 9000 × g 上清 (S9) で代謝させ、その代謝産物を HPLC を用い分析し、2,4-xylidine のN水酸化体(2,4-dimethylphenylhydroxylamine)を検出した。検出されたものが2,4-xylidine のN水酸化体であることは、更に質量分析を行い確認した。2,4-xylidine は S9 による代謝をうけてサルモネラ菌 TA100 株に突然変異をおこし、その比変異原活性は2,4-xylidine の200倍以上であった。以上の結果に基づき、2,4-xylidine から生成する活性代謝産物は、そのN水酸化体であると結論した。

89 **Mutagenicity Study of Nine Monoalkyl Phthalates and a Dialkyl Phthalate Using *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli***

Kunie YOSHIKAWA, Akira TANAKA, Tsutomu YAMAHA and Hiroshi KURATA: *Fd. Chem. Toxic.*, **21**, 221 (1983)

9種のモノアルキルフタレート及び di-(2-ethylhexyl)phthalate(DEHP)について、サルモネラ菌 TA 98, TA100 及び大腸菌 WP uvrA⁺, WP2 uvrA⁻を用いて、S9mix 存在下又は非存在下で突然変異誘発性を調べた。その結果、どの化合物も変異原性を示さなかったが、モノアルキルフタレートはすべてサルモネラ菌に対して致死作用を示し、最も毒性が強いのは monoheptyl phthalate であった。また、DEHP は最高濃度 (2000µg/plate) でのみ、S9mix 非存在下、サルモネラ菌に対して致死効果を示した。

90 **Kinetic Studies on Pancreatic Lipase Activity in Micellar Systems. I. Inhibition by Sodium Deoxycholate Micelles**

Hiroshi NAKAHARA, Satoshi OKADA and Kenshu MOCHIDA: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2673 (1982)

デオキシコール酸ナトリウム (NaDC) ミセルに可溶化したラウリン酸ビニルに対するリパーゼ活性について速度論的に検討した。NaDC による阻害が観察されたが、その阻害機構は基質を可溶化していない NaDC ミセルによる Fully Competitive Inhibition Mechanism であることが明らかとなった。その機構に基づいて Michaelis 定数と阻害定数 (基質フリーの NaDC ミセルとリパーゼとの複合体の解離定数) を算出した。また Km は基質を可溶化した NaDC ミセルとリパーゼとの複合体の解離定数の下限値を示していることも明らかにした。以上の結果について、エマルジョン系における胆汁酸塩のリパーゼに対する阻害に関する従来の知見と関連づけて議論した。

91 **顕微鏡電気泳動法によるアラビン酸の油/水界面での吸着状態**

四方田千佳子, 岡田敏史, 持田研秀: 薬剤学, **43**, 146 (1983)

アラビアゴムの主成分であるアラビン酸を乳化剤とする流動パラフィンエマルジョンを用い、アラビン酸の油/水界面での吸着状態を顕微鏡電気泳動法により検討した。希釈後放置したエマルジョンの電気泳動速

度の測定からアラビン酸の吸着層には不可逆吸着層と可逆吸着層があり、不可逆吸着層は油/水界面へ強く吸着し、可逆吸着層はその上へ大きく広がってゆるく吸着していることが示唆された。また、希釈後放置したエマルジョンの表面電位は内部の油滴の荷電状態に左右されること、不可逆吸着層が半透膜としての性質を持つことから、エマルジョンの希釈に対する安定性は、用いた油相、共存するイオンにより大きな影響を受ける可能性がある。

92 **輸液用注射剤の不溶性微粒子試験の指針 (案)**

持田研秀, 伊阪 博, 辻 澄子: 医薬品研究, **14**, 425 (1983)

JP10 に新しく収載された不溶性微粒子試験法 (メンプランフィルター顕微鏡法) の操作手順を詳述し、テレビモニター方式を採用した。更に光しゃへい型自動微粒子測定法を利用した場合の試験規格を設定し操作法を記述した案を作成した。

93 **ブタ臍カリクレインのエンザイムイムノアッセイに関する研究**

柴田 正, 長谷川隆一, 持田研秀: 薬学雑誌, **103**, 186 (1983)

ブタ臍カリクレイン A と B を DEAE-Sephadex A-50 を用いて分離し、高速液体クロマトグラフィー (TSK GEL G2000 SW カラム) を用いて分取精製し、家兎に免疫して抗 A-, 抗 B-IgG を得た。これらの A 及び B に対する二重拡散法による沈降線は完全融合を示し、また交差反応率も同等であった。

標準化合物として Fab'-β-D-galactosidase を調製し、サンドイッチ法を用いて 1 ng~1 µg/ml の範囲で測定可能な検量線が得られ、生物活性値の異なる各種試料の測定結果は生物的効力比とよく一致した。

94 **Simple and Rapid Determination of Hydrogen Peroxide Contained in Milk by Use of an Oxygen Electrode**

Masatake TOYODA, Yoshio ITO, Masahiro IWAIDA, Yoshio UTSUGI,*1 Minuro OHASHI,*1 Masami FUJII*2: *New Zealand J. Dairy Sci. Tech.*, **17**, 41 (1982)

新しい高感度の検出装置 (オリテクターⅢ型) を用いた牛乳中過酸化水素の日常分析法を開発した。本法は、牛乳中溶存酸素の追い出し、カタラーゼの添加及び生成酸素の酸素電極による測定から成る。牛乳での過酸化水素 1 ppm 素添加の回収率は 95% 以上で、分

析時間は10分以内であった。牛乳脂質により形成される過酸化水素が測定に大きな影響を与えるように思われた。

- *1 オリエンタル電気
- *2 厚生省食品化学課

95 過酸化物測定機と測定方法

豊田正武：食品と科学，8，88 (1982)

過酸化物測定法として，過酸化物の化学分析，過酸化水素微量測定装置による過酸化水素の分析，ケミルミネセンスによる測定，ESR による測定を紹介し，特に過酸化水素の微量分析法についてはその測定原理，測定法，測定上の注意事項，結果の評価について詳細に検討を加えた。

96 液・液分配法による食品中の合成及び天然着色料の系統的分析法

伊藤蒼志男，外海泰秀，三ツ橋幸正*1，浜野孝*1，松木幸夫*1，加藤太郎*2，藤原孝行*2，小川俊次郎，豊田正武，慶田雅洋：分析化学，32，47 (1983)

多種類の食品中の種々の許可及び不許可タール色素及び天然色素の統一かつ系統的な分析法の確立を目的として，液体陰イオン交換樹脂アンバーライトLA-2を用いる液・液分配法を検討した。抽出された色素を油性，塩基性，酸性色素に系統的に分画し，各分画は簡単な後処理をした後，薄層及びペーパークロマトグラフィーで定性し，高速液体クロマトグラフィーで定量した。食品からの添加回収率は一部の色素を除き80%以上と良好であった。

- *1 神戸市環境保健研究所
- *2 ニッカウイスキー(株)西宮工場

97 セライトカラム法による食品中の合成及び天然着色料の系統的分析法

伊藤蒼志男，小川俊次郎，峯 孝則*1，田嶋克彦*1，伊藤晋史*2，中西 弘*2，小原一雄*3，外海泰秀，慶田雅洋：分析化学，32，55 (1983)

多種類の合成着色料，天然着色料及び食品に適用できる統一かつ系統的な定性，定量法として，セライト545を用いるカラム法を検討した。溶媒極性の差を利用して色素は油性，塩基性，酸性第1群，酸性第2群に順次分画した。天然色素の場合は，より穏かな条件として油性及び水溶性色素に分画した。各分画は薄層及びペーパークロマトグラフィーで定性し，高速液体クロマトグラフィーで定量した。食品からの添

加回収率は良好で，特に天然色素により結果がえられた。

- *1 サントリー(株)中央研究所
- *2 滋賀県立環境衛生センター
- *3 (財)日本食品分析センター大阪支所

98 セライトカラム法と液・液分配法による各種食品中の食用色素測定値の比較

伊藤蒼志男，外海泰秀，小川俊次郎，松木幸夫*1，峯 孝則*2，中西 弘*3，小原一雄*4，藤原孝行*5，慶田雅洋：分析化学，32，15 (1983)

食品中の種々の合成及び天然着色料の統一かつ系統的な分析法として著者らが確立したセライトカラム法及び液・液分配法の比較検討を行った。既知量の着色料を添加し調製した試料を未知検体として6機関に配布し，両方法で分析し回収率と測定値の標準偏差を求め比較した。各機関の回収率はよく一致し，合成着色料の場合は液・液分配法が，天然着色料の場合はセライトカラム法が優れていた。

- *1 神戸市環境保健研究所
- *2 サントリー(株)中央研究所
- *3 滋賀県立環境衛生センター
- *4 (財)日本食品分析センター大阪支所
- *5 ニッカウイスキー(株)西宮工場

99 日本人のサッカリンナトリウム，ジブチルヒドロキシトルエン (BHT) 及びブチルヒドロキシアニソール (BHA) の1日摂取量について

豊田正武，伊藤蒼志男，一色賢司*1，加藤丈夫*2，神蔵美枝子，深澤喜延*3，米田孟弘*4，慶田雅洋：日本栄養・食糧学会誌，36，85 (1983)

1976～1980年の5年間全国5ブロックで，含量実態調査方式により1日総摂取量を求めた。サッカリンナトリウム，BHT 及び BHA の検出率はそれぞれ17.5，10.4及び12.0%であり，1日総摂取量はそれぞれ10.4，0.273，0.216 mg であった。また陰膳方式による値及び ADI との比較も行った。

- *1 北九州市環境衛生研究所
- *2 仙台市衛生試験所
- *3 山梨県衛生公害研究所
- *4 鳥根県衛生公害研究所

100 ガスクロマトグラフィーによる幼児用酢酸ビニル樹脂製ふうせん中の有機溶剤の定量

慶田雅洋，伊藤蒼志男，小川俊次郎：分析化学，

31, T86 (1982)

輸入品の酢酸ビニル樹脂製ふうせんペースト(幼児用おもちゃ)について、衛生学的な安全性確保の目的でペースト中の有機溶剤の種類と各々の含有量を測定する方法について検討した。試料をN,N-ジメチルホルムアミドに溶かし、chromosorb 101(カラム温度140°, 気化温度250°, 空素流量20 ml/min)により定量, GC-MSにより確認する方法を確立した。輸入12検体について調べたところ, メタノール, アセトアルデヒド, エタノール, アセトン, 酢酸メチル, 酢酸ビニルモノマー及び酢酸エチルが検出され, 主成分はエタノールのもと酢酸エチルのものに大別された。エタノールを主成分とする検体ではメタノール含有量に大幅な差が認められた。

101 **Actual survey on TLm (median tolerance limit) values of environmental pollutants, especially on amines, nitriles, aromatic nitrogen compounds and artificial dyes**
Yasuhide TONOGAI, Shunjiro OGAWA, Yoshio ITO, Masahiro IWAIDA: *J. Toxicol. Sci.*, **7**, 193 (1982)

芳香族含窒素有機化合物44種類, 染料37種類についてヒメダカを用いる TLm 試験(半数致死試験)及びn-オクタノール・水間の分配係数を測定し, その環境中における安全性評価法の1つとして魚毒性を調べた。

芳香族窒素化合物については, 分配係数の高いほど TLm 値が小さい(魚毒性が大きい)比例関係が認められた。ゆえにこれら化合物の魚毒性はその細胞膜透過性による所が大きいと判明した。また染料については, 特にメチレンブルーとローズベンガルに強い魚毒性が認められ, その原因はこれら染料のエラへの染着性の強さに依存しており, エラ機能の低下により魚のへい死を招くことが明らかとなった。

102 **高速液体クロマトグラフィーによる化粧品用及び食用タール色素中の原料物質反応中間体及び付随色素の検出定量法(II) —キサンテン系色素について—**

伊藤啓志男, 鈴木英世, 小川俊次郎, 慶田雅洋:
J. Soc. Cosmet. Chem. Japan, **16**, 105 (1983)

化粧品及び食品用キサンテン系タール色素のHPLCによる純度試験法を設定した。逆相分配型カラム“Zorbax C-18”を使用し, 溶離液には1%塩化アンモニウム溶液(pH 8.0)-メタノール・アセトニトリル

(4:1) 混液を用い, 波長230 nm で検出する。化粧品第1群の赤色3号, 104号, 106号, 第2群の赤色213号, 215号, 218号, 223号, 230号, 231号, 橙色201号, 206号, 黄色201号及び202号の14種の市販品では, いずれも原料物質, 反応中間体の混在は少く, 夾雑物として問題になるのは附随色素であることが明らかになった。橙色201号及び206号には特に附随色素が多く, 主色素(純色素)の含有率は70%以下であった。

103 **Survey of Ciguatera and Tetrodotoxin of Blowfish in Thailand**

Masatake TOYODA, Amara KINGKATE,* Chanchai JAENGSAWANG,* Wanthanee THANISSORN* and Chaweewon HALLIAMIAN*: *J. Food Safety*, **3**, 207 (1981)

バンコク, チャンタブリ, チョンブリの魚市場から, ハタ, ウツボ, カマス, フェダイなどの20種のシガテラ毒魚を採取し, 肝臓と筋肉のエーテル抽出物についてマウス試験によりシガトキシンの有無を検査した。いずれの検体からもシガトキシンは検出されなかった。一方チャンタブリ, サムトサコン, トラトから集めた5種のフグの筋肉, 皮, 腸, 肝臓, 卵巣について酢酸性下で水抽出し, マウス試験を行ったところ麻痺や致死が見られた。タイ国で一般的な2種のフグの卵巣から強いフグ毒が検出され, 最高では1480 MUもあった。

* Department of Medical Sciences, Thailand

104 **殺虫剤および食品添加物等のラットにおける胎仔毒性に関する研究(第2報) ミョウバンの胎仔毒性**

加納晴三郎, 江馬 真, 川崎浩之進: 応用薬理,
24, 65 (1982)

10, 2.5 又は 0.32% のカリウムミョウバンを含む飼料をラットの妊娠7から14日まで与え, 胎仔及び新生仔への影響を検討し, 以下の成績を得た。1) いずれの投与群においても胎仔体重の低下がみられた。2) 外表奇形胎仔はいずれの群にも認められなかった。3) 胎仔の骨格検査では各群に変異例及び化骨遅延例がみられたが, 奇形例はいずれの群にも認められなかった。4) 胎仔の内臓検査では10及び2.5%投与群において側脳室拡大及び腎盂拡張例がやや高頻度で観察された。5) 新生仔の生後発育検査では, 10%投与群で雌雄の仔の成長が遅れる傾向がみられたが, 0.32%投与群では雌雄の仔ともに良好な成長が認められた。

105 殺虫剤および食品添加物などのラットにおける胎仔毒性に関する研究 (第3報) 食用赤色 105号の胎仔毒性

加納晴三郎, 堀 弥生: 応用薬理, 24, 391 (1982)

食用赤色 105号(R-105)を妊娠ラットに与えて妊娠末期胎仔及び新生仔への影響を検討し, 以下の成績を得た。1)5, 2.5, 1.25, 0.63又は0.32%のR-105を含む飼料を妊娠8から15日まで与えたとき, 5%投与群で胎仔体重低下の傾向がみられた。外表奇形胎仔はいずれの群にも認められなかった。2)2.5又は0.1%のR-105を含む飼料を妊娠8から20日まで与えたところ, 両投与群において胎仔体重の低下がみられた。3)5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.32又は0.1%のR-105を含む飼料を妊娠8から15日まで与えた母ラットよりの仔の生後発育検査を行ったところ, 5%投与群で仔の死亡率の上昇する傾向がみられた。また, 2.5及び0.36%投与群では仔の成長の遅れる傾向がみられた。

106 殺虫剤および食品添加物などのラットにおける胎仔毒性に関する研究 (第4報) 食用黄色4号の胎仔毒性

加納晴三郎, 江馬 真, 川崎浩之進: 応用薬理, 24, 399 (1982)

ラットの妊娠7から14日まで5, 1.25又は0.32%の食用黄色4号(Y-4)を含む飼料を与え, 妊娠末期胎仔及び新生仔への影響を検討し, 以下の成績を得た。1)いずれのY-4投与群においても母体への影響はみられなかった。2)いずれのY-4投与群の死亡胎仔数及び胎仔体重ともに対照群と同様の値を示した。3)外表奇形胎仔はいずれの群にも認められなかった。各群の胎仔に骨格の変異例及び化骨遅延例が散見され, Y-4投与群において腎盂拡張例の多発する傾向がみられた。4)5及び0.32%投与群の自然分娩仔の生後発育検査を行ったところ, 生後28日の離乳日における両投与群の仔生存率が対照群に比べて低下し, 5%投与群で仔体重の低下がみられた。

107 殺虫剤および食品添加物などのラットにおける胎仔毒性に関する研究 (第5報) Tris-(chloropropyl)phosphate の胎仔毒性

川崎浩之進, 村井敏美, 加納晴三郎: 応用薬理, 25, 697 (1982)

防炎加工剤 tris-(chloropropyl)phosphate (TCPP)のラットに対する催奇形性について検討し, 以下の成績を得た。1)雌ラットに対する経口によるLD₅₀は

1.5g/kgであり, 7日間連続経口投与したとき, 1000mg及び200mg/kg投与群で腎重量が有意に増加した。2)TCPPを1, 0.1及び0.01%添加した飼料を妊娠0から20日まで与えたとき, 母体体重の増加, 飼料摂取量, 着床所見, 胎仔体重などに対照群との間に有意差はなく, 外表異常も認めなかった。3)胎仔の骨格, 内臓検査の結果, 異常例の出現頻度にも対照群との間に有意差はなく, 奇形は全く認めなかった。4)自然分娩させた新生仔の生後発育は良好であった。以上から本実験の範囲内でTCPPのラットに対する催奇形性はないと考えられた。

108 Effects of Maternal Starvation on Alkaline Phosphatase and Fetal Growth in Rats

Seizaburo KANOHI, Takafumi ITAMI and Makoto EMA: *Cong. Anom.*, 22, 369 (1982)

妊娠ラットを用いて胎盤及び母体小腸のアルカリホスファターゼ(ALP)の活性と胎仔に対する絶食の影響を検討し, 以下の結果を得た。1)妊娠17~20日に絶食を行ると, 妊娠末期の母体臓器(肝・小腸), 胎盤及び胎仔の重量が低下した。2)妊娠後期絶食群の胎仔の化骨進行度は低下していた。3)妊娠後期絶食群の胎盤のALP活性は低下しており, そのミカニリス恒数(Km)は4mMから13mMに増加した。しかし, 初期絶食群では母体臓器及び胎盤のALP活性の変化はなかった。4)後期絶食群の胎盤ALPに対するL-フェニルアラニンの50%阻害濃度は27mMであり, 対照群の21mMよりも高い値を示した。

