薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
103 (5) 566—572 (1983)

医薬品の生物薬剤学的研究 (第 7 報¹⁾) *o*-Ethoxybenzamide と
N-(β -Hydroxybutyryl)-*p*-phenetidine の脱エチル化に
およぼす尿素誘導体の阻害効果

気賀沢和雄,* 柊木峯治, 林 俊宏, 丸山孝一
グレラン製薬株式会社研究所

Biopharmaceutical Studies of Drugs. VII.¹⁾ The Inhibitory Effect of Urea
Derivatives on Deethylation of *o*-Ethoxybenzamide and
N-(β -Hydroxybutyryl)-*p*-phenetidine

KAZUO KIGASAWA,* MINEHARU HIIRAGI, TOSHIHIRO HAYASHI and KOICHI MARUYAMA
Research Laboratories, Grelan Pharmaceutical Co., Ltd.,
Sakura Shinmachi, Setagaya-ku, Tokyo

(Received October 7, 1982)

The metabolic rates of *o*-ethoxybenzamide (EBA) and *N*-(β -hydroxybutyryl)-*p*-phenetidine (HBP) were investigated when EBA or HBP was incubated with urea derivatives in 9000 $\times g$ supernatant fraction of the rabbit liver.

1) The inhibitory effect of the deethylation on EBA and HBP was induced by urea as an agent capable of modifying the enzyme structure. Also urea derivatives increased the inhibitory effect as compared with urea.

2) Isovaleryl or isobutyryl substitution of urea increased inhibitory effect of deethylation, and the substituent of Br or allyl present in C₂ of their molecules produced a large inhibitory effect.

3) The important factor of inhibition of deethylation was characterized in the presence of amide in their molecules, as shown by comparing 2-bromo-isovalerylurea and 2-bromo-isovalerylamide.

4) The cyclic ureides were recognized for the inhibition of deethylation, and secobarbital and phenobarbital produced an increase in inhibitory power. The substituent in C₅ of barbiturates was an important factor for the inhibition of deethylation.

Keywords—*o*-ethoxybenzamide; *N*-(β -hydroxybutyryl)-*p*-phenetidine; cyclic ureides; non-cyclic ureides; drug interaction; inhibition of drug metabolism; structure-enzyme inhibition relationship; rabbit liver

前報¹⁾において *o*-ethoxybenzamide (エテンザミド; EBA と略) と *N*-(β -hydroxybutyryl)-*p*-phenetidine (ブセチン; HBP と略) に対して 2-bromo-isovalerylurea (ブロムワレリル尿素; BVU と略) を併用投与することにより, 家兎の血清中の薬物未変化体である EBA と HBP は増加し, EBA と HBP の主代謝物である salicylamide (SAM と略) sulfate,²⁾ と *N*-(β -hydroxybutyryl)-*p*-aminophenol (HBA と略) glucuronide,³⁾ が減少すること, 家兎肝ホモジネート 9000 $\times g$ 上清における代謝実験から, EBA と HBP の主代謝経路である脱エチル化を BVU は非競合的に阻害することを報告した。

そこで, 著者らは EBA あるいは HBP におよぼす BVU および尿素誘導体の脱エチル化阻害作用と化学構造との関連性を検討した。

その結果, BVU の脱エチル化阻害作用発現には, BVU の尿素部分の amide 基がその重要な因子であり, carbonyl 基の α -位に isovaleryl 基および Br 基が立体的に置換されたことによって阻害作用が増強されたものと推定した。

さらに環状 ureide にも脱エチル化阻害作用が認められたので, その間の知見を報告する。

実 験 の 部

薬物および試薬 EBA (局方品), HBP (武田薬品工業), SAM (Sigma Chem. Company), BVU (岩城製

薬), nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (Sigma Chem. Company ; N 0505), glucose-6-phosphate (Sigma Chem. Company ; G 7879), tetracosane (和光純薬工業), *p*-acetoxycetanilide (東京化成工業), trimethylchlorosilane (Pierce Chemical), hexamethyldisilazane (クロマトリサーチ), 2-bromo-isovaleric acid (和光純薬工業), allyl-isopropylacetylurea (金剛化学), 2-bromo-*n*-valeric acid (和光純薬工業), 2-bromo-isobutyric acid (和光純薬工業), 5-bromo-*n*-valeric acid (Aldrich Chem. Company), hydantoin (東京化成), phenobarbital (局方品), secobarbital (大和薬品工業), allobarbital (日新製薬), urethane (東京化成), その他の試薬はすべて試薬特級品を使用した。

