UDC 615.711 : 591.412.7[599]

282. 守屋 寛：哺乳類の心臓筋肉中に存在する強心性物質について (第2報¹⁾)

アルミナによる精製

Hiroshi Moriya : Studies on a Cardiotonic Substance in Mammalian Heart Muscle. II. Purification by Alumina.

(Research Laboratory, Teikoku Hormone Mfg. Co., Ltd.*)

The substance which accelerates heart contraction was extracted from bovine and whale myocardium, as reported previously,¹⁾ and its purification by column chromatography over alumina was carried out. The fraction (AL) of highest unit, 2700 U/mg., was thereby obtained and this showed absorption maximum at 260 m μ and minimum at 228 m μ in its ultraviolet spectrum.

(Received May 9, 1959)

第1報¹⁾では牛および鯨の心臓筋肉中の心臓収縮促進物質の抽出, その生物学的試験方法および標準品 S-1, S-2 について述べ蛙単位を設定し, 更に各種の精製法, 化学的性質のあらましと最高純度 600 U/mg のものを得たことを報告した. 著者はこの生物学的活性物質を純化するにはまず U/mg の純度を高めることが重要であると考え実験を行なつたが, 今回アルミナによるクロマトグラフィーによつて最高純度 2700 U/mg のものを得たので, 二の化学的性質と共に報告する.

精製用原料としては牛の心臓から抽出した粗粉末 (A)¹⁾ 40~60 U/mg を酢酸, エーテルで精製した濃縮粉末 (AcR) 100~300 U/mg を更に 1 回エタノール濃度 60% として沈殿させた濃縮粉末 (AcRB) 200~700 U/mg を用いた. これをアルミナのカラムに吸着させ, 希アンモニア水で溶出した結果を Table I に示す. ここに得たフラクションの最高純度は 2700 U/mg (AL) であつて, これは前報で示した蛙単位の基準から算出すると著者等が行なつたトノサマガエル摘出心臓灌流試験においてほぼ 0.4 γ で既に生物学的反応を示すこととなる. このフラクション (AL 2700 U/mg) の化学的性質をしらべたところ前報で示したと同様セロファン膜で透析されビウレット反応陰性, ニンヒドリン反応陽性であつた. また各純度のものについて紫外線吸収を測定したところ Fig. 1

Table I. Purity and Yield by Adsorption Chromatography on Aluminium Oxide

Expt. No.	Starting material			Fraction					
	fraction	mg.	U/mg.	Not adsorbed			Eluted by NH ₄ OH		
				mg.	U/mg.	Recovery of activity (%)	mg.	U/mg.	Recovery of activity (%)
1	AcR	300	150	120	20	5.3	30	15	1.0
							20	230	10.2
							24	1000	53.4
							total	74	64.6
2	AcR	950	180	464	15	4.0	12	15	0.1
				68	30	1.0	200	340	40.0
				34	20	0.5			
				total	562	5.5	total	212	40.1
3	AcRB	700	720	350	60	4.0	20	1800	16.7
							112	2700	60.0
							40	270	2.1
							26	450	2.3
							5	1000	1.0
							total	353	81.6
4	AcRB	700	720	340	41	2.8	150	2700	78.5

* 1604, Shimosakunobe, Kawasaki-shi, Kanagawa-ken.

1) 守屋: 本誌 78, 341(1958).

Fig. 1.

Ultraviolet Absorption Spectra of Cardiotonic Substances

① AL 2700 U/mg.

② AcR 300 U/mg.

③ AcR 100 U/mg.

Table II. Ultraviolet Absorption, Maxima and Minima

Sample	Position of absorption	
	max. (mμ)	min. (mμ)
(AL) 2700 U/mg.	260	228
(AcR) 300 U/mg.	260	228
(AcR) 100 U/mg.	257	232
Adenosine triphosphate (ATP)	260	228
Adenosine 5-phosphate (AMP)	260	228
Adenosine	259	229
Adenine	262	229
Uridine	263	231
Lacarnol	260	232
Lacarnol-Forte	267	233
Lacardin	246	226
Nucleoton	255	234

Table III. Purity of Fraction of Cardiotonic Substance

Fraction	Purity U/mg.
A	40~ 60
AcR	100~ 300
AcRB	200~ 700
AL	1000~2700

に示すとおりフラクション (AL) では 260 mμ に極大値, 228 mμ 付近に極小値を認めた. これを他の核酸類および核酸製剤と比較した結果を Table II に示す. これによると著者が得たフラクション (AL) はアデノシントリフォスフェート (ATP) およびアデノシン 5-モノフォスフェート (AMP) と全く同じ極大極小を示しているが, 熱, 溶媒等に対する化学的性質および加水分解によつて放出される燐量から考えて前報でものべたように ATP または AMP そのものでなく核酸類の何等かの分解産物ではないかと考えられた. しかし反面フラクション (AL) でもなお不純物を混有するので, この極大極小を示すものが果して有効成分かどうかは未だ疑問である.

