薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
93 (11) 1445-1451 (1973)

UDC 547.554.09:615.31.015.076.9

界面活性剤の刺激性 (第 1 報) 陽イオン界面活性剤 Alkyldimethylbenzylammonium Chloride (Alkyl DBAC) の刺激性¹⁾

二見高弘, 仲村順子, 林 静男

花王石鹼株式会社家庭品研究所²⁾

Primary Irritation of Surfactant. I. Primary Irritation of Alkyldimethylbenzylammonium Chloride (Alkyl DBAC) (Cationic Surfactant)¹⁾

TAKAHIRO FUTAMI, JUNKO NAKAMURA and SHIZUO HAYASHI

Household Research Laboratory, Kao Soap Co., Ltd.²⁾

(Received March 1, 1973)

The effect of alkyldimethylbenzylammonium chloride (Alkyl-DBAC) on capillary permeability and on the activity of succinic dehydrogenase was studied in order to understand the inflammatory action of this drug. The capillary permeability increased from 45 min to 4.5 hr after C₁₂-DBAC was intracutaneously injected. The thresholds of capillary permeability was 0.01% when C₁₂-DBAC was intracutaneously injected in rabbit, 0.005% when intraperitoneally injected in mice, and 1.0% when externally applied on rabbit. The capillary permeability was influenced by the presence of keratinous layer. The capillary permeability depended on the chain length of Alkyl-DBAC and its maximum was at C₁₂. The activity of succinic dehydrogenase was inhibited by the high concentration of Alkyl-DBAC. The inhibitory action of Alkyl-DBAC reached a maximum at C₁₂. The threshold of C₁₂-DBAC on capillary permeability and the inhibitory concentration on the succinic dehydrogenase were nearly the same but the activity of liver homogenate succinic dehydrogenase was activated by the low concentration of C₁₂-DBAC and this effect was inhibited by phospholipase C.

Alkyldimethylbenzylammonium chloride (Alkyl DBAC) は Domagk (1935)³⁾ が強い殺菌力ならびに防腐効果を有することを見出し、以来、多くの研究者がその殺菌効力を確かめ^{4,5)} 速効性殺菌剤として皮膚、組織、粘膜などに使用されてきた。近年その用途は広まり、医療分野を始めとして、食品衛生、公衆衛生、洗浄、繊維類の防黴、農畜産物方面、化粧品理髪分野へも応用されるようになった。最近その柔軟効果、帯電防止効果⁶⁾ が見い出されてから、リンスなどを中心とする化粧品原料⁷⁾ としても繁用されるようになり、本薬物に接触する機会が多くなった結果、その副作用としての毒性^{5,8,9)} 刺激性¹⁰⁻¹⁵⁾ が問題になり再検討された。著者らも家庭に

1) 二見高弘, 佐俣洋子, 応用薬理, 6, 329 (1972).

2) Location: Bunka, Sumida-ku, Tokyo.

3) G. Domagk, *Deut. Med. Wochenschr.*, 61, 829 (1935).

4) R. Kuhn, D. Jerchel, O. Westphal, E.F. Moeller, M. Czernucki-Hrebeljanowitsch, *Ber.*, 73, 1095 (1940).

5) R.A. Cutler, E.B. Cimijatti, T.J. Okalawich, W.F. Wetterau, *Soap & Chemical Specialties for April*, 1967, 74.

6) 古瀬一磨, 油化学, 増刊 1969, 114.

7) T. Rees, *Am. Perfumer Cosmet.*, 81, 37 April (1966).

8) T. H. Eickholt, G.K. Brashier, M.D. Higgins, U.B. Martinez, *J. Pharm. Sci.*, 57, 1431 (1968).

9) A.M. Schwartz, J. W. Perry, J. Berch, "Surface Active Agents and Detergents", Vol. 2. Interscience Publishers Inc., New York, 1958 p. 369.

10) A. Kluge, *Am. Perfumer Cosmet.*, 81, 35 (1966).

11) G. Woodward, *J. Pharm. Pharmacol.*, 15, 422 (1963).

12) 美間博之, 表面, 2, 14 (1964).

13) 鈴木 守, 日薬理, 61, 369 (1965).

14) M.G. De Navarre, *Chemistry and Manufacture of Cosmetics*, 1, 252 (1962).

15) 高須 久, 表面, 6, 85 (1968).

