された放射性ストロンチウムは対照群の方がロジゾン酸投与点群より 20 倍も多かつたが、その主な原因はロジゾン酸投与群のラットが糞の排泄量が非常に少なかったことによるものである。肝腎以外の残余柔組織全体および骨髄中に残留した放射性ストロンチウム量は両群の間に差なく、また尿中へ排泄された放射性ストロンチウムも両群の間に差が認められなかつた。

考 察 この実験において最も注目すべき事実は注射された放射性ストロンチウムが担体を含む場合と含まない場合とで結果に大きな差の見られたことである。担体を含まない場合は対照群と殆んど有意の差を生じなかつたのに反し、注射された放射性ストロンチウムがラット 1 匹について 0.5 mg の担体ストロンチウムを含む場合には検査されたすべての組織において、期待に反しロジゾン酸投与群の方が対照群よりも放射性ストロンチウムの残留量が多く、逆に糞、尿への排泄量は少なかった。

ロジゾン酸は Ba, Sr の特異的試薬であつて、これらと不溶性塩を形成するので注射された放射性ストロンチウムが担体を含む場合には体内で難溶性塩が形成され、排泄が阻害される可能性がある。また腎において放射性ストロンチウム投与後 78 時間を経過しているにも拘わらず、対照群よりも 37 倍も多くのストロンチウムの貯留が見られたことから腎細尿管における尿の濃縮に際して難溶性のロジゾン酸ストロンチウムが析出して腎機能を障害した可能性も無視できない。注射された放射性ストロンチウムが無担体の場合には対照群とロジゾン酸投与群との間に大差を生じなかつたことから担体を含む場合体内でストロンチウムとロジゾン酸とが特異的に結合したことにより排泄が阻害されたものと考えられる。

本研究は昭和 31 年度文部省科学研究費によつて行つた。

東京大学医学部薬学科

U. D. C. 615.771.5

343. 小澤 光, 岩尾順一, 奥田朝晴, 山本成一郎, 佐藤七平, 針谷祥一, 林 五朗:

Adrenochrome 誘導体の研究 (第 8 報)

薬理学的及び生化学的研究

Hikaru Ozawa, Jun-ichi Iwao, Tomoharu Okuda, Seiichiro Yamamoto, Shichihei

Sato, Shoichi Harigaya, and Goro Hayashi: Studies on Adrenochrome

Derivatives. VIII. Pharmacological and Biochemical Studies.

(Tokyo Research Laboratories, Gohei Tanabe & Co., Ltd.*)

Adrenochrome and the water-soluble sodium 1-methyl-5-semicarbazono-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-3-sulfonate trihydrate (AC-17) show antihyaluronidase activity but the insoluble adrenochrome monosemicarbazone (ACS) does not. While adrenochrome inhibits glycolysis, ACS and AC-17 do not, and AC-17 also does not affect the amount of liver glycogen. It seems, therefore, that adrenochrome cannot carry out its biochemical functions unless liberated. Both adrenochrome and ACS do not fluctuate the amount of adrenal ascorbic acid and in this respect, they do not seem to have any ACTH-like activity. The fact that the adrenochrome derivatives, irrespective of their solubility in water, are known to have very weak toxicity from their LD₅₀, and activities on respiration, blood pressure, and on excised intestines.

(Received October 10, 1956)

従来の adrenochrome monosemicarbazone (ACS と略) は水に可溶化する目的で大量 (25 倍量) のサリチル酸ナトリウムを溶解補助剤として添加しているので、この製剤を用いた薬理実験ではサリチル酸ナトリウムに起因すると思われる作用が、ACS の作用のごとく誤り考えられることがしばしばあるようである、著者等はこの点を解明せんとして ACS を単独で用い或いは岩尾¹⁾ が合成した可溶性でしかも止血作用の強い化合物を用いて検

* 731 1-chome Daita, Setagaya-ku, Tokyo.

1) J. Iwao: Pharm. Bull.(Japan) 4, 244, 247, 254(1956).

討を行つた. 本化合物は sodium 1-methyl-5-semicarbazono-6-oxo-2, 3, 5, 6-tetrahydroindole-3-sulfonate trihydrate (AC-17 と略) で下記構造を有する.

