

混合スルファミン剤の吸収及び排泄に関する研究

李 建 星

慶応義塾大学医学部外科教室 (島田教授)

(昭和 30 年 6 月 6 日受付)

スルファミン剤 (S 剤) の治療界に於ける地位は抗生物質が実用化された現在でも聊かも揺ぎない。この S 剤の効果増強、毒性低減、アレルギー反応その他の副作用軽減を目的として混合 S 剤が A. R. FRISK¹⁾ (1946 年) により着想された。この新しい化学療法剤の試みは現在まで多数の研究者¹⁾⁻¹⁰⁾ により検討されて効果が確認され、広く臨床上的普及をみているが、実地应用到に必要な指標となる S 剤の血中濃度及び尿中排泄の問題については未だ充分明かにされたとは言えない。著者は混合 S 剤の内服時に於ける血中及び尿中 S 剤の消長を直接把握するために Thiobarbituric acid (TBA) を試薬に用いる Sulfadiazine (SD) の特異的定量法、即ち TBA-test を利用して混合 S 剤の吸収及び排泄を検討して臨床に興味ある知見を得たので、ここにその結果を報告する。

I. Thiobarbituric acid による SD の定量法

Thiobarbituric acid $\text{CH}_2\langle\begin{smallmatrix} \text{CO}-\text{NH} \\ \text{CO}-\text{NH} \end{smallmatrix}\rangle\text{C}=\text{S}$ は 1916 年 DOX and PLAISANCE 等¹¹⁾ により初めて農産物中の Pentose や Pentosan の如き炭水化物を定量するために提出された試薬である。次いで 1943 年 H. I. KOHN¹²⁾ は二十日鼠、家兎及びモルモット等の脳漿がバラアミノ安息香酸やスルホンアミド類の様な芳香族アミン類の共存に於いて TBA と酸性溶液中に於いてある種の色素を産生することを見出し、続いて 1944 年¹³⁾ その脳漿中より産生される物質の測定法、化学的性状及び産生機序等の一連の好気性代謝の研鑽の結果、初めて TBA がスルホンアミド中、特に 2-aminopyrimidine とその誘導体である SD 及び acetyl-SD との間にも特異な反応を起すことを認めた。その後 1948 年 R. G. SHEPHERD 等¹⁴⁾ は更に数種の pyrimidine 類について本反応を詳細に検討確認し、本邦に於いては 1950 年青木等¹⁵⁾ が 1 N-塩酸で抽出した SD の本反応による定量を認めている。著者は SD を用いて TBA-test の基礎的研究を行い、更に血中及び尿中 SD の特異的定量法として臨床上への応用についても検討した。

A. 基礎的研究

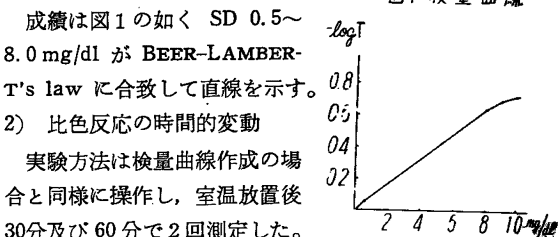
TBA-test は臨床上の応用

という見地よりは未だ精査されていない。よつて著者はこれに必要な基礎的研究を行い、臨床に最適なる比色条件を決定した。

1) 検量曲線の検討

実験方法は 0.1~1.0 mg/dl の SD 溶液を調製し、その各 1 cc に 1 N-塩酸 1 cc, TBA 8 cc を加えて熱湯中で加温した液の容積を 10 cc に調整し、遠心沈澱後室温放置 30~60 分の間に於いて光電比色計 Filter S₈₈ を用いて比色定量し、吸光度 (-log T) を読む。空試験は蒸溜水 1 cc を用いて前記同様に操作した溶液を用いた (以下操作法を省略する)。

図1 検量曲線



成績は表 1 の如く SD 0.5~8.0 mg/dl が BEER-LAMBERT'S law に合致して直線を示す。

2) 比色反応の時間的変動

実験方法は検量曲線作成の場合と同様に操作し、室温放置後 30 分及び 60 分で 2 回測定した。

成績は表 1 によれば 0.5~3.0 mg/dl 溶液では反応自体の時間的変動はないものと考えてよい。

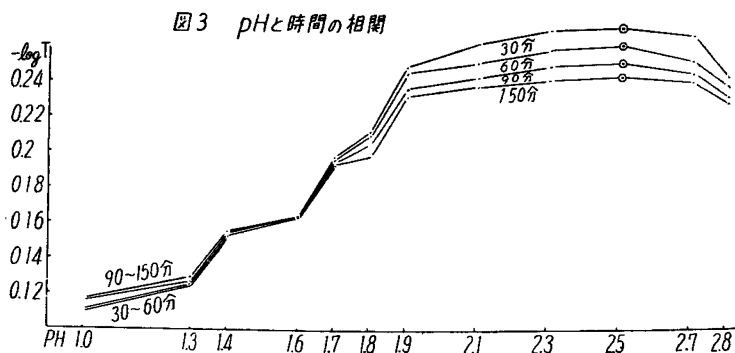
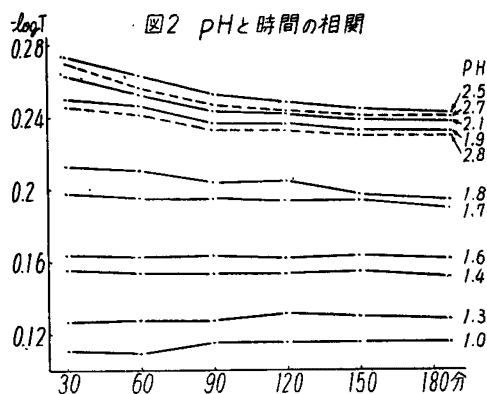
3) pH と時間の相関

実験方法は S 剤による反応自体の時間的変動の少い濃度の SD 溶液 (2 mg/dl) 1 cc を試料とし、これに 0.5~4 N-塩酸各 1 cc 及び pH=9.4 の TBA 8 cc で最終 pH を 1.0~2.8 に調整し、60 分加温後室温放置 3 時間後まで 30 分毎に吸光度の変動をみた。pH 測定は東洋濾紙 Thymol blue による簡易比色法を用い、空試験は蒸溜水 2 cc に TBA 8 cc を加えて操作した。

