

- 1) ウサギ尿を, Somogyi-Nelson 法で糖を定量すると回収率が非常に悪く, 阻害物質の存在が認められた.
- 2) Somogyi-Nelson 法で尿糖を定量する際, 阻害する物質は NH_4^+ および糖以外の還元物質であった.
- 3) Somogyi-Nelson 法に対する NH_4^+ の阻害は, アルカリ性銅試薬中の Cu^{2+} と錯イオンを形成し $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ となり, 還元糖による Cu_2O の生成を抑制することが分った.
- 4) 尿中 NH_4^+ および糖以外の還元性物質の除去には, 陽イオン交換樹脂 Dowex-50, 陰イオン交換樹脂 Amberlite IRA-400 で処理することが有効である. この際, 共存する糖は 100% 回収された.

文 献

- 1) Hagedorn-Jensen : Biochem. Z. ; **137**, 92 (1923)
- 2) Somogyi M : J. Biol. Chem. **160**, 61, 69 (1945)
- 3) Benedict. F. G. : J. Am. Med. Ass. **57**, 1193, (1911)
- 4) N. Fujii, N. Akutsu : J. Biochem. **25**, 237 (1937)
- 5) A. Fujita, D. Iwatake : Biochem. Z. **242**, 43 (1931)

江田昭英, 永井博弌, 渡辺茂勝, 鈴木良雄*, 伊藤幹雄* :
 ビタミン B₁ およびその関連化合物の薬理作用

Akihide Koda, Hiroichi Nagai, Shigekatsu Watanabe
 Yoshio Suzuki* and Mikio Ito* :

The Pharmacological Actions of Vitamin B₁ and the Related Compounds

(Received October 10, 1970)

Summary

Following experiments were made mainly about the effects of VB₁ and its related compounds on the action and synthesis of ACh.

- 1) The ACh-induced contraction of isolated ileum of guinea pigs was increased by the pre-treatment of these examined substances.
- 2) Inhibitory effect of examined substances on ChE of horse's serum was found only in a high concentration.
- 3) The formation of free and total ACh in chopped tissue of frog's brain was increased with a low concentration of examined substances. The order of intensity was as follows: TPD > TPP > VB₁.
- 4) In the contraction of rat's phrenic nerve-diaphragm preparation by indirect stimulation, these substances showed a decrease seems to be a curare-like action in a concentration of $5 \times 10^{-9}\text{M}$, but an increase in 10^{-8}M . Their potentiation for the contraction was more remarkable by the pretreatment of DFP, one of potent cholinesterase inhibitors, or in the fatigued preparation. On the other hand, the effect of these substances was somewhat or little in the contraction by

* 名城大学薬学部薬理学教室 : Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Meijo University.

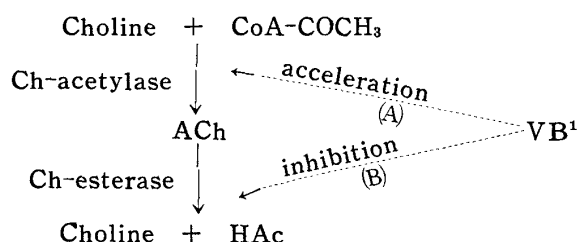
direct stimulation.

5) Analgesic activity of these substances was found somewhat or little in rabbits subjected to dental pulp-stimulation method.

6) These substances didn't affect the ED₅₀ value of morphine in mice.

ビタミン B₁ (VB₁) が acetylcholine (ACh) 作用を増強することはすでに知られているが, この作用機序について Glick¹⁾らは VB₁ が cholinesterase (ChE) を抑制する結果であると述べており, 西沢²⁾も VB₁ の濃度に比例して ChE 抑制作用が強くなることを報告している. VB₁ と ACh との関係をつぎの scheme の如く示した場合には彼らの成績では(B)の作用に該当する.

Consideration on effect of VB₁ on ACh System



一方, Torda³⁾らは脳組織切片の ACh 生成量に対する VB₁ の作用は高濃度の場合には総 ACh 生成量を減少せしめるが, 低濃度の場合には若干の増加を示すことを報告している. これは上記 scheme の(A)の作用に該当するものと思われる. 著者らはこの ACh の作用またはこの代謝系に及ぼす VB₁ およびその関連化合物の影響を検討するためにモルモット回腸の ACh による収縮に対する作用, 馬血清 ChE の阻害作用, 蛙脳切片における ACh 生成に対する作用, ラットの横隔膜神経筋標本に対する作用などについて実験し, 更には鎮痛作用との関連についても検討したので報告する.

実験材料および方法

I. 被 検 薬 物

実験に用いた被検薬物はつぎの如くである.

VB₁ 塩酸塩 (日本薬局方), thiamine propyl disulfide (TPD) (武田薬工), thiamine pyrophosphate (TPP) (武田薬工), thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide (TTFD) (武田薬工), benzoyl thiamine monophosphate (BTMP) (三共製薬).

II. 摘出モルモット回腸における実験

Magnus 法により摘出モルモット回腸に 10⁻⁷M ACh を反覆作用せしめ収縮高が一定した後, ACh 単独および被検薬物の前処置後の ACh による回腸収縮作用を連続して記録し, 30^s 後および 10^m 後におけるその収縮高を測定した.

III. ChE 阻害作用

a) 酵素材料の調整: 馬血清 ChE を Strelitz⁴⁾の方法により 2nd stage まで処理したものをを用いた.

b) 酵素活性の測定: Hestrin⁵⁾の方法に従った. 実験方法の概略は酵素分解残余 ACh にアルカリ性下に hydroxamine を作用させて hydroxamic acid とし, ついで塩酸を用いて酸性とし, FeCl₃ で発色させ 540m μ にて比色

定量した。

N. ACh 生成についての実験

Torda³⁾らの方法を一部改良して行なった。

a) Sample の調整：低温実験室（3～5℃）内で1回約50匹のトノサマガエルの脳を速かに摘出し、眼科用ハサミを用いて均一に細切した。この細切脳切片100mg宛を試験管にとり、Table 1に示すようなそれぞれの組成のmediumを加えた。

Table 1 Composition of incubation medium.

Test	Control (ml)	Experiment (ml)
4.8% Glucose	0.1	0.1
1.0% Eserine salicylate	0.3	0.3
Ringer's solution * ¹	2.6	2.3
10 ⁻² ~10 ⁻⁶ M Examined substance * ²	—	0.3
M/15 Na ₂ HPO ₄ * ³	0.12	0.15~0.36

*¹ Ringer's solution for frog; NaCl 0.67%, KCl 0.1%, CaCl₂ 0.015%.

*² Adequate amount of examined substance was dissolved in Ringer's solution.

*³ Adjust pH 7.4 with this solution.

b) Incubation：上記の如く調整した脳切片を含む反応液を38℃のincubater中に入れ、incubation開始時および30^m毎に試験管内にO₂を充満して振盪しつつ4^h incubationした。

c) Free ACh および total ACh の定量

Incubation終了後、それぞれの試験管に蛙用Ringer液を加え、さらにpH6.8に調整するために必要量のM/15KH₂PO₄を加えて全量を10mlとした。free AChの測定の場合にはincubation mediumを直ちに遠心分離して上清中のAChを蛙腹直筋を用いて定量し、total AChの測定の場合にはincubation mediumを沸騰水浴中で2^m間煮沸後、遠心分離して上清中のAChを同様に定量した。

V. 摘出ラット横隔膜神経筋標本についての実験

体重100～120gのWistar系ラットの横隔膜をBülbing⁶⁾および久我⁷⁾の方法に準拠して横隔膜神経とともに摘出し、型の如く神経筋標本を作りGlucoseの濃度を0.2%に増量した改変Tyrode液70ml中に懸垂し、O₂を通じつつ38℃に保った。