また, HBA は Shibasaki⁴⁾ らの方法, isovalerylurea は 橋府⁵⁾ の方法, isobutyrylurea は Stoughton⁶⁾ らの方法, 2-bromopropionylurea は Uno⁷⁾ らの方法, propionylurea は Stoughton⁸⁾ の方法, 2-bromo-isovalerylurea は Pomerantz⁹⁾ らの方法, 2-bromo-isobutyrylurea は Safir¹⁰⁾ らの方法に準じて合成した。

2-Bromo-*n*-valerylurea の合成 常法に従い 2-bromo-*n*-valeric acid 15 g と SOCl_2 11.9 g を反応させ 2-bromo-*n*-valeryl chloride とし, さらにその 14.9 g と尿素 4.2 g を縮合させて合成した。Ethyl alcohol より再結晶。mp 175—176.5°C. $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_2$. Anal. Calcd : C, 32.30; H, 4.97; N, 12.56. Found : C, 32.31; H, 4.91; N, 12.60.

5-Bromo-*n*-valerylurea の合成 常法に従い 5-bromo-*n*-valeric acid 10 g と SOCl_2 9.9 g を反応させ 5-bromo-*n*-valeryl chloride とし, さらにその 12.7 g を尿素 3.6 g と縮合させて合成した。Ethyl alcohol より再結晶。mp 208.5—209.5°C. $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_2$. Anal. Calcd : C, 32.30; H, 4.97; N, 12.56. Found : C, 32.42; H, 4.82; N, 12.65.

肝ホモジネート上清画分による EBA の代謝 前報¹⁾ と同様にして脱エチル化体である SAM の生成量をガスクロマトグラフィーにより測定した。また, barbitol は SAM の測定を妨害することが認められたので, EBA の減少量から SAM の生成速度を算出し, secobarbital は内部標準を phthalic acid di-*n*-propyl ester に換えて測定した。その他の化合物は SAM の測定に影響をおよぼさないことを確認した。

肝ホモジネート上清画分による HBP の代謝 前報¹⁾ と同様にして脱エチル化体である HBA の生成量をガスクロマトグラフィーにより測定した。また, 各種化合物は HBA の測定に影響をおよぼさないことを確認した。

結 果 と 考 察

HBP の代謝におよぼす BVU ならびにその類縁化合物の影響

HBP に対する BVU ならびにその類縁化合物の脱エチル化阻害作用と化学構造との関連性を明らかにするた

Fig. 1. Effect of Some Compounds on Deethylation of *N*-(β -Hydroxybutyryl)-*p*-phenetidine

Each incubation medium contained 0.2 mM *N*-(β -hydroxybutyryl)-*p*-phenetidine, 2 μ mol NADP, 10 μ mol G-6-P, 20 μ mol nicotinamide, 10 μ mol MgCl_2 , 0.4 ml 50% (w/v) 9000 $\times$ g supernatant fraction of rabbit liver and various concentration of compounds (—○—: 2-bromo-isovalerylurea, —●—: isovalerylurea, —△—: isobutyrylurea, —▲—: 2-bromopropionylurea, —◐—: propionylurea, —◑—: urea, —◒—: 2-bromo-isovaleric acid, —◓—: NaBr) in 0.075 M Tris-HCl buffer (pH 7.4) to make the total volume 5 ml, which was incubated for 15 min at 37°C. Enzyme activity was given as a percentage of controls that contained no compounds.

め、肝ホモジネート 9000×*g* 上清を用い、HBP 0.2 mM に BVU ならびにその類縁化合物を種々の濃度で添加し、EBA の脱エチル化速度を測定した (Fig. 1).