成績は図 2 及び 3 の如く、比色反応は時間的にも、又 pH の変動に対しても pH 1.4~1.6 間に於いて最も安定している。

表 1. 比色反応の時間的変動

mg/dl	0.2	0.5	1.0	2	3	5	8	10
-log T								
30 分	0.024	0.055	0.10	0.176	0.251	0.402	0.570	0.682
60 分	0.031	0.059	0.104	0.176	0.246	0.392	0.555	0.664
変 動	+0.007	+0.004	+0.004 ± 0		-0.005	-0.01	-0.015	-0.018



4) 鋭敏度

実験方法は 0.1~0.01 mg/dl の SD 溶液各 1cc を試料とし、最終 pH 1.4~1.6 で操作した。空試験は蒸溜水 1cc を試料とした。

その成績によれば測定可能な最低濃度は誤差の問題を考慮しなければ 0.02 mg/dl 程度である。

B. 血清中 SD の定量法

TBA-test は最終操作で 1/10 稀釈となるので定量の至適濃度を得るため、全血の代りに血清を用い、除蛋白には 15% トリクロール醋酸を等量加えて 1/2 稀釈とした。従つて先づ除蛋白法について検討し、次いで臨床例について Diazo 化法による定量法^{16)~21)}と比較した。

1) 除蛋白法の検討

a. 試験管内実験

SD 含量 5, 2, 1, 0.5 mg/dl の 1/2 血清加 SD 溶液について先づその各 1cc を 15% トリクロール醋酸 1cc を加えて 1/2 稀釈で除蛋白し、次いで同一試料の各 1cc を蒸溜水 7cc で稀釈後 15% トリクロール醋酸 2cc を加えて 1/10 稀釈で除蛋白する。遠心沈澱後前者 (1/2 稀釈) の場合は上澄液 1cc を更に蒸溜水 4cc で 1/10 稀釈とした後両者共 1-(β -diethylaminoethyl-amino)-naphthalin (津田)^{19)~21)}を用いて Diazo 化法

で総濃度を定量した。空試験は蒸溜水 3cc を用いた。

表 2. 除蛋白法の検討
(a. 試験管内成績)

mg/dl	5	2	1	0.5
-log T				
1/2 稀釈	0.331	0.155	0.091	0.063
1/10 稀釈	0.334	0.153	0.092	0.063

成績は表 2 の如く、1/2 及び 1/10 稀釈の両者の間に特に有意の差を認めない。

b. 臨床例

実験方法は SD 2g 内服健康人より随時採血後析出分離した血清を試験管内の場合と同様に 1/2 稀釈 (T 法) と 1/10 稀釈 (D 法) で除蛋白後 Diazo 化法で総濃度を定量した。

成績は表 3 の如くで、試験管内の場合と同じく両者の間に有意の差異を認めない。

2) TBA-test による血清中 SD の定量法

a. 試験管内実験

実験方法は 1/2 血清加 SD 溶液 (SD 含量 3, 2, 1, 0.5, 0.3 mg/dl)

の各 1cc を 15% トリクロール醋酸で除蛋白後、その上澄液各 1cc を試料として 1N-塩酸 1cc 及び TBA 8cc で最終操作した。空試験は SD を含まない 1/2 稀釈健康人血清 1cc を試料とした。

成績は表 4 の如く、比色定量の至適濃度内に於ける誤

表 3. 除蛋白法の検討
(b. SD 2g 内服時血清中濃度)

		2	3	4	8	10	24 時間
I	T	3.65	7.12	10.06	12.54	10.62	2.87
	D	3.60	7.05	10.15	12.45	10.55	2.90
II	T	2.60	4.41	6.00	7.40	5.50	2.60
	D	2.64	4.50	5.94	7.70	5.61	2.54
III	T	5.60	8.10	8.20	6.00	4.50	2.10
	D	5.70	8.05	8.10	6.30	4.70	2.00

T: 1/2 稀釈, D: 1/10 稀釈

表 4. TBA-test による血清中 SD 定量法
(a. 試験管内成績)

既知濃度	3	2	1	0.5	0.3 mg/dl
実測値	3.10	2.05	1.02	0.47	0.28
変 値	+0.10	+0.05	+0.02	-0.03	-0.02
動 %	+3.3	+2.5	+2	-0.6	-0.7

差変動は 5% 以下である。

b. 臨床例 (Diazo 化法との比較)

実験方法は 1) の場合と同様に SD 2g 内服健常人より随時採血分離した血清を 1/2 稀釈で除蛋白後 TBA-test で測定し、次いで同一血清を 1/10 稀釈で除蛋白後 1-(β -diäthylaminoäthylamino)-naphthalin を用いて Diazo 化法によつて総濃度を定量した。

成績は表 5 に示す如くである。

表 5. TBA-test による血清中 SD 定量法
(b. 臨床例)

		2	3	4	6	10	24 時間
I	T	1.25	2.20	2.7	4.1	3.30	4.50
	D	1.35	2.35	2.8	4.0	4.25	4.75 mg/dl
II	T	0.3	1.05	2.3	3.5	3.1	1.8
	D	0.3	1.20	2.5	3.4	3.1	1.8
III	T	1.04	3.0	4.0	3.8	2.2	1.3
	D	1.10	3.0	4.4	4.2	2.0	1.3

T: 1/2 稀釈, D: 1/10 稀釈

C. 尿中 SD の定量法

尿中 SD の操作定量に際しては蛋白よりも比色反応障礙物質及び比較的高率のアセチル化体の存在と至適 pH の調整問題が重要であるので、これ等の諸点について検討した。

1) 反応障礙物質について

実験方法は健常人尿及び病的化学物質を含む疾患の患者尿 1cc を用い、臨床一般尿検査の対象となる主な化学成分について TBA-test を検討した。空試験は蒸溜水 1cc を試料とした。

成績は正常尿と糖及び蛋白を含む尿は TBA-test で呈色しないが、ウロビリン、ウロビリノーゲン、ビリルビン及びアセトンを含む尿は呈色する。

2) アセチル化体の検討

実験方法は 1/5 稀釈健常人尿に SD 及びそのアセチル化体を含む溶液の等量を加えて 1/10 稀釈尿加 SD 及びそのアセチル化体溶液 (5, 4, 2, 1, 0.5 mg/dl) を調整し、その各 1cc を試料として操作定量した。

