



1965 No. 4

(通巻第38号)

CHEMICAL TIMES

目 次

(通巻ページ)

工業分析化学随説(X)	東北大学教授 理学博士	加藤多喜雄	630
溶媒抽出法における溶媒	東北大学助教授 理学博士	武井信典	
高血圧症の医学知識(II)	関東週信病院長	佐々貫之	633
血清 Transaminase 活性測定キット	札幌医科大学附属病院中央検査部 生化学部門主任 助教授 理学博士	佐々木禎一	635
「ESGOT」の使用経験について	医学博士・技師	木田孝	
アクチノマイシンDの化学と生物学(I)	山形大学助教授 理学博士	菅原清美	639
薬物代謝(II)	科学警察研究所警察庁技官 化学研究室 医学博士	中沢信午	642
茶の間のお菊さん	昭和大学病院歯科医長 医学博士	丹羽口徹吉	643
		園江稔	

KANTO CHEMICAL CO., INC.

工業分析化学随説 (X)

溶媒抽出法における溶媒 (1)

東北大学教授 理学博士 加 藤 多喜雄
東北大学助教授 理学博士 武 井 信 典

周知の如く溶媒抽出法は分析化学の分野においては主として種々の金属イオンの分離ならびに定量のための有力な手段の一つとして極めて広い範囲にわたって利用されており、また、工業的には例えば原子力利用の分野において燃料用ウランその他の精製、あるいは使用済燃料の再処理等の面において盛んに利用されている。このように溶媒抽出法が非常に利用度の高い方法の一つであるためにこの方面における研究は極めて活発に行なわれており、分離或いは定量に有用な新しい抽出剤が次々に発見され、また、抽出反応機構についてもより詳細な検討が続けられている。その一例として既に本随説IIにおいてジチゾンおよびその誘導体について、III, IV, V, VIにおいて有機リン化合物について、またVII, VIII, IXにおいて抽出反応における協同効果について紹介した。これに引き続いて本稿では溶媒抽出法において欠くことの出来ない溶媒について現在までに知られていることについて紹介する。

I 溶媒抽出法の分類

話を進めてゆく必要上最初に溶媒抽出法の分類について簡単に触れておくことにする。

一般に、有機溶媒を用いて陽イオンあるいは陰イオンを水相から抽出するためには陽イオンあるいは陰イオンを含む電荷零の化学種の生成が必要となる。このような化学種は金属キレート生成、あるいは静電的な引力によるイオン対の生成により、陽イオンあるいは陰イオンの持っている電荷が中和されることによって得られる。従って溶媒抽出法はその中に含まれる反応型式によりキレート抽出系およびイオン対抽出系の二つに大別することが出来る。

1・1 キレート抽出系

金属イオンがキレート試薬と結合してつくる金属キレートの中で、金属イオンの配位数と電荷の絶対値が結合しているキレート試薬の配位基の数と電荷の絶対値の合計と、それぞれ等しいときは生成する金属キレートは、通常分子内錯塩とよばれ、水に難溶、ベンゼン、四塩化炭素等の無極性溶媒に溶け易い等の特異な性質を示す。従って、分離あるいは定量を目的とする金属イオンと分子内錯塩をつくり得るキレート試薬を加え、上に示したような溶媒と振れば金属イオンは水相から有機相に抽出されることになる。このようなキレート抽出系としてはジチゾン、オキシシン、アセチルアセトン、テノイルトリフルオロアセトン (TTA) 等をキレート試薬として用いる抽出系がよく知られており、この系で用いられる溶媒は単にキレート試薬および金属キレートの溶媒としてのみ働き、抽出反応には関与しないものと考えられている。

1・2 イオン対抽出系

イオン対生成反応を含む抽出系は数多くあるが、これは次のような二つの型に大別される。

第1の型は金属イオンが大きな有機配位子あるいは有機イオンとともにイオン対をつくり、有機溶媒に抽出される系で、これには Fe^{2+} が 1,10-フェナントロリンと大きな錯陽イオンをつくり、これが過塩素酸イオン等の陰イオンと結合してイオン対をつくり、クロロホルム等に抽出される反応、 Zn^{2+} が ZnCl_4^{2-} として2個のトリベンジルアンモニウムイオン $[(\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2)_3\text{NH}]^+$ とイオン対をつくり、キシレン等に抽出される反応、高分子アミン (陰イオン交換液) による金属イオンの抽出反応等が例としてあげられる。

第2の型は金属イオンが塩酸、硝酸等の酸性溶液からエーテル、ケトン、エステル等の酸素を含む有機溶媒により抽出される系で、この系においては抽出溶媒自身が抽出される化学種の生成に直接関与しており、通常オキソニウム抽出系とよばれている。この型に属するもので著名なのは tri-n-butyl phosphate (TBP) 等の中性有機リン化合物による UO_2^{2+} , Th^{4+} 等の抽出系である。

II 溶媒の分類

上記の如き種々の溶媒抽出系において用いられる溶媒はその果す役割により次の二つに大別される。

一つはキレート抽出系およびイオン対抽出系の第1の型に属する系で用いられるベンゼン、四塩化炭素、クロロホルム、キシレン等のような溶媒で、抽出反応には直接関与せず、生成する金属キレートあるいはイオン対の単なる溶媒として働くと考えられ、通常これらの溶媒は非活性溶媒とよばれる。

他方はオキソニウム抽出系において用いられるエーテル、ケトン、エステル等の含酸素溶媒で、これらの溶媒は抽出反応に直接関与すると同時に、生成する化学種の溶媒としても働く。これらの溶媒は活性溶媒とよばれる。なお、オキソニウム抽出系および高分子アミンによる抽出系においてベンゼン、四塩化炭素、クロシン等が活性溶媒の希釈剤として用いられることが多くあり、これらも非活性溶媒に含まれる。

以下、主として非活性溶媒について述べ、活性溶媒についても適宜述べる予定である。

III キレート抽出系における溶媒

キレート抽出系における溶媒は従来文字通り非活性溶媒として扱われ、この系における溶媒の影響を検討した報告は少なかったようである。ここでは最初に Irving

等¹⁾による報告を紹介するが、その前にキレート抽出系における抽出反応機構について簡単に説明しておく。

金属イオン M^{n+} がキレート試薬 HR と反応して分子内錯塩 MR_n をつくり、非活性有機溶媒により抽出される反応機構は図1のように示される。

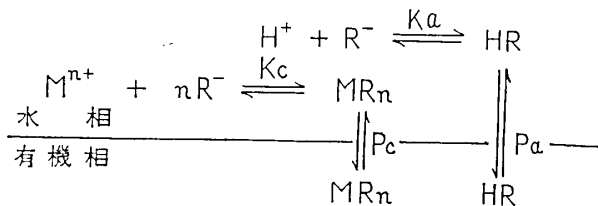


図 1

即ち、抽出反応は

- 1) 有機相のキレート試薬 HR の水相への分配
- 2) 水相における HR の酸解離
- 3) 酸解離により生成した R^- と M^{n+} の反応による中性キレート MR_n の生成
- 4) MR_n の有機相への分配

の4段階に分けて考えることが出来、各定数はそれぞれ

$$Pa = \frac{[HR]_o}{[HR]_w} \dots\dots\dots (1)$$

$$Pc = \frac{[MR_n]_o}{[MR_n]_w} \dots\dots\dots (2)$$

$$Ka = \frac{[R^-]_w [H^+]_w}{[HR]_w} \dots\dots\dots (3)$$

$$Kc = \frac{[MR_n]_w}{[M^{n+}]_w [R^-]_w^n} \dots\dots\dots (4)$$

で与えられる。ここで o , w はそれぞれ有機相、水相を示す。(1), (2), (3), (4) 式より

$$Kc = \frac{Pa^n}{Pc \cdot Ka^n} \cdot \frac{[MR_n]_o}{[M^{n+}]_w} \cdot \frac{[H^+]_w^n}{[HR]_o^n} \dots\dots\dots (5)$$

が得られ、従って、測定により得られる金属イオンの分配比 $[MR_n]_o/[M^{n+}]_w = D$ は

$$D = \frac{Kc \cdot Pc \cdot Ka^n}{Pa^n} \cdot \frac{[HR]_o^n}{[H^+]_w^n} = K \cdot \frac{[HR]_o^n}{[H^+]_w^n} \dots\dots\dots (6)$$

で与えられ、 K は抽出係数といわれる。なお上記の扱いでは水相において MR_n 以外の金属キレート、即ち、 MR , MR_2 , ..., MR_{n-1} , および MR_{n+1} , ... の生成は凡て無視している(この仮定は殆んどの場合に成立するが、 β -ジケトン抽出系等のように低次錯体の無視出来ない場合もある)。

さて、Irving 等¹⁾はキレート抽出系において、抽出溶媒の変更は抽出反応平衡点の移動、ならびに抽出反応速度の変化をもたらすものとし、まず、平衡点の移動については次のように述べている。

異なる溶媒を用いて金属キレートの抽出を行なう場合、抽出係数 K に含まれる各因子の中で Ka , Kc は水相における値であるから変化はないが、 Pa , Pc は溶媒が変れば変化する。そこで二種類の溶媒を用いた場合に、平衡時における試薬過剰濃度 $[HR]_o$ が等しい条件において、同一の金属イオン分配比 D を与える水相の水素イオン濃度をそれぞれ $[H^+]$, $[H^+]'$ とすると、(6) 式より

$$\frac{[H^+]}{[H^+]}^n = \frac{(Pa'/Pa)^n}{Pc'/Pc} \dots\dots\dots (7)$$

となる。溶媒の変化による Pa , Pc の変化については不明の点が多いが、キレート試薬、金属キレートはよく似た化合物であるから、それぞれの分配係数の溶媒による変化は類似していると仮定すると、溶媒による Pa の変化が

$$Pa'/Pa = a > 1$$

であれば

$$Pc'/Pc = b > 1$$

で、

$$a \doteq b$$

と考えるとよい。従って、(7) 式は

$$\left[\frac{[H^+]}{[H^+]} \right]^n = \left[\frac{Pa'}{Pa} \right]^{n-1}$$

となり、 $n > 1$ の場合、 $Pa' > Pa$ のときは、 $[H^+] > [H^+]'$ となり、キレート試薬ならびに金属キレートをよく溶解し、 Pa ならびに Pc の大きな値を示す溶媒を用いるとき程、同じ分配比を得るためには水相の水素イオン濃度は低く保つ必要があると結論される。