尿素は酵素の立体構造を modify させることにより、酵素活性を低下させることが知られており,^{11,12)} 1×10^{-1} M 以上の高濃度添加により、HBP の脱エチル化を阻害することが認められた。また、尿素に propionyl 基を導入した propionylurea は 1×10^{-2} M 以上添加することにより脱エチル化阻害が認められ、propionylurea の 2-位に methyl 基または Br 基を導入した isobutyrylurea および 2-bromopropionylurea, 尿素に isovaleryl 基を導入した isovalerylurea の場合は、それぞれ 1×10^{-3} M 以上添加すると HBP の脱エチル化阻害が観察された。さらに、isovalerylurea の 2-位に Br 基を導入した BVU は阻害作用が増強され、 8×10^{-5} M 添加でも約 19% の阻害が認められた。

一方、BVU は生体内あるいは肝ホモジネート 9000×*g* 上清において少量ながら還元的脱 Br されることが報告されているところから,^{5,13)} Br イオンの影響を見るため、NaBr を添加し検討したがまったく脱エチル化を阻害しなかった。また、BVU から尿素骨格を取り除いた構造を有する 2-bromo-isovaleric acid でも脱エチル化におよぼす影響は観察されなかった。

EBA の代謝におよぼす BVU ならびにその類縁化合物の影響

EBA に対する BVU ならびにその類縁化合物の脱エチル化阻害作用と化学構造との関連性を知る目的で、肝ホモジネート 9000×*g* 上清を用い、EBA 0.2 mM に種々の濃度の BVU ならびにその類縁化合物を添加し、EBA の脱エチル化速度を測定した (Fig. 2)。

尿素は 1×10^{-1} M 以上添加することにより、EBA の脱エチル化阻害が認められたが、尿素誘導体の propionylurea は 1×10^{-2} M 以上で阻害作用が認められ、isobutyrylurea, 2-bromopropionylurea および isovalerylurea は 1×10^{-3} M 以上の添加で EBA の脱エチル化阻害が観察された。また、isovalerylurea の 2-位に Br 基を導入した BVU はさらに阻害作用が増強され、 5.9×10^{-5} M 添加でも約 19% 阻害することが認められた。2-Bromo-isovaleric acid や NaBr では、EBA の脱エチル化におよぼす影響は見られなかった。

以上の結果から、HBP あるいは EBA に対する BVU および尿素誘導体の脱エチル化阻害作用はほとんど類似のパターンを示したことから、以後 EBA の脱エチル化におよぼす尿素誘導体の影響を検討することとした。

BVU は今回検討を行った尿素誘導体の中では、脱エチル化阻害作用が大きいことが明らかとなったが、valeryl 基の *n*-および iso-体、あるいは Br 基の置換位置の EBA の脱エチル化におよぼす影響を検討し、その結果を

Fig. 2. Effect of Some Compounds on Deethylation of *o*-Ethoxybenzamide

Each incubation medium contained 0.2 mM *o*-ethoxybenzamide, 2 μ mol NADP, 10 μ mol G-6-P, 20 μ mol nicotinamide, 10 μ mol MgCl₂, 0.4 ml 50% (w/v) 9000×*g* supernatant fraction of rabbit liver and various concentration of compounds (—○—: 2-bromo-isovalerylurea, —●—: isovalerylurea, —△—: isobutyrylurea, —▲—: 2-bromopropionylurea, —◐—: propionylurea, —□—: urea, —■—: 2-bromo-isovaleric acid, —●—: NaBr) in 0.075 M Tris-HCl buffer (pH 7.4) to make the total volume 5 ml, which was incubated for 15 min at 37°C. Enzyme activity was given as a percentage of controls that contained no compounds.

Fig. 3. Effect of Substituent Groups of Urea Derivatives on Deethylation of *o*-Ethoxybenzamide

—○—: 2-bromo-isovalerylurea, —●—: 2-bromo-*n*-valerylurea, —△—: 5-bromo-*n*-valerylurea, —▲—: urea.

Conditions were as described in Fig. 2.

Fig. 4. Effect of Substituent Groups of Urea Derivatives on Deethylation of *o*-Ethoxybenzamide

—○—: 2-bromo-isovalerylurea, —●—: isovalerylurea, —△—: allyl-isopropylacetylurea, —▲—: propionylurea, —□—: 2-bromopropionylurea, —■—: isobutyrylurea.

Conditions were as described in Fig. 2.

