

In the previous paper oxidation-reduction potentials and colloid-coagulation values of the thermal waters of Nozawa, their effects on Rotter's reaction and phagocytosis of human leucocytes in vitro were reported.

In this paper astringent and tissue-swelling actions of the thermal waters were studied with Dreser's and Callamand's methods and compared with the results obtained in the former report.

All the thermal waters of Nozawa, Shibu and Kakuma showed a marked astringent action, but the aged waters — stored for a week in the bot-

tle—lost such action.

A marked tissue-swelling action was observed with the waters of Nozawa and the results were coincident with their colloid-coagulation values. Tissue-swelling action of the spring waters of Shibu and Kakuma proved to be weaker than that of Nozawa.

All the thermal waters except that of Shinyu (Nozawa) inhibited the sprouting but promoted the growth of plants as compared with the results with the well water or distilled water controls.

## プロカインエステラーゼの研究

### 第一篇 正常血液及び血清の塩酸プロカイン分解能

昭和30年10月1日受付

信州大学医学部第一外科 (指導: 星子教授, 岩月助教授)

百 瀬 滋 男

#### 緒 言

塩酸プロカインは1905年 Einhornにより始めて合成されて以来, コカインより遙かに毒性が少く, その毒性及び薬理学的研究は, Hatcher 及び Eggleston により1916年, 1919年に報告され, 速やかに肝に於て分解されると述べている。<sup>①②</sup> Thieulin は, 塩酸プロカインは, パラアミノ安息香酸とデエチルアミノエタノールとに分解することを報告し<sup>③④</sup>, Dunlop<sup>⑤</sup> は肝のみならず他の組織に於ても分解されることを述べている。Ting<sup>⑥</sup>, Conway<sup>⑦</sup>等の文献によると, 血液中に塩酸プロカインを分解する酵素があることが1942年 Legge 及び Durie により報告され, 本酵素に就ては Kish等<sup>⑧⑨</sup>, Brodie等<sup>⑩</sup>, Ting等<sup>⑪</sup>, 竹田<sup>⑫</sup>, 長田等<sup>⑬</sup>, 谷野<sup>⑭</sup>, 平島<sup>⑮</sup>, 西山<sup>⑯</sup>, の報告があるが, 著者もその基礎的研究の一部を昭和30年の日本麻酔学会に於て報告した<sup>⑰</sup>。塩酸プロカインは局所麻酔剤として, 日常しばしば使用せられるが, 時には不快な副作用を起すこともあるので, 外科臨床に於て塩酸プロカインの安全な使用と, その中毒予防に資する為, プロカインエステラーゼの研究を行い, 正常人血液, 及び血清の塩酸プロカイン分解能に就いて実験した。

#### 実験方法

塩酸プロカインの定量法に就ては, Graubard,<sup>⑱</sup> Brodie<sup>⑲</sup>, Kish<sup>⑳</sup>等が報告しているが, 著者は試料中の塩酸プロカインの測定には, Ting 及び Coon 等<sup>㉑</sup>の方法に若干の改良を加えて施行した。即ち試料 1cc に蒸留水 3cc を加え, 次に15%トリクロール醋酸 1cc

を加え良く混和する。之を1500廻転で10分間遠沈し, 東洋濾紙 No. 6 を使用し濾過する。濾液 2cc を採り, 之に15%塩酸 0.3cc 及び 0.2% 亜硝酸ソーダ 0.2cc を加え 3 分間放置しデアゾ化する。次に25%尿素液 0.3cc を加え, 25~30°C 中に10分間放置し過剰の亜硝酸ソーダを中和し, 津田試液 ( $\beta$ -diethylaminoethyl- $\alpha$ -naphthylamine) 0.2cc を加え 5分間放置する。更に3cc のクロロホルムを加え, 約30秒間振盪後, 12N の苛性ソーダ液 0.7cc を加え, 2分間激しく振盪する。振盪終了後クロロホルム層と水層とに分離したならば, 直ちにクロロホルム層を駒込ビベットにて吸引し, Blank にはクロロホルムを用い, 厚さ 5mm のキューベットを用い, フィルター S47 を使用し, 光電比色計の読みを以つて, 既知濃度の標準曲線 (本法による標準曲線は 0~10mg/dl 濃度に至る迄直線を得た) から定量する。