この結果は Irving 等²⁾により Zn^{2+} -ジチゾン抽出系においてジチゾンに対する溶解度の大きいクロロホルムを溶媒として用いたときの Zn^{2+} の抽出係数が $K \doteq 10$ であるのに対し、ジチゾンの溶解度のより低い四塩化炭素を溶媒として用いたときは $K = 130 \pm 4$ とかなり大きくなり、クロロホルム溶媒のときの方が Zn^{2+} の抽出曲線がより高 pH 域にずれていることから確認されている。

一方、抽出反応速度におよぼす溶媒の影響については Irving 等¹⁾は抽出反応における律速段階は水相における中性金属キレート MR_n の生成にあるとして(1), (3) 式を用い次のような速度式を示した。

$$r = k[M^{n+}]_w [R^-]_w^n = k[M^{n+}]_w \left[\frac{Ka[HR]_o}{Pa[H^+]_w} \right]^n \dots\dots\dots (8)$$

従って、凡て同一条件のもとにおける抽出反応速度の溶媒による変化は

$$r/r' = (Pa'/Pa)^n$$

で示され、 $Pa' > Pa$ のときは $r > r'$ であると結論される。

この結果は同様に Zn^{2+} -ジチゾン系においてジチゾンの溶解度の高いクロロホルム溶媒のときより溶解度の低い四塩化炭素溶媒のときの方が Zn^{2+} の抽出速度の大きいことから立証されている。

その後、酸性ならびに中性有機リン化合物による金属イオンの抽出が盛んに研究され、利用されるようになり、この方面における溶媒の検討もかなり行なわれている。そこで酸性有機リン化合物による金属イオンの抽出もキレート抽出系に含めてみると、まず、Blake 等³⁾は di-(2-ethylhexyl) phosphate (DEHP), di-(2-ethylhexyl) phosphinate (DEHPI), mono-(2, 6, 8-trimethylnonyl-4) phosphate (MTNP) による UO_2^{2+} の抽出をクロシン、四塩化炭素、ベンゼン、クロロホルム、2-エチルヘキサノールの溶媒系について検討し、DEHP, DEHPI の場合は UO_2^{2+} の分配比が溶媒の透電恒数の増加とともに減少する傾向を認め、更に、クロロホルム、2-エチルヘキサノール等抽出試薬と水素結合を起すと考えられる溶媒が最低の UO_2^{2+} 分配比を示すことを指摘している。一方、MTNP の場合は透電恒数の大きい四塩化炭素が

透電恒数の小さいケロシンより大きな UO_2^{2+} 分配比を示しており、Blake 等はこれは透電恒数の大きい溶媒中では抽出試薬の解重合が増大し、抽出試薬濃度の増加と同一結果をもたらしたためとしている。

この酸性有機リン化合物の溶媒中における多量体化については Peppard 等⁴⁾の一連の報告等があるが、ここでは Dyrssen⁵⁾等の報告を紹介する。Dyrssen 等は di-n-butyl phosphate (DBP) の種々の溶媒中における二量体化と、単量体の水と溶媒の間の分配係数を測定し、単量体の分配係数 ($[\text{DBP}]_0/[\text{DBP}]_w$) の小さい四塩化炭素、ベンゼン等の溶媒中では DBP は二量体をつくり易く、逆にメチル-イソブチルケトン (Hexone, MIBK), TBP, 2-エチルヘキサノール等大きい分配係数を示す溶媒中では DBP は二量体をつくり難いことを認めている。そして更に、二量体生成の生成定数と分配係数の間に一定の関係のあることを認め、これより、二量体をつくり難い溶媒中では DBP 単量体は溶媒と水素結合によりモル比1:1の錯体をつくり易いことを明らかにした、また、溶媒-水系の DBP の分配係数と溶媒への水の溶解度の間にも一定の関係があり、分配係数の大きい溶媒程水の溶解度も大きいことを認めている。次で Dyrssen 等⁶⁾は DBP による Eu, Am の抽出におよぼす溶媒の影響を検討し、DBP の分配係数の大きな値を示す溶媒程 Eu, Am の分配比は小さいことを認め、DBP と溶媒による錯体の生成が金属イオンの抽出を抑制する事実を認めている。このようにして Dyrssen 等は DBP による金属イオンの抽出に際し DBP の希釈剤として用いる溶媒の選択の基準を示している。

Table I. Correlation of D_{pm} with water solubility of diluent.

diluent	cyclohexane	hexane	CCl_4	benzene	CHCl_3	MIBK
D_{pm}	5×10^4	2×10^3	5×10^2	2×10	10^{-1}	6×10^{-1}
water solty. of pure diluent (g/l)	0.04	0.07	0.15	0.60	1.5	19

果から TTA-中性化合物-溶媒中の水の相互作用を明らかにし、溶媒への水の溶解度が TTA のエノル型濃度に大きな影響を示すことを明らかにしている。

以上のようにキレート抽出系において非活性溶媒が実際には非活性ではなく、金属イオンの抽出反応平衡、ならびに抽出反応速度にかなり大きな影響をおよぼすことが明らかにされ、溶媒選択の重要性が明らかにされている。

上記の抽出反応例においては溶媒の殆んど凡てが金属イオンの抽出反応機構の中にはいない (MIBK だけが例外) が、キレート抽出系における溶媒凡てがこの条件を満たしているとは限らない。例えばクペロンは Fe^{3+} , Cu^{2+} の沈殿試薬として古くから知られているが、その他の多くの金属イオンとも水に難溶性の中性金属キレートをつくる。所が、これらの中性金属キレートを抽出し得る溶媒は Table II に示すように必ずしも所謂非活性なものばかりではない。

即ち、金属イオン-クペロンキレートの中にはベンゼン、クロロホルムのような所謂非活性な溶媒には抽出さ

一方、Blake 等による中性および酸性有機リン化合物混合系における UO_2^{2+} の分配比の増加の発見に端を発した抽出反応における協同効果の研究の分野においても Healy により非活性溶媒の影響が検討されている。この報告は既に本随説 No. VIII で紹介してあるので重複するが簡単に紹介する。Healy⁷⁾はキレート試薬である TTA と中性有機リン化合物の混合系による 2 価、3 価、および 4 価金属イオンの抽出におよぼす溶媒の影響を検討し、本抽出系における非活性溶媒の影響の小さいことを認めた。その一例を Table I に示す。

Table I の最右端は TBP を含みぬ TTA-ベンゼン系による P_m の分配比で、この値は溶媒により余り変化しないと云われる。Table I から判るように同一条件においても P_m の分配比は溶媒により著しく異なり、溶媒の変更が TBP 添加による協同効果以上の効果を示す場合もある。そして溶媒への水の溶解度の小さいもの程大きな分配比を示しており、溶媒選択の基準を与えている。ここで、クロロホルム、MIBK の所で順序が逆転し、MIBK 溶媒のときの方が P_m の分配比はやや高くなっているが、これは MIBK 自体に P_m を抽出する能力があり、これが加算されているためとしている。これらの現象に対し Healy は溶媒の水含量、ならびに溶媒の永久あるいは誘導双極子が大きな因子となっているとしているが、余り明瞭な結論は得ていない。

次で Healy 等⁸⁾は TTA-中性有機リン化合物 (およびアルコール、ケトン、アミド) 混合抽出系において非活性溶媒も一定の機構に従って金属イオンの分配比を減少せしめる——反協同効果を示す——ことを認め、この結

Table II. Solvents for extraction of metal cupferrate⁹⁾

metal ion	Solvent
Al	chloroform
Sb (III)	chloroform
Bi	toluene, methyl ethyl ketone
Co	ethyl acetate, ether
Cu	chloroform, toluene + nitrobenzene
In	benzene, chloroform
Fe (III)	chloroform
Mn (II)	ether
Hg (II)	benzene, chloroform
Th	ethyl acetate
Zn	ether

れず、エーテル、エステル等のような含酸素溶媒によりはじめて抽出されるものがある。従ってこの系において生成する金属キレートの中には分子内錯塩の型になっておらず、溶媒がこの系に加わってはじめて抽出可能な型

となる。即ち、溶媒が抽出可能な化学種の生成に直接関与していることを暗示しているものと考えられる。このような例はオキシソ抽出系、ジチオカルバメート抽出系等にも見られることであり、従って、キレート抽出系における溶媒は必ずしも所謂非活性溶媒だけではないと云うことになり、溶媒選択上注意を要する。但し、非活性溶媒を用い得ない、あるいは活性溶媒を用いた方が金属イオンの分配比が増加する場合の予測はある程度可能である。(本随説IX参照)

以上キレート抽出系における溶媒について簡単に述べた。次回はイオン対抽出系における溶媒について述べる

予定である。

文 献

- 1) H. Irving, R. J. P. Williams: J. Chem. Soc., 1841 (1949)
- 2) H. Irving, et al: *ibid.*, 357 (1952)
- 3) C. A. Blake, et al: Proceedings of the Second International Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy, Geneva, 1958 A/Conf. P/1550, USA (1958)
- 4) D. F. Peppard, et al: J. Inorg. Nucl. Chem., **7**, 231 (1958)
12, 60 (1960)
16, 246 (1960~61)
- 5) D. Dyrssen, L. D. Hay: Acta Chem. Scand., **14**, 1091 (1960)
- 6) D. Dyrssen, L. D. Hay: *ibid.*, **14**, 1100 (1960)
- 7) T. V. Healy: J. Inorg. Nucl. Chem., **19**, 328 (1961)
- 8) T. V. Healy, et al: *ibid.*, **24**, 1429 (1962)
- 9) N. H. Furman, et al: Anal. Chem., **21**, 1325 (1949)

高血圧症の医学知識 (II)

関東通信病院長 佐々貫之

5. 合併症・併発症

高血圧症には合併症ないし併発症の存することは決して少なくない。ところが、この両病名は同義に解せられることもあるが、また分離して考えることもある。その際合併症というときは、基礎疾患があってそれに続発する疾病を考え、併発症というときは、それと直接因果関係のない疾病を意味する。高血圧における合併ないし併発症として重要であるものは脳卒中・心臓病・腎疾患などである。