対する眼粘膜および皮膚におよぼす刺激性の一部を確認している。¹⁾ 一般に急性炎症の場合、組織に何らかの刺激が加わり、ある程度の組織障害を生じると、chemical mediator が放出または活性化され、血管内皮細胞に働き血管拡張、血管透過性の亢進、多形核白血球の血管壁粘着または遊走などの組織反応を伴う急性渗出性炎の症状を示す。つぎにリンパ球、貧食細胞、形質細胞、肥満細胞の浸潤、線維芽細胞の増殖による結合組織の増殖を始め、血管新生などの修復機転を示すことが知られている。われわれは本薬物の刺激性を更に検討するため、刺激の強さを比較的定量的に調べられる炎症第一期に相当する血管透過性に着目し、皮内、腹腔、塗布の各適用方法で用量反応曲線および alkyl 鎖長-反応曲線を求めて検討した。また刺激による炎症に際して生じると考えられる細胞機能の変化を知る手がかりとして、TCA cycle 内の酵素である succinic dehydrogenase の活性におよぼす影響をマウス肝臓の homogenate と mitochondria 分画を用いて検討した。

実験の部

実験材料 実験に使用した Alkyl DBAC は alkyl 鎖長が $n=8, 10, 12, 14, 18, 20$ (以下 $C_8, C_{10}, C_{12}, C_{14}, C_{18}, C_{20}$) のものを合成した。その分析結果および性状を Table I に示した。また薬物は全て生理食塩液に溶解して使用した。

TABLE I. The Analytical Data and Properties

Drug	Analysis		Properties		
	Purities of chain length	Activity	Colour	Fastes	
Octyl DBAC	98.2	94.9	white	bitter	
Decyl DBAC	98.6	93.2	white	bitter	
Dodecyl DBAC	99.0	91.5	white	bitter	
Tetradecyl DBAC	95.0	90.3	white	bitter and rough	
Octadecyl DBAC	98.5	90.5	white	rough	
Eicosanyl DBAC	96.2	90.3	white	rough	

purity of chain length: the percentage of same alkyl chain length activity: the percentage of active constituent

実験方法 1 皮膚内エバンスブルー抽出定量法——Beach らの変法^{16,17)} に準じて行なった。すなわち、青染皮膚を直径 3 cm に切り取り一晩濃塩酸に浸した。つぎに 10% 塩化ベンザルコニウム液 4 ml 加え 5 分振盪した。さらにクロロホルム 6 ml 添加し 10 分振盪した後、クロロホルム層を取り出し 610 nm で吸光度を測定した。

2 皮内投与した場合の血管透過性測定法——島本、高木ら¹⁸⁾ の方法に準じて行なった。すなわち、体重 3 kg 前後の雄性アンゴラウサギを 1 群 6 羽使用し、実験開始 48 時間前に腹部を市販脱毛クリームで脱毛した。薬物を 3 cm 間隔に 0.1 ml 皮内注射し、3 時間後に 1% エバンスブルー生理食塩液 5 ml/kg を耳静脈内注射した。30 分後に空気血栓致死させ、剥皮した後、1 の方法に従ってエバンスブルー量を測定し皮内血管透過性を求めた。

3 腹腔内投与した場合の血管透過性測定法——Whittle ら¹⁹⁾ の方法に準じて行なった。すなわち体重 25 g 前後の dd 系雄性マウスを 1 群 10 匹として用いた。4% ポンタミンスカイブルー生理食塩液 0.1 ml 尾静脈内注射し、15 分後に薬物を 0.1 ml/10 g 腹腔内注射した。30 分後に放血致死させ、直ちに生理食塩液 10 ml を腹腔内注射し、腹腔渗出液と生理食塩液とをよく混和した後、腹部を切開し溶液を試験管内に取り出した。蛋白質による混濁を防ぐため、0.1N NaOH 溶液 0.1 ml 加え 3000 rpm 10 分間遠心後上清を取り出し、610 nm で吸光度を測定した。

16) V.L. Beach, B.G. Steinetz, *J. Pharmac.*, **131**, 400 (1961).

17) 本好捷宏, 藤井昭男, 鈴木 守, *日薬理*, **64**, 301 (1968).

18) 島本暉朗, 高木博司, 猪木令三, “薬理学実習,” 南山堂, 東京, 1964, p. 148.

19) B.A. Whittle, *Brit. J. Pharmacol.*, **22**, 246—253 (1964).