刺戟は日本光電製MSE-3型電子管刺戟装置を用い、刺戟条件はvoltage 1～5V, duration 1.0 msec, frequency 0.2/secの短形波刺戟を間接刺戟の場合には神経に、直接刺戟の場合には筋にそれぞれ賦与し、筋に約1gの負荷を与え、筋攣縮曲線を煤紙上に描記した。

また、疲労実験の場合には最初の10～15^mは上記の刺戟条件で筋攣縮曲線を描記させ、ついで、frequencyを2.0/secとし十分に疲労せしめ、再びfrequencyを0.2/secとした。

なお、間接刺戟に使用した電極は2本の直径1mm、長さ5cmの白金線を約2mmの間隔で平行にセルロイド板で固定し、白金線の先端を釣針状に曲げ、その上に神経をのせた。

直接刺戟には同上の白金線2本を用い、1本は横隔膜の肋骨端に、他の1本は膜様部にそれぞれ刺入した。

VI. 鎮痛作用の実験

a) 家兔歯髄刺戟法: 柳楽ら^{8),9)}および江田¹⁰⁾の方法に準拠した。即ち, 家兔を円筒固定器に入れ, 歯科用穿孔器を用いて上顎門歯 2 本にそれぞれ前面中央より基部の歯髄腔に達するまで穿孔し, 1 日経過後, 再び家兔を円筒固定器に入れ, 穿孔部に 2V の乾電池および Du Bois Reymond の感応電流器に連結した刺戟電導子を挿入し, 最初は電流を弱くして刺戟を行なえば家兔は何らの反応も示さないが, 漸次刺戟電流を強くすると一定の刺戟閾値において口辺諸筋の攣縮を表わす。この場合家兔は痛みを訴えるものと推定し, この閾値を被検薬物投与前に数回測定し, 閾値が一定した後被検薬物を投与し, 投与後 3^m に亘り 15^m または 30^m 毎に測定し, 口辺諸筋の攣縮を示す刺戟閾値の上昇を以て鎮痛作用を判定した。

b) Haffner 法¹¹⁾

体重 15 g 前後の dd 系雄性マウスを 10 匹宛を 1 群とし, 所要量の塩酸モルヒネを背部皮下に注射し, 同時に被検薬物 0.01, 1 および 100 mg/kg を腹腔内に注射して以後 30^m, 45^m, 60^m および 120^m における ED₅₀ 値を Litchfield-Wilcoxon¹²⁾ 法により算出した。

実験成績

I. ACh による摘出モルモット回腸収縮に対する作用

10⁻⁷M ACh を回腸に反覆作用せしめて収縮高が一定した後, 種々の濃度の被検薬物の共存下に再び同濃度の ACh を 10^m 持続的に作用せしめた時の 30^s 後および 10^m 後の収縮高の percentage を被検薬物を作用せしめない時の ACh の 30^s 後および 10^m 後の収縮高をそれぞれ基準にして示すと Table 2 の如くである (Fig. 1~5 参照)。

Table 2 Effect of examined substances on ACh-induced contraction in isolated ileum of guinea pigs.

Concentration (M)	10 ⁻⁷		10 ⁻⁶		10 ⁻⁵		10 ⁻⁴	
	30 ^s	10 ^m	30 ^s	10 ^m	30 ^s	10 ^m	30 ^s	10 ^m
VB ₁	114±8.5	267±16.3	111±6.5	267±99.3	109±5.4	216±10.8	104±3.0	161±14.2
TPD	113±5.4	261±87.4	114±5.6	311±52.0	111±4.8	261±32.6	109±3.7	239±41.5
TTFD	108±1.9	117±53.5	112±2.5	178±77.1	111±8.6	278±10.3	106±7.9	261±24.2
BTMP	123±5.4	300±58.3	101±2.3	372±66.2	102±7.7	267±99.5	100±3.0	139±19.5

Evaluation was made as follows: $\frac{B}{A} \times 100$

A; Contractive height with ACh alone.

B; Contractive height with ACh in the presence of examined substances.

Each experiment consists of 3.

即ち, 被検薬物共存下における 30^s 後の収縮は軽度ながら増強の傾向が見られ, 10⁻⁷~10⁻⁶M で約 10% の増強が見られた。10^m 後では 10⁻⁷~10⁻⁶M で約 10% の増強が見られた。10^m 後では 10⁻⁷~10⁻⁶M において BTMP の増強作用は最も強く 300±58.3~372±66.2% を示し, ついで VB₁ および TPD であり, TTFD の作用は弱く 117±53.5~178±77.1% であった。しかし, 10⁻⁵~10⁻⁴M では TTFD の増強作用は強くなり 261±24.2~278±10.3% を示し, その他かなりの増強作用を示した。

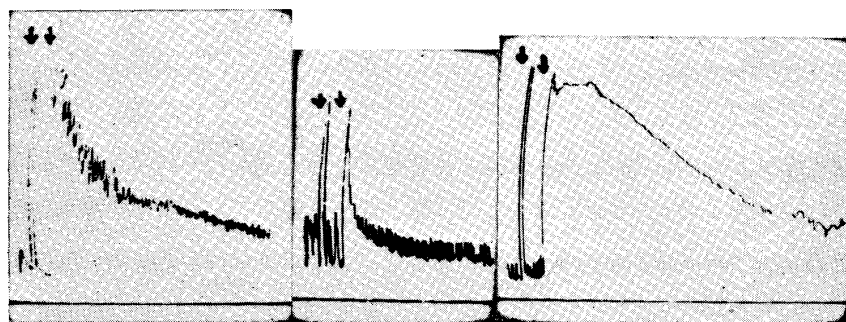


Fig. 1 ACh-induced contraction of isolated ileum of guinea pigs.

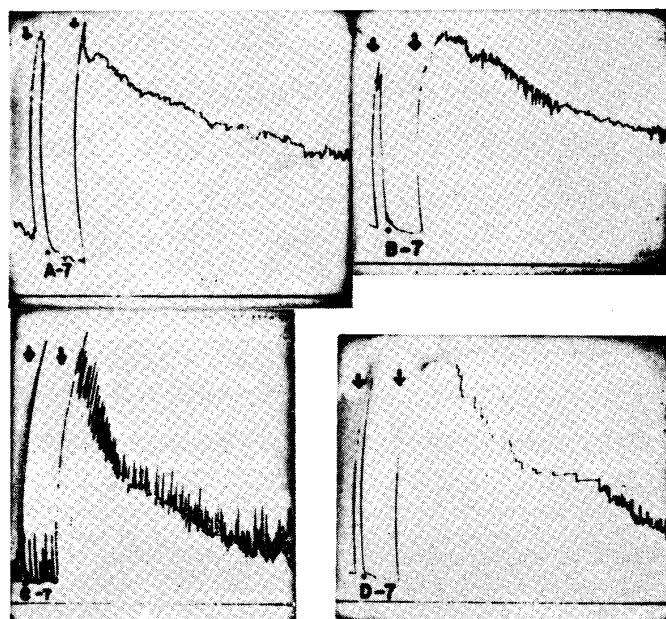


Fig. 2 Effect of 10^{-7} M examined substances on ACh-induced contraction of isolated ileum. A: VB₁, B: TPD, C: TTFD, D: BTMP

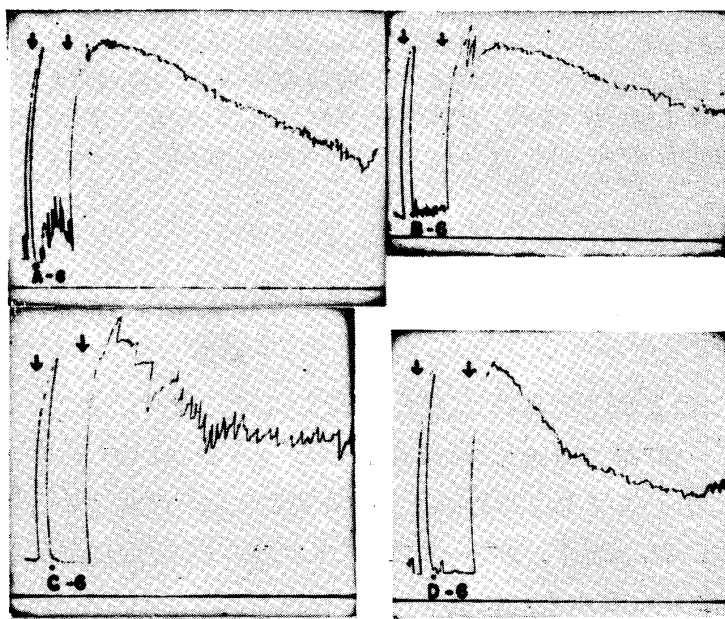


Fig. 3 Effect of 10^{-6} M examined substances on ACh-induced contraction of isolated ileum.

