

アゾトメトリーによるイソニコチン酸ヒドラゼド (INAH) の生体内運命に関する研究

第3報 INAH 誘導体のアゾトメトリーならびに定量法の改良

那 須 義 則

大阪大学医学部第三内科学教室 (主任 堂野前維摩郷教授)

大阪府立羽曳野病院

受付 昭和 31 年 7 月 16 日

緒 言

第2報において、肝障害時ならびに極端に大量の INAH が投与された場合には INAH と焦性葡萄糖とのヒドラゼンが非常に高率に排泄されることを報告した¹⁾。この INAH と焦性葡萄糖とのヒドラゼンはアゾトメトリー的に全く新しい態度をとる。すなわち Cr AZM にて N₂ を発生し、Fe AZM には N₂ を発生し難く、酸性処理にて両 AZM にて理論値通りの N₂ を発生する性質を有することが明らかとなつた。かかる物質が尿中に排泄されている以上、従来行つてきた AZM による INAH の定量法は不完全といわねばならない。そこで著者は定量法の改良を試み、まず 1-Isonicotinyl-2-acetyl hydrazine を正確に分別定量する方法を創案した。以下その改良法ならびにそれによる実験成績を報告する。

実験方法

動物実験は雄性家兔を使用し、尿はカテーテルにより採取した。2時間毎に尿を集め、8時間までの尿を採り、おのおのにつき定量を行つた。四塩化炭素による肝障害その他の方法は前報と同様である。

定量は尿 2 ml に IN 硫酸 1 ml を加え、5分間室温放置後前報と同じく装作して Fe AZM および Cr AZM を施行する。(以下本法を酸処理 AZM と称する)

実験成績

INAH ならびにその誘導体の溶液に従来の Fe AZM ならびに Cr AZM を施行した成績を表1に示した。表に示されるように INAH 誘導体の AZM に対する態度は次の3群に大別される。

- 1) Fe AZM ならびに Cr AZM の両者で N₂ を発生する。
- 2) Fe AZM のみで N₂ を発生し、Cr AZM では N₂ を発生しない。
- 3) Fe AZM では N₂ を発生しないかあるいは発生しても極くわずかであり、Cr AZM でより多量の N₂ を発

生する。

INAH を生体に投与した場合、尿中に排泄される代謝産物は INAH(1), 1-Isonicotinyl-2-glucosyl hydrazine(2), 1-Isonicotinyl-2-acetyl hydrazine (4) ならびに INAH と焦性葡萄糖 および α -ケトグルタル酸とのヒドラゼン (10, 11) の5つと考えられるが、前2者は第1群、アセチル化物は第2群、後の2者は第3群に属する。なおイソニコチン酸およびイソニコチノイルグリシンは、本法では N₂ を発生しない。

松田の発表した INAH 代謝産物の AZM では第3群に属する2つの化合物が考慮されていない。著者の酸処理 AZM は、上の両物質が酸性処理により第1群と同じく両 AZM で N₂ を発生するようになることを利用して、アセチル化物を正確に分別定量できるように改良したものである。

INAH の代謝産物の尿溶液の従来の AZM ならびに酸処理 AZM による成績を表2に示した。INAH と焦性葡萄糖 および α -ケトグルタル酸とのヒドラゼンは無処置の AZM では Cr AZM 値が Fe AZM 値より遙かに大きな値を示すが、酸処理 AZM では両者とも両 AZM でほぼ等量の N₂ を定量的に発生する。その他の代謝産物では原法と酸処理変法との間に変化を認めないから、酸処置 AZM によれば、INAH の代謝産物中アセチル化物のみが、Fe AZM で N₂ を発生し、Cr AZM では N₂ を発生せず、他のすべてのものは両 AZM で N₂ を発生することになる。したがつて酸処理 Fe AZM 値は代謝産物の総量を表わし、酸処理 Cr AZM 値はアセチル化物以外の代謝産物のすべてを表わすものである。

次に種々の条件における INAH の尿中排泄状況を原法ならびに酸処理 AZM で検した成績を示す。表3、図1は健康人に INAH 200mg を頓用内服した例である。2時間毎に尿を集め、24時間までの排泄状況を検したものであるが、Fe AZM 値、Cr AZM 値ともに酸処理で少しく高い値を示すが、その差は24時間で、Fe AZM 値では投与量の6%、Cr AZM 値では2%であり、アセチル化比率では1%程度の差を認めるにすぎない。

