

Sparteine に関する研究

第1編 基礎的研究

(Sparteine の生体内に於ける消長について)

A Study on Sparteine Part I. Experimental Studies
(On the Metabolism of Sparteine in Vivo)

大阪市立大学医学部産婦人科学教室 (主任 藤森速水教授)

助 手 廉 林 幹 司 Kanji KADOBAYASHI

目 次

- 第1章 序 論
- 第2章 定量法
- 第3章 尿中排泄物質の検索
- 第4章 Sparteine の尿中・胆汁中排泄，血中濃度及び体内分布実験
- 第5章 不活性化実験
- 第6章 総括並びに考按
- 第7章 結 論

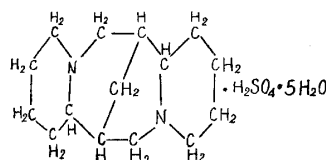
第1章 序 論

Sparteine (以下 Sp) は Stenhouse¹⁾ (1851) により発見され，J. Fick²⁾，H. Dreser³⁾，K. Hürthle⁴⁾，A.R. Cushny，S.A. Matthews⁵⁾ 等により薬理学的に研究された．其の後岡本⁶⁾ (1916)，原⁷⁾ (1917) 等が Sp の子宮収縮作用について報告し，Kleine⁸⁾ (1939) が初めて Sp を子宮収縮剤として応用した．1949 年以後永田⁹⁾・久永¹⁰⁾ 等の薬理学的研究の外，木原¹¹⁾ を初め多数の臨床報告を見た．然るに Sp の体内代謝に関しては殆んど報告がない．茲に於いて私は Sp の体内代謝に関して研究を行い 2，3 の知見を得たので報告する．

第2章 定量法

先ず本剤の定量法につき検討した．化学的定量法として，Simon¹²⁾ は dimethyl yellow と phenolphthalein による滴定方法，Otto Sackur¹³⁾ は酸による滴定法を報告しているが，之等は微量定量法に不適當である．M.C. Hunn¹⁴⁾ は Sp 溶液に Reinecke 塩を添加して水に難溶性の塩を作りこれを acetone に溶解した後 Spectrophotometer によつて測定しているが，感度の点で私の目的に不充分である．

第1図 硫酸 Sp の構造式



そこで私は Sp が有機塩基 (第1圖参照) である所より，有機塩基の定量法として Brodie & Udenfriend¹⁵⁾ が創案し，Dill & Glazko¹⁶⁾ が改良した Methylorange 法 (M·H·O 法と略) の本剤定量への應用適否につき検討した．

1) 試料及び試薬

Sp はメルク製の硫酸 Sp 結晶を蒸留水に溶解，濃度は硫酸塩として示した．石油エーテル (石エと略)，ethylene dichloride (e·d·c と略) は一級品を 1N 塩酸・10%・NaOH・蒸留水で夫々振盪洗滌後使用した．methylorange (m·h·o と略) 試薬は 0.5 mol 硼酸溶液に m·h·o を飽和後濾過し e·d·c で振盪洗滌後 e·d·c 上に貯える．硫酸アルコールは 98cc の無水のアルコールに 2 cc の濃硫酸 (特級) を徐々に混ざる．

2) 操 作

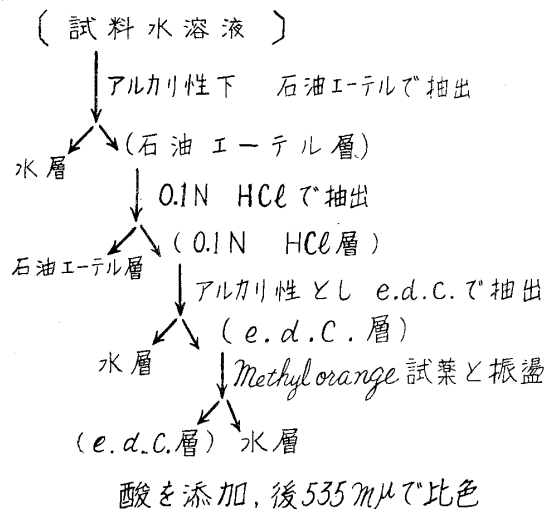
M·H·O 法の操作は第1表の如くである．

Sp 液を検体としてこの操作を行つた所他の 有機塩基と同様赤色に発色した．即ち Sp は M·H·O 法で定量が可能ではないかと考えられたので Sp 定量に最適な條件を求めるため次の実験を行つた．

3) e·d·c による Sp 抽出に対する至適 pH

Sp 25 γ を 0.1 N·HCl，pH 4・5・6・7・8・9 の緩衝液 (Na₂HPO₄・2H₂O·C₆H₈O₇・H₂O，KH₂PO₄·Na₂B₄O₇·10H₂O，0.1N・1N NaOH 溶液の夫々 5 cc に

第1表 Dill & Glazko による Methylorange 法



溶解させ、之に夫々 e.d.c 7 cc を加え共栓試験管で振盪 (10分・激しく) し、遠沈 (蓋付) 後透明な下層の e.d.c 層を 6 cc とり m.h.o 試薬 0.5 cc を加え振盪 (10分・激しく) 後遠沈 (蓋付) し下層 5 cc (絶対透明必要・上層部の混入不可) に硫酸アルコール 0.5 cc を加えて赤変せしめ Beckman DU Spectrophotometer を用い 535 mμ で吸光度を測定した。成績は第2表の如く私の用いた pH 範囲内では 0.1N ~ 1N NaOH アルカリ性下で抽出するのが適当と認められた。以下全て 0.1N NaOH 下で抽出を行った。

第2表 e.d.c による Sp 抽出に対する pH の影響

pH	吸光度
0.1N HCl	0.000
4	0.000
5	0.000
6	0.000
7	0.010
8	0.020
9	0.199
0.1N NaOH	0.394
1N NaOH	0.390

第3表 石エによる Sp 抽出に対する pH の影響

pH	吸光度
0.1N HCl	0.000
4	0.000
5	0.000
6	0.000
7	0.008
8	0.023
9	0.201
0.1N NaOH	0.392
1N NaOH	0.392