成績は表 6 の如く、アセチル化体の方が少々誤差が大

きい傾向がある。誤差変動は凡そ 5% 前後である。

3) 臨床例 (Diazo 化法との比較)

実験方法は SD 2g 内服健常人の随時採取尿各 0.5 cc に蒸溜水 8.5 cc, 15% トリクロール醋酸 1cc を加えて 1/20 稀釈尿を調整する (尿中 SD 濃度が特に高いか又は低い場合は適宜に稀釈度を換えて至適濃度に調整する)。遠心沈殿後これらの上澄液各 1cc を TBA-test で測定し、次いで同一各上澄液を更に蒸溜水で 1/100 稀釈尿に再調整して Diazo 化法で総濃度を測定した。

表 7. 尿中 SD の定量 (臨床例)

		2	4	6	8	10	24
I	T	21.0	58.0	79.5	92.5	40.8	65.5
	D	20.0	55.5	80.0	88.0	39.5	62.3
II	T	9.5	20.5	44.0	26.0	14.0	30.5
	D	9.0	20.0	40.5	25.5	13.5	30.0
III	T	2.5	19.0	23.0	41.0	72.0	10.0
	D	3.0	19.5	22.3	43.5	75.8	10.5
IV	T	5.0	16.0	35.5	21.0	17.5	30.5
	D	4.5	15.5	37.5	22.5	15.0	29.0
V	T	*3.0	9.5	32.5	42.5	57.5	24.0
	D	**4.0	12.5	37.5	56.5	89.0	46.0
	T	4.5	13.0	36.0	54.5	85.5	45.0
	D						

T: TBA-test, D: Diazo 化法

* 採尿直後, ** 1 週間室温放置

成績は表 7 の如くである。第 V 例の如く採取直後よりも 1 週間室温放置後の測定値がよく一致する場合がある。

4) pH の調整

15 例の健常人尿を用いて前述の如く 1N-塩酸 1cc 及び TBA (pH $\approx$ 9.4) 8cc で最終稀釈操作し、各溶液の pH を東洋濾紙 Thymol blue の簡易比色法で検査した結果、総べて至適 pH (1.4~1.6) 内に調整することが出来た。

II. 混合 S 剤の吸収及び排泄

混合 S 剤の吸収及び排泄に関する FRISK^{1)~3)} 及び LEHR^{4)~7)} 等の研究並びに推論にはなお検討を要する 2, 3 の疑点が考えられる。先づ FRISK 及び LEHR 等

表 6. アセチル化体の検討

既知濃度		アセチル化体					遊離体				
		5	4	2	1	0.5	5	4	2	1	0.5 mg/dl
実測値		47.5	3.7	1.95	1.0	0.48	4.78	3.9	2.02	0.98	4.48 mg/dl
変動	値	-0.25	-0.3	-0.05	± 0	-0.02	-0.22	-0.1	+0.02	-0.02	-0.02
	%	-5	-7.5	-2.5	± 0	-4	-4.4	-2.5	+1	-2	-4

の推論は化学的根拠に立脚してはいるが生体内での吸収及び排泄は濾過、拡散、滲透、表面張力及び親水性物質の存在等の諸因子の多元的相関による複雑な機能であるので、彼等の試験管内の化学的見解による推論との間には必ずしも平行関係が存在しないことは容易に想像される。一方、生体を対象とした研究では吸収及び排泄に影響を及ぼす溶解度について特別な考慮なく単に溶解度の差異の比較的小さいS剤だけを用いて研究し、且つその生体内濃度の僅少の差異を有意的に考察している。これをもつて溶解度が異なり且つ個体により特に差異の認められるS剤の吸収及び排泄を論ずることは物理化学的実験と異なり、仮令平均論を以てするにしても妥当とは認め難く、従つて推論の飛躍をまぬがれない。以上の観点から著者はI篇で述べたTBA-testを用いて血中及び尿中SDを特異的に定量し、これを指標として混合S剤の吸収及び排泄について検討したので、その結果について述べる。

A. Sulfamerazine (SM), Isoxazine (OX), 及び Marbadal (MB) 各混合内服時の血中及び尿中SDの変動

Sulfamine 剤の溶解度は吸収及び排泄に影響を及ぼす要因の1つと考えられているので、SDと溶解度の差異が比較的小さいSM²²⁾、差異の大きいOX²³⁾²⁴⁾及び差異が大きく且つMarfanilと尿素を含む特殊な混合剤MB²⁵⁾を選定し、その各々をSDと混合内服した場合のSDの変動をみた。

実験方法は健康被検者に1週間隔でSD 2g, SD 2g+SM 2g, SD 2g+OX 2g及びSD 2g+MB 2gを朝食2時間後に内服せしめ、其の後随時採血及び採尿する。血液は既述の如く分離析出した血清を試料に用いた(操作法は省略する)。

表 8. SM, OX 及び MB 各混合内服時の血中SDの変動

		SM	OX	MB
時 間	不 変	2	1	1
	延	1		
		3	4	4
	著			
吸 収 量	不(著)変	3	1	1
	著変(増減)	2	4	4

成績は表8の如く、SDの変動を血中濃度がpeak(P)に達する時間と、総体的吸収量の増減とを指標にして観察すると混合内服の場合血中濃度がPに達する時間は単独内服の場合に比較して不変又は遅延し、促進されるこ

とはないが、吸収量は増減何れの場合もみられる。然し両指標が同時に不変の例はない。両指標の変動はSMとの混合内服の場合は常にOX又はMBとの混合内服時よりも著明でなく血中濃度も低い、OXとMBの各混合内服時のSDの変動には斯かる一定の差異関係が認められない。定型的症例は図4, 5, 6の如くである。尿中排泄は血中濃度に平行し特異の影響は認められない。

