Summary

Hardness meter for tablets against static pressure using a lever was manufactured on trial and its effect on transition rate of the load, overlapping of the switch, and variation of the load were examined in order to certify the reliability of the hardness meter. On using this hardness meter, the following points were clarified:

- 1) When the thickness of the tablet was varied, there was a large interaction with the degree of compression, even when same granules are used.
- 2) As for the die of tableting, one with a smaller radius of curvature makes soft tablets.
- 3) As for the relationship between tableting and crumbling time, (a) use of soft granules does not show any effect of die type between time of crumbling and hardness; but (b) use of hard granules show the effect of die type, and the die of 9 mm. diameter and $\gamma=6.75$ mm. was found to give tablets of equal hardness which crumble rapidly.

(Received November 6, 1954)

126. 門脇宏和, 岡本喜八郎*, 中島 稔**: 有機水銀利尿剤の研究 (第1報)

ポーログラフ法による尿中水銀の定量

Hirokazu Kadowaki, Kihachiro Okamoto,* and Minoru Nakajima**: Studies on Organic Mercurial Diuretics. I. Polarographic Determination of Mercury in Urine.

(Research Laboratory, Kyoto-yakuhin Industries, Ltd.,* and Agricultural Faculty, University of Kyoto**)

有機水銀利尿剤を使用した場合, その水銀排泄量の遅速を迅速に知るとは臨床上極めて重要なことである. Pitts 等¹⁾の総説によれば水銀の排泄量は 24 時間後使用量の 60~100%であり, 大便中の排泄量は尿中排泄量の約 1/3~1/6 であると述べているが定量法についての記載はない. 又 Costa²⁾は尿中の Hg をポーログラフ法により 10%の誤差にて定量し得ると報告しているが詳細は不明である.

著者等は有機水銀利尿剤を患者に静脈注射し, 尿中に排泄された有機体水銀量及び全水銀量の時間的变化をポーログラフ法により追跡したところ, 両者の相互関係及びその排泄速度には興味ある事実が存在することがわかった. 本法によれば短時間に且つ少量の試料をもつて尿中の有機体及び全水銀量を定量し得るので, 治療上極めて有力な指針が得られると思う.

試料 有機水銀利尿剤は Edematin 注射液*** [pyridine-2, 3-dicarboxylic acid allylamide mercury hydroxide Na salt ($C_{10}H_{11}O_3N_2HgNa$)+theophyllin] を使用した.

I 有機体水銀の定量 Benesch 等³⁾は有機水銀化合物のポーログラフ的研究を行い, Salyrgan, Mercurin 等の利尿剤についても詳細に報告しその還元機構は下記なるものとしている.

* Nishinokyo-Tsukinowa-cho, Nakakyo-ku, Kyoto.

** Kitashirakawa, Sakyo-ku, Kyoto.

*** 京都薬工製.

1) Pitts, Sartorius: J. Pharmacol. Exptl. Therap. **98**, No. 4, Pt. 2, Pharmacol. Revs. 161 (1950).

2) Costa: C. A. **43**, 8419 (1949).

3) Benesch, et al.: J. Am. Chem. Soc. **73**, 3391 (1951); J. Phys. Chem. **56**, 648 (1952).

1. Edematin のポーログラム Edematin (以下 E. と略す) は pH 8.4 の緩衝液中にて Fig. 1 A の様な三段波を示し、第一段波の半波電位は約 -0.54 V (vs. N. C. E.) であり、その波形は pH によつて烈しく変化するが、波高は pH 3~6, pH 8~10 の間においてはほぼ一定値を示す (Fig. 2, Table II). 酸性側では極大波を生じ又水銀化合物が析出しやすいので pH 8.4 の Sørensen の緩衝液を使用して第一段波の波高と濃度の関係を調べたところ Fig. 3 に示す様な直線となつた。この方法によれば極めて容易に注射液中の E. を定量することができる。

A: Edematin in Sørensen buffer solution pH 8.4 (0.3% $(\text{CH}_3)_4\text{NBr}$, 0.5% Na_2SO_3).

B: Edematin in urine.

Fig. 1.

Polarograms of Edematin

- 1: pH 9.9.
- 2: pH 8.2.
- 3: pH 7.1.
- 4: pH 6.2.
- 5: pH 4.0.

Fig. 2. Polarograms of Edematin at Various pH (conc. 23.6 mg./100 cc.)

2. 尿中に於ける Edematin のポーログラム 尿自身は pH 8.4 なる緩衝液 (1:1) 中で一般に -1.0 V 付近までは還元波を示さない。従つて正常尿に E. を加うれば Fig. 1 B なる波形となり、Table III に示す様にその第一段波の波高には比較的影響が少ないが波形、半波電位が変化する場合があります。電位が著しく変化した場合には標準体添加法にて確かめる必要がある。蛋白質等が多量に存在する尿の場合は波高の測定が困難となる。

II 全水銀の定量 Kolthoff⁴⁾ によれば硝酸水銀の析出電位は 0.1 N 硝酸溶液中において $+0.4294 \text{ V}$ (vs. S. C. E.)

