たが 3 時間後に明らかに 26.6% の上昇を示した。

総括 (1) 前原は犬の顎下腺の生理食塩水エキス、エーテルエキス及び酸性エタノールエキスには家兎血糖量低下作用があると報告しているが、著者等が行った牛の顎下腺のそれらのエキスは 5% の危険率で有意に家兎血糖量に影響を及ぼさなかつた。

(2) Best 等は顎下腺にインシュリン様物質が含まれているというのが牛顎下腺では証明出来なかつた。

(3) 著者等が牛顎下腺より抽出した pH 4.5 沈澱、家兎血清燐低下分層及び血清 Ca 低下分層は 2.5 mg/kg 静脈注射では parotin と同様に家兎血糖量に対して影響を及ぼさない。

(4) 牛顎下腺よりの家兎血清燐低下分層は静脈内注射量の 6 倍用量の皮下注射では 5% の危険率で有意に血糖量を上昇する。

本研究に当り種々実験上御便宜を賜わつた大阪大学川崎教授に感謝する。また本研究の一部を担当された行方正也、柏谷三輪子、菅田裕子の諸氏にも併せて感謝の意を表する。

東京大学医学部薬学科、大阪大学薬学部

U.D.C. 615.361.316

28. 青沼 繁：馬顎下腺の抽出物について（顎下腺の研究 第 7 報¹⁾）

Shigeru Aonuma : Studies on the Submaxillary Gland. VII. Extracts of Equine Submaxillary Gland.

(Pharmaceutical Faculty, University of Osaka*)

Equine submaxillary gland also afforded a substance, as the bovine gland, which lowered the serum calcium and inorganic phosphate level in rabbits. Precipitates at pH 5.4 and 4.5 were obtained by dilute alkali extraction of the equine submaxillary gland and were submitted to fractional precipitation with ammonium sulfate. The principle which lowers rabbit serum calcium level was obtained in the fraction of 12.5% ammonium sulfate from the pH 5.4-precipitate, while the principle effective for the serum phosphate was obtained from the fraction of 25% ammonium sulfate from the pH 4.5-precipitate.

(Received September 23, 1955)

著者は牛顎下腺より電気泳動試験で純度 93.8% の S-parotin を抽出し、このものは parotin と諸性質が全く類似することを証明した。更に牛顎下腺中には血清燐低下性物質も存在することを報告したが、S-parotin とこの血清燐低下性物質との分別は極めて困難でかなりの長い過程を要した。今回牛の代りに馬顎下腺を用い実験した結果、牛の場合と同じく二成分を認めると同時に牛よりもかなり容易に分離可能なことを認めたので、ここに報告する。

馬顎下腺より粗製沈澱の抽出 新鮮な馬顎下腺より既に報告²⁾ せる牛顎下腺より pH 4.5 沈澱の抽出法にならい馬顎下腺アセトン乾燥粉末を得る。この乾燥粉末 400 g (約 13 頭分) に 4 倍量の pH 8.0 (P.R.) に調整した水を加え、30 分間攪拌した後一夜放置し、翌日汙過する。残渣には再び 4 倍量の pH 8.0 の水を加え前と同様に操作し、これを 2 回繰り返して 2 回の汙液を先の汙液と合する。この汙液に氷冷下攪拌しつつ 5% HCl を滴下すると pH 6.0 位から混濁し始め pH 5.4 (C. P. R.) で明らかに沈澱が析出する。これを遠心分離し、沈澱をアセトンで Soxhlet 抽出後、エーテルで乾燥し粗製 pH 5.4 沈澱とする。収量 5.4 g (1.35%) である。次に先に沈澱を分離した上澄液に更に 5% HCl を滴下すると再び沈澱を析出するから pH 4.5 (I. P. B.) に調整した後遠心分離する。この場合の分離液は殆んど澄明になる。沈澱はアセトンで Soxhlet 抽出しエーテルで乾燥し、粗製 pH 4.5 沈澱とする。収量 8.2 g (2.05%) である。

粗製 pH 5.4 沈澱の硫酸分劃 粗製 pH 5.4 沈澱 4 g を取り、水 300 cc を加え希アルカリで pH 8.0 (P.R.)

* Hotarugaiké, Toyonaka, Osaka-fu.