脳卒中には脳出血(脳溢血)と脳軟化(脳硬塞)とを区別するが、脳卒中は通常高血圧に続発する。脳軟化は脳血栓と脳塞栓を包括して考え、前者は大多数において脳動脈硬化が原因となり、この場合高血圧がどの程度に関連するかについては前述した通りである。これに対し、後者は多くの場合心臓内に発生した血栓が剥離して、栓子として脳に到達して脳塞栓を起こすのであり、したがって高血圧とは無関係なことが多い。なおくも膜下出血や脳動脈硬化症、ないし脳血管不全症も高血圧症の合併ないし併発症としてしばしばみられる。心臓病にも、高血圧症に直接関連する高血圧性心疾患と、必ずしもそれに関係をもたない冠動脈硬化性心疾患とがある。前者は心臓性喘息や心不全にまで発展し、後者は狭心症や心筋硬塞を起こすにいたることがある。腎疾患においても同様、高血圧に続発する良性および悪性腎硬化症のほかに、それとは直接関係をもたない腎炎・尿路感染症・前立腺肥大症などの併発をみることは決して少なくない。

なお、高血圧症には以上のほかに肺疾患(気管支カタル・気管支拡張症・肺気腫・肺線維症・陳旧肺結核など)、肝疾患(肝炎・肝硬化症など)、内分泌疾患(糖尿病そのほか)等々あらゆる疾病の併発がみられる。

6. 対策の方針

高血圧症は、上述したように、本来の原因が不明であるから、根本的な原因療法はない。本症が一旦発生する

と、潜行性に進行するのがむしろ普通であって、これを治療させることは不可能である。したがって、その対策の一般方針は高血圧症の進行を抑えるとともに、恐るべき合併症の発生をできるだけ防止するよう努めるにある。

このためには、まず日常の生活を十分調整することが必要である。とくに、精神的ならびに身体的に安静を保たしめることが重要であり、これによって血圧の上昇や動揺を少なくし、事故防止にも役立つ。たとえば、1日中にも一定時間、1週のうちに1~2日間位、また夏冬の候には適当な休暇をとらしめるように、すすめる。ただし、休養のかたわら、病態に応じた適当な運動はむしろ大切であり、これは却って好影響を与えるものである。もちろん、過重な運動や過労をさけねばならないことは、いうまでもない。なお睡眠を十分にとらしめることや便通を整えることや、また熱くないお湯で入浴することなどにも心するべきである。

食物は質よりもまず量の調節が大切であって、過食はよくない。肥満しているものには減食療法を行なう。食物の質においては、糖質は少なくし、蛋白質は余り減量せず、健康維持に必要な程度にとらしめ、脂質は動物性脂肪を少なくして、植物性食物を比較的多くするのがよい。何れにしても余り極端な偏食に陥るのは不可である。煙草・酒などの嗜好品は病状により必ずしも禁ずるに及ばないが、過量にとることは厳に禁じなければならない。茶・コーヒーなども普通量に飲用するのはさしつかえない。最も問題となるのは食塩の制限である。減塩食治療を要する場合は別として、多くの場合は1日5g程度になるのはさしつかえない。ことに最近の利尿降圧剤は食塩の排泄を促進するから、味をこわさない程度に食塩を加えてよい。

以上の生活の調整はその病態に応じ個々人について定めるべきであって、これは然るべき医師の指導にまたねばならない。かくてもなお血圧が十分に下降せず、また自覚症状がとれないときは、薬物療法を行なう。この場

合普通の鎮静剤（ブローム剤・フェノバルビタールなど）を与えるだけでも必要程度に降圧の目的を達することがある。しかし、それによって十分に降圧しないときは、降圧剤の使用を必要とする。なお以前には降圧の目的に瀉血そのほかの理学的療法が試みられたが、今日ではこれらは余り顧みられない。また外科療法も問題とされるが、現在優秀な降圧剤が登場しているので、これも必要がないとみられる。

最後に治療上考慮すべきは、前述したように高血圧にしばしば合併ないし併発する疾病の存在である。これは実地上重要ではあるが、具体的記述は省略する。

7. 降圧剤の種類

高血圧症に用いる薬剤としては、かつては降圧を目的に上述した鎮静剤のほかに、亜硝酸塩類・臓器製剤（カリクレインなど）・キサンチン剤（ジウレチンカルシウムなど）・ロダン塩・アセチルコリン誘導体等が投与されたが、戦後ことに最近10数年来勝れた各種の降圧剤が相ついで出現し、今日の華やかなる降圧療法時代となったのである。降圧剤は本来対症的に血圧を下降せしめて、それにもとづく症状の軽快・消失を目標にしたにすぎなかったが、現在では薬剤を長期にわたって有効に用いるに至ったため、単なる対症療法の域を脱し、高血圧症の進行を抑え、経過中に起こりうる事故の発生を少なくし、延命効果をもたらすようになっている。

降圧剤は多数に存するから、これを全貌的に把握しうるために、これらを整理し分類することが望ましい。今日一般には作用機序からみた分け方が採用されており、この分類法は臨床上にも有意である。作用機序としては、なお明らかでない点も少なくないが、作用点が大脳皮質から視床下部・延髄の血管運動中枢、また自律神経節や節後神経の末梢神経、さらに細動脈の平滑筋などにも及ぶものがあり、後述する Benzothiadiazine 系薬剤の如きは主として利尿効果の結果にもとづいて降圧させるのである。つきにはこの見地からの分類を記述するに止め、それぞれの長所・短所や特有な点や副作用に関する詳細を割愛する。

- 1) Rauwolfia アルカロイド (Rs)
 - a. 混合アルカロイド (Alseroxylon)
 - b. 単一アルカロイド (Reserpin, Reserpine, Serpentine), Syrosingopine, 10-Methoxydeserpine
- 2) Veratrum アルカロイド
- 3) Hydralazine: Hydrazinophthalazine
- 4) 自律神経節遮断剤: Hexamethonium(C₆), Pentolinium(C₅), Camphidonium, Mecamylamine, Penpidine
- 5) 交感神経遮断剤: Bretylium tosylate, Guanethidine
- 6) Benzothiadiazine 系及類似薬剤(BTD)

BTD 系薬剤: Chlorothiazide, Hydrochlorothiazide, Flumethiazide, Bendroflumethiazide, Bentlyhydrochlorothiazide, Benzothiazide, Trichlormethiazide, Methyclothiazide, Tyclopenthiazide, Polythiazide, Tyclothiazide

Benzendisulfonamid 系薬剤: 5-Chloro-2,4-disulfamil-

toluene, Chlorbenzol-disulfonamide
Phthalimidine 系薬剤: Chlorthalidon

- 7) 酵素抑制剤
 - a. Monoamine oxidase inhibitor
 - b. Decarboxylase inhibitor

α-Methyl DOPA
- 8) 抗アルドステロン剤
 - a. Spirolactone
 - b. Triamterene

8. 降圧剤の適用要旨

降圧剤を用いるには一般に (1)高血圧の診断内容(原因・重症度・合併症など)および (2)患者の個人的関係(性格・生活環境など)とともに (3)薬剤の作用機序ならびにその作用の確実性と強弱・発効の遅速・持続時間・副作用ないし副現象・耐性発現の有無などを考慮して、医師自らが判定すべきものである。これらの関係を今少しく具体的に考えてみよう。

前述したように、ごく軽症の高血圧症には適切な生活指導だけ、または鎮静剤投与で長く降圧の目的を達することがある。老人性高血圧にも普通降圧剤を用いない。

中等症以上の良性高血圧症で、重要臓器の障害が大したことのないものには、今日 BTD 系に属する薬剤の一つを選んで、単独に投与してみる。本系に加えられる各薬剤は相互に多少の差異はあっても、その長所として、何れも効果が確実で、副作用が少ないし、降圧が緩徐であり、血圧が正常以下とならず、1日1~2回の投与で目的を達しえられ、また薬剤耐性の発生も大したことなく、したがって長期療法に好適である。Rs も単独に用いられたが、効果が劣るので BTD と併用される。なお、必要によっては BTD とほかの種類の降圧剤を併用する。かくして、一定期間観察して十分降圧せしめうる最少量をもって維持量として連用する。治療が長期にわたるときは、その用量や薬剤の種類を適宜変更する必要のあることあるは、当然である。

高血圧症が進行して心・脳・腎などの重要臓器の血管障害がある程度に著明となり、ないしは合併症をみるにいたったときは、その状態に応じて降圧に手心を加えねばならない。すなわち、血圧を徐々に下げ、かつ余り強く降圧させないことが必要となってくる。以上に対し、悪性高血圧では一般に急速に降圧を要することが多い。ただし冠不全・腎不全・強い脳循環不全のある場合には、特別注意を払う。

長期降圧療法は今後一般に採用されるべきものとなってきた。この療法によって単に血圧を下降せしめるばかりでなく、高血圧性心不全や、そのほか眼底・心電図・尿所見の臨床的改善をみることも少なくない。したがって延命効果をもたらすことも統計的に示されている。ただ、本療法は生涯にもわたるので、実地上の困難をとまなうことが多い。どうしても患者の積極的協力と医師の倦まない熱意が不可欠である。なおこの際留意すべきは、進行している高血圧症で長期に及ぶものにおいて、急に治療を中断すると、脳出血などの事故発生の危険性あることを知っておらねばならない。

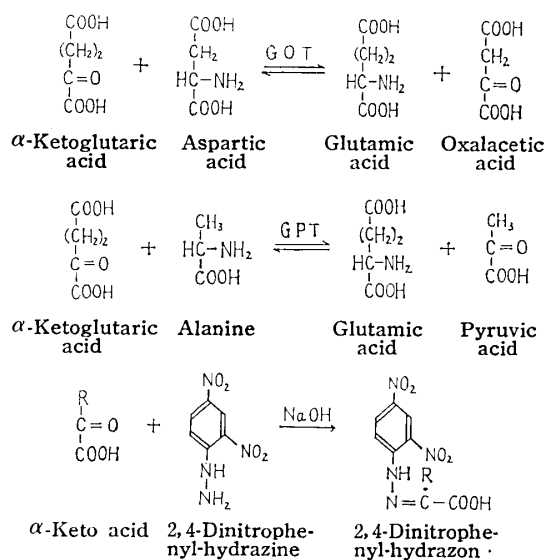
血清 Transaminase 活性測定キット「ESGOT」 の使用経験について、

札幌医科大学附属病院中央検査部

生化学門主任助教授 医学博士 佐々木 禎 一
理学博士 技師 木 田 孝
技師 菅 原 清 美

血清中の Transaminase, すなわち Glutamic-oxalacetic transaminase (以下 GOT) および Glutamic-pyruvic transaminase (以下 GPT) 活性の測定による肝並びに心臓疾患の診断は, 近年臨床医学の分野で目覚ましい発展を遂げたいわゆる酵素診断法の中でも最も代表的なもので, 今日この分野で広く用いられている。

その酵素活性の測定法としては, 簡易で再現性があり, しかも可視部での比色法であるという利点から, 現在主に Reitman-Frankel 法が用いられている。この方法の原理は下式の通りである。