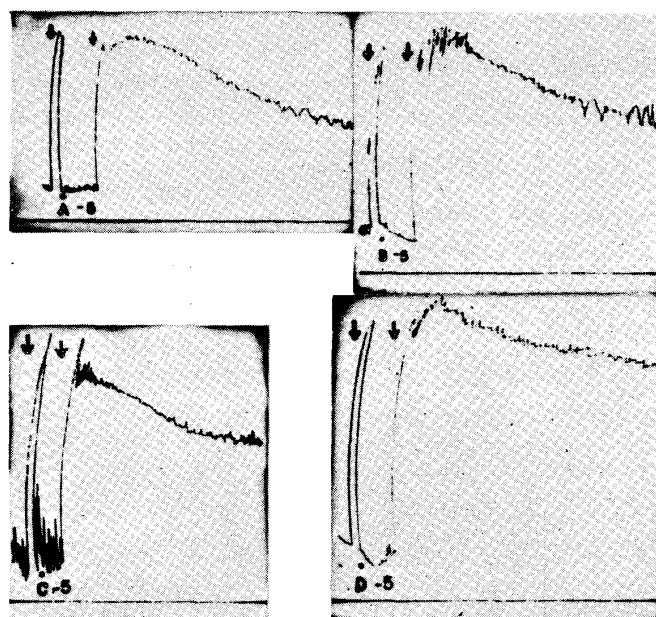


Fig. 4 Effect of 10^{-5} M examined substances on ACh-induced contraction of isolated ileum.

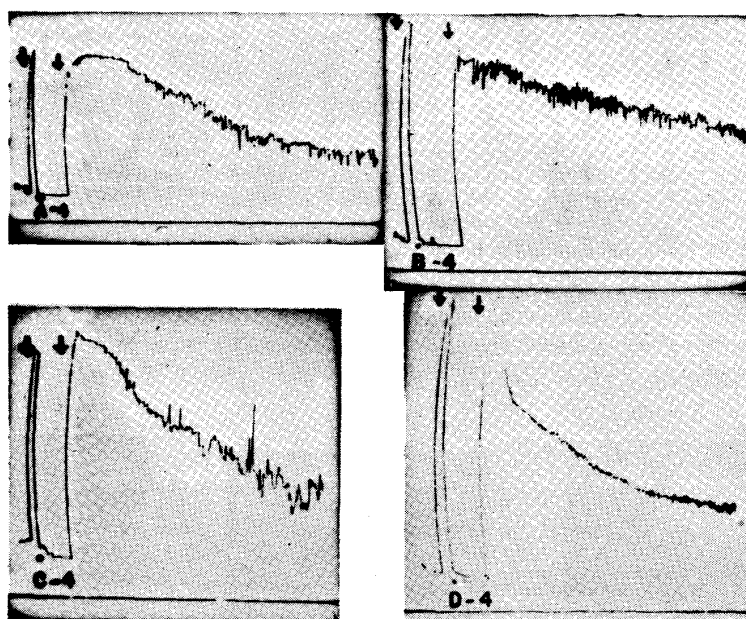


Fig. 5 Effect of 10^{-4} M examined substances on ACh-induced contraction of isolated ileum.

II. ChE 阻害作用

各被検薬物の ChE 阻害作用の 50% 阻害濃度は Table 3 に示す如くである (Fig. 6 参照).
従って, ChE 阻害作用の強さは $\text{TTFD} > \text{TPD} > \text{BTMP} > \text{TPP} > \text{VB}_1$ の如くであった.

III. ACh 生成に関する実験

a) Free ACh 生成量に対する影響

Free ACh 生成量に及ぼす被検薬物の影響は Fig. 6 に示す如く, control の ACh 生成量を基準にそれぞれの percentage を求めると, VB_1 の 10^{-7} M および 10^{-5} M では軽度増加の傾向を示したが, 10^{-3} M では約 20% の減少

を示した。TPP の $10^{-7}M$ では約 20 % の増加を示したが、 $10^{-5}M$ では減少を示し、 $10^{-3}M$ では約 30 % の減少を示した。また、TPD の $10^{-7}M$ では約 30 % の増加を示したが、濃度が高くなるとともに減少を示し、 $10^{-3}M$ では約 40 % の減少を示した。total ACh の生成量に対する成績は Fig. 7 に示す如く、free ACh のそれにほぼ類似した pattern を示した。即ち、free ACh および total ACh 生成を促進する作用は $TPD > TPP > VB_1$ の如くであった。

Table 3 Concentration of examined substances inhibited ChE-activity by 50%.

Examined substances	Concentration
VB ₁	$6.3 \times 10^{-3}M$
TPP	$2.5 \times 10^{-3}M$
TPD	$3.3 \times 10^{-4}M$
TTFD	$2.2 \times 10^{-4}M$
BTMP	$1.4 \times 10^{-3}M$

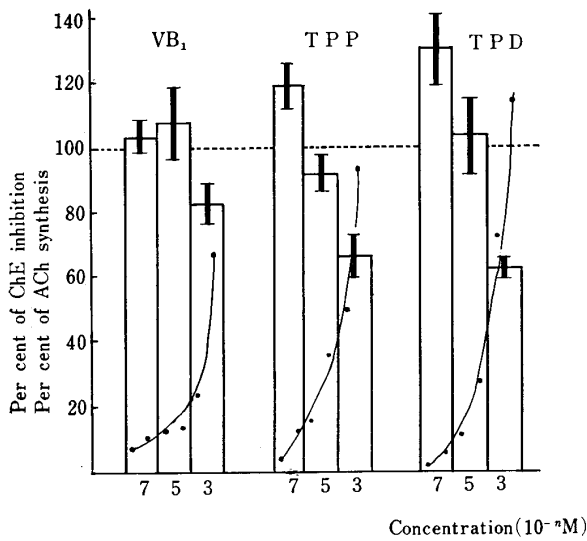


Fig. 6 Effects of examined substances on ChE-activity and free ACh-synthesis.

□ : ACh synthesis, ··· : ChE.

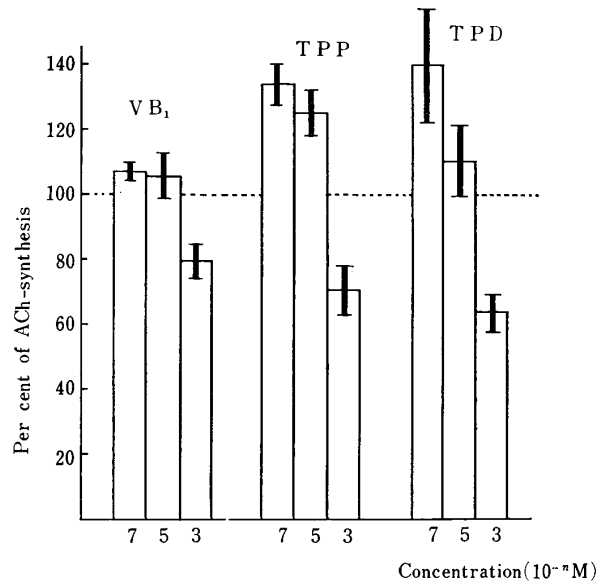


Fig. 7 Effect of examined substances on total ACh-synthesis.

