Schwefelsäure die Liebermannsche Reaktion. Die Farbe geht hierbei von rosarot über violett, blau in rot über.

Benzoat. $C_{27}H_{46}O.COC_6H_5$. Farblose, viereckige Blättchen aus Aceton. F.P. 147-148°. $(\alpha)_D^{15} = -23,56^\circ$.

Acetat. Blättchen aus Eisessig. F.P. 119-120° $(\alpha)_D^{15} = -41,12^\circ$

I. Hirano: *Notiz zur Darstellung von Nitromethan.*

Die bisher bekannten verschiedenen Darstellungsmethoden von Nitromethan liefern alle nur geringe Ausbeuten. Nach Breibisch (Jour. prakt. Chem. (II), 8,316) beträgt dieselbe unter 33,3 % der Theorie, während W. Steinkopp und S. Kirchhoff [Ber. 42, 3438] eine Ausbeute von unter 50 % erzielt haben.

Verf. gelang es kaum nach der Methode von Steinkopp (Einwirkung von Monochloressigsäure-Natrium auf Natriumnitrit) dessen Ausbeute zu bekommen. Durch Modifikation der Methode aber hat Verf. Ausbeuten zwischen 52,7-63,1 % zu erhalten, indem er die Mischung der beiden Komponenten der Vakuumdestillation unterwarf, nur das gebildete Nitromethan möglichst schnell überzudestillieren.

K. Kawai: *Pharmakognostische Studien über den Lebertran des japanischen Dorsches ("Tara"). V u. VI Mitteilung.*

S. Akai und H. Kataoka: *Über die Sterilisation des Urotropins.*

T. Sano: *Kann man extirpirten Mausuterus bei der Prüfung der Uteruskontraktionsmitteln benutzen? (IV)*

原素分析 (物質は 80° にて減壓乾燥す)

物 質	0.1243g	CO ₂	0.2843g	H ₂ O	0.1136g	C%	62.33	H%	10.20
理論數	C ₁₈ H ₃₆ O ₆	として				„	62.10	„	10.30

即ちリノール酸の酸化成績體なるサチビン酸に一致す。

エーテルに可溶部分より結晶を得たるも更に試料を得て追究せんとす。

ウロトロピン滅菌法に關する研究

藥 學 士 赤 井 左 一 郎

片 岡 博 夫

S. Akai und H. Kataoka; Über die Sterilisation des Urotropins.

近時ヘキサメチレンテトラミン(ウロトロピン)は之を濃厚水溶液(30-40%)となし、此儘又は之に硫酸マグネシウムを加へ静脈内注射劑として頻繁に使用せらるるに至れり。而して元封たるシェーリング會社の注意書に依れば本液を 40° 以上に温むれば分解すとあるに拘らず諸成書又は諸報告には種々の加温滅菌法をも記載し其何れを採用すべきやは調製者の頗る困惑する所なり。是れ日本藥學會病院藥劑部長會議昭和 4 年度宿題として余等に其研究を囑託せられし所以とす。

滅菌法に關する既往文獻を徴するに C. Stich 氏(1)は防腐調製法又は 100° 蒸氣滅菌法を Rapp 氏(2)は無菌操作又は 80° 1 回滅菌法を記載し又近時栗原氏(3)は 65° 3 回の間歇法を推奨せり。此等の内加熱に依る方法は其操作簡單なるが故に一般に好んで採用され就中溫度 65° は通常間歇法としては最低の溫度なり。然れ共果して本溫度に於て單に 3 回の間歇加熱操作に依り完全に各種病原菌を死滅せしむるものなるや否や未だ詳細の報告に接せず。又この際に於ける分解程度が實際上大なる支障を及ぼさざるやに推知するも調製責任上更に輕少の分解度に於て確實に滅菌する方法を追求するは吾人の望む所とす。依而著者等は各種條件下に處理せるウロトロピンの分解程度及び該液中に於ける細菌發育狀態を可及的詳細に探求せんと欲せり。

研究に先だち檢體として使用すべきウロトロピンは結果の正確を期する爲可及的純品を要し、試みに内外國封印の市販製品數種に付稍、鋭敏なるフォルマリン反應を検するに殆んど凡て明かに陽性を示し而も同一會社封印の品と雖ども品質不定なるを認めたるが故に著者等は凡ての實驗を通じて自精製品を使用せり。而して本精製法として最近の文獻を求むるに I. 下妻氏のエーテル洗滌法 II. 棚頼氏のアルコール冷浸法あり。前法は不純ウロトロピンを純エーテルに浸漬し時々攪

拌しつつ1日間放置する方法にして著者等の經驗に由ればフロログルチン試薬に依るフォルマリン反應陽性の市販藥局方製品を本法にて處理するも依然として同反應陽性を示す。又後法は最初1日間は70%アルコール中に浸し然る後漸次濃アルコールを以て處理し最後に純アルコールを以て洗滌せしものを減壓下に蒸發し精製と同時に滅菌の目的を達するものなるも、本法は甚だ長時間と手数を要するのみならず精製も亦充分ならず。故に常法に従ひ熱酒精より再結晶する方法を試むるに全くフロログルチン反應陰性の品を容易に製し得たるを以て専らこの方法に従ひ精製せり。