第一に抗 hyaluronidase 作用であるが, Clark²⁾ はウサギ及びダイコクネズミで ACS はヒヤロニダーゼによる拡散効果を阻止し得ないことを報告しているが, Digonnet 等³⁾ は抗ヒヤロニダーゼ作用の存在を認めている. そこで著者等は, サリチル酸ナトリウムを加えた製剤及びサリチル酸ナトリウム単独, ACS, 及び水溶性の AC-17 について検討を行つた.

第二に糖代謝に及ぼす影響について, Randel⁴⁾ はダイコクネズミの脳ホモジェネートによる解糖が adrenochrome によつて阻止され嫌氣的条件下で乳酸生成量が低下することを認め, また Chaix⁵⁾ は肝及び筋肉グリコーゲン量に及ぼす影響をモルモットで試験し, adrenochrome が著しい増量を認めたと報告している. しかし ACS については何等報告がないので, 著者等は ACS 及び AC-17 についても同様実験を行つた.

第三に ACS は脳下垂体を刺激して ACTH を分泌させ, これは転じて副腎皮質を刺激し glucocorticoids を分泌させると考えられ, Gross, Plane^{6,7)}, Lacroix⁸⁾ はイヌ, 人体の好酸球の減少により Caumeberge⁹⁾ はダイコクネズミ副腎中のビタミン C 含量の減少により ACTH 様作用を有することを示唆した. これと関連して ACS が副腎皮質機能検査法の Thorn test の試薬として価値があることが報告された. 然しこれらスペインの報告に対し, 米国¹⁰⁾ 及び田多井¹¹⁾ 等は否定的の態度を示している. 著者等はこの点に興味を感じ, 副腎中のビタミン C 全量の変動を目安として adrenochrome 及び ACS について検討したがいずれにも ACTH 様作用は認められなかつた.

第四に岩尾が合成した種々の adrenochrome 誘導体の毒性及び一般薬理作用を検した.

I. 抗ヒヤロニダーゼ作用

実験方法 脱毛したウサギの腹壁に, 対照液 (1% Evans blue または 1% nigrosin 0.1 cc+生理食塩液 0.1 cc) ヒヤロニダーゼ液 (1% Evans blue または 1% nigrosin 0.1 cc+hyaluronidase 液 (5000 u. u. 0.1 cc) を皮内注射し一定時間毎に色素の拡散面積をプランメーターで測定し, 約 2 時間後に検体薬物を耳静脈より注射し, 注射一定時間後に, 同様ヒヤロニダーゼ液を皮内注射し, プランメーターで拡散面積を測定した.

実験成績 1. ACS sodium salicylate complex 溶液: ACS は水に不溶であるためサリチル酸ナトリウムを溶解補助剤として加えて可溶化しているので, この製品 (ACS 10 mg/kg+Na-salicylate 250mg/kg) を静注し, 15 分後及び 1 時間後にヒヤロニダーゼ液を皮内注射し拡散面積を測定したところ, 若干の抑制効果を示した. 同時に Na-salicylate 単独 250 mg/kg を静注したところ同程度の効果を示した (Fig. 1, 2).

2. ACS 懸濁液: ACS 懸濁液として 100 mg/kg を皮下注射し, 同様実験を試みたが, 全くヒヤロニダーゼ抑制効果を認め得なかつた (Fig. 3).

3. adrenochrome 溶液: 遊離の adrenochrome は水溶性であるが不安定であるため実験直前に調製して, 10 mg/kg, 30 mg/kg を静注して同様実験を行つたが 10 mg/kg で僅かに抑制効果を示す程度であつたが, 30 mg/kg では著明な抑制作用を認めた (Fig. 4).

4. AC-17 化合物: 水溶性で, しかも著しい止血効果を示した AC-17 を用い, 50 mg/kg, 100 mg/kg を静注し, ヒヤロニダーゼ抑制作用を試験したところ, 50 mg/kg では殆んどその作用を認めなかつたが, 100 mg/kg

2) W. G. Clark: Exptl. Med. Surg. **2**, 78 (1949).

3) L. Digonnet, et al.: Thérapie **2**, 254 (1952).

4) L. D. Randel: J. Biol. Chem. **165**, 733 (1946).

