1199° (decomp). $C_8H_{10}N_4S$ 計算値 C 49.5, H 5.17, N 28.9, 実験値 C 4.93, H 5.01, N 29.17.

Summary

By the method of preparing thiosemicarbazone derivatives by the application of thiosemicarbazide to aldazine in glacial acetic acid, thiosemicarbazones of benzaldehyde, furfural, salicylaldehyde, anisaldehyde, *p*-tolylaldehyde, *m*-tolylaldehyde, *o*-, *m*- and *p*-nitrobenzaldehyde, 5-nitrofurfural, *p*-hydroxybenzaldehyde, *p*-dimethylaminobenzaldehyde, resorcydaldehyde, piperonal, vanillin, and *o*-aminobenzaldehyde were obtained. This reaction does not proceed smoothly in alcoholic solution. The application of hydrazine to 2-methyl-4-amino-5-formylpyrimidine in aqueous solution does not yield an azine compound but invariably forms a monohydrazone. (Received June 10, 1952)

334. 伊藤四十二, 高島英伍, 山形紀子: ペプシンの家兎血清カルシウム量に及ぼす影響*

Yosoji Ito, Eigo Takabatake, and Michiko Yamagata: Effect of Pepsin on the Rabbit Serum Calcium Level.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo**)

胃粘膜又は胃液から抽出される生理的に意義ある主な物質として, 1) 消化酵素: ペプシンその他, 2) 胃腸ホルモン: ガストリン(ヒスタミン?), 3) 抗貧血性因子: intrinsic factor, 4) 糖代謝に関与する H-G (hyperglycemic-glycogenolytic) factor, 5) 粘性物質: ムチン, 6) 血液型特異物質, 等があげられる。かつて緒方等¹⁾はあるペプシン製品が家兎血清 Ca 量を低下させることを偶々認めたが, その作用が果してペプシンそのものによるか或いは何らか他の夾雑物によるかは明かにしなかつた。従来血清 Ca の変化が胃液の分泌とその酸性度に及ぼす影響や, 胃液の Ca 含量を支配する因子については考えられていたが²⁾, 胃粘膜成分の血清 Ca に及ぼす影響や消化酵素を消化器管外に適用した場合に起る現象については殆んど知られていない。よつてこのペプシン製品に認められた血清 Ca 低下作用の本体を究明し前記胃粘膜諸成分との, 又他の臓器から得られる血清 Ca に変化をもたらす諸物質との関連を明かにしたいと考えた。

実験材料及び方法 ペプシン (6.7γ/2 kg 家兎体重, 皮下注射で血清 Ca を約 14% 低下¹⁾させたもの) は U. S. P. 法により約 3000 倍の消化力を有し, 製造後約 5 年経過(消化力の減退を認めず)。結晶ペプシン***は凍結乾燥されたものを使用, 豚胃粘膜は屠場で採取後氷冷して実験室に持ち帰り直ちに処理。

蛋白分解力は卵白消化による U. S. P. 法に準じ, 又カゼインを基質とし粘度の変化, フォルモール滴定によるアミノ-N 増加法³⁾の何れかを用了。

家兎は体重 2 kg 以上の健康な主として雄を少くも 1 週間の休息期間をおいて反覆使用。血清 Ca 量は Clark-Collip 法⁴⁾によつて測定。検体注射直前と注射後一定時間 (4~12 時間) に数回採血して Ca を測定, 注射直前値を Ca_0 , 最低値を Ca_{min} とすれば, $(Ca_0 - Ca_{min}) / Ca_0 \times 100 = R$ を以つて Ca 低下力の指標とした。

実験結果及び考察

結晶ペプシンの家兎血清 Ca 量に及ぼす影響 ペプシンそのものに血清 Ca 低下作用があるか否かを知る一

* 日本薬学会年会にて発表 (1949)。

** Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

1) 緒方, 伊藤, 水谷, 坂口: 本誌 **65**, 9 (1945)。2) Sendroy: Ann. Rev. Biochem. **14**, 415 (1945)。

*** For supplying crystalline pepsin, the authors are greatly indebted to Dr. Joseph I. Routh, Department of Biochemistry, State University of Iowa.