4) 石エによる Sp 抽出に対する至適 pH

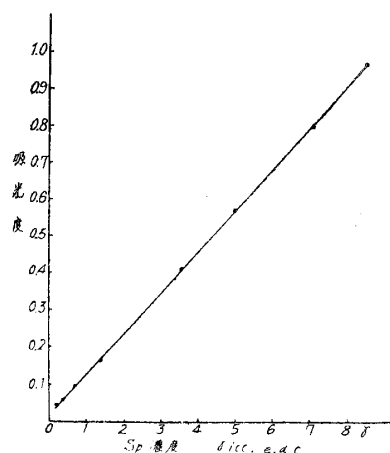
Sp 50 γ を含有する前項と同様溶液 5 cc に夫々石エ 25 cc を加えて振盪し (10分・激しく)、遠沈 (蓋付) 後上層 15 cc をとり 0.1N 塩酸 6 cc と振盪 (10分・激しく) し、遠沈 (蓋付) 後下層 5 cc に前項に得た知見に従い 1N NaOH 液 1 cc を加え、更に e.d.c 7 cc を加え、以後前項

と同一操作を行い吸光度を測定した。成績は第3表の如く、この pH 範囲では 0.1N ~ 1N NaOH アルカリ性下で抽出するのが適当と認められた。以下全て 0.1N NaOH 下で抽出を行った。又この成績から Sp を水に抽出するには 0.1N HCl で完全に行われる事も明らかである。

5) 水溶液中の Sp 定量法及び検量曲線の作製

以上の結果に基き種々な Sp 量を含む水溶液について Sp 定量を行った。即ち種々の量 (0・1・2・4・10・20・50・70・100・120・150 γ) を含む 0.1N NaOH を 5 cc ずつとり前項に記したと同一操作を行った後 535 mμ で吸光度を測定した。blank は e.d.c を用いた。結果は第2図の如く Sp 0.2 ~ 8.5 γ/cc e.d.c 範囲内では、濃度と吸光度の間には直線関係を示した。故にこれを検量曲線として Sp の定量を行い得る事が明らかである。8.5 γ/cc e.d.c 以上では吸光度は直線から外挿するのでこの様な場合は溶液を稀釋して行った。

第2図 Sp 検量曲線



6) 生物学的試料中の Sp 定量に対する本法の適否

生物学的試料中の Sp の定量に関して検討する為、正常白鼠の肝・腎・脾・脳・子宮・肺・腸 (小腸下部) ・心・筋を各々 1 g とり (1 g 未満は全量) homogenize し 1N NaOH 1 cc 及び水を加えて全量 4 cc とし、又人血 4 cc、人尿 1 cc に水を加えて 4 cc としたものを夫々 3 個ずつ用意し、内 2 個には夫々 Sp 10 γ/cc, 100 γ/cc 液 1 cc を加え残り 1 個には水 1 cc を加えた後、前述した定量法の操作を行って Sp を定量し其の再検出率を見た。検出率は 94 ~ 102 % であった。

1 ~ 5 γ の Sp につき再検出率を目標として Sp の最少確認量を求めた所 3 ~ 5 γ (臓器により異なる) であった。又尿に Sp を 200・300 γ 添加して再検出率を求め

たが 100・96%であつた。

然し M・H・O 反応は Sp にのみ特有でなく種々の有機塩基にも陽性反応を示す故、Sp が生体内で変化を受けても（代謝産物）有機塩基としての性質を有するならば定量値に之が含まれる恐れがある。然し後述（第3章1項）する如く本法で定量される物質は Sp のみなる事を確認した。尚上記の方法以外に別出子宮に対する作用を目標として生物学的定量値を求め化学的定量値と比較した所両者は略々平衡した（第3章2項参照）。

7) 小 括

Sp の水溶液より e・d・c での、又石エでの抽出は 0.1～1N NaOH アルカリ性下に於いて最適でこの条件下では 0.2γ/cc e・d・c まで定量可能である。又生物学的試料中の添加 Sp の再検出率は 94～102%であり其の試料中の最少確認量は 3～5 γ（臓器により異なる）である。正常生物学的試料中には本法による陽性反応物質は殆んど存在しなかつた。

即ちこの M・H・O 法で生物学的試料中の微量 Sp の定量が可能と考える。

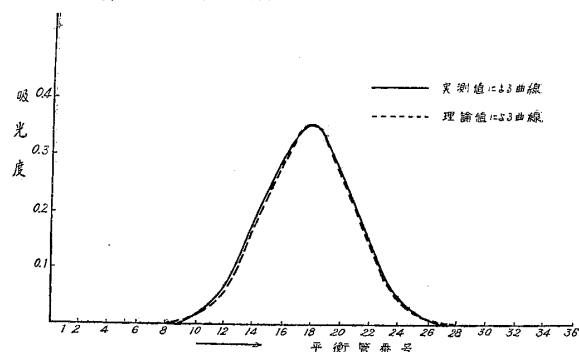
第3章 尿中排泄物質の検索

前述した如く有機塩基としての性質を有する様な Sp の代謝産物が存在するならば Sp の定量値に誤差を生ずる。よつて Sp 投與動物の尿につき M・H・O 反応陽性物質に関する質的検索を行つた。

1) 向流抽出法による実験

Sp 2mg/kg 筋注後の24時間尿（人）を用い前述の定量法に従い石エより塩酸、次に e・d・c へと M・H・O 反応陽性物質を抽出しこの抽出液を試料として36本の平衡管を用い基本法により向流抽出¹⁸⁾を行つた。溶媒は Sp の分配係数が 1.0である pH 9.4の緩衝液 ($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) と e・d・c とを用い同量の兩者を振盪後、2層に分離するのを待ち夫々を上層、下層として用いた。展

第3図 向流抽出法による分配曲線



開操作終了後各平衡管に 1N NaOH 液 1 ccずつを加え振盪後下層の e・d・c 層をとり m・h・o 試薬と振盪し前述の方法により吸光度を測定した。結果は第3圖に示す如く実測及び理論の兩分配曲線はよく一致した。又 Sp 自身の曲線もこれと一致した。一方 Sp を人尿中に投入後24時間放置して其の Sp 回収率を求めたが値は 98%で、これにより尿の放置は定量に影響が無い事が明らかである。以上の結果 Sp 投與後尿中出现する M・H・O 法陽性反応物質は未変化で排泄された Sp 自身のみであり、又 M・H・O 反応陽性を示す如き代謝産物の存在しない事も明らかである。