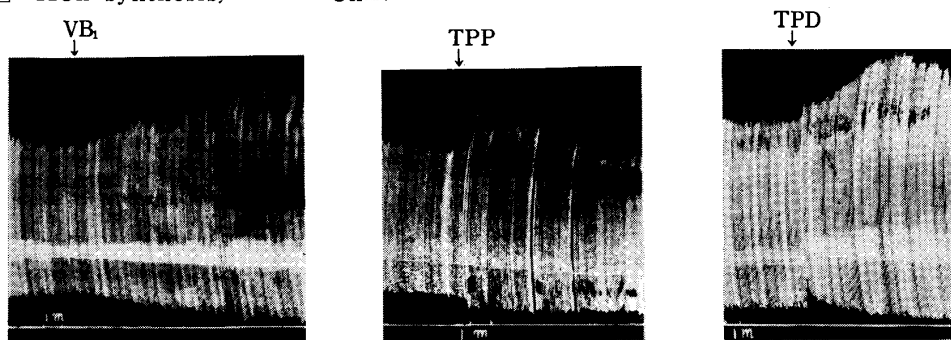


Fig. 8 Effect of $10^{-3}M$ examined substances on contraction of rat's phrenic nerve-diaphragm preparation by indirect stimulation.

Ⅳ. ラット横隔膜神経筋標本に対する作用

a) 間接刺激による筋攣縮に対する作用

神経刺激による間接刺激の筋攣縮に対する被検薬物の影響は Fig. 8 および 9 に示す如くである。

即ち、 $10^{-4}M$ 以下の濃度では筋攣縮に対して影響を認め難いが、 $10^{-3}M$ ではいずれも筋攣縮が増強し、特に TPD では顕著であった。しかし、 $5 \times 10^{-3}M$ では VB_1 および TPD の場合には間接刺激による筋攣縮は数分にして消失

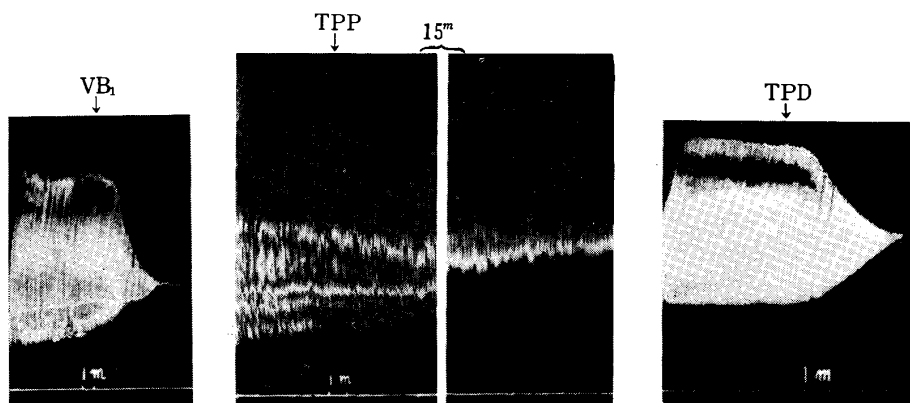


Fig. 9 Effect of $5 \times 10^{-3} M$ examined substances on contraction of rat's phrenic nerve-diaphragm preparation by indirect stimulation.

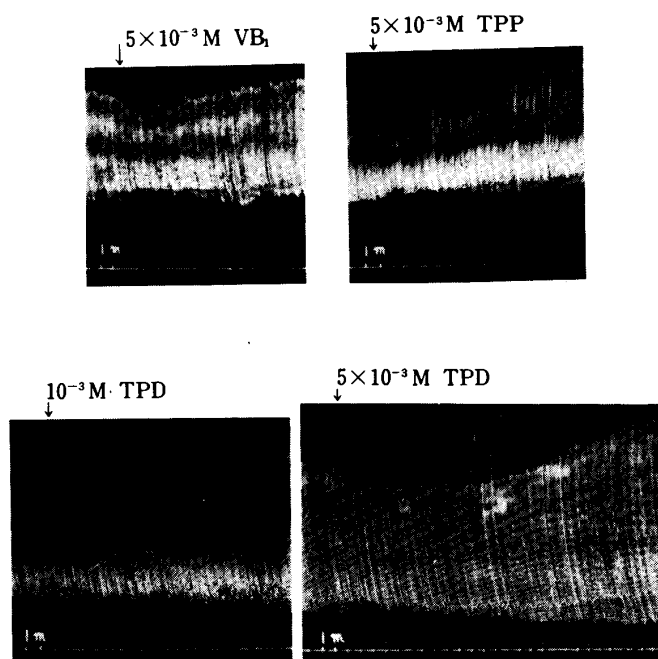


Fig. 10 Effect of examined substances on contraction of rat's phrenic nerve-diaphragm preparation by direct stimulation.

し, TPPの場合には徐々に減弱し, 20^m ~ 30^m にして消失した。

b) 直接刺戟による筋攣縮に対する作用

筋刺戟による直接刺戟の筋攣縮に対する被検薬物の影響は Fig. 10 に示す如くである。

即ち, $10^{-3} M$ では VB₁ および TPP では影響が認められないが, TPD は軽度減弱後, 徐々に増強の傾向が見られた。 $5 \times 10^{-3} M$ では VB₁, TPP および TPD とともに作用後, 一過性に筋攣縮は減弱するが, その後徐々に増強が見られた。特にこの増強作用は TPD が他に比して優位であった。

c) DFP 前処置後の間接刺戟による筋攣縮に対する作用

まず, ACh 単独作用の間接刺戟による筋攣縮の影響を検べると Fig. 11 に示す如く, $10^{-9} M$ 以下では筋攣縮に対して影響が認められないが, $5 \times 10^{-9} M \sim 10^{-6} M$ では増強が見られ, 特に $10^{-6} M$ では著明に筋攣縮は増強した。しかし, $10^{-5} M$ 以上では影響が認められないか, あるいは却って減弱した。

また, ChE 阻害剤である DFP の間接刺戟の筋攣縮に対する影響は Fig. 12 に示す如く, $10^{-6} M$ 以下の濃度では

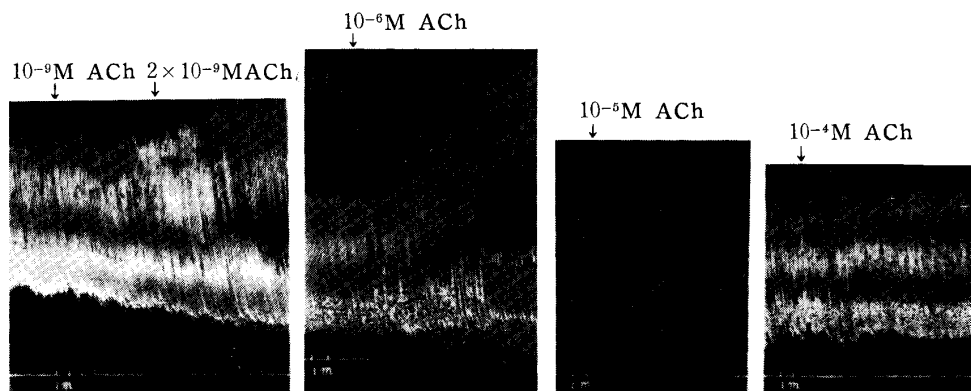


Fig. 11 Effect of ACh on contraction of rat's phrenic nerve-diaphragm preparation by indirect stimulation.