1) 本報告は伊藤四十二：顎下腺の研究 (Yosoji Ito: Studies on the Submaxillary Gland) の一部である。

2) 伊藤、青沼、篠田：本誌 73, 1361 (1953)。

に調製して溶解する。アルミナ 20 g を加え攪拌後遠心分離しアルミナを除き、分離液を希塩酸で pH 5.4 (C.P.R.) に調整する。沈澱を遠心分離して集め、(分離液に更に希塩酸を加えて pH 4.5 (I.P.B.) にすると 215 mg の pH 4.5 沈澱が得られる)。再び pH 8.0 の水 70 cc に溶解し、セロファン膜で流水中 1 夜透析し、膜内液 (約 91 g) に飽和硫安溶液 (42%) 18.2 g を攪拌しつつ冷却下に加えて、硫安濃度を 7% にすると沈澱が微量析出する。遠心分離して微量の硫安 7% 沈澱をとり、溶液に更に飽和硫安溶液を加えて硫安濃度 25% にすると沈澱が再び析出するから、遠心分離してこれを集める。分離液に硫安の結晶を加えて飽和にすると硫安飽和沈澱が析出する。次に先の硫安濃度 25% で沈澱した分屑を pH 8.0 の水 50 cc に溶解し、セロファン膜で流水中 1 夜透析し、膜内液に飽和硫安溶液を加えて硫安濃度 12.5% にすると硫安 12.5% 沈澱が析出するから、遠心分離してこれを集める。分離液に更に飽和硫安溶液を加えて硫安濃度 25% となして硫安 25% 沈澱を得る。上各記分屑すなわち硫安 7%, 12.5%, 25%, 飽和 (42%) の分屑は各々更にこれらを溶解する最少量の pH 8.0 の水を用いて溶解し、蒸留水中で透析後膜内液を希塩酸で pH 5.4 (CPR) に調整し析出する沈澱をアセトン、エーテルで乾燥させる。収量はこの順で記載すると 0.05 g (1.2%), 0.25 g (6.3%), 1.00 g (25%), 0.05 g (1.2%) である。なおこの場合は pH 5.4 で析出した沈澱を除いた液を更に pH 4.5 にしてももはや沈澱は析出しない。

粗製 pH 4.5 沈澱の硫安分割 粗製 pH 4.5 沈澱 7 g をとり 400 cc の水を加え希アルカリで pH 8.0 に調整して溶解。前と同様にアルミナ 20 g を加え攪拌後遠心分離しアルミナを除き、分離液を希塩酸で pH 5.4 (CPR) にすると沈澱が析出するから、この沈澱を遠心分離して除き (沈澱をアセトン・エーテルで乾燥すると pH 5.4 沈澱として 2.2 g 回収される) この分離液に更に希塩酸を加えて pH 4.5 (I.P.B.) にすると pH 4.5 沈澱 1.3 g を得る。これを再び pH 8.0 の水 50 cc に溶解しセロファン膜で流水中透析し、膜内液 (約 75 g) に飽和硫安溶液 (42%) を冷却下攪拌しつつ加えて硫安濃度 7% とすると硫安 7% 沈澱が析出して来るからこれを遠心分離して集め、分離液は更に飽和硫安溶液を加えて硫安濃度 25% にする。析出する沈澱を遠心分離し、分離液に硫安の結晶を加えて飽和し析出する沈澱を集めて硫安飽和沈澱とする。硫安濃度 25% で沈澱する分屑は再び pH 8.0 の水に溶解して、流水中 1 夜透析し、膜内液に飽和硫安溶液を加えて硫安濃度 12.5% にすると硫安 12.5% 沈澱が析出するからこれを遠心分離して分別し、分離液に更に硫安飽和溶液を加えて硫安濃度 25% にすると硫安濃度 25% 沈澱が得られるからこれを集める。上述の如く集めた硫安 7% 沈澱, 硫安 12.5% 沈澱, 硫安 25% 沈澱及び硫安飽和沈澱の各分屑はそれぞれ溶ける最少量の pH 8.0 の水に溶かし 1 日蒸留水中で透析し、膜内液を pH 4.5 (膜内液の pH が中性から段々酸性に移行する途中 pH 5.4 の附近では硫安飽和沈澱では僅かに混濁するが他の分屑では全く混濁がない) に調整 (I.P.B.) し析出する沈澱をアセトン・エーテルで乾燥させる。収量はそれぞれこの順に記載すると 200 mg (2.9%), 10 mg (0.1%), 300 mg (4.3%), 550 mg (7.9%) である。