109 Dutch種ウサギの Pyrogen test への利用について

伊丹孝文, 江馬 真, 加納晴三郎: *Exp. Anim.*, 32, 71 (1983)

Dutch種ウサギのLPSに対する発熱感受性について日本白色種ウサギと比較し, 以下の成績を得た。1)20週令のDutch種ウサギの体重は雄で約1.6kg, 雌で約1.7kgと小型であり, 1日の摂取量は約70gであった。2)Dutch種ウサギ100匹の首架固定時の股関節脱臼は認められなかった。3)14週令以下のDutch種ウサギの首架固定時の体温はよく安定していた。4)LPS 0.05µg/kgを投与したときの発熱は20~25週令で最も高く, それは日本白色種(20週令)よりも高かった。5)LPS 0.01~0.1µg/kgの範囲で投与量と発熱度との間に良好なDose-responseがみられた。6)Dutch種ウサギは有色で, 耳が短いため, 静注に熟練を要した。

110 薬物の胎仔毒性に関する薬理学的研究 (III) 硝酸カリウムのラットの二世世代に及ぼす影響について

江馬 真, 加納晴三郎: 日薬理誌, 81, 469 (1983)

硝酸カリウム(KNO_3)を2.5, 0.5又は0.1%含有する飼料をWisterラットの妊娠7から14日まで与えて次及び次々世代に対する影響を検討し, 以下の成績を得た。1)妊娠母体(F_0)及び胎仔(F_1)に対する KNO_3 投与の影響はみられなかった。2)生後13週までの F_1 の成長はいずれの投与群ともに良好であった。3)同一群の雌雄の F_1 を交配させたところ, いずれの群とも F_1 の生殖能力は良好であった。4) F_1 の妊娠7から14日までそれぞれの母親(F_0)に与えたと同濃度の KNO_3 を含む飼料を与えたところ, 2.5%投与群で生存胎仔133例中6例, 自然分娩仔63例中7例に外表奇形を認めた。以上より, KNO_3 を二世世代にわたって妊娠ラットに与えたとき, F_1 に対する毒性は認められなかったが, F_2 において毒性が発現することが明らかとなった。

111 ケシ (*Papaver somniferum* L.) の生産力におよぼす気象要因の影響 (第4報) 一貫種の実産力と気象要因との重相関, 偏相関

大野忠郎: 生薬学雑誌, 36, 181 (1982)

ケシ一貫種の実産力と各種気象要因との間の重相関, 偏相関を検定し, 真に生産力に影響を及ぼす要因を明らかにした。開花期に相当する5月上旬においては旬平均最高気温が最も強くあへん収量に影響を及ぼし, それに次いで旬合計降水量が影響を及ぼす。

あへん採汁期に相当する5月下旬においては旬合計日照時間があへん収量に影響を及ぼす。さく果生育期に相当する5月中旬における降水量が多いほどあへん中のモルヒネ含量は高い。5月下旬においては降水量が最も強く, 次に湿度, 雲量があへん中のモルヒネ含量に影響する。開花期である5月上旬の旬平均最高気温が高く, 旬合計降水量が少なく, 採汁期である5月下旬の合計日照時間が長いほどモルヒネ生産力は高くなる。

112 血中濃度による薬剤投与管理

緒方宏泰, 増原慶壮*1, 川津泰仁*2: ファルマシア, 12, 492 (1982)

1981年6月1日付の医療費改定にともない, 新たに特定薬剤治療管理料が設けられ, ジギタリス製剤, 抗てんかん剤を投与している患者に対して薬物血中濃度を測定し, その結果をもとに投与量の精密な管理を行った場合に, 1ヶ月に1回300点が算定されることとなった。

薬剤師の職能内容も近年多面的になり, 又, 変革も求められるようになってきたが, 「管理料」の新設という時点にあたって, 「薬」の専門家としての薬剤師の力量が問われている。本稿では, 薬剤師の活動という面から, 血中濃度による薬剤投与管理についてのハードとソフトについて概説をこころみた。

*1 聖マリヤンナ医科大学病院薬剤部

*2 国立療養所東京病院薬剤科

13, 1106 (1982)

生物学的同等性の判定基準作成に関する研究班(厚生省薬務局審査課研究班)が, 昭和52年から5年間にわたって行った研究結果をもとにして, ヒト及び動物の生物学的同等性の標準試験方法を示すとともに, 結果の解析方法の解説, 溶出試験法の解析を試みた。

*1 明治薬科大学

*2 国立国府台病院

*3 東京医薬品工業協会製剤技術懇談会

*4 大阪医薬品協会製剤研究会

114 病院薬局における医薬品試験—生物薬剤学的試験—

緒方宏泰: 月刊薬事, 24, 2211 (1982)

病院薬局における医薬品試験の一つとしての生物薬剤学的試験について解説した。生物薬剤学的試験として, 生物学的同等性試験について, その標準的方法及び溶出試験法について, 厚生省生物学的同等性試験の内容に沿って概説した。また, 血中濃度モニタリングの重要性についても述べた。

113 生物学的同等性の試験方法についての解説

江島 昭, 緒方宏泰, 鹿庭なほ子, 青柳伸男, 柴崎利雄, 渡辺 康*1, 本橋 清*2, 山口定男*3, 諏訪 要*3, 別所貞雄*3, 有賀政義*3, 天田 巖*3, 北浦敏行*4, 高岸 靖*4, 鮫島政義*4, 島本次雄*4, 今里 雄*4: 医薬品研究,

115 生物学的同等性の試験方法についての解説—統計解析 その2—

江島 昭, 緒方宏泰, 鹿庭なほ子, 青柳伸男, 柴崎利雄, 渡辺 康*1, 本橋 清*2, 山口定男*3, 諏訪 要*3, 別所貞雄*3, 有賀政義*3, 天田 巖*3, 北浦敏行*4, 高岸 靖*4, 鮫島政義*4, 島本次雄*4, 今里 雄*4: 医薬品研究, 13, 1267 (1982)

生物学的同等性試験における統計解析法について述べた。同等である事の証明を統計的に表現する為に、同等性試験の検出力を定めることとなったが、実際に行ったデータからの検出力の算出法、実験例数の求め方など、実験計画重要な項目について解説を行った。

*1 明治薬科大学

*2 国立国府台病院

*3 東京医薬品工業協会製剤技術懇談会

*4 大阪医薬品協会製剤研究会

116 組み換え DNA により生産された医薬品としてのポリペプチドに対する品質評価への試み (総説)

早川 堯夫, 川村次良: 医薬品研究, 14, 171 (1983)

従来にない新しい方法で製造された医薬品は、製品として供給されるまでに品質面、効力、安全性などに関してできる限り多角的な検討のなされていることが必要である。本稿は、組み換え DNA によって生産されたヒトインシュリン及びヒト成長ホルモンを主な例として、現在までにどのような検討がなされてきたかを紹介したものである。

117 荊芥・連翹・黄耆の品質

西本和光: 現代東洋医学, 3(2), 51 (1982)

これら生薬の品質について論述し、荊芥については精油のガスクロマトグラフ法による分析法を、連翹については紫外線吸収スペクトル法による分析法を、また、黄耆については紅耆との鏡検による差別法を紹介した。

118 人參の品質

西本和光: 現代東洋医学, 3(3), 70 (1982)

品質について総説的に論述し、人參、毛人參、紅人參及び竹節人參は処方及び患者によって使い分けるべきであることを述べた。

119 葛根の品質

西本和光: 現代東洋医学, 3(4), 63 (1982)

品質について総説的に論述し、類似生薬である中国産粉葛根との紫外線吸収スペクトル法及び鏡検法による差別法を紹介した。

120 茵陳蒿・山梔子の品質

西本和光: 現代東洋医学, 4(1), 67 (1983)

これらの生薬及び関連生薬の基原を考察し、又、古来の選品(品質評価)についても紹介した。

121 化粧品関連分野における液体クロマトグラフィーの応用

木嶋敬二: 日本化粧品技術者会誌, 16, 3(1982)

化粧品関連分野における高速液体クロマトグラフィー(HPLC)の応用は急激に増加している。この分野はクリーム、ローション、シャンプー、口紅、コールドウェーブ溶液、紫外線吸収剤、ヘアダイ、ハミガキなど広範囲にわたっている。ここでは、この分野の最近の HPLC による分析例を詳述し、充てん剤の選択についても考察した。

122 N-ニトロソ化合物の微・超微量分析について

木嶋敬二: *Fragrance J.*, 54, 17 (1982)

1978年、アメリカにおいて、化粧品中から N-ニトロソジエタノールアミンが検出されたとの報告があり、我が国においてもその対応が急務となった。この物質が揮発性ニトロソ化合物であることから、分析法も種々な方法が報告された。ここでは N-ニトロソ化合物の分析法について、薄層クロマトグラフィー、比色法、ポーラログラフィー、ガスクロマトグラフィー(検出器に AFID, ECD, 熱エネルギー検出器(TEA))、高速液体クロマトグラフィー(検出器に UV, TEA)などを用いる方法について論述し、微量分析の定量限界などについても言及した。

123 タール色素中の反応中間体、付随色素及び原料物質などの微量分析法について

木嶋敬二: *Fragrance J.*, 54, 30 (1982)

最近、タール色素の安全性に関して、原料タール色素中の未反応中間体や付随色素が論議されるようになった。

既に、CFR(Code of Federal Regulations)においてはこれらの物質の限度量についての規格がある。ここでは法定タール色素と品質規格について論述し、次いで現在までに報告されているタール色素中の未反応

中間体などの分析例を紹介した。なお我が国においても未反応中間体などの規格についての必要性を示した。

124 毒性評価法としての脂質過酸化測定

内山 充, 三原 翠: 最新医学, 37, 2342(1982)

生体に有害な作用が予想される化合物の毒性評価に当っては、脂質過酸化の観察は欠くことのできないものとなってきた。過酸化脂質の測定法には多くの方法があるが、ここではチオバルビツール酸 (TBA) 法を中心にとり上げ、その操作法改良の経緯、及び種々の測定条件の変化によって得られる TBA 値の変化などを示し、更にハロゲン化合物の毒性評価に適用した例などを挙げ、TBA 法によって得られる情報とその解析法を示した。

125 食品汚染物質のモニタリング

内山 充: ぶんせき, 1982, 465

食品は往々にして有害物によって汚染される。食品の安全性を確保するためには、系統的に組織された継続的な汚染物監視及び実態調査が必要である。本報では、わが国におけるモニタリングの現状を紹介し、更に今後の推移と展開、及びそれに必要な体制などの提言を行った。問題点としては、多項目同時分析、試料の保存、新規汚染物の検知体制、人体暴露の把握などが挙げられる。

126 環境化学物質による魚介類汚染と安全評価

内山 充: 食品衛生研究, 32, 529 (1982)

魚介類は日本人の主要なたん白質源であると同時に、化学物質の人体内取込みに際しての主要な担体となる。

本論文では、環境汚染物の人体暴露の実態調査の結果を過去4年間にわたって紹介し、諸外国の実態と比べて解析した。日常食からの摂取汚染物の由来食品として、魚介類は、PCBの80%、水銀の60%、DDTの65%を供給しており、特に魚種によって極端に汚染物濃度が異なる事実を示した。アナゴ、コノシロ、イシモチ、タチウオ、スズキ、ボラ、ウグイ、ハマチが高汚染の代表魚種である。

127 Mutagenicity of N-Nitroso Compounds Formed by the Reaction of Sulpyrine with Nitrite: Effects of Cysteine and its Derivatives

Ayako SAKAI and Akio TANIMURA: IARC Scientific Publications No. 41, 709 (1982)

スルピリンと亜硝酸との反応生成物 1-ジケトブチリル-1-フェニル-2-メチル-2-ニトロソヒドロラジド (DPMN) と 4-(N-メチル-N-ニトロソ)アミノアンチピリン (MNAA) とは、*Salmonella typhimurium* TA100 に対して変異原性を示す。両化合物の変異原性に対するシステインとその関連化合物の影響を調べた。システイン、システアミン、システインメチルエステル、グルタチオン、2-メルカプトエタノール、ホモシステインは、DPMN の変異原性を増強し、特に前3者による増強作用は著しく、約30倍に達した。SH基を持たない酸化型グルタチオン等には、この増強作用は認められなかった。MNAA の変異原性に対しては、システイン、グルタチオンともに抑制的に作用した。

128 わが国における微生物規格 (指導基準を含む) の現状分析 (a) 対象食品及び対象微生物について

小沼博隆: メディアサークル, 28, 51 (1983)

FAO/WHO/UNEP 合同微生物専門委員会及び国際微生物専門委員会 (ICMSF) などの組織では、国際的に対応できるように試験法や許容菌数限度などの基準を立案し、関係貿易国に対し同調の呼びかけを行っている。このような情勢の中で、わが国の微生物規格 (地方自治体の指導基準を含む) についても見直しをしてみる必要があると考えた。そこで現行の規格基準と指導基準について対象食品並びに検査対象微生物を中心に現状を把握し問題点を考察した。

129 異常環境下の菌類と食品の変敗

宇田川俊一: メディアサークル, 28, 105(1983)

加工食品に発生するカビが変敗に関与し、そのための苦情が最近かなり増加している。このような食品中での環境は冷凍・冷蔵食品、レトルト食品、水分活性の調整を基調とした乾燥食品、脱酸素剤やガス置換を適用した保存食品などの例にみられるように菌類の生育にとっては、極めて厳しい異常環境といえる。ここでは菌類の生育を制御する因子として、水分活性、温度、水素イオン濃度などを取り上げ、異常環境にも耐えて食品の変質に関与する菌類には、どのような種類があるかを述べた。又、アメリカで衛生指標菌として検査対象とされている *Geotrichum candidum* が食品製造工場で、どのような挙動を示すかについても解説した。

130 Detection and occurrence of mycotoxin-producing fungi in foods imported by Japan

Shun-ichi UDAGAWA: *Control of the microbial contamination of foods and feeds in international trade: Microbial standards and specifications*, p. 229 (1982), Saikon Publ. Co., Ltd., Tokyo

わが国における食糧自給事情を農林統計から考察し、その大半が輸入に依存していることを明らかにし、かつマイコトキシン監視体制の確立がどのような過程を経て確立されてきたかを述べた。輸入香辛料の実態調査では試料の約30%が 10^4 /g以上のカビ汚染を示し、その品目もイギリス、フランスの報告内容とよく一致していることを指摘した。又、これまでの報告から香辛料におけるアフラトキシン(AF)の自然汚染について考察し、トウガラシ、黒コショウ、セロリー、ナツメグ、コリアンダー、ジンジャー、ターメリック、ベイリーフ、フェスグリークなどにAFの汚染がみられたこと、特にわが国では輸入トウガラシから規制値以上のAF B₁が検出されていることを報告した。

131 Metabolism of 1-Propyl-1-nitrosourea (PNU) in Rats

Akira TANAKA and Mitsuo WATANABE*: *N-Nitroso Compounds: Occurrence and Biological Effects*, IARC, 41, 483 (1982)

白血病誘発剤 1-Propyl-1-nitrosourea(PNU)の代謝研究を¹⁴C-PNUを用いてラットで行った。PNUはよく吸収され、尿と呼吸に主として排泄された。

PNUは尿素とプロピル尿素(PU)となって尿中に排泄されるが、PUはそれ以上代謝されず未変化体として排泄される。呼吸中には炭酸ガス以外イソプロピルアルコールが検出されたが、プロピルアルコールは検出されなかった。投与後24時間では著明な臓器分布は認められず、急速に排泄されることが分った。

妊娠ラットの全身オートラジオグラムを作製するとPNUの尿素炭素は血液に、プロピル炭素は肝、次いで骨髄に主として分布し、母体と胎児の濃度差は特に認められなかった。

代謝の実験から、ラット体内でのPNUの代謝経路を推定した。

* 帝京大学薬学部

132 GLP と安全性試験の評価について

堀内茂友: フレグランスジャーナル, 59, 7 (1983)

わが国の医薬品、化粧品、食品添加物、農業、化学物質等の安全性確保のための現状方策を先づ最初に述べ、次いで、FDAのGLPの背景を中心に諸外国の対応状況及び、わが国のGLPの現状を記した。

次に、医薬品、食品添加物、化学物質、農業、飼料添加物が審議基準の適用を受ける安全性試験の整備状況と現状でGLP適用を受ける毒性試験項目を上記各種物質毎に比較した。

最後に各種化学物質に対する安全性評価のための毒性試験の考え方について概要を述べ、同時にGLP同様、安全性試験(ガイドライン)も、国内はもとより国際的にも試験データの相互受け入れのため、試験法の整合性を持つ必要性と整備を強調した。

133 実験動物と薬物のGLP規制

堀内茂友: 東京医学, 88, 274 (1981)

先づ、再現性のある動物実験が普遍化してきた背景として、実験動物の変遷と同時に動物実験の体制が整って実験者が科学的に実験条件や実験法を吟味すれば精度の高い動物実験の実施が可能となった現状を述べた。

次いで、FDAやわが国を含めた諸外国が動物試験の実施に関する規範「GLP」を定め、これに基づいて適正な動物試験を推進しなければならないGLPの経緯について、及びわが国におけるGLPの現状を述べた。特に「医薬品の安全性試験の実施に関する基準」について、実験動物サイドで特に対応しなければならない職員、施設、機器、標準操作手順書、動物の飼育管理等の条項について記述した。

134 照射食品の安全性

岩原繁雄*, 小林和雄: 日本原子力学会誌, 25, 24 (1983)

照射食品の安全性を確認するためには各種の試験を必要とする。筆者らは7種の照射食品について、ラット、マウス、サルなどを用いる2箇年にわたる長期毒性試験、繁殖生理に及ぼす影響および催奇形性の有無などを調べるための3世代試験などを実施した。また各種の変異原性試験を実施することにより遺伝的毒性についても検討を加えた。本稿ではこれまでに筆者らが実施した試験の内容を中心として一部国外のデータについても解説を加えた。

* 食品医薬品安全センター

135 発癌性試験の方法

林 裕造：日本香粧品科学会誌，6(3)，162 (1982)

各国の関連省庁及び OECD, IARC 等の国際機関から提案されている試験指針を基礎に，小動物を用いる発癌性試験の基本的な方法を具体的に示した。試験成績の評価に際して，データの単純な統計学的解析のみでは誤りを招く危険があり，各病変についての詳細な病理学検索が必要である。たとえば，明らかに癌とみなしうる病変の発生率が低く，対照群と実験群との間に統計学的有意差が認められなくても，同じ臓器にいわゆる前癌性変化あるいは癌の発生母地と思われる病変が高率にみられる例では，検体のその臓器に対する発癌性の疑いは濃厚である。

136 胃癌発生とその修飾

高橋道人：癌と化学療法，10(2)，421 (1983)