試料として健康人血液, 血清は肘静脈より採取し新鮮なものを用い, 血液には二重碳酸を使用した。

#### 実験成績

##### 1) 正常人血の塩酸プロカイン分解能

血液 1cc に 100 $\gamma$ /cc の塩酸プロカイン 1cc を加え, (従つて混合液 1cc 中には 50 $\gamma$  の塩酸プロカインを含有する訳である。) 20°C 中に 15分, 30分, 1時間貯え, 各時間毎に溶液 1cc をとり, 塩酸プロカインを測定すると, その実測値は表(1)の如くである。更に同一人血液に就て, 2°C 中に 1時間貯えた時の実測値は表(2)の如くである。

表(1)

		15分(r/cc)	30分(r/cc)	60分(r/cc)
横	○	36.0	26.0	13.5
寺	○	32.5	26.0	8.0
百	○	37.0	27.5	15.0
平均		35.0	26.5	12.3
平均減少率		30%	53%	75%

(20°Cに於ける正常人血液のプロカイン分解能)

表(2)

		60分(r/cc)
横	○	28.5
寺	○	33.5
百	○	30.5
平均		30.5
平均減少率		39%

(2°Cに於ける正常人血液のプロカイン分解能)

即ち in vitro に於ける人血の塩酸プロカイン分解は、時間に平行して進み、20°C中に於ては1時間後には中加えた塩酸プロカイン濃度は略々4/5分解し、又2°Cに1時間貯えた塩酸プロカイン量は、20°C中に貯えたものに比し、分解能が相当減弱していることを認める。

2) 正常人血清の塩酸プロカイン分解能

溶血を起さない新鮮血清0.5ccを夫々6本の小試験管にとり、酵素活性値の温度の変化による影響を考慮して一旦37°Cの孵卵器に貯え、血清温度が一定になるのを待ち、之に予め37°Cの孵卵器に貯えた140r/ccの塩酸プロカイン生理的食塩水溶液を各々に0.5ccを加え、混和後再び37°Cの孵卵器に貯え、正確に10分毎に、10分より60分迄の各試験管中の塩酸プロカイン

表(3)

		10分(r/cc)	20分(r/cc)	30分(r/cc)	40分(r/cc)	50分(r/cc)	60分(r/cc)
百	○	45.7	21.0	0	0	0	0
浅	○	38.0	21.0	0	0	0	0
福	○	49.0	29.9	0	0	0	0
萩	○	46.0	25.7	0	0	0	0
寺	○	44.8	21.7	0	0	0	0
横	○	44.4	27.5	0	0	0	0
飯	○	43.3	17.0	0	0	0	0
望	○	46.7	31.0	0	0	0	0
河	○	43.3	17.0	0	0	0	0
岡	○	43.1	27.5	0	0	0	0
平均		44.6	22.9	0			
平均減少率		36%	67%	100%			

(37°Cに於ける正常人血清のプロカイン分解能)

濃度を既述の方法により測定すると、健康成人10例の実測値は表(3)に示す如くである。

即ち成人健康者血清0.5ccは70rの塩酸プロカインを10分で36%、20分では66%分解し、30分にては全く分解し去つてしまう事を認めた。

3) 人血清蛋白分層とプロカインエステラーゼとの関係

7.5ccの23%硫酸ソーダ<sup>㊟</sup>に血清0.5ccを加え、転倒混和後その1ccを採り、(血清総蛋白を含む)更に残液を東洋濾紙No.6にて濾過して得た液1cc(血清アルブミンを含有)の各々に140r/ccの塩酸プロカイン液1ccを加え、37°C孵卵器中に2時間貯え、各々1cc中の塩酸プロカイン濃度を測定した。(1cc中には70rの塩酸プロカインを含む管である)塩酸プロカインの測定に於て硫酸ソーダは何等反応を及ぼさない事を確かめた。成人健康者例の血清に就ての実測値は表(4)に示す。