すなわち, α -Ketoglutaric acid と Aspartic acid (GPT の場合は Alanine) を含む基質液に血清を作用させると, その中の GOT (GPT) によりアミノ基転位がおり, Glutamic acid と Oxalacetic acid (GPT の場合は Pyruvic acid) を生じ, Oxalacetic acid は更に Pyruvic acid に移行する。この Pyruvic acid を 2,4-Dinitrophenylhydrazone としアルカリ性で 505m μ の吸光度を測定して酵素活性を算出する。この方法の実際上の諸注意および検討成績については, 既に多くの報告があり本誌上でも既に道免, 篠原の報告 (No. 29, 479-82 頁 (昭. 38)) がある。

われわれは 1963 年来, 関東化学製 Transaminase 測定

用キット「ESGOT」を日常の検査に使用して来たが, 当初○社製品製の同キットによる測定値との間に極く僅少であるが差異が認められたので, 爾来現在まで両製品を比較しながら使用して来た。その結果差異を生じた原因を明らかにするところまで行かなかったが, 最近では明差が見られない事を確認したのでその成績を報告する。

実験材料と方法

1. 試薬セット: ESGOT も ○社製品も共に次の試薬からなっている。

① GOT 用基質液—— α -Ketoglutaric acid と dl-Aspartic acid とを夫々 2mM, 200mM 宛含有し pH7.4 に調整。

② GPT 用基質液—— α -Ketoglutaric acid と dl-Alanine とを夫々 2 mM, 200 mM 宛含有し, 同じく pH 7.4 に調整してある。

③ 検量線作製用 Pyruvic acid 溶液——ESGOT では Na 塩, ○社製品では Li 塩の形で共に 2 mM 溶液,

④ 発色剤——最終濃度 0.85N HCl 溶液中に 1mM 2,4-Dinitrophenylhydrazine を含有している溶液。

⑤ アルカリ溶液——4.0N NaOH 水溶液, 使用時 0.4N に希釈。

2. 比色計: 島津 Bausch & Lomb Spectronic 20 および ADS 富士光電比色計を用いた。測定波長は 505 或いは 510m μ で, また Filter は # 540 を使用して測定した。吸収曲線の作製は前者によった。

3. 操作: 予め 37°C に温めた基質液 0.5ml に血清 0.1ml を添加, 混和して直ちに 37°C で加温反応させる。GPT は 30 分, GOT は 60 分反応後, 発色剤 0.5ml を添加, 混和し反応を停止せしめ, 室温に 20 分間放置する。次いで 0.4N NaOH 5.0ml を添加, Flash mixer で充分混和し, 室温中 10~30 分放置後比色測定をする。対照は指針通り水とする。

実験成績

1. ESGOT による検量線の作製: 検量線は〔第 1 表〕の様な 5 種の Pyruvate 溶液—基質液混合液を用い, 操作法と同様にして発色させて作製した。

〔第 1 図〕, 〔第 2 図〕に夫々島津 Bausch & Lomb, ADS 光電比色計を用いて測定した場合の検量線を示した。共に同じ様相の曲線を示し, 対照液として蒸留水を用いた場合と, 試験管 No. 1 を対照液とした場合では, 原点を

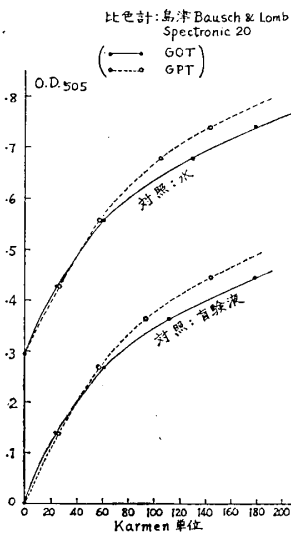
通るか否かの違いを見せるのみで、同じ曲線を示した。

第1表 ESGOT による GOT, GPT 活性検量線作製表

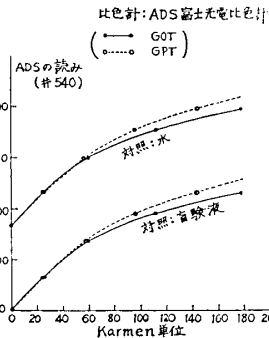
試験管 番号	検量線作 製用標準 液 (ml)	GOT 用 基質液 (ml)	実測吸 光度 O.D.505	GOT 単位 *	GPT 単位 *
1	0	1.0		0	0
2	0.1	0.9		24.0	26.4
3	0.2	0.8		59.8	57.8
4	0.3	0.7		111.7	92.9
5	0.4	0.6		(178)	(143)

* Karmen 単位

〔第1図〕 検量線 (A) (ESGOT)

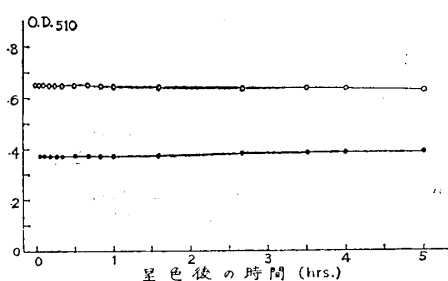


〔第2図〕 検量線 (B) (ESGOT)



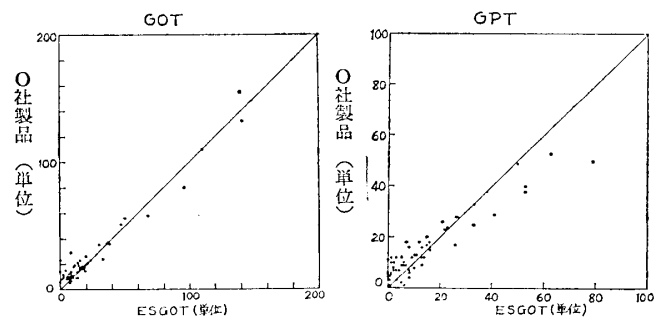
2. 発色後の吸光度の経時変化：低および高単位の2種の血清試料について反応発色後、その吸光度の経時変化を調べたところ、〔第3図〕の様に発色後5~60分間で殆んど変化がなく、5時間後でも見るべき変化はなかったため、われわれは業務実情とも照合して発色後10分で測定を行なっている。

〔第3図〕 発色液の安定性



3. ESGOT およびO社製品キットによる血清 GOT, GPT 活性値の比較：当初 (1963年12月), ESGOT およびO社製品キットで約60例の血清試料を測定比較したところ、〔第4図〕の様な相関関係が得られた。すなわち、GOT では略々良好な相関が得られたが、活性の低い例では ESGOT の方がO社製品よりも若干低い値を示す傾向があった。一方 GPT の場合は高単位血清では

〔第4図〕 ESGOT 法とO社製品との相関関係



ESGOT の方が、低単位血清ではO社製品の方が高い値を示していた。O社製品で数単位を示しながら ESGOT で活性0という例が幾つかあった。ただし、全例の平均値から観ると〔第2表〕の様な結果となった。なを同時に行なった Sigma 製キットでは上記のいずれよりも少々高い値を示した。

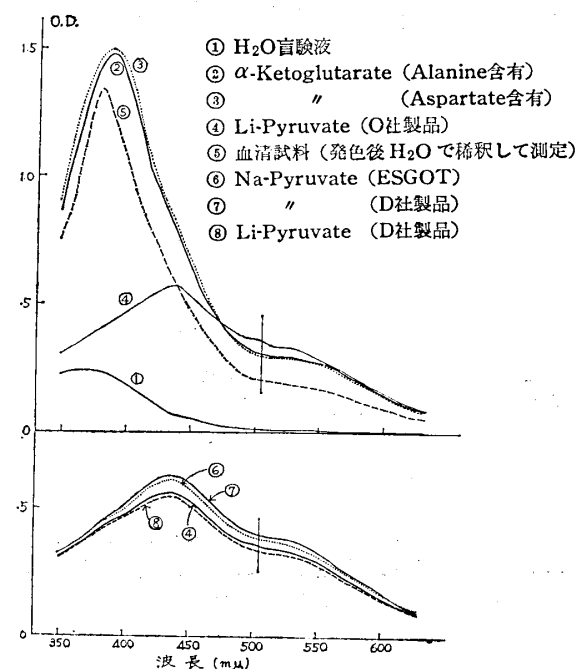
〔第2表〕 ESGOT とO社製品による平均測定値

	ESGOT による測 定値	O社製品による 測定値
平均 GOT 活性	26.6 単位	29.7 単位
〃 GPT 〃	17.4 〃	17.4 〃

臨床的には診断を左右する程の差ではないが、低力価の血清試料で ESGOT の方がO社製品よりも僅かながら低値を示す原因について二、三検討を加えてみた。

4. 各種条件下での発色液の吸収曲線：試薬の品質を知る一助として〔第5図〕の様に①水、② GPT 用基質

〔第5図〕 各発色液の吸収曲線



液 (Alanine 含有), ③GOT 用基質液 (Aspartic acid

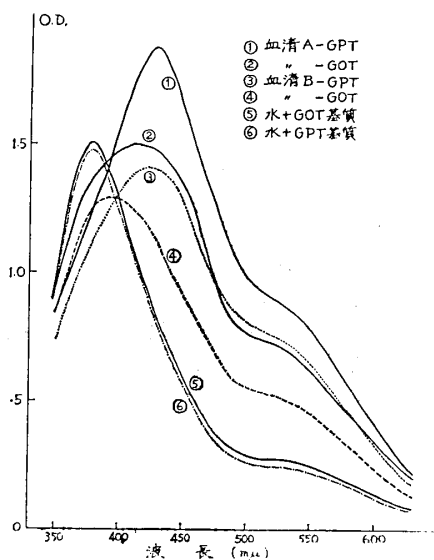
含有), ④Li-pyruvate 溶液 (O社製品), ⑤血清試料, ⑥Na-pyruvate 溶液 (ESGOT), ⑦同じ濃度の Na-pyruvate (第一化学) 溶液および⑧同濃度の Li-pyruvate (第一化学) 溶液の夫々について反応発色後の吸収曲線をかいた。基質液は水で $\frac{1}{4}$ 倍に希釈したものを, また各 Pyruvate 溶液は 0.4mM 溶液に希釈して用いた。