2) 結合型の検索

Sp 筋注後6時間までの尿（人）5 ccに濃塩酸 1 ccを加え 100°C40分煮沸の場合及び同一尿について、この操作を行わない場合とにつき M・H・O 法により定量し兩者の値を比較した所第4表の如く差を認めなかつた。又上記の操作の Sp 定量に対する影響を検したが何ら影響されなかつた。

即ちかかる条件で加水分解され M・H・O 反応陽性型に変わる結合型の存在は認められない。

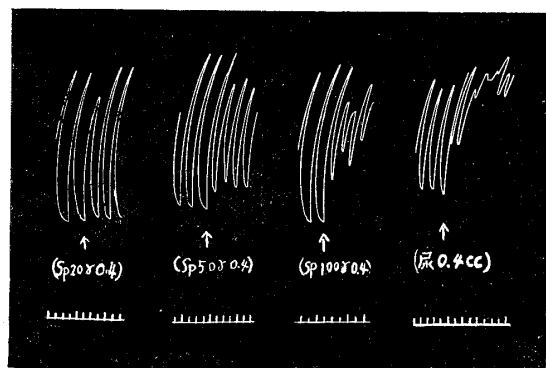
第4表 加水分解前後の定量値（γ）

操作	Sp 注射後尿		
	1	2	3
無 処 置	116	230	152
HCl 添加 100°C40分	117	230	150

3) 生物学的定量による検索

Sp の子宮収縮作用を應用して Sp 投與後の尿につき生物学的定量を行い、同時に化学定量も行つた。経産非妊娠雌性マウスの別出子宮を用い Magnus 法により、20 ccの浴槽と Tyrode 氏液を用いた。対照実験として各種濃度の Sp 液をアルカリ性下で石エで抽出し、この抽出液から石エを溜去した残渣を Tyrode 氏液 1 ccに溶解した後 0.4ccを浴槽に添加しその際の収縮を種々の Sp 濃度に汎り求め以下の基準とした。同時に Sp 100mgを筋注1時間後の人尿につき上記と同様の操作を行いその抽出物について同じく子宮収縮を描記せしめ先に得た既知量の Sp についての結果と比較し尿中 Sp 量を求めた。又同一尿につき M・H・O 法で Sp 量を求め、これと生物学的定量値と比較した。第4圖の如く尿中排泄物質は子宮収縮作用を有し、しかも本生物学的定量値は 100

第4図 Sp 投与人体尿中物質の子宮収縮作用



γ Sp よりやや大であり、一方 M・H・O 法による値は 123γ で両者は略々一致した。

4) 小括

Sp 投與後の尿に排泄される M・H・O 法陽性反応物質は未変化の Sp 自身のみなる事が向流抽出法による検索で明らかとなった。生物学的定量値と M・H・O 法による値と略々一致した。又 M・H・O 法に陽性を示す様な代謝産物及び Sp の結晶型の存在は認められなかった。

第4章 Sp の尿中・胆汁中排泄、血中濃度及び体内分布実験

薬物の生体内に於ける推移を追跡する事は其の薬物の薬理学的作用機序を知る爲に必要な事は言をまたない。茲に於いて前章の知見に従い本定量法を用いて実験を行った。

1) 実験材料並びに方法

実験は白鼠 (130~220g・非妊雌性) と人体 (産褥婦) について行った。Sp は種々の量を筋注 (白鼠は右側腰部筋肉・人体は右側上膊) 或は経口投與 (白鼠はネラトン氏カテーテルにて胃内に注入・人体は Sp 結晶を内服) した。

尿中排泄実験は白鼠を実験前12時間絶食せしめ実験開始2時間前より菜葉を與えて尿量を増し、直接カテーテルによる採尿が不可能な爲 Sp 投與後 1・2・3・4・5・6・24時間後の自然排泄尿を受け、全量を定量に用いた。人体も上と同時間後に採尿し (但し 6~24時間は蓄尿) 夫々の尿 1cc ずつを定量に用い、この値から全排泄量を算出した。

胆汁中排泄実験はウレタン麻酔を施した白鼠に Sp を筋注し直ちに開腹し輸胆管にカテーテルを挿入して胆汁を受器に受けこれを定量に用いた。

血中濃度は人体に筋注 (2mg/kg) 後30分・1・2・3時間目に、経口投與 (6mg/kg) は 1・3・6時間目

に 5cc (肘静脈) 採血し、全血を定量に用いた。

体内分布実験は Sp を白鼠に投與した後 1・3・6時間目に (経口投與は 1時間のみ) 殺し (断頭) 速かに各臓器 1g (1g 未満は全量) をとり直ちに寒剤で冷却し、冷却しつゝ homogenize し蒸留水を加えて 5cc とした後含有 Sp 量を定量した。腸内容は排除した。各実験群は 5例ずつ行い、1g 未満の臓器はその含有量から臓器 1g の分布量を換算した。

1) 尿中排泄

a) 白鼠に於ける 2mg/kg 筋注実験

第5表の如く 1時間で最も大量排泄され、24時間以内に投與量の 36~40% (平均 39.2%) が排泄された。

第5表 白鼠尿中排泄 (2mg/kg 筋注)

例数	1	2	3	4	5	
体重・注射量	200:400	193:386	137:240	211:422	139:278	
時間	尿量	排泄量	尿量	排泄量	尿量	排泄量
1	2.9	51	2.4	95	0.7	39
2	1.3	23	1.1	26	3.56	13
3	4.0	18	0.8	7	0.62	5
4	1.3	12	1.2	35	2.5	10
5	1.6	5	0.9	25	1.2	5
6	0.8	3	0.78	2	0.8	2.5
24	5	52	9.28	21	6.6	13
排泄量合計	164	157	87.5	170.5	105.5	(8)
排泄率	41%	40.7%	36%	40.4%	37.9%	平均 39.2%

体重 g, 排泄量 γ, 尿量 cc, 注射量 γ

第6表 白鼠尿中排泄 (20mg/kg 筋注)

例数	1	2	3	4	5	
体重・注射量	248:4.96	209:4.18	206:4.12	225:4.50	214:4.28	
時間	尿量	排泄量	尿量	排泄量	尿量	排泄量
1	1.2	212	1.3	201	0.9	336
2	0.8	251	1.2	240	1.3	323
3	0.9	385	0.8	341	1.5	314
4	0.4	299	0.7	303	0.5	297
5	0.6	190	1.3	144	0.7	132
6	0.7	33	2.1	15	0.7	215
24	4.9	224	7.5	171	5.8	208
排泄量合計	1594	1415	1631.5	1898	1755.5	
排泄率%	32.1	32.9	39.6	42.1	41	平均 37.5