胃癌発生に關する修飾要因について，実験胃癌の研究結果に基づき紹介した。1)物理学的修飾因子として，投与方法，溶媒(媒体)，界面活性剤(浸透剤)，濃度，投与期間(回数)，暴露時間，粘液の状態などのほか，胃腔内異物の効果もある。2)生物学的修飾因子として，種，遺伝，性，内分泌，栄養，年齢による影響があるほか，発癌剤投与に先立って形成された潰瘍の影響などもある。3)化学的修飾因子として，発癌剤の投与前，投与时，投与後のそれぞれに化学物質が作用し，修飾因子となる。これらには co-initiator やプロモーターあるいは inhibitor があり，食塩の持つ，co-initiator 作用及びプロモーター作用の実験例を示した。

137 発癌性試験の評価

高橋道人：日本香粧品科学会誌，7(1)，58 (1983)

発癌性試験の実施は，最大耐量をラットでは2年間(マウスでは18箇月)暴露させることが要求される。評価にあたっては種々の検討事項がある。まず実験の評価として，被験物質の化学的・生物学的特性の把握や，実験動物，飼料(又は栄養)の検討が必要である。実験方法や解剖・組織標本作製における人為的要因も無視できない。実験結果の評価に際しては，使用動物の背景病変(自然発生腫瘍を含む)を知ることが重要であり，陽性所見の評価では自然発生腫瘍との比較が極めて重要である。また，発癌性試験を修飾する要因や，一部の動物に特異的な現象の把握が必要となる。試験の結果を人間へ外挿する場合には無発癌量実験群

の設定が有効となる。

138 石綿と呼吸器疾患

林 裕造：医学のあゆみ，125(1)，11 (1983)

石綿線維の吸入による肺疾患並びに中皮腫の発生に關する病理及び産業衛生上の知見を紹介した。今後の問題点として，低濃度の石綿線維の生体に及ぼす影響に關する研究及び環境基準値の再検討の必要性を強調した。

139 GLP 規制と安全性研究—研究者の立場から—

林 裕造：Exp. Anim.，31(3)，207 (1982)

GLP 規制を中心として，毒性試験及び毒性学研究のあり方について述べた。GLP 規制は試験データの信頼性を保証するための有効な手段である。GLP による試験の画一化，類型化を避けるためには「毒性試験が研究的要素を多分に備えた生物試験である」という認識の上に立った組織の運営が必要である。GLP 規制への反応は試験担当者にかんがりの負荷を与えることにはなるが，長期的に見た場合，データの信頼性保証の面での価値も大きいように思われる。

140 動物によるがん原性の検索

林 裕造：病態生理，1(2)，117 (1982)

癌研究における発癌性試験の意義ならびに発癌性検索における基本的な考え方と方法について述べた。試験結果をヒトに外挿する際の問題点として，発癌性の強さ及び発癌性の機序に關する検討が必要であり，特にプロモーターの研究が現時点における緊急課題である事を強調した。

141 癌性試験の結果の評価—Dr. Squire の提案をめぐって—

黒川雄二：環境変異原研究，43，52 (1982)

発癌性試験の結果の評価はこれまで質的レベルで行われてきたが，今後は量的レベルでの検討が望まれる。

Dr. Squire が提案した「発癌物質のランキングづけ」が注目をあびているので，この方法を中心に，従来の評価法と併せて總説的に解説した [Science, 214, 877 (1981)]。

142 低用量エチルニトロソ尿素のラットにおける癌原性に関する研究

前川昭彦，谷村顕雄，中館正弘，黒川雄二，高橋道人，荻生俊昭：日産科学振興財団研究報告書，5，29 (1982)

エチルニトロソ尿素(ENU)をモデル化合物として癌原性閾値及び用量変化による標的臓器の変動について検討した。F-344 ラットに0, 0.3, 1及び10 ppmのENU水溶液を2年間経口投与した結果、神経系及び消化管の腫瘍が雌雄共に10 ppm群に高率に発生した他、投与群に於て幾つかの自然発生腫瘍の発生が促進された。この事はENUが多くの臓器に親和性を有し、用量により標的臓器が変動する事を示している。投与群にみられた神経系及び消化器系の腫瘍について、各群の発生率にWeibullモデルを適用し、 10^{-6} 及び 10^{-7} の危険率におけるVirtual Safe Doseの算出を試みた。

143 Carcinogenicity of α -Oxidized Nitrosamines (α -Acyloxy, α -Hydroperoxy, and α -Oxo Nitrosamines in F-344 Rats

Akihiko MAEKAWA, Michihito TAKAHASHI, Yuji KUROKAWA, Takeshi KOKUBO, Toshiaki OGIU and the late Shigeyoshi ODASHIMA, Masataka MOCHIZUKI,* Takako ANJO,* Masashi OKADA*:
N-Nitroso-Compounds: Occurrence and Biological Effects, IARC Scientific Publications, **41**, 619 (1982)

11種の α -oxidized nitrosamine(α -acyloxy, α -hydroperoxy及び α -oxo nitrosamine)の癌原性をF-344ラットを用いて検索した。全ての化合物はオリーブ油に溶解し週1回、計10回F-344ラット皮下に投与した。全投与群に皮下腫瘍の発生が高率にみられた。また一部の投与群に於ては肺、甲状腺腫瘍もみとめられた。この事はこれらの何れも、ジアルキルニトロサミンの代謝活性化モデルとして有用である事を意味している。

* 東京生化学研究所

144 食品添加物の変異原性試験成績(その3)一昭和56年度厚生省試験研究費による一

石館 基, 祖父尼俊雄, 吉川邦衛: 変異原と毒性, **5**, 579 (1982)

今回は、合成添加物54検体について、サルモネラ菌6株を用いるAmesテスト及びチャイニーズ・ハムスター線維芽細胞(CHL)を用いる*in vitro*染色体異常試験を行った。更に、天然添加物15検体については、後者の染色体異常試験のみを行い、また、前年度の検索によって上記いずれかの試験で陽性となった化合物その他8検体について、マウス骨髄を用いる小核試験を行った。その結果、Amesテストでは、2検体が

TA100株に対して陽性を示した。染色体異常試験では、合成添加物のうち7検体が、天然添加物のうち1検体が陽性と判定された。小核試験では、臭素酸カリウムを含む2検体が陽性となった。

145 哺乳動物細胞を用いる変異原性試験一発癌性・遺伝毒性物質の検索

石館 基: 衛生化学, **28**, 291 (1982)

近代社会に生きる我々は、数知れぬ化学物質の恩恵を受けているが、なかには我々の健康に有害であるばかりではなく、自然環境の破壊につながる恐れのあるものも含まれている。生活環境中に存在する化学物質の変異原性検索の短期試験法として多種の試験法が用いられているが、過去の実績からみてある特定な単独試験では評価できず、いくつかの試験法によって再評価されるべきであることが示唆されている。本報では、特に哺乳動物細胞を用いる変異原性試験法の概略を述べ、最後に試験結果の評価についての基本的な考え方を解説している。

146 WHO/IPCSの最近の動き—CSSTT*活動について—

石館 基: 変異原と毒性, **5**, 588 (1982)

1981年、米国NIEHSのDr. F. J. de Serres及び英国ICIのDr. J. Ashbyの手で“Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogens”と題する本がElsevierから出版された。これは、国際協力のもとに、過去数年間にわたって行われた変異原性試験結果の集録でもある。一方WHO/IPCSでは、1981年11月、ジュネーブにおいて短期試験法に関するワーキンググループの会合がもたれ、上記結果に基づき、既知発癌物質でありながらAmesテストで陰性に終わったか、あるいは、各研究室間で結果が一致しなかった約10種類の化合物について、再度検討する必要性のあることが指摘され、1982年の8月末に、ジュネーブで本計画を推進するための臨時運営会議が開かれた。

* CSSTT: Collaborative Study on Short-Term Tests for Genotoxicity and Carcinogenicity

147 食品中の変異原—最近の話題から

石館 基: 医学のあゆみ, **122**, 1130 (1982)

食品中にはさまざまな変異原性物質が含まれている。ある種の食品添加物、残留農薬、重金属、食品の保存中に発生するカビ毒などがあげられる。これらのものはある程度人為的に予防あるいは規制することも可能であろう。しかしながら、食品自体に含まれている変

異原, 更に, 調理や加工によって付随的に生成される変異原については, われわれは事実上これを避けて通るわけにはゆかない。食品の加熱分解物 (Trp-P-1 など) を例に 2, 3 の問題点をあげている。

148 変異原性試験法ガイドラインに関する OECD 専門家会議 (ロンドン) に出席して

石館 基: 変異原と毒性, 5, 351 (1982)

1982年2月8日~12日の5日間, ロンドンの英国環境省で, 変異原性試験法ガイドライン作製のための第3回目の専門家会議が開催された。12箇国から19名の専門家が参加した。今回は, 今までに作製された8種類の変異原性試験ガイドラインに関して各国から寄せられたコメントをつき合わせ, 最終的に原案を作成するための臨時会議であった。各試験項目別に, ガイドラインの要点をあげている。

149 パンクレアチンの脂肪消化力試験法。エマルション系の問題点とミセル系の導入

中原 裕, 岡田敏史, 持田研秀: 医薬品研究, 14, 417 (1983)

日局「パンクレアチン」に脂肪消化力試験法が設定されていないことを指摘し, その早期収載を提言した。日局への収載を考えるために, 外国薬局方「パンクレアチン」の脂肪消化力試験法の推移を概観し, 最も参考になると思われる現行の BP, USP の方法を中心として従来のエマルション系を用いる方法の概要と問題点について述べた。更に従来の方法とは異なるミセル系を用いる方法を概説し, その適用の可能性について論じた。

150 食品分析の簡素化

伊藤登志男: 食品と科学, 24, 79 (1982)

食品分析とは食品中の①栄養成分 (蛋白質, 脂質,

糖, ビタミン及び無機質) ②変質成分 (アミン, 遊離脂肪酸, アミノ酸等), ③食品添加物, ④残留農薬, ⑤食品汚染物 (PCB, アフラトキシン) 等の含有量を測定することである。これらの分析法は一般的にみて, Sampling, 抽出, 精製, 脱水, 濃縮, 定量などの行程から構成されている。したがって分析法を作製する際の簡素化は, 対象物質の物性を良く知り, その特性を利用することにある。著者らの開発した, 通気蒸留装置を用いる亜硫酸の定量法, 酸素電極法を用いる過酸化水素の定量法, FPD-GC を用いるサッカリンの定量法は, いずれも対象物の物理を利用した30分以内で定量できる方法である。分析法を使用する側から考えると, 分析する食品の成分を知り, 不要な精製行程を省略すること。高感度が必要ない時は濃縮行程を省略することも可能である。

151 液体性食品と魚の反応

伊藤登志男: 食品衛生研究, 32, 1137 (1982)

最近, 食品添加物や容器包装材などの毒性試験に魚が使用され, その結果が一般社会に報道され国民に大きな不安をいだかせることがある。そこで魚類と哺乳動物の生理作用 (消化と吸収, 排泄機序, 呼吸, 栄養分と酸素の各組織への輸送, 薬物代謝及び解毒機構, その他の特有な生理作用) の相違点を解説した。魚類の毒性試験には通常, 飼育水添加法が用いられ, 水溶性の低分子化合物の大部分は, 口からではなく, 鰓を経て吸収され, 血液を通り各種臓器に至り, 再び鰓を経て排泄される。薬物代謝酵素は哺乳動物に比し極めて弱く, したがって薬物の大部分はそのままの型で排泄される。魚類の死亡原因要素としては, 溶存酸素量, 溶存二酸化炭素量, 水温, pH, 浸透圧, 過剰吸収などがある。アルコール飲料, 醤油, 酢, 果汁飲料, 炭酸飲料等に金魚を入れると短時間に上記の原因により死亡する。

1. 末吉祥子, 丹野雅幸, 神谷庄造: トリ置換 N-ニトロソ尿素化合物の分解反応—トリアツェン類及びニトロ化合物の生成—
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 4)
 2. 宮原美知子, 宮原 誠, 神谷庄造: 1, 3-Diphenyl-1-nitrosourea 類の抗 AH-13 作用機作について
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 6)
 3. 広部雅昭*1, 宮田直樹, 金子希代子*1, 渡辺敬三*1, 高柳一成*2: 化学的予測に基づくモルヒネ系微量活性代謝物の合成とその薬理活性
第41回有機合成化学総合研究発表講演会 (1982. 6. 4)
-
- *1 東京大学薬学部
*2 東邦大学薬学部
4. 柴田礼子*2, 紺野不器夫*2, 高柳一成*2, 宮田直樹, 広部雅昭*1: モルヒネ誘導体における 7, 8 エポキシ化の薬理作用への影響
第66回日本薬理学会関東部会 (1982. 6. 12)
-
- *1 東京大学薬学部
*2 東邦大学薬学部
5. 緒方宏泰, 青柳伸男, 鹿庭なほ子, 柴崎利雄, 江島 昭, 高岸 靖*1, 小倉敏弘*1, 富田敬三*1, 井上園子*1, 財前政美*2: メトロニダゾール糖衣錠のヒトに於ける bioavailability とビーグル犬に於ける bioavailability, *in vitro* 溶出速度との関連性
第14回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム (1982. 11. 19)
-
- *1 塩野義製薬・製造部
*2 同・解析センター
6. 緒方宏泰, 青柳伸男, 鹿庭なほ子, 江島 昭: Metronidazole 糖衣錠の Bioavailability に對する胃液酸度の影響
第 3 回日本臨床薬理学会 (1982. 12. 3)
 7. 江島 昭: 医薬品の bioavailability 評価における実験動物の有用性
第30回実験動物談話会 (1983. 2. 7)
 8. 青柳伸男, 緒方宏泰, 鹿庭なほ子, 柴崎利雄, 江島 昭, 天田 巖*, 藤田 孟*, 提 淳三*, 中田 宏*: インドメサシンカプセルの Bioavailability と溶出速度
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 6)
-
- * エーザイ・研究所
9. 鹿庭なほ子, 青柳伸男, 緒方宏泰, 江島 昭, 八隅普恒*, 本山 示*: 製剤の胃内容排出速度に及ぼす粒子径, 比重, 食餌の影響
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 6)
-
- * フロイント産業・技術開発研
10. 柴崎利雄, 河野ひとみ, 中里直美, 江島 昭: ヘッドスペース・GC 法によるエタノールの純度試験
第19回全国衛生化学技術協議会年会 (1982. 9. 21)
 11. 吉岡澄江, 柴崎利雄, 江島 昭: リポゾーム膜の透過性に及ぼす血中成分の影響
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 5)
 12. 香取典子, 吉岡澄江, 柴崎利雄, 江島 昭: セファレキシンの固体状態における安定性
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 6)
 13. 松田りえ子, 立沢政義, 江島 昭, 高井信治*: 高速液体クロマトグラフ法による消炎剤の分析
第 3 回液体クロマトグラフ討論会 (1982. 10. 20)
-
- * 東京大学生産技術研究所
14. 松田りえ子, 立沢政義, 江島 昭, 高井信治*: 高速液体クロマトグラフ法による消炎剤の分析
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 4)
-
- * 東京大学生産技術研究所
15. 松田りえ子, 青柳伸男, 鹿庭なほ子, 緒方宏泰, 立沢政義, 江島 昭: 油脂性坐剤基剤の経時変化による主薬放出性への影響
第15回日本薬剤師会学術大会 (1982. 9. 28)
 16. 松田りえ子, 青柳伸男, 鹿庭なほ子, 緒方宏泰, 立沢政義, 江島 昭: 油脂性坐剤基剤の経時変化による主薬放出性への影響

- 日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 6)
17. 高橋一徳, 島峯望彦, 大野昌子: 向精神剤のマイクログリスタルテスト II
第 67 次日本法医学会総会 (1983. 4. 3)
18. 江島 昭: **Effect of the Gastric Acidity of the Subject to Bioavailability of Drugs**
9th Asian Congress of Pharmaceutical Sciences of FAPA (August 23–28, 1982)
19. 徳永裕司, 木村俊夫, 川村次良: 高速液体クロマトグラフ法による糖質コルチコイドの定量
第 19 回全国衛生化学技術協議会 (1982. 9. 22)
20. 徳永裕司, 木村俊夫, 川村次良: 高速液体クロマトグラフ法によるマレイン酸エルゴメトリン及びマレイン酸メチルエルゴメトリン製剤の定量
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 4)
21. 谷本 剛, 福田秀男, 川村次良: トリプシンを配合したプロメライン製剤の定量法
第 19 回全国衛生化学技術協議会 (1982. 9. 22)
22. 太田美矢子, 徳永裕司, 木村俊夫, 佐藤 浩, 川村次良: 高速液体クロマトグラフィーによるインシュリンの分析 (II) — 種々のインシュリンの分離 —
日本分析学会第 31 年会 (1982. 9. 28)
23. 太田美矢子, 徳永裕司, 木村俊夫, 佐藤 浩, 川村次良: 高速液体クロマトグラフィーによるインシュリンの分析 (III) — インシュリン製剤の定量 —
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 4)
24. 谷本 剛, 福田秀男, 川村次良: 家兎水晶体 **Al-dose Reductase isozyme** の性質
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 4)
25. 鈴木和博, 池淵秀治, 寺尾允男: ヒト赤血球膜のリン酸化に対する SH 基反応試薬の効果
第 55 回日本生化学会大会 (1982. 10. 11)
26. 手島玲子, 沢田純一, 池淵秀治, 寺尾允男: エチレンビスニトロソ尿素の免疫担当細胞に及ぼす影響について
- 日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 5)
27. 沢田純一: 一次免疫応答の後期段階の解析及びリンホカインの役割
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 6)
28. 鈴木英世, 関田節子, 原田正敏: 生薬成分の定量用標準品(その 1) **Paeniflorin** について
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 4)
29. 関田節子, 鈴木英世, 原田正敏, 田中 悟, 義平邦利, 高仲 正, 名取信策: 駆瘀血生薬の薬理効果 (第 1 報) 川芎の筋弛緩効果に関与する含有成分について
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 5)
30. 大場琢磨, 辻 楠雄, 三沢 明*1, 山崎修三*1, 松田 一*1, 都築正和*2, 小林寛伊*2, 海老原久雄*2: 医療用具に残留するエチレンオキサイドに関する研究 (第 8 報) 残留エチレンオキサイドとエアレーション条件
第 57 回日本医科器械学会大会 (1982. 5. 27)
- *1 サクラ精機(株)
*2 東京大学中央手術部
31. 辻 楠雄, 菊池 寛, 新谷英晴, 大場琢磨, 安居茂夫*, 西川 譲*: 医療用具の残留エチレンオキサイドに関する研究 (第 9 報) 自動分析装置によるエチレンオキサイドの定量
第 57 回日本医科器械学会大会 (1982. 5. 27)
- * (鶴島津製作所)
32. 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠: 家庭用品による接触皮膚炎の原因化学物質の追求 — 作業用ゴム手袋の場合 —
第 19 回全国衛生化学技術協議会年会 (1982. 9. 22)
33. 中村晃忠, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭: 接触皮膚炎の原因物質究明へのアプローチ
第 19 回全国衛生化学技術協議会年会 (1982. 9. 22)
34. 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠: 市販ゴム手袋中の老化防止剤の分析
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 5)
35. 叶多謙蔵: NMR スペクトル自社データ蓄積・検