Fig. 3. Calibration Curve of Edematin

4) Kolthoff, Miller: J. Am. Chem. Soc. **63**, 2732 (1941).

であり塩化水銀の場合には析出電位は負に移動することを報告し, 又拡散電流は濃度に比例すると記している. 著者等は尿中の全水銀を定量するため, まず酸化水銀を基準物質に取り 0.1 N 硝酸中にて 0.01%ゼラチンを極大波抑制剤とし, 濃度と波高の関係を求めたところ Fig. 4 に示す如く直線となつたので, これを測定曲線として以後の定量を行つた. 本直線は原点を通らない故 1 mg/100 cc 以下の定量には誤差が大きい.

尿の分解条件 排泄された全水銀を定量するには先ず排泄物を分解し水銀をイオンの形にしなければならぬ. 著者等は分解剤に硝酸・硫酸 (3:1) の混酸を使用して予かじめ E. を加えた尿につき実験を行つた. 本混酸によれば約 4 倍量の尿を完全に分解し得るが電解液中に高濃度の酸が存在することになり, 電極水銀が溶出する危険がある. 水銀の溶出については Table V に示す如く混酸の濃度が 12%以下にて 15 分以内は溶出しない. 故に電解液調製の際分解液にアルカリを加えねばならぬが Fig. 5, Table VI に示す様にアルカリが多過ぎると波高が減少してくる.

Fig. 4. Calibration Curve of Mercury

Decomposed solution 5 cc. 10% NaOH 1: —, 2: 0.5 cc., 3: 1.5 cc., 4: 3.0 cc., 5: 4.5 cc., 6: 5.0 cc.

Fig. 5. Relationship between Amount of 10% NaOH Added into the Decomposed Solution and Wave Height

以上により電解液中酸の濃度は 10%程度が望ましく甘汞電極を外部電極として, 滴下極を入れてから直ちにポーログラムをとる様に操作する.

次に上記の定量条件の下で尿中に既知量の E. を加え分解処理を行い, 全水銀の定量を行つたところ Table VII に示す様に理論値より 2~4%少いが比較的高い精度で定量することができた.

III 尿中に排泄された水銀の定量 E. 一定量をピペットにて正確に取り患者の静脈内に注射後 4 時間までは 1 時間おきに, 4 時間より 12 時間までは 2 時間おきに, 12 時間より 24 時間までは 4 時間おきに, 24 時間以後は適時に採尿し前述の方法により排泄された有機体水銀, 及び全水銀の定量を行つたところ Fig. 6, 7, 8 に示すような結果を得た. 図示せる尿量は 1~4 時間までは各々 1 時間に排泄した値, 4~12 時間は 2 時間の総量から 1 時間の平均値, 12~24 時間は 4 時間の総量から 1 時間の平均値を算出した.

Determination of Mercury in Urine (Fig. 6~8)

△—△: urine cc., □----□: organic mercury mg./100 cc., ●—●: mercury mg./100 cc.

Fig. 6. Normal Urine

Fig. 7. Abnormal Urine (nephrosis)

Fig. 8. Abnormal Urine
(valvular disease)

水銀の総排泄量は健康人において、24 時間に使用量の 70%，患者においては 48 時間に 70% 程度の排泄が見られ、尿中における水銀の濃度は最初の 1 時間が最大で以後急激に減少し 3～5 時間後よりはほぼ一定濃度の排泄をつづける。又有機体水銀量と全水銀量とが当量関係にあることより排泄された水銀のほとんどが原構造のまままで変化されず、尿中に排泄されると考えられる。これらの事柄は非常に興味ある現象であり、今後更に検討するべき問題であると思われる。

本研究に際し懇篤な御指導を賜った京都大学薬学科刈米教授、農学部武居教授に深甚な謝意を表すると共に、御助言を戴いた薬学科鈴木教授、御援助を賜った京都府立医大田代講師に深謝する。

実 験 の 部

使用せるポーログラフの電流感度は 1.81×10^{-9} A/mm/m であり、水銀滴下電極の m 及び t の値は 0.1 N KCl 溶液中 -1.0 V にて 0.622 mg/sec. 及び 4.59 sec./drop であつた。ポーログラムはすべて $25 \pm 0.5^\circ$ でとり検体の調製は室温で行つた。

Edematin の測定曲線 E. 一定量を取り水に溶解して種々の濃度の溶液を作り、その 1 cc をとり Sørensen buffer solution pH 8.4 (0.3% $(\text{CH}_3)_4\text{NBr}$ 5 cc, 1% Na_2SO_3 4 cc を加えたものにつきポーログラムをとり波高を測定する。同操作を各濃度につき 4 回あて行い平均値を求めれば Table I の如くなる (E. の純度は U. S. P. XIV mersalyl に準じ水銀を定量し算出する)。

Table I. Data for Calibration Curve of Edematin

$$Y = (4.33 X - 1.12) \times 10^{-3} \quad (X: \text{mg./100 cc.}, Y: \mu\text{A})$$