Fig. 3 に示した。

BVU と 2-bromo-*n*-valerylurea の比較から, valeryl 基は iso-体の方が *n*-体よりも脱エチル化阻害作用が強く, また, Br 基の位置が 5-位の 5-bromo-*n*-valerylurea の阻害は非常に弱まり, 尿素と同程度の阻害しか示さず, 2-位の置換基効果も大であることが判明した。

Fig. 4 に示したように尿素に isovaleryl 基を導入した isovalerylurea は 1×10^{-3} M 以上添加することにより, 脱エチル化阻害が見られたが, isovalerylurea の 2-位に Br 基または allyl 基を導入した BVU および allyl-isopropylacetylurea は, 低濃度の 5.9×10^{-4} M の添加でもすでに約 40% の阻害が認められ, 脱エチル化阻害に対する 2-位の置換基の影響は大であるが, Br 基および allyl 基の置換基の違いによる阻害作用の差は認められなかった。

また, 尿素に propionyl 基を導入した propionylurea は 1×10^{-2} M 以上の添加で阻害が認められ, その阻害

Fig. 5. Effect of Some Compounds on Deethylation of *o*-Ethoxybenzamide

—○—: 2-bromo-isovalerylurea, —●—: 2-bromo-isobutylurea, —△—: isobutyrylurea, —▲—: 2-bromo-isovalerylurea, —□—: urea, —■—: urethane.

Conditions were as described in Fig. 2.

Fig. 6. Effect of Cyclic ureides on Deethylation of *o*-Ethoxybenzamide

—○—: secobarbital, —●—: phenobarbital, —△—: barbital, —▲—: allobarbital, —□—: 5-fluorouracil, —■—: hydantoin, —●—: allantoin.

Conditions were as described in Fig. 2.

は尿素よりも若干強い程度であった。しかし, propionylurea の 2-位に methyl 基および Br 基を導入した isobutyrylurea および 2-bromopropionylurea ではその阻害の程度は両者ともほぼ同じであった。

さらに, EBA の脱エチル化におよぼす尿素誘導体の炭素数の影響ならびに尿素誘導体と amide 誘導体との比較を行い, その結果を Fig. 5 に示した。

2-bromo-isobutyrylurea と BVU の脱エチル化阻害作用は, 低濃度では若干差が見られたが高濃度添加では同程度であり, 炭素数の影響より carbonyl 基の α -位の枝分かれの影響が大きいと考えられた。

さらに, 尿素の amide 基に着目し, 2-bromo-isovalerylamine と BVU の脱エチル化阻害作用を比較したところ, 低濃度では若干差が見られたものの高濃度添加では同程度の脱エチル化阻害が認められ, また, 尿素と urethane とを比較すると, urethane の方が脱エチル化阻害は強いことが認められたことから, 尿素誘導体のみならず amide 誘導体でも脱エチル化阻害作用を持つことが判明した。

一方, EBA の脱エチル化におよぼす環状 ureide の影響を検討し, その結果を Fig. 6 に示した。

五員環の hydantoin および allantoin の脱エチル化阻害は弱く, 尿素とほぼ同程度であった。

六員環の 5-fluorouracil, バルビツール酸誘導体である allobarbitol および barbitol は $1 \times 10^{-2} M$ 以上の添加で脱エチル化阻害が認められ, secobarbitol および phenobarbitol では, さらに強い脱エチル化阻害が認められ, バルビツール酸誘導体の場合でも, 5-位の置換基の脱エチル化阻害におよぼす影響が大きいことが明らかとなった。

今回, 著者らは EBA あるいは HBP におよぼす BVU あるいは尿素誘導体の脱エチル化阻害作用と化学構造との関連性を知る目的で, 肝ホモジネート $9000 \times g$ 上清を用いて検討した結果, 尿素に isovaleryl 基あるいは isobutyryl 基のような分枝状の置換基を導入し, さらにその尿素誘導体の 2-位に Br 基あるいは allyl 基を置換した化合物は脱エチル化阻害作用が強力であることが判明した。また, 脱エチル化阻害作用には尿素部分の amide 基が重要な役割をもつことが明らかとなった。

一方, EBA の脱エチル化におよぼす環状 ureide の影響を検討した結果, バルビツール酸誘導体の場合でも, 5-位の置換基の存在が脱エチル化阻害作用に大きく影響することが明らかとなった。

脱エチル化阻害は尿素の場合高濃度添加により始めて発現し, その機構としては尿素が酵素の立体構造を modify させる^{4,5)} ことによるものと考えられるが, 尿素の場合おそらく蛋白変性を生じる¹⁴⁾ と思われる高濃度添加により始めて脱エチル化阻害が見られたことから, 低濃度添加時から脱エチル化阻害作用の認められた BVU の脱エチル化阻害機構を酵素の立体構造変化のみで論ずるのは困難と考える。