図4 SM, OX及びMB各混合内服時の血中SDの変動

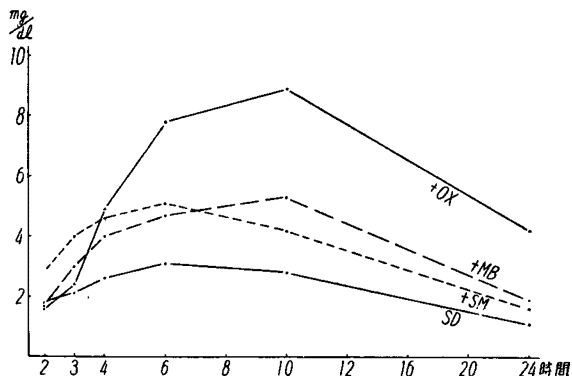


図5 SM, OX及びMB各混合内服時の血中SDの変動

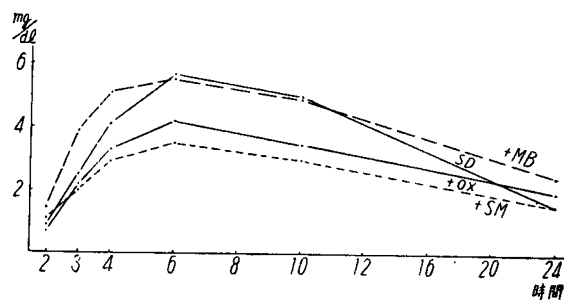
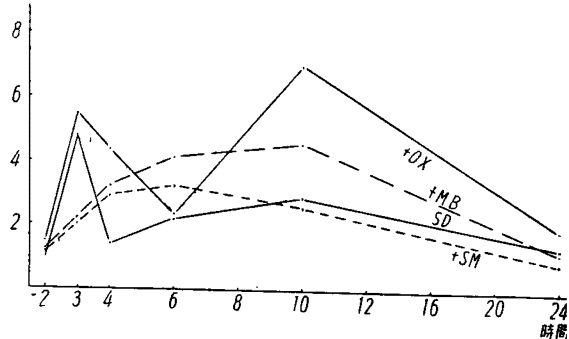


図6 SM, OX及びMB各混合内服時の血中SDの変動



B. 混合 Sulfamine 剤内服時の血中及び尿中の各S剤の変動

既述の如くOXとSDとの溶解度の差異は大きく、

混合内服時の SD の変動が著明であるので SD と OX を用いて混合内服時の各 S 剤の変動を検討した。

実験方法は先に述べた如く、SD 2g, SD 2g+OX 2g 及び OX 2g の各同一投与例について内服後随時に採血及び採尿する。SD 及び OX 単独内服の場合は各 3cc を採血し、分離した血清 1cc を尿と共に SD の場合は TBA-test を用い、OX の場合は Diazo 化法を用いて比色定量する。SD 2g+OX 2g 混合内服の場合は各 5cc を採血し、分離血清各 1cc を尿と共に夫々 TBA-test 及び Diazo 化法で SD 及び SD+OX の総濃度を測定し、更にこれより SD+OX 混合内服時の OX の総濃度を算出する。各 S 剤の変動は前と同様に血中濃度が P に達する時間と総体的吸収量の増減とを指標にして観察すると次の如くである。

1) SD の変動

表 9. OX 混合内服時の血中 SD の変動

時間	吸収	例数
延	増	3
	同	1
	減	2
不変	増	1
	同	(—)
	減	3
促		(—)

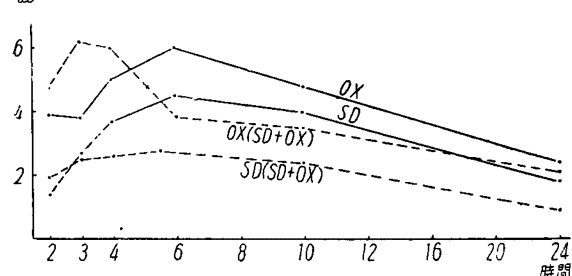
表 9 の如く、混合内服時の SD の血中濃度は時間的には促進される例はみられず、吸収量の増減と相関し種々の変動の型がみられるが、両指で標が同時に変動せず無影響と思われる例はみられない。尿中排泄は血中濃度に平行し有意の変化を認めない。

2) OX の変動

OX の血中濃度が P に達する時間には一定の変動傾向はみられないが、その血中濃度は SD の P に達する時間又は之より稍々おくれて OX 単独内服の場合よりも急激に、或いは緩

慢であるが著明に低減し、それ以後の濃度も単独内服の場合より低い。尿中排泄は SD の場合と同様に混合による影響は認められない。定型的変動は図 7, 8 の如くである。