各分屑の血清無機磷量に及ぼす影響 馬頸下腺抽出物では例えば硫安 25% 沈澱についても pH 5.4 で沈澱する分屑と pH 4.5 で沈澱する分屑とにわかれるので先ず Table I 及び II に示す如き種々の分屑につき血清磷に及ぼす影響を調べた。測定方法は前報通りであるが家兎は 2~3 kg のものを用い、用量はすべて 2 mg を 1 cc

Table I. Serum-P Level Decreasing Potency of Various Fractions Fractionally Precipitated with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ from pH 5.4 Precipitate

Sample	Serum inorganic phosphate (mg./100 cc.)				Decrease (%)	Mean (%)	
	Before injection	After injection					
		1 hr.	3 hrs.	5hrs.			
pH 5.4 Ppt.	{	4.0	4.0	3.8	3.8	5.0	3.8
		4.9	4.8	4.8	4.8	2.0	
		4.4	4.2	4.2	4.4	4.5	
(NH ₄) ₂ SO ₄ 12.5% Fraction	{	4.0	4.0	3.7	3.8	7.5	7.5
		4.4	4.2	4.0	4.2	9.0	
		4.8	4.5	4.5	4.7	6.2	
(NH ₄) ₂ SO ₄ 25% Fraction	{	3.8	3.7	3.6	3.8	5.2	7.3
		3.8	3.8	3.5	3.6	7.8	
		4.4	4.0	4.1	4.5	9.0	
(NH ₄) ₂ SO ₄ 42% Fraction	{	4.9	4.9	4.8	4.8	2.0	2.2
		4.0	4.0	4.1	4.0	0	
		4.2	4.2	4.0	4.2	4.7	

Table II. Serum-P Level Decreasing Potency of Various Fractions Fractionally Paecipitated with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ from pH 4.5 Precipitate

Sample	Serum inorganic phosphate (mg/100 cc)				Decrease (%)	Mean (%)
	Before injection	After injection				
		1 hr.	3 hrs.	5 hrs.		
pH 4.5 Ppt.	{ 4.4	4.0	4.1	4.4	9.0	12.7
	{ 3.8	3.2	3.4	3.5	15.7	
	{ 3.7	"	3.2	3.4	13.5	
(NH ₄) ₂ SO ₄ 25% Fraction	{ 4.4	4.0	3.8	3.8	13.6	15.9
	{ 4.9	4.2	4.4	4.5	14.2	
	{ 4.0	3.2	3.2	3.5	20.0	
(NH ₄) ₂ SO ₄ 42% Fraction	{ 4.0	4.0	3.8	3.8	5.0	6.8
	{ 3.8	3.7	3.5	"	7.8	
	{ "	3.5	"	"	"	

の蒸留水に溶かし pH 8.0 に調整して静脈内注射を行い、減少率は直前と最大低下値の差の直前に於ける百分率で算出した。なお硫酸 7%沈澱は全く効力が認められないので表より除き、pH 4.5 沈澱硫酸 12.5%分層は収量悪く測定出来ないで除いてある。Table I 及び II で明らかなごとく馬頸下腺抽出物では家兎血清燐効力は pH 4.5 沈澱の硫酸 25%沈澱に主として集まり他の分層では効力は殆んど認められない。牛頸下腺の場合は pH 4.5 沈澱の硫酸 12.5%沈澱が最も効力が強かつたが、馬ではこの分層は微量しか得られぬので不明であるが牛の場合これに次いで硫酸 24%沈澱が有効であるからこの点で両者は似ていると考えられる。ともかく燐有効成分は pH 4.5 沈澱の分層に集まりこれを硫酸で分画沈澱すると血清燐低下効力が一層増加する事を認めた。

各分層の血清 Ca 量に及ぼす影響 家兎体重 2~2.5 kg のものを選び前法通りの方法で検体 1 mg をとり pH 8.0 の水 1 cc に溶解して静脈内注射を行い血清 Ca 量を測定した。

Table III. Serum Ca Decreasing Potency of Various Fractions Fractionally Precipitated with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ from pH 5.4 Precipitate