その結果, 水盲験液 (基質液, 血清のかわりに 0.6ml の水を直ちに発色させた場合) は測定波長での吸光度は殆んど無視出来ることを知った。一方基質液に水 0.1 ml 添加して反応発色させた場合 (GOT, GPT 活性 0 単位に相当) は GOT, GPT のどちらの基質でも同じ吸光曲線を示した。すなわち基質液中の $-\text{NH}_2$ 供与体が Alanine であるか Aspartic acid であるかによって発色に差は見られなかった。血清試料の吸収曲線は水で希釈してから測定したが, 基質液と発色剤の反応系と略々 identical な曲線を示した。この事は, この時の本法による呈色の吸収曲線が生成した Pyruvic acid より未反応の α -Ketoglutaric acid の Hydrazone に強く支配されていることを示唆している。Pyruvic acid の Li 塩 (O社製品, 第一化学) と Na 塩 (ESGOT, 第一化学) について発色させて吸収曲線を観ると, Na 塩の方が Li 塩よりも測定全波長域に亘って高い吸光度を示し, 市販の第一化学の試薬を用いた場合も同様であった。実際に GOT 活性で 24 単位に相当する濃度の Pyruvate 溶液の場合, 活性測定波長の 505m μ での吸光度で約 0.04 位の差を示している。しかしこの原因が, Na 塩と Li 塩による本質的な差異か, 検体の純度または濃度による差異か明らかでない。

なお, その他発色剤, アルカリ溶液についての性状は乳酸脱水素酵素活性測定の際の成績 (佐々木: 本誌 No. 37 621—4頁 (昭. 40) と全く同じであった。

5. GOT, GPT 発色後の吸収曲線: 2種の血清すな

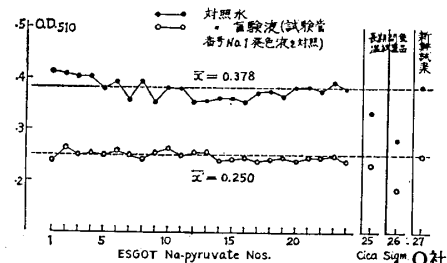
〔第4図〕 GOT, GPT 発色液の吸収曲線



わち高力価のAと低力価のBと, 盲験の目的で血清のかわりに水を加えた場合について, 反応呈色後の吸収曲線を〔第6図〕に示した。両血清共, GOT と GPT が略々類似の吸収曲線像を見せているが, 吸収極大は GOTの方がGPTに比べて短波長側にずれている。この事は, GOTで生成するものの総てが Pyruvic acid でなく Oxalacetic acid も残存しているのではないかの疑問を感じさせる。試薬としては ESGOT の場合のみ図示したが, O社製品の場合も完全に同じ曲線を示し, ただ吸光度で僅か許り低く, この点も既報の乳酸脱水素酵素測定用試薬の検討成績と同じであった。

6. ESGOT の検量線作製用 Na-pyruvate 溶液の各 Lot 毎の発色度の比較: 1963 年末から 1965 年初期までの期間中実際に使用した ESGOT 試薬の中から, 25 Lot の検量線作製用 Na-pyruvate 溶液を選出し, GOT 活性 24 単位相当の濃度で同じ条件下で反応発色させて, 各吸光度を比較したのが〔第7図〕である。測定時対照に水を使用した場合は初期の頃稍々高い値を示したが, 試験管番号 No. 1 の発色液を対照とした場合には全期間を通じてかなり一定の値を示していることが判明した。従て, 測定時水を対照とするよりも基質液と発色剤

〔第7図〕 Pyruvate標準液の各Lot毎の発色度



との反応発色液を対照とした方が安定した値が得られ, 試薬類の品質の差異による影響が少ないと解釈することが出来る。

比較のために, 長期間室温放置しておいた古い Pyruvate 溶液 (Cica印 Lot No. RF-630551 および Sigma 製品 Lot No. 33B-618 Stock No. 505-10) と新しいO社製品の Li-pyruvate 溶液とを測定した結果 ESGOT の平均吸光度 (0.378, 0.250) に対して, 矢張り古い試薬では発色度が低かったが, O社製品の新しい試薬は ESGOT の平均吸光度とかなり完全に合致していた。

7. 各 Lot 毎の検量線の比較: 試薬キットの品質の均一性をチェックするため, 上記 Pyruvic acid 溶液と同じく1963年末より1965年初期まで略々同じ期毎に計20余種撰出して, 各試料キット毎の検量線作製を行い, 更に各測定値の平均値と標準偏差とを求めた。その成績は〔第3表〕にまとめたが, 矢張り ESGOTよりO社製品の方が僅少ではあるが, 検量線上低い吸光度を示している。またばらつきの程度は低力価の方ではむしろO社製品の方が, 一方高力価の方では ESGOT の方が少なかった。

この統計処理後の平均値±標準偏差をもとにして検量

第3表 吸光度平均値による検量線 (測定値) (表中吸光度) $\times 13^3 =$ 測定吸光度

	O 社 製 品	単 位	0	25	60	116	197
		平均吸光度	268.6 $\pm$ 21.7	425.7 $\pm$ 25.4	548.9 $\pm$ 21.8	669.1 $\pm$ 34.4	751.8 $\pm$ 45.2
GOT	ESGOT	単 位	0	24	59.8	111.7	(178)
		平均吸光度*	295.3 $\pm$ 21.3	436.1 $\pm$ 30.0	567.8 $\pm$ 29.5	683.6 $\pm$ 25.2	766.4 $\pm$ 13.5
		平均吸光度※	297.1 $\pm$ 9.9	428.6 $\pm$ 14.7	555.0 $\pm$ 8.7	664.3 $\pm$ 4.5	750.0 $\pm$ 23.1
	平均吸光度の差 (ESGOT)(O社製品)	※ の 場 合	26.7	10.4	18.9	14.5	14.6
GPT	ESGOT	単 位	0	27	58	98	150
		平均吸光度	269.9 $\pm$ 25.2	421.2 $\pm$ 23.6	553.8 $\pm$ 24.5	673.2 $\pm$ 33.4	751.4 $\pm$ 46.3
		単 位	0	26.4	57.8	92.9	(143)
		平均吸光度*	296.1 $\pm$ 21.1	440.8 $\pm$ 34.8	566.9 $\pm$ 32.6	685.0 $\pm$ 22.5	762.8 $\pm$ 15.3
	ESGOT	平均吸光度※	294.3 $\pm$ 9.0	432.9 $\pm$ 13.7	553.6 $\pm$ 14.9	658.6 $\pm$ 20.3	751.4 $\pm$ 27.4
		※ の 場 合	26.2	19.6	13.1	11.8	11.4
	平均吸光度の差 (ESGOT)(O社製品)	※ の 場 合	24.4	11.7	-0.2	-14.6	0

* 観察全期間中の平均吸光度

※ 最近の製品による平均吸光度

線を作製すると〔第8図〕のようになる。しかし一年余に亘って調べた全期間の成績を時期的に改めて観察すると ESGOT は当初少々検量線の吸光度が高めに、しかも標準偏差も高めであったが後期になり吸光度も減少傾向を示し、同時に標準偏差も小さくなって来た。〔第3表〕と〔第9図〕に最近の ESGOT 約10例の平均値と標準偏

もちろん、その差異は僅少であり、かつ正常 活性値の範囲内での差に局限されているので、診断上に影響する程のものとも思われないが、GOT、GPT 共に O 社製品で数単位を示しながら ESGOT では 0 と測定される例が幾例も見られた。か様な場合、もちろん直ちに ESGOT の方が感度が低いと断定は出来ないが、GPT の場合等高単位では ESGOT の方が低単位の時 O 社製品の方が高く出る傾向がはっきりしたので、測定全例の平均値が同じであったという成績〔第2表〕参照〕とは別にその測定値に見られる差の原因を追究してみた。

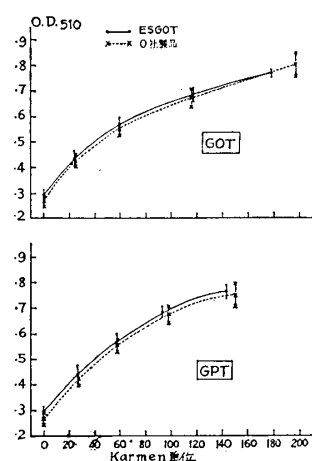
ESGOT による検量線も O 社製品による検量線も、GOT、GPT 共に類似の曲線で、乳酸脱水素酵素の試薬検討成績と同じく、ESGOT の方の吸光度が僅か許り高い傾向が見られた〔第1、2図〕参照〕。この傾向は基質液、血清試薬検量線用 Pyruvic acid について発色させた際の吸収曲線についても同様に見られている。〔第5、6図〕

なお、Li-pyruvate と Na-pyruvate の反応呈色後の 510m μ 周辺における吸光度と吸収曲線像から、純度、含量が同一とすると Li 塩よりも Na 塩の方が少し吸光度が高く出ることが想定されるが、若し ESGOT の方が吸光度が高く測定される理由が Pyruvic acid の Na 塩であるためとすれば基質液や血清試料を反応発色させた際でも高い吸光度を示すという点の解釈にはならないので、基質液の α -ケト酸の濃度も ESGOT の方が高いのでないかと考えられる。

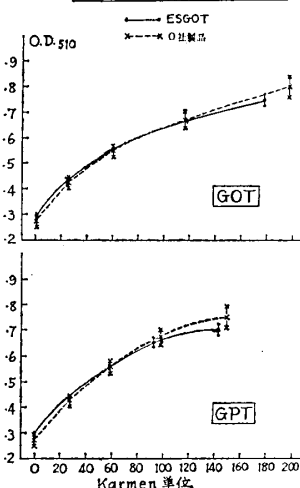
その他、発色液 (2,4-Dinitrophenyl hydrazine 塩酸溶液)、アルカリ溶液 (4.ON-NaOH) についてはどちらの製品でも発色後の吸光度に差を生ずる様な点は吸収曲線の上からは見当らなかった。なお、Iodometry による Pyruvic acid の標定成績では Li 塩 (O 社製品 94%、第一化学 93%) も Na 塩 (ESGOT 95%、第一化学 94%) も純度に差は殆んど見られなかったが、吸光度と感度が異なるので問題解決の基礎とはなり難い。

次に試薬の Lot 毎の品質のばらつきについて検討を試みた。先づ使用全期間中から約25種の ESGOT の Na-pyruvate 溶液を取り出し、同じ濃度に稀釈し同じ条件

〔第8図〕吸光度平均値による検量線



〔第9図〕最近の ESGOT の検量線



差とを示したが、この点明示されていると思う。また平均値で作製した検量線は O 社製品の検量線と比較して低単位では僅かに高く、高単位では僅かに低い吸光度を示している。これが高単位血清試料の測定値にかなりの差異を生じる原因の一つではないかと考えられる。