- 索システムの作製
日本分析化学会第31年会 (1982. 9. 30)
36. 叶多謙蔵: **NMR スペクトル自社データ蓄積・検索システムの作製**
第18回応用スペクトロメトリー東京討論会 (1982. 11. 17)
37. 松村年郎, 亀谷勝昭: **ホルムアルデヒドによる室内空気汚染について (第3報)**
第23回大気汚染学会 (1982. 11. 9)
38. 松村年郎, 村松 学*, 八木朗子*: **室内空気汚染に関する研究 (集合住宅における実態調査)**
第41回日本公衆衛生学会 (1982. 10. 29)
-
- * 東京都衛生局
39. 松村年郎, 亀谷勝昭: **ガスクロマトグラフによる大気中の硫酸ミストの定量**
第23回大気汚染学会 (1982. 11. 9)
40. 亀谷勝昭, 松村年郎: **飲料水に含まれる天然放射性核種**
第19回全国衛生化学技術協議会年会 (1982. 9. 21)
41. 福田一義*, 亀谷勝昭: **土壌中のウラン含量と²³⁴U/²³⁸U 比について**
第26回放射化学討論会 (1982. 10. 2)
-
- * 北海道衛生研究所
42. 木嶋敬二, 斎藤恵美子, 義平邦利: **HPLC による染毛剤の分析(III)**
第19回全国衛生化学技術協議会年会 (1982. 9. 22)
43. 木嶋敬二: **酸化染毛剤の分析について**
第13回日本化粧品技術者会研究討論会 (1982. 11. 17)
44. 原田裕文*, 木嶋敬二, 岩倉良平*, 河村邦夫*, 西島 靖*, 能崎章輔*, 平松 功*, 広田 博*, 藤山喜雄*: **香粧品試験法 I 及び II**
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 4)
-
- * 日本薬学会 衛生試験法部会 香粧品試験法①—キンググループ
45. 木嶋敬二, 斎藤恵美子, 義平邦利: **HPLC による化粧品用タール色素の分析, アニトラキノン系色素中の未反応中間体などの分離定量**
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 5)
46. 安藤正典, 岸 喜昭, 松井啓子, 佐谷戸安好: **全有機塩素化合物 (TOCl) の生成に関する研究, 第 1 報, 各種自然水の TOCl 生成パターン**
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 6)
47. 石塚美恵子*, 佐野 仁*, 原田忠彦*, 安藤正典, 中室克彦, 佐谷戸安好: **全有機塩素化合物 (TOCl) の生成に関する研究, 第 2 報, フミン酸構成因子としてのフェノール及び安息香酸類の TOCl 生成パターン**
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 6)
-
- * 川崎市衛生研究所
48. 佐谷戸安好, 中室克彦, 松井啓子: **低沸点有機塩素化合物の生成機構に関する研究, フミン酸の塩素化生成物**
第34回全国水道研究発表会 (1983. 5. 25)
49. 入口政信*, 佐野 仁*, 原田忠彦*, 佐谷戸安好, 安藤正典: **全有機ハロゲン化合物の分析手法に関する研究**
第34回全国水道研究発表会 (1983. 5. 25)
-
- * 川崎市衛生研究所
50. 鈴木 隆, 佐々木久美子, 武田明治, 内山 充: **トリブチルフォスフェートのラットによる代謝 (2)**
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 5)
51. 佐々木久美子, 鈴木 隆, 武田明治, 内山 充: **ワキンによるフェニトロチオンの還元反応について**
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 6)
52. 河村葉子, 武田明治, 内山 充: **有機リン農薬の赤血球に及ぼす影響**
日本薬学会第 103 年会 (1983. 4. 6)
53. 斎藤行生, 大友淳子*, 武田由比子, 内山 充: **ECD—ガスクロマトグラフィーによるオクラトキシンの分析**
日本食品衛生学会第44回学術講演会 (1982. 11. 25)
-
- * 北里大学薬学部

54. 斎藤行生：アフラトキシンの化学分析
第17回マイコトキシン研究会（1983. 2. 5）
55. 五十畑悦子, 前川貴夫*, 内山 充：マイコトキシンの化学分析に関する研究(IX). 高速液体クロマトグラフィーによるアフラトキシンの分析
日本薬学会第103年会（1983. 4. 5）
- * 北里大学衛生学部
56. 内山 充：有害物の作用強度と作用量をめぐる食品衛生学における問題点
第19回全国衛生化学技術協議会（1982. 9. 21）
57. 内山 充：有害物質の危険度評価
日本薬学会第103年会（1983. 4. 4）
58. 内山 充：食品中微量元素の化学形
微量元素のバイオキネティクスシンポジウム（1983. 1. 17）
59. 酒井綾子, 谷村顕雄, 富田 勲*：医薬品と亜硝酸とからの揮発性ニトロソアミンの生成とアスコルビン酸によるその抑制
日本薬学会第103年会（1983. 4. 6）
- * 静岡薬科大学
60. 山本 都, 岩田良一, 石綿 肇, 山田 隆, 谷村顕雄：食品中の N-ニトロソアミンの分析主として魚介・食肉製品について
日本食品衛生学会第44回学術講演会（1982. 11. 26）
61. 山田 隆, 山本 都, 谷村顕雄：市販コンドロイチン酸硫酸ナトリウムによる N-ニトロソアミンの生成促進について
日本食品衛生学会第44回学術講演会（1982. 11. 26）
62. 川崎洋子, 山田 隆, 谷村顕雄：ケイ光検出高速液体クロマトグラフィーによる食品中の2級アミンの分析
日本食品衛生学会第44回学術講演会（1982. 11. 26）
63. 神蔵美枝子, 中里圭子：天然着色料の品質について(第1報) —クチナシ色素—
日本食品衛生学会第44回学術講演会（1982. 11. 26）
64. 中村忠雄*, 渡井正俊*, 荒木恵美子*, 上野順士*, 神蔵美枝子：高速液体クロマトグラフィーによるオラキンドックスの定量
日本食品衛生学会第44回学術講演会（1982. 11. 25）
- * 日本食品分析センター
65. 下平富士：変異原検出に用いるストレプトマイシン依存性大腸菌の細菌学的性状と応用について
日本環境変異原学会（第11回大会）（1982. 10. 29）
66. 佐原啓二*1, 林 長男, 谷村顕雄, 倉田 浩, 真木俊夫*2：ニトロソジメチルアミンの生体内挙動(II) ウサギ静脈内に注射した NDMA の生体内挙動
日本食品衛生学会第44回学術講演会（1982. 11. 26）
- *1 日本大学農獣医学部
*2 東京都立衛生研究所
67. 児玉幸雄, 林 長男, 堀内茂友, 真木俊夫*1, 三好哲夫*2：実験用動物の市販固型飼料中のニトロソジメチルアミン(第1報)
日本実験動物学会第30回実験動物談話会（1983. 2. 9）
- *1 東京都立衛生研究所
*2 三協ラボ・サービス KK
68. 林 長男, 佐原啓二*1, 小高秀正*1, 谷村顕雄, 倉田 浩, 真木俊夫*2：ウサギ腸管内におけるニトロソジメチルアミン生成菌種の検索
日本食品衛生学会第45回学術講演会（1983. 5. 20）
- *1 日本大学農獣医学部
*2 東京都立衛生研究所
69. 小沼博隆：わが国における微生物規格（指導基準を含む）の現状分析
食品衛生微生物研究会第3回学術講演会（1982. 11. 5）
70. 佐藤久美子*, 品川邦汎*, 上野俊治*, 松坂尚典*, 小沼博隆, 倉田 浩：Bacillus cereus エンテロトキシンの性状
日本獣医学会第95回学術講演会（1983. 4. 4）
- * 岩手大学農学部
71. 品川邦汎*, 上野俊治*, 松坂尚典*, 小沼博隆, 倉田 浩：Bacillus cereus の産生するエンテロトキシンの精製と、その性状

- 第56回日本細菌学会総会 (1983. 4. 5)
- * 岩手大学農学部
72. 宇田川俊一: 異常環境と真菌類
第3回食品衛生微生物研究会 (1982. 11. 5)
73. 宇田川俊一: 最近の菌類分類の動向—*Aspergillus*, *Penicillium* とその完全世代
昭和57年度日本醸酵工学会大会 (1982. 11. 10)
74. 宇田川俊一: マイコトキシン生産菌の分類学的検討 (I) アフラトキシン生産菌
第17回マイコトキシン研究会 (1983. 2. 5)
75. 本田 洋*, 安藤昭一*, 藤井貴明*, 矢吹 稔*, 宇田川俊一: リゲニンスルホン酸に対して吸着能を有する *Penicillium* 属糸状菌の諸性質
昭和58年度日本農芸化学会大会 (1983. 3. 31)
- * 千葉大学園芸学部
76. Shun-ichi UDAGAWA: **Cleistothecial Ascomycetes from Japan—A Taxonomical Review**
2nd. Asian Area Joint International Symposium on Mycology, Seoul, Korea (1982. 10. 16)
77. Masakatsu ICHINOE, Hiroshi KURATA and Yoshio UENO*: **Current view on the trichothecene-producing fungi belonging to the genus *Fusarium***
5th. International IUPAC Symposium on "Mycotoxins and Phycotoxins, Vienna (1982. 9. 2)
- * Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science
78. Masakatsu ICHINOE and Hiroshi KURATA: **Occurrence of toxigenic strains of *Fusarium* in wheat and barley in Japan**
2nd. Asian Area Joint International Symposium on Mycology, Seoul (1982. 10. 10)
79. 岡部俊一*, 関 久友*, 林 雅人*, 渡辺公伸*, 松岡富男*, 一戸正勝: *Paecilomyces lilacinus* を検出した陳旧性臍胸の1例
日本医真菌学会第26回総会 (1982. 10. 30)
- * 平賀総合病院
80. 吉野嶺一*, 小泉信三*, 一戸正勝, 駒田 旦*, 加藤 肇*: ムギ類赤かび病の発生生態に関する研究 2. 病原菌の土壌からの検出
日本植物病理学会58年度大会 (1983. 3. 28)
- * 農林水産省農業研究センター
81. 小島満子: **Disc-in-bag** 法による微生物菌株の長期保存
第29回凍結及び乾燥研究会 (1983. 4. 8)
82. 土屋利江, 山羽 力: **sorbic acid** の高濃度, 長期投与による mice の腸管内での変異原の生成について
日本薬学会第103年会 (1983. 4. 6)
83. 土屋利江, 山羽 力: 高濃度ソルビン酸を長期投与したマウスにおける変異原の生成と肝グルタチオンの減少について
日本食品衛生学会第45回学術講演会 (1983. 5. 20)
84. 福岡正道, 田中 彰, 佐藤道夫, 山羽 力, 足立透: **2-(Morpholinothio)-benzothiazole** のラットにおける吸収, 排泄, 臓器分布及びその代謝物について
日本薬学会第103年会 (1983. 4. 5)
85. 足立 透, 田中 彰, 山羽 力: 加硫促進剤 **N-cyclohexyl-2-benzothiazyl sulfenamide (CBS)** のラットによる代謝
日本薬学会第103年会 (1983. 4. 5)
86. 森本和滋, 山羽 力: **N-ニトロソ尿素** のクロマチンとの相互作用 (2) クロマチンへのカルバモイル化とその影響について
第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 25)
87. Akira TANAKA, Toyohi MACHIDA,* Makoto MIKI,* Yoshihiko OHISHI* and Akira KIDO*: **Studies on a new renal scanning agent, Tc-99m DMP (dimercaptopropionic acid)**
Third World Congress of Nuclear Medicine and Biology, Paris (1982. 8. 29)
- * Department of Urology, The Jikei School of Medicine
88. Yoshihiko OHISHI,* Toyohi MACHIDA,* Makoto

- MIKI*, Akira KIDO* and Akira TANAKA: **Clinical value of renal images obtained incidentally to bone scintigraphy**
Third World Congress of Nuclear Medicine and Biology, Paris (1982. 8. 29)
- * Department of Urology, The Jikei School of Medicine
89. Toyohei MACHIDA,* Makoto MIKI,* Yoshihiko OHISHI,* Akira KIDO,* Akira TANAKA, Jungi MORIKAWA*² and Yuji OGAWA*²: **Radioimmunoassay for a human prostate specific antigen**
Third World Congress of Nuclear Medicine and Biology, Paris (1982. 9. 2)
- * Department of Urology, The Jikei School of Medicine
*² Eiken Immunochemical Laboratory
90. 紅林秀雄, 田中 彰, 山羽 力: 脂環族一級アミンのマイクロゾームによる酸化的脱アミノ反応—¹⁸O₂, H₂¹⁸O による研究—
第54回日本生化学大会 (1981. 9. 29)
91. 紅林秀雄, 田中 彰, 山羽 力: ウサギ及びラット肝マイクロゾームの脂環族一級アミンの **deamination**
第55回日本生化学大会 (1982. 10. 10)
92. 池田康和, 鎌田栄一, 安原加寿雄, 小川幸男, 鈴木幸子, 中路幸男, 金子豊蔵, 戸部満寿夫: 2-メルカプトイミダゾリン (2-MIZ) の毒性に関する研究—第二報, 亜急性毒性試験—
第9回日本毒科学会 (1982. 7. 27)
93. 高村二三知*, 鎌田栄一, 池田康和, 小川幸男, 金子豊蔵, 堀内茂友, 戸部満寿夫: 塩化メチル水銀 (MMC) の中枢神経障害に及ぼすポリ塩化ビフェニル (PCB) の影響
第9回日本毒科学会 (1982. 7. 27)
- * 畜産生物科学研究所
94. 松本清司, 赤木 博, 落合敏秋, 関田清司, 川崎靖, 降矢 強: 自動白血球分類装置 MICROX の実験動物での使用について(第4報)
第17回日本実験動物学会 (1982. 8. 27)
95. 内田雄幸, 内藤克司, 安原加寿雄, 大場 栄, 前川吉明*, 内部博泰*, 加藤誠哉*, 小林和雄, 戸部満寿夫: 雄性ラットを用いての Edifenphos と Fenthion の併用投与時における毒性について
57年度東京獣医畜産学会 (1982. 8. 29)
- * 日本食品分析センター
96. 堀内茂友: **GLP 規制と安全性試験**
日本香粧品科学会 (1982. 11. 26)
97. 落合敏秋, 松本清司, 関田清司, 内田雄幸, 川崎靖, 降矢 強, 戸部満寿夫: 「注射剤の局所障害性に関する試験法」(案)における筋肉内注射の手法について
第30回実験動物談話会 (1983. 2. 8)
98. 会田喜崇, 川俣一也, 高田幸一, 吉本浜子, 門馬純子, 斎藤 実, 小林和雄, 鈴木康雄, 戸部満寿夫: 強制経口及び混餌投与による薬物の毒性発現の差異について
第56回日本薬理学会総会 (1983. 3. 29)
99. 高橋 惇: 薬物による腎障害の早期発見の試み
第12回日本腎臓学会東部部会 (1982. 5. 21)
100. 川西 徹, 大野泰雄, 高橋 惇, 高仲 正, 大森義仁: **Studies on the microsomal metabolism of nitrosamin**
第41回癌学会 (1982. 8. 23)
101. 川島邦夫, 田中 悟, 中浦慎介, 高仲 正, 大森義仁: **Methyltestosterone の妊娠期投与のラット次世代の血中性ホルモン濃度に及ぼす影響**
昭和57年度東京獣医畜産学会 (1982. 8. 29)
102. 川西 徹, 大野泰雄, 高橋 惇, 高仲 正, 大森義仁: ラット肝マイクロゾームによるベンズアルデヒドの還元
第55回日本生化学会 (1982. 10. 10)
103. 遠藤任彦, 長尾重之, 小野田欽一, 高仲 正, 大森義仁: **MAO 阻害薬処置動物における諸種化学物質の行動薬理学的研究(第3報) 中枢神経伝達前駆物質のラット条件回避反応に及ぼす影響の比較**
第56回日本薬理学会総会 (1983. 3. 29)

104. 井上和秀, 藤森観之助, 溝上敬之助, 簾内桃子, 高仲 正, 大森義仁: **HPLC** による肝マイクロゾームでのアミノピリン水酸化及び **N**-脱メチル化酵素活性の同時定量, 並びにそれらに及ぼす誘導剤の影響
第56回日本薬理学会総会 (1983. 3. 31)
105. 川西 徹, 大野泰雄, 高橋 惇, 高仲 正, 大森義仁: 亜硝酸と薬物との相互作用(VIII) マウス体内でのニトロソジメチルアミン生成量の定量的測定法の検討
日本薬学会第103年会 (1983. 4. 5)
106. 黒川雄二, 高橋道人, 林 裕造: **MNNG** 経口投与によるマウス小腸腫瘍の発生とそれに対する高食塩食の促進効果について
第72回日本病理学会総会 (1983. 4. 5)
107. 小久保 武, 高橋道人, 古川文夫, 長野嘉介, 林裕造: **Paraquat** による肺出血とその実験的解析
第71回日本病理学会総会 (1982. 4. 7)
108. 前川昭彦, 黒川雄二, 高橋道人, 小久保 武, 荻生俊彦, 林 裕造: **F-344/DuCrj** ラットの自然発生腫瘍について
第72回日本病理学会総会 (1982. 4. 5)
109. 谷川良平*, 小木曾 正*, 津田洋幸*, 高橋道人, 伊藤信行*: 血液透析患者の剖検例におけるアミロイドの検索
第71回日本病理学会総会 (1982. 4. 6)
-
- * 名市大第一病理
110. 荻生俊昭, 小野寺博志, 佐倉康文, 前川昭彦: **N**-プロピル-**N**-ニトロソ尿素 (**PNU**) 投与開始週令の相違による **F-344** ラット胸腺リンパ腫発生への影響
第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 23)
111. 高橋道人, 小久保 武, 林 裕造, 高橋正一*, 長瀬すみ*: ハムスターの膵癌発生過程における膵型アミラーゼ値の上昇と腫瘍発生との関連性
第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 23)
-
- * 佐々木研・生化
112. 黒川雄二, 林 裕造, 前川昭彦, 高橋道人, 小久保 武: 臭素酸カリウムによるラット腎腫瘍の発生について
第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 23)
113. 小久保 武, 高橋道人, 黒川雄二, 林 裕造: **F-344** ラットにおける農薬チラムの癌原性について
第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 24)
114. 高橋道人, 小久保 武, 林 裕造: ハムスターにおける魚粉加熱分解物の癌原性について
第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 24)
115. 高橋道人, 小久保 武, 黒川雄二, 林 裕造: **F-344** ラットにおける食品添加物・次亜塩素酸ナトリウムの癌原性について
第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 24)
116. 高橋道人, 白井智之*, 小木曾 正*, 小久保 武, 林裕造: ハムスターにおける **8-Nitroquinoline** の癌原性について
第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 24)
-
- * 名市大第一病理
117. 前川昭彦, 荻生俊昭, 小野寺博志, 谷川広行, 林 裕造: アンモニアカラメルの **F-344** ラットに於ける癌原性について
第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 24)
118. 荻生俊昭, 佐倉康文, (故)小田鶴成和: **N**-プロピル-**N**-ニトロソ尿素 (**PNU**) による **F-344** ラット胸腺型リンパ腫の発生過程に見られた組織変化
第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 24)
119. 前川昭彦, 荻生俊昭, 小野寺博志: 雌性ドリュウラットに於けるカルボキシメチルニトロソ尿素の癌原性について
第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 25)
120. 小久保 武, 高橋道人, 黒川雄二, 林 裕造: 実験胃癌における腺管構築の異常と前癌性病変について
第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 25)
121. 松山睦司*, 鈴木洋介*, 荻生俊昭: **1**-プロピル-**1**-ニトロソ尿素 (**PNU**) による **Fischer** ラットの胸腺リンパ腫の電顕的研究