Sample	Ca mg/100 cc				Decrease (%)	Mean (%)
	Before injection	After injection				
		6 hrs.	7 hrs.	8 hrs.		
pH 5.4 Ppt.	{ 13.83	13.03	13.03	12.74	7.88	8.36
	{ 13.80	12.34	12.83	11.58	8.84	
(NH ₄) ₂ SO ₄ 7% Fraction	{ 12.31	11.44	11.34	11.34	7.88	8.91
	{ 12.32	11.82	11.44	11.14	9.58	
	{ 13.25	12.61	13.02	12.02	9.28	
(NH ₄) ₂ SO ₄ 12.5% Fraction	{ 12.14	11.94	11.64	12.14	7.82	12.12
	{ 13.55	11.57	11.57	11.39	15.94	
	{ 13.40	12.17	11.17	12.35	12.61	
(NH ₄) ₂ SO ₄ 25% Fraction	{ 12.32	12.05	12.30	12.30	2.19	3.33
	{ 13.23	13.42	12.54	13.31	5.22	
	{ 12.43	12.24	12.58	12.11	2.57	

Table IV. Serum Ca Decreasing Potency of Various Fractions Fractionally Precipitated with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ from pH 4.5 Precipitate

Sample	Ca mg./100 cc.				Decrease (%)	Mean (%)
	Before injection	After injection				
		6 hrs.	7 hrs.	8 hrs.		
pH 4.5 Ppt.	{ 12.43	11.93	11.93	11.53	7.24	8.79
	{ 11.99	11.56	10.75	11.56	10.34	
(NH ₄)SO ₄ 25% Fraction	{ 13.14	13.24	12.93	13.26	2.05	4.74
	{ 13.50	12.98	12.87	12.87	4.67	
	{ 13.72	12.77	13.69	"	7.51	
(NH ₄) ₂ SO ₄ 42% Fraction	{ 13.28	13.02	13.02	12.82	3.46	2.78
	{ 12.82	12.52	12.52	12.52	2.34	
	{ 13.05	13.22	12.72	12.96	2.53	

Table III 及び IV に示すごとく家兎血清 Ca 量効果では pH 5.4 沈澱も pH 4.5 沈澱も差が認められず、ただ pH 5.4 沈澱の硫酸 12.5%分層のみが硫酸分画により効力を増加したごとく考えられる。

考 察 馬顎下腺より希アルカリ抽出で、pH 5.4 沈澱と pH 4.5 沈澱とに大別して分離し、それらをそれぞれ硫酸で分画して家兎血清 Ca 有効分層として pH 5.4 沈澱よりの硫酸 12.5%分層を得。更に牛顎下腺の場合分離が困難であつた家兎血清磷有効分層が容易に pH 4.5 沈澱からの硫酸 25%分層 (或いは硫酸 12.5%沈澱が更に有効かも知れないが収量は極めて悪い) に集まることを認め得たので、牛顎下腺抽出物にこのことを応用してみたが結果は馬の場合程簡単ではなかつた。すなわち牛顎下腺アセトン乾燥粉末を希アルカリで抽出した液を酸性にすると pH 5.8 で混濁し始め、pH 4.5 に至つて沈澱が完全に析出するから、先ず pH 5.8 で 1 日放置してなるべく沈澱をここで析出させこの分層を遠心分離してとり出し硫酸分画する。しかし硫酸 7%、12.5% 及び 15%分層は得られず、硫酸 25%分層が約 1%の収量で得られるのみであり、しかも血清 Ca 及び磷効力が特に強いとは考えられない。結局牛顎下腺の場合血清 Ca 効力の最強の分層は pH 4.5 沈澱よりの硫酸 12.5%沈澱を更に精製したもので第 1 報³⁾ 既報のごとく pH 4.5 以上の pH 領域では水に溶け、pH 4.4 になると始めて析出するのに反し、馬顎下腺の場合は pH 5.4 沈澱よりの硫酸 12.5%沈澱 (このものを再び pH 8.0 に溶解しても pH 5.4 で析出し、液は更に酸性にしても pH 4.5 では沈澱は析出しない) が血清 Ca に最強のものと考えられる。

結 論 (1) 馬顎下腺中にも牛顎下腺と同様家兎血清 Ca 及び無機磷低下性物質が存在する。

(2) 馬顎下腺の希アルカリ抽出により pH 5.4 及び pH 4.5 の両沈澱を大別分離し、更にこれをそれぞれ硫酸分画すると家兎血清 Ca 有効分層は pH 5.4 沈澱の硫酸 12.5%分層に、家兎血清磷有効分層は pH 4.5 沈澱の硫酸 25%分層に得られる。

本研究に当り種々実験上御便宜を賜つた大阪大学川崎教授に感謝する、また本研究の一部を担当された浜森夫氏にも併せて感謝の意を表する。

大阪大学薬学部