体重 g, 排泄量 γ, 注射量 mg, 尿量 cc

b) 白鼠に於ける 20mg/kg 筋注実験

第6表の如く筋注後 3時間目に最も大量排泄され、24時間以内に投與量の 32~41% (平均 37.5%) が排泄された。

c) 人体 2mg/kg 筋注実験

第7表の如く筋注後 2時間目に最も大量排泄され、24時間以内に投與量の 30.4~50.6% (平均 42.3%) が排泄

昭和33年11月1日

廉 林

1569—27

第7表 人体尿中排泄 (2 mg/kg 筋注)

例数	1	2	3	4	5	
体重:注射量	56:112	48:96	42:84	41:82	47.5:89	
時間	尿量	排泄量	尿量	排泄量	尿量	排泄量
1	124	8.960	31	4.092	62	7.006
2	40	6.680	17.5	7.280	43	7.224
3	34	7.378	16.5	6.171	38	6.892
4	88	6.512	16	4.192	43	5.349
5	143	27.17	23.5	3.312	33	4.323
6	120	14.40	29.5	3.186	47	3.196
24	2800	16.800	1367	11.986	544	7.516
排泄量合計	49.58		40.219		42.506	
排泄率	44.2%		41.8%		50.6%	

体重kg, 注射量mg, 尿量cc, 排泄量mg

された。

d) 白鼠に於ける経口投與実験 (20mg/kg)

第8表の如く内服後1時間目に最も大量排泄され、24時間以内に投與量の7~21% (平均12.9%) が排泄された。24時間以後の尿には全く排泄されなかつた。

第8表 白鼠尿中排泄 (20mg/kg 経口投与)

例数	1	2	3	4	5	
体重:注射量	120:2.4	100:1.8*	150:3.0	109:2.18	117:2.34	
時間	尿量	排泄量	尿量	排泄量	尿量	排泄量
1	0.5	152	1.2	41	1.8	63
2	0.9	88	3.8	48.6	1.0	10
3	2.0	76	3.9	18.5	0.7	17.5
4	3.0	42	1.8	20	1.2	5
5	1.8	57	0.7	13	2.2	4
6	3.0	25	1.2	13	1.4	11
24	7.3	64	6.5	37.5	8.8	100
排泄量合計	50.4		191.6		210.5	
排泄率	21%		10.6%		7%	

体重g, 投与量mg, 尿量cc, 排泄量γ

*印 こぼれる

e) 人体に於ける経口投與実験 (6 mg/kg)

第9表の如く投與後4時間目に最も大量排泄され、24

第9表 人体尿中排泄 (6 mg/kg 経口投与)

例数	1	2	3	4	5	
体重:注射量	45:270	48:290	53:320	44:264	45:270	
時間	尿量	排泄量	尿量	排泄量	尿量	排泄量
1	27	3.12	39	9.01	68	1.56
2	60	13.68	43	9.55	30	6.99
3	31	16.19	51	28.10	42	16.84
4	88	18.39	98	23.91	50	21.15
5	25	20.93	33	13.27	53	20.67
6	59	14.50	27	5.71	28	15.87
24	1240	28.52	850	10.20	1314	26.28
排泄量合計	115.33		99.75		110.36	
排泄率	42.7%		34.3%		34.4%	

体重kg, 投与量mg, 尿量cc, 排泄量mg

時間以内に投與量の34.3~42.7% (平均38.8%) が排泄された。

2) 胆汁中排泄

白鼠にSpを筋注 (2mg/kg) して実験した所、注射後約6時間までの胆汁中には殆んど認めなかつた。一方胆汁中のSp回収率は100%であつた。

3) 人体血中濃度

第10表の如く筋注 (2 mg/kg) 時は約1時間後に於て濃度は最高 (平均 1.2 γ/cc 程度) となり、経口投與時は平均3時間後に於て最高濃度 (平均1.38 γ/cc) となり以後漸減した。

第10表 人体血中濃度 (γ/cc 血液)

	筋注 2mg/kg					経口投与 6mg/kg				
例数	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
体重	505	40	43	45	349	45	48	51	49	50.5
時間	101	80	36	91	98	270	240	306	294	303
30分	1.4	(0.6)	0.8	(0.7)	1.2	0.94				
1時間	1.7	(0.6)	1.0	(0.6)	1.2	1.2	1.2	1.0	1.4	0.8
2	1.6	(0.5)	(0.6)	0.8	0.9	0.88				
3		(0.4)	(0.4)	(0.5)	0.8	(0.52)	1.6	1.4	1.5	1.3
4										
6							0.8	(0.6)	0.9	0.9

SP 0.8 γ/cc. 血液. 以下の値は正確を欠くので()を附した。

注射量mg, 体重kg

4) 白鼠諸臓器内に於ける分布

Spは筋注 (2 mg/kg・20mg/kg) 或は経口投與 (20mg/kg) した。

a) 2 mg/kg筋注による実験

第11表の如く筋注後1時間で子宮に M・H・O 反應物質 (Sp) が高濃度に分布し、3時間後では腎臓に高濃度分布した。

第11表 (Sp) の白鼠諸臓器内分布

時間	1					3					6				
例数	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
体重	220	180	150	205	135	170	220	205	185	200	195	160	215	210	150
血液(cc.)	(1.2)	(0.82)	(0.7)	(1)	(0.9)	±	±	±	±	±	0	0	0	0	0
肝	6	4.8	(2.5)	5.2	6.5	5	±	(2)	(2.5)	(3.0)	(2.2)	(2.2)	0	0	0
腎	8	7	6	5.5	5.5	6.5	4	7	6.5	7.5	5	6	0	0	±
脾	(3.8)	4.8	5	4	4.5	4.4	0	±	0	0	0	±	0	0	0
脳	7.1	(2.9)	(1.5)	3	(2.5)	(2.0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
子宮	22	24	3.5	18	.8	21	(3.5)	(2.5)	(2)	(2.9)	(3.1)	(2.8)	±	±	±
肺	9	6.4	(3.5)	5	4.5	5.7	0	±	0	0	0	0	0	0	0
腸(小腸)	9	7	5.5	6	5	6.5	±	0	±	(2.5)	±	±	0	0	0
心	10	5	4.1	5.6	(3.5)	5.8	±	±	±	(2.2)	±	±	0	0	±
筋肉	5.5	(3)	4	(3.5)	(2)	(3.6)	0	0	0	0	0	0	0	0	0