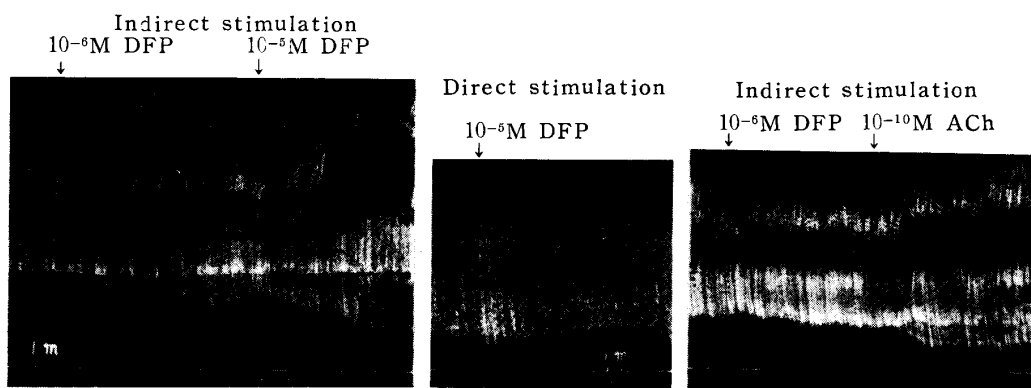


Fig. 12 Effect of DFP on contraction of rat's phrenic nerve-diaphragm preparation by indirect or direct stimulation.

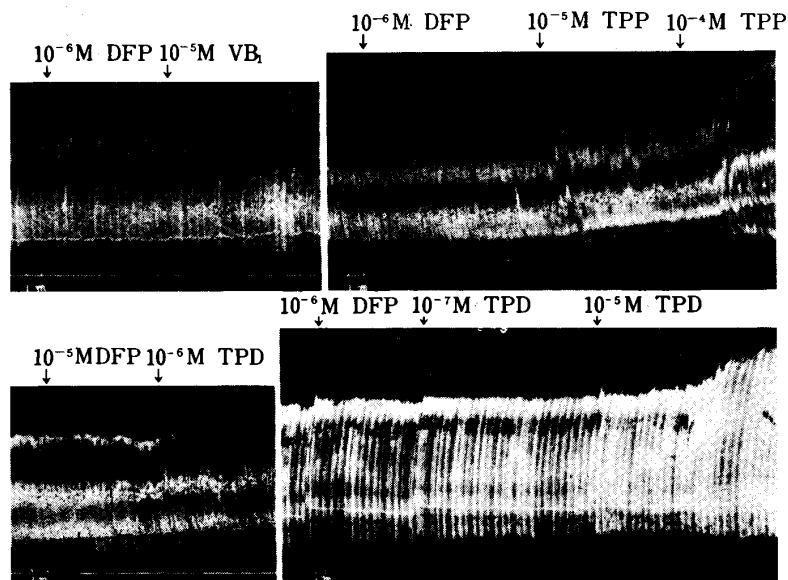


Fig. 13 Effect of examined substances on contraction of rat's phrenic nerve-diaphragm preparation pretreated with 10^{-6} M DFP by indirect stimulation.

影響が認められないが, $10^{-5}M$ では筋攣縮の明らかな増強が見られた. しかし, 筋に対する直接刺激に対しては DFP の $10^{-6}M \sim 10^{-5}M$ では影響が認められない. そこで, 間接刺激において $10^{-6}M$ DFP の存在下に筋攣縮に影響を及ぼさない濃度の $10^{-10}M \sim 10^{-9}M$ ACh を作用せしめると明らかに増強が見られた. また, この濃度の DFP の存在下で被検薬物を作用せしめると, その成績は Fig. 13 に示す如く, VB₁ および TPP では $10^{-6}M$ 以下では影響が認められないが, $10^{-5}M \sim 10^{-4}M$ では筋攣縮の明らかな増強が見られた. TPD ではこれらよりも増強作用は強く, $10^{-7}M$ 以下では影響を認め難いが, $10^{-6}M$ では増強作用が認められ, $10^{-5}M$ では著明な増強作用が認められた.

d) 疲労曲線に及ぼす影響

直接刺激による疲労曲線に及ぼす被検薬物の影響は Fig. 14~16 に示す如く, $10^{-6}M \sim 10^{-3}M$ の被検薬物はいずれも疲労曲線に対して影響が認められないか, あるいは軽度の回復作用が見られるに過ぎないが, 間接刺激による疲労曲線に対しては Fig. 17 に示す如く, VB₁ では $10^{-7}M$ 以下では影響が認められないが, $10^{-6}M \sim 10^{-3}M$ では著明な回復作用が認められた. TPP は VB₁ とほぼ同様な回復作用を示した. また, TPD では $10^{-7}M$ でも回復作用が見られた.

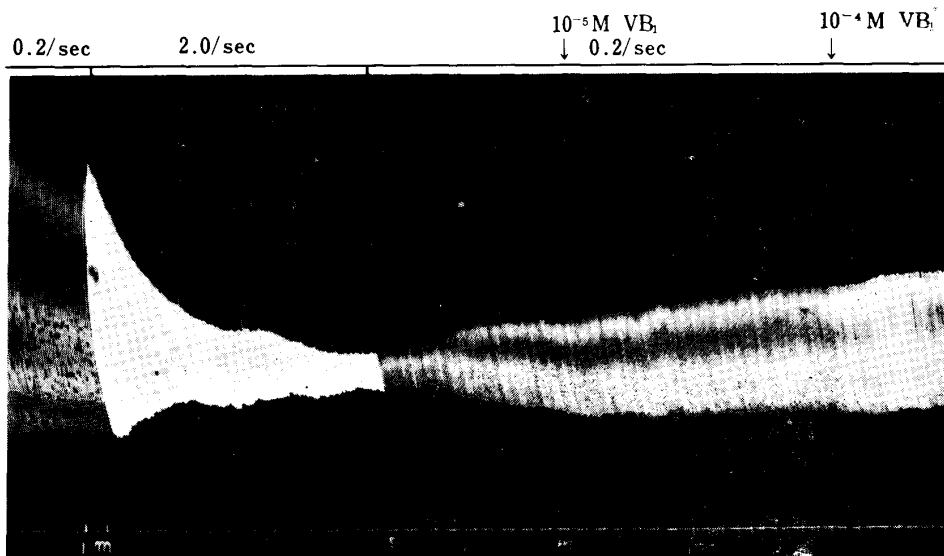


Fig. 14 Effect of VB₁ on fatigued curve of rat's phrenic nerve-diaphragm preparation by direct stimulation.

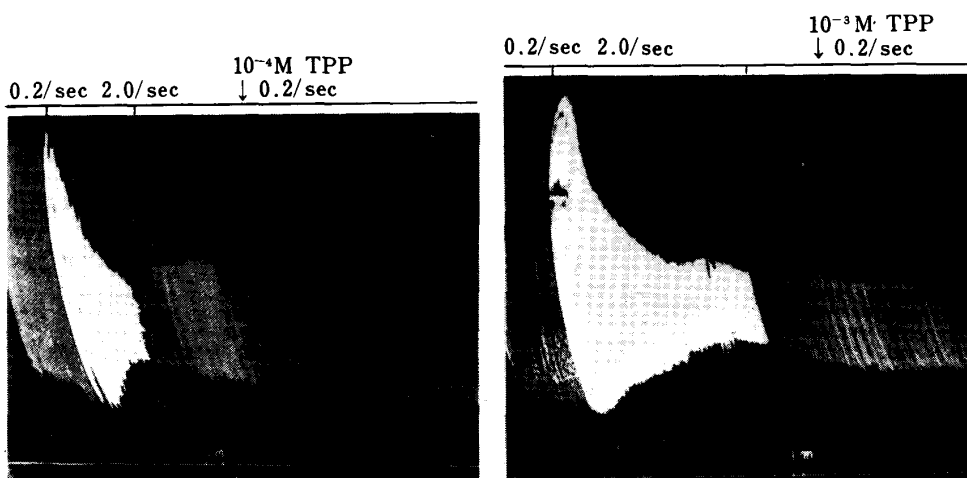


Fig. 15 Effect of TPP on fatigued curve of rat's phrenic nerve-diaphragm preparation by direct stimulation.