第41回日本癌学会総会 (1982. 8. 25)

* 愛知ガンセンター超微形態学部

122. 高橋道人: 消化器癌の発生と進展発癌とその修飾. 1. 胃癌発生とその修飾
第41回日本癌学会総会シンポジウム II (1982. 8. 23)
123. Akihiko MAEKAWA: **Spontaneous Endocrine Tumors in F-344/DuCrj and Charles River-CD (Crj:CK, Sprague-Dawley) Rats.**
International Symposium and Histopathology Seminar on The Endocrine System of Laboratory Animals. 1983, 4, 18-21 (Nara)
124. Takeshi KOKUBO, Michihito TAKAHASHI and YUZO HAYASHI: **Isomorphic Architecture of Gastric Lesions induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)**
13th International Cancer Congress, Seattle, Washington, U.S.A., Sept. 8-15, 1982.
125. Yuji KUROKAWA, Michihito TAKAHASHI and YUZO HAYASHI: **Development of Adenocarcinomas after Transplantation of Rat Glandular Stomachs treated with N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in vitro.**
13th International Cancer Congress, Seattle, Washington, U.S.A., Sep. 8-15, 1982
126. 小野寺博志, 谷川広行, 前川昭彦: **F-344 ラットの長期飼育に於ける自然発生腫瘍**
第2回 Fisher ラット研究会 (1982. 5. 21)
127. 前川昭彦: **長期毒性試験に伴う加齢性病変(ワークシヨップ) — 実験動物の自然発生腫瘍 —**
第9回日本毒科学会学術年会 (1982. 5. 7)
128. 高橋道人: **実験胃癌と人胃癌 1. 疾患モデルとしてのラット実験胃癌**
第24回日本消化器病学会, 第20会日本消化器内視鏡学会, 第20回日本集団検診学会合同秋季大会シンポジウム (1982. 10. 14)
129. 石館 基, 吉川邦衛, 祖父尼俊雄: **臭素酸カリウム及びその他の酸化剤の変異原性に関する研究**

日本癌学会総会第41回 (1982. 8. 25)

130. 松岡厚子, 祖父尼俊雄, 石館 基: **染色体異常試験における代謝活性化法について—振盪法と静置法の比較—**
第11回日本環境変異原学会 (1982. 10. 29)
131. 能美健彦, 宮田ルミ子, 吉川邦衛, 中館正弘, 石館 基: **Phenacetin の代謝活性化と変異原性**
第11回日本環境変異原学会 (1982. 10. 30)
132. 吉川邦衛, 宮田ルミ子, 原田 宏*1, 馬場克行*2: **サルモネラ菌株に対する過酸化水素の突然変異原性誘発作用**
第11回日本環境変異原学会 (1982. 10. 30)
- *1 新潟大学
*2 静岡薬科大学
133. 林 真, 祖父尼俊雄, 石館 基: **食品添加物の小核試験**
第11回日本環境変異原学会 (1982. 10. 30)
134. 沢田 稔, 祖父尼俊雄, 石館 基: **哺乳動物培養細胞における 1, 1-dichloroethylene の変異原性**
第11回日本環境変異原学会 (1982. 10. 30)
135. 祖父尼俊雄, 畑中みどり, 石館 基: **過酸化水素の染色体異常誘発性について**
第33回染色体学会 (1982. 11. 1)
136. 林 真: **小核試験と染色体異常**
第33回染色体学会 (1982. 11. 1)
137. 中原 裕, 岡田敏史, 持田研秀: **デオキシコロール酸ミセル系におけるリパーゼ活性 II**
第32回薬学会近畿支部大会 (1982. 11. 7)
138. 四方田千佳子, 岡田敏史, 持田研秀: **アラビン酸ナトリウムの輸率測定による対イオンの自由度**
日本薬学会第103年会 (1983. 4. 6)
139. 岡田敏史: **プロカインとパラアミノ安息香酸の溶媒抽出における溶媒の役割**
日本薬学会第103年会 (1983. 4. 5)

140. 伊阪 博, 榊谷真美, 持田研秀: 高速液体クロマトグラフィーによるピンドロールの光学分割
日本薬学会第103年会 (1983. 4. 4)
141. 柴田 正, 長谷川隆一, 持田研秀: デキサメタゾンの酵素免疫定量法
日本薬学会第103年会 (1983. 4. 5)
142. 慶田雅洋, 伊藤蒼志男, 豊田正武: 日本人の食品添加物の1日摂取量調査に関する研究 (ソルビン酸, BHT, BHA 及びサッカリンについて)
日本栄養・食糧学会第21回近畿支部大会 (1982. 10. 9)
143. 伊藤蒼志男, 鈴木英世, 慶田雅洋: 高速液体クロマトグラフィーによる食用及び化粧品用タール色素中の原料物質, 反応中間体及び副色素の検出・定量法
第12回日本化粧品技術者会 (1982. 6. 11)
144. 慶田雅洋, 伊藤蒼志男, 小川俊次郎: プラスチックバルーン中の有機溶剤の分析
第19回全国衛生化学技術協議会年会 (1982. 9. 22)
145. 小川俊次郎, 鈴木英世, 伊藤蒼志男, 慶田雅洋: FPD-GC を用いた農作物中の残留含窒素除草剤 (ジフェナミド, DCPA, リニユロン) の同時分析法
第32回日本薬学会近畿支部大会 (1982. 11. 7)
146. 伊藤蒼志男, 小川俊次郎, 慶田雅洋: アニリン系化合物の各魚種における魚体内蓄積量と仮死現象の相関性について
第9回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム (1982. 10. 14)
147. 慶田雅洋: わが国における食品中残留農薬の分析法
酪農科学シンポジウム大会 (1982. 8. 27)
148. 金田吉男*1, 横山 剛*2, 慶田雅洋: 酵素法の食品分析への応用
第32回日本薬学会近畿支部大会 (1982. 11. 7)
149. 深沢喜延*1, 山本郁男*2, 竹葉和江*3, 小川俊次郎, 豊田正武, 伊藤蒼志男: 添加物 I 1) ガスクロマトグラフィーによる硝酸塩, 安息香酸, TBHQ (第3級ブチルヒドロキノン) の定量
2) ゲアヤク試験による過酸化水素の定性
日本薬学会103年会 (1983. 4. 4)
- *1 山梨県衛公研
*2 北陸大・薬
*3 東京都衛研
150. 豊田正武, 小川俊次郎, 伊藤蒼志男, 高橋 強*1, 可児利朗*2, 竹下隆三*3: 添加物 II 1) 合成着色料の系統的分析法 2) 二酸化チタンの比色定量 3) ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル (ポリソルベート) の検出法
日本薬学会第103年会 (1983. 4. 4)
- *1 明治乳業研究所
*2 東京顕微鏡院
*3 国立公衆衛生院
151. 小川俊次郎, 伊藤蒼志男, 原田基夫, 慶田雅洋*1: 非水系クルクミン比色法による食品中のホウ酸の簡易迅速定量法について
日本食品衛生学会第45回学術講演会 (1983. 5. 19)
- *1 ネッスル日本
152. 外海泰秀, 伊藤蒼志男, 原田基夫: 食品中の腐敗アミンの分別定量法について
日本食品衛生学会第45回学術講演会 (1983. 5. 19)
153. 豊田正武, 原田基夫: 油脂の劣化とその作用について 一加熱油脂の赤血球に対する影響一
日本食品衛生学会第45回学術講演会 (1983. 5. 20)
154. 伊藤蒼志男, 小川俊次郎, 原田基夫: Thujone の香粧品, 化粧石けん, 室内芳香剤及び酒類からの分析法について
第14回日本化粧品技術者会 (1983. 6. 17)
155. Yoshio ITO, Hideyo SUZUKI, Sunjiro OGAWA and Masahiro IWAIDA: Separative Determination of Free and Combined Benzoates in Cheese
21st International Dairy Congress (1982. 7. 12)
156. Masahiro IWAIDA, Yoshio ITO and Yasuhide

*1 兵庫衛研

*2 和歌山衛研

- TONOGAI: **Regulation of Food Additives and Container of Milk and Milk Products in Japan**
21st International Dairy Congress (1982. 7. 12)
157. Masahiro IWAIDA, Yoshio ITO, Masatake TOYODA and Shunjiro OGAWA: **Food Sanitation Inspection of Imported Foods (Including Dairy Products) in Japan**
21st International Dairy Congress (1982. 7. 12)
158. Masatake TOYODO, Yoshio ITO, Masahiro IWAIDA: **Rapid Determination of Hydrogen Peroxide in Milk by Use of Sensitive Oxygen Electrode**
21st International Dairy Congress (1982. 7. 12)
159. Masahiro IWAIDA: **Food Sanitation Inspector's Training Course of Exported and Imported Foods in Japan**
21st International Dairy Congress (1982. 7. 12)
160. 小室徹雄, 加納晴三郎: ショ糖密度勾配遠心分析法による LPS の水溶液中に於る分散状態の解析
第29回毒素シンポジウム (1982. 7. 3)
161. 伊丹孝文, 加納晴三郎: 薬物の胎仔毒性の発現機序 (VI) 内毒素による毒性増強と蛋白-サリチル酸結合性との関係
第22回日本先天異常学会総会 (1982. 7. 9)
162. 江馬 真, 伊丹孝文, 加納晴三郎: 薬物の胎仔毒性の発現機序 (VII) ラットにおける Trypan blue の催奇形性の投与方法による差について
第6回日本薬理学会近畿西南合同部会 (1982. 11. 7)
163. 小室徹雄, 村井敏美, 小川義之, 川崎浩之進, 加納晴三郎: 発熱物質 (LPS) の新調整法とその物性並びに薬理学的特性 3. LPS の水溶液中における分散状態について
第56回日本薬理学会総会 (1983. 3. 31)
164. 森山郁子*, 藤田正之*, 平岡克忠*, 一条元彦*, 加納晴三郎: 食品添加物, 過酸化水素の次世代に及ぼす影響
第22回日本先天異常学会総会 (1982. 7. 8)
- * 奈良医大産婦人科
165. 堀越 司, 玉置克己: キハダの栽培に関する研究(5) 特にタイワンキハダのさし木試験について
日本生薬学会第29回年会(札幌) (1982. 9. 29)
166. 本間尚治郎, 堀越 司, 畠山好雄: オウギの栽培研究
日本生薬学会北海道支部, 生薬の栽培と品質に関する研究会 (オウギについて) (1983. 3. 12)

所員の研究、試験及び検査に関する発表を主とする「衛試例会」は、昭和26年から原則として毎月第2火曜日、本所講堂において開催されているが、昭和57年4月から昭和58年3月までの演題は次のとおりである。

第239回(昭和57年4月13日)

1. ナキウサギによるサリドマイドの催奇形性試験
毒 性 部 兎 玉 幸 夫
2. 2-Mercaptoimidazoline の毒性に関する研究(2報) 重急性毒性
毒 性 部 °池 田 康 和
安 原 加 寿 雄
3. 抗がん剤の併用時の毒性に関する研究
毒 性 部 小 林 和 雄
4. 製剤の胃内容排出速度に及ぼす食餌の影響
——ヒトとイスの比較——
薬 品 部 鹿 庭 なほ子
5. 学術映画「食物の輸送機能について」

第240回(昭和57年5月11日)

1. 2-Mercaptoimidazoline (2-MIZ) の毒性
第3報 哺育仔への影響
毒 性 部 池 田 康 和
2. ブタ胛カリクレインの酵素標識免疫定量法
大阪支所薬品部 °柴 田 正
長谷川 隆 一
持 田 研 秀
3. 塩酸メクロフェノキサートの固体状態における加水分解
薬 品 部 吉 岡 澄 江
4. Chaetoglobosin A の合成
生 薬 部 °関 田 節 子
環境衛生化学部 義 平 邦 利
5. 生物学的同等性試験の統計学上の考察
薬 品 部 °緒 方 宏 泰
鹿 庭 なほ子
青 柳 伸 男

第241回(昭和57年6月8日)

1. 高速液体クロマトグラフィー・オートサンプリングシステムによる坐剤中の解熱鎮痛薬の定量及び含量均一性試験
薬 品 部 松 田 りえ子
2. 臭素酸カリウムのラットにおける癌原性について
病 理 部 °今 沢 孝 喜

大 野 裕 子
高 村 直 子
黒 川 雄 二

3. 新しい行動薬理学的解析方法とその応用について
薬 理 部 遠 藤 任 彦
4. *Bacillus cereus* の食中毒原性と毒素検出方法について(第1報)
衛生微生物部 °小 沼 博 隆
岩手大(農学部) 品 川 邦 汎
5. 欧米の薬用植物園について
筑波薬用植物栽培試験場 佐 竹 元 吉

第242回(昭和57年7月13日)

1. 肝薬物代謝酵素活性誘導の胎仔期における特異性について
薬 理 部 簾 内 桃 子
2. アロキサン糖尿家兎水晶体におけるソルビトール経路
生 物 化 学 部 °谷 本 剛
福 田 秀 男
佐 藤 浩
川 村 次 良
3. ヘッドスペースガス・GC 法によるエタノール及びその製剤のエタノールの純度試験
薬 品 部 柴 崎 利 雄
4. 漢方製剤の薬剤学的品質評価について 一特に黄連と甘草の湯液中での反応を中心として—
生 薬 部 野 口 衛

第243回(昭和57年9月14日)

1. 家庭用品による接触皮膚炎の原因化学物質の追求
療 品 部 鹿 庭 正 昭
2. Vitamin A の妊娠期投与によるラット次世代に及ぼす影響(I) 妊娠母体及び胎仔について
薬 理 部 川 島 邦 夫
3. Vitamin A の妊娠期投与によるラット次世代に及ぼす影響(II) 出生仔の成長及び行動について
薬 理 部 長 尾 重 之
4. MUMPS 言語によるデータの分類及び検索
毒 性 部 鈴 木 幸 子
5. フロセミドの Bioavailability と薬理効果
薬 品 部 °緒 方 宏 泰
S. Zgarni

第 244 回 (昭和57年10月12日)

1. 自動白血球分類装置MICROXの実験動物での使用について (第4報)
 毒 性 部 松 本 清 司
2. 輸入肉から分離されるサルモネラの菌型, 薬剤感受性の実態について
 衛生微生物部 河 西 勉
3. 4-Chloro-7-Nitrobenzo-2-oxa-1, 3 diazole による食品中の第2級アミンの分析
 食品添加物部 川 崎 洋 子
4. 合成からのホルムアルデヒドの発散について (第2報) 理論的考察
 療 品 部 小 嶋 茂 雄
5. 坐剤の放出試験について (油脂性坐剤基剤の経時変化による主薬放出への影響)
 薬 品 部 °松 田 りえ子
 鹿 庭 なほ子
 青 柳 伸 男
 緒 方 宏 泰
 立 沢 政 義
 江 島 昭

第 245 回 (昭和57年11月9日)

1. 穀類のトリコテセン汚染について
 衛生微生物部 一 戸 正 勝
2. N-ニトロソ尿素のクロマチンとの相互作用(2) クロマチンへのカルバモイル化とその影響について
 医 化 学 部 °森 本 和 滋
 山 羽 力
3. ミクロソームによるニトロソアミン類の代謝
 薬 理 部 川 西 徹
4. Diisopropylnaphthalene の慢性毒性
 毒 性 部 °金 子 豊 蔵
 小 林 和 雄
5. PCTs 投与妊娠マウスの血中 Corticosterone 量と口蓋裂発生に及ぼす Metyrapone の影響
 毒 性 部 小 川 幸 男

第 246 回 (昭和57年12月7日)

1. ウサギ及びラット肝ミクロソームによる脂環族一級アミンの deamination
 医 化 学 部 紅 林 秀 雄
2. F-344 ラットの長期飼育における自然発生腫瘍について
 病 理 部 °谷 川 広 行

小野寺 博 志

前 川 昭 彦

3. アンモニア-カラメル の F-344 ラットに於ける癌原性について

病 理 部 °小野寺 博 志

荻 生 俊 昭

松 岡 千 明

古 田 京 子

前 川 昭 彦

林 裕 造

4. 高速液体クロマトグラフィーによる種々のインシュリンの分離

生 物 化 学 部 太 田 美 矢 子

第 247 回 (昭和58年1月18日)

1. Morphine と opiate receptor の反応について
 放射線化学部 永 松 国 助
2. ヒト赤血球膜のリン酸化に対する重金属の効果
 放射線化学部 鈴 木 和 博
3. 食品中の N-ニトロソアミンの分析 一主として魚介, 食肉製品について
 食品添加物部 山 本 都
4. 脂肪酸合成酵素複合体の N-C 末端オリエンテーション及び米国 Houston の印象
 食 品 部 内 山 貞 夫
5. LPS の超音波および加熱処理に伴う発熱活性ならびに超微形態の変化について
 大阪支所薬理微生物部 村 井 敏 美

第 248 回 (昭和58年2月8日)

1. ECD-ガスクロマトグラフィーによるオクラトキシンの分析
 食 品 部 °齊 藤 行 生
 大 友 淳 子
 武 田 由 比 子
 内 山 充
2. 小核試験と染色体異常
 変 異 原 性 部 °林 真
 祖 父 尼 俊 雄
 石 館 基
3. フェナセチンの代謝活性化と変異原性
 変 異 原 性 部 能 美 健 彦
4. アニリン系化合物の各魚種における魚体内蓄積量と仮死現象の相関性について
 大阪支所食品部 小 川 俊 次 郎
5. 非線形最小二乗法プログラム "NONLIN" を使っ