表(4)

		總血清蛋白中の塩プロ r/cc	アルブミン中の塩プロ r/cc
百	○	44.5	47.5
宮	○	52.5	55.5
大	○	53.5	52.5
西	○	48.0	50.5
横	○	51.0	53.0
平均		49.9	51.8
平均減少率		27%	26%

(血清総蛋白及びアルブミンのプロカイン分解能)

更に同様操作により析出したグロブリンを同量の23%硫酸ソーダに溶解し、各1cc々に塩酸プロカイン140r/ccを1cc加え、1時間37°Cの孵卵器に貯え、その1cc中の塩酸プロカイン濃度を測定した。健康成人5例の実測値は表(5)に示す。

表(5)

		アルブミン中の塩プロ r/cc	グロブリン中の塩プロ r/cc
百	○	54.0	70.0
宮	○	64.5	70.0
大	○	62.5	70.0
西	○	56.5	70.0
横	○	58.0	67.0
平均		59.0	70.0
平均減少率		15.7%	0

(血清アルブミン及グロブリンのプロカイン分解能)

即ち表4, 5に示す如く、血清総蛋白と血清アルブミンとでは塩酸プロカイン分解率に殆んど差異なく、血清アルブミンと血清グロブリンとでは血清アルブミンのみが塩酸プロカインを分解し、血清グロブリンは殆

んど分解作用のない事を知つた。

### 考 按

Ting 及び Coon 等<sup>①</sup>によれば、プロカインエステラーゼの作用は25°Cから40°C迄は温度の増加と共に増強し、又48.4°Cに貯えた時は、38.3°Cに貯えた時よりもその分解能は劣り、此の事はコリンエステラーゼにも見られるという。Kish等<sup>②</sup>は人血清の20倍稀釈液を用い、之に30r/ccの塩酸プロカインを加え、15分間隔で各試験管中の塩酸プロカインを測定し、60分で略々50%に減少する事を述べている。更に予め56°Cに1時間保温した血清を同一の方法で測定すると、その分解能は前者に比して著明に減少し、60°Cでは一層著明であると述べている。又 Brodie 等<sup>③</sup>は新鮮血漿に5mg/ccの塩酸プロカインを加えて37°Cに貯え、2分以内に80-100%分解すると述べている。

Kish等<sup>②</sup>によれば、血漿のプロカイン分解能は全血の1.3倍、血清は血漿の1.4倍で、血球は洗滌すると殆んど無視しても良い程度であり、血清及び血漿の分解能の差は両者のpHの差からは説明出来ず、血液が凝固する事により、血清ではフィブリンが除去されるために、酵素が増加するかも知れないが、フィブリンは血漿中に3.3%しか存せないので、その影響によるものとも考えられず、結局血液が凝固する事により、プロカインエステラーゼの抑制物質が除かれるか又は亢進物質が現れるかも知れないと述べている。Kish等<sup>②④</sup>は塩酸プロカインの0.01-0.06mg/ccの添加では長期間貯えても分解は不能であると述べている。

健康成人血液の塩酸プロカイン分解能は20°Cに於ては15分、30分、60分で夫々30%、53%、75%であるが、2°C中では60分で39%であり、更に血清では37°C、30分で100%の分解能を示した。即ち人血及び血清は共にプロカイン分解能を有し、且つ温度的影響を受ける事が明らかである。

プロカインエステラーゼの血清蛋白分層との関係に就ては、Strauss 及び Kish 等<sup>⑤</sup>は血清を70%硫酸アンモンにて半飽和にし、Euglobulin 及び Pseudoglobulin を洗滌させ、透析試料及び室温乾燥による粉末に就て、プロカインエステラーゼを測定し、アルブミン分層にのみ活性値を認め、グロブリン分層には活性値を認めず、且つ2-7日後に於てもアルブミン分層中のプロカインエステラーゼは不変であると述べている。