5) P. Chaix: Biachim. et Biophys. Acta **5**, 472 (1950).

6) A. Gross, P. Plane: Compt. rend. soc. biol. **145**, 708 (1951).

7) A. Gross, P. Plane: Algérie méd. **55**, 682 (1952).

8) A. Lacroix, et al.: Tunisie méd. **39**, 1063 (1951).

9) H. Caumeberge, et al.: Arch. intern. pharmacodynamie **93**, 317 (1953).

Fig. 1.~Fig. 6 の記号の説明

- ×—× 1% Evans blue solution.
 ○—○ 1% Evans blue+hyaluronidase solution.
 ▲—▲ 15 min. later after adrenochrome derivatives injection.
 ■—■ 1 hr. later.

Fig. 1. ACS 10 mg./kg. + Na-salicylate 250 mg./kg., intravenous injection

Fig. 2. Na-salicylate 250 mg./kg., intravenous injection

Fig. 3. ACS suspension 100 mg./kg., subcutaneous injection

Fig. 4. Adrenochrome solution 30 mg./kg., intravenous injection

Fig. 5. AC-17 solution 50 mg./kg., intramuscular injection

Fig. 6. AC-17 solution 100 mg./kg., intramuscular injection

では著明な抑制効果を示した (Fig. 5, 6).

II. 糖代謝に及ぼす影響

A. 解糖阻止作用 実験方法：解糖阻止効果については Utter¹⁰⁾ 法に準拠し、ダイコクネズミの脳のホモ

10) S.E. Massengill Co.: Adrenocem 文献集.

11) 田多井: International Physiological Society にて発表 (1956).

ジェネートを用い adrenochrome, ACS 及び AC-17 の各濃度を加え生成する乳酸量を対照と比較した。乳酸の定量は NaHCO_3 を添加して発生する CO_2 量を Warburg 検圧計により測定した。Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9 はこの成績を図示したもので adrenochrome は $10^{-5} M$, $10^{-4} M$ で著明な乳酸生成量の低下を示すが ACS 及び水溶性化合物 AC-17 では $10^{-4} M$ でもその作用は認められない。この事実は adrenochrome 誘導体が生化学的に作用するには adrenochrome が遊離して始めて効果を現わすことを示すものであろう。

Fig. 7.
Effect of Adrenochrome on
Glycolysis (Lactic acid forma-
tion from glucose)

Fig. 8.
Effect of ACS on Glycolysis
(Lactic acid formation from
glucose)

Fig. 9.
Effect of AC-17 on Glycolysis
(Lactic acid formation from
glucose)

B. 肝臓 glycogen に及ぼす影響 実験方法: ハツカネズミ及び均一系ダイコネズミを一群 5 匹ずつとし、これに adrenochrome 誘導体を皮下注射し 4 時間後に屠殺し、肝臓を 30% KOH で 1 時間煮沸し他物質を水解した後、エタノールを加え放置析出せる glycogen を Somogyi¹¹⁾ 法で定量し、生理食塩液投与の対照群と比較した。

実験成績: AC-17 1 mg/kg, 20 mg/kg, 100 mg/kg 投与後 1 時間, 2 時間, 4 時間後に肝 glycogen 量を定量したが, Table I 及び II のごとくで、殆んど有意の差を認め得なかつた。

Table I. Effect of Adrenaline and AC-17 on Rat Liver Glycogen
(Rat killed 1 hr. after subcutaneous injection)

Drugs	Liver glycogen, g./100 g.	
Physiol. saline solution	0.65	Mean value 1.33
	1.38	
	1.97	
Adrenaline 1 mg./kg.	0.34	0.43
	0.90	
	0.06	
AC-17 100 mg./kg.	2.05	1.82
	1.36	
	2.05	

III. ACTH 様作用

実験方法: ACTH により副腎中のビタミン C 含量が低下することは Sayers 等¹²⁾ により確認されているので、これを目安として adrenochrome 誘導体の ACTH 様作用の存在を試験した。

副腎中のビタミン C 含量は Roe¹³⁾ 法を改良した照内法¹⁴⁾ によって 2,4-dinitrophenylhydrazine を用いて

10) M. J. Utter, et al.: J. Biol. Chem. **161**, 197 (1945).