総 括

1963年頃、ESGOT と O 社製品の試薬を使用して同一血清試料の GOT、GPT 活性を測定し、低力価の場合測定値に僅かであるが差が見られることを知ったが、〔第4図〕参照〕。その差の原因を知る目的で今年まで両試薬を使用して測定結果の比較を行なってきた。

で反応させ、発色後の 510 $m\mu$ における吸光度を測定して比較した。試験管 No. 1 の発色後の溶液を対照として測定した場合は〔第7図〕の様に略々一定の吸光度を示したが、水を対照として測定した場合初期のものは少々高い吸光度を示している様であった。その原因は反応に関与した全試薬の品質の中に求めてみるべきであろうが、か様な場合 Pyruvic acid 以外の試薬に問題がないとすれば、当然検量線の吸光度が高く、従って測定活性値は低く得られるものと考えてよいであろう。しかし、測定の平均値はO社の製品 Li-pyruvate の成績とかなりよく合致している点から見て、Na-pyruvate による吸光度が高く出たためと断定するのもまだ検討の余地があると思う (α -Ketoglutaric acid も吸光度に関係するので)。

この同じ期間に亘って実測した検量線の吸光度をまとめて〔第3表〕に挙げたが、この際、同じ比色計を使った成績に限定し、またばらつきの原因となる要素があったと思われる場合はすべて除外し、約20余種についての成績の統計結果である。この成績を図示する(〔第8図〕) ESGOT とO社製品との相関を把握し易く、矢張り ESGOT の吸光度がO社製品のそれより少々高い(平均値から見て ESGOT の場合の方が数単位程低い単位が得られる可能性がある)こと、および吸光度のばらつきが高単位の方でO社製品より少なかった事が明らかである。これ等のばらつきは検査技術によるばらつきを少々上廻ると見られることは、プール血清、標準血清を用いての検査成績の管理の結果から明らかである。

しかし、検討した全期間の中後期のものは初期の頃の成績と或る程度の差があるため、改めて最近のものについて検討した結果、ESGOT とO社製品の各平均吸光度で作製した検量線はかなり接近し(〔第9図参照〕)、その差も〔第3表〕の様に少なく、しかもばらつきも著しく少ないかなり安定した測定値が得られる様になった、ただし、GOT, GPT 共にO社製品と ESGOT の検量線はクロスして、低単位では ESGOT が、高単位ではO社製品が高い吸光度を示す傾向が認められた。實際上よく対象となる高々100単位以内では差異が少なくなっているが、高単位の方では実測単位にかなり大きな開きが起ることが想像される。しかしいづれにしても、本法では100単位以上の正確な活性を求めることは無理である点明らから、この点余り議論の対象とならないと思う。

なお、最近の ESGOT とO社製品との実測値の比較では、少なくとも、100単位以内の血清試料であれば、検討開始当初の様な差は見当らず、従ってかなり高い相関が見られているので、この範囲内の GOT, GPT 活性の血清試料では ESGOT, O社製品のいずれの試薬によってもよく合致した値を得ることが出来る。

要 約

1) 一時(1963年末頃) ESGOT で血清GOT, GPT 活性を測定した場合、低単位の血清ではO社製品による成績よりも僅か許り低く測定される傾向があった。

2) 此の差を生じた原因を知るため、諸試薬の品質等について主に発色後の吸収曲線から夫々の製品について比較検討を試みましたが、Li-pyruvateの方がNa-pyruvateよりも若干吸光度が高く、従って検量線もO社製品よりも ESGOT の方が高い吸光度をとること、更に発色剤(2,4-Dinitrophenyl hydrazine 溶液)、NaOH 溶液には吸光度に影響を与えないと解せられること等を知った。しかし、原因が Pyruvic acid 溶液にあると断定は出来なかった(α -Ketoglutaric acid も発色するので)。

3) Lot 毎の試薬の品質の均一性を知るため、Lot 毎の検量線の吸光度の平均値と標準偏差を見たが、全期間の検討成績では ESGOT の方が僅か高い吸光度を示し、又標準偏差は高単位ではO社製品、低単位では ESGOT の方が大きかった。

4) しかし、最近の ESGOT について検討した結果、検量線はむしろO社製品と近似しており、かつ標準偏差も僅少であることを知った。

5) 従って、当初観察された ESGOT とO社製品との活性測定値の間の差の原因について明確な断定はするところまで到達しなかったが、長期に亘った、また最近の製品の検討成績から、特に高単位の血清でない限り両製品による血清 GOT, GPT 活性測定値に指摘すべき差がないことを明らかにした。

終りに臨み、御校閲、御助言を載いた本学中央検査部長福島豁行教授に深甚の謝意を表します。

前号(1965 No.3)の正誤表

ページ	行	誤	正
622	左欄13	血清 1.0 ml	(血清 0.1 ml と水 0.5 ml と混和)の 0.1 ml
〃	左欄26	1.0 ml	0.1 ml
〃	第1表検量線の作製の	SDS	ADS
〃	右欄	検量線〔図1〕	検量線を〔図1〕
〃	右欄〔図1〕	(wrbbclwehi)	(wroblewski)
〃	右欄(図2)	LAH	LDH
223	右欄 6	sigma	Sigma
624	右欄 14	回析格子型	回折格子型

アクチノマイシン D の化学と生物学 (I)

山形大学助教授 理学博士 中 沢 信 午

現代における生化学と生物学との協力によって、遺伝子 (DNA) から生物の形質が発現するまでの経路がしだいに解明されつつあり、とくに DNA→RNA→タンパク質という一連の合成過程の解明はすばらしい成果といつてよからう。

さてそこで、DNA からその遺伝情報をになうメッセンジャー RNA (m-RNA) が合成される段階だけを人工的におさえることができれば (a) すでに存在するメッセンジャーの運命を知ることができるであろうし、(b) 発生段階のどの時期にどの遺伝子が活動してメッセンジャーをつくるかを知ることにも可能であろう。この目的のために便利な物質がアクチノマイシン D (actinomycin D) である。

アクチノマイシン D は 1954 年に Vining と Waksman¹⁾ によって放散菌 *Streptomyces parvullus* 3677 という系統の培養からとりだされた。このときはペーパークロマトグラフィーによって Rf の位置からアクチノマイシン A, B, C, D の 4 種に分られた。表にあらわすとつぎのようになる。

アクチノマイシン	Rf				
	0.20	0.30	0.47	0.54	0.60
A		+++		++	
B	+	++		+++	
C		+	++		++
D		++++			

赤い色の抗生物質で、その化学構造は図 1 の通りである。生化学的にはグラム陽性菌の RNA 合成を特異的に阻害する作用をもっている。その作用機序もほぼ解明されている。

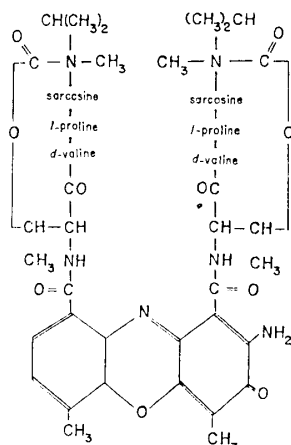


図 1
アクチノマイシン D の構造。

勢よく増殖しているブドウ球菌の一種 *Staphylococcus aureus* に $0.2 \sim 0.5 \mu\text{M}$ のアクチノマイシン D をあたえると、ただちにその RNA 合成はストップし、ひきつづいてタンパク質合成も止まり、しばらくして DNA の複製も行われなくなり、バクテリアは増殖できなくなる²⁾。しかし、このアクチノマイシンの濃度ではバクテリアの呼吸や解糖作用については阻害を示さないから、バクテリアはなお生存をつづける。つまりアクチノマイシン D は生体へ

のエネルギーの出入を制限するのではなく、別の方法で RNA およびタンパク質の合成をさし止めるのである。一方において、アクチノマイシンの吸収スペクトルは DNA を加えることによって大きく変化することから、DNA と親和性があり、それが RNA の合成を阻害するものと推定された。しかも RNA とアクチノマイシン D とは親和性にとぼしいことはたしかである。したがって、バクテリアを攻撃するバクテリオファージのように DNA をもつウィルスはアクチノマイシン D によってその増殖が止められるが、タバコモザイク・ウィルスのように DNA をもたずに RNA のみをもつものはアクチノマイシン D によっても増殖が制限されない。DNA を 0.12 mg/ml , pH 7.5 の水溶液とし、これに $2.9 \mu\text{M}$ という微量のアクチノマイシン D を加えると DNA の分子量は約 2 倍に増加する、これは DNA 分子にアクチノマイシンが結合したというだけでは説明がつかない。なぜなら、アクチノマイシンの分子量は約 1,300、DNA の分子量は数百万で、後者の分子量が倍になるためには 1 個の DNA にアクチノマイシンが 2,000~3,000 も結合せねばならないが、上の混合量比からしてそれは不可能である。この DNA の倍加現象はアクチノマイシン D がつぎ手となって DNA の 2 量体をつくったと考えればよいであろう。アクチノマイシン D には 2 個の結合手があり、一方の手で一方の DNA と、他方の手で他方の DNA と、サンドウィッチのハムのような役割をしているにちがいない。

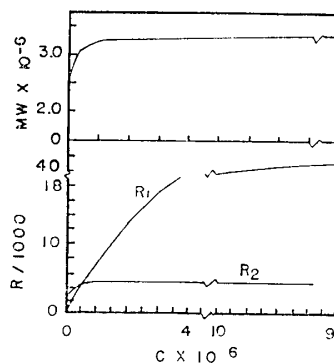


図 2
自由アクチノマイシン D 濃度の関数としての: (上) は牛の胸線の DNA の分子量, (下) は $R = (\text{DNA と結合したアクチノマイシン D のモル濃度}) / \text{DNA のヌクレオチドモル数}$ で R_1 は DNA の弱い結合手, R_2 はおなじく強い結合手。横軸 C はアクチノマイシンのモル濃度³⁾。

アクチノマイシン D の構造をみると、2 本のほぼ対称なペプチド連鎖をもつ U 字型であることからこれが想像される。

DNA 溶液にしだいにアクチノマイシン D を加えてゆくと、後者の濃度が高まるにつれて DNA の 2 量体もふえるが、ついに全 DNA が 2 量体をつくってしまうと、全体として一定した分子量が得られる (図 2 A)。こうして 2 量体となった DNA の回転半径を光散乱法によって測定すると単量体のときとほとんど差を見出せない³⁾。