表3 健康人 INAH 200mg 経口投与, 時間別排泄量

		時間別発生 N ₂ 量 (mm ³)						INAH 換算値 (mg)	投与量に対する比率 (%)	Cr/Fe 値	
		0~2	2~4	4~6	6~8	8~10	10~24				計
無処置	Fe AZM 値	5941	3880	3930	3050	2245	6063	25109	154	77	0.12
	Cr AZM 値	1472	775	328	97	0	0	2942	189	9	
酸処理	Fe AZM 値	6738	4373	4512	3050	2331	6328	27132	166	83	0.13
	Cr AZM 値	2176	985	367	97	0	0	3625	22	11	

図1 健康人 INAH 200mg 経口投与

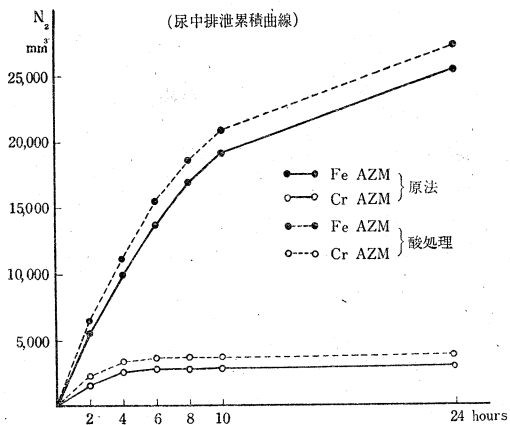


図2 健康家兎 INAH 4mg/kg 皮下注射

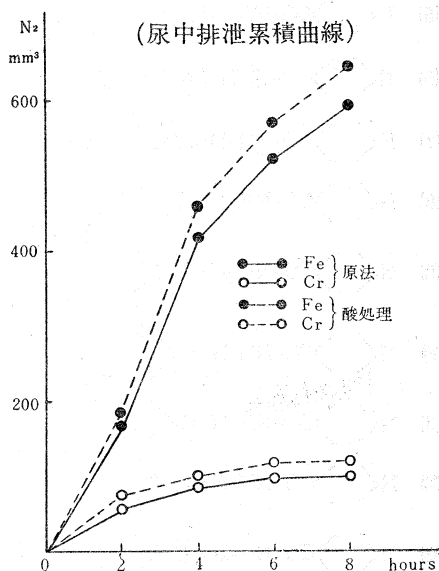


表4, 図2は健康家兎に4mg/kgを皮下注射して, その尿中排泄状況を投与後8時間までの間で検したものであるが, ほぼ人体200mg内服時に近い様相を呈した。

表5, 図3は健康家兎に20mg/kgを皮下注射した場合で, 4mg/kg投与の場合に比し原法と酸処置の両AZM

表4 健康家兎 INAH 4mg/kg 投与, 時間別排泄量

		時間別発生 N ₂ 量 (mm ³)					INAH 換算値 (mg)	投与量に対する比率 (%)	Cr/Fe 値
		0~2	2~4	4~6	6~8	計			
無処置	Fe AZM 値	162	251	110	75	597	3.7	37	0.16
	Cr AZM 値	61	23	11	0	95	0.6	6	
酸処理	Fe AZM 値	180	273	121	75	647	3.9	39	0.17
	Cr AZM 値	69	27	15	0	111	0.7	7	

表5 健康家兎 INAH 20mg/kg 投与, 時間別排泄量

		時間別発生 N ₂ 量 (mm ³)					INAH 換算値 (mg)	投与量に対する比率 (%)	Cr/Fe 値
		0~2	2~4	4~6	6~8	計			
無処置	Fe AZM 値	1443	728	1044	252	3467	21.2	45.4	0.39
	Cr AZM 値	812	224	294	38	1368	8.4	16.8	
酸処理	Fe AZM 値	1791	812	1140	323	4066	24.8	49.6	0.38
	Cr AZM 値	909	241	334	41	1525	9.5	19.0	