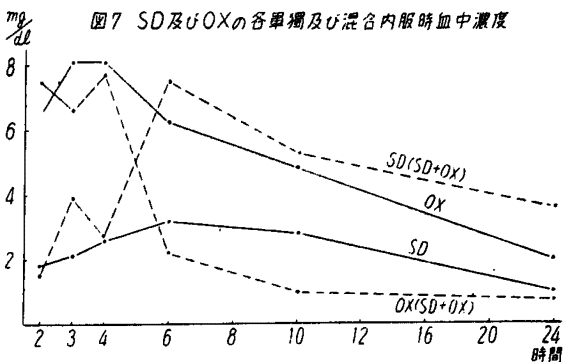
図 8 SD 及び OX の各単獨及び混合内服時血中濃度



総括並びに考按

1) 特異的分離比色定量法としての TBA-test

混合 S 剤の分析確認及び分離定量については精しく研究されているが^{26)~29)}、臨床上の応用には比色定量法が



最も簡易であるので、SD, SM, ST 更に Sulfamethylthiazol (SMT) 等の混合剤の分離比色定量法が研究された¹⁶⁾³⁰⁾³¹⁾。然し臨床上市中 S 剤の定量が可能であるためには、先づ普通内服量で得られる程度の血中濃度で速かに発色し且つ適度に呈色して長時間に亘つて一定値の呈色度を保ち得る反応でなければならず、しかも操作が簡便で肉眼的に識別し易い色相が得られなければならない。Thiobarbituric acid を用いる SD の特異的反応は比色に恰好なこれらの諸条件を十分に具備し、臨床に應用し得る反応と思われる。TBA と SD の呈色反応は種々の pyrimidine 類についてすでに KOHN¹²⁾¹³⁾ 及び SHEPHERD¹⁴⁾ によつて検討されたが、SD 特に血中及び尿中 SD の定量に関しては未だ具体的に検討されていない。SD と TBA との呈色反応は濃度範囲 0.5~8.0 mg/dl が BEER-LAMBERT's law に適合して直線を示し、時間的にも 0.5~3.0 mg/dl では 1 時間におたり完全に安定して呈色度の変動をみない。青木等¹⁵⁾は 1~10 mg/dl が BEER-LAMBERT's law に適合し、30 mg/dl 以上では濁濁物のため測定不能といっているが、8 mg/dl 以上は時間的に稍々不安定であり、濁濁は前述の濃度範囲に於いてもみられる。Pyrimidine 類の比色定量の至適濃度については SHEPHERD は 0.02~2 mg/dl 溶液を使用し KOHN は 0.5~2 mg/dl を用いているが、この濃度は著者の SD を用いた TBA-test の至適濃度に一致する。次に TBA-test は pH の変動に対して大なり小なり変動をうけることが見出されているが、著者が SD の時間的に安定な濃度 2 mg/dl 溶液を用いて pH 1~2.8 で 3 時間におたり呈色反応を吟味した所では pH 1.3 以下では稍々比色液が濁濁し易く、pH 1.7 以上では比色液を加温放置した後 60 分ですでに褪色が認められる。然しこれらの濁濁及び拡散による変動は室温放置後 120~180 分では比較的少い。呈色液の色調の強さは pH 2.5 前後に於いて最も強く、KOHN が報告している最適 pH 1.5~2.5 及び SHEPHERD の最適 pH 2 と略々一致する。KOHN 及び SHEPHERD

等は pH 3 以上では褪色が速かで pH 7 ではすでに 5% の誤差があり、pH 2~7 に於いては pH が高い程早く拡散すると述べているが、著者が検した SD の場合では呈色度は pH 2.5 以上になると弱くなるが拡散も弱くなり、pH 1.7~2.5 だけ pH の高さに比例して拡散し、pH 1.7 では殆ど拡散は認められない。従つて pH 1.3~1.7 では濁濁及び拡散がなく呈色度も時間的に安定であるが、pH 1.3~1.4、pH 1.6~1.7 及び pH 1.8~1.9 では呈色反応が pH の変動に対して鋭敏すぎて不安定であるので比色定量には pH 1.4~1.6 が至適であり呈色度も 3 時間に亘つて殆ど一定値を保ち得る。青木等が最終 pH を 1.5 前後に調整しているのも斯かる理由によるものと思われる。至適 pH の調整については KOHN 及び SHEPHERD は拘縁酸ナトリウム及び塩酸で調整した TBA (pH=2.6) を用い、試料を 1/5 N-塩酸で抽出しているが最終 pH については述べていない。又青木等も 1N-塩酸で抽出しているが著者は最終操作時 pH=9.4 の TBA 溶液 8 cc 及び 1N-塩酸 1 cc を検液 1 cc に加えることにより pH 変動の大きい尿の場合でも常に pH 1.5 前後の調整に成功した。即ち pH の一定せる試薬の比較的大量 9 cc を加えれば特に緩衝液を用いなくても稀釈された検液 1 cc の pH の差異は pH 調整の支障とはならない。斯かる至適な濃度及び pH に於いては呈色度はかなり長時間にわたり一定値を保ち得るので測定時間は特に厳密な考慮を要しないが、尿の場合に於いては至適濃度に稀釈され難い場合もあるので可及的早い方が望ましい。しかし他方検液の加熱後の容積補正及び濁濁物除去の操作があるので実際には加熱後室温放置 30~60 分の間に測定するのが適当と思われる。加熱時間は KOHN の述べた脳漿中の B 物質の如く 5 分間で完全発色する場合もあるが SD の場合では他の pyrimidine 類と同様に 45~60 分は必要である。然しそれ以上の加熱は特に意味がない様である。比色液の色相は SD を用いた場合は pH 1~2.8 では大体様に赤紅色を呈し、反応は KOHN によれば 0.002 mg/dl でも着色可能であるが実際に定量し得る最低濃度は 0.02 mg/dl 程度である。なお SHEPHERD によれば本 test によつて産成される色素は pH 1 に於いて 532 m μ で最高の吸収を示すといわれるので比色定量に際しては Filt S₅₃ (波長中心 530 m μ) が適合すると思う。

2) TBA-test による血中及び尿中 SD の定量

本 test は最終操作に於いて検液が 1/10 に稀釈されるので血中濃度の定量に際しては Diazo 化法の如く全血を用いて 1/10 稀釈で除蛋白を行うと普通内服量では定量に至適な濃度を含む試料が得られない。従つて血清を試料とし、これに 15% トリクロール醋酸を等量加えて 1/2

稀釈で除蛋白を行う。その際除蛋白液を点滴しながら充分に振盪混和して徐々に行えば表 2, 3 の如く特に定量の障礙となる様な有意の差異はなく、しかも至適濃度が得られて好都合である。尿の場合は除蛋白は必ずしも必要ではないが pH の変動が比較的大きく、HAWKING 等³²⁾によれば平均 pH 6 で最低が pH 4.8, 最高が pH 8.3, FLIPPEN 等³³⁾が 200 名の正常尿について調べた所では平均 pH 5.5, 本邦人の場合でも吉井³⁴⁾によれば通常 pH 5~7 であるが限界は 4.7~8.0 で大同小異である。従つて最終 pH の調整に対する副次的補助操作の意味に於いても尿の稀釈調整時 15% トリクロール醋酸 1 cc を加えるのが望ましく、之によつて容易に至適 pH の調整が出来、実測値も安定して Diazo 化法を用いた場合とよく一致した値が得られる。尿中に含まれる SD のアセチル化体は血中よりもかなり高率で遊離体に比し少々誤差を生じ易い傾向はあるが略々 5% 前後にすぎず、特に至適濃度に於いては殆ど定量の支障とならない。従つて正常尿中の SD の定量も血清と同様に可能であるが、健康人でも一過性に高度に証明されることがあるウロビリノーゲンは TBA と呈色反応し得るので特に考慮する必要がある。その際 EHRlich のアルデヒド反応による検出が比較的簡易で確実であるが S 剤の存在によつて検出が妨げられるので S 剤内服前の尿について検べるべきである。又生体内に於ける S 剤の種々の代謝機序が報告されているが^{35)~38)}、SD も個体によつては体内で特殊な代謝物質³⁹⁾—SHEPHERD は pyrimidine 基の酸化といつて¹⁴⁾—が形成されるため室温で 1 週間位放置の後測定しなければならない場合もあるが何れも定量を不可能にするものではない。従つて遊離体だけの定量が不可能で充分な定量法とはいえないが混合 S 剤の吸収及び排泄の研究の指標として血中及び尿中 SD の特異的定量には応用しうるものと信ずる。