最も濃度より以下の値には()を附した。又血液以外2γ以下は±とした。

(2 mg/kg筋注) 体重g, 濃度γ

第12表 (Sp) の白鼠諸臓器内分布

時間	1					3					6							
例數	1	2	3	4	5	平均	1	2	3	4	5	平均	1	2	3	4	5	平均
體重	180	200	185	165	170	180	135	185	175	170	155	155	155	160	180	185	160	160
血液(cc)	1.0	1.2	2.0	1.6	1.8	1.3	1.2	0.8	1.1	(0.6)	(0.6)	0.8	±	(0.6)	(0.5)	±	±	±
肝	8.0	8.5	7.3	8.2	9.0	8.4	7	8	6.7	7.6	7.2	7.3	4.0	3.2	4.5	3.2	3	3.6
腎	20.5	27.7	30.6	33.5	22.6	27	21.1	30.1	27.3	29.7	18.8	25.4	±	5.6	10	8.8	7.3	7.6
脾	6	10.8		8.0	6.7	7.9	6.6	8.4	7.6	7	4.4	6.8	±	±	(3)	(2.3)	±	(1.9)
肺	6.8	7	6.6	7.8	8.2	7.3	3.9	3.3	5	4.7	4.6	4.3	±	±	±	(2)	±	±
子宮	35	36	30	29	29	32	6.5	12	22.3	13.1	10.1	14.8	(4.9)	(3.5)	(3.5)	5.9	7.2	5.4
心	15	14.5	12.8	9	8.7	12	8.2	11.3	7.4	10.4	9.1	9.3	(5)	(2.7)	±	(2.5)	4.1	(2.9)
腸(小腸)	16.5	13.5	14.3	13.5	7.9	12	8	9.8	11	8.8	5.5	8.9	(3.1)	(3)	(2.3)	(2.5)	(3.2)	(2.8)
心	8.5	8.7	10.4	11.5	11	10	7	7.3	12	9.1	5.9	8.4	(2.5)	(3)	(2.2)	(3.7)	4	(3.1)
肌肉	4.8	(3.6)	4.2	3.6	8	5.2	6.0	4	5	5.6	7	5.3	(2)	±	±	±	±	±

最小値は10cc以下の値には()を附し、血液は2g以下を±とした。

(20mg/kg筋注) 体重g, 濃度γ

b) 20mg/kg筋注による実験

第12表の如く筋注後1時間で子宮に高濃度に分布し、3時間後では子宮より腎臓に高濃度であった。

c) 20mg/kg経口投与による実験

第13表の如く内服後1時間では腸、子宮の順に高濃度であった。

第13表 白鼠諸臓器内分布濃度 (20mg/kg 経口投与, 1時間後)

例	体重	血液	肝	腎	脾	肺	子宮	腸	心	筋肉
1	175	1.3	5.8	10.2	6.2	6.0	20.2	8.3	23.0	8.0 (1.3)
2	195	1.4	8.4	9.4	4.0	4.2	16.1	6.3	18.8	8.5 (1.2)
3	140	0.8	6.0	8.3	3.7	5.3	14.3	8.0	16.5	5.9 (1.0)
4	200	(0.6)	7.5	12.2	5.8	5.4	19.1	7.9	21.0	7.5 (2.2)
5	160	1.0	7.2	14.0	4.8	3.1	18.0	5.0	20.3	7.2 (3.0)
平均		1.0	6.9	10.8	4.9	4.8	17.6	7.1	19.9	7.0 (1.7)

値はγ単位

5) 小括

尿中への排泄は、筋注時は白鼠・人体とも24時間以内に投与量の約40%, 経口投与時は白鼠では約12.9%, 人体では約38.8%が排泄され、最高の排泄時間は2mg/kg筋注時は白鼠・人体夫々投与後1・2時間目、20mg/kg筋注時は白鼠では3時間目であった。経口投与時は白鼠では1時間目、人体は4時間目が最高であった。

胆汁中へは、白鼠では筋注後6時間迄は殆んど排泄を見なかつた。

人体血中濃度は、筋注時・経口投与時夫々1・3時間目に最高値を示したが、2γ/cc以下であった。

白鼠諸臓器内分布実験では筋注時(2・20mg/kg)臓器内のM・H・O反応陽性物質(Sp)濃度は1時間目に最も高く、特に子宮には他臓器に比し圧倒的に高濃度に分布した。3時間後にはむしろ子宮より腎臓に高かつた。2mg/kg筋注3時間後には子宮・肝・腎・心・腸に、

6時間後には子宮に痕跡的にのみ検出されたが、20mg/kg筋注時は6時間後にも全臓器に検出された。経口投与では腸・子宮・腎の順に高く検出された。

第5章 不活性化実験

Sp注射時の尿中排泄量は投与量の約40%であり、又臓器の分布濃度が注射後3時間で激減する所よりSpは体内に於てM・H・O反応陰性物質となると推測される。これに関する臓器を知る爲種々の臓器を用い実験をin vitroで行つた。

1) 実験材料及び方法

白鼠(約200g)と家兎(約2kg)の雌性非妊のものを各5例ずつ用いた。

方法は白鼠(断頭)家兎(両側頸動脈切斷)を殺し1cc採血後、直ちに各臓器1g(1g未滿は全量)を剔出し血液を濾紙で拭い去り、寒剤で冷却し乍らslice又はminceとし浮游液(Krebs Ringer)5ccと共に共栓付の50ccのフラスコに入れ、一定量のSp液を添加後燐酸塩緩衝液でpHを補正し恒温槽(37.5°C)で一定時間振盪(毎分約100回)した。其の後直ちに15分間煮沸して酵素作用を阻止し浮游液と共にhomogenizeしM・H・O法にて残余Sp量を定量した。

生物学的定量は家兎各臓器2gをsliceとしSp液200γを添加してincubate後アルカリ性下で50ccの石エで抽出し、其の石エ抽出液40ccを取り其の内15ccをM・H・O法で定量し、残りの25ccで生物学的定量(第3章3項と同一方法)を行つた。特別な方法は其の項で述べる。