11) C. A. Good, H. Kramer, M. Samogyi: J. Biol. Chem. **100**, 485 (1933).

12) M. A. Sayers, G. Sayers, L. A. Woodbury: Endocrinol. **42**, 379 (1948).

13) J. H. Roe, C. A. Kuether: Science **95**, 77 (1942).

14) 照内: 最新ビタミン定量法 p. 115 (1954).

Table II. Effect of AC-17 on Mouse Liver Glycogen
(Mouse, subcutaneous injection)

Drugs	Liver glycogen, g./100 g.	
		Mean value
Physiol. saline solution	2.38	1.44
	1.88	
	0.66	
	0.91	
	1.38	
AC-17 100 mg./kg. (killed after 1 hr.)	1.75	1.25
	1.32	
	1.61	
	1.37	
	0.19	
AC-17 100 mg./kg. (killed after 2 hrs.)	1.05	1.29
	0.14	
	2.31	
	1.22	
	0.43	
AC-17 100 mg./kg. (killed after 4 hrs.)	1.94	1.49
	0.64	
	2.44	
	1.04	
	1.43	
AC-17 1 mg./kg. (killed after 4 hrs.)	1.01	1.65
	1.71	
	2.05	
	1.75	
	1.77	
AC-17 20 mg./kg. (killed after 4 hrs.)	1.59	1.53
	0.40	
	1.87	
	1.80	
	2.02	

定量した。

2~3 週間一定条件で飼育した体重 200 g 前後の牡ダイコクネズミを用い、薬物を尾静脈より注射し、一定時間後撲殺し副腎を傷つけることなく取出し、附着せる脂肪を除き重量を測定し、5% H_3PO_4 10 cc を加えてホモジェネートとなし、遠沈管に移し 15 分後 3,000 回/分 10 分間遠心分離し、上清を取る。この 2 cc を取り照依法によりビタミン C 量を比色定量する。

実験成績：用時調製した遊離 adrenochrome 5 mg, 10 mg, 20 mg/kg 静注により Table III のごとき成績を得た。

Table III. Effect of Adrenochrome on Adrenal Ascorbic Acid
(Rat, intravenous injection)

Time after drugs injection	Ascorbic acid content in adrenal of rats (mg./100 g.)			
	30 mins.	1 hr.	2 hrs.	4 hrs.
Control	358.8	329.4	231.3	322.2
Adrenochrome 5 (mg./kg.)	466.6	239.3	388.2	379.6
10	320.6	417.1	387.0	492.7
20	375.0	490.3	430.7	531.1

この成績は分散分析の結果、用量及び時間共有差は認められない。また adrenochrome 1 mg, 20 mg, 及び ACS 0.6 mg/kg を Wister 系牡ダイコクネズミに静注し 1 時間後に撲殺した成績は Table IV のごとくである。この成績は分散分析の結果、用量間に有意差は認められない。以上の結果より adrenochrome も ACS も薬用量よりはるかに大量でも副腎中のビタミン C 含量に変動を与えなかつた。従つて ACTH 様作用は副腎ビタミン C 含量を目安としては認められない。

IV. 一般薬理作用

A. 毒性：adrenochrome 誘導体の LD_{50} をハツカネズミにより試験したところ Table V のごとくで遊離 adrenochrome は若干の毒性を示すのに対し ACS, AC-17 は与え得る最大量でも LD_{50} に達せず、また全く中

毒症状を呈さなかつた。

Table IV. Effect of Adrenochrome and ACS on Adrenal Ascorbic Acid
(Wister-strain rats)

		Ascorbic acid in adrenal of rats (mg./100 g.) (1 hr. after intravenous injection)				
		1	2	3	4	Mean value
Control		403.6	449.0	358.1	321.7	383.1
Adrenochrome	1 (mg./kg.)	338.7	316.0	451.7	347.1	363.4
	20	328.3	337.2	334.6	311.8	328.0
ACS	0.6	355.5	280.8	418.1	350.3	351.2

Table V. Median Lethal Dose of Adrenochrome Derivatives
(Mouse)