た薬物の体内動態解析例

薬品部 鹿庭 なほ子
 青柳 伸男
 緒方 宏泰

第249回(昭和58年3月8日)

1. 天然着色料の品質に関する研究(I)
 ークチナシ色素についてー
 食品添加物部 神蔵 美枝子
2. ラット肝ミクロソームによるベンズアルデヒドの

還元

- 薬理部 川西 徹
3. 過酸化水素の突然変異誘発作用
 変異原性部 吉川 邦衛
 4. 高速液体クロマトグラフィーによる消炎剤の分析
 薬品部 立沢 政義
 5. ストレプトマイシン依存性大腸菌の細菌学的性状
 特にその呼吸と変異復帰率の関連について
 衛生微生物部 下平 富子

支 所 例 会

第62回 (昭和57年5月28日)

1. 種々のアラビン酸塩の浸透圧係数と対イオンの活量係数

薬 品 部 四方田 千佳子

2. ショ糖密度勾配遠心分析法による界面活性剤に溶解した LPS の分散状態の解析 (その1)

薬理微生物部 小室 徹雄

第63回 (昭和57年6月30日)

1. 内毒素による Aspirin の胎仔毒性増強効果と蛋白-サリチル酸結合性との関係

薬理微生物部 伊丹 孝文

2. プラスチックバルーン (酢酸ビニル樹脂製幼児用おもちゃ) 中の有機溶剤の分析

食 品 部 慶田 雅洋

3. 日本人の食品添加物の一日摂取量に関する調査研究 (ソルビン酸, BHT, BHA 及びサッカリンについて)

食 品 部 慶田 雅洋

第64回 (昭和57年9月24日)

1. ミオイノシトール生合成のホルモン調節について

薬 品 部 長谷川 隆一

2. タイ国公衆衛生省医科学局における活動報告

食 品 部 外海 泰秀

第65回 (昭和57年10月25日)

1. ショ糖密度勾配遠心分析法による LPS の水溶液中に於ける分散状態の解析

薬理微生物部 小室 徹雄

2. アニリン系化合物の各魚種における魚体内蓄積量と仮死現象の相関性について

食 品 部 伊藤 誉志男

3. 人工脂質膜の免疫学への応用—とくに抗体産生系について

薬 品 部 持田 研秀

第66回 (昭和57年11月30日)

1. ラットにおける Trypan blue の催奇形性の投与方法について

薬理微生物部 江馬 真

2. 光学異性体の HPLC による分割 Pindolol について

薬 品 部 伊阪 博

3. 牛乳の均質化処理による変化に関する研究

食 品 部 慶田 雅洋

第67回 (昭和58年1月21日)

1. Dexamethasone の酵素標識免疫定量法

薬 品 部 柴田 正

2. 高速液体クロマトグラフィーによる食用及び化粧品用タール色素中の原料物質, 反応中間体及び付随色素の検出・定量法

—キサンテン系色素を中心として—

食 品 部 小川 俊次郎

3. Tris (Chloropropyl) Phosphate のラットにおける催奇形性試験について

薬理微生物部 村井 敏美

第68回 (昭和58年3月4日)

1. 高速液体クロマトグラフィーによるピンドロールの光学分割

薬 品 部 榑谷 真美

2. アラビン酸ナトリウムの輸率測定による対イオンの自由度

薬 品 部 四方田 千佳子

3. プロカインとパラアミノ安息香酸のベンタノール/水, 酢酸エチル/水系における二相関分配

薬 品 部 岡田 敏史

所内特別講演 (昭和57年7月29日)

食品中の添加物, 汚染物等の分析における微量分析技術の開発に関する研究

食 品 部 長 慶田 雅洋

所内講演会

- | | |
|--|---|
| 1. 薬学領域における安定同位体トレーサ法
昭和57年6月25日
東京薬科大学教授 馬場茂雄 | 3. 芳香族アミン型化合物の癌原性とその活性化代謝
昭和58年1月28日
東北大学薬学部教授 橋本嘉幸 |
| 2. The National Toxicology Program (NTP) and
Two-year Toxicology Carcinogenesis Bioassay
昭和57年9月27日
米国 National Institute of Environmental
Health Sciences (NIEHS) Dr. J. Huff | 4. ピレスロイド系殺虫剤の環境中における動態
昭和58年3月24日
住友化学生物科学研究所 宮本純之 |

支所所内講演会

- | | |
|---|--|
| 1. Muramyl dipeptide (MDP) とその関連物質に関
する免疫学的研究
昭和57年9月29日
大阪大学歯学部長 小谷尚三 | 2. 細胞融合とモノクローナル抗体及びその周辺の進
歩
昭和58年2月8日
サントリー生物医学研究所 寺野由剛博士 |
|---|--|

特別研究 (厚生省)

1. 医薬品, 食品添加物等安全性評価のための新技術利用と評価基準の確立に関する研究 (医化学, 毒性, 薬理, 病理, 変異原)
2. 遺伝子組換え等の新技術により生産される高分子医薬品の品質試験法の開発研究 (生物, 放射線, 薬理)

国立機関原子力試験研究費 (科学技術庁)

1. 放射性医薬品の品質試験法に関する研究 (放射線)
2. 体内適用放射性医薬品の安全性に関する研究
 - (1) 放射性医薬品の標的臓器の生化学的機能に及ぼす影響 (放射線, 食品)
 - (2) 放射性医薬品の毒性試験 (毒性)
 - (3) 放射性医薬品の各種臓器に及ぼす組織学的変化に関する研究 (病理)
 - (4) 放射性医薬品の突然変異性に関する研究 (変異原性)
 - (5) 放射性医薬品の生体解毒機能におよぼす影響に関する研究 (薬理)
3. 標識化合物による医薬品食品添加物等の安全性を予測する *in vitro* 試験法の開発研究 (医化学, 薬理, 環境)
4. パプテンラジオイムノアッセイの臨床分析への応用に関する研究 (放射線)
5. 血液回路の放射線滅菌による材質の変化とそれに対する品質改定並びに滅菌効果に関する研究 (療品部, 衛徴)
6. 放射線照射による医薬品, 化粧品等の微生物汚染防止に関する研究 (衛徴)
7. 標識化合物の利用による医薬品等の生体免疫機能に及ぼす影響に関する研究 (生物, 放射線)

放射能調査研究費 (科学技術庁)

環境試料中の天然放射核種の調査に関する研究 (環境)

科学技術振興調整費 (科学技術庁)

1. ネットワーク共用による化合物情報等の利用高度化に関する研究

化合物総合データベースシステムの形成に関する研究

バイオロジカルデータベース作成・検索システム (情報, 薬理, 病理, 変異原)
2. 証・経穴の科学的実証及び生薬資源の確保に関する総合研究

(1) 漢方療法に関する研究

証に関する研究

循環系及び血液に作用する漢方薬の薬理作用及びその化学成分に関する研究 (生薬, 毒性, 薬理)

(2) 生薬資源の確保に関する研究

薬用植物の品質評価の研究 (筑波)

3. 熱帯・亜熱帯の微生物・植物の総合的な開発利用技術に関する研究

熱帯・亜熱帯の植物資源の医薬・農薬・食糧等としての開発研究

植物の生物活性物質の医薬としての利用に関する研究 (生薬)

4. DNA の抽出・解析・合成技術の開発に関する研究

DNA の構造解析システムの開発に関する研究

遺伝言語解析システムの開発に関する研究

DNA の合成技術及び有用物質等の分析方法に関する研究 (生物, 放射線)

5. 生体膜機能の解析・利用技術の開発に関する研究

(1) 特異的機能を持つ生体膜の解析・構成技術の開発

生体膜の精製技術の開発

界面活性剤の開発と使用条件の確立 (放射線)

(2) 生体膜の利用技術の開発

ア. 反応物質等の吸収・輸送・蓄積技術の開発
生体膜の機能を利用して薬物を選択的に投与する技術の開発 (薬品)

イ. 反応物質等の効率的な分離・濃縮技術の開発

生体膜機能を利用した生理活性物質の分離・精製技術等の開発 (療品, 放射線)

6. 実験動物の開発等に関する研究

実験動物の開発に関する研究

実験動物の開発と品質管理に関する研究

小型霊長類等の実験動物化と特性に関する研究

マーチセットの特性に関する研究 (毒性)

国立機関公害防止等試験研究費 (環境庁)

1. 低沸点性有機塩素化合物の生体影響に関する研究 (環境, 毒性, 変異原)

2. 生物質を指示剤とする環境汚染物質の監視シス

- テムに関する研究 (食品)
3. 環境汚染物質の発癌促進作用の評価に関する研究 (病理)
 4. 大気汚染物質の哺乳動物細胞に及ぼす細胞遺伝学的影響に関する研究 (変異原)
 5. 環境汚染物質の生体機能障害に関する研究 (薬理)
 6. 陸水域の有機ハロゲン化合物の分析手法に関する研究 (環境)
 7. 汚染レベルを前提とする環境化学物質の安全性試験に関する研究 (食添)
- 厚生科学研究費補助金 (厚生省)
1. 化学物質の環境経由での経口摂取量評価法に関する研究 (食品)
 2. 医薬品等に使用することができるタール色素の規格試験方法に関する研究 (環境)
 3. GMP における製造工程のパリデーシヨンの基準作成に関する研究 (衛微)
 4. 注射剤の局所刺激性に関する研究 (センター長, 毒性, 薬理)
 5. 解熱消炎鎮痛剤の安全性に関する研究 (変異原)
 6. ステロイドホルモン製剤の製造管理及び品質管理に関する研究 (生物, 薬品)
 7. 多剤併用療法の安全性に関する研究 (センター長, 薬理)
 8. 遺伝子組換えを利用して生産される医薬品に対する承認審査のための基礎的研究 (生物, 放射線)
 9. 化学物質の吸入による気道及び肺の毒性学的研究 (毒性, 合成)
 10. 発熱性物質の効率の検索法に関する研究 (センター長, 薬理, 支所薬微)
 11. 人工腎臓透析器の品質確保に関する研究 (療品, 毒性)
 12. 不安定医薬品の純度の向上に関する研究 (薬品, 生物, 支所薬品)
 13. 銅酸化物の生体に及ぼす影響に関する研究 (毒性)
 14. 食品中の各種汚染物質の実態に関する調査研究 (食品)
 15. ゴム添加剤の熱履歴による分解物に関する研究 (食添)
 16. 食品の微生物制御のための適正技術の確立に関する調査研究 (衛微)
 17. 家庭用品に使用される各種化学物質のアレルギー反応増強効果に関する研究 (放射線)
 18. 食品添加物の分析における妨害物質に関する研究 (食添)
 19. 水産食品中の医薬品等の検査法に関する研究 (食添, 衛微, 食品)
 20. 建築物の維持管理資材の衛生, 安全性確保手法の策定に関する研究 (環境)
 21. 医薬品原料規格整備のための研究 (合成, 薬品, 生物, 支所薬品)
 22. 医薬品の安全性に関する動物試験法ガイドライン作成に関する研究 (病理, センター長, 毒性, 薬理, 変異原)
 23. 水道水中の非イオン界面活性剤の管理手法に関する研究 (環境)
 24. 軟質塩化ビニル製血液回路の可溶性溶出防止に関する研究 (療品)
 25. 放射性医薬品の品質確保に関する研究 (放射線)
 26. ジャコウ代替品の開発に関する研究 (毒性, 薬理)
 27. 日米科学技術協力に係る研究 (センター長, 毒性, 薬理, 病理, 変異原)
 28. 毒物劇物指定令の整備に関する研究 (毒性)
 29. 輸入食品の検査法に関する研究 (支所食品)
 30. 内毒素試験管内定量測定法の標準化の研究 (支所薬微)
 31. 輸入熱帯病の薬物治療法に関する研究 (薬品)
 32. 残留農薬標準分析法に関する研究 (食品)
 33. 定量的リスクアセスメント手法開発研究 (食品)
 34. 海藻 (オゴノリ類) による原因不明の食中毒の解明に関する研究 (生薬, 食品, 毒性, 薬理)
 35. 新開発食品の安全性評価法に関する研究 (食品, 生薬)
 36. 抗悪性腫瘍剤の安全性に関する研究 (病理)
- 科学研究費補助金 (文部省)
1. 中枢アミン神経機能の発達に及ぼす胎生期に投与したメタンフェタミンの影響 (センター長, 薬理)
 2. 胎仔の肝臓におけるヘム蛋白の生合成及び分解素の特性について (薬理)
 3. 2,4-ジメチルアニリンの代謝活性化と変異原性 (変異原)
 4. 出生仔の機能的発達に及ぼす化学物質の妊娠期投与の影響に関する行動薬理学的研究 (薬理)
 5. 複数癌原因因子の相互効果 (病理)
 6. がん研究のための実験動物の維持と開発 (病理)
 7. 米飯類によるブドウ球菌食中毒発生機序に関する研究 (衛微)

8. Gnotobiotte 及び無菌動物を利用した発癌における常在微生物の役割究明 (衛徴)
 9. がんの発生と増殖に関与する染色体異常の動態とその臨床への応用 (変異原)
 10. 人癌発生に外挿するための動物発癌の研究 (病理)
 11. 小型ウサギ目動物の実験動物化に関する研究 (毒性)
 12. 化学発癌物質による前癌病変の発生条件に関する研究 (病理)
 13. 機能を維持した培養細胞の発癌の生化学的初期変化 (病理)
 14. 胃腸粘膜癌化におけるプロモーションの意義 (病理)
 15. 毒性評価に関する基礎的研究 (病理)
- がん研究助成金 (厚生省)
1. 環境化学物質の動物発癌試験に関する研究 (病理, 薬品, 食添)
 2. 日常環境下に存在する発がんプロモーターに関する研究 (病理)
 3. ヒトの癌発生に関連する環境発癌物質とその抑制因子に関する研究 (食添)
 4. 発がん性ニトロソ化合物の暴露実態に関する研究 (食添)
 5. わが国におけるがん原性マイコトキシンによる暴露実態に関する研究 (衛徴)
 6. 生活環境特に食品, 飲料水及び大気中の発がん性汚染物質の定量的解析 (食品, 環境)
 7. 人がんの原因としての発がん物質の短期検索法の開発と評価に関する研究 (変異原)
 8. 医薬品の *in vivo* におけるニトロソ化に関する研究 (薬理)
- 委託事業
1. タール色素の毒性に関する研究 (毒性) —— 厚生省
 2. 既存化学物質毒性試験調査事業 (センター長, 病理) —— 厚生省
 3. 科学技術水準及び研究開発ポテンシャルの総合的調査研究 (薬品, 食品, 病理) —— 厚生省
 4. スンクスの特性と有用性に関する研究 (薬理) —— 理化学研究所
 5. 医薬品の規格及び試験法の研究 (薬品, 生物) —— 日本公定書協会

国家検定及び検査等の処理状況

Survey of The Results of National Tests

昭和57年度における検定及び検査等の処理状況は次のとおりである。

国家検定については、総件数で前年度に比べて2.7%(54件)の減少となった。

検定品目別では、避妊剤が避妊用ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテルフィルムの指定(昭和57年10月7日施行)に伴い若干増加しているが他の品目は

減少となった。

次に、特別審査試験及び輸入食品検査は前年度に比べて18.8%、67.5%の減少となったが、一方、一斉取締試験及び特別行政試験については、それぞれ331.4%、65.8%と大幅な増加となった。

検定検査総処理検体数は4,710件(下表のとおりで前年度に比べて255件、5.7%の増加)であった。

区 分	昭 和 57 年 度 処 理 検 体 数			
	東 京	大 阪	合 計	
国 家 検 定	972件	972件	1,944件	
製 品 検 査	270	500	770	
特 別 審 査 試 験	(289) 221	—	(289) 221	
輸 入 食 品 検 査	(373) 191	(31) 30	(404) 221	
一 斉 取 締 試 験	(508) 399	(41) 41	(549) 440	
特 別 行 政 試 験	1,072	39	1,111	
一 般 依 頼 試 験	3	—	3	
計	(3,487) 3,128	(1,583) 1,582	(5,070) 4,710	

() 内数字は試験件数

国家検定及び検査等の処理実績(次頁以下に掲載)は次のとおりである。

○昭和57年度国家検定品目別月別判定別件数

実績表…………… 248頁

○昭和57年度製品検査月別判定別件数実績表… 250頁

○昭和57年度特別審査試験月別判定別件数実

績表…………… 250頁

○昭和57年度輸入食品検査品目別月別判定別

件数実績表…………… 252頁

○昭和57年度特別行政試験実績表…………… 254頁

○昭和57年度一斉取締試験判定別件数実績表… 255頁

昭和57年度国家検定品目別

区 分	4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月				
	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計		
プロチオナミド	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—		
プロチオナミド錠	大阪	—	—	—	2	—	2	1	—	1	—	—	—	—	—	2	—	2		
塩酸エタンブトール	東京	5	—	5	4	—	4	2	—	2	5	—	5	4	—	4	3	—	3	
塩酸エタンブトール錠	東京	8	—	8	1	—	1	7	—	7	9	—	9	4	—	4	2	—	2	
避妊用ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテルゼリー	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	
避妊用メンフェゴール錠	東京	3	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	2	—	—	—		
インシュリン注射液	東京	1	—	1	1	—	1	—	—	—	1	—	1	1	—	1	2	—	2	
プロタミンインシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
イソフェンインシュリン水性懸濁注射液	東京	2	—	2	1	—	1	1	—	1	2	—	2	1	—	1	2	—	2	
インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京	2	—	2	2	—	2	5	—	5	5	—	5	4	—	4	1	—	1	
ブタ精製インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	1	—	1	—	—		
結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—		
無晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京	1	—	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—		
ブタ精製中性インシュリン注射液	東京	—	—	—	1	—	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	1	—	1	
二相性インシュリン水性懸濁注射液	東京	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	
オキシトシン注射液	東京	3	—	3	3	—	3	1	—	1	1	—	1	4	—	4	4	—	4	
バソプレシン注射液	東京	3	—	3	1	—	1	—	—	—	3	—	3	1	—	1	—	—		
フェリプレシン注射液 (塩酸プロビトカイン3%を含むもの)	東京	—	—	—	3	—	3	—	—	—	3	—	3	—	—	—	—	—		
ブドウ糖注射液	東京	52	1	53	55	—	55	68	—	68	70	—	70	40	1	41	53	—	53	
	大阪	104	—	104	64	—	64	84	—	84	77	—	77	92	—	92	47	—	47	
内訳	容量100ml未満	東京	22	—	22	28	—	28	33	—	33	34	—	34	17	1	18	29	—	29
		大阪	58	—	58	36	—	36	49	—	49	39	—	39	46	—	46	30	—	30