図3 健康家兎 INAH 20mg/kg 皮下注射

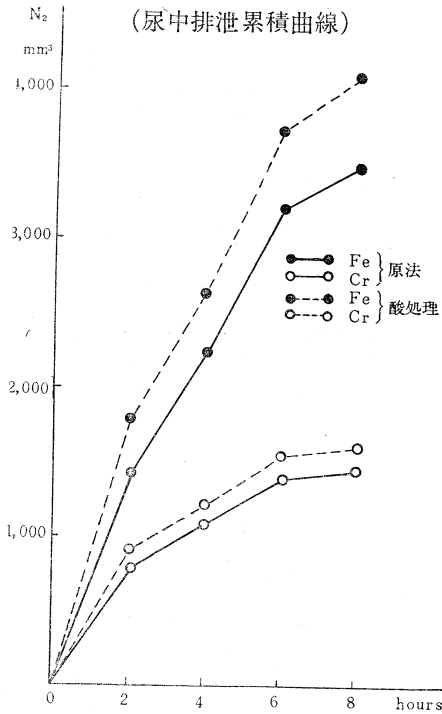


図4 健康家兎 INAH 40mg/kg 皮下注射

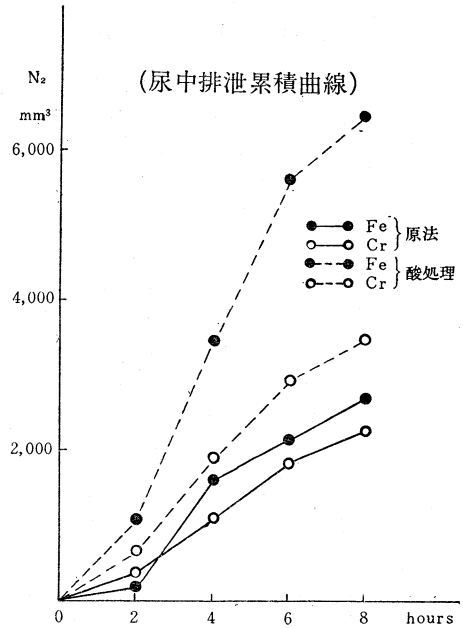


表6 健康家兎 INAH 40mg/kg 投与, 時間別排泄量

		時間別発生 N ₂ 量 (mm ³)					INAH 換算値 (mg)	投与量に 対する比 率 (%)	Cr Fe 値
		0~2	2~4	4~6	6~8	計			
無処置	Fe AZM 値	291	1345	1472	620	2728	168	16.8	0.85
	Cr AZM 値	368	745	775	427	2315	141	14.1	
酸処理	Fe AZM 値	1100	2325	2255	820	6490	395	39.5	0.53
	Cr AZM 値	667	1158	1148	447	3420	209	20.9	

の差が大きくなっている。

表6, 図4, 表7, 図5はそれぞれ40mg/kg, 80mg/kgを皮下注射した成績である。40mg/kgでは2時間まで、80mg/kgでは8時間まで、ともに原法ではCr AZM値がFe AZM値を上廻る値を示しているが、酸処理AZMではFe AZM値がCr AZM値より高くなっている。これはアセチル化物の存在を示すものであるが、その差は極めて僅かであり、かかる大量投与の際には生体のアセチル化能力が極めて低下していることが認められる。

チル化能力がおいわずアセチル化が非常に低率となることが観察される。

表8, 図6は四塩化炭素肝障害家兎にINAH 4mg/kgを皮下注射したものである。原法ではCr AZM値がFe AZM値を上廻つたものが、酸処理AZMではその逆となり、健康家兎に大量投与した場合に似た関係を示す。すなわちINAH 4mg/kg程度の投与でも肝障害ある時はアセチル化能力が極めて低下していることが認められる。