	Subcutaneous injection (mg./kg.)	Intraperitoneal injection (mg./kg.)	Intravenous injection (mg./kg.)	Oral administration (mg./kg.)
Adrenochrome	—	208	—	>2500
ACS	>8000	—	>30	—
AC-17	>1000	—	>1000	—

B. ウサギ血圧呼吸に及ぼす影響: 体重 2.5~3.0 kg の牡ウサギを使用し, 常法に従い血圧及び呼吸曲線を描記し ACS, AC-17, dihydroxyphenylalanine, 1-methyl-3-hydroxy-5-(4'-β-hydroxyethylsemicarbazono)-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole,* 1-methyl-2-ethoxycarbonyl-5-(4'-β-hydroxyethylsemicarbazono)-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole, L- 及び sodium *dl*-1-methyl-5-semicarbazono-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-5-sulfonate dihydrate を 0.1 mg, 1 mg, 10 mg/kg 静注したがいずれも殆んど変化は見られなかつた。

C. 耳殻灌流法による血管に及ぼす影響: Krawkow-Pissemiski 法によりウサギ耳血管を灌流し, AC-17 0.04%, 0.4%, 4%, 1 cc, Dihydroxyphenylalanine, sodium 1-methyl-6-semicarbazono-7-oxo-1,2,3,4,6,7-hexahydroquinoline 4-sulfonate tetrahydrate 1% 1 cc, L- 及び DL-sodium-1-methyl-5-semicarbazono-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-5-sulfonate dihydrate, 4% 1 cc を注入したが灌流液量の変化は見られなかつた。

D. ダイコクネズミ摘出腸管に及ぼす影響: Magnus 法によりダイコクネズミ摘出腸管を Tyrode 液中 (26°±1°) で懸垂し, 観察するに AC-17 10⁻⁵, 2×10⁻⁴, 10⁻⁴ M, で認むべき変化なく, また BaCl₂ 10⁻⁴ M による攣縮に対し AC-17 は 10⁻⁴ M にて拮抗作用なく更に塩酸ヒスタミン 10⁻⁴ M による攣縮に対し AC-17 は 10⁻⁵, 10⁻⁴ M で拮抗作用なく, 10⁻⁴ M では逆に協力作用が認められた, 次に抗アセチルコリン作用はアセチルコリン 10⁻⁷ M に対し AC-17 10⁻⁴ M にては拮抗せず 10⁻⁸ M に対しては ACS 10⁻⁴ M で僅かの協力作用を認めた, 抗ヒスタミン作用, 抗アセチルコリン作用についてはなお不明の点もあるので今後の解明に待ちたい。

結 論 adrenochrome monosemicarbazone (ACS) 及び止血作用を有する可溶性 adrenochrome 誘導体につき, 薬理学的並びに生化学的試験を行い次の結果を得た。

1. 抗ヒヤロニダーゼ作用: ウサギ皮膚拡散法により ACS sodium salicylate complex は抗ヒヤロニダーゼ作用を有するが, ACS 単独では 100 mg/kg でも効果なく, サリチル酸ナトリウム単独では抗ヒヤロニダーゼ作用を示した。また遊離 adrenochrome では 30 mg/kg, sodium 1-methyl-5-semicarbazono-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-3-sulfonate trihydrate (AC-17 と略) は 100 mg/kg で初めて抗ヒヤロニダーゼ作用を示した。

2. 糖代謝に及ぼす影響: 解糖阻止作用は Warburg の manometric method により, adrenochrome は明らかに示すが ACS, AC-17 は示さない, また肝グリコーゲン量に対し AC-17 は影響を与えない。このことは adrenochrome 誘導体が生体で生化学的機能を示すためには adrenochrome に解離する必要があることを示唆するごとく思われる。

3. 副腎ビタミン C に及ぼす影響: adrenochrome 20 mg/kg, ACS 0.6 mg/kg に於いて副腎ビタミン C 量

* 以下の構造式は第 7 報を参照。

の変動を来さない。従つてこの点からは adrenochrome の ACTH 様作用は認め得ない。

4. 一般薬理作用：adrenochrome は若干の毒性を示すが、他の誘導体は不溶性、水溶性の別に拘らず毒性は極めて弱く、与え得る最大量でも LD 50 に達し得ない。またウサギ血圧、及び血管灌流に対し全く影響を示さず、ダイコクネズミ摘出腸管に対し単独では変化なく、抗バリウム、抗ヒスタミン及び抗アセチルコリン作用も認められない。