月別判定別件数実績表 (No.1)

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計			
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
—	—	—	—	—	—	2	—	2	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	8	—	8
3	—	3	5	—	5	5	—	5	2	—	2	3	—	3	4	—	—	4	45	—	45
12	—	12	8	—	8	9	—	9	7	—	7	7	—	7	10	—	—	10	84	—	84
—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	2
—	—	—	2	—	2	—	—	—	—	—	—	2	—	2	—	—	—	—	9	—	9
1	—	1	2	—	2	1	—	1	—	—	—	2	—	2	2	—	—	2	14	—	14
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	1	—	1
—	—	—	2	—	2	1	—	1	1	—	1	3	—	3	3	—	—	3	19	—	19
4	—	4	3	—	3	5	—	5	4	—	4	3	—	3	6	—	—	6	44	—	44
—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	4	—	4
—	—	—	1	—	1	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	3
1	—	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	4
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	4	—	4
—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	3	—	3
1	1	2	3	—	3	4	—	4	1	—	1	3	—	3	4	—	—	4	32	1	33
2	—	2	1	—	1	1	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	13	—	13
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6	—	6
57	—	57	63	—	63	58	—	58	39	—	39	50	—	50	54	—	—	54	659	2	661
71	—	71	87	—	87	111	—	111	71	—	71	55	—	55	92	—	—	92	955	—	955
26	—	26	31	—	31	31	—	31	21	—	21	28	—	28	28	—	—	28	328	1	329
33	—	33	50	—	50	62	—	62	37	—	37	24	—	24	54	—	—	54	518	—	518

昭和57年度国家検定品目別

区分			4月			5月			6月			7月			8月			9月		
			合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
リンゲル液	容量100ml以上	東京	30	1	31	27	—	27	35	—	35	36	—	36	23	—	23	24	—	24
		大阪	46	—	46	28	—	28	35	—	35	38	—	38	46	—	46	17	—	17
内訳	容量100ml未満	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
内訳	容量100ml以上	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		大阪	—	—	—	1	—	1	—	—	—	2	—	2	—	—	—	1	—	1
計	タンニン酸パソフレシリン油性懸濁注射液	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	3	—	—	—	—	—	—
		東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
計	避妊用ポリオキソニチレンノニルフェニルエーテルフィルム	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
計	計	東京	80	1	81	74	—	74	86	—	86	105	—	105	64	1	65	71	—	71
		大阪	104	—	104	66	—	66	88	—	88	77	—	77	92	—	92	49	—	49
合計	合計	184	1	185	140	—	140	174	—	174	182	—	182	156	1	157	120	—	120	

昭和57年度製品検査月別

区分		4月			5月			6月			7月			8月			9月		
		合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
東	京	0	—	0	54	—	54	1	—	1	41	—	41	30	—	30	1	—	1
大	阪	28	—	28	50	—	50	31	—	31	39	—	39	37	—	37	59	—	59
計	計	28	—	28	104	—	104	32	—	32	80	—	80	67	—	67	60	—	60

昭和57年度特別審査試験月別

区分		4月			5月			6月			7月			8月			9月		
		合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
東	京	10	—	10	31	—	31	28	—	28	2	—	2	7	—	7	26	—	26
試験	件数	11			31			50			3			13			26		

昭和57年度輸入食品検査品

区分	4月				5月				6月				7月				8月				9月				
	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	
農産物	東京							(1) 1											3		3				
	大阪				2	2		(1) 5					1	1		2									
水産物	東京								8		1	9										1		1	
	大阪	6			6																	3		(2) 5	
畜産物	東京	2	9		11	10		10																	
	大阪																								
かん詰・び類	東京								4			4													
	大阪																								
添加物	東京																								
	大阪																								
酒精飲料	東京																								
	大阪																					1		1	
その他の料	東京																								
	大阪					2		2																	
計	東京	2	9	0	11	10	0	0	(1) 11	12	0	1	13	0	0	0	0	0	3	0	3	1	0	0	1
	大阪	6	0	0	6	2	4	0	(1) 7	0	0	0	0	1	1	0	2	0	0	0	0	4	0	0	(2) 6
	計	8	9	0	17	12	4	0	(2) 18	12	0	1	13	1	1	0	2	0	3	0	3	5	0	0	(2) 7

目別月別判定別件数実績表

10 月				11 月				12 月				1 月				2 月				3 月				合 計							
合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計				
																								(24)	0	3	0	(25)	28		
				1		(5)	6					1		1					(1)	1				4	4	0	0	(7)	15		
				5	5		10									14	3		17	30	5		35	58	13	1	1	72			
																								9	0	0	0	(2)	11		
																1		1	65				65	77	10	0	0	87			
																								0	0	0	0	0			
																								4	0	0	0	4			
																								0	0	0	0	0			
																								0	0	0	0	0			
																				1			1	1	0	0	0	1			
																								0	0	0	0	0			
																								1	0	0	0	1			
																								0	0	0	0	0			
																								0	2	0	2	試験 件数	2		
0	0	0	0	5	5	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	4	0	18	95	5	0	(24)	124	139	26	(25)	191		
0	0	0	0	1	0	0	(5)	6	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	(1)	1	1	0	0	1	15	6	0	(9)	30
0	0	0	0	6	5	0	(5)	16	0	0	0	0	0	0	1	0	1	14	4	0	(1)	19	96	5	0	(24)	125	154	32	(34)	221
																								373							
																								31							
																								404							

() 内数字は無判定

昭和57年度特別行政試験実績表

1. 一般試験検査

局	課(室)	品(項)目	件数	担 当 部
薬務局	監視指導課	1. 医薬品の収去試験 (バルサンPジェット, バルサンスミ) チオン粉剤	7	薬品部
	麻薬課	1. 国内産収納あへんのモルヒネ含有率試験	36	{薬品部(26) 大阪支所薬品部(10)}
静岡県知事		2. 輸入あへん(インド産)のモルヒネ含有率試験	50	薬品部
		カビ菌種の同定について	9	衛生微生物部
計			102	{東京 92 大阪 10}

2. 特殊試験検査

局	課(室)	品(項)目	件数	担 当 部
薬務局	審査課	1. 化粧品原料規格作成のための試験	28	環境衛生化学部
		2. 医療用具の品質確保に関する試験	1	療品部
安全課		3. 溶解補助剤使用基準作成のための試験 5品目, 急性毒性等の試験	10	{毒性部 薬理部 変異原性部 薬品部}
		1. 既存化学物質の毒性試験 5品目 急性毒性, 亜急性毒性, 慢性毒性, 催腫瘍性, 生体内運命に関する試験	15	{放射線化学部(1) 毒性部(10) 薬理部(4)}
監視指導課		1. ニプロホローファイバー型ダイアライザーの試験 抽出, 動物実験, 無菌試験, 溶血性試験 (試験項目 40, 検体 581)	765	{療品部(581) 衛生微生物部(24) 毒性部(156) 薬理部(4)}
		2. 医薬品の検定基準, 検定手数料及び試験品の数量の改正案の作成 (中性インシュリン注射液)	2	{生物化学部 衛生微生物部}
麻薬課		1. 向精神剤標準品の製造	2	薬品部
		2. けし栽培等試験	4	{筑波薬用植物栽培試験場 北海道 " 伊豆 " 和歌山 " }
環境衛生局	家庭用品 安全対策室	1. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査 新規……加注促進剤1品目, 溶剤2品目, ビルター1品目 継続……防炎加工剤2品目, 殺菌剤2品目 計 8品目 急性毒性, 慢性毒性, 経皮発がん性, 発がん性代謝, 催奇形性, 分析設定法, 吸入毒性試験	24	{療品部(4) 医化学部(1) 毒性部(16) 薬理部(2) 大阪支所薬理微生物部(1)}
		1. 食品の規格基準の設定等に係る試験検査 (1) 規格基準(食用油脂, ガラス製器具)	3	{食品部 食品添加物部 衛生微生物部}

局	課(室)	品(項)目	件数	担 当 部
	食品化学課	(2) 衛生規範(しょう油, ベビーフード) (3) 新形態食品(天然抽出調味料) 1. 食品添加物規格基準設定に係る試験 2. 食品添加物の慢性毒性及び癌原性試験 3. 食品添加物の代謝等精密試験 4. 食品添加物の次世代に及ぼす影響試験 5. 食品添加物の変異原性に関する試験 Ames 試験30品目, Chromosome 試験55品目, マウス骨髄小核試験3品目 6. 容器包装規格基準作成試験 7. 外国農産物(タマネギ, コーヒー豆, サヤエンドウ)の残留農薬調査試験	4 3 1 1 88 12 26	{食品添加物部(1) [大阪支所食品部(3)] 病理部 医化学部 薬理部 変異原性部 食品添加物部 {食品部(1) [大阪支所食品部(25)]
水道環境部	水道整備課	1. 水質管理調査試験 毒性試験(2品目), 標準試験(2品目) 2. 特定化学物質試験 3. 水道用薬品等規格策定に係る試験 毒性試験(1品目), 成分試験(1品目) 溶出試験(1品目)	4 10 3	{環境衛生化学部(4) 毒性部(3) 変異原性部(10)
環境庁	大気保全局	1. 東京都内3箇所における大気汚染測定調査	3	環境衛生化学部
計			1,009	{東京 980 [大阪 29]

総件数 1,111 件 (東京 1,072 件, 大阪 39 件)

昭和57年度一斉取締試験判定別件数実績表

区 分	合 格	不 合 格	計	試験件数
東 京	392 件	7 件	399 件	508 件
大 阪	41	0	41	41
計	433	7	440	549

国立衛生試験所標準品

Reference Standards Prepared by National Institute of Hygienic Sciences

国立衛生試験所において製造し、交付している標準品は別表のとおりである。

なお、昭和58年4月1日厚生省告示第76号をもって国立衛生試験所標準品のうち2品目(酢酸デスオキシコルトン、ジエチルスチルベストロール)が削除となり、新たに2品目(ウロキナーゼ、カリジノゲナーゼ)が追加となった。

別表

日本薬局方標準品

(昭和58年4月1日現在)

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
1	アスコルビン酸	1g入 1本	13,100	アスコルビン酸散, 同注射液, 注射用コルチコトロピン, 持続性コルチコトロピン注射液の定量法
2	安息香酸エストラジオール	20mg入 1本	10,400	安息香酸エストラジオールの純度試験, 同注射液, 同水性懸濁注射液の確認試験及び定量法
3	インシュリン	20mg入 1本	11,800	インシュリン, インシュリン注射液, インシュリン亜鉛水性懸濁注射液, 結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液, 無晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液, プロタミンインシュリン亜鉛水性懸濁注射液, イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の定量法, イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の純度試験
	塩酸チアミン	1g入 1本	13,000	塩酸チアミン, 同散, 同注射液, 硝酸チアミン, 乾燥酵母の定量法
5	塩酸ピリドキシン	200mg入 1本	15,400	塩酸ピリドキシン注射液の定量法
6	含糖ペプシン	20g入 1本	13,600	含糖ペプシンのたん白消化力試験
7	ジゴキシン	20mg入 1本	10,800	ジゴキシン, 同錠, 同注射液の純度試験
8	血清性性腺刺激ホルモン	1,000単位入 1本	25,400	血清性性腺刺激ホルモン, 注射用血清性性腺刺激ホルモンの定量法
9	酢酸コルチゾン	100mg入 1本	10,300	酢酸コルチゾンの確認試験及び純度試験, 同水性懸濁注射液の確認試験, 酢酸プレドニゾロンの純度試験
10	酢酸ヒドロコルチゾン	100mg入 1本	10,400	酢酸ヒドロコルチゾンの確認試験及び純度試験, 同水性懸濁注射液の確認試験, 酢酸プレドニゾロンの純度試験
11	酢酸プレドニゾン	100mg入 1本	11,100	酢酸プレドニゾロンの確認試験
12	シアノコバラミン	200mg入 1本	10,400	シアノコバラミン, 同注射液の定量法, 酢酸ヒドロキソコバラミンの純度試験及び定量法
13	ジギタリス	1g入 3本	10,200	ジギタリス, 同末の定量法
14	ジギトキシン	50mg入 1本	10,700	ジギトキシンの確認試験及び定量法, 同錠の純度試験, 溶出試験, 含量均一性試験及び定量法
15	ジゴキシン	50mg入 1本	10,400	ジゴキシンの確認試験及び定量法, 同錠の溶出試験, 含量均一性試験及び定量法, 同注射液の定量法
16	酒石酸水素エピネフリン	20mg入 1本	8,400	エピネフリン, ノルエピネフリン, 同注射液の純度試験
17	酒石酸水素ノルエピネフリン	20mg入 1本	9,400	エピネフリン, ノルエピネフリンの純度試験, 同注射液の純度試験及び定量法
18	G-ストロファンチン	100mg入 1本	11,300	G-ストロファンチンの定量法, 同注射液の確認試験及び定量法

日本薬局方標準品

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
19	胎盤性性腺刺激ホルモン	1,000単位入 1本	24,000	胎盤性性腺刺激ホルモン、注射用胎盤性性腺刺激ホルモンの定量法
20	チロジン	500mg入 1本	6,600	パンクレアチンのたん白消化力試験
21	デスラノシド	100mg入 1本	11,700	デスラノシドの純度試験及び定量法、同注射液の確認試験及び定量法
22	トロンビン	500単位入 2本	20,500	トロンビンの定量法
23	ニコチン酸	500mg入 1本	10,400	ニコチン酸注射液の定量法
24	ニコチン酸アミド	500mg入 1本	11,100	ニコチン酸アミド注射液の定量法
25	脳下垂体後葉	10mg入 2本	6,900	オキシトシン注射液、バソプレシン注射液の純度試験及び定量法
26	薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	10,000単位入 10カプセル	4,400	酢酸レチノール及びパルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法
27	薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール	10,000単位入 10カプセル	4,300	酢酸レチノール及びパルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法
28	パラアミノベンゾイルグルタミン酸	500mg入 1本	18,400	葉酸の純度試験
29	ヒドロコルチゾン	100mg入 1本	10,300	ヒドロコルチゾンの確認試験及び純度試験
30	フルオシノロンアセトニド	50mg入 1本	7,400	フルオシノロンアセトニドの定量法
31	プレドニゾン	100mg入 1本	10,700	プレドニゾンの確認試験、同錠の確認試験、溶出試験及び含量均一性試験
32	プロゲステロン	50mg入 1本	10,500	プロゲステロンの確認試験
33	ヘパリンナトリウム	1,200単位入 1本	18,200	ヘパリンナトリウム、同注射液の定量法、硫酸プロタミン、同注射液の抗ヘパリン試験
34	マレイン酸エルゴメトリン	20mg入 1本	10,500	マレイン酸エルゴメトリンの純度試験及び定量法、同錠の含量均一性試験及び定量法、同注射液の定量法、マレイン酸メチルエルゴメトリンの定量法、同錠の含量均一性試験及び定量法
35	メトトレキサート	200mg入 1本	17,800	メトトレキサートの確認試験及び定量法
36	葉酸	500mg入 1本	11,900	葉酸、同錠、同注射液の定量法
37	ラナトシドC	100mg入 1本	11,000	ラナトシドCの純度試験及び定量法、同錠の確認試験、含量均一性試験及び定量法
38	リボフラビン	200mg入 1本	13,400	リボフラビン、同散、リン酸リボフラビンナトリウム、同注射液の定量法
39	硫酸プロタミン	100mg入 1本	17,300	イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の純度試験
40	リン酸ヒスタミン	20mg入 1本	5,500	注射用コルチコトロピン、持続性コルチコトロピン注射液の純度試験
41	レセルピン	50mg入 1本	18,500	レセルピン、同散、同錠、同注射液の定量法、同錠の含量均一性試験

国立衛生試験所標準品

(昭和58年4月1日現在)

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
1	エストロロン	20mg入 1本	10,400	エストロン製品の確認試験及び定量法
2	エストラジオール	20mg入 1本	10,400	エストラジオール製品の純度試験
3	塩酸チアミン液	1mg入 10本	3,800	チアミン製品の定量法
4	ウロキナーゼ	1,000単位入1本	11,700	ウロキナーゼ原液及びその製剤の定量法
5	カリジノゲナーゼ	100単位入 1本	10,200	カリジノゲナーゼ及びその製剤の生物活性試験並びに定量法
6	パレイショデンプン	100g入 1本	16,800	パンクレアチン、ジアスターゼ製品のデンプン消化力試験の参考
7	ヒアルロニダーゼ	500mg入 1本	12,100	注射用ヒアルロニダーゼの定量法
8	ビタミンA油(ビタミンA検定用)	1g (10,000単位)入 10本	15,000	ビタミンA製品の定量法
9	プロピオン酸テストステロン	20mg入 1本	10,200	プロピオン酸テストステロン製品の定量法
10	融点測定用 アセトアニリド, アセトフェネチジン, カフェイン, スルファニルアミド, スルファピリジン, ワニリン	各1g入 6本	30,300	融点測定用温度計, 同装置の補正
11	リゾチーム	500mg入 1本	16,900	リゾチーム製品の定量法
12	ルチン	500mg入 1本	9,600	ルチン製品の定量法
13	アシッドバイオレット6B	1g入 1本	3,400	食品, 医薬品, 化粧品及び製剤中のアシッドバイオレット6Bの確認試験
14	アシッドレッド	1g入 1本	2,100	食品, 医薬品, 化粧品及び製剤中のアシッドレッドの確認試験
15	アズルピンエキストラ	1g入 1本	2,600	粘膜以外医薬品, 化粧品及び製剤中のアズルピンエキストラの確認試験
16	アマランス	1g入 1本	1,900	食品, 医薬品, 化粧品及び製剤中のアマランスの確認試験
17	インジゴ	1g入 1本	2,600	外用医薬品, 化粧品及び製剤中のインジゴの確認試験
18	インジゴカルミン	1g入 1本	1,700	食品, 医薬品, 化粧品及び製剤中のインジゴカルミンの確認試験
19	エオシン	1g入 1本	1,800	食品, 医薬品, 化粧品及び製剤中のエオシンの確認試験
20	エリスロシン	1g入 1本	1,800	食品, 医薬品, 化粧品及び製剤中のエリスロシンの確認試験
21	オイルエロー AB	1g入 1本	1,700	粘膜以外医薬品, 化粧品及び製剤中のオイルエロー ABの確認試験
22	オイルエロー OB	1g入 1本	1,700	粘膜以外医薬品, 化粧品及び製剤中のオイルエロー OBの確認試験
23	オイルオレンジ SS	1g入 1本	1,700	粘膜以外医薬品, 化粧品及び製剤中のオイルオレンジ SSの確認試験
24	オイルレッド XO	1g入 1本	1,700	粘膜以外医薬品, 化粧品及び製剤中のオイルレッド XOの確認試験
25	オレンジ I	1g入 1本	1,800	粘膜以外医薬品, 化粧品及び製剤中のオレンジ Iの確認試験
26	オレンジ II	1g入 1本	2,400	外用医薬品, 化粧品及び製剤中のオレンジ IIの確認試験