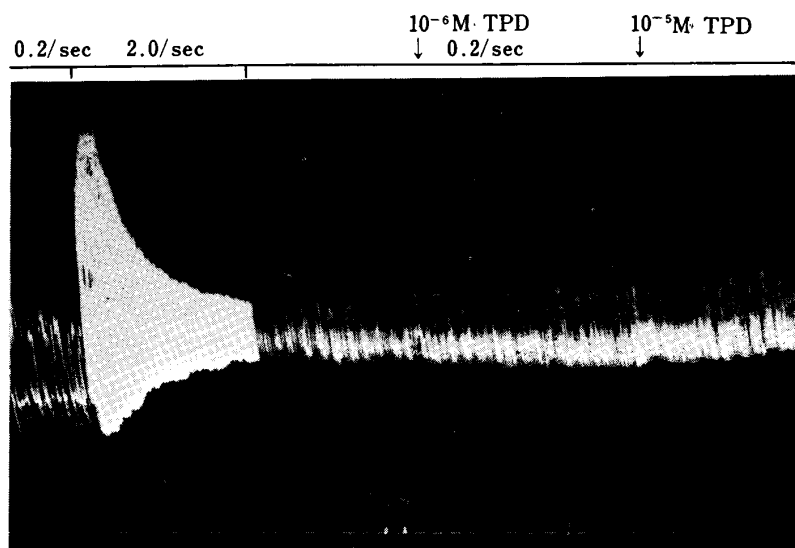


Fig. 16 Effect of TPD on fatigued curve of rat's phrenic nerve-diaphragm preparation by direct stimulation.

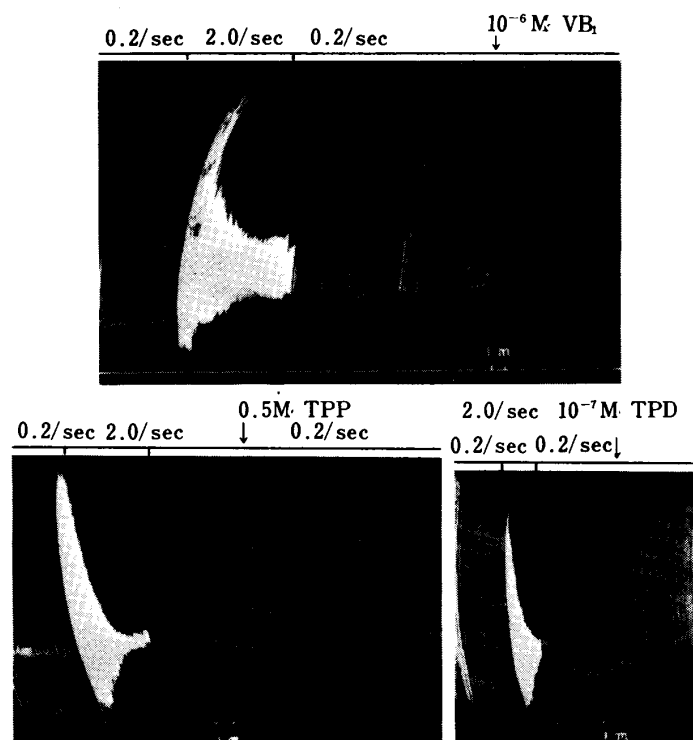


Fig. 17 Effect of examined substances on fatigued curve of rat's phrenic nerve-diaphragm preparation by indirect stimulation.

以上の被検薬物の横隔膜神経筋標本に対する作用を総括すると Table 4 に示す如くである。

即ち、これら被検薬物の直接刺激による筋攣縮に対する作用は軽度か、あるいは殆んど認められないが、間接刺激による筋攣縮に対しては比較的強い作用が観察され、特に疲労曲線に対する効果は顕著である。また、被検薬物相互間における作用の強弱は VB_1 および TPP は同程度であり、TPD はこれらより 10~100 倍の効果が見られた。

Table 4 Effect of examined substances on contraction of rat's phrenic nerve-diaphragm preparation.

Action Substance Conc. (M)	Single			Pretreated with DFP			Fatigued preparation		
	VB ₁	TPP	TPD	VB ₁	TPP	TPD	VB ₁	TPP	TPD
5 × 10 ⁻³	↓ (-)	↓ (↑)	↓ (↑)						
10 ⁻³	↓ or - (-)	↑ (-)	↑ (↑)				↑	↑ (-)	↑
10 ⁻⁴	—	—	↑ or —	↑	↑	↑	↑ (-)	↑ (-)	↑
10 ⁻⁵	—	—	—	↑	↑ or —	↑	↑ (-)	↑	↑ (-)
10 ⁻⁶	—	—	—	—	—	↑ or —	↑	↑ or —	↑ (-)
10 ⁻⁷	—	—	—	—	—	—	—	—	↑

↑, ↓ and — show increase, decrease and no change in amplitude of contraction by indirect stimulation, respectively, but marks in () show by direct stimulation.

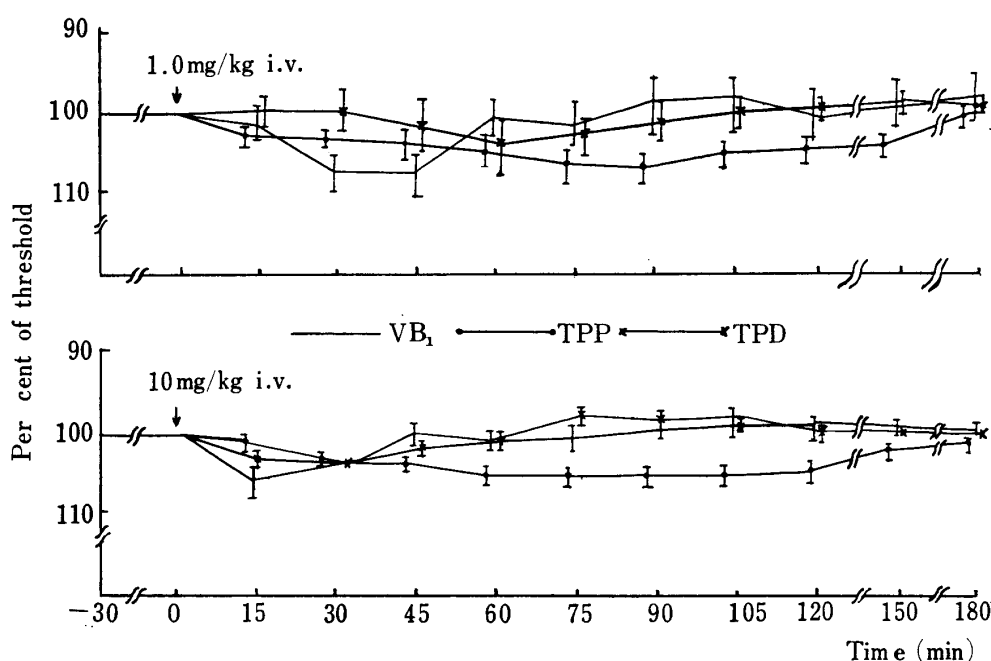


Fig. 18 Analgesic activity of examined substances in rabbits subjected to dental-pulp stimulation method.