ウロトロビン水溶液が既に常溫に於ても分解し之を加溫すれば其溫度及び加溫時間に比例して分解度高まり従つて水素イオン濃度も亦アルカリ側に高めらるる事は諸文獻の一致する所なり。只溶媒の性と其分解との關係につきては多少相違せる記載あり。今此等に關連せるものを抄録すれば次の如し。

- シエーリング會社 : 本水溶液を 40° 以上に加溫すれば一部分解す。
 栗原氏 : 加溫の際其分解度は濃度に反比例して高まる。
 榑賴氏 (4) : 酸性中性並びに弱アルカリ性何れの場合に於ても單に室溫に放置する事に依り分解を惹起し、其分解度は溶媒の PH 及び之に加へられたる溫度及びその時間に正比例して進行す。
 下妻氏 (5) : 同一狀態に於ては分解度は時間に正比例して進行す。
 U. S. Dispensary 21 版 : ウロトロビンに水を溶解すれば加水分解を受け本分解はアルカリ性に於て抑制せられ酸性の場合には促進せらる。
 Beilstein 有機化學書 : 濃厚アルカリ溶液と煮沸するも毫も變化せず。
 Fritz 氏 (6) : 苛性曹達の濃厚溫溶液に依り分解す。
 石津井上兩氏 (7) : 本液はアルカリの存在に於ては寧ろ中性の場合より安定なり。

著者等も亦ウロトロビンは之を水溶液となす限り常溫に於ても分解は免れ得ざる事及び其分解度は或一定度迄は經過時間に比例する事を追證し、又本分解は加水分解に基因するものにして少なくとも炭酸及び細菌の存在を必要とせざる事を明かにせり。而して後述する如くウロトロビン液中游離のフォルムアルデヒド及びアンモニアの檢定には夫々フロログルチン試薬及ネスレル試薬を使用せしが之等の試薬には夫々 10 及 15% の苛性曹達を含有せるが故に反應を検する際此等のアルカリがウロトロビンの分解を促すを懸念せしも、この際のアルカリ量に依りては之を加熱して 1-2 回煮沸するに至らしむるも實驗上何等認め得べき分解を惹起せざる事を知れり。尙現今臨牀上に應用せられつつあるウロトロビン注射液は主として 30-40 % 濃度に過ぎざるも栗原氏に由る「加溫の際濃度に反比例して分解度高めらる」との報告は本問題決上多少關連する所あるを以て稍、詳細に追證を試みたり。其結果に付きては後述すべし。

諸て前述の如くウロトロピンが之を水溶液となす限り 常溫に於ても明かに分解するものなるが故に許容され得べき分解限度を定むる必要あり。依而著者等は之を藥局方條項中ネスレル反應に抵觸せざる範圍内に置くを最も至當なりと考へ調査を進むる事とせり。而して該條項に付本邦及獨逸兩藥局方を比較するに次の如し。

日本藥局方：本品の水溶液(1:20)にネスレル試薬を加へて煮沸するに着色若しくは潤濁すべからず。

獨逸藥局方：本品の水溶液(1:20) 5cc にネスレル試薬5 滴を加へて煮沸するに着色若しくは潤濁すべからず。

著者等の實驗に依れば本試驗法に於ては 檢體液量及び之に加ふべき試薬量は其結果に甚だ大なる差異を生ぜしむるものなるに拘らず、日本藥局方には其何れの量をも示し居らず故に著者等は獨逸局方に準據して行ふ事とせり。尙此際附言すべきはネスレル試薬を加へて煮沸する時間に付きても限定する必要あり、即ち多少永く煮沸する時は全く不正確なる結果を示すものなるが故に煮沸し初むれば直ちに火より遠ざけて其の状態を観察する事と定めたり。但し煮沸中止後尙1 分間以内の状態をも観察し以て分解程度を比較する便法に資せり。

更にウロトロピンの僅微分解度を觀察する上に於て 微量フォルムアルデヒドを定量する必要あるも遺憾乍現今迄本定量法に關する適當の文獻を見出さず、且種々の方法を講ぜしも遂に得ず。依而多少鋭敏なる定性試驗薬を用ひ其呈色度に依りて分解度を推知する程度にて満足せざるを得ざりき。而して從來頻用せらるるこの種の試薬の内主なるものを舉ぐれば (1) Resorcin 試薬 (1:10,000,000) (2) Rimini-Burmam 氏試薬 (1:300,000) (3) Phloroglucin 試薬 (1:50,000) とす。此内 (1) は本比較試驗上餘りに鋭敏に過ぎ且つ多量のアルカリを含む難點あり。(2) も亦鋭敏に過ぎ且つ操作複雑の嫌あり。之に反し Phloroglucin 試薬は其鋭敏度並びに操作簡單なる點に於て最も適當なるを認め専ら之を採用せり。