これは単量体から2量体になっても分子の長さには変動がないことを意味する。したがって、2量体においてはDNA分子が末端で結合するのでなく、アクチノマイシンDを仲介として2本平行にならんで2重になっているものと考えてよい。

図2Aにみるように、溶液中のアクチノマイシンDがDNAの2量体形成に参加して、なお余っている自由のアクチノマイシンDの濃度が $1 \times 10^{-6} \text{M}$ 以上になると、この溶液のDNA分子量はほぼ一定(はじめの約2倍)になるが、しかしなおすこしずつ上昇してゆくのがみえる。これはなぜかという、DNAにはアクチノマイシンDに対して強く結合する手(R_2)と弱い手(R_1)とがあり、まず R_2 で結合して2量体をつくり、その手が充たされてしまうと、つぎには R_1 の方でも結合がおこるからだといわれる。これを図2Bで示してみる。 R_2 の方が飽和されると分子量はほぼコンスタントになるし、図の R_2 曲線は水平に達する。しかし R_1 曲線の方はなお増加をつづける。

アクチノマイシンDによるDNAの2量体形成はグアニンの存在によって妨げられる。したがって、グアニンを含まないように人工合成したDNAはアクチノマイシンDによってほとんど重合をおこさない。この事実はアクチノマイシンDがDNAのなかの4種の塩基アデニン、チミン、シトシン、グアニンのうちで、もっぱらグアニンと結合することを示すものであろう。一方においてアクチノマイシンDがRNAの合成を阻害するときには、DNAのグアニン塩基と結合することによって、RNAを合成する酵素RNAポリメラーゼの作用をおよぼなくしてしまうものといわれる。DNAを加熱するとそのダブルストランドが解けて1本ずつになる。これを急に冷却して1本のままで残し、こうして解離したDNAはもはやアクチノマイシンDとは結合しないことが知られている。RNAはDNAと似た構造をもちながらアクチノマイシンDと結合しないのは、そもそもRNAが1本の糸だからである⁴⁾。

グラム陰性である大腸菌にはアクチノマイシンDはほとんど作用しない。これは大腸菌の細胞壁がアクチノマイシンDを通過しにくいからだといわれる。これに対してグラム陽性菌である枯草菌はアクチノマイシンDに非常に敏感で、 $0.2 \mu\text{M}$ という微量でも菌の増殖は止む。さらに濃度を低めて $0.1 \mu\text{M}$ になると、菌の分裂増殖はおこらないで生長だけは行なわれ、正常の10倍以上の細長い糸状形の菌体ができる⁵⁾。

C^{14} ラベルしたウラシルを培地に加えて、これが枯草菌のRNAにとりこまれる量を測定すると、正常な場合にどんどん合成が進むに比して、アクチノマイシンDが存在するとこれが行なわれない(図3C)。こうしてRNA合成がストップするとすれば、菌体内に以前から存在したRNAはアクチノマイシンDによって補給源を絶たれ、どうなるのだろうか。あらかじめ C^{14} -ウラシルをRNAにとりこませておいて、つぎにアクチノマイシンDを加え、ついで菌をとりだして、これに冷却した10% TCA(トリクロロ酢酸)を加えると、RNAの一部

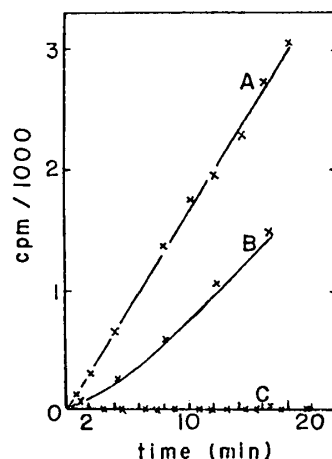


図3 $5 \mu\text{g/ml}$ の C^{14} -ウラシルを増殖中の枯草菌に時間0の点で加えた結果。A: 各時間に培養2mlをとってTCA抽出したものの C^{14} カウント。B: 各時間に培養10mlをとり、 $100 \mu\text{g}$ アクチノマイシンDを加え、10分と15分後にTACで抽出したもののカウント平均。C: 時間0でアクチノマイシンD $10 \mu\text{g/ml}$ を加えたもののカウント。縦軸は毎分カウント/1000⁶⁾。

は酸可溶性になっているために、遠心分離したときに上澄のフラクションに出てくる。したがって沈澱したフラクションには C^{14} 量が減っている。アクチノマイシンDを菌に加える前に、どれだけ長時間 C^{14} -ウラシルを菌にとりこませたか、また菌がどれだけ長時間アクチノマイシンDに接触したかによって、沈澱中に残存する C^{14} の量が異なる。この関係は、たとえば $5 \mu\text{g/ml}$ の C^{14} -ウラシルを含む培地に菌をおき、30秒後にその培養の40mlをとりだしてこれにアクチノマイシンD $400 \mu\text{g}$ を加え、ただちにTCAに入れて固定し、遠心分離した場合の沈澱中に出てくる C^{14} 量を100カウントとすると、おなじ菌分量にアクチノマイシンDを加えて3分後には35カウント、6分後には28カウント、12分後には25カウントに低下する。つまり菌体に最初存在したRNAはアクチノマイシンDによって酸可溶性に転化する。いいかえれば、しだいに分解して低分子化するわけである⁶⁾。

つぎにアクチノマイシンDを加えた条件でタンパク合成をしらべる。これにはヴァリンが菌のタンパク質にとりこまれるのを観測すればよい。 C^{14} ラベルしたヴァリンをアクチノマイシンDとともに増殖しつつある菌に加えると、予期に反して、しばらくはタンパク合成が正常につづき、約2分間後になってにわかに合成が低下し、アクチノマイシンDの存在下で15分間にタンパク質にとりこまれた C^{14} -ヴァリンの量は、アクチノマイシンDのない条件で3~4分間にとりこまれたそれとひとしいまでに合成が低下する。15分以上たつと、タンパク合成は完全にストップする(図4)。このように、アクチノマイシンDはタンパク合成を阻害するが、しかし最初の2分間はこの阻害があらわれないところに問題がある。一方さききのべたように、RNA合成の方は2分よりはるかに先き、わずか30秒後にはすでに阻害を受けている

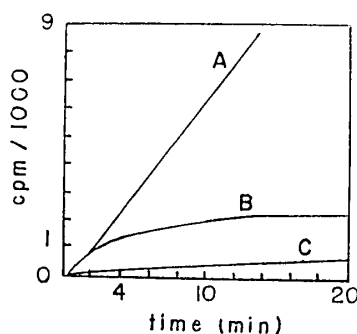


図4 増殖中の枯草菌に時間0で：(A) C^{14} -ヴァリン $5 \mu\text{g/ml}$ ($0.01 \mu\text{c}$) のみを、(B) 前記ヴァリンとアクチノマイシン D $10 \mu\text{g/ml}$ とを (C) 前記ヴァリンとクロラムフェニコール $100 \mu\text{g/ml}$ を加えたものの毎分カウントの時間的变化⁶⁾。

(図3 C) のだから、2 分間だけ正常のタンパク合成がつづくのは、RNA 合成が正常につづいたのではなくて、いままで存在していたメッセンジャー RNA が2 分間は生きてはたらいだということである⁶⁾。つまりアクチノマイシン D はタンパク合成に直接に阻害をするのではなく、RNA の合成を止めさせることによって、RNA がやが

て時間とともに不活性化して、ついにタンパク合成ができなくなるといふ間接的な影響をおよぼすのである。これをうらづける方法として、タンパク合成を直接に阻害するクロラムフェニコールを培地に加えると、アクチノマイシン D とは異なって、直ちにタンパク合成を低下させ、 C^{14} -ヴァリンのとりこみはおくれる(図4 C)。

大腸菌ではタンパク質の分子1 個が合成されるに必要な時間は5~10 秒といわれる⁷⁾。したがって、上の実験によって2 分間はメッセンジャー RNA が活動をつづけるとすれば、1 個のメッセンジャー RNA が10~20 回はタンパク合成をくり返してから酸可溶性にデグラデーションしてゆく運命にある。

文 献

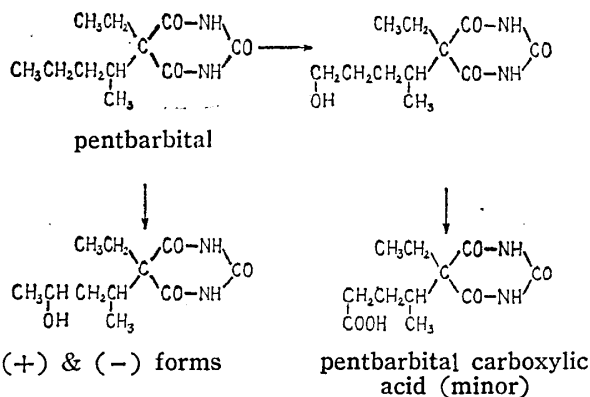
- 1) Vining, L. C. and Waksman, S. A. : Science **120**, 389 (1954).
- 2) Kirk, J. M. : Biochim. Biophys. Acta **42**, 167 (1960).
- 3) Cavalieri, L. F. and Nemchin, R. G. : ibid, **87**, 641 (1964).
- 4) Glodberg, L. H. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **48**, 2094 (1962).
- 5) Hurwitz, J. et al. : ibid. **48** 1222 (1962).
- 6) Levinthal, C. et al. : ibid. **48**, 1631 (1962).
- 7) McQuillin, K. et al. : ibid. **45**, 1437 (1959).