4 塗布した場合の血管透過性測定法——本好ら²⁰⁾の方法に準じて行なった。すなわち、体重 3 kg 前後の雄性アンゴラウサギを 1 群 6 羽とし、その背部にバリカンで 3×3 cm の 6 除毛部位を塗布 48 時間前に用意した。薬物 0.1 ml を除毛部位に滴下し、20 秒間指でまんべんなく擦り込み、3 分後に清潔な綿花で 10 秒間拭きとった。同操作を 1 日 1 回、3 日連続して行ない、3 日目塗布 24 時間後にエバンスブルー 40 mg/kg 耳静脈内注射し、1 時間後に空気血栓致死させ剥皮した。つぎにその皮膚を直径 3 cm に切り取った後、1 の方法に従ってエバンスブルー量を定量し血管透過性を測定した。

5 Succinic Dehydrogenase 活性測定法——酵素調整法²¹⁾：体重 25 g 前後の ICR 系雄性マウスを一晩絶食させてから用いた。頸部切断により殺した後、肝臓を取り出して、直ちに氷冷 (0°) の 0.25 M 蔗糖緩衝液の中に入れる。肝臓 homogenate として用いる場合は、この肝臓 1 g を蔗糖緩衝液 50 ml で ホモジナイズ したものを 用いた。肝臓 mitochondria として用いる場合は、この肝臓をカミソリで細かく切り刻み、その 1 g を氷冷 0.25 M 蔗糖緩衝液 9 ml で 2 分間ホモジナイズする。この homogenate を Schneider の方法に従って沈殿分離し、mitochondria を調整して蔗糖緩衝液で 100 倍希釈したものを用いた。操作は全て 0° で行ない、蔗糖緩衝液としては 0.25 M sucrose 0.01 M Tris aminomethane 液 (pH 7.4) を用いた。

酵素活性測定法：38° 恒温にした反応槽 (高島商店製) 内に調整した酵素液 1 ml、薬物 0.1 ml 加え 5—10 分 incubate した。その後 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 7.4) 1 ml と酸素を飽和させたイオン交換水で反応槽を満たし、酸素の自己消費量を約 2 分間記録計に記録した。その後、0.3 M Sodium Succinate 0.1 ml 加え、酸素消費量を記録した。酸素消費量-自己消費量の単位蛋白、単位時間当りの値で酵素活性を示した。溶存酸素量の測定には Beckman 製 "Fieldlab" 溶存酸素分析計を用い、蛋白量の測定は Lowry 法に準じて行なった。なお薬物は蔗糖緩衝液に溶解した。

結 果

1 標準曲線の作成

1 に示した方法による皮膚内エバンスブルー抽出率を求めるため、ウサギ皮膚内に注入したエバンスブルーとエバンスブルー単独のものを 1 の方法で抽出定量した。

Fig. 1. Calibration Curve for Estimation of Evan's Blue

Intracellular Evan's Blue was calibrated at the rate of over 95%.

x: intracellular Evan's Blue
o: aqueous solution of Evan's Blue

Fig. 2. The Time-course of Capillary Permeabilities in Rabbits of C₁₂ DBAC (*i.c.* inj.)

When 1% C₁₂DBAC was *i.c.* injected in rabbit's skins, it caused the capillary permeabilities to increase from 45 min to 5 hr and did not recover at the normal level after 72 hr (X±S.E.).

各プロットに適した直線を最小自乗法により求めて Fig. 1. に示した。皮膚内のエバンスブルーは関係式が $y=0.079x$ に対し、control は $y=0.082x$ となり、皮膚内エバンスブルー回収率は 95% 以上であった。

2—1 C₁₂ DBAC を皮内投与した場合の血管透過性経時的变化

C₁₂ DBAC を皮内投与した場合の経時的变化は Fig. 2. に示したように、皮内注射後 45 分から 5 時間後位

20) 本好捷宏, 藤井昭男, 堀川寿夫, 日薬理, 65, 230 (1969).

21) 赤堀四郎, "酵素研究法 (3)," 朝倉書店, 東京, 1960, p. 110.