3) 混合 S 剤の吸収及び排泄

混合 S 剤は相互に影響せず独立して吸収排泄されると考えられているが、著者は SD を特異的に定量して検討した結果 SD の血中濃度は SM, OX 及び MB の各 S 剤の混合内服によつて変動し、且つこれらの変動は混合内服する各 S 剤と SD との溶解度の差異の大小と関係があることを認めた。即ち SD は SM, OX 及び MB を各混合内服した場合単独内服時に比して血中濃度は P に達する時間及び吸収量の増減が相関して種々の型で変動し、その際 SM 混合内服時の方が OX 又は MB を混合内服した場合よりも変動が著明でなく吸収量も少いが、OX 及び MB の各混合内服時の SD の変動には斯様な差異関係は認められない。而してこれら各 S 剤の溶解度をみるに LEHR⁷⁾, FRISK²⁾, ALFRED⁴⁰⁾ 及び HECHT⁴¹⁾ 等

の研究によれば 37°C, pH 5.5 では SD, SM 及び MB の溶解度は各々 13 mg/dl, 37 mg/dl 及び 1,910 mg/dl で SM 及び MB は各々 SD の 3 倍及び 147 倍高く, OX は 20°C, pH 6 に於いて SD の 20 倍の溶解度を示すといわれるので SD との溶解度の差異は SM が著るしく小さい。しかもこの溶解度は又温度や pH の変化によつて影響をうけると考えられる。例えば ALFRED によれば 20°C, pH 6 に於いては ST 及び SD の溶解度は各々 51 mg/dl 及び 13 mg/dl であるが pH 8 になると各々 125 mg/dl 及び 191 mg/dl となつて逆に SD の溶解度が高くなる。又 SD は SM 及び SMT よりも pH の変動によつて溶解度は変動し易いが、何れも 3 者の混合剤と同様に pH 6~7 で急激に溶解度が上昇するため pH 5.5 以下では OX の溶解度が低く, pH 4.5 では凡そ混合剤の 1/3 にすぎないが pH 6 では逆に OX の方が 2 倍高く, pH 6.8 では 10 倍近く高くなるといわれる。一方胃腸管内の pH の変動は空腹時で凡そ pH 1~2(胃液)から pH 8(腸液)に及び食事後 30~60 分でも胃内 pH 4~5 位であるから内服した S 剤の溶解度に少なからざる影響を及ぼしうることが考えられる。従つて SD と溶解度の差異が小さい SM を混合内服した場合 SD の血中濃度に著明な変化を及ぼし得ないことが看取出来る。MB は SD との溶解度の差異は著しく大きい、飯田⁴²⁾によれば尿素と ST との混合内服では尿素は ST の吸収を促進或いは遅延せしめず、且つ ST は解離恒数が大きいので細胞外に多く分布して細胞との親和性が少く、血清アルブミンとの不活性複合体形成性が強いいため尿素によるこれらの複合体形成の妨碍及び ST による細胞アルブミン自体の変化、或いは更に毛細血管の拡張や血管透過性亢進等によつて ST の組織移行が多くなるといわれるので、ST と解離恒数が略々同じである SD と尿素を含む MB との混合内服時に於ける SD の血中濃度も両者の溶解度の差異が大きい割に比較的低い値を示し、OX 混合内服時との間に明かな変動の差異が認められないものと思われる。その他 S 剤の吸収に対しては溶解度以外に種々の化学的物質が影響を及ぼしうることが BULLOWA⁴³⁾, SOBIN⁴⁴⁾, STRAUSS⁴⁵⁾, BARLOW⁴⁶⁾, MARSHALL⁴⁷⁾, POTH⁴⁸⁾, FISHER⁴⁹⁾ 及び TAYLOR⁵⁰⁾ 等によつて報告されており、又食事との関係や投与方法及び個人的差異による変化も認められるので血中濃度の最高値及び最低値も個々に異なり得ることが指摘されている^{51)~55)}。著者も上記の理由から生体内の血中及び尿中の S 剤の変動を比較検討する際、僅少の濃度差について有意的に論評することは特に異つた吸収態度を示す S 剤を対象とする場合は無意義であると信ずる。通常内服量に於いては内服 S 剤の僅少の量差によつて吸収の程度が左程変動す

るとは考えられず、それが FRISK 等が言う如く吸収の完全さに基くものであり、且つ混合 S 剤が相互に独立して吸収されるとすれば著者の如く SD の同一量 2 g の血中濃度は混合する S 剤によつて既に述べた如き明らかな変動を示すとは考えられない。全く同一条件に於いて溶解吸収された混合 S 剤の血中濃度が各 S 剤単独内服時の濃度和に比して僅少の上昇を示し、且つそれが有意の差異であるとすれば寧ろ混合による溶解度の増大のため吸収の促進を招来されたものと考えるのが妥当であろう。混合 S 剤の溶解度は単一 S 剤の場合よりも内容が複雑で pH や温度以外に恐らく混合する各 S 剤の溶解度の相互関係及び混合の割合にも関係するものと思われる。実際 ST, SM 及び SD の 3 者混合剤や Supronal の溶解度が各々同一条件に於ける各単独の場合よりも高いことは FRISK 自身及び HECHT や LEHR も報告しているので混合 S 剤の血中濃度が同一条件下に於いて各単独の場合よりも高くなりうることは想像しうると考える。斯かる観点から著者は SD を特異的に定量してその変動を血中濃度の P に達する時間及び総体的吸収量の増減を指標にして直接観察し、混合内服する各 S 剤には溶解度の差異が大きく且つ混合による変動が著明に認められる SD 及び OX を用いて検したが、2 指標が同時に変化しない例は認められなかつた。即ち SD は 2 指標が相関して表 9 の如く種々の型で変動するに対し、OX は P に達する時間には一定の変動を認めないが SD の P に達する時間又はこれより稍々おくれで血中濃度が激減し、以後も単独内服時より低濃度を示すのが認められた。これは溶解度の低い SD は OX の吸収による 2 次的影響をうけるが溶解度の高い OX は 1 次的に吸収されるためその時の吸収機能の態度に応じて吸収を異にし、血中濃度の P に達する時間には一定の変化を認めないが SD の吸収が旺盛になると 2 次的に吸収が抑制され、高濃度の尿中排泄と相待つて以後低濃度を招来するものと考えられる。尿中排泄は各 S 剤の特性及び血中濃度に平行して増減するが混合によるとと思われる有意の変化はみられず相互に影響しないと思われるが、尙検討を要する問題であろう。以上の考察から混合内服時の SD 及び OX の血中濃度の変動は薬剤の選択性や個体差に基因するものであるとは考えられず、且つ 2 種以上の S 剤が相互に独立して溶解飽和するという化学的現象とは矛盾するものでなく、主として溶解した S 剤の吸収時における物理化学的影響であり、しかも S 剤の溶解度が主導的役割を演じていることが看取される。著者の成績に於いても溶解度の差異の小さい SM を混合内服した場合 SD の変動は著明でないが、混合 S 剤は FRISK 及び LEHR 等の推論した如く独立して吸収排泄されると考えるよりも相互に