薬 物 代 謝 (II)

科学警察研究所 化学研究室 丹 羽 口 徹 吉
警察庁技官 医学博士

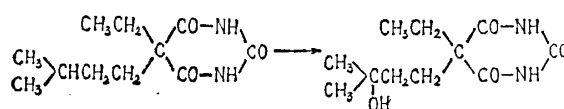
(2) 側鎖の酸化

Barbiturate のような医薬品は、側鎖の酸化をうけて不活性化される。pentobarbital は第一段階で肝臓の microsomes と NADPH_2 および O_2 により、側鎖の ω 位、 $\omega-1$ 位が酸化され⁸⁾、さらに ω 位の酸化されたものは、soluble fraction でさらに酸化を受け、pentobarbital carboxylic acid になる。



$\omega-1$ の酸化成績体(5-ethyl-5(3'-hydroxy-1'-methyl butyl) - barbituric acid は光学活性体で、排泄物中には

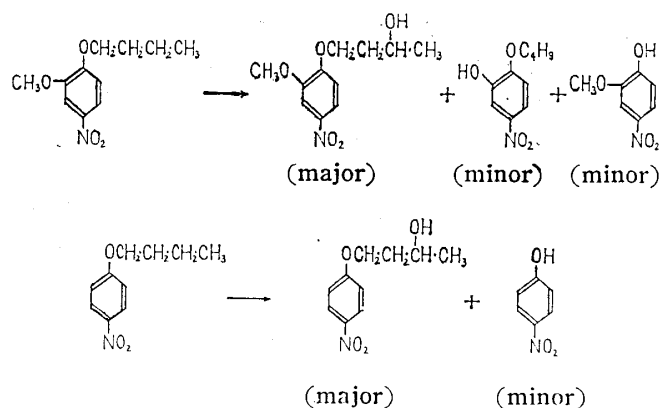
dextro 一体が多く、これのある部分は glucuronic acid と抱合体を作っている。Amytal の場合は、主成績体が tertiary alcohol (5-ethyl-5-(3'-hydroxy-isoamyl)-barbituric acid であることが認められている⁹⁾。



Amytal

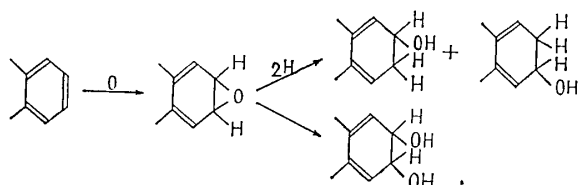
thiopental の側鎖も pentobarbital と全く同様に酸化され、一部分は ω 酸化で thiopental carboxylic acid にまで酸化され、多くは $\omega-1$ 酸化物として排泄される¹⁰⁾。しかしながら thiopental の場合は、肝臓以外の腎臓、脳の microsomes によっても酸化される¹¹⁾。

また、Mc Mahon¹²⁾ 等は一連の alkyl-p-nitrophenol ether の dealkylation の機構を研究中、alkyl 基の長さにより、dealkylation の速度が非常に違うことを見出し、Tsukamoto 等¹³⁾ はこれに関連して長い alkyl 基の場合は主代謝物として $\omega-1$ の水酸化成績体が得られることを報じている。



(3) Epoxidation

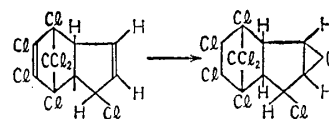
Boyland は芳香族環状化合物中、酸化の第一段階の代謝物として epoxide を形成し、次にこれが還元されて dihydromonol を生成するか、あるいは hydration によって diol になるものがあることを述べている。



この epoxidation 説の論拠となる代謝経路の例としては、殺虫剤として本邦でも繁用されている。

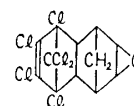
heptachlor のそれをあげることができる。これを、犬、rat に与えた場合、大部分の代謝物は動物の体内脂質中に、他は、肝臓、腎臓、筋肉等の組織に見出される。そしてこの代謝物は heptachlor の epoxide であ

ることが確認されている^{14) 15)}。なお、この際、特筆に値することは、代謝物の脂質中への蓄積が、動物の性に



heptachlor heptachlor epoxide

よって異なる点で、heptachlor の投与を中止した後、代謝物が体内から消失する時間は雌雄大体同じであるにかかわらず、雌の場合、雄よりも著しく蓄積が多い。また heptachlor epoxide の毒性は heptachlor 自体より明らかに強く、この epoxide と同族と考えられる Dieldrin もまた極めて有用な殺虫剤として一般に使われていることを付記しておく。



Dieldrin

文 献

- 8) Titus, E. and Weiss, H. : J. Biol. Chem. **223**, 765 (1956)
- 9) Maynert, E. W. : J. Biol. Chem. **195**, 397 (1952)
- 10) Brodie, B. B., Mark, L. C., Papper, E. M., Lief, P. A., Bernstein, E. and Rovenstine, E. A. : J. Pharmacol. **98**, 85 (1950)
- 11) Cooper, J. R. and Brodie, B. B. : J. Pharmacol. Exptl. Therap. **120**, 75 (1957)
- 12) Mc Mahon, R. E., Culp, H. W., Mills, J. and Marshall, F. J. : J. Med. Chem. **6**, 343 (1963)
- 13) Tsukamoto, H., Yoshimura, H., Tsuji, H. and Watabe, T. : Chem. Pharm. Bull. **12**, 987 (1964)
- 14) Davidow, B. and Radomski, J. L. : J. Pharmacol. **107**, 259 (1953)
- 15) ibid **107**, 266 (1953)

茶 の 間 の お 菊 さ ん

昭和大学病院歯科医長 医学博士 園 江 稔

晩酌の肴のツマミにと思って庭から一握のサンショの芽を摘んで来て、よく見たらその一つの若葉の先にポツとケシ粒程の白い虫卵がついていた。アゲハノ蝶の玉子である。ウイスキーのグラスにこの芽をさして茶の間のテレビの上に置いておいた。五日程立つとこの卵が白茶けて天蓋に孔があいて、中味は空っぽになっていた。孵化したのである。下の葉の上に黒い毛糸の燃えがらのような幼虫が止まっていた。カイコのはきたてのように多毛ではない。いつ餌をとるのか大い葉の上に静止し

ていて、葉をかじる姿はあまり見ない。カイコのように食欲が旺盛には見受られない。三眠までは脱皮した皮を食べてしまわらしく残渣を認められなかった。

私は度々アゲハの幼虫を飼った事があるが、それで気のついた事は、この類の幼虫はカイコや紋白蝶のように群生して暮らす事はない。親が卵子を一個一個別の若芽に産むようにこの幼虫も孤独を好んで同じ枝に同居することは少ない。飼育籠の場合でもむりに近づければ弱い方が糸を垂らして別な枝に移住してしまう。即ちテリト

リーがあるのである。稚虫のうちは小鳥の糞のように白黒の斑虫だが三眠をすぎるとすっきりとした青虫となり、触ったりすると柑橘臭の匂を発散する肉角を二本つき出す。この虫を飼育してもう一つ気のついた事は、食草で蛹化しないと云う事である。食草であった柑橘類がサンショの木を降りて、附近の別な木の幹で蛹化するのが原則である。飼育の場合は割り箸を立てて置くとそれに登って蛹化する。只一例だけサンショの梢で蛹化したのを見たが、これは例外中の例外と云い度い。

青虫から蛹化するためには形体の改造が大急ぎで行なわれる。何にしる青虫の一見口先に見える小さな先端が蝶の頭部になり、顔のようなくまどりのある、頭部の如き部分が胸に、あとの膨大な、凝足まである胴体の部分が蝶になれば翅の下にかくれる腹部となるのである。

この大改造が、青虫から蛹となるわづか数時間の間に行なわれるので、白血球の大破壊活動が伴って形態の大改造が行なわれるのである。

この蛹はカイコのようにマユを造らず、裸虫のまま木によりそって蛹化するので、尾端で幹に固定し胸のあたりを糸でぐるりと巻いてぶら下る。幹と虫体とが、尾端を起点として30度位の角度で糸に支えられるのだが、はじめ虫体の時はあをむけになっているのが脱皮して蛹となると脊を柱にむけるように半回転する。これは蛹化する時の脱皮の折体を半回転するのだと思うのだが、いつも観察しそこなってしまう。

さてこの蛹は夏なら一週間で孵化するのだが、この蛹にレントゲン線の照射を私の勤務先の研究室で行った事があった。青虫に3,000レントゲンあてるとぐったりとなってしまったが、やがて回復元気に餌をたべ、蛹化、羽化して見ると別に異常を認めない元気なアゲハノ蝶となった。その子孫については未が実験してないが、おそらく遺伝的には何等かの変化があるものと期待している。

次に蛹に照射して見たのだが、これは蛹化第1日から第8日までに分けて照射し、照射量も各段階で行った。

照射は取扱いの便利さを考えて、ラドン（ラヂウムエマナチオン）をガラスシードのカプセルに入れ、小孔をあけた鉛板によって希望部位に照射した。10⁴r を単位として0.5 から1~2.5~40……と増量した。結果を云うと孵化してから翅の一部が破壊され、軽度では鱗粉の欠損から重くなれば翅が破壊されて癍痕状態になるものまであり、蛹化の初期が重く熟すれば抗抵が強くなるのがわかった。

使い古しのリンゲルアンプルの切口の小孔から、蛹を入れて置くとやがて羽化して硝子管一ぱいに美しいアゲハノ蝶がはいっている。事情を知らない人はこれを見て、どうして小さな孔から蝶を入れたかと思議がったりする。

この蛹は前述のように裸虫で細い糸でつりさがるころから、番町皿家敷のお菊と身の上が似ているのでお菊虫の別名がある。殿様秘蔵の10枚組皿の1枚を割ったので、庭先の松の幹につり下げられて折檻を受けた、腰元お菊の姿がこの蛹と似ていると云うのである。また羽化した美しいアゲハノ蝶もお菊さんの生前の姿なのである。

それはさて、今我が家の、ラジオの上の青虫は、はじめウイスキーのグラスに2・3葉を食べていたが、生長した今は毎日5・6枚の葉をたべるのでビールのコップにして数本の小枝をさしてある。たべつくした枝では止らずに、下の繁った枝で休むのもこの虫の習性だろう。もうそろそろ蛹化すると思うので、割り箸がコップの近くに立ててある。

いずれ蛹化したら一晩休養させて蜂蜜でも御馳走したら広い大空のもとへ放してやるつもりでいる。いまさら瓶にとち込めるにも当るまい。

関 東 化 学 株 式 会 社

本 社 東京都中央区日本橋本町3丁目7番地
電話 (241) 5126~9・2882・4958・5059・5502・3740

工 場 日本工業規格表示許可工場
埼玉県草加市稲荷町2048番地
札幌出張所 札幌市北九条東1丁目
九州出張所 北九州市戸畑区天神町2丁目76番地
湘南出張所 平塚市八幡下高間1300番地
連絡所 東京都国分寺市国分寺1392番地
横浜市鶴見区下末吉町863番地
千葉市今井町2丁目14番地13号
大宮市東町2丁目17番地
静岡県三島市中央町4番6号
大阪関東化学株式会社 大阪市東区瓦町3丁目1番地

電話 草加 (2) 4177~4178
札幌 (71) 0724・1446
戸畑 (88) 3961・3962
平塚 (21) 2051・2052
国分寺 (21) 3489・
鶴見 (50) 3386・3387
千葉 (61) 1303・1304
大宮 (41) 9260
三島 (5) 4422
電話 大阪 (231) 代表 1672~4