著者等は自精製ウロトロピンの 10, 20, 30 及 40g/100cc 液 (以下便宜上之を夫々 10-40%と記す) を調製し之をアンブーレ内に封入したる後各種條件下に處理せるものに付稀釋する事なく其水素イオン濃度を檢するに其 PH は濃度に反比例してアルカリ側に高まれるを見る。而して著者等限定の方法にて分解度を檢するに此場合に於ても同一條件下に處理せるものは濃度に反比例して分解度の高まれるを知る。然れ共該法の如く 1:10 及び 1:20 に稀釋する事なくフロログルチン反應及びネスレル反應を檢するに全く逆の結果を示す。即ち分解度は濃度に正比例す。この事實は第 13 表に於て明かなる如く各種濃度のウロトロピン溶液と細菌の生存状態との關係を見るも亦肯首し得らる。而してこの分解度測定上に於て前述の如く全く逆の結果を示す原因は加水分解を受くべき物質 (但不溶解性

物質を生ぜざる場合)を或一定量の水に溶解せしむるに加水分解量と不分解量との比が濃度大なる程小となるに基因するものなり。即ち検體を 1:20 に稀釋してフォルマリン反應を検する際同一條件下に處理せる検體にして濃度小なるもの程分解度大なる如く思はるる如き結果を示す當然の事なりとす。尙種々の條件にて處理したるウロトロビン液の分解成績體の逆反應即ち結合速度は加溫度及び濃度に正比例し、加溫時間に逆比例するものの如く思考せらるるも、或點に到達すれば停止するものの如し。

今臨牀上最も頻用せらるる 40% 液につきネスレル反應條項に牴觸せざるものを求むれば次の如し。(實驗の部第 1 表参照)

- (1) 室溫に放置せるもの。
- (2) 65° 以下の溫度にて毎日 30 分間宛 3 回間歇加溫せるもの。
- (3) 37° 孵巢器内に 1 週間保持したるもの。

依而著者等は限定せる分解範圍内に於て完全に滅菌の目的を達し得る適法を探求すべく之を細菌試驗に由り解決せんと欲せり。細菌試驗には便宜上 40% ウロトロビン液のみを用ひ液中に存在の疑念ある雜菌を除かんが爲め一旦檢定済シェンベランド氏圓筒 (L_1 又は L_2) を以つて濾過し、之に各種代表病原菌として大腸菌、白色化膿性葡萄狀菌及脾脫疽菌の 3 種並びに最も抵抗強き非病原性なる枯草菌を用ひて種々の條件に處理し、時日の経過に伴ふ菌數の増減又は死滅狀態を詳細に檢せしに本液中に於ては大腸菌及び葡萄狀菌は常溫に於ても 夫々 15 時間以内及 14 日間以内に自然に死滅するも脾脫疽菌は 65° 24 時間毎に 1 時間宛 3 回の間歇加熱法に依りて未だ完全に死滅するに至らず。但し何れの細菌と雖ども本液中に於ては決して其菌數を増加し得ざるのみならず脾脫疽菌及び枯草菌等の如き最強の菌を本液中に封入し發育好適溫度 37° に於て保つに反つて約 1 週間後には此等の芽胞すら完全に死滅するに至る。但し後の場合に於ても分解成績體たるフォルムアルデヒドの存在に由るものならんことは當然推知し得るも、その PH 並びにフロログルチン及ネスレル試藥に依る反應は常溫に放置せる液のそれと比較するに認め得べき差異を示さざるを以て此時の分解度は極めて僅微に過ぎず。

偕てウロトロビン液の殺菌又は細菌の發育抑制の原因が分解せるフォルムアルデヒドの存在に由る所大なるは何人も想像し得るも、同時に游離するアンモニアの爲に水素イオン濃度の移動する事も亦之に關連するものなるや知れず。今單に溶解せる 40% 精製ウロトロビン液を調製後直ちに並びに其翌日其 PH を測定するに何れも 8.1 なるを示し、之に一定の各細菌を入れ 37° の孵巢器内に約 1 週間保ちたるものは、反つて PH=7.85-8.0 なるに拘らず脾脫疽菌枯草菌芽胞は完全に死滅し又他例に於て 65° 毎日 1 時間宛 3 回の間歇加熱のものは PH=8.35 なるに拘らず脾脫疽菌、枯草菌芽胞等は未だ完全に死滅するに至らず。此等の現象を見る

に可及的低溫に於て永く加溫したる場合には死せる菌の殘骸が漸次液を中和し行くものと推察し得べし。次に著者等は細菌發育狀態に及ぼす水素イオン濃度の影響を明かにせんと欲し 40% 精製ウロトロビン液を滅菌アンプル内に封入し、9 日間 37° 孵巢器内に保ちたるもの (PH=8.15) に等しき水素イオン濃度を有せる種々の溶液即ち アムモニア、炭酸曹達、苛性曹達及 グリココールナトロン調節液並之よりアルカリ度高きアンモニア液 (PH=8.4) 及アルカリ度低きグリココール食鹽液 (PH=7.4) 及微酸性のグリココール液 (PH=6.5) を調製し、同一條件下に處理して其の發育狀態を比較せしに細菌の抑制、減少或は死滅に對する PH の影響は小にして其の溶質に由る事甚大なり。即ウロトロビン液に於ては主として其分解生成物たる フォルムアルデヒドに由るものなりと確認し得らるるが如き結果に到達せり。