2) 諸臓器による不活性化実験

各臓器をsliceとして実験を行つた。

a) M・H・O法による実験結果

第14表の如く白鼠・家兎各臓器中全例に於いて肝臓とincubateした場合にのみ残余Sp量が著明(添加量の

第14表 白鼠・家兎の諸臓器による不活性化残余量(γ)を示す。

	血液 T.C.C	心	肺	肝	脾	腎	小腸	子宮	筋	脳	
白 鼠	1	101	100	104	62	103	103	104	102	99	98
	2	103	93	99	71	100	94	104	101	102	100
	3	100	98	101	51	98	99	97	98	100	101
	4	98	99	101	53	98	100	99	100	100	99
	5	100	101	100	51	100	101	98	102	99	96
家 兔	1	105	101	105	38	101	99	95	106	100	100
	2	103	98	101	50	98	100	97	102	101	102
	3	100	98	98	44	101	96	102	101	103	95
	4	100	102	102	32	100	98	100	100	99	99
	5	99	100	100	52	100	96	101	101	100	102

100γ Sp/組織 slice 1g 添加DH 7.0

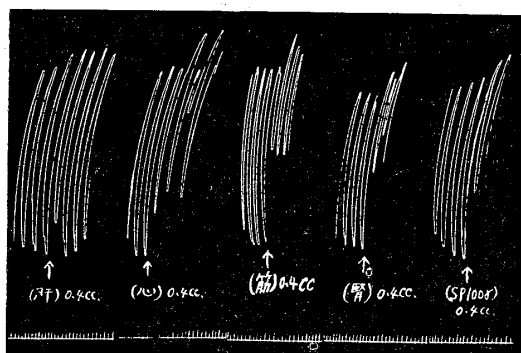
37.5°C 1時間 incubate

約40~70%)に減少した。他臓器では殆んど減少を認めなかった。然し肝 slice を60°C15分加熱すると其の作用は消失した。

b) 生物学的定量法による実験結果

第5圖の如く(主な臓器のみ)肝 slice で処置後の抽出液は殆んど子宮収縮を示さないが他臓器処置では子宮収縮を認めた。

第5圖 slice 臓器処置後の生物学的作用



以上の結果 Sp は肝臓で著明に不活性化され、生理作用並びに M・H・O 反応性が消失するものと考えられる。

3) 不活性化に対する種々の条件

肝組織による不活性化の条件を調べた。

a) slice 及び mince の比較

白鼠・家兎の肝臓1gずつを slice 或は mince とし Sp 100 γ 添加後 pH を 7.0 に補正し、前述の方法により実験した。結果は第15表の如く白鼠・家兎共に slice では60~30%, mince では30~25% Sp を不活性化した。故に以下全て slice として行つた。

第15表 肝臓の Sp 不活性化能と slice 法、mince 法との関係

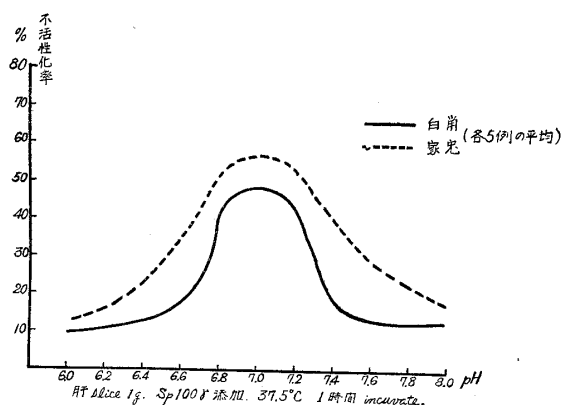
	例	slice	mince		例	slice	mince
白鼠	1	40	17	家兎	1	55	27
	2	49	25		2	54	30
	3	32	19		3	50	33
	4	45	20		4	63	32
	5	47	28		5	61	25

不活性化量 (γ) を示す, Sp 100 γ 添加, 37.5°C 1時間 incubate

b) pH による影響

白鼠・家兎の各肝 slice 1g ずつの浮游液 5cc に Sp 100 γ 添加し pH を 6.0~8.0 (磷酸塩緩衝液) の各段階に補正し 37.5°C で 1 時間 incubate 後残余 Sp 量を定量

第6圖 白鼠, 家兎肝 slice の Sp 不活性化への pH の影響

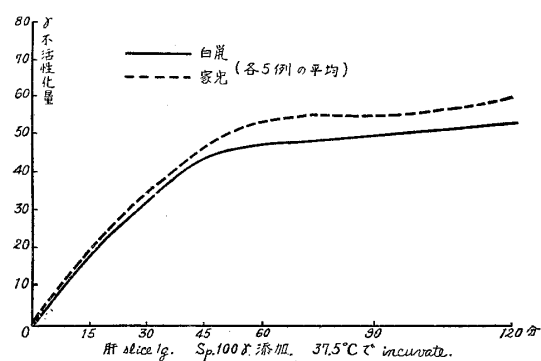


した。結果は第6圖の如く白鼠・家兎共に pH 7.0 で著明であった。故に以下全て pH 7.0 に補正して行つた。

c) 不活性化と反応時間との関係

白鼠・家兎の各肝 slice 1g ずつの浮游液 5cc に Sp 100 γ 添加後 pH を補正して, incubate しながら 15~30 分毎に 1 個ずつ取り出し残余 Sp 量を定量した。結果は第7圖の如く白鼠・家兎夫々50分前後まで不活性化が略々直線的に進むが其れ以後の進行は徐々である。