国立衛生試験所標準品

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
27	ギネアグリーン B	1g入 1本	3,000	粘膜以外医薬品、化粧品及び製剤中のギネアグリーンBの確認試験
28	サンセットエロー FCF	1g入 1本	1,700	食品、医薬品、化粧品及び製剤中のサンセットエローFCFの確認試験
29	タートラジン	1g入 1本	1,900	食品、医薬品、化粧品及び製剤中のタートラジンの確認試験
30	テトラクロルテトラブromフルオレセイン	1g入 1本	2,200	外用医薬品、化粧品及び製剤中のテトラクロルテトラブromフルオレセインの確認試験
31	テトラブromフルオレセイン	1g入 1本	2,100	外用医薬品、化粧品及び製剤中のテトラブromフルオレセインの確認試験
32	トルイジンレッド	1g入 1本	2,000	外用医薬品、化粧品及び製剤中のトルイジンレッドの確認試験
33	ナフトールエロー S	1g入 1本	1,700	粘膜以外医薬品、化粧品及び製剤中のナフトールエローの確認試験
34	ニューコクシン	1g入 1本	1,900	食品、医薬品、化粧品及び製剤中のニューコキシンの確認試験
35	パーマネントオレンジ	1g入 1本	2,000	外用医薬品、化粧品及び製剤中のパーマネントオレンジの確認試験
36	ハンサエロー	1g入 1本	2,000	外用医薬品、化粧品及び製剤中のハンサエローの確認試験
37	ファストグリーン FCF	1g入 1本	3,800	食品、医薬品、化粧品及び製剤中のファストグリーンFCFの確認試験
38	ファストレッド S	1g入 1本	2,700	粘膜以外医薬品、化粧品及び製剤中のファストレッドSの確認試験
39	ブリリアントブルー FCF	1g入 1本	3,200	食品、医薬品、化粧品及び製剤中のブリリアントブルーFCFの確認試験
40	フルオレセイン	1g入 1本	2,100	外用医薬品、化粧品及び製剤中のフルオレセインの確認試験
41	フロキシシン	1g入 1本	1,900	食品、医薬品、化粧品及び製剤中のフロキシシンの確認試験
42	ボンソー R	1g入 1本	1,800	粘膜以外医薬品、化粧品及び製剤中のボンソーRの確認試験
43	ボンソー SX	1g入 1本	1,800	粘膜以外医薬品、化粧品及び製剤中のボンソーSXの確認試験
44	ボンソー 3R	1g入 1本	1,800	粘膜以外医薬品、化粧品及び製剤中のボンソー3Rの確認試験
45	リソールルビン BCA	1g入 1本	1,900	外用医薬品、化粧品及び製剤中のリソールルビンBCAの確認試験
46	レーキレッド C	1g入 1本	1,800	外用医薬品、化粧品及び製剤中のレーキレッドCの確認試験
47	レーキレッド CBA	1g入 1本	2,100	外用医薬品、化粧品及び製剤中のレーキレッドCBAの確認試験
48	レーキレッド DBA	1g入 1本	2,100	外用医薬品、化粧品及び製剤中のレーキレッドDBAの確認試験
49	ローズベンガル	1g入 1本	1,800	食品、医薬品、化粧品及び製剤中のローズベンガルの確認試験

昭和57年度国立衛生試験所標準品出納状況

(医薬品等試験用標準品)

標 準 品 名	前年度末 在庫数量 個	製造数量 個	充払数量 個	自家消費等 数量 個	年 度 末 在庫数量 個	備 考
アスコルビン酸	1	350	211	0	140	
安息香酸エストラジオール	11	0	2	0	9	
インシュリン	118	0	73	7	38	
エストラジオール	30	0	0	0	30	
エストロン	43	0	0	0	43	
塩酸チアミン	213	200	221	1	191	
塩酸チアミン液	0	50	21	0	29	
塩酸ピリドキシン	101	200	196	2	103	
含糖ペプシン	29	0	26	0	3	
ギトキシン	18	0	10	0	8	
血清性性腺刺激ホルモン	83	0	54	1	28	
酢酸コルチゾン	48	0	8	2	38	
酢酸ヒドロコルチゾン	29	50	41	0	38	
酢酸ブレドニゾロン	63	0	2	2	59	
シアノコバラミン	64	202	250	0	16	
ジギタリス	18	0	0	0	18	
ジギトキシン	24	64	23	0	65	
ジゴキシン	14	130	39	1	104	
酒石酸水素エビネフリン	44	0	0	0	44	
酒石酸水素ノルエビネフリン	33	0	0	0	33	
G-ストロファンチン	34	0	3	0	31	
胎盤性性腺刺激ホルモン	43	100	98	13	32	
チロジン	104	100	149	0	55	
デスラノシド	70	0	15	0	55	
トロンビン	32	59	70	2	19	
ニコチン酸	55	0	18	0	37	
ニコチン酸アミド	30	100	96	4	30	
脳下垂体後葉	78	0	40	5	33	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	63	0	20	5	38	
薄層クロマトグラフ用バルミチン酸レチノール	33	0	16	5	12	
パラアミノベンズイルグルタミン酸	51	0	13	0	38	
バレイショデンプン	0	0	0	0	0	
ヒアルロニダーゼ	37	0	2	0	35	
ビタミンA油 (ビタミンA検定用)	0	0	0	0	0	
ヒドロコルチゾン	79	0	29	0	50	
フルオシノロンアセトニド	44	0	16	2	26	
ブレドニゾロン	17	33	37	0	13	
プロゲステロン	12	0	1	0	11	
プロピオン酸テストステロン	31	0	0	0	31	
ヘパリンナトリウム	39	100	76	0	63	
マレイン酸エルゴメトリン	34	91	52	0	73	
メトトレキサート	44	0	0	0	44	

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費等 量数	年度末 在庫数量	備考
融点測定用 (アセトアニリド, アセトフ ェネチジン, カフェイン, スルファニルアミド, スル ファビリジン, ワニリン)	27	6	24	0	9	
葉酸	91	0	56	0	35	
ラナトシドC	43	0	10	2	31	
リゾチーム	90	250	238	0	102	
リボフラビン	6	400	324	2	80	
硫酸プロタミン	13	0	0	0	13	
リン酸ヒスタミン	56	80	53	0	83	
ルチン	21	0	5	0	16	
レセルピン	29	70	31	0	68	
酢酸デスオキシコルトン	0	0	0	0	0	
ジエテルスチルベストロール	13	0	1	1	11	
計	2,303	2,635	2,670	57	2,211	

(色素試験用標準品)

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費等 数量	年度末 在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
アシッドバイオレット6B	139	0	53	0	86	
アシッドレッド	11	0	2	0	9	
アゾルビンエキストラ	147	0	52	1	94	
アマランス	0	0	0	0	0	
インジゴ	147	0	2	0	145	
インジゴカルミン	35	0	28	0	7	
エオシン	134	0	4	0	130	
エリスロシン	7	0	1	0	6	
オイルエローAB	281	0	52	0	229	
オイルエローOB	291	0	52	0	239	
オイルオレンジSS	288	0	52	0	236	
オイルレッドXO	273	0	52	0	221	
オレンジI	338	0	53	0	285	
オレンジII	168	0	3	0	165	
ギネアグリーンB	134	0	54	0	80	
サンセットエローFCF	0	0	0	0	0	
タートラジン	0	0	0	0	0	
テトラクロルテトラブROMフル オレセイン	165	0	2	0	163	
テトラブROMフルオレセイン	126	0	2	0	124	
トルイジンレッド	92	0	2	0	90	
ナフトールエローS	216	0	55	0	161	
ニューコクシン	0	0	0	0	0	
パーマメントオレンジ	44	0	2	0	42	
ハンサエロー	90	0	3	0	87	
ファストグリーンFCF	106	0	54	0	52	
ファストレッドS	212	0	2	0	210	
ブリリアントブルーFCF	2	0	2	0	0	
フルオレセイン	205	0	3	0	202	
フロキシン	435	0	55	0	380	
ボンソーR	279	0	3	0	276	
ボンソーSX	216	0	54	0	162	
ボンソー3R	228	0	3	0	225	
リゾールルビンBCA	376	0	2	0	374	
レーキレッドC	399	0	2	0	397	
レーキレッドCBA	133	0	2	0	131	
レーキレッドDBA	172	0	2	0	170	
ローズベンガル	9	0	3	0	6	
計	5,898	0	713	1	5,184	

衛生試験所報告への投稿について

投 稿 規 定

1. 投稿資格：国立衛生試験所所員とする（共著者はこの限りでない）。
2. 内 容：原稿は報文、ノート、資料とする。そのほか誌上発表、学会発表、業務報告、総説などを収載する。
 報 文：独創性に富み、新知見を含むまとまった研究業績。
 ノ ー ト：断片的な研究業績で、独創性や新知見が認められるもの。
 資 料：試験、製造又は調査などで、記録しておく必要のあるもの。
 誌上発表：衛生試験所報告以外の専門誌に発表したもの。
 学会発表：学会で講演したもの。
 業務報告：所長、各部長（支所も含む）及び各薬用植物栽培試験場の長が過去1年間（前年度）の業務成績、研究業績をまとめた報告。
 総 説：所員の調査又は研究を中心とした総説で、図書委員会が執筆を依頼したもの。
3. 用紙及び枚数の制限：衛生試験所所定の原稿用紙を用い、原則として下記の規定に従う。
 報 文：図表を含めて20枚以内。
 ノート及び資料：図表を含めて15枚以内。
 誌上発表：1題目について1枚程度。
 業務報告：各部及び各薬用植物栽培試験場について8枚以内。
 総 説：原稿を依頼するとき別に定める。
4. 原稿の提出：原稿は表紙（第1ページとする）、英文要旨、本文、文献、英文要旨の和文（参考）、最後に図表を入れた封筒の順に左上をひもでとじ、表紙右上に報文、ノート、資料のうち希望する分類を朱書きし、所長宛の報告書を表紙の上に添えて、定められた原稿〆切期日までに図書館宛に提出する。
5. 原稿の審査：図書委員会は提出された原稿の採否及び分類を決定する。また、必要ならば字句や表現の部分的な訂正、図表の書き直しなどを求める。

執 筆 規 定

1. 文 体：現代かなづかい、新送りがな、ひらがなまじり口語文とし、簡潔で理解しやすい表現にする。原稿の語句の統一を計るため、原則的に「日本薬局方記載の手引」に従う。止むを得ぬ学術用語以外は当用漢字を用いる。必要ならば全文を外国語で書いてもよい。
 なお、外国文はタイプライター（ダブルスペース）で打つこと。
 また、原稿は楷書ペン書きにする。
2. 学 術 用 語：学会の慣例に従う。文中では物質はその名称を記し、化学式は用いない。例えば塩酸と書き、HCl としない。又、化学名を英語で書く場合、文中では原則として小文字で始める。
3. 略記、略語、記号：次の例示のほかは学会の慣例に従う。また、物質名あるいは分析法などを略記するときは、和文、英文とも最初は正式な名称とともに示す。例えば、イソニコチン酸(INA)、示差熱分析法—ガスクロマトグラフィー (DTA-GC) と書き、(以下 INA と略す) などとしない。

3・1 単位のべき指数表記には、次の記号を用いる。

テ	ラ (tera)	10^{12}	T	ミ	リ (milli)	10^{-3}	m
ギ	ガ (giga)	10^9	G	マイクロ	(micro)	10^{-6}	μ
メ	ガ (mega)	10^6	M	ナ	ノ (nano)	10^{-9}	n
キ	ロ (kilo)	10^3	k	ピ	コ (pico)	10^{-12}	p
デ	シ (deci)	10^{-1}	d	フェムト	(femto)	10^{-15}	f
セン	チ (centi)	10^{-2}	c	ア	ト (atto)	10^{-18}	a

3・2 物理量, 化学量, 物性などの単位及び定数の記号又は略号は, 次に掲げるものを用いる.

メートル	m	度(セルシウス)	°	parts per billion	ppb
マイクロメートル	μm	(°Cとしない)		モル濃度	M
ナノメートル	nm	ケルビン度	K	規定濃度	N
($m\mu$ を用いない)		キュリー	Ci	旋光度	α
オングストローム	Å	カウント毎分	cpm	吸光度	A
平方メートル	m ²	(cpsは用いない)		水素イオン指数	pH
アール	a	ラド	rad	pK 値	pK
リットル	l	レム	rem	ミハエリス定数	K _m
(Lを用いない)		レントゲン	R	R _f 値	R _f
ミリリット	ml	サイクル	cycle	保持時間	t _R
(cc を用いない)		回毎分	rpm	50%致死量	LD ₅₀
マイクロリットル	μl	ヘルツ	Hz	50%有効量	ED ₅₀
(λ を用いない)		キャンデラ	cd	経口投与	p. o.
立方メートル	m ³	ルクス	lx	静脈投与	i. v.
グラム	g	ダイン	dyn	腹腔投与	i. p.
マイクログラム	μg	気圧	atm	皮下投与	s. c.
(γ を用いない)		トル	Torr	筋肉投与	i. m.
時	hr	水銀柱ミリメートル	mmHg	標準偏差	S. D.
分	min	毎センチメートル (カイザー)	cm ⁻¹	標準誤差	S. E.
秒	sec	融点	mp		
(時間は複数でも s をつけない)		分解点	dp	紫外吸収	UV
アンペア	A	沸点	bp	赤外吸収	IR
ボルト	V	凝固点	fp	核磁気共鳴	NMR
オーム	Ω	比重	d	電子スピン共鳴	ESR
ガウス	G	屈折率	n	旋光分散	ORD
エルステッド	Oe	重量パーセント	%	円偏光二色性	CD
ジュール	J	容量/重量パーセント	v/w%	マスペクトル	MS
カロリー	cal	parts per million	ppm		

4. 句読点: , . を用い, 、 。 としない.

5. 数字: アラビア数字を用いる. 千の単位にコンマをつけない. ただし, 成語となっている数字は漢字とする.

6. 字体の指定: 黒鉛筆で次のように記す.

ゴシック体~~~~	例: 見出しなど	<u>試薬</u>
イタリック体——	例: 学名など	<i>Papaver somniferum</i> L.
スモールキャピタル——	例: 著者名など	Masato <u>ASAHINA</u>

7. 報文, ノート, 資料の記載要領:

7・1 記載順序: 7・2~7・5 の順に書く.

7・2 題名, 著者名: 次の例に従い, 表紙(用紙1枚全部)をこれに当てる.

例: 医薬品の確認試験法に関する研究(第2報)

鎮痛剤のクロマトグラフィー
用賀 衛・世田一郎・東京子Studies on the Identification of Drugs II
Chromatographic Methods for the Analgesics
Mamoru YOGA, Ichirō SETA and Kyōko AZUMA

7・3 英文要旨: 論文の内容を簡潔にまとめ, タイプライターで打つ. 参考のため別紙に書いた和文を文献の次に添える.

7・4 本文：新しいページから書き始める。本文のスタイルは特に規定しないが、内容の重複を避ける。凸版にする図、又は原稿用紙に書き切れない表がある場合、それらのそう入位置に若干の余白を設け、図表の番号を明記する。

7・5 文献：本文の引用箇所の右肩に³⁾,^{2,5)},¹⁻⁴⁾のように記し、終わりに文献として引用順に書く。

雑誌名は Chemical Abstracts 及び日本化学総覧の略記法による。外国雑誌名はイタリック体で表し、単行本は書名を省略しない。

例：1) 神蔵美枝子, 谷村頭雄: 衛生試験, 88, 112 (1970)

2) 菅野三郎ら: 衛生化学, 17, 19 (1971)

3) M. D. Hollenberg, D. B. Hope: *Biochem. J.*, 106, 557 (1968)

4) A. White *et al.*: *Principles of Biochemistry*, 4th Ed., p. 937 (1968), McGraw-Hill Inc., New York

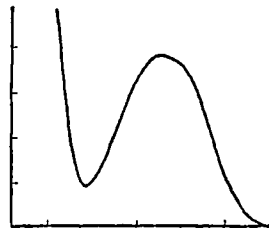
5) 佐々木慎一: マススペクトル解説, p. 61 (1967) 広川書店

6) USP XVIII, p. 321 7) JIS K 1234 (1970)

7・6 図表：図又は複雑な構造式など、凸版にする必要のあるものは厚手白色紙か青色方眼紙（黒、茶色の方眼紙は使用しない）に黒インク又はすみで書き、図中の数字、記号又は説明などの文字は入れない（原図）。別に原図のコピーをとり、図中の数字、記号又は説明などの文字はタイプで打ち、原図と共に提出する。ただし、説明が多い場合は別紙にタイプしても良い。

また、図の大きさは原則として原稿用紙1/2枚とする。表の画線はできるだけ少なくし、左右両端の縦線を省く。簡単な表はなるべく本文中に書き、図はすべて本文中に書かない。

(例)



(原図)

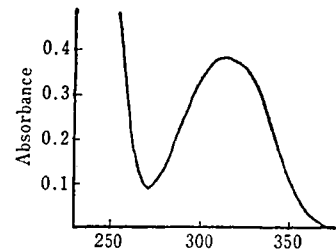


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of material for "Ergometrine Maleate Reference Standard" (20 µg/ml) (コピーにタイプ)

図の番号は Fig. 1., Fig. 2., ……とし、表題、説明はともに図の下に、表の番号は Table 1., Table 2., ……とし、表題は表の上に、説明は表の下に記す。なお、表題、説明は原則として英語で書き（資料の場合はこの限りでない）、表題は大文字で始め、最後に . をつけない。

例：Fig. 1. Influence of enzyme concentration on reductive sugar production

Table 2. Reaction of ephedrine and pseudoephedrine with acetone as a function of time

図及び別紙に書いた表は、その裏に題名、著者名、本文中のそう入ページを記す。提出するときは一括して封筒に入れ、そのおもてに論文題名、著者名、並びに図、表のそれぞれの枚数を記し、原稿の最後にとじる。

8. 誌上発表の記載要領：題名の次に改行して著者名、雑誌名、巻数、ページ数、年号の順に記す。更に改行して論文の要旨のみに記す。外国語の論文の要旨は、日本語で原稿用紙1枚程度にまとめる。ただし、題名、著者名、雑誌名は外国語。

9. 学会発表の記載要領：演者名に続いて演題名を記す。改行して学会名、日付け〔例：(1972. 4. 5)〕を記す。各演題ごとに余白2行を設ける

校 正

初校は著者が行う。人名、化学名、数値、文献などは特に綿密に校正する。内容の追加、行数の増加は認めない

国立衛生試験所図書委員会