最後にウロトロビンの乾燥滅菌につきて考究し稍興味ある結果を得たり。即ち精製ウロトロビン液を乾燥アンプル内に封入し夫々 100°, 130° 及び 160° に 1 時間加熱したるものを冷後直ちに内容物を試験するに、何れも著しく分解すれ共加へたる溫度に比例して速かに且つ何れも短日間に完全に結合するを知れり。従つて本品を所謂乾燥アンプル剤として調製し使用直前滅菌蒸餾水に溶解して用ふるも亦一法なるべし。但し加熱滅菌時に於てウロトロビンの一部が昇華し上壁に固着する缺點あるが故に此際に於けるアンプルの置き方に些少の注意を要するものとす。

終りに望み細菌試験に關し當大學細菌學教室に於て 鈴木教授の快諾助言を得且つ終始波邊眞澄醫學士の懇篤なる援助を仰ぎたる事又實驗上に於て石橋英一君の助言を得たる事を附記し厚き感謝の意を表するものなり。

總 括

- 1) ウロトロビン精製に就き諸法を比較したる結果熱酒精再結晶法最良なり。
- 2) ウロトロビン水溶液は單に之を室溫に放置するも時間に比例して或一定度迄の分解は免れ得ざるものにして、この分解は専ら加水分解に基因し、溶媒中に少なくとも炭酸又は細菌の存在を必要とせず。
- 3) ウロトロビン分解度檢定に用ふるネスレル試薬及び微量フォルムアルデヒド反應諸試薬に就き批判し特に實用上許さるべきウロトロビン分解限度條件を提出せり。
- 4) 種々の條件下に處理せるウロトロビン液の分解度は何れも同一條件に於ては其濃度に正比例して高まり水素イオン濃度は之に逆比例す。
- 5) 高溫に於て短時間處理したウロトロビン液は低溫に長時間處理したるものに比して其分解成績體の結合は速かなり。
- 6) アンプルに封入して各種條件下に處理せる 40% ウロトロビン液の分解

度が著者等限定の範圍内にあるものに付細菌試験を行ひ次の如き結果を得たり。

- a) 單に室溫に放置する事に依り大腸菌は 15 時間以内に又白色化膿性葡萄狀球菌は 2 週間以内に完全に死滅す。而して芽胞形成菌の如きも本液中に於ては少なくとも其菌数を増加する事なし。
 - b) 65°C に於て毎 24 時間 30 分間 3 回の間歇法は未だ完全に芽胞形成菌例へば脾脫疽菌枯草菌等の芽胞を死滅せしめ得ず。
 - c) 本液中に於ては脾脫疽菌芽胞は 37° 孵巢内保持の狀態に於ては 1 週間以上生存し得ず、且分解度は該菌の存否に拘らず殆ど促進せざるを認む。
 - d) 本液の殺菌作用は主として其分解せるフォルムアルデヒードに基因し水素イオン濃度の變化より受くる影響は小なり。
- 7) ウロトロピンの乾燥滅菌法に就き研究せり。

實 験 の 部

1. 例用せる硝子容器及アンブーレ

硝子質は何れも日本藥學會病院藥劑部長會決議案條項に適合せるものにして、アンブーレは 10cc 白色丸形のものを使用し豫め 160°C 30 分間の乾熱滅菌法を施す。

2. ウロトロピン精製法

市販藥局方封品のヘキサメチレントラミンを熱酒精に溶解し保溫濾過を行ひ再結晶せしめ析出せる結晶を濾別し純エーテルを以て洗滌したる後濾紙上に擴げ常溫に放置してエーテル殘分を完全に揮散せしめ、然る後鹽化カルチウムを入れたる除濕器内にて充分乾燥せしむ。粗製品に付フロログルチン試薬に依るフォルムアルデヒード反應を検するに常に全く陰性なり。

3. ウロトロピン分解度試験方法

精製ウロトロピン液は既に常溫に於ても時日の経過に伴ひ僅微の分解を惹起するものなるが故に（第 1 表参照各條件下に處理せるものにつき實用上許容せらるべき分解程度の範圍を獨逸藥局方條項に準據して次の如く定めたり。即本品の水溶液 (1:20) 5cc にネスレル試薬 5 滴を加へて煮沸するに着色若しくは濁濁すべからず。但しこの際煮沸し始むれば直ちに中止して其結果を觀察するものとす。尙煮沸中止後 1 分間以内に起る狀態をも觀察して分解程度を比較せり。

更に微量のフォルムアルデヒード檢出法には専らフロログルチン反應 (1:50, 000) を應用せり。即檢體 (1:10) 10cc に本試薬 (10% 苛性曹達液 100cc に 0.1g のフロログルチンを溶解せしめたるもの) 5 滴を加へて振盪し 1 分間後に其の色調を検す。分解程度に應じ淡赤蔞色乃至濃薔薇赤色を呈す。本試薬は常に新鮮に調製したるものを使用す。