本研究に当たり御指導を賜つた東大伊藤教授, 高木教授, 並びに発表を許可して頂いた当社山口社長, 御指導を頂いた新延研究部長, 松島主任研究員に謹謝し動物実験その他を一部担当された島沢英一郎氏, 早川 秀氏に深謝する.

実 験 の 部

生物学的試験方法 第1報¹⁾と同じ.

アルミナカラムクロマトグラフィーによるフラクション (AL) の製法 メルクの活性アルミナ 30 g を 1% HCl 300 cc と 30 分間よく攪拌後蒸留水で pH 4~5 になる迄洗浄, 1.5×2.5 cm のカラムにつめる. カラムを蒸留水 100 cc で洗つた後フラクション AcR または AcRB 300~900 mg の 2%溶液を流下, ついで蒸留水 150~200 cc を流して有効成分を吸着させる. この流液から約 50%の不純物質を回収した. つぎに 2.5% NH₄OH を 10 cc/hr の速度で流下させて溶出を行ない, 溶出液をフラクションコレクターにとり 30 cc づつ減圧濃縮して NH₃をとばし適当濃度として Bioassay した.

紫外外部吸収の測定 (AcR), (AL), ATP, AMP, Uridine は 0.0033%, adenosine, adenine は 0.001%に

蒸留水にとかし, Lacarnol, Lacarnol-Forte, Nucleoton は 200~400 倍に蒸留水でうすめ Beckman spectrophotometer にて 220~290 m μ における吸光度を測定した.

帝国臓器製薬株式会社研究部

UDC 547.94 : 544.1-1 : 547.587

283. 深間内久雄, 榎原竜子, 上原みつ子: ヨードフェノール酸類とアルカロイドの
反応に関する研究 (第3報*) Diiodo- β -resorcylic Acid, Diiodosalicylic
Acid, または Methyl Diiodo- β -resorcylate により沈殿する
アルカロイド**

Hisao Fukamauchi, Ryuko Enohara, and Mitsuko Uehara: Studies on the
Reaction between Iodophenolic Acids and Alkaloids. III. Alkaloids
Precipitated by Diiodo- β -resorcylic Acid, Diiodosalicylic Acid,
or Methyl Diiodo- β -resorcylate.

(Women's Department, Tokyo College of Pharmacy***)

An amorphous or crystalline precipitate separates out almost immediately upon addition of ethanolic or dioxane solution of diiodo- β -resorcylic acid, diiodosalicylic acid, or methyl diiodo- β -resorcylate to aqueous or organic solvent solution of organic bases with nitrogen-containing heterocyclic system. This reaction was examined with respect to 76 substances of 28 kinds of heterocyclic nitrogenous bases and those containing quinoline, isoquinoline, quinoline and quinuclidine, hydroindolizine and hydrocarbazole, acridine, and phenazine ring showed detectable reaction. Sulpyrine, which has a pyrazole ring, also formed a precipitate by reaction with methyl diiodo- β -resorcylate in dilute dioxane solution. Optimal conditions and detectable limit of the reaction were also examined.

(Received May 12, 1959)

第2報で報告したように, アルカロイドまたはこれと類似の窒素複素環化合物に, 希エタノール溶液において diiodo- β -resorcylic acid を作用すると, そのうちのあるものは沈殿反応を示す. 前報では 46 種の物質について調べた結果, 明らかに沈殿反応を示すのは, その分子中に quinoline 核と quinuclidine 核, isoquinoline 核, hydrocarbazole 核と hydroindolizine 核および acridine 核があるものだけであつた. 今回新しくさらに 33 種の物質について調べると, これらのほかに phenazine 核のあるものが沈殿反応を示し, また quinolinium 塩および quinaldinium 塩が混濁する程度に不完全に沈殿反応を示すことを認めた.

前報に記載した物質中の 43 種と今回新しく調べた 33 種との 76 種の物質について, 前報の diiodo- β -resorcylic acid を試薬とするのと同様に, diiodosalicylic acid を試薬として反応を試み, これによつても前報とほとんど同様の結果が得られることを認めた.

diiodo- β -resorcylic acid または diiodosalicylic acid を試薬として, 希ジオキササン溶液において反応を試みると, diiodo- β -resorcylic acid では沈殿反応を示すものが希エタノール溶液の場合より少いが, diiodosalicylic acid では希エタノール溶液の場合とほとんど同様の結果を示した.

methyl diiodo- β -resorcylate を試薬とし, 希ジオキササン溶液で反応させると, cinchonine, quinine, loretin および sulpyrine が沈殿反応を示し, guanine, quinaldine ethiodide, phenothiazine が不完全に反応を示した. diiodo- β -resorcylic acid または diiodosalicylic acid ではこれらのうち sulpyrine の核構造のみが反応を示さないものである.

* 第2報: 深間内, 関口: 本誌 76, 1172(1956).

** 日本薬学会第79回年会で講演 (1959年4月, 大阪).

*** Uenosakuragi-cho, Daito-ku, Tokyo.