影響し、ただその変動は混合するS剤相互の溶解度の差異の大小によつて著明でない場合があると考えるのが妥当であると考えるべきであろう。

4) S剤の混合投与

混合S剤内服時の相互の影響変動からみればS剤の混合投与は血中濃度の点からみて理論上原則として次の如く行ふのが理想的であると考えられる。即ち a) Synergistic effect を利用して副作用を軽減することを目的とする以外には血中濃度や抗菌スペクトル、従つて効力の点に於いて、溶解度が近く且つ抗菌スペクトルの近似した2種のS剤の混合内服は特に優れた投与方法とは思われない。b) この種のS剤の効果を速かに期待したい場合は投与方法として最初に注射法を行い、次いで内服法によるべきであろう。c) 最近の如く副作用が少く効力の強いS剤が知られている現在では斯かるS剤の混合投与は無意味であり、むしろ単独投与の方が優れていると考える。d) 但しこれらの新しいS剤は一般に溶解度が高いのでその排泄の速いものに対して溶解度の低いS剤を適量混合することは有効血中濃度の維持に役立ち得ると思う。e) MB の如く抗菌スペクトルが異なるものを他のS剤に混合投与すれば抗菌スペクトルが拡大されるので有意義と思われる。然しかかる場合に於いてもMBの効果を1次的に期待する場合と、あるS剤に附加的に混合投与する場合とでその目的によつて投薬の方法、時期、混合するS剤の種類並びに混合する割合が考慮されるべきである。f) 3種以上の混合投与はこれらの諸関係が更に複雑に相関するため理論的にも技術的にも理想的投与は困難であり、且つ意義のないことが多いものとする。

結 語

1) TBA-test は pH 1.4~1.6, 濃度 0.5~8.0 mg/dl に操作調整して 60 分温浴加熱後補正遠心沈澱を行い、室温放置 30~60 分の間に於いて Filt S₅₅ を用いて血清及び尿中 SD の総濃度を特異的に定量しうる。最低定量可能濃度は 0.02 mg/dl 程度である。

2) 血中 SD の定量に際しては血清を用い、15%トリクロール醋酸で等量稀釈して除蛋白する。

3) 尿中 SD の定量に際しては内服前 EHRlich のアルデヒド反応でウロビリノーゲンの存在しないことを確認し、測定時は Pyrimidine 基の酸化の有無に注意すればよい。アセチル化体及び pH の変動は定量を障碍しない。

4) SD と SM, OX 及び MB の各混合内服時の SD の血中濃度は SD との溶解度の差異が小さい SM 混合内服の場合が変動が著明でなく、濃度も低い。斯かる変動は主として溶解度の差異が関与するものと考えられる。

5) SD と溶解度の差異の大きい OX を混合内服した場合 SD の血中濃度は P に達する時間の変動と吸収量の増減が相関して種々の型で変動する。しかし時間的には促進されることはない。

6) OX は SD と混合内服すると 1 次的に吸収されて混合による影響はみられないが、SD の吸収が旺盛になるとこれに抑制されて血中濃度が激減し、且つそれ以後も単独内服の場合よりも低い濃度を示す。

7) 尿中排泄は血中濃度に平行し混合によると思われる有意の変化は認められない。

8) 血中濃度よりみた場合の S 剤の理想的混合投与方法について検討した。

本論文の要旨は第 2 回日本化学療法学会に於いて報告した。

終りに臨み、終始御指導御鞭達下さつた本学薬化学上田教授、外科 石井講師及び直接懇切なる御助言と御協力をいただいた薬化学教室 中田学士に深謝すると共に、被検者として協力された当院看護婦諸氏の御厚意に謝意を表する。

主 要 文 献

- 1) FRISK: Nord. Med., 29; 639, 1946.
- 2) FRISK: Brit. Med. J., 1; 7, 1947.
- 3) FRISK: Internat. Med. Digest., 60; 215, 1952.
- 4) LEHR, D. 他: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 58; 11, 1945.
- 5) LEHR, D.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 64; 393, 1947.
- 6) LEHR, D.: Brit. Med. J., 2; 543, 1948.
- 7) LEHR, D.: Brit. Med. J., 604; Sep. 9, 1950.
- 8) PAUL, D. 他: Am. J. Med. Sci., 218; 1, 80, 1949.
- 9) G. DOMAGK: Deut. Med. Wschr., 72; 671, 1947. (Bayer 文献より)
- 10) 石井, 李; 臨床, 5; 6, 79, 1952.
- 11) DOX & PLAISANCE: J. Am. Chem. Soc., 38; 2156~2164, 1916.
- 12) KOHN: Federation., 2; 26, 1943.
- 13) KOHN & LIVERSEDGE: J. Pharm. and Exp. Therap., 82; 3, 292, 1944.
- 14) SHEPHERD, R. G.: Analyt. Chem., 20; 12, Dec. 1948.
- 15) 青木, 他: 薬学研究, 22; 6, 252, 1950.
- 16) MARSHALL & BRATTON: J. Biol. Chem., 122; 263, 1939.
- 17) BRATTON & MARSHALL: J. Biol. Chem., 128; 537, 1939.
- 18) LEUTHARDT: Schweiz. Med. Wschr., 73; 653, 1943.
- 19) 津田, 他: 薬学雑誌, 62; 362, 1942.
- 20) 津田 薬学研究, 20; 4, 1, 1948.
- 21) 津田: 薬学, 2; 12, 1948.
- 22) ROBLIN, 他: J. A. Chem. Soc., 62; 2002, 1940.
- 23) KAPNICK, T. 他: J. Pharm. and Exp. Therap., 74; 284, 1942.
- 24) STOHLMAN, E. F. 他: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 49; 432, 1942.