まではほとんど同程度の血管透過性亢進を示し、24 時間後には低下するが正常のレベルにはもどらなかった。この状態は 72 時間後も持続した。それゆえ本薬物の皮内血管透過性を調べるには、薬物投与後 1—5 時間後に測定するのがよく、われわれは 3 時間後の血管透過性を測定することにした。

2—2 C_{12} DBAC を皮内投与した場合の用量-反応曲線

Fig. 3. Increase of Capillary Permeability by C_{12} DBAC

C_{12} DBAC was intracutaneously injected in rabbit, intraperitoneally injected in mice and rubbed on rabbit's skin.
 : i.c.inj. x—x : i.p.inj. : rub test ($X \pm S.E.$)

C_{12} DBAC を各投与法で投与した場合の用量-反応曲線を Fig. 3 に示した。皮内投与した場合 0.01% で生理食塩液と同レベルの血管透過性を示し、また 5.0% 以上ではプラトーないしは減少傾向が見られ、この時組織は壊死状態になっていた。Alkyl DBAC では C_{12} DBAC が非常に刺激が強いと考えられるので Alkyl 鎖長-血管透過性の関係を求めるためには C_{12} DBAC で測定可能な 1.0% で行なった。

2—3 Alkyl DBAC の Alkyl 鎖長と皮内血管透過性との関係

Alkyl 鎖長が血管透過性におよぼす影響を各適用方法についてまとめたものを Fig. 4 に示した。皮内投与した場合は C_{12} DBAC および C_{10} DBAC をピークにし、 C_{14} DBAC, C_{18} DBAC, C_8 DBAC, C_{20} DBAC の順に減少したが、 C_{20} DBAC でも生理食塩液より高い血管透過性が見られた。

3—1 C_{12} DBAC を腹腔内投与した場合の用量-反応曲線

C_{12} DBAC を腹腔内投与した場合、Fig. 3 に示したように、0.005% で生理食塩液と同レベルの血管透過性を示し、また 1.0% になると減少した。Alkyl 鎖長-血管透過性の関係を求めるためには、 C_{12} DBAC で測定可能な濃度である 0.1% で行なった。

3—2 Alkyl DBAC の Alkyl 鎖長と腹腔内血管透過性との関係

Fig. 4 に示したように、 C_{14} DBAC および C_{12} DBAC をピークに C_{18} DBAC, C_{20} DBAC, C_{10} DBAC, C_8 DBAC の順に減少し、 C_8 DBAC でも生理食塩液よりは高い血管透過性を示した。

4—1 C_{12} DBAC を塗布した場合の用量-反応曲線

Fig. 3 に示したように、1.0% まで生理食塩液と同レベルの血管透過性を示し、さらに高濃度で血管透過性が亢進した。

4—2 Alkyl DBAC の Alkyl 鎖長と塗布による血管透過性との関係

Fig. 4 に示したように、 C_{14} DBAC 近辺をピークに C_{12} DBAC, C_{18} DBAC, C_{20} DBAC, C_8 DBAC, C_{10} DBAC の順に血管透過性が減少した。

5—1 Succinic Dehydrogenase 活性におよぼす Alkyl DBAC の影響

マウス肝臓 mitochondria の succinic dehydrogenase に対する Alkyl DBAC の抑制濃度を Table II に示した。酵素阻害作用は C_{12} DBAC = C_{14} DBAC = C_{18} DBAC, C_{20} DBAC, C_{10} DBAC, C_8 DBAC の順に減少した。

Fig. 4. The Relation between Chain Length and Capillary Permeability of Alkyl DBAC

C_{12} DBAC was intracutaneously injected in rabbit, intraperitoneally injected in mice and rubbed on rabbit's skin.
 : i.c.inj. x—x : i.p.inj. : rub test ($X \pm S.E.$)

TABLE II. The Inhibitory Concentrations of Alkyl DBAC against the Succinic Dehydrogenase of Mouse Liver Mitochondria

Drugs	Inhibitory concentration (mole)
C ₈ DBAC	2.5×10^{-2}
C ₁₀ DBAC	5×10^{-3}
C ₁₂ DBAC	1×10^{-3}
C ₁₄ DBAC	1×10^{-3}
C ₁₈ DBAC	1×10^{-3}
C ₂₀ DBAC	2.5×10^{-3}

C₁₂, C₁₄ and C₁₈ DBAC have the strongest inhibitory action against the succinic dehydrogenase.
The action decreased at the both side of them.

5—2 Succinic Dehydrogenase 活性におよぼす C₁₂ DBAC 低濃度の影響と Phospholipase C の効果

C₁₂ DBAC 10^{-3} M で肝臓 mitochondria 分画の succinic dehydrogenase 活性を抑制したが、それより低濃度での作用を肝臓 homogenate と肝臓 mitochondria 分画を用いて検討した。Incubate は反応槽内で 10 分行なった。

Fig. 5. The Effect of C₁₂ DBAC on the Succinic Dehydrogenase

—•— liver mitochondria fraction
- - x - - liver homogenate
(X ± S.E.)