第7圖 白鼠, 家兎肝 slice の Sp 不活性化能と時間的關係



d) 肝臓量と Sp 量との関係

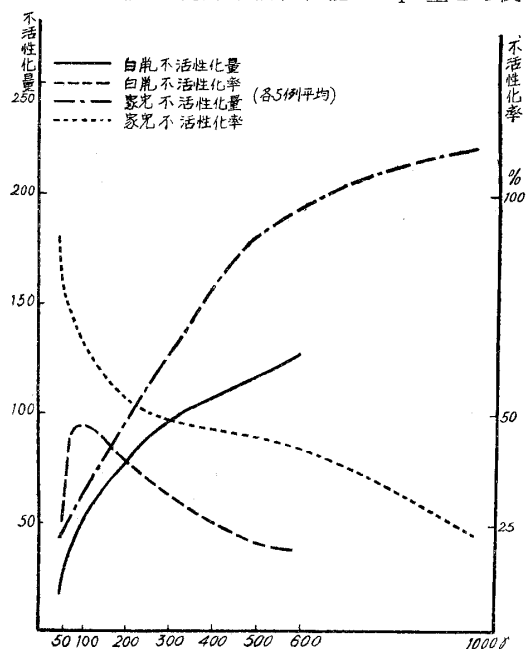
i) 不活性化能と Sp 量との関係

肝臓量を 1g とし添加 Sp 量を 50~1000 γ まで種々に変じて実験 (37.5°C・1時間) を行つた所第8圖の如く白鼠・家兎夫々添加 Sp 量が 200・500 γ 位までは直線的に Sp 消失量は上昇するが、これより大量の添加時は不活性化量はあまり増加しない。

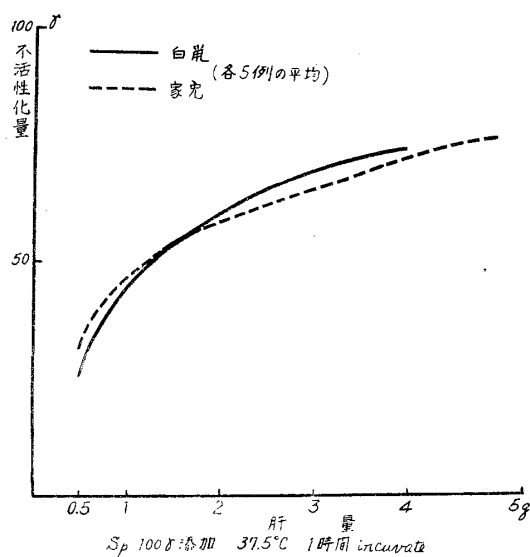
ii) 不活性化能と肝 slice 量との関係

添加 Sp 量を 100 γ とし肝 slice を 0.5~5 g まで種々に変化して実験を行つた所第9圖の如く白鼠・家兎共

第8図 白鼠, 家兎肝不活性化能と Sp 量との関係



第9図 白鼠, 家兎肝 slice 量と不活性化能との関係



に肝量 2 g まで Sp 消失量は急に増加するが其れ以上では緩徐に増加した。

4) 肝 slice の不活性化に対する諸物質の影響

Sp の不活性化は肝組織中の酵素活性によると考えられるのでこれに対する諸物質の影響を調べた。家兎の肝 slice 1 g 浮游液 5 cc に Sp 100 γ 及び各種の物質を加えたものと、対照として諸物質の無添加のものを同時に incubate (pH 7.0・37.5°C 1 時間) し残余 Sp 量を求め

た。通気実験ではガスをフラスコの浮游液中に泡立つ程に充分通じた後栓をして行つた。酸素ガスは酸素ボンベより石炭ガスはガス管より浄水中を通し、窒素ガスは 32 %ピロガロール溶液と同量の 5 %KOH 溶液の混合液中を空気を通して酸素と炭酸ガスを除き窒素ガスのみを取った。

結果は第16表の如くハイドロキノン・硫化水素・青酸カリ等が最も著明に不活性化を抑制した。窒素ガス・石炭ガス等は軽度に抑制した。他は極軽度に抑制するか或は殆んど抑制しなかつた。又酸素ガスにより不活性化は約70%促進されたが過酸化水素(約0.05 mol)では影響がなかつた。

第16表 諸物質の家兎肝臓の Sp 不活性化に対する影響

Sp 100 γ 添加

(添加物)	濃度 mol	例数	Spの不活性化量γ
無添加		12	54~62
モノヨード醋酸	10^{-2}	2	56~60
	10^{-3}	3	56~63
青酸カリ	2×10^{-2}	3	30~38
	10^{-3}	3	33~39
硫化マグネシウム	10^{-2}	3	58~60
弗化ソーダ	2×10^{-2}	3	54~58
	10^{-2}	3	55~64
硫化水素	2×10^{-3}	3	22~32
ウレタン	10^{-1}	2	50~60
	10^{-2}	3	52~62
アスコルビン酸	(50 mg)	3	51~57
	(100 mg)	2	48~58
メタノール	約 10^{-3}	3	52~62
ハイドロキノン	10^{-2}	2	0~2
	10^{-3}	3	8~12
硫酸銅	2×10^{-2}	3	55~60
過酸化水素	約 0.05	2	58~64
石炭ガス		3	47~52
窒素ガス		3	40~50
酸素ガス		3	73~78

5) 小括

Sp の不活性化実験の結果 Sp は肝臓で著明に不活性化され其の作用は mince より slice の方が強い事が明らかとなつた。然し slice でも加熱により其の作用は消失した。不活性化の至適 pH は 7.0 で白鼠・家兎夫々反応初期の約 50 分まで不活性化は急激に進行し其れ以後は徐々にあつた。肝臓の不活性化能と Sp 量との関係では肝量 1 g に対する不活性化率は添加 Sp 量が白鼠では 100 γ 前後で高く、Sp 量が其れ以上では低下した。家兎では

不活性化率は Sp 量の増加につれて低下した。肝量と不活性化能との関係では白鼠・家兎共に肝量 2 g までは Sp の不活性化量は急に増加するがそれ以上肝量が増加しても不活性化量は著変しない。又この不活性化作用はハイドロキノン・硫化水素・青酸カリ等により著明に又嫌気条件下では軽度に抑制され、反対に酸素により促進された。

第6章 総括並びに考按

以上の結果を総括考按するに、Sp の定量法に関しては Simon¹²⁾, Otto Sackur¹³⁾ 等の報告があるがこれ等はどれも感度の点で Sp の微量、特に生物学的試料中の微量には應用出来ない。故に私は Sp が有機塩基の一種である事に着目し、有機塩基の微量定量法である Dill & Glazko の M·H·O 法が Sp の定量に應用可能である事を確認しその定量条件を定めた。即ち Sp の水溶液から e·d·c へ、又水溶液から石エへの轉溶は 0.1N~1 N NaOH アルカリ性下で行うのが最適であり、又 Sp は略々 0.2γ/cc e·d·c まで定量可能である。生物学的試料(血・尿・心・肝・脾・脳・子宮・筋肉・腎)中に添加された Sp も殆んど完全に再検出された。又その最少確認量は 3~5 γ/1 g 臓器・0.8 γ/cc 血液であつた。Sp 投與後の尿についての向流抽出法による代謝産物の検索の結果から該尿中には本法で陽性反應を示す様な Sp の代謝産物が存在しない事が明らかとなつた。又同一尿の生物学的検索の結果から本尿中の物質には子宮收縮亢進作用が存在する事を明らかにした。又他方結合 Sp の存在も否定された。