3) Northrop: J. Gen. Physiol. **16**, 41 (1933)。4) Clark, Collip: J. Biol. Chem. **63**, 461 (1925)。

つの方法は夾雑物の混じっていないもので試験することであるが, 幸い殆んど均一な結晶ペプシンを入手し得たので, 2.5~500 γ /kg を静注して血清 Ca の変化を検したところ, Table I に示すように殆んど影響がなかつた.

Table I Effect of crystalline pepsin on the rabbit serum calcium level.

Dose γ /kg.	No. of rabbits	Serum Ca reduction rate %	
		range	average $\pm$ s. e.
2.5	6	-8.20~14.3	1.51 $\pm$ 3.49
5	8	0.77~ 7.22	4.73 $\pm$ 0.87
10	3	-4.58~ 6.15	1.97 $\pm$ 3.29
50	4	0.41~ 4.30	2.65 $\pm$ 0.92
500	3	-2.00~ 3.53	-2.69 $\pm$ 0.18

透析による蛋白分解力と Ca 低下力の消長 かつて強い Ca 低下力を示したペプシンは粗製のものであるから, これを精製すると蛋白分解力と Ca 低下力が平行して増強されるか否かをみるために, このペプシン (PS) を N/12 HCl に溶解しセロファン製の袋に入れ 10 倍量の蒸留水に対して透析し, 12 時間毎に膜外液を更新し, その都度膜内外両液即ち非透析性及び透析性の両液について蛋白分解力と Ca 低下力を検した (Fig. 1 及び Table II).

Fig. 1 Dialysis of pepsin

Table II Proteolytic and Ca-reducing activities of fractions in Fig. 1.

Fraction	N concn. in soln. γ /cc.	Proteolytic activity* /mg. N	Ca-reducing activity % (γ /kg.)**
PS	1,240	100	16.4 (30) 18.1 (15)
ND-1	430	265	9.40 (20)
ND-2	290	465	16.0 (15)
ND-3	210	560	6.18 (10)
D-1	60	0	14.7 (30) 13.4 (45)
D-2	10	0	14.2 (5)
D-3	6	0	4.38 (3) 8.09 (4.5)
P-3		480	8.89 (35)

* Defined by the change of viscosity in casein solution. Expressed with the relative potency.

** Parentheses denote the dose. Intravenous injection.

Table II に示したように、膜内液に於いては N mg についての蛋白分解力は次第に増強されるが膜外液には全く蛋白分解力は認められない。然るに Ca 低下力は膜内外両液に認められ蛋白分解力の消長とは平行しないからペプシンそのものによつて血清 Ca が低下するとは考えられない。

豚胃粘膜酸性抽出物の蛋白分解力と Ca 低下力 豚胃粘膜を 0.5% HCl 2~3 倍量と 37° で 24 時間処理後濾過し、濾液 (F-0) に同量のアセトンを加えて得られる沈澱 (P-50)、その濾液 (アセトン 50%) から減圧下にアセトンを留去した水溶液 (F-50)、F-50 にアセトン 3 倍量を加えて得られる沈澱 (P-75)、その濾液 (アセトン 75%) から減圧下にアセトンを留去した水溶液 (F-75) について夫々蛋白分解力と Ca 低下力を試験した結果は Table III の如くである (Fig. 2)。

蛋白分解力は P-75 即ちアセトン 50~70% 濃度で沈澱するフラクシオンに集中的に認められるが、Ca 低下力は蛋白分解力の弱い P-50 にも認められ、この実験からも蛋白分解力と Ca 低下力とは一つのものの示す二つの作用とは考えられない。

Fig. 2 Extraction of serum calcium reducing factor from swine gastric mucosa.

Table III Proteolytic and Ca-reducing activities of fractions in Fig. 2.

Fraction	Proteolytic activity* γ /mg. N	Ca-reducing activity % (mg./kg.)**
F-0	100	11.7 (65) 18.9 (175)
F-50	165	10.8 (70)
F-75	6	11.7 (120) 8.75 (130)
P-50	25	22.4 (20) 27.6 (40) 20.8 (4.25)***
P-75	600	25.2 (20) 24.4 (7.5)***

* Defined by the increase in Formol titration. Expressed with the relative potency.