Fig. 6. The Effect of Phospholipase C on the Liver Homogenate Succinic Dehydrogenase activated by C₁₂ DBAC

The concentration of C₁₂ DBAC was 5×10^{-4} M
phospholipase C was added 4 unit (X ± S.E.).

Fig. 5 に見られるように、酵素材料として肝臓 homogenate を用いた場合、 2.5×10^{-5} M から 1×10^{-3} M にかけて酵素活性が亢進する傾向が伺えた。一方肝臓 mitochondria 分画を用いた場合は 5×10^{-4} M あたりに少し酵素活性が亢進する傾向も見られたが、肝臓 homogenate のように著明な亢進作用を示すことはなく、 1×10^{-3} M で抑制された。

酵素材料として肝臓 homogenate を用いた場合、C₁₂DBAC 5×10^{-4} M での酵素活性亢進作用は、Fig. 6 に示したように phospholipase C 4 unit を肝臓 homogenate 中に添加することで抑制された。しかし正常値よりもまだ高い活性を示した。

考 察

皮膚内エバンスブルーは本実験では Fig. 1 に示したように 95% 以上回収され、また誤差も少なく皮膚内血管透過性測定に有力な手段であることが確認された。C₁₂ DBAC の皮内血管透過性の経時的变化を追った結果、本薬物は注射直後から 5 時間位まで血管透過性亢進の持続が見られ、24—72 時間後も正常部位よりも高い血管透過性を示した。この結果から皮内血管透過性は薬物投与 3 時間後に行なうことにした。各投与方法での用量-反応曲線の結果から、刺激閾値は皮内 0.01%、腹腔 0.005%、塗布 1.0% と異なり、投与部位での反応性が異なることが伺えた。角質層の存在により、刺激閾値が 100—200 倍も高くなることから、本薬物は表皮、角質層を通じて吸収されにくく、外用する場合は安全性が比較的高いと考えられた。この結果、本薬物を医療分野で腹腔、腸粘膜を始めとする角質層のない部位の消毒、洗浄に使用する場合は低濃度で、また手の消毒、化粧品、頭髮分野など、皮膚に外用する場合は比較的高濃度まで使用しうる。これは Woodward ら¹¹⁾ の報告と一致する。

Alkyl 鎖長と血管透過性との関係は投与方法により多少異なるが、C₁₀ DBAC, C₁₂ DBAC, C₁₄ DBAC 近辺を最高にし、alkyl 鎖長の増減に従って血管透過性が減少することが伺えた。これは Kluge ら¹⁰⁾ の報告と一致する。投与方法の相違が alkyl 鎖長と血管透過性の関係に与える影響は、皮内と塗布についても見られるように、角質層のない場合は、角質層のある場合に比べて血管透過性のピークが短鎖長側にずれる傾向が伺えた。この傾向は著者らも眼粘膜と皮膚の場合に関して認めている。それゆえ、本薬物の使用に際しては、使用目的および投与部位、投与方法などによって、それぞれ適した alkyl 鎖長のものを適した濃度で使用する必要がある。例えば医療分野で粘膜消毒などに用いる場合は C₁₂ DBAC, C₁₄ DBAC などの比較的低分子のものを低濃度で使用し、化粧品、頭髮分野などで皮膚に外用する場合は C₁₈ DBAC などの比較的高分子のものを比較的高濃度で使用しうる。

本薬物が肝臓 mitochondria の succinic dehydrogenase 活性を抑制する傾向が、血管透過性を亢進させる傾向とよく類似し、また C₁₂ DBAC では皮内血管透過性閾値と酵素阻害濃度がよく近似していることから、酵素活性阻害作用も刺激の一因となるのではないかと考えられた。

本実験で得られた alkyl 鎖長と血管透過性および酵素活性阻害作用の関係は Ross ら²²⁾ が報告している。Alkyl 鎖長と溶血性との関係、また Cutler⁵⁾, Laurence²³⁾ らが報告している。Alkyl 鎖長と微生物に対する殺菌力、静菌力などの関係とよく類似しているので、血管透過性亢進作用、溶血作用、微生物に対する作用、酵素に対する作用などが本薬物の有する同一の作用に起因する可能性も考えられた。