第1表 ウロトロビン液の分解度及

濃度	處理項目	調製直後	調製後1日間	毎日40°C 30分間宛 3日間加熱	毎日50°C 30分間宛 3日間加熱	毎日50°C 1時間宛 3日間加熱	毎日65°C 30分間宛 3日間加熱	毎日65°C 1時間宛 3日間加熱	001°C 30日間 1回加熱
			室溫放置	加熱	熱	熱	熱	熱	熱
10%	水素イオン濃度	8.4	8.4	8.4	8.5	8.6	8.8	8.95	9.2
	フロ、グルチン反應	—	+++	+++	++++	++++	++	++	++
	ネスレル反應	滴加後	—	—	—	微黃色	微黃色	黃色	著黃褐色潤濁
		煮沸	—	—	—	黃褐色	黃褐色	黃色	著褐色潤濁
		煮沸後1分間以内	—	微白濁	帶黃白濁	褐色潤濁	褐色潤濁	褐色潤濁	褐色潤濁
20%	水素イオン濃度	8.3	8.3	8.3	8.5	8.55	8.75	8.8	9.1
	フロ、グルチン反應	—	++	+++	+++	++++	++++	++++	++
	ネスレル反應	滴加後	—	—	—	—	微黃色	黃色	黃褐色
		煮沸	—	—	—	—	黃褐色	黃褐色	褐色潤濁
		煮沸後1分間以内	—	極微白色潤濁	微黃白濁	微白色潤濁	帶微黃白濁	黃褐色潤濁	褐色潤濁
30%	水素イオン濃度	8.25	8.25	8.25	8.3	8.4	8.5	8.6	8.8
	フロ、グルチン反應	—	++	++	+++	+++	+++	+++	++
	ネスレル反應	滴加後	—	—	—	—	—	黃褐色	褐色潤濁
		煮沸	—	—	—	微白色潤濁	白色潤濁	帶微黃褐色潤濁	黃褐色潤濁
		煮沸後1分間以内	—	—	—	微白色潤濁	白色潤濁	帶微黃褐色潤濁	黃褐色潤濁
40%	水素イオン濃度	8.1	8.1	8.1	8.2	8.2	8.25	8.3	8.4
	フロ、グルチン反應	—	+	+	++	+++	+++	++++	++
	ネスレル反應	滴加後	—	—	—	—	—	微黃色	微黃色
		煮沸	—	—	—	—	—	微黃色	微黃色
		煮沸後1分間以内	—	—	—	—	—	帶微黃白色潤濁	黃褐色潤濁

ウロトロビン液をアンプーレ内に封入し種々の條件下に處理し其 P_H 及分解程度を検するに次の如き結果を得たり。

P_H は原液濃度の儘 Sørensen 氏比色法に由つて測定したるものなり。

4. ウロトロビン液の細菌試験

細菌試験には便宜上頻用せらるる 40% 液のみに就き行ふ事とし結果の正確を

其 水 素 4 オ ン 濃 度

100°C30分加熱後2週間室温放置	108°C(4氣壓)30分加熱持	37°C孵集器内1週間保持	37°C孵集器内1週間保持後2週間室温放置	50°C孵集器内2日間保持	56°C孵集器内2日間保持後2週間室温放置	毎日40°C30分間宛3日間宛3月室温放置	毎日65°C30分間宛3日間宛3月室温放置	100°C30分加熱後3月室温放置	108°C30分加熱後3月室温放置
9.2	9.3	8.6	8.6	9.0	9.0	8.1	8.4	8.8	8.9
+++	+++	++++	++++	++ +++	++ +++	+++	++++	++++	++++
著黄褐色潤濁	著黄褐色潤濁	黄色	黄色	帶褐黄色微濁	帶褐黄色	微黄色	黄色微濁	黄色微濁	帶黄褐色微濁
著黄褐色潤濁	著黄褐色潤濁	黄褐色	黄褐色	褐色潤濁	褐色潤濁	黄褐色潤濁	褐色微濁	褐色微濁	褐色潤濁
褐色潤濁	褐色潤濁	黄褐色潤濁	黄褐色潤濁	褐色著濁	褐色著濁	褐色潤濁	褐色潤濁	褐色潤濁	褐色潤濁
9.1	9.2	8.5	8.5	8.75	8.8	8.1	8.4	8.6	8.75
++ +++	++ +++	++++	++++	++ +++	++ +++	++	+++	++++	++++
黄褐色	黄褐色微濁	-	-	黄色	黄色	-	微黄色	黄色	黄色微濁
褐色潤濁	褐色潤濁	微黄色	微黄色	黄褐色潤濁	褐色潤濁	-	黄褐色	褐色	褐色潤濁
褐色潤濁	褐色著濁	帶微黄白色潤濁	微微黄白色潤濁	帶黄褐色潤濁	黄褐色潤濁	帶微黄白色潤濁	黄褐色潤濁	褐色潤濁	褐色潤濁
8.8	9.2	8.4	8.4	8.6	8.6				
++ +++	++ +++	+++	+++	++ +++	++ +++				
黄色	黄色	-	-	微黄色	微黄色				
褐色潤濁	褐色潤濁	-	-	黄褐色	黄褐色				
黄褐色潤濁	褐色潤濁	白色潤濁	白色潤濁	黄褐色潤濁	黄褐色潤濁				
8.4	9.2	8.15	8.15	8.35	8.35	8.1	8.2	8.25	8.5
++ +++	++ +++	++	++	++ +++	++ +++	+	+++	+++	+++
微黄色	微黄色	-	-	微黄白	微黄色	-	-	-	微黄色
黄褐色潤濁	黄褐色潤濁	-	-	黄褐色	黄褐色	-	-	帶微褐黄色	黄褐色
黄褐色潤濁	白色潤濁	白色潤濁	白色潤濁	黄褐色潤濁	黄褐色潤濁	微白色潤濁	帶微黄白色潤濁	黄褐色微濁	帶黄褐色潤濁