そこで, BVU と酵素との結合が不可逆的か否かを確認するために, 酵素濃度を変化させて BVU の脱エチル化阻害の程度を測定した結果, Table I に示すようにはほぼ一定阻害率を示した。

また, 酵素活性と反応時間との関係は Table II に示すように, 反応時間を 3—30 分まで変化させても, 阻害率はほぼ一定値を示したことから, BVU が酵素を不可逆的に変化させるかあるいは BVU が代謝されてさらに強力な阻害剤を生成することは否定されると考えられる。

従って今回実験に供した直鎖状あるいは環状 ureide 類の脱エチル化阻害には amide 基がその重要な因子として存在し, carbonyl 基の α -位に枝分かれした置換基が存在する化合物ほど酵素との affinity が増大し, その

TABLE I. Effect of Enzyme Concentration on Deethylation of *o*-Ethoxybenzamide (EBA)

Drug		9000 $\times g$ sup. 50% (ml)					
		0.10	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00
EBA 0.20 mM	<i>v</i> ^{b)}	16.53	23.26	52.26	71.32	94.20	111.25
EBA 0.20 mM	<i>v</i> ^{b)}	12.64	17.25	38.89	56.02	70.12	83.74
BVU ^{a)} 0.059 mM	Inhibition (%)	23.53	25.84	25.58	21.46	25.57	24.73

Each incubation medium contained 0.2 mM *o*-ethoxybenzamide, 2 μ mol NADP, 10 μ mol G-6-P, 20 μ mol nicotinamide, 10 μ mol MgCl₂, 0.01—1.00 ml 50% (w/v) 9000 $\times g$ supernatant fraction of rabbit liver and with and without 0.059 mM 2-bromo-isovalerylurea in 0.075 M Tris-HCl buffer (pH 7.4) to make the total volume 5 ml, which was incubated for 15 min at 37°C.

a) 2-bromo-isovalerylurea, b) nmol/min/g of wet liver.

TABLE II. Effect of Incubation Time on Deethylation of *o*-Ethoxybenzamide (EBA)

Drug		Incubation time (min)				
		3	5	10	15	30
EBA 0.20 mM	v^b	18.23	29.17	55.42	73.40	89.45
EBA 0.20 mM	v^b	14.58	22.60	43.75	56.39	70.37
BVU ^a + 0.059 mM	Inhibition (%)	20.01	22.51	21.06	23.18	21.34

Each incubation medium contained 0.2 mM *o*-ethoxybenzamide, 2 μ mol NADP, 10 μ mol G-6-P, 20 μ mol nicotinamide, 10 μ mol $MgCl_2$, 0.4 ml 50% (w/v) 9000 $\times$ g supernatant fraction of rabbit liver and with and without 0.059 mM 2-bromo-isovalerylurea in 0.075 M Tris-HCl buffer (pH 7.4) to make the total volume 5 ml, which was incubated for 3–30 min at 37°C.

^a) 2-bromo-isovalerylurea,

^b) nmol/min/g of wet liver.

affinity の程度と酵素活性阻害の強さとは比例関係があると推察される。

麻酔剤、催眠剤の作用機作は極めて複雑であり、種々の学説が発表されているが、脳組織が機能を営むに当っては、まずアセチルコリンが遊離、分解され、同時にクレアチンリン酸エステルとか ATP のような高エネルギーリン酸のエネルギー消費を伴うものである。麻酔剤はこの高エネルギーリン酸の消費過程を抑制するとの Mcilwain の学説が多くの研究者の賛同を得ている。^{15,16)}

また、Clark¹⁷⁾ らは無酸素条件下による解糖過程を阻止された心筋は高エネルギーリン酸がなくなるまで働いているが、麻酔剤により心臓収縮の停止した心筋中のクレアチンリン酸エステルは減少していないと報告しているところから、心筋においても麻酔剤は高エネルギーリン酸の消費過程を抑制しているものと推論される。