肝臓 homogenate を用いた場合、C₁₂ DBAC の酵素活性抑制作用が現われるよりも低濃度域で酵素活性亢進作用が見られ、これが phospholipase C により抑制された。しかし肝臓 mitochondria 分画を用いた場合は、このような酵素活性亢進作用は認められなかったことから、この酵素活性亢進作用には細胞膜が何らかの形で関与しているのではないかと考えられた。膜に対する作用は赤血球膜とか微生物を用いた研究が行なわれている。赤血球に対する作用は 1) 膜の脂質、特にコレステリンに対する作用、²⁴⁾ 2) 膜の蛋白と結合し変性する作用、²⁵⁾ 3) 膜のリポ蛋白層のリン脂質と吸着し蛋白部分から引き離し溶出する、また蛋白質のコンフォメーション変化を生じる作用^{25, 26)} などが報告されている。微生物に対する作用は 1) 菌発育に必要な陽イオンの駆逐置換作用²⁷⁾ 2) 菌に必要な酵素系の変性、不活性化作用、^{27, 28)} 3) 細胞膜のリン脂質に作用し原形質構成成分の漏出をきたす作用、²⁸⁾ 4) 菌の蛋白沈殿作用、^{4, 29)} などが報告されている。これらの事実から推察すると、C₁₂ DBAC が酵素活性を抑制するより低濃度では、細胞膜に作用し細胞機能を亢進するように思われるが、高濃度では細胞膜への吸着、リン脂質の溶出、蛋白変性などと細胞膜機能が変化し、最終的には破壊される。同様に細胞内小器官にも作用し、succinic dehydrogenase 活性は抑制される。また一方、こうした膜の不安定化、破壊作用により細胞内の

22) S. Ross, A.M. Silverstein, *J. Colloid Sci.*, **9**, 157 (1954).

23) C.A. Lawrence, C.E. Kwartler, V.L. Wilson, E.W. Kivela, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **36**, 353 (1947).

24) B.A. Pethica, J.H. Schulman, *Biochem. J.*, **53**, 177 (1953).

25) T. Kondo, M. Tomizawa, *J. Colloid Sci.*, **21**, 224 (1966).

26) 近藤 保, 富沢みち子, 薬誌, **86**, 251 (1966).

27) 高木敬次郎, 小沢 光, “薬物学,” 南山堂, 東京, 1971, p. 458.

28) 伊藤 宏, “薬理学,” 英光堂, 東京, 1967, p. 361.

29) 羽野 壽, 相沢義雄, “薬理学,” 広川書店, 東京, 1973, p. 284.

chemical mediator が活性化される可能性もあり、それにより炎症反応が生じる可能性も考えられた。

総 括

1. Alkyl DBAC の刺激性を検討するため、血管透過性を指標として C_{12} DBAC の用量-反応曲線を皮内、腹腔、塗布の各投与方法について求めた。また、succinic dehydrogenase 活性に与える影響も検討した。
2. 皮膚内エバンスブルー抽出定量法は皮膚内色素を 95% 以上抽出定量しうることから、皮膚内血管透過性測定に有力である。
3. C_{12} DBAC による血管透過性経時変化は注射直後から 5 時間位まで著しい血管透過性亢進を示し、24 時間後には減少するが正常値には回復せず、この状態は 72 時間後も持続した。
4. 各投与方法での C_{12} DBAC の刺激閾値は、皮内 0.01%、腹腔 0.005%、塗布 1.0% であった。
5. Alkyl 鎖長と刺激性との関係は各投与方法とも、 C_{10} DBAC, C_{12} DBAC, C_{14} DBAC 近辺を最高にし alkyl 鎖長の増減にともなって減少した。
6. 角質層の有無により刺激性が大きく異なった。
7. 本薬物の使用に際しては、使用目的、投与部位および投与方法により、適した alkyl 鎖長のものを、適した濃度で使用することが望ましい。
8. Succinic dehydrogenase 活性抑制作用は C_{12} DBAC, C_{14} DBAC, C_{18} DBAC 近辺を最高にし、Alkyl 鎖長の増減に従って減少した。また、 C_{12} DBAC を皮内投与した場合の刺激閾値と酵素活性抑制濃度とが近似した。
9. C_{12} DBAC の低濃度では肝臓 homogenate の succinic dehydrogenase 活性を亢進する作用が見られ、これは phospholipase C で抑制された。しかし肝臓 mitochondria 分画ではこのような作用は認められなかった。
10. 以上の事実より本薬物により生じる炎症反応には細胞膜を始め、細胞内小器官の膜に対する作用が重要な働きをしていると予想された。

謝辞 稿を終わるにあたり、御指導、御助言を賜った東京薬科大学薬理学教室、相沢義雄教授に深甚なる謝意を表します。