期する爲め先づ本液中に存在の疑念ある雜菌を除く必要上之をシャンペランド氏圓筒(L₁又はL₂)を以て濾過せり。勿論該圓筒は豫め嚴密に検定せり。

著者等は第1圖に示せるが如き濾過装置を使用せり。Aは濾過せんとする液を入るの硝子製容器にして一口を有せるゴム栓を以て底部を閉鎖すBは硝子製分液漏斗様の受器にして肩部を括栓に通し、上部は一口を有するゴム栓を有す。Sはシャンペランド氏圓筒にして底

第 1 圖

部に連結せるクロム鍍金屬管は該2個のゴム栓を連れ其先端はB中に入るEは2方括栓にしてGEB, FEBと連絡し得る。Fは吸引ポンプに連なり。Gには焼綿栓を施す。Yはゴム管にしてKLを連れDは交互栓にしてビュレットHに液を充滿せしむる際J内に充滿せる液はDQを経て流出し、反對にJに液を充滿せしむる際Hの液はOPを経て流出す。O及びPは浮標にしてHJに液全滿する際自動的に液の上昇を防ぐ。M及びNはGと同様、使用前先づKLの部より分離し上部と下部とに分ち滅菌す、上部を滅菌するにはEをFEBと連れGに脱脂綿を施しK部にゴム管を付し、又下部を滅菌するにはLQ部にゴム管を付しMNに脱脂綿を施し30分間の105°C蒸氣にて滅菌を行ふ。滅菌後稍々冷却するを待ち取出しKLQのゴム管を更く閉じ括栓Eを廻しBとの連絡を絶ちたる後GNM部の脱脂綿を取り代りに焼綿栓を施す。此際此等の部分に可成り濕氣の殘存せざる様注意す。斯くして装置の全く冷却するを待ち有菌水をA内に注加しF部に吸引ポンプを付し、EをFEBと連れ、吸引し液を圓筒Sを通じてB内に濾過せしむ。濾過し了らばEをGEBと連れCを開きKより液を取出し菌の有無を検す。(檢定済のSを用ひてウロトロビン注射液を調製するには上記の如くして濾過しビュレット

のL部をゴム管YにてKと連れアンブレイ内に一定量宛充填す。) 圓筒Sは使用後必ず逆に吸引洗滌したる後乾燥す。

該濾液檢定は常法に従ひ濾液の一部を寒天培養基及び Bouillon 液中に入れ一晝夜孵巢器内に保ちたる後菌の存否を検せり。

著者等は先づウロトロビンが之を水溶液となす時必ず微に分解し來る原因が果して加水分解に由るものなるか或は細菌作用の之に參與するものにあらざるか否やを解決せんが爲め、該シャンペランド氏圓筒を濾過したる精製ウロトロビン液を完全無菌操作に依り滅菌せるアンブレイ内に入れ翌日迄室温に放置したる後内容に就きフロログルチン反應を検するに、明かに陽性を示せり。故に本水溶液の分解には少くとも細菌の存在を必要とせざる事明白となれり。次に使用せんとする蒸餾水を煮沸して全く炭酸を除去しナトロンカルク管を附して冷却したるものに就き同様の操作を行ひ其結果を見るに、依然としてフォルマリン反應は陽性なり。依而本水溶液の分解は明かに加水分解に基因せるものと認めざるを得ず。

斯くの如くウロトロビン水溶液が加水分解を受くる以上其分解生成物たるフォルムアルデヒド及アンモニアが細菌發育狀態に影響を與ふべき事を豫察し各種病原菌代表として大腸菌、白色化膿性葡萄狀球菌及び脾脫疽菌並びに參考試驗として非病原菌なれ共抵抗甚だ強い枯草菌を使用し、主として第1表中ネスレル反應に抵觸せざるものに付き細菌試験を行へり。

(2) 大腸菌

シランペランド氏圓筒を用ひて濾過せる液に大腸菌を混入し良く振盪して分布を一樣ならしめ豫め用意せる滅菌アンプレー内に充填し其 1n-Öse を取り寒天培養を行ふに其菌數 118-178 なり. 而して之を單に室溫に一夜放置したる後 10 檢體に付き生存菌數の有無を寒天培養により檢したるに 何れも完全に死滅せるを以てその結果を表示せず.

(2) 白色化膿性葡萄狀球菌

前同様に操作す. 1n-Öse 中の最大菌數 360 にして各條件下に處理せるものに付き各 10 檢體宛を取り細菌狀態を檢せり. 其全部の記錄は記載するを省略し其最大殘菌數即最不良狀態のみを選びて表示するに次の如し.