西山<sup>⑥</sup>はコリンエステラーゼ同様、硫酸アンモン析出法により、アルブミン及びグロブリン分層に分け、アルブミン分層はグロブリン分層に比し、より明らかな分解能を示したが、両分層に  $\alpha$ ,  $\beta$  グロブリンを認めた点から、 $\alpha$ ,  $\beta$  グロブリンと関係を有するものであると述べている。従来塩析法によるアルブミン分層中には  $\beta$  グロブリンが存する事は述べられてい

るが、著者は齊藤氏の述べる23%硫酸ソーダ塩析法より、血清總蛋白溶液とアルブミン溶液とのプロカインエステラーゼには殆んど差異を認めず、更にアルブミン分層液には活性値を認めるに反し、グロブリン分層液中には活性値を認めない点から、プロカインエステラーゼはアルブミン分層と関係ある事を認め、Strauss 及び Kish 等の説を肯定する果結を得た。

### 結 語

人血液、血清共にプロカイン分解能を有し、人血液を20°Cに貯える時は2°Cに貯える時よりも分解能は高く、時間の過経と共に分解は進み、正常人血清0.5ccは70rの塩酸プロカインを37°C、30分で完全に分解する。更に血清中プロカインエステラーゼはアルブミン分層中に認められ、グロブリン分層中には認められない。

### 参 考 文 献

- ①Hatcher, R. A. & Eggleston, C.: A Contribution to the Pharmacology of Novocaine, J. Pharmacol. and Exper. Therap., 8: 385-405, 1916. ②Eggleston, C. & Hatcher, R. A.: A Further Contribution to the Pharmacology of the Local Anesthetics, J. Pharmacol. and Exper. Therap., 13: 433-487, 1919.  
③Graubard, D. J.: Clinical Uses of Intravenous Procaine, 1950. ④Dunlop, J. C.: The Fate of Procaine in the Dog, J. Pharmacol. and Exper. Therap., 55: 464-481, 1935. ⑤Ting, K. S. & Coon, J. M.: Studies on Procaine Esterase, Anesthesia & Analgesia, 29: 263-272, 1950. ⑥Conway, A. C., Ting, K. S. & Coon, J. M.: The Effect of Cholinesterase Inhibitors on the Toxicity of Procaine in Mice, J. Pharmacol. and Exper. Therap., 96: 472-476, 1949. ⑦Kish, B., Koster: The Procaine Esterase, Exper. Med. and Surg., 1: 51-65, 1943. ⑧Strauss, E. & Kish, B.: On the Locus of Procaine Esterase in Human Serum, Exper. Med. and Surg., 1: 371-379, 1943. ⑨Kish, B.: On the Specificity of Procaine Esterase, Exper. Med. and Surg., 1: 278-281, 1943. ⑩Brodie, B. B., et al: The Fate of Procaine in Man Following its Intravenous Administration and Methods for the Estimation of Procaine and Diethylaminoethanol, J. Pharmacol. Exper. Therap., 94: 359-366, 1948. ⑪Ting, K. S. et al: Effect of Procaine Esterase Inhibitors on the Toxicity and Rate of Hydrolysis of Procaine, Arch. Int. Pharmacodyn., 86: 80-90, 1951. ⑫竹田: プロカインの家兎体内代謝の研究, 日薬理誌, 50: 7, 昭29.(会). ⑬長田他: 塩酸プロカインの体内分解及局