V. 鎮痛作用

a) 家兎歯髓刺戟法による成績

家兎歯髓刺戟法による被検薬物の鎮痛作用を被検薬物静注前の刺戟閾値を基準に静注後の各期における閾値の percentage を以て示すと Fig. 18 に示す如くである。

即ち, 1 mg/kg の場合には VB₁ では投与後 30^m~45^m にして約 7% の閾値の上昇が見られたが, その後旧値に復した。TPP では投与後から徐々に閾値の上昇が見られ, 60^m~150^m では約 5% の閾値の上昇を持続した。また, TPD ではほとんど影響が見られなかった。10 mg/kg の場合には VB₁ では投与 15^m 後に約 6% の上昇を示したが, 漸次回復した。TPP では投与後 60^m~120^m にわたり約 5% の閾値の上昇がみられたが, TPD では影響が認められなかった。50 mg/kg の場合もほぼ同様な成績であった。

b) Haffner 法による morphine の鎮痛作用に及ぼす影響

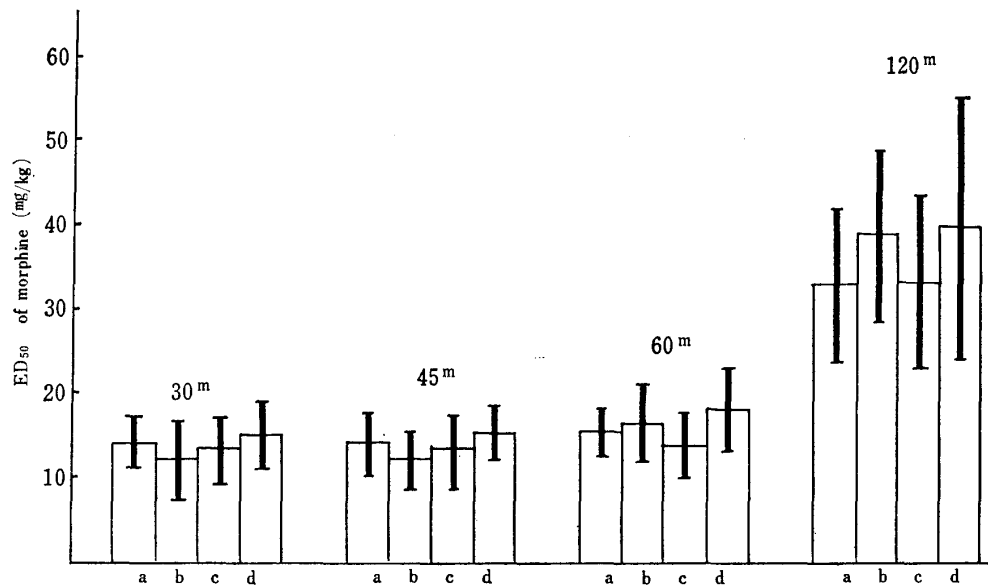


Fig. 19 Analgesic ED₅₀ of morphine in mice treated with examined substances in a dose of 0.01 mg/kg. a:Control, b:VB₁, c:TPP, d:TPD

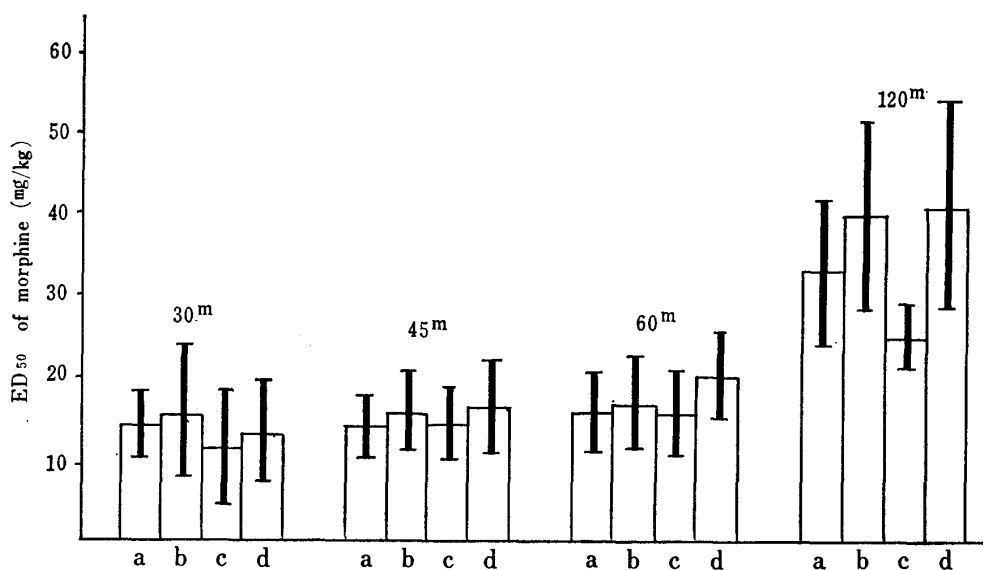


Fig. 20 Analgesic ED₅₀ of morphine in mice treated with examined substances in a dose of 1.0 mg/kg.

Haffner 法における morphine の鎮痛作用の ED₅₀ 値に及ぼす被検薬物の影響は Fig. 19～21 に示す如くである。

即ち, morphine の鎮痛作用は 30^m～45^m にして最も強く, その後減弱し, 120^m 後には ED₅₀ 値は約 2 倍になる。この場合, 被検薬物の 0.01, 1.0 および 100 mg/kg の投与による ED₅₀ 値は control 群のそれとの間に有意差は見られぬが, TPP 1.0 および 100 mg/kg 投与の 120^m 後における ED₅₀ 値は軽度減少の傾向を示した。従って a) および b) における成績からこれら被検薬物は大量の場合に軽度の鎮痛作用が見られるが, その程度はとるに足りないものである。また, morphine の鎮痛作用に対しては増強作用は見られず, TPP に若干の morphine の鎮痛作用の持続が見られるに過ぎない。

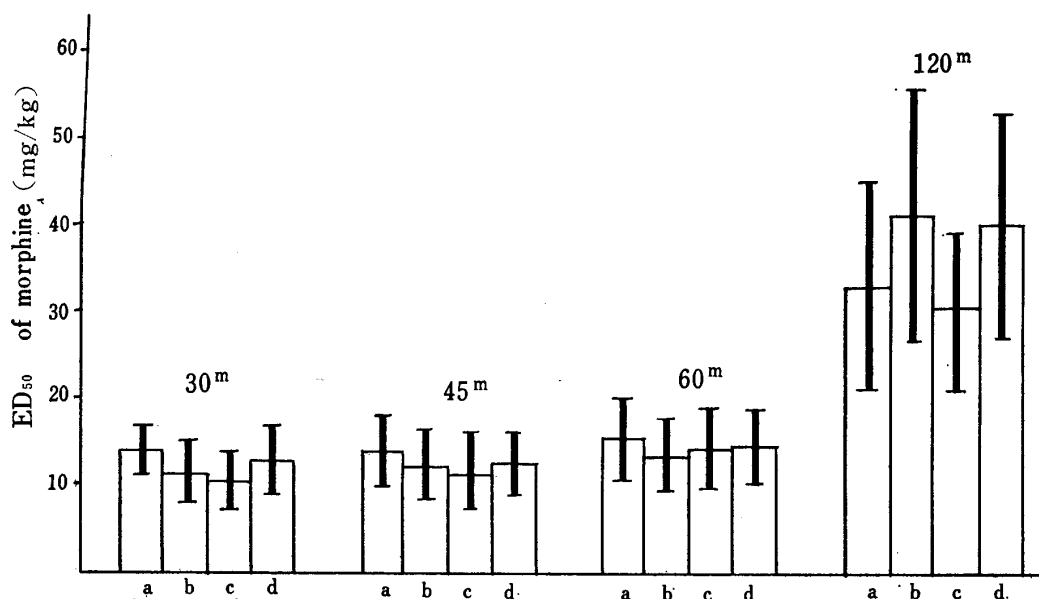


Fig. 21 Analgesic ED₅₀ of morphine in mice treated with examined substances in a dose of 100 mg/kg.