- 25) HECHT, G.: Pharmacol. Agical. Congress. Dusseldorf, 13; oct. 1948.
- 26) 泉, 他: 薬学研究, 22; 3, 103, 1950.
- 27) 上田, 他: 薬学研究, 22; 5, 196, 1950.
- 28) 高木, 他: 薬学研究, 22; 4, 22, 1950.
- 29) 李: 未発表.
- 30) 青木, 他: 薬学研究, 22; 6, 256, 1950.
- 31) 津田 薬学研究, 22; 2, 69, 1950.
- 32) HAWKING, P.: Lancet., 242; 290, 1942.
- 33) FLIPPEN, H. F. & REINHOLD, R. G.: Ann. Internal. Med., 25; 433, 1946.
- 34) 吉井 臨床生理学, 初版, 1953.
- 35) HARRIS, J. S. J. Clin. Invest., 18; 51, 1939.
- 36) THORPE, W. V., 他 Biochem. J., 35; 52 and 61, 1941.
- 37) WEBER, C. J., 他: Proc. Soc. Biol. & Med., 53; 190, 1943.
- 38) SCUDI, J. V., 他: J. Pharm. and Exp. Therap., 81; 218, 1944.
- 39) KOHN: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 59; 1, 21, May, 1955.
- 40) ALFRED, R., 他: J. A. M. A., 16; 7, July, 1952.
- 41) HECHT, G.: Pharmacol. Agical. Congress. Dusseldorf, 13; oct, 1948 (Bayer 文献より)
- 42) 飯田 日外会誌, 53; 4, 265, 1952.
- 43) BULLOWA, 他: New York State J. Med., 40; 1450, 1940.
- 44) SOBIN, S. S.: J. Pharm. and Exp. Therap., 74; 247, 1942.
- 45) STRAUSS, E., 他: Ann. Int. Med., 14; 1360, 1941.
- 46) BARLOW, O. W., 他: J. Ann. Med. Assn., 116; 282, 1941.
- 47) MARSHAL, E. K., 他 Bull. Johns Hopkins Hosp., 67; 163, 1940.
- 48) POTH, E. J., 他: Arch. Surg., 44; 187, 1942.
- 49) FISHER, R. S., 他: J. Urol., 47; 183, 1942.
- 50) TAYLOR, F. H. L., 他: J. Clin. Invest., 19; 201, 1940.
- 51) PETERSON, O. L., 他: Am. J. Med. Sci., 204 (4); 581, 1942.
- 52) REINHOLD, J. G., 他: Am. J. Med. Sci., 201; 106, 1946.
- 53) WHEELER, C., 他 Ann. Int. Med., 16; 269, 1942.
- 54) STEAD, E. A., 他: J. Pharm. & Exp. Therap., 99; 680, 1940.
- 55) NORTHRUP, L. W.: J. Pharm. & Exp. Therap., 70; 297, 1940.
- 56) 斎藤: 光電比色計による臨床化学検査, 第5版, 1954.
- 57) 津田: 薬学, 3; 1, 1949.
- 58) NORTHY: Chem. Rev., 27; 85, 1940.
- 59) HENRY, R. J.: 医学のあゆみ, 1; 6~2; 2~4, 1946.
- 60) FINDLAY, G. M.: Advances in Chemotherapy., Chap. 9; 322, 1939.

STUDIES ON ABSORPTION AND EXCRETION OF SULFONAMIDE COMBINATION

C. H. LI

Department of Surgery, School of Medicine Keio
University (Director: Prof. N. SHIMADE)

1) For the thiobarbituric acid test, a test solution containing free or acetylated sulfadiazine was diluted to the optimum concentration, 0.5 to 8.0 mg per 100 ml, and adjusted to the optimum pH, about 1.5, with 1N hydrochloric acid buffer solution and a thiobarbituric acid solution. It is then heated in a boiling water bath for at least an hour, cooled at room temperature and its volume corrected. After centrifugation and between 30 and 60 minutes after heating, colorimetric measurements of the solution were made with a photoelectric colorimeter, using the 530 filter. The minimum concentration for accurate measurements was about 0.02 mg per 100 ml.

2) In the clinical blood samples, sera were used as testing materials and the proteins were precipitated with the same volumes of 15% trichloroacetic acid.

3) In the clinical urine samples, urobilin, urobilinogen, bilirubin and acetone would formate color with thiobarbituric acid, but the normal urine, even in the presence of oxydation of pyridine group, did not interfere with the colorimetric measurements.

4) The total blood concentration of sulfadiazine

orally administered in combination with sulfamerazine, isoxazine or marbadal showed certain patterns of fluctuation. These patterns were probably related to the difference in solubilities between sulfadiazine and the other component. The greater the difference in solubilities, the greater was its effect upon the absorption of sulfadiazine. So, the mutual effect on absorption and excretion of orally administered sulfonamide mixture could best be observed in oral administration of sulfadiazine with isoxazine because of their greater solubility difference.

5) The blood level of sulfadiazine administered with isoxazine might take longer but not shorter, to reach its maximum than when administered alone. Several types of blood levels of sulfadiazine are produced according to the time required to reach its maximum blood level and the total amount absorbed.

6) Isoxazine, which is more soluble and more readily absorbed than sulfadiazine, showed no significant changes on combined administration with sulfadiazine in the time required to reach its maximum blood level, but coinciding with the maximum blood level of sulfadiazine, it showed a definite in its blood concentration and it remained lower than when administered alone.

7) In excretion, no significant difference could be found whether administered alone or in combination.

8) Desirable combination of sulfonamides for clinical application were discussed, based on the foregoing findings.