本実験に関し、御指導御撻撻を賜わつた東大菅沢教授、並びに種々御助力を得た田辺製薬株式会社の関係各位に謝意を表する。

田辺製薬株式会社東京研究所

U. D. C. 547.944.7 : 582.675.1

344. 落合英二, 岡本敏彦, 坂井進一郎, 齋藤 淳 : Aconitum-Alkaloide (第 17 報¹⁾)

各地産のトリカブト植物塩基 その 10 所謂山陽ブシの塩基成分

Eiji Ochiai, Toshihiko Okamoto, Shin-ichiro Sakai, and Atsushi Saito : Aconite

Alkaloids. XVII. On the Bases Contained in Domestic Aconite Species. (10).

Bases from the so-called *Aconitum sanyoense* NAKAI.

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

Crystalline bases obtained from aconite plants collected in Nohmi, Kyoto Prefecture (Ochiai specimen No. 24), Hanamiyama (Ochiai No. 26) and Giboshiyama (Ochiai No. 28), Okayama Prefecture, Dohgoyama, Hiroshima Prefecture (Ochiai No. 27), and Kuzuresawa, Nagano Prefecture (Ochiai No. 29), were analyzed and the results are listed in Table I. It was concluded that the specimens (Ochiai Nos. 2, 3, 22, 24, 25, 26, 27) which contain hypognavine as the chief component, lack aconitine-type strong poisons and ignavine, and contain some water-soluble bases are *Aconitum sanyoense* var. *sanyoense* NAKAI and that (Ochiai No. 29) containing neither aconitine, ignavine, nor hypognavine, but with Ashio-base I, common with the foregoing specimens, as the chief component, and Kajigamori-base as the minor component is *A. sanyoense* var. *tonense* NAKAI. The specimen, Ochiai No. 1, which contains ignavine and mesaconitine but not hypognavine, is not the former species.

(Received October 15, 1956)

本系研究の当初著者等は越前勝山の奥地、平泉寺村女神川溪谷の俗称赤壁及び山家地区で採集し、国立科学博物館の中井猛之進教授により山陽ブシ (または勝山ブシ) *A. sanyoense* var. *typicum* NAKAI** と鑑定された品種 (Ochiai Nr 1) の分析を行い、その NH₃ 析出分割の結晶性塩基成分が Ignavin 及び Mesaconitin を主とし、外に少量の Aconitin 更に少量の Hypaconitin を含有する事を報告した²⁾。その後同地に近接する地域の採集品の塩基成分を研究中、上記品種の外に成分的に全く異なる品種の存在する事を知つた。即ち既報³⁾ワサ谷種 (Ochiai Nr 2)、一本松種 (Ochiai Nr 22) 等の如く Aconitin 系猛毒成分及び Ignavin を含有せず Hypognavin を主成分とし他に若干の水溶性塩基を与える品種である。これに引続き土佐梶ヶ森産の一品種 (Ochiai Nr 3) 及び京都府下芦生産品種⁴⁾ (Ochiai Nr 25) の結晶性塩基成分を分離した結果、共に Hypognavin を主成分とし、Kajigamori base と仮称する塩基を副成分とし、Aconitin 系猛毒成分及び Ignavin を含有せざる点 Nr 2 に類似する事を知つた。然も特に注意を引いた点は梶ヶ森及び芦生共に中井教授の山陽ブシ (または勝山ブシ) *A. sanyoense* var. *sanyoense* NAKAI** の原報¹⁾ 中その採集地と記載されている点である。若し Nr 3, Nr 25 を山陽ブシと仮定すれば Nr 22 は成分的に山陽ブシに近似し、第 1 報²⁾ の山陽ブシと鑑定された Nr 1 とは完全に異なる

* Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

** 植物分類学上 var. *typicum* = var. *sanyoense* である。

1) 第 16 報：本誌 **76**, 1436 (1956).

2) 第 1 報：本誌 **72**, 816 (1952).

3) 第 15 報：本誌 **76**, 1423 (1956).

4) 中井：国立科学博物館研究報告 **32**, 49 (1953).