所麻痺作用時間に関する研究, 日外会誌, 54: 164~165, 昭28(会). ⑩谷野: 生体内プロカインの定量及びプロカインエステルゼについて, 麻酔, 4: 22~24, 昭30.(会). ⑪手島: 塩酸プロカインの分解に関する研究, 麻酔, 4: 25, 昭30.(会). ⑫西山: Procaineに関する薬理学的研究, 日薬理誌, 51: 274~297, 昭30. ⑬岩月他: プロカインエステルゼに関する研究, 麻酔, 4: 24~25, 昭30.(会). ⑭Graubard, D. T. et al: Microdetermination of Blood Levels of Procaine Hydrochloride After Intravenous Injection, Anesthesiology, 8: 236~240, 1947. ⑮Ting, K. S., Coon, J. M. et al: A Spectrophotometric Method for Determination of Procaine and P-Aminobenzoic Acid, J. Laboratory and Clinical Medicine, 34: 822~829, 1949. ⑯斎藤: 光電比色計による臨床化学検査, 昭28. ⑰Kish, B. & Stauss, E.: New Experiments with Procaine Esterase, Exper. Med. and Surg., 1: 367~370, 1943.

## Studies on Procaine Esterase

### Part 1: Studies on Hydrolysis of Procaine Hydrochloride by Normal Human Blood and Serum

Shigeo Momose

Department of Surgery, Faculty of Medicine,  
Shinshu University

(Director: Prof. N. Hoshiko)  
(Assistant Prof. K. Iwatsuki)

Studies were made on the hydrolysis of procaine hydrochloride by normal human blood and serum. Procaine hydrochloride was measured according to Ting method. The results were as follows:

- 1) Procaine was hydrolyzed quickly by human blood and serum.
- 2) When the mixture of procaine and blood was stored in an incubator at 20°C, 75% of procaine was hydrolyzed in 60 minutes. When it was stored at 2°C, the hydrolysis was prohibited, with only 39% during the same time.
- 3) Seventy micrograms of procaine was hydrolyzed completely in 30 minutes at 37°C by normal adult serum.
- 4) Albumin in serum appeared to play an essential role in the hydrolysis of procaine, while globulin showed no activity.

## プロカインエステルゼの研究

### 第二篇 プロカインエステルゼと肝機能

昭和30年10月1日 受付

信州大学医学部第一外科 (指導: 星子教授, 岩月助教授)

百 瀬 滋 男

#### 緒 言

Hatcher 及び Eggleston 等<sup>①②</sup> により塩酸プロカインは肝臓により速やかに分解されると報告されて以来, 肝臓は塩酸プロカインの重要な解毒器官であるとされて来た。塩酸プロカインの肝臓に及ぼす影響は, 既に Jacoby<sup>③</sup> 及び Coleman 等<sup>④</sup> により報告されているが, 著者は塩酸プロカインの静注が肝機能に如何なる影響を及ぼすかを追試すると共に, 第一報に於て述べた如く, 血液のプロカイン分解能が血清蛋白, 特にアルブミンと密接な関係があることを確かめたので, 血清アルブミンと深い関係を有する肝機能の状態が, 静注された塩酸プロカインの血中濃度の消長に, 如何なる影響を及ぼすかに就いて動物実験を行い, いさゝかの所見を得たので報告する。

#### 実験方法

成熟家兎に 20mg/kg の割合で 1% 塩酸プロカイン

液を耳静脈より30秒前後で注射し, 注射前日, 注射後第1日, 第2日, 第3日目の肝機能をヘパトサルファレン試験及びカドミウム反応により測定した。ヘパトサルファレン試験は正確を期する為 5mg/kg の割合で耳静脈より注射し, 心臓穿刺により30分値を検した。肝機能の塩酸プロカイン分解能に及ぼす実験は, 体重3kg前後の家兎に塩酸プロカイン注射施行数日前より, L-メチオニン2%液を1cc 宛皮下注射し, 肝庇護を行つた家兎群と, 之とは別に塩酸プロカイン注射3日前に, 0.3cc/kg の四塩化炭素を経口的に投与し肝障害を起さしめた家兎群と, 更に予め何等操作を行わない健康家兎群に就いて, 20mg/kg の塩酸プロカインを30秒間前後に耳静脈より注射し, 家兎頸動脈より時間を追つて血液1ccを採取し, 血中塩酸プロカイン濃度を測定した。塩酸プロカインは第一報に於てのべた方法によつて測定した。