** Parentheses denote the dose. Subcutaneous injection except***.

胃の消化酵素が消化器管外から体内に入るとは生理的には起らないことであり、又血流中に入つても 37°、中性という条件の下ではペプシンの酵素としての作用は不活性化されるべきである。従つてペプシンそのものに血清 Ca 低下作用があるとしてもそれは蛋白分解酵素としての作用とは全く異なるものと考えなければならない。然し以上の実験によつて、高度に精製された結晶ペプシン Ca に低下作用が認められず、蛋白分解力のない或いは非常に弱いものにも Ca 低下作用はあることが示されているから、Ca 低下作用はペプシンそのものによるのではなく何か他のものによると考えなければならぬ。そこで次にペプシンとは異つた見地に立つて豚胃粘膜から Ca 低下力のある物質を抽出しようとしたがそれについては別に報告する。

血清 Ca 測定の一部を担当して頂いた石山孝子嬢に感謝する。

東京大学医学部薬学科

Summary

It was concluded from experimental results as outlined below that the lowering of calcium content in rabbit serum¹⁾ by the crude pepsin products was not due to pepsin itself.

1) Crystalline pepsin does not show any effect on the serum calcium level.

2) The dialyzate, which does not possess proteolytic activity, obtained from crude pepsin also shows the action of calcium decrease.

3) Acid extract of gastric membrane possesses the power to decrease serum calcium level, both in fractions possessing strong and weak action of protein decomposition.

(Received June 12, 1952)

335. 伊藤四十二, 高島英伍, 太田喜夫: 豚胃粘膜より家兎血清 カルシウム量低下性物質の抽出*

Yosoji Ito, Eigo Takabatake, and Yoshio Ohta: Extraction of the Rabbit
Serum Calcium Level Reducing Factor from the Swine Gastric Mucosa.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo)

前報¹⁾で述べたようにあるペプシン製品に認められた家兎血清 Ca 量低下作用はペプシンそのものによるのではないと考えられるので, 豚胃粘膜抽出物について Ca 低下作用を検討した。実験方法は前報と同様である。

アルカリ性水による抽出 耳下腺の血清 Ca 低下性成分パロチン²⁾は臓器をアルカリ性の水で抽出し pH 5.4 での等電点沈澱を繰返えて得られる pH 5.4-沈澱であり, 更に硫酸による分割沈澱によつて精製された³⁾。胃粘膜についても全く同様の方法を試みると耳下腺の場合と異りアルカリ性抽出液は甚だ粘稠となつて操作困難で, これを一度凍結させた後徐々に融解させる方法をとつても抽出液は混濁してくるが, やはり pH 5.4 附近で沈澱が得られる。然しアセトンで脱脂脱水した胃粘膜の乾燥粉末を pH 8.0 の水で抽出すれば粘度は著しく減少し操作は容易となり pH 5.4-沈澱 (5.4-P) は明らかに Ca 低下作用を示す (Table I, 1)。5.4-P はアセトンで洗滌後直空乾燥すれば赤褐色粉末となり, pH 7.5 以上で水に溶け, 蛋白の呈色, 沈澱反応はすべて陽性である。その 1% 溶液を pH 7.5 で 60° で 1 時間加熱処理しても Ca 低下力はさして減損しないが, 100° に 5 分加熱すればやや失われる。セロファンを膜として流水及び蒸留水に対して透析すると有効物質は殆んど透析されず膜内に留る (Table I, 2, 3)。これは前報で述べたペプシンの Ca 低下力は透析されて膜外液にも認められたことと矛盾するようであるが, 製品の製造法が全く異り且つ透析の際の液性も異っているから同日に論ずることは出来ない。又胃粘膜のどの部分から Ca 低下力の強いものがとれるかを知るために, 一頭の豚の胃粘膜を噴門, 胃底, 幽門の三部に分け夫々同一の操作を施して得た各部の 5.4-P について Ca 低下力を検したところ著しい相違は認め得なかつた (Table I, 4)。

5.4-P の Ca 低下力は製品によつてかなり変動があり且つ耳下腺の 5.4 沈澱に比して弱い。これは有効成分が pH や温度などの条件によつて比較的高温度のアセトンにも溶解し, アセトン乾燥粉末を製する際に失われるの

* 日本薬学会年会にて発表 (1951, 1952)。

1) 本誌 72, 1164 (1952)。

3) 伊藤, 水谷: 本誌 72, 244 (1952)。

2) 緒方, 伊藤, 水谷: 本誌 64, 325 (1944)。