これらの麻酔剤、催眠剤は局所適用以外では全身的にその作用をおよぼす薬剤と考えられ、各組織中の細胞あるいは酵素レベルにおいてもそれらが機能を営む時には必ずエネルギーの消費を伴うが、麻酔剤、催眠剤がこのエネルギー消費過程を抑制することにより、結果として各組織中の細胞あるいは酵素等の機能がある程度抑制されることも考えられる。

バルビツール酸は尿素とマロン酸を結合して合成したものであり、そのものの自体には中枢抑制作用は認められないが、carbonyl 基の α -位に alkyl 基その他が導入されることにより催眠作用をもつことが知られている。¹⁸⁾

一方、直鎖あるいは環状 ureide の carbonyl 基の α -位の置換基が脱エチル化阻害作用に大きく影響をおよぼし、Giuditta¹⁹⁾ らもバルビツール酸誘導体は NADPH dehydrogenase を阻害し、carbonyl 基の α -位の側鎖の長さと分枝が阻害作用発現に重要であると報告していることから、バルビツール酸誘導体の催眠作用と脱エチル化あるいは NADPH dehydrogenase 等の肝薬物代謝酵素系の阻害作用との間に興味ある関連性が見い出され、これらの催眠作用、肝薬物代謝酵素阻害作用は、高エネルギーリン酸の消費過程がバルビツール酸誘導体により抑制されたための現象である可能性も示唆される。

すなわち、直鎖状あるいは環状 ureide 類の脱エチル化酵素に対する阻害作用は、直接的な阻害作用も考えられるが、高エネルギーリン酸の消費過程を抑制することにより間接的に脱エチル化活性が低下したことも考えられる。

催眠あるいは麻酔作用の機序は高エネルギーリン酸の消費過程の抑制により惹起された現象であり、^{15,16)} 脱エチル化あるいは NADPH dehydrogenase 等の代謝酵素活性も阻害されると仮説すれば、催眠あるいは麻酔剤の開発におけるドラッグデザインと生理活性のスクリーニングに今回の検討が利用できるのではないかと興味ある暗示を得た。

引用文献および注

- 1) 気賀沢和雄, 柊木峯治, 林 俊宏, 丸山孝一, 薬誌, **103**, 559 (1983).
- 2) C. Davison, J. Wangler, P.K. Smith, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **136**, 226 (1962).
- 3) 一番ヶ瀬尚, 児島昭次, 都築脩三, 薬剤学, **28**, 135 (1968).
- 4) J. Shibasaki, T. Tanaka, M. Nakatomi, *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 2269 (1968).

- 5) 檜府直大, 薬誌, **87**, 357 (1967).
- 6) R.W. Stoughton, H.L. Dickison, O.G. Fitzhugh, *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 408 (1939).
- 7) T. Uno, K. Machida, *Chem. Pharm. Bull.*, **17**, 1744 (1969).
- 8) R.W. Stoughton, *J. Org. Chem.*, **2**, 514 (1938).
- 9) A. Pomerantz, R. Connoy, *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 3386 (1939).
- 10) S.R. Safir, H. Dalalian, W. Fanshawe, K. Cyr, R. Lopresti, R. Williams, S. Upham, L. Goldman, S. Kushner, *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 4840 (1955).
- 11) H. Kuramitsu, H.S. Moyed, *Biochim. Biophys. Acta*, **85**, 504 (1964).
- 12) H. Kuramitsu, H.S. Moyed, *J. Biol. Chem.*, **241**, 1596 (1966).
- 13) 檜府直大, 薬誌, **89**, 796 (1969).
- 14) 松浦輝男, 西長 明, 中島路可, 齊藤 烈, “酵素 触媒作用の化学,” 広川書店, 東京, 1975, p. 290.
- 15) 山村秀夫, “臨床麻酔学,” 医歯薬出版, 東京, 1949, p. 15.
- 16) 稲本 晃, 岩月賢一, 山村秀夫, “臨床麻酔学全書, 第1巻, 第1冊,” 金原出版, 東京, 1969, pp. 12—13.
- 17) A.J. Clark, M.G. Eggleton, P. Eggleton, *J. Physiol.*, **75**, 332 (1932).
- 18) 稲本 晃, 岩月賢一, 山村秀夫, “臨床麻酔学全書, 第1巻, 第2冊,” 金原出版, 東京, 1969, pp. 123—128.
- 19) A. Giuditta, G.D. Prisco, *Biochim. Biophys. Acta*, **77**, 394 (1963).