No.	1	2	3
Edematin mg./100 cc.	2.11	4.22	8.44
Mean value of wave height $\times 10^{-2} \mu\text{A}$	4.07	8.43	17.75

Table II. Effect of pH on Wave Height

Edematin 23.6 mg./100 cc. in Sørensen buffer solution. (0.3% $(\text{CH}_3)_4\text{NBr}$, 0.01% gelatin)

pH	3.0	4.0	5.0	6.2	7.1	8.2	8.8	9.9
Wave height μA	1.19	1.17	1.15	1.16		0.51	0.55	0.53

Table III. Wave Height of Edematin in Urine

Edematin mg./100 cc.	2.47	4.94
in buffer solution pH 8.4	$5.43 \times 10^{-2} \mu\text{A}$	$9.95 \times 10^{-2} \mu\text{A}$
in urine + buffer solution (1:1)	$5.75 \times 10^{-2} \mu\text{A}$	$10.3 \times 10^{-2} \mu\text{A}$

水銀の測定曲線 酸化水銀 (純度 100%) 一定量を精秤し N 硝酸に溶解し各種濃度の溶液を作り、その 1 cc をとり 0.01%ゼラチン水溶液 9 cc を加えたものにつき波高を測定する。同操作を各濃度につき 4 回あて行い平均値を求めれば Table IV の様になる。

Table IV. Data for Calibration Curve of Mercury

$$Y = (10.84 X - 6.72) \times 10^{-2} \quad (X: \text{mg./100 cc.}, Y: \mu\text{A})$$

No.	1	2	3	4	5	6	7
Mercury mg./100 cc.	1.001	1.858	1.939	2.002	3.716	3.878	4.004
Mean value of wave height $\times 10^{-1} \mu\text{A}$	0.477	1.340	1.450	1.462	3.285	3.497	3.682

Table V. The Effect of Mixed Acid on Mercury $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4 (3:1)$

time	%	4	8	12	16
15 min.		—	—	—	+
10 hrs.		+	+	+	+

Table VI. Relationship between Amount of 10% NaOH added into the Decomposed Solution and Wave Height. Decomposed solution 5 cc. + 10% NaOH

No.	1	2	3	4	5	6
10% NaOH cc.	0	0.5	1.5	3.0	4.5	5.0
Wave height μA	0.21	0.21	0.20	0.19	0.17	0.16

Table VII. Determination of Mercury in Urine to which Edematin is added.

Hg mg./100 cc.	Edematin in urine mg./100 cc.	4.87	9.74
Calculated		2.11	4.22
Observed		{ 2.04	4.07
		{ 2.08	4.05

検体尿中水銀の定量 i) 有機体水銀の定量: 検体尿をよく攪拌しビベットにて 2.5 cc を取り Sørensen buffer solution pH 8.4 (0.3% $(\text{CH}_3)_4\text{NBr}$, 1% Na_2SO_3) 2.5 cc を加え 20 分後ポーログラムをとり波高を測定した。

ii) 尿の分解及び全水銀の定量: 検体尿 20 cc を蒸発皿に入れ硝酸 2 cc を加え水浴上で約 2 cc まで濃縮し冷後硫酸 1 cc, 硝酸 1 cc を加え再び 15 分間加熱する。蒸発皿の内容を硝酸 5 cc でもつて分解コルベン中に完全に洗い込み直火にて 2 時間加熱する。分解液は水にて希釈後 20% NaOH 2 cc を加え, 水にて全量を正確に 20 cc とし電解液とした。波高は一規定甘汞電極を外都電極とし滴下極を入れ, 直ちにポーログラムをとる様に操作し測定した。

京都薬品工業株式会社研究部 京都大学農学部

Summary

Organic mercurial diuretic (pyridine-2,3-dicarboxylic acid allylamide mercury hydroxide Na salt + theophyllin) was administered by the intravenous injection, and the amount of mercury in the compound of the original structure excreted into urine and the amount of total mercury obtained by the decomposition of urine were periodically followed by polarography. The total mercury was measured by the wave height of a solution obtained after decomposition of 20 cc. of the sample urine with about 1/4 volume of a mixed acid ($\text{H}_2\text{SO}_4:\text{HNO}_3=1:3$), a definite amount of alkali added, and diluted to 20 cc. with water. Organic mercury was determined by the measurement of the wave height of the polarogram of a solution prepared by diluting the sample urine with an equal volume of the Sørensen buffer of pH 8.4. The concentration of mercury excreted was the maximum 1 hour after the injection, decreased rapidly thereafter, and the amount excreted levelled off after 3~5 hours, the amount being almost independent of the amount of urine. The amount of mercury excreted in a healthy human was about 70% of the dose administered 24 hours after injection but was about 70% after 48 hours in sick persons. The amount of organic mercury excreted was approximately equivalent to that of total mercury. It is assumed, therefore, that most of mercury is excreted in the original state, not having undergone any change.

(Received December 21, 1954)