尿中排泄実験では Sp 筋注時は白鼠(2 mg・20mg/kg)・人体(2 mg/kg)共に投與量の平均40%, 経口投與時は白鼠(20mg/kg)・人体(6 mg/kg) 夫々平均12%・39%が24時間尿に未変化で排泄された。最高排泄時間は、2 mg/kg筋注時は白鼠・人体夫々注射後1・2時間目、20 mg/kg筋注時は白鼠では3時間目であつた。経口投與時は白鼠・人体夫々1・4時間目であつた。又胆汁中には注射後6時間までは殆んど排泄されなかつた。

血中濃度に関する人体での成績では、2 mg/kg 筋注時は30分・1・2時間後で夫々平均0.94・1.2・0.88 γ/cc, 3時間後では0.8 γ/cc以下となつた。6 mg/kg内服の場合、1・3・6時間後に於ては夫々平均1.1・1.38・0.84 γ/ccであつた。即ち経口投與時は筋注時に比し徐々に高濃度となり又減少も筋注に比し緩徐であつた。

臓器内分布実験では、白鼠筋注の場合は2・20mg/kg 何れの場合にも1時間後に最高濃度がみられ、特に子宮

には他臓器に比し圧倒的に高濃度に分布し次いで腎・心・腸・肺に稍々高濃度に分布した。3時間後では反対に腎臓に於いて他臓器に比し高濃度分布するのが見られたが、これは本剤の排泄経過に関係あるものと考える。6時間後は20mg/kg 筋注時に於いては尚全臓器に検出されたが、2 mg/kg 筋注の場合は子宮にのみ痕跡的に検出したに過ぎなかつた。経口投與では腸に次いで子宮に高濃度に検出した。此の様に Sp は其の適用方法或は量の如何によらず子宮に高濃度に分布するものであり、之は本剤の薬理作用との関連に於いて興味深い。

次に Sp の不活性化の実験を白鼠・家兎の諸臓器を slice として in vitro で行つた。其の結果肝 slice で著明に不活性化が行われる事が生物学的並びに化学的測定により確認された。又本不活性化は肝 slice を60°C15分加熱する事により消失し、一方 pH 7.0で著明でこれより酸性又はアルカリ性側では本作用は急激に減少した。更に不活性化の時間的経過としては白鼠・家兎では約50分までは不活性化量が急増し、又肝量1 g に対して白鼠・家兎夫々添加 Sp 量が200・500 γ位までは不活性化は急増した。

又本不活性化作用に対しハイドロキノン、硫化水素、青酸カリ等は抑制的に作用し、嫌氣的条件下でもやや抑制された。一方酸素により促進された。

第7章 結 論

1) Dill & Glazko の Methylorange 法にて生物学的試料中の微量 Spartein の定量が可能である事を明らかにし又其の至適条件を求めた。

2) Spartein 投与後の尿中には未変化の Spartein 以外には Methylorange 法に陽性を示す様な又子宮收縮を惹起する様な Spartein 代謝産物は存在しなかつた。

3) Spartein 筋注時は白鼠・人体(産褥婦)では24時間尿に投与量の略々40%, 経口投与では白鼠・人体(産褥婦)夫々略々12%・39%が排泄された。

4) 白鼠胆汁には殆んど Spartein は排泄されなかつた。

5) 人体(産褥婦)血中濃度は筋注時・経口投与時前者では1時間、後者では3時間後に最高値を示した。

6) Spartein は子宮に圧倒的に高濃度に分布し

心臓・腸・肺臓にも比較的高濃度に分布した。

7) Sparteine は肝組織により不活性化された。

特に肝 slice で著明であつた。

8) 本不活性化作用は加熱により消失し又2～3の還元剤及び嫌気条件下で阻害された。

稿を終るに臨み恩師藤森教授の御懇篤なる御指導と御校閲に深謝すると共に、御教示を戴いた本学薬理学教室上田教授及び御助言を賜った吉川正治博士並びに本学化学研究室佐々木助教授に感謝の意を表します。

尚本論文の要旨は第12回・14回近畿婦人科学会総会及び第8回日産婦総会に発表した。

備考：本論文の第2編，臨床的研究（Sparteine 剤の内服臨床成績について）は産婦人科の進歩10巻6号（昭33年）に掲載の予定。

参考文献

1) *Stenhouse*: 論文8より引用。—2) *J. Fich*: Arch.

f. Path. u. Pharm., 1 : 397, (1873). —3) *H. Dreser*: Arch. f. Path. u. Pharm., 24 : 221, (1888). —4) *K. Hürthle*: Arch. f. Path. u. Pharm., 30: 141, (1892). —5) *A.R. Cushny, S.A. Matthews*: Arch. f. Path. u. Pharm., 35 : 129, (1894). —6) 岡本: 近畿婦会報, 3, 5 : 151, (大6). —7) 原: 近畿婦会誌, 3, 6 : 188, (大7). —8) *Kleine*: Kl. Wochenschrift, 1 : 360, (1939). —9) 永田: スパチーム文献集（藤沢薬品）, 1, 5. —10) 久永: 福岡医学誌, 40 : 2, 89, (昭24). —11) 木原: 日婦会誌, 44 : 3, 87, (昭24). —12) *Simon*: Chemical abst., 47 : 83, 17, b, (1953). —13) *Otto Sackur*: Chemical abst., 43 : 6542, c, (1949). —14) *M. C. Hunn*: Chemical abst., 48 : 6077, c, (1954). —15) *Brodie & Udenfriend*: J. Biol. Chem., 158: 705, (1945). —16) *Dill & Glazko*: J. Biol. Chem., 179: 395, (1949). —17) 大谷, 象平他: 標準生化学実験。—18) *B. Baldwin*: Dynamic Aspects of Biochemistry.

(No. 851 昭33・6・6受付)