図5 健康家兎 INAH 80mg/kg 皮下注射

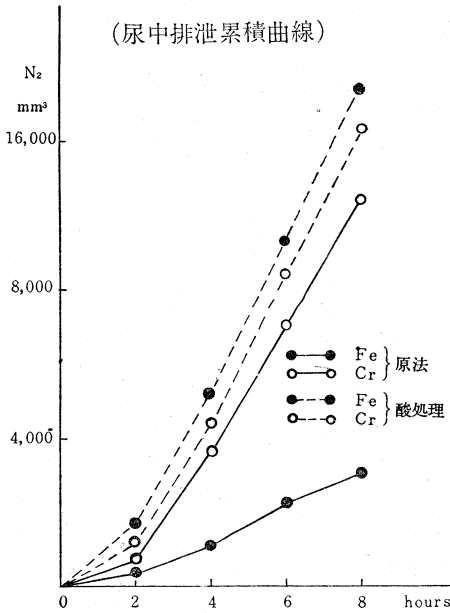


図6 肝障害家兎 INAH 4mg/kg 皮下注射

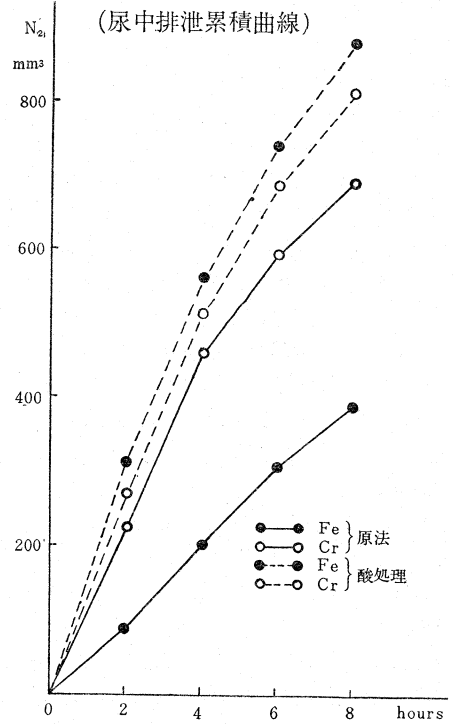


表7 健康家兎 INAH 80mg/kg 投与, 時間別排泄量

		時間別発生 N ₂ 量 (mm ³)					INAH 換算値 (mg)	投与量に対する比率 (%)	Cr/Fe 値
		0~2	2~4	4~6	6~8	計			
無処置	Fe AZM 値	397	773	1059	916	3145	19.2	9.6	3.35
	Cr AZM 値	793	2847	5610	3320	10570	57.3	28.7	
酸処理	Fe AZM 値	1460	3580	4333	4167	13540	73.4	36.7	0.93
	Cr AZM 値	1020	3185	4208	4067	12480	67.9	34.0	

表8 四塩化炭素肝障害家兎 INAH 4mg/kg 投与, 時間別排泄量

		時間別発生 N ₂ 量 (mm ³)					INAH 換算値 (mg)	投与量に対する比率 (%)	Cr/Fe 値
		0~2	2~4	4~6	6~8	計			
無処置	Fe AZM 値	82	120	104	80	386	2.4	23.6	1.76
	Cr AZM 値	218	240	130	95	681	4.2	41.6	
酸処理	Fe AZM 値	310	245	184	145	882	5.4	53.8	0.92
	Cr AZM 値	266	244	179	121	810	5.1	50.6	

総括および考案

以上各種 INAH 誘導体の AZM を検し, 3 群に分けることを認めた。INAH およびその代謝産物はそれぞれ次の群に属する。

第1群 両AZMで N₂ を発生する。

INAH, 1-Isonicotinyl-2-glucosyl hydrazine.

第2群 Fe AZM で N₂ を発生し, Cr AZM では発生しないもの。

1-Isonicotinyl-2-acetyl hydrazine.

第3群 Fe AZM では N_2 を発生し難く, Cr AZM でより多量の N_2 を発生するもの。

INAH と焦性葡萄糖とのヒドラゼーン。

INAH と α -ケトグルタル酸とのヒドラゼーン。

以上のうち第3群のものは溶液の状態では非常に不安定で, 室温放置により漸次両AZMで N_2 を発生するようになり, 強酸性で容易に両AZMで理論値に近い N_2 を発生するようになる。したがって酸処理 AZM を行うことにより INAH およびその代謝産物の総量ならびにアセチル化物の分別定量は原法よりも正確に行いうるものと考えられるが, 第3群の物質の正確な測定は困難である。しかし原法ならびに酸処理法における Fe AZM 値の差以上にこれらの物質が排泄されていることは確かである。しかも第2報において報告した如く, 大量の INAH 投与尿についての濾紙クロマトグラフィーによる成績より, 肝機能障害の際や, 大量の INAH が投与された場合に多量に排泄される第3群物質は主として INAH と焦性葡萄糖とのヒドラゼーンであると考えられる。すなわち肝障害の際には肝臓のアセチル化能力が低下し, 一方において含水炭素中間代謝の障害により焦性葡萄糖の蓄積をきたし, その結果, 大部分の INAH はそのヒドラゼーンとして尿中に排泄せられるものと考えられる。また大量の INAH が一時に投与された際には, 生体のアセチル化機能はこれを一時に処理しえず, 残りの多くの部分は焦性葡萄糖とのヒドラゼーンとなつて排泄されるが, このヒ

ドラゼーン形成は INAH が生成される焦性葡萄糖を捕捉する力が強いのか, あるいは INAH が含水炭素代謝の障害を起して焦性葡萄糖の蓄積を起し, その結果多量のヒドラゼーンが形成せられるのか, 目下なお研究中である。

さらに松田は INAH および INAH と焦性葡萄糖ならびに α -ケトグルタル酸とのヒドラゼーンが酸性で β -ナフトキノンスルホン酸ソーダで固定されることを報告しているが, これら物質がアルカリ性では比較的安定であることを利用して, さらに INAH のみの分別定量する方法につき目下検討中である。

結 論

AZM による尿中 INAH ならびにその代謝産物の定量には, 松田の原法では不適當であり, 酸処理 AZM を行うべきである。かくすることにより INAH の代謝産物の総量ならびに 1-Isonicotinyl-2-acetyl hydrazine が正確に分別定量される。

本研究に対して終始御懇篤なる御指導, 御校閲を賜りました恩師堂野前教授ならびに御指導御鞭撻戴きました河盛助教授, 伊藤文雄博士に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) 那須: 印刷中。