第2表 白色化膿性葡萄狀球菌

1n-Öse=360

處理法	日 數	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
室 溫 放 置	360	76	45	34	29	25	22	14	10	5	3	2	1	0	0	
毎日 50°C 30 分加熱	360	14	9	2												
毎日 50°C 1 時間加熱	360	16	7	0												
毎日 65°C 30 分加熱	360	12	4	0												
毎日 65°C 1 時間加熱	360	7	2	0												
37°C 孵巢器 内保持	360	0	0	0												
50°C 孵巢器 内保持	360	0	0	0												

試験期日 2月9日→3月31日 室溫 17°C

(3) 脾脱疽菌

前同様の操作 1n-Öse 中の最大菌數 140.

第3表 脾脱疽菌

1n-Öse=140

處理法	日 數	1	2	3	4	5	6	7	8	30
室 溫 放 置	140	140	140	140	140	140	140	140	140	140
毎日 50°C 30 分宛加熱	140	140	140	140	140					
毎日 50°C 1 時間宛加熱	140	140	140	135						
毎日 65°C 30 分宛加熱	140	123	62	28						
毎日 65°C 1 時間宛加熱	140	103	58	22						
∴ 37°C 孵巢器	50	45	38	23	15	5	1	0		
内 保 持	140	120	107	73	45	19	2	0		
50°C 孵巢器 内保持	140	5	0	0						

∴印は 1n-Öse の最大菌數 50 及 140 の 2 種の各 10 檢體に就きて行ひしも便

宜上之を一例に収録せり. 此等の結果より見れば菌数の多少は或る程度迄其の死滅に至る時日に大なる影響を及ぼさざることを推知し得.

(4) 枯 草 菌

前同様. 但し 1n.-Öse 中の最大菌数 240.

第4表 枯 草 菌

1n.-Öse=240

處理法	日 数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
室 温 放 置		240	240	240	240	240	240	240	240	240	240
毎日 50°C 30分 宛加熱		240	240	240	240						
毎日 50°C 1 時間宛加熱		240	240	240	237						
毎日 65°C 30分 宛加熱		240	205	101	34						
毎日 65°C 1 時間宛加熱		240	197	92	21						
∴ 37°C 孵 巢 器		170	130	108	76	44	20	5	1	1	0
内 保 持		240	202	137	92	53	25	6	2	1	0
50°C 孵 巢 器 内 保 持		240	152	1	0	0					

本表中 ∴ 卵は 1n.-Öse 中の最大菌数 170 及び 240 の 2 種に就きて行ひたるも便宜上之を一例に収載す.

以上第 2-4 表の成績を各操作別にグラフを以て表はせば次の如し.

第 5 表 室 温 放 置

第5表 毎日 50°C 30分 宛加熱

第7表 毎日 50°C 1 時間 宛加熱

第8表 毎日65°C30分宛加熱

第9表 毎日65°C1時間宛加熱

第10表 37°C 孵巢器内保持

第11表 50°C 孵巢器内保持

(5) 水素イオン濃度と細菌發育狀態との關係

圓筒濾過を行ひ調製したる 40% 精製ウロトロピン液を 9 日間 37°C 孵巢器内に保ちたるに $\text{pH}=8.15$ となりたるが故に之に等しき水素イオン濃度を有するアンモニア水の炭酸曹達及苛性曹達溶液並びにグリココールナトリオン調節液(食鹽グリココール及苛性曹達よりなる)を調製し、一旦之を滅菌して pH に異常なきを確かめたる後夫々に枯草菌を入れ一様に分布せしめたるものを 10cc の滅菌アンブレイに入れ、37°C 孵巢器内に保ちて細菌の發育狀態を検するに次表の如し。但し此際特に枯草菌の如き芽胞形成菌を用ひしは他の弱き細菌にては結果の不明瞭となるを懸念したればなり。

間 12 表 枯 草 菌

37°C 持 保 内 器 巢 孵

溶液の種類 \ 日 數	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ア ン モ ニ ア 溶 液	120	108	96	85	78	68	62	58	54	48
炭 酸 曹 達 溶 液	86	76	82	78	79	83	81	86	78	85
苛 性 曹 達 溶 液	130	122	117	104	91	79	72	59	50	44
グリココール食鹽曹達溶液	130	32	56	27	15	11	9	3	2	1
40% ウ ロ ト ロ ピ ン 液	240	202	137	9	53	25	6	2	1	0

上表は各1種に付 10 檢體を取りたるものなるも其内最大殘菌數を選びて收録したり。

之等と同操作を施したる 40% 液に於ける發育狀態 (第4表) と比較するに同液に於ては枯草菌は9日間以内に完全に死滅するに拘らず、上記のアンモニア液に於ては9日間後に於ても未だ殘菌少なからず、苛性曹達も亦同様なり。炭酸曹達に至りては菌數に些少の増減なし、只グリココールナトリウム調節液に於ては減少狀態甚だ急なり。依而グリココール食鹽液 (グリココール及び食鹽よりなる之等の含量は上記調節液内のそれと全く同様なり $\text{PH}=7.4$) グリココール溶液 (グリココール食鹽液中のそれと同量のグリココールを含むもの $\text{PH}=6.5$) 及び $\text{PH}=8.4$ のアンモニア溶液等を一旦滅菌したるもの、並びに 10.20 及び 30% 精製ウロトロビン液 (各 $\text{PH}=8.4, 8.3, 8.25$) 等に枯草菌を入れ前同様の操作を行ひたるに次表に示す如くグリココール及びグリココール食鹽液はグリココールナトリウム調節液の其れと殆んど類似の結果を示すも他は然らず。(10.20及び30%ウロトロビン液の括弧内の PH は調製直後の PH にして 37°C 孵巢器内9日間保持の PH は夫々 8.6, 8.5 及び 8.4 なり)。