総括並びに考按

VB₁ は ACh の作用を増強するということから消化管の緊張低下による、いわゆる老人性便秘の治療や小児麻痺の際、ACh とともに脊髄腔内に注射し、後遺症の軽減のために適応される。この VB₁ の ACh 作用の増強は一般に VB₁ が ChE を阻害する結果であると信じられ、成書にも記載されているが、著者らは vitamin や hormone の如き、いわゆる bio-catalyser と呼ばれる物質はそれらの dose-level から考えて negative-catalyser として作用するよりも、むしろ positive-catalyser としての意義を重視し、ACh 作用の増強は ChE 阻害作用よりも ACh の生合成を促進する結果であるとの仮説の下に本実験を企図した。先ず ACh 作用の増強について検討したところ、中山^{13), 14)}、¹⁵⁾、^{16), 17)}、難波ら、福原らも認めている如く、摘出モルモット回腸を用いた実験において VB₁、TPD、TTFD および BTMP はいずれも ACh 作用を増強あるいは延長させることを確認した。本作用は TTFD を除き 10⁻⁷~10⁻⁶M の場合が概して強く、更に濃度を高くすると減弱した。ついで、これらの ACh 増強作用の機序の解明のために若干の検討を行なった。Glick¹⁾ や西沢ら²⁾ の報告や荒木ら¹⁸⁾ による VB₁ を大量静注した場合には横紋筋神経末端部における ChE が消失するという組織化学的報告に鑑み、これらの ChE 阻害作用を馬血清 ChE を用いて検討したところ、いずれの場合もかなりの高濃度で ChE 阻害作用を示し、I₅₀ は 10⁻⁴~10⁻⁵M であった。また、その強さは TTFD > TPD > BTMP > VB₁ であるが、10⁻⁷~10⁻⁶M では ChE 阻害作用は著しく弱い。この結果から前述のモルモット回腸における ACh 増強作用の機序を説明するのに ChE 阻害作用を以てしては困難である。そこで、ACh の生成に及ぼすこれらの影響を蛙の脳切片を用いて検討した。Torda³⁾ らは高濃度の VB₁ は抑制的であるが、低濃度では促進的であると述べている。著者らの得た成績では VB₁ は 10⁻⁷ および 10⁻⁵M では促進的であるが、10⁻³M では明らかに ACh の生成を抑制した。また、この作用は TPP および TPD では更に著明であり、TPD の 10⁻⁷M では free ACh は約 30% の増加、total ACh は約 39% の増加をそれぞれ示した。この成績は vitamin としての dose-level から考えると序論にかかげた VB₁ 効果の模式図の(A)の作用に相当し、VB₁ が何らかの経路で cholineacetylase の作用を介して ACh の生成を促進するものと考えらるべきであろう。このような ACh 生成に対する促進効果は続いて行なった摘出ラット横隔膜神経筋標本の電気刺激による筋収縮反応においても認められた。即ち、直接刺激では

TPD は $10^{-3}M$ で軽度収縮の増強傾向が見られ、 VB_1 および TPP では作用は認め難く、 $5 \times 10^{-3}M$ ではいずれも減弱後軽度増強が見られるに過ぎず、疲労曲線に対しては影響が認められなかった。しかし、神経刺戟による間接刺戟では TPD は $10^{-4}M$ でも増強が認められ $10^{-3}M$ では VB_1 は軽度であるか、いずれも増強作用が認められた。 $5 \times 10^{-3}M$ VB_1 では¹⁹⁾ 林および²⁰⁾ 峰下らも観察しているように筋収縮は消失した。この筋収縮の消失は TPP および TPD にも認められた。この高濃度の VB_1 による筋収縮の消失は²¹⁾ 林および²²⁾ 峰下らは curare 様の作用と解している。ついで、間接刺戟の場合に ChE 阻害剤である DFP を前処置すると VB_1 の $10^{-5} \sim 10^{-4}M$ によっても神経筋接合部の伝達は促進され筋収縮の増強作用が見られるようになり、TPD では $10^{-6}M$ の添加でも促進的効果が多く見られた。電気刺戟の frequency を高めて疲労せしめた標本にこれらの被検物質を作用させた場合には VB_1 および TPP では $10^{-6}M$ まで筋収縮の回復効果がみられ、TPD では $10^{-7}M$ によっても認められた。これらの作用は VB_1 およびその関連化合物が筋接合部での ACh の生成を促進して筋収縮を増強するものと考えられる。この神経筋標本に対する作用は VB_1 および TPP ではほぼ同程度であるが、TPD は概して 10 倍強い作用を示した。以上の実験成績から VB_1 および関連化合物の ACh 作用の増強は vitamin としての dose level から考えると ChE 阻害によるものではなく、ACh 生成の促進の結果によるとするのが妥当である。鎮痛作用と脳内 ACh との関係については諸説があるが、²³⁾ 羽野らによれば大量の morphine (100 mg/kg) 投与後には脳内 ACh は増加するという。また、²⁴⁾ 藤村の VB_1 誘導体の鎮痛作用についての成績があり、最近、鎮痛作用を期待して VB_1 誘導体の大量投与が試みられているが、著者らの成績では鎮痛作用は軽度かあるいはほとんど認められなかった。また、morphine の鎮痛作用の ED_{50} 値に大きく影響することはなかった。 VB_1 誘導体に鎮痛作用が示されるとしたら、vitamin としての dose level をはるかに越えた大量投与によるものであり、非特異的な中枢抑制の結果であるものと思われる。

結 論

VB_1 およびその誘導体の ACh に対する作用を中心に以下の実験を行ないつぎの結論を得た。

- 1) ACh による摘出モルモット回腸の収縮に対してこれらの被検物質はいずれも増強作用を示す。
- 2) 馬血清 ChE 阻害作用は高濃度の場合に認められる。
- 3) 蛙脳切片における free ACh および total ACh 生成量は低濃度の被検物質により増加し、その強さは $TPD > TPP > VB_1$ の如くである。
- 4) ラット横隔膜神経筋標本における間接刺戟の筋収縮に対して $5 \times 10^{-3}M$ では curare 様の作用を示し、 $10^{-3}M$ では増強作用を示す。また、DFP を前処置した場合および疲労時の標本の場合にはこの増強作用は更に著明である。しかし、直接刺戟に対する作用は軽度かあるいはほとんど認められない。
- 5) これら被検物質の家兎の歯髄刺戟法による鎮痛作用は軽度か、あるいはほとんど認められない。
- 6) Haffner 法による morphine の ED_{50} 値に対してこれら被検物質は影響が認められない。

文 献

- 1) Glick, Antopol: J. Pharmacol., **65**, 389 (1939)
- 2) 西沢義人: ビタミン, **6**, 311 (1953)
- 3) Torda, C. and Wolff, H. G.: Proc. Soc. exper. Biol. Med., **56**, 86 (1944)
- 4) Strelitz, F.: Biochem. J., **38**, 86 (1944)
- 5) Hestrin, S.: J. Biol. Chem., **180**, 249 (1949)

- 6) Bülbring, E. : Brit. J. Pharmacol., **1**, 38 (1946)
- 7) 久我哲郎: 日薬理誌, **54**, 918 (1958)
- 8) 柳楽達見, 野口三郎: 日薬物誌, **9**, 262 (1929)
- 9) 柳楽達見, 矢尾太郎: 同誌, **9**, 273 (1923) ; **12**, 82 (1931)
- 10) 江田昭英: 岐阜医紀, **4**, 727 (1957)
- 11) Haffner, F. : Deutsh. med. Wochenshr., **55**, 731 (1929)
- 12) Litchfield, Jr. J. T., & Wilcoxon, F. : J. Pharmacol., **96**, 99 (1949)
- 13) 中山 沢, 難波良司: ビタミン, **22**, 142 (1960)
- 14) 中山 沢, 難波良司: ビタミン, **28**, 235 (1963)
- 15) 難波良司, 福田博之, 椎名 宏: ビタミン, **31**, 274 (1965)
- 16) 福原 武, 難波良司, 椎名 宏: ビタミン, **31**, 398 (1965)
- 17) 福原 武, 福田博之: ビタミン, **31**, 494 (1965)
- 18) 荒木正哉: ビタミン, **26**, 76 (1962)
- 19) 林 高譚: ビタミン, **26**, 76 (1962)
- 20) 峰下鎮雄, 上田元彦: ビタミン, **26**, 77 (1962)
- 21) 林 高譚: ビタミン, **27**, 227 (1963)
- 22) 峰下鎮雄: ビタミン, **27**, 319 (1963)
- 23) 羽野 寿, 金戸 洋, 角永武夫: 日薬理誌, **58**, 114 § (1962)
- 24) 藤村 一: 未発表