第 13 表 枯 草 菌

37°C 孵 巢 器 内 保 持

溶液の種類	日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
グリコール 溶液 $\text{PH}=6.5$	98	88	76	57	40	37	21	15	10	5	
グリコール食鹽溶液 $\text{PH}=7.4$	109	72	44	26	17	14	8	5	3	2	
アンモニア 溶液 $\text{PH}=8.4$	126	122	120	110	106	98	88	76	72	65	
10%ウロトロビン液 $\text{PH}=8.4$	102	96	87	75	74	60	54	39	37	30	
20%ウロトロビン液 $\text{PH}=8.3$	100	95	82	72	66	51	38	29	22	19	
30%ウロトロビン液 $\text{PH}=8.3$	108	94	85	58	37	30	18	4	2	0	
40%ウロトロビン液 $\text{PH}=8.1$	240	202	137	92	53	25	6	2	1	0	

第 12 及び第 13 表より考察するに細菌の發育區域内に在る時或は區域圏外に出ずるとも些少なる時は其發育狀態に及ぼす溶液の水素イオン濃度の影響は割合小にして主として其溶液中に存する化學的物質に基因するものと見るを得べく従つてウロトロビン液の細菌の發育抑制減少又は死滅せしむる原因は、主として分解せるフォルムアルデヒドに由るものにしてアンモニアの影響は寧ろ輕視するを得べし。

(6) ウロトロビンの乾燥滅菌

精製ウロトロビン 4g 宛を各 100cc 乾燥アンブレイ内に封入し、之を電氣滅菌器内に於て夫々 100° , 130° , 及び 160°C 各 1 時間熱したるものに付き冷後 1-2 時間を経て其分解度を檢するにフロログルチン反應及ネスレル反應は何れも著明にし

て著しく分解せるを示す。更に之等を室温に放置したるものに付きて検するに 100°C に熱したるものは 24 時間以内に 130°C のものは 3 日間後 160°C のものは 7 日間後に於て完全に結合せるを知れり。只本法に由る時はウロトロピンの一部は昇華して上壁に附着する缺點あり。依而著者等は實驗に際し各アンプレーを横位置となし僅かの傾斜度に於て頸部を下方になし成可く昇華物の頸部に來らざる様注意を拂ひたり。本法に關しては尙容器に特別の考案を施さば恐らく採用し得べき一法なりと信するものなり。

結 論

ウロトロピン水溶液は常温に於ても細菌の發育を抑制し或は殺菌するに至らしむるものなり。即大腸菌の如きは常温に於て翌日迄(約 15 時間以内)に、白色化膿性葡萄球菌は 2 週間以内に完全に死滅するに至る。故に本液を空氣中の雜菌を顧慮せざる所謂普通無菌操作に依る濾過法(滅菌せる濾紙及容器を用ふ)に由り之を滅菌アンプレー内に充填し 2 週間以上室温に施置する方法は採用不可能にあらずるも正規に之を推奨し能はず。

次に一般に採用せられつつある 65°C 毎 24 時間 30 分間宛の間歇法も芽胞形成菌を顧慮する時は未だ完全なる滅菌法と稱し難く、尙その分解度も著者等限度の範圍を漸く免れ得る程度なるを以てこれ以上の間歇加熱は許されず。

最後に 37°C 孵巢器内に 1 週間保つ方法は殆んど認め得べき分解を起さず、且完全に凡ての病原菌を死滅せしめ得る唯一の加温滅菌法なりと雖も加温時間甚だ永きに過ぎ之を實用的方法として採用し難き憾あり。依而ウロトロピン液をして其分解を促進せしむる事なく最も簡単に且つ確實に滅菌する方法として次の如く提案す。

「精製ウロトロピン液を細菌濾過器を以つて濾過し之を無菌的操作に依り滅菌アンプレー(又は綿栓瓶)内に封入し使用に供す。」

尙ウロトロピン乾燥滅菌法も採用し得る可能性あり。

(昭和五年六月三十日岡山醫科大學附屬醫院藥局試驗室)

文 獻

1. Conlnad stich 書 第 4 版 217.
2. Pharm. ztg. Nr. 41 S. 678 1929.
3. 九大藥報 昭和 3 年 第 1 號 15 頁
4. 皮膚科紀要 昭和 4 年 第 4 號 367 頁
5. 滿洲醫學雜誌 大正 14 年 第 3 卷 360 頁
6. Zeitschr. analyt. chem. 1901 824.
7. 藥學雜誌